

参考文献:

[1] 胡远艳. 藤茶中双氢杨梅树皮素的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2005, 16(2): 157-158.

[2] Hase K, Ohsugi M, Xiong Q, et al. Hepatoprotective effect of *Hovenia dulcis* THUNB. on experimental liver injuries induced by carbon tetrachloride or D-galactosamine/lipopolysaccharide [J]. *Biol Pharm Bull*, 1997, 20(4): 381-385.

[3] Shuto Y, Kataoka M, Higuchi Y, et al. Roles of CD14 in LPS-induced liver injury and lethality in mice pretreated with *Propionibacterium acnes* [J]. *Immunol Lett*, 2004, 94(1-2): 47-55.

[4] Tanaka Y, Takahashi A, Kobayashi K, et al. Establishment of a T cell-dependent nude mouse liver injury model induced by *Propionibacterium acnes* and LPS [J]. *J Immunol Methods*, 1995, 182(1): 21-28.

[5] Okazaki T, Ozaki S, Nagaoka T, et al. Antigen-specific T_H1 cells as direct effectors of *Propionibacterium acnes*-primed lipopolysaccharide-induced hepatic injury [J]. *Int Immunol*, 2001, 13(5): 607-613.

[6] Kurihara H, Fukami H, Shibata H, et al. Influence of histamine in a liver injury model induced by *Propionibacterium acnes* and lipopolysaccharide [J]. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26(10): 1393-1397.

[7] Matuschak G M, Pinsky M R, Klein E C, et al. Effects of D-galactosamine-induced acute liver injury on mortality and pulmonary responses to *Escherichia coli* lipopolysaccharide. Modulation by arachidonic acid metabolites [J]. *Am Rev Respir Dis*, 1990, 141: 1296-1306.

[8] Hashimoto A, Katagiri M, Torii S, et al. Effect of dietary α -linolenate/linoleate balance on leukotriene production and histamine release in rats [J]. *Prostaglandins*, 1988, 36(1): 3-16.

[9] Matsui K, Yoshimoto T, Tsutsui H, et al. *Propionibacterium acnes* treatment diminishes CD4⁺ NK1.1⁺ T cells but induces type 1 T cells in the liver by induction of IL-12 and IL-18 production from Kupffer cells [J]. *J Immunol*, 1997, 159(1): 97-106.

[10] Wu Y, Brouet I, Calmels S, et al. Increased endogenous N-nitrosamine and nitrate formation by induction of nitric oxide synthase in rats with acute hepatic injury caused by *Propionibacterium acnes* and lipopolysaccharide administration [J]. *Carcinogenesis*, 1993, 14(1): 7-10.

[11] Wasaki S, Sakaida I, Uchida K, et al. Preventive effect of cyclosporin A on experimentally induced acute liver injury in rats [J]. *Liver*, 1997, 17(2): 107-114.

[12] Ma J, Yang H, Basile M J, et al. Analysis of polyphenolic antioxidants from the fruits of three pouteria species by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(19): 5873-5878.

[13] Winrow V R, Winyard P G, Morris C J, et al. Free radicals in inflammation: second messengers and mediators of tissue destruction [J]. *Br Med Bull*, 1993, 49(3): 506-522.

[14] Poli G. Liver damage due to free radicals [J]. *Br Med Bull*, 1993, 49(3): 604-620.

[15] 郑洁静, 续洁琨, 江涛, 等. 藤茶总黄酮对拘束负荷引起小鼠肝损伤的保护作用 [J]. *中国药理学通报*, 2006, 22(10): 1249-1253.

[16] Calorini L, Mannini A, Bianchini F, et al. The change in leukotrienes and lipoxins in activated mouse peritoneal macrophages [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1484(2-3): 87-92.

密蒙花正丁醇提取物对糖尿病大鼠血糖和醛糖还原酶的影响

李海岛¹, 冯苏秀¹, 叶儒¹, 郭洪祝^{1,2X}, 果德安¹

(1. 北京大学药学院, 北京 100083; 2. 北京市药品检验所, 北京 100035)

摘要: 目的 观察密蒙花正丁醇提取物对糖尿病大鼠的血糖和醛糖还原酶 (AR) 活性的影响。方法 通过 ip 链脲佐菌素 (STZ) 60 mg/kg 建立糖尿病大鼠模型, 随机分成 5 组, 分别 ig 给予氨基胍和高、中、低剂量 (200、400、800 mg/kg) 的密蒙花正丁醇提取物, 糖尿病模型组则给予等体积的蒸馏水, 实验过程中每 3 天测 1 次体重, 每周测定血糖, 并于实验第 30 天和第 90 天测定 AR 活性。结果 密蒙花正丁醇提取物的高剂量组大鼠的血糖显著低于模型组, 其第 1 个月的 AR 活性也显著低于模型组。结论 密蒙花正丁醇提取物可降低糖尿病大鼠血糖水平, 且短期内具有 AR 抑制活性。

关键词: 密蒙花; 糖尿病; 醛糖还原酶

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)01-0087-04

密蒙花为常用中药, 《中国药典》2005 年版收载密蒙花为马钱科植物密蒙花 *Buddleja officinalis* Maxim. 的干燥花蕾及其花序, 用于眼部疾病的治疗。根据前期研究结果^[1], 密蒙花正丁醇提取物在体

外有较强的醛糖还原酶抑制活性, 但其体内活性尚未有研究报道。在糖尿病并发症中, 糖尿病性白内障的发病机制与多元醇通路的异常有关, 多元醇通路和关键限速酶——醛糖还原酶 (aldose reductase,

X 收稿日期: 2007-05-02

基金项目: 国家教育部归国人员启动基金

作者简介: 李海岛 (1983—), 男, 江苏徐州人, 硕士, 主要研究方向为中药及天然药物有效成分及活性研究, 现工作于鲁南制药集团。

E-mail: haidaolee@126.com

* 通讯作者 郭洪祝 Tel: (010) 66124434 E-mail: guohz@bjmu.edu.cn

AR) 可被高血糖激活, AR 催化葡萄糖大量转化为不易透过细胞膜的山梨醇, 致使山梨醇在晶体组织中蓄积而形成白内障^[2]。大量动物实验和临床研究表明, 醛糖还原酶抑制剂可通过抑制 AR 活性, 减少山梨醇的蓄积, 从而预防和延缓糖尿病并发症的发生和发展^[3]。本实验通过建立链脲佐菌素 (STZ) 诱导的大鼠糖尿病模型, 考察不同剂量的密蒙花正丁醇提取物对糖尿病大鼠的血糖和醛糖还原酶活性的影响, 以验证密蒙花正丁醇提取物的体内醛糖还原酶抑制作用。

1 材料

1.1 实验动物: 清洁级雄性 SD 大鼠 180 只, 体重 200~250 g, 北京大学医学部实验动物部提供。

1.2 药品、试剂及仪器: STZ、氨基胍、甘油醛、NADPH 均购自 Sigma 公司。密蒙花 *B. officinalis Maxim.* 药材购自安徽亳州, 经郭洪祝副教授鉴定, 标本存放于北京大学药学院。血糖仪为美国雅培 Abbott 公司的利舒坦血糖仪。

2 方法

2.1 样品制备: 取密蒙花药材以 95% 乙醇渗漉提取, 提取液浓缩, 用水分散后分别以石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 得到正丁醇部位 (经 HPLC 分析, 毛蕊花苷质量分数为 14%^[4]) 备用。所得密蒙花正丁醇部位和氨基胍均用蒸馏水配制。

2.2 糖尿病模型的建立: STZ 临床用前以 0.1 mol/L 枸橼酸钠缓冲液配制, 经微孔滤膜滤过灭菌, 按 60 mg/kg ip 给药, 72 h 后取尾血, 测定血糖, 血糖值 11.1 mmol/L^[3] 者即为糖尿病大鼠。

2.3 分组及给药: 将造模成功的 78 只糖尿病大鼠随机分为 5 组: 模型组 15 只、氨基胍组 15 只、密蒙花正丁醇提取物低、中、高剂量组各 16 只。各组大鼠均 ig 给药, 持续 90 d, 其中对照组和模型组给予蒸馏水, 氨基胍组给予氨基胍 (100 mg/kg), 其余 3 组分别 ig 给予 200、400、800 mg/kg 密蒙花正丁醇提取

物。

2.4 观察指标及方法: 造模后大鼠每 3 天测体重, 每周测定血糖, 第 30 天和第 90 天测定 AR 活性。血糖以美国雅培 Abbott 公司的利舒坦血糖仪测定。AR 活性测定: 于实验开始后的第 30 天和第 90 天, 每组分别取 8 只动物, 处死后取眼球, 分离出晶状体, 加适量冷蒸馏水研成匀浆, 以高速冷冻离心机 8 000 r/min 离心 30 min, 取上清液, 采用紫外测定法测定 AR 活性^[5]。

3 结果

3.1 体重变化: 见表 1。6 组大鼠体重均有增加, 增长幅度 (第 90 天与给药前相比) 对照组为 137%、模型组为 36%、氨基胍组为 94%、密蒙花正丁醇低、中、高剂量组分别为 57%、61%、90%。其中, 对照组大鼠增幅最大, 氨基胍组和密蒙花正丁醇高剂量组其次, 模型组最小。与对照组相比, 模型组、氨基胍组及低、中剂量给药组大鼠体重均显著降低, 而高剂量给药组第 60 天后与对照组无显著性差异。

3.2 血糖变化: 见表 2。对照组大鼠的血糖水平保持稳定; 模型组和中剂量给药组血糖水平在实验前期显著增加, 随后保持稳定; 氨基胍组和高剂量给药组血糖先增加, 后降低; 低剂量给药组则持续增加。与模型组相比, 氨基胍和高剂量的密蒙花正丁醇提取物可显著降低糖尿病大鼠的血糖水平, 其血糖下降率分别为 42.4% 和 24.1%。但是与对照组相比, 各组大鼠的血糖仍有显著性差异。

3.3 AR 活性的变化: 见表 3。第 30 天模型组大鼠的 AR 活性显著高于对照组, 氨基胍组及低、中、高剂量给药组均高于对照组但不显著; 与模型组相比, 氨基胍组及低、中、高剂量给药组均有显著性差异。第 90 天时, 模型组及低、中、高剂量给药组大鼠的 AR 活性均显著高于对照组, 而氨基胍组大鼠与对照组比较无显著性差异, 且仅氨基胍组大鼠的 AR 活性显著低于模型组。

表 1 大鼠体重变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 1 Changes of body weight of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	体重/g				
		给药前	第 1 天	第 30 天	第 60 天	第 90 天
对照	-	227 ± 10	276 ± 13	411 ± 19	482 ± 20	538 ± 19
模型	-	229 ± 11	238 ± 20* **	273 ± 37* **	295 ± 42* **	311 ± 16* **
氨基胍	100	228 ± 8	250 ± 18* **	351 ± 63*	378 ± 54*	442 ± 81*
密蒙花正丁醇	200	228 ± 9	250 ± 12* **	314 ± 17* **	349 ± 23* **	358 ± 26* **
提取物	400	223 ± 7	241 ± 17* **	269 ± 46* **	349 ± 42* **	358 ± 53* **
	800	225 ± 8	249 ± 20* **	336 ± 52*	400 ± 68	428 ± 90

与对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01 *** P < 0.001

* P < 0.05 ** P < 0.01 *** P < 0.001 vs control group

表2 大鼠血糖水平变化 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Changes of blood glucose level of rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	血糖/(mmol · L ⁻¹)			
		造模后	第30天	第60天	第90天
对照	-	4.7 ± 0.6	4.7 ± 0.7	4.6 ± 0.5	4.8 ± 0.4
模型	-	17.1 ± 2.4 ^{***}	25.9 ± 3.2 ^{***}	25.7 ± 3.0 ^{***}	25.7 ± 2.4 ^{***}
氨基胍	100	16.7 ± 2.5 ^{***}	21.3 ± 3.8 ^{**}	15.3 ± 3.2 ^{**}	14.8 ± 3.1 ^{**}
密蒙花正丁醇	200	16.9 ± 2.2 ^{***}	19.0 ± 3.4 ^{***}	21.9 ± 3.4 ^{***}	23.4 ± 3.1 ^{***}
提取物	400	16.7 ± 2.2 ^{***}	24.6 ± 3.3 ^{***}	24.5 ± 3.5 ^{***}	25.6 ± 3.1 ^{***}
	800	17.0 ± 2.5 ^{***}	20.6 ± 3.8 ^{***}	21.1 ± 2.5 ^{***}	19.5 ± 3.7 ^{***}

与对照组比较: ** P < 0.01 *** P < 0.001; 与模型组比较: P < 0.05 P < 0.01 P < 0.001

** P < 0.01 *** P < 0.001 vs control group; P < 0.05 P < 0.01 P < 0.001 vs model group

表3 大鼠晶状体中 AR 活性变化 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Changes of AR activity in crystalline lens of rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	AR 活性/(U · g ⁻¹)	
		第30天	第90天
对照	-	0.483 ± 0.071	0.329 ± 0.058
模型	-	0.836 ± 0.015 ^{***}	0.520 ± 0.077 ^{**}
氨基胍	100	0.510 ± 0.039	0.371 ± 0.073
密蒙花正丁醇	200	0.525 ± 0.065	0.463 ± 0.076 [*]
提取物	400	0.575 ± 0.094	0.504 ± 0.019 ^{**}
	800	0.504 ± 0.077	0.473 ± 0.099 [*]

与对照组比较: * p < 0.05 ** p < 0.01 *** p < 0.001

与模型组比较: P < 0.05 P < 0.01 P < 0.001

* P < 0.05 ** P < 0.01 *** P < 0.001 vs control group;

P < 0.05 P < 0.01 P < 0.001 vs model group

4 讨论

4.1 糖尿病模型的建立: STZ 对一定种属动物的胰岛 B 细胞有选择性破坏^[6], 从而使其形成糖尿病。STZ 对动物组织的毒性较小, 动物存活率高^[7], 基于此, 本实验选用 STZ 来制备糖尿病动物模型。本实验采用 60 mg/kg ip STZ 建立的大鼠糖尿病模型^[8, 9]与正常大鼠相比较, 其摄食量、饮水量和排尿量大大增加, 体重虽然也增加, 但增加幅度远远小于正常大鼠, 且空腹血糖值也符合糖尿病血糖值要求, 可认为造模成功。

4.2 密蒙花正丁醇提取物的降血糖作用: 实验结果表明, 高剂量的密蒙花正丁醇提取物, 可显著降低糖尿病大鼠的血糖水平, 其作用与氨基胍相当; 低剂量的提取物仅在前期降低糖尿病大鼠的血糖水平, 30 d 后其血糖水平则与糖尿病模型组无显著性差异; 而中剂量的密蒙花提取物在实验过程中则未见降血糖作用。造成此结果的原因推测是多方面的, 一方面, 由于密蒙花正丁醇提取物未经除糖处理, 以致含有较多糖类成分, 在高剂量提取物组中, 所含有的有效成分群剂量较高, 在一定程度上抵消了所含糖类作用的影响, 从而整体上表现出有效成分的明显

的降血糖作用; 低剂量提取物中, 糖类成分的影响在初期给药阶段, 没有表现出明显的作用, 而所含的有效成分发挥了一定的活性, 随着连续给药, 造成糖类成分影响的积累而抵消了有效成分的作用; 中剂量组中的糖类成分与有效成分在量上可能达到了作用相互抵消的比例, 导致在整个给药阶段均未表现出明显的作用。另一方面, 从化合物组成的情况来看, 正丁醇提取物中不仅含有苯乙醇苷类, 而且还有三萜皂苷, 黄酮醇苷类化合物等, 在不同剂量组中, 这些化合物之间的相互作用表现的情况差异, 也可能是形成这种结果的原因之一。

4.3 氨基胍为一种氨基衍生物, 能抑制 AR 活性, 从而抑制内皮细胞生长因子形成, 避免无细胞性的毛细血管增殖^[9], 并可防止早期白内障的形成^[10]。本实验选择氨基胍作为阳性药物, 并且实验结果也证实其确实具有显著的 AR 抑制作用。有研究发现密蒙花正丁醇提取物在体外有较强的 AR 抑制活性^[1]。而本实验结果则表明, 不同剂量的密蒙花正丁醇提取物在第一个月均可显著降低糖尿病大鼠的 AR 活性, 其作用强度与氨基胍相当。但随着时间推移, 至第 90 天, 仅氨基胍具有较好的 AR 抑制活性。推测可能是由于密蒙花正丁醇提取物中含有大量糖类成分, 长期 ig 给药使其激活 AR 的作用逐渐强于提取物中具有 AR 抑制活性的成分的抑制作用。而且通过对比低剂量和高剂量给药组的结果可以看出, 糖类成分对 AR 抑制活性有较大的影响。另外也可能有上述的多成分相互作用的原因, 但是其具体作用机制还有待进一步研究。

上述实验结果提示, 密蒙花正丁醇提取物在实验大鼠体内表现出一定的降血糖和 AR 抑制活性, 在一定程度上验证了体外试验结果, 是密蒙花对 AR 具有抑制作用的有效部分, 这不仅对于密蒙花的用药及其对糖尿病及其并发症的治疗具有一定的指导意义, 而且为后续有效物质的研究奠定了基础。

参考文献:

[1] 韩 澍, 崔亚君, 郭洪祝, 等. 密蒙花化学成分及其活性研究. [J]. 中草药, 2004, 35(10): 1086-1090.

[2] 刘长山, 朱福星. 糖尿病患者红细胞醛糖还原酶活性初步考察 [J]. 中国糖尿病杂志, 1996, 4(4): 198-201.

[3] 王 琦, 周玲仙, 罗晓东. 植物中醛糖还原酶抑制剂的研究进展 [J]. 中草药, 2005, 36(2): 298-303.

[4] 韩 澍, 崔亚君, 郭洪祝, 等. 中药密蒙花药材 RP-HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(10): 938-940.

[5] 张均田. 现代药理实验方法学 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998.

[6] Rackietan N, Rackietan M L, Nadkarni M R. Studies on diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917) [J]. Cancer Chemother Reports, 1993, 29: 91-95.

[7] 孙子林, 葛祖恺. 糖尿病动物模型及其进展 [J]. 中国糖尿病杂志, 1999, 7(4): 227-229.

[8] 于德民, 吴 锐, 尹 澹, 等. 实验性链脲佐菌素糖尿病动物模型的研究 [J]. 中国糖尿病杂志, 1995, 3(2): 105-109.

[9] Hammes H P, Martin S, Federlin K, et al. Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88(24): 11555-11558.

[10] 丁正华, 严 宏, 哈文静, 等. 氨基胍滴眼液防治大鼠糖尿病性白内障的研究 [J]. 眼科新进展, 2006, 26(5): 336-339.

羟基红花黄色素 A 对常氧/低氧犬胸主动脉内皮细胞增殖的影响

张 岭¹, 宋 艳^{1,2}, 李长龄², 刘 珂³, 朱海波^{1X}

(1. 中国医学科学院 中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050; 2. 北京大学药学院, 北京 100083; 3. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264003)

摘要:目的 探讨羟基红花黄色素 A (HSYA) 对常氧/低氧两种条件下体外培养的犬胸主动脉内皮细胞增殖的影响。方法 采用内膜消化刮取法获取犬胸主动脉内皮细胞; 在常氧 (21%) / 低氧 (10%) 两种条件下, 分别以噻唑蓝 (MTT) 法观察 HSYA 对血管内皮细胞 (VEC) 增殖的影响, 血管内皮生长因子 (VEGF) 作为阳性对照。结果 常氧条件下 HSYA 1、0.1 mmol/L 在 72、96、120 h 时对 VEC 有明显促增殖作用; 低氧条件下 HSYA 1、0.1、0.01 mmol/L 在 24、48 h 时对 VEC 有明显促增殖作用, 且具有浓度和时间依赖性。HSYA 1 mmol/L 与 VEGF 2.6 × 10⁻⁷ mol/L 在同样条件下对 VEC 的促增殖作用强度相当。结论 在常氧/低氧两种条件下, HSYA 均具有明显促 VEC 增殖作用, 且在低氧条件更为明显。

关键词: 红花; 羟基红花黄色素 A (HSYA); 血管内皮细胞 (VEC); 血管新生; 常氧; 低氧; 血管内皮生长因子 (VEGF)

中图分类号: R286.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)01-0090-04

心脑血管死性疾病的病理特征之一是慢性或持续性组织供血不足, 导致组织代偿性血管再生, 逐渐建立侧枝循环以适应缺血缺氧的需要。但是这种代偿过程缓慢, 而且往往不够充分, 应用外源性物质可刺激缺血组织毛细血管生长及侧枝循环形成的治疗方法称为“药物分子搭桥术”或称“治疗性血管新生”, 目前已成为缺血性心脑血管组织血运重建研究的热点^[1, 2]。

羟基红花黄色素 A (hydroxysafflor yellow A, HSYA) 是从传统的活血化瘀类中药红花中分离出来的、具有抗心脑血管缺血性损伤和抗凝血^[3]、抗氧化^[4]作用的有效单体成分。前期实验证实: HSYA 可通过增强血管内皮生长因子 (VEGF) 表达而增加脑组织缺血区半暗带内新生血管数目, 从而明显缩小脑组织的梗死面积^[5]。血管新生是一个多因素参与、

多环节相互作用的极其复杂的过程。由于血管内皮细胞 (vascular endothelial cell, VEC) 的增殖是新生血管形成的必要条件, 而 VEC 的增殖和分化也一直被认为是血管新生的最重要环节, 是药物治疗心脑血管死性疾病的重要靶区。故此 Gargett 等^[6]认为对 VEC 增殖的检测是研究体外血管新生合适的模型^[6]。

本实验采用体外培养的犬胸主动脉内皮细胞作为模型材料, 观察在常氧/低氧两种条件下, 不同浓度的 HSYA 作用不同时间对 VEC 增殖的影响, 探讨 HSYA 促血管新生作用的细胞生物学基础。

1 材料

1.1 药品与试剂: HSYA (质量分数 99.7%), 山东省天然药物工程技术研究中心提供, 为黄色疏松冻干块状物, 易溶于水, 批号 20000525; 人 VEGF, PE-

X 收稿日期: 2007-02-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30370720; 30572343)

* 通讯作者 朱海波 Tel: (010) 63188106 Fax: (010) 63017757 E-mail: zhuhaibo@imm.ac.cn