

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)-

induced injuries. These data suggest that ZS is an effective protective drug for myocardial cells.

KEY WORDS *Ziziphus spinosa*; saponins; cultured cells; myocardium; anoxia; chlorpromazine; mitomycins; lactate dehydrogenase

摘要 酸枣仁总皂甙(ZS)33 μg/ml能明显减轻缺氧缺血(DOG)、氯丙嗪(CPZ)和丝裂霉素C(MMC)所致心肌细胞释放乳酸脱氢酶(LDH), ZS(11 μg/ml)对MMC以及CPZ(9 h)所致损伤没有作用,表明ZS对上述损伤均有保护作用。

关键词 枣仁;皂甙类;培养细胞;心肌;缺氧症;氯丙嗪;丝裂霉素类;乳酸脱氢酶

酸枣仁总皂甙(total saponins of *Semen Ziziphi spinosae*, ZS)系从中药酸枣(*Ziziphus spinosa* Hu)种子提取的有效成分。它有降压⁽¹⁾、抗心律失常与抗心肌缺血作用(待发表资料)。本文利用原代培养心肌细胞,研究ZS对DOG、CPZ和MMC所致心肌细胞损伤的保护作用。

MATERIALS AND METHODS

ZS系西安医科大学化学教研组提取,氧化型辅酶I(diphosphopyridine nucleotide, DPN)系上海酵母总厂生产;盐酸氯丙嗪(chlorpromazine, CPZ)注射液系上海天丰制药厂生产;丝裂霉素C(mitomycin C, MMC)系东京协和发酵工业株式会社产品;721分光光度计系上海第二分析仪器厂制造;高纯氮气(99.999%)系广州钢铁厂提供。

心肌细胞培养⁽²⁾ 3 d龄Wistar乳大鼠,在无菌条件下取心肌,剪成1 mm³小块,用0.06%胰蛋白酶(Difco 1 : 250)溶液消化4次,2次离心,收集心肌细胞,用100目铜网过滤,随后,以20%小牛血清的Eagle's培养基(MEM,中国科学院生物物理所生化试剂厂生产)制成细胞悬液,约含1×10⁶/ml个细胞,pH 7.3,接种于培养瓶中,每瓶1.0 ml,37℃中培养。下面实验所用的Eagle's培养液均不含小牛血清,以免影响LDH测定。

LDH活性测定⁽³⁾ 取培养3 d的心肌细

胞培养液,在721分光光度计上测定光密度,然后,在预先制作的LDH标准曲线上查到相应的LDH活力单位($n=6, \bar{x} \pm SD$)。活力单位提高作为“心肌缺血与损伤”的指标。

DOG培养心肌细胞⁽²⁾ 将不含糖Eagle's培养基预先用99.999% N₂充气30 min。实验时,换入这种DOG培养基,培养瓶分装后,再次充入99.999% N₂ 30 s,塞紧瓶塞,37℃温箱中培养,于6, 9 h分别测定每瓶培养基中LDH含量。对照组用含糖Eagle's培养基,不充N₂。

CPZ⁽⁴⁾与MMC⁽⁵⁾损伤培养心肌细胞 取培养3 d的心肌细胞,每瓶先用无血清的Eagle's培养基冲洗一次,然后,分别加入含盐酸CPZ(终浓度为160 mmol/L)和MMC(终浓度为7.5 μg/ml)的Eagle's培养基至1.0 ml,37℃中培养,前者于6和9 h,后者于24 h分别测定LDH含量。

RESULTS AND DISCUSSION

ZS对DOG所致心肌细胞释放LDH的影响 给药6,9 h测LDH活力单位(Tab 1)。从Tab 1可看出:DOG组LDH活力单位明显高于正常对照组($P < 0.01$)。含ZS 11和33 μg/ml的DOG组,无论6,9 h测定LDH活力单位,Tab 1. Effects of total saponins of *Semen Ziziphi spinosae* (ZS) on lactate dehydrogenase (LDH) release from primary cultured rat myocardial cells injured by deprivation of oxygen and glucose (DOG) and chlorpromazine (CPZ). $n=6, \bar{x} \pm SD$. *** $P < 0.01$ vs control, ††† $P < 0.01$ vs DOG, † $P > 0.05$, †† $P < 0.05$, ††† $P < 0.01$ vs CPZ.

Group	Lactate dehydrogenase (IU/ml)	
	6 h	9 h
Control	46 ± 3	53 ± 11
DOG	77 ± 8***	76 ± 4***
DOG + ZS (11 μg/ml)	57 ± 9†††	64 ± 6†††
DOG + ZS (33 μg/ml)	55 ± 5†††	61 ± 10†††
CPZ (160 mmol/L)	127 ± 15***	116 ± 20***
CPZ + ZS (11 μg/ml)	94 ± 8††††	97 ± 9†
CPZ + ZS (33 μg/ml)	92 ± 11††††	93 ± 8††

它们均明显低于不含药的 DOG 组 (P 均 < 0.01).

ZS 对 CPZ 所致心肌细胞释放 LDH 的保护作用 从 Tab 1 可看出: CPZ 组的 LDH 活力单位明显高于正常对照组 ($P < 0.01$). 低浓度 ZS (11 $\mu\text{g/ml}$, 下同) 6 h 的 LDH 明显低于不含药的 CPZ 组 ($P < 0.01$). 而 9 h 时 LDH 活力单位亦降低, 但与不含药的 CPZ 组比 $P > 0.05$. 高浓度 ZS (33 $\mu\text{g/ml}$, 下同) 组, 6, 9 h LDH 含量明显低于 CPZ 组 ($P < 0.01$ 和 < 0.05).

ZS 对 MMC 所致心肌细胞释放 LDH 的保护作用 给药 24 h 测 LDH 活力单位 (Tab 2). 从 Tab 2 中可看出: 高浓度 ZS 显著减轻 MMC 损伤心肌细胞释放 LDH 作用 ($P < 0.01$); 而低浓度亦稍降低 LDH 活力单位, 但 $P > 0.05$.

Tab 2. Effects of ZS on LDH release from primary cultured rat myocardial cells injured by mitomycin C (MMC) at 24 h. $n=6$, $\bar{x} \pm \text{SD}$. * $P < 0.01$ vs control; † $P > 0.05$, †† $P < 0.01$ vs MMC.**

Group	Lactate dehydrogenase (IU/ml)
Control	57 \pm 7
MMC (7.5 $\mu\text{g/ml}$)	86 \pm 6***
MMC + ZS (11 $\mu\text{g/ml}$)	80 \pm 8†
MMC + ZS (33 $\mu\text{g/ml}$)	72 \pm 8††

应用体外培养心肌细胞去研究药物, 可以排除神经、体液的干扰. 本实验模拟在体缺血性心肌损伤的 DOG 和加入钙调蛋白抑制剂 CPZ 以及抑制心肌细胞 DNA 合成的 MMC, 上述处理均可增加细胞膜通透性, 细胞内 LDH

外漏于细胞间隙和体液^(6,7). 高浓度 ZS 对上述 3 种方法所致 LDH 释放增加均有明显的对抗作用, 而低浓度 ZS 仅能保护 DOG 和 CPZ (6 h) 所致损伤, 对 MMC 所致损伤却无保护作用, 从整体动物和细胞水平上, ZS 均有抗心肌缺血作用. 本实验为 ZS 治疗心肌缺血提供了依据. ZS 保护心肌细胞机理有待研究.

REFERENCES

- 1 Gu WX, Liu JF, Zhang JX, Liu ZM, Liu SG, Chen YR. A study on hypotensive action of total saponin of *Ziziphus jujuba* Mill seeds and its mechanism. *J Med Coll PLA* 1987; 2 : 315
- 2 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 Integ Trad West Med* 1981; 1 : 93
- 3 福建部队总医院编. 临床医学检验. 第 1 版. 上海: 上海科技出版社, 1978 : 340-2
- 4 Liu JJ, Yang YC, Tan SJ. Three correlations between extracellular calcium concentration and myocardial cell injury induced by drugs. *Life Sci* 1987; 40 : 2175
- 5 李连达、孙红、高凤辉, 等. 丝裂霉素 C 对体外培养乳鼠心肌细胞 DNA 合成的影响. *药学通报* 1985; 20 : 123
- 6 Higgins TJC, Allsopp D, Bailey PJ. The effect of extracellular calcium concentration and Calcium antagonist drugs on enzyme release and lactate production by anoxic heart cell cultures. *J Mol Cell Cardiol* 1980; 12 : 909
- 7 Darius H, Osborne JA, Reibel DK, Lefer AM. Protective actions of a stable prostacyclin analog in ischemia induced membrane damage in rat myocardium. *Ibid* 1987; 19 : 243

Erratum

1989; 10 (6) : 495, left column, line 13-14 "These data suggest that this inhibitory effect and on……" should read "These data suggest that the inhibitory effect of GRS on the raised temperature and on……"