

显不同: AP 作用较弱或基本无作用; ABI 在大剂量 (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 时抑制作用明显, 小剂量 (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 时基本无作用; BBI 在小剂量 (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 时即作用明显, 并可延缓  $\text{Ca}^{2+}$  诱导的血小板聚集, 提示在抗血小板聚集方面 BBI、ABI 二聚物强于 AP 类单聚物;

二聚物中 BBI 强于 ABI, BBI 中具有两个 N- $\text{CH}_3$  和饱和异喹啉的 IX, XXII 和 R-III 明显强于只有一个 N- $\text{CH}_3$  和不饱和异喹啉环的 R-I。这为进一步研究异喹啉二聚生物碱的结构与抑制血小板聚集作用之间的关系提供了重要依据。

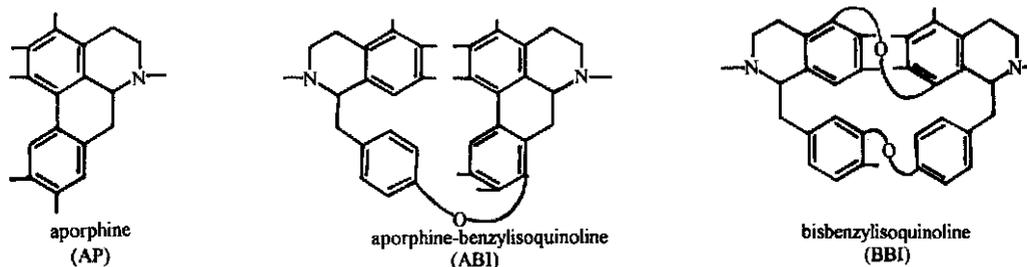


图 1 3 种不同类型生物碱结构骨架

其它科属的 BBI 类生物碱甲基莲心碱 (neferine)、粉防己碱 (tetrandrine) 和蝙蝠葛碱 (dauricine) 等亦能够抑制血小板聚集, 大多数此类生物碱具有  $\text{Ca}^{2+}$  拮抗作用<sup>[2]</sup>, 由于血小板内  $\text{Ca}^{2+}$  下降<sup>[5]</sup> 或拮抗  $\text{CaM}$  从而抑制血小板  $\text{PLA}_2$  的激活和花生四烯酸代谢途径而起到抑制血小板聚集作用<sup>[6, 7]</sup>。狭序唐松草中异喹啉生物碱的抗血小板聚集作用是否与  $\text{Ca}^{2+}$  拮抗有关, 有待进一步研究。

参考文献

- 1 高光耀, 王立为, 陈四保, 等. 中国药杂志, 1999, 34(3): 157
- 2 高光耀, 肖培根. 天然产物研究与开发, 1999, 11(3): 96
- 3 Paul L, Schiff J R. J Nat Prod, 1987, 50(4): 529; 1991, 54(3): 645
- 4 徐叔云, 卞如廉, 陈修, 等. 药理实验方法学. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 1121
- 5 喻晶, 胡文淑. 中国药理学与毒理学杂志, 1996, 10(2): 120
- 6 钱月明, 黄戎华. 中国药理学报, 1989, 10(1): 61
- 7 佟丽, 岳天立. 药学报, 1989, 24(2): 85

(2000-02-24 收稿)

## 油茶皂苷对缺氧复氧所致大鼠心脏损伤的保护作用及其机制探讨

江西医学院药理教研室(南昌 330006) 李萍\* 何明 黄起壬 彭维杰

**摘要** 目的: 通过大鼠离体心脏 Langendoff 灌流, 观察油茶皂苷(sasanquasaponin, SQS) 对缺氧复氧(anoxia/reoxygenation, A/R) 损伤的保护作用及其机制。方法: A/R 为缺氧 40 min 再给氧 30 min; SQS 0.5 mg/L 或 Gliberclamide 30  $\mu\text{mol}/\text{L}$  + SQS 0.5 mg/L 于缺氧复氧前 15 min 灌流 15 min, 分别记录心功能及测量酶活性。结果: 与 A/R 组相比, SQS 组能增加心肌的收缩功能, 使氧自由基清除剂超氧化物歧化酶(SOD), 谷胱甘肽转移酶(GSH-Px) 活性增强, 脂质过氧化产物丙二醛(MDA) 生成减少, 降低心肌组织钙含量, 使肌酸激酶(CK) 生成减少, 所以 SQS 对心肌 A/R 损伤具有保护作用。在加入  $\text{K}_{\text{ATP}}$  通道阻断剂 Gliberclamide 与 SQS 同时灌注时, 发现 SQS 的上述作用消失。结论: SQS 的心肌保护与  $\text{K}_{\text{ATP}}$  通道的开放有关。

**关键词** 油茶皂苷 缺氧/复氧  $\text{K}_{\text{ATP}}$  通道 gliberclamide

### Protective Effect of Sasanquasaponin on Anoxia/Reoxygenation Injured Rat Myocardium and Its Mechanism of Action

Department of Pharmacology, Jiangxi Medical College (Nanchang 330006) Li Ping, He Ming, Huang Qiren and Peng Weijie

**Abstract** The protective effect and mechanism of action of sasanquasaponin (SQS) on isolated rat myocardial anoxia/reoxygenation (A/R) injury were studied. Rat A/R models were prepared by allowing the isolated rat heart to be injured for 40 min at anoxic condition and then followed by 30 min

\* Address: Li Ping, Jiangxi Medical College, Nanchang  
李萍 硕士学位, 讲师, 研究方向为心血管药理学。完成“油茶皂苷对离体大鼠心脏缺氧复氧损伤保护作用及机制研究”, 该课题为江西省自然科学基金项目部分, 已通过江西省科委科技成果鉴定。  
本课题为江西省自然科学基金资助项目

reoxygenation. SQS 0.5 mg/L and Glibenclamide 30  $\mu$ mol/L + SQS 0.5 mg/L were perfused for 15 min before A/R and lasted for 30 min. Cardiac muscle contractility and the activities of enzymes were examined. Results of the study showed that SQS improved cardiac muscle contractility, caused a significant reduction of lipid peroxidation product, malondialdehyde (MDA), increased the activity of myocardium superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), decreased creatine kinase (CK) concentration in the coronary outflow, and attenuated myocardial cell  $Ca^{2+}$  accumulation. These influences of SQS were attenuated by the  $K_{ATP}$  channel blocker, Glibenclamide. Thus SQS proved to play a protective action on myocardial ischemia induced by A/R, with the mechanism of action involving the opening of  $K_{ATP}$  channel.

**Key words** sasanquasaponin anoxia/reoxygenation  $K_{ATP}$  channel Glibenclamide

油茶皂苷(sasanquasaponin, SQS)是从山茶科植物油茶籽中提取的皂苷成分,具有降低血清胆固醇<sup>[1]</sup>及抑菌<sup>[2]</sup>等作用,本实验通过离体大鼠心脏缺氧/复氧(A/R)损伤模型,来验证它对心肌损伤的预适应保护作用,并对其机制进行探讨。旨在寻求SQS的药理性预适应保护作用,并通过应用 $K_{ATP}$ 通道阻断剂Glibenclamide(Glib)对其机制进行探讨。

## 1 材料

1.1 动物:SD大鼠,体重185~225 g,由本院医学实验动物部提供。

### 1.2 受试药品及主要试剂

1.2.1 SQS粉剂:从茶籽饼中分离提取,再经硅胶G薄层析鉴定<sup>[3]</sup>。使用前用任乐氏液新鲜配制。

1.2.2 Glibenclamide为Sigma公司产品。

1.2.3 肌酸激酶(CK),谷胱甘肽转移酶(GSH-Px),超氧化物歧化酶(SOD),丙二醛(MDA)试剂盒均为南京建成生物工程研究所产品。

## 2 方法

2.1 离体心脏模型的建立:SD大鼠,每只ip肝素0.2 g,10 min后断头处死,迅速摘取心脏,置4 $\text{ }^{\circ}\text{C}$ 氧饱和任乐氏液中挤去余血后,挂于Langendorff灌流装置中,灌注压为6.68 kPa(70 cm H<sub>2</sub>O)。整个灌流装置均装任乐氏液,温度恒定在37 $\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。有氧灌注液以100% O<sub>2</sub>饱和,无氧灌注液以100% N<sub>2</sub>饱和。

2.2 实验分组:灌流开始后,将心脏随机分为4组,每组8只。即对照组:有氧灌流100 min;A/R组:有氧灌流30 min后,缺氧灌流40 min,复氧灌流30 min;SQS组:SQS 0.5 mg/L预灌15 min,正常有氧灌流15 min,再缺氧灌流40 min,复氧灌流30 min;Glib+SQS组:以Glib 30  $\mu$ mol/L+SQS 0.5 mg/L预灌,方法同SQS组。

### 2.3 检测项目及方法

2.3.1 心功能记录:用一充满生理盐水的斜面金属导管自心尖部插入左心室,另一端连接在压力换能

器上,通过CPRS生理记录系统(江西医学院功能中心实验室研制)记录左室最大内压(LVSP)。

2.3.2 CK的测定:取复氧5 min的冠脉流出液行CK测定。

2.3.4 心肌组织MDA以及GSH-Px,SOD活性测定:取心室肌0.5 g制成10%组织匀浆,进行GSH-Px,SOD活性及MDA含量测定。

2.3.5 心肌组织钙含量测定:将剩余心室肌100烘干至恒重,称重,用硝酸消化后用原子吸收分光光度计测定其钙含量<sup>[4]</sup>。

## 3 结果

3.1 SQS对大鼠心脏A/R的LVSP,  $dp/dt_{max}$ , 心率(HR)的影响:见表1。对照组整个灌流期间LVSP,  $dp/dt_{max}$ , HR无明显变化;复氧5, 10, 30 min时A/R组以上指标均显著减少;SQS能对抗A/R的上述改变。Glib+SQS组与SQS组相比上述指标明显降低。

3.2 SQS对大鼠心脏A/R心肌组织SOD, GSH-Px, MDA含量的影响:如表2, A/R组心肌中MDA含量高于正常组, SOD, GSH-Px活性低于正常组;SQS组与A/R组相比, MDA含量降低, SOD、GSH-Px活性增高, Glib则使SQS上述作用削弱。

3.3 SQS对大鼠心脏A/R冠脉流出液中CK含量的影响:见表3, 复氧5 min时A/R组冠脉流出液CK含量显著高于对照组, SQS能对抗A/R升高CK含量作用, Glib使SQS降低CK含量作用减弱。

3.4 SQS对大鼠心脏A/R心肌组织 $Ca^{2+}$ 含量的影响:见表4, A/R组心肌组织 $Ca^{2+}$ 高于对照组;SQS降低了A/R的心肌组织 $Ca^{2+}$ 含量, 合用了Glib后, SQS的抗 $Ca^{2+}$ 作用被减弱。

## 4 讨论

心肌A/R可引起心肌细胞的损伤, 最主要的机制为细胞内超钙和氧自由基生成增多<sup>[5]</sup>。细胞内 $Ca^{2+}$ 增加, 损伤细胞膜, 氧化磷酸化脱偶联, 因而导

表 1 SQS 对大鼠心脏 A/R 心功能的影响( $\bar{x} \pm s$ )

项目		对照	A/R	SQS	Glib+ SQS
LVSP (kPa)	缺氧前	13.7 ± 1.1	13.9 ± 0.9	13.8 ± 1.2	13.9 ± 0.8
	5 min	13.6 ± 1.0	8.2 ± 1.4**	13.5 ± 0.8##	9.3 ± 1.3
	10 min	14.0 ± 1.1	9.3 ± 1.3**	13.8 ± 0.9##	10.6 ± 1.4
	30 min	13.9 ± 0.9	10.3 ± 1.0**	13.9 ± 1.1##	11.4 ± 1.3
dp/dt <sub>max</sub> (kPa/s)	缺氧前	267 ± 18	275 ± 11	263 ± 19	268 ± 17
	5 min	270 ± 21	167 ± 14**	227 ± 20##	188 ± 16
	10 min	265 ± 20	193 ± 13**	235 ± 22##	201 ± 19
	30 min	264 ± 21	212 ± 15**	257 ± 19##	225 ± 21
HR (beat/s)	缺氧前	232 ± 15	228 ± 18	235 ± 16	237 ± 20
	5 min	229 ± 18	133 ± 23**	198 ± 21##	156 ± 16
	10 min	227 ± 16	142 ± 21**	208 ± 20##	168 ± 15
	30 min	226 ± 16	162 ± 19**	216 ± 19##	184 ± 18

与对照组比较: \*\* P < 0.01; 与 A/R 组比较: ## P < 0.01; 与 SQS 组比较: P < 0.01

表 2 SQS 对大鼠心脏 A/R 心肌组织 SOD, GSH-Px, MDA 含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	MDA (μmol/mg · pro)	SOD (U/min. mg · pro)	GSH-Px (U/min. mg · pro)
对照	8	48.02 ± 7.87	75.41 ± 8.57	154.07 ± 28.38
A/R	8	64.66 ± 10.60**	56.59 ± 11.03**	118.06 ± 27.05**
SQS	8	52.79 ± 9.76#	72.23 ± 9.87#	146.84 ± 17.39#
Glib+ SQS	8	63.70 ± 9.76	63.73 ± 11.26	130.87 ± 21.38

与对照组比较: \*\* P < 0.01; 与 A/R 组比较: # P < 0.05 ## P < 0.01; 与 SQS 组比较: P < 0.05

表 3 SQS 对大鼠心脏 A/R 冠脉流出液中 CK 含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	CK 活性 (μmol/L · min. gwet)
对照	8	31.62 ± 7.12
A/R	8	54.11 ± 9.72**
SQS	8	34.74 ± 9.53#
Glib+ SQS	8	50.33 ± 8.23

与对照组比较: \*\* P < 0.01; 与 A/R 组比较: ## P < 0.01;

与 SQS 组比较: P < 0.01

表 4 SQS 对大鼠心脏 A/R 心肌组织 Ca<sup>2+</sup> 含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	心肌组织 Ca <sup>2+</sup> 含量 (μg/g 心肌)
对照	8	114.15 ± 18.78
A/R	8	173.49 ± 25.76**
SQS	8	122.04 ± 18.44##
Glib+ SQS	8	158.40 ± 23.54

与对照组比较: \*\* P < 0.01; 与 A/R 组比较: ## P < 0.01;

与 SQS 组比较: P < 0.01

致心功能障碍。同时氧自由基的形成增多, 氧自由基具有很强的氧化能力, 可使膜发生脂质过氧化, 加重细胞损伤<sup>[6]</sup>。本实验也观察到 SQS 预先给予, 可减少 A/R 心肌组织钙含量, 改善心功能, 增强心肌收缩力和最大收缩速度, 加快心率, 降低舒张末压, 增加排空能力, 增加冠脉流出量; 使心肌细胞 CK 释放减少, SOD, GSH-Px 活性升高, 脂质过氧化物 MDA 生成减少。说明 SQS 能减轻心肌细胞损伤, 具有药理性预适应保护作用。SQS 在这点上的作用与心肌

缺血预适应(IPC)是一致的。

人们对心肌缺血预适应 IPC 的心肌保护作用机制研究颇多, 主要与腺苷含量<sup>[7]</sup>, K<sub>ATP</sub> 通道开放<sup>[8]</sup>, PKC 激活<sup>[9]</sup> 等内源性心肌保护物质有关。我们为了进一步研究 SQS 与 IPC 的作用, 用了 Glib (K<sub>ATP</sub> 通道阻断剂) 来观察它们对 SQS 保护作用的影响。K<sub>ATP</sub> 通道在生理状况下处于关闭状态, 当心肌缺血时, ATP 生成减少, 通道开放, K<sup>+</sup> 内流, 细胞膜超极化, 延长了复极过程, 降低了细胞机械活动, 减少了细胞内钙超载而有利于抗心肌缺血, K<sub>ATP</sub> 通道开放剂具有 IPC 样作用, 在兔心, Glib 减少了 A/R 所致心肌梗死面积<sup>[8]</sup>; 在麻醉犬模型中, Glib 能阻断 IPC 的减少梗死面积及增强心功能作用。我们实验中也观察到, Glib 与 SQS 合用后, 部分阻止了 SQS 的心肌保护作用, 所以 K<sub>ATP</sub> 可能参与了 SQS 的预适应保护作用。SQS 的预适应保护作用可能也是多方面, 多环节的, 还有待于进一步研究。

参考文献

- 1 王知登, 熊永革. 贵州医药, 1988, 12(4): 222
- 2 刘家骏. 安徽医学, 1989, 10(3): 54
- 3 Ueda Y. Chem Pharm Bull, 1954, 2: 175
- 4 朱文适. 微量元素, 1986, 2: 70
- 5 Timothy J G, James R S, Alfred S C. Surgery, 1983, 94(3): 423
- 6 Okamoto F, Bradley S A, Gerald D B. J Thorac Cardiovasc Surg, 1986, 92: 573
- 7 Liu G S, Jon Thornton, Donna M. Circ, 1991, 84: 350
- 8 Garret J G, John A A. Ciru Res, 1992, 70: 223
- 9 Liang B T. Am J Physiol, 1997, 273(2): 847