

# 罗布麻叶提取物对离体大鼠胸主动脉环的舒张作用

付剑江<sup>1</sup>, 吕红<sup>2</sup>, 杨华生<sup>1</sup>, 尹小英<sup>1</sup>, 郑洋滨<sup>1</sup>, 罗永明<sup>1\*</sup>

(1. 江西中医学院药学院, 南昌 330004;

2. 江西中医学院现代教育技术中心, 南昌 330004)

**[摘要]** 目的: 研究罗布麻叶提取物(extracts from leaves of *Apocynum venetum*, ELA)对离体大鼠胸主动脉环的作用及其可能的机制。方法: 采用累积加药法, 观察 ELA 对苯肾上腺素(PE)预收缩的主动脉环张力的影响; 观察 hemoglobin, 亚甲基蓝(MB)预处理对 ELA 扩血管作用影响; 观察左旋硝基精氨酸甲酯盐酸盐(L-NAME), 甲基异硫脲硫酸盐(SMT)预处理对 ELA 的扩血管作用的影响; 观察四乙胺(TEA), 4-氨基吡啶(4-AP)和格列苯脲(GLB)对 ELA 的血管舒张作用的影响; 采用 Ca<sup>2+</sup>剥夺和复加法, 观察 ELA 对细胞内钙释放和外钙内流所引起的血管环收缩反应的作用。结果: ELA 可显著舒张 PE 预收缩的主动脉环, 低浓度下(1 × 10<sup>-6</sup> ~ 3 × 10<sup>-4</sup>) g·mL<sup>-1</sup>为内皮依赖性作用, 而高浓度下(3 × 10<sup>-4</sup>, 1 × 10<sup>-3</sup>) g·mL<sup>-1</sup>则为内皮非依赖性舒张。低浓度下(1 × 10<sup>-6</sup> ~ 3 × 10<sup>-4</sup>) g·mL<sup>-1</sup>, ELA 的扩血管作用可被 Hemoglobin, MB(P < 0.05)和 L-NAME, SMT(P < 0.05)阻断。高浓度下(3 × 10<sup>-4</sup> ~ 3 × 10<sup>-3</sup>) g·mL<sup>-1</sup>, ELA 可显著抑制细胞内钙释放和细胞外钙内流(P < 0.05); 钾通道阻滞剂 TEA, 4-AP 和格列苯脲可不同程度地阻断 ELA 扩血管作用。结论: ELA 可剂量依赖性的舒张 PE 预收缩的胸主动脉环, 呈现低浓度下内皮依赖、高浓度下内皮非依赖的特点。低浓度下 ELA 的血管舒张作用可能与 NO 释放有关, 高浓度下其作用需要 Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>通道参与。

**[关键词]** 罗布麻叶提取物; 胸主动脉环; 血管舒张作用

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0114-06

**[DOI]** CNKI:11-3495/R.20111017.0939.002 **[网络出版时间]** 2011-10-17 9:39

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20111017.0939.002.html>

## Vasodilator Responses of Extracts from Leaves of *Apocynum venetum* on Thoracic Aorta of Rats

FU Jian-jiang<sup>1</sup>, LV Hong<sup>2</sup>, YANG Hua-sheng<sup>1</sup>, YING Xiao-ying<sup>1</sup>, ZHENG Yang-bin<sup>1</sup>, LUO Yong-ming<sup>1\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

**[收稿日期]** 20110514(010)

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(973 计划, 2010CB530603); 国家科技重大专项(重大新药创制, 2009ZX09310-005)

**[第一作者]** 付剑江, 博士, 副教授, 从事分子药理学研究, Tel: 791-7118919, E-mail: jianjiang\_fu@yahoo.com.cn

**[通讯作者]** \* 罗永明, 博士, 教授, 从事天然产物活性成分研究, Tel: 791-7118919, E-mail: loym@163.com

- [11] Polla B S. A role for heat shock protein in inflammation? [J]. Immunol Today, 1988, 9 (5):134.
- [12] Multhoff G. Heat shock proteins in immunity [J]. Handb Exp Pharmacol, 2006, 172, 279.
- [13] Wang H R, Ryan M, Mestri R. The heat shock response inhibits inducible nitric oxide synthase gene expression by blocking I- $\kappa$ B degradation and NF- $\kappa$ B nuclear translocation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 231 (2):257.
- [14] Trujillo G, Kew R R. Platelet-derived thrombospondin-1 is necessary for the vitamin D-binding protein (Gc-globulin) to function as a chemotactic cofactor for C5a [J]. Immuno, 2004, 173:4130.
- [15] Gumireddy K, Damodar C, Swamy N, et al. Mitogen-activated protein kinase pathway mediates DBP-maf-induced apoptosis in RAW 264.7 macrophages [J]. Cell Biochem, 2003, 90(1):87.
- [16] While P, Cooke N. The mull functional properfies and characteristics of Vitamin D-binding protein [J]. Trends Endocrinol Metab, 2000, 11:320.

[责任编辑 何伟]

2. Modern Education Technology Center, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the vascular effects of extracts from leaves of *Apocynum venetum* (ELA) and its mechanisms. **Method:** Phenylephrine (PE) was used to contract isolated rat thoracic aorta. Concentration relaxation curve of ELA ( $1 \times 10^{-6}$ - $3 \times 10^{-3}$  g·mL<sup>-1</sup>) was constructed in cumulative doses manner. Moreover, vasodilator effects of ELA were re-determined after pre-incubated with several antagonists. **Result:** ELA showed significant vasodilator properties. At low concentration, vascular effects of ELA were inhibited by hemoglobin, methylene blue (MB), NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) and S-methylisothiourrea sulfata (SMT). At high concentration, Ca<sup>2+</sup>-induced contraction was suppressed by ELA. In addition, the K<sup>+</sup> channel blocking agents tetraethylammonium (TEA), 4-aminopyridine (4-AP) and glibenclamide (GLB) inhibited the vasodilator responses of ELA. **Conclusion:** ELA showed vasodilator effects with property of endothelium-dependency at low concentration and endothelium-independency at high concentration. At low concentration, the vasodilator response of ELA was related to the release of NO, but at high concentration, this action may be associated with Ca<sup>2+</sup> and K<sup>+</sup>.

**[Key words]** extracts from leaves of *Apocynum venetum*; thoracic aorta; vasodilator effects

罗布麻 *Apocynum venetum* L. 属夹竹桃科植物,根、叶、花皆可入药<sup>[1]</sup>。罗布麻叶做茶及药用由来已久,明代《救荒本草》记载:“采嫩叶蒸过,晒干,做茶吃亦可”。罗布麻叶被收录于《中国药典》,对其的描述为“罗布麻叶性味归经:甘、苦,凉。归肝经。功能:平肝安神,清热利尿。主治肝阳眩晕,心悸失眠,浮肿尿少;高血压,神经衰弱,肾炎浮肿。”<sup>[2]</sup>现代药理、药化研究提示罗布麻叶中含有丰富的心血管活性物质,具有调节血压、降血脂等药理作用<sup>[3-6]</sup>。罗布麻叶中主要含有黄酮类、有机酸类、鞣质和脂肪酸醇酯等化学成分<sup>[7-8]</sup>。本实验通过观察罗布麻叶提取物对离体大鼠主动脉环的影响,观察罗布麻叶提取物的降压作用,并对其作用机制作了进一步探讨。

## 1 材料

**1.1 实验用药** 罗布麻叶 (*Apocyni Veneti Folium*) 购自北京同仁堂(亳州)饮片有限公司(产地吉林),由本校生药教研室付小梅副教授鉴定,符合《中国药典》2010年版标准。罗布麻叶提取物(ELA)提取方法:取适量罗布麻叶,加10倍量水回流提取2.0 h,过滤;药渣加入8倍量水继续回流提取1.5 h,过滤后合并2次提取液,并将提取液按1:6的比例浓缩。随后将浓缩药液在室温下离心,3 000 r·min<sup>-1</sup>,10 min,弃去沉淀,上清液采用D101型大孔树脂纯化。纯化工艺如下:上柱量为每毫升湿树脂0.5 g原生药;洗脱条件为先用1 BV的蒸馏水洗

脱,再用3 BV的60%乙醇洗脱,洗脱流速2 BV·h<sup>-1</sup>,收集60%的醇洗脱液,浓缩,干燥。

**1.2 试剂** 苯肾上腺素(phenylephrine, PE, Sigma, 批号109K1528),左旋硝基精氨酸甲酯盐酸盐(NG-nitro-L-arginine-methyl-ester, L-NAME, Sigma, 批号1418328),乙酰胆碱(Ach, Sigma, 批号0001409551),hemoglobin(碧云天生物技术研究,批号S0017),亚甲蓝(MB, Sigma, 批号M9140)、甲基异脲硫酸盐(SMT, Sigma, 批号S77335)、格列苯脲(GLB, Sigma, 批号10238-21-8)、4-氨基吡啶(4-aminopyridine, 4-AP, 上海瀚鸿化工科技有限公司,批号B61017)、四乙胺(TEA, Sigma, 批号04304LH)。Krebs-Henseleit (K-H)溶液(mmol·L<sup>-1</sup>): NaCl 118.3, KCl 4.7, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, MgSO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 25.0, CaCl<sub>2</sub> 1.25, 葡萄糖 11.0 (pH 7.4)。

**1.3 动物** SD大鼠,雄性,体重180~220 g,购自于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,合格证号SCXK(湘)2009-0004。

**1.4 仪器** Allegra™ X-12R离心机, Beckman Coulter公司; Powerlab生物信号采集系统, ADInstruments公司。

## 2 方法

**2.1 动脉血管环的制备** 参考文献[9-10]制备大鼠胸主动脉环,操作步骤如下:SD大鼠用3%戊巴比妥钠麻醉后,迅速打开胸腔,取出胸主动脉,置于4

℃ 含 95% O<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub> 混合气体预饱和的 K-H 液中。仔细剔除血管周围的结缔组织,剪成 3~4 mm 长的血管环。将血管悬挂于 37℃ 预热的 10 mL K-H 液的浴槽内,一端固定,一端通过张力换能器连接在 Powerlab 生物信号采集系统。在持续通入 95% O<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub> 的混合气体状态下,调节基础张力至 2.0 g,在 37℃ 下稳定 60 min,期间每 15 min 换 1 次 K-H 液。稳定 60 min 后,用 KCl 60 mmol·L<sup>-1</sup> 刺激血管环达峰值,然后用 K-H 液冲洗 3~4 次。重复以上操作 3 次,以诱发血管环最大收缩幅度。待血管环重新稳定,用 PE 1 μmol·L<sup>-1</sup> 收缩血管环达峰值,加入 Ach 10 μmol·L<sup>-1</sup> 检验血管内皮完整性。

血管舒张率参照文献[11]计算,即以 PE 0.3 μmol·L<sup>-1</sup> 诱发的最大收缩幅度为 100%,以加入药物后的血管张力幅度与 PE 诱发的最大收缩幅度之间的比率反映血管张力的变化。

$$\text{舒张率} = (\text{血管环预收缩最大张力} - \text{不同药物浓度血管环的张力}) / (\text{血管环预收缩最大张力} - \text{基础平衡张力}) \times 100\%$$

## 2.2 分组

### 2.2.1 对 PE 预收缩内皮完整的血管环张力的影响

当血管环达到稳定状态后,用 PE 0.3 μmol·L<sup>-1</sup> 预收缩血管环达峰值,而后用累积加药法给予 1 × 10<sup>-6</sup>, 3 × 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-5</sup>, 3 × 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup>, 3 × 10<sup>-4</sup>, 1 × 10<sup>-3</sup>, 3 × 10<sup>-3</sup> g·mL<sup>-1</sup> 的 ELA,上一个浓度稳定后加下一个浓度,观察血管张力变化。空白对照组以同体积的 K-H 液替代(*n* = 8)。

### 2.2.2 对去内皮血管环张力的影响

依据前述机械破坏内皮的方法,去除血管环的内皮,同样用 PE 0.3 μmol·L<sup>-1</sup> 刺激血管环,使其收缩达顶峰,累积加药法给予 ELA,观察血管张力变化(*n* = 8)。

### 2.2.3 对 NO 相关试剂预处理血管环张力的影响

内皮完整的血管环在 K-H 液中稳定后,分别以一氧化氮(NO)清除剂 hemoglobin(终浓度 10 μmol·L<sup>-1</sup>)和 MB(终浓度 10 μmol·L<sup>-1</sup>)与主动脉环预孵育 15 min,用 K-H 液洗去预处理试剂,等重新到达稳定后,用 PE 0.3 μmol·L<sup>-1</sup> 刺激血管环,使其收缩达顶峰,按照上述累积给药法给予 ELA,观察血管环张力的变化(*n* = 8)。

### 2.2.4 对不同的 NOS 抑制剂预处理血管环的影响

内皮完整的血管环在 K-H 液中稳定后,分别采用内皮型一氧化氮合成酶(eNOS)抑制剂 L-NAME,终浓度 100 μmol·L<sup>-1</sup>,诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)

抑制剂 SMT,终浓度 100 μmol·L<sup>-1</sup> 分别与主动脉环预孵育 15 min,随后用 K-H 液洗去预处理试剂,等重新到达稳定后,用 PE (0.3 μmol·L<sup>-1</sup>) 刺激血管环,使其收缩达顶峰,按照上述累积给药法给予 ELA,观察血管环张力的变化(*n* = 8)。

### 2.2.5 对细胞内钙释放和细胞外钙内流所引起的血管环收缩反应的影响

将去内皮大鼠主动脉环置于正常 K-H 液中,平衡 1.5 h。换无钙 K-H 液冲洗 4~5 次,再浸泡平衡 20 min,加入 1 μmol·L<sup>-1</sup> PE 或 60 mmol·L<sup>-1</sup> KCl,待收缩高度达高峰并稳定后,记录 PE 在无钙 K-H 液中促进细胞内钙释放所引起的收缩反应。随后,恢复原 K-H 液中 Ca<sup>2+</sup> 量 2.5 mmol·L<sup>-1</sup> (即加入 100 μL 250 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 于 10 mL 浴槽中),待收缩达到坪值后,记录 PE 或者 KCl 作用下促使细胞外 Ca<sup>2+</sup> 进入细胞内所致收缩反应。之后,用无钙 K-H 液冲洗多次,回到基线后,加入适当浓度的 ELA,10 min 后重复以上步骤,比较给药前后肌张力的变化(*n* = 8)。

### 2.2.6 对钾通道阻断剂预处理的血管环张力的影响

内皮完整的血管环在 K-H 液中稳定后,在孵育体系中分别加入 GLB(终浓度 1 μmol·L<sup>-1</sup>),4-AP(终浓度 0.1 μmol·L<sup>-1</sup>)以及 TEA(终浓度 10 μmol·L<sup>-1</sup>),与主动脉环预孵育 15 min,用 K-H 液洗去预处理试剂,等重新到达稳定后,用 PE (0.3 μmol·L<sup>-1</sup>) 刺激血管环,使其收缩达顶峰,按照上述累积给药法加入适当浓度的 ELA,观察血管环张力的变化(*n* = 8)。

### 2.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件包进行分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析,方差齐性采用 LSD 检验,*P* < 0.05 有统计学意义。

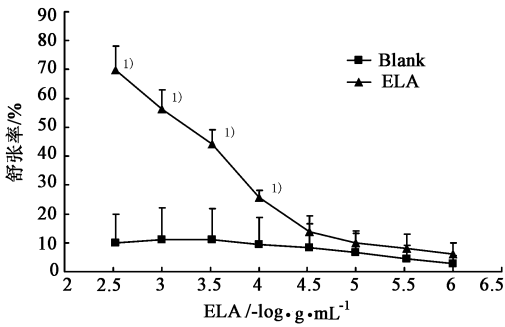
## 3 结果

### 3.1 对 PE 预收缩主动脉环的影响

如图 1 所示,ELA 在 1 × 10<sup>-6</sup> ~ 3 × 10<sup>-3</sup> g·mL<sup>-1</sup> 对内皮完整的大鼠胸主动脉环均具有浓度依赖性舒张作用,最大的舒张率达 69.82%,与空白对照相比,具有显著差异(*P* < 0.01)。

### 3.2 对去内皮主动脉环的影响

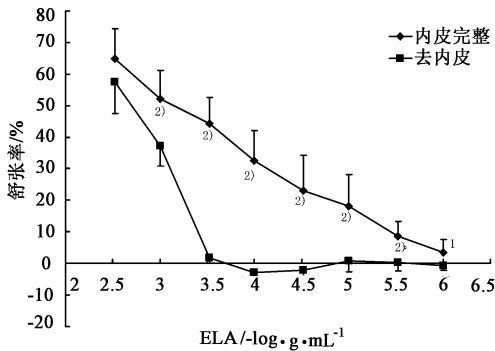
对于去内皮主动脉环,低剂量范围内(1 × 10<sup>-6</sup> ~ 3 × 10<sup>-4</sup> g·mL<sup>-1</sup>)的罗布麻叶提取物的血管舒张作用被完全抑制(*P* < 0.01)。但是,随着剂量的逐渐增加(从 3 × 10<sup>-4</sup> g·mL<sup>-1</sup> 开始),罗布麻叶提取物逐渐恢复对血管环的



与空白对照组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$

图1 罗布麻叶提取物(ELA)对PE预收缩的主动脉环张力的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

舒张作用,并与完整内皮时的作用接近(图2)。



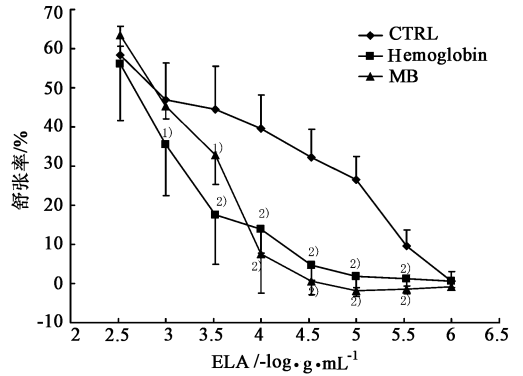
与去内皮组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$

图2 罗布麻叶提取物(ELA)对去内皮的主动脉环张力的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

**3.3 对NO相关试剂预处理血管环的影响** 如图3所示,对于与hemoglobin,MB预孵育的主动脉环,低浓度( $1 \times 10^{-6} \sim 3 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )的罗布麻叶提取物的血管舒张作用被显著抑制( $P < 0.01$ )。这些结果提示,低浓度下的罗布麻叶提取物的血管舒张反应可能与内源性NO释放有关。高浓度罗布麻叶提取物的血管舒张反应仍然显著,不被hemoglobin和亚甲蓝所阻断。

**3.4 对不同的NO合酶抑制剂预处理血管环的影响** 如图4所示,与前述去内皮和NO相关试剂预孵育的血管舒张反应一样,经NOS抑制剂孵育后,罗布麻叶提取物的血管舒张反应被完全阻断( $P < 0.01$ ),但是随着浓度的增加,罗布麻叶提取物的血管舒张仍然显著,不被NOS抑制剂所阻断。

**3.5 对细胞内钙释放以及细胞外钙内流所引起的主动脉环收缩的影响** 结果表明,在无钙K-H液中,罗布麻叶提取物与血管环孵育后,PE或者KCl的预收缩幅度显著降低,其抑制率呈浓度依赖性



与对照组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ (图4同)

图3 罗布麻叶提取物对NO相关试剂预处理后的主动脉环张力的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

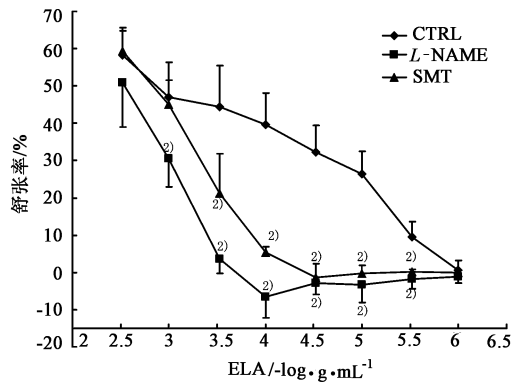


图4 罗布麻叶提取物(ELA)对不同NOS抑制剂处理的主动脉环张力的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

(PE预收缩分别为47.9%和74.9%;KCl预收缩47.7%和31.7%);而在孵育体系中恢复原有 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度后,2个浓度的罗布麻叶提取物均可显著抑制KCl引起的血管收缩(抑制率:PE预收缩分别为84.6%和100%;KCl预收缩分别为75.4%和95.0%)(表1,2)。从上述结果可以看出,罗布麻叶提取物既可抑制细胞内钙释放,也可抑制细胞外钙内流,使细胞浆中 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度下降,其中对细胞外钙内流的抑制作用更强。

**3.6 罗布麻叶提取物对钾通道阻断剂预处理的血管环张力的影响** 如表3所示,在PE预收缩的血管环上,钾通道阻滞剂GLB,4-AP以及TEA均可不同程度的抑制罗布麻叶提取物的血管舒张反应,其中GLB和4-AP可显著抑制 $3 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的罗布麻叶提取物的扩血管作用( $P < 0.01$ ),随着罗布麻叶提取物剂量的增加,这种抑制作用逐渐减弱;而TEA的抑制作用更显著,3个浓

表 1 罗布麻叶提取物对 PE 预收缩的大鼠胸主动脉环张力的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	质量浓度 /g·mL <sup>-1</sup>	n	孵育前张力/g		孵育后张力/g(抑制率/%)			
			无钙	加钙	无钙	加钙		
ELA	1 × 10 <sup>-3</sup>	12	1.94 ± 0.64	1.29 ± 0.14	0.97 ± 0.20 <sup>1)</sup>	(47.9)	0.2 ± 0.04 <sup>2)</sup>	(84)
	3 × 10 <sup>-3</sup>	14	2.05 ± 0.22	0.98 ± 0.15	0.51 ± 0.06 <sup>2)</sup>	(74.9)	0.06 ± 0.05 <sup>2)</sup>	(100)

注:与孵育前相比<sup>1)</sup> P < 0.05, <sup>2)</sup> P < 0.01(表 2~3 同)。

表 2 罗布麻叶提取物对 KCl 预收缩的大鼠胸主动脉环张力的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	质量浓度 /g·mL <sup>-1</sup>	n	孵育前张力/g		孵育后张力/g(抑制率/%)			
			无钙	加钙	无钙	加钙		
ELA	1 × 10 <sup>-3</sup>	13	1.49 ± 0.32	0.64 ± 0.14	0.75 ± 0.19 <sup>2)</sup>	(47.7)	0.16 ± 0.09 <sup>2)</sup>	(75.4)
	3 × 10 <sup>-3</sup>	12	1.53 ± 0.17	0.67 ± 0.19	1.06 ± 0.22 <sup>2)</sup>	(31.7)	0.03 ± 0.02 <sup>2)</sup>	(95.0)

表 3 罗布麻叶提取物对钾通道阻断剂预处理的血管环张力的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	质量浓度 /g·mL <sup>-1</sup>	n	抑制率/%			
			孵育前	GLB	4-AP	TEA
ELA	3 × 10 <sup>-4</sup>	44	33 ± 4.92	22.59 ± 7.99 <sup>2)</sup>	11.73 ± 6.44 <sup>2)</sup>	3.20 ± 5.53 <sup>2)</sup>
	1 × 10 <sup>-3</sup>	52	22 ± 6.81	46.24 ± 6.43	46.83 ± 7.46	15.90 ± 3.06 <sup>2)</sup>
	3 × 10 <sup>-3</sup>	64	79 ± 8.37	64.28 ± 12.63	67.81 ± 13.13	50.74 ± 4.25 <sup>2)</sup>

度的罗布麻叶提取物的扩血管作用均可被 TEA 阻断(P < 0.01)。

#### 4 讨论

罗布麻的抗高血压作用很早就为人所知,而且用于高血压治疗的罗布麻制剂种类众多,其中罗布麻叶片已经被收载进《中国药典》<sup>[2]</sup>。然而,由于人们对罗布麻叶抗高血压作用的机制研究及物质基础研究尚不完善,制约了罗布麻叶的开发、利用。本文以罗布麻叶提取物为研究对象,利用离体血管环体外实验方法,观察了罗布麻叶提取物对 PE 预收缩的大鼠主动脉环的舒张作用,并试图阐明罗布麻叶的抗高血压作用机制,为罗布麻的深度开发和利用奠定基础。

本研究发现,罗布麻叶提取物具有浓度依赖性的血管舒张作用,而且这种血管舒张作用在低浓度下呈内皮依赖性,而高浓度的罗布麻叶提取物的血管舒张反应则不依赖于血管内皮的完整性。这一结果提示,罗布麻叶提取物的血管舒张作用的机制较为复杂,在不同的浓度下,其作用机制也有所不同。

为了进一步阐明罗布麻叶提取物的作用机制,我们首先采用 NO 清除剂 Hemoglobin 与血管环预孵育,随后加入累积浓度的罗布麻叶提取物。结果表明,在低浓度下,Hemoglobin 可以完全阻断罗布麻叶

提取物的血管舒张反应,表明低浓度罗布麻叶提取物的血管扩张作用与 NO 释放有关。随后,我们分别采用 eNOS 抑制剂 L-NAME 和 iNOS 抑制剂 SMT 分别与主动脉环预孵育,观察血管环对罗布麻叶提取物的反应。结果发现,低浓度的罗布麻叶提取物的血管舒张作用同样可以被 NOS 抑制剂所阻断。这些结果提示,低浓度罗布麻叶提取物的血管舒张作用与激活内皮细胞内的 NOS,促进 NO 释放密切相关。

对于血管平滑肌而言,Ca<sup>2+</sup> 是其收缩的关键因子,血管平滑肌的收缩依赖于细胞外 Ca<sup>2+</sup> 内流和细胞内 Ca<sup>2+</sup> 释放而导致的细胞内钙浓度增加<sup>[12]</sup>。PE 是选择性 α1 受体激动剂,属受体偶联的钙通道激活剂,而 KCl 引起平滑肌细胞去极化,激活电压依赖性的钙通道。二者均可增加细胞浆钙离子浓度<sup>[13-14]</sup>。本研究发现,不论是 PE 预收缩的血管环还是 KCl 预收缩的血管环,高浓度罗布麻叶提取物均可抑制其细胞内钙释放以及细胞外钙内流。这些结果提示,高浓度罗布麻叶提取物不仅可以阻断受体偶联的钙通道,而且可以阻断电压依赖性钙通道,而其血管舒张反应可能与 Ca<sup>2+</sup> 通道被阻断有关。

随后,我们采用究电压依赖性延迟整流钾通道阻断剂 4-AP,钙离子激活钾通道阻断剂 TEA 和 K<sub>ATP</sub>

阻断剂 GLB<sup>[15-16]</sup>与主动脉环预孵育,结果发现,3种钾离子通道阻断剂对罗布麻叶提取物的血管舒张作用均有一定程度的阻断作用,其中 TEA 的作用最强。提示,这3种钾离子通道均参与了罗布麻叶提取物的血管舒张反应,其中钙离子激活钾通道是发挥主要作用的 K<sup>+</sup>通道。

综上所述,罗布麻叶提取物对离体大鼠胸主动脉具有明显的舒张反应,并表现为低浓度下内皮依赖性、高浓度下内皮非依赖性的特点。在低浓度下,罗布麻叶提取物的血管舒张作用可能与 NO 释放有关,而高浓度下的扩血管作用则可能有血管平滑肌细胞表面的 Ca<sup>2+</sup>,K<sup>+</sup>通道参与。为了进一步阐明罗布麻叶提取物的血管舒张作用机制,后续工作将从罗布麻叶提取物对 NO 释放以及 Ca<sup>2+</sup>,K<sup>+</sup>通道的影响等方面入手,阐明其中分子行为,为罗布麻叶的深度开发提供研究基础。

#### [参考文献]

[1] 高双立,管庆海.绿色保健植物罗布麻[J].中国社区医师,2005,7(20):8.

[2] 中国药典.一部[S].2005:147.

[3] 杨守业,包建华,谢利民.罗布麻叶水浸膏降血脂作用的研究[J].中药通报,1986,11(6):50.

[4] 洪秀芳,徐新娟,柏坤河,等.新疆大花罗布麻叶治疗高血压病临床观察实用[J].中西医结合杂志,1991,4(1):33.

[5] Kwan C Y,Zhang W B,Nishibe S,et al. A novel in vitro endothelium-dependent vascular relaxant effect of *Apocynum venetum* leaf extracts [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol,2005,32(9):789.

[6] Tagawa C, Kagawa T, Nakazawa Y, et al. Studies on Anti-hypertensive effect of luobuma (*Apocynum venetum* L.) Leaf Extract [J]. Yakugaku Zasshi, 2004, 124

(11):851.

[7] 严秀珍.白麻和红麻化学成分的测定[J].中成药研究,1987(12):27.

[8] 李丽红,原忠.罗布麻叶黄酮类成分的研究[J].中国中药杂志,2006,31(16):1337.

[9] Nakamura A, Harada N, Takahashi A, et al. NO-1886, a lipoprotein lipase activator, attenuates vascular smooth muscle contraction in rat aorta [J]. Eur J Pharmacol, 2007,554(2/3):183.

[10] Pinder A G, Pittaway E, Morris K,et al. Nitrite directly vasodilates hypoxic vasculature via nitric oxide-dependent and -independent pathways [J]. Br J Pharmacol,2009, 157(8):1523.

[11] Perez-Vizcaino F, Ibarra M, Cogolludo A L, et al. Endothelium-independent vasodilator effects of the flavonoid quercetin and its methylated metabolites in rat conductance and resistance arteries [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2002,302(1):66.

[12] Bolton T B, Gordienko D V, Pucovsky V,et al. Calcium release events in excitation contraction coupling in smooth muscle [J]. Novartis Found Symp, 2002, 246:154.

[13] Putney J W. Receptor-regulated calcium entry [J]. Pharmacol Ther, 1990, 48(3):427.

[14] Fasolato C, Innocenti B, Pozzan T. Receptor-activated Ca<sup>2+</sup> influx: how many mechanisms for how many channels [J]. Trends Pharmacol Sci, 1994, 15(3):77.

[15] 欧阳伟,钱学贤.大鼠心肌缺血预适应对心肌缺血-再灌注损伤的保护作用及 ATP 敏感钾通道的作用[J].第一军医大学学报,1999,19(4):72.

[16] 金宏伟,王晓良.电压依赖性钾通道与人类神经性疾病[J].生理科学进展,2002,33(2):22.

[责任编辑 聂淑琴]