

利莫那班对血管紧张素Ⅱ诱导心肌细胞肥大的抑制作用及其机制研究[△]

扈晓霞^{1*}, 韩世飞¹, 李 晶^{2#} (1. 哈励逊国际和平医院心血管内科, 河北 衡水 053000; 2. 重庆三峡中心医院药学部, 重庆 404000)

中图分类号 R915;R966 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)21-2921-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.21.10

摘要 目的:研究利莫那班对血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)诱导心肌细胞肥大的抑制作用及其机制。方法:取大鼠心肌细胞接种于6孔板中,密度调整为 $2 \times 10^5 \text{ L}^{-1}$,分为空白对照组、模型组、阳性对照组(氯沙坦 $10 \mu\text{mol/L}$)和利莫那班低、中、高浓度组(0.1 、 1.0 、 $5.0 \mu\text{mol/L}$),后5组加入 $0.1 \mu\text{mol/L}$ AngⅡ建立心肌肥大细胞模型,然后分别加入相应浓度的药物,培养24 h后,观察并测量每一个视野内球形细胞的直径和细胞数量,检测心肌细胞中 Ca^{2+} 浓度、一氧化氮(NO)含量、一氧化氮合酶(NOS)活性和I型大麻受体(CB_1)蛋白表达情况。结果:各组心肌细胞数量差异无统计学意义($P > 0.05$)。与空白对照组比较,模型组心肌细胞直径明显增大,心肌细胞中 Ca^{2+} 浓度和 CB_1 蛋白表达水平均明显增加,NO含量和NOS活性明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,阳性对照组和利莫那班低、中、高浓度组心肌细胞直径明显缩小,心肌细胞中 Ca^{2+} 浓度和 CB_1 蛋白表达水平均明显降低,NO含量和NOS活性明显增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$),且利莫那班组作用呈浓度依赖性。结论:利莫那班可抑制AngⅡ诱导的心肌细胞肥大,其作用机制可能与降低 Ca^{2+} 浓度、下调 CB_1 蛋白表达有关。

关键词 利莫那班;血管紧张素Ⅱ;心肌细胞肥大; Ca^{2+} 浓度; I型大麻受体

Inhibitory Effects of Rimonabant on Cardiomyocyte Hypertrophy Induced by AngiotensinⅡ and Its Mechanism Study

HU Xiaoxia¹, HAN Shifei¹, LI Jing² (1. Dept. of Cardiovascular Medicine, Harrison International Peace Hospital, Hebei Hengshui 053000, China; 2. Dept. of Pharmacy, Chongqing Three Gorges Central Hospital, Chongqing 404000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the inhibitory effects of rimonabant on cardiomyocyte hypertrophy induced by angiotensinⅡ(AngⅡ) and its mechanisms. METHODS: Rat cardiomyocytes were incubated in 6 well culture plates with density of $2 \times 10^5 \text{ L}^{-1}$. They were divided into blank control group, model group, positive control group (losartan $10 \mu\text{mol/L}$), rimonabant low-concentration, medium-concentration and high-concentration groups (0.1 , 1.0 , $5.0 \mu\text{mol/L}$). The latter 5 groups were cultured with $0.1 \mu\text{mol/L}$ AngⅡ to induce cardiomyocyte hypertrophy model, and then given relevant concentration of drugs. After cultured with 24 h, diameter and number of spherical cells in each field of vision were observed and measured. The Ca^{2+} concentration, NO content, NOS activity and protein expression of cannabinoid receptor 1(CB_1) in cardiomyocyte were determined. RESULTS: There was no statistical significance in the number of cardiomyocyte ($P > 0.05$). Compared with blank control group, the diameter of cardiomyocytes in model group increased, and Ca^{2+} concentration and protein expression of CB_1 in cardiomyocytes were increased significantly; NO content and NOS activity decreased significantly, with statistical significance ($P < 0.05$). Compared with model group, the diameter of cardiomyocytes in positive control group, rimonabant low-concentration, medium-concentration and high-concentration groups were decreased significantly, and Ca^{2+} concentration and protein expression of CB_1 in cardiomyocytes were decreased significantly; NO content and NOS activity increased significantly, with statistical significance ($P < 0.05$), and the effects of the rimonabant groups were dose-dependent. CONCLUSIONS: Rimonabant can inhibit cardiomyocyte hypertrophy induced by AngⅡ, the mechanism of which may be associated with the decrease of Ca^{2+} concentration and protein expression of CB_1 .

KEYWORDS Rimonabant; AngiotensinⅡ; Cardiomyocyte hypertrophy; Ca^{2+} concentration; Cannabinoid receptor 1

△基金项目:重庆市基础研究与前沿探索项目(No.cstc2018jcyjAX0723);重庆市社会民生科技创新专项(No.cstc2016shmszx130028)

*副主任医师。研究方向:冠心病、心衰、高血压、心血管急危重症。E-mail:chn120@163.com

#通信作者:副教授,博士。研究方向:药理学、大麻系统基础研究。E-mail:mybestdorthy@hotmail.com

利莫那班是人类发现的首个I型大麻受体(CB_1)抑制剂,利莫那班作为新型减肥药,2006年在欧盟批准上市,用于超质量或肥胖的成人患者^[1]。此外,利莫那班对

调节人体胰岛素增敏、辅助戒烟、改善患者脂代谢紊乱具有辅助作用^[2]。但是由于利莫那班有可能会增加患者精神方面风险,赛诺菲-安万特(Sanofi-Aventis)公司于2007年6月29日宣布撤消其在美国的新药上市申请^[3]。近年来,人们不断研究证实,生理浓度下内源大麻素在体内发挥着多种生物学效应,如心血管效应、抗炎及保护内皮细胞等作用^[4]。有研究者报道,利莫那班可通过下调钙离子(Ca^{2+})-钙调素依赖性蛋白激酶 II (CaMK II)、心肌营养素 1(CT-1)的表达显著改善慢性间歇低氧诱发的心肌肥厚^[5-6]。为进一步探讨CB拮抗对肥大的原代乳鼠心肌细胞的影响及可能机制,本实验室通过前期研究发现^[7],CB₁广泛表达于人肾脏上皮细胞 HEK293 中,参与到 HEK293 细胞一系列的生理过程中。但拮抗CB₁与心肌细胞肥大是否同样存在相关性,尚未见报道。本实验用血管紧张素 II (Ang II)诱导原代乳鼠心肌细胞建立心肌肥大细胞模型,研究利莫那班对心肌细胞肥大的抑制作用及其机制,为CB₁抑制剂利莫那班预防心血管系统疾病提供新的理论依据。

1 材料

1.1 仪器

qTOWER2.0 型荧光定量多聚酶链式反应(PCR)仪和 Chemstudio SA2 型多功能成像系统(德国耶拿公司); Gene Pulser Xcell 型电转仪(美国 Bio-Rad 公司); D-35578 Wetzlar 型 Leica 荧光显微镜(德国 Leica Microsystems 公司);紫外-可见分光光度计(美国 Beckman 公司); SpectraMax M4 型多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)。

1.2 药品与试剂

利莫那班(批号:20170506,纯度:≥99.8%) 和 Ang II(批号:HZB0537,纯度:≥99%)均购自美国 Sigma 公司;氯沙坦钾胶囊(北京万生药业有限公司,批号:H20080015,规格:每粒 50 mg);小牛血清(批号:16010-159)和 DMEM 培养基(批号:11995-065)均购自美国 Invitrogen Gibco 公司;SYBR[®]GREEN PCR Master Mix(美国 Applied Biosystem 公司);CB₁基因引物与 Ca^{2+} 荧光探针(上海吉凯基因化学技术有限公司);生物素化抗鼠免疫球蛋白 G(IgG)二抗(批号:TA319567)、辣根过氧化物酶(HRP,批号:HZB0173)、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(批号:A5441)及甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH,批号:TA309157)均购自北京中杉金桥生物技术公司;兔抗鼠 CB₁一抗(批号:A-API9620c)、反转录试剂盒(批号:AK5602)均购自重庆卓诺生物技术有限公司;一氧化氮(NO)和一氧化氮合酶(NOS)的测定试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号:ml059067)。

1.3 动物

清洁级,新生 1~2 d SD 大鼠,50 只,♂,体质量 5.5~6.5 g,来源于重庆医科大学动物实验中心,实验动物使用许可证号为 SYXK(渝) 20022007,本实验通过重庆三峡中心医院伦理委员会同意开展相关动物实验研究。

2 方法

2.1 细胞培养与鉴别

无菌条件下,取新生 1~2 d SD 大鼠心室肌,切碎成 1 mm³大小,加入 0.25% 胰蛋白酶、胰蛋白酶和 D-Hank's 消化液混悬后,于 37 °C 磁力搅拌消化 10 min 左右,反复数次,直至碎片完全消化,吸出上清液,加入含 5% 小牛血清的培养液终止消化。收集分离包含心肌细胞的小牛血清 DMEM 培养液,梯度贴附法去除心肌周围细胞,以 $5 \times 10^5 \text{ L}^{-1}$ 密度接种于 6 孔板中,置于 CO₂ 培养箱中培养 48 h 后,换 DMEM 培养基适应性培养 10 h。免疫组化细胞学鉴定心肌细胞:心肌细胞培养在 6 孔板中,检测时用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗去除血清和杂质,4% 多聚甲醛固定 15 min;1% 牛血清白蛋白封闭 30 min;加 β -actin 一抗(稀释比例 1:500),4 °C 过夜;次日加生物素化抗鼠 IgG 二抗(稀释比例 1:500),37 °C 孵育 30 min;加 HRP 标记的链霉亲和素;3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木素复染细胞核,系列酒精脱水,中性树脂封片,显微镜观察。心肌细胞贴壁生长,单细胞有 1~2 个核,最终形成放射排列同心圆;培养 24 h 后心肌细胞开始出现自发性搏动;免疫组化细胞学鉴定显示,胞质棕黄色丝状物为免疫化学染色阳性心肌细胞,阳性率达 98% 以上,可满足进一步试验需求。

2.2 分组与给药

试验分为空白对照组、模型组、阳性对照组(氯沙坦 10 $\mu\text{mol/L}$) 和利莫那班低、中、高浓度组(0.1、1.0、5.0 $\mu\text{mol/L}$),后 5 组加入 0.1 $\mu\text{mol/L}$ Ang II 建立心肌肥大细胞模型,然后改为含相应浓度药物的 DMEM 培养液(用二甲基亚砜溶解利莫那班后 DMEM 稀释,配制成浓度分别为 0.1、1.0、5.0 $\mu\text{mol/L}$ 标准液),置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中继续培养 24 h 后检测。

2.3 心肌细胞计数与大小的测定

心肌细胞以 $2 \times 10^5 \text{ L}^{-1}$ 密度接种于 6 孔板中,按“2.2”项下分组给药,加药培养 24 h 后,用 D-Hank's 液快速冲洗长满细胞的培养皿 3 次,加入 0.25% 胰蛋白酶,消化 8 min 后,加入 10% 小牛血清培养液终止消化。显微镜下观察细胞形状,在每一个视野内按白细胞计数法对心肌细胞进行计数,并用测微器测量心肌细胞的直径。

2.4 荧光探针测定心肌细胞中 Ca^{2+} 浓度

心肌细胞以 $2 \times 10^5 \text{ L}^{-1}$ 密度接种于 6 孔板中,按“2.2”项下分组给药,每组 3 个复孔,加药培养 24 h 后用无菌

PBS清洗5次,加入终浓度为3 μmol/L的Ca²⁺荧光探针,在培养箱中继续培养1 h,PBS清洗5次,加入培养基,通过荧光显微镜4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)滤光片下观察,以340 nm为激发波长,510 nm为吸收波长,测定灰度值(*F*值)。根据预先建立的*F*值与Ca²⁺浓度之间的相互关系,计算Ca²⁺浓度。

2.5 测定心肌细胞中NO含量和NOS活性

心肌细胞以2×10⁵ L⁻¹密度接种于6孔板中,按“2.2”项下分组给药,每组3个复孔,加药培养24 h后,收集上清液,根据试剂盒说明书测定心肌细胞中NO含量和NOS活性。

2.6 Western blot法测定心肌细胞中CB₁蛋白表达

取各组细胞加药培养24 h后,胰酶消化,用预冷的PBS清洗3次,加入裂解缓冲液100 μL裂解细胞,超声破碎细胞膜,15 000 r/min(离心半径9 cm)离心20 min,提取上清液蛋白质,用考马斯亮蓝法测定样品中蛋白浓度。取3~5 μL蛋白样本上样,行10%十二烷基硫酸钠(SDS)-聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)电泳分离后转膜,在含5%脱脂牛奶的TBST缓冲液中封闭2 h。加入一抗兔抗大鼠CB₁抗体(稀释比例1:300),4℃孵育过夜,加入HRP标记二抗(稀释比例1:3 000),室温孵育2 h,化学发光法显色。以目标蛋白与内参GAPDH的吸光度值(OD值)比值为相对表达量,评价目的蛋白的表达水平。

2.7 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析。*P*<0.05为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 心肌细胞计数与大小的变化

显微镜下,心肌细胞均呈球形。各组心肌细胞数量差异无统计学意义(*P*>0.05)。与空白对照组比较,模型组心肌细胞直径明显增大(*P*<0.05)。与模型组比较,阳性对照组和利莫那班低、中、高浓度组心肌细胞直径明显缩小(*P*<0.05)。与阳性对照组比较,利莫那班低浓度组心肌细胞直径明显增大(*P*<0.05)。各组心肌细胞数量、直径的测定结果见表1。

3.2 心肌细胞中Ca²⁺浓度变化

与空白对照组比较,模型组心肌细胞中Ca²⁺浓度明显升高(*P*<0.05)。与模型组比较,阳性对照组和利莫那班低、中、高浓度组心肌细胞中Ca²⁺浓度明显降低(*P*<0.05)。与阳性对照组比较,利莫那班低浓度组心肌细胞中Ca²⁺浓度明显升高(*P*<0.05)。各组细胞中Ca²⁺的荧光染色图见图1,Ca²⁺浓度测定结果见表1。

3.3 心肌细胞中NO含量和NOS活性的变化

与空白对照组比较,模型组心肌细胞中NO含量和NOS活性明显降低(*P*<0.01)。与模型组比较,阳性对

表1 各组心肌细胞数量、直径和Ca²⁺浓度的测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 1 The number, diameter and Ca²⁺ concentration of cardiomyocyte in each group($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	心肌细胞数量, ×10 ³	细胞直径, μm	Ca ²⁺ 浓度, nmol/L
空白对照组	16.95 ± 5.72	21.06 ± 1.53	210.16 ± 29.31
模型组	17.19 ± 5.53	26.69 ± 1.32 [*]	713.16 ± 132.41 [*]
阳性对照组	17.01 ± 5.65	23.21 ± 1.61 ^{*Δ}	307.29 ± 41.02 ^{*Δ}
利莫那班低浓度组	17.04 ± 5.54	25.70 ± 1.56 ^{*Δ#}	381.47 ± 57.41 ^{*Δ#}
利莫那班中浓度组	16.71 ± 5.68	24.17 ± 1.63 ^{*Δ}	263.91 ± 43.27 ^{*Δ}
利莫那班高浓度组	16.91 ± 5.65	24.12 ± 1.68 ^{*Δ}	232.58 ± 51.34 ^{*Δ}

注:与空白对照组比较, ^{*}*P*<0.05;与模型组比较, ^Δ*P*<0.05;与阳性对照组比较, [#]*P*<0.05

Note: vs. blank control group, ^{*}*P*<0.05; vs. model group, ^Δ*P*<0.05; vs. positive control group, [#]*P*<0.05

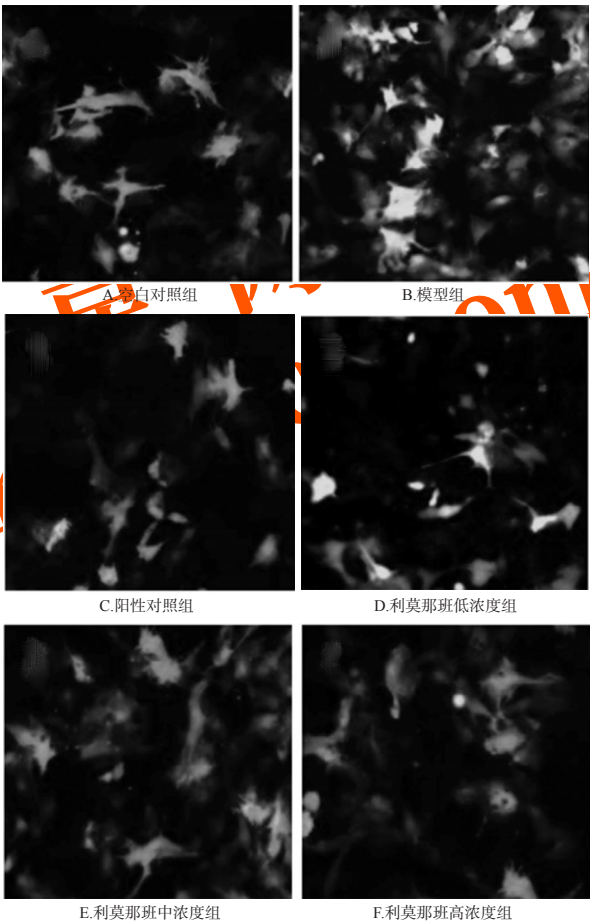


图1 各组细胞中Ca²⁺的荧光染色图(×400)

Fig 1 Fluorescent staining of Ca²⁺ in cardiomyocyte of each group(×400)

照组和利莫那班低、中、高浓度组心肌细胞中NO含量和NOS活性明显增加(*P*<0.05)。与阳性对照组比较,利莫那班低、中浓度组心肌细胞中NO含量和NOS活性明显降低(*P*<0.05),利莫那班低、高浓度组心肌细胞中NO含量和NOS活性差异具有统计学意义(*P*<0.05)。各组细胞中NO含量和NOS活性的测定结果见表2。

3.4 心肌细胞中CB₁蛋白表达变化

表2 各组细胞中NO含量和NOS活性的测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 2 NO content and NOS activity of cardiomyocytes in each group($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	NO, $\mu\text{mol/L}$	NOS, $\mu\text{mol/L}$	CB ₁ 蛋白相对表达量
空白对照组	1.48 ± 0.14	0.79 ± 0.02	0.56 ± 0.06
模型组	0.69 ± 0.03*	0.50 ± 0.07*	0.95 ± 0.07*
阳性对照组	1.51 ± 0.16 ^Δ	0.82 ± 0.05 ^Δ	0.58 ± 0.08 ^Δ
利莫那班低浓度组	1.02 ± 0.03 ^{Δ#}	0.64 ± 0.04 ^{Δ#}	0.73 ± 0.05 ^{Δ#}
利莫那班中浓度组	1.26 ± 0.06 ^{Δ#}	0.80 ± 0.03 ^Δ	0.66 ± 0.08 ^{Δ#}
利莫那班高浓度组	1.53 ± 0.08 ^Δ	1.05 ± 0.10 ^{Δ#}	0.59 ± 0.06 ^Δ

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,^Δ $P<0.05$;与阳性对照组比较,[#] $P<0.05$

Note: vs. blank control group, * $P<0.05$; vs. model group, ^Δ $P<0.05$; vs. positive control group, [#] $P<0.05$

与空白对照组比较,模型组心肌细胞中CB₁蛋白相对表达量明显增加($P<0.05$)。与模型组比较,阳性对照组和利莫那班低、中、高浓度组心肌细胞中CB₁蛋白相对表达量明显减少($P<0.05$)。与阳性对照组比较,利莫那班低、中浓度组心肌细胞中CB₁蛋白相对表达量差异具有统计学意义($P<0.05$)。各组细胞中CB₁蛋白表达的电泳图见图2,CB₁蛋白相对表达量的测定结果见表2。

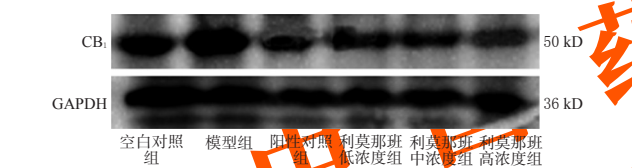


图2 各组细胞中CB₁蛋白表达的电泳图
Fig 2 Electrophorogram of protein expression of CB₁ in cardiomyocyte of each group

4 讨论

我国心血管疾病患病人数处于持续上升阶段,心血管疾病的死亡率居死亡率首位^[8]。心肌细胞肥大是导致心脏疾病和心脏猝死的危险因素,抑制心肌细胞肥大备受关注^[9-10]。心肌接受刺激发生代偿,在最初代偿期心肌可提高心脏泵血功能,在病因持久作用下,肥大心肌功能失去代偿功能而转变为心衰,寻找针对心肌肥大的治疗策略一直是心血管疾病研究领域的热点之一。

Ang II是公认的促心肌肥大因子,本研究采用Ang II诱导建立体外心肌肥大细胞模型,倒置显微镜观察显示模型组心肌细胞直径显著增加($P<0.05$),心肌细胞肿胀和分界不清的病理改变,提示心肌肥大细胞模型建立成功,Ang II增加模型组心肌细胞胞膜CA₁蛋白表达,而拮抗CB₁可降低胞膜CB₁的表达且随着利莫那班浓度增加呈浓度依赖性。有研究显示,CB₁活性升高可增加食欲、促进摄食等^[11-12],同时周围组织能量代谢异常,可引起体质量增加,引发血脂异常,造成心肌细胞肥大。

利莫那班可选择性抑制CB₁,临床已有研究结果显示,拮抗CB₁可减轻炎症、改善代谢、降低血压、抑制动脉粥样硬化发展^[13]。心肌细胞Ca²⁺浓度升高是导致心肌肥大的基本信号,胞内Ca²⁺浓度升高可激活Ca²⁺敏感的钙调磷酸酶(CaN),活化T细胞核因子3和锌指转录因子,激活多个相关基因如心钠素(ANF)等表达,促进心肌肥大。国外有文献报道,CB₁激动后也可促进胞内“钙池”释钙和Ca²⁺离子跨膜转运增加。本试验模型组心肌细胞中Ca²⁺浓度显著高于正常对照组,这一结果与前人研究^[13-14]结果吻合。利莫那班低、中、高浓度组心肌细胞中Ca²⁺浓度显著低于模型组,笔者推测利莫那班拮抗CB₁受体可能通过抑制Ca²⁺释放和抑制突触后电位,降低心肌细胞内Ca²⁺浓度。NO能抑制心肌细胞分裂和增殖,其激活鸟苷酸环化酶而抑制L型Ca²⁺内流,最终减弱核转录因子(NFAT)核移位和转录活性,发挥抗心肌肥大的作用。本研究结果显示,利莫那班能明显增强NOS的活性($P<0.05$)、促进NO的释放($P<0.05$),这一作用对心肌细胞肥大也具有保护作用。

近年研究人们发现花生四稀酸乙醇胺等内源性大麻素在糖代谢紊乱、氧化应激、炎症因子活化等生理病理过程发挥重要作用^[15-16],CB₁表达一定程度上可评价体内大麻系统发生的变化^[17]。本研究结果证实,利莫那班能明显降低Ang II诱导的心肌肥大细胞中CB₁的表达、抑制心肌细胞中Ca²⁺浓度的升高和增强NOS活性并促进NO的释放,其作用效果与氯沙坦相当。有关CB₁拮抗药对心肌肥大作用的影响及其细胞学机制目前并不完全清楚,其可能通过拮抗CB₁,调节食欲、摄食、糖脂代谢、能量代谢、氧化应激、血脂异常等病理过程发挥改善心肌细胞肥大效应^[12,18-19]。

综上所述,利莫那班对Ang II诱导的心肌细胞肥大具有抑制作用,呈浓度依赖性,抑制机制可能与降低Ca²⁺浓度、下调CB₁蛋白表达有关,这一研究结果提示CB₁可作为防治心室肥厚的潜在靶点,具有潜在应用前景。

参考文献

[1] VALENTA I, VARGA ZV, VALENTINE H, et al. Feasibility evaluation of myocardial cannabinoid type 1 receptor imaging in obesity[J]. Jacc Cardiovascular Imaging, 2018, 11(2): 320-332.
[2] 魏立雯,袁章琴,赵明德,等.大麻素受体1对小鼠脂质代谢的作用研究[J].四川动物, 2018(1): 51-56.
[3] 阙斌.利莫那班在美国撤消新药上市申请[J].中国心血管病研究, 2007(10): 769-769.
[4] 王瑾,周炳杰,耿骥,等.利莫那班衍生物对高脂肥胖模型小鼠的减肥作用[J].江苏大学学报(医学版), 2016, 26(2): 119-123.
[5] 张晋源,陈彦,肖玲,等.内源性大麻素系统在慢性间歇低

穿心莲配方颗粒的质量标准及指纹图谱研究^Δ

贺友安^{1,2*}, 胡 辉¹, 严 玲², 刘源才^{1,3} (1. 劲牌生物医药有限公司, 湖北 黄石 435000; 2. 劲牌研究院, 湖北 黄石 435000; 3. 中药保健食品质量与安全湖北省重点实验室, 湖北 大冶 435100)

中图分类号 R286.0 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)21-2925-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.21.11

摘 要 目的: 初步拟定穿心莲配方颗粒的质量标准, 并建立其高效液相色谱(HPLC)指纹图谱。方法: 分别采用薄层色谱法、HPLC法对穿心莲配方颗粒中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯进行定性鉴别和定量分析, 根据2015年版《中国药典》(简称“药典”)对其水分、粒度、溶化性、浸出物进行测定; 绘制10批穿心莲配方颗粒的HPLC指纹图谱, 并与对照指纹图谱进行相似度评价。结果: 供试品薄层色谱在对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点, 穿心莲配方颗粒的水分、粒度、溶化性、浸出物测定结果均符合药典标准。穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯检测质量浓度的线性范围分别为10.983~274.583、11.355~283.886 mg/L(r 均为0.999 9), 精密密度试验的RSD分别为0.50%、0.29% ($n=6$), 重复性试验的RSD分别为0.99%、0.51% ($n=6$), 室温下24 h稳定性试验的RSD分别为0.19%、0.53% ($n=6$), 平均回收率分别为99.03%、102.24% (RSD分别为1.98%、1.86%, $n=6$), 含量分别为(12.18±0.16)、(7.53±0.24) mg/g ($n=3$)。10批穿心莲配方颗粒样品HPLC指纹图谱与HPLC对照指纹图谱相似度均>0.99。结论: 建立的穿心莲配方颗粒质量标准及其HPLC指纹图谱, 可用于穿心莲配方颗粒的质量控制。

关键词 穿心莲配方颗粒; 高效液相色谱法; 质量标准; 指纹图谱

氧大鼠心肌梗死病理过程中的作用[J]. 中国循环杂志, 2014, 29(7): 545-549.

[6] HILL MN, MCEWEN BS. Involvement of the endocannabinoid system in the neurobehavioural effects of stress and glucocorticoids[J]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2010, 34(5): 791-797.

[7] 刘佳, 李晶, 严磊, 等. 大鼠 CB1 基因真核表达载体的构建及初步鉴定[J]. 中国药房, 2015, 26(16): 2184-2187.

[8] 陈伟伟, 王文, 隋辉, 等. 《中国心血管病报告 2016》要点解读[J]. 中华高血压杂志, 2017, 25(7): 605-608.

[9] WONG F. Cirrhotic cardiomyopathy[J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2010, 53(1): 179-190.

[10] 卢永昕. 高血压: 从左室肥厚到心力衰竭[J]. 中华高血压杂志, 2007, 15(3): 189-191.

[11] GILSBACH R, SCHWADERER M, PREISSE S, et al. Distinct epigenetic programs regulate cardiac myocyte development and disease in the human heart in vivo[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 391-395.

[12] 陈华, 龙明, 封玉玲, 等. 高脂喂养 SD 大鼠体内花生四烯酸乙醇胺水平及 I 型大麻素受体表达的变化[J]. 中国生物制品学杂志, 2016, 29(4): 374-377.

[13] PORCU A, MELIS M, TURECEK R, et al. Rimobant, a potent CB1 cannabinoid receptor antagonist, is a Gαi/o protein inhibitor[J]. *Neuropharmacology*, 2018. DOI: 10.1016/j.neuropharm.

[14] AL SULEIMANI YM, AL MAHRUQI AS, HILEY CR. Mechanisms of vasorelaxation induced by the cannabidiol analogue compound O-1602 in the rat small mesenteric artery[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2015. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.08.021.

[15] AWUMEY EM, HILL SK, DIZ DI, et al. Cytochrome P450 metabolites of 2-arachidonoylglycerol play a role in Ca²⁺-induced relaxation of rat mesenteric arteries[J]. *American Journal of Physiology*, 2008, 294(2): 2363-2370.

[16] ROMEROZERBO SY, BERMUDEZSILVA FJ. Cannabinoids, eating behaviour, and energy homeostasis[J]. *Drug Testing & Analysis*, 2014, 6(1/2): 52-58.

[17] FARHANG B, DIAZ S, TANG SL, et al. Sex differences in the cannabinoid regulation of energy homeostasis[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2009, 34(1): S237-S246.

[18] FREITAS HR, ISAAC AR, MALCHER-LOPES R, et al. Polyunsaturated fatty acids and endocannabinoids in health and disease[J]. *Nutr Neurosci*, 2017, 7(20): 1080-1094.

[19] SURKIN PN, GALLINO SL, LUCE V, et al. Pharmacological augmentation of endocannabinoid signaling reduces the neuroendocrine response to stress[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2018. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2017.10.015.

Δ 基金项目: 湖北省技术创新专项重大项目(No.2016ACA142)
* 高级工程师, 硕士。研究方向: 中药资源与制剂研究。电话: 0714-3188791。E-mail: heyouan007@163.com
(收稿日期: 2018-03-19 修回日期: 2018-09-18)
(编辑: 邹丽娟)