

# 神香草挥发油抗氧化能力和血管舒张作用及其机制研究

阿勒腾图娅<sup>1,2</sup>, 姜敏<sup>1</sup>, 郭玉婷<sup>3</sup>, 张洪平<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 新疆医科大学附属中医医院国家中医临床研究基地; <sup>2</sup> 新疆医科大学研究生院; <sup>3</sup> 新疆医科大学对口协作办公室, 乌鲁木齐 830011

**摘要:** 研究神香草挥发油 (*Hyssopus officinalis* Essential Oil, HEO) 抗氧化能力和对大鼠离体胸主动脉环血管舒张作用及其作用机制。采用 2,2-二(4-叔辛基苯基)-1-苦肼基自由基 (DPPH) 自由基法、邻苯三酚自氧化法, 以维生素 C (Vc) 为参照, 研究 HEO 抗氧化活性; 采用 BL-420 生物机能实验系统, 描记血管张力变化, 每组血管来自同批大鼠。结果显示 HEO 具有一定清除自由基能力, DPPH 自由基法和邻苯三酚法测得 HEO 最大抑制率分别为 19.24% 和 11.44%。在测定大鼠胸主动脉实验中, HEO 各浓度 (100 ~ 1100 mg/L) 对去氧肾上腺素 (phenylephrine, PE) 预收缩的血管舒张作用明显。内皮完整组和去内皮组最大舒张效率  $E_{\max}$  分别为  $96.34\% \pm 5.13\%$  和  $94.39\% \pm 8.95\%$ ; HEO 对多巴胺 (Dopamine, Dopa)、 $K^+$  和 PE 诱导血管收缩的最大抑制率分别为 74.38%、89.91% 和 95.81%; 与对照组相比, HEO 处理组  $CaCl_2$  量效曲线被明显右移 ( $P < 0.01$ )。HEO 的抗氧化性较弱且具有非内皮依赖和浓度依赖舒张血管作用, 其机制可能与抑制外钙内流干扰胞内钙离子平衡和抑制部分血管收缩物质引起的血管收缩有关。

**关键词:** 神香草; 抗氧化; 血管舒张; 钙通道; 邻苯三酚自氧化法

中图分类号: R966

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.4.020

## Antioxidant and Vasodilative Effects of *Hyssopus officinalis* Boriss Essential Oil on Isolated Rat Thoracic Aorta

Aletengtuya<sup>1,2</sup>, JIANG Min<sup>1</sup>, GUO Yu-ting<sup>3</sup>, ZHANG Hong-ping<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> The National Clinical Research Base of Traditional Chinese Medicine, Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University; <sup>2</sup> The Postgraduate College of Xinjiang Medical University; <sup>3</sup> The Counterpart Cooperation office of Xinjiang Medical University, Xinjiang Urumqi 830011, China

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the antioxidant and vasodilative effects of *Hyssopus officinalis* essential oil (HEO) on thoracic aorta rings *in vitro* and to elucidate the possible mechanism. The antioxidant properties of HEO were evaluated by different antioxidant tests, including 2,2 diphenyl-2-bitter hydrazo (DPPH) scavenging ability and pyrogallol autoxidation. The thoracic aorta was isolated from male Sprague-Dawley (SD) rats, the isometric tension of aortic rings with or without endothelium was measured. The recording changes in vascular tone were measured by BL-420 bio-functional experiment system. HEO had a certain ability to scavenge free radicals, the maximum scavenging rates on DPPH radical and pyrogallol radical were 19.24% and 11.44%, respectively. HEO (100-1100 mg/L) produced concentration-dependent, endothelium-independent relaxations in phenylephrine (PE)-contracted aortic rings. As a result, the maximum relaxation by HEO was  $96.34\% \pm 5.13\%$  in endothelium intact rings and  $94.39\% \pm 8.95\%$  in endothelium removed rings. HEO pre-treatment significantly inhibited vasoconstrictions to Dopamine (Dopa), potassium ions ( $K^+$ ) and PE by 74.38%, 89.91% and 95.81%, respectively ( $P < 0.01$ ). Compared with the control group, HEO markedly inhibited potassium-stimulated  $Ca^{2+}$ -dependent contraction which mainly due to  $Ca^{2+}$  influx ( $P < 0.01$ ). In conclusion, HEO had partly antioxidant activities and relaxed the isometric tension of aortic rings in an endothelium-independent manner, mainly through interfering intracellular calcium homeostasis by blocking  $Ca^{2+}$  influx and

intracellular  $Ca^{2+}$  release, as well as inhibiting the vascular contraction by partial of the vasoconstrictor.

**Key words:** *Hyssopus officinalis*; antioxidant; vasodilation; calcium channel; pyrogallol self-oxidation

收稿日期: 2015-09-22 接受日期: 2016-02-23

基金项目: 国家自然科学基金 (81460549); 新疆维吾尔自治区科技支撑项目 (201331109); 新疆呼吸系统疾病中医药防治与转化基地建设项目 (2015008)

\* 通讯作者 Tel: 86-991-5571923; E-mail: zhping515@163.com

高血压是威胁人类生命健康的风险因素之一,血管舒张功能失调是其重要的发病机制之一。研究表明氧化应激可导致血管舒张功能失调,这为预防和治疗高血压提供的了一个有意义的靶点<sup>[1]</sup>。神香草是唇形科多年生草本植物,维吾尔名为“祖帕奇尼”,是维吾尔医学的习用药材,《维吾尔药志》中记载:药用全草,全株主要含挥发油。研究发现神香草精油对组胺所致的离体大鼠平滑肌收缩具有舒张作用,并呈剂量依赖关系<sup>[2-4]</sup>,但其舒张作用的物质基础和作用机制尚不明确。裘惠霞等证明神香草及非挥发性提取物有较强的抗氧化性,能较大程度上清除自由基并能降低脂质过氧化物(MDA)及脂褐素(LPF)的含量<sup>[5]</sup>。近年来,神香草精油在化妆品、香精香料行业受到了很大的关注,但其挥发油抗氧化能力和血管舒张作用机制研究的报道尚少见。

本实验以大鼠离体胸主动脉环和抗氧化方法为载体,利用血管环筛选平台,以浓度积累法孵育血管环,观察神香草挥发油对血管舒张和抗氧化能力的影响,探讨神香草挥发油血管舒张机制及其物质基础与抗氧化作用,为神香草的新药开发提供实验和理论依据。

## 1 实验材料

### 1.1 实验动物

雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠(250 ~ 300 g),清洁级,由新疆医科大学动物实验中心提供。实验动物使用许可证号为 SYXK(新)2011-0003。

### 1.2 药品与试剂

神香草于2014年7月采自阿勒泰市小东沟,经新疆维吾尔自治区中医医院药学部赵翡翠主任中药师鉴定为硬尖神香草(*Hyssopus cuspidatus* Boriss)的全草。Forskolin(批号:SLBB9100V)、1H-[1,2,4]二唑[4,3-a]啉啉-1-酮(1H-[1,2,4]-oxadiazole-[4,3-a]-quinoxalin-1-one, ODQ, 批号:021M4051V)、乙二醇二乙醚二胺四乙酸(ethylene glycol tetraacetic acid, EGTA, 批号:SLBB6797V)、邻苯三酚(批号:BCBN3584V)、去氧肾上腺素(phenylephrine, PE, 批号:031M1736V)、维生素C(批号:LC09762V)、格列苯脲(glibenclamide, Gliben, 批号:SLBC795V)、2,2-二(4-叔辛基苯基)-1-苦肟基自由基(DPPH<sup>·</sup>, 批号:MKBS3069V)、乙酰胆碱(acetylcholine chloride, Ach, 批号:BCBH3758V)、四乙基氯化铵(tetraethylammonium, TEA, 批号:BCBF2894V),

以上试剂皆购自美国 Sigma 试剂公司,其它试剂皆为国产分析纯。

## 2 实验方法

### 2.1 神香草挥发油的制备

干燥的神香草全草切成细段按《中国药典》(第一部,2015年版)方法提取挥发油,用30%的DMSO配制成20 g/L的浓缩液,即配即用。

### 2.2 抗氧化能力实验

#### 2.2.1 邻苯三酚自氧化法

参考阿提坎木·瓦合甫<sup>[6]</sup>的方法,将神香草挥发油配成质量浓度为0.5 g/L的储备浓度,用95%甲醇配制成梯度浓度(400、200、100、50、25 mg/L)样品液。取9 mL Tris-HCl缓冲液(0.05 mol/L, pH=8.28)与1 mL各浓度样品液混合,25℃水浴恒温15 min。取3 mL混合液于具塞试管中,加入0.1 mL 45 mmol/L 邻苯三酚,摇匀,在第4 min加入一滴10 mol/L 盐酸终止反应并于325 nm处测定样品A<sub>1</sub>,同时分别测定不加邻苯三酚的神香草系列浓度液的A<sub>2</sub>和以1 mL甲醇代替各浓度神香草挥发油的A<sub>0</sub>,每组重复3次。最后测定清除率。清除率=[1-(A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub>)/A<sub>0</sub>]×100%。V<sub>c</sub>的测定方法与神香草挥发油相同,95%甲醇溶解,浓度为:500.0、166.7、55.6、18.5、6.2 mg/L。两种药品在测定吸光值时,均以Tris-HCl缓冲液作空白对照。

#### 2.2.2 DPPH法

参考章银良<sup>[7]</sup>的方法首先配置0.12 mmol/L的DPPH酒精溶液,避光保存。分别取1 mL经95%乙醇稀释后的样品溶液(浓度分别为800、400、200、100、50 mg/L)和4 mL DPPH酒精溶液,剧烈摇晃使其混合均匀,置于室温避光条件下反应30 min。然后在517 nm条件下测定混合液的吸光度值,记为A<sub>s</sub>。相同操作条件下,以1 mL去离子水代替稀释后的样品溶液,作为控制组,记录其在517 nm条件下的吸光度值,记为A<sub>c</sub>。以乙醇作为空白对照。每组重复三次,计算平均值。对DPPH自由基清除率用下式计算:

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率}(\%) = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

### 2.3 离体动物胸主动脉血管环实验

#### 2.3.1 胸主动脉环的制备

参考张洪平<sup>[8]</sup>的方法。大鼠断颈致死后,迅速打开胸腔取出胸主动脉,立即放入Kreb-Henseleit

(K-H)液中并置于冰上,去除动脉周围结缔组织后,冲洗血管内血液,统一切割成3 mm长的动脉环。分别保留内皮和去除内皮,在主动脉环内壁用竹签来回滚动去除内皮细胞,置于37 °C恒温浴槽中,持续通入95% O<sub>2</sub>和5% CO<sub>2</sub>的混合气体。动脉环一端用不锈钢钩垂直悬吊于浴槽底部,另一端连接张力换能器,用BL-420生物机能实验系统记录血管的等张收缩力。调整动脉环静息负荷为2 g,浴液为K-H液,pH=7.4,浴槽中通以95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub>混合气,36 °C平衡1 h,每10 min换K-H液1次,实验前应用60 mmol/L KCl收缩2次,收缩良好的血管环用于后续实验。

### 2.3.2 血管内皮功能检测

用ACh检验血管内皮的活性。用1 μmol/L苯肾上腺素(PE)预收缩血管环,待收缩稳定后加入乙酰胆碱(Ach)0.01~10 μmol/L舒张血管,最后加入1 μmol/L Forskolin使其达到100%舒张。以0.1 μmol/L Ach舒张达到15%~20%,1 μmol/L Ach达到60%,10 μmol/L Ach达到80%以上为内皮完好;以对Ach几乎没有舒张反应为内皮去除完全的判断标准。

### 2.3.3 血管内皮对神香草挥发油血管舒张作用的影响

内皮完整和去除内皮血管环加入1 μmol/L PE预收缩血管达稳定后,浓度递增给予神香草挥发油(100、300、500、700、900、1100)mg/L,前1个剂量达平衡后再给下一个剂量,最后加入1 μmol/L forskolin至最大舒张,并以此作为100%舒张,记录浓度舒张曲线。

### 2.3.4 ODQ干预对神香草挥发油血管舒张作用的影响

去内皮血管环用可溶性鸟苷酸环化酶(Soluble guanylate cyclase, sGC)抑制剂ODQ 10 μmol/L预处理15 min后,1 μmol/L PE预收缩达稳定后,再浓度递增给予神香草挥发油观察血管张力变化,并以1 μmol/L forskolin引起的最大舒张作为100%舒张压。

### 2.3.5 钾离子通道阻断剂对神香草舒张作用的影响

去内皮血管环分别用钾离子通道阻断剂TEA 3 mmol/L、Gliben 10 μmmol/L、BaCl<sub>2</sub> 100 μmmol/L预处理10 min,加入1 μmmol/L的PE待收缩稳定后,再逐步加入神香草各浓度观察血管舒张变化。以1 μmol/L forskolin所致最大舒张率为100%,进行数据评测。

### 2.3.6 神香草挥发油对血管收缩物质引起血管收缩的影响

去内皮血管环稳定后,用引起血管舒张最大效应的50%的浓度(EC<sub>50</sub>)227mg/L神香草挥发油预处理15 min,再浓度递增加入PE(1、10、100、1000、10000)nmol/L、Dopa(10、100、1000、10000、100000)nmol/L、K<sup>+</sup>(10、20、30、40、50、60)mmol/L观察血管张力的变化,对照组不加神香草挥发油处理。以60 mmol/L K<sup>+</sup>引起的最大收缩率作为100%。

### 2.3.7 神香草挥发油对无钙高钾K-H液刺激下的CaCl<sub>2</sub>量效曲线的影响

去内皮血管环稳定后,换成无钙高钾K-H液(含100 μmmo/L的EGTA和60 mmol/L K<sup>+</sup>)20 min后,再浓度递增给予CaCl<sub>2</sub>(0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4)nmol/L取得钙离子收缩曲线(60 nmol/L K<sup>+</sup>最大收缩为100%对照)。处理组为加入CaCl<sub>2</sub>前用227 mg/L神香草挥发油的预处理10 min。

### 2.3.8 神香草挥发油对胞质内钙释放的影响

去内皮主动脉环在K-H液中稳定后,改成无钙K-H液(含100 μmol/L EGTA)平衡10 min,加入1 μmol/L PE后,平滑肌细胞肌浆网内钙释放而引起血管小幅度、持续缓慢收缩。药物处理组血管换成无钙K-H液孵育5 min,加入神香草挥发油孵育10 min后,再加入1 μmol/L PE,记录PE引起的血管环收缩张力变化,并比较对照组和神香草挥发油组的张力变化。

## 2.4 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件进行实验数据分析,数据均以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两样本比较采用*t*检验,*P*<0.05表示两组比较差异显著;*P*<0.01表示两组比较差异极其显著。

## 3 实验结果

### 3.1 神香草挥发油体外对邻苯三酚自由基的清除活性

由图1A可知神香草各浓度(25、50、100、200、400)mg/L清除率从低浓度到高浓度呈趋势递增。最低清除率为6.52%,最高清除率为11.44%;由图1B可知V<sub>c</sub>的IC<sub>50</sub>为122 mg/L,V<sub>c</sub>的各浓度(6.2、18.5、55.6、166.7、500)mg/L清除率由低到高呈现明显的升高趋势。最低清除率为24.58%,最高清除率为99.90%。

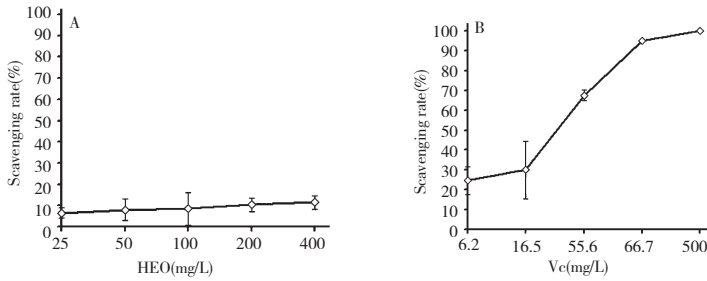


图1 神香草挥发油(A)及Vc(B)对邻苯三酚的清除活性(n=3,  $\bar{x} \pm s$ )

Fig. 1 Scavenging effects of HEO (A) and Vc (B) on pyrogallol (n=3,  $\bar{x} \pm s$ )

### 3.2 神香草挥发油体外对 DPPH 自由基的清除活性

由图 2A 可知在 DPPH 法中神香草的各浓度 (25、50、100、200、400、800) mg/L 的清除率随浓度的升高呈现递增,但是升高程度不够明显。最低清除率为 0.59%,最高清除率为 19.24%,具有一定的抗

氧化性;由图 2B 可知在 DPPH 法中 V<sub>c</sub> 的各浓度 (0.52、1.48、4.44、13.33、40.00) mg/L 的清除率,随浓度的升高呈现明显递增趋势。最低清除率为 4.73%,最高清除率为 70.55%;由图 2B 可知对照品 V<sub>c</sub> 的 IC<sub>50</sub> 为 4.12 mg/L。

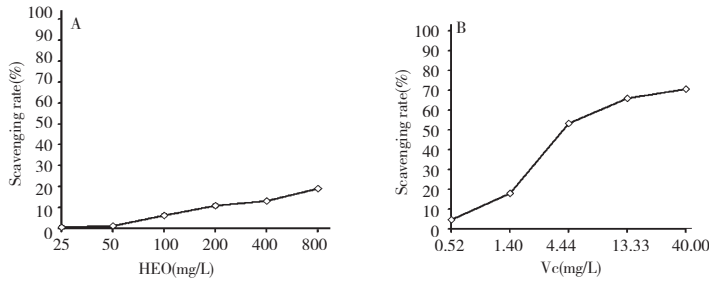


图2 神香草挥发油(A)及Vc(B)对DPPH的清除活性(n=3,  $\bar{x} \pm s$ )

Fig. 2 Scavenging rate of HEO (A) and Vc (B) on DPPH free radical (n=3,  $\bar{x} \pm s$ )

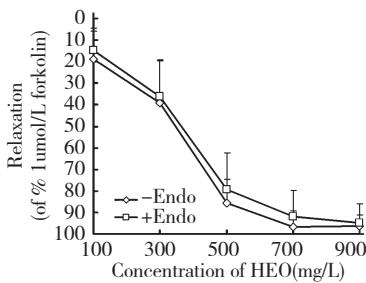


图3 血管内皮对神香草挥发油舒张血管的影响(n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

Fig. 3 Effect of vascular endothelium on relaxation induced by HEO in aorta rings (n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

-Endo: 内皮去除组; +Endo: 内皮完整组

-Endo: endothelium removal rings; +Endo: endothelium intact rings

### 3.3 血管内皮对神香草挥发油舒张作用的影响

神香草挥发油在 100 ~ 1100 mg/L 的浓度范围内对内皮完整和内皮去除的大鼠离体胸主动脉环均

具有浓度依赖性舒张作用。神香草挥发油对内皮完整组与内皮去除组血管之间的舒张无显著差异,内皮完整组和内皮去除组最大舒张效率 E<sub>max</sub> 分别为 96.34% ± 5.13% 和 94.39% ± 8.95%,说明神香草挥发油的血管舒张作用没有内皮依赖性,可能直接

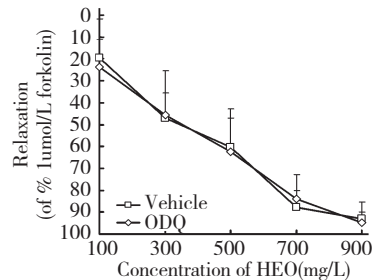


图4 ODQ对神香草挥发油舒张血管作用的影响(n=4,  $\bar{x} \pm s$ )

Fig. 4 Effect of ODQ on HEO induced relaxation aorta rings (n=4,  $\bar{x} \pm s$ )

作用于血管平滑肌。见图 3。

### 3.4 ODQ 干预对神香草挥发油舒张作用的影响

ODQ 预处理与未用 ODQ 处理的去内皮血管环对比发现,神香草挥发油引发的血管舒张作用没有明显减少,ODQ 处理组  $E_{\max} = 93.18\% \pm 4.77\%$ ; 未处理组  $E_{\max} = 94.76\% \pm 7.80\%$ , ODQ 处理组与对照组间的差别无统计学意义,说明 HEO 的血管舒张作用与 sGC 激活无关,见图 4。

### 3.5 钾离子通道阻断剂对神香草挥发油舒张作用的影响

用 3 种不同类型的钾通道阻断剂预处理去内皮的血管环,与未经钾通道阻断剂处理的去内皮血管环相比,神香草挥发油对血管环的舒张作用没有明显差异。TEA 阻断组  $E_{\max} = 97.87\% \pm 4.14\%$ ; Gliben 阻断组  $E_{\max} = 95.33\% \pm 4.86\%$ ; BaCl<sub>2</sub> 阻断组  $E_{\max} = 95.52\% \pm 4.94\%$ ; 对照组  $E_{\max} = 97.01\% \pm 3.76\%$ , 钾离子通道阻断剂不能抑制其血管舒张作用,神香草挥发油舒张血管可能与钾离子通道激活无关,见图 5。

### 3.6 神香草挥发油对血管收缩物质诱发血管收缩的影响

稳定的去内皮血管环用神香草挥发油预处理 15 min 后,与未经处理的血管环相比 Dopa、PE、K<sup>+</sup> 引起的血管收缩差异显著 ( $P < 0.01$ )。即神香草挥

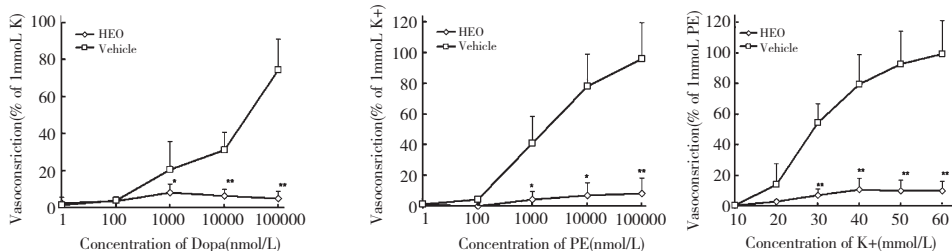


图 6 神香草挥发油对血管收缩物质诱发血管收缩的影响 ( $n = 4-6, \bar{x} \pm s$ )

Fig. 6 Effect of HEO on vasoconstriction induced by vasoconstrictors ( $n = 4-6, \bar{x} \pm s$ )

注: 与对照组比较, \*\*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$

Note: compared with vehicle, \*\*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$

### 3.8 神香草挥发油对内钙释放的影响

用无钙 K-H 液 (100 nmol/L EGTA) 处理去内皮血管环后,加入 1  $\mu\text{mol/L}$  PE 可以导致小幅度、缓慢而持续的血管收缩,该收缩主要靠调动胞质内钙释放而引发。在相同无钙 K-H 液 (100 nmol/L EGTA) 处理下,加入神香草挥发油则显著抑制了 PE 刺激的内钙释放引起的血管收缩 ( $P < 0.01$ ),见图 8。

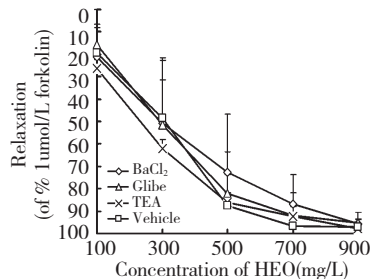


图 5 钾通道阻断剂对神香草挥发油血管舒张血管作用的影响 ( $n = 6, \bar{x} \pm s$ )

Fig. 5 Effect of K<sup>+</sup> channel inhibitors on HEO induced relaxation in aorta rings ( $n = 6, \bar{x} \pm s$ )

发油组与对照组相比, Dopa、K<sup>+</sup>、PE 在一定浓度范围内,血管收缩差异显著,神香草挥发油对 Dopa、PE 和 K<sup>+</sup> 诱导血管收缩的最大抑制率分别为 74.38%、95.81% 和 89.91%,见图 6。

### 3.7 神香草挥发油对 CaCl<sub>2</sub> 量效曲线的影响

在无钙高钾 K-H 液中,60 mmol/L K<sup>+</sup> 去极化的血管环平滑肌细胞膜电位发生变化,电压依赖性钙离子通道 (voltage dependent calcium, VDCCs) 开放,血管环随着 CaCl<sub>2</sub> 浓度的增加呈浓度依赖性收缩,神香草挥发油处理组 CaCl<sub>2</sub> 量效曲线被明显右移 ( $P < 0.01$ ),见图 7。表明神香草挥发油可能作用于血管平滑肌钙离子通道,抑制钙离子内流。

## 4 讨论与结论

正常机体在生理情况下处于氧化与还原平衡状态。但在病理状态下,机体内氧自由基的产生和还原系统防御之间严重失衡,诱发多种心血管疾病<sup>[9]</sup>。研究表明如高血压病、缺血性心脏病等心血管疾病的发生发展与血管张力障碍和氧化应激密切

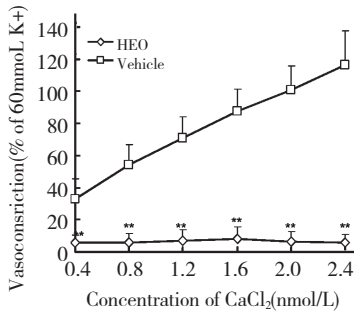


图7 神香草挥发油对  $\text{CaCl}_2$  量效曲线的影响 ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

Fig.7 Effect of HEO on concentration-response curves of  $\text{CaCl}_2$  ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

注:与对照组比较, \*\*  $P < 0.01$

Note: compared with vehicle, \*\*  $P < 0.01$

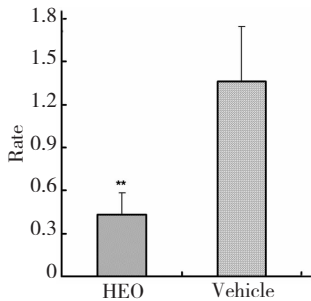


图8 神香草挥发油对内钙释放的影响 ( $n=5, \bar{x} \pm s$ )

Fig.8 Effect of HEO on cytoplasmic calcium release in aorta rings ( $n=5, \bar{x} \pm s$ )

注:与对照组比较, \*\*  $P < 0.01$

Note: compared with vehicle, \*\*  $P < 0.01$

相关<sup>[10]</sup>, 本文就神香草挥发油抗氧化能力和对血管的舒张作用及其作用机制进行了探索。

邻苯三酚和 DPPH 自由基清除实验结果显示, 神香草挥发油在体外能够清除部分自由基, 具有一定的抗氧化能力, 但是其清除率不高, 其抗氧化能力有待进一步研究。神香草挥发油对内皮完整主动脉环和去内皮的主动脉环都有浓度依赖性舒张作用, 且舒张作用没有明显差异。推测其可能直接作用于血管平滑肌而发挥作用。众所周知, 血管内皮与血管舒缩功能关系密切。内皮源性舒张因子一氧化氮 (NO) 在舒张血管作用中起着重要作用, NO 进入平滑肌细胞后, 与可溶性鸟苷酸环化酶受体结合从而激活鸟苷酸环化酶 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP), 升高 cGMP 浓度抑制肌球蛋白轻链激酶, 从而产生舒张血管作用<sup>[11]</sup>。ODQ 是 sGC 高选择性抑

制剂, 通过与 NO 竞争结合 sGC 而抑制该酶活性, 使 cGMP 水平下降<sup>[12,13]</sup>。本实验检测 ODQ 对 sGC/cGMP 的介入情况, 结果提示 ODQ 不能抑制神香草挥发油对血管环的舒张作用, 表明神香草挥发油的舒张作用可能与 sGC/cGMP 系统无关。

血管平滑肌上主要有 4 种钾离子通道<sup>[14]</sup>, 即电压依赖性钾通道 (voltage-activated  $\text{K}^+$  channels,  $\text{K}_v$ ), 内向整流钾通道 (inward rectifier  $\text{K}^+$  channels,  $\text{K}_ir$ ), 大电导钙激活性钾通道 (large conductance calcium activate  $\text{K}^+$  channels,  $\text{BKCa}$ ) 和 ATP 敏感钾通道 (ATP sensitive  $\text{K}^+$  channels,  $\text{K}_{ATP}$ )。本实验用  $\text{K}_{ATP}$  阻断剂 Gliben,  $\text{BKCa}$  阻断剂 TEA,  $\text{K}_ir$  阻断剂  $\text{BaCl}_2$  干预<sup>[15]</sup>, 发现阻断剂预处理后神香草挥发油的舒张血管作用无明显变化。初步推测, 神香草挥发油的舒张血管作用与钾离子通道无关。

有研究表明, 血管收缩物质去氧肾上腺素 (PE) 通过 G 蛋白偶联受体信息途径激活受体操控性钙通道 (receptor-operated calcium channel, ROCCs), 诱导外钙内流, 影响血管张力<sup>[16]</sup>。本实验中将在此基础上对 PE 以及另外两中血管收缩物质 Dopa、 $\text{K}^+$  进行探讨, PE、Dopa、 $\text{K}^+$  诱发的神香草挥发油预处理的血管环收缩曲线与未用神香草挥发油预处理的收缩曲线相比都有显著右移, 说明神香草挥发油抑制血管收缩物质的作用且与这些物质的特异性受体无关, 具体机制可能涉及下游信号通路, 包括细胞内钙离子浓度的调节。

外钙内流和内钙释放决定着血管平滑肌的收缩。外钙内流主要通过 VDCCs 和 ROCCs 完成<sup>[17]</sup>。细胞外高钾使平滑肌细胞膜去极化<sup>[18]</sup>, 激活 VDCCs, 导致钙离子内流收缩血管。1,4,5-三磷酸肌醇 (inositol-1,4,5-triphosphosate,  $\text{IP}_3$ ) 受体系统和雷尼丁受体系统调控胞质贮存钙的释放<sup>[19]</sup>。前者通过  $\text{IP}_3$  与其受体结合后, 诱发细胞胞质内钙释放; 后者通过调节环腺苷二磷酸核糖 (cyclic adenosine diphosphate ribose, cADPR) 含量, cADPR 作用于雷尼丁受体诱发内钙释放。通过  $\text{IP}_3$  受体途径介导的少量胞质内钙释放引起无钙液中 PE 短暂收缩血管作用<sup>[18]</sup>。

神香草挥发油可使无钙高钾液中的  $\text{CaCl}_2$  量效曲线右移, 说明神香草挥发油可能通过阻滞血管平滑肌上 VDCCs 的开放从而抑制钙离子内流, 进而抑制血管平滑肌收缩。实验结果显示, 在正常钙的 K-H 液中, 神香草挥发油不仅可以舒张 PE 预收缩的



血管环, 神香草挥发油前处理也可以抑制 PE 引起的血管收缩, 其作用机制可能与抑制了经由 ROCCs 的外钙内流有关。另外神香草挥发油可以显著抑制无钙 K-H 液中 PE 诱导的血管收缩, 推测其机制可能与 PE 诱发的胞质内钙释放有关。

综上所述, 神香草挥发油在体外有一定的抗氧化能力, 但强度较弱; 神香草挥发油可舒张离体血管, 且为非内皮依赖性, 其可能通过抑制经由血管平滑肌细胞的钙离子内流以及抑制胞质内钙离子释放而发挥血管舒张作用, 其详细机制还有待进一步探讨。

**致谢:** 本课题的一部分工作是在新疆医科大学协同创新中心药理学研究室完成, 英文摘要部分由新疆医科大学附属中医医院新疆呼吸病重点实验室比拉里·艾山博士后协助完成。在此表示感谢!

#### 参考文献

- 1 Yang WJ(杨文娟), Hong Z(洪泽), Yan SM(严思敏), *et al.* Research progress of the effect and mechanism of oxidative stress on vasoactive substances. *J Pharm Res* (药学研究), 2015, 34:726-730.
- 2 Pavela R. Insecticidal activity of certain medicinal plants. *Fitoterapia*, 2004, 75:745-749.
- 3 Lu M, Battinelle L, Daneile C, *et al.* Muscle relaxing activity of *Hyssopus officinalis* essential oil on isolated intestinal preparations. *Plant Med*, 2002, 68:213-216.
- 4 Mazzanti G, Lu M, Salvatore G. Spasmolytic action of the essential oil from *Hyssopus officinalis* l. var. *decumbens* and its major components. *Phytother Res*, 1998, 12:92-94.
- 5 Qiu HX(裘惠霞), Yao L(姚雷). *Hyssopus* and anti-aging effect of extracts. *J Shanghai Jiaotong Univ* (上海交通大学学报), 2005, 23(1):1-4.
- 6 Atikanmu W(阿提坎木·瓦合甫), Rena K(热娜·卡斯木), Mirensha Y(米仁沙·牙庠甫), *et al.* Study on antioxidant activity *in vitro* and *Schizonepeta bracteata* *Hyssopus officinalis*. *Chin J Exp Med* (中国实验方剂学杂志), 2014, 20:106-109.
- 7 Zhang YL(章银良), Zhang LY(张陆燕), Zhou WQ(周文权), *et al.* Effects of different temperature on casein - xylose Maillard reaction products of the oxidation mode. *Mod Food Sci Technol* (现代食品科技), 2014, 30:211-219.
- 8 Zhang HP(张洪平), Tian G(田戈), Yang T(杨涛), *et al.* The relaxation of the thoracic aorta rings and the toxic effects of the rat renal cells *in vitro*. *Chin J Exp Med* (中国实验方剂学杂志), 2013, 19:209-212.
- 9 Gao SL(高淑磊), Gao AW(高爱武), Liu JH(刘俊红), *et al.* Study on the correlation between high blood pressure and oxidative stress. *Hebei Med J* (河北医药), 2011, 33:2770-2771.
- 10 Zhao FL(赵凤来). Advance in treatment of essential hypertension. *Jilin Med J* (吉林医学), 2014, 35:1051-1052.
- 11 Marn J, Rodriguez-Martinez MA. Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions. *Pharmacol Ther*, 1997, 75:111-134.
- 12 Pan J(潘洁), Zhong FF(钟方芳), Wang HY(王红艳), *et al.* Soluble guanylate cyclase mediated NO study on the structure and molecular mechanism of signal transduction. *Chin Sci, Chem* (中国科学, 化学), 2014, 44:572-585.
- 13 Derbyshire ER, Marletta MA. Structure and regulation of soluble guanylate cyclase. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81:533-559.
- 14 Nelson MT. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. *Am J Physiol*, 1995, 268:C799-C822.
- 15 Jiang M(姜敏), Zhang HP(张洪平), Luo TT(罗婷婷), *et al.* Vanilla essential oil medicine lip vasodilation of isolated thoracic aorta in rat and its mechanism. *Chin J Hospital Pharm* (中国医院药学杂志), 2015, 35:817-821.
- 16 Thorneloe KS, Nelson MT. Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium and contractility. *Can J Physiol Pharmacol*, 2005, 83:215-242.
- 17 Harraz OF, Altier C. STIM1-mediated bidirectional regulation of Ca(2+) entry through voltage-gated calcium channels (VGCC) and calcium-release activated channels (CRAC). *Front Cell Neurosci*, 2014, 8(43):1-6.
- 18 Stuzmann GE, Mattson MP. Endoplasmic reticulum Ca(2+) handling in excitable cells in health and disease. *Pharmacol Rev*, 2011, 63:700-727.
- 19 Zhang HP(张洪平), Li YJ(李亚娟), Zhang DD(章丹丹), *et al.* Magnolia methylene chloride extract on isolated rat thoracic aorta rings the vasodilation and its mechanism. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 2010, 26:1689-1694.