

NO介导的油茶皂苷对在体大鼠产生的药理性预适应保护作用

黄起壬,曹守仪,何明,李萍,彭维杰

(江西医学院 药理教研室,江西 南昌 330006)

摘要:目的 研究油茶皂苷(SQS)预适应保护作用及NO的关系。方法 以ISO诱发大鼠心肌缺血损伤为模型,使用特异性NO合成抑制剂Methylene blue(MET)测定大鼠ECG及CPK活性,FFA和腺苷含量。结果 预适应iv SQS能有效地保护ISO所致大鼠心肌损伤;先iv MET后再给予SQS,则SQS对心肌损伤的保护作用明显减弱。结论 SQS对ISO所致心肌缺血大鼠可产生药理性预适应保护作用,该作用由NO所介导。

关键词:油茶皂苷;一氧化氮;药理性预适应;心肌保护

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)01-0044-03

Protective effect and pharmacological ischemic preconditioning of sasanquasaponin mediated by NO on intact rat heart

HUANG Qi-ran, CAO Shou-yi, HE Ming, LI Ping, PENG Wei-jie

(Department of Pharmacology, Jiangxi Medical College, Nanchang Jiangxi, 330006, China)

Abstract **Object** To study the protective effect and pharmacological ischemic preconditioning of sasanquasaponin (SQS) on intact rat heart and its relationship with NO. **Methods** A model of rat myocardial ischemia induced by sc injection of isoproterenol (ISO) was prepared, and after the administration of selective NO synthesis inhibitor methylene blue (MET), the ECG, serum creatine kinase (CK) activity, free fatty acid (FFA) and adenosine contents were determined. **Results** Preconditioning iv injection of SQS can effectively protect the myocardium from ischemia induced by ISO. The cardio protective effect was significantly attenuated when the NO synthesis inhibitor MET were injected prior to SQS. **Conclusion** SQS can effectively protect myocardium ischemia induced by ISO and the protection is most likely to be mediated by NO.

Key words sasanquasaponin (SQS); nitric oxide (NO); pharmacological ischemic preconditioning; cardioprotection

油茶皂苷(sasanquasaponin, SQS)为山茶科植物油茶 *Camellia oleifera* Abel. 的种子经榨油后的渣滓中提取出来的一种混合皂苷。文献报道 SQS具有抗真菌、杀精子、杀钉螺、降血脂、抗炎和抗渗出等作用^[1-4];它还能对抗异丙肾上腺素造成的心肌损伤^[5]。本研究将进一步就其与NO的关系进行探讨,旨在为其临床应用提供理论基础。

1 材料

1.1 药品与主要试剂: SQS粉剂,从茶籽饼中按Ueda方法^[6]分离提取,再经硅胶G薄板层析鉴定。由本教研室李宝华教授惠赠。用前用生理盐水新鲜配制, pH=7.0 盐酸异丙肾上腺素(ISO)注射液:中国上海天丰药厂产品,批号:960803 肌酸(Creat-

ine), 5,5'-二硫代对二硝基苯甲酸(DTNB), MET为Sigma公司产品。

1.2 动物: Wistar雄性大鼠,体重为190~230 g,江西医学院动物实验科学部提供

2 方法

2.1 模型的建立:取心电图(ECG)正常的健康大鼠,皮下多点注射ISO 4 mg/kg, 24 h重复1次^[7]。

2.2 实验分组与给药:取ECG正常健康大鼠,雄性,40只,体重为190~230 g。在注射ISO前,先将大鼠随机分为4组,每组10只,分别为生理盐水对照组(NS组)、ISO诱发损伤组(I/R组)、SQS组(I/R+SQS 0.2 mg/kg)和MET组(I/R+MET+SQS)。在注射ISO前,从阴茎静脉预适应注射各被

② 收稿日期: 2000-05-16

基金项目: 江西省自然科学基金资助(C950102)

作者简介: 黄起壬(1967-)男,医学硕士,讲师,中国药理学学会、江西省生理科学会会员。研究方向:心血管药理学。曾独立完成了“油茶皂苷药理性缺血预适应保护作用及机制研究”课题,并作为主要骨干参加了“三七皂苷、阿魏酸钠、粉防己碱等中药有效成分对实验性心肌损伤的保护作用及机制研究”课题,参与了重组性bFGF在真核细胞中表达的研究工作。参加了复方银杏胶囊、益心冲剂等新药研制。获得江西医学院首届“联邦医学教育奖”。参与的江西省自然科学基金项目“油茶皂苷对实验性心肌损伤的保护作用及机制研究”课题通过了江西省科学技术委员会的成果鉴定。以第一作者发表学术论文数篇。

试药物或 NS,每天 1 次,连续 3 d 末次给药后立即皮下多点注射 ISO NS 组皮下注射等量 NS

2.3 注射 ISO 前,第一次注射 ISO 24 h 后,第二次注射 ISO 1 h 后,分别记录标准 II 及 3 个胸导联的 ECG

2.4 行眼眶取血并制备血清,测定磷酸肌酸激酶 (CPK)活性,游离脂肪酸 (FFA)和腺苷含量

3 结果

3.1 SQS 对 ISO 所致大鼠心肌损伤 ECG S-T 段改变的影响: 结果见表 1 第一次给予 ISO 后 24 h

表 1 SQS 对 ISO 所致大鼠心肌损伤 ECG S-T 段改变的影响

组别	给 ISO 前		第一次给 ISO 后 24 h		第二次给 ISO 后 1 h	
	ΣNT^a	$\Sigma S-T(mv)^b$	ΣNT^a	$\Sigma S-T(mv)^b$	ΣNT^a	$\Sigma S-T(mv)^b$
I/R	63	0.78±0.57	117**	1.89±0.60*	146**	2.05±0.41**
SQS	61	0.85±0.44	73 Δ	0.93±0.42 $\Delta\Delta\Delta$	80 $\Delta\Delta$	1.02±0.58 $\Delta\Delta$
MET	73	0.92±0.36	112 $\Delta\Delta$	1.48±0.37 Δ	120 Δ	1.56±0.34 Δ

α - χ^2 检验, b-t 检验; 与给 ISO 前比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与 I/R 组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$;

与 SQS 组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

性和 FFA 含量的影响: I/R 组血清 CPK 活性 FFA 含量明显高于 NS 组,分别为 (4.72±0.76) mmol/L $\cdot$ min (816.88±91.80) μ mol/L ($P < 0.01$ 和 $P < 0.001$) SQS 可明显抑制 CPK 活性和 FFA 含量的升高,其抑制率分别为 15.2%和 16.3% ($P < 0.05$)。MET 则能减弱 SQS 抑制 CPK 活性、FFA 含量升高的作用,与 SQS 相比,具有显著性差异 ($P < 0.05$),见表 2

表 2 SQS 对 ISO 所致大鼠心肌损伤血清 CPK 活性和 FFA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	CPK (mmol/L $\cdot$ min)	FFA (μ mol/L)
NS	3.44±0.62	536.88±89.84
I/R	4.72±0.76	816.88±91.80*
SQS	4.00±0.53 Δ	681.88±72.92 $\Delta\Delta$
MET	4.80±0.68 Δ	796.00±68.62 $\Delta\Delta$

与 NS 比较: * $P < 0.01$ ** $P < 0.001$; 与 I/R 组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$; 与 SQS 比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

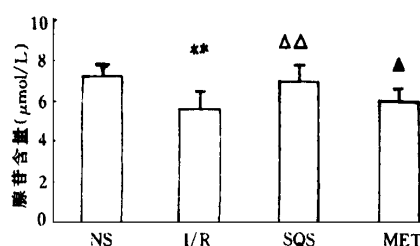
3.3 SQS 对 ISO 所致大鼠心肌损伤时血清腺苷含量的影响: I/R 组血清中腺苷含量明显低于 NS 组,分别为 (5.58±0.82) μ mol/L 和 (7.19±0.62) μ mol/L ($P < 0.001$); SQS 能抑制 ISO 所致腺苷的降低,其抑制率为 19.6% ($P < 0.01$);而在预先适应 iv MET 后,再予以 SQS,则 SQS 抗 ISO 所致腺苷降低的作用被削弱,具有显著性差异 ($P < 0.05$)。见图 1

4 讨论

心肌缺血预适应 (Ischemic Preconditioning,

及第二次给予 ISO 后 1 h,均可使大鼠 ECG 的 S-T 段明显抬高 ($\Sigma S-T$), S-T 段升高次数 (ΣNT) 也明显增多,与给 ISO 前相比,具有非常显著性差异 ($P < 0.01$)。SQS 可有效对抗 ISO 所致 S-T 段抬高和 ΣNT 升高;而先预适应 iv MET 后,再予以 SQS, SQS 抗 ISO 所致 S-T 段抬高的作用明显削弱,其抑制率分别为 37.2%和 34.6% ($P < 0.05$)。 $\Sigma S-T$ 升高程度和 ΣNT 与 I/R 组相近,无显著性差异 ($P > 0.05$)。

3.2 SQS 对 ISO 所致大鼠心肌损伤血清 CPK 活



与 NS 比较: ** $P < 0.01$; 与 I/R 组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$; 与 SQS 比较: $\Delta P < 0.05$

图 1 SQS 对 ISO 所致心肌缺血大鼠血清腺苷含量的影响 IPC 是指心肌经一次或多次短暂缺血之后对随后较长时间缺血耐受性增加, Murry 等人称这种现象为预适应^[8]。各种实验证实预适应保护作用包括减轻心肌细胞损伤程度, 延搁梗死进程, 减轻心律失常, 保护心肌收缩功能和保护心脏内血管神经组织。有关 IPC 的作用机制的学说很多, 比较肯定的有 IPC 能诱导内源性心肌保护物质 (如腺苷、NO 缓激肽和前列腺素等) 的生成。其中 NO 在 IPC 中发挥着重要作用^[9]。NO 是以 L-arginine (左旋精氨酸) 为底物在一氧化氮合酶 (NOS) 和其它辅因子 (如黄素腺嘌呤二核苷酸、黄素单核苷酸、血红素和四氢叶酸) 共同参与下合成的。文献报道, 心脏中存在着 NOS, 但大多数为内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 亚型, 其遍布于心肌间动脉、静脉和毛细血管网络^[10]。有人通过生物化学方法发现心肌中不存在诱导型一氧化氮合酶 (iNOS), 但当心肌细胞受炎性细胞因子诱导后可产生 iNOS^[12]。由此可推断出当心肌细胞

缺血缺氧时,可产生大量炎症因子,因此可诱导 NO 的合成来发挥抗心肌损伤的作用。

本研究发现注射 ISO 前预适应地给予 SQS 后,可明显对抗 ISO 所造成的心肌损伤,表现在可对抗 ISO 所致的 S-T 段抬高,减少 S-T 段抬高次数,减少心律失常的发生;可显著降低血清 CPK 活性,减少 FFA 的含量;提高血清中腺苷的含量。组织学上, SQS 明显减轻了心肌细胞水肿、变性、坏死和炎症细胞浸润,这表明 SQS 可能有药理性预适应样作用。当使用了 NO 释放阻断剂 NET(作用在鸟苷酸环化酶环节)可减弱或取消 SQS 的药理性预适应作用,表明 SQS 产生的药理性预适应作用至少部分通过激活 NOS,诱导 NO 和腺苷的形成而发挥作用。但 SQS 药理性预适应作用的确切机制有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 刘家骏. 茶皂苷抗真菌作用初步观察 [J]. 安徽医学, 1989, 10 (3): 54-56.
[2] 芦金清,李一敏. 油茶籽杀精子活性的研究 [J]. 湖北中医学院学报, 1988, 3: 50-52.
[3] 高望新,沈德利,李葆华,等. 油茶子皂苷在体外的杀精子作用 [J]. 江西医学院学报, 1991, 31: 11-13.

[4] 王知登,熊永革. 油茶总皂苷对血清胆固醇浓度的影响 [J]. 贵州医药, 1988, 12(4): 222-226.
[5] 何明,涂长春,黄起壬,等. 油茶总皂苷对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌损伤的保护作用 [J]. 中国病理生理杂志, 1996, 12 (7): 736-737.
[6] Ueda Y. Method of extraction and isolation of sasanquanonin from the seeds saponin of *Thea sinensis* L. [J]. Pharm Bull, 1954, 2: 175-177.
[7] Xin H B, Zhang B H, Liu Y W, *et al.* Protective effects of cyproheptadine on isoprenaline induced myocardial injury in rat in vivo [J]. Chinese Pharmacol Toxicol, 1993, 7(3): 176-179.
[8] Murry C E, Jennings R B, Reimer K A. Preconditioning with ischemia: a delay lethal cell injury in ischemic myocardium [J]. Circulation, 1986, 74: 1124-1136.
[9] Bilinsk M, Ferdinandy P, Csonka C, *et al.* Rapid pacing-induced preconditioning is recaptured by farnesol treatment in hearts of cholesterol fed rats: role of polyphenyl derivatives and nitric oxide [J]. Mol Cell Biochem, 1996, 160: 265-271.
[10] Ursell P C, Mayes M. Anatomic distribution of nitric oxide synthase in the heart [J]. Int J Cardiol, 1995, 50: 217-223.
[11] Balligand J L, Kobzic L, Han X, *et al.* Nitric oxide dependent parasympathetic signaling is due to activation of constitutive endothelial (type III) nitric oxide synthase in cardiac myocytes [J]. J Biol Chem, 1995, 270: 14582-14586.
[12] Oddis O V, Finkels M S, NF-K B and GTP Cyclodolase regulate cytokine-induced nitric oxide production by cardiac myocytes [J]. Am J Physiol, 1996, 270: H1864-H1868.

左旋千金藤啶碱对 β 肾上腺素受体的拮抗作用

王 蕾¹, 汪明华²

(1. 青岛大学医学院 药理教研室, 山东 青岛 266021; 2. 上海医科大学药学院 药理教研室, 上海 200032)

摘要: 目的 研究左旋千金藤啶碱 (*l*-SPD) 对 β 肾上腺素受体的作用。方法 应用放射配体结合实验, 通过竞争 [³H] 双氢烯丙洛尔 ([³H] DHA) 特异性结合, 研究 *l*-SPD 对 β 肾上腺素受体的亲和力; 在离体猪冠状动脉环实验中, 观察 *l*-SPD 对 β 肾上腺素受体的拮抗作用。结果 *l*-SPD 能竞争 [³H] DHA 和兔肺细胞膜的结合部位, 其 *K_i* 值为 (5.75 ± 0.56) μ mol/L; *l*-SPD 使去甲肾上腺素 (NA) 对数累加量效曲线 (LCCRC) 右移又压低, 其 *P_{A2}* 和 *PD'₂* 值分别为 7.2 ± 0.78, 5.32 ± 0.13, 而普萘洛尔 (Pro) 使 NA 的 LCCRC 平行右移, *P_{A2}* 值 9.19 ± 0.17。结论 *l*-SPD 对 β 受体有拮抗作用。此外, 对其它受体可能也有影响。

关键词: β 肾上腺素受体; 左旋千金藤啶碱; 结合位点; 冠状血管

中图分类号: R285; R971.94 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)01-0046-03

Antagonism of *l*-stepholidine on β -adrenoceptors

WANG Lei¹, WANG Ming-hua²

(1. Department of Pharmacology, Medical College of Qingdao University, Qingdao Shandong 266021, China; 2. Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Shanghai University of Medical Sciences, Shanghai 200032, China)

Abstract Object To study the effect of *l*-stepholidine (*l*-SPD) on β -adrenoceptors. **Methods** The affinity of *l*-SPD to β -adrenoceptors was investigated by radioligand binding assay by means of competitive [³H] labelled Dihydro-Aprenolol ([³H] DHA) specific binding. The antagonism of *l*-SPD on β -

② 收稿日期: 2000-07-12
作者简介: 王 蕾 (1967-), 女, 山东烟台人, 副教授, 硕士学位。1990年毕业于上海医科大学药学院药理学专业, 获学士学位, 1990年至今于青岛医学院药理教研室任教, 2000年获硕士学位。主要研究神经药理。