

## 红景天玄参组合物对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤保护作用的研究

伍小艳<sup>1,3</sup>, 周 军<sup>2,3</sup>, 石 伟<sup>1,3</sup>, 张 桥<sup>2,3</sup>, 伍清龙<sup>1,3</sup>, 王振中<sup>2,3</sup>, 毕宇安<sup>2,3</sup>, 萧 伟<sup>2,3\*</sup>

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210000

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

3. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

**摘 要:** **目的** 探讨红景天与玄参组合物对局灶性脑缺血再灌注大鼠的保护作用。**方法** 通过体外活性评价, 筛选出红景天与玄参组合物最佳配比; 采用颈内动脉线栓法建立局灶性脑缺血模型, 观察模型大鼠的行为、脑梗死面积和脑含水量的变化; 测定血清超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)的含量。**结果** 当红景天与玄参以 1:1 配比时, 综合评分最好; 且组合物中剂量组(0.39 g/kg)、高剂量组(1.2 g/kg)均能显著缩小局灶性脑缺血再灌注大鼠的脑梗死面积、降低梗死率, 并能减少脑含水量( $P<0.05$ ), 同时使脑缺血 72 h 大鼠的行为学症状得到显著改善( $P<0.05$ ), 明显提高 SOD 活性并降低 MDA 的含量( $P<0.05$ )。**结论** 红景天与玄参组合物对局灶性脑缺血再灌注大鼠具有一定保护作用, 且作用明显优于单用红景天或玄参。

**关键词:** 红景天; 玄参; 脑缺血再灌注

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2014)04-0353-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.04.006

## Protective effect of the combination of *Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma* and *Scrophulariae Radix* on focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats

WU Xiao-yan<sup>1,3</sup>, ZHOU Jun<sup>2,3</sup>, SHI Wei<sup>1,3</sup>, ZHANG Qiao<sup>2,3</sup>, WU Qing-long<sup>1,3</sup>, WANG Zhen-zhong<sup>2,3</sup>, Bi Yu-an<sup>2,3</sup>, XIAO Wei<sup>2,3</sup>

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

3. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the protective effect of the combination of *Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma* and *Scrophulariae Radix* on focal cerebral ischemia-reperfusion injury of rats. **Methods** The *in vitro* activity evaluation was used to select the best ratio group of combination, and the internal carotid artery suture method was adopted to establish the model of focal cerebral ischemia model, and to observe the influence on the behavioral score, cerebral infarction area, and cerebral water content of model rats. Activity of superoxide dismutase (SOD) and content of malondialdehyde (MDA) in serum of rats were measured. **Results** The evaluation on the activity of the combination with the ratio in 1:1 was the best, and the combination in the middle dose (0.39 g/kg), high dose (1.2 g/kg) groups could reduce the infarction area in the cerebral ischemia-reperfusion rats, decrease the infarction rate, reduce brain water content significantly ( $P<0.05$ ), at the same time, 72 h after modeling. The behavioral symptoms of the rats were improved significantly ( $P<0.05$ ). The combination could increase the activity of SOD and reduce the content of MDA ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The combination of *Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma* and *Scrophulariae Radix* has a certain protective effect on the focal cerebral ischemia-reperfusion injury of rats, and the effect of the combination is superior to *Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma* alone or *Scrophulariae Radix*.

**Key word:** *Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma*; *Scrophulariae Radix*; cerebral ischemia-reperfusion

收稿日期: 2014-03-12

基金项目: 国家重大新药创制项目(2011ZX09401-014)

作者简介: 伍小艳(1986—), 女, 广西桂林人, 南京中医药大学 2011 级硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。

Tel: 13655135184 E-mail: w370071533@126.com

\*通信作者 萧 伟, 男, 江苏南京人, 中药学博士, 博士生导师, 研究员级高级工程师, 从事中药新剂型的研究与开发。

Tel: (0518)81152337 E-mail: wzhhz-nj@vip.tom.com

脑卒中是现今死亡率最高的疾病之一,可分为缺血性脑卒中和出血性脑卒中,其中缺血性脑卒中发生率占 85%<sup>[1]</sup>,其发病的主要原因是血管阻塞导致局灶性或全脑功能障碍。缺血性脑卒中易发生再灌注损伤,因此近年来从中药中寻找能有效保护缺血性再灌注损伤且毒副作用小的药物已经越来越受到重视。现代药理研究发现,红景天具有抗氧化、保护心肌缺血再灌注损伤及抑制神经细胞凋亡作用<sup>[2-3]</sup>,玄参具有降血压、扩张冠状动脉、抗缺血等作用<sup>[4-6]</sup>。本实验将红景天与玄参组合,通过体外抗缺血活性评价,筛选较好配比的组合物,并观察最佳配比组合物对局灶性脑缺血再灌注模型大鼠的行为学、脑梗死面积和脑含水量的影响及对 SOD 活性和 MDA 含量的影响,探讨该组合物对局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用。

## 1 实验材料

### 1.1 动物

SD 大鼠, SPF 级, 雄性, 体质量 250~300 g, 由上海斯莱克动物有限公司提供, 实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2008-0033, 实验动物使用许可证号 SYXK (苏) 2013-0022。

### 1.2 药物

尼莫地平片 (商品名尼膜同, 批号 BJ05004, 规格 30 mg/片, 德国拜耳公司); 红景天药材为景天科植物大花红景天 *Rhodiola crenulata* (Hook. f. et Thoms.) H. Ohba 的干燥根和根茎 (批号 130507, 产地西藏), 玄参药材为玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根 (批号 130820, 产地浙江), 均经江苏康缘药业股份有限公司吴舟主管药师鉴定。

红景天加水回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液经减压浓缩、大孔吸附树脂色谱分离、醇沉、浓缩后干燥。红景天提取物以红景天苷为主要指标成分, 质量分数为 12.8%, 批号 130709。

玄参加 50%乙醇, 回流提取 2 次, 每次 3 h, 提取液经减压浓缩、醇沉、大孔吸附树脂纯化、浓缩后干燥。玄参提取物以哈巴苷、哈巴俄苷、安格洛昔 C 为主要指标成分, 其质量分数分别为 5.14%、4.82%、6.67%, 批号 130922。

### 1.3 试剂

SY5Y 细胞 (中国科学院典型培养物保藏中心上海细胞库); DMEM (批号 8112420, Gibco 公司); MTT (批号 0793-250, Amersco 公司); 水合氯醛

(批号 20130408, 上海青析化工科技有限公司); 氯化钠注射液 (批号 13031, 扬州中宝制药有限公司); TTC (批号 20120822, 中国医药上海化学试剂公司); 磷酸氢二钠 (批号 20120816, 上海实意化学试剂有限公司); 磷酸二氢钾 (批号 121013, 南京化学试剂厂); 柠檬酸三钠 (批号 120423, 上海凌峰化学试剂有限公司); 超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒 (批号 20130418, 规格 96T, 南京建成生物工程研究所); 丙二醛 (MDA) 试剂盒 (批号 20130418, 规格 96T, 南京建成生物工程研究所)。

## 1.4 仪器

KD—500Z 柯尼卡数码相机 (普立华科技有限公司); BS110S 电子天平 (北京赛多利斯天平有限公司); DHG—9053A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司); LDZ5—2 离心机 (北京医用离心机厂); 电热恒温水箱 (北京东霞科学仪器厂); 1411 高频小电刀 (上海医疗器械高技术公司); CO<sub>2</sub> 培养箱 (美国 N.C 公司); Infinite M200 型酶标仪 (瑞士帝肯有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 体外活性考察

**2.1.1 分组** 红景天与玄参 11 个不同配比 (1:0、1:9、1:4、3:7、2:3、1:1、4:1、7:3、6:4、9:1、0:1) 组, 制备样品质量浓度均为 0.100 mg/mL。

**2.1.2 对过氧化氢损伤 SY5Y 细胞的作用<sup>[7]</sup>** 取对数生长期的 SY5Y 细胞, 在 96 孔板上接种, 每孔浓度为  $1 \times 10^4$  细胞, 用含有 10% 血清的 DMEM 培养基于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中培养, 每 2~3 天换液 1 次。细胞铺成单层后, 吸除原培养基, 模型组加入 300 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 给药组先加入 100 mg/L 样品, 1 h 后再加入 300 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 对照组不加任何药物。培养 24 h, 每孔加 5 mg/mL MTT 溶液 20 μL, 测定细胞活力, 酶标仪 490 nm 处检测吸光度 (A) 值, 计算细胞保护率。

细胞保护率 = (给药组 A 值 - 空白组 A 值) / (给药组 A 值 - 模型组 A 值)

**2.1.3 对谷氨酸损伤 SY5Y 细胞的作用<sup>[8]</sup>** 取对数生长期的 SY5Y 细胞, 在 96 孔板上接种, 每孔浓度为  $1 \times 10^4$  细胞, 用含有 10% 血清的 DMEM 培养基于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中培养, 每 2~3 天换液 1 次。细胞铺成单层后, 吸除原培养基, 模型组加入 3 mmol/L 谷氨酸; 给药组先加入 100 mg/L

样品, 1 h 后再加入 3 mmol/L 谷氨酸; 对照组不加任何药物。培养 24 h, 每孔加 5 mg/mL MTT 溶液 20  $\mu$ L, 测定细胞活力, 酶标仪 490 nm 处检测吸光度 ( $A$ ) 值。

细胞保护率 = (给药组  $A$  值 - 空白组  $A$  值) / (给药组  $A$  值 - 模型组  $A$  值)

**2.1.4 配比结果的选择** 对比红景天与玄参各配比组, 当红景天与玄参以 9 : 1、8 : 2 配比给药时, 对谷氨酸造成细胞损伤的保护作用较好。当红景天与玄参以 1 : 1 配比给药时, 对过氧化氢损伤细胞的保护作用明显高于其他组, 且综合评分最高, 说明该配比在多靶点评价中活性最好。结果见表 1。

综合评分 = 谷氨酸损伤神经细胞保护率 + 过氧化氢损伤神经细胞保护率

表 1 红景天与玄参组合物的体外活性评价

Table 1 *In vitro* activity evaluation on combination of *Rhodiola Crenulatae Radix* et *Rhizoma* and *Scrophulariae Radix*

| 红景天、玄<br>参配比 | 神经细胞保护率/% |        | 综合<br>评分 |
|--------------|-----------|--------|----------|
|              | 谷氨酸损伤     | 过氧化氢损伤 |          |
| 9 : 1        | 109.5     | 82.5   | 192.0    |
| 8 : 2        | 107.3     | 76.4   | 183.7    |
| 7 : 3        | 91.1      | 54.5   | 145.6    |
| 6 : 4        | 76.6      | 69.0   | 145.6    |
| 5 : 5        | 87.1      | 108.2  | 195.3    |
| 4 : 6        | 88.3      | 81.4   | 169.7    |
| 3 : 7        | 64.0      | 72.0   | 136.0    |
| 2 : 8        | 70.1      | 57.4   | 127.5    |
| 1 : 9        | 68.9      | 84.1   | 153.0    |
| 0 : 1        | 44.8      | 37.0   | 81.8     |
| 1 : 0        | 78.5      | 72.9   | 151.4    |

## 2.2 实验分组<sup>[8-9]</sup>

取雄性大鼠 120 只, 随机分为 12 组, 每组 10 只, 即假手术组, 模型组, 尼莫地平 (0.032 g/kg) 组, 红景天玄参组合物低、中、高剂量 (0.06+0.06、0.19+0.19、0.6+0.6 g/kg) 组, 红景天低、中、高剂量 (0.13、0.39、1.20 g/kg) 组, 玄参低、中、高剂量 (0.13、0.39、1.20 g/kg) 组。给药组大鼠于术后 4 h 评分结束时开始 ig 给药, 以后 2 次/d, 连续 3 d, 假手术组和模型组给予等容积的生理盐水。

## 2.3 颈内动脉线栓法制备局灶性脑缺血模型<sup>[10]</sup>

大鼠给药 10 min 后, 以 10% 水合氯醛麻醉 (300

mg/kg, ip), 分离出颈总动脉和颈内动脉, 并结扎颈外动脉, 在颈外动脉近心端距颈内动脉 2 mm 处剪一小口, 将一尼龙栓子插入颈外动脉并顺入颈内动脉, 使其插入深度约为 18 mm, 到达大脑前动脉近端, 阻断大脑中动脉的所有血供来源。外留 1 cm 长线头, 缝合皮肤, 回笼饲养。于缺血 2 h 后再灌注, 再灌注时轻拉尼龙线, 使尼龙线拔出颅外, 血流再通, 修剪尼龙线, 回笼自然喂养。以上过程均在室温恒定 (20~25  $^{\circ}$ C) 情况下进行。

## 2.4 行为学评分

每组取 10 只大鼠在术后 4、72 h 进行行为学评分, 参考 Bederson 等<sup>[11]</sup>的方法对术后动物的行为缺陷进行分级评分。分级标准见表 1, 等级分数越高, 表明动物的行为缺陷越严重。

表 2 大鼠行为缺陷评分标准

Table 2 Grading standard for behavior defects in rats

| 动物症状                                 | 评分  |
|--------------------------------------|-----|
| 提尾悬空时, 动物的两前肢均伸向地板方向且无其他行缺陷          | 0 分 |
| 提尾悬空时, 动物的手术对侧前肢表现为腕肘屈曲、肩内旋、肘外展、紧贴胸壁 | 1 分 |
| 将动物置于光滑平面上, 推手术侧肩向对侧移动时阻力降低          | 2 分 |
| 动物自由行走时, 向手术对侧环转或转圈                  | 3 分 |
| 动物不能自行行走                             | 4 分 |

## 2.5 脑梗死面积测定 (TTC 染色)

于末次行为学评分后断头取脑, 将脑置冰冷的生理盐水 (2~3  $^{\circ}$ C) 中 10 min, 去除嗅球、小脑和低位脑干后, 用生理盐水冲洗大脑使表面不留血污, 吸干周围水分后, 沿冠状切 4 刀, 切成 5 片。第 1 刀在脑前极与视交叉连线中间; 第 2 刀在视交叉部位; 第 3 刀在漏斗柄部位; 第 4 刀在漏斗柄与后叶尾极之间。然后迅速将脑片置 5 mL 含有 1% TTC 的磷酸缓冲溶液中, 避光温孵 30 min, 其中每隔 7~8 min 翻动 1 次, 经染色后, 正常脑组织呈玫瑰红色, 而梗死组织呈白色, 且界限分明。温孵完毕后将脑片照相。以分析测量图象软件 Imagepro-Plus 分析脑片面积, 分别计算出 5 个脑片共 10 个平面的总面积和梗死区域的面积, 计算梗死区面积占半球总面积的比例, 即梗死率。

## 2.6 脑含水量和脑指数的测定

大鼠断头取脑, 称取脑湿质量后, 将脑组织置

于 115 ℃ 电热干燥箱中烘至恒定质量, 称取干质量, 计算脑含水量和脑指数。

脑含水量 = (湿质量 - 干质量) / 湿质量

脑指数 = 脑湿质量 / 体质量

## 2.7 对大鼠血清 SOD、MDA 的影响

大鼠腹主动脉取血, 离心后取血清, 按试剂盒说明书操作测定 SOD、MDA 含量。

## 2.8 统计方法

所有试验数据采用  $t$  检验法统计分析, 比较组间差异, 结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 3 结果

### 3.1 对大鼠行为评分的影响

与假手术组比较, 给药后 4、72 h 时, 模型组大鼠出现了明显的行为障碍 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 给药 4 h 时, 各给药组大鼠的行为评分差异均不具有显著性; 给药 72 h 时, 红景天玄参组合物各给药组大鼠的行为评分均有降低, 中、高剂量组出现明显差异性 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 红景天中、高剂量组差异均具有显著性 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 玄参高剂量组差异也具有显著性 ( $P < 0.01$ )。相对于单独给药组, 组合物在 0.19、0.6 g/kg 的给药剂量下可明显改善造模 72 h 大鼠的行为障碍。结果见表 3。

### 3.2 对大鼠梗死率的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠脑组织出现明显的脑梗死现象, 脑梗死率为  $(19.87 \pm 7.29)\%$  ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 各给药组大鼠经药物作用后脑梗死率均出现降低趋势。红景天玄参组合物中、高剂量组的梗死率显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 红景天中、高剂量组梗死率差异具有显著性 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 玄参高剂量组梗死率差异具有明显显著性 ( $P < 0.01$ )。说明红景天玄参组合物能减少模型大鼠的脑梗死面积, 降低大鼠的脑梗死率, 随着剂量增加, 脑梗死面积减少越明显, 表现出一定的量效关系, 且效果较红景天、玄参单独给药组好。结果见表 3。

### 3.3 对大鼠脑含水量及脑指数的影响

模型组大鼠脑组织含水量明显高于假手术组 ( $P < 0.01$ ), 说明该模型能导致脑组织水肿; 与模型组相比, 红景天玄参组合物中、高剂量组能明显减少大鼠脑含水量 ( $P < 0.01$ ), 低剂量对脑含水量有所降低, 但无统计学差异; 红景天中、高剂量组的脑含水量差异具有显著性 ( $P < 0.05$ ); 玄参高剂量组的脑含水量差异具有明显的显著性 ( $P < 0.05$ )。表明与红景天、玄参单独给药组相比, 红景天玄参组合物对缺血再灌注模型大鼠脑含水量的改善作用较好。结果见表 3。

表 3 红景天玄参组合物对右侧大脑中动脉栓塞模型大鼠的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Effect of combination of *Rhodiola Crenulatae Radix et Rhizoma* and *Scrophulariae Radix* on right side of middle cerebral artery occlusion model rats ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组 别      | 动物<br>数/只 | 剂量/<br>(g·kg <sup>-1</sup> ) | 行为学评分                     |                           | 脑梗死率/%                     | 脑含水量/%                     | 脑指数                       |
|----------|-----------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
|          |           |                              | 4 h                       | 72 h                      |                            |                            |                           |
| 假手术      | 10        | —                            | 0.00 ± 0.00               | 0.00 ± 0.00               | 0.00 ± 0.00                | 79.14 ± 0.68               | 0.55 ± 0.02               |
| 模型       | 9         | —                            | 2.89 ± 0.33 <sup>△△</sup> | 2.33 ± 0.50 <sup>△△</sup> | 19.87 ± 7.29 <sup>△△</sup> | 81.72 ± 0.90 <sup>△△</sup> | 0.59 ± 0.03 <sup>△△</sup> |
| 尼莫地平     | 10        | 0.032                        | 2.90 ± 0.32               | 0.90 ± 0.57 <sup>**</sup> | 7.13 ± 3.61 <sup>**</sup>  | 79.99 ± 0.72 <sup>**</sup> | 0.56 ± 0.03 <sup>*</sup>  |
| 红景天玄参组合物 | 9         | 0.06 + 0.06                  | 2.89 ± 0.33               | 1.78 ± 0.67               | 14.56 ± 7.49               | 80.93 ± 0.90               | 0.58 ± 0.04               |
|          | 9         | 0.19 + 0.19                  | 2.78 ± 0.44               | 1.44 ± 0.88 <sup>*</sup>  | 10.83 ± 7.22 <sup>*</sup>  | 80.36 ± 0.83 <sup>**</sup> | 0.56 ± 0.03 <sup>*</sup>  |
|          | 10        | 0.6 + 0.6                    | 2.90 ± 0.32               | 1.00 ± 0.47 <sup>**</sup> | 7.40 ± 4.65 <sup>**</sup>  | 79.86 ± 0.62 <sup>**</sup> | 0.55 ± 0.03 <sup>**</sup> |
| 红景天      | 9         | 0.13                         | 2.56 ± 0.53               | 1.89 ± 0.60               | 15.05 ± 9.10               | 81.04 ± 0.47               | 0.59 ± 0.03               |
|          | 10        | 0.39                         | 2.90 ± 0.32               | 1.60 ± 0.70 <sup>*</sup>  | 11.80 ± 7.71 <sup>*</sup>  | 80.52 ± 1.08 <sup>*</sup>  | 0.58 ± 0.03               |
|          | 9         | 1.20                         | 2.78 ± 0.44               | 1.11 ± 0.60 <sup>**</sup> | 9.04 ± 5.61 <sup>**</sup>  | 80.45 ± 1.02 <sup>*</sup>  | 0.56 ± 0.03 <sup>*</sup>  |
| 玄参       | 9         | 0.13                         | 2.79 ± 0.42               | 1.91 ± 0.59               | 16.31 ± 9.30               | 81.17 ± 0.52               | 0.60 ± 0.04               |
|          | 9         | 0.39                         | 2.88 ± 0.31               | 1.65 ± 0.43               | 13.45 ± 7.14               | 81.02 ± 0.98               | 0.59 ± 0.03               |
|          | 10        | 1.20                         | 2.90 ± 0.17               | 1.32 ± 0.61 <sup>**</sup> | 10.08 ± 4.76 <sup>**</sup> | 80.65 ± 1.04 <sup>*</sup>  | 0.57 ± 0.03 <sup>*</sup>  |

与假手术组比较: <sup>△△</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

<sup>△△</sup> $P < 0.01$  vs Sham group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group

### 3.4 对大鼠血清 SOD、MDA 的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠血清中的 SOD 显著降低, MDA 含量明显升高 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 各剂量组均能提高 SOD 活性, 红景天玄参组合物高剂量组有显著性差异 ( $P<0.01$ ); 红景

天玄参组合物中、高剂量可降低 MDA 的量, 与模型组比较有统计学意义 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ ); 与红景天、玄参单独给药组相比, 红景天玄参组合物对提高 SOD 活性及减少 MDA 量的作用较好。结果见表 4。

表 4 红景天玄参组合物对右侧大脑中动脉栓塞模型大鼠血清 SOD、MDA 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Effect of combination of *Rhodiole Crenulatae Radix et Rhizoma* and *Scrophulariae Radix* on serum SOD activity and MDA level in right side of middle cerebral artery occlusion model rats ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组 别      | 动物数/只 | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | SOD/(mmol·L <sup>-1</sup> ) | MDA/(mmol·L <sup>-1</sup> ) |
|----------|-------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 假手术      | 10    | —                        | 12.342±1.539                | 6.320±0.417                 |
| 模型       | 9     | —                        | 10.157±1.084 <sup>△△</sup>  | 8.961±1.882 <sup>△△</sup>   |
| 尼莫地平     | 10    | 0.032                    | 13.405±2.423 <sup>**</sup>  | 6.049±0.353 <sup>**</sup>   |
| 红景天玄参组合物 | 9     | 0.06+0.06                | 12.179±3.316                | 7.162±0.794                 |
|          | 9     | 0.19+0.19                | 12.861±1.927                | 6.606±0.468 <sup>*</sup>    |
|          | 10    | 0.6+0.6                  | 13.637±2.594 <sup>**</sup>  | 6.115±0.302 <sup>**</sup>   |
| 红景天      | 9     | 0.13                     | 12.054±4.840                | 7.202±0.794                 |
|          | 10    | 0.39                     | 12.379±3.421                | 6.915±0.534 <sup>*</sup>    |
|          | 9     | 1.20                     | 12.542±1.790 <sup>*</sup>   | 6.758±0.332 <sup>*</sup>    |
| 玄参       | 9     | 0.13                     | 11.833±3.680                | 7.285±1.098                 |
|          | 9     | 0.39                     | 12.089±3.421                | 6.982±0.776                 |
|          | 10    | 1.20                     | 12.652±1.990 <sup>*</sup>   | 6.815±0.534 <sup>*</sup>    |

与假手术组比较: <sup>△△</sup> $P<0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P<0.05$  <sup>\*\*</sup> $P<0.01$   
<sup>△△</sup> $P<0.01$  vs Sham group; <sup>\*</sup> $P<0.05$  <sup>\*\*</sup> $P<0.01$  vs model group

### 3 讨论

与全脑缺血相比, 局灶性脑缺血所引起的脑损伤更严重<sup>[12]</sup>。临床上, 大脑中动脉梗死占初次脑卒中病例的 70% 左右。大量研究表明, 防治脑缺血再灌注损伤主要通过以下几种机制: 清除自由基、提高抗氧化酶活性<sup>[13]</sup>; 拮抗兴奋性氨基酸毒性, 稳定细胞 Ca<sup>2+</sup> 浓度, 减少兴奋性氨基酸及钙超载引起的损伤<sup>[14]</sup>; 减少神经细胞凋亡和改善血液流变学。

过氧化氢是一种重要的活性氧成分, 使膜脂质过氧化, 降低细胞膜的流动性, 改变胞内蛋白质成分和活性, 使染色质浓缩, DNA 断裂, 最终导致细胞死亡<sup>[15]</sup>。谷氨酸可使神经元水肿与胞内钙超载, 产生兴奋性毒性, 并通过多种分子事件引起细胞死亡及凋亡<sup>[16-17]</sup>, 因此过氧化氢、谷氨酸致神经细胞损伤模型可作为体外筛选神经保护药物的主要手段。体外活性研究结果显示, 红景天、玄参各配比的组合物对过氧化氢、谷氨酸损伤的细胞都具有一定的保护作用, 当以 1:1 配比时, 综合评分最高, 表明红景天玄参组合物可通过降低过氧化氢活性和

谷氨酸兴奋性毒性, 减少神经细胞的凋亡, 从而保护脑缺血再灌注损伤。

研究证实, “大鼠脑中动脉栓塞再灌注模型”模拟的病理过程与人相似<sup>[18]</sup>, 是筛选药物改善局灶性脑缺血的最常用模型。体内实验结果发现, 红景天玄参组合物中、高剂量组可使模型大鼠的脑梗死面积明显缩小, 脑梗死率降低, 对由脑缺血引起的脑组织水肿有一定的调节作用, 且造模 72 h 后, 大鼠的行为障碍明显得到改善, 表明红景天玄参组合物对大鼠局灶性脑缺血损伤再灌注具有保护作用, 同时与红景天或玄参单独给药相比, 组合物对脑缺血损伤保护作用更明显。

缺血再灌注后, 氧气供应逐渐增多, 产生了大量自由基。SOD 是人体内自身就含有的一种抗氧化酶, 能清除机体内氧自由基, SOD 的活性的变化也反映出机体氧自由基的情况; MDA 是一种由氧自由基与生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应产生的代谢产物, MDA 含量的变化间接反映出组织中氧自由基含量及细胞损伤的程度。本研究发现,

红景天玄参组合物可明显提高 SOD 活性,降低 MDA 生成的量,提示其能够提高抗氧化酶的活性,使自由基的产生及由氧自由基引起的脂质过氧化反应受到抑制,从而减轻了由脑缺血再灌注引起的损伤。综上所述红景天玄参组合物对脑缺血再灌注损伤具有保护作用,值得深入研究。

#### 参考文献

- [1] Beal C C. Gender and stroke symptoms: a review of the current literature [J]. *J Neurosci Nurs*, 2010, 42(2): 80-87.
- [2] 文 镜, 郭 豫, 常 平. 红景天提取物抗氧化作用的实验观察 [J]. *中国临床康复*, 2005, 9(11): 125-127.
- [3] 储戟农, 张早华, 刘建勋, 等. 红景天注射液对大鼠心肌缺血再灌注所致心肌梗塞的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2005, 11(5): 56-57.
- [4] 陈 婵, 陈长勋, 吴喜民, 等. 玄参提取物降低自发性高血压大鼠血压的作用机制 [J]. *中西医结合学报*, 2012, 10(9): 1009-1017.
- [5] 师 怡, 许 晖, 阚慧卿, 等. 玄参化学成分的药理作用和分析方法 [J]. *海峡药学*, 2006, 18(4): 58-61.
- [6] 黄 前, 贡沁燕, 姚明辉, 等. 玄参提取物对大鼠局灶性脑缺血的保护作用(英文) [J]. *中国新药与临床杂志*, 2004, 23(6): 323-325.
- [7] 席守民, 胡 澍, 温新丽, 等. 蜗牛多肽混合物抗过氧化氢诱导的 SH-SY5Y 细胞损伤的作用 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2013, 29(9): 681-684.
- [8] 冉建华, 孙善全, 汪克建, 等. 红景天苷对大鼠缺血性脑水肿的影响 [J]. *中草药*, 2008, 39 (8): 1200-1204.
- [9] 颜天华, 贾 莹, 杨 伟, 等. 红景天苷对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. *第四军医大学学报*, 2008, 29(18): 1672-1675.
- [10] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [11] Bederson J B, Pitts LH, Tsuji M, *et al.* Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination [J]. *Stroke*, 1986, 17(3): 472- 476.
- [12] Smith M L, Bendek G, Dahlgren N, *et al.* Models for studying long-term recovery following forebrain ischemia in the rat. 2. A 2-vessel occlusion model [J]. *Acta Neurol Scand*, 1984, 69(6): 385-401.
- [13] Lindvall O, Kokaia Z, Bengzon J, *et al.* Neurotrophins and brain insults [J]. *Trends Neurosci*, 1994, 17(11): 490-496.
- [14] Cheng B, Mattson M P. NT-3 and BDNF protect CNS neurons against metabolic/excitotoxic insults [J]. *Brain Res*, 1994, 640(1-2): 56-67.
- [15] Woodruff T M, Thundyil J, Tang S C, *et al.* Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke [J]. *Mol Neurodegener*, 2011, 6(1): 11.
- [16] Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz M A. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view [J]. *Trends Neurosci*, 1999, 22(9): 391-397.
- [17] Hertz L. Bioenergetics of cerebral ischemia: a cellular perspective [J]. *Neuropharmacology*, 2008, 55(3): 289-309.
- [18] Kassem-Moussa H, Graffagnino C. Nonocclusion and spontaneous recanalization rates in acute ischemic stroke: a review of cerebral angiography studies [J]. *Arch Neurol*, 59(12): 1870-1873.