

程中会出现显著升高的现象。在此过程中，TGF- β_1 /Smads 蛋白家族三者形成了一个完整的信号通路。TGF- β_1 的分泌直接关系到HSC的激活和HSC自分泌TGF- β_1 效应以及Smad2、Smad3磷酸化和Smad蛋白家族中的Smad4形成异源寡聚物，使得TGF- β_1 由细胞质向细胞核转移聚集、堆积。同时，在肝纤维化形成和发展过程中，Smad2、Smad3、TGF- β_1 、T β -R $_1$ 会出现协同作用，导致HSC不断激活并分泌ECM，使肝纤维化不断加剧^[6-8]。本研究结果显示，ACNAC对大鼠肝纤维化有较好的治疗作用，能抑制HSC形成，减少Smad2/3、TGF- β_1 、T β -R $_1$ 和ECM的分泌，对大鼠肝纤维化胞内成纤维信号分子TGF- β_1 /T β -R $_1$ 和Smad2/3有明显抑制作用，显著改善肝组织纤维化程度，并抑制肝纤维化引起的肝细胞炎症和坏死的出现。且较等剂量的NAC及对照药物水飞蓟宾有更显著的疗效，同时也可能减轻较大剂量NAC在用药中因代谢中出现的不良反应。

REFERENCES

- [1] 魏琳琳, 段钟平. N-乙酰半胱氨酸药物作用机制实验研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(1): 887-889.
- [2] SEVGILER Y, PINER P, DURMAZ H, et al. Effects of N-acetylcysteine on oxidative responses in the liver of fenthion exposed *Cyprinus carpio* [J]. *Pest Biochem Physiol*, 2007(87): 248-254.
- [3] 刘勳, 李晓茹. 常用的等级分组资料假设检验方法之一: Ridit 分析[J]. 临床荟萃, 1996, 11(20): 958-960.
- [4] 刘勳, 陈立丰. 常用的等级分组资料检验方法之二: 秩和检验[J]. 临床荟萃, 1996, 11(22): 1054-1055.
- [5] 刘勳. 常用等级分组资料假设检验方法之三: Cpd 分析[J]. 临床荟萃, 1996, 11(24): 1151-1152.
- [6] ZHUANG R X, WANG F G, ZHOU H P, et al. Role of N-acetylcysteine and magnesium on liver fibrosis [J]. *Chin J Hepatol*(中华肝脏病杂志), 2012, 20(7): 549-550.
- [7] ZHANG S P, HE Y, XU T, et al. Regulatory effects of total triterpenoid of *Prunella vulgaris* L. on activities of ERK and TGF- β_1 /Smad signaling pathway in protecting hepatic fibrosis in rats [J]. *Chin Pharmacol Bull*(中国药理学通报), 2015, 31(2): 261-266.
- [8] LIU X, HU H, YIN J Q. Therapeutic strategies against TGF-beta signaling pathway in hepatic fibrosis [J]. *Liver Int*, 2006, 26(1): 8-22.

收稿日期: 2016-03-22

补阳还五汤联合依达拉奉对脑缺血再灌注后神经细胞凋亡及 Bcl-2 和 Bax 表达的影响

钟芳芳, 吴承龙, 孙新芳, 王赵伟(绍兴市人民医院神经内科, 浙江 绍兴 312000)

摘要: 目的 研究补阳还五汤联合依达拉奉对小鼠脑缺血再灌注损伤后神经细胞凋亡及凋亡相关蛋白表达的影响。方法 60 只小鼠随机分为假手术组(Sham), 模型组(I/R), 补阳还五汤组(BYHWD), 依达拉奉组(ED), 补阳还五汤+依达拉奉组(BYHWD+ED), 每组再分 2 个亚组: 1 d 组和 7 d 组。采用改良线栓法制作小鼠大脑中动脉缺血再灌注模型, 分别给药。TUNEL 法观察神经细胞凋亡率; 进一步 Western blot 检测大鼠皮质缺血区 bcl-2 和 bax 的蛋白的定量表达。结果 BYHWD+ED 组较其他组能更明显地降低神经细胞凋亡指数($P < 0.01$), 且较其他组可更明显地升高凋亡相关蛋白 bcl-2 的表达和下调 bax 的表达($P < 0.05$)。结论 补阳还五汤与依达拉奉联用能降低脑缺血再灌注损伤后小鼠脑组织细胞中促凋亡蛋白 bax 的表达, 增加具有神经元保护作用的抑凋亡蛋白 bcl-2 的表达, 从而抑制神经细胞凋亡, 加速神经功能的恢复, 协同发挥脑保护作用。

关键词: 补阳还五汤; 依达拉奉; 脑缺血再灌注; 细胞凋亡; bcl-2/bax

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2016)11-1392-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.11.009

Effects of Buyang Huanwu Decoction Combined with Edaravone on the Apoptosis of Neuron and Expression of Bcl-2 and Bax Following Cerebral Ischemia-reperfusion in Mice

ZHONG Fangfang, WU Chenglong, SUN Xinfang, WANG Zhaowei(Department of Neurology, Shaoxing People's

基金项目: 浙江省绍兴市公益性技术应用研究计划项目(2013B70076)

作者简介: 钟芳芳, 女, 硕士, 副主任医师 Tel: 13867536519 E-mail: yangmum@126.com

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effects of Buyang Huanwu decoction(BYHWD) combined with edaravone(ED) on the apoptosis of neuron and expression of apoptosis related proteins following cerebral ischemia reperfusion in mice. **METHODS** Sixty mice were randomly divided into sham group, I/R group, BYHWD group, ED group, BYHWD+ED group. Each group were further randomly divided into 1 d and 7 d group. The middle cerebral artery ischemia/reperfusion model was established by the improved intraluminal filament technique in mice. TUNEL method was used to evaluate the apoptosis of neuron; Western bolt method was used to detect the quantitative expression of bcl-2 and bax protein. **RESULTS** Compared with other groups, the BYHWD+ED group significantly reduced the neuronal apoptosis index ($P<0.01$), the quantitative expression of bcl-2 protein in BYHWD+ED group were more increased, while the quantitative expression of bax protein in BYHWD+ED group were more reduced($P<0.05$). **CONCLUSION** The combination of BYHWD and ED can decrease the expression of bax, and increase bcl-2 expression to inhibit the nerve cell apoptosis and quicken the recovery of neural function, suggesting that the two agents play synergistic roles in protecting the brain from cerebral ischemic reperfusion injury. **KEY WORDS:** Buyang Huanwu decoction; edaravone; cerebral ischemia/reperfusion; cellular apoptosis; bcl-2/bax

脑卒中是中国第一大致死性疾病和首要的致残因素,缺血性卒中占脑卒中发病总数80%以上,临床上以大脑中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)最为常见^[1],其发病机制是一个多环节、多反应的结果,其中细胞凋亡更是研究的热点,减轻脑缺血半暗带区的神经元凋亡则是治疗的关键^[2]。笔者前期研究已证明补阳还五汤联合依达拉奉对小鼠急性脑缺血再灌注损伤具有协同保护作用^[3],本研究进一步探讨两药联用对脑缺血再灌注损伤后神经细胞的凋亡及凋亡相关蛋白 bcl-2 和 bax 表达的影响,进一步研究其协同神经保护作用的机制。

1 材料和方法

1.1 药品及试剂

依达拉奉注射液(南京先声东元制药有限公司,批号:080825);补阳还五汤(处方来源《医林改错》,绍兴市人民医院制剂室提供,由黄芪120g,当归6g,川芎4.5g,地龙3g,赤芍5g,红花3g和桃仁3g组成,水煎、浓缩后生药含量为 $2.0\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$);氯化三苯基四氮唑(TTC)(中国医药集团上海化学试剂公司,批号:20040328);TUNEL凋亡试剂盒(瑞士Roche公司,批号:11684817910);Bcl-2抗体(批号:20070223),Bax抗体(批号:20070223),均购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 分组及给药

C57BL/6型小鼠60只,♂,体质量25~30g,由上海西普尔必凯实验动物有限公司提供,合格证号:SCXK(沪)2008-0016。实验前先饲养观察3d,随机分成假手术组(Sham组),分离不插栓塞线;模型组(I/R组),缺血90min;补阳还五汤组(BYHWD组),依达拉奉组(ED组),补阳还五汤+依达拉奉组(BYHWD+ED组),各组进一步分2个

亚组:1d组和7d组,每组6只。

BYHWD组于术后2h起首次灌服补阳还五汤药液,参考相关文献^[4]按 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给药;ED组于术后2h尾静脉注射,按 $3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给药;BYHWD+ED组,于术后2h分别等剂量BYHWD灌胃和等剂量ED尾静脉注射给药;I/R组和Sham组动物均给予等量生理盐水灌胃及尾静脉注射给药;首次给药以后每天一次,连续7d。

1.3 小鼠大脑中动脉缺血再灌注模型的建立及标本制作

参照改良的Longa-Zea氏线栓法^[5]制作小鼠大脑中动脉缺血再灌注模型。缺血90min后,拔出线栓再灌注。假手术组仅分离右侧颈总动脉并离断右颈外动脉,不予栓塞。术后2h可神经功能评分验证造模成功。观察造模动物出现右侧Horner征和左侧以上肢为重的偏瘫作为动物模型成功的判定标准,不符合标准的动物予以剔除,并随机补充。

小鼠在脑缺血再灌注1d和7d后经10%水合氯醛深度麻醉($600\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),迅速打开胸腔,暴露心脏,剪开右心房,于心尖部剪开左心室,插管至主动脉,快速注入150mL甲醛灌注固定,断头取脑,沿视交叉后缘做冠状切片,常规石蜡包埋,做 $5\text{ }\mu\text{m}$ 连续切片用于凋亡与免疫组化检测。

1.4 TUNEL法检测凋亡神经元细胞

按照试剂盒说明书进行操作。①切片常规脱蜡至水,滴加蛋白酶K室温消化20min;②微波修复抗原5min后自然冷却;③滴加Tunel反应液,37℃孵育1h;④滴加辣根过氧化物酶标抗荧光素抗体工作液,37℃孵育30min;⑤用DAB显色剂呈色;⑥常规脱水、透明、封片。在光镜下观察凋亡细胞,细胞核中有棕黄色颗粒者为阳性细胞。

计算凋亡指数(AI), AI=凋亡细胞数/总细胞数×100%。

1.5 Western blot 检测大鼠皮层缺血区凋亡相关蛋白表达

脑缺血再灌注 1 d 和 7 d 后, 每组各取 6 只小鼠梗死侧大脑皮层, 加适量含有 cock-tail 蛋白酶抑制裂解液于冰上匀浆, 13 000 r·min⁻¹, 4 °C 离心 20 min, 取上清, BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定脑组织蛋白浓度。加 5×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液后, 99 °C 加热使蛋白变性, 采用 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离, 湿转法转至 PVDF 膜上, 室温摇床封闭 2 h, 分别加入 bcl-2 和 bax 抗体和内参 α -actin 4 °C 过夜, 次日室温摇床 2 h, TBST 洗 3 次×10 min, 加入辣根酶标记的二抗, 室温摇床反应 2 h, TBST 洗 3 次×10 min。超敏 ECL 化学发光试剂盒发光显影。

1.6 图像处理

在光镜下, 每只小鼠各取 2 张切片, 在梗死灶周边区随机选择 5 个视野, 分析凋亡神经细胞, 取平均值作为统计参数。

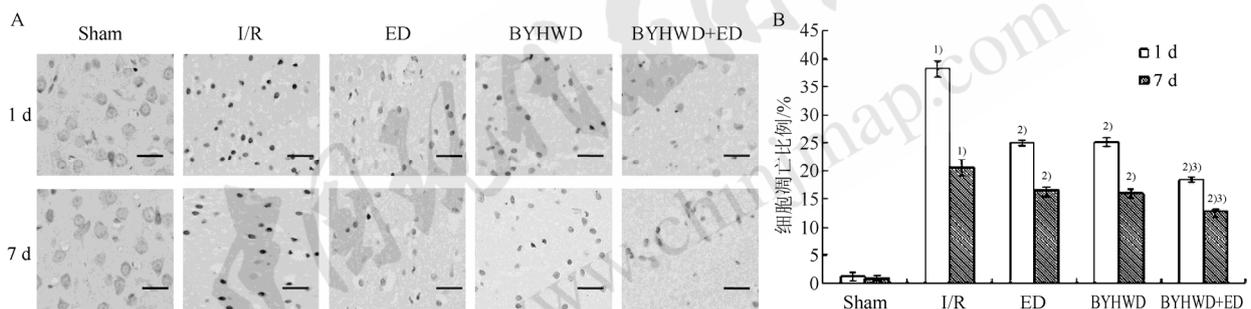


图 1 药物对脑缺血再灌注损伤小鼠细胞凋亡的影响(TUNEL 染色, 400×)

Fig. 1 Effects of drugs on cell apoptosis in mice after cerebral ischemia reperfusion (TUNEL staining, 400×)

A-小鼠脑缺血再灌注后 1 d 和 7 d 时的脑皮层缺血区神经细胞 TUNEL 染色图; B-各组小鼠 TUNEL 染色后凋亡细胞柱形图; 与假手术比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$; 与 ED 组或 BYHWD 组比较, ³⁾ $P<0.01$ 。

A-TUNEL staining was performed on the sections from the penumbra cortex after ischemia reperfusion 1 d and 7 d; B-the bar graph reflects the TUNEL-positive cells in each group; compared with Sham group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with I/R group, ²⁾ $P<0.05$; compared with ED or BYHWD group, ³⁾ $P<0.01$.

表 1 各组小鼠神经细胞 AI 的比较($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

Tab. 1 Comparison of nerve cells apoptosis index in each group($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

组别	1 d	7 d
Sham 组	1.18±0.68	0.69±0.27
I/R 组	38.28±1.37 ¹⁾	20.51±1.48 ¹⁾
ED 组	25.03±0.54 ²⁾	16.50±1.05 ²⁾
BYHWD 组	25.17±0.76 ²⁾	16.01±0.89 ²⁾
BYHWD+ED 组	18.37±0.43 ²⁾³⁾	12.82±1.02 ²⁾³⁾

注: 与假手术比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$; 与 ED 组或 BYHWD 组比较, ³⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with Sham group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with I/R group, ²⁾ $P<0.05$; compared with ED or BYHWD group, ³⁾ $P<0.01$.

1.7 统计学处理

所有计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 应用统计软件 SPSS 17.0, 两组间样本比较用 t 检验, 各组间数据的比较用单因素方差分析, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠脑缺血再灌注后不同时间点神经细胞 AI 的结果

脑缺血再灌注后, TUNEL 法检测凋亡细胞, 光镜下凋亡细胞核呈棕黄色, 细胞体积缩小, 染色质固缩呈圆形或卵圆形。模型组阳性细胞数最多, 联合用药组阳性细胞数目明显减少, 见图 1A。脑缺血再灌注 1 d、7 d 后, 模型组和各用药组神经细胞 AI 均较假手术组明显升高($P<0.01$); 且与缺血再灌注 1 d 相比, 7 d 时模型组和各用药组神经细胞 AI 明显降低($P<0.01$)。与同时段模型组比较, 各用药组神经细胞 AI 显著降低($P<0.05$); 其中以 BYHWD+ED 组降低趋势最明显, 但 ED 组和 BYHWD 组之间 AI 无显著差异($P>0.05$), 见表 1 和图 1B。

2.2 药物对小鼠脑缺血再灌注损伤后神经细胞 bcl-2 和 bax 蛋白表达的影响

脑缺血再灌注后 1 d 和 7 d 行 Western blot 检测大鼠皮层缺血区 bcl-2 和 bax 蛋白的表达, 结果见图 2A, 假手术组脑组织有少量 bcl-2 和 bax 蛋白表达; 模型组较假手术组 bcl-2、bax 蛋白表达明显升高($P<0.01$)。与缺血再灌注 1 d 相比, 7 d 时模型组和各用药组的脑组织 bcl-2、bax 蛋白表达减少, 结果见表 2。在同一时间点各用药组与模型组比较, 脑组织 bcl-2 蛋白表达均增加($P<0.05$),

BYHWD+ED 组增加最明显($P<0.05$), BYHWD 组和 ED 组之间则无显著差异($P>0.05$)。而 bax 蛋白表达各用药组较模型组下调, 以 BYHWD+ED 组下调最明显($P<0.05$), BYHWD 组和 ED 组之间则无显著差异($P>0.05$)。同一时间点, 各用药组较模型组 bcl-2/bax 比率有所增高, 其中以 BYHWD+ED 组比值增高最明显($P<0.05$), 结果见图 2 和表 2。

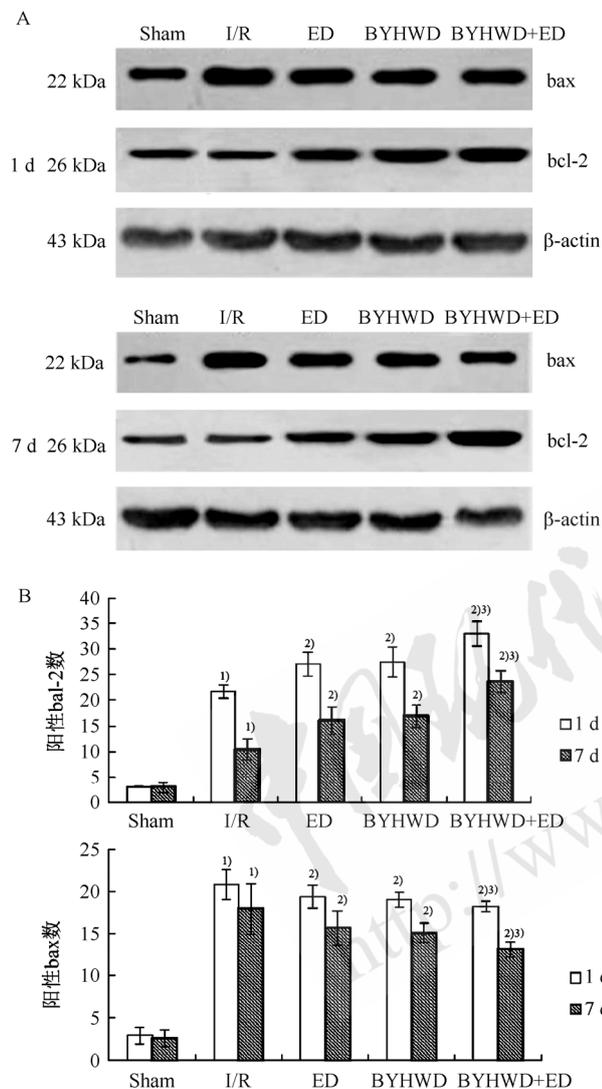


图 2 各组小鼠脑缺血再灌注损伤后 bcl-2 和 bax 的 Western blot 检测

A-各组小鼠脑缺血再灌注损伤后 1 d 和 7 d 时的脑皮层缺血区 bcl-2 和 bax 表达的 Western blot 检测图; B-各组 bcl-2 和 bax 的表达柱形图; 与假手术比较, $^1P<0.01$; 与模型组比较, $^2P<0.05$; 与 ED 组或 BYHWD 组比较, $^3P<0.05$ 。

Fig. 2 Western blot of bcl-2 and bax expression in each group after cerebral ischemia reperfusion

A-Western blot for bcl-2 and bax in each group after cerebral ischemia reperfusion; B-the bar graph reflects the bcl-2 and bax-positive cells in each group; compared with Sham group, $^1P<0.01$; compared with I/R group, $^2P<0.05$; compared with ED or BYHWD group, $^3P<0.05$ 。

表 2 各组小鼠脑缺血再灌注损伤后 bcl-2 和 bax 表达的定量比较($n=6, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 The quantitative comparison of bcl-2/bax expression in each group after cerebral ischemia reperfusion($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	时间/d	bcl-2	bax	bcl-2/bax
Sham 组	1	3.12±0.13	2.91±1.03	1.24±0.48
	7	2.93±1.06	2.62±1.01	1.46±0.94
I/R 组	1	21.70±1.21 ¹⁾	20.81±1.72 ¹⁾	1.05±0.14 ¹⁾
	7	10.42±2.03 ¹⁾	17.91±3.01 ¹⁾	0.62±0.22 ¹⁾
ED 组	1	27.04±2.32 ²⁾	19.32±1.34 ²⁾	1.42±0.22 ²⁾
	7	16.08±2.67 ²⁾	15.62±2.09 ²⁾	1.07±0.31 ²⁾
BYHWD 组	1	27.39±2.92 ²⁾	19.01±0.87 ²⁾	1.45±0.22 ²⁾
	7	16.92±2.12 ²⁾	15.06±1.17 ²⁾	1.14±0.23 ²⁾
BYHWD+ED 组	1	32.89±2.41 ²⁾³⁾	18.23±0.61 ²⁾	1.81±0.19 ²⁾³⁾
	7	23.53±2.11 ²⁾³⁾	12.02±0.91 ²⁾³⁾	1.98±0.33 ²⁾³⁾

注: 与假手术比较, $^1P<0.01$; 与模型组比较, $^2P<0.05$; 与 ED 组或 BYHWD 组比较, $^3P<0.05$ 。

Note: Compared with Sham group, $^1P<0.01$; compared with I/R group, $^2P<0.05$; compared with ED or BYHWD group, $^3P<0.05$ 。

3 讨论

脑缺血再灌注损伤在细胞水平以神经元的凋亡和坏死为主。缺血中心区细胞迅速坏死, 而周边缺血半暗带区, 则发生以凋亡为主的迟发性死亡^[6]。缺血发生时, 缺血半暗带区产生大量自由基, 出现线粒体损伤、钙超载等反应, 这些因素均可触发细胞凋亡^[7]。因此, 减少细胞凋亡发生, 抢救半暗带区神经细胞, 至关重要。bcl-2 和 bax 是 bcl-2 家族参与细胞凋亡最具代表性的调控因子^[8]。两者功能相反, 当组织内 bax 占优势, 可促进细胞凋亡; 当 bcl-2 占优势, 则抑制细胞凋亡^[9]。两者在正常状态下构成一个平衡体系, 可相互形成结合体, 相互影响。bcl-2/bax 的比率变化则决定细胞的凋亡与生存, 比值越高, 细胞存活率越高; 比值越低, 细胞凋亡率越高^[10-11]。

补阳还五汤出自清代王清任《医林改错》, 方中黄芪用量独重, 大补脾胃之气, 使气旺血行, 祛瘀而不伤正; 辅以当归、川芎、赤芍活血和营; 少佐桃仁、红花、地龙以化瘀通络; 使气旺血行, 瘀祛络通, 诸药合用共奏益气活血通络之功, 共同发挥扩血管增脑血流量、清除氧自由基、减轻神经元损伤和细胞凋亡, 促细胞修复等功效^[12-13]。ED 具有清除自由基和抑制脂质过氧化的作用; 可抑制神经细胞、血管内皮细胞的过氧化及迟发性神经细胞的死亡, 减轻脑缺血和脑水肿及组织损伤; 并可促神经营养因子的产生^[14-15]。本实验采用补阳还五汤和依达拉奉联合, 多环节、多靶点作用与小鼠脑缺血再灌注模型, 通过 TUNEL 标记

发现, 脑缺血再灌注损伤后模型组脑组织凋亡细胞数明显增多($P<0.01$); 采用药物治疗后凋亡细胞数明显减少, 尤以补阳还五汤与依达拉奉联用组减少最显著($P<0.05$), 提示脑缺血再灌注损伤可引起神经细胞凋亡发生, 随时间延长细胞凋亡呈减轻趋势; BYHWD 和 ED 对神经细胞的凋亡具有协同抑制作用。

本研究同时进行凋亡相关蛋白 bcl-2、bax 表达的 Western blot 定量检测, 发现小鼠脑缺血再灌注后缺血半暗带区细胞的 bcl-2、bax 表达显著增多, 说明了 bcl-2、bax 参与了脑缺血区神经细胞的损伤过程, 小鼠脑缺血再灌注后启动了凋亡机制。与模型组比较, 药物治疗后 bcl-2 表达增加($P<0.05$), 而 bax($P<0.05$)表达下调, 尤以两药联用此变化趋势最明显。表明 BYHWD 和 ED 可通过促进重要的凋亡抑制基因 bcl-2 的表达, 抑制凋亡诱导基因 bax 的表达, 从而抑制神经细胞凋亡, 加速神经功能的恢复, 协同发挥脑保护作用。本实验从分子水平阐明了补阳还五汤联合依达拉奉中西结合治疗急性缺血性脑血管病的优势, 为中西药结合临床的推广应用提供了实验依据, 开辟了缺血性脑血管病治疗的新途径。

REFERENCES

[1] SIDNEY S, ROSAMOND W D, HOWARD V J, et al. The "heart disease and stroke statistics-2013 update" and the need for a national cardiovascular surveillance system [J]. *Circulation*, 2013, 127(1): 21-23.

[2] AMEMIYA S, KAMIYA T, NITO C, et al. Anti-apoptotic and neuroprotective effects of edaravone following transient focal ischemia in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2005, 516(2): 125-130.

[3] ZHONG F F, WU C L, SUN X F, et al. Neural protective effects of Buyang Huanwu decoction combined with Edaravone on mice of acute cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2016,

33(3): 293-297.

[4] LIU Z T, YU T H, QU T B, et al. Focal cerebral ischemia Growth-associated protein 43 Synaptophysin Buyanghuanwu decoction [J]. *Chin J Behav Med Brain Sci*(中华行为医学与脑科学杂志), 2012, 21(12): 1070-1072.

[5] DIENER H C, BOGOUSLAVSKY J, BRASS L M, et al. Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischemic stroke or transient ischemic attack in high-risk patient(MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2004, 364(9431): 331-337.

[6] CANDELARIO-JALIL E. Injury and repair mechanisms in ischemic stroke: considerations for the development of novel neurotherapeutics [J]. *Curr Opin Investig Drugs*, 2009, 10(7): 644-654.

[7] CHEN D L, CHEN X D, XIA C Y. Effects of gastrodia elata on neural apoptosis induced by cerebral ischemia-reperfusion [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2011, 17(3): 148-150.

[8] QI C F, ZHANG J F, CHEN X L, et al. Salidroside protects cultured rat subventricular zone neural stem cells against hypoxia injury by inhibiting Bax, Bcl-2 and caspase-3 expressions [J]. *J South Med Univ*(南方医科大学学报), 2013, 33(7): 962-966.

[9] SOLA S, MORGADO A L, RODRIGUES C M. Death receptors and mitochondria: two prime triggers of neural apoptosis and differentiation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(1): 2160-2166.

[10] ABAS F, ALKAN T, GOREN B, et al. Neuroprotective effects of postconditioning on lipid peroxidation and apoptosis after focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *Turk Neurosurg*, 2010, 20(1): 1-8.

[11] SONG X Y, HU J F, CHEN N H. Neurons apoptosis and cerebral ischemia [J]. *Chin Pharm Bull*(中国药理学通报), 2012, 28(3): 307-310.

[12] ZHAO L D, WANG J H, JIN G R, et al. Neuroprotective effect of Buyang Huanwu decoction against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rats-time window and mechanism [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 140(2): 339-344.

[13] MU Q, LIU P, HU X, et al. Neuroprotective effects of Buyang Huanwu decoction on cerebral ischemia-induced neuronal damage [J]. *Neural Regen Res*, 2014, 9(17): 1621-1627.

[14] KAPOOR S. Neuroprotective effects of edaravone: recent insights [J]. *J Neurol Sci*, 2013, 331(1-2): 177.

[15] OKUYAMA S, MORITA M, SAWAMOTO A, et al. Edaravone enhances brain-derived neurotrophic factor production in the ischemic mouse brain [J]. *Pharmaceuticals* (Basel), 2015, 8(2): 176-185.

收稿日期: 2016-02-19

丹参新酮 C 环酚酯衍生物的设计合成及抗肿瘤活性研究

侯阿芳, 曾林伟, 甘礼社, 周文方, 侯廷军, 王燕兰, 莫建霞, 周长新* (浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要: 目的 通过对丹参新酮 C 环邻醌位点的结构修饰, 改变其脂水分配系数, 获得系列丹参新酮酚酯衍生物, 进而评价其抗肿瘤活性。方法 采用氢化还原、酰化、脱保护基等方法对丹参新酮的邻醌位点进行修饰, 通过引入不同酰胺、氨基酸取代基, 得到丹参新酮 C 环酚酯衍生物, 在此基础上以前列腺癌 Lncap 和 Du145 细胞株对部分化合物进行抗肿瘤

作者简介: 侯阿芳, 女, 硕士生 Tel: 15700079330 E-mail: 21319003@zju.edu.cn *通信作者: 周长新, 男, 副教授 E-mail: zhoucx10@163.com