

# 人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 配伍乌头碱对体外培养心衰模型心肌细胞的保护作用<sup>A</sup>

董艳红<sup>1,2\*</sup>, 谢晓芳<sup>1,2</sup>, 李雪梅<sup>1,2</sup>, 朱雅宁<sup>3</sup>, 彭成<sup>1,2#</sup>[1.成都中医药大学药学院, 成都 611137; 2.中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137; 3.华润三九(雅安)药业有限公司, 四川雅安 625099]

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)04-0472-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.04.11

**摘要** 目的:考察人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 配伍乌头碱对体外培养心衰模型心肌细胞的保护作用。方法:将新生大鼠心肌细胞分为正常对照组、模型组、阳性对照组(去乙酰毛花苷注射液,  $1 \times 10^{-7}$  mol/L)、人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 组( $1 \times 10^{-8}$  mol/L)、乌头碱组( $1 \times 10^{-9}$  mol/L)以及人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 与乌头碱不同配比的配伍组(1:1、2:1、1:2, V/V)。除正常对照组外,其余各组细胞均以 0.8% 戊巴比妥钠诱导心肌细胞心衰模型。成模后,各组细胞给予相应药物培养 1 h,然后检测细胞总三磷酸腺苷(ATP)酶、Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP 酶和 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活力;检测细胞培养液中酸性磷酸酶(ACP)、乳酸脱氢酶(LDH)活力和脑钠肽(BNP)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )含量以及细胞中总糖原含量。结果:与正常对照组比较,模型组细胞总 ATP 酶和 Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP 酶活力明显降低,Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活力明显升高,培养液中 ACP、LDH 活力及 BNP 含量均明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,各给药组细胞总 ATP 酶活力显著升高,细胞培养液中 LDH 活力显著降低,且以人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 与乌头碱 2:1 配伍时作用最强;乌头碱组和各配伍组细胞 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活力均显著降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );各给药组细胞培养液中 ACP、BNP 活力均有降低的趋势,细胞内总糖原含量和培养液中 TNF- $\alpha$  含量无显著变化( $P > 0.05$ )。结论:人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 配伍乌头碱可改善大鼠心衰模型心肌细胞 ATP 酶活力和膜通透性,调节细胞分泌 BNP,对心衰模型心肌细胞有一定保护作用,且以人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 与乌头碱 2:1 配伍时作用最强。

**关键词** 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>; 乌头碱; 配伍; 心衰模型; 心肌细胞; 细胞膜通透性; 离子转运相关酶

- ers for the treatment of chronic kidney disease: role of iron oxyhydroxide[J]. *Int J Nephrol Renovasc Dis*, 2016, 2(9):11-18.
- [2] Li JH, Yuan JM, Miao ZQ, et al. Effect of dietary nutrient density on small intestinal phosphate transport and bone mineralization of broilers during the growing period[J]. *PLoS One*, 2015, 11(4):1-10.
- [3] 翟春娟. 碳酸镧治疗慢性肾脏病高磷血症疗效和安全性的系统评价[D]. 济南: 山东大学, 2014.
- [4] 褚雷. 慢性肾衰竭情况下胆汁酸代谢的临床及实验研究[D]. 济南: 山东大学, 2015.
- [5] 尹敬群, 田君, 晏南富, 等. 碳酸镧药物在高磷血症中的应用进展[J]. *生物化工*, 2016, 2(3):54-57.
- [6] 刘永贵, 于鹏, 吴疆, 等. 新型磷结合剂的研究进展[J]. *现代药物与临床*, 2014(02):201-205.
- [7] Yokozawa T, Zheng PD, Oura H, et al. Animal model of adenine-induced chronic renal failure in rats[J]. *Nephron*, 1986, 44(3):230.
- [8] 储新年. 腺嘌呤诱发大鼠慢性肾衰模型的病理学研究[D]. 延吉: 延边大学, 2007.
- [9] 卢志, 魏芳, 王立华, 等. 碳酸镧与碳酸钙对维持性血液透析患者 FGF23 的影响[J]. *中国医院药学杂志*, 2014, 34(5):390-392.
- [10] 李杰, 王芑, 解砚英, 等. 聚苯乙烯磺酸镧对腺嘌呤致大鼠慢性肾衰高磷血症的治疗作用[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2007, 12(5):530-534.
- [11] 楚非, 邹万忠, 孙锁柱, 等. 大鼠肾小管间质纤维化中肾小管上皮细胞表型转化的研究[J]. *中华肾脏病杂志*, 2003, 32(1):10-14.
- [12] Li WH, Zhang SJ. Risk factors of parathyroid dysfunction in elderly patients with chronic kidney disease undergoing hemodialysis[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2015, 24(6):1007-1012.
- [13] 陈俊蓉, 陈利国, 谢林林. 关于腺嘌呤慢性肾衰实验模型的思考[J]. *实验动物科学*, 2013, 30(2):65-67.
- [14] 蔡锋晴. 慢性肾脏病患者血钙、磷和 PTH 水平与临床指标和肾脏病理的相关性研究[D]. 上海: 复旦大学, 2012.
- [15] 徐丰博, 刘惠兰, 孙懿. 成纤维细胞生长因子 23 与血液透析患者血磷和甲状旁腺激素浓度的关系[J]. *首都医科大学学报*, 2013, 34(3):450-453.

△ 基金项目:国家自然科学基金重点项目(No.81630101); 国家科技支撑计划课题(No.2011BAI13B05); “重大新药创制”科技重大专项(No.2013ZX09201018); 四川省 2013 年重点科技自筹项目(No.2013JYZ010, 2013SZ0114); 四川省博士后科研项目

\* 硕士研究生。研究方向:中药药理与毒理学。电话:028-61800018。E-mail:dongyanhongchengdu@126.com

# 通信作者:教授, 博士。研究方向:中药药理与毒理学。E-mail:pengchengchengdu@126.com

(收稿日期:2016-04-21 修回日期:2016-07-08)  
(编辑:邹丽娟)

# Protective Effect of Compatibilities of Ginsenosides Rg<sub>1</sub> and Aconitine on Myocardial Cells of *in vitro* Cultured Heart Failure Model

DONG Yanhong<sup>1,2</sup>, XIE Xiaofang<sup>1,2</sup>, LI Xuemei<sup>1,2</sup>, ZHU Yaning<sup>3</sup>, PENG Cheng<sup>1,2</sup> (1. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 2. State Key Lab Breeding Base of Systematic Research Development and Utilization of Chinese Medicine Resources Co-founded by Sichuan Province and MOST, Chengdu 611137, China; 3. Huarun Sanjiu (Ya'an) Pharmaceutical Co., Ltd., Sichuan Ya'an 625099, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To investigate the protective effect of the compatibilities of ginsenosides Rg<sub>1</sub> and aconitine on myocardial cell of *in vitro* cultured heart failure model. METHODS: The myocardial cells of neonate rat were grouped into normal control group, model group, positive control group (Deslanoside injection,  $1 \times 10^{-7}$  mol/L), ginsenosides Rg<sub>1</sub> group ( $1 \times 10^{-8}$  mol/L), aconitine group ( $1 \times 10^{-9}$  mol/L) or their compatibilities groups (1:1, 2:1, 1:2, V/V). Except for normal control group, other groups were given 0.8% pentobarbital sodium to induce heart failure model of myocardial cells. After modeling, each group was given relevant medicine for 1 h, and then the activities of T-ATPase, Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATPase, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in cells were all detected. The activities of acyl carrier protein (ACP) and lactate dehydrogenase (LDH), and the contents of brain natriuretic party (BNP), TNF- $\alpha$  and total glycogen were measured in cell culture fluid. RESULTS: Compared with normal control group, T-ATPase and Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATPase activities were decreased significantly in model group; meanwhile, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity was increased significantly, and ACP, LDH activities and BNP content in cell culture fluid were increased significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, the activities of T-ATPase in treatment groups were increased significantly, while the activity of LDH in cell culture fluid was decreased significantly; when the volume ratio of ginsenoside Rg<sub>1</sub> to aconitine was 2:1, protective effect was the strongest; the activities of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in aconitine group and compatibility groups were all decreased significantly, with statistical significance ( $P < 0.05$ ). The activities of ACP and BNP in cell culture fluid were all decreased in treatment groups, but the content of total glycogen in cells and the TNF- $\alpha$  content of in cell culture fluid had no change ( $P > 0.05$ ). CONCLUSIONS: Compatibility of ginsenosides Rg<sub>1</sub> and aconitine can improve ATPase activities and membranous permeability, regulate BNP secretion and protect myocardial cell of heart failure model, especially the compatibility of ginsenosides Rg<sub>1</sub> to aconitine of 2:1 ratio.

**KEYWORDS** Ginsenosides Rg<sub>1</sub>; Aconitine; Compatibility; Heart failure model; Myocardial cell; Membranous permeability; Ion-related ATPase

人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 是中药人参的主要有效成分之一, 属三醇类皂苷, 具有广泛药理作用, 且近年发现其可抑制心肌肥大, 是治疗心衰的潜在有效物质<sup>[1]</sup>。乌头碱存在于附子等乌头类毒性中药材中, 人服用 0.2 mg 即可中毒, 具有显著心肌细胞毒性<sup>[2]</sup>。然而, 乌头碱在较低浓度时对正常心肌细胞和戊巴比妥钠诱导的心肌细胞损伤均具有保护作用, 且与人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 配伍后作用增强; 而在毒性浓度时与人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 或 Rb<sub>1</sub> 配伍后可明显降低其心肌细胞毒性, 是中药配伍增效减毒的科学体现, 这在笔者前期研究中已得到证实<sup>[3-4]</sup>, 这对揭示中成药参附注射液治疗心力衰竭的安全有效性具有重要意义。本文在前期研究基础上, 探讨人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 与乌头碱配伍后对体外培养大鼠心肌细胞膜的通透性、膜离子转运相关酶活力等的影响, 以进一步明确乌头碱与人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 配伍对损伤心肌细胞的保护作用。

## 1 材料

### 1.1 仪器

AE2000 倒置相差显微镜 (厦门 Motic 公司); AL-LEGER X-12 离心机 (美国 Beckman 公司); Varioskan Flash 2.4.3 全波长多功能读数仪 (美国 Thermo 公司)。

### 1.2 药品与试剂

乌头碱、人参皂苷 Rg<sub>1</sub> (成都曼斯特生物科技有限公司, 批号: MUST-14072802、MUST-14041311, 纯度: 均  $\geq$

99.8%); 去乙酰毛花苷注射液 (上海复兴朝晖药业有限公司, 批号: AF131004, 规格: 0.2 mg/mL); 酸性磷酸酶 (ACP)、乳酸脱氢酶 (LDH)、三磷酸腺苷 (ATP) 酶测定试剂盒和肌/肝糖原试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号: 20150130、20141227、20150731、20150729); 大鼠脑钠肽 (BNP)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 酶联免疫吸附 (ELISA) 试剂盒 (上海拜力生物科技有限公司, 批号: 均为 201511)。

### 1.3 动物

SD 大鼠, SPF 级,  $\text{♀}$   $\text{♂}$  各半, 鼠龄 2~3 d, 购自成都达硕实验动物有限公司 [许可证号: SCXK (川) 2015-030]。

## 2 方法

### 2.1 细胞离子转运相关酶活力的测定结果

参考文献 [5] 中方法获取新生大鼠的原代心肌细胞, 按试验需求将细胞培养于不同孔板或培养皿中, 将处于对数生长期的细胞分为正常对照组、模型组、阳性对照组 (去乙酰毛花苷注射液,  $1.00 \times 10^{-7}$  mol/L)、人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 组 ( $1.00 \times 10^{-8}$  mol/L)、乌头碱组 ( $1.00 \times 10^{-9}$  mol/L) 以及人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 与乌头碱体积配比分别为 1:1、2:1、1:2 (总体积不变) 的配伍组, 共 8 组, 每组 6 孔。按既往建立的方法, 采用 0.8% 戊巴比妥钠诱导心肌细胞心衰模型<sup>[5]</sup>。与正常对照组细胞比较, 其余组细胞搏动明显减弱时,

弃去造模液。各给药细胞组分别加入相应的药液(200  $\mu\text{L}$ /孔)。将细胞置于37  $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育1 h,收集细胞,破碎后按照试剂盒说明书测定细胞 $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATP}$ 酶和总ATP(T-ATP)酶的活力。

## 2.2 细胞膜通透性的测定

将原代心肌细胞接种于48孔板中,当细胞处于对数生长期时,按“2.1”项下方法分组、造模与给药,每组10孔,药物作用1 h后弃去药液,用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗细胞1次,然后每孔加入70  $\mu\text{L}$ 不含血清的DMEM高糖培养基,置于37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中培养24 h,收集培养液,按试剂盒说明书测定培养液中ACP、LDH活力。

## 2.3 细胞内总糖原含量及培养液中BNP、TNF- $\alpha$ 含量的测定

将处于对数生长期的细胞按“2.1”项下方法分组、造模与给药,每组6孔。药物作用1 h后收集细胞,破碎后按试剂盒说明书测定细胞内总糖原的含量;或作用1 h后,弃去药液,用PBS清洗细胞1次,然后每孔加入70  $\mu\text{L}$ 不含血清的DMEM高糖培养基,置于37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中培养24 h,收集培养液,采用ELISA法按照相关试剂盒说明书测定培养液中BNP、TNF- $\alpha$ 含量。

## 3 结果

### 3.1 细胞离子转运相关酶活力的测定结果

与正常对照组比较,模型组细胞 $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATP}$ 酶活力显著升高, $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATP}$ 酶、T-ATP酶活力显著降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,各给药组细胞T-ATP酶活力均显著升高( $P<0.05$ );乌头碱组和3个配伍组细胞 $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATP}$ 酶活力均显著降低( $P<0.05$ );除人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 组及人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 与乌头碱1:2配伍组外,其他各给药组细胞 $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATP}$ 酶活力均呈升高趋势,其中阳性对照组差异有统计学意义( $P<0.05$ ),结果详见表1。

表1 各组细胞离子转运相关酶活力测定结果( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab 1 The activities of ion-related enzymes of cells in each group( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 浓度, mol/L	乌头碱浓度, mol/L	$\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATP}$ 酶, U/mg prot	$\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATP}$ 酶, U/mg prot	T-ATP酶, U/mg prot
正常对照组			4.39 $\pm$ 1.77	11.06 $\pm$ 3.14	4.62 $\pm$ 0.51
模型组			7.64 $\pm$ 1.54*	7.35 $\pm$ 1.47*	2.20 $\pm$ 0.40*
阳性对照组			7.18 $\pm$ 0.98*	10.53 $\pm$ 1.62*	3.71 $\pm$ 0.58*
人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 组	1.00 $\times 10^{-8}$		6.25 $\pm$ 0.35	7.24 $\pm$ 1.38*	3.52 $\pm$ 0.30*
乌头碱组		1.00 $\times 10^{-9}$	5.92 $\pm$ 0.97**	8.66 $\pm$ 0.97	3.53 $\pm$ 0.44*
人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 与乌头碱1:1配伍组	0.50 $\times 10^{-8}$	0.50 $\times 10^{-9}$	5.79 $\pm$ 0.84**	8.76 $\pm$ 0.72	3.69 $\pm$ 0.40*
人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 与乌头碱2:1配伍组	0.67 $\times 10^{-8}$	0.33 $\times 10^{-9}$	6.15 $\pm$ 1.54**	8.64 $\pm$ 2.05	4.53 $\pm$ 1.67*
人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 与乌头碱1:2配伍组	0.33 $\times 10^{-8}$	0.67 $\times 10^{-9}$	6.34 $\pm$ 0.66*	6.45 $\pm$ 5.38	3.99 $\pm$ 0.39*

注:与正常对照组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,\*\* $P<0.05$

Note: vs. normal control group,\* $P<0.05$ ; vs. model group,\*\* $P<0.05$

0.05

### 3.2 细胞膜通透性的测定结果

与正常对照组比较,模型组细胞培养液中ACP、LDH活力均显著升高( $P<0.05$ )。与模型组比较,各给

药组细胞培养液中LDH活力均显著降低( $P<0.05$ ); ACP活力不同程度地降低,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),结果详见表2。

表2 各组细胞培养液中ACP、LDH活力测定结果( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab 2 The activities of ACP and LDH in cell culture liquid of each group( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 浓度, mol/L	乌头碱浓度, mol/L	ACP, U/L	LDH, U/L
正常对照组			2.61 $\pm$ 0.81	238.79 $\pm$ 23.63
模型组			4.52 $\pm$ 1.19*	349.15 $\pm$ 68.51*
阳性对照组			3.44 $\pm$ 0.47	225.90 $\pm$ 38.80*
人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 组	1.00 $\times 10^{-8}$		3.08 $\pm$ 0.86	194.92 $\pm$ 11.25**
乌头碱组		1.00 $\times 10^{-9}$	3.48 $\pm$ 0.88	211.67 $\pm$ 26.53*
人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 与乌头碱1:1配伍组	0.50 $\times 10^{-8}$	0.50 $\times 10^{-9}$	3.12 $\pm$ 0.79	214.59 $\pm$ 44.21*
人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 与乌头碱2:1配伍组	0.67 $\times 10^{-8}$	0.33 $\times 10^{-9}$	2.93 $\pm$ 1.57	252.36 $\pm$ 60.82*
人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 与乌头碱1:2配伍组	0.33 $\times 10^{-8}$	0.67 $\times 10^{-9}$	3.96 $\pm$ 1.09	244.91 $\pm$ 31.60*

注:与正常对照组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,\*\* $P<0.05$

Note: vs. normal control group,\* $P<0.05$ ; vs. model group,\*\* $P<0.05$

### 3.3 细胞内总糖原含量与培养液中BNP、TNF- $\alpha$ 含量测定结果

与正常对照组比较,模型组细胞培养液中BNP含量显著升高( $P<0.05$ );TNF- $\alpha$ 含量有升高趋势,细胞内总糖原含量呈下降趋势,但差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。与模型组比较,各给药组细胞培养液中BNP含量均有减少的趋势,但差异均无统计学意义( $P>0.05$ );各给药组细胞内总糖原含量和培养液中TNF- $\alpha$ 含量均无升高或降低趋势,结果详见表3。

表3 各组细胞内总糖原含量和培养液中BNP、TNF- $\alpha$ 含量测定结果( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab 3 The contents of total glycogen of cells and BNP, TNF- $\alpha$  in cell culture fluid in each group( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 浓度, mol/L	乌头碱浓度, mol/L	总糖原, mg/g	BNP, $\mu\text{g/L}$	TNF- $\alpha$ , ng/L
正常对照组			0.093 $\pm$ 0.01	45.89 $\pm$ 1.38	14.68 $\pm$ 0.02
模型组			0.081 $\pm$ 0.01	49.46 $\pm$ 1.43*	14.72 $\pm$ 0.04
阳性对照组			0.085 $\pm$ 0.01	47.60 $\pm$ 1.05	14.70 $\pm$ 0.04
人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 组	1.00 $\times 10^{-8}$		0.085 $\pm$ 0.01	47.82 $\pm$ 0.70	14.72 $\pm$ 0.03
乌头碱组		1.00 $\times 10^{-9}$	0.087 $\pm$ 0.01	46.61 $\pm$ 0.86	14.69 $\pm$ 0.03
人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 与乌头碱1:1配伍组	0.50 $\times 10^{-8}$	0.50 $\times 10^{-9}$	0.084 $\pm$ 0.01	47.44 $\pm$ 0.51	14.66 $\pm$ 0.03
人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 与乌头碱2:1配伍组	0.67 $\times 10^{-8}$	0.33 $\times 10^{-9}$	0.090 $\pm$ 0.01	46.77 $\pm$ 1.26	14.68 $\pm$ 0.05
人参皂苷 $\text{Rg}_1$ 与乌头碱1:2配伍组	0.33 $\times 10^{-8}$	0.67 $\times 10^{-9}$	0.083 $\pm$ 0.01	45.59 $\pm$ 3.34	14.68 $\pm$ 0.03

注:与正常对照组比较,\* $P<0.05$

Note: vs. normal control group,\* $P<0.05$

## 4 讨论

配伍是中药治疗疾病的主要运用形式,主要目的在于减毒增效。配伍增效在现代药理学研究中应用广泛,如丹参联合葛根对糖尿病眼病模型大鼠具有协同增效作用<sup>[6]</sup>。中医药药性理论认为,中药的毒性和药效均属中药药性,在正确利用时药物的毒性也可转为药效。乌

头碱是公认的毒性物质,对神经细胞、心肌细胞、生殖细胞、消化细胞等均有显著毒性<sup>[7]</sup>。然而近年来乌头碱的药效作用被逐渐认识和重视,如温善珊等<sup>[8]</sup>研究发现乌头碱在5~100 μmol/L时对双氧水(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)诱导的原代培养大鼠乳鼠心肌细胞损伤有保护作用,且呈明显量-时-效正相关。此外,乌头碱还有抗心律失常、镇痛、抗炎、调节血压等多种药理作用<sup>[9]</sup>。而本研究团队前期研究也发现,乌头碱在3×10<sup>-3</sup> mol/L及以上浓度时对原代培养大鼠心肌细胞具有显著毒性,可导致细胞内离子紊乱、膜上离子转运相关酶活力异常、细胞膜通透性增强,3×10<sup>-3</sup> mol/L时甚至使细胞成碎片<sup>[10]</sup>;但在1×10<sup>-9</sup> mol/L时对原代培养大鼠心肌细胞具有保护作用,可提高细胞活力、调节细胞内紊乱的离子水平<sup>[3]</sup>,且在不同浓度下与人参皂苷Rg<sub>1</sub>配伍可达到增效减毒的作用。由此可见,乌头碱不只是导致心脏毒性的毒性物质,在低浓度时也是一种保护心肌、具有强心活性的物质,其特点也符合中药药性理论对药物毒性和药效的认识。本研究是在前期研究基础上的进一步试验,具有良好的基础。

戊巴比妥钠为选择性中枢系统抑制药,大剂量可抑制电压依赖性心肌细胞膜Na<sup>+</sup>通道及K<sup>+</sup>通道,通过抑制心肌动作电位而达到心力衰竭的效果<sup>[11]</sup>。而离子转运相关ATP酶在心肌细胞膜结构上分布多,与心肌细胞功能有紧密关系<sup>[12]</sup>。前期研究发现,乌头碱致毒时会引起心肌细胞内Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶、Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶、Ca<sup>2+</sup>-ATP酶的活力降低。现代药理学研究发现,导致心力衰竭的原因主要与细胞内、外的Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>等离子浓度有关,这些离子的转运又离不开ATP酶的活性<sup>[13]</sup>。

本研究果显示,经0.8%戊巴比妥钠作用后,损伤的心肌细胞的细胞Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活力升高,Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶、T-ATP酶活力下降。给药后,乌头碱及人参皂苷Rg<sub>1</sub>都能显著降低细胞Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活力,升高Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶、T-ATP酶活力;当人参皂苷Rg<sub>1</sub>与乌头碱配伍比例在1:1时升高Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶活力和降低Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活力的作用最为明显,且对Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶的作用比两药单用效果更好;配伍比例在2:1时对升高T-ATP酶活力的作用最为明显,且比两药单独使用效果更好,这也与前期研究结果(使模型细胞中Na<sup>+</sup>水平升高和K<sup>+</sup>水平降低)的作用一致<sup>[3]</sup>。心肌细胞损伤后细胞内的ACP、LDH大量漏出,心肌细胞膜性结构受损。本研究结果显示,造模后心肌细胞ACP、LDH大量漏出,细胞培养液中ACP、LDH活力显著增加,提示细胞膜通透性增加;受损细胞经人参皂苷Rg<sub>1</sub>、乌头碱或两者配伍作用后其细胞培养液中ACP、LDH活力均有效降低。人参皂苷Rg<sub>1</sub>作用较乌头碱优,而人参皂苷Rg<sub>1</sub>与乌头碱2:1配伍时作用最佳,表明其对细胞膜的改善作用最明显。

综上所述,人参皂苷Rg<sub>1</sub>与乌头碱配伍后对戊巴比

妥钠所致体外培养大鼠心衰模型心肌细胞具有一定的保护作用,可明显改善细胞膜上离子转运相关ATP酶的活力,改善细胞膜的通透性,并在一定程度上调节细胞分泌BNP的功能;与人参皂苷Rg<sub>1</sub>、乌头碱单用比较,二者以2:1配伍时对细胞ATP酶活力的调节作用增强。本研究对科学阐释人参与附子配伍(如参附注射液)治疗心力衰竭具有重要意义,对有毒物质乌头碱的开发应用具有一定的参考价值。

## 参考文献

- [1] Tang F, Lu M, Yu L, *et al.* Inhibition of TNF- $\alpha$  mediated NF- $\kappa$ B activation by Ginsenoside Rg<sub>1</sub> contributes to the attenuation of cardiac hypertrophy induced by abdominal aorta coarctation[J]. *Cardiovasc Pharmacol*, 2016, doi: 10.1097/FJC.0000000000000410.
- [2] 彭成. 中药毒理学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2014: 49-82.
- [3] 费巧玲, 张雪, 董艳红, 等. 乌头碱配伍人参皂苷Rg<sub>1</sub>对心肌细胞毒效浓度研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(11): 2610-2613.
- [4] 张雪, 赵炳祥, 宋玉琴, 等. 乌头碱配伍人参皂苷Rb<sub>1</sub>对原代培养心肌细胞能量代谢的影响[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2015, 17(9): 1785-1789.
- [5] 徐菲飞, 彭成, 王苗伉, 等. 参附注射液对戊巴比妥钠致心衰模型心肌细胞ATP酶和相关离子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7): 196-199.
- [6] 唐洪梅, 柴玉娜, 涂星, 等. 丹参联合葛根对糖尿病眼病模型大鼠的协同作用[J]. 中国药房, 2014, 25(11): 977-980.
- [7] 彭成. 有毒中药附子、川乌、草乌的安全性评价与应用[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2014: 139.
- [8] 温善珊, 万海同, 张宇燕, 等. 乌头碱对心衰细胞强心作用的量-时-效关系的实验研究[J]. 中国中医急症, 2012, 21(4): 562-564.
- [9] 杨武斌, 王平. 乌头碱药理作用及毒性研究进展[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(2): 427-429.
- [10] 谢晓芳. 附子心脏毒性作用研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.
- [11] 沈放, 杨黎江, 路斌, 等. 海风藤提取物对Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活力的影响[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1959-1961.
- [12] Zhan G, Ana S, Zhiyong Z, *et al.* Loss of ATP-sensitive potassium channel surface expression in heart failure underlies dysregulation of action potential duration and myocardial vulnerability to injury[J]. *PLoS One*, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0151337.
- [13] 金哲雄. 何首乌对缺氧培养心肌细胞保护作用的研究[D]. 延吉: 延边大学, 2005.

(收稿日期: 2016-08-07 修回日期: 2016-11-14)

(编辑: 林 静)