

荭草花提取物对心肌缺血再灌注损伤模型大鼠的保护作用研究^Δ

刘俊宏^{1*}, 王昌权^{2,3}, 夏涛^{2,3}, 向文英^{2,3}, 郑林², 李勇军⁴, 李月婷^{2#} (1. 贵州省食品药品审评查验中心, 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学贵州省药物制剂重点实验室/药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵阳 550004; 3. 贵州医科大学药学院, 贵阳 550004; 4. 贵州医科大学民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵阳 550004)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)01-0068-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.01.15

摘要 目的: 研究荭草花提取物对心肌缺血再灌注损伤(MIRI)模型大鼠的保护作用, 为其药用资源的深度开发提供参考。方法: 将24只大鼠随机分为假手术组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、复方丹参片组(阳性对照, 0.17 g/kg)和荭草花提取物组(以生药计为86 g/kg), 每组6只。每天灌胃给药1次, 剂量均为2 mL/100 g。连续给药4 d后, 除假手术组外, 其余各组大鼠均采用左冠状动脉前降支法复制MIRI模型。再灌注24 h后再给药1次, 给药结束后监测各组大鼠心电图ST段变化, 检测各组大鼠血浆中乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、肌酸激酶(CK)、心肌钙蛋白(cTn-I)、超氧化物歧化酶(SOD)和一氧化氮(NO)水平, 计算各组大鼠心肌梗死率并观察其心肌组织病理形态学变化。结果: 与假手术组比较, 模型组大鼠心电图ST段显著抬高($P < 0.01$); 血浆中LDH、CK、CK-MB、cTn-I水平显著升高($P < 0.01$), SOD、NO水平显著降低($P < 0.01$); 心肌梗死率显著升高($P < 0.01$), 心肌组织发生炎性细胞浸润、心肌细胞胞质结构疏松等病理形态学改变。与模型组比较, 复方丹参片组和荭草花提取物组大鼠心电图ST段显著下移($P < 0.05$); 血浆中LDH、CK、CK-MB、cTn-I水平显著降低($P < 0.05$), SOD、NO水平显著升高($P < 0.05$); 心肌梗死率显著降低($P < 0.05$), 心肌组织中炎性细胞浸润、组织水肿等病变不同程度减轻。结论: 荭草花提取物可能通过抗氧化损伤发挥其对MIRI的保护作用。

关键词 荭草花提取物; 心肌缺血再灌注损伤; 氧化损伤; 大鼠

- duced acute lung injury[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(3): 834-844.
- [14] SHIN NR, SHIN IS, JEON CM, et al. Inhibitory effects of *Picrasma quassioides* (D. Don) Benn. on airway inflammation in a murine model of allergic asthma[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(3): 1495-1500.
- [15] 芦源, 关洪全. 养血消风饮对小鼠皮炎-湿疹模型的影响[J]. *中医学报*, 2015, 30(5): 700-702.
- [16] 赵璇. 湿疹面积及严重程度指数评分法[J]. *中华皮肤科杂志*, 2004, 37(1): 3-4.
- [17] WULLERT A, BONNET MC, PASPAPAKIS M. NF- κ B in the regulation of epithelial homeostasis and inflammation[J]. *Cell Res*, 2011, 21(1): 146-158.
- [18] 沈琪, 王梅, 康金森. 沙棘油对小鼠变应性接触性皮炎的治疗作用[J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(11): 50-55.
- [19] 中华医学会皮肤性病学分会免疫学组. 中国湿疹诊疗指南(2011年)[J]. *中华皮肤科杂志*, 2011, 44(1): 5-6.
- [20] LI WH, LIU FX, WANG J, et al. MicroRNA-21-mediated inhibition of mast cell degranulation involved in the protective effect of berberine on 2, 4-dinitrofluorobenzene induced allergic contact dermatitis in rats via p38 pathway[J]. *Inflammation*, 2018, 41(2): 689-699.
- [21] 胡威, 马源源, 宋伟. 龙珠软膏对变应性接触性皮炎作用研究[J]. *中国药师*, 2017, 20(8): 1360-1363.
- [22] 胡梦颖, 冷英莉, 刘晓燕. 百癣夏塔热片对模型小鼠变应性接触性皮炎的抑制作用[J]. *中国药房*, 2015, 26(22): 3052-3054.
- [23] 周洪莉, 阙昌田, 王学, 等. 荆防散乙酸乙酯萃取部位及分离物的抗过敏作用研究[J]. *中药材*, 2017, 40(9): 2182-2186.
- [24] 吴瑜丹, 曾丽萍, 陶爱林, 等. 瘙痒介质在小鼠变应性接触性皮炎模型背根神经节中的表达[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2017, 31(7): 727-731.
- [25] 谷冬梅, 李会强. 由IgE介导的(速发型)芒果过敏及其过敏原的研究进展[J]. *中国免疫学杂志*, 2015, 31(6): 849-851.
- [26] NAVI D, SAEGUSA J, LIU FT, et al. Mast cells and immunological skin diseases[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2007, 33(1/2): 144-155.
- [27] 肖作奇, 欧阳波, 肖素希, 等. 阴炎净洗剂对大鼠接触性皮炎湿疹的防治作用及机制研究[J]. *中国药房*, 2017, 28(28): 3931-3934.

^Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 81560630、81360664、81660712); 贵州省科技计划项目(No. 黔科合平台人才[2016]5613、黔科合平台人才[2016]5677); 贵阳市科技计划项目(No. 筑科合同[2017]30-29号)

* 副教授, 博士。研究方向: 中药药效物质基础。电话: 0851-86866511。E-mail: 490551814@qq.com

通信作者: 副教授, 博士。研究方向: 中药药效物质基础及质量控制。电话: 0851-86908468。E-mail: 854691873@qq.com

(收稿日期: 2018-07-25 修回日期: 2018-11-03)
(编辑: 林静)

Study on Protective Effects of *Polygonum orientale* Extract on Myocardial Ischemia-reperfusion Injury Model Rats

LIU Junhong¹, WANG Changquan^{2,3}, XIA Tao^{2,3}, XIANG Wenying^{2,3}, ZHENG Lin², LI Yongjun⁴, LI Yueting²
(1.Guizhou Province Center for Food and Drug Evaluation and Inspection, Guiyang 550004, China; 2.Guizhou Provincial Key Lab of Pharmaceutics/State Key Lab of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 3.School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 4.Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM (Ministry of Education), Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the protective effects of *Polygonum orientale* extract on myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) model rats, and to provide reference for it's deeply development of medicinal source. METHODS: Totally 24 rats were randomly divided into sham operation group (normal saline), model group (normal saline), Compound danshen tablet group (positive group, 0.17 g/kg) and *P. orientale* extract group (86 g/kg, calculated by crude drug), with 6 rats in each group. All groups were given drugs 2 mL/100 g intragastrically once a day. After 4 d of consecutive administration, MIRI model was induced by the left anterior descending branch of arteria coronaria in all groups except for sham operation group. 24 h after reperfusion, they were given related medicine again. After medication, the changes of electrocardiogram ST segment were monitored in each group. The plasma levels of LDH, CK-MB, CK, cTn-I, SOD and NO were detected in each group. The myocardial infarction rate in each group was calculated and the pathomorphological changes in the myocardium were observed. RESULTS: Compared with sham operation group, ST segment of myocardial electrocardiogram was increased in model group ($P < 0.01$). The plasma levels of LDH, CK, CK-MB and cTn-I were increased significantly ($P < 0.01$), while the plasma levels of SOD and NO were decreased significantly ($P < 0.01$). The rate of myocardial infarction was increased significantly ($P < 0.01$), and pathomorphological changes were observed in myocardial tissue such as infiltration of inflammatory cells and loose cytoplasm of cardiac myocytes. Compared with model group, ST segment of myocardial electrocardiogram was decreased significantly in Compound danshen tablet group and *P. orientale* extract group ($P < 0.05$); the plasma levels of LDH, CK, CK-MB and cTn-I were decreased significantly ($P < 0.05$), while the plasma levels of SOD and NO were increased significantly ($P < 0.05$); the rate of myocardial infarction was decreased significantly ($P < 0.05$), and inflammatory cell infiltration and tissue edema in myocardium were relieved to varying degrees. CONCLUSIONS: The protective effect of *P. orientale* extract protect on MIRI may be exerted by anti-oxidative damage.

KEYWORDS *Polygonum orientale* extract; Myocardial ischemia and reperfusion injury; Oxidative damage; Rats

荇草花为蓼科植物荇草(*Polygonum orientale* L.)的花穗,又名水荇花、狗尾巴花、何草花等,以全草入药,收载于《贵州省中药、民族药质量标准》2003年版^[1-2],且在《本草纲目》《中药大辞典》《中华本草》等中药典籍中均有记录^[3],是贵州民间及少数民族常用药材,多用于胸痛、胸闷、气短、中风偏瘫(嘴角倾斜)、风湿疼痛等疾病的治疗^[4-6]。本课题组前期研究发现,荇草花经水提醇沉后的正丁醇萃取部位可明显抑制急性心肌缺血模型犬心电图ST段和T波抬高,降低冠状动脉结扎所致犬心肌缺血的程度和损伤范围,抑制冠状动脉结扎犬血清中肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)的释放等作用^[7]。本研究拟采用心肌缺血再灌注损伤(MIRI)大鼠模型^[8],以心电图、病理组织形态学、氧化应激相关生化指标以及心肌酶谱等的变化为评价指标,进一步研究荇草花对MIRI的保护作用,为其药用资源的深度开发及利用奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

680型酶标仪[伯乐生命医学产品(上海)有限公司]; TGL-16G型离心机(上海安亭仪器厂);DK-98-II A型恒

温水浴锅(天津泰斯特仪器厂);Nikon TS-100F CCD型照相系统和相差显微观察系统(日本Nikon公司)。

1.2 药品与试剂

荇草花药材产于贵州省清镇市(批号:20130608),经贵州医科大学药学教研室龙庆德副教授鉴定为蓼科植物荇草的花穗;复方丹参片(广州白云山和记黄埔中药有限公司,批号:G17A007,规格:0.32 g/片);LDH、CK、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、心肌钙蛋白(cTn-I)、超氧化物歧化酶(SOD)和一氧化氮(NO)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所(批号:分别为20170405、20170423、20170410、20170508、20170520、20170506);水合氯醛(天津市科密欧化学试剂有限公司,分析纯)。

1.3 动物

SPF级SD大鼠24只,♂,体质量(290±20)g,由重庆腾鑫生物技术有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(渝)2012-0008,实验动物使用许可证号:SYXK(黔)2012-0001。

2 方法

2.1 荇草花提取物的制备

取荇草花药材7 kg,分别用10倍量水煮3次,每次1

h, 过滤, 合并3次滤液, 将滤液浓缩至每1 mL含生药量为1 g, 然后在搅拌下缓慢加入95%乙醇, 使溶液含醇量达65%, 继续搅拌30 min, 静置12 h, 抽滤, 滤液浓缩至每1 mL含生药量为1 g。然后以0.5倍量水饱和正丁醇溶液萃取4次, 合并4次正丁醇相, 减压回收正丁醇, 干燥得正丁醇提取物。将正丁醇提取物加80%乙醇溶解, 上聚酰胺柱, 用8倍柱体积的80%乙醇洗脱, 收集流穿液和洗脱液, 减压回收乙醇, 残留物经微波真空干燥, 得荇草花有效组分提取物(收膏率为3.43%, 提取物中含原儿茶酸8.3 mg/g、槲皮苷22.9 mg/g、山柰素-葡萄糖苷10.7 mg/g、山柰素-鼠李糖苷17.7 mg/g、花旗松素14.9 mg/g和*N-p*-香豆酰酪胺8.2 mg/g)。

2.2 分组与给药

将24只大鼠随机分为假手术组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、复方丹参片组(阳性对照, 0.17 g/kg, 临床给药剂量的等效剂量, 以生理盐水为溶剂)和荇草花提取物组(以生药量计为86 g/kg, 以生理盐水为溶剂), 每组6只。各组大鼠均于造模前灌胃相应药物, 每天1次, 连续给药4 d, 给药剂量均为2 mL/100 g。并于末次给药后按“2.3”方法进行手术, 再灌注24 h后, 再次按相同剂量给药1次。

2.3 大鼠MIRI模型的建立

将大鼠禁食不禁水12 h, 然后按0.4 mL/100 g腹腔注射10%水合氯醛麻醉, 仰卧位固定于手术台上, 连接生物机能实验系统, 二导联下实时测心电图。左胸部备毛, 75%乙醇消毒, 于胸骨左缘心脏搏动处纵行切开皮肤约2 cm, 用止血钳逐层分离皮下组织、肌肉, 再用拉钩拉开剥离的肌肉, 暴露手术视野。在心脏搏动明显的3~4肋间打开胸腔, 左手从右前区沿心脏跳动方向挤压, 同时右手用止血钳深入胸腔引导, 使心脏弹出胸腔, 左手拇指、食指和中指轻捏住心脏, 在左心耳下方以心脏表面左冠状静脉主干为标志, 用6/0无创缝合针于左心耳根部下方2 mm处穿过心肌表层, 在肺动脉圆锥旁出针, 作一活结以结扎左冠脉前降支(除假手术组大鼠不结扎外, 其余3组大鼠均结扎), 迅速将心脏塞回胸腔, 用力挤压胸腔排空腔内空气, 观察心电图, 若II导联下ST段抬高, 表明缺血成功; 逐层缝合肋骨、肌肉和皮肤, 60 min后松结扎线再灌注24 h(心电图ST段下移50%以上表明心肌组织恢复再灌注)复制心肌MIRI模型^[9]。

2.4 心电图ST段抬高情况

再灌注24 h再次给药后, 观察并记录各组大鼠心电图ST段的变化。

2.5 血浆心肌酶、cTn-I和氧化损伤相关指标的检测

于末次给药3 h后, 股动脉采血3 mL, 加入肝素后以6 000 r/min离心10 min, 取上层血浆, 保存于-20℃冰箱中, 备用。严格按照相应试剂盒说明书操作, 检测血浆中心肌酶(LDH、CK、CK-MB)、cTn-I和氧化损伤相关指标(NO、SOD)水平。

2.6 心肌组织病理形态学的观察

取血后每组各取3只大鼠处死, 取出心脏, 置于生理盐水中洗去血液, 用滤纸吸干生理盐水, 再放入含20倍组织体积的4%多聚甲醛溶液中脱水固定, 取固定24 h的心肌组织进行石蜡包埋, 制作5 μm左右的石蜡切片, 二甲苯脱蜡, 苏木素-伊红(HE)染色, 梯度乙醇脱水, 封片, 最后在400倍光镜下观察心肌组织病理形态学变化。

2.7 心肌梗死率的测定

利用2, 3, 5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色法计算心肌梗死率。将剩余大鼠处死并取出心脏, 经生理盐水清洗干净后, 于-20℃冷冻20 min, 取出切片, 置于1% TTC溶液(称取1 g TTC粉末置于棕色量瓶中, 用磷酸盐缓冲液定容至100 mL, 充分溶解, 4℃避光保存)中, 37℃水浴避光染色8~10 min, 可见缺血灶呈苍白色, 正常组织为红色肌肉组织。心肌梗死率的计算: 心肌梗死率(%) = 梗死灶心肌组织质量/心肌组织总质量 × 100%。

2.8 统计学方法

采用SPSS 18.0统计软件对数据进行分析。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 方差齐时组间两两比较采用Dunnett检验, 方差不齐时采用Dunnett's *t*检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 荇草花提取物对MIRI模型大鼠心电图ST段的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠心电图ST段显著抬高($P < 0.01$)。与模型组比较, 复方丹参片组和荇草花提取物组大鼠心电图ST段均显著下移($P < 0.05$), 各组大鼠心电图的ST段观察结果见表1。

表1 各组大鼠心电图的ST段观察结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 1 ST segment of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量, g/kg	ST段变化, mV
假手术组		0.014 ± 0.003
模型组		0.178 ± 0.006**
复方丹参片组	0.17	0.106 ± 0.010 [#]
荇草花提取物组	86	0.107 ± 0.011 [#]

注: 与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$

Note: vs. sham operation group, ** $P < 0.01$; vs. model group, [#] $P < 0.05$

3.2 荇草花提取物对MIRI模型大鼠血浆中心肌酶和cTn-I释放的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠血浆中LDH、CK、CK-MB、cTn-I水平均显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 复方丹参片组和荇草花提取物组大鼠血浆中LDH、CK、CK-MB、cTn-I水平均显著降低($P < 0.05$), 提示荇草花提取物可保护心肌细胞膜的完整性, 减少LDH、CK、CK-MB、cTn-I的外漏, 增强心肌细胞对抗MIRI的能力, 各组大鼠血浆中LDH、CK、CK-MB、cTn-I水平的测定结果见表2。

表2 各组大鼠血浆中LDH、CK、CK-MB、cTn-I水平的测定结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 2 Plasma levels of LDH, CK, CK-MB and cTn-I of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	LDH,U/L	CK,ng/mL	CK-MB,ng/mL	cTn-I,ng/L
假手术组	2 091.739 ± 460.672	82.079 ± 15.076	48.671 ± 1.819	48.126 ± 5.863
模型组	3 732.536 ± 147.426**	159.715 ± 25.719**	108.671 ± 1.819**	93.044 ± 3.326**
复方丹参片组	2 935.624 ± 225.979 [#]	91.396 ± 7.581 [#]	72.038 ± 2.551 [#]	61.282 ± 2.909 [#]
苈草花提取物组	3 088.123 ± 32.341 [#]	101.801 ± 11.825 [#]	82.978 ± 1.854 [#]	78.754 ± 8.128 [#]

注:与假手术组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

Note: vs. sham operation group,** $P < 0.01$; vs. model group,[#] $P < 0.05$

3.3 苈草花提取物对MIRI模型大鼠病理形态学的影响

HE染色结果显示,假手术组大鼠心肌组织的绝大部分心肌纤维结构清晰,横纹清晰可见,心肌细胞胞浆嗜伊红染色,细胞核结构清晰,心肌纤维相连处可见阶梯状闰盘结构,未见炎性细胞浸润;模型组大鼠心肌组织中可见以中性粒细胞为主的炎性细胞浸润,心肌纤维处的部分闰盘结构模糊,阶梯状结构不明显,心肌细胞胞质结构稍疏松,染色稍淡、水肿变性;与模型组比较,复方丹参片组和苈草花提取物组大鼠心肌组织炎症细胞浸润减少,心肌缺血所致的水肿减轻,横纹可见,各组大鼠心肌组织HE染色结果见图1。

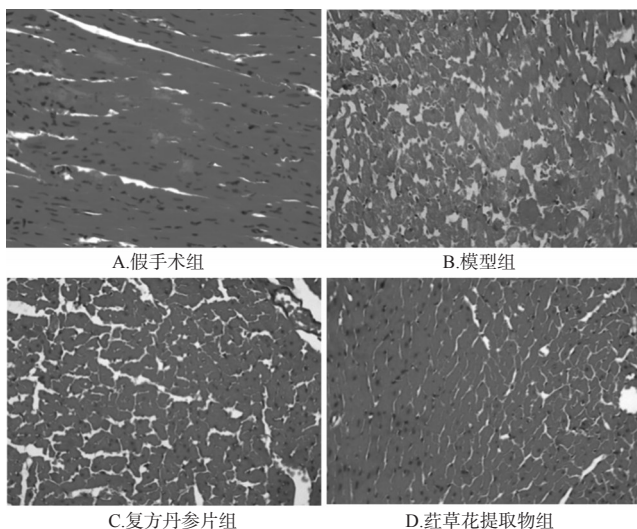


图1 各组大鼠心肌组织HE染色结果($\times 400$)

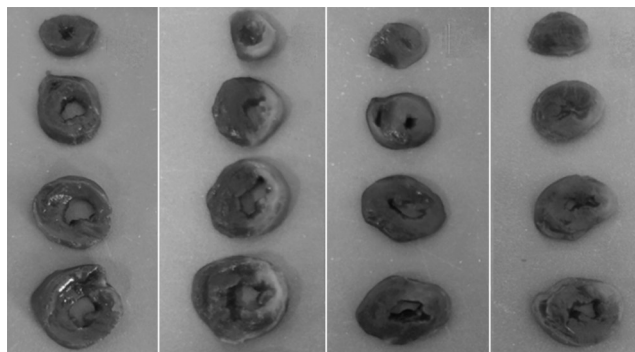
Fig 1 Results of HE staining of myocardial tissue of rats in each group($\times 400$)

3.4 苈草花提取物对MIRI模型大鼠心肌梗死率的影响

与假手术组比较,模型组大鼠的心肌梗死率显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,复方丹参片组和苈草花提取物组大鼠的心肌梗死率显著降低($P < 0.05$),各组大鼠心肌组织TTC染色结果见图2,心肌梗死率测定结果见表3。

3.5 苈草花提取物对MIRI模型大鼠血浆中SOD、NO水平的影响

与假手术组比较,模型组大鼠血浆中SOD、NO水平



A.假手术组 B.模型组 C.复方丹参片组 D.苈草花提取物组

图2 各组大鼠心肌组织TTC染色结果

Fig 2 Results of TTC staining of myocardial tissue in rats in each group

显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,复方丹参片组和苈草花提取物组大鼠血浆中SOD、NO水平均显著升高($P < 0.05$),结果见表4。

表3 各组大鼠心肌梗死率的测定结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 3 Rate of myocardial infarction of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	例数(n)	心肌梗死率,%
假手术组	6	0
模型组	6	32.150 ± 4.79**
复方丹参片组	6	16.435 ± 3.59 [#]
苈草花提取物组	6	18.486 ± 3.78 [#]

注:与假手术组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

Note: vs. sham operation group,** $P < 0.01$; vs. model group,[#] $P < 0.05$

表4 各组大鼠血浆中SOD、NO水平测定结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 4 Plasma levels of SOD and NO in rats of each group($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	SOD,U/mL	NO, μ .mol/L
假手术组	133.242 ± 7.737	50.752 ± 8.185
模型组	96.114 ± 5.941**	19.336 ± 4.301**
复方丹参片组	129.103 ± 10.191 [#]	40.697 ± 3.718 [#]
苈草花提取物组	125.630 ± 5.208 [#]	34.297 ± 6.588 [#]

注:与假手术组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

Note: vs. sham operation group,** $P < 0.01$; vs. model group,[#] $P < 0.05$

4 讨论

苈草花是贵州治疗心血管疾病的民族用药特色品种,具有较好的开发应用前景。本课题组在前期工作中对苈草花有效部位的化学成分、质量标准、药动学和血清药物化学等方面进行了研究,为了对进一步探究苈草花抗MIRI的作用机制奠定基础,本研究采用MIRI大鼠模型研究了苈草花提取物抗MIRI的作用。基于药物被吸收入血是药物发挥疗效的理论基础,本研究以前期血清药物化学研究的给药剂量为参考依据^[4],并结合预实验结果以86 g/kg(以生药量计)为给药剂量开展了实验研究。实验结果显示,该给药剂量能够有效抑制心肌

MIRI,在今后的实验中,笔者也将以此剂量为依据,同时开展多个剂量下的荜草花药动学和药效学研究,构建荜草花的药动学-药效学结合模型(即PK-PD模型),以更为全面和准确地了解荜草花的效应随剂量和时间而变化的规律。

荜草花是治疗心血管疾病的中药,具有以多成分、多靶点发挥疗效的特点,故本研究选择目前临床公认的治疗心肌缺血等心血管疾病的有效中药——复方丹参片作为阳性对照药来对荜草花的MIRI保护作用进行评价,具有较好的可比性。发生MIRI时可通过细胞内钙超载、细胞线粒体能量代谢障碍以及氧自由基损伤等机制,造成心肌细胞损伤或坏死,继而引发细胞膜通透性改变,导致心肌细胞胞浆物质(心肌酶和心肌蛋白)释放入血^[10]。本研究发现,荜草花提取物能有效减轻MIRI模型大鼠心肌组织炎症反应和心肌细胞水肿,且能明显减少血浆中心肌酶(LDH、CK、CK-MB)和心肌蛋白cTn-I的释放,提示荜草花提取物能够减轻MIRI所致心肌细胞损伤^[11-12]。

氧化应激在MIRI的病理过程中扮演着至关重要的角色^[13]。心肌缺血再灌注时,产生过量的活性氧,破坏了机体内的氧化还原平衡系统,使体内抗氧化物质减少,体内氧自由基堆积,生物膜发生脂质过氧化反应,直接或间接地导致细胞膜的结构和功能损伤,从而加剧缺血心肌的组织损伤及功能障碍。SOD是机体清除自由基的关键酶^[14],其将有害的超氧自由基(O₂⁻)转化为过氧化氢,后者在体内的过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的作用下,立即分解为水。生理状态下,NO具有较强的舒血管作用,且具有较强的自由基清除作用,能直接灭活氧自由基,阻断脂膜的自由基链式反应,抑制羟自由基的生成,进而减少机体内抗氧化物质SOD和谷胱甘肽(GSH)的消耗,增加机体抗氧化能力、减少脂质过氧化损伤,提高细胞存活率^[15]。本课题组前期对荜草各部位药理活性进行了筛选,实验结果发现,荜草花有比其“全草”更为明显的抗心肌缺血作用,为荜草的主要药用有效部位^[16],并且本课题组在荜草花活性部位中分离并鉴定了大量单体化合物,如*N*-反式-对羟基苯乙基阿魏酰胺、没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、槲皮素-3-*O*-(2''-*O*- α -L-鼠李糖基)- β -D-葡萄糖醛酸苷、槲皮苷、*N*-*p*-香豆酰酪胺等^[17-18],推测这些成分可能是荜草花发挥药效的有效组分群。本研究结果显示,荜草花提取物给药后能明显增加MIRI模型大鼠血浆中的NO含量,升高血清中SOD活力,提示其对心肌细胞的保护作用可能与氧化应激损伤有关,这为进一步探究荜草花抗MIRI的保护作用机制提供了实验依据,也为荜草花药用资源的深层次开发奠定了基础。但是,荜草花提取物究竟是通过提高心肌细胞清除自由基能力还是抑制逆向Na⁺/Ca²⁺交换,或是通过其他途径而发挥的MIRI保护作用还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 贵州省药品监督管理局.贵州省中药民族药质量标准(2003年版)[S].2003-11-25.
- [2] 王爱民,鄢艳,郑林,等.UPLC同时测定荜草花中7种指标成分的含量[J].中国中药杂志,2011,36(22):3141-3145.
- [3] 张宇瑶,佟苗苗,初正云,等.荜草花HPLC特征指纹图谱研究[J].中药材,2013,36(12):1937-1939.
- [4] 郑林,陈慧,王爱民,等.超高效液相色谱测定大鼠口服荜草花后入血成分[J].中国医院药学杂志,2012,32(2):91-93.
- [5] 黄勇,何峰,郑林,等.水荜花药材中8个指标成分的UPLC-MS/MS法测定[J].中国医药工业杂志,2012,43(8):693-696.
- [6] 李勇军,何迅,刘志宝,等.荜草花化学成分的研究[J].中国中药杂志,2009,34(20):2613-2615.
- [7] 李月婷,胡杰,谢玉敏,等.荜草花不同制备工艺样品对犬急性心肌缺血的保护作用[J].中药材,2015,38(1):115-118.
- [8] 杨华,董兵,宋莹莹.葛根素配伍丹酚酸B注射使用对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].中国药房,2017,28(25):3525-3527.
- [9] 李晓民,汪克明,刘娟,等.大鼠心肌缺血再灌注模型的有效复制方法[J].中国心血管病研究杂志,2007,5(6):463-464.
- [10] 马雯英,韩丹,方伟蓉,等.一氧化氮在心肌缺血再灌注损伤中的调节作用及相关治疗药物研究进展[J].药学进展,2016,40(2):96-103.
- [11] HOU JY, WANG XH, LI H, et al. Protective effect of GSTT on myocardium injured by ischemia reperfusion [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2004, 20(4):418-420.
- [12] MOENS AL, CLAEYS MJ, TIMMERMANS JP, et al. Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex patho-physiological process [J]. *Int J Cardio*, 2005, 100(2):179-190.
- [13] 许波华,许立.中药抗心肌缺血作用机制的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(15):265-269.
- [14] 熊佳,周惠芬,何昱.银杏达莫注射液对缺血缺氧损伤大鼠心肌细胞的保护作用[J].中国药学杂志,2018,53(6):421-426.
- [15] DONG RL, XU XZ, LI G, et al. Bradykinin inhibits oxidative stress-induced cardiomyocytes senescence via regulating redox state [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10):e77034.
- [16] 黄勇,郑林,王爱民,等.荜草不同药用部位抗心肌缺血作用及化学成分比较研究[J].时珍国医国药,2010,21(10):2520-2522.
- [17] 李勇军,何迅,刘志宝,等.荜草花水溶性化学成分的研究[J].时珍国医国药,2010,21(1):14-15.
- [18] 向文英,梅朝叶,孙慧园,等.基于UHPLC-Q-TOF-MS分析荜草花提取物在H9c2心肌细胞中效应物质[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(12):190-195.

(收稿日期:2018-06-25 修回日期:2018-11-02)

(编辑:林静)