

- [13] 张克荣,刘荣霞,许俊博,等. RP-HPLC 同时测定赤芍 3 种化学成分[J]. 中国药学杂志,2003,38(10):793-795
- [14] 董彬,孙素琴,周红涛,等. 红外光谱和聚类分析法无损快速鉴别赤芍[J]. 光谱学与光谱分析,2002,22(2):232-234.
- [15] 徐永群,黄昊,周群,等. 红外指纹图谱和聚类分析法在赤芍产域分类鉴别中的应用[J]. 分析化学研究报告,2003,31(1):5-9.
- [16] 邹忠梅,徐丽珍,杨世林. 芍药总苷高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 药学报,2003,38(1):46-49.
- [17] ZHANG K R, BI K S. Study on fingerprints of *Redix Paeoniae Rubra* by HPLC[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2003,34(11):1048-1051.
- [18] 徐先祥,夏伦祝,高家荣,等. 黄芪总苷和赤芍总苷协同抗血小板作用研究[J]. 中药材,2002,25(9):653-655.
- [19] 朱剑华,王安莲. 赤芍水溶性提取液的诱变性和抗诱变性研究[J]. 安徽预防医学杂志,1998,4(1):49-51.
- [20] 杨大国,王林杰,宋为云,等. 重用赤芍治疗慢性肝炎纤维化前后肝组织学的比较[J]. 中国中西医结合杂志,1994,14(4):207-209.
- [21] 张永艳,赵文霞. 赤芍防治肝病的作用及机制研究[J]. 陕西中医,2003,24(7):655-656.
- [22] 胡梅雪. 活血化瘀法治疗肝纤维化[J]. 中医药学报,1998,19(2):13.
- [23] WANG R, CHOU G X, ZHU E Y, et al. A new phenolic glycoside from the roots of *Paeonia veitchii*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2006,8(3):277-280.
- [24] LI X R, LIANG Y Z, GUO F Q. Analysis of volatile oil in *Rhizoma ligustici chuanxiong*-*Radix paeoniae rubra* by gas chromatography-mass spectrometry and chemometric resolution[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006,27(4):491-498.
- [25] GENFA L, JJANG Z, HONG Z, et al. The screening and isolation of an effective anti-endotoxin monomer from *Radix Paeoniae Rubra* using affinity biosensor technology[J]. *Int Immunopharmacol*, 2005,5(6):1007-1017.
- [26] HAYES PY, LEHMANN R, PENMAN K, et al. RP-HPLC detection of a sulphiting-induced artefact from paeoniflorin in dried roots of *Paeonia lactiflora*[J]. *Phytochem Anal*, 2006,17(4):251-254.
- [27] 谢文光,马晓昌,邵宁生,等. 赤芍治疗热毒血瘀证的血清蛋白质组变化的研究[J]. 中国中西医结合杂志,2005,25(6):520-524.
- [28] 朱慧民,祝彼得. 赤芍防止高脂喂养兔颈总动脉球囊损伤术后血管狭窄的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志,2004,24(6):538-540.
- [29] 周红涛,胡世林,冯学锋,等. 不同产地赤芍的 FTIR 指纹图谱对比分析[J]. 中草药,2002,33(9):725-726.

## 厚朴酚与和厚朴酚对脑缺血-再灌注损伤作用的研究进展

孙罗琼,崔 岚

(上海交通大学医学院附属仁济医院药剂科,200127)

**[摘要]** 通过查阅文献,介绍厚朴酚与和厚朴酚在脑缺血-再灌注损伤中的保护作用,探讨它们对兴奋性氨基酸毒性、自由基、细胞内钙超载、炎症、一氧化氮合酶过度激活及神经细胞凋亡等引起脑缺血-再灌注损伤的多个环节的作用。

**[关键词]** 厚朴酚;和厚朴酚;脑缺血-再灌注;损伤

**[中图分类号]** R971

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2008)01-0069-03

厚朴酚(magnolol, MG)与和厚朴酚(honokiol, HK)是我国传统中药厚朴的两个主要活性成分,具有抗菌、抗炎、抗肿瘤、松弛肌肉、降胆固醇和抗衰老等广泛的药理作用。笔者就 MG 与 HK 在脑缺血-再灌注损伤中的作用和作用机制综述如下。

### 1 对脑缺血-再灌注损伤的保护作用

张广钦等<sup>[1]</sup>研究了 MG 对脑缺血的保护作用,他们采用小鼠常压耐低氧实验,测定小鼠氧耗量及存活时间;小鼠双侧颈总动脉结扎引起急性不完全脑缺血模型,测定小鼠死亡时间;大鼠大脑中动脉阻塞法(MCAO)造成局灶性脑缺血模型。结果发现:MG 能明显延长小鼠的存活时间,减少氧耗量,提高小鼠

的耐低氧能力,并呈剂量依赖性。与缺血对照组比较,25,50,100 mg·kg<sup>-1</sup> MG 均能明显延长小鼠急性不完全脑缺血的存活时间,延长率分别为 117%,242% 和 330%,尼莫地平组的延长率为 303%。3 个剂量 MG 组和尼莫地平组对再灌注 4 和 24 h 后 MCAO 大鼠行为功能缺陷均有不同程度的改善,肌力明显增加。与缺血对照组比较,25 mg·kg<sup>-1</sup> MG 使 MACO 大鼠脑梗死范围缩小 3.8%,差异无显著性;50,100 mg·kg<sup>-1</sup> MG 和尼莫地平组均抑制脑梗死的形成,梗死范围分别缩小 14.5%,24.2% 和 20.2%。同时,3 个剂量 MG 组及尼莫地平组明显抑制脑水肿,使脑组织含水量分别减少 1.0%,1.8%,2.8% 和 3.1%。病理学组织检查显示,MG 能改善脑缺血造成的大鼠神经细胞的损伤,减少组织坏死。对局灶性脑缺血-再灌注模型进一步研究发现,MG 能有效改善局灶性脑缺血-再灌注大鼠模型再灌注后

**[收稿日期]** 2007-02-05

**[作者简介]** 孙罗琼(1967-),女,上海人,主管药师,从事医院药学工作。电话:021-68383125, E-mail:alexdd1967@yahoo.com.cn。

3, 6 和 24 h 出现的行为功能障碍, 提高肌张力, 尤其以 3 和 6 h 最为明显; 病理组织学检查发现, MG 能剂量依赖性改善缺血-再灌注大鼠脑细胞损伤, 减轻胞体肿胀及核固缩、核溶解程度, 减少软化灶形成及中性粒细胞浸润<sup>[2]</sup>。

LIU 等<sup>[3]</sup>研究发现 HK 对大鼠大脑缺血病灶有保护作用。分别于大鼠右侧中动脉闭塞前 15 min 或去除颈动脉夹后静脉内给予剂量为  $10^{-7}$  和  $10^{-6} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  的 HK 均能使梗死体积显著缩小。在大脑缺血-再灌注损伤的大鼠模型中, 大脑中动脉闭塞前 15 min 或闭塞后 60 min 静脉注射 HK ( $0.01 \sim 1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 能剂量依赖性减少梗死总体积 20% ~ 70%<sup>[4]</sup>。

## 2 作用机制

现已明确, 脑缺血-再灌注损伤涉及兴奋性氨基酸毒性、自由基、细胞内钙超载、炎症、一氧化氮合酶 (NOS) 过度激活、神经细胞凋亡等多种机制。近年来研究发现, MG 与 HK 对脑缺血-再灌注损伤的保护作用与以上多个环节均有关。

**2.1 抗氧化和抗自由基作用** 脑缺血-再灌注损伤的原因多种多样, 其中氧自由基造成的损伤是其主要的机制之一。自由基能攻击脑细胞膜的不饱和脂肪酸, 使之发生脂质过氧化反应, 细胞膜结构受到破坏, 使膜的通透性增加, 从而导致组织水肿、坏死, 细胞结构和功能遭到破坏。此外, 能量代谢障碍继而引发乳酸堆积, 加重脑水肿, 它与钙超载及自由基之间的相互作用可导致更为广泛的脑损伤。随着对缺血性脑损伤机制研究的深入, 抗氧化药物在治疗脑缺血尤其是脑缺血-再灌注中的疗效, 越来越得到普遍的认可。

MG 对植物油具有一定的抗氧化作用, 在常温抗氧化条件下, MG 对植物油的抗氧化效果与维生素 E 相近; 在高温强氧化条件下, MG 依然对植物油表现出抗氧化作用, 这些结果说明 MG 具有体外抗脂质过氧化的活性<sup>[5]</sup>。保志娟等<sup>[6]</sup>采用 DPPH 法, 以芦丁为对照品, 在无水乙醇和乙醇-水中对 MG 与 HK 进行了自由基清除活性的初步研究。结果表明: MG 与 HK 都具有自由基清除活性。

张广钦等<sup>[1]</sup>对局灶性脑缺血-再灌注模型研究发现, MO 可明显提高 MACO 大鼠脑组织中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性, 减少脂质过氧化产物丙二醛 (MDA) 的生成, 保护细胞膜免受自由基的损害, 同时提高缺血脑组织中乳酸脱氢酶 (LDH) 的活性, 抑制乳酸的增加, 减少乳酸蓄积。李玉山<sup>[2]</sup>采用线栓法制备大鼠局灶性脑缺血-再灌注模型, 与模型组比较, MG 能抑制脑组织活性氧 (ROS) 和 MDA 的产生, 提高 SOD 活性, 且呈剂量依赖性, 对保护细胞膜免受自由基的损害起着积极作用。在大鼠大脑缺血-再灌注损伤过程中, HK 能阻止脑组织脂质过氧化。在体外, HK ( $0.1 \sim 10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 显著减少趋化三肽 (fMLP) 或 PMA 诱导的中性粒细胞牢固粘附 (一个中性粒细胞浸润的先决条件) 以及中性粒细胞产生 ROS<sup>[4]</sup>。

**2.2 抗炎作用** 脑缺血-再灌注损伤后, 与再灌注有关的急性炎症反应在继发性脑损伤中的作用日益受到重视, 与炎症因子肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素 (IL)-1 $\beta$  有关的炎症反应在继发性脑损伤中起关键的作用。TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  作为炎症反应的起始因子, 检测其含量对衡量脑缺血-再灌注后损伤有重要

意义。国外最近报道, 采用新生大鼠脑胶质细胞体外培养模型发现, 低氧缺糖、缺血与脂多糖比较都能显著引起炎症因子 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  释放。TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  作为体内炎症递质之一, 在脑缺血-再灌注损伤后可促进兴奋性氨基酸释放, 诱导多种细胞表达细胞因子、粘附分子和化学因子的释放。在脑缺血-再灌注模型中, 脑室内给予外源性重组人 IL-1 $\beta$  可促进兴奋性氨基酸释放, 诱导 iNOS 表达, 促进一氧化氮 (NO) 合成和释放, IL-1 $\beta$  还能引起脑梗死灶扩大, 含水量增加, 白细胞粘附和梗死区白细胞浸润增加, 应用 IL-1 $\beta$  中和抗体、IL-1 $\beta$  受体阻滞药或 IL-1 $\beta$  受体抗体, 可明显减小梗死面积, 降低白细胞浸润和脑组织含水量。在自发性高血压大鼠脑缺血后脑室内注射 TNF- $\alpha$ , 再灌注后梗死体积明显增加, 而用单克隆 TNF- $\alpha$  抗体或 I 型可溶性 TNF- $\alpha$  受体阻断内源性 TNF- $\alpha$  的活性, 能阻断 TNF- $\alpha$  诱导的神经元凋亡和炎症反应, 显著减轻脑缺血-再灌注损伤。

李杰萍等<sup>[7]</sup>研究发现: MG ( $10 \sim 100 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 能明显降低激活的中性粒细胞中  $\beta$ -葡糖苷酸酶和溶菌酶的释放。中性粒细胞脱颗粒是炎症过程的一种反应, 释放一些杀灭微生物的酶类, 这些产物又造成自身组织的损伤, 是加剧炎症的次要原因。 $\beta$ -葡糖苷酸酶存在于噬苯胺蓝颗粒, 溶菌酶存在于噬苯胺蓝颗粒和特殊颗粒。实验证明, MG 对  $\beta$ -葡糖苷酸酶和溶菌酶的释放均有抑制, 可能是其抗炎作用机制之一。MG 对白细胞白三烯  $B_4$  (LTB $_4$ ) 和 5-羟二十碳四烯酸 (5-HETE) 的生物合成也有较强的抑制作用, 其  $IC_{50}$  值分别为 8.5 和 3.1  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[8]</sup>。LTB $_4$  和 5-HETE 是花生四烯酸的代谢产物, 是白细胞的趋化剂和激活剂, 在炎症疾病等多种疾病中起重要的作用。

刘可云等<sup>[9]</sup>用线栓法建立大鼠脑缺血-再灌注动物模型, 结果显示: 大鼠脑缺血-再灌注后, 脑组织中 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  含量均逐渐升高, 且 TNF- $\alpha$  的变化较 IL-1 $\beta$  显著, MG 干预后, 在不同的缺血-再灌注时程中均可显著降低大鼠脑组织中 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  的含量, 提示 MG 可通过干预缺血-再灌注后炎症反应过程而起到抗脑缺血-再灌注损伤的作用。

**2.3 对神经细胞的保护作用** 张艳军<sup>[10]</sup>在鼠胚脊髓运动神经元原代培养的实验模型中, 实验组分别加入单味中药提取物, 用 MTT 法观察其对细胞活性的影响。发现 MG 对脊髓运动神经元有保护作用。对周围神经损伤的修复可能有促进作用。

在混合培养的皮肤神经元和星形胶质细胞中, MG 对低氧诱导的细胞损伤有保护作用<sup>[11]</sup>。细胞暴露在化学低氧 ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCN) 时, 神经元出现形态学改变, 而星形胶质细胞无此变化。KCN 剂量和时间依赖性诱导 LDH 释放增加和存活细胞数减少。MG ( $10$  和  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 能显著降低 KCN 诱导的 LDH 释放, 并呈浓度依赖性。在 KCN 处理的细胞中未观察到核浓缩, 提示化学性低氧是通过诱导坏死而导致细胞死亡, 而不是细胞凋亡。在混合培养的神经元和星形胶质细胞中, MG 能保护神经元免受化学性缺氧损伤或细胞坏死。

在加速衰老小鼠 (SAMP1) 中, MG 对海马中年龄相关性神经元丧失有保护作用。2 和 4 个月龄小鼠每天灌胃 MG 5 和 10  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 连续 14 d, 当小鼠至 4 和 6 个月龄时进行评估。在

SAMP1 小鼠海马 CA1 区 radiatum 层的辐射区神经元纤维的密度随着衰老而减少。在 2 个月龄小鼠中, MG 能显著抑制 CA1 神经元纤维的减少。而 4 个月龄的小鼠无此抑制作用。提示在海马神经元丧失启动前服用 MG 有保护作用<sup>[12]</sup>。

HK 浓度为 0.1 ~ 10.0 mmol · L<sup>-1</sup> 时对培养的胎鼠神经元具有神经营养作用。HK 不仅能促进轴突的生长, 还能增强原代神经元的生长和存活。10 mmol · L<sup>-1</sup> HK 的神经营养作用与 40 ng · mL<sup>-1</sup> 的 bFGF 相同<sup>[13]</sup>。

**2.4 对 NOS 的作用** 近年来研究发现: 脑缺血-再灌注损伤与 NO 有关。脑内 NO 的作用是双重性的, 既有脑保护作用, 又有神经毒性作用。低浓度 NO 由于能扩张血管、抑制血小板聚集与粘附, 可使谷氨酸调控的离子通道下调, 防止细胞内钙超载, 因而对细胞有保护作用; 但在高浓度时, NO 对细胞有损伤作用。在大鼠局灶性脑缺血-再灌注模型中<sup>[2]</sup>, 大鼠在脑缺血-再灌注 24 h 时, 脑组织 NO 含量及 NOS 活性均明显升高, 而 MG 能明显降低脑缺血-再灌注大鼠脑组织 NO 含量和 NOS 活性, 能不同程度地改善脑损伤。

**2.5 拮抗兴奋性氨基酸毒性** LIN 等<sup>[14]</sup> 在培养的大鼠小脑粒细胞中观察 HK 和 MG 对抗缺乏葡萄糖、兴奋性氨基酸和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的神经毒性。LDH 释放法检测细胞膜损伤, MTT 法检测线粒体活性。结果显示 HK 和 MG 单独使用对线粒体功能和细胞损伤并无作用, 但能显著逆转缺乏葡萄糖诱导的线粒体功能障碍和细胞损伤。谷氨酸脱羧酶受体阻滞药 MK-801 和维生素 E 也有保护该损伤的作用。而且, HK 对谷氨酸脱羧酶、NMDA (N-甲基-D-天冬氨酸) 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的线粒体功能障碍的保护作用强于 MG。这些结果证明, HK 和 MG 的神经保护作用与它们的抗氧化和拮抗兴奋性氨基酸诱导的兴奋毒性有关。

**2.6 对细胞内钙超载的作用** 钙通道阻滞药尼莫地平已广泛用于临床治疗脑缺血。虽然文献报道 MG 对大鼠动脉平滑肌细胞上钙通道有阻断作用<sup>[15]</sup>, 但它对脑缺血的保护是否直接与其对钙通道阻断作用有关, 需进一步研究。

### 3 结束语

缺血性脑血管疾病是临床常见病和多发病, 且预后不好, 至今仍未找到有效的治疗药物。近年来, 从中草药中寻找安全有效的治疗脑缺血-再灌注损伤的药物成为研究的热点之一。

MG 和 HK 对兴奋性氨基酸毒性、自由基、细胞内钙超载、炎症、NOS 过度激活、神经细胞凋亡等引起脑缺血-再灌注损伤的多个环节均有作用, 加之 MG 和 HK 的植物资源丰富, 使其具有良好的研究价值和发展前景。

### [参考文献]

- [1] 张广钦, 陈世忠, 郝雪梅, 等. 厚朴酚对脑缺血的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(9): 1020 - 1023.
- [2] 李玉山. 厚朴酚对大鼠局灶性脑缺血-再灌注损伤保护作用的研究[J]. 中华实用中西医杂志, 2006, 19(1): 6 - 7.
- [3] LIU K T, LIN S M, HUANG S S, *et al.* Honokiol ameliorates cerebral infarction from ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Planta Med*, 2003, 69(2): 130 - 134.
- [4] LIU K T, SHEN Y C, CHEN C F, *et al.* Honokiol protects rat brain from focal cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting neutrophil infiltration and reactive oxygen species production [J]. *Brain Res*, 2003, 992(2): 159 - 166.
- [5] 冯雅琪, 吴国江, 郝庆红, 等. 厚朴酚抗脂质过氧化作用研究[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2005, 25(1): 52 - 54.
- [6] 保志娟, 杨雪琼, 邹永明, 等. 厚朴酚与和厚朴酚清除 DPPH 的作用[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2005, 27(1): 60 - 63.
- [7] 李杰萍, 梁 统, 周克元. 厚朴酚对趋化三肽激活的大鼠中性粒细胞功能的影响[J]. 中国药科大学学报, 2003, 34(3): 260 - 263.
- [8] 李杰萍, 梁 统, 周克元. 厚朴酚对大鼠白细胞 5-脂氧合酶活性和细胞内钙离子浓度的影响[J]. 广东医学院学报, 2002, 20(3): 177 - 178.
- [9] 刘可云, 黄贤珍. 厚朴酚对大鼠脑缺血-再灌注损伤中的肿瘤坏死因子- $\alpha$  和白细胞介素-1 $\beta$  的影响[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(5): 719 - 721.
- [10] 张艳军. 增强原代培养鼠胚脊髓运动神经元活性的中药筛选[J]. 天津中医学院学报, 2004, 23(2): 75 - 77.
- [11] LEE M M, HSEIH M T, KUO J S, *et al.* Magnolol protects cortical neuronal cells from chemical hypoxia in rats [J]. *Neuroreport*, 1998, 9(15): 3451 - 3456.
- [12] MATSUI N, NAKASHIMA H, USHIOY M, *et al.* Neurotrophic effect of magnolol in the hippocampal CA1 region of senescence-accelerated mice (SAMP1) [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(9): 1762 - 1765.
- [13] FUKUYAMA Y, NAKADE K, MINOSHIMA Y, *et al.* Neurotrophic activity of honokiol on the cultures of fetal rat cortical neurons [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12(8): 1163 - 1166.
- [14] LIN Y R, CHEN H H, KO C H, *et al.* Neuroprotective activity of honokiol and magnolol in cerebellar granule cell damage [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 537(1-3): 64 - 69.
- [15] 张根水, 宜 全. 厚朴酚对大鼠主动脉收缩的影响[J]. 中药药理与临床, 2005, 21(5): 16 - 17.