

杜仲降压方不同提取液药效学研究

赵雪梅^{1,2*}, 仲锡铜¹, 孙秀梅², 张兆旺²

(1. 山东大学附属省立医院, 山东 济南 250021; 2. 山东中医药大学, 山东 济南 250014)

[摘要] 目的: 用药效学指标验证杜仲降压方不同提取工艺的科学性及合理性。方法: 采用 5 种工艺对杜仲降压方药进行提取, 以相同剂量的提取液及对照药品杜仲降压片对自发性高血压大鼠 (SHR) 的血压、心率、肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS)、血浆中内皮素 (ET)、一氧化氮 (NO) 的影响为指标, 综合评判不同提取工艺的优劣。结果: 杜仲降压方不同提取液及对照药品均可不同程度降低 SHR 的血压和心率, 降低 SHR 血浆中肾素、血管紧张素 II、醛固酮的含量, 降低 ET、升高 NO。结论: 杜仲降压方药半仿生提取工艺的药效学综合评判指标优于其他工艺。

[关键词] 杜仲降压方药; 5 种提取工艺; 药效学指标; 综合评判

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)04-0075-03

杜仲降压片具有补肾, 平肝, 清热之功效。用于肾虚肝旺之高血压症, 症见眩晕头疼、腰膝酸软、耳鸣健忘、心悸失眠等^[1]。目前, 对杜仲降压方药的研究论文主要集中在疗效及临床应用方面, 其降压的物质基础尚不明确, 仅以指标成分的含量评判提取工艺的优劣具有一定的局限性。根据“化学等值不等于生物等效”的生物药剂学观点, 本文以杜仲降压方药对自发性高血压大鼠的血压、心率、肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS)、血浆中内皮素 (ET)、一氧化氮 (NO) 的影响为药理学指标, 对杜仲降压方药不同工艺提取液及对照药品杜仲降压片进行了主要药效学比较, 以期做出合理评判。

1 材料

1.1 仪器 CRS-II 型大鼠电脑血压心率仪 (上海市高血压研究所), RM-6200 型四导生理记录仪 (日本光电公司), MDF-330 型 -20℃ 低温冰箱 (日本 SANYO 公司), JA503 型电子天平 (上海天平仪器厂), 低温离心机 (BHG HERMLE ZK364, 德国), BECKMAN-700 全自动生化分析仪 (美国 Beckman 公司), FJ-202 型 γ 计数器 (国营二六二厂), Teflon 匀浆器 (IKA2Ultra-TurraxT25, USA)。

1.2 肾素 (PRA)、血管紧张素 II (Ang II)、醛固酮 (ALD) 试剂盒 (北京原子高科核技术应用股份有限

公司), NO 试剂盒 (南京建成生物有限公司), ET 放免测定试剂盒 (天津九鼎医学生物工程公司)。

1.3 药物 杜仲降压方药 (杜仲 33.40 g, 益母草 33.40 g, 夏枯草 20.00 g, 黄芩 20.00 g, 钩藤 20.00 g) 的半仿生提取液 (SBE 液)、半仿生提取醇沉液 (SBAE 液)、水提取液 (WE 液)、水提取醇沉液 (WAE 液)、醇提取液 (AE 液) 由山东省立医院制剂室生产, 每毫升相当于原药材 0.25 g; 杜仲降压片由一笑堂 (湖南) 制药有限公司生产, 批号 20050512。

1.4 动物 自发性高血压大鼠 (SHR), 全部为雄性 10 周龄, 体重 (223.5 ± 23) g, 血压均大于 20 kPa, 购自北京维通利华科研实验动物中心 (动物合格证 NO. 0055741); 健康雄性 Wistar 大鼠, 体重 (225.1 ± 21.9) g, 购于山东省立医院动物房 (二级实验动物, 合格证号: 20050406)。

2 方法

2.1 SBE 液、SBAE 液的制备 取处方药材粉碎至 10~20 目, 加不同 pH 值的水提取 3 次, 加水量分别为药材重量的 10, 6, 6 倍, 水的 pH 值为 6.0, 7.5, 8.0, 提取时间为 1.5, 1.0, 1.0 h, 合并提取液, 浓缩并定容至每毫升相当于原药材 0.25 g, 即得 SBE 液。SBE 液中加入乙醇至含醇量 60%, 冷藏 24 h 后离心, 上清液调整浓度至每毫升相当于原药材 0.25 g, 即得 SBAE 液。

2.2 WE 液、WAE 液的制备 取处方药材粉碎至 10~20 目, 加水提取 3 次, 加水量分别为药材重量的 10, 6, 6 倍, 提取时间为 1.5, 1.0, 1.0 h, 合并提取液,

[收稿日期] 2007-10-09

[通讯作者] * 赵雪梅, Tel: (0531) 86881877; E-mail: zxm_vip@yahoo.com.cn

浓缩并定容至每毫升相当于原药材 0.25 g, 即得 WE 液。WE 液中加入乙醇至含醇量 60%, 冷藏 24 h 后离心, 上清液调整浓度至每 mL 相当于原药材 0.25 g, 即得 WAE 液。

2.3 AE 液的制备 取处方药材粉碎至 10~20 目, 用 60% 乙醇回流提取 3 次, 回收乙醇, 调整浓度至每毫升相当于原药材 0.25 g, 即得 AE 液。

2.4 杜仲降压片混悬液的制备 将杜仲降压片用蒸馏水配制成浓度为 0.25 g·mL⁻¹ 的混悬液。

2.5 动物造模 取大鼠饲养在恒温观察室内, 室温 (21±2) °C, 人工照明 12 h·d⁻¹, 自由饮水, 喂以 21% 高蛋白块料, 每日添加块料 1 次, 换新鲜自来水 1 次。1 周后, 测定血压, 高于 22.7 kPa 者为自发性高血压大鼠 (SHR), 将其随机分为 SBE 液组、SBAE 液组、WE 液组、WAE 液组、AE 液组、杜仲降压片组和高血压组, 每组 8 只。各用药组分别以 SBE 液、SBAE 液、WE 液、WAE 液、AE 液、杜仲降压片混悬液 1.12 g·kg⁻¹ 灌胃, 每日 2 次^[2], 连续 10 d; 正常大鼠 8 只, 与高血压组以同量蒸馏水灌胃。

2.6 血压、心率的测定 大鼠末次给药后 2 h, 采用无创伤性间接测压仪测定清醒状态下大鼠的尾动脉血压、心率。正式测量前每天测压训练 1 次, 共 5 d, 待大鼠适应环境、血压稳定后, 开始实验观察。测压前将大鼠放入 (37±1) °C 电热恒温箱内预热 15 min 后, 测定大鼠尾动脉收缩压 (SBP) 及心率 (HR), 重复测量 3 次。

2.7 血浆中 PRA, Ang II, ALD 含量的测定 大鼠末次给药后禁食 12 h, 以乌拉坦 1 g·kg⁻¹ 腹腔注射麻醉动物, 自下腔静脉取血, 4 °C 离心, 分离血浆, 采用放射免疫分析法测定血浆中 PRA, Ang II, ALD 的含量。

2.8 血浆中 NO, ET 的测定 取血浆, 采用硝酸还原酶法测定 NO, 放免法测定 ET 的含量。

2.9 数据处理与统计学方法 各组数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 杜仲降压方不同提取液对 SHR 血压、心率的影响 由表 1 可见, 杜仲降压方不同提取液和杜仲降压片对实验动物的血压和心率有不同程度的影响, 其中 SBE 液、SBAE 液、WE 液的降压作用优于其他提取液及杜仲降压片, SBE 液、WE 液的降低心率的作用优于其他提取液及杜仲降压片, 其中 SBE 液呈明显优势。

3.2 杜仲降压方药不同提取液对 SHR 血浆 RAAS 的影响 由表 2 可见, 各试验组均可降低试验动物血浆中 PRA, Ang II, ALD, SBE 液、SBAE 液、WE 液的作用优于其他提取液及杜仲降压片, 其中 SBE 液呈明显优势。

3.3 杜仲降压方药不同提取液对 SHR 血浆中 NO, ET 的影响 由表 3 可见, 各试验组可降低 SHR 血浆中的 ET, 升高血浆中的 NO, 并且 SBE 液的作用优于其他提取液及杜仲降压片。

表 1 杜仲降压方不同提取液对 SHR 血压、心率的影响 (n=8)

分组	剂量(g·kg ⁻¹)	SBP(kPa)	SR(次·min ⁻¹)
正常对照组	—	15.07±0.71 ²⁾	353±9.79 ²⁾
高血压组	—	22.93±1.75	485±16.07
SBE 液组	1.12	17.47±0.99 ²⁾	382±18.75 ²⁾
SBAE 液组	1.12	17.20±0.82 ²⁾	416±14.79 ²⁾
WE 液	1.12	17.87±1.07 ²⁾	388±9.33 ²⁾
WAE 液	1.12	19.07±1.10	423±14.57 ¹⁾
AE 液	1.12	21.20±1.36	436±12.70
杜仲降压片组	1.12	18.93±0.42	433±12.53

注: 与高血压组比较¹⁾ P<0.05, ²⁾ P<0.01。(下同)

表 2 杜仲降压方不同提取液对 SHR 血浆肾素、血管紧张素、醛固酮的影响 (n=8)

分组	剂量(g·kg ⁻¹)	PRA (ng·mL ⁻¹ ·h ⁻¹)	Ang II (pg·mL ⁻¹)	ALD (pg·mL ⁻¹)
正常对照组	—	7.29±0.93 ²⁾	53.28±6.62 ²⁾	678.5±12.67 ²⁾
高血压组	—	19.36±1.05	121.23±9.87	1062.2±60.30
SBE 液组	1.12	10.02±0.42 ²⁾	78.39±4.47 ²⁾	734.9±24.21 ²⁾
SBAE 液组	1.12	12.53±0.62 ²⁾	86.07±5.91 ²⁾	795.5±24.92 ²⁾
WE 液	1.12	12.73±0.54 ²⁾	94.22±3.42 ²⁾	755.7±44.32 ²⁾
WAE 液	1.12	16.62±1.16	104.44±6.22	840.3±28.62
AE 液	1.12	15.50±0.82 ¹⁾	97.22±3.90 ²⁾	810.2±52.30 ¹⁾
杜仲降压片组	1.12	16.07±0.51	99.73±3.87	838.7±35.50

表 3 杜仲降压方不同提取液对 SHR 血浆一氧化氮、内皮素的影响 (n=8)

分组	剂量(g·kg ⁻¹)	NO(μmol·L ⁻¹)	ET(μmol·L ⁻¹)
正常对照组	—	42.78±3.42 ²⁾	248.62±12.22 ²⁾
高血压组	—	22.23±2.46	311.35±19.83
SBE 液组	1.12	33.85±0.88 ²⁾	256.25±9.36 ²⁾
SBAE 液组	1.12	33.12±1.39 ²⁾	276.29±6.17
WE 液	1.12	28.70±1.87	265.58±8.43 ²⁾
WAE 液	1.12	26.79±1.81	277.88±10.27
AE 液	1.12	28.28±1.56	265.91±16.89 ²⁾
杜仲降压片组	1.12	28.01±1.73	281.16±19.18

4 讨论

肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)广泛参与机体的应激反应,其异常变化在高血压的发生、发展和靶器官损害上起到重要作用,因此阻断 RAAS,降低血浆和组织中 PRA, Ang II, ALD 的浓度,能有效控制高血压和减少蛋白尿,从而保护肾脏,阻止肾脏病慢性进展。NO 是一种很强的血管舒张物质,能降低全身平均动脉压,抑制血管平滑肌细胞的增殖,ET 是由血管内皮细胞分泌的迄今为止发现的体内最强的缩血管物质。SHR 血浆中 ET 升高,NO 降低可能是高血压的形成机制之一,也是引起高血压肾损害的重要机制之一。

本研究发现杜仲降压方不同提取液及杜仲降压

片均可不同程度降低 SHR 的血压和心率,降低 SHR 血浆中肾素、血管紧张素 II、醛固酮的含量,降低 ET、升高 NO,并且 SBE 液明显优于其他提取液和杜仲降压片,表明杜仲降压方半仿生提取工艺比其他工艺有明显优势。其作用机理有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 刘晶煜,王凤英.复方杜仲片治疗高血压临床观察[J].甘肃科技,2004,20(7):134-135.
- [2] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等.药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J].中国临床药理学与治疗学 2004,9(9):1069-1072.