

灯盏花素对离体大鼠胸主动脉环的作用

广东药学院生理教研室(广州 510224) 郑广华* 董艳芬 梁燕玲 李文根 谢朝晖

摘要 采用雄性大鼠胸主动脉环,研究灯盏花素舒张血管的机制。结果表明,灯盏花素(1×10^{-6} mol/L~ 1×10^{-3} mol/L)对去甲肾上腺素(1×10^{-6} mol/L)的收缩反应呈剂量依赖性的松弛作用,与内皮无关,也不受普萘洛尔(1×10^{-6} mol/L)所影响。灯盏花素能拮抗去甲肾上腺素诱发的依外钙与依内钙的双相反应,而且对后者的抑制作用较强。揭示灯盏花素诱发血管舒张可能与受体操纵性钙通道和细胞内 Ca^{2+} 释放的抑制有关。灯盏花素作用后不同时间未引起肌条 cAMP、cGMP 含量的规律性改变。在高钾所致的主动脉环收缩反应中,灯盏花素在正常的 Krebs 液中表现出兴奋作用,不受酚妥拉明(1×10^{-5} mol/L)影响。

关键词 灯盏花素 去甲肾上腺素 普萘洛尔 酚妥拉明 cAMP cGMP 胸主动脉环

灯盏花素(breviscopine)是从菊花短亭飞蓬属植物灯盏花 *Erigeron briviscapus* (vaniot). Hand. -Mazz. 中提取的有效成分,化学结构属 3,5,6-三羟黄酮-7-葡萄糖酸苷;用于治疗栓塞性脑血管病所致的瘫痪及脑出血后遗症有显著疗效;特别在改善脑循环,增加脑血流量方面有良好的作用^[1~9]。但至今有关灯盏花素的作用机制未见有深入的研究,我们采用雄性大鼠离体胸主动脉环,研究灯盏花素舒张血管的作用机制。

1 材料

1.1 实验动物:SD 雄性大鼠,体重 220 g~250 g,由广东省卫生厅医用实验动物场提供。

1.2 药物:灯盏花素,由云南药物研究所纯化;其性状为黄色粉末,无臭、味微咸;含量按灯盏花乙素($\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$)干燥品计算为 98.5%,均符合规定;去甲肾上腺素(NE),武汉制药厂;酚妥拉明(phentolamine),上海旭东海普药业有限公司;维拉帕米(verapamil),德国基诺药厂;异丙基肾上腺素(Sigma 产品),普萘洛尔(propranolol),广州光华制药厂。

1.3 仪器:LMS-2B 型二道生理记录仪(成都仪器厂)。

2 方法

2.1 主动脉环制备:大鼠断头杀死,并迅速取出胸主动脉,放置于冷 Krebs-Ringer 碳酸氢盐溶液中〔成分如下(mmol/L):NaCl 118;KCl 4.74;CaCl₂ 2.5;K₂HPO₄ 1.18;NaHCO₃ 24.9;glucose 10;pH7.4〕,并通入 95% O₂、5% CO₂,小心剥去附在胸主动脉的脂肪及结缔组织,横切成 3 mm~4 mm 长的血管环,悬挂在含有 15 mL Krebs 溶液浴槽中,温度(37.0±0.5)℃,持续通入上述混合气体。主动脉环连于张力换能器,静息张力 1 g,平衡 1 h,在此期间每隔 15 min 换一次新鲜 Krebs 营养液。在制备破坏内皮的血管环时,先用棉花签插入主动脉内,轻轻地向同一方向旋转数圈,再将血管剪成血管环。用乙酰胆碱(ACh) 1×10^{-6} mol/L 舒张 NE 所致的收缩反应,以检验内皮功能;若其下降率超过 25%者,按有内皮处理^[10];内皮破坏者,对 ACh 则不起反应。

2.2 cAMP、cGMP 测定:按文献^[10]制备大鼠胸主动脉环后按上述方法在含有正常

* Address: Zheng Guanghua, Department of Physiology, Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou

郑广华 男,1964年毕业于上海复旦大学生物系人体及动物生理学专业,现任广东药学院生理教研室副教授,兼生理教研室主任,主要从事心血管生理药理学研究,曾编著及主编细胞信号转导方面的专著3部,在国家级及省级杂志上发表科研论文10余篇。

Kreb's 液 15 mL 浴槽中平衡 1 h, 37 °C 下通 95% O₂ 和 5% CO₂; 平衡期间每隔 15 min 替换新鲜 Kreb's 液, 共 4 次。当灯盏花素 1 × 10⁻⁴ mol/L 作用于胸主动脉肌条(约 50 mg) 1.5、2.5、5、7.5 和 10 min 后取出, 立刻液氮固定停止反应, 测 cAMP 和 cGMP 含量。测定时先将组织放入盛有 2 mL 冷的 50 mmol/L 醋酸缓冲液(pH4.75)试管内(放入冰浴), 用匀浆器将组织粉碎, 匀浆后的悬浮液放入 10 mL 试管内, 用 2 mL 无水乙醇洗匀浆器, 然后将乙醇倒入悬浮液内混匀, 静置 5 min, 3 500 r/min 离心 15 min, 将上清液收集在青霉素小瓶内, 再用 75% 乙醇 1 mL 洗匀浆器连续 2 次, 用该 2 mL 75% 乙醇沉淀混匀, 3 500 r/min 离心 15 min, 合并上清液, 60 °C 水浴中挥干, 应用放射免疫法测定胸主动脉肌条 cAMP、cGMP 含量。

3 结果

3.1 灯盏花素对 NE 所致的血管收缩的影响: 选用 NE 1 × 10⁻⁶ mol/L 加入浴槽中, 使肌条处于中等张力状态, 等反应达坪值并稳定 2 min 后, 分别加入不同浓度灯盏花素, 观察给药后 30 min 内肌张力变化, 与单给 NE 组 30 min 内肌张力变化作对照。结果表明, 单给 NE 肌张力稳定后, 血管平滑肌张力由 (0.83 ± 0.03) g (均值 ± 标准误, 下同), 下降到 (0.82 ± 0.04) g, 下降率 (1.58 ± 1.58)% (n=5)。1 × 10⁻⁵、1 × 10⁻⁴、1 × 10⁻³ mol/L 的灯盏花素使平滑肌张力分别由 (0.94 ± 0.05) g、(0.81 ± 0.03) g、(0.99 ± 0.15) g 下降到 (0.56 ± 0.09) g、(0.57 ± 0.06) g 和 0 g (n=12), 经方差分析处理, 各组张力下降值与单给 NE 下降值相比较, 均有显著差异 (P < 0.01)。灯盏花素对 NE 所致的血管收缩有舒张作用, 起效浓度为 10⁻⁶ mol/L, 其起效时间及明显作用时间均与内皮无关, 其降低百分率随药物浓度增加而增大。

3.2 灯盏花素对血管平滑肌肾上腺素能受体的影响^[11]

3.2.1 对 β 受体的影响: 在 NE 引起的胸主

动脉肌条收缩基础上, 加入灯盏花素 1 × 10⁻⁴ mol/L 后, 不预加普萘洛尔组给灯盏花素后肌张力由 (1.11 ± 0.03) g 下降了 (1.03 ± 0.04) g, 其下降率为 94% (n=6), 预加普萘洛 1 × 10⁻⁶ mol/L 组, 给灯盏花素后肌张力由 (0.91 ± 0.06) g 下降了 (0.89 ± 0.10) g, 其下降率为 97% (n=6), 两组肌张力下降率的对应值相比较, 经统计学处理无显著差异 (P > 0.1)。对照组用 NE 所致的主动脉平滑肌收缩, 加入异丙基肾上腺素 8 × 10⁻⁷ mol/L 后, 未加普萘洛尔组肌张力由 (1.25 ± 0.12) g 下降至 (0.57 ± 0.09) g, 下降率为 45% (n=7); 加普萘洛尔组肌张力由 (0.91 ± 0.09) g 下降了 (0.25 ± 0.06) g, 下降率为 25.7% (n=7), 两组相比较, 有显著性差异 (P < 0.01)。上述结果表明灯盏花素舒张血管的作用与 β 受体无关。

3.2.2 对 α 受体的影响: 在高钾 (40 mmol/L) 激发大鼠胸主动脉肌条收缩基础上, 加入灯盏花素 (1 × 10⁻⁴ mol/L) 后, 未加酚妥拉明组与预加酚妥拉明组 (1 × 10⁻⁵ mol/L), 肌力同样升高, 其肌张力分别由 (0.68 ± 0.07) g、(0.75 ± 0.07) g 上升了 (0.31 ± 0.03) g 和 (0.29 ± 0.02) g, 上升率分别为 47% 和 48% (n=7)。两组肌张力上升率的对应值相比较, 无显著性差异 (P > 0.1), 说明灯盏花素增强高钾激发的肌条收缩的作用与 α 受体无关。

3.3 灯盏花素对 NE 所致的大鼠胸主动脉环两种收缩反应的影响: 按文献^[12-13]将大鼠胸主动脉环置于 Kreb's 液中平衡 1 h, 换无 Ca²⁺ 液冲洗 4 次~5 次, 再浸泡平衡 20 min, 加入 NE 1 × 10⁻⁶ mol/L, 肌条出现收缩反应, 其时引起的收缩为 NE 在无钙液中促使细胞内钙释放所致; 待收缩高度达坪值时, 加入 CaCl₂ 2.5 mmol/L 以恢复 Kreb's 液中正常的钙浓度, 肌条即出现收缩, 这是 NE 作用下促使细胞外钙进入细胞内所致。待反应达坪值时冲洗多次, 待反应回到基线加入灯盏花素 1 × 10⁻⁴ mol/L 重复以上步骤, 比较给

药前后肌张力变化。结果表明,灯盏花素对 NE 引起的细胞内钙收缩由 (0.41 ± 0.08) g 下降至 (0.26 ± 0.09) g,其下降率为 35%;对 NE 引起的细胞外钙收缩由 (0.8 ± 0.11) g 下降至 (0.62 ± 0.11) g,其下降率为 24% ($n=8$),说明对细胞内钙收缩的抑制大于对细胞

表 1 灯盏花素 1×10^{-4} mol/L 对大鼠胸主动脉环 cAMP、cGMP 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=7$, pmol/mg 蛋白)

	加药前	加药后 (min)				
		1.5	2.5	5	7.5	10
cAMP	0.152 ± 0.057	0.211 ± 0.095	0.081 ± 0.036	0.216 ± 0.082	0.033 ± 0.013	0.071 ± 0.032
cGMP	0.035 ± 0	0.041 ± 0.019	0.034 ± 0.015	0.052 ± 0.020	0.018 ± 0.008	0.017 ± 0.006

4 讨论

据目前所知,血管平滑肌舒张可由于血管内皮源性的舒张因子和非依赖内皮的舒张因子如 cAMP、cGMP 及前列腺素等作用引起;亦可通过钙通道阻断引起外钙内流或内钙释放减少或抑制所致。本实验结果表明,灯盏花素有松弛 NE 引起的大鼠胸主动脉的收缩作用,但内皮破坏后仍起效应,表明舒张效应并不是内皮源性的舒张因子作用所致。进一步实验结果表明,灯盏花素作用于肌条后不引起 cAMP、cGMP 水平升高,而 β 受体阻断剂普萘洛尔也并不影响灯盏花素舒张血管效应,表明其效应可能与 cAMP、cGMP 无关。为了进一步探讨灯盏花素舒张血管的机制,选用 NE 为激动剂,并将依内钙与依外钙的反应分离,实验表明,灯盏花素 1×10^{-4} mol/L 对依内钙与依外钙的收缩反应均有抑制作用,而且对依内钙的收缩抑制作用较强。提示灯盏花素诱发血管舒张可能与受体操纵性钙通道和细胞内 Ca^{2+} 释放的抑制有关。Ken 等人曾提出用血管扩张药对苯肾上腺素 (phenylephrine, PHE) 和 $BaCl_2$ 所引起收缩的抑制百分率比值来比较血管扩张药的作用^[14]。为此,陈一岳等人曾对照了灯盏花素与三氟啦嗪 (trifluoperazine) 等舒张血管效应^[15]。研究表明,灯盏花素和钙调素拮抗剂三氟啦嗪对 PHE 和 $BaCl_2$ 引起收缩的抑制作用的比率 (PHE/Ba) 分别为 3.57 和 1.86,均明显地大于 1,说明灯盏花素舒张作用与三氟啦嗪较接近,对细胞内钙释放的抑

胞外钙的抑制。

3.4 灯盏花素对胸主动脉环 cAMP、cGMP 的影响:见表 1。由表 1 可知,灯盏花素作用于肌条后不同时间 cAMP、cGMP 含量呈现不规则变化,各实验组与加药前比较,无统计学差异 ($P > 0.05$)。

制作用更为明显,与本实验结果相一致。而维拉帕米、硝苯地平对 PHE/Ba 抑制百分比值明显小于 1 (分别为 0.56 和 0.62),可见维拉帕米和硝苯地平则主要是阻断细胞外钙内流起作用。然而,灯盏花素的确切机制是否还有其它作用环节,如对细胞内钙调素拮抗,仍有待于进一步研究。

灯盏花素对高钾引起膜去极化后引起的肌收缩有增强作用,不受 α 受体阻断剂酚妥拉明所影响,说明灯盏花素并不作用于 α 受体;同时也说明了灯盏花素对电位依赖性钙通道并不产生阻断作用。究竟在高钾激发的收缩反应中,灯盏花素通过何种途径起作用,其机制有待于研究。

参考文献

- 1 王兆敏,等. 中西医结合杂志,1989;9(1):26
- 2 王锦平,等. 中成药研究,1985;(12):25
- 3 杨良,等. 昆明医学院学报,1985;6(2):11
- 4 李麟仙,等. 昆明医学院学报,1985;6(3/4):62
- 5 胡国钧,等. 中成药研究,1985;(1):24
- 6 徐济民,等. 中国新药杂志,1993;2(5):46
- 7 王荪,等. 中草药,1983;14(1):33
- 8 范华昌,等. 中草药,1990;21(5):22
- 9 丁钰熊,等. 中草药,1989;20(4):39
- 10 Fiscus R R, et al. Neuropeptides,1991;20:133
- 11 胡方淑,等. 中医杂志,1982;(3):67
- 12 江涛,等. 广东药学院学报,1996;12(1):33
- 13 Broe Kaert A, et al. Eur J Pharmacol,1979;53:231
- 14 Kent RL, et al. Eur J Pharmacol.1982;85:85
- 15 陈一岳,等. 广东医药学院学报,1993;9(2):65

(1998-02-08 收稿)

Effects of Breviscapine on Isolated Rat Thoracic Aortic Ring

Zheng Guanghua, Dong Yanfen, Liang Yanling, *et al.* (Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510224)

Abstract The relaxation effect of Breviscapine on isolated thoracic aortic ring of rat was studied. The results indicated that Breviscapine (1×10^{-6} mol/L $\sim 1 \times 10^{-3}$ mol/L) could relax NE-induced vasoconstriction in a concentration-dependent manner. It was independent to endothelium and could not be influenced by 1×10^{-5} mol/L propranolol. Breviscapine could antagonize NE-induced biphasic contractive responses, which were dependent to extracellular and intracellular calcium, but the antagonistic effect of the later was stronger than that of the former. The results suggested that vasodilation effect of Breviscapine might be related to the inhibition of the receptor-operated calcium channel and intracellular Ca^{2+} release. Breviscapine, at different time of its action, did not cause any regulatory changes of cAMP and cGMP content in the muscular strips, suggesting that relaxation effect of Breviscapine was independent to cAMP and cGMP. Breviscapine had an exciting action on the high K^+ evoked-contraction of the aortic ring in normal Krebs's solution, that could not be influenced by phentolamine (1×10^{-5} mol/L). The mechanism of this phenomenon remained to be studied.

Key words Breviscapine noradrenaline phentolamine propranolol cAMP cGMP

抗癌复方注射液对心脏血流动力学的影响

中国药科大学药剂学教研室(南京 210009) 徐 坚* 王秋娟** 后德辉**

摘 要 抗癌复方注射液(220 mg 生药/kg 体重)能显著地同步升高麻醉大鼠的 $\pm dp/dt_{max}$ 、LVSP、SBP、DBP 和 MAP, 缩短 $t-dp/dt_{max}$, $+dp/dt_{max}$ 比 $-dp/dt_{max}$ 上升幅度更大。血压升高时, 脉压加大。当 $\pm dp/dt_{max}$ 已明显升高时, 心率与给药前无显著差异。抗癌复方注射液(25、8、12.9、6.45 μ g 生药/mL)灌流离体豚鼠心脏, 心肌收缩力和冠脉流量均显著增加, 灌流 10 min 时, 高、中、低浓度心肌收缩力分别增加 55.1%、38.4% 和 20.4%, 灌流 2 min 时冠脉流量分别增加 36.7%、74.3% 和 54.8%, 灌流后心率无明显变化。抗癌复方注射液(66.2 mg 生药/kg 体重)缓慢静注对麻醉家兔的平均动脉压、心率、心指数和总外周阻力指数无明显影响。

关键词 抗癌复方注射液 血流动力学 心肌收缩力 冠脉流量 心指数 外周阻力

抗癌复方注射液是由一枝蒿、鸦胆子、风仙子、莪术、鬼针草、二郎箭、卫茅子等多种中草药经提取精制而得。临床研究, 发现其具有较好的抗肿瘤疗效。动物实验表明, 抗癌复方注射液对小鼠肉瘤 S_{180} 和小鼠艾氏腹水癌均有显著的治疗作用^[1]。初步药理试验表明, 它能升高麻醉大鼠血压。我们研究了其对动物心脏血流动力学的影响, 为临床合理使用该

药提供剂量参考。

1 实验材料

LMS-2B 型二道生理记录仪(成都医疗器械厂), MFV-3200 型电磁流量计(日本), WSQ-A 型微量输液器(江苏沙州实验仪器厂), RM-6000 多导生理记录仪(日本), XDH-3 型心电图机(上海医用电子仪器厂)。抗癌复方注射液, 本校抗癌药物研究所提供,

* Address: Xu Jian, Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjin

徐 坚 男, 1962 年 11 月出生。1982 年南京药学院药学专业, 获理学学士学位; 1992 年中国药科大学药理专业, 获理学硕士学位; 1997 年中国药科大学药剂专业, 获理学博士学位。现为药理学副教授, 南京大学生物系博士后, 主要研究方向为生物药剂学、药物新剂型等, 曾参加多项国家自然科学基金, 国家“九·五”攻关项目、局控项目与国外合作项目及自选课题的研究, 负责或参与开发多个国家级新药, 发表科研论文 10 余篇。

** 中国药科大学生理学教研室