

LDH 是一种胞内酶,天山雪莲细胞培养物处理破骨细胞 48 h 后,细胞膜损伤,使胞外 LDH 活性显著增强,呈剂量依赖性。采用 Annexin V-PI 双染流式细胞术进行细胞凋亡检测,发现天山雪莲细胞培养物能够诱导破骨细胞凋亡,且凋亡率变化呈剂量依赖性;这一结果与 LDH 活性结果一致。而 MTT 结果表明,天山雪莲细胞培养物黄酮质量浓度在 $\leq 125\text{ }\mu\text{g/mL}$ 时对 RAW264.7 细胞无毒,说明胞外 LDH 活性的增强和凋亡率的提高是由于天山雪莲细胞培养物对破骨细胞的毒性作用。

综上所述,天山雪莲细胞培养物能够抑制 RANKL 诱导 RAW264.7 破骨细胞的形成;并能诱导破骨细胞凋亡,从而降低破骨细胞的骨吸收活性。

参考文献:

[1] 韦善君,武运芳,罗云燕,等. 濒危药用植物新疆雪莲资源的研究进展[J]. 中央民族大学学报: 自然科学版, 2014, 23(2): 10-15.

[2] Rachner T D, Khosla S, Hofbauer L C. Osteoporosis: now and the future [J]. *Lancet*, 2011, 377(9773): 1276-1287.

[3] 刘江涛,贾吉光,段 伟,等. 经皮椎体成形术治疗骨质疏松性椎体压缩性骨折[J]. 骨科, 2012, 36(5): 342-343.

[4] 巫松辉,钟招明,陈建庭. RANKL 诱导破骨细胞前体细胞分化成熟[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(6): 963-965.

[5] Tang C H, Chang C S, Tan T W, *et al.* The novel isoflavone derivatives inhibit RANKL-induced osteoclast formation [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 648(1-3): 59-66.

[6] 王 信,汪 洋,朱勇军,等. 诱导小鼠破骨前体细胞成熟分化的实验条件探讨[J]. 中国骨质疏松杂志, 2011, 17(3): 190-194.

[7] Kim M H, Ryu S Y, Bae M A, *et al.* Baicalein inhibits osteoclast differentiation and induces mature osteoclast apoptosis [J]. *Food Chemtoxicol*, 2008, 46(11): 3375-3382.

[8] 王艳双,罗 速,张大方. 梅花鹿茸 I 型胶原对破骨细胞的影响及其分子机制[J]. 中草药, 2013, 44(24): 3503-3509.

[9] Igarashi Y, Lee M Y, Matsuzaki S. Acid phosphatases as markers of bone metabolism [J]. *J Chromatogr B*, 2002, 781(1-2): 345-358.

[10] Halleen J M, Raisanen S R, Alatalo S L, *et al.* Potential function for the ROS-generating activity of TRACP [J]. *J Bone Miner Res*, 2003, 18(10): 1908-1911.

[11] Ishibashi O, Niwa S, Kadoyama K, *et al.* MMP-9 antisense oligodeoxynucleotide exerts an inhibitory effect on osteoclastic bone resorption by suppressing cell migration [J]. *Life Sci*, 2006, 79(17): 1657-1660.

阿魏酸对大鼠离体胸主动脉舒缩功能的影响

周 鸿^{1,2}, 霍利琴¹, 张静泽^{3*}, 佟永领², 高文远^{1*}

(1. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2. 天津中新药业集团股份有限公司第六中药厂, 天津 300401; 3. 武警后勤学院生药学与药剂学教研室, 武警部队特需药物研发中心, 天津 300309)

摘要: **目的** 基于气体信号分子途径,分析阿魏酸(ferulic acid)对大鼠离体胸主动脉舒缩功能的影响。**方法** 采用大鼠离体胸主动脉环,加入 3 种气体信号分子的抑制剂,即一氧化氮合酶的抑制剂 N^G-硝基-L-精氨酸甲酯(L-NAME)、血红素加氧酶-1(HO-1)抑制剂锌卟啉(ZnPP)、胱硫醚-γ裂解酶抑制剂炔丙基甘氨酸(PAG),进行体外血管舒张实验。**结果** 加入 3 种气体信号分子抑制剂均能显著抑制阿魏酸的舒张血管作用(与空白组相比分别为 $P<0.01$, $P<0.01$, 和 $P<0.05$),且不同浓度的阿魏酸均使 CaCl₂ 量效曲线右移($P<0.01$),且可显著性降低无钙高钾 K-H 液中去甲肾上腺素 NE 引起的收缩($P<0.01$)。**结论** 阿魏酸的舒血管作用由 NO、CO 和 H₂S 3 种气体信号分子通路介导,并通过血管平滑肌上的电压依赖性钙通道和受体依赖性钙通道发挥作用。

关键词: 阿魏酸;胸主动脉环;气体信号分子抑制剂;N^G-硝基-L-精氨酸甲酯;锌卟啉;丙基甘氨酸;NO;CO;H₂S

中图分类号: R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)01-0006-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.01.002

收稿日期: 2015-03-13

作者简介: 周 鸿 (1970—),男,硕士,高级工程师,研究方向为应用化学。Tel:(022)84876773, E-mail: jingzezhanglx@126.com

* **通信作者:** 张静泽 (1977—),女,副教授,主要从事中药复方作用物质基础研究。Tel:(022)84876773, E-mail: zhangjingze1977@163.com

高文远 (1965—),男,教授,博士生导师,主要从事中药复方作用物质基础研究。Tel:(022)87401895, E-mail: pharm-gao@tju.edu.cn

Effect of ferulic acid on vasorelaxant of thoracic aortic rings in rats

ZHOU Hong^{1,2}, HUO Li-qin¹, ZHANG Jing-ze^{3*}, TONG Yong-ling², GAO Wen-yuan^{1*}

(1. College of Pharmaceuticals and Biotechnology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. No. 6 Traditional Chinese Medicine Factory, Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300401, China; 3. Military Special Drug R&D Center, Logistics College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300309, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the vasorelaxant effect of ferulic acid on thoracic aortic rings isolated from rats. **METHODS** Three gas signal molecule inhibitors, including nitric oxide synthase inhibitor N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), heme oxygenase 1 (HO-1) inhibitor zinc-protoporphyrin (ZnPP) and urinary sulfur ether-lyase inhibitor DL-propargylglycine (PAG), were incubated with rats' thoracic aortic rings, and then recorded *in vitro* vasorelaxant information. **RESULTS** Three gas signal molecule inhibitors could markedly inhibit vasorelaxant effect of ferulic acid compared with the control group ($P < 0.01$, $P < 0.01$ and $P < 0.05$). Ferulic acid made the dose-effect curve of CaCl₂ right movement ($P < 0.01$) and noticeably inhibited extracellular Ca²⁺-induced contraction in high-K⁺ and NE pre-challenged rings. **CONCLUSION** The vasorelaxant effect of fulic acid is related to the presence of three gas signal inhibitors and with the help of voltage dependent calcium channel and receptor dependent calcium channel on vascular smooth muscle.

KEY WORDS: ferulic acid; thoracic aortic ring; gas signal molecule inhibitor; N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME); zinc-protoporphyrin (ZnPP); DL-propargylglycine (PAG); NO; CO; H₂S

阿魏酸 (ferulic acid, FA, 化学结构如图 1 所示), 为中药阿魏、当归、川芎、升麻、酸枣仁中的主要活性成分, 因具有较高的含有量, 故常作为中药质量控制的指标成分之一^[1]。阿魏酸能够抗血小板聚集、抑制血小板 5-羟色胺释放^[2]、抑制血小板血栓素 A₂ (TXA₂) 的生成、增强前列腺素活性^[3]、镇痛、缓解血管痉挛、脑组织保护^[4]等作用, 是用于生产治疗心脑血管疾病及白细胞减少等药品的基本原料。

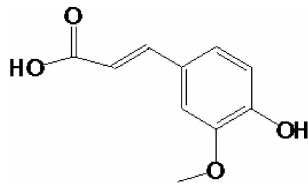


图 1 阿魏酸化学结构

Fig. 1 Chemical structure of ferulic acid

生物体及细胞内存在复杂多样的信号途径, 传统细胞信号转导系统由信号接收器 (如受体)、受体后信号转导通路及其效应器组成。气体信号分子 (gaseous signal molecules) 是一类不同于传统细胞信号分子的气体小分子物质, 其特点如下: (1) 在酶的催化下内源性产生, 受体内代谢途径的调控; (2) 不依赖膜受体而自由通过细胞膜; (3) 在生理浓度下有明确的特定功能;

(4) 其细胞学效应可依赖或不依赖第二信使介导, 但具有特定细胞内分子靶点。气体信号分子以其独有的可连续产生、传播迅速、快速弥散等特点引起科学界的广泛关注。20 世纪 80 年代中期, 研究发现 NO 这种简单的气体分子通过第二信使 cGMP 实现舒张血管、抑制血小板聚集和抑制细胞增殖等广泛的生物学效应, 代表了一种新型的非受体依赖性信号转导机制, 开创了气体信号分子这一新的研究领域, 被 Science 杂志评为“明星分子”。继 NO 之后, 20 世纪 90 年代中期又发现了第二种气体信号分子一氧化碳 (carbon monoxide), 一氧化碳通过上调细胞内环磷酸鸟苷 (cGMP) 水平而发挥生物学效应。同期还发现 H₂S (hydrogen sulfide) 对神经系统、消化道平滑肌的张力具有调节作用, 称为继 NO、一氧化碳后发现的体内第三种气体^[2]信号分子。上述 3 种气体信号分子均具有明确的心血管效应, 参与心血管疾病的发生发展, 已成为心血管疾病领域的研究热点^[5]。

血管舒张的作用机制包括内皮依赖性和非内皮依赖性, 非内皮依赖性作用机制主要与钙、钾等离子通道有关, 内皮依赖性的舒血管作用机制主要依赖于内皮层的存在及它分泌的一氧化氮、前列环素、内皮依赖性超极化因子的作用, 其中 NO 信号通路占大部分^[6], 鲜有基于 CO 信号通路和 H₂S 信

号通路舒缩血管机制的研究。本实验基于 NO/CO/H₂S 这 3 种气体信号分子,分析阿魏酸对大鼠离体胸主动脉舒缩功能的影响及其可能的机制,为其用于心脑血管疾病的治疗提供进一步的实验及理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 Sprague-Dawley 大鼠,雄性,质量为 (200 ± 20) g,由军事医学科学院实验动物中心提供;许可证号:SCXK-2007-004,大鼠置于 25 ℃ 条件下适应性饲养 1 周后进行实验。

1.2 仪器及药品 BL-420F 生物机能实验系统(成都泰盟软件有限公司),HW100 超级恒温水浴(成都泰盟软件有限公司),CP225D 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)等。阿魏酸,购于天津一方科技有限公司;去甲肾上腺素,乙酰胆碱,氯化钾等。Krebs-Henseleit (K-H) 营养液(NaCl 118 mmol/L、KCl 4.7 mmol/L、MgSO₄ 1.2 mmol/L、KH₂PO₄ 1.2 mmol/L、NaHCO₃ 25 mmol/L、CaCl₂ 2.5 mmol/L、D-葡萄糖 10.6 mmol/L)。用 1 mol/L HCl 调至 pH 至 7.4,通混合气体(95% O₂ + 5% CO₂)。

1.3 离体胸动脉的制备及记录 将大鼠处死后,迅速开胸剖腹,取出胸主动脉,置于盛有 4 ℃ 纯氧饱和 K-H 营养液的培养皿内,立即清除血污,仔细分离血管周围组织,剪成长约 3 ~ 4 mm 的血管环,其中一个血管环用机械方法去除内皮。然后分别将 2 根直径为 0.1 mm 呈三角环状的不锈钢丝小心穿入,随后置于容量为 12 mL K-H 营养液的 37 ℃ 恒温浴槽内,下端固定,上端通过张力换能器连于自动平衡记录仪,记录血管环肌的张力变化,持续通入 95% O₂ 和 5% CO₂ 混和气。调节血管环前负荷为 1 g,平衡 60 min 后开始给药,平衡期间浴槽内营养液每 15 min 更换 1 次。

平衡期末,以 60 mmol/L KCl 预收缩血管环,检查血管活性。达到最大收缩后洗脱,平衡 2 次,每次 15 min。用 NE (10⁻⁶ mol/L) 预收缩动脉环,待收缩稳定加入 10⁻⁵ mol/L 乙酰胆碱(ACh)检查血管内皮活性,以舒张幅度大于 70% 认为内皮完整。当 ACh 不产生舒张作用或舒张幅度小于预收缩的 10% 时,认为已去除内皮。

1.4 3 种气体信号分子对阿魏酸舒张血管作用的影响 在去甲肾上腺素 NE (10⁻⁶ mol/L) 预收缩血管的条件下,观察不同浓度的药物对血管张力的影响。以 NE 诱发最大收缩幅度为 100%,药

物诱发血管舒张的幅度与 NE 诱发最大收缩幅度之间的比率为血管的舒张率。为获得剂量-舒张反应曲线,药物按累加浓度加入浴槽中,按每一浓度时的最大反应进行计算,舒张率(%) = 加入药物后张力减小幅度/NE 诱发的最大张力增长幅度 × 100%。

分别用一氧化氮合酶抑制剂 N^G-硝基-L-精氨酸甲酯(L-NAME)、血红素加氧酶-1 (HO-1) 抑制剂锌卟啉(ZnPP)、胱硫醚-γ裂解酶(CSE)的抑制剂沃丙基甘氨酸(PAG)孵育血管环 25 min,再加入 NE 预收缩血管环,平衡后开始给药。

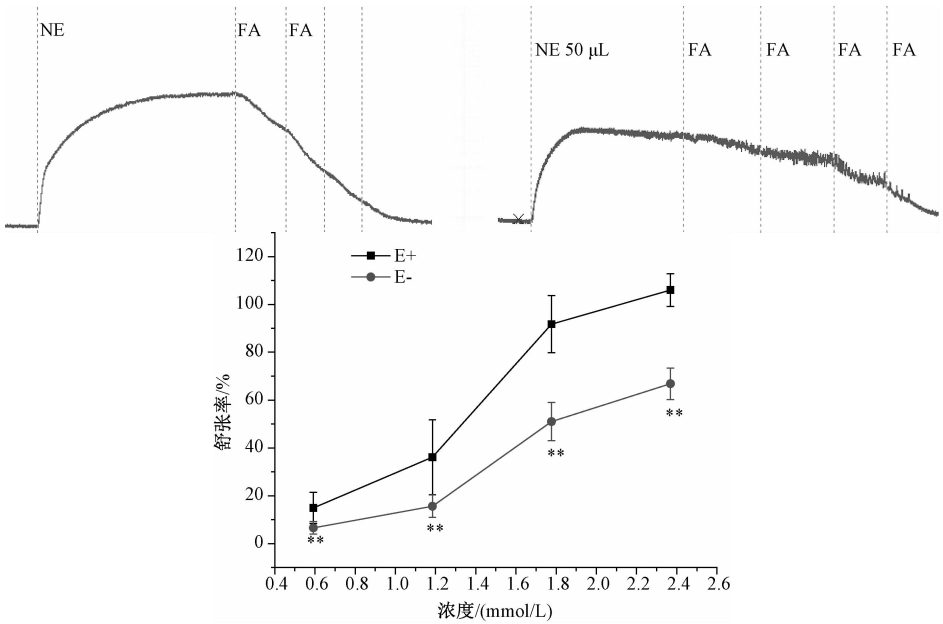
1.5 外钙内流和内钙释放对阿魏酸舒张血管作用的影响 研究 Ca²⁺ 内流对阿魏酸舒血管作用的影响时,将大鼠胸主动脉环放置于正常 K-H 液中平衡 1 h,用无钙高钾(80 mmol/L) K-H 液替换正常 K-H 液,将胸主动脉环置于无钙高钾 K-H 液中温育 30 min,累计加 CaCl₂,使其浓度从 3 × 10⁻⁵ ~ 3 × 10^{-2.5} mol/L,建立 CaCl₂ 量效曲线,包括:(1)空白对照,累计加 CaCl₂; (2)累计加 CaCl₂ 之前,先分别用维拉帕米 0.025 mmol/L (Ca²⁺ 通道阻滞剂)、阿魏酸 1.18、2.36 mmol/L 处理。数据处理时将空白对照组中的高浓度 3 × 10^{-2.5} mol/L 的收缩作用看做 100%。

研究肌浆网储存钙释放对阿魏酸舒血管作用的影响时,将大鼠胸主动脉环放置于正常 K-H 液中平衡 1 h,用无钙高钾(80 mmol/L) K-H 液替换正常 K-H 液,将胸主动脉环置于无钙高钾 K-H 液中温育 30 min,依次加阿魏酸 1.18、2.36、3.55 mmol/L 孵育血管环 20 min 后,加入 NE,观察血管的收缩情况。数据处理时将空白对照组,即无需用阿魏酸孵育血管环,直接加入 NE 时收缩作用看做 100%。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计分析处理软件进行统计学分析,数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,各组之间均数采用独立样本 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为有统计学意义。

2 实验结果

2.1 阿魏酸对去甲肾上腺素引起的血管收缩的舒张作用 阿魏酸浓度梯度为 0.59、1.18、1.77、2.36 mmol/L,加药浓度和张力值之间的关系见图 2。阿魏酸可以浓度依赖性地抑制去甲肾上腺素引起的血管收缩。并且,阿魏酸对去内皮血管环的舒张作用显著低于内皮完整血管环 (*P* < 0.01),表明阿魏酸的舒张血管作用具有内皮依赖性。

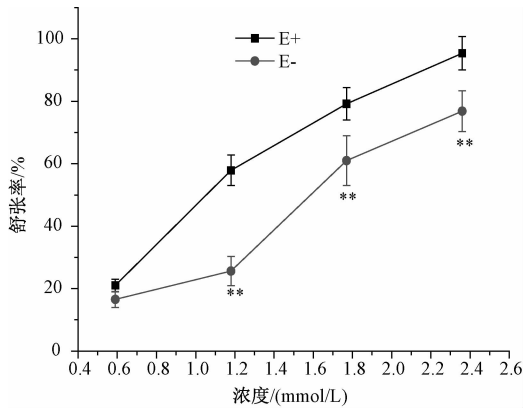


注：与去内皮 E - 比较，** $P < 0.01$

图 2 不同浓度阿魏酸对去肾上腺素预收缩血管环的影响（内皮完整 E +，去内皮 E -）（ $n = 5$ ）

Fig. 2 Influences of different concentrations of FA on the NE pre-contracted of thoracic aorta rings (endothelium-intact E +, endothelium-denuded E -) ($n = 5$)

2.2 阿魏酸 (FA) 对氯化钾引起的血管收缩的舒张作用 阿魏酸浓度梯度为 0.59、1.18、1.77、2.36 mmol/L，加药浓度和张力值之间的关系见图 3。阿魏酸可以浓度依赖性地抑制氯化钾引起的血管收缩。并且，阿魏酸对去内皮血管环的舒张作用显著低于内皮完整血管环 ($P < 0.01$)。

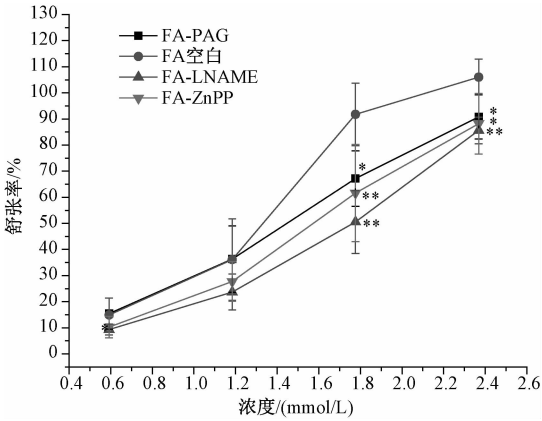


注：与去内皮 E - 比较，** $P < 0.01$

图 3 不同浓度的阿魏酸对氯化钾预收缩血管环的影响（内皮完整 E +，去内皮 E -）（ $n = 5$ ）

Fig. 3 Influences of different concentrations of FA on the KCl pre-contracted of thoracic aorta rings (endothelium-intact E +, endothelium-denuded E -) ($n = 5$)

2.3 3 种气体信号分子对阿魏酸舒张血管作用的影响 加入一氧化氮合酶抑制剂 L-NAME (10^{-4} mol/L) ($P < 0.01$), 血红素加氧酶-1 (HO-1) 抑制剂 ZnPP (10^{-5} mol/L) ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 胱硫醚-γ裂解酶抑制剂 PAG (10^{-4} mol/L) ($P < 0.05$), 均能显著抑制阿魏酸的舒张血管作用, 提示阿魏酸通过 H_2S 、NO、CO 3 种气体信号分子通路起舒张血管的作用, 实验结果如图 4 所示。



注：与空白组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

图 4 PAG、L-NAME、ZnPP 对阿魏酸引起的内皮完整血管环舒张作用的影响（ $n = 5$ ）

Fig. 4 Effects of PAG, L-NAME and ZnPP on ferulic acid-induced vasodilation in endothelium-intact thoracic aortic rings ($n = 5$)

2.4 外钙内流和内钙释放对阿魏酸舒张血管作用的影响 从数据处理结果中可以看出,不同浓度的阿魏酸均使得空白 CaCl_2 量效曲线右移,并呈剂量依赖性,实验结果如图 5。阿魏酸的舒张血管作用与血管平滑肌细胞上外钙内流有关。

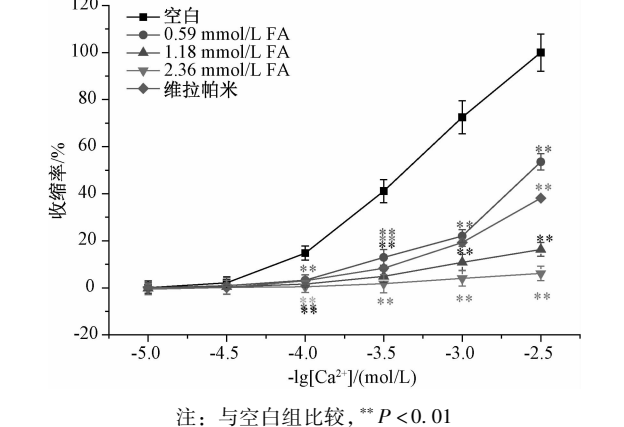


图 5 阿魏酸对 CaCl_2 引起的去内皮血管环剂量依赖性收缩曲线的影响 ($n = 5$)

Fig. 5 Dose-effect curves of CaCl_2 on thoracic aorta rings in the absence and in the presence of FA ($n = 5$)

阿魏酸可浓度依赖性地减少无钙高钾 K-H 液中 NE (1.0 $\mu\text{mol/L}$) 引起的收缩,实验结果如图

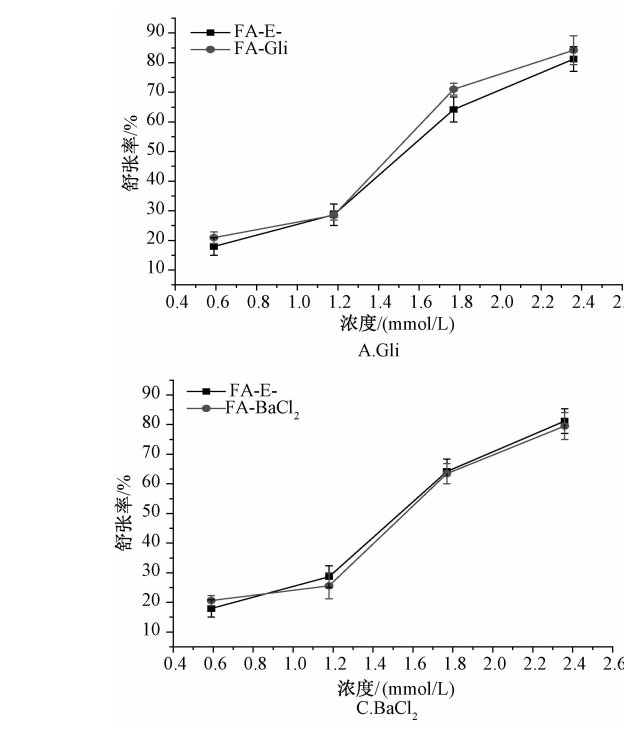


图 7 Gli、TEA、 BaCl_2 、4-AP 对阿魏酸引起的内皮完整血管环舒张作用的影响 ($n = 5$)

Fig. 7 Effects of Gli, TEA, BaCl_2 and 4-AP on FA-induced vasodilation in endothelium-denuded thoracic aortic rings ($n = 5$)

加入非选择性钾离子通道抑制剂 TEA (10^{-3} mol/L),内向整流型钾离子 (Kir) 通道抑

6. 阿魏酸的舒张血管作用与肌浆网储存钙释放有关。

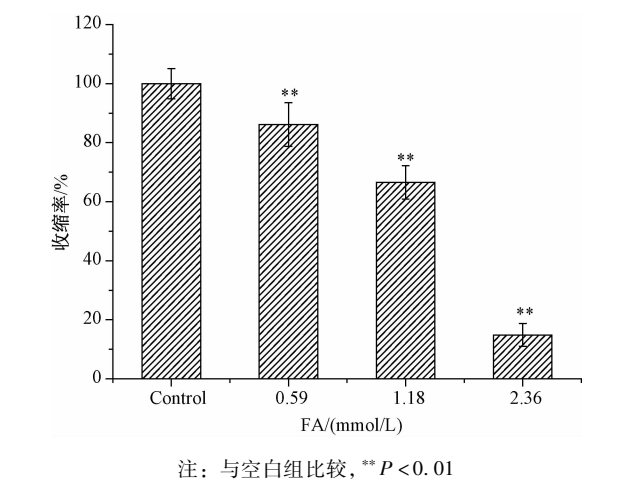
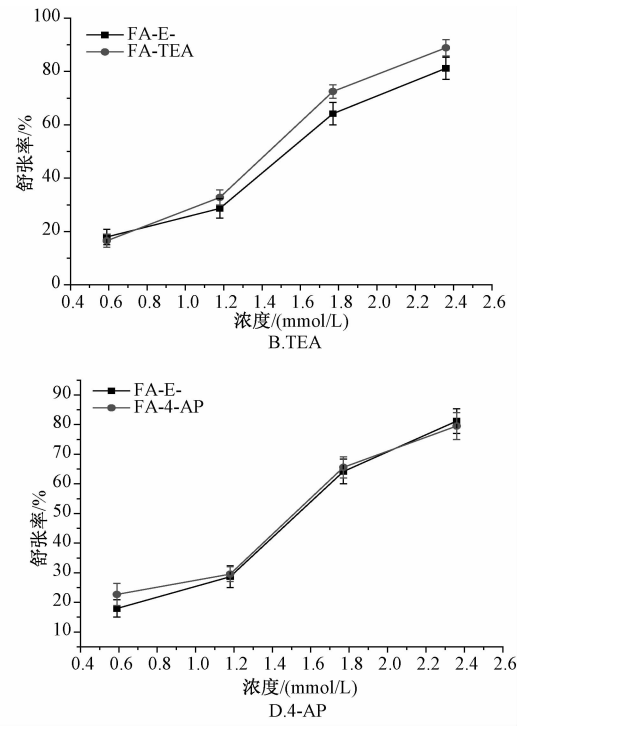


图 6 阿魏酸对无钙高钾 K-H 液中 NE 引起的收缩的舒张作用 ($n = 5$)

Fig. 6 Vasorelaxant effect of FA on NE pre-contracted aortic rings (endothelium-denuded) in Ca^{2+} -free solution ($n = 5$)

2.5 钾离子通道对阿魏酸舒张血管作用的影响 阿魏酸浓度梯度为 0.59、1.18、1.77、2.36 mmol/L ,加药浓度和张力值之间的关系见图 7。



制剂 BaCl_2 (10^{-4} mol/L),ATP 敏感性钾离子通道 (K_{ATP}) 抑制剂格列本脲 (Gli) (10^{-5} mol/L),电

压激活钾通道 (K_v) 抑制剂 4-氨基吡啶 (4-AP) (10^{-4} mol/L), 均不能抑制阿魏酸的舒张血管作用 ($P > 0.05$), 提示阿魏酸的舒张血管作用与钾离子通道无关。

3 讨论

机体内 NO 包括外源性和内源性两类。外源性 NO 是指能释放 NO 或具有氧化还原作用的同系物, 主要来自 NO 供体, 如硝酸甘油在体内释放 NO; 内源性 NO 是在特异性的酶催化后产生的 NO, 内源性 NO 广泛存在于血管内皮细胞 (endothelial cells, EC)、巨噬细胞、血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs)、成纤维细胞和神经元细胞等多种细胞中。本实验中加入一氧化氮合酶的抑制剂 N^G 硝基-L-精氨酸甲酯 (N^G -nitro-L-arginine methylester, L-NAME), 能显著性抑制阿魏酸的舒张血管作用, 与文献报道一致^[7-8]。

随着内源性 CO 的发现^[9], 很多研究表明, 与 NO 类似, CO 可增强可溶性鸟苷酸环化酶 (sGC) 的活性, 促进环磷酸鸟苷 (cGMP) 的生成, 进而影响细胞的生理活动^[10]。此外, 平滑肌细胞膜上大电导型钙依赖型钾通道 (big-conductance calcium-activated K^+ channel, BK_{Ca}) 也是 CO 的分子靶点之一。CO 作用于 BK_{Ca} 通道 α 亚单位的组氨酸残基, 激活 BK_{Ca} 通道, 增加其开放几率及对胞内 Ca^{2+} 的敏感性, 促使胞膜超极化, 从而舒张血管平滑肌。在慢性缺氧时, 主要是一氧化碳而非 NO 在发挥舒张血管平滑肌、扩张血管的作用。血红素加氧酶 (heme oxygenase, HO) 是一种抗氧化防御酶, 于人体内广泛存在, 可催化血红素生成一氧化碳 (CO)、胆红素 (Bil) 及游离铁, 是体内唯一的合成内源性一氧化碳的酶系统。原卟啉锌 (zinc protoporphyrin IX, ZnPP) 为血红素加氧酶抑制剂。本实验加入 ZnPP 可以抑制阿魏酸引起的舒张血管作用, 表明阿魏酸的舒张血管作用机制与 CO 信号通路有关。

大鼠回肠和大鼠离体胸主动脉产生大量 H_2S ^[11-12], 另外 H_2S 合成酶也在肝脏、肾脏和心脏中被检测出^[13]。 H_2S 诱导的舒张血管效应有别于其他内源性气体信号分子 (如 NO 或 CO 是通过 sGC-cGMP 通路起作用), 同时发现 H_2S 的舒张血管作用对于不同血管的舒张机制不同。其舒张血管作用主要由 K_{ATP} 通道介导、 K_{ATP} 通道和内皮超极化因子 (EDHF) 共同介导、减少细胞外 Ca^{2+} 内流^[2] 等。文献报道^[14], 格列本脲可部分阻断阿魏酸

($10^{-1} \sim 10^3$ mmol/L) 舒张血管环的作用。如上所述, H_2S 的舒张血管作用主要有 K_{ATP} 通道介导, 而格列本脲为 K_{ATP} 通道抑制剂, 这为阿魏酸的舒张血管机制提供了佐证。

阿魏酸的舒张血管作用具有非内皮依赖性^[15], 表明其舒张作用与血管平滑肌有关。高 K^+ 通过引起细胞膜去极化激活电压依赖性钙通道 (VDCC) 导致细胞外 Ca^{2+} 内流, 引发血管平滑肌收缩。引起平滑肌收缩的 Ca^{2+} 可来源于细胞内钙的释放或细胞外钙的内流。平滑肌细胞膜上至少有 2 种 Ca^{2+} 通道可供细胞外 Ca^{2+} 内流而进入胞内, 一种是电压依赖性 Ca^{2+} 通道, 另一种是受体控制性 Ca^{2+} 通道, 由内源性及外源性儿茶酚胺所激活。用高 K^+ 溶液处理胸主动脉平滑肌使其去极化, 膜上电压依赖性钙通道开放, 钙离子进入细胞内, 而引起平滑肌收缩效应。这种收缩可被阿魏酸明显抑制, 推测阿魏酸能抑制电压依赖性钙通道。内钙释放实验中, 在无钙的 K-H 液中引起平滑肌收缩只能来源于胞内钙的释放, 而阿魏酸可以抑制平滑肌的收缩, 提示阿魏酸的舒张血管作用与内钙释放有关。NE 是 α 受体激动药, 可引起血管收缩, 使血压升高, 冠状动脉血流增加, 本研究显示阿魏酸抑制 NE 诱导的血管平滑肌收缩, 可能与其阻断 α 受体有关。

综上, 阿魏酸可以剂量依赖性地抑制 NE 引起的大鼠离体胸主动脉的收缩, 其舒张血管作用可被 3 种气体信号分子通路介导, 并通过血管平滑肌上的 VDCC 和受体依赖性钙通道 (ROCC) 及 ATP 敏感性钾通道发挥作用。

参考文献:

- [1] 华永丽, 郭延生, 杨洪申, 等. 酒当归饮片质量标准研究 [J]. 中成药, 2010, 32(10): 1724-1729.
- [2] 尹钟洙, 张凌云, 徐理纳, 等. 当归及其成分阿魏酸对大鼠血小板聚集和 5-HT 释放的影响 [J]. 药学报, 1980, 15(6): 321-325.
- [3] 黄丰阳, 徐秋萍. 中药有效成分的抗血小板作用研究进展 [J]. 北京中医药大学学报, 1999, 22(2): 28-31.
- [4] 于剑奇, 陈 勤, 陈逸青, 等. 阿魏酸对颅脑组织的保护作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(8): 612-616.
- [5] 吴立玲, 张幼怡. 心血管病理生理学 [M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2009: 241-242.
- [6] Khan A U, Ullah R, Khan A, et al. Vasodilator effect of *Phlomis bracteosa* constituents is mediated through dual endothelium-dependent and endothelium-independent pathways [J]. Clin Exp Hypertens, 2012, 34(2): 132-139.

[7]

Suzuki A, Kagawa D, Fujii A, *et al.* Short-and long-term effects of ferulic acid on blood pressure in spontaneously hypertensive rats[J]. *Am J hypertens*, 2002, 15(4) : 351-357.

[8]

Suzuki A, Yamamoto M, Jokura H, *et al.* Ferulic acid restores endothelium-dependent vasodilation in aortas of spontaneously hypertensive rats[J]. *Am J hypertens*, 2007, 20(5) : 508-513.

[9]

Sjostrand T. Endogenous formation of carbon monoxide in man under normal and pathological conditions[J]. *J Clin Lab Invest*, 1949, 1(3) : 201-210.

[10]

Morita T, Perrella M A, Lee M E, *et al.* Smooth muscle cell-derived carbon monoxide is a regulator of vascular cGMP[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(5) : 1475-1479.

[11]

Zhao W, Zhang J, Lu Y, *et al.* The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous K_{ATP} channel opener[J]. *Eur Mol Biol Organ J*, 2001, 20(21) : 6008-6016.

[12]

Hosoki R, Matsiki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide[J]. *Biochem Bioph Res Commun*, 1997, 237(3) : 527-531.

[13]

Nagahara N, Ito T, Kitamura H, *et al.* Tissue and subcellular distribution of mercaptopyruvate sulfurtransferase in the rat: confocal laser fluorescence and immunoelectron microscopic studies combined with biochemical analysis[J]. *Histochem Cell Biol*, 1998, 110(3) : 243-250.

[14]

闫奎坡. 冠心Ⅱ号心脏保护作用的物质基础及其舒张大鼠胸主动脉机制的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2012.

[15]

Chen G P, Ye Y, Li L, *et al.* Endothelium-independent vasorelaxant effect of sodium ferulate on rat thoracic aorta[J]. *Life sci*, 2009, 84(3) : 81-88.

代谢组学技术比较肝豆灵片与青霉胺的排铜机制

蒋怀周¹, 王 键¹, 董继扬², 刘 磊³

(1. 安徽中医药大学中医临床学院, 安徽 合肥 230031; 2. 厦门大学电子科学系, 福建省等离子体与磁共振研究重点实验室, 福建 厦门 361005; 3. 亳州市人民医院神经内二科, 安徽 亳州 236800)

摘要: **目的** 探讨肝豆灵片(大黄、黄芩、黄连、半枝莲等)和青霉胺对大鼠的代谢物, 以比较两者排铜机制异同。**方法** 适应性饲养 1 周后, 大鼠被随机分为对照组、模型组、肝豆灵组、青霉胺组。造模结束后, 取各组大鼠血清样品分析其核磁共振谱峰。**结果** 模型组大鼠血清乳酸、糖蛋白、肌酸、肌酐、谷氨酰胺、精氨酸的量升高, 葡萄糖、甜菜碱、胆碱、磷酸胆碱、脂质的量降低; 青霉胺组大鼠血清葡萄糖、甜菜碱、胆碱、胆碱磷酸、脂质的量升高, 糖蛋白、乳酸、肌酸、肌酐、谷氨酰胺的量降低; 肝豆灵组大鼠血清 3-羟基丁酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、胆碱、胆碱磷酸、葡萄糖、脂质的量升高, 谷氨酰胺、乳酸、肌酸、肌酐、精氨酸的量降低。**结论** 青霉胺与肝豆灵均可明显调节铜负荷大鼠的葡萄糖、乳酸、肌酸、肌酐、胆碱、磷酸胆碱、谷氨酰胺和脂质向正常范围回归的趋势。而肝豆灵片还可调节鸟氨酸循环、支链氨基酸、3-羟基丁酸及氨的代谢。

关键词: 肝豆灵片; 青霉胺; 代谢组学; 血清; 核磁共振谱 (¹H-NMR); 排铜机制

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)01-0012-07

doi:10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2016. 01. 003

Comparison of mechanism for copper-excretion between Gandouling Tablets and penicillamine by metabonomics

JIANG Huai-zhou¹, WANG Jian¹, DONG Ji-yang², LIU Lei³

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China; 2. Department of Electronic Science, Fujian Provincial Key Laboratory of Plasma and Magnetic Resonance; Xiamen University, Xiamen 361005, China; 3. The 2nd Neurology Department, The People's Hospital of Bozhou City, Bozhou 236800, China)

收稿日期: 2015-06-11

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助 (81202691); 安徽省高校自然科学基金重点项目 (KJ2012Z228); 安徽省高校博士后岗位项目 (2013 年)

作者简介: 蒋怀周 (1978—), 女, 博士, 讲师, 从事中医教学工作。Tel: (0551) 65169165, E-mail: jhzlinda@hotmail.com