

- (1):39-43.
- [3] Lee S J, Ko W G, Kim J H, *et al.* Induction of apoptosis by a novel intestinal metabolite of ginseng saponin *via* cytochrome c-mediated activation of caspase-3 Protease [J]. *Biochem Pharmacol*, 2000, 60(5): 677-685.
- [4] Hasegawa H, Lee K S, Nagaoka T, *et al.* Pharmacokinetics of ginsenoside deglycosylated by intestinal bacteria and its transformation to biologically active fatty acid esters [J]. *Biol Pharm Bull*, 2000, 23(3): 289-304.
- [5] 李绪文, 林燕飞, 郑莹, 等. RP-HPLC法测定西洋参茎叶皂苷酸、碱降解物中 20(S)-原人参二醇的含量[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2006, 32(2): 353.
- [6] 韩美华, 陈婧, 陈士林, 等. RP-HPLC法测定 20(S)-原人参二醇药质体药物含及包封率[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(9): 1082-1085.
- [7] 祖强, 赵晓莉, 狄留庆, 等. 不同种类离体皮肤及人工合成膜对川芎贴膏体外透皮试验的影响[J]. 江苏药学与临床研究, 2006, 14(6): 358-360.
- [8] Klimes J, Sochor J, Dolezal P, *et al.* HPLC evaluation of diclofenac in transdermal therapeutic preparations [J]. *Int J Pharm*, 2001, 217(1/2): 153-160.
- [9] McNeely W, Goa K. Diclofenac-potassium in migraine: a review [J]. *Drugs*, 1999, 57(6): 991-1003.
- [10] Touitou E, Dayan N, Bergelson L, *et al.* Ethosomes-novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties [J]. *J Controlled Release*, 2000, 65(3): 403-418.
- [11] 刘松青, 唐先哲, 马文秀, 等. 补骨脂酊透皮吸收的实验研究[J]. 华西药理学杂志, 1995, 10(1): 4-8.
- [12] 王建新, 李令媛, 郭力. 如意金黄巴布剂中小檗碱经皮渗透研究[J]. 中草药, 1999, 30(9): 677-679.

(收稿日期 2009-09-15)

蛇床子素对阿霉素心脏毒性的影响

张晓丹¹, 余迎梅^{1*}, 范春兰¹, 张彦卓²

(1. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 研究蛇床子素对阿霉素引起的心脏毒性的影响, 并探讨其作用机制。方法 用给 SD 大鼠 ip 阿霉素 (ADR) 的方法复制 ADR 心脏毒性模型。采用颈总动脉插管的方法, 用十六导生理记录仪测定大鼠的血流动力学各项指标, 酶促反应定磷比色法测定心肌肌浆网 (SR) Ca^{2+} -ATP 酶的活性。结果 蛇床子素对 ADR 引起的心脏毒性大鼠的血流动力学有明显改善作用, 能显著升高心肌 SRCa^{2+} -ATP 酶的活性。结论 蛇床子素对 ADR 引起的心脏毒性有保护作用, 其作用机制可能与激活 SR 膜 Ca^{2+} -ATP 酶、促进 Ca^{2+} 储备、降低胞浆中 Ca^{2+} 浓度、阻止 Ca^{2+} 超载有关。

关键词: 蛇床子素; 阿霉素; 心脏毒性

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2009)06-0358-03

The protective effects of osthol against adriamycin-induced cardiotoxicity in rats

ZHANG Xiao-dan¹, YU Ying-mei¹, FAN Chun-lan¹, ZHANG Yan-zhuo²

(1. School of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of osthol (Ost) against chronic cardiotoxicity induced by adriamycin (ADR). **Methods** The cardiotoxicity model was established by ip ADR in SD rats, on which common carotid artery cannulation were later operated. Hemodynamical changes were detected by sixteen channel data recorder system, and the activity of myocardial SR Ca^{2+} -ATPase were determined by enzymatic reaction colorimetric determination phosphorus. **Results** Ost improved the haemodynamical parameters of rats with ADR-induced cardiotoxicity, and increased the activity of myocardial SR Ca^{2+} -ATPase. **Conclusion** Osthol has a protective effect on ADR-induced cardiotoxicity. The mechanism may be related

* 通讯作者 余迎梅 Tel: 13895709861, E-mail: yu_yingmei@163.com

to its function of activating SR Ca^{2+} -ATPase, promoting Ca^{2+} storage, decreasing Ca^{2+} concentration, and inhibiting Ca^{2+} overload.

Key words: osthol; Adriamycin; cardiotoxicity

阿霉素(Adriamycin, ADR)是一种蒽醌类抗癌抗生素,该药抗癌谱广、疗效显著。自1970年用于临床治疗肿瘤以来^[1],被认为是治疗实体肿瘤最有效的药物。但是因其严重的心脏毒性限制了它在临床上的应用^[2-3]。研究发现,ADR中毒时,心肌形态学上的改变常伴随着心肌细胞内 Ca^{2+} 浓度明显升高,由于 Ca^{2+} 浓度升高与心肌形态学改变有良好相关性,且早于心肌形态学上的改变,提示 Ca^{2+} 浓度升高参与了心肌的损伤^[4-6]。蛇床子素(Osthol, Ost)是从传统中药蛇床果实中提取的一种香豆素类化合物,体内和体外研究表明其具有很强的心血管药理活性。药理实验研究表明,Ost具有抗心律失常、扩张血管、降低血压、保护心血管等作用^[7-9]。但是,其是否可以减轻ADR的心脏毒性,目前尚无报道。因此,本课题采用ADR复制大鼠心脏毒性模型,观察Ost对ADR中毒心脏是否具有保护作用,如有保护作用则进一步探讨其机制。

1 材料

1.1 动物

健康SD大鼠50只,雌雄各半,体质量(200 ± 20)g,批号090228(哈尔滨医科大学实验动物中心提供)。

1.2 药品与试剂

Ost购于西安旭煌生物技术有限公司(批号081012);注射用盐酸ADR购于浙江海正药业股份有限公司(批号H33021980); Ca^{2+} -ATP酶试剂盒和考马斯亮蓝试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器

MP150十六导生理记录仪、DA100C通用放大器、Millar导管(美国BIOPAC公司);低温高速离心机(德国Sigma公司);LDZ5-2型低速自动平衡离心机(北京医用离心机厂)。UV-2102C紫外可见分光光度计(龙尼柯上海仪器有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药

SD大鼠(200 ± 20)g 50只随机分5组,每组10只。阴性对照组(NS组):隔日ip生理盐水1次,每次2.5 mL/kg,共8次。ADR组:隔日ip ADR 1

次,每次2.5 mg/kg,共8次。实验前ADR用生理盐水配制成1 mg/mL^[10-11]。Ost高剂量+ADR组(Ost I组):每天ip Ost 1次,每次20 mg/kg,共16 d。Ost中剂量+ADR组(Ost II组):每天ip Ost 1次,每次10 mg/kg,共16 d。Ost低剂量+ADR组(Ost III组):每天ip Ost 1次,每次5 mg/kg,共16 d。Ost实验前用N,N-二甲基甲酰胺溶解,聚山梨酯-80助溶后用生理盐水稀释至所需浓度^[12-14]。当ADR与Ost同一天给药时,ip Ost 30 min后再ip ADR。末次给药结束后1 d进行下面的实验。

2.2 Ost对实验大鼠血流动力学的影响

采用颈总动脉插管^[15]的方法,用十六导生理记录仪测定大鼠的左室内压最大上升及下降速率($\pm \text{LVdp}/\text{dt}_{\max}$)、左心室收缩压(LVSP)、左心室舒张末期内压(LVEDP)以及心率(HR)。

2.3 Ost对心肌肌浆网 Ca^{2+} -ATP酶活性的影响

心肌肌浆网(SR)提取方法:依照Jones等^[16]改良的方法进行。末次给药结束1 d后处死实验大鼠,取心肌组织100 mg,加入9倍冰生理盐水,玻璃匀浆器充分研磨,低温3 000 r/min离心5 min,取上清液制成10%心肌匀浆。考马斯亮蓝法测定蛋白浓度,定磷法测定SR Ca^{2+} -ATP酶的活性。以上步骤严格按照试剂盒规定操作。

2.4 数据分析

所有实验数据采用SPSS16.0软件进行统计分析。计数资料以均数 $\pm$ 标准差表示,均数比较用单因素方差分析(one-way ANOVA),检验显著性差异。

3 结果

3.1 Ost对实验大鼠血流动力学的影响

由表1可以看出,ADR组大鼠与NS组大鼠相比, $\pm \text{LVdp}/\text{dt}_{\max}$ 、HR和LVSP显著降低,而LV-EDP显著升高($P < 0.01$)。参考文献^[10-11]可知,每只实验大鼠隔天给以ADR 2.5 mg/kg,给药8次后累积剂量达20 mg/kg时,其长期毒性已经使实验大鼠的心功能显著降低,本实验数据说明造模成功;Ost I、Ost II组与ADR组比较, $\pm \text{LVdp}/\text{dt}_{\max}$ 和LVSP显著升高,而LVEDP显著降低($P < 0.01$);LVSP和LVEDP是反映心肌收缩力的敏感

指标,尤其是 LVEDP 的改变,实验研究中常常作为实验动物是否发生心力衰竭的重要指标。Ost 高、中剂量对 ADR 导致以上指标的改变有预防作用,

表明 Ost 对 ADR 的心脏毒性具有一定的保护作用,可以在一定程度上预防其长期毒性造成的充血性心力衰竭的产生。

表 1 Ost 对 ADR 致实验大鼠血流动力学改变的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	+dp/dt _{max} /(mmHg·s ⁻¹)	-dp/dt _{max} /(mmHg·s ⁻¹)	LVSP/mmHg	LVEDP/mmHg	HR/bpm
NS	—	4 072.35±285.56	4 310.83±452.87	147.45±8.71	6.96±3.18	388.54±31.08
ADR	2.5	2 319.09±322.99**	2 447.29±301.93**	98.47±5.97**	18.46±3.42**	223.78±43.07**
Ost	20.0	3 724.89±209.43△△	3 722.09±182.83△△	136.54±7.72△△	10.19±2.29△△	363.41±30.71△△
	10.0	3 580.76±167.96△△	2 679.82±182.78△△	121.26±10.52△△	13.78±3.21△△	327.87±14.68△△
	5.0	2 495.39±201.31	2 483.75±157.72	104.07±5.69	17.84±2.86	231.44±24.45

与 NS 组比较:** $P<0.01$;与 ADR 组比较:△△ $P<0.01$

3.2 Ost 对心肌 SRCa²⁺-ATP 酶活性的影响

与 NS 组相比,ADR 组大鼠心肌 SRCa²⁺-ATP 酶活性显著降低($P<0.01$);Ost I 组、Ost II 组与 ADR 组相比,Ca²⁺-ATP 酶活性均显著上升($P<0.01$,见表 2)。此组数据说明,ADR 抑制心肌 SR-Ca²⁺-ATP 酶活性,加用 Ost 后心肌 SRCa²⁺-ATP 酶活性显著升高。

表 2 Ost 对 ADR 心脏毒性大鼠心肌 SRCa²⁺-ATP 酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Ca ²⁺ -ATP 酶活性/($\mu\text{mol Pi} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)
NS	—	16.05±0.44
ADR	2.5	7.56±0.29**
Ost	20.0	14.49±0.39△△
	10.0	11.57±0.41△△
	5.0	8.02±0.69

与 NS 组比较:** $P<0.01$

与 ADR 组比较:△△ $P<0.01$

4 讨论

实验研究表明,ADR 引起心脏毒性时,心肌细胞内 Ca²⁺ 浓度上升是导致心肌细胞不可逆损伤的主要原因^[17],因此,抑制心肌细胞内 Ca²⁺ 浓度上升,就有可能对细胞产生保护作用^[18]。心肌细胞内 Ca²⁺ 浓度升高的机制与 ADR 所致心肌 SRATP 酶受抑制有关,即心肌 SRCa²⁺-ATP 酶受抑制,其转运和泵出细胞内 Ca²⁺ 的能力减弱,致使细胞内 Ca²⁺ 积聚。

本实验显示,Ost 对 ADR 引起的心脏毒性大鼠的血流动力学有明显改善作用,能升高心肌 SRCa²⁺-ATP 酶的活性,说明 Ost 对 ADR 引起的心脏毒性具有保护作用。细胞内钙超载是 ADR 心肌毒性作用的一个重要机制,Ost 保护心脏的机制可能与其激活 SR 膜 Ca²⁺-ATP 酶、促进 Ca²⁺ 储备、降低胞浆中 Ca²⁺ 浓度、阻止 Ca²⁺ 超载有关。

参考文献

[1] Wiliam P M. Prospective monitoring for anthracycline cardio-

toxicity: An introduction [J]. Cancer Treat Rep, 1978, 62: 855.

- [2] Swain S M, Whaley F S, Ewer M S. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials [J]. Cancer, 2003, 97: 2869-2879.
- [3] Wallace K B. Doxorubicin induced cardiac mitochondrionopathy [J]. Pharmacol Toxicol, 2003, 93: 105-115.
- [4] Maeda A, Honda M, Kuramochondri T, et al. Doxorubicin cardiotoxicity: diastolic cardiomyocyte dysfunction as a result of impaired calcium handling in isolate cardiomyocyte [J]. Jpn Circ J, 1998, 62 (7): 505-511.
- [5] 黄先玫,康曼丽,杜立中.阿霉素对实验兔心肌细胞内游离钙和肌浆网 Ca²⁺-ATP 酶活性的影响[J].浙江大学学报, 2002, 31 (1): 38-40.
- [6] 王睿,徐长庆.阿霉素心脏毒性作用机制研究进展[J].齐齐哈尔医学院学报, 2006, 27 (10): 1221-1222.
- [7] 李乐,庄斐尔,赵更生,等.蛇床子素对麻醉开胸犬心电图和血流动力学的影响[J].中国药理学与毒理学杂志, 1994, 8 (2): 119-121.
- [8] 周俐,上官珠,连其深,等.蛇床子素抗心律失常作用实验研究[J].现代应用药学杂志, 1996, 13 (2): 11-13.
- [9] Ko F N, Wu T S, Liou M J, et al. Inhibition of platelet thromboxane formation and phosphoinositides breakdown by osthole from *Angelica pubescens* [J]. Thromb Haemost, 1989, 62 (3): 996-999.
- [10] 阳冠明,李树全,叶司原,等.氨基胍对阿霉素所致大鼠心肌毒性损伤的影响[J].中国药理学通报, 2002, 18 (5): 552-556.
- [11] Natasha I, Vincenzo P, Ján S, et al. Adriamycin depresses *in vivo* and *in vitro* phosphatidylethanolamine N-methylation in rat heart sarcolemma [J]. Mol Cell Biochem, 1997, 176: 235-240.
- [12] 李乐,庄斐尔,赵更生,等.蛇床子素对麻醉开胸犬心电图和血流动力学的影响[J].中国药理学与毒理学杂志, 1994, 8 (2): 119-121.
- [13] 张志祖,连其深.蛇床子总香豆素的抗心律失常作用[J].中国中药杂志, 1995, 20 (2): 11.
- [14] 李乐,庄斐尔,张彩玲,等.蛇床子素对心肌慢反应动作电位及右心房自律频率的影响[J].中国药理学与毒理学杂志, 1995, 9 (2): 108-112.
- [15] Doroshow J H. Doxorubicin-induced cardiac toxicity [J]. N Engl J Med, 1991, 324: 843.
- [16] Jones L R. Mg²⁺ and ATP effects on K⁺ activation of the Ca²⁺-transport ATPase of cardiac sarcoplasmic reticulum [J]. Biochim Biophys Acta, 1979, 557: 230-242.
- [17] Silverman H S, Stern M D. Zonic basis of ischemic cardiac injury insights from cellular studies [J]. Cardiovasc Res, 1991, 28: 581.
- [18] 王军,张佩瑾,章鲁,等.维拉帕米和 Mn²⁺ 对缺氧和复氧单心肌细胞游离 Ca²⁺ 的影响[J].中国病理生理杂志, 1996, 12: 95-98.

(收稿日期 2009-07-13)