

尖顶羊肚菌活性提取物降血压作用的研究

王亚辉, 梅晓灯, 张松

(华南师范大学生命科学学院, 广东广州 510631)

摘要: 研究尖顶羊肚菌活性提取物降血压作用及其机制, 为尖顶羊肚菌的进一步开发应用提供实验依据。本研究通过注射 N-硝基-L-精氨酸 (L-NNA) 建立大鼠高血压模型, 分别用 50、100、200 mg/kg·d (低、中、高剂量) 的尖顶羊肚菌活性提取物 (BEMC) 灌胃高血压模型大鼠, 观察其对大鼠收缩压、心率、体重、心指数、肝指数、脑指数、肾指数和血清中血管紧张素 II (ANG-II)、一氧化氮 (NO) 和尿素氮 (BUN) 含量的影响。结果表明, 与高血压模型组相比, 低、中、高剂量组大鼠的收缩压分别降低了 17.79%、6.99% 和 17.24%。低剂量组大鼠的血清 NO 含量增加了 6.79%。中剂量组大鼠肾指数增加了 5.16%, 肝指数分别增加了 4.89%, 血清 BUN 含量减少了 10.06%。低、中剂量组大鼠的血清 ANG-II 含量分别减少了 10.98% 和 27.29%, 心率分别降低了 7.51% 和 5.26%, 心指数分别增加了 7.66% 和 9.75%。尖顶羊肚菌活性提取物具有良好的降血压作用。

关键词: 尖顶羊肚菌; 活性提取物; 降血压; 大鼠

文章编号: 1673-9078(2013)9-2147-2151

Antihypertensive Effect of Bioactive Extracts from *Morchella conica*

WANG Ya-hui, MEI Xiao-deng, ZHANG Song

(College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China.)

Abstract: The antihypertensive effect of bioactive extracts from *Morchella conica* (BEMC) was studied in order to provide a theoretical basis for further exploitation of *M. conica*. The rats were intraperitoneally injected with L-NNA to settle the hypertensive model, and were orally administrated with different doses of the BEMC (50 mg/kg, 100 mg/kg and 200 mg/kg per day) for 28 d. Systolic blood pressure, heart rate, weight, heart index, liver index, brain index, kidney index and the contents of serum angiotensin II (Ang II), nitro oxide (NO) and blood urea nitrogen (BUN) were examined to evaluate antihypertensive effect of BEMC. Compared with the model group, the systolic blood pressures of the rats with the above-mentioned doses of BEMC were decreased by 17.79%, 6.99% and 17.24%, respectively. For the rat at 100 mg/kg dose of BEMC The level of serum NO of the rats at 50 mg/kg dose of BEMC was increased by 6.79%. The levels of kidney index, liver index and serum BUN of the rats were severally decreased by 5.16%, 4.89%, and 10.06%, respectively. And for that with low and middle dosages of BEMC (50 mg/kg and 100 mg/kg), the levels of serum Ang II of the rats were severally decreased by 10.98% and 27.29%, respectively. And the levels of heart rate of the rats were severally decreased by 7.51% and 5.26%, respectively. In addition, the levels of heart index of the rats were severally decreased by 7.66% and 9.75%, respectively.

Key words: *Morchella conica*; bioactive extracts; antihypertensive; rats

尖顶羊肚菌隶属于, 羊肚菌科, 羊肚菌属, 是一种名贵野生食药食用菌。尖顶羊肚菌营养丰富, 风味独特, 含有丰富的必需氨基酸和维生素, 另外, 羊肚菌含有特殊的香味物质、稀有氨基酸及矿物元素。现代医学研究表明, 羊肚菌具有较高的保健和药用价值, 殷伟伟等研究发现, 通过液体发酵得到的尖顶羊肚菌活性提取物具有降血脂的功效^[1], 潘志福等研究发现

, 从尖顶羊肚菌发酵液提取的胞外多糖提取物具有抗氧化功效^[2], Huang M et al. 研究发现, 尖顶羊肚菌胞内多糖和胞外多糖均能抑制 LPS 诱导的巨噬细胞分泌 NO, 具有免疫调节的功效^[3]。罗霞等研究表明, 尖顶羊肚菌菌丝体水提液对酒精引起的大鼠急性胃黏膜损伤起保护作用^[4]。

高血压是一种常见心血管疾病, 其主要有中风、心肌梗死及肾功能衰竭等并发症。我国高血压发病率呈上升趋势, 因此, 高血压病的防治具有重要意义。目前, 高血压病的发生机制尚不清楚, 它是在各种因素影响下, 血压调节功能失调所致。近几年关于高血压病的药物治疗有显著进展, 特别是关于从食药食用菌中提取具有生物活性天然成分来预防和治疗高血压

收稿日期: 2013-05-09

基金项目: 广州市科技计划项目 (2012J4300129)

作者简介: 王亚辉(1988-), 女, 硕士研究生, 主要从事食药食用菌活性物质研究

通讯作者: 张松(1964-), 男, 教授, 主要从事食药食用菌资源、活性物质等研究

病的研究受到广泛的关注,一些食药真菌具有良好的降血压效果^[5]。

国内外关于尖顶羊肚菌降血压作用研究尚不多见,尖顶羊肚菌活性提取物降血压的生理功效不明确,产品开发迟缓。本文通过尖顶羊肚菌活性提取物灌胃高血压模型大鼠,观察其对大鼠血压及相关指标的影响,研究尖顶羊肚菌活性提取物降血压作用,为尖顶羊肚菌降血压的研究提供理论基础,为寻找新的有效的天然降血压药物提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌种

尖顶羊肚菌 (*Morchella conica*) 由华南师范大学生命科学学院提供。

1.1.2 实验动物

Wistar 大鼠, SPF 级, 雄性, 体重 100~130 g, 由南方医科大学动物实验中心 (合格证号: SCXK 粤 2006-0015) 提供。

1.1.3 试剂与测试试剂盒

N-硝基-L-精氨酸 (L-NNA): sigma 公司; 氯沙坦钾片 (科素亚): 杭州默沙东制药有限公司; 一氧化氮试剂盒、血尿素氮测试盒、考马斯亮兰蛋白测定试剂盒: 南京建成生物工程研究所; 大鼠血管紧张素 II (ANG- II) 酶联免疫分析试剂盒: 武汉中美科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 BEMC 的提取

将尖顶羊肚菌接种于液体培养基中, 26 °C、180 r/min 下培养 10 d 后, 收集培养液, 减压浓缩至原体积的 1/5, 并用 Sevag 法去蛋白, 于 4 °C 用 95% 乙醇提取 24 h, 收集沉淀, 用蒸馏水溶解, 透析, 冷冻干燥后即得尖顶羊肚菌水溶性活性提取物 (BEMC), BEMC 中总糖含量为 56.48%, 还原糖含量为 15.86%, 蛋白质含量为 5.85%。

1.2.2 大鼠生理生化试验

大鼠适应性喂养 3 d 后, 随机分为空白对照组、高血压模型组和阳性对照组, BEMC 低剂量组、中剂量组和高剂量组共六个组, 每组 8 只, 自由进食饲料和水, 每三天更换一次水。除空白对照组外, 其他各组每天定时腹腔注射 30 mg/kg·d 的 N-硝基-L-精氨酸 (L-NNA)^[6], 每只注射 0.1 mL, 空白对照组注射等量的生理盐水; BEMC 低、中、高剂量组分别灌胃 50

mg/kg·d、100 mg/kg·d、200 mg/kg·d 的 BEMC 溶液, 阳性对照组以 4.5 mg/kg·d 的科素亚灌胃, 每只灌胃量均为 0.2 mL, 空白对照组和模型组分别灌胃等量蒸馏水, 均连续 28 d。试验开始前、试验第 28 d 分别测量各大鼠的体重、收缩压和心率。试验结束时, 断颈取血用酶联免疫法测定血清 ANG- II 含量, 采用硝酸还原酶法测定 NO 含量, 采用二乙酰-一肟法测定血清 BUN 含量, ANG- II、NO 和 BUN 含量的测定方法均参照试剂盒说明书。取心、肝、脑、肾测定心指数、肝指数、脑指数、肾指数 (以脏器鲜重/体重表示)。

1.2.3 统计方法

实验数据用 DPS V3.01 专业版数据处理系统进行数据统计, 采用 LSD 法进行方差分析。

2 结果与讨论

2.1 BEMC 对大鼠收缩压的影响

表 1 BEMC 对大鼠收缩压的影响 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of BEMC on rat systolic blood pressure

组别	剂量 (mg/kg·d)	收缩压	
		0 d	28 d
空白对照组	0	119.21±9.31	125.53±10.63**
模型组	0	122.54±5.17	166.70±11.61 ^{△△}
阳性对照组	4.5	118.55±4.58	135.53±13.24**
低剂量组	50	122.04±6.10	137.03±11.14**
中剂量组	100	122.68±8.09	155.04±10.86
高剂量组	200	121.18±5.20	137.96±16.08**

注: 与模型组相比, *: P<0.05, **: P<0.01; 与空白对照组相比, Δ : P<0.05, $\Delta\Delta$: P<0.01。

BEMC 对大鼠收缩压的影响见表 1。从表 1 可见, 试验开始时, 各组间的收缩压水平一致, 而给药第 28d, 模型组大鼠收缩压比空白对照组提高了 32.79% (P<0.01), 这说明 L-NNA 使模型组大鼠收缩压升高, 高血压大鼠造模成功。与模型组相比, 给药第 28 d, BEMC 低、中、高剂量组分别下降了 17.79% (P<0.01)、6.99% 和 17.24% (P<0.01), 这表明, BEMC 低、高剂量组具有良好的降血压作用。与阳性对照组比较, 给药第 28 d, BEMC 低、高剂量组大鼠收缩压无显著性差异, 这表明, BEMC 低、高剂量组降血压作用效果与科素亚的效果接近。

BEMC 对大鼠收缩压升高率的影响见表 2, 从表 2 可见, 给药第 28 d, 与模型组相比, 除了中剂量组, 其他各组均表现抑制收缩压的升高率 (P<0.01)。这提示, BEMC 低、高剂量组能极显著抑制高血压大鼠的收缩压升高。

表 2 BEMC 对大鼠收缩压升高率的影响 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of BEMC on rising rate of rat systolic blood pressure

组别	剂量 (mg/kg·d)	0 d 收缩压 /mmHg	28d 收缩压 变化率/%
空白对照组	0	119.21±9.31	5.84±12.28**
模型组	0	122.54±5.17	36.32±12.56
阳性对照组	4.5	118.55±4.58	14.64±14.05**
低剂量组	50	122.04±6.10	12.58±11.96**
中剂量组	100	122.68±8.09	26.69±10.08
高剂量组	200	121.18±5.20	14.11±15.77**

注: 与模型组相比, *: P<0.05, **: P<0.01。

高血压病为常见的心血管疾病之一, 是以血压升高为主要的临床表现。合理的利用抗高血压药物, 能控制血压并减少或阻止心、脑、肾等并发症。有研究表明, 食药用真菌具有良好的降血压效果^[5]。Miyazawa *et al.* (2008)研究了白灵菇子实体干粉对自发性高血压大鼠 (SHR) 血压的影响, 结果显示, 连续给药 16 周后 6% 白灵菇子实体干粉能显著抑制血压的升高^[7]。Preuss HG *et al.* (2010) 研究也发现从灰树花中提取的活性成分具有降低高血压 SD 大鼠的血压的功效, 并且该降血压作用与肾素血管紧张素系统 (RAS) 有关^[8]。Harada A *et al.* (2013) 研究显示富含 γ -氨基丁酸

表 3 BEMC 对大鼠心率、血清 ANG-II、NO 和 BUN 含量的影响 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of BEMC on rat heart rate, ANG-II, NO and BUN contents

组别	剂量 (mg/kg·d)	心率 (次/min)	ANG-II 含量 ($\mu\text{mol/L}$)	NO 含量 ($\mu\text{mol/L}$)	BUN 含量 (mg/L)
空白对照组	0	447.50±27.89	8.54±6.08	57.86±11.17*	194.65±25.87
模型组	0	437.50±35.78	6.01±4.72	47.41±6.99	210.07±32.35
阳性对照组	4.5	449.75±34.87	9.54±5.15	50.39±9.73	226.28±28.67
低剂量组	50	404.63±23.46	5.35±3.67	50.63±7.62	214.32±26.60
中剂量组	100	414.50±46.35	4.37±2.84	44.10±8.82	188.95±28.56
高剂量组	200	432.88±47.66	6.70±4.39	40.49±4.49	232.45±23.65

注: 与模型组相比, *: P<0.05, **: P<0.01。

影响血压变化有多种代谢机制。一方面通过抑制阻断肾素-血管紧张素-醛固酮系统来实现, 该机制可从抑制肾素以减少 ANG-I 转化为 ANG-II; 抑制 ACE, 减少 ANG-II; 拮抗 ANG-II 受体 (AT1) 等方式达到降血压的效果^[8,10-11]。另一方面, 血管内皮舒张因子与血管收缩因子在调节血压方面也有重要作用, 二者的拮抗效应的平衡是维持血压稳定的关键。NO 是血管内皮细胞释放的主要舒血管物质。高血压时内皮细胞的结构与功能发生变化, 导致 NO 合成或分泌不足^[12-13]。本研究测定大鼠的血清 ANG-II 含量和 NO 含量, 结果显示, 与高血压模型组相比, BEMC 低、中

(GABA) 的金针菇子实体粉能降低自发性高血压大鼠的血压^[9]。本研究结果表明, 给药 28 d 后, 与高血压模型组相比, BEMC 在低剂量 (50 mg/kg·d) 和高剂量 (200 mg/kg·d) 均能使大鼠的收缩压极显著的下降了 17.79% 和 17.24%。因此, 尖顶羊肚菌活性提取物具有良好的降血压效果。

2.2 BEMC 对大鼠心率、血清 ANG-II、NO 和 BUN 含量的影响

BEMC 对大鼠心率、血清 ANG-II、NO 和 BUN 含量的影响见表 3, 从表 3 可见, 给药第 28 d, 与模型组相比, BEMC 低、中剂量组大鼠的心率分别降低了 7.51% 和 5.26%, 但无显著差异。这表明, BEMC 对大鼠降血压作用与心率无直接相关。

给药第 28 d, 与模型组相比, BEMC 低、中剂量组大鼠的血清 ANG-II 含量分别降低了 10.98% 和 27.29%; BEMC 低剂量组大鼠的血清 NO 含量升高了 6.79%; BEMC 中剂量组大鼠的血清 BUN 含量分别减少了 10.06%, 但都无显著差异。这表明, BEMC 的降血压机制不是通过降低 ANG-II 的含量, 升高 NO 的含量, 降低 BUN 的含量来实现的。

剂量组大鼠的血清 ANG-II 含量分别减少了 10.98% 和 27.29%, BEMC 低剂量组大鼠的血清 NO 含量增加了 6.79%, 但都无显著差异, BEMC 的降血压机制还需进一步的研究。另外, 大鼠的心率和血液中 BUN 的水平有血压高低也有一定的联系^[4]。本研究测定大鼠的心率和血清 BUN 含量, 结果表明, 与高血压模型组相比, BEMC 低、中剂量组大鼠的心率分别降低了 7.51% 和 5.26%, BEMC 中剂量组大鼠的血清 BUN 含量减少了 10.06%, 但都无显著差异。这表明, BEMC 的降血压作用与心率和 BUN 的含量变化无必然的联系。

2.3 BEMC 对大鼠体重及脏器指数的影响

表 4 BEMC 对大鼠体重的影响 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effects of BEMC on rat weight

组别	剂量 (mg/kg·d)	体重	
		0 d	28 d
空白对照组	0	140.95±4.73	159.29±8.29 ^{*△△}
模型组	0	142.51±9.84	142.34±15.49
阳性对照组	4.5	140.09±7.42	134.31±16.63
低剂量组	50	139.33±9.05	142.08±14.57
中剂量组	100	144.29±6.49	136.73±21.14
高剂量组	200	141.99±7.55	146.38±11.49

注：与模型组比较，*：P<0.05，**：P<0.01；与 0d 比较，△：P<0.05，△△：P<0.01

BEMC 对大鼠体重的影响见表 4，从表 4 可见，试验开始前，各组体重无显著性差异。给药第 28 d，与模型组相比，BEMC 各剂量组对大鼠体重的影响均无显著性差异。与给药前体重相比，给药第 28 d，BEMC 各剂量组对大鼠体重的影响也无显著性差异。这表示，BEMC 对大鼠的健康生长无明显的影响。

如果高血压患者体重过高，心脏的供血范围增大，心脏通过加倍收缩把血液送到全身各组织器官，长时间的过度收缩会导致心脏衰竭。本研究表明 BEMC 易消化吸收、控制体重，对高血压的预防和治疗具有积极的作用。

BEMC 对大鼠脏器指数的影响见表 5，由表 5 可见，与模型组相比，BEMC 低、中剂量组使大鼠的心指数分别增加了 7.66% (P<0.05) 和 9.75% (P<0.05)，BEMC 中剂量组使大鼠肾指数分别增加了 5.16% (P<0.05)，BEMC 中剂量组使大鼠肝指数分别增加了 4.89%。BEMC 对心指数和肾指数有积极影响。

表 5 BEMC 对大鼠心指数、肝指数、脑指数和肾指数的影响 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effects of BEMC on rat heart index, liver index, brain index and kidney index

组别	心指数	肝指数	脑指数	肾指数
空白对照组	0.34±0.01	3.03±0.10**	1.07±0.09*	0.69±0.04
模型组	0.32±0.02	2.77±0.19	1.20±0.11	0.68±0.04
阳性对照组	0.30±0.03	2.81±0.15	1.22±0.12	0.68±0.03
低剂量组	0.35±0.03*	2.87±0.21	1.18±0.10	0.68±0.03
中剂量组	0.35±0.02*	2.91±0.23	1.24±0.17	0.72±0.03*
高剂量组	0.32±0.02	2.70±0.18	1.15±0.09	0.64±0.04*

注：与模型组比较，*：P<0.05，**：P<0.01。

心力衰竭，肾功能衰竭等是高血压常见的并发症，严重危害患者的健康。降血压类药物可有效防治并发

症的产生，阻止高血压病的恶化。本研究结果表明，BEMC 对心、肝、肾起到积极作用。

3 结论

低剂量 (50 mg/kg·d) 和高剂量 (200 mg/kg·d) 的尖顶羊肚菌活性提取物 (BEMC) 具有极显著的降血压作用，但 BEMC 的降血压机制不是通过降低 ANG- II 的含量，升高 NO 的含量，降低 BUN 的含量来实现的。另外，BEMC 可以控制高血压患者的体重，对其心、肝、肾等具有积极的影响。这为尖顶羊肚菌降血压药物和保健产品的开发提供了实验依据。

参考文献

- [1] 殷伟伟,张松,吴金凤.尖顶羊肚菌活性提取物降血脂作用的研究[J].菌物学报,2009,28(6):873-877
Yin W W, Zhang S, Wu J F. Hypolipidemic effect of the bioactive extract from *Morchella conica* [J]. Mycosystema, 2009, 28(6): 873-877
- [2] 潘志福,兰瑛,张松.尖顶羊肚菌胞外多糖提取物抗氧化作用的研究[J].华南师范大学学报(自然版),2011,2:124-128
Fan Z F, Lan Y, Zhang S. Antioxidation effect of the bioactive extract from *Morchella conica* [J]. Journal of South China Normal University (Natural Science Edition), 2011, 2: 124-128
- [3] Huang M, Zhang S, Zhang M L, et al. Effects of polysaccharides from *Morchella conica* on nitric oxide production in lipopolysaccharide-treated macrophages [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 94(3): 763-771
- [4] 罗霞,魏巍,余梦瑶,等.尖顶羊肚菌对急性酒精性胃黏膜损伤保护作用研究[J].菌物学报,2011,30(2):319-324
Luo X, Wei W, Yu M Y, et al. The gastric protective effects of *Morchella conica* on the ethanol-induced gastric mucosal lesion in rats [J]. Mycosystema, 2011, 30(2): 319-324
- [5] Huang W Y, Davidge S T, Wu J P. Bioactive Natural Constituents from Food Sources-Potential Use in Hypertension Prevention and Treatment [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2013, 53(6): 615-630
- [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].中国基础医学志,2003,9(11): 24-27
Han X J, Zhang L S, Wang K L, et al. Studying the Effects of Descending Blood Pressure of Hypertensive Rat With Gene of Functional Food [J]. Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine, 2003, 9(11): 24-27

- [7] Miyazawa N, Okazaki M, Ohga S. Antihypertensive effect of *Pleurotus nebrodensis* in spontaneous hypertensive rats [J]. Journal of Oleo Science, 2008, 57(12): 675-681
- [8] Preuss H G, Echard B, Bagchi D, et al. Maitake Mushroom Extracts Ameliorate Progressive Hypertension and Other Chronic Metabolic Perturbations in Aging Female Rats [J]. International Journal of Medical Sciences, 2010, 7(4): 169-180
- [9] Harada A, Nagai T, Yamamoto M. Production of GABA-Enriched Powder by a Brown Variety of *Flammulina velutipes* (Enokitake) and Its Antihypertensive Effects in Spontaneously Hypertensive Rats [J]. Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku, 2011, 58(9): 446-450
- [10] Lu J, Sawano Y, Miyakawa T, et al. One-Week Antihypertensive Effect of Ile-Gln-Pro in Spontaneously Hypertensive Rats [J]. Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59: 559-563
- [11] Fraga-Silva R A, Ferreira A J, dos Santos R A S. Opportunities for Targeting the Angiotensin-Converting En2/Angiotensin-(1-7)Mas Receptor Pathway in Hypertension [J]. Current Hypertension Reports, 2013, 15(1): 31-38
- [12] 缪化春,沈业寿.天麻多糖的降血压作用[J].高血压杂志, 2006,14(7):531-534
- Miu H C, Chen Y S. Antihypertensive Effect of Polysaccharides substracted from *Gastrodia elata* Blume [J]. Chinese Journal of Hypertension, 2006, 14(7): 531-534
- [13] Nyadjeu P, Dongmo A, Nguenefack T B, et al. Antihypertensive and Vasorelaxant Effects of *Cinnamomum zeylanicum* Stem Bark Aqueous Extract in Rats [J]. Journal of Complementary and Integrative Medicine, 2011, 8(1), DOI: 10.2202/1553-3840, 1490
- [14] 孙琪,石宇杰,戚国庆,等.厄贝沙坦对自发性高血压慢性肾功能衰竭大鼠肾功能的影响及机制研究[J].疑难病杂志, 2012,11(7): 531-534
- Sun Q, Shi Y J, Wei G Q, et al. Effect of irbesartan on renal function in chronic renal failure of spontaneously hypertensive rats and its mechanism [J]. Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases, 2012, 11(7): 531-534