

sinus recovery time. *Acta Univ Med Tongji* 1990; 19(4): (in press)

12 Wang Y, Liu LJ, Fang DC. Effects of berberine on conductivity of heart. *Acta Pharmacol Sin* 1990; 11: in press

13 Sun XD, Li JM, Tian LJ, Wang YP, Yu YF, Zhang KY. Effect of berberine on slow inward ionic current in guinea pig ventricular papillary muscle. *Ibid* 1989; 10: 130

14 黄伟民、吴子达、徐有秋. 黄连素治疗心律失常的基础电生理学研究. *心电学杂志* 1985; 4: 2

15 Nakaya H, Hattori Y, Tohse N, Kanno M. Voltage-dependent effects of YC-170, a dihydropyridine calcium channel modulator, in cardiovascular tissues. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1986; 333: 421

研室,²生物工程室, 汉口 430030, 中国)

摘要 小檗碱(Ber)0.1到30 μmol/L能依剂量地降低兔窦房结(SAN)、房室结(AVN)细胞之APA, V_{max}, 最大除极电位(MDP)及自律频率, 并延长APD₅₀, APD₉₅及ERP. 同时抑制SAN功能, 即延长窦性周期(SCL), 窦房恢复时间(SRT)及校正窦房恢复时间(CSRT). 与SAN及AVN比较, Ber延长心房(界嵴细胞)之APD₅₀, APD₉₅及ERP作用则需较高浓度. Ber对SAN的作用不被阿托品(1 μmol/L)所拮抗; α₂-受体拮抗剂BHT-920(10 μmol/L)或α₁-受体激动剂苯肾上腺素(10 μmol/L)也不能翻转Ber的作用. 其抑制SCL, APA及V_{max}的作用可被去甲肾上腺素(10 μmol/L)所翻转. 在无钙液中, Ber对SAN的抑制作用依然存在, 但在心房, 除APD₅₀及APD₉₅外, 对其它指标的影响则消失.

小檗碱对离体兔窦房结和房室结电生理作用
王 玉、刘烈炬²、方达超 (同济医科大学药理教

关键词 抗心律失常药; 小檗因类; 小檗碱; 窦房结; 房室结; 微电极; 电生理学

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Sep; 11 (5): 427-430

绞股蓝总皂甙对实验性心肌梗塞的保护作用

熊维生、晏向东、沈 乃、丘芳龙¹、陈 修 (湖南医科大学药理教研室, 长沙 410078, 中国)

Protective effects of gypenosides on experimental myocardial infarction

XIONG Wei-Sheng, YAN Xiang-Dong, SHEN Nai, QIU Fang-Long¹, CHEN Xiu (Department of Pharmacology, Hu-nan Medical University, Changsha 410078, China)

ABSTRACT In the model of myocardial infarction produced by occlusion of left anterior descending coronary artery (LAD) in rabbit, gypenosides (GP 100 but not 50 mg/kg, ip) reduced myocardial infarct size and decreased serum free fatty acid (FFA). In rat model of myocardial infarction, GP and the fractions of GP of non ginsenosides (FGNG) both in dose of 100 mg/kg, ip, protected significantly myocardial superoxide dismutase (SOD) activity and decreased

the myocardial malondialdehyde (MDA). The results indicate that the protective effect of GP on myocardial infarction may be correlated with its prevention of myocardial lipid peroxidation, and attributed to the amelioration of FFA metabolic deterioration.

KEY WORDS gypenosides; ginseng; saponins; myocardial infarction; lipid peroxidation

摘要 采用在体兔和大鼠冠状动脉结扎造成心肌梗塞动物模型. 绞股蓝总皂甙(GP)能缩小兔心肌梗塞范围, 抑制心肌梗塞后FFA升高; 并能降低大鼠梗塞心肌的MDA含量, 保护心肌SOD, CPK活性. 结果表明GP对实验性心肌梗塞具有保护作用, 这种作用可能与它抗心肌脂质过氧化和改善心肌FFA代谢紊乱有关.

Received 1989 Nov 17 Accepted 1990 May 17
¹ Hu-nan Institute of Pharmaceutical Industry, Changsha 410014, China

关键词 绞股蓝总皂甙; 人参; 皂甙类; 心肌梗塞; 脂质过氧化

绞股蓝系葫芦科绞股蓝属植物, 学名为: *Gynostemma pentaphyllum*(Thunb) Mak. 绞股蓝总皂甙(gypenosides, GP)有抗动脉粥样硬化, 抗疲劳等作用⁽¹⁾. 但其抗心肌缺血作用尚未见报道. 我们已证实人参总皂甙对狗心肌缺血和再灌注损伤有保护作用. 此作用可能与抗脂质过氧化有关^(2,3). 在 GP 中已分离鉴定了 82 种皂甙, 其中皂甙 3, 4, 8, 12 分别同人参皂甙 Rb₁, Rb₂, Rd, F₂ 结构相同⁽⁴⁾. 据此推论 GP 有人参皂甙相似的心脏保护作用. 本文报道 GP 对兔和大鼠心肌梗塞的保护作用.

MATERIALS AND METHODS

药物 GP 和 GP 非人参皂甙部分均由湖南医药工业研究所提取供给. 人参总皂甙(ginsenosides, GS)由本室提取. 磷酸肌酸激酶(creatine phosphokinase, CPK)药盒购于美国 Sigma 化学公司.

急性毒性实验 取体重 20.5 ± SD 0.5 g 小鼠, 50 只, ♀ ♂ 各半, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 小鼠 ip GP, 观察 48 h 内死亡率. 用加权概率单位分析法求得 GP LD₅₀ 为 469(459-480) mg / kg.

兔心肌梗塞模型 选用 2.2 ± SD 0.3 kg 健康兔 29 只, ♀ ♂ 不拘, 随机分 4 组: 生理盐水对照组(n=7), GP 50 mg / kg 组(n=8), GP 100 mg / kg 组(n=7)和 GS 组(n=7). 首先记录正常心电图, 并抽血按文献⁽⁵⁾方法测血清游离脂肪酸(FFA), 每组分别在术前 30 min ip 药物, 手术用 1% 普鲁卡因局部麻醉, 在自主呼吸下, 开胸, 暴露心脏, 高位双重结扎左冠状动脉前降支⁽⁶⁾, 关闭胸腔, 用心电图进行监测, 术后 4 h 第二次抽血测血清 FFA. 结扎后 24 h 记录心电图后杀兔取心作 NBT 染色.

1 心电图 S-T 段标测 选用胸前多导联, 标测部位以胸骨左缘第 4 肋间 1 cm 处为中心, 上下左右各 1 cm 共定出 9 个点. 各点用龙胆紫标记, 分别记录结扎前, 结扎后 4h 和

结扎后 24 h 胸前多导联心电图 S-T 段抬高总 mV 即 ΣST 代表心肌梗塞范围.

2 硝基四氮唑蓝(NBT)染色⁽⁷⁾ 实验结束后, 杀兔取心, 用滤纸吸去水分, 沿冠状沟剪去左、右心房, 称心室重. 将心室横切成 0.5cm 厚片状, 放入用 pH7.4 磷酸缓冲液新鲜配成的 0.5% NBT 溶液内, 在 37℃ 恒温水中染色 15 min, 剪去各心肌片被染色的非梗塞区心肌, 把未染色的梗塞心肌用滤纸吸干称重, 计算梗塞心肌占心室重的%(wt / wt), 借以判断梗塞范围.

大鼠心肌梗塞模型 按文献⁽⁸⁾方法选用体重 200 ± SD 30 g Wistar ♂ 性大鼠 36 只, 随机分 5 组, 即伪手术组(n=4), 生理盐水对照组(n=8), GS 组(n=8), GP 组(n=8)和 GP 非人参皂甙部分(FGNG)组(n=8). 每组分别在术前 30 min ip 药物 100 mg / kg. 术前、术后均用心电图监测. 手术在乙醚浅麻中进行, 剪断胸骨左缘第 4 肋骨, 挤出心脏, 在左心耳根部下方约 2 mm 处结扎冠脉左室支, 把心脏送回胸腔后关胸并挤出胸腔内气体, 胸外按摩直至自主呼吸恢复, 结扎 5 h, 在乌拉坦 0.75 g / kg 浅麻下记录心电图. 实验结束后立即取出心脏, 用冰生理盐水逆灌洗尽心脏内残血, 制备 10% 心肌匀浆. 按硫代巴比妥酸反应荧光分析法⁽⁹⁾测定心肌丙二醛(MDA)含量, 采用邻苯三酚自氧化法⁽¹⁰⁾测定心肌超氧化物歧化酶(SOD)活性, 按美国 Sigma 化学公司药盒方法测定心肌 CPK 活性.

RESULTS

GP 对心电图 S-T 段的影响 S-T 段抬高总数(ΣST)代表心肌梗塞的严重程度. 从 Tab 1 可见 GS 50 mg / kg 组能降低 ΣST 和 NST (P<0.05), GP 100 mg / kg 组具有降低 ΣST 和 NST 的趋势, 但 P>0.05.

GP 对血清 FFA 的影响 每组结扎前与结扎后 4 h 血清 FFA 比较结果见 Tab2,

结果表明, GP 100 mg/kg 组能降低梗塞后 FFA 的升高($P < 0.05$).但 GP 的作用比 GS 作用弱,而 GP 50 mg/kg 组作用不明显.

Tab 1. Comparative effects of lp gypenosides (GP) and ginsenosides (GS) on S-T mapping in myocardial infarct rabbits. $n = 5$, * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$ vs NS.

Drug (mg/kg)	EST (mv)	NST	ST ± SD (mv)	EST/NST (mv)
NS 1 ml/kg	18.7	80	0.21 ± 0.02	0.23
GP 50	18.0*	71*	0.2 ± 0.01*	0.25*
GP 100	13.2*	69*	0.15 ± 0.01*	0.19*
GS 50	9.1**	51**	0.1 ± 0.01*	0.18*

EST: Sum of elevations (mV) of S-T segments, NST: Number of elevated S-T segments. All S-T mapping points are 90 (9 × 2 × 5 rabbits).

Tab 2. Effects of GP (lp) on serum free fatty acid in 4 h post-occlusion in rabbits. NS) Saline; GP) Gypenosides; GS) Ginsenosides. $\bar{x} \pm SD$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ vs NS.

Drug (mg/kg)	n	Free fatty acids (μmol/L)	
		0 h	4 h
NS 4 ml/kg	6	240 ± 92	408 ± 30
GP 50	7	275 ± 111*	423 ± 156*
GP 100	6	294 ± 121*	385 ± 156**
GS 50	6	292 ± 58*	358 ± 97**

GP 对心肌梗塞范围的影响 梗塞心肌占心室重%(wt/wt)可判断梗塞范围和程度.生理盐水对照组%为 21.7 ± 2.1, GP 100 mg/kg 组为 15.6 ± 1.8, GS 组为 15.2 ± 1.3, 给药组与生理盐水对照组比较 $P < 0.01$.结果表明, GP 100 mg/kg 组和 GS 组均有显著缩小心肌梗塞范围的作用,而 GP 50 mg/kg 组也有缩小梗塞范围的趋势(19.9 ± 2.0),但 $P > 0.05$.

GP 和 FGNG 对大鼠梗塞心脏脂质过氧化的影响 Fig 1 结果表明,心肌梗塞时心肌 MDA 含量增加和 SOD 活性降低,提示在心肌梗塞时脂质过氧化增强.GP 和 FGNG 均能明显抑制大鼠心肌梗塞后心肌 MDA 的升高($P < 0.01$),FGNG 还有保护心肌 SOD 活性

($P < 0.05$),GP 和 GS 也有保护心肌 SOD 活性作用趋势.这些结果表明:GP 和 FGNG 均具有抗大鼠心肌梗塞时的脂质过氧化作用.

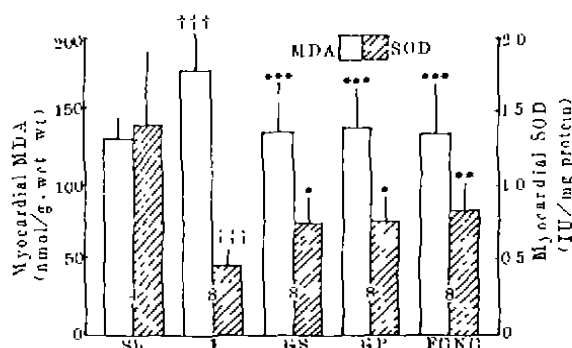


Fig 1. Effects of GP (100 mg/kg, lp) on malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) activity in myocardial infarct rats. Sh) Sham operation; I) Infarction; FGNG) Fractions of GP non GS. $\bar{x} \pm SD$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ vs I. ** $P < 0.01$ vs Sh.

GP 对心肌 CPK 活性的影响 结果表明大鼠心肌梗塞时心肌 CPK 活性降低,GS 对梗塞心肌 CPK 活性具有明显的保护作用($P < 0.05$),而 GP 和 FGNG 保护心肌 CPK 活性在统计学上接近显著性(Tab 3)

Tab 3. Effects of GP (100 mg/kg, lp) on myocardial creatine phosphokinase (CPK) activity in myocardial infarct rats. $\bar{x} \pm SD$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$ vs I. *** $P < 0.01$ vs Sh.

Drug (mg/kg)	n	CPK (IU/g)
Sh NS 1 ml/kg	4	1439 ± 213
NS 1 ml/kg	8	975 ± 226**
GS 100	8	1375 ± 379**
GP 100	8	1233 ± 305*
FGNG 100	8	1278 ± 376*

DISCUSSION

心肌缺血和再灌注损伤的机理之一是组织局部氧自由基产生增加并聚积,且通过对膜的脂质过氧化,加剧心肌损伤^(11,12).心肌缺氧再给氧损伤后心肌 SOD 活性下降,而 MDA 含

量升高⁽¹³⁾。我们的实验结果表明 GP 和 FGNG 均能降低大鼠梗塞心肌 MDA 含量, 保护心肌 SOD 活性, 而 FGNG 保护 SOD 活性的作用比 GP 稍强, 表明在 GP 中虽含有人参皂甙成分, 但含量甚少⁽⁴⁾, 可能是绞股蓝皂甙本身具有保护心肌梗塞的作用, 这种保护作用可能与 GP 抗氧自由基和脂质过氧化有关。但 GS 组保护 SOD 活性作用不明显, 与我们以前结果不符, 这可能是动物种类不同所致。GP 具有缩小梗塞范围的作用, 但在实验中应注意结扎部位, 以及动脉变异情况, 如变异较大应剔除, 否则会影响实验结果。心肌梗塞时 FFA 增加, 这表明在心肌梗塞时 FFA 代谢发生紊乱, FFA 增加, 可加剧心肌缺血缺氧, 增加 ATP 消耗和使 ATP 生成减少。GP 能降低兔心肌梗塞后血清 FFA, 提示 GP 能纠正心肌缺血时 FFA 代谢紊乱, 这可能是 GP 抗心肌缺血的机理之一。有报道在缺血再灌注时 PGI₂ 通过抑制粒细胞活化及氧自由基产生而起保护作用⁽¹⁴⁾。GP 对实验性心肌梗塞的保护作用可能与 GP 抗氧自由基和脂质过氧化, 以及改善梗塞后 FFA 代谢紊乱有关。

REFERENCES

- 1 Yu ZY, Yang H. Resent development of the study of *Gynostemma pentaphyllum*. *Chin Pharm Bull* 1988; 23 : 12
- 2 Fang YX, Shen N, Chen X. Beneficial changes in prostacyclin and thromboxane A₂ by ginsenosides in myocardial infarction and reperfusion injury of dogs. *Acta Pharmacol Sin* 1986; 7 : 226
- 3 Chen X, Li YJ, Deng HW, Yang BC, Li DY, Shen N. Protective effects of ginsenosides on anoxia/reoxygenation of cultured rat myocytes and on reperfusion injures against lipid peroxidation. *Biomed Biochem Acta* 1987 ; 8 : S646
- 4 Zhou HP. A review on the saponin constituents and pharmacology of *Gynostemma pentaphyllum* Mak. *Chin Pharm Bull* 1988; 23 : 720
- 5 李立群. 血清游离脂肪酸测定. 见: 上海市医学化验所, 主编. 临床生化检验(上册). 第 1 版. 上海: 上海科技出版社, 1979 : 168-72.
- 6 Fang YX, Tang XL, Chen X. An improved model of experimental myocardial infarction in rabbits and quantitative dynamic assessment of the infarct size. *Bull Hunan Med Coll* 1980; 5 : 229
- 7 Brody GL, Belding WA, Belding RM, Feldman SA. The identification and delineation of myocardial infarcts. *Arch Pathol* 1967; 84 : 312
- 8 De Jong-koster MC, van Zwieten PA. Experimental myocardial infarction in the rat. *Prog Pharmacol* 1981; 4 : 79
- 9 Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95 : 351
- 10 Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 1974; 74 : 469
- 11 Thompson JA, Hess ML. The oxygen free radical system: a fundamental mechanism in the production of myocardial necrosis. *Prog Cardiovasc Dis* 1986; 28 : 449
- 12 Rao PS, Cohen MV, Mueller HS. Production of free radicals and lipid peroxides in early experimental myocardial ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 1983; 15 : 713
- 13 Guarnieri C, Flamigni F, Caldarella CM. Role of oxygen in the cellular damage induced by re-oxygenation of hypoxic heart. *Ibid* 1980; 12 : 797
- 14 Simpson PJ, Mitsos SE, Ventura A, et al. Prostacyclin protects ischemic reperfused myocardium in the dog by inhibition of neutrophil activation. *Am Heart J* 1987; 113 : 129