

小鼠断头喘息时间。在小鼠亚硝酸钠致死实验中,丹参素能延长小鼠的生存时间,提示其可能具有提高机体的血氧利用率,降低机体的耗氧量,从而提高组织利用氧的能力,延长因缺氧造成的氧供能力不足的动物的生存时间。即丹参素对组织代谢具有调节及保护作用。

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 A_2 ,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 PGC_2 和 PGH_2 ,前者经 TXA_2 合成酶催化形成 TXA_2 ,后者则生成 PGI_2 , TXA_2 大量合成,致 PGI_2 / TXA_2 比值失调,凝血机制障碍,更易于血栓形成并致组织损伤,成为脑缺血的重要病理机制之一^[7]。本实验证明,丹参素能显著减轻大鼠动-静脉旁路血栓质量,即其可通过抑制血栓的形成减轻缺血所致的脑损伤。

综上所述,丹参素对脑损伤具有良好的保护作用,

其作用机制可能与影响线粒体呼吸链,减轻血栓形成有关。

References:

- [1] Yang C X. Advances in study on the pharmacological effects of danshensu [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1997, 13(4): 298-301.
- [2] Hacke W. *Cerebral Ischemia* [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1991.
- [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, 1996.
- [4] Liu X G, Xu L N. A rat middle cerebral artery thrombosis model for evaluation of thrombolytic and antithrombotic agents [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1995, 30(9): 662-667.
- [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* (药学报), 2002, 37(4): 245-248.
- [6] Wan Y D, Chen S F, Cheng F. Effect of 6,7-dimethoxycoumarin on tolerance to anoxia [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2001, 17(3): 299-302.
- [7] 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.

牛蒡子提取物的降血糖作用

徐朝晖¹, 李 婷², 邓 毅¹, 刘建文², 贾 伟^{1*}

(1. 上海交通大学药学院, 上海 200030; 2. 华东理工大学, 上海 200237)

牛蒡子为菊科植物牛蒡 *Arctium lappa* L. 的干燥成熟果实, 历版《中国药典》均有收载。牛蒡子传统上属于辛凉解表药, 用于风热感冒、咳嗽痰多、麻疹、风疹等症。对牛蒡子提取物的降血糖作用曾有文献报道^[1], 但未见系统研究。本研究旨在结合植物化学与药理学研究手段, 观察牛蒡子提取物的降血糖作用, 初步确定其降血糖活性成分所在的提取部位, 为进一步追踪其降血糖作用的物质基础提供依据, 同时对中药的 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行方法学探索。

1 材料

1.1 动物: SPF 级昆明种小鼠 58 只, 6 周龄, 体重 (25 ± 2) g, 雌雄各半, 由中国科学院上海动物实验中心提供。

1.2 药物: 牛蒡子原药材购自上海华宇药业有限公司, 产地江苏徐州, 经本院生药学课题组刘忠副教授

鉴定, 确定为菊科植物牛蒡 *A. lappa* L. 的干燥成熟果实。研究所用药物分别为牛蒡子乙醇提取物、水提取物、75% 乙醇提取物; 优降糖片剂 (格列本脲片, 上海信谊药业有限公司, 规格 2.5 mg/片, 批号 021002); 葡萄糖试剂盒 (上海荣盛生物技术有限公司); 拜糖平片剂 (阿卡波糖片, 拜耳医药保健有限公司, 规格 50 mg/片, 批号 19990205)。

1.3 试剂与仪器: α -PNPG (美国 Sigma 公司)、牛血清白蛋白、二甲基亚砜 (分析纯, 上海菲达工贸有限公司和桥分公司)、 α -葡萄糖苷酶冻干粉 (美国 Sigma 公司, 规格 5.7 U/mg)、 $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 、 $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 、 Na_2CO_3 (均为分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司·江苏永华精细化学品有限公司)。酶标仪 (Bio-RAD 550 型, BioTek 公司)。

2 方法

2.1 降血糖实验^[2,3]

收稿日期: 2004-11-20

作者简介: 徐朝晖 (1970—), 男, 生药学博士, 主要从事中药和天然药物化学的研究。Tel: (021) 62932292

* 通讯作者 贾 伟 Tel: (021) 62932292 Fax: (021) 62932292 E-mail: weijia@sytu.edu.cn

2.1.1 药物制备:将牛蒡子药材粉碎成粗粉,分别以 10 倍量无水乙醇、水、75% 乙醇浸渍过夜,回流提取 2 次,每次 3 h,提取液滤过,减压浓缩成干浸膏。得牛蒡子乙醇提取物 (A,含牛蒡苷元 3%~40%,含牛蒡苷 6%~8%,HPLC 法测定)、牛蒡子水提取物 (B)、牛蒡子 75% 乙醇提取物 (C)。

2.1.2 动物分组:空白对照组,雌雄各 4 只,不造模不给药,给等量生理盐水;模型组:雄性 7 只,雌性 3 只,造模不给药,给等量生理盐水;阳性对照组:雌雄各 5 只,造模给阳性药——优降糖。A、B、C 给药组,雌雄各 5 只,造模后给予相应药物。

2.1.3 糖尿病小鼠模型的建立:小鼠禁食 12 h 后,ip 四氧嘧啶 100 mg/kg。造模当晚及第 2 天注意观察小鼠状态,以饱和葡萄糖溶液 ig 急救因血糖过低发生明显痉挛的小鼠。

2.1.4 给药:造模 2 d 后连续 ig 给药 8 d。参考《中国药典》2000 年版,牛蒡子生药给药量按人 10 g/60 kg 计,换算为小鼠 140 g/60 kg。A、B、C 组给药量为生药 2.1 g/kg,优降糖给药量为 3 mg/kg。

2.1.5 血糖测定:第 8 天给药 1 h 后,小鼠眼内眦取血 1 mL,处死小鼠。血液 4 ℃、2 000 r/min 离心 5 min,分离上层血清。用葡萄糖氧化酶法,根据葡萄糖试剂盒说明书操作,用半自动生化分析仪测定葡萄糖水平。

2.2 α-葡萄糖苷酶的抑制率实验^[4]

2.2.1 试剂配制:(a)磷酸缓冲液 (0.1 mol/L, pH 7.0),分别配制 0.1 mol/L Na₂HPO₄和 NaH₂PO₄溶液,各取适量体积混合后,用 pH 试纸调试直至 pH 为 7.0。(b)酶稀释液质量分数为 0.2% 的 BSA,溶于 0.01 mol/L pH 7.0 磷酸缓冲液中。(c)酶溶液,将 α-葡萄糖苷酶冻干粉用双蒸水稀释溶解,配成适当单位浓度的溶液。(d)底物,20 mmol/L α-PNPG。(e)反应终止液,0.2 mol/L Na₂CO₃。

2.2.2 药物配制:分别取一定量的牛蒡子乙醇提取物、水提取物和 75% 乙醇提取物溶于二甲亚砜中,得 50 mg/mL 溶液,分别稀释至 1、0.5、0.1 mg/mL。阳性药:取拜唐平数片,研碎,用双蒸水溶解,得 0.1 mol/L 溶液,分别稀释至 0.01、0.001 mol/L。

2.2.3 操作:空白孔:80 μL a 溶液加入 40 μL d 溶液,37 ℃ 保温 5 min,再加 40 μL b 溶液,37 ℃ 保温 15 min,最后加 160 μL e 溶液。空白对照组:只加 160 μL a 溶液,最后再加 160 μL e 溶液,中间过程同上。阴性孔:80 μL a 溶液中加入 40 μL d 溶液,37 ℃ 保温 5 min,再加 40 μL c 溶液,37 ℃ 保温 15

min,最后加 160 μL e 溶液。样品测定孔:80 μL 实验药物溶液中加入 40 μL d 溶液,37 ℃ 保温 5 min,再加 40 μL c 溶液,37 ℃ 保温 15 min,最后加 160 μL e 溶液。样品对照孔:只加 160 μL 实验药物溶液,其他过程同上。读数:以空白孔清零,用酶标仪测定波长 405 nm 处的吸光度 (A) 值,计算抑制率。抑制率=[1-(A_{样品测定}-A_{样品对照})/(A_{阳性}-A_{空白对照})]×100%

3 结果

3.1 降血糖实验:结果见表 1。模型组小鼠血糖水平明显高于空白对照组 (*t* 检验, *P*<0.01),表明用四氧嘧啶进行小鼠糖尿病造模成功。优降糖组小鼠血糖最低,进一步提示实验动物模型可靠。比较 A、B、C 3 个实验药物组,A 组小鼠血糖浓度基本恢复到空白对照组水平,C 组次之,B 组小鼠血糖浓度也比模型组稍低。

表 1 药物 A、B、C 对模型小鼠血糖的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Hypoglycemic effect of extracts A, B, and C in model mice ($\bar{x}\pm s$)

组 别	动物/只	血糖/(mmol·L ⁻¹)
空白对照	8	8.54±0.86
模型	9	10.60±0.64**
优降糖	7	6.11±0.51△△
实验药物 A	7	8.25±1.98△△
实验药物 B	9	9.78±1.07
实验药物 C	8	8.62±1.46△△

与空白对照组比较: ***P*<0.01

与模型组比较: △△*P*<0.01

***P*<0.01 vs blank control group

△△*P*<0.01 vs model group

3.2 α-葡萄糖苷酶的抑制率实验:结果见图 1。A、B、C 组高、中、低质量浓度分别为 1、0.5、0.1 mg/mL。阳性对照组高、中、低浓度分别为 0.1、0.01、0.001 mol/L。阳性组对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用明显,表明阳性药是一种有效的 α-葡萄糖苷酶抑制剂,证明了实验模型的可靠性。牛蒡子的 3 种提取物

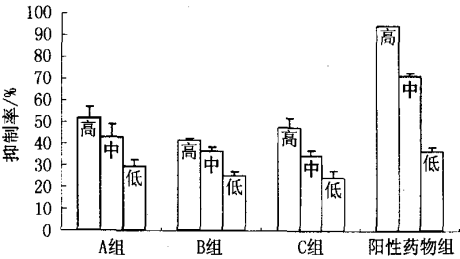


图 1 药物 A、B、C 对 α-葡萄糖苷酶活性的抑制作用 ($\bar{x}\pm s$, *n*=6)

Fig. 1 Inhibitory effect of extracts A, B, and C on α-glucosidase activity ($\bar{x}\pm s$, *n*=6)

均呈现一定的 α -葡萄糖苷酶抑制剂的作用,在实验所设定的高、中、低 3 个浓度下,A 组对 α -葡萄糖苷酶的抑制率都是最高的。随着药物浓度的增加,实验药物 A、B、C 组及阳性药物组对 α -葡萄糖苷酶的抑制率都有一定程度的增加。统计学结果表明,A、B、C 3 种实验药物均有 α -葡萄糖苷酶抑制剂的功能,且对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果呈现较显著的量效关系。

4 讨论

本研究结合植物化学与药理学研究手段,观察牛蒡子各提取物的降血糖作用,通过四氧嘧啶诱导的糖尿病模型小鼠降血糖实验表明:牛蒡子提取物对糖尿病模型小鼠具有降血糖作用,且与水提物相比,牛蒡子乙醇提取物总体上效果更好,因此推断具有降血糖作用的活性成分主要存在于乙醇提取物中,为脂溶性成分。

α -葡萄糖苷酶可使复合碳水化合物分解成为可被人体吸收的单糖,而 α -葡萄糖苷酶抑制剂正可以通过抑制该酶活性延迟或减少餐后血糖升高。目前,从中草药中筛选 α -葡萄糖苷酶抑制剂的研究已取

得了一些进展^[5,6]。牛蒡子提取物的 α -葡萄糖苷酶抑制率实验表明其降血糖作用可能与其抑制 α -葡萄糖苷酶活性有关。今后将对其降血糖的物质基础和作用机制做进一步地追踪,为牛蒡子的进一步开发利用提供理论指导。

References:

- [1] Yan L X, Li Y M. The immunity functions and blood glucose effects of extracts of *Fructus Arctii* [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 1993, 8(2): 75-78.
- [2] Ji Y, Chen S. The effect of blood glucose and liver heptatin of alloxan-induced diabetic mice of matrine [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm* (中国医药学报), 2002, 17(7): 436-437.
- [3] Im Walde S S, Dohle C. Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice [J]. *Life Sci*, 2002, 71(14): 1681-1694.
- [4] Pierre C, Roland R. p-Nitrophenol- α -glucopyranoside as substrate for measurement of maltase activity in human semen [J]. *J Clin Chem*, 1978, 24: 208.
- [5] Yuan H B, Shen Z M. The hypoglycemic effect of α -glucosidase inhibitor separated from *Schizandra chinensis* [J]. *Chin J Biochem Pharm* (中国生化药物杂志), 2002, 23(3): 112-114.
- [6] Ye F, Shen Z. α -Glucosidase inhibition from a Chinese medicinal herb (*Ramulus mori*) in normal and diabetic rats and mice [J]. *Phytomedicine*, 2002, 9(2): 161-166.

救心胶囊对低密度脂蛋白损伤内皮细胞黏附因子表达的影响

刘俊荣¹,姜希娟²,朱丽光³,范英昌²

(1. 天津中医学院 传统体育教研室,天津 300193; 2. 天津中医学院 病理教研室,天津 300193;
3. 天津市南开区中医医院,天津 300191)

近年来心绞痛的发病率处于较高水平,严重影响人们的生活质量。救心胶囊由细辛、葶苈、良姜等中药组成,是在传统中医理论指导下,结合多年临床实践,总结出的治疗心绞痛的有效方剂,其运用温通化痰、止痛强心之法。在前期临床疗效肯定的基础上,将临床实验研究与体外实验相结合,以内皮细胞为研究对象,从对细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 及血管细胞间黏附分子-1 (VCAM-1) 表达的影响入手,探讨救心胶囊治疗心绞痛的作用机制。

1 材料

救心胶囊,天津中医研究院制剂,批号:津药制字(2001)ZD 0429;救心胶囊原方,购于天津中医学院中医研究所;低密度脂蛋白 (LDL),购自中国医学科

学院基础研究所。D-MEM/F₁₂ 培养基、胎牛血清 (FBS),Hyclone 公司产品;兔抗人、小鼠、大鼠细胞间黏附分子 (ICAM-1),兔抗人、兔、小鼠、大鼠血管内皮细胞黏附分子 (VCAM-1),SABC 试剂盒,DAB 显色试剂盒,均购自武汉博士德生物工程有限公司;第Ⅷ因子相关抗原抗体及免疫组化 SABC 染色试剂盒,北京中山生物技术有限公司;噻唑蓝 (MTT)、二甲亚砜 (DMSO),均为 Sigma 公司产品。日本大耳白家兔,天津中医学院实验动物中心提供。

2 方法

2.1 内皮细胞及其鉴定:人脐静脉内皮细胞系 (ECV-304, National Defense Medical College. Tokorozawa, saitama, 日本)。形态结构观察:在显