

灯盏花乙素和双嘧达莫舒张离体大鼠心脑血管的药理作用

胡娜¹⁾, 王蕾²⁾, 陈亚娟¹⁾, 王友兰³⁾, 杨为民¹⁾

(1) 昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南昆明 650031; 2) 昆明医科大学基础医学院药理学系, 云南昆明 650031; 3) 昆明市医学科学研究所, 云南昆明 650011)

[摘要] **目的** 研究灯盏花乙素 (scutellarin, SCU)、双嘧达莫对正常大鼠冠状动脉 (coronary artery, CA) 和脑基底动脉 (basilar artery, BA) 的影响. **方法** 选择正常 SD 大鼠, 制备冠状动脉环和脑基底动脉环, 应用 Myograph 血管张力分析系统测定血管环的张力变化, 累积剂量法加入受试药物, 观察受试药物对血栓素受体激动剂 U46619 所致血管收缩作用的影响. **结果** 与溶媒对照血管相比, SCU 和双嘧达莫能明显舒张 U46619 预收缩的冠状动脉 ($P < 0.05$); 与溶媒对照血管相比, 2 种药皆能明显舒张 U46619 预收缩的脑基底动脉 ($P < 0.001$). **结论** SCU、双嘧达莫对脑基底动脉和冠状动脉具有一定的舒张作用.

[关键词] 灯盏花乙素; 双嘧达莫; 大鼠离体血管环

[中图分类号] R542.2+2; R-332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-4706 (2013) 03-0004-05

Vasodilative Effects of Two Natural Products on Isolated Rat Coronary and Basilar Arteries

HU Na¹⁾, WANG Lei²⁾, CHEN Ya-juan¹⁾, WANG You-lan³⁾, YANG Wei-min¹⁾

(1) Faculty of Pharmacy and Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500; 2) Dept. of Pharmacology, School of Basic Medical Sciences, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500; 3) Kunming Institute of Science, Kunming Yunnan 650011, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of scutellarin (SCU) and dipyridamole on the isolated rat coronary artery (CA) and basilar artery (BA) rings. **Methods** Isolated rat CA and BA rings from SD rats were prepared, and then tension changes were measured by Myograph system. Effects of tested drugs on artery rings pretreated by thromboxane receptor agonist U46619 were determined. **Results** Compared with solvent group, SCU and dipyridamole exhibited significant vasodilating activity against U46619-induced contraction in CA rings ($P < 0.05$) and BA rings ($P < 0.001$). **Conclusions** SCU and dipyridamole were shown to possess vasodilative effects on isolated rat CA and BA.

[Key words] Scutellarin; Dipyridamole; Rat artery rings

心脑血管病一直是严重威胁人类健康和生命的主要疾病^[1]. 在不断增加的老年人群中, 心脑血管病已经是造成死亡和致残的首要病因, 尤其是缺血性心脑血管疾病呈逐年增加趋势, 严重影响中老年患者的生命健康和生活质量. 随着研究的

深入, 从天然产物中所提取的具有抗心肌细胞和脑细胞缺血、缺氧生理活性的有效物质: 灯盏花乙素 (scutellarin, SCU)、双嘧达莫 (别名潘生丁), 已经广泛用于缺血性心脑血管疾病的治疗. 尤其是对于心脑血管疾病后遗症的治疗, 中药制

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (30960450,8117311); 云南省科技厅应用基础重点项目 (2011FA022); 云南省重点新产品开发计划项目 (2012BC012)

[作者简介] 胡娜 (1987~), 女, 陕西渭南人, 在读硕士研究生, 主要从事心脑血管药理研究工作.

[通讯作者] 杨为民. E-mail: ywmbessie@yeah.net.

剂占据了很大比例. 随着中药现代化进程的加快, 使用中药有效成分及单体防治缺血性心脑血管疾病正日益受到关注.

到目前为止, 从灯盏细辛中分离鉴定了多种化学成分, 其中灯盏花素是灯盏花中的一类总黄酮, 主要包括灯盏花乙素和灯盏花甲素, 其中, SCU的含量在90%以上^[2]. SCU是对心血管起效的主要活性成分, 其结构式为4', 5, 6-三羟基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷^[3]. 国内外的研究表明其具有抗动脉粥样硬化^[4]、清除自由基抗氧化^[5-7]、抗炎^[8,9]、抗艾滋病毒^[10]等药理作用. 近年来在临床上, 由于其通过改善微循环、扩张血管、降低外周血管阻力、抗血小板聚集及抑制血栓形成等方式来拮抗心肌缺血, 而用于缺血性心脑血管疾病的防治.

双嘧达莫, 别名潘生丁、双嘧啶胺醇、哌醇定, 作为冠脉扩张剂, 于1959年开始在临床上使用. 它具有改善心肌供血、抑制血小板的聚集和粘附, 降低血脂, 抗病毒等作用, 近几年来又发现它有抗心律失常, 增加缓慢心绞痛患者运动耐受性等作用. 它的扩张冠脉作用主要是3个方面, (1) 抑制心肌细胞、内皮细胞核血细胞对腺苷的摄取, 同时抑制腺苷脱氨酶, 是腺苷转变为次黄嘌呤核苷受阻, 从而使腺苷的血浓度增加; (2) 抑制磷酸二酯酶的活性, 导致环磷酸腺苷蓄积, 发挥血管扩张作用; (3) 刺激前列腺素与内皮素释放, 可使冠脉对腺苷的反应敏感, 加强冠脉扩张作用. 双嘧达莫通过以上途径扩张冠脉, 现已公认, 双嘧达莫是较强的冠脉扩张剂, 能使冠脉血流量比静息时增加4~5倍^[11], 但在脑动脉血管的影响报道较少.

本实验通过研究灯盏花乙素、双嘧达莫2种天然药物对大鼠冠状动脉环和脑基底动脉环的舒张作用, 探讨药物对不同部位动脉环的不同作用, 为这些天然药物的临床应用提供实验研究依据.

1 材料与方法

1.1 受试药物和主要试剂

U46619: 批号197865-25 (Sigma公司); 氨基甲酸乙酯 (乌拉坦): 批号20100529 (天津市轩昂科工贸有限公司). 灯盏花乙素 (昆明龙津药业股份有限公司提供)、双嘧达莫 (Sigma公司).

1.2 实验动物

SD大鼠, 体重200~250 g, 雌性, 昆明医科

大学实验动物中心提供. 许可证SYXK (滇) 2005-0003.

1.3 主要设备

Motic SMZ168-TL解剖显微镜, 麦克奥迪实业集团有限公司; 维纳斯眼科剪, 江苏苏科医疗器械有限公司; WA3010显微镊, 上海医疗器械集团; pH计, Mettler Toledo公司; Wire Myograph System DMT (Danish Myo Technology Co; Powerlab数据记录和分析系统, 澳大利亚Adinstruments公司).

1.4 试验方法

1.4.1 主要试剂及药物的配制 血栓素受体激动剂U46619: 分子量为350.5. 真空条件下使溶解U46619的甲酸乙酯液挥发, 再用无水乙醇溶解U46619得母液 (2 mM), -20 °C保存. 临用前用双蒸水稀释至所需浓度.

MOPS-PSS缓冲液含 (1L): NaCl 81.8 g, KCl 3.5 g, MOPS 4.2 g, Na₂HPO₄·12H₂O 4.3 g, Na₂-EDTA·2H₂O 0.07 g, MgSO₄·7H₂O 12.3 g, CaCl₂ 5.5 g, Glucose·H₂O 1.1 g.

MOPS-KPSS缓冲液含 (1L): NaCl 49.5 g, KCl 44.8 g, MOPS 4.2 g, Na₂HPO₄·12H₂O 4.3 g, Na₂-EDTA·2H₂O 0.07 g, MgSO₄·7H₂O 12.3 g, CaCl₂ 5.5 g, Glucose·H₂O 1.1 g.

受试药SCU、双嘧达莫均用MOPS-PSS液溶解, 配置成0.1 μM、0.01 μM、0.001 μM待用.

1.4.2 血管环制备 大鼠用乌拉坦麻醉致死, 并迅速取出心脏和大脑置于4 °CMOPS-PSS液中. 体式解剖显微镜下, 用显微手术器械将冠状动脉和脑基底动脉周围组织分离干净, CA和BA剪成长度约1 mm血管环备用.

1.4.3 血管环平衡 体式解剖显微镜下, 用2根60 μm的金属丝穿过血管环, 分别挂置于DMT浴槽中, 浴槽中盛MOPS-PSS工作液, 恒温37 °C并且持续通入O₂. 待血管环全部置于DMT上后, 调节微调装置, 分别给CA和BA约1 mN、1.5 mN的预负荷. 每隔20 min换1次MOPS-PSS工作液, 平衡90 min后更换MOPS-KPSS工作液 (含60 mM K⁺), 检测血管活性. 2次收缩幅度 < 10%用于实验.

1.4.4 受试药物对SD大鼠离体正常CA、BA的影响 CA、BA平衡并检测血管环活性合格后, 加入U46619收缩血管, 待收缩达到最大值且平衡后累每隔10 min加入受试药, 对照组加相应体积的溶媒.

1.5 统计学处理

实验结果均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 采用 SigmaStat 10.0 统计分析软件对数据进行分析处理, 组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 受试药物对离体大鼠 CA 的舒张作用

U46619 预收缩后, 分别使用浓度累计为 0.1、0.3、1、3、10、30、100、300、1 000 μM 的受试药加入血管环中, 而正常对照组则加入溶媒对照。结果证明从 EC_{50} 及 E_{max} 来看, SCU 及双嘧达

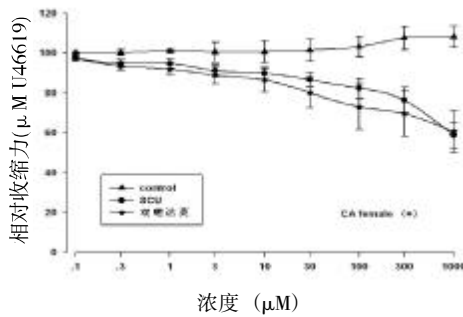


图 1 受试药舒张 SD 大鼠离体冠状动脉 (CA) 作用的累积量效关系曲线 $(\bar{x} \pm s)$

Fig. 1 The cumulative vasodilation curves of tested drugs in isolated rat coronary artery (CA) rings pretreated by U46619 $(\bar{x} \pm s)$

莫对 CA 均具有舒张作用, 且作用基本相当 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 受试药物对离体大鼠 BA 的舒张作用

与正常组 (溶媒对照) 比较, SCU、双嘧达莫均具有明显的舒张 BA 作用 ($P < 0.01$), 但 2 个受试药物的 EC_{50} 及 E_{max} 值彼此差异不大, 见表 1、图 2。

与前述 SCU、双嘧达莫舒张 CA 作用比较, SCU、双嘧达莫对 BA 的舒张作用更强, 2 个受试药在 BA 上的 EC_{50} 及 E_{max} 值较 CA 上更低, 提示 SCU、双嘧达莫对大鼠脑血管的舒张作用强于对心脏冠状血管的作用。

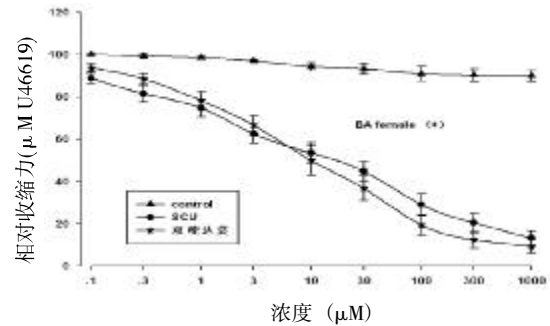


图 2 受试药物对大鼠脑基底动脉 (BA) 舒张作用的累积量效关系曲线 $(\bar{x} \pm s)$

Fig. 2 The cumulative vasodilation curves of tested drugs in isolated rat basilar artery (BA) rings pretreated by U46619 $(\bar{x} \pm s)$

表 1 受试药物舒张大鼠离体冠状动脉 (CA) 作用的 EC_{50} 和 E_{max} 比较 $(\bar{x} \pm s)$

Tab. 1 The comparison of tested drugs on EC_{50} and E_{max} of coronary artery (CA) $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	EC_{50} (μM)	E_{max} (% of U46619)
Control	8	-	100.23 \pm 0.35
SCU	9	252.92 \pm 49.57	58.94 \pm 6.37*
双嘧达莫	9	428.32 \pm 126.62	60.72 \pm 10.64*

EC_{50} 值由 SigmaPlot 10.0 拟合计算。采用 One Way Analysis; 与正常组比较, * $P < 0.05$ 。

表 2 受试药物对大鼠脑基底动脉 (BA) 作用的 EC_{50} 和 E_{max} $(\bar{x} \pm s)$

Tab. 2 The comparison of tested drugs on EC_{50} and E_{max} of basilar artery (BA) $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	EC_{50} (μM)	E_{max} (% of U46619)
Control	8	-	90.00 \pm 2.57
SCU	9	22.70 \pm 6.74	13.24 \pm 3.39**
双嘧达莫	9	15.63 \pm 4.01	9.23 \pm 3.15**

EC_{50} 值由 SigmaPlot 10.0 拟合计算。采用 One Way Analysis, SCU; 与正常组比较, ** $P < 0.01$ 。

3 讨论

灯盏花乙素、双嘧达莫等皆为从天然产物中提

取的活性物质, 具有抗心肌细胞和脑细胞缺血、缺氧的作用, 目前已经广泛应用于缺血性心脑血管疾病的治疗。研究这些天然药物对不同组织器

官血管环作用的选择性的不同, 对于进一步探讨药物的作用机制, 开发更具特异性的药物, 实现中药现代化具有重要的意义, 本实验首次将 2 种天然产物作用于离体大鼠冠状动脉和脑基底动脉上, 能够更直观地发现它们舒张血管的作用, 为下一步机制研究做出了可靠的实验基础。

SCU 在临床上常用于缺血性脑病的治疗, 同时也作为扩张脑血管的辅助用药, 广泛应用。有研究表明^[12-14], SCU 对胸主动脉^[15]、腹主动脉皆有舒张作用。郑广华等^[16]发现 SCU 对血管环有舒张作用。本实验结果表明 SCU 可舒张血栓素受体激动剂 U46619 (1 μM) 所介导的血管收缩, 在冠状动脉上的 EC_{50} 值为 (252.92 \pm 49.57) μM , 高于 SCU 在脑基底动脉上的 EC_{50} 值 (22.70 \pm 6.74) μM 。这一结果表明 SCU 对脑血管的作用比对冠状动脉的作用更为敏感。这与林莉莉^[17]研究中的结果相符, 他们认为, 灯盏花素和 SCU 改善局限性脑缺血的效果优于心肌缺血, 这也与 SCU 在临床上多用于扩张脑血管, 改善缺血性脑病症状相一致。

双嘧达莫作为一种抗血小板聚集剂在治疗血管性疾病中的应用已有很多报道, 同时双嘧达莫能抑制 5-羟色胺, 血小板因子 IV 的释放, 从而起到抑制血栓形成的作用。本研究的实验结果表明双嘧达莫可舒张血栓素受体激动剂 U46619 (1 μM) 所介导的血管收缩, 在冠状动脉上的 EC_{50} 值为 (428.32 \pm 126.62) μM , 在脑基底动脉上的 EC_{50} 值 (15.63 \pm 4.01) μM , 实验数据显示双嘧达莫改善局限性脑缺血的效果优于心肌缺血。这与 Kerkhof^[18]的研究结果相符。

在实验中笔者观察到药物对冠状动脉和对脑基底动脉的作用强度是有差别的。SCU 和双嘧达莫对脑血管的作用优于它们对冠状动脉的作用, 这种现象可能是由于脑微血管内皮与冠状微动脉内皮存在差别的缘故。研究发现, 脑微血管与冠状微血管内皮细胞存在差异^[19], 目前, 越来越多的报道指出, 血管内皮不仅具有抗凝血、调节血管通透性等作用, 还参与炎症反应、伤口愈合、粥样硬化等病理生理过程^[20]其强大的分泌功能让内皮细胞有望成为人体最大的分泌腺, 成为当前研究的热点^[21]。研究表明^[22], 内皮能分泌内皮素和 NO、血小板源生长因子- β (PDGF- β) 及控制白细胞粘附与移入的表面粘附分子等。现有研究证明, 脑微血管内皮细胞和冠状微动脉内皮细胞在生长因子、应激蛋白、信号转运蛋白和代谢酶等方面存在差异。可能正是这些差异使得药物在冠状动脉和脑基底动脉上的表现不一致。

综上所述, 灯盏花乙素、双嘧达莫对心脑血管具有保护作用, 且这种保护作用具有组织差异性。其原因可能与脑血管与冠状动脉血管存在差异有关。关于这些药物在不同血管上作用靶点的差异有待于进一步探讨。

[参考文献]

- [1] 郭玉璞主编. 神经病学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006:721.
- [2] RAJESH D, JAEHOON C, FUMIAKI I, et al. Dual manganese enhanced and delayed gadolinium enhanced MRI detects myocardial border zone injury in a pig ischemia reperfusion model [J]. Cardiovascular-Imaging, 2011, 4: 574 - 582.
- [3] DOMINIQUE C, JOACHIM C, PATRICIA R, et al. Echocardiographic analysis with a two-dimensional strain of chronic myocardial ischemia induced with ameroid constrictor in the pig [J]. Interact CardioVasc Thorac Surg, 2010, 10: 689 - 693.
- [4] MARK J P, KAORI S, MASAHIRO M, et al. Adenoviral P-R39 improves blood flow and myocardial function in a pig model of chronic myocardial ischemia by enhancing collateral formation[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2006, 290(6): 494 - 500.
- [5] 王骏, 励建安, 金挺剑, 等. 心肌缺血日负荷对新西兰兔血管内皮生长因子表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2005, 20(3): 165 - 168.
- [6] 张澍. 急性血栓性心肌梗死室性心律失常的实验研究(结果及讨论)[J]. 中华心律失常学杂志, 2001, 5(4): 221 - 228.
- [7] SALAZER A E. Experimental myocardial infarction induction of coronary thrombosis in the intact closed chest dog [J]. Circ Res, 1961, 9(3): 1351 - 1356.
- [8] FUJIKAWA H, KAWASAKI K, SOKIGUEHI H, et al. Endothelin-1 production in coronary circulation in coronary circulation in a new canine model of coronary thrombosis [J]. Cardiovasc Res, 1996, 32(3): 604 - 612.
- [9] AGRASS C M, ROSENBERG M J, JACOBS H I, et al. Prolonged shock in the closed-chest dog following coronary embolization with graded microspheres[J]. Am J Physiol, 1952, 170(2): 536 - 549.
- [10] 李继航. 咖啡酸衍生物基聚酯及其共聚物的研究进展[J]. 高分子通报, 2011, (10): 60 - 65.
- [11] 孟晓东. 潘生丁的研究现状 [J]. 广西中医药, 1997, 20(4): 32.
- [12] LIU H. Effect of scutellarin on nitric oxide production in early stages of neuron damage induced by hydrogen peroxide[J]. Pharmacol Res, 2005, 51(11): 205 - 210.

(下转第 21 页)