

黄芪总皂苷和三七总皂苷配伍对 大鼠局灶性脑缺血的影响

任周新^{1,4}, 李 丽², 李 君², 罗永明^{3*}

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 河南中医药研究院附属医院, 河南 郑州 450004;
3. 江西中医学院药学系, 江西 南昌 330004; 4. 河南中医学院, 河南 郑州 450008)

[摘要] 目的: 运用线栓制作脑缺血再灌注大鼠模型, 观察黄芪总皂苷和三七总皂苷配伍对脑梗塞百分率的影响。方法及结果: 应用二因素五水平均匀设计方法, 观察到黄芪总皂苷 16 mg/kg 和三七总皂苷 40 mg/kg 配伍时, 抗脑梗死形成作用最佳, 2×2 析因设计试验发现该剂量下两药配伍对于大鼠脑梗死有相加的保护作用。结论: 黄芪总皂苷和三七总皂苷配伍具有协同的抗脑梗死作用。

[关键词] 黄芪总皂苷; 三七总皂苷; 抗脑缺血; 协同作用

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)12-0056-03

Effect of Compatibility on Anti-ischemia of Rats with Astragalosides and Total Saponins of *Panax notoginseng*

REN Zhou-xin^{1,4}, LI Li², LI Jun², LUO Yong-ming^{3*}

(1. Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China;
2. Affiliated Hospital of Henan Institute of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450004, China;
3. Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;
4. Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the interactions between astragalosides (AS) and total saponins of *Panax notoginseng* (SPN) with various dosage. **Methods:** The model of focal cerebral ischemia by suture method in rats was used

in the study. The results were analysed with two statistics. **Results:** AS and SPN showed anti-ischemia effect. The compatible application of AS with dose of 16 mg/kg and SPN with dose of 40 mg/kg indicated more significant anti-ischemia action. **Conclusion:** The compatible application of AS and SPN related in a synergistic effect of anti-ischemia.

[**Key words**] Astragalosides; Saponins of *Panax notoginseng*; Anti-ischemia; Synergistic effect

目前,对于急性缺血性脑中风,尚无满意的药物。多数学者认为,这与脑缺血损伤的病理过程复杂,单一药物作用靶点少有关。因此,国外提出“鸡尾酒疗法”,试图用联合用药的方法提高疗效。近年来,临床报道三七总皂苷注射液和黄芪注射液联合应用,治疗缺血性中风有增效作用^[1-3]。黄芪注射液中含有多种成分,药理研究发现,其中的黄芪总皂苷具有明确的抑制脑缺血损伤的作用^[4,5],提示黄芪总皂苷和三七总皂苷配伍具有潜在的开发价值。本文拟从药理学角度探讨两者的配伍对实验性脑缺血损伤的影响。

1 材料

1.1 药物 黄芪总皂苷,从豆科植物膜荚黄芪 *Astragalosides membranaceus* Burge. 的干燥根中提取,为易吸湿的淡黄色粉末;三七总皂苷,从 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen. 的干燥根中提取,为淡黄色粉末。江西中医学院药学系提供。临用前用生理盐水稀释、溶解。

1.2 动物与分组 清洁级 SD 大鼠,雄性,体重 250 ~ 300 g,华中科技大学同济医学院实验动物学部提供,许可证号:SCXK(鄂)2004-0007。

2 方法

2.1 均匀设计分组 给药组按照均匀设计的要求,黄芪总皂苷 5 水平,即 0, 4, 8, 12, 16 mg/kg,三七总皂苷 5 水平,即 0, 10, 20, 30, 40 mg/kg,选择 $U_5(5^4)$ 均匀设计表,安排药物配伍组,见表 1。另设模型组和假手术组。假手术组 8 只,其余各组 10 只,下同。

表 1 均匀设计试验中药物配伍对大鼠局灶性脑缺血梗塞百分率的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	黄芪总皂苷 (mg/kg)	三七总皂苷 (mg/kg)	梗塞百分率 (%)
假手术	8	—	—	0.00 ± 0.00
模型	10	—	—	23.27 ± 4.46
配伍 1	10	0	10	19.46 ± 4.98
配伍 2	10	4	30	17.23 ± 2.99 ¹⁾
配伍 3	9	8	0	19.83 ± 4.51
配伍 4	9	12	20	17.17 ± 2.78 ¹⁾
配伍 5	11	16	40	15.70 ± 3.94 ²⁾

注:和模型组比较,¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。(下同)

2.2 2 × 2 析因设计分组 分成假手术组、模型组、黄芪总皂苷组(16 mg/kg)、三七总皂苷组(40 mg/kg)、黄芪(16 mg/kg) + 三七总皂苷组(40 mg/kg)。

2.3 动物模型制作 300 mg/kg 水合氯醛 ip 麻醉大鼠,颈正中切口,暴露并分离右侧颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉和翼腭动脉,分别置 4-0 号线备用。结扎颈总动脉和颈外动脉,动脉夹夹闭颈内动脉和翼腭动脉,在颈内、颈外动脉分叉处开口,将头端烧成圆球,球直径 0.38~0.42 mm 的鱼线插入颈内动脉,移去动脉夹,插入长度从分叉处计约 18~20 mm。结扎颈内动脉,固定鱼线,缝合。缺血后 2 h,将鱼线抽拉至颈内、外动脉分叉处,实现再灌注。假手术组仅将颈总、颈内、颈外动脉游离出来,不做插线处理。模型成功的标准是大鼠苏醒后出现同侧 Homer 征,提尾时对侧前肢内收屈曲。

2.4 给药方法 再灌注后立即给药,大鼠采用舌下静脉给药,给药体积 5 mL/kg,剂量见表 1,模型组、空白组给予等体积的生理盐水。

2.5 指标检测 再灌注 22 h 后,剔除实验期间死亡及模型不成功的动物,其余各组动物开颅取脑,去除低位脑干和小脑,取出,沿大脑纵裂切开,取右脑。从额极开始,由头端向尾端连续进行冠状切片,间距 2 mm,共做 5 片。把脑片置于 1% 的 TTC 染液中,37 °C 避光震荡培养,30 min 后,取出,放置到 10% 的福尔马林液中固定。染色后非缺血区呈玫瑰红色,梗死区呈白色,称总的脑片的重量,挖下白色组织,称其重量,以梗死区脑重量与脑切片的总重量的百分比作为梗塞百分率。

2.6 统计学处理 采用 SPSS 7.6 for Windows 统计软件进行统计处理。多组间比较采用单因素方差分析,组间比较采用 q 检验,线性关系采用多元回归分析,交互作用分析采用 2 × 2 析因设计方差分析。

3 结果

3.1 均匀设计试验结果 见表 1。将表 1 数据进行多元方程回归,得方程 $Y = 20.28733 - 0.07783XA - 0.08933XB$, XA 为黄芪总皂苷, XB 为三七总皂苷, Y 为梗塞百分率。方程经方差分析 $F = 47.51 >$

$F_{0.05}(1, 4) = 7.71, P = 0.0206 < 0.05$, 表明方程可信。从方程来看, 两者的剂量增大, 则梗死百分率减小, 在本实验条件下, 理论上当黄芪总皂苷和三七总皂苷以 16 mg 40 mg 配伍, 梗死百分率最小, 此时, Y (梗死百分率) 的 95% 的可信区间为 (14.77, 16.17), 本实验测得的实际数值为 15.70, 2×2 析因设计试验结果为 15.98, 均在该区间内, 说明求得的最佳的试验条件是可信的。

表 2 2×2 析因设计试验中药物对大鼠局灶性脑缺血梗塞百分率的影响及方差分析表 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	梗死百分率 (%)	变异来源	自由度	离均差平方和	均方	F
假手术	8	0.00 ± 0.00	总处理间	3	244.274		
模型	10	22.90 ± 3.90	三七	1	152.998	152.998	10.62
黄芪	10	20.19 ± 4.40	黄芪	1	90.390	90.390	6.276
三七	10	19.29 ± 3.50	交互作用	1	0.886	0.886	0.062
黄芪+三七	10	15.98 ± 3.28 ¹⁾	误差	36	518.504	14.403	
			总变异	39	762.778		

3.2 2×2 析因设计试验结果 结果见表 2。由表 2 可见, 与模型组比较, 黄芪总皂苷、三七总皂苷组有抑制脑梗死百分率作用的趋势, 但组间比较没有显著性差异 ($P > 0.05$), 黄芪总皂苷+三七总皂苷组和模型组比较, 脑梗死百分率有显著性差异 ($P < 0.05$), 但两者的交互作用的 $F = 0.06145 < F_{0.05}(1, 36) = 4.11, P > 0.05$, 未见交互作用 (即增强作用)。表明黄芪总皂苷和三七总皂苷配伍对于实验性大鼠脑血栓形成的协同保护作用属于相加作用。

4 讨论

脑缺血后的再灌注损伤已经成为临床中风病人治疗的瓶颈。尽管对再灌注损伤的机制进行了深入的研究, 药物学家根据种种机制研究了众多的药物, 但单一应用这些药物, 仍未能取得满意的临床疗效。有学者认为再灌注损伤的机制复杂, 针对某一机制、作用范围窄的药物很难有效地抑制再灌注损伤的发展, 认为多种不同机制药物的配伍应用, 是未来抑制脑缺血再灌注损伤药物研究的一个发展方向。

中医学历来重视药物的配伍应用。自清代王清任创建补阳还五汤治疗中风后, 益气活血法在临床得到了广泛的应用, 两类药物配伍多呈现出确切的增效效果。中医认为机体对疾病的抵抗能力是气的本质, 在中风病的发展过程中, 多种抗病能力的下降, 是中风气虚的病机。黄芪总皂苷提高小鼠局灶

性脑缺血脑组织中 SOD 的活力, 清除蓄积的过氧化脂质^[6]; 提高血浆中 PGI₂ 和 NO 的水平, 降低 TXA₂/PGI₂ 比值^[7], 通过提高衰减的抗病能力, 阻碍中风的发展。和具有活血化瘀作用的三七总皂苷合用, 符合益气活血的配伍原则。

三七总皂苷能够特异性地阻断细胞膜上受体依赖性钙离子通道, 抑制钙离子内流, 阻断内源性 IP₃ 途径, 阻断内质网释钙^[8]; 而黄芪总皂苷对膜的钙离子通道没有明显的影响, 但可以抑制异丙肾上腺素引起的肌浆网的释钙^[9]。提示, 两种药物的抗脑缺血作用存在不同的机制, 配伍应用, 能够从不同环节阻碍缺血细胞的病理变化, 具有产生协同作用的可能。梗塞百分率能够准确反映动物局灶性脑缺血脑组织的损伤程度, 均匀设计分析能够判断出药物配伍的最佳组合, 析因设计分析能对这种组合的配伍关系给出明确的判断。本研究结果发现, 黄芪总皂苷和三七总皂苷配伍后能降低模型大鼠脑梗死百分率, 表现出相加的协同作用。

[参考文献]

- [1] 冀秀萍, 张铎雄. 黄芪和血塞通注射液联合治疗脑梗塞 60 例[J]. 中国新医药, 2004, 3(3): 108.
- [2] 赵丽红. 黄芪注射液和血塞通注射液合用治疗急性脑梗塞临床观察[J]. 内蒙古中医药, 2001, 20(增刊): 7.
- [3] 楚海波, 苏永立, 董华丽. 黄芪注射液加血塞通治疗急性脑梗塞 82 例[J]. 中国中医急症, 2000, 9(3): 130.
- [4] Luo YM, Qin Z, Hong Z, et al. A stragaloside IV protects against ischemic brain injury in a murine model of transient focal ischemia[J]. Neuro science Letters. 2004, 363 (3): 218-223.
- [5] 陈国俊, 秦震, 陈毓群, 等. 黄芪皂甙对大鼠 MCAO/IR 模型氨基酸含量的影响——活体微透析研究[J]. 临床神经病学杂志, 1998, 11 (2): 67.
- [6] 罗玉敏, 秦震. 黄芪甲苷对局灶性脑缺血小鼠脑组织超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 中华神经科杂志, 1999, 32(1): 47.
- [7] 高健, 徐先祥, 徐先俊, 等. 黄芪总皂苷抗血栓形成作用的实验研究[J]. 中成药, 2002, 24(2): 116.
- [8] 吕明德, 黄嘉凌, 肖定璋, 等. 三七总皂苷抑制肝细胞钙超载的机制[J]. 中国药理学通报, 1999, 15(2): 150-152.
- [9] 孟丹, 陈相健, 杨笛, 等. 黄芪总皂苷对培养心肌细胞钙超载的影响[J]. 中国临床康复, 2004, 8(3): 462-463.