

· 论著 ·

人参皂苷 Rb₁ 对自发性高血压大鼠氧化应激指标的影响

陈梅卿 赖畅钦 李卫华 石桂秀 李燕 黄峥嵘

【摘要】 目的 观察人参皂苷 Rb₁ 对自发性高血压大鼠 (SHR) 血压及氧化应激指标的影响。**方法** 选择 12 周龄雄性 SHR 36 只, 随机分为 4 组, 人参皂苷 Rb₁ 大剂量和小剂量组、空白组 (生理盐水)、阳性对照组 (氨氯地平)。血压正常的京都 Wistar Kyoto (WKY) 大鼠 9 只为正常对照组。于治疗第 0 周、12 周分别用尾袖法测定大鼠动脉收缩压, 并分别采血, 检测超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 及氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 等指标。**结果** 人参皂苷 Rb₁ 作用 12 周后, 大、小剂量组血压均较治疗前明显下降, 但较氨氯地平组差; Rb₁ 高剂量组及氨氯地平组分别与生理盐水对照组比, 差别均有统计学意义 ($P < 0.05$)。针对氧化应激指标的检测发现, 人参皂苷 Rb₁ 作用后, MDA, SOD 以及 ox-LDL 水平都有一定程度的改善, 尤其以 MDA 和 ox-LDL 改变最为显著, 与生理盐水组比, 差别具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 人参皂苷 Rb₁ 具有较为显著的抗氧化作用, 其降血压效应部分与其对抗氧化应激作用有关。

【关键词】 人参皂苷 Rb₁; 自发性高血压大鼠; 氧化应激指标

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi: 10.3969/j.issn.1674-1749.2013.11.003

Pharmacological effect of ginsenoside Rb₁ on oxidative stress indicators of spontaneously hypertensive rats CHEN Mei-qing, LAI Chang-qin, LI Wei-hua, et al. Department of Rheumatology, the first Hospital Affiliated to Xiamen University, Xiamen 361000, China

Corresponding author: LI Wei-hua, E-mail: liweihua@medmail.com.cn; SHI Gui-xiu, E-mail: guixiushi@gmail.com

【Abstract】 Objective To observe the pharmacological effect of ginsenoside Rb₁ on blood pressure and oxidative stress indicators in spontaneously hypertension rats. **Methods** 36 12-week-old male SHRs were randomly divided into four groups: large doses of ginsenoside Rb₁ and small dose group and blank group (saline), positive control group (amlodipine). 9 normotensive Wistar Kyoto rats (WKY) only for the normal control group. A tail cuff method was carried out to determine the arterial blood pressure at the treatment of 0 week and the end of 12 weeks respectively. Blood was also collected to analysis the indicators of oxidative stress such as SOD activity, MDA level and ox-LDL at the same time. **Results** After 12 weeks treatment with ginsenoside Rb₁, the blood pressure of large and small dose groups were significantly decreased than pre-treatment, but not superior to the amlodipine group; When Rb₁ of high dose group and amlodipine group compared with the control group respectively, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Detection of oxidative stress index found, after Rb₁ treatment, MDA, SOD and ox-LDL levels all have a certain degree of improvement, especially for the MDA and ox-LDL changed most significantly, compared with the saline group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Ginsenoside Rb₁ has significant antioxidant activity, the blood pressure lowering effects as-

作者单位: 361000 厦门大学附属第一医院风湿免疫科 (陈梅卿、石桂秀、李燕), 中医科 (赖畅钦), 心内科 (李卫华、黄峥嵘); 福建医科大学第一临床医学院 [陈梅卿 (在职硕士研究生)、李卫华]

作者简介: 陈梅卿 (1970 -), 女, 本科, 副主任医师。研究方向: 高血压病的免疫学发病机制。E-mail: chenmq6699@163.com

通讯作者: 李卫华 (1962 -), 硕士, 教授, 主任医师, 硕士生导师。研究方向: 冠脉疾病炎症因子研究。E-mail: liweihua@medmail.com.cn; 石桂秀 (1963 -), 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师。研究方向: 免疫调控和自身免疫研究。E-mail: guixiushi@gmail.com。李卫华与石桂秀并列为本文通讯作者。

sociated with againsting oxidative stress to some extent.

【Key words】 Ginsenoside Rb₁; Spontaneously Hypertension Rat; Oxidative stress indicators

高血压的发生与人体自身血压调节机制紊乱密切相关, 由于血压调节是一个涉及到多系统多环节的复杂过程, 而高血压的发生和发展更是一个多基因和多因素共同作用的结果, 因此高血压的发病机制迄今仍未完全阐明。现在已知, 覆盖在血管壁内表面的内皮细胞能生成、激活和释放各种血管活性物质, 例如一氧化氮 (NO)、前列腺素、内皮素、内皮依赖性血管收缩因子等, 有调节心血管功能。随着年龄增长, 诸如血脂异常、血糖升高等心血管危险因素促使氧自由基产生增加, NO 灭活增强, 氧化应激反应影响动脉弹性功能和结构, 进而导致高血压。

人参皂苷 Rb₁ 是人参中含量较大的有效成分, 提取分离相对简单, 已有大量文献支持其在心血管方面的活性, 有较为明确的降压及对抗氧化应激作用。因此本课题以人参皂苷 Rb₁ 为研究对象, 探讨其对自发性高血压大鼠 (spontaneously hypertensive rats, SHR) 丙二醛 (MDA), 超氧化物歧化酶 (SOD) 以及氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 等氧化应激指标的影响, 进而探索人参皂苷 Rb₁ 在改善 SHR 血压方面的药理机制。

1 材料与方法

1.1 动物和药品

清洁级 12 周龄雄性 SHR 36 只, 血压正常的 Wistar Kyoto (WKY) 大鼠 9 只, 均购自上海斯莱克试验动物有限责任公司 [许可证号: SCXK (沪) 2013-0003, 试验动物级别: 无特定病原体 (SPF) 级]。笼内饲养, 5 只/笼。按照国家标准啮齿类动物饲料喂养; 饲养条件: 温度: 20 ~ 26℃, 湿度: 30% ~ 70%, 12 小时光—暗循环。适应 2 周以后, 用于实验。98% 的人参皂苷 Rb₁ (批号 G-132-130118), 由南京广润生物制品有限公司提供。氨氯地平 (批号 130116127) 购自苏州东瑞制药有限公司。

1.2 动物分组

将 36 只 SHR 随机分为 4 组: 人参皂苷 Rb₁ 高剂量组 (60 mg/kg · d)、低剂量组 (30 mg/kg · d)、空白组 (同等体积 0.9% 生理盐水溶液)、阳性对照组 (氨氯地平, 5 mg/kg · d), 9 只/组。WKY 大鼠 9 只作为正常对照组。人参皂苷 Rb₁, 使用生

理盐水溶液配成适当的浓度后, 给予大鼠腹腔注射使用。人参皂苷 Rb₁, 阳性药氨氯地平以及生理盐水的给药方式和体积在各组中均相同。每周称重 1 次, 根据体重调整用量。

1.3 血压测量

治疗前及治疗第 12 周分别用尾袖法测定不同组大鼠动脉血压。选择在人少安静的地方进行测量, 室温保持在 25 ~ 26℃ 之间, 使用 BP-98A 型大鼠无创血压计检测 SHR 清醒状态下尾部动脉收缩压, 每次测 3 个读数, 取平均值。

1.4 氧化应激指标的检测

以酶联免疫吸附 (ELISA) 法检测血浆中 ox-LDL 水平, 硫代巴比妥酸 (TBA) 法测定血液中 MDA 水平, 黄嘌呤氧化法测定血液中 SOD 活性, 具体参考试剂盒中的相关步骤。

1.5 血管组织学观察

第 12 周大鼠麻醉后, 取部分大鼠立即行腹主动脉插管, 0.1 mg/ml 硝普钠充分扩张血管后, 用加入伊红的 10% 甲醛溶液灌注固定血管 6 ~ 12 小时, 去除肺叶后, 游离心脏, 找到胸主动脉后, 提起心脏一端, 小心用眼科剪将胸主动脉与脊柱分离, 至腹腔段处剪断后福尔马林固定, 常规脱水、包埋、切片、HE 染色, 观察血管壁结构。

1.6 统计学处理

使用 SPSS 12.0 对数据结果进行统计学分析。所有计量数据使用 $\bar{x} \pm s$ 表达, 各组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠血压变化情况

如表 1 所示, 人参皂苷 Rb₁ 高剂量组治疗 12 周后的 SHR 的血压出现了较为显著的下调 (与生理盐水组在第 12 周对比, $P < 0.05$), 但是下降的幅度没有阳性对照组强, 氨氯地平作为长效的二氢吡啶类钙离子通道抑制剂, 有不少文献报道可以显著降低 SHR 血压, 因此在本研究中作为阳性对照药物, 大鼠常用的剂量为 5 ~ 10 mg/kg^[1]。Rb₁ 高剂量组中的降压效果要优于低剂量组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 低剂量 Rb₁ 可以降低血压, 但是与生理盐水组比差异无统计学意义。

表 1 各处理组大鼠血压及血液中氧化-抗氧化浓度的变化 ($n=9$)

组别	时间	血压 (mmHg)	MDA (nmol/ml)	SOD (U/ml)	ox-LDL (pg/ml)
人参皂苷 Rb ₁ 高剂量组	0 周	213 ± 4.1	10.21 ± 1.76	155.62 ± 18.21	119.52 ± 5.28
	12 周	177 ± 5 ^{ac}	4.23 ± 1.85 ^{bc}	185.62 ± 17.23	65.23 ± 4.93 ^a
人参皂苷 Rb ₁ 低剂量组	0 周	215 ± 6.5	11.21 ± 0.89	155.34 ± 15.24	120.44 ± 6.13
	12 周	190 ± 4.3	6.75 ± 0.82 ^a	175.62 ± 17.24	72.35 ± 6.11 ^a
生理盐水组	0 周	210 ± 7.5	10.32 ± 2.44	156.78 ± 21.25	121.52 ± 5.31
	12 周	211 ± 6.9	11.2 ± 3.24	155.48 ± 23.25	120.23 ± 7.21
氨氯地平组	0 周	211 ± 7.4	11.19 ± 3.05	157.45 ± 20.96	122.12 ± 5.92
	12 周	160 ± 6.9 ^a	7.22 ± 2.26 ^a	166.62 ± 21.26	75.23 ± 5.32 ^a
正常对照组	0 周	119 ± 5.6	4.78 ± 1.67	177.92 ± 24.28	63.78 ± 6.31
	12 周	117 ± 6.7	4.32 ± 1.26	184.62 ± 19.28	64.12 ± 7.31

注：第 12 周时，与生理盐水组比，^a $P < 0.05$ ；^b $P < 0.01$ ；与人参皂苷 Rb₁ 低剂量组比，^c $P < 0.05$ 。

尽管高剂量人参皂苷 Rb₁ 与氨氯地平都可以显著降低 SHR 血压，但均无法将血压完全恢复到正常血压 WKY 组大鼠的水平。

2.2 大鼠血液中氧化-抗氧化物质的水平

通过检测血液中反应脂质过氧化程度的 MDA、ox-LDL 以及抗氧化物质 SOD 水平可以反映出机体的氧化-抗氧化状态。MDA 结果显示，与生理盐水组比较，人参皂苷 Rb₁ 高、低剂量组在给药 12 周后，均可显著降低 MDA 水平（分别为 $P < 0.01$ 及 $P < 0.05$ ），比较高低剂量两组间 MDA 水平亦有统计学差异（ $P < 0.05$ ），阳性对照氨氯地平组也可以同样减少 MDA 水平，但未优于人参皂苷 Rb₁ 治疗组。在 SOD 方面，Rb₁ 高、低剂量组均可提高原先 SOD 水平，在高剂量组几乎可以达到正常大鼠水平，但是与生理盐水组比，差异不具有统计学意义（ $P > 0.05$ ）；阳性对照药氨氯地平也可提高 SOD 水平，但与人参皂苷 Rb₁ 各剂量组比，均未见

有特别显著的优势（ $P > 0.05$ ）。在 ox-LDL 方面（表 1），与生理盐水组比较，ox-LDL 降低在 Rb₁ 高、低剂量组及氨氯地平组均有显著差异（ $P < 0.05$ ），三组间比较无统计学差异（ $P > 0.05$ ）。SHR 大鼠的过氧化物质较多，而且指标也较为敏感，体现为 ox-LDL 和 MDA 水平与对照 WKY 组的差异，而在 SOD 活性方面没有统计学差异（ $P > 0.05$ ），见表 1。

2.3 第 12 周各组大鼠血管组织学观察

12 周后处死大鼠，对大鼠血管进行常规病理切片，苏木精-伊红（HE）染色，见图 1，结果显示在 SHR-Rb₁ 组中，血管结构正常，内膜和中膜分界清晰，可见明显连续的呈波浪样的弹力纤维组织，且未见有明显增厚等，而 SHR-生理盐水组中，发现血管内壁有一定程度的增厚，胶原纤维增生，平滑肌细胞肥大明显，且管腔变得狭窄，内部出现不少厚度不一的新生内膜。

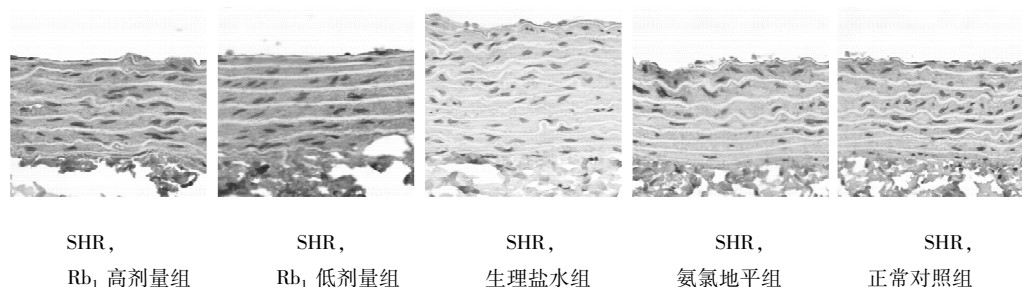


图 1 第 12 周各组大鼠血管壁病理切片（HE 染色，×200）

3 讨论

高血压患者体内存在着过氧化和抗氧化系统失衡,常常处于氧化应激状态。氧化应激(oxidative stress, OS)是指机体组织或细胞内氧自由基生成增加和(或)清除能力降低,导致活性氧在体内或细胞内蓄积而引起的氧化损伤过程。过量自由基的产生与机体清除自由基能力不足,导致病理性自由基反应加剧,使生物膜磷脂中的多不饱和脂肪酸产生过氧化后双键减少,生物膜的完整性丧失,刺激动脉壁结缔组织增生,最终导致高血压。

原发性高血压患者中,血压水平与血液氧化应激标志物呈现正相关,而与内源性抗氧化物质呈现负相关^[2]。通过对抗活性氧(ROS)不仅使得血压降低,而且可以改善血管内皮和肾功能,甚至逆转动脉重构^[3]。这说明高血压的程度与体内氧化应激状态密切相关,改善体内氧化应激状态有利于血压控制。

高血压和高脂血症关系密切,常伴随存在,两者之间不仅存在共同的代谢异常和遗传背景,而且在多种机制上互相影响,互为因果。大量研究表明,高脂血症对血压的影响主要与氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)有关。ox-LDL可以引起内皮细胞的损伤和功能障碍,在高血压患者中,不仅使得血管内皮一氧化氮(NO)水平下降和内皮素(ET-1)水平升高,而且可引起血管壁局部的氧化应激,使血管内皮分泌炎症介质并诱导单核巨噬细胞局部浸润和泡沫细胞的生成,激活血管紧张素转换酶(ACE)使血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)浓度增加;此外,ox-LDL还能够增强血管平滑肌对AngⅡ的刺激反应,减弱内皮依赖性血管舒张功能^[4];以上这些效应的综合效果就是引起血压持续增高。

人参是传统珍贵中药,有滋补强身、扶正固本的疗效,具有广泛的生理药理活性,常应用于抗疲劳,延缓衰老,保护心血管等方面。在心血管保护方面,它不仅调节血压,而且对心律失常、冠心病、心肌梗塞等疾病的恢复有显著的促进作用。其主要活性成分为人参皂苷类物质,根据化学结构不同可以分为三类:人参二醇型和人参三醇型以及齐墩果酸型。不同类型的人参皂苷,对血压的影响不同,总体而言,原人参二醇

类可以引起血压明显下降,而原人参三醇类则可使血压升高^[5]。人参皂苷Rb₁是原人参二醇组含量较高的组分,具有较为显著的抗高血压效应。研究表明,人参皂苷Rb₁可通过刺激内皮细胞依赖的血管舒张,实现降压^[6]。此外,其降压作用的实现也可能与其钙离子通道阻断^[7-8]、降低肾素活性^[9]有关。而本研究从氧化应激的角度入手,探讨了人参皂苷Rb₁对SHR外周血氧化—抗氧化物质的影响,为人参抗高血压的研究带来了新的视角。

本研究显示,人参皂苷Rb₁作用12周后,高剂量组可显著降低SHR血压,而低剂量组虽在一定程度上降低血压,但与生理盐水组比较,差别无统计学意义。同时对人参皂苷Rb₁抗氧化作用也进行了研究,选择反映脂质过氧化程度的丙二醛(MDA)和氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL),反应氧自由基清除能力的超氧化物歧化酶(SOD)作为主要观察指标。结果显示,人参皂苷Rb₁对于上述三个反应机体氧化应激水平的指标均有较为显著的改善作用,MDA伴随ox-LDL下降而下降,在体内ox-LDL是所有氧化形式LDL的总称,其中有一大部分是由MDA-LDL构成,常由LDL经过MDA修饰而来。因此,MDA水平下调,也引起ox-LDL下调,而阳性对照药作用后,ox-LDL水平也有一定程度的下降,与文献报道相一致^[10-12]。12周后处死大鼠,对大鼠血管进行常规病理切片,结果显示人参皂苷Rb₁能显著减轻SHR的血管狭窄。

研究发现,人参皂苷Rb₁对由氧化应激^[13]或氧化LDL(ox-LDL)^[14]损伤的血管内皮细胞具有保护作用,其机制可能与保护细胞的线粒体、提高内皮型一氧化氮合酶(eNOS)表达以及抗氧化酶活性、上调血管内皮生长因子的表达有关。

综上,人参皂苷Rb₁具有较为显著的抗氧化作用,其降压效应部分与其对抗氧化应激作用有关。

参 考 文 献

- [1] 段留法,郑秋甫,曾强,等. 氨氯地平对自发性高血压大鼠内皮舒张功能的影响[J]. 军医进修学院学报, 2002, 23(3): 173-175.
- [2] Khullar M, Relan V, Sehrawat BS. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension [J]. Hypertension, 2004, 43(2): 7-8.

- [3] Chu Y, Iida S, Lund DD, et al. Gene transfer of extracellular superoxide dismutase reduces arterial pressure in spontaneously hypertensive rats: role of heparin-binding domain [J]. *Circ Res*, 2003, 92 (4): 461-468.
- [4] Maliukova NG. Effect of hyperlipidemia on the activity of renin-angiotensin-aldosterone system in patients with chronic cardiac insufficiency [J]. *Lik Sprava*, 2004 Jul-Sep, (5-6): 29-32.
- [5] 杨世杰, 周鸣, 谢湘林, 等. 人参茎叶二醇组和三醇组皂甙对血压等作用影响 [J]. 白求恩医科大学学报, 1991, 17 (1): 20-22.
- [6] Pan C, Huo Y, An X, et al. Panax notoginseng and its components decreased hypertension via stimulation of endothelial-dependent vessel dilatation [J]. *Vascul Pharmacol*, 2012, 56 (3-4): 150-158.
- [7] 曾庆华, 战术, 张文杰, 等. 人皂甙单体 Rb₁ 对豚鼠心肌细胞 I Ca²⁺ 电流阻滞作用的研究 [J]. 白求恩医科大学学报, 1997, 23 (3): 265.
- [8] 张斌, 金士翔, 况锐, 等. 三七皂甙单体 Rb₁ 对心肌细胞膜钙离子通道的影响 [J]. 中国药理学通报, 1998, 14 (1): 33.
- [9] 李朋, 刘正湘. 人参皂甙 Rb₁ 对急性心肌梗死大鼠心室重构的影响 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2006, 14 (2): 118-121.
- [10] Muda P, Kampus P, Teesalu R, et al. Effects of amlodipine and candesartan on oxidized LDL level in patients with mild to moderate essential hypertension [J]. *Blood Press*, 2006, 15 (5): 313-318.
- [11] Phillips JE, Preston Mason R. Inhibition of oxidized LDL aggregation with the calcium channel blocker amlodipine: role of electrostatic interactions [J]. *Atherosclerosis*, 2003, 168 (2): 239-244.
- [12] Zhou MS, Jaimes EA, Raij L. Inhibition of oxidative stress and improvement of endothelial function by amlodipine in angiotensin II-infused rats [J]. *Am J Hypertens*, 2004, 17 (2): 167-171.
- [13] Liu DH, Chen YM, Liu Y, et al. Ginsenoside Rb₁ reverses H2O2-induced senescence in human umbilical endothelial cells: involvement of eNOS pathway [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2012, 59 (3): 222-230.
- [14] He F, Guo R, Wu SL, et al. Protective effects of ginsenoside Rb₁ on human umbilical vein endothelial cells in vitro [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2007, 50 (3): 314-320.

(收稿日期: 2013-09-22)

(本文编辑: 董历华)

楷木与四叶参组合物对水貂呕吐模型的作用

李晓玲 丁波 刘明

【摘要】 目的 采用新型水貂呕吐模型研究楷木与四叶参提取物的组合物(楷组合物)对水貂呕吐模型的作用。**方法** (1) 雄性水貂 30 只随机分成 5 组: 顺铂模型对照组、昂丹司琼组、楷组合物(楷木提取物与四叶参提取物按 1: 1 混合)小、中、大剂量组, 各组分别给予生理盐水、昂丹司琼、楷组合物处理 30 分钟后给予腹腔注射顺铂, 观察顺铂注射后 6 小时内水貂呕吐潜伏期和干呕、呕吐次数。(2) 雄性水貂 30 只随机分成 5 组: 1-phenylbiguanide hydrochloride (PBG) 模型对照组、昂丹司琼组、楷组合物(楷木提取物与四叶参提取物按 1: 1 混合)小、中、大剂量组, 各组分别给予生理盐水、昂丹司琼、楷组合物处理 30 分钟后给予腹腔注射 PBG, 观察 PBG 注射后 6 小时内水貂呕吐潜伏期和干呕、呕吐次数。(3) 将顺铂预处理的水貂在用药 24 小时处死, 取其回肠组织用高效液相电化学检测法(HPLC-ECD)测定 5-羟色胺(5-HT)含量, 并观察楷组合物对顺铂引起的水貂回肠 5-HT 释放的影响。**结果** 楷组合物对顺铂和 PBG 所致水貂呕吐行为有抑制作用, 可延长呕吐潜伏期、减少干呕和呕吐次数($P < 0.05$)。水貂回肠 HPLC 结果示, 顺铂可促进回肠 5-HT 释放, 升高回肠内 5-HT 含量($P < 0.01$)。楷组合物对顺铂引起的水貂回肠 5-HT 释放有抑制作用, 可降低其含量的升高($P < 0.05$)。**结论** 楷组合物有止呕作用; 对顺铂引起的水貂回肠 5-HT 释放有抑制作用, 可降低其含量的升高; 止呕机制涉及到外周

作者单位: 266001 青岛市立医院急诊科(李晓玲); 山东中医药大学基础医学院(丁波); 青岛崂山药用植物研究所(刘明)

作者简介: 李晓玲(1968-), 女, 博士, 副主任医师。研究方向: 神经病学。E-mail: libankang1203@126.com