

• 药理学 •

丹参素对大鼠急性心肌缺血的保护作用

陆文铨¹, 张国强², 陈大贵³, 张川³ (1. 上海长征医院药学部, 上海 200003; 2. 解放军 73841 部队卫生处, 江苏 南京 210002; 3. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

[摘要] 目的 研究丹参素对大鼠急性心肌缺血的保护作用。方法 采用垂体后叶素、异丙肾上腺素和冠脉结扎造成大鼠急性心肌缺血模型, 以心电图 T 波变化, 血清 CK、LDH 为指标, 研究丹参素对大鼠急性心肌缺血的保护作用。结果 丹参素 (6, 12, 24 mg/kg) 剂量组均能对抗垂体后叶素及异丙肾上腺素引起的大鼠急性心肌缺血 T 波偏移, 并且能够保护心肌细胞, 显著降低冠脉结扎造成急性心肌缺血大鼠血清中 CK 和 LDH 溢出。结论 丹参素对大鼠急性心肌缺血具有显著的保护作用。

[关键词] 急性心肌缺血; 丹参素; 垂体后叶素; 异丙肾上腺素

[中图分类号] R 965 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)04-0279-04

Protective effects of Danshensu on acute myocardial ischemia in rats

LU Wenquan¹, ZHANG Guoqiang², CHEN Dagu³, ZHANG Chuan³ (1. Changzheng Hospital Second Military Medical University, Shanghai 200433 China; 2. Section of Health, 73841th Unit of PLA, Nanjing 210002, China; 3. School of pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433 China)

[Abstract] **Objective** To study the protective effects of Danshensu (Dan) on acute myocardial ischemia in rats. **Methods** Acute myocardial ischemia rats were induced by injection of Iso and Pit. The height changes of T wave in ECG were examined. The levels of LDH, CK in serum were measured. **Results** Dan (6, 12, 24 mg/kg) can significantly inhibit the height changes of T wave, obviously decrease the level of LDH, CK in the serum. **Conclusion** The results indicate that Dan has protective effects on acute myocardial ischemia in rats.

[Key words] acute myocardial ischemia; Danshensu; pituitrin; isoproterenol

丹参为唇形科植物丹参 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) 的干燥根, 是化学成分研究比较深入的一种中草药。其味苦, 性微寒, 归心、肝二经。具有祛瘀止痛, 活血通经, 清心除烦之功效, 是常用的活血化淤中药。分离丹参水提液, 可得到 D-(+) β -(3, 4-二羟基苯基)乳酸, 由于它是一种游离酸, 不稳定, 故将其制成钠盐, 称为丹参素。丹参素为丹参的主要活性成分, 在丹参的水溶性部分中含量较高, 易于提纯, 具有预防、治疗多种疾病的作用, 但尚有许多药理作用未被利用, 本研究旨在系统论证丹参素在心肌缺血性疾病上的治疗作用, 为其临床应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 药品与材料 丹参素 (第二军医大学药学院, 批号: 20090224); 丹参注射液 (上海中西制药有限公司, 批号 080701, 规格 2 ml/支); 注射用丹参多酚

酸盐 (上海绿谷制药有限公司, 批号 080902, 规格 200 mg/瓶)。垂体后叶素注射液 (上海第一生化药业有限公司, 批号: 080302, 规格: 6 u/2 ml); 盐酸异丙肾上腺素 (上海禾丰制药有限公司, 批号: 080901); 肌酸激酶 (CK) 试剂盒、乳酸脱氢酶 (LDH) 试剂盒均为上海复星长征医学科学有限公司生产。

SD 大鼠, 雄性, 体重 200~220 g (上海第二军医大学实验动物中心, 实验动物质量合格证号: SCXK(沪)2007-0003, 实验动物使用许可证号: SYXK(沪)2007-0003)。

1.2 方法

1.2.1 对垂体后叶素致大鼠急性心肌缺血模型的影响 参照陈齐^[2]、徐理纳^[3]报道的实验方法进行制备垂体后叶素致心肌缺血模型, 取 SD 雄性大鼠 84 只, 随机分为 7 个组。即正常对照组、模型对照组、丹参注射液组、注射用丹参多酚酸盐组、丹参素低剂量组、丹参素中剂量组、丹参素高剂量组。于一周后开始腹腔注射给药, 正常对照组、模型组腹腔给

[作者简介] 陆文铨 (1973-), 男, 博士. E-mail: luwenquan@126.com.

0.9% 生理盐水, 体积均为 10 ml/kg 腹腔给药 6 d 第 7 天记录胸前导联心电图, 如有 ST-T 波或心律失常等异常变化者, 则弃去不用。大鼠在记录正常心电图后, 被分到不同处理组。在各组尾静脉静注给药后, 立刻尾静脉注射垂体后叶素 (0.6 u/kg), 诱发冠状动脉痉挛性心肌缺血。同时测其在 0 s、15 s、30 s、1 min、5 min、10 min 的胸导联心电图, 以 T 波、ST 段改变或 PR、QT 间期延长判断心肌缺血程度和药物作用。

1.2.2 对异丙肾上腺素诱导的大鼠急性心肌缺血损伤的影响 参照陈齐^[2]、徐理纳^[3]报道的实验方法制备异丙肾上腺素心肌缺血模型, 取 SD 雄性大鼠 84 只, 随机分为 7 个组。于一周后开始腹腔给药, 正常对照组、模型组腹腔给等剂量 0.9% 生理盐水, 给药体积均为 10 ml/kg。腹腔给药 6 d 第 6 天给完药后, 各组大鼠皮下注射异丙肾上腺素 (4 mg/kg, 100 g 大鼠给药 0.1 ml)。第 7 天记录胸前导联心电图, 如有 ST-T 波或心律失常等异常变化者, 则弃去不用。在尾静脉给药 (与腹腔同等剂量) 后, 立刻皮下注射异丙肾上腺素 (4 mg/kg

每只给药 0.2 ml), 同时测其在 5、10、15、20、30 min 的胸导联心电图。给药后 3 h 大鼠腹主动脉取血, 用普利生血流变仪测量各组大鼠血液流变指标。

1.2.3 对冠脉结扎造成 SD 大鼠急性心肌缺血损伤的影响^[6] 雄性 SD 大鼠腹腔麻醉, 仰卧位固定, 以心电图机记录 II 导联心电图监测心脏情况。在胸左侧第五肋间处切开胸壁并沿胸骨左缘 2 mm 处切断第四和第五肋骨, 剪开心包膜, 暴露心脏, 于左冠状动脉前降支下穿 1 根 0/3 号缝合线, 结扎缝合线造成心肌缺血, 缺血 4 h 后从处死大鼠。取血, 离心取血清, 半自动生化仪测定 LDH 和 CK。取心脏, 在冠脉结扎线下, 平行于冠状沟, 等厚地将心室肌横切成 5 片, 将 5 片心肌置于硝基四氮唑蓝 (N-BT) 染液中, 振摇染色 15 min 后取出, 正常心肌染为暗蓝色, 梗塞区心肌则不着色。在解剖镜下分离梗塞区, 分别称重, 以梗塞区心肌重量占心肌重量的百分比 (%) 作为衡量梗塞范围的指标。

1.2.4 统计学分析 实验数据以 $\bar{x} \pm SD$ 表示, 用 SPSS 10.0 进行方差分析, 做显著性检验。

表 1 丹参素对垂体后叶素致大鼠急性心肌缺血心电图 ST 段变化幅度的影响 ($\bar{x} \pm SD$, n = 10)

组别	时间					
	0 S	15 S	30 S	1 min	5 min	10 min
正常对照组	0.24 ± 0.036	0.24 ± 0.042 ²⁾	0.24 ± 0.039 ²⁾	0.23 ± 0.046 ²⁾	0.24 ± 0.030 ¹⁾	0.25 ± 0.033
模型组	0.25 ± 0.057	0.37 ± 0.050	0.38 ± 0.045	0.36 ± 0.056	0.34 ± 0.040	0.34 ± 0.037
丹参注射液组	0.27 ± 0.039	0.29 ± 0.059 ¹⁾	0.28 ± 0.057 ²⁾	0.29 ± 0.049	0.29 ± 0.077	0.30 ± 0.047
丹参多酚酸盐	0.27 ± 0.051	0.31 ± 0.079	0.32 ± 0.092	0.30 ± 0.070	0.34 ± 0.079	0.33 ± 0.095
丹参素 (高)	0.26 ± 0.033	0.29 ± 0.044 ²⁾	0.28 ± 0.033 ²⁾	0.26 ± 0.073 ¹⁾	0.28 ± 0.065	0.28 ± 0.074
丹参素 (中)	0.26 ± 0.033	0.29 ± 0.033	0.28 ± 0.061 ¹⁾	0.29 ± 0.050	0.29 ± 0.057	0.29 ± 0.059
丹参素 (低)	0.27 ± 0.043	0.34 ± 0.099	0.34 ± 0.098	0.35 ± 0.093	0.36 ± 0.075	0.33 ± 0.086

¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01, 与模型组比较。

2 结果

2.1 对垂体后叶素所致急性心肌缺血大鼠心电图变化的影响 如表 1 可见, 不同剂量的丹参素给药后对抗垂体后叶素所致的心肌缺血有一定的改善作用: 其中高剂量组改善率相对高些, 15 s、30 s 时与模型组差异非常显著 (P < 0.01), 1 min 时仍有显著性差异 (P < 0.05); 中剂量 30 s 时可以显著改善垂体后叶素诱导的大鼠急性心肌缺血 (P < 0.05); 低剂量对心肌缺血改善基本无效。丹参注射液在设计剂量下, 对大鼠的缺血性心电图变化有改善作用, 15 s 时与模型组差异显著 (P < 0.05), 30 s 时差异非常显著 (P < 0.01)。注射用丹参多酚酸盐对大鼠心肌缺血无明显的改善作用。

2.2 对异丙肾上腺素所致急性心肌缺血大鼠心电图

变化及血液流变指标的影响

2.2.1 对异丙肾上腺素致大鼠急性心肌缺血心电图 ST 段抬高幅度的影响 模型组皮下注射异丙肾上腺素后, 引起急性心肌缺血, 胸导联出现显著的心肌缺血性变化, 表现为 ST 段上移, 心率减慢和心律不齐等, 其中以 ST 段和 T 波变化最为典型和敏感。不同剂量的丹参素给药后对抗异丙肾上腺素所致的心肌缺血有明显的改善作用, 其中高、中剂量组从 5 ~ 30 min 均非常显著改善 ST 段抬高 (P < 0.01); 低剂量基本无效; 有一定的量效关系。

丹参注射液在设计剂量下, 对大鼠急性缺血性有显著改善作用, 5 ~ 30 min 均非常显著降低异丙肾上腺素引起的 ST 段抬高 (P < 0.01), 与丹参素高剂量组无显著差别。注射用丹参多酚酸盐对大鼠心肌缺血有一定的改善作用, 但其作用不如丹参注射液、

丹参素高、中剂量。结果见表 2。

2.2.2 对大鼠血液流变指标的影响 模型组皮下注射异丙肾上腺素后,大鼠全血黏度显著升高;丹参素连续给药 7 d后检测全血黏度,结果显示:低剂量组在低切时与模型组差异显著 ($P < 0.05$);中剂量组与阳性对照药丹参注射液及丹参多酚酸盐组相

似,在低切时非常显著降低全血黏度 ($P < 0.01$),而在中、高切时虽有降低但与模型组相比无显著差异;高剂量组及空白对照组全血黏度与模型组比较有非常显著性差异 ($P < 0.01$),丹参素能使异丙肾上腺素诱导急性心肌缺血大鼠血液黏度降低,改善血液循环状态。结果见表 3。

表 2 丹参素对异丙肾上腺素致大鼠心肌缺血心电图 ST 段变化幅度的影响 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	动物数 (只)	时间				
		5 min	10 min	15 min	20 min	30 min
正常对照组	10	0.22 ± 0.035 ²⁾	0.26 ± 0.051 ²⁾	0.25 ± 0.024 ²⁾	0.25 ± 0.067 ²⁾	0.27 ± 0.035 ²⁾
模型组	8	1.35 ± 0.091	1.35 ± 0.093	1.37 ± 0.096	1.36 ± 0.084	1.36 ± 0.086
丹参注射液组	8	0.32 ± 0.038 ²⁾	0.32 ± 0.060 ²⁾	0.31 ± 0.061 ²⁾	0.31 ± 0.059 ²⁾	0.32 ± 0.062 ²⁾
丹参多酚酸盐	8	0.89 ± 0.079 ²⁾	0.88 ± 0.059 ²⁾	0.88 ± 0.072 ²⁾	0.89 ± 0.087 ²⁾	0.88 ± 0.077 ²⁾
丹参素 (高)	8	0.44 ± 0.051 ²⁾	0.43 ± 0.099 ²⁾	0.41 ± 0.094 ²⁾	0.43 ± 0.091 ²⁾	0.44 ± 0.086 ²⁾
丹参素 (中)	7	0.57 ± 0.056 ²⁾	0.57 ± 0.092 ²⁾	0.55 ± 0.077 ²⁾	0.56 ± 0.066 ²⁾	0.56 ± 0.074 ²⁾
丹参素 (低)	8	1.25 ± 0.094	1.29 ± 0.083	1.32 ± 0.080	1.31 ± 0.088	1.31 ± 0.044

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, 与模型组比较。

表 3 丹参素对大鼠血液流变指标的影响 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	剂量	动物数	全血表观黏度		
			低切 (10 s ⁻¹)	中切 (60 s ⁻¹)	高切 (150 s ⁻¹)
正常对照组	10 ml/kg	10	4.52 ± 0.44 ²⁾	3.12 ± 0.27 ²⁾	2.84 ± 0.25 ²⁾
模型组	10 ml/kg	8	19.41 ± 2.35	8.08 ± 0.81	5.88 ± 0.41
丹参注射液组	4 ml/kg	8	11.15 ± 4.79 ²⁾	5.89 ± 2.40	4.47 ± 1.76
丹参多酚酸盐	40 mg/kg	8	14.23 ± 3.00 ²⁾	6.68 ± 0.78	5.08 ± 0.62
丹参素 (低)	6 mg/kg	8	15.84 ± 1.43 ¹⁾	8.01 ± 2.05	6.52 ± 2.13
丹参素 (中)	12 mg/kg	7	12.98 ± 1.28 ²⁾	6.58 ± 0.68	4.91 ± 0.45
丹参素 (高)	24 mg/kg	8	10.24 ± 2.23 ²⁾	5.21 ± 0.96 ²⁾	4.00 ± 0.63 ²⁾

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, 与模型组比较。

表 4 丹参素对大鼠心肌缺血损伤血清 LDH、CK 活性及梗塞区比例的影响 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	给药剂量	动物数 (只)	CK (IU/L)	LDH (IU/L)	梗塞区/全心 (%)
假手术组	1 ml/kg	8	1910.0 ± 600.76 ²⁾	590.0 ± 218.17 ²⁾	—
模型组	1 ml/kg	10	4650.0 ± 705.10	2373.0 ± 750.11	28.8 ± 5.37
丹参注射液组	4 ml/kg	10	2354.0 ± 443.63 ²⁾	1165.5 ± 263.36 ²⁾	21.1 ± 6.41 ¹⁾
丹参多酚酸盐	40 mg/kg	10	2968.0 ± 792.53 ²⁾	1561.0 ± 740.52 ²⁾	21.4 ± 4.80 ¹⁾
丹参素 (高)	24 mg/kg	10	2426.0 ± 823.01 ²⁾	1130.8 ± 426.34 ²⁾	19.9 ± 5.89 ²⁾
丹参素 (中)	12 mg/kg	10	2874.0 ± 433.80 ²⁾	1415.0 ± 210.04 ²⁾	24.2 ± 3.10
丹参素 (低)	6 mg/kg	10	3162.0 ± 782.78 ²⁾	1865.7 ± 483.67	28.4 ± 5.67

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, 与模型组比较。

2.3 对冠脉结扎造成急性心肌缺血损伤大鼠血清 LDH、CK 活性及梗塞区比例的影响 由表 4 可见冠脉结扎造成大鼠急性心肌缺血后,模型组血清 LDH、CK 活性、心肌梗塞区范围均显著增加,与假手术组比较,有非常显著性差异;阳性对照丹参注射液组与丹参多酚酸盐组及模型组相比,血清 CK、LDH 活性非常显著降低 ($P < 0.01$),梗塞区占全心比例

差异显著 ($P < 0.05$);丹参素高剂量 (24 mg/kg) 组可非常显著抑制心肌缺血损伤引起的血清 CK、LDH 活性升高,并非常显著减少心梗区范围 ($P < 0.01$);中剂量 (12 mg/kg) 组非常显著降低血清 LDH、CK 活性,梗塞区面积虽有降低但与模型组相比无显著性差异;低剂量组 (6 mg/kg) 可非常显著降低血清 CK 活性 ($P < 0.01$),但血清 LDH 活性及梗塞区范

围与模型组相比无显著性差异。

3 讨论

心肌缺血性疾病如冠心病、心绞痛、心肌梗塞、克山病等,是目前严重威胁人类健康的疾病之一,寻找有效的抗心肌缺血天然药物尤为重要。冠心病心肌缺血属于中医“胸痹”范畴,主要病机是气滞、血瘀、寒凝、痰阻导致胸阳不振,心脉痹阻。诱导大鼠急性心肌缺血的方法很多,经典的实验性心肌缺血方法是注射垂体后叶素和异丙肾上腺素两种方式,快捷有效、成功率高。

垂体后叶素能使冠状动脉收缩,引起心肌供血不足,同时收缩全身小血管,导致心脏负荷加重,造成心肌缺血,在心电图上可见心肌缺血的变化,表现为 ST 段改变, T 波升高,心率变慢等^[4]。丹参素是从丹参中分离出的一种酚性芳香酸类化合物,为复方丹参滴丸、丹参注射液等的有效成分。为了进一步研究,我们在垂体后叶素造成大鼠急性心肌缺血模型上,观察了丹参素注射液预先注射的对抗作用。结果显示,丹参素能够一定程度改善心肌缺血造成的心电图变化,其中高剂量组改善率相对高些,15 s 30 s 时与模型组差异非常显著 ($P < 0.01$),1 min 时仍有显著性差异;中剂量 30 s 时可以显著改善垂体后叶素诱导的大鼠急性心肌缺血;其作用与阳性药丹参注射液的作用相当;另一阳性药注射用丹参多酚酸盐与丹参素低剂量对心肌缺血改善基本无效。结果提示,在大鼠尾静脉注射垂体后叶素造成急性心肌缺血模型上,丹参素高、中剂量能够显著缓解缺血性大鼠心电图 ST 段的抬高值,提示其在防治急性心肌梗死和心绞痛等病变方面具有较高的利用价值。

有报道皮下注射 ISO 可引起大鼠心肌组织坏死,用异丙肾上腺素制作大鼠心肌缺血模型的机制是其作用于心脏 β 受体,加快心率,增强心肌收缩力,使心肌耗氧量显著增加,从而引起心肌耗氧量增加性缺血。由于这种动物模型复制方法简便,重复性好,且心肌坏死为非特异性损伤,多年来已广泛应用于探索心肌坏死的发生机制和评价其防治措施的研究。大剂量异丙肾上腺素可诱发心肌缺血,导致心肌细胞膜损伤,从而使心肌细胞释放入血清的酶增加,同时促进氧自由基生成和钙超载加重心肌损伤^[5]。本研究表明,丹参素能够改善异丙肾上腺素致大鼠急性心肌缺血,这个作用是通过扩张冠脉、促进冠脉侧支循环开放、改善血液流变等作用来实现的。我们在皮下注射异丙肾上腺素造成大鼠急性心肌缺血模型基

础上,观察了丹参素通过大鼠尾静脉缓慢注射对其的对抗作用。实验结果表明,静脉给予丹参素对 ISO 诱导的大鼠实验性急性心肌缺血有一定程度的保护作用,其中以大剂量组对改善心电图 ST 段偏移及血液流变性作用显著。丹参具有抗血栓和抗血小板聚集作用,前期实验研究表明,丹参素体内可以阻抑 ADP 诱导的血小板聚集,促进纤维蛋白溶解活性。所以该受试药的降低血液黏度的作用机理可能与此作用密切相关。因此,促进血管舒张,抑制血管收缩,增加冠脉流量,改善血液流变,降低全血表观黏度作用,可能是其抗心肌缺血性损伤的作用机制之一。

心肌缺血损伤的机制十分复杂,缺血的过程中会发生复杂的氧化应激反应,无氧代谢加强,缺血过程中产生的大量氧自由基损伤心肌细胞膜,导致血清中 CK 和 LDH 含量增高,其活性间接反应了细胞损伤程度。结扎左冠状动脉前降支可引起心肌缺血甚至梗死,心肌代谢的改变与冠心病严重心肌缺血及心肌梗死时有某些相似之处,且梗死发生快,缺血范围大致固定。为进一步观察丹参素的药效学,我们复制了结扎冠状动脉致急性心肌缺血大鼠模型,观察了丹参素通过大鼠尾静脉注射对其的对抗作用。结果显示,丹参素能够明显抑制缺血所致大鼠心肌细胞损伤时 LDH、CK 溢出,非常显著降低血清 LDH、CK 活性,并非常显著减少梗塞区范围。

综上所述,我们通过三种大鼠心肌缺血损伤模型,观察了丹参素注射对心肌细胞的保护作用。结果显示丹参素对大鼠急性心肌缺血具有显著的保护作用。

【参考文献】

- [1] 梁 勇,羊裔明,袁淑兰.丹参酮药理作用及临床应用研究进展[J].中草药,2000,31(4):304.
- [2] 陈 齐.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1996:531.
- [3] 徐理纳.活血化淤冠心 II 号方及其组成药对抗心肌缺血和增强缺氧耐力的实验研究[J].药学报,1979,14(8):461.
- [4] 何小萍,任先达.飞龙掌水提取物对垂体后叶素所致大鼠缺血心肌的保护作用[J].中国病理生理杂志,1998,14(3):283.
- [5] 高 建,王秋娟,唐 玉,等.银杏内酯对异丙肾上腺素致心肌损伤的影响[J].中药新药与临床药理,2004,15(3):15.
- [6] 潘 志.冠心病胶囊对实验性急性心肌缺血大鼠心电图标测与血液流变学的影响[J].辽宁中医杂志,2007,34(12):1804.

【收稿日期】 2009-12-07

【修回日期】 2010-01-05