

## 黄杞叶总黄酮对大鼠实验性脑缺血保护作用的研究

潘照斌\* ,李斐朝 ,廖月娥 ,林晓崧

(广西贵港市第二人民医院 ,广西 贵港 537132)

**[摘要]** 目的:研究黄杞总黄酮对大鼠实验性脑缺血的保护作用。方法:取 Wistar 大鼠 ,随机分为假手术组、模型组、黄杞总黄酮组(500 250 125 mg·kg<sup>-1</sup>)和三七通舒胶囊(50 mg·kg<sup>-1</sup>)组 ,采用线栓法和结扎双侧颈总动脉法复制大鼠脑缺血模型 ,观察黄杞总黄酮对局灶性脑缺血大鼠神经功能症状、脑梗死面积 ,对急性脑缺血再灌注损伤大鼠脑含水量以及脑组织 SOD 活性、MDA 和 NO 水平的影响。结果:黄杞总黄酮对局灶性脑缺血大鼠的神经运动障碍有明显改善作用 ,也明显减小脑梗死面积;同时能减轻急性脑缺血再灌注损伤引起的大鼠脑水肿 ,提高损伤脑组织的 SOD 活性 ,降低 MAO 以及 NO 水平。结论:黄杞总黄酮对大鼠实验性脑缺血有一定的保护作用。

**[关键词]** 黄杞总黄酮;局灶性脑缺血;脑缺血再灌注损伤

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)05-0223-04

### Protective Effect of Total Flavone of *Engelhardtia roxburghiana* Folium on Experimental Cerebral Ischemia in Rats

PAN Zhao-bin\* ,LI Fei-chao ,LIAO Yue-e ,LIN Xiao-song

(The Second People's Hospital of Guigang ,Guigang 537132 ,China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the protective effect of total flavone of *Engelhardtia roxburghiana* (TFER) on experimental cerebral ischemia of rats. **Method:** Sixty Wistar rats were randomized into pseudo operation group , model group ,TFER groups(500 250 125 mg·kg<sup>-1</sup>) ,Sanqi Tongshu Capsule group(50 mg·kg<sup>-1</sup>). Methods of occlusion of middle cerebral artery and occlusion of bilateral common carotid arteries with ligation were used to establish rat models of cerebral ischemia ,and the effect of symptom of neurological function and area of cerebral infarction were measured for focal cerebral ischemia injury model ,and cerebral water content ,the SOD activity ,MDA and NO level were determined for acute cerebral ischemia-reperfusion injury model. **Result:** TFER could improve neurological function and decrease the area of ischemia ,and palliate cerebral edema ,increase the SOD activity ,and decrease the MDA and NO level in the brain tissue in the rats. **Conclusion:** TFER has a protective effect on experimental cerebral ischemia of rats.

**[Key words]** total flavone of *Engelhardtia roxburghiana* (TFER); focal cerebral ischemia; cerebral ischemia reperfusion injury

黄杞叶为胡桃科植物黄杞 *Engelhardtia roxburghiana* 的干燥叶 ,分布于广东、广西、云南等地<sup>[1]</sup>。黄杞叶作为广西常用壮药之一 ,资源非常丰富。黄杞总黄酮是从黄杞叶中提取的黄酮类成分 ,药理作用广

泛 ,特别在活血化瘀如抗血小板聚集、抗血栓、抗凝血、抗急性肺栓塞、降血脂等方面表现出较强的药理活性<sup>[2-3]</sup>。黄杞总黄酮抗心脑血管异常作用已经引起学者的重视 ,但其对脑缺血保护方面的研究十分有限。本实验开展黄杞总黄酮对大鼠实验性脑缺血保护作用研究 ,并探讨其可能的作用机制。

#### 1 材料

**1.1 药物与试剂** 黄杞总黄酮 ,桂林医学院科学实

**[收稿日期]** 20100901(004)

**[通讯作者]** \* 潘照斌 ,主管药师 ,临床药理 ,Tel:13878543911 ,  
E-mail: wenyong1018@126.com

验中心;三七通舒胶囊,成都华神集团股份有限公司制药厂,批号 940316;超氧化物歧化酶(SOD)测试盒,批号 20050514;丙二醛(MDA)测试盒,批号 20060701;一氧化氮(NO)测试盒,批号 20060701,均购自南京建成生物工程研究所。氯化-2,3,5-三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC), E. Merck 公司上海化学试剂分装厂,用 PBS 配制,避光低温保存。

1.2 动物 Wistar 种大鼠,体重 200~250 g,清洁级,由广西医科大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(桂)2003-0002。动物按性别分笼饲养于 SPF 动物实验室内,自由饮水和喂标准颗粒饲料。

1.3 仪器 SM-3 自动化酶免分析仪,北京天石医疗用品制作所生产;1472-CHA 型电子精密天平。

## 2 方法

2.1 对大鼠局灶性脑缺血(MCAO)模型的保护作用<sup>[4]</sup>

2.1.1 分组与给药方法 取大鼠 60 只,雌雄各半,随机分为假手术组、模型组、黄芩总黄酮高、中、低剂量(500, 250, 125 mg·kg<sup>-1</sup>)组及阳性药三七通舒胶囊(50 mg·kg<sup>-1</sup>)组,每组 10 只。每天按 10 mL·kg<sup>-1</sup>体重 ig 给药,连续 7 d。

2.1.2 模型的制备 照 Nagasawa 等<sup>[4]</sup>的方法制作右侧大脑中动脉栓塞(Middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型。用 10%的水合氯醛(350 mg·kg<sup>-1</sup>) ip,麻醉大鼠,手术分离颈内、外动脉,将栓线插入血管内并阻断大脑中动脉,插入深度由颈内动脉分叉处计约(18.5±0.5)mm。缝合皮下筋膜及皮肤,即为 MCAO 模型。假手术组动物,除手术过程中不插入线栓以外,其他过程相同。

2.1.3 神经症状评分 神经症状按 Longa<sup>[5]</sup>等 5 分制评分。评分标准 0 分:无神经功能缺损症状,活动正常。1 分:轻微神经功能缺损,不能完全伸展对侧前爪。2 分:中度局灶性神经功能缺损,爬行时出现向对侧转圈(追尾现象)。3 分:重度局灶性神经功能缺损,行走时身体向对侧倾斜。4 分:不能自发行走,意识水平下降。

2.1.4 脑梗死面积测量 大鼠断头取全脑,去除小脑、低位脑干和嗅球,将前脑沿冠状面切成厚 2 mm 脑切片 5 片,置于 2% TTC 中,37℃避光孵育 30 min。10% 甲醛固定 24 h 后数码相机拍照,照相后在照片上用透明坐标纸测量梗死区截面积和全脑

面积,计算梗死面积百分比。

2.2 对大鼠急性脑缺血再灌注损伤的保护作用<sup>[5]</sup>

2.2.1 分组与给药方法 取大鼠 60 只,雌雄各半,分组与给药方法同 2.1.1

2.2.2 模型的制备 用水合氯醛按 350 mg·kg<sup>-1</sup>体重 ip 麻醉,仰卧固定,切开颈部分离出双侧颈总动脉,用鼠动脉夹同时关闭之,45 min 后同时打开动脉夹,使血流再灌注。假手术组动物,除手术过程中不夹闭双侧颈总动脉以外,其他过程相同。45 min 后处死大鼠,迅速开颅取出完整脑组织,取右半脑准确称取湿质量(从处死大鼠至称质量完毕,在 5 min 内完成)进行脑含水量测定。另取左半脑测定脑组织中 SOD 活性,MDA,NO 含量。

2.2.3 脑含水量测定方法 将准确称质量之新鲜右半脑组织置 85℃恒温干燥箱内烤 60 h,准确称其干质量(精确至 0.1 mg),脑含水量计算公式:

$$\text{脑组织含水量} = (\text{湿质量} - \text{干质量}) / \text{湿质量} \times 100\%$$

2.2.4 脑组织 SOD 活性,MDA,NO 含量测定 左半脑组织标本分别置于玻璃匀浆器,按质量与体积比为 1:9 比例冰浴下以冰生理盐水制备成 10%的脑组织匀浆,立即放入 -30℃冰箱中保存,用试剂盒测定大鼠脑组织中 SOD 活性,MDA,NO 含量。

2.3 统计方法 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用方差分析,数据统计采用 SPSS13.0 软件系统处理。 $P < 0.05$  有统计学意义。

## 3 结果

3.1 黄芩总黄酮对 MCAO 大鼠神经行为障碍的影响 结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠表现出明显的神经运动功能障碍,对侧前爪不能完全伸展,左侧肢体肌张力下降,意识水平下降,行走时向左侧旋转,呈追尾征表现,表明本实验模型制备成功。与模型组比较,阳性对照药三七通舒胶囊组及黄芩总黄酮高、中剂量组大鼠神经功能障碍评分均低于模型组,与模型组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示黄芩总黄酮对 MCAO 大鼠神经行为缺陷有一定的改善,结果见表 1。

3.2 黄芩总黄酮对 MCAO 大鼠脑梗死面积的影响 模型组大鼠脑冠状切面梗死灶与正常脑组织(红色)界线较明显,梗死面积明显大于假手术组( $P < 0.05$ );黄芩总黄酮高、中剂量组和阳性对照药三七通舒胶囊组大鼠脑梗死面积显著缩小,大多数梗死灶内可见点状染色区,与模型组比较差异均有统计

学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 结果见表 2。

表 1 黄芩总黄酮对 MCAO 大鼠神经功能的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	动物数 /只	神经功能评分
假手术	-	10	0 <sup>2)</sup>
模型	-	8	2.50 ± 0.93
三七通舒	50	9	1.22 ± 0.97 <sup>1)</sup>
黄芩总黄酮	500	9	1.44 ± 0.88 <sup>1)</sup>
	250	8	1.50 ± 0.93 <sup>1)</sup>
	125	9	2.33 ± 0.71

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 2~4 同)。

表 2 黄芩总黄酮对 MCAO 大鼠脑梗死面积的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	动物数 /只	梗死面积 / %
假手术	-	10	0 <sup>2)</sup>
模型	-	8	4.18 ± 0.41
三七通舒	50	9	2.05 ± 0.30 <sup>2)</sup>
黄芩总黄酮	500	9	2.20 ± 0.41 <sup>2)</sup>
	250	8	3.01 ± 0.90 <sup>1)</sup>
	125	9	3.37 ± 0.64

**3.3 对大鼠急性脑缺血再灌注损伤后脑含水量的影响** 与假手术组比较,模型组脑含水量明显增加 ( $P < 0.01$ ),表明脑缺血再灌注伴有脑水肿的发生。黄芩总黄酮高、中剂量组和三七通舒胶囊组均能明显降低脑组织含水量,与模型组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),提示黄芩总黄酮有减轻脑水肿的作用,结果见表 3。

表 3 黄芩总黄酮对急性脑缺血再灌注损伤后脑含水量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	动物数 /只	脑含水量 / %
假手术	-	10	74.39 ± 6.51 <sup>2)</sup>
模型	-	8	82.01 ± 3.54
三七通舒	50	9	74.58 ± 7.29 <sup>1)</sup>
黄芩总黄酮	500	9	75.28 ± 6.91 <sup>1)</sup>
	250	8	76.65 ± 4.81 <sup>1)</sup>
	125	9	78.46 ± 6.67

**3.4 对大鼠急性脑缺血再灌注损伤后脑组织 SOD 活性及 MDA、NO 水平的影响** 与假手术组比较,模型组脑组织 SOD 活性明显降低,MDA、NO 含量明显增加 ( $P < 0.05$ ),表明脑缺血再灌注伴有脑组织自由基的聚积以及抗氧化酶活性的降低。黄芩总黄酮

高、中剂量组和三七通舒胶囊组均能明显升高脑组织中 SOD 活性,降低 MDA、NO 含量,黄芩总黄酮低剂量组还能降低脑组织中 NO 含量,与模型组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),结果见表 4。

表 4 黄芩总黄酮对大鼠急性脑缺血再灌注损伤后脑组织 SOD 活性及 MDA、NO 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	动物数 /只	SOD /U·mg <sup>-1</sup>	MDA /nmol·mg <sup>-1</sup>	NO /μU·mg <sup>-1</sup>
假手术	-	10	61.63 ± 16.50 <sup>2)</sup>	3.25 ± 1.79 <sup>1)</sup>	5.34 ± 2.08 <sup>1)</sup>
模型	-	8	34.81 ± 18.42	5.49 ± 1.70	7.75 ± 2.33
三七通舒	50	9	58.37 ± 17.22 <sup>1)</sup>	3.37 ± 0.97 <sup>2)</sup>	4.91 ± 1.33 <sup>2)</sup>
黄芩总黄酮	500	9	52.42 ± 11.81 <sup>1)</sup>	3.97 ± 0.90 <sup>1)</sup>	5.01 ± 0.96 <sup>2)</sup>
	250	8	56.81 ± 10.52 <sup>1)</sup>	3.86 ± 1.28 <sup>1)</sup>	5.23 ± 1.32 <sup>1)</sup>
	125	9	50.06 ± 24.13	4.86 ± 1.53	5.23 ± 1.32 <sup>1)</sup>

#### 4 讨论

缺血性脑卒中是由于脑血流受阻而导致的神经损伤和凋亡,表现为神经功能障碍甚至死亡,具有发病率高、死亡率高、致残率高的特点,是一种严重危害人类健康的疾病,因此从天然药物中开发新的脑保护的药物显得十分重要。

一直以来,脑梗死的面积和神经功能缺损评分能直接作为反映脑损伤的程度,常用于药物对脑缺血损伤防治作用的研究<sup>[6-8]</sup>。本实验结果显示,黄芩总黄酮能降低局灶性脑缺血大鼠神经功能缺损评分,明显减少脑缺血后形成的局灶脑梗死面积,说明黄芩总黄酮对实验性缺血性脑血管病所致的神经症状和脑梗死面积有明显的改善。

脑缺血再灌注损伤机制非常复杂,已知有许多因素参与再灌注损伤过程,目前认为自由基损伤在其中发挥着重要的作用<sup>[9]</sup>。与脑缺血有关的自由基主要是氧自由基,自由基主要攻击脂质膜中的不饱和脂肪酸的多个不饱和链,使之发生过氧化反应,导致质膜损伤,加重细胞毒性水肿。临床上产生脑水肿的主要原因是脑缺血导致酸性代谢产物的毒性作用和随之引起的 SOD 活性降低所致的脂质过氧化损伤。本实验夹闭大鼠双侧颈总动脉 45min 后再灌注造成急性脑缺血再灌注损伤模型,脑含水量明显增高,SOD 活性明显降低,MDA、NO 含量明显增加。高、中剂量的黄芩总黄酮可明显降低脑缺血大鼠的脑水含量,减轻脑水肿,说明其具有明显的脑保护作用。同时黄芩总黄酮可以升高脑组织中 SOD 活性,

## 万花油活络散瘀作用的研究

吴君<sup>1</sup>, 陈雪花<sup>2</sup>, 吴清和<sup>1\*</sup>, 黄萍<sup>1</sup>

(1. 广州中医药大学, 广州 510006; 2. 广州敬修堂(药业)股份有限公司, 广州 510130)

**[摘要]** 目的:研究万花油活络散瘀的作用。方法:①观察万花油对“血瘀证”大鼠耳廓微循环的影响,选取大鼠 60 只随机分为正常组、模型组、万花油低、中、高剂量组及麝香舒活精组,每组 10 只。对照组涂抹等量生理盐水,每日涂抹 2 次(间隔 4 h),每次用量 2 mL,连续 3 d,给药结束记录耳廓微循环灌注量。②观察对外伤致小鼠皮下血瘀斑的影响,选取 NIH 小鼠 50 只,随机分为对照组、万花油低、中、高剂量组及麝香舒活精组,每组 10 只,每日涂抹 2 次连续涂药并观察 4 d。每天观察并计算皮下瘀斑积分,比较各组差异。③观察对家兔软组织损伤的影响,选取新西兰兔 36 只,随机分为正常对组、模型组、万花油低、中、高剂量组及麝香舒活精组,每组 6 只。每日涂抹 2 次(间隔 4 h),每次用量 3 mL,连续 7 d。末次给药 1 h 后,观察软组织损伤情况并做损伤等级评分;用酸度计测定打击中心部位肌组织 pH 值。结果:①与模型组灌注量(PU)80.27 ± 14.32 相比,万花油低、中、高剂量能明显促进“血瘀证”大鼠耳廓微循环,灌注量(PU)分别为:115.89 ± 34.48,122.02 ± 24.12,137.67 ± 30.03( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ );②与模型组相比,万花油低、中、高剂量在第 2、3、4 d 能明显降低外伤致小鼠皮下血瘀斑的作用( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ );③与模型组相比,万花油能明显降低兔软组织的损伤( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。结论:万花油有活络散瘀的作用。

**[关键词]** 万花油;活络散瘀;实验研究

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)05-0226-03

**[收稿日期]** 20100903(017)

**[第一作者]** 吴君,医学博士研究生,从事中药复方药理研究,  
Tel:13450487936, E-mail:625468162@qq.com

**[通讯作者]** \* 吴清和,教授,医学硕士,博士研究生导师,从事  
中药药理学专业, Tel: 020-39358086, E-mail:  
zyylb@gzhtcm.edu.cn

野菊花、乌药、徐长卿、肉桂油、樟脑粉、丁香油等 86 味中药是组成万花油的主要成分,功能止血止痛,消炎生肌,消肿散瘀,舒筋活络。用于跌打损伤,撞击扭伤,刀伤出血,烫伤等。本文通过采用“血瘀证”大鼠耳廓微循环、外伤致小鼠皮下血瘀斑以及家

降低 MDA, NO 含量,说明黄杞总黄酮可能是通过有效清除脑组织中的自由基,减轻自由基的神经毒性,增强脑组织抗氧化能力,从而实现对脑组织的有效保护作用。

综上所述,黄杞总黄酮对缺血性脑损伤具有明显的保护作用,其作用途径和详尽机制有待进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 广西中医药研究所. 广西药用植物名录[M]. 南宁:广西人民出版社,1986:328.
- [2] 钟正贤,陈学芬,袁阿兴. 黄杞总黄酮活血化瘀作用研究[J]. 广西中医药,1999,22(4):45.
- [3] 钟正贤,周桂芬,陈学芬,等. 黄杞总黄酮的实验研究[J]. 时珍国医国药,1999,11(6):495.
- [4] Nagasawa H, Kogure K. Correlation between cerebral blood flow and histologic changes in a new rat model of middle cerebral artery occlusion[J]. Stroke, 1989, 20(8):1037.
- [5] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson N S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1):84.
- [6] 张敏,王爱武,王秀云. 尼莫地平对大鼠急性脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国药师,2003,6(4):201.
- [7] 姜德华,金男革,玄云汉,等. 大鼠急性局灶性脑缺血再灌注脑组织 MDA 含量和 NOS 活性的变化[J]. 临床神经病学杂志,2000,13(4):201.
- [8] Wang S H, Zhang Z J, Guo Y J, et al. Hippocampal neurogenesis and behavioural studies on adult ischemic rat response to chronic mild stress[J]. Behav Brain Res, 2008, 189(1):9.
- [9] 陆景红,任明山,李光武,等. 葡萄籽原花青素对脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国临床康复,2005,45(9):99.

[责任编辑 聂淑琴]