

肝和胃镇逆、寒热并调的中医理论研制而成的中药复方, 研究结果显示: 本方能升高胆汁反流性胃炎模型大鼠 GAS、MTL、LEP、PGE₂ 含量, 降低 TNF- α 、IL-1 β 含量, 减轻胃黏膜损伤。综上所述, 胆胃双和汤具有防治胃黏膜损伤的作用, 可能与调节 GAS、MTL、LEP、PGE₂、TNF- α 、IL-1 β 的含量有关。

参考文献:

- [1] 张璋. 胆汁反流性胃炎的病因及影响因素 350 例研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2011, 31(6): 19-20.
- [2] 杨启平. 半夏泻心汤加减治疗胆汁反流性胃炎 62 例观察[J]. 实用中医药杂志, 2013, 29(3): 167.
- [3] 任顺平, 刘竺华, 郝海蓉, 等. 疏肝和胃降逆法治疗胆汁反流性胃炎 60 例[J]. 山西中医, 2012, 1(28): 13-16.
- [4] 姚萍, 高鸿亮, 刘发. 荜茇根对胆汁反流胃炎大鼠模型的防治作用及对胃泌素、PGE₂、TNF- α 、IL-8 含量的影响[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(1): 111-114.
- [5] Onoma M, Ozaki K, Yogo K, et al. Mitemcinal(GM-611), an orally active motilin receptor agonist, improves delayed gastric emptying in a canine model of diabetic gastroparesis[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2008, 35(7): 788-796.
- [6] 赵国茹. 胃肠激素对胃运动的影响[J]. 青岛大学学报, 2001, 3(1): 87-89.
- [7] 谢晶日, 葛阳, 张杨. 欣胃颗粒对慢性萎缩性胃炎大鼠血清胃泌素的影响[J]. 中医药学报, 2013, 41(3): 88-89.
- [8] 麻春杰, 王艳, 宋美丹, 等. 胃和冲剂 II 号对慢性萎缩性胃炎大鼠胃蛋白酶活性、血清 GAS 和 PGE₂ 的影响[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(1): 17-18.
- [9] Philippe Cammisotto, Moise Bendayan. A review on gastric leptin: the exocrine secretion of a gastric hormone[J]. Anat Cell Biol, 2012, 45(1): 1-16.
- [10] Tanigawa T, Watanabe T, Otani K, et al. Leptin promotes gastric ulcer healing via upregulation of vascular endothelial growth factor[J]. Digestion, 2010, 81(2): 86-95.
- [11] Adeyemi EO, Bastaki SA, Chandranath IS, et al. Mechanisms of action of leptin in preventing gastric ulcer[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(27): 4154-4160.
- [12] Cecilia Rodríguez, Marta Medici, Fernanda Mozzi, et al. Therapeutic effect of Streptococcus thermophilus CRL 1190-fermented milk on chronic gastritis [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(13): 1622-1630.
- [13] 乔文, 李娜, 李长顺, 等. IL-1 β 与人慢性胃炎的相关性研究[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2010, 19(1): 47-48.
- [14] 姚春, 赵伟. 浅谈胆汁反流性胃炎的发病机制[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 1(10): 15-16.
- [15] 张瑞星, 姚树坤, 范海燕, 等. 十二指肠-胃反流物成分对胃黏膜的影响[J]. 诊断学理论与实践, 2006, 5(1): 43.
- [16] 缪娴. 中医药治疗胆汁反流性胃炎实验研究述评[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(11): 75-77.

(编辑: 修春)

黄芩茎叶总黄酮抗高糖致血管平滑肌细胞增殖作用及其机制研究

曲 珍^{1,2}, 庞树华³, 朱 晓¹, 周晓霞¹ (1. 扬州大学医学院, 江苏 扬州 225001; 2. 沛县人民医院, 江苏 徐州 221600; 3. 扬州市中医院, 江苏 扬州 225009)

摘要: **目的** 观察黄芩茎叶总黄酮(SSTF)对高浓度葡萄糖(HG)刺激的血管平滑肌细胞(VSMCs)增殖的抑制作用及可能的机制。**方法** 体外培养大鼠胸主动脉 VSMCs, HG 诱导其增殖, 观察 SSTF 对细胞增殖及迁移、细胞周期、醛糖还原酶 (AR)mRNA 及 AR 蛋白表达的影响。**结果** 与模型组比较, SSTF 明显抑制 HG 诱导的 VSMCs 增殖及迁移, 抑制细胞周期进程($P < 0.05$, $P < 0.01$), 并呈时间和剂量依赖趋势; SSTF 显著抑制细胞 AR mRNA 及 AR 蛋白表达($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** SSTF 对 HG 刺激的 VSMCs 增殖具有抑制作用, 可能与降低 AR 表达有关。

关键词: 黄芩茎叶总黄酮; 高浓度葡萄糖; 血管平滑肌细胞; 醛糖还原酶; 多元醇通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)04-0454-05

收稿日期: 2014-01-20

作者简介: 曲珍, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药对心血管系统的保护作用。Email: zquyzy@163.com。通讯作者: 周晓霞, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 心血管药理。Email: xxzhou@yzu.edu.cn。

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.04.016

Study of Inhibitive Effect and Mechanism of *Scutellaria baicalensis* Stem-leaf Total Flavonoids on Proliferation of Vascular Smooth Muscle Cells Stimulated by High Glucose

QU Zhen^{1,2}, PANG Shuhua³, ZHU Xiao¹, ZHOU Xiaoxia¹(1. Yangzhou University Medical School, Yangzhou 225001 Jiangsu, China; 2. Peixian County People's Hospital, Xuzhou 221600, China; 3. Yangzhou Traditional Chinese Medicine Hospital, Yangzhou 225009 Jiangsu, China)

Abstract: Objective To investigate the inhibitive effect and possible mechanism of *Scutellaria baicalensis* stem-leaf total flavonoids (SSTF) on the proliferation of vascular smooth muscle cells (VSMCs) stimulated by high-concentration glucose (HG). **Methods** Rat aorta pectoralis VSMCs were subcultured in vitro and were treated by HG to induce proliferation. And then we observed the effects of SSTF on the proliferation, migration and cell mitotic cycle of VSMCs as well as aldose reductase (AR) mRNA and protein expression in VSMCs. **Results** SSTF (400 mg·L⁻¹) group had an obvious effect on inhibiting the proliferation and migration of VSMCs and the progress of cell cycle, and the effect was time- and concentration-dependent ($P < 0.01$). The mRNA and protein expression levels of AR were also inhibited in SSTF (400 mg·L⁻¹) group. **Conclusion** SSTF have inhibitive effect on VSMCs proliferation induced by HG through blocking the cell cycle progress, and the possible mechanism is related with the inhibition of AR expression.

Keywords: *Scutellaria baicalensis* stem-leaf total flavonoids; High-concentration glucose; Vascular smooth muscle cells; Aldose reductase; Polyol pathway

糖尿病(DM)是多种心血管疾病的共同病理基础,严重威胁着人们的健康。血管平滑肌细胞异常增殖是糖尿病慢性并发症(DCC)发生的重要环节及重要机制。多元醇通路(PP)是组织细胞葡萄糖代谢的途径之一,糖尿病时 PP 激活是 DCC 的重要发病机制之一,醛糖还原酶(AR)是该途径的限速酶^[1]。黄芩茎叶总黄酮(SSTF)为黄芩茎叶的提取物,其主要成分为黄酮类化合物。研究^[2-3]表明, SSTF 对心脑血管系统具有广泛的药理作用。目前尚未有 SSTF 抑制高浓度葡萄糖(HG)所致血管平滑肌细胞(VSMCs)异常增殖的文献报告。本研究在细胞水平观察 SSTF 对高糖致 VSMCs 增殖的抑制作用,并对其作用机制进行了初步探讨。

1 材料与方法

1.1 药物 SSTF 含量为 61.08%(以总黄酮计),由承德医学院中药研究所植化研究室提供,批号:010408;依帕司他(Epalrestat; AR 抑制剂)粉末购于中国食品药品检定研究院,批号:100618-200401。

1.2 试剂 DMEM 干粉培养基, GIBCO 公司,批号:12100-046;新生牛血清, WISENT 公司,批号:076-110002;二甲基四唑氮蓝(MTT),上海生工生物工程有限公司,批号:298-93-1;碘化丙啶(PI),上

海西唐生物科技有限公司,批号: B1221; AR 抗体,武汉博士德生物工程有限公司;逆转录试剂盒,山东科赛科技有限公司,批号: K1622;荧光定量试剂盒,山东科赛科技有限公司,批号: K0222;荧光定量 PCR 的 AR、GAPDH 引物均由上海生工生物工程技术服务公司合成。

1.3 仪器 8000WJ 型 CO₂ 培养箱,美国 Thermo 公司; XDS-1 型倒置相差显微镜,重庆光学仪器厂; LeicaDMR 型荧光显微镜,德国 Leica 公司; SW-CJ-1F 型超净工作台,苏州净化设备厂; EL-800 型酶标仪,美国 BioTek; FACS Aria 型流式细胞仪,美国 BD 公司;紫外分光光度计,日本 SHIMADZU 公司; RG-3000A 型实时荧光定量 PCR 仪,澳大利亚 Corbett Research 公司; PowerPac200/300 型电泳仪、Mini-Protein Tetra, 美国 Bio-Rad 公司。

1.4 动物 SD 大鼠,雄性,清洁级,体质量 150 ~ 180 g,由扬州大学比较医学中心提供,许可证号: SCXK(苏)2002-0009。

1.5 方法

1.5.1 VSMCs 的培养 雄性 SD 大鼠乙醚麻醉,超净工作台中取出胸主动脉段,剥离外膜及内膜。将剩余的胸主动脉段(中膜)剪成 1 mm³ 的组织小块,采用贴块培养法进行原代培养,10 d 左右 50 %的组织

块周围均有细胞生出且连接成片时进行首次传代,以后每3~4 d进行1次传代,实验用第3~8代细胞。倒置相差显微镜下观察 VSMCs 呈长梭型、“峰-谷”状生长^[4]。

1.5.2 实验分组 (1)Control 组(对照组): 5.5 mmol·L⁻¹ 葡萄糖; (2)HG 组(模型组): 30 mmol·L⁻¹ 葡萄糖; (3)HG+SSTF 组(药物组): 30 mmol·L⁻¹ 葡萄糖+100, 200, 400 mg·L⁻¹ SSTF; (4)HG+依帕司他组(阳性对照组): 30 mmol·L⁻¹ 葡萄糖+10 μmol·L⁻¹ 依帕司他^[5]。

1.5.3 MTT 法检测细胞增殖 本实验在上述实验分组的基础上增设空白对照组: 5.5 mmol·L⁻¹ G, 不加细胞只加培养基。细胞以 3×10^4 个/mL 密度接种于 96 孔培养板, 每孔 200 μL, 置于 CO₂ 培养箱中培养 24 h 后换无血清的 DMEM 培养液继续培养 24 h。根据上述分组加入不同刺激因素, 继续培养 44 h 后, 弃去培养液, 每孔加入 MTT 溶液 20 μL, 37 °C 继续培养 4 h, 弃去培养上清液, 每孔加入 150 μL 二甲基亚砜 (DMSO), 振荡混匀后于酶标仪 490 nm 波长下测 OD 值。

1.5.4 划痕实验检测细胞迁移能力^[6] 将细胞接种于 6 孔板, 待细胞约 90 % 汇合后, 用 20 μL 枪头于每孔垂直划一条横线, 并用 D-Hank's 液洗细胞 2 次以去除划下的细胞。各组按实验分组加入不同的溶液, 每组 3 孔, 拍照记录板中细胞划痕处的状态, 并于 CO₂ 孵箱中继续培养 48 h 后拍照记录细胞从划痕处爬出的距离, 距离的长度表示细胞迁移能力。采用 Image J 软件测量各个实验组细胞迁移边缘之间的距离即划痕宽度取均值, 作为反映 VSMCs 迁移能力的强弱。

1.5.5 流式细胞仪检测细胞周期 将细胞接种在 25 cm² 培养瓶中, 饥饿法^[7]同步化于 G₀ 期。按前述分组加入作用因素, 继续培养 48 h。离心后 70 % 冷乙醇固定, 调整细胞浓度为 1×10^6 个/mL, 清洗 3 次, 离心后弃上清, 将细胞重悬于 PI 染液中, 37 °C 孵育 30 min 后进行流式分析, 计算增殖指数 (PI): $PI = (S+G_2/M)/(G_0/G_1+S+G_2/M)$ 。

1.5.6 荧光定量 PCR 检测 AR mRNA 表达 将生长良好的第 4~6 代 VSMCs 以 1.0×10^5 个/mL 密度接种于 6 孔板, 每孔 2 mL; 待培养细胞约 90 % 汇合后换用无血清的培养基继续培养 24 h, 使细胞同步化。分别按前述分组加入作用因素, 继续培养 48 h; 吸弃原培养液, 重悬、离心 (1200 r·min⁻¹, 5 min), 每孔细胞加入 1 mL Trizol 裂解细胞, 吹打后加入三氯甲烷, 离心, 沉淀加入丙醇; 再次离心, 乙醇洗涤, 得到的 RNA 用紫外

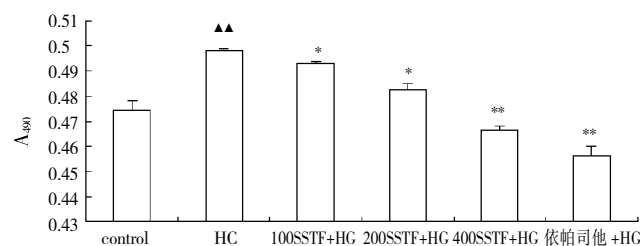
分光光度计定量。选择完整性良好的 RNA 样本, 按逆转录试剂盒说明书合成 cDNA, 稀释后构建相对标准品。按照试剂盒说明书进行实时荧光定量 PCR, 荧光定量分析软件自动绘制引物溶解曲线和扩增曲线并判断实验的特异性, 并进行定量。

1.5.7 Western blot 检测 AR 蛋白表达 将生长良好的第 4~6 代 VSMCs 接种于 6 孔板, 按 1.5.6 项下方法处理细胞, 吸弃原培养液, 每孔加入 RIPA 裂解液和 PMSF 裂解细胞, 按文献^[8]方法提取各组细胞总蛋白质, 经 8 % SDS-PAGE 电泳分离后, 电转膜至聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上。依次用一抗 (AR 抗体) 及二抗孵育, 用增强化学发光法 (ECL) 检测抗原抗体结合区带。用凝胶图像处理系统软件对电泳条带进行密度扫描, 以 β-actin 为内参进行定量分析。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组数据间比较用 *t* 检验, 多组间比较用单因素方差分析, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SSTF 对 HG 刺激的 VSMCs 活力的影响 见图 1。与模型组比较, SSTF 各浓度组及依帕司他组均能降低 HG 刺激 VSMCs 的活力 (OD 值), 尤以 400 mg·L⁻¹ 的 SSTF 与依帕司他组为明显 (*P* < 0.01)。



注: 与对照组比较, ▲▲*P* < 0.01; 与模型组比较, **P* < 0.05, ***P* < 0.01。

图 1 SSTF 对 HG 刺激的 VSMCs 活力的影响

Figure 1 Effect of SSTF on VSMCs activities stimulated by HG

2.2 SSTF 对 HG 刺激的 VSMCs 迁移能力的影响

见图 2、图 3。与对照组比较, 模型组的划痕内细胞迁移数目较多, 几乎铺满了划痕的空隙, 划痕宽度值较小 (*P* < 0.05)。与模型组比较, 随着 SSTF 浓度的增大, 划痕内细胞数逐渐减少, 两边细胞迁移边缘之间的划痕宽度越来越宽, 划痕宽度值逐渐增大 (*P* < 0.05)。

2.3 SSTF 对 HG 刺激的 VSMCs 细胞周期的影响

见表 1。与对照组比较, 模型组 G₀/G₁ 期细胞百分率明显减少 (*P* < 0.05), 但 S 期、G₂/M 期细胞百分率显著增加 (*P* < 0.01, *P* < 0.05), PI 也明显升高 (*P* < 0.01)。

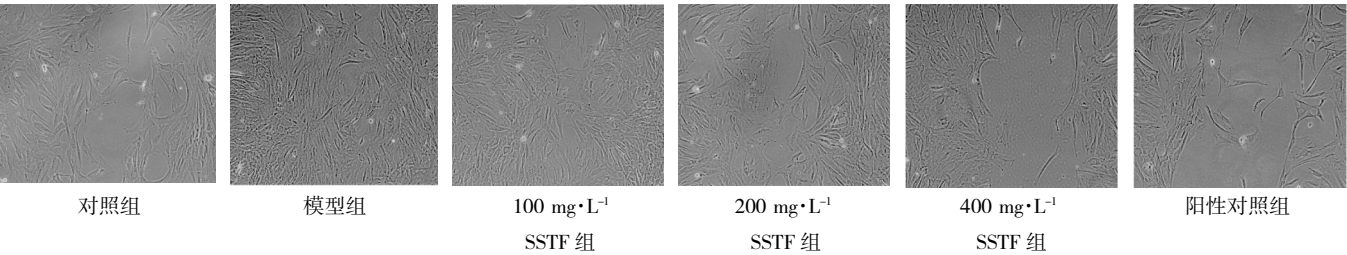
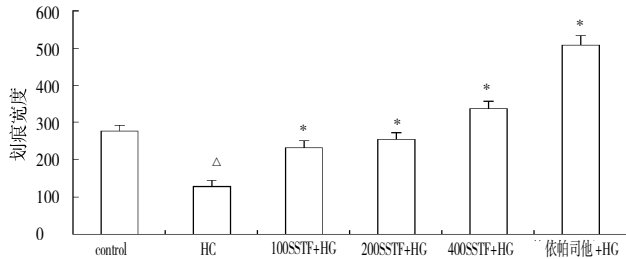


图 2 各组 VSMCs 在划痕损伤 48 h 时的迁移状态(×40)
Figure 2 Migration ability of VSMCs after scratch wounding for 48h in each group(× 40)

表 1 SSTF 对细胞周期和增殖指数的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)
Table 1 The influence of cell mitotic cycle and multiplication index by SSTF

组别	G ₀ /G ₁ %	S/%	G ₂ /M/%	PI/%
Control	89.04 ± 2.52	7.05 ± 1.09	3.91 ± 0.15	10.96 ± 1.36
HG	70.72 ± 2.35*	24.00 ± 1.34**	5.29 ± 1.02*	29.29 ± 1.24**
HG+100mg·L ⁻¹ SSTF	71.1 ± 2.41 ^{△△}	19.96 ± 1.17 [△]	8.94 ± 1.48 [△]	28.9 ± 1.18 [△]
HG+200mg·L ⁻¹ SSTF	74.5 ± 2.53 ^{△△}	23.44 ± 1.62 [△]	2.07 ± 0.50 [△]	25.51 ± 1.46 [△]
HG+400mg·L ⁻¹ SSTF	97.09 ± 2.61 ^{△△}	1.89 ± 1.30 ^{△△}	1.03 ± 0.11 ^{△△}	2.92 ± 0.57 ^{△△}
HG+10μmol·L ⁻¹ 依帕司他	98.23 ± 2.58 ^{△△}	0.67 ± 0.08 ^{△△}	1.1 ± 0.10 ^{△△}	1.77 ± 0.23 ^{△△}

注：与对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ 。



注：与对照组比较， $\Delta P < 0.05$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ 。

图 3 各组 VSMCs 的划痕宽度值(μm)
Figure 3 Scratch width of VSMCs in each group

与模型组比较，G₀/G₁ 期细胞百分率明显增加 ($P < 0.01$)，S 期和 G₂/M 期细胞百分率显著减少($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)，PI 也显著降低($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)，且呈现剂量依赖趋势。结果显示，不同浓度的 SSTF 明显抑制细胞周期进展，出现明显的 G₀/G₁ 期阻滞，该抑制作用与 SSTF 剂量成正相关。

2.4 SSTF 对 HG 刺激的 VSMCs AR mRNA 表达的影响 荧光定量 PCR 引物溶解曲线(见图 4)显示目的基因 AR 和内参基因 GAPDH PCR 扩增后的溶解曲线，峰形窄而尖，无杂峰，扩增产物特异性良好。扩增曲线(图 5)显示 S 型的扩增动力曲线，有明显的指数扩增期、有平台期，整条曲线走势光滑，显示扩增结果理想。与对照组比较，模型组 AR mRNA 的表达明显增加($P < 0.01$)。与模型组比较，SSTF 各

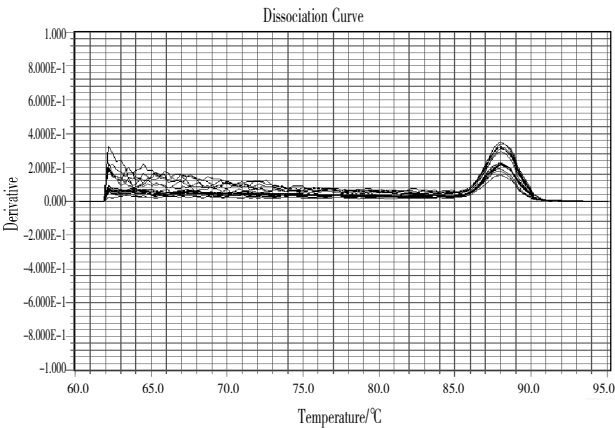


图 4 荧光定量 PCR 的引物溶解曲线
Figure 4 Dissociation curve of FQ-PCR

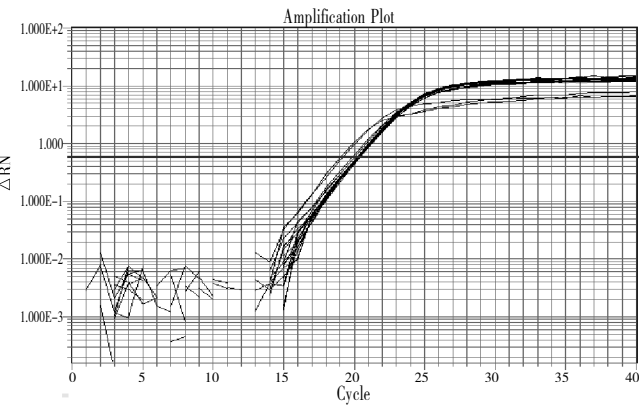
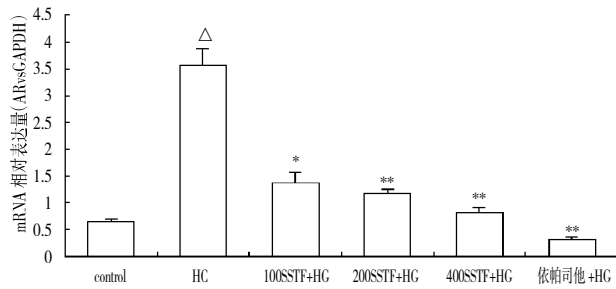


图 5 荧光定量 PCR 的扩增曲线
Figure 5 Amplification plot of FQ-PCR

剂量组和阳性药物组均能下调 VSMCs 中 AR mRNA 的表达，且 AR mRNA 的表达量与 SSTF 呈剂量依赖关系($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)，见图 6。

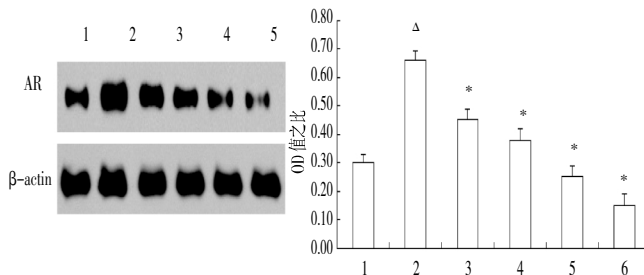
2.5 SSTF 对 HG 刺激的 VSMCs AR 蛋白表达的影响 见图 7。与对照组比较，模型组 AR 蛋白的表达明显增加($P < 0.01$)。与模型组比较，阳性药物组可见少量 AR 蛋白的表达($P < 0.01$)，SSTF 各组均能显著下调 HG 诱导的 VSMCs 中 AR 蛋白表达($P < 0.01$)，且呈剂量依赖趋势。



注：与对照组比较， $\Delta P < 0.01$ ；与模型组比较， $*P < 0.05$ ， $**P < 0.01$ 。

图6 AR mRNA在各组VSMCs中的表达

Figure 6 AR mRNA expression by of VSMCs in each group



1. Control; 2. HG; 3. 100SSTF+HG; 4. 200SSTF+HG; 5. 400SSTF+HG; 6. 依帕司他+HG

注：与对照组比较， $\Delta P < 0.01$ ；与模型组比较， $*P < 0.01$ 。

图7 Western blot法检测AR蛋白表达结果

Figure 7 Detection of AR protein expression of western blot

3 讨论

多元醇通路(PP)是组织细胞葡萄糖代谢的途径之一，正常情况下经该途径代谢的葡萄糖比例很小，但在高糖环境下AR被激活，细胞摄取的葡萄糖在AR催化下，以还原型辅酶Ⅱ(NADPH)为辅酶，将葡萄糖还原为山梨醇，后者经山梨醇脱氢酶(SDH)作用，以氧化型辅酶Ⅰ(NAD^+)为辅酶，将山梨醇氧化为果糖。山梨醇和果糖不易透过细胞膜，细胞发生渗透性水肿，肌醇、 K^+ 丢失、 $Na^+ - K^+$ ATP酶活性下降，最后导致细胞代谢与功能的损害^[1]。近30余年的大量研究结果显示，糖尿病时PP激活是DCC的重要发病机制之一，可能是其发生发展的始动因素。

血管平滑肌细胞(VSMCs)是构成血管壁的重要组成部分，越来越多的动物实验和临床资料表明其异常增殖参与了DCC的发生发展，尤其在动脉粥样硬化(AS)中起重要作用。VSMCs是AS斑块主要的细胞成分，VSMCs增殖是动脉粥样硬化斑块形成AS发生发展的重要步骤。在高糖环境中PP与VSMCs异常增殖密切相关，AR抑制剂(ARI)可抑制VSMCs增殖。Ruef等^[9]观察到静息状态的VSMCs几乎不表达AR，而在大鼠颈动脉粥样硬化模型中，内膜增生条件下的AR蛋白表达明显上调。若给该模型动物喂

食ARI则能极大地抑制内膜增生。大量研究结果^[10]表明，AR调控VSMCs生长的作用并非由凋亡所致，提示AR是一种生长反应相关性基因产物，可通过影响VSMCs增殖来调节内膜的增生和再狭窄。

ARI根据结构可分为环酰亚胺类和羧酸类两大类，依帕司他属于后者，是目前唯一上市的ARI。谢登荣等^[5]采用高浓度葡萄糖诱导大鼠VSMCs的AR基因表达，结果显示，采用依帕司他可明显降低VSMCs增殖。目前为止，黄酮类化合物是从中药中得到的数量最多的ARI。黄酮类可有效抗炎、清除羟基、超氧负离子和脂过氧基等。黄芩为多年生唇形科草本植物，是清热燥湿、泻火解毒的传统中药。有研究^[2]表明，SSTF可以抑制VSMCs的异常增殖，从而发挥细胞保护作用，但目前尚无SSTF抑制高糖所致的VSMCs异常增殖的作用及机制的相关研究。

综上所述，高糖通过激活多元醇通路刺激VSMCs异常增殖，从而导致DCC。黄酮类化合物能抑制高糖诱导的VSMCs增殖，具有抗氧化、抑制AR的作用。本研究结果显示，HG能够诱导VSMCs增殖，而SSTF对HG刺激的VSMCs增殖具有抑制作用，可能与降低AR的表达有关，其确切机制还有待进一步探讨。

参考文献：

- [1] 贾艳坤. 高血糖致糖尿病慢性并发症的分子机制研究进展[J]. 辽宁实用糖尿病杂志, 2004, 12(2): 49.
- [2] 苏佩清, 周晓霞, 许倩, 等. 黄芩茎叶总黄酮对体外培养的人胎儿平滑肌细胞增殖的抑制作用[J]. 中药新药与临床药理, 2000, 11(3): 152.
- [3] 唐世英, 胡桂才, 刘俊英. 黄芩茎叶总黄酮对低密度脂蛋白氧化的影响[J]. 山东医药, 2009, 49(13): 66.
- [4] 刘洪付, 李京敏, 李宇玥. 大鼠腹主动脉平滑肌细胞的培养与鉴定[J]. 滨州医学院学报, 2010, 33(6): 430-431.
- [5] 谢登荣, 郑春华, 刘仁水, 等. 阿托伐他汀联用依帕司他对血管平滑肌细胞的影响[J]. 世界临床药物, 2009, 30(8): 474-497.
- [6] 李宪伟, 姜维良, 张英男, 等. microRNA-21对体外培养血管平滑肌细胞迁移能力的调控[J]. 中国血管外科杂志, 2010, 2(4): 215-216.
- [7] 江明宏, 舒茂琴, 王倩, 等. 体外培养血管平滑肌细胞的同步化方法[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008, 24(4): 401-402.
- [8] Han M, Wen JK, Zheng B, et al. Serum deprivation results in redifferentiation of human umbilical vascular smooth muscle cells[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2006, 291(1): 50-58.
- [9] Ruef J, Liu S Q, Bode C, et al. Involvement of aldose reductase in vascular smooth muscle cell growth and lesion formation after arterial injury[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20(7): 1745-1752.
- [10] 雷程源, 王尧. 依帕司他在糖尿病并发症治疗中的作用[J]. 现代医学, 2011, 39(1): 112-116.

(编辑：修春)

·药物动力学研究·

莱菔子水提液中芥子碱硫氰酸盐在大鼠小肠的吸收特性研究

朱立俏, 盛华刚, 周洪雷(山东中医药大学, 山东 济南 250355)

摘要: **目的** 研究莱菔子水提液中芥子碱硫氰酸盐在大鼠小肠的吸收特性。**方法** 采用大鼠在体单向肠灌注模型, 用 HPLC 法对芥子碱硫氰酸盐质量浓度进行分析, 计算其吸收速率常数和表观吸收系数, 分别研究药物质量浓度和 P-糖蛋白(P-gp)抑制剂对芥子碱硫氰酸盐吸收的影响。**结果** 芥子碱硫氰酸盐在大鼠小肠的吸收速率常数(K_a)和表观吸收系数(P_{app})随浓度增加先增加后减小, 且芥子碱硫氰酸盐的表观吸收速率小于 $1.8 \times 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$, P-gp 抑制剂对芥子碱硫氰酸盐的吸收具有显著影响 ($P < 0.01$)。**结论** 芥子碱硫氰酸盐在大鼠小肠中的吸收机制可能为主动转运或易化扩散, 且其在小肠中的吸收较差, 芥子碱硫氰酸盐为 P-gp 底物。

关键词: 莱菔子; 芥子碱硫氰酸盐; 在体单向肠灌注模型; 肠吸收

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)04-0459-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.04.017

Studies on Intestinal Absorption of Sinapine Cyanide Sulfonate of Semen Raphani Water Extract in Rats

ZHU Liqiao, SHENG Huagang, ZHOU Honglei (Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong 250355 Jinan, China)

Abstract: **Objective** To investigate the intestinal absorption of sinapine cyanide sulfonate of Semen Raphani water extract in rats. **Methods** The concentration of sinapine cyanide sulfonate was analyzed by HPLC and by using rat in-vivo single-pass intestinal perfusion model. The effects of drug concentration and P-glycoprotein (P-gp) inhibitors on the intestinal absorption of sinapine cyanide sulfonate were evaluated by calculating absorption rate constant (K_a) and apparent absorption coefficient (P_{app}). **Results** The absorption rate constant (K_a) and the apparent absorption coefficient (P_{app}) of sinapine cyanide sulfonate were increased firstly and then decreased with the increase of concentration. The apparent absorption coefficient (P_{app}) was lower than $1.8 \times 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$. P-gp inhibitors had significant effect on the absorption of sinapine cyanide sulfonate ($P < 0.01$). **Conclusion** The absorption mechanism of sinapine cyanide sulfonate in rat small intestine may be in active transport or facilitated diffusion. Sinapine cyanide sulfonate has poor intestinal absorption, and sinapine cyanide sulfonate is proved to be a substrate of P-gp.

Keywords: Semen Raphani; Sinapine Cyanide Sulfonate; In-vivo single-pass intestinal perfusion model; Intestinal absorption

莱菔子为十字花科植物萝卜 *Raphanus sativus* L. 的干燥成熟种子, 具有消食除胀、降气化痰之功效, 临床上主要用于饮食停滞、脘腹胀痛、大便秘结、积滞泻痢、痰壅咳喘的治疗^[1]。现代医学研究发现其具有降血压作用。莱菔子中主含莱菔素、芥子碱、

芥子酸、亚油酸、植物甾醇等, 其中芥子碱是降压作用的活性成分之一, 芥子碱多以芥子碱硫氰酸盐的形式存在^[2-3]。目前关于莱菔子中芥子碱硫氰酸盐的肠吸收特性研究尚未见报道。本研究采用在体单向肠灌注模型考察了不同浓度莱菔子提取液中芥子

收稿日期: 2014-03-07

作者简介: 朱立俏, 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 中药及天然药物有效成分及质量控制研究。Email: zliqiao@163.com。通讯作者: 周洪雷, 博士, 教授, 研究方向: 中药及天然药物有效成分及质量控制研究。Email: zhouhongleicm@163.com。

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2010HM017); 山东省高等学校科技计划项目(J105LL05); 山东中医药大学校级课题(ZYDXY1332)。