

双黄连粉针剂抗乌头碱诱发大鼠心律失常的实验研究

宋 昆<sup>1</sup> 肖桂林<sup>2</sup> 石 燕<sup>1</sup>

(1 湖南省长沙市中心医院 长沙 410004; 2 中南大学湘雅医院 长沙 410008)

**摘要:**目的:观察双黄连粉针剂对抗乌头碱诱发大鼠实验性心律失常的作用。方法:静脉注射乌头碱复制大鼠心律失常动物模型,在预先静脉注射双黄连粉针剂 60mg/kg、30mg/kg 的基础上,观察其抗乌头碱诱发大鼠实验性心律失常的作用。结果:双黄连粉针剂可明显提高乌头碱致大鼠发生 VP、VT、Vf 的阈值。结论:双黄连粉针剂具有一定抗乌头碱致大鼠实验性心律失常的作用。

**关键词:**双黄连粉针剂;乌头碱;心律失常

**Abstract:**Objective:To observe the anti-arrhythmic effects of injection Shuanghuanglian on the experimental arrhythmic models produced by intravenously injecting aconitine. Methods:Reproduce the experimental arrhythmic models by intravenously injecting aconitine,injection Shuanghuanglian (60mg/kg,30mg/kg)were precautionary intravenously injected respectively,observed the anti-arrhythmic effects.Result:Injection Shuanghuanglian could significantly increase the dosages of aconitine inducing VP、VT、Vf in rats. Conclusion: Injection Shuanghuanglian exerteded anti-arrhythmic effects on the experimental arrhythmic models produced by intravenously injecting aconitine.

**Key Words:**Injection Shuanghuanglian;Aconitine;Arrhythmia

中图分类号:R 541.7

文献标识码:B

文献编号: 1671-4040(2007)06-0088-02

双黄连粉针剂是临床广泛使用的清热解毒药,由黄芩、金银花、连翘三味中药科学精制加工而成,有文献报道其有抗心律失常作用<sup>[1]</sup>。我们在临床抢救急性乌头碱中毒的患者中也发现双黄连粉针剂确有抗乌头碱中毒所致心律失常的作用<sup>[2,3]</sup>,特设计实验进一步验证之。

1 材料

1.1 试验药物 双黄连粉针剂(国药准字 Z10940044),临用时用注射用水配成所需的浓度;利多卡因注射液(国药准字 H37022147);乌头碱为美国 Sigma 公司产品,用生理盐水配成浓度 10 mg/L。

1.2 动物 雄性 SD 大鼠,体重(208± 13)g,由中南大学湘雅医学院实验动物中心提供。

1.3 主要仪器 6511 型心电图机,上海光电仪器有限公司生产;电脑微量注射泵,浙江大学医学仪器有限公司生产。

1.4 统计学方法 所有数据以 ( $\bar{X} \pm S$ ) 表示;组间比较,均用方差分析及 t 检验;检验水准  $\alpha=0.05$ 。

2 方法<sup>[4]</sup>

雄性 SD 大鼠 40 只,体重(208± 13)g,随机分为 5 组,每组 8 只,即正常对照组、模型对照组(生理盐水)、双黄连 A 组(60mg/kg)、双黄连 B 组(30mg/kg)、利多卡因组(5mg/kg)。禁食 12h,20%乌拉坦 1.2g/kg 麻醉,仰位固定。针型电极,插入四肢皮下,连续记录标准肢体 II 导联 ECG。各组药物(生理盐水 1mL/kg、双黄连 60mg/kg、双黄连 30mg/kg、利多卡因 5 mg/kg)分别经尾静脉 iv 给药,5min 后待心律稳定时,正常对照组将生理盐水以 0.3mL/min 速度用电子蠕动泵由尾静脉恒速注射,其余各组将 10 mg/L 乌头碱以 3μg/min 速度用电子蠕动泵由尾静脉恒速注射,立即连续观察 ECG,分别记录出现室性早搏(VP)、室性心动过速(VT)及心室纤颤(VF)的时间并计算相应时间乌头碱的用量(μg/kg)。

3 结果

乌头碱有明显致心律失常的作用;双黄连粉针剂(60mg/kg、30mg/kg)及利多卡因可明显增加乌头碱致大鼠室早、室速及室颤的阈值( $P<0.01$  或  $P<0.05$ );在增加乌头碱致

大鼠室颤的阈值方面,双黄连粉针剂(60mg/kg)的疗效明显优于双黄连(30mg/kg)及利多卡因组。见表 1。

| 表 1 大鼠出现心律失常(VP、VT、VF)时乌头碱的用量比较 ( $\bar{X} \pm S$ ) μg/kg |           |                |                |                   |   |
|-----------------------------------------------------------|-----------|----------------|----------------|-------------------|---|
| 组别                                                        | 剂量(mg/kg) | 乌头碱用量          |                |                   |   |
|                                                           |           | VP             | VT             | VF                |   |
| 正常对照组                                                     | -         | -              | -              | -                 | - |
| 模型对照组                                                     | -         | 24.74± 10.91   | 32.87± 11.64   | 66.21± 15.77      |   |
| 双黄连 A 组                                                   | 60        | 47.14± 13.41** | 59.82± 12.39** | 148.97± 19.07***△ |   |
| 双黄连 B 组                                                   | 30        | 46.25± 15.38** | 57.87± 12.59** | 93.89± 10.62*     |   |
| 利多卡因组                                                     | 5         | 49.33± 12.73** | 59.66± 14.57** | 94.40± 11.43**    |   |

注:与模型对照组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与双黄连 B 组比较,△ $P<0.01$ ;与利多卡因组比较,◆ $P<0.01$ 。

4 讨论

乌头碱诱发大鼠心律失常是常用的实验性心律失常动物模型,其诱发心律失常的机制有以下几方面:(1)乌头碱直接作用于心肌细胞,促使钠通道开放,加速离子内流,使细胞膜去极化,提高心房传导组织和房室束—浦肯野氏纤维系统等快反应细胞的自律性,形成一源性或多源性异位节律。(2)乌头碱可兴奋迷走神经,抑制窦房结及传导系统,致心率减慢和传导阻滞。近年来的研究表明<sup>[5]</sup>乌头碱可明显增加钙离子内流,抑制外向钾电流,使复极时间延长,超过原有 APD 的 20%,增加后除极发生率,引起折返激动,诱发心律失常。本实验表明双黄连粉针剂 60mg/kg、30mg/kg 均可明显提高乌头碱致大鼠发生 VP、VT、VF 的阈值,表明其对乌头碱诱发大鼠心律失常有明显对抗作用,尤其是双黄连粉针剂 60mg/kg 在提高乌头碱致大鼠发生 VF 的阈值方面明显优于利多卡因。

双黄连粉针剂是中药黄芩、金银花、连翘科学精制加工而成,成分有黄芩苷、绿原酸、连翘苷等,主要成分为黄芩苷,为一种钙离子拮抗剂,对兴奋的迷走神经也有抑制作用,推测其抗心律失常作用与此有关。另外,中药抗心律失常作用多具有多靶点作用的特点,故其是否还同时作用于其它离子通道起抗心律失常的作用,还有待于今后进一步研究。

参考文献

[1]张汉池,侯秉凡.双黄连粉针剂治疗频发室性早搏 14 例疗效观察[J].中西医结合实用临床急救,1997,4(7): 321  
[2]肖桂林,金益强,邓跃林,等.双黄连注射液治疗急性严重乌头碱中毒的临床观察[J].湖南中医学院学报,2000,20(4): 57~59  
[3]肖桂林,刘国栋,刘发益,等.双黄连注射液治疗乌头碱中毒所致心律失常的临床研究[J].中国急救医学,2004, 24 (2): 140~141

不同乙醇浓度半枝莲提取物抗肿瘤作用的相关性研究

周志愉<sup>1</sup> 王兆雷<sup>2</sup>

(1 江西中医学院 南昌 330006;2 江西中医学院附属医院 南昌 330006)

摘要:目的:研究不同乙醇浓度半枝莲提取物与抗肿瘤作用的关系。方法:采用高效液相色谱法测定半枝莲提取物中野黄芩苷含量,同时用 MTT 法测定其对人肝癌 SMMC-7721 细胞增殖抑制率,并统计乙醇浓度与抗肿瘤作用的相关性。结果:半枝莲提取物中野黄芩苷含量随着乙醇提取浓度的升高而增高,乙醇浓度及其野黄芩苷含量与其对肿瘤细胞的抑制作用成正相关。结论:半枝莲的抗肿瘤活性与其中所含野黄芩苷有一定的相关性。

关键词:半枝莲;乙醇浓度;野黄芩苷;抗肿瘤作用

中图分类号:R 284

文献标识码:B

文献编号: 1671-4040(2007)06-0089-02

半枝莲辛苦性寒,具有良好的清热解毒、化瘀利水、消肿定痛之功,如《江西草药》谓:“半枝莲,清热解毒,消肿止痛。”现代药理研究表明,半枝莲对小鼠 S<sub>180</sub>、脑瘤 B<sub>22</sub> 等均有一定抑制作用。本文研究半枝莲的不同乙醇浓度提取物野黄芩苷的含量及其抗肿瘤作用,现将有关研究结果报道如下:

1 材料

1.1 药物 半枝莲提取物,由江西省中医药研究院中药所提供。取半枝莲 100g 五份,分别用 10%、30%、50%、70%及 90%的乙醇 500mL 提取 2 次,每次 30min,合并提取液,浓缩至 1g 生药/mL 浓缩液,过滤除菌,用含 10%小牛血清的 RPMI1640 培养基稀释成不同浓度的药液(根据预试验结果而定,浓度均以相当的生药量表示),4℃ 冰箱保存备用。野黄芩苷对照品(含测用),含量以 97.12% 计算,中国药品生物制品检定所提供,批号:110842-200403。

1.2 瘤株 人肝癌 SMMC-7721 细胞株,由江西省中医药研究院中心实验室保存。

1.3 试剂仪器 MTT 试剂(美国 Sigma),RPMI1640 细胞培养液(日本日水制药株式会社)。倒置显微镜(Nikon 808434),CO<sub>2</sub> 培养箱(日本 Forma),酶标仪(Lab systems Dragon well scan MK3),Waters 1525 高效液相色谱仪,Waters 2487 紫外检测器,Waters Empower 工作站,Agilent ZorBax 300SB-C<sub>18</sub> (5 μm,4.6 mm × 250mm) 色谱柱,超声波清洗器(250W,33kHz),中船重工七院七二六所(上海),SimplicityTM 个人型超纯水系统(Millipore 公司),AG-135 电子天平(梅特勒-托利多),甲醇(色谱纯),四氢呋喃(分析纯),磷酸(分析纯),纯化水。

2 方法

2.1 野黄芩苷含量测定方法 精密称取野黄芩苷对照品适量,用甲醇稀释成每 1mL 含野黄芩苷 0.15mg 的溶液,作为对照品溶液。另分别精密量取半枝莲提取物 1mL,置 25mL 容量瓶中,加 70%乙醇至刻度,密塞,摇匀,滤过,取续滤液过 0.45μm 微膜,即得。分别精密吸取上述对照品溶液与供试品溶液各 20μL,注入高效液相色谱仪,测定,计算野黄芩苷含量。

2.2 抗肿瘤作用研究方法 MTT 法测细胞增殖抑制率<sup>[1]</sup>:取对数生长长期的人肝癌 SMMC-7721 肿瘤细胞,用胰蛋白酶消化后,用含 10%小牛血清的培养液配成浓度为 1×10<sup>4</sup> 个/mL

的细胞悬液,接种在 96 孔培养板中,每孔 200μL,置含 5% CO<sub>2</sub> 的 37℃ 细胞培养箱中,培养 24h 后,吸出培养液,按实验设计分别加入 2mg/mL 含不同药物的培养液,空白对照组加入等体积的培养液,培养 72 h 后,弃去上清液,用培养液洗 3 次,以去除药液,每孔加入 200μL MTT (1g/L),37℃ 培养 4h,小心弃去上清液,加入 200μL DMSO 溶解,平板振荡仪振荡 10min,在酶标仪上用波长 490nm、参比波 K 为 570nm 的条件下测定各孔吸光度(OD)值,计算抑制率[抑瘤率(%)=(1- 实验组 OD 值 / 对照组 OD 值)× 100%]。

3 结果

3.1 不同乙醇浓度半枝莲提取物中野黄芩苷含量 结果如表 1。其中 90% 乙醇提取物中野黄芩苷含量最高,为 2.97mg/mL。从结果可见,乙醇浓度从 10%~90%,提取物中野黄芩苷含量随乙醇浓度的升高而升高。

| 表 1 不同提取物中野黄芩苷的含量 mg/mL |      |      |      |      |      |
|-------------------------|------|------|------|------|------|
| 乙醇浓度                    | 10%  | 30%  | 50%  | 70%  | 90%  |
| 野黄芩苷含量                  | 0.87 | 1.45 | 2.01 | 2.93 | 2.97 |

3.2 不同浓度乙醇提取物抗肿瘤作用 结果见表 2。结果表明,半枝莲提取物随提取乙醇浓度的升高,其抗肿瘤活性即抑瘤率也随之增强。

| 表 2 半枝莲提取物对 SMMC-7721 细胞降解 MTT 的影响(n=4) |            |        |
|-----------------------------------------|------------|--------|
| 组别                                      | 吸光度(OD)    | 抑瘤率(%) |
| 对照组                                     | 0.75± 0.21 | —      |
| 10%乙醇提取物                                | 0.54± 0.19 | 28.0   |
| 30%乙醇提取物                                | 0.49± 0.20 | 34.7   |
| 50%乙醇提取物                                | 0.33± 0.14 | 56.0   |
| 70%乙醇提取物                                | 0.29± 0.11 | 61.3   |
| 90%乙醇提取物                                | 0.24± 0.10 | 68.0   |

3.3 乙醇浓度及野黄芩苷含量与抗肿瘤作用的相关性 结果见表 3。从表中结果可见,乙醇浓度及野黄芩苷含量均成正相关关系,说明半枝莲的抗肿瘤活性与其中所含野黄芩苷有一定的相关性。

| 表 3 乙醇浓度及野黄芩苷含量与抗肿瘤作用的相关性 |               |        |        |
|---------------------------|---------------|--------|--------|
| 乙醇浓度(%)                   | 野黄芩苷含量(mg/mL) | 抑瘤率(%) | 相关系数   |
| 10                        | 0.87          | 28.0   | R=0.66 |
| 30                        | 1.45          | 34.7   |        |
| 50                        | 2.01          | 56.0   |        |
| 70                        | 2.93          | 61.3   |        |
| 90                        | 2.97          | 68.0   |        |

4 讨论

中医学认为,肿瘤形成的病机十分复杂,诸如毒热内蕴,瘀血阻滞,痰凝湿滞等,为最常见之因。同时,肿瘤患者常有失常的离子作用靶点<sup>[2]</sup>。药学学报,2004,39(5):328-332

(收稿日期: 2007-03-28)

[5]龚冬梅,单宏丽,周宇宏,等.哇巴因和乌头碱诱发豚鼠和大鼠心律