

文章编号:1006-2866(2003)04-0367-04

中图分类号:R543;R972

文献标识码:A

藏药 1 号与 7 号水提液对大鼠离体胸主动脉条收缩的抑制作用

彭晓云^{1,2}, 温绍君³, 陶燕铎¹, 于庆利³, 王佐广³, 赵莉敏³, 梅丽娟¹, 王绿娅³, 刘志勤¹, 曹伟国¹

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039; 3. 北京心肺疾病研究所 北京安贞医院高血压研究室, 北京 100029)

Inhibition Effects of Aqueous Extract From Zang Yao- , Zang Yao- on Contraction in Isolated Rat Aorta

PENG Xiao-yun¹, WEN Shao-jun², TAO Yan-duo¹, et al.

(1. Biology Institute of Northwest Plateau, Chinese Academy of Sciences, XiNing, QingHai 810001 China; 2. Hypertension Department, An Zhen Hospital, Beijing 100029 China)

Abstract Objective To study the inhibition effects of aqueous extract from Zang Yao- , and (AEZY- , AEZY-) on the contractions induced by KCl, NE, CaCl₂ in isolated rat thoracic aortic rings , and investigate the mechanism of antihypertensive effect of AEZY- , AEZY- . **Methods** The dose-response curves induced by KCl, NE, CaCl₂ before and after AEZY- , AEZY- treatment were examined. **Results** AEZY- , AEZY- inhibited the contractions induced by KCl, NE, CaCl₂ in isolated rat thoracic aortic rings. AEZY- , AEZY- depress the maximal response and cause right-ward displacement of the dose-response curves showing a non-competitive antagonism mechanism. In Ca²⁺ free solution , AEZY- , AEZY- inhibited contraction in aortic rings , suggesting the inhibition effect may be mediating through intracellular Ca²⁺ as well. **Conclusion** AEZY- , AEZY- attenuated the contraction of isolated rat thoracic aortic rings induced by KCl, NE, and CaCl₂. The mechanism of their antihypertensive effect may be related to its antagonistic effect on both extra and intra cellular calcium ion (Ca²⁺) which is analogous to Ca²⁺ channel antagonists. The pharmacodynamics of AEZY-I is a stronger than which of AEZY- .

Key words: aqueous extract from Zang Yao- ; (AEZY- , AEZY-) ; isolated rat thoracic aortic rings; verapamil

摘要 目的 通过对比观察藏药 1 号与藏药 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 1 号与藏药 7 号的降压机制。方法 以生理盐水作为对照组, 观察藏药 1 号与藏药 7 号水提液 (6 mg/ml) 和维拉帕米 (Ver 0.013 mg/ml) 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的收缩的影响。结果 藏药 1 号与藏药 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)。从 pD₂ 值分析, 藏药 1 号的药效作用要强于藏药 7 号, 但比 Ver 的弱。结论 提示藏药 1 号与藏药 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 延迟、平缓, 其最大作用与 Ver 相近。而且藏药 1 号药效更加显著。

关键词: 藏药 1 号与藏药 7 号水提液; 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^[1,2], 藏药 1 号与藏药 7 号就是依据藏医学古老配方改进的一种纯天然药物, 其成分均为青藏高原特殊动植物^[3]。其中藏药 1 号是依据古老组方 25 味余甘子丸通过现代工艺加工而成, 《藏药志》记载此方具有凉血降压作用, 是以余甘子、兔耳草等为主要组分的大组方复方药。复方药藏药 7 号的主要组分有雪灵芝、兔耳草等。这两个组方中均具有兔耳草, 但是其他配方却有差异。兔耳草^[4,5]味苦、性寒, 有

收稿日期: 2002-12-02

基金项目: 中国科学院生命科学与生物技术局“十五”预研项目

作者简介: 彭晓云, 女, 硕士研究生。研究方向: 植物化学及藏药药理学研究。联系地址: 北京市心肺血管疾病研究所 北京安贞医院高血压研究室, 100029 Tel: (010) 64412431 转 2341 / 2348 E-mail: xiaoyun-peng@sohu.com

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。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,对其降压机制进行比较观察,并与钙离子拮抗剂维拉帕米(Verapamil, Ver)作对照。

材料与方法

1 材料

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

1.2 药物 藏药 1 号与藏药 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),Sigma 产品;其他试剂为分析纯。

1.3 试剂 Krebs 液 F 组成 (mmol/L)^[6] 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 EDTA 0.01 mmol/L。无 Ca²⁺ 高 K⁺ Krebs 液:为无 Ca²⁺ Krebs 液中含有 K⁺ 40 mmol/L。

1.4 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。

2 方法

2.1 水提液的制备^[7] 藏药 1 号与藏药 7 号生药粉末 20 克,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 生药/ml)备用。

2.2 大鼠胸主动脉条标本的制备^[6] 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。营养液中饱和供应 95% O₂ + 5% CO₂ 的混合气体,标本负荷 2 g,每 15 min ~ 20 min 换液一次,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 1 号与藏药 7 号水提液对离体大鼠胸主动脉条收缩的影响 观察藏药 1 号与藏药 7 号水提液对高 K⁺ 引起的主动脉条收缩的影响,对 KCl 及 NE 所致的主动脉条收缩反应的影响,对 CaCl₂ 所致的主

动脉条收缩反应的影响,对 NE 诱导主动脉条依赖细胞内钙与外钙收缩的影响。

2.4 统计学处理

实验数据以均值 ± 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。

结果

1 藏药 1 号与藏药 7 号对离体大鼠胸主动脉条收缩的影响^[8,9]

1.1 藏药 1 号与藏药 7 号对高 K⁺ 引起的主动脉条收缩的影响^[7] 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 1 号与藏药 7 号水提液 6 mg/ml 和 Ver 0.013 mg/ml 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),见图 1。发现藏药 1 号与藏药 7 号水提液 6 mg/ml 在 10 min 对 80 mmol KCl 引起的血管收缩出现明显抑制作用,达到最大抑制作用的时间分别为 50 min, 60 min, Ver 0.013 mg/ml 在 10 min 时有了显著作用,40 min 时达到最大抑制作用,且藏药 1 号与藏药 7 号的作用效果比 Ver 更加稳定平缓。

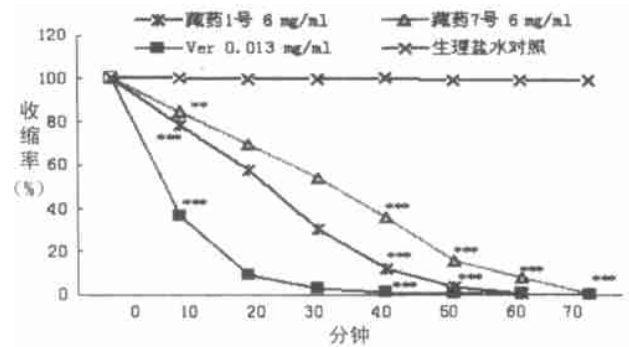


图 1 藏药 1 号与 7 号水提液和 Ver 对 80 mmol KCl 引起的大鼠主动脉条收缩的影响(均 ± s, n = 6) *** P < 0.001

1.2 藏药 1 号与藏药 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^[10],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 1 号与藏药 7 号水提液 6 mg/ml 和 Ver 0.013 mg/ml,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 1 号与藏药 7 号水提液可以使 KCl

量效曲线非平行右移,使最大反应分别降低 55.42% ($P < 0.001$), 66.02% ($P < 0.001$), 作用性质与 Ver 相似,呈非竞争性拮抗效应。计算 pD₂, 藏药 1 号与藏药 7 号水提液及 Ver 的 pD₂ 分别为 2.31 g/ml, 2.51 g/ml, 5.79 g/ml。

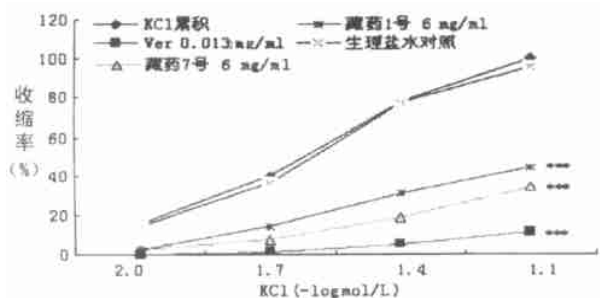


图 2 藏药 1 号与 7 号水提液和 Ver 对 KCl 收缩大鼠主动脉条量效曲线的影响 (药 ± s, n=6) * * * P < 0.001。

1.3 藏药 1 号与藏药 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^[10],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 1 号与 7 号水提液 6 mg/ml 和 Ver 0.013 mg/ml, 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 1 号与 7 号水提液可以使 NE 收缩的量效曲线非平行右移, 使最大反应分别降低 85.16% ($P < 0.001$), 21.5% ($P < 0.05$), 作用性质与 Ver 相似, 呈非竞争性拮抗效应。计算 pD₂, 藏药 1 号与 7 号水提液及 Ver 的 pD₂ 分别为 3.01 g/ml, 1.65 g/ml, 5.00 g/ml。

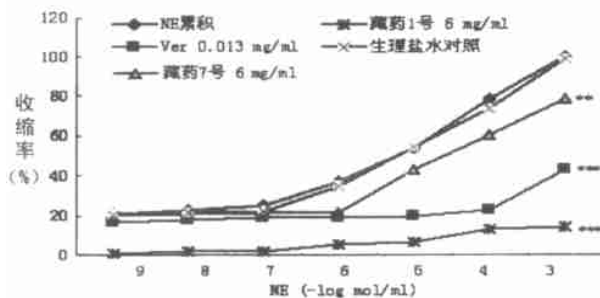


图 3 藏药 1 号与 7 号水提液和 Ver 对 NE 收缩大鼠主动脉条量效曲线的影响 (药 ± s, n=6) * * P < 0.05, * * * P < 0.001。

1.4 藏药 1 号与藏药 7 号对 CaCl₂ 所致的主动脉条收缩反应的影响^[11]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 1 号与 7 号水提液 6 mg/ml 和 Ver 0.013 mg/ml, 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 1 号与 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 64.80% ($P < 0.001$), 50.43% ($P < 0.05$), 呈非竞争性拮抗效应, 计算 pD₂, 藏药 1 号与 7 号水提液及 Ver 的 pD₂ 分别为 2.49 g/ml, 2.22 g/ml, 5.72 g/ml。

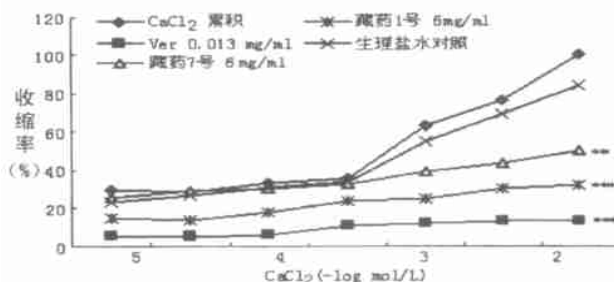


图 4 藏药 1 号与 7 号水提液和 Ver 对 CaCl₂ 收缩大鼠主动脉条量效曲线的影响 (药 ± s, n=6) * * P < 0.05 * * * P < 0.001

1.5 藏药 1 号与 7 号对 NE 诱导主动脉条依赖细胞内钙与外钙收缩的影响^[11]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 液冲洗三次, 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 1 号与 7 号水提液 6 mg/ml 和 Ver 0.013 mg/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 号与 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号与7号水提液和Ver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±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1号6 mg/ml	47.31 ±7.87 **	8.29 ±3.42 ***
藏药7号6 mg/ml	40.06 ±9.29 **	50.22 ±10.42 **
Ver 0.013 mg/ml	19.50 ±6.18 ***	55.08 ±9.38 *

与生理盐水对照组比 * P>0.05, ** P<0.05, *** P<0.001

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^[12],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。目前认为,细胞膜上存在两类钙通道^[13],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NE与受体结合而使PDC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1号与7号水提液(6 mg/ml)和维拉帕米(Ver 0.013 mg/ml)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1号与7号水提液能够显著抑制高K⁺液引起的收缩,且同一浓度的藏药7号作用较迟缓,两药作用效果比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1号与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1号与7号对PDC和ROC均具有拮抗作用。并且,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,其机制可能是其对ROC的影响较大;而同一浓度的藏药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,其机制可能是此药对PDC的影响较大;此外,同一浓度藏药1号与7号,前者对ROC抑制强于后者,而对PDC的影响7号较强。观察药物对血管平滑肌CaCl₂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号与7号水提液对CaCl₂收缩主动脉条的量效曲线有显著影响,说明藏药1号与7号水提液可以通过某种途径阻滞钙离子内流,其中前者作用更强。此外两药对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,提示其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,其中1号的作用更强;并且发现1号水提液对细胞外钙内流阻滞作用更加显著。以上实验提示,两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行进入细胞内发挥作用。

总之,藏药1号与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pD₂值分析,藏药1号的药效作用要强于藏药7号,但比Ver的弱。然而两药对主动脉条收缩的最大抑制作用较Ver延迟、平缓,提示藏药1号与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] 宇妥·丹贡布. 四部医典[M]. 第一版. 上海: 上海科学技术出版社, 1987.
- [2] 彭晓云, 温绍君, 陶燕铎. 中药治疗高血压的药理学研究[J]. 中国动脉硬化杂志, 2002, 10(39): 81-84.
- [3] 杨永昌主编. 藏药志[M]. 第二版. 青海: 青海人民出版社, 1991.
- [4] 帝玛尔·丹增彭措著. 晶珠本草[M]. 第三版. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [5] 中国医学科学院药用植物研究所. 中药志[M]. 第4册. 北京: 人民卫生出版社, 1998.
- [6] M. F Guerrero, R. Carron, M. L Martin et al. antihypertensive and vasorelaxant effects of aqueous extract from *Croton schiedeianus* Schlecht in rats[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2001, (75): 33-36.
- [7] 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*[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, (70): 29-34.
- [8] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 第三版. 北京: 人民卫生出版社, 2001.
- [9] 陈奇. 中药药理实验方法学[M]. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
- [10] 李惠兰, 苏彦宏, 李仲铭, 等. 左旋荷包牡丹对猪冠状动脉收缩效应的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2000, 5(3): 77-81.
- [11] 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[J]. 沈阳药科大学学报, 1999, 16(1): 45-49.
- [12] 陈修, 陈维洲, 曾贵云. 心血管药理学[M]. 第二版. 人民卫生出版社, 1989.
- [13] Paoletti R, Govonis. Classification of calcium antagonists: proposal of the WHO committee. *pharmacol[J]. Res Comun*, 1987, 19(2): 195-204.