

黏膜的防御、修复作用，才能从根本上解决慢性胃炎的发生和复发。

大量实验研究表明，许多中药及其有效成分、中药复方有保护胃黏膜屏障的作用<sup>[6-9]</sup>。其现代药理主要表现在增强胃黏液-碳酸氢盐屏障(胃黏膜保护作用)、改善胃黏膜血流和微循环、抗自由基损伤、减轻炎症反应等<sup>[10-13]</sup>方面。复方陈香胃片是一种中西药复方产品，方中陈皮、木香理气健脾、行气止痛，石菖蒲化湿开胃，大黄泻热通肠。现代药理学研究显示，复方陈香胃片中木香具有抗炎镇痛的作用<sup>[14]</sup>，陈皮有促进胃排空和小肠推进作用<sup>[15]</sup>，二者相互协同可发挥抗炎和促消化的功效；而大黄抗感染<sup>[16]</sup>以及石菖蒲抑菌促消化液分泌的作用<sup>[17]</sup>增强了复方陈香胃片抗炎和促进消化的功效；同时，方中的碳酸氢钠、重质碳酸镁、氢氧化铝均为抗酸药，可中和过多的胃酸，减轻炎症反应。本研究结果显示，复方陈香胃片组大鼠的胃黏膜内炎症细胞明显减少，炎症反应明显减轻。观察结果显示复方陈香胃片与三九胃泰、达喜均有一定的胃黏膜保护作用，提示复方陈香胃片可保护胃黏膜，具有防治慢性胃炎的作用。

#### 参考文献：

- [1] 杨鹏，冯蓓，陈复，等. 复方陈香胃片对胃肠功能影响的实验研究[J]. 四川生理科学杂志, 2011, 33(4): 157.
- [2] 张三印，杨鹏，冯蓓，等. 复方陈香胃片对大鼠胃液分泌功能影响的实验研究[J]. 云南中医药杂志, 2012, 33(8): 59-61.
- [3] 陈瑾，陈复，冯蓓，等. 复方陈香胃片治疗大鼠胃溃疡的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2012, 39(增刊): 195-198.
- [4] 叶秋明，梅全喜，黄颖思，等. 和胃消痞合剂对大鼠慢性胃炎 pH 值和胃黏膜病理影响[J]. 今日药学, 2011, 21(9): 556-558.
- [5] 房静远. 胃黏膜保护剂与慢性胃炎[J]. 中华消化杂志, 2007, 27(11): 759.
- [6] 赵小原，其其格，白音夫. 茜草对大鼠寒冷型应激性胃黏膜损伤保护作用及病理改变的观察[J]. 中国民族医药杂志, 2004, 7(3): 28.
- [7] 顾茵，宋志芳，潘祝平，等. 大黄对危重病患者胃肠道保护及肾功能不全的治疗作用[J]. 医师进修杂志, 2001, 24(11): 34.
- [8] 潘怀耿，李如柳，李卫民，等. 黄连厚朴丸对实验性胃黏膜损伤、腹泻和呕吐的影响[J]. 中国新药杂志, 2004, 13(2): 126.
- [9] 芮菁，华晓东，唐元泰，等. 胃肠舒的药理作用研究[J]. 中成药, 2004, 26(7): 567.
- [10] 徐颖，张祖志，万正清，等. 半夏泻心汤对应激性胃黏膜损伤大鼠血管活性肠肽含量的影响[J]. 中医药临床杂志, 2004, 16(2): 97.
- [11] 王琼，程景林，赵维中. 银杏叶提取物对胃黏膜保护作用的实验研究[J]. 中华消化杂志, 2001, 21(2): 120.
- [12] 李振彬，万建喜. 和平散对消炎致大鼠胃黏膜损伤的保护作用[J]. 中国医师杂志, 2002, 4(10): 1108.
- [13] 马燕，金家宏，赵堆中，等. 桉予总苷对阿司匹林致胃黏膜损伤的保护作用[J]. 安徽医科大学学报, 2004, 39(5): 354.
- [14] 瞿燕，胡慧玲，傅超美，等. 川木香煨制前后抗炎与镇痛作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(6): 1442-1443.
- [15] 李庆耀，梁生林. 陈皮的药用研究进展[J]. 中成药, 2008, 30(2): 246-248.
- [16] 李强. 大黄药理与临床应用[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(22): 2740-2741.
- [17] 吴启端，吴清和. 石菖蒲的药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(06): 477-480.

(编辑：邓响潮)

## 多枝雾水葛对大鼠皮肤溃疡的作用及机制研究

陈艳芬，李开莹，邓琪，刘旭阳，沈志滨，郭丽冰(广东药学院中药学院，广东广州 510006)

**摘要：**目的 研究多枝雾水葛提取物对感染诱发皮肤溃疡的治疗作用，并初步探讨其作用机制。**方法** 建立大鼠细菌性外伤感染皮肤溃疡模型，通过测定大鼠皮肤的脓肿体积、胸腺指数、脾脏指数、血清中肿瘤坏死因子-α(TNF-α)和白细胞介素-1(IL-1)，观察局部病理形态，评价多枝雾水葛提取物对大鼠皮肤溃疡的疗效。**结果** 多枝雾水葛提取物能显著减轻外伤性溃疡大鼠的脓肿体积( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )，改善局部病理形态，促进溃疡愈合，能明显升高脾脏指数( $P < 0.05$ )，降低大鼠血清中 IL-1 的含量( $P < 0.05$ )。**结论** 多枝雾水葛提取物对外伤感染引起的皮肤溃疡具有消肿排脓及促进皮肤愈合作用，其机制可能与抑制炎性因子的释放和调节

收稿日期：2012-10-26

作者简介：陈艳芬，女，博士，副教授，研究方向：中药抗炎免疫、呼吸和消化系统药理研究。Email: xwnai@163.com。通讯作者：郭丽冰，教授，研究方向：中药化学成分研究与开发。Email: guolibing512@126.com。

基金项目：广东省科技厅社会发展资助项目(93039)；国家科技部重大新药创制专项(2011ZX09102-007-03)。

免疫有关。

**关键词:** 多枝雾水葛; 皮肤溃疡; 作用机制

**中图分类号:** R285.5    **文献标志码:** A    **文章编号:** 1003-9783(2013)03-0247-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.03.010

### Therapeutic Effect and Mechanism of *Pouzolzia zeylanica* on Skin Ulcers in Rats

CHEN Yanfen, LI Kaiying, DENG Qi, LIU Xuyang, SHEN Zhibin, GUO Libing (School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

**Abstract:** **Objective** To study the therapeutic effect and mechanism of *Pouzolzia zeylanica* extract on skin ulcers induced by infection with *Staphylococcus aureus*. **Methods** Rat skin ulcer model was established by traumatic injury and infection with *Staphylococcus aureus*. The effects of *Pouzolzia zeylanica* were evaluated by the parameters of ulcer swelling volume, local pathologic morphology, thymus index and spleen index, tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ) and interleukin (IL-1) content in serum. **Results** *Pouzolzia zeylanica* decreased rats ulcer swelling volume ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), improved pathologic morphology and promoted ulcer healing. It also obviously increased spleen index ( $P < 0.05$ ), and significantly decreased IL-1 content ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** *Pouzolzia zeylanica* extract can promote the discharge of pus and detumescence, and promote the healing of skin ulcers induced by trauma infection. Its mechanism may be related with the inhibition of inflammation factors releasing and with regulating immune function.

**Keywords:** *Pouzolzia zeylanica*; Skin ulcers; mechanism

《新华本草纲要》记载, 莼麻科雾水葛属 *Pouzolzia* 药用植物共有 4 种, 皆有除湿、消肿、解毒的功效。多枝雾水葛 *Pouzolzia zeylanica* (L.) Benn.Var. *microphylla* (Wedd.) W.T.Wang. 是其中一种, 别名脓见消、啜脓膏、地消散等。该品种广泛分布于华南地区, 植物资源丰富, 民间药用有口服和外搽两种方法, 其主要功效为解毒消肿, 接骨<sup>[1-2]</sup>。佛山市中医院用多枝雾水葛、白鹤藤制成的医院制剂“拔脓膏”, 有清热消炎、化腐排脓、拔毒生肌功效, 用于痈疮肿毒、骨髓炎以及开放性骨折感染创面等的治疗<sup>[3]</sup>。但其药理作用及机制研究未见报道。课题组前期研究发现多枝雾水葛水提取物口服具有较强的抗炎镇痛作用<sup>[4]</sup>, 外搽对小鼠皮下脓肿模型有消肿排脓、促进愈合的作用<sup>[5]</sup>。为了进一步研究多枝雾水葛治疗疮痈等感染性疾病的药理作用及作用机制, 本研究建立了大鼠皮肤溃疡模型, 观察多枝雾水葛提取物的治疗作用, 并以胸腺指数、脾脏指数、肿瘤坏死因子 -  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 - 1(IL-1) 为观察指标, 探讨其作用机制, 为多枝雾水葛的临床应用提供实验依据。

## 1 材料与方法

**1.1 药品及试剂** 多枝雾水葛于 2008 年 7 月采自广州, 经中药标本馆刘基柱副教授鉴定为蓼麻科雾水葛属植物多枝雾水葛 *Pouzolzia zeylanica* (L.) Benn.

Var. *microphylla* (Wedd.) W.T.Wang. 的全草, 阴干备用。取多枝雾水葛粗粉 1 kg, 加 10 倍量水加热回流提取 3 次, 每次 1 h, 合并滤液, 减压浓缩成流浸膏, 加入已与热水充分搅拌混合的淀粉基质, 定容至 100 mL, 充分搅匀, 即为多枝雾水葛水提取物外搽剂, 每毫升含生药 10 g, 保存备用; 拔脓膏, 佛山市中医院, 批号: 100921; 莫匹罗星软膏(百多邦), 中美天津史克制药有限公司, 批号: 1010513。乌来糖, 上海贺宝化工有限公司, 批号: 100422。TNF- $\alpha$  和 IL-1 ELISA 试剂盒, 武汉华美生物工程有限公司。

金黄色葡萄球菌菌株由广东药学院基础学院微生物与免疫实验室分离保存。菌株在 37 °C 营养肉汤中复苏 6 h 后, 转种琼脂平板, 37 °C 培养 17 h, 用无菌生理盐水(NS)快速洗涤 2 次, 然后再用无菌 NS 悬浮细菌至  $1 \times 10^{12}$  CFUs·mL<sup>-1</sup>。

**1.2 动物** SPF 级 SD 雄性大鼠, 体质量( $220 \pm 20$ )g, 购于广州中医药大学实验动物中心, 合格证号: SCXK(粤)2008-0020。

**1.3 仪器** TGL-16G 台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; E600 显微镜, 日本 Nikon 公司; 680 型酶标仪, 美国 Biorad 公司。

**1.4 模型建立** 取雄性 SD 大鼠 60 只, 适应性喂养

2 d。按照文献方法<sup>[6-7]</sup>略加改进,用脱毛液给大鼠背部脱毛,24 h 后按  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量腹腔注射 9% 乌来糖生理盐水溶液麻醉,在背部脱毛区做一个直径为 1 cm 的圆形印记,沿边缘剪下皮肤,深达肌筋膜。随即在伤口周缘注入已制备好的金黄色葡萄球菌液 1 mL。

**1.5 分组及给药方法** 模型复制次日可见大鼠伤口化脓、红肿,说明造模成功。将模型大鼠随机分为 4 组:模型组、百多邦组、拔脓膏组、雾水葛组。另设空白对照组,用于比较脏器指数和血清 TNF- $\alpha$  和 IL-1。各组予以相应的药物(0.5 g)涂敷创面并用无菌纱布包扎固定,每天换药 2 次,给药时间为 9 d。

### 1.6 观察指标

**1.6.1 外观观察** 参照文献评价标准<sup>[8-9]</sup>,对模型组和各药物组大鼠皮肤溃疡进行肉眼观察,记录局部皮肤变化并拍照。愈合标准:从用药之日起 9 d 内,脓肿消除,溃疡面完全愈合。

**1.6.2 脓肿体积测定** 参照文献方法<sup>[8]</sup>,从观察第 1 天开始,用游标卡尺分别测定脓肿的长径与宽径,并按照公式 [ $V = (\pi/12)L \cdot W \cdot H$ ] 计算脓肿的体积(其中 L 为长径, W 为宽径, H 为高度),直至实验结束。

**1.6.3 病理组织学检查** 动态观察各组大鼠脓肿局部病理组织形态变化,分别于造模第 3 天、第 6 天、第 9 天随机抽取各组大鼠 1~2 只,取其感染处皮肤于 10% 甲醛溶液中固定,石蜡包埋,切片,HE 染色,于光学显微镜下观察病理形态变化。

**1.6.4 胸腺指数与脾脏指数** 实验结束后处死大鼠,取胸腺及脾脏称质量,按公式计算胸腺指数与脾脏指数。脏器指数 = 脏器质量(mg)/体质量(g)  $\times 100$ 。

**1.6.5 TNF- $\alpha$  和 IL-1 含量测定** 末次给药后 1 h,大鼠腹腔注射 20% 乌来糖麻醉,开腹,用真空采血管经腹总动脉取血 5 mL,静置 30 min 后离心 15 min ( $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ),收集血清,参照试剂盒说明书方法,采用酶标仪测定 492 nm 波长处 OD 值,与标准曲线对照,计算各样品中 TNF- $\alpha$  及 IL-1 含量( $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。

**1.7 统计学处理方法** 数据用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,以 SPSS15.0 软件进行统计分析,组间比较采用单因素方差分析方法。

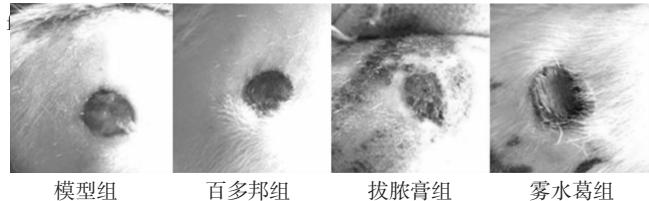
## 2 结果

**2.1 多枝雾水葛对大鼠皮肤溃疡伤口愈合的影响** 注射  $1 \times 10^{12} \text{ CFUs} \cdot \text{mL}^{-1}$  金葡菌后 1~2 d 内,局部皮肤可见明显的脓肿形成,并随着时间的推移感染处皮肤开始出现溃疡。治疗 9 d 后,雾水葛组和拔脓膏组

大鼠的脓肿基本消除,溃疡面愈合;百多邦组疗效稍差,9 d 后部分大鼠伤口愈合;而模型组大鼠绝大部分无明显改善,个别大鼠溃疡处的皮肤开始结痂。说明多枝雾水葛能明显促进脓肿消失和溃疡外观愈合。与模型组比较,各给药组大鼠伤口愈合尤以给药后第 6 天差别最明显,见图 1。

图 1 给药后第 6 天各组伤口情况

Figure 1 The wound appearance of each group after administration



**2.2 多枝雾水葛对大鼠皮肤脓肿体积的影响** 与模型组比较,拔脓膏组脓肿体积在第 6 天、第 9 天明显缩小,有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ );雾水葛组脓肿体积在第 6 天、第 9 天明显缩小,差异有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ ),提示拔脓膏和多枝雾水葛均具有消肿拔脓的功效,见表 1。

表 1 对大鼠皮肤脓肿体积的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $\text{mm}^3$ ,  $n=10$ )

Table 1 The effect on abscess volume of skin ulcers rats in each

组别 group	皮肤脓肿体积 Skin abscess volume		
	第 3 天 Day 3	第 6 天 Day 6	第 9 天 Day 9
模型组	$22.05 \pm 15.32$	$50.76 \pm 11.11$	$17.89 \pm 7.04$
百多邦组	$23.43 \pm 15.65$	$47.77 \pm 23.42$	$18.01 \pm 15.23$
拔脓膏组	$14.32 \pm 16.36$	$28.15 \pm 25.45^*$	$2.50 \pm 1.15^{**}$
雾水葛组	$19.54 \pm 10.75$	$34.83 \pm 15.95^*$	$4.70 \pm 4.63^{**}$

注:与模型组比较,  $^*P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ 。

**2.3 多枝雾水葛对大鼠皮肤病理形态的影响** 模型组表皮脱落,脓肿明显,肌肉骨化、软骨化,皮肤附件不清楚或未见,炎性细胞浸润非常显著。拔脓膏组和雾水葛组第 6 天开始有明显好转,肉芽组织生长,表皮出现重建趋向,见图 2。

**2.4 多枝雾水葛对大鼠胸腺指数和脾脏指数的影响** 感染后模型组大鼠的脾脏指数和胸腺指数均明显下降,与空白对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与模型组比较,雾水葛组大鼠脾脏指数明显上升( $P < 0.05$ ),说明多枝雾水葛排脓作用可能与提高机体非特异性免疫功能有关。百多邦组和拔脓膏组仅有升高的趋势,但无统计学意义。各给药组对胸腺指数的影响均不明显,见表 2。

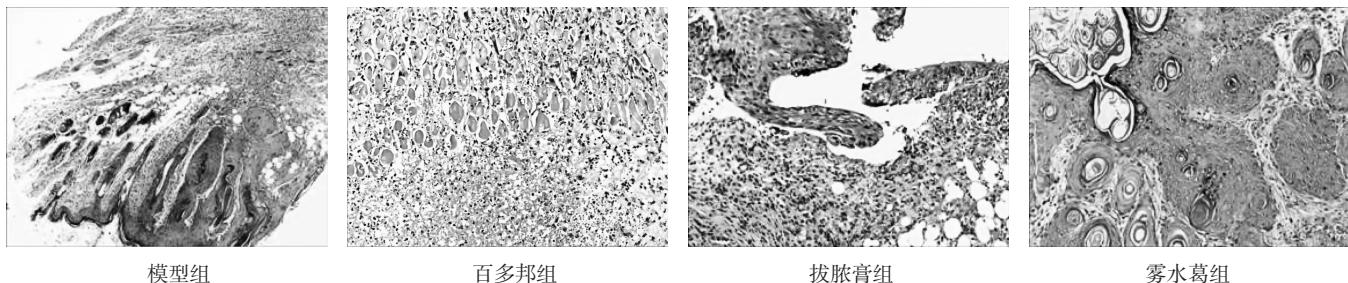


图2 给药后第6天各组病理检查结果(HE染色,  $\times 100$ )

Figure 2 Pathological detection of each group after administration for 6 d (by HE staining,  $\times 100$ )

表2 对皮肤溃疡大鼠胸腺指数与脾脏指数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

Table 2 The effect on thymus index and spleen index of skin ulcers rats in each group

组别	胸腺指数	脾脏指数
空白对照组	19.23 ± 3.23	37.92 ± 3.45
模型组	15.80 ± 5.07*	25.97 ± 5.25**
百多邦组	16.66 ± 7.81	29.59 ± 5.28
拔脓膏组	14.64 ± 4.81	29.60 ± 4.39
雾水葛组	15.79 ± 2.91	35.92 ± 8.86 <sup>△</sup>

注: 与空白对照组比较, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ ; 与模型组比较,  $^{\triangle}P<0.05$ 。

**2.5 多枝雾水葛对大鼠血清 TNF- $\alpha$  和 IL-1 的影响**  
与空白对照组比较, 模型组大鼠血清中 IL-1 和 TNF- $\alpha$  的含量均显著上升 ( $P<0.01$ )。与模型组比较, 雾水葛组 IL-1 含量显著降低 ( $P<0.05$ ); 各给药组大鼠血清中 TNF- $\alpha$  水平仅有下降的趋势, 无统计学意义, 见表 3。

表3 对皮肤溃疡大鼠血清 TNF- $\alpha$  和 IL-1 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , pg·mL $^{-1}$ ,  $n=10$ )

Table 3 The effect on serum TNF- $\alpha$  and IL-1 of skin ulcers rats in each group

组别	TNF- $\alpha$	IL-1
空白对照组	492.32 ± 49.14	279.43 ± 55.67
模型组	703.65 ± 85.68**	562.63 ± 79.21**
百多邦组	687.14 ± 43.79	458.92 ± 141.45
拔脓膏组	695.84 ± 96.21	479.92 ± 107.57
雾水葛组	689.69 ± 82.56	394.19 ± 166.18 <sup>△</sup>

注: 与空白对照组比较, \*\* $P<0.01$ ; 与模型组比较,  $^{\triangle}P<0.05$ 。

### 3 讨论

皮肤脓肿是外科临床一种常见的疾病, 多发生在躯干, 肢端, 腋窝或头颈部, 主要因细菌感染或创伤等诱发, 最常见的病原菌是金黄色葡萄球菌。皮膚脓肿不仅能导致直接的皮肤损伤, 而且还能导致继

发性皮肤病或复发性感染, 继而可诱发潜在的全身性疾病, 尤其是糖尿病或机体免疫功能有缺陷者。因此, 深入研究皮肤脓肿的发病机制和探索有效的防治措施, 仍是临床医学领域的重点研究课题之一<sup>[8]</sup>。

中医认为脓肿多为外邪侵袭、邪热郁蒸、瘀阻血络、血滞为瘀而致湿热瘀滞、瘀血内停、蕴酿成痈、血败肉腐而化脓。因此, 治疗皮肤脓肿的关键是清热解毒、止痛生肌。多枝雾水葛始载于《生草药性备要》, 《闽南民间草药》中记载: “雾水葛, 拔脓效力甚强。”课题组前期研究发现多枝雾水葛对小鼠皮下脓肿模型有消肿排脓、促进愈合的作用<sup>[5]</sup>, 本实验建立了大鼠皮肤溃疡模型, 证实多枝雾水葛能使溃疡脓肿基本消除, 创面愈合情况良好, 进一步证实了其“解毒拔脓”作用。另外, 采用琼脂扩散法体外抑菌试验检测了多枝雾水葛提取液对金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、枯草杆菌、白色念珠菌、变形杆菌等 7 种常见细菌的抑菌活性, 结果未发现多枝雾水葛提取物体外对以上细菌有杀灭作用<sup>[10]</sup>。本实验还在给药后第 3 天、第 6 天、第 9 天分别收集了各组大鼠创面分泌物, 采用打孔法测定了其溶菌酶对金黄色葡萄球菌体外抑菌的活性, 发现除百多邦组外各药物组均无抑菌活性。

TNF- $\alpha$  主要由单核-巨噬细胞分泌, 具有多种生物学活性, 是炎症反应过程中出现最早、最重要的炎性介质。IL-1 具有广泛的免疫调节作用, 并有致热和介导炎症的作用。胸腺和脾脏作为免疫器官, 其质量在一定程度上能反应机体的免疫功能状态。研究结果显示多枝雾水葛能明显降低感染大鼠血清中炎症因子的含量, 对抗大鼠的免疫功能下降, 因此多枝雾水葛的消肿排脓作用可能主要通过抑制炎性因子的释放和调节免疫功能而发挥作用。

### 参考文献:

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(第二册·第五卷)

- [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 1673, 579.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第二十三卷·第二分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1995: 364.
- [3] 冯周莲, 高少茹, 陈婉敏, 等. 拔脓膏配合黄油纱治疗开放性骨折感染创面的效果观察[J]. 护理学报, 2010, 17(7B): 52-54.
- [4] 刘旭阳, 杜清涛, 李开莹, 等. 多枝雾水葛不同提取部位的抗炎镇痛作用研究[J]. 现代药物与临床, 2012, 27(4): 341.
- [5] 李开莹, 谢郁峰, 陈艳芬, 等. 多枝雾水葛不同提取物对小鼠皮下脓肿的作用[J]. 广东药学院学报, 2012, 28(5): 540-544.
- [6] 万毅, 刘碧山, 沈德凯. 艾叶挥发油治疗疮疡的实验研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2007, 13(8): 595-597.
- [7] 刘林祥, 宋红月. 小鼠皮下脓肿模型及其在中草药抗菌作用研究中的初步运用[J]. 微生物学通报, 1983, (4): 168-171.
- [8] 王德成, 王星, 周文江, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌皮肤脓肿小鼠感染模型的建立与评估[J]. 中国实验动物学报, 2010, 18(3): 221-224.
- [9] 张压西, 曾亚男. 单氏丁桂散促进疮疡愈合的实验研究[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2002, 8(6): 431-433.
- [10] 邓琪. 多枝雾水葛药理作用及化学成分研究[D]. 广州: 广东药学院, 2011.

(编辑: 梁进权)

## 异钩藤碱对血管平滑肌细胞中 Baml1、Clock 基因表达的调节作用

曾武, 张振服, 刘启德, 杨蕾, 宓穗卿, 王宁生(广州中医药大学临床药理研究所, 广东 广州 510405)

**摘要:** 目的 研究异钩藤碱对血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)诱导的血管平滑肌细胞(VSMC)中时钟基因(Bmal1、Clock)昼夜节律表达变化的调节作用。方法 以 AngⅡ诱导胸主动脉平滑肌细胞(A7r5 细胞)建立节律变化模型。实验分 AngⅡ诱导组、异钩藤碱组、正常对照组。AngⅡ诱导组以终浓度为  $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 AngⅡ诱导 24 h, 异钩藤碱组加入终浓度为  $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 AngⅡ和  $12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  异钩藤碱处理 24 h。采用 Real-time PCR 方法检测不同时间点 VSMC 中 Bmal1、Clock 基因表达水平, 比较各组之间节律参数的差异。结果 异钩藤碱通过调节 AngⅡ诱导的 A7r5 细胞中的 Bmal1、Clock 基因表达, 改变其中值、振幅及峰相位, 使 A7r5 昼夜节律发生改变。结论 异钩藤碱对 A7r5 细胞中 Bmal1、Clock 基因的昼夜节律的表达有调节作用。

**关键词:** 异钩藤碱; 昼夜节律; Baml1 基因; Clock 基因

**中图分类号:** R285.5   **文献标志码:** A   **文章编号:** 1003-9783(2013)03-0251-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.03.011

### Study of Isorhynchophylline in Regulating Baml1 and Clock Gene Expression in Vascular Smooth Muscle Cells

ZENG Wu, ZHANG Zhenfu, LIU Qide, YANG Lei, MI Suiqing, WANG Ningsheng(Institute of Clinical Pharmacology, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

**Abstract:** **Objective** To study the effect of isorhynchophylline on regulating circadian-rhythm expression of Bmal1 and Clock genes of the vascular smooth muscle cells(A7r5 cells) induced by angiotensin Ⅱ(Ang Ⅱ). **Methods** We established circadian-rhythm A7r5 cells model with Ang Ⅱ, and divided the cells into Ang Ⅱ induction group, isorhynchophylline treatment group and normal control group. The cells in Ang Ⅱ induction group were cultured with Ang Ⅱ at final concentration of  $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  for 24 hours, and isorhynchophylline treatment group were cultured with  $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Ang Ⅱ and  $12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  isorhynchophylline for 24 hours. We used the real-time PCR method to investigate the circadian rhythm expression of Bmal1 and Clock genes in vascular smooth muscle cells at different time points. **Results** Isorhynchophylline showed an effect on the median, amplitude and peakphase of circadian rhythm of Ang Ⅱ-induced

收稿日期: 2012-11-18

作者简介: 曾武, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药有效性和安全性评价。Email: zengwu99@126.com。通讯作者: 杨蕾, 副研究员, 研究方向: 中药药理学研究。Email: yanglei@gzhtcm.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金(30801462); 广东省自然科学基金(9451040701002867)。