

巴西苏木红素对血管平滑肌舒张作用的研究*

余 煊, 王秀坤, 雷 帆**, 王玉刚, 邢东明, 杜力军**

(清华大学教育部蛋白质科学重点实验室/生命科学学院医学院药物药理研究室 北京 100084)

摘 要: 巴西苏木红素为中药苏木的主要活性成分之一。利用体外血管舒缩试验以及血管平滑肌细胞试验,从分子生物学角度对巴西苏木红素舒血管效应及其机制进行了研究。结果表明,巴西苏木红素主要通过影响 K^+ 通道,抑制膜去极化,进而使血管舒张。这种效应与阻断 5-HT 受体有关。同时还与调控胞内 Ca^{2+} 浓度,影响钙调蛋白,下调 MLCP 有关。这一过程中 cAMP、PKA 和 PGI_2 也受巴西苏木红素影响并参与了调控。

关键词: 巴西苏木红素 血管平滑肌 舒张效应 5-HT K^+ 通道

doi: 10.11842/wst.2013.08.014 中图分类号: R285.5 文献标识码: A

巴西苏木红素(Brazilein,以下简称:苏木红素)是中药苏木中的主要活性成分。苏木具有活血化瘀、祛瘀止痛的功效,常用于治疗瘀血阻滞、跌打损伤等。现代研究表明,苏木红素能够抑制免疫功能^[1],可浓度依赖性的增强心肌收缩能力^[2]。苏木红素还可以影响血管舒缩活性并对缺血再灌的脑损伤具有一定的保护作用^[3],这种保护作用还与其调节缺血脑组织能量代谢有关^[4]。同时苏木红素可以明显增加正常小鼠脑膜血流量,并对正常大鼠动脉血压具有明显的降低作用,其作用特点主要表现为收缩压下降。因此从分子生物学角度对苏木红素的血管活性的特点及机制进行研究,对于认识和开发该药具有重要的理论和实际意义。

1 材料与方法

1.1 动物

Wistar 大鼠,雌雄兼用,清洁级,体质量 180~250 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号:SCXK(京)2007-0001。大鼠胸主动脉平滑肌

细胞系(A7R5)细胞购自中国医学科学院细胞中心。培养条件为 DMEM+10%胎牛血清。

1.2 试剂与仪器

苏木红素由本室王伟博士提供,批号:080906,纯度大于 98%。用时先以 DMSO 溶解,再用 PBS 缓冲液或细胞培养液调至工作浓度,DMSO 终浓度小于 0.01%,pH 为 7.4。麦角新碱(Ergomitrine)购自上海禾丰制药有限公司;4-氨基吡啶(4-AP)购自韶远化学科技(上海)有限公司;Tetrathylammonium chloride tetraethylammoniumchlorid (TEA),格列本脲(Glibenclamide, Glib)、苯肾上腺素(Phenylephrine, PE)、乙酰胆碱(Acetylcholine, ACH)均购自 Sigma 公司;氯化钡($BaCl_2$)购自北京生化试剂公司;Krebs 缓冲液(mM):NaCl 118, KCl 4.7, $CaCl_2$ 1.5, $MgSO_4$ 1.2, $NaHCO_3$ 25, 葡萄糖 5.5, KH_2PO_4 1.2, pH 7.4; Trizol 试剂购自 Bio Basic Inc.;MMLV 第一链 cDNA 合成试剂盒和 PCR 试剂盒购自 Bio Basic Inc.;PKA ELISA 试剂盒购自 Assay designs; cAMP ELISA 试剂盒、cGMP ELISA 试剂盒、TXB₂ ELISA 试剂盒和 6-keto $PGF_{1\alpha}$ ELISA 试剂盒均购自 Cayman。

JZJ01 型肌肉张力换能器和 RM6240BD 多通道

收稿日期:2013-02-15

修回日期:2013-08-26

* 科学技术部国家“十二五”计划“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09102201-008)“国家一类中药新药巴西苏木红素注射剂的研究,负责人:杜力军。

** 通讯作者:雷帆,助理研究员,主要研究方向:药理学;杜力军,本刊编委,教授,主要研究方向:药理学。

生理信号采集处理系统(成都仪器厂);MODEL210 恒温蠕动泵(PolyScience, 美国);25 mL 麦氏浴槽(Kent Science Corporation, 美国);CO₂ 细胞培养箱(Sanyo, 日本);CK40 荧光/光学倒置显微镜(Olympus, 日本);TC-52/H 型基因扩增仪(上海博日科技有限公司);Roche480 PCR 仪(Roche, 瑞士);DYY-III-5 型电泳仪(北京六一仪器厂)。

1.3 实验方法

1.3.1 离体血管环制备和血管平滑肌张力测定

以 KCl 诱发最大收缩幅度为 100%, 药物诱发血管收缩的幅度与 KCl 诱发最大收缩幅度之间的比率为血管收缩率^[5,6]。

1.3.2 苏木红素对离体大鼠血管环的作用

稳定后的血管环加入 100 μM 苏木红素, 记录 30 min 以上, 观察苏木红素对动脉血管平滑肌的直接作用。另取稳定后的血管环加入 100 μM 苏木红素, 血管达到最大舒张状态后, 分别加入 ACH (1 mM)、PE (1 mM)、Ang II (1 mM)、麦角新碱 (1 mM), 观察苏木红素对平滑肌受体阻断剂的血管效应的影响。另取稳定后的血管环加入 1 mM 的麦角新碱, 待血管环收缩稳定后, 加入 100 μM 苏木红素, 记录 30 min 以上。并以 1 mM 麦角新碱对血管环的作用为对照, 考察 5-HT 受体在苏木红素舒张血管效应的作用。另取稳定后的血管环分别加入 GLi (1 mM)、TEA (1 mM)、4-AP (1 mM) 和 BaCl₂ (1 mM) 预作用 20 min 后, 再加入 100 μM 苏木红素, 观察 K⁺通道对苏木红素舒张血管效应的影响。

1.3.3 细胞培养及给药

以 1×10⁵ 个/mL 的细胞浓度将 A7R5 细胞培养液接种于 6 孔细胞培养板 (4 mL/孔) 中, 37℃, 5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后, 分别加入 6 μM 和 12 μM 的苏木红素, 作用 24 h 后, 进行总 RNA 提取和总蛋白提取, 用于 mRNA 和蛋白表达实验。以生理盐水为对照组。

1.3.4 细胞 mRNA 和蛋白表达方法

将 6 孔板中已铺满瓶底的细胞弃去培养液后加入 0.5 mL Trizole, 收集并转移至 EP 管内。每管加入氯仿 0.2 mL 提取 RNA, 并按照有关操作进行反转录, 按参考文献步骤常规进行 RT-PCR^[7]。以观察 mRNA 表达的变化。所需引物序列分别通过 NCBI 的 Genbank 数据库获得, 应用 Prime premier5.0 软件进行引物设计, 由上海生工技术有限公司合成。其

中 RhoA (291 bp): 正向 5'-GCCCACGGTGTGTTGAA AACTATGT-3'; 反向 3'-GCTAACTCCCGCCTTGTGTGCTT-5'。CaM (203 bp): 正向 5'-CATCTTGTTA-GAGGGATTGG-3'; 反向 3'-TAA-CAAAAA-GATAATGGCGC-5'。eNOS (231 bp): 正向 5'-GCAGACACATACTTTACGCCACTAAC-3'; 反向 3'-GAGGGACCAGCCAAATCCAGT-5'。β-actin (295 bp): 正向 5'-AGTGGGTACGTGGACATCC-3'; 反向 3'-TGGCTCTAACAGTCCGCCTAG-5'。做反转录得 cDNA 后, 在 PCR 仪上进行扩增, PCR 扩增条件: 94℃ (30 s), 59℃ (25 s), 72℃ (1 min), 共 35 个循环。

取各组样品以 2% SDS 匀浆并混和少量的溴酚蓝指示剂, 100℃ 30 min 使蛋白变性。配制 10% 凝胶进行电泳分离。电泳结束后, 硝酸纤维膜在 DY-CZ-40D 型电转移槽内进行电转移。转移结束后, 将膜从电转槽中取出, 浸没于 2% BSA 封闭液中缓慢摇荡 1 h。加入一抗稀释液 (1:1000) 孵育 4℃ 静置过夜, 选择合适的二抗, 按相应比例稀释 (1:400~1:500), 室温轻摇 1 h。二抗孵育结束后, TTBS 缓冲液漂洗膜后再浸洗 3 次, 每次 5~10 min。进行 HRP-ECL 发光, 显影后的胶片进行扫描与分析。Folin-酚法进行蛋白含量测定^[8]。

1.3.5 ELISA 检测

按“1.3.2”项下方法进行操作。待血管环达到最大舒张状态后, 迅速取出血管环, 加入 RIPA 裂解液制备组织匀浆液, 离心取上清, 参照试剂盒的操作步骤作样品检测。以 1×10⁵ 个/mL 的细胞浓度将 A7R5 细胞培养液接种于 6 孔板, 37℃, 5% CO₂ 培养箱中培养。加入 12 μM 的巴西苏木红素 24 h 后, 以 RIPA 裂解液裂解细胞, 离心取上清, 参照试剂盒的操作步骤作样品检测。

1.4 数据处理

实验结果应用 Excel 进行分析, 各组数值均以均数±标准差表示。以单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行统计学检验, 方差具有显著性后, 做 *t*-test 检验。以 *P*<0.05 为有显著性意义。

2 结果与讨论

2.1 苏木红素对离体大鼠血管条作用

100 μM 苏木红素可以诱发离体大鼠血管缓慢舒张, 约 30 min 左右达到最大舒张状态。为了研究细胞表面受体对苏木红素舒张血管作用的影响, 用

受体激动剂观察苏木红素对平滑肌的舒张活性的受体门控途径。血管环加入乙酰胆碱 (ACH) 受体的激动剂 ACH (1 mM)、去甲肾上腺素受体的激动剂 PE (1 mM)、血管紧张素受体的激动剂 Ang II (1 mM)、5-羟色胺 (5-HT) 受体的激动剂麦角新碱 (1 mM) 后, 均可引发血管收缩。而血管环预先加入 100 μ M 苏木红素达最大舒张状态后, 分别加入乙酰胆碱受体的激动剂 ACH (1 mM)、PE (1 mM)、Ang II (1 mM)、麦角新碱 (1 mM) 后, ACH、PE、Ang II 组血管仍出现较强的收缩, 而麦角新碱组的血管收缩则被抑制 (图 1)。提示苏木红素除了能够阻断麦角新碱的收缩血管的效应外, 对其它 3 种受体无明显作用。

2.2 受体及离子通道阻滞剂对苏木红素舒张血管作用的影响

加入麦角新碱后, 血管出现明显收缩。血管预先加入麦角新碱并使其收缩达到最大且平稳后, 此时加入苏木红素则不能抑制血管的收缩。若先加入苏木红素, 再加入麦角新碱, 血管收缩幅度明显降

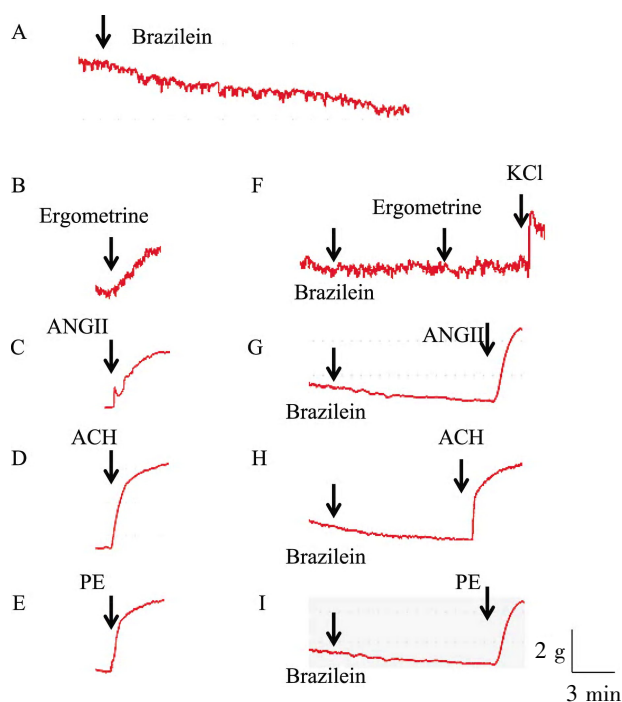


图 1 苏木红素对大鼠胸主动脉血管的舒张效应及其对部分受体激动剂的拮抗作用

注 A: 对大鼠胸主动脉血管的舒张效应, B: 麦角新碱 (Ergometrine), C: 血管紧张素 II (Ang II), D: 乙酰胆碱 (ACH), E: 去甲肾上腺素 (PE)。F-I: 苏木红素预孵育对 4 种受体激动剂的拮抗作用。苏木红素终浓度 100 μ M, KCl 终浓度 50 mM。

低, 提示苏木红素阻断了麦角新碱收缩血管的效应 (图 2A)。

K⁺的通透性是调节血管平滑肌细胞膜电位的主要因素^[9,10]。K⁺通道开放导致 K⁺外流增加, 引起细胞膜超极化, 从而抑制电压依赖性 Ca²⁺通道开放, 导致血管平滑肌细胞舒张。针对平滑肌细胞膜上存在的 4 种 K⁺通道: ATP 敏感 K⁺通道 (K⁺ATP)、Ca²⁺激活的 K⁺通道 (K⁺Ca²⁺)、配体门控性 K⁺通道 (K⁺IR) 和电压依赖性 K⁺通道 (K⁺V), 分别选用相应特异通道阻滞剂 GLi、TEA、BaCl₂ 和 4-AP, 观察苏木红素舒张血管作用的影响。结果表明, 预先加入 GLi、TEA 和 BaCl₂ 后, 再加入苏木红素, 血管张力未出现降低, 与单纯苏木红素的对照组相比, 差异显著。而预先加入 4-AP 则不能阻断苏木红素降低血管张力的效应, 提示苏木红素舒张血管效应的 K⁺通道与电压依赖性 K⁺通道 (K⁺V) 无明显关系 (图 2B)。

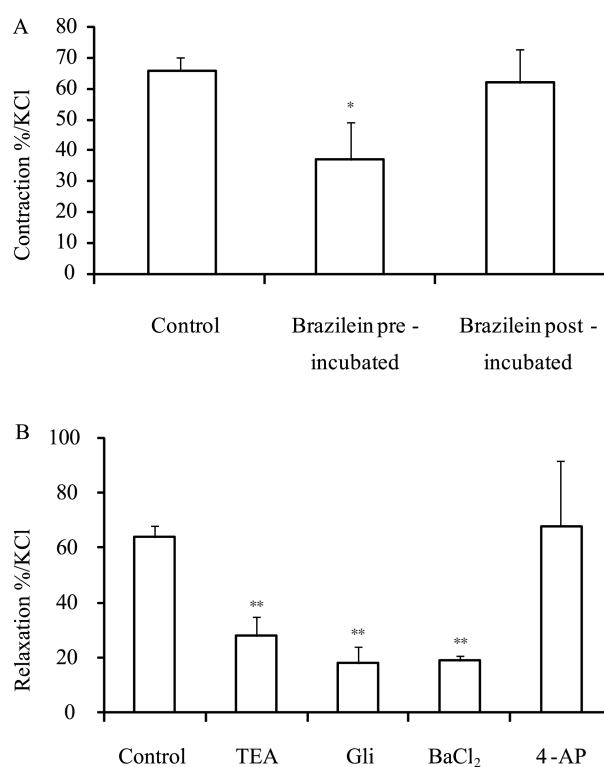


图 2 苏木红素对 5-HT 受体及其它离子通道阻断剂的血管作用

注 A: 苏木红素不同时间给药对麦角新碱 (1 mM) 的收缩血管的影响, 对照组 (Control) 为麦角新碱; B: 苏木红素对 K⁺通道的作用, 苏木红素浓度为 100 μ M, 对照组 (Control) 为苏木红素。x+s, n=6。与对照组相比, *P<0.05, **P<0.01。

2.3 苏木红素对 CaM、eNOS 和 RhoA mRNA 表达的影响

钙调蛋白 (CaM)、内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 和 Rho 激酶 A (Rho A) 均为血管平滑肌收缩过程中起着重要的转导和调控信号^[11]。通过 RT-PCR 分析苏木红素对血管平滑肌细胞系 A7R5 细胞血管活性相关因子的 mRNA 表达水平变化的影响。结果表明, 12 μM 苏木红素能明显抑制 A7R5 细胞中 CaM mRNA 的表达, 对 eNOS 和 RhoA mRNA 的表达则无明显影响 (图 3)。

2.4 苏木红素对 MLCK、MLCP、p-MLCP、MLC 和 p-MLC 蛋白表达的影响

通过 Western blot 分析苏木红素对 A7R5 细胞中血管收缩相关蛋白表达的影响。结果表明, 12 μM 苏木红素能明显抑制 A7R5 细胞中 MLCP 表达, 但 MLCK、p-MLCP、MLC 和 p-MLC 蛋白表达无明显影响 (图 4)。MLCP 可以影响到平滑肌纤维的兴奋收缩耦联, 进而影响血管的舒缩效应^[12]。苏木红素下调 MLCP, 可以抑制血管平滑肌收缩, 最终产生舒血管效应。

2.5 苏木红素对平滑肌细胞中 cAMP、cGMP 含量的影响

作为第二信使的 cAMP 和 cGMP 主要调节细胞内的生理功能。细胞内 cAMP 含量增加, 促进肌浆网对 Ca^{2+} 的重吸收。使细胞内 Ca^{2+} 浓度下降, 肌球/肌动蛋白解耦联, 肌细胞失去张力, 血管扩张。同时, 细胞内 cAMP 可激活蛋白激酶 A, 后者抑制肌球蛋白轻链激酶 (MLCK) 的激活, 进而抑制血管平滑肌的收缩。cGMP 作用与 cAMP 相反, 增加 cGMP 生成, cGMP 激活蛋白激酶 G (PKG), 使血管平滑肌收缩^[13]。苏木红素能明显提高 A7R5 细胞内 cAMP 含量, 与对照组相比有明显差异。结果显示, 50 μM 巴西苏木红素即可显著提高离体大鼠动脉血管匀浆液 cAMP 含量, 与对照组相比有明显差异。苏木红素对 A7R5 细胞内 cGMP 含量均有一定的降低趋势, 但无统计学意义。而 100 μM 苏木红素能显著降低大鼠胸主动脉血管 cGMP 含量, 与对照组相比有明显差异 (图 5)。

2.6 苏木红素对 PGI_2 、 TXA_2 和 PKA 的影响

PGI_2 和 TXA_2 是体内一对生理性拮抗剂^[14]。 PGI_2

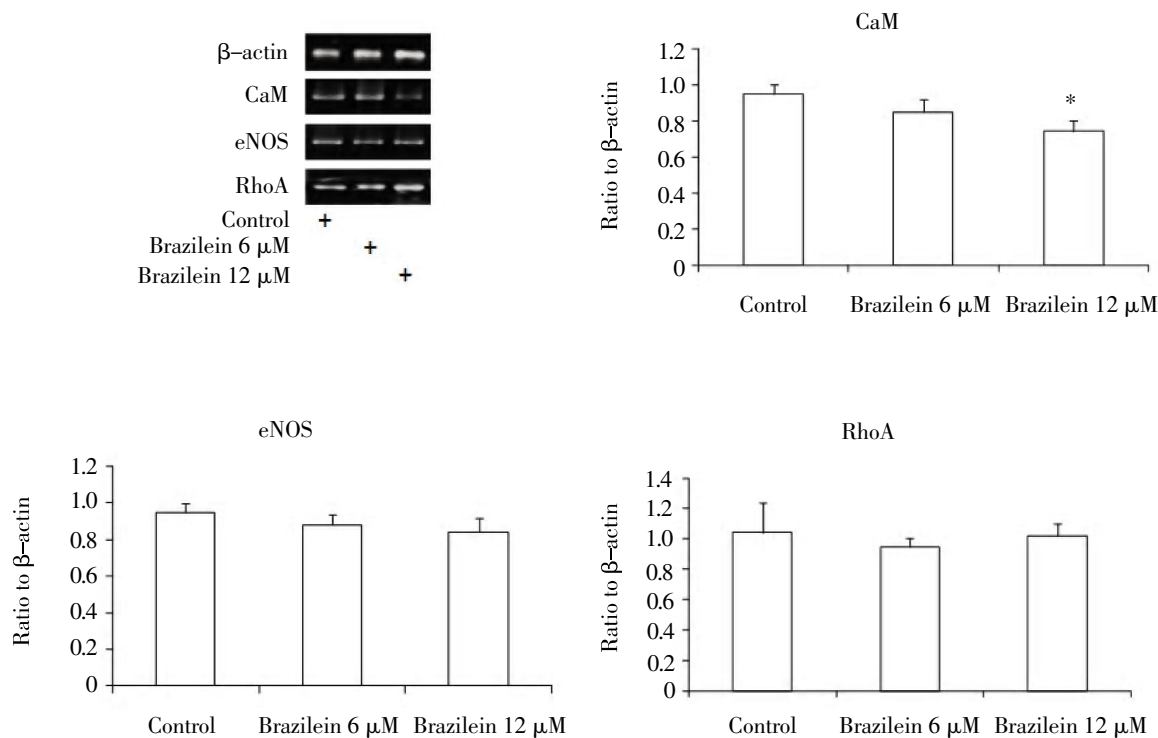


图 3 苏木红素对 A7R5 细胞中 CaM、eNOS 和 RhoA mRNA 表达的影响

注 A CaM, B Enos, C RhoA。对照组 (Control) 为等体积生理盐水。x+s, n=3。与对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

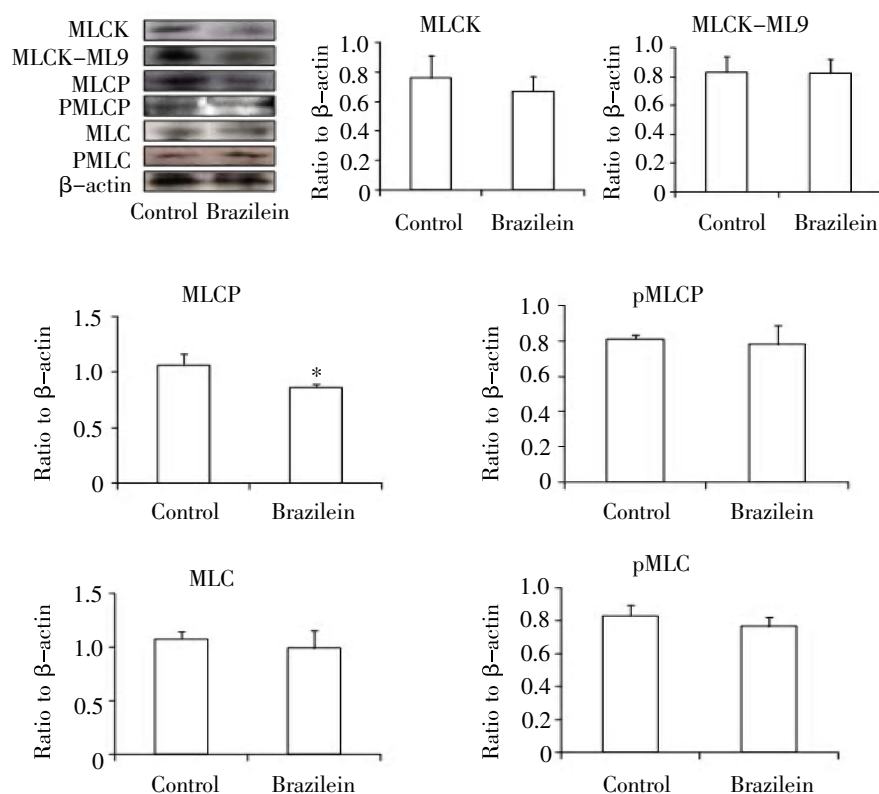


图4 苏木红素对 A7R5 细胞中 MLCK、MLCP、p-MLCP、MLC 和 p-MLC 蛋白表达的影响
注 苏木红素浓度为 12 μM 。对照组 (Control) 为等体积生理盐水。 $\bar{x} \pm s, n=3$ 。与对照组相比, * $P<0.05$ 。

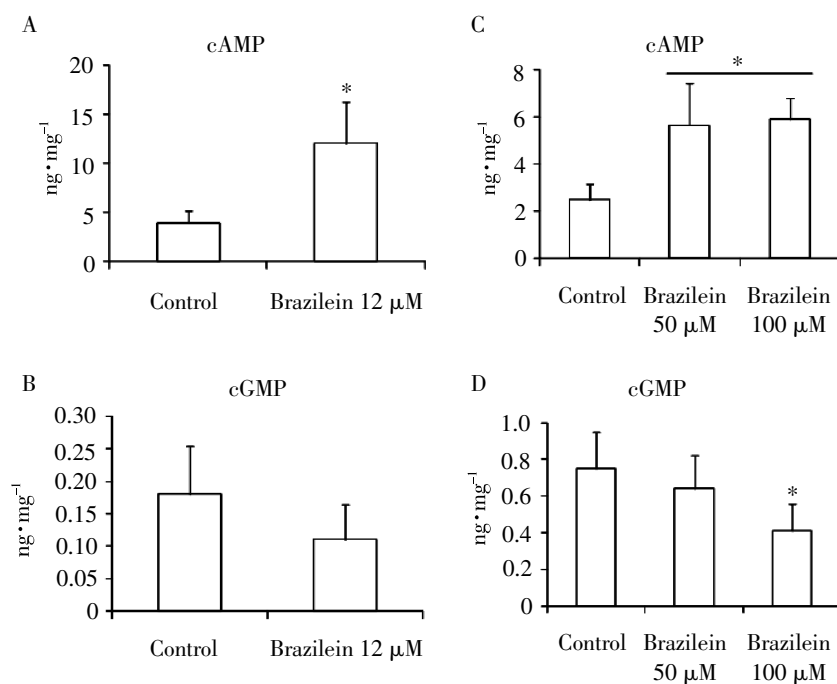


图5 苏木红素平滑肌细胞 cAMP-cGMP 含量影响
注 A~B 细胞裂解液 C~D 血管组织匀浆液。 $\bar{x} \pm s, n=4$ 。对照组 (Control) 为生理盐水。与对照组相比, * $P<0.05$ 。

为一种强烈的血管扩张剂,可通过 PGI_2 受体激活腺苷酸环化酶提高 cAMP 水平。 TXA_2 为一种强烈的血管收缩剂,可提高血管平滑肌中 cGMP 水平。 TXA_2 和 PGI_2 在体内不稳定,难以直接测定。 TXB_2 和 6-keto $\text{PGF1}\alpha$ 分别是它们的稳定代谢产物,故常以测定 TXB_2 和 6-keto $\text{PGF1}\alpha$ 作为判断其浓度的指标。

结果显示,苏木红素组 A7R5 细胞内 6-keto $\text{PGF1}\alpha$ 含量明显升高,与对照组相比 6-keto $\text{PGF1}\alpha$ 含量提高 51%。离体动脉血管测定结果显示,50 μM 苏木红素能极显著地提高平滑肌细胞内 6-keto $\text{PGF1}\alpha$ 含量,与对照组相比 6-keto $\text{PGF1}\alpha$ 含量提高 242% ;100 μM 苏木红素能极显著地提高平滑肌细胞内 6-keto $\text{PGF1}\alpha$ 含量,与对照组相比 6-keto $\text{PGF1}\alpha$ 含量提高 300% (图 6A,D)。苏木红素组

A7R5 细胞内 TXB_2 含量明显降低,与对照组相比 TXB_2 含量降低 25%。50 μM 苏木红素能显著地降低平滑肌细胞内 TXB_2 含量,与对照组相比 TXB_2 含量降低 78% ;100 μM 苏木红素能显著地降低平滑肌细胞内 TXB_2 含量,与对照组相比 TXB_2 含量降低 73%。上述结果说明,苏木红素能明显升高平滑肌细胞内的 PGI_2 水平,激动 cAMP 活性 ;降低平滑肌细胞内的 TXA_2 水平,抑制 cGMP 的活性而产生平滑肌舒张作用 (图 6B,E)。

cAMP 主要通过激活 PKA 来实现其下游信号转导,PKA 可抑制肌凝蛋白轻链激酶 (MLCK) 的激活,进而抑制血管平滑肌的收缩,使血管产生扩张 ;PKA 还可以抑制 Ca^{2+} 激活的钾通道,使细胞去极化,平滑肌产生舒张作用。结果显示,苏木红素组 A7R5 细胞

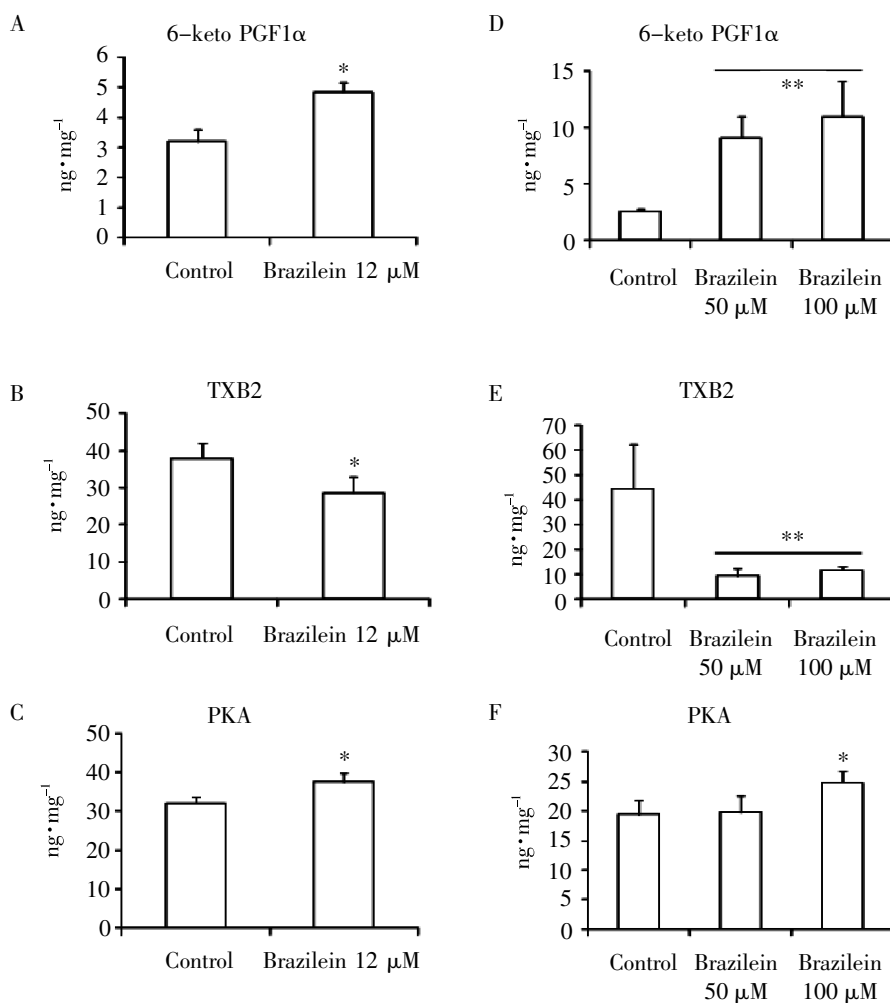


图 6 苏木红素对平滑肌细胞 6-keto $\text{PGF1}\alpha$ 、 TXB_2 、PKA 含量影响

注 :A~C 细胞裂解液 ;D~F 血管组织匀浆液。 $\bar{x} \pm s, n=4$ 。与对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

内 PKA 含量明显升高,与对照组相比 PKA 含量提高 13.5%。离体大鼠动脉血管结果显示,100 μM 苏木红素能显著地提高血管匀浆液中 PKA 含量,与对照组相比 PKA 含量分别提高 26.6%。说明苏木红素能够提高平滑肌细胞内 PKA 含量而产生舒张作用(图 6C,F)。

3 讨论与结论

苏木红素具有一定的舒张血管活性,能够持续稳定地舒张胸主动脉血管平滑肌。这种舒张活性并不能阻止受体激动剂 Ach、PE、Ang II 的缩血管效应,但能阻断 5-HT 受体激动剂麦角新碱的收缩活性,这种抑制效应在子宫平滑肌实验中也得到了验证^[15]。苏木红素舒张活性能够被一些 K^+ 通道阻滞剂所阻止,其中包括 ATP 敏感 K^+ 通道(K^+ATP)阻滞剂 GLI、 Ca^{2+} 激活的 K^+ 通道($\text{K}^+-\text{Ca}^{2+}$)阻滞剂 TEA 和配体门控性 K^+ 通道(K^+IR) BaCl_2 通道阻滞剂。说明苏木红素对血管平滑肌的舒张作用主要是通过调节 K^+ 通道,影响 K^+ 流而实现的。其作用位点与 ATP、 Ca^{2+} 和相关调控受体(如 5-HT)有关。与电压依赖门控的 K^+ 通道无关。苏木红素能够明显提高平滑肌细胞中的 cAMP、PKA 以及 PGI_2 代谢物 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ 的含量,降低平滑肌细胞中的 cGMP 及 TXA_2 代谢物 TXB_2 的含量。苏木红素可以抑制 CaM mRNA 和 MLCP 蛋白表达,从而阻断血管平滑肌收缩的下游信号通路,最终产生平滑肌的舒张效应。

综上,苏木红素通过影响 K^+ 通道,抑制膜去极化,调节胞内 Ca^{2+} 浓度,进而影响 MLCP,抑制平滑肌纤维收缩耦联,最终达到舒张血管的效应;影响 K^+ 通道又与调控 5-HT 受体有关,调节胞内 Ca^{2+} 又与 cAMP、PKA 和 PGI_2 密切相关。

参考文献

- 1 Ye M, Wang W, Lei F, *et al.* Brazilein, an important immunosuppressive component from *Caesalpinia Sappan* L. *Int Immunopharmacol*, 2006,6(3):426~432.
- 2 Zhao Y N, Pan Y, Tao J L, *et al.* Study on cardioactive effect of

- Brazilein. *Pharmacology*, 2006, 76(2):76~83.
- 3 Shen J, Zhang H Y, Lin H, *et al.* Brazilein protects the brain against focal cerebral ischemia reperfusion injury correlating to inflammatory response suppression. *Eur J Pharmacol*, 2007,558 (1-3): 88~95.
- 4 李慧颖,陈芸芸,雷帆,等. 巴西苏木红素对小鼠脑缺血中能量代谢的影响. *中国中药杂志*, 2010, 35(18):2444~2448.
- 5 Wang X K, Wang Y G, Zhan H L, *et al.* Comprehensive study of *Evodia rutaecarpa*-induced contraction on blood vascular *in vivo* and *in vitro*. *CJNM*, 2011, 9(1):65~73.
- 6 王秀坤,雷帆,曹兰秀,等. 基于吴茱萸汤相关功效从平滑肌角度探讨其质量控制的可行性. *世界科学技术-中医药现代化*, 2009,11(2):243~248.
- 7 Li H Y, Hu J, Ma L, *et al.* Comprehensive study of baicalin down-regulating NOD2 receptor expression of neurons with oxygen glucose deprivation *in vitro* and cerebral ischemia-reperfusion *in vivo*. *Eur J Pharmacol*, 2010,649(1-3):92~99.
- 8 Hu J, Chai Y S, Wang Y G, *et al.* PI3K p55 γ promoter activity enhancement is involved in the anti-apoptotic effect of berberine against cerebral ischemia-reperfusion. *Eur J Pharmacol*, 2012,674(2-3):132~142.
- 9 Kerr P M, Tam R, Narang D, *et al.* Endothelial calcium-activated potassium channels as therapeutic targets to enhance availability of nitric oxide. *Can J Physiol Pharmacol*, 2012,90(6):739~752.
- 10 Kamp M A, Dibué M, Schneider T, *et al.* Calcium and potassium channels in experimental subarachnoid hemorrhage and transient global ischemia. *Stroke Res Treat*, 2012:382146.
- 11 Han J, Seo E Y, Kim H J, *et al.* Hypoxia-augmented constriction of deep femoral artery mediated by inhibition of eNOS in smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2013, 304(1):C78~C88.
- 12 Cole W C, Welsh D G. Role of myosin light chain kinase and myosin light chain phosphatase in the resistance arterial myogenic response to intravascular pressure. *Arch Biochem Biophys*, 2011, 510(2):160~173.
- 13 Cuññas A, Elíes J, Orallo F, *et al.* Cyclic AMP relaxation of rat aortic smooth muscle is mediated in part by decrease of depletion of intracellular Ca^{2+} stores and inhibition of capacitative calcium entry. *Vascul Pharmacol*, 2013, 58(1-2):98~104.
- 14 Triggie C R, Samuel S M, Ravishankar S, *et al.* The endothelium: Influencing vascular smooth muscle in many ways. *Can J Physiol Pharmacol*, 2012, 90(6):713~718.
- 15 Wang X K, Lei F, Chai Y S, *et al.* Brazilein, a Selective 5-HT Receptors Antagonist in Mouse Uterus. *CJNM*,2011,9(5):338~344.

Effect of Brazilein on Relaxation of Vascular Smooth Muscle of Rat

Yu Xuan, Wang Xiukun, Lei Fan, Wang Yugang, Xing Dongming, Du Lijun

(Protein Science Laboratory of State Ministry of Education, Laboratory of Molecular Pharmacology and Pharmaceutical Sciences, School of Life Sciences and School of Medicine, Tsinghua University,

Beijing 100084, China)

Abstract: Brazilein is one of the active ingredients of a Chinese medicine *Caesalpinia sappan* L. This study was aimed to test the vasodilator effect of brazilein on vascular smooth muscle cells *in vitro* from the perspective of molecular biology. The results showed that brazilein mainly acted through the influence of potassium ion channels, reducing membrane depolarization in order to affect the vessel relaxation. This effect can be influenced by blocking 5-HT receptor, and, simultaneously, correlating with the regulation of intracellular calcium ion concentration, affecting calmodulin and downregulating MLCP. In addition, the alterations of cAMP, PKA and PGI₂ were involved in the pharmacological process of brazilein.

Keywords: Brazilein, vascular smooth muscle, relaxation, 5-HT, potassium channel

(责任编辑 李沙沙 张志华, 责任译审 王 晶)