

银杏叶总黄酮对实验性心肌缺血的影响

刘 赛¹ 王春波¹ 孙家钧² 王青青¹

(1 青岛医学院药理教研室; 青岛, 266021 2 中山医科大学药理教研室)

摘要 目的: 观察银杏叶总黄酮(TFGb)抗心肌缺血的作用。方法: 采用结扎家兔冠状动脉前降支造成急性心肌梗塞的病理模型, 用心电图、血清磷酸肌酸激酶活性和梗死面积评价 TFGb 对心肌缺血的保护作用。结果: TFGb(16.7 mg·kg⁻¹·d⁻¹, ip, 连续用药 14 d)可明显降低心肌梗塞兔 EKG 中 ST 段异常抬高的总幅度以及病理性 Q 波的出现数; 并显著抑制心肌组织磷酸肌酸激酶释放。硝基四氮唑蓝染色显示, 预先用 TFGb 可使心肌梗塞范围明显缩小。结论: TFGb 对心肌缺血性损伤具有保护作用。

关键词 银杏/药理学; 黄酮类/药理学; 心肌缺血/药物治疗

中图分类号 R 363; 972

Effects of Total Flavone of *Ginkgo biloba* on Experimental Myocardial Ischemia

Liu Sai¹ Wang Chunbo¹ Sun Jiajun² Wang Qingqing¹

(1 Department of Pharmacology, Qingdao Medical College, Qingdao, 266021

2 Department of Pharmacology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences)

Abstract Objective: To observe the protective effect of total flavone of *Ginkgo biloba* (TFGb) on myocardial ischemia. **Methods:** The experimental myocardial infarction was induced by high level ligation of the anterior descending of the left coronary artery in rabbits. The protective effects were determined by the changes in ECG, the activity of serum creatin phosphorase and infarct sizes. **Result:** TFGb 16.7 mg·kg⁻¹ i. p. for 14 d remarkably decreased the sum of S-T segment elevation (SST) and the number of S-T elevating leads (NST) and the number of Q-wave (NQ) in ECG. The infarct size as indicated by N-BT staining, was reduced. The activity of CPK in serum was lowered. **Conclusions:** TFGb have protective effects on experimental myocardial ischemia injury.

Subject headings *ginkgo biloba* / pharmacology; flavone/pharmacology; myocardial ischemia/drug therapy

银杏树为银杏科植物银杏(*ginkgo biloba* L.), 又名公孙树, 是我国的特产植物。据《本草》记载, 银杏具有敛肺平喘、止遗尿、白带的功能。近 30 年来, 国内外学者对银杏的化学成分、药理作用及应用等方面进行了广泛深入的研究。发现银杏叶提取物可扩张冠状血管, 增加冠脉血流量, 对急性脑缺血有保护作用, 可增加脑血流量, 改善缺血组织的能量代谢。另外, 银杏叶内酯是血小板活化因子受体拮抗药, 有抗血栓、抗氧化、抗衰老等作用^[1-6]。银杏叶中黄酮类化合物含量较高, 有黄酮、黄酮醇及其甙类、儿茶素类和双黄酮类^[4]。本

研究旨在观察银杏叶的总黄酮(total flavone of *ginkgo biloba*, TFGb)对实验性心肌缺血的影响。采用结扎兔冠状动脉前降支造成急性心肌梗塞模型, 以体表心电图、染色定量组织学和酶学等方法研究 TFGb 抗心肌缺血的作用。

1 材料与方 法

1.1 材 料

药品及试剂: TFGb 由沈阳药学院提供; 普萘洛尔(propranolol, Prop)系济南东风制药厂产品; 肌酸

磷酸激酶(CPK)试剂由美国TECH-CO. INC 生产; 氯化硝基四氮唑蓝(N-BT)由军事医学科学院提供, 用pH 7.4磷酸缓冲液配制成2.5 g/L溶液。

动物: 实验用杂种兔, 由青岛医学院实验动物科提供。

1.2 方法

取健康家兔24只, 体质量(2.7 ± 0.8) kg, 雌雄兼用。随机分为3组, 即TFGb组($16.7 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$)、阳性药对照组(Prop) $10 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 及生理盐水(NS)对照组, 均由食道灌胃给药, 连续用药14 d。次日用普鲁卡因局部麻醉后, 除去第4肋软骨, 从胸膜外对家兔冠状动脉前降支进行高位双重结扎, 关闭切口, 以形成急性心肌梗死模型^[6]。结扎冠脉前、结扎后1 h、2 h、4 h、24 h、48 h分别记录兔胸前多导联心电图, 共测定12个检测点^[7], 观察各组动物在冠脉结扎后心电图(ECG)的变化情况。

冠脉结扎24 h后, 经心脏取兔血, 按照TECH-CO. INC 公司CPK试剂比色法, 测定血清CPK活性。结扎48 h后, 处死兔, 迅速取出心脏, 经生理盐水冲洗, 用滤纸吸干水分, 除去心外组织后称重。在结扎线以下平行于冠状沟均等地将心室横切成5片, 称重, 并置于2.5 g/L N-BT溶液中(37°C)染色15 min, 切下不着色的梗死心肌, 根据称重结果计算梗死区心肌占心室质量的百分比^[7], 比较各组动物间的差异。

2 结果

2.1 TFGb对兔胸前多导联ECG的影响

结扎对照组兔冠状动脉前降支后, ECG中ST段电压和结扎前比较有明显抬高, 呈弓背形, 并有病理性Q波出现。结扎48 h内, ECG多个胸前导联ST段异常升高等于或超过2 mV的总和(SST, 量符U)达(108 ± 38) mV; TFGb组和Prop对照组兔在结扎48 h内SST明显低于NS组, 差异有统计学意义(TFGb组和对照组比较 $P < 0.05$, Prop组和NS组比较 $P < 0.01$), 见表1。ST段异常抬高的导联数(NST, 量符 n_{ST})以及各导联ST段移位的平均值(MST, 即SST/标测点数, 量符 U_n)也明显低于NS组(FGb组和对照组比较 $P < 0.05$, Prop组和NS组比较 $P < 0.01$), 见表2。NS组在结扎2 h至48 h, 病理性Q波在ECG上的出现次数(NQ, 量符 n_a)为35次, TFGb组和Prop组比较, NQ则明显减少

(TFGb组和对照组比较 $P < 0.05$, Prop组和NS组比较 $P < 0.01$, 见表2。

表1 TFGb对家兔冠脉结扎后各观察时间心电图SST的影响

Table 1 Effect of TFGb on SST of ECG in rabbits in which the coronary blood flow had blocked with ligation

| $t^{1)}/\text{h}$ | $(n = 8, \bar{x} \pm s, U/\text{mV})^{2)}$ | | |
|-------------------|--------------------------------------------|-----------------|------------------|
| | NS group (I) | TFGb group (II) | Prop group (III) |
| 1 | 14.6 ± 4.1 | 5.7 ± 2.3 | 6.8 ± 3.3 |
| 2 | 19.2 ± 3.9 | 9.6 ± 4.8 | 8.2 ± 3.2 |
| 4 | 32.0 ± 11.0 | 4.7 ± 2.2 | 4.1 ± 1.6 |
| 24 | 26.3 ± 5.5 | 4.7 ± 1.7 | 2.8 ± 1.1 |
| 48 | 15.7 ± 2.6 | 3.5 ± 1.6 | 2.4 ± 1.4 |

1) t : time after ligation; 2) Comparison in group: 1 h: I and II, $P < 0.01$. I and III $P < 0.01$. 2 h: I and II, $P < 0.05$. I and III $P < 0.01$. 4 h: I and II, $P < 0.01$. I and III, $P < 0.01$. 24 h: I and II, $P < 0.01$. I and III $P < 0.01$. 48 h: I and II, $P < 0.01$. I and III $P < 0.01$

表2 TFGb对冠脉结扎48 h内家兔心电图的影响

Table 2 Effect of TFGb on ECG in rabbits in which the coronary artery had been ligated for 48 h ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

| | NS group (I) | TFGb group (II) | Prop group (III) |
|-------------------|------------------|-----------------|------------------|
| SST(U/mV) | 108.0 ± 30.9 | 28.2 ± 4.3 | 24.3 ± 2.1 |
| NST($n_{ST}/1$) | 37.0 ± 17.0 | 12.4 ± 5.2 | 9.0 ± 4.0 |
| MST(U/mV) | 1.8 ± 0.6 | 0.5 ± 0.2 | 0.4 ± 0.2 |
| NQ($n_Q/1$) | 35.0 ± 11.0 | 22.4 ± 2.9 | 4.0 ± 2.5 |

Comparison in group SST: I and II, $P < 0.01$. I and III $P < 0.01$. NST: I and II, $P < 0.01$. I and III $P < 0.01$. MST: I and II, $P < 0.01$. I and III $P < 0.01$. NQ: I and II, $P < 0.05$. I and III $P < 0.01$

2.2 TFGb对兔冠脉结扎后血清CPK活性和心肌梗塞面积的影响

NS组兔在冠脉结扎24 h后血清CPK活性明显升高, 达(2373 ± 304) $\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$, 远高于正常值; 而TFGb组和Prop组的CPK活性分别为(2106 ± 93) $\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$ 和(1979 ± 210) $\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$, 明显低于NS组, 差异有统计学意义, (TFGb组与NS组比较 $P < 0.05$, Prop组和NS组比较 $P < 0.01$)。用N-BT法染色表明: 结扎冠脉的NS组, 其梗塞区心肌占心室重量的(20.7 ± 3.7)%, 而在TFGb组和Prop组分别为(13.3 ± 3.7)%和(9.1 ± 1.6)%。

3 讨论

研究心肌缺血药物多用结扎冠脉引起的急性心肌缺血的动物模型,由于兔标本可以在胸膜外暴露心脏结扎冠脉,对动物的心脏功能影响较少,本文作者用此标本探讨 TFGb 对急性心肌缺血损伤的保护作用。评价心肌缺血性的损害有电生理指标,酶学指标和病理指标,各有优缺点,其中 ECG 的 ST 段的电压变化幅度可基本反映心肌缺血的严重程度^[8], ECG 胸前导联 ST 段电压异常抬高总和(SST)可定量代表心肌梗塞范围, NST 和 MST 可作为表示心肌损伤梗塞范围的参考指标^[5], 病理性 Q 波对确定心肌梗塞也有一定意义^[9]。本文研究结果表明, TFGb 16.7 mg·kg⁻¹, 腹腔注射, 连续用药 14 d), 可使冠脉结扎后的兔 ECG 中 SST、NST、MST 及 NQ 明显降低, 说明该药能减轻心肌缺血性损伤, 血清 CPK 活性增加被认为是心肌细胞损伤最敏感的指标之一, 与心肌坏死程度呈正相关, 因此测定血清 CPK 活性对于判断心肌缺血损伤的程度和范围很有价值^[10], 预先给予 TFGb 可明显降低结扎冠脉所致的血清 CPK 活性, 缩小 N-ST 染色显示的梗塞面积, 因此从多个角度证明了 TFGb 对缺血性心肌有明显保护作用。

尽管 TFGb 对缺血心肌的保护作用和本研究用的阳性对照药普萘洛尔相近, 后者是 β 受体阻断药, 通过减慢心率减少心脏做功而起效, 然而本品的化学结构为黄酮类, 和儿茶酚胺的空间结构差异很大, 故不大可能是通过阻断 β 受体起效, 而有其它的作用原理。心肌在缺血时氧自由基生成增多, 自由基清除酶(SOD)活性降低, 过多的氧自由基可对心肌细胞产生脂质过氧化作用, 加重心肌损伤。

银杏叶中的黄酮类化合物有明显的抗氧化作用, 并具有 SOD 的活性^[2], TFGb 抗心肌缺血机理可能与此有关, 值得进一步探索。另外银杏叶提取物也能扩张冠状血管, 增加冠脉血流量, 对抗血小板活化、抑制血小板聚集, 并改善缺血组织的能量代谢^[4], 这些作用是否和 TFGb 改善心肌缺血损伤有关, 也值得进一步研究。

参 考 文 献

- 1 中国医学科学院药物研究所等编著. 中药志(第3册). 北京: 人民卫生出版社, 1984. 296~297
- 2 杨义芳, 吴国有. 银杏叶药理研究概况(I). 现代应用药学, 1995, 12(5): 12
- 3 杨义芳, 吴国有. 银杏叶药理研究概况(II). 现代应用药学, 1995, 12(6): 5
- 4 游松, 姚新生, 陈英杰. 银杏的化学及药理研究进展. 沈阳药学院学报. 1988, 5(2): 142
- 5 Oberpichler S H, Kniegstein J. Pharmacological effects of *Ginkgo biloba* extracts and constituents. Pharm Unserer Zeit, 1992, 21(5): 224
- 6 李仪奎. 中药药理实验方法学. 上海: 上海科技出版社, 1991. 125~126
- 7 方云祥, 汤显良, 陈修. 家兔实验性心肌梗塞模型的改进和梗塞范围定量的动态观察. 湖南医学院学报, 1980, 5(3): 229
- 8 Braunward E, maroko P R. S-T segment mapping: realistic unrealistic expectations. Circulation, 1976, 54: 529
- 9 Ku D D, Lucchese B R. Effects of dimethyl propranolol(UM-272; SC-27761) on myocardial ischemic injury in the canine heart after temporary coronary artery occlusion. Circulation, 1978, 57(3): 541
- 10 Hillis L D, Braunward E. Myocardial ischemia (second of the parts). N Engl Med J, 1977, 296: 1034

(1998-05-08 收稿 1998-08-10 修回)

· 简 讯 ·

杨培增入选国家教育部 1998 年“跨世纪 优秀人才培养计划”

经各学校严格遴选、推荐, 教育部组织专家评审后, 1998 年度在生命科学、地学和环境科学 3 个领域共评出 60 名年轻学者获教育部“跨世纪优秀人才培养计划”的资助, 从 1999 年开始至 2001 年, 资助 30 万元。广东省 4 名年轻学者获资助, 我校眼科中心杨培增教授是其中之一。

(冯世容)