

猪毛菜乙醇提取物降压有效性的实验研究

孟祥平, 刘建学

(河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471003)

摘要: 目的: 建立左旋硝基精氨酸诱发的高血压大鼠模型, 观察猪毛菜乙醇提取物对高血压模型大鼠的降压效果, 测其LD₅₀。方法: 采用腹腔注射左旋硝基精氨酸制造大鼠高血压模型, 灌胃给大鼠不同剂量的猪毛菜乙醇提取物, 考察降压作用。用小鼠灌胃考察急性毒性。结果: 三个剂量组均有不同程度的降压作用, 给药前后比较差异有高度显著性 (p 均 <0.01)。结论: 猪毛菜乙醇提取物对左旋硝基精氨酸引起的高血压模型大鼠具有降压作用。猪毛菜乙醇提取物LD₅₀为14.5008 g/kg, 95%的可信限为11.5455~18.2206 g/kg。

关键词: 左旋硝基精氨酸; 高血压; 猪毛菜; 乙醇提取物; 降压; LD₅₀

中图分类号: R285.1; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)04-0017-03

Antihypertensive Effects of Alcoholic Extracts from Salsola

MENG Xiang-ping, LIU Jian-xue

(Food Bioengineering & Department Henan University Science & Technology, Luoyang 471003, China)

Abstract: Objective: to study antihypertensive effects of alcoholic extracts from salsola using hypertension model rats induced by N ω -Nitro-L-Arginine (L-NNA). Methods: For achieving murine hypertension models, L-NNA was intraperitoneal injected into rats, then different dose of the alcohol extracts were perfused into the stomach of rats. Result: In 2 weeks after giving the medicine, the pressure of the rats were decreased in different degree in three treated groups. There was statistically significant difference in comparison of the antihypertensive effects before and after giving medicine (all $p < 0.01$). Conclusion: Alcoholic extracts from salsola had effective antihypertensive activity for rate induced by L-NNA. Its LD₅₀, and its confidence limit of 95% were 14.5008 g/kg and 11.5455~18.2206 g/kg, respectively.

Key words: L-NNA; hypertension; salsola; alcoholic extracts; decompression; LD₅₀

高血压是一种常见疾病, 世界各地高血压患病率不一, 欧美高血压患病率为20%及以上, 亚洲为10%~15%, 非洲在10%左右^[1]。据估计, 我国现有高血压患者超过1亿人, 并有继续上升的趋势, 由高血压导致的病残率和死亡率也逐年升高。西医治疗高血压疾病的药物有其自身的一些不足, 如药物的作用不够温和, 作用的范围过于广泛及副作用太多等, 因而其使用有一定的限制。有些中药有良好的降压效果, 据《全国中草药汇编》^[2]记载: “猪毛菜, 性味淡凉, 主治高血压病, 头痛 (嫩叶期采集品引起升压作用, 花期采集品引起血压上升或下降, 果期采集品有明显的降压作用)”。本文旨在研究花期猪毛菜乙醇提取物对一氧化氮合成酶抑制剂左硝基精氨酸(N ω -Nitro-L-Arginine, L-NNA)诱导的大鼠高血压模型的降压效果, 并考察其急性毒性反应, 以期猪毛菜合理运用提供思路。

1 材料与仪器

收稿日期: 2006-11-15

1.1 动物

SD大鼠, 雌雄各半, 每只体重为180±20 g; 昆明种小白鼠, 雌雄各半, 每只体重为18~22 g, 均由河南科技大学医学部实验动物中心提供。

1.2 药品

左旋硝基精氨酸(L-NNA): 购自Sigma公司; 95%乙醇: 分析纯, 莱阳市双双化工有限公司生产; 氯化钠注射液: 分析纯, 山东华鲁制药有限公司生产。

1.3 材料

将花期的猪毛菜根上部分晾干、粉碎, 用95%的乙醇回流提取2次, 提取液减压浓缩, 得棕黄色浸膏。使用时用生理盐水配置成受试药, 超声助溶或助悬成乳浊液备用。

1.4 仪器

BP-6动物无创血压测试仪: 成都泰盟科技有限公司; 恒温水浴锅、旋转蒸发器、循环水式真空泵: 上海亚荣生化仪器厂; 万分之一分析电子天平, 北京赛多利斯有限公司。

2 方法

2.1 L-NNA致大鼠高血压动物模型的建立

NO合成酶抑制剂L-NNA 15 mg/(kg·d),分两次腹腔注射,连续应用4周,可形成持续性稳定高血压,以此方法来制备高血压模型^[3]。

2.2 分组及给药

大鼠40只分为5组:正常组、模型组、猪毛菜乙醇提取物高剂量组、中剂量组、低剂量组。

正常组:给1 ml生理盐水腹腔注射,每日2次,连续4周,于第5周起,给2 ml纯净水灌胃,每日1次。

模型组:在应用L-NNA腹腔注射第5周起,给2 ml纯净水灌胃,每日1次,连续2周。

高剂量组:造模后4周,按体重给猪毛菜乙醇提取物4.4 g/kg,连续2周。

中剂量组:造模后4周,按体重给猪毛菜乙醇提取物2.2 g/kg,连续2周。

低剂量组:造模后4周,按体重给猪毛菜乙醇提取物1.1 g/kg,连续2周。

2.3 测定方法

测压前将大鼠放入37±1 °C电热恒温箱内,预热10~15 min,使大鼠尾动脉充分扩张,用BP-6动物无创血压测试仪间接测大鼠尾动脉的收缩压和心率。

2.4 LD₅₀的测定

50只小鼠,禁食12 h,不禁水,采用雌、雄分别随机均衡分组法,共分5组,每组10只,雌雄各半。根据预试验结果,最高剂量组定为27.6 g/kg,最低剂量组定为4.4 g/kg,组间剂量比1.6(下一剂量组/上一剂量组),1次灌胃,即刻及连续观察14 d之内的动物反应情况,每天观察2次,并利用改进寇式法计算小鼠乙醇提取物的LD₅₀和95%的可信限^[4]。

2.5 数据处理与统计分析

结果数据用($\bar{x}\pm S$)表示,两组间各参数比较采用SPSS 11.0统计软件, *t*检验方法进行统计学分析,其中 $p\leq 0.05$ 说明两组之间有显著差异; $p\leq 0.01$ 说明之间有非常显著性差异。

3 结果与分析

3.1 一般表现

应用L-NNA腹腔注射1周后,大鼠开始出现反应迟钝、顺从、反抗能力减低等表现。

3.2 造模前后大鼠收缩压变化

从表1可看出,腹腔注射L-NNA前各组大鼠收缩压组间比较无显著性差异($p>0.05$);2周后模型组、高

剂量组、中剂量组和低剂量组大鼠收缩压有持续升高趋势,且和正常组相比有差异性,第4周除正常组外其余各组收缩压达到高峰,说明L-NNA诱发的高血压病大鼠模型成功。

表1 各组大鼠收缩压变化($\bar{x}\pm S$) 单位: kPa

组别	n	造模前	造模2周后	造模4周后
正常组	8	14.238±0.877	14.309±1.500	14.355±1.192
模型组	8	14.804±0.590	18.914±1.712*	20.680±1.148**
高剂量组	8	13.938±0.751	19.320±0.918**	21.581±1.159**
中剂量组	8	14.358±0.735	19.213±1.719*	20.495±1.143**
低剂量组	8	14.183±0.751	18.171±0.577*	21.260±1.143**

注:与正常组比较: * $p<0.05$, ** $p<0.01$

3.2 给药前后大鼠收缩压变化

表2可看出,给药前后正常组和模型组收缩压基本没有变化;给药组血压有明显下降趋势;各剂量组和给药前相比,有显著差异性,其降压作用强度与猪毛菜乙醇提取物剂量呈正效比关系,剂量愈大降压效果愈佳。如表3所示。

表2 给药前后大鼠收缩压变化 单位: kPa

	正常组	模型组	高剂量组	中剂量组	低剂量组
给药前	14.355	20.68	21.581	20.495	21.26
给药后	14.541	19.725**	15.636**	16.857*	18.625

注:与给药前比较: $p<0.05$, ** $p<0.01$

表3 乙醇提取物对模型大鼠收缩压的影响 单位: kPa

Tab.3 Effects of alcoholic extracts of Salsola on SP of model rats (unit: kPa)

组别	天数/d				
	1	3	5	7	9
模型组	20.424	20.426	20.452	19.828	19.725
低剂量组	20.802	20.110	19.489	19.245	18.625
中剂量组	19.386	18.679	17.842	17.168	16.857
高剂量组	19.386	17.184	16.083	15.930	15.636

3.4 给药后对大鼠心率的影响

表4 各组大鼠心率变化($\bar{x}\pm S$) 单位: 次/min

组别	造模前	造模4周后	给药2周后
正常组	348.±29.12	366.1±23.33	356.4±23.33
模型组	369.4±11.16	329.7±27.23**	326.3±15.59*
高剂量组	369.57±24.54	331.7±19.73**	368.5±20.19 ^{###}
中剂量组	364.5±24.27	333.3±25.79*	360.8±24.39
低剂量组	361.2±22.80	329.7±27.23*	347.2±20.97

注:与正常组比较: * $p<0.05$, ** $p<0.01$;与模型组比

较:[#] $p<0.05$, ^{##} $p<0.01$

从表4可看出,造模4周后,除正常组外其余各组大鼠心率均减慢,且与正常组相比有显著差异性,从此可以推论,L-NNA可以减慢大鼠心率,升高血压。经给药治疗后除正常组和模型组外,其余各组心率均有所提高,尤以高剂量组作用明显。

3.5 LD₅₀的测定

连续观察14 d,高剂量组动物出现中毒症状,表现为活动缓慢,食欲差,并在7 d内有动物死亡,7 d后存活小鼠逐渐恢复正常。试验结果如表5。

表5 猪毛菜乙醇提取物对小鼠的急性毒性实验

Table 5 Preexperiment of acute toxicity of alcoholic extracts of

Salsola to mice							
组别	剂量 (g/kg)	对数 (X)	动物 数(n)	死亡 数(n)	死亡 率(p)	存活 率(q)	P·q
1	4.4	0.6414	10	0	0	1	0
2	6.9	0.8414	10	1	0.1	0.9	0.09
3	11.0	1.0414	10	3	0.3	0.7	0.21
4	17.4	1.2414	10	6	0.6	0.4	0.24
5	27.6	1.4414	10	9	0.9	0.1	0.09

经计算,LD₅₀为14.5008 g/kg,95%的可信限为11.545~8.2206 g/kg。

4 结论

4.1 高血压模型的制备与评价

在生理情况下,内皮型一氧化氮合酶(eNOS)合成与释放的NO是血管张力的主要调节因子,血管内皮细胞在基础状态下即可持续释放NO,以维持一种基础的血管张力。NO通过对全身基础状态的血管张力的调节,阻断血管紧张素II对近区小管的钠重吸收及降低胞内(cAMP)影响肾胀对水盐的重吸收及滤过,抑制肾小球旁器细胞分泌肾素等作用调节血压。临床及实验研究均表明,高血压患者及动物存在内皮依赖性的血管舒张功能障碍,在持续性的诱导NO合成下降过程中,内皮功能障碍可加强压力反射,通过损害机体自稳机制中的血管舒张效应而引起高血压,升高的血压又可进一步损害内皮细胞NO的合成能力,维持以形成的高血压^[5]。有关实验表明持续性给予大鼠NO合酶

抑制剂后,动物可出现持续性血压升高^[6]。本文利用NO合成酶抑制剂L-NNA对大鼠腹腔注射进行诱导,每日给L-NNA 15 mg/(kg·d),分2次腹腔注射,连续应用4周。2周后大鼠血压出现明显升高,至第4周时大鼠形成持续稳定高血压,与正常组相比有极显著差异性($p<0.01$),表明L-NNA抑制NO合成可以出现血压升高,高血压大鼠造模成功。

4.2 猪毛菜乙醇提取物的降压效果

猪毛菜乙醇提取物对L-NNA诱导持续性高血压大鼠有明显的降压效应,在给药两周后,各治疗组收缩压均明显下降,与模型组相比,有显著性差异。尤以高剂量组和中剂量效果显著,且剂量愈大降压效果愈好,但具体降压机理有待于进一步研究。

4.3 猪毛菜乙醇提取物的急性毒性

猪毛菜醇提物对小白鼠灌胃的LD₅₀为14.5008 g/kg,相当于生药131.8255 g/kg,按毒性分级标准,属无毒类物,可不进行蓄积毒实验^[7]。连续用药7 d,小鼠血常规、肝肾功能化验结果未见显著差异,13种脏器做病理解剖学及病理组织学检查均未见病理学改变,提示猪毛菜醇提物具有良好的安全性。

参考文献

- [1] Kearney PM, Whelton M, et al. Worldwide prevalence of hypertension: a systematic review [J]. J Hypertens, 2004, 22 (1):11
- [2] 全国中草药汇编[M].北京:人民卫生出版社,1975: 796-797
- [3] 高连如,赵云涛,石湘芸,等.左旋硝基精氨酸诱导大鼠持续性高血压[J].基础医学与临床,1995,15 (3): 49-53
- [4] 王心如.毒理学实验方法与技术[M].北京:人民卫生出版社, 2003:34-37.
- [5] 王作顺.老年心血管病从阳度论治[J].新中医,1997,29(8): 57
- [6] 韩学杰,张立石,王克林,等.降血压食品功能因子对造模性高血压大鼠功效的研究[J].中国中医基础医学杂志,2003, 9 (1):24-27
- [7] 刘宁,沈明浩.食品毒理学.北京:轻工业出版社[M], 2005. 134-138

7种餐前小菜

(1)胡萝卜:切成丝用醋拌,不仅利口,还能提高食欲和对感染的抵抗力;(2)番茄:含有大量的柠檬酸和苹果酸,可促进胃液生成,加强对油腻食物的消化。(3)芹菜:可增强食欲,芹菜根叶含有丰富的维生素A、B1、B2、C,适合维生素缺乏者食用;(4)豌豆:具有益气和中,生津止渴,利湿解毒,有治疗腹胀、呃逆呕吐等作用;(5)白菜:能够养胃和中,利水除烦;(6)香菇:具有行气健脾,和胃益气,开胃助食的作用;(7)南瓜:可补中益气,利水除毒,杀虫,对脾胃虚弱、少食、腹胀者有辅助治疗效果。(摘自人民网)