

金鸡菊有效部位对高血压小鼠的血压和肾素-血管紧张素系统的影响

凌冰¹, 张兰兰², 哈木拉提², 刘晓燕², 胡梦颖², 马雪萍², 徐磊², 杨强¹, 孙玉华^{2*}

1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832000

2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830004

摘要: 目的 观察金鸡菊提取物70%乙醇洗脱物对高血压小鼠血压、血浆血管紧张素 I (Ang I)、血浆血管紧张素 II (Ang II) 和组织中 Ang II 浓度的影响。方法 采用高盐 (80 mg/mL NaCl 溶液) 冷激法, 连续 20 d, 形成小鼠高血压模型; 将实验小鼠分为正常组、模型组、卡托普利组 (40 mg/kg) 和金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物低、中、高剂量 (40、80、160 mg/kg) 组。连续 ig 给药 28 d 后, 采用颈动脉插管法测定小鼠血压并取血, 放射免疫法测定血浆 Ang I、Ang II、及肾组织中 Ang II 的含量。结果 模型组血浆 Ang I 和组织中 Ang II 含量均明显高于正常组 ($P < 0.05$), 其血压和血浆 Ang II 含量显著高于正常组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$); 与模型组相比, 金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物中、高剂量 (80、160 mg/kg) 组血浆 Ang I 含量明显升高 ($P < 0.05$), 血浆 Ang II 含量极显著降低 ($P < 0.001$), 肾组织中的 Ang II 含量显著降低 ($P < 0.01$)。结论 金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物可明显升高 Ang I 水平, 减少 Ang II 生成, 推测其降压机制主要是通过影响肾素-血管紧张素系统, 发挥 Ang I 拮抗剂或血管紧张素转化酶抑制剂的作用。

关键词: 金鸡菊; 高血压; 小鼠; 肾素-血管紧张素系统; 血管紧张素 II

中图分类号: R972.4

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2013)04-0253-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.04.004

Effect of *Coreopsis tinctoria* effective fraction on blood pressure and renin-angiotensin system in hypertensive mice

LING Bing¹, ZHANG Lan-lan², Hamulati², LIU Xiao-yan², HU Meng-ying², MA Xue-ping², XU Lei², YANG Qiang¹, SUN Yu-hua²

1. School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China

2. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumchi 830004, China

Abstract: Objective To observe the effect of 70% ethanol elution of *Coreopsis tinctoria* extract (EECTE) on blood pressure, the concentration of angiotensin I (Ang I) and angiotensin II (Ang II) in plasma, and the concentration of Ang II in tissue of hypertensive mice. **Methods** The hypertension model of mice was established by ig giving high-salt water and keeping them in low-temperature environment for 4 h daily for 20 d; The mice were divided into control, model, Captopril (40 mg/kg), low-, mid-, and high-dose (40, 80, and 160 mg/kg) EECTE groups. After ig administration for 28 d, the blood pressure was measured, the blood and kidney tissue were collected, and the plasma concentration of Ang I, Ang II, and tissue homogenate Ang II were determined by radioimmunoassay. **Results** The Ang I level in plasma and Ang II level in tissue homogenate in model group were obviously higher than those in the control group ($P < 0.05$), and the blood pressure and concentration of plasma Ang II were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01, 0.001$). The mid- and high-dose EECTE increased Ang I and reduced Ang II in plasma obviously ($P < 0.01$), and lessened local Ang II in tissue homogenate compared with those in the model group ($P < 0.001$). **Conclusion** EECTE may increase Ang I and reduce Ang II markedly, so the possible mechanism in the reduction of blood pressure in hypertensive mice is due to its effect on renin-angiotensin system and the effect of Ang I antagonist or angiotensin converting enzyme inhibitor.

Key words: *Coreopsis tinctoria* Nutt.; hypertension; mice; renin-angiotensin system; angiotensin II

金鸡菊又名雪菊, 系菊科 (Compositae) 金鸡菊属 *Coreopsis tinctoria* Nutt. 的干燥头状花序, 单瓣、重瓣或半重瓣, 舌状花, 黄色或金黄

色, 花期为 6~9 月。金鸡菊属于北温带植物, 原产于北美, 国内主要是新疆和田地区种植较为广泛。当地居民多选用雪菊当茶饮, 其降血压效果较好,

收稿日期: 2012-03-14

基金项目: 新疆维吾尔自治区重点实验室项目 (XYSY0207-2009-01); 留学回国人员项目 (自主选题)

作者简介: 凌冰 (1985—), 女, 在读硕士研究生, 从事心血管药理研究工作。Tel: (0991)2320296 E-mail: lingbing.cool@163.com

*通信作者 孙玉华 (1965—), 男, 硕士, 研究员, 从事中药药理毒理研究工作。Tel: (0991)2812070 E-mail: sunyuh1117@yahoo.com.cn

有很好的民间使用基础。现代药理研究表明,菊花中的总黄酮具有降血压,扩张冠状动脉,防止冠状动脉粥样硬化等作用,临床用于治疗高血压和冠心病。金鸡菊主要含有黄酮类(槲皮素、木犀草素、芦丁)、栎草亭 7-*O*-葡萄糖苷、马里昔(金鸡菊查尔酮 4'-*O*- β -葡萄糖苷)、金鸡菊查尔酮和 8-羟基黄酮木素等化合物。本课题组已通过实验研究发现金鸡菊具有良好的降压作用^[1-3],并确定其 50%和 70%乙醇洗脱物为金鸡菊降压的有效部位,槲皮素、木犀草素和芦丁为金鸡菊降压的有效成分。但目前其降压机制尚不十分清楚,由于肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)是反应高血压进展的重要因素,是目前该领域研究的重点问题之一,所以为进一步探讨金鸡菊的降压机制,本实验以高盐冷激法制备高血压小鼠模型,观察金鸡菊 70%乙醇提取物对高血压小鼠的血压、血浆血管紧张素 I (Ang I)、血浆血管紧张素 II (Ang II) 和肾组织中 Ang II 浓度的影响,为降压药物的研制开发及金鸡菊的应用提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

健康昆明种 SPF 级小鼠,雌雄各半,18~22 g,新疆实验动物中心提供,合格证号 SCXK(新)2011-0001,室温 18~20 °C,自由进食、饮水。

1.2 药物

金鸡菊 *Coreopsis tinctoria* Nutt.由新疆维吾尔自治区药物研究所杨伟俊副研究员鉴定;金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物(70% ethanol elution of *C. tinctoria* extract, EECTE)由新疆维吾尔自治区药物研究所药理一室提供:提取金鸡菊全草若干,粉碎,过 20 目筛,分别用体积分数 95%的乙醇回流提取 2 次和用 50%的乙醇回流提取 1 次,料液比为 1:10,提取温度控制在 70 °C 左右,每次 2 h,合并 3 次的滤液,得金鸡菊总提取液。将金鸡菊总提取液通过已处理好树脂,进行梯度洗脱,分别用水、10%乙醇、30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇、95%乙醇洗脱,收集 70%乙醇洗脱液,蒸干,得棕色浸膏粉,其为粗黄酮混合物,主要成分为栎草亭 7-*O*-葡萄糖苷、马里昔(金鸡菊查尔酮 4'-*O*- β -葡萄糖苷)、金鸡菊查尔酮、木犀草素、槲皮素和 8-羟基黄酮木素。临用前用蒸馏水配成溶液。

1.3 试剂

戊巴比妥钠,上海行知化工厂,批号 20070215;

阳性药卡托普利片,汕头金石制药总厂,批号 120113;血管紧张素 I 放射免疫试剂盒(批号 20120620)、血管紧张素 II 放射免疫试剂盒(批号 20120620)均购自北京北方生物技术研究所。

1.4 仪器

BL-420 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司);3k30—高速低温离心机(美国 Sigma 公司);玻璃匀浆器;GC-2016 γ 放射免疫计数仪(科大创新股份有限公司中佳分公司);电子天平;电热恒温水浴锅;动物手术台;手术器械;微量移液器。

2 方法

2.1 高血压模型的建立

从第 1 天起,除正常对照组小鼠每天给予正常饲料和饮用水外,其余各组小鼠每天按 0.025 mL/kg 体重给予 80 mg/mL 的 NaCl 溶液,同时将各组动物每天上午置于 4 °C 中 4 h,随后取出放回动物房普通环境中,各组正常给予饲料和饮水,连续 20 d^[4-8],造模完成。

2.2 分组及处理

将造模小鼠($n=50$)随机分为 5 组,分别为模型组、卡托普利组(40 mg/kg)、金鸡菊 70%乙醇提取物低、中、高剂量(40、80、160 mg/kg)组,每组 10 只,雌雄各半;另设 10 只正常对照组。每日 ig 给予各组小鼠相应药物,高血压模型组和正常对照组给予等量蒸馏水,给药组连续 ig 给药 28 d。末次给药后,采用颈动脉插管法测定小鼠血压,取血及肾脏,制备组织匀浆,通过试剂盒检测各项指标。

2.3 血压的测定

ip 2%戊巴比妥钠按 2.5 mL/kg 麻醉,背位固定于蛙板上。手术分离出小鼠颈总动脉,远心端结扎,近心端用事先充满肝素抗凝的头皮针动脉插管(自制)向心脏方向插入动脉中,固定好插管的尖端,导管的另一端接压力换能器,接入到 BL-420 生物机能实验系统。连续描记血压约 30 s,待血压平稳后记录数据^[9]。

2.4 指标检测

连续给药 28 d 后,测压后直接采血,采集的血样注入到预先加入 0.30 mol/L EDTA 20 μ L、0.32 mol/L 二巯基丙醇 10 μ L、0.34 mol/L 8-羟基喹啉硫酸盐 20 μ L 的抗凝管中,静置后于 4 °C、3 000 r/min 离心 10 min,分离出的血浆用放射免疫分析法测定 Ang I、Ang II 的量^[10]。然后处死动物,称取 0.1 g 肾脏组织,于 4 °C 下制备成质量分数为 10%的组

织匀浆,组织匀浆液中加入 0.05 mol/L 的 PBS 缓冲液 (pH 7.4) 和 1% 的牛血清白蛋白,离心取上清,分离出的上清液用放射免疫分析法测定 Ang II 的量^[11]。以上所有操作步骤均严格按照试剂盒说明书进行。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 16.0 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物对高血压小鼠收缩压的影响

由表 1 可见,与正常对照组相比,模型组小鼠收缩压极显著升高 ($P < 0.001$),表明造模成功;与模型组比较,卡托普利组和金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物低、中、高剂量组均可极显著降低小鼠收缩压 ($P < 0.001$),说明卡托普利和金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物 (40、80、160 mg/kg) 组均具有良好的降压效果。

3.2 金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物对高血压小鼠血浆中 Ang I、Ang II 及肾脏组织中 Ang II 的影响

与正常对照组相比,模型组血浆 Ang I、Ang II

及肾脏组织中 Ang II 含量明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);给药后,与模型组相比,卡托普利组和金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物中、高剂量组血浆 Ang I 含量极显著升高 (P 均 < 0.001),血浆 Ang II 含量极显著降低 ($P < 0.001$),肾脏组织 Ang II 含量显著降低 ($P < 0.01$);金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物低剂量组仅血浆 Ang I 轻度上升。

表 1 金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物对收缩压的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of EECTE on contractive pressure of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	收缩压/kPa
正常对照	—	12.44 ± 1.27***
模型	—	19.47 ± 0.78
卡托普利	40	13.53 ± 0.61***
金鸡菊提取物 70%	40	15.11 ± 0.82***
乙醇洗脱物	80	13.77 ± 1.02***
	160	13.58 ± 0.80***

与模型组比较: *** $P < 0.001$

*** $P < 0.001$ vs model group

表 2 金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物对高血压小鼠血浆 Ang I、Ang II 及肾组织 Ang II 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of EECTE on Ang I and Ang II in plasma, and Ang II in nephridial tissue of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血浆 Ang I / (ng·mL ⁻¹)	血浆 Ang II / (pg·mL ⁻¹)	肾组织 Ang II / (pg·g ⁻¹)
正常对照	—	15.64 ± 1.06*	1 059.64 ± 198.56**	14 422.20 ± 295.64*
模型	—	16.76 ± 0.51	1 468.53 ± 231.39	14 746.60 ± 370.78
卡托普利	40	17.64 ± 0.80*	912.52 ± 148.90***	14 152.66 ± 321.50**
金鸡菊提取物	40	17.10 ± 1.21	1 371.59 ± 275.00	14 458.01 ± 515.07
70%乙醇洗脱物	80	17.54 ± 0.52**	1 040.42 ± 178.35***	14 247.10 ± 395.45**
	160	17.63 ± 0.13**	976.23 ± 109.11***	14 187.38 ± 451.92**

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group

4 讨论

高血压是以动脉血压升高为主要临床表现的综合征,高血压病程长,发展不平衡,对心、脑、肾等重要脏器可造成严重的损害;目前治疗高血压的主要措施是西医的非药物治疗和药物治疗。但西医降压治疗仍存在一定的局限性,难以达到长期治疗和预防的目的^[12]。植物药有良好的降压作用,尤其是传统中药,得到人们普遍的认可。因此,中药治疗高血压病都具有广阔的应用前景。现代药理研究表明,菊花中的总黄酮具有降血压、扩张冠状动脉、防止冠状动脉粥样硬化等作用,临床用于治疗高血

压和冠心病。金鸡菊花色鲜艳,可用于提取黄色素,其主要成分为黄酮类化合物,其次还有生物碱、多糖类等成分,其中黄酮的量高达 25%^[13]。金鸡菊降压效果较好,有很好的民间使用基础,但未见文献报道其确切的作用机制。

RAS 的主要功能是调节人体血压、水分、电解质和保持人体内环境的稳定性。RAS 既存在于循环系统中,也存在于血管壁、心脏、中枢、肾脏和肾上腺等组织中,共同参与对靶器官的调节。血循环中肾素主要来自肾脏,它可把主要来源于肝脏的血管紧张素原转化为 Ang I,再在血管紧张素转化酶

的作用下转化为 Ang II，然后通过组织中 Ang II 受体而发挥作用。许多组织中存在局部 RAS，在相应器官、组织、细胞的功能调节中起着重要作用。

本实验以高盐冷激法制备高血压小鼠模型，观察金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物对高血压小鼠的血压、血浆 Ang I、血浆 Ang II 和组织中 Ang II 浓度的影响。结果显示造模后模型组小鼠的收缩压极显著高于正常对照组，由此说明使用高盐冷激法制备高血压模型成功；给药 28 d 后，与模型组比较，金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物低、中、高剂量（40、80、160 mg/kg）均极显著降低了小鼠收缩压，说明金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物具有很好的降压效果。本实验小组将此次实验结果和前期实验结果比较发现，金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物的降压效果要强于另一有效部位金鸡菊提取物 50%乙醇洗脱物，具体原因有待进一步研究。

Ang I 在正常的血浆浓度下无生理活性，作为转换酶的底物，它的含量能够反映生成底物的含量。本实验结果显示模型组 Ang I 含量比正常对照组明显升高；卡托普利组 Ang I 含量比高血压模型组极显著升高，原因是卡托普利作为一种血管紧张素转化酶抑制剂，其抑制了血管紧张素转化酶的活性，减少了 Ang I 向 Ang II 的转换，所以剩余 Ang I 增多。金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物组的 Ang I 含量也比高血压模型组明显升高。

Ang II 是 RAS 中的重要环节，它可直接使小动脉平滑肌收缩，外周阻力增加；使交感神经冲动发放增加；并能刺激肾上腺皮质球状带，使醛固酮分泌增加，从而使肾小管远端集合管钠再吸收增强，导致体内水与钠潴留。综合作用的结果，导致血压升高^[12]。血管紧张素受体阻滞剂可使 Ang II 与受体结合减少，导致血浆中 Ang II 的含量增多。本实验结果显示卡托普利和金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物中、高剂量（80、160 mg/kg）组血浆和局部组织中的 Ang II 与模型组相比均显著降低，说明金鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物作为血管紧张素受体阻滞剂的可能性很小。

综上所述，通过对 RAS 各成分的检测，推测金

鸡菊提取物 70%乙醇洗脱物的降压机制与对 RAS 的作用有关，即有可能是发挥了以下作用：（1）发挥了血管紧张素转化酶抑制剂的作用；（2）能够和 Ang I 竞争性地与血管紧张素转化酶结合，减少 Ang II 的生成，减弱其收缩血管的效应并降低外周阻力，从而使血压降低。

参考文献

- [1] 梁淑红, 庞市宾, 刘晓燕, 等. 金鸡菊提取物降血脂作用的动物实验研究 [J]. 农垦医学, 2009, 31(6): 495-498.
- [2] 曹 燕, 庞市宾, 徐 磊, 等. 金鸡菊提取物对血管环舒张作用的探讨 [J]. 农垦医学, 2011, 33(2): 148-152.
- [3] 梁淑红, 哈木拉提, 庞市宾, 等. 金鸡菊提取物降压化学成分实验研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(7): 1619-1621.
- [4] 石红梅, 何丽华, 张 颖, 等. 寒冷暴露致冷应激性高血压形成机制的研究 [J]. 工业卫生与职业病, 2008, 34(5): 269-272.
- [5] 吴自强, 祝善俊, 祝之明, 等. 高盐和冷应激对大鼠心肌肾素血管紧张素醛固酮系统的作用 [J]. 解放军医学杂志, 2002, 27(5): 408-410.
- [6] 张 颖, 王 生, 何丽华, 等. 反复低温暴露对大鼠血压影响机制的研究 [J]. 环境与职业医学, 2005, 22(4): 333-334.
- [7] 王先梅, 祝之明, 祝善俊, 等. 寒冷应激和高盐饮食复合环境因素对大鼠血压的影响 [J]. 高血压杂志, 2001, 9(2): 137-139.
- [8] 于长青, 祝之明, 王利娟, 等. 冷应激高血压大鼠血管舒缩功能的研究 [J]. 高血压杂志, 2002, 10(2): 163-165.
- [9] 孔晓龙, 蒋伟哲, 黄仁彬, 等. 龙眼参对自发性高血压大鼠和 SD 大鼠血压的影响 [J]. 中草药, 2001, 32(8): 727-729.
- [10] 黄敏琪, 曾宪彪, 王潮临, 等. 山慈提取物对实验动物血压的影响 [J]. 中草药, 2007, 38(10): 1546-1547.
- [11] 陈素红, 吕圭源, 施 斌, 等. 复方决明提取物的降压作用机制研究 [J]. 中草药, 2004, 35(2): 180-182.
- [12] 张相宜, 郭森良, 吕圭源. 抗高血压中药的降压作用机制研究进展 [J]. 浙江中医学院学报, 2005, 29(1): 84-86.
- [13] 朱 筠, 陈飞彪, 夏剑辉, 等. 金鸡菊总黄酮的提取及含量测定 [J]. 食品科学, 2005, 26(9): 314-317.