

葶苈子抗心衰有效组分筛选及其作用机制分析

张国顺^{1,2}, 白义萍¹, 王小兰¹, 孙亚萍¹, 高爱社¹, 曾梦楠^{1,2},
匡海学³, 冯卫生^{1,2}, 崔瑛¹, 郑晓珂^{1,2*}

(1. 河南中医药大学 药学院, 郑州 450046; 2. 呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心, 郑州 450046; 3. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

〔摘要〕 目的:筛选葶苈子抗心衰的有效组分,并对其机制进行初步探讨。方法:雄性 SD 大鼠随机分为正常组,模型组,阳性药物组(地高辛组)和葶苈子不同剂量组,除正常组外采用腹腔注射阿霉素 6 周复制心衰大鼠模型,药物灌胃干预 4 周,大鼠代谢笼法收集 6 h 尿液,超声心动图检测心功能变化。处死后称取每组大鼠的体重和心脏质量,计算心脏系数。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清脑钠肽(BNP),肌钙蛋白 I(cTnI),血浆血管紧张素 II(Ang II),醛固酮(ALD)水平,心肌超氧化物歧化酶(SOD)活性及丙二醛(MDA)含量。采用二硫代二硝基苯甲酸法测定心肌谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力,并运用光镜观察心肌组织病理形态学改变。结果:与正常组比较,模型组大鼠 BNP,cTnI,Ang II,ALD 水平明显升高,心衰大鼠的左室射血分数(LVEF)和左室短轴缩短率(LVFS)显著降低,心肌组织 MDA 含量显著升高和 SOD,GSH-Px 活性显著降低,尿量明显降低($P<0.05$, $P<0.01$),心肌病理损伤较为明显;与模型组比较,葶苈子发挥抗心衰作用的有效组分为水部位,可以显著降低 BNP,cTnI,Ang II,ALD 水平($P<0.05$, $P<0.01$),升高心衰大鼠的 LVEF 和 LVFS($P<0.05$, $P<0.01$),并能减轻心肌病理损伤;且葶苈子中、高剂量组可以极显著降低心肌组织 MDA 含量和升高 SOD 活性($P<0.01$),具有较好的利尿作用($P<0.05$),同时中剂量组使 GSH-Px 活力显著增高($P<0.05$)。结论:葶苈子有效组分水部位能够显著改善心衰症状,其作用机制可能与改善心衰大鼠体内氧化应激失衡状态,抑制神经内分泌系统过度激活密切相关。

〔关键词〕 葶苈子;阿霉素;氧化应激;心衰

〔中图分类号〕 R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2017)04-0118-08

〔doi〕 10.13422/j.cnki.syfjx.2017040118

〔网络出版地址〕 <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161130.0906.004.html>

〔网络出版时间〕 2016-11-30 9:06

Effective Fractions and Mechanism of Descurainiae Semen Lepidii
Semen in Chronic Heart Failure Rats

ZHANG Guo-shun^{1,2}, BAI Yi-ping¹, WANG Xiao-lan¹, SUN Ya-ping¹, GAO Ai-she¹, ZENG Meng-nan^{1,2},
KUANG Hai-xue³, FENG Wei-sheng^{1,2}, CUI Ying¹, ZHENG Xiao-ke^{1,2*}

(1. College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China; 3. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

〔Abstract〕 **Objective:** To screen the effective parts of Descurainiae Semen Lepidii Semen (DSLS) that play a role in anti-heart failure and explore its mechanism. **Method:** The male sprague dawley (SD) rats were randomly divided into normal group, model group, positive drug group (digoxin group), DSLS low dose, middle dose and high dose groups. The chronic heart failure (CHF) models were established by intraperitoneal injection of

〔收稿日期〕 20160511 (010)

〔基金项目〕 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2013CB531802)

〔第一作者〕 张国顺,硕士,从事中药活性成分及作用机制研究,Tel:15093182387,E-mail:zhangguoshunshunzi@126.com

〔通讯作者〕 * 郑晓珂,博士,教授,博士生导师,从事中药活性成分及作用机制研究,Tel: 0371-65692692,E-mail:zhengxk.2006@163.com

doxorubicin for 6 weeks. The drugs were given for 4 weeks by intragastric administration; metabolic cage method was used to collect 6 h urine, and cardiac function changes were measured by ultrasonic echocardiogram. Body weight and heart weight of the rats were measured in each group to calculate the cardiac index after the rats were sacrificed. The levels of brain natriuretic peptide (BNP), cardiotroponin I (cTnI), angiotensin II (Ang II), and aldosterone (ALD) in blood, as well as the activities of superoxidedismutase (SOD) and methane picarboxylic aldehyde (MDA) contents were measured by ELISA. The activities of glutathione peroxidase (GSH-Px) in myocardial tissues were evaluated by using dithio-bis-nitrobenzoic acid (DTNB) method. Histopathological changes of myocardium were visualized under light microscope. **Result:** As compared with normal group, the levels of BNP, cTnI, Ang II and ALD were significantly higher in model group; left ventricular ejection function (LVEF) and left ventricular fractional shortening rate (LVFS) in model rats were significantly reduced; MDA content was significantly increased; SOD and GSH-Px activities were significantly reduced; urine volume was significantly reduced ($P < 0.05$, $P < 0.01$); with more obvious myocardial pathological injury. As compared with the model group, the effective fractions of DSLS significantly reduced the levels of BNP, cTnI, AngII, and ALD ($P < 0.05$, $P < 0.01$), increased LVEF and LVFS ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and reduced myocardial pathological damage in heart failure rats. Moreover, the high-dose and middle-dose DSLS groups significantly reduced content of MDA, and increased activity of SOD ($P < 0.01$), with a good diuretic effect ($P < 0.05$). Meanwhile, middle-dose group could significantly improve the activity of GSH-Px ($P < 0.05$). **Conclusion:** The water extracts from effective fractions of DSLS could significantly improve the heart failure symptoms in rats. Its mechanism may be associated with improving the unbalance of oxidative stress in vivo and inhibiting the excessive activation of neuroendocrine in CHF rats.

[**Key words**] Descurainiae Semen Lepidii Semen; doxorubicin; oxidative stress; heart failure

心衰是在静脉回流正常的情况下,由于心脏收缩和(或)舒张功能障碍,心排血量减少,并致组织灌注减少,肺循环和(或)体循环瘀血的一组病理生理综合征^[1]。目前,尽管对于心衰的诊治有了很大进步,但是心衰的发病率仍在增长,心衰已成为人类较为关注的心血管疾病之一。目前临床上常用于治疗心衰的药物有血管紧张素转换酶抑制药、利尿药、强心药及β-受体阻断药等,这些药物可以有效地扩张血管、降低心脏负荷、增加心肌收缩力,改善心衰症状。但是也伴随有副作用的产生,如引起电解质紊乱、低血压,高血钾症等,且作用靶点比较单一。因此寻找疗效好、副作用少且多途径多靶点治疗心衰的天然中药迫在眉睫。

葶苈子为十字花科植物独行菜或播娘蒿的干燥成熟种子,前者称为北葶苈子,后者称为南葶苈子。始载于《神农本草经》,列为下品。该药具有泻肺平喘、利水消肿之功效^[2]。据文献报道,葶苈子含有强心苷、硫苷和异硫氰酸、脂肪油、生物碱、黄酮、酚酸、香豆素等^[3-9]多种类型化学成分。现代药理研究表明,葶苈子对呼吸系统具有止咳平喘作用,其中芥子苷为其止咳的有效成分^[10]。葶苈子具有显著的利尿作用^[11],并可增加心脏输出量、减轻心脏负荷,是临床治疗心衰的有效药物^[12]。同时葶苈子能

降低心衰大鼠血浆血管紧张素 II 和醛固酮水平,抑制心力衰竭时神经内分泌系统的过度激活,防止心室重构^[13]。本研究主要针对葶苈子的抗心衰作用进行研究,首先对葶苈子的抗心衰作用进行考证,其次阐明其发挥抗心衰的有效组分,为葶苈子性味的药理学评价奠定基础。

本课题组在前期研究基础上,通过检索古文献并结合现代药理临床研究资料,建立了葶苈子性味药理学评价体系,前期已完成评价体系当中的葶苈子化学拆分组分止咳祛痰平喘作用研究以及醇沉组分免疫调节作用研究^[14-15]。本实验以葶苈子为研究对象,对其抗心衰作用进行研究,确定发挥抗心衰活性的有效组分,完成课题中性味归属规定的药理学实验,为性味归属奠定基础。

在国家重点基础研究发展计划(973 计划)-基于利水功效的中药药性理论研究背景下^[14-17],本实验围绕葶苈子水煎液-化学拆分组分-有效组分抗心衰药理作用研究进行展开。通过研究筛选出葶苈子水煎液抗心衰的最佳作用剂量,进而确定葶苈子发挥抗心衰作用的有效组分,为葶苈子性味药理学评价体系中葶苈子各拆分组分的性味归属提供参考依据。同时对葶苈子有效组分的作用机制进行初步探讨,为明确葶苈子抗心衰的物质基础

和相应药理作用及其深入作用机制的研究提供一定的实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD 雄性大鼠,体重 180 ~ 220 g,合格证号 SCXK(鲁)2013-0001,山东鲁抗医药股份有限公司提供。在通风、湿度适宜的清洁级动物实验室内常规饲养,自由饮食、饮水。本研究获得河南中医药大学实验动物伦理委员会批准,实验均符合中国伦理委员会有关动物研究指导原则。

1.2 药物及试剂 葶苈子购于河南省顺康医药有限责任公司中药学 31 部,经河南中医药大学药学院董诚明、陈随清教授鉴定为十字花科植物播娘蒿 *Descurainia sophia* 的干燥成熟种子。阳性药地高辛(上海信谊药厂有限公司,批号 020140201),阿霉素(山西普德药业股份有限公司,批号 021411010);脑钠肽(BNP),肌钙蛋白 I(cTnI)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(江苏卡尔文生物技术有限公司,批号均为 20150901A);超氧化物歧化酶(SOD),丙二醛(MDA) ELISA 试剂盒(江苏卡尔文生物技术有限公司,批号均为 20151201A),血管紧张素 II(Ang II)及醛固酮(ALD) ELISA 试剂盒(江苏卡尔文生物技术有限公司,批号均为 20151201A),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20151104),TM-100 型医用超声耦合剂(天津市西苑寺制作所),0.9%生理盐水(河南科伦药业有限责任公司,批号 C115010605-2)。

1.3 仪器 ACUSON Cypress 型西门子便携式彩超(美国西门子医疗系统公司),Centrifuge-5804R 型小型高速低温冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司),iMark 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司),BIOMATE 3S 型紫外分光光度计(美国 Thermo Fisher 公司),AB204-N 型 1/1 万精密分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司),KQ-500E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),ZRD-7080 型全自动鼓风干燥箱(上海智城分析仪器制造有限公司),90-3 型磁力搅拌器(上海振捷实验设备有限公司),Mills-Q-POD 型超纯水仪(苏州赛恩斯仪器有限公司),IVC 型独立通风系统及 DXL-10 型大鼠代谢笼装置(江苏苏州冯氏实验动物有限公司)。

2 方法

2.1 葶苈子水煎液制备^[1] 葶苈子 1 kg(包煎),用 10 倍量蒸馏水煎煮 2 次,每次 0.5 h,得葶苈子水煎液,合并 2 次滤液,浓缩干燥,得浸膏,提取率为 11.42%。葶苈子化学拆分组分制备^[18]为采用水煎

煮提取,水蒸汽蒸馏法,并结合萃取、醇沉、大孔吸附树脂等技术,将葶苈子拆分为成分互不交叉的 6 个部位,即挥发油组分,脂肪油组分,水洗脱组分(水部位),醇沉组分,20% 乙醇洗脱组分,80% 乙醇洗脱组分。

2.2 给药剂量及动物分组

2.2.1 葶苈子水煎液实验分组 将成模大鼠按左室射血分数(LVEF)值随机分为模型组,阳性药物组(地高辛组),葶苈子水煎液低、中、高剂量组,按 10 mL·kg⁻¹体积灌胃(ig),正常组和模型组给予同体积蒸馏水,各组连续给药 4 周。

2.2.2 葶苈子化学拆分组分实验分组 将成模大鼠按 LVEF 值随机分为模型组,地高辛药物组,20% 乙醇洗脱组分组,醇沉组分组,水部位组,脂肪油组,80% 乙醇洗脱组分组,挥发油组,葶苈子水煎液组。水煎液按前期实验筛选的作用剂量(234 mg·kg⁻¹)给予实验动物,各化学拆分组分给药剂量按得率与水煎液最佳作用剂量相当折算,按 10 mL·kg⁻¹体积 ig,连续 ig 4 周。

2.2.3 葶苈子水部位组分实验分组 将成模大鼠按 LVEF 值随机分为模型组、地高辛组、葶苈子水部位低、中、高剂量组,按 10 mL·kg⁻¹体积 ig,正常组和模型组给予同体积蒸馏水,各组连续给药 4 周。

2.3 模型的制备 SD 大鼠腹腔注射(ip)阿霉素造成大鼠心力衰竭模型。将规格 10 mg 的阿霉素溶解于 5 mL 生理盐水中,配成 2 g·L⁻¹的溶液。模型组大鼠分别于第 1,3,5 周 ip 阿霉素溶液 3 mg·kg⁻¹,于第 2,4,6 周 ip 阿霉素溶液 2 mg·kg⁻¹,正常组同时 ip 等量的生理盐水^[19-20],每周 1 次,共注射 6 次。

2.4 血清 BNP,cTnI,血浆 Ang II,ALD 水平以及心肌 SOD 活性,MDA 含量,GSH-Px 活力检测 右颈动脉取血,收集血清和血浆,高速冷冻离心机 4 ℃,3 000 r·min⁻¹离心 10 min,收取上清液,-20 ℃保存,采用 ELISA 法检测 BNP,cTnI,Ang II,ALD 水平。称取心肌组织,制成 10% 匀浆,取上清液,采用 ELISA 法检测心肌组织 SOD 活性,MDA 的含量,采用二硫代二硝基苯甲酸法检测心肌组织 GSH-Px 活力,严格按照试剂盒操作说明书执行。

2.5 大鼠心脏系数测定 采血完成后颈椎脱臼处死大鼠。常规解剖,取出心脏,用预冷 0.9%生理盐水洗涤残血,冲洗干净,滤纸吸干,称定质量,计算各组大鼠心脏系数。

心脏系数 = 脏器质量(g)/体重(kg)

2.6 心功能指标的检测 造模及给药干预后,称取体质量,用 10% 的水合氯醛进行麻醉,采用 M 型超声心动图检测:左心室舒张末期内径 (LVEDD) 和收缩末期内径 (LVESD),并计算左室射血分数 (LVEF) 和左室短轴缩短率 (LVFS),每组数据取连续 3 个心动周期的平均值^[20]。

2.7 病理学观察 取左心室心肌,10% 多聚甲醛固定 24 h 后,石蜡包埋,常规组织切片,苏木素-伊红 (HE) 染色,进行病理学观察。

2.8 尿量测量 给药 3 周后的 SD 雄性大鼠预先置于代谢笼中适应 2 d,观察饮水、尿量是否稳定。实验前禁食不禁水 18 h,实验开始时轻压腹部,排尽膀胱内余尿,称质量,ig,给药体积均为 10 mL·kg⁻¹,

表 1 葶苈子水煎液对心衰大鼠心脏系数的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	心脏质量/g	体重/g	心脏系数/g·kg ⁻¹
正常	—	1. 229 ± 0. 026	407. 63 ± 11. 82	2. 90 ± 0. 13
模型	—	1. 313 ± 0. 060	366. 25 ± 16. 74	3. 59 ± 0. 08 ²⁾
地高辛	0. 03	1. 264 ± 0. 030	399. 71 ± 20. 58	3. 19 ± 0. 09 ³⁾
葶苈子水煎液	117	1. 240 ± 0. 068	377. 00 ± 18. 46	3. 30 ± 0. 12
	234	1. 210 ± 0. 060	381. 50 ± 18. 99	3. 17 ± 0. 06 ³⁾
	468	1. 207 ± 0. 051	375. 83 ± 9. 94	3. 21 ± 0. 12 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0. 05$, ²⁾ $P < 0. 01$;与模型组比较³⁾ $P < 0. 05$, ⁴⁾ $P < 0. 01$ (表 2~8 同)。

3.1.2 葶苈子水煎液对心衰大鼠血清 BNP, cTnI 水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清 BNP, cTnI 水平显著升高 ($P < 0. 01$);与模型组比较,地高辛组、葶苈子水煎液低、中剂量组可以明显降低心衰大鼠的 BNP 水平 ($P < 0. 05$, $P < 0. 01$);葶苈子中、高剂量组可以明显降低心衰大鼠的 cTnI 水平 ($P < 0. 01$)。见表 2。

表 2 葶苈子水煎液对心衰大鼠血清 BNP, cTnI 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of ADSLS on serum BNP and cTnI level in heart failure rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	BNP/ng·L ⁻¹	cTnI/μg·L ⁻¹
正常	—	585. 67 ± 25. 69	5. 06 ± 0. 18
模型	—	662. 56 ± 53. 07 ²⁾	6. 23 ± 0. 92 ²⁾
地高辛	0. 03	605. 57 ± 24. 86 ⁴⁾	5. 16 ± 0. 42 ⁴⁾
葶苈子水煎液	117	623. 19 ± 13. 93 ³⁾	5. 79 ± 0. 27
	234	620. 33 ± 45. 26 ³⁾	5. 25 ± 0. 52 ⁴⁾
	468	633. 11 ± 36. 48	5. 28 ± 0. 44 ⁴⁾

3.2 葶苈子抗心衰作用有效组分的筛选

3.2.1 葶苈子化学拆分组分对心衰大鼠血清 BNP,

然后将大鼠分别置于代谢笼中,收集 6 h 尿液。

2.9 统计学分析 采用 SPSS 18.0 统计软件处理实验数据,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较用两样本均数的 t 检验,多组比较采用单因素方差分析,以 $P < 0. 05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 葶苈子水煎液抗心衰作用最佳剂量筛选

3.1.1 葶苈子水煎液对心衰大鼠心脏系数的影响 与正常组比较,模型组的心脏系数显著升高 ($P < 0. 01$);与模型组比较,地高辛组、葶苈子水煎液中、高剂量组可以明显降低心衰大鼠的心脏系数 ($P < 0. 05$)。提示葶苈子水煎液中、高剂量组具有一定的抑制心衰大鼠心肌肥厚的作用。见表 1。

cTnI 水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清 BNP, cTnI 水平显著升高 ($P < 0. 01$);与模型组比较,葶苈子 20% 组分、水部位组分可以明显降低心衰大鼠血清 BNP, cTnI 水平 ($P < 0. 05$, $P < 0. 01$)。见表 3。

表 3 葶苈子化学拆分组分对心衰大鼠血清 BNP, cTnI 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effect of chemical split fractions of Descurainiae Semen Lepidii Semen (CDSLS) on serum BNP and cTnI level in heart failure rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	BNP/ng·L ⁻¹	cTnI/μg·L ⁻¹
正常	—	564. 57 ± 27. 40	2. 94 ± 0. 22
模型	—	753. 14 ± 22. 02 ²⁾	5. 30 ± 0. 26 ²⁾
地高辛	0. 03	596. 83 ± 51. 68 ⁴⁾	3. 31 ± 0. 18 ⁴⁾
20% 组分	420	653. 08 ± 42. 97 ³⁾	3. 55 ± 0. 25 ⁴⁾
醇沉组分	54. 07	704. 21 ± 39. 44	5. 22 ± 0. 61
水部位组分	102. 67	608. 50 ± 19. 25 ⁴⁾	3. 63 ± 0. 25 ⁴⁾
脂肪油组分	638. 82	801. 00 ± 39. 94	4. 70 ± 0. 39
80% 组分	16. 50	710. 07 ± 37. 06	5. 05 ± 0. 44
挥发油组分	3. 74	722. 93 ± 33. 89	5. 17 ± 0. 69
水煎液	234	648. 14 ± 15. 82 ³⁾	3. 82 ± 0. 22 ⁴⁾

3.2.2 葶苈子化学拆分组分对心衰大鼠心功指标的影响 与正常组比较,模型组心功能显著降低,LVESD 和 LVEDD 显著增加,LVEF 和 LVFS 显著降

低($P<0.01$)。与模型组比较,葶苈子 20% 组分、葶苈子水部位组分可以明显改善心衰大鼠的 LVEF 值和 LVFS 值($P<0.05,P<0.01$)。见表 4。

表 4 葶苈子化学拆分组分对心衰大鼠心功指标的影响($\bar{x}\pm s,n=8$)
Table 4 Effect of CDSLS on left ventricular function in heart failure rats($\bar{x}\pm s,n=8$)

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	LVESD/mm	LVEDD/mm	LVEF/%	LVFS/%
正常	—	2.39±0.10	5.64±0.20	84.81±0.50	55.76±0.69
模型	—	3.47±0.15 ²⁾	6.57±0.27 ²⁾	66.47±4.37 ²⁾	40.47±2.44 ²⁾
地高辛	0.03	2.83±0.90 ⁴⁾	5.70±0.18 ⁴⁾	82.74±0.98 ⁴⁾	53.47±1.10 ⁴⁾
20% 组分	24.87	2.95±0.13 ³⁾	5.93±0.10 ³⁾	75.75±0.86 ⁴⁾	47.09±0.99 ⁴⁾
醇沉组分	54.07	3.38±0.19	6.35±0.17	71.16±2.53	44.63±3.16
水部位组分	102.67	2.88±0.25 ⁴⁾	5.90±0.22 ³⁾	79.35±1.49 ⁴⁾	50.69±1.63 ⁴⁾
脂肪油组分	638.82	3.06±0.80	6.18±0.20	69.81±0.66	43.49±0.95
80% 组分	16.50	3.57±0.15	6.17±0.14	71.46±1.78	42.20±1.82
挥发油组分	3.74	3.55±0.19	6.18±0.10	71.82±2.20	42.66±2.32
水煎液	233.77	3.18±0.16	5.99±0.11 ³⁾	73.19±0.91 ³⁾	49.44±1.83 ⁴⁾

3.2.3 葶苈子化学拆分组分对心衰大鼠尿量的影响 与正常组比较,模型组的大鼠尿量显著减少($P<0.01$);与模型组比较,水部位组分的大鼠尿量明显增加($P<0.05$),提示葶苈子水部位组分具有一定的利尿作用,从而缓解心衰大鼠的水肿状况。见表 5。

3.3 葶苈子水部位的抗心衰药理活性研究

3.3.1 葶苈子水部位对心衰大鼠心功能指标的影响 与正常组比较,模型组心功能显著降低,LVESD 和 LVEDD 显著增加,LVEF 和 LVFS 值显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,葶苈子水部位低、中、高剂量组可以显著改善心衰大鼠的 LVEF 值,且中、高剂量组可以降低 LVESD 和 LVEDD,升高 LVFS 值($P<0.05,P<0.01$)。见表 6。

表 5 葶苈子化学拆分组分对心衰大鼠尿量的影响($\bar{x}\pm s,n=8$)
Table 5 Effect of CDSLS on urine output in heart failure rats($\bar{x}\pm s,n=8$)

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	6 h 尿量/ $\text{mL}\cdot(100\text{ g})^{-1}$
正常	—	1.83±0.30
模型	—	0.99±0.09 ²⁾
地高辛	0.03	1.27±0.12
20% 组分	24.87	1.15±0.13
醇沉组分	54.07	1.23±0.20
水部位组分	102.67	1.56±0.09 ³⁾
脂肪油组分	638.82	0.81±0.25
80% 组分	16.50	1.30±0.12
挥发油	3.74	1.25±0.14
水煎液	233.77	1.65±0.29 ³⁾

表 6 葶苈子水部位对心衰大鼠心功指标的影响($\bar{x}\pm s,n=8$)
Table 6 Effect of water elution compositions of Descurainiae Semen Lepidii Semen(WDSLS) on left ventricular function in heart failure rats($\bar{x}\pm s,n=8$)

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	LVESD/mm	LVEDD/mm	LVFS/%	LVEF/%
正常	—	3.00±0.17	5.95±0.24	52.26±1.50	81.70±0.43
模型	—	3.61±0.10 ²⁾	6.83±0.13 ²⁾	44.09±1.78 ²⁾	69.54±1.79 ²⁾
地高辛	0.03	3.07±0.10 ⁴⁾	6.17±0.23 ³⁾	50.01±2.22 ³⁾	78.43±2.13 ⁴⁾
葶苈子水部位	51.34	3.33±0.15	6.50±0.24	48.87±0.96	77.76±0.84 ⁴⁾
	102.67	3.17±0.14 ³⁾	6.18±0.15 ³⁾	48.79±1.72	77.59±1.44 ⁴⁾
	205.34	2.92±0.05 ⁴⁾	5.98±0.26 ⁴⁾	50.77±2.41 ³⁾	78.04±1.10 ⁴⁾

3.3.2 葶苈子水部位对心衰大鼠心肌组织 SOD 活性,MDA 含量,GSH-Px 活力的影响 与正常组比

较,模型组大鼠心肌组织 MDA 含量显著升高,SOD 活性,GSH-Px 活力显著下降($P<0.01$)。与模型组

比较,葶苈子水部位中、高剂量组可以显著降低心肌组织 MDA 含量和升高 SOD 活性($P < 0.01$),且中剂量组使 GSH-Px 活力显著增高($P < 0.05$)。见表 7。

表 7 葶苈子水部位对心衰大鼠心肌 SOD 活性,MDA 含量,GSH-Px 活力的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 7 Effect of WDSLS on content of MDA,activity of SOD and GSH-Px in heart failure rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	SOD/ $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$	MDA/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	GSH-Px/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$
正常	—	171.73 $\pm$ 8.98	6.58 $\pm$ 0.28	428.02 $\pm$ 38.64
模型	—	107.40 $\pm$ 5.56 ²⁾	13.90 $\pm$ 0.86 ²⁾	208.79 $\pm$ 18.99 ²⁾
地高辛	0.03	126.40 $\pm$ 10.37	10.75 $\pm$ 0.29 ⁴⁾	272.39 $\pm$ 6.76 ³⁾
葶苈子水部位	51.34	121.73 $\pm$ 7.77	12.18 $\pm$ 0.34	197.22 $\pm$ 7.76
	102.67	159.07 $\pm$ 21.85 ⁴⁾	11.10 $\pm$ 0.80 ⁴⁾	284.55 $\pm$ 38.75 ³⁾
	205.34	162.73 $\pm$ 11.40 ⁴⁾	11.93 $\pm$ 0.54 ⁴⁾	262.70 $\pm$ 14.06

3.3.3 葶苈子水部位对心衰大鼠血浆 Ang II,ALD 水平及尿量的影响 与正常组比较,模型组大鼠大鼠血浆 Ang II,ALD 水平显著升高,尿量显著减少($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,水部位组分低、中、高剂量组可以显著降低 AngII,ALD 的水平,且中、高剂量组大鼠尿量显著增加($P < 0.05$)。见表 8。

表 8 葶苈子水部位对心衰大鼠血浆 Ang II,ALD 水平及尿量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

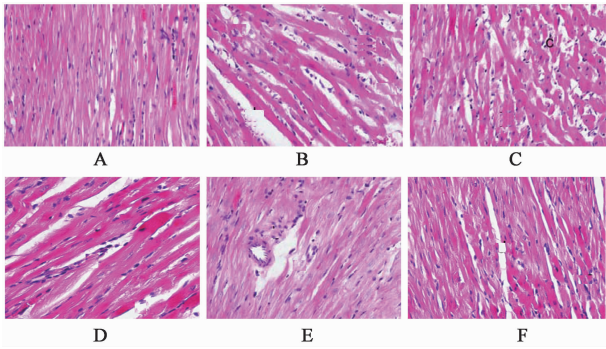
Table 8 Effect of WDSLS on plasma Ang II,ALD and urine level in heart failure rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Ang II/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	ALD/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	6 h 尿量/ $\text{mL} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$
正常	—	236.35 $\pm$ 10.45	188.17 $\pm$ 11.82	1.87 $\pm$ 0.23
模型	—	281.59 $\pm$ 5.35 ²⁾	282.38 $\pm$ 20.96 ²⁾	0.99 $\pm$ 0.10 ¹⁾
地高辛	0.03	248.85 $\pm$ 12.29 ³⁾	204.04 $\pm$ 9.91 ⁴⁾	1.43 $\pm$ 0.27
葶苈子水部位	51.34	245.90 $\pm$ 7.70 ³⁾	231.07 $\pm$ 12.90 ³⁾	1.10 $\pm$ 0.25
	102.67	242.81 $\pm$ 11.28 ⁴⁾	223.16 $\pm$ 11.79 ³⁾	1.85 $\pm$ 0.25 ³⁾
	205.34	250.34 $\pm$ 6.09 ³⁾	228.50 $\pm$ 10.52 ³⁾	1.84 $\pm$ 0.30 ³⁾

3.3.4 葶苈子水部位对心衰大鼠心肌组织病理的影响 光镜下,正常组心肌组织结构层次清晰,排列整齐,心肌纤维成粉红色,细胞间隙正常,未见水肿,组织间隙无炎性细胞浸润。模型组细胞间隙明显增宽,大量炎性细胞浸润、水肿,心肌纤维排列紊乱,胞浆空泡变性。地高辛组心肌纤维排列紊乱、水肿、疏松。葶苈子水部位低、中、高剂量组心肌病变均明显轻于模型组,尤以中、高剂量组改善最为明显,心肌纤维束排列,水肿和炎性细胞浸润明显减少,未见空泡,细胞间隙明显变窄。见图 1。

4 讨论

阿霉素为蒽环类抗生素,在临床上常用于治疗恶性肿瘤,但其具有严重的心肌毒性,会导致不可逆性的心肌病和充血性心力衰竭^[21]。利用阿霉素的心肌毒性制备心力衰竭大鼠模型,是近年来比较公认的动物造模方法之一^[22]。本实验通过 ip 阿霉素诱导慢性心衰大鼠模型(CHF),实验结果显示,模型组大鼠与正常组比较,LVEF,LVFS 显著降低,说明心脏的收缩和舒张均明显受损。心肌病理切片



A. 正常组;B. 模型组;C. 地高辛组;D. 水部位 51.34 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;E. 水部位102.67 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;F. 水部位 205.34 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组

图 1 大鼠心肌组织病理学变化(HE, $\times 400$)

Fig.1 Pathological changes of myocardial tissue in heart failure rats(HE, $\times 400$)

显示,模型组大鼠细胞间隙明显增宽,大量炎性细胞浸润,水肿,心肌纤维排列紊乱,胞浆空泡变性,以上结果均表明该模型复制成功。

BNP 是一种心脏神经激素,主要来源于心脏的心室中,它在血中的含量与心室壁张力直接相关,可

敏感和特异性地反映左室功能的变化。近年来国际上普遍使用 BNP 作为目前最好的用于评价心力衰竭的实验室指标^[23]。同时 cTnI 是心肌损伤高度特异和敏感的标志物,LVEF 可以反应左室的射血能力, LVFS 可以反应心室收缩的幅度,二者共同反映心室的收缩和舒张功能。因此本实验选用 BNP, cTnI, LVEF, LVFS 等指标来评价心衰大鼠心肌损伤及心室功能受损情况。本实验首先进行了葶苈子水煎液抗心衰作用最佳剂量的筛选,实验结果表明,葶苈子水煎液中剂量组可以显著降低心衰大鼠的心脏系数, BNP 和 cTnI 水平,因此以葶苈子水煎液中剂量作为最佳作用剂量。接着开展了葶苈子抗心衰作用有效组分的筛选,实验结果表明,葶苈子水部位可以显著降低心衰大鼠血清 BNP, cTnI 水平,升高心衰大鼠的 LVEF 值和 LVFS 值,且具有很好的利尿作用,从而来改善心衰大鼠状况。水部位组分抗心衰作用与其他组分比较较佳,揭示葶苈子水部位可能为其抗心衰的有效组分,需要有待进一步的验证。

心衰的发生和发展是一个进行性过程,其病理生理机制极其复杂。近年来研究显示在心力衰竭的形成过程中,体内氧化/抗氧化失衡是其重要机制^[24]。阿霉素所致心力衰竭主要是心肌组织自由基生成引起膜脂质过氧化反应,破坏细胞膜结构的完整性^[25]。应用阿霉素后,心肌氧化应激反应增强。体内过量自由基的清除需要依靠 SOD, GSH-Px 等重要的抗氧化酶,因此测定 SOD, GSH-Px 活力可反映心肌内抗氧化防御能力的变化。而 MDA 是引发脂质过氧化反应的主要产物,因此测定其含量可反映体内脂质过氧化损伤和氧化应激水平。实验结果显示,模型组大鼠心肌组织中的 SOD, GSH-Px 活力显著下降,而 MDA 的含量却显著上升,提示阿霉素作用于心脏后,造成了心肌组织的脂质过氧化,产生了氧化应激。心功能的下降与氧化应激密切相关,血清 BNP, cTnI 水平显著升高也恰好印证了这一点。给予葶苈子水部位干预后,中、高剂量组可以显著降低心肌组织 MDA 含量,说明其可以有效的抑制脂质过氧化反应,消弱自由基对心肌的损伤,从而对心脏起到保护作用。同时中、高剂量组升高心肌组织 SOD 活性,且中剂量组使 GSH-Px 活力显著增高,增强机体抗氧化应激的防御能力,并提高心肌清除氧自由基的能力,从而使体内氧化/抗氧化失衡恢复到平衡状态。

在心衰的发生和发展过程中,始终伴随有神经内分泌的激活,神经内分泌细胞因子的改变也是

CHF 发生发展的重要机制之一^[26]。血浆 Ang II, ALD 是重要的神经内分泌细胞因子。正常情况下, Ang II 具有维持血管张力,兴奋交感神经和调控 ALD 分泌的作用^[27]。病理情况下, Ang II 生成增多, ALD 分泌增加,导致水钠潴留,血容量升高,增加心脏前负荷,造成静脉淤血,引发水肿,进一步加重心脏负担,损害心功能。在实验过程中,笔者发现模型组大鼠出现了精神不振、行动迟缓、腹部脱毛、腹泻、腹部积水、水肿等现象。有文献报道治疗心衰的重要环节是利尿消肿,通过利尿消肿可以有效地减轻心脏的前负荷,有利于心衰的恢复^[28]。实验结果显示,与模型组比较,葶苈子水部位组分低、中、高剂量组可以明显降低 Ang II, ALD 水平,且中、高剂量组大鼠尿量明显增加,提示葶苈子水部位可能通过抑制神经内分泌系统的过度激活,减少 Ang II 和 ALD 的释放,降低心脏负荷,改善心衰水肿状况,进而达到改善心室功能的作用。

综上所述,葶苈子水部位可能为其抗心衰作用的有效组分,其发挥心脏保护的作用机制与改善体内氧化应激状态,抑制神经内分泌系统的过度激活,减轻心衰水肿状况密切相关。此外,笔者发现葶苈子水部位存在显著量效关系,中、高剂量的药效学作用明显,低剂量在某些方面作用并不明显。与地高辛组效果比较,中、高剂量的葶苈子水部位药效作用较好。葶苈子水部位用量不及葶苈子水煎液 1/2,但能达到甚至比水煎液的抗心衰效果还要好,充分体现了有效组分“量减效增”的趋势。本研究初步阐释了葶苈子具有显著的抗心衰作用,并筛选出最佳给药剂量,确认发挥药效作用的有效组分,为后期葶苈子性味归属提供了理论支撑。

[参考文献]

[1] 张凤芹,葛向党,王辰. 参草通脉颗粒对慢性心衰大鼠心功能和 BNP 影响的相关性研究[J]. 辽宁中医杂志, 2012, 39(4): 706-708.

[2] 李靖珺. 浅谈葶苈子的药理作用[J]. 大家健康: 学术版, 2014, 8(18): 30.

[3] SUN K, LI X, LI W, et al. Two new lactones and one new aryl-8-oxa-bicyclo [3, 2, 1] oct-3-en-2-one from *Descurainia sophia* [J]. Chem Pharm Bull, 2004, 52(12): 1483-1486.

[4] 陈建美,管荣展. 播娘蒿种子中几种硫苷的提取及鉴定[J]. 西北植物学报, 2006, 26(6): 1231-1235.

[5] 钱利武,蒋继宏,高雪芹,等. 娘蒿种子脂肪油组分的 GC-MS 分析[J]. 植物资源与环境学报, 2006, 15(1): 76-77.

[6] 孙凯,李锐,康兴东,等. 南葶苈子的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报,2012,22(3):181-182.

[7] 王爱芹,王秀坤,李军林,等. 南葶苈子化学成分的分
离与结构鉴定[J]. 药学学报,2004,39(1):46-51.

[8] 陈滴,刘昕,杨晓虹,等. 南葶苈子化学成分研究[J].
特产研究,2010,32(2):62-63.

[9] Mohamedl N H, Mahrous A E. Chemical constituents of
Descurainia sophia L. and its biological activity [J].
Rec Nat Prod,2009,3(1):58-67.

[10] 王妍,贡济宇. 葶苈子的化学成分及药理作用研究
[J]. 长春中医药大学学报,2008,24(1):39-40.

[11] 张晓丹,范春兰,余迎梅,等. 葶苈子水提液对 CHF 大
鼠利尿作用的影响[J]. 中国现代应用药学,2010,27
(3):210-213.

[12] 周淑平. 于作盈教授应用香加皮葶苈子治疗心衰的
经验研究[J]. 中国中医急症,2014,23(2):271.

[13] 郭娟,陈长勋,沈云辉. 葶苈子水提液对动物实验性
心室重构的影响[J]. 中草药,2007,38(10):
1519-1523.

[14] 杨云,赫金丽,孙亚萍,等. 葶苈子化学拆分组分止咳
祛痰平喘作用研究[J]. 世界科学技术—中医药现代
化,2015,17(3):514-519.

[15] 郑晓珂,杨梦,白义萍,等. 葶苈子醇沉组分免疫调节
作用研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2015,
17(3):507-513.

[16] 郑晓珂,袁培培,克迎迎,等. 桑白皮水煎液及化学拆
分组分降糖作用研究[J]. 世界科学技术—中医药现
代化,2014,16(9):1957-1966.

[17] 郑晓珂,李玲玲,曾梦楠,等. 桑白皮水煎液及各化学
拆分组分利尿作用研究[J]. 世界科学技术—中医药
现代化,2014,16(9):1946-1950.

[18] 张明辉,张艳丽,赵威,等. 南葶苈子化学拆分工艺研
究[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2015,17(3):
476-484.

[19] 王娜,张建平,徐华洲,等. 补中益气汤对阿霉素诱导
心衰大鼠的保护作用[J]. 中国中药杂志,2011,36
(4):508-510.

[20] 金娟,马林沁,邹国良,等. 参芪益心方对慢性心力衰
竭大鼠心肌组织 Caspase-3 及 Caspase-9 蛋白表达的
影响[J]. 世界中西医结合杂志,2014,9(2):
151-155.

[21] Ammar H I, Saba S, Ammar R I, et al. Erythropoietin
protects against doxorubicin-induced heart failure [J].
Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 301 (6) :
2413-21.

[22] 陈书琴,陈桃,朱红枫. 血管紧张素 II 型受体阻断剂
对心力衰竭大鼠心肌细胞凋亡及 Bax、Bcl-2 蛋白表
达的影响[J]. 临床儿科杂志,2010,28(6):580-583.

[23] 王佳佳,臧爱民,霍然. 右丙亚胺对紫杉醇所致心脏
损伤影响[J]. 医学研究与教育,2013,30(2):16-20.

[24] 司晓云,程友琴,李小鹰,等. 经胃肠道给予氯化血红
素对压力负荷性心衰大鼠氧化应激状态的影响[J].
中华老年多器官疾病杂志,2010,9(3):268-271.

[25] 曾瑾,崔凤娟,王海珍,等. 阿霉素诱导和腹主动脉缩
窄术复制大鼠慢性心力衰竭模型的比较[J]. 皖南医
学院学报,2014,33(3):189-192.

[26] 刘学会,樊光辉. 中医药对慢性心衰神经内分泌和细
胞因子影响的研究概述[J]. 中西医结合心脑血管病
杂志,2013,11(7):853-859.

[27] 缪萍,裘福荣,曾金,等. 四逆汤及其不同配伍方对心
力衰竭大鼠的保护作用及机制探讨[J]. 中国实验方
剂学杂志,2015,21(5):138-142.

[28] 曾真,张永萍. 心衰宁不同剂型对血流动力学的影响
[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(13):169-171.

[责任编辑 周冰冰]