

注射用舒血宁抗心肌缺血作用评价

程敏, 叶小弟, 缪云萍, 陈爱瑛, 诸葛定娟, 郑高利* (浙江省医学科学院药物研究所, 杭州 310013)

摘要: 目的 研究注射用舒血宁对心肌缺血的保护作用。方法 观察注射用舒血宁对异丙肾上腺素和垂体后叶素致大鼠心肌缺血、冠状动脉结扎引起的家犬心肌缺血等动物心肌缺血模型的作用和对离体大鼠心脏灌流量的影响。结果 注射用舒血宁能明显抑制异丙肾上腺素和垂体后叶素诱导的大鼠心肌缺血, 使冠脉结扎引起的家犬心肌缺血范围明显减少, 心外膜电位显示缺血程度降低, 增加离体大鼠心脏冠脉流量。结论 注射用舒血宁能明显扩张血管、增加冠状动脉流量, 抑制冠状动脉结扎引起的心肌缺血范围和缺血程度。

关键词: 注射用舒血宁; 心肌缺血

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2009)10-0791-04

Protective Effects of Shu Xue Ning Inject Liquid on Myocardial Ischemia

CHENG Min, YE Xiaodi, MIAO Yunping, CHEN Aiyong, ZHUGE Dingjuan, ZHENG Gaoli* (Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the protective effects of Shu Xue Ning inject liquid on myocardial ischemia. **METHODS** The protective effect of Shu Xue Ning inject liquid on myocardial ischemia was investigated in myocardial ischemia rats induced by isoproterenol and hypophysin, myocardial ischemia dogs caused by coronary artery ligation and perfusion of isolated rat hearts. **RESULTS** Shu Xue Ning inject liquid significantly inhibited myocardial ischemia of rats induced by isoproterenol and hypophysin, significantly decreased the range of canis familiaris myocardial ischemia caused by coronary artery ligation, the electrical potential of epicardium revealed that the extend of ischemic decreased, increased the flow of aetia coronaria. **CONCLUSION** These results show that Shu Xue Ning inject liquid can significantly dilate the blood vessels, increase the flow of aetia coronaria, inhibit the range and the degree of myocardial ischemia induced by coronary artery ligation.

KEY WORDS: Shu Xue Ning inject liquid; myocardial ischemia

注射用舒血宁是银杏叶提取物制品, 主要成分银杏叶总黄酮醇苷(包括山奈酚、槲皮素、异鼠李素等)>24%, 萜烯内酯(包括白果内酯和银杏内酯)>6%。据报道银杏叶提取物具有扩张血管、降低血液粘稠度、改善微循环、抗氧化等作用^[1-3], 这些作用和心肌缺血的治疗原则基本吻合, 临床上银杏叶提取物也常用于防治缺血性心脑血管疾病, 包括冠心病、心绞痛、脑栓塞和脑血管痉挛等, 但其对心肌缺血影响的实验研究则鲜有报道。本试验主要通过各种心肌缺血动物模型来研究注射用舒血宁对缺血心肌的保护作用及其特点, 为其临床应用提供科学依据。

1 试验材料

1.1 药物

注射用舒血宁, 淡黄色粉末, 西林瓶封装, 每瓶含提取物 17.5 mg·瓶⁻¹, 其中总黄酮醇苷 4.2 mg, 萜类内酯 1.2 mg, 由浙江康恩贝药品研究开发有限公司生产提供, 批号: 040305, 临用时用 5%葡萄糖

糖注射液溶解。注射用丹参, 规格: 0.4 g·瓶⁻¹, 哈药集团中药二厂生产, 批号: 20050129。盐酸肾上腺素注射液, 规格: 1 mg: 1 mL, 天津金耀氨基酸有限公司生产, 批号: 0504221。垂体后叶素注射液, 上海第一生化药业有限公司生产, 批号: 041003。注射用硫喷妥钠, 规格: 0.5 g·瓶⁻¹, 上海新亚药业有限公司生产, 批号: 041102。肝素钠注射液, 上海第一生化药业有限公司生产, 批号: 041102。水合氯醛, 分析纯, 中国医药集团上海化学试剂公司生产, 批号: 20001025。巴比妥钠, 分析纯, 中国华东师范大学化工厂生产, 批号: 20031025。戊巴比妥钠, 中国医药(集团)上海化学试剂公司进口分装, 批号: F20030816。氯化硝基四氮唑蓝(NET), 上海前进化学试剂厂生产, 批号: 20050201。5%葡萄糖注射液, 国营张家港市制药厂生产, 批号: 04022001。

1.2 动物

SD 大鼠, 清洁级, 浙江省实验动物中心提供,

作者简介: 程敏, 女, 助理研究员 Tel: (0571)88215620
Tel: (0571)88215620 E-mail: gaoli-z@163.com

E-mail: chengmin79@21cn.com

*通信作者: 郑高利, 男, 博士, 研究员

动物合格证号: SCXK(浙)2003-0001。健康杂种家犬, 购自杭州济公肉狗养殖场。

1.3 仪器

MOTIC 图像采集分析系统, 厦门麦克奥迪实业公司生产。MEDLAB-U 生物信号采集系统, 8 道生物数据采集仪, 南京易美科技有限公司生产。人工呼吸机, W8-50C 微量注射泵, 浙江大学医疗仪器厂生产。ECG1201 十二导同步心电图机, 深圳海天电子有限公司生产。

2 统计方法

所有计量数据表示为 $\bar{x} \pm s$, 进行组间 t 检验。

3 方法与结果

3.1 对异丙肾上腺素致大鼠心肌缺血的影响

SD 大鼠, 60 只, ♀, 体重 180~220 g, 经过筛选得 50 只肢体 II 导心电图正常的大鼠, 随机分成 5 组, 每组 10 只。各组大鼠按表 1 剂量尾静脉注射给药, 1 次·d⁻¹, 第 3 天给药后 10 min, 腹腔注射水合氯醛(400 mg·kg⁻¹)麻醉大鼠, 测心电图作为缺血前的心电对照。第 4 天开始皮下多点注射异丙肾上腺素(2 mg·kg⁻¹)造心肌缺血模型, 同时给药。第 7 天, 麻醉大鼠, 给药后 10 min 静脉注射异丙肾上腺素(2 mg·kg⁻¹), 5 min 后测心电图, 测完心电图后, 大鼠股动脉放血处死, 取全血 2 mL, 取血清测 LDH 和 CPK 活性^[4]。采用 MedLab 软件处理系统分析计算出心电图 ST 段平均偏移值。结果见表 1。

大剂量异丙肾上腺素可造成心肌收缩过快, 收缩力过大, 冠脉充盈不足, 心肌耗氧大大超过供氧, 出现心肌缺血, 出现心肌损害的心电图。表 1 结果

表 2 注射用舒血宁对垂体后叶素致大鼠心肌缺血的影响(n=10, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effect of Shu Xue Ning inject liquid on hypophysin-induced myocardial ischemia in rats(n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	心律失常 阳性率	心肌缺 血阳性率	ST 段幅度/mv				
				给 pit 前	15 s	30 s	1 min	5 min
模型		8/10	9/10	0.047±0.048	0.134±0.121	0.056±0.040	0.019±0.018	0.049±0.059
注射用丹参	70	4/10	7/10	0.028±0.024	0.064±0.071	0.025±0.021 ¹⁾	0.022±0.017	0.027±0.024
注射用舒血宁	25	4/10	8/10	0.022±0.027	0.126±0.135	0.054±0.065	0.042±0.056	0.036±0.064
	12.5	6/10	8/10	0.045±0.032	0.042±0.033 ¹⁾	0.021±0.019 ¹⁾	0.008±0.012	0.034±0.034
	6.25	6/10	8/10	0.028±0.021	0.095±0.090	0.054±0.043	0.022±0.024	0.050±0.050

注: 与模型组相比, ¹⁾P<0.05

Note: Compared with model group. ¹⁾P<0.05

动物大剂量注射垂体后叶素, 冠状动脉痉挛而致急性心肌缺血, 主要反映在心电 ST 段异常甚至出现心律失常。大鼠静脉注射垂体后叶素后, 注射用舒血宁各组的心肌缺血发生率略有降低, 注射用舒血宁大剂量组对大鼠心律失常有一定的抑制作用, 中剂量组对第一期心电图 ST 段的抬高有较为

表明, 大鼠皮下多次注射 ISO 后, 注射用舒血宁大剂量组, 中剂量组, 小剂量组的 ST 段偏移平均值均明显低于模型组, 各组大鼠血清 CKP、LDH 活性也较模型组低, 提示注射用舒血宁对注射 ISO 所致的心肌缺血有明显的保护作用。

表 1 注射用舒血宁对异丙肾上腺素所致大鼠心肌缺血的保护作用(n=10, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Protective effect of Shu Xue Ning inject liquid on isoproterenol-induced myocardial ischemia in rats (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	ST 段平均 偏移值	血清 LDH/U·L ⁻¹	血清 CPK/U·L ⁻¹
模型		0.104±0.044	941.6±309.7	612.9±235.8
注射用丹参	70	0.046±0.030 ²⁾	575.3±121.9 ²⁾	387.8±160.6 ¹⁾
注射用舒血宁	25	0.041±0.029 ²⁾	579.3±168.0 ²⁾	372.5±152.0 ¹⁾
	12.5	0.039±0.020 ²⁾	460.4±237.2 ²⁾	493.2±519.3
	6.25	0.043±0.026 ²⁾	376.1±75.4 ²⁾	271.9±88.7 ²⁾

注: 与模型组相比, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01

Note: Compared with model group. ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01

3.2 对垂体后叶素致大鼠心肌缺血的影响

SD 大鼠, 80 只, ♀, 体重 120~140 g, 静脉注射垂体后叶素(pit)3 u·kg⁻¹, 筛选出 50 只肢体 II 导心电图反应较敏感的大鼠。第 2 天将大鼠随机分成 5 组, 每组 10 只。腹腔注射水合氯醛(400 mg·kg⁻¹)麻醉大鼠, 记录心电图作为给药前对照, 大鼠尾静脉注射给药后 10 min, 舌下静脉注射垂体后叶素 3 u·kg⁻¹, 记录 5 s、15 s、30 s、1 min、3 min、5 min 和 10 min 的心电。给垂体后叶素后出现下列指征一项者即为心肌缺血阳性: J 点升高 1.5 mv 以上, T 波降低 50%以上、双向、倒置, ST 水平下移 0.5 mv, 心律不齐^[5]。结果见表 2。

表 2

明显的抑制作用。提示注射用舒血宁对注射垂体后叶素所引起的大鼠心肌缺血有一定的保护作用。

3.3 对犬冠状动脉结扎引起急性心肌梗死、心外膜电位的影响

30 条健康杂种犬, ♀ ♂ 兼用, 体重 8~10 kg, 随机分成 5 组, 每组 6 条。组别与剂量分别如表。

按 2 mL·kg⁻¹ 静脉注射复合麻醉剂(3%戊巴比妥钠：10%巴比妥钠=1：2，临用时混合)麻醉犬，仰卧固定。颈部和胸部去毛，消毒，气管插管联接人工呼吸机，胸部沿胸骨左缘第 4 或第 5 肋间开胸，用撑开器暴露心脏(去掉 2 根肋骨)。提取心包膜剪开，缝合于胸壁，成一摇篮状，于冠状动脉前降支主干中下 1/3 交界处，埋 2 根线，将心外膜电极四角缝合于缺血心肌区域处。手术完成待各项指标稳定后记录心外膜电位，作为给药前对照，0.5 h 后按体重将相应体积的药液用 5%葡萄糖注射液稀释至 20 mL，按 40 mL·h⁻¹ 的速度静脉给药。给药后 5 min 冠状动脉第一步不完全结扎，记录结扎 10 min、和 30 min 时心外膜电位，行第二步完全结扎，记录结扎后 5 min、10 min、30 min、1 h、2 h 和 4 h 心外膜电位。计算各时间点的心外膜电位。

实验结束后，取出心脏，用冰生理盐水冲洗，除去血污，剔除脂肪，从左右冠状动脉开口处加压注入 10%碳素墨汁各 5 mL，显示心肌缺血区和非缺血区，称心室湿重，切下未着色的缺血心肌区称重，再沿心尖方向切成切成 1 cm 厚的条状，氯化硝基四氮唑蓝染色，摄影，描记梗死区面积^[6-7]。结果见表 3-5。

表 4 注射用舒血宁对犬急性心肌缺血心肌 ST 段总和(ΣST, mv)的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Effect of Shu Xue Ning inject liquid on the sum of ST segment(ΣST, mv) with Acutemyocardial ischemia in dogs(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	结扎前	一步结扎			二步结扎				
			10 min	30 min	5 min	10 min	30 min	1 h	2 h	4 h
模型对照		1.27±0.47	1.65±0.44	2.00±0.40	5.89±0.44	15.3±1.3	15.3±1.2	15.0±1.1	13.2±1.2	8.86±1.44
注射用丹参	20	1.21±0.45	1.48±0.52	2.02±0.57	5.06±1.55	11.2±3.8 ¹⁾	11.3±3.7 ¹⁾	10.1±3.2 ²⁾	7.84±2.82 ²⁾	5.55±1.74 ²⁾
注射用舒血宁	7	1.11±0.62	1.53±0.84	1.69±0.93	4.64±2.55	11.6±1.3 ²⁾	10.9±1.7 ²⁾	10.2±1.7 ²⁾	8.29±1.90 ²⁾	5.31±1.49 ²⁾
	3.5	1.12±0.62	1.59±0.88	1.81±1.00	5.55±3.07	12.1±3.8	11.3±3.8 ¹⁾	10.6±3.7 ¹⁾	8.83±3.18 ¹⁾	6.10±2.40 ¹⁾
	1.8	1.04±0.62	1.48±0.88	1.71±1.01	5.55±3.29	13.6±2.4	13.3±2.2	12.8±1.9 ¹⁾	11.1±1.6 ¹⁾	7.28±1.13

注：与模型组相比，¹⁾P<0.05，²⁾P<0.01

Note: Compared with model group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01

表 5 注射用舒血宁对犬急性缺血心肌结扎前后 ΣST 差值(ΔΣST, mv)的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)

Tab 5 Effect of Shu Xue Ning inject liquid on ΣST difference(ΔΣST, mv) with Acute ischemic myocardium before and after ligation in dogs (n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	一步结扎			二步结扎				
		10 min	30 min	5 min	10 min	30 min	1 h	2 h	4 h
模型对照		0.384±0.073	0.728±0.127	4.62±0.39	14.1±1.0	14.0±1.0	13.7±0.9	11.9±1.0	7.59±1.30
注射用丹参	20	0.277±0.089 ¹⁾	0.818±0.252	3.86±1.10	10.0±3.3 ¹⁾	10.1±3.2 ¹⁾	8.89±2.77 ²⁾	7.54±2.37 ²⁾	4.34±1.30 ²⁾
注射用舒血宁	7	0.420±0.231	0.582±0.318	3.53±1.94	10.5±0.8 ²⁾	9.8±1.2 ²⁾	9.12±1.15 ²⁾	7.18±1.39 ²⁾	4.20±0.98 ²⁾
	3.5	0.471±0.258	0.696±0.383	4.43±2.45	10.9±3.2 ¹⁾	10.2±3.2 ¹⁾	9.48±3.13 ¹⁾	7.71±2.62 ²⁾	4.99±1.91 ¹⁾
	1.8	0.439±0.260	0.671±0.398	4.51±2.67	12.6±1.9	12.2±1.7	11.8±1.5 ¹⁾	10.1±1.2 ¹⁾	6.24±1.09

注：与模型组相比，¹⁾P<0.05，²⁾P<0.01

Note: Compared with model group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01

表 3 注射用舒血宁对犬冠脉结扎急性心肌缺血引起的心肌梗死面积的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effect of Shu Xue Ning inject liquid on myocardial infarct size caused by coronary artery ligation with acute myocardial ischemia in dogs(n=6, $\bar{x} \pm s$)

	剂量/mg·kg ⁻¹	缺血心肌/心室重量/%	梗死心肌/缺血心肌面积/%
模型对照		15.3±1.1	16.5±1.7
注射用丹参	20	10.6±1.5 ¹⁾	11.0±2.2 ¹⁾
注射用舒血宁	7	9.61±0.48 ¹⁾	9.82±0.93 ¹⁾
	3.5	11.3±0.9 ¹⁾	12.0±2.4 ¹⁾
	1.8	13.8±1.6	15.2±2.7

注：与模型组相比，¹⁾P<0.01

Note: Compared with model group, ¹⁾P<0.01

犬冠状动脉结扎后，心外膜心电图 ST 段立即抬高，3~15 min 达高峰，心肌缺血 3~6 h 即可用 NBT 染色测出梗死范围。

表 3 结果显示，与冠脉结扎模型组比较，冠状动脉前降支实行二步结扎后 4 h，注射用舒血宁处理组明显降低心肌缺血范围和心肌缺血区梗死心肌的范围。表 4、5 结果显示，冠状动脉完全结扎后 ST 段显著抬高，与模型组比较，注射用舒血宁处理组对犬急性心肌缺血引起的 ST 段总和、冠脉结扎前后 ΣST 差值均有明显的降低作用，提示注射用舒血宁对急性心肌缺血有良好的保护作用。

3.4 对离体大鼠心脏冠脉流量的影响

SD 大鼠，20 只，♂，体重 250~300 g，随机分成 4 组，每组 5 只。组别与剂量见图 1。大鼠脱颈白处死，立即取心脏，并保留 0.5 cm 左右的主动脉，移到通氧的冷的 K-H 生理溶液中，去除残血，将主动脉固定于心脏套管上，用约 38 ℃ 的通氧的 K-H 生理溶液灌流，稳定 5~10 min 后，换含一定浓度药物的通氧的 K-H 生理溶液灌流，1 次·min⁻¹ 记录流出液的量(冠脉流量)^[8]。结果见图 1。图 1 结果显示注射用舒血宁给药后能显著增加离体大鼠心脏的冠脉流量，浓度-反应关系明确。

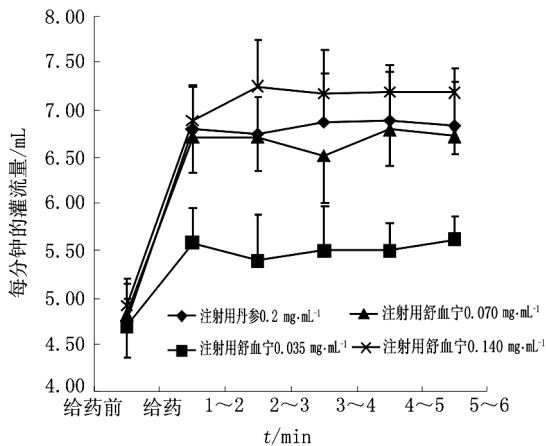


图 1 注射用舒血宁对离体大鼠冠脉流量的影响(mL·min⁻¹, n=5, $\bar{x} \pm s$)
Fig 1 Effect of Shu Xue Ning inject liquid on coronary flow in isolated rats(mL·min⁻¹, n=5, $\bar{x} \pm s$)

4 讨论

器官流量和缺血试验已成为评价药物活血化瘀作用的两项重要指标。本实验通过 3 个心肌缺血动物模型和 1 个离体动物心脏灌流实验研究了注射用舒血宁活血化瘀方面的作用。剂量设计根据临床人用剂量(70 mg·d⁻¹)按体表面积则算到大鼠(6.25 mg·kg⁻¹)和犬(1.8 mg·kg⁻¹)，考虑到本研究给药周期较短，因此以上述剂量的小剂量，按 2 倍递增设置中剂量和大剂量。在冠脉结扎引起的家犬心肌缺血模型中，注射用舒血宁可明显降低心肌缺血范围、减少心外膜电位中 ST 段抬高，显示明显的量-效关

系和时效关系；在异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌缺血模型中，明显抑制 ST 段抬高，降低心肌细胞损害相关酶的水平，存在一定的量-效关系；在垂体后叶素诱导的大鼠心肌缺血模型中，注射用舒血宁中剂量组的心肌保护作用良好，但药效显示“马鞍型”，这在复杂成分的中药药效评价中经常可以观察到剂量反应出现类似情况，在本研究中也可能会和实验中个别大鼠异常敏感有关，表 2 显示大剂量组具有更大的离散度(标准差超过平均值)。注射用舒血宁广泛用于心肌缺血相关疾病的治疗，本研究显示直接扩血管作用可能是其作用机理之一。

REFERENCES

[1] ZHANG C Z, YANG R S, PAN S W, et al. Research on the effects of Gikgo Biloba extract on the microcirculation in rabbit [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药),2007, 18(1): 90-92.

[2] YE Q Z, SHENG M Q, SHI L, et al. Effects of Ginkgo Biloba extralt on the blood hemorheology in blood-stasis model rabbit [J]. Chin J Tradit Med Sci Technol(中国中医药科技), 2003, 10(5): 288-289.

[3] ZHOU Z X, HUANG J J, CHU W, et al. Experimented research on the protective effects of Ginkgo Biloba extract on lung Ischemia-reperfusion injury in rat [J]. Acta Acad Med Xuzhou(徐州医学院药报), 2008,28(2): 82-85.

[4] SUN J F, WEI Z R. Protective effects of captopril on myocardial ischemia injury in rats [J]. Int J Emer Crit Care Med (世界急危重病医学杂志), 2006, 3(1): 1078-1081.

[5] WANG Y, GAO X M, ZHANG B L, et al. Experimental study on effect of huangqi danshen drop pill on pituitary- induced acute myocardium ischemia [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol (中药新药与临床药理), 2003, 14(2): 91-93.

[6] LI X Z, SHANG X H, MA X B, et al. Effects of Shenqi Fuzheng injection on acute experimental myocardial ischemia in dogs and rats [J]. China J Basic Med Tradit Chin Med (中国中医基础医学杂志), 2003, 9(9): 28-32.

[7] LIU J X, SHANG X H, ZHANG S C, et al. Effects of Tong xin luo capsule on experimental myocardial ischemia. arrhythmia and experimental hyperlidemia [J]. Chin J Integr Tradit Chin West Med (中国中西医结合杂志), 1997, 17(7): 425-428.

[8] LI Y K. Experimental Methodology of TCM Pharmacology(中药药理实验方法学) [M]. Vol 1. Shanghai: Shanghai scientific and Technical Publishers, 1991: 112.