

灯盏乙素对 DPPH 所致血管内皮依赖性舒张功能障碍的影响

陈 鹏, 云 宇, 张小超, 王殿华, 雷伟亚, 沈志强
(昆明医学院云南省天然药物药理重点实验室, 云南昆明 650031)

[摘要] **目的** 研究灯盏乙素对 DPPH 所致血管内皮依赖性舒张功能障碍的影响. **方法** 采用家兔胸主动脉血管环 DPPH 氧化损伤模型评价灯盏乙素对内皮依赖性舒张反应的影响. **结果** 灯盏乙素能显著减轻 DPPH 对乙酰胆碱 (Ach) 诱导的血管内皮依赖性舒张反应的抑制作用. **结论** 灯盏乙素对血管内皮依赖性舒张功能具有保护作用.

[关键词] 灯盏乙素; DPPH; 胸主动脉环; 内皮依赖性舒张反应

[中图分类号] R973 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-4706 (2007) 06-0006-04

Effects of Scutellarin on Dysfunction of Vascular Endothelium-dependent Relaxation Caused by DPPH

CHEN Peng, YUN Yu, ZHANG Xiao-chao, WANG Dian-hua, LEI Wei-ya, SHEN Zhi-qiang
(Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical College, Kunming, 650031, China)

[Abstracts] **Objective** To study the effects of scutellarin on endothelium-dependent relaxation dysfunction of rabbit thoracic aorta caused by DPPH. **Methods** Model of oxidative damage on rabbit vascular ring of thoracic aorta was used to evaluate effects of scutellarin on vascular endothelium-dependent relaxation response. **Results** Scutellarin obviously depressed the DPPH's inhibition on vascular endothelium-dependent relaxation response induced by acetylcholine (Ach). **Conclusion** Scutellarin has evident protective effects on vascular endothelium-dependent relaxation response.

[Key words] Scutellarin; DPPH; Vascular ring of thoracic aorta; Endothelium-dependent relaxation response

近年研究表明, 氧自由基是导致许多心血管疾病的重要因素, 心肌缺血再灌注损伤、血栓形成、动脉粥样硬化等病理过程的发生都与氧自由基密切相关^[1].

灯盏乙素 (scutellarin) 是从我省特色药用植物灯盏细辛 (*Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz) 中提取的主要有效成分, 结构为 4', 5',

6-三羟基黄酮-7-葡萄糖醛酸苷(图 1)^[2], 具有增加心脑血管血流量、降低血粘度、抗血栓和抗血小板聚集作用^[3]. 本研究采用外源性氧自由基二苯基三硝基苯肼 (1, 1-dipheyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 造成对离体家兔胸主动脉内皮细胞的损伤, 观察灯盏乙素对血管内皮依赖性舒张功能的影响.

[基金项目] 云南省自然科学基金资助项目 (2004C0019Q) 云南省医药与生物技术创新人才联合培养基地基金; 昆明医学院创新群体基金 (KMC2005DG04)

[作者简介] 陈鹏 (1974-), 男, 云南省昆明市人, 在读博士, 副教授, 主要从事天然产物的研究和新药开发工作.

[通讯作者] 沈志强. E-mail:shenzq21cn@yahoo.com.cn

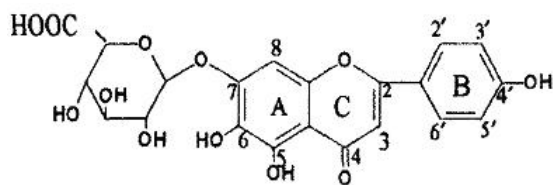


图1 灯盏乙素的化学结构式

Fig. 1 Chemical structural formula of scutellarin

1 材料

1.1 药品与试剂

灯盏乙素由云南省药物研究所张人伟教授提供 (分子式 $C^{21}H_{18}O^{12}$, 分子量: 46235, 纯度: 99%), 用前溶于生理盐水(NS)中; DPPH 为 Sigma-Aldrich 产品; 重酒石酸去甲肾上腺素注射液 (NE) 为上海禾丰制药有限公司产品; 氯化乙酰胆碱 (ACh) 为上海三爱司试剂有限公司产品; 硝普钠 (SNP) 为成都科龙化工试剂厂产品。

1.2 主要仪器

RM6240BD 型多道生理信号采集处理系统、HSS-1 型恒温浴槽、JZJ01H 型张力换能器, 均为成都仪器厂产品。

1.3 动物

大耳白兔, 雌雄均用, 体重 2.0 ~ 2.5 kg, 由昆明医学院动物中心提供 (合格证号: SCXK(滇) 2005 ~ 0008)。

2 方法

2.1 实验分组

①空白对照组; ②DPPH 损伤组: DPPH 0.25 $\mu\text{mol/L}$ 与血管环孵育 30 min; ③溶媒对照组; ④灯盏乙素不同浓度 (1、3、10、30 $\mu\text{g/mL}$) 组: 加入 DPPH 前, 血管环先与不同浓度的灯盏乙素孵育 20 min, 再与 0.25 $\mu\text{mol/L}$ DPPH 孵育 30 min。

2.2 血管内皮依赖性舒张反应的检测^[4]

家兔击头致死, 迅速开胸, 剪取胸主动脉段, 置于以 95% O_2 和 5% CO_2 混合气体饱和过的 4 $^{\circ}\text{C}$ 的 K-H 液中。K-H 液由以下成分组成 (mmol/L): NaCl 118, KCl 4.8, $CaCl_2$ 2.5, $MgSO_4$ 1.2, NaH_2PO_4 1.2, $NaHCO_3$ 24, glucose 11, $Na_2\text{-EDTA}$ 0.03。剪去血管周围结缔组织, 清除血

管内血液。截取 4~5 mm 长的血管环, 将其悬挂于两个不锈钢钩上, 一端固定于恒温浴槽, 用恒温水浴泵维持浴槽内温度于 37 $^{\circ}\text{C}$ 。另一端连接张力换能器, 通过生理记录仪记录血管张力变化。调节静息张力 4 g, 平衡 120 min。每隔 20 min 更换一次 K-H 液。先给 NE (1 $\mu\text{mol/L}$) 收缩血管环, 冲洗 3~5 次, 重新平衡, 反复重复此过程直到血管环的收缩反应达平值后, 观察血管环对累加剂量的 ACh (0.01~1 $\mu\text{mol/L}$) 和累加剂量的 SNP (0.01~10 $\mu\text{mol/L}$) 引起的舒张反应。加处理因素或药物后, 第二次检测 ACh 和 SNP 引起的内皮依赖性和非内皮依赖性舒张反应的影响。计算 ACh 对 NE 引起的舒张百分率, 用以衡量血管环的内皮依赖性舒张反应。

2.3 统计方法

数据用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组间比较用多组单因素方差分析 (ANOVA), 组间两两比较采用 q 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 灯盏乙素对血管舒张功能的直接作用

用不同浓度的灯盏乙素 (1、3、10、30 $\mu\text{g/mL}$) 作用于静息状态的血管环, 灯盏乙素对血管环无明显的直接舒张作用; 再用 NE (1 $\mu\text{mol/L}$) 预收缩血管环, 不同浓度的灯盏乙素 (1、3、10、30 $\mu\text{g/mL}$) 对血管环有明显舒张作用, 其舒张百分率分别为 6.5 ± 4.4 、 20.6 ± 6.7 、 35.5 ± 8.4 和 52.4 ± 10.4 。

3.2 DPPH 对血管环舒张反应的影响

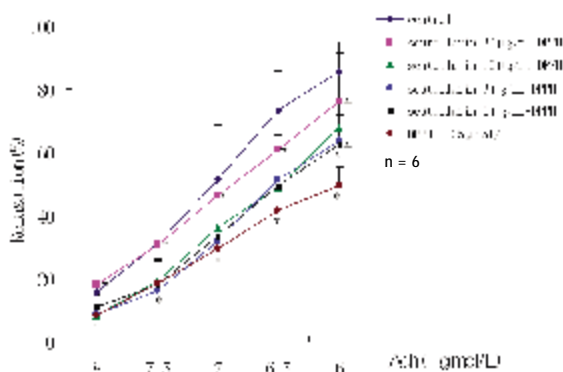
DPPH 与血管环孵育 30 min, 能明显降低 ACh 诱导的内皮依赖性舒张百分率, 而对 SNP 诱导的非内皮依赖性舒张反应无明显影响, 见表 1。

3.3 灯盏乙素对 DPPH 所致血管内皮依赖性舒张功能障碍的影响

DPPH 与血管环孵育 30 min, 明显抑制了血管内皮依赖性舒张反应。血管环与不同浓度 (1、3、10、30 $\mu\text{g/mL}$) 的灯盏乙素预先孵育 20 min, 再加入 DPPH 共同孵育 30 min 后, DPPH 对 ACh 诱导的血管内皮依赖性舒张反应的抑制作用明显减轻, 见图 2。

表 1 DPPH 对主动脉环舒张反应的影响($\bar{x} \pm s$)Tab.1 Effect of DPPH on vascular relaxation response of aortic rings($\bar{x} \pm s$)

药物浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	舒张百分率(%)	
	DPPH 孵育前	DPPH 孵育 30 min
Ach	0.01	15.6 \pm 6.9
	0.03	31.0 \pm 12.6
	0.1	51.4 \pm 17.1
	0.3	73.3 \pm 12.4
	1.0	85.6 \pm 9.2
	0.01	24.0 \pm 5.7
SNP	0.1	49.8 \pm 18.1
	1.0	74.6 \pm 11.6
	10.0	91.2 \pm 4.2

与 DPPH 孵育前比较, ** $P < 0.01$. n = 6图 2 灯盏乙素对 DPPH 所致血管内皮依赖性舒张功能障碍的影响 ($\bar{x} \pm s$)Fig. 2 Effects of scutellarin on dysfunction of vascular endothelium-dependent relaxation caused by DPPH ($\bar{x} \pm s$)与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 DPPH 组比较, * $P < 0.05$

4 讨论

血管内皮是血液和血管平滑肌细胞之间的生理性保护屏障, 也是一个自分泌和旁分泌器官. 血管内皮细胞处于血液和平滑肌细胞之间, 调节着血管的张力, 维持血管对大分子及白细胞的通透性, 调节血管平滑肌细胞的增殖、血小板聚集、

单核细胞粘附、凝血和纤溶系统之间的平衡^[5].

DPPH 是一种带有不配对电子的外源性自由基, 因生物膜脂质双分子层磷脂中的脂肪酸含大量不饱和双键, 这些不饱和双键中的氢原子极易被 DPPH 中的不配对电子所夺取, 从而促发生物膜的脂质过氧化连锁反应. DPPH 可导致大量脂质过氧化物产生, 这些蓄积于生物膜的脂质过氧化物对细胞膜有很强的破坏性, 使其膜流动性和通透性发生改变, 细胞内外离子分布发生异常, 导致细胞损伤^[6]. 研究均证明, 血管内皮细胞功能紊乱是心脑血管疾病早期的重要特征, 早于血管结构和形态发生明显改变之前, 而血管内皮依赖性舒张反应的减弱是血管内皮细胞受损的明显标志之一, 在动脉的近心端, Ach 诱发的内皮依赖性血管舒张反应明显降低^[7].

实验结果提示: 血管环与外源性氧自由基 DPPH 共同孵育后, 内皮依赖性血管舒张物质 Ach 诱导的舒张反应显著减弱, 而非内皮依赖性血管舒张物质 SNP 诱导的血管舒张反应不受影响, 与有关文献报道相吻合^[8-9]; 不同浓度的灯盏乙素与血管环孵育后, 可显著对抗 DPPH 造成的血管内皮细胞损伤, 使 DPPH 对 Ach 诱导的血管内皮依赖性舒张反应的抑制作用明显减轻, 表明灯盏乙素能够纠正血管内皮细胞功能异常, 对血管内皮依赖性舒张功能有明显的保护作用. 因此我们推测灯盏乙素对血管内皮细胞的保护作用与其较强的抗氧化和清除氧自由基活性密切相关, 确切的作用有待进一步深入研究.

综上所述, 本实验有助于揭示灯盏乙素治疗心脑血管疾病的药理学作用机制, 为灯盏乙素临床用于防治心脑血管疾病提供了一定的理论依据.

[参考文献]

- [1] PALMERH J, PAULSONK E. Reactive oxygen species and antioxidants in signaling in vascular cell growth, death, and survival [J]. Circ Res, 2000, 87 (2): 179-183
- [2] 云南省药物研究所. 灯盏细辛化学成分的研究(第一报) [J]. 中草药通讯, 1976, 7 (11): 111