

表3 地黄苷A对环磷酰胺致小鼠白细胞减少症体重及脾脏指数的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (/kg)	给药前体重 (g)	给药7d体重 (g)	增加值 (g)	脾脏指数 (g/100g)
空白对照	20 mL	18.90±0.83	25.40±1.91	6.50±1.40	0.63±0.11
模型对照	20 mL	19.20±0.75	22.10±1.14	2.90±1.22 ^{△△}	0.36±0.16 ^{△△}
生白口服液	20 mL	18.70±0.78	22.80±1.60	4.50±1.50	0.55±0.15
地黄苷A	40 mg	18.80±0.75	21.90±1.51	3.10±1.22	0.24±0.12
	60 mg	18.90±0.94	22.50±1.28	3.60±1.40	0.31±0.11
	80 mg	19.10±0.83	23.30±1.49	4.20±1.17	0.35±0.10

与空白对照组比较: $\triangle\triangle P < 0.01$; 与模型对照组比较: $* P < 0.05$

中氨基、巯基、羟基等作用,发生烷化作用^[4],造成小鼠骨髓造血机能抑制和外周血白细胞数减少,白细胞减小症动物模型成功。

地黄苷A为地黄中有效化学成分,研究表明可以升高模型小鼠的白细胞数和血小板数及红细胞数,增加小鼠体重,能够对抗环磷酰胺所致外周白细胞减少;地黄苷A还可以增加骨髓有核细胞数和骨髓DNA含量,说明其对环磷酰胺所致的骨髓抑制造血功能减退有治疗作用,能够促进骨髓粒细胞增殖。以上说明地黄苷A对骨髓造血功能和外周血白细胞增殖具有促进作用,增强免疫功能,从而对白血

细胞减少症模型小鼠具有明显治疗作用。这为以后临床推广应用提供了实验依据。

本实验仅对地黄苷A的升白作用作了初步研究,有关其它的药理活性筛选还有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] 王鹏,赵健雄,朱玉真,等.扶正补血膏对小鼠造血功能的影响[J].甘肃中医,1994,7(1):15-18.
- [2] 徐淑云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1991.
- [3] 薄芯,董历平,屠衡菁,等.黄精、党参和绿茶减轻环磷酰胺副作用初探[J].中医研究,1997,10(3):20-22.
- [4] 林志彬,金有豫.医用药理学基础[M].北京:世界图书出版公司,1994.

山茱萸提取液抗心律失常有效部位的研究

张兰桐¹,任雷鸣¹,温进坤²

(1. 河北医科大学药学院,河北石家庄 050017; 2. 河北医科大学基础医学研究所,河北石家庄 050017)

摘要:目的 对山茱萸提取液抗心律失常有效部位进行研究。方法 山茱萸提取液对氯仿诱发小鼠室颤模型的作用,对豚鼠离体乳头肌电生理效应。结果 山茱萸提取液抗心律失常作用可能与延长心肌动作电位、增大静息电位绝对值和降低窦房结自律性有关。其抗心律失常的有效部位为总有机酸和一种未知的微量成分。总苷类不具有抗心律失常活性。结论 药效学及心肌电生理实验结果表明,山茱萸提取液中的总有机酸和一种未知的微量成分具有明显的抗心律失常作用。

关键词: 山茱萸提取液;抗心律失常;电生理;动作电位;乳头肌

中图分类号: R286.22 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)11-1004-04

Studies on antiarrhythmic portion in *Cornus officinalis* extract

ZHANG Lan-tong¹, REN Lei-ming¹, WEN Jin-kun²

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Hebei University of Medical Sciences, Shijiazhuang Hebei 050017, China; 2. Institute of Preclinical Medicine, Hebei University of Medical Sciences, Shijiazhuang Hebei 050017, China)

Abstract Object To study the effective portion in *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. extract (COE) for the treatment of arrhythmia. **Methods** Effect of COE on chloroform induced ventricular fibrillation in mice and electrophysiology of isolated guinea pig papillary muscle were studied. **Results** Antiarrhythmic effect of COE may be related to its prolongation of action potential duration, increase of the absolute value

收稿日期: 2001-01-17

基金项目: 河北省科学技术与发展规划(N0.99276421 D)资助项目

作者简介: 张兰桐,男,45岁,教授,1992年获硕士学位,现为河北医科大学药理学博士研究生,研究方向为中药有效成分的药理学及药代动力学研究。

of resting potential and a decrease of autonomy of sinus node. The effective portion in COE may be its total organic acid and a certain yet unknown trace substance, whereas its total glycosides were devoid of such activities. **Conclusion** Pharmacodynamic and myocardial electrophysiologic studies showed that the total organic acid and a certain unknown trace substance possessed the obvious antiarrhythmic activity.

Key words extract of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.; antiarrhythmia; electrophysiology; action potential; papillary muscle

山茱萸是山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉。据文献^[1-4]报道山茱萸含挥发油、脂肪油、熊果酸等脂溶性成分,以及有机酸、环烯醚萜苷类(马钱素、莫诺苷、山茱萸新苷等)、鞣质、氨基酸、糖类等水溶性成分。药理实验表明,山茱萸经水提醇沉法制备的注射液给家兔静脉注射后,有明显的抗失血性休克作用^[5]。我们在预实验中首次发现,山茱萸经水提醇沉法制备的注射液具有抗心律失常作用。因此,本研究采用了水提醇沉—系统溶剂萃取法,寻找其抗心律失常作用的有效部位或有效成分。

目前,国内外尚未见山茱萸抗心律失常作用的研究。本研究采用4种不同的提取方法,制备了山茱萸总提取液、乙酸乙酯提取液、正丁醇提取液和山茱萸提取残余液,并研究了4种提取液对氯仿诱发小鼠室颤模型的影响,对豚鼠离体乳头肌电生理活动的影响,确定山茱萸是否具有抗心律失常作用,以寻找抗心律失常的有效部位和有效成分。

1 材料与方法

1.1 试药:山茱萸药材,购于河北省安国中药材市场并经本院生药学教研室鉴定;马钱素(loganin)由河北医科大学药学院天然药物化学教研室提取,精制后经HPLC归一化法测定含量大于98.5%;盐酸美西律片,石家庄新华制药厂生产,批号990504;氯仿由天津市泰兴试剂厂生产。

1.2 动物:昆明种小鼠,25~30g,豚鼠,280~320g,雌雄各半,由河北省实验动物中心提供,动物合格证号分别为冀动字II级04056号和04064号。实验期间饲以该中心提供的固体饲料,自由饮水。

1.3 仪器:心电图机(XDH-3型),上海医用电子仪器厂生产。示波器(SS-55702A),内蒙古电子仪器厂生产。SWF-1高阻抗微电极放大器,成都仪器厂。SEN-3201电刺激器,日本光电工业株式会社。

1.4 山茱萸提取液的制备和质量控制

1.4.1 山茱萸总提取液的工艺研究:以总有机酸总苷的含量为质量控制指标,经正交试验,确定了提取溶剂、方法、次数和溶剂用量等条件。建立了山茱

萸总提取液的理化性质、薄层鉴别以及含量测定方法,其中用电位滴定法测定总有机酸,分光光度法测定总苷,高效液相色谱法测定马钱素和莫诺苷含量^[6]。

1.4.2 山茱萸抗心律失常有效部位研究:以山茱萸水提醇沉法制得总提取液(A),A分别用乙醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,即得乙醚提取液(弃去)、乙酸乙酯提取液(B)、正丁醇提取液(C)和提取残余液(D),并从中提取分离出单体成分马钱素、莫诺苷(morroniside)和没食子酸。

1.5 山茱萸4种提取液对氯仿诱发小鼠室颤模型的影响^[7]:仿Lawson法,取1.5g脱脂棉,浸含氯仿8mL,放入倒置的500mL烧杯中,将小鼠放入其中,使吸入氯仿直至呼吸停止。立即取出小鼠,仰位固定,剖开胸腔,肉眼观察室颤发生率;同时连接心电图机记录动物心电变化,通过示波器辅助判断室颤发生率。小鼠随机分组,每组20只,雌雄各半。实验组分别给予山茱萸A、B、C、D,给药浓度为0.11g/mL(以生药量计),给药量均为2.2g/kg(以生药量计算)。阳性对照组给予美西律80mg/kg;对照组给予水。以上各组均ig给药,给药容量0.2mL/10g,1次/日,连续给药4d于末次给药1h后,将小鼠移至含氯仿的烧杯内吸入氯仿,比较给药组与对照组室颤发生率的差别。

1.6 山茱萸4种提取液对豚鼠离体乳头肌动作电位的影响^[8-10]:将豚鼠击昏后迅速打开胸腔,取出心脏,浸泡于混合气(95%CO₂,5%CO₂)饱和的冷(0℃~4℃)Krebs-Henseleit(K-H)液中。打开右心室,剪下乳头肌,用不锈钢针固定于浴槽底部的硅胶上。用(35±0.5)℃的K-H液(pH7.35±0.05)恒速灌流,流速为4mL/min。用双极起搏电极以场刺激驱动标本,由刺激器提供方波信号,波宽1ms,频率1Hz,电压强度为阈刺激的1.5倍。用微电极推进器将尖端电阻10~30mΩ的玻璃微电极缓慢推入乳头肌细胞内,记录细胞内动作电位(AP)。生物电信号经微电极放大器放大后,一路输入监听器,另一路经高速模数转换器输入计算机,自

动显示并分析动作电位的各参数,包括静息电位(RP),超射值(OS),动作电位幅值(APA),0相最大上升速度(V_{max}),复极化50%和90%的时间(APD_{50} 和 APD_{90})。

标本在灌流液中平衡1h后,记录动作电位作为对照。分别取上述4种提取液,用微量注射器量取45 μ L的药液注射到标本槽内,A,B,C,D在标本槽内的终浓度均为 3×10^{-5} g/mL(以生药量计算)。分别记录给药后10,20,30s和1,2,4,8,16,30min时的动作电位参数变化。

1.7 统计方法:山茱萸4种提取液对氯仿诱发小鼠室颤模型的研究中,实验数据以抑制百分率表示,实验结果经 χ^2 检验,比较各实验组与对照组的差别。山茱萸提取液对豚鼠离体心肌动作电位影响的实验中,实验数据以实测值表示($\bar{x} \pm s$),实验结果以配对t检验,比较给药前后心肌动作电位的参数是否有差别。

2 结果

2.1 山茱萸4种提取液的制备及含量控制:测定结果见表1。药效学研究中,整体动物实验时,各种提取液均于实验前用生理盐水稀释至0.11g/mL;离体乳头肌实验时,使用原液。

表1 山茱萸4种提取液的含量测定

药物名称	制备方法	药物浓度(以生药量计, g/mL)	含量(mg/mL)
A	水提醇沉总提取液	1	总有机酸= 38.64 总 苷= 18.40
B	乙酸乙酯提取液	1	总有机酸= 36.24
C	正丁醇提取液	1	总 苷= 16.77
D	提取残余液	1	-

2.2 对氯仿诱发小鼠室颤模型的影响:对照组小鼠吸入氯仿后,室颤发生率达85%,符合方法学要求。A,B和D的室颤发生率分别被抑制了65%、55%和60%,室颤发生率显著低于对照组($P < 0.05$ 和 0.01)。A增加给药量至4.4g/kg,室颤抑制率未见明显提高(70%)。C无效,增加剂量至8.8g/kg仍无显著效果。实验结果见表2。

表2 山茱萸提取液对小鼠室颤模型的影响

组 别	剂量(g/kg)	室颤动物数/动物数	室颤率(%)
对照	-	17/20	85.0
A	2.2	7/20	35.0*
B	2.2	9/20	45.0
C	2.2	16/20	80.0
D	2.2	8/20	40.0*
美西律	0.08	2/20	10.0*

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

2.3 对豚鼠离体乳头肌动作电位的影响: A B D

3×10^{-5} g/mL明显增大静息电位的绝对值,延长动作电位时程(APD_{50} APD_{90}),其余各参数无显著性变化(数据略);提取液C无效,结果见表3。C提取液进一步增加浓度至 1.5×10^{-4} g/mL,仍无明显作用(数据略)。

表3 山茱萸提取液对豚鼠离体乳头肌细胞动作电位的影响(n=5)

组 别	RP (mV)	APD ₅₀ (ms)	APD ₉₀ (ms)
A	给药前 -76.7 \pm 5.1	158.8 \pm 7.1	184.2 \pm 7.6
	给药后 -86.0 \pm 5.1*	195.2 \pm 8.2*	223.2 \pm 9.3*
B	给药前 -80.8 \pm 1.1	129.4 \pm 17.9	171.6 \pm 11.9
	给药后 -88.9 \pm 1.6*	136.4 \pm 17.7*	179.4 \pm 10.2*
C	给药前 -79.4 \pm 7.0	135.6 \pm 12.1	164.6 \pm 10.0
	给药后 -81.6 \pm 5.6	135.2 \pm 9.6	165.0 \pm 5.4
D	给药前 -81.0 \pm 6.0	135.0 \pm 18.0	170.2 \pm 14.5
	给药后 -90.9 \pm 6.7*	163.0 \pm 13.8*	200.8 \pm 14.2*

与药前值比较: ** $P < 0.01$

3 讨论

A B D连续给小鼠ig 4d(2.2g/kg),对氯仿致室颤模型均具有明显的预防作用。3种提取液均以药典中规定的人用剂量,按动物体表面积折算成小鼠的给药剂量,所用剂量和给药途径与临床用药一致。氯仿致小鼠室颤模型是筛选抗心律失常药物的常用方法,方法简便,结果可靠^[7]。抗心律失常药物主要通过改变心脏的心肌电生理性质,特别是降低心肌细胞的自律性,延长动作电位的有效不应期而发挥打断折返的效应。为了进一步证实山茱萸的抗心律失常作用,我们又分析了4种提取液对豚鼠离体乳头肌的作用。研究结果与整体抗心律失常实验相同,除C不影响离体乳头肌的电生理参数外,其他3种提取液均可显著延长乳头肌的动作电位时程,增大静息电位的绝对值(膜电位处于更负的状态)。此外,A对兔离体窦房结具有降低最大除极电位(更负),延长不应期和降低心率的作用。尽管有不少关于山茱萸具有抗失血性休克,抑制血小板聚集、影响心功能及血流动力学,调节免疫系统作用的实验报道^[2],但是,迄今为止尚未见到山茱萸具有抗心律失常的临床或动物实验报道。我们首次发现,山茱萸具有抗心律失常作用,其作用机制可能与降低心肌组织的自律性、兴奋性和延长动作电位时程有关。

实验中对山茱萸抗心律失常有效成分进行了分析。将山茱萸A中的总有机酸和总苷类物质进行了分离制备,其中B中含水溶性有机酸;C中含有总苷类成分,2.2g/kg和4倍临床剂量(8.8g/kg)均

无抗小鼠心律失常的作用。在离体豚鼠乳头肌实验中,与 A B D相比,C增加至 5倍浓度仍无影响心肌电生理的作用。因此,认为山茱萸中的总苷不具有抗心律失常活性。B中主要含总有机酸成分,经分析检测总有机酸含量达到母液的 93.8%,说明总有机酸在提取过程中未有明显损失,其在离体和整体均表现为显著的抗心律失常效应。因此,可以确定山茱萸中的总有机酸具有抗心律失常活性。令人意外的是 D(即残余液)具有肯定的抗心律失常作用,在离体乳头肌具有延长动作电位时程和增大静息电位绝对值(更负)的作用。说明 D中含有高效的微量抗心律失常活性物质,这种物质可被乙酸乙酯所萃取,但是不能溶于正丁醇。对此种成分还需采用制备分离和高精度的检测手段(如液-质联用技术)等才能进一步证实。在本文中暂且将这种未知成分定名为 X 成分。

3种提取液抗心律失常的效应强度顺序为,总提取 > X 成分 > 总有机酸成分(抑制率分别为 65%、60% 和 55%)。延长动作电位时程的强度顺序与前者相同,亦为总提取物 > X 成分 > 总有机酸成分。一个有趣的现象是,在离体心肌实验中,A 延长 APD₅₀和 APD₉₀的净值(药后值 - 药前值)为 39 和 36 ms; D 为 30 和 28 ms; 而 B 为 8 和 7 ms。D 与 B 的相加值几乎与 A 相等,说明 A 的效应是 B 与 D 相加之结果。但是,在整体动物的抗心律失常实验中,却没有得到近似的结果。这可能与整体动物实验中药物的效能有关;例如,当我们将 A 增加剂量至 4.4 g/kg (2倍)其抑制室颤率仅由 2.2 g/kg

剂量的 65% 提高到 70%,并非提高到 100%。因此,在整体实验中,无法得到 B 与 D 相加的结果。

药效学及心肌电生理实验结果表明,抗心律失常作用可能与延长心肌动作电位、减慢自律性和增大静息电位绝对值有关,离体心肌电生理实验结果支持整体药效学实验结论。研究结果表明,山茱萸提取液具有十分明显的抗心律失常作用。山茱萸提取液抗心律失常的有效部位为总有机酸和一种未知的微量成分,总苷类成分不具有抗心律失常活性。但其有效成分和作用机制的研究还有待于进一步进行。

参考文献:

- [1] 赵世萍,付桂香. 山茱萸化学成分和药理学作用的研究进展 [J]. 中草药, 1997, 28(3): 187-188.
- [2] 阴健,郭力弓. 中药现代研究与临床应用 [M]. 北京: 学苑出版社, 1995.
- [3] 徐丽珍,李慧颖,田磊,等. 山茱萸化学成分的研究 [J]. 中草药, 1995, 26(2): 62-65.
- [4] 赵世萍,薛智. 山茱萸化学成分的研究 [J]. 药学学报, 1992, 27(11): 845-847.
- [5] 王天山,潘扬,殷飞,等. 马钱素与辛弗林对家兔重症失血性休克模型的作用 [J]. 南京中医药大学学报, 1999, 15(6): 345-346.
- [6] 张兰桐,王春英,李作平,等. HPLC 法测定山茱萸注射液中马钱素和莫诺苷含量的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(4): 49-51.
- [7] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学(第二版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- [8] Qin K, Ren L M, Zhao D. UTP prolongs action potential duration of guinea pig papillary muscles via P2Y₂ purinoceptors [J]. Acta Pharmacol Sin, 2001, 22(1): 21-25.
- [9] 陈淑娟,管繁典. 抗心律失常药物体内代谢及其临床影响因素 [J]. 中国临床药理学杂志, 2000, 16(2): 146-149.
- [10] 张帆,王嘉陵,钱家庆. 异莲心碱抗实验性心律失常作用及对豚鼠心肌动作电位的影响 [J]. 中草药, 2000, 31(10): 753-755.

消痰片及其组分对动脉粥样硬化兔 ET-1 和 NO 影响的比较

谢梅林,顾振纶,朱路佳,陆群

(苏州中药研究所,江苏 苏州 215007)

摘要:目的 探讨消痰片组方的合理性。方法 采用动脉粥样硬化兔模型,观察消痰片及其组分对体内 ET-1 和 NO 含量的影响。结果 消痰片对降低血浆和血管壁组织中 ET-1 含量,增加血清和血管壁组织中 NO 含量均较其相应组分的丹参水提物或山楂醇提物更明显。结论 丹参水提物和山楂醇提物合用后,对降低粥样硬化兔体内 ET-1 和增加 NO 含量具有明显的协同作用。

关键词: 消痰片;丹参;山楂;内皮素-1;一氧化氮

中图分类号: R286.26

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)11-1007-04

收稿日期: 2001-05-17

基金项目: 香港保健协会资助项目 (No. 960086)

作者简介: 谢梅林 (1958-),男,江苏无锡市人,苏州大学副教授,医学博士,从事心血管药理学研究。Tel 0512-5190599, E-mail szys@public.sz.js.cn