

- [10] WANG H B, LIU D C, SHE Z H, et al. Study on extraction, antioxidant activity and stability of soy isoflavone[J]. Food Sci(食品科学), 2004, 25(1): 111-114.
- [11] XU H D, QIN S H. Ultrasonic-assisted extraction and *in vitro* antioxidant activity evaluation of polysaccharides from *Chaenomeles sinensis* (Thouin) Koehne [J]. Food Sci(食品科

学), 2010, 31(10): 106-111.

- [12] LIANG Q L, WEN Y M, XIE Y H, et al. Study on antioxidation activities of polysaccharides from *Panope generosa in vitro* [J]. Her Med(医药导报), 2013, 32(2): 171-173.

收稿日期: 2013-07-30

外源性磷酸肌酸对缺血豚鼠心室肌细胞钠通道的影响

时向民¹, 李天德², 王玉堂², 单兆亮², 杨庭树² (1.解放军总医院海南分院心内科, 海南 三亚 572000; 2.解放军总医院心内科, 北京 100853)

摘要: 目的 观察不同浓度外源性磷酸肌酸(PCr)对豚鼠缺血心室肌细胞钠通道(I_{Na})电流的影响, 探讨其预防缺血性心律失常的电生理学机制。方法 心室肌细胞经酶解从豚鼠左心室获得, 膜片钳全细胞模式记录 I_{Na} 电流, 通过灌注模拟缺血液并充以 95% N_2 +5% CO_2 的混合气体建立缺血模型。将 PCr 加入模拟缺血液中分别配成 5, 10, 20, 30 $mmol \cdot L^{-1}$ 浓度。将细胞分成 6 组, 分别予模拟缺血液、含有 5, 10, 20, 30 $mmol \cdot L^{-1}$ PCr 的模拟缺血液和台氏液灌注, 后者充以 95% O_2 +5% CO_2 的混合气体。10 min 后记录各组的峰电流及电流密度。结果 与单纯模拟缺血液组相比, 含有 5, 10, 20, 30 $mmol \cdot L^{-1}$ PCr 的模拟缺血液组 I_{Na} 峰电流及电流密度均明显增加($P < 0.05$)。10 $mmol \cdot L^{-1}$ PCr 模拟缺血液组与 5, 20, 30 $mmol \cdot L^{-1}$ 组之间具有统计学差异($P < 0.05$)。结论 PCr 能增加缺血时受抑制的 I_{Na} 峰电流及电流密度, 这可能是其预防缺血性心律失常的电生理学机制。PCr 在低浓度(0~10 $mmol \cdot L^{-1}$)对 I_{Na} 峰电流及电流密度的影响呈现明显的量效关系。

关键词: 磷酸肌酸; 钠电流; 缺血性心律失常; 膜片钳

中图分类号: R966

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)01-0013-05

Effect of Exogenous Phosphocreatine on Natrium Current in Ischemic Ventricular Myocytes of Guinea Pig

SHI Xiangmin¹, LI Tiande², WANG Yutang², SHAN Zhaoliang², YANG Tingshu² (1. Department of Cardiology, the Affiliated Hainan Hospital of the General Hospital of PLA., Sanya 572000, China; 2. Department of Cardiology, the General Hospital of PLA, Beijing 100853, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the effect of exogenous phosphocreatine(PCr) with different concentration on natrium (I_{Na}) current in guinea pig ischemic ventricular myocytes and to explore the antiarrhythmia mechanism in the treatment of ischemic heart disease. **METHODS** Ventricular myocytes were isolated enzymatically from left ventricular of guinea pig. Peak I_{Na} current was recorded using patch clamp techniques in the whole-cell configuration when myocytes had been superfused with normal Tyrode solution, simple ischemic solution, ischemic solution containing PCr with different concentration of 5, 10, 20, 30 $mmol \cdot L^{-1}$ for 10 minutes respectively. **RESULTS** Compared with simple simulated ischemic solution, peak I_{Na} current and current density of ischemic solution containing PCr of 5, 10, 20, 30 $mmol \cdot L^{-1}$ significantly improved($P < 0.05$). There was statistical significance among ischemic solution containing PCr of 10 and 5, 20, 30 $mmol \cdot L^{-1}$ ($P < 0.05$). **CONCLUSION** PCr can reverse the inhibition of I_{Na} current under ischemic condition, which can be the mechanism responsible for arrhythmia prevention in ischemia heart disease. PCr at concentration of 0~10 $mmol \cdot L^{-1}$ exerts significant dose-effect relationship.

KEY WORDS: phosphocreatine; natrium current; ischemia; patch clamp

在心室肌细胞, Na^+ 经钠通道(I_{Na})内流形成动作电位的上升支并决定动作电位在细胞间的传导, 心肌缺血时 I_{Na} 通道受到明显抑制, 0 相除极速度减慢, 从而使细胞间传导速度降低, 在正常

细胞与缺血细胞之间产生折返, 诱发心律失常^[1]。上述变化与缺血时细胞内 ATP 水平下降影响离子通道特性有关。外源性磷酸肌酸(exogenous phosphocreatine, PCr)作为 ATP 来源的重要底物已

广泛应用于缺血性心脏病, 多项临床研究已证实 PCr 能减少缺血急性期恶性心律失常的发生率。本实验意在研究 PCr 对豚鼠缺血心室肌 I_{Na} 电流的影响, 探讨其预防心律失常作用的电生理学基础。

1 材料与方法

1.1 溶液与试剂

700A 膜片钳放大器(美国 Axonpatch); MP-285 三维液压微操纵器(美国 Sutter Instrument); P-97 玻璃微电极拉制仪(美国 Sutter Instrument)。

蛋白酶 E(Merk 公司); 去脂肪酸牛血清白蛋白、牛磺酸(Taurine)、HEPES、 $CaCl_2$ 、 $CsCl$ 、L-glutamic acid、Choline-Cl、 Na_2 -ATP 均为 Sigma 公司产品; PCr(意大利欧辉公司); 其他试剂均为分析纯。

自行配制液体①台氏液: $CaCl_2$ $1.8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $NaCl$ $116\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, KCl $5.4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $NaHCO_3$ $15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, NaH_2PO_4 $1.4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $MgSO_4$ $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, Glucose $15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, Taurine $30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, HCl 调 pH 至 7.4。②无钙台氏液: 台式液不加 $CaCl_2$ 。③KB 保存液: KOH $90\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, L-glutamic acid $70\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, Taurine $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, KCl $30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, HEPES $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, Glucose $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, EGTA $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, KOH 调 pH 至 7.3。④记录钠电流的电极内液: $CsCl$ $120\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, EGTA $11\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, HEPES $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, Na_2 -ATP $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $MgCl_2$ $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CaCl_2$ $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, Glucose $11\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CsOH$ 调 pH 值至 7.3。⑤记录钠电流的电极外液: $NaCl$ $40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, Choline-Cl $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, KCl $5.4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $MgCl_2$ $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CaCl_2$ $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, HEPES $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, Glucose $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $NaHPO_4$ $0.33\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 用 $NaOH$ 将 pH 值调至 7.3。⑥模拟缺血液: $NaCl$ $123\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, KCl $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, NaH_2PO_4 $0.9\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $MgSO_4$ $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $CaCl_2$ $2.7\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, $NaOH$ 调 pH 值到 6.8。

1.2 豚鼠心室肌细胞的分离

30 只健康成年豚鼠, ♀ ♂ 不拘, 体质量(310 ± 45)g, 由解放军总医院动物中心提供, 实验动物合格证号: SCXK(京)2006-0009。将豚鼠击昏, 开胸, 迅速取出心脏置于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 无钙台氏液中, 去除脂肪及结缔组织。将主动脉固定于 Langendorff 灌流装置, 经主动脉逆行灌流心脏。灌流压维持在 $7\ 000\text{ Pa}$ (70 cm 水柱), 灌流液恒温至 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 并以 $95\%\text{O}_2$

+ $5\%\text{CO}_2$ 的混合气预先饱和 10 min 。无钙台氏液灌流 5 min 后改用含 $0.1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 蛋白酶 E, $0.5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 去脂肪酸牛血清白蛋白, $150\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ $CaCl_2$ 的低钙液灌流 $3\sim 5\text{ min}$, 至心脏柔软膨大。将心脏取下, 剪去心房, 将心室肌剪碎置于上述含酶溶液中, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下温孵, 轻轻搅拌 5 min , 经细胞滤网将细胞悬液用含钙 $1.8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的台氏液稀释 5 倍, 室温($23\sim 25\text{ }^\circ\text{C}$)静置保存 1 h 备用。

1.3 膜片钳全细胞记录

根据 Hamill 方法^[2]进行膜片钳全细胞记录。将膜片钳放大器与计算机连接, 刺激信号及电压输入信号的采集均由 Pclamp 软件(Clampex and Clampfit)控制, 玻璃微电极一步拉制, 充灌电极内液后尖端阻抗为 $2\sim 4\text{ M}\Omega$ 。利用三维液压微操纵器进行细胞封接, 封接电阻 $>1\text{ G}\Omega$, 吸破细胞膜后补偿电容电流及电极串联电阻, 形成全细胞记录。

1.4 I_{Na} 电流记录方法

将分离的单个豚鼠心室肌细胞随机分为 6 组: 台氏液、模拟缺血液(简称缺血液), 缺血液+5, 10, 20, $30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCr(PCr 浓度分别为 $1.25, 2.5, 5, 7.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)。细胞破膜后稳定 2 min 开始灌流, 速度为 $2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 台氏液组充以 $95\%\text{O}_2+5\%\text{CO}_2$ 的混合气体, 其他各组充以 $95\%\text{N}_2+5\%\text{CO}_2$ 的混合气体。 10 min 后记录各组的峰电流, 电流强度用峰电流与去极化结束后稳态电流的差值表示, 为消除细胞间误差以电流密度表示(电流/电容, PA/PF)。 I_{Na} 电流记录方法: 在电压钳状态下, 以 10 mV 的阶跃使心室肌细胞由 -90 mV 的保持电压逐步去极化至 $+60\text{ mV}$, 刺激电压持续 60 ms 。以电流密度值为纵坐标, 相应的刺激电压为横坐标, 即得出 I_{Na} 的电流-电压曲线(I - V 曲线)。

1.5 数据处理

正态分布数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用方差分析, 应用 SPSS 12.0 软件进行分析, $P < 0.05$ 表明差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 台式液灌流豚鼠心室肌细胞记录的 I_{Na} 电流

台式液灌流组可记录出幅度较高的内向电流, 其激活与失活过程较为迅速, 并呈现电压依赖性, 在 -50 mV 被激活, 在 -30 mV 时电流出现峰值, 然后随刺激电压增大迅速减小。

2.2 缺血液对豚鼠心室肌细胞 I_{Na} 电流的影响

缺血液灌流 10 min 后记录的 I_{Na} 峰电流及电流

密度 $[(1\,734.3\pm211.8)\text{pA}, (23.7\pm3.0)\text{pA/PF}]$ 与台式液灌流组 $[(8\,360.8\pm628.4)\text{pA}, (119.4\pm8.9)\text{pA/PF}]$ 相比明显减低($P<0.05$)。

2.3 不同浓度PCr对缺血豚鼠心室肌细胞 I_{Na} 电流的影响

随缺血液中PCr浓度的增加, I_{Na} 峰电流与电流密度逐渐增加。与模拟缺血液组相比,5,10,20,30 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度PCr的缺血液组 I_{Na} 峰电流密度明显增加。在0~10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 内增加幅度最大,PCr浓度为0,5,10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时三者峰电流及电流密度差异具有统计学意义($P<0.05$)。浓度>10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后 I_{Na} 峰电流及电流密度反而有所降低。10与20,30 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间差异具有统计学意义($P<0.05$),结果见表1和图1。

表1 不同灌流液组的 I_{Na} 峰电流及电流密度($n=8, \bar{x}\pm s$)
Tab 1 Peak I_{Na} current and current density of different solution($n=8, \bar{x}\pm s$)

灌流液组(细胞数)	I_{Na} 峰电流/pA	I_{Na} 峰电流密度/pA/PF
台式液	$8\,360.8\pm628.4$	119.4 ± 8.9
缺血液	$1\,734.3\pm211.8$	23.7 ± 3.0
缺血液+5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCr	$3\,523.5\pm384.2^{1)2)}$	$52.4\pm5.6^{1)2)}$
缺血液+10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCr	$5\,803.7\pm433.5^{1)}$	$83.2\pm6.4^{1)}$
缺血液+20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCr	$5\,112.4\pm461.7^{1)2)}$	$72.8\pm6.6^{1)2)}$
缺血液+30 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCr	$4\,835.4\pm396.4^{1)2)}$	$68.5\pm5.7^{1)2)}$

注:与缺血液组比较,¹⁾ $P<0.05$;与缺血液+10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCr组比较,²⁾ $P<0.05$
Note: Compared with simple ischemic solution group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with ischemic solution+10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCr group, ²⁾ $P<0.05$

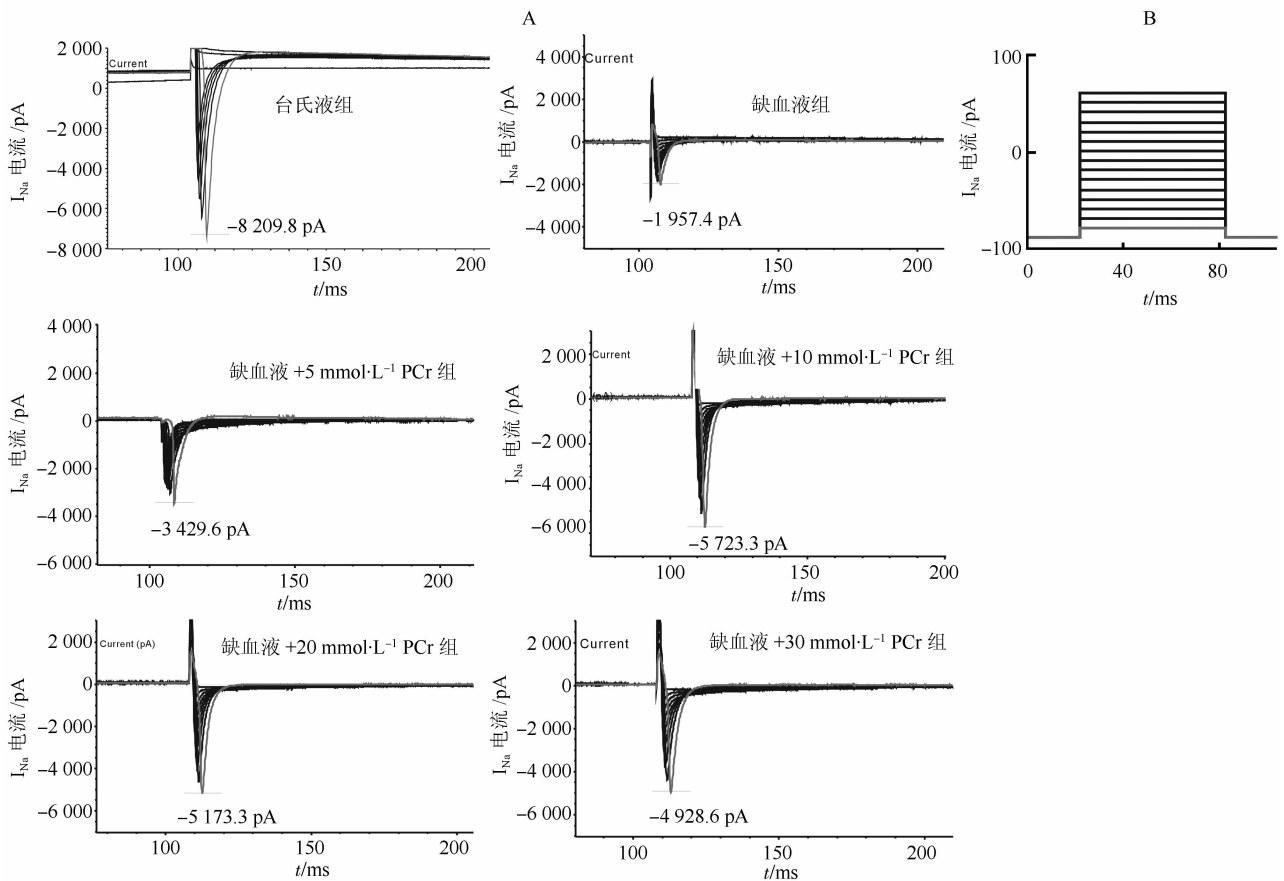


图1 不同灌流液对豚鼠心室肌细胞 I_{Na} 电流的影响
A- I_{Na} 电流变化图; B-记录 I_{Na} 电流的激发脉冲

Fig 1 I_{Na} current curves of different group
A- I_{Na} current; B-depolarizing pulses

2.4 不同灌流液对豚鼠心室肌细胞 I_{Na} 电流密度I-V曲线的影响

与台式液相比,缺血液以及含不同浓度磷酸

肌酸缺血液组,其 I_{Na} 通道I-V曲线上移,但激活电位,峰值电位及I-V曲线形态无改变,结果见图2。

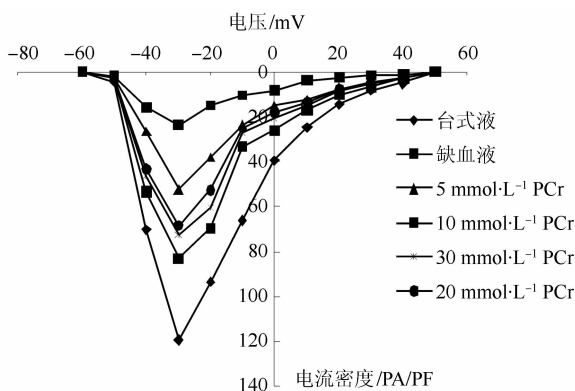


图2 不同液体灌流后对豚鼠心室肌细胞 I_{Na} 电流 I-V 曲线的影响

Fig 2 The effect of different superfusion solutions on current-voltage relationship of I_{Na}

3 讨论

I_{Na} 是心肌细胞上的重要离子通道,在心房及心室的快反应细胞, Na^+ 经 I_{Na} 内流形成动作电位的上升支,它在维持细胞的兴奋性,传导性方面具有重要作用,直接影响着心肌细胞 0 相除极和细胞间的电传导速度, I_{Na} 通道异常是引起恶性室性心律失常的重要原因。

本研究观察到状态良好的心室肌细胞在台氏液灌流 30 min 内 I_{Na} 电流密度无明显衰减。在模拟缺血条件下,豚鼠心室肌细胞 I_{Na} 峰电流密度明显降低,由 $(119.4 \pm 8.9) \text{ pA/pF}$ 降至 $(23.7 \pm 3.0) \text{ pA/pF}$,减少近 80%,从而使内流 Na^+ 显著降低,这可能是缺血时心律失常的主要原因。 I_{Na} 受抑制的原因可能与细胞内钠超载,酸中毒,氧化应激有关^[3]。缺血时心肌内 ATP 含量降低,ADP 逐渐累积,细胞为了维持 ATP 浓度,ADP 与 PCr 通过 Lomman 反应合成 ATP ($\text{ADP} + \text{PCr} \rightarrow \text{ATP} + \text{Cr}$),该反应与 ATP 水解密切相关,缺血时两者综合的最终结果是 $\text{PCr} \rightarrow \text{Cr} + \text{Pi}$,PCr 逐渐减少^[4],PCr 是 ATP 的储存和转运形式,通过“PCr 穿梭”来实现细胞内能量的传递,因此在缺血时补充外源性 PCr 是增加细胞内 ATP 含量的有效措施。

Conway 等^[5]发现 ^{14}C , ^{97}P 标记的 PCr 可以穿透心肌细胞膜并渗入细胞内的高能磷酸化合物中,缺血时这种穿透能力增强。通过 Lomman 反应 PCr 可以作为底物直接促进细胞内 ATP 的合成,纠正细胞内环境紊乱,这可能是其促进 I_{Na} 恢复的机制。本研究观察到在模拟缺血液中加入不同浓度的 PCr 后,细胞的 I_{Na} 峰电流及电流密度均有增加,Perepech 等^[6]发现在急性心肌梗塞 6 h 之内给

予 PCr 治疗,或急性心梗时 PCr 配合溶栓治疗较单纯溶栓均能明显减低心律失常的发生。提示 PCr 对缺血后 I_{Na} 通道的恢复具有重要作用。

PCr 如果单纯作为底物促进 ATP 合成则需求量较大,而本研究采用的 4 种浓度远不能满足上述需求,推测 PCr 通过底物以外其他机制促进了 ATP 的合成。可能与 PCr 抑制 5'-核苷酸酶,保护了细胞内剩余的核苷酸池有关^[7]。本研究发现 PCr 的浓度并非与 I_{Na} 峰电流密度的增加呈直线相关,在 $0 \sim 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,随浓度增加 I_{Na} 电流密度迅速增加,在 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到峰值,继续增加浓度后反而出现轻度下降,且 20, $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 相比差异具有统计学意义,说明高浓度 PCr 对 I_{Na} 通道电流具有一定的抑制作用。该结果提示在 $0 \sim 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阶段,PCr 能够逐渐发挥底物以及腺嘌呤核苷酸池的保护作用,使细胞内 ATP 的转化速度加快,从而缓解酸中毒,减少细胞内,外钠和钾的积聚,以及恢复 $Na^+ - K^+$ 泵功能,上述效应反应在 I_{Na} 电流密度的增加上呈现明显的量效关系。PCr 在 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 可充分发挥底物以及保护核苷酸池的作用,同时通过区室化效应使细胞膜 I_{Na} 通道局部 ATP 合成达到平台^[8]。增加浓度并不能使细胞内 ATP 含量进一步增加,反而对 I_{Na} 有直接抑制作用。这与众多临床研究证实 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ PCr 是最适浓度相一致^[9]。Robbison 等^[10]以及 Pastoris 等^[11],Chambers 等^[12]在早期研究中发现心外科患者停跳液中予 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ PCr 是最适浓度,增加浓度并不能进一步减少心律失常。 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以后继续增加浓度 I_{Na} 峰电流密度减低的机制可能与 PCr 本身对 I_{Na} 有轻度抑制有关,Kryzhanovskii 等^[13]发现 PCr 能够抑制快钠离子,具有类似 I 类抗心律失常药物的作用。提示在治疗过程中并非 PCr 浓度越高越好。 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的磷酸肌酸即可有效恢复 I_{Na} 电流,改善兴奋性及传导,减少心律失常的发生。

采用含 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PCr 灌流后 I_{Na} 的峰电流密度与台式液灌流的正常组相比仍有 30% 的差距,原因可能与缺血液组低氧对 I_{Na} 通道的抑制,以及细胞内 ATP 合成速度, $Na^+ - K^+$ 泵的恢复,细胞内外酸中毒的改善,静息电位不能完全恢复至正常水平有关。本研究证实外源性 PCr 能明显增加缺血时受抑制的 I_{Na} 峰电流及电流密度,这可能是其增加缺血心室肌细胞 0 相的除极速度与幅度,

加快细胞间传导,抑制折返形成,并有效预防恶性心律失常的主要机制。PCr 在低浓度($0\sim 10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)对 I_{Na} 峰电流及电流密度的影响呈现明显的量效关系。

REFERENCES

- [1] FOZZARD H, HANCK D. Voltage-gated Na channel selectivity: the role of the conserved domain III lysine residue [J]. *J Gen Physiol*, 2008, 131(6): 523-529.
- [2] HAMIL O. Twenty odd years of stretch-sensitive channels [J]. *Pflugers Arch*, 2006, 453(3): 331-351.
- [3] FUKUDA K, DAVIES S, NAKAJIMA T, et al. Oxidative mediated lipid peroxidation recapitulates proarrhythmic effects on cardiac sodium channels [J]. *Circ Res*, 2005, 97(12): 1262-1269.
- [4] GRZYB K, SKORKOWSKI E F. Creatine kinase isoenzymes-characterization and functions in cell [J]. *Postepy Biochem*, 2008, 54(3): 274-283.
- [5] CONWAY M, ALLIS J, OUWERKERK R, et al. Detection of phosphocreatine to ATP ratio in failing hypertrophied human myocardium by ^{31}P magnetic resonance spectroscopy [J]. *Lancet*, 1991, 338(8773): 973-976.
- [6] PEREPECH N, NEDOSHIVIN A, NESTEROVA I, et al. Potential use of exogenous phosphocreatine (neoton) in the combined therapy of cancer complicated with cardiovascular diseases [J]. *Vopr Onkol*, 2006, 52(1): 112-115.
- [7] SAKS V. The phosphocreatine-creatine kinase system helps to shape muscle cells and keep them healthy and alive [J]. *J Physiol*, 2008, 586(Pt 12): 2817-2818.
- [8] MENIN L, PANCHICHKINA M, KERIEL C, et al. Macrocompartmentation of total creatine in cardiomyocytes revisited [J]. *Mol Cell Biochem*, 2001, 220(1/2): 149-159.
- [9] BROSANAN J T, BROSANAN M E. Creatine: endogenous metabolite, dietary, and therapeutic supplement [J]. *Annu Rev Nutr*, 2007(27): 241-261.
- [10] ROBINSON L, BRAINBRIDGE M, HEARSE D, et al. Creatine phosphate: an additive myocardial protective and antiarrhythmic agent in cardioplegia [J]. *J Thorac Cardiovascular Surg*, 1984, 87(2): 190-200.
- [11] PASTORIS O, DOSSENA M, VERCESI L, et al. Biochemical changes induced in the myocardial cell during cardioplegic arrest supplemented with creatine phosphate [J]. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 1991, 5(5): 475-480.
- [12] CHAMBERS D, HAIRE K, MORLEY N, et al. St. Thomas' Hospital cardioplegia: enhanced protection with exogenous creatine phosphate [J]. *Ann Thorac Surg*, 1996, 61(1): 67-75.
- [13] KRYZHANOVSKII S, KACHARAVA V, MARKO R, et al. Electrophysiologic study of the anti-arrhythmic mechanism of action of phosphocreatine in acute myocardial ischemia and reperfusion [J]. *Kardiologiya*, 1991, 31(11): 66-69.

收稿日期: 2013-02-19

槲皮素-铝配位分子印迹聚合物的制备及其结合特性研究

贾宝秀, 谷志亮, 李玉琴, 齐永秀, 李珂, 刘彩虹(泰山医学院药学院, 山东 泰安 271016)

摘要: 目的 制备槲皮素-Al(III)配位分子印迹聚合物, 并对其特性进行研究, 为分子印迹技术和生物识别过程及机理的进一步理解奠定基础。方法 以 α -甲基丙烯酸为功能单体、槲皮素-Al(III)配合物为模板分子在甲醇中合成金属配位键的印迹聚合物, 通过紫外光谱、红外光谱、透射电镜分析及吸附试验对聚合物进行表征及性能研究。结果 紫外光谱表明, 槲皮素、Al(III)与 α -甲基丙烯酸发生了三元配位作用, 槲皮素-Al(III)模板印迹聚合物对槲皮素-Al(III)的配合物表现出明显的吸附选择性和特异性。结论 制备的槲皮素-Al(III)金属配位印迹聚合物对槲皮素-Al(III)配合物具有特异的识别作用, 在分离、检测样品中的槲皮素方面具有较好的应用前景。

关键词: 槲皮素; 铝离子; 分子印迹技术; 识别特性

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)01-0017-06

Preparation of Quercetin-Al(III) Complex Molecularly Imprinted Polymer and Its Binding Characteristics

JIA Baoxiu, GU Zhiliang, LI Yuqin, QI Yongxiu, LI Ke, LIU Caihong(College of Pharmaceutical, Taishan Medical University, Tai'an 271016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare molecularly imprinting polymer (MIP) of quercetin-Al(III) complex by using molecular imprinting technique(MIT), and study its binding characteristics. **METHODS** Using Al(III)-quercetin complex as

基金项目: 泰安市科技发展计划项目(20122054)

作者简介: 贾宝秀, 女, 硕士, 讲师 Tel: (0538)6229751 E-mail: jiabaoxiu@163.com