

冠心生脉颗粒抗心肌缺血药理实验研究

★ 黄敬耀 涂秀英 黄丽萍 闵江 黄芳华 夏春华 (江西中医学院药理教研室 南昌 330006)

关键词:冠心生脉颗粒;抗心肌缺血;药理实验

中图分类号:R 965 文献标识码:A

冠心生脉颗粒是中医经典方生脉散基础上加味而加工制成的中医复方制剂。生脉散功效为“益气养阴,敛汗生脉”^[1],现代药理研究结果表明,本方具有增加冠脉流量、调整心肌代谢、降低心肌耗氧量^[2]、增强心肌耐缺氧能力、改善心脏功能和血液流变性^[3]等作用。我们对其加味形成的冠心生脉颗粒进行了相关药理药效实验研究,为其临床推广应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物

犬,体重 11~15 kg,雌雄兼用,南昌市杨子洲养犬场供给。SD 大白鼠,体重为(200±22)g,雌雄各半,江西医学院实验动物中心提供,合格证书:医动字第 021-9602 号。小白鼠,昆明种,18~22 g,雌雄兼用,江西中医学院实验动物中心提供,合格证书:医动字第 021-9601 号。

1.2 仪器与试剂

738-半自动生化分析仪,上海安泰分析仪器有限公司;血小板粘附测定仪、SA-B 型红细胞电泳仪、XX-N1 型锥板式粘度计,江西省新元技术开发公司产品;LX-800 长征牌电脑;LD25-2 型医用离心机,

北京医用离心机厂产品。

冠心生脉颗粒,每袋重 3 g,含生药量 3 g(每克颗粒含生药量 1.0 g),批号 000216,由珠海联邦制药有限公司中山分厂生产并提供,用蒸馏水制备试液,置 4℃ 冰箱保存,实验临用时配成所需药物浓度。

冠心生脉丸,含生药量 3 g,批号 980501,每丸重 6 g,北京市东升制药厂生产,用蒸馏水研磨制备试液,置 4℃ 冰箱保存,实验临用时配成所需药物浓度。

肌酸激酶(CK)试剂盒,由江西省临床检验中心提供;乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒由江西省临床检验中心提供。盐酸肾上腺素注射液,批号 990502,上海禾丰制药有限公司产品。肝素钠注射液,批号:001006,上海生物化学制药厂产品。

1.2 实验方法

1.2.1 冠心生脉颗粒对心肌缺血相关酶类活性影响 建立心肌缺血动物模型制备^[4~6]与分组,筛选心电图(ECG)尚合格家犬 30 只,体重 11~15 kg,雌雄均用,随机分 5 组,每组 6 只,即空白对照组、原型组、冠心生脉颗粒(低、中、高剂量)组,分别灌胃,给

改变的最主要的途径是下丘脑-垂体-肾上腺皮质(HPA)轴系被激活。慢性应激状态下,HPA 轴的持续激活是其病理机制的核心^[1]。应激状态下 HPA 轴激活的始发激素 CRH,可能作为一种神经递质或神经调节原参与大脑对应激反应的皮层、杏仁核、床核、海马、蓝斑、背缝核、横核等处的调节。CRH 缓慢的升高在重性抑郁的病因中起了关键作用,类焦虑行为与 CRH1 受体的激活有关^[1]。慢性多相应激大鼠模型是国内较常用的心理应激所致的抑郁症的模型之一^[2,3]。

在前期实验研究中发现柴胡疏肝散有一定的抗抑郁焦虑药理作用^[3]。本实验研究表明柴胡疏肝散的高剂量组和水提醇沉液能下调慢性应激大鼠下

丘脑的 CRH 含量,提示可能通过某一途径拮抗慢性应激诱导的下丘脑-垂体-肾上腺皮质(HPA)轴功能亢进,从而具有抗应激损伤作用。中药复方的剂量和不同的提取方法作用机理可能不同,疗效也有一定的差异,中药复方及其提取物的抗抑郁焦虑的作用机制还有很多有待深入研究。

参考文献

- [1]姜佐宁.现代精神病学[M].北京:科学出版社.2004.457~458
- [2]许晶,李晓秋.慢性应激抑郁模型的建立及其评价[J].中国行为医学科学,2003,12(1):14~17
- [3]陈煜辉,周莺.柴胡疏肝散抗抑郁作用的药理学实验研究[J].江西中医药,2004,16(4):59~60

(收稿日期:2006-03-20)

予生理盐水(NS)、冠心生脉丸(0.24 g/kg)、冠心生脉颗粒(0.08 g/kg, 0.24 g/kg, 0.72 g/kg), 给药容量 1.0 mL/100g。动物经戊巴比妥钠 30 mg/kg 静脉推注麻醉, 背位固定, 接好人工呼吸机, 调好呼吸频率和呼吸比值等。于胸骨正中线开胸, 暴露心脏, 做心脏“摇篮”。将用微温生理盐水湿润的 3~4 mm 厚棉垫板固定电极(12 个)安置于心外膜上, 待心脏活动稳定后, 记录心外膜 ECG。然后, 在左前降支动脉中下 1/3 处, 分离主干, 穿线并结扎(结扎前缓慢静脉推注利多卡因 8 mg/kg), 建立心肌缺血模型。经胃管给药 1 小时后, 取血一次, 作为给药前对照值。并于结扎后 30、60、120、180 分钟分别进行股静脉采血。血液经 1 500 r/min, 离心 10 分钟, 分离血清, 进行心肌相关酶活力的测定。

1.2.2 对急性瘀血模型大鼠血液流变性的影响^[7,8] 将同批同饲养条件大鼠 60 只, 分为 6 组, 每组 10 只, 即空白对照组、血瘀模型组、原型对照组、试药组(冠心生脉颗粒低、中、高)分别灌胃 NS, NS, 丸剂 0.81 g/kg, 冠心生脉颗粒 0.27 g/kg、0.81 g/kg、2.43 g/kg, 给药容积 10.0 mL/kg, 1 次/日, 连续 7 天。第 7 天造模(除空白对照组外, 其他各组给肾上腺素), 第 8 天取血检测。大鼠腹腔注射戊巴比妥钠 0.17 mL/100g 麻醉, 心脏取血约 5 mL 入肝素化试管, 进行全血粘度、血浆粘度和红细胞电泳时间检测。

1.2.3 对大鼠血小板粘附性的影响 取大鼠 50 只, 分成 5 组, 即空白对照组, 原型组, 冠心生脉颗粒低、中、高剂量试药组, 分别灌胃 NS, 冠心生脉丸 0.81 g/kg, 冠心生脉颗粒 0.27 g/kg、0.81 g/kg、2.43 g/kg, 给药容积 10.0 mL/kg, 1 次/日, 连续 7 天, 以上各组第 8 天心脏取血测定其血小板粘附性。

表 1 对犬缺血心肌 CK 活力的影响

组别	动物数(n)	CK 活性/U·L ⁻¹			
		30min	60min	120min	180min
空白对照组	6	1462±173.33	1786±181.26	1843.2±98.98	1770±252.73
丸剂原型组	6	1607.17±376.25	1432.33±297.12*	1325.83±10.91**	1096.67±263.13**
颗粒低剂组	6	1392.8±243.1	1456.6±352.1	1296.2±251.07*	984.6±337.42**
颗粒中剂组	6	1409.83±145.81	1326.17±247.27*	1288.5±260.71*	1099.8±202.52*
颗粒高剂组	6	1595.5±451.47	1526±253.74*	1284.33±207.4**	1074±178.69***

注:与同期空白对照组比较, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001(下同)。

低、中剂量颗粒组在左前降支动脉结扎后 120 分钟开始, 高剂量颗粒组 180 分钟后均能明显降低犬因心肌缺血引起的 LDH 活性升高(P<0.05, <0.01, <0.001)。提示, 冠心生脉颗粒对犬缺血心肌有明显保护作用, 结果见表 2。

2.2 冠心生脉颗粒活血化瘀实验^[8]

血小板粘附性的测试方法:(1)接通仪器电源, 开启温控开关, 将测定室温控制在 37℃;(2)用硅化注射器取血 2.0 mL, 加入含有枸橼酸钠 0.18 mL 的硅化管中混匀;(3)用 1 mL 的硅化刻度管吸 1.0 mL 抗凝血, 注入粘附瓶中, 将粘附瓶放入血小板粘附测定仪, 以 3.7 r/min 速度, 旋转 15 分钟, 取下粘附瓶, 分别吸取血样作血小板计数。

1.3 指标测定

1.3.1 冠心生脉颗粒对心肌缺血相关酶类活性影响 心肌酶类测定 按试剂盒使用说明操作, 于给药前、给药后 30、60、120、180 分钟测定血样的肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)活力。

1.3.2 对急性瘀血模型大鼠血液流变性的影响 全血粘度和血浆粘度用锥板式粘度计进行测定 200、100、40、20 切变率下的粘度, 红细胞用自身血浆稀释, 计算 10 个红细胞来回 5 个格子的电泳时间, 求平均值。

1.3.3 对大鼠血小板粘附性的影响 取经处理好的血样作血小板计数, 按公式计算出血小板粘附率。

1.4 统计处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 描述, 每组各指标与空白对照组进行组间比较, 采用 t 检验分析。

2 结果

2.1 冠心生脉颗粒对缺血缺氧心肌相关酶类活性的影响

中、高剂量颗粒组在左前降支动脉结扎后 60 分钟开始, 低剂量颗粒组 120 分钟后均能明显降低犬因心肌缺血引起 CK 活性升高(P<0.05, <0.01, <0.001)。提示, 冠心生脉颗粒对犬缺血心肌有明显保护作用, 结果见表 1。

2.2.1 对急性瘀血模型大鼠血液流变性的影响

(1)对急性瘀血模型大鼠全血粘度的影响 全血粘度用锥板式粘度计进行测定 200、100、40、20 切变率下的粘度, 红细胞用自身血浆稀释, 计算 10 个红细胞来回 5 个格子的电泳时间, 求平均值。结果表明, 低、中、高剂量颗粒对瘀血模型动物的全血粘度均可

明显降低($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$), 结果见表3。

表2 对犬缺血心肌LDH的影响

组别	动物数(n)	LDH活性/ $U \cdot L^{-1}$			
		30min	60min	120min	180min
空白对照组	6	121.04 $\pm$ 19.26	159.42 $\pm$ 57.53	178.16 $\pm$ 23.29	183.38 $\pm$ 33.97
丸剂原型组	6	129.48 $\pm$ 17.23	91.18 $\pm$ 34.38	76.88 $\pm$ 35.12**	63.98 $\pm$ 30.49**
颗粒低剂组	6	136.9 $\pm$ 24.87	109.26 $\pm$ 45.04	78.84 $\pm$ 52.26**	59.04 $\pm$ 14.09**
颗粒中剂组	6	138.33 $\pm$ 33.79	113.18 $\pm$ 31.90	85.01 $\pm$ 34.92**	65.02 $\pm$ 28.38**
颗粒高剂组	6	156.76 $\pm$ 15.14	115.75 $\pm$ 36.76	86.13 $\pm$ 23.62	61.53 $\pm$ 17.25**

表3 对急性瘀血模型大鼠全血粘度的影响

组别	动物数(n)	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	全血粘度/ $mPa \cdot s$			
			200S $^{-1}$	100S $^{-1}$	40 S $^{-1}$	20S $^{-1}$
空白对照组	9	NS10.0mL/kg	4.60 $\pm$ 0.29	5.56 $\pm$ 0.37	6.96 $\pm$ 0.53	7.92 $\pm$ 0.59
血瘀模型组	10	NS10.0mL/kg	5.85 $\pm$ 0.60***	7.18 $\pm$ 0.15***	8.83 $\pm$ 0.83***	10.44 $\pm$ 0.74***
丸剂原型组	10	0.81	4.43 $\pm$ 0.39***	5.38 $\pm$ 0.57***	6.76 $\pm$ 0.59***	8.36 $\pm$ 0.64***
颗粒低剂组	10	0.27	4.68 $\pm$ 0.23*	5.78 $\pm$ 0.43*	7.29 $\pm$ 0.76***	8.15 $\pm$ 0.66***
颗粒中剂组	10	0.81	4.49 $\pm$ 0.30***	5.25 $\pm$ 0.45***	6.32 $\pm$ 0.81***	7.18 $\pm$ 1.17***
颗粒高剂组	10	2.43	4.49 $\pm$ 0.29***	5.48 $\pm$ 0.32**	6.80 $\pm$ 0.59***	8.01 $\pm$ 0.57***

注:与同期空白对照组比较,*** $P<0.001$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ (下同)。

对急性瘀血模型大鼠血浆比粘度的影响。血浆粘度用锥板式粘度计进行测定200、100、40、20切变率下的粘度。低、中、高剂量颗粒对瘀血模型动物的血浆比粘度均可明显降低($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$), 结果见表4。

对急性瘀血模型大鼠红细胞电泳时间的影响。红细胞用自身血浆稀释, 计算10个红细胞来回5个格子的电泳时间, 求平均值。结果表明, 中、高剂量颗粒对瘀血模型动物增加的红细胞电泳时间可明显缩短($P<0.05$, $P<0.001$)。低剂量颗粒对瘀血模型动物增加的红细胞电泳时间有缩短的趋势, 但无统计学意义($P>0.05$), 结果见表5。

表5 冠心生脉颗粒对急性瘀血模型大鼠红细胞电泳时间的影响

组别	动物数	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	红细胞电泳时间/s
空白对照组 NS	9	10.0mL/kg	16.81 $\pm$ 0.16
血瘀模型组 NS	10	10.0mL/kg	19.65 $\pm$ 0.53***
丸剂原型组	10	0.81	18.62 $\pm$ 1.05*
颗粒低剂组	10	0.27	19.32 $\pm$ 0.78
颗粒中剂组	10	0.81	18.46 $\pm$ 0.74***
颗粒高剂组	10	2.43	17.65 $\pm$ 0.65*

2.2.2 对大鼠血小板粘附性的影响 按公式计算出血小板粘附率。结果表明, 中、高剂量颗粒剂虽对大鼠血小板粘附率有降低趋势, 但无统计学意义($P>0.05$)。结果见表6。

表6 冠心生脉颗粒对大鼠血小板粘附率的影响

组别	动物数	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	血小板粘附率(%)
空白对照组	10	10.0mL/kg	25.37 $\pm$ 7.01
丸剂原型组	10	0.81	21.40 $\pm$ 2.73
颗粒低剂组	10	0.27	25.87 $\pm$ 4.93
颗粒中剂组	10	0.81	22.42 $\pm$ 4.73
颗粒高剂组	10	2.43	21.44 $\pm$ 3.73

3 结论

(1)冠心生脉颗粒具有活血化瘀功能, 能明显改善狗缺血心肌供血供氧;

(2)显著降低大鼠全血、血浆比粘度, 加速红细胞电泳和一定的抗血小板粘附作用;

(3)明显缩小狗心肌缺血后的心肌梗死面积及其范围;

(4)与原型药丸剂的对心肌缺血相关酶类活性和活血化瘀等药效学实验结果相当吻合, 且多数指标颗粒剂中剂量稍好于等剂量丸剂。提示, 将丸剂改为颗粒剂是成功的。

参考文献

- [1]谢鸣. 全国高等中医药院校教材·方剂学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 193
- [2]廖家桢. 生脉散对冠心病心绞痛患者左心室功能的影响[J]. 中医杂志, 1981, 22(6): 424
- [3]王本祥. 现代中药药理学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1999. 347, 885
- [4]徐淑云, 卞如谦, 陈修. 药理实验方法学[M]. (第二版). 北京: 人民卫生出版社, 1991: 939~940
- [5]史大贞, 徐凤芹, 陈可冀, 等. 精制血府胶囊抗犬急性心肌缺血的研究[J]. 中草药, 1998, 29(8): 539~541
- [6]苗明三. 实验动物和动物实验技术[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997. 193~195
- [7]范家骏. 血液流变学基础与临床[M]. 西安: 西安科学技术出版社, 1995. 160~185
- [8]毛腾敏. 以活血化瘀药的预防治疗检测大白鼠急性性血瘀模型[J]. 北京医科大学学报, 1987, 19(4): 234

(收稿日期: 2005-12-28)