

补骨脂素和补骨脂酚舒张血管的作用机制研究[△]

瞿晶田^{1*}, 王家龙^{2#}, 柴士伟¹, 刘芳¹(1.天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193; 2.中国中医科学院广安门医院中药研发中心, 北京 100053)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)24-3364-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.24.09

摘要 目的:探讨补骨脂素和补骨脂酚舒张血管的作用机制。方法:取大鼠胸主动脉制备离体血管环及去内皮血管环。采用血管收缩率为考察指标,分别以一氧化氮合酶抑制剂*N*-硝基-*L*-精氨酸甲酯(*L*-NAME, 100 μmol/L)预孵育内皮完整或去内皮血管环后,考察低、中、高剂量补骨脂素或补骨脂酚(0.1、1、10 μmol/L)对去甲肾上腺素(NE, 1 μmol/L)或氯化钾(KCl, 60 mmol/L)预收缩血管环的舒张作用;分别以钙依赖型钾离子通道抑制剂氯化四乙胺(TEA, 0.1 mmol/L)、内向整流型钾离子通道抑制剂氯化钡(BaCl₂, 0.1 mmol/L)预孵育去内皮血管环后,考察低、中、高剂量补骨脂酚(0.1、1、10 μmol/L)对NE(1 μmol/L)预收缩去内皮血管环的舒张作用。采用胶原酶-中性蛋白酶混合消化法分离大鼠心脏微血管内皮细胞,采用酶联免疫吸附法考察低、中、高剂量补骨脂素或补骨脂酚(0.1、1、10 μmol/L)对细胞中内皮型一氧化氮合酶(eNOS)蛋白表达的影响。结果:各剂量补骨脂素和补骨脂酚均能显著降低NE预收缩的内皮完整血管环收缩率($P < 0.01$),中、高剂量补骨脂素和补骨脂酚能显著降低KCl预收缩的内皮完整血管环收缩率($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而去内皮和抑制一氧化氮合酶后血管环收缩率显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);中、高剂量补骨脂酚能显著降低NE预收缩去内皮血管环收缩率($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而抑制血管平滑肌内向整流型钾离子通道后血管环收缩率显著升高($P < 0.01$)。各剂量补骨脂素和补骨脂酚均能显著提高大鼠心脏微血管内皮细胞中eNOS蛋白表达水平($P < 0.01$)。结论:补骨脂素和补骨脂酚可能通过内皮依赖性的NO途径以及促进内皮细胞中eNOS蛋白表达来发挥血管舒张作用;补骨脂酚还可能通过开放内向整流型钾离子通道这一非内皮依赖途径发挥血管舒张作用。

关键词 补骨脂素;补骨脂酚;血管舒张;血管内皮细胞;血管平滑肌细胞;钾离子通道;机制

Study on the Vasodilatory Effect Mechanism of Psoralen and Bakuchiol

QU Jingtian¹, WANG Jialong², CHAI Shiwei¹, LIU Fang¹(1. First Teaching Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China; 2. Research and Development Center of TCM, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the vasodilatory effect mechanism of psoralen and bakuchiol. **METHODS:** The rat thoracic aorta was isolated to prepare vascular rings and de-endothelium vascular rings. Using contraction rate as index, the intact endothelium or de-endothelium vascular rings were pre-incubated with *N*-nitro-*L*-arginine methyl ester (*L*-NAME, 100 μmol/L); vasodilatory effect of low-dose, medium-dose and high-dose of psoralen or bakuchiol (0.1, 1, 10 μmol/L) on aortic vessels pre-contracted with norepinephrine (NE, 1 μmol/L) or potassium chloride (KCl, 60 mmol/L) were investigated. The de-endothelium vascular rings were pre-incubated with calcium dependent potassium channel inhibitors tetraethylammonium chloride (TEA, 0.1 mmol/L) and inward rectifying potassium channel inhibitor barium chloride (BaCl₂, 0.1 mmol/L); vasodilatory effect of low-dose, medium-dose and high-dose of bakuchiol (0.1, 1, 10 μmol/L) on de-endothelium vascular vessels pre-contracted with NE (1 μmol/L) were investigated. The microvascular endothelial cells were isolated by collagenase-neutral protease digestion; the effects of low-dose, medium-dose and high-dose of psoralen or bakuchiol (0.1, 1, 10 μmol/L) on the expression of eNOS protein were studied by ELISA. **RESULTS:** Psoralen and bakuchiol could significantly reduce the contraction rate of endothelium-intact aortic rings pre-contracted with NE ($P < 0.01$); medium-dose and high-dose of psoralen and bakuchiol could significantly reduce the contraction rate of endothelium-intact aortic rings pre-contracted with KCl ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); while the contraction rate could be increased by de-endothelium and NOS inhibition significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The medium-dose and high-dose of bakuchiol could significantly reduce the contraction rate of de-endothelium vascular vessels pre-contracted with NE ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The contraction rate could be increased by inhibiting inward rectifier potassium channels in vascular smooth muscle ($P < 0.01$). Different dosages of psoralen and bakuchiol could significantly increase the expression levels of eNOS protein in rat cardiac microvascular endothelial cells ($P < 0.01$). **CONCLUSIONS:** Psoralen and bakuchiol may play a role in vasodilation via endothelium-dependent NO pathway and by promoting eNOS protein expression in endothelial cells; bakuchiol may play a role in

vasodilation via non-endothelium dependent pathway as opening inward rectifying potassium channel.

KEYWORDS Psoralen; Bakuchiol; Vasodilation; Vascular endothelial cell; Vascular smooth muscle cells; Potassium channel; Mechanism

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81603648_81803829)

* 主管药师, 硕士。研究方向: 中药临床药学、中药药理学。电话: 022-27987205。E-mail: qvjingtian@sohu.com

通信作者: 主管药师, 硕士。研究方向: 中药分析化学、中药药理学。电话: 010-88001807。E-mail: footprint666@163.com

补骨脂为豆科植物补骨脂(*Psoralea corylifolia* L.)的干燥成熟果实,其醇提物可通过促进内皮细胞一氧化氮(NO)和前列环素释放、抑制平滑肌细胞经典瞬时受体电位3(TRPC3)通道活性,从而发挥血管舒张作用^[1]。但是该舒张血管作用的物质基础并未明确。补骨脂中含有多种化学成分,既往研究表明,8-甲氧基补骨脂素可抑制血管平滑肌细胞内钙离子释放和细胞外钙离子内流,通过非内皮依赖途径发挥血管舒张作用;补骨脂呋喃香豆精可激活血管NO-环鸟苷酸(cGMP)信号通路,通过内皮依赖途径发挥血管舒张作用^[2-5]。有研究发现,补骨脂素、异补骨脂素、异补骨脂查尔酮和补骨脂酚均有舒张大鼠离体胸主动脉血管的作用^[1],但是关于其作用机制的研究并未深入展开。药物发挥对血管的直接舒张作用主要涉及血管内皮细胞和血管平滑肌细胞两个途径:药物作用于血管内皮细胞,通过促进其舒血管因子(如NO、前列环素或内皮衍生超极化因子)的释放或表达发挥血管舒张作用;药物作用于血管平滑肌细胞,通过抑制相关钙离子通道的开放或促进相关钾离子通道的开放发挥血管舒张作用^[6]。基于此,本研究在前人研究基础上,以大鼠胸主动脉血管环及心脏微血管内皮细胞为对象,探讨补骨脂中主要入血成分补骨脂素和补骨脂酚^[7-8]舒张血管作用的可能机制。

1 材料

1.1 仪器

MSA224S-000-DA型电子分析天平(德国Sartorius公司);Radnoti型组织器官灌流系统、Maclab AID型生物信号采集系统(澳大利亚Powerlab公司);Felex Station 3型多功能酶标仪(美国MD公司);Direct-Q3型超纯水系统(美国Millipore公司)。

1.2 药品与试剂

补骨脂素(中国食品药品检定研究院,批号:110739-201617,纯度:≥98%);补骨脂酚(批号:F1512066,纯度:≥98%);乙酰胆碱(Ach)、去甲肾上腺素(NE)、*N*-硝基-*L*-精氨酸甲酯(*L*-NAME)、氯化钠(NaCl)、氯化钾(KCl)均购自上海阿拉丁生物科技有限公司;磷酸二氢钾(KH₂PO₄)、无水硫酸镁(MgSO₄)、碳酸氢钠(NaHCO₃)、葡萄糖、二甲基亚砜(DMSO)均购自上海麦克林生化科技有限公司;氯化钙(CaCl₂)、氯化钡(BaCl₂)、氯化四乙胺(TEA)均购自美国Sigma公司;胎牛血清(美国Gibco公司);DMEM/F12培养基(美国Hyclone公司);荧光标记羊抗兔IgG(武汉博士德生物工程有限公司,货号:BA1032);兔源CD31抗体、兔源vWF抗体(英国Abcam公司);大鼠内皮型一氧化氮合酶(eNOS)酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂盒(上海康朗生物科技有限公司,货号:Im-E30338);水为超纯水。

K-R试液临用前以水为溶剂配制(组成为118 mmol/L NaCl、4.7 mmol/L KCl、1.2 mmol/L MgSO₄、1.2 mmol/L KH₂PO₄、25 mmol/L NaHCO₃、1.3 mmol/L CaCl₂、10 mmol/L 葡萄糖);补骨脂素、补骨脂酚以DMSO为溶剂,NE、Ach、*L*-NAME、BaCl₂、TEA、KCl以水为溶剂,制成相应浓度溶液后用于后续试验。

1.3 动物

SD大鼠,SPF级,雄性,体质量250~300 g,购自北京斯贝福生物技术有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2016-002。动物饲养环境:室温(23±1)℃,人工照明12 h明暗交替,期间自由饮食饮水。

2 方法

2.1 大鼠胸主动脉血管环的制备

取大鼠12只,断头处死,迅速开胸分离剪取胸主动脉,置于预冷的K-R试液中,小心去除血管外层脂肪和结缔组织后,将其剪成长度为4 mm的血管环。取部分上述血管环,用与其内径相适应的棉棒从其内壁擦过去除血管内皮。用一个L型钩子将血管环悬挂于含有5 mL K-R试液的组织器官灌流系统浴槽内(不断充入5% CO₂、95% O₂,维持K-R试液pH 7.4、温度37℃),用另一个L型钩子连接于生物信号采集系统,测定其张力。各血管环基础张力为2.0 g,稳定时间不小于90 min。然后加入KCl(60 mmol/L,以药物/试剂的终浓度计,以下同)至浴槽,使血管环收缩达最大张力不变后(即达到平台期),以K-R试液冲洗15 min,重复以上操作3次。向浴槽内加入NE(1 μmol/L)收缩血管使达到平台期,再加入Ach(10 μmol/L)舒张血管,若血管环舒张幅度大于最大收缩率的50%,则可认为血管内皮完整;若血管环舒张张力小于最大收缩率的5%,则可认为内皮去除完全。前处理完毕后进行后续试验。收缩率(%)=(加入药物或溶剂作用后的血管环张力-2.0 g)/(NE预收缩血管环达到的最大张力-2.0 g)×100%。

2.2 补骨脂素和补骨脂酚对NE预收缩血管环的舒张作用考察

取“2.1”项下处理好的内皮完整血管环和去内皮血管环进行试验。试验分为空白组(内皮完整血管环)、内皮完整组(内皮完整血管环)、去内皮组(去内皮血管环)和*L*-NAME组[内皮完整血管环,预先以一氧化氮合酶抑制剂*L*-NAME(100 μmol/L)预孵育20 min],每组平行考察4个血管环。各组血管环均以NE(1 μmol/L)预收缩使达到最大张力后,内皮完整组、去内皮组和*L*-NAME组均逐次加入相应药物(补骨脂素或补骨脂酚)的累积剂量分别为0.1、1、10 μmol/L,空白组则加入等体积相应溶剂,作用8 min。测定各组血管环张力并计算收缩率。

2.3 补骨脂素和补骨脂酚对KCl预收缩血管环的舒张作用考察

取“2.1”项下处理好的内皮完整血管环和去内皮血管环进行试验。试验分为空白组(内皮完整血管环)、内皮完整组(内皮完整血管环)、去内皮组(去内皮血管环)和L-NAME组[内皮完整血管环,预先以一氧化氮合酶抑制剂L-NAME(100 μmol/L)预孵育20 min],每组平行考察4个血管环。各组血管环均以KCl(60 mmol/L)预收缩使达到最大张力后,内皮完整组、去内皮组和L-NAME组均逐次加入相应药物(补骨脂素或补骨脂酚的累积剂量分别为0.1、1、10 μmol/L),空白组则加入等体积相应溶剂,作用8 min,按“2.2”项下方法测定各组血管环张力并计算收缩率。

2.4 补骨脂酚对钾离子通道抑制剂干预下NE预收缩去内皮血管环的舒张作用考察

取“2.1”项下处理好的去内皮血管环进行试验。试验分为去内皮对照组、BaCl₂组[血管环预先以内向整流型钾离子通道抑制BaCl₂(0.1 mmol/L)孵育20 min]、TEA组[血管环预先以钙依赖型钾离子通道抑制剂TEA(0.1 mmol/L)孵育20 min],每组平行考察4个血管环。各组血管环均以NE(1 μmol/L)预收缩使达到最大张力后,逐次加入补骨脂酚(累积剂量分别为0.1、1、10 μmol/L),作用8 min,按“2.2”项下方法测定各组血管环张力并计算收缩率。

2.5 补骨脂素和补骨脂酚对大鼠心脏微血管内皮细胞中eNOS蛋白表达的影响考察

参照文献方法^[9],将大鼠断颈处死后,以75%乙醇浸泡5 min后移至超净工作台上,取仰卧位固定,沿胸部正中线剪开皮肤,打开胸腔,取出心脏并剪下心脏左心室。采用胶原酶-中性蛋白酶混合消化法分离大鼠心脏微血管内皮细胞,细胞经CD31/vWF免疫荧光鉴定,纯度应达90%以上。

采用含1%青链霉素的DMEM/F12培养基,将心脏微血管内皮细胞在37℃、5%CO₂恒温培养箱中静置培养,24 h后更换新鲜培养基,以后每3天换液1次,待细胞长满后用于后续试验。试验分为空白组,补骨脂素低、中、高(0.1、1、10 μmol/L)剂量组,补骨脂酚低、中、高(0.1、1、10 μmol/L)剂量组,将细胞以1×10⁶个/孔接种于96孔板,每组设置4个复孔。各加药组分别加入相应浓度的药物溶液,空白组加入等体积相应溶剂,然后在37℃、5%CO₂恒温培养箱中培养24 h。取出细胞,按ELISA试剂盒说明书操作,采用酶标仪在450 nm波长下测定各孔吸光度,并依据试剂盒说明书计算细胞中eNOS蛋白表达水平,并计算各组eNOS蛋白表达率。eNOS蛋白表达率(%)=(各组蛋白表达水平/空白组蛋白表达水平)×100%。

2.6 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件对试验数据进行处理。计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 补骨脂素和补骨脂酚对NE预收缩血管环的舒张作用

与空白组比较,不同剂量的补骨脂素或补骨脂酚作用于内皮完整血管环后,均能显著降低血管收缩率($P < 0.01$),表明补骨脂素和补骨脂酚均具有舒张NE预收缩内皮完整离体血管的作用;1.0、10.0 mol/L的补骨脂酚作用于NE预收缩去内皮血管后,也能显著降低血管收缩率($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而各剂量补骨脂素作用于去内皮血管后未能显著降低血管收缩率($P > 0.05$),表明补骨脂酚具有舒张NE预收缩去内皮血管的作用,而补骨脂素不具有该作用。与内皮完整组比较,补骨脂素或补骨脂酚作用于去内皮血管环或L-NAME预孵育的内皮完整血管环后,能显著升高血管收缩率($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),表明去除血管内皮或抑制一氧化氮合酶能够显著减弱补骨脂素或补骨脂酚对NE预收缩血管的舒张作用,提示两种成分的舒张血管作用可能与血管内皮和一氧化氮合酶相关。补骨脂素和补骨脂酚对NE预收缩血管环收缩率的影响见表1。

表1 补骨脂素和补骨脂酚对NE预收缩血管环收缩率的影响($\bar{x} \pm s, n=4$)

Tab 1 Effects of psoralen and bakuchiol on contraction rate of aortic rings pre-contracted with NE ($\bar{x} \pm s, n=4$)

成分	累积剂量, mol/L	收缩率, %			
		空白组	内皮完整组	去内皮组	L-NAME组
补骨脂素	0.1	103.37±2.03	96.95±1.18**	102.23±0.90***	100.99±2.01*
	1.0	101.39±2.06	75.93±3.09**	100.02±0.54***	103.45±4.63**
	10.0	96.17±1.35	47.45±7.65**	96.75±2.23**	100.12±7.08**
补骨脂酚	0.1	103.37±2.03	92.88±2.56**	98.73±3.96*	101.26±0.76**
	1.0	101.39±2.06	74.77±2.72**	93.55±5.43***	98.43±2.43**
	10.0	96.17±1.35	50.58±10.78**	82.85±7.53***	93.53±2.27**

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与内皮完整组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: vs. blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. intact endothelium group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.2 补骨脂素和补骨脂酚对KCl预收缩血管环的舒张作用

与空白组比较,1.0、10.0 mol/L补骨脂素或补骨脂酚作用于内皮完整血管环后,均能显著降低血管收缩率($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),表明上述剂量的补骨脂素和补骨脂酚均具有舒张KCl预收缩内皮完整血管环的作用;而各剂量补骨脂素或补骨脂酚作用于去内皮血管后,血管收缩率不降反升,表明补骨脂素和补骨脂酚均不具有舒

张KCl预收缩去内皮血管的作用。与内皮完整组比较,1.0、10.0 mol/L补骨脂素或补骨脂酚作用于去内皮血管环或L-NAME预孵育的内皮完整血管环后,能显著升高血管收缩率($P<0.05$ 或 $P<0.01$),表明去内皮或抑制一氧化氮合酶能够显著减弱补骨脂素或补骨脂酚对KCl预收缩血管的舒张作用,提示两种成分的舒张血管作用与血管内皮和一氧化氮合酶有关。补骨脂素和补骨脂酚对KCl预收缩血管环收缩率的影响见表2。

表2 补骨脂素和补骨脂酚对KCl预收缩血管环收缩率的影响($\bar{x}\pm s, n=4$)

Tab 2 Effects of psoralen and bakuchiol on contraction rate of aortic rings pre-contracted with KCl ($\bar{x}\pm s, n=4$)

成分	累积剂量, mol/L	收缩率, %			
		空白组	内皮完整组	去内皮组	L-NAME组
补骨脂素	0.1	102.91±2.83	100.15±1.53	101.43±1.02	102.26±1.41
	1.0	101.43±1.92	97.30±1.60**	101.18±2.70 [#]	101.98±0.79 ^{##}
	10.0	98.61±2.88	92.34±3.06**	102.55±2.51 ^{##}	100.25±0.70 ^{##}
补骨脂酚	0.1	102.91±2.83	99.97±0.58	102.50±3.40	100.78±1.39
	1.0	101.43±1.92	97.10±1.31*	102.72±2.96 [#]	101.61±3.27
	10.0	98.61±2.88	87.84±0.98**	101.88±4.09 ^{##}	99.10±3.43 ^{##}

注:与空白组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与内皮完整组比较, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$

Note: vs. blank group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. intact endothelium group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$

3.3 补骨脂酚对钾离子通道抑制剂干预下NE预收缩去内皮血管环的舒张作用

与去内皮对照组比较,1.0、10.0 mol/L的补骨脂酚作用于BaCl₂预孵育的去内皮血管环后,均能显著升高血管收缩率($P<0.01$),表明补骨脂酚对NE预收缩去内皮血管的舒张作用与血管平滑肌内向整流型钾离子通道有关;各剂量补骨脂酚作用于TAE预孵育的去内皮血管环后,未能显著升高血管收缩率($P>0.05$),表明补骨脂酚对NE预收缩去内皮血管的舒张作用与血管平滑肌钙依赖型钾离子通道无关。补骨脂酚对NE预收缩去内皮血管环收缩率的影响见表3。

表3 补骨脂酚对钾离子通道抑制剂干预下NE预收缩去内皮血管环收缩率的影响($\bar{x}\pm s, n=4$)

Tab 3 Effects of bakuchiol on contraction rate of aortic rings pre-contracted with NE under intervention of K⁺ inhibitor ($\bar{x}\pm s, n=4$)

补骨脂酚累积剂量, mol/L	收缩率, %		
	去内皮对照组	BaCl ₂ 组	TEA组
0.1	98.73±3.96	102.62±0.94	99.95±1.70
1.0	93.55±5.43	102.56±1.30**	95.74±7.90
10.0	82.85±7.53	100.64±5.35**	81.03±12.06

注:与去内皮对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

Note: vs. de-endothelium control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

3.4 补骨脂素和补骨脂酚对大鼠心脏微血管内皮细胞中eNOS蛋白表达的影响

与空白组比较,补骨脂素各剂量组和补骨脂酚各剂

量组细胞中eNOS蛋白表达率均显著升高($P<0.01$),表明补骨脂素和补骨脂酚均具有促进大鼠心脏微血管内皮细胞eNOS蛋白表达的作用,详见表4。

表4 补骨脂素和补骨脂酚对大鼠心脏微血管内皮细胞中eNOS蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=4$)

Tab 4 Effects of psoralen and bakuchiol on eNOS protein expression of cardiac microvascular endothelial cells in rats ($\bar{x}\pm s, n=4$)

组别	eNOS蛋白表达率, %	
	补骨脂素	补骨脂酚
空白组	100.00±1.38	100.00±1.38
低剂量组	105.58±1.86**	115.33±2.06**
中剂量组	110.72±3.39**	133.03±2.37**
高剂量组	115.82±3.39**	137.03±4.21**

注:与空白组比较, ** $P<0.01$

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

4 讨论

补骨脂素和补骨脂酚为中药补骨脂的主要化学成分。本研究初步阐释了补骨脂素和补骨脂酚舒张血管的作用机制,为揭示中药补骨脂血管舒张作用的物质基础提供了实验依据。

心血管系统是一个相对封闭的管腔系统,具有血管舒缩调节功能的药物无论是对血压的调控还是对心血管保护而言,均具有重要临床意义。本研究结果显示,不同剂量补骨脂素或补骨脂酚作用于NE或KCl预收缩的内皮完整的大鼠离体胸主动脉环后,均能显著降低其血管收缩率,表明两种成分均具有血管舒张作用。

药物对血管的舒张作用,可分为内皮依赖性和非内皮依赖性^[10]。本研究首先从内皮依赖性方面考察发现,去除血管内皮和一氧化氮合酶抑制剂L-NAME均能显著抑制补骨脂素和补骨脂酚对血管的舒张作用,说明两种成分可通过内皮依赖的NO途径发挥对血管的舒张作用。

在非内皮依赖性方面,药物可通过抑制血管平滑肌细胞钙离子通道的开放,或激活血管平滑肌细胞相关钾离子通道等途径,发挥血管舒张作用^[11-12]。血管的收缩依赖于血管平滑肌细胞外钙离子内流和细胞内钙离子释放,而钙离子流入的主要途径为受体操纵型钙通道和电压依赖型钙通道^[13-14]。NE可开放受体操纵型钙离子通道,KCl可开放电压依赖型钙离子通道^[15]。本研究发现,补骨脂素对NE预收缩的去内皮血管未见明显舒张作用,表明试验剂量下补骨脂素对受体操纵型钙离子通道的抑制作用不明显;而补骨脂酚对NE预收缩的去内皮血管具有明显舒张作用,表明试验剂量下补骨脂酚对受体操纵型钙离子通道的开放具有明显影响,可通过非内皮依赖途径发挥血管舒张作用。补骨脂素和补骨脂酚对KCl预收缩的去内皮血管均未见明显舒张作用,表明试验剂量下两种成分对电压依赖型钙离子通道的抑

制作用均不明显。钾离子通道在调节血管平滑肌舒缩过程中起着重要作用,激活血管平滑肌上的钾离子通道,可引起细胞膜超极化,进而抑制细胞外钙离子内流,从而引起血管舒张^[6]。血管平滑肌细胞中存在有4种经典的钾离子通道,包括三磷酸腺苷(ATP)敏感型钾通道、钙依赖型钾通道、电压依赖型钾通道和内向整流型钾通道^[16-17]。本研究进一步考察补骨脂酚对不同钾离子通道抑制剂干预下去内皮血管的舒张作用后发现,内向整流型钾离子通道抑制剂BaCl₂能显著抑制补骨脂酚的血管舒张作用,表明内向整流型钾离子通道的开放可能参与了该成分舒张血管的过程;钙依赖型钾离子通道抑制剂TEA对补骨脂酚的血管舒张作用未见明显影响,表明钙依赖型钾离子通道的开放可能不参与该成分舒张血管的过程。

除此之外,药物还可通过促进舒血管因子的释放或表达,影响相关舒血管离子通道的表达,发挥血管舒张作用^[18-21]。本研究发现,补骨脂素和补骨脂酚可促进大鼠心脏微血管内皮细胞eNOS蛋白的表达,这可能为两种成分发挥血管舒张作用的另一作用机制。有研究表明,补骨脂素和补骨脂酚可激活雌激素受体,进而促进eNOS的表达^[22],两者的血管舒张作用是否与其雌激素受体激活作用相关,还需要进一步研究。

综上所述,补骨脂素和补骨脂酚可能通过内皮依赖性的NO途径以及促进内皮细胞中eNOS蛋白表达来发挥血管舒张作用;此外,补骨脂酚还可能通过开放内向整流型钾离子通道这一非内皮依赖途径发挥血管舒张作用。

参考文献

[1] KASSAHUN GEBREMESKEL A, WIJERATHNE TD, KIM JH, et al. Psoralea corylifolia extract induces vasodilation in rat arteries through both endothelium-dependent and-independent mechanisms involving inhibition of TRPC3 channel activity and elaboration of prostaglandin[J]. *Pharm Biol*, 2017, 55(1): 2136-2144.

[2] 金万宝, 吴红, 孟胜男, 等. 8-甲氧基补骨脂素对家兔离体肺动脉和主动脉的作用[J]. *中国药理学杂志*, 2000, 35(1): 16-18.

[3] 金万宝, 吴红, 关福兰, 等. 8-甲氧基补骨脂素对大鼠离体肺动脉的选择性抑制作用[J]. *中国医科大学学报*, 1999, 28(4): 13-15.

[4] 王秋月, 章新华, 康健, 等. 8-甲氧基补骨脂素对人离体肺动脉收缩的影响[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 1997, 20(4): 31-33.

[5] LI X, LEE YJ, KIM YC, et al. Bakuchicin induces vascular relaxation via endothelium-dependent NO-cGMP signaling[J]. *Phytother Res*, 2011, 25(10): 1574-1578.

[6] 瞿晶田, 赵鑫, 郭英, 等. 血管内皮舒张因子的研究进展[J].

中国医药导刊, 2011, 13(4): 662-663.

[7] 宋殿荣, 宋红运, 王跃飞, 等. 补骨脂水煎液大鼠体内血清药物成分的初步研究[J]. *中华中医药杂志*, 2010, 25(11): 1863-1865.

[8] 张昀, 刘路. 切换波长HPLC法同时测定大鼠体内补骨脂3种有效成分[J]. *中国药房*, 2014, 25(31): 2887-2889.

[9] LIU HT, TAO Y, CHEN M, et al. 17 β -estradiol promotes angiogenesis of rat cardiac microvascular endothelial cells in vitro[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 2489-2496.

[10] 周恒源, 卞筱泓, 许激扬, 等. 黄芩素对大鼠离体胸主动脉的舒张作用及其机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(11): 167-171.

[11] 牛玉忠, 韩玲军. 橙皮素对大鼠肾动脉血管环的舒张作用机制探讨[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2016, 14(10): 1097-1099.

[12] 罗乐, 张夏丽, 韩斯嘉, 等. 白杨素对去氧肾上腺素预收缩大鼠主动脉的舒张作用及机制[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2016, 21(10): 1118-1121.

[13] LAI N, LU W, WANG J. Ca²⁺ and ion channels in hypoxia-mediated pulmonary hypertension[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(2): 1081-1092.

[14] LEBLANC N, FORREST AS, AYON RJ, et al. Molecular and functional significance of Ca²⁺-activated Cl⁻ channels in pulmonary arterial smooth muscle[J]. *Pulm Circ*, 2015, 5(2): 244-268.

[15] QU JT, ZHANG DX, LIU F, et al. Vasodilatory effect of wogonin on the rat aorta and its mechanism study[J]. *Biol Pharm Bull*, 2015, 38(12): 1873-1878.

[16] 孔德莲, 姜娟, 何清. 格列本脲治疗缺血性脑卒中的研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2018, 6(36): 9-10.

[17] YANG CY, YU Y, WU F, et al. Vasodilatory effects of aloperine in rat aorta and its possible mechanisms[J]. *Chin J Physiol*, 2018, 61(5): 293-301.

[18] 瞿晶田, 王玉明, 王家龙, 等. 杜仲血管舒张调控活性成分及其作用机制研究进展[J]. *山东中医杂志*, 2018, 37(10): 872-876.

[19] 汤徐, 钱玲玲, 王如兴. 血管平滑肌细胞离子通道与高血压发生机制的研究进展[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2015, 29(6): 583-586.

[20] 郭艳军, 刘菁菁, 万晗星, 等. Kv1.1及Kv1.3通道亚型对小鼠肠系膜微细动脉的调节作用[J]. *第三军医大学学报*, 2018, 40(3): 190-197.

[21] 瞿晶田, 王家龙, 邓震亭, 等. 汉黄芩素增强乙酰胆碱对大鼠胸主动脉血管的舒张作用研究[J]. *现代药物与临床*, 2019, 34(1): 11-14.

[22] XIN D, WANG H, YANG J, et al. Phytoestrogens from Psoralea corylifolia reveal estrogen receptor-subtype selectivity[J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(2): 126-131.

(收稿日期: 2019-06-18 修回日期: 2019-10-31)

(编辑: 段思怡)