

# 丹酚酸 B 对大鼠离体胸主动脉环张力的影响

陈衡霞<sup>1</sup>, 许立<sup>2\*</sup>

(1. 南京妇幼保健医院, 南京 210029; 2. 南京中医药大学药学院, 南京 210023)

**[摘要]** **目的:**研究丹酚酸 B (salvianolic acid B, Sal B) 对离体大鼠胸主动脉收缩张力的作用及其机制探讨。**方法:**SD 大鼠, 采用大鼠离体胸主动脉灌流模型, 通过累积加药法加入 Sal B 使终浓度递增为  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>, 观察血管张力的变化, 观察  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup> Sal B 对去甲肾上腺素 (NE) 和氯化钾 (KCl) 预收缩的胸主动脉环收缩张力的影响。**结果:**Sal B 对内皮完整和内皮损伤的离体大鼠主动脉环基础张力的作用不明显; Sal B 对 NE 预收缩的血管环有明显舒张作用, 但对 KCl 预收缩的血管环无舒张作用; 用一氧化氮合酶抑制剂左旋硝基精氨酸甲酯 (L-NAME) 和环氧酶抑制剂吲哚美辛 (Indo) 处理血管后, 对 Sal B 舒张血管效应阻断作用不明显, 使用电压依赖性的 K<sup>+</sup> 通道阻断剂 4-AP, Ca<sup>2+</sup> 敏感性的 K<sup>+</sup> 通道阻断剂四乙胺 (TEA) 以及 ATP 敏感性的 K<sup>+</sup> 通道阻断剂格列苯脲处理后, 对 Sal B 舒张血管效应的阻断作用不明显, 使用  $\beta$  受体阻断药普萘洛尔处理后, 对 Sal B 舒张血管效应的阻断作用亦不明显; 而 Sal B 对 Ca<sup>2+</sup> 引起的收缩有抑制作用, 抑制内钙收缩作用比外钙收缩作用更强。**结论:**Sal B 舒张血管作用机制可能与阻断受体依赖性钙通道、电压依赖性钙通道引起的外钙内流和阻断三磷酸肌醇 (IP3) 受体引起的内钙释放有关, 而与 NO-鸟苷酸环化酶途径, 环氧合酶途径, K<sup>+</sup> 通道和  $\beta$  受体无关。

**[关键词]** 丹酚酸 B; 离体胸主动脉; 钾离子通道阻断剂; 血管张力

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)23-0121-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016230121

## Effect of Salvianolic Acid B on Vasorelaxation of Isolated Thoracic Aorta in Rats

CHEN Heng-xia<sup>1</sup>, XU Li<sup>2\*</sup>

(1. Nanjing Maternity and Child Health Care Hospital, Nanjing 210029, China;

2. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects and mechanism of salvianolic acid B (Sal B) on vasorelaxation of isolated thoracic aorta in rats. **Method:** SD rats were used to establish isolated thoracic aorta perfusion models, and the cumulative dosing method was used to add Sal B to make final concentrations of  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>. The vascular tension changes were observed, and the effects  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup> Sal B on the constriction of norepinephrine (NE) and KCl precontracted thoracic aorta were observed in rats. **Result:** The effect of Sal B on the basal tonus in isolated aortic rings in rats with endothelial integrity or endothelial injury was not so significant. Sal B dependently caused relaxation in vessels precontracted with NE but had no effect on KCl precontracted vessels. However, the relaxation effect of Sal B was not significantly inhibited by NG-nitro-L-arginine methylester (L-NAME) and Indomethacin (Indo). Also, the relaxation effect of Sal B was not significantly inhibited by tetraethylammonium (TEA), 4-aminopyridine (4-AP) and glibenclamide (Glib). The relaxation effect of Sal B was also not significantly inhibited by beta-blocker propranolol. But Sal B can inhibit the contraction vessels induced by extracellular calcium and intracellular calcium

**[收稿日期]** 20151209(003)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2011ZX09102-002-07)

**[第一作者]** 陈衡霞, 主管药师, 从事药剂学工作, Tel:025-80878158, E-mail:hxc\_fybjoy@126.com

**[通讯作者]** \*许立, 教授, 硕士生导师, 从事心脑血管疾病研究, Tel:025-86798155, E-mail:xuli64@126.com

and its effect on latter is stronger than that on the former. **Conclusion:** The mechanisms may involve the reduction in  $\text{Ca}^{2+}$  influx through the receptor-dependent pathway, voltage-dependent pathway and blocking the IP3 receptor-induced  $\text{Ca}^{2+}$  release, but not correlated with NO-guanylyl cyclase pathway, COX pathway,  $\text{K}^+$  channels or  $\beta$  receptor.

[**Key words**] salviannolic acid B; thoracic aorta;  $\text{K}^+$  channel blocker; angiotasis

丹酚酸 B(salviannolic acid B, Sal B)是从唇形植物丹参的根及根茎提取获得的,也可从其他来源获得,如卡拉巴丹参的根及甘西鼠尾草。丹参是我国的传统中药,具有活血化瘀的功效,在心脑血管疾病的临床应用很广泛。实验研究表明 Sal B 对新肌梗死、冠心病有很好的治疗作用<sup>[1-2]</sup>。其作用机制包括丹酚酸 B 促进新生血管形成,降低氧自由基,减少神经元的凋亡和坏死。

在心肌缺血过程中常伴随着心肌内大量去甲肾上腺素(NE)释放,其中 NE 的作用最为重要,NE 的增加可以导致冠状动脉收缩,使缺血性损伤加重,同时也增加恶性心律失常的发生。所以心肌缺血过程中会伴随着冠状动脉的收缩,到目前为止尚没有关于 Sal B 舒张血管作用的报道,本文通过观察 Sal B 对不同诱导剂引起的离体大鼠胸主动脉收缩的影响,来观察 Sal B 的舒血管作用及可能的作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** SD 大鼠,雌雄兼用,体重 250~300 g,由南京中医药大学实验动物中心提供,实验动物合格证号 SCXK(浙)2008-0033。

**1.2 药物及试剂** Sal B(南京先慧医药工程研究所有限公司提供,纯度 < 98%,批号 20110424),NE(上海禾丰制药有限公司,批号 080201),乙酰胆碱(ACh),左旋硝基精氨酸甲酯(L-NAME),乙二醇双(2-氨基乙基)四乙酸,吲哚美辛(Indo),四乙胺(TEA),4-氨基吡啶(4-AP)及格列苯脲(美国 Sigma 公司,批号分别为 40837,511K1351,129K54001V,BCBF9122V,LO50L11,14826JA,104K1483);氯化钾(上海凌峰化学试剂有限公司,批号 050123),氯化钙(西陇化工股份有限公司,批号 090418),碳酸氢钠(成都市科龙化工试剂厂,批号 20110303),氯化钡(上海中邦化工厂,批号 20090812)。

**1.3 仪器** ALC-M 离体装置(上海奥尔科特生物科技有限公司),MPA2000 生理记录仪(上海奥尔科特生物科技有限公司),ALC-CWB-03 型恒温水浴箱(上海奥尔科特生物科技有限公司)。

## 2 方法

**2.1 大鼠胸主动脉环制备** 取 SD 大鼠,给予大鼠

腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉后,迅速打开胸腔取其胸主动脉,移入预冷 4℃ 用 95%  $\text{O}_2$  + 5%  $\text{CO}_2$  饱和的 K-H 溶液中,剥离血管周围的结缔组织,将血管内的血液冲洗干净,剪成长约 3~4 mm 的血管环,通过一个三角形挂环和一个 L 型装置穿过血管管腔进行固定,水平悬挂于 10 mL 恒温浴槽内,三角形挂环上端通过一根细钢丝连接到张力换能器,通过 MPA2000 记录血管环的张力变化。浴槽内加入 K-H 溶液 10 mL,并持续通入 95%  $\text{O}_2$  + 5%  $\text{CO}_2$  混合气体。血管环悬挂后,先稳定 30 min,之后调节基础张力至 2 g,平衡 90 min,平衡期间调整张力,使之维持张力在 2 g 的恒定水平,每 20 min 换 1 次营养液。将大鼠胸主动脉环两端固定后,选择和血管内径相当的棉球棒从管腔擦过,血管环悬挂稳定 90 min 后,用  $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 NE 进行刺激收缩,当达到坪值后,加入  $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 ACh,如果血管舒张幅度不超过收缩幅度的 10% 时,则认为内皮去除完全,可以用于实验,正常完整血管内皮存在时,加入  $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 ACh,血管舒张幅度可以达到 100%。

**2.2 Sal B 对内皮完整离体胸主动脉和去内皮胸主动脉的直接作用** 取内皮完整血管环和内皮损伤血管环,通过累积加药法<sup>[3]</sup>加入 Sal B 使终浓度递增为  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,观察血管张力的变化。

**2.3 Sal B 对 NE 预收缩血管环的影响** 用  $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NE 预收缩血管环,待血管环稳定后,分别加入 Sal B ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), Sal B ( $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和维拉帕米 ( $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),观察血管张力的变化。

**2.4 Sal B 对 KCl 预收缩离体胸主动脉环收缩的影响** 用  $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl 预收缩血管环,待血管环稳定后,分别加入 Sal B ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), Sal B ( $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和维拉帕米 ( $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),观察血管张力的变化。

**2.5 观察内皮对 Sal B 舒张胸主动脉环的影响** 用 L-NAME ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), Indo ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 分别预处理大鼠胸主动脉环 30 min,加入

$1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NE 预收缩血管环,待血管环稳定后,累积加入 Sal B,使终浓度递增至  $1 \times 10^{-8}, 1 \times 10^{-7}, 1 \times 10^{-6}, 1 \times 10^{-5}, 1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,观察 Sal B 作用的量效曲线。

**2.6**  $\text{K}^+$  通道阻断剂对 Sal B 舒张胸主动脉环的影响 用格列苯脲( $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),TEA( $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),4-AP( $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),BaCl<sub>2</sub>( $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )分别预处理 30 min 后,然后实验方法同 2.5 项,观察 Sal B 作用的量效曲线。

**2.7** 观察  $\beta$  受体对 Sal B 舒张胸主动脉环的影响 用普萘洛尔( $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )预处理大鼠胸主动脉环 30 min 后,然后实验方法同 2.5 项,观察 Sal B 作用的量效曲线。

**2.8** Sal B 对氯化钙收缩曲线的影响<sup>[4]</sup> 大鼠胸主动脉环用 K-H 液平衡后,换用无钙 K-H 液,平衡 30 min,加  $40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl 使血管平滑肌去极化,15 min 后,累积加入 CaCl<sub>2</sub> 使其终浓度分别为  $3 \times 10^{-5}, 1 \times 10^{-4}, 3 \times 10^{-4}, 1 \times 10^{-3}, 3 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,观察血管环张力变化。冲洗血管,无钙 K-H 液,孵育 30 min,加入 Sal B( $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),Sal B( $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),维拉帕米( $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )预处理血管 30 min,累积加入 CaCl<sub>2</sub> 使其终浓度分别为  $3 \times 10^{-5}, 1 \times 10^{-4}, 3 \times 10^{-4}, 1 \times 10^{-3}, 3 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,观察血管环张力变化。

**2.9** Sal B 对 NE 引起的依赖于细胞内钙与细胞外钙收缩反应的影响<sup>[5]</sup> 无钙 K-H 缓冲液中加入  $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NE,记录胸主动脉环的张力变化,此时的快速收缩反应是依赖于细胞内钙的收缩,待收缩幅度稳定后加入  $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  CaCl<sub>2</sub>,此时出现的收缩是依赖于细胞外钙的收缩,将 2 次上升最高张力分别作为给药前对照值。冲洗血管,无钙 K-H 液,孵育 30 min,分别用 Sal B( $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),Sal B( $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )和维拉帕米( $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),预处理 30 min,按照上述的方法测定内钙外钙收缩,比较加入 Sal B 前后 2 种收缩各占原收缩幅度的百分率。

**2.10** 统计方法 采用 SPSS 16.0 软件包进行统计,数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1** Sal B 对内皮完整离体胸主动脉和去内皮胸主动脉的直接作用 通过累积加入 Sal B,观察 Sal B 对基础状态下内皮完整和非内皮完整胸主动脉环张力的影响,实验结果表明不同浓度的 Sal B 对内皮

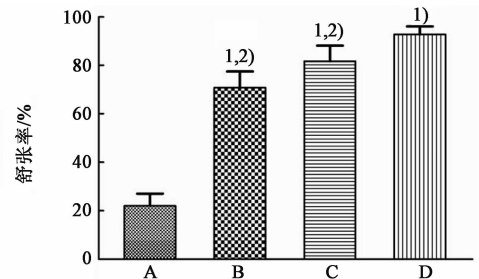
完整和非内皮完整胸主动脉无明显收缩和舒张作用。见表 1。

表 1 不同浓度 Sal B 对血管环的直接作用( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 1 Direct effect of Sal B to aorta rings at different concentrations( $\bar{x} \pm s, n = 5$ ) g

浓度 / $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	内皮完整张力		内皮损伤张力	
	空白组	Sal B	空白组	Sal B
0	2.000 ± 0.002	1.999 ± 0.002	2.001 ± 0.002	1.999 ± 0.002
$1 \times 10^{-8}$	2.000 ± 0.001	1.997 ± 0.003	2.000 ± 0.001	1.998 ± 0.001
$1 \times 10^{-7}$	2.000 ± 0.001	1.988 ± 0.004	2.001 ± 0.003	1.997 ± 0.003
$1 \times 10^{-6}$	1.999 ± 0.002	1.991 ± 0.005	2.000 ± 0.003	1.994 ± 0.006
$1 \times 10^{-5}$	1.998 ± 0.001	1.988 ± 0.007	1.998 ± 0.002	1.993 ± 0.004
$1 \times 10^{-4}$	1.998 ± 0.002	1.989 ± 0.016	2.001 ± 0.003	1.995 ± 0.011

**3.2** Sal B 对 NE 预收缩离体胸主动脉环收缩的影响 加入 Sal B( $1 \times 10^{-4}, 1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )后可使 NE 预收缩的血管环明显舒张( $P < 0.01$ ),但作用不及维拉帕米。见图 1。



A. 空白组;B. Sal B  $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  组;C. Sal B  $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  组;D. 维拉帕米组(图 2,7 同)。与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与维拉帕米组比较<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (图 2,7 同)

图 1 Sal B 对 NE 诱导血管收缩的舒张作用( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig.1 Relaxation of Sal B on NE-induced precontraction ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

**3.3** Sal B 对 KCl 所致离体胸主动脉环收缩的影响 加入 Sal B( $1 \times 10^{-4}, 1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )对 KCl 预收缩的血管环无明显舒张作用,而维拉帕米可以明显舒张 KCl 预收缩的血管环( $P < 0.01$ )。见图 2。

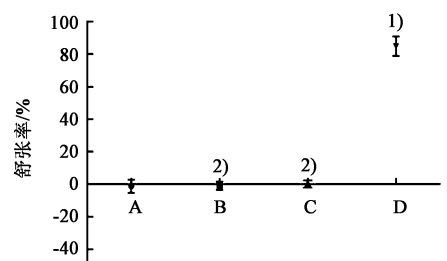


图 2 Sal B 对 KCl 诱导血管收缩的舒张作用( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig.2 Relaxation of Sal B on KCl-induced precontraction ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

**3.4 内皮对 Sal B 舒张胸主动脉环的影响** 一氧化氮合酶抑制剂 *L*-NAME( $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )和前列环素抑制剂 Indo( $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )预处理离体胸主动脉环后,通过累积加入 Sal B,终浓度分别为  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 与未加 *L*-NAME 和 Indo 的血管舒张效应无显著性差异。见图 3。

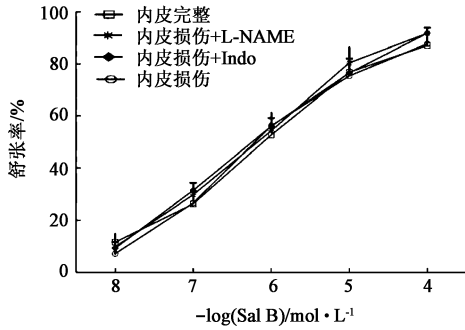


图 3 血管内皮完整,内皮损伤,*L*-NAME 和 Indo 对 Sal B NE 预收缩血管舒张作用的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig. 3 Effect of endothelium intact, endothelium denuded, *L*-NAME and indomethacin on relaxation induced by Sal B in aorta rings precontracted with NE ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

**3.5 不同 K<sup>+</sup>通道阻断剂对 Sal B 舒张胸主动脉环的影响** 格列苯脲 (Gli,  $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), TEA ( $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 4-AP ( $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), BaCl<sub>2</sub> ( $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 分别预处理离体胸主动脉环 30 min 后,通过累积加入 Sal B,终浓度分别为  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 与未加 *L*-NAME 和 Indo 的血管舒张效应无显著性差异。见图 4。

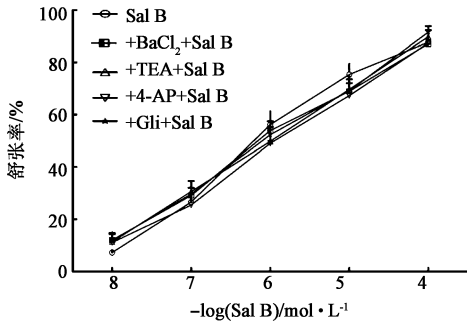


图 4 4-AP, TEA, Gli 和 BaCl<sub>2</sub> 对 Sal B 舒张 NE 预收缩血管的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig. 4 Effect of 4-AP, TEA, glibenclamide and BaCl<sub>2</sub> on relaxation induced by Sal B in aorta rings precontracted with NE ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

**3.6  $\beta$ 受体阻断药对 Sal B 舒张胸主动脉环的影响** 普萘洛尔 ( $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 预处理离体胸主动脉环 30 min 后,通过累积加入 Sal B,终浓度分别为  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$

$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 与未加普萘洛尔的血管舒张效应无显著性差异。见图 5。

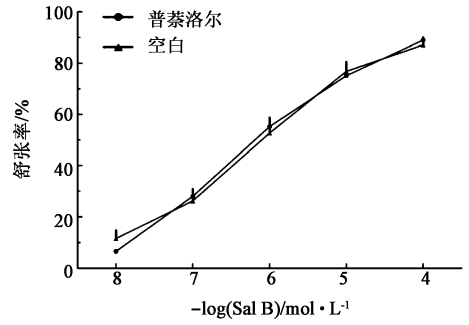
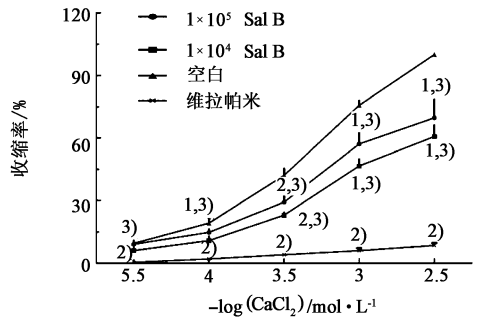


图 5 普萘洛尔对 Sal B 舒张 NE 预收缩血管的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig. 5 Effect of propranolol on relaxation induced by Sal B in aorta rings precontracted with NE ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

**3.7 Sal B 对无钙高钾液中钙离子对离体胸主动脉环收缩曲线的影响** Sal B ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), Sal B ( $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和维拉帕米 ( $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 预处理离体胸主动脉环 30 min,与空白对照血管收缩有显著性差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), CaCl<sub>2</sub> 收缩曲线明显右移,维拉帕米的作用更明显。见图 6。



与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与维拉帕米组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.01$

图 6 Sal B 对 CaCl<sub>2</sub> 收缩曲线的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Fig. 6 Effect of Sal B on dose response curves for CaCl<sub>2</sub> in rat aorta rings ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

**3.8 Sal B 对 NE 引起的依赖于细胞内钙与细胞外钙收缩反应的影响** Sal B ( $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和维拉帕米 ( $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 预处理离体胸主动脉环 30 min,与空白血管收缩有显著性差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ) 抑制外钙收缩作用更明显,但作用不及维拉帕米。见图 7。

#### 4 讨论

急性心肌缺血常伴随着心肌内大量去甲肾上腺素的释放,儿茶酚胺非均匀增高可导致缺血心肌生物电的不稳定,引起致命性心律失常,其中 NE 的作用最为重要。急性心肌缺血早期 NE 的出胞释放,主要由于缺血早期疼痛、焦虑可支配心肌的交感神经兴奋性增加,此外血压即心搏出量下降激动压力

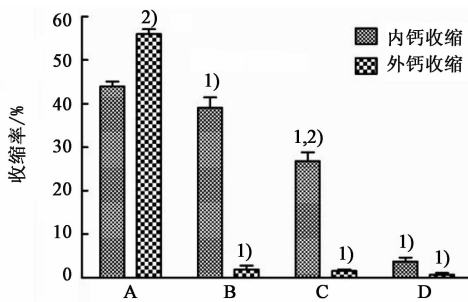


图 7 Sal B 对 NE 引起的依赖于细胞内钙和外钙收缩的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ )

Fig. 7 Effect of Sal B on contraction of aorta rings depending on intracellular and extracellular calcium ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ )

及容量感受器、心肌局部酸中毒、代谢产物聚集及室壁伸展激动传入神经等均可引起交感神经兴奋性增加,导致心肌 NE 释放,但是缺血初期尚无大量 NE 聚集;由于 NE 的出胞释放需要大量的能量,随着心肌缺血时间延长,神经细胞内 ATP 严重匮乏,出胞释放方式将终止,而通过摄取-载体逆向转运释放 NE 的方式便成为主要途径;当心肌缺血时间大于 40 min 时,由于心肌反射性抑制交感神经末梢生物膜的破裂,NE 可从神经末梢被动弥散出来,即“漏出”到突触间隙。此阶段 NE 释放与突触前膜的缺损程度成正相关,严重时,心肌间液中 NE 浓度可达  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,说明交感神经末梢已发生不可逆损害。若继续缺血,末梢内 NE 可逐渐排空<sup>[6]</sup>。心肌缺血是心脏疾病演变过程中重要的病理生理环节之一,上述心肌缺血是 NE 释放一般规律不仅适合于动物离体心脏,而且适合于在体动物心脏及人类心脏。由于心肌梗死时心肌灌注不均匀,心肌中 NE 释放可同时可存在几种方式,严重缺血区主要以非出胞方式释放;非缺血区或缺血较轻区域则主要以出胞方式释放;而缺血边缘区域则可能存在出胞及非出胞两种释放方式,使得梗死区域心肌内 NE 分布不均匀,形成了心肌损害及恶性心律失常的病理基础<sup>[7]</sup>。

心肌缺血导致的 NE 释放增加,导致主动脉,冠状动脉收缩,加重心肌的缺血,实验主要为了探讨 Sal B 对大鼠离体胸主动脉的舒血管作用及作用机制。

一般的血管平滑肌舒张机制包括 3 个途径:第一通过血管内皮释放某些血管舒张因子而导致血管舒张,第二激活血管平滑肌上面的  $\beta$  受体或者阻断  $\alpha$  受体的作用,第三抑制内钙的释放和外钙的内流,从而使胞浆中钙离子浓度降低<sup>[8]</sup>。血管环的收缩

与平滑肌细胞内钙离子浓度升高密切相关,而血管平滑肌所需要的钙离子源于细胞外流入和细胞内释放。外钙内流的钙离子主要依赖于通过开放血管平滑肌电压依赖性钙通道 (voltage-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  channel, VDCC) 和受体操作性钙通道 (receptor  $\text{Ca}^{2+}$  channel, ROCC) 以及静息时的  $\text{Ca}^{2+}$  内流,但经后一途径引起的内流  $\text{Ca}^{2+}$  很少<sup>[9]</sup>。

本实验研究发现 Sal B 均可以舒展由 NE 预收缩的血管环,而且在血管内皮去除后,该作用不受影响,并且实验中分别加入 L-NAME (一氧化氮合酶抑制剂) 和 Indo (前列环素抑制剂) 后也不能抑制 Sal B 对 NE 预收缩的胸主动脉的舒张作用,这表明 Sal B 的舒血管机制与内皮细胞释放的舒张因子无关,并且为非内皮依赖性;实验过程中通过普萘洛尔 ( $\beta$  受体阻断剂) 预处理血管,然后用 NE 预收缩血管,发现 Sal B 舒血管作用并没有受到影响,说明 Sal B 的舒血管作用与  $\beta$  受体无关;NE 是一种  $\alpha$ -肾上腺素受体激动剂,它通过开放 ROCC 而导致血管收缩<sup>[10]</sup>。NE 一方面可以通过开放受体依赖性钙通道,促使细胞的外钙内流,另一方面可以通过 IP<sub>3</sub> 受体介导胞质的内钙释放<sup>[11-12]</sup>,从而增加细胞内钙离子的浓度,共同促进血管环的收缩<sup>[13]</sup>。实验结果显示,Sal B 可以明显的抑制 NE 诱导的血管收缩,所以 Sal B 舒血管作用可能与抑制受体依赖性钙通道抑制胞外钙离子内流相关。并且在另一个实验当中发现 Sal B 能够明显抑制 NE 诱发的依靠外钙内流而导致的收缩和抑制内钙释放导致的血管收缩,提示 Sal B 舒血管作用与抑制 ROCC 和 IP<sub>3</sub> 诱导的内钙释放有关,这些作用与维拉帕米相似。

实验研究发现 Sal B 对 KCl 引起的收缩无舒张作用,KCl 引起的收缩是通过打开 VDCC 从而导致外钙内流,导致胞内钙离子浓度增加,从而引起血管收缩,而维拉帕米可以抑制 KCl 引起的收缩,所以实验结果初步认为 Sal B 对 VDCC 通道没有抑制作用,实验通过无钙高钾液使细胞去极化使 VDCC 开放,加入外钙引起血管收缩,而且收缩与外钙成浓度依赖性,钙离子浓度越高收缩越强,在经过 Sal B 预处理后,Sal B 能使  $\text{CaCl}_2$  收缩曲线明显右移,而且最大反应也下降,结果与维拉帕米相似,这个实验结果表明 Sal B 是可以通过抑制 VDCC 而减少外钙内流引起的收缩,至于为什么 Sal B 不能抑制 KCl 直接引起的收缩有待实验进一步验证。

实验过程中分别加入电压敏感型钾通道 ( $\text{K}_v$ ) 阻断剂 4-AP,ATP 敏感钾通道 ( $\text{K}_{\text{ATP}}$ ) 阻断剂格列苯

脉,  $Ca^{2+}$  激活的钾通道 ( $BK_{Ca}$ ) 阻断剂 TEA 和内向整流型钾通道 ( $K_{IR}$ )  $BaCl_2$ , 来观察 Sal B 舒血管作用与  $K^+$  通道之间的关系。结果表明, 加入不同的 K 离子通道阻断剂都不能抑制 Sal B 对 NE 预收缩血管的舒张作用。

综上所述, Sal B 对大鼠主动脉环静息张力无明显影响; Sal B 舒血管作用与血管内皮及其舒张因子无明显影响; Sal B 舒血管作用与  $\beta$  受体无关; Sal B 舒血管作用与 K 离子通道无关; Sal B 舒血管作用可能与抑制 ROCC 和 VDCC 开放有关, 另外还与抑制 IP3 受体介导的内钙释放有关。

[参考文献]

[1] 王怡, 高秀梅, 刑永发, 等. 丹参酚酸 B、丹参酮治疗心血管疾病的药理学研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2010, 44(7): 82-86.

[2] 陈衡霞, 许立, 许波华. 丹酚酸 B 对心肌缺血大鼠缺血心肌血管新生的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20): 180-183.

[3] La Piana G E, Corda L, Bertella E. Dose-response curve to salbutamol during acute and chronic treatment with formoterol in COPD [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2011, 6: 399-405.

[4] Hof R P, Vuorela H J. Assessing calcium antagonism on aortic smooth muscle: a comparison of three methods [J]. J Pharmacol Meth, 1983, 9(1): 41-52.

[5] 李金艳, 侯晓敏, 李江涛, 等. 橙皮素对离体大鼠胸主动脉环舒张作用和机制研究[J]. 中西医结合心脑血管

管病杂志, 2014, 12(7): 870-872.

[6] 刘福其, 于晓军. 急性心肌缺血是去甲肾上腺素释放及其致室颤的机制[J]. 心脏杂志, 2006, 18(1): 106-108.

[7] 王晓菲, 张彦周, 何奔, 等. 急性心肌缺血时去甲肾上腺素的释放、调节及其药物干预进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2009, 28(4): 249-252.

[8] 董艳芬, 梁燕玲, 罗艳, 等. 乌榄叶对血管平滑肌的作用及机制探讨[J]. 广东医学, 2008, 29(11): 1780-1783.

[9] 汪燕, 周慧轩, 王莉. 血管平滑肌钙动员和钙敏感机制在高血压中的改变[J]. 中国药理学通报, 2014, 30(2): 287-291.

[10] 余海滨, 王清照, 沈俊岭, 等. 黄杨宁对大鼠胸主动脉血管环舒张作用的研究[J]. 中国药理学通报, 2014, 20(4): 101-104.

[11] Chow J Y, Estrema C, Orneles T, et. Calcium-sensing receptor modulates extracellular  $Ca^{2+}$  entry via TRPC-encoded receptor-operated channels aortic smooth muscle cells [J]. Am J Physiol cell Physiol, 2011, 301(2): 461-468.

[12] Hamada K, Miyata T, Mayanagi K. Two-state conformational changes in inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor regulated by calcium [J]. J Biol Chem, 2002, 277(24): 21115-21118.

[13] 李昱, 张明升, 武冬梅, 等. 吲哚布芬对 NA 预收缩的大鼠离体胸主动脉环张力的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2011, 9(6): 715-718.

[责任编辑 周冰冰]