

七十味珍珠丸抗大鼠脑缺血再灌注损伤的量效关系研究

徐文龙¹, 孙位军¹, 王 张^{2*}, 刘光丽¹, 徐圆梦², 梁 源¹

1. 成都中医药大学 药学院, 四川 成都 611137

2. 成都中医药大学 民族医药学院, 四川 成都 611137

摘要: **目的** 揭示七十味珍珠丸抗大鼠脑缺血再灌注损伤的量效关系。**方法** 制备大鼠脑缺血再灌注损伤模型, 七十味珍珠丸用生理盐水配制成 3 mg/mL 混悬液, 造模后立即 ig 给药, 于脑缺血 2、24 h 分别检测大鼠脑梗死率、神经行为学、体质量和血液生化指标, 并分析给药剂量与脑梗死率之间的量效关系。**结果** 七十味珍珠丸 4.17、8.33、16.67、33.34、66.68、133.36 mg/kg 组大鼠脑梗死率明显降低 ($P < 0.01$ 、 0.05), 且与药物剂量呈负相关 ($P < 0.05$, 相关系数为 -0.689), 达峰剂量 (D_{max}) 为 33.34 mg/kg, 最大效应 (E_{max}) 即脑梗死率最小为 3.02%。七十味珍珠丸对大鼠神经行为学异常、体质量无影响。七十味珍珠丸 0.52、1.04、2.08、4.17、33.34 mg/kg 组血清丙二醛 (MDA) 水平明显降低 ($P < 0.05$)。七十味珍珠丸 33.34、66.68、133.36 mg/kg 组血清中超氧化物歧化酶 (SOD) 活力明显升高 ($P < 0.01$ 、 0.05)。**结论** 七十味珍珠丸能降低大鼠脑梗死率, 有效剂量 4.17~133.36 mg/kg, 最大有效剂量 33.34 mg/kg, 可能与降低 MDA 水平, 升高 SOD 活力有关。

关键词: 七十味珍珠丸; 脑缺血再灌注损伤; 脑梗死率; 神经行为学; 量效关系

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2017)01-0010-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.01.003

Dose-effect relationship of Qishiwei Zhenzhu Pills against cerebral ischemic-reperfusion injury in rats

XU Wen-long¹, SUN Wei-jun¹, WANG Zhang², LIU Guang-Li¹, XU Yuan-meng², LIANG Yuan¹

1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. College of Ethnomedicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: **Objective** To reveal the dose-effect relationship of Qishiwei Zhenzhu Pills in treatment of cerebral ischemic-reperfusion injury in rats. **Methods** Cerebral ischemic-reperfusion injury model in rat was established. Qishiwei Zhenzhu Pills (3 mg/mL suspended in normal saline) were ig administered after model established. Then cerebral infarction rate, nerve behavior, body weight, and blood biochemical indexes were tested at 2 and 24 h, respectively. And an analysis of dose-effect relationship between dose and rate of cerebral infarction was carried out. **Results** Cerebral infarction rates in Qishiwei Zhenzhu Pills group (4.17, 8.33, 16.67, 33.34, 66.68, and 133.36 mg/kg) were obviously reduced ($P < 0.01$, 0.05), and there was a clear negative correlation between dose and rate of cerebral infarction ($P < 0.05$), and the correlation coefficient was -0.689 . Qishiwei Zhenzhu Pills reached its D_{max} of 33.34 mg/kg with E_{max} ie minimum rate of cerebral infarction 3.02%. There was no significant effect for Qishiwei Zhenzhu Pills on nerve behavior and body weight in rats. MDA contents in Qishiwei Zhenzhu Pills group (0.52, 1.04, 2.08, 4.17, and 33.34 mg/kg) were decreased ($P < 0.05$), but total SOD activities in Qishiwei Zhenzhu Pills group (33.34, 66.68, and 133.36 mg/kg) were increased ($P < 0.01$, 0.05). **Conclusion** Qishiwei Zhenzhu Pills can reduce the rate of cerebral infarction, and the effective dose range was from 4.17 to 133.36 mg/kg with its maximum effective dose of 33.34 mg/kg, which may be related to MDA content and SOD activity.

Key words: Qishiwei Zhenzhu Pills; cerebral ischemic-reperfusion injury; cerebral infarction rate; nerve behavior; dose-effect relationship

七十味珍珠丸收载于《中国药典》2015 年版一部 麝香等组成^[1]。七十味珍珠丸又称然纳桑培, 成方部, 由珍珠、檀香、降香、九眼石、西红花、牛黄、 于公元 8 世纪, 原系藏医经典方剂二十五味珍珠母

收稿日期: 2016-10-28

基金项目: 中国博士后科学基金面上资助项目 (2012M511916); 四川省中医药管理局科技专项 (2012-E-040); 成都中医药大学自然科学青年教师创新基金项目 (ZRQN1544)

作者简介: 徐文龙 (1991—), 男, 湖北省黄冈市人, 硕士研究生, 研究方向为中药理论与实践应用。Tel: 15520478902 E-mail: 454514539@qq.com

*通信作者 王 张 (1980—), 重庆市荣昌县人, 副研究员, 博士后, 硕士研究生导师, 研究方向: 民族药的药理学。E-mail: wzcqcd@163.com

丸,始载于藏医古典巨著《四部医典》。具有安神镇静、通筋活络、调和气血等功效,主要用于治疗“黑白脉病”、“龙血”不调;中风、瘫痪、半身不遂、癫痫、脑溢血、脑震荡、心脏病、高血压及神经性障碍等疾病。目前,七十味珍珠丸的药理研究多集中于中枢镇静^[2]、抗惊厥^[3]、改善学习记忆^[4-5]、改善血液流变学^[6]和血流动力学^[7]。其临床用法用量为重症患者 1 g (1 丸)/d,普通病症每隔 3~7 天给药一次。但查阅临床和实验研究文献,七十味珍珠丸治疗缺血性脑卒中的剂量范围为每天 2~1 000 mg/kg (平均值为 192 mg/kg),药物剂量跨度大、用量多,容易造成药物蓄积,又因其使用较多贵重金属,故制造成本较高,长期和较高剂量用药势必增加治疗成本,因此本研究对七十味珍珠丸抗大鼠脑缺血再灌注损伤的量效关系进行了研究。

1 材料

1.1 试验药物

七十味珍珠丸由西藏甘露藏药股份有限公司生产,规格 1 g/丸,产品批号 14049A。尼莫地平片由拜耳医药保健有限公司生产,规格 30 mg/片,产品批号为 BJ17436。

1.2 动物

SD 大鼠,SPF 级,雄性,350 只,体质量为 300~350 g,由成都达硕生物科技有限公司提供,批号 0016490,实验动物生产许可证号 SCXK (川) 2015-030。实验前动物于室内适应环境饲养,室内温度 (25±1)℃,自由饮水,喂食辐射灭菌维持饲料。

1.3 试剂

红四氮唑,分析纯,上海灵锦精细化工有限公司,批号为 20130305。总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 测试盒 (批号 20160512,规格 50T/48 样)、丙二醛 (MDA) 测试盒 (批号 20160623,规格 100T/96 样) 均由南京建成生物工程研究所提供。

1.4 仪器

BS-600L 电子称 (上海有声衡器有限公司);电子天平由赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司提供;722 型可见分光光度计由上海佑科仪器仪表有限公司生产。

2 方法

2.1 动物分组

将大鼠随机分为假手术组、模型组、尼莫地平组和七十味珍珠丸 0.52、1.04、2.08、4.17、8.33、

16.67、33.34、66.68、133.36 mg/kg 9 个剂量组,每组再分为 2、24 h 亚组,每组确保 6 只动物纳入最后的统计。

2.2 造模与给药

参考文献报道方法^[8-9],分离颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉和翼腭动脉,结扎颈外动脉远心端,近心端穿线打一松结,血管夹暂时夹闭颈内动脉和翼腭动脉,在颈外动脉远心端结扎线和近心端松结之间剪一小口,将栓线插入颈总动脉,经颈内动脉插入栓线,插入长度约 20 mm (自颈总动脉分叉处算起),大脑中动脉阻断一定时间后进行再灌注;假手术组仅在动物的动脉处备线处理,不造模。

七十味珍珠丸成人用量为每天 1 g/60 kg 体质量,即 16.67 mg/kg。尼莫地平片服用方法为 3 次/d,60 mg/次,故其成人用量为每天 6 mg/kg,即大鼠的等效剂量为 30 mg/kg (为成人用量的 5 倍)。

七十味珍珠丸设置了 9 个剂量,实验时将丸剂粉碎,并用生理盐水配制成 3 mg/mL 的混悬液,造模后,立即 ig 给予相应剂量的七十味珍珠丸,给药 1 d。假手术组和模型组给予等体积生理盐水,给药体积均为 10 mL/kg。

2.3 指标检测

2.3.1 脑梗死率的计算 给药后处死脑缺血 2、24 h 时的大鼠,立即取全脑,进行 TTC 染色,计算脑梗死率^[10]。

脑梗死率=梗死部分质量/全脑质量

2.3.2 神经行为学考察 参考 Longa、Bederson 的 5 分制法^[11],分值越高,说明大鼠行为障碍越严重^[12],评分见表 1。

表 1 神经功能缺失体征评分标准
Table 1 Neurological deficit score criteria

症 状	分 值
无神经损伤症状	0 分
不能完全伸展左侧前爪	1 分
向左侧转圈	2 分
向左侧倾倒	3 分
不能自发行走,意识丧失	4 分

2.3.3 体质量比较 大鼠脑缺血后 2、24 h 时分别称定体质量,记录结果。

2.3.4 生化指标的测定 大鼠脑缺血后 2、24 h 进行麻醉后腹主动脉采血,按 T-SOD 测试盒和 MDA 测试盒方法测定血清中 SOD 活性和 MDA 水平。

2.4 统计学方法

运用 SPSS 19 for windows 软件对实验数据进行组内和组间的 t 检验, 神经行为学采用 2 个独立样本的非参数检验, 对七十味珍珠丸的给药剂量与大鼠的脑梗死率进行相关性分析; 另外采用 Thermo Kinetica Version 5.1 软件对给药剂量与脑梗死率进行量效关系拟合, 并计算相关参数。

3 结果

3.1 对脑缺血再灌注损伤大鼠脑梗死率的影响

与对照组比较, 模型组大鼠的脑梗死率在 2、24 h 均明显增加 ($P < 0.01$), 说明脑缺血再灌注损伤模型制造成功; 与模型组比较, 尼莫地平组大鼠的脑梗死率在 24 h 时明显降低 ($P < 0.01$), 但在 2 h 时没有明显差异; 与模型组比较, 七十味珍珠丸 9 个剂量组大鼠的脑梗死率在 2 h 时均没有明显差异, 但在 24 h 时脑梗死率均降低, 且与药物剂量呈负相关 ($P < 0.05$, 相关系数为 -0.689), 其中 4.17、8.33、16.67、33.34、66.68、133.36 mg/kg 七十味珍珠丸组大鼠的脑梗死率明显降低 ($P < 0.01$ 、 0.05), 33.34、66.68、133.36 mg/kg 七十味珍珠丸组大鼠的脑梗死率间没有明显差异, 即降低作用停止。见表 2、图 1。

表 2 七十味珍珠丸对脑缺血再灌注损伤大鼠脑梗死率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 2 Effect of Qishiwei Zhenzhu Pills on cerebral infarction rate of rats with cerebral ischemic-reperfusion injury ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	脑梗死率/%	
		脑缺血后 2 h	脑缺血后 24 h
对照	—	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
模型	—	2.18 ± 0.95 ^{▲▲}	18.96 ± 4.71 ^{▲▲##}
尼莫地平	30	2.34 ± 0.66	4.40 ± 1.92 ^{***}
七十味珍珠丸	0.52	2.28 ± 0.68	18.61 ± 3.46 ^{##}
	1.04	2.02 ± 0.60	15.99 ± 4.38 ^{##}
	2.08	2.24 ± 0.48	14.39 ± 2.25 ^{##}
	4.17	1.40 ± 0.58	13.09 ± 2.54 ^{*##}
	8.33	2.90 ± 1.22	8.31 ± 5.09 ^{**#}
	16.67	2.87 ± 0.74	4.98 ± 1.59 ^{***}
	33.34	2.61 ± 0.64	3.02 ± 0.62 ^{**}
	66.68	2.16 ± 0.42	3.40 ± 1.53 ^{**}
	133.36	2.19 ± 0.50	3.03 ± 1.44 ^{**}

与对照组比较: ^{▲▲} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$;
与同组 2 h 时间点比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$

^{▲▲} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group;
[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs same group at 2 h

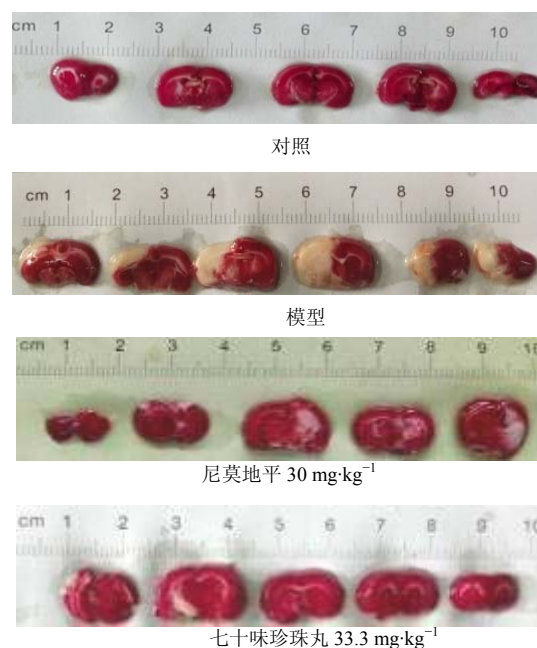


图 1 脑缺血 24 h 再灌注损伤大鼠脑梗死情况

Fig. 1 Cerebral ischemia for 24 h reperfusion injury in rats with cerebral infarction

分析大鼠 24 h 时的脑梗死率可知, 七十味珍珠丸对脑缺血再灌注损伤模型大鼠的脑保护作用的有效剂量范围是 4.17~133.36 mg/kg。通过 Thermo Kinetica Version 5.1 软件进行计算拟合 (图 2), 按照“脑梗死率越低, 药物作用越强”的标准, 七十味珍珠丸的达峰剂量 (D_{max}) 为 33.34 mg/kg, 最大效应 (E_{max}) 即脑梗死率最小为 3.02%; 量效曲线下总面积 (AUC_{tot}) 为 724.22 kg/mg, 半最大效应剂量 (ED_{50}) 为 59.33 mg/kg, 平均滞留剂量 (MRD) 为 93.96 mg/kg, 相关系数 (R) 为 -0.7464 。

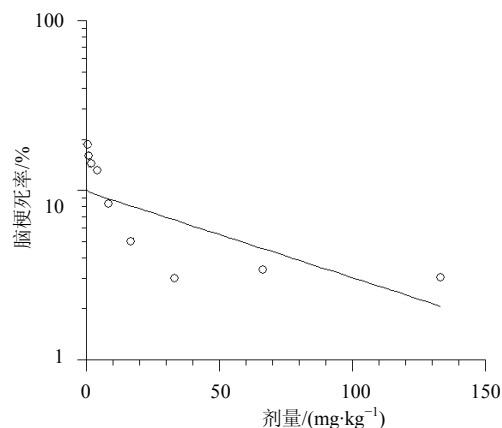


图 2 七十味珍珠丸剂量-效应曲线散点图

Fig. 2 Dose effect curve scatter plot of Qishiwei Zhenzhu Pills

3.2 对脑缺血再灌注损伤大鼠神经行为学的影响

与对照组比较,模型组大鼠在 2、24 h 均有明显的神经行为学异常 ($P<0.01$ 、 0.05),多表现出大鼠向左转圈,左前脚不自然伸直等。与模型组比较,七十味珍珠丸 9 个剂量对大鼠神经行为学异常没有明显的改善作用,见表 3。

表 3 七十味珍珠丸对脑缺血再灌注损伤大鼠神经行为学的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Effect of Qishiwei Zhenzhu Pills on neural behavior of rats with cerebral ischemic-reperfusion injury ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	神经行为学评分/只									
		脑缺血后 2 h					脑缺血后 24 h				
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
对照	—	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
模型	—	0 ^{▲▲}	0 ^{▲▲}	4 ^{▲▲}	2 ^{▲▲}	0 ^{▲▲}	2 [▲]	2 [▲]	0 [▲]	2 [▲]	0 [▲]
尼莫地平	30	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0
七十味珍珠丸	0.52	0	0	5	1	0	0	4	1	0	1
	1.04	0	2	3	1	0	1	4	1	0	0
	2.08	0	1	2	3	0	0	3	2	1	0
	4.17	0	0	1	4	1	2	2	2	0	0
	8.33	0	0	2	4	0	2	0	2	2	0
	16.67	0	1	0	3	2	2	2	1	1	0
	33.34	0	1	3	2	0	1	3	1	1	0
	66.68	0	2	3	1	0	3	3	0	0	0
	133.36	0	0	3	2	1	0	5	1	0	0

与对照组比较: [▲] $P<0.05$ ^{▲▲} $P<0.01$

[▲] $P<0.05$ ^{▲▲} $P<0.01$ vs control group

3.3 对脑缺血再灌注损伤大鼠体质量的影响

与模型组比较,尼莫地平组和七十味珍珠丸 9 个剂量组大鼠体质量在 2、24 h 时没有差异。与脑缺血 2 h 时的体质量比较,脑缺血 24 h 时模型组、尼莫地平组和七十味珍珠丸 9 个剂量组体质量均明显下降 ($P<0.01$ 、 0.05)。说明麻醉操作后导致动物摄食量减少,以及脑缺血再灌注损伤模型导致手术局部的体液和血液流失,均可能导致大鼠体质量减低,见表 4。

3.4 对脑缺血再灌注损伤大鼠血清中 MDA 水平的影响

与对照组比较,模型组大鼠血清中 MDA 水平升高,但没有明显差异;与模型组比较,尼莫地平组大鼠血清中 MDA 水平降低但没有明显差异,七

十味珍珠丸 9 个剂量组的血清中 MDA 水平均降低,其中 0.52、1.04、2.08、4.17、33.34 mg/kg 剂量组的降低作用有明显差异 ($P<0.05$)。见表 5。

表 4 七十味珍珠丸对脑缺血再灌注损伤大鼠体质量的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 4 Effect of Qishiwei Zhenzhu Pills on body weight of rats with cerebral ischemic-reperfusion injury ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	体质量/g	
		脑缺血后 2 h	脑缺血后 24 h
对照	—	345.46±2.73	338.94±7.75
模型	—	345.46±2.73	327.30±12.92 ^{##}
尼莫地平	30	345.33±6.92	324.95±8.21 ^{##}
七十味珍珠丸	0.52	344.92±9.01	324.27±13.49 [#]
	1.04	343.20±10.02	338.54±2.78
	2.08	349.84±11.44	338.22±26.83
	4.17	353.19±11.09	328.31±4.61 ^{##}
	8.33	345.76±6.16	328.74±12.93 [#]
	16.67	347.26±7.55	324.85±14.84 [#]
	33.34	347.29±3.05	328.13±2.72 ^{##}
	66.68	343.27±5.34	321.15±9.07 ^{##}
	133.36	342.08±6.78	316.26±10.93 ^{##}

与 2 h 时间点比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$

[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs results at 2 h

表 5 七十味珍珠丸对脑缺血 24 h 再灌注损伤大鼠血清中 MDA 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Effect of Qishiwei Zhenzhu Pills on levels of serum MDA of rats with cerebral ischemia for 24 h reperfusion injury ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	n/只	MDA/(nmol·mL ⁻¹)
对照	—	6	6.03±0.99
模型	—	6	6.97±1.01
尼莫地平	30	5	6.50±1.05
七十味珍珠丸	0.52	5	4.81±0.48 [*]
	1.04	6	5.28±0.70 [*]
	2.08	5	4.80±0.85 [*]
	4.17	6	6.14±0.72 [*]
	8.33	6	5.24±0.64
	16.67	6	5.62±0.84
	33.34	6	4.10±2.06 [*]
	66.68	6	6.18±0.80
	133.36	4	5.93±0.20

与模型组比较: ^{*} $P<0.05$

^{*} $P<0.05$ vs model group

3.5 对脑缺血再灌注损伤大鼠血清中总 SOD 活力的影响

与对照组比较, 模型组的血清中总 SOD 活力降低但没有明显差异。与模型组比较, 尼莫地平组的血清中总 SOD 活力升高但没有明显差异, 七十味珍珠丸 9 个剂量组的血清中总 SOD 活力呈现降低趋势, 其中 33.34、66.68、133.36 mg/kg 七十味珍珠丸组有明显升高 ($P < 0.01$ 、 0.05), 见表 6。

表 6 七十味珍珠丸对脑缺血 24 h 再灌注损伤大鼠血清中总 SOD 活力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Effect of Qishiwei Zhenzhu Pills on activities of serum total SOD of rats with cerebral ischemia for 24 h reperfusion injury ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	n/只	总 SOD 活力/(U·mL ⁻¹)
对照	—	6	241.25 ± 116.56
模型	—	5	207.14 ± 31.08
尼莫地平	30	5	286.73 ± 64.01
七十味珍珠丸	0.52	5	284.58 ± 109.62
	1.04	6	267.13 ± 100.90
	2.08	6	252.89 ± 65.15
	4.17	5	242.77 ± 88.60
	8.33	6	226.82 ± 57.25
	16.67	5	219.87 ± 67.15
	33.34	5	326.46 ± 76.70*
	66.68	6	306.76 ± 57.66**
	133.36	5	341.55 ± 67.55**

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

4 讨论

七十味珍珠丸多用于治疗脑缺血卒中、偏瘫、中风等。对于重症病人, 临床上以 1 g/d 的剂量服用, 大鼠等效剂量约为 66.68 mg/kg (4 倍临床剂量)。本课题组在前期七十味珍珠丸的急性毒性实验中得出七十味珍珠丸的最大给药剂量为 10 g/kg, 结合七十味珍珠丸的大鼠等效剂量 (66.68 mg/kg) 及临床服用剂量 (16.64 mg/kg), 本研究设计了 9 个剂量组, 尤其是设计了 0.52、1.04、2.08 mg/kg 3 个超低剂量组以期探索七十味珍珠丸在超低剂量下的治疗效果。结果表明, 与 66.68 mg/kg 剂量组比较, 16.67、33.34、133.36 mg/kg 剂量组脑梗死率没有显著性差异, 且当剂量为 33.34 mg/kg (2 倍临床剂量) 时, 最大效应即脑梗死率最小为 3.02 %, 提示更小的给药剂量 33.34 mg/kg 所达到的治疗作用与等效剂量

无异, 但超低剂量下七十味珍珠丸对局灶性脑缺血并无明显治疗效果。降低七十味珍珠丸临床上使用剂量, 不仅能减少患者的治疗成本, 同时七十味珍珠丸本身含有大量的重金属成分, 减少服用量还能降低重金属成分在体内 (如肝脏胆管) 的蓄积。

脑梗死又称缺血性脑血管疾病, 是指各种原因引起的脑部血液供应障碍, 使局部脑组织发生不可逆损害, 导致脑组织缺血、缺氧坏死, 包括最常见的动脉粥样硬化性血栓性脑梗死以及脑栓塞 (栓子)、脑分水岭梗死、出血性梗死等^[13]。一般表现为偏瘫、偏身感觉障碍和同向性偏盲; 可伴有不同程度的意识障碍等。本研究中对造模后大鼠采用 Longa、Bederson 的 5 分制法进行神经行为学评分, 分值越高, 表明行为学障碍越加严重, 所代表的脑梗死越严重。结果表明, 神经行为学与脑梗死情况并不统一, 结合实验过程分析原因: 首先受麻醉药的影响。由于大鼠体质差异, 每只大鼠的麻醉药用量不一, 导致在 2 h 观察时大鼠的精神状态不一样, 有的甚至处于昏迷状态无法进行行为学观察, 导致行为学评分出现偏差; 其次观察人员的主观认识。神经行为学的评分是通过对造模动物一定时间后进行人为的主观观察其行为学, 不同观察人员的评分有差异。

脑缺血过程中通过调节多种酶类^[14], 如 NADPH 氧化酶、NOs 等, 造成线粒体损伤, 再灌注后线粒体不能提供足够的电子而达到还原作用, 因而产生大量的自由基和游离脂肪酸。活性自由基能氧化细胞膜和基底膜上的不饱和脂肪酸, 引起血管内皮细胞和基底膜损伤, 从而破坏血脑屏障 (BBB) 的完整性。向脑内注射或脑表灌注自由基生成剂都可以增加 BBB 的通透性; 而自由基清除剂, 如超氧化物歧化酶、MCI-186、NXY-509、苦瓜多糖等都能减轻损害^[15-16]。自由基还直接参与 MMPs 的氧化修饰及硝基化修饰, 并激活 MMPs, 此外作用于转录因子能激活 MMPs 的转录过程^[17]。SOD1 敲除小鼠再灌注 3 h, 脑组织 MMP-9 前体的表达水平较野生型明显增高, 且 MMP-2、9 的活性在基因敲除鼠中也更高, 并主要定位于缺血组织中的微血管周围及星形胶质细胞终足。相反, 过表达 SOD1 小鼠的脑水肿程度明显小于野生鼠^[18]。用高糖培养基长期孵育血管内皮细胞可以使 ROS 水平增高, MMP-9 启动子活性增高, 蛋白表达及活性增加, 而抗氧化剂可抑制^[19]。在本研究中发现, 七十

味珍珠丸各剂量对大鼠血液中SOD活力和MDA水平影响趋势并不一致。在七十味珍珠丸低剂量(0.52、1.04、2.08、4.17、33.34 mg/kg)组中MDA水平明显降低,在高剂量(33.34、66.68、133.36 mg/kg)组中SOD活力明显升高。故推测七十味珍珠丸在低剂量时,能直接降低MDA水平;在高剂量时,则通过升高SOD活力,从而间接降低MDA水平。

目前,对于七十味珍珠丸治疗脑缺血等方面疾病研究中,海平^[20]发现七十味珍珠丸具有显著降低脑损伤所致大鼠脑内5-HTNA含量升高的作用,对DA含量的抑制也有一定的作用趋势,认为其机制可能与调节脑内单胺类神经递质的作用有关。杜俊蓉等^[21]在对SHRsp脑卒中研究中发现其预防作用可能与中枢微循环的改善有关;此外杜俊蓉^[22]还在对实验性脑缺血的保护作用的研究中发现七十味珍珠丸可明显改善局部脑缺血导致的脑毛细血管通透性增高。在本研究中,七十味珍珠丸在低剂量时能直接降低MDA水平,在高剂量时则通过升高SOD活力间接降低MDA水平,表明其机制可能与降低MDA水平,升高SOD活力有关

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015: 450-451.
- [2] 文青杰, 艾措千, 海平, 等. 藏药70味珍珠丸的镇静作用研究 [J]. 中国民族医药杂志, 1998, 4(2): 41-42.
- [3] 海平, 周生祥, 尚鸿, 等. 藏药70味珍珠丸抗惊厥作用研究 [J]. 中国民族医药杂志, 1998, 4(2): 45-46.
- [4] 王晓勤, 周生祥, 尚鸿, 等. 藏药七十味珍珠丸对小鼠学习记忆再现缺失的作用 [J]. 中国民族医药杂志, 2001, 7(2): 30-31.
- [5] 张吉仲. 藏药复方珍珠丸对记忆获得障碍动物模型的智力影响 [J]. 西南民族大学学报: 自然科学版, 2010, 36(3): 438-440.
- [6] 海平, 陈秋红, 周生祥, 等. 藏药70味珍珠丸对“血瘀”大鼠血液流变学的影响 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2001, 18(1): 15-17.
- [7] 海平, 陈秋红, 都渝, 等. 藏药七十味珍珠丸对兔血流动力学的作用 [J]. 中国民族医药杂志, 2001, 7(2): 32-34.
- [8] 梁未雯, 黄春娟, 王张, 等. 藏药七十味珍珠丸对线栓致大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的时效关系初步研究 [J]. 中药药理与临床, 2015, 31(1): 182-187.
- [9] 李仪奎. 中药药理实验方法学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 297-306.
- [10] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 493, 539-540.
- [11] Lv W, Guo J, Ping Q, *et al.* Comparative pharmacokinetics of breviscapine liposomes in dogs, rabbits and rats [J]. *Int J Pharm*, 2008, 359(1-2): 118-122.
- [12] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学 [M]. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1003-1005.
- [13] 贾建平. 神经病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [14] Sun L, Wolferts G, Veltkamp R. Oxygen therapy does not increase production and damage induced by reactive oxygen species in focal cerebral ischemia [J]. *Neurosci Lett*, 2014, 577: 1-5.
- [15] Seet R C, Lee C Y, Chan B P, *et al.* Oxidative damage in ischemic stroke revealed using multiple biomarkers [J]. *Stroke*, 2011, 42(8): 2326-2329.
- [16] Gong J, Sun F, Li Y, *et al.* Momordica charantia polysaccharides could protect against cerebral ischemia/reperfusion injury through inhibiting oxidative stress mediated c-Jun N-terminal kinase 3 signaling pathway [J]. *Neuropharmacology*, 2015, 91: 123-134.
- [17] Shin M H, Moon Y J, Seo J E, *et al.* Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase, xanthine oxidase, and mitochondrial electron transport system mediate heat shock-induced MMP-1 and MMP-9 expression [J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 44(4): 635-645.
- [18] Gasche Y, Copin J C, Sugawara T, *et al.* Matrix metalloproteinase inhibition prevents oxidative stress-associated blood-brain barrier disruption after transient focal cerebral ischemia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2001, 21(12): 1393-1400.
- [19] Uemura S, Matsushita H, Li W, *et al.* Diabetes mellitus enhances vascular matrix metalloproteinase activity: role of oxidative stress [J]. *Circ Res*, 2001, 88(12): 1291-1298.
- [20] 海平. 七十味珍珠丸对脑损伤大鼠脑内单胺类神经递质的影响 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2002, 19(2): 91-92.
- [21] 杜俊蓉, 邢茂, 林治荣. 珍珠七十丸对SHRsp脑卒中及高血压防治作用的研究 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(6): 557-559.
- [22] 杜俊蓉. 珍珠七十丸对实验性脑缺血的保护作用 [J]. 中国民族医药杂志, 2003, 11(3): 25-26.