

· 药剂与炮制 ·

基于生大黄、酒大黄对 ICH 大鼠的脑保护作用 探讨“酒制升提”理论

汪坤^{1,2}, 胡昌江¹, 赵旭², 崔应麟^{2*}

(1. 成都中医药大学, 成都 611137; 2. 河南省中医院, 郑州 450002)

[摘要] **目的:**研究生大黄、酒大黄提取液对脑出血(ICH)模型大鼠脑保护作用的差异,探讨大黄“酒制升提”理论的内涵。**方法:**Wistar 雄性大鼠建立 ICH 模型,用生大黄、酒大黄提取液进行干预,并随机分成 6 组(空白组、假手术组、模型组、生大黄组、酒大黄组、安宫牛黄丸组);脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记(TUNEL)检测海马组织神经细胞凋亡的情况,免疫组化法检测出血侧脑组织紧密连接附着蛋白-1(ZO-1)和血管内皮钙黏蛋白-2(VE-cadherin-2)蛋白表达情况,蛋白免疫印迹试验(Western blot)检测出血侧脑组织还原型辅酶 II(NADPH)氧化酶 2(NOX2)和肿瘤坏死因子- α 刺激基因 6(TSG-6)蛋白的表达,全自动酶标仪检测 ICH 大鼠血清中还原型谷胱甘肽(GSH)含量;研究生大黄、酒大黄对 ICH 大鼠脑保护作用的差异。**结果:**与假手术组比较,模型组大鼠海马组织神经细胞凋亡指数显著增加($P < 0.01$),ZO-1 表达量显著下降($P < 0.01$),NOX2 蛋白表达量显著升高($P < 0.01$),TSG-6 蛋白表达量显著下降($P < 0.01$),GSH 的含量显著下降($P < 0.01$);同模型组比较,酒大黄、生大黄均能显著降低 ICH 大鼠海马组织的神经细胞凋亡指数($P < 0.01$),均显著升高 ZO-1 蛋白表达($P < 0.01$),升高 VE-cadherin-2 蛋白表达($P < 0.05$),显著降低 NOX2 蛋白的表达($P < 0.01, P < 0.05$),显著升高 TSG-6 蛋白的表达($P < 0.05$),显著升高 GSH 含量($P < 0.01$)。**结论:**生大黄、酒大黄对 ICH 大鼠模型均具有脑保护作用,但酒大黄的脑保护作用略优于生大黄,为探讨大黄“酒制升提”理论提供了实验依据。

[关键词] 酒制升提; 脑出血; 脑保护; 血脑屏障; 大黄; 提取液; 酒制品

[中图分类号] R22;R285;R283;R943.1;R96 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)06-0130-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20182405

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180927.1137.009.html>

[网络出版时间] 2018-09-27 16:23

Discussion on Theory of “Wine Processing Could Promote Efficacy” Based on Brain Protective Effect of Raw and Wine-processed Products of Rhei Radix et Rhizoma on ICH Rats

WANG Kun^{1,2}, HU Chang-jiang¹, ZHAO Xu², CUI Ying-lin^{2*}

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 611137, China;

2. Henan Province Hospital of TCM, Zhengzhou 450002, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the difference of effect of raw and wine-processed products of Rhei Radix et Rhizoma extract on brain protection of rats with intracerebral hemorrhage (ICH) and the connotation of the theory of “wine processing could promote efficacy” of Rhei Radix et Rhizoma. **Method:** Wistar male rats were used to establish the ICH model, extracts of raw and wine-processed products of Rhei Radix et Rhizoma were used for intervention, and these rats were randomly divided into 6 groups (blank group, sham-operated group, model

[收稿日期] 20180603(006)

[基金项目] 国家自然科学基金项目面上项目(8157150811);河南省中医药科学研究专项(2018ZY2053);2017年度河南中医药大学苗圃工程项目(MP2017-13)

[第一作者] 汪坤,在读博士,主管药师,从事中药炮制及临床应用研究,Tel:0371-60908834,E-mail:china33333wang@126.com

[通信作者] *崔应麟,博士生导师,教授,从事中医药防治脑病学的临床与研究, Tel:0371-60908801,E-mail:18939255010@139.com

group, raw Rhei Radix et Rhizoma group, wine-processed Rhei Radix et Rhizoma group and Angong Niuhuangwan group). Then the apoptosis of hippocampal neurons was detected by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) assay. The expression of zonula occludens-1 (ZO-1) and vascular endothelial cadherin-2 (VE-cadherin-2) in the hemorrhagic brain tissue was detected by immunohistochemical assay. The expression of reduced form of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase 2 (NOX2) and tumor necrosis factor- α stimulated gene-6 (TSG-6) in the hemorrhagic brain tissue was detected by Western blot. The content of glutathione (GSH) in the serum of ICH rats was detected by automatic enzyme-linked immunosorbent assay systems. Through these above methods, we investigated the differences between raw products and wine-processed products on brain protection of ICH rats. **Result:** Compared with the sham-operated group, the apoptosis index of the hippocampal neurons in the model group were increased significantly ($P < 0.01$), the expression of ZO-1 was decreased significantly ($P < 0.01$), the expression of NOX2 protein was increased significantly ($P < 0.01$), the expression of TSG-6 protein was decreased significantly ($P < 0.01$), the content of GSH was also decreased significantly ($P < 0.01$). Compared with the model group, raw and wine-processed products of Rhei Radix et Rhizoma could reduce the apoptosis index of hippocampal neurons ($P < 0.01$), increase the expression of ZO-1 ($P < 0.01$) and VE-cadherin-2 protein ($P < 0.05$), decrease the expression of NOX2 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), increase the expression of TSG-6 protein ($P < 0.05$) and increase the content of GSH ($P < 0.01$) in ICH rats. **Conclusion:** The raw and wine-processed products of Rhei Radix et Rhizoma all have brain protective effect on ICH rat model, but the protective effect of wine-processed products is slightly better than that of raw products. The result of this study provides experimental basis for exploring the theory of “wine processing could promote efficacy” of this herb.

[**Key words**] wine processing could promote efficacy; intracerebral hemorrhage; cerebral protection; blood-brain barrier; Rhei Radix et Rhizoma; extract; wine-processed products

“酒制升提”是中药炮制的基本理论之一。虽然由明代陈嘉谟在其所著的《本草蒙筌》中首次提出,但最早在张仲景的瓜蒌薤白白酒汤已有用白酒“取其色白而上通于胸肺”的记载^[1]。金代医学家李杲在其《用药法象》中亦提出“病在头面及手梢皮肤者,须用酒炒之,借酒力以上腾也”^[2]。然而近代有曾大安^[3]、张学顺^[4]等对“酒制升提”理论进行了阐述,对该理论提出了一些反对意见。目前,关于“酒制升提”理论的研究较少,且主要集中在对酒制前后的物质基础变化方面^[5-6]。

大黄是公认的酒制之后起升提作用的中药^[4]。吴育等^[7]通过给大鼠灌胃酒大黄后,研究大黄中化学成分在不同组织(心、肝、脾、肺、肾)的分布差异,结果发现芦荟大黄素、大黄酸和大黄素在心、肺的分布高于生大黄,推测酒大黄适宜治疗上焦病症。但对大黄“酒制升提”的药效作用及其作用原理还有待更加深入的研究。研究报道大承气汤和大黄素均对脑出血大鼠具有一定的治疗作用^[8]。本实验建立病位在上的脑出血(ICH)大鼠模型,生大黄、酒大黄提取液分别灌肠干预,研究大黄酒制前后对 ICH 大鼠神经细胞保护作用的差异,从药效评价方面来

探讨大黄的“酒制升提”理论,并分析其作用机制。

1 材料

Multiskan MK3 型全自动酶标仪(美国 Thermo 公司),DYCZ-24DN 型垂直电泳槽和 DYCZ-40B 型电转仪(北京六一仪器厂),BX53 型生物显微镜(日本奥林巴斯公司),RM2016 型转轮式切片机(德国 Leica 公司),ZH-蓝星 D 型动物脑立体定位仪(安徽正华生物仪器设备有限公司),CPA324S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),H1650 型离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

VII 型胶原酶和 Harris 苏木素(美国 Sigma 公司,批号分别为 C5138, H9627),水合氯醛、多聚甲醛(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为 T8590, P8430),细胞凋亡检测试剂盒(上海翊圣生物科技有限公司,批号 40306ES50),血管内皮钙黏蛋白-2 (VE-cadherin-2) 抗体(Novus 公司,批号 NBP-77002),兔多抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(杭州贤至生物科技有限公司,批号 AB-P-R001),紧密连接附着蛋白-1(ZO-1)抗体、兔多抗还原型辅酶 II (NADPH) 氧化酶 2 (NOX2) 抗体、兔多抗肿瘤坏死因子- α 刺激基因 6 (TSG-6) 抗体(武汉

三鹰生物技术有限公司,批号分别为 19013-1-AP, 13321-1-AP, 21773-1-AP),辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔二抗、二氨基联苯胺(DAB)显色剂(武汉博士德生物工程有限公司,批号分别为 BA1054, BST12I27C68),还原型谷胱甘肽(GSH)测试试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 A006-2),包埋石蜡(国药集团化学试剂有限公司,批号 69019361), 4',6-联脒-2-苯基吡啶二盐酸盐(DAPI,上海碧云天生物技术有限公司,批号 C1002),抗荧光淬灭封片剂(SouthernBiotech 公司,批号 0100-01),化学发光(ECL)底物液(美国 Thermo 公司,批号 NCI5079),安宫牛黄丸(北京同仁堂科技发展有限公司制药厂,批号 16011928)。大黄购自安徽普仁中药饮片有限公司(批号 161217),经河南省中医院黄小敏副主任药师鉴定为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* 的干燥根及根茎;酒大黄按 2015 年版《中国药典》(一部)项下酒炙法(通则 0213)方法炮制。

雄性 Wistar 大鼠,体质量 250 ~ 300 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2016-0011。所有动物实验经河南省中医院(河南中医药大学第二附属医院)伦理委员会批准后进行。

2 方法

2.1 药物制备 称取大黄生品 80 g,依次加 75% 乙醇 1.0,0.8 L 回流提取 2 次,每次 1 h,合并提取液,过滤;减压浓缩至生药质量浓度为 $0.9 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,得生大黄提取液;酒大黄提取液的制备方法同生品;安宫牛黄丸用生理盐水配成质量浓度为 $0.18 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混悬液。

2.2 动物分组、给药及取样 Wistar 大鼠随机分成 4 组,每组 12 只,分别为模型组、生大黄组、酒大黄组、安宫牛黄丸组;另设空白组 6 只,假手术组 6 只。生大黄组(生大黄提取液, $3.60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),酒大黄组(酒大黄提取液, $3.60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),安宫牛黄丸组(安宫牛黄丸混悬液, $0.72 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),模型组(生理盐水),空白组(生理盐水)和假手术组(生理盐水)连续灌肠 3 d(每天 1 次)后造模,造模成功后再给药 3 d,最后 1 次给药结束后,每只大鼠取尾静脉血清 2 mL;每组大鼠取 6 只进行出血侧脑组织石蜡切片处理,剩余 6 只出血侧脑组织提取总蛋白。

2.3 ICH 大鼠模型的制备 Wistar 大鼠用 4% 水合氯醛腹腔麻醉($8 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),脑立体定位仪固定,备皮后头皮正中切开皮肤,于前囟前 0.2 mm 中线旁开 3 mm 处钻一直径约 1 mm 的小孔,用微量注射器

沿钻孔将 VII 型胶原酶 $0.5 \mu\text{L}$ 缓慢注入尾状核,留针 10 min,缓慢退针后缝合头皮。采用 Longa 五级评分法评价 ICH 大鼠模型是否造模成功。假手术组除不注射 VII 型胶原酶外其余步骤同上。

2.4 检测海马组织神经细胞凋亡水平 将 ICH 大鼠出血侧脑组织用 8 倍量 4% 多聚甲醛固定 24 h,组织进行升醇系列脱水,通透,浸蜡,石蜡包埋,切片,脱蜡,磷酸盐缓冲液(PBS)润洗切片后每个样本加 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 蛋白酶 K 溶液室温孵育 20 min,用 PBS 润洗样本,用滤纸吸干多余液体,按照细胞凋亡检测试剂盒说明书加入 TUNEL 反应液孵育,DAPI 液染核,避光反应 5 min,用含有荧光淬灭剂的封片液封片,然后在荧光显微镜下观察并采集图像。组织切片上凋亡的细胞呈绿色荧光,细胞核呈蓝色荧光。运用常规的标记指数(LI)表示,选取 3 个高倍视野(400 倍),每个高倍视野计数视野所有细胞,计数各视野的 LI。LI = 各视野阳性细胞数/视野所有细胞,每个病例的凋亡指数(AI)等于各视野 LI 的平均值。

2.5 检测 ICH 大鼠出血侧脑组织中 ZO-1 和 VE-cadherin-2 的表达 将出血侧脑组织用 8 倍量 4% 多聚甲醛固定,用升醇系列脱水,石蜡包埋,冠状切片,脱蜡,抗原修复,3% 过氧化氢阻断内源性过氧化物酶,室温孵育 15 min,PBS 冲洗 3 次,正常山羊血清室温封闭 30 min,加入用 PBS 稀释好的一抗 ZO-1 和 VE-cadherin-2(稀释比例分别为 1:100,1:200),在 4 °C 孵育过夜,PBS 冲洗切片,吸水纸擦干切片,滴加 HRP 标记的山羊抗兔二抗室温孵育 20 min,PBS 冲洗切片,甩去 PBS 液,吸水纸擦干切片,每张切片滴加新鲜配制的 DAB 显色剂,显微镜下观察,显色完成后用自来水冲洗切片终止显色,Harris 苏木素复染后脱水,封片,在显微镜下观察并采集图像。

2.6 检测 ICH 大鼠出血侧脑组织中 NOX2, TSG-6 蛋白的表达 将 ICH 大鼠出血侧脑组织用 PBS 漂洗后进行总蛋白提取,测定浓度后进行蛋白变性,取每个样品总蛋白 $40 \mu\text{g}$ 加入电泳槽的上样孔,进行电泳分离;将样品凝胶中的蛋白转印至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(转膜条件为 GAPDH, TSG-6 200 mA, 90 min; NOX2 200 mA, 120 min);PVDF 膜封闭液于室温摇床封闭 2 h。用封闭液稀释相应的一抗(各稀释比例, GAPDH, 1:1 000; TSG-6, 1:600; NOX2, 1:600),使 PVDF 膜浸泡于一抗孵育液中,4 °C 孵育过夜;封闭液洗涤 PVDF 膜 6 次,每次 5 min;急用

封闭液稀释相应的 HRP 标记二抗 1:50 000 稀释,使 PVDF 膜浸泡于二抗孵育液中,37 °C 摇床孵育 2 h;封闭液洗涤 PVDF 膜 6 次,每次 5 min。将 ECL 试剂中增强液与稳定的过氧化物酶溶液按比例 1:1 混匀,滴加工作液于 PVDF 膜上,反应至荧光带明显后,用滤纸吸去多余的底物液,覆上保鲜膜,X 光胶片压片后依次放入显影液显影、定影液定影,冲洗胶片。晾干胶片,扫描胶片,用 BandScan 5.0 软件分析胶片灰度值。以目的蛋白灰度值/GAPDH 灰度值表示蛋白相对表达量。

2.7 检测血清中 GSH 含量 将 ICH 大鼠出血侧脑组织用 PBS 冲洗,去除残留血液,称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与 9 倍量 PBS 加入玻璃匀浆器中,于冰上充分研磨,将匀浆液于 5 000 r·min⁻¹ 离心 5 ~

10 min,取上清,备用;取匀浆上清液 0.1 mL,加入试剂一 0.1 mL,混匀,3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液 0.1 mL 按 GSH 测试试剂盒说明书进行显色反应,用全自动酶标仪于 450 nm 测定各组吸光度 A。

2.8 统计学分析 数据用 SPSS 18.0 软件进行处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,各组与模型组作比较,*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

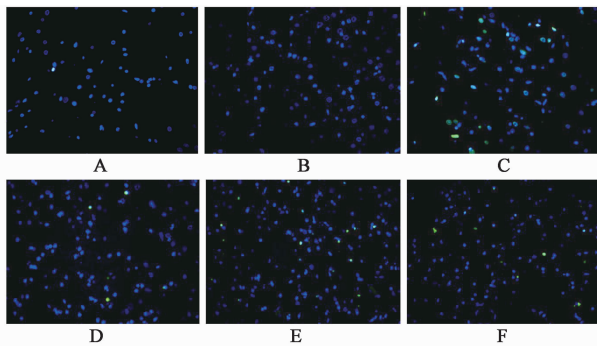
3.1 对脑出血大鼠海马组织神经细胞凋亡的影响 与假手术组比较,模型组大鼠海马组织 AI 升高 (*P* < 0.01);与模型组比较,生大黄组、酒大黄组、安宫牛黄丸组海马组织 AI 显著下降 (*P* < 0.01),见表 1 和图 1。

表 1 生大黄、酒大黄干预对 ICH 大鼠出血侧脑组织神经细胞凋亡及其他生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of intervention of raw and wine-processed products of Rhei Radix et Rhizoma on neuronal apoptosis and other biochemical indexes in hemorrhagic lateral brain tissue of ICH rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	给药剂量 /g·kg ⁻¹	AI	ZO-1	VE-cadherin-2	TSG-6 /GAPDH	NOX2 /GAPDH	GSH /μmol·L ⁻¹
空白	-	0.88 ± 0.33	0.012 8 ± 0.001 7	0.014 2 ± 0.004 8	0.719 0 ± 0.035	0.335 5 ± 0.010	154.50 ± 14.71
假手术	-	1.36 ± 0.50	0.010 4 ± 0.000 9	0.014 9 ± 0.002 9	0.684 0 ± 0.028	0.345 5 ± 0.033	146.31 ± 15.61
模型	-	39.18 ± 5.14 ¹⁾	0.003 7 ± 0.000 5 ¹⁾	0.009 7 ± 0.004 6	0.434 0 ± 0.060 ¹⁾	0.649 0 ± 0.009 ¹⁾	82.10 ± 7.05 ¹⁾
生大黄	3.60	17.71 ± 3.01 ³⁾	0.011 5 ± 0.002 4 ³⁾	0.016 4 ± 0.004 8 ²⁾	0.561 0 ± 0.001 ²⁾	0.583 5 ± 0.012 ²⁾	111.92 ± 3.58 ³⁾
酒大黄	3.60	16.13 ± 4.82 ³⁾	0.012 1 ± 0.000 4 ³⁾	0.017 2 ± 0.005 1 ²⁾	0.543 5 ± 0.061 ²⁾	0.494 5 ± 0.020 ³⁾	118.02 ± 10.18 ³⁾
安宫牛黄丸	0.72	8.72 ± 0.91 ³⁾	0.012 6 ± 0.003 4 ³⁾	0.019 6 ± 0.001 7 ²⁾	0.661 5 ± 0.033 ³⁾	0.439 0 ± 0.031 ³⁾	114.72 ± 9.86 ³⁾

注:与假手术组比较¹⁾ *P* < 0.01;与模型组比较²⁾ *P* < 0.05, ³⁾ *P* < 0.01。



A. 空白组; B. 假手术组; C. 模型组; D. 安宫牛黄丸组; E. 生大黄组; F. 酒大黄组 (图 2~4 同)

图 1 生大黄、酒大黄干预对 ICH 大鼠出血侧脑组织神经细胞凋亡的影响

Fig. 1 Effect of intervention of raw and wine-processed products of Rhei Radix et Rhizoma on neuronal apoptosis in hemorrhagic brain tissue of ICH rats

3.2 对脑出血大鼠出血侧脑组织 ZO-1, VE-cadherin-2 蛋白表达的影响 与假手术组比较,

模型组大鼠 ZO-1 蛋白表达显著下调 (*P* < 0.01);与模型组比较,生大黄组、酒大黄组、安宫牛黄丸组 ZO-1 蛋白表达显著上调 (*P* < 0.01), VE-cadherin-2 蛋白表达上调 (*P* < 0.05),见表 1 和图 2,3。

3.3 对 ICH 大鼠出血侧脑组织 TSG-6, NOX2 表达的影响 与假手术组比较,模型组 TSG-6 表达显著下调 (*P* < 0.01),NOX2 表达显著上调 (*P* < 0.01);与模型组比较,安宫牛黄丸组、生大黄组、酒大黄组 TSG-6 表达显著上调 (*P* < 0.05, *P* < 0.01),NOX2 表达显著下调 (*P* < 0.05, *P* < 0.01),见表 1 和图 4。

3.4 对脑出血大鼠血清中 GSH 表达的影响 与假手术组比较,模型组大鼠血清中 GSH 含量显著下降 (*P* < 0.01);与模型组比较,生大黄组、酒大黄组、安宫牛黄丸组血清中 GSH 含量均能显著升高 (*P* < 0.01),见表 1。

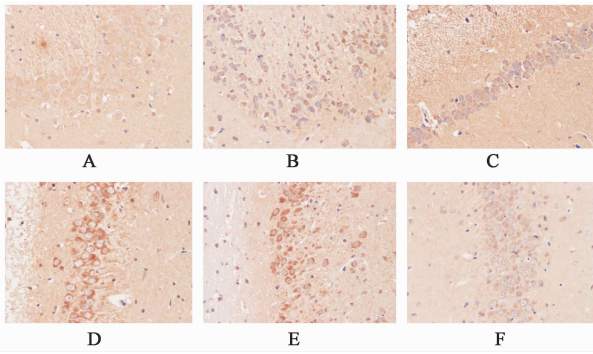


图 2 生大黄、酒大黄干预对 ICH 大鼠脑组织 ZO-1 蛋白表达的影响
Fig.2 Effect of intervention of raw and wine-processed products of Rhei Radix et Rhizoma on expression of ZO-1 in hippocampus of ICH rats

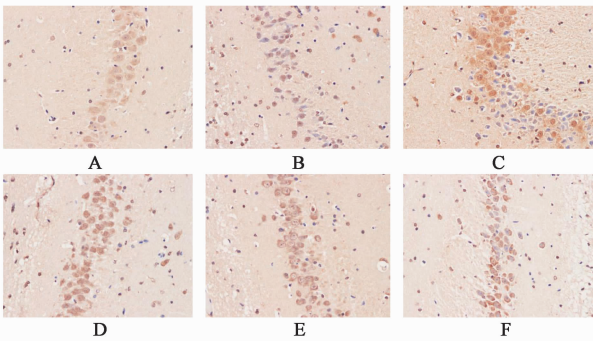


图 3 生大黄、酒大黄干预对 ICH 大鼠脑组织 VE-cadherin-2 蛋白表达的影响
Fig.3 Effect of intervention of raw and wine-processed products of Rhei Radix et Rhizoma on expression of VE-cadherin-2 protein in hippocampus of ICH rats

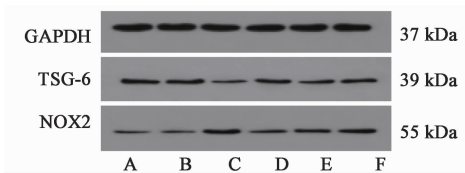


图 4 生大黄、酒大黄对 ICH 大鼠脑组织 TSG-6、NOX2 表达的影响
Fig.4 Effect of raw and wine-processed products of Rhei Radix et Rhizoma on expression of TSG-6 and NOX2 in brain tissue of ICH rats

4 讨论

中药炮制理论是随着历代医学知识的发展和宝贵经验的积累而形成的,不同时期的著名医家都对“酒制升提”理论进行了著述,说明该理论的形成有着一定的中医临床实践基础。然而目前大部分药物应用酒炙法的炮制目的或为增强活血通络作用、或为矫臭去腥,或为缓和药性,其中引药上行的作用多停留在理论层面,尚未得到有效证明,其作用内涵也不明确。根据中药炮制的辅料作用论,“酒制升提”

是指中药酒制后可以引药上行。故本研究建立了病位在上的 ICH 大鼠模型,以生大黄、酒大黄提取液分别灌肠干预,研究大黄对 ICH 大鼠的脑保护作用,并初步探索大黄的“酒制升提”理论。

临床研究发现,大黄浸出液保留灌肠可以改善急性脑出血患者神经系统功能缺损评分^[9]。药理研究表明大黄对脑出血大鼠的脑保护作用与抗氧化、抗炎、减轻脑水肿、保护血脑屏障、抑制神经细胞凋亡等有关^[10]。完整的血脑屏障对于使脑组织避免受到有害物质的损害具有重要意义。ZO-1 是形成血脑屏障重要的紧密连接蛋白,VE-cadherin-2 是重要的黏附连接蛋白,二者的表达对于保持血脑屏障的完整性至关重要^[11-12]。脑出血后凝血酶活化,炎症因子释放,细胞发生氧化应激损伤,基质金属蛋白酶家族(MMPs)表达上调,引起血脑屏障的破坏,进一步引起神经细胞凋亡^[13]。TSG-6 是一种抗炎活性细胞因子,研究发现外源性 TSG-6 对脑出血大鼠具有一定的脑保护作用^[14]。NOX 家族是细胞内活性氧簇(ROS)的重要来源,其中 NOX2 在神经系统高表达,抑制 NOX2 的活性具有一定神经保护作用^[15-16]。

本研究通过对造模后各实验组大鼠脑组织的细胞凋亡,免疫组化检测,Western blot 检测,GSH 含量测定等结果的统计与分析,发现了模型组大鼠脑组织细胞 AI 升高,ZO-1 及 VE-cadherin-2 蛋白表达下降,抗炎活性细胞因子 TSG-6 表达减少,NOX2 因子表达增加,GSH 含量降低。实验结果显示酒大黄、生大黄均对大鼠缺血脑组织的神经凋亡起到了抑制作用,对 ZO-1 及 VE-cadherin-2 蛋白表达,TSG-6 因子的表达有一定的促进作用,抑制 NOX2 的活性,继而发挥其脑保护作用;同时结果也显示,酒大黄促 ZO-1 和 VE-cadherin-2 蛋白表达作用、抗炎、抗氧化均略强于生大黄,推测大黄酒制后可能对病位在上的 ICH 大鼠模型具有一定选择性,发挥了引药上行的作用;或是大黄酒制之后物质基础发生的变化,有利于对 ICH 大鼠的脑保护作用,但关于大黄炮制前后的物质基础变化与药效变化的相关性有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 黄竹斋.金匱要略方论集注[M].北京:人民卫生出版社,1957:124.
[2] 王好古.汤液本草[M].北京:人民卫生出版社,1956:33.

- [3] 曾大安. 酒制升提质疑[J]. 中药通报, 1985, 10(3): 19-20.
- [4] 张学顺. 也谈“酒制升提”[J]. 中药通报, 1987, 12(3): 154-155.
- [5] 李丽, 肖永庆. 大黄饮片炮制前后物质基础变化规律研究[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(4): 803-813.
- [6] 赵楠, 张晓哲, 胡昌江, 等. 运用代谢组学技术研究发现炮制引起大黄多成分变化[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(9): 1607-1613.
- [7] 吴育, 彭晓清, 姜晓燕, 等. 酒制对大黄中游离蒽醌在大鼠体内组织分布的影响[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(8): 1603-1608.
- [8] 杨树升. 大承气汤及大黄素对大鼠脑出血的治疗作用及对 Nrf2/Src/MAPJs 通路的影响[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2016.
- [9] 高志清. 大黄保留灌肠治疗急性期脑出血的临床观察[J]. 内蒙古中医药, 2017, 36(1): 57-58.
- [10] 袁梦果, 李健香, 顾恒, 等. 大黄治疗脑出血的脑保护作用及其机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(7): 1766-1768.
- [11] 李跃, 孙景波, 黄燕. 益脑康胶囊对脑梗死大鼠溶栓后血脑屏障的保护作用及对 ZO-1 蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 268-271.
- [12] 樊凯芳, 李晓亮, 梁晓东, 等. 三化汤对大鼠脑缺血再灌注后血脑屏障损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 181-184.
- [13] 许兵, 张俞, 杜久林. 血脑屏障的研究进展[J]. 生理学报, 2016, 68(3): 306-322.
- [14] 李东辉. TSG-6 对脑出血大鼠血脑屏障的保护作用[J]. 神经损伤与功能重建, 2016, 11(6): 476-479.
- [15] 冯晓帆, 柳春, 赵丹玉, 等. 苦荞麦总黄酮对软脂酸诱导的脐静脉内皮细胞 NOX4 蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(9): 106-110.
- [16] 戚之琳, 刘银华, 齐世美, 等. 红景天苷通过抑制 NOX2-ROS-MAPKs 信号途径保护 H₂O₂ 诱导的 PC12 细胞凋亡[J]. 南方医科大学学报, 2017, 37(2): 178-183.

[责任编辑 刘德文]