

### 3,6-(二甲氨基)-二苯并碘杂六环葡萄糖酸盐对大鼠 心肌缺血的保护作用

李西宽<sup>1\*</sup>, 刘俊田<sup>1</sup>, 邓秀玲<sup>1</sup>, 苟伟<sup>2</sup>, 孙晓明<sup>2</sup>, 赵进<sup>2</sup>, 侯自杰<sup>3</sup>

(1. 西安医科大学药理学教研室, 陕西 西安 710061; 2. 西安医科大学机能中心, 陕西 西安 710061; 3. 兰州大学化学系, 甘肃 兰州 730003)

**摘要** 采用结扎冠状动脉制备心肌缺血模型和 iv 垂体后叶素诱导心肌缺血模型, 观察了 3,6-(二甲氨基)-二苯并碘杂六环葡萄糖酸盐(IHC-93)对大鼠心肌损伤的影响。结果表明, IHC-93 0.25 及 0.50 mg·kg<sup>-1</sup>能够缩小大鼠缺血心肌的梗死范围; 明显减少缺血心肌乳酸脱氢酶及肌酸磷酸激酶的释放; 对抗结扎冠脉和 iv 垂体后叶素所致的心电图 ST 段-T 波抬高; 明显改善缺血心肌光镜下的细胞损伤。结果提示, IHC-93 对大鼠急性缺血心肌损伤有保护作用。

**关键词** 3,6-(二甲氨基)-二苯并碘杂六环葡萄糖酸盐; 心肌; 缺血; 乳酸脱氢酶; 肌酸磷酸激酶

中图分类号 R972

文献标识码 A

文章编号 1000-300X(2001)03-0172-04

3,6-(二甲氨基)-二苯并碘杂六环葡萄糖酸盐(3,6-dimethamidodibenzopyridonium gluconate, IHC-93)是由兰州大学近年合成的新一代碘杂环化合物, 是迄今本类药物中水溶性最好的药物。研究发现能改善神经缺失症状和缩小脑梗死范围<sup>[1]</sup>, 机理与抗脂质过氧化有关<sup>[2]</sup>。作者用结扎大鼠冠状动脉制备心肌损伤模型和垂体后叶素诱导心肌损伤模型, 观察 IHC-93 对心肌梗死的保护作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂、仪器与动物

IHC-93系兰州大学化学系侯自杰教授合成馈

赠, 纯度 95% 以上, 临用时用 5% 葡萄糖溶液将药物配成所需浓度; 垂体后叶素(pituitrin)由天津市生物化学制药厂生产, 批号 990606; 维拉帕米(verapamil)由南通第三制药厂生产, 批号 980408; 氯化硝基四氮唑蓝(nitroblue tetrazolium, NBT), 上海前进试剂厂。肌酸磷酸激酶(creatine phosphokinase, CPK)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒为北京中生生物工程高技术公司产品。XDH-3 型心电图机和 722 型分光光度计均由上海市医用电子仪器厂生产; XSZ-G 型生物显微镜由重庆光学仪器厂生产。

健康 Sprague-Dawley 大鼠, ♂, 体重(220 ± 20)g ( $\bar{x} \pm s$ )。西安医科大学实验动物中心提供。

### 1.2 冠状动脉结扎缺血模型

将大鼠用乙醚麻醉, 仰位固定, 在无菌条件下切开左胸部皮肤, 于第四肋间隙钝性分离肌肉, 轻压右胸, 挤出心脏, 于肺动脉圆锥与左心耳之间, 距左冠状动脉起源 2~3 mm 处结扎冠状动脉。随后立即把心脏送回胸腔内, 挤出胸腔内空气, 行人工呼吸至自主呼吸恢复。缝合伤口后, 用青霉素涂抹伤口预防感染。假手术组动物的手术全过程相同, 穿线不结扎冠脉<sup>[3]</sup>。大鼠随机分为 5 组, 假手术组, 模型 + 5% 葡萄糖溶液(500 mg·kg<sup>-1</sup>)对照组, 模型 + IHC-93 0.25 或 0.5 mg·kg<sup>-1</sup>组, 模型 + 维拉帕米 0.5 mg·kg<sup>-1</sup>组, 手术后立即 ip 给药。

### 1.3 心电图 ST 段和 T 波(ST-T)测定

大鼠于结扎冠状动脉前记录正常 II 导联心电图, 手术后立即记录缺血后心电图, 然后 ip 给药。给药后 24 h, 用戊巴比妥钠 60 mg·kg<sup>-1</sup>麻醉, 再记录心电图, 测量并计算 ST-T 抬高的毫伏数。

### 1.4 血清乳酸脱氢酶及肌酸磷酸激酶活性测定

心电图记录完毕, 大鼠腹主动脉采血, 分离血清, 测定 LDH 和 CPK 活性。

### 1.5 心肌梗死范围测定

大鼠腹主动脉采血后, 开胸剪取心脏, 用冷生

收稿日期 2000-03-09 接受日期 2000-10-25

基金项目 陕西省自然科学基金项目(SM40)

作者简介 李西宽(1964-), 男, 陕西西安人, 硕士, 讲师。

\* 联系作者。Tel: (029) 5275165。

理盐水冲洗,除去心房,将心室横切成 3~4 片,浸入 0.25% NBT 溶液中,37℃水浴 10 min 染色<sup>[4,5]</sup>.梗死心肌呈明显的脱氢酶活性消失的不着色区,而正常心肌呈深蓝着色.切下不着色区称重,计算心脏梗死区占全心室重量的百分比.

1.6 光镜标本制作

另一批大鼠,分组与模型制备同前,实验末,从各组左心室同一部位取材,15% 甲醛溶液固定制作病理切片,HE 染色,光镜下观察心肌形态学变化.

1.7 垂体后叶素引起的心电图改变

将大鼠随机分为 4 组,5% 葡萄糖溶液(500 mg·kg<sup>-1</sup>)对照组,IHC-93 0.5 和 0.25 mg·kg<sup>-1</sup>组及维拉帕米 0.5 mg·kg<sup>-1</sup>组,每组 8 只.乌拉坦(1 g·kg<sup>-1</sup> ip)麻醉,仰位固定,记录 II 导联心电图,选心电图正常的大鼠进行实验.舌下 iv 给药,5 min 后再舌下 iv 垂体后叶素 0.5 U·kg<sup>-1</sup>,注射时间均为 5 s,制作心肌缺血模型<sup>[6]</sup>.注射后立即于不同时间观察记录心电图.记录注射垂体后叶素后 ST-T 抬高 0.3 mV 的动物数,ST-T 抬高出现时间及持续时间.

1.8 统计学处理

结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 F 检验及 Dunnett *t* 检验,或  $\chi^2$  检验比较组间差异的显著性.

2 结果

2.1 IHC-93 对心肌缺血大鼠心电图 ST-T 变化的影响

表 1 表明,大鼠结扎冠状动脉后心电图 ST-T 立即明显抬高.24 h 后,IHC-93 两个剂量组与模型组比较,均显著降低抬高的 ST-T,说明 IHC-93 对缺血

性心电图 ST-T 变化有明显的改善作用.

2.2 IHC-93 对心肌缺血大鼠血清乳酸脱氢酶和肌酸磷酸激酶活性的影响

表 2 表明,大鼠心肌缺血 24 h 后血清 LDH 和 CPK 活性明显升高.给予 IHC-93 后血清 LDH 活性较模型组明显降低,但仍高于假手术组水平.而 CPK 活性与假手术组比较无显著性差异.说明 IHC-93 可不同程度地减少缺血心肌 LDH 和 CPK 的释放,有减轻心肌缺血损伤的作用.

2.3 IHC-93 对大鼠缺血心肌梗死范围的影响

由表 3 可以看出,给予 0.25 和 0.5 mg·kg<sup>-1</sup>的 IHC-93,大鼠心肌梗死范围呈不同程度的缩小.与模型组比较有显著性差异,说明 IHC-93 能够缩小缺血心肌梗死范围,对大鼠急性缺血心肌有保护作用.

2.4 ICH-93 对心肌缺血大鼠心肌病理学变化的影响

假手术组心脏三层结构清晰.心肌纤维排列整齐,未见断裂,变性及坏死;间质内未见炎细胞浸润;心内膜,心外膜亦未见异常改变.模型组心脏左室前壁及心尖部心肌厚层或全层梗死,近心外膜心肌梗死更重.梗死区心壁变薄,梗死以凝固性坏死为主,可见肌溶性改变;梗死区心肌纤维红染,间隙增宽,横纹消失,核固缩或溶解;梗死区边缘可见充血,出血带及不等量中性粒细胞浸润;梗死区心外膜表面可见渗出的不等量纤维素,中性粒细胞及漏出的红细胞;梗死区内膜光滑,未见附壁血栓形成.IHC-93 0.5 mg·kg<sup>-1</sup>组与模型组比较,梗死范围较小,梗死多位于肌壁外 1/3~2/3 层(8/11),其余病变与模型组相似但较轻.IHC-93 0.25 mg·

Tab 1. Effect of 3,6-dimethamidodibenzopyrionium gluconate(IHC-93) on ST-T changes in electrocardiogram in myocardial ischemic rats

Group	n	ST-T/mV		
		Before	After	After treatment
Sham	10	0.18 ± 0.03	0.57 ± 0.13	0.17 ± 0.02
I	10	0.17 ± 0.02	0.62 ± 0.15	0.54 ± 0.11**
I+IHC-93 0.25	9	0.18 ± 0.03	0.66 ± 0.15	0.24 ± 0.05***
I+IHC-93 0.5	11	0.19 ± 0.02	0.67 ± 0.11	0.20 ± 0.05##
I+verapamil 0.5	10	0.18 ± 0.02	0.68 ± 0.12	0.28 ± 0.08***

Sham : sham operation ; I : ischemia produced by the ligation of descending anterior branch of left coronary artery for 24 h. IHC-93 0.25 and 0.5 mg·kg<sup>-1</sup>, verapamil 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> ip, respectively, immediately after ligation. Before : before ligation ; After : immediately after ligation and before drug treatments ; After treatment 24 h after administration of various agents.  $\bar{x} \pm s$ . \*\* *P* < 0.01, compared with sham group ; ## *P* < 0.01, compared with group I.

**Tab 2. Effect of 3 ,6-dimethamidodibenzopyrionium gluconate on lactate dehydrogenase ( LDH ) and creatine phosphokinase ( CPK ) activities in serum of myocardial ischemic rats**

Group	<i>n</i>	LDH/mmole · min <sup>-1</sup> · L <sup>-1</sup>	CPK/mmole · min <sup>-1</sup> · L <sup>-1</sup>
Sham	10	0.18 ± 0.04	0.63 ± 0.12
I	10	0.36 ± 0.07 <sup>**</sup>	0.93 ± 0.22 <sup>**</sup>
I + IHC-93 0.25	9	0.29 ± 0.08 <sup>**</sup>	0.74 ± 0.13 <sup>#</sup>
I + IHC-93 0.5	11	0.25 ± 0.05 <sup>**</sup> <sup>#</sup>	0.70 ± 0.18 <sup>#</sup>
I + verapamil 0.5	10	0.29 ± 0.08 <sup>**</sup>	0.70 ± 0.12 <sup>#</sup>

The treatments were the same as described in Tab 1.  $\bar{x} \pm s$ . <sup>\*\*</sup> *P* < 0.01 compared with sham group ; <sup>#</sup> *P* < 0.05 , <sup>#</sup> *P* < 0.01 , compared with group I.

**Tab 3. Effect of 3 ,6-dimethamidodibenzopyrionium gluconate on myocardial infarct size in myocardial ischemic rats**

Group	<i>n</i>	WW/g	WI/g	Ratio/%
Sham	10	0.74 ± 0.09		
I	10	0.78 ± 0.14	0.34 ± 0.04	44 ± 4
I + IHC-93 0.25	9	0.70 ± 0.08	0.22 ± 0.07	32 ± 8 <sup>**</sup>
I + IHC-93 0.5	11	0.71 ± 0.08	0.19 ± 0.04	26 ± 5 <sup>**</sup>
I + verapamil 0.5	10	0.71 ± 0.13	0.24 ± 0.07	32 ± 7 <sup>**</sup>

The treatments were the same as described in Tab 1. WW : weight of whole ventricle ; WI : weight of infarct ventricle ; Ratio : infarct size ratio.  $\bar{x} \pm s$ . <sup>\*\*</sup> *P* < 0.01 , compared with group I.

kg<sup>-1</sup>组心肌梗死范围与大剂量组相似，其余病变与模型组相似但较轻。维拉帕米阳性对照组与模型组比较，梗死范围相对较小，梗死位于肌壁外 1/3 ~ 2/3 层( 10/10 )，未累及肌壁内 1/3 层，其余病变与模型组相似但较轻。

**2.5 IHC-93 对垂体后叶素所致心电图改变的影响**  
表4，表5表明，各组大鼠舌下 iv 垂体后叶素

**Tab 4. Effect of 3 ,6-dimethamidodibenzopyrionium gluconate on ST-T elevation in electrocardiogram induced by pituitrin in rats**

Group	Animal number of ST-T raise > 0.3 mV at different time after iv pituitrin								
	0	0.5	1	2	3	5	10	15	20 ( min )
Pituitrin	5	8	8	8	8	8	8	7	6
IHC-93 0.25 + pituitrin	0 <sup>**</sup>	5	8	8	3 <sup>*</sup>	3 <sup>*</sup>	2 <sup>**</sup>	1 <sup>**</sup>	1 <sup>*</sup>
IHC-93 0.5 + pituitrin	0 <sup>**</sup>	8	7	3 <sup>*</sup>	2 <sup>**</sup>	1 <sup>**</sup>	0 <sup>**</sup>	0 <sup>**</sup>	0 <sup>**</sup>
Verapamil 0.5 + pituitrin	0 <sup>**</sup>	6	6	6	3 <sup>*</sup>	3 <sup>*</sup>	2 <sup>**</sup>	2 <sup>*</sup>	1 <sup>**</sup>

IHC-93 0.25 and 0.5 mg · kg<sup>-1</sup> , verapamil 0.5 mg · kg<sup>-1</sup> iv , respectively , in sublingual vein 5 min before 0.5 U · kg<sup>-1</sup> pituitrin iv in sublingual vein. *n* = 8. <sup>\*</sup> *P* < 0.05 , <sup>\*\*</sup> *P* < 0.01 , compared with corresponding pituitrin alone by  $\chi^2$  test.

**Tab 5. Effect of 3 ,6-dimethamidodibenzopyrionium gluconate on times of occurrence and persistence of ST-T elevation induced by pituitrin in rats**

Group	Time/min	
	Occurrence	Persistence
Pituitrin	0.18 ± 0.25	19.4 ± 1.8
IHC-93 0.25 + pituitrin	0.68 ± 0.25 <sup>**</sup>	7.8 ± 6.6 <sup>**</sup>
IHC-93 0.5 + pituitrin	1.13 ± 0.35 <sup>**</sup>	3.6 ± 2.8 <sup>**</sup>
Verapamil 0.5 + pituitrin	1.50 ± 0.93 <sup>**</sup>	7.8 ± 6.6 <sup>**</sup>

The treatments were the same as described in Tab 4. Occurrence : occurrent time of ST-T elevation from administration of pituitrin ; persistent : persistent time of ST-T elevation.  $\bar{x} \pm s$  , *n* = 8. <sup>\*\*</sup> *P* < 0.01 , compared with control group.

0.5 U · kg<sup>-1</sup>后，心电图均出现不同程度 ST-T 抬高。预先给予 IHC-93 能明显减少 ST-T 抬高的动物数，同时推迟 ST-T 抬高的出现时间，缩短持续时间。说明 IHC-93 能对抗垂体后叶素引起的心肌缺血损伤。

**3 讨论**

缩小心肌梗死范围是治疗心肌梗死的主要手段，目前，用于测定心肌梗死范围的方法很多，作者应用 NBT 大体心肌标本组织化学染色直接测定的方法和间接测定心肌梗死范围及程度的酶学指标<sup>[7]</sup>，两种方法所得结论一致。即 IHC-93 对大鼠缺血心肌梗死范围呈剂量依赖性缩小，明显降低血清中 CPK 和 LDH 的含量，说明 IHC-93 对心肌梗死性损伤有一定保护作用。

ST-T 的抬高主要反映心肌的损伤，但并非大鼠急性心肌梗死早期的特征性表现，因为假手术组虽然没有冠脉结扎组高，但也同样出现了 ST-T 抬高<sup>[8]</sup>。心肌梗死时，心肌中氧张力降低或无氧代谢

加强,出现了电位差,即可出现 ST-T 的抬高.作者通过对每组动物冠脉结扎前后及 24 h 的心电图 ST-T 的观察,结果表明,冠脉结扎后各组动物心电图 ST-T 立即抬高.24 h 后发现 IHC-93 能显著降低 ST-T,说明该药对冠脉结扎引起的心电图 ST-T 变化有一定的改善作用.

IHC-93 能明显改善垂体后叶素引起的大鼠心肌梗死时心电图的异常变化,抑制 ST-T 段的升高,降低心电图异常的发生率,推迟出现时间,缩短持续时间.此结果与冠脉结扎引起的心肌梗死模型是一致的.所以,通过两种模型证明 IHC-93 有明显而肯定的抗心肌梗死作用.

总之,作者证实,IHC-93 通过缩小大鼠心肌梗死面积,降低血清 LDH,CPK 的活性,抑制冠脉结扎及垂体后叶素引起的大鼠心肌梗死的心电图变化,从而发挥抗心肌梗死作用.

#### 4 参考文献:

- [1] 邓秀玲,钱之玉,刘乃丰,侯自杰,马小亚,王美纳. 3,6-(二甲氨基)-二苯并碘杂六环葡萄糖酸盐对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2000,14(2):131-135.

- [2] Deng XL, Qian ZY, Liu NF, Ma XY, Wang HF, Hou ZJ. Antagonistic effect of 3,6-dimethamidodibenzopyridonium gluconate on lipid peroxidation in cerebral cortical neuronal cultures and rat brains during focal cerebral ischemia-reperfusion[J]. *Acta Pharm Sin*, 2000, 21(5): 460-462.
- [3] Seley H, Bajusz E, Grasso S, Mendell P. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat[J]. *Angiology*, 1960, 11: 398.
- [4] 李杏,陈俊秀,孙家钧.三七皂甙对大鼠实验性心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国药理学报, 1990, 11(1): 26-29.
- [5] Nachlas MM, Shnitka TK. Macroscopic identification of early myocardial infarct by alteration in dehydrogenase activity[J]. *Am J Pathol*, 1963, 42: 379.
- [6] 吴伟康,侯灿,罗汉川,卢景雾,杨正红.垂体后叶素性心肌缺血模型再探[J]. 中国病理生理杂志, 1993, 9(2): 124.
- [7] Opie LH, Tansey M, Kennelly BM. Proposed metabolic vicious circle in patients with large myocardial infarcts and high plasma-free-fatty-acid concentrations[J]. *Lancet*, 1977, 2(8044): 890-892.
- [8] Braunwald E, Maroko PR. ST-segment mapping. Realistic & unrealistic expectation[J]. *Circulation*, 1979, 54: 529-532.

## Protective effect of 3,6-dimethamidodibenzopyridonium gluconate on myocardial ischemia in rats

LI Xi-Kuan<sup>1</sup>, LIU Jun-Tian<sup>1</sup>, DENG Xiu-Ling<sup>1</sup>, GOU Wei<sup>2</sup>, SUN Xiao-Ming<sup>2</sup>, ZHAO Jin<sup>2</sup>, HOU Zi-Jie<sup>3</sup>

(1. Department of Pharmacology, 2. Function Centers, Xian Medical University, Xi'an 710061, China;

3. Department of Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou 730003, China)

**Abstract:** This paper described the effects of 3,6-dimethamidodibenzopyridonium gluconate (IHC-93) on the acute myocardial ischemia produced by the ligation of descending anterior branch of left coronary artery and pituitrin ( $0.5 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ , iv). The results showed that IHC-93 at the dose of 0.25 and  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  shrank the area of acute myocardial infarction, reduced lactate dehydrogenase and creatine phosphokinase level in serum. IHC-93 also reduced the abnormal changes in ECG and myocardial injury under the

observation of light microscopes. It is suggested that IHC-93 exert significantly protective effect against myocardial ischemia in rats.

**Key words:** 3,6-dimethamidodibenzopyridonium gluconate; myocardium; ischemia; lactate dehydrogenase; creatine phosphokinase

**Foundation item:** The project supported by Science Foundation of Shanxi Province (SM40)

(本文编辑 周宇红)