

## 注射用丹红对犬心肌梗塞的治疗作用

王科兵<sup>1</sup>, 邹丽华<sup>2</sup>, 张治强<sup>3</sup> (1. 中国人民解放军第 169 医院, 湖南 衡阳 421002 2. 总参管理保障部保健处, 北京 100082 3. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

**摘要** 目的: 观察注射用丹红对犬冠状动脉结扎造成心肌梗塞模型的治疗作用。方法: 采用麻醉犬冠状动脉左前降支结扎造成心肌梗塞模型, 测定犬心外膜心电图, 硝基四氮唑兰 (N-BT) 染色确定心肌梗塞面积和血清肌酸激酶 (creatin kinase, CK) 及乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 测定。结果: 注射用丹红 2.6、12 g 生药/kg 静注可显著降低犬冠脉结扎后心肌缺血的程度, 显著缩小心肌梗塞范围, 显著降低冠脉结扎犬 ST 段升高总毫伏 (mV) 数 ( $\Sigma$ -ST) 和 ST 段升高总点数 (N-ST), 显著降低血清 LDH、CK 升高的程度, 作用强度与剂量有一定的关系。结论: 注射用丹红能显著减轻犬心肌梗塞时的心肌缺血程度和范围, 对犬心肌梗塞有治疗作用。

**关键词** 注射用丹红; 心肌梗塞; 肌酸激酶; 乳酸脱氢酶

中图分类号: R956 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2009)05-0334-04

## Therapeutical effects of Danhong for injection on myocardial infarction in dogs

WANG Kebing<sup>1</sup>, ZOU Lihua<sup>2</sup>, ZHANG Zhiqiang<sup>3</sup> (1. Department of pharmacy 169th Hospital of PLA, Hengyang 421002 China 2. Health Care Department of Management and Logistic Support Department Headquarters of General Staff PLA, Beijing 100082, China 3. Department of Pharmacology School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**ABSTRACT** **Objective** To investigate the therapeutical effects of Danhong for injection on myocardial infarction model induced by coronary artery ligation in dogs. **Methods** The models of myocardial infarction were produced by ligation of the left anterior descending coronary artery in the anaesthetized dogs. The extent of myocardial ischemia and infarction was determined by means of epicardial mapping and N-BT staining. The parameters of lactate dehydrogenase and creatine kinase were also determined in the serum of dogs. **Results** Danhong for injection (2.6 and 12 mg/kg) by the way of intravenous injection obviously reduced the extent of myocardial infarction and the myocardial ischemia level at a dose dependent manner. Increase of  $\Sigma$ -ST and N-ST, and the range of myocardial infarction caused by ligating coronary artery in dogs were obviously reduced by Danhong for injection. The level of LDH and CK in the serum of dogs were also decreased by Danhong for injection. **Conclusions** The results show that Danhong for injection has significant protective effects on myocardial infarction in dogs.

**KEY WORDS** Danhong for injection; myocardial infarction; creatine kinase; lactate dehydrogenase

急性心肌梗塞是目前严重危害人类健康和生命的主要疾病之一, 也是心血管疾病最常见的致死因素, 其发病率和病死率均呈上升趋势<sup>[1]</sup>。心肌梗塞是由于冠状动脉及其分支因发生管腔狭窄或阻塞而使血流中断所引发的缺血性心脏病, 部分心肌可因严重的持久性缺血而发生局部坏死。因此研制能增加冠脉流量, 改善心肌缺血程度及心肌缺血范围的药物包括中成药有十分重要的预防及治疗意义<sup>[2]</sup>。

注射用丹红为中药丹参、红花按科学配方提取的复方制剂, 其主要有效成分包括: 丹参酮、丹参酚酸、红花黄色素等<sup>[3]</sup>。丹红注射液能滋补肝肾、活血祛瘀、安神宁心, 临床上主要用于治疗瘀血闭阻所

致的胸痹、中风、冠心病、心绞痛、心肌梗塞、瘀血型肺心病、缺血性脑病、脑血栓等病症<sup>[4,5]</sup>。注射用丹红是黄褐色的疏松状固体剂型, 是丹红注射液的粉针剂型, 具有性状稳定, 便于贮存的优点。本研究旨在观察注射用丹红静脉注射给药对心肌梗塞的保护作用, 为该制剂的临床应用提供一定的实验依据。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 注射用丹红, 1.4g 瓶 (相当于 10g 生药瓶) (山西亚宝药业集团有限公司, 批号 040901)。丹红注射液 (济南步长制药有限公司, 批号 041001)。SC-M5 型麻醉呼吸机 (上海医疗仪器厂), 电子恒流泵 (SH-88AB 可控静脉注射推进器, 泉州市鲤中医疗电子仪器厂), UV751GD 型紫外/可见分光光度计 (上海分析仪器厂), LDH 试剂盒

(南京建成生物工程研究所,批号 20040719),CK 测试盒(南京建成生物工程研究所,批号 20040802)。

**1.2 实验动物及分组** 健康杂种犬 25 条,雄雌兼用,体重: 10~ 15 kg(第二军医大学实验动物中心,动物饲养合格证号: SCXK(沪) 2002~ 0006)。随机分为 5 组:生理盐水对照组(10 mL/kg)、阳性药丹红注射液组(6 g 生药/kg)、注射用丹红低、中、高剂量组(2.6、12g 生药/kg),每组 5 只。

**1.3 方法** 参照相关文献的方法进行实验<sup>[6~8]</sup>。犬麻醉后,气管插管接呼吸机,开胸暴露心脏,游离左冠状动脉前降支第二至第三分支,备丝线用于两步结扎。在心脏表面放置 30 点心外膜电极并经多导转换开关连至 Powerlab system 8s 生理记录仪(AD Instruments)并记录(定标为 1 mm/mV 速度 1k/s)。采用 Harris 两步结扎法:首次结扎前 2 min 从股动脉静注利多卡因 5 mg/kg 预防心律失常。在结扎时将一段直径 1 mm 的钢丝插入第一松结内,将钢丝与冠状动脉一起结扎,而后抽出钢丝。30 min 后完全结扎第二结。记录完全结扎后 10 min 的心外膜电图作为用药前对照值,而后从股静脉以电子恒流泵在 30 min 内恒速推注完毕药物,阴性对照组给同体积生理盐水(10 mL/kg)。分别记录给药后 5、15、30、60、90、120 min 心外膜电图。心外膜电图观察指标:以 ST 段升高或降低 2 mV 以上的导联数(NST)和 ST 段升高值的总和( $\Sigma$ ST)分别反映心肌缺血范围和缺血程度。以用药后不同时间实测值与用药前进行比较,以用药后不同时间变化百分率(用药前为 100%)进行组间比较。

结扎 2 h 后取心脏,称取全心,左心室及梗死区重量。0.05% 氯化硝基四氮唑蓝(N-BT)液染色心肌,梗死区不着色,非梗死区着暗蓝色。将未着色的称重即梗死区重量,并计算出梗塞区重量占全心及左心室重量的百分比。

冠脉结扎前及给药后 2 min 各取右心室血 3 mL, 3 000 r/min 离心 15 min,取血清用试剂盒测 LDH、CK。

**2 结果**

**2.1 注射用丹红对心肌缺血程度(心外膜电图  $\Sigma$ ST)的影响** 冠脉结扎后 5 min 生理盐水组  $\Sigma$ ST 明显升高,60 min 时  $\Sigma$ ST 升高达 57.2%,此后缓慢回落;注射用丹红静脉给药后能剂量依赖性减轻心肌缺血程度, $\Sigma$ ST 显著下降,变化率与生理盐水组同时间点比较,差异具有显著意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。阳性对照丹红注射液组(6 g 生药/kg)给药后从 15~ 90 min 与生理盐水组同时间点相比,有非

常显著差异( $P < 0.01$ )。实验结果见图 1。

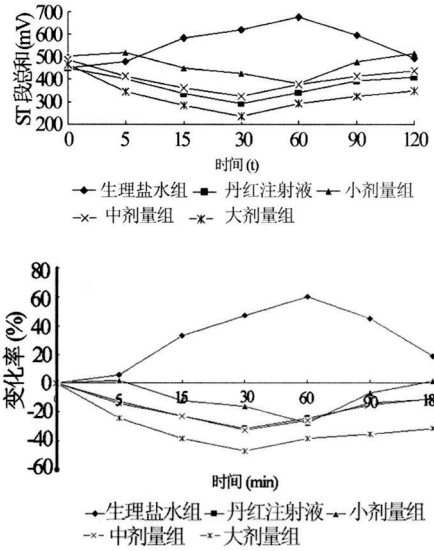


图 1 注射用丹红对犬冠脉结扎心外膜电图 ST 段总和 ( $\Sigma$ ST) 的影响

**2.2 注射用丹红对心肌缺血范围(心外膜电图 NST)的影响** 注射用丹红能剂量依赖性地缩小心肌缺血范围,降低 NST 值,作用可持续 120 min,各时间点 NST 值降低率与生理盐水组同时间点比较:低剂量组 60 min 差异非常显著( $P < 0.01$ );中剂量组 30~ 60 min 时差异非常显著( $P < 0.01$ ),90~ 120 min 差异显著( $P < 0.05$ );高剂量组 5~ 120 min 时差异非常显著( $P < 0.01$ )。阳性对照丹红注射液组 30~ 60 min 时差异非常显著( $P < 0.01$ ),90~ 120 min 差异显著( $P < 0.05$ )。实验结果见图 2。

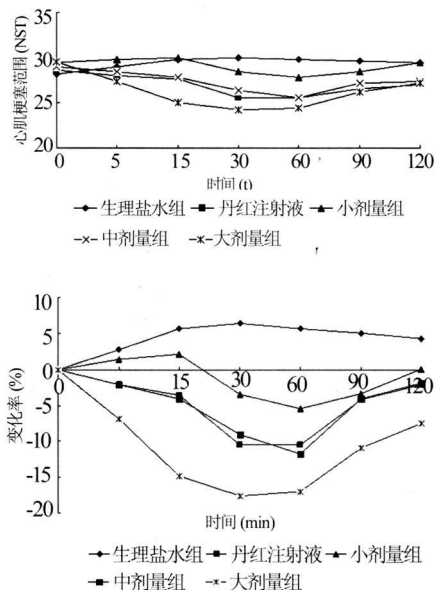


图 2 注射用丹红对犬冠脉结扎心肌梗塞范围(NST)的影响

**2.3 注射用丹红对心肌梗塞范围的定量组织学检测的影响** 注射用丹红静注能剂量依赖性地减少心肌梗塞范围,与生理盐水组比较,低、中、高剂量组,梗塞区/左心室的比值下降非常显著( $P < 0.01$ );低剂量组梗塞区/全心的比值下降显著( $P < 0.05$ ),中、高剂量组梗塞区/全心的比值下降非常显著( $P < 0.01$ )。阳性对照组丹红注射液组能显著地缩小心肌梗塞范围( $P < 0.01$ )。实验结果见表1。

**2.4 注射用丹红对冠脉结扎后血清LDH和CK的影响** 冠状动脉结扎后各组血清LDH、CK均升高,其中生理盐水组LDH、CK分别上升 $2.63 \pm 0.29$ 倍和 $3.18 \pm 0.51$ 倍。注射用丹红阳性对照药丹红注

射液组均能非常显著的降低血清LDH和CK升高程度( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。实验结果见表2。

表1 注射用丹红对心肌梗塞范围(N-BT染色法)的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ )

组别	梗塞区/全心(%)	梗塞区/左心室(%)
生理盐水组	14.49 ± 1.51	24.14 ± 2.52
丹红注射液组	10.11 ± 1.27 <sup>2)</sup>	16.11 ± 1.99 <sup>2)</sup>
注射用丹红组		
低剂量组	11.53 ± 1.35 <sup>1)</sup>	19.16 ± 2.08 <sup>2)</sup>
中剂量组	9.79 ± 1.45 <sup>2)</sup>	16.08 ± 1.94 <sup>2)</sup>
高剂量组	9.26 ± 1.37 <sup>2)</sup>	14.34 ± 1.46 <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>  $P < 0.05$  <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与生理盐水组比较。

表2 注射用丹红对犬冠脉结扎血清LDH、CK的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ )

组别	LDH(U/L)			CK(U/L)		
	给药前	给药后	后/前	给药前	给药后	后/前
生理盐水组	295.8 ± 72.8	775.8 ± 193.4	2.63 ± 0.29	315.4 ± 95.1	970.4 ± 168.6	3.18 ± 0.51
丹红注射液组	243.7 ± 52.1	481.1 ± 143.5	1.96 ± 0.25 <sup>2)</sup>	366.5 ± 68.0	870.9 ± 200.9	2.38 ± 0.39 <sup>2)</sup>
注射用丹红组						
低剂量组	253.7 ± 63.0	534.7 ± 164.9	2.09 ± 0.23 <sup>1)</sup>	333.5 ± 72.5	840.7 ± 163.2	2.55 ± 0.30 <sup>1)</sup>
中剂量组	262.1 ± 73.4	518.9 ± 195.8	1.93 ± 0.27 <sup>2)</sup>	285.7 ± 37.6	671.5 ± 78.0	2.38 ± 0.35 <sup>2)</sup>
高剂量组	233.7 ± 22.9	425.3 ± 70.4	1.82 ± 0.21 <sup>2)</sup>	319.8 ± 81.6	687.4 ± 152.4	2.17 ± 0.21 <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>  $P < 0.05$  <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与生理盐水组比较。

### 3 讨论

目前研究结果提示,急性心肌梗塞后,各项心功能指标改变和恢复的程度、速度均与心肌梗塞范围相关。左心室心肌梗塞范围越大,左心室舒缩性能越明显降低,其预后越差<sup>[9]</sup>。因此,缩小心肌梗塞后梗死范围是评价抗心肌缺血药物的主要疗效指标之一。在定量组织学方法测定心肌梗塞范围的研究中,多采用梗塞区全心或左室百分比来反映梗塞范围的大小,本实验采用N-BT染色来测定,实验结果显示与生理盐水组相比,注射用丹红2~12g生药/kg静注能剂量依赖性地显著减少心肌梗塞范围。

冠状动脉结扎可导致心肌细胞缺血、缺氧,使糖的有氧氧化受阻,ATP生成显著减少,离子梯度紊乱,细胞膜稳定性降低,从而导致酶的外漏<sup>[10]</sup>。严重缺氧时溶酶体肿胀破裂,致使大量溶酶体酶释出,导致心肌细胞及周围组织溶解坏死<sup>[11]</sup>。CK和LDH释放入血,因此CK、LDH是评价心肌缺血损害程度的重要客观指标,其升高程度与心肌损害程度相平行,通过测定血中CK、LDH含量可间接推测心肌梗塞大小和程度。本实验结果表明,注射用丹红能显著降低犬冠脉结扎后血清LDH、CK升高的程度;提示其可减少急性缺血心肌细胞LDH、CK的溢出,减轻心肌缺血时的细胞损害,对

心肌细胞有保护作用。

心外膜心电图已成为心血管药理研究中一种常用方法,心外膜心电图 $\Sigma$ ST反映心肌缺血程度,N-ST反映心肌缺血范围。本研究显示犬冠脉结扎后5min各组心外电图 $\Sigma$ ST和N-ST均明显升高,注射用丹红组静脉给药后能剂量依赖性地减轻心肌缺血程度、缩小心肌缺血范围,使 $\Sigma$ ST和N-ST值显著下降。表明注射用丹红静注对犬冠状动脉结扎引起的心肌梗塞有明显的治疗作用。

注射用丹红对犬心肌梗塞各项指标具有明显改善作用,为其临床研究与应用奠定了实验依据,也有助于对其治疗心肌梗塞作用机制进一步更深入的探讨。

### 参考文献:

- [1] Boersma E, Mercado N, Poklans D, et al. A cute myocardial infarction [J]. Lancet 2003; 361(9360): 847.
- [2] 李琳,孙莉莎,徐江平. 丹酚酸B对犬心肌梗死的治疗作用 [J]. 中成药, 2004, 26(3): 217.
- [3] 邵志宏,奚云. 步长丹红注射液治疗32例脑梗死的疗效观察 [J]. 中国实用医药, 2007, 2(26): 56.
- [4] 时明. 红花注射液的临床应用 [J]. 现代中西医结合杂志, 2004, 13(15): 2077.
- [5] 赵钢,王安虎. 红花的资源及药用价值 [J]. 中国野生植物资源, 2004 (3): 24.

(下转第352页)

### 3 讨论

3.1 关于川乌药材质谱图中各峰的认定, 由于对照品较少, 且离子阱质谱的测量精度有限, 只是根据相关文献对各质谱峰做了初步的认定, 准确程度还有待考察, 尤其是一些较低分子量的物质, 多是原碱脱掉若干个水或 CO 的产物, 对于脱水的位置和开环的位置还应进一步研究。

3.2 由川乌炮制前后的质谱分析可以看出, 生川乌中双酯及三酯型生物碱是主要成分, 但同时也含有单酯型生物碱、原碱及其它成分。炮制后, 双酯及三酯型生物碱明显减少, 单酯型生物碱有所升高, 原碱类成分变化不大, 这说明川乌炮制减毒的原因主要是将双酯及三酯型生物碱水解, 尤其是使其脱掉乙酰基。但同时我们也发现, 炮制后的样品在总体的质谱峰信息方面也明显少于炮制前, 无论是峰数目还是强度都有较大程度的降低, 不止是双酯及三酯型生物碱减少, 其他成分的峰强度也有不同程度的降低, 同时又没有新的物质出现, 就总体而言, 炮制后比炮制前的物质减少了。所以我们认为在水煮炮制的过程中由于水溶解及高温的原因, 有相当一部分物质损失了, 这也是炮制减毒的另一个原因。

炮制过程中损失了部分物质, 虽然起到了减毒的效果, 但同时也使药效成分有所流失, 降低了疗效, 所以希望能有新的炮制方法, 在不损失成分的情况下, 仅通过改变其化学结构来起到减毒的作用。

3.3 从本研究结果可见, 将液-质联用技术引入川乌炮制品的质量控制是十分有效和必要的。由于炮制前后川乌的质谱行为存在明显的差异, 可采用类似中药指纹图谱的方法将川乌炮制前后的质谱总离子流图标准化, 为其制定定性或半定量的

质控标准, 用科学的方法取代仅凭“口尝”来判别炮制程度的方法。

### 参考文献:

- [1] 中国药典 2005版一部 [J]. 2005 164.
- [2] 王 勇, 刘淑莹. 乌头碱类生物碱的质谱研究进展 [J]. 质谱学报, 2002, 23(2): 112.
- [3] 李正邦, 吕光华, 陈东林, 等. 草乌中生物碱的化学研究 [J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(1): 91.
- [4] 许庆轩, 王 勇, 刘志强, 等. 草乌中二萜类生物碱的电喷雾串联质谱研究 [J]. 高等学校化学学报, 2005, 26(4): 638.
- [5] 王 勇, 宋凤瑞, 金东明, 等. 复方中药四逆汤中乌头碱类二萜类生物碱的电喷雾质谱研究 [J]. 高等学校化学学报, 2004 25(1): 852.
- [6] Oh H, Seto Y, Tsunoda, *et al*. Determination of Aconitum alkaloids in blood and urine samples I High performance liquid chromatographic separation, solid-phase extraction and mass spectrometric confirmation [J]. Journal of Chromatography B, 1997, 69E: 351.
- [7] ZHANG HG, SUN Y, Duan MY, *et al*. Separation and identification of Aconitum alkaloids and their metabolites in human urine [J]. Toxicol 2005, 46(5): 500.
- [8] 赵冬霞. 中药炮制去毒机理探讨 [J]. 云南中医学院学报, 2003 25(1): 22
- [9] 王 勇, 刘淑莹, 刘志强, 等. 雪上一支蒿中乌头碱类生物碱的电喷雾串联质谱分析 [J]. 分析化学, 2003, 31(2): 139.
- [10] 王 勇, 刘志强, 宋凤瑞, 等. 白山草乌中二萜生物碱的电喷雾串联质谱分析 [J]. 质谱学报, 2003 23(3): 160
- [11] 刘永刚, 刘 倩, 张宏桂, 等. 高效液相色谱-质谱联用法研究乌头碱的水解产物 [J]. 中国新药杂志, 2007, 16(4): 303.
- [12] 图 雅, 张贵君, 王淑敏, 等. 草乌叶及其煎煮液中生物碱类药效组分的电喷雾串联质谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2008 23(7): 789

收稿日期: 2009-07-07

(上接第 336 页)

- [6] 王宗仁, 马世平, 陈学福, 等. 降粘抗栓片 I 号对犬血流动力学及血液流变学指标的影响 [J]. 微循环学杂志, 1998, 8(2): 35.
- [7] 中医研究院西苑医院基础室药理组. 活血化瘀及益气活血药对犬实验性梗死的影响 [J]. 新医药学杂志, 1978, (7): 345.
- [8] 中医研究院西苑医院基础室药理组. 心外膜心电图方法的改进 [J]. 新医药学杂志, 1978 (1): 53.

- [9] Waters DD, Luzp PD, Wyatt HL, *et al*. Early changer in regional and global left ventricular function induced by graded reductions in regional coronary perfusion [J]. Am J Cardiol 1997, 39(2): 537
- [10] Naylor WG, Grau A, Yezpe C. Betradrenoceptor antagonists and the release of creatine phosphokinase from hypoxic heart muscle [J]. Cardiovasc Res 1977, 11(4): 344

收稿日期: 2009-04-29