

优于得舒特。痛泻要方的作用机制可能是通过降低模型大鼠血清 5-HT、血浆 SP 水平,减弱背角神经元兴奋性,从而提高内脏痛阈,消除肠道过敏,达到治疗目的。

References:

- [1] AL-Chaer E D, Kawasaki M, Pasricha P J. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development [J]. *Gastroenterology*, 2000, 119(5): 1276-1285.
- [2] Liu Y B, Yuan Y Z, Tao R J, et al. Establishment of a rat model of gut hypersensitivity and for evaluation of visceral sensitivity [J]. *Chin J Dig* (中华消化杂志), 2003, 23(1): 34-38.
- [3] Yang S Y, Huang X P, Xing Z S. Effect of Baizhu in IBS model mice [J]. *Anhui Med Pharm J* (安徽医药), 2004, 8(2): 87-88.
- [4] Yang X J, Li J J, Nokihara K, et al. The effect of TGP on M receptor of colon smooth muscle in guinea pig [J]. *Acta Univ Med Nanjing* (南京医科大学学报), 2002, 22(1): 22-25.
- [5] Yu H, Li C X, Gan Q X. Pharmacological effect of Chenpi [J]. *Biomagnetism* (生物磁学), 2005, 5(1): 44-45.
- [6] Xiao S D. *The Development of Basement and Clinic in Digestive System Diseases* (消化系统疾病基础与临床进展) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Educational Publishing House, 2005.
- [7] Monnikes H, Ruter J, Konig M, et al. Differential induction of c-fos expression in brain nuclei by noxious and non-noxious colonic distension: Role of afferent C fibers and 5-HT₃ receptors [J]. *Brain Res*, 2003, 966(2): 253-264.
- [8] Dong W Z, Li Z S, Xu G M, et al. Mast cell and substance P positive fibers of ileocecal function in irritable bowel syndrome patients [J]. *Chin J Dig* (中华消化杂志), 2002, 22(11): 656-660.

三七总皂苷抗大鼠心肌肥大作用

张海港, 李晓辉*, 唐 渊, 周见至

(第三军医大学基础部 药理教研室, 重庆 400038)

摘要:目的 研究三七总皂苷(PNS)对体外培养大鼠心肌细胞肥大及在体大鼠心肌肥大的影响。方法 体外培养大鼠心肌细胞,用血管紧张素Ⅰ(Ang Ⅰ)刺激制备心肌细胞肥大模型,分别采用 Lowry 法、³H-亮氨酸掺入法和激光共聚焦显微镜测定细胞内蛋白质的量、蛋白质合成速率和游离钙荧光强度。ip 去甲肾上腺素法诱导大鼠心肌肥大,计算心脏指数和左心室指数。结果 与模型组相比,0.05、0.10、0.15 g/L PNS 可显著降低细胞内蛋白质的量和³H-亮氨酸掺入量,减弱细胞内 Ca²⁺荧光信号。25、50、75 mg/kg PNS 可显著降低心肌肥大大鼠左心室指数。结论 PNS 对 Ang Ⅰ诱导的大鼠心肌细胞肥大和去甲肾上腺素诱导的在体大鼠心肌肥大均有明显的抑制作用。关键词:三七总皂苷;心肌肥大;钙离子

中图分类号:R286.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)11-1685-04

Effects of *Panax notoginseng* saponins on myocardial hypertrophy in rats

ZHANG Hai-gang, LI Xiao-hui, TANG Yuan, ZHOU Jian-zhi

(Department of Pharmacology, Basic Medical Faculty, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of *Panax notoginseng* saponins (PNS) on myocardial hypertrophy *in vitro* and *in vivo* in rats. **Methods** Cardiomyocytes of rats were isolated with mechanical dissection, enzyme digestion, and cultured *in vitro*. Cardiomyocyte hypertrophy was induced by Angiotensin Ⅰ (Ang Ⅰ). The protein content, protein synthesis rate, and free calcium concentration were determined by Lowry's method, ³H-leucine (³H-Leu) incorporation method, and laser scanning confocal microscope, respectively. Myocardial hypertrophy in rats was induced by ip norepinephrine. The heart and left ventricular were weighed and their heart indexes were calculated. **Results** PNS (0.05, 0.10, and 0.15 g/L) significantly decreased the protein content, ³H-Leu incorporation rate, and Ca²⁺ fluorescence intensity compared with the model group. PNS (25, 50, and 75 mg/kg) could markedly reduce the left ventricular index of myocardial hypertrophy rats. **Conclusion** PNS could effectually prevent myocardial hypertrophy induced by Ang Ⅰ and norepinephrine *in vitro* and *in vivo* in rats.

Key words: *Panax notoginseng* saponins (PNS); myocardial hypertrophy; calcium ion (Ca²⁺)

收稿日期:2006-03-04

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30470465,30371768)

作者简介:张海港(1970—),男,河南南阳人,博士,副教授,主要从事心血管药理学和抗炎免疫药理学研究。

Tel: (023) 68753397(O) E-mail: hg2@mail.tmmu.com.cn

*通讯作者 李晓辉

心肌肥大是心肌细胞对多种病理刺激所产生的一种共同应答方式,是多种疾病的共同表现,常见于高血压、冠心病、瓣膜病及先天性心脏病等。初期的心肌肥大有一定的代偿意义,但肌纤维重构最终减少冠脉血流储备,增加心肌缺血,引起心衰、心律失常、猝死等;是一种引起心血管疾病发病率和死亡率显著升高的独立危险因素^[1,2]。

三七总皂苷(*Panax notoginseng* saponins, PNS)是五加科人参属植物三七的主要活性成分,对心脏具有负性频率和负性肌力作用,能明显降低犬动脉血压和总体外周阻力,可减少心肌的耗氧量,增强耐缺氧能力^[3,4]。前期研究表明 PNS 还具有防治动脉粥样硬化作用^[5]。本研究通过体外培养大鼠心肌细胞及整体实验,探讨 PNS 对心肌肥大的影响及其机制。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂:PNS,粉剂,由中国科学院昆明植物研究所提供,质量分数>99%。重酒石酸去甲肾上腺素为 Serva 公司产品;血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)、DMEM 培养基、胰蛋白酶、II 型胶原酶、5-溴脱氧尿苷(Brd U)均购自美国 Sigma 公司;胎牛血清购自兰州海民公司;³H-亮氨酸购自北京原子高科公司;fluoro-3/AM 和 Pluronic F-127 为美国 Molecular Probes 公司产品。

1.2 仪器:BB5060/BB16 型 CO₂培养箱(Heraeus 公司);XDS-1B 型倒置相差显微镜(重庆);LKB-BasK-Bata 1217 型液体闪烁计数器(瑞典);Leica TCS-NT 型激光共聚焦显微镜(德国)。

1.3 动物:出生 1~3 d 的 Wistar 大鼠,雌雄不拘;健康成年雄性 Wistar 大鼠,均由第三军医大学实验动物中心提供。

1.4 细胞培养^[6]:在无菌条件下开胸取出新生大鼠心脏,置于 PBS 中冲洗残血,剪碎至 1~3 mm³大小,以 0.08% 胰蛋白酶-0.05% 胶原酶-0.02% EDTA 消化 5 min 左右,含 10% 胎牛血清培养液终止消化,反复数次,直至碎片完全消化。将收集的细胞悬液用 200 目筛网滤过后,1 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,重悬细胞置孵箱中培养 90 min 后,吸取未贴壁细胞至 24 孔培养板或预先放置有盖玻片的 6 孔培养板中继续培养,前 48 h 培养液中加入 0.1 mmol/L 的 BrdU 以抑制残余非心肌细胞的增殖。

1.5 培养心肌细胞肥大模型制作:24 孔培养板中培养 48 h 的心肌细胞,换无血清的 DMEM 培养

液,继续培养 24 h 后分为 5 组:对照组,加入 PBS 10 μ L;模型组加入 1 μ mol/L Ang II;给药组在加入 Ang II 的同时,分别加入 PNS 0.05、0.10、0.15 g/L,继续培养。

1.6 蛋白质的测定:已加入 Ang II 的心肌细胞继续培养 48 h,弃去培养液,PBS 冲洗,加胰蛋白酶消化,PBS 重悬细胞,离心,弃上清液,用 Lowry 法测定蛋白质的量。

1.7 蛋白质合成速率测定:在加入 Ang II 之后,每孔加入 37 kBq ³H-亮氨酸。48 h 后,吸弃细胞培养液,用 PBS 洗涤。每孔加入预冷的 10% 三氯乙酸 1 mL,4 $^{\circ}$ C 放置 30 min。取出后弃去三氯乙酸,加入无水甲醇 1 mL,吸弃后晾干。每孔加入 0.3 mol/L NaOH-1% SDS 0.3 mL,置 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中过夜。混匀后,取 0.1 mL 至闪烁瓶中,加入水溶性闪烁液 10 mL,室温放置 2 h 后用液体闪烁计数器测定^[7]。

1.8 细胞内 Ca²⁺浓度[Ca²⁺]_i测定:吸弃 6 孔板中培养液,加入用培养液稀释的 Fluo-3/AM 2.0 μ mol/L,置 37 $^{\circ}$ C 孵箱中孵育 30 min,弃去培养液,用灭菌 PBS 洗涤 3 次,加入 DMEM 培养液,分为 5 组,给药方法同 1.5 项。继续培养 30 min,加盖玻片于激光共聚焦显微镜下观察,激发波长 490 nm,发射波长 525 nm,测定细胞内游离 Ca²⁺荧光强度来表示[Ca²⁺]_i。

1.9 大鼠心肌肥大模型制备:大鼠随机分为 5 组,每组 6 只,对照组给予 0.1% 抗坏血酸-30 mg/L 重酒石酸钾钠-生理盐水,模型组给予 0.1% 抗坏血酸-60 mg/L 重酒石酸去甲肾上腺素-生理盐水,给药 3 组,分别在给去甲肾上腺素的同时,给予 PNS 25、50、75 mg/kg,各组给药体积均为 25 mL/kg,ip 给药,每天 2 次,连续 20 d。届时处死动物,称体重、心脏质量、左心室(含室间隔)质量。

1.10 数据处理:结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间用 SPSS 进行 ANOVA 分析。

2 结果

2.1 PNS 对大鼠心肌细胞蛋白质的量及其合成速率的影响:如表 1 所示,1 μ mol/L Ang II 引起培养的大鼠心肌细胞中蛋白质的量和 ³H-亮氨酸掺入量明显增加 ($P < 0.01$);0.05、0.10、0.15 g/L PNS 可显著降低细胞内蛋白质的量和 ³H-亮氨酸掺入量,与模型组相比,蛋白质的量分别减少 21.9% ($P < 0.05$)、28.3% ($P < 0.01$)、33.9% ($P < 0.01$);³H-亮氨酸掺入量分别降低 20.5% ($P < 0.05$)、26.0% ($P < 0.05$)、27.4% ($P < 0.01$)。

表 1 PNS 对大鼠心肌细胞蛋白质的量和蛋白质合成速率的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 1 Effects of PNS on protein content and protein synthesis rate in cardiomyocytes of rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/(g·L ⁻¹)	蛋白质的量/(μg·孔 ⁻¹)	³ H 亮氨酸掺入量/Bq
对照	—	81.3±15.6	14.6±3.2
模型	—	148.8±28.0 ^{##}	21.9±3.0 ^{##}
PNS	0.05	116.2±20.4 [*]	17.4±2.2 [*]
	0.10	106.7±16.5 ^{**}	16.2±3.9 [*]
	0.15	98.3±18.2 ^{**}	15.9±3.3 ^{**}

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

2.2 PNS 对大鼠心肌细胞[Ca²⁺]_i的影响:1 μmol/L Ang II 引起培养的大鼠心肌细胞[Ca²⁺]_i显著升高,比对照组增加 79.7% ($P<0.01$)。0.05、0.10、0.15 g/L PNS 均能明显减弱细胞内 Ca²⁺ 荧光信号(表 2);与模型组相比,分别降低了 19.6%、52.5%、61.6% ($P<0.01$)。

2.3 PNS 对大鼠心肌肥大的作用:连续给予去甲

表 2 PNS 对大鼠心肌细胞[Ca²⁺]_i的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Effect of PNS on [Ca²⁺]_i in cardiomyocytes of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/(g·L ⁻¹)	样本数	[Ca ²⁺] _i (荧光强度)
对照	—	12	28.32±5.54
模型	—	20	50.89±9.17 ^{##}
PNS	0.05	15	40.93±7.20 ^{**}
	0.10	15	34.18±6.44 ^{**}
	0.15	15	29.54±7.59 ^{**}

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

肾上腺素 20 d,可明显诱发大鼠出现心肌梗大,心脏质量、左心室质量、心脏指数、左心室指数、左心室与心脏质量比均有明显增加(表 3),而各组动物体重之间差异不显著。结果提示去甲肾上腺素明显引起了大鼠心肌肥大。PNS 25、50、75 mg/kg 均能明显抑制大鼠心肌肥大的发生。与模型组相比,25、50、75 mg/kg PNS 分别降低左心室指数 8.5% ($P<0.05$)、16.3% ($P<0.01$)、21.4% ($P<0.01$),均能明显降低左心室与心脏质量比。

表 3 PNS 对大鼠心肌肥大的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3 Effects of PNS on myocardial hypertrophy in rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体重/g	心脏质量/mg	左心室质量/mg	心脏指数/(mg·g ⁻¹)	左心室指数/(mg·g ⁻¹)	左心室质量/心脏/%
对照	—	189±15	573±35	408±27	3.04±0.18	2.17±0.11	71.0±0.64
模型	—	187±5.0	690±78 [*]	555±55 ^{**}	3.67±0.35 ^{**}	2.95±0.25 ^{**}	80.6±2.26 ^{**}
PNS	25	183±6.8	678±29	495±58	3.70±0.25	2.70±0.28 [▲]	73.0±8.00 ^{▲▲}
	50	191±8.2	650±21	472±19 ^{▲▲}	3.41±0.28	2.47±0.27 ^{▲▲}	72.3±7.04 ^{▲▲}
	75	193±9.0	624±33 [▲]	448±30 ^{▲▲}	3.24±0.30 ^{▲▲}	2.32±0.31 ^{▲▲}	71.6±7.37 ^{▲▲}

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

3 讨论

心肌梗大作为一种心血管疾病的独立危险因素,不仅导致心肌收缩功能障碍,而且促进高血压和心衰的发生、发展,引起恶性心律失常、心力衰竭等,危害巨大;引起了人们的广泛重视和高度关注,逆转左心室肥厚已成为当前抗高血压及治疗慢性充血性心力衰竭的重要目标之一^[1,8]。PNS 具有明显的扩张血管、增加冠脉流量、减低冠脉阻力及降低心肌耗氧的功效,是理想的扩冠药物,又有降低动脉压及略减心率的作用,使心脏工作量减低,从而明显减少心肌的耗氧量。

在心肌梗大的发生过程中,Ca²⁺处于十分重要的地位。Ca²⁺可通过 Ca²⁺-CaM 依赖的蛋白激酶 II (Ca²⁺-calmodulin dependent protein kinase II, CaMPK II) 使 cAMP 应答元件结合蛋白(cAMP responsive element binding protein, CREB) 转录

因子磷酸化;通过钙调磷酸酶(calcineurin, CaN)使活化 T 细胞核因子(nuclear factor of activated T cell, NF-AT) 转位入核;从而上调心肌细胞中心房利钠多肽(atrial natriuretic polypeptide, ANP)、脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)、α-型肌球蛋白重链(α-type myosin heavy chain, α-MHC)、β-MHC 等胚胎基因的特异性表达,引起心肌肥大^[1,9]。本研究发现,PNS 可显著抑制 Ang II 刺激所引起的细胞内游离[Ca²⁺]_i升高,降低培养心肌细胞蛋白质的量及其合成速率。在整体动物实验中,PNS 明显降低了去甲肾上腺素刺激大鼠的左心室指数(或称心肌肥大指数)。文献报道,三七皂苷 Rb₁可抑制心肌细胞 Ca²⁺内流^[10],PNS 还能提高心肌细胞内肌浆网上钙泵活性^[11],从而降低细胞内游离钙水平,抑制胚胎型基因的表达和心肌梗大的发生。PNS 整体作用十分广泛,其抗心肌肥大效应值

得进一步深入研究。

References:

- [1] Frey N, Katus H A, Olson E N, *et al.* Hypertrophy of the heart: a new therapeutic target? [J]. *Circulation*, 2004, 109 (4): 1580-1589.
- [2] Tarone G, Lembo G. Molecular interplay between mechanical and humoral signalling in cardiac hypertrophy [J]. *Trends Mol Med*, 2003, 9(9): 376-382.
- [3] Wang Y S, Deng W L, Xue C S. *Pharmacology and Application of Chinese Materia Medica* (中药药理与应用) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998.
- [4] Kwan C Y, Kwan T K. Effects of *Panax notoginseng* saponins on vascular endothelial cells *in vitro* [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2000, 21(12): 1101-1105.
- [5] Liu Y, Li X H. Effect of *Panax notoginseng* total saponin on inflammatory immune factors in atherosclerosis [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(5): 728-730.
- [6] Hao Y R. Culture of neonatal rat cardiomyocyte [J]. *South Chin J Cardiovasc Dis* (岭南心血管病杂志), 2001, 7(2): 137-139.
- [7] Situ Z Q, Wu J Z. *Cell Culture* (细胞培养) [M]. Xi'an: World Book Publishing Corporation, 1999.
- [8] Steinberg S F. Many pathways to cardiac hypertrophy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2000, 32(8): 1381-1384.
- [9] Wang Y B. Signal transduction in cardiac hypertrophy-dissecting compensatory versus pathological pathways utilizing a transgenic approach [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2001, 1(2): 134-140.
- [10] Miao L Y, Guan Y Y, Sun J J. Study in the effects of *Rb₁* extracted from *Panax notoginseng* saponins on Ca^{2+} entry at rat ventricular cells [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1996, 12(1): 39-42.
- [11] Feng P F, Qin N P, Qiao Q, *et al.* Clinical and experimental study of improving left ventricular diastolic function by total saponins of *Panax notoginseng* [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1997, 17(12): 714-717.

槐定碱对小鼠中枢神经系统的影响

余建强, 蒋袁絮*

(宁夏医学院基础学院 药理教研室, 宁夏 银川 750004)

摘要:目的 观察槐定碱对小鼠中枢神经系统的影响。方法 采用行为学方法观察槐定碱对正常小鼠自主活动及对阈剂量戊巴比妥钠小鼠入睡潜伏期和睡眠持续时间的影响; 观察槐定碱与阈下剂量戊四氮、烟碱、土的宁、印防己毒素、异烟肼致惊厥的协同作用。结果 小鼠 ip 给予槐定碱 10、20 mg/kg, 小鼠自主活动抑制率分别为 66.9%、76.6%, 延长小鼠 ip 戊巴比妥钠 40 mg/kg 的入睡潜伏期, 缩短入睡时间 ($P < 0.01$)。每只小鼠 icv 给予槐定碱 2.5 μ g, 能协同土的宁、印防己毒素、异烟肼致惊厥作用, 但对戊四氮、烟碱致惊厥无协同作用。小鼠 ip 槐定碱 20 mg/kg, 对其被动运动未见明显影响。结论 槐定碱对中枢神经系统具有明显的兴奋作用。

关键词:槐定碱; 催眠作用; 惊厥

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)11-1688-04

Effects of sophoridine on central nervous system in mice

YU Jian-qiang, JIANG Yuan-xu

(Department of Pharmacology, Faculty of Basic Medicine, Ningxia Medical College, Yinchuan 750004, China)

Abstract: Objective To observe the effects of sophoridine on central nervous system in mice. **Methods** Behavioral methodology was employed to observe the effect of sophoridine on the normal mouse autonomic activities, and sleeping latency and sleep-lasting time of mice under threshold dosage of pentobarbital sodium. And to observe the synergistic effects of inducing convulsion between sophoridine and pentylenetetrazol, nicotin, strychnine, isoniazid, and picrotoxin by subthreshold dosage. **Results** Sophoridine ip administrated (10 and 20 mg/kg) made the autonomic activities of mice suppressed by the rate of 66.9% and 76.6%, the sleeping latency of mice given pentobarbital sodium (40 mg/kg) prolonged, and sleeping time shortened ($P < 0.01$) as well. Sophoridine icv administrated at 2.5 μ g/mice showed the synergistic effects of inducing convulsion with strychnine, picrotoxin, and isoniazid, but no such effects with pentobarbital sodium and nicotin. Sophoridine ip administrated (20 mg/kg) showed no effects on their passive movement. **Conclusion** This study indicates that sophoridine possesses the significant effects of excitation on central nervous system.

Key words: sophoridine; hypnosis action; convulsion

收稿日期: 2006-02-19

基金项目: 宁夏回族自治区自然科学基金项目 (2003-C103)

作者简介: 余建强 (1965—), 男, 宁夏回族自治区青铜峡市人, 硕士, 副教授, 主要从事神经药理学研究。

Tel: (0951) 4076063 E-mail: yujq@nxmc.edu.cn

* 通讯作者 蒋袁絮 Tel: (0951) 4076063 E-mail: jiangyuanxu33@hotmail.com