

- [7] Duan Z F, Hang Z S, Bu X Z, *et al.* Study on the reaction of natural naphthazarin compounds with thiol nucleophiles [J]. *Chin J Organ Chem* (有机化学), 2001, 21(12): 1112-1116.
- [8] Xie B F, Feng G K, Zhu X F, *et al.* Antitumor effect of Anuoning [J]. *Chin J Cancer* (癌症), 2002, 21(4): 379-382.
- [9] Huang Z S, Wu H Q, Duan Z F, *et al.* Synthesis and cytotoxicity study of alkannin derivatives [J]. *Eur J Med Chem*, 2004, 39(9): 755-764.
- [10] Steller H. Mechanisms and genes of cellular suicide [J]. *Science*, 1995, 267(5203): 1445-1449.
- [11] Huang H, Xie B F, Zhu X F, *et al.* The study of antitumor effect and mechanism of shikonin derivative SYUNZ-7 [J]. *Chin J Cancer* (癌症), 2005, 24(12): 1453-1458.
- [12] Wu Z, Wu L, Li L, *et al.* p53-Mediated cell cycle arrest and apoptosis induced by shikonin via a caspase-9 dependent mechanism in human malignant melanoma A375-S₂ cells [J]. *J Pharmacol Sci*, 2004, 94: 166-176.

脑脉泰胶囊对血管性痴呆大鼠学习记忆能力及脑脂质过氧化的影响

邹节明¹, 李运曼², 王 征¹, 祝浩杰², 周 静²

(1. 桂林三金药业股份有限公司, 广西 桂林 541004; 2. 中国药科大学 生理教研室, 江苏 南京 210009)

摘 要:目的 探讨脑脉泰胶囊对血管性痴呆 (VD) 大鼠学习记忆能力以及脑脂质过氧化的影响。方法 采用夹闭大鼠双侧颈总动脉 20 min, 再灌 10 min, 再夹闭 20 min 的方式造成脑缺血-再灌注损伤模型, 以 Y 型迷宫进行学习记忆能力测试, 并测定脑组织超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 水平; 采用颈内动脉注射凝血酶生理盐水溶液造成大鼠多发性脑梗死模型, 以 Y 型迷宫进行学习记忆能力测试, 并测定脑组织中伊文思蓝水平。结果 脑脉泰胶囊能明显提高脑缺血-再灌注模型大鼠的学习记忆成绩 ($P < 0.01$), 显著降低脑匀浆 MDA 水平 ($P < 0.05, 0.01$), 提高 SOD 活性 ($P < 0.01$); 脑脉泰胶囊能明显提高多发性脑梗死模型大鼠的学习记忆成绩 ($P < 0.05, 0.01$), 降低脑组织伊文思蓝水平 ($P < 0.01$)。结论 脑脉泰胶囊可改善 VD 大鼠学习记忆功能, 减轻脑脂质过氧化损伤。

关键词:脑脉泰胶囊; 血管性痴呆; 学习记忆; 脂质过氧化

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)02-0238-04

Effect of Naomaitai Capsule on learning and memory abilities and cerebral lipid-peroxidation in rat with vascular dementia

ZOU Jie-ming¹, LI Yun-man², WANG Zheng¹, ZHU Hao-jie², ZHOU Jing²

(1. Guilin Sanjin Pharmaceutical Group Limited Company, Guilin 541004, China; 2. Department of Physiology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of Naomaitai Capsule on the learning and memory abilities and cerebral lipid-peroxidation in rat with vascular dementia (VD). **Methods** Two VD models were established. The first one was produced by occlusion of bilateral common carotid arteries in rats with the following steps: ischemia 20 min—reperfusion 10 min—ischemia 20 min. The learning and memory abilities were tested by Y type maze. Meanwhile, malondialdehyde (MDA) content and superoxide dismutase (SOD) activity in brain tissue of ischemia-reperfusion rats were measured. The second model was formed by injecting thrombin NS solution into internal carotid artery. The learning and memory abilities were studied by Y type Maze. The content of Evans blue in brain tissue was measured. **Results** In the model caused by cerebral ischemia-reperfusion, Naomaitai Capsule significantly improved the learning and memory abilities ($P < 0.01$), increased the activity of SOD ($P < 0.01$), and reduced the content of MDA in brain tissue ($P < 0.05, 0.01$). In the model caused by multiple cerebral infarction, Naomaitai Capsule significantly improved the learning and memory abilities ($P < 0.05, 0.01$) and reduced the content of Evans blue in brain tissue ($P < 0.01$). **Conclusion** Naomaitai Capsule can improve the learning and memory abilities of the rats with VD and reduce the injury caused by cerebral lipid peroxidation

Key words: Naomaitai Capsule; vascular dementia (VD); learning and memory; lipid peroxidation

收稿日期: 2005-05-15

作者简介: 邹节明 (1943—), 男, 湖南常德人, 教授级高工, 博士生导师, 主要从事中药新药研发与中药炮制等基础领域研究。

Tel: (0773) 5842588 E-mail: sanjin@gl.gx.cninfo.net

血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 是由一系列脑血管因素 (缺血或出血及急慢性缺氧性脑血管病) 导致脑组织损害而引起的获得性智能损害综合征。研究结果证实,一半以上的 VD 是脑血管损害导致的结果。脑脉泰胶囊由红参、银杏叶、石菖蒲等组成,具有益气活血、化痰通络、熄风豁痰之功效,可用于缺血性中风 (脑梗死) 恢复期中经络属于气虚血瘀证、风痰瘀血闭阻脉络证者。但脑脉泰胶囊用于 VD 治疗尚未见研究报道。本实验通过不同的方法制成 VD 动物模型,在对学习记忆功能以及脑脂质过氧化等方面的改善上探索脑脉泰胶囊对 VD 大鼠的治疗作用。

1 材料

1.1 动物:雄性 SD 大鼠,体重 170~220 g,由中国药科大学动物室提供,许可证号:SCXK (苏) 2001-0001。

1.2 药物:脑脉泰胶囊,桂林三金药业股份有限公司生产,批号 010805;都可喜 (Duxil),法国施维雅药厂生产,上海富达制药有限公司分装,批号 IC0838。

1.3 主要试剂:丙二醛 (MDA) 试剂盒,南京建成生物工程研究所产品,批号 20020120;超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒,南京建成生物工程研究所产品,批号 20020112;凝血酶,杭康生物药业有限公司产品,批号 20010803。

1.4 仪器:Y 型迷路仪,江苏省沙洲县三兴声电公司产品;721 分光光度计,上海第三分析仪器厂产品。

2 方法

2.1 分组与给药:将大鼠随机分为假手术组,模型组,脑脉泰高、中、低 (2.24、1.12、0.56 g/kg) 3 个剂量组及阳性药都可喜 (8 mg/kg) 组。假手术组及模型组 ig 等体积的 0.5% CMC-Na 溶液,各组均 ig 给药。

2.2 脑脉泰胶囊对脑缺血-再灌注致大鼠学习记忆障碍及脑脂质过氧化的影响^[1]:各组大鼠 ig 给药,每天 1 次,连续 5 d,于停药后第 2 天手术。20% 乌拉坦 1 g/kg ip 麻醉大鼠后,颈正中切口,分离双侧颈总动脉,用小动脉夹夹闭 20 min,再灌 10 min,再夹闭 20 min,然后缝合伤口,假手术组只切开皮肤,分离血管,不夹闭,不再灌注。手术后 48 h 待自主活动恢复后用 Y 型迷路仪测试大鼠学习和记忆成绩,共训练 10 次,记录正确次数,以测试其学习成绩,24 h 后测试其记忆成绩。迷路试验结束后,断头取脑,将一侧脑组织加适量冰生理盐水制成 10% 脑组织匀浆,3 000 r/min 离心,吸取上清液作为待测

脑匀浆。采用化学发光法测定脑组织匀浆中 SOD 活性、采用 TBA 比色法测定脑组织匀浆中 MDA 水平。取另一侧脑组织置 10% 甲醛溶液中固定,常规取材,脱水,石蜡包埋,切片,HE 染色。镜检脑缺血-再灌注的病理改变。

2.3 脑脉泰胶囊对多发性脑梗死致大鼠学习记忆障碍及脑水肿的影响^[2]:给药前先行造模,大鼠用 20% 乌拉坦 1 g/kg ip 麻醉后,假手术组颈内动脉注射 0.9% NaCl 1 mL/kg,其余各组颈内动脉注射凝血酶生理盐水溶液 (8.2 U/mL) 1 mL/kg 造模。造模后 72 h ig 给药,每天 1 次,连续给药 5 d,停药后第 2 天用 Y 型迷路仪测试其学习和记忆成绩,共训练 10 次,记录正确次数,以测试其学习成绩,24 h 后测试其记忆成绩。迷路试验结束后,股静脉 iv 0.2% 伊文思蓝 5 mL/kg,5 min 后将大鼠放血处死,取大脑称质量后剪成碎片,置匀浆器中加入 0.5% Na₂SO₄ 3 mL 及丙酮 7 mL 制成匀浆,密封放置 60 min 后,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,以 0.9% NaCl 溶液调零,在 620 nm 处比色,以吸光度 (A) 值与脑质量的比值表示伊文思蓝的量,以此表示脑水肿 (脑含水量) 的严重程度。

2.4 统计学处理:所有结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 Student-t 检验进行分析。

3 结果

3.1 脑脉泰胶囊对脑缺血-再灌注致大鼠学习记忆障碍及脑脂质过氧化的影响:结果见表 1。模型组大鼠学习记忆成绩明显低于假手术组,且差异显著 ($P < 0.01$)。脑脉泰胶囊与阳性药都可喜均能明显改善 VD 大鼠学习记忆功能,与模型组比较差异显著 ($P < 0.01$),提示脑脉泰胶囊对脑缺血-再灌注所致的大鼠学习记忆障碍有改善作用。对脑匀浆 SOD

表 1 脑脉泰胶囊对脑缺血-再灌注损伤致大鼠学习记忆障碍的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of Naomaitai Capsule on learning and memorizing obstacle induced by cerebral ischemia-reperfusion injury in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	学习成绩 (正确率)/%	记忆成绩 (正确率)/%
假手术	—	0.78 ± 0.13	0.85 ± 0.10
模型	—	0.25 ± 0.07 ^{△△}	0.33 ± 0.09 ^{△△}
都可喜	0.008	0.74 ± 0.11 ^{**}	0.80 ± 0.13 ^{**}
脑脉泰胶囊	2.24	0.65 ± 0.10 ^{**}	0.76 ± 0.11 ^{**}
	1.12	0.57 ± 0.13 ^{**}	0.67 ± 0.11 ^{**}
	0.56	0.32 ± 0.09	0.40 ± 0.08 ^{**}

与假手术组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$

^{△△} $P < 0.01$ vs Sham group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group

活性及 MDA 水平的影响结果见表 2。脑脉泰胶囊可明显降低脑匀浆中 MDA 水平,与模型组比较,差异显著 ($P<0.05, 0.01$);脑脉泰胶囊高剂量组提高 SOD 活性,与模型组比较差异显著 ($P<0.01$),提示脑脉泰胶囊具有一定的抗氧化作用。

表 2 脑脉泰胶囊对脑缺血-再灌注大鼠脑匀浆中 SOD 活性及 MDA 水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of Naomaitai Capsule on SOD activity and MDA level in brain tissue of rats with cerebral ischemia-reperfusion ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	SOD/ (U·mg ⁻¹)	MDA (nmol·mg ⁻¹)
假手术	—	15.99±2.14	46.38±3.46
模型	—	10.17±1.56 $\Delta\Delta$	70.56±5.86 $\Delta\Delta$
都可喜	0.008	15.57±2.37**	50.49±3.90**
脑脉泰胶囊	2.24	14.61±1.92**	52.56±3.98**
	1.12	13.03±2.52	59.59±2.63**
	0.56	10.34±1.57	65.26±4.24*

与假手术组比较: $\Delta\Delta P<0.01$

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

$\Delta\Delta P<0.01$ vs Sham group

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

表 3 脑脉泰胶囊对多发性脑梗死致大鼠学习记忆障碍和脑含水量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of Naomaitai Capsule on learning and memorizing obstacle and water content in brain tissue induced by multiple cerebral infarction in rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	学习成绩(正确率)/%	记忆成绩(正确率)/%	A 值/脑质量(g)
假手术	—	0.76±0.11	0.88±0.09	0.0221±0.0027
模型	—	0.33±0.07 $\Delta\Delta$	0.36±0.10 $\Delta\Delta$	0.0523±0.0062 $\Delta\Delta$
都可喜	0.008	0.73±0.07**	0.85±0.08**	0.0259±0.0036**
脑脉泰胶囊	2.24	0.72±0.08**	0.83±0.09**	0.0270±0.0033**
	1.12	0.48±0.08**	0.69±0.10**	0.0297±0.0033**
	0.56	0.34±0.11	0.52±0.11**	0.0412±0.0033**

与假手术组比较: $\Delta\Delta P<0.01$; 与模型组比较: ** $P<0.01$

$\Delta\Delta P<0.01$ vs Sham group; ** $P<0.01$ vs model group

脑脉泰胶囊与阳性药都可喜均能明显改善 VD 大鼠学习记忆功能,与模型组比差异显著 ($P<0.01$),提示脑脉泰胶囊对多发性脑梗死所致的大鼠学习记忆障碍有改善作用。模型组大鼠脑匀浆 A 值与脑质量的比值明显高于假手术组,差异显著 ($P<0.01$),脑脉泰胶囊与阳性药都可喜均能明显降低脑匀浆 A 值与脑质量的比值,与模型组比较,差异显著 ($P<0.01$),提示脑脉泰胶囊对多发性脑梗死所致的脑损伤具有一定的保护作用。

4 讨论

现已证明,脑缺血-再灌注可引起脑组织损伤和功能障碍,影响最明显的部位是脑前区和海马纹状体区,因而对动物学习和获得记忆功能有明显损害^[3]。脑组织缺血-再灌注引起的学习记忆功能障碍

病理组织学检查结果显示:假手术组脑组织神经元及胶质细胞基本正常,核膜清楚,核仁明显,未见神经元变性、坏死等病理学改变;模型组部分脑组织均见皮层神经元结构模糊,胞体肿胀,尼氏小体减少或消失,出现不同程度的核深染、核固缩、核溶解,神经元数目明显减少,可见明显出血及软化灶形成;都可喜组脑组织神经元及胶质细胞基本正常,部分脑组织见到尼氏小体消失(+~++),脑组织出血坏死灶较模型组明显缩小;脑脉泰胶囊高剂量组脑组织神经元及胶质细胞基本正常,部分脑组织见到尼氏小体消失(+~++),脑组织出血坏死灶较模型组明显缩小;脑脉泰胶囊中剂量组脑组织神经元及胶质细胞基本正常,部分脑组织见尼氏小体消失(++~+++),脑组织出血坏死灶较模型组有所改善;脑脉泰胶囊低剂量组的脑组织病理学改变基本同其中剂量组。

3.2 脑脉泰胶囊对多发性脑梗死致大鼠学习记忆障碍及脑水肿的影响:结果见表 3。模型组大鼠学习记忆成绩明显低于假手术组,差异显著 ($P<0.01$)。

与多种因素有关,如细胞膜流动性的变化,细胞内钙及其他离子成分的变化,兴奋性氨基酸的释放等^[4]。

脑缺血-再灌注还可引发神经元的凋亡,这也是导致学习记忆功能障碍的机制之一。细胞凋亡主要见于海马 CA1 区^[5],再灌注 24~48 h 凋亡细胞数可达高峰^[6]。自由基可能是引发神经元凋亡的机制之一。研究发现抑制 SOD 活性可造成脊髓神经元凋亡;而在体外实验中加入 SOD,则能部分阻止神经元凋亡。此外,研究表明脑缺血-再灌注可明显提高模型动物大脑皮层和海马纹状体 MDA 水平,进一步证明自由基可促发神经细胞的凋亡^[7]。脑脉泰胶囊能降低脑缺血-再灌注大鼠脑组织 MDA 水平,并提高 SOD 活性,同时病理组织学检查表明脑脉泰胶囊可减轻脑组织神经元坏死,提高尼氏小体数量,

这可能是脑脉泰胶囊治疗 VD 的作用机制之一。

多发性脑梗死也是导致 VD 的重要因素之一。研究表明,脑梗死灶的体积与痴呆的发生有着密切的关系,损伤体积达到 100 mL 或 100 mL 以上者,绝大多数多发性脑梗死患者发展为痴呆^[8]。脑脉泰胶囊能明显改善多发性脑梗死大鼠的学习记忆功能,至于这种改善是否源自脑脉泰胶囊对脑梗死灶体积的减少作用,还有待于进一步研究。

References:

- [1] Wang R, Yang Q F, Tang Y P, *et al.* A modified model on rats with vascular dementia [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 2000, 16(10): 914.
- [2] Zhou J H, Wang J H. *Advances in Research of Pharmacology and Clinic of China Materia Medica* (中药药理与临床研究进展) [M]. Vol. 4. Beijing: Military Medical Science Press, 1996.

- [3] Itob J, Ukai M, Kameyama T. Dynorphin A-(1-13) potently prevents memory dysfunction [J]. *Eur J Pharmacol*, 1993, 234: 9.
- [4] Hagberg H, Lehmann A, Sandberg M, *et al.* Ischemia-induced shift of inhibitory and excitatory amino acids from intra-to extracellular compartments [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1990, 10: 646.
- [5] Okamoto M, Matsumoto M, Ohtsuki T, *et al.* Internucleosomal DNA cleavage involved in ischemia induced neuronal death [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, 196: 1356.
- [6] Li Y, Chopp M, Jiang N, *et al.* Temporal profile of *in situ* DNA fragmentation after transient middle cerebral artery occlusion in the rats [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1995, 15: 389.
- [7] Du G H, Zhang J T. Protective effects of salvianolic acid against impairment of memory induced by cerebral ischemia-reperfusion in mice [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1995, 30(3): 184-190.
- [8] Loeb C, Gandolfo F, Bino G. Intellectual impairment and cerebral lesions in multiple cerebral infarcts. A clinical computed tomography study [J]. *Stroke*, 1998, 19: 560-565.

海洋真菌多糖 YCP 对荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫功能的影响

陈 真¹, 钱之玉¹, 郭青龙², 袁胜涛³, 高向东⁴

(1. 中国药科大学 药理教研室, 江苏 南京 210009; 2. 中国药科大学 生理教研室, 江苏 南京 210009; 3. 中国药科大学 新药筛选中心, 江苏 南京 210009; 4. 中国药科大学 生命科学与技术学院, 江苏 南京 210009)

摘要:目的 研究海洋真菌多糖(YCP)对荷瘤小鼠的抑瘤作用及其免疫功能的影响。方法 采用小鼠 Lewis 肺癌移植瘤和裸小鼠人肺癌 A-549 移植瘤模型,检测 YCP 对荷瘤小鼠的瘤质量、体重的影响及其相对肿瘤增殖率 T/C。以 MTT 法检测 YCP 对 Lewis 肺癌细胞体外增殖的影响。以荷瘤小鼠的吞噬指数(k)及吞噬系数(α)值、自然杀伤细胞(NK)活性和细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)活性为指标,观察 YCP 对免疫功能的影响。结果 YCP (9.3 mg/kg) iv 给药可显著抑制小鼠 Lewis 肺癌移植瘤的生长($P < 0.01$),但对裸小鼠人肺癌 A-549 移植瘤生长无抑制作用。YCP 对 Lewis 肺癌细胞体外增殖无抑制作用。YCP (9.3 mg/kg) iv 给药可显著提高 S₁₈₀ 荷瘤小鼠的 k 值($P < 0.01, 0.05$)。YCP (9.3 mg/kg) iv 给药可明显提高 Lewis 肺癌小鼠 NK 细胞和 CTL 细胞的杀伤活性($P < 0.01, 0.05$)。结论 YCP 可显著提高荷瘤小鼠的免疫功能,对小鼠 Lewis 肺癌移植瘤的生长有显著抑制作用。

关键词:海洋真菌多糖(YCP); NK 细胞; CTL 细胞; Lewis 肺癌

中图分类号:R286.91

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)02-0241-05

Effect of marine fungous polysaccharide YCP on tumor growth and immune function of tumor-bearing mice

CHEN Zhen¹, QIAN Zhi-yu¹, GUO Qing-long², YUAN Sheng-tao³, GAO Xiang-dong⁴

(1. Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2. Department of Physieutical, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 3. The National Laboratory of New Drug Screen, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 4. The School of Life Science & Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Key words: marine fungous polysaccharide (YCP); NK cells; CTL cells; Lewis lung cancer

肿瘤的免疫治疗已成为继手术、化疗、放疗之后的另一种治疗方法,其目的是激发或调动机体的免

收稿日期:2005-04-06

基金项目:中国高技术研究发展计划 863 资助项目(2001AA624110,2003AA624110)

作者简介:陈 真(1963—),女,福建省晋江市人,博士,副教授,硕士生导师,长期从事生化药理的教学及科研工作,在该领域已发表论文 10 篇,获省部级奖 1 项。Tel: (025) 83271181 Fax: (025) 83271181 E-mail: czcpu@sohu.com