

使能量耗竭, 并产生大量乳酸使细胞内 pH 下降进而改变膜的通透性, 使胞浆酶如 LDH 外漏。这种反应近似在体缺血性心肌细胞损伤反应。实验证明, PD 可能具有对抗缺糖缺氧损伤所致膜损伤的效应, 使 LDH 漏出减少。此种保护作用在浓度增大时未再加强。提示终浓度为 0.05 mmol/L 时已达最大效应。PD 作用的机理值得探讨。

CPZ 是钙调蛋白抑制剂, 心肌细胞肌浆网上的钙泵被其抑制后, 钙就不能进入肌浆网中储存以致胞浆中游离钙增多而损伤心肌细胞, 使 LDH 漏出增加。PD 0.15 mmol/L 对 CPZ 损伤的心肌细胞有保护作用, 提示 PD 除对细胞膜有抗损伤效应外, 肌浆网上的钙泵可能有 PD 的作用点。

PD 不能降低 MMC 损伤的心肌细胞 LDH 释放量。说明 PD 对 MMC 损伤没有保护作用。

PD 对三种不同损伤的保护作用的差异, 除由于各种损伤的机理不同外, 可能与 PD 的作用剂量和时间有关。膜保护效应发生较早。0.05 mmol/L 的较低剂量即可起效且达最大效应; 对钙泵的作用则需 0.15 mmol/L 的较大剂量及药物作用达 9 h 方能起效; MMC 损伤发生晚, 可能与 PD 作用不同步是 PD 无效原因之一。

PD 加强心肌细胞搏动并抗心肌细胞损伤的作用加之其抑制血小板聚集和改善微循环的

作用均提示本品有可能成为一种有广泛临床应用前景的药物。

致谢 杨迎暴同志参加部份工作

REFERENCES

- 1 Zhu ZJ, Zao KS, Wu KY, Huang XL. The improvement of microcirculation in rat with irreversible hemorrhagic shock by crystal No 4 of polygonum cuspidatum. *Acad J First Med Coll PLA* 1987; 7 : 113
- 2 Shan CW. Effects of polydatin on platelet aggregation of rabbits. *Acta Pharm Sin* 1988; 23 : 394
- 3 Xiyuan Hospital, Academy of Traditional Chinese Medicine; Institute of Biophysics, Academia Sinica. Culture of myocardial cells and their morphological features. *Chin J Cardiol* 1981; 9 : 216
- 4 徐世康. 乳酸脱氢酶测定. 见: 上海医学化验所, 主编. 临床生化检验. 上海: 上海科学技术出版社, 1979 : 315-6
- 5 Li LD, Li YO, Gao FH, et al. The protective effect of Chrysanthemum Indicum L extract (CI-2) on myocardial injury in cultured neonatal rat heart cells deprived of oxygen and glucose. *Chin J Integr Trad West Med* 1981; 1 : 93
- 6 Wei DH, Yu CL, Yang SQ, Gu YQ. The effect of ophiopogon (maidong) on cultured ischaemic rat myocardial cells. *Asia Pacific J Pharmacol* 1989; 4 : 5
- 7 李连达、刘志云、高凤辉, 等. 丝裂霉素 C 对体外培养乳鼠心肌细胞的影响. *药学通报* 1985; 20 : 123

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Mar; 11 (2) : 150-153

尼卡地平对培养心肌细胞搏动率的作用

杨家粹、余传林 (第一军医大学药理教研室, 广州 510515, 中国)

Effects of nifedipine on beating rates of cultured myocardial cells

YANG Jia-Cui, YU Chuan-Lin
(Department of Pharmacology, First Military

Medical College, Guangzhou 510515, China)

ABSTRACT Nifedipine (Nic) 15 nmol/L had no effects on beating rates of cultured myocardial cells. Nic 75 and 150 nmol/L depressed the beating rates significantly. Rapid standstills occurred earlier and more in 150 nmol/L group than in

Received 1988 Oct 28 Accepted 1989 Sep 04

75 nmol/L. Both isoproterenol and CaCl_2 restored the beating depressed by Nic. However, only CaCl_2 prevented the standstill. These results suggest that nicardipine may compete with calcium in excitation-contraction coupling.

KEY WORDS nicardipine; isoproterenol; calcium chloride; myocardium; cultured cells

摘要 尼卡地平 (Nic) 15 nmol/L 对心肌细胞搏动无明显影响; Nic 75 和 150 nmol/L 可明显抑制心肌细胞搏动。Nic 150 nmol/L 发生快速停搏现象较早和较多于 75 nmol/L。Nic 与 Iso, CaCl_2 对心肌细胞搏动有互相拮抗作用, 而对消除停搏以 CaCl_2 有效, Iso 无效。推论 Nic 可能与 Ca^{2+} 竞争兴奋-收缩偶联有关。

关键词 尼卡地平; 异丙肾上腺素; 氯化钙; 心肌; 培养的细胞

尼卡地平 (nicardipine, Nic) 是二氢吡啶类钙拮抗剂, 它有扩张外周血管作用, 使轻或中度高血压患者血压降低⁽¹⁻³⁾, 又能扩张冠状血管, 增加冠脉血流量, 可使心绞痛患者运动耐力改善, 延缓心绞痛发生时间, 在体外试验可见负性肌力作用, 减弱心肌收缩性^(4,5), Nic 比现用的维拉帕米 (verapamil)、地尔硫革 (diltiazem) 和硝苯啶 (nifedipine) 扩张血管作用强, 而无抑制心脏和阻滞房室传导的作用⁽⁶⁾, Nic 对心肌细胞作用尚未见报道, 本文以国产 Nic 观察其对体外培养心肌细胞的作用。

MATERIALS AND METHODS

方法按文献⁽⁷⁾, 将 Wistar 种 2-4 d 乳鼠心脏进行分离培养, 心肌细胞培养 4-10 d 内进行实验, 观察 Nic 的浓度与心肌细胞搏动的量-效关系, 观察 Nic 与 CaCl_2 和异丙肾上腺素 (isoproterenol, Iso) 相互作用。

Nic 由张家口市东风制药厂生产, 以 27% 乙醇温热避光溶解成 2 mg/ml, 当用 Eagle 培养液稀释成 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 含有 0.065% 乙醇。

Iso 1 mg/ml 用 Eagle 培养液稀释成 0.1 mmol/L。

RESULTS

Nic 对心肌细胞搏动的影响 Nic 对心肌

Tab 1. Beating rates (beats per min, bpm) of cultured myocardial cells of neonatal rats after nicardipine 15, 75, 150 nmol/L. $\bar{x} \pm \text{SD}$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, * $P < 0.01$, vs 0 min.**

Time (min)	15 nmol/L (5 flasks)	75 nmol/L (7 flasks)	150 nmol/L (6 flasks)
0	207 \pm 74	267 \pm 32	232 \pm 32
1	212 \pm 79*	269 \pm 39*	169 \pm 85**†
3	207 \pm 80*	267 \pm 40*	131 \pm 97**
5	204 \pm 83*	255 \pm 31**	60 \pm 54***
10	200 \pm 87*	232 \pm 42**	50 \pm 53***
15	197 \pm 87*	143 \pm 110**†	43 \pm 56***
20	200 \pm 88*	144 \pm 106**	33 \pm 52***

† 1st standstill appeared.

细胞搏动有量-效关系的负性肌力作用, 给 Nic 后 1, 3, 5, 10, 15, 20 min 的相关系数 r 分别为 -0.5652 ($P < 0.05$), -0.6610, -0.7997, -0.8130, -0.6515, -0.6843 (P 均 < 0.01), $n = 18$ (Tab 1)。

Nic 引起心肌细胞快速停搏的作用 Nic 75 nmol/L 共实验 7 次, 给药前平均搏动为 267 \pm 32, 给药后 10 min 平均搏动为 232 \pm 42, 与给药前相比 $P < 0.05$, 其中有二瓶细胞团在给药 15 min 时完全停搏, 按 Grubbs' 舍选法检验, 此停搏不能舍弃, 而其他 5 瓶细胞团于给药 15, 20 min 时搏动率分别为 200 \pm 62, 201 \pm 50 bpm 此二期搏动率与给药前比较均有明显的下降, 因此上述细胞团出现的停搏可能属于高敏现象。Nic 150 nmol/L 共试验 6 次, 结果有 4 次细胞团出现快速停搏, 但最小剂量组 15 nmol/L 未见此现象。提示随着 Nic 剂量增加, 快速停搏发生次数增加, 出现停搏时间亦短, Nic 75 nmol/L 在 15 min 时发生, 150 nmol/L 于给药后 1 min 立即出现停搏, 停搏有持续 30 s 再呈现短期搏动后再停搏, 也有未见恢复跳动。

Nic 与 Iso 交互作用 单用 Iso 2.0 $\mu\text{mol/L}$, 1-20 min 间心肌细胞搏动均增加 (P 均 < 0.01); Iso + Nic 组 5 min 开始有快速停搏, 按 Grubbs' 舍选法可弃之, 其余则在 1-20 min 内细胞搏动与单用 Iso 组相应时间比较无明显差

Tab 2. Interaction between nifedipine (Nic, 150 nmol/L) and isoproterenol (Iso, 2.0 μ mol/L) or CaCl_2 (1.5 mmol/L) on the beating rates of cultured myocardial cells of neonatal rats, $\bar{x} \pm \text{SD}$, * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$. Number of flasks in parentheses; the decreased number was due to withdrawing the flask with standstill by Grubbs' rejection test.

Time (min)	Beating rates (beats/min)					
	Iso	Iso + Nic*	Nic + Iso†	CaCl_2 (6)	Nic + CaCl_2 ‡ (6)	CaCl_2 + Nic* (7)
Original	184 ± 44 (4)	179 ± 37 (9)	257 ± 45 (10)	57 ± 46	213 ± 58	79 ± 68
After administration						
1	+ 54 ± 8*** (4)	+ 43 ± 30*** (9)	- 42 ± 51** (10)	+ 103 ± 92**	- 19 ± 32*	+ 117 ± 84**
3	+ 57 ± 10*** (4)	+ 41 ± 36*** (9)	- 34 ± 24*** (9)	+ 110 ± 87**	- 24 ± 29*	+ 107 ± 84**
5	+ 57 ± 8*** (4)	+ 44 ± 25*** (8)	- 42 ± 35*** (9)	+ 112 ± 82**	- 27 ± 30*	+ 106 ± 82**
10	+ 51 ± 6*** (4)	+ 45 ± 45** (8)	- 34 ± 16*** (8)	+ 120 ± 86**	- 32 ± 31*	+ 103 ± 85**
15	+ 50 ± 10*** (4)	- 14 ± 97* (9)	- 46 ± 18*** (8)	+ 111 ± 85**	- 18 ± 31*	+ 90 ± 81**
20	+ 51 ± 11*** (4)	- 19 ± 96* (9)	- 135 ± 105*** (10)	+ 120 ± 84**	- 23 ± 29*	+ 83 ± 82**

* Iso or CaCl_2 10 min, then Nic vs original bpm, † Nic 7 min, then Iso or CaCl_2 vs original bpm.

别, 15 min 时又出现一次快速停搏, 按 Grubbs' 舍选法不能舍弃而出现负的平均值, 提示 Iso 可推迟 Nic 抑制心肌细胞搏动作用。Nic + Iso 组中当 Nic 先给后 7 min 再给 Iso, 1-20 min 内未见 Iso 引起心肌细胞搏动增加, 提示 Nic 与 Iso 有互相拮抗作用 (Tab 2)。

Nic 与 CaCl_2 交互作用 6 瓶细胞团仅给 CaCl_2 1.5 mmol/L 后 1-20 min 内均见细胞搏动有明显增加。Nic + CaCl_2 组共 6 瓶, 当加 Nic 后 7 min 作用明显时, 再加与上述同量的 CaCl_2 1-20 min 内未出现 CaCl_2 引起心肌细胞搏动增加现象, 在此期间 Nic 降低心肌细胞搏动亦不明显, 提示 Nic 抵消 CaCl_2 的作用。 CaCl_2 + Nic 的剂量都与 Nic + CaCl_2 组相同, 仅给药顺序颠倒, 先加 CaCl_2 后 10 min 再加 Nic 结果后者降低心肌细胞搏动率均未出现, 提示 CaCl_2 抵消 Nic 降低心肌细胞搏动作用, 从 Tab 2 CaCl_2 组与 CaCl_2 + Nic 组各时期搏动变化值作组间对照, 1-20 min 均未见明显差异 ($P > 0.05$), 可能是由于 CaCl_2 浓度比 Nic 相差甚远有关。根据 CaCl_2 组 CaCl_2 + Nic 组和 Nic + CaCl_2 组结果提示 CaCl_2 与 Nic 有互相拮抗作用 (Tab 2)。

Iso、 CaCl_2 对 Nic 引起突发性快速停搏的影响 Nic 150 nmol/L 可引起细胞突然停搏;

单独给予 Iso 2 μ mol/L, CaCl_2 1.5 mmol/L 均未见细胞有突发性快速停搏。当给 Iso + Nic 或 Nic + Iso 后均有细胞发生突然停搏, 而以 Nic + Iso 发生率较高, 以上两组与单独给予 Nic 组对比作 χ^2 检验, P 均 > 0.05 , 提示 Iso 不能缓解 Nic 引起的突发性停搏, 而 Nic + CaCl_2 或 CaCl_2 + Nic 均未发现突发性停搏, 与 Nic 组对比作 χ^2 检验, 两组 P 均 < 0.05 , 提示 CaCl_2 可阻止 Nic 引起的快速停搏发生, 此类停搏可能与 Nic 阻断钙离子有密切关系 (Tab 3)。

Tab 3. Treatment of the Nic (150 nmol/L)-standstill by Iso 2 μ mol/L or CaCl_2 1.5 mmol/L.

	Rapid standstills			
	Number of tests	Occasion	Time of onset	P value (χ^2 test)
Iso	4	0	0	
Nic	6	4	1 min	
Iso + Nic	9	2	5 min	> 0.05
Nic + Iso	10	4	1 min	> 0.05
CaCl_2	6	0	0	< 0.05
Nic + CaCl_2	6	0	0	< 0.05
CaCl_2 + Nic	7	0	0	< 0.05

DISCUSSION

Nic 常用剂量是 10-40 mg/次, tid⁽²⁾, 若以单次服药 40 mg 计, 平均体重 60 kg 者每 g 组织应获得 Nic 1.39 nmol/L, 经体内吸收、

分布、代谢,药量还有波动。本文以 Nic 15 nmol/L 浓度已比服药量增加 10 余倍,对心肌细胞搏动无甚明显变化,提示 Nic 在 40 mg/次时,对心肌细胞毒性甚小。

当将试验浓度增加至 75 和 150 nmol/L 即常用服药量的 50 或 100 倍时,可见个别细胞团出现快速停搏,这与心钠素、普萘洛尔、尼索地平⁽⁸⁾抑制心肌细胞搏动逐步减慢是迥然不同的,此突发性快速停搏又不能按 Grubbs' 法舍去,且此现象随 Nic 剂量加大发生例数增多,出现停搏时间提前,因此快速停搏难以偶然发生或技术误差解释,一旦发生停搏后,采用 CaCl₂ 拮抗奏效甚微,因心血管病中临床上发生猝死率比较高,提示临床应用 Nic 治疗时必须严格注意其剂量。

Iso 与 Nic 两者合用,可互相拮抗但不能防治快速停搏,而 CaCl₂ 可防治 Nic 引起快速停搏,又根据维拉帕米可抑制窦房结自发性发放的频率⁽¹⁰⁾,本次实验所见心肌细胞快速停搏,推测 Nic 可能是与 Ca²⁺-收缩偶联的始动部位发生作用。

Iso 的加强心肌细胞兴奋性也依赖于细胞内钙离子作用,因而 Iso 有拮抗 Nic 引起心肌细胞抑制搏动作用而不能缓解快速停搏。

ACKNOWLEDGMENT 申汝杰、蔡 靖、郑 虹同志参加部分实验

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Mar; 11 (2) : 153-155

酸枣仁总皂甙对培养大鼠心肌细胞的保护作用

陈兴坚、余传林、刘菊芳 (第一军医大学药理教研室,广州 510515, 中国)

Protective effects of total saponins of *Semen Ziziphi spinosae* on cultured rat myocardial cells

CHEN Xing-Jian, YU Chuan-Lin, LIU Ju-Fang

(Department of Pharmacology, First Military Medical College, Guangzhou 510515, China)

Received 1989 May 22 Accepted 1989 Aug 30

REFERENCES

- Whiting RL. Animal pharmacology of nifedipine and its clinical relevance. *Am J Cardiol* 1987; 59 : 3 J
- Agre K. An overview of the safety and efficacy of nifedipine in clinical trials. *Ibid* 1987; 59 : 31 J
- Ram CVS. Nifedipine for systemic hypertension: effects on blood pressure and target organ function. *Ibid* 1987; 59 : 25 J
- Pepine CJ, Lambert CR. Usefulness of nifedipine for Angina Pectoris. *Ibid* 1987; 59 : 13 J
- Visser CA, Koolen JJ, Van Wezel H, Dunning AJ. Hemodynamics of nifedipine in coronary artery disease. *Ibid* 1987; 59 : 9 J
- Julian DG. Concluding remarks. *Ibid* 1987; 59 : 37 J
- Yang JC, Yu CL. Regulation of cardionatrin on beating rate of cultured myocardial cells of neonatal rats. *Acta Pharmacol Sin* 1987; 8 : 341
- Yang JC, Yu CL, Zhang JX, Gu WX, Ding MX, Yao YF. Effect of nisoldipine on cultured myocardial cells of neonatal rats. *Ibid* 1989; 10 : 118
- Grubbs FE, Beck G. Procedures for detecting outlying observations. *Technometrics* 1969; 11 : 1
- Zipes DP, Fischer JC. Effects of agents which inhibit the slow channel on sinus node automaticity and atrioventricular conduction in the dog. *Circ Res* 1974; 34 : 184

ABSTRACT The effects of total saponins of *Semen Ziziphi spinosae* (ZS) were observed on cultured neonatal rat myocardial cells injured by deprivation of oxygen and glucose (DOG) or treatment with chlorpromazine (CPZ) and mitomycin C (MMC). The increases of lactate dehydrogenase release from damaged myocardial cells induced by DOG, CPZ and MMC were attenuated by ZS (33 µg/ml) except 11 µg/ml which showed no effect on MMC (24 h) and CPZ (9 h)-