

基于偏最小二乘法分析猪牙皂不同组分对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响

董娜娜, 陈晓兰*, 邓铤莉, 万静, 陈瑶, 彭梦婷(贵州中医药大学药学院, 贵阳 550002)

摘要: 目的 探讨猪牙皂对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用, 及其药效部位。方法 实验分 6 组, 即假手术组、模型组、尼莫地平组、皂苷组、皂苷+萃取物组、萃取物组。建立大鼠脑缺血再灌注模型, 进行大鼠神经功能评分, 测量大鼠脑组织含水量, 采用 ELISA 法检测大鼠脑缺血侧脑组织及血清中白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、一氧化氮(nitric oxide, NO)的含量和一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)、总超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的活性; 最后借助偏最小二乘法和方差分析对比猪牙皂不同组分的作用。结果 与模型组比较, 各给药组神经功能评分均下降, 大鼠脑组织含水量、脑组织及血清中的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、MDA、NO 含量均降低, NOS 活性被抑制, SOD 活性显著增强。偏最小二乘法分析可得: 皂苷 4.5 mg·kg⁻¹ 对大鼠缺血性再灌注模型的保护作用强于皂苷+萃取物 6.1 mg·kg⁻¹ 与萃取物 1.6 mg·kg⁻¹。结论 猪牙皂皂苷对脑缺血再灌注损伤大鼠具有一定的治疗作用, 其作用机制与抗炎、抗氧化应激作用有关。

关键词: 猪牙皂; 脑缺血再灌注; 偏最小二乘法

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2022)02-0141-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.02.001

引用本文: 董娜娜, 陈晓兰, 邓铤莉, 等. 基于偏最小二乘法分析猪牙皂不同组分对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(2): 141-146.

Effects of *Gleditsia Sinensis* Lam. on Cerebral Ischemia Reperfusion Injury in Rats Based on Partial Least Squares Method

DONG Nana, CHEN Xiaolan*, DENG Bili, WAN Jing, CHEN Yao, PENG Mengting(College of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the protective effect of *Gleditsia sinensis* Lam. on brain injury in rats following cerebral ischemia reperfusion injury, and the effect of the drug-effect site. **METHODS** There were 6 groups: sham operation group, model group, nimodipine group, saponin group, saponin + volatile oil group, volatile oil group. The rat model of cerebral ischemia-reperfusion was established. The neurological function score of rats was measured. The water content of brain tissue was measured. The contents of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6(IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), malondialdehyde(MDA), nitric oxide(NO) and the activities of nitric oxide synthase(NOS) and total superoxide dismutase(SOD) in the cerebral tissue and serum of cerebral ischemia rats were determined by ELISA. Finally, partial least squares method was used to comprehensively analyze the cerebral protective effect of different components of *Gleditsia sinensis* Lam. on model rats. **RESULTS** Compared with the model group, the neurological function score of each group decreased, and the brain water content, IL-1 β , IL-6, TNF- α , MDA and NO content in the brain tissue and serum of the rats were all decreased. The activity of NOS was inhibited and SOD activity was significantly enhanced. Partial least squares analysis showed that the protective effect of saponin 4.5 mg·kg⁻¹ on the ischemic reperfusion model of rats was stronger than that of saponin+volatile oil 6.1 mg·kg⁻¹ and volatile oil 1.6 mg·kg⁻¹. **CONCLUSION** Saponin of *Gleditsia sinensis* Lam. has a certain therapeutic effect on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats, its mechanism of action related to anti-inflammation, resisting oxidative stress.

KEYWORDS: *Gleditsia sinensis* Lam.; cerebral ischemia reperfusion injury; partial least squares method

缺血性脑血管病的发病率正逐年上升, 其高死亡率及高致残率严重危害了人类的健康^[1-2]。脑缺血一定时间后再恢复血流供应而引起的脑损伤加剧

称为脑缺血再灌注损伤, 再灌注损伤严重影响了患者的预后, 其主要机制与炎症、氧化应激有关^[3-6]。目前, 临床上常用于治疗脑缺血再灌注损伤的药

基金项目: 国家自然科学基金项目(81860705); 贵州省国内一流学科(中药学)建设项目(GNYL[2017]008 号); 贵州省科技计划项目(黔科合平台人才[2017]5655)

作者简介: 董娜娜, 女, 硕士生 E-mail: 1258510890@qq.com

***通信作者:** 陈晓兰, 女, 博士, 教授 E-mail: chenxiaolan76@126.com

物存在不良反应大^[7]、效果不显著等问题,故寻找治疗该疾病的药物有重要意义。

猪牙皂 *Gleditsia sinensis* Lam.为豆科植物皂荚的干燥不育果实^[8]。中国药典 2020 年版收载,以猪牙皂为主药制散,吹鼻治疗中风、昏厥,临床疗效确切。经预试验发现,猪牙皂药材中含有皂苷、黄酮、挥发油和脂肪油,但猪牙皂经吹鼻治疗中风的有效部位不清楚,课题组前期采用小鼠缺血缺氧实验初步探究了猪牙皂皂苷、黄酮、芳香水治疗脑缺血的作用^[9](由于水蒸气蒸馏法难以提取出挥发油,因此考察的是芳香水),结果是猪牙皂皂苷的作用较好,而猪牙皂黄酮和芳香水都没有明显的效果,然而猪牙皂的传统用法是经吹鼻治疗中风,从理论上来说具有芳香性的成分作用较大。为了明确猪牙皂的有效部位,为深入研究奠定基础,本实验采用超临界流体萃取法提取猪牙皂中脂溶性成分,建立大鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型,从炎症因子和抗氧化应激等方面比较猪牙皂皂苷类成分和脂溶性成分对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响,为猪牙皂治疗缺血性脑血管病的新剂型研制和临床应用提供依据。

偏最小二乘法^[10-11]是一种多自变量与多因变量的样本回归分析方法,由主成分分析、典型相关性分析、多元线性回归 3 部分构成。它是目前较先进的一种多元分析方法,具有指标简化、工作量减小、结果直观、辨识度高特点,一直以来被广泛应用于化学、机械、生物、医学、药理学等领域,近年来还应用到中医药药理学研究领域^[12-14]。传统的药理学实验大多数采用方差分析评价药物动物模型及药效研究,虽然可以得到可靠的结果,但存在指标重叠、计算复杂、易受主观因素影响等问题。本研究采用方差分析法和偏最小二乘法对实验结果进行评价,为药理学实验提供数据分析的思路。

1 材料

1.1 试药

猪牙皂(北京同仁堂,批号:20170408);猪牙皂皂苷、萃取物皆由笔者所在实验室提取。猪牙皂药材经醇提取后,采用 D101 大孔树脂纯化,最终 1 g 生药纯化得 135 mg 浸膏、50 mg 总皂苷^[9];称取猪牙皂粗粉 15 g,采用 CO₂ 超临界流体萃取法,以提取温度 60 °C,15 min,压强 300 MPa 条件下得 266 mg 萃取物,即 1 g 生药得到 17.7 mg

萃取物^[15]。

参考中国药典 2020 年版一部猪牙皂成人每日用量(1~1.5 g)及体表面积法换算成大鼠的每日用量^[16],由于皂苷具有一定的黏膜毒性,在预试验中发现最低剂量 1 g 换算为大鼠的用药剂量即能达到一定的疗效,因此按猪牙皂成人每日用量 1 g,换算得出大鼠猪牙皂各给药组剂量,皂苷组为 4.5 mg·kg⁻¹;萃取物组为 1.6 mg·kg⁻¹;皂苷+萃取物组为皂苷 4.5 mg·kg⁻¹、萃取物 1.6 mg·kg⁻¹,共为 6.1 mg·kg⁻¹。尼莫地平片(亚宝药业集团股份有限公司,批号:170606)给药剂量依据说明书中成人每日用量 70 mg 换算出大鼠每日给药剂量为 6.3 mg·kg⁻¹。

1.2 动物

SPF 级 SD♂大鼠 48 只,体质量 250~280 g,购自重庆腾鑫生物技术有限公司,动物生产许可证号:SCXK(军)2012-0011。以常规颗粒饲料喂养,自由饮水,试验前适应性喂养 7 d。

1.3 试剂

总超氧化物歧化酶测试盒(货号:A001-1)、丙二醛测试盒(货号:A003-1)、一氧化氮试剂盒(货号:A012)、一氧化氮合酶测试盒(货号:A014-2)均购自南京建成生物工程研究所;ELISA 试剂盒 IL-1β(货号:ZC-36391)、IL-6(货号:ZC-36404)、TNF-α(货号:ZC-37624)均购自茁彩生物;多聚甲醛(Biosharp,批号:1804895);PBS 磷酸盐缓冲液(Solarbio, 0.01 mol·L⁻¹, pH 7.2~7.4,批号:20200911)。

1.4 仪器

Multiskan Mk3 酶标仪(赛默飞世尔仪器有限公司);DZKW-4 恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司);AUY220 分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];HC-2062 高速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 分组、给药、造模

将 SD 大鼠随机分成假手术组、模型组、尼莫地平组(6.3 mg·kg⁻¹)、皂苷组(4.5 mg·kg⁻¹)、皂苷(4.5 mg·kg⁻¹)+萃取物(1.6 mg·kg⁻¹)组、萃取物组(1.6 mg·kg⁻¹),每组 8 只。尼莫地平组通过灌胃给药 2.6 mL,其余各给药组均通过鼻腔给药 30 μL,模型组和假手术组均通过鼻腔给予含有 3%吐温-80 的生理盐水 30 μL,鼻腔给药时,以乙醚麻醉大鼠,固定头部,用连接 PE 塑料软管的微量注射

器插入小鼠鼻腔内约 0.2 cm, 将药液(溶于含 3% 吐温-80 的生理盐水)给入鼻腔, 观察是否有药液从大鼠鼻腔流失。每天给药 1 次, 连续给药 7 d, 末次给药后 1 h 造模。

大鼠造模前 12 h 禁食不禁水, 采用线栓法^[17]建立大鼠 MCAO 模型, 使用 4% 水合氯醛(每 100 g 0.75 mL)腹腔注射, 待大鼠麻醉后, 仰位固定, 从颈正中剪开, 分离、暴露颈总、颈内和颈外动脉, 结扎颈总、颈外动脉, 在分叉口处剪一小口, 插入直径约 0.25 mm 的鱼线, 插入深度约 18 mm, 鱼线需暴露体外约 0.5 cm 以上, 缺血 2 h 后拔出鱼线至颈内分叉口, 后灌注 24 h。

假手术组仅分离血管, 无鱼线插入及结扎, 其余操作与其他组相同。

2.2 神经行为学评分

大鼠手术 24 h 后, 根据采用 Berderson 评分法^[18], 评分标准: 0 分表现为无症状; 1 分表现为能完全伸展对侧前爪; 2 分表现为向对侧转圈; 3 分表现为向对侧倾倒; 4 分表现为不能行走, 意识丧失。若评分为 1~3 分表示造模成功。

2.3 脑含水量检测

于再灌注 24 h 后, 麻醉处死大鼠, 立即取出脑组织, 精密称量其湿重, 然后置于 105 °C 电热鼓风干燥箱内烘干至恒重后称重。按公式计算脑组织含水量, 脑含水量=(湿重-干重)/湿重×100%。

2.4 生化指标检测

将再灌注 24 h 后大鼠麻醉, 股动脉取血, 静置 0.5 h, 3 000 r·min⁻¹ 离心, 分离血清; 取血后大鼠断头, 取缺血侧脑组织并称重, 在冰浴下制成 10% 脑组织匀浆, 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 根据试剂盒的说明测定血清及缺血侧脑组织中 IL-1β、IL-6、TNF-α、MDA、NO 含量, SOD、NOS 活性。

2.5 统计学方法

单因素方差分析: 实验数据采用 SPSS 19.0 统计软件处理, 计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA) LSD 检验, $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义。偏最小二乘法分析: 采用 SIMCA 14.1 软件的偏最小二乘法对各组综合药效学进行评价分析。

3 结果

3.1 单因素方差分析结果

3.1.1 猪牙皂对神经行为学评分的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠神经功能缺损评分显著升高($P < 0.05$), 表明造模成功; 与模型组比较, 各给

药组评分均显著降低($P < 0.05$)。结果见表 1。表明各给药组对大鼠神经学行为有改善作用。

3.1.2 猪牙皂对大鼠脑缺血再灌注脑水肿的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠脑组织含水量显著升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 各给药组脑含水量显著降低($P < 0.05$)。表明各给药组对大鼠脑缺血再灌注脑水肿有抑制作用, 结果见表 2。

表 1 术后各组大鼠行为学评分($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 1 Behavioral scores of rats in each group after surgery ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	大鼠造模后评分
假手术组	—	0
模型组	—	4.00±0.00 ¹⁾
尼莫地平组	6.3	1.00±0.70 ²⁾
皂苷+萃取物组	6.1	1.70±0.63 ²⁾
皂苷组	4.5	1.40±1.14 ²⁾
萃取物组	1.6	2.10±1.89 ²⁾

注: 与假手术组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with sham operation group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P < 0.05$.

表 2 猪牙皂对大鼠脑缺血再灌注脑水肿的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 2 Effects of *Gleditsia sinensis* Lam. on cerebral edema caused by cerebral ischemia-reperfusion in rats($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	脑含水量/mg
假手术组	—	79.12±0.34
模型组	—	82.91±1.75 ¹⁾
尼莫地平组	6.3	80.37±1.18 ²⁾
皂苷+萃取物组	6.1	81.49±1.02 ²⁾
皂苷组	4.5	80.75±1.31 ²⁾
萃取物组	1.6	81.48±1.24 ²⁾

注: 与假手术组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with sham operation group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P < 0.05$.

3.1.3 猪牙皂对脑组织及血清中炎症因子的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠脑组织及血清中 IL-1β、IL-6、TNF-α 浓度显著升高($P < 0.05$)。与模型组比较, 各给药组大鼠脑组织及血清中炎症因子均降低, 其中尼莫地平组与皂苷组中 IL-1β、IL-6、TNF-α 浓度显著降低($P < 0.05$); 皂苷+萃取物组中 IL-1β、IL-6 显著降低($P < 0.05$)。结果见表 3~4。

3.1.4 猪牙皂对大鼠脑组织及血清中 SOD、MDA 的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠脑组织及血清中 SOD 活性显著降低($P < 0.05$), MDA 含量显著升高($P < 0.05$)。与模型组相比较, 尼莫地平组脑组织及血清中 SOD 活性显著升高($P < 0.05$); 皂苷组脑组织及血清中 MDA 活性显著降低($P < 0.05$)。结果见表 5~6。

表 3 猪牙皂对大鼠脑组织中炎症因子的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)
Tab. 3 Effects of *Gleditsia sinensis* Lam. on inflammatory factors in rats' brain tissue($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	IL-1β/ pg·mL ⁻¹	IL-6/ pg·mL ⁻¹	TNF-α/ pg·mL ⁻¹
假手术组	—	5.749±0.287	23.020±1.262	40.30±1.36
模型组	—	6.734±0.506 ¹⁾	25.960±2.144 ¹⁾	45.07±2.78 ¹⁾
尼莫地平组	6.3	6.108±0.273 ²⁾	22.588±0.975 ²⁾	41.71±2.41 ²⁾
皂苷+萃取物组	6.1	6.155±0.782 ²⁾	23.238±1.973 ²⁾	43.00±2.53
皂苷组	4.5	6.195±0.504 ²⁾	23.395±1.580 ²⁾	41.37±2.68 ²⁾
萃取物组	1.6	6.578±0.443	24.609±0.955	42.77±1.77 ²⁾

注:与假手术组比较,¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with sham operation group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

表 4 猪牙皂对大鼠血清中炎症因子的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)
Tab. 4 Effects of *Gleditsia sinensis* Lam. on inflammatory factors in serum of rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	IL-1β/ pg·mL ⁻¹	IL-6/ pg·mL ⁻¹	TNF-α/ pg·mL ⁻¹
假手术组	—	2.89±0.20	10.799±1.394	5.749±0.287
模型组	—	4.07±0.55 ¹⁾	15.425±1.754 ¹⁾	6.734±0.506 ¹⁾
尼莫地平组	6.3	3.04±0.22 ²⁾	12.150±1.452 ²⁾	6.108±0.273 ²⁾
皂苷+萃取物组	6.1	3.59±0.38 ²⁾	12.239±2.196 ²⁾	6.155±0.782
皂苷组	4.5	3.50±0.64 ²⁾	10.965±1.203 ²⁾	6.295±0.504 ²⁾
萃取物组	1.6	3.45±0.53 ²⁾	12.456±1.992 ²⁾	6.578±0.443

注:与假手术组比较,¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with sham operation group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

表 5 猪牙皂对大鼠脑组织中 SOD、MDA 的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)
Tab. 5 Effects of *Gleditsia sinensis* Lam. on SOD and MDA in rats' brain tissue($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	SOD/U·mL ⁻¹	MDA/nmol·mL ⁻¹
假手术组	—	538.47±46.84	5.81±0.43
模型组	—	464.94±45.32 ¹⁾	8.20±0.75 ¹⁾
尼莫地平组	6.3	524.83±43.17 ²⁾	6.91±0.85 ²⁾
皂苷+萃取物组	6.1	507.18±53.05	7.13±0.77 ²⁾
皂苷组	4.5	522.23±24.85 ²⁾	7.31±0.56 ²⁾
萃取物组	1.6	498.74±49.04	5.81±0.43

注:与假手术组比较,¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with sham operation group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

表 6 猪牙皂对大鼠血清中 SOD、MDA 的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)
Tab. 6 Effects of *Gleditsia sinensis* Lam. on SOD and MDA in rats' serum($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	SOD/U·mL ⁻¹	MDA/nmol·mL ⁻¹
假手术组	—	65.38±2.90	3.31±0.47
模型组	—	57.99±5.32 ¹⁾	4.14±0.61 ¹⁾
尼莫地平组	6.3	63.64±5.03 ²⁾	3.82±0.70
皂苷+萃取物组	6.1	62.30±4.95	3.69±0.34
皂苷组	4.5	62.12±4.68	3.45±0.66 ²⁾
萃取物组	1.6	62.79±5.26	3.92±0.62

注:与假手术组比较,¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with sham operation group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

3.1.5 猪牙皂对大鼠脑组织及血清中 NO、NOS 的影响 与假手术组相比较,模型组大鼠脑组织及血清中 NO 含量、NOS 活性显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,皂苷组、尼莫地平组和皂苷+萃取物组脑组织和血清中 NO 含量显著降低($P<0.05$);皂苷组和皂苷+萃取物组中 NOS 活性降低($P<0.05$),结果见表 7~8。

表 7 猪牙皂对大鼠脑组织中 NO、NOS 的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)
Tab. 7 Effects of *Gleditsia sinensis* Lam on NO and NOS in rats' brain tissue($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	NO/μmol·L ⁻¹	NOS/U·mL ⁻¹
假手术组	—	1.172±0.100	0.331±0.027
模型组	—	1.754±0.424 ¹⁾	0.434±0.054 ¹⁾
尼莫地平组	6.3	1.392±0.210 ²⁾	0.390±0.056
皂苷+萃取物组	6.1	1.325±0.262 ²⁾	0.374±0.032 ²⁾
皂苷组	4.5	1.379±0.243 ²⁾	0.373±0.054 ²⁾
萃取物组	1.6	1.63±0.407	0.426±0.055

注:与假手术组比较,¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with sham operation group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

表 8 猪牙皂对大鼠血清中 NO、NOS 的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)
Tab. 8 Effects of *Gleditsia sinensis* Lam. on NO and NOS in serum of rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	NO/μmol·L ⁻¹	NOS/U·mL ⁻¹
假手术组	—	31.14±6.29	212.00±21.13
模型组	—	66.12±11.10 ¹⁾	318.18±43.30 ¹⁾
尼莫地平组	6.3	45.50±9.39 ²⁾	216.96±39.62 ²⁾
皂苷+萃取物组	6.1	51.16±9.57 ²⁾	236.78±43.09 ²⁾
皂苷组	4.5	54.50±12.13 ²⁾	245.98±39.20 ²⁾
萃取物组	1.6	61.92±10.83	298.72±16.02

注:与假手术组比较,¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with sham operation group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

3.2 基于偏最小二乘法的猪牙皂不同组分抗脑缺血再灌注损伤的效应评价

对本实验 6 个组各试验指标进行整理,各指标值取均值进行标准化处理,处理结果见表 9。

将表 9 中数据输入 SIMCA 14.1 中进行偏最小二乘法分析得到各个指标的 VIP 变量投影重要性指标值(图 1),变量投影重要性指标用来描述各个指标对分组的解释能力,VIP 值越大,说明在本实验中该指标对分组的贡献越大^[19]。血中 NOS、血中 NO、脑中 SOD 的 VIP 值均>1,其他指标的 VIP 值均较小,表明血中 NOS、血中 NO、脑中 SOD 对模型组、假手术组及各给药组的差异贡献高于其他指标。

表 9 各组数据整理

Tab. 9 Collation of data of each group

样本	假手术组	空白模型组	尼莫地平组	皂苷+萃取物组	皂苷组	萃取物组
血 IL-1 β	2.89	4.07	3.04	3.50	3.59	3.61
血 IL-6	10.80	15.43	12.15	12.24	10.97	12.46
血 TNF- α	5.75	6.73	6.11	6.16	6.30	6.58
血 SOD	65.38	57.99	63.64	62.30	62.12	62.79
血 MDA	3.31	4.14	3.82	3.69	3.45	3.92
血 NO	31.14	66.12	45.50	51.16	54.50	61.92
血 NOS	212.00	318.18	216.96	236.78	245.98	298.72
脑 IL-1 β	5.75	6.73	6.11	6.16	6.30	6.58
脑 IL-6	23.02	25.96	22.59	23.24	23.40	24.61
脑 TNF- α	40.30	45.07	41.71	43.00	41.37	42.77
脑 SOD	538.47	464.94	524.83	507.18	522.23	498.74
脑 MDA	5.81	8.20	6.91	7.13	7.31	7.88
脑 NO	1.17	1.75	1.39	1.33	1.38	1.63
脑 NOS	0.33	0.43	0.39	0.37	0.38	0.43
脑水肿	79.12	82.91	80.37	81.89	80.75	81.12

采用偏最小二乘法分析得到得分图,见图 2。
各组的坐标点大致为假手术组(5.0, -0.5)、尼莫地平

组(1.7, -0.1)、皂苷组(0.8, -0.7)、皂苷+萃取物组(0.4, 0.9)、萃取物组(-2.3, -1.3)、模型组(-5.6, 0.8),在得分图中,越相似的物质其点越接近,根据这一特点,可以理解为各组与假手术组越接近则表明该组与假手术组的性质越一致,这里所表示的性质应为试验的指标。从得分图中可以看出,假手术组与模型组明显分开,表明造模成功,给药组与假手术组试验接近的顺序为尼莫地平组、皂苷组、皂苷+萃取物组、萃取物组、模型组。所以在该实验中各组对抗大鼠脑缺血再灌注改善效果程度为尼莫地平组>皂苷组>皂苷+萃取物组>萃取物组。

4 讨论

现代研究发现,氧化应激是脑缺血再灌注后继发性损伤的主要发病机制,也是该领域研究热点之一。当脑缺血发生后,机体及细胞将产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS),而机体 ROS 清除酶活性下降,导致 ROS 蓄积,大量的 ROS 会导致细胞及组织氧化损伤^[20],炎症反应是

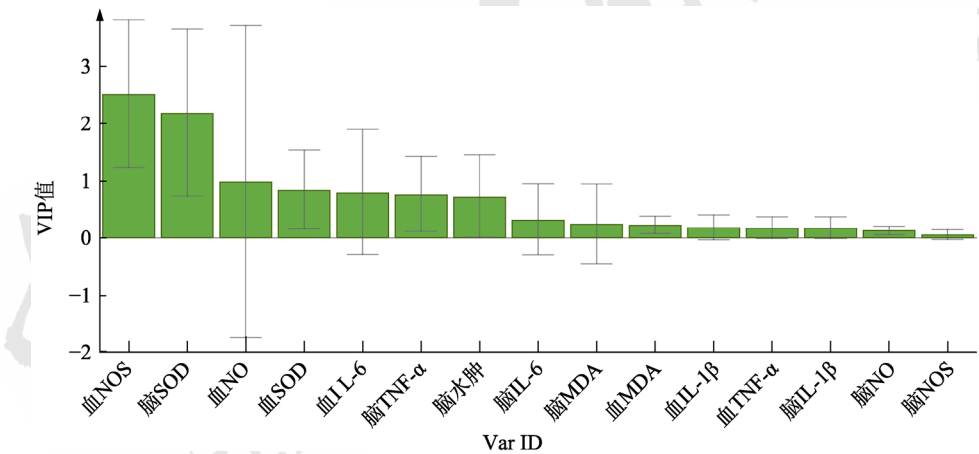


图 1 VIP 图

Fig. 1 VIP diagram

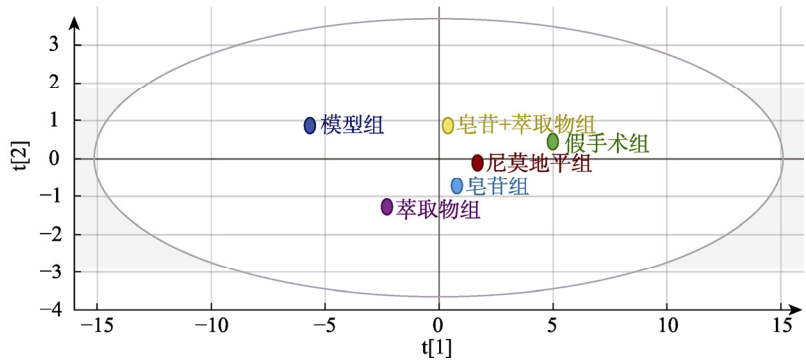


图 2 得分图

Fig. 2 Score chart

脑缺血再灌注后继发性损伤的重要诱因,也是重要发病机制^[21]。当脑缺血发生后,炎症细胞将被激活,导致其分泌增加,当 IL-1 β 分泌增加时会促进 TNF- α 的激活,同时二者又会促进其他炎症细胞的激活,从而加重脑损伤^[22]。

本实验发现,采用方差分析法进行统计分析,在多个试验指标下,猪牙皂萃取物、萃取物+皂苷、皂苷均对脑缺血具有一定的治疗作用,其中皂苷疗效最为显著,但无法确定萃取物+皂苷与萃取物的疗效差异。而偏最小二乘法分析在多水平多试验指标下能客观地反映所有试验指标对各组差异的贡献,并在得分图中直观得出各不同组分的疗效程度,结果显示各组疗效:皂苷>皂苷+萃取物>萃取物,皂苷的疗效较皂苷+萃取物好,可能的原因是前期超临界流体萃取得到的萃取物多为脂肪烃类物质,与皂苷合用,影响了皂苷的溶解性,所以萃取物+皂苷合用疗效反而低于皂苷单用,但其具体原因尚需进一步研究。

综上所述,猪牙皂有效组分及配伍研究表明,猪牙皂皂苷可以有效降低脑缺血大鼠脑组织及血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、MDA、NO 含量, NOS 活性,并增加 SOD 活性,其作用机制与抗炎、抗氧化应激作用有关,最终减轻大鼠脑缺血再灌注损伤。

REFERENCES

- [1] FEIGIN V L, ROTH G A, NAGHAVI M, et al. Global burden of stroke and risk factors in 188 countries, during 1990-2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013[J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(9): 913-924.
- [2] BHATIA K, HEPBURN M, ZIU E, et al. Modern approaches to evacuating intracerebral hemorrhage[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2018, 20(12): 132.
- [3] 刘超, 刘敬霞, 任非非, 等. 中医药保护脑缺血再灌注损伤的实验研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(2): 481-484.
- [4] LIU L, LIU L H, MA Y K. Research progress on mechanisms of cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *J Pharm Res(药学研究)*, 2016, 35(9): 542-544.
- [5] LIAO L K, CHEN Z W, HU Q H. Study on preparation and *in vitro/in vivo* characterization of dissolvable microneedles containing inclusion complex loaded with indomethacin[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2020, 37(22): 2689-2696.
- [6] ZHOU Y X, JIN Y X, JIANG M Y. Research progress on combination of microneedle and new transdermal drug delivery carrier[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2020, 37(17): 2170-2176.
- [7] 赵玉, 陆连第, 甄晓晗. 川芎多糖对大鼠脑缺血再灌注损伤及高迁移率族蛋白 B1 表达的影响[J]. *中国老年学杂志*,

2017, 37(12): 2878-2880.

- [8] 中国药典. 一部[S]. 2020: 附录 331.
- [9] YANG J H, CHEN X L, YANG X M, et al. Comparative analysis of different components of *Fructus Gleditsiae Abnormalis* in the mice with cerebral ischemia anoxia and blood-brain barrier by the Information Entropy Theory and Analysis of Variance[J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床)*, 2018, 34(6): 83-86.
- [10] LU H T. Partial least squares regression models and algorithms research[D]. Baoding: North China Electric Power University, 2014.
- [11] ABDI H, WILLIAMS L J. Partial least squares methods: Partial least squares correlation and partial least square regression[J]. *Methods Mol Biol*, 2013(930): 549-579.
- [12] 侯衍豹, 杨勇, 容蓉, 等. 偏最小二乘法(PLS)建模分析麻黄细辛附子汤对肾虚外感小鼠的干预作用[J]. *江苏中医药*, 2015, 47(11): 79-82.
- [13] LI S J, LI W X, TANG Y P, et al. Comparative analysis of the promoting blood effects of the combination of different proportions of Danggui and Honghua by the principal component analysis and multi-attribute comprehensive index methods[J]. *Acta Pharm Sin(药学报)*, 2014, 49(9): 1304-1309.
- [14] ZENG Q X. Research and application of improved PLS in traditional Chinese medicine data[D]. Nanchang: Jiangxi University of Chinese Medicine, 2019.
- [15] DENG B L, DONG N N, WANG X L, et al. Study on the extraction technology of *fructus gleditsiae abnormalis* and GC-MS analysis of extracted components[J]. *J China Pharm(中国药房)*, 2020, 31(20): 2469-2472.
- [16] HUANG J H, HUANG X H, CHEN Z Y, et al. Dose conversion among different animals and healthy volunteers in pharmacological study[J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学)*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [17] TIAN F, ZHANG H, MO C L, et al. An improved method for inducing middle cerebral artery occlusion/reperfusion in rats[J]. *J Guangdong Pharm Univ(广东药学院学报)*, 2015, 31(5): 665-669.
- [18] BEDERSON J B, PITTS L H, TSUJI M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: Evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. *Stroke*, 1986, 17(3): 472-476.
- [19] PANG H Q, TANG Y P, SHI X Q, et al. Comparison on promoting blood effects of different effective parts of *Salvia miltiorrhiza* by principal component analysis and multi-attribute comprehensive index methods[J]. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*, 2016, 47(18): 3239-3247.
- [20] SUN M S, JIN H, SUN X, et al. Free radical damage in ischemia-reperfusion injury: An obstacle in acute ischemic stroke after revascularization therapy[J]. *Oxidative Med Cell Longev*, 2018(2018): 1-17.
- [21] BURROWS F, HALEY M J, SCOTT E, et al. Systemic inflammation affects reperfusion following transient cerebral ischaemia[J]. *Exp Neurol*, 2016(277): 252-260.
- [22] JIANG S, LIU S S, XIANG B, et al. Effect of 4-hydroxybenzyl alcohol on inflammatory cytokines in rats with acute cerebral ischemic injury[J]. *Chin Tradit Pat Med(中成药)*, 2015, 37(10): 2132-2135.

收稿日期: 2021-03-16

(本文责编: 曹粤锋)