

# 维药唇香草醇提物对大鼠离体胸主动脉血管环的舒张作用<sup>Δ</sup>

张洪平<sup>1\*</sup>, 罗婷婷<sup>2,3</sup>, 姜敏<sup>1</sup>, 安冬青<sup>2#</sup> (1.新疆医科大学附属中医医院, 乌鲁木齐 830011; 2.新疆医科大学中医学学院, 乌鲁木齐 830011; 3.成都中医药大学药学院, 成都 610075)

中图分类号 R285;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)28-3926-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.28.13

**摘要** 目的:研究唇香草醇提物(EEZ)对大鼠离体胸主动脉血管环的舒张作用。方法:制备大鼠离体胸主动脉血管环。试验设内皮完整组与内皮去除组,以去氧肾上腺素(PE)预收缩血管环后逐步累积加入100、300、500、700、900、1 100 mg/L EEZ,绘制浓度-张力曲线并计算最大舒张率( $E_{max}$ )、半数有效浓度( $EC_{50}$ )。试验只设血管环内皮去除组,在无钙或无钙高钾液中以 $EC_{50}$ 的EEZ预处理血管环后逐步分别累积加入0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4 mmol/L  $CaCl_2$ ,绘制钙浓度-张力曲线;以 $EC_{50}$ 的EEZ预处理血管环后加入1  $\mu$ mol/L PE记录收缩张力并计算血管收缩百分率。结果:EEZ对PE预收缩的血管环具有浓度依赖性和平滑肌依赖性的舒张作用;内皮完整组与内皮去除组 $E_{max}$ 分别为 $(58.18 \pm 16.23)\%$ 与 $(73.54 \pm 17.21)\%$ ,EEZ的 $EC_{50}$ 为773.27 mg/L。在无钙高钾液中,EEZ可以明显引起钙离子收缩曲线右移;在无钙液中,EEZ对PE引起的血管收缩具有抑制作用。结论:EEZ具有血管舒张作用,其机制可能是通过抑制电压依赖性钙通道(VDCCs)的方式来抑制外钙内流和胞质内钙释放,从而干扰胞质内钙离子平衡。

**关键词** 唇香草;乙醇提取物;血管舒张;钙离子通道;血管环

## Vasodilatation Effects of the Alcohol Extract from Uighur Medicine *Ziziphora clinopodioides* on Isolated Rat Thoracic Aorta Vessel Rings

ZHANG Hong-ping<sup>1</sup>, LUO Ting-ting<sup>2,3</sup>, JIANG Min<sup>1</sup>, AN Dong-qing<sup>2</sup> (1.TCM Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2.School of TCM, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 3.School of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the vasodilatation effects of the alcohol extract from Uighur medicine *Ziziphora clinopodioides* (EEZ) on isolated rat thoracic aorta vessel rings. METHODS: Isolated rat thoracic aorta vessel rings were prepared. There was a group with intact vessel ring endothelium and a group with vessel ring endothelium removed in the test. After preshrinking the vessel rings with phenylephrine (PE), EEZ of 100, 300, 500, 700, 900 and 1 100 mg/L was added gradually, concentration-vasodilatation curve was drawn and maximal vasodilatation rate ( $E_{max}$ ) and median effective concentration ( $EC_{50}$ ) were calculated. For the group with vessel ring endothelium removed, after the vessel ring was pretreated with EEZ at  $EC_{50}$  in calcium-free solution or calcium-free high-potassium solution,  $CaCl_2$  of 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 and 2.4 mmol/L was added gradually, and calcium concentration-tension curve was drawn; following the pretreatment of the vessel ring with EEZ at  $EC_{50}$ , 1  $\mu$ mol/L PE was added and shrink tension was recorded and vasoconstriction percentages was calculated. RESULTS: EEZ had vasodilatation effect on the vessel ring preshrunk with PE in a concentration and smooth muscle-dependent manner. The group with intact vessel ring endothelium and the group with vessel ring endothelium removed respectively had  $E_{max}$  of  $(58.18 \pm 16.23)\%$  and  $(73.54 \pm 17.21)\%$ , and EEZ  $EC_{50}$  of 773.27 mg/L. For calcium-free high-potassium solution, EEZ could cause the calcium ion-vasoconstriction curve to move to the right obviously; for calcium-free solution, EEZ could inhibit the vasoconstriction caused by PE. CONCLUSIONS: EEZ has vasodilatation effects by a mechanism which may be related to inhibiting calcium influx and intracytoplasmic calcium release through the inhibition of voltage-dependent calcium channels (VDCCs), and thus interfering intracytoplasmic calcium ion balance.

**KEYWORDS** *Ziziphora clinopodioides*; Alcohol extract; Vasodilatation; Calcium channel; Vessel ring

维吾尔药唇香草为唇形科新塔花属多年生半灌木草本植物唇香草(*Ziziphora clinopodioides* Lam.)的干燥地上部分<sup>[1]</sup>,性味辛凉,微苦,具有强心利湿、理气化痰、消痰散结的功效,临

<sup>Δ</sup> 基金项目:新疆名医名方与特色方剂学实验室开放基金课题(No.XJDX-0910-2012-9)

\* 副主任中药师,硕士生导师。研究方向:心血管药理与炎症医学。电话:0991-5571923。E-mail:zhping515@163.com

# 通信作者:教授,博士生导师。研究方向:心血管疾病临床与基础研究。电话:0991-4363310。E-mail:326468701@qq.com

床上用于治疗心绞痛和高血压等症。现代药理学研究表明,唇香草具有保护脑组织、抑菌、抗急性心肌缺血、抗氧化、抗炎镇痛、降血压的作用<sup>[2-6]</sup>。Senejoux F等<sup>[7]</sup>发现唇香草的己烷部位和二氯甲烷部位具有舒张血管活性。但唇香草的其他提取部位是否有舒张血管作用?唇香草是否是通过刺激内皮型一氧化氮合成酶的方式增加NO水平?以上问题目前国内外未见相关文献报道。

本研究旨在利用离体器官灌流系统,通过观察唇香草醇提物(EEZ)对大鼠离体胸主动脉舒张作用的影响,探讨EEZ的

舒张血管机制,为唇香草在治疗高血压中的应用提供试验依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

BL-420型生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司)。

### 1.2 药材

唇香草于2013年6月采自新疆乌鲁木齐市雅玛里克山,由新疆维吾尔自治区中医医院药学部中药鉴定室李永和主任药师鉴定为真品。药材保存在新疆医科大学附属中医医院药材样品库。

### 1.3 药品与试剂

去氧肾上腺素(PE)、氯化乙酰胆碱(Ach)、腺苷酸环化酶激活剂(Forskolin)、二甲亚砜(DMSO)、乙二醇二乙醚二胺四乙酸(EGTA)均购自美国Sigma公司;其余化学试剂均为国产分析纯。

### 1.4 动物

清洁级SD大鼠,♂,体质量250~300g,由新疆医科大学实验动物中心提供[实验动物使用许可证号:SYXK(新)2011-0003]。

## 2 方法

### 2.1 EEZ的制备

精确称量150g干燥唇香草剪成1cm段,用70%乙醇80℃加热回流提取3次,每次2h,滤过并弃去残渣后,合并乙醇浸提液。60℃减压回收乙醇,得乙醇提取物浸膏,浸膏得率为29.48%。唇香草乙醇提取物浸膏用石油醚脱脂,至石油醚层接近无色弃去,剩余部分干燥后得脱脂粉末。唇香草脱脂粉末在80℃热水中溶解后抽滤,用水饱和正丁醇萃取多次,收集正丁醇相,减压浓缩后,用热水溶解提取物并抽滤,用D101大孔吸附树脂分离纯化,依次用水、30%乙醇预洗脱,洗脱液弃去。收集70%乙醇洗脱液,减压回收乙醇,干燥,得棕褐色干粉。

### 2.2 大鼠胸主动脉血管环的制备<sup>[9]</sup>

大鼠脱椎处死后,迅速打开胸腔剥离胸主动脉条,立即放入预冷的K-H营养液中,小心剔除血管条上面附着的结缔组织后,统一切割成3~4mm长的动脉环备用。将制备好的动脉血管环置于37℃恒温麦氏浴槽中,不间断通入5%CO<sub>2</sub>和95%O<sub>2</sub>的混合气体,血管环的一端连接张力换能器,另一端固定在支架顶端,用BL-420生理记录仪记录血管张力。调整动脉环初始静息张力为2.0g,首先在K-H营养液中稳定平衡,每15min更换1次营养液,共平衡1.5h。在平衡间期,血管环在含60mmol/L KCl的K-H溶液中预收缩2次,收缩活性良好的血管环用于后续试验。用木棒小心地在主动脉环内壁来回滚动以去除内皮细胞。

### 2.3 各组血管Ach浓度-张力曲线的绘制<sup>[9]</sup>

测定血管环血管内皮活性以评价血管内皮完整程度。先用1μmol/L PE预收缩血管环,待血管收缩稳定后,逐步积累加入0.01、0.1、1、10μmol/L Ach舒张血管,当上一个浓度达到平衡后再加入下一个浓度。待给予最高浓度药物血管舒张达到坪值后加入最终浓度为1μmol/L的Forskolin,至最大舒张以此作为100%标准对照,绘制浓度-张力曲线。当Ach浓度为0.1μmol/L时,血管舒张率为15%~20%;Ach浓度为1μmol/L时,血管舒张率为60%;Ach浓度为10μmol/L,血管舒张率不小于80%时,可以判定为血管内皮活性完好。Ach在最高浓度时,几乎没有舒张反应的血管即为内皮去除完全的主动脉

环。检测完成后,用K-H液平衡45min后进行后续试验。试验分为内皮完整组和内皮去除组,同一浓度重复8次。

### 2.4 各组血管EEZ浓度-舒张率曲线的绘制

内皮完整和内皮去除的血管环加入终浓度为1μmol/L PE进行预收缩,当血管反应达坪值后,逐步累积加入10倍比质量浓度梯度的EEZ(1~1000mg/L),当上一个浓度达到平衡后再加入下一个浓度。经过数据处理后,筛选出有效浓度范围。而后再用PE收缩血管达坪值,再逐步累积加入EEZ(100、300、500、700、900mg/L),最后加入1μmol/L Forskolin至血管达最大舒张以此作为对照,绘制浓度-舒张率曲线并计算半数有效浓度(EC<sub>50</sub>)。同一质量浓度重复4次。

### 2.5 各组血管钙浓度-张力曲线的绘制

内皮去除的血管环在K-H液中稳定平衡后,换成无钙高钾K-H营养液(含100μmol/L EGTA和60mmol/L K<sup>+</sup>)孵育15min后,逐步加入2倍比浓度梯度的CaCl<sub>2</sub>(0.4~2.4mmol/L)液,绘制钙离子收缩曲线为对照。EEZ组为加入钙离子前用EC<sub>50</sub>的EEZ预处理10min后再逐步积累加入(0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4mmol/L)的CaCl<sub>2</sub>,绘制钙浓度-舒张率曲线,同一浓度重复4次。

### 2.6 各组血管收缩百分率的测定<sup>[10]</sup>

内皮去除完全的血管环稳定后,换成无钙K-H营养液孵育10min,加入1μmol/L PE,待血管收缩反应稳定后,再用K-H营养液反复冲洗3次,每次20min为对照。最后,血管环改成无钙K-H营养液平衡10min,EEZ组加入EC<sub>50</sub>的EEZ平衡10min后,再加入1μmol/L PE,记录前后两次PE引起的血管环收缩张力强度并计算血管收缩百分率[(前一次收缩张力-后一次收缩张力)/前一次收缩张力],绘制浓度-收缩百分率曲线。同一浓度重复4次。

### 2.7 统计学方法

采用SPSS 13.0软件处理试验数据。各组数据均为计量资料,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 $t$ 检验进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 各组血管的Ach浓度-舒张率曲线

在0.01~10μmol/L Ach作用下,内皮完整组血管环最小血管舒张率( $E_{min}$ )为(8.91 ± 9.79)%,最大舒张率为( $E_{max}$ )为(84.72 ± 3.76)%;内皮去除组血管 $E_{max}$ 为(1.91 ± 11.20)%。内皮完整组和内皮去除组血管符合标准,可用于后续试验。各组血管Ach浓度-舒张率曲线见图1。

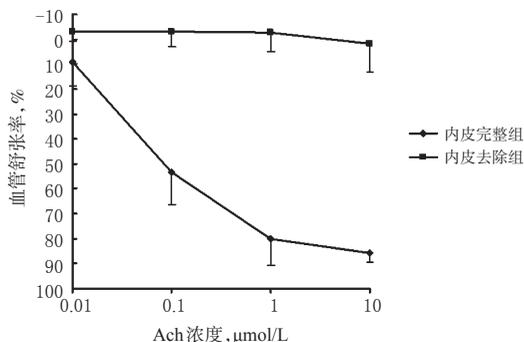


图1 各组血管Ach浓度-舒张率曲线( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Fig 1 Ach concentration-relaxation rate curves of vessels in all groups( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

### 3.2 各组血管的EEZ浓度-舒张率曲线

EEZ在100~900 mg/L质量浓度范围内对内皮完整和内皮去除的大鼠血管环均具有浓度依赖性舒张作用。内皮去除前后的 $E_{max}$ 分别为 $(58.18 \pm 16.23)\%$ 和 $(73.54 \pm 17.21)\%$ , EEZ的 $EC_{50}$ 为773.27 mg/L。内皮完整组与内皮去除组血管之间的舒张率差异无统计学意义,表明EEZ的血管舒张作用无内皮依赖性。各组血管EEZ浓度-舒张率曲线见图2。

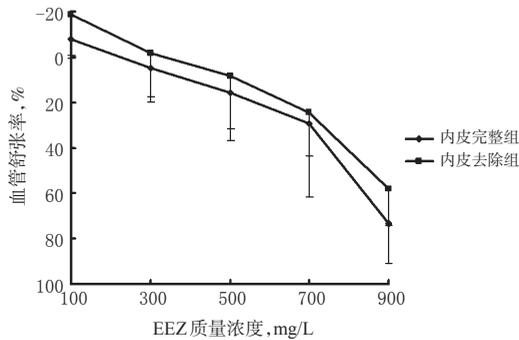


图2 各组血管EEZ浓度-舒张率曲线( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

Fig 2 EEZ concentration-relaxation rate curves of vessels in all groups( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

### 3.3 各组血管钙浓度-收缩百分率曲线

在无钙高钾K-H营养液中,随着钙浓度的增加,两组血管环都呈浓度依赖性收缩;与对照组比较,EEZ组血管收缩曲线明显下移,两组收缩曲线差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结果表明,EEZ可能通过抑制血管平滑肌钙离子通道开放的方式抑制胞外的钙离子内流。各组血管钙浓度-收缩百分率曲线见图3。

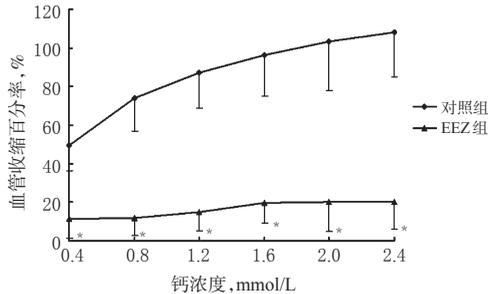


图3 各组血管钙浓度-收缩百分率曲线( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

注:与对照组比较,  $*P<0.01$

Fig 3  $Ca^{2+}$  concentration-tension curves of vessels in all groups( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

Note: vs. control group,  $*P<0.01$

### 3.4 各组血管收缩强度的测定结果

两组内皮去除的血管环用无钙K-H营养液预处理15 min后,加入1  $\mu\text{mol/L}$ 的PE可立刻引起血管小幅度、缓慢收缩,该作用主要靠调动平滑肌细胞“钙池”内钙离子的释放而引发。在无钙K-H液中,两组血管的收缩强度差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与对照组比较,EEZ预处理可抑制PE刺激的胞质钙离子释放。各组血管收缩强度的测定结果见图4。

## 4 讨论

本研究结果表明,EEZ对大鼠血管环有浓度依赖性舒张作用,内皮完整组与内皮去除组之间血管舒张作用没有明显差异。因此,EEZ所致的血管舒张可能用于直接作用平滑肌而发挥作用。

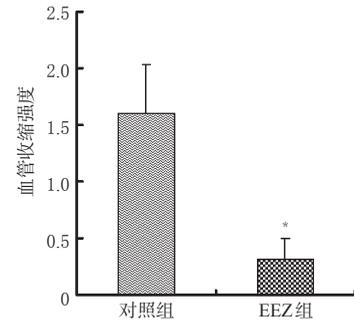


图4 各组血管收缩强度的测定结果( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

注:与对照组比较,  $*P<0.01$

Fig 4 Determination results of vasoconstriction intensity of all groups( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

Note: vs. control group,  $*P<0.01$

血管平滑肌收缩主要取决于平滑肌膜外钙离子的流入及胞质“钙池”中钙离子的释放。外钙内流途径主要通过受体操控性钙通道(ROCCs)和电压门控钙通道(VDCCs)完成<sup>[11]</sup>。血管平滑肌细胞在受到细胞外高钾离子刺激后细胞膜发生去极化,引起细胞膜电位的改变,激活细胞膜上VDCCs,开放钙离子通道,从而引起血管收缩;胞质内钙离子的释放主要是内质网上的雷尼替丁受体系统和三磷酸肌醇(IP<sub>3</sub>)系统完成<sup>[12]</sup>。前者通过一定的机制调节环腺苷二磷酸核糖(cADPR)的水平,最终cADPR作用于内质网上雷尼替丁受体诱发内钙释放<sup>[13]</sup>。去氧肾上腺素作用于细胞膜上的 $\alpha$ 受体,通过G蛋白偶联受体而激活下游的磷脂酶C,进生成二酰甘油和三磷酸肌醇,后者与内质网膜上的受体结合引起钙离子通道开放,诱发细胞“钙池”内的钙离子释放<sup>[14]</sup>。针对EEZ血管舒张作用的平滑肌依赖性的特点,笔者先后设计了外钙内流和内钙释放试验,结果显示,在无钙高钾液中EEZ可引起量效曲线右移,抑制钙离子引起的血管收缩。由此表明,EEZ的血管舒张作用可能与阻滞血管平滑肌上VDCCs抑制钙离子内流有关。在无钙的K-H液中,PE引起血管小幅度、缓慢而持续的收缩主要是IP<sub>3</sub>调动的胞质内钙释放而引起。本研究发现,EEZ可以明显抑制无钙K-H液中PE诱导的血管收缩,推测其机制可能与PE诱发的胞质内钙释放有关。

综上所述,EEZ可能通过调节血管平滑肌细胞膜上VDCCs的方式抑制钙离子内流以及抑制胞质内钙离子释放而发挥血管舒张作用,但其详细机制还有待进一步深入探讨。

(致谢:本实验大部分工作是在新疆医科大学药理学实验室完成,在此表示感谢!)

## 参考文献

- [1] 刘勇民,沙吾提·易克木.维吾尔药志:上[M].乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:446.
- [2] 季志红,于谦,周晓英,等.唇香草提取物抑制变异链球菌实验的初步研究[J].新疆医科大学学报,2012,35(8):1031.
- [3] 杨伟俊,哈木拉提,孙玉华,等.芳香新塔花对大鼠急性心肌缺血和乳鼠心肌细胞的保护作用[J].现代药物与临床,2010,25(3):194.
- [4] 廖晶晶,徐建国,杨俊伟,等.芳香新塔花黄酮抗氧化活性及对大鼠乳鼠心肌细胞缺氧复氧损伤的保护作用[J].环球中医药,2011,4(4):256.

# 罗格列酮对糖尿病模型兔体质量、FPG及FFA等指标的影响<sup>△</sup>

占日新\*,董芳,来乐祥,张义林,华铭(杭州市萧山区第四人民医院,杭州 311225)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)28-3929-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.28.14

**摘要** 目的:研究罗格列酮(RH)对糖尿病模型兔体质量,空腹血糖(FPG)及游离脂肪酸(FFA)等的影响。方法:取18只兔随机均分为对照组、模型组、右旋糖酐组,后2组兔iv四氧嘧啶复制糖尿病模型,然后3组兔ig RH(0.5 mg/kg),其中右旋糖酐组兔给药同时iv右旋糖酐40葡萄糖注射液(5 ml/kg),每日1次,连续给药3周。检测给药前及给药后各组兔的体质量和血清中FPG、FFA、血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)、NO水平。结果:与给药前比较,对照组兔给药后体质量增加,FFA、AngⅡ水平降低;模型组兔给药后FPG、FFA水平降低;右旋糖酐组兔给药后体质量降低,差异有统计学意义( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ),其余指标差异无统计学意义( $P>0.05$ )。其中,右旋糖酐组兔给药后FFA水平高于模型组,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。结论:罗格列酮可增加兔的体质量,其机制可能与降低FFA水平有关。

**关键词** 罗格列酮;兔;体质量;空腹血糖;游离脂肪酸;不良反应

## Effects of Rosiglitazone on Body Weight, FPG, FFA and Other Indicators in Diabetes Model Rabbit

ZHAN Ri-xin, DONG Fang, LAI Le-xiang, ZHANG Yi-lin, HUA Ming (The People's No. 4 Hospital of Xiaoshan District Hangzhou, Hangzhou 311225, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the effects of rosiglitazone (RH) on body weight, FPG, FFA and other indicators in diabetes model rabbit. METHODS: 18 rabbits were evenly randomized into control group, model group and dextran group. The latter 2 groups were given alloxan intravenously to induce diabetes model. 3 groups were given RH (0.5 mg/kg) intragastrically, and dextran group was additionally given dextran 40 glucose injection (5 ml/kg) intravenously, once a day, for consecutive 3 weeks. Body weight, serum level of FPG, FFA, AngⅡ and NO were determined before and after medication. RESULTS: Compared with before medication, body weight of rabbits in control group were increased after medication, while the levels of FFA and AngⅡ were decreased; the levels of FPG and FFA were decreased in model group; body weight of rabbits were decreased in dextran group after medication, with statistical significance ( $P<0.01$  or  $P<0.05$ ); other indicators had no statistically significant difference ( $P>0.05$ ). The level of FFA in dextran group was higher than in model group after medication, with statistical significance ( $P<0.01$ ). CONCLUSIONS: Rosiglitazone can lead to weight gain by a mechanism which reduce the level of FFA.

**KEYWORDS** Rosiglitazone; Rabbit; Body weight; Fasting glucose; Free fatty acids; ADR

[5] 沙爱龙,陈红玲,孟庆艳.维药芳香新塔花水提物的抗炎镇痛作用及其急性毒性[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(4):202.  
[6] 郭玉婷,兰卫,吴燕妮,等.唇香草挥发油对自发性高血压大鼠降压作用的研究[J].新疆医科大学学报,2014,37(3):257.  
[7] Senejoux F, Girard C, Kerram P, et al. Mechanisms of vasorelaxation induced by Ziziphora clinopodioides Lam. (Lamiaceae) extract in rat thoracic aorta[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 132(1):268.  
[8] 张浩,王芳.鸡血藤醇提物的体外抗血小板聚集与离体血管舒张作用研究[J].中国药房,2013,24(35):3 271.  
[9] 张洪平,田戈,杨涛,等.木兰脂素对离体大鼠胸主动环血管舒张机制和大鼠肾细胞毒性作用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(23):209.  
[10] 张洪平,李亚娟,章丹丹,等.辛夷二氯甲烷提取物对离体

大鼠胸主动环血管的舒张作用及其机制[J].中国病理生理学杂志,2010,26(9):1 689.

[11] Xue YL, Shi HX, Murad F, et al. Vasodilatory effects of cinnamaldehyde and its mechanism of action in the rat aorta[J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2011, doi: 10.2147/VHRM.S15429.  
[12] Mukherjee S, Thomas NL, Williams AJ. Insights into the gating mechanism of the ryanodine-modified human cardiac Ca<sup>2+</sup>-release channel (RyR2)[J]. *Mol Pharmacol*, 2014, 86(3):318.  
[13] Harraz OF, Altier C. STIM1-mediated bidirectional regulation of Ca<sup>2+</sup> entry through voltage-gated calcium channels (VGCC) and calcium-release activated channels (CRAC)[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 24(8):43.  
[14] Tovey SC, Taylor CW. Cyclic AMP directs inositol (1,4,5)-trisphosphate-evoked Ca<sup>2+</sup> signalling to different intracellular Ca<sup>2+</sup> stores[J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt10):2 305.

(收稿日期:2014-10-28 修回日期:2014-12-16)

(编辑:张静)

△基金项目:杭州市卫生科技计划项目(No.2013B57)

\*药师,硕士。研究方向:临床药学、药品不良反应监测。电话:0571-82153097。E-mail:zhanrixin8647@163.com