艾纳香总黄酮对急性心肌梗死模型大鼠的药效作用及机制研究Δ

吕依婷[1*]，王溢晨[2]，冯贻东[2]，石忠峰[1#]，韩　亮[1]，张晓琦[1]（1.广东药科大学新药研发中心，广州　510006；2.深圳海王医药科技研究院有限公司，广东 深圳　518057）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）11-1332-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.11.09

摘　要　目的　研究艾纳香总黄酮对急性心肌梗死（AMI）模型大鼠的药效作用及可能机制。**方法**　采用结扎SD大鼠冠状动脉左前降支的方法建立AMI模型。选取造模成功的50只大鼠，按照随机数字表法分为模型组（0.8%羧甲基纤维素溶液）、阳性对照组（复方丹参片，300 mg/kg）和艾纳香总黄酮低、中、高剂量组（3、10、30 mg/kg），每组10只；另取10只作为假手术组（0.8%羧甲基纤维素溶液）。手术1 d后开始灌胃给药，给药体积均为3 mL/kg，每天给药1次，连续4周。记录术前、术后及每周灌胃给药后大鼠心电图S-T段的变化；检测大鼠血流动力学指标[动脉收缩压（SBP）、舒张压（DBP）、平均动脉压（MAP）、左心室收缩压（LVSP）、左心室舒张末压（LVEDP）、左心室内压最大上升速率（+LVdp/dt$_{max}$）和左心室内压最大下降速率（－LVdp/dt$_{max}$）]；检测大鼠血清心肌酶[乳酸脱氢酶（LDH）、肌酸激酶同工酶-MB（CK-MB）]和炎症因子[肿瘤坏死因子α（TNF-α）、白细胞介素6（IL-6）、IL-1β]水平；检测大鼠心肌梗死率和心肌组织中磷脂酰肌醇3激酶（PI3K）、蛋白激酶B（Akt）的磷酸化水平。**结果**　与模型组比较，给药后各组大鼠心电图S-T段均显著降低（$P<0.05$）；艾纳香总黄酮中、高剂量组大鼠SBP、DBP、MAP、LVSP、+LVdp/dt$_{max}$、－LVdp/dt$_{max}$及p-PI3K^{Tyr607}/PI3K、p-Akt^{Thr308}/Akt、p-Akt^{ser473}/Akt比值均显著升高（$P<0.05$），LVEDP、血清心肌酶和炎症因子水平、心肌梗死率均显著降低（$P<0.05$）。**结论**　艾纳香总黄酮能改善AMI模型大鼠的心功能；其作用机制与抑制炎症因子表达，激活PI3K/Akt信号通路有关。

关键词　艾纳香总黄酮；急性心肌梗死；磷脂酰肌醇3激酶；蛋白激酶B；心肌保护

Study on the pharmacodynamics and mechanism of *Blumea balsamifera* total flavonoids against acute myocardial infarction model rats

LYU Yiting[1], WANG Yichen[2], FENG Yidong[2], SHI Zhongfeng[1], HAN Liang[1], ZHANG Xiaoqi[1] (1. The Center for Drug Research and Development, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Shenzhen Neptunus Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd., Guangdong Shenzhen 518057, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To study pharmacodynamics and potential mechanism of *Blumea balsamifera* total flavonoids against acute myocardial infarction (AMI) model rats. **METHODS** AMI model of SD rats was established by ligating anterior descending branch of left coronary artery. Fifty model rats were randomly divided into model group (0.8% carboxymethyl cellulose solution), positive control group (Compound danshen tablet, 300 mg/kg), *B. balsamifera* total flavonoids low-dose, medium-dose and high-dose groups (3, 10, 30 mg/kg), with 10 rats in each group. Other 10 rats were included in sham operation group (0.8% carboxymethyl cellulose solution). After 1 day of surgery, they were given relevant medicine 3 mL/kg intragastrically, once a day, for 4 consecutive weeks. The changes of S-T segment were recorded before and after operation, after weekly intragastric administration. The hemodynamic indexes of rats were all determined, i.e. systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), mean arterial pressure (MAP), left ventricular systolic pressure (LVSP), left ventricular end diastolic blood pressure (LVEDP), maximal left ventricular pressure rising rate (+LVdp/dt$_{max}$), maximal left ventricular pressure decreasing rate (－LVdp/dt$_{max}$). The levels of serum myocardial enzymes [lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase isoenzyme-MB (CK-MB)] and inflammatory factors [tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6), IL-1β] were determined. The myocardial infarction rate of rats and the phosphorylation levels of phosphoinositide 3-kinase (PI3K) and protein kinase B (Akt) proteins in myocardial tissue were determined. **RESULTS** Compared with model group, S-T segments of electrocardiogram were all decreased significantly in administration groups ($P<0.05$). SBP, DBP, MAP, LVSP, +LVdp/dt$_{max}$, －LVdp/dt$_{max}$, and ratio of p-PI3K^{Tyr607}/PI3K, p-Akt^{Thr308}/Akt, p-Akt^{ser473}/Akt were increased significantly in *B. balsamifera* total flavonoids medium-dose and high-dose groups ($P<0.05$). The levels of LVEDP, serum myocardial enzymes and inflammatory factors, myocardial infarction rate were all decreased significantly ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** *B. balsamifera* total flavonoids can improve cardiac function of AMI model rats, the mechanism of which may be associated

Δ **基金项目** 国家“重大新药创制”科技重大专项（No.2017ZX-09301036）；广东省应用型科技研发专项资金项目（No.2016B02023-9002）

＊**第一作者** 硕士研究生。研究方向：药理学。E-mail：yitinglv@foxmail.com

＃**通信作者** 副研究员，硕士生导师，博士。研究方向：药理学。E-mail：propharm@163.com

with inhibiting the expression of inflammatory factor and activating PI3K/Akt signaling pathway.
KEYWORDS *Blumea balsamifera* total flavonoids; acute myocardial infarction; phosphoinositide 3-kinase; protein kinase B; myocardial protection

我国心血管疾病的死亡人数已经从2005年的309万增加到了2020年的458万[1]。冠心病作为最常见的心血管疾病之一，其患病率和病死率逐年升高[2]，给社会和家庭带来了沉重的负担。急性心肌梗死（acute myocardial infarction，AMI）是冠心病最常见的并发症。有文献报道，AMI会引起机体发生氧化应激反应，而大量氧自由基的产生和聚集会导致细胞结构和功能损伤[3]。磷脂酰肌醇3激酶（phosphoinositide 3-kinase，PI3K）/蛋白激酶B（protein kinase B，Akt）信号通路是介导细胞凋亡、生长和存活的重要信号通路[4]。相关体内外实验证明，该信号通路可通过调节体内炎症、氧化应激来改善心功能[5—6]。

艾纳香作为菊科植物艾纳香 *Blumea balsamifera* DC.的干燥地上部分，除含有挥发油类、多糖类物质外，还含有大量黄酮类物质[7]。现代药理学研究表明，艾纳香总黄酮具有抗炎、抗氧化和抗菌等多种药理作用[8—10]。本课题组前期临床研究结果显示，对于需要使用硝酸甘油的冠心病患者，艾纳香总黄酮能显著降低其硝酸甘油的使用量，具有较大的临床应用价值。但艾纳香总黄酮是否具有改善AMI后的心肌损伤，尚不明确。因此，本研究对艾纳香总黄酮抗AMI的药效学进行探索，并基于PI3K/Akt信号通路初探其作用机制，以期为将艾纳香总黄酮开发为治疗AMI的新药提供实验参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有2150型紫外-可见分光光度计[尤尼柯（上海）仪器有限公司]、HX-101E型电动呼吸机（成都泰盟软件有限公司）、ECG-6511型心电图检测仪（上海光电医用电子仪器有限公司）、YP100型压能转换器（南京美易科技有限公司）、MAP2000型生物信号分析系统（上海奥尔科特生物科技有限公司）、BS-600M型全自动生化分析仪（迈瑞生物医疗电子股份有限公司）、iBright型智能成像系统（美国Thermo Fisher Scientific公司）、ChemiDoc XRS+型化学发光成像系统（美国Bio-Rad公司）等。

1.2 主要药品与试剂

艾纳香药材于2018年10月采摘自贵州省苗药生物技术有限公司种植基地，其含蜡标本由深圳海王医药科技研究院保存，经中国医学科学院药用植物研究所郭宝林研究员鉴定为菊科植物艾纳香 *Blumea balsamifera* DC.的地上部分；复方丹参片（阳性对照药，批号030926，规格300 mg/片）购自上海雷允上药业有限公司；艾纳香甲素对照品（批号20160112）为本实验室自制，通过核磁共振氢谱（^{1}H-NMR）和核磁共振碳谱（^{13}C-NMR）等方法确定其结构，并利用面积归一法计算得到其纯度大于98%；肌酸激酶同工酶-MB（creatine kinase isoenzyme-MB，CK-MB）、乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）、肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素6（interleukin-6，IL-6）、IL-1β测定试剂盒（批号分别为20210719、20210722、20190411、20190125、20190317）均购自南京建成生物工程研究所；TTC染色剂（批号C1360014）购自上海麦克林生化科技有限公司；兔抗鼠Akt、磷酸化Akt（p-Akt^{Thr308}、p-Akt^{ser473}）和甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）单克隆抗体均购自美国CST公司；兔抗鼠PI3K、磷酸化PI3K（p-PI3K^{Tyr607}）单克隆抗体购自美国Abcam公司；辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗购自美国Cell Signaling Technology公司；其余试剂为实验室常用规格，水为纯化水。

1.3 动物

本研究所用动物为SPF级健康SD大鼠，共107只，体质量为190～210 g，雌雄兼用，购于广东省医学实验动物中心，实验动物使用许可证号为SYXK（粤）2022-0125。大鼠适应性饲养3 d天后开始实验，饲养期间大鼠自由摄食和饮水。饲养环境温度为20～26 ℃，相对湿度为40%～70%，每小时不少于15次全新风通风，12 h明暗交替。本研究关于实验动物的处置符合动物伦理学要求，且本研究方案通过了广东药科大学实验室动物伦理委员会的批准（伦理批号为GDPULACSPF-2022108）。

2 方法

2.1 艾纳香总黄酮的提取与含量测定

取艾纳香药材150 g，按文献[11]方法制备艾纳香总黄酮提取物，得率约为1.5%。按文献[12]方法绘制标准曲线，得回归方程 $Y=23.84X+0.007\ 7$（$R^2=0.999\ 5$），式中X、Y分别表示总黄酮浓度和吸光度。使用紫外-可见光分光光度计测定提取物中总黄酮的吸光度（检测波长为271 nm，对照品为艾纳香甲素），代入标准曲线，计算得提取物中总黄酮的含量为71%。

2.2 大鼠AMI模型的建立

用25%乌拉坦麻醉大鼠后，腹腔注射0.5%利多卡因0.2 mL/kg预防心律失常。将大鼠仰卧位固定，气管插管，接呼吸机，进行机械通气，以针状电极插入四肢皮下，监测标准肢体Ⅱ导联心电图。在大鼠左胸第4～5肋骨间作横切口，进行钝性分离打开胸腔，剪开心包，轻压右胸，挤出心脏，在左心耳下方约2 mm处结扎冠状动脉

左前降支（left anterior descending branch，LAD）建立AMI模型。记录开胸前后大鼠标准肢体Ⅱ导联心电图。以结扎后心肌变白、跳动减弱，同时出现心电图S-T段迅速抬高视为冠状动脉结扎成功[13]。随后挤出胸腔空气，并迅速缝合胸腔，待大鼠能自主呼吸时拔掉呼吸机，完成模型制作。假手术组仅穿线不结扎。

2.3 分组与给药

取97只大鼠，按照“2.2”项下方法制备AMI模型。取造模成功并存活的50只大鼠，按照随机数字表法分为5组，即模型组（0.8%羧甲基纤维素溶液）、阳性对照组（复方丹参片，300 mg/kg[14]）和艾纳香总黄酮低、中、高剂量组（3、10、30 mg/kg，参考前期预实验结果设置），每组10只；另取10只作为假手术组（0.8%羧甲基纤维素溶液）。各组大鼠灌胃给药，给药体积均为3 mL/kg，药物的溶剂均为0.8%羧甲基纤维素溶液。手术1 d后开始给药，每天1次，连续4周。

2.4 大鼠心电图S-T段变化观察

大鼠手术前后心电图的变化主要表现为S-T段抬高。在术前、术后及给药后每周测量大鼠心电图S-T段的变化。按照“2.2”项下方法将大鼠麻醉后，仰卧位固定，测量其标准肢体Ⅱ导联心电图，观察S-T段的变化。

2.5 大鼠血流动力学指标检测

末次给药1 h后，将大鼠按照“2.2”项下方法麻醉，分离其右侧颈动脉，插入动脉导管，采用压力传感器将信号输入MPA2000生物信号分析系统，采集大鼠动脉收缩压（systolic blood pressure，SBP）、舒张压（diastolic blood pressure，DBP）和平均动脉压（mean arterial pressure，MAP）；然后缓慢推进导管，待突然出现心室内压波形时提示导管已经进入左心室，此时固定导管；待波形稳定5 min后测大鼠左心室收缩压（left ventricular systolic pressure，LVSP）、左心室舒张末压（left ventricular end diastolic pressure，LVEDP）、左心室内压最大上升速率（maximal left ventricular pressure rising rate，+LVdp/dt_{max}）和左心室内压最大下降速率（maximal left ventricular pressure decreasing rate，－LVdp/dt_{max}）。

2.6 大鼠血清心肌酶及炎症因子含量测定

大鼠血流动力学测试完毕后，于颈总动脉插管处取血，静置30 min后，以3 000 r/min离心5 min，分离血清。按相关试剂盒说明书方法操作，检测大鼠血清心肌酶（LDH、CK-MB）及炎症因子（TNF-α、IL-6、IL-1β）的含量。

2.7 大鼠心肌梗死情况检测

取血完毕后，将大鼠处死，取出其心脏，称全心质量，将心尖到心底横向切成0.1 cm厚的心肌片，用生理盐水洗净，在37 ℃下以1%TTC溶液染色，30 min后立即用生理盐水冲去多余染料。梗死心肌不着色，非梗死心肌被染成红色。采用数码照相机进行拍照后剪去着色部分，称定未着色的梗死区质量。计算心肌梗死率：心肌梗死率（%）＝梗死心肌质量/全心质量×100%。

2.8 大鼠心肌组织中PIK3/Akt信号通路相关蛋白磷酸化水平检测

采用Western blot法进行测定。取大鼠梗死心肌组织50 mg（假手术组大鼠取相应部位的心肌组织50 mg），加入蛋白质裂解液，匀浆后收集上清液，采用BCA法检测总蛋白含量，高温变性处理。取变性总蛋白50 μg进行十二烷基硫酸钠-聚丙酰胺凝胶电泳（分离胶电压80 V，电泳时间60 min；浓缩胶电压80 V，电泳时间45 min），将蛋白转移至PVDF膜上（电流300 mA，转膜时间45 min），以5%脱脂奶粉封闭处理1 h；加入PI3K（稀释比例为1∶1 000）、p-PI3K^{Tyr607}（稀释比例为1∶500）、Akt（稀释比例为1∶1 000）、p-Akt^{Thr308}（稀释比例为1∶1 000）、p-Akt^{ser473}（稀释比例为1∶1 000）、GAPDH（稀释比例为1∶500）一抗，4 ℃孵育过夜；TBST漂洗10 min×3次，加入二抗（稀释比例为1∶5 000），37 ℃孵育1 h。使用ChemiDoc XRS+化学发光成像系统拍照，用Image J 1.8.0软件进行灰度统计分析，以GAPDH作为内参，以磷酸化蛋白与未磷酸化蛋白条带灰度值的比值表示目标蛋白的磷酸化水平。

2.9 统计学方法

采用Graph Pad Prism 8.0软件进行数据分析。多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-t检验。检验水准α＝0.05。

3 结果

3.1 大鼠心电图S-T段变化检测结果

术前，各组大鼠心电图S-T段差异均无统计学意义（P＞0.05）。与假手术组比较，各组大鼠术后心电图S-T段均显著升高（P＜0.05）。与模型组比较，给药后各组大鼠心电图S-T段均显著降低（P＜0.05），给药后3周大鼠心电图S-T段的变化趋于平稳，且艾纳香总黄酮的作用具有一定的剂量依赖性趋势。结果见表1。

表1 各组大鼠心电图S-T段变化检测结果（$\bar{x}\pm s$，n=10，mm）

组别	术前	术后	给药后1周	给药后2周	给药后3周	给药后4周
假手术组	1.12±0.12	1.87±0.14	1.11±0.13	1.01±0.13	1.06±0.12	1.04±0.11
模型组	1.08±0.13	4.21±0.15^{a}	3.87±0.17^{a}	3.65±0.14^{a}	3.45±0.15^{a}	3.39±0.18^{a}
阳性对照组	1.11±0.07	4.12±0.25^{a}	3.11±0.19^{ab}	2.84±0.34^{ab}	2.43±0.25^{ab}	2.35±0.19^{ab}
艾纳香总黄酮低剂量组	1.13±0.08	4.17±0.25^{a}	3.56±0.15^{ab}	3.31±0.12^{ab}	3.02±0.18^{ab}	2.91±0.11^{ab}
艾纳香总黄酮中剂量组	1.15±0.07	4.15±0.25^{a}	3.21±0.13^{ab}	2.94±0.12^{ab}	2.67±0.09^{ab}	2.60±0.12^{ab}
艾纳香总黄酮高剂量组	1.20±0.07	4.19±0.25^{a}	3.11±0.14^{ab}	2.74±0.23^{ab}	2.33±0.13^{ab}	2.26±0.21^{ab}

a：与假手术组比较，P＜0.05；b：与模型组比较，P＜0.05

3.2 大鼠血流动力学指标检测结果

与假手术组比较，模型组大鼠SBP、DBP、MAP、LVSP、+LVdp/dt_{max}、－LVdp/dt_{max}均显著降低（P＜0.05），LVEDP显著升高（P＜0.05）。与模型组比较，阳性对照组和艾纳香总黄酮中、高剂量组大鼠SBP、DBP、MAP、LVSP、+LVdp/dt_{max}、－LVdp/dt_{max}均显著升高（P＜0.05），LVEDP均显著降低（P＜0.05），且艾纳香总黄酮的作用具有一定的剂量依赖性趋势。结果见表2（1 mmHg＝0.133 kPa）。

表2　各组大鼠血流动力学指标检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	SBP/mmHg	DBP/mmHg	MAP/mmHg	LVSP/mmHg	LVEDP/mmHg	+LVdp/dt$_{max}$/(mmHg/s)	−LVdp/dt$_{max}$/(mmHg/s)
假手术组	143.31±5.26	115.64±8.21	130.38±7.59	135.52±10.38	8.50±2.89	6 990.34±759.21	6 526.23±823.53
模型组	108.92±7.57[a]	77.35±7.23[a]	92.14±7.51[a]	113.36±9.67[a]	23.91±3.61[a]	4 311.14±681.56[a]	3 591.67±622.86[a]
阳性对照组	117.17±5.02[b]	87.52±7.45[b]	102.35±6.48[b]	125.11±8.28[b]	16.38±3.80[b]	5 482.92±677.78[b]	4 721.23±692.39[b]
艾纳香总黄酮低剂量组	111.84±6.16	83.28±7.61	97.62±7.23	110.93±8.06	21.24±2.75	4 792.37±792.65	4 139.14±729.75
艾纳香总黄酮中剂量组	119.52±7.54[b]	88.31±6.98[b]	104.69±6.02[b]	124.64±7.63[b]	17.35±3.81[b]	5 320.16±651.10[b]	4 889.25±602.93[b]
艾纳香总黄酮高剂量组	121.23±6.39[b]	92.71±8.12[b]	108.44±4.23[b]	128.89±10.71[b]	15.92±4.02[b]	5 882.86±720.29[b]	5 044.54±793.87[b]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

3.3　大鼠血清心肌酶、炎症因子水平检测结果

与假手术组比较，模型组大鼠血清心肌酶（LDH、CK-MB）和炎症因子（TNF-α、IL-6、IL-1β）水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，阳性对照组和艾纳香总黄酮中、高剂量组大鼠血清中上述指标水平均显著降低（$P<0.05$），且艾纳香总黄酮的作用具有一定的剂量依赖性趋势。结果见表3。

表3　各组大鼠血清心肌酶和炎症因子水平检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	LDH/(kU/L)	CK-MB/(kU/L)	TNF-α/(ng/L)	IL-6/(ng/L)	IL-1β/(ng/L)
假手术组	67.14±4.55	30.22±7.23	68.42±7.25	39.13±5.23	25.13±4.24
模型组	132.58±7.72[a]	106.47±12.14[a]	167.02±21.16[a]	91.01±10.32[a]	86.42±9.18[a]
阳性对照组	95.43±9.84[b]	71.13±10.08[b]	117.54±19.39[b]	65.14±9.16[b]	56.59±7.34[b]
艾纳香总黄酮低剂量组	124.43±4.31	92.17±7.97	155.93±24.65	82.33±8.91	72.15±8.16
艾纳香总黄酮中剂量组	98.16±6.50[b]	76.34±8.32[b]	121.82±19.30[b]	59.64±6.98[b]	57.43±5.76[b]
艾纳香总黄酮高剂量组	86.87±8.48[b]	54.62±9.13[b]	82.54±18.72[b]	47.31±7.53[b]	38.71±6.28[b]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

3.4　大鼠心肌梗死情况检测结果

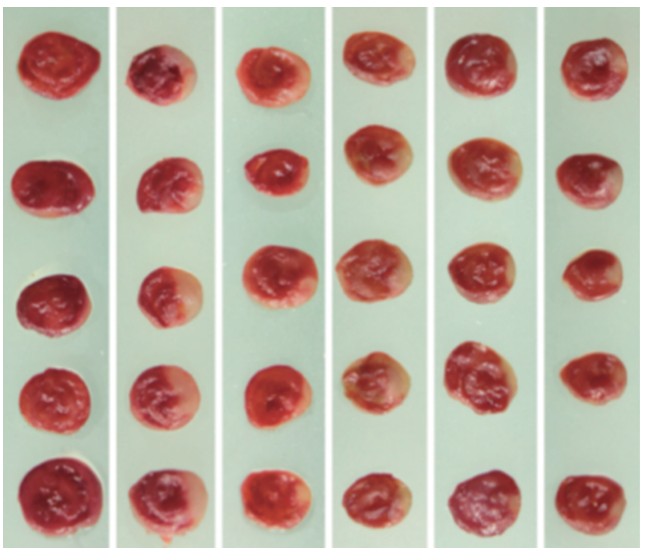
与假手术组（心肌梗死率为0）比较，模型组大鼠心肌梗死率[(14.54±3.24)%]显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，阳性对照组和艾纳香总黄酮中、高剂量组大鼠心肌梗死率[分别为(8.82±2.55)%、(9.79±3.32)%、(6.41±2.16)%]均显著降低（$P<0.05$），但艾纳香总黄酮低剂量组大鼠心肌梗死率[(12.37±4.62)%]差异无统计学意义（$P>0.05$）。结果见图1。

3.5　大鼠心肌组织中PI3K/Akt信号通路相关蛋白磷酸化水平检测结果

与假手术组比较，模型组大鼠心肌组织中p-PI3K^{Tyr607}/PI3K、p-Akt^{Thr308}/Akt和p-Akt^{ser473}/Akt的比值均显著降低（$P<0.05$）；与模型组比较，阳性对照组和艾纳香总黄酮中、高剂量组大鼠上述比值均显著升高（$P<0.05$），且艾纳香总黄酮的作用具有一定的剂量依赖性趋势。结果见图2、表4。

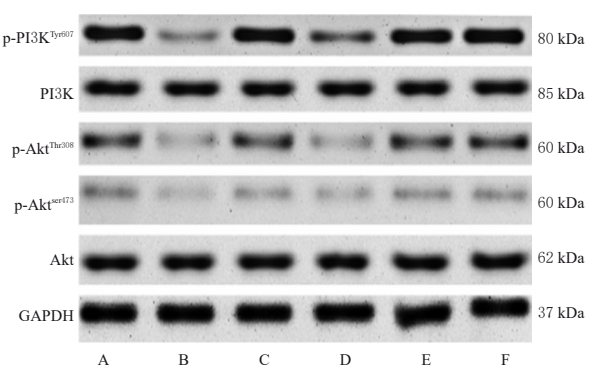
4　讨论

AMI模型建立后，机体代谢发生紊乱，CK-MB、LDH作为常见的心肌损伤标志物，在急性心血管疾病的诊断中具有重要价值。当心肌梗死或细胞膜通透性增强时，心肌酶将大量释放进入血液中，引起氧自由基等活性氧物质增加，促进内皮细胞中炎症因子和趋化因子



A：假手术组；B：模型组；C：阳性对照组；D：艾纳香总黄酮低剂量组；E：艾纳香总黄酮中剂量组；F：艾纳香总黄酮高剂量组。

图1　各组大鼠心肌梗死范围检测结果



A：假手术组；B：模型组；C：阳性对照组；D：艾纳香总黄酮低剂量组；E：艾纳香总黄酮中剂量组；F：艾纳香总黄酮高剂量组

图2　各组大鼠心肌组织中PI3K、Akt蛋白及其磷酸化蛋白表达的电泳图结果

表4　各组大鼠心肌组织中p-PI3K^{Tyr607}/PI3K、p-Akt^{Thr308}/Akt、p-Akt^{ser473}/Akt比值检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	p-PI3K^{Tyr607}/PI3K	p-Akt^{Thr308}/Akt	p-Akt^{ser473}/Akt
假手术组	1.18±0.21	1.06±0.19	0.89±0.12
模型组	0.37±0.18[a]	0.24±0.17[a]	0.39±0.32[a]
阳性对照组	0.90±0.32[b]	0.72±0.27[b]	0.68±0.15[b]
艾纳香总黄酮低剂量组	0.42±0.19	0.28±0.20	0.46±0.17
艾纳香总黄酮中剂量组	0.87±0.23[b]	0.73±0.17[b]	0.65±0.24[b]
艾纳香总黄酮高剂量组	1.02±0.15[b]	0.84±0.26[b]	0.72±0.16[b]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

的持续表达，导致炎症细胞向梗死的心肌区域浸润，引起心肌损伤[15]。本研究对大鼠的心电图、血流动力学、血清心肌酶及炎症因子进行了测定，结果显示，与假手术组比较，模型组大鼠心功能明显下降，血清心肌酶（LDH、CK-MB）、炎症因子（TNF-α、IL-6、IL-1β）大量释放。与模型组相比，艾纳香总黄酮可显著降低AMI模型大鼠血清心肌酶（LDH、CK-MB）和炎症因子（TNF-α、IL-6、IL-1β）的释放。

PI3K/Akt是一条经典的参与心血管疾病的信号通路，是治疗冠心病、高血压、心力衰竭等的重要靶点[4]。心肌梗死会激活该信号通路，PI3K经过磷酸化形成3，4，5-三磷酸磷脂酰肌醇激酶与Akt结构域结合，使其构象改变，暴露Ser473和Thr308位点，与胞内磷酸肌醇依赖性蛋白激酶（phosphoinositide-dependent kinase，PDK）结合，最终PDK1将Akt蛋白的Thr308位点磷酸化，PDK2将Akt蛋白的Ser473位点磷酸化，从而使Akt磷酸化激活，之后p-Akt可通过磷酸化下游多种底物发挥减少炎症因子释放、抗心肌细胞凋亡的作用[16]。本研究结果显示，艾纳香总黄酮可降低AMI模型大鼠心肌梗死率，并磷酸化激活PI3K、Akt蛋白。这提示艾纳香总黄酮可能是通过激活PI3K/Akt信号通路发挥保护心肌细胞的作用。

综上所述，艾纳香总黄酮可改善AMI模型大鼠的心功能；其作用机制与抑制炎症因子表达，激活PI3K/Akt信号通路有关。本研究结果为艾纳香总黄酮治疗AMI提供了实验依据，但本研究并未单独设置PI3K/Akt信号通路激动剂或抑制剂作为对照，加之心肌损伤调控机制复杂，故其抗心肌梗死的具体机制和其他途径仍有待进一步论证。

参考文献

[1] WANG W，LIU Y N，LIU J M，et al. Mortality and years of life lost of cardiovascular diseases in China，2005-2020：empirical evidence from national mortality surveillance system[J]. Int J Cardiol，2021，340：105-112.

[2] WHELTON P K，COLANTONIO L D. Cardiovascular disease risk estimation in China[J]. Ann Intern Med，2019，170(5)：340-341.

[3] SANTINI S J，CORDONE V，FALONE S，et al. Role of mitochondria in the oxidative stress induced by electromagnetic fields：focus on reproductive systems[J]. Oxid Med Cell Longev，2018，2018：5076271.

[4] 李赛赛，李平，康楠，等. PI3K/Akt信号通路与心血管疾病关系的研究进展[J]. 北京医学，2021，43(1)：66-69，72.

[5] CHENG S Y，ZHANG X X，FENG Q，et al. Astragaloside Ⅳ exerts angiogenesis and cardioprotection after myocardial infarction via regulating PTEN/PI3K/Akt signaling pathway[J]. Life Sci，2019，227：82-93.

[6] 苏宏娜，李学学，杨正明，等. 壮药材滇桂艾纳香的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. 中草药，2022，53(7)：2255-2268.

[7] 马海霞，杨广安，谭琪明，等. 艾纳香化学成分及药理活性研究进展[J]. 化工管理，2021(10)：69-70，72.

[8] 胡璇，王凯，于福来，等. 艾纳香不同提取物GC-MS分析及其抑菌活性[J]. 福建农业学报，2021，36(10)：1131-1138.

[9] 梁艺瑶，任宇晴，吴玉玲，等. 艾纳香残渣总黄酮抗氧化作用的研究[J]. 广东化工，2019，46(23)：12-13.

[10] 许罗凤，王丹，庞玉新，等. 艾纳香总黄酮对大鼠皮肤创伤愈合的作用及机制研究[J]. 热带农业科学，2017，37(1)：75-79，83.

[11] 康晖，姚倩，赵金华，等. 艾纳香总黄酮提取物及其提取方法和药物应用：CN 1403451 A[P]. 2003-03-19.

[12] 谭道鹏，严启新，康晖，等. 一种艾纳香总黄酮含量的测定方法：CN 102539363 B[P]. 2015-02-18.

[13] 张超，姚成增，蒋梅先，等. 活心方对急性心肌梗死大鼠血流动力学及梗死面积的影响[J]. 中成药，2020，42(4)：893-896.

[14] 李佳川，陶梦敏，高元平. 复方丹参液抗大鼠心肌缺血损伤的药效学研究 [J]. 西南民族大学学报（自然科学版），2017，43(1)：38-43.

[15] 余莉，邬洋. 苯甲酰芍药苷通过Nrf2/HO-1通路对心肌梗死大鼠心功能的影响作用机制研究[J]. 实验动物科学，2022，39(1)：44-48.

[16] WANG H，ZHANG Q，WEN Q，et al. Proline-rich Akt substrate of 40kDa（PRAS40）：a novel downstream target of PI3K/AKT signaling pathway [J]. Cell Signal，2012，24：17-24.

（收稿日期：2022-11-01　修回日期：2023-04-13）

（编辑：林　静）