

半夏白术天麻汤 4 种提取液对高血压痰湿壅盛型大鼠的影响

王淑玲^{1*}, 孙秀梅², 张兆旺², 谢恬¹

(1. 杭州师范大学生物医药与健康研究中心, 杭州 310012; 2. 山东中医药大学药学院, 济南 250014)

[摘要] 目的: 用主要药效学实验验证半夏白术天麻汤用优选的半仿生-生物酶法(SBEE法)提取工艺进行提取的科学性和合理性。方法: 建立高血压痰湿壅盛型大鼠模型, 对半夏白术天麻汤 4 种方法提取液(SBEE法、SBE法、WE法、AE法)作对模型大鼠的 11 个指标影响的比较。结果: 半夏白术天麻汤对高血压痰湿壅盛型大鼠的 11 个指标的影响, 以 SBEE 法提取液综合评价 R_A 值最大, 分析半夏白术天麻汤提取方法以 SBEE 法效果较好。结论: 半夏白术天麻汤以 SBEE 法提取为佳。

[关键词] 半夏白术天麻汤; 半仿生-生物酶法; 高血压痰湿壅盛型

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)18-0179-04

Effects of Four Kinds of Extract of Banxia Baizhu Tianma Decoction on Hypertensive Rat with Abundant Phlegm-dampness

WANG Shu-ling^{1*}, SUN Xiu-mei², ZHANG Zhao-wang², XIE Tian¹

(1. Biomedicine and Health Institute of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310012, China;

2. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

[Abstract] Objective: To validate the scientific rationality of optimized extraction technics for Banxia Baizhu Tianma decoction in SBEE experiment with main efficacy as indicators. **Method:** Rat model of hypertension with abundant phlegm-dampness was established. Eleven indicators closely associated with abundant phlegm-dampness were selected for evaluating effects. indicators closely associated with abundant phlegm-dampness. Four kinds of solution of Banxia Baizhu Tianma decoction (SBEE, SBE, WE, AE) were compared for their effectiveness. **Result:** Effects on the hypertensive rat showed that SBEE solution had the best effect. **Conclusion:** SBEE is the best extracting method for Banxia Baizhu Tianma decoction.

[Key words] Banxia Baizhu Tianma decoction; semi-bionic enzyme extraction; hypertension with abundant phlegm-dampness

半仿生-生物酶法(Semi-bionic enzyme extraction, SBEE法)^[1-2]是在半仿生提取法(Semi-bionic extraction, SBE法)的基础上加入优选的生物酶形成的,是SBE法的进一步仿生化。王淑玲等用SBEE法对半夏白术天麻汤进行了系统研究,首先优选了SBEE法提取工艺和较佳组合方式,然后对4种方法提取液(水提法、醇提法、SBE法、SBEE法)

的指标成分、提取液指纹图谱以及兔含药血清指纹图谱进行比较研究^[3-4]。结果均显示,SBEE法优于其他3种提取方法。

为了进一步验证SBEE法的科学性和合理性,在以上研究的基础上,拟对4种方法提取液作药效学比较。半夏白术天麻汤是主治风痰上扰诸证常用方,本实验选择建立高血压痰湿壅盛型动物模型,观察半夏白术天麻汤4种方法提取液对模型动物的影响。

1 材料

1.1 药物 半夏白术天麻汤4种提取液由本课题组制备,浓缩至含生药 $2.83\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,甲巯咪唑片,

[收稿日期] 2010-03-05

[通讯作者] * 王淑玲, 讲师, 博士, 从事中药新药研究与中药炮制原理研究的科研、教学工作, Tel: 0571-28868269, E-mail: wsling222@163.com

(北京市燕京药业有限公司);猪胆盐(上海如吉生物技术有限公司);自制造模饲料(含蛋黄粉 5%、猪油 10%、猪胆盐 0.5%,甲硫咪唑 0.004%、蔗糖 25%、盐 8%)。

1.2 仪器 OLYMPUS-AU-2700 全自动生化分析仪(日本);Elecsys-2010 型电化学发光免疫分析仪(瑞士罗氏公司);BP-6 型动物无创血压测试仪(成都泰盟科技有限公司);KL-A 型双河颗粒饲料机(浙江余杭);TDL-40B 型低速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);QF72289 分离胶-促凝剂试管(以上仪器均由滨州医学院附属医院提供)。

1.3 动物 SD 大鼠,体重(200 ±30) g,由滨州医学院试验动物中心提供,合格证号 SCXR 鲁 20070012。

2 方法

2.1 造模 SD 大鼠,雄性,购进后普通饲料喂养 1 周,选取体重(200 ±30) g,SBP 100 ~120 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)和 DBP 80 ~90 mmHg^[5],以及 TG 0.452 ~0.565 mmol·L⁻¹,CHO 0.85 ~2.21 mmol·L⁻¹ 等血脂各项指标在正常值的大鼠 48 只。正常对照组 8 只,(喂普通饲料,饮去离子水,每只 200 mL·d⁻¹)。其余 40 只喂造模饲料,饮生理盐水,每只 500 mL·d⁻¹,模型组居住潮湿环境(湿度 85% ~90%,温度 18 ~20),连续 8 周后,禁食禁水 12 h 后称重、测血压、模型组 SBP 140 mmHg,和(或)DBP 90 mmHg,同时出现形体肥胖,体重明显增加,纳呆嗜睡,懒动,不思饮水,大便不成形者为模型动物。

2.2 分组给药 模型大鼠随机分为 5 组:模型组、半仿生-酶法组(SBEE)、半仿生组(SBE)、水提组(WE)、醇提组(AE),每组 8 只。均喂普通饲料,空白对照组饮去离子水。SBEE 组、WE 组、AE 组、SBE 组分别给相应的半仿生-酶法提取液、水提液、醇提液、半仿生提取液,分别每鼠每天 1 mL(2.83 g·mL⁻¹)。另正常血压大鼠 8 只作为正常对照组。按以上方法连续喂养 4 周。

2.3 指标观测^[6-8]

2.3.1 症状的观察

2.3.2 血压的测定 采用 BP-6 无创运动血压仪测量收缩压(SBP)、舒张压(DBP)。重复测量 3 次,取平均值。

2.3.3 血脂及胰岛素敏感指数(ISI)的测定 大鼠乙醚麻醉,心脏取血,4 离心(3 500 r·min⁻¹, 20

min)。用全自动生化分析仪测血清总胆固醇(CHO)、甘油三脂(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、血糖(Glu);用电化学发光免疫分析仪测空腹血胰岛素(FINS)。计算 ISI。

2.4 统计学方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS14.0 软件,方差齐时进行 *t* 检验;方差不齐采用 *t* 检验。

3 结果

根据半仿生理理论中数据标准化处理方法,略加改进,将各组 HDL, ISI 结果分别与模型组的结果相比,将相应的模型组结果与其他 9 个相应指标实验结果相比。分别得 $R_1 \sim R_{11}$ 值,求平均值 R_A ,作为评价指标,大者为佳。

3.1 症状和体重 见表 1 ~2。将各组大鼠出现症状的个数按照公式 $R_1 = \frac{8}{n} \cdot 5$ (*n* 为各组大鼠出现症状的个数)进行处理,得 R_1 为评判值,大者为优。见表 1。

表 1 各组大鼠症状的改善情况

组别	SBEE 组	SBE 组	WE 组	AE 组	模型 对照组
纳呆	1	3	5	6	8
嗜睡	1	3	4	8	8
懒动	1	1	5	6	8
不思饮水	1	3	4	5	8
大便不成形	1	2	6	7	8
R_1	8	4	1.7	1.23	1

将各组大鼠试验前后增长的体重按照关系式: $R_2 = \frac{\bar{X}}{\bar{X}_0}$ (\bar{X} 为模型组大鼠增长的体重的平均值, \bar{X}_0 为各组大鼠增长的体重的平均值)进行处理,得 R_2 作为评判值,大者为优。见表 2。

表 2 实验前后(0 ~12 周)各组大鼠体重变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	增长的体重/g	R_2
SBEE	217.50 ±11.69 ^{3,5)}	1.37
SBE	235.50 ±19.13 ^{3,5,7)}	1.27
WE	268.50 ±6.72 ^{3,4,8)}	1.11
AE	272.63 ±11.11 ^{3,4,8)}	1.09
模型	318.25 ±6.61	
正常	298.26 ±25.01	

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.001$;与正常组比较⁴⁾ $P < 0.05$,⁵⁾ $P < 0.01$,⁶⁾ $P < 0.001$;与 SBEE 组比较⁷⁾ $P < 0.05$,⁸⁾ $P < 0.01$,⁹⁾ $P < 0.05$ (表 3 ~6 同)。

3.2 血压测定 将各组大鼠试验治疗后 SBP, DBP 测定结果按照 R_2 处理方式进行处理。得 R_3, R_4 值作为评判值,大者为优。见表 3。

表 3 治疗后各组大鼠血压的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	SBP/mmHg	R ₃	DBP/mmHg	R ₄
SBEE	109.90 ± 3.11 ^{3,6)}	1.60	87.74 ± 4.77 ³⁾	1.33
SBE	117.68 ± 3.09 ^{3,6,9)}	1.49	92.59 ± 6.02 ^{3,4)}	1.26
WE	136.23 ± 3.60 ^{3,6,9)}	1.29	102.89 ± 5.78 ^{3,6,9)}	1.13
AE	159.36 ± 3.97 ^{3,6,9)}	1.10	114.27 ± 7.14 ^{1,6,9)}	1.02
模型	175.71 ± 4.83		116.38 ± 5.55	
正常	103.15 ± 2.47 ⁹⁾		86.18 ± 4.99 ³⁾	

表 4 治疗后各组大鼠 Glu, FINS 及 ISI 的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	GLU/mmol·L ⁻¹	R ₅	FINS/MU·L ⁻¹	R ₆	ISI	R ₇
SBEE	7.25 ± 0.30 ^{3,6)}	1.44	4.89 ± 0.36 ^{3,5)}	2.94	0.028 ± 0.002 ^{3,6)}	4
SBE	7.41 ± 0.42 ^{3,6)}	1.41	6.79 ± 0.43 ^{3,6,9)}	2.12	0.020 ± 0.002 ^{1,3,6,9)}	2.86
WE	7.98 ± 0.27 ^{3,6,9)}	1.31	7.56 ± 0.47 ^{3,6,9)}	1.90	0.017 ± 0.0014 ^{3,9)}	2.43
AE	8.46 ± 0.60 ^{3,6,9)}	1.24	10.22 ± 1.29 ^{3,6,9)}	1.41	0.012 ± 0.0022 ^{3,5,9)}	1.71
模型	10.45 ± 0.06		14.38 ± 0.25		0.007 ± 0.0001	
正常	11.06 ± 0.22 ³⁾		5.62 ± 0.08 ³⁾		0.016 ± 0.0004 ³⁾	

表 5 治疗后各组大鼠脂代谢的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	CHO	R ₈	TG	R ₉	HDL	R ₁₀	LDL	R ₁₁
SBEE	1.03 ± 0.20 ^{3,5)}	2.22	0.45 ± 0.04 ³⁾	1.6	1.70 ± 0.08 ^{3,6)}	1.12	0.41 ± 0.06 ³⁾	1.76
SBE	1.56 ± 0.04 ^{3,4,9)}	1.47	0.46 ± 0.04 ²⁾	1.57	1.52 ± 0.05 ^{6,9)}	1	0.42 ± 0.04 ³⁾	1.71
WE	1.89 ± 0.07 ^{3,4,9)}	1.21	0.52 ± 0.05 ^{2,8)}	1.38	1.23 ± 0.05 ^{3,5,9)}	0.81	0.55 ± 0.03 ^{2,4,9)}	1.31
AE	2.18 ± 0.04 ^{5,9)}	1.05	0.65 ± 0.05 ^{4,9)}	1.11	1.31 ± 0.04 ^{3,5,9)}	0.86	0.50 ± 0.05 ^{3,6,8)}	1.44
模型	2.29 ± 0.17		0.72 ± 0.15		1.52 ± 0.08		0.72 ± 0.09	
正常	1.44 ± 0.23 ³⁾		0.49 ± 0.12 ³⁾		0.69 ± 0.17 ³⁾		0.47 ± 0.05 ³⁾	

3.5 综合评价 将 R₁ ~ R₁₁ 求平均值得 R_A, 作为对高血压痰湿壅盛型大鼠的影响的综合评价值, 大者为佳。见表 6。

表 6 实验后各组大鼠各指标综合评判 R_A 值($\bar{x} \pm s$)

R 值	SBEE	SBE	WE	AE
R ₁	8	4	1.7	1.23
R ₂	1.37	1.27	1.11	1.09
R ₃	1.60	1.49	1.29	1.10
R ₄	1.33	1.26	1.13	1.02
R ₅	1.44	1.41	1.31	1.24
R ₆	2.94	2.12	1.90	1.41
R ₇	4	2.86	2.43	1.71
R ₈	2.22	1.47	1.21	1.05
R ₉	1.6	1.57	1.38	1.11
R ₁₀	1.12	1.00	0.81	0.86
R ₁₁	1.76	1.71	1.31	1.44
R _A	2.49	1.84	1.42	1.21

注: R_A = (R₁ + R₂ + R₃ + R₄ + R₅ + R₆ + R₇ + R₈ + R₉ + R₁₀ + R₁₁) / 11

3.3 血清 Glu, FINS, ISI 测定 将各组大鼠试验治疗后 GLU, FINS, ISI 测定结果按照 R₂ 处理方式进行处理, R₇ = 珣珣(珣为模型组大鼠 ISI 的平均值, 珣为各组大鼠 ISI 的平均值) 进行处理。得 R₅, R₆, R₇ 值作为评判值, 大者为优。见表 4。

3.4 血清 CHO, TG, HDL, LDL 测定 将各组大鼠试验治疗后 CHO, TG, LDL, HDL 测定结果按照 R₂ 处理方式进行处理, 分别得 R₈, R₉, R₁₀, R₁₁ 值作为评判值, 大者为优。见表 5。

4 讨论

符云峰^[9]、张智、刘凯、李大伟等人给实验动物以高钠盐饲养, 造成盐负荷过度后, 引起实验动物血压明显升高, 徐叔云等^[10]给大鼠饮用 0.34 mol·L⁻¹ 的盐水 1 个月, 大鼠高血压模型成功率为 50% ~ 75%。从中医学角度而言, 高糖、高盐饮食乃为肥甘厚味滋腻之食。过食肥甘厚味, 动物出现不思饮水, 食欲不振, 懒动; 久居潮湿之地, 必伤脾胃、导致脾气虚衰, 运化失司, 湿滞不化, 反变生痰湿, 上扰清空, 清阳不升, 浊阴不降, 则发为眩晕等痰湿阻滞之中医证候。本试验给合上述高血压动物模型的制作, 略加改进, 制作高血压痰湿壅盛型动物模型。从试验结果可以看出模型组大鼠 CHO, TG, HDL, LDL 高于正常对照组(P < 0.05), 模型组大鼠的 SBP, DBP, FINS 明显高于正常对照组(P < 0.001), ISI 明显低于正常组(P < 0.001), 说明造模后大鼠血压、血脂、FINS 明显升高, ISI 明显降低, 在无药物治疗的情况下, 各指标无可逆性改变, 说明高血压痰湿壅盛型大

鼠模型成功并且血压稳定。

本实验以症状改善、体重增长, SBP, DBP, GLU, CHO, TG, HDL, LDL, FINS, ISI 作为综合考察指标, 结果 R_A 大小顺序为 SBEE 组D SBE 组D WE 组D AE 组。说明 4 种方法提取液对高血压痰湿壅盛型模型大鼠的影响, 以 SBEE 液作用最佳, 作用顺序为 SBEE 液、SBE 液D WE 液D AE 液。

$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7$ 值的大小次序均为 SBEE 组D SBE 组D WE 组D AE 组, 说明 4 种方法提取液对高血压痰湿壅盛型模型大鼠症状的改善, 控制模型大鼠体重增长, 降低模型大鼠 SBP, DBP, GLU, 空腹胰岛素, 升高模型大鼠 ISI 作用方面, 均以 SBEE 液效果最佳。

R_8, R_9 值的大小次序仍为 SBEE 组 > SBE 组 > WE 组 > AE 组, AE 液降低 CHO, TG 的效果最差 ($P < 0.05$), SBEE 液作用最佳; R_{10}, R_{11} 值的大小次序为 SBEE 组 > SBE 组 > AE 组 > WE 组, 说明 4 种方法提取液均能降低模型大鼠 LDL, 升高其 HDL, SBEE 液作用最佳, WE 液作用最差。

实验过程中, 正常对照组大鼠每日只需饮用 200 mL 水, 小便量少, 只需 3 d 换 1 次垫料。造模阶段饲喂高糖高盐饲料, 大鼠饮水量及尿量明显增多, 每日需 500 mL 水, 大便稀。需要每日换 1 次垫料, 工作量大。故实验方法有待于进一步改进。

[参考文献]

- [1] 王淑玲, 张兆旺, 孙秀梅, 等. 半仿生-酶法提取的半夏白术天麻汤中甘草次酸的含量测定 [J]. 承德医学院学报, 2008, 25(2): 119.
- [2] 孙福东, 孙秀梅, 张兆旺. 半仿生-酶法提取的半夏白术天麻汤中天麻素的含量测定 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(8): 1823.
- [3] 王淑玲, 孙秀梅, 张兆旺, 等. 半夏白术天麻汤 4 种方法提取液指纹图谱比较 [J]. 杭州师范大学学报: 自然科学版, 2010, 9(2): 127.
- [4] 王淑玲, 孙秀梅, 张兆旺, 等. 半夏白术天麻汤提取液的血清指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1274.
- [5] 朱慧民. 降压合剂对胰岛素抵抗高血压大鼠作用效应的实验研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2001, 11(12).
- [6] 吴启锋, 温茂祥, 兰东辉. 半夏白术天麻汤对痰湿壅盛型高血压病胰岛素抵抗及血脂的影响 [J]. 福建中医学院学报, 2007, 17(2): 8.
- [7] 熊原. 加味半夏白术天麻汤治疗高血压病并高脂血症的临床研究 [J]. 河北中医, 2005, 27(10): 751.
- [8] 李莲静, 陈晓虎. 高血压病中医分型与实验室相关指标关系综述 [J]. 江苏中医药, 2004, 25(3): 59.
- [9] 符云峰. 高钠盐摄入时钠泵抑制因子水平和钠-钾泵活性的影响 [J]. 高血压杂志, 2000, 8(2): 172.
- [10] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 887.

[责任编辑 何伟]