

基于膜片钳技术的丹红注射液对人诱导多能干细胞衍生心肌细胞电生理的影响研究

于婷婷, 丁懿宁, 阎美卉, 袁 鑫, 李 森*

北京中医药大学 生命科学学院, 北京 102488

摘要: **目的** 通过全细胞膜片钳实验, 从心肌电生理层面探索丹红注射液(DHI)治疗乌头碱诱导心律失常的可能机制。**方法** 基于人诱导多能干细胞衍生心肌细胞(hiPSC-CMs)膜片钳技术, 即时给药并观察乌头碱不同浓度(3、9、27 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对钠通道、hERG钾通道的抑制效果, 进行造模条件的筛选; 设置对照组、模型组(乌头碱1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 长时间造模)、DHI(3、9、27 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$)组, 乌头碱与DHI同时加药, 记录动作电位幅度(APA)、放电频率、动作电位幅度下降50%时的时程(APD₅₀)和动作电位幅度下降90%时的时程(APD₉₀), 并以对照组为标准, 计算相对值; 设置对照组、模型组、DHI(3 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$)组, 乌头碱与DHI同时加药, 观察3~5 min, 记录钠离子、hERG钾离子、钙离子电流密度。**结果** 给予即时药物处理, 3、9、27 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乌头碱对钠电流的抑制率分别为17.94%、31.07%、60.67%, 对hERG通道的抑制率分别为5.02%、10.59%、28.59%; 在短期内给乌头碱对hERG通道的抑制效果较为有限, 而实际实验中, 长时间的高浓度乌头碱孵育使钠电流被完全抑制, 导致离子通道功能受损, 因此选择乌头碱1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 长时间给药制备模型。与对照组比较, 模型组hiPSC-CMs相对APA、相对APD₅₀和相对APD₉₀显著下降($P<0.01$ 、 0.001), 相对放电频率显著升高($P<0.001$); 钠电流在一定时间内减小, 抑制率为30.18%; hERG钾电流明显减小, 抑制率为72.33%; 钙电流明显增大, 电流增大191.35%。与模型组比较, DHI 3、9、27 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组相对放电频率显著降低($P<0.05$ 、 0.001)、相对APD₉₀显著升高($P<0.05$ 、 0.01), 3 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组相对APD₅₀显著升高($P<0.001$); DHI组钠电流、hERG钾电流的减小及钙电流的增大均有一定缓解。**结论** DHI可能可以通过影响钠、钾、钙通道来缓解乌头碱导致的心律失常现象。

关键词: 丹红注射液; 乌头碱; 全细胞膜片钳; 离子通道; 人诱导多能干细胞; 心肌细胞

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2024) 05-1010-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.05.011

Effect of Danhong Injection on electrophysiology of human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes using patch clamp technique

YU Tingting, DING Yining, YAN Meihui, YUAN Xin, LI Sen

School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective To explore the possible mechanism of Danhong Injection (DHI) in the treatment of aconitine-induced arrhythmia from the perspective of cellular electrophysiology through whole-cell patch-clamp experiments. **Method** Based on the patch-clamp technique of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes (hiPSC-CMs), the inhibition effects of aconitine at different concentrations (3, 9, 27 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) on sodium channel and hERG potassium channel were observed, and the modeling conditions were screened. The control group, model group (1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ aconitine for a long time) and DHI (3, 9, 27 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$) groups were set up, and aconitine and DHI were added at the same time. The action potential amplitude (APA), discharge frequency, time-domain of 50% action potential decrease (APD₅₀) and time-domain of 90% action potential decrease (APD₉₀) were recorded, and the relative values were calculated using the control group as the standard. The control group, model group and DHI (3 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$) group were set up, and aconitine and DHI were added at the same time, observed for 3—5 min, and the current densities of sodium ion, hERG potassium ion, and calcium ion were recorded. **Results** The inhibition rates of aconitine at 3, 9, and 27 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ on

收稿日期: 2023-10-27

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81973698)

第一作者: 于婷婷, 硕士研究生。E-mail: ytt20200931187@163.com

*通信作者: 李 森, 副研究员, 硕士研究生导师, 研究方向为中药精准医疗、心肌细胞钙信号与中药活性研究、流行病学与卫生统计学。

E-mail: senli@bucm.edu.cn

sodium current were 17.94%, 31.07%, and 60.67%, respectively, and the inhibition rates of hERG channel were 5.02%, 10.59%, and 28.59%, respectively. The inhibition effect of aconitine on hERG channel in a short period of time was limited, while in the actual experiment, the long-term incubation of high concentration of aconitine completely inhibited the sodium current, resulting in the damage of ion channel function, so the model was prepared by $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ aconitine for a long time. Compared with the control group, the relative APA, relative APD_{50} , and relative APD_{90} of hiPSC-CMs in the model group were significantly decreased ($P < 0.01, 0.001$), and the relative discharge frequency was significantly increased ($P < 0.001$). The sodium current decreased within a certain time, with an inhibition rate of about 30.18%. The hERG potassium current decreased significantly, with an inhibition rate of about 72.33%. The calcium current increased significantly, with an increase of about 191.35%. Compared with model group, the relative discharge frequency of DHI 3, 9, and $27 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ groups was significantly decreased ($P < 0.05, 0.001$), and the relative APD_{90} was significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), and the relative APD_{50} of $3 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ group was significantly increased ($P < 0.001$). The decrease of sodium current, the decrease of hERG potassium current, and the increase of calcium current in the DHI group were alleviated to some extent. **Conclusion** DHI may alleviate aconitine-induced arrhythmias by influencing sodium, potassium, and calcium channels.

Key words: Danhong Injection; aconitine; whole cell patch clamp; ion channel; human-induced pluripotent stem cell; cardiomyocytes

膜片钳技术主要源自电压钳技术的发展,具有广泛的应用和相对成熟的技术水平。该技术主要通过采用电压钳或电流钳技术,利用单个电极记录几乎所有细胞类型的离子通道、细胞膜电位或电流。膜片钳技术以其低噪声、高灵敏度以及优秀的时间和空间分辨率等特点而著称,使其能够达到当今电子测量的最高水平^[1]。目前,膜片钳技术被视为研究离子通道活性的金标准方法,对于评估由通道功能障碍引起的心律失常至关重要^[2],这一技术被认为是研究心律失常相关机制不可或缺的手段。通过全细胞膜片钳技术探索心肌细胞的电生理活动,观察其相应的离子通道变化,可以更加精准全面地研究心肌细胞的活性以及与之相关受体功能的变化情况,从而更好地帮助研究者们明晰药物可能的药理作用机制,为心脏相关疾病的诊断和治疗提供一定的理论依据^[3]。

目前,人类多能干细胞可以结合现有的基因编辑技术进行靶向基因组修饰,用于各种疾病的建模、药物筛选以及安全性评价等^[4]。人诱导多能干细胞属于人类多能干细胞的一种,能够通过体细胞重新编程获得。人类诱导多能干细胞衍生的心肌细胞(hiPSC-CMs)可以作为心脏病和药物筛选的体外模型^[5],已被用于揭示药物作用的机制^[6]。

乌头碱毒性剧烈,能够诱导心律失常^[7](如早后除极),影响心肌细胞 K^+ 、 Na^+ 通道^[8]。丹红注射液(DHI)的组分主要包括君药丹参、臣药红花。研究表明,丹参和红花具有活血、抗炎、抗凝和通络的功效^[9-10],丹参被发现对心肌梗死等心血管疾病具

有抗氧化和心肌细胞保护的作用^[11-12]。研究表明丹参可通过抑制钠离子通道抑制室性心律失常发生^[13],同时能够增大冠脉血流量,减轻炎症反应^[14]。此外,丹参所含的丹参酮、原儿茶醛、原儿茶酸等关键成分,有助于促进血液循环,对保护心肌免受缺血损伤、优化心脏功能和节律、扩张外周血管以及改善微循环等方面具有积极作用^[15]。红花作为臣药,一方面可以使血液中的纤维蛋白原生成减少,防止血管堵塞,另一方面则可以提升心肌和血浆中超氧化物歧化酶的活性,抑制氧自由基合成^[16],减少心肌氧耗,提升氧气的利用率,从而使得心肌细胞供氧平衡状态恢复正常^[14]。目前,对DHI的研究主要集中于脑缺血、心肌梗死、冠心病等心脑血管疾病的防治上,而对心律失常的治疗多为中西医结合治疗,即DHI合并化学药(如胺碘酮、普萘洛尔等)的联合治疗^[17-18],自身很少单独用药,且研究主要为临床病例,同时,对DHI的报道虽多,但其潜在机制尚不清楚。本研究采用全细胞膜片钳技术观察DHI对经乌头碱即时给药造模后的钠电流、hERG钾电流、钙电流变化及造模前后hiPSC-CMs自发动作电位的影响,探讨DHI在离子通道水平上可能的作用机制。

1 材料

1.1 药物、细胞及主要试剂

DHI(批号21051002)由山东丹红制药有限公司生产;NovoCell™心肌细胞试剂盒(2M)(hiPSC-CMs)、专用铺板液、复苏液以及培养基均来自南京艾尔普再生医学科技有限公司;乌头碱(货号DW0006),购自成都德思特公司。

1.2 主要仪器

膜片钳设备装置组成: EPC10 放大器(德国 HEKA 公司); MP285 微操纵器(美国 Sutter Instruments 公司); 5116176 电极拉制仪(德国 Scientific 公司); O-546 显微镜(OST 公司); BF150-86-10 毛细玻璃管(美国 Sutter Instruments 公司)。

2 方法

2.1 hiPSC-CMs 的复苏与培养

(1)准备阶段: hiPSC-CMs 专用复苏液在室温下平衡,将 hiPSC-CMs 专用铺板液从 -20°C 冰箱中取出,并将其放置于 4°C 冰箱中;(2)铺板:从 4°C 冰箱中取出 hiPSC-CMs 专用铺板液,将其放在冰盒中,然后将冰盒放入生物安全柜中。接着,分别从铺板液中吸取适量滴加到 6 孔板和 24 孔板中,采用十字法轻轻摇晃,使液体均匀覆盖。随后,将板放入 CO_2 培养箱,铺板约 30 min。30 min 后,吸去铺板液,铺板过程完成;(3)复苏:hiPSC-CMs 经 $300\times g$ 离心 5 min,吸取上清液,再次加入 1 mL 心肌细胞复苏液,轻柔地吹打以使细胞团均匀地沉淀散开;(4)接种:将复苏后的细胞以所需的适当密度接种到已准备好的 6 孔板和 24 孔板中,然后将其放入 CO_2 培养箱;(5)在细胞接种后的 24~48 h,使用显微镜观察人源心肌细胞的贴壁状态。随后,按时更换心肌细胞培养基,以维持细胞的生长状态。

细胞复苏 2 周后进行电生理实验,药物处理细胞 3~6 h 后进行电生理检测。

2.2 全细胞膜片钳记录

首先,需要准备玻璃微电极,使用有芯玻璃毛细管,制作合适开口的钳制电极。经过内液填充后,微电极的电阻应在 $2\sim 5\text{ M}\Omega$ 之间。将预先准备好的微电极连接到膜片钳仪器的探头上,以完成相关准备工作。其中各离子测定的工作条件如下:

钠电流刺激程序:钳制电压为 -90 mV ,给予 $-120\sim 85\text{ mV}$ 、阶跃 5 mV 、持续时间 50 ms 的方波串刺激,最后恢复到 -90 mV ; HERG 钾电流刺激程序:钳制电压为 -80 mV ,去极化到 30 mV ,时程 $4\ 000\text{ ms}$,再复极化至 -50 mV ,时程 $4\ 000\text{ ms}$,最后恢复至 -80 mV ; 钙电流刺激程序:钳制电压为 -60 mV ,去极化到 50 mV ,时程 300 ms ,最后恢复至 -60 mV 。自发动作电位参数:细胞钳制在 -80 mV ,转换成电流钳模式 $I=0$ 进行记录。

2.3 离子电流和动作电位检测

在完成全细胞封接后,切换到电流钳模式,并记录至少 3 min 的数据,然后进行给药。为减少钳

位误差,本研究所有膜片钳电流记录均在室温条件下进行。

2.3.1 乌头碱造模条件筛选 即时给药并观察乌头碱不同浓度 ($3, 9, 27\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对钠通道、hERG 钾通道的抑制效果。

2.3.2 DHI 对 hiPSC-CMs 动作电位的影响 设置对照组、模型组(乌头碱 $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、DHI ($3, 9, 27\ \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$)^[7]组,乌头碱与 DHI 同时加药,记录动作电位幅度(APA)、放电频率、动作电位幅度下降 50% 时的时程(APD_{50})和动作电位幅度下降 90% 时的时程(APD_{90}),并以对照组为标准,计算相对值。

2.3.3 DHI 对钠离子、hERG 钾离子、钙离子通道的影响 设置对照组、模型组(乌头碱 $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 长时间造模)、DHI ($3\ \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$)^[7]组,乌头碱与 DHI 同时加药,观察 3~5 min,记录钠离子、hERG 钾离子、钙离子电流密度。

2.4 数据分析

从 PatchMaster 软件中提取原始数据,并利用 Graphpad Prism 9.0 软件和 SPSS 20.0 软件完成数据分析和统计。结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,进行单因素方差分析(One-way ANOVA)。如果未能满足组间全部正态性的要求,或者虽然通过了正态性检验但未通过方差齐性检验,将采用非参数检验方法。

3 结果

3.1 乌头碱造模条件筛选

给予即时药物处理, $3, 9, 27\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乌头碱对钠电流的抑制率分别为 17.94%、31.07%、60.67%。然而,在实际实验中观察到,经长时间孵育给药乌头碱后,钠通道电流被完全抑制,在乌头碱浓度逐渐增高的情况下,电流抑制率逐渐上升(图 1)。推测可能是由于即时给药的乌头碱随着浓度增加,导致钠电流峰值电流下降,并通过抑制作用延迟心肌细胞的动作电位,最终引发心肌细胞收缩出现障碍。有报道称乌头碱不仅可以减少钠离子电流,而且在超极化条件下激活电压依赖的钠离子通道,引起钠离子阈电流的出现^[19]。

$3, 9, 27\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乌头碱对 hERG 通道的抑制率分别为 5.02%、10.59% 和 28.59%,即时给药,对 hERG 通道的抑制效果相对较为有限(图 2)。

钠电流的抑制率随着即时给药浓度的增加逐渐增高,在长时间的高浓度乌头碱孵育给药条件下,电流被完全抑制,导致离子通道功能受损。相较于钠离子通道,短期给药对 hERG 通道的敏感性较低,毒性作用相对较轻。结合文献

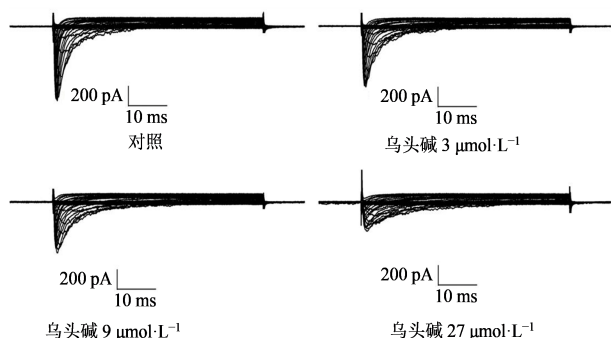
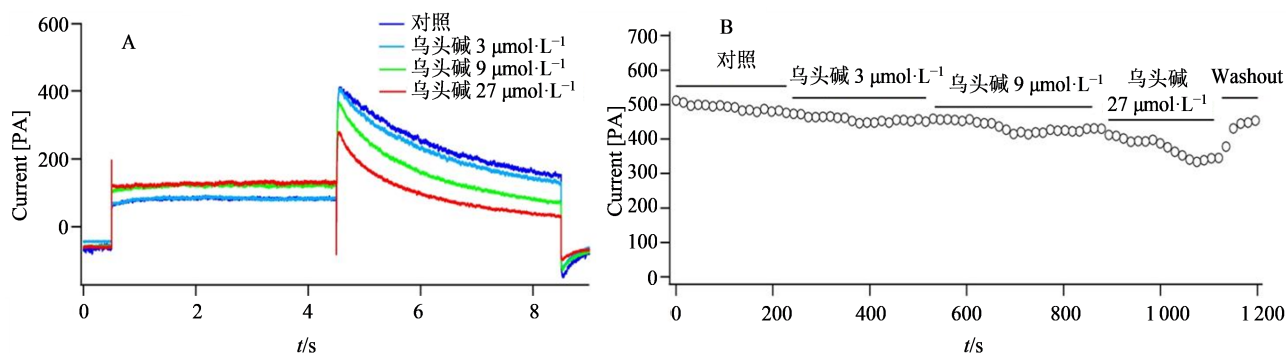


图1 乌头碱即时给药对hiPSC-CMs的钠离子通道的影响
Fig. 1 Effect of immediate administration of aconitine on sodium ion channels of hiPSC-CMs



A-乌头碱的hERG电流阻断作用; B-乌头碱阻滞hERG时间进程。
A-hERG current block by aconitine; B-time course of aconitine block of hERG.

图2 乌头碱即时给药对hERG通道的影响
Fig. 2 Effect of immediate administration of aconitine on hERG channel

3.3 DHI对钠离子通道、hERG钾离子通道、钙离子通道的影响

膜片钳电信号实验显示(图4),与对照组比较,乌头碱孵育给药造模后使钠离子通道电流密度在一定时间内减小,抑制率为30.18%。加入DHI后,乌头碱所致的钠电流抑制作用得到一定的缓解。

hERG抑制与尖端扭转型心律失常(TdP)的发生存在正相关关系,然而这种关系并非绝对的因果关系^[21]。与对照组比较,乌头碱孵育给药造模后会抑制hERG钾离子通道,使得细胞内hERG钾电流明显减小,抑制率为72.33%;而DHI可以缓解这一现象。

乌头碱孵育给药造模后会增加钙电流,使得细胞内钙电流明显增大,电流增大191.35%,而DHI可以适当缓解这一现象。

4 讨论

心肌细胞电生理研究对于理解心脏的电活动机制、心律失常的发生机制以及药物对心脏的影响具有重要意义。一般认为,乌头碱诱发的心脏毒性

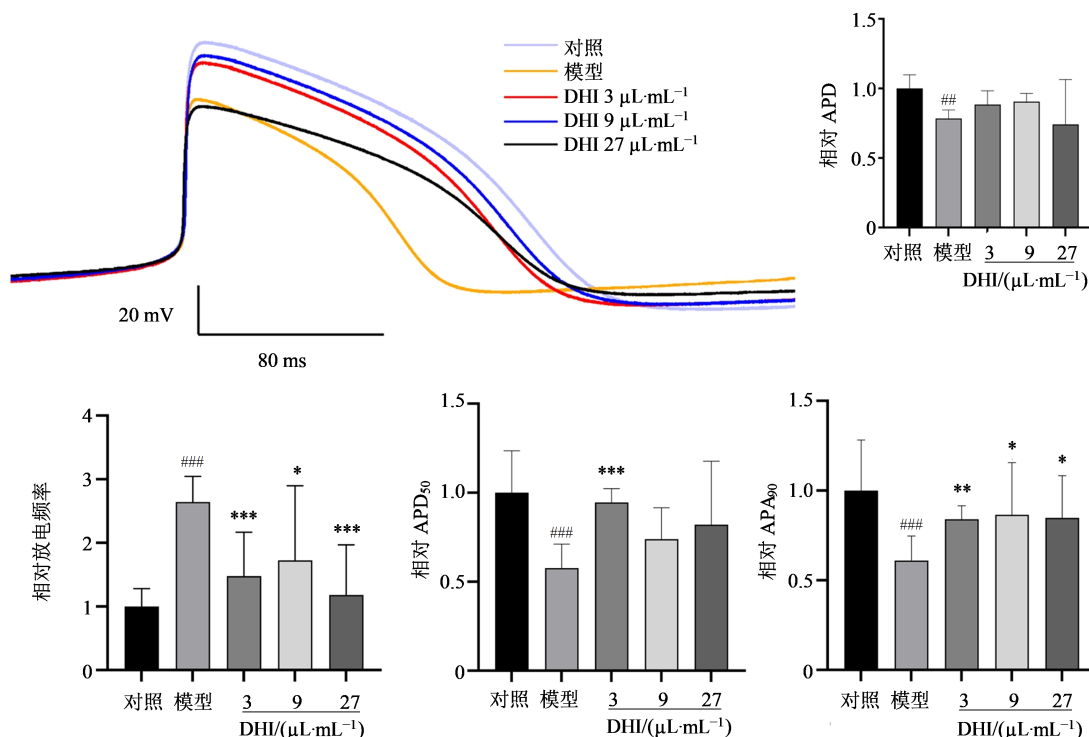
报道^[20],设置1 μmol·L⁻¹乌头碱进行长时间造模。

3.2 DHI对hiPSC-CMs动作电位的影响

膜片钳电信号实验显示(图3),与对照组比较,模型组hiPSC-CMs相对APA、相对APD₅₀和相对APD₉₀显著下降($P<0.01$ 、 0.001),相对放电频率显著升高($P<0.001$),通过动作电位异常变化推测可能与钠离子和钾离子通道阻断以及钙电流增大有关;与模型组比较,DHI 3、9、27 μL·mL⁻¹组相对放电频率显著降低($P<0.05$ 、 0.001)、相对APD₉₀显著升高($P<0.05$ 、 0.01),3 μL·mL⁻¹组相对APD₅₀显著升高($P<0.001$)。

与钠通道息息相关^[22]。乌头碱能够诱导心肌细胞的钠通道开放,通过生电性的Na⁺-Ca²⁺交换体增加Na⁺内流,促使细胞膜去极化,使细胞内Ca²⁺增加,进而引起细胞内钙超载从而诱发心律失常的发生,但浓度增高反而抑制Na⁺,推测可能与乌头碱的双重作用有关,剂量问题会影响心肌细胞的能量代谢^[23]。有研究报道,乌头碱具有促进钠电流的作用,这会导致动作电位时程延长,从而增加了快速性心律失常发生的风险^[24];此外,有研究报道,乌头碱会增强心脏钠通道(SCN5A)基因表达,进而间接导致钠离子内流的增加,最终导致严重心律失常的发生^[25]。

本实验表明,乌头碱对hiPSC-CMs的电生理活动呈现浓度和时间相关性,DHI对乌头碱所导致的心肌细胞电流异常现象具有一定的缓解作用。不同浓度的DHI显著缓解了乌头碱引起的APD₉₀改变,表明其主要影响的是hiPSC-CMs的复极过程,DHI能缓解乌头碱引起的APD₉₀减少,推测可能与DHI影响钾离子通道有关。在乌头碱低浓



与对照组比较: $^{###}P < 0.01$ $^{####}P < 0.001$; 与模型组比较: $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ $^{***}P < 0.001$
 $^{###}P < 0.01$ $^{####}P < 0.001$ vs control group; $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ $^{***}P < 0.001$ vs model group

图3 DHI对hiPSC-CMs动作电位的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 3 Effects of hiPSC-CMs on action potential ($\bar{x} \pm s, n=3$)

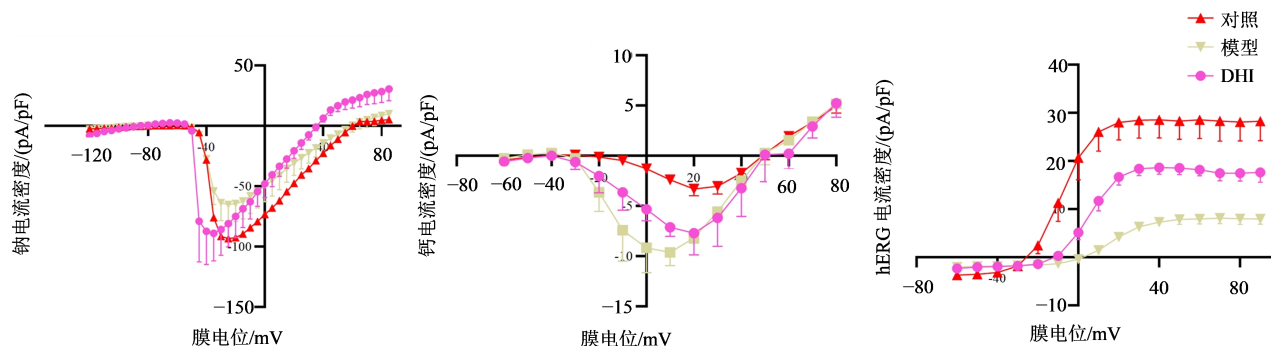


图4 DHI对钠、hERG钾、钙通道的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 4 Effect of DHI on sodium channel, hERG potassium channel, and calcium channel ($\bar{x} \pm s, n=3$)

度($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)长时间造模时,其缩短 hiPSC-CMs APD的同时放电频率增加,表明APD随着心率增加而缩短^[26]。另外,乌头碱还能提高钙电流,这也可能导致心律失常的发生,而DHI能够改善乌头碱引发的钙电流异常。

本研究首先基于 hiPSC-CMs 探索 DHI 对人源心肌细胞电生理的影响,避免了特定种属的问题,材料更接近人类本身,也能更准确地反映人类物种对 DHI 等药物的反应。其次,hiPSC-CMs 表现出相对稳定的电生理和收缩特性,这使其成为进行药物毒性试验以及研究心脏疾病相关问题的理想选择。

最后,DHI的安全性较高^[27],膜片钳结合人源心肌细胞,能更精准地反映药物实验效果。

但需要注意的是,本研究结果仅仅是基于实验室层面细胞学的基础研究,中药复方成分复杂,DHI的具体电生理作用还需要进一步通过动物实验、临床研究进行探索验证。其次,人类心脏上离子通道与单个细胞相比更具有复杂性,不同类型的离子通道对心肌功能的影响多是协同作用,所以DHI对其电生理的机制影响也不能简单的看某一个离子通道的研究。最后,由于人群中个体会存在体质不同,所以实际发病时受影响人群之间的证候也可能存在一些差异,即存

在个体差异性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Margrie T W, Brecht M, Sakmann B. *In vivo*, low-resistance, whole-cell recordings from neurons in the anaesthetized and awake mammalian brain [J]. *Pflügers Arch*, 2002, 444(4): 491-498.
- [2] Brown A P, Greenberg H Z. Patch clamp [J]. *Br J hosp med*, 2016, 77(5): 74-77.
- [3] 管华宗, 谢冬阳, 张国辉, 等. 膜片钳技术在各学科研究中的应用 [J]. *职业卫生与应急救援*, 2018, 36(4): 358-360.
Guan H Z, Xie D Y, Zhang G H, et al. Application of patch clamp technique in various disciplines [J]. *Occup Health Emerg Rescue*, 2018, 36(4): 358-360.
- [4] Apáti Á, Varga N, Berecz T, et al. Application of human pluripotent stem cells and pluripotent stem cell-derived cellular models for assessing drug toxicity [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2019, 15(1): 61-75.
- [5] Karakikes I, Ameen M, Termglinchan V, et al. Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: Insights into molecular, cellular, and functional phenotypes [J]. *Circ Res*, 2015, 117(1): 80-88.
- [6] Yang X L, Pabon L, Murry C E. Engineering adolescence: Maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes [J]. *Circ Res*, 2014, 114(3): 511-523.
- [7] Yu T T, Li Y X, Yan M H, et al. Mechanism of Danhong injection in the treatment of arrhythmia based on network pharmacology, molecular docking, and in vitro experiments [J]. *Biomed Res Int*, 2022, 2022: 4336870.
- [8] 阎美卉, 于婷婷, 李森. 乌头碱对人诱导多能干细胞衍生心肌细胞中钙信号的影响 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2023, 45(1): 8-14.
Yan M H, Yu T T, Li S. Effect of aconitine on calcium signal in human induced pluripotent stem cells-derived cardiomyocytes [J]. *Chin J Cell Biol*, 2023, 45(1): 8-14.
- [9] Xiang K, Yang J F, Wu X, et al. Advances in traditional Chinese medicine for cardiovascular disease therapy in 2020 [J]. *Tradit Med Res*, 2021, 6(3): 27.
- [10] 刘旭, 吴宿慧, 陈小菲, 等. 基于vWF/GPIb-IX-V信号通路的丹红注射液对急性血瘀大鼠模型活血化瘀作用及机制研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(4): 1173-1183.
Liu X, Wu S H, Chen X F, et al. Effect and mechanism of Danhong Injection on promoting blood circulation and removing blood stasis in rats with acute blood stasis based on vWF/GPIb-IX-V signal pathway [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(4): 1173-1183.
- [11] Bu D D, Su Z, Zou J B, et al. Study of the mechanism underlying therapeutic effect of Compound Longmaining on myocardial infarction using a network pharmacology-based approach [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109234.
- [12] Geng Z H, Huang L, Song M B, et al. Protective effect of a polysaccharide from *Salvia miltiorrhiza* on isoproterenol (ISO)-induced myocardial injury in rats [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 132: 638-642.
- [13] 马宏昕. 川芎嗪和丹参酮IIA对SD大鼠心肌细胞钠离子通道电流的影响 [D]. 扬州: 扬州大学, 2018.
Ma H X. Effects of ligustrazine and tanshinone II A on sodium channel current in sd rat ventricular myocytes [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2018.
- [14] 付长庚, 刘龙涛, 王跃飞, 等. 丹红注射液临床应用中国专家共识 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(4): 389-397.
Fu C G, Liu L T, Wang Y F, et al. Chinese experts consensus on application of Danhong injection [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2018, 38(4): 389-397.
- [15] 蔺瑞, 段佳林, 牟菲, 等. 丹参主要活性成分体内代谢途径及产物研究进展 [J]. *中国新药杂志*, 2017, 26(19): 2271-2277.
Lin R, Duan J L, Mu F, et al. Progress in research of the metabolic pathways and metabolites of major active constituents of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Chin J New Drugs*, 2017, 26(19): 2271-2277.
- [16] 田志伟. 红花药理分析及临床应用研究 [J]. *临床医药文献电子杂志*, 2017, 4(80): 15833.
Tian Z W. Pharmacological analysis and clinical application of safflower [J]. *J Clin Med Lit*, 2017, 4(80): 15833.
- [17] 赵亚会, 韩伟. 丹红注射液联合比索洛尔治疗2型糖尿病合并冠心病室性心律失常 [J]. *实用医药杂志*, 2021, 38(2): 112-116.
Zhao Y H, Han W. Danhong injection combined with bisoprolol in the treatment of type 2 diabetes with coronary heart disease ventricular arrhythmia [J]. *Pract J Med Pharm*, 2021, 38(2): 112-116.
- [18] 张欣, 王彩鸽, 沈泽坤. 胺碘酮联合丹红注射液治疗冠心病合并心律失常患者护理研究 [J]. *新中医*, 2021, 53(23): 205-208.
Zhang X, Wang C G, Shen Z K. Nursing study of amiodarone combined with Danhong injection in the treatment of patients with coronary heart disease complicated with arrhythmia [J]. *J New Chin Med*, 2021, 53(23): 205-208.

- [19] 李彪. 草乌甲素作为状态依赖性的钠离子阻滞剂在镇痛中的应用: 中国, CN102552254A [P]. 2012-02-07.
Biao L. Application of mononitine as a state-dependent sodium ion blocker in analgesia: China, CN102552254A [P]. 2012-02-07.
- [20] Jung B C, Lee S H, Cho Y K, et al. Role of the alternans of action potential duration and aconitine-induced arrhythmias in isolated rabbit hearts [J]. J Korean Med Sci, 2011, 26(12): 1576-1581.
- [21] Roden D M, Viswanathan P C. Genetics of acquired long QT syndrome [J]. J Clin Invest, 2005, 115(8): 2025-2032.
- [22] 王相冲. 乌头碱和新乌头碱致心律失常作用比较及其细胞学机制 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.
Wang X C. Comparison of arrhythmia induced by aconitine and neoaconitine and its cytological mechanism [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2013.
- [23] 刘泓, 岳兰昕, 邱丽珍, 等. 低剂量乌头碱持续给药重塑 hiPSCs-CM 线粒体能量代谢模式 [J]. 中国药理学通报, 2021, 37(5): 617-623.
Liu H, Yue L X, Qiu L Z, et al. Repeated administration of low-dose aconitine remodels mitochondrial energy metabolism pattern of human iPSCs-CM [J]. Chin Pharmacol Bull, 2021, 37(5): 617-623.
- [24] 龚冬梅, 单宏丽, 周宇宏, 等. 哇巴因和乌头碱诱发豚鼠和大鼠心律失常的离子作用靶点 [J]. 药理学报, 2004, 39(5): 328-332.
Gong D M, Shan H L, Zhou Y H, et al. The ion targets of arrhythmias induced by ouabain and aconitine in guinea pig and rat ventricular myocytes [J]. Acta Pharm Sin, 2004, 39(5): 328-332.
- [25] 刘岩. 乌头类生物碱心肌毒性作用的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2007.
Liu Y. Study on Cardiotoxicity of Aconitum Alkaloids [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2007.
- [26] Xu T, Wang H, Zhang J Y, et al. Effects of mid-myocardial pacing on transmural dispersion of repolarization and arrhythmogenesis [J]. Europace, 2012, 14(9): 1363-1368.
- [27] Li X L, Tang J F, Li W X, et al. Postmarketing safety surveillance and reevaluation of Danhong injection: Clinical study of 30888 cases [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015, 2015: 610846.

[责任编辑 兰新新]