

黄芩苷对脑损伤的保护作用

王超云, 蒋王林, 智红英, 田京伟, 傅风华*, 刘珂*

(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 264005)

摘要: 目的 研究黄芩苷对脑损伤的保护作用。方法 采用小鼠断头法、创伤法、大鼠大脑中动脉栓塞法建立脑损伤模型, 通过观察断头喘息时间、测定脑含水量及脑组织缺血面积, 观察黄芩苷对脑损伤的保护作用。结果 黄芩苷 360 mg/kg 剂量可显著延长断头小鼠的喘息时间 ($P < 0.01$); 90 mg/kg 剂量可显著改善创伤性脑水肿 ($P < 0.05$); 200 mg/kg 剂量可明显降低大鼠脑缺血面积 ($P < 0.05$)。结论 黄芩苷对脑组织具有保护作用。

关键词: 黄芩苷; 脑缺血; 创伤性脑水肿

中图分类号: R 286.10

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)02-0188-03

Protective effect of baicalin on brain injury

WANG Chao-yun, JIANG Wang-lin, ZHI Hong-ying, TIAN Jing-wei, FU Feng-hua, LIU Ke

(School of Pharmacy, Yantai University, Shandong Engineering Research Center for Natural Drugs, Yantai 264005, China)

Key words: baicalin; cerebral ischemia; cerebral edema

黄芩苷 (baicalin) 为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的主要活性成分之一, 其在抗炎、降脂、解热、镇静等方面的作用已被大量动物实验及临床研究所证实, 但其在脑损伤方面的作用少见报道, 本实验对此进行了研究。

1 材料

1.1 动物: 普通级 Wistar 大鼠, 雄性, 体重 (230 ± 20) g; 清洁级昆明种小鼠, 雄性, 体重 18~22 g, 均由山东省天然药物工程技术研究中心实验动物中心提供, 合格证号分别为: 鲁动质字 200106005 号; 鲁动质字 200106003 号。

1.2 药品与仪器: 黄芩苷注射液, 山东省天然药物工程技术研究中心制剂室提供, 批号 020826; 红四氮唑, 购自 Sigma 公司。数码相机 C—830L, Olympus 公司。

2 方法

2.1 对小鼠断头呼吸的影响^[1]: 取雄性小鼠 40 只, 随机分 4 组, 每组 10 只, 正常组尾 iv 生理盐水 (每只 0.2 mL), 黄芩苷各剂量组分别按 90, 180, 360 mg/kg 尾 iv 黄芩苷注射液 (每只 0.2 mL), 给药 20 min 后断头处死小鼠, 观察小鼠呼吸时间。

2.2 对小鼠颅脑损伤性脑水肿的影响^[2]: 取雄性小鼠 70 只, 随机分为 7 组, 每组 10 只, 正常对照组、模型组尾 iv 生理盐水 (每只 0.2 mL), 黄芩苷

一次给药低、中、高剂量组分别按 10, 30, 90 mg/kg 尾 iv 黄芩苷注射液 (每只 0.2 mL), 除正常对照组外, 其他各组给药 1 h 后固定小鼠, 用砣码 (20 g) 撞击头部特定部位, 24 h 后处死, 剥取鼠脑, 称湿质量, 置 100 °C 烘干 24 h, 称干质量, 计算脑组织含水量。黄芩苷两次给药低、高剂量组分别按 15, 45 mg/kg 两次给药, 第 1 次给药 1 h 后用砣码撞击, 6 h 后第 2 次给药, 其他方法同一次给药。

脑组织含水量 = (湿质量 - 干质量) / 湿质量 × 100%

2.3 对大鼠中动脉栓塞致脑缺血的影响^[1]: 取雄性 Wistar 大鼠 70 只, 随机分为 7 组, 每组 10 只, 即假手术组, 缺血模型组 (给予生理盐水), 黄芩苷低、中、高剂量组 (分别按 45, 90, 200 mg/kg 给药), 缺血 3 h 后延时给药组 (200 mg/kg), 缺血 6 h 后延时给药组 (200 mg/kg)。除延时给药组尾 iv 给药外, 其他各组动物于缺血后 30 min 舌下静脉给予相应药物 (1 mL/kg)。大鼠水合氯醛 (350 mg/kg, ip) 麻醉, 分离左侧颈总动脉, 夹闭颈内、颈总动脉, 颈外动脉近心端及远心端结扎, 中间剪开。将颈外动脉游离端拉至与颈内动脉成一条直线, 将栓线 (直径 0.24 mm 尼龙线, 长度 5.0 cm) 由颈外动脉插入至颅内, 遇轻微阻力时停止, 插入深度约为 2 cm。结扎颈外动脉开口, 并打开颈总动脉动脉夹, 消毒缝合伤口, 造成左侧大脑中动脉缺血模型; 假手术组仅进

* 收稿日期: 2003-05-10

作者简介: 王超云 (1970—), 男, 安徽人, 硕士, 助理研究员, 现于山东省天然药物工程技术研究中心药理室工作, 从事心脑血管、抗炎、镇痛方面的研究。Tel: (0535) 6706030-8004

* 通讯作者

行左侧颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉的分离(23~25 进行)。24 h 后处死大鼠,取脑,去掉嗅球、小脑和低位脑干,冠状切成 5 片,脑片用红四氮唑(TTC)染色,正常组织经染色后呈红色,梗死组织呈白色,染色后照相,用中国航空航天大学病理图像分析软件求梗死面积比。

3 结果

3.1 对小鼠断头呼吸时间的影响:见表 1。结果显示,随着黄芩苷给药剂量的增加,小鼠断头呼吸时间延长,高剂量组(360 mg/kg)可明显增加断头小鼠的呼吸时间。

表 1 黄芩苷对小鼠断头呼吸的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of baicalin on breath of decollated mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	呼吸时间/s
正常	-	21.25 ± 3.22
黄芩苷	90	21.33 ± 2.39
	180	23.18 ± 2.48
	360	26.00 ± 3.00**

与正常组比较: **P < 0.01

**P < 0.01 vs normal group

3.2 对小鼠颅脑损伤性脑水肿的影响:见表 2。结果显示,一次给药低剂量黄芩苷对创伤性脑水肿的作用不明显,高剂量可明显减轻撞击引起的脑水肿小鼠脑含水量,即具有一定治疗创伤性脑水肿作用;两次给药较低剂量即可较为明显的对抗脑水肿。

表 2 黄芩苷对脑含水量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of baicalin on water content of mice brain ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	脑含水量/%
正常	-	80.04 ± 0.29
模型	-	81.11 ± 1.13**
黄芩苷一次给药	10	81.72 ± 1.67**
	30	81.34 ± 1.22**
	90	80.91 ± 0.56
黄芩苷两次给药	15, 15	80.21 ± 1.05
	45, 45	80.02 ± 0.89

与正常组比较: **P < 0.01; 与模型组比较: P < 0.05

**P < 0.01 vs normal group; P < 0.05 vs model group

3.3 对大鼠中动脉栓塞致脑缺血的影响:见表 3。结果显示对大鼠中动脉栓塞致脑缺血模型,较低剂量的黄芩苷对缺血所致的梗死面积无明显影响,高剂量(200 mg/kg)可明显减少梗死面积,而缺血后延时给药,即使给予高剂量黄芩苷对缺血所致梗死面积也无影响。表明黄芩苷对缺血性脑损伤的作用,既须给予较高的剂量,又须在损伤的早期给药。

4 讨论

黄芩苷能改善心肌供血供氧不足和需氧量增加

表 3 黄芩苷对大鼠梗死面积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of baicalin on infarct area of rat brain ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	梗死面积/%
假手术	-	-
模型	-	22.64 ± 9.24
黄芩苷	45	20.04 ± 6.13
	90	20.15 ± 6.99
	200	11.21 ± 10.92*
延时 3 h 给药	200	21.62 ± 9.13
延时 6 h 给药	200	18.67 ± 7.18

与正常组比较: *P < 0.05

*P < 0.05 vs model group

之间的矛盾,对实验性心肌缺血具有保护作用^[3],本实验证实其对脑缺氧亦有保护作用。断头实验中,脑血供应中断,但脑中原有的血和营养物质尚能使脑功能维持一段时间,黄芩苷可使脑组织耐缺氧能力增强,脑功能维持时间延长,从而延长小鼠喘息时间。

研究表明氧自由基对创伤性颅脑损伤起着关键作用。黄芩苷具有抑制脂加氧酶的作用,可控制花生四烯酸的瀑布反应,使氧自由基减少^[4];另外黄芩苷具有一定的抗氧化作用,能及时清除体内产生的自由基,降低自由基的损伤作用,使创伤性脑水肿减轻。实验表明,黄芩苷在高剂量(90 mg/kg)或低剂量(15 mg/kg)多次给药,对创伤性颅脑损伤具有一定的保护作用。

脑缺血不仅造成组织供血不足,产生大量的氧自由基,而且可引起蛋白激酶(PKC)从胞浆到胞膜的移位激活,使微管运动蛋白活动下降,增加CA I区锥体细胞延迟性死亡(DND)的产生^[5]。黄芩苷通过抑制蛋白激酶,松弛血管平滑肌,从而增加组织血液的供给^[6];作为PKC的抑制剂,黄芩苷还能对抗微管运动蛋白活动的下降,减少DND的产生^[7],从而使缺血所致的损伤减轻。实验中,黄芩苷高剂量(200 mg/kg)能明显降低缺血所致梗死面积,对脑缺血具有保护作用。延时给药不能缩小梗死面积,说明缺血早期即已形成了致神经损伤的物质基础,并可能已产生损伤,延时给药对已形成的损伤无治疗作用,对已形成的致损伤物质可能也无明显的拮抗作用,故给药未能明显降低缺血坏死面积,提示黄芩苷用于缺血性脑损伤的治疗应及早给药。

References

[1] Hacke W. *Cerebral Ischemia* [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1991.
 [2] Li J, Wan J C, Wu J Z, et al. The effect of hyperbaric oxygenation on experimental cerebral edema [J]. *Chin J Neurosurg* (中华神经外科杂志), 1994, (5): 266-268.
 [3] Hei A L, Xu P X, Sun S S, et al. Protective effects of

- baicalein on isoprenaline induced myocardial injury in rats [J]. *J Cap Univ Med Sci* (首都医科大学学报), 1999, 20(2): 86-88.
- [4] Gao ZH, Huang K X, Xu H B. Progress of studies in the bioactivities of flavonoids from *Scutellaria baicalensis* [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1998, 33(12): 705-706.
- [5] Aoki M, Abe K, Yoshida T, *et al* Early immunohistochemical changes of microtubule based motor proteins in gerbil hippocampus after transient ischemia [J]. *Brain Res*, 1995, 669: 189-196.
- [6] Chen Z Y, Su Y L, Liao C W, *et al* Endothelium dependent contraction and direct relaxation induced by baicalin in rat mesenteric artery [J]. *Eur J Pharmacol*, 1999, 374(1): 41.
- [7] Chen Q, Zheng Y M, Wang J G. Protective of breviscarnin on brain and its effect on immunoreactivity of microtubule motor protein [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2001, 17(2): 117-118.

家兔肛塞前列栓的药动学研究

厉将斌¹, 张 壮², 李曰庆², 闫彦芳², 王硕仁², 那彦群¹, 郭应禄^{1*}

(1. 北京大学第一医院 泌尿外科, 北京大学泌尿外科研究所, 北京 100034; 2. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100700)

小檗碱是中药复方前列栓^[1]的有效成分之一, 本研究应用 RP-HPLC 测定小檗碱血清药物浓度, 对兔一次性肛塞前列栓后小檗碱药动学进行研究, 为前列栓的临床合理用药提供实验依据。

1 材料

1.1 药物与试剂: 前列栓, 2 g/栓, 每粒栓剂含小檗碱的最低含量为 34 mg, 由北京中医药大学东直门医院药剂科提供; 盐酸小檗碱对照品, 含量 98.14% (供含量测定用), 购自中国药品生物制品检定所, 乙腈, 色谱纯; Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , 乙醚, 乙醇均为分析纯; 氢氧化钠, 分析纯, 使用前配制为 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液; 三蒸水; 甲醇, 优级纯。

1.2 受试动物: 日本大耳白兔 10 只, 雄性, 日龄 90~120 d, 30 代次, 体重 (2.5 ± 0.3) kg。

1.3 仪器: HP-1100 型 HPLC 系统, 紫外/可见可变波长检测器, JS-3030 型江申通用汉字色谱工作站, 分析柱采用 Alltech, Platinum EPS 柱, C_8 100A ($3 \mu\text{m}$, $150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$)。

2 方法

2.1 色谱条件: 流动相: 乙腈-1/12 mol/L 磷酸盐缓冲液 (70/30), 流速: 0.8 mL/min, 柱温: 40℃, 检测波长: 345 nm, 灵敏度: 0.01 AUFS。采用外标法定量测定血清小檗碱浓度。

2.2 样本处理方法: 精取兔子含药血清 500 μL , 加入 0.2 mol/L 氢氧化钠 100 μL , 混匀。取乙醚 6 mL 分 2 次提取, 每次旋混 60 s, 取尽乙醚层共置于另一试管中。于 40℃ 水浴中, 自然蒸发至干, 精取 280 μL 流动相溶解定容, 进样 100 μL 。

2.3 试验方案: 兔肛塞栓前禁食 12 h, 清醒状态下肛塞前列栓 2 粒, 随即将兔肛门荷包缝合, 6 h 后拆缝线。于给药后 0, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 360, 540, 1 440 min 从耳缘静脉穿刺取血, 每次 2 mL, 分离血清。将血清样本预处理后, 进行 HPLC 分析测定, 拟合药动学模型并计算参数。

2.4 标准曲线: 精取混合空白兔血清 500 μL 9 份, 加入不等量的盐酸小檗碱对照品, 成为血清小檗碱浓度分别为 0.72, 3.62, 7.24, 18.09, 36.19, 72.37, 144.75, 289.49, 578.98 $\mu\text{g/L}$ 的系列药物浓度血清。经预处理后进行 HPLC 测定, 得到小檗碱的面积 (A_{bb})。以 A_{bb} 值作为 Y 轴, 以血清小檗碱浓度 (C_{bb}) 为 X 轴, 得标准曲线回归方程: $A_{\text{bb}} = 1451.48 C_{\text{bb}} - 613.095$ (实验系数 $r = 0.998614$, 校正系数 $r = 0.998319$)。结果表明, 血清小檗碱浓度在 0.72~578.98 $\mu\text{g/L}$ 线性关系良好, 可满足动物实验血清药物浓度定量分析的要求。

2.5 回收率: 取小檗碱对照品溶液分别加入 500 μL 混合空白兔血清中, 形成小檗碱浓度分别为 10.86, 108.56, 434.24 $\mu\text{g/L}$ 的低、中、高浓度血清, 在 10 d 内共做 6 组, 经预处理后, 进行 HPLC 测定 C_{bb} (实测值), 同时根据平均标准曲线计算 3 个浓度所对应的 C_{bb} (理论值), 计算相对回收率 $\text{RC} = C_{\text{bb}}/C_{\text{bb}}$ 。结果分别为 $(91.32 \pm 3.33)\%$, $(97.25 \pm 1.44)\%$, $(99.60 \pm 1.00)\%$, 符合定量分析要求。

2.6 日内、日间精密度: 含小檗碱低、中、高浓度血清 10.86, 108.56, 434.24 $\mu\text{g/L}$, 在 1 日内测定 6 组, 结果日内 RSD 值分别为 2.47%, 1.32%,

* 收稿日期: 2003-06-28

作者简介: 厉将斌(1973—), 男, 浙江省磐安人, 2001 年 7 月毕业于北京中医药大学, 获医学博士学位, 同年进入北京大学泌尿外科研究所外科学博士后流动站, 一直从事中医药对前列腺疾病的研究和治疗工作。