

表3 安眠颗粒对小鼠自发活动的影响(药₅)

组别	剂量(g/kg)	鼠数(只)	活动次数(10分)
对照		10	603 ±68
安定	0.003	10	276 ±83 *
解郁安神冲剂	3.6	10	361 ±128
安眠颗粒	10.4	10	354 ±76 **
安眠颗粒	5.2	10	401 ±111 **
安眠颗粒	2.6	10	426 ±183 **

结果表明安眠颗粒能明显抑制小白鼠自发活动。

2.4 安眠颗粒对小鼠土的宁惊厥的影响 小鼠 60 只禁食不禁水 17 小时,按体重随机分 6 组,灌胃给药 1ml/20g,每天一次,连续 7 天。末次药后 50 分钟,各组皮下注射 1.2mg/kg 硝酸土的宁,记录发生强直性惊厥的潜伏期。

结果表明,对土的宁引起的小白鼠惊厥安眠颗粒高剂量组有延长引直性惊厥的潜伏期的作用。

表4 安眠颗粒对土的宁引起小白鼠惊厥的影响(药₅)

组别	剂量(g/kg)	鼠数(只)	惊厥潜伏期(s)
对照		10	428.2 ±187.1
安定	0.003	10	633.6 ±242.9 *
解郁安神冲剂	3.6	10	594.5 ±272.8
安眠颗粒	10.4	10	635.5 ±154.4 *
安眠颗粒	5.2	10	625.0 ±219.5 *
安眠颗粒	2.6	10	573.60 ±152.7

3 讨论

试验结果表明,安眠颗粒对戊巴比妥钠阈下催眠量小白鼠睡眠数有增加的作用,安眠颗粒能延长小白鼠戊巴比妥钠催眠作用的时间,能明显抑制小白鼠自发活动次数,对土的宁引起的小鼠惊厥有延长潜伏期作用。

藏药 1 号水提液对大鼠离体胸主动脉条收缩作用的影响

彭晓云 温绍君¹ 陶燕铎 于庆利¹ 王佐广¹ 梅丽娟 赵利敏¹ 王绿娅¹

(中国科学院西北高原生物研究所 西宁 810001,

¹北京心肺疾病研究所 北京安贞医院高血压研究室 北京 100029)

提 要 目的:通过观察藏药 1 号水提液对大鼠离体胸动脉条收缩作用的影响研究其降压机制。方法:观察藏药 1 号水提液(6mg/mL)和维拉帕米(Ver 0.013mg/mL)对高 K⁺液引起的主动脉条收缩的时效影响,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的收缩的影响。结果:藏药 1 号水提液抑制高 K⁺液引起的主动脉收缩;且可使 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;与维拉帕米相似,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。结论:提示藏药 1 号的降压机制与钙离子通道拮抗剂一致。

关键词 藏药 1 号;大鼠离体主动脉条;维拉帕米

由于青藏高原特殊的生境影响,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 1 号就是依据藏医学古老配方改进的一种纯天然药物,其成分均为青藏高原特殊植物,有很好的降压作用,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。

1 材料

1.1 试验药物 藏药 1 号,中国科学院西北高原生物研究所提供,取生药粉末 20 克,于蒸馏水 100mL 浸泡过夜,连续提取 3 次,每次 1h,过滤收集提取液浓缩至 20mL (1g 生药/ml) 备用^[3]。维拉帕米(Verapamil, Ver)为天津中央药业有限公司产品。

1.2 动物 Wistar 大鼠,雌雄兼用,200 ±50g,由解放军总医院动物中心提供。

1.3 试剂 去甲肾上腺素(Norepinephrine, NE), Sigma 产品;其他试剂为分析纯。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。pH7.4。无 Ca²⁺ Krebs 液:按照正常 Krebs 液中去掉 CaCl₂,加入 EDTA0.01mmol/L。无 Ca²⁺高 K⁺ Krebs 液:为无 Ca²⁺ Krebs 液中含有 K⁺40mmol/L。

1.4 仪器 肌张力传感器,型号 JH2,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。

1.5 统计学处理 实验数据采用 SPSS 软件包 ANOVA 进行处理。

2 方法与结果

大鼠击头致昏,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。用剪剪将主动脉剪成长 5mm 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 30ml。营养液中饱和供应 95%O₂+5%CO₂的混合气体,标本负荷 2g,每 15~20min 换液一次,平稳 2h,证实标本处于稳定状态后即可进行实验^[2]。

2.1 藏药 1 号对高 K⁺引起的主动脉条收缩的影响^[3] 以 KCl 80mM 引起的主动脉收缩高峰为对照峰值,用 Krebs 液冲洗待张力恢复后,再以同浓度的 KCl 使主动脉收缩达到均值后,分别加入药液观察药物使主动脉条舒张情况,结果藏药 1 号水提液 6mg/mL 在 10min 对 80mM KCl 引起的血管收缩出现明显抑制作用,50min 达到最大抑制作用;Ver 0.013mg/mL 在 10min

时有显著作用,40min 时达到最大抑制作用,见图 1。

2.2 藏药 1 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、80mmol/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 20min,分别加入藏药 1 号水提液

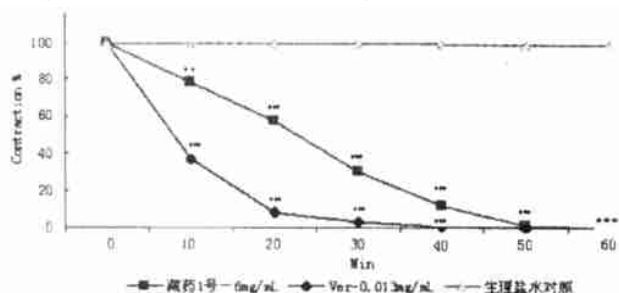


图1 藏药 1 号水提液和 Ver 对 80mm KCl 引起的大鼠主动脉条收缩的影响(药量, n=6) * * P<0.01

6mg/mL 和 Ver 0.013mg/mL,对照动脉条给生理盐水,给药 50min 后测定量效曲线变化,图 2 结果见藏药 1 号水提液可以使 KCl 量效曲线非平行右移,使最大反应降低 55.42% (P<0.01),作用性质与 Ver 相似,呈非竞争性拮抗效应。计算 pD₂,藏药 1 号水提液和 Ver 分别为 2.31g/mL,5.79g/mL。

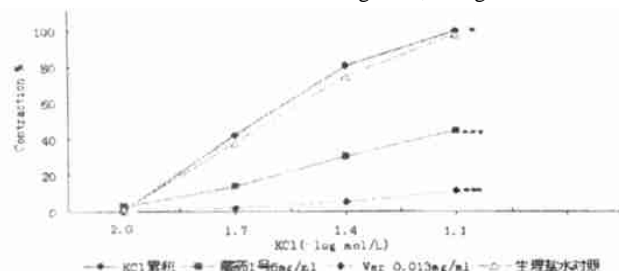


图2 藏药 1 号水提液和 Ver 对 KCl 收缩大鼠主动脉条量效曲线的影响(药量, n=6) * P>0.05, * * * P<0.001

2.3 藏药 1 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 1nmol/L 累积至 10 μ mol/L (按 1mol/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 20min,分别加入藏药 1 号水提液 6mg/mL 和 Ver 0.013mg/mL,对照动脉条给生理盐水,给药 50min 后测定量效曲线变化,结果见图 3。藏药 1 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 85.16% (P<0.001),作用性质与 Ver 相似,呈非竞争性拮抗效应。计算 pD₂,藏药 1 号水提液和 Ver 的 pD₂ 分别为 3.01g/mL,5.00g/mL。

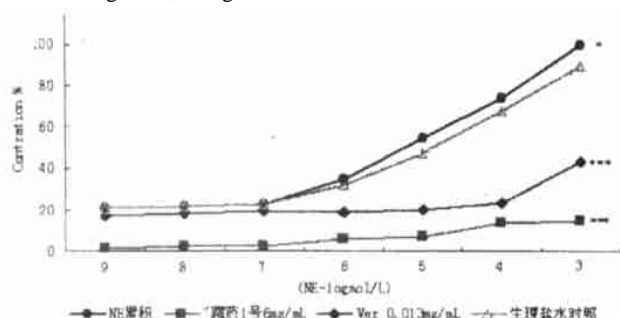


图3 藏药 1 号水提液和 Ver 对 NE 收缩大鼠主动脉条量效曲线的影响(药量, n=6) * P>0.05, * * * P<0.001

2.4 藏药 1 号对 CaCl₂ 所致的主动脉条收缩反应的影响^[7]

将动脉条于 Krebs 液中平衡 2h,再用无 Ca²⁺ Krebs 液换洗平衡

30min 后,换入无 Ca²⁺ 高 K⁺ 的 Krebs 液使之去极化,20min 后加入 CaCl₂ (按 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3mmol/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 20min,分别加入藏药 1 号水提液 6mg/mL 和 Ver 0.013mg/mL,对照动脉条给生理盐水,给药 50min 后重测量效曲线的变化,结果见图 4。藏药 1 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 64.80% (P<0.001),呈非竞争性拮抗效应,计算 pD₂,藏药 1 号水提液和 Ver 的 pD₂ 分别为 2.49g/mL,5.72g/mL。

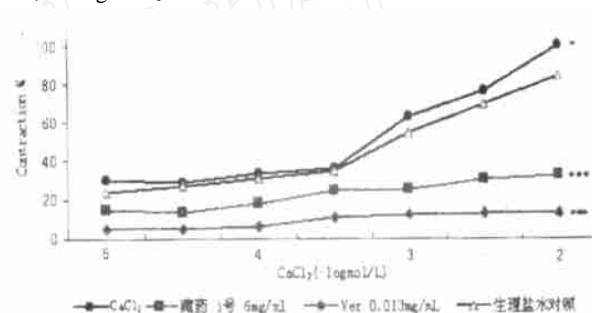


图4 藏药 1 号水提液和 Ver 对 CaCl₂ 收缩大鼠主动脉条量效曲线的影响(药量, n=6) * P>0.05, * * * P<0.001

2.5 藏药 1 号对 NE 诱导主动脉条依赖细胞内钙与外钙收缩的影响 主动脉条在 Krebs 液中平衡后,以 NE 加入浴槽中(终浓度为 0.1 μ mol/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 2.5mmol/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 1 号水提液 6mg/mL 和 Ver 0.013mg/mL 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 1 号水提液对依 NE 诱发的两种收缩成分均有抑制(P<0.05, P<0.001),而且对依赖细胞外钙的收缩影响更显著,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 1 号水提液对 NE 诱导大鼠主动脉条依赖细胞内钙与细胞外钙的影响(药量, n=6)

组别	浓度 (mg/mL)	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
盐水对照		60.48 ± 10.36	58.74 ± 5.78
藏药 1 号	6	47.31 ± 7.87 *	8.29 ± 3.42 * *
Ver	0.013	19.50 ± 6.18 * *	55.08 ± 9.38

与生理盐水对比 * P<0.05, * * P<0.01

3 讨论

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)与受体结合而开放,不仅使细胞外钙内流,还能使细胞内的储存钙释放。

本文发现藏药 1 号水提液能显著抑制高 K^+ 液引起的主动脉条收缩,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。藏药 1 号水提液对 KCl 和 NE 引起的主动脉条收缩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的影响,表明藏药 1 号对 PDC 和 ROC 都具有拮抗作用。此外,同一浓度的藏药 1 号水提液对 NE 引起的收缩反应的抑制比对 KCl 引起的收缩反应的抑制作用要强,其机制可能是藏药 1 号对于受体性钙通道的作用较强;同时,该药中也可能含有一些小分子物质可以通过细胞膜进行进入细胞内发挥作用。由于藏药 1 号也可以影响 NE 的血管收缩作用,也提示该药也可能含有一些大分子物质,能通过阻断 ROC 发挥降压作用。

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 1 号水提液可以通过某种途径阻滞钙离子内流,此外还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,且其对细胞外钙内流阻滞作用更加显著。

总之,藏药 1 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,而且其作用效果比 Ver 平稳持久,其作用最大效果与 Ver 相近,提示藏药 1 号水提液中可能含有的一些

物质具有良好的降压作用。

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 Guerrero MF, Carron R, Martin ML, et al. Antihypertensive and vasorelaxant effects of aqueous extract from *Croton schiedeanus* Schlecht in Rats. Journal of Ethnopharmacology,2001;(75) 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 ruber*. Journal of Ethnopharmacology,2000;(70) 29~34
- 4 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学. 第三版. 北京:人民卫生出版社,2001
- 5 陈奇. 中药药理实验方法学. 贵阳:贵州人民出版社,1996
- 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,吴兆芬. 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 Govonis PR. Classification of calcium antagonists:proposal of the WHO committee. Pharmacol Res Comun,1987;19(2) 195~204

Effect of aqueous extract from ZangYao-I on contractions in isolated rat thoracic aortic rings

Peng Xiaoyun, Tao Yanduo, Wen Shaojun, Yu Qingli

(Biology Insitute of Northwest Plateau, Chinese Academy of Sciences, XiNing, QingHai 810001, China;

¹ Hypertension Department, An Zhen Hospital, Beijing 100029 China)

Objective: To study the influence of aqueous extract from Zang Yao-I (AEZY-I) on inhibition to the contractions induced by KCl, NE, $CaCl_2$ in isolated rat thoracic aortic rings, and uncover the mechanism of antihypertensive effect of Zany Yao-I. **Methods:** Recording the dose-response curves induced by KCl, NE, $CaCl_2$, and the next dose-response curves again after AEZY-I being added, respectively. **Results:** AEZY-I inhibited the contractions evoked by KCl, NE, $CaCl_2$ in isolated rat thoracic aortic rings. Significantly, AEZY-I could depress the maximal response and cause rightward displacement of the dose-response curves, and resulted of a non-competitive antagonism mechanism. In Ca^{2+} free solution, AEZY-I inhibited contraction in aortic rings, which is dependent on Ca^{2+} released from not only intracellular store but also extracellular Ca^{2+} . Therefore, AEZY-I inhibited both the potential dependent channel and the receptor operated channel. **Conclusion:** AEZY-I could relax the contraction of isolated rat thoracic aortic rings, and so the mechanism of antihypertensive of Zang Yao-I is related to its antagonistic effect on calcium ion.

Key Words aqueous extract from Zang Yao-I (AEZY-I); isolated rat thoracic aortic rings; verapamil

告 作 者

中药药理学研究样品的质量对该研究的水平和价值有十分重要的影响,请作者务必注意研究样品的代表性和质量,并于论文“材料”栏首项“试验药物”项下详细写明。本刊欢迎对研究样品有清楚描述并有较好质量控制的样品的药理和临床研究论文。

本刊编辑部