

檀香水提物和醇提物对心肌缺血损伤大鼠的保护作用

陈依春^{1,2,3}, 高子昊¹, 于欣颖¹, 王伊然¹, 王一帆¹, 于鹏程¹

(1. 西藏民族大学医学院, 陕西 咸阳 712082; 2. 西藏民族大学藏药检测技术教育部工程研究中心, 陕西 咸阳 712082; 3. 西藏民族大学高原低氧环境与生命健康重点实验室, 陕西 咸阳 712082)

摘要: **目的** 探究檀香水提物和醇提物对异丙肾上腺素致大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用。**方法** 90 只大鼠随机分为对照组, 模型组, 普萘洛尔组 (30 mg/kg), 檀香水提物高、中、低剂量组 (108、54、27 mg/kg) 和檀香醇提物高、中、低剂量组 (108、54、27 mg/kg), 连续灌胃给药 14 d。从第 12 天开始, 对照组大鼠皮下注射等体积生理盐水, 其余各组大鼠均皮下注射异丙肾上腺素 (85 mg/kg), 连续 3 d。记录大鼠心电图 ST 段; ELISA 法检测血清 CK-MB、LDH、AST 活性和 TNF- α 、IL-6、cTn-T 水平; 微板法检测心肌组织 SOD、GSH-Px、CAT 活性和 MDA 水平; HE 染色观察心肌组织病理损伤情况; Western blot 法检测心肌组织 Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 檀香提取物组大鼠心电图 ST 段的抬高幅度减小, 血清 CK-MB、LDH、AST 活性和 TNF- α 、IL-6、cTn-T 水平, 以及心肌组织 MDA 水平和 Bax、Caspase-3 蛋白表达降低 ($P<0.01$), GSH-Px、SOD、CAT 活性和 Bcl-2 蛋白表达升高 ($P<0.01$), 心肌组织病理损伤改善。**结论** 檀香提取物对异丙肾上腺素所致大鼠急性心肌缺血损伤具有保护作用, 其机制可能与抗氧化应激、抑制心肌炎症、抑制细胞凋亡相关。

关键词: 檀香; 水提物; 醇提物; 心肌缺血; 异丙肾上腺素; 氧化应激; 炎症; 凋亡

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)07-2429-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.049

《中国心血管健康与疾病报告 2022》报道, 我国心血管病患者 3.3 亿, 每年死亡数 300 万, 居疾病死亡率首位^[1]。急性心肌缺血作为常见的心血管疾病, 是由于冠脉狭窄或阻塞引起心脏血液灌注减少、能量代谢紊乱的病理状态^[2], 表现为心肌组织损伤、氧化应激、炎症反应、心脏舒缩功能减退等^[3]。现阶段心肌缺血的主要治疗方法是以溶栓药物或手术恢复血流供应^[4], 但血流再灌注后导致大量活性氧产生, 会加重心肌损伤^[5], 增加患者死亡风险, 故亟需发现新的诊疗靶点与干预策略。

急性心肌缺血在中医中属于“胸痹”范畴^[6], 病机为气机凝滞、血脉不畅, 治疗原则以行气活血为主。檀香为檀香科植物檀香 *Santalum album* L. 树干的干燥心材。其味辛, 性温, 归脾、胃、心、肺经, 具有行气温中、开胃止痛功效, 主要用于寒凝气滞、胸膈不舒、胸痹心痛等病症^[7], 具有极大的抗心肌缺血损伤潜力^[8], 但其作用机制尚不明确。本实验采用异丙肾上腺素建立大鼠急性心肌缺血模型, 评价檀香水提物和醇提物对心肌缺血损伤的保护作用, 并探讨其作用机制, 以期为该药材临床应用奠定基

础, 同时有望为寻找有效率高、不良反应少的相关药物提供依据和思路。

1 材料

1.1 药材 檀香购自北京同仁堂咸阳药店有限责任公司, 批号 20220821, 经西藏民族大学孙芳云教授鉴定为正品, 粉碎, 过 2 号筛, 混匀, 95% 乙醇提取 2 次, 料液比 1 : 10, 合并滤液, 减压浓缩至无醇味, 冷冻干燥, 即得醇提物; 以水为溶剂, 同法制备水提物。

1.2 试剂与药物 盐酸异丙肾上腺素 (批号 HY-B0468) 购自上海皓元生物医药科技有限公司; 普萘洛尔 (批号 P913470) 购自江苏亚邦爱普森药业有限公司。CK-MB (批号 202111)、LDH (批号 202111)、SOD (批号 202111)、MDA (批号 202111)、GSH-Px (批号 ml097316)、cTn-T (货号 ml059510) 试剂盒均购自上海酶联生物科技有限公司; CAT (批号 20221228)、IL-6 (批号 H007-1-2)、TNF- α (批号 H052-1-2)、AST (批号 C010-2-1) 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所有限公司; Bax 抗体 (货号 50599-2-1g)、Bcl-2 抗体 (货号 60178-1-1g)

收稿日期: 2024-11-19

基金项目: 国家级大学生创新性实验训练计划项目 (202410695030); 西藏自治区自然科学基金 (XZ202001ZR0015G); 陕西省教育科学“十四五”规划 2023 年度课题 (SGH23Y2487); 陕西省教育厅自然科学基金专项项目 (23JK0697); 西藏民族大学校内项目 (22MDY03, 22MDZ02)

作者简介: 陈依春 (1990—), 女, 硕士, 讲师, 从事心血管疾病的发病机制及其药物干预研究。Tel: 15929556925, E-mail: ycchen@xzm. edu. cn

网络出版日期: 2025-01-21

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20250121.1234.002.html>.

均购自武汉三鹰生物技术有限公司；Caspase-3 兔克隆抗体（货号 GB11767C-100）购自武汉赛维尔生物科技有限公司；BCA 蛋白浓度测定试剂盒（货号 P0009）购自上海碧云天生物技术股份有限公司。

1.3 仪器 BL-423I 生物机能实验系统（成都泰盟科技有限公司）；DFY-200 摇摆式中草药粉碎机（温岭市林大机械有限公司）；旋转蒸发仪（德国 Heidolph 公司）；JY200C 电泳仪（北京君意东方电泳设备有限公司）；5200 化学发光凝胶成像仪（上海天能科技有限公司）；MK3 多功能酶标仪（美国 Thermo Fisher 公司）。

1.4 动物 SPF 级健康成年雄性 SD 大鼠 90 只，体质量（200±20）g，由西安交通大学实验动物中心提供 [实验动物生产许可证号 SCXK（陕）2018-001]，于西藏民族大学动物房适应性饲养 1 周，自由进食饮水，环境温度（23±2）℃，12 h/12 h 明暗交替。实验经西藏民族大学科研处伦理审查委员会审查通过（批号 2024088）。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 90 只大鼠随机分为对照组，模型组，普萘洛尔组（30 mg/kg），檀香水提物高、中、低剂量组（108、54、27 mg/kg）和檀香醇提物高、中、低剂量组（108、54、27 mg/kg），每组 10 只，各组大鼠连续灌胃给予相应药物 14 d，每天 1 次，对照组和模型组灌胃给予等体积蒸馏水。从第 12 天开始，灌胃给药 30 min 后，除对照组注射等体积生理盐水外，其余各组大鼠颈部皮下多点注射异丙肾上腺素（85 mg/kg），连续 3 d，构建急性心肌梗死模型。檀香提取物中剂量组给药量按 2020 年版《中国药典》规定的人日服用量^[6]（大鼠等效剂量按 1：6 计算），低、高剂量组给药量分别为中剂量组的 0.5、2 倍。

2.2 心电图检测 大鼠末次注射异丙肾上腺素 24 h 后，腹腔注射 2% 戊巴比妥钠（30 mg/kg）麻醉，仰卧位固定，采用 BL-423I 生物机能实验系统进行肢体 II 导联心电图检查，观察并记录 ST 段变化情况。与对照组比较，若 II 导联心电图若出现 ST 段异常升高或降低，则视为急性心肌梗死模型制备成功^[9]。

2.3 大鼠血清、心脏生化指标检测 心电图记录完毕后，大鼠腹主动脉采集 3 mL 血液，静置 1 h，3 500 r/min 离心 10 min，分离血清，严格按照试剂盒说明书，采用 ELISA 法检测心肌损伤标志酶（CK-MB、LDH、AST、cTn-T）、炎症因子（IL-6、TNF-α）水平。大鼠开胸，取心脏心尖组织，眼科剪剪碎，冰水浴制备匀浆，3 500 r/min 离心 15 min，取上清液，微板法测定 SOD、GSH-Px、CAT 活性和 MDA 水平。

2.4 HE 染色检测大鼠心肌组织病理学变化 大鼠心脏取材后用冰冷生理盐水洗去残留血液，修剪周围结缔组织及大血管，滤纸吸干水分，4% 多聚甲醛固定 24 h，全自动组织脱水、浸蜡，石蜡包埋，切取 4 μm 切片，经常规脱蜡、水化、苏木素染色、返蓝、伊红染色、脱水封片后于光学显微镜下观察组织形态变化，根据表 1 进行半定量评分^[10]。

表 1 心肌组织病理评分标准

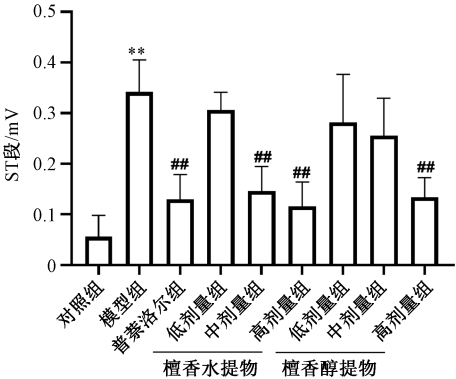
评分/分	评分标准
0	无病变
1	病变累及心肌<25%
2	病变累及心肌 25%~50%
3	病变累及心肌 50%~75%
4	病变累及心肌 75%~100%

2.5 Western blot 法检测大鼠心肌组织 Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达 取大鼠心肌组织，加入 RIPA 裂解液提取总蛋白，BCA 蛋白定量试剂盒测定浓度，变性后经 SDS-PAGE 电泳，转至 PVDF 膜，5% 脱脂奶粉溶液封闭，分别加入 Bax、Bcl-2、Caspase-3 抗体（1：1 000），4℃ 孵育过夜，洗涤后加入二抗（1：5 000），室温孵育 2 h，加入发光试剂显色，以 GAPDH 为内参，采用 Image J 软件计算条带相对灰度值。

2.6 统计学分析 通过 SPSS 22.0、Graphpad prism9.0 软件进行处理，计量资料以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 檀香提取物对急性心肌梗死大鼠心电图的影响 与对照组比较，模型组大鼠心电图 ST 段抬高（ $P<0.01$ ），表明急性心肌梗死模型制备成功；与模型组比较，普萘洛尔组和檀香提取物各剂量组大鼠心电图 ST 段的抬高幅度降低（ $P<0.01$ ），见图 1。

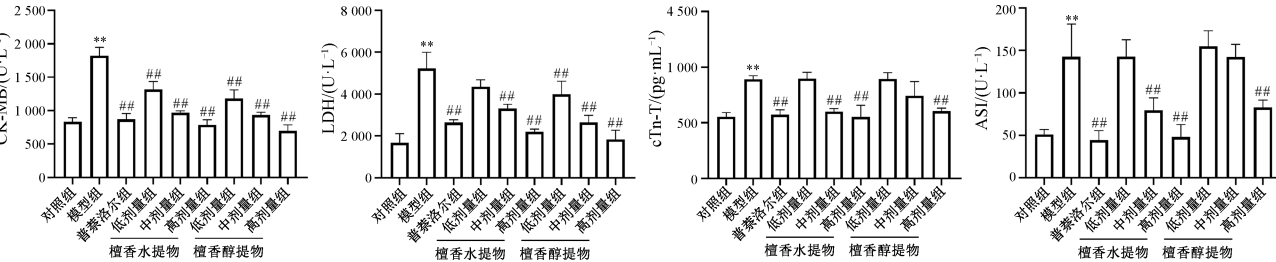


注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

图 1 檀香提取物对急性心肌梗死大鼠心电图的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=5$ ）

3.2 檀香提取物对急性心肌梗死大鼠血清 CK-MB、LDH、AST 活性和 cTn-T 水平的影响 与对照组比较，模型组大鼠血清 CK-MB、LDH、AST 活性和 cTn-T 水平升高（ $P<0.01$ ），说明异丙肾上腺素诱导大鼠出现了严重的心肌损伤，即模型制备成功；与模型组比较，普萘洛尔组和檀香提取物组大鼠血清 CK-MB、LDH、AST 活性和 cTn-T 水平降低（ $P<0.01$ ），并呈剂量依赖性，见图 2。

3.3 檀香提取物对急性心肌梗死大鼠心肌组织 SOD、MDA、CAT、GSH-Px 活性的影响 与对照组比较，模型组大鼠心肌组织 SOD、GSH-Px、CAT 活性降低（ $P<0.01$ ），

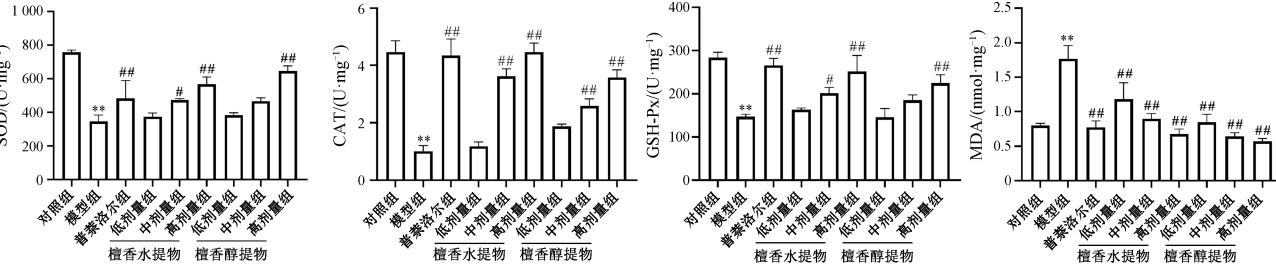


注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

图 2 檀香提取物对急性心肌缺血大鼠血清 CK-MB、LDH、AST 活性和 CTn-T 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

MDA 水平升高 ($P<0.01$)，说明皮下注射大剂量异丙肾上腺素诱发大鼠心肌出现了明显的氧化损伤；与模型组比较，普萘洛尔组、檀香醇提物高剂量组和水提物中、高剂量组大鼠心肌组织 SOD、GSH-Px 活性升高 ($P<0.05$, $P<$

0.01)，普萘洛尔组、檀香水提物和醇提物中、高剂量组大鼠心肌组织 CAT 活性升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，普萘洛尔组和檀香水提物、醇提物各剂量组大鼠心肌组织 MDA 水平降低 ($P<0.01$)，并呈剂量依赖性，见图 3。

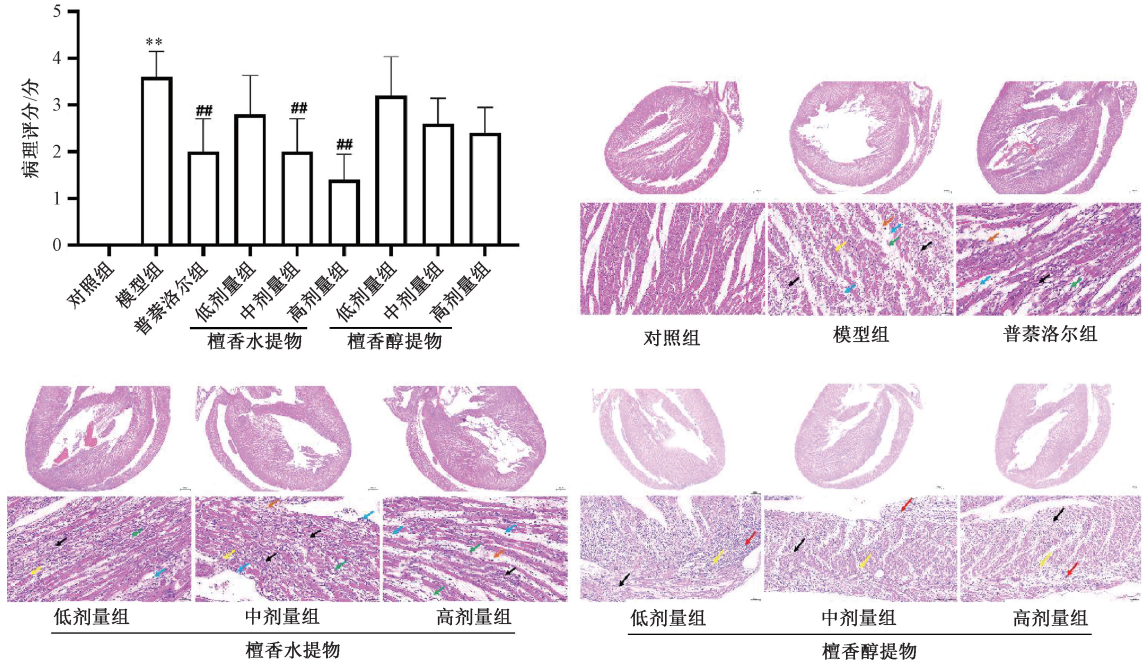


注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 3 檀香提取物对急性心肌缺血大鼠心肌组织 SOD、CAT、GSH-Px 活性和 MDA 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

3.4 檀香提取物对急性心肌缺血大鼠心肌组织病理形态及病理评分的影响 对照组大鼠心肌结构完整清晰，未见炎症细胞浸润；与对照组比较，模型组大鼠心肌纤维坏死断裂，胞核碎裂，胞质崩解，可见淋巴细胞广泛浸润，伴发水肿，坏死区域纤维化明显，病理评分升高 ($P<0.01$)；

与模型组比较，给予檀香提取物预处理后，可改善异丙肾上腺素造成的心肌组织病变，水提物中、高剂量组病理评分降低 ($P<0.01$)，而醇提物各剂量组和水提物低剂量组病理评分有降低趋势，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)，即水提物组心肌保护作用优于醇提物组，见图 4。



注：黑色箭头表示心肌纤维断裂，蓝色箭头表示淋巴细胞浸润，橙色箭头表示间距增宽，绿色箭头表示成纤维细胞，黄色箭头表示心肌细胞萎缩、体积减小。与对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

图 4 檀香提取物对急性心肌缺血大鼠心肌组织病理学损伤及病理学评分的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

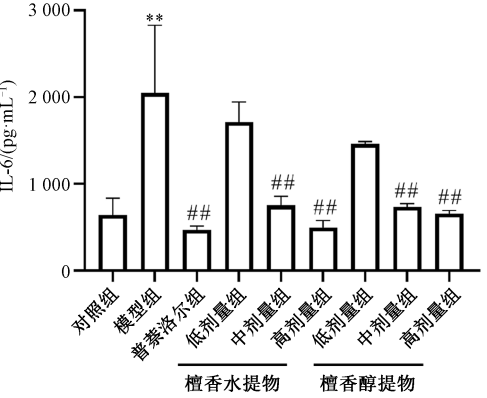
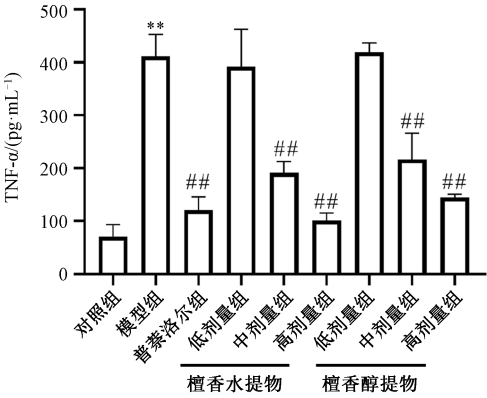
3.5 檀香提取物对急性心肌缺血大鼠血清 IL-6、TNF-α 水平的影响 与对照组比较,模型组大鼠血清 IL-6、TNF-α 水平升高 ($P<0.01$);与模型组比较,檀香水提取物中、高剂量组和醇提取物中、高剂量组大鼠血清 IL-6、TNF-α 水平降低 ($P<0.01$),见图 5。

3.6 檀香提取物对急性心肌缺血大鼠心肌组织 Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达的影响 与对照组比较,模型组大鼠心肌组织 Bax、Caspase-3 蛋白表达升高 ($P<0.01$),Bcl-2 蛋白表达降低 ($P<0.01$);与模型组比较,普萘洛尔组 and 檀香水提取物各剂量组大鼠心肌组织 Bax、Caspase-3 蛋白表达降低 ($P<0.01$),普萘洛尔组和水提取物中、高剂量组 Bcl-2 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$),见图 6。

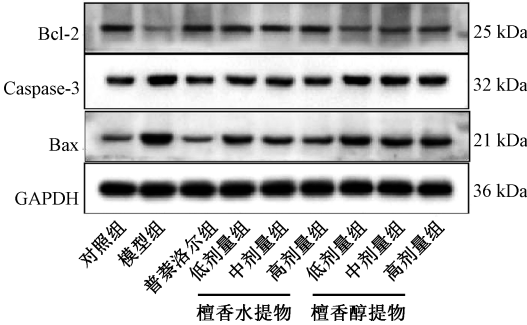
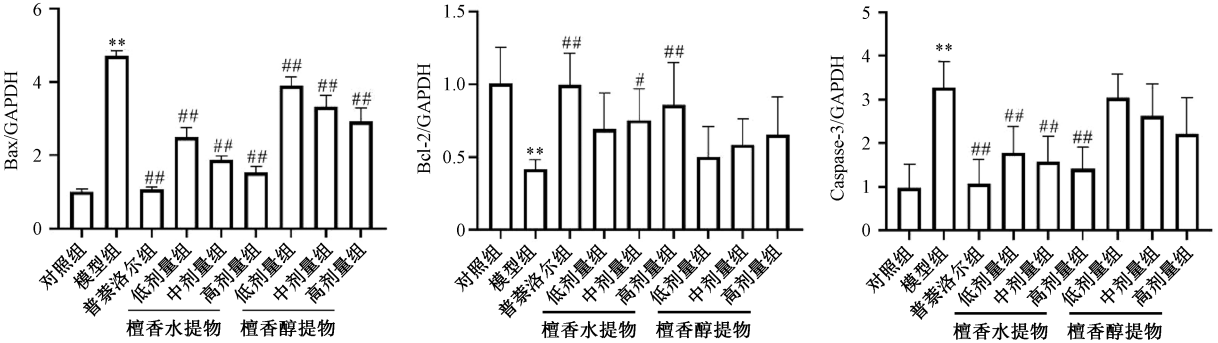
4 讨论

急性心肌缺血作为常见的心血管疾病,其高发病率和
高死亡率亟需新的治疗策略。因此,本实验通过现代药理学方法,探索檀香对急性心肌缺血的保护作用及机制。

本实验采用异丙肾上腺素构建大鼠急性心肌缺血模型,异丙肾上腺素为 β 受体激动剂,能增强心肌收缩力,加快心率,导致心脏负荷过重^[11],冠脉血流量减少,从而引发心肌供血不足和组织损伤^[12]。皮下注射 85 mg/kg 异丙肾上腺素时,大鼠心电图 ST 段明显抬高,提示急性心肌缺血模型构建成功,与文献 [13] 报道一致,而檀香提取物能降低大鼠心电图 ST 段抬高幅度,可能具有改善心肌血液灌注、减轻心肌缺血的作用。



注:与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。
图 5 檀香提取物对急性心肌缺血大鼠血清 IL-6、TNF-α 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)



注:与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

图 6 檀香提取物对急性心肌缺血大鼠心肌组织 Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

血清心肌酶 (CK-MB、LDH、AST、cTn-T) 是判断心肌损伤程度及膜完整性的血清标志物^[14-15]。本实验结果显

示,模型组大鼠血清心肌酶活性升高;心肌纤维出现坏死并可见纤维组织增生,提示异丙肾上腺素诱发大鼠出现明

显心肌损伤；檀香提取物干预后，能减少心肌细胞 AST、CK-MB、cTn-T、LDH 释放，改善心肌纤维损伤，表明它具有心肌保护作用，可能通过减轻细胞膜损伤、维持细胞内环境稳定等途径实现。

心肌缺血缺氧后，会产生大量氧自由基，使膜脂质过氧化，致使膜通透性增加，细胞功能异常，引起组织损伤^[16]。SOD、CAT、GSH-Px 作为氧化清除剂，其活性可反映机体抗氧化水平^[17]，而 MDA 是细胞膜脂质过氧化产物，可反映机体氧化应激水平^[18]。本实验结果显示，檀香提取物能提高心肌组织中抗氧化酶（SOD、GSH-Px、CAT）活性，有助于减轻氧化应激对心肌细胞的损伤，具有良好的抗氧化能力；能降低 MDA 水平，表明其能减少脂质过氧化反应，保护细胞膜结构的完整性。

缺血心肌产生过量氧自由基诱导心肌细胞氧化损伤，同时诱发炎症风暴进一步加重心肌损伤，是心肌缺血重要的病理生理机制^[19]。TNF-α、IL-6 是参与局部炎症的主要促炎因子，可诱导细胞凋亡^[20]。本实验结果显示，檀香提取物可抑制 TNF-α、IL-6 释放，减轻炎症反应，表明它具有抗炎作用，可能通过抑制炎症反应减轻心肌损伤。

凋亡也是引发心肌损伤的重要方式之一，Bcl-2/Bax/Caspase-3 信号通路是细胞凋亡过程中的关键通路^[21]。本实验结果显示，檀香提取物能降低心肌 Bax、Caspase-3 蛋白表达，升高 Bcl-2 蛋白表达，表明它可减少心肌细胞凋亡，其保护作用可能与调控 Bcl-2/Bax/Caspase-3 通路相关。

综上所述，檀香提取物可减轻异丙肾上腺素所致大鼠急性心肌缺血损伤，其作用机制可能与抗氧化应激、抗炎、抗凋亡相关。

参考文献：

[1] 《中国心血管健康与疾病报告 2022》编写组.《中国心血管健康与疾病报告 2022》要点解读[J]. 中国心血管杂志, 2023, 28(4): 297-312.

[2] 许 菲,王桐生,李龙飞,等. 华佗救心丸对异丙肾上腺素诱导小鼠急性心肌缺血的作用[J]. 中成药, 2023, 45(7): 2359-2363.

[3] Zhou X D, Chang B, Gu Y Z. MicroRNA-21 abrogates palmitate-induced cardiomyocyte apoptosis through Caspase-3/NF-κB signal pathways[J]. *Anatol J Cardiol*, 2018, 20(6): 336.

[4] 陈一豪,刘益凤,曲雪峰,等. 人参不定根乙醇提取物保护异丙肾上腺素诱导的心肌缺血作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(12): 4014-4020.

[5] 叶 明,吴 辉. 心肌缺血再灌注损伤的研究新进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2016, 18(4): 434-437.

[6] 李思成,王 华,吴 松,等. “心与小肠相表里”理论在心肌缺血疾病中的运用[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(1): 153-155.

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

[8] 严慧婕,何金美. 丹参-檀香不同配比抗心肌缺血的作用[J]. 中国中医药现代远程教育, 2022, 20 (21): 147-150.

[9] 何天竺,辛 宇,宋 岩,等. 丹参-檀香配伍提取物对异丙肾上腺素诱发小鼠心肌缺血损伤的保护作用[J]. 吉林农业大学学报, 2019, 41(2): 192-198.

[10] 屈新亮,段广靖,赵 博,等. 附子-干姜对大鼠急性心肌缺血的抗炎、抗氧化、抗凋亡保护作用及机制研究[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(3): 31-37.

[11] 李清禹,杨浩然,贾伟伟,等. 不同剂量异丙肾上腺素致大鼠急性心肌损伤模型的制备及评价[J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(8): 71-75; 114.

[12] 孙 佳,潘 洁,秦 兰,等. 荭草提取物对异丙肾上腺素诱导大鼠急性心肌缺血的作用及机制[J]. 贵州医科大学学报, 2021, 46(3): 275-280.

[13] 赵 博,屈新亮,王 祁,等. 四逆汤对异丙肾上腺素诱导大鼠急性心肌缺血的保护作用及机制[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(3): 545-548.

[14] 木西叶乐. 丹参对异丙肾上腺素诱导心肌缺血大鼠的心脏功能保护作用的研究[D]. 通辽: 内蒙古民族大学, 2023.

[15] Chaulin A. Cardiac troponins: Contemporary biological data and new methods of determination[J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2021, 17: 299-316.

[16] 鹿文婷. 牛磺酸对铝致大鼠学习记忆障碍的改善作用及相应机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2014.

[17] 尤 虹,陈水红,冯川川,等. 内生真菌与宿主小花棘豆抗盐性的关系研究[J]. 现代农业科技, 2014 (13): 287-289.

[18] 付 琪,孙 宇,史文华,等. 远志根与远志苗对大鼠心肌损伤的保护作用[J]. 中成药, 2022, 44 (12): 4033-4036.

[19] 萧 闵,向晶晶,王 威,等. 金香丹抑制 NLRP3/IL-1β/Caspase-1 信号通路缓解大鼠心肌缺血再灌注损伤[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(20): 87-94.

[20] Zeng C, Jiang W, Yang X Y, *et al.* Pretreatment with total flavonoid extract from *Dracocephalum Moldavica* L. attenuates ischemia reperfusion-induced apoptosis[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 17491.

[21] 周 雪. 基于 Bcl-2/Bax/Caspase-3 信号通路探讨三七总皂苷对自身免疫性心肌炎模型大鼠心肌凋亡影响的研究[J]. 陕西中医, 2021, 42(11): 1504-1510.