

藏药7号水提液对大鼠离体胸主动脉条收缩作用的影响*

彭晓云¹ 陶燕铎¹ 温绍君² 于庆利² 王佐广² 梅丽娟¹ 王绿娅² 绍 颖¹

(1 中国科学院西北高原生物研究所 青海 810001)

(2 北京心肺血管疾病研究所、北京安贞医院高血压研究室 北京 100029)

摘要:目的 通过观察藏药7号水提液对大鼠离体胸主动脉条收缩作用的影响,研究藏药7号的降压机制。方法 以生理盐水作为对照组,观察藏药7号水提液(6 g/L)和维拉帕米(Ver 0.013 g/L)对高K⁺液引起的主动脉条收缩的时效影响,观察对KCl、NE及CaCl₂引起的大鼠主动脉条收缩的量效曲线的影响,以及对NE引起的依赖于细胞内钙及细胞外钙收缩的影响。结果 藏药7号水提液抑制高K⁺液引起的主动脉收缩($P < 0.001$);而且可以使KCl、NE及CaCl₂引起的大鼠主动脉条收缩的量效曲线非平行右移,最大效应降低,呈非竞争性拮抗作用($P < 0.05$);与维拉帕米相似,并且对NE引起的依赖于细胞内钙及细胞外钙的收缩均有抑制作用($P < 0.05$)。结论 提示藏药7号的降压机制与钙离子通道拮抗剂一致,而且其作用效果比Ver平稳,其最大作用与Ver相近。

关键词:藏药7号水提液;大鼠离体主动脉条;收缩;维拉帕米

中图分类号:R285.5

由于青藏高原特殊的生活环境的影响,当地居民的高血压患病率很高,藏医药学积累了大量的治疗高血压疾病的经验^[1],藏药7号就是依据藏医学古老配方改进的一种纯天然药物,其成分含有雪灵芝、兔耳草,均为青藏高原特殊植物,有很好的降压作用,据《藏药志》、《晶珠本草》等记载:雪灵芝味苦、性寒,有清肺中之热、止咳、降血压、滋补作用。兔耳草味苦、性寒,有清热、凉血、解毒功能,用于五脏有热、血分热毒、体虚潮热、高血压,有体外抑菌、抗炎作用。但是对其降压机制还未见报道。本实验以大鼠离体胸主动脉条为标本,对其降压机制进行

探讨,并与钙离子拮抗剂维拉帕米(Verapamil, Ver)作比较。

1 实验材料

1.1 动物

Wistar大鼠,雌雄兼用,(200 ± 50)g,由解放军总医院动物中心提供,合格证号:SCXK(京)2002007。

1.2 药物

藏药7号,中国科学院西北高原生物研究所提供;Ver为天津中央药业有限公司产品;去甲肾上腺素(Norepinephrine, NE)为Sigma产品;其他试剂为分析

彭晓云,女,32岁,理学硕士,助理研究员

* 中国科学院生命科学与生物技术局“十五”预研项目(No. 210234)

cAMP and cGMP. ELISA was used to detect the level of serum IL-5. **Results** Compared with the skin structures at non-acupoints, an increase in cell desquamation of the stratum corneum, and changes in the density of the lipid bimolecular layer along with the formation of folds, were found in the skin structures at acupoints. After administration, the level of cAMP increased, and the level of cGMP decreased, and the ratio of cAMP/cGMP decreased as well in each experimental group. However, the level of cAMP tended to be normal in 2 hours and the ratio of cAMP/cGMP tended to be normal in 7 hours in the Feishu group and Tanzhong group while the same results showed in the non-acupoint group in over 8 hours, respectively. As compared with that in the asthma control group, the level of serum IL-5 was lowered in both the Feishu group and non-acupoint group ($P < 0.05$), and the effect was stronger in the Feishu group than in the non-acupoint group ($P < 0.05$). **Conclusion** The acupoint administration of transdermal aminophylline preparation can produce obvious immunoregulatory effect.

KEY WORDS: Transdermal Aminophylline Preparation; Acupoint Effective Response; Stratum Corneum; cAMP; cGMP; IL-5

纯。Krebs 液组成 (mmol/L)^[2]: NaCl 118.0、KCl 4.75、CaCl₂ 1.8、MgSO₄ 1.2、KH₂PO₄ 1.2、NaHCO₃ 25、Glucose 11, pH 7.4。无 Ca²⁺ Krebs 液: 按照正常 Krebs 液中去掉 CaCl₂, 加入 EDTA 0.01 mmol/L。无 Ca²⁺ 高 K⁺ Krebs 液: 为无 Ca²⁺ Krebs 液中含有 K⁺ 40 mmol/L。

1.3 仪器

肌张力传感器, 型号 JH-2, 中国北京航天医学工程研究所产品。生理记录仪, 型号 3066, 四川仪器四厂产品。超级恒温器, 型号 WC/09-05, 重庆试验设备厂产品。

1.4 统计学处理

实验数据以平均值 ± 标准差表示, 两者之间的比较用 *t* 检验, *P* < 0.05 表明有显著差异。

2 方法与结果

2.1 藏药 7 号水提液的制备^[3]

藏药 7 号生药粉末 20 g, 于蒸馏水 100 mL 浸泡过夜, 连续提取 3 次, 每次 1 h, 过滤收集提取液浓缩至 20 mL, 得到水提液 (浓度 1 g/mL) 备用。

2.2 大鼠胸主动脉条标本的制备^[2]

取实验动物, 击头致昏, 沿胸骨左缘纵向剖开胸腔, 暴露心脏及大血管。剪下胸主动脉降支, 置于盛有经氧饱和的 Krebs 液的平皿中, 冲洗至无血迹, 剔除多余的脂肪和结缔组织。用细剪将主动脉剪成长 5 mm 的动脉条, 将实验标本下端固定于浴槽挂钩上, 游离端用细线悬吊于张力传感器的力臂上。浴槽内的 Krebs 液保持 37℃, 浴槽容积保持于 30 mL。营养液中饱和和供应 95% O₂ + 5% CO₂ 的混合气体, 标本负荷 2 g, 每 15~20 min 换液 1 次, 平稳 2 h, 证实标本处于稳定状态后即可进行实验。

2.3 藏药 7 号对离体大鼠胸主动脉条收缩的影响^[4,5]

2.3.1 藏药 7 号对高 K⁺ 引起的主动脉条收缩的影响^[3]: 以 KCl 80 mmol/L 引起的主动脉收缩高峰为对照峰值, 用 Krebs 液冲洗待到张力恢复后, 再以同浓度的 KCl 使主动脉收缩达到均值后, 分别用藏药 7 号水提液 6 g/L 和 Ver 0.013 g/L 加入浴槽, 以生理盐水作为对照, 药物使主动脉条逐渐舒张, 能够显著抑制 KCl 所引起的收缩反应 (*P* < 0.001), 结果见图 1。发现藏药 7 号水提液 6 g/L 在 10 min 对 80 mmol/L KCl 引起的血管收缩出现明显抑制作用, 70 min 达到最大抑制作用, Ver 0.013 g/L 在 10 min 时有了显著作用, 40 min 时达到最大抑制作用, 且藏药 7 号的作用效果比 Ver 更加稳定平缓。

2.3.2 藏药 7 号对 KCl 所致的主动脉条收缩反应的影响: 按照蓄积技术给药^[6], 依次加入 KCl, 浓度

按 10、20、40、80 mmol/L 递增, 得 KCl 收缩主动脉条的量效曲线; 之后用 Krebs 液反复冲洗标本, 待其张力恢复至基线后 20 min, 分别加入藏药 7 号水提液 6 g/L 和 Ver 0.013 g/L, 对照动脉条给生理盐水, 给药 50 min 后测定量效曲线变化, 结果见图 2。藏药 7 号水提液可以使 NE 量效曲线非平行右移, 使最大反应降低 66.02%, 作用性质与 Ver 相似, 呈非竞争性拮抗效应 (*P* < 0.001)。计算 pD₂, 藏药 7 号水提液和 Ver 的 pD₂ 分别为 2.51 g/mL, 5.79 g/mL。

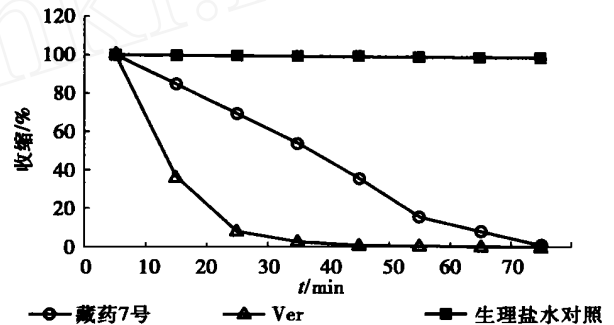


图 1 藏药 7 号水提液和 Ver 对 80 mmol/L KCl 引起的大鼠主动脉条收缩的影响

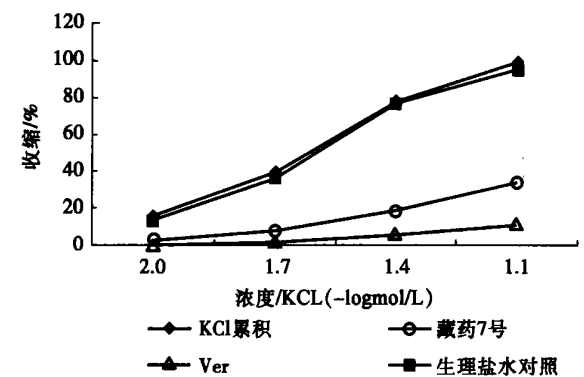


图 2 藏药 7 号水提液和 Ver 对 KCl 收缩大鼠主动脉条量效曲线的影响

2.3.3 藏药 7 号对 NE 所致的主动脉条收缩反应的影响: 按照蓄积技术给药^[6], 依次加入 NE, 浓度由 1 nmol/L 累积至 10 μmol/L, 按 1 log (mol/L) 递增, 得 NE 收缩主动脉条的量效曲线; 之后用 Krebs 液反复冲洗标本, 待其张力恢复至基线后 20 min, 分别加入藏药 7 号水提液 6 g/L 和 Ver 0.013 g/L, 对照动脉条给生理盐水, 给药 50 min 后测定量效曲线变化, 结果见图 3。藏药 7 号水提液可以使 NE 收缩的量效曲线非平行右移, 使最大反应降低 21.5%, 作用性质与 Ver 相似, 呈非竞争性拮抗效应 (*P* < 0.05)。计算 pD₂, 藏药 7 号水提液和 Ver 的 pD₂ 分别为 1.65 g/mL, 5.00 g/mL。

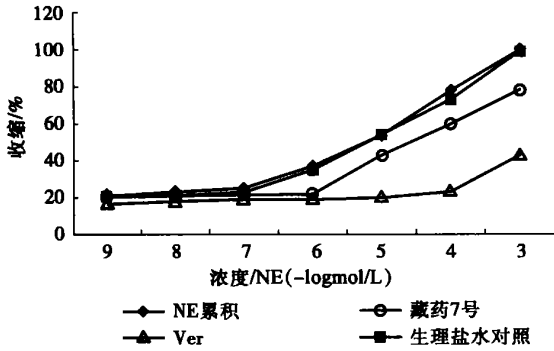


图 3 藏药 7 号水提液和 Ver 对 NE 收缩大鼠主动脉条量效曲线的影响

2.3.4 藏药 7 号对 CaCl₂ 所致的主动脉条收缩反应的影响: 将动脉条于 Krebs 液中平衡 2 h, 再用无 Ca²⁺ Krebs 液换洗平衡 30 min 后, 换入无 Ca²⁺ 高 K⁺ 的 Krebs 液使之去极化, 20 min 后加入 CaCl₂ (按 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3 mmol/L 递增), 得到 CaCl₂ 收缩主动脉条的量效曲线, 然后用无 Ca²⁺ Krebs 液反复冲洗动脉条, 等到张力恢复至基线并再重复去极化 20 min, 分别加入藏药 7 号水提液 6 g/L 和 Ver 0.013 g/L, 对照动脉条给生理盐水, 给药 50 min 后重测量效曲线的变化, 结果见图 4。藏药 7 号水提液对 CaCl₂ 诱导的动脉条收缩的量效曲线非平行右移, 使最大反应降低 50.43%, 呈非竞争性拮抗效应 ($P < 0.05$), 计算 pD₂, 藏药 7 号水提液和 Ver 的 pD₂ 分别为 2.22 g/mL, 5.72 g/mL。

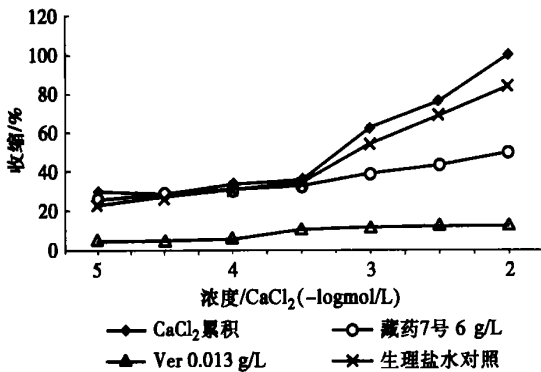


图 4 藏药 7 号水提液和 Ver 对 CaCl₂ 收缩大鼠主动脉条量效曲线的影响

2.3.5 藏药 7 号对 NE 诱导主动脉条依赖细胞内钙与外钙收缩的影响^[7]: 主动脉条在 Krebs 液中平衡后, 以 NE 加入浴槽中 (终浓度为 0.1 μmol/L) 肌条出现明显收缩, 其收缩高峰作为对照峰值, 然后再以无 Ca²⁺ 的 Krebs 液冲洗 3 次, 待稳定后再以等浓度的 NE 使主动脉收缩 (依赖内 Ca²⁺ 的收缩), 直至收缩达到稳定后再以 CaCl₂ 加入浴槽中 (Ca²⁺ 的浓度

为 2.5 mmol/L) 使主动脉条进一步收缩 (依赖外 Ca²⁺ 的收缩) 并达到峰值。以此作为给药前的对照。然后再用无 Ca²⁺ 的 Krebs 液冲洗, 待稳定后再以藏药 7 号水提液 6 g/L 和 Ver 0.013 g/L 加入浴槽中, 对照动脉条给生理盐水, 再重复上述实验步骤。结果显示, 藏药 7 号水提液对依 NE 诱发的两种收缩成分均有抑制 ($P < 0.05$), 而 Ver 只抑制依赖细胞内 Ca²⁺ 的反应, 不影响依赖细胞外 Ca²⁺ 的反应 ($P > 0.05$)。结果见表 1。

表 1 藏药 7 号水提液和 Ver 对 NE 诱导主动脉条依赖细胞内钙与细胞外钙的影响 (̄ ± s; n = 6)

组别	依赖内钙收缩率/%	依赖外钙收缩率/%
给药前	65.56 ± 8.14	63.49 ± 7.17
生理盐水对照	60.48 ± 10.36	58.74 ± 5.78
藏药 7 号 6 g/L	40.06 ± 9.29 [*]	50.22 ± 10.42 [*]
Ver 0.013 g/L	19.50 ± 6.18 ^{**}	55.08 ± 9.38

注: 与生理盐水比 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

3 讨论

高血压是常见的心血管疾病, 据估计, 我国现有高血压患者超过 1 亿人, 并有继续上升的趋势。由于血管对血压形成和维持具有重要的作用, 动脉血压过高多半是由于中小动脉过分收缩, 引起外周阻力增高所导致, 因此, 许多治疗高血压的药物主要是通过降低血管 (特别是中小动脉) 平滑肌的张力而发挥作用的, 尤其是钙离子拮抗剂对降低血管平滑肌张力具有重要作用^[8]。目前认为, 细胞膜上存在两类钙通道^[9], 一为电压依赖型通道 (PDC), 该通道受膜电位控制, 具有电压依赖性。当细胞膜去极化 (如用高 K⁺ 液) 到一定水平时, PDC 开放, 钙离子经此内流。还有一种为受体控制型通道 (ROC), 该通道与膜上特异性受体相偶联, 并能够被膜上受体激活。特异性受体激动剂如去甲肾上腺素 (NE) 与受体结合而使 ROC 开放, 不仅使细胞外钙内流, 还能使细胞内的储存钙释放。

实验中观察藏药 7 号水提液 (6 g/L) 和维拉帕米 (Ver 0.013 g/L) 对高 K⁺ 液引起的主动脉条收缩的时效曲线的影响, 发现藏药 7 号水提液能够显著抑制高 K⁺ 液引起的收缩, 并且其作用效果比 Ver 更加稳定平缓, 因而对于临床治疗具有重要的意义, 这也是藏药降压作用的重要特点。藏药 7 号水提液可使 KCl 和 NE 引起的主动脉条收缩的量效曲线非平行右移, 使最大反应降低, 作用性质与 Ver 相似, 呈非竞争性拮抗效应, 表明藏药 7 号对 PDC 和 ROC 都具有拮抗作用。此外, 同一浓度的藏药 7 号水提液对 KCl 引起的收缩反应的抑制比对 NE 引起的收缩反

应的抑制作用要强,其机制可能是藏药 7 号对于 PDC 的抑制较强。观察药物对血管平滑肌 CaCl_2 量效曲线的影响是证明药物是否具有钙内流阻滞作用的直接方法。

实验也发现藏药 7 号水提液对 CaCl_2 收缩主动脉条的量效曲线有显著影响,说明藏药 7 号水提液可以通过某种途径阻滞钙离子内流。此外藏药 7 号水提液对 NE 引起的主动脉条依赖细胞内钙与外钙的收缩均有抑制作用,提示藏药 7 号水提液既可以抑制细胞外钙内流,又可以抑制细胞内储存钙的释放。以上实验提示,该药中也可能含有一些小分子或大分子物质可以通过与细胞膜上受体结合或者直接进入细胞内发挥作用。

总之,藏药 7 号水提液对大鼠离体胸主动脉条的作用性质与已知钙离子通道拮抗剂 Ver 相似,能通过影响细胞内、外钙而发挥扩张血管的作用,从 pD_2 值分析,藏药 7 号的药效作用比 Ver 弱。但是其作用效果比 Ver 平稳持久,其作用的最大效果与 Ver 相近,提示藏药 7 号水提液中可能含有的一些物质,具有良好的降压作用,但是其有效物质的分离及鉴定尚待进一步研究。

参 考 文 献

1 彭晓云,温绍君,陶燕铎. 中药治疗高血压的药理学研究.

中国动脉硬化杂志,2002,10(39):81~84
 2 M. F Guerrero, R. Carron, M.L Martin, et al. antihypertensive and vasorelaxant effects of aqueous extract from *Croton schiedeanus* Schlecht in Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2001, 75 (1):33~36
 3 Mee-Ra Rhyu, Duk-kyung Kim, Hye-Young Kim, et. al. Nitric oxide-mediated endothelium-dependent relaxation of rat thoracic aorta induced by aqueous extract of red rice fermented with *Monascus rubber*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 70(1):29~34
 4 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学. 第 3 版. 北京:人民卫生出版社,2001. 1099~1100
 5 陈奇. 中药药理实验方法学. 贵阳:贵州人民出版社,1996. 693~700
 6 李惠兰,苏彦宏,李仲铭,等. 左旋荷包牡丹碱对猪冠状动脉条收缩效应的影响. *中国临床药理学与治疗学*, 2000, 5(3):77~81
 7 吴波,王敏伟,陈思维,等. 瓜蒌提取物对离体家兔胸主动脉条收缩的影响. *沈阳药科大学学报*, 1999, 16(1):45~49
 8 王佐广,温绍君,吴兆苏. 高血压相关基因多态性研究进展. *中华内科杂志*, 2001, 40(3):420~422
 9 Paoletti R, Govonis. Classification of calcium antagonists: proposal of the WHO committee. *pharmacol. Res Commun*, 1987, 19(2):195~204

(收稿日期:2003-12-15)

Effect of the Aqueous Extract of Tibetan Drug No.7 on the Contraction of Rat Isolated Thoracic Aortic Rings

Peng Xiaoyun (彭晓云), Tao Yanduo (陶燕铎), Wen Shaojun (温绍君), et al.
 (Northwest Plateau Biology Institute, China Academy of Sciences, Qinghai 810001)

ABSTRACT: Objective To observe the effect of the aqueous extract of Tibetan Drug No. 7 (AEID No. 7) on the contraction of rat isolated thoracic aortic rings in order to investigate the antihypertensive mechanism of AEID No. 7. **Method** Normal saline was used as the control, the effects of AEID No. 7 (6 g/L) and verapamil (0.013 g/L) on the time-effect characteristic of the contraction of the thoracic aortic rings induced by high concentration K^+ solution; on the dose-effect curves related with the contractions of thoracic aortic rings induced by KCl, NE and CaCl_2 ; and on the contractions dependent on both intercellular and intracellular Ca^{2+} of thoracic aortic rings induced by NE, were observed. **Results** AEID No. 7 could inhibit the contraction of the thoracic aortic rings induced by high concentration K^+ solution ($P < 0.001$), and cause the dose-effect curves related with the contractions of thoracic aortic rings induced by KCl, NE and CaCl_2 to shift to the right with an decrease in the maximum effective response, manifesting non-competitive antagonism ($P < 0.05$). Like verapamil, AEID No. 7 also could inhibit the contractions dependent on both intercellular and intracellular Ca_2+ of thoracic aortic rings induced by NE ($P < 0.05$). **Conclusion** The experimental results suggest that the antihypertensive mechanism of AEID No. 7 is in accord with that of calcium channel antagonist, and furthermore, the effect of AEID No. 7 is more stable than that of verapamil, with a maximum of effect alike that of verapamil.

KEY WORDS: Aqueous Extract of Tibetan Drug No. 7; Rat Isolated Thoracic Aortic Ring; Verapamil

