

[药 理]

## 桑白皮有效部位对心衰大鼠心功能的影响

郑晓珂<sup>1,4</sup>, 白义萍<sup>1,4</sup>, 张国顺<sup>1,4</sup>, 高爱社<sup>1</sup>, 王小兰<sup>1</sup>, 王晓帆<sup>1</sup>, 孙亚萍<sup>1,4</sup>, 王振涛<sup>2</sup>, 匡海学<sup>3</sup>, 冯卫生<sup>1,4\*</sup>

(1. 河南中医学院药学院, 河南 郑州 450046; 2. 河南中医学院第二附属医院, 河南 郑州 450000; 3. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 4. 呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心, 河南 郑州 450046)

**摘要: 目的** 探讨桑白皮 *Mori Cortex* 有效部位对心衰大鼠心功能及肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS) 的影响。

**方法** 多次腹腔注射 2 mg/mL 阿霉素诱导 SD 大鼠慢性心衰。将成模大鼠随机分为模型组, 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 组, 卡托普利组, 桑白皮脂肪油、醇沉、30% 乙醇洗脱、50% 乙醇洗脱、80% 乙醇洗脱、水煎液组, 每组 8 只, 灌胃给药 4 周; 另取 8 只 SD 大鼠作为空白组, 灌胃蒸馏水 4 周。采用大鼠代谢笼法收集 6 h 尿液; 运用超声心动图检测大鼠左室舒张末内径 (LVEDD) 和收缩末内径 (LVESD), 并计算左室短轴缩短率 (LVFS) 及射血分数 (LVEF); 光镜观察大鼠心肌组织形态变化; 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测大鼠血液中脑钠肽 (BNP)、心肌钙蛋白 I (cTnI)、血管紧张素 II (Ang II)、醛固酮 (ALD)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的水平。**结果** 桑白皮 30% 乙醇洗脱组分能改善心衰大鼠心功能 ( $P < 0.01$ ), 降低 BNP、cTnI、TNF- $\alpha$  水平 ( $P < 0.01$ ); 同时增加大鼠尿量, 降低渗透压 ( $P < 0.01$ ), 且能够降低 Ang II、ALD 水平 ( $P < 0.01$ )。**结论** 桑白皮 30% 乙醇洗脱组分具有更好的抗心衰作用。

**关键词:** 桑白皮; 乙醇洗脱组分; 心衰; 肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS)

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)10-2093-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.10.001

## Cardioprotective effect of *Mori Cortex* ethanolic extract on rats with heart failure

ZHENG Xiao-ke<sup>1,4</sup>, BAI Yi-ping<sup>1,4</sup>, ZHANG Guo-shun<sup>1,4</sup>, GAO Ai-she<sup>1</sup>, WANG Xiao-lan<sup>1</sup>, WANG Xiao-fan<sup>1</sup>, SUN Ya-ping<sup>1,4</sup>, WANG Zhen-tao<sup>2</sup>, KUANG Hai-xue<sup>3</sup>, FENG Wei-sheng<sup>1,4\*</sup>

(1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China; 3. Heilongjiang University of Chinese Medicine School of Medicine, Harbin 150040, China; 4. Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment and Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China)

**ABSTRACT: AIM** To explore the effective components of *Mori Cortex* that contribute to cardioprotective and renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS). **METHODS** Chronic heart failure (CHF) model of male SD rats were established by intraperitoneal injection of Doxorubicin. The experimental rats were randomly divided into model group, CMC-Na group, Catopril group, fatty oil, ethanol precipitation, 30%, 50%, 80% ethanolic fraction and decoction of *Mori Cortex* groups ( $n = 8$ ), and the gastric gavage was fed for four weeks. Another eight SD rats were taken as control group, and were gavaged with distilled water for four weeks. The impact on 6 h urine volume of rats was observed by the metabolic cage method. The left ventricular end diastolic diameter (LVEDD), left ventricular end systolic diameter (LVESD) were detected by echocardiography and left ventricular fractional shortening (LVFS) and ejection fraction (LVEF) were calculated. Heart tissues were visualized under light microscope. The

收稿日期: 2016-03-16

基金项目: 科学技术部国家重点基础研究发展计划 (973 计划) (2013CB531800, 2013CB531802)

作者简介: 郑晓珂 (1961—), 女, 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) 65680011, E-mail: zhengxk.2006@163.com

\* 通信作者: 冯卫生 (1960—), 男, 博士, 教授, 博士生导师。从事中药药效物质基础及作用机理研究。Tel: (0371) 65680011, E-mail: fwsh@hactcm.edu.cn

levels of brain natriuretic peptide (BNP), cTnI, Ang II, ALD and TNF- $\alpha$  in blood were measured by ELISA. **RESULTS** The 30% ethanol fraction of *Mori Cortex* could obviously improve the cardiac function ( $P < 0.01$ ) and down-regulate the levels of BNP, cTnI and TNF- $\alpha$  ( $P < 0.01$ ). It also increased urine of the rat, reduced osmotic pressure ( $P < 0.01$ ). It could obviously down-regulated the levels of Ang II and ALD ( $P < 0.01$ ). **CONCLUSION** The 30% ethanol fraction of *Mori Cortex* has much better cardiostimulant effect. **KEY WORDS:** *Mori Cortex*; ethanolic fraction; heart failure; renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS)

心力衰竭(心衰)是各种疾病引起心脏长期压力或容量负荷过重<sup>[1]</sup>、心肌损害所致的危重综合征<sup>[2]</sup>。桑白皮为桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥根皮,味甘,性寒,归肺经,具有泻肺平喘、利水消肿的功效<sup>[3,4]</sup>。本实验室前期已研究桑白皮是较好的利尿剂,利尿效果显著,副作用少<sup>[5]</sup>。通过利尿有效控制水钠潴留,使肺水肿、腹水和外周性水肿消退速度显著加快,并改善血流动力学而减轻心脏泵血负荷<sup>[6]</sup>。以此为切入点,我们进行桑白皮抗心衰作用研究。

课题组经过前期研究将桑白皮水煎液拆分为脂肪油组分、醇沉组分、30%乙醇洗脱组分、50%乙醇洗脱组分和80%乙醇洗脱组分共5个组分,该工艺所得到的各组分经分析基本互不交叉<sup>[7]</sup>。本实验围绕桑白皮水煎液—化学拆分组分抗心衰药理作用研究进行展开。通过研究筛选出桑白皮水煎液抗心衰的最佳作用剂量,进而确定桑白皮发挥抗心衰作用的有效部位,最终对桑白皮有效部位的抗心衰活性进行了研究,并对其作用机制进行初步的探讨。

## 1 实验材料

1.1 受试药物 桑白皮购自郑州市中药材市场,由河南中医学院陈随清教授、董诚明教授鉴定为桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥根皮。

桑白皮水煎液的制备:称量桑白皮 1 000 g, 10 倍量水煎煮 3 次,每次 1 h,纱布过滤,合并滤液,浓缩干燥得桑白皮水煎液,提取率为 17.0%。

桑白皮化学拆分组分制备方法:桑白皮水煎液浓缩后,加其 2 倍量的石油醚萃取,上清液浓缩回收溶剂后真空干燥 6 h,得石油醚组分(该组分为脂肪油组分),提取率为 2.80%。其余水提液上 Diaion HP-20 柱,依次用水、30%、50%、80%乙醇洗脱。其中水洗脱液经过醇沉、干燥得到醇沉组分,提取率为 3.70%。其他洗脱液浓缩干燥分别得到 30%、50%、80%乙醇洗脱组分,提取率分别为 6.82%、0.380%、0.195%<sup>[8]</sup>。

阳性对照药选用卡托普利(上海普康药业有

限公司,批号 140903)。

1.2 动物 SD 雄性大鼠(200  $\pm$  20) g,由山东鲁抗医药股份有限公司提供,许可证号:SCXK 鲁 20130001。饲养于 18 ~ 22  $^{\circ}$ C 清洁级动物实验室内,昼夜交替,自由摄食、饮水。适应性喂养 1 周后用于实验。

1.3 主要试剂 盐酸阿霉素(山西普德药业股份有限公司,批号 02140701);BNP、cTnI、Ang II、ALD、TNF- $\alpha$  的 ELISA 试剂盒(江苏卡尔文生物科技有限公司,批号 20141101A);TM-100 型医用超声耦合剂(天津市西苑寺制作所)。

1.4 主要仪器 Centrifuge-5804R 小型高速低温冷冻离心机(Eppendorf, Germany);ACUSON Cy-press 西门子便携式彩超(美国西门子医疗系统公司);OM815 冰点渗透压仪(德国罗泽公司);iMark 酶标仪(Bio-Rad, USA);NIKON ECLIPSE TS100 倒置显微镜(Nikon, Japan);TDZ5-WS 型离心机(上海卢湘离心机仪器有限公司);90-3 磁力搅拌器(上海振捷实验设备有限公司);IVC 独立通风系统、大鼠代谢笼装置(江苏苏州冯氏实验动物设备有限公司);AB204-N 型万分之一精密分析天平(Mettler Toledo, Swiss);HW.SY11-KP2 型一列二孔水浴锅(北京市长风仪器仪表公司);KQ-500E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);全自动高压灭菌锅(上海申安医疗器械厂);真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

## 2 实验方法

2.1 心衰模型的制备 取健康 SD 雄性大鼠,适应性喂养一周,按体质量均衡原则,随机抽取 8 只作为空白组,剩余大鼠造模。用灭菌注射用水将阿霉素溶解,配成 2 mg/mL 的阿霉素溶液。模型组大鼠分别于第 1、3、5 周腹腔注射阿霉素溶液 3 mg/kg,第 2、4、6 周腹腔注射阿霉素溶液 2 mg/kg,每周一次,共注射 6 次<sup>[9]</sup>。空白组同时腹腔注射等容积生理盐水。

2.2 桑白皮各化学拆分组分对心衰大鼠的作用 将成模大鼠随机分组,分别为模型组,CMC-Na

组, 卡托普利组, 桑白皮 30% 乙醇洗脱组 (30% 乙醇组)、50% 乙醇洗脱组 (50% 乙醇组)、80% 乙醇洗脱组 (80% 乙醇组)、醇沉组、脂肪油组、水煎液组。水煎液按前期实验筛选的最佳作用剂量为 476 mg/kg 给予实验动物, 各化学拆分组分按其得率折算成水煎液最佳给药剂量, 灌胃给与实验动物, 空白组给予蒸馏水, CMC-Na 组给予 0.5% CMC-Na 溶液, 按 10 mL/kg 体积灌胃, 连续灌胃 4 周。

2.3 超声心动图 各组大鼠灌胃 4 周后超声心动图检测大鼠心功能变化。大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉 (3 mL/kg), 动物仰卧位固定于鼠板, 在心前区备皮, 测量左心室舒张末内径 (LVEDD) 和收缩末内径 (LVESD), 应用 Teichholtz 公式<sup>[10]</sup> 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, 以评价大鼠心衰程度及心功能状态。

2.4 收集大鼠尿液和测定尿渗透压 实验前禁食 18 h, 末次给药前称定大鼠体质量, 给药后轻按大鼠腹部, 排尽膀胱内余尿, 灌胃给予大鼠去离子水 2.0 mL/100 g, 将大鼠置于代谢笼中, 收集给药后 6 h 尿液, 3 000 r/min, 4 °C 离心 20 min 得到尿液样本。计算各组大鼠在 6 h 的尿量, 比较各组尿量的变化。冰点渗透压仪测大鼠尿渗透压。

2.5 心肌组织形态学观察 大鼠取血后取其心脏, 置冷的生理盐水冲洗, 取心室肌组织用 10% 多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋切片, HE 染色, 显微镜观察并摄片。

2.6 BNP、cTnI、Ang II、ALD 和 TNF- $\alpha$  的测定 颈动脉取血 4.0 mL, 冷冻高速离心机 3 000 r/min 离心 10 min。取上清, -20 °C 保存待测。ELISA 法测定 BNP、cTnI、Ang II、ALD、TNF- $\alpha$  水平,

按照试剂盒说明操作。

2.7 统计方法 全部数据采用 SPASS 18.0 统计软件进行分析, 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, 多组间比较用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 统计处理。 $P < 0.05$  表示有显著性差异,  $P < 0.01$  表示有极显著性差异。

### 3 实验结果

3.1 动物模型评价 模型组大鼠造模期间陆续出现精神萎靡, 进食减少, 体质量增加缓慢或明显下降, 活动量下降, 口唇及足紫绀。模型组心室腔扩大, 心室壁厚度增加, BNP 水平显著升高 ( $P < 0.01$ ), LVFS 及 LVEF 显著下降 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 显示左室收缩功能障碍。结果见表 1。

表 1 造模 6 周后大鼠的 BNP、LVEF 和 LVFS 的变化 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ )

Tab. 1 Comparison of BNP, LVEF and LVFS between the control and the model group after intraperitoneal injection for six weeks ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ )

组别	BNP/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	LVEF/%	LVFS/%
空白组	404.17 $\pm$ 31.25	86.13 $\pm$ 3.54	59.86 $\pm$ 5.00
模型组	479.58 $\pm$ 65.85 <sup>##</sup>	66.46 $\pm$ 4.03 <sup>##</sup>	46.48 $\pm$ 11.05 <sup>#</sup>

注: 与空白组比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$

3.2 桑白皮各化学拆分组分对心衰大鼠心功能指标的影响 由实验结果可以看出, 模型组的 LVEDD 和 LVESD 明显升高, LVEF 和 LVFS 明显降低, 与空白组相比, 有极显著性差异 ( $P < 0.01$ )。与模型组相比, 桑白皮水煎液组、30% 乙醇组、50% 乙醇组能够显著降低 LVEDD ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 桑白皮水煎液组、30% 乙醇组、50% 乙醇组、脂肪油组能够显著降低 LVESD, 并能够升高 LVEF 和 LVFS ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。整体结果显示, 桑白皮 30% 乙醇组、50% 乙醇组、脂肪油组能显著改善心衰大鼠心脏功能。结果见表 2。

表 2 桑白皮各化学拆分组分对心衰大鼠心功能指标的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ )

Tab. 2 Effects of the chemical split fractions of *Mori Cortex* on left ventricular function in heart failure rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ )

组别	剂量/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	LVEDD/mm	LVESD/mm	LVEF/%	LVFS/%
空白组	—	5.48 $\pm$ 0.35	2.67 $\pm$ 0.29	85.14 $\pm$ 3.31	53.48 $\pm$ 2.80
CMC-Na 组	—	6.38 $\pm$ 0.56 <sup>##</sup>	3.75 $\pm$ 0.75 <sup>##</sup>	68.81 $\pm$ 6.09 <sup>##</sup>	42.74 $\pm$ 6.91 <sup>##</sup>
模型组	—	6.40 $\pm$ 0.64 <sup>##</sup>	3.62 $\pm$ 0.26 <sup>##</sup>	65.72 $\pm$ 6.98 <sup>##</sup>	41.96 $\pm$ 5.00 <sup>##</sup>
卡托普利组	4.4	5.50 $\pm$ 0.11 <sup>**</sup>	2.73 $\pm$ 0.26 <sup>**</sup>	80.29 $\pm$ 3.09 <sup>**</sup>	52.58 $\pm$ 3.72 <sup>**</sup>
桑白皮 30% 乙醇组	191.0	5.71 $\pm$ 0.35 <sup>**</sup>	2.80 $\pm$ 0.34 <sup>**</sup>	79.97 $\pm$ 2.31 <sup>**</sup>	50.70 $\pm$ 5.50 <sup>**</sup>
桑白皮 50% 乙醇组	10.6	5.90 $\pm$ 0.43 <sup>*</sup>	3.12 $\pm$ 0.56 <sup>**</sup>	79.00 $\pm$ 2.67 <sup>**</sup>	51.91 $\pm$ 5.71 <sup>**</sup>
桑白皮 80% 乙醇组	5.5	6.03 $\pm$ 0.36	3.34 $\pm$ 0.40	66.95 $\pm$ 6.32	43.77 $\pm$ 4.23
桑白皮醇沉组	103.6	6.10 $\pm$ 0.36	3.51 $\pm$ 0.51	65.16 $\pm$ 5.72	43.48 $\pm$ 4.61
桑白皮脂肪油组	78.4	6.37 $\pm$ 0.16	3.14 $\pm$ 0.28 <sup>**</sup>	73.37 $\pm$ 4.46 <sup>**</sup>	48.24 $\pm$ 8.29 <sup>*</sup>
桑白皮水煎液组	476.0	5.87 $\pm$ 0.37 <sup>**</sup>	3.02 $\pm$ 0.34 <sup>**</sup>	74.56 $\pm$ 5.89 <sup>**</sup>	52.84 $\pm$ 3.96 <sup>**</sup>

注: 与空白组比较, <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

3.3 桑白皮各化学拆分组分对心衰大鼠 BNP、cTnI 和 TNF- $\alpha$  的影响 由结果可以看出,模型组 BNP、cTnI 和 TNF- $\alpha$  明显升高,与空白组相比,有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。与模型组相比,桑白

皮 30% 乙醇组、50% 乙醇组、水煎液组能够降低心衰大鼠 BNP、cTnI、TNF- $\alpha$  水平 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。桑白皮脂肪油组能够显著降低心衰大鼠 BNP、cTnI 水平 ( $P < 0.01$ )。结果见表 3。

表 3 桑白皮各化学拆分组分对心衰大鼠 BNP、cTnI 和 TNF- $\alpha$  的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ )

Tab. 3 Effects of the chemical split fractions of *Mori Cortex* on the blood BNP, cTnI and TNF- $\alpha$  levels in heart failure rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	BNP/(pg·mL <sup>-1</sup> )	cTnI/(ng·mL <sup>-1</sup> )	TNF- $\alpha$ /(pg·mL <sup>-1</sup> )
空白组	—	546.95 ± 22.34	3.95 ± 0.27	218.72 ± 12.34
CMC-Na 组	—	652.87 ± 34.62 <sup>##</sup>	5.94 ± 0.86 <sup>##</sup>	246.57 ± 22.48 <sup>##</sup>
模型组	—	683.92 ± 125.97 <sup>##</sup>	6.04 ± 0.32 <sup>##</sup>	237.61 ± 11.93 <sup>##</sup>
卡托普利组	4.4	550.76 ± 45.97 <sup>**</sup>	4.02 ± 0.24 <sup>**</sup>	222.44 ± 9.90 <sup>*</sup>
桑白皮 30% 乙醇组	191.0	544.33 ± 21.58 <sup>**</sup>	4.03 ± 0.21 <sup>**</sup>	215.72 ± 7.88 <sup>**</sup>
桑白皮 50% 乙醇组	10.6	578.38 ± 31.01 <sup>**</sup>	4.17 ± 0.33 <sup>**</sup>	224.78 ± 8.42 <sup>*</sup>
桑白皮 80% 乙醇组	5.5	656.00 ± 42.03	5.94 ± 0.51	244.36 ± 13.22
桑白皮醇沉组	103.6	636.48 ± 20.13	5.80 ± 0.63	230.88 ± 9.16
桑白皮脂肪油组	78.4	591.24 ± 54.12 <sup>**</sup>	5.11 ± 0.42 <sup>**</sup>	229.78 ± 14.91
桑白皮水煎液组	476.0	593.22 ± 50.44 <sup>**</sup>	5.34 ± 0.82 <sup>*</sup>	223.82 ± 5.52 <sup>*</sup>

注:与空白组比较,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

3.4 桑白皮各化学拆分组分对心衰大鼠尿量和渗透压的影响 与空白组相比,模型组大鼠尿量明显下降 ( $P < 0.05$ ),尿渗透压显著升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组相比,桑白皮 30% 乙醇组大鼠尿量极显著性

升高且尿渗透压显著下降 ( $P < 0.01$ );桑白皮 50% 乙醇组、脂肪油组大鼠尿渗透压显著性下降 ( $P < 0.05$ );桑白皮水煎液组大鼠尿量显著性升高且尿渗透压显著下降 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 桑白皮各化学拆分组分对心衰大鼠尿量和渗透压的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ )

Tab. 4 Effects of the chemical split fractions of *Mori Cortex* on urine and urine osmolarity levels in heart failure rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	渗透压/mOsm	尿量/(mL·100 g <sup>-1</sup> )
空白组	—	1 016.71 ± 239.28	1.99 ± 0.65
CMC-Na 组	—	1 362.31 ± 244.57 <sup>#</sup>	1.44 ± 0.22 <sup>#</sup>
模型组	—	1 378.29 ± 347.59 <sup>#</sup>	1.42 ± 0.13 <sup>#</sup>
卡托普利组	4.4	1 219.67 ± 441.64	2.13 ± 0.51 <sup>*</sup>
桑白皮 30% 乙醇组	191.0	788.21 ± 69.88 <sup>**</sup>	2.57 ± 0.55 <sup>**</sup>
桑白皮 50% 乙醇组	10.6	1 001.36 ± 217.49 <sup>*</sup>	1.88 ± 0.21
桑白皮 80% 乙醇组	5.5	1 149.83 ± 233.30	1.40 ± 0.37
桑白皮醇沉组	103.6	1 354.83 ± 374.64	1.59 ± 0.28
桑白皮脂肪油组	78.4	1 014.14 ± 376.72 <sup>*</sup>	1.85 ± 0.75
桑白皮水煎液组	476.0	907.67 ± 184.81 <sup>**</sup>	2.07 ± 0.62 <sup>*</sup>

注:与空白组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

3.5 桑白皮各化学拆分组分对心衰大鼠 Ang II 和 ALD 的影响 由实验结果可知,与空白组相比,模型组大鼠血液中 Ang II、ALD 水平显著增高 ( $P < 0.01$ )。与模型组相比,桑白皮水煎液组、30% 乙醇组、50% 乙醇组、脂肪油组能够显著降低心衰大鼠 Ang II、ALD 水平 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。提示桑白皮的利尿作用可能是通过作用 RAAS 系统发挥的。结果见表 5。

3.6 大鼠心肌组织改变 空白对照组:大鼠心肌细胞排列整齐,胞浆、胞核清晰,高倍镜下可见清晰横纹。模型组:部分区域心肌排列紊乱,点状坏死,部分心肌细胞嗜酸性增强,间质充血。卡托普利组:轻度充血,少量炎症细胞浸润。桑白皮 30% 乙醇组、水煎液组心肌纤维排列成束,轻度肿胀;桑白皮 50% 乙醇组、80% 乙醇组、脂肪油组、醇沉组心肌纤维充血,肿胀,炎性细胞浸润。见图 1。

表5 桑白皮各化学拆分组分对心衰大鼠血液中 Ang II 和 ALD 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Tab. 5 Effects of the chemical split fractions of *Mori Cortex* on the blood Ang II and ALD levels in heart failure rats ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	AngII/(pg·mL <sup>-1</sup> )	ALD/(pg·mL <sup>-1</sup> )
空白组	—	174.74 ± 16.25	275.82 ± 17.25
CMC-Na组	—	251.03 ± 25.94 <sup>##</sup>	359.09 ± 34.92 <sup>##</sup>
模型组	—	277.14 ± 50.06 <sup>##</sup>	360.51 ± 24.11 <sup>##</sup>
卡托普利组	4.4	175.19 ± 20.42 <sup>**</sup>	314.68 ± 18.32 <sup>**</sup>
桑白皮 30% 乙醇组	191.0	187.97 ± 33.12 <sup>**</sup>	290.64 ± 24.99 <sup>**</sup>
桑白皮 50% 乙醇组	10.6	193.49 ± 27.62 <sup>**</sup>	335.61 ± 7.77 <sup>*</sup>
桑白皮 80% 乙醇组	5.5	247.71 ± 27.34	347.98 ± 31.86
桑白皮醇沉组	103.6	247.71 ± 33.78	354.57 ± 30.27
桑白皮脂肪油组	78.4	199.00 ± 27.11 <sup>**</sup>	333.44 ± 3.88 <sup>*</sup>
桑白皮水煎液组	476.0	177.07 ± 23.66 <sup>**</sup>	310.12 ± 8.38 <sup>**</sup>

注:与空白组比较,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

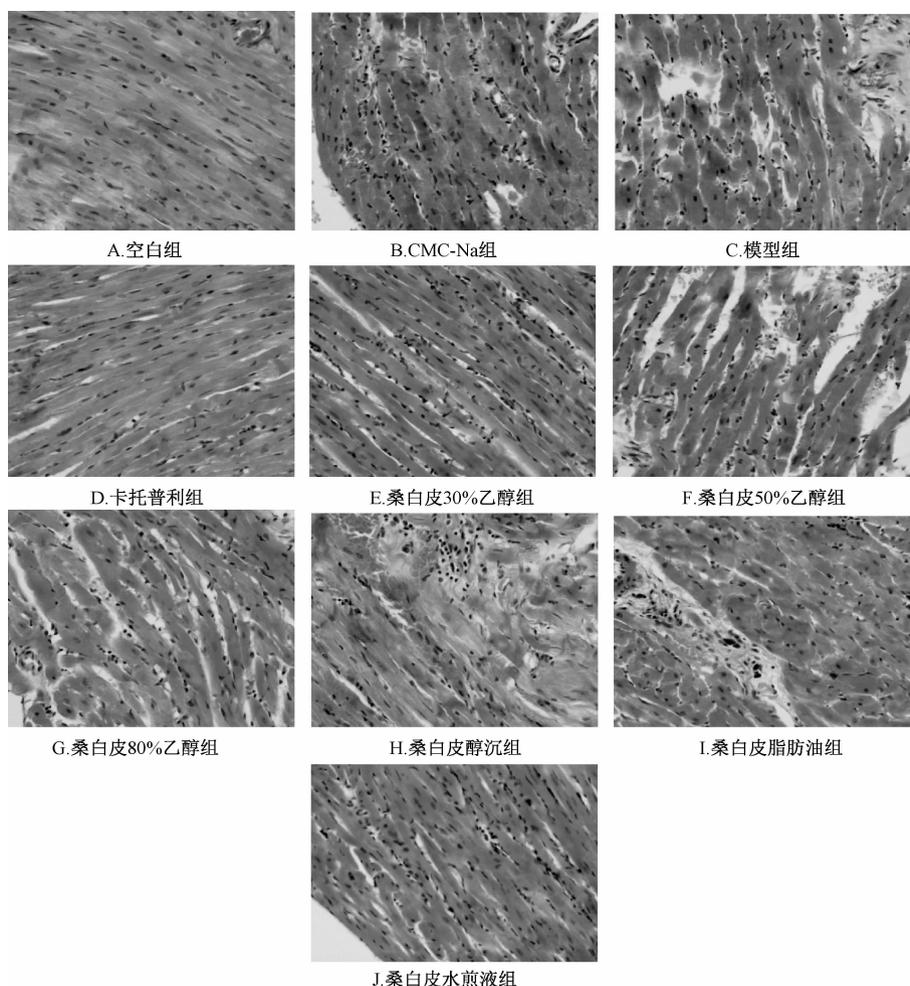


图1 各组大鼠心肌组织病变显微观察(HE, ×400)

Fig. 1 Microscopic observation of myocardial lesion in each group(HE, ×400)

#### 4 讨论

本实验选用小剂量、多次腹腔注射阿霉素溶液建立稳定可靠的慢性心力衰竭模型。采用超声心动图测量 LVEDD 和 LVESD, Teichholtz 公式计算

LVEF 和 LVFS 评价心衰大鼠心功能状况。并且众多临床试验和研究已证实 BNP 水平与左心室功能呈负相关,BNP 结合超声心动图指标用于诊断心力衰竭并判断心衰程度和预后<sup>[11]</sup>。本实验结果显示

模型组大鼠 LVEF、LVFS、BNP 与空白组比较具有统计学意义。提示阿霉素诱导大鼠心衰模型,可以造成大鼠收缩及舒张功能下降,BNP 水平升高,反映此方法造模成功。

心衰导致 RAAS 系统激活,促进 Ang II 和 ALD 水平升高。本实验研究发现桑白皮 30% 乙醇洗脱组分能够明显增加心衰大鼠尿量,降低 Ang II、ALD 水平,从而发挥利尿和抑制 RAAS 系统作用来降低心脏负荷,抑制心肌肥厚,抗心肌纤维化<sup>[12-15]</sup>。心衰发展到一定程度能使 cTnI、TNF- $\alpha$  水平升高,心脏负荷过重使心肌纤维拉长易位导致心肌坏死,从而引起血清 cTnI 升高,血清中 TNF- $\alpha$  升高能够使心肌收缩功能降低和心肌组织结构破坏<sup>[16]</sup>。

本实验研究首先对桑白皮水煎液的抗心衰作用进行研究,结果表明,桑白皮水煎液中剂量能够显著降低心衰大鼠血液中 BNP、cTnI、Ang II 水平,从而提高心肌收缩功能,改善心衰症状<sup>[17]</sup>。因此,我们以桑白皮水煎液中剂量(476.0 mg/kg)作为最佳作用剂量。然后,对桑白皮各化学拆分组分进行抗心衰实验研究,各化学拆分组分给药剂量按得率与水煎液中剂量折算。结果发现桑白皮 30% 乙醇洗脱组分能够明显降低 LVEDD 和 LVESD,改善心肌收缩功能;并能显著升高 LVEF 和 LVFS,提高心肌细胞功能并增加心室壁活动度。桑白皮 30% 乙醇洗脱组分能够明显改善心脏功能,并且显著降低 BNP、cTnI、TNF- $\alpha$  的水平。进而对抗心衰有效部位进行了初步的作用机制研究。研究发现桑白皮 30% 乙醇洗脱组分能够显著增加心衰大鼠尿量,降低尿渗透压,具有较强的利尿作用,并且桑白皮 30% 乙醇洗脱组分也能降低 BNP、cTnI、Ang II、ALD、TNF- $\alpha$  水平,修复心肌细胞损伤,减少炎症细胞。

综上所述,桑白皮 30% 乙醇洗脱组分改善心功能方面的机制可能与利尿<sup>[18]</sup>,减少炎症因子对心肌损害,抑制 RAAS 系统,从而抑制心肌重构,并逐步修复心肌组织结构,保护心衰大鼠心脏结构和功能相关。桑白皮 30% 乙醇洗脱组分量不及桑白皮水煎液 1/2,但抗心衰效果相当或更好,说明桑白皮经过全成分拆分实现了“量减效增”的效果。本实验前期研究发现桑白皮 30% 乙醇洗脱组分主要含有苯并呋喃类、黄酮类、香豆素类和苯丙素类<sup>[19]</sup>。其中黄酮类成分较多,提示桑白皮 30% 乙醇洗脱组分发挥抗心衰作用的主要成分可能为黄酮类。

#### 参考文献:

[1] 景王慧, 吴文进, 燕茹, 等. 归肺经中药桑白皮的化学、药

理与药代动力学研究进展[J]. 世界中医药, 2014, 9(1): 109-112.

[2] 汪艳丽, 刘如秀, 刘金凤, 等. 中医药治疗充血性心力衰竭概况[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2009, 7(3): 325-328.

[3] 尚菊菊. 泻肺利水法治疗慢性心力衰竭及对内质网应激影响研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2013: 13-20.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010 版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010: 280.

[5] 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.

[6] 杨爽. 植物桑的药理研究进展[J]. 药学报, 2014, 49(6): 824-831.

[7] 王绅. 中药桑白皮性味拆分工艺研究[D]. 郑州:河南中医药大学, 2014: 32-68.

[8] 王绅, 张鑫, 王小兰. 桑白皮性味物质基础的可拆分性研究[C]//2013 全国中药与天然药物高峰论坛暨全国中药和天然药物学术研讨会, 2013:37.

[9] 李梅秀, 田国忠, 欧叶涛, 等. 大鼠阿霉素慢性心衰模型的制备与心衰指标的判定[J]. 解剖学研究, 2005, 27(3): 176-178.

[10] 滕丽莉, 赵荫涛, 邵莉, 等. 鱼油对阿霉素诱导慢性心力衰竭大鼠心肌结构和细胞因子的影响[J]. 中国老年学杂志, 2013, 3(33): 1083-1085.

[11] 黄国倩, 刘虹, 舒先红, 等. 超声心动图评价粒细胞集落刺激因子动员自身骨髓干细胞对心肌梗死后左心室重构及心功能的影响[J]. 中华超声影像学杂志, 2004, 13(11): 848-852.

[12] Horwich T B, Patel J, Miclellan W R, et al. Cardiac troponin I is associated with impaired hemodynamics, progressive left ventricular dysfunction, and increased mortality rates in advanced heart failure[J]. *Circulation*, 2003, 108(7): 833-838.

[13] 韦育林, 李楚强, 陈锡龙, 等. 黄芪注射液对充血性心力衰竭患者细胞因子和血管紧张素 II 的影响[J]. 中国临床康复, 2006, 10(3): 54-56.

[14] 宋彦洁. 养心舒脉汤对慢性心力衰竭患者 RAAS 系统影响的研究[D]. 济南:山东中医药大学, 2012: 10-22.

[15] 汪永忠. 充血性心力衰竭的中医药治疗[J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(2): 98-100.

[16] 张志霞, 张一昕, 李国川, 等. 人参强心滴丸对充血性心力衰竭大鼠血清 TNF- $\alpha$  和 IL-1 含量的影响[J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(8): 549-551.

[17] Schultz H D. Angiotensin and carotid body chemoreception in HF[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2011, 11(2): 144-149.

[18] 徐宝林, 张文娟, 孙静芸. 桑白皮提取物平喘、利尿作用的研究[J]. 中成药, 2003, 25(9): 758-760.

[19] 冯卫生, 曹彦刚, 李芳, 等. 桑白皮各化学拆分组分化学成分研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 17(3): 492-498.