

doi:10.3969/j.issn.1674-4616.2018.02.006

· 实验研究 ·

风药防风及白芷联合天麻钩藤饮对高血压大鼠的降压增效作用探讨

罗凤英 刘旺

自贡市第一人民医院,四川自贡 643099

摘要 目的 探讨风药(防风、白芷)对肝阳上亢型肾性高血压大鼠的降压增效作用及其机理。方法 将 100 只雄性 SD 大鼠,随机分为正常组(12 只)、手术组(76 只)、假手术组(12 只)。手术组通过缩窄左肾动脉及灌服附子汤建立肝阳上亢型肾性高血压大鼠模型。筛选模型成功大鼠 50 只,随机分为模型组(M 组)、卡托普利组(C 组)、风药组(W 组)、天麻钩藤饮组(T 组)、风药+天麻钩藤饮组(Z 组),每组各 10 只,分别灌胃相应药物,1 次/d;以等体积生理盐水灌胃正常组(N 组)、假手术组(S 组)与 M 组。试剂盒测定各组血清一氧化氮(NO)、内皮素(ET)、血栓素 B₂(TXB₂)及 6-酮-前列腺素(6-K-PGF1 a)含量,免疫组化检测血管紧张素 II 1 型受体(AT1 R)在大鼠胸主动脉中的表达。结果 药物治疗 4 周后,M 组的血压、血清 ET、TXB₂ 及胸主动脉 AT1 R 表达较 S 组明显升高,而血清 NO 与 6-K-PGF1 a 明显减低($P < 0.05$);W 组与 M 组比较,上述指标无统计学意义($P > 0.05$);C 组、T 组及 Z 组的血压、血清 ET、TXB₂ 及胸主动脉 AT1 R 表达较 M 组明显降低,而血清 NO 与 6-K-PGF1 a 升高($P < 0.05$),其中 Z 组上述指标改善程度显著优于 T 组及 C 组($P < 0.05$),T 组与 C 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 风药联合天麻钩藤饮对肝阳上亢型肾性高血压大鼠的降压效果优于单用天麻钩藤饮,风药可增强天麻钩藤饮的降压作用,其机制可能与降低血清 ET、TXB₂ 水平,抑制血管平滑肌 AT1 R 表达,促进 NO、6-K-PGF1 a 生成有关。

关键词 肝阳上亢型肾性高血压大鼠;血管活性物质;风药(防风、白芷);降压增效作用

Study on Antihypertensive and Synergistic Effect of Wind Medicine Fangfeng and Baizhi Combined with Tianma Gouteng Decoction on Hypertensive rats

LUO Fengying, LIU Wang

Zigong First People's Hospital, Zigong 643099, China

Abstract Objective To explore the antihypertensive and synergistic effect of wind medicine Fangfeng and Baizhi on renal hypertensive rats with syndrome of upper hyperactivity of liver yang and its mechanism. **Methods** One hundred male SD rats were randomly divided into normal group($n=12$), operation group($n=76$) and sham operation group($n=12$). In the operation group, the model of renal hypertension was established by constricting the left renal artery and taking Fuzi decoction. Fifty successful rats were randomly divided into three groups: model group(group M), captopril group(group C), wind medicine group(group W), Tianma Gouteng decoction group(group T) and wind drug Tianma Gouteng decoction group(group Z), with 10 rats in each group. Normal group(group N), sham operation group(group S) and group M were perfused with normal saline of equal volume. The serum levels of nitric oxide(NO), endothelin(ET), thromboxane B₂(TXB₂) and 6-keto-prostaglandin(6-K-PGF1 a) were measured by Elisa and the expression of angiotensin II type 1 receptor(AT1 R) in rat thoracic aorta was detected by immunohistochemistry. **Results** After 4 weeks of drug therapy, the blood pressure, serum ET, TXB₂ and AT1 R expression of thoracic aorta in group M were significantly higher than those in group S($P < 0.05$), but the

expression of serum NO and 6-K-PGF1 a in group W were significantly lower than those in group S ($P < 0.05$). There was no significant difference between group W and group M ($P > 0.05$). The blood pressure, serum ET, TXB₂ and AT1 R expression of thoracic aorta in group C, group T and group Z were significantly lower than those in group M ($P < 0.05$), but serum NO and 6-K-PGF1 a were higher than those in group M ($P < 0.05$). The improvement of these indexes in group Z was significantly better than that in group T and group C ($P < 0.05$), and there was no significant difference between group T and group C ($P > 0.05$). **Conclusion** The hypotensive effect of wind medicine combined with Tianma Gouteng decoction on renal hypertensive rats with syndrome of upper hyperactivity of liver yang is better than that of Tianma Gouteng decoction alone. Wind medicine can enhance the antihypertensive effect of Tianma Gouteng decoction, and its mechanism may be related to the reduction of serum ET, TXB₂ level, inhibition of the AT1 R expression in vascular smooth muscle and the promotion of NO, 6-K-PGF1 a formation.

Key words renal hypertensive rats with syndrome of upper hyperactivity of liver yang; vasoactive substances; wind drugs; Fangfeng; Baizhi; hypotensive and synergistic effect

近年来,高血压发病率呈上升趋势,且血压水平与心脑血管事件发生率呈正相关,每增加 20 mmHg 收缩压或 10 mmHg 舒张压,心脑血管事件的发生风险就提升一倍^[1-2]。目前西药降压虽在一定程度上能逆转靶器官的损伤,但其毒副作用较大。相关研究^[3]表明,高血压并不忌用风药,甚至对诸药无效或效果甚微的高血压,风药可大大提高临床疗效。基于此,本实验探讨风药联合天麻钩藤饮的降压增效作用,为临床应用风药治疗高血压提供实验基础和理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

100 只清洁级健康雄性 SD 大鼠,体重 180~220 g,由四川医科大学动物实验中心提供,许可证号:SYXK(川)2013-181。

1.2 实验药品

1.2.1 实验方剂 附子汤:制附子 20 g,配制成(含生药 0.10 g/mL)溶液;风药(1 号方):防风 10 g、白芷 10 g,配制成(含生药 0.18 g/mL)溶液;天麻钩藤饮 I 号方(2 号方):天麻 10 g、钩藤 15 g、石决明 20 g、怀牛膝 10 g、桑寄生 9 g,配制成(含生药 0.576 g/mL)溶液;风药合天麻钩藤饮 I 号方(3 号方):由 1 号方和 2 号方组成,配制成(含生药 0.756 g/mL)溶液。以上中药均由四川医科大学附属中医院中药制剂室制备。

1.2.2 卡托普利片 将卡托普利片(黑龙江诺捷制药有限责任公司,国药准字 H23022272)碾成细粉,加少量蒸馏水配制成浓度为 0.331 mg/mL 的药液。

1.3 实验试剂

NO 硝酸还原酶试剂盒由南京建成生物提供;ET、TXB₂、6-K-PGF1 a ELISA 试剂盒由北京诚林生

物提供;AT1 R 免疫组化试剂盒由 Bioworld 公司提供。

1.4 造模方法

SD 大鼠在适应性喂养 3 天后,使用 ZH-HX-Z 无创血压测量系统测量全部大鼠的基础血压。禁食、禁水 24 h 后,随机选出 12 只作为正常组,其余 88 只大鼠在室温下进行手术,其中假手术组 12 只,手术组 76 只。手术组采用缩窄左肾动脉与加灌附子汤制作肝阳上亢型肾性高血压大鼠模型。术后 2 周再次测血压,凡术后收缩压比术前升高 20 mmHg 且高于 150 mmHg 者确定为高血压大鼠模型成功^[4-5]。继续灌胃附子汤 4 周,并隔日激惹大鼠打斗,制备肝阳上亢型肾性高血压大鼠模型。依照大鼠一般情况(如毛色光泽度降低、性情暴躁、饮水量增加等)及行为学改变(如旋转时间缩短等),判断造模成功。假手术组的造模方式同模型组,但只分离出左肾动脉,不予以结扎,亦不灌胃附子汤。

1.5 分组与给药

从模型成功大鼠中随机选取 50 只,并随机分为模型组(M)、卡托普利组(C)、风药组(W)、天麻钩藤饮组(T)、风药+天麻钩藤饮组(Z),每组各 10 只。分别给予相应治疗药物灌胃,1 次/d,给药量均按人与动物体表面积进行折算所得(约为人的临床剂量的 6.3 倍),M 组以同体积生理盐水灌胃。从正常组及假手术组大鼠中分别随机选取 10 只作为正常组(N)及假手术组(S),以同体积生理盐水灌胃。各组大鼠共计灌胃 4 周后进行指标测定。

1.6 检测指标

1.6.1 动物血压测量 利用 ZH-HX-Z 无创血压测量系统(安徽淮北正华生物有限公司)于每日上午 8

时至 12 时测量大鼠基础血压、术后 2 周、术后 6 周及治疗 4 周末大鼠血压,每次连续测 5 次,取平均值。

1.6.2 NO 的测定 按操作说明书进行,选择波长 550 nm,以空白管调零比色,读取吸光度(OD 值)。NO 含量($\mu\text{mol/L}$)=(测定管 OD 值-对照管 OD 值)/(标准管 OD 值-空白管 OD 值)×标准品浓度(100 $\mu\text{mol/L}$)×样品测试前稀释倍数。

1.6.3 ET、TXB₂、6-K-PGF1 a 测定 均采用 ELISA 法测定,按说明书操作。将空白孔调零,选择波长 450 nm,依次测量各孔的吸光度(OD 值)。计算出标准品的直线回归方程,再利用此方程和样品的 OD 值算出该样品浓度。

1.6.4 胸主动脉 AT1 R 阳性表达 随机从每组大鼠中抽取 5 只大鼠以剪取主动脉弓下约 0.5 cm 胸主动脉,予以固定、常规石蜡包埋、切片,每只大鼠各选取 2 张切片行免疫组织化学法(SABC 法)检测 AT1 R 在大鼠胸主动脉中的阳性表达,操作过程按照说明书进行,在普通显微镜下观察 AT1 R 阳性表达,每张切片随机

抽取 5 个视野,在 IPP 6 0 图像分析系统中计算每个视野下 AT1 R 的阳性表达的平均光密度值(OD)。

1.7 统计学方法

本实验运用 SPSS 22.0 软件进行统计学处理,计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 药物对肝阳上亢型肾性高血压大鼠血压的影响

各组大鼠基础血压比较,差异均无统计学意义。术后 2 周、6 周末,与 N 组和 S 组比较,M 组及各药物大鼠血压明显升高($P<0.05$);各药物组间血压比较差异无统计学意义。用药 4 周后,与 N 组和 S 组比较,M 组大鼠血压明显升高($P<0.05$);与 M 组比较,W 组血压差异无统计学意义,其余药物组均明显降低($P<0.05$);Z 组血压较 W 组及 T 组均明显降低($P<0.05$),T 组与 C 组比较,差异无统计学意义。见表 1。

表 1 各组大鼠收缩压的变化情况($n=10, \text{mmHg}, \bar{x}\pm s$)

组别	基础血压	术后 2 周末血压	术后 6 周末血压	治疗 4 周末血压
N	105±3.08	108±3.52	109±2.02	107±2.47
S	106±3.05	110±4.24	108±4.72	108±2.47
M	106±3.78	154±3.45*	158±5.27*	152±2.73*
C	105±4.47	155±3.06*	158±5.05*	140±3.11 [△]
W	107±5.04	154±2.13*	161±4.81*	151±1.77 [#]
T	106±4.13	155±3.04*	160±4.33*	138±3.24 ^{△□}
Z	105±3.54	154±2.56*	162±4.29*	131±3.38 ^{△#□▲}

与 N 组和 S 组比较* $P<0.05$;与 M 组比较[△] $P<0.05$;与 C 组比较[#] $P<0.05$;与 W 组比较[□] $P<0.05$;与 T 组比较[▲] $P<0.05$

2.2 药物对肝阳上亢型肾性高血压大鼠血清 ET 与 TXB₂ 的影响

治疗 4 周后,与 N 组比较,S 组大鼠血清 ET 与 TXB₂ 差异无统计学意义;M 组血清 ET 与 TXB₂ 较 S 组明显升高($P<0.05$);与 M 组比较,W 组血清 ET 与 TXB₂ 差异无统计学意义,余药物组则明显降低($P<0.05$);且 Z 组较 W 组及 T 组均明显降低($P<0.05$),T 组与 C 组比较差异无统计学意义。见表 2。

2.3 药物对肝阳上亢型肾性高血压大鼠血清 NO 与 6-K-PGF1 a 的影响

治疗 4 周后,与 N 组比较,S 组血清 NO 与 6-K-PGF1 a 差异无统计学意义;M 组血清 NO 与 6-K-PGF1 a 较 S 组明显降低($P<0.05$);与 M 组比较,W 组血清 NO 与 6-K-PGF1 a 差异无统计学意义,余药物组则明显升高($P<0.05$);且 Z 组较 W 组及 T 组均

明显升高($P<0.05$),T 组与 C 组比较差异无统计学意义。见表 3。

表 2 治疗 4 周后血清 ET、TXB₂ 含量 ($n=10, \text{pg/ml}, \bar{x}\pm s$)

组别	ET	TXB ₂
N	93.81±2.18	99.72±1.98
S	93.45±2.49	99.95±2.10
M	154.30±3.48*	154.12±3.21*
C	117.80±2.10 [△]	120.48±2.79 [△]
W	152.85±2.60 [#]	152.80±3.12 [#]
T	117.40±2.08 ^{△□}	121.45±3.12 ^{△□}
Z	105.24±3.04 ^{△#□▲}	106.95±2.18 ^{△#□▲}

与 N 组和 S 组比较* $P<0.05$;与 M 组比较[△] $P<0.05$;与 C 组比较[#] $P<0.05$;与 W 组比较[□] $P<0.05$;与 T 组比较[▲] $P<0.05$

表 3 治疗 4 周后血清 NO、6-K-PGF1 a 的变化
($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	NO(umol/L)	6-K-PGF1 a(pg/ml)
N	31.73 ± 1.79	45.72 ± 2.79
S	31.22 ± 1.43	45.86 ± 2.41
M	23.05 ± 2.10*	30.75 ± 2.66*
C	50.24 ± 2.53 [△]	65.61 ± 2.99 [△]
W	24.64 ± 2.67 [#]	32.94 ± 2.06 [#]
T	50.03 ± 2.55 ^{△□}	64.35 ± 3.22 ^{△□}
Z	59.90 ± 1.88 ^{△#□▲}	85.33 ± 3.42 ^{△#□▲}

与 N 组和 S 组比较* $P < 0.05$; 与 M 组比较[△] $P < 0.05$; 与正常组 假手术组

C 组比较[#] $P < 0.05$; 与 W 组比较[□] $P < 0.05$; 与 T 组比较[▲] $P < 0.05$

2.4 药物对肝阳上亢型肾性高血压大鼠胸主动脉 AT1 R 中表达的影响

光镜下, AT1 R 阳性表达多位于胸主动脉平滑肌中, 呈棕黄色颗粒。与 N 组比较, S 组大鼠胸主动脉 AT1 R 表达差异无统计学意义; M 组大鼠胸主动脉 AT1 R 表达较 S 组明显增多 ($P < 0.05$); 与 M 组比较, W 组大鼠胸主动脉 AT1 R 表达差异无统计学意义, 余药物组均明显减少 ($P < 0.05$); 且 Z 组较 W 组及 T 组均明显减少 ($P < 0.05$), T 组与 C 组比较差异无统计学意义。见图 1a 及图 1b。

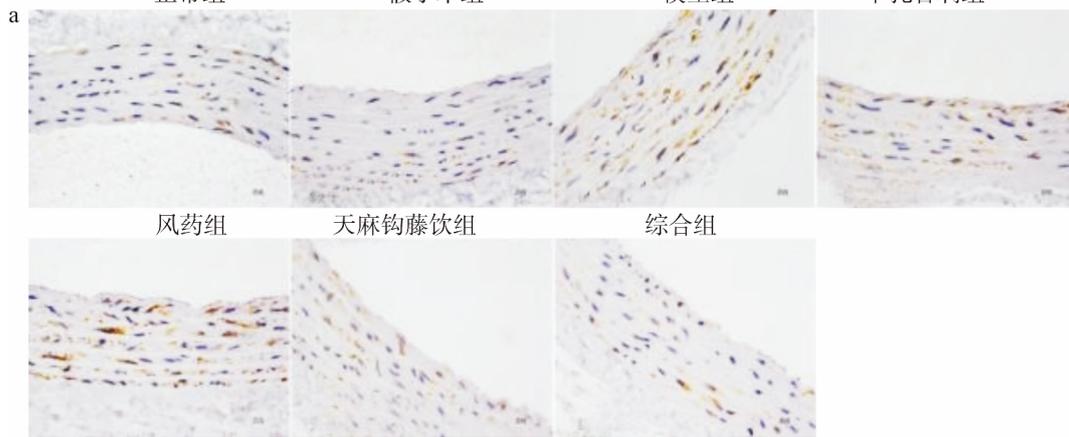
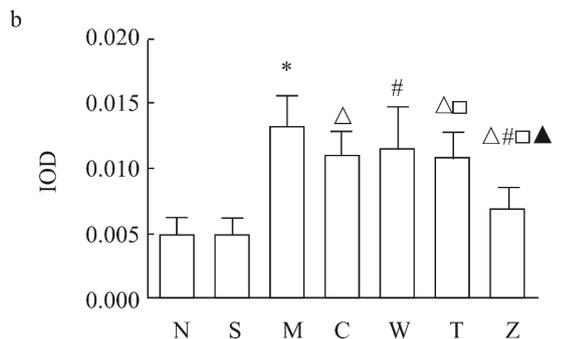


图 1a 各组大鼠胸主动脉 AT1 R 免疫组化染色图片 (×400)



与 N 组和 S 组比较* $P < 0.05$; 与 M 组比较[△] $P < 0.05$; 与 C 组比较[#] $P < 0.05$; 与 W 组比较[□] $P < 0.05$; 与 T 组比较[▲] $P < 0.05$

图 1b 各组大鼠胸主动脉平滑肌 AT1 R 表达的 IOD 值比较

3 讨论

高血压是人类发生脑卒中、心脏疾病、肾脏疾病的重要危险因素之一。有调查^[6]显示, 全球高血压发病率约为 10%, 部分发达国家可达 20%; 我国 18 岁及以上居民高血压发病率约为 18.8%, 占全世界总发病

人数的 1/5。

本实验结果显示, 各给药组均有不同程度降压作用, 其中综合组降压效果尤为明显; 研究结果表明, 风药联合天麻钩藤饮可明显降低肝阳上亢型肾性高血压大鼠血清 ET、TXB₂ 水平, 升高血清 NO、6-K-PGF1 a 水平, 降低肝阳上亢型肾性高血压大鼠胸主动脉平滑肌 AT1 R 的表达, 从而达到降压效果。高血压属于中医学中“头痛”“眩晕”等范畴, 其主要与“痰、瘀、虚、火、风”等因素有关。饮食不洁, 脾胃运化功能失司, 导致气滞、痰凝、血瘀, 气机升降失常, 从而血压升高^[7-8], 故治疗常以“化痰祛瘀, 泻火疏风”为主。一些中医学者^[9]在前辈运用风药的理论与实践基础上, 将风药广泛运用于心脑血管疾病, 尤其在治疗高血压方面积累了相当丰富的理论与临床经验。目前许多研究^[10]表明, 高血压并不忌用风药, 甚至对顽固性高血压, 风药的运用可大大提高临床疗效。风药以“风”冠名, 具有“升、透、散、窜、燥、动、通”的特性, 不仅可解表发汗, 透邪外出, 还能宣通脏腑, 以达到发散祛邪、祛风熄风、活血化瘀、化痰除湿、配伍增效等作用。清

代医家王昂提出“巅顶之上，唯风药可到也”。清代医家龙之章评价风药说：“必加此味始通灵，好如熊经鸱顾在眼前；必加此味始有力，好如抽坎填离在心间…治病岂必在实际，八万毫毛皆能宣。但置风药三两味，便是卢医到身边。”王明杰等^[11]提出，风药与其他药物合理配伍增效效果显著，往往可达 1+1>2，甚至相乘的效应，进而有效治疗高血压。

目前认为血管内皮损伤，是发生血管重塑及血压升高的主要因素。血管内皮细胞可以分泌抗动脉粥样硬化物质和致动脉粥样硬化物质。前者包括 NO 和 6-K-PGF1 a，具有抗凝、扩血管等作用；后者包括 ET 和 TXB₂，具有促凝、缩血管等作用^[12]。两类物质相互作用，保持动态平衡，共同调节血管的舒缩功能及血液的正常循环和血管的重塑。一旦内皮细胞受损，这两类活性物质的动态平衡被打破，表现为血小板聚集粘附于受损部位，ET 及 TXB₂ 分泌增加，NO 及 6-K-PGF1 a 合成减少。

现代药理学研究^[13-17]证实：①防风中正丁醇萃取物可明显降低大鼠血液粘滞度，降低纤维蛋白原含量，抗血小板聚集，发挥抗凝效应；抑制脂质过氧化物形成，清除自由基，保护血管内皮功能；②白芷中欧前胡素具有明显降低血液黏滞度，减少 TXB₂ 分泌，以及抗血小板聚集的作用；③白芷中欧前胡素还能促进血管内皮细胞释放 NO，发挥扩血管作用。另外，方明等^[18]指出，AT1 R 能直接促进心肌间质的成纤维细胞及 I 型胶原蛋白增生，使心肌肥厚，血压升高。故抑制 AT1 R 的表达，可能在一定程度上使血压降低与改善血管重塑。本实验中因风药种类及剂量不多，实验结果发现风药组轻度降压，但与模型组比较，差异无统计学意义；但综合组（即风药合天麻钩藤饮）降低肝阳上亢型肾性高血压大鼠血清 ET、TXB₂ 水平，升高血清 NO、6-K-PGF1 a 水平及降低肝阳上亢型 RHR 胸主动脉平滑肌 AT1 R 表达的效果明显优于单用天麻钩藤饮，两味风药可能通过自身有效成分调节体内 NO、TXB₂ 等舒缩血管的活性物质水平，抑制血小板的聚集，调节血液循环的稳定性及流动性，保护血管内皮细胞，从而降低血压；同时可以直接抑制 AT1 R 在胸主动脉平滑肌中的表达，降低肾素及血管紧张素原活性，进而下调 Ang II 含量，降低血压。

综上，本实验为风药治疗高血压提供了实验及理论依据，但风药具体配伍及剂量等问题，仍需进一步深入研究。

参 考 文 献

[1] Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

Self-reported hypertension and use of antihypertensive medication among adults—United States, 2005–2009 [N]. *MMWR (Morbidity and Mortality Weekly Report)*, 2013, 62(13):237–244.

[2] Cui H, Hu Y, Hong C, et al. A 15 years study of the causes of death among elderly hypertensive patients in a hospital-based sample of China [J]. *Arch Gerontol Geriatr*, 2012, 55(3):709–712.

[3] 郑国庆, 王艳. 祛风药治疗高血压病探微 [J]. *中医杂志*, 2000, 41(4):197–198.

[4] 顾德官, 顾天华, 宁代军, 等. 实验性高血压大鼠的血压观察 [J]. *上海第二医学院学报*, 1985, 5(2):102.

[5] 沃格尔. 药理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 102.

[6] 高飞, 高焱莎. 我国高血压流行病学现状 [J]. *中日友好医院学报*, 2012, 26(5):307–309.

[7] 黄玉梅, 向科明, 许文东. 中西医结合治疗 86 例高血压的临床研究 [J]. *中医临床研究*, 2012, 4(7):81–82.

[8] 黄伟. 中西医结合治疗高血压临床疗效分析 [J]. *现代医药卫生*, 2015, 31(4):588–589.

[9] 胡东鹏. 风药亦为活血药谈 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2011, 18(3):102–103.

[10] 郑国庆, 王艳. 祛风药治疗高血压病探微 [J]. *中医杂志*, 2000, 41(4):197–198.

[11] 王明杰, 黄淑芬, 罗再琼, 等. 风药新识 [J]. *泸州医学院学报*, 2011, 34(5):570–572.

[12] Suzuki H, Abe K, Tojo S, et al. Expressions of P-selectin and HSP72-like immunore activities in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion [J]. *Brain Res*, 1997, 759(2):321–329.

[13] 朱惠京, 张红英, 吴光, 等. 防风正丁醇萃取物对大鼠血液流变学的影响 [J]. *中草药*, 1998, 20(12):812–814.

[14] 吴相久, 金光洙, 金正男, 等. 防风的抗凝作用实验研究 [J]. *延边医学院学报*, 1994, 17(1):16–19.

[15] 毛文星, 李冰, 王志梅, 等. 氧化应激、血管内皮功能障碍与高血压 [J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14(19):3770–3773.

[16] 胡荣. 白芷中欧前胡素提取分离及主要药效学研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2010.

[17] Nie H, Meng LZ, Zhou JY, et al. Imperatorin is responsible for the vasodilatation activity of *Angelica Dahurica* var. *Formosana* regulated by nitric oxide in an endothelium-dependent manner [J]. *Chin J Integr Med*, 2009, 15(6):442–447.

[18] 方明, 彭健. 血管紧张素 II 1 型受体与高血压左心室重构 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2002, 10(5):457–460.

(收稿日期: 2018-02-10)