

不同方法提取的铁皮石斛提取物对自发性高血压大鼠的降压作用及其机制研究

马津真^{1,2}, 赵文慧^{1,2}, 聂晓静^{1,2}, 吴悦^{1,2}, 陈宇¹, 陈璇¹, 吴人照^{1*} (1.浙江省中医药研究院, 杭州 310007; 2.浙江中医药大学, 杭州 310053)

摘要: 目的 探讨不同方法提取的铁皮石斛提取物对自发性高血压(spontaneous hypertension rat, SHR)大鼠的降压作用及其机制。方法 32 只 SHR 大鼠根据血压值随机分为水提组、醇水两提组($0.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、苯磺酸氨氯地平对照组($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)及模型组;另设 8 只 Wistar 大鼠为正常对照组。每周测量 1 次给药后 2, 24 h 的血压。治疗 8 周后,用化学发光法检测血浆肾素活性(plasma renin activity, PRA)以及血浆醛固酮(aldosterone, ALD)、血管紧张素 I (Angiotensin I, Ang I)、血管紧张素 II (Ang II)的含量;用 RT-qPCR 法检测肾组织内皮素-1(ET-1)、血管紧张素 II 1 型受体(angiotensin II type 1 receptor, AT1R)的 mRNA 表达。结果 治疗 8 周,各治疗组给药后 2 h 的收缩压、舒张压均显著低于模型组($P < 0.01$),醇水两提组显著低于水提组、苯磺酸氨氯地平组($P < 0.01$);醇水两提组、苯磺酸氨氯地平组给药后 24 h 的收缩压、舒张压均显著低于模型组($P < 0.01$);停药 3 d 时,各治疗组收缩压/舒张压显著低于模型组($P < 0.01$),醇水两提组收缩压显著低于水提组、苯磺酸氨氯地平组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);疗程中治疗 3~8 周醇水两提组给药后 2 h 的收缩压、舒张压显著低于水提组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),治疗 6 周和治疗 8 周醇水两提组给药后 2 h 的收缩压、舒张压显著低于苯磺酸氨氯地平组($P < 0.01$);正常组与模型组以及各治疗组大鼠血浆中 Ang I、Ang II、PRA 和 ALD 的激素含量无显著差异;模型组 AT1R、ET-1 的 mRNA 表达高于正常组($P < 0.05$),水提组、醇水两提组、苯磺酸氨氯地平组 AT1R 的 mRNA 表达显著低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),水提组 ET-1 的 mRNA 表达显著低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 铁皮石斛不同提取方法的提取物均可显著降低 SHR 大鼠血压,铁皮石斛醇水两提提取物($0.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)降压效果优于相同剂量的水提提取物,其降压作用优于苯磺酸氨氯地平($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$);铁皮石斛醇水两提提取物及水提取物对血浆 Ang II 激素含量没有影响,可能通过下调 Ang II 1 型受体起到调节血压作用。

关键词: 铁皮石斛; 醇水两提; 自发性高血压; 内皮素-1

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2018)12-1811-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.12.012

引用本文: 马津真, 赵文慧, 聂晓静, 等. 不同方法提取的铁皮石斛提取物对自发性高血压大鼠的降压作用及其机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(12): 1811-1816.

Antihypertensive Effect and Mechanism of *Dendrobii Officinalis* Caulis Extract by Different Extraction Methods in Spontaneously Hypertensive Rats

MA Jinzhen^{1,2}, ZHAO Wenhui^{1,2}, NIE Xiaojing^{1,2}, WU Yue^{1,2}, CHEN Yu¹, CHEN Xuan¹, WU Renzhao^{1*} (1.Zhejiang Institute of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310007, China; 2.Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the antihypertensive effect and mechanism of *Dendrobii Officinalis* Caulis extract by different extraction methods in spontaneously hypertensive rats. **METHODS** Thirty-two SHR rats were randomly divided into the water extract group, the ethanol-water extract group($0.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), the amlodipine besylate tablets control group($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) and model group according to their blood pressure value, and eight Wistar rats were set as normal control group. The blood pressure was measured at 2, 24 h after administration once a week. After 8 weeks of treatment, plasma renin activity(PRA), and the contents of aldosterone(ALD), angiotensin I (Ang I) and angiotensin II (Ang II) in plasma were detected by chemiluminescence; the mRNA expression of endothelin-1 (ET-1) and angiotensin II type 1 receptor (AT1R) in renal tissue was detected by RT-qPCR. **RESULTS** After 8 weeks of treatment, as to the Systolic pressure(SBP) and Diastolic pressure (DBP) at 2 h after administration, in each treatment groups were significantly lower than that in the model group ($P < 0.01$), the ethanol-water extract group was significantly lower than the water extract group and the amlodipine besylate tablets control group at 2 hours after administration($P < 0.01$); as to the Systolic pressure(SBP) and Diastolic pressure (DBP) at 24 hours after administration, in the ethanol-water extract group and the amlodipine besylate tablets control group were significantly lower than that in the model group; at the third day after withdrawal, the SBP/DBP were significantly lower in each treatment group than that the model group($P < 0.01$), the SBP in the ethanol-water extract group was significantly lower than that in the

基金项目: 浙江省科技计划项目(2016F50044)

作者简介: 马津真, 女, 硕士, 住院医师 Tel: 15068850252 E-mail: 451534722@qq.com *通信作者: 吴人照, 男, 硕士, 主任中医师 Tel: 13325819096 E-mail: wufeng03@126.com

water extract group and the amlodipine besylate tablets control group($P<0.05$ or $P<0.01$); at the third to eighth weeks during the course of the treatment, the SBP/DBP in the ethanol-water extract group was significantly lower than the water extract group at 2 hours after administration($P<0.05$ or $P<0.01$), at the sixth and eighth week, the SBP/DBP at 2 hours after administration in the ethanol-water extract group were significantly lower than the amlodipine besylate tablets control group($P<0.01$); there were no significant differences between the normal group, model group and each treatment groups of the levels of PRA, ALD, AngI and AngII in plasma; the expression of the AT1R mRNA and the ET-1 mRNA in the model group were significantly higher than the normal group($P<0.05$), the expression of the AT1R mRNA in the water extract group, ethanol-water extract group and amlodipine besylate tablets control group were significantly lower than in the model group($P<0.05$ or $P<0.01$); the expression of ET-1 mRNA in the water extract group was significantly lower than in the model group($P<0.05$ or $P<0.01$). **CONCLUSION** Extractions of dendrobium officinale with different extract methods can significantly reduce the blood pressure in SHR rats, the antihypertensive effect of ethanol-water extract($0.8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) was better than that of the same dosage of water extract group, the antihypertensive effect is higher than that of amlodipine besylate tablets ($0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$); the ethanol-water extract and the water extract of dendrobium officinale have no effect on plasma AngII level, and may regulate blood pressure by down-regulating angiotensin II type I receptors(AT1R).

KEYWORDS: dendrobium officinale; ethanol-water extract; spontaneously hypertension rat(SHR); endothelin-1

高血压在中医学上属于“眩晕”“头痛”的范畴,其中医药治疗以平肝潜阳、滋补阴液为主。铁皮石斛具有降血压、降血糖等多方面的药理作用^[1]。石斛质黏,需要久煎才能充分发挥其药效^[2]。有研究表明,不同浓度的石斛乙醇提取物对动物都具有降压作用^[3]。本课题组前期研究发现^[4-7],铁皮石斛可降低血压,并有预防中风、延长生存时间的作用,铁皮石斛膏与厄贝沙坦联用治疗阴虚阳亢证高血压,既降低血压,又改善血脂,调节颈动脉血流速度。但不同提取方法的铁皮石斛提取物对降压疗效的作用未见报道,基于此,本课题组研究了铁皮石斛的不同提取方法,并观察提取物对大鼠血压的影响,探讨其可能的降压机制。

1 材料

1.1 动物

10 周龄自发性高血压(spontaneous hypertension rat, SHR)大鼠 32 只, WKY 大鼠 8 只, ♀♂各半,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物合格证号: SCXK(京)2016-0011。

1.2 药物与试剂

铁皮石斛(华东医药股份有限公司,批号:160509);铁皮石斛水提样品为实验室制备药品,常规煮沸($100\text{ }^{\circ}\text{C}$)提取,浓缩,灭菌;铁皮石斛醇、水两提样品为实验室制备药品,先加 5 倍总生药量的 75%乙醇,在 $55\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 浸提 24 h,提取 2 次,醇提后残渣再加水,常规煮沸($100\text{ }^{\circ}\text{C}$)提取,再将醇提物与水提物分别浓缩,合并提取物,灭菌;苯磺酸氨氯地平片(辉瑞制药,每片 5 mg,批号:R78401)。

RNAisoPlus9109(批号:AKA6402)、PrimeScript™ RT Master Mix(Perfect Real Time) RR036A(批号:

AK5101)、SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)RR820A(批号:AK9301)均购自宝生物工程(大连)有限公司;激素检测试剂(天津博奥赛斯高血压系列)。

1.3 仪器

DK-S 型数显电热恒温水浴锅(上海浦东荣丰科学仪器有限公司);BP-98A 型无创尾动脉血压测量仪(日本软融株式会社);Veriti 型 PCR 仪(美国 ABI);StepOnePlus 型荧光定量 PCR 仪(美国 ABI);SW-CJ-1FD 净化工作台(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);NanoDrop 2000 核酸蛋白质定量仪(美国 Thermofisher)。

2 方法

2.1 分组及给药方法

按血压值随机将 32 只 10 周龄 SHR 大鼠分为 4 组:铁皮石斛醇水两提组、水提组($0.8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、苯磺酸氨氯地平组($0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)和模型组,每组 8 只,♀♂各半。WKY 大鼠 8 只为对照组。灌胃容量为 $1.33\text{ mL}\cdot(100\text{ g})^{-1}$ 体质量,正常组和模型组均灌胃等量饮用水。疗程为 8 周,每周测量 1 次给药 2, 24 h 后的血压,观察大鼠收缩压、舒张压的变化。8 周疗程结束时,每组 4 只大鼠处死,取肾脏组织,每组余下 4 只大鼠继续观察 1 周停药后的血压。

2.2 血压的测量

大鼠在 $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预热 5~10 min 后,将无创尾动脉血压测量仪的加压感应器放在大鼠尾根部,并通过配套软件获取数据。每只大鼠清醒安静状态下测量 3 次,均值为大鼠血压值。

2.3 血浆 PRA 及 Ang I、Ang II、ALD 含量的测定 每组 4 只大鼠麻醉后腹主动脉采血,余下每

组4只大鼠用剪尾法取尾动脉血1.5~2 mL, 置入EDTA-K2 抗凝管内。室温 2 000 r·min⁻¹ 离心10 min, 分离血浆, 利用化学发光法检测血浆PRA以及Ang I、Ang II、ALD的含量。

2.4 肾组织AT1R、ET-1的mRNA表达量检测

每组4只大鼠麻醉处死后取肾脏组织, 置于液氮中速冻后-80℃保存, 用RT-qPCR法检测肾组织AT1R、ET-1的mRNA表达。使用试剂RNAisoPlus9109提取总RNA, 取80~100 mg组织加液氮研磨4~5次成粉末状, 加1 mL Trizol继续研磨至透明状, 转移至1.5 mL离心管(Tube)中, 室温(4~25℃)静置5 min。加入0.2 mL的三氯甲烷, 充分混匀呈乳浊液, 室温静置5 min; 在4℃以12 000×g速度离心15 min。吸取400 μL上清至新1.5 mL Tube中, 加600~800 μL异丙醇, 混匀, 室温静置10 min; 12 000×g 4℃离心10 min。弃上清, 加入1 mL 75%乙醇(DEPC水配制)洗涤沉淀, 室温静置3 min; 在4℃以12 000×g速度离心10 min。尽量弃干净上清, 室温干燥(不可加热)5~10 min。用适量DEPC水溶解样品, 测量浓度和OD₂₆₀/OD₂₈₀。

用试剂盒PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time)RR036A进行逆转录。在Tube中(RNase free)配制混合液: 模板RNA 500 ng; 5×PrimeScript RT Master Mix 2 μL; RNase free ddH₂O Up to 10 μL。将混合液吹打混匀, 反应条件: 37℃ 15 min(反转录反应), 85℃ 5 s, 4℃ ∞。cDNA产物稀释5倍后用试剂盒SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)RR820A做qPCR。qPCR反应体系: SYBR Premix Ex Taq II 10 μL; Primer R (10 μmol·L⁻¹) 0.8 μL; Primer F (10 μmol·L⁻¹) 0.8 μL; ROX Reference Dye 10.4 μL; 模板DNA 2 μL; 灭菌蒸馏水 6 μL; qPCR反应条件为95℃ 30 s, 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 重复40个循环; 95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 95℃ 15 s熔解曲线。引物序列分别为AT1R(上游5'-GCTTCAACCTCTACGCCAGTGTG-3', 下游5'-CAGCCAGATGATGATGCAGGTGAC-3')、ET-1(上游5'-GTTGCTCCTGCTCTCCTTGATG-3', 下游5'-TTGGTGAGCACACTGGCATCTG-3'), 内参引物为β-actin(上游5'-GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA-3', 下游5'-GACTCATCGTACTCCTGCCTGCTG-3')。

2.5 统计学处理

数据资料用SPSS 17.0统计软件处理, 采用单

因素方差分析(ANOVA), 数据描述以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

治疗前铁皮石斛水提组、醇水两提组、苯磺酸氨氯地平组与模型组血压无显著差异; 正常对照组大鼠血压显著低于其他各组($P < 0.01$)。

3.1 收缩压

3.1.1 给药后2 h的收缩压 从首次治疗到治疗8周, 各治疗组均显著低于模型组($P < 0.01$)。治疗1~8周, 醇水两提组显著低于水提组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 治疗6~8周, 醇水两提组收缩压显著低于苯磺酸氨氯地平组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 在治疗4、5、7周, 水提组收缩压显著高于苯磺酸氨氯地平组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。3个治疗组给药后2 h对收缩压的降低作用, 醇水两提组最好, 苯磺酸氨氯地平组第2, 水提组第3。结果见表1。

3.1.2 给药后24 h的收缩压 从治疗5周至停药3 d, 水提组24 h后的收缩压显著低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 在治疗3周、治疗5~8周、停药3 d, 醇水两提组24 h后的收缩压显著低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 在治疗3周、治疗6~8周、停药3 d, 苯磺酸氨氯地平组24 h后的收缩压显著低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。在停药3 d, 醇水两提组24 h后的收缩压显著低于水提组、苯磺酸氨氯地平组和模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果见表2。

3.2 舒张压

3.2.1 给药后2 h的舒张压 从首次治疗至治疗8周, 各治疗组给药后2 h的舒张压显著低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 治疗3~8周, 醇水两提组给药后2 h的舒张压显著低于水提组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 在治疗6周、治疗8周醇水两提组显著低于苯磺酸氨氯地平组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。比较3个治疗组在给药后2 h的舒张压降低作用, 醇水两提组最好, 苯磺酸氨氯地平组与水提组相近。结果见表3。

3.2.2 给药后24 h的舒张压 在治疗5周、治疗7周、停药3 d, 水提组给药后24 h的舒张压显著低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 在治疗4周、治疗7周、治疗8周至停药3 d, 醇水两提组给药后24 h的舒张压显著低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 在治疗7周、治疗8周至停药3 d, 苯磺酸氨氯地平组显著低于模型组($P < 0.01$)。在停药7 d, 醇水两提组显著低于水提组($P < 0.01$)。3个治疗组给药后24 h的舒张压降低作用比较接近。结果见表4。

表 1 铁皮石斛不同提取物对大鼠给药后 2 h 收缩压的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab. 1 Effect of different extracts of dendrobium officinale on SBP at 2 h after administration in SHR rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

疗程	给药后 2 h 的收缩压/mmHg				
	正常组	模型组	苯磺酸氨氯地平组	水提组	醇水两提组
治疗前	141.29±3.44	208.42±8.80 ¹⁾	209.75±8.92 ¹⁾	207.39±9.52 ¹⁾	207.00±9.41 ¹⁾
首次治疗	140.25±3.51	205.21±10.58 ¹⁾	181.13±7.38 ¹⁾²⁾	181.13±7.28 ¹⁾	175.58±2.33 ¹⁾²⁾⁶⁾
治疗 1 周	140.54±4.05	206.96±7.45 ¹⁾	175.13±4.44 ¹⁾²⁾	180.04±7.26 ¹⁾²⁾	172.92±9.38 ¹⁾²⁾⁵⁾
治疗 2 周	139.08±3.45	208.83±7.83 ¹⁾	178.25±4.86 ¹⁾²⁾	181.96±2.02 ¹⁾²⁾	171.50±5.17 ¹⁾²⁾⁶⁾
治疗 3 周	138.13±4.57	205.71±4.91 ¹⁾	177.83±5.31 ¹⁾²⁾	181.50±2.19 ¹⁾²⁾	172.67±2.45 ¹⁾²⁾⁶⁾
治疗 4 周	139.21±3.37	210.17±7.15 ¹⁾	175.67±5.54 ¹⁾²⁾	184.04±2.43 ¹⁾²⁾⁴⁾	172.00±3.42 ¹⁾²⁾⁶⁾
治疗 5 周	138.29±2.59	213.58±3.03 ¹⁾	174.25±4.02 ¹⁾²⁾	179.96±2.72 ¹⁾²⁾⁴⁾	176.17±4.68 ¹⁾²⁾⁵⁾
治疗 6 周	139.58±4.18	209.71±3.89 ¹⁾	178.83±1.63 ¹⁾²⁾	179.21±3.37 ¹⁾²⁾	173.75±3.25 ¹⁾²⁾³⁾⁶⁾
治疗 7 周	141.29±2.31	212.83±5.34 ¹⁾	175.83±2.69 ¹⁾²⁾	179.25±2.57 ¹⁾²⁾³⁾	171.83±2.69 ¹⁾²⁾³⁾⁶⁾
治疗 8 周	143.54±3.62	212.33±5.75 ¹⁾	178.13±2.86 ¹⁾²⁾	178.21±3.10 ¹⁾²⁾	172.17±2.38 ¹⁾²⁾⁴⁾⁶⁾

注:与正常组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较,²⁾ $P<0.01$;与苯磺酸氨氯地平组比较,³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$;与水提组比较,⁵⁾ $P<0.05$,⁶⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.01$; compared with the amlodipine besylate tablets control group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$; compared with the water extract of dendrobium officinale group, ⁵⁾ $P<0.05$, ⁶⁾ $P<0.01$.

表 2 铁皮石斛不同提取物对大鼠给药 24 h 收缩压的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effect of different extracts of dendrobium officinale on SBP at 24 h after administration in SHR rats($\bar{x} \pm s$)

疗程	给药后 24 h 的收缩压/mmHg				
	正常组	模型组	苯磺酸氨氯地平组	水提组	醇水两提组
治疗前(n=8)	141.29±3.44	208.42±8.8 ¹⁾	209.75±8.92 ¹⁾	207.39±9.52 ¹⁾	207.00±9.41 ¹⁾
首次治疗(n=8)	139.38±4.23	205.67±7.52 ¹⁾	203.71±9.18 ¹⁾	204.21±7.72 ¹⁾	200.75±15.8 ¹⁾
治疗 1 周(n=8)	139.71±3.02	208.08±9.31 ¹⁾	200.67±11.48 ¹⁾	200.46±11.31 ¹⁾	203.17±12.69 ¹⁾
治疗 2 周(n=8)	138.79±3.94	211.00±7.19 ¹⁾	202.63±11.8 ¹⁾	208.63±9.32 ¹⁾	203.75±8.31 ¹⁾
治疗 3 周(n=8)	137.71±5.14	212.63±6.34 ¹⁾	201.58±7.07 ¹⁾³⁾	207.08±5.61 ¹⁾	205.21±7.01 ¹⁾²⁾
治疗 4 周(n=8)	139.54±3.38	211.04±9.15 ¹⁾	208.96±7.09 ¹⁾	206.79±9.47 ¹⁾	205.13±6.66 ¹⁾
治疗 5 周(n=8)	142.13±3.61	216.00±4.83 ¹⁾	207.75±7.95 ¹⁾	205.42±7.09 ¹⁾²⁾	204.75±5.53 ¹⁾³⁾
治疗 6 周(n=8)	142.08±3.47	212.33±4.52 ¹⁾	202.83±8.14 ¹⁾³⁾	204.38±9.81 ¹⁾³⁾	203.21±7.44 ¹⁾³⁾
治疗 7 周(n=8)	142.54±3.26	212.25±6.02 ¹⁾	199.50±2.83 ¹⁾³⁾	202.38±4.34 ¹⁾³⁾	200.17±6.86 ¹⁾³⁾
治疗 8 周(n=8)	141.83±2.58	216.96±6.39 ¹⁾	201.96±5.88 ¹⁾³⁾	203.38±2.76 ¹⁾³⁾	201.25±3.01 ¹⁾³⁾
停药 3 d(n=4)	142.17±2.48	214.17±3.57 ¹⁾	205.42±1.85 ¹⁾³⁾	205.17±2.83 ¹⁾³⁾	198.75±3.12 ¹⁾³⁾⁴⁾⁵⁾
停药 7 d(n=4)	142.83±1.04	209.92±4.69 ¹⁾	214.17±5.35 ¹⁾	210.17±8.57 ¹⁾	209.42±3.45 ¹⁾

注:与正常组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$;与苯磺酸氨氯地平组比较,⁴⁾ $P<0.01$;与水提组比较,⁵⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$; compared with the amlodipine besylate tablets control group, ⁴⁾ $P<0.01$; compared with the water extract of dendrobium officinale group, ⁵⁾ $P<0.05$.

表 3 铁皮石斛不同提取物对大鼠给药 2 h 舒张压的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab. 3 Effect of different extracts of dendrobium officinale on DBP at 2 h after administration in SHR rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

疗程	给药后 2 h 的舒张压/mmHg				
	正常组	模型组	苯磺酸氨氯地平组	水提组	醇水两提组
治疗前	103.56±7.5	157.13±6.72 ¹⁾	156.03±4.47 ¹⁾	155.58±6.39 ¹⁾	156.88±5.58 ¹⁾
首次治疗	106.75±4.98	156.42±3.64 ¹⁾	143.33±10.97 ¹⁾³⁾	144.88±8.17 ¹⁾²⁾	138.04±9.09 ¹⁾³⁾
治疗 1 周	107.88±6.86	157.00±7.03 ¹⁾	143.17±6.41 ¹⁾³⁾	143.67±7.56 ¹⁾³⁾	141.08±10.53 ¹⁾³⁾
治疗 2 周	101.63±6.76	160.58±8.93 ¹⁾	145.50±10.08 ¹⁾³⁾	145.00±4.22 ¹⁾³⁾	141.00±5.73 ¹⁾³⁾
治疗 3 周	96.71±7.21	160.00±8.02 ¹⁾	144.71±7.39 ¹⁾³⁾	148.75±3.05 ¹⁾³⁾	140.67±6.89 ¹⁾³⁾⁵⁾
治疗 4 周	101.25±2.82	163.88±7.88 ¹⁾	146.21±8.50 ¹⁾³⁾	149.33±3.97 ¹⁾³⁾	140.08±6.52 ¹⁾³⁾⁵⁾
治疗 5 周	102.96±2.28	162.46±6.74 ¹⁾	137.63±6.45 ¹⁾³⁾	147.04±5.24 ¹⁾³⁾	138.58±6.45 ¹⁾³⁾⁶⁾
治疗 6 周	102.29±6.45	160.29±6.85 ¹⁾	143.13±5.30 ¹⁾³⁾	144.46±5.15 ¹⁾³⁾	136.00±6.61 ¹⁾³⁾⁴⁾⁶⁾
治疗 7 周	105.58±5.83	158.08±8.45 ¹⁾	139.92±3.23 ¹⁾³⁾	142.42±2.77 ¹⁾³⁾	136.46±2.54 ¹⁾³⁾⁶⁾
治疗 8 周	100.75±4.57	159.71±5.86 ¹⁾	144.71±3.66 ¹⁾³⁾	142.33±3.51 ¹⁾³⁾	134.67±3.65 ¹⁾³⁾⁴⁾⁶⁾

注:与正常组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$;与苯磺酸氨氯地平组比较,⁴⁾ $P<0.01$;与水提组比较,⁵⁾ $P<0.05$,⁶⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$; compared with the amlodipine besylate tablets control group, ⁴⁾ $P<0.01$; compared with the water extract of dendrobium officinale group, ⁵⁾ $P<0.05$.

表 4 铁皮石斛不同提取物对大鼠给药 24 h 舒张压的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Effect of different extracts of dendrobium officinale on DBP at 24 h after administration in SHR rats($\bar{x} \pm s$)

疗程	给药后 24 h 的舒张压/mmHg				
	正常组	模型组	苯磺酸氨氯地平组	水提组	醇水两提组
治疗前(n=8)	103.56±7.5	157.13±6.72 ¹⁾	156.03±4.47 ¹⁾	155.58±6.39 ¹⁾	156.88±5.58 ¹⁾
首次治疗(n=8)	104.96±6.41	162.83±8.61 ¹⁾	158.88±8.34 ¹⁾	157.92±6.84 ¹⁾	158.33±10.02 ¹⁾
治疗 1 周(n=8)	105.33±6.44	163.83±5.83 ¹⁾	162.25±10.29 ¹⁾	158.25±9.53 ¹⁾	161.54±13.54 ¹⁾
治疗 2 周(n=8)	95.96±10.36	162.17±10.90 ¹⁾	158.58±8.39 ¹⁾	157.63±5.59 ¹⁾	159.63±3.09 ¹⁾
治疗 3 周(n=8)	99.83±4.53	160.79±7.32 ¹⁾	159.00±7.19 ¹⁾	158.42±10.06 ¹⁾	162.92±6.82 ¹⁾
治疗 4 周(n=8)	102.29±5.30	164.13±6.11 ¹⁾	161.25±7.00 ¹⁾	162.63±8.51 ¹⁾	157.04±6.67 ¹⁾²⁾
治疗 5 周(n=8)	100.75±8.07	162.79±6.20 ¹⁾	161.79±5.19 ¹⁾	154.79±10.22 ¹⁾²⁾	158.83±7.18 ¹⁾
治疗 6 周(n=8)	107.67±7.04	162.17±5.33 ¹⁾	164.96±6.96 ¹⁾	161.42±6.02 ¹⁾	162.00±7.10 ¹⁾
治疗 7 周(n=8)	108.08±3.35	168.54±3.43 ¹⁾	156.33±5.87 ¹⁾³⁾	155.67±8.50 ¹⁾²⁾	155.58±5.94 ¹⁾²⁾
治疗 8 周(n=8)	107.54±4.87	165.38±4.16 ¹⁾	154.33±5.50 ¹⁾³⁾	160.21±6.14 ¹⁾	156.50±4.21 ¹⁾³⁾
停药 3 d(n=4)	101.75±7.03	165.92±5.50 ¹⁾	158.67±2.79 ¹⁾³⁾	156.08±2.71 ¹⁾³⁾	153.42±5.01 ¹⁾³⁾
停药 7 d(n=4)	105.50±7.28	160.50±7.70 ¹⁾	155.42±1.97 ¹⁾	165.50±3.62 ¹⁾	153.00±3.74 ¹⁾⁴⁾

注：与正常组比较，¹⁾ $P<0.01$ ；与模型组比较，²⁾ $P<0.05$ ，³⁾ $P<0.01$ ；与水提组比较，⁴⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$; compared with the water extract of dendrobium officinale group, ⁴⁾ $P<0.01$.

3.3 血浆 PRA 和 Ang I、Ang II、ALD 的含量

各治疗组对血浆中各项激素指标 PRA、Ang I、Ang II 和 ALD 含量的影响不显著，模型组与正常组无显著差异，结果见表 5。

3.4 肾脏 AT1R、ET-1 的 mRNA 表达量

模型组 AT1R 的 mRNA 表达高于正常组($P<0.05$)，水提组、醇水两提组、苯磺酸氨氯地平组 AT1R 的 mRNA 表达显著低于模型组($P<0.01$)；模型组 ET-1 的 mRNA 表达高于正常组($P<0.05$)，水提组 ET-1 的 mRNA 表达显著低于模型组($P<0.01$)。结果见表 6。

4 讨论

高血压的现代医学降压治疗均为对症治疗，目前常用的降压药包括钙离子通道阻滞剂、血管紧张素转化酶抑制剂、血管紧张素 II 受体阻滞剂、利尿剂和 β 阻滞剂 5 种^[8]，尚不能完全阻止高血压病及其继发病变的进展，大多数高血压患者需要 2 种或 2 种以上的降压药方可达到目标血压^[9]。多数患者需要终身服药，因长疗程用药而药物疗效逐渐降低，产生不良反应，这些问题还会随着寿命的延长更加突出。目前高血压治疗依然需要深入研究和完善。中医药对于体质和血压的调节作用具有整体调理的优势。本实验创新铁皮石斛醇水两提的综合提取方法，设置铁皮石斛不同提取方法组，观察其对 SHR 大鼠血压的影响，探讨铁皮石斛不同提取方法的降压疗效，及其可能的降压机制。

表 5 大鼠血浆 PRA 以及 Ang I、Ang II、ALD 的含量($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Tab. 5 The level of Ang I, Ang II and ALD in rat plasma and PRA($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

组别	PRA	Ang I	Ang II	ALD
正常组	10.51±8.74	6.02±4.33	133.72±58.09	134.18±65.24
模型组	10.36±5.83	5.39±2.58	130.11±44.22	130.64±35.40
水提组	8.72±3.33	5.46±2.27	114.17±26.74	112.52±34.50
醇水两提组	11.60±6.93	5.99±3.37	124.52±25.42	146.28±40.52
苯磺酸氨氯地平组	6.83±3.97	3.99±1.48	113.38±28.90	139.68±42.74

表 6 肾脏 AT1R、ET-1 的 mRNA 表达量($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Tab. 6 Relatively expression of AT1R and ET-1 in the kidney($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

分组	AT1R mRNA 表达量	ET-1 mRNA 表达量
正常组	0.013 121±0.002 459 ⁶⁾	0.000 944±0.000 101
模型组	0.016 201±0.001 676 ¹⁾⁴⁾	0.001 287±0.000 241 ¹⁾
苯磺酸氨氯地平组	0.004 760±0.001 083 ²⁾	0.001 097±0.000 242
水提组	0.005 857±0.000 941 ²⁾	0.000 733±0.000 125 ²⁾³⁾
醇水两提组	0.011 944±0.002 457 ²⁾⁴⁾⁶⁾	0.001 173±0.000 339 ⁵⁾

注：与正常组比较，¹⁾ $P<0.05$ ；与模型组比较，²⁾ $P<0.01$ ；与苯磺酸氨氯地平组比较，³⁾ $P<0.05$ ，⁴⁾ $P<0.01$ ；与水提组比较，⁵⁾ $P<0.05$ ，⁶⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.01$; compared with the amlodipine besylate tablets control group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$; compared with the water extract of dendrobium officinale group, ⁵⁾ $P<0.05$, ⁶⁾ $P<0.01$.

由实验数据可知，疗程中治疗 3~8 周醇水两提组给药后 2 h 的收缩压、舒张压显著低于水提组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)，治疗 6 周和治疗 8 周醇水两提组给药后 2 h 的收缩压、舒张压显著低于苯磺酸

氨氯地平组($P<0.01$); 治疗 8 周, 各治疗组给药后 2 h 的收缩压、舒张压均显著低于模型组($P<0.01$), 醇水两提组显著低于水提组、苯磺酸氨氯地平组($P<0.01$), 给药后 24 h 的收缩压和舒张压醇水两提组、苯磺酸氨氯地平组显著低于模型组($P<0.01$); 停药 3 d 时, 各治疗组收缩压、舒张压显著低于模型组($P<0.01$), 醇水两提组收缩压显著低于水提组、苯磺酸氨氯地平组($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 在停药 7 d, 铁皮石斛醇水两提组舒张压显著低于水提组($P<0.01$)。铁皮石斛醇水两提组对 SHR 大鼠的降压作用在治疗 2, 24 h 可显著优于铁皮石斛水提组及苯磺酸氨氯地平组。铁皮石斛($0.8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) 醇水两提用法的降压作用优于相同剂量水提用法, 也优于苯磺酸氨氯地平($0.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), 具有作为中药降压药物的研究开发价值。

Ang II 与 ET-1 均对心血管系统有缩血管、促细胞肥大增殖等作用^[10]。AT1 受体激活可引起血管收缩^[11], 增加血管升压素分泌, 抑制肾素分泌。铁皮石斛水提组、醇水两提组 AT1R 的 mRNA 表达均显著低于模型组; 铁皮石斛水提组、醇水两提组对激素各项指标 Ang I、Ang II、PRA 和 ALD 含量的影响不显著。说明铁皮石斛水提取物、醇水两提提取物均不是影响 Ang II 含量, 而是下调了 Ang II 的 1 型受体, 抑制 RAAS 系统活性, 起到调节血压, 降低高血压的作用。ET-1 是导致高血压及其血管组织病理改变的重要因子^[12], 铁皮石斛水提组 ET-1 的 mRNA 表达显著低于模型组, 提示可能通过下调 ET-1 的 mRNA 的表达而抑制血管收缩^[13]起到降血压的作用。综上, 铁皮石斛提取物可能通过下调 AT1R 而起到调节血压的作用, 是否还通过其他机制降低血压尚需进一步探讨。

文献报告, 铁皮石斛的有效成分包括多糖、联苄类化合物、菲类化合物、生物碱、黄酮类物质、氨基酸及微量元素等^[14], 其中多糖即为水提物主要成分之一。铁皮石斛乙醇提取物的主要成分有核苷酸、联苄、酯、甾体、长链脂肪醇和神经酰胺^[15]。本实验醇水两提样品为醇提后残渣再经水提取, 实验结果显示醇水两提样品降压作用优于同剂量水提法, 说明在传统高温水提取前加用较低温度的乙醇提取, 可能避免了易溶于乙醇的铁皮石斛成分在高温水提时被破坏, 同时易溶于乙醇且不易溶于水的铁皮石斛成分可能对降压

作出了贡献。铁皮石斛水提法和醇水两提法, 各自主要所得成分及其与降压作用的关联, 有待深入研究。

REFERENCES

- [1] 吕圭源, 颜美秋, 陈素红. 铁皮石斛功效相关药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(4): 489-493.
- [2] WU J L, ZHANG Y L, QIAO J Y, et al. The expression and significance of TNF- α , VEGF and ET-1 in the border zone after hypertensive intracerebral hemorrhage [J]. Chin J Neuros (中华神经外科杂志), 2017, 33(5): 498-501.
- [3] 朱仁全, 余茂耘, 李建. 石斛乙醇提取物对豚鼠降血压作用初步研究[J]. 滁州学院学报, 2009, 11(2): 62-63.
- [4] 吴人照, 杨兵勋, 李亚平, 等. 铁皮石斛治疗易卒中型自发性高血压大鼠 45 周生存情况影响的实验研究[J]. 浙江中医杂志, 2010, 45(9): 647.
- [5] 吴人照, 杨兵勋, 李亚平, 等. 铁皮石斛多糖对 SHR-sp 大鼠抗高血压中风作用的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(3): 204-205.
- [6] 吴人照, 陈立钻, 楼正家, 等. 铁皮石斛治疗高血压病 120 例动态血压观察[J]. 浙江中医杂志, 2015, 50(4): 238-240.
- [7] 吴人照, 陈立钻, 楼正家, 等. 铁皮石斛膏与厄贝沙坦联用治疗阴虚阳亢证高血压病临床观察[J]. 浙江中医杂志, 2015, 50(7): 475-477.
- [8] 李欣. 高血压药物治疗新概念[J]. 临床心血管病杂志, 2004, 20(9): 575-576.
- [9] SATO A, SARUTA T, FUNDER J W. Combination therapy with aldosterone blockade and renin-angiotensin inhibitors confers organ protection [J]. Hypertens Res, 2006, 29(4): 211-216.
- [10] 于海荣, 王一帆, 陈建双. 决明子蒽醌苷对两肾一夹高血压大鼠左室心肌肥厚及舒张功能的影响[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(1): 34-35.
- [11] SHANG L L, QUAN A J, WANG X, et al. Effect of Qutan Tongyang Decoction on echocardiography, serum ang II level and expression of AT1 mRNA in myocardium of chronic heart failure model rats [J]. J Tradit Chin Med(中医杂志), 2018(1): 56-60.
- [12] WU J L, ZHANG Y L, QIAO J Y, et al. The expression and significance of TNF- α , VEGF and ET-1 in the border zone after hypertensive intracerebral hemorrhage [J]. Chin J Neuros(中华神经外科杂志), 2017, 33(5): 498-501.
- [13] ZHENG C Y, SONG L L, WEN J K, et al. Tongxinluo (TXL), a Traditional Chinese Medicinal Compound, Improves Endothelial Function After Chronic Hypoxia Both *In vivo* and *In vitro* [J]. J Cardiovascular Pharmacol, 2015, 65(6): 579-86.
- [14] 范传颖, 季艳琴. 铁皮石斛化学成分及药理作用的研究进展[J]. 当代医药论丛, 2017, 15(22): 40-41.
- [15] 沙淼磊, 斯金平, 张爱莲, 等. 铁皮石斛的化学成分研究 [C]// 中国植物学会药用植物及植物药专业委员会、中国科学院昆明植物研究所. 第十届全国药用植物及植物药学术研讨会论文摘要集. 北京: 中国植物学会药用植物及植物药专业委员会、中国科学院昆明植物研究所, 2011: 1.

收稿日期: 2018-06-01

(本文责编: 李艳芳)