

川楝素对 K^+ 、 Ca^{2+} 通道活动及 细胞内 Ca^{2+} 浓度的调控 *

施玉樑 ** 王文萍

(中国科学院上海生命科学研究院, 上海 200031)

摘要 川楝素是我国学者从驱蛔中药中分离、鉴定的一个三萜化合物, 已证明具选择地影响神经递质释放, 有效地对抗肉毒中毒, 促进细胞分化、凋亡, 抑制肿瘤增殖, 抑制昆虫发育和取食, 影响 K^+ 、 Ca^{2+} 通道活动等多种生物效应. 综述了证明川楝素抑制多种 K^+ 通道, 选择地易化 L 型 Ca^{2+} 通道和进而升高胞内 Ca^{2+} 浓度的研究资料, 并对川楝素产生这些生物效应的机制进行了讨论.

关键词 川楝素, K^+ 通道, L 型 Ca^{2+} 通道, 细胞内 Ca^{2+} 浓度

学科分类号 R285.1, R338, Q42

川楝素 ($C_{38}H_{38}O_{11}$, FW=574, TSN) 是我国学者 50 多年前由广泛分布于我国江南诸省的楝属植物根皮中提取、分离的一种三萜化合物, 已作为驱蛔药用于临床代替进口的山道年 and 作为无公害、无残毒的植物杀虫剂用于农业^[1,2]. 从 20 世纪 70 年代始, 分析川楝素的生物作用及其机制一直是我们的一个研究方向. 已有研究证明, 川楝素除杀虫和驱蛔外尚具多种不寻常生物效应和多方面研究、开发价值. 本文在简述川楝素的生物效应之后, 将主要综述其对兴奋膜离子通道作用的资料, 并讨论这些作用与川楝素生物效应的关系及其机制.

1 具不寻常生物效应和多种应用前景

研究证明, 川楝素选择地影响神经递质释放, 使之先易化后抑制直至完全停止, 是个新的非蛋白质、植物源的、不可逆地阻遏信息通过中枢和神经肌肉突触传递的突触前阻遏剂^[3~5]. 它对神经肌肉传递的阻遏作用在许多方面与肉毒神经毒素和 β -蛇毒的作用相似^[6~8]. 这显示了川楝素作为化学去神经和干扰神经递质释放的手段用于科学研究和临床, 作为肉毒神经毒素的低毒、低成本替代品应用于治疗肌张力失衡、肌痉挛等疾病以及美容的应用前景.

由于肉毒神经毒素有剧毒性, 易于制备和施放, 是用于化学战和制造生物恐怖的一号首选毒

剂, 而且缺乏有效的对抗药物. 现已证明川楝素是迄今所知最为有效的抗肉毒化合物^[9]. 它可治愈致死量肉毒中毒的动物, 使之恢复正常^[10]; 神经肌肉标本在含川楝素溶液中孵育后, 便抵抗肉毒神经毒素的作用^[11]; 一次川楝素注射可使动物的突触耐受肉毒神经毒素的阻遏作用, 且在时程上耐受力的升高与其引起的递质释放易化呈正相关^[12]. 这显示了川楝素在研发抗肉毒药物和探索肉毒中毒机制中的重要意义.

近年研究还观察到, 在一定条件(浓度, 作用时间)下, 川楝素促进细胞分化, 诱导细胞凋亡^[13~15]; 对人的多种肿瘤细胞具广谱的抑制增殖效应, 其 IC_{50} 可低至 10^{-9} mol/L 级^[16]. 这表明它可能是抗癌药的候选者. 利用昆虫进行的研究发现, 川楝素抑制昆虫取食化学感受器对食物的反应和阻滞幼虫发育^[17~19], 这可能是它产生拒食效应、防治农业害虫的机制. 川楝素现已作为植物源的无公害杀虫剂应用于果蔬生产^[20]. 利用现代电生理学技术进行的研究观察到, 川楝素抑制多种 K^+ 通道, 选择地

*国家自然科学基金(39470302, 39070323, 39860249), 国家科学技术委员会攀登计划 (P805), 国家重点基础研究计划 (G1999054000) 和上海市基础研究重点项目 (02JC14011) 资助.

** 通讯联系人. Tel: 021-54920270, Fax: 021-54920278

E-mail: yishi@server.shcnc.ac.cn

收稿日期: 2006-09-06, 接受日期: 2006-10-19

易化 L 型 Ca^{2+} 通道, 提高胞内 Ca^{2+} 浓度($[Ca^{2+}]_i$), 这也展示了它在科学研究和临床医学中的应用前景.

2 抑制多种 K^+ 通道介导的 K^+ 流

在不同标本, 利用研究离子通道的单通道或全细胞膜片钳记录技术, 证明川楝素抑制神经和肌细胞膜的多种 K^+ 通道而对 Na^+ 通道无明显影响.

哺乳动物神经肌肉接头的运动神经末梢太细, 尚难以用细胞内记录和膜片钳技术去鉴别和研究其离子通道, 但可通过插至神经周膜下腔的微电极记录神经末梢的局部电流, 该局部电流反映流经分布于末梢和末梢前膜离子通道的离子流. 在标准溶液中, 典型的周膜下记录信号包含两个负相波, 第一个是由 Na^+ 在朗氏结的内流贡献的, 第二个主要是流经末梢 K^+ 通道的快 K^+ 流^[21]. 研究观察到, 川楝素显著抑制小鼠运动神经末梢的快 K^+ 流, 洗去标本溶液中的川楝素, 作用可被逆转. 其间, 第一负波始终无变化, 表明川楝素不影响朗氏结的 Na^+ 通道, 神经冲动一直仍可传播至神经末梢^[22].

在神经细胞系 NG108-15 细胞, 利用全细胞膜片钳记录进行的研究表明^[23], 将川楝素加于细胞外液, 不仅剂量依赖 ($IC_{50}=11 \mu\text{mol/L}$) 和部分可逆地降低外向延迟整流 K^+ 流的幅度也加快它的失活, 这与 Ca^{2+} 通道试剂 verapamil, nifedipine 和 BayK8644 的作用相似 (图 1). 与经典 K^+ 通道阻遏剂相比, 川楝素对延迟整流 K^+ 流的抑制和冲洗后的恢复时程比 4-AP 的慢, 比 TEA 的更慢. 研究还表明, 通过将川楝素注入微电极施加于细胞内, 对延迟整流 K^+ 流有如同施于胞外相同的作用. 这说明川楝素可穿过细胞膜, 进入胞内起作用. 无论细胞内或细胞外施加, 均未观察到它对 Na^+ 流的影响.

在分离的大鼠海马 CA1 区大锥体神经元利用单通道膜片钳技术进行的研究结果是: 川楝素 ($1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-4} \text{ g/ml}$) 浓度依赖地降低大电导依钙 K^+ 通道 (BK_{Ca}) 的开放概率 (图 2), 作用部分可逆; 通过剂量依赖地减小慢开放时间常数, 缩短通道的开放时间; 还剂量依赖地降低通道的单位电流幅度. 升高胞内 Ca^{2+} 浓度, 减弱上述川楝素对 BK_{Ca} 的抑制效应^[24]. 对小电导依钙 K^+ 通道 (SK_{Ca}) 川楝素有相似的抑制作用, 由增大通道的慢关闭时间常数降低通道的开放概率, 作用是浓度 - 和 $[Ca]$ - 依赖的和部分可逆的, 但对通道的开放时间和单位电流无明显影响^[25].

对内向整流 K^+ 通道, 川楝素也有相似的抑制作用^[26]. 它通过降低通道的慢开放时间常数和增大慢关闭时间常数, 剂量 ($1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-6} \text{ g/ml}$) 依赖地降低大鼠海马大锥体神经元内向整流 K^+ 通道的开放概率, 也降低通道的单位电导. 川楝素对豚鼠心脏乳头肌^[27]和心室细胞内向整流 K^+ 通道^[28]的抑制, 亦有报道.

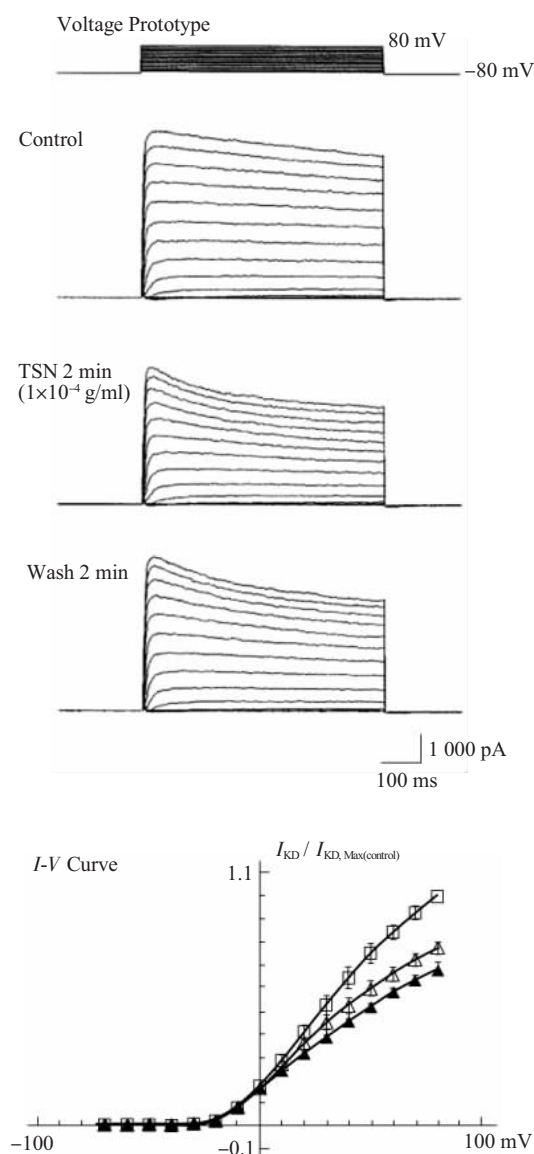


Fig. 1 External TSN inhibiting I_{KD} of NG108-15 cells^[23]

图 1 川楝素对 NG108-15 细胞延迟整流 K^+ 流的抑制^[23]

细胞钳位于 -80 mV . I_{KD} 由一组电压 -70 mV 至 $+80 \text{ mV}$ 、时程 600 ms 的去极化方波诱发 (诱发频率 0.5 Hz). 电流为去极化波结束时的测得值, $I-V$ 曲线图中每点为 $\bar{x} \pm s$, $n=5$. $\square-\square$: 对照; $\blacktriangle-\blacktriangle$: 加川楝素 2 min 后; $\triangle-\triangle$: 洗去川楝素 2 min .

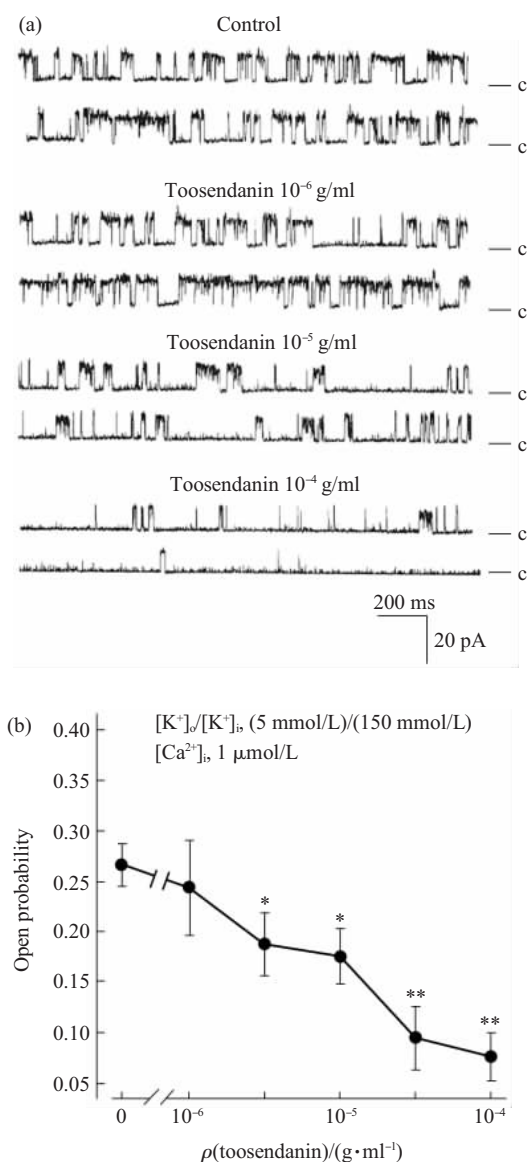


Fig. 2 The effect of toosendanin on large-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels in an asymmetrical K^{+} solution ($[\text{K}^{+}]_o/[\text{K}^{+}]_i$, (5 mmol/L)/(150 mmol/L) and 1 $\mu\text{mol/L}$ $[\text{Ca}^{2+}]_i$) in inside-out patches of rat hippocampal CA1 pyramidal neurons^[24]

图 2 川楝素对大鼠海马大锥体神经元大电导依钙 K^{+} 通道活动的影响^[24]

在内面向外模式下记录大电导依钙 K^{+} 流, 细胞置于非对称 K^{+} 溶液中 $[\text{K}^{+}]_o/[\text{K}^{+}]_i$ 为 (5 mmol/L)/(150 mmol/L), $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 为 1 $\mu\text{mol/L}$. (a) 在电压 +30 mV 时胞内施加川楝素前、后的原始记录. (b) 由一系列示于(a)中的实验得到的川楝素浓度 - 通道开放概率关系曲线($n=7$). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (与对照比).

3 增大细胞的 Ca^{2+} 电导, 升高胞内 Ca^{2+} 浓度

在全细胞记录电流钳位模式下记录静息电位, 测定膜电导, 观察川楝素对它们的影响. 发现川楝

素 ($1 \times 10^{-5} \sim 5 \times 10^{-5} \text{ g/ml}$) 不影响膜电位, 但使 NG108-15 细胞的膜电导显著和持续增大. 在电导增大不超过 30% 时, 作用是可逆的. 川楝素增大膜电导的作用, 在外液无 Ca^{2+} 时不出现, 外液中加入 Co^{2+} 后消失. 已证明川楝素不具在人工脂双层形成通道能力, 这表明上述效应是川楝素易化细胞膜 Ca^{2+} 通道的结果^[29].

以 Flou-3 作为 Ca^{2+} 指示剂, 利用共聚焦显微镜成像测 Ca^{2+} 技术进行的研究证明, 川楝素浓度依赖性地增加 NG108-15 细胞的静息 Ca^{2+} 浓度和由高 K^{+} 刺激诱发的 Ca^{2+} 瞬变. 此作用在溶液中无 Ca^{+} 或加入 CdCl_2 或 Nifedipine 时消失, 而在加入 Ca^{2+} 或洗去这些 Ca^{2+} 通道阻遏剂后又重新出现. 对缺乏高激活阈值 Ca^{2+} 通道的未分化 NG108-15 细胞, 川楝素对其 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 无影响^[30] (图 3). 这些结果表明, 川楝素引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高是胞外 Ca^{2+} 由 L 型 Ca^{2+} 通道内流造成的. 以下用电生理学方法进行的研究, 为

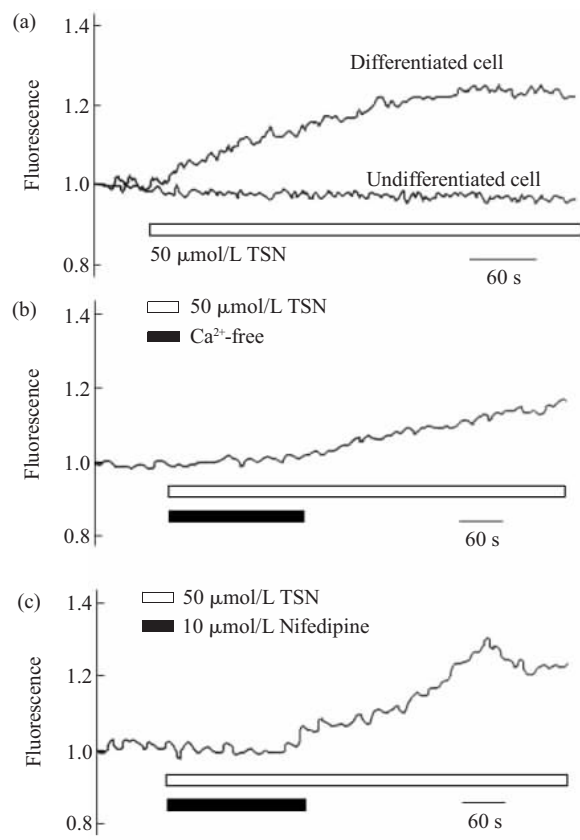


Fig. 3 Effect of toosendanin on resting $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ^[30]

图 3 川楝素对 NG108-15 细胞内静息 Ca^{2+} 浓度的影响^[30]
(a) 50 $\mu\text{mol/L}$ 川楝素在分化和未分化细胞引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化. (b) 川楝素引起分化的 NG108-15 细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高的效应, 在溶液中有 Ca^{2+} 时方出现. (c) 川楝素增加 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的作用, 在溶液中有 Nifedipine 时不出现. $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的变化以标准化荧光强度表示, 其下方显示加药时程.

川楝素选择的易化 L 型 Ca^{2+} 通道, 提供了直接实验支持和进一步分析。

4 持续和不可逆地易化 L 型通道介导的 Ca^{2+} 流

低等脊椎动物运动神经末梢存在 L 型 Ca^{2+} 通道已有报道. 利用神经周膜下记录在青蛙肋间神经-胸皮肌标本进行的研究观察到, 川楝素增大运动神经末梢 Ca^{2+} 流的慢成分, 此作用在施加 Nifedipine 后不再出现^[31]. 这说明川楝素是选择性地增大了 L 型通道介导的 Ca^{2+} 流. 下述在 NG108-15 和新生大鼠心室肌细胞进行的研究为此提供了支持。

在全细胞模式下记录未分化的、只表达 T 型通道的 NG108-15 细胞的 Ca^{2+} 流, 未观察到川楝素对其 Ca^{2+} 流有任何影响, 这说明川楝素不影响低激活阈值的 T 型 Ca^{2+} 通道. 在分化的 NG108-15 细胞, 川楝素浓度依赖地增大高激活阈值 Ca^{2+} 流, EC_{50} 约 $5.13 \mu\text{mol/L}$. NG108-15 细胞的高激活阈值 Ca^{2+} 通道包括 L, N 和 Q 型. 当用 ω -conotoxin MVIIC 阻断 N 型和 Q 型介导的 Ca^{2+} 流后, 川楝素增大 Ca^{2+} 流的作用仍能被观察到. 而当细胞以 L 型 Ca^{2+} 通道阻遏剂 nifedipine 或 verapamil 处理后, 川楝素增大 Ca^{2+} 流的效应就不再能观察到^[32]. 这些结果进一步证实, 川楝素增大的 Ca^{2+} 流是 L 型 Ca^{2+} 通道介导的. 研究还证明, 分化的 NG108-15 细胞, 长时程用川楝素处理, 浓度和时间依赖地增加 Ca^{2+} 流, 短暂川楝素暴露引起 Ca^{2+} 流不可逆地增加^[33].

心肌细胞只有 L 型高激活阈值 Ca^{2+} 通道^[34]. 利用人工培养的新生大鼠心室肌细胞以全细胞膜片钳记录进行的研究得到了相似的结果^[35] (图 4): 川楝素以浓度依赖的方式不可逆地增大 L 型 Ca^{2+} 通道介导的 Ca^{2+} 流, 并左移流-压关系曲线的峰值, 但不改变电流的阈电位. 川楝素还左移 Ca^{2+} 流的稳态激活和失活曲线; 对通道的激活动力学无影响, 但使其去活减缓. 当通道磷酸化后, 或在 cAMP 依赖的蛋白酶抑制剂存在时川楝素仍有作用, 提示川楝素增大 L 型 Ca^{2+} 流的作用无 PKA 相关通路参与, 当细胞先以另一 L 型 Ca^{2+} 通道激动剂 Bay K8644 处理后, 川楝素仍能使其 Ca^{2+} 流进一步增大, 反之先以川楝素处理后, Bay K8644 亦能使之进一步增大. 这表明它们有不同的作用位点, 川楝素是个新的 L 型 Ca^{2+} 通道激动剂。

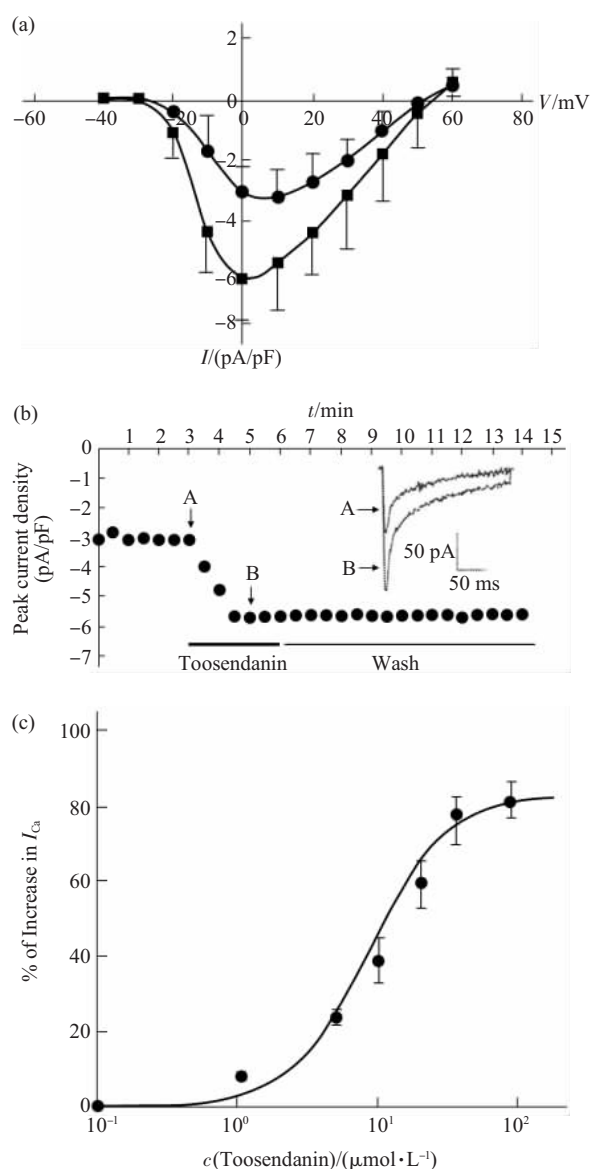


Fig. 4 The effect of toosendanin on Ca^{2+} current density in neonatal rat ventricular cells^[35]

图 4 川楝素对新生大鼠心室肌细胞 Ca^{2+} 流的影响^[35]
(a) 施加川楝素 (87 mmol/L) 前 (●—●)、后 (■—■) 的电流-电压关系曲线 ($n=6$), 数据为 $\bar{x} \pm s$. (b) 显示川楝素作用时程的一例. $I_{Ca(L)}$ 为峰值电流, 由 200 ms 的 +10 mV 方波从钳位电压 -50 mV 诱起, 得到稳定对照记录后加入川楝素, $I_{Ca(L)}$ 由 83 pA (A) 增至 153 pA (B), 8 min 冲洗后至 151 pA. (c) 川楝素对 $I_{Ca(L)}$ 作用的浓度-反应曲线, 图中的点代表施加川楝素 2 min 后电流增加的 $\bar{x} \pm s$ ($n=5 \sim 7$). 利用 Hill 方程 Hill 方程拟合。

5 讨 论

本文综述了川楝素调控离子通道活动的实验资料, 证明川楝素对多种 K^+ 通道有抑制作用. 不影响 Na^+ 通道, 对 Ca^{2+} 通道有选择性作用, 是个新的 L 型 Ca^{2+} 通道激动剂. 这种对 K^+ 、 Ca^{2+} 通道的作用, 将导致 $[Ca^{2+}]_i$ 升高. 实验已经证明川楝素引起 Ca^{2+}

持续内流和 $[Ca^{2+}]_i$ 升高. 川楝素对 K^+ 、 Ca^{2+} 通道和 $[Ca^{2+}]_i$ 的作用, 为其多种生物效应提供了解释^[36].

首先, 对 K^+ 通道的抑制和对L型 Ca^{2+} 通道的易化及由之引起的 $[Ca^{2+}]_i$ 升高, 将导致神经递质释放的易化, 应是川楝素引起递质释放初始易化相的机制; 由川楝素引起的递质释放易化相与其抗肉毒效应在时程上呈正相关, 提示此易化效应也是川楝素显示抗肉毒作用的部分机制^[7]. 川楝素抗肉毒的分子机制是阻断肉毒神经毒素的轻链与其底物的接近, 从而保护SNAPE蛋白不被破坏^[36~38]. 同时, $[Ca^{2+}]_i$ 升高将促进细胞分化、神经突起生长, 这就又解释了在一定条件下川楝素的促进细胞分化效应.

实验已证明, 川楝素引起的 $[Ca^{2+}]_i$ 升高是持续和不可逆的, 其结果必将由破坏胞内 Ca^{2+} 缓冲系统导致 $[Ca^{2+}]_i$ 超载. 这将不可避免地影响胞内依 Ca^{2+} 过程, 例如引起递质释放装置损伤, 使之丧失对 Ca^{2+} 的敏感性, 这可能是川楝素导致递质释放装置丧失对 Ca^{2+} 敏感性, 引起递质释放和突触传递阻遏的机制. 同时 $[Ca^{2+}]_i$ 的升高和超载也将诱导细胞凋亡, 是川楝素诱发细胞凋亡, 产生细胞毒性和抑制细胞增殖的机制. 对昆虫化学感受器的抑制也可能与川楝素这种对离子通道和 $[Ca^{2+}]_i$ 的作用有关.

对川楝素抑制 K^+ 通道, 易化L型 Ca^{2+} 通道作用的机制, 我们认为, 这可能是川楝素参与细胞膜后引起了作为离子通道所处微环境的脂双层结构和性质变化, 从而影响通道活动. 目前虽然对此假说尚无支持证据, 但先前已有资料证明, 亲脂性的川楝素能参与、穿过细胞脂双层进入胞内. 川楝素参与脂双层, 由于干扰通道微环境影响通道活动有待进一步工作去证实.

参 考 文 献

- 施玉樑. 川楝素, 一个新型的选择地作用于接头前的神经肌肉阻遏剂. 见: 陈远聪, 袁士龙主编. 毒素的研究和利用, 北京: 科学出版社, 1998. 192~206
Shi Y L. Toosendanin, a new presynaptic blocker. In: Chen Y C, Yuan S L, eds. Study and Utility of Toxins, Beijing: Science Press, 1988. 192~206
- 施玉樑. 楝树与川楝素. 刘岱岳主编. 见: 生物毒素开发与应用, 北京: 化学工业出版社, 2006
Shi Y L. Chinaberry and toosendanin. In: Liu D Y, eds. Exploitation and Utility of Biotoxins, Beijing: Chemical Industrial Press, 2006
- 施玉樑, 魏乃森, 杨亚琴, 等. 一种作用于突触前的神经肌肉接头传递阻断剂川楝素. 生理学报, 1980, **32** (3): 293~297
Shi Y L, Wei N S, Yang Y Q, *et al.* Acta Physiol Sin, 1980, **32** (3): 293~297
- Shi Y L, Chen W Y. Effect of toosendanin on acetylcholine level of rat brain, a microdialysis study. Brain Res, 1999, **850**: 173~178
- Chen W Y, Yin P B, Ye W L, *et al.* Toosendanin-induced change of dopamine level detected by microdialysis *in vivo* at rat striatum. Chin Sci Bull, 1999, **44** (5): 1106~1110
- 施玉樑, 杨亚琴, 王文萍, 等. 刺激频率、温度、钙离子对川楝素阻遏接头传递作用的影响. 生理学报, 1981, **33** (2): 141~146
Shi Y L, Yang Y Q, Wang W P, *et al.* Acta Physiol Sin, 1981, **33** (2): 141~146
- 施玉樑, 王文萍, 徐科. 川楝素突触前阻遏作用的电生理学分析. 生理学报, 1981, **33** (3): 259~265
Shi Y L, Wang W P, Xu K. Acta Physiol Sin, 1981, **33** (3): 259~265
- 施玉樑, 王文萍, 颜寿琪, 等. 钙离子和神经活动对川楝素引起的小终板电位频率变化的影响. 生理学报, 1982, **34** (3): 304~309
Shi Y L, Wang W P, Yan S Q, *et al.* Acta Physiol Sin, 1982, **34** (3): 304~309
- Shi Y L, Wang Z F. Cure of experimental botulism and antibotulismic effect of toosendanin. Acta Pharmacol Sin, 2004, **25** (6): 839~848
- 李培忠, 邹镜, 缪武阳, 等. 川楝素对肉毒中毒动物的治疗效果. 中草药, 1982, **13** (6): 28~30
Li P Z, Zhou J, Miao W Y, *et al.* Chin Tradit Herb Drugs, 1982, **13** (6): 28~30
- 施玉樑, 徐科. 川楝素的抗肉毒作用. 科学通报, 1983, **28** (14): 885~887
Shi Y L, Xu K. Chin Sci Bull, **28** (14): 885~887
- Shi Y L, Xu K. Anti-botulismic effect of toosendanin and its facilitatory action on miniature end-plate potentials. Jap J Physiol, 1983, **33**: 677~680
- 施玉樑, 汤勉芝. 细胞的死亡和川楝素的诱发凋亡作用. 中国神经科学杂志, 2004, **20** (6): 461~465
Shi Y L, Tang M Z. Chin J Neurosci, 2004, **20** (6): 461~465
- Tang M Z, Wang Z F, Shi Y L. Toosendanin induces outgrowth of neuronal processes and apoptosis in PC12 cells. Neurosci Res, 2003, **45** (2): 225~231
- Tang M Z, Wang Z F, Shi Y L. Involvement of cytochrome c release and caspase activation in toosendanin-induced PC12 cell apoptosis. Toxicology, 2004, **201**: 31~38
- Zhang B, Wang Z F, Tang M Z, *et al.* Growth inhibition and apoptosis-induced effect on human cancer cell lines of toosendanin, a triterpenoid derivative from Chinese traditional medicine. Invest New Drugs, 2005, **23**: 547~553
- 施玉樑, 王文萍, 廖春燕, 等. 川楝素抑制粘虫幼虫化学感受器诱发峰的观察. 昆虫学报, 1986, **29** (3): 233~239
Shi Y L, Wang W P, Liao C Y, *et al.* Acta Entomol Sin, 1986, **29** (3): 233~239
- Chiu S F. Recent advances in research on botanical insecticides in China. In: Arnason J T, Philogene B J R, Morand P, eds. Insecticides of Plant Origin. Am Chem Soc Symp Ser 387, Washington, DC: American Chemical Society, 1989. 69~77
- Carpinella M C, Defago M T, Valladare S G, *et al.* Antifeedant and insecticide properties of a limonoid from *Melia azedarach*

- (Meliaceae) with potential use pest management. *J Agric Chem*, 2003, **51**: 369~374
- 20 张兴, 王兴林, 冯俊涛. 植物杀虫剂川楝素的开发研究. 西北农业大学学报, 1993, **21** (1): 1~5
- Zhang X, Wang X L, Feng J T. *Acta Northwe Uni Agricul Sin*, 1993, **21** (1): 1~5
- 21 Mallart A. Presynaptic currents in frog motor endings. *Pflugers Arch*, 1984, **400**: 8~13
- 22 Xu Y F, Shi Y L. Action of toosendanin on the membrane current of motor nerve terminals. *Brain Res*, 1993, **631**: 46~50
- 23 Hu Q, Huang F S, Shi Y L. Inhibition of toosendanin on the delayed rectifier potassium current in neuroblastomaxglioma NG108-15 cells. *Brain Res*, 1997, **751**: 47~53
- 24 Wang Z F, Shi Y L. Inhibition of large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels in hippocampal neurons by toosendanin. *Neuroscience*, 2001, **104** (1): 41~47
- 25 Wang Z F, Shi Y L. Toosendanin-induced inhibition of small-conductance calcium-activated potassium channels in CA1 pyramidal neuron of rat hippocampus. *Neurosci Lett*, 2001, **303**: 13~16
- 26 Wang Z F, Shi Y L. Modulation of inward rectifier potassium channel by toosendanin, a presynaptic blocker. *Neurosci Res*, 2001, **40**: 211~215
- 27 Gao X D, Tang S B, Lu J, *et al.* Effects of toosendanin on electric and mechanical properties of guinea pig papillary muscles. *Acta Pharmacol Sin*, 1994, **15** (2): 147~151
- 28 施玉樑, 泽登彻, 平冈昌和, 等. 川楝素对豚鼠心室肌细胞电压依赖 K⁺ 流的抑制. 生理通讯, 1992, **11** (增刊 1): 44~45
- Shi Y L, Sawanobori T, Hireoka M, *et al.* *CAPS New Commu*, 1992, **11**(Suppl 1): 44~45
- 29 Shi Y L, Furuya K, Wang W P, *et al.* Toosendanin-induced Ca²⁺ conductance increase in neuroblastomaxglioma hybrid cells. *Chin Sci Bull*, 1993, **38** (17):1489~1493
- 30 Xu T H, Ding J, Shi Y L. Toosendanin increased free-Ca²⁺ concentration in NG108-15 cells via L-type Ca²⁺ channels. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, **25** (5): 597~601
- 31 Ding J, Xu T H, Shi Y L. Different actions of toosendanin on perineurially recorded Ca²⁺ currents in mouse and frog motor nerve terminals. *Neurosci Res*, 2001, **41**: 243~249
- 32 Li M F, Wu Y, Wang Z F, *et al.* Toosendanin, a triterpenoid derivative, increases Ca²⁺ current in NG108-15 cells via L-type channels. *Neurosci Res*, 2004, **49** (2):197~203
- 33 Li M F, Shi. The long-term effect of toosendanin on Ca²⁺-influx in NG108-15 cells. *Toxicol*, 2004, **45**: 53~60
- 34 Cohen N M, Lederer W J. Calcium current in isolated neonatal rat ventricular myocytes. *J Biol Chem*, 1987, **391**: 169~191
- 35 Li M F, Shi Y L. Toosendanin, a triterpenoid derivative, acts as a novel agonist of L-type Ca²⁺ channels in neonatal rat ventricular cells. *Eur J Pharmacol*, 2004, **501**: 71~78
- 36 施玉樑, 王文萍. 驱蛔中药的活性成分川楝素的生物效应. 生理学报, 2006, **58** (5): 397~406
- Shi Y L, Wang W P. *Acta Physiol Sin*, 2006, **58** (5): 397~406
- 37 Zhou J Y, Wang Z F, Ren X M, *et al.* Antagonism of botulinum toxin type A-induced cleavage of SNAP-25 in rat cerebral synaptosome by toosendanin. *FEBS Lett*, 2003, **555**: 375~379
- 38 Li M F, Shi Y L. Toosendanin inhibits pore formation of botulinum toxin type A at PC12 cell membrane. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, **27** (1): 66~70

Toosendanin Modifies K⁺-and Ca²⁺-Channel Activity and Intracellular Ca²⁺ Concentration*

SHI Yu-Liang**, WANG Wen-Ping

(Shanghai Institutes for Biological Sciences, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract Usage of the fruit and bark of a Melia-family plant as a digestive tract-parasiticide and agricultural insecticide was recorded about two thousand years ago in ancient China. Toosendanin (TSN), a triterpenoid, is an effectual ingredient extracted from the plant. Studies have demonstrated that TSN selectively affects neurotransmitter release, effectively antagonizes botulism, induces cell differentiation and apoptosis and inhibits proliferation of various human cancer cells, inhibits feeding and development in insects and modifies K⁺- and Ca²⁺-channel activity. The research data to demonstrate that TSN inhibits K⁺-channel and facilitates L-type Ca²⁺-channel are summarized, and the mechanism of action of TSN is discussed.

Key words toosendanin, K⁺ channel, L-type Ca²⁺ channel, intracellular Ca²⁺ concentration

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (39470302, 39070323 and 39860249), Climbing Project of State Committee of Science and Technology (P8505), The National Basic Research Program of China (G1999054000) and The Basic Research Program of Shanghai (02JC14011).

**Corresponding author. Tel: 86-21-54920270, Fax: 86-21-54920278, E-mail: ylshi@server.shnc.ac.cn

Received: September 6, 2006 Accepted: October 19, 2006