张、渗出水肿有一定的抑制作用,对中晚期炎症纤维组织增生、肉芽形成有抑制作用。

IL-6、TNF-α 是强促炎细胞因子,NO 是致炎自由基。本实验结果表明,紫苏总黄酮能抑制气囊炎模型小鼠血清中的细胞因子 IL-6、TNF-α 的量,降低炎症部位炎症介质 NO 的量,从而降低炎症因子、氧自由基对机体的攻击损伤。提示紫苏总黄酮抑制炎症反应的机制可能是通过抑制单核巨噬细胞的活化和分化,并抑制炎症介质生成,抑制细胞免疫和垂体肾上腺皮质系统,减少自由基损伤等多种途径来发挥抗炎和免疫调节作用。有关紫苏总黄酮抗炎作用与内源性抗炎系统 (肾上腺皮质系统) 的关系有待进一步研究。

参考文献:

[1] 王玉萍, 杨峻山, 赵杨景, 等. 紫苏类中药化学和药理的研究概况 [J]. 中国药学杂志, 2003, (4): 60-63.
[2] 刘 蓉, 唐 方. 紫苏提取物对肢体缺血再灌注大鼠结肠环行肌条运动的影响 [J]. 中草药, 2008, 39(10): 1540-1542.
[3] 王永奇, 王 威, 梁文波, 等. 紫苏油抗过敏,抗炎症的研究 [J]. 中草药, 2001, 4(1): 38-40.
[4] 郭群群, 杜桂彩, 李荣贵, 等. 紫苏抗菌活性成分的研究 [J]. 高等学校化学学报, 2006, (7): 27-28.
[5] 王 静, 刘大川. 紫(白)苏叶黄酮类化合物抗氧化性能的研究 [J]. 中国油脂, 2004, (3): 33-36.
[6] 刘大川, 王 静, 刘贵华, 等. 紫苏叶中色素及黄酮类化合物提取工艺研究 [J]. 粮食与油脂, 2000, (5): 19-22.
[7] 陈 奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
[8] 张士侠, 李 心, 尹家乐, 等. 江苏地产白首乌 C_{21} 甾苷抗炎作用及其机制研究 [J]. 中国现代中药, 2007, 9(5): 8-12.
[9] 唐 宁, 李子艳, 周咏梅, 等. 木樨草素抗炎作用机制的初步探讨 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007, 12(2): 195-199.
[10] 聂 D, 余陈欢, 王芳芳, 等. 石荠苎总黄酮抗炎作用及其机制研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(1): 65-66.

山楂叶总黄酮对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用

李 红, 张 爽, 纪影实, 杨晓春, 杨世杰*
(吉林大学白求恩医学院 药理学系, 吉林 长春 130021)

摘 要: 目的 研究山楂叶总黄酮对脑缺血再灌注损伤的保护作用,并初步探讨其机制。**方法** 采用线栓法建立大鼠大脑中动脉局灶性脑缺血再灌注损伤模型,观察山楂叶总黄酮对脑缺血再灌注损伤大鼠行为障碍评分的影响,对大鼠血清肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH)、丙二醛 (MDA) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 的影响,对大鼠脑组织中 SOD、MDA 及 NO 量的影响,对大鼠脑含水量、脑梗死面积及病理形态学的影响。**结果** 与模型组比较,山楂叶总黄酮 60、30 mg/kg 及阳性对照药舒血宁均能不同程度改善脑缺血再灌注损伤大鼠的行为障碍 (P< 0.05),明显降低大鼠血清中 CK 和 LDH 的量 (P< 0.05、0.01),升高 SOD 活性,降低 MDA 量 (P< 0.05、0.01)。山楂叶总黄酮 60、30 mg/kg 及舒血宁可升高大鼠脑组织中 SOD 活性,降低 MDA、NO 的量,与模型组比较有显著差异 (P< 0.05、0.01)。山楂叶总黄酮还可显著降低脑含水量 (P< 0.01、0.001),降低脑梗死面积及改善脑组织病理损害。**结论** 山楂叶总黄酮对大鼠脑缺血再灌注损伤具有保护作用,其作用机制可能与减少自由基的生成,抑制因自由基及 NO 神经毒性而导致的细胞死亡有关。

关键词: 山楂叶总黄酮; 脑缺血再灌注损伤; 自由基; NO
中图分类号: R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2010)05-0794-05

山楂系蔷薇科植物,是常见的中草药之一,山楂叶总黄酮是从花期山楂的叶子中提取的黄酮类化合物的总称,其主要成分为芦丁、金丝桃苷、槲皮素、牡荆素等。已有研究表明,山楂叶总黄酮可扩张血管,增加冠状动脉血流量,具有降压、调血脂及抗心肌缺血、抑制血小板凝聚等作用[1~3]。本课题组前期研究表明,山楂叶总黄酮可增加麻醉犬脑血流量及降低脑血管阻力[4],提示其可能具有抗脑缺血损伤的作用,因此,本实验以线栓法制备脑缺血再灌注损伤模型,探讨山楂叶总黄酮对脑缺血再灌注损伤的保护作用,并初步探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料: 清洁级雄性 Wistar 大鼠,体质量 250~280 g,由吉林大学基础医学院动物实验中心提供,合格证号: SCXK (吉) 2003-0001。山楂叶总黄酮 (质量分数> 90%,批号 060325),由长春普华生物

①收稿日期: 2009-11-06
作者简介: 李 红(1958—),女,吉林省长春市人,医学硕士,高级实验师,主要从事分子药理学研究。E-mail: lhong@jlu.edu.cn
* 通讯作者 杨世杰 Tel: (0431) 85619483 E-mail: jcyaoli@sina.com

制药提供; 舒血宁注射液 (批号 0511083), 由万荣三九药业有限公司提供; 肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH) 试剂盒, 由中生北控生物科技股份有限公司提供; 超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、NO 试剂盒均由南京建成生物公司提供。红四氮唑 (TTC), 由中国医药 (集团) 上海化学试剂公司提供。LDZ5—2 型离心机 (北京医用离心机厂), 6010 紫外分光光度计 (安捷伦上海分析仪厂), GF —D200 型半自动生化分析仪 (山东高密彩虹分析仪器有限公司)。

1.2 实验分组: 取 280 只雄性 Wistar 大鼠, 按体质量随机分为 7 组: 对照组、假手术组、模型组、阳性对照舒血宁 (0.9 mL/kg) 组、山楂叶总黄酮 (60、30、15 mg/kg) 组, 每组 40 只, 其中 10 只用于神经功能评分及生化指标检测, 10 只用于脑含水量的测定, 10 只用于脑组织梗死面积测定, 10 只用于脑组织病理观察及脑组织病理半定量分析。

1.3 模型制备: 用 10% 水合氯醛 (300 mg/kg) ip 麻醉大鼠, 仰卧位固定, 行颈部正中切口, 暴露右侧颈总动脉 (CCA) 并游离, 向上分离颈内动脉 (ICA) 和颈外动脉 (ECA), 结扎 ECA。在颈外动脉下方小心分离出颈内动脉的小分支 (翼突腭动脉), 于分支下穿线、结扎。在已分离的 CCA 近心端用动脉夹阻断血流, 远心端用一手术线轻轻拉起, 于 CCA 上剪一小切口。将 3.0 鱼线 (长约 5 cm) 头端加热烫成圆球形 (直径< 0.30 mm), 在距头端 1.8 cm 处做一标记。将此鱼线由颈总动脉小口插入, 向颈内动脉入颅方向推进。从颈总动脉分叉起向内推进 1.8~2.0 cm 感到有阻力即停止, 即达到大脑前动脉, 此时供应大脑中动脉的所有血供均被阻断。用手术线结扎固定鱼线, 最后近心端用另一根手术线结扎, 缝合皮肤, 完成大脑中动脉缺血模型的制备。4 h 后将栓塞线轻缓外抽, 使其头端回到近心端的结扎处, 实现再灌注。假手术组除不栓线外均同模型组。阳性对照舒血宁组、山楂叶总黄酮 (60、30、15 mg/kg) 组均于术后尾 iv 给药 3 d, 每日 1 次。对照组、假手术组和模型组均于术后尾 iv 给予 3 d 相同体积的生理盐水。

1.4 大鼠行为障碍评分: 给药 3 d 后, 对大鼠的行为障碍进行分级评分, 标准为: 0 分为未见神经症状; 1 分为不能完全伸展左侧前爪; 2 分为大鼠置于光滑平面上, 推手术侧肩部向对侧移动时阻力降低; 3 分为大鼠自由行走时向左侧环转、转圈或倾倒; 4 分为软瘫, 肢体无自由活动。积分越高, 说明大鼠行为障碍越严重。

1.5 大鼠血清 CK、LDH、SOD 及 MDA 定量测定: 实验结束后, 腹主动脉取血, 离心取血清。按试剂盒说明书测定 CK、LDH、MDA 及 SOD 量。

1.6 大鼠脑组织匀浆 SOD、MDA 及 NO 的测定: 在冰浴中切取手术侧大脑海马区脑组织 0.2 g, 去除脑膜和血液, 加 4 ℃ PBS 制成 10% 脑组织匀浆, 按试剂盒说明书测定 SOD、MDA 及 NO 量。

1.7 大鼠脑含水量的测定: 实验结束后, 快速断头, 剥离颅骨和硬脑膜取出大脑, 去除嗅球、小脑和低位脑干, 置于 110 ℃ 恒温干燥器内烘烤 48 h 后称取干质量, 计算脑含水量 [脑含水量= (湿质量- 干质量) 湿质量× 100%]。

1.8 大鼠 TTC 染色及脑梗死面积测定: 实验结束后, 大鼠断头取脑, 去除嗅球、小脑和低位脑肝, 间隔 2 mm 连续做 6 个脑冠状切片, 置于 2% TTC 磷酸盐缓冲液中, 37 ℃ 避光温浴 30 min。TTC 被线粒体过氧化氢酶还原, 可使正常脑组织染色呈红色, 梗死组织呈白色。图像分析缺血损伤区占整个脑切片的百分比, 评价脑损伤的程度。

1.9 大鼠脑组织病理形态学观察: 实验结束后, 大鼠断头取脑, 标本固定于 10% 中性福尔马林缓冲液内 1 周, 取材之后再次固定 12 h, 组织以乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 石蜡切片机切片, HE 染色, 中性树胶封固, 光镜检查脑组织形态。

1.10 统计学处理: 计算资料用 t 检验进行显著性检验, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示; 等级资料用非参数检验。

2 结果

2.1 对脑缺血再灌注损伤大鼠行为障碍评分的影响: 假手术组与对照组比较无显著差异 ($P > 0.05$), 脑缺血再灌注模型组大鼠表现出明显的运动功能障碍, 提鼠尾可见其左前肢内收, 行走时偏向左侧, 神经功能评分明显升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 山楂叶总黄酮 60、30 mg/kg 及阳性对照舒血宁均能不同程度改善脑缺血再灌注损伤大鼠的行为障碍 ($P < 0.05$), 结果见表 1。

2.2 对脑缺血再灌注损伤大鼠血清 CK、LDH、MDA 量和 SOD 活性的影响: 假手术组与对照组比较无显著差异; 与假手术组比较, 模型组大鼠血清中 CK、LDH、MDA 的量显著升高, SOD 活性降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 山楂叶总黄酮 60、30 mg/kg 及舒血宁能明显降低大鼠血清中 CK、LDH 和 MDA 的量, 升高大鼠血清中 SOD 活性 ($P < 0.05$、0.01), 结果见表 1。

表 1 山楂叶总黄酮对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能评分及血清 CK、LDH、MDA 和 SOD 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, n= 10)

Table 1 Effect of FMCL on neurological scores and CK, LDH, MDA, and SOD in serum of cerebral ischemia-reperfusion injured rats ($\bar{x}\pm s$, n= 10)

组别	剂量/(mg·kg^{-1})	神经功能评分	LDH/(U·L^{-1})	CK/(U·L^{-1})	MDA/(nmol·L^{-1})	SOD/(U·mL^{-1})
对照	–	0±0	164.36±42.27	154.91±34.60	3.41±1.11	322.95±30.73
假手术	–	0.10±0.32	179.83±46.73	156.45±44.82	3.43±0.92	301.54±30.24
模型	–	2.90±0.74$^{\triangle\triangle\triangle}$	382.53±87.86$^{\triangle\triangle\triangle}$	365.34±92.34$^{\triangle\triangle\triangle}$	72.35±18.96$^{\triangle\triangle\triangle}$	122.57±27.94$^{\triangle\triangle\triangle}$
舒血宁	0.9 mL·kg^{-1}	2.10±0.57*	263.81±57.30**	254.03±66.31**	50.31±7.40**	174.73±33.89**
山楂叶总黄酮	60	2.20±0.42*	252.46±58.75**	234.04±67.83**	48.22±9.35**	178.81±35.67**
	30	2.30±0.48*	290.22±51.17*	274.27±59.79*	55.10±9.28*	161.98±38.21*
	15	2.70±0.67	318.11±66.59	299.49±69.98	62.69±9.12	146.62±36.04

与假手术组比较: $^{\triangle\triangle\triangle}P$< 0.001; 与模型组比较: $^{*}P$< 0.05 $^{**}P$< 0.01

$^{\triangle\triangle\triangle}P$< 0.001 *vs* Sham group; $^{*}P$< 0.05 $^{**}P$< 0.01 *vs* model group

2.3 对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织中 SOD 活性及 MDA、NO 的量的影响: 与假手术组比较, 模型组大鼠脑组织中 SOD 活性降低, MDA、NO 量明显增加 (P< 0.001); 山楂叶总黄酮 60、30 mg/kg 及舒血宁可升高大鼠脑组织中 SOD 活性, 降低 MDA、NO 的量, 与模型组比较有显著差异 (P< 0.05、0.01), 结果见表 2。

表 2 山楂叶总黄酮对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织 SOD、MDA、NO 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, n= 10)

Table 2 Effect of FMCL on SOD, MDA, and NO level in brain of cerebral ischemia-reperfusion injured rats ($\bar{x}\pm s$, n= 10)

组别	剂量/(mg·kg^{-1})	MDA/(μmol·g^{-1})	SOD/(U·mg^{-1})	NO/(μmol·L^{-1})
对照	–	26.91±5.85	308.98±59.99	16.57±4.50
假手术	–	27.36±5.41	301.70±60.04	16.61±3.87
模型	–	53.11±6.09$^{\triangle\triangle\triangle}$	189.00±46.35$^{\triangle\triangle\triangle}$	31.89±4.26$^{\triangle\triangle\triangle}$
舒血宁	0.9 mL·kg^{-1}	44.25±6.37**	257.62±51.06**	24.33±6.35**
山楂叶总黄酮	60	43.18±5.22**	263.02±44.47**	23.23±5.73**
	30	47.02±5.94*	242.54±45.98*	27.30±4.77*
	15	48.72±4.99	214.58±42.54	29.21±5.20

与假手术组比较: $^{\triangle\triangle\triangle}P$< 0.001

与模型组比较: $^{*}P$< 0.05 $^{**}P$< 0.01

$^{\triangle\triangle\triangle}P$< 0.001 *vs* Sham group

$^{*}P$< 0.05 $^{**}P$< 0.01 *vs* model group

2.4 对脑缺血再灌注损伤大鼠脑梗死面积及脑含水量的影响: 假手术组与对照组比较无显著差异 (P> 0.05); 与假手术组比较, 模型组脑梗死面积明显增加, 脑含水量明显升高 (P< 0.001); 与模型组比较, 山楂叶总黄酮 60、30 mg/kg 及舒血宁可显著降低脑梗死面积, 降低脑含水量 (P< 0.01、0.001), 具有明显量效关系, 结果见表 3。

2.5 对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织病理形态学改变的影响: 假手术组大脑皮质神经元胞体呈圆形, 胞质无明显嗜伊红, 海马 CA1 区神经元胞体呈圆形, 胞质无明显嗜伊红改变, 且分布正常。脑组织缺血再灌注 24 h, 视前区出现梗死灶即神经组织结构完全破坏, 神经元、胶质细胞和微血管内皮细胞全部坏死, 镜下呈一片苍白色, 同时纹状体出现很多死亡细胞留下的腔腺, 并有较多的星形胶质细胞肿胀, 皮质大部分神经元表现为核固缩深染, 核仁、尼氏小体消失, 胶质少着色深, 呈杆形或梭形, 与周围神经组织有较大的间隙。模型组变性坏死的神经元主要分布在大脑皮层, 缺血坏死区脑组织水肿, 疏松, 大部分细胞核固缩、碎裂和溶解, 细胞脱失明显, 残存神经元显著变性, 胞浆浓缩, 胞浆空泡变性, 可见大量神经元胞体为三角型, 胞质嗜伊红增强。海马 CA1 区大多数神经元胞体呈三角形, 胞质嗜伊红浓染。山楂叶总黄酮高、中剂量组神经元变性为主并有少许细胞坏死, 少数神经元胞体呈三角形, 胞质嗜伊红增强; 海马 CA1 区部分神经元胞体呈三角形, 胞质嗜伊红浓染; 但大多数形态无明显异常, 神经元胞体椭圆, 胞质无明显嗜伊红改变, 胞浆尼氏小体减少, 结果见图 1。

表 3 山楂叶总黄酮对脑缺血再灌注损伤大鼠脑梗死面积和脑含水量的影响 ($\bar{x}\pm s$, n= 10)

Table 3 Effect of FMCL on infarction volume and cerebral water content of cerebral ischemia-reperfusion injured rats ($\bar{x}\pm s$, n= 10)

组别	剂量/(mg·kg^{-1})	脑梗死面积/%	脑含水量/%
对照	–	0.00±0.00	77.60±0.99
假手术	–	0.00±0.00	77.68±0.50
模型	–	38.22±4.81$^{\triangle\triangle\triangle}$	80.22±0.45$^{\triangle\triangle\triangle}$
舒血宁	0.9 mL·kg^{-1}	26.82±8.02**	78.93±0.80***
山楂叶总黄酮	60	23.18±8.10***	78.92±0.72***
	30	26.40±9.27**	79.52±0.87**
	15	27.34±9.14**	79.82±0.58

与假手术组比较: $^{\triangle\triangle\triangle}P$< 0.001

与模型组比较: $^{**}P$< 0.01 $^{***}P$< 0.001

$^{\triangle\triangle\triangle}P$< 0.001 *vs* Sham group

$^{**}P$< 0.01 $^{***}P$< 0.001 *vs* model group

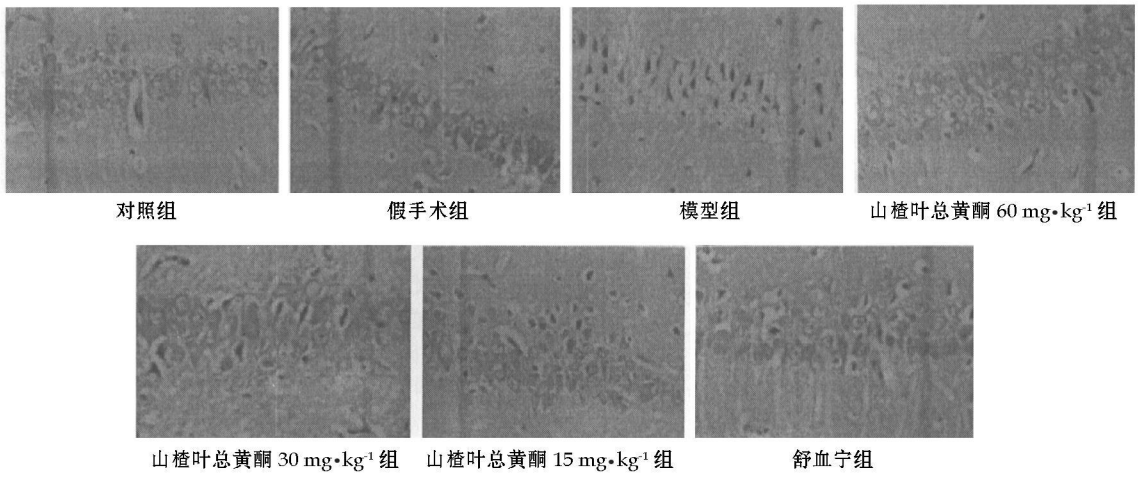

图 1 山楂叶总黄酮对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织病理改变的影响

Fig. 1 Effect of FMCL on pathomorphological change of cerebral tissue in cerebral ischemia-reperfusion injured rats

3 讨论

用栓线技术建立的局灶性脑缺血模型不需开颅、创伤小, 不影响缺血后脑水肿和颅内压病理变化的过程, 避免了颈内动脉注射栓子闭塞 MCA 法的随机性及其他开颅造模法引起的颅内环境改变和颅内感染; 梗死位置和体积较恒定, 能进行永久性及短暂性脑缺血或梗死的研究, 特别是可以在清醒的状态下实现脑缺血-再灌注研究[5]。海马和皮层是公认的缺血易损区, 有研究表明海马各段对缺血易损伤性的顺序是 CA1 及门区> CA2> CA3> 齿状回[6~8], 故本实验选择海马特别是 CA1 区及顶、颞叶皮层作为研究对象, 主要观察了大鼠局灶性脑缺血再灌注后海马以 CA1 区的组织病理学变化。结果表明, 山楂叶总黄酮组脑细胞梗死面积及脑含水量明显轻于模型组, 病理形态学结果也证实了山楂叶总黄酮对脑缺血再灌注损伤具有保护作用。

脑是对缺氧较敏感的器官, 脑缺血后几分钟内即可导致神经细胞氧化磷酸化能力减弱, 最终因脑组织发生无氧酵解, 大量乳酸堆积, 组织中 H^+ 迅速增高, 发生酸中毒, 造成 LDH、CK 外漏, 因此 LDH、CK 可作为细胞损伤的标志[9]。MDA 是脂质过氧化反应的主要产物, 中枢神经系统含有大量的不饱和脂肪酸, 最易发生脂质过氧化反应, 生成大量的过氧化脂质 (LPO)。脑缺血时脂质过氧化活跃, MDA 生成增多, SOD 则因消耗而减少, 因而 SOD 活性及 MDA 量可间接反映机体清除氧自由基的能力[10]。本研究发现, 山楂叶总黄酮能降低 LDH、CK、MDA 量, 增加 SOD 活性, 揭示其可提高抗氧化酶活性, 抑制自由基的产生, 并抑制氧自由基引起的脂质过氧化反应, 从而对脑血再灌注损伤起保护作用。

有实验报道, 脑缺血早期 NO 的增高是机体防御性反应, NO 的产生可增加脑血流量, 减少血栓形成, 而缺血后期或再灌注时 NO 的产生量增高对机体有害[11,12]。介导神经毒性作用的 NO 在缺血再灌注的过程中起主导作用[13]。本实验研究发现, 与假手术组比较, 模型组的脑组织匀浆 NO 量明显增加, 山楂叶总黄酮 60、30 mg/kg 能明显降低动物脑组织匀浆中 NO 的量, 抑制 NO 的产生, 减轻其对脑组织及神经细胞的损伤。

综上所述, 山楂叶总黄酮对脑缺血再灌注损伤具有保护作用, 其机制与减少自由基生成, 并增加自由基的清除能力, 减轻脂质过氧化反应, 从而保护神经细胞膜的完整性和稳定性, 抑制因自由基及 NO 神经毒性损伤而导致的细胞死亡有关。

参考文献:

[1] 刘家兰, 徐晓玉. 山楂的药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40(增刊): 63-66

[2] 杨宇杰, 刘玉玲, 陈光辉, 等. 山楂叶总黄酮对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌损伤的保护作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(8): 647-649

[3] 杨宇杰, 林 静, 王春民, 等. 山楂叶总黄酮对大鼠高脂血症早期干预的实验研究 [J]. 中草药, 2008, 39(12): 1848-1850

[4] 纪影实, 张晓丹, 李 红, 等. 山楂叶总黄酮对脑缺血的保护作用 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2005, 31(6): 879-882

[5] 何 秋, 刘美洁, 朴英善, 等. 栓线法制备大鼠局灶性脑缺血再灌注模型的研究 [J]. 中国医科大学学报, 1998, 27(4): 343-346

[6] Michelle R, Yano T, Ushijima K, *et al*. Effect of dantrolene on extracellular glutamate concentration and neuronal death in rat hippocampal CA1 region subjected to transient ischemia [J]. *Anesthesiology*, 2002, 96(3): 705-710

[7] Avshalunov M V, Rice M E NMDA receptor activation

mediates hydrogen peroxide-induced pathophysiology in rat hippocampal slices [J]. *J Neurophysio*, 2002, 87(6): 2896-2903.

[8] 唐黎黎, 史秀丽, 李光武, 等. 垂体腺苷酸环化酶激活肽对大鼠局灶性脑缺血-再灌注损伤脑保护作用的研究 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(4): 539-541.

[9] Ii T, Satomi Y, Katoh D, *et al*. Induction of cell cycle arrest and p21c II-AFr expression in human lung cancer cells by isoliquiritigenin [J]. *Cancer Lett*, 2004, 207(1): 27-35.

[10] 洪森荣, 尹明华. 银杏叶提取物对缺血/再灌注小鼠脑细胞凋亡的保护作用 [J]. 中草药, 2007, 38(12): 1864-1867.

[11] 方 芳, 王婉灵, 余术宜, 等. 后适应对大鼠实验性局灶性脑缺血/再灌注损伤的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2007, 23(4): 476-479.

[12] 王光伟, 丰 昀, 邱细敏, 等. 白术多糖对大鼠创伤性脑损伤后脑水肿的影响及其机制探讨 [J]. 中草药, 2009, 40(6): 948-950.

[13] 方 玲, 王 柠, 吴志英, 等. 一氧化氮合酶在脑缺血再灌注中的双重作用 [J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2004, 11(1): 29-33.

油菜花粉抗前列腺增生与炎症的活性部位研究

李 坤, 杨义芳*, 李永辉

(上海医药工业研究院 中药研究室, 上海 200040)

摘 要: 目的 筛选油菜花粉抗前列腺增生与炎症的活性部位。**方法** 采用二甲苯致小鼠耳肿胀, 鸡蛋清诱导的大鼠足跖肿胀, 丙酸睾酮诱导的大鼠前列腺增生模型, 评价油菜花粉 5 个不同化学部位的生物活性。**结果** 油菜花粉 PN2 部位, ig 给药 12.18 mg/kg 时, 可显著抑制二甲苯致小鼠耳肿胀; ig 给药 7.31 mg/kg 时, 可显著抑制鸡蛋清诱导的大鼠足跖肿胀和丙酸睾酮诱导的大鼠前列腺增生。急性毒性试验结果表明, PN2 部位的最大耐受量为成人临床日用剂量的 600 倍以上。**结论** 油菜花粉活性部位 PN2 具有显著的抗前列腺增生与炎症活性, 服用剂量小, 安全性高。

关键词: 油菜花粉; 前列腺增生; 炎症; 活性部位

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2010)05-0798-05

良性前列腺增生 (benign prostatic hyperplasia, BPH) 是老年男性常见的生理病变, 近年来发病率呈明显上升的趋势, 目前已经成为世界范围内影响老年人健康和生活质量的主要疾病之一[1]。临床上用于治疗 BPH 的药物主要有[2]: α-肾上腺受体拮抗剂、5α-还原酶抑制剂、天然产物制剂等。由于天然产物制剂不良反应少, 适合长期使用, 近年来引起了人们的广泛关注。以油菜花粉为原料的前列康制剂, 具有明确的抗 BPH 与前列腺炎的功效。然而, 前列康等花粉制剂是由花粉直接制成的粗制剂[3], 没有经过提取, 服用剂量大, 有必要对其做进一步的研究开发。根据文献报道[4-7], 结合本实验室的前期研究结果[8], 本实验采用抗炎与抗 BPH 的药理模型筛选油菜花粉的活性部位, 并对所得到的活性部位进行急性毒理学研究, 为油菜花粉的进一步开发奠定基础。

1 材料与仪器

1.1.1 药材: 油菜花粉来源于内蒙古, 经江苏省中国科学院植物研究所冯煦教授鉴定为十字花科植物油菜 *Brassica campestris* L. var. *oleifera* DC. 的花粉。

1.1.2 动物: 昆明种普通级小鼠, 雄性, 体质量 20~24 g; 昆明种清洁级小鼠, 雌雄各半, 体质量为 18~22 g; SD 大鼠, 雄性, 体质量 140~180 g, 江西中医学院动物科学部提供。

1.1.3 试剂: 丙酸睾酮, 天津金耀氨基酸有限公司, 批号 0508051; 前列康片, 浙江康恩贝制药股份有限公司, 批号 050638; 舍尼通, 南京美瑞制药有限公司, 批号 20050503; 阿司匹林, 威海亚太药业有限公司, 批号 20050503; 聚山梨酯 80, 上海试剂一厂, 批号 20050901; 其余化学试剂均为国药集团的分析纯试剂。

1.1.4 仪器: HA221-40-11 超临界 CO_2 萃取装置 (江苏南通华安超临界萃取有限公司); AB-1 大孔树脂 (津京树脂股份有限公司); BA300 型光学显微镜。

2 方法与结果

2.1.1 化学部位的制备: 油菜花粉破壁后[8], 干燥、粉碎, 过 80 目筛; 采用超临界 CO_2 流体进行提取, 萃取釜温度 50 ℃, 萃取釜压力 40 MPa; 分离釜Ⅰ温度 45 ℃, 压力 8 MPa; 分离釜Ⅱ温度 35 ℃, 压力 4~6

收稿日期: 2009-08-11
基金项目: 上海市自然科学基金资助项目 (06ZR14078); 上海市中药现代化专项项目 (08DZ1971801, 09DZ1975200)
作者简介: 李 坤 (1983-), 男, 硕士研究生。研究方向为中药新药及创新药物研究。E-mail: klitju@yahoo.com.cn
* 通讯作者 杨义芳 Tel: (021) 62473018 E-mail: yangyf4912@163.com