

夏枯草醇提取物对大鼠离体胸主动脉条收缩作用的影响

★ 孙旭丽 周大兴* 陆晓波 周闻礼 沈丹萍 刘子伟 顾静 (浙江中医药大学 杭州 310053)

摘要:目的:研究夏枯草醇提液的降压机制。方法:采用大鼠离体主动脉平滑肌标本,分别用不同浓度的夏枯草乙醇提取液拮抗 KCl、去甲肾上腺素(NE)以及 CaCl_2 引起的血管收缩所致的主动脉条收缩作用。结果:夏枯草醇提液对 KCl、NE、 CaCl_2 所致的主动脉条收缩都有一定的拮抗作用。结论:夏枯草醇提物可能是一种钙拮抗剂。

关键词:夏枯草;大鼠;离体;胸主动脉;钙拮抗剂

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

民间和临床使用夏枯草治疗高血压由来已久^[1],且应用广泛^[2],但对夏枯草的降压机制研究甚少。本实验通过观察夏枯草醇提物对大鼠离体胸主动脉收缩作用的影响,研究夏枯草醇提液的降压机制,为进一步开发利用夏枯草治疗高血压提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物 SD 大鼠,雌雄兼用,200~250 g,由浙江中医药大学动物实验中心提供。

1.2 药物 夏枯草,由湖北涡阳县源和堂中药饮片有限责任公司提供,生产批号 070124;去甲肾上腺素(Norepinephrine, NE),天津金耀氨基酸有限公司提供,生产批号:

20061011。

1.3 试剂 Krebs-Henseleit (K-H) 液 (mmol/L)^[3]: NaCl 118.0、KCl 4.75、 CaCl_2 1.8、 MgSO_4 1.2、 KH_2PO_4 1.2、 NaHCO_3 25、Glucose 11, pH7.4。

无 Ca^{2+} Krebs 液:按照正常 Krebs 液中去掉 CaCl_2 ,加入 EDTA 0.01 mmol/L。

无 Ca^{2+} 高 K^{+} Krebs 液:为无 Ca^{2+} Krebs 液中含有 K^{+} 40 mmol/L。

1.4 仪器 肌张力换能器,型号 JZJ101,量程 5 g,成都仪器厂产品;多道生理信号采集处理系统,型号 RM6240BD,成都仪器厂产品;超级恒温箱,型号 SC-15,宁波新芝生物科技股

2.3 淋巴细胞转化率

见表 3。

表 3 淋巴细胞转化率的变化(^3H -TdR 掺入值) cpm

Group	n	LPS 诱导	ConA 诱导
生理盐水对照组	10	13498 ± 422 ^{△△}	9431 ± 569 [△]
生理盐水应激组	10	7160 ± 541 ^{**▲▲}	5338 ± 219 ^{*▲}
逍遥丸对照组	10	13549 ± 520 ^{△△}	9256 ± 641 [△]
逍遥丸应激组	10	9879 ± 257 ^{*▲▲}	5629 ± 409 ^{*▲}

注:与生理盐水对照组比, * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$;与生理盐水应激组比, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与本组对照组相比, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

2.4 胸腺病理

慢性心理应激小鼠的胸腺组织形态发生轻度改变:皮、髓质见萎缩,皮质萎缩较髓质明显,皮质和髓质内的胸腺细胞分布较稀疏。逍遥丸应激组的小鼠的胸腺影响较小,胸腺体积较大,皮质和髓质内的胸腺细胞较多、较密集,髓质内上

皮性网状细胞较多,但与非应激组仍有区别。

3 讨论

逍遥丸是疏肝理气法治疗情志性疾病的代表方剂,由柴胡、当归、白芍、白术(炒)、茯苓、薄荷、生姜、甘草(炙)等组成,方中以柴胡疏肝解郁,使肝气条达为君药,临床使用疗效确切,但对其作用机制研究甚少。本实验证实逍遥丸对慢性心理应激造成的免疫系统结构损伤有保护作用,病理学检查可见服用逍遥丸的小鼠胸腺体积较应激组大,细胞多且密集。另外本研究也证实逍遥丸有降低应激性血清糖皮质激素水平、抑制胸腺细胞凋亡的作用,且对慢性心理应激动物的细胞免疫功能有改善作用(提高 NK 细胞活性、淋巴细胞转化率)。在实验过程中我们也观察到服用逍遥丸后应激小鼠的一般状态得到改善,如:理毛、修饰、睡眠时间增多、进食量增加,而单纯应激组的小鼠有明显表现出拒捕、抓咬、不安、烦躁和惊恐的行为特点。

(收稿日期:2007-07-16)

* 通讯作者:周大兴,教授,博士生导师,TEL:0571-86613603, Email:zdx205@163.com

份有限公司产品;电子天平,京制 00000249 号,北京塞多利斯仪器系统有限公司产品;氧气筒。

2 方法

2.1 夏枯草醇提液的制备 50 g 夏枯草用 75% 的乙醇浸泡 30~60 min,连续提取 2 次,第 1 次为 4 h,第 2 次为 2 h,提取液合并,减压回收乙醇,再将乙醇提取液浓缩至 100 ml (0.5 g 生药/ml) 备用。

2.2 大鼠胸主动脉条标本的制备^[4] 每次取健康大鼠一只,拉颈处死,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,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宽约 5 mm 的螺旋动脉条,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换能器的力臂上,用多道生理信号采集处理系统记录数据。浴槽内的 Krebs 液保持 37℃,浴槽容积保持于 20 ml。营养液中饱和供应 95% O₂ + 5% CO₂ 的混合气体,标本负荷 1 g,每 15~20 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^[5]。

2.3 夏枯草醇提液对离体大鼠胸主动脉条收缩的影响 首先加入夏枯草醇提液或生理盐水到浴槽中,作用 3 min,再分别加入 KCl、NE、CaCl₂ 观察其引起的主动脉条收缩反应的程度,计算收缩百分率。

2.4 统计学处理 实验数据采用 SPSS 软件进行统计分析,组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 夏枯草醇提液拮抗 KCl 所致的主动脉条收缩作用 以 KCl 30 mmol/L 引起主动脉条引起痉挛性收缩,其收缩程度作为对照;之后用 Krebs 液反复冲洗标本,待其张力恢复至基线后 20 min,加入夏枯草醇提液 0.2 ml,测定夏枯草拮抗主动脉收缩作用;之后用 Krebs 液反复冲洗标本,待其张力恢复至基线后 20 min,再加夏枯草醇提液 0.4 ml,测定夏枯草拮抗主动脉收缩作用;之后再用 Krebs 液反复冲洗标本,待其张力恢复至基线后 20 min,最后加夏枯草醇提液 0.6 ml,测定夏枯草拮抗主动脉收缩作用。

1.2 夏枯草醇提液拮抗 NE 所致的主动脉条收缩作用 以 NE 4×10^{-3} mg/ml 引起主动脉条引起痉挛性收缩,其收缩程度作为对照;之后用 Krebs 液反复冲洗标本,待其张力恢复至基线后 20 min,按上述方法分别加入夏枯草醇提液 (0.2、0.4、0.6 ml),测定夏枯草拮抗主动脉收缩作用。

1.3 夏枯草醇提液拮抗 CaCl₂ 所致的主动脉条收缩作用 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,使 CaCl₂ 在浴槽中的浓度为 2 mmol/L,并引起主动脉条引起痉挛性收缩,其收缩程度作为对照。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,分别加入夏枯草醇提液 (0.2、0.4、0.6 ml) 后重测夏枯草拮抗主动脉收缩作用。

结果见表 1。夏枯草醇提液能够拮抗 KCl、NE、CaCl₂ 所

致的主动脉条收缩反应,并呈剂量依赖关系。

表 1 夏枯草乙醇提取液拮抗

KCl、NE、CaCl₂ 所致的主动脉条收缩作用 (n=4)

夏枯草剂量 /mg·ml ⁻¹	收缩百分率(%)		
	KCl	NE	CaCl ₂
NS	98.50±0.75	98.10±0.37	97.90±0.26
5	86.00±3.93*	56.90±2.91*	83.10±4.51*
10	51.60±3.57*	34.30±3.24*	53.30±6.61*
15	8.80±1.40**	6.50±0.98**	9.70±1.84**

注:与生理盐水组相比,* P<0.05,** P<0.01。

4 讨论

血管收缩是引起高血压病的一个机制,降低血管(特别是中小动脉)平滑肌的张力、扩张血管是降血压药物降压的重要机制,而钙离子拮抗剂在导致血压下降的方面具有重要地位^[6]。细胞膜上存在两类钙通道^[7],一为电压依赖型通道(PDC),一定量 K⁺ 能使细胞膜去极化,PDC 开放,钙离子经此内流。还有一种为受体控制型通道(ROC),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。正常情况下,细胞外的钙离子浓度远远大于细胞内的钙离子浓度,这种浓度梯度的维持主要靠的是钙离子通道。一旦细胞膜上钙离子通道调控失灵,大量钙离子进入细胞内,兴奋收缩耦联反应亢进,引起血管平滑肌收缩,血压升高。本实验通过研究夏枯草乙醇提取液对钙离子通道的影响来探索其降压机制。

本实验结果显示夏枯草的乙醇提取液对 KCl、NE 所致的主动脉条收缩有不同程度的拮抗作用,表明夏枯草乙醇提取液对 PDC 和 ROC 均具一定程度的拮抗作用,同时由于对 CaCl₂ 所致的主动脉条收缩也具拮抗作用,表明夏枯草乙醇提取液可以通过某种途径阻滞钙离子内流。因此,夏枯草醇提取液可能是一种钙通道拮抗剂,且夏枯草的醇提取液对 KCl、NE、CaCl₂ 所致的主动脉条收缩的拮抗作用,随着浓度的增加,拮抗作用更加明显。

参考文献

- [1]刘敬顺.夏枯草药理作用实验研究简况[J].山西中医,2002,18(2):52-53.
- [2]孙红,袁秉祥,刘波,等.4种夏枯草提取物对家兔离体胸主动脉的作用[J].西安交通大学学报·医学版,2005,26(1):19-21.
- [3]张根水,宜全.厚朴酚对大鼠主动脉收缩的影响[J].中药药理与临床,2005,21(5):16-17.
- [4]彭晓云,温绍君,陶燕铎,等.藏药 1 号水提液对大鼠离体胸主动脉条收缩作用的影响[J].中药药理与临床,2003,19(2):43-45.
- [5]Guerrero MF, Carron R, Martin ML, et al. Antihypertensive and vasorelaxant effects of aqueous extract from *Croton schiedeanus* Schlecht in Rats[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2001; (75): 33-36.
- [6]陈修,陈维洲,曾贵云.心血管药理学[M].第 2 版.北京:人民卫生出版社,1989:497.
- [7]张顺国,陈敏玲,唐跃年,等.钙拮抗剂的研究进展及临床应用[J].中国综合临床,2001,17(2):81-82.

(收稿日期:2007-09-25)