

脑脉舒康胶囊对小鼠急性脑缺血模型的影响

白明, 刘丹丹, 王灿, 耿新生, 苗明三*
(河南中医学院, 郑州 450003)

[摘要] **目的:**探讨脑脉舒康胶囊(NMSKC)对小鼠脑缺血模型的影响。**方法:**采用昆明种小鼠,分为脑脉舒康胶囊组(4.0, 2.0, 1.0 g·kg⁻¹)、模型对照组、阳性药(华佗再造丸 2.67 g·kg⁻¹, 尼莫地平 0.02 g·kg⁻¹)对照组,各组连续灌胃 9 d,于第 10 天给药 1 h 后,快速断头法制备小鼠急性全脑缺血模型,记录小鼠的喘息次数和喘息维持时间,取小鼠脑组织测定丙二醛(MDA)、乳酸(LD)的含量和超氧化物歧化酶(SOD)、乳酸脱氢酶(LDH)的活力。**结果:**脑脉舒康胶囊可以明显增加断头小鼠的呼吸次数及延长呼吸持续时间,并可降低 MDA 和 LD 含量,提高 SOD 和 LDH 的活力。**结论:**脑脉舒康胶囊对小鼠脑缺血机体有一定的保护作用。

[关键词] 脑脉舒康胶囊; 急性脑缺血模型; 丙二醛; 乳酸; 超氧化物歧化酶; 乳酸脱氢酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0255-03

[doi] 10.11653/syfy2013240255

Effects of Naomai Shukang Capsule on Mice Acute Cerebral Ischemia Model

BAI Ming, LIU Dan-dan, WANG Can, GENG Xin-sheng, MIAO Ming-san*
(Henan university of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Naomai Shukang capsule (NMSKC) on mice acute cerebral ischemia model. **Method:** Kunming mice were divided into six groups: Naomia Shukang capsule groups (4.0, 2.0, 1.0 g·kg⁻¹), model control group, positive medicine control groups (Huatuo Zaizao pill 2.67 g·kg⁻¹, Nimodipine 0.02 g·kg⁻¹). The mice acute cerebral ischemia model was established by rapid head-breaking method, and recorded the respiratory frequency and duration, the brain tissue was collected for measurement of the contents of lactic acid (LD), lactic dehydrogenase (LDH), malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) activity. **Result:** Naomai Shukang capsule could significantly increase respiratory rate and prolong respiratory and reduce the contents of LA and MDA, and increase the activities of LDH and SOD in brain tissue. **Conclusion:** Naomai Shukang capsule has protective effects on acute cerebral ischemia injury in mice.

[Key words] Naomai Shukang capsule; acute ischemic model; malondialdehyde; lactic acid; superoxide dismutase; lactic dehydrogenase

脑血管疾病是目前发病率最高,对人类健康威胁最为严重的疾病之一,因此寻找或开发高效低毒的抗脑缺血药物具有重大的社会和经济效益。从天然植物中寻找治疗缺血性脑血管疾病的药物已成为

当前研究的热点^[1]。脑脉舒康胶囊是在临床经验方基础上研制而成的纯中药复方制剂,主要由西洋参、山楂、五味子、葛根、何首乌组成,具有益气化痰、活血通络、健脑安神之功^[2]。本实验利用小鼠急性

[收稿日期] 20130407(007)

[基金项目] 河南省重大科技攻关项目(0322031000);国家“重大新药创制”科技重大专项项目(2009ZX09103-324)

[第一作者] 白明, 硕士, 副教授, 河南中医学院药理药效实验中心主任, 从事中药药理研究, Tel:0371-65962546, E-mail: baiming666@126.com

[通讯作者] *苗明三, 博士, 教授, 从事药理、中药药理教学与科研, Tel:0371-65962546, E-mail: miaomingsan@126.com

脑缺血模型观察脑脉舒康胶囊对缺血组织的保护作用,为该药进一步研究和应用提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂 脑脉舒康胶囊(NMSKC,西洋参、山楂、五味子、葛根、何首乌、地黄),由河南中医学院一附院制剂科提供,批号 050704);华佗再造丸(广州奇星药业有限公司,批号 4121);尼莫地平(山东新华制药股份有限公司,批号 0411205);丙二醛(MDA)检测试剂盒(批号 20050912),超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒(批号 20050912),乳酸(LD)检测试剂盒(批号 20050928),乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(批号 20050716),以上试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器 PC397 秒表(深圳市惠波工贸有限公司),75-2 分光光度计(上海第三分析仪器厂);玻璃匀浆器(上海玻璃仪器厂),恒温水浴锅(北京市光明仪器厂),离心机(北京医疗仪器修理厂)。

1.3 动物 清洁级,昆明种小鼠,雄性,体重 18~20 g;河北省实验动物中心提供,许可证号 SCXK(冀)2003-1-003,合格证号 DK0508068。

2 方法

2.1 动物分组及给药 取 18~20 g 雄性小鼠 60 只,随机分为 6 组,即高、中、低剂量脑脉舒康胶囊(NMSKC)组、尼莫地平组、华佗再造丸组、模型对照组。分别 ig 高、中、低剂量脑脉舒康胶囊(NMSKC) 4.0, 2.0, 1.0 g·kg⁻¹,配成质量浓度为 200, 100, 50 g·L⁻¹;尼莫地平 0.02 g·kg⁻¹,配成 1 g·L⁻¹;华佗再造丸 2.67 g·kg⁻¹,配成 134 g·L⁻¹;模型对照组每天 ig 同样体积的生理盐水(20 mL·kg⁻¹)。每天给药 1 次,连续给药 10 d。

2.2 造模方法及指标测定 于最后 1 次给药后 1 h,用剪刀于耳后 2 mm 处迅速断头,造成小鼠急性脑缺血模型,然后记录小鼠断头后的呼吸次数及呼吸维持时间(以小鼠张口喘息为判断标准)^[3]。冰盒上取缺血脑组织,去除嗅球,用生理盐水清洗,称重,加 9 倍生理盐水,用玻璃匀浆器匀浆,制成 10% 匀浆液,3 000 r·min⁻¹离心 15 min,取上清液,按照试剂盒说明书,测定 MDA,LD 含量及 SOD、LDH 活性^[4-5]。

2.3 统计学处理 数据分析用 SPSS 11.5 for windows 医用统计包进行数据资料的统计学处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析(LSD)。P < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 NMSKC 对急性脑缺血小鼠呼吸次数及呼吸时

间的影响 与模型对照组比较,高、中、低剂量脑脉舒康胶囊(NMSKC)组和尼莫地平组显著延长小鼠断头后的呼吸持续时间(P < 0.01),华佗再造丸组可明显延长小鼠呼吸持续时间(P < 0.05);与模型对照组比较,高、中、低剂量脑脉舒康胶囊(NMSKC)组、尼莫地平组和华佗再造丸组显著均显著增加小鼠断头后呼吸次数(P < 0.01)。见表 1。

表 1 NMSKC 对急性脑缺血小鼠呼吸次数及呼吸时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	呼吸持续时间 /s	呼吸次数 /次
模型对照	-	20 ± 4	16 ± 2 ¹⁾
NMSKC	4.0	26 ± 2 ²⁾	22 ± 4 ²⁾
	2.0	29 ± 6 ²⁾	20 ± 3 ²⁾
	1.0	24 ± 2 ²⁾	19 ± 2 ²⁾
尼莫地平	0.02	26 ± 2 ²⁾	20 ± 2 ²⁾
华佗再造丸	2.67	25 ± 2 ¹⁾	21 ± 4 ²⁾

注:与模型对照组比较¹⁾P < 0.05,²⁾P < 0.01(表 2~3 同)。

3.2 NMSKC 对急性脑缺血小鼠脑组织中 MDA 含量及 SOD 活性的影响 与模型对照组比较,中剂量脑脉舒康胶囊(NMSKC)组和尼莫地平组小鼠脑组织中 MDA 含量显著下降(P < 0.01),高、低剂量脑脉舒康胶囊(NMSKC)组和华佗再造丸组小鼠脑组织中 MDA 含量明显下降(P < 0.05);与模型对照组比较,高、中、低剂量脑脉舒康胶囊(NMSKC)组、尼莫地平组、华佗再造丸组均能提高小鼠脑组织中 SOD 的活性(P < 0.01),见表 2。

表 2 NMSKC 对急性脑缺血小鼠脑组织中 MDA 含量及 SOD 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	MDA /nmol·mg ⁻¹	SOD /U·mg ⁻¹
模型对照	-	23.15 ± 9.53	109.23 ± 14.53
NMSKC	4.0	13.06 ± 6.13 ¹⁾	136.15 ± 12.11 ²⁾
	2.0	12.46 ± 4.51 ²⁾	144.66 ± 18.11 ²⁾
	1.0	13.56 ± 6.58 ¹⁾	135.24 ± 20.19 ²⁾
尼莫地平	0.02	11.53 ± 3.69 ²⁾	168.79 ± 15.24 ²⁾
华佗再造丸	2.67	14.15 ± 5.18 ¹⁾	131.59 ± 17.28 ²⁾

3.3 NMSKC 对急性脑缺血小鼠脑组织中 LD 含量及 LDH 活性的影响 与模型对照组比较,高剂量脑脉舒康胶囊(NMSKC)组和尼莫地平组小鼠脑组织中 LD 含量显著降低(P < 0.01),中、低剂量脑脉舒康胶囊(NMSKC)组及华佗再造丸组小鼠脑组织中 LD 含量明显降低(P < 0.05);与模型对照组比较,

高、中剂量脑脉舒康胶囊(NMSKC)组、尼莫地平组、华佗再造丸组小鼠脑组织中 LDH 活性显著提高($P < 0.01$),低剂量脑脉舒康胶囊(NMSKC)组小鼠脑组织中 LDH 活性明显提高($P < 0.05$),见表 3。

表 3 NMSKC 对急性脑缺血小鼠脑组织中 LD,LDH 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	LD /mmol·g ⁻¹	LDH /U·g ⁻¹
模型对照	-	1.536 ± 0.531	4351.29 ± 805.94
NMSKC	4.0	0.913 ± 0.203 ²⁾	6435.79 ± 865.38 ²⁾
	2.0	1.014 ± 0.321 ¹⁾	6015.41 ± 908.41 ²⁾
	1.0	1.206 ± 0.418 ¹⁾	5545.63 ± 1075.39 ¹⁾
尼莫地平	0.02	1.015 ± 0.212 ²⁾	7153.24 ± 876.52 ²⁾
华佗再造丸	2.67	1.115 ± 0.416 ¹⁾	5986.71 ± 914.23 ²⁾

4 讨论

动物模型是研究脑缺血损伤机制及药物作用的重要手段,而脑缺血的动物模型很多,均存在一定的优缺点。本实验选用经济、简便易行的小鼠快速断头急性脑缺血模型,对脑脉舒康胶囊(NMSKC)的脑保护作用进行研究。张海宁^[6]等采用此方法通过记录小鼠断头后喘息次数和呼吸维持时间来证明氧化苦参碱与阿司匹林联合应用对小鼠全脑缺血的保护作用。张帆^[7]等也采用此方法研究毛冬青总黄酮的脑保护作用。

在小鼠急性脑缺血实验中,脑血液供应中断,但脑中原有的血液和营养物质尚能使脑功能维持一段时间,表现为小鼠有规律的喘气,当能量消耗至一定程度,活动终止^[8]。本实验结果显示,脑脉舒康胶囊(NMSKC)组均可显著增加小鼠断头后的喘息次数、延长小鼠断头后喘息持续时间。脑缺血损伤是一个复杂的级联反应,目前研究证实,其损伤机制主要与细胞内钙超载、自由基损伤、兴奋性氨基酸释放增加和炎症因子释放、酶类等因素有关^[9-10]。在脑缺血的病理过程中氧自由基产生增多,而自由基清除系统的功能低下,致使脂质过氧化反应增强^[11],导致细胞代谢及功能障碍,组织遭受损伤,MDA 是自由基损伤细胞形成的脂质过氧化物,可反映细胞氧化损伤的程度,SOD 是最有效的抗氧化剂和自由基清除剂,可通过歧化方式清除超氧阴离子自由基^[11]。LD 和 LDH 是标志脑血管疾病时组织损伤最敏感的酶之一,LD 的堆积引起脑酸中毒等脑功能紊乱,郭翠平^[12]等研究表明脑匀浆中 LDH 值越高,可较少脑缺血坏死的程度,增加正常脑细胞的数量。

本实验结果显示,脑脉舒康胶囊(NMSKC)组动物脑组织中 MDA,LD 含量减少,SOD,LDH 活性提高,说明该药可以提高机体防御机能,增强对自由基的清除能力,从而抑制脂质过氧化损害;减少乳酸堆积,增强 LDH 活性,减轻酸中毒,以减轻脑损伤,改善脑功能紊乱。

综上所述,脑脉舒康胶囊对小鼠急性脑缺血损伤具有良好的保护作用,其作用机制可能与物质代谢有关。本实验研究为其在治疗缺血性脑血管疾病方面的应用提供实验依据,并为其以后的作用机制研究奠定基础,都有十分重要的意义。

[参考文献]

- [1] 韩忠耀,周福军,单淇,等. 中药治疗脑卒中的物质基础研究思路[J]. 药物评价研究,2012,35(1):36.
- [2] 白明,高小玲,苗明三. 脑脉舒康胶囊对短暂性脑缺血发作模型小鼠的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(20):154.
- [3] 张快,赵靖,刘红艳,等. 氧化槐定碱对小鼠急性脑缺血损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床,2011,27(3):26.
- [4] 贺海波,石孟琼,金家红,等. 珠子参对小鼠局灶性脑缺血损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床,2012,28(3):62.
- [5] 何晓静,王守涛,周娟,等. 丹参酮 II_A 乳剂对小鼠脑缺血的保护作用[J]. 广东药学院学报,2007,23(5):553.
- [6] 张海宁,孟冰,孟瑶,等. 氧化苦参碱与阿司匹林联合应用对小鼠脑缺血损伤的保护作用[J]. 徐州医学院学报,2010,30(1):38.
- [7] 张帆,张小磊,苗明三. 毛冬青总黄酮对小鼠脑缺血模型的影响[J]. 中药新药与临床药理,2012,23(4):409.
- [8] 汪晶,彭蕴茹,戴岳,等. 通脑舒络胶囊对脑缺血缺氧的保护作用和抗凝抗栓作用[J]. 云南中医中药杂志,2007,28(5):37.
- [9] 刘青青,郭虹,王少峡,等. 脑缺血损伤机制的研究进展[J]. 中华中医药学刊,2012,30(6):1228.
- [10] 张锦,张允岭,娄金丽,等. 心脑舒通胶囊对大鼠急性脑缺血损伤保护作用的研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(23):1979.
- [11] Jain K K. Neuroprotectoin in cerebrovascular disease[J]. Expert Opin Investig Drugs,2000,9(4):695.
- [12] 郭翠平,董秀兰,闵连秋. 缺血预处理对局灶性脑缺血-再灌注大鼠乳酸脱氢酶和肌酸激酶的影响[J]. 中国脑血管病杂志,2007,4(8):374.

[责任编辑 聂淑琴]