

# 远志根与远志苗对大鼠心肌损伤的保护作用

付琪, 孙宇, 史文华, 郑哲, 王世祥, 房敏峰\*

(西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室, 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069)

**摘要:** 目的 探究远志根与远志苗水提取物对异丙肾上腺素致大鼠心肌损伤的保护作用。方法 皮下注射异丙肾上腺素(100 mg/kg)建立大鼠心肌缺血损伤模型。将大鼠分为正常组, 模型组, 远志根高、中、低剂量组(2.4、1.2、0.6 g/kg), 远志苗高、中、低剂量组(2.4、1.2、0.6 g/kg), 连续灌胃给药7 d。检测各组大鼠心电图、心脏指数, 血清cTnT、CK-MB水平, 心脏组织SOD、CAT活性和MDA水平, HE染色观察心肌病理损伤程度。结果 与模型组比较, 远志根与远志苗高、中剂量组大鼠心电图ST段抬高被抑制, 心脏指数和血清cTnT、CK-MB水平降低, 心肌组织SOD、CAT活性升高, MDA水平降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。远志根与远志苗等剂量比较无明显差异。结论 远志根与苗对大鼠心肌缺血损伤具有保护作用, 且两者作用无显著差异。

**关键词:** 远志; 异丙肾上腺素; 心肌损伤; 氧化应激

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2022)12-4033-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.12.050

心肌梗死是缺血性心脏病的常见表现, 当心肌缺血超过临床阈值时会发生该病<sup>[1]</sup>。心肌梗死属于中医“胸痹心痛”的范畴<sup>[2]</sup>。《古今录验》《范汪方》记载:“治胸痹心痛, 逆气, 膈中饮不下, 小草丸。小草、桂心、蜀椒去汗、干姜、细辛各三分, 附子二分炮, 六物合捣下筛, 蜜丸大如梧子, 先食米汁, 下三丸, 日三, 不知稍增, 以知为度。”《本草图经》记载:“古本通用远志、小草。”

异丙肾上腺素是 $\beta$ 受体激动剂, 可通过加快心率, 增强心肌耗氧量, 从而打破心肌供氧平衡, 导致心肌损伤, 其机制与诱导炎症反应、氧化应激、自噬、凋亡等有关<sup>[3]</sup>。异丙肾上腺素所致啮齿动物心肌梗死模型是公认的用于评估新型心脏保护剂的模型, 所造成的大鼠心肌形态学改变与人类心肌梗死相似<sup>[4]</sup>。本研究采用盐酸异丙肾上腺素诱导大鼠心肌缺血损伤模型, 验证远志(远志根)和小草(远志苗)对大鼠心肌损伤的保护作用, 以期为远志的开发提供参考资料。

## 1 材料

**1.1 试剂与药物** 远志根与远志苗购于陕西合阳, 经鉴定分别为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 的干燥根和地上部分。盐酸异丙肾上腺素(批号 Z21N10X103254), 购于上海源叶生物科技有限公司; 心肌肌钙蛋白 T (cTnT, 批号 20200718)、肌酸激酶同工酶(CK-MB, 批号 20200718)、丙二醛(MDA, 批号 20200801)、过氧化氢酶可见光试剂盒(CAT, 批号 20200731)、超氧化物歧化酶试剂盒(SOD, 批号 20200730), 均购于南京建成生物工程研究所。

**1.2 动物** Wistar 雄性大鼠 80 只, 体质量(200±20) g, 购于成都达硕实验动物有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK(川) 2020-030, 实验经动物伦理委员会批准。

**1.3 仪器** BL-420s 型生物机能系统(成都泰盟科技有限公司); FRESCO17 型高速冷冻离心机(美国 Thermo Scientific 公司); Synergy H1 型多功能酶标仪(中国香港 Gene Company Limited 公司); 显微镜转轮式切片机(德国徕卡公司)。

## 2 方法

**2.1 远志水提取物制备** 称取远志根粉末 120 g, 加 10 倍量水, 超声处理, 滤过, 重复 2 次, 合并滤液, 浓缩至 500 mL, 得远志根高剂量水提取物(0.24 g/mL), 依次稀释至 0.12、0.06 g/mL, 即得远志根中、低剂量水提取物; 同法制备远志苗高、中、低剂量水提取物, 远志根和远志苗成人每日用量 6 g 计, 按《中药药理研究方法学》剂量换算得低、中、高剂量分别为 0.6、1.2、2.4 g/kg。

**2.2 分组与给药** 将正常大鼠分为正常组, 模型组, 远志根高、中、低剂量组(2.4、1.2、0.6 g/kg), 远志苗高、中、低剂量组(2.4、1.2、0.6 g/kg), 每组 10 只, 正常组与模型组大鼠灌胃给予等体积生理盐水, 其余组大鼠灌胃相应药物, 连续灌胃 7 d。

**2.3 心肌损伤模型的建立** 参考文献[5]报道, 各组大鼠分别于第 6、7 天皮下注射异丙肾上腺素 100 mg/kg 各 1 次, 间隔 24 h, 建立心肌缺血损伤模型。

**2.4 心电图观察** 异丙肾上腺素末次注射 24 h 后, 称定

收稿日期: 2021-08-01

基金项目: 全国中药资源普查项目(财社[2019]39); 陕西省重点研发计划项目(2018ZDXM-SF-014); 陕西省教育厅服务地方专项项目(2018JC032); 西北大学西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室开放基金项目(ZSK2018006)

作者简介: 付琪, 女, 硕士生, 从事中药药理学研究。E-mail: 1285158406@qq.com

\*通信作者: 房敏峰, 教授, 从事中药药理学研究。Tel: (029) 88302411, E-mail: fangmf@nwu.edu.cn

各组大鼠体质量，麻醉后置于纸板上，按照顺序连接心电图机，记录大鼠II导联心电图。

2.5 血样与组织的采集 心电图检测后，各组大鼠眼眶取血，3 500 r/min离心，收集血清，保存待测。取心脏，剪去大血管、结缔组织，生理盐水冲净，滤纸擦干，称定质量，计算心脏指数，公式为心脏指数=心脏质量/体质量×100%；剪取心脏部分组织，称定质量，加入9倍量生理盐水，研磨匀浆，3 500 r/min离心，取上清液，保存待测。

2.6 心肌组织病理学检测 剪取各组大鼠心尖，置于4%多聚甲醛溶液中固定，脱水，修剪，包埋，切片，HE染色，封片，显微镜下观察。

2.7 cTnT、CK-MB、MDA水平及SOD、CAT活性检测

取各组大鼠血清和结缔组织，严格按照相关试剂盒说明书操作，检测大鼠血清cTnT、CK-MB水平，组织SOD、CAT活性和MDA水平。

2.8 统计学分析 通过SPSS 25.0软件进行处理，数据以( $\bar{x}\pm s$ )表示，组间比较采用单因素方差分析，事后检验采用LSD法。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

3.1 远志根与远志苗对心肌缺血大鼠心电图变化的影响 与正常组比较，模型组大鼠心电图ST段升高；与模型组比较，远志根与远志苗高、中剂量组大鼠抬高的ST段降低，见图1。

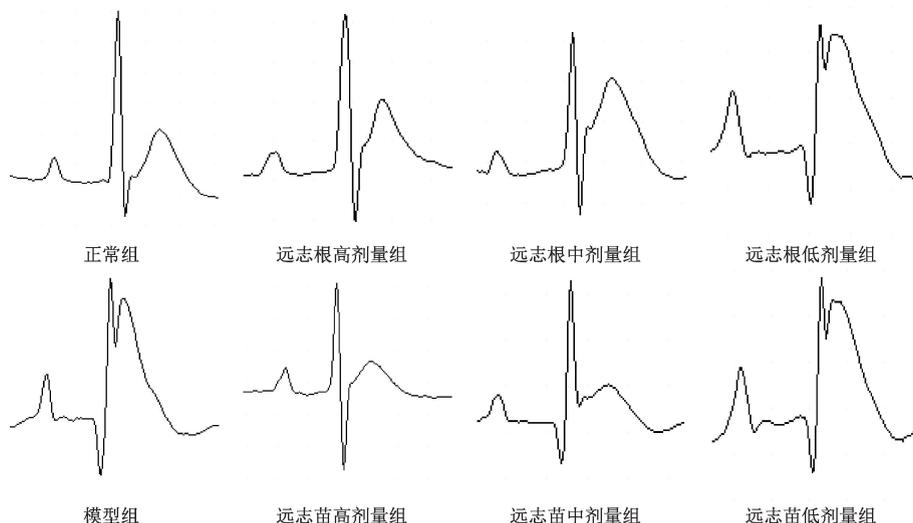


图1 各组大鼠心电图

3.2 远志根与远志苗对心肌缺血大鼠血清cTnT、CK-MB水平和心脏指数的影响 与正常组比较，模型组大鼠血清cTnT、CK-MB水平和心脏指数升高( $P<0.01$ )；与模型组

比较，远志根与远志苗高、中剂量组大鼠血清cTnT、CK-MB水平和心脏指数降低( $P<0.01$ )，并呈剂量依赖性；远志根组与远志苗组比较无明显差异( $P>0.05$ )，见表1。

表1 各组大鼠血清cTnT、CK-MB水平和心脏指数比较( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	cTnT/(ng·mL <sup>-1</sup> )	CK-MB/(ng·mL <sup>-1</sup> )	心脏指数/%
正常组	0.20±0.02	18.31±2.69	0.23±0.01
模型组	0.97±0.10**	72.96±4.64**	0.38±0.03**
远志根高剂量组	0.68±0.08##	46.74±4.73##	0.26±0.02##
远志根中剂量组	0.84±0.17##	65.97±6.44##	0.34±0.04##
远志根低剂量组	0.96±0.08	69.39±6.01	0.37±0.01
远志苗高剂量组	0.72±0.07##	50.05±6.84##	0.28±0.05##
远志苗中剂量组	0.86±0.05##	66.42±4.75##	0.35±0.05##
远志苗低剂量组	0.95±0.07	70.24±6.21	0.37±0.02

注：与正常组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

3.3 远志根与远志苗对心肌缺血大鼠心肌组织SOD、CAT活性及MDA水平的影响 与正常组比较，模型组大鼠SOD、CAT活性降低( $P<0.01$ )，MDA水平升高( $P<0.01$ )；与模型组比较，远志根与远志苗高、中剂量组SOD、CAT活性升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )，MDA水平降低( $P<0.01$ )，并呈剂量依赖性；远志根组与远志苗组比较无明显差异( $P>0.05$ )，见表2。

3.4 远志根与远志苗对心肌缺血大鼠心肌组织病理学的影响 正常组大鼠心肌细胞排列有序，结构完整清晰，无炎性细胞以及细胞坏死等病变；模型组大鼠心肌组织较多心肌纤维坏死，核圆偏于细胞一侧的浆细胞浸润，亦可见较多核呈长椭圆形的成纤维细胞和核呈长梭形的纤维细胞增生；远志根与远志苗各剂量组大鼠均可见不同程度的心肌损伤现象，见图2。

表2 各组大鼠心肌组织 SOD、CAT 活性及 MDA 水平比较 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	SOD/(U·mgprot <sup>-1</sup> )	CAT/(U·mgprot <sup>-1</sup> )	MDA/(nmol·mgprot <sup>-1</sup> )
正常组	9.01±1.11	15.45±1.88	1.81±0.32
模型组	3.17±0.49**	4.99±0.74**	8.11±0.68**
远志根高剂量组	8.09±0.55##	9.46±2.05##	4.53±0.90##
远志根中剂量组	4.03±0.79##	7.01±1.13##	6.25±1.17##
远志根低剂量组	3.09±0.50	5.41±1.04	7.76±0.91
远志苗高剂量组	7.51±0.71##	9.18±2.24##	5.04±0.95##
远志苗中剂量组	3.90±0.50#	6.52±0.78#	6.36±1.10##
远志苗低剂量组	3.06±0.43	5.31±0.90	7.97±0.89

注：与正常组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

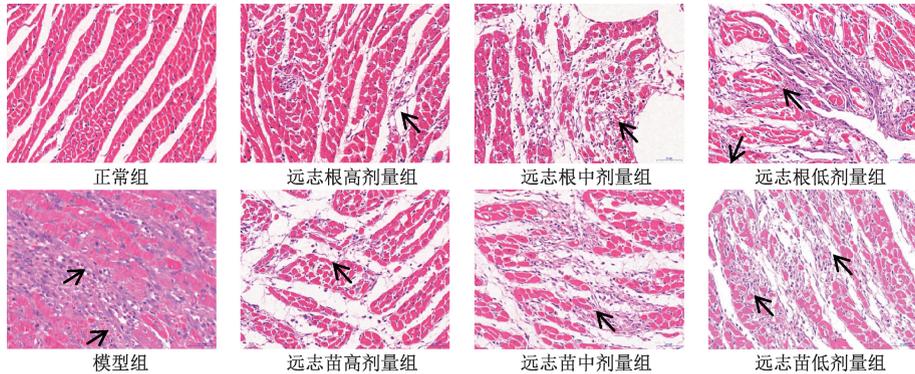


图2 各组大鼠 HE 染色图 ( $\times 400$ )

#### 4 讨论

cTnT 为诊断急性心肌梗死的第一线心肌标志物<sup>[6]</sup>，心电图 ST 段幅度改变也是评价心肌缺血损伤程度的可靠指标<sup>[7]</sup>。本研究发现，异丙肾上腺素诱导心肌损伤模型大鼠血清 cTnT、CK-MB 水平升高，心电图 ST 段抬高，表明模型制备成功，在造模过程中，模型大鼠心脏指数从 0.23% 增加至 0.38%，与文献 [8] 结果基本一致。模型组大鼠心脏指数升高与水肿、心肌纤维原发坏死和炎症引起的肌间间隙增大有关<sup>[5]</sup>。

心肌缺血缺氧后产生大量氧自由基，导致心肌细胞膜通透性的增加甚至坏死<sup>[9-10]</sup>。SOD、CAT 可清除自由基，并阻止更活泼的羟基自由基的形成<sup>[11]</sup>。因此，升高机体抗氧化能力是降低心肌损伤的重要手段之一。本研究结果显示，模型组大鼠 SOD、CAT 活性降低，MDA 水平升高，而远志根与远志苗高、中剂量组大鼠 SOD、CAT 活性升高，MDA 水平降低，表明远志根与远志苗可提高抗氧化能力。

远志苗为古方“小草丸”的君药，其主要成分为芒果苷。芒果苷可通过抗炎、抗氧化保护大鼠心肌缺血再灌注<sup>[12-13]</sup>，并对糖尿病大鼠心肌具有保护作用<sup>[14]</sup>，提示远志苗可能对心肌缺血损伤具有保护作用。此外，现代药理研究发现，远志根水提取物可通过  $\beta_1$ -肾上腺素受体-cAMP-Ca<sup>2+</sup> 信号传导途径增强家兔心肌收缩力<sup>[15]</sup>；醇提取物可通过抗脂质过氧化保护沙鼠脑缺血再灌注损伤<sup>[16]</sup>；混悬液可通过抑制钙超载保护大鼠离体缺血心肌<sup>[17]</sup>；远志皂苷可通过减少炎症反应及抑制 HMGB1 表达保护大鼠心肌缺血再灌注损伤<sup>[18]</sup>；皂苷元可通过改善内质网应激保护小鼠心肌缺

血再灌注<sup>[19]</sup>，提示远志对心脑血管缺血损伤均具有保护作用。本研究结果显示，远志根与远志苗水提取物可通过抗氧化保护异丙肾上腺素导致的大鼠心肌缺血损伤。同时，远志根与远志苗对所选评价指标均无明显影响，初步证明两者可“通用”。

综上所述，远志根与远志苗水提取物对异丙肾上腺素致大鼠心肌缺血损伤具有保护作用，其机制可能与抗氧化有关。远志根具有胃肠毒性及溶血作用<sup>[20-22]</sup>，而远志苗尚未发现有胃黏膜刺激和溶血作用，也未测得 LD<sub>50</sub> 值。远志以根入药时地上部分被丢弃浪费，在远志资源日益紧缺的情况下，研究开发远志苗作为远志新的药用部位或远志替代资源对中药新资源利用及老药新用具有积极意义。

#### 参考文献：

- [1] Bei W, Jing L, Chen N. Cardio protective role of wogonin loaded nanoparticle against isoproterenol induced myocardial infarction by moderating oxidative stress and inflammation [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2020, 185: 110635.
- [2] 郑曲, 贾连群, 宋 囡, 等. 化痰祛瘀方治疗冠心病现代研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(9): 57-59.
- [3] 梁 娟, 刘 越, 尹新华. 异丙肾上腺素所致心肌损伤动物模型的研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2019, 27(1): 110-114.
- [4] Ying F. Cardioprotective effect of rhapontigenin in isoproterenol-induced myocardial infarction in a rat model [J]. *Pharmacology*, 2019, 103(5-6): 291-302.
- [5] Shahzad S, Mateen S, Mubeena Mariyath P M, et al.

- Protective effect of syringaldehyde on biomolecular oxidation, inflammation and histopathological alterations in isoproterenol induced cardiotoxicity in rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 625-633.
- [ 6 ] Sato Y, Fujiwara H, Takatsu Y. Cardiac troponin and heart failure in the era of high-sensitivity assays [J]. *J Cardiol*, 2012, 60(3): 160-167.
- [ 7 ] 李玲美, 李 磊, 付建华, 等. 天龙通心片对犬急性心肌缺血损伤的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(23): 92-98.
- [ 8 ] Patel V, Upaganlawar A, Zalawadia R, et al. Cardioprotective effect of melatonin against isoproterenol induced myocardial infarction in rats: a biochemical, electrocardiographic and histoarchitectural evaluation[J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 644(1-3): 160-168.
- [ 9 ] 钟芮娜, 汪小涵, 万 露, 等. 石菖蒲挥发油自纳米乳滴丸的制备及其对急性心肌缺血损伤的保护作用研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(7): 1357-1362.
- [ 10 ] Paradies G, Paradies V, Ruggiero F M, et al. Cardiolipin alterations and mitochondrial dysfunction in heart ischemia/reperfusion injury[J]. *Clin Lipidol*, 2015, 10(5): 415-429.
- [ 11 ] Sawyer D B, Siwik D A, Xiao L, et al. Role of oxidative stress in myocardial hypertrophy and failure [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2002, 34(4): 379-388.
- [ 12 ] 徐 丽, 张元媛, 曹军平. 芒果苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及其机制研究[J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 198-201.
- [ 13 ] 谭安雄, 朱耀斌, 李小云. 芒果苷对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(23): 1928-1930.
- [ 14 ] 张 翠, 张根葆, 王继胜, 等. 芒果苷对糖尿病大鼠心脏的保护作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2016, 21(8): 859-862.
- [ 15 ] 崔昊震, 刘丽萍. 远志水提取物对家兔心肌收缩力及心房尿钠肽分泌的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 256-259.
- [ 16 ] Park J H, Kim J S, Jang D S, et al. Effect of *Polygala tenuifolia* root extract on cerebral ischemia and reperfusion[J]. *Am J Chin Med*, 2006, 34(1): 115-123.
- [ 17 ] Kang C W, Kim J H. Anti-ischemic effect of *Polygala tenuifolia* in isolated rat heart [J]. *Korean J Physiol Phal*, 2007, 11(3): 89-95.
- [ 18 ] 李海艳, 迟艳飞. 远志皂苷预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤及高迁移率族蛋白 B1 表达的影响[J]. 中成药, 2019, 41(5): 1165-1168.
- [ 19 ] 李子希, 陈 娟, 吕建新. 远志皂苷元通过改善内质网应激保护小鼠心肌缺血再灌注损伤[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2014, 43(4): 409-412.
- [ 20 ] 王 健, 郭 娟, 刘贤武, 等. 生远志及与甘草不同配伍比例对小鼠胃肠运动的影响[J]. 中药药理与临床, 2002, 18(5): 28.
- [ 21 ] 赵海平, 王 建, 吴晖晖, 等. 生远志及其皂苷与蜜远志对大鼠胃组织中活性物质及酶活性的影响[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(2): 260-262.
- [ 22 ] 赵云生, 李占林, 严铸云, 等. 晋产远志种质资源溶血性研究[J]. 中国现代中药, 2006, 8(5): 19-22.