

降压中药有效组分配伍对离体大鼠胸主动脉环的舒张作用

许激扬*, 张映桥, 卞筱泓, 余涛, 许建良, 李兰娥
(中国药科大学, 南京 210009)

[摘要] 目的: 研究天麻素、黄芩苷、川芎嗪、葛根素 4 种中药有效单体及其组合对大鼠胸主动脉的舒张作用, 筛选出最佳组合。方法: 以大鼠胸主动脉环为标本, 观察单组分及组合物对去甲肾上腺素(NE)预收缩的血管舒张作用。结果: 天麻素、黄芩苷、川芎嗪、葛根素单体存在浓度依赖性的舒张血管效应。正交实验结果显示天麻素($0.64 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、黄芩苷($0.12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、川芎嗪($0.32 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、葛根素($0.64 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)是最优组合, 舒张率达到 89.37%。结论: 单组分及组合物对 NE 预收缩的大鼠胸主动脉均具有舒张作用, 组合配伍强于单组分。

[关键词] 高血压; 舒张血管; 胸主动脉; 有效成分组合; 天麻素; 黄芩苷; 川芎嗪; 葛根素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0147-05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120515.1555.022.html>

[网络出版时间] 2012-05-15 15:55

Vasodilative Action of Combinations of Hypotensive Components of Traditional Chinese Medicines on Rat Isolated Thoracic Aorta

XU Ji-yang*, ZHANG Ying-qiao, BIAN Xiao-hong, YU Tao, XU Jian-liang, LI Lan-e
(China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the vasodilative action of gastrodin, baicalin, tetramethylpyrazine, puerarin and their combinations on rat thoracic aorta, and to select the best combination of hypotensive components. **Method:** The rat thoracic aorta was taken as specimen and the vasodilative action of single components and their combinations on rat thoracic aorta which was pre-constricted with NE was tested. **Result:** Gastrodin, baicalin, tetramethylpyrazine and puerarin exerted a dose-dependent vasodilative action on rat isolated thoracic aorta rings. The results of orthogonal optimization experiment showed that the best combination including gastrodin ($0.64 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), baicalin ($0.12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), tetramethylpyrazine ($0.32 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) and puerarin ($0.64 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) presented more obvious contraction than any single component. And the vasodilatation rate was 89.37%. **Conclusion:** The above components and their combination have vasodilative action on the NE pre-constricted rat thoracic aorta, but the effect of latter is stronger than the former.

[Key words] hypertension; vasodilatation; rat thoracic aorta; combination of effective components; gastrodin; baicalin; tetramethylpyrazine; puerarin

天麻、黄芩、川芎、葛根是常用的 4 种中药, 临床常见以此 4 种中药单方成药或组合配伍治疗头痛、头晕、耳鸣、心悸等高血压症候, 具有确切的疗效。如天麻降压片、葛根降压片、天麻黄芩丸、天麻葛根

解痉汤、葛根天麻川芎汤、葛根川芎饮等。但由于单方成药或组合配伍成分较为复杂, 质量难以控制, 从而限制了降血压中药在更广范围内的推广使用。近年来, 组分中药以其“针对性强、安全有效、质量可控”成为中药现代化的研究趋势^[1-5]。本实验中, 以天麻、黄芩、川芎、葛根 4 味中药为对象, 选取各药中经报道有确切降血压效果的有效单体天麻素、黄芩苷、川芎嗪、葛根素进行组分配伍, 以离体大鼠胸主动脉环为

[收稿日期] 20110831(007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81073010)

[通讯作者] * 许激扬, 教授, Tel: 025-83271306, E-mail: jiyangx@126.com

标本,观察单组分及组合后对去甲肾上腺素(NE)预收缩舒张作用,综合评价药效,从中筛选出最佳组合,为抗高血压组分中药的研制提供理论依据^[6-11]。

1 材料

1.1 动物 SD 雄性大鼠,体重(210 ± 15)g,清洁级,动物合格证号 SCXK(浙)20080033,购自南京江宁青龙山动物繁殖场。

1.2 药品及试剂 天麻素(gastrodin,98%,成都第一制药有限公司,20101020)、黄芩苷(baicalin,98%,陕西绿清生物工程公司,SB20100615)、川芎嗪(tetramethylpyrazine,99%,成都第一制药有限公司,20101215)、葛根素(puerarin,99.4%,成都三生元生物科技有限公司,101105)、牛黄降压片(CBT)、重酒石酸去甲肾上腺素(NE,2 g·L⁻¹,上海禾丰制药有限公司)、乙酰胆碱(Ach,上海三爱思试剂有限公司)。黄芩苷、葛根素、川芎嗪均用 DMSO 溶解、其他试剂用蒸馏水溶解。预实验证明,DMSO 体积分数小于 0.2% 时,对血管的收缩没有影响。K-H 营养液(mmol·L⁻¹),由 NaCl 115.0, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1.2, NaHCO₃ 25.0, KH₂PO₄ 1.2 和葡萄糖 10.0 组成(现配),均为市售国产分析纯。

1.3 仪器 HV-4 型离体组织器官恒温灌流系统(成都泰盟科技有限公司),JZ-100 型肌张力换能器(北京新航兴业科贸有限公司),BL-420S 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司),HW-1000 型超级恒温水浴(成都泰盟科技有限公司)。

2 方法

2.1 大鼠胸主动脉条标本的制备 SD 大鼠处死,迅速打开胸腔,取其胸主动脉,移入盛有 4℃ 纯氧饱和 K-H 液的培养皿中。仔细剔除血管周围的脂肪及结缔组织,把动脉剪成 4 mm 宽的血管环。将血管环悬挂于经 37℃ 预热容量为 20 mL K-H 营养液的浴槽内,一端固定,另一端通过张力换能器连接生物信号采集系统。持续通以 95% O₂ 和 5% CO₂ 混合气体,将静息张力逐渐调节至 1.0 g。37℃ 稳定 2 h,期间每 15 min 换液 1 次。平衡期末,以 KCl (6 × 10⁻² mol·L⁻¹) 预收缩血管条,检查血管活

性。达到最大收缩后洗脱,平衡 2 次,每次 15 min。用 NE(1 × 10⁻⁶ mol·L⁻¹) 预收缩动脉环,待收缩稳定加入 20 μL 乙酰胆碱(Ach 1 × 10⁻⁵ mol·L⁻¹) 检查血管内皮活性,以舒张幅度大于 70% 认为内皮完整。舒张率计算公式为:

$$\text{舒张率} = \frac{\text{收缩最大张力} - \text{舒张最小张力}}{\text{收缩最大张力} - \text{静息张力}} \times 100\%$$

2.2 实验设计

2.2.1 各单组分对 NE 预收缩血管环的舒张作用 取内皮完整的胸主动脉血管环,分别加入配制好的各组分药物,使天麻素、葛根素、川芎嗪的终质量浓度为 0.16, 0.32, 0.48, 0.64 g·L⁻¹, 使黄芩苷的终质量浓度为 0.04, 0.08, 0.12, 0.16 g·L⁻¹; 对照组分别加入 Ach (终浓度为 1 × 10⁻⁵ mol·L⁻¹) 及等浓度的牛黄降压片。空白组加入相同体积的 K-H 液,观察血管张力变化(n = 6)。

2.2.2 各组分配伍正交后对 NE 预收缩血管环的舒张作用 取内皮完整的胸主动脉血管环,采用 L₂₅(5⁶) 进行正交实验(n = 6)。

表 1 因素水平实验

水平	因素/g·L ⁻¹			
	天麻素(A)	黄芩苷(B)	川芎嗪(C)	葛根素(D)
1	0	0	0	0
2	0.16	0.04	0.16	0.16
3	0.32	0.08	0.32	0.32
4	0.48	0.12	0.48	0.48
5	0.64	0.16	0.64	0.64

2.3 统计学方法 利用 SPSS 11.5 统计软件包进行数据处理,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计学采用多样本均数 t 检验。P < 0.05 认为有统计学差异。

3 结果

3.1 单组分对血管的舒张作用 4 种降压成分对 NE 预收缩的离体大鼠胸主动脉环有不同程度的舒张作用,均呈现浓度依赖性。4 种成分中,以葛根素的舒血管效应最强,最大舒张率达到 78.43%,黄芩苷的舒张效应次之(表 2)。

表 2 单组分降血压作用比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	质量浓度/g·L ⁻¹	舒张率/%	Ach/%	空白/%	与 CBT 比较 P 值	与空白组比较 P
天麻素	0.16	34.12 ± 1.34	79.94 ± 3.57	0.89 ± 0.23	<0.01	<0.01
	0.32	56.43 ± 3.43	76.21 ± 2.34	0.97 ± 0.65	<0.05	<0.01
	0.48	59.71 ± 4.56	78.23 ± 3.15	1.03 ± 0.21	<0.05	<0.01
	0.64	63.12 ± 3.12	81.29 ± 1.52	0.56 ± 0.13	<0.01	<0.01

续表 2

组别	质量浓度/g·L ⁻¹	舒张率/%	Ach/%	空白/%	与 CBT 比较 P 值	与空白组比较 P 值
黄芩苷	0.04	6.37 ± 1.39	81.12 ± 1.62	1.35 ± 0.42	<0.05	<0.01
	0.08	45.23 ± 5.73	75.12 ± 2.45	1.23 ± 0.41	<0.01	<0.01
	0.12	65.70 ± 4.18	77.25 ± 5.31	1.09 ± 0.32	<0.01	<0.01
	0.16	73.80 ± 2.67	78.01 ± 3.49	0.87 ± 0.33	<0.01	<0.01
川芎嗪	0.16	28.50 ± 1.98	77.91 ± 3.18	0.97 ± 0.45	>0.05	<0.01
	0.32	46.91 ± 3.78	73.87 ± 4.80	0.75 ± 0.21	>0.05	<0.01
	0.48	50.56 ± 2.76	76.95 ± 4.53	1.18 ± 0.37	<0.01	<0.01
	0.64	59.34 ± 3.50	78.16 ± 1.89	0.94 ± 0.28	<0.01	<0.01
葛根素	0.16	11.32 ± 3.53	83.16 ± 2.46	1.35 ± 0.38	<0.01	<0.01
	0.32	30.50 ± 3.21	78.16 ± 3.87	1.05 ± 0.18	<0.01	<0.01
	0.48	56.21 ± 2.89	80.10 ± 1.76	0.93 ± 0.54	<0.01	<0.01
	0.64	78.43 ± 4.58	85.43 ± 3.47	0.78 ± 0.27	<0.05	<0.01
CBT	0.04	3.19 ± 1.34	80.23 ± 1.54	0.98 ± 0.23	-	-
	0.08	6.95 ± 1.52	78.15 ± 2.81	1.56 ± 0.43	-	-
	0.12	13.56 ± 2.37	80.12 ± 3.01	1.38 ± 0.42	-	-
	0.16	28.90 ± 1.03	74.30 ± 1.25	0.96 ± 0.37	-	-
	0.32	47.15 ± 2.46	78.94 ± 2.34	1.08 ± 0.34	-	-
	0.48	73.46 ± 3.12	76.38 ± 1.63	1.65 ± 0.39	-	-
	0.64	94.31 ± 1.52	79.12 ± 3.02	1.48 ± 0.37	-	-

3.2 正交设计及方差分析 正交实验结果见表 3, 方差分析见表 4。

表 3 4 种有效单体配伍对离体大鼠胸主动脉环舒张作用的正交实验($\bar{x} \pm s, n = 6$)

实验	组分				舒张率/%	Ach/%	空白/%
	A	B	C	D			
1	1	1	1	1	-	-	-
2	1	2	2	2	31.70 ± 3.19	78.82 ± 3.52	0.87 ± 0.44
3	1	3	3	3	37.81 ± 3.52	77.24 ± 2.49	0.76 ± 0.27
4	1	4	4	4	71.23 ± 2.53	79.34 ± 4.26	1.23 ± 0.16
5	1	5	5	5	63.34 ± 5.46	80.37 ± 5.02	0.81 ± 0.38
6	2	1	2	3	52.16 ± 5.32	80.22 ± 1.62	1.24 ± 0.47
7	2	2	3	4	64.63 ± 4.38	76.22 ± 4.45	1.16 ± 0.14
8	2	3	4	5	84.23 ± 4.75	72.25 ± 4.70	0.99 ± 0.55
9	2	4	5	1	47.90 ± 3.89	79.71 ± 4.59	0.89 ± 0.23
10	2	5	1	2	63.11 ± 2.56	78.90 ± 3.19	0.94 ± 0.65
11	3	1	3	5	72.43 ± 3.91	74.78 ± 4.81	1.09 ± 0.23
12	3	2	4	1	52.34 ± 1.98	75.95 ± 3.50	0.76 ± 0.13
13	3	3	5	2	73.89 ± 4.17	78.16 ± 1.89	0.97 ± 0.42
14	3	4	1	3	62.54 ± 5.23	83.16 ± 2.46	1.20 ± 0.31
15	3	5	2	4	52.58 ± 3.29	79.26 ± 2.89	1.19 ± 0.36
16	4	1	4	2	43.45 ± 5.13	83.17 ± 1.96	0.96 ± 0.43
17	4	2	5	3	86.72 ± 2.74	82.13 ± 3.47	0.83 ± 0.65

续表 3

实验	组分				舒张率/%	Ach/%	空白/%
	A	B	C	D			
18	4	3	1	4	72.91 ± 4.76	79.14 ± 2.37	0.85 ± 0.31
19	4	4	2	5	87.52 ± 3.73	77.51 ± 4.14	1.21 ± 0.47
20	4	5	3	1	55.12 ± 4.02	79.63 ± 4.67	0.94 ± 0.26
21	5	1	5	4	55.86 ± 3.08	80.39 ± 2.57	1.09 ± 0.31
22	5	2	1	5	72.37 ± 6.23	80.19 ± 1.26	1.07 ± 0.26
23	5	3	2	1	63.17 ± 4.52	78.65 ± 2.85	0.93 ± 0.43
24	5	4	3	2	80.12 ± 2.64	87.35 ± 6.02	0.79 ± 0.34
25	5	5	4	3	87.90 ± 1.63	88.13 ± 3.49	1.03 ± 0.35
K_1	40.816	44.780	54.186	43.706			
K_2	62.406	61.552	57.426	58.454			
K_3	62.756	66.402	62.022	65.426			
K_4	69.144	69.862	67.830	63.442			
K_5	71.884	64.410	65.542	75.978			
R	31.068	25.082	13.644	32.272			

表 4 方差分析

方差来源	差方和	自由度	方差	F	P
A	2 329.586	4	582.396 5	4.024 1	<0.05
B	2 003.558	4	500.889 5	3.460 9	<0.05
C	578.906	4	144.726 5	1.000 0	
D	2 775.278	4	693.819 5	4.794 0	<0.01

注： $F_{0.05}(4,16) = 3.010, F_{0.01}(4,16) = 4.77$ 。

由直观分析可知,以血管舒张率为评价指标,最佳配伍组合为： $A_5B_4C_4D_5$ 各因素影响大小为：葛根

素 > 天麻素 > 黄芩苷 > 川芎嗪。由方差分析结果可知,葛根素的水平差异有统计学意义,差异极其显著。天麻素和黄芩苷的浓度水平差异显著。考虑到川芎嗪对组合配伍中舒张率的影响较小,综合考虑川芎嗪可选择较低浓度进行,故可选的配伍组合为： $A_5B_4C_2D_5, A_5B_4C_3D_5, A_5B_4C_4D_5$ 。

3.3 验证实验 按优选的组合配伍各进行 6 次平行实验。见表 5。

表 5 验证实验 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

实验组	舒张率/%	Ach/%	空白/%	与空白组比较 P
$A_5B_4C_2D_5$	86.90 ± 0.37	82.13 ± 3.47	0.72 ± 0.69	<0.01
$A_5B_4C_3D_5$	89.37 ± 0.53	78.14 ± 2.37	0.95 ± 0.37	<0.01
$A_5B_4C_4D_5$	90.42 ± 0.73	79.41 ± 3.14	1.01 ± 0.43	<0.01

注： $A_5B_4C_2D_5$ 与 $A_5B_4C_3D_5$ 比较, $P < 0.01$; $A_5B_4C_2D_5$ 与 $A_5B_4C_4D_5$ 比较, $P < 0.01$; $A_5B_4C_3D_5$ 与 $A_5B_4C_4D_5$ 比较 $P > 0.05$ 。

由表 5 可知, $A_5B_4C_3D_5, A_5B_4C_4D_5$ 配伍的实验结果均比正交组中高,综合考虑可选 $A_5B_4C_3D_5$ 为最优配伍组合。

4 讨论

组分中药是脱胎于中医理论指导下所使用的方剂又是高于该方剂的创新型中药,有效成分(组分)配伍是传统中药学理论与现代科学技术相交融发展的结果,是中药整合调节与靶向效应相结合而发展的趋势^[8-9]。本实验中选用了临床证实有效的降血压复方,选取君药药效主要成分并将之配伍组合,综合考虑,选出的最优组合是天麻素($0.64 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)加

黄芩苷($0.12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)加川芎嗪($0.32 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)加葛根素($0.64 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),舒张率达到 89.37%。实验结果显示配伍组合的血管舒张效应总体强于单组分的舒张效应。

目前仅对 4 种临床上高频使用的降血压中药中的有效成分进行了组合和初步药效学研究。在以后的研究过程中可以对其他多种降血压中药组分进行探讨,进一步为抗高血压组分中药的研究提供实验依据,同时也为天然药物降血压组分库的完善奠定基础。

全蝎-蜈蚣对 CIA 大鼠外周血协同刺激分子 B7-1, B7-2 表达的影响

黄小英¹, 赵海梅², 左志琴², 程绍民³, 刘端勇^{2*}

(1. 江西中医学院科研处, 南昌 330004; 2. 江西中医学院科技学院, 南昌 330025;
3. 江西中医学院基础医学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 观察全蝎-蜈蚣对胶原免疫性关节炎 (collagen-induced arthritis, CIA) 大鼠外周血协同刺激分子 B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86) 表达的影响。方法: Wistar 大白鼠 60 只, 随机分成 6 组, 即正常组, 模型组, 全蝎-蜈蚣高, 中, 低剂量组, II 型胶原蛋白 (type II collagen, C II) 组。采用 II 型胶原蛋白诱导法复制大鼠关节炎模型, 并 ig 给予全蝎-蜈蚣混悬液 (0.4, 0.2, 0.1 g·kg⁻¹) 进行干预, C II 组予 C II 白冻干粉 60 μg·kg⁻¹ig 进行对照, 共计 40 d。并采用流式细胞术检测大鼠外周血单核细胞表达 CD80, CD86 情况。结果: 与正常组大鼠外周血 CD80⁺ (44.8 ± 11.61)% CD80⁺CD86⁻ (32.4 ± 9.18)% 比较, 模型组大鼠外周血 CD80⁺ 细胞 (55.7 ± 6.31)% 及 CD80⁺CD86⁻ 细胞 (43.7 ± 10.26)% 水平显著升高 (P < 0.05); 与模型组比较, 全蝎-蜈蚣中、低剂量组大鼠外周血 CD80⁺ 细胞 (46.6 ± 6.34)%, (30.8 ± 15.14)% 明显降低 (P < 0.05), 且全蝎-蜈蚣低剂量组大鼠外周血 CD80⁺CD86⁻ 细胞 (25.3 ± 12.67)% 水平显著下降 (P < 0.05)。结论: 全蝎-蜈蚣药对治疗 CIA 大鼠的作用机制可能与降低外周血单核细胞表达 CD80⁺ 及 CD80⁺CD86⁻ 分子表达水平相关。

[关键词] 全蝎; 蜈蚣; 类风湿性关节炎; B7-1; B7-2

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0151-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120515.1514.006.html>

[网络出版时间] 2012-05-15 15:14

[收稿日期] 20111022(012)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30860377); 江西省自然科学基金项目(2009GZY0118); 江西省科技厅科技计划(20092052)

[通讯作者] *刘端勇, 硕士, 副教授, 从事自身免疫性疾病及免疫药理研究, Tel: 0791-86526385, E-mail: liuduanyong@163.com

[参考文献]

[1] 张伯礼, 王永炎. 方剂关键科学问题的基础研究—以组分配伍研制现代中药[J]. 中国天然药物, 2005, 3(5): 258.

[2] 张伯礼, 王永炎, 商洪才. 组分配伍研制现代中药的理论和方法[J]. 继续医学教育杂志, 2006, 20(19): 89.

[3] 吴凤镠. 从单方成药到“分子中药学”和组合中药学[J]. 中草药, 2002, 33(9): 769.

[4] 商洪才, 张伯礼, 王永炎, 等. 一种适用于中药小复方配伍优选设计方法的建立[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(3): 1.

[5] 吴玉生, 李士林, 王占奎, 等. ET、CGRP 对天麻钩藤饮治疗阴虚阳亢型原发性高血压疗效的评估[J]. 中国实验方剂学杂志, 1998, 4(5): 52.

[6] 江春艳, 许激扬, 卞筱泓, 等. 杜仲降血压成分的组合

及血管舒张作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 218.

[7] 许激扬, 赵芳, 卞筱泓, 等. 杜仲降压组分对大鼠胸主动脉的舒张作用[J]. 药物生物技术, 2009, 16(4): 338.

[8] 巫龙, 卞筱泓, 许激扬, 等. 降压中药有效成分组合对大鼠胸主动脉的舒张作用[J]. 西北药学杂志, 2011, 26(2): 113.

[9] Yang Yifan, Jeremy R. Theories and concepts in the composition of Chinese herbal formulas [M]. First Edition. New York: Churchill Livingstone, 2010: 1.

[10] 王阶, 郭丽丽, 王永炎, 等. 中药方剂药效(成分)组分配伍研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(1): 5.

[11] 张春晖, 张贵君, 杨晶凡, 等. 中药组方新药研究的思路与方法[J]. 中国中医药报, 2006, 10: 447.

[责任编辑 聂淑琴]