

表4 有效供试药液与常用止咳药效果比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Comparison between effective extract solution and common cough remedy ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	潜伏期/s	3 min 内咳嗽次数
对照	-	50.20 ± 9.07	25.91 ± 7.57
枇杷花 95% 乙醇提取物	5	70.18 ± 7.70 **	12.03 ± 4.36 **
	2.5	69.07 ± 8.09 **	12.00 ± 3.70 **
枇杷花 50% 乙醇提取物	5	68.23 ± 8.72 **	14.77 ± 5.63 **
	2.5	67.22 ± 7.36 **	12.79 ± 5.56 **
枇杷花水提取物	5	71.27 ± 7.96 **	11.07 ± 5.18 **
枇杷花混合提取物	5	70.01 ± 8.03 **	11.55 ± 4.00 **
复方磷酸可待因口服溶液	5.2 mL·kg ⁻¹	68.80 ± 8.72 **	12.10 ± 4.23 **
京都念慈菴蜜炼川贝枇杷膏	5.8	64.77 ± 6.27 *	13.15 ± 4.69 **
蛇胆川贝枇杷膏	8.6	67.71 ± 9.71 **	14.79 ± 6.61 **
枇杷止咳颗粒	1.2	62.54 ± 14.96	14.69 ± 6.33 **
急支糖浆	11.7 mL·kg ⁻¹	65.56 ± 9.49 *	12.22 ± 4.82 **

组在延长小鼠咳嗽潜伏期及减少小鼠 3 min 内咳嗽次数方面均与对照组有显著性差异 ($P < 0.01$), 且与其他 5 种常用止咳药效果相当。

3 讨论

文献报道^[11], 氨水引起的小鼠咳嗽模型及枸橼酸引起的咳嗽模型均是由于吸入刺激性化学药物的气雾后, 刺激呼吸道感受器, 引起支气管平滑肌收缩, 兴奋传入神经和传出神经, 从而引发咳嗽。本实验结果表明 3 次小鼠氨水引咳实验和 1 次枸橼酸豚鼠引咳实验所示枇杷花提取物在延长咳嗽潜伏期及减少咳嗽次数上结果趋于一致, 即两种模型所示枇杷花不同溶剂提取物止咳规律基本相同。

本实验通过小鼠氨水引咳实验和枸橼酸豚鼠引咳实验得知枇杷花 95% 乙醇提取物和混合提取物

具有明显止咳作用, 50% 乙醇提取物和水提取物具有一定止咳作用, 75% 乙醇提取物无明显止咳作用。枇杷花 95% 乙醇提取物中三萜化合物及 50% 乙醇提取物中总黄酮的量均明显高于其他各组。因此, 枇杷花提取物中三萜化合物可能起明显止咳作用, 总黄酮具有一定作用。由于混合提取物具有明显止咳作用, 其中三萜化合物的量少于 95% 乙醇提取物, 且水提取物具有一定止咳作用, 其中总黄酮量少于 50% 乙醇提取物, 由此推断, 除以上两类物质外可能还有其他物质起止咳作用, 这有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 张玉, 王建清. 枇杷的营养及功能成分研究进展 [J]. 食品科学, 2005, 26(9): 602-604.
- [2] 邓晶晶, 卢先明, 蒋桂华, 等. 枇杷花镇咳祛痰和抗炎的药理学研究 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(12): 2469-2470.
- [3] 成丽, 刘燕, 陈凌亚. 枇杷花三萜皂苷成分的研究 [J]. 华西医科大学学报, 2001, 32(2): 283-285.
- [4] 鞠建华, 周亮, 林耕, 等. 枇杷叶中三萜酸类成分及其抗炎、镇咳活性研究 [J]. 中国药学杂志, 2003, 38(10): 752-757.
- [5] 王立为, 刘新民, 余世春, 等. 枇杷叶抗炎和止咳作用研究 [J]. 中草药, 2004, 35(2): 174-176.
- [6] 李时珍. 本草纲目 [M]. 北京: 宗教文化出版社, 2003.
- [7] 周蓉, 邹怀波, 胡运兰. 虎刺中总黄酮的含量测定 [J]. 安徽农业科学, 2007, 3(30): 9556-9559.
- [8] 张晓喻, 黄春萍, 张宏, 等. RP-HPLC 测定四川不同产地枇杷花中的齐墩果酸和熊果酸的含量 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(1): 129-131.
- [9] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
- [10] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [11] 赵晖. 地茶咳喘露治疗慢性喘息性支气管炎的实验研究 [J]. 湖北民族学院学报(医学版), 2002, 19(2): 31-33.

海洋真菌 *Halorosellinia oceanicum* 新化合物 JL2 对豚鼠离体心房肌的作用

王正濂¹, 许实波¹, 冯星^{2*}, 姜广策¹, 林永成¹

(1. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275; 2. 湖南师范大学医学院, 湖南 长沙 410006)

摘要:目的 以豚鼠离体心房肌为材料, 研究海洋真菌 *Halorosellinia oceanicum* 中分离得到的新化合物 JL2 (hypoxylin A) 对离体心房肌的作用。方法 采用豚鼠离体心房肌, 测定给药前后心房的心率、心肌收缩力、左心房静息后增强作用 (PRP) 及正性阶梯现象。结果 JL2 (终浓度为 1.5×10^{-5} 、 1.5×10^{-6} mol/L) 能明显降低豚鼠离体右心房肌的收缩力, 同时减慢其心率; 显著抑制左心房肌的 PRP 作用; 显著抑制豚鼠离体左心房肌的正性阶梯作用。结论 JL2 对豚鼠离体心房肌有负性肌力和负性频率作用。

关键词: *Halorosellinia oceanicum*; hypoxylin A (JL2); 心房肌; 负性肌力; 正性阶梯

中图分类号: R286.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2009)07-1109-04

* 收稿日期: 2008-09-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20072058); 广东省自然科学基金重点基金资助项目 (021732); 国家科技攻关“863”资助项目 (2003AA624010)

作者简介: 王正濂 (1965—), 男, 湖南道县人, 博士, 现于广州斯威森科技有限公司工作。

*通讯作者 冯星 Tel: (0731) 8652216 Fax: (0731) 8912417 E-mail: fengxing01@hotmail.com

海洋生物具有多种活性物质,近年来,开发海洋药物、利用海洋生物资源已经成为研究热点之一。已经发现有多种生理活性的化合物,如三丙酮胺、海蛾提取物等。但是作为传统中药的海洋生物存在着采集困难、分离复杂、收率低等问题。近年来,本课题组开展了海洋微生物代谢产物的化学和药学研究^[1]。本研究所采用的化合物 JL2 是从我国海南岛海域的海洋真菌炭角菌科(Xylariaceae) 卤座坚壳属海洋卤座坚壳 *Halorosellinia oceanicum* 进行人工发酵培养得到的,其中 JL1 (hypoxylon B) 和 JL2 (hypoxylon A) 两个新结构化合物,为同分异构体,其结构由苯乙胺与不规则取代二萜构成。分子式:C₃₀H₃₇NO₆;相对分子质量:507.62;熔点:JL1, 274 (分解);JL2,280 (分解)。结构式见图 1。此结构为新化合物。通过药理作用初筛,发现其有广泛的生理活性,本研究主要观察 JL2 对豚鼠离体心房肌的影响。

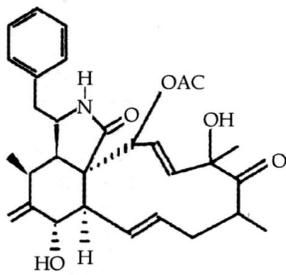


图 1 化合物 JL2 的结构式

Fig. 1 Structure of compound JL2

1 材料

1.1 动物:封闭群豚鼠,广州番禺威龙养殖场,合格证号:第 26-98043 号。

1.2 药品和试剂:JL2 由中山大学化学与化学工程学院林永成教授提供;维拉帕米(Verapamil),江苏连云

港制药厂,批号 961104;其余试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器:LMS—2B 二道生理记录仪,四川成都仪器厂生产;CS501 型超级恒温水浴,南通科学仪器厂生产。

2 方法与结果

2.1 统计学分析:结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,显著性检验用 Student's-t 检验。

2.2 对离体豚鼠右心房肌的作用:选取体质量 400~450 g 的白色封闭群豚鼠 30 只,随机分为 5 组:对照组, JL2 高、中、低剂量组和阳性药维拉帕米组。每组 6 只,雌雄各半,击头致昏,剖取心脏置于预冷 4 通氧的改良 Tyrode 液[(mmol/L): NaCl 137.00、KCl 3.00、MgCl₂ 1.07、CaCl₂ 1.80、NaH₂PO₄ 0.60、NaHCO₃ 12.02、C₆H₁₂O₆ 6.11、Tris 5.00, pH 7.30 ± 0.05],剪下左右心房肌,置于 20 mL 改良 Tyrode 液浴槽中,通入氧(95% O₂ + 5% CO₂),心房肌两端用蛙心夹夹住,一端固定于浴槽底部,一端用小钩钩在二道生理记录仪的换能器上(小钩与蛙心夹间用线连接),温度(36 ± 0.5),静息张力 0.5 g,左心房给予 150% 阈强度的电刺激(0.5 Hz, 1 ms),标本平衡 1 h 开始实验^[2]。

浴槽中 JL2 的终浓度为:1.5 × 10⁻⁵、1.5 × 10⁻⁶、1.5 × 10⁻⁷ mol/L;维拉帕米的终浓度为:5.1 × 10⁻⁷ mol/L;对照组加 0.2% DMSO 生理盐水溶液;记录加药后 0、10、20、40、60 min 心肌收缩力及心率。

结果表明,高剂量和中剂量组的 JL2 在给药 20 min 后可以使豚鼠离体右心房肌收缩力明显下降,在给药 40 min 后心率明显下降。而维拉帕米对心房肌的作用迅速,在给药 10 min 后心房肌收缩力显著降低,在给药 20 min 后使心率显著降低,结果见表 1。

表 1 JL2 对豚鼠离体右心房肌收缩力和心率的作用 ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

Table 1 Effect of JL2 on contractile force and heart rate in isolated atrium dextrum of guinea pig ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

组别	C/ (mol · L ⁻¹)	心肌收缩力/ mg				
		0 min	10 min	20 min	40 min	60 min
对照	-	463.33 ± 58.15	466.67 ± 66.38	466.67 ± 51.20	461.67 ± 45.53	451.67 ± 47.31
JL2	1.5 × 10 ⁻⁵	493.33 ± 51.47	416.67 ± 75.43	313.33 ± 65.61**	213.33 ± 68.41**	133.33 ± 46.18**
	1.5 × 10 ⁻⁶	475.00 ± 55.77	410.00 ± 58.99	333.33 ± 62.82**	256.67 ± 43.33**	193.33 ± 37.74**
	1.5 × 10 ⁻⁷	483.33 ± 57.16	440.00 ± 41.95	400.33 ± 49.67	363.33 ± 52.79*	326.67 ± 58.88**
维拉帕米	5.1 × 10 ⁻⁷	453.33 ± 45.61	318.23 ± 66.01**	233.33 ± 76.28**	213.33 ± 56.41**	81.67 ± 3.25**

组别	C/ (mol · L ⁻¹)	心率/(次 · min ⁻¹)				
		0 min	10 min	20 min	40 min	60 min
对照	-	220 ± 21	220 ± 21	218 ± 21	216 ± 24	219 ± 27
JL2	1.5 × 10 ⁻⁵	217 ± 22	210 ± 22	205 ± 21	196 ± 16**	187 ± 14**
	1.5 × 10 ⁻⁶	217 ± 22	215 ± 20*	210 ± 20	192 ± 19**	181 ± 26**
	1.5 × 10 ⁻⁷	222 ± 20	218 ± 23	210 ± 22	201 ± 21	190 ± 20
维拉帕米	5.1 × 10 ⁻⁷	224 ± 30	215 ± 24	187 ± 13**	176 ± 15**	165 ± 10**

与对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01
* P < 0.05 ** P < 0.01 vs control group

2.3 对豚鼠离体左心房肌静息后增强效应 (PRP) 的影响:按 2.2 方法制备豚鼠左心房肌标本和分组。电刺激左心房收缩 (波宽 3 ms, 频率 1 Hz, 150% 域电压), 平衡 45 min, 停止刺激 30 s, 然后恢复刺激。此时第 1 个刺激脉冲的第 1 个收缩幅度最大, 称为静息后增强效应 (PRP), PRP 代表着 Ca^{2+} 从心肌细胞 Ca^{2+} 库的释放情况^[3]。经研究其他文献及结合在实验中碰到的问题, 对本实验稍加改进; 同一标本在平衡 45 min, 停止刺激 30 s, 然后恢复刺激, 记录其最大收缩力, 然后继续刺激 30 min, 加入受试药后作用 15 min, 停止刺激 30 s, 记录最大收缩力。计算加药后与加药前最大收缩力的比值, 以 [(对照组平均最大收缩力 - 给药组平均最大收缩力) / 对照组平均最大收缩力 × 100%] 计算抑制率, 进行组间统计处理。

结果见表 2, JL2 (终浓度为 1.5×10^{-5} 、 1.5×10^{-6} mol/L) 作用 15 min 后使 PRP 显著降低, JL2 显著抑制左心房的静息后增强作用。

2.4 对豚鼠离体左心房正性阶梯现象的影响:按 2.2 方法制备豚鼠左心房肌标本和分组。当逐渐增加刺激豚鼠左心房的刺激频率时, 心房肌的收缩力

表 2 JL2 对豚鼠离体左心房肌静息后增强作用的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

Table 2 Effect of JL2 on post-rest potentiation of contraction in isolated atrium sinistrum of guinea pig ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

组别	C/ (mol · L ⁻¹)	加药后与加药前最大收缩率比值/ %	抑制率/ %
对照	-	99.35 ± 3.47	-
JL2	1.5×10^{-5}	16.01 ± 3.59 **	83.88
	1.5×10^{-6}	33.89 ± 8.21 **	65.89
	1.5×10^{-7}	86.30 ± 14.82	13.14
维拉帕米	5.1×10^{-7}	29.38 ± 4.37 **	70.43

与对照组比较: ** P < 0.01

** P < 0.01 vs control group

会逐渐增加, 这种现象称为正性阶梯现象^[4-6]。先用波宽 1 ms, 频率 0.5 Hz, 1.5 倍阈强度的刺激, 然后固定其他参数, 逐渐增加刺激频率为 1~4 Hz, 记录收缩力的变化, 整个过程在 3 min 内完成, 以 0.5 Hz 刺激引起的收缩力为 100%, 给予相应药物作用后, 重复上述实验。结果见表 3 和图 2。JL2 显著抑制豚鼠离体左心房肌正性阶梯现象, 具明显的剂量依赖关系。终浓度为 1.5×10^{-5} mol/L 的 JL2 可以使正阶梯变为负阶梯, 与维拉帕米类似。结果提示, JL2 可能对细胞外钙的内流有很强的抑制作用。

表 3 JL2 对豚鼠离体左心房正性阶梯现象的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

Table 3 Effect of JL2 on positive staircase phenomena in isolated atrium sinistrum of guinea pig ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

组别	C/ (mol · L ⁻¹)	收缩力/ %				
		0.5 Hz	1 Hz	2 Hz	3 Hz	4 Hz
对照	-	100	107.65 ± 17.92	195.98 ± 32.58	314.35 ± 68.16	383.34 ± 98.51
JL2	1.5×10^{-5}	100	83.24 ± 8.76 *	65.46 ± 15.04 **	48.92 ± 12.98 **	35.05 ± 8.62 **
	1.5×10^{-6}	100	109.65 ± 7.25	123.70 ± 82.49 **	120.88 ± 66.41 **	96.35 ± 49.78 **
	1.5×10^{-7}	100	108.74 ± 31.25	167.71 ± 55.07	228.85 ± 76.52 *	248.33 ± 107.73 **
维拉帕米	5.1×10^{-7}	100	62.54 ± 18.26 **	38.94 ± 20.06 **	27.33 ± 18.26 **	16.09 ± 12.29 **

与对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs control group

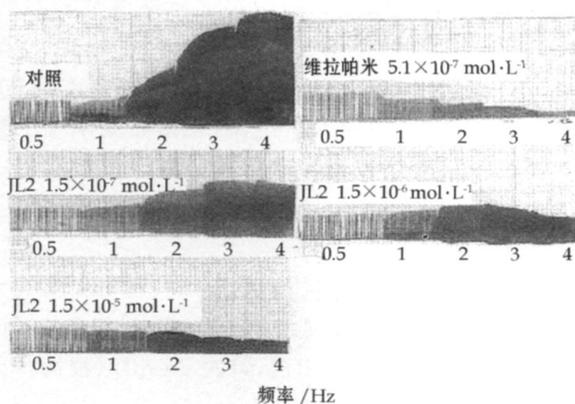


图 2 JL2 对豚鼠离体左心房肌正性阶梯现象的影响
Fig. 2 Effect of JL2 on positive staircase phenomena in isolated atrium sinistrum of guinea pig

3 讨论

通过对离体豚鼠心房肌实验结果证实, JL2 显著抑制胞外钙进入细胞内, 同时还抑制细胞内钙库中钙的释放。

本研究结果表明, JL2 可能为一种新型的长效钙拮抗剂, 它是一种不同于维拉帕米的钙拮抗剂, 其主要特点是 JL2 在不同的浓度下对细胞膜上的钙通道的作用不同, 即低浓度 (1.5×10^{-7} mol/L) 时仅作用于细胞膜上的电压依赖性钙通道, 在高浓度 ($1.5 \times 10^{-5} \sim 1.5 \times 10^{-6}$ mol/L) 作用于电压依赖性和受体依赖性两种通道。目前缺乏膜片钳等相关实验提供的钙离子通道阻断的直接证据, JL2 是否为钙通道阻断剂, 还需要进行进一步的研究。

参考文献:

- [1] 乐长高, 林永成, 姜广策, 等. *Julella avicenniae* 两个代谢产物结构的测定 [J]. 华东地质学院学报, 1998, 21(12): 340-395.
- [2] Levy J V. *Method in Pharmacology* [M]. New York: Appleton-Century-Crofts Educational Division, 1971.
- [3] Shaffer J E. Inotropic and chronotropic activity of berberine on isolated guinea pig atria [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1985, 7: 307.
- [4] Katz A M. *Physiology of the Heart* [M]. New York: Raven Press, 1977.
- [5] Fleckenstein A. *Experimental Facts and Therapeutic Prospects* [M]. New York: Wiley-Interscience, 1983.
- [6] Pu H L, Wang Z L, Huang Q J, et al. Effects of biacetylolide on isolated guinea pig myocardium [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2000, 16(1): 60-63.

加味丹参饮对家兔应激性胃溃疡的影响

刘纳文, 李志军*

(天津市第一中心医院, 天津 300192)

摘要:目的 研究加味丹参饮对家兔应激性胃溃疡的影响并探讨其作用机制。方法 选用健康大耳白兔 24 只, 随机分为对照组、模型组及给药组, 每组 8 只。以浸水法复制家兔应激性胃溃疡动物模型, 分别于应激后 0、1、2、3 h 取血, 检测血浆中内皮素 (ET)、一氧化氮合酶 (NOS) 活性, 并对胃黏膜病变的情况进行观察。结果 浸水应激后家兔血浆 ET 及 NOS 活性均明显升高, 加味丹参饮可抑制应激导致的 ET 水平及 NOS 活性的升高, 并可抑制浸水应激家兔胃液的过量分泌而对胃液的 pH 值无显著影响; 加味丹参饮能抑制应激所致的胃溃疡的形成, 其溃疡抑制率达 49.94%。结论 加味丹参饮有抗家兔浸水应激性胃溃疡的作用, 其机制与抑制胃液的过量分泌及抑制 ET 及 NOS 的异常升高有关, 而对胃液的 pH 值无影响。

关键词:加味丹参饮; 应激; 胃溃疡; 内皮素; 一氧化氮合酶

中图分类号:R286.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2009)07-1112-04

随着社会的发展及各方面竞争压力的增加, 环境因素和心理因素作为两大常见应激因素对人体健康的影响越来越强烈。应激可以引起胃溃疡或出血性黏膜糜烂, 被称为应激性溃疡, 亦称“急性黏膜病变”, 是人和各种动物受创伤后所发生的最具特征的应激表现。应激性胃溃疡也是临床上的常见病症, 多伴见于严重烧伤、重度感染、缺氧、大手术等, 其临床表现为大便潜血阳性、甚者呕血、便血, 更为严重者可导致胃穿孔, 以致威胁患者生命, 死亡率很高。

丹参饮方出自《时方歌括》, 由丹参、檀香、砂仁 3 味药组成, 具有行气化瘀、止痛的功效, 在临床上被广泛用于心腹诸痛的治疗。应激性胃溃疡的中医病理机制为气血郁滞, 因此以丹参饮为基础, 加以具中和胃酸、保护溃疡面作用的乌贝散 (乌贼骨、浙贝母) 及具活血定痛作用的三七粉, 而合为加味丹参饮, 观察其对家兔应激性胃溃疡的影响并探讨其作用机制, 以期为寻找临床治疗应激性胃溃疡的有效方药提供参考。

1 材料

1.1 实验动物: 健康大耳白兔 24 只, 均为雄性, 体重 2.1~2.5 g, 4~5 月龄, 单笼饲养, 由天津中医药大学动物室提供。

1.2 实验用药: 加味丹参饮由丹参 30 g、檀香 5 g、砂仁 5 g、乌贼骨 30 g、浙贝母 12 g、三七粉 3 g, 常规水煎后, 浓缩为 1.5 g/mL 的药液 (含生药量为 85.05 g/L), 以上所用生药由天津市第一中心医院中药房提供。

1.3 仪器与试剂: 高精度数字显示酸度计、721 分光光度计、计数仪、离心机。一氧化氮合酶 (NOS) 试剂盒, 南京建成生物工程研究所产品; 内皮素 (ET) 放射免疫分析药盒, 北京北免东雅生物技术研究所产品, 以上药盒均购自天津市联星生物技术有限公司。

2 方法

2.1 动物分组及应激前处理: 将 24 只家兔随机分为 3 组, 即对照组、模型组及给药组, 每组各 8 只。给药组于每日 ig 给药 2 次, 每次 25 mL (根据丹参

* 收稿日期: 2008-12-03

作者简介: 刘纳文 (1970—), 天津市人, 副主任医师, 硕士, 博士在读。Tel: (020) 89938584 E-mail: nn1747@sina.com.cn

* 通讯作者 李志军 Tel: (022) 23626600