



研究报告

Research Report

黄酮类 pulicarin 的舒张作用

Khushmatov Sh.S.¹, Omonturdiyev S.Z.², Eshbakova K.A.¹, Usmanov P.B.², Toshmatov Z.O.¹

1 A.S.Sadikov Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 100125, Tashkent, Uzbekistan

2 S.Yu.Yunusov Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 100170, Tashkent, Uzbekistan

✉ 通讯作者: shunqorsh@mail.ru; ✉ 作者

植物药与药理学杂志, 2012 年, 第 1 卷, 第 12 篇 doi: [10.5376/jpmp.cn.2012.01.0012](https://doi.org/10.5376/jpmp.cn.2012.01.0012)

收稿日期: 2012 年 10 月 18 日

接受日期: 2012 年 10 月 22 日

发表日期: 2012 年 11 月 27 日

本文首次发表在《Medicinal Plant Research》(2012, Vol. 2, No. 5)上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 对其进行授权, 再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

Khushmatov 等, 2012, 黄酮类 pulicarin 的舒张作用, 植物药与药理学杂志(online) Vol.1 No.12 pp.1-5 (doi: [10.5376/jpmp.cn.2012.01.0012](https://doi.org/10.5376/jpmp.cn.2012.01.0012))

引用格式(英文):

Khushmatov et al., 2012, Relaxant Effect of the Flavonoid Pulicarin, Zhiwuyao Yu Yaolixue Zazhi (online) Vol.1 No.12 pp.1-5 (doi: [10.5376/jpmp.cn.2012.01.0012](https://doi.org/10.5376/jpmp.cn.2012.01.0012))

摘要 在黄酮类 pulicarin 去氧肾上腺素和氯化钾引起的收缩的舒张作用条件下, 通过操作和电压对钙离子的流入与抑制平滑肌细胞(SMC)。pulicarin 的松弛作用, 揭示了内皮依赖性, 是由无/鸟苷酸环化酶系统的激活引起的。

关键词 黄酮, 平滑肌细胞, 收缩活动, 离子通道, 受体

Relaxant Effect of the Flavonoid Pulicarin

Khushmatov Sh.S.¹, Omonturdiyev S.Z.², Eshbakova K.A.¹, Usmanov P.B.², Toshmatov Z.O.¹

1 A.S.Sadikov Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 100125, Tashkent, Uzbekistan

2 S.Yu.Yunusov Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 100170, Tashkent, Uzbekistan

✉ Corresponding author, shunqorsh@mail.ru; ✉ Authors

Abstract It was established that the relaxant effect of flavonoid pulicarin in conditions of phenylephrine and KCl- induced contraction was related to the inhibition of the influx of Ca²⁺ ions through the receptor-operated and potential-dependent Ca²⁺-channels of smooth muscle cell (SMC). The relaxant effect of pulicarin was revealed to be endothelium dependent and caused by the activation of NO/guanylate cyclase system.

Keywords Flavonoid, Smooth muscle cells, Contraction activity, Membrane ion channels, Receptors

机制调节钙稳态和细胞运输系统中所涉及的条款是现代生理学和生物物理学最迫切需要解决的问题。钙离子发挥重要的作用在不同的细胞过程的提供和调节(Cheng et al., 2006)。特别是, 在平滑肌细胞(SMC)血管钙在一般条款和收缩功能的调控中起主导作用(Karakia et al., 1997; Nilius et al., 1997; Sanders, 2001; Berridge, 2008)。在这些不受控制的变化的 Ca²⁺浓度在 SMC cytoplasm 在违约的钙转运系统导致其电气性能的显著变化和其兴奋性和收缩活动的行为。由于这些偏差失调调节血管张力和心血管系统, 最终是疾病如心脏病和高血压的主要原因(Niemeyer et al., 2001; Jenitsch et al., 2004; Cheng et al., 2006)

在这方面, 对钙稳态的调节机制, 尤其是细胞运输系统参与维护调节药理机制的研究, 现在被给予特别的关注(Cheng et al., 2006)。要成功地解决这些问题, 特别是调节不同的钙转运系统的 SMC 的表征, 搜索和新的化合物。在自然物质的一个重点, 如植物黄酮类化合物, 具有广泛的生物学效应(Narayana et al., 2001; Gross, 2004; Dong et al., 2009), 和他们中的一些表现出明显的降压作用(illar et al., 2004; Dong et al., 2009)。在这种情况下, 研究黄酮类化合物与复杂的生物物理和电生理技术将不仅研究他们的行动的特点, 在细胞, 亚细胞和分子水平, 而且还建立其生物效应的可能机制。

鉴于以上所述, 这项工作的目的是研究黄酮类 pulicarin 降压作用机制(图 1)厂用鼠鞠蚤草植物化学研究所(Eshbakova, 2011)对离体血管平滑肌收缩活动的大鼠主动脉钾溶液和苯肾上腺素诱导。

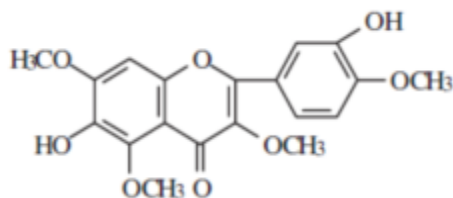




图 1 pulicarin 化学结构 (6,3'-dihydroxy- 3,5,7,4'-methoxyflavone) (Eshbakova, 2011)

Figure 1 Chemical structure of pulicarin (6,3'-dihydroxy- 3,5,7,4'-methoxyflavone) (Eshbakova, 2011)

1 材料与方 法

对实验进行了准备, 这是 3 ~ 4 毫米宽环主动脉白化大鼠(200 ~ 250 g), 放置在一个特殊的 Krebs Henseleit 灌注溶液腔室(5 毫升)。在与实验动物的工作中, 完全遵循赫尔辛基宣言和人类治疗的动物的国际原则。

在这项工作中, 我们使用 Krebs Henseleit 组成如下(mmol/L): 氯化钠 118.6 mmol/L; 4.8 mmol/L KCl; 氯化钙 2.5 mmol/L; 硫酸镁 1.2 mmol/L; 磷酸二氢钾 1.2 mmol/L; 碳酸氢钠 20 mmol/L, 血糖 10 mmol/L, pH 值 7.4。在一些实验中也用无钙溶液, 排除克雷布斯钙离子, 并联系他们加入 Ethylene glycol bis(β-氨基乙基醚)-N, N, N, N'-四乙酸(EGTA)(1 mmol/L)。karbogenoxygenated 解(95% O₂, 5% CO₂), 使溶液的温度保持在 37±0.5â„ƒ 与 ultrather -最 U-8。

主动脉环悬挂在一侧的细胞固定银钩的收缩活动, 并对传感器 ft-03 其他(草仪器有限公司, 美国), 用来测量张力。每种药物都适用于对应于 10 个锰的初级电压。经过一段时间的稳定(60 分钟)和 KCl 引起的抽筋的肌肉(50 mmol/L)和去氧肾上腺素(1μmol/L)和在这些条件下, 进行所有的实验。在研究内皮细胞作用的药物中, 主动脉内皮层除去。制备内皮层机械去除微细用拭子的帮助。的内皮细胞的去除程度进行了评估缺乏影响的乙酰胆碱(1μmol / L)上的肌肉张力药物(Gonzales et al., 2000)。

传感器的信号被施加到传感器放大器和记录器 endim 621.02 记录(捷克共和国)和数据的计算机程序处理(OriginLab Corporation, USA)。价值 $\hat{a}\hat{e}\hat{e}$ 的收缩反应, 表示为苯肾上腺素引起最大反应的比例(1μmol/L)或 KCl(50 mmol/L)和计算的平均值为 $4\hat{a}\hat{e}\hat{e}\sim 8$ 不同试验(n = 4 ~ 8)。差异的意义确定偏差的学生(t)为变异系数, P<0.05 的值差异有统计学意义。

2 结果与讨论

初步研究中, 正常情况下, 在很宽的浓度范围内, 黄酮 pulicarin(3 ~ 50 mmol/L)对大鼠主动脉制剂的语气没有影响。这些数据表明, 在休息 pulicarin 不会引起的大鼠主动脉的收缩肌的活化制备。然而, 在进一步的实验中, 我们发现, pulicarin 有效放松大鼠主动脉的准备, 预切高钾溶液(50 mmol/L KCl), 即有明显的效果的放松。特别是, 它被发现的影响是剂量依赖性 pulicarin, 从浓度为 3 mmol/L, 这导致减少抑制力(17.6% ±4.4%), 相对于对照组诱导的体外环境, 其程度随着浓度的增加而增加, 在 30 mmol/L 时达到最大值(以 97.4% ±2.4%, 相对于对照组(图 2), 主动脉收缩反应的原始记录, 箭头表示 KCl 和 pulicarin 添加时间(mmol/L)。收缩 50 mmol/L KCl 诱导力, 取为 100%(P<0.01; n = 6 ~ 8)。

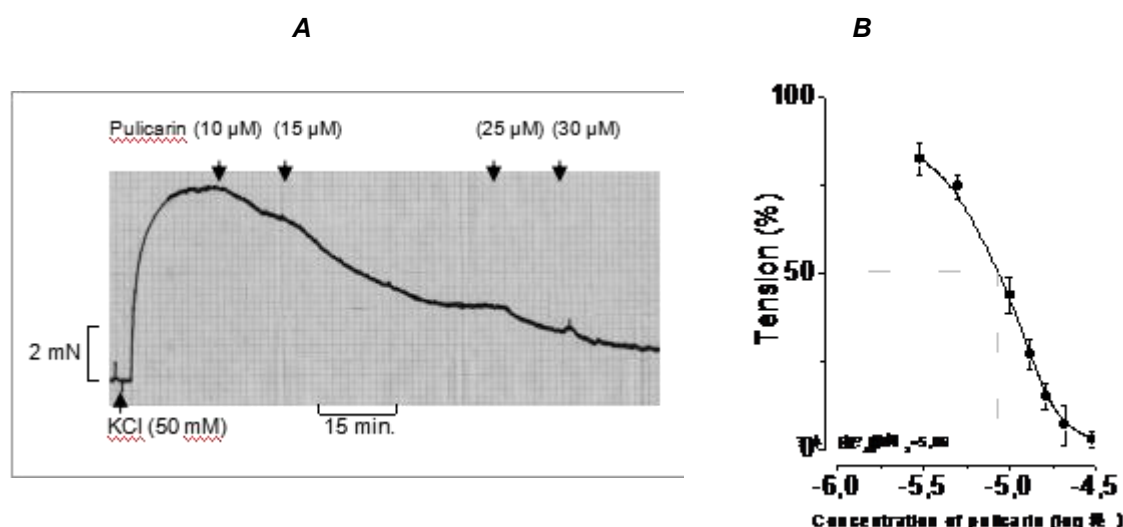


图 2 pulicarin 效应对 KCl 诱导的大鼠主动脉制备收缩

Figure 2 Pulicarin effect on KCl-induced contraction of rat aorta preparation (A) and the dependence of the relaxation pulicarin on its concentration (B)



在这些条件下, EC₅₀(浓度造成 50%强度的降低抑制 pulicarin)为 8.71 毫摩尔/升或 Pd₂(-log EC₅₀)= 5.06。然而, 我们发现, 药物 pulicarin 预孵育(30 mmol/L)引起的收缩反应明显抑制体外诱导方案。再生芽被分离出来, 个别微芽移到 MS 培养基基底+各种浓度的 GA₃ (0.25, 0.5, 1 mg/L)中进行再生芽伸长。

众所周知, KCl 引起的主动脉 SMC 的还原与电压依赖性钙通道激活 SMC 膜相关。同时, 增加(K)我改变膜电位去极化引起的, 由于它激活潜在的依赖性钙通道, 这导致增加(钙), 这反过来又导致减少 SMC(vandier et al., 2002)。

试验为了这分析和获得数据, 可以认为 pulicarin 作用机制可能是由于在 SMC 胞浆 Ca₂ 流入的抑制, 通过阻断电压依赖性钙通道的膜。为了验证这一假设, 我们进行了一个特殊的一系列实验, 使用无钙克雷布斯溶液。这些实验的结果, 在没有钙的培养基 pulicarin 保持抑制 KCl 诱发的收缩反应的能力(50 mmol/L)。

这些实验的结果表明, 放松效果 pulicarin 实施的重要细胞外钙离子内流, 这可能表明了黄酮类化合物的相互作用与此电位依赖性钙通道的 SMC 膜。在实验中得到了这个额外的确认维拉帕米(0.01 μmol/L), 特异性拮抗剂的电位依赖性钙通道, 在他们面前, pulicarin 效率明显增加(图 3)。

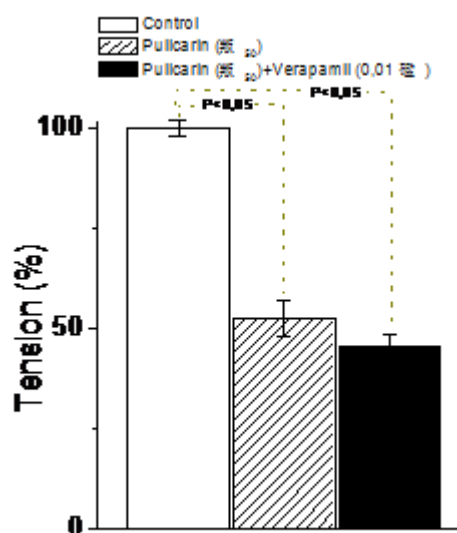


图 3 Verapamil 对 pulicarin 舒张作用的影响
Figure 3 Effect of verapamil on relaxant effect of pulicarin

这些实验表明, 在氯化钾引起的收缩 pulicarin 的舒张作用, 由于它们的相互作用与 SMC 细胞膜电位依赖性钙通道。由于这种相互作用的结果, 很显然, 是阻断这些通道, 导致胞浆 Ca₂₊进入 SMC 和降低其浓度抑制。反过来, 在 SMC 中钙的浓度降低, 被称为是一个级联反应导致的收缩和松弛的抑制作用。

同时, 我们研究了 pulicarin 影响受体操纵和存储操作的质膜 Ca₂ 通道, 这对钙的功能相关的运输系统的肌浆网(SR)。众所周知, 苯肾上腺素诱导的血管收缩反应引起 SMC 激活受体 IP₃(Buus et al., 1998)。

初步实验中, 结果表明, pulicarin(30 mmol/L)对苯肾上腺素诱导的血管收缩后(1 μmol/L)和特异性拮抗剂异搏定-电位依赖性钙通道的存在(0.01 mmol/L), 造成的抑制大鼠主动脉停电 SMC 对(74.8±4.3)%, 相对于对照(N = 6, P<0.05)。

在这些条件下, 在阻断电压依赖的钙通道膜维拉帕米收缩反应的苯肾上腺素诱导产生收入的钙受体操纵和存储操作的质膜 Ca₂ 通道, 它的功能与钙转运系统 SR(Buus et al., 1998)。考虑到这和对数据的分析, 我们可以假定松弛作用的黄酮类 pulicarin 由于其作用受体操纵和存储操作的钙通道和细胞膜钙转运系统大鼠主动脉 SMC。测试不含 Ca₂ 媒体研究了这种可能性 pulicarin 苯肾上腺素诱导的血管收缩反应的影响。由于我们的实验结果, pulicarin(30 mmol/L)和无钙媒体保留抑制苯肾上腺素诱导的血管收缩反应的能力(1 μmol/L)。这些实验的结果表明, 在钙离子的情况下在培养基 pulicarin 抑制肾上腺素诱导的反应, 主要通过抑制从 SR 钙释放特别是, 通过激活过程实现了多种化



合物松弛的效果, 为血管内皮细胞舒张因子的合成(Nilius 和 droogmans, 2001)。在这方面, 它是评价的实施 pulicarin 舒张作用的内皮的作用有趣。

在初步的实验结果表明, 对 pulicarin 松弛作用的效率显著依赖于内皮细胞的存在下, 与远程内皮细胞制剂显著降低(表 1)。这些结果有力地表明, pulicarin 的松弛作用的实现是重要的内皮细胞。节约部分的松弛作用的准备远程内皮 pulicarin 可能表明, 在这些条件下, 它能抑制钙在 SMC 的入口通过定位在质膜。在这样的背景下, 并且考虑到 pulicarin 动作的舒张作用明显依赖于内皮细胞的影响, 我们假设 pulicarin 可以通过不通过内皮细胞产生的影响来实现的。为了检验这一假设, 我们进行了实验与 NO 合成酶抑制剂-L-NAME(100 mmol/L)和环氧合酶-消炎痛阻断剂(10 μ mol/L)。在 SMC 无及其扩散合成的放大导致激活鸟苷酸环化酶系统和增加环磷酸鸟苷(cGMP)生产。反过来在 SMC、cGMP 浓度的增加, 触发的级联反应, 导致细胞内 Ca²⁺ 浓度降低和放松中

表 1 对主动脉内皮依赖性舒张 pulicarin 影响

Table 1 Effect of pulicarin on endothelium-dependent relaxation in aortic rings

Condition of experiment	Concentration of pulicarin (μ M)					
	3	5	10	20	25	30
	Force of reduction in % from the control accepted for 100%					
In endothelium-intact rat aorta rings	82,4 \pm 4,4	74,6 \pm 3,4	43,7 \pm 5,3	26,8 \pm 4,2	15,1 \pm 3,6	2,6 \pm 2,4
In endothelium-denuded rat aorta rings	89,7 \pm 2,6	87,3 \pm 4,9	84,3 \pm 2,3	81,2 \pm 3,4	78,2 \pm 3,6	77,5 \pm 3,7

3 结论

总的来说, 根据数据我们可以得出这样的结论: pulicarin 动作松弛作用主要靠激活 NO/cGMP 级联(在 phenylefrin 引起的挛缩)和阻止潜在依赖性钙通道(氯化钾引起的收缩)。这些数据可以作为进一步详细的解释药理作用机制的基础。

参考文献

- Berridge M.J., 2008, Smooth muscle cell calcium activation mechanisms, *Journal of Physiology*, 586: 5047-5061
<http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2008.160440>
- Buus C.L., Aalkjaer C., Nilsson H., Juul B., Muller J.V., and Mulvany M.J., 1998, Mechanisms of Ca²⁺ sensitization of force production by noradrenaline in rat mesenteric small arteries. *J. Physiol.*, 510 (2): 577-590
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-7793.1998.577bk.x>
- Eshbakova K.A., 2011, Chemical constituents of *Pulicaria gnaphalodes* Boiss, *Medicinal Plants*, 3(2): 161-163
- Gonzales R.J., Carter R.W., and Kanagy N.L., 2000, Laboratory demonstration of vascular smooth muscle function using rat aortic ring segments, *Adv. Physiol. Educ.*, 24: 13-21
- He-ping Cheng, Sheng Wei, Li-ping Wei, and Verkhatsky A., 2006, Calcium signaling in physiology and pathophysiology, *Acta Pharmacologica Sinica*, 27(7): 767-772
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-7254.2006.00399.x>
- Jenitsch T., Hubner C.A., and Fuhrmann J., 2004, Ion channels: Function unraveled by dysfunction, *Nature Cell Biology*, 6: 1039-1047
<http://dx.doi.org/10.1038/ncb1104-1039>
- Karakia H., Ozaki H., Masatoshi Hori, Minori Mitsui-Saito, Ken-Ichi Amano, Ken-Ichi Harada, Shigeki Miyamoto, Hiroshi Nakazawa, Kyung-Jong Won and Koichi Sato, 1997, Calcium Movements, Distribution, and Functions in Smooth Muscle, *Pharm. Rev.*, 49(2): 157-230
- Myron Gross, 2004, Flavonoids and Cardiovascular Disease, *Pharmaceutical Biology*, Vol. 42, Supplement, pp. 21-35
<http://dx.doi.org/10.3109/13880200490893483>
- Narayana K.R., Reddy M.S., Chaluvadi M.R., and Krishna D.R., 2001, Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential, *Indian Journal of Pharmacology*, 33: 2-16
- Niemeyer B.A., Mery L., Zavar C., and Suckov A., 2001, Ion channels in health and disease, *EMBO Reports*, 2(7): 568-573
<http://dx.doi.org/10.1093/embo-reports/kve145>
- Nilius B., and Droogmans G., 2001, Ion channels and their functional role in vascular endothelium, *Physiological Reviews*, 81(4): 1415-1459
- Nilius B., -Viana F., and Droogmans -G., 1997, Ion channels in vascular endothelium, *Annual Review of Physiology*, 59: 145-170
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.physiol.59.1.145>
- Sanders K.M., 2001, Signal transduction in smooth muscle. invited review: Mechanisms of calcium handling in smooth muscles, *J. Appl. Physiol.*, 91(3): 1438-1449
- Vandier D., Jean-Yves Le Guennec, and Bedfer G., 2002, What are the signaling pathways used by norepinephrine to contract the artery? A demonstration using guinea pig aortic ring segments, *Adv. Physiol. Educ.*, 26: 195-203
- Villar I.C., Vera M.G.R., Mari F.O., García-Saura F., Zarzuelo A., and Duarte J., 2004, Effects of the dietary flavonoid chrysin in isolated rat mesenteric vascular bed, *J. Vasc. Res.*, 41: 509-516
<http://dx.doi.org/10.1159/000081807>
- Xiaowu Dong, Tao Liu, Jingying Yan, Peng Wu, Jing Chen, and Yongzhou Hu, 2009, Synthesis, biological evaluation and quantitative structure-activities relationship of flavonoids as vasorelaxant agents. *Bioorganic & Medicinal*



Chemistry., 17: 716-726

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2008.11.052>