三七皂苷 Fc 对 SD 大鼠心室肌细胞钠离子通道电流的影响

钟飞[1]，李梦婷[1]，杜娅娅[1]，许正新[1,2,3,4*](1.扬州大学医学院药学系，江苏 扬州 225000；2.江苏省重点动物传染病和人畜共患病预防控制共创中心，江苏 扬州 225001；3.江苏省中西医结合老年病防治重点实验室，江苏 扬州 225001；4.江苏省非编码 RNA 基础与临床转化重点实验室，江苏 扬州 225009)

摘要：目的 探究三七皂苷 Fc(notoginsenoside Fc，N-Fc)对 SD 大鼠心室肌细胞钠离子通道电流的影响。**方法** 使用 Langendorff 恒温恒压灌流装置通过酶解法急性分离 SD 大鼠心室肌细胞，采用标准全细胞膜片钳技术观察并记录不同浓度的 N-Fc 对大鼠心室肌细胞钠通道电流(I_{Na})及其动力学特征的影响。**结果** 5 μmol·L^{-1} 的 N-Fc 对 I_{Na} 无明显影响，随着药物浓度的增加，10，20，50 μmol·L^{-1} 的 N-Fc 可使钠峰值电流由给药前的(–87.49±3.40)pA/pF 依次下降为(–62.91±2.37)，(–49.30±1.27)，(–34.68±3.21)pA/pF(P<0.01)；I_{Na} 的 *I-V* 曲线上移，但形态轨迹、激活电位及峰电位基本不变；I_{Na} 的激活曲线向去极化方向迁移，半数激活电压由给药前的(–52.37±1.32)mV 变为(–42.74±0.37)，(–38.92±2.77)，(–33.78±0.96)mV (P<0.05)；失活曲线显著左移，半数失活电压($V_{1/2\text{-in}}$)由(–55.95±4.88)mV 依次变为(–64.29±1.77)，(–69.57±3.47)，(–73.32±3.79)mV(P<0.05)；此外，N-Fc 能够显著延长 I_{Na} 失活后恢复时间，时间常数 τ 值(给药前，10，20，50 μmol·L^{-1} N-Fc 处理后)分别为(12.50±1.17)，(21.36±2.23)，(25.35±1.25)，(34.35±1.24)ms(P<0.05)。**结论** N-Fc 能浓度依赖性地抑制 SD 大鼠心室肌细胞的 I_{Na}，并能显著影响其激活、失活及失活后恢复的动力学特征。

关键词：三七皂苷 Fc；膜片钳；钠通道；心室肌细胞；SD 大鼠

中图分类号：R965.2 **文献标志码：**A **文章编号：**1007-7693(2022)09-1162-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.09.005

引用本文：钟飞，李梦婷，杜娅娅，等. 三七皂苷 Fc 对 SD 大鼠心室肌细胞钠离子通道电流的影响[J]. 中国现代应用药学，2022, 39(9): 1162-1167.

Effects of Notoginsenoside Fc on Sodium Ion Channel Currents in Ventricular Myocytes of SD Rats

ZHONG Fei[1], LI Mengting[1], DU Yaya[1], XU Zhengxin[1,2,3,4*](*1.Department of Pharmacology, School of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225000, China; 2.Key Joint Center of Infectious Diseases and Zoonosis Prevention and Control of Jiangsu Province, Yangzhou 225001, China; 3.Key Laboratory of Integrative Medicine in Geriatrics Control of Jiangsu Province, Yangzhou 225001, China; 4.Key Laboratory of Experimental & Translational Non-coding RNA Research of Jiangsu Province, Yangzhou 225009, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the effects of notoginsenoside Fc(N-Fc) on sodium ion channel currents of ventricular myocytes in SD rats. **METHODS** Ventricular myocardial cells were enzymatically isolated from SD rats by Langendorff with constant pressure and temperature, the whole-cell patch clamp techniques were used to observe and record the effects of I_{Na} and its kinetics in ventricular mgocytes of SD rats treated with different concentrations of N-Fc. **RESULTS** There was no significant effect on I_{Na} when the concentration of N-Fc was 5 μmol·L^{-1}, with the increase of drug concentration, the peak sodium current was decreased from (–87.49±3.40)pA/pF to (–62.91±2.37), (–49.30±1.27), (–34.68±3.21)pA/pF(P<0.01) under the effects of 10, 20 and 50 μmol·L^{-1} N-Fc. *I-V* curve of I_{Na} were shifted upward, but the morphological trajectories, activation potential and peak potential did not change. The activation curve of I_{Na} were shifted to the depolarization direction, and the half in activation voltage was changed from (–52.37±1.32)mV to (–42.74±0.37), (–38.92±2.77), (–33.78±0.96)mV(P<0.05). The inactivation curve shifted significantly to the left, the half inactivation voltage changed from (–55.95±4.88)mV to (–64.29±1.77), (–69.57±3.47), (–73.32±3.79)mV(P<0.05). In addition, N-Fc significantly prolonged the recovery time after I_{Na} inactivation, and the time constant τ(before administration, after treated with 10, 20, 50 μmol·L^{-1} N-Fc) were (12.50±1.17), (21.36±2.23), (25.35±1.25), (34.35±1.24)ms(P<0.05). **CONCLUSION** N-Fc can inhibit I_{Na} of SD rats ventricular myocytes in a concentration-dependent manner and it has an significant effect on the kinetics characteristics of activation, inactivation and recovery.

KEYWORDS: notoginsenoside Fc; patch clamp; sodium channel; ventricular myocytes; SD rats

基金项目：扬州大学大学生科研创新计划项目(X20200782)

作者简介：钟飞，男，硕士生 E-mail: 1726089727@qq.com *__通信作者：__许正新，男，博士，教授 E-mail: xuzhengxin405@126.com

三七又名田七、参三七、金不换，为五加科人参属草本植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根及根茎[1]。三七性味甘，微苦，温，入肝、胃经，具有散瘀止血、消肿定痛之功效，现代药理学发现其在心血管系统、神经系统、代谢及免疫调节等方面均有不同的功效[2-3]。三七皂苷 Fc(notoginsenoside Fc，N-Fc)作为三七特有的皂苷，存在于三七全株多个部位，尤其在三七花中的含量相对较高[4]。王峥涛等[5]比较了三七皂苷各成分抗血小板聚集活性，发现 N-Fc 活性最强，可显著对抗血栓性疾病。此外，研究报道 N-Fc 具有缓解心肌梗死、改善心肌缺血及防治心肌损伤等多种药理活性[6-7]。然而 N-Fc 在心肌方面影响的具体分子机制尚不清楚，其对心室肌细胞电生理特性的影响也未见报道，鉴于药物在发挥抗心肌缺血及心肌保护作用时与离子通道变化密切相关，笔者推测 N-Fc 可能对心室肌细胞上某种或几种离子通道具有影响。钠、钾、钙等常见离子通道在心肌细胞膜上分布最为广泛[8]。其中作为 I 类抗心律失常药物的作用靶点，电压门控性钠通道可引发心肌细胞动作电位，从而完成心脏信号传导，在维持心脏电生理过程中不可或缺[9]。因此本实验利用全细胞膜片钳技术，观察记录 N-Fc 对急性分离 SD 大鼠心室肌细胞中钠离子电流的影响，探究其对心脏作用的电生理机制。

1 材料和方法

1.1 动物

SD 大鼠 30 只，体质量 200~300 g，♀♂各半，扬州大学比较医学中心提供，实验动物生产许可证号：SCXK(苏)2019-0001；实验动物使用许可证号：SYXK(苏)2017-0044。

1.2 药品

N-Fc(成都埃法生物科技有限公司，批号：AF1129138；纯度：99%)；胶原酶 II(Worthington 公司，批号：44N15308B)；牛磺酸(批号：101282014)、CsCl(批号：101368097)、TEA-Cl(批号：101394223)、Mg-ATP(批号：1001571838)、4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES，批号：1001621577)均购自 Sigma 公司；肝素钠(批号：301A028)、L-谷氨酸(批号：405A096)、葡萄糖(批号：405A096)均购自 Solarbio 公司；EGTA(Fluka 公司，批号：101257840)；牛血清白蛋白(bovine serum albumin，BSA)(ICN 公司，批号：8398F)；河鲀毒素(tetrodotoxin，TTX)(AFFIX 公司，批号：AF02)；其余试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器

EPC-10 USB/Patchmaster 单通道膜片钳放大器(德国 HEKA 公司)；IX73 倒置科研级显微镜(日本 OLYMPUS 公司)；MP-225 显微操作器系统、P-97 微电极拉制仪(美国 SUTTER 公司)；防震台(美国 TMC 公司)；硼硅酸盐玻璃电极(武汉微探有限公司，外径 1.5 mm，内径 0.86 mm)。

1.4 试剂

无钙台氏液：NaCl 136.0 mmol·L^{-1}，KCl 5.5 mmol·L^{-1}，NaH_2PO_4 0.3 mmol·L^{-1}，$MgCl_2$ 1.0 mmol·L^{-1}，HEPES 5.0 mmol·L^{-1}，葡萄糖 10.9 mmol·L^{-1}。用 NaOH 调 pH 为 7.27~7.29。

台氏液：无钙台氏液中加 $CaCl_2$ 至终浓度为 1.8 mmol·L^{-1}。

酶液：无钙台氏液中加 0.4 g·L^{-1} 胶原酶II，1.0 g·L^{-1} BSA，0.4 g·L^{-1} 牛磺酸，30.0 μmol·L^{-1} $CaCl_2$。

KB 液：L-谷氨酸 70.0 mmol·L^{-1}，牛磺酸 10.0 mmol·L^{-1}，KCl 25.0 mmol·L^{-1}，NaH_2PO_4 10.0 mmol·L^{-1}，EGTA 0.5 mmol·L^{-1}，葡萄糖 11.0 mmol·L^{-1}，HEPES 5.0 mmol·L^{-1}，KOH 89.0 mmol·L^{-1}，用 KOH 调 pH 为 7.30~7.32。

电极内液：CsCl 133.0 mmol·L^{-1}，NaCl 5.0 mmol·L^{-1}，TEA-Cl 10.0 mmol·L^{-1}，EGTA 10.0 mmol·L^{-1}，HEPES 5.0 mmol·L^{-1}，Mg-ATP 5.0 mmol·L^{-1}，用 CsOH 调 pH 为 7.30。

细胞外液：NaCl 135.0 mmol·L^{-1}，CsCl 5.4 mmol·L^{-1}，$MgCl_2$ 1.0 mmol·L^{-1}，$CaCl_2$ 1.8 mmol·L^{-1}，HEPES 5.0 mmol·L^{-1}，葡萄糖 10.0 mmol·L^{-1}，$CdCl_2$ 0.1 mmol·L^{-1}，用 NaOH 调节 pH 至 7.40。

TTX：10 μmol·L^{-1}。

N-Fc 以二甲基亚砜(DMSO)配制并稀释成浓度为 5，10，20，50 μmol·L^{-1} 备用，实验所选浓度均在安全剂量范围[10]。

1.5 大鼠心室肌细胞的分离

大鼠心室肌细胞的分离参考相关文献[11]并改进。具体过程如下：取 200~300 g 大鼠，腹腔注射肝素钠 2 000 IU·kg^{-1}，10 min 后以同样的方法注射 2%戊巴比妥钠(40 mg·kg^{-1})，麻醉成功后迅速开胸暴露心脏，快速取出心脏置于 4 ℃无钙台式液中，简单修剪多余组织、清洗后迅速将主动脉结扎固定于 Langendorff 灌流装置。先用台式液灌流使心

脏复跳排出内部残血，然后换用无钙台氏液灌流大约 6 min，最后用 100%氧饱和的酶溶液循环灌流直到心脏明显变大有弹性；颜色略黄；滴速变快、流出液呈浑浊并有黏稠感时即终止消化。将心室和心房分离轻微剪碎，取心室部分 100 目滤网过滤，轻轻吹打得到单个心室肌细胞，KB 液换洗 3 次后置于 KB 液中，4 ℃下静置保存 2 h 备用。整个灌流过程中持续充氧，均在(37±0.5)℃环境下进行。

1.6 全细胞膜片钳记录

实验所用的玻璃微电极由程序化的 P-97 水平拉制仪拉制而成，最终形成的电极其尖端直径为 1.5~2.0 μm，实验前由尾端注入电极内液。主要参数：入液电阻 4~8 MΩ，串联电阻补偿 20%~40%。

将分离得到的心室肌细胞置于培养皿中，细胞外液灌流 2 min 以除去残存的 KB 液。静置 3 min 待细胞完全沉降贴壁后，选择无自主颤动收缩、膜纹完整清晰的细胞作为实验对象，用 EPC-10 USB/Patchmaster 单通道膜片钳放大器引导、记录 I_{Na} 的相关数据。

1.7 实验设计

实验采取给药前、后自身对照的方式进行，所给 N-Fc 浓度分别为 5，10，20，50 μmol·L^{-1}。细胞形成全细胞封接后，在电压钳模式下按照各指标的特定刺激方案分别记录给药前和给药后的 I_{Na}。为了最大程度地消除细胞大小差异所带来的实验误差，实验过程中所用的电流值均以电流密度表示，单位 pA/pF。

1.8 统计学方法

采用 PatchMaster 软件采集引导出的电流，联合使用 Origin 8.0 和 Graphpad Prism 6.1 对数据进行转换分析和拟合。符合正态分布的数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，使用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计学处理，给药前后比较采用配对 t 检验，P<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 N-Fc 对心室肌细胞 I_{Na} 的影响

刺激方案参考文献[12]，在电压钳模式下，保持电位–80 mV，给予指令电压–30 mV，持续时间 30 ms 的方波刺激，引导出一个内向电流，见图 1。当在细胞外液中加入 10 μmol·L^{-1} 的 TTX 后该电流明显减小，电流密度由给药前的(–86.99±2.45)pA/pF 变为(–21.75±0.61)pA/pF(n=6，P<0.05)，用正常细胞外液灌流洗脱 TTX 后电流又可部分恢复。由于 TTX 为特异性的钠通道阻滞剂，由此证明在此刺激方案下引导出的电流为钠电流(I_{Na})。

在成功引导出 I_{Na} 的基础上，笔者尝试研究 N-Fc 能否对 I_{Na} 产生影响，抑或其影响性质。由于记录初期电流尚不稳定，故待实验开始 10 min，电流稳定后，在细胞外液中加入 50 μmol·L^{-1} 的 N-Fc，施加如前一样的刺激[12]，引导出给药后的 I_{Na}，见图 1。与给药前相比，50 μmol·L^{-1} 的 N-Fc 作用后，内向的 I_{Na} 明显减小，说明 50 μmol·L^{-1} 的 N-Fc 对 I_{Na} 具有显著的抑制作用。

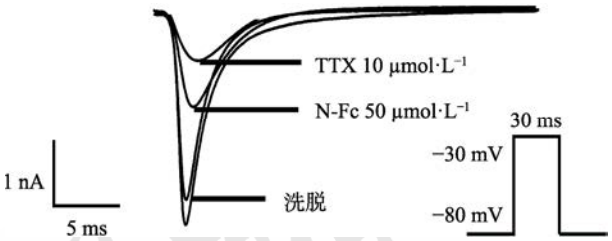

图 1 50 μmol·L^{-1} N-Fc 对 I_{Na} 影响的原始电流图(n=6)

Fig. 1 Original current diagram of the effects of 50 μmol·L^{-1} N-Fc on I_{Na} (n=6)

为了进一步探究不同剂量的 N-Fc 对 I_{Na} 的作用规律，本实验观察了 5，10，20，50 μmol·L^{-1} 的 N-Fc 给药前后 I_{Na} 的变化，结果见图 2。与给药前相比，5 μmol·L^{-1} 的 N-Fc 对 I_{Na} 无显著影响，但随着给药剂量的增加，N-Fc 逐渐表现出明显的抑制作用。其中 10，20，50 μmol·L^{-1} 的 N-Fc 可使钠峰值电流由给药前的(–87.49±3.40)pA/pF 依次变为(–62.91±2.37)，(–49.30±1.27)，(–34.68±3.21)pA/pF (P<0.01)，呈现出显著的剂量依赖性抑制关系。

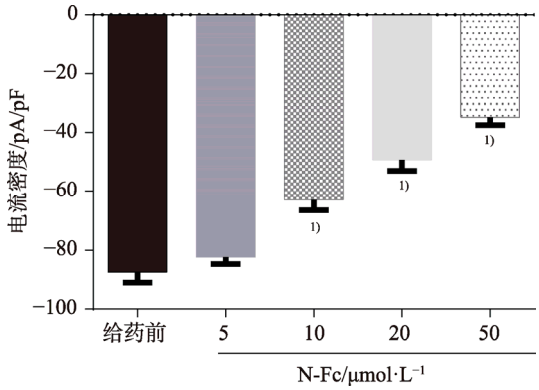

图 2 不同浓度 N-Fc 对 I_{Na} 的影响($\bar{x} \pm s$, n=6)

与给药前比较，[1)]P<0.01。

Fig. 2 Effects of different concentrations of N-Fc on I_{Na} ($\bar{x} \pm s$, n=6)

Compared with before administration, [1)]P<0.01.

2.2 N-Fc 对心室肌细胞钠通道电流-电压关系曲线(I-V 曲线)的影响

在探究不同浓度的 N-Fc 对 I_{Na} 的影响过程中，由于 5 μmol·L^{-1} 作用后，与给药前相比无显著性差异，因此在后续实验中选择考察 10，20，50 μmol·L^{-1} 的 N-Fc 对 I_{Na} 动力学特征的影响。保持电位–80 mV，给予–70~–90 mV、阶跃 5 mV，持续时间 30 ms 的方波刺激，刺激频率 0.5 Hz，记录 N-Fc 给药前、后 I_{Na} 的变化，见图 3A；并以电压为横坐标、电流密度为纵坐标，绘制出钠通道的 *I*-V 曲线，见图 3B。

由图 3B 可以发现不同浓度的 N-Fc 均能使钠通道的 *I-V* 曲线显著上移，但曲线的形态趋势不变、激活电位及峰值电位基本不受影响。此外，随着药物剂量的增加，最大电流密度明显减小。

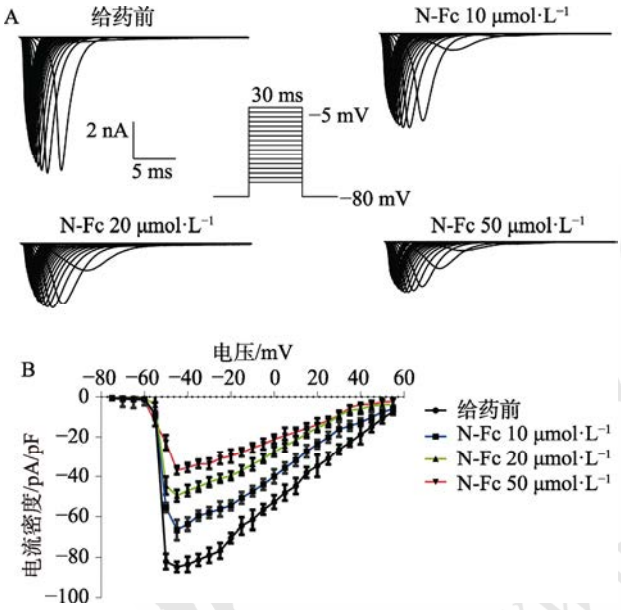

图 3 N-Fc 对 I_{Na} 的 *I-V* 曲线的影响($\bar{x}\pm s$, n=6)

A–N-Fc 对 I_{Na} 激活曲线影响的原始图；B–N-Fc 对钠通道 *I-V* 曲线影响的拟合图。

Fig. 3 Effect of N-Fc on the *I-V* curve of I_{Na} ($\bar{x}\pm s$, n=6)

A–original current diagram of N-Fc's influence on I_{Na} activation curve; B–fitting diagram of the influence of N-Fc on sodium channel *I-V* curve.

2.3 N-Fc 对 I_{Na} 激活曲线的影响

将 I_{Na} 的 *I-V* 曲线数据转化为膜电导值 *G*，以相对电导 G/G_{max}[$G=I/(V-V_{rev})$]为纵坐标，各膜电位为横坐标作图[12]，采用 Boltzmann 方程 $G/G_{max}=1/\{1+\exp[(V_{1/2}-V)/k]\}$拟合得到稳态激活曲线，$V_{rev}$ 为 *I-V* 曲线与 *x* 轴交点的电压，$V_{1/2\text{-ac}}$ 为通道半数激活时对应的电压，*k* 为斜率参数，见图 4。

结果显示，不同浓度的 N-Fc 均能使激活曲线右移，即向去极化方向偏移。其中 10，20，50 μmol·L^{-1} 的 N-Fc 使 $V_{1/2\text{-ac}}$ 由给药前的(–52.37±1.32)mV 分别变为(–42.74±0.37)，(–38.92±2.77)，(–33.78±0.96)mV (P<0.05)。由此可见，激活电位随着药物浓度的增大而升高，N-Fc 可以显著增大对钠通道的激活难度。

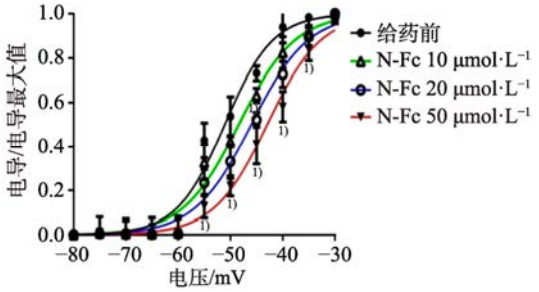

图 4 不同浓度 N-Fc 对 I_{Na} 激活曲线影响的拟合图($\bar{x}\pm s$, n=6)

与给药前比较，[1)]P<0.05。

Fig. 4 Fitting diagram of the influence of different concentrations of N-Fc on the activation curve of I_{Na} ($\bar{x}\pm s$, n=6)

Compared with before administration, [1)]P<0.05.

2.4 N-Fc 对 I_{Na} 失活曲线的影响

在电压钳模式下，采取双脉冲刺激法，保持电位–80 mV，条件脉冲从–140 mV 开始逐步去极化至 20 mV，阶跃 10 mV，持续时间 50 ms，再复极化至–30 mV，持续时间 25 ms，引出记录钠通道失活电流。采用 Boltzmann 方程 $I/I_{max}=1/\{1+\exp[(V-V_{1/2})/k]\}$进行拟合，以 I/I_{max} 为纵坐标，膜电位为横坐标，得到 I_{Na} 的稳态失活曲线，见图 5A，并计算其 $V_{1/2\text{-in}}$(通道半数失活时的条件脉冲电压)和 *k*(斜率因子)。

不同浓度的 N-Fc 均能使稳态失活曲线显著左移，亦即为向超极化方向偏移，其中 10，20，50 μmol·L^{-1} 的 N-Fc 使 $V_{1/2\text{-in}}$ 由给药前的(–55.95±4.88)mV 分别变为(–64.29±1.77)，(–69.57±3.47)，(–73.32±3.79)mV(n=6，P<0.05)，*k* 从给药前的(5.49±1.78)变为(8.71±0.72)，(9.13±0.63)和(9.86±0.42)(P<0.05)，见图 5B。可见随着剂量的增大，N-Fc 对 I_{Na} 失活动力学特征的影响程度越强，可以显著加快 I_{Na} 的失活趋势。

2.5 N-Fc 对 I_{Na} 失活后恢复曲线的影响

在电压钳模式下，采用双脉冲刺激法，保持电位为–80 mV，给予去极化至–30 mV 的刺激，持续 30 ms，回到保持电位持续 5 ms 后，再给予一系列去极化–30 mV，持续 30 ms 的刺激，其中前后 2 个脉冲的间隔时间以 5 ms 的幅度逐渐增加，共 15 个脉冲。以时间间隔为横坐标，I/I_{max} 为纵坐标作图，并通过 One-phase association 指数方程 $I/I_{max}=1-\exp(-t/\tau)$拟合，得到 I_{Na} 的失活后恢复曲线，见图 6A。

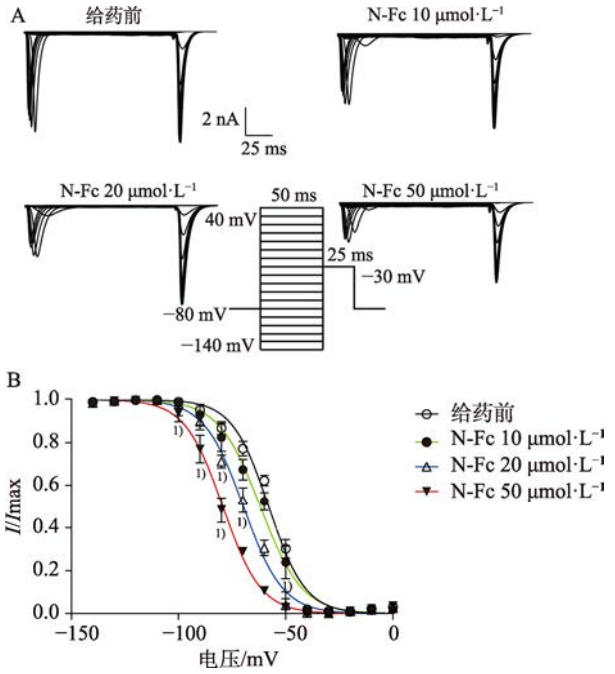

图 5 不同浓度 N-Fc 对 I_{Na} 失活曲线的影响($\bar{x}\pm s$, n=6)

A–N-Fc 对 I_{Na} 失活曲线影响的原始图；B–N-Fc 对 I_{Na} 失活曲线影响的拟合图。与给药前比较，$^{1)}P<0.05$。

Fig. 5 Influence of different concentrations of N-Fc on the inactivation curve of I_{Na}($\bar{x}\pm s$, n=6)

A–original diagram of the influence of N-Fc on the inactivation curve of I_{Na}; B–fitting diagram of the influence of N-Fc on the inactivation curve of I_{Na}. Compared with before administration, $^{1)}P<0.05$.

结果显示，不同剂量的 N-Fc 均能使 I_{Na} 的失活后恢复曲线显著右移，恢复时间常数 τ 值由给药前的 (12.50±1.17)ms 依次变为 (21.36±2.23)，(25.35±1.25)，(34.35±1.24)ms($P<0.05$)。由此说明，10，20，50 μmol·L^{-1} 的 N-Fc 能明显改变 I_{Na} 的失活后恢复动力学特征，随着药物浓度的增大，I_{Na} 从失活态向激活态转变的时间逐渐延长，见图 6B。

3 讨论

离子通道作为细胞内外环境物质交换的路径，其结构功能的正常是机体正常生理活动的前提，一旦发生异常变化，必然导致离子通道疾病的发生，如常见的癫痫、心律失常及高血压等，这类疾病的发生均与钠、钾、钙等通道的异常有关[13]。在众多离子通道中，钠通道是指具有高度选择允许钠离子跨膜通过的通道，其在心室肌细胞上主要以电压门控型钠通道为主，主要功能是激活钠离子快速内流引起心肌细胞去极化，从而产生动作电位引发一系列生理活动[14]。在某些病理状态或药物作用下，心肌细胞钠通道会发生改变，从而使细胞内外钠离子浓度发生变化，引发各种类型的心脏疾病，因此钠通道已成为心肌保护类药物开发与研究的重要靶点之一[15-16]。

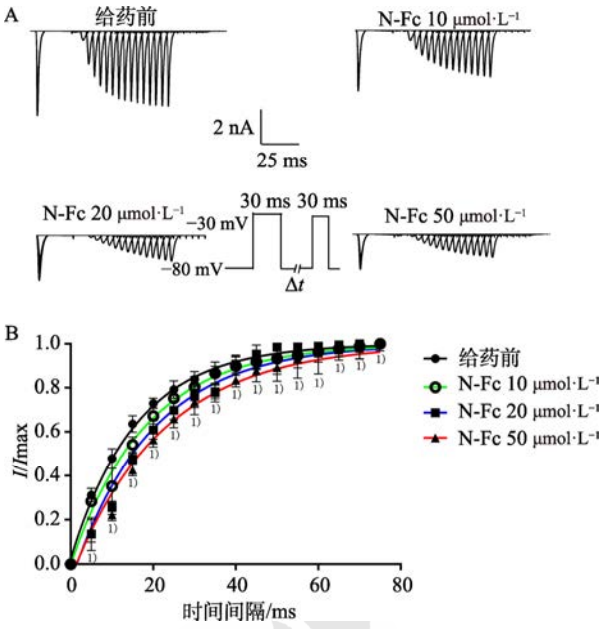

图 6 不同浓度 N-Fc 对 I_{Na} 失活后恢复过程的影响($\bar{x}\pm s$, n=6)

A–N-Fc 对 I_{Na} 失活后恢复曲线影响的原始图；B–N-Fc 对 I_{Na} 失活后恢复曲线影响的拟合图。与给药前比较，$^{1)}P<0.05$。

Fig. 6 Effect of different concentrations of N-Fc on the recovery process after I_{Na} inactivation($\bar{x}\pm s$, n=6)

A–original diagram of the effect of N-Fc on the recovery curve after I_{Na} inactivation; B–fitting diagram of the influence of N-Fc on the recovery curve after I_{Na} inactivation. Compared with before administration, $^{1)}P<0.05$.

作为研究离子通道的金标准，膜片钳技术不仅可以直接测定膜离子通道电流的大小，还可以反映通道的动力学特征，是探究药物对离子通道活性影响最为直接的手段[17]。在动力学特征方面，激活曲线解释了通道开放的难易程度，稳态失活曲线反映了通道失活的电压依赖性及药物是否作用于通道的失活过程，而恢复曲线说明了药物与通道的解离过程。利用膜片钳技术检测离子通道电流有助于分析心肌静息电位及其自发去极化的机制，在研究药物对心肌细胞电活动影响方面具有极其重要的意义。

三七作为中国传统中药材，在临床上已经得到了广泛的应用，随着对三七的深入研究，其皂苷成分 N-Fc 良好的抗血小板聚集、保护心肌及防治心肌梗死等作用开始得到了关注与研究[5]。由于缺乏对心肌细胞电生理及膜离子通道的研究，N-Fc 发挥心肌保护作用的确切机制尚不清楚。在离子通道水平探讨其药理机制，尤其是其对心肌细胞钠离子通道的影响，目前还未见报道。因此本实验利用全细胞膜片钳技术测定了N-Fc对SD大鼠心室肌细胞钠离子通道的作用，结果发现 N-Fc

可以呈浓度依赖性地降低钠电流幅值，在不改变形态轨迹的基础上，使钠通道 *I-V* 曲线显著上移；给药后 I_{Na} 激活曲线明显右移，失活曲线显著左移，表明 N-Fc 对钠通道的激活态及失活态均有显著的影响；此外，N-Fc 还使失活后恢复曲线显著右移，延长通道失活后恢复时间。由此可知 N-Fc 对钠离子通道具有明显的抑制作用，这种抑制作用还随着药物剂量的增加而增强。吴韶等[4]表明 N-Fc 具有改善心肌缺血、防治心肌损伤的作用。心肌缺血时由于无氧代谢和 ATP 分解，酸性代谢产物增加，导致细胞内酸中毒，使细胞内 Na^+浓度增高，激活了 Na^+-Ca^{2+}交换系统，使 Ca^{2+}进入细胞内，形成细胞内钙超载，引发迟后除极[18-20]。结合实验结果，笔者推测 N-Fc 能够通过阻滞钠通道来减少 Na^+内流，从而抑制 Ca^{2+}超载，减轻心肌损伤，缓解心律失常现象，发挥心肌保护作用。

综上所述，本实验采用全细胞膜钳技术研究了 N-Fc 对心室肌细胞钠离子通道电流的影响，阐述了其对钠离子通道的调控作用，以此评估 N-Fc 对 SD 大鼠心脏电生理的部分影响。然而，本实验仅仅简单探究了单通道的效应，对于其发挥心肌保护作用的具体调控机制还需要在其他通道、体内过程及病理模型等方面做更全面的探讨，以为该成分在今后开发应用提供理论依据。

REFERENCES

[1] CUI X M, HUANG L Q, GUO L P, et al. The status quo and development countermeasures of *Panax notoginseng* industry in China[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2014, 39(4): 553-557.

[2] 杨武韬. 三七化学成分分离及药理作用研究探讨[J]. 航空航天医学杂志, 2019, 30(5): 586-587, 592.

[3] 张洁. 中药三七的药理作用及研究进展[J]. 中国卫生产业, 2017, 14(28): 40-41.

[4] WU S, ZHANG Y, YANG C H, et al. Determination of hemostatic and blood-activating components of *Panax notoginseng* in different parts of *Panax notoginseng* by HPLC[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2016, 47(18): 3289-3292.

[5] 王峥涛, 高波, 杨莉, 等. 三七皂苷 Fc 的医药用途: 中国, 2013104650767[P]. 2014-01-29.

[6] HE C, LI J, XU N, et al. Pharmacokinetics, bioavailability, and metabolism of notoginsenoside Fc in rats by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2015(109): 150-157.

[7] CHEN S X, WEN P J, WU Y H, et al. The relation of the anti-apoptotic effect of Panax notoginseng saponin with macrophage migration inhibitory factor[J]. Pharm Today(今日药学), 2020, 30(4): 243-245.

[8] IMBRICI P, NICOLOTTI O, LEONETTI F, et al. Ion channels in drug discovery and safety pharmacology[J]. Methods Mol Biol, 2018(1800): 313-326.

[9] KWONG K, CARR M J. Voltage-gated sodium channels[J]. Curr Opin Pharmacol, 2015(22): 131-139.

[10] LIU J, JIANG C, MA X, et al. Notoginsenoside Fc attenuates high glucose-induced vascular endothelial cell injury via upregulation of PPAR-γ in diabetic sprague-dawley rats[J]. Vascul Pharmacol, 2018(109): 27-35.

[11] DU Y Y, ZOU L, WANG X X, et al. Inhibitory effect of gallic acid on voltage-gated Na^+ channels in rat cardiomyocytes[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2020, 47(5): 771-779.

[12] WANG X X, ZOU L, QIAN W, et al. Effects of orientin on sodium channel currents in ventricular myocytes of rats[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(18): 2256-2261.

[13] ZHAO Z Y, YIN Y Q, WU H, et al. Arctigenin, a potential anti-arrhythmic agent, inhibits aconitine-induced arrhythmia by regulating multi-ion channels[J]. Cell Physiol Biochem, 2013, 32(5): 1342-1353.

[14] YANG X X. Improved prepration method of taurine magnesium and effects of taurine magnesium on sodium ion channel in rat ventricular cardiomyocytes[D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2018.

[15] CHENG J, WEN J, WANG N, et al. Ion channels and vascular diseases[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2019, 39(5): 146-156. Doi: 10.1161/atvbaha.119.312004.

[16] LIU J, WU H, CONG T S, et al. Effects of serum containing dioscin on sodium channel in ventricular myocytes of rats[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2014, 45(16): 2370-2374.

[17] GUAN H Z, XIE D Y, ZHANG G H, et al. Application of patch clamp technique in various disciplines[J]. Occup Heal Emerg Rescue(职业卫生与应急救援), 2018, 36(4): 358-360.

[18] BAETZ D, BERNARD M, PINET C, et al. Different pathways for sodium entry in cardiac cells during ischemia and early reperfusion[J]. Mol Cell Biochem, 2003, 242(1/2): 115-120.

[19] LI Y X, HUANG Y H, LIN X, et al. Effect of 17-methoxyl-7-hydroxyl-benzofuran chalcone on sodium current in isolated ventricular myocytes of mouse[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(8): 1185-1188.

[20] BOMPOTIS G C, DEFTEREOS S, ANGELIDIS C, et al. Altered calcium handling in reperfusion injury[J]. Med Chem, 2016, 12(2): 114-130.

收稿日期：2021-03-19

(本文责编：曹粤锋)