

愈心痛胶囊对急性心肌缺血犬血浆 内皮素和血液流变性的影响

雷 燕 刘建勋 尚晓泓 陈可冀

(中国中医研究院西苑医院心血管实验室·北京 100091)

愈心痛胶囊主要由红参、三七、延胡索等药物组成,具有活血化瘀,强心止痛之效,用于治疗冠心病心绞痛,心肌梗塞等疾患。内皮素是迄今所知体内作用最强的血管收缩因子,参与血栓形成、心肌梗死、脑血管意外等多种疾病的发病机制。为进一步阐明血瘀证本质,探讨血浆内皮素与血瘀证的关系和愈心痛胶囊对血瘀证的影响,本实验以结扎犬冠状动脉左前降支中段的方法,造成急性实验性犬心肌缺血模型,以诱导血栓形成及血液流变性的异常状态,形成中医血瘀证,并动态观察了给药前后血浆内皮素含量和各项血液流变学指标的变化。结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康成年犬 20 只,雌雄不拘,体重 13.85 ± 1.96 kg,由中国中医研究院西苑医院动物室提供。

1.2 药品和试剂

愈心痛胶囊提取干粉(2g 生药/g 干粉),由吉林敖东制药厂提供;硫氮草酮片(恬尔心,30mg/片),上海延安制药厂生产(批号:900103);0.9%氯化钠注射液,石家庄市第四制药厂生产(批号:2112003);内皮素放免药盒购自中国人民解放军总医院。

1.3 观察指标及仪器

血液粘度:用日本东京计器 ELD 型锥板粘度计,测定在 1.92S^{-1} 、 192S^{-1} 切速下的全血粘度;血浆比粘度:采用管径 0.36mm 毛细管粘度计;红细胞比积:用

毛细管微量法,日本 KuBOTA 型红细胞比积仪;纤维蛋白原测定:用微量热沉法;血小板粘附性测定:用旋转玻璃球法;血小板聚集数测定,用改良 Schatz 法;内皮素测定采用放免方法。

1.4 实验方法

实验犬以戊巴比妥钠 30mg/kg 静脉麻醉,气管插管,连接 SC-3 型电动呼吸机。左侧第四肋间开胸,暴露心脏,做心包吊床,分离并结扎冠状动脉左前降支中段,造成急性实验性心肌缺血模型。实验共分 4 组:(1)空白对照组:给生理盐水 3ml/kg;(2)阳性药对照组:给硫氮草酮 5mg/kg;(3)愈心痛小剂量组:给 1g 生药/kg;(4)愈心痛大剂量组:给 2g 生药/kg。结扎冠脉 15min 后,各组经十二指肠给予实验药物或生理盐水(均用生理盐水配制成等体积,3ml/kg),分别于冠脉结扎 15min(药前)、药后 60、120、180min 抽取股静脉血各 4ml,其中 2ml 血加入肝素抗凝管中用于检测血液流变学各项指标,另 2ml 血加入含 EDTA 和抑肽酶的试管中,尽快 4°C 3000rpm 离心 10min,取上层血浆后置 -30°C 冰箱中待测内皮素含量,测定步骤按试剂盒说明书进行。各项观察指标数据进行统计学处理,以各组不同时点所测值与给药前值(100%)进行自身比较,其变化百分率与生理盐水组进行组间比较,采用 t 检验。

2 结果

2.1 对血浆内皮素水平的影响 见表 1。

表 1 各组给药前后 ET 水平(Pg/mg)的比较($\bar{X} \pm S$)

组 别	犬 数	剂量	给药前	药后 60min	药后 120min	药后 180min
生理盐水	5	3ml/kg	80.23 ± 19.36	86.65 ± 18.65	99.47 ± 16.59	94.11 ± 10.92
硫氮草酮	5	5mg/kg	78.52 ± 27.53	73.98 ± 10.72	$64.82 \pm 13.90^{**}$	$57.95 \pm 14.87^{**}$
愈心痛胶囊	5	1g/kg	75.34 ± 17.10	73.38 ± 23.20	74.83 ± 13.81	$69.87 \pm 13.61^{*}$
愈心痛胶囊	5	2g/kg	80.39 ± 27.99	71.94 ± 8.12	$65.30 \pm 19.84^{*}$	$59.28 \pm 7.35^{***}$

与本组药前比较: $\Delta p < 0.05$, 与生理盐水组比较, $* p < 0.05$, $** p < 0.01$, $*** p < 0.001$

2.2 对全血和血浆比粘度,红细胞压积、纤维蛋白原 的影响 见表 2~表 4。

表2 各组给药前后全血粘度比较($192S^{-1}, \text{mpa} \cdot s$) $\bar{X} \pm S$

组别	犬数	剂量	给药前	药后 60min	药后 120min	药后 180min
生理盐水	5	3ml/kg	26.87±7.73	27.77±6.25	28.34±10.53	29.08±10.68
疏氮草酮	5	5mg/kg	27.33±6.52	26.67±7.08	26.08±8.96	25.83±7.26
愈心痛胶囊	5	1g/kg	26.88±7.67	25.03±6.45	24.60±5.82	22.85±8.90*
愈心痛胶囊	5	2g/kg	28.27±10.59	25.90±6.85	24.08±10.51*	23.27±9.05

与生理盐水组比较: * $p < 0.05$ 表3 各组给药前后血浆粘度比较($192S^{-1}, \text{mpa} \cdot s$) $\bar{X} \pm S$

组别	犬数	剂量	给药前	药后 60min	药后 120min	药后 180min
生理盐水	5	3ml/kg	5.34±0.19	5.52±0.98	6.61±0.43	6.50±0.92
疏氮草酮	5	5mg/kg	5.50±0.84	5.26±0.50	4.95±0.91*	4.82±0.72*
愈心痛胶囊	5	1g/kg	5.92±0.79	5.70±0.72	5.34±0.83*	4.99±1.10**
愈心痛胶囊	5	2g/kg	5.63±0.97	5.22±1.03	5.01±0.97**	4.68±0.90**

与生理盐水组比较: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 表4 各组给药前后血浆纤维蛋白原浓度比较(g/L) $\bar{X} \pm S$

组别	犬数	剂量	给药前	药后 60min	药后 120min	药后 180min
生理盐水	5	3ml/kg	3.30±0.90	3.40±0.47	3.49±0.42	3.67±0.68
疏氮草酮	5	5mg/kg	3.39±0.68	3.23±0.62	3.11±0.63	3.07±0.40
愈心痛胶囊	5	1g/kg	3.15±0.69	2.94±0.48	2.84±0.74	2.56±0.63*
愈心痛胶囊	5	2g/kg	3.04±0.78	2.80±0.24	2.76±0.33*	2.40±0.41*

与生理盐水组比较: * $p < 0.05$

2.3 对血小板粘附和聚集功能的影响 见表5~6。

表5 各组给药前后血小板粘附率比较(%) $\bar{X} \pm S$

组别	犬数	剂量	给药前	药后 60min	药后 120min	药后 180min
生理盐水	5	3ml/kg	34.47±6.37	35.18±3.55	35.83±4.63	36.87±4.25
疏氮草酮	5	5mg/kg	32.49±4.70	31.25±4.01	31.04±2.86	30.20±4.73
愈心痛胶囊	5	1g/kg	34.42±6.31	32.89±3.67	32.07±2.67	31.00±3.96*
愈心痛胶囊	5	2g/kg	31.73±3.62	30.44±3.41	28.88±3.29*	28.16±4.56*

与生理盐水组比较 * $p < 0.05$ 表6 各组给药前后血小板聚集个数比较 $\bar{X} \pm S$

组别	犬数	剂量	给药前	药后 60min	药后 120min	药后 180min
生理盐水	5	3ml/kg	53.01±1.76	54.13±1.83	55.10±2.69	55.93±2.21 Δ
疏氮草酮	5	5mg/kg	51.29±3.45	49.60±2.07	48.57±2.44	47.06±1.67 Δ **
愈心痛胶囊	5	1g/kg	54.40±3.58	51.48±3.21	49.60±2.61 Δ **	47.5±2.43 Δ Δ **
愈心痛胶囊	5	2g/kg	53.42±3.93	49.17±2.86*	48.17±2.86 Δ **	45.80±1.64 Δ Δ Δ ***

与本组药前比较, $\Delta p < 0.05$, $\Delta\Delta p < 0.01$; 与生理盐水组比较 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

3 讨论

近年来对血瘀证的大量研究表明:血瘀证患者大多具有血液循环障碍,血液流变性异常和血液粘度增高,故血瘀证的本质特征之一是血液流变学异常。本实验通过结扎犬冠状动脉分支,致使实验犬各项血液流变学指标均异常增高,血液流变性发生障碍,呈现高粘、高聚、高凝状态,表明此“血瘀证”的模型是成功的。同时伴有血浆内皮素浓度增高,提示内皮素的过量释放与血瘀证形成有一定联系。

现代医学研究认为,血瘀证的形成与血液成份、血液状况和血管壁因素即血管内皮细胞的损伤等病理变

化密切相关。当结扎犬冠状动脉时,由于机械刺激和持续、严重的缺血缺氧,均可导致血管壁内皮细胞受损,内皮损伤可激活血小板并相互聚集粘附于血管局部,并激活凝血酶系统,促进纤维蛋白形成和内皮素的大量释放,引起血管痉挛,血液凝固成份增加,粘稠度增高,易于形成血栓,而致血流缓慢,形成或加重“血瘀”状态,因此,内皮素是重要的致病因素之一,故可作为血瘀证的一个客观实验室指标。

实验结果还表明,愈心痛胶囊具有降低血液粘度和血浆纤维蛋白原浓度,增加血液流动性,抗血小板粘附和聚集,抑制血浆内皮素的过量释放等作用,从而舒

张血管,改善组织灌流,减少血栓形成,以达瘀血祛血脉通的目的,这些方中,三七活血散瘀,现代药理研究证实^[5~6],三七的主要活性成份三七总皂甙是一选择性慢钙通道阻滞剂,能减轻钙积聚,抑制血小板聚集;静脉注射三七总皂甙能显著地提高家兔血浆组织型纤溶酶原激活物(t-PA)活性,从而提高机体溶纤能力。红参扶正固本,较之白参有其独特的生化和药理活性。有报道^[7],红参能够通过抑制血栓素(TXA₂)引起的细胞内钙的释放而抑制血小板聚集,给动脉粥样硬化患者口服红参粉4W,可促进其体内前列环素(PCI₂)的生成增加,从而改善PGI₂和TXA₂的平衡。从而,推测上述作用可能是该方活血化瘀作用的物质基础,亦是其防治冠心病心绞痛的重要因素之一。

参考文献

- 1 翁维良,等.血液流变学研究方法及其应用.第1版.北京:科学出版社,1989:33
- 2 陈可冀.活血化瘀研究与临床.第1版.北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1993:17-20
- 3 陈可冀,等.血栓证与活血化瘀研究.第1版.上海:上海科技出版社,1990:382
- 4 Luscher TF,Annu Rev Med 1993;44:395-418
- 5 郑光植,等.三七生物学及其应用.第1版.北京:科学出版社,1994:90
- 6 刘青,等.中华血液学杂志 1994;15(8):433
- 7 平井爱山.国外医学中医中药分册 1995;17(4):32

(1996年1月12日收稿)

第 五 虎 颗 粒 冲 剂 抗 呼 吸 道 合 胞 病 毒 作 用 的 实 验 研 究

熊继柏 伍参荣 周雪仙 (湖南中医学院·长沙 410007)

1 材料 第 五 虎 颗 粒 剂 批 号 910803. 用 三 蒸 水 溶 解 配 成 每 ml 含 生 药 1g 的 浓 度, 以 此 为 100% 浓 度, G₆ 抽 滤 除 菌, 4℃ 冰 箱 保 存 备 用. 取 HeLa 细 胞 用 1640(GIBCO USA 进 口 分 装) 加 10% 灭 活 小 牛 血 清 常 规 培 养, 待 细 胞 长 满 单 层 后, 选 形 态 良 好 的 细 胞 供 实 验 用. 呼 吸 道 合 胞 病 毒(RSV)(NJ3165) 首 都 儿 童 医 院 病 毒 研 究 所 提 供. 将 RSV 在 HeLa 细 胞 中 增 殖、传 代, 测 定 其 滴 度, 置 -30℃ 冰 箱 保 存. 实 验 用 病 毒 浓 度 为 100TCID₅₀/0.1ml. 病 毒 唑: 湖 北 天 门 制 药 厂 生 产 的 注 射 液, 100mg/ml, 批 号: 910603. 实 验 时 用 细 胞 维 持 液 稀 释 成 50μg/ml.

2 方法 RSV 滴 度 测 定 按 文 献^[1] 方 法. 细 胞 对 药 物 的 最 大 耐 受 浓 度 测 定 按 文 献^[2] 方 法. 单 层 细 胞 上 抗 病 毒 试 验 将 长 满 单 层 的 HeLa 细 胞 加 入 100TCID₅₀RSV0.1ml, 37℃ 吸 附 1h 后, 分 别 加 入 1:80、1:100、1:160 含 药 维 持 液, 37℃ 培 养 24h 后, 统 计 各 浓 度 的 病 毒 空 斑 数 目, 同 时 设 病 毒 对 照、正 常 细 胞 对 照, 分 析 病 毒 产 量.

3 结果

3.1 细胞对药物的最大耐受浓度 第 五 虎 颗 粒 剂 的 稀 释 倍 数 为 1:5、1:10、1:20、1:40 时, 对 HeLa 细 胞 毒 性 较 大 抑 制 率 为 100%、90%、31.0%、26.8%, 细 胞 变 圆、堆 积、脱 落, 当 药 物 稀 释 倍 数 为 1:60 时, 细 胞 生 长 良 好, 抑 制 率 为 10.2%, 药 物 稀 释 至 1:80 时 细 胞 生 长 抑 制 率 为 5.0%, 因 此 选 用 该 浓 度(1:80 即 12.5mg/ml) 作 为 实 验 浓 度.

3.2 单层细胞上抗病毒结果分析 第 五 虎 颗 粒 剂 能 减 少 RSV 在 细 胞 单 层 上 的 空 斑 数 目 与 病 毒 产 量, 不 同 的 药 物 稀 释 度, 单 层 细 胞 上 形 成 的 空 斑 数 和 病 毒 产 量(log₁₀PFU/oymil) 分

别 为 15.8±1.0、0.87(1:80); 22.4±3.6、1.05(1:100); 28.0±5.3、1.26(1:60) 药 物 浓 度 越 高, 病 毒 空 斑 数 目 与 病 毒 产 量 就 越 少(低), 相 关 分 析 r_s = -0.8, p < 0.05. 各 实 验 组 RSV 的 空 斑 数 目 与 病 毒 对 照 组 的 空 斑 数 目 比 较 55.0±6.3、2.3, 差 别 有 显 著 性(t 检 验 P < 0.05). 提 示: 第 五 虎 颗 粒 剂 有 抑 制 RSV 复 制 的 作 用. 稀 释 倍 数 为 1:80 时, 抗 RSV 作 用 与 病 毒 唑(21.3±3.8、1.01) 比 较 差 别 有 显 著 性(t 检 验, p < 0.05), 五 虎 颗 粒 剂 抗 RSV 作 用 较 病 毒 唑 强, 可 使 病 毒 空 斑 数 减 少 40%, 但 药 物 稀 释 倍 数 为 1:160 时(28.0±5.5、1.26) 抗 RSV 的 效 应 则 次 于 病 毒 唑.

4 讨论 呼 吸 道 合 胞 病 毒 是 婴 幼 儿 急 性 下 呼 吸 道 感 染 的 重 要 病 原 体, 常 引 起 婴 幼 儿 急 性 毛 细 支 气 管 炎, 肺 炎、流 行 性 喘 憋 性 肺 炎, 对 婴 幼 儿 健 康 危 害 大, 且 目 前 尚 无 安 全 有 效 的 疫 苗 预 防. 因 此 国 内 外 医 药 界 都 在 积 极 寻 找 抗 RSV 的 有 效 治 疗 药 物. 本 项 研 究 发 现 第 五 虎 颗 粒 剂 对 实 验 细 胞 的 细 胞 毒 作 用 较 小, 实 验 细 胞 对 药 物 最 大 耐 药 浓 度 为 1:80(即 12.5mg/ml); 第 五 虎 颗 粒 剂 能 减 少 病 毒 斑 形 成, 药 物 浓 度 越 高, RSV 空 斑 数 目 就 越 少, 其 抗 RSV 作 用 与 病 毒 唑 比 较, 当 药 物 稀 释 倍 数 为 1:80 时 可 使 病 毒 空 斑 减 少 40%, 较 病 毒 唑 强. 这 一 实 验 结 果 为 第 五 虎 颗 粒 剂 临 床 应 用 提 供 了 进 一 步 依 据.

参考文献

- 1 杜平主编. 医 用 实 验 病 毒 学. 第 1 版. 北 京: 人 民 军 医 出 版 社, 1984: 106
- 2 黄 祯 祥 主 编. 医 学 病 毒 学 基 础 及 实 验 技 术. 第 1 版. 北 京 科 技 出 版 社, 1990: 717

(1995年11月7日收稿)