

豚鼠磷酸组织胺致喘实验结果提示,熊果苷 200 mg/kg 对磷酸组织胺致豚鼠哮喘具有一定防治作用,与对照组相比可明显延长豚鼠哮喘潜伏期 ($P < 0.05$);豚鼠离体气管条收缩实验结果提示,熊果苷 3 个剂量均能极显著对抗 $1 \mu\text{g/mL}$ 磷酸组织胺引起的豚鼠离体气管条收缩 ($P < 0.01$),其中 20 mg/kg 与异丙嗪 $25 \mu\text{g/mL}$ 作用相当。上述药效学实验结果显示,熊果苷具有一定的镇咳、祛痰及平喘作用。

References:

[1] Editorial Office of National Chinese Herbal Medicine Collec-

tion. *Collection of National Chinese Herbal Medicine* (全国中草药汇编) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1996.

[2] Tang J, Qian H, Huang Q, *et al.* Study on the antianaphylactic and antiasthmatic activity of polysaccharide from *Ophiopogon tuber* [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 1999, 16(2): 16-19.

[3] Chen Q. *Methodology in Pharmacological Study on Chinese Materia Medica* (中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1993.

[4] Li Y K. *Methodology in Pharmacological Experiment on Chinese Materia Medica* (中药药理实验方法学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1991.

红花总黄酮对大鼠局部脑缺血及血栓形成的影响

田京伟^{1,2}, 蒋王林¹, 王振华¹, 王超云¹, 傅风华^{1*}

(1. 山东省烟台大学药学院 山东省天然药物工程技术研究中心, 山东 烟台 264003; 2. 中国海洋大学药物与食品研究所, 山东 青岛 266003)

摘要:目的 研究红花总黄酮对大鼠局部脑缺血及血栓形成的作用。方法 采用栓线法制作大鼠大脑中动脉缺血模型,观察其对大鼠脑缺血的影响;采用在体动脉血栓形成、静脉血栓形成法,观察其对血栓形成的影响;并研究其对血小板聚集的影响。结果 红花总黄酮呈剂量依赖性改善大脑中动脉栓塞所致脑缺血大鼠的行为障碍,减少脑缺血区面积,抑制大鼠体内血栓的形成和 ADP 诱导的大鼠血小板聚集。结论 红花总黄酮对大鼠局部脑缺血具有明显的抑制作用,机制可能与其改善凝血状态、抑制血小板依赖性血栓的形成有关。

关键词: 红花总黄酮; 局部脑缺血; 血栓形成; 血小板聚集

中图分类号: R 286.10

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)08-0741-03

Effect of safflower flavone on local cerebral ischemia and thrombosis formation in rats

TIAN Jing-wei^{1,2}, JIANG Wang-lin¹, WANG Zhen-hua¹, WANG Chao-yun¹, FU Feng-hua¹

(1. Shandong Engineering Research Center for Natural Drugs, Pharmaceutical School of Shandong Yantai University, Yantai 264003, China; 2. Marine Drug and Food Institute of Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Key words: safflower flavone; local cerebral ischemia; thrombosis formation; platelet aggregation

脑缺血是血管性脑病的最主要病种,具有高死亡率和高致残率的特点。对脑缺血的防治以往大多集中在扩张脑血管、增加脑血流从而缩小脑梗死范围或改善神经功能方面,但因未取得显著疗效或存在毒副作用大、服用不方便等缺点,限制其临床上广泛应用^[1]。因此,寻找新的能够有效防治脑缺血疾病的药物,是当前医药界研究的一个重要课题。脑缺血时,血液处于高凝、高粘、高聚状态,而且血栓的形成直接参与了脑缺血的发生发展^[2];因此活血化瘀类药物对脑缺血的治疗作用日益受到重视。

红花总黄酮(safflower flavone, SF)由传统活血化瘀类中药红花 *Carthamus tinctorius*. L 中提取

精制得到;其中,水合红花黄色素 A 是红花总黄酮中重要成分。经紫外分光光度法测定,总黄酮含量不低于 75%;经 HPLC 分析,水合红花黄色素 A 不低于 36%。本实验观察了红花总黄酮对大鼠脑缺血及血栓形成的影响,并对其作用机制进行了初步探讨,为其临床应用提供了有力的实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂:红花总黄酮(SF),由山东省天然药物工程技术研究中心提供,批号 20010403,橙黄色粉末,易溶于水,含量为 79.6%,水合红花黄色素 A 含量为 39.8%。尼莫地平片(Nim),由中日合资河北东龙药业有限公司提供,批号 000703。脑得生

咀嚼片 (NDS), 山东绿叶制药股份有限公司, 批号 20010426。红四氮唑 (TTC) Sigma 公司产品, 临用前用生理盐水配成 4% 溶液。

1.2 仪器: C-830L 数码相机, Olympus 公司。

1.3 实验动物: 普通级 Wistar 大鼠, 雄性, 280 ~ 350 g, 山东省天然药物工程技术研究中心实验动物中心提供, 合格证号: 鲁动质字 200106005 号。

2 方法与结果

2.1 对大鼠局部脑缺血损伤的影响: 动物随机分为假手术组, 模型对照组, 尼莫地平组, 脑得生组, SF 小、中、大剂量组, 每组 10 只。禁食 12 h 后, 各组动物分别 ig 相应药物。2 h 后, 按文献^[3]所示方法进行手术, 造成大鼠左侧大脑中动脉缺血; 假手术组仅进行左侧颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉的分离 (以上实验均在 23 ~ 25 进行)。24 h 后按文献^[4]方法及标准观察并记录大鼠的行为障碍。行为障碍评分后处死大鼠, 取脑, 去掉嗅球、小脑和低位脑干, 冠状切成 5 片, TTC 染色, 照相, 用北京航空航天大学病理图像分析软件求梗死面积比。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间 t 检验。结果见表 1。缺血 24 h 后, 大鼠表现出明显的行为障碍, 大鼠脑组织也出现明显的灶状缺血区, 达到全脑的 25% 左右; 给予不同剂量的 SF, 动物行为障碍有不同程度的减轻, 大鼠脑缺血区也有明显好转, 且呈剂量依赖性。

表 1 SF 对大鼠局部脑缺血损伤后行为评分和缺血面积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of SF on behavior score and infarct area in local cerebral ischemia of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	行为评分	缺血面积/%
假手术	—	0	0
模型对照	—	10.10 ± 1.37	24.26 ± 4.13
NDS	1 000	7.30 ± 2.67**	19.90 ± 3.02*
Nim	12	6.90 ± 2.33**	13.09 ± 7.11**
SF	40	7.20 ± 1.93**	12.27 ± 4.73**
	20	7.50 ± 3.03*	18.41 ± 2.84*
	10	8.80 ± 2.44	21.06 ± 3.20

与模型对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

2.2 对动-静脉旁路血栓形成的影响: 动物随机分为空白组, 脑得生组, SF 小、中、大剂量组, 每组 10 只。禁食 12 h 后, 各组动物分别 ig 相应药物, 2 h 后, 按文献^[5]所示方法将大鼠用戊巴比妥钠麻醉后, 取内径 0.9 mm, 长约 12 cm 的三段聚乙烯管 (内置 6 cm 长的丝线), 连接右颈总动脉和左颈外静脉, 开放血流 15 min 后中断血流, 取出丝线称重, 此时丝线湿重减去原丝线干重, 即为所形成血栓的湿重, 数

据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间 t 检验, 结果见表 2。NDS 组、SF 大、中剂量组血栓重量明显低于空白对照组, 说明 SF 可抑制大鼠动-静脉旁路血栓的形成。

表 2 SF 对大鼠动-静脉旁路血栓形成的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of SF on A-V bypass thrombosis on thread segment in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	血栓湿重/mg	抑制率/%
空白对照	—	26.09 ± 4.21	—
NDS	1 000	15.43 ± 5.15**	40.86
SF	40	13.01 ± 6.81**	50.13
	20	16.25 ± 3.91**	37.72
	10	20.51 ± 9.79	21.38

与空白对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

2.3 对大鼠静脉血栓形成的影响: 动物分组同 2.2, 禁食 12 h 后, 各组动物分别 ig 相应药物, 2 h 后, 水合氯醛 (350 mg/kg, ip) 麻醉, 开腹分离下腔静脉, 于左肾静脉下方用粗丝线结扎下腔静脉, 缝合腹部^[6]。6 h 后重新开腹, 在结扎处下方 2 cm 处夹闭血管, 剖开管腔, 取出血栓, 称重。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间 t 检验, 结果见表 3。NDS 组、SF 大、中剂量组血栓重量明显低于空白对照组, 说明 SF 可抑制大鼠静脉血栓的形成。

表 3 SF 对大鼠静脉血栓形成的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of SF on vein thrombosis formation in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	血栓湿重/mg	抑制率/%
空白对照	—	29.91 ± 17.16	—
NDS	1 000	14.01 ± 5.76*	53.16
SF	40	9.17 ± 6.65**	71.48
	20	15.77 ± 4.26**	47.29
	10	23.36 ± 11.20	21.90

与空白对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

2.4 对大鼠血小板聚集的影响: 动物分组同 2.2, 禁食 12 h 后, 各组动物分别 ig 相应药物, 2 h 后, 大鼠腹主动脉取血 5 mL, 以 3.8% 枸橼酸钠抗凝。按文献^[7]所示方法分离富血小板血浆 (PRP)、贫血小板血浆 (PPP), 并调整 PRP 的血小板数 $< 2 \times 10^6$ / mL, 移取 0.3 mL PRP 至比浊管内, 将比浊管放入用 PPP 调零后的血小板聚集仪中, 加入 10 μ L 相应的药物, 37 温育 3 min 后加入 10 μ L ADP, 同时开启血小板聚集仪进行记录, 记录时间为 6 min。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间 t 检验, 结果见表 4。NDS 组、SF 大、中剂量组血小板聚集率明显低于空白对照组, 说明 SF 可抑制 ADP 诱导的大鼠血小板聚集。

表 4 SF 对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 4 Effect of SF on platelet aggregation induced by ADP in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组 别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	聚集率/%	抑制率/%
空白对照	—	41.10 ± 6.85	—
NDS	1 000	25.55 ± 3.37*	37.93
SF	40	22.53 ± 3.45**	45.18
	20	29.84 ± 6.68**	27.39
	10	36.24 ± 5.74	11.82

与空白对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

3 讨论

脑缺血是一种病理过程复杂的疾病,其发病过程涉及到脑血流减少、缺血缺氧和能量代谢衰竭及氧自由基产生、炎症因子和细胞的参与等,最终导致神经细胞溃变死亡^[8]。血栓形成是脑缺血性疾病的主要致病因素之一;脑缺血时,细胞内钙超载,氧自由基产生增加,激活膜上的磷脂酶 A₂,使膜磷脂分解,生成大量的花生四烯酸,再经环氧酶途径形成不稳定的中间物 PCG₂和 PGH₂,前者经 TXA₂合成酶催化形成 TXA₂,后者则生成 PGI₂,TXA₂大量合成,致 PGI₂/TXA₂比值失调,凝血机制障碍,易于血栓形成,成为脑缺血的重要病理机制之一^[9]。同时,血小板功能异常亢进,血小板激活之后的聚集和粘附则是血栓形成的主要环节,如出血及 ADP,AA,胶原等血小板激活剂等因素均可诱导血小板聚集和粘附,使血液处于高凝状态,以至于形成血栓,这是造成继发性脑损伤的重要原因之一。抗凝药物能够通过改善血液循环、干扰血栓形成过程,从而为重要侧枝循环的建立及减慢脑缺血过程争取了时间^[10]。

本研究发现红花总黄酮不仅能改善大脑中动脉

栓塞所致脑缺血大鼠的行为障碍,减少脑缺血区面积,也能抑制大鼠体内血栓的形成和 ADP 诱导的大鼠血小板聚集;提示红花总黄酮对大鼠局部脑缺血的保护作用与其抑制血小板聚集、干扰血栓的形成有关。

References:

- [1] Xin X L, Geng M Y, Qi X, *et al.* Study on the action mechanism of a new type anti-cerebral ischemia marine drug 989 [J]. *J Qingdao Ocean Univ* (青岛海洋大学学报), 2001, 31 (4): 536-540.
- [2] Huang W M, Li B Z, Yan X J, *et al.* Clinic and basic research on anti-platelet aggregation effect of berberine [J]. *Chin J Hematol* (中华血液学杂志), 1989, 10: 288.
- [3] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1998, 20: 84.
- [4] Zhang Y Z, Gu D G, Mao S Y, *et al.* Protective effects of *Ginkgo biloba* extract on focal cerebral ischemia and thrombogenesis of carotid artery in rats [J]. *Acta Pharm Sin* (药科学报), 1998, 33(12): 901.
- [5] Wang H T, Jin H T, Sun J N, *et al.* Experimental studies on anti-thrombosis effect of 3, 4-oxoisopropylidene-shikimic acid [J]. *Acta Pharm Sin* (药科学报), 2002, 37 (4): 245.
- [6] Wang M, Wang J, Shao M Y, *et al.* Fibrinolytic properties and thrombolytic effect of a novel fibrinolytic enzyme from streptomyces SP. Y405 [J]. *Acta Pharm Sin* (药科学报), 1998, 33(7): 481-485.
- [7] Herbert J M, Bernat A, Samaman N, *et al.* The antiaggregating and antithrombotic activity of ticlopidine is potentiated by aspirin in the rat [J]. *Thromb Haemost*, 1996, 76(1): 94.
- [8] Siesjo B K. Mechanisms of secondary brain damage in global and focal ischemia: a speculation synthesis [J]. *J Neurotrauma*, 1995, 12: 943.
- [9] Wang J, Zhang J T. Relations of anti-cerebral ischemia effect of total salvianolic acid to anti-thrombosis formation [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1999, 16(3): 237-239.
- [10] Geng M Y, Xin X L, Li J, *et al.* Protective effects of DPS on M CAO rats [J]. *Oceanol Limnol Sin* (海洋与湖沼), 2001, 32: 192.

泽泻对 Lewis 肺癌自发性转移的抑制作用及其机制研究

马 兵¹, 项 阳¹, 李 涛¹, 于和鸣², 李学军^{1*}

(1. 北京大学基础医学院 药理学系, 北京 100083; 2. 国家计划生育委员会科学技术研究所, 北京 100081)

摘 要: 目的 研究泽泻对 Lewis 肺癌自发性转移的影响及其可能机制。方法 以 Lewis 肺癌自发性转移为模型, 测定泽泻对瘤重指数、转移灶数的影响及其转移抑制率。用激光衍射法和微压积管法测定红细胞的变形指数及比容。双相凝胶电泳分析给药后小鼠血清蛋白质组变化。结果 泽泻 10, 20 g/(kg · d) 连续给药 20 d 均可使肺中的

* 收稿日期: 2002-09-10

作者简介: 马 兵(1970—), 女, 山西运城人, 博士, 讲师, 1993 年在沈阳药科大学获学士学位, 1996 年在该校获硕士学位, 1996~2000 年在北京医科大学(现北京大学医学部)基础医学院药理学系工作, 任助教、讲师, 2000 年至今在北京大学基础医学院攻读博士学位, 研究方向为分子药理学。Tel: (010) 62091421 E-Mail: matongbing@yahoo.com

* 通讯作者 Tel: (010) 62091421 E-mail: lixj@bjmu.edu.cn