

芍药苷对大鼠离体胸主动脉血管环的作用及其机制

彭珍香, 黄海定, 邓时贵*

(广州中医药大学第二附属医院动物实验中心, 广州 510006)

[摘要] 目的: 观察芍药苷(paeoniflorin, PF)对大鼠离体胸主动脉血管的舒张作用并探讨其机制。方法: 采用离体血管环灌流方法, 观察芍药苷在含 Ca^{2+} 或无 Ca^{2+} K-H 液孵育条件下对去甲肾上腺素(NA)引起的血管平滑肌收缩的影响; 同法观察芍药苷对 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl 引起的血管平滑肌收缩的影响; 芍药苷对 NA 引起的依赖于细胞内钙和细胞外钙收缩反应的影响, 以及加入 L-NAME(*N*-硝基-L-精氨酸甲酯)后芍药苷舒张大鼠离体主动脉环效应的变化。结果: 芍药苷呈浓度依赖性舒张含 Ca^{2+} 和无 Ca^{2+} K-H 液中 NA 引起的血管收缩; 对外钙收缩和内钙收缩均无抑制。芍药苷对 KCl 引起的血管平滑肌收缩也无抑制作用。L-NAME 能够使芍药苷舒血管效应降低, 芍药组的血管舒张程度与对照组有显著差别 ($P < 0.05$)。结论: 芍药苷可呈内皮依赖性舒张血管平滑肌, 其作用机制可能与该药促进 NO 合成释放有关, 而与钙激活的钾通道以及抑制血管平滑肌细胞外钙内流和内钙释放无关。

[关键词] 芍药苷; 主动脉环; 作用机制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0190-05

Effects of Paeoniflorin on Isolated Thoracic Aorta Rings of Rats and Its Possible Mechanism

PENG Zhen-xiang, HUANG Hai-ding, DENG Shi-gui*

(The Second Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the relaxative characteristics of paeoniflorin on thoracic aortic artery in rat and its mechanism. **Method:** We perfused the isolated rings and observed the response of NA-induced artery contraction to paeoniflorin under the Ca^{2+} -contained and Ca^{2+} -free bath solutions. In the same way the effects of paeoniflorin on the vascular smooth muscle were observed by adding KCl (60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), and the effect on the contraction of the vascular smooth muscle depending on the intracellular calcium and extracellular calcium were also observed by adding NA. We also observed the effect of paeoniflorin on the contraction of rings induced by NA in the presence of L-NAME. **Result:** Paeoniflorin relaxed rat aorta rings precontracted by NA in a dose-dependent manner. But had no effect on the aorta's contraction induced by intracellular calcium and extracellular calcium as well as KCl (60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), the relaxant effect could be attenuated by L-NAME. There was significant change in the group of paeoniflorin ($P < 0.05$). **Conclusion:** The results indicate that paeoniflorin relaxes vascular smooth muscle in an endothelium-dependent manner. The mechanisms seem to be related with promoting synthesis and release of NO, but not for opening Ca^{2+} activated K^+ channel as well as the inhibition of Ca^{2+} influx and release of Ca^{2+} from intracellular stores.

[Key words] paeoniflorin; thoracic aortic ring; mechanism

[收稿日期] 2010-12-13

[基金项目] 广东省自然科学基金(8451040701001591)

[第一作者] 彭珍香, 在读中药学硕士, Tel:020-39318876, E-mail: xzhpeng@yahoo.cn

[通讯作者] * 邓时贵, 研究员, 硕士生导师, 从事中药药理研究工作, Tel:020-39318876, E-mail: dengshigui@yahoo.com.cn

芍药苷 (paeoniflorin) 是毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall 干燥根中的一种单萜糖苷类化合物。研究表明^[1]其有效成分主要为芍药苷的赤芍总苷具有抑制血小板和红细胞聚集、抗凝和抗血栓、抗动脉粥样硬化、保护心脏和肝脏、抗肿瘤等广泛的药理活性。研究证实^[2-5],芍药苷对脑缺血损伤具有神经保护作用,对大鼠全脑缺血具有保护脑组织的作用,芍药苷预处理能够对脑缺血再灌注损伤产生延迟保护作用 and 心脏保护作用。提示芍药苷对心脑血管疾病具有保护作用。本实验观察了芍药苷对大鼠胸主动脉血管舒张活动的影响,初步探讨其作用机制。

1 材料

1.1 试剂和仪器 芍药苷,批号 100515,南京郎泽生物科技有限公司; *N*-硝基-*L*-精氨酸甲酯 (*L*-NAME),广州市奇云生物技术有限公司,批号 100321;乙酰胆碱 (Ach),广州市奇云生物技术有限公司,批号 100425;重酒石酸去甲肾上腺素注射液,天津金耀氨基酸有限公司,批号 0911091。克-亨氏液 (K-H 液),1 mmol·L⁻¹ 含 NaCl 118, KCl 5.4, NaH₂PO₄ 1.0, MgSO₄·7H₂O 1.2, CaCl₂ 1.9, NaHCO₃ 25.0 和葡萄糖 11.1, pH 为 7.4;无钙 K-H 液,上述 K-H 液中除去 CaCl₂,加入 EDTA 0.1 mmol·L⁻¹ 即可。Radnoti 离体组织灌流仪,美国 Emake 公司。

1.2 动物 SD 大鼠, (180 ± 20) g, 雌雄不拘,广东省医学实验动物中心提供,合格证号 00600006。

2 方法

2.1 血管环的制备^[6] 用钝器将大鼠击昏后,迅速取出胸主动脉并置于 4 °C 氧饱和的 K-H 液中,剥去周围的结缔组织后制成 3 ~ 4 mm 宽的血管环(不同组内的血管环均来自不同的大鼠)。悬挂于含 K-H 液 20 mL 的浴槽中,浴液温度保持 37 °C,持续通以 95% O₂ + 5% CO₂ 的混合气体。主动脉环连于张力换能器,平衡 1.5 h,静息张力 2 g,每 15 min 更换 K-H 液 1 次。以 Ach 1 × 10⁻⁵ mol·L⁻¹ 检验血管内皮完整性^[7] (内皮完整:血管舒张幅度 > 50%;去内皮:舒张幅度 < 10%)。

2.2 分组

2.2.1 芍药苷对未经任何预处理血管环的影响 血管环在正常 K-H 液中平衡 1.5 h 后,实验组累积加入不同浓度的芍药苷,对照组加入等容量 NS,观察两组血管环张力的变化 ($n = 6$)。

2.2.2 芍药苷舒张血管作用的时间依赖性 用 1 μmol·L⁻¹ NA 使血管环收缩,待稳定后向浴槽内加入质量浓度 0.2 g·L⁻¹ 的芍药苷,观察芍药苷对大鼠胸主动脉环产生的舒张效应,制作时效曲线(对照组以 NS 代替芍药苷) ($n = 6$)。

舒张率 = 1 - (药后收缩张力/血管最大收缩张力) × 100%

2.2.3 芍药苷对含钙 K-H 液中 NA 预收缩血管环的影响 将内皮完整的血管环在正常 K-H 液中平衡 1.5 h 后,加入 1 μmol·L⁻¹ NA 使血管收缩至最大反应,以此为对照。待收缩达坪值并稳定 10 min 后,累积加入芍药苷,使终质量浓度依次为 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 g·L⁻¹ (每次加药都是在上 1 浓度药物作用完全达平衡后开始下 1 个浓度实验),观察不同质量浓度芍药苷对血管环的舒张效应,制作累积浓度-舒张曲线 ($n = 6$)。

2.2.4 芍药苷对无 Ca²⁺ K-H 液中 NA 预收缩血管环的影响 将血管环置于正常 K-H 液内平衡 1.5 h,用无 Ca²⁺ K-H 液反复冲洗,然后在无 Ca²⁺ K-H 液内温育 30 min,再向浴槽内加入 1 μmol·L⁻¹ NA 至收缩呈最大反应,累积加入不同浓度(同 2.2.3)的芍药苷。对照组重复上述步骤,加入等容量 NS 代替芍药苷,观察血管张力变化 ($n = 6$)。

2.2.5 芍药苷对 NA 致胸主动脉环内外钙收缩反应的影响^[8] 将在 K-H 液中 [] 已平衡的血管平滑肌用无 Ca²⁺ K-H 液换洗并平衡 30 min,然后加入 1 μmol·L⁻¹ NA,血管平滑肌出现快速收缩反应,此时引起的收缩为 NA 在无钙液中促使细胞内钙释放所致;待收缩幅度稳定后再加入 CaCl₂,以恢复 K-H 液中的 Ca²⁺ 浓度,此时血管平滑肌进一步收缩,这是 NA 作用下促使细胞外钙进入细胞内所致。收缩达到最大值(100%),再用无 Ca²⁺ K-H 液反复冲洗血管平滑肌,待其收缩张力恢复正常后,加入芍药苷(对照组给等容量 NS)给药 20 min 后重复上述实验,比较给药前后肌张力的变化,计算第 2 次占第 1 次收缩幅度的百分率 ($n = 6$)。

2.2.6 芍药苷对 KCl 预收缩血管作用的影响 方法同 2.2.2,用 60 mmol·L⁻¹ KCl 替换 NA。观察不同质量浓度芍药苷对 KCl 致血管环收缩反应的影响 ($n = 6$)。

2.2.7 芍药苷对 *L*-NAME 预孵 NA 收缩血管效应的影响 用 *L*-NAME 0.3 mmol·L⁻¹ 预孵 20 min 后加入 1 μmol·L⁻¹ NA,作用 10 min 后,累积加入芍药苷

使其使终质量浓度依次为 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 g · L⁻¹, 加药间隔 10 min, 记录血管张力的变化, 对照组用 NS 代替芍药苷 (n = 6)。

2.3 统计处理 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 PEMS 3.0 统计软件 (四川大学华西公共卫生学院卫生统计学教研室研制) 采用 *t* 检验进行两组间比较, *P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 芍药苷对未经任何预处理的血管环的影响 见图 1。不同浓度芍药苷对未经预处理的血管环舒张效应与对应 NS 血管环舒张效应相比较, 统计无显著差异。结果表明芍药苷对未经预处理的血管环没有舒张作用。

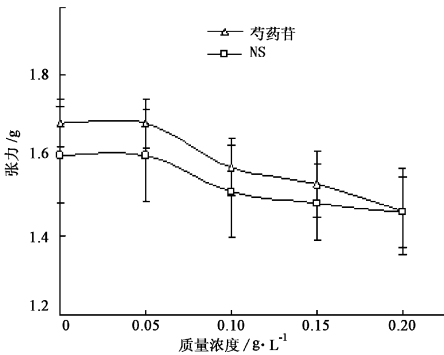


图 1 芍药苷对未经任何预处理的胸主动脉环的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.2 芍药苷舒张血管作用的时间依赖性 见图 2。在 NA 致收缩的血管中给予芍药苷后 1 min 开始产生舒张效应, 随时间延长舒张效应逐渐增强, 30 min 左右达到最大舒张效应 (59.92 ± 16.51) %。各观察时间点芍药苷组血管舒张效应与 NS 组比较, *P* < 0.05, 差异有显著意义。

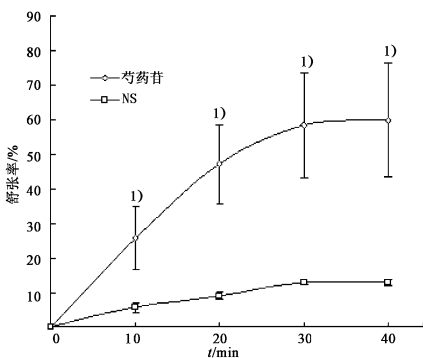


图 2 芍药苷舒张血管作用的时间依赖性 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
与 NS 组比较¹⁾ *P* < 0.05

3.3 芍药苷对含钙液中 NA 预收缩血管环的影响 见图 3。芍药苷对内皮完整血管 NA 引起的血管

收缩能产生剂量依赖性的舒张作用, 并随剂量增加舒张效用越明显。0.20 g · L⁻¹ 芍药苷最大舒张幅度达到 (75.37 ± 3.88) %, 芍药苷各浓度的舒张效应与 NS 组相比 *P* < 0.05, 亦有明显的舒张作用。

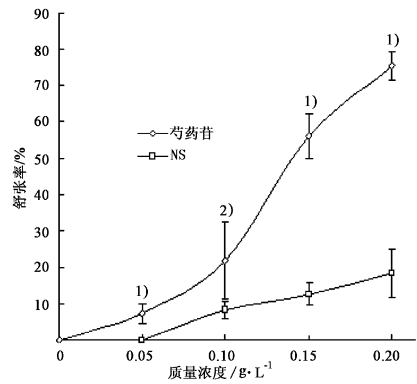


图 3 芍药苷对含钙液中 NA 收缩血管作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
与 NS 组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01

3.4 芍药苷对无 Ca²⁺ K-H 液中 NA 预收缩血管环的影响 见图 4。在无 Ca²⁺ 的 K-H 液中, 芍药苷能明显抑制 NA 引起的血管收缩反应, 并随浓度增加抑制作用越明显。0.2 g · L⁻¹ 芍药苷能使血管舒张幅度达到 (62.72 ± 4.37) %; 在无 Ca²⁺ 的 K-H 液孵育条件下, 芍药苷各浓度对血管舒张率比与含钙组的 K-H 液孵育条件下血管舒张率无显著性差异, 但同条件下与对照组比较有显著性差异 (*P* < 0.05)。

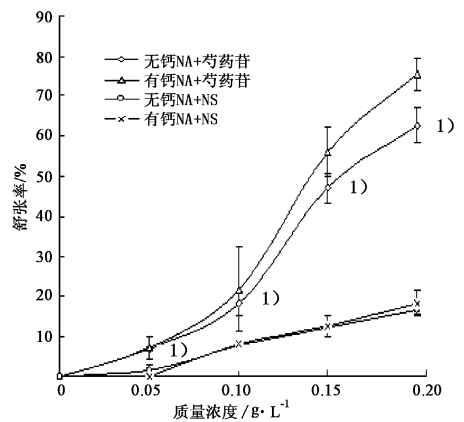


图 4 芍药苷对无钙液中 NA 收缩血管作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
与无钙 NS 组比较¹⁾ *P* < 0.05

3.5 芍药苷对 NA 致胸主动脉环内外钙收缩反应的影响 见表 1。对内外钙收缩率计算发现, 芍药苷不能拮抗 NA 诱发的依内钙的收缩反应, 对外钙收缩也无抑制。

3.6 芍药苷对 KCl 预收缩血管作用的影响 见图 5。芍药苷对 60 mmol · L⁻¹ KCl 的收缩血管作用无显

著抑制,与对照组比较没有显著性差异。

表1 芍药苷对NA引起的依内钙和依外钙收缩反应的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 /g·L ⁻¹	无钙孵育收 缩率/%	含钙孵育收 缩率/%
NS+NA	-	71.58 ± 2.52	88.10 ± 1.82
芍药苷+NA	0.4	75.34 ± 3.02	90.87 ± 2.00

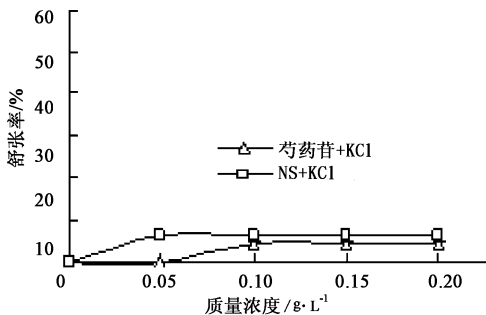


图5 芍药苷对KC1预收缩血管作用的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.7 芍药苷对L-NAME预孵NA收缩血管效应的影响 见图6。一氧化氮合酶抑制剂L-NAME预处理胸主动脉20 min后,降低芍药苷对NE预收缩内皮完整血管环的舒张作用,与L-NAME+NA+NS组比较($P < 0.05$),差异有显著意义。

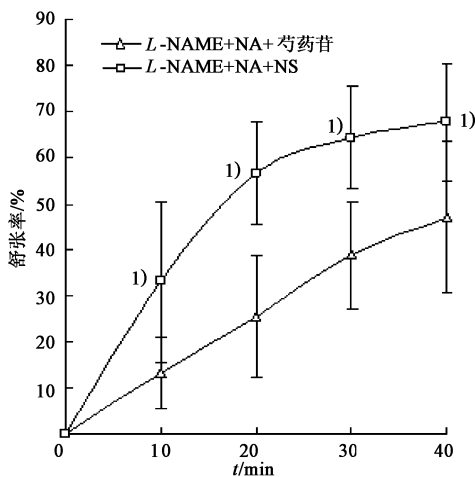


图6 芍药苷对L-NAME预孵NA收缩血管作用的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)与L-NAME+NA+NS组比较¹⁾ $P < 0.05$)

4 讨论

本研究观察了芍药苷舒张动脉血管的作用特点和作用机制,发现芍药苷本身对血管的基础张力没有舒缩作用,提示芍药苷可能对非高血压患者的血压影响较小,其降压效果较为安全。KC1通过平滑肌细胞超极化而刺激血管收缩,其机制主要是使钙离子通道开放,细胞外钙离子内流,从而增加细胞内

钙离子的浓度^[9]。实验发现芍药苷对KC1预收缩的血管环无影响,说明芍药苷不影响钙离子通道的开放。NA激活 α 受体以后,一方面开放受体操纵性钙通道,促使细胞外钙内流,另一方面通过信使IP3(三磷酸肌醇)释放细胞内储存的钙,二者共同促发细胞的收缩效应。本研究观察有钙和无钙K-H液两种孵育条件芍药苷对NA预收缩血管环的舒张效应没有明显差异,提示芍药苷不能抑制内钙释放,当将NA所致离体主动脉环依赖于细胞内钙和细胞外钙收缩反应分离,发现芍药苷对细胞内外钙收缩均无抑制作用,再次证实芍药苷舒张血管作用不是通过抑制内钙释放来实现的。

L-NAME是NO合酶抑制剂,可以降低组织中NO的浓度,有研究表明^[10],内皮细胞通过释放的血管舒张物质在调节血管平滑肌的张力中起重要的作用。从内皮细胞中释放的最重要的一种物质是内皮依赖性舒张因子,现在被确认为是NO,内皮细胞通过释放NO,激活血管平滑肌细胞的鸟苷酸环化酶,引起环磷酸鸟苷(cGMP)升高,通过cGMP依赖性蛋白激酶使钙内流减少,增加钙ATP酶对钙的摄取或直接作用于收缩蛋白去磷酸化而使血管舒张。本实验中L-NAME部分阻断了芍药苷对血管的舒张作用,说明芍药苷对血管的舒张作用可能与其使NO浓度增加有关。因此推测一氧化氮-鸟苷酸环化酶途径介导了芍药苷的舒血管效应。

此外,由花生四烯酸在环氧合酶催化下产生的前列腺素PGE₂也是重要的内皮依赖性舒张因子,关于该途径是否参与了芍药苷的舒血管效应及各种机制之间的关系尚待进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 阮金兰,赵钟祥,曾庆忠,等. 赤芍化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(9):965.
- [2] Liu D Z, Xie K Q, Ji X Q, et al. Neuroprotective effect of paeoniflorin on cerebral ischemic rat by activating adenosine A1 receptor in a manner different from its classical agonists [J]. Br J Pharmacol, 2005, 146(4):604.
- [3] Chen D M, Xiao L, Cai X, et al. Involvement of multitargets in paeoniflorin-induced preconditioning [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 319(1):165.
- [4] 孙蓉, 吕丽莉, 孙虎, 等. 芍药苷对大鼠全脑缺血模型的影响[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(23):2518.
- [5] 旭春, 韦颖梅. 芍药苷预处理对大鼠离体缺血再灌注损伤心脏的保护作用[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2009, 7(10):1177.

黄连巴布膏抗消化性溃疡的药效学研究

王岚, 刘淑芝, 王彦礼, 梁日欣*, 杜茂波, 杨庆, 殷小杰
(中国中医科学院中药研究所, 北京, 100700)

[摘要] 目的:以镇痛、抗炎及抗消化性溃疡为药理指标,对黄连巴布膏的药效学进行评价,为黄连巴布膏的临床应用提供实验依据。方法:幽门结扎法建立大鼠胃溃疡模型;角叉菜胶致炎法致大鼠足肿胀;化学刺激法造小鼠镇痛抗炎模型;分别观察外用黄连巴布膏高、中、低 3 个剂量组(大鼠 12,6,3 g·kg⁻¹,小鼠 6,3,1.5 g·kg⁻¹)ig 对溃疡指数、溃疡抑制率及发生率、足肿胀度、扭体次数及毛细血管通透性的影响。结果:外用黄连巴布膏降低溃疡指数,呈剂量依赖性,仅高、中剂量组升高胃蛋白酶的排出量,降低溃疡发生率。黄连巴布膏高、低剂量组能明显降低大鼠足肿胀度,中剂量组作用时间持续时间较长。高、中剂量组均降低毛细血管通透性,高、中、低剂量组均能减少扭体次数,与赋形剂组比较均有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:黄连巴布膏具有明显的抑制胃溃疡,镇痛抗炎和消肿的作用,为探索经皮给药治疗胃肠疾病的可行性提供了实验依据。

[关键词] 黄连巴布膏;消化性溃疡;经皮给药系统

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0194-04

Pharmacodynamics of Yulian Cataplasm for Treatment of Peptic Ulcer

WANG Lan, LIU Shu-zhi, WANG Yan-li, LIANG Ri-xin*, DU Mao-bo, YANG Qing, YIN Xiao-jie
(Institute of Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700)

[Abstract] **Objective:** Analgesic, anti-inflammatory and anti-ulcer were chosen as pharmacological targets to evaluate the pharmacodynamics of Yulian Cataplasm therefore to provide the experimental basis for clinical applications of the cataplasm. **Method:** The rat experimental gastric ulcer was established by using pyloric ligation. Rat paw edema was caused by inflammation action of carragenan. The mouse model of analgesia was established by the method of somatic wrenching. The effects of Yulian Cataptosm (rats 12,6,3 g·kg⁻¹, mice 6,3,1.5 g·kg⁻¹, ig) were evaluated by ulcer index, inhibition rate and the incidence of ulcers, foot swelling, writhing and capillary

[收稿日期] 2010-11-30

[基金项目] 国家科技支撑计划——中药巴布剂共性技术研究(2006BAI09B08-13);重大新药创新一综合性中药新药研究开发技术平台(2009ZX09301-005-005);中药生产技术与过程控制技术标准平台(2009ZX09308-003-318)

[第一作者] 王岚,副主任技师, Tel:010-64014411-2948

[通讯作者] *梁日欣,研究员,博士生导师, Tel:010-64014411-2948, E-mail:liangrixin2009@sina.com

[6] Yoshimi K. MCI-154-induced relaxation in vascular smooth muscles of guinea pig [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 1996, 27(4):519.

[7] 张红雨,徐长庆,李鸿珠.白藜芦醇对大鼠离体胸主动脉搏的舒张作用[J].中国中药杂志, 2005, 30(16):1283.

[8] 江涛,唐春萍,李娟好,等.鸡血藤对大鼠主动脉环收缩反应的影响[J].广东药学院学报, 1996, 12(1):33.

[9] Leblanc N, Wan X, Leung P M. Physiological role of Ca²⁺-activated and voltage-dependent K⁺ currents in rabbit coronary myocytes[J]. Am J Physiol, 1994, 266(6 Pt 1):C1523.

[10] Moncada S, Palmer R M J, Higgs C A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology [J]. Pharmacol Rev, 1991, 43:109.

[责任编辑 何伟]