

· 实验研究 ·

丹参水提物对化学引起大白鼠心肌缺血的保护作用

香港中文大学中药研究中心

郑若玄 方三曼 韩宝铭 李志明 张雄谋

内容提要 丹参水提取物(SM-H)预防异丙肾上腺素(ISO)或氯化钡引起大白鼠急性心肌缺血和心律失常有如下的显著效应:(1)腹腔注射SM-H,连续3~5天,或1次静脉注射,均能显著地减少动物的死亡率;(2)静脉注射SM-H进行氯化钡恒速灌注,显著提高导致动物心律失常而致死的氯化钡剂量;(3)腹腔注射SM-H,显著防止或减少氯化钡静脉注射引起大白鼠的室性过早搏动、心室纤颤、心搏过缓以及死亡率;(4)腹腔注射SM-H,能显著缩小ISO引起大白鼠心电图的J-点位移。

关键词 丹参 异丙肾上腺素 氯化钡 心肌缺血 心律失常 心室纤颤

丹参的药理学已经有了许多研究,本实验研究丹参提取物对动物实验性心肌缺血的保护作用。

实验材料

雄性大白鼠(Sprague-Dawley),体重230~290g或350~390g。饲料为Labochow(Purina Co,USA)。

丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge)产自中国河南省,药用部分为根,洗净晒干切碎,用水提取,每公斤生药加水3000ml,温度100℃回流4h过滤,药渣再加水1000ml回流2h,滤液冰冻干燥后备用。注射剂量以生药计算。

致急性心肌缺血药物为异丙肾上腺素(ISO),溶于生理盐水,最终浓度为10mg/ml,使用前配制。

恒速灌注用药为氯化钡(BaCl_2),溶于生理盐水,pH7.2。

方法与结果

一、丹参水提物(SM-H)对ISO引起大白鼠急性心

肌缺血的保护作用

1. 大白鼠腹腔注射SM-H(相当于生药5g或15g/kg),每日一次,连续4~5天,最后1次给药后1h,皮下注射ISO(2或5mg/kg)。对照组注射等量生理盐水。记录各组动物死亡时间和死亡数,体重统计用 $\bar{x} \pm S$,存活率显著性用 χ^2 分析法。结果见表1。实验组动物存活率比对照组显著增加, $P < 0.05$ 。SM-H大剂量实验组存活率比小剂量实验组效果更好。

2. 大白鼠用乙醚轻度麻醉后,经股静脉注入SM-H(8g或10g/kg),对照组用等量生理盐水,5min后皮下注射ISO5mg/kg,记录各组动物的死亡数和死亡时间,结果见表2。

SM-H预防组的存活率均明显高于对照组。在相同剂量条件下,第3组的存活率(对照组及实验组)比第2组为低,其原因可能是动物体重不同而对ISO反应不一所致。

二、SM-H对氯化钡引起大白鼠心律失常的保护作用

表1 SM-H多次预防(腹腔注射)对ISO引起大白鼠心肌缺血的保护作用

组别	动物数	体重(g)	ISO(mg/kg)	存活率(%)	χ^2
SM-H 5g/kg × 4d	15	231 ± 7	5	13(86)	$P < 0.05$
对照组	16	231 ± 6	5	6(37)	
SM-H 15g/kg × 5d	10	235 ± 11	5	10(100)	$P < 0.005$
对照组	10	236 ± 9	5	4(40)	
SM-H 10g/kg × 3d	11	385 ± 20	2	10(90)	$P < 0.05$
对照组	12	387 ± 27	2	6(50)	

表 2 SM-H 1 次静脉注射预防对 ISO 引起
大白鼠心肌缺血的保护作用

组 别	动物数	体 重 (g)	ISO (mg/ kg)	存 活 率 (%)	χ^2
SM-H 8g/kg	11	284±11	5	10(90)	$P<0.01$
对 照	9	281±15	5	3(33)	
SM-H 10g/kg	10	266±12	5	10(100)	$P<0.05$
对 照	10	261±7	5	6(60)	
SM-H 10g/kg	9	351±14	5	8(89)	$P<0.005$
对 照	8	351±16	5	1(13)	

1. 恒速灌注: 大白鼠用戊巴比妥 30mg/kg 腹腔注

表 3 SM-H 对 BaCl₂ 引起大白鼠心律失常、心搏过缓及死亡率的预防作用

组 别	动物数	心律失常(%)			心 搏 过 缓 (<200 beats/min) (%)	注射 BaCl ₂ 后的死亡时间 (min)	死 亡 率 (100%)	χ^2
		PVC	VT	VF				
SM-H	8	2(25)	0	0	0	0	0	$P<0.005$
对 照	8	6(75)	3(38)	3(38)	3 (38)	14±27(6)	6(75)	

过缓, 6 只死亡, 死亡率为 75%; 实验组除 2 只动物出现早搏(PVC)外, 没有发生心搏过速(VF)、或死亡。两组比较有显著性差异, $P<0.005$ 。

三、SM-H 对实验性心肌缺血心电图的影响

大白鼠用戊巴比妥腹腔麻醉后, 取心电图正常大白鼠 13 只, 其中实验组 7 只(体重 243±2 g), 腹腔注射 SM-H 5 g/kg; 对照组 6 只(体重 246±6 g), 腹腔注射等量生理盐水, 20min 后皮下注射 ISO 0.5mg/kg, 记录不同时间 5、10、15、20、30 和 40min 心电图。

心电图仪为 Cardisuny-510-D 型(日本)。灵敏度为 1 cm/mV, 纸速为 50mm/s, 测试时加滤波器。

由于大白鼠心电图用标准导联Ⅱ测定非常稳定⁽¹⁾。P-R 段的末端和 QRS 复合波起点变化最小⁽²⁾, 以及缺乏 S-T 段^(1~4)。故对 ISO 引起心肌缺血的评价, 以 J-点的升高或降低为指标^(3, 5)。本研究的心电图测定方法, 采用标准导联Ⅱ, 以 QRS 复合波起点的联线作等电线, 以 J-点的位移程度为观察指标。实验结果见图 1。

腹腔注射 SM-H 或生理盐水后, J-点稍升高, 注射 ISO 后 5 min 两组动物的 J-点均急速下降, 其中以对照组最明显, 下降至 -0.82mV; 第 10、15min 分别在 -0.68~-0.74mV 之间; 第 20min 开始回升, 至第 40min 时恢复至 -0.34mV。给药组 J-点的位移明显小于对照组, 在注射 ISO 后 5 min 变化最大时, 也只降至 -0.16mV; 第 10min 开始回升, 以后一直在很小范围内变化, 至第 40min J-点回升至 -0.001mV, 几乎恢

射麻醉后, 由股静脉 1 次注入 SM-H 10g/kg, 5 min 后进行氯化钡溶液恒速灌注(氯化钡溶液浓度为 0.4 mg/ml, 灌注为 1 ml/min。对照组静脉注射生理盐水后灌注。记录大白鼠心脏停跳时间, 计算氯化钡的致死剂量。结果 SM-H(n=10) 组氯化钡的致死剂量为 16.0±5.9(mg, $\bar{x}\pm S$), 对照组(n=11) 为 10.6±2.0, 两组比较有显著性差异, $P<0.01$ 。

2. 静脉 1 次注射: 大白鼠用戊巴比妥麻醉后, 腹腔注入 SM-H 5 g/kg, 30min 后由股静脉缓慢而恒速(0.24ml/min) 1 次注入氯化钡溶液 25mg/kg, 观察心电图 2 h, 结果见表 3。

对照组 3 只动物发生心室纤颤(VF), 3 只心搏

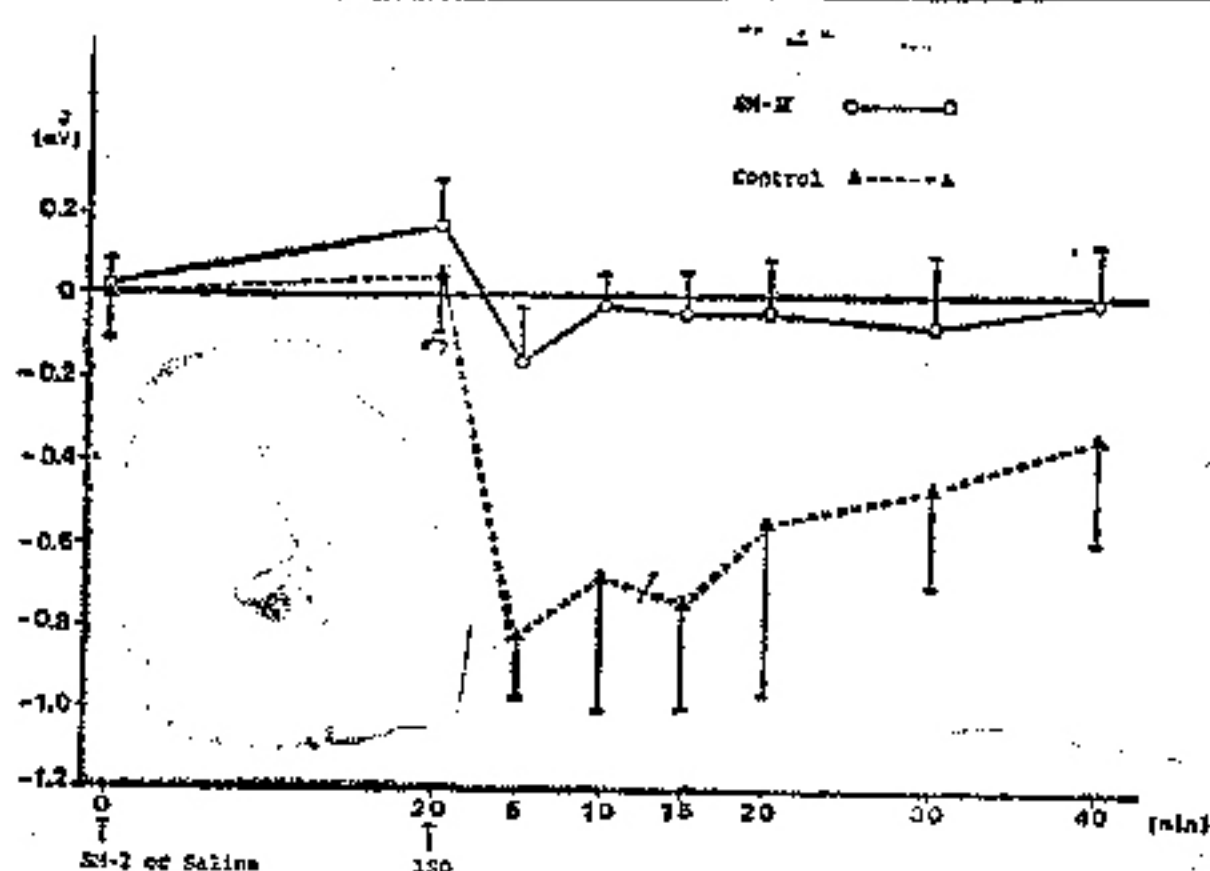


图 1 SM-H 对 ISO 引起大白鼠心肌缺血的 J-点位移的作用

复至正常水平。两组心率变化无明显差异, 见图 2。

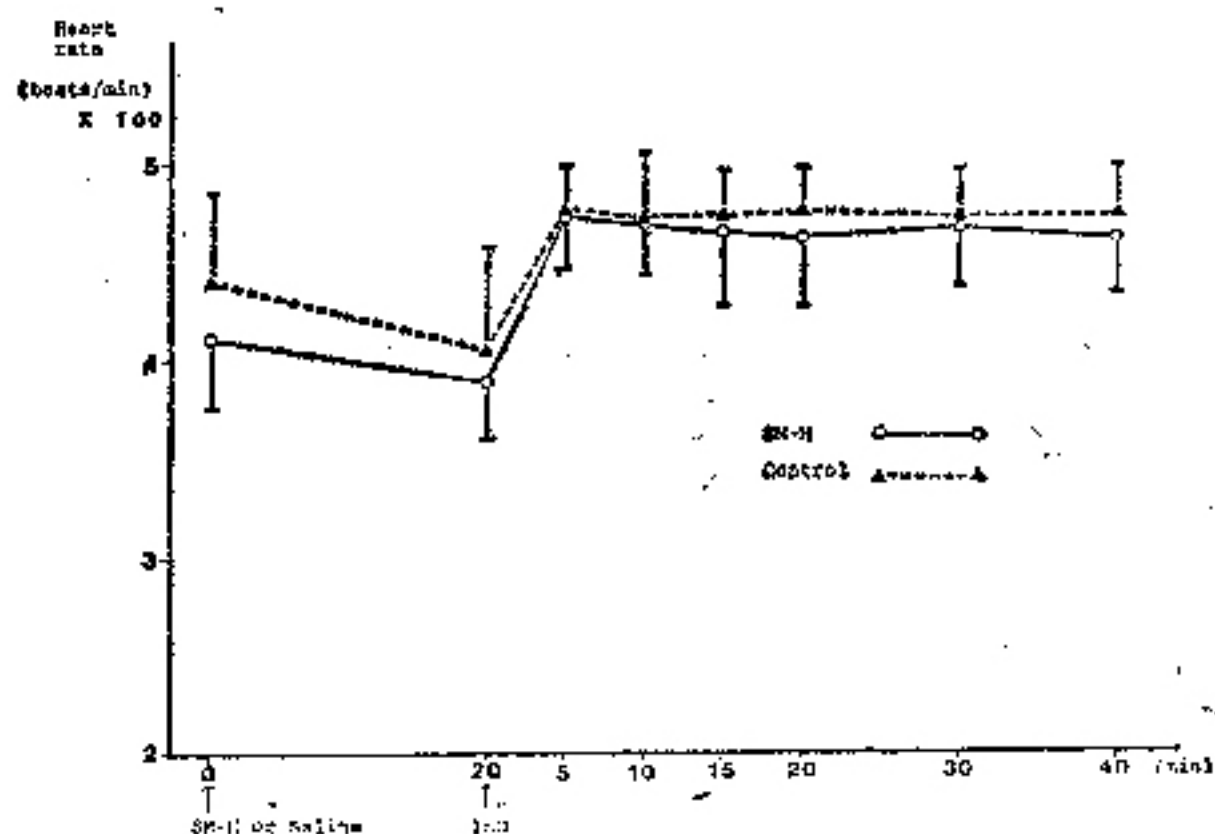


图 2 两组大白鼠皮下注射 ISO 后不同时间的心率变化情况

讨 论

ISO被广泛用于实验动物心肌缺血和坏死的研究。ISO引起的心肌损伤与梗塞或缺血坏死很相似^(6~8)。有人发现⁽⁹⁾在心内膜处的冠状微血管有血栓形成。这些微血栓在注射ISO后的几分钟内即出现。这与我们在心电图观察到J-点开始位移的时间相吻合。

研究表明, SM-H对实验性心肌缺血有显著的保护作用, 多次腹腔给药或1次静脉给药均有明显的预防作用, 而作用的大小与剂量有相应关系。氯化钡能降低心肌细胞膜对K⁺的通透性, 增加Purkinje纤维Na⁺内向电流, 提高舒张期去极化的频率, 导致心律失常⁽¹⁰⁾。氯化钡恒速灌注以及静脉1次注入结果表明, SM-H能显著增加导致大白鼠心律失常而致死的氯化钡剂量, 以及提高动物的存活率。

ISO能引起心率加速, J-点的位移可能与心率有关, 但在一些实验大鼠中其心率相同而J-点位置则不相同⁽⁵⁾。本实验结果同样见到, 大白鼠注射ISO后两组动物心率均加快, 两组平均心率相近, 但J-点平均值则相差很大。这结果表明, 给药组J-点的位移比对照组大大减少, 是由SM-H的抗心肌缺血的结果, 与心率没有直接关系。我们在另一文中亦证实。

我们发现预防多天的给药组动物的体重比对照组减轻, 其原因可能有: (1) SM-H有明显的利尿作用; (2) 食量减少。ISO对心肌损伤和死亡率与动物体重有密切关系^(11,12)。考虑到这点, 我们曾进行模拟对比试验, 将两组体重相同的正常大白鼠, 每组10只, A组给予足量食物, B组进行节食, 两组提供充分饮水, 3天后两组动物平均体重相差25g, 这与SM-H给药组及其对照组的动物体重差基本相同。注射ISO后, 两组动物死亡率基本相同。这证明各SM-H实验组动物体重减轻是在ISO同一允许剂量范围之内, 而其存活率的增加, 是由于SM-H的保护效应。综合本研究结果, 证明SM-H能明显地增加由于ISO及氯化钡两种不同实验模型所致心律失常的存活率。

(本课题由香港赛马会(慈善)有限公司提供经费资助)

香港百草堂有限公司免费提供丹参, 特表感谢

参 考 文 献

1. Hundley JM, et al. The electrocardiogram in chronic thiamine deficiency in rats. *Am J Physiol* 1945; 144:404.
2. Beinfield WH, et al. P-R interval of the rat electrocardiogram. *Am J Physiol* 1968; 214:205.
3. 石山, 等. 中药附子对动物耐缺氧和急性心肌缺血的保护作用. *中医杂志* 1980; (9):67.
4. Wexler BC, et al. Electrocardiographic differences between non-arteriosclerotic and arteriosclerotic rats. *Atherosclerosis* 1973; 18:129.
5. Wexler BC, et al. Progressive electrocardiographic changes in male and female arteriosclerotic and non-arteriosclerotic rats during the course of isoproterenol-induced myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 1974; 8:460.
6. Innes IR, et al. Reduction in the severity of myocardial infarction by sulfapyrazone. *Am Heart J* 1981; 102:153.
7. Rona G, et al. An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat. *Arch Pathol* 1959; 67:443.
8. Rona G, et al. Studies on infarct-like myocardial necrosis produced by isoproterenol, a review. *Rev Can Biol* 1963; 22:241.
9. Wexler BC, et al. Acute myocardial histopathology in normal and arteriosclerotic rats during isoproterenol-induced infarction. *Br J Exp Pathol* 1970; 51:646.
10. Shibata J. The effects of barium on the action potential and the membrane current of sheep heart Purkinje fibers. *J Pharm Exp Ther* 1973; 183:418.
11. Ehrreich SJ, et al. Isoproterenol toxicity in rats as a function of changes in body weight. *Pharmacologist* 1981; 23:115.
12. Rona G, et al. The effect of breed, age, and sex on myocardial necrosis produced by isoproterenol in the rat. *J Gerontol* 1959; 14:169.

《蛇志》1991年征订启事

《蛇志》是由中国蛇协主办, 国内外公开发行, 我国唯一的蛇学出版物。本刊内容丰富多彩, 图文并茂, 辟有蛇类研究成果、国内外信息、急诊急救、蛇类图谱介绍、蛇药秘方、蛇类生活、养殖、应用、菜谱、故事、趣闻、市场信息、蛇医人物、致富门路、蛇科法制、读者信箱等, 集科学性、先进性、知识性、趣味性于一体。本刊为季刊, 16开, 40页, 每册定价0.95元, 欢迎广大读者及时到当地邮局(所)订阅, 邮订代号48-52, 也可直接与本编辑部订阅, 地址: 广西南宁津头, 邮政编码530021, 电话: 25125, 电挂: 6017。

pulses based on TCM, the CP-A curve may be taken as an objective index for differentiating these four types of pulse. Besides, after the study of CP-A curve in Floating, Sunken and normal (neither floating nor sunken) pulses, a preliminary criterion of CP was proposed as follows: shallow (floating) at 5~10 kPa, deep (sunken) at 20~25 kPa, and medium at about 15 kPa.

(Original article on page 603)

Observation of Tongue Tip Microcirculation on Patients by Syndrome-Differentiation

Qin Ji-hua(秦吉华), Liu Bin(刘斌), et al

Shandong College of TCM, Jinan (250014)

Observations of tongue tip microcirculation were made on 104 patients with different symptom-complex [5 groups: Yin(阴)deficiency, Yang(阳)deficiency, Qi(气)-blood deficiency, Qi stagnation-blood stasis, damp-heat] in view of TCM, and on 100 healthy persons. 10 indicators including the transverse diameter of the fungiform papillae, morphology of microvascular clumps in the tongue papillae, congestion of the top of microvascular loop, loop dilation, blood color, hemodynamics in microvascular loop, exudation, hemorrhage and loop morphology were observed. The results were: patients of each group were found to have to different degree microcirculation dysfunction; every group differed with Qi stagnation-blood stasis group of being most different. The numbers of abnormal indicators: Qi stagnation-blood stasis group had all 10; Yang deficiency group 9; Yin deficiency and Qi-blood deficiency group 8, 8 respectively; damp-heat group 7. This study discussed the relationship between tongue tip microcirculation of each group and the changes of tongue picture and typing of differentiation of symptoms and signs in view of TCM.

(Original article on page 606)

Protective Action of *Salvia miltiorrhiza* Aqueous Extract on Chemically Induced Acute Myocardial Ischemia in Rats

Cheng Yeuk-yuen(郑若玄), Fong Sam-man(方三曼), Chang Hson-mou(张雄谋), et al

Chinese Medicinal Material Research Centre, The Chinese University of Hong Kong

Aqueous extract of *Salvia miltiorrhiza* (SM-H) can protect the acute myocardial ischemia and arrhythmia of Sprague-Dawley rats induced by isoproterenol (ISO) or BaCl₂ with the following results: (1) intraperitoneal injection (i.p.) of SM-H for 3 to 5 days or intravenously (i.v.) just once significantly reduced the death rate of the animals, (2) i.v. SM-H pretreatment significantly increased the lethal dose of BaCl₂ infusion, (3) i.p. SM-H significantly decreased premature ventricular contraction, ventricular fibrillation, bradycardia and mortality rate induced by bolus i.v. of BaCl₂, and (4) i.p. SM-H also significantly reduced ECG J-point displacement of rats induced by ISO.

(Original article on page 609)

The Effect of Si Jun Zi Tang(四君子汤) on the Macrophage Cytotoxic Activity in Mice

Dou Jun(窦俊), Wu Min-yu(吴敏毓)

Dept. of Microbiology, Wannan Medical College, Wuhu (241001)

The effect of Si Jun Zi Tang (SJZT) on the activities of peritoneal macrophage (M ϕ) mediated MTC and ADCC in normal and immunosuppressed mice were examined by isotope releasing assay (⁵¹Cr, ¹²⁵I-UdR). The results showed the SJZT no significantly increased peritoneal M ϕ -mediated cytotoxic activity (MTC, ADCC) in normal mice. After the injection of immuno-depressive cyclophosphamide (Cy) alone (ip), the cytotoxic activities were decreased, but by treatment with Cy and SJZT, the cytotoxic activities were significantly increased compared with Cy group, the enhancing rates amounted to 74.40% (M ϕ -MTC) and 121.03% (M ϕ -ADCC) respectively. It was demonstrated that the SJZT could protest against the effect that the Cy inhibited the activities of MTC and ADCC of peritoneal M ϕ in mice, but there was no significant effect on normal mice. It indicated that the function of SJZT's immunoregulation was related to the state of immune in body.

(Original article on page 612)