

# 银杏叶提取物对肾性高血压大鼠血压及其靶器官 脂质过氧化的影响

王存良\*

(郑州大学第一附属医院药剂科, 郑州 450052)

[摘要] 目的: 研究银杏叶提取物对肾性高血压大鼠(RHR)的降压作用以及血清一氧化氮(NO)的影响, 同时观察 RHR 心、脑、肾组织中丙二醛(MDA), 超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化。方法: 采用两肾一夹法(2K1C)复制肾性高血压大鼠(RHR)模型, 将造模成功的大鼠按照血压高低随机分为 5 组: 空白对照组、银杏叶提取物高、中、低剂量组、阳性药卡托普利组, 每组 8 只。在给药前和给药后 2, 4, 6, 8 周测量大鼠的收缩压(SBP)和舒张压(DBP), 在给药后 8 周, 测量大鼠血清 NO 的含量, 测心、脑、肾组织中 MDA, SOD 的变化。结果: 给药 8 周后, 银杏叶提取物明显降低 RHR 的血压, 其中高剂量组的降压幅度与卡托普利组比较没有显著性差异; 银杏叶提取物高剂量组和卡托普利组可以提高大鼠血清 NO 含量, 提高心、脑、肾组织中 SOD 水平, 降低 MDA 含量。结论: 银杏叶提取物的降压作用可能与提高舒血管物质 NO 含量有关, 并可能通过抗氧化起到保护靶器官的作用。

[关键词] 银杏叶提取物; 一氧化氮; 肾性高血压大鼠; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)18-0146-04

## Effect of *Ginkgo biloba* Extract on Blood Pressure and Lipid Peroxidation of Target-organ in Renal Hypertension Rats

WANG Cun-liang<sup>?</sup>

(Department of pharmacy, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of *Ginkgo biloba* extract on renal hypertension rats (RHR). The serum nitric oxide (NO) content and the content of superoxide dismutase (SOD), maleic disldehyde (MDA) in heart, brain and kidney tissue were investigated. **Method:** With the method of 2K1C, RHR were established and then the RHR were divided into five groups based on their blood pressure: blank group, model group, *G. biloba* extract high, middle, low dosage group and captopril group ( $n = 8$ , each). Systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured respectively before therapy and two weeks, four weeks, six weeks, eight weeks after therapy. The serum content of NO and MDA, SOD in heart, brain and kidney were measured after eight weeks of therapy. **Result:** After eight weeks treatment, *G. biloba* extract significantly declined the pressure of RHR. captopril group and *G. biloba* extract high group had no significant difference. The two groups both increased the serum of NO and SOD in heart, brain and kidney, declined the MDA. **Conclusion:** The anti-hypertensive function of *G. biloba* extract may be related to NO, and protect target organ via antioxidation.

[Key words] *Ginkgo biloba* extract; nitric oxid; renal hypertension rats; superoxide dismutase; malondialdehyde

[收稿日期] 20100425(001)

[通讯作者] \* 王存良, Tel: 13721417343, E-mail: wangcunliang730217@163.com

近年来, 心脑血管疾病(CVD)已经成为危害人类健康的最主要的疾病之一, 高血压就是其中最常见的一类心血管疾病, 据统计<sup>[1]</sup>, 以高血压为原发病的各种心脑血管疾病已经成为人类死因之首。高血

压是以全身动脉血压升高为主要特征的疾病, 高血压的发生和发展是一个多因素的复杂过程, 即存在异常的血流动力学, 又存在糖类、脂肪和蛋白质的代谢紊乱, 还会造成其他靶器官心、脑、肾等的损害。所以近些年来对高血压的研究不仅集中在单纯降压上, 更多的是最大限度的降低心血管疾病的危险和死亡。目前, 高血压与氧自由基和一氧化氮(NO)的关系已经成为医学界研究的一个热点问题, NO是最重要的内皮源性的舒血管物质之一, 在治疗高血压的同时应该注意对血管内皮的保护, 同时加强抗自由基损伤的治疗。

银杏叶是世界上使用最广泛的一种银杏科植物药品, 银杏叶提取物(*Ginkgo biloba* Extract, GBE)是从银杏叶中分离纯化的混合物, 其中以银杏内酯和黄酮苷为其主要成分。银杏叶提取物广泛应用于心脑血管疾病的治疗, 具有以下作用<sup>[2]</sup>: 抗氧化、清除氧自由基; 扩张血管, 改善微循环、降低血液黏稠度; 提高机体的免疫力等。随着研究的一步步深入, 关于银杏叶提取物降血压的作用研究也备受关注。本实验通过观察银杏叶提取物对 RHR 的降压作用, 以及对大鼠血清 NO 含量和心、脑、肾组织中超氧化物歧化酶(SOD), 丙二醛(MDA)含量的影响, 来探讨银杏叶提取物降压的作用机制。

## 1 材料

**1.1 仪器** BP-6 大鼠无创血压测定仪(成都泰盟有限公司); UV-1700 型紫外分光光度计(日本岛津); W1250 型低温高速离心机(美国 Sigma 公司)。

**1.2 药品与试剂** 银杏叶 *G. biloba*: 北京双鹤药业有限公司提供, 批号 090122, 以 10 倍量 90% 的乙醇热回流提取 3 次, 每次 2 h, 料液比 1:10, 过滤, 合并滤液, 回收溶剂至浸膏状, 减压浓缩, 制成粉末状, 用蒸馏水配成试验所需的浓度, 备用; 卡托普利: 山西云鹏制药有限公司生产, 批号 040602; NO 试剂盒, 生产批号 200907332, SOD 试剂盒, 生产批号 200904532、MDA 试剂盒, 生产批号 200987439 生产批号 040602, 均由南京建成生物工程研究所提供。

**1.3 动物** SD 大鼠 60 只, 雌雄各半, 体重 220 ~ 250 g, 清洁级, 购自河南省实验动物中心, 动物合格证号豫字 2009-0315。所有大鼠适应性喂养 1 周后进行手术开始实验。

## 2 方法

**2.1 2K1C 肾性高血压大鼠模型的复制**<sup>[3]</sup> 60 只

大鼠, 手术前一天晚上禁食不禁水 12 h, 次晨用 10% 的乌拉坦麻醉后在腹正中偏左 0.3 cm 左右处打开腹腔, 用无菌棉球小心剔除周围的脂肪和结缔组织, 暴露出左肾, 将左肾动脉和静脉分离, 把 1 号手术线从动、静脉之间穿过, 把一只 3 号去尖的针头沿着肾动脉长轴放置, 用手术线结扎肾动脉后, 抽取针头, 同时 ip 20 万单位/只的青霉素预防感染, 后用手术针逐层关腹。手术后 3 d 连续 im 青霉素预防感染。手术过程中始终保持无菌操作, 肾脏不移出腹腔, 不触及动物右侧肾脏。

**2.2 分组及给药** 将造模成功的大鼠按照血压高低随机分为以下 5 组: 模型组、银杏叶提取物高(1.2 g·kg<sup>-1</sup>)、中(0.6 g·kg<sup>-1</sup>)、低(0.3 g·kg<sup>-1</sup>)剂量组和阳性药卡托普利组(20 mg·kg<sup>-1</sup>), 外加假手术组共 6 组, 每组 8 只。所有大鼠每天以 10 mL·kg<sup>-1</sup> ig 给药, 假手术组和模型组 ig 给予等体积的生理盐水, 每天 1 次, 连续 ig 2 个月。每个星期称量大鼠的体重, 根据体重随时调整给药剂量。

**2.3 鼠血压的测定** 把 6 组大鼠置于安静、干燥、通风的环境中, 用 BP-6 型大鼠无创血压测定仪测量血压的收缩压(SBP)和舒张压(DBP)。具体测压方法参照 BP-6 型血压测定说明书, 血压测定在以下时点进行: 给药前、给药后 2, 4, 6, 8 周周末, 给药后血压测定在末次给药后 1 h 开始进行, 每次测 3 个值, 取平均值做最后的血压值。

**2.4 血清 NO 含量的测定** 给药 8 周测量血压后, 将各组大鼠用乌拉坦麻醉, 腹主动脉取血, 制备血清, 用硝酸还原酶法检测血清 NO 的含量(严格按照试剂盒说明书操作)。

**2.5 心、脑、肾组织中 MDA, SOD 的测定** 给药 8 周测量血压后, 将各组大鼠处死, 取心、脑、肾的部分组织, 置于 4℃ 的生理盐水中洗清组织上的残血, 后用滤纸吸干上面的水分, 剪碎各个组织后放入组织匀浆器中, 制备组织匀浆, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min 后, 取上清测定 MDA, SOD(严格按照试剂盒说明书进行操作)。

**2.6 统计学处理** 所有实验数据均采用  $\bar{x} \pm s$  来表示, 运用 SPSS13.0 软件进行统计分析, 组间比较进行 *t* 检验, *P* < 0.05 有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 银杏叶提取物对 RHR 血压的影响** 手术 4 周后, 各个给药组和空白组比较具有显著性差异(*P* <

0.01), 说明造模成功; 给药 8 周后, 银杏叶提取物各个剂量组和卡托普利组均可降低 RHR 的血压, 其中, 银杏叶提取物高剂量和卡托普利组比较无显著

性差异, 这两组与模型组比较均有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。结果见表 1 和表 2。

### 3.2 银杏叶提取物对血清 NO 含量的影响 给药 8

表 1 各个组给药前和给药后 2, 4, 6, 8 周 SBP 比较 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

mmHg

| 组别     | 剂量 /g·kg <sup>-1</sup> | 给药前                        | 2 周                        | 4 周                        | 6 周                        | 8 周                        |
|--------|------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 空白     | -                      | 164.57 ±3.73 <sup>2)</sup> | 165.25 ±3.52 <sup>2)</sup> | 164.51 ±1.77 <sup>2)</sup> | 164.50 ±2.37 <sup>2)</sup> | 165.14 ±1.09 <sup>2)</sup> |
| 模型     | -                      | 194.67 ±3.31               | 190.02 ±2.29               | 190.81 ±1.97               | 191.35 ±1.06               | 192.26 ±1.48               |
| 卡托普利   | 0.020                  | 196.55 ±1.74               | 181.65 ±2.47 <sup>2)</sup> | 171.90 ±3.17 <sup>2)</sup> | 168.43 ±3.19 <sup>2)</sup> | 166.88 ±2.22 <sup>2)</sup> |
| 银杏叶提取物 | 1.2                    | 193.02 ±2.75               | 185.69 ±3.42 <sup>2)</sup> | 176.38 ±2.34 <sup>2)</sup> | 171.66 ±1.81 <sup>2)</sup> | 168.10 ±3.33 <sup>2)</sup> |
|        | 0.6                    | 195.66 ±3.27               | 189.56 ±1.30               | 184.23 ±5.07 <sup>1)</sup> | 180.92 ±7.48 <sup>1)</sup> | 184.24 ±6.26 <sup>1)</sup> |
|        | 0.3                    | 195.75 ±2.76               | 191.76 ±2.22               | 188.27 ±1.61               | 187.97 ±3.24               | 189.59 ±2.65               |

注: 与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 1 mmHg = 0.133 kPa(表 2 ~5 同)。

表 2 各个组给药前和给药后 2, 4, 6, 8 周 DBP 比较 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

mmHg

| 组别     | 剂量 /g·kg <sup>-1</sup> | 给药前                       | 2 周                       | 4 周                       | 6 周                       | 8 周                       |
|--------|------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 空白     | -                      | 75.69 ±2.81 <sup>2)</sup> | 76.87 ±2.66 <sup>2)</sup> | 77.34 ±2.23 <sup>2)</sup> | 76.76 ±2.10 <sup>2)</sup> | 77.01 ±2.89 <sup>2)</sup> |
| 模型     | -                      | 101.59 ±2.66              | 100.97 ±1.46              | 101.43 ±1.22              | 100.92 ±2.31              | 100.46 ±0.84              |
| 卡托普利   | 0.020                  | 102.43 ±2.87              | 93.37 ±2.83 <sup>2)</sup> | 83.36 ±1.75 <sup>2)</sup> | 81.04 ±0.98 <sup>2)</sup> | 80.43 ±1.18 <sup>2)</sup> |
| 银杏叶提取物 | 1.2                    | 102.62 ±4.71              | 97.77 ±3.06 <sup>1)</sup> | 88.37 ±5.41 <sup>2)</sup> | 85.23 ±3.53 <sup>2)</sup> | 81.80 ±1.76 <sup>2)</sup> |
|        | 0.6                    | 99.26 ±1.92               | 98.40 ±1.92               | 98.40 ±2.85 <sup>1)</sup> | 95.50 ±3.69 <sup>1)</sup> | 95.70 ±4.01 <sup>1)</sup> |
|        | 0.3                    | 100.53 ±2.24              | 99.86 ±1.83               | 99.07 ±2.40               | 98.28 ±1.77               | 98.52 ±2.53               |

周后, 银杏叶提取物不同给药组和卡托普利组均能增加大鼠血清中 NO 含量, 其中, 高剂量组最为明显, 与模型组比较具有显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 与卡托普利组比较没有显著性差异, 结果见表 3。

表 4 银杏叶提取物对心、脑、肾组织中 SOD 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

| 组别     | 给药剂量 /g·kg <sup>-1</sup> | SOD/U·mg <sup>-1</sup>     |                            |                            |
|--------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|        |                          | 心                          | 脑                          | 肾                          |
| 空白     | -                        | 144.19 ±4.80 <sup>2)</sup> | 124.76 ±4.39 <sup>2)</sup> | 114.59 ±6.54 <sup>2)</sup> |
| 模型     | -                        | 99.16 ±1.95                | 87.39 ±1.66                | 79.53 ±1.30                |
| 卡托普利   | 0.020                    | 126.28 ±4.42 <sup>2)</sup> | 105.76 ±6.27 <sup>2)</sup> | 97.64 ±4.37 <sup>2)</sup>  |
| 银杏叶提取物 | 1.2                      | 115.03 ±4.59 <sup>2)</sup> | 101.47 ±4.00 <sup>2)</sup> | 93.32 ±2.27 <sup>2)</sup>  |
|        | 0.6                      | 105.58 ±3.99 <sup>1)</sup> | 90.99 ±2.05 <sup>1)</sup>  | 84.84 ±3.46 <sup>1)</sup>  |
|        | 0.3                      | 100.30 ±2.32               | 88.94 ±1.61                | 80.22 ±1.42                |

表 3 银杏叶提取物对血清 NO 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

| 组别     | 给药剂量 /g·kg <sup>-1</sup> | NO / μmol·g <sup>-1</sup> |
|--------|--------------------------|---------------------------|
| 空白     | -                        | 58.60 ±0.50 <sup>2)</sup> |
| 模型     | -                        | 52.59 ±1.84               |
| 卡托普利   | 0.020                    | 65.21 ±4.33 <sup>2)</sup> |
| 银杏叶提取物 | 1.2                      | 68.16 ±3.94 <sup>2)</sup> |
|        | 0.6                      | 58.42 ±3.89 <sup>1)</sup> |
|        | 0.3                      | 55.78 ±3.14               |

表 5 银杏叶提取物对心、脑、肾组织中 MDA 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

| 组别     | 给药剂量 /g·kg <sup>-1</sup> | MDA / μmol·g <sup>-1</sup> |                          |                          |
|--------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
|        |                          | 心                          | 脑                        | 肾                        |
| 空白     | -                        | 3.34 ±0.21 <sup>2)</sup>   | 4.57 ±0.12 <sup>2)</sup> | 6.39 ±0.09 <sup>2)</sup> |
| 模型     | -                        | 5.82 ±0.17                 | 6.68 ±0.15               | 9.78 ±0.21               |
| 卡托普利   | 0.020                    | 5.12 ±0.08 <sup>2)</sup>   | 5.86 ±0.13 <sup>2)</sup> | 8.24 ±0.13 <sup>2)</sup> |
| 银杏叶提取物 | 1.2                      | 5.26 ±0.08 <sup>2)</sup>   | 6.20 ±0.12 <sup>2)</sup> | 8.59 ±0.19 <sup>2)</sup> |
|        | 0.6                      | 5.50 ±0.15 <sup>1)</sup>   | 6.57 ±0.07               | 9.27 ±0.27 <sup>1)</sup> |
|        | 0.3                      | 5.83 ±0.13                 | 6.69 ±0.09               | 9.65 ±0.16               |

3.3 银杏叶提取物对大鼠心、脑、肾组织中 MDA, SOD 的影响 给药 8 周后, 模型组心、脑、肾组织中 MDA 含量显著升高, SOD 活性明显降低, 与空白组比有显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 银杏叶提取物高剂量提取物组与卡托普利组能明显降低 MDA 含量, 同时显著升高 SOD 活性 ( $P < 0.01$ ), 结果见表 4 和表 5。

#### 4 讨论

肾性高血压大鼠是筛选降压药常用的动物模型之一,其病理生理过程与人类高血压具有很多相似之处,对降压药物的选择也与高血压病人相似,所以常用来评价抗高血压药的药效。本实验通过 2K1C 复制肾性高血压大鼠模型,观察银杏叶提取物对其血压的影响。结果手术大鼠 4 周后即可形成稳定的高血压,高血压的发生、发展与血清中 NO 的降低有关,NO 是体内最主要的内皮依赖性舒血管物质之一。另有研究发现<sup>[4]</sup>,高血压患者体内存在内皮功能的障碍和自由基的损伤,内皮障碍的机制最主要的就是氧化应激降解 NO;大量的动物实验研究发现<sup>[5]</sup>高血压动物体内氧自由基生成增加,从而使细胞膜脂质过氧化反应增强,形成大量的脂质过氧化物,通过测定 MDA 含量可以反应脂质过氧化反应的程度。SOD 可以通过自身氧化还原反应清除自由基,使体内自由基处于平衡状态,SOD 被称为“天然的抗氧化酶”。因此近年来对高血压的研究主要集中在保护内皮细胞的功能,减少自由基的损害,这对预防和治疗高血压靶器官的损伤有着很重要的意义。

银杏叶提取物的有效成分是黄酮类和内酯类化合物,已有人对银杏叶的化学药理作用做了大量的研究,主要集中在治疗心血管疾病这一方面。高建<sup>[6]</sup>等研究发现银杏内酯可以降低乳酸脱氢酶和丙二醛的含量,可以明显减轻大鼠心肌的损伤,张力<sup>[7]</sup>等研究发现银杏叶提取物对离体大鼠心脏缺血再灌注损伤具有很好的预防作用。本实验结果表明:银杏叶提取物高剂量组可以降低 RHR 的血压,升高 RHR 血清中 NO 的水平,同时可以增高靶器官心、脑、肾组织中 SOD 的活力,降低 MDA 的含量。这提示我们,高血压大鼠靶器官存在脂质过氧化的损伤,

银杏叶提取物可以抑制高血压大鼠靶器官脂质过氧化的损伤,很有可能是抑制了自由基引起血压升高的病理过程,在抗氧化的同时也减少了氧化应激产物 NO 的降解,保护血管内皮,防止了脂质过氧化反应,起到了延缓高血压发生和发展的作用。

综上所述,银杏叶提取物可以引起血压下降,对抗脂质过氧化等一系列的心血管抑制效应,其具体的降压机制和对抗脂质过氧化作用的机制并不是很清楚,值得进一步的研究。

#### [参考文献]

- [1] 彭夫松. 高血压的分级与危险分层[J]. 中国临床医学杂志, 2008, 36(6): 78.
- [2] Tosaki, Enfelman D T, Pail T, et al. Ginkgo biloba extract improved postischemic function in isolated preconditioned working rat hearts[J]. Coron Artery Dis, 2004, 5(5): 443.
- [3] 张艳荣, 张连峰, 杨志伟. 高血压实验动物模型[J]. 中华高血压杂志, 2008, 16(3): 205.
- [4] 张锦, 高尔. 银杏叶提取物保护心肌缺血再灌注损伤研究进展[J]. 数理医药学杂志, 2008, 21(6): 719.
- [5] Varga E, Bodi A, Ferdinandy P. The protective effect of EGb in isolated ischemic/reperfused rat hearts: a link between cardiac function and nitric oxide production[J]. Cardiovasc Pharmacol, 2001, 34(5): 711.
- [6] 高建, 王秋娟. 银杏内酯对结扎大鼠冠状动脉导致心肌缺血的影响[J]. 中国新药杂志, 2005, 13(10): 887.
- [7] 张力, 黄云. 银杏叶提取物预防心肌缺血再灌注损伤的研究进展[J]. 国外医学·心血管疾病分册, 2000, 26(4): 200.

[责任编辑 聂淑琴]