

缬草抗心律失常活性部位的筛选

段雪云^{1,2} 方颖¹ 龚占峰¹ 周颖¹ 刘焱文¹ (1. 湖北中医学院“中药资源与中药复方”省部共建教育部重点实验室 武汉 430061 ;2. 湖北省中医院)

摘要 目的: 筛选缬草抗心律失常的活性部位。方法: 建立以氯仿诱导心律失常的小鼠模型, 分别灌胃给予缬草不同的提取部位, 以小鼠室颤发生率为观察指标。结果: 缬草提取物中水液部位和缬草油部位分别在 5 g(生药)·ml⁻¹ 和 2.5 g(生药)·ml⁻¹ 能显著降低氯仿所致小鼠室颤发生率, 且水液部位的 90% 乙醇洗脱物和水洗脱物能显著降低氯仿所致小鼠室颤发生率 ($P < 0.05$)。结论: 缬草提取物中水液部位和缬草油有抗心律失常作用。

关键词 缬草; 缬草提取物; 室性纤颤; 抗心律失常

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2009)07-0842-03

Screening of Active Site of the Extracts of *Valeriana Officinalis* L. on Cardiac Arrhythmias

Duan Xueyun^{1,2}, Fang Ying¹, Gong Zhanfeng¹, Zhou Ying¹, Liu Yanwen¹ (1. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Resource and Compound Prescription, Hubei College of TCM, Wuhan 430061, China; 2. Hubei hospital of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective: To study the antiarrhythmic effects of extracts of *Valeriana officinalis* L. **Method:** The arrhythmic animal models were caused by trichloromethane. The groups were treated respectively with the extracts of *Valeriana officinalis* L. and the incidence ratios of ventricular fibrillation (VF) was observed. **Result:** Water-extracts and essential oil of *Valeriana officinalis* L. in 5 and 2.5 g·ml⁻¹ (crude drug) could markedly decreased the ratio of VF caused by trichloromethane in mice, the 90% alcohol eluate and water eluate in water-extract could markedly do so. **Conclusion:** The water-extract and essential oil of *Valeriana officinalis* L. are more effective on cardiac arrhythmias.

KEY WORDS Extracts of *Valeriana officinalis* L.; Ventricular fibrillation; Antiarrhythmic

缬草 (*Valeriana officinalis* L.) 系败酱科缬草属植物, 具有镇静安神、解痉止痛之功效。现代药理研究表明, 缬草提取物具有抗心律失常的活性作用^[1-4], 为了阐释缬草抗心律失常作用的物质基础, 本论文采用超临界 CO₂ 萃取法和溶剂法, 将缬草分为不同提取部位, 然后以氯仿诱导心律失常的小鼠模型对抗心律失常活性部位进行筛选, 以期确定缬草抗心律失常的主要活性部位。

1 实验材料

1.1 实验动物

昆明种小鼠, 体重 (25 ± 2) g, 雌雄各半, 由湖北省疾病预防控制中心提供, 动物许可证号: SCXK(鄂)2003-2005。

1.2 药品与试剂

普萘洛尔 (湖北华中药业有限公司 批号 20061003; 60mg 药片碾成粉末, 溶于 80ml 生理盐水, 摇匀, 作为阳性对照品溶液); 氯仿 (分析纯, 天

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 30500053)

作者简介: 段雪云, 女, 博士。研究方向: 中药及复方的物质基础研究。 Tel: (027)88929176 E-mail: xueyunduan@sina.com

通讯作者: 刘焱文, 教授, 博士生导师。研究方向: 中药及复方的物质基础研究。 Tel: (027)62623577 E-mail: ywliu@public.wh.hb.cn

- 14 Krajewski S, Tanaka S, Takayama S, et al. Investigation of the subcellular distribution of the bcl-2 oncoprotein: residence in the nuclear envelope, endoplasmic reticulum, and outer mitochondrial membranes [J]. *Cancer Res*, 1993, 53(19): 4701-4714
- 15 Jacobson MD. Reactive oxygen species and programmed cell death [J]. *Trends Biochem Sci*, 1996, 21(3): 83-86
- 16 Li Y, Chopp M, Zhang ZG, et al. P53-immunoreactive protein and p53 mRNA expression after transient middle cerebral artery occlusion in rats [J]. *Stroke*, 1994, 25(4): 849-855
- 17 Barinaga M. Death by dozens of cuts [J]. *Science*, 1998, 280

(5360): 32-34

- 18 Hengartner MO. Apoptosis. Death cycle and Swiss army knives [J]. *Nature*, 1998, 391(6666): 441-442
- 19 曹建忠, 刘书山, 杨光田. 鼠急性全脑缺血再灌注后葛根素对海马 CA1 区 Bcl-2、Bax 表达的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2003, 19(11): 1281-1283
- 20 姜庆五. 流行病学 [M]. 北京: 科学出版社, 2003. 138, 130 (2008-11-11 收稿 2009-03-11 修回)

津市博迪化工有限公司)。

缬草采自湖北恩施,经湖北中医学院鉴定教研室鉴定为败酱科缬草属植物缬草(*valeriana officinalis* L.)的根及根茎。

将2kg缬草干药材碾成粉末,过80目筛,超临界CO₂萃取得缬草油部位,药渣用70%的乙醇渗漉提取,提取液浓缩至无醇味,分别用乙酸乙酯、正丁醇依次萃取,萃取液回收溶剂,减压干燥,得乙酸乙酯部位、正丁醇部位和水液部位;水液部位继续用AB-101型大孔吸附树脂分离纯化,依次分别用水、30%、50%、70%、90%乙醇洗脱,分别得到不同部位洗脱物。

将上述缬草油部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和水液部位的提取物分别加入0.1ml吐温和CMC-Na少许分散,用生理盐水定容至100ml,摇匀,作为备用液。取各部位的备用液各30ml,分别稀释成5g(生药)·ml⁻¹和2.5g(生药)·ml⁻¹,作为供试品溶液。

2 方法与结果

2.1 缬草各部位提取物对氯仿诱发小鼠心室纤颤的影响^[5,6]

将200只小鼠随机分成10组:即生理盐水(NS)组、给药组(四个提取部位,分高、低剂量)和普萘洛尔组。连续3d灌胃给药,每次剂量20ml·kg⁻¹,第3天给药后30min,将小鼠放入倒扣的用橡皮泥密封的500ml烧杯中,同时将装有吸附2ml氯仿(每做完一次补充0.5ml)的棉花的解剖瓶敞口平躺放入烧杯,使小鼠吸入过量的氯仿,直到呼吸停止时立即剖胸检查,观察小鼠心室纤颤发生情况。结果见表1。

表1 缬草不同部位提取物对氯仿诱发小鼠心室纤颤的影响

药物	浓度 (g生药·ml ⁻¹)	鼠数	室颤发生 例数
NS	20ml·kg ⁻¹	20	17
普萘洛尔	20ml·kg ⁻¹	20	9*
水液部位	5	20	6**
	2.5	20	8**
正丁醇部位	5	20	12
	2.5	20	13
乙酸乙酯部位	5	20	17
	2.5	20	10*
油部位	5	20	7**
	2.5	20	8**

注:与生理盐水组比较;*P<0.05,**P<0.01

2.2 水液部位各洗脱物对氯仿诱发小鼠心室纤颤

将240只小鼠随机分成12组:即生理盐水组、给药组(五个洗脱部位,分高、低剂量)和普萘洛尔

组。依照“2.1”项下方法进行实验,实验结果见表2。

表2 缬草水液部位不同洗脱物对氯仿诱发小鼠心室纤颤的影响

药物	浓度 (g生药·ml ⁻¹)	鼠数	室颤发生 例数
NS	20ml·kg ⁻¹	20	15
普萘洛尔	20ml·kg ⁻¹	20	4**
水洗部位	5	20	8*
	2.5	20	10
30%醇洗部位	5	20	9*
	2.5	20	13
50%醇洗部位	5	20	12
	2.5	20	13
70%醇洗部位	5	20	13
	2.5	20	10*
90%醇洗部位	5	20	6**
	2.5	20	6**

注:与生理盐水组比较,*P<0.05,**P<0.01

实验表明,缬草提取物中缬草油和水液部位以及水液中90%醇洗部位与阴性对照组相比有显著性差异(P<0.05,P<0.01),但与阳性对照组比较没有显著性差异,说明缬草提取物中缬草油和水液部位对氯仿诱发小鼠心室纤颤有一定的拮抗作用。

3 讨论

氯仿诱导的小鼠室颤可能与植物神经及递质的释放或肾上腺髓质分泌肾上腺素,激活β受体,以及对心肌的直接作用有关。氯仿、乌头碱诱发的心律失常是筛选抗心律失常药的常用动物模型^[5,6],本实验室乌头碱研究结果已另文发表,缬草提取物对这两种动物模型均有一定的拮抗作用,与文献报道的基本一致。本实验以缬草各不同提取物进行了药理筛选,结果表明缬草提取物中缬草油和水液部位有较明显的抗心律失常作用,其他部位也有不同程度的抗心律失常作用;而在水液部位各洗脱物中水洗物和90%醇洗部位有较明显的抗心律失常作用,其他醇洗部位也表现出不同程度的作用。因此进一步验证了缬草提取物中抗心律失常作用的有效部位为缬草油和水液部位。实验结果提示缬草抗心律失常作用机制可能为影响心肌细胞的钠、钾通道离子流,延长动作电位和有效不应期等;其有效部位不是单一的部位,说明其有效成分并非唯一,抗心律失常机制是多方面的。

参 考 文 献

- 1 段雪云,方颖,周颖,等.缬草属植物综合研究概况[J].中国药师,2008,11(7):793-796
- 2 杨桂元,王玮.宽叶缬草治疗冠心病的临床研究[J].中国中西医结合杂志,1994,14(9):540-542

运脾止泻颗粒抗腹泻的机制研究

郭健¹ 李国彰¹ 赵淑英¹ 席时芳¹ 杨燕² (1. 北京中医药大学 北京 100029; 2. 北京儿童医院)

摘要 目的: 观察运脾止泻颗粒抗腹泻的作用机制。**方法:** 大鼠随机分为3组, 空白对照组(蒸馏水), 大黄造模组, 药物组。造模组和药物组给予大黄水煎剂灌胃, 5d后分别再以蒸馏水和运脾止泻颗粒灌胃6d, 观察D-木糖、胃蛋白酶、胃动素、血管活性肠肽以及小肠微绒毛的变化。**结果:** 造模之后, 胃蛋白酶和D-木糖降低、胃动素和血管活性肠肽均升高, 小肠微绒毛破损。给药之后, 上述指标恢复正常, 小肠微绒毛明显修复。**结论:** 运脾止泻颗粒通过促进胃蛋白酶的消化、小肠吸收、胃肠运动以及小肠粘膜的分泌而抑制腹泻, 并且具有明显的保护小肠微绒毛作用。

关键词 腹泻; 运脾止泻颗粒; 大鼠

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2009)07-0844-03

Mechanism of Antidiarrheal of Yunpi Zhixie Granules

Guo Jian, Li Guozhang, Zhao Shuying, Xi Shifang (Beijing University of TCM, Beijing 100029, China); Yang Yan (Beijing Children Hospital)

ABSTRACT Objective: To observe the mechanism of antidiarrheal of yunpi zhixie granules. **Method:** Rats were randomly divided into three groups: blank control group (distilled water), model group (Rhubarb) and drug group (yunpi zhixie granules). The rats in model and drug group were administrated with Rhubarb through perfusion of stomach for five days. In consequent six days, distilled water was administrated to model group, while yunpi zhixie granules was administrated to drug group. The changes of the pepsin, D-Xylose, motility, vasoactive intestinal peptide and microvilli were observed. **Result:** After the rats were treated with Rhubarb, the level of the D-Xylose and pepsin were decreased, motility and vasoactive intestinal peptide were increased, microvilli was disturb severely. While the level of D-Xylose and pepsin, motilin and vasoactive intestinal peptide returned to normal after smoothing spleen to stop diarrhea granules was administrated. The microvilli were repaired almost compared to control group. **Conclusion:** The antidiarrheal mechanism of yunpi zhixie granules is through promoting digestion, absorption, motilin and secretion of stomach or small intestine.

KEY WORDS Diarrheal; Yunpi zhixie granules; Rat

运脾止泻颗粒是北京儿童医院老中医王鹏飞教授治疗小儿泄泻的经验方, 采用健脾温中止泻法治疗小儿脾虚泻, 经多年临床应用, 疗效显著^[1]。通过大鼠实验观察, 发现运脾止泻颗粒具有明显抗腹泻作用^[2], 为进一步研究该药抗腹泻的作用机制, 我们从吸收、消化、胃肠运动和微绒毛的变化等方面对运脾止泻颗粒抗腹泻作用机制进行研究。

1 材料与方

1.1 动物

Wistar 大鼠 30 只, 雌雄各半, (300 ± 20) g, 由北京大学医学部实验动物科学部提供。动物合格证编号: SCXK(京) 2002-0001。

1.2 药品和试剂

1.2.1 药品 运脾止泻颗粒, 北京儿童医院中医脾胃中心, 内部制剂。儿童体重以 20kg 计算, 其剂量为 0.15g·ml⁻¹·kg⁻¹。每只大鼠灌胃 0.6ml, bid。大黄: 浸泡后, 水煎, 浓缩, 浓度为 1mg·ml⁻¹。

1.2.2 试剂 氯仿麻醉, RIPA 裂解液: 50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 150 mmol·L⁻¹ 氯化钠溶液, 1% NP-40, 0.1% SDS。D-木糖测试盒, 胃蛋白酶测试盒。化学比色法, 南京建成生物工程研究所; 胃动素放免测试盒, 血管活性肠肽放免测试盒, 购于北京科美东亚生物技术有限公司。

1.3 仪器

紫外-可见分光光度计: Pharmacia, 美国; Polytron 匀浆

作者简介: 郭健, 女, 博士, 副教授, 从事生理药理基础研究。 Tel: (010)64286952 E-mail: guojian323@sina.com.cn

3 黄峥嵘, 唐其柱, 史锡腾, 等. 非缬草单萜氧化物对单个兔心室肌细胞钠通道的影响[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2004, 18(3): 214-214

4 黄峥嵘, 唐其柱, 张丽娟, 等. 缬草单萜氧化物对兔心室肌线粒体 ATP 敏感性钾通道的影响[J]. 中国中医与微循环杂志, 2005, 15(1): 69-71

5 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法[M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2003. 1172

6 汪晖, 吴基良. 药理学实验[M]. 武汉: 湖北科技出版社, 2002. 63 (2008-11-24 收稿 2009-03-31 修回)