

· 基础研究 ·

桂枝甘草汤及其拆方含药血清对豚鼠心室肌细胞 L-型钙通道的影响

邢作英 王永霞 朱明军 朱初麟 胡宇才 陈 鹏 郑 佳

摘要 **目的** 探讨桂枝甘草汤及不同组分含药血清对单个豚鼠心室肌细胞 L-型钙离子电流 (ICa-L) 及其动力学参数的影响。**方法** 急性分离豚鼠心室肌细胞,随机分为空白组、甘草组(炙甘草 30 g 煎液)、桂枝组(桂枝 60 g 煎液)、甘草加桂枝组(炙甘草 30 g 单煎液 + 等体积桂枝 60 g 单煎液)、桂枝甘草汤组(炙甘草 30 g + 桂枝 60 g 合煎液),共 5 组。实验分为 10%、15% 两个浓度药物组,加药完成后细胞放于 37 ℃, 5% CO₂ 的孵育箱中孵育 24 h 后进行膜片钳实验。**结果** 与空白组比较,10%、15% 各药物组均不同程度抑制钙离子电流($P < 0.05$),其中 10% 桂枝甘草汤组抑制率最大为 58.4%。15% 浓度药物组使 ICa-L 激活、失活及恢复时间均延长($P < 0.05$),其中桂枝组激活时间常数、慢失活时间常数和失活后恢复时间常数变化率最大;甘草组快失活时间常数变化率最大。**结论** 桂枝甘草汤及各组分含药血清对钙离子通道有不同程度的抑制作用,与钙离子阻滞剂的作用机制相同,这可能是桂枝甘草汤抗心律失常的作用机理。

关键词 桂枝甘草汤;血清药理学;膜片钳;L-型钙离子电流;动力学参数

Effect of Guizhi Gancao Decoction and its Disassembled Prescription in Different Serum Concentrations on L-type Calcium Channel in Guinea-Pig Ventricular Myocytes XING Zuo-ying, WANG Yong-xia, ZHU Ming-jun, ZHU Chu-lin, HU Yu-cai, CHEN Peng, and ZHENG Jia Department of Heart Center, First Affiliated Hospital, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou (450000)

ABSTRACT **Objective** To explore the effect of Guizhi Gancao Decoction (GZGC) and different serum concentrations (10% and 15%) on native L-type Ca²⁺ channel current (ICa-L) in guinea pig ventricular myocytes. **Methods** The myocytes were isolated from guinea pig ventricular tissues, which were randomly divided into five groups: the control group, the Gancao group (decoction of 30 g prepared *Radix glycyrrhizae*), the Guizhi group (decoction of 60 g *Ramulus cinnamomi*), the Gancao and Guizhi group (single decoction of 30 g prepared *Radix glycyrrhizae* + equal volume decoction of 60 g *Ramulus cinnamomi*), the GZGC group (co-decoction of 30 g prepared *Radix glycyrrhizae* and 60 g *Ramulus cinnamomi*). Cells were divided into 10% and 15% drug concentration groups and incubated at 37 ℃ in a humidified, 5% CO₂ incubator after 24 h, patch clamp test was performed. **Results** Compared with the control group, the drug groups (10%, 15%) inhibited ICa-L density to different degrees (all $P < 0.05$), and the highest inhibition rate of 10% concentration GZGC was 58.4%. The 15% drug group increased the time courses of activation, inactivation and recovery (all $P < 0.05$). The rate of activation, slow inactivation and recovery time constant of Guizhi group was the largest, and the rate of fast inactivation time constant of Gancao group was the largest. **Conclusion** There were varying degrees of inhibition of Guizhi Gancao decoction and its disassembled prescription in different serum concentration on ICa-L, the effect might be a mechanism of antiarrhythmic action, and it was the same as calcium ion inhibitor.

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 81102698, No. 81503435);河南省科技创新杰出青年计划(No. 124100510008);郑州市普通科技攻关(No. 112PPTSF319-17);河南中医学院科研苗圃工程项目(No. MP2015-28);河南省科技创新团队(No. C20130050);河南省高校科技创新团队(No. 131RTSTHN012);河南省高校科研基金项目(No. 2014KYYWF-YQ07)

作者单位: 河南中医药大学第一附属医院心脏中心(郑州 450000)

通讯作者: 王永霞, Tel: 13838571596, E-mail: wyxchzhq@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20180206.045

KEYWORDS Guizhi Gancao Decoction; serum pharmacology; patch clamp; L-type Calcium channel current; kinetic parameters

钙离子通道(简称钙通道)几乎存在所有可兴奋细胞^[1]。钙通道^[2]的重要功能就是提供用于较长的去极化反应所需的持续内向电流,同时可以调节细胞内钙离子浓度,在脊椎动物的心脏、平滑肌信号传递中具有重要作用,钙通道的异常会导致心律失常的发生^[3]。心律失常多归属于中医学的“心悸”、“怔忡”、“眩晕”等范畴,是心脏兴奋功能紊乱、电活动失常的表现。桂枝甘草汤方是心悸证治的基础方,临床与实验研究均取得很好的疗效^[4],但是关于桂枝甘草汤抗心律失常机制和对心肌细胞离子通道的影响尚未见报道。实验中利用血清药理学及膜片钳实验技术,从离子通道水平探讨桂枝甘草汤对豚鼠心肌细胞钙离子电流及其动力学参数的影响,探讨其治疗心律失常的作用机理。

材料与方法

1 动物 成年豚鼠,雌雄兼用,体重 250 ~ 350 g,10 ~ 12 周,清洁级,合格证号: SCXK(京)2011-0004,由北京金牧阳实验动物养殖有限责任公司提供。SD 大鼠,雄性,体重 250 ~ 350 g,8 ~ 12 周,SPF 级,合格证号: SCXK(京)2010-0001,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物伦理审批号: YFYDW2013007。

2 主要试剂及仪器 主要试剂为:氯化钠(NaCl,批号:100997803),氯化钾(KCl,批号:1000959400),硫酸镁(MgSO₄,批号:1001386591),葡萄糖(Glucose,批号:1000898954),羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES,批号:1001531694),氯化钙(CaCl₂,批号:10035-04-8),左旋谷氨酸(L-Glutamic Acid,批号:1000985138),氯化镁(MgCl₂,批号:1000838831),牛磺酸(Taurine,批号:1001675865),乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸(EGTA,批号:1000960158),以上试剂为 Sigma 公司产品。溶液配方如下: Buffer A (mmol/L): NaCl 118, KCl 4.8, K₂HPO₄ 49.6, MgSO₄ 40, Glucose 1.1, HEPES 25, 1 mol/L NaOH 调 pH 值 7.3 ~ 7.4。酶液为 50 mL Buffer A 加 25 mg II 型胶原酶。Buffer B (mmol/L): Buffer A 加 CaCl₂, 浓度调至 1.5 mmol/L。KB 液 (mmol/L): KOH 80, KCl 30, L-Glutamic Acid 50, MgCl₂ 1, HEPES 10, Glucose 10, KH₂PO₄ 20, Taurine 20, EGTA 0.5, 1 mol/L KOH 调 pH 值 7.3 ~ 7.4。心肌细胞培养液 (mmol/L): Media 199: Carnitine 5, Taurine 5, Creatine 5, Anti-

otic/Antimycotic 0.5%。钙通道细胞外液 (mmol/L): TEA-Cl 140, MgCl₂ 2, CaCl₂ 10, HEPES 10, Glucose 5, TEA-OH 调 pH 值 7.4。钙通道电极内液 (mmol/L): CsCl 120, MgCl₂ 1, HEPES 10, Mg-ATP 4, EGTA 10, Na₂-GTP 0.3, CsOH 调 pH 值 7.2。

主要仪器: 倒置显微镜: OLYMPUS IX71, 日本; 放大器: HEKA, EPC-10; 三维操纵仪: Sutter; 软件: PatchMaster, 德国 HEKA 公司; GraphPad Prism 5; 玻璃微电极及其他手术、细胞培养器械。

3 血清制备和分组 按《伤寒论》桂枝甘草汤原方比例,桂枝:炙甘草(2:1)配伍,取桂枝 60 g、炙甘草 30 g 合并煎煮为桂枝甘草汤组;另取炙甘草 30 g、桂枝 60 g 分别煎煮制备炙甘草组和桂枝组;炙甘草 30 g 煎液和桂枝 60 g 煎液以 1:1 比例混合为甘草加桂枝组。大鼠的灌胃剂量为临床成人用量的 5 倍^[5],各组 2 次煎煮的滤液浓缩至 100 mL,以 1 mL/100 g (体重)的剂量灌胃给予大鼠,每日 2 次,空白组给予等容积生理盐水。前期 HPLC 分析表明,给药后 1 h 的血清样品中,各药物的血中移行成分最多^[6]。因此选定末次给药后 1 h 为最佳采血时间。连续给药 3 日,末次给药 1 h 后戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射麻醉动物,无菌下腔静脉采血,离心收集血清。分别制得空白、炙甘草、桂枝、甘草加桂枝和桂枝甘草汤含药血清,在制备的心肌细胞液中分别加入 10% 和 15% 浓度相应血清放于 37 ℃,5% CO₂ 的孵育箱中孵育 24 h,选取完整、立体、横纹清晰的细胞进行膜片钳实验。

4 方法 实验在室温 25 ℃ 条件下进行,记录豚鼠心室肌细胞钙离子电流及激活、失活和恢复时间常数的变化。

4.1 豚鼠心室肌细胞分离 参照参考文献 [7,8]。Langendorff 灌流器恒温预热,调节灌流器出口温度为 37 ℃,恒流泵控制灌流速度为 3 ~ 4 mL/min。酒精 50 mL,去离子水 400 mL, Buffer A 50 mL, Buffer B 100 mL,其中 50 mL 盛放于 10 cm 小皿中置于 4 ℃ 冰箱中备用。KB 液 150 mL,酶液 50 mL 均通以 100% 氧气持续饱和 30 min 以上。Buffer B (约 20 mL)封口单向灌流冲管,腹腔注射 2% 戊巴比妥钠(30 mg/kg)1 mL 与肝素(1 000 μ/mL)1 mL 麻醉豚鼠,迅速游离并取出心脏,放入盛有 4 ℃ Buffer B 的 10 cm 小皿中,游离主动脉,主动脉逆行插管连于自制灌流装置上,深度应在主动脉瓣以上,行 Lan-

gendorff 灌流。先用 Buffer B 逆向灌流心脏 1 ~ 3 min(灌注压约 30 cm 水柱)去除冠脉内血液并使心脏停跳。干净后改为 Buffer A 灌流 1 ~ 3 min,后改为酶液灌流,灌流器内进液约 10 mL 后酶液循环灌流消化心脏。待心脏变得松软,灌注压下降,用眼科剪将心室肌组织剪成尽量小的组织块盛于 KB 液中,用吸管轻轻吹打,使细胞分离,获得单个心室肌细胞。用 200 目的细滤网过滤含有心肌细胞的 KB 液,过滤后的细胞液用小烧杯定容至 30 mL,以备细胞复钙使用。

4.2 细胞复钙 细胞分离成功后用相应 CaCl_2 浓度的 KB 液使细胞液逐步恢复至接近生理钙浓度,细胞复钙方案^[9]: 30 mL 细胞液,第一次 5 mL KB 液 + 3.5 μL 1 mol/L CaCl_2 充分混匀后缓慢加入细胞液中;每隔 5 min 以同样方法分别加入 4.5、10、22、26 μL 1 mol/L CaCl_2 于 5 mL KB 液中,混匀后加入细胞液中,使细胞液的终浓度为 1.2 mmol/L。复钙完成后在细胞培养板中用心肌细胞培养液铺板,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的孵箱中孵育 24 h 后进行膜片钳实验。

4.3 全细胞膜片钳记录 参照参考文献[10],细胞孵育 24 h 后加入钙通道细胞外液,同时配合使用钙通道电极内液。显微镜下选取外形完整,形状规则,边缘整齐,表面光滑无颗粒,横纹清晰,无收缩的长杆状细胞。ICa-L 为一快速激活、缓慢失活的内向电流,电流在 10 ms 左右达到高峰,250 ms 基本完全失活,其激活和失活过程均呈电压和时间依赖性。设定到电压钳模式给予一定时间和强度的电压刺激(图 1)描记各细胞组电流变化。因钙电流失活曲线先是一快速失活,呈现一陡峭坡度曲线,快速失活后曲线变缓呈现慢失活,失活速率不同所以此处针对失活曲线需测量其快失活常数,针对慢失活曲线需测量其慢失活常数。激活曲线和失活曲线分别为阶跃刺激电压下对应的电流除以最大电流拟合而成,显示通道激活和失活过程的电压依赖性。失活后恢复曲线为使通道失活后间隔不同的时间再次给予电压刺激,记录相应电流

除以完全恢复后最大电流所得,反应通道失活后再次恢复细胞活性的时间依赖性。玻璃微电极控制仪控制玻璃毛胚成尖端直径 1 ~ 1.5 μm 的玻璃微电极。充灌好电极内液的玻璃微电极正压入水,电阻为 4 ~ 5 $\text{M}\Omega$,电极接触细胞前补偿液接电位。用三维操纵仪调节电极尖端的位置使其移向细胞表面,轻压细胞微变形,形成高阻封接,进行电极电容补偿,负压吸引使其破膜。形成全细胞的记录模式,此时要对全细胞膜电容进行补偿。给予相应的电信号刺激,进行信号采集。信号经四阶贝塞尔的低通滤波器,截止频率为 1 kHz,采样频率为 10 kHz,每组细胞数量(n)为 8 个。

5 统计学方法 数据分析使用 SPSS 17.0 软件,数值数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,给药后各组间进行比较采用方差分析,组间两两比较用 $LSD-t$ 检验,率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

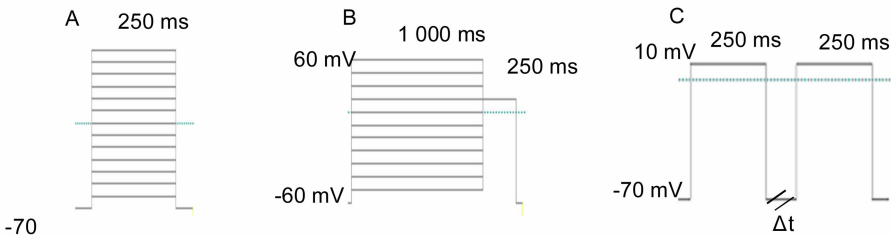
结 果

1 各组 ICa-L 峰值电流密度及钙电流的平均抑制率比较(表 1,图 2) 与空白组比较,10%、15%浓度的各药物组均抑制 ICa-L 电流密度($P < 0.05$)。10%浓度炙甘草组、桂枝组、甘草加桂枝组和桂枝甘草汤组抑制率分别为: 52.7%、34.2%、41.0%、58.4%。15%浓度各药物组抑制率分别为:48.8%、50.6%、49.0%、39.0%。其中抑制率最大的是 10%浓度的桂枝甘草汤组,为 58.4%。

表 1 各组豚鼠心室肌细胞电流密度比较
(pA/pF, $\bar{x} \pm s$)

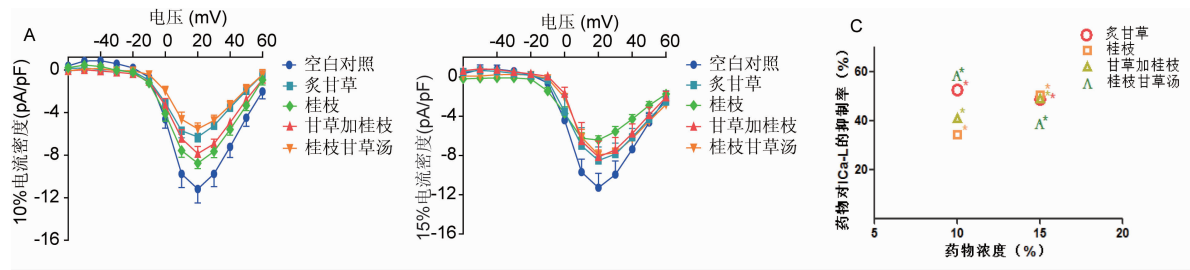
组别	n	10% 浓度	15% 浓度
空白	8	-13.30 $\pm$ 1.28	-13.01 $\pm$ 1.37
炙甘草	8	-6.29 $\pm$ 0.47 *	-6.66 $\pm$ 0.48 *
桂枝	8	-8.76 $\pm$ 0.51 *	-6.42 $\pm$ 0.44 *
甘草加桂枝	8	-7.85 $\pm$ 0.67 *	-6.63 $\pm$ 0.57 *
桂枝甘草汤	8	-5.53 $\pm$ 0.56 *	-7.94 $\pm$ 0.49 *

注:与空白组比较,* $P < 0.05$



注:A 为 ICa-L 电流刺激电压;B 为 ICa-L 失活曲线刺激电压;C 为 ICa-L 失活后恢复曲线刺激电压

图 1 记录 ICa-L 刺激方案



注:A 为 10% 剂量组各组峰电流密度曲线图;B 为 15% 剂量组各组峰电流密度曲线图;C 为两药物浓度组与空白组比较对钙电流的平均抑制率, * $P < 0.05$

图 2 各组 ICa-L 峰值电流密度及钙电流的平均抑制率比较

表 2 各组豚鼠心室肌细胞 ICa-L 激活、失活时间常数和失活后恢复时间常数比较 (ms, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	10%激活 时间常数	10%快失活 时间常数	10%慢失活 时间常数	10%恢复 时间常数	15%激活 时间常数	15%快失活 时间常数	15%慢失活 时间常数	15%恢复 时间常数
空白	8	2.01 ± 0.14	18.50 ± 2.58	121.20 ± 7.87	118.20 ± 27.53	2.06 ± 0.27	14.58 ± 1.35	109.20 ± 12.16	92.28 ± 19.63
炙甘草	8	3.05 ± 0.19 *	25.26 ± 2.97	134.70 ± 17.02	120.70 ± 19.81	4.24 ± 0.39 *	33.16 ± 3.52 *	193.20 ± 12.08 *	150.20 ± 22.74 *
桂枝	8	2.23 ± 0.21 ^Δ	21.89 ± 3.24	124.00 ± 16.55	140.90 ± 26.57	4.59 ± 0.43 *	28.52 ± 1.16 *	201.40 ± 8.81 *	172.70 ± 32.85 *
甘草加桂枝	8	2.12 ± 0.13 ^Δ	18.54 ± 1.98	132.30 ± 12.48	156.50 ± 30.49	3.65 ± 0.36 *	26.65 ± 2.75 *	180.20 ± 10.16 *	166.70 ± 28.73 *
桂枝甘草汤	8	3.09 ± 0.19 *	19.01 ± 0.79	127.60 ± 11.38	193.90 ± 36.78	3.79 ± 0.23 *	30.62 ± 2.97 *	177.80 ± 17.44 *	163.80 ± 35.46 *

注:与空白组比较, * $P < 0.05$;与炙甘草组比较, ^Δ $P < 0.05$;与桂枝甘草汤组比较, [▲] $P < 0.05$

2 各组激活、失活时间和恢复时间常数比较 (表 2) 与空白组比较, 10%炙甘草组和桂枝甘草汤组激活时间常数延长($P < 0.05$), 且优于桂枝组和甘草加桂枝组($P < 0.05$); 15%各药物组激活时间常数、快失活时间常数、慢失活时间常数和恢复时间常数均增大($P < 0.05$)。其中 15%桂枝组激活时间常数和慢失活时间常数变化率最大;炙甘草组快失活时间常数变化率最大;桂枝组失活后恢复时间常数变化率最大。

讨 论

中药复方独特疗效有其独特的物质基础, 与单味药及其简单加和在化学成分上有本质区别, 药效机制研究也未见到调节离子通道失衡的报道^[11]。周承志等^[12]通过观察炙甘草汤含药血清对兔心肌细胞 L 型 Ca^{2+} 通道电流的影响发现, 炙甘草汤含药血清可抑制 ICa-L, 且呈浓度依赖性作用增强, 实验中就中药复方加减后的不同药理作用加以探讨。因此实验通过能从宏观上反映中药物质群的指纹图谱法^[13], 质控和检测以明确桂枝与炙甘草组方配伍前后的含药血清里中药物质群组分及变化, 为该方进行电生理机制研究奠定基础, 为筛选中药有效单体成分提供实验依据。前期研究基础显示:通过液质联用技术得出桂枝甘草汤合煎液同单煎液相比, 产生了新的化学成分;桂枝单煎液体外成分与血中移行成分比较, 发现 1 个共同成分, 可能为药液直接吸收入血的成分;桂枝甘草汤煎液体外

成分与血中移行成分未发现共同成分, 可能给药 1 h 后药物各成分已发生代谢;桂枝血清、桂枝甘草汤血清移行成分中发现 7 个共同成分, 可能来源于桂枝入血成分的代谢产物^[14]。

结果显示:在不同钳制电压下均使 ICa-L 峰值电流受抑制, 但不改变激活电位、峰电位, 反转电位和曲线的形状, 表现为电流密度电压曲线上移 (图 2A-B)。药物使 ICa-L 的激活电压曲线向右移动, 激活半电压变大, 激活时间延长。药物使 ICa-L 的失活电压曲线向左移动, 失活半电压变小, 失活时间延长, 药物使 ICa-L 失活后恢复曲线右移。在药物对钙通道的作用中, 复方桂枝甘草汤的药效并非总是最好的, 桂枝含药血清对钙通道的激活时间常数、慢失活时间常数和恢复时间常数影响最显著;炙甘草含药血清对钙通道快失活时间常数影响最显著。

实验前通过预实验发现, 在一定范围内药效与细胞培养液中含药血清浓度呈正相关, 但是当浓度过分升高时, 细胞状态极差, 不能完成电生理实验, 可能是药物产生了毒性作用^[15]。预实验确定的细胞培养液有效血清浓度为 10% 和 15%, 这两个浓度可以较好地检测药物对钙通道的药效作用, 并且呈现出一定的剂量依赖性。但是, 在记录钙通道电流的过程中, 各组药物对钙电流的抑制率并不全部呈现出剂量依赖性, 10% 浓度的桂枝甘草汤组抑制率最大为 58.4%, 可能是实验过程中产生了细胞毒性的原因。

心悸辨治始于《伤寒杂病论》, 现代医家通过流行

病学调查的方法,对 1 126 例以心悸为主症的患者进行研究,引起心悸的病性证素有气虚、阴虚、阳虚、血虚、血瘀、火热等,其中以虚性证素为主,现代流调也证实气阳虚是心悸重要的病机^[16]。针对该病机采用温阳益气是仲景治疗心悸的第一大法。经言:“形不足者,温之以气”,大抵阳虚之证,法当温阳益气。仲景巧用桂枝之辛,入心助阳,与炙甘草之辛甘相配,辛甘合用,阳气乃生,以通阳复脉。实验结果显示:桂枝甘草汤各组分药物使钙通道激活时间常数、失活时间常数和失活后恢复时间常数均不同程度延长,减慢钙通道激活、失活及恢复活动,药物对钙通道动力学参数的影响可能导致了钙电流减小。钙离子通道阻滞剂(CCB)主要集中应用于快速性心律失常中^[17]。CCB通过降低自律细胞动作电位 4 相坡度而降低自律性,减少 0 期除极速度及幅度而抑制传导。对于房扑、房颤患者能够减慢心室率,促进转复为窦性心律^[18]。桂枝甘草汤各组分含药血清可以抑制钙离子电流,其作用与钙离子阻滞剂作用机制相同^[19],这可能是桂枝甘草汤具有抗心律失常作用的机理。本实验通过中药加减组合观察药物对豚鼠心室肌细胞钙电流的影响,以期阐述中药的抗心律失常作用及药物加减组合后的不同药效作用提供依据。但是由于时间和经费不足,本实验并未就桂枝甘草汤对钙通道相关蛋白分子^[20]的影响和对整体动物心律失常的影响进一步研究,药物对心肌分子生物、生化、病理等方面的影响是课题后续研究需要深入探究的问题。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Tolkacheva EG, Anumonwo JM, Jalife J. Action potential duration restitution portraits of mammalian ventricular myocytes: role of calcium current [J]. *Biophys J*, 2006, 91(7): 2735–2745.
- [2] Yasuda J, Okada M, Yamawaki H. Endostatin inhibits T-type Ca^{2+} channel current in guinea pig ventricular myocyte [J]. *J Vet Med Sci*, 2015, 77(10): 1289–1291.
- [3] Dick IE, Joshi-Mukherjee R, Yang W, et al. Arrhythmogenesis in Timothy Syndrome is associated with defects in Ca^{2+} -dependent inactivation [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10370.
- [4] 王永霞, 原双兴. 桂枝甘草汤治疗心律失常现状探讨 [J]. *中华中医药杂志*, 2013, 28(2): 457–459.
- [5] 张宏, 王旭昉, 刘美奇, 等. 中药含药血清实验动物灌胃给药剂量探讨 [J]. *吉林中医药*, 2015, 35(6): 623–625.
- [6] 郑礼娟, 秦昆明, 蔡皓, 等. 多指标正交试验优选白术芍药散取工艺 [J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(10): 1504.
- [7] Li L, Matsuoka I, Sakamoto K, et al. Differential effects of lysophosphatidylcholine and ACh on muscarinic K^{+} , non-selective cation and Ca^{2+} currents in guinea-pig atrial cells [J]. *Fukushima J Med Sci*, 2016, 62(1): 27–35.
- [8] Yasuda J, Okada M, Yamawaki H. Endostatin inhibits T-type Ca^{2+} channel current in guinea pig ventricular myocyte [J]. *J Vet Med Sci*, 2015, 77(10): 1289–1291.
- [9] 周彤, 毛晓波, 毛奕, 等. 细胞外液成分对耐钙心肌细胞急性分离及电生理记录的影响 [J]. *山西医科大学学报*, 2009, 40(5): 393–397.
- [10] Collins TP, Terrar DA. Ca^{2+} -stimulated adenylyl cyclases regulate the L-type Ca^{2+} current in guinea-pig atrial myocytes [J]. *J Physiol*, 2012, 590(8): 1881–1893.
- [11] 王勇, 李春, 仇琪, 等. 中药复方多成分多靶点协同增效药理药效评价体系 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46(8): 1029–1032.
- [12] 周承志, 张道亮, 王腾, 等. 炙甘草汤含药血清对兔心肌细胞钙电流的影响 [J]. *北京中医药大学学报*, 2007, 30(7): 468–471.
- [13] 刘东方, 赵丽娜, 李银峰, 等. 中药指纹图谱技术的研究进展及应用 [J]. *中草药*, 2016, 47(22): 4085–4094.
- [14] 曹英杰, 原双星, 李彬, 等. 桂枝甘草汤 HPLC 指纹图谱 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, (14): 100–103.
- [15] 刘青妍. 浅论含药血清的药理作用强度与体内给药量效、时效的关系 [J]. *当代医药论丛*, 2015, 13(24): 21–22.
- [16] 姜瑞雪, 马作峰, 牛国英, 等. 基于流行病学调查的心悸证素特征研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2010, 28(6): 1258–1260.
- [17] Zhao M, Shao D, Yu L, et al. Electrophysiological effect and the gating mechanism of astragaloside IV on L-type Ca^{2+} channels of guinea-pig ventricular myocytes [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 760(5): 27–35.
- [18] Limpitkul WB, Dick IE, Joshi-Mukherjee R, et al. Calmodulin mutations associated with long QT syndrome prevent inactivation of cardiac L-type Ca^{2+} currents and promote proarrhythmic behavior in ventricular myocytes [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 74: 115–124.
- [19] 罗艳. 钙通道阻滞药的临床研究及不良反应分析 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2015, 31(6): 467–469.
- [20] 范雪新, 杨磊, 项斌, 等. 钙离子通道蛋白的研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2016, 43(12): 1129–1138.

(收稿: 2017-04-17 在线: 2018-03-02)

责任编辑: 白霞