

克班宁脂质体抗心律失常作用的研究

陈玲玲¹, 马云淑^{2*}, 晏菲², 汪玻², 李媛², 梁启航²(1.保山中医药高等专科学校, 云南 保山 650500; 2.云南中医学院药学院, 昆明 650500)

摘要: 目的 比较克班宁(crebanine, Cre)及其脂质体的抗心律失常作用。方法 分别采用氯化钡、乌头碱引起的大鼠心律失常模型, 比较 Cre 及 Cre 脂质体抗心律失常作用。结果 对氯化钡所致的心律失常, Cre 脂质体高剂量组(5 mg·kg⁻¹)能使恢复窦性节律鼠数、维持窦性节律至 20 min 以上鼠数显著高于生理盐水组($P<0.01$); Cre 脂质体 5 mg·kg⁻¹能使乌头碱所致大鼠 VP、VT、VF、死亡时间显著延迟, 与生理盐水相比, 差异具有显著性意义($P<0.01$); 与同剂量 Cre 溶液相比, Cre 脂质体的 VF 出现的时间明显延长($P<0.01$)。结论 Cre 脂质体对氯化钡所致的心律失常有一定治疗作用、对乌头碱引起的心律失常有一定预防作用。

关键词: 克班宁; 脂质体; 抗心律失常

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2016)11-1359-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.11.002

Research on Antiarrhythmic Effects of Crebanine Liposomes

CHEN Lingling¹, MA Yunshu^{2*}, YAN Fei², WANG Bo², LI Yuan², LIANG Qihang²(1.Baoshan College of Traditional Chinese Medicine, Baoshan 650500, China; 2.Yunnan University of TCM, School of Pharmacy, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To compare the anti-arrhythmic effects of crebanine(Cre) and Cre liposomes. **METHODS** Used the arrhythmia model of rats caused by barium chloride or aconitine, to compare antiarrhythmic effects of Cre and Cre liposomes. **RESULTS** To arrhythmia induced by barium chloride, both of the high or low dose group of Cre liposomes (5, 2.5 mg·kg⁻¹) could restore rats' sinus rhythm, and maintain rats' sinus rhythm to 20 min, the result was significantly higher than the saline group ($P<0.01$); Cre liposomes (5 mg·kg⁻¹) could significantly delay the time of VP, VT, VF death which caused by aconitine, compared with NS, the difference was of great significance($P<0.01$); compared with the same dose of Cre solution, VF appear time of Cre liposomes was longer ($P<0.01$). **CONCLUSION** Crebanine liposomes have some therapeutic effects on arrhythmia induced by barium chloride, and it also have a preventive effect on arrhythmia induced by aconitine.

KEY WORDS: crebanine; liposomes; Antiarrhythmic

克班宁(crebanine, Cre)是从防己科千金藤属云南地不容(*Stephanina Yunnanensis* H.S.Lo)及其他几种同属植物中^[1]提取的一种异喹啉类阿朴菲型生物碱。Cre 具有较强的心血管活性, 淤泽溥等^[2]研究表明 Cre 对多种动物实验性心律失常具有较强的改善作用, 且起效迅速, 活性高, 比阳性对照药利多卡因维持时间长。静注 Cre(5 mg·kg⁻¹)能减少 CaCl₂ 所致大鼠和氯仿所致小鼠的室颤发生率 and 死亡率; 但不能提高豚鼠心脏哇巴因中毒的耐受量^[2]; 急性毒性试验表明, Cre 静注 LD₅₀ 的 95% 可信限为 8.314~10.600 mg·kg⁻¹ ^[3]。尽管 Cre 药效强, 起效快, 但不够稳定, 见光、高温易氧化变色, 又由于该药静注不良反应较大, 治疗

指数小, 因此笔者尝试将克班宁进行脂质体新剂型改变, 经测试克班宁脂质体的半数致死量 LD₅₀ 提高到 16.085 mg·kg⁻¹ ^[4]; 在此基础上, 本实验采用 BaCl₂ 所致大鼠的心律失常模型和乌头碱所致大鼠室颤模型对 Cre 脂质体和 Cre 溶液的抗心律失常作用进行比较研究, 为研究开发 Cre 脂质体提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 药品与试剂

Cre(实验室自制, 批号: 20101108, 纯度 98.7%); BaCl₂(AR, 北京化工厂); 水合氯醛(AR, 天津科密欧化学试剂有限公司, 批号: 20100430); 无菌生理盐水(昆明市宇斯药业有限责任公司, 批

基金项目: 国家自然科学基金项目(81260651)

作者简介: 陈玲玲, 女, 硕士 Tel: 13887822910
(0871)65918204 E-mail: yunshuma2@126.com

E-mail: 545994167@qq.com

*通信作者: 马云淑, 女, 教授, 硕导

Tel:

号: 13022201); 乌头碱(昆明风山新医药研究有限公司, 批号: 068120914, 纯度>98%); 克班宁脂质体(实验室自制, 包封率 81.15%)。

1.2 动物

SD 大鼠, ♂, 体质量 200~240 g, 由四川简阳实验动物中心提供, 生产许可证: SCXK(川)200824, 合格证号: 0017193, 批号: 0017192。

1.3 仪器

BL-420E 生物机能试验系统(成都泰盟科技有限公司); Sartorius BT25S 电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; SK250HP 超声机(上海科导超声仪器有限公司); 电热恒温水浴锅(北京市永光明仪器厂); DHG-9023A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); WZ-50C6 微量注射泵(浙江史密斯医学仪器有限公司); 注射器(湖南平安医疗器械有限公司)。

2 方法与结果

2.1 Cre 脂质体对 BaCl₂所致的大鼠心律失常的治疗作用

筛选大鼠 40 只, ♂, 体质量(220±20)g, 随机分为 4 组, 分别为对照组、Cre 组, Cre 脂质体低、高剂量组。各组大鼠 10%水合氯醛 300 mg·kg⁻¹ 麻醉, 仰位固定于手术台上。记录正常 II 导联心电图, 于舌下静脉按 40 mg·kg⁻¹ 的剂量快速注入 0.4% BaCl₂。记录 II 导联心电图, 待出现心律失常后 3 min, Cre 脂质体高、低剂量组分别舌下静脉注射 5, 2.5 mg·kg⁻¹ Cre 脂质体; Cre 组静脉注射 5 mg·kg⁻¹ Cre 水溶液; 对照组注射等体积生理盐水, 记录 II 导联心电图。观察 20 min 内各组转为窦性节律的鼠数、给药后 5 min 内恢复窦性心律的时间及转律后维持时间>20 min 的鼠数, 并进行比较。

采用统计学软件处理, 给药后恢复窦性心律的大鼠只数与转律后维持时间>20 min 的鼠数等计数资料用 χ^2 检验, 以 $P=0.05$ 为检验水准; 给药后恢复窦性心律的时间则以均 $\bar{x} \pm s$ 表示, 进行组间样本 t 检验, 取 $P<0.05$ 为显著差异水平, $P<0.01$ 为极其显著差异水平, 所得数据进行比较分析, 结果见表 1。

由表 1 可知, 5 min 内 Cre 脂质体 5 mg·kg⁻¹ 组有 8 只大鼠恢复窦性节律, 且转律都能维持至 20 min 以上; Cre 脂质体 2.5 mg·kg⁻¹ 组有 4 只大鼠恢复窦性节律, 其中 3 只大鼠心律能维持至 20 min 以上。与生理盐水组比较, Cre 高剂量组恢

表 1 Cre 脂质体对 BaCl₂致大鼠心律失常的治疗作用($n=10$)

Tab. 1 Antiarrhythmic effect of Cre liposomes on arrhythmia model of rats caused by barium chloride($n=10$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	5 min 内恢 复窦性心律 的鼠数/只	给药后恢复 窦性心律的 时间/s	恢复窦性心 时间>20 min 鼠数/只
生理盐水组	/	0	724.00±156.33	0
Cre 组	5	9 ²⁾	45.20±49.76 ²⁾	8 ²⁾
Cre 脂质体 高剂量组	5	8 ²⁾	104.20±78.94 ²⁾	8 ²⁾
Cre 脂质体 低剂量组	2.5	4 ¹⁾	559.60±353.96	3

注: 与生理盐水组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with NS group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

复窦性节律的时间显著缩短, 差异具有非常显著性意义($P<0.01$)。结果表明, Cre 脂质体对 BaCl₂诱发的大鼠心律失常有一定拮抗作用, 但与 Cre 溶液相比, 差异无显著性意义。

2.2 Cre 脂质体对乌头碱诱发的心律失常模型的预防作用

选取健康 SD 大鼠 30 只, ♂, 体质量(220±20)g, 随机分成 3 组, 分别为生理盐水组、Cre 组和 Cre 脂质体组。各组大鼠静脉注射 10%水合氯醛 300 mg·kg⁻¹ 麻醉, 仰位固定于手术台上, 记录正常 II 导联心电图。Cre 脂质体组、Cre 组和生理盐水组分别于舌下静脉按 5 mg·kg⁻¹ Cre 脂质体, 5 mg·kg⁻¹ Cre 和等量生理盐水。由股静脉注入乌头碱(用微量注射泵推注, 乌头碱浓度为 10 μg·mL⁻¹, 速度为 6 mL·h⁻¹), 同时监测心电图 II 导联。观察注射乌头碱后大鼠发生心律失常的情况, 分别记录室早(VP)和室速(VT)、室颤(VF)的出现时间, 比较各组差异。在所得实验数据中, 给药后 VP、VT、VF 出现的时间以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用统计学软件进行组间样本 t 检验, 取 $P<0.05$ 为显著差异水平, $P<0.01$ 为极其显著差异水平, 所得数据进行比较分析, 结果见表 2。

由表 2 可知, Cre 脂质体在给药后能使乌头碱所致大鼠心律失常的 VP、VT、VF 出现的时间延迟, 从而延迟其死亡时间。与生理盐水组比较, Cre 脂质体组 VP、VT、VF、死亡时间明显延长, 差异均具有非常显著性意义($P<0.01$)。与 Cre 溶液相比, Cre 脂质体给药后 VF 出现的时间, 差异也具有非常显著性意义($P<0.01$), 可见, Cre 脂质体对乌头碱诱发的大鼠心律失常有一定预防作用。且预防作用优于 Cre 溶液, 提示制备成脂质体后具有一定的缓释延效作用。

表 2 Cre 脂质体对乌头碱所致的大鼠心律失常模型的影响

Tab. 2 Antiarrhythmic effect of Cre liposomes on arrhythmia model of rats caused by aconitine

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	VP/s	VT/s	VF/s	死亡/s
生理盐水组	/	189.30±41.67	295.60±59.73	418.50±40.81	603.90±48.81
Cre 组	5	235.60±112.58 ¹⁾	418.60±90.35 ²⁾	597.60±89.88 ²⁾	853.90±116.39 ²⁾
Cre 脂质体组	5	330.80±104.88 ²⁾	501.02±62.00 ²⁾	819.80±114.92 ²⁾³⁾	1 036.20±196.82 ²⁾

注：与生理盐水组比较，¹⁾P<0.05，²⁾P<0.01；与 Cre 组比较，³⁾P<0.01。

Note: Compared with NS group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01; compared with Cre group, ³⁾P<0.01.

3 讨论

本实验结果表明，在对 BaCl₂ 所致的大鼠心律失常治疗作用模型中，与生理盐水组相比，Cre 脂质体的 2 个剂量(5 和 2.5 mg·kg⁻¹)中，高剂量组能显著增加恢复窦性心律的大鼠只数(P<0.01)，延长给药后恢复窦性心律失常所需时间(P<0.01)，低剂量组不能显著延长给药后恢复窦性心率失常的时间。但 Cre 脂质体 2 个剂量组与 Cre 溶液组相比，无统计学意义；提示 Cre 脂质体与 Cre 溶液一样，对 BaCl₂ 诱发的大鼠心律失常有一定拮抗作用，Cre 脂质体 5 mg·kg⁻¹ 组有明显作用。

由于研究的目的是比较 Cre 经制备成脂质体是否比原药降低毒性，以及是否比原药增强药效和延长药效，且 Cre 溶液经静脉注射的抗大鼠心律失常作用已经过多次实验研究确认^[2,4]，因此本实验以 Cre 溶液为阳性对照，未再选用其他常用抗心律失常阳性对照药。

克班宁脂质体预防给药均能延长乌头碱所致

大鼠心律失常各期(VP、VT、VF)出现时间，从而延长大鼠死亡时间。与 Cre 溶液相比，Cre 脂质体还能显著延长乌头碱所致室颤(VF)出现的时间(P<0.01)。对比 BaCl₂ 所致的大鼠心律失常的治疗作用，提示 Cre 脂质体预防心律失常效果比治疗效果更好一些，这可能和脂质体的缓释作用有关，具体机制还有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] MA Y S, FANG B, ZHANG Z L. Resources investigation of stephania containing crebanine in Yunnan [J]. J Yunnan Coll Tradit Chin Med(云南中医学院学报), 2005, 28(1): 18-21.
- [2] YU Z B, MA Y S, ZHAO Z X, et al. Antiarrhythmic Effects of Crebanine [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 1992, 17(11): 685-687.
- [3] MA Y S, WU H P, ZHANG Z L. Acute toxicity and antiarrhythmia effect of crebanine [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2005, 22(5): 369-370.
- [4] 陈玲玲, 马云淑. 克班宁溶液和脂质体的急性毒性研究[J]. 医药前沿, 2014(11): 257-258.

收稿日期: 2015-11-04

木蝴蝶挥发性成分体外抗肿瘤活性评价及化学成分研究

李楠楠¹, 孟宪生^{1,2,3,4*}, 包永睿^{1,2,3,4}, 王帅^{1,2,3,4}, 孔晔⁴(1.辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600; 2.辽宁省组分中药工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600; 3.辽宁省现代中药研究工程实验室, 辽宁 大连 116600; 4.辽宁中医药大学-安捷伦科技现代中医药多组学研究合作实验室, 辽宁 大连 116600)

摘要: 目的 开展中药木蝴蝶挥发性成分的体外抗肝肿瘤作用研究, 并在此基础上对其发挥抗肿瘤作用的木蝴蝶挥发性成分进行化学成分分析。方法 采用体外评价法考察木蝴蝶挥发性成分对人肝癌 SMMC-7721 细胞的抑制作用; 采用 GC-MS 对木蝴蝶挥发性成分进行化学分析。结果 木蝴蝶挥发性成分对人肝癌 SMMC-7721 细胞具有明显的抑制作用; 其挥发性成分鉴定出 19 种化合物, 其中甾醇类、酮类化合物含量最高。结论 木蝴蝶挥发性成分是中药木蝴蝶发挥抗肿瘤作用的有效组分, 其发挥药效的物质可能为烃类、苯类、甾醇类、酸类、酯类、酮类等化合物。

关键词: 木蝴蝶; 挥发性成分; 抗肿瘤; SMMC-7721; GC-MS

中图分类号: R285.5; R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2016)11-1361-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.11.003

基金项目: “十二五”重大新药创制科技重大专项(2013ZX09507005-004)

作者简介: 李楠楠, 女, 硕士生 Tel: (0411)85890185 E-mail: linannan-999@163.com *通信作者: 孟宪生, 男, 博士, 教授 Tel: (0411)85890185 E-mail: mxsvvv@126.com