

## 布渣叶总黄酮对大鼠急性心肌缺血的保护作用及其机制

陈艳芬<sup>1</sup>, 杨超燕<sup>1</sup>, 李坤平<sup>2\*</sup>, 曾宇<sup>1</sup>, 王颖芳<sup>1</sup>, 陈美燕<sup>1</sup>

1. 广东药学院中药学院, 广东 广州 510006

2. 广东药学院药科学院, 广东 广州 510006

**摘要:** **目的** 研究布渣叶总黄酮对盐酸异丙肾上腺素注射液(ISO)诱导的急性心肌缺血大鼠模型的保护作用及其机制。**方法** 布渣叶总黄酮(8、4、2 mg/kg)每天ig给予大鼠1次,连续给药5 d,末次给药后1 h,ISO(2 mg/kg)多点sc诱导大鼠急性心肌缺血,观察布渣叶总黄酮对大鼠不同时间点心电图及心肌组织形态学的影响;生化法检测血清中乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)活性和心肌组织中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平。**结果** 与模型组相比,布渣叶总黄酮高、中剂量(8、4 mg/kg)组能明显对抗心肌缺血时心电图J点的下移( $P < 0.05$ ),尤以注射ISO后10 min时的效果较明显;明显改善ISO引起的心肌病理损伤;降低血清中LDH、CK水平( $P < 0.05$ )和心肌组织MDA的量( $P < 0.01$ ),提高心肌组织SOD( $P < 0.01$ )和GSH-Px活性( $P < 0.05$ ,  $0.01$ )。**结论** 布渣叶总黄酮对大鼠急性心肌缺血损伤有明显的保护作用,其机制可能与提高心肌的抗氧化能力、减轻氧化应激反应有关。

**关键词:** 布渣叶总黄酮; 心肌缺血; 抗氧化; 氧化应激; 心电图

中图分类号: R282.710.5; R972 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)08-1003-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.08.016

## Protection of total flavones from *Microcos paniculata* on acute myocardial ischemia in rats and its mechanism

CHEN Yan-fen<sup>1</sup>, YANG Chao-yan<sup>1</sup>, LI Kun-ping<sup>2</sup>, ZENG Yu<sup>1</sup>, WANG Ying-fang<sup>1</sup>, CHEN Mei-yan<sup>1</sup>

1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

**Abstract:** **Objective** To study the protective effect of the total flavones in *Microcos paniculata* (TFMP) on the acute myocardial ischemia (AMI) induced by isoprenaline (ISO) and its mechanism. **Methods** The rats were ig administered with TFMP (8, 4, and 2 mg/kg) once daily for consecutive 5 d, and the AMI rat model was established by sc injection with ISO (2 mg/kg) 1 h after the last administration. The effects of TFMP on the electrocardiogram (ECG) at different time points and the myocardial tissue pathological histomorphology dying by hematoxylin were observed; The superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) levels of myocardial tissue, glutathione peroxidase (GSH-Px), lactate dehydrogenase (LDH), and creatine kinase (CK) activities in serum were detected using biochemical method. **Results** Compared with the model group, the high- and mid-doses (8 and 4 mg/kg) TFMP inhibited the J spot downward of ECG during myocardial ischemia ( $P < 0.05$ ), especially after 10 min of ISO injection. The myocardial injury induced by ISO was also improved in these two groups, the levels of LDH and CK in serum ( $P < 0.05$ ) and the content of MDA in myocardial homogenate ( $P < 0.01$ ) were decreased, the activities of SOD ( $P < 0.01$ ) and GSH-Px ( $P < 0.05$ ,  $0.001$ ) in the myocardial homogenate were increased. **Conclusion** The TFMP has the apparent protective effect on AMI injury, its mechanism may be related with improving the myocardial anti-oxidative ability and decreasing the oxidative stress reaction.

**Key words:** total flavones from *Microcos paniculata*; myocardial isehemia; anti-oxidative ability; oxidative stress; electrocardiogram

椴树科植物布渣叶 *Microcos paniculata* L., 亦 资源极其丰富且药用历史悠久, 其味甘、淡, 性微称为破布叶<sup>[1]</sup>, 盛产于我国南方, 特别是两广地区, 寒, 归脾胃肝经, 具有清热消滞、利湿退黄的功效。

收稿日期: 2012-06-15

基金项目: 广东高校优秀青年创新人才培养计划项目(LYM10092); 广东省中医药局科研项目(2010418)

作者简介: 陈艳芬(1977—), 女, 博士, 副教授, 主要从事中药新药药效学和毒理学评价。Tel: (020)39352180 E-mail: xwnai@163.com

\*通信作者 李坤平 Tel: (020)39352118 E-mail: lkpcina@hotmail.com

布渣叶富含黄酮类化合物,其总黄酮具有较强的自由基清除活性<sup>[2-6]</sup>。为了探讨布渣叶总黄酮(TFMP)对心肌缺血的保护作用,本实验以异丙肾上腺素诱导大鼠急性心肌缺血损伤模型,观察布渣叶总黄酮对急性心肌缺血(acute myocardial ischemia, AMI)大鼠心电图、心肌组织形态学、抗氧化能力相关指标的影响,为其研发和临床应用提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 药品与试剂

布渣叶总黄酮(由2.5 kg布渣叶药材提取、精制获得)粉末,广东药学院制药工程教研室提供,比色法测得含总黄酮(以芦丁计)622.4 mg/g, HPLC法测得含牡荆苷51.2 mg/g;盐酸异丙肾上腺素注射液(ISO),上海禾丰制药有限公司,批号110202;复方丹参滴丸,天津天士力制药股份有限公司,批号110703。水合氯醛,中国医药集团上海化学试剂公司;超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、考马斯亮兰蛋白测定试剂盒,南京建成生物试剂有限公司;乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)检测试剂盒,罗氏公司。

### 1.2 动物

SPF级SD大鼠,雌雄各半,体质量(200±20)g,由广东省医学实验动物中心提供,动物许可证号:SCXK(粤)2008-0002。

### 1.3 仪器

MedLab-6.0生物信号采集处理系统,南京美易科技有限公司;WFZ—26A紫外可见分光光度计,天津市拓普仪器有限公司;MS—18全自动生化分析仪,奥普森公司;TGL—16G台式离心机,上海安亭科学仪器厂;NIKON E600显微镜,日本Nikon公司。

## 2 方法

### 2.1 分组与给药

SD大鼠60只随机分为6组(每组10只),分别为对照组,模型组,复方丹参滴丸(324 mg/kg)阳性对照组,布渣叶总黄酮高、中、低剂量(8、4、2 mg/kg)组。各给药组每天ig给予药液10 mL/kg(以蒸馏水稀释)1次,连续给药5 d,对照组和模型组给予同体积的蒸馏水。

### 2.2 模型制备

末次给药后1 h,各组大鼠ip 10%水合氯醛0.3 mL/100 g麻醉,仰卧位固定,连接生物信号采集处

理系统心电图电极,记录心电图。之后除对照组外,其他各组大鼠均多点sc(四肢根部和背部共5~6点,10 s内注射完毕)ISO 2 mg/kg,对照组sc等量生理盐水。记录注射ISO后1、3、5、8、10、15、20、25、30 min大鼠的心电图,分别统计各时间点心电图J点下移值(J点是QRS波群的终末部分与ST段起始之交接点,即S波的终点,以PR段为基线,J点位移的变化值)。测定后,除对照组外,每只大鼠连续2 d ip给予ISO 5 mg/kg,同时按“2.1”项方法持续给药2 d,每天1次。

### 2.3 检测指标

大鼠末次给予ISO后24 h,腹主动脉取血,3 000 r/min、离心10 min制备血清,全自动生化分析仪检测血清中LDH、CK的活性。取血后脱臼处死大鼠,取大鼠心脏中下1/3处的部分心肌,置于10%甲醛中浸泡固定,石蜡包埋,连续切片,HE染色,光镜下(×100)观察心肌病理改变。另取大鼠心尖同一部位心肌组织,冰生理盐水冲洗,滤纸吸干后称取适量,冰浴下充分研磨,制成10%组织匀浆,按照试剂盒方法检测SOD、MDA、GSH-Px水平;采用考马斯亮蓝法测定心肌组织中蛋白的量。

### 2.4 统计学处理

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 13.0统计软件分析,组间比较采用单因素方差分析。

## 3 结果

### 3.1 对急性心肌缺血大鼠心电图的影响

模型组大鼠注射ISO后1 min,大鼠心电图即出现J点下移,3~5 min下降达最低点,维持30 min仍未回到注射ISO前水平,各时间点J点下降值与对照组相比差异显著( $P < 0.01$ ),提示急性心肌缺血大鼠模型制备成功。布渣叶总黄酮高、中、低剂量组不同程度地对抗大鼠急性心肌缺血引起的J点下移,其中布渣叶总黄酮高剂量组在注射ISO后10、20 min,与模型组相比明显对抗大鼠急性心肌缺血引起的J点下移( $P < 0.05$ ),中剂量组在注射ISO后8~20 min作用明显( $P < 0.05$ ),低剂量组与模型组比较则无显著差异。复方丹参滴丸组在注射ISO后5~10 min抑制J点下移作用显著( $P < 0.05$ )。结果见表1。

### 3.2 对急性心肌缺血大鼠心肌组织形态学的影响

对照组大鼠心肌组织结构完整,心肌纤维呈短柱状,心肌细胞排列整齐、致密,细胞核呈椭圆形,位于中央,大小均一,胞浆染色均匀。模型组大鼠

心肌纤维排列紊乱, 出现广泛性心肌纤维变性、坏死, 毛细血管扩张, 心肌纤维之间水肿和大量炎性细胞浸润。复方丹参滴丸组大鼠心肌纤维排列有些紊乱, 个别大鼠心肌出现心肌细胞肥大、局部心肌纤维变性、坏死现象。布渣叶总黄酮高剂量组大鼠心肌组织心肌纤维之间轻微水肿, 局部少量炎性细

胞浸润, 个别大鼠出现心肌组织点片状坏死和变性; 中剂量组大部分大鼠心肌纤维排列整齐, 部分大鼠出现心肌组织点片状坏死和变性, 间质少量炎性细胞浸润; 低剂量组大鼠出现心肌组织片状坏死和变性, 毛细血管扩张, 心肌纤维之间中度水肿, 间质明显炎性细胞浸润。结果见图 1。

表 1 布渣叶总黄酮对心肌缺血大鼠心电图 J 点下移值的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
Table 1 Effect of TFMP on J spot downward of ECG in rats with AMI ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组 别    | 剂量 /<br>(mg·kg <sup>-1</sup> ) | $\Delta J$ / mV |               |                          |                          |                          |
|--------|--------------------------------|-----------------|---------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|        |                                | 1 min           | 3 min         | 5 min                    | 8 min                    | 10 min                   |
| 对照     | —                              | 0.013±0.006     | 0.012±0.006   | 0.014±0.009              | 0.017±0.019              | 0.025±0.023              |
| 模型     | —                              | 0.052±0.029**   | 0.205±0.103** | 0.201±0.115**            | 0.192±0.085**            | 0.205±0.074**            |
| 布渣叶总黄酮 | 2                              | 0.064±0.069     | 0.109±0.089   | 0.144±0.083              | 0.169±0.097              | 0.159±0.104              |
|        | 4                              | 0.057±0.045     | 0.172±0.086   | 0.121±0.048              | 0.095±0.058 <sup>▲</sup> | 0.112±0.050 <sup>▲</sup> |
|        | 8                              | 0.085±0.067     | 0.134±0.092   | 0.121±0.073              | 0.122±0.035              | 0.116±0.052 <sup>▲</sup> |
| 复方丹参滴丸 | 324                            | 0.045±0.045     | 0.109±0.083   | 0.087±0.068 <sup>▲</sup> | 0.093±0.084 <sup>▲</sup> | 0.085±0.078 <sup>▲</sup> |

| 组 别    | 剂量 /<br>(mg·kg <sup>-1</sup> ) | $\Delta J$ / mV          |                          |               |               |
|--------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------|---------------|
|        |                                | 15 min                   | 20 min                   | 25 min        | 30 min        |
| 对照     | —                              | 0.010±0.013              | 0.014±0.014              | 0.016±0.010   | 0.025±0.017   |
| 模型     | —                              | 0.213±0.109**            | 0.217±0.109**            | 0.206±0.114** | 0.204±0.082** |
| 布渣叶总黄酮 | 2                              | 0.159±0.104              | 0.171±0.124              | 0.137±0.087   | 0.110±0.051   |
|        | 4                              | 0.102±0.053 <sup>▲</sup> | 0.106±0.068 <sup>▲</sup> | 0.114±0.086   | 0.118±0.077   |
|        | 8                              | 0.117±0.066              | 0.108±0.054 <sup>▲</sup> | 0.138±0.030   | 0.180±0.077   |
| 复方丹参滴丸 | 324                            | 0.111±0.076              | 0.108±0.077              | 0.096±0.099   | 0.089±0.103   |

$\Delta J$ =注射 ISO 后各时间点 J 点值—注射前 J 点值; 与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>▲</sup> $P < 0.05$ , 下表同

$\Delta J$ =J spot values of each time point after ip ISO—J spot values before ip ISO; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group; <sup>▲</sup> $P < 0.05$  vs model group, same as below

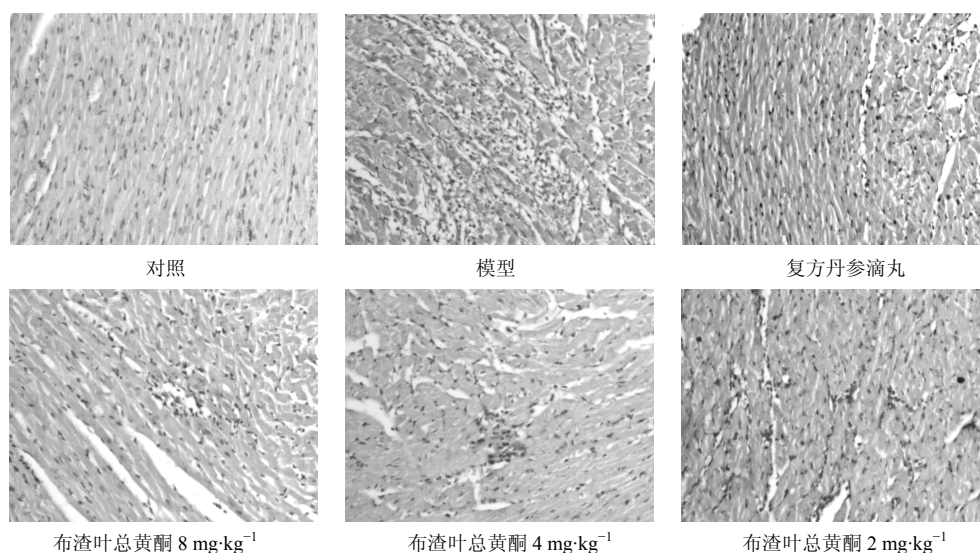


图 1 各组大鼠心肌组织形态学观察  
Fig. 1 Myocardial histomorphology of rats in each group

### 3.3 对急性心肌缺血大鼠血清心肌酶的影响

与对照组相比,模型组大鼠血清中 CK、LDH 水平显著升高 ( $P<0.01$ ),表明大剂量 ISO 可导致心肌细胞缺血损伤。与模型组相比,布渣叶总黄酮高、中剂量组大鼠血清 LDH、CK 水平均明显降低 ( $P<0.05$ ),提示布渣叶总黄酮具有改善心肌细胞损伤、减轻心肌缺血的作用。复方丹参滴丸组血清 LDH、CK 水平也显著降低 ( $P<0.01$ )。结果见表 2。

### 3.4 对急性心肌缺血大鼠氧化应激反应的影响

与对照组相比,模型组大鼠心肌组织中 MDA 的量显著增加, SOD 的量显著下降 ( $P<0.01$ ), GSH-Px 活力显著下降 ( $P<0.05$ ),表明急性心肌缺血大鼠心肌组织氧化应激反应增强,脂质过氧化产物增加。与模型组相比,布渣叶总黄酮高、中剂量组大鼠心

表 2 布渣叶总黄酮对急性心肌缺血大鼠血清 CK 和 LDH 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 2 Effects of TFMP on CK and LDH activities in serum of rats with AMI ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

| 组别     | 剂量 / | CK / (U·L <sup>-1</sup> )   | LDH / (U·L <sup>-1</sup> )  |
|--------|------|-----------------------------|-----------------------------|
| 对照     | —    | 340.40±129.95               | 297.00±144.58               |
| 模型     | —    | 632.10±199.36**             | 598.90±240.86**             |
| 布渣叶总黄酮 | 2    | 558.77±182.27               | 429.78±130.62               |
|        | 4    | 460.88±141.15 <sup>▲</sup>  | 386.12±131.91 <sup>▲</sup>  |
|        | 8    | 442.33±138.00 <sup>▲</sup>  | 354.56±153.89 <sup>▲</sup>  |
| 复方丹参滴丸 | 324  | 413.27±142.39 <sup>▲▲</sup> | 303.36±155.10 <sup>▲▲</sup> |

肌 MDA 的量明显减少 ( $P<0.01$ ), SOD 的量明显增加 ( $P<0.01$ ), GSH-Px 活力明显增强 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ ),提示布渣叶总黄酮能明显提高心肌缺血大鼠心肌抗脂质过氧化反应的能力。结果见表 3。

表 3 布渣叶总黄酮对心肌缺血大鼠心肌组织 SOD、MDA 和 GSH-Px 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 3 Effects of TFMP on myocardial SOD, MDA levels, and GSH-Px activity of rats with AMI ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

| 组别     | 剂量 / (mg·kg <sup>-1</sup> ) | SOD / (U·mg <sup>-1</sup> ) | MDA / (nmol·mg <sup>-1</sup> ) | GSH-Px / (U·mg <sup>-1</sup> ) |
|--------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 对照     | —                           | 39.26±7.26                  | 26.26±10.20                    | 78.57±15.07                    |
| 模型     | —                           | 18.49±7.43**                | 52.44±20.95**                  | 62.23±10.85*                   |
| 布渣叶总黄酮 | 2                           | 20.11±6.01                  | 46.42±11.87                    | 66.74±13.83                    |
|        | 4                           | 30.22±5.63 <sup>▲▲</sup>    | 20.91±6.68 <sup>▲▲</sup>       | 78.32±8.76 <sup>▲▲</sup>       |
|        | 8                           | 37.84±11.15 <sup>▲▲</sup>   | 23.18±9.36 <sup>▲▲</sup>       | 75.52±10.89 <sup>▲</sup>       |
| 复方丹参滴丸 | 324                         | 26.25±3.63 <sup>▲</sup>     | 33.18±9.20 <sup>▲</sup>        | 77.09±15.18 <sup>▲</sup>       |

## 4 讨论

黄酮类化合物由于具有良好的氧自由基清除活性,因此其对肿瘤、衰老、心血管等疾病的防治有重要意义<sup>[7]</sup>。布渣叶中含大量黄酮类化合物,且不同产地布渣叶总黄酮均具有较好的自由基清除活性,是值得研究的自由基清除剂<sup>[6]</sup>。药理研究表明,布渣叶水提取液能增加离体豚鼠冠脉血流量,提高小鼠耐缺氧能力,延长缺氧鼠的存活时间,增加兔脑血流量,降低其血压和脑血管阻力<sup>[3]</sup>。

心电图是缺血心肌变化的敏感指标,其中 ST 段变化幅度的改变 (T 波和 J 点) 是反映心肌缺血损伤程度和范围的可靠指标<sup>[8]</sup>。本实验结果显示,大鼠 ip ISO 后心电图各时段的 J 点明显下移;而布渣叶总黄酮对此具有对抗作用,并明显改善心肌病理损伤程度。LDH 和 CK 是目前实验和临床均公认的对心肌缺血有诊断意义的酶。本研究结果显示,ip ISO 后,模型组大鼠心肌 LDH 和 CK 的量明显增加;而布渣叶总黄酮高、中剂量能明显抑制 LDH

和 CK 的增加,有效调节血清心肌酶,提示其对大鼠缺血心肌有一定的保护作用。心肌缺血时有大量自由基生成,使心肌细胞膜中不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应,加重心肌缺血<sup>[9]</sup>。本研究结果显示,布渣叶总黄酮能提高大鼠心肌缺血时心肌组织 SOD、GSH-Px 活性,减少 MDA 的产生,从而减轻心肌细胞膜脂质过氧化反应,减弱心肌组织缺血损伤。抗氧化作用很可能是布渣叶总黄酮发挥心肌缺血保护作用的重要机制之一。

综上所述,布渣叶总黄酮对 ISO 诱导的心肌缺血具有良好的保护作用,有可能成为一种良好的抗心肌缺血的黄酮化合物新药重要来源。

## 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [2] 冯世秀, 刘梅芳, 林立东, 等. 布渣叶中三萜和黄酮类成分的研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2008, 16(1): 51-56.
- [3] 张丽萍, 罗集鹏. 布渣叶的药学研究与应用概述

- [J]. 中药材, 2008, 31(6): 271-272.
- [4] 李坤平, 潘天玲, 高崇凯, 等. 大孔吸附树脂富集纯化布渣叶总黄酮的研究 [J]. 中药材, 2009, 32(4): 601-603.
- [5] 潘天玲, 李坤平, 贲永光, 等. 正交试验法优化布渣叶总黄酮提取工艺的研究 [J]. 广东药学院学报, 2008, 24(5): 454-456.
- [6] 潘天玲, 李坤平, 林赞菲, 等. 不同产地布渣叶总黄酮含量及其清除自由基活性研究 [J]. 广东药学院学报, 2009, 25(5): 452-454.
- [7] Alothman M, Bhat R, Karim A A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents [J]. *Food Chem*, 2009, 115(3): 785-788.
- [8] Kelbaek H, Terkelsen C J, Helquist S, *et al.* Randomized comparison of distal protection versus conventional treatment in primary percutaneous coronary intervention the drug elution and distal protection in ST-elevation myocardial infarction (DEDICATION) trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(9): 899-905.
- [9] 高海成, 孙 波, 苗春生. 大剂量盐酸异丙肾上腺素诱发大鼠心肌缺血性坏死模型的建立 [J]. 中国生物制品学杂志, 2009, 22(3): 288-291.