

- 用, 2012, 6(5): 118-119.
- [4] 赵春元, 刘增连. 生脉注射液在急诊科的应用研究[J]. 中国医药指南, 2012, 10(21): 80-81.
- [5] HE D T, WANG B, CHEN J M. Research progress on pharmacological effects of ginsenoside [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med(辽宁中医药大学学报). 2012, 14(7): 118-121.
- [6] SHI L, WANG Z C, FENG X Q. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activities of *Schisandrae Chinensis* [J]. Drug Eval Res (药物评价研究). 2011, 34(3): 208-212
- [7] LI G X, TANG S, XIA S X, et al. Pharmacokinetics of ginsenosides Rg1 and Re in shengmai and series of separated prescription injection [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2010, 28(11): 2310-2313.
- [8] XIA S X, LI G X, JIANG C M, et al. Determination the concentration of ginsenoside Rg₁, Re, Rb₁ and schisantherin A of Shengmai injection in healthy human plasma by LC-MS/MS [J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2011, 27(10): 789-792.
- [9] LI G X, JIANG C M, XIA S X, et al. Pharmacokinetics of Shengmai and Shenmai injection in healthy volunteers [J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2011, 27(6): 432-434.
- [10] SUN B, GAO H C, HUANG X Y, et al. Comparison of myocardial ischemia rat models induced by coronary artery ligation and administration of ISO [J]. Lab Anim Sci(实验动物科学), 2010, 27(5): 16-18.
- [11] 杨勇, 容蓉, 陈明强, 等. 异丙肾上腺素诱导小鼠急性心肌梗死模型的方法比较[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(5): 153-155.
- [12] LI J H, XIAO T H, MA J, et al. Effects of Qidan Tongmai tablet against chronic myocardial ischemia in dogs and its mechanism [J]. J Anhui Tradit Chin Med Coll(安徽中医学院学报), 2010, 29(4): 52-54.
- 收稿日期: 2015-11-10

刘寄奴醇提物抗局灶性脑缺血有效部位筛选研究

龚雪媛, 楼烨亮, 黄真, 钟晓明* (浙江中医药大学, 杭州 310053)

摘要: 目的 筛选刘寄奴醇提物抗局灶性脑缺血的有效部位。方法 将 ICR 小鼠随机分为假手术组、模型组、尼莫地平组($10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、刘寄奴醇提物石油醚萃取部位(部位 I)、刘寄奴醇提物乙酸乙酯萃取部位(部位 II)、刘寄奴醇提物正丁醇萃取部位(部位 III)和刘寄奴醇提物剩余水层(部位 IV), 其中部位 I~IV 各设 $3.25, 6.50\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 2 个剂量组, 于造模前连续给药 7 d。采用改进的 Zea Longa 方法建立局灶性脑缺血动物模型。造模 6 h 后, 测定小鼠神经功能评分、脑指数、脑含水量、脑梗死体积及脑组织病理形态学等指标; 分别采用黄嘌呤氧化酶法和硫代巴比妥酸法测定刘寄奴醇提物有效部位 $3.25, 6.50\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组脑组织中超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量。结果 与模型组相比, 部位 I、部位 II 和部位 III 均能在不同程度上改善局灶性脑缺血引起的脑水肿, 其中部位 III 能显著降低小鼠神经功能评分、脑指数、脑含水量、脑梗死体积($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。病理组织切片显示, 与模型组相比, 部位 III 能明显改善脑组织神经元核溶解程度、核体不规则程度($P<0.01$)。与模型组相比, 部位 III $3.25, 6.50\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组均能显著升高小鼠脑组织中超氧化物歧化酶活性($P<0.01$, $P<0.05$), 降低丙二醛含量($P<0.05$)。结论 初步筛选出刘寄奴醇提物正丁醇萃取部位(部位 III)为刘寄奴抗局灶性脑缺血的有效部位, 其作用机制可能与其抗氧化损伤有关。

关键词: 刘寄奴; 萃取部位; 局灶性脑缺血; 2,3,5-三苯基氯化四唑; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2016)10-1243-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.10.005

Study of Screening the Effective Part of Alcohol Extract of *Artemisia Anomala* S. Moore on Anti Focal Cerebral Ischemia

GONG Xueyuan, LOU Yeliang, HUANG Zhen, ZHONG Xiaoming* (Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To screen the effective part of alcohol extract of *Artemisia anomala* S. Moore on anti focal cerebral ischemia. **METHODS** ICR mice were randomly divided into sham operation group, model group, nimodipine group

基金项目: 浙江省自然科学基金(LY15H280004); 浙江省新苗人才计划项目(2015R410021)

作者简介: 龚雪媛, 女, 硕士生 Tel: 15990039959 E-mail: gongxueyuan_1@sina.com *通信作者: 钟晓明, 男, 教授, 博导 Tel: (0571)86633088 E-mail: k6_zxm@sina.com

(10 mg·kg⁻¹), petroleum ether extraction (part I), ethyl acetate (part II), *n*-butanol extract (part III) and the remaining aqueous layer (part IV) of alcohol extract of *Artemisia anomala* S. Moore, parts I~IV were divided into 3.25, 6.50 g·kg⁻¹ dose groups, continuous administration 7 d before modeling. The improved Zea Longa method was used to establish animal model of focal cerebral ischemia. After 6 h, the nerve function score, brain index, brain water content, infarct volume and pathological changes of brain tissue of mice were measured; 3.25, 6.50 g·kg⁻¹ dose groups of the effective part of alcohol extract of *Artemisia Anomala* S. Moore measured superoxide dismutase activity and malondialdehyde content in brain tissue by using xanthine oxidase and thiobarbituric acid method. **RESULTS** Compared with the model group, part I, part II and part III could improve brain edema caused by focal cerebral ischemia in different degrees, and the part III could significantly reduce nerve function score, brain index, brain water content and infarct volume in mice ($P<0.01$ or $P<0.05$). Pathological examination showed that compared with the model group, the part III could significantly improve the degree of brain neuron nucleus dissolution and the extent of irregular nucleus ($P<0.01$). Compared with the model group, SOD activity of 3.25, 6.50 g·kg⁻¹ dose groups of the part III in mice brain tissue significantly increased ($P<0.01$ or $P<0.05$), MDA levels significantly decreased ($P<0.05$). **CONCLUSION** The main active part of alcohol extract of *Artemisia anomala* S. Moore on anti focal cerebral ischemia is *n*-butanol extract (part III) after preliminary screening and its mechanism may be related with its antioxidant effects. **KEY WORDS:** *Artemisia anomala* S. Moore; each extraction part; focal cerebral ischemia; 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride; superoxide dismutase; malondialdehyde

刘寄奴为菊科植物奇蒿 *Artemisia anomala* S. Moore 的干燥全草, 味辛、微苦, 性温, 具有散瘀止痛、疗伤止血、破血通经、消食化积等功效, 为中医临床常用活血化瘀药, 在中药组方配伍中常用于治疗脑溢血、冠心病、心绞痛等症^[1-2]。现代药理学研究发现, 刘寄奴具有抗血小板聚集、抗氧化、抗炎、镇痛保肝等作用^[3]。本课题组通过前期实验研究发现刘寄奴醇提物具有较好的抗局灶性脑缺血的作用, 故本实验通过研究刘寄奴醇提物经石油醚、乙酸乙酯以及水饱和正丁醇梯度萃取所得各萃取部位对大鼠脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型小鼠的神经功能评分、脑指数、脑含水量、脑梗死体积及脑组织病理形态学等指标的影响, 以筛选刘寄奴醇提物抗局灶性脑缺血的有效部位, 同时通过测定刘寄奴醇提物有效部位给药组小鼠脑组织中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性和丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量, 探究其可能的作用机制, 为今后治疗脑缺血新药物的开发奠定实验基础。

1 仪器与材料

1.1 药品与试剂

刘寄奴(购自杭州方回春堂中医门诊部, 批号: 20150706, 经浙江中医药大学陈锡林教授鉴定为菊科植物奇蒿 *Artemisia anomala* S. Moore 的干燥全草); 尼莫地平(拜耳医药保健有限公司, 批号: BJ18177, 规格: 30 mg); 总蛋白定量测试盒(考马斯亮蓝法, 批号: 20150814)、超氧化物歧化酶(SOD)

试剂盒(批号: 20150929)、丙二醛(MDA)试剂盒(批号: 20150906)均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器

FA1004 型电子天平(上海天平仪器厂); HH 系列数显恒温水浴锅(上海红星仪器有限公司); RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); HM560 冷冻切片机(赛默飞世尔科技有限公司); Pro200 型手持式精密组织匀浆器(美国 PRO Scientific 有限公司); Power Wave X340 型酶标仪(美国 BioTek 仪器有限公司)。

1.3 动物

SPF 级 ICR 小鼠, ♂, 体质量 22~24 g, 由浙江中医药大学实验动物中心提供, 动物合格证号: 2008001651959, 动物许可证号: SCXK(沪)2013-0016。饲养环境温度为 22~25 ℃, 相对湿度 45%~70%。喂以普通饲料, 自由饮水。

2 方法

2.1 刘寄奴醇提物各萃取部位的制备

根据前期实验研究, 采用以刘寄奴总黄酮为指标, 正交试验得到的最佳提取工艺, 进行刘寄奴醇提物的制备。称取刘寄奴药材 100 g, 用 75% 乙醇, 料液比为 1:15, 浸泡 0.5 h 后, 水浴回流提取 2 次, 每次 2.5 h, 合并 2 次醇提物。将醇提物依次用石油醚、乙酸乙酯、水饱和正丁醇分别萃取 3 次, 得到各萃取部位。其中部位 I (石油醚萃取部位 0.401 8 g, 收率 0.4%), 部位 II (乙酸乙酯萃取部位 1.433 3 g, 收率 1.43%)、部位 III (正丁醇萃取部位 2.089 1 g, 收率 2.09%)、部位 IV (剩余

水层 7.630 8g, 收率 7.63%), 分别将各部位研细, 加生理盐水稀释至一定浓度, 4℃冰箱保存备用。

2.2 动物分组与 MCAO 模型制备

将 ICR 小鼠随机分成 11 组, 每组 8 只, 即假手术组、模型组、尼莫地平组(10 mg·kg⁻¹)、部位 I 组、部位 II 组、部位 III 组和部位 IV 组, 其中部位 I~IV 组各设 3.25、6.50 g·kg⁻¹ 2 个剂量组, 假手术组和模型组给予同等体积的生理盐水。每日给药 1 次, 连续给药 7 d 后, 进行造模实验。术前小鼠禁食不禁水 12 h, 参考改进的 Zea Longa 等^[4]的方法采用线栓法制备小鼠 MCAO 模型, 以小鼠清醒后出现左侧 Horner 征及对侧以前肢为主的瘫痪, 神经行为学评分在 1~3 分为模型成功的判断标准。

2.3 神经功能评分

小鼠造模 6 h 后, 参照 Bederson^[5]确立的 5 级评分法, 对小鼠的神经功能进行评分。评分在 1~3 级者定为造模成功小鼠, 0 级和 4 级者弃去。

2.4 脑含水量、脑指数的测定

采用干、湿比重法^[6]。小鼠造模 6 h 后断头取脑, 生理盐水冲洗, 滤纸吸干。用电子天平称取脑组织湿重, 然后将脑组织置入电热恒温烘箱(100±2)℃中烘干至恒重, 称取干重。脑指数及脑含水量计算公式: 脑含水量=(湿重-干重)/湿重×100%; 脑指数=脑湿重/体质量×100%。

2.5 脑梗死体积的测定

小鼠造模 6 h 后, 迅速断头取脑, 生理盐水冲洗干净, 滤纸吸干, 放入-20℃冰箱冷冻 12 min, 冠状切 4 刀, 共 5 片, 迅速将脑片置于 5 mL 含 2%TTC 的磷酸缓冲溶液中, 37℃避光温孵 10 min, 4%多聚甲醛固定, 数码相机拍照, Med Brain 2.0 系统测量脑缺血体积^[7], 并计算脑梗死体积: 脑梗死体积/%=脑缺血体积/全脑体积×100%。

2.6 脑组织病理形态学观察

小鼠造模 6 h 后, 迅速断头取脑, 冰冻切片机切片, 片厚 8 μm, 常规苏木精-伊红染色, 中性树胶封片, 光学显微镜下观察脑组织的病理形态学变化, 每张切片随机选择 3 个 400 倍镜视野对形态完整的大脑皮质神经细胞的数量进行分析^[8-9]。

2.7 脑组织中 SOD 活性及 MDA 含量的测定

小鼠造模 6 h 后, 迅速断头取脑, 生理盐水冲洗干净, 滤纸吸干, 称重, 加入 9 倍量体积的生

理盐水, 在冰水浴条件下用生理盐水制成 10%脑组织匀浆液。按蛋白定量试剂盒、SOD 试剂盒和 MDA 试剂盒说明书操作, 分别测定脑组织中蛋白、SOD 活性和 MDA 含量。

2.8 统计学处理

实验结果均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 计量资料采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对 MCAO 模型小鼠神经功能评分、脑含水量、脑指数及脑梗死体积的影响

与假手术组相比, 模型组小鼠神经功能评分、脑含水量、脑指数及脑梗死体积均显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 表明造模成功。与模型组相比, 尼莫地平组和部位 III 3.25, 6.50 g·kg⁻¹ 剂量组均能使小鼠神经功能评分、脑含水量及脑梗死体积均显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 尼莫地平组与部位 III 6.50 g·kg⁻¹ 剂量组的脑指数均显著降低($P < 0.05$), 部位 I 6.50 g·kg⁻¹ 剂量组、部位 II 6.50 g·kg⁻¹ 剂量组的脑含水量、脑梗死体积均显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 脑梗死体积变化见图 1。表明部位 I、部位 II、部位 III 均能在不同程度上改善局灶性脑缺血引起的脑水肿, 其中部位 III 对局灶性脑缺血引起的脑水肿的改善作用较为明显, 结果见表 1。

3.2 对 MCAO 模型小鼠脑组织病理形态学的影响

假手术组脑组织神经元及神经胶质结构正常, 神经细胞排列有序, 层次清晰, 细胞形态正常, 核仁明显可见, 未见神经细胞变性坏死及炎细胞浸润等明显病理变化。与假手术组相比, 模型组脑组织神经元结构模糊、构型紊乱, 尼氏体消失或减少, 出现不同程度的核深染、核固缩、核体不规则。与模型组相比, 部位 II 和部位 III 对 MCAO 模型小鼠脑组织病理形态均有不同程度的缓解作用, 其中部位 III 对脑组织神经元核溶解程度、核体不规则程度有明显的改善作用。结果见图 2。

定量分析形态完整的大脑皮质神经细胞数量的结果显示, 与假手术组相比, 模型组大脑皮质神经细胞数量显著减少($P < 0.01$)。与模型组相比, 尼莫地平组、部位 II 6.50 g·kg⁻¹ 剂量组及部位 III 3.25, 6.50 g·kg⁻¹ 剂量组大脑皮质神经细胞数量均显著增加($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 结果见表 1。

表 1 刘寄奴醇提物各萃取部位对 MCAO 模型小鼠神经功能评分、脑含水量、脑指数、脑梗死体积及大脑皮质神经细胞数量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 1 Effects of each extraction part of alcohol extract of *Artemisia Anomala* S. Moore on nerve function score, brain index, brain water content, infarct volume and neurons number of cerebral cortex of middle cerebral artery occlusion in mice($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	神经功能评分	脑含水量/%	脑指数	脑梗死体积/%	大脑皮质神经细胞数量/个
假手术组	—	0.00±0.00 ²⁾	78.90±0.01 ²⁾	1.32±0.07 ¹⁾	0.00±0.00 ²⁾	84.50±5.24 ²⁾
模型组	—	2.75±0.46	81.99±0.01	1.45±0.07	33.61±5.18	54.25±6.23
尼莫地平组	0.01	1.88±0.69 ¹⁾	80.32±0.01 ¹⁾	1.41±0.05 ¹⁾	19.58±4.35 ²⁾	68.38±8.03 ²⁾
刘寄奴部位 I	3.25	2.31±0.53	81.30±0.01	1.43±0.08	30.88±6.77	54.75±7.74
	6.5	2.19±0.53	80.66±0.01 ¹⁾	1.43±0.11	23.55±0.65 ¹⁾	56.13±9.05
刘寄奴部位 II	3.25	2.25±0.71	80.92±0.01 ¹⁾	1.44±0.06	27.22±7.83	58.13±11.73
	6.50	2.19±0.86	80.61±0.01 ²⁾	1.43±0.11	22.56±1.94 ¹⁾	68.63±7.31 ¹⁾
刘寄奴部位 III	3.25	2.31±0.46 ¹⁾	80.88±0.01 ¹⁾	1.41±0.08	22.92±2.18 ¹⁾	65.13±5.41 ²⁾
	6.50	2.13±0.83 ¹⁾	79.94±0.01 ²⁾	1.37±0.07 ¹⁾	21.75±4.22 ²⁾	70.75±6.63 ²⁾
刘寄奴部位 IV	3.25	2.63±0.52	80.78±0.01	1.44±0.09	30.90±5.33	61.88±5.54
	6.50	2.50±0.76	80.71±0.01	1.41±0.10	24.63±4.85	62.00±9.44

注：与模型组比较，¹⁾ $P<0.05$ ，²⁾ $P<0.01$ 。
Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

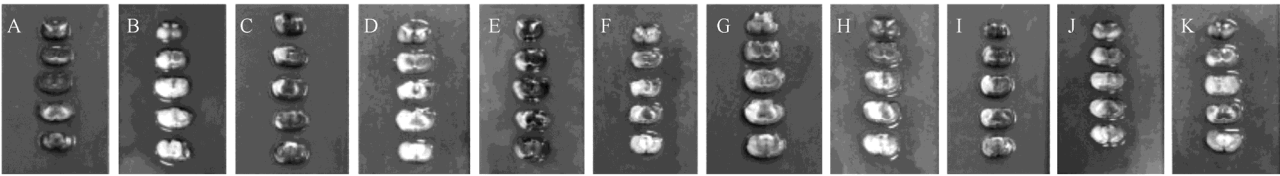


图 1 刘寄奴醇提物各萃取部位对 MCAO 模型小鼠脑梗死体积的影响(TTC 染色)

A—假手术组；B—模型组；C—尼莫地平 10 mg·kg⁻¹ 组；D~K—依次为刘寄奴醇提物萃取部位 I~IV 3.25, 6.50 g·kg⁻¹ 剂量组。

Fig. 1 Effects of each extraction part of alcohol extract of *Artemisia Anomala* S. Moore on infarct volume of middle cerebral artery occlusion in mice (TTC staining)

A—sham-operation group; B—model group; C—nimodipine 10 mg·kg⁻¹ dose group; D~K—represent successively extraction part I~IV 3.25, 6.50 g·kg⁻¹ dose group of *Artemisia Anomala* S. Moore.

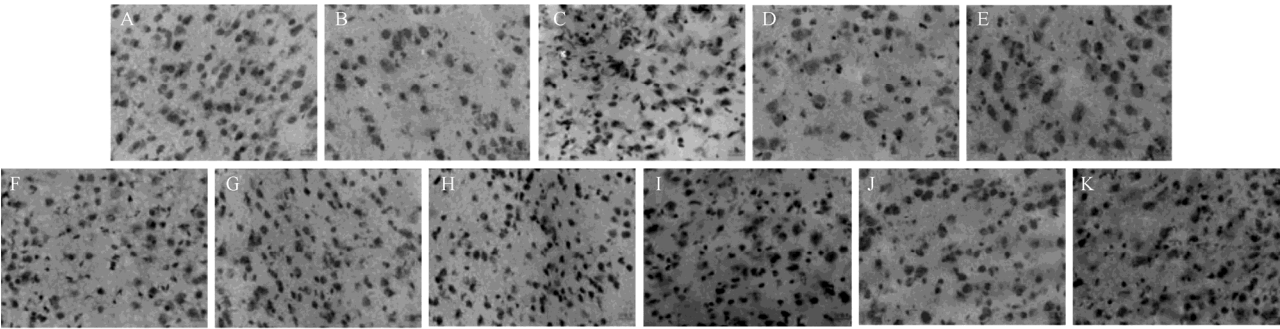


图 2 刘寄奴醇提物各萃取部位对 MCAO 模型小鼠脑组织顶叶皮层病理形态学的影响(HE 染色, 400×)

A—假手术组；B—模型组；C—尼莫地平 10 mg·kg⁻¹ 组；D~K—依次为刘寄奴醇提物萃取部位 I~IV 3.25, 6.50 g·kg⁻¹ 剂量组。

Fig. 2 Effects of each extraction part of alcohol extract of *Artemisia Anomala* S. Moore on pathological changes of brain parietal cortex of middle cerebral artery occlusion in mice (HE staining 400×)

A—sham-operation group; B—model group; C—nimodipine 10 mg·kg⁻¹ dose group; D~K—represent successively extraction part I~IV 3.25, 6.50 g·kg⁻¹ dose group of *Artemisia Anomala* S. Moore.

3.3 对 MCAO 模型小鼠脑组织中 SOD 活性及 MDA 含量的影响

根据“3.1”和“3.2”的实验结果，初步筛选出部位 III 为刘寄奴醇提物抗局灶性脑缺血作用的有效部位，探究其对 MCAO 模型小鼠脑组织中

SOD 活性及 MDA 含量的影响。与假手术组相比，模型组小鼠脑组织中 SOD 活性显著降低($P<0.05$)，MDA 含量显著升高($P<0.01$)。与模型组相比，尼莫地平组与部位 III 3.25, 6.50 g·kg⁻¹ 剂量组脑组织中 SOD 活性均显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)，MDA

含量均显著降低($P<0.05$), 结果见表 2。

表 2 刘寄奴醇提物正丁醇萃取部位(部位Ⅲ)对 MCAO 模型小鼠脑组织 SOD 活性及 MDA 含量的影响($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effects of *n*-butanol extract (part III) of alcohol extract of *Artemisia Anomala* S. Moore on superoxide dismutase activity and malondialdehyde content of brain tissue of middle cerebral artery occlusion in mice($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	SOD 活性/ $\text{U} \cdot \text{mgprot}^{-1}$	MDA 含量/ $\text{nmol} \cdot \text{mgprot}^{-1}$
假手术组	—	$13.24 \pm 1.67^{1)}$	$3.76 \pm 0.59^{2)}$
模型组	—	11.75 ± 1.61	5.86 ± 0.92
尼莫地平组	0.01	$14.73 \pm 2.09^{1)}$	$5.09 \pm 0.36^{1)}$
刘寄奴部位Ⅲ低剂量组	3.25	$14.17 \pm 1.58^{1)}$	$4.43 \pm 0.67^{1)}$
刘寄奴部位Ⅲ高剂量组	6.50	$14.88 \pm 1.79^{2)}$	$4.28 \pm 1.39^{1)}$

注: 与模型组比较, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$ 。

Note: compared with model group, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$.

4 讨论

大脑中动脉是临床上缺血性脑血管病的易患部位, 血管闭塞造成局部脑血流循环障碍。小鼠大脑中动脉闭塞模型是现在普遍应用的标准局灶性脑缺血的动物模型, 其成功率高, 梗死范围稳定, 损伤小, 且小鼠脑动脉环的组成和脑血管解剖特点与人类相接近, 是适合于长期对脑缺血疾病研究的模型^[10-11]。故本实验采用小鼠大脑中动脉闭塞模型就刘寄奴醇提物各萃取部位对 MCAO 模型小鼠神经功能评分、脑含水量、脑指数、脑梗死体积及脑组织病理形态学变化等指标进行研究。实验结果表明, 与模型组相比, 部位 I、部位 II 和部位 III 均能在不同程度上改善局灶性脑缺血引起的脑水肿, 其中部位 III 能显著降低小鼠神经功能评分、脑含水量、脑梗死体积, 明显改善脑组织神经元核溶解程度、核体不规则程度。因此, 通过本实验初步筛选出刘寄奴醇提物抗局灶性脑缺血的有效部位为正丁醇萃取部位(部位 III)。

SOD 是体内十分重要的抗氧化酶, 分布于全身各组织中, 可与超氧阴离子反应形成过氧化氢, 再由过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶转变成水, 从而使自由基清除, 保护细胞免受损害, 其活性的高低反映了机体抗氧化能力的强弱^[12]。缺血性脑损伤后, SOD 可减轻缺血性脑组织水肿, 降低血脑屏障的通透性。而 MDA 作为氧自由基与生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的代谢产物, 间接反映了机体自由基产生的量和体内脂质过氧化反应的程度, MDA 的量常可反映机体内

脂质过氧化的程度^[13]。本实验通过测定部位 III 3.25, 6.50 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组对 MCAO 模型小鼠脑组织 SOD 活性及 MDA 含量的影响, 以初步探究其抗局灶性脑缺血的作用机制。实验结果显示, 刘寄奴醇提物正丁醇萃取部位(部位 III)可通过提高脑组织抗氧化能力, 抑制其脂质过氧化物的产生, 从而起到抗局灶性脑缺血的作用。

缺血性中风是由于瘀阻饮停阻碍气机, 清窍闭塞, 脑髓失养, 脉络不通所致, 以突然昏迷、不省人事、伴有口眼歪斜、半身不遂等为主要表现的临床上最常见的急症^[14]。活血化瘀是中医上治疗脑中风十分有效而常规的方法。现代药理研究发现, 活血化瘀中药具有减轻脑水肿, 保护脑组织神经元, 改善脑功能, 清除自由基, 抗脂质过氧化等作用^[15]。刘寄奴作为临床上常用的活血化瘀药, 其在临床应用中活血化瘀疗效较为显著, 且价格低廉, 资源丰富, 具有广阔的开发应用前景^[16]。本实验通过研究刘寄奴醇提物各萃取部位抗局灶性脑缺血的作用, 初步筛选出刘寄奴醇提物正丁醇萃取部位(部位 III)为刘寄奴醇提物抗局灶性脑缺血的有效部位, 其抗局灶性脑缺血的作用机制可能与其抗氧化作用有关, 为进一步研究刘寄奴醇提物抗局灶性脑缺血的作用机制奠定基础, 为今后刘寄奴在治疗脑缺血中的开发利用奠定实验基础。

REFERENCES

- [1] 陈迎军. 南、北刘寄奴不能混淆使用[J]. 海峡药学, 2014, 26(10): 43.
- [2] PAN Y F, ZHANG D D, LING S, et al. Analysis on anti-vascular inflammatory mechanism *in vitro* of total flavones from *Artemisia anomala* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2012, 37(17): 2597-2601.
- [3] XI T, YUAN L W, XIAO L Y, et al. Ethyl acetate extract of *Artemisia Anomala* S. Moore displays potent anti-inflammatory effect [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014, 2014: 681352. doi: 10.1155/2014/681352.
- [4] MIN H M, LIU C, WU N, et al. Protective effect of Tongxinluo capsule on focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2015, 32(11): 1293-1297.
- [5] TAN J, LI C Y, LI T, et al. Identification of a rat model of focal cerebral infarction by relative body weights and Bederson's scale scores [J]. J Clin Rehabil Tiss Eng Res(中国组织工程研究与临床康复), 2011, 15(37): 6875-6878.
- [6] XIAO W X, WANG H, HUANG Z, et al. Neuroprotective effect of salvianolic acid B against acute focal cerebral ischemia in mice [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2014, 20(17): 163-166.

- [7] YING X L, ZHONG X M, XU M D, et al. Neuro-protective effect of harpagide on acute cerebral ischemic injury in mice and its mechanism involving mitochondria [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2015, 50(12): 1026-1031.
- [8] WANG Z W, WEI S C, LIU Y Q, et al. Effects of Astragali Radix ultrafiltrate and Hedyseri Radix ultrafiltrate on hemorheology and related regulatory factors in rat stasis model combined transient cerebral ischemia [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2014, 31(10): 1182-1186.
- [9] DENG Z J, CHEN Y C, KE J J, et al. Protective effect of dihydromyricetin on focal cerebral ischemia-reperfusion injury in mice [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharm(中国新药与临床药理), 2015, 26(3): 229-302.
- [10] LIU J L, DENG L J, YUAN H H, et al. Correlation between behavioral indicators in a mouse model of focal cerebral ischemia [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2012, 28(3): 430-435.
- [11] ZHAO Q, ZHU W J, WANG F Y, et al. Comparison and analysis of focal cerebral ischemia stroke model in mice [J]. Acad J Chin PLA Med Sch(解放军医学院学报), 2014, 35(8): 870-872.
- [12] XIAO A J, CHEN R X, KANG M F, et al. Effects of heat-sensitive moxibustion on antioxidative capacity in rat model of focal cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Tianjin Med J(天津医药), 2014, 42(1): 51-53.
- [13] QIU Y T, HUI C, WEI Z, et al. Atorvastatin protects against cerebral ischemia/reperfusion injury through anti-inflammatory and antioxidant effects [J]. Neural Regen Res, 2014, 9(3): 268-275.
- [14] 谭凯文, 陈薇. 活血化癥法治疗缺血性中风的拓展与探讨 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13(9): 1130-1131.
- [15] CHENG X, ZHANG X L, BAI M, et al. Prevention characteristic and analysis of promoting blood circulation by removing blood stasis, clearing heat and detoxicating on cerebral ischemia [J]. Chin J Chin Med(中医学报), 2012, 27(5): 615-619.
- [16] 赖庆. 刘寄奴药理研究及其临床应用进展[J]. 浙江中医杂志, 2015, 50(7): 541-542.

收稿日期: 2016-01-28

鬼臼毒素聚合物胶团对人胶质瘤细胞的抑制作用

王耿焕¹, 沈和平¹, 金成胜¹, 黄嫒², 蒋小红², 褚正民^{1*}, 王翊飞¹(1.嘉兴学院附属第二医院, 浙江 嘉兴 314000; 2.浙江嘉兴学院医学院, 浙江 嘉兴 314001)

摘要: 目的 合成鬼臼毒素聚合物胶团, 评价其对人胶质瘤细胞的增殖抑制作用。方法 制备鬼臼毒素聚合物胶团, 考察其理化性质, 通过肿瘤细胞摄取实验, 噻唑蓝(MTT)法检测其对 U87 细胞的增殖抑制作用。结果 鬼臼毒素聚合物胶团比游离药物鬼臼毒素对人胶质瘤细胞有更大的增殖抑制作用, 显著增加肿瘤细胞内的药物浓度。结论 鬼臼毒素聚合物胶团对人脑胶质瘤细胞增殖有明显的抑制作用。

关键词: 鬼臼毒素; 聚合物胶团; 抗肿瘤活性; 人胶质瘤细胞

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2016)10-1248-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.10.006

Antitumor Activity of Stearic Acid Grafted Chitosan Oligosaccharide Polymeric Micelles Loading Podophyllotoxin Against Human Glioma Cells

WANG Genghuan¹, SHEN Heping¹, JIN Chengsheng¹, HUANG Xuan², JIANG Xiaohong², CHU Zhengmin^{1*}, WANG Yifei¹(1.The Second Affiliated Hospital of Jiaxing University, Jiaxing 314000, China; 2.Medical College of Jiaxing University, Jiaxing 314001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of stearic acid grafted chitosan oligosaccharide polymeric micelles loading podophyllotoxin(CSO-SA/PPT) on the cell proliferation in human glioma cells. **METHODS** CSO-SA/PPT were prepared to investigate its physical and chemical properties. U87 cell proliferative activity was measured by tumor cell uptake assay and MTT assay. **RESULTS** The CSO-SA/PPT had greater inhibition on human glioma cells proliferation compared with free podophyllotoxin formulation. And *in vitro* drug uptake tests showed that CSO-SA/PPT presented more uptake characteristics than free podophyllotoxin. **CONCLUSION** CSO-SA/PPT plays an inhibitory role in the cell proliferation in human glioma cells.

KEY WORDS: podophyllotoxin; polymeric micelle; antitumour activity; human glioma cells

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(Y2081030); 浙江省医药卫生科技计划(2013KYA199)

作者简介: 王耿焕, 男, 硕士, 副主任医师 Tel: (0573)82057903 E-mail: wgh19770322@126.com *通信作者: 褚正民, 男, 主任医师 Tel: (0573)82057901 E-mail: chuzhengmin@126.com