

## • 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2003) 11-04-0322-03

## 甲基莲心碱对兔离体脑基底动脉收缩的影响

卢青<sup>1</sup>, 柯庆<sup>2</sup>

(1. 杭州市第一人民医院血液科, 浙江省杭州市 350001; 2. 南华大学医学院生理学教研室, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 生理学; 甲基莲心碱的血管效应; 离体兔脑基底动脉环实验; 甲基莲心碱; 苯肾上腺素; 脑基底动脉; 内皮, 血管

[摘要] 为了研究甲基莲心碱对兔离体脑基底动脉收缩的影响及与血管内皮的关系, 采用离体兔脑基底动脉环实验方法, 以苯肾上腺素为兔脑基底动脉环的预收缩剂, 测定血管张力变化, 观察甲基莲心碱对血管收缩张力的影响; 测定血管内皮完整组和去血管内皮组的张力变化, 观察甲基莲心碱对血管收缩张力的影响是否为血管内皮依赖性的作用。结果发现: 甲基莲心碱抑制苯肾上腺素引起的兔脑基底动脉环收缩的作用与生理盐水对照组比较差异显著 ( $P < 0.001$ ); 甲基莲心碱对内皮完整组和对去内皮组血管环的最大舒张百分值分别为  $38.4\% \pm 9.1\%$  和  $33.4\% \pm 11.5\%$ , 差异无显著性统计学意义 ( $P > 0.05$ )。提示甲基莲心碱能抗苯肾上腺素诱导的兔离体脑基底动脉收缩, 其扩血管的作用主要是其直接松弛血管平滑肌所致。

[中图分类号] R33

[文献标识码] A

## Effects of Neferine on the Rabbit Basilaris Arteria Constriction in Vitro

LU Qing<sup>1</sup>, and KE Qing<sup>2</sup>

(1. The Department of Blood Research, Hangzhou the First People's Hospital, Hangzhou 350001; 2. The Department of Physiology, Medical College of Nanhua University, Hengyang 421001, China)

[KEY WORDS] Neferine; Phenylephrine; Basilaris Arteria; Endothelium; Rabbit

[ABSTRACT] **Aim** To study the effects of neferine (Nef) on constriction of the rabbit basilaris arteria induced by phenylephrine (Phe). **Methods** The blood vessel tension responses to drug were measured by rabbit basilaris arteria rings (RBAR) endothelium being removed and intact endothelium in vitro. **Results** The RBAR precontracted with Phe can be relaxed by Nef with a significant difference from saline control group ( $P < 0.001$ ). The vasodilatation of Nef was not significantly differences between the endothelium removed and intact endothelium groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusions** The RBAR precontracted with Phe can be relaxed by Nef in vitro. The vasodilatation of Nef is independent of endothelium.

甲基莲心碱 (neferine, Nef) 系中药莲子心中的一种双苄基异喹啉类生物碱, 具有钙拮抗剂作用; 能抗心律失常、心肌缺血、保护心肌缺血一再灌注损伤、抗血小板聚集、扩张外周血管、降血压等广泛的心血管药理作用<sup>[1-4]</sup>。但关于 Nef 对脑血管疾病的作用的研究, 国内外尚未见资料报道。已知脑血管与外周血管存在明显的结构、受体、对药物、递质等方面的差异。选用脑血管作为研究 Nef 对脑血管的作用, 具有重要的实际意义<sup>[4]</sup>。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料

苯肾上腺素 (phenylephrine, Phe)、维拉帕米 (ver-

apamil, Ver)、乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 均购自 Sigma 公司; 甲基莲心碱 (neferine, Nef) 购自安徽宣州 DELTA 天然有机化合物信息中心, 用 1 mol/L HCl 少量溶解后, 以 0.1 mol/L NaOH 调 pH 至 5.63, 用时以生理盐水稀释至所需浓度。

## 1.2 离体动脉环的制备和血管张力的测定

采用本室所建的方法<sup>[4]</sup>, 取兔脑基底动脉, 剪取长约 3~4 mm 的动脉环, 置于盛有预冷的、充有氧气的 K-H 液中, 保存于 4℃ 冰箱中备用。取 3 mm 长的兔脑基底动脉环, 置于 37℃ K-H 液中, 持续充以低流量的氧气, 静息负荷 200 mg, 平衡 120 min, 加 Phe 使血管收缩达坪值时, 直接加入不同浓度的药物, 观察血管张力的变化。

## 1.3 甲基莲心碱的舒张血管实验

取 3 mm 长的兔脑基底动脉环一个, 置于 37℃ K-H 液中, 持续充以低流量的氧气, 静息负荷 200 mg, 平衡 120 min, 加 Phe 100 μmol/L 使血管收缩达坪值时, 将 Nef 1 mmol/L 直接加入血管环, 观察血管环

[收稿日期] 2003-04-03 [修回日期] 2003-06-18

[基金项目] 湖南省教育厅科研项目 (01C195) 资助

[作者简介] 卢青, 男, 1957 年出生, 福建省福州市人, 医学硕士。柯庆, 女, 1955 年出生, 广东省丰顺县人, 教授, 为本文通讯作者。

的舒张反应,同时另取 2 个血管环,以生理盐水和 Ver 作为对照实验,重复 7 次。

#### 1.4 甲基莲心碱的内皮依赖性舒张血管实验

取 3 mm 长的兔脑基底动脉环两个,其一用粗细与血管相当的糙面钢丝插入血管环去内皮,静息负荷 200 mg,平衡 120 min,加 Phe 100  $\mu$ mol/L 使血管收缩达坪值时,观察 ACh (0.01、0.1、1、10  $\mu$ mol/L) 诱导的血管舒张反应,检验内皮完整性。冲洗平衡 45 min,再以 Phe 100  $\mu$ mol/L 收缩血管环达坪值,递增浓度累积加入 Nef (1、10、100  $\mu$ mol/L 和 1 mmol/L),观察两血管环的舒张反应;另取一对动脉环以生理盐水和 ACh 作药物对照实验,重复 7 次。

#### 1.5 统计学处理

所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较用  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有显著性统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 甲基莲心碱对苯肾上腺素诱发收缩的兔脑基底动脉环的舒张作用

当用 100  $\mu$ mol/L Phe 诱发兔脑基底动脉环收缩后,用 1 mmol/L Nef 能明显引起收缩着的脑基底动脉环舒张,舒张反应程度与等摩尔浓度的 Ver 无明

显差异(表 1, Table 1)。

表 1. 甲基莲心碱对苯肾上腺素诱发收缩的兔脑基底动脉环的舒张作用

Table 1. Relaxation of Nef on contracted basilaris arteria rings induced by Phe in the rabbit

处理因素	<i>n</i>	舒张反应程度
生理盐水	7	2.6% $\pm$ 0.3%
维拉帕米	7	37.8% $\pm$ 9.2% <sup>a</sup>
甲基莲心碱	7	36.4% $\pm$ 9.8% <sup>ab</sup>

a:  $P < 0.001$ , 与生理盐水比较; b:  $P > 0.05$ , 与维拉帕米比较。

### 2.2 甲基莲心碱舒张血管与内皮的关系

用 100  $\mu$ mol/L Phe 使血管收缩达坪值时,在灌流液中递增浓度累积加入 0.01、0.1、1、10  $\mu$ mol/L ACh,内皮完整(intact endothelium, IE)的血管产生明显的舒张反应,而去内皮(endothelium removed, ER)血管不仅舒张作用消失,反而有轻微收缩(表 2, Table 2),说明去血管内皮成功。生理盐水无论是对内皮完整血管,还是对去内皮血管都几乎不产生舒张反应。此结果进一步证明,ACh 对收缩着的血管诱发舒张作用是内皮依赖性的。

表 2. 乙酰胆碱对苯肾上腺素诱发收缩的两种兔脑基底动脉环的舒张反应

Table 2. Relaxation of ACh on contracted basilaris arteria rings induced by Phe in the rabbit

药物浓度 ( $\mu$ mol/L)	内皮完整血管		去内皮血管	
	生理盐水	乙酰胆碱	生理盐水	乙酰胆碱
0.01	0.03% $\pm$ 0.01%	5.2% $\pm$ 0.7% <sup>a</sup>	0.02% $\pm$ 0.01%	- 0.03% $\pm$ 0.01% <sup>b</sup>
0.1	0.02% $\pm$ 0.01%	12.3% $\pm$ 2.3% <sup>a</sup>	0.02% $\pm$ 0.01%	- 3.0% $\pm$ 0.6% <sup>ab</sup>
1	0.03% $\pm$ 0.03%	17.6% $\pm$ 2.8% <sup>a</sup>	0.03% $\pm$ 0.01%	- 3.5% $\pm$ 0.9% <sup>ab</sup>
10	0.03% $\pm$ 0.01%	22.4% $\pm$ 6.2% <sup>a</sup>	0.03% $\pm$ 0.01%	- 6.6% $\pm$ 1.4% <sup>ab</sup>

a:  $P < 0.01$  与生理盐水比较, b:  $P < 0.001$  与内皮完整血管比较

表 3. 甲基莲心碱对两种兔脑基底动脉环的舒张反应

Table 3. Relaxation of Nef on contracted basilaris arteria rings induced by Phe in the rabbit

药物浓度 ( $\mu$ mol/L)	内皮完整血管		去内皮血管	
	生理盐水	甲基莲心碱	生理盐水	甲基莲心碱
1	0.07% $\pm$ 0.02%	0.06% $\pm$ 0.02%	0.06% $\pm$ 0.02%	0.07% $\pm$ 0.01% <sup>b</sup>
10	0.06% $\pm$ 0.01%	4.7% $\pm$ 1.8% <sup>a</sup>	0.06% $\pm$ 0.01%	4.1% $\pm$ 1.9% <sup>ab</sup>
100	0.06% $\pm$ 0.01%	11.1% $\pm$ 2.4% <sup>a</sup>	0.06% $\pm$ 0.01%	10.3% $\pm$ 2.3% <sup>ab</sup>
1 000	0.06% $\pm$ 0.01%	38.4% $\pm$ 9.1% <sup>a</sup>	0.06% $\pm$ 0.01%	33.4% $\pm$ 11.5% <sup>ab</sup>

a:  $P < 0.01$ , 与生理盐水比较; b:  $P > 0.05$ , 与内皮完整血管比较。

用 Nef 来代替 ACh 重复上述实验时发现,无论

是内皮完整血管还是去内皮血管,都能使其由收缩

状态转化为舒张状态(表 3, Table 3)。此结果提示, Nef 对收缩着的血管诱发的舒张作用是非内皮依赖性的。

### 3 讨论

迄今为止,发现包括脑动脉在内的血管平滑肌有钙通道、钾通道、氯通道和非选择性阳离子通道。离子通道活性除了受本身的门控机制调节外,还受机体的神经和内分泌系统调控。参与机制甚多,主要有受体、G 蛋白和第二信使等。

脑血管和其他大多数血管平滑肌一样,均有  $\alpha$  肾上腺素受体分布, Phe 可激活  $\alpha_1$  受体,  $\alpha_1$  受体通过与其耦联的 Gp 激活磷脂酶 C(PLC)而促进二磷酸酯酰肌醇(PIP<sub>2</sub>)分解为二酰甘油(DG)和三磷酸肌醇(IP<sub>3</sub>), DG 通过 PKC 而抑制 KATP 通道; IP<sub>3</sub> 引起细胞内储  $\text{Ca}^{2+}$  释放,使胞浆内钙浓度( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ )增加,从而激活非选择性阳离子通道和  $\text{Ca}^{2+}$  激活氯通道,两者均使膜去极化而开放 L 型钙通道,细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  内流引起平滑肌收缩<sup>[5]</sup>。

乙酰胆碱(ACh)可直接激活血管平滑肌 M<sub>3</sub> 受体, M<sub>3</sub> 受体通过与其耦联的 G<sub>s</sub> 激活 AC-cAMP-PKC 途径或通过与其耦联的 G<sub>p</sub> 激活 PLC-DG 和 IP<sub>3</sub> 途径,使 L 型钙通道开放,细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  内流引起平滑肌收缩<sup>[5]</sup>。

本实验结果表明:一定浓度 ACh、Ver 和 Nef 均可对抗 Phe 诱导的兔脑基底动脉环的收缩,但各个作用机制不尽相同。在血管内皮完整时, Phe 诱导的兔脑基底动脉环的收缩能被低浓度 ACh 对抗,出现血管舒张反应;而在血管内皮不完整时,低浓度 ACh 不能对抗 Phe 诱导的兔脑基底动脉环的收缩,反而出现血管收缩加强的现象。低浓度 ACh 使血管平滑肌舒张是因为 ACh 通过作用于血管内皮,使其释放内皮细胞舒张因子抵抗其本身和 Phe 对血管

平滑肌的直接收缩作用所致<sup>[5,6]</sup>。

维拉帕米(Ver)能选择性阻断脑血管平滑肌细胞膜上 L-型电压依赖性钙通道,抑制细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  内流,使  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  降低,从而抵抗 Phe 对血管平滑肌的直接收缩作用,引起血管平滑肌舒张<sup>[4]</sup>。

甲基莲心碱对心血管系统具有多种作用,它不仅能抗心律失常<sup>[2]</sup>,而且在动脉粥样硬化中可能具有作用。例如,影响血小板聚集和血栓形成。文献[7]报道,甲基莲心碱在体外,能对抗  $\text{Cu}^{2+}$  介导的低密度和极低密度脂蛋白的氧化修饰,而且由此抑制了巨噬细胞对脂蛋白的摄取。本文发现,甲基莲心碱(Nef)能对抗 Phe 诱导的兔脑基底动脉环的收缩,在血管内皮完整和血管内皮不完整组, Nef 阻断 Phe 诱导的兔脑基底动脉环的收缩的程度差别不大,这说明 Nef 抗 Phe 引起的兔离体脑基底动脉收缩的作用机制不是内皮依赖性舒张机制,而是可能与直接阻断脑血管平滑肌细胞膜上  $\alpha_1$  受体的兴奋机制有关,但关于 Nef 抑制了  $\alpha_1$  受体的兴奋作用机制中的哪个环节还不清楚, Nef 是否还有其他抑制血管收缩机制,还需进一步的探讨。

#### [参考文献]

- [1] 李贵荣, 钱家庆, 吕富华. 甲基莲心碱对离体兔心肌的影响. 中国药理学报, 1988, 9(2): 139-142
- [2] 夏国瑾, 刘玉芬, 吕富华. 甲基莲心碱对实验性心律失常的影响. 同济医科大学学报, 1986, 3: 200
- [3] 黄红林, 饶曼人. 甲基莲心碱及牛黄酸合用对大鼠血小板聚集和血栓形成的影响. 药学报, 1995, 30(7): 486
- [4] 柯庆, 胡必利, 朱炳阳, 李良, 周太国, 廖端芳. 家兔脑基底动脉离体制备动脉环与张力记录方法的改进及应用价值. 中国动脉硬化杂志, 2001, 9(1): 71-73
- [5] 朱莉. 血管平滑肌的钙通道. 国外医学—心血管疾病分册, 1995, 22(6): 323
- [6] Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of the endothelium in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature, 1980, 288: 373-376
- [7] 吴捷新, 冯友梅, 从容, 宗义强, 王淳本, 冯宗忱. 甲基莲心碱在体外对抗脂蛋白的氧化. 中国动脉硬化杂志, 1999, 7(1): 40-43

(此文编辑 胡必利)