

## 辛弗林对豚鼠离体气管平滑肌的作用及机制

魏莹<sup>1,2</sup>, 裴昆<sup>1</sup>, 陈海芳<sup>1</sup>, 罗小泉<sup>1</sup>, 骆利平<sup>1</sup>, 易徐航<sup>1</sup>, 董晶<sup>1</sup>, 杨武亮<sup>1\*</sup>

(1. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西南昌 330004;

2. 川北医学院药学院, 四川南充 637000)

**[摘要]** **目的:**探讨辛弗林(synephrine, Syn)对豚鼠离体气管平滑肌的作用及其机制。**方法:**采用离体气管恒温灌流的实验方法,取豚鼠气管,在K-H液中制备气管平滑肌环,通过BL-420S生物机能实验系统测定其张力的变化,观察Syn对豚鼠离体气管平滑肌静息张力及对4种致痉剂乙酰胆碱(Ach),组胺(His),CaCl<sub>2</sub>,β受体阻断剂普萘洛尔(Pro)诱导气管平滑肌收缩的影响。**结果:**Syn可剂量依赖性的舒张气管平滑肌,PD<sub>2</sub>值为(2.22±0.14);Syn 2个浓度(0.021 2, 0.042 4 mmol·L<sup>-1</sup>)使Ach和His诱发的豚鼠气管平滑肌收缩的最大效应降低,且0.042 4 mmol·L<sup>-1</sup>的Syn溶液对其均有显著性差异( $P < 0.05$ );Syn溶液对CaCl<sub>2</sub>的诱发豚鼠气管平滑收缩效应降低但无显著性差异。Syn 3个浓度(0.010 6, 0.021 2, 0.042 4 mmol·L<sup>-1</sup>)对Ach引起的气管平滑肌细胞内钙的释放有显著的抑制作用( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),且具有剂量依赖关系;加入Pro孵育后,再累积加入Syn,对Ach引起的气管收缩略有降低,与Pro组比较,无显著性差异。**结论:**Syn可能是通过抑制M受体和组胺受体、兴奋β受体、拮抗内钙的释放从而舒张气管平滑肌。

**[关键词]** 辛弗林; 气管平滑肌; 舒张

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)01-0158-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015010158

### Effects and Mechanism of Synephrine on Contraction of Isolated Guinea-pig Tracheal Smooth Muscle

WEI Ying<sup>1,2</sup>, PEI Kun<sup>1</sup>, CHEN Hai-fang<sup>1</sup>, LUO Xiao-quan<sup>1</sup>, LUO Li-ping<sup>1</sup>, YI Xu-hang<sup>1</sup>, DONG Jing<sup>1</sup>, YANG Wu-liang<sup>1</sup> (1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China; 2. College of Pharmacy, North Sichuan Medical University, Nanchong 637000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects and the mechanisms of synephrine (Syn) on the contraction of isolated guinea-pig tracheal smooth muscle. **Method:** The guinea-pig tracheal smooth muscle was prepared by isolated tracheal thermostatic perfusion experimental method and isolated in the K-H solution. The tension of Syn on the isolated tracheal smooth muscle and the effect of Syn on tracheal smooth muscle contraction incubation by four antispasmodic agents including acetylcholine (Ach), histamine (His), CaCl<sub>2</sub> and β-receptor blocking agent (propranolol) were measured by BL-420S biological function experiment systems. **Result:** Syn produced a dose-dependent relaxant effect on the isolated guinea-pig tracheal smooth muscle. The value of PD<sub>2</sub> was 2.22 ± 0.14. Syn (0.021 2, 0.042 4 mmol·L<sup>-1</sup>) could reduce the maximum of guinea-pig tracheal smooth muscle contraction induced by Ach and His, and Syn at 0.042 4 mmol·L<sup>-1</sup> had significant effect ( $P < 0.05$ ). Syn also could reduce the value of guinea-pig tracheal smooth muscle contraction induced by CaCl<sub>2</sub> with no significant differences. Three dosages of Syn (0.010 6, 0.021 2, 0.042 4 mmol·L<sup>-1</sup>) could inhibit the release of internal calcium of tracheal smooth muscle cell induced by Ach significantly in a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The propranolol and Syn had no significant reducing effect on tracheal tension. **Conclusion:** Syn could

**[收稿日期]** 20140718(004)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81460575, 81260612); 江西省自然科学基金项目(20132BAB205092); 江西省青年科学基金项目(20122BAB215039)

**[第一作者]** 魏莹, 硕士, 助教, 从事中药物质基础与质量控制研究, Tel: 13990794873, E-mail: 414697669@qq.com

**[通讯作者]** \* 杨武亮, 教授, 从事中药物质基础与质量控制研究, Tel: 0791-87118659, E-mail: yangwuliang@163.com

relax tracheal smooth muscle by acting on M-receptor and histamine receptor, excit  $\beta$ -receptor and inhibiting the release of internal calcium.

[Key words] synephrine; tracheal smooth muscle; relaxation

中药陈皮、青皮、枳实和枳壳均为芸香科柑橘属植物的果皮或果实,陈皮具有理气健脾,燥湿化痰的功效;青皮具有疏肝破气,消积化滞的功效,药典以橙皮苷含量作为陈皮、青皮质量控制指标<sup>[1]</sup>。枳实具有破气消积、化痰散痞功效,目前药典以辛弗林含量作为其质量控制指标;枳壳具有理气宽中,行滞消胀的功效,目前药典以柚皮苷和新橙皮苷含量作为其质量控制指标<sup>[1]</sup>。上述4味中药均含有辛弗林<sup>[2-4]</sup>,该成分有升高血压<sup>[5]</sup>和治疗哮喘的作用<sup>[6]</sup>。支气管哮喘是以气道高反应性和肺部嗜酸粒细胞浸润为特征的慢性气道炎症<sup>[7]</sup>,其主要病理特征是气道高反应性和支气管痉挛,大量研究表明,气管平滑肌收缩所致的气道狭窄是引起哮喘的主要原因之一。至今未有文献报道Syn在陈皮、青皮和枳壳中的药效作用。故本实验从Syn对豚鼠离体气管平滑肌静息张力及对多种致痉剂诱导的气管平滑肌收缩的影响,初步揭示Syn对豚鼠离体气管平滑肌的作用及其机制。为辛弗林治疗哮喘及中药陈皮、青皮、枳实和枳壳的药效物质基础研究提供科学依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 豚鼠60只,雌雄兼有,体重(300 ± 50)g,由上海生旺实验动物养殖有限公司提供,合格证号SCXK(沪)2012-0007。

**1.2 试剂** Syn(从柑橘属植物枳实、枳壳、陈皮和青皮等分离提纯得到,<sup>1</sup>H-NMR,<sup>13</sup>C-NMR,ESI-MS鉴定,含量采用HPLC峰面积归一化法计算不低于98%),氯化乙酰胆碱,上海源叶生物科技有限公司,批号YY12478,Ach,磷酸组织胺(His),上海晶纯实业有限公司,批号H106192,盐酸普萘洛尔(Pro),常州康普药业,批号1203005;氯化钙(CaCl<sub>2</sub>,广东汕头市西陇化工厂,批号0707282),K-H营养液<sup>[7]</sup>(1000 mL蒸馏水中NaCl 7.67 g,KCl 0.344 g,MgCl<sub>2</sub> 0.254 g,CaCl<sub>2</sub> 0.202 g,NaHCO<sub>3</sub> 2.125 g,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.16 g,葡萄糖 2.189 g),以上各试剂均为分析纯。水为去离子水(18 MΩ)。

**1.3 仪器** BL-420S-生物机能实验系统,HV-4-离体组织器官恒温灌流系统,HW-1000-超级恒温水浴(成都泰盟科技有限公司),JH-2-肌张力传感器(中国北京航天医学工程研究所),TM-WAVE软件(成

都泰盟软件有限公司),Mettler AE240-电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)。

### 1.4 供试品溶液的配制

**1.4.1 Syn供试品溶液的配制** 精密称取Syn约9 mg置10 mL量瓶中,去离子水定容,得含5.295 mmol·L<sup>-1</sup>的辛弗林供试品溶液。

**1.4.2 氯化乙酰胆碱溶液的配制** 精密称取氯化乙酰胆碱约2 g,去离子水配制成1 mol·L<sup>-1</sup>的氯化乙酰胆碱溶液,分别取其稀释成10<sup>-5</sup>,10<sup>-4</sup>,10<sup>-3</sup>,10<sup>-2</sup>,10<sup>-1</sup> mol·L<sup>-1</sup>。

**1.4.3 磷酸组胺溶液的配制** 精密称取磷酸组胺约0.3 g,去离子水配制成10<sup>-1</sup> mol·L<sup>-1</sup>的磷酸组胺溶液,分别取其稀释成10<sup>-7</sup>,10<sup>-6</sup>,10<sup>-5</sup>,10<sup>-4</sup>,10<sup>-3</sup>,10<sup>-2</sup> mol·L<sup>-1</sup>。

**1.4.4 氯化钙溶液的配制** 精密称取氯化钙约0.1 g,去离子水配制成10<sup>-1</sup>的氯化钙溶液,分别取其倍比稀释成10<sup>-7</sup>,10<sup>-6</sup>,10<sup>-5</sup>,10<sup>-4</sup>,10<sup>-3</sup>,10<sup>-2</sup> mol·L<sup>-1</sup>。

**1.4.5 盐酸普萘洛尔溶液的配制** 精密称取盐酸普萘洛尔约0.6 g置10 mL量瓶中,去离子水超声溶解,定容,得含20.2 mmol·L<sup>-1</sup>盐酸普萘洛尔溶液。

上述供试品溶液置于4℃的冰箱备用。

## 2 方法

**2.1 豚鼠气管环的制备** 取健康豚鼠,木槌击毙,迅速取出上至甲状软骨、下至气管分叉处的气管段置于冷的通有95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>混合气体的K-H营养液中,剪除气管周围结缔组织后,剪成约5 mm左右的气管环,用不锈钢挂钩悬挂于含10 mL K-H液的恒温浴槽中,一端固定于浴槽内底部,上端接肌张力换能器,恒温浴槽温度保持(37 ± 0.5)℃并持续通入含5% CO<sub>2</sub>和95% O<sub>2</sub>的混合气体。给予2.0 g前负荷,每20 min换一次K-H营养液(37℃),温育1 h左右,待气管环张力稳定后开始实验。采用BL-420S生物机能实验系统软件记录肌张力的变化。

**2.2 Syn对气管平滑肌静息张力的影响** 待离体气管标本稳定后,累积加入辛弗林,使其累积终浓度分别达到2.6 × 10<sup>-3</sup>,5.2 × 10<sup>-3</sup>,1.04 × 10<sup>-2</sup>,1.56 × 10<sup>-2</sup>,2.08 × 10<sup>-2</sup>,2.6 × 10<sup>-2</sup>,5.2 × 10<sup>-2</sup>,1.04 × 10<sup>-1</sup>,1.56 × 10<sup>-1</sup>,2.08 × 10<sup>-1</sup> mmol·L<sup>-1</sup>,观

察其对豚鼠离体气管平滑肌的作用。

**2.3 Syn 对 Ach 诱导豚鼠离体气管平滑肌收缩的影响** 待基线稳定后,累积加入 Ach,使其累积终浓度分别达到  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $5 \times 10^{-3}$ ,  $10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,观察其对豚鼠离体气管平滑肌的作用,记录各浓度引起气管收缩张力值(E),以加入药物孵育前的 Ach 引起的最大收缩幅度( $E_{\max}$ )为 100%,以  $E/E_{\max} \times 100\%$  计算收缩率,建立 Ach 量效关系曲线作对照。待标本张力不再上升时冲洗气管环数次,每 15 min 更换 1 次 K-H 营养液,待基线稳定后,再两次分别加入终浓度为 0.021 2, 0.042 4  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Syn 供试品溶液,孵育 20 min,并分别重复上述 Ach 的加入过程,累积加药间隔时间为 5 min,记录各浓度引起气管收缩幅度,考察 Syn 对 Ach 诱导豚鼠离体气管平滑肌收缩的影响。同上操作设置空白(水)组。

**2.4 Syn 对 His 诱导的豚鼠气管平滑肌收缩的影响** 方法参照 2.3,以累积方式向浴槽加入 His,使其终浓度为  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-4}$ ,  $10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,观察其对豚鼠离体气管平滑肌的作用, Syn 浓度为 0.021 2, 0.042 4  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.5 Syn 对  $\text{CaCl}_2$  诱导的豚鼠气管平滑肌收缩的影响** 豚鼠离体气管环先用 K-H 液平衡 1 h,再用无钙 K-H 液平衡 30 min,每间隔 5 min 累积加入  $\text{CaCl}_2$ ,使其累积终浓度为  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $5 \times 10^{-3}$ ,  $10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,记录各浓度引起气管收缩幅度(E),以  $\text{CaCl}_2$  引起的最大收缩幅度( $E_{\max}$ )作为 100%,  $E/E_{\max} \times 100\%$  计算收缩率,建立  $\text{CaCl}_2$  量效关系曲线。冲洗气管环数次,在无钙 K-H 液中平衡后,加入 Syn(终浓度为 0.042 4  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),孵育 20 min,再按上述方法制作  $\text{CaCl}_2$  量效曲线。

**2.6 Syn 对 Ach 诱发的两相收缩的影响** 待豚鼠气管环于 K-H 液中平衡约 1 h 后,换用无钙 K-H 液平衡 30 min,加入 Ach(终浓度  $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),待收缩至坪值,加入  $\text{CaCl}_2$ (浴槽终浓度为  $1.53 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )使气管环进一步收缩并达稳定,此时作为最大收缩 100%,以此为对照。冲洗数次,待基线稳定后,分别无钙 K-H 液给予不同浓度 Syn(终浓度为 0.010 6, 0.021 2, 0.042 4  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )孵育 20 min,重复上述步骤,记录各点气管平滑肌张力值,计算其收缩幅度,考察 Syn 对 Ach 诱发的两相收缩的影响。

**2.7 Syn 对  $\beta$  受体阻断剂(Pro)诱导的气管平滑肌**

收缩的影响 待豚鼠气管环于 K-H 液中平衡约 1 h 后,加入 Ach(终浓度  $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),待收缩达坪值后,此时作为最大收缩 100%,以此为对照,再累积加入 Syn 供试品溶液,使累积浓度达到 0.010 6, 0.021 2, 0.042 4  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,记录各点张力值,计算其收缩幅度。冲洗数遍平衡后,先加入终浓度为 0.202  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的普萘洛尔,孵育 5 min,同上述方法加样,考察 Syn 对  $\beta$  受体阻断剂诱导的气管平滑肌收缩的影响。

**2.8 统计学分析** 实验结果采用 SPSS 17.0 软件进行处理,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用方差分析法(AVONA), $P < 0.05$  有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 Syn 对气管平滑肌静息张力的影响** Syn 具有剂量依赖性地降低豚鼠离体气管平滑肌静息张力的作用,在  $2.6 \times 10^{-3} \sim 2.1 \times 10^{-1} \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  内,  $\text{PD}_2$ (亲和力指数)值为  $(2.22 \pm 0.14)$ 。见图 1。

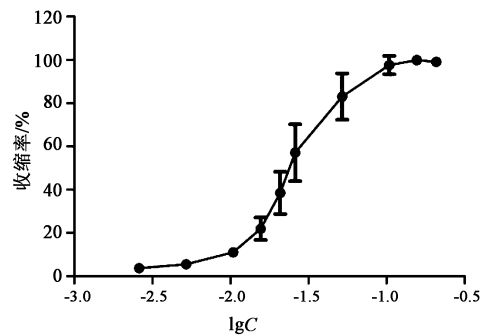
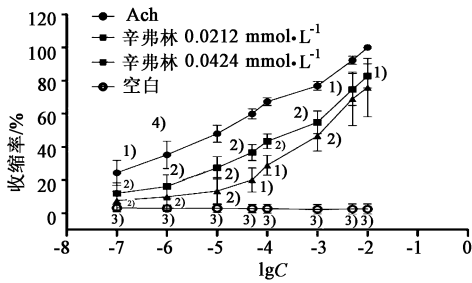


图 1 辛弗林对豚鼠离体气管平滑肌静息张力的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )  
Fig. 1 Effects of synephrine on the normal contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

**3.2 Syn 对 Ach 诱导的豚鼠气管平滑肌收缩的影响** 加入 Syn 供试品溶液(0.021 2, 0.042 4  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )孵育之后,使 Ach 收缩气管平滑肌的张力值降低,且 Ach 组和空白组比较均有显著性差异( $P < 0.01$ ),高浓度(0.042 4  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )与低浓度(0.021 2  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )Syn 组与 Ach 组比较显著性差异( $P < 0.05, P < 0.01$ );随着 Syn 浓度的增加引起豚鼠气管平滑肌的最大收缩张力降低;提示增加 Syn 对 Ach 有明显的非竞争性拮抗作用,提示 Syn 非竞争性拮抗气管平滑肌的 M 受体从而抑制 Ach 引起的收缩。见图 2。

**3.3 Syn 对 His 诱导的豚鼠气管平滑肌收缩的影响** 加入 Syn 供试品溶液(0.021 2, 0.042 4  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )孵育之后,可以使 His 收缩气管平滑肌的张力降低,呈剂量依赖性,随着辛弗林浓度,使豚鼠气管平滑肌



与 Ach 组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ , <sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;

与空白组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$ , <sup>4)</sup> $P < 0.01$  (图 3 ~ 4, 表 1 ~ 2 同)

图 2 Syn 对 Ach 收缩豚鼠离体气管平滑肌收缩的作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 2 Effects of synephrine on the contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle induced by Ach ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

最大收缩力降低,且 His 组和空白组比较均有显著性差异 ( $P < 0.01$ );高、低浓度 Syn 组与空白组比较有显著性差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ );显示 Syn 对 His 有明显的非竞争性拮抗作用,提示 Syn 非竞争性拮抗气管平滑肌的组胺受体从而抑制 His 引起的收缩。见图 3。

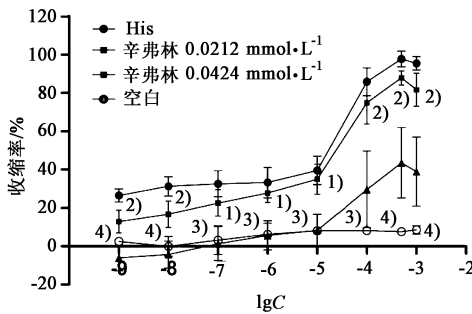


图 3 Syn 对 His 收缩豚鼠离体气管平滑肌的作用的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 3 Effects of synephrine on the contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle induced by His ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

**3.4 Syn 对  $\text{CaCl}_2$  诱导的豚鼠气管平滑肌收缩的影响** 与  $\text{CaCl}_2$  的比较,加入 Syn 溶液在  $\text{CaCl}_2$  浓度从  $10^{-6} \sim 10^{-2} \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时对气管平滑肌的收缩有一定的舒张作用,能降低气管平滑肌的收缩幅度,但无显著性差异。 $\text{CaCl}_2$  组和空白组比较均有显著性差异 ( $P < 0.05$ ),说明溶剂对气管平滑肌无影响;由实验结果提示 Syn 对外钙内流引起的收缩有一定的抑制作用。见图 4。

**3.5 Syn 对 Ach 诱发的两相收缩的影响** 从表 1 可以看出,Ach 组和空白组比较,两组对细胞内钙的释放和细胞外钙内流的抑制作用均无显著性差异,加入 Ach 后引起的细胞内钙释放引起的收缩与加入  $\text{CaCl}_2$  后引起的细胞外钙内流致气管平滑

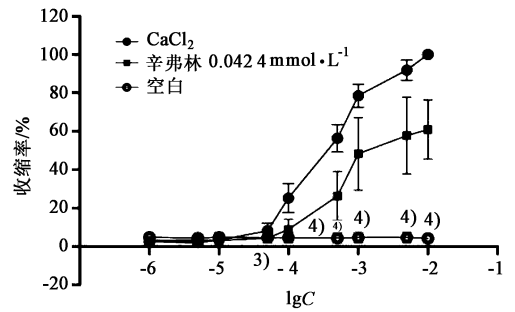


图 4 Syn 对  $\text{CaCl}_2$  收缩豚鼠离体气管平滑肌作用的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 4 Effects of synephrine on the contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle induced by  $\text{CaCl}_2$  ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

肌收缩幅度相近。与 Ach 组比较,辛弗林 3 个浓度对 Ach 引起的气管平滑肌细胞内钙的释放有显著的抑制作用 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ),且对细胞内钙的释放抑制作用具有剂量依赖关系;但对细胞外钙内流无明显的抑制作用。以上结果说明 Syn 拮抗内钙释放的作用为其抑制 Ach 收缩气管平滑肌的主要作用机制。

表 1 Syn 对 Ach 诱发豚鼠气管条两相收缩的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 1 Effects of synephrine on the two-phase contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle induced by Ach ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	浓度 / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	依内钙收缩率 /%	依外钙收缩率 /%	总收缩率 /%
空白	-	$50.95 \pm 14.9$	$43.48 \pm 7.7$	$94.43 \pm 2.7$
Ach	-	$56.28 \pm 10.1$	$43.72 \pm 10.1$	$100.00 \pm 0.0$
Syn	0.010 6	$33.04 \pm 14.4^{1)}$	$93.94 \pm 8.8$	$126.98 \pm 4.0$
	0.021 2	$21.46 \pm 7.1^{2)}$	$91.04 \pm 4.5$	$112.51 \pm 1.8$
	0.042 4	$8.65 \pm 5.6^{2)}$	$87.48 \pm 3.3$	$96.13 \pm 1.7$

**3.6 Syn 对  $\beta$  受体阻断剂诱导的气管平滑肌收缩的影响** 与空白组比较,Syn 溶液 2 个浓度 ( $0.021 2, 0.042 4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对 Ach 引起的收缩有明显的抑制作用,均具有显著性差异 ( $P < 0.01$ ),与空白组比较,Syn 溶液上述 2 个浓度对 Ach 引起的收缩有明显抑制作用,均具有显著性差异 ( $P < 0.01$ ),在加入  $\beta$  受体阻断剂 Pro 孵育之后,Ach 引起的气管收缩有明显的升高,与 Ach 组比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ );加入 Pro 孵育后,再累积加入 Syn,对 Ach 引起的气管收缩略有降低,但与 Pro 组比较无显著性差异,说明 Syn 松弛气管平滑肌的作用可能通过兴奋  $\beta$  受体所致。见表 2。

表 2 Syn 对  $\beta$  受体阻断剂诱导的气管平滑肌收缩的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 2 Effects of synephrine on the contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle induced by Propranolol Hydrochloride ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	收缩率/%
空白	-	98.45 $\pm$ 2.4
Ach	0.202	99.00 $\pm$ 3.1
$\beta$ 受体阻断剂	-	100.00 $\pm$ 0.0
Syn	0.011	86.34 $\pm$ 2.9
	0.021	78.45 $\pm$ 5.4 <sup>2,3)</sup>
	0.042	60.29 $\pm$ 11.7 <sup>2,4)</sup>
Pro	0.202	111.00 $\pm$ 2.4 <sup>1)</sup>
Pro + Syn	0.202 + 0.202	96.71 $\pm$ 6.4
	0.202 + 0.202	93.34 $\pm$ 3.4
	0.202 + 0.202	85.83 $\pm$ 2.7

#### 4 讨论

气管平滑肌在一般情况下处于相对静息状态,保持轻微的静息张力。这种静息张力是靠气道分布的神经释放的乙酰胆碱来维持的,但细胞外的生物信号与细胞膜表面偶联的特异性受体相结合时,启动特定的信号传递通路完成信息传递,从而引起平滑肌的收缩或舒张。在气管平滑肌上受体类型相对较少,主要分布有  $\beta$ -肾上腺素能受体、M 胆碱能受体和组胺受体<sup>[8]</sup>,  $\beta_2$  受体激动后使气管平滑肌产生扩张效应, M 受体和  $H_1$  受体兴奋使气管平滑肌产生收缩效应。His 和 Ach 分别是  $H_1$  和 M 受体的激动剂,可以使气管平滑肌收缩<sup>[9]</sup>。Pro 是  $\beta$  受体阻断剂,可以阻断  $\beta$  受体激动剂与受体结合。另外细胞内钙离子的浓度也能引起气管平滑肌的舒张或收缩<sup>[10]</sup>。因此本实验观察 4 种致痉剂 Ach, His,  $\text{CaCl}_2$  和  $\beta$  受体阻断剂 Pro 诱导气管平滑肌的影响。

实验结果显示 Syn 对静息状态下的豚鼠气管平滑肌有剂量依赖性的舒张作用; Syn 使 Ach 和 His 诱导的豚鼠离体气管平滑肌收缩的最大效应降低,呈剂量依赖性,高浓度 Syn 对其均有显著性差异,提示 Syn 对 Ach 和 His 有明显的非竞争性拮抗作用; Syn 对  $10^{-6} \sim 10^{-2} \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\text{CaCl}_2$  收缩气管平滑肌有一定的舒张作用,提示 Syn 对外钙内流引起的收缩有一定的抑制作用,但其收缩幅度无显著性差异;上述 0.010 6, 0.021 2, 0.042 4  $\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  3 个浓度的 Syn 对 Ach 的引起的气管平滑肌细胞内钙的释放均有显著的抑制作用,且具有剂量依赖关系,但对

细胞外钙内流无明显的抑制作用,说明 Syn 抑制 Ach 收缩气管平滑肌的主要作用机制是拮抗内钙释放;在加入  $\beta$  受体阻断剂 Pro 孵育之后, Ach 引起的气管收缩有明显的升高,与对照组比较有显著性差异;加入 Pro 孵育后,再累积加入 Syn,对 Ach 引起的气管收缩略有降低,与 Pro 比较无显著性差异,说明 Syn 松弛气管平滑肌的作用可能通过兴奋  $\beta$  受体所致;实验中的溶剂为去离子水,参照 2 项下方法试验表明其对豚鼠离体气管平滑肌的张力没有影响。

综上所述, Syn 的作用机制可能是通过抑制 M 受体和组胺受体、兴奋  $\beta$  受体、拮抗内钙的释放从而舒张气管平滑肌。多数哮喘方剂中常配伍陈皮、青皮、枳实和枳壳等理气药,因此, Syn 是其平喘的药效物质之一。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:中国医药科技出版社, 2010:176, 182, 229, 230.
- [2] 黄伟, 刘友平, 赵祎娜, 等. 枳实、枳壳中辛弗林含量比较分析[J]. 中药与临床, 2011, 2(3): 21-23.
- [3] 吴学瑾, 陈建真, 袁华. 基于枳实和枳壳中辛弗林和挥发油含量分析探讨其功效差异[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(2): 665-667.
- [4] 张文娟, 陶缘, 王亚军, 等. 柑橘属中生物碱辛弗林生理活性的研究进展[J]. 食品工业科技, 2013, 34(22): 331-334.
- [5] 赵秀玲. 陈皮生理活性成分研究进展[J]. 食品工业科技, 2013, 34(12): 376-381.
- [6] Qian shi, Ze liu, Yang yang, et al. Identification of anti-asthmatic compounds in Pericarpium citri reticulatae and evaluation of their synergistic effects [J]. Acta Pharmacol Sin, 2009, 30(5): 567-575.
- [7] 韩向莉, 娄志杰. 支气管哮喘发病机制及治疗研究新进展[J]. 四川中医, 2014, 32(4): 186-189.
- [8] 赵益, 朱卫丰, 刘红宁, 等. 贝母辛平喘作用及机制研究[J]. 中草药, 2009, 40(4): 100-104.
- [9] 安明胜, 孙双勇, 安春娜, 等. 含花青素及甘草酸的中药提取物对豚鼠气管松弛作用的比较[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(8): 945-950.
- [10] 徐树楠, 王永梅, 侯仙明, 等. 蝉蜕对豚鼠离体气管环的作用研究[J]. 中药药理与临床, 2008, 24(2): 41-42.
- [11] 马云飞. 苦物质对气管平滑肌的影响及其信号通路的研究[D]. 武汉:中南民族大学, 2013.

[责任编辑 周冰冰]