

罗汉果黄酮对运动大鼠心肌能量代谢酶 及 PPAR α mRNA 表达的影响

莫伟彬*, 宫明明, 刘婷, 杨永亮

(广西师范大学体育学院, 药用资源化学与药物分子工程教育部重点实验室, 广西 桂林 541004)

[摘要] **目的:** 研究运动前补充罗汉果黄酮(MGF)对力竭运动大鼠心肌能量代谢酶和过氧化物酶体增殖剂活化受体 α (PPAR α) mRNA 表达的影响, 以初步探讨其作用机制。**方法:** SD 雄性大鼠 50 只, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 分别为安静对照组(NC), 运动对照组(ME), 运动 + ig 低剂量罗汉果黄酮组(MGFL), 运动 + ig 中剂量罗汉果黄酮组(MGFM), 运动 + ig 高剂量罗汉果黄酮组(MGFH)。每天在运动前 30 min ig 1 次, 连续 ig 6 周, 6 d/周, 低、中、高 3 组的 ig 剂量分别为 100, 200, 400 mg·kg⁻¹, 对照组 ig 等量生理盐水。力竭训练结束后测定大鼠心肌组织肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)和琥珀酸脱氢酶(SDH)活性, 逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)测定心肌组织 PPAR α mRNA 表达。**结果:** 力竭游泳运动引起大鼠心肌 CK 活性下降, 运动对照组显著低于安静对照组($P < 0.01$), MGF 低剂量组低于安静对照组($P < 0.05$), 但 MGF 各组均显著高于运动对照组($P < 0.01$)。LDH 活性在力竭游泳运动组显著低于安静对照组($P < 0.01$), 在 MGF 各组均高于运动对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。SDH 活性在力竭游泳运动组显著低于安静对照组($P < 0.01$), MGF 低剂量组低于安静对照组($P < 0.05$), MGF 中、高剂量组高于运动对照组($P < 0.05$)。运动对照组 PPAR α mRNA 表达水平显著低于安静对照组($P < 0.01$), MGFL 组 PPAR α mRNA 表达水平高于运动对照组($P < 0.05$), 在 MGF 中、高剂量组 PPAR α mRNA 表达水平均显著高于运动对照组($P < 0.01$)。**结论:** 补充罗汉果黄酮能够提高能量代谢酶 CK, LDH, SDH 的活性和上调 PPAR α mRNA 表达水平, 对改善机体能量代谢和保护心肌组织的过度损伤具有良好的作用。

[关键词] 罗汉果黄酮; 力竭运动; 心肌; 能量代谢酶; PPAR α mRNA

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0203-06

[doi] 10.11653/syfy2013140203

Effects of Momordica Grosvenori Flavones on Myocardial Energy Metabolism Enzymes and Expression of PPAR α mRNA in Exercise Rats

MO Wei-bin*, GONG Ming-ming, LIU Ting, YANG Yong-liang

(Sport School of Guangxi Normal University, State Key Laboratory Cultivation Base for the Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources, Ministry of Science and Technology of China, Guilin 541004, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects and mechanism of momordica grosvenori flavones (MGF) on myocardial energy metabolism and expression of peroxisome proliferators-activated receptor α (PPAR α) mRNA in exercise rats. **Method:** Fifty healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into five groups ($n = 10$): quiet control group (NC), exercise control group (ME), exercise + ig low dose flavones group (MGFL), ig moderate dose flavones group (MGFM) and intragastric gavage (ig) high dose flavones group (MGFH). All rats in administrated groups were intragastric gavaged in profession once time at half an hour before exercise. The administration was continued for 6 d/week in total 6 weeks at the dose of 100, 200, 400 mg·kg⁻¹ in low, medium and high dose group respectively, while the rats in unadministrated groups were treated by physiological saline

[收稿日期] 20130315(005)

[基金项目] 国家自然科学基金(31060121); 广西教育厅科研项目(2013YB030); “药用资源化学与药物分子工程教育部重点实验室”开放课题(CMEMR2012-B04)

[通讯作者] * 莫伟彬, 硕士, 实验师, 从事运动生理学、运动生物化学和药理学研究, Tel: 13978327323, E-mail: mogaol@163.com

solution according to the same dose. The rats were killed immediately by decapitation at the end of training. The activities of creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH) and succinate dehydrogenase (SDH) in myocardial tissue were measured according the corresponding kit method respectively. The expression of PPAR α mRNA in myocardial tissue was determined reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). **Result:** The activity of myocardial CK was decreased in rat by exhaustive swimming exercise. It was significantly lower in exercise control group than that in quiet control group ($P < 0.01$). There was significant difference in low dose MGF group compared with quiet control group ($P < 0.05$). The activity of myocardial CK was obviously higher in MGF groups than that in exercise control group ($P < 0.01$). The activity of LDH was significantly lower in exhaustive swimming groups than that in quiet control group ($P < 0.01$). It was higher in each MGF group than that in exercise control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The activity of SDH was obviously lower in exhaustive swimming groups than that in quiet control group ($P < 0.01$). It was lower in low dose MGF group than that in quiet control group ($P < 0.05$), while it was higher in moderate, and high dose MGF groups than that in exercise control group ($P < 0.05$). The expression of PPAR α mRNA was obviously lower in exercise control group than that in quiet control group ($P < 0.01$). It was higher in MGF group than that in exercise control group ($P < 0.05$). The expression of PPAR α mRNA in MGF and MGFH groups were significantly higher than that in exercise control group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Supplement of momordica grosvenori flavones could improve the activities of energy metabolic enzymes CK, LDH and SDH, and upregulate the expression of PPAR α mRNA. This has a good role in improving the energy metabolism and protecting the myocardial tissue from overuse exercise injury.

[**Key words**] momordica grosvenori flavones; exhaustive exercise; myocardial tissue; energy metabolic enzyme; PPAR α mRNA

罗汉果为广西桂北地区的传统特产,是著名的八大桂药之一,广泛用于医药、饮料和调味品中。罗汉果果实中的甜苷、多糖、黄酮、块根中的淀粉及其药用成分、种仁油等已有文献报道^[1-2]。近年,研究人员对罗汉果黄酮通过体外实验发现,罗汉果黄酮具有抗氧化活性^[3]、清除自由基^[4]和降糖及降血脂^[5]等作用。笔者前期实验结果表明罗汉果叶黄酮对大鼠运动性疲劳具有较好的预防作用^[6]。本研究通过建立力竭游泳训练大鼠模型,从能量代谢角度探讨罗汉果黄酮对大鼠心肌能量代谢及 PPAR α 基因在心肌组织中的信号调控,旨在为罗汉果黄酮在运动实践中预防心肌损伤提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD 健康雄性大鼠 50 只,体重(200 \pm 10) g。购自桂林医学院实验动物中心,SPF 级,许可证号 SCXK(桂)2007-0001。常规饲养,饲养环境温度 25 ~ 28 $^{\circ}$ C,湿度 60% \pm 5%,光照时间随自然变化,标准啮齿类混合饲料喂养(由桂林医学院实验动物房生产提供,生产批号 200912022),大鼠自由进水饮食。

1.2 药物及试剂 罗汉果黄酮(momordica grosvenori flavones, MGF):2002 年秋季采于广西临桂县和永福县,样品经广西师范大学李伯林教授和

陈全斌研究员鉴定。罗汉果黄酮由广西师范大学思特公司提供(批号 ZL200310110827.X,纯度 > 80%)。测定心肌组织肌酸激酶(CK)试剂盒(批号 20110709),乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(批号 20110913),琥珀酸脱氢酶(SDH)试剂盒(批号 20110903),均由南京建成生物工程研究所提供。测定心肌组织过氧化物酶体增殖剂活化受体 α (PPAR α) mRNA 表达的 RT-PCR 试剂盒(杭州博日科技有限公司,批号 20120301);Trizol 试剂(上海生工,批号 201212);DNA Marker(北京艾德莱生物科技有限公司,批号 221829AX);6xRNA loading buffer 上样液(上海生工,批号 1203972C)。

1.3 仪器 3k15 高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司);T148 050-900 型 PCR 仪(德国 Biometra 公司);水平电泳仪(美国伯乐 BIO-RAD 公司);Dolphin-Doc 凝胶成像系统和 Dolphin-ID 软件(美国 Wealtec 公司);721 型分光光度计(上海第二分析仪器厂);高压灭菌锅(日本三洋公司);MP200A 型电子天平(上海良平仪器厂);MDF-382E 型超低温冰箱(日本三洋公司);电热恒温水浴锅(上海医疗器械五厂)。

2 方法

2.1 动物分组 将购入大鼠进行 6 d 适应性喂养

后随机分组,每组 10 只,分别为安静对照组(NC),运动对照组(ME),运动+ig 低剂量罗汉果黄酮组(MGFL),运动+ig 中剂量罗汉果黄酮组(MGFM),运动+ig 高剂量罗汉果黄酮组(MGFH)。

2.2 动物模型 动物游泳池的规格为直径 60 cm 的塑料大桶,水深 55 cm,水温 30~32℃。各训练组(ME, MGFL, MGFM, MGFH 组)适应性喂养 3 d 后,进行 3 d 无负重适应性游泳训练,20 min·d⁻¹。正式实验开始后此强度(20 min·d⁻¹)在 1 周内延长至 90 min,然后进入力竭性游泳训练期,大鼠于每天上午 8:00 进行负重游泳训练(大鼠每只尾部负自身体重 3% 的铅坠进行游泳^[7]),运动至力竭,1 次/d,6 d/周,持续训练 5 周。对于短时间内力竭的大鼠,捞出休息 5 min 后,再进行游泳训练,使训练时间不少于 90 min。力竭标准:大鼠头部沉入水下超过 10 s 仍不在返回水面;大鼠协调运动消失,在水中不定向乱窜,未达到 10 s 亦定为力竭。

2.3 动物给药量 采用专业灌胃器,大鼠在训练前半小时 ig 不同浓度的罗汉果黄酮溶液,低、中、高剂量组 ig 剂量分别为 100, 200, 400 mg·kg⁻¹(相当于成人推荐剂量的 5, 10, 20 倍),ig 体积为 7.5 mL·kg⁻¹,对照组 ig 等量生理盐水,各组大鼠连续 ig 6 周,1 次/d,直到实验结束。

2.4 样本采集 力竭训练运动结束后取材,取材前大鼠禁食 12 h 以上,训练组停训 24 h。用 20% 乌拉坦溶液(3 mL·kg⁻¹) ip 麻醉,冰上迅速解剖取其心室肌组织,4℃生理盐水清洗,剪成小块装入冻存管中,先置液氮中,后转入-80℃冰箱中待测。

2.5 心肌能量代谢酶指标测试 准确称取 0.22 g 心肌组织待测样品,加入生理盐水,在低温条件下仔细研磨,制成体积比为 10% 的匀浆液,以 4 000 r·min⁻¹ 转速离心 10 min(0~4℃)后取上清液于冰浴中测定酶活性,各个指标的测定方法严格按试剂盒提供的步骤进行。

2.6 心肌组织 PPAR α mRNA 表达

2.6.1 引物合成 RT-PCR 引物设计依据 Gene Bank 中大鼠的 PPAR α mRNA 序列及 β -Actin mRNA 序列设计,经 blast 进行特异性确定。最后由上海生物工程技术有限公司合成引物。

PPAR α mRNA:上游引物 5'-CACGAAGCCTAC-CTGAAGAACT-3',下游引物 5'-CTTTAG-GAACTCTCGGGTGATG-3',该引物扩增的片段长度为 405 bp。 β -Actin mRNA:上游引物 5'-TGGTGGG-TATGGGTCAGAAGGACTC-3',下游引物 5'-CATG-

GCTGGGCTGTTGAAGGTCTCA-3',该引物扩增的片段长度为 266 bp。

2.6.2 心肌组织总 RNA 的提取 用 Trizol 试剂提取总 RNA,按照 Trizol 试剂说明书操作提取,提取后取 5 μ L RNA 加入 95 μ L DEPC 水中,经紫外分光光度计 A_{260}/A_{280} ,比值 ≥ 1.80 ,以 A_{260} 计算 RNA 的浓度;同时取 10 μ L RNA 进行 Agarose 凝胶电泳实验,观察 28,18,5 S 的完整性,结果说明 RNA 样品纯度理想。其余置-80℃冰箱中保存备用。

2.6.3 RT 逆转录反应 cDNA 的合成严格按照逆转录试剂盒说明书进行操作,逆转录反应体系:5 \times RT Buffer(反应缓冲液)2 μ L, dNTP Mixture(核苷酸混合物)1 μ L, Oligo-dT(T 重复寡核苷酸)0.5 μ L, RNase inhibitor(RNases 抑制剂)0.5 μ L, AMV Reverse Transcriptase(逆转录酶)0.5 μ L,组织总 RNA 5.5 μ L,共 10 μ L。反应条件:RT 反应液配制好后,室温放置温育 10 min,然后进行 PCR 仪逆转录反应,42℃孵育混合物 45 min,95℃5 min,4℃反应 5 min,所得逆转录产物 cDNA(-20℃保存)。

2.6.4 PCR 扩增反应 PCR 反应体系:取 cDNA 2.5 μ L,加 10 \times 反应缓冲液(含 Mg²⁺)2.5 μ L, dNTP Mixture(10 mmol·L⁻¹)0.5 μ L, Taq mix DNA 聚合物 0.5 μ L, PPAR(mRNA 上下游引物或 β -actin mRNA 上下游引物各 0.5 μ L,灭菌水 18 μ L 共 25 μ L。PCR 反应条件:94℃预变性 3 min(灭活逆转录酶);94℃变性 30 s,56℃退火 30 s,72℃延伸 3 min,共 30 循环,72℃最后延伸 5 min。

2.6.5 RT-PCR 产物的鉴定及定量分析 在 85 V 电压下,取 10 μ L PCR 反应产物与 1.5 μ L 上样液(6 \times RNA loading buffer)混匀上孔,同时根据基因扩张产物片段的大小,加 DNA Marker 在同一模板中,以确定扩增产物片段的大小,在 1% 的琼脂糖凝胶中进行电泳 75 min,然后放入 Dolphin-Doc 凝胶成像系统仪,经计算机扫描成像,采集图片。并用 Dolphin-ID 软件进行图像灰度扫描,检测电泳条带吸光度(A),以 β -actin 为内参校正,以实现结果的半定量分析。即心肌组织 PPAR α 表达的相对量就是以其 PCR 产物电泳 A 与内参基因 β -actin A 的比值(PPAR α / β -actin)来表示。

2.7 统计学处理 结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据用 SPSS 16.0 软件处理,采用单因素方差分析和多重比较,并进行 t 检验, $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

3 结果

3.1 对运动大鼠心肌 CK,LDH,SDH 活性的影响

力竭游泳运动引起大鼠心肌 CK 活性下降,运动对对照组显著低于安静对照组 ($P < 0.01$),MGF 各组均低于安静对照组但 MGF 低剂量组与安静对照组比较具有显著性差异 ($P < 0.05$),但 MGF 各组均显著高于运动对照组 ($P < 0.01$)。LDH 在力竭游泳运动组显著低于安静对照组 ($P < 0.01$),MGF 各组均低

于安静对照组但各组均高于运动对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。SDH 在力竭游泳运动组显著低于安静对照组 ($P < 0.01$),MGF 各组均低于安静对照组但 MGF 低剂量组与安静对照组比较具有显著性差异 ($P < 0.05$)但与运动对照组比较无显著性差异, MGF 中、高剂量组高于运动对照组 ($P < 0.05$)。

表 1 罗汉果黄酮对力竭游泳大鼠心肌 CK,LDH,SDH 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	CK	LDH	SDH
安静对照	-	330.18 ± 13.16	180.42 ± 5.67	27.16 ± 3.12
运动对照	-	287.43 ± 21.28 ²⁾	161.26 ± 4.32 ²⁾	17.21 ± 4.31 ²⁾
运动 + 罗汉果黄酮	100	322.33 ± 20.12 ^{1,4)}	175.41 ± 4.27 ³⁾	20.15 ± 1.41 ¹⁾
	200	326.41 ± 19.33 ⁴⁾	177.34 ± 3.21 ⁴⁾	24.16 ± 2.56 ³⁾
	400	327.22 ± 19.23 ⁴⁾	177.63 ± 2.35 ⁴⁾	25.33 ± 3.22 ³⁾

注:与安静对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与运动对照组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.2 对运动大鼠心肌 PPAR α mRNA 的表达 通过 RT-PCR 技术检测各组大鼠心肌 PPAR α mRNA 表达情况,其琼脂糖凝胶电泳结果见图 1。结果可见,在 266 bp 和 405 bp 处分别有 β -actin 条带和 PPAR α mRNA 条带。经凝胶成像系统进行灰度扫描,计算出各组大鼠心肌 PPAR α mRNA 表达的相对量。表 2 中,运动对照组 PPAR α mRNA 表达水平显著低于安静对照组 ($P < 0.01$),MGFL 组 PPAR α mRNA 表达水平低于安静对照组但高于运动对照组 ($P < 0.05$),在 MGFM 组和 MGFH 组 PPAR α mRNA 表达水平高于安静对照组和运动对照组,与运动对照组比较具有极其显著性差异 ($P < 0.01$)。

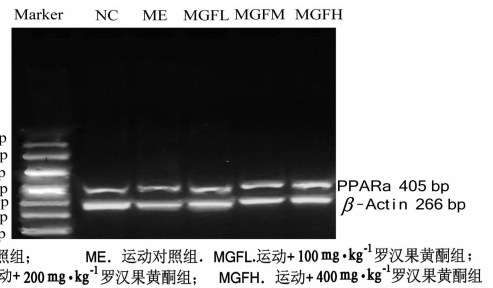


图 1 各组大鼠心肌 PPAR α mRNA 产物电泳

过度训练大鼠服用黄柳菇总黄酮可以不同程度地增强心肌组织 CK 的活性。彭彦铭等^[10]通过对过度训练小鼠补充蜂胶黄酮可以不同程度地增强心肌组织 CK 的活性,表明补充蜂胶黄酮具有保护小鼠心肌组织的作用。本研究结果显示,力竭游泳训练使大鼠心肌组织 CK 活性显著下降,表明力竭游泳训练致使心肌产生大量的自由基而阻碍了心肌能量的供应。而补充不同剂量的罗汉果黄酮使大鼠心肌组织 CK 活性高于运动对照组 ($P < 0.01$),表明补充罗汉果黄酮能够抑制运动产生的自由基,起到保护心肌组织的过度损伤,达到增强心肌有氧供能,延缓疲劳的产生,提高运动能力。

LDH 存在于机体各组织中,在运动中通常用 LDH 活性高低来评价心脏、肾脏、肝脏及骨骼肌无氧代谢能力,是重要的无氧氧化标志酶^[11]。李丽研究发现^[12],力竭游泳运动后小鼠血清 LDH 活性下降,而补充中药后 LDH 活性出现明显的恢复。彭彦铭等^[10]通过对过度训练小鼠补充蜂胶黄酮可以不同程度地增强心肌组织 CK 和 LDH 的活性,对小鼠心肌组织具有保护作用。本研究结果显示,力竭游

表 2 罗汉果黄酮对力竭游泳大鼠心肌 PPAR α mRNA 相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	PPAR α mRNA/ β -actin
安静对照	-	0.936 ± 0.117
运动对照	-	0.612 ± 0.120 ²⁾
运动 + 罗汉果黄酮	100	0.832 ± 0.124 ³⁾
	200	1.013 ± 0.115 ⁴⁾
	400	1.087 ± 0.128 ⁴⁾

4 讨论

4.1 罗汉果黄酮对运动大鼠心肌酶代谢的影响 CK 又称磷酸肌酸激酶,是肌细胞中的代谢酶,它存在于正常心肌细胞中。最近,常用 CK 来反映运动性心肌的情况。李锋等^[8]研究发现,不同递增负荷有氧训练可有效增强大鼠心肌组织的抗损伤能力,提高运动中大鼠心肌 CK 活力。吴鹤群等^[9]通过对

泳运动后大鼠心肌组织 LDH 活性低于安静对照组 ($P < 0.01$), MGF 各组均高于运动对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 这与彭彦铭等^[10] 研究的结果相一致, 提示补充不同剂量的罗汉果黄酮具有保护心肌组织的过度损伤。

SDH 属膜结合酶, 位于线粒体内膜, 是线粒体的标志酶^[13], 在运动训练中常用于评定运动员有氧氧化能力的高低。本研究结果显示, 力竭游泳运动后大鼠心肌 SDH 活性显著下降, 但补充不同剂量的罗汉果黄酮后大鼠心肌 SDH 活性高于运动对照组 ($P < 0.05$)。提示补充不同剂量的罗汉果黄酮改善了运动大鼠心肌的氧化代谢能力, 降低了运动引起机体有害代谢产物的生成, 从而保护心肌组织的损伤。这与彭彦铭^[10]、马先英^[14] 等研究的结果一致。

该结果说明, 补充罗汉果黄酮对力竭运动后心肌损伤具有明显的保护作用, 能减轻心肌的损伤, 但其确切机制尚待进一步探讨。

4.2 罗汉果黄酮对运动大鼠心肌 PPAR α mRNA 表达的影响 PPAR α 属于配体活化的核受体超家族-PPARs 类型中的一种, 是编码心脏脂肪酸 β 氧化酶类基因的主要核转录因子。主要与脂质和能量代谢有关。PPAR α 作为调节脂肪酸氧化酶类基因表达的关键核转录因子, 对维持心肌能量代谢发挥起关键调节作用^[15-16]。方子龙等^[17] 研究表明, 耐力训练上调了心脏细胞内 PPAR α 表达水平, 使心肌能够更好地氧化, 从而加速心肌内脂肪酸的分解, 以满足机体的能量需求。Jamshidi Y 等^[18] 研究发现, 大强度运动训练时, 心肌做功率增加, 耗氧量也随之增加, 当冠状动脉血供不能满足心肌代谢需要时, 致使心肌细胞内缺血缺氧, 脂肪酸氧化利用减少, 导致心脏结构与功能的损害。高瑞芳等^[19] 研究表明, 力竭运动后大鼠心肌 PPAR α 表达水平与心肌受损程度有关。有研究证明罗汉果黄酮具有抗氧化活性^[3]、清除自由基^[4] 和保护心肌组织作用^[20]。本研究结果显示, 运动对照组 PPAR α mRNA 表达水平显著低于安静对照组 ($P < 0.01$), 提示力竭游泳运动后可能使大鼠心肌细胞膜及线粒体膜发生过氧化损伤, 极大地阻碍了心肌内脂肪酸的分解, 以使机体不能满足心肌能量代谢需求, 使 PPAR α 表达下降。通过补充不同剂量的罗汉果黄酮后, MGF1 组大鼠心肌组织 PPAR α mRNA 表达水平低于安静对照组但高于运动对照组 ($P < 0.05$), 在 MGF2 组和 MGF3 组 PPAR α mRNA 表达水平高于安静对照组和运动对照组, 但与运动对照组比较具有极其显著性差异

($P < 0.01$), 提示补充罗汉果黄酮对满足心肌能量消耗或糖原摄入, 加强心肌细胞内的脂肪酸通过氧化为机体提供能量和保护心肌组织的过度损伤具有良好的作用。其作用机制可能与心肌脂解过程中蛋白和酶活的调控有关, 有待于进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 陈全斌, 杨瑞云, 义祥辉, 等. RP-HPLC 法测定罗汉果鲜果及甜甘中总黄酮含量[J]. 食品科学, 2003, 24(5):133.
- [2] 陈全斌, 沈钟苏, 韦正波, 等. 罗汉果黄酮的活血化痰药理作用研究[J]. 广西科学, 2005, 12(4):316.
- [3] 陈全斌, 苏小建, 沈钟苏. 罗汉果叶黄酮抗氧化能力研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(10):189.
- [4] 梁英, 朱志仁, 潘英明, 等. 罗汉果叶总黄酮的提取及清除自由基活性研究[J], 食品科技, 2010, 35(11):211.
- [5] 郑楚, 唐金良, 杨冬业, 等. 罗汉果总黄酮对实验性糖尿病大鼠的治疗作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22):194.
- [6] 邓启烈, 陈梅, 莫伟彬, 等. 罗汉果叶黄酮及游泳训练对力竭大鼠股四头肌组织 ATP 酶代谢的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(5):181.
- [7] Thomas D P, Marshall K I. Effects of repeated exhaustive exercise on myocardial subcellular membrane structures[J]. Int J Sports Med, 1988(9):257.
- [8] 李锋, 刘洪珍. 游泳训练对大鼠心肌能量代谢酶类活性的影响[J]. 体育科学研究, 2011, 15(2):64.
- [9] 吴鹤群, 王勇. 黄柳菇总黄酮对过度训练大鼠心肌抗氧化酶及肌酸激酶活性的影响[J]. 三明学院学报, 2011, 28(6):8.
- [10] 彭彦铭, 潘燕. 补充蜂胶黄酮对过度训练小鼠心肌能量代谢酶的影响[J]. 武汉体育学院学报, 2010, 44(8):36.
- [11] 潘蓉, 李玲. 丹参水提取物对心肌缺血/再灌注损伤大鼠心率及心肌酶谱的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4):232.
- [12] 李丽. 补气活血方抗运动性疲劳的实验研究[J]. 中医药信息, 2006, 23(3):65.
- [13] Wu Y, Liu C, Chen Q. Effect of acupuncture on enzymology of motor neuron anterior horn of experimental spinal cord injury in rats[J]. Zhongguo Zhong Xi Yi Jiehe Zazhi, 1999, 19(10):740.
- [14] 马先英, 荆兆清. 黄芪多糖对大鼠力竭运动后不同时相能量代谢相关酶的影响[J]. 成都体育学院学报, 2008, 34(3):62.

去甲乌药碱与 6-姜酚对心肌细胞的正性肌力作用

石晓路, 喻晓春, 崔海峰, 武乾, 孙明杰, 黄颖*
(中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700)

[摘要] 目的: 研究去甲乌药碱(higenamine)与 6-姜酚(6-gingerol)单体及其配伍在正常心肌细胞的正性肌力作用。方法: 急性分离成年 SD 大鼠左心室肌细胞, 分别使用不同单体和单体间不同浓度的相互配伍作用于心肌细胞, 使用 Ion Optix 单细胞收缩与离子测量系统检测细胞的最大收缩舒张速率($\pm dp/dt$)、收缩幅度(ph/bl)、50%收缩舒张时间常数(T_{50S}, T_{50D})的变化。结果: $0.03 \sim 1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 去甲乌药碱能够浓度依赖性增强心肌收缩力和最大收缩舒张速率, 起效浓度为 $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 能到最大效应, 其使收缩幅度增加为 234%, 最大收缩速率增加为 219%, 最大舒张速率增加为 272%, 其对 50% 收缩舒张常数无影响, EC_{50} 约为 $0.205 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $> 1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 即产生心肌毒性作用。3 ~ 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-姜酚对心肌细胞收缩功能无显著影响, 大于 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 使心肌细胞产生不节律收缩。相互配伍不能增强去甲乌药碱的强心作用。结论: 去甲乌药碱具有强心作用, 与 6-姜酚配伍不能显著增强去甲乌药碱的强心作用。

[关键词] 去甲乌药碱; 6-姜酚; 配伍; 正性肌力; 细胞收缩

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0208-04

[doi] 10.11653/syfyj2013140208

Positive Inotropic Effect of Higenamine and 6-gingerol on Cardiac Myocytes

SHI Xiao-lu, YU Xiao-chun, CUI Hai-feng, WU Qian, SUN Ming-jie, HUANG Ying*

(Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the positive inotropic effect of higenamine and 6-gingerol and their compatibility on normal cardiac myocytes. **Method:** The left ventricular cardiac myocytes were isolated from normal rat by traditional Langendorff method. The cardiac myocytes contraction were detected by using different monomers and their compatibility (Ion Optix cell dimensioning systems). The detections included the maximum velocity of systolic and diastolic ($\pm dp/dt$), contraction amplitude (ph/bl) and the time course constant of 50%

[收稿日期] 20121127(017)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81073089); 中国中医科学院自主选题(ZZ2011005)

[第一作者] 石晓路, 硕士, 研究实习员, 从事心血管药理, 药物筛选研究, Tel: 010-64014411-3330, E-mail: shixiaolu365@163.com

[通讯作者] * 黄颖, 博士, 助理研究员, 从事中药药理及方剂配伍研究, Tel: 010-64014411-3330, E-mail: huangying0518@126.com

- [15] Banke N H, Wende A R, Leone T C, et al. Preferential oxidation of triacylglyceride-derived fatty acids in heart is augmented by the nuclear receptor PPARalpha [J]. Circ Res, 2010, 107(2): 233.
- [16] Brandt J M, Djouadi F, Kelly D P. Fatty acids activate transcription of the muscle carnitine palmitoyltransferase I gene in cardiac myocytes via the peroxisome proliferator-activated receptor alpha [J]. J Biol Chem, 1998, 273(37): 23786.
- [17] 方子龙, 陈敏, 张志文, 等. 耐力训练和注射丙酸睾酮对雄性大鼠肝脏、心脏和腓肠肌 PPAR α 表达的影响 [J]. 天津体育学院学报, 2006, 21(3): 197.
- [18] Jamshidi Y, Montgomery H E, Hense H W, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene regulates left ven-tricular growth in response to exercise and hypertension [J]. Circulation, 2002, 105(9): 1025.
- [19] 高瑞芳, 常芸, 刘云清, 等. 力竭运动后大鼠心肌组织结构改变及不同时相 PPAR α 表达的变化 [J]. 中国运动医学杂志, 2009, 28(3): 264.
- [20] 姚绩伟, 杨永亮, 唐晖, 等. 罗汉果提取液对训练小鼠运动能力及心肌自由基代谢的影响 [J]. 北京体育大学学报, 2009, 32(3): 67.

[责任编辑] 聂淑琴