

表4 心肌肽素对离体大鼠心肌MDA含量的影响  
(n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	心肌MDA (nmol/100 mg. pro)	
		前壁	后壁
假手术	—	84.3 $\pm$ 5.5	77.3 $\pm$ 4.6
缺血-再灌注	—	161 $\pm$ 14.0	90.0 $\pm$ 3.1
缺血-再灌注+ 心肌肽素	10	112 $\pm$ 7.7 <sup>**</sup>	88.2 $\pm$ 4.0 <sup>*</sup>
	50	94.7 $\pm$ 4.0 <sup>**</sup>	90.1 $\pm$ 5.1 <sup>*</sup>
	100	83.8 $\pm$ 5.3 <sup>**</sup>	84.4 $\pm$ 4.9 <sup>*</sup>
缺血-再灌注+ 维拉帕米	1	89.3 $\pm$ 3.6 <sup>**</sup>	81.4 $\pm$ 3.5 <sup>**</sup>

与假手术组比较:  $P < 0.01$

与缺血-再灌注组比较: \*  $P > 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

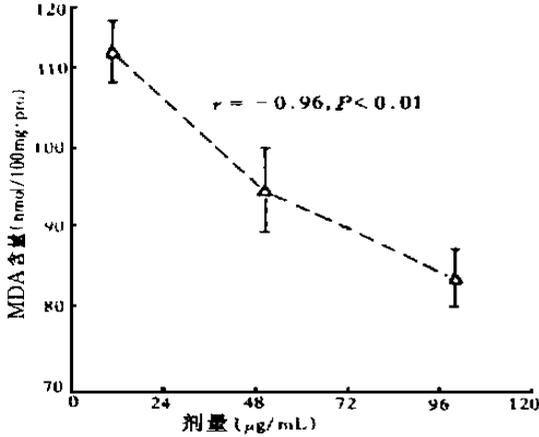


图2 心肌肽素剂量与离体大鼠左室前壁心肌MDA含量的关系

果发现损伤组心脏室颤发生率较假手术组显著提高,同时,心肌酶活性及MDA含量也发生显著改变。

动物药是中药的一个重要组成部分<sup>[8]</sup>, 利用生

化技术提取脏器中有效成分, 应用于临床治疗已有报道<sup>[9]</sup>。心肌肽素为从乳猪心脏中提取的活性多肽, 我们发现其对离体心脏缺血-再灌注损伤导致的室颤有明显的预防作用。在缺血-再灌注后心肌脂质过氧化反应加强, MDA含量增加, 心肌肽素可剂量依赖性降低MDA含量, 减轻自由基损伤。损伤组心肌出现变性、坏死, 使膜功能受损, 细胞内CPK外逸, 致心肌CPK活性显著下降<sup>[10]</sup>, 心肌肽素可显著提高心肌CPK活性, 提示其可减轻心肌损伤。心肌缺血后细胞内无氧代谢加强, 诱导产生LDH增加<sup>[10]</sup>, 心肌肽素能剂量依赖性降低心肌前壁LDH活性, 改善缺血-再灌注心肌能量代谢。心肌MDA、CPK及LDH的变化均以缺血部位心肌为甚, 提示缺血损伤是缺血-再灌注损伤的基础。钙拮抗剂预防性给药对缺血-再灌注损伤也有明显的保护作用。

上述结果提示心肌肽素对大鼠缺血-再灌注损伤离体心脏有保护作用, 可能与其降低心肌MDA含量及LDH活性, 提高CPK活性有关。至于其与细胞内Ca<sup>2+</sup>的关系等, 将另文报道。

参考文献

- Jennings R B, et al. Arch Pathol, 1960, 70(7): 68
- Hammerman C, et al. Clin Perinatol, 1998, 25(3): 757
- Kalfin R, et al. J Pharmacol Exp Ther, 1994 268(2): 952
- Shekher A, et al. Methods Find Exp Clin Pharmacol, 1997, 19(4): 223
- 万华印, 等. 中草药, 1996, 27(2): 103
- Du G, et al. Free Radic Biol Med, 1998, 25(9): 1066
- Yoshizumi M, et al. Scand Cardiovasc J, 1998, 32(3): 167
- 邓明鲁, 等. 长春中医学院学报, 1995, 11(1): 50
- 傅建明, 等. 中国新药杂志, 1997, 6(1): 40
- Ma X L, et al. Cardiovasc Res, 1997, 36(2): 195

(1999-05-18 收稿)

## 莲心碱对豚鼠心室肌细胞动作电位及钠与钙电流的影响

同济医科大学药理教研室(武汉 430030) 王嘉陵\* 农艺 姚伟星 江明性

摘要 为探讨莲心碱(liensinine, Lien)对心肌离子流的影响及抗心律失常作用机制。采用全细胞膜片钳技术, 记录了Lien对单个豚鼠心室肌细胞动作电位(AP)及钠电流(I<sub>Na</sub>)与L-型钙电流(I<sub>Ca-L</sub>)的影响。Lien 3~30  $\mu\text{mol}/\text{L}$ 可剂量依赖性降低AP幅度(APA)、静息电位(RP), 延长AP时程。Lien 10, 30  $\mu\text{mol}/\text{L}$ 分别使I<sub>Na</sub>及I<sub>Ca-L</sub>从给药前的(8.6  $\pm$  2.3) nA和(758  $\pm$  177) pA降至(5.4  $\pm$  1.7)、(2.2  $\pm$  1.6) nA和(335  $\pm$  122)、(137  $\pm$  100) pA。Lien 10  $\mu\text{mol}/\text{L}$ 抑制I<sub>Na</sub>和I<sub>Ca-L</sub>的I-V曲线并使后者的峰值电流电位略右移。结果表明Lien有钠、L-型钙通道阻滞作用, 这些可部分解释其抗心律失常作用机制。

关键词 莲心碱 心室肌细胞 膜片钳技术 L-型钙电流 钠电流

## Effects of Liensinine on Action Potentials and I<sub>Na</sub>, I<sub>Ca-L</sub> in Guinea Pig Ventricular Myocytes

\* Address: Wang Jialing, Department of Pharmacology, Tongji University of Medical Sciences, Wuhan.

王嘉陵 男, 博士, 留美博士后, 教授, 硕士生导师, 中国药理学会全国药理学教学与科普专业委员会委员, 武汉市药理学理事。承担国家及省部级等课题多项, 负责4项, 参与3项, 鉴定成果4项, 获教育部及省科技进步奖3项, 获发明专利3项。发表科研论文50余篇, 参编著作2部。主要从事心血管药理及植化研究。

卫生部科研基金资助及武汉市科委重点项目基金

Department of Pharmacology, Tongji University of Medical Sciences (Wuhan 430030) Wang Jialing, Nong Yi, Yao Weixing and Jiang Mingxing

**Abstract** The effects of liensinine (Lien) on the action potentials (AP) and ionic currents and the mechanism of its antiarrhythmic action were evaluated. Using whole cell recording patch clamp technique, the AP, sodium channel current ( $I_{Na}$ ), and L-type calcium channel current ( $I_{Ca-L}$ ) were studied in guinea pig ventricular myocytes. Lien 3 ~ 30  $\mu\text{mol/L}$  was shown to reduce dose-dependently the AP amplitude (APA), resting potential (RP) and prolong the AP duration. Lien 10 and 30  $\mu\text{mol/L}$  decreased  $I_{Na}$  and  $I_{Ca-L}$  respectively from ( $8.6 \pm 2.3$ ) nA and ( $758 \pm 177$ ) pA of the control level to ( $5.4 \pm 1.7$ ), ( $2.2 \pm 1.6$ ) nA and ( $335 \pm 122$ ), ( $137 \pm 101$ ) pA. In addition, Lien 10  $\mu\text{mol/L}$  could inhibit the  $I \sim V$  curves of  $I_{Na}$  and  $I_{Ca-L}$  and slightly shift the maximum current potential of the latter to the right. The results demonstrated that Lien could inhibit sodium and calcium channel currents, which may partially explain the mechanism of its extensive antiarrhythmic actions.

**Key words** liensinine ventricular myocytes whole cell recording patch clamp L-type calcium channel current sodium channel current

莲心碱(liensinine, Lien)系从中药莲子心中提取纯化的一种活性单体生物碱,属双苄基异喹啉类<sup>[1,2]</sup>。Lien抗多种实验性心律失常,降低快反应动作电位(action potential, AP)的AP幅度(action potential amplitude, APA)、零相最大上升速率(maximum velocity of O phase depolarization,  $V_{max}$ )和静息电位(resting potential, RP),延长动作电位时程(action potential duration, APD),也降低慢反应动作电位的APA、 $V_{max}$ ,延长APD及窦房结周长(sinus cycle length, SCL),阻滞犬浦肯野纤维慢内向电流<sup>[3]</sup>,其抗心律失常作用机制可能与阻滞 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{K}^+$ 的跨膜转运有关。Lien还可抗心肌缺血<sup>[4]</sup>、抑制和逆转血管平滑肌增殖<sup>[5]</sup>,后两作用可能也与阻滞 $\text{Ca}^{2+}$ 有关。常规电生理法难以精确确认Lien对 $\text{Na}^+$ 和 $\text{Ca}^{2+}$ 电流的阻滞作用,笔者采用全细胞膜片钳技术,研究了Lien对单个心肌细胞AP和 $I_{Na}$ 、 $I_{Ca-L}$ 电流的影响,旨在进一步确证其作用,从细胞通道水平探讨它的抗心律失常作用机制。

## 1 材料与方法

1.1 药品:莲心碱(liensinine, Lien)由本教研室植化组提供,经HPLC归一化法证实,含量>95%,理化及波谱常数与文献相符<sup>[1,2]</sup>。河豚毒素(TTX)为青岛海洋研究所产品;维拉帕米(verapamil, Ver)为KnollAG公司产品;牛磺酸(taurine)为Fluka公司产品;胶原酶I型(collagenase type I)、蛋白酶E、HEPES及奎尼丁(quinidine, Qui)均为Sigma公司产品。其他试剂均为国产分析纯。

1.2 溶液:台氏液(mmol/L):NaCl 135, MgCl<sub>2</sub> 1.0, KCl 5.4, CaCl<sub>2</sub> 1.8, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.33, HEPES 10, NaOH液调节pH至7.2。无钙液及0.2 mmol/L

L钙液:前者去掉台氏液中的CaCl<sub>2</sub>,后者将台氏液中的CaCl<sub>2</sub>降至0.2 mmol/L。KB液:KCl 30,谷氨酸 50, KOH 85, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 30, MgSO<sub>4</sub> 3.0, 牛磺酸 20, HEPES 10, 葡萄糖 10, EGTA 0.5, 用KOH液调节pH至7.4;以上液体均通入纯氧。记录全细胞动作电位及钠电流电极内液:KCl 120, NaCl 10, CaCl<sub>2</sub> 1.0, Mg-ATP 5.0, EDTA 11, HEPES 10, 用KOH调节pH至7.3。钙电流电极内液:CsCl 120, NaCl 1.0, CaCl<sub>2</sub> 1.0, Mg-ATP 5.0, EGTA 11, HEPES 10, CsOH调节pH至7.3。

1.3 心室肌细胞分离:豚鼠(246 ± 28) g,雌雄兼用,由同济医科大学实验动物学部提供。戊巴比妥钠30 ~ 35 mg/kg, ip麻醉,气管插管,施以人工呼吸;开胸,主动脉插管,取出心脏;参照文献<sup>[6]</sup>法,依次用0.2 mmol/L钙台氏液(2 min)、无钙液(3 min)、含胶原酶I 0.33、蛋白酶E 0.25和牛血清白蛋白0.25 g/L的无钙液(5 min)进行Langendorff灌流(液温36.5℃,灌流压70 Pa),最后用KB液冲洗2 min;剪取心室,剪碎,稍加吹打,过筛网,滤除块状的组织,KB液中轻轻振荡,每5 ~ 10 min倒出上清液,如此3 ~ 5次,得杆状、横纹清晰的心室肌细胞。于4 ~ 6℃冰箱中存放备用。临实验前,吸取少许富含细胞的KB悬液于灌流槽中(2 mL),静置5 ~ 10 min,待细胞沉底附壁后,用氧饱和的台氏液进行表面灌流5 ~ 10 min,流速2 ~ 4 mL/min。

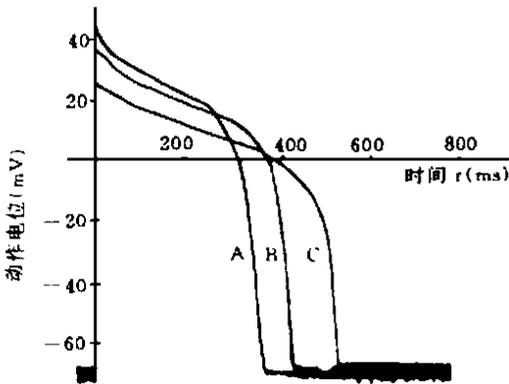
1.4 全细胞记录:玻璃毛坏(日本产硝子管或GG-17,中国科学院上海脑生理所),微电极拉制仪(Narishige PP-83型)上分二次拉制成尖端内径1.5 ~ 2  $\mu\text{m}$ ,外径2.5 ~ 3.5  $\mu\text{m}$ 的电极,再经抛光仪(Narishige MF-83型)热抛光(heat-polish)后使用。临用

时冲入电极内液,电阻为2~3 MΩ。细胞膜电流记录系统包括:EPC-9型(HEKA elektronik GmGh)全自动膜片钳放大器、计算机(IBM-586)及软件操作系统(Pulse+ pulsefit)。待各系统进入正常工作状态后,小心调节三维液压式微操纵仪(Narishige MO-303),使电极尖端与细胞膜表现接触,联通管侧口对电极内施加负压,以形成京欧封接(giga-seal);稍待稳定后,吸破细胞膜,适当调节电容和串联电阻补偿后,调用预先设置的实验参数,电压钳方式下进行全细胞离子流记录,电流钳方式下作单细胞动作电位记录。实验在23~25进行。

1.5 数据处理:调用有关程序及储存的原始实验记录,测量、分析、作图、打印出结果;结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用t检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 Lien对单个心肌细胞AP的影响:采用标准全细胞记录,电流钳制模式,给予3 ms, 0.5 Hz, 700 pA ~ 1 nA的内向电流刺激,引出AP;细胞外液中累积给药,每次间隔5~6min。Lien 3~30 μmol/L可剂量依赖性降低APA和- RP(少负),延长APD(见图1、表1),提示对钠、钙、钾电流有抑制作用。



A-对照组 B-Lien 10 μmol/L C-Lien 30 μmol/L

图1 Lien对离体豚鼠单个心肌细胞动作电位的影响

表1 Lien对单个豚鼠心肌细胞动作电位的浓度-效应关系( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	剂量 (μmol/L)	RP (mV)	APA (mV)	ADP <sub>50</sub> (ms)	ADP <sub>90</sub> (ms)
对照	-	72 ± 5	121 ± 9	180 ± 14	218 ± 21
Lien	3	69 ± 5	117 ± 8	198 ± 12	238 ± 15
	10	64 ± 6*	113 ± 9*	209 ± 16*	254 ± 17*
	30	59 ± 6**	97 ± 11**	225 ± 15**	278 ± 19**

RP-静息电位; APA-动作电位幅度; APD<sub>50</sub>或ADP<sub>90</sub>-50%或90%动作电位时程;与对照水平比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01

2.2 Lien对I<sub>Na</sub>的影响:当保持电位(holding potential, V<sub>h</sub>)为-80 mV,去极从-70 mV至+30

mV,持续时间25 ms,刺激频率0.3 Hz时,可记录到尖锐向下(内向)、快速失活、幅度很大的电流,即为钠电流(fast sodium inward current, I<sub>Na</sub>),加入TTX 2 μmol/L, 4~6 min可抑制该电流,10 μmol/L可消除该电流;该电流也能被Qui 100 μmol/L所强烈抑制。Lien 10, 30 μmol/L使I<sub>Na</sub>从给药前的(8.6 ± 2.3) nA分别降至(5.4 ± 1.7)和(2.2 ± 1.6) nA (n=4, P < 0.05);Lien 10 μmol/L使电流-电压(I-V)曲线上移(见图1),使峰值电流(去极至-30 mV)下降33%,但并不影响峰值电流电位。

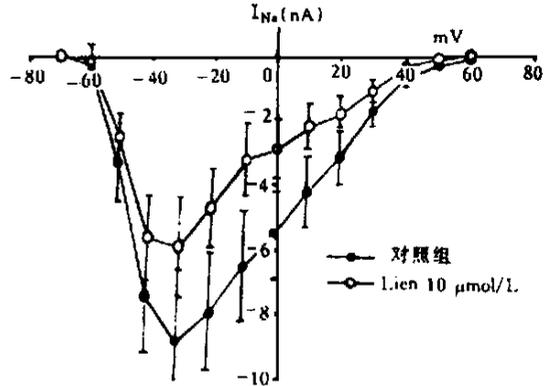


图2 Lien 10 μmol/L对单个豚鼠心肌细胞钠电流(I<sub>Na</sub>)-电压关系曲线的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

2.3 Lien对I<sub>Ca</sub>的影响:V<sub>h</sub>为-40 mV去极化从-30 mV至+40 mV,持续时间150 ms,频率0.3 Hz时,可记录到一缓慢失活的内向钙电流。细胞外液中给药,TTX 10 μmol/L对该电流无明显抑制,但可为Ver 10 μmol/L所取消,0.1 mmol/L Ca<sup>2+</sup>, BayK8644所增大。Lien 10, 30 μmol/L使I<sub>Ca-L</sub>从给药前的(758 ± 177) pA分别降至(335 ± 122)和(137 ± 100) pA (n=5, P < 0.05)。由给予Lien 10 μmol/L(6~8 min)后所制作的I-V关系曲线可见,Lien使I-V曲线上移,Lien 10 μmol/L使峰值电流(去极至0 mV)下降58%,并使峰值电流电位略向正电位方向移动(见图3)。

3 讨论

为防止Run-down现象的发生,本文数据均取自给药后10 min内的结果,在此时间内各电流衰减并不严重,在本实验条件下,经典离子通道阻滞剂也大多在5~8 min显效,可见取自10 min内的数据较合理。另外,我们在电极内液中加入了高浓度的EDTA(10 mmol/L)和ATP(5 mmol/L),基本可保证电流在20 min内衰减不足10%。为减少实验记录的失真,以利有效的电容补偿,实验中特别注意选用中等大小的豚鼠心肌细胞,其膜电容在80~

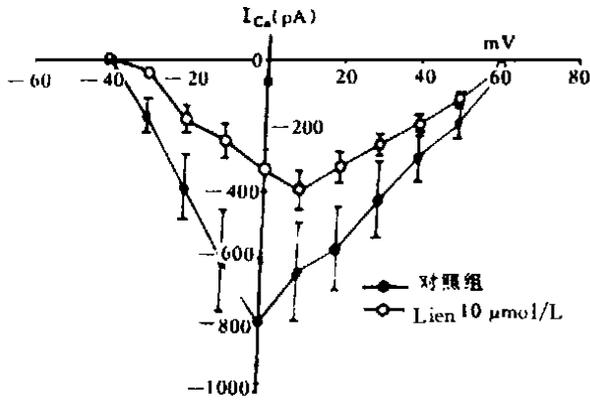


图3 Lien 10 μmol/L 对单个豚鼠心室肌细胞 L 型钙电流(I<sub>CaL</sub>)-电压关系曲线的影响(̄x ± s, n = 7)

160 pF, 此与文献值相似。在本实验条件下, 记录到的钙电流, 基本可保证是较纯净的 L 型钙电流, Lien 10 μmol/L 对 I<sub>CaL</sub> 的抑制大于 50%, 这与文献<sup>[7]</sup>认为其抗钙作用较强相符。Lien 使 L 型钙电流的峰值电流电位略向正电位方向移动, 提示其可能影响通道动力学特性。

本研究表明 Lien 剂量依赖性地降低 -RP (少负), 延长 APD<sub>50</sub> 和 APD<sub>90</sub>, 提示其有阻滞 K<sup>+</sup> 电流作用。这与我们在大鼠心肌细胞所获 Lien 抑制稳态外向 K<sup>+</sup> 电流及延迟整流钾电流(I<sub>k</sub>) (待发表资料) 的结果相吻合。Lien 还抑制 I<sub>Na</sub> 电流, 表明其有阻钠作用, 这与文献<sup>[8]</sup> 结果相符。

Lien 广泛的抗心律失常作用机制与阻滞多种离子通道有关, 主要为钙、钠通道电流。至于它应归属何类抗心律失常药, 则需通道动力学及希氏束电图实验结果加以补充, 目前看似难明确定为 I<sub>a</sub> 类。

参考文献

- 1 古川宏, 他. 药学杂志(日文), 1965, 85(4): 353
- 2 吴继洲, 等. 中草药, 1998, 29: 364
- 3 王嘉陵, 等. 药学报, 1993, 28: 812
- 4 李秋菊, 等. 北京医科大学学报, 1992, 24: 61
- 5 熊一力, 等. 中国心血管杂志, 1998, (1): 6
- 6 Isenberg G, et al. Pfluegers Arch, 1982, (6): 396
- 7 潘竞生, 等. 北京医科大学学报, 1989, 21: 40
- 8 王嘉陵, 等. 中国药理学与毒理学杂志, 1994, 8(1): 461

(1999-05-13 收稿)

## 黄芩茎叶总黄酮调血脂作用研究

承德医学院中药研究所(067000) 佟继铭\* 刘玉玲 符景春

**摘要** 黄芩茎叶总黄酮(以下简称总黄酮)是黄芩茎叶的主要有效部位。动物实验结果证明, 在给大鼠喂以高脂饲料的同时, 总黄酮能明显抑制血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白(LDL-C)的升高。对已经形成高脂血症的大鼠, 也能明显降低血清 TC、TG、LDL-C 的水平及动脉粥样硬化指数(AI, AI= TC-HDL-C/HDL-C)。提示总黄酮对大鼠实验性高脂血症有显著的预防和治疗作用。

**关键词** 黄芩茎叶 总黄酮 高脂血症 调血脂

### Studies on the Blood Lipid Regulating Effects of the Total Flavonoid from Baikal Skullcap (*Scutellaria baicalensis*) Stem and Leaf

Institute of Chinese Materia Medica, Chengde Medical College (Chengde 067000) Tong Jiming, Liu Yuling and Fu Jingchun

**Abstract** Blood lipid regulating effects of the total flavonoid (TF) from the stem and leaf of *Scutellaria baicalensis* Georgi were studied. Experimental results showed that TF could obviously inhibit the elevation of serum total cholesterol (TC), Triglyceride (TG) and LDL-C in rats fed with high fatty diet. TF also obviously lowered the levels of TC, TG, LDL-C and atherosclerotic index (AI) (TC-HDL-C/HDL-C) of hyperlipidemic rats. These results suggested that TF had significant preventive and therapeutic effects on experimental hyperlipidemic rats.

**Key words** stem and leaf of *Scutellaria baicalensis* Georgi total flavonoid (TF) hyperlipidemia regulation effect of blood lipid

\* Address: Dong Jiming, Institute of Chinese Materia Medica, Chengde Medical College, Chengde

佟继铭 大学本科, 教授, 硕士生导师, 承德医学院中药研究所(暨河北省中药研究与开发重点实验室) 药理毒理研究室主任。主要研究方向是中药资源开发和中药新药研究。其中“黄芩茎叶总黄酮的药化及其对心血管系统药理作用研究”获承德市科委科技进步一等奖, 河北省科技进步三等奖(第二位)。另获承德市科技进步二等奖 1 项及承德市科技进步三等奖 1 项。

卫生部资助项目