

紫菜降血压肽大鼠体内降压效果研究[△]

王茵¹, 刘淑集¹, 苏永昌¹, 吴成业^{1*}, 郑秀青²

(1. 福建省水产研究所, 福建 厦门 361012; 2. 厦门大学医学院抗癌研究中心, 福建 厦门 361005)

摘要:目的 观察紫菜降血压肽对高血压大鼠(SHR)和京都Wistar大鼠(WKY)的降压效果,并与降压药物卡托普利的作用效果比较。方法 分别以500、1 000和1 500 mg·kg⁻¹剂量的紫菜降血压肽一次性给药后,每隔2 h测量大鼠收缩压(SBP),连续测量8 h;长期实验持续4 w,每天1 500 mg·kg⁻¹灌胃一次,每隔1周测量一次SBP、心率及体重。结果 SHR给予紫菜降血压肽后,血压均显著下降;而正常血压大鼠WKY服用紫菜降血压肽后血压没有显著变化,服用卡托普利血压仍保持显著下降的趋势。结论 紫菜降血压肽对SHR具有显著的降压效果,长期服用可稳定血压,对正常血压大鼠无明显影响;卡托普利对SHR的降压效果虽高于紫菜降血压肽,但会导致正常大鼠血压过低。

关键词: 紫菜; 降血压肽; 原发性高血压大鼠; 抗高血压; 血管紧张素转化酶

中图分类号: R965

文献标识码: A

文章编号: 1002-3461(2010)03-0017-05

Study on antihypertensive effect of antihypertensive peptide from *Porphyra haitanensis* in rats

WANG Yin¹, LIU Shurji¹, SU Yongchang¹, WU Chengye^{1*}, ZHENG Xiurqing²

(1. Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361012, China;

2. Cancer Research Center of Xiamen University, Xiamen 361012, China)

Abstract: Objective To observe the antihypertensive effect of antihypertensive peptide from *Porphyra haitanensis* on spontaneously hypertensive rats (SHR) and normal blood pressure Wistar rats (WKY), and compared with the medicine captopril. **Methods** A single medication at different doses of antihypertensive peptide from *Porphyra haitanensis* (500, 1 000, 1 500 mg·kg⁻¹) and captopril (20 mg·kg⁻¹) were intragastric administered. After administration, blood pressure (SBP) was measured every 2 h continuously for 8 h, while long-term medication lasted for 4 weeks, offered 1 500 mg·kg⁻¹ once a day and the SBP, heart rate and body weight were determined every other week. **Results** The results showed that after the administrations of antihypertensive peptide from *Porphyra haitanensis* and captopril, the blood pressure all decreased significantly in SHR, but captopril could also reduce the blood pressure in normal WKY. **Conclusion** Antihypertensive peptide from *Porphyra haitanensis* has significant antihypertensive effects on SHR, and would stabilize the pressure by long-term intake. The antihypertensive effect of captopril on SHR was higher than antihypertensive peptide from *Porphyra haitanensis*. However, the latter don't influence the blood pressure of WKY.

①[△] 基金项目: 福建省科技计划重点项目(No. 2008N0105); 福建省自然科学基金(No. 2008J02501)

作者简介: 王茵, 女, 硕士, 研究实习员

* 通讯作者: 吴成业, 男, 研究员 T el: 0592-6016604; E mail: wey@fjcs.ac.cn

Key words: *Porphyra haitanensis*; antihypertensive peptide; spontaneously hypertensive rats (SHR); antihypertension; angiotensin converting enzyme (ACE)

高血压防治为医学界面临的一项艰巨任务,降血压肽是血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)的一种,它通过抑制血管紧张素转化酶(ACE)的活性达到降压效果^[1-4]。近年来,源于天然食品蛋白的降血压肽受到学者的高度关注,高血压患者服用可起到显著的降压作用,且无毒副作用,适合长期服用^[5]。但降血压肽为一种肽类,口服可被消化道内酶分解成为无活性的氨基酸或短肽^[6,7]。紫菜降血压肽是否可以通过胃肠道的分解进入体内发挥降压作用^[8],本实验通过原发性高血压大鼠(SHR)和正常对照京都 Wistar 大鼠(WKY)的一次性给药和长期给药实验,探讨紫菜降血压肽的降压功能。

1 材料与方法

1.1 试验动物

原发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR), 30 只, 19 周龄, 雄性, (350 ± 20) g; 京都 Wistar 大鼠(Wistar Kyoto Rat, WKY), 18 只, 19 周龄, 雄性, (380 ± 20) g, 均由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 动物合格证号: SCXK(沪)2007-0005。大笼饲养, 每笼 6 只, 标准饲料饲养, 自由进食和饮水, 环境温度(24 ± 1) °C, 相对湿度(60 ± 5)%, 每天日照 12 h。大鼠适应环境 7 d 后开始实验。

1.2 试验试剂与仪器

坛紫菜(2007 年 2 月, 购自福建晋江市阿一波食品工贸有限公司); 卡托普利(福建古田药业有限公司); AS. 1398 中性蛋白酶(江苏无锡酶制剂公司)。

BP-6 型动物无创血压测试系统(成都泰盟科技有限公司); LGJ-2 型冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司); LZB-4 型超滤装置(上海摩速科学器材有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 紫菜降血压肽样品制备

采用 AS. 1398 中性蛋白酶在温度 50 °C、pH 7.5、加酶量 E/S 10 000 U · g⁻¹、底物浓度 5% (w/v) 的条件下酶解坛紫菜 10 h^[9]。将酶解产物

于 8 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 收集上清液, 再将上清液经超滤分离获得分子量小于 2 000 的高活性组分, 冷冻干燥后备用, 样品可在干燥环境下稳定保存 1 年以上。

1.3.2 分组及给药

将 30 只 SHR 随机分为 5 组, 每组 6 只, 分别为紫菜降血压肽低、中、高剂量组(500、1 000 和 1 500 mg · kg⁻¹)、卡托普利组(20 mg · kg⁻¹) 和阴性对照组; 18 只正常血压大鼠 WKY 随机分为 3 组, 每组 6 只, 分别为紫菜降血压肽组(1 500 mg · kg⁻¹)、卡托普利组(20 mg · kg⁻¹) 和阴性对照组。各组分别灌胃给予相应药物, 阴性对照组灌胃给予生理盐水。

给药方式分为 2 种, 一次性给药: 给药一次, 在给药前、后 2、4、6 和 8 h 时测定大鼠的血压值; 长期给药: 每天给药 1 500 mg · kg⁻¹, 持续 4 w, 每隔 1 周测量血压 1 次, 同时记录心率和体重的变化。

1.3.3 血压测定

将大鼠装入鼠笼, 按编号顺序放入 BP-6 动物无创血压测试仪的温箱内, 36 °C 预热 10 min, 待电脑监视器上出现大鼠正常的脉搏波形图后, 加压, 保气 10 s 后放气, 记录波形图中收缩压(SBP)数值。如此反复数次, 选取最接近的 5 个血压值, 进行统计分析。

1.3.4 数据统计

实验数据以均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 给药前后血压变化采用单因素 *t* 检验方法, 实验组间采用单因素方差分析进行比较, 采用 SPSS 软件进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 紫菜降血压肽一次性给药对大鼠血压的影响

2.1.1 一次性给药对 SHR 血压的影响

根据各组的不同剂量给药 1 次, SHR 的血压(收缩压)的变化情况如图 1 所示。

给药前各实验组 SHR 的血压均在 193 mmHg 上下。给药后 2 h, 各实验组的 SHR 血压均有显著的下降($P < 0.05$)。从图 1 还可看出, 给药后各

实验组 SHR 血压的变化均呈“先下降后升高”的趋势。血压最低值出现在给药后 2~ 6 h, 在达到最低值之后, 各组 SHR 的血压就逐渐回升, 其降

压效果可以持续 8 h, 表明紫菜降血压肽有一定的降压时效。同时, 也可以看出随着紫菜降血压肽剂量的增加, SHR 血压下降幅度逐渐增加。

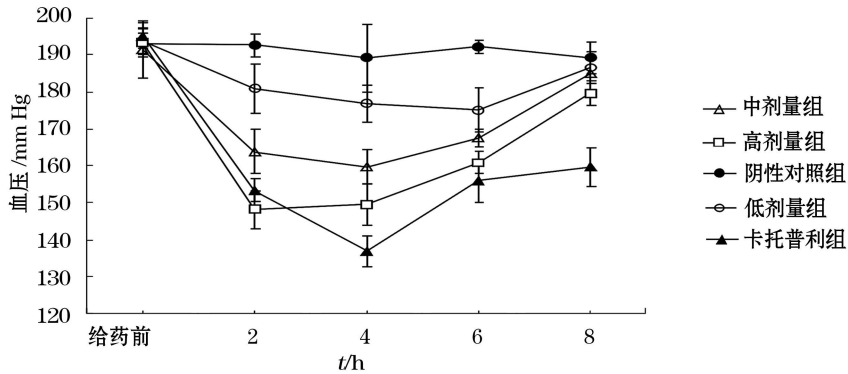


图 1 一次给药实验中 SHR 血压值变化趋势(n= 6)

Fig. 1 The variation trends of SHR blood pressure value with a single administration (n= 6)

2. 1. 2 一次性给药对正常血压大鼠 WKY 血压的影响

紫菜降血压肽组(1 500 mg · kg⁻¹) WKY 的血压与阴性对照组的血压没有显著差别(P> 0.05)。说明, 紫菜降血压肽对 WKY 的正常血压没有影响。

实验结果如图 2 所示, 灌胃前与灌胃 8 h 后,

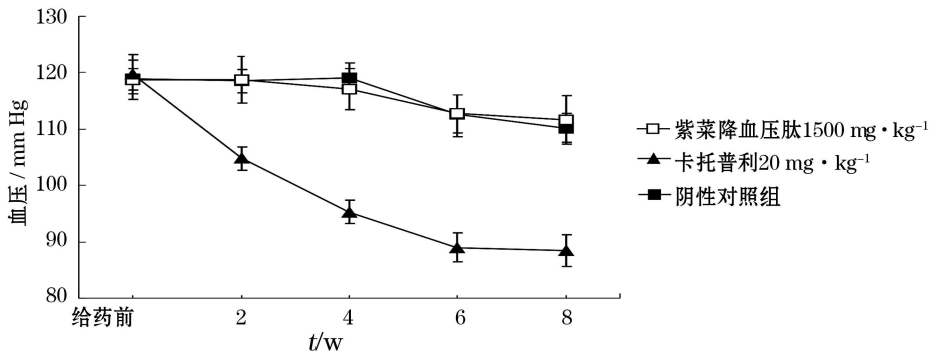


图 2 一次给药实验中 WKY 血压值变化趋势(n= 6)

Fig. 2 The variation trends of WKY blood pressure value with a single administration (n= 6)

2. 2 长期给予紫菜降血压肽对大鼠血压的影响

菜降压肽剂量的增加而增大。持续服药 3、4 周后, 不同剂量组 SHR 的血压都维持在一个较低的稳定水平, 该结果表明, 长期服用紫菜降血压肽可以在降低血压的同时减小血压的波动幅度, 这可以减轻由于血压不稳定而造成对器官的损伤, 可能更适合高血压患者的长期治疗^[10-11]。

2. 2. 1 长期实验对 SHR 血压的影响

结果见表 1。从表中可以看出, 与阴性对照组和给药前相比, 各剂量组的 SHR 在给药后血压均有显著的下降(P< 0.01), 且随着持续给药时间的延长, SHR 血压下降的趋势减缓并逐渐趋于稳定。同时也发现 SHR 血压下降的幅度也随着紫

表 1 长期给药实验中 SHR 血压值变化结果($n=6, \bar{x} \pm s$)Tab. 1 The variations of SHR blood pressure value with long term administration($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	血压/mmHg Blood pressure value/mmHg				
	给药前	1 周	2 周	3 周	4 周
阴性对照组	193.1 ± 2.9 ^a	193.6 ± 4.7 ^a	192.2 ± 3.7 ^a	193.7 ± 1.9 ^a	194.4 ± 5.3 ^a
低剂量组	193.8 ± 3.7 ^a	178.9 ± 3.4 ^{* b}	174.1 ± 2.7 ^{** c}	173.1 ± 1.3 ^{** c}	172.6 ± 2.4 ^{** c}
中剂量组	191.3 ± 3.8 ^a	166.7 ± 4.2 ^{* b}	166.7 ± 5.2 ^{* b}	164.7 ± 3.5 ^{** b}	163.3 ± 1.3 ^{* b}
高剂量组	193.3 ± 3.8 ^a	158.3 ± 4.6 ^{* b}	158.3 ± 5.7 ^{* bc}	156.6 ± 5.1 ^{** c}	156.3 ± 3.1 ^{* c}
Captopril 组	195.3 ± 3.3 ^a	154.5 ± 2.9 ^{* b}	152.5 ± 5.2 ^{** bc}	149.2 ± 4.6 ^{** c}	148.3 ± 4.1 ^{* c}

注: 与阴性对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 同一行中上标字母不同代表有显著性差异($P < 0.05$), 相同则无显著性差异($P > 0.05$)

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control; The different letters in each row mean significant differences ($P < 0.05$), the same letter mean no significant difference ($P > 0.05$)

2.2.2 长期给药实验对正常血压大鼠 WKY 血压的影响

长期给药 WKY 血压的变化情况如图 3 所示。灌胃紫菜降压肽前后, WKY 的血压与阴性对照组 WKY 的血压没有显著变化($P > 0.05$), 而卡托普利仍能够大幅降低正常大鼠 WKY 的血压。

2.2.3 长期服用紫菜降血压肽对大鼠体重的影响

连续给药 4 周后, 各组别大鼠体重变化情况如表 2 所示。结果表明紫菜降血压肽还具有促进生长的作用。另外, 在实验过程中, 对大鼠的心率进行了检测观察。在给药前后, 大鼠的心率都没有显著变化($P > 0.05$), SHR 的心率均为(317.1 ± 17.4) 次/min, WKY 的心率均为(259.9 ± 11.7) 次/min。

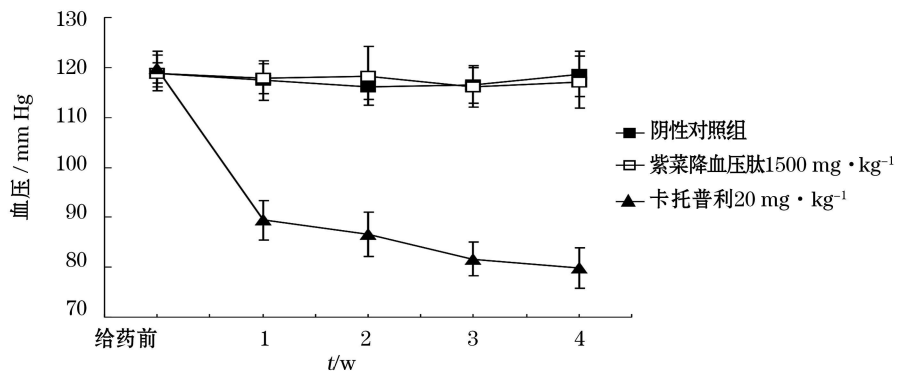


图 3 长期给药实验中 WKY 血压值变化趋势

Fig. 3 The variation trends of WKY blood pressure value with long term administration

表 2 给药 4 周后 SHR 和 WKY 体重的变化情况

Tab. 2 The weight gain of SHR and WKY after 4 weeks of administration

组别 Group	体重增加值/g Weight gain/g
SHR 阴性对照组	14.5 ± 2.0 ^a
SHR 低剂量组	17.7 ± 2.1 ^{ab}
SHR 中剂量组	18.2 ± 3.5 ^b
SHR 高剂量组	21.7 ± 3.2 ^{bc}
SHR 卡托普利组	19.8 ± 2.2 ^c
WKY 阴性对照组	26.0 ± 2.6 ^a
WKY 高剂量组	30.7 ± 4.3 ^a
WKY 卡托普利组	20.7 ± 4.2 ^b

注: 同一列中上标字母不同代表有显著性差异($P < 0.05$), 相同则无显著性差异($P > 0.05$)

Note: The different letters in each line mean significant differences ($P < 0.05$), the same letters mean no significant difference ($P > 0.05$)

3 讨论

目前,高血压病的病因和发生机制尚不完全明确^[10],但有研究资料表明,体内的肾素-血管紧张素系统(RAS)和激肽释放酶-激肽系统(KKS)与血压的调节密切相关^[12]。ACEI被认为是安全有效的降压药物^[13],它通过抑制RAS和KKS中关键酶ACE的活性,而达到降压效果。紫菜降血压肽作为一种ACEI,已通过体外实验证实具有较高的ACE抑制活性^[9],本实验进一步在大鼠体内进行观察,结果显示,紫菜降血压肽能显著降低SHR的血压,长期服用还可达到稳定血压的效果,体内实验与体外测试的结果一致。

紫菜降血压肽与人工合成的降压药卡托普利同属于ACEI,降血压机理相同^[14]。从实验结果中可以看出,两者均具有良好的降压效果。但是,紫菜降血压肽在药效的持续时间和降压效率等方面略低于卡托普利。在实验中还发现,紫菜降血压肽对SHR有明显的降压效果,但对正常血压的WKY却没有影响,而卡托普利对WKY仍有显著的降压作用。这一实验结果与姜瞻梅^[15]、于江虹^[16]等的研究结果相似,说明包括紫菜降血压肽在内的生物多肽在动物体中的副作用明显低于卡托普利之类的合成药物。产生这一现象的原因可能与两者的化学结构有关,虽然紫菜降血压肽与卡托普利同属ACEI的降压药物,但其化学结构明显不同。而紫菜降血压肽以天然海藻为原料,制备工艺安全、化学结构单纯,不仅降压效果显著,不影响正常血压,且具有促进生长的功能,适合长期服用。因此,紫菜降血压肽作为具有降压功效的药物或功能食品的开发更具潜力。

参考文献:

- [1] 王少六. 高血压病的危害及防治[J]. 实用心脑血管病杂志, 2000, 8(3): 181.
- [2] 周宪梁. 高血压病: 人类健康的头号杀手[J]. 科技潮, 2008, (10): 58.
- [3] 刘冬, 李世敏. 降血压肽的研究进展[J]. 深圳职业技术学院学报, 2005, 4(1): 46.
- [4] 黄家音, 朱禹洁. 降血压肽研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(6): 81.
- [5] 赵海珍, 陆兆新, 刘战民. 天然食品来源的血管紧张素转化酶抑制肽的研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2004, 25(5): 315.
- [6] 黄朝明, 孔繁东, 祖国仁. 降血压肽分离的研究现状与展望[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(4): 161.
- [7] Fujita H, Yokoyama K, Yoshikawa M. Classification and antihypertensive activity of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins[J]. *Food Science*, 2000, 65(4): 564.
- [8] 蒋箐莉, 任发政. 食源性降血压肽的评价方法[J]. 中国乳品工业, 2006, 34(6): 36.
- [9] 王茵, 刘淑集, 吴成业. 紫菜降血压肽酶法制备工艺的优化[J]. 福建水产, 2008, (4): 64.
- [10] 易剑, 付瑞平. 高血压治疗的现状与展望[J]. 宜春医学院学报, 2005, 27(4): 89.
- [11] 田新兰, 宋红敏, 周明俭. 高血压病的健康教育[J]. 实用医技杂志, 2007, 14(6): 787.
- [12] 辛志宏, 马海乐, 吴守一. 食品蛋白质中血管紧张素转化酶抑制肽的研究[J]. 江苏大学学报, 2003, 24(4): 17.
- [13] 黄树松. 高血压病的药物治疗进展[J]. 中国医学文摘, 2005, 26(2): 225.
- [14] 史燕涛. 卡托普利临床应用及进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2009, 7(4): 70.
- [15] 姜瞻梅, 高松涛, 田波, 等. 牛乳酪蛋白酶解物对SHR大鼠血压影响的试验研究[J]. 营养学报, 2007, 29(3): 180.
- [16] 于江虹, 赖旭新. 降血压肽的生理活性及应用[J]. 中国食品添加剂, 2000, (2): 11.

(收稿日期: 2009-08-10)