Cancer Res, 2013, 73(19): 6046-6055.

- [3] ZHU Y, ZHUANG J X, WANG Q, et al. Inhibitory effect of benzyl isothiocyanate on proliferation *in vitro* of human glioma cells [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(4): 2607-2610.
- [4] PANDYA N B, TIGARI P, DUPADAHALLI K, et al. Antitumor and antioxidant status of Terminalia catappa against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice [J]. Indian J Pharmacol, 2013, 45(5): 464-469.
- [5] ZHU C L, HUANG Q, LIU C H, et al. NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) C609T gene polymorphism association with digestive tract cancer: a meta-analysis [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(4): 2349-2354.
- [6] SHAHAT A A, ALSAID M S, ALYAHYA M A, et al. NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 inducer activity of some

Saudi Arabian medicinal plants [J]. Planta Med, 2013, 79(6): 459-464.

- [7] SEIBOLD P, HALL P, SCHOOF N, et al. Polymorphisms in oxidative stress-related genes and mortality in breast cancer patients--potential differential effects by radiotherapy? [J]. Breast, 2013, 22(5): 817-823.
- [8] SATO A, OKADA M, SHIBUYA K, et al. Pivotal role for ROS activation of p38 MAPK in the control of differentiation and tumor-initiating capacity of glioma-initiating cells [J]. Stem Cell Res, 2013, 12(1): 119-131.
- [9] PRAWAN A, KEUM Y S, KHOR T O, et al. Structural influence of isothiocyanates on the antioxidant response element (ARE)-mediated heme oxygenase-1 (HO-1) expression [J]. Pharm Res, 2008, 25(4): 836-844.

收稿日期: 2013-11-08

前列腺素 E₁ 预处理对缺血再灌注心肌细胞瞬时外向钾电流和内向整 流钾电流的影响

角灿武¹,韩圣娜², 付润芳², 张莉蓉²(1.濮阳市人民医院,河南濮阳 457000; 2.郑州大学基础医学院药理学教研室,郑州 475001)

摘要:目的 研究前列腺素 E₁(PGE₁)预处理对大鼠缺血再灌注心肌细胞瞬时外向钾电流(I_{to})和内向整流钾电流(I_{K1})的影 响。方法 应用 Langendorff 法制备大鼠离体心肌缺血再灌注模型,酶解法分离单个心室肌细胞,全细胞膜片钳技术记录 正常组、缺血再灌注组及不同浓度 PGE₁ 预处理组心肌细胞 I_{to} 和 I_{K1} 的变化。结果 在+60 mV 刺激电压时,正常大鼠心 室肌细胞 I_{to} 为(15.54±2.24) pA/pF(n=16),缺血再灌注时 I_{to} 减小到(9.99±2.03) pA/pF(n=16),与缺血再灌注组相比, PGE₁(14,42,126 µg·L⁻¹) 预处理使 I_{to} 分别增大到(14.24±1.97) pA/pF(n=17, P<0.05)、(18.41±1.39) pA/pF(n=13, P<0.05) π (21.63±3.2) pA/pF(n=12, P<0.05); I_{to} 半数失活电压 ($V_{1/2}$) 由缺血再灌注组的(-18.61 ± 7.81) mV(n=10) 分别降低到 (-27.95 ± 8.00) mV(n=11, P<0.05)、(-31.34 ± 7.59) mV(n=16, P<0.05) π (-39.50 ± 7.38) mV(n=13, P<0.05) σ 利增大到 (-31.89 ± 8.83) pA/pF(n=7, P<0.05)、(-32.36 ± 9.13) pA/pF(n=13, P<0.05)、(-34.70 ± 8.99) pA/pF(n=11, P<0.05)。结论 PGE₁ 预处理能增大大鼠缺血再灌注; 心肌细胞 I_{to} X_{ti} ,降低 I_{to} 的 $V_{1/2}$ 。 关键词:前列腺素 E₁;缺血再灌注; 心肌细胞; 全细胞膜片钳;瞬时外向钾电流;内向整流钾电流

中图分类号: R965.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2014)08-0942-05 **DOI:** 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.08.009

Effects of Pretreatment with Prostaglandin E_1 on Transient Outward Potassium Current and Inward Rectifying Potassium Current in Ischemia Reperfusion Myocytes

JIAO Canwu¹, HAN Shengna², FU Runfang², ZHANG Lirong²(1.People's Hospital of Puyang, Puyang 457000, China; 2.Department of Pharmacology, School of Medicine, Zhengzhou University, Zhengzhou 475001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effects of prostaglandin E_1 (PGE₁) pretreatment on transient outward potassium current and inward rectifying potassium current in ischemia/reperfusion cardiomyocytes and explore its possible mechanisms against ischemia/reperfusion injury. **METHODS** Isolated ischemia/reperfusion model was established according to Langendorff method, enzymatic method was used to isolate single ventricular myocytes, whole-cell patch-clamp was used to record I_{to} and I_{K1} in cardiomyocytes of normal group, ischemia/reperfusion group and PGE₁ pretreatment group. **RESULTS** PGE₁(14, 42, 126 µg·L⁻¹) pretreatment significantly increased I_{to} to $(14.24\pm1.97)pA/pF(n=17, P<0.05)$, $(18.41\pm1.39)pA/pF(n=13, P<0.05)$ and $(21.63\pm3.2)pA/pF(n=12, P<0.05)$ respectively from $(9.99\pm2.03)pA/pF(n=16)$ of ischemia/reperfusion group at the

作者简介: 角灿武, 男, 硕士, 主管药师 Tel: 15893289101 E-mail: jiaocanwu@126.com

stimulation voltage +60 mV. The half inactivation voltage of I_{to} were reduced to (-27.95 ± 8.00) mV(n=11, P<0.05), (-31.34 ± 7.59) mV(n=16, P<0.05) and (-39.50 ± 7.38) mV(n=13, P<0.05) respectively from (-18.61 ± 7.81) mV(n=10) of ischemia/reperfusion group. I_{K1} were (-11.68 ± 3.82) pA/pF(n=6, P<0.05) in ischemia/reperfusion group at the stimulation voltage -120 mV, but it increased to (-31.89 ± 8.83) pA/pF(n=7, P<0.05), (-32.36 ± 9.13) pA/pF(n=13, P<0.05) and (-34.70 ± 8.99) pA/pF(n=11, P<0.05) respectively following pretreatment with PGE₁(14, 42, 126 µg·L⁻¹). **CONCLUSION** PGE₁ pretreatment can increase I_{to} and I_{K1} in rat ischemia/reperfusion cardiomyocytes, and decrease the half inactivation voltage of I_{to} .

KEY WORDS: prostaglandin E₁; ischemia/reperfusion; cardiomyocytes; whole-cell patch clamp; transient outward potassium current; inward rectifying potassium current

心肌缺血再灌注损伤是临床上一种严重的心 肌损伤类型,其中由再灌注所致的严重室性心律 失常是造成冠心病患者猝死的重要原因^[1]。前列腺 素 E₁(PGE₁)预处理能促进缺血再灌注心肌细胞 ATP-敏感性钾通道开放发挥显著的心肌保护作 用^[2-3],但对心肌细胞其他钾通道有何影响未见报 道。本研究应用全细胞膜片钳技术研究 PGE₁ 预处 理对缺血再灌注大鼠心室肌细胞瞬时外向钾通道 电流(*I*_{to})和内向整流钾通道电流(*I*_{K1})的影响,探讨 其心肌保护作用的电生理机制。

1 材料与方法

1.1 仪器

EPC10 膜片钳放大器(德国 HEKA); IX-71 倒 置显微镜(日本 Olympus); P-97 微电极拉制仪(美 国 Sutter); PCS-5000 三维微电极操纵仪(美国 Buleigh)。

1.2 动物与试剂

SD 大鼠, ♀ å 各半, 体质量 250~300 g, 河 南省实验动物中心提供, 合格证号: SCXK(豫) 2009-0001。PGE1(南阳普康药业有限公司, 批号: 200802201, 规格: 100 ug); 胶原酶 II、蛋白酶 XIV、EGTA、HEPES、Na₂-ATP、格列本脲等均 购自 Sigma 公司,其余为国产分析纯。根据韩圣 娜等^[4]的方法配制台氏液(NaCl 140 mmol·L⁻¹, KCl 5.4 mmol·L⁻¹, MgCl₂ 1 mmol·L⁻¹, CaCl₂ 2 mmol·L⁻¹, HEPES 10 mmol·L⁻¹, Glucose 10 mmol·L⁻¹, 用 1 mmol·L⁻¹ NaOH 液滴定至 pH=7.4)、无钙台氏液 (细胞外液中去掉 CaCl₂)、高钾液(L-谷氨酸 120 mmol· L^{-1} , KOH 80 mmol· L^{-1} , KCl 20 mmol· L^{-1} , MgCl₂ 1 mmol·L⁻¹, EGTA 0.3 mmol·L⁻¹, HEPES 10 mmol·L⁻¹, Glucose 10 mmol·L⁻¹, 用 1 mmol·L⁻¹ NaOH 液滴定至 pH=7.4)、钾电极内液(KCl 140 mmol·L⁻¹, HEPES 10 mmol·L⁻¹, EGTA 5 mmol·L⁻¹, MgCL₂ 1 mmol·L⁻¹, Na₂-ATP 4 mmol·L⁻¹, 用 1 mmol·L⁻¹ NaOH 液滴定至 pH=7.3)、酶解液 (40 mL 无钙台氏液含胶原酶 II 9 mg 和蛋白酶

XIV 0.8 mg) $_{\circ}$

1.3 分组及单个心室肌细胞的分离

40 只大鼠随机分成 5 组: 正常组、缺血再灌 注组、PGE₁预处理组(14, 42, 126 µg·L⁻¹), 每组 8只。离体大鼠心肌缺血再灌注损伤模型制备及单 个心室肌细胞分离方法参照文献报道^[5-8]: 大鼠猛 击头部至昏,迅速开胸取心,置于4℃无钙台氏 液中,去除脂肪及结缔组织,将主动脉逆向插管 并固定于 Langendorff 灌流装置上,氧饱和的台氏 液经主动脉逆向灌流约 10 min 待稳定心律>200 次·min⁻¹后,正常对照组持续灌流 90 min,缺血再 灌注组为正常台氏液灌流 30 min 后, 停灌 30 min, 再正常灌流 30 min, PGE1 预处理组为停灌前的正 常台式液中加入不同剂量的 PGE1,灌流过程中保 持恒温 37 ℃。灌流结束后,先用无钙台氏液灌流 使心脏停跳,再用酶解液灌流 4 min,取下心脏, 剪去心房和基底部组织,将心室剪成碎块置于高 钾液中,吸管轻轻吹打使之分散出单个心肌细胞, 200 目滤网过滤,滤液室温保存备用。

1.4 全细胞膜片钳记录

电流全细胞膜片钳记录、刺激信号的产生、 采集及数据存储和分析均采用韩圣娜等^[4]的方法。 玻璃微电极用 2 步法拉制,电极尖端直径约 0.5~1 μ m,充以电极内液后阻抗为 2~5 M Ω 。将含 有适量细胞滤液的灌流槽置于倒置显微镜的操作 台上,用氧饱和的正常台式液 1 mL·min⁻¹ 持续灌 流,选择横纹清晰、耐钙的单个心肌细胞进行电 流记录。利用三维微电极操纵仪进行细胞封接, 封接电阻>1 G Ω ,高阻封接形成后吸破细胞膜并进 行串联电阻和电容电流补偿,形成全细胞记录模 型。实验过程由计算机软件 pulse 8.6(Heka Instrument)软件控制,完成刺激信号的产生、反馈 信号的采集及数据分析。用电压钳模式进行刺激 和记录 I_{to} 和 I_{K1} 电流。数据输入经过 1 kHz 的滤 波,并存储于计算机硬盘。

1.5 Ito 和 IK1 电流记录方法

 I_{to} 激活刺激参数:保持电位-80 mV,先去极 化至-40 mV,持续 50 ms,指令电压-30~+60 mV, 步阶 10 mV、持续 400 ms。 I_{to} 失活刺激参数:保 持电位-80 mV,先去极化至-40 mV,持续 50 ms, 指令电压-120~+40 mV,步阶 10 mV、持续 250 ms, 每一条件刺激后紧跟一固定的去极化至+60 mV刺 激电压,持续 250 ms。应用 Boltzmann 方程 $I_{to}/I_{to}(max)=1/{1+exp[(V_m-V_{1/2})/k]}$ 拟合,得 I_{to} 半数 失活电压 $(V_{1/2})$ 。 I_{K1} 刺激参数:保持电位-80 mV, 先去极化至-40 mV、持续 100 ms,指令电压 -150~+40 mV,步阶 10 mV,持续 300 ms。细胞 外液中分别加入 CdCl₂(0.3 mmol·L⁻¹)阻断 I_{Ca-L} , BaCl₂(2 mmol·L⁻¹)阻断 I_{K1} ,格列苯脲(10 µmol·L⁻¹) 阻断 $I_{K(ATP)}$ 。

1.6 数据处理

用 n 表示每实验组别记录的单个心肌细胞数, 所有实验结果以 x ± s 表示, 电流值以电流密度表 示(pA/pF,即单位膜电容电流)。统计比较采用 *t* 检验和单因素方差分析,检验水准α=0.05。

2 结果

2.1 PGE₁ 预处理对 I_{to} 的影响

*I*_{to} 为瞬时外向钾电流,呈电压依赖性,并能 被 4-氨基吡啶特异性阻断。大鼠心室肌细胞 *I*_{to} 缺 血再灌注时减小,其 *V*_{1/2}升高(去极化方向)。PGE₁ 预处理能增大缺血再灌注心肌细胞 *I*_{to},降低 *V*_{1/2}(超 极化方向),并在一定范围内随浓度增大而增大。 +60 mV 时 *I*_{to} 值及其 *V*_{1/2} 值见表 1, *I*_{to} 原始电流曲 线见图 1。

2.2 PGE1 预处理对 IK1 的影响

 I_{K1} 具有内向整流特性,能被 BaCl₂特异性阻断,大鼠心室肌细胞 I_{K1} 缺血再灌注时减小,PGE₁预处理增大 I_{K1} ,但在给定浓度范围内差异无统计学意义。-120 mV 时 I_{K1} 值见表 1, I_{K1} 原始电流曲线见图 2。

表 1 PGE₁ 预处理对缺血再灌注大鼠心肌细胞 $I_{to}(+60 \text{ mV})$ 、 $I_{k1}(-120 \text{ mV})$ 及 I_{to} 半数失活电压的影响($\bar{x} \pm s$) **Tab. 1** Effect of PGE₁ pretreament on $I_{to}(+60 \text{ mV})$, $I_{k1}(-120 \text{ mV})$ and half-inactive voltage of I_{to} in ischemia/reperfusion ventricular myocytes ($\bar{x} \pm s$)

•••			
组别	Ito峰电流密度(pA/pF)	Ito半数失活电压/mV	I _{K1} 峰电流密度(pA/pF)
正常组	15.54±2.24(<i>n</i> =16)	-25.50±6.68(<i>n</i> =16)	$-33.93 \pm 9.71 (n=24)$
缺血再灌注组	9.99 ± 2.03^{10} (<i>n</i> =16)	-18.61 ± 7.81^{10} (n=10)	-11.68 ± 3.82^{10} (n=6)
PGE1 预处理 14 µg·L ⁻¹	$14.24 \pm 1.97^{2}(n=17)$	$-27.95\pm8.00^{2}(n=11)$	$-31.89\pm8.83^{2}(n=7)$
PGE1 预处理 42 µg·L ⁻¹	$18.41 \pm 1.39^{2)3}(n=13)$	$-31.34\pm7.59^{2}(n=16)$	-32.36 ± 9.13^{20} (n=13)
PGE1 预处理 126 µg·L ⁻¹	$21.63\pm3.20^{2)3)4}$ (n=12)	-39.50 ± 7.38^{20} (n=13)	$-34.70\pm8.99^{2}(n=11)$

注: 与正常组比较, ¹⁾P<0.01; 与缺血再灌注组比较, ²⁾P<0.01; 与 PGE₁ 14 µg·L⁻¹ 组比较, ³⁾P<0.05; 与 PGE₁ 42 µg·L⁻¹ 组比较, ⁴⁾P<0.05. Note: Compared with Normal group P<0.01; compared with Ischemia/reperfusion group, ²⁾P<0.01; compared with PGE₁ 14 µg·L⁻¹ group, ³⁾P<0.05; compared with PGE₁ 42 µg·L⁻¹ group, ⁴⁾P<0.05.



图1 不同条件下大鼠心室肌细胞 Ito 记录曲线

A-I_{to}刺激信号;B-正常对照组;C-缺血再灌注组;D-PGE₁14 µg·L⁻¹组;E-PGE₁42 µg·L⁻¹组;F-PGE₁126 µg·L⁻¹组。

Fig. 1 I_{to} currents curves of rat ventricular myocytes under different conditions

A-using the activation pulse protocol of I_{to} ; B-normal group; C-ischemia/reperfusion group; D-PGE₁ 14 μ g·L⁻¹ group; E-PGE₁ 42 μ g·L⁻¹ group; F-PGE₁ 126 μ g·L⁻¹ group.



图2 不同条件下大鼠心室肌细胞 I_{K1}记录曲线

A-I_{K1}刺激信号; B-正常对照组 I_{K1}; C-缺血再灌注组; D-PGE₁ 14 µg·L⁻¹组; E-PGE₁ 42 µg·L⁻¹; F-PGE₁ 126 µg·L⁻¹组;

Fig. 2 I_{K1} currents of rat ventricular myocytes under different conditions

A-using the activation pulse protocol of I_{k1} ; B-normal group; C-ischemia/reperfusion group; D-PGE₁ 14 μ g·L⁻¹ group; E-PGE₁ 42 μ g·L⁻¹ group; F-PGE₁ 126 μ g·L⁻¹ group.

3 讨论

离子通道是细胞电活动的分子基础,也是许 多影响细胞电活动药物的作用靶点,通过改变离 子通道的活动发挥治疗作用。

Ito 是心肌细胞膜上钾通道电流的一种重要亚 型,并分为快成分和慢成分 2 种,是心肌动作电 位复极早期的主要外向钾电流,其电流幅度和动 力学特征的改变,能间接影响其他离子通道的激 活与失活,从而影响动作电位的形状、时程及有 效不应期,并参与多种心脏疾病的发生发展。Ito 通道分布具有组织特异性,因此, Ito 具有一定的 异质性,此异质性与心脏电活动有关,受许多调 控因素的影响。有研究显示,心力衰竭时兔左室 心肌细胞 Lo 通道蛋白表达水平明显下降,可能是 心力衰竭时室性心率失常发生的分子基础,增加 Ito 通道蛋白表达能降低心力衰竭时心率失常的发 生率^[9]。本研究结果显示,缺血再灌注时 Ito 明显 被抑制, Ito 值减小, 失活电压升高(去极化方向), 这一变化可使动作电位平台期延长,增加 Ca²⁺内 流,导致细胞内钙超载,形成再灌注损伤。因心 肌 Ito分布不均一性,缺血再灌注时 Ito被抑制易造 成离散度增大,从而诱发再灌注性心率失常。在 14~126 μg·L⁻¹内, PGE₁ 预处理能显著增大缺血再 灌注心室肌细胞 *I*_{to},降低 *I*_{to}半数失活电压,加速 复极,缩短动作电位时程,减少 Ca²⁺内流,抑制 细胞内钙超载,产生心肌保护作用。

心室肌细胞膜上存在丰富的 *I*_{K1} 通道,它没有 门控,既不受膜电位的影响,也不受激动剂控制, 但开放程度受膜电位影响,在静息膜电位水平,*I*_{K1} 通道处于开放状态,是维持心肌细胞膜静息电位 和正常兴奋节律的主要离子流,也是动作电位复 极末期的主要离子流^[10]。有研究表明,心室肌细 胞缺血再灌注时 *I*_{K1} 被抑制,药物干预使 *I*_{K1} 明显 增大,能够发挥抗心率失常的心肌保护作用^[11-13]。 本研究结果显示,缺血再灌注时 *I*_{K1} 内向电流和外 向电流峰值均减小,内向整流作用减弱,因此可 造成动作电位时程延长,改变细胞兴奋性,从而 造成复极异常。在 14~126 μg·L⁻¹ 浓度内,PGE₁ 预处理能显著增大缺血再灌注时 *I*_{K1} 值,使其恢复 至正常水平,产生抗心肌缺血再灌注损伤的心肌 保护作用。

前列腺素受体分 EP₁、EP₂、EP₃、EP₄等,均 属于 G 蛋白耦联受体家族,PGE₁为 EP 受体非选 择性激动剂。PGE₁ 预处理能产生显著的抗心肌缺 血再灌注损伤的心肌保护作用,但通过何种信号 途径作用于 *I*₁₀ 及 *I*_{K1}通道,有待进一步研究。

REFERENCES

- TANKA K, HEARSE D J. Reperfusion-induced arrhythmias in the isolated rabbit heart characterization of the influence of the duration of regional ischemia and the extracellular potassium concentration [J]. J Molcel Cardiol, 1988, 20(3): 21-?.
- [2] JIAO C W, FU R F, HAN S N, et.al. Effects of pretreatment with prostaglandin E₁ on potassium channels in ischemia/ reperfusion guinea pigs ventricular myocytes [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2013, 29(7): 1030-1031.
- [3] PETER J, HANLEY, JÜRGEN DAUT. K_{ATP} channels and preconditioning: A re-examination of the role of mitochondrial K_{ATP} channels and an overview of alternative mechanisms [J]. J Mol Cell Cardiol, 2005, 39(1): 17-50.
- [4] HAN S N, CHEN Q, ZHANG Y, et al. Inhibition of delayed rectifier K⁺ current on guinea pig ventricular myocytes and HERG K⁺ channel expressed in HEK-293 cells by fluconazole [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2010, 26(7): 861-866.
- [5] ZHANG Y X, LIU D H, JIAO C W, et al. Effect of prostaglandin E₁ on PKC and HSP70 in ischemia-reperfusion preconditioning Myocytes [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理 学通报), 2010, 27(3): 402-405.
- [6] SKRZYPIEC-SPRING M, GROTTHUS B, SZELAG A, et al. Isolated heart perfusion according to Langendorff-Still viable in the new millennium [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2007, 55(2): 113-126.

- [7] YU L, YIN Y Q, LI X, et al. Effects of taurine magnesium coordination compound on potassium current in guinea pig ventricular cardiomyocytes [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药 理学通报), 2008, 24(2): 203-205.
- [8] ZHANG D J, DU H, LIU M C, et al. Influence of Oxytropis falcate Bunge on NO and NOS of myocardial ischemia-reperfusion injury in rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(10): 1054-1058.
- [9] CHEN W T, LI X, NI Y J, et al. Bisoprolol reverse down-regulated I_{to} and I_{K1} in left ventricle of rabbits with heart failure [J]. Mol Cardiol China(中国分子心脏病学杂志), 2013, 13(1): 419-423.
- [10] YAO T, CAO J M, FAN X L, et al. Physiology(生理学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005: 129.
- [11] REN J T, WANG H, WANG T Z, et al. Effects of captopril on I_{to} and I_{kl} channels of volume overloaded heart failure rats [J]. J Xi'an Jiaotong Univ(Med Sci)(西安交通大学学报: 医学版), 2013, 34(1): 50-53.
- [12] LIU Q H, WU B W, ZHANG Y, et al. Zacopride enhances inward rectifier potassium current(Ik1) to antagonize arrhythmias [J]. Chin J Pathophysiol(中国病理生理杂志), 2010, 26(6): 1041-1046.
- [13] DIAZ R J, ZOBEL C, CHO C, et al. Selective inhibition of inward rectifier K⁺ channels (Kir2.1 or Kir2.2) abolishes protection by ischemic preconditioning in rabbit ventricular cardiomyocytes [J]. Circ Res. 2004, 95(3): 325-332.

收稿日期: 2013-10-29

地黄块根中化学成分变化规律及与其组织结构相关性研究

陈随清, 陈燕, 姜迪, 张飞(河南中医学院, 郑州 450046)

摘要:目的 研究地黄在生长过程中化学成分含量的变化,确定地黄主要化学成分动态积累的规律及与其组织结构变化 的相关性,确定最佳采收期。方法 采用 HPLC 对地黄中梓醇、毛蕊花糖苷进行含量测定;采用 RP-HPLC-RID 对地黄 中单、寡糖进行含量测定;采用硫酸-苯酚法对地黄中多糖含量进行测定;采用氨基酸自动分析仪测定地黄中氨基酸含量; 采用 SPSS 软件对各成分进行主成分分析;通过制作石蜡切片、徒手切片观察地黄组织结构变化;并采用 SPSS 软件对其 化学成分含量与其组织结构间的相关性进行分析。结果 地黄 85-5 中梓醇含量与木质部比例、皮层比例有显著相关性, 多糖含量与韧皮部比例有显著相关性,水苏糖含量与木质部比例、韧皮部占木质部比例、皮层比例、分泌细胞数目有显 著相关性;北京 3 号中氨基酸含量与皮层比例、分泌细胞数目有显著相关性。结论 地黄块根中各化学成分均在 10 下旬 至 11 月上旬含量较高,此时块根韧皮部比例最小,木质部比例最大,与传统地黄采收期相吻合。

关键词:地黄;化学成分;石蜡切片;动态积累;主成分分析

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2014)08-0946-08 **DOI**: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.08.010

基金项目: 十二五国家科技支撑计划(2011BAI06B02); 中央本级重大增减支项目(20603020222) 作者简介: 陈随清, 男, 博士, 教授 Tel: (0371)65676686 E-mail: suiqingchen@sohu.com