

# 杜仲降血压成分的组合及血管舒张作用

江春艳<sup>1</sup>, 许激扬<sup>1\*</sup>, 卞筱泓<sup>1\*</sup>, 沈继朵<sup>1</sup>, 阚静<sup>1</sup>, 徐逸<sup>2</sup>

(1. 中国药科大学, 南京 210009; 2. 中国药科大学, 南京 210009)

**[摘要]** 目的: 对杜仲降血压有效成分进行组合, 研究单组分及组合物对大鼠胸主动脉的舒张作用。方法: 从杜仲皮中提取降血压有效成分松脂醇二葡萄糖苷, 绿原酸, 京尼平苷, 京尼平苷酸, 槲皮素, 芦丁, 桃叶珊瑚苷, 以大鼠胸主动脉环为标本, 观察单组分以及各组分两两组合后对 NE 预收缩的血管舒张作用。结果: 实验表明, 组合后有效成分的舒血管作用较单个组分明显。结论: 松脂醇二葡萄糖苷和槲皮素在组合比例为 1:1 时, 其血管舒张作用最好。

**[关键词]** 杜仲; 降血压; 成分组合; 血管舒张; 主动脉环

**[中图分类号]** R 285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)06-0218-03

杜仲是我国特有的传统名贵中药, 中医很早就利用杜仲治疗类似高血压的症状。杜仲皮、叶中的降血压成分大致分为 4 类: 木脂素类、苯丙素类、环烯醚萜类和黄酮类。现代中药药理学研究表明, 杜仲中木脂素类化合物松脂醇二葡萄糖苷, 苯丙素类化合物绿原酸、环烯醚萜类京尼平苷酸、京尼平苷、桃叶珊瑚苷和黄酮类中的槲皮素、芦丁均有降血压作用<sup>[1]</sup>。

该实验室许激扬等<sup>[2]</sup>曾从杜仲中分离到的木脂素和黄酮类两种有效部位, 以及绿原酸, 京尼平苷, 京尼平苷酸, 并通过相互组合研究了组合物的血管舒张作用。

本研究在之前研究的基础上进一步分离出了松脂醇二葡萄糖苷 (PDG), 桃叶珊瑚苷, 槲皮素, 芦丁 4 种降血压有效成分。与之前分离出的另外 3 种有效化合物进行两两组合, 以大鼠胸主动脉环为标本, 观察了单组分以及它们在不同的比列条件下的两两组合, 对 NE 预收缩的血管舒张作用。从中筛选出最佳组合方式, 为杜仲的进一步开发及临床用药提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 动物

SD 雄性大鼠, 体重 180 ~ 250 g, 江宁县青龙山动物繁殖场提供, 动物合格证号 SCXK (苏) 200220018。

## 1.2 药品与试剂

**1.2.1** 从杜仲中分离纯化出的 7 种降压组分名称及制备方法见表 1。

**1.2.2** 其他试剂 重酒石酸去甲肾上腺素 (NE, 2 g·L<sup>-1</sup>); 氯化乙酰胆碱 (Ach, 上海三爱思试剂有限公司); 盐酸维拉帕米片 (Ver); 其他试剂均为市售国产分析纯。

表 1 从杜仲中分离纯化出的  
7 种降压组分及其制备方法

降压组分	制备方法	鉴定及含量检测
松脂醇二葡萄糖苷	溶剂萃取, 大孔树脂层析, 硅胶柱层析相结合 <sup>[3,4]</sup>	薄层层析鉴定, 高效液相色谱法检测含量 <sup>[5]</sup>
绿原酸	铅盐沉淀, 与溶剂萃取相结合	高效液相色谱
京尼平苷	溶剂萃取与固相萃取法相结合 <sup>[6]</sup>	高效液相色谱
京尼平苷酸	同上	高效液相色谱
槲皮素	芦丁酸水解法	高效液相色谱
芦丁	碱溶酸沉法	高效液相色谱
桃叶珊瑚苷	溶剂萃取法, 大孔树脂层析法 <sup>[7]</sup>	高效液相色谱

### 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-420F 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)。

### 1.4 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

[收稿日期] 20100113(006)

[通讯作者] \* 许激扬, Tel: 13776671661, E-mail: bio\_cpu@163.com

除血管周围结缔组织,冲洗血管内血液,剪成长 3 ~ 4 mm 的血管环。一端用不锈钢钩垂直悬吊于血管平滑肌浴槽中,另一端接张力传感器,静息张力 1.0 g。浴槽中加入 K-H 液, pH 7.4,持续不断的通入纯氧, 37 °C 平衡 2 h,每 15 min 换液 1 次。使用生物机能实验系统记录血管张力的变化。平衡期末,以 60 mmol·L<sup>-1</sup> 的 KCl 预收缩血管环 3 次,检查血管活性。当达到最大收缩后洗脱,平衡 2 次,每次 15 min。用 NE( 10<sup>-6</sup> mol·L<sup>-1</sup>) 预收缩动脉环,待收缩稳定加入乙酰胆碱(Ach) 10<sup>-5</sup> mol·L<sup>-1</sup>,血管内皮功能,以舒张幅度大于 70% 认为内皮完整,选择内皮完整的血管条进行下一步实验<sup>[8]</sup>。

## 2 方法

### 2.1 筛选出 1:1 组合下,血管舒张效果较好的组合

分别精密称取杜仲水提浸膏,7 种有效组分单体,以及它们经过 1:1 两两组合后,配制成 100 g·L<sup>-1</sup> 的溶液,进样 10 次,每次 2 μL,累计进样加入 NE 预收缩的大鼠离体主动脉条,累加终浓度分别为 (0.02, 0.10, 0.20 g·L<sup>-1</sup>), 对照组加入相同量的 100 g·L<sup>-1</sup> 的维拉帕米溶液,空白组加入相同体积的

K-H 液,记录张力变化,筛选出大于水提浸膏及各有效组分单体血管舒张效果的组合。

### 2.2 调节 2.1 筛选出的舒张效果较好的组合中两种成分的比例

分别按照 1:9, 2:8, 3:7... 9:1 的比例,按照 2.1 的实验方法,记录每种组合在以不同比例的组合方式下所能达到的最大舒张效果,进一步筛选出舒张效果最好的比例组合。

## 3 数据统计结果与分析

### 3.1 单组分血管舒张效果

实验结果表明,杜仲中分离纯化得到的绿原酸、京尼平苷、桃叶珊瑚苷、槲皮素、京尼平苷酸、芦丁、松脂醇二葡萄糖苷(PDG)对 NE 预收缩的大鼠离体主动脉条均有舒张作用。到达最大舒张效果以前,各组分的舒张作用随着药液浓度的增大而加强。大多数单组分的最大舒张效果低于浸膏,低于维拉帕米。

### 3.2 1:1 两两组合后的血管舒张效果

将各组分按照 1:1 两两组合后发现,其血管舒张作用较单组分血管舒张作用有较大的区别。表 2 列出 2.1 中筛选出的 6 种舒张效果较好的组合,经

表 2 各组分 1:1 两两组合后血管舒张效果较同浓度浸膏有明显改善的 6 种组合 ( $\bar{x} \pm s$ )

组合	药液浓度/g·L <sup>-1</sup>	血管舒张率/%	空白	最大舒张率与杜仲浸膏相比(P 值)
绿原酸 + 桃叶珊瑚苷	0.02	2.30 ± 0.97	-0.43	
	0.10	140.5 ± 4.32	-0.38	< 0.05
	0.20	140.46 ± 3.89	0.10	
桃叶珊瑚苷 + 槲皮素	0.02	2.21 ± 0.85	-0.21	
	0.10	138.4 ± 4.67	0.05	< 0.05
	0.20	139.2 ± 3.92	0.12	
桃叶珊瑚苷 + PDG	0.02	85.6 ± 2.62	0.28	
	0.10	155.21 ± 3.54	-0.02	< 0.05
	0.20	155.49 ± 4.61	-0.13	
槲皮素 + PDG	0.02	0.21 ± 0.01	0.08	
	0.10	146.76 ± 3.85	-0.31	< 0.05
	0.20	192.47 ± 4.96	-0.08	
京尼平苷酸 + PDG	0.02	7.76 ± 1.26	0	
	0.10	127.23 ± 2.86	-0.35	< 0.05
	0.20	129.90 ± 3.21	0.04	
京尼平苷酸 + 芦丁	0.02	0.78 ± 0.02	0.03	
	0.10	137.05 ± 3.46	-0.23	< 0.05
	0.20	136.89 ± 3.02	0.02	
杜仲浸膏	0.02	5.3 ± 1.12	0	
	0.10	95.63 ± 3.84	0.21	—
	0.20	125.82 ± 4.69	-0.12	
维拉帕米	0.02	89.51 ± 2.12	0.17	
	0.10	192.12 ± 3.16	-0.24	< 0.05
	0.20	192.38 ± 4.33	0	

比较发现,这 6 种组合的最大舒张效果均大于杜仲浸膏的最大舒张效果,达到最大舒张率所需的药液浓度均低于杜仲浸膏。实验数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,统计学采用多样本均数  $t$  检验。 $P < 0.05$  表明有显著性差异。

### 3.3 调节组合中比例后的舒张效果

观察比较 2.1 筛选出的 6 种组合在组分占有不同比例的组合方式下的最大舒张效果,发现 PDG 和槲皮素这种组合在随着 PDG 在组合中所占比例的变化,其最大舒张效果呈规律性变化(图 1),在 PDG 的含量为 50% 时达到所有组合方式中的最大舒张效果,其舒张作用大于同浓度下维拉帕米的舒张效果。其余的组合,在实验中也表现出类似的规律性变化,但均没有超过 PDG 和槲皮素 1:1 时产生的血管舒张作用。

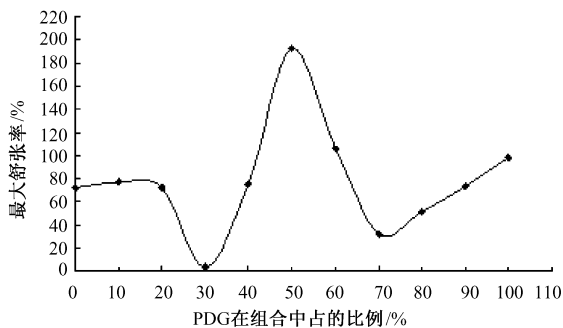


图 1 槲皮素和松脂醇二葡萄糖苷(PDG)不同比例组合下血管最大舒张率

## 4 结论

该实验对杜仲降血压有效成分进行了组合药效研究,证明了杜仲中压活性成分通过组合可以表现出比单个组分以及杜仲本身更明显的血管舒张作用,PDG 和槲皮素组合后最大舒张效果可达 192.5%,而槲皮素最大舒张效果为 74.2%,PDG 最大舒张效果为 98%,杜仲浸膏最大舒张效果为 95.6%。通过不同组分的相互组合,有规律的调节组合中各组分比例更可以筛选出具有最佳血管舒张作用的组合。PDG 和槲皮素在比例为 1:1 时的血管舒张效果最好。

通过该实验研究,筛选出一个杜仲降压组分的高效组合,松脂醇二葡萄糖苷与槲皮素,最佳组合比例为 1:1。

## 5 讨论

杜仲的降血压作用,尤其是对血压的“双向调节”作用长期以来一直受到人们的重视。关于杜仲

的降压机制,一般认为有 3 种可能:中枢抑制;作用于外周神经;直接作用于血管平滑肌。本实验是从杜仲舒张血管平滑肌的原理入手来进行实验设计,探讨杜仲的舒张血管效果。实验中 7 种降压组分单体的提取方法以及药理药效作用都曾经有过报道,按照一定的方法提取出来后经过鉴定和含量检测,这些化合物的纯度均可达到 90% 以上,其单体的降压作用也和文献中的相符。

经过组合,与单体相比,组合的血管舒张效果均有了不同程度的提高,这可能与中药化合物的相互作用有关。所筛选出的最佳组合中的两种组分松脂醇二葡萄糖苷和槲皮素,前者为杜仲中特有,而后者并非杜仲特有,槐花中槲皮素的含量更大,提取方法更为简便,可以在槐花中直接提取,因而该研究同时为中药现代化研究提供了一种新的思路。

该实验目前仅对杜仲中的有效活性成分进行了初步的两两组合药效研究,期待在以后的研究过程中可以进一步完善其他的组合方式,同时扩大研究对象,不再局限于杜仲中提取有效成分进行组合。并且在中药有效组分组合研究中,能够综合药效,药物的稳定性,以及药物的副作用等多方面的研究成果,不断改进研究方法,形成一种科学的,有效的新药筛选方法。

## [参考文献]

- [1] 罗丽芳,吴卫华,欧阳冬生. 杜仲的降压成分及降压机制[J]. 中草药,2006,37(1):150.
- [2] 许激扬,赵芳,卞筱泓. 杜仲降压组分对大鼠胸主动脉搏的舒张作用[J]. 药物生物技术,2009,16(4):338.
- [3] Deyama T. The constituents of *Eucommia ulmoides* Oliv. I. Isolation of (+)-medioresinol Di-O- $\beta$ -D-glucopyranoside [J]. Chem Pharm Bull, 1983,31(9):29931.
- [4] 柳娜,陈晓青. 杜仲中木脂素类化合物纯化工工艺研究[J]. 化学通报,2006,4:342.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:化学工业出版社,2005:20.
- [6] 曹慧,陈晓青. 固相萃取法分离纯化杜仲中环烯醚萜类化合物[J]. 中草药,2006,37(12):1806.
- [7] 陈晓青,贺前锋,曹慧. 杜仲皮中桃叶珊瑚苷的提取及纯化[J]. 中南大学学报,2005,36(1):60.
- [8] 许激扬,宋研. 杜仲木脂素化合物舒张血管作用机制[J]. 中国中药杂志,2006,31(23):1976.

[责任编辑 聂淑琴]