

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.01.015

钩藤提取液对自发性高血压大鼠尿液代谢组学的影响

潘文慧¹, 蒋海强¹, 李运伦^{1,2*}

(1. 山东中医药大学, 山东省济南市经十路 16369 号, 250014; 2. 山东省中医院)

摘要 目的 探讨钩藤的降血压作用及可能作用机制。方法 18 只自发性高血压 (SHR) 大鼠随机分为钩藤组和模型组各 9 只, 9 只 Wistar 大鼠作为正常组。钩藤组大鼠给予钩藤提取液 10.001 g/(kg·d) 灌胃, 模型组和正常组给予 2 ml 生理盐水灌胃, 每日 1 次, 持续 4 周。分别于实验 0、1、2、3、4 周时测定各组大鼠收缩压和舒张压, 于实验 4 周时基于高效液相色谱-飞行时间质谱 (HPLC-TOF/MS) 技术, 分析各组大鼠尿液代谢标志物的变化。结果 模型组和钩藤组在 0、1、2、3、4 周时收缩压和舒张压均明显高于同时间点正常组 ($P < 0.01$)。与模型组同时间点比较, 钩藤组收缩压在 2、3、4 周时降低 ($P < 0.05$); 并且钩藤组在 4 周时收缩压和舒张压均较本组 0、1、2、3 周时降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。共筛选出 12 个差异代谢标志物, 分析发现钩藤干预后存在雄激素与雌激素代谢、 α -亚麻酸和亚油酸代谢、精氨酸与脯氨酸代谢上调, 花生四烯酸代谢、部分鞘脂代谢及色氨酸代谢下调。结论 钩藤具有良好的降压效果, 对一氧化氮的调控是其发挥降压作用的重要环节。

关键词 高血压病; 钩藤; 尿液; 代谢组学; 一氧化氮; 液相色谱

目前全球有超过 10 亿人遭受高血压病的困扰, 且高血压病的发病率呈逐年上升趋势^[1]。特别是 50 岁后, 表现出逐渐上升的收缩压和逐渐下降的舒张压, 加速了动脉硬化的进程^[2], 而动脉粥样硬化是单纯收缩期高血压、左室肥厚和充血性心力衰竭的危险因素^[3]。钩藤 (*Uncaria rhynchophylla*) 具有良好的降压效果和血管内皮保护作用^[4], 其降压机制和异钩藤碱、育亨宾吲哚生物碱等相关^[5-7]。本研究采用代谢组学方法探寻钩藤干预后的自发性高血压大鼠体内尿液代谢标志物的变化, 从代谢组学的视角验证钩藤的降压作用, 为钩藤的临床应用奠定实验基础。

1 材料和方法

1.1 动物

清洁级自发性高血压大鼠 (SHR) 18 只, 雄性, 8 周龄, 体重 (190.74 ± 8.99) g; 清洁级 Wistar 大鼠 9 只, 雄性, 8 周龄, 体重 (190.15 ± 6.37) g, 均购自北京维通利华实验动物技术有限

公司, 实验动物合格证号: SCXK (京) 2012-0001。饲养温度 $17 \sim 25^{\circ}\text{C}$, 湿度 45% ~ 60%, 12 h 光暗循环。

1.2 药物

钩藤收集自湖南省怀化地区, 由山东中医药大学药学院鉴定为合格中药材。钩藤的主要活性成分钩藤碱的含量经高效液相色谱-三重四级杆质谱联用技术 (HPLC-QQQ/MS) 测定为 5.117%。钩藤药材粉碎, 用 10 倍量 95% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 1 h, 药渣用 10 倍量水加热回流提取 3 次, 每次 1 h。经过离心、过滤, 乙醇提取液 60°C 减压浓缩, 水提取液 60°C 水浴蒸发, 混合水、乙醇提取液, 得到的钩藤提取液浓度为 1.0 g/ml。于冰箱 4°C 环境中保存。

1.3 主要试剂及仪器

乙腈 (高效液相色谱级, 批号: 178497)、甲醇 (高效液相色谱级, 批号: 166817)、甲酸 (高效液相色谱级, 批号: 155798) 均购自美国 Fisher 公司; 超纯水由 Milli-Q 水纯化系统 (Millipore, Bedford, MA, USA) 制备。

Agilent 1260 高效液相色谱仪、Agilent 6230 飞行时间质谱仪 (Agilent Technologies, Santa Clara,

基金项目: 国家自然科学基金 (81774242, 81473653); 国家中医药管理局国家中医临床研究基地业务建设科研专项 (JDZX2015144); 泰山学者工程专项

* 通讯作者: li.yunlun@163.com, (0531) 68616038

USA); 色谱柱 HaloC₁₈ 柱 (2.1 mm × 100 mm, 2.7 μm, Advanced Materials Technology, Wilmington Delaware, USA); BP-98A 型无创血压仪 (北京软隆技术有限公司)。

1.4 动物分组和干预措施

大鼠适应性饲养 1 周后, 采用随机数字表法将 18 只 SHR 大鼠分为钩藤组和模型组各 9 只, 9 只 Wistar 大鼠作为正常组。钩藤组大鼠给予钩藤提取液 10.001 g/kg 灌胃, 相当于 60 kg 成年人每日剂量的 20 倍; 模型组和正常组给予生理盐水 2 ml/只灌胃。各组大鼠每日灌胃 1 次, 持续 4 周。2 只正常组大鼠在试验过程中死亡, 最后 25 只大鼠采集尿样进行实验分析。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 血压 在给药前 (0 周) 及给药 1 周、2 周、3 周和 4 周时, 采用无创血压仪测量大鼠血压, 每只大鼠连续测量 3 次, 取平均值作为血压数据记录。

1.5.2 尿液代谢组学研究 1) 收集得到的尿样以 12000 r/min 离心 10 min, 得到的上清液按照 1:1 在水中稀释, 涡旋, 于 0.22 μm 膜过滤。过滤液于 4℃ 条件下保存。2) 色谱为 Agilent 1260 高效液相色谱仪, 色谱柱选择 HaloC₁₈ 柱, 配有双重溶剂系统: 流动相 A 为水 (含 0.1% 甲酸), B 为乙腈 (含 0.1% 甲酸); 洗脱梯度: 0 ~ 15 min 为 10% ~ 60% B, 保持 7 min, 在 22 ~ 24 min 内改为 100% B; 流速为 0.35 ml/min, 柱温设置为 25℃, 每次进样量为 5 μl。3) 采用 Agilent 6230 飞行时间质谱仪于正离子模式下进行检测, 相关参数设置: 毛细管电压 4000 V; 干燥气流速 11 L/min; 干燥气温度 350℃; 雾化器压力 35 psig; 质谱采集范围 100 ~ 1000 m/z; 分辨率为 70000。4) 通过对大鼠尿液样本的代谢数据进行分析获得原始谱图数据 (RAW 格式), 采用 Proteo Wizard 转化软件 (http://proteowizard.sourceforge.net) 将其转化为 mzXML 格式的文件, 采用 R 语言进行数据处理, 得到一个包含质荷比 (m/z)、保留时间和响应度在内的三维矩阵。将该数据导入 SIMCA-P11.5 (Umetrics AB, Umea, Sweden) 进行无监督的主成分分析 (PCA) 和有监督的偏最小二乘法判别分析 (PLS-DA), 挑选出差异变量的投影重要性值 (VIP) 大于 1 的数据。将挑选后的数据导入 MPP 12.6.1 (Mass Profiler Professional, Agilent technologies, USA) 软件, 进行 *t* 检验 ($P < 0.05$) 和对数转换 (Fold Change, FC = 2), 挑选具有潜在统计学意义

的数据。5) 采用 Human Metabolome Database (http://www.hmdb.ca/) 进行标记物的筛查, 对筛选的标记物利用 Matabo Analyst 3.0 中的通路分析模块进行通路的筛选。将差异性代谢标志物的 KEGG 号输入 Cytoscape 3.0 软件, 对其进行代谢网络分析。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 首先进行正态性检验, 若服从正态分布, 则各组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK 检验; 若不服从正态分布, 则采用 Wilcoxon 秩和检验。采用双侧检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间收缩压和舒张压比较

表 1 示, 模型组和钩藤组在 0、1、2、3、4 周时收缩压和舒张压均明显高于同时间点正常组 ($P < 0.01$)。与模型组同时间点比较, 钩藤组收缩压在 2、3、4 周时降低 ($P < 0.05$), 并且钩藤组在 4 周时收缩压和舒张压均较本组 0 ~ 3 周时降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠不同时间收缩压和舒张压比较 (mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	收缩压	舒张压
正常组	0 周	9	137.386 ± 0.548	106.173 ± 1.884
	1 周	9	137.204 ± 0.577	107.936 ± 3.214
	2 周	8	136.779 ± 1.072	106.657 ± 3.060
	3 周	8	137.793 ± 0.978	107.127 ± 3.972
	4 周	7	137.589 ± 0.300	107.836 ± 3.424
模型组	0 周	9	176.350 ± 1.231*	129.177 ± 2.594*
	1 周	9	180.327 ± 0.753*	133.492 ± 4.796*
	2 周	9	181.333 ± 0.536*	130.837 ± 4.332*
	3 周	9	183.638 ± 0.729*	127.756 ± 4.089*
	4 周	9	185.021 ± 0.979*	129.342 ± 4.604*
钩藤组	0 周	9	176.058 ± 0.979*▲	130.062 ± 2.910*▲▲
	1 周	9	179.697 ± 0.310*▲	128.955 ± 4.246*▲▲
	2 周	9	177.621 ± 0.527*▲▲	128.980 ± 4.010*▲▲
	3 周	9	173.794 ± 1.363*▲▲	131.078 ± 3.231*▲▲
	4 周	9	170.665 ± 0.733*▲	123.720 ± 3.513*

注: 与正常组同时间比较, * $P < 0.01$; 与模型组同时间比较, ▲ $P < 0.01$; 与本组 4 周比较, ▲▲ $P < 0.05$, ▲▲▲ $P < 0.01$

2.2 各组大鼠尿液代谢轮廓分析

于正离子模式下获得各组大鼠尿液代谢总离子流图, 展示了 3 组之间存在一定差异, 具体结果见图 1。

2.3 数据分析和模式识别

对标准化后的数据进行无监督的 PCA 分析,

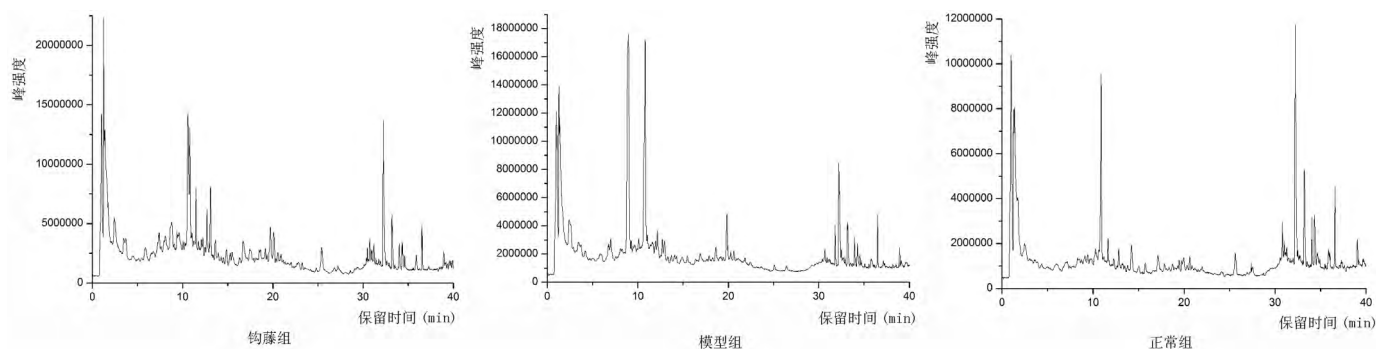
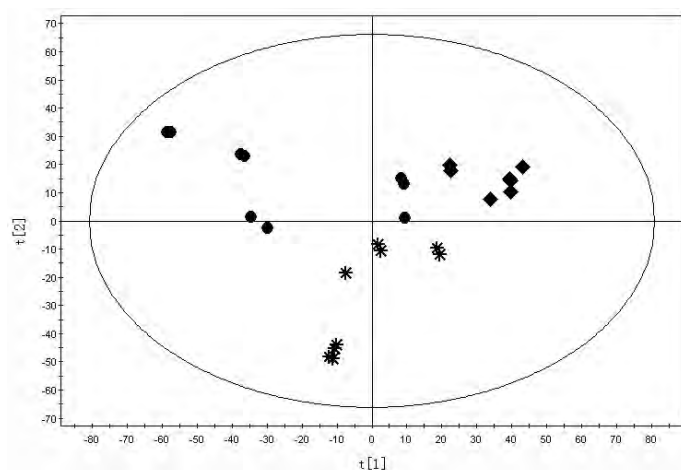


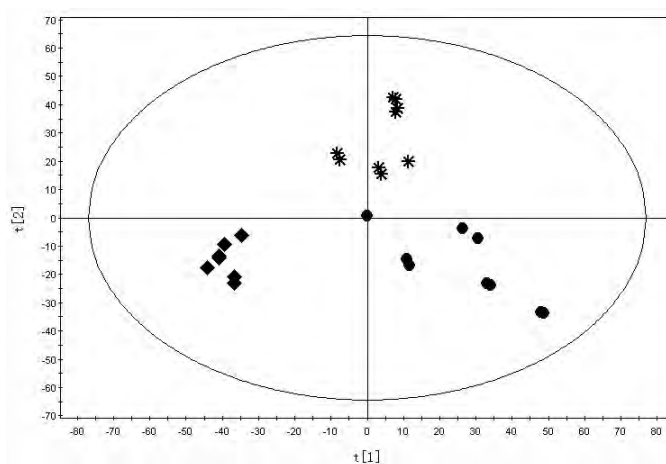
图 1 各组大鼠尿液代谢总离子流图



注: ●钩藤组; ◆正常组; *模型组

图 2 各组大鼠尿液代谢主成分分析二维图

以观察组间聚类效果。PCA 二维图 (见图 2) 展示了 3 组之间的分离效果不理想, 钩藤组和模型组有重叠区域, $R^2X: 0.716$, $Q^2: 0.562$ 。进一步采取有监督的 PLS-DA 分析, PLS-DA 二维图 (见图 3) 展示了 3 组之间明显的分离情况, $R^2X: 0.774$, $R^2Y: 0.994$, $Q^2: 0.955$ 。经过 PCA 和 PLS-DA 分析说明 3 组大鼠的尿液代谢成分确实存在差异。



注: ●钩藤组; ◆正常组; *模型组

图 3 各组大鼠尿液代谢偏最小二乘法判别分析二维图

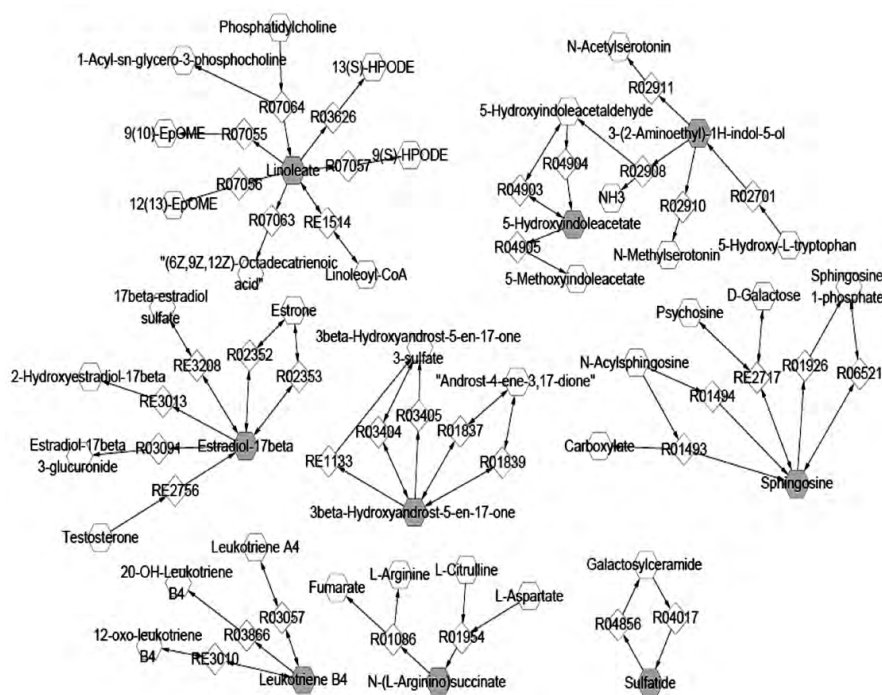
2.4 差异代谢物筛选及鉴定

挑选 PLS-DA 模块下 $VIP > 1$ 的数据, 通过 MPP 12.6.1 软件下的 t 检验及 FC 分析, 进一步挑选 $P < 0.05$ 和 $FC > 2$ 的值作为潜在的代谢标志物, 进行下一步标志物鉴定。通过 HMDB 数据库搜索, 一共获得了 12 个具有统计学意义的代谢标志物 (见表 2), 这可以视为钩藤发挥降压作用的靶向标志

表 2 正常组、钩藤组与模型组比较具有统计学意义的代谢标志物

序号	代谢通路	标志物	HMDB 号	精确分子量	保留时间(s)	正常组	钩藤组
1	雄激素与雌激素代谢	雌二醇	HMDB0000151	272.1776	574.1532	↑	↑
2	雄激素与雌激素代谢	睾酮	HMDB0000234	288.2089	2380.1589	↓	↑
3	雄激素与雌激素代谢	脱氢表雄酮	HMDB0000077	288.2089	2380.1589	↓	↑
4	α -亚麻酸和亚油酸代谢	亚油酸	HMDB0000673	280.2402	2479.9515	↑	↑
5	α -亚麻酸和亚油酸代谢	二十二碳五烯酸(22n-6)	HMDB0001976	330.2559	2159.1056	↑	↑
6	花生四烯酸代谢	白三烯 B4	HMDB0001085	336.2301	2671.2775	↓	↓
7	精氨酸与脯氨酸代谢	精氨酸琥珀酸	HMDB0000052	290.1226	1410.2606	↑	↑
8	鞘脂代谢	鞘氨醇	HMDB0000252	299.2824	2244.2836	↓	↓
9	鞘脂代谢	3-O-磺酰基神经酰胺(D18:1/24:0)	HMDB0000024	891.6469	2557.7676	↑	↑
10	色氨酸代谢	5-羟色胺	HMDB0000259	176.0950	597.6013	↓	↓
11	色氨酸代谢	5-羟基吲哚乙醛	HMDB0004073	175.0633	1209.6602	↓	↑
12	色氨酸代谢	5-羟基吲哚乙酸	HMDB0000763	191.0582	726.4337	↑	↑

注: ↑, 与模型组相比标志物上调; ↓, 与模型组相比标志物下调



注: 代表输入的代谢标志物; 代表反应生成的化合物; 代表反应过程

物。经钩藤干预后,雄激素与雌激素代谢、 α -亚麻酸和亚油酸代谢、精氨酸与脯氨酸代谢上调;花生四烯酸代谢及部分鞘脂代谢、色氨酸代谢水平下调。

2.5 尿液代谢标志物网络分析

利用 Cytoscape 3.0 软件绘制差异性标志物的代谢网络图，图 4 展示了各代谢标志物之间的相互关系及其分布。

3 讨论

通过代谢标志物及通路的生物学意义分析,我们发现上述标志物和一氧化氮 (NO) 存在直接或间接的联系。有实验表明,钩藤的主要成分钩藤总碱能提高体内或体外的 NO 水平,发挥心血管保护作用^[7-8]。NO 是公认的降压标志物:一方面,内皮依赖性 NO 是血管舒张的潜在调节因子,通过激活血管平滑肌细胞中的鸟苷酸环化酶,使细胞内环磷酸鸟苷大量产生并堆积,扩张血管进而发挥降压作用^[9];另一方面,NO 能抑制血小板聚集,在调节心血管稳态中扮演重要角色^[10]。

本研究结果显示,在雄激素与雌激素代谢通路中,雌二醇、睾酮、脱氢表雄酮 3 个特征性代谢标志物均能提高 NO 水平。雌二醇是雌激素家族的组成部分,非选择性雌激素受体能刺激雌二醇降低血压^[1],其降压机制可概括为增强内皮型一氧化氮合酶(eNOS)活性、升高 NO 水平^[2]。研究表

明,雌二醇和雌激素受体结合,通过转录调控激活 eNOS 基因表达,进而增强 eNOS 活性或蛋白表达^[13],雌二醇也可通过和雌激素膜受体结合提高细胞内钙离子浓度,增加 eNOS 活性,提高 NO 水平^[14]。睾酮在高血压病的进展中也发挥重要作用,内源性睾酮对血管内皮具有保护作用^[15]。睾酮能上调 eNOS 的表达,促进 eNOS 磷酸化,进而增加 NO 的释放,导致血管舒张^[16]。此外,睾酮还能转化为雌二醇^[17]。脱氢表雄酮是性激素的前体,可以通过 3 β -羟类固醇脱氢酶和 17 β -羟类固醇脱氢酶转化为雌二醇、睾酮^[18]。此外,脱氢表雄酮可以促进 eNOS 磷酸化,提高 NO 的生物利用度^[19]。3 个标志物的水平在钩藤组均高于模型组,提示钩藤组大鼠经钩藤治疗后体内 NO 水平上升,从而导致血压水平下降。

在鞘脂代谢通路中,我们发现了鞘氨醇和 3-O-硫酰基神经酰胺 (D18 : 1/24 : 0) 两个代谢标志物。神经鞘氨醇通过神经酰胺激酶转化成为神经酰胺,也能通过鞘氨醇激酶 1、2 转化为鞘氨醇 1-磷酸 (S1P) [2]。神经酰胺诱导蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的激活,可抑制 eNOS 的磷酸化,降低 NO 水平,损伤内皮细胞 [2]。神经鞘氨醇的含量在钩藤组呈下降趋势,标志着其下游代谢产物神经酰胺水平下降,故能减少内皮细胞的损伤。此外,低浓度的 S1P 通过控制血管收缩物质的渗漏增强内

皮屏障,而高浓度的 S1P 对血管收缩物质渗漏的控制力减弱,进而破坏内皮屏障^[21]。3-O-硫酰基神经酰胺 (D18: 1/24: 0) 是一种内源性糖脂疏化物,能抑制鞘氨醇激酶 2 的活性^[22],3-O-硫酰基神经酰胺 (D18: 1/24: 0) 在钩藤组明显升高,进而抑制鞘氨醇激酶 2,降低 S1P 浓度,从而保护血管内皮。

本研究借助尿液代谢组学研究平台,探讨钩藤降压过程中代谢标志物和通路的变化,总结出 NO 的调节是钩藤降血压过程中的关键环节,为今后钩藤的临床应用提供理论指导和实验支持。

参考文献

- [1] LOPEZ-JARAMILLO P, LOPEZ-LOPEZ J, LOPEZ-LOPEZ C. Sodium intake recommendations: a subject that needs to be reconsidered [J]. *Curr Hypertens Rev*, 2015, 11 (1): 8-13.
- [2] WEBER MA, SCHIFFRIN EL, WHITE WB, et al. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension [J]. *J Hypertens*, 2014, 32 (1): 3-15.
- [3] GEORGIANOS PI, SARAFIDIS PA, LIAKOPOULOS V. Arterial stiffness: a novel risk factor for kidney injury progression? [J]. *Am J Hypertens*, 2015, 28 (8): 958-965.
- [4] LI Y, YANG W, ZHU Q, et al. Protective effects on vascular endothelial cell in N^ω-nitro-L-arginine (L-NNA)-induced hypertensive rats from the combination of effective components of *Uncaria rhynchophylla* and *Semen Raphani* [J]. *Biosci Trends*, 2015, 9 (4): 237-244.
- [5] ZHOU J, ZHOU S. Isorhynchophylline: A plant alkaloid with therapeutic potential for cardiovascular and central nervous system diseases [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83 (4): 617-626.
- [6] NDAGIJIMANA A, WANG X, PAN G, et al. A review on indole alkaloids isolated from *Uncaria rhynchophylla* and their pharmacological studies [J]. *Fitoterapia*, 2013, 86: 35-47. doi: 10.1016/j.fitote.2013.01.018.
- [7] 焦华琛,李运伦,姜月华,等. 钩藤总生物碱和芥子碱硫酸盐组分对血管内皮细胞的变化作用和机制 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21 (5): 397-403.
- [8] LI YL, JIANG YH, YANG CH, et al. Enhanced protective effect of the combination of *uncaria* and *semen raphani* on vascular endothelium in spontaneously hypertensive rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 358352. doi: 10.1155/2015/358352.
- [9] ZHANG C, HEIN T, WANG W, et al. Upregulation of vascular arginase in hypertension decreases nitric oxide-mediated dilation of coronary arterioles [J]. *Hypertension*, 2004, 44 (6): 935-943.
- [10] DE MEIRELLES LR, MENDES-RIBEIRO AC, MENDES MA, et al. Chronic exercise reduces platelet activation in hypertension: upregulation of the L-arginine-nitric oxide pathway [J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2009, 19 (1): 67-74.
- [11] ARIAS-LOZA PA, HU K, DIENESCH C, et al. Both estrogen receptor subtypes, alpha and beta, attenuate cardiovascular remodeling in aldosterone salt-treated rats [J]. *Hypertension*, 2007, 50 (2): 432-438.
- [12] 王丽,汪佩,李岩鹏,等. 17β-雌二醇和 2-甲氧基雌二醇对慢性低氧性肺动脉高压大鼠体内内皮素-1/一氧化氮体系的影响 [J]. *中国循环杂志*, 2016, 31 (5): 489-494.
- [13] HOX V, DESAI A, BANDARA G, et al. Estrogen increases the severity of anaphylaxis in female mice through enhanced endothelial nitric oxide synthase expression and nitric oxide production [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 135 (3): 729-736.
- [14] RESLAN OM, KHALIL RA. Vascular effects of estrogenic menopausal hormone therapy [J]. *Rev Recent Clin Trials*, 2012, 7 (1): 47-70.
- [15] AKISHITA M, HASHIMOTO M, OHIKE Y, et al. Low testosterone level is an independent determinant of endothelial dysfunction in men [J]. *Hypertens Res*, 2007, 30 (11): 1029-1034.
- [16] WYNNE FL, KHALIL RA. Testosterone and coronary vascular tone: implications in coronary artery disease [J]. *J Endocrinol Invest*, 2003, 26 (2): 181-186.
- [17] ZHARIKOVA OL, DESHMUKH SV, NANOVSKEYA TN, et al. The effect of methadone and buprenorphine on human placental aromatase [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 71 (8): 1255-1264.
- [18] TAKEUCHI S, MUKAI N, TATEISHI T, et al. Production of sex steroid hormones from DHEA in articular chondrocyte of rats [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 293 (1): E410-E415.
- [19] CAMPOREZ JP, AKAMINE EH, DAVEL AP, et al. Dehydroepiandrosterone protects against oxidative stress-induced endothelial dysfunction in ovariectomized rats [J]. *J Physiol*, 2011, 589 (Pt 10): 2585-2596.
- [20] KERAGE D, BRINDLEY DN, HEMMINGS DG. Review: novel insights into the regulation of vascular tone by sphingosine 1-phosphate [J]. *Placenta*, 2014, 35 (Suppl): S86-S92.
- [21] ZHANG QJ, HOLLAND WL, WILSON L, et al. Ceramide mediates vascular dysfunction in diet-induced obesity by PP2A-mediated dephosphorylation of the eNOS-Akt complex [J]. *Diabetes*, 2012, 61 (7): 1848-1859.
- [22] DON AS, ROSEN H. A lipid binding domain in sphingosine kinase 2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 380 (1): 87-92.

(下转第 71 页)

times. The property combination with frequency larger than 15 times were as follows, i. e. cold-bitter-liver with 38 times, cold-bitter-lung with 28 times, cold bitter stomach with 25 times, warm-pungent-liver with 20 times, cold-bitter-heart with 19 times, cold-bitter-large intestine with 18 times, warm-pungent-spleen with 18 times, warm-pungent-lung with 17 times, warm-pungent-stomach with 17 times, cold-sweet-lung with 15 times, cold-pungent-liver with 15 times, calm-bitter-liver with 15 times, warm-bitter-liver with 15 times. A total of 36 kinds of efficacy were involved, with a total frequency of 545, of which the top 10 in terms of frequency were relieving heat with 77 times, promoting blood circulation for removing blood stasis with 42 times, dissipating phlegm and relieving cough and asthma with 38 times, eliminating dampness and diuresis with 38 times, tonifying deficiency with 37 times, arresting bleeding with 30 times, removing toxicity with 28 times, arresting pain with 27 times, relieving dampness with 24 times, and expelling intestinal parasites with 21 times. The strong association rules for the medicinal properties and efficacy of antiviral Chinese herbs were 13 articles, including cold-bitter-liver and relieving heat, calm-bitter-liver and relieving heat, and warm-pungent-lung and relieving superficialities. **Conclusion** The drug combination of antiviral herbs is simultaneous use of coldness with warmth, and pungency with bitterness. The law of efficacy category is multi-method, and it is not limited to clearing method. The law of drug efficacy association is that of medicinal property with the efficacy.

Keywords antiviral Chinese medicine; viral diseases; drug properties; drug efficacy; association rules

(收稿日期: 2018 - 07 - 10; 修回日期: 2018 - 10 - 15)

编辑: 邓 媛

(上接第 66 页)

Effects of Guoteng (*Uncaria Rhynchophylla*) Extracting Solution on Urine Metabolomics in Spontaneously Hypertensive Rats

PAN Wenhui¹, JIANG Haiqiang¹, LI Yunlun^{1,2}

(1. Shandong University of Chinese Medicine, Jinan 250014; 2. Traditional Chinese Medicine Hospital of Shandong Province)

ABSTRACT **Objective** To explore the anti-hypertensive effect and possible mechanism of Guoteng (*Uncaria Rhynchophylla*) . **Methods** A total of 18 spontaneously hypertensive (SHR) rats were equally divided into a Guoteng group and a model group, and 9 Wistar rats were selected as the normal group. The rats in the Guoteng group were given 10.001 g/(kg · d) of the extracting solution of Guoteng (*Uncaria Rhynchophylla*) , and the rats in the model group and the normal group were given 2 ml of normal saline, and were intragastrically administered once a day for 4 weeks. Systolic and diastolic blood pressure were measured in each group after treated 0, 1, 2, 3, and 4 weeks. The changes of urine metabolic markers in each group were analyzed by high performance liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry (HPLC-TOF/MS) after 4 weeks. **Results** The systolic and diastolic blood pressures of the model group and the Guoteng group were significantly higher than those of the normal group in 0, 1, 2, 3, and 4 weeks ($P < 0.01$) . Compared with the model group, the systolic blood pressure of the Guoteng group was decreased in 2, 3, and 4 weeks ($P < 0.05$) , and the systolic and diastolic blood pressures of the Guoteng group were lower in 4 weeks than those in the 0, 1, 2 and 3 weeks ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) . A total of 12 distinctive biomarkers were screened, and analysis showed that the androgen and estrogen metabolism, α -linolenic acid and linoleic acid metabolism, arginine and proline metabolism up-regulation, arachidonic acid metabolism, sphingolipid metabolism, and tryptophan metabolism were down-regulated. **Conclusion** Guoteng (*Uncaria Rhynchophylla*) has a good antihypertensive effect, and an important part of its antihypertensive effect is the regulation of nitric oxide.

Keywords hypertension; *Uncaria Rhynchophylla*; urine; metabolomics; nitric oxide; liquid chromatography

(收稿日期: 2018 - 05 - 16; 修回日期: 2018 - 08 - 20)

编辑: 邓 媛