

κB 位点结合,启动基因转录,产生新的蛋白质,从而启动各种信号转导途径<sup>[8,9]</sup>。通常情况下,NF-κB 以异二聚体形式存在于胞质中,与其抑制蛋白质 IκBα 结合形成无活性的三聚体。IκBα 在 NF-κB 活化途径中起着最关键的分子开关作用,IκBα 的磷酸化是促使 NF-κB 活化的关键步骤<sup>[10]</sup>。笔者应用 EMSA 检测细胞核蛋白的 NF-κB DNA 结合活性,发现丹皮酚可以显著抑制 NF-κB 活性。进一步研究中,笔者又发现丹皮酚可显著降低 p-IκBα 蛋白水平,增加非磷酸化 IκBα 蛋白水平,表明丹皮酚抑制了 IκBα 磷酸化,使其降解减少,从而减少 NF-κB 的转位入核,降低 NF-κB 的活性。

国内外关于 NF-κB 信号通路的研究进展表明,该通路已被认为是癌症治疗中很有研究价值的干预靶点。本研究发现丹皮酚能够抑制 Tca8113 细胞中 NF-κB 信号通路,介导细胞凋亡,使该物质成为候选的 NF-κB 信号抑制药和抗肿瘤新药开发中的备选研究对象。

[DOI] 10.3870/yydb.2009.08.006

[参考文献]

[1] CHOU T C. Anti-inflammatory and analgesic effects of paeonol in carrageenan evoked thermal hyperalgesia[J]. *Br J Pharmacol*,2003,139(6):1146-1152.  
 [2] 张春虎,胡随瑜,李去辉.丹皮酚对人肝癌 Bel-7404 的抑瘤效应及其机制[J].*中南大学学报医学版*,2006,31(5):682-686.  
 [3] SETHI G, SUNG B, AGGARWAL B B. Nuclear factor-kappaB activation; from bench to bedside [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*,2008,233(1):21-31.

[4] SUN G P, WANG H, XU S P, et al. Anti-tumor effects of paeonol in a HepA-hepatoma bearing mouse model via induction of tumor cell apoptosis and stimulation of IL-2 and TNF-alpha production [J]. *Eur J Pharmacol*,2008,584(2-3):246-252.  
 [5] Z C H, H S Y, C M Q, et al. Antiproliferative and apoptotic effects of paeonol on human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Anticancer Drugs*,2008,19(4):401-409.  
 [6] SUN G P, WANG H, XU S P, et al. Anti-tumor effects of paeonol in a HepA-hepatoma bearing mouse model via induction of tumor cell apoptosis and stimulation of IL-2 and TNF-alpha production [J]. *Eur J Pharmacol*,2008,584(2-3):246-252.  
 [7] SETHI G, AHN K S, AGGARWAL B B. Targeting nuclear factor-kappa B activation pathway by thymoquinone; role in suppression of antiapoptotic gene products and enhancement of apoptosis [J]. *Mol Cancer Res*,2008,6(6):1059-1070.  
 [8] WEGENER E, KRAPPMANN D. Dynamic protein complexes regulate NF-kappaB signaling [J]. *Handb Exp Pharmacol*,2008,186:237-259.  
 [9] 刘伟,陈昊,向谨逸.青蒿琥酯抑制人喉癌细胞株 Hep-2 增殖及对 MEK/ERK 与 NF-κB 通路的影响[J].*医药导报*,2007,26(11):1267-1269.  
 [10] RYU M J, ANIKIN V, HONG S H, et al. Activation of NF-kappaB by alloferon through down-regulation of antioxidant proteins and IkappaBalpha [J]. *Mol Cell Biochem*,2008,313(1-2):91-102.

## 强力霉素对不同时间溶栓大鼠的神经保护作用\*

蒋国会<sup>1</sup>,李光勤<sup>2</sup>,李 鱼<sup>1</sup>

(1. 重庆市涪陵中心医院神经内科,408000;2. 重庆医科大学附属一院神经内科,400016)

**[摘要]** 目的 观察强力霉素对缺血性脑卒中不同时间(6,9,12 h)尿激酶溶栓治疗效果和并发症的影响,探讨强力霉素对溶栓大鼠的神经保护作用及其对溶栓时间范围的干预效果。**方法** 健康成年雄性 SD 大鼠 168 只,随机分为 7 组:缺血对照组、不同时间尿激酶溶栓组(6 hUK 组、9 hUK 组、12 hUK 组)、强力霉素联合尿激酶溶栓组(6 hUK + Doxy 组、9 hUK + Doxy 组、12 hUK + Doxy 组)各 24 只,均在 24 h 后处死,分别测定 MMP-9 表达、脑梗死体积、血脑屏障通透性和脑出血量(各 6 只)。除缺血对照组外,其他各组在相应时间点给予尿激酶 40 000 U·kg<sup>-1</sup>。联合治疗各组强力霉素在缺血后 2 h 稀释 30 mg·kg<sup>-1</sup> 经尾静脉注射。**结果** 时间范围(6 h)内尿激酶溶栓治疗降低脑梗死体积,联合治疗组疗效更优。超过时间范围溶栓 MMP-9 表达进一步增高,加重血脑屏障破坏和脑出血,强力霉素联合尿激酶溶栓治疗的各组与相应时间点单用尿激酶组比较 MMP-9 表达显著降低,脑梗死体积降低,血脑屏障通透性和脑出血量均有改善。**结论** 强力霉素可提高不同时间尿激酶溶栓治疗效果,减轻溶栓并发症,对脑缺血不同时间尿激酶溶栓具有神经保护作用,有延长溶栓时间范围的可能。

**[关键词]** 尿激酶;强力霉素;溶栓治疗;脑缺血;溶栓时间范围

**[中图分类号]** R978.1;R965

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2009)08-0986-05

## Neuroprotective Effects of Doxycycline on Thrombolysis Therapy at Different Time in Rats

JIANG Guo-hui<sup>1</sup>, LI Guang-qin<sup>2</sup>, LI Yu<sup>1</sup> (1. Department of Neurology, Fuling Central Hospital of Chongqing City, Fuling 408000, China; 2. Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**ABSTRACT Objective** To study the influence of doxycycline on urokinase thrombolysis therapy at different time (6, 9, 12 h) of cerebral arterial thrombosis, and evaluate its neuroprotective effects and intervention of thrombolysis time window.

**Methods** 168 healthy male SD rats were randomly divided into 7 groups: cerebral ischemia rats as model, urokinase thrombolysis at different time (6 hUK, 9 hUK, and 12 hUK groups), and doxycycline on urokinase thrombolysis (6 hUK + Doxy, 9 hUK + Doxy, and 12 hUK + Doxy groups). Rats were all sacrificed after 24 h. The expression of MMP-9 was detected with immunohistochemical staining. TTC staining were applied to detect the infarction volume. The permeability of the observed brain-blood barrier was detected with Evan's blue and cerebral hemorrhage was quantified with spectrophotometer assay. Doxycycline was injected through tail vein 2 h postischemia at 30 mg · kg<sup>-1</sup>. **Results** The infarction volumes were decreased with urokinase treatment at the 6th hour. The expression of MMP-9, permeability of the brain-blood barrier and cerebral hemorrhage content were further raised with urokinase thrombolysis at more than 6 hours after ischemic stroke, however, those were decreased and improved by doxycycline. **Conclusion** Doxycycline could increase the effect of urokinase and decrease its complications in rats at different time. It has neuroprotective effects and may extend urokinase thrombolysis therapy time window.

**KEY WORDS** Urokinase; Doxycycline; Thrombolysis therapy; Cerebral ischemia; Thrombolysis time window

新近认为,急性缺血性脑卒中的治疗主要集中在两方面:即促进血管再通和神经保护。静脉 t-PA 溶栓治疗是唯一经 FDA 认可的血管再通内科疗法,我国采用尿激酶溶栓获得肯定疗效。溶栓治疗要面临时间范围和并发症两大难题,溶栓并发症的发生主要与溶栓后基质金属蛋白酶-9(MMP-9)高表达导致血脑屏障破坏和溶栓后出血性转化有关<sup>[1]</sup>。针对溶栓并发症发生机制,选择相应抑制药物联合溶栓治疗,是减轻溶栓并发症、提高溶栓疗效的可行措施,也是近年扩展溶栓治疗时间范围研究的焦点。

### 1 材料与方法

**1.1 动物分组及给药方法** 健康成年雄性 SD 大鼠 168 只,体质量 230 ~ 280 g,由重庆医科大学实验动物中心提供,随机分为 7 组:缺血对照组、不同时间尿激酶溶栓组(6 hUK 组、9 hUK 组、12 hUK 组)、强力霉素联合尿激酶溶栓组(6 hUK + Doxy 组、9 hUK + Doxy 组、12 hUK + Doxy 组)各 24 只,均在 24 h 后处死,分别测定 MMP-9 表达、脑梗死体积、血脑屏障通透性和脑出血量(各 6 只)。除缺血对照组外,其他各组在相应时间点给予尿激酶(丽珠集团丽珠制药厂,批号:050901)40 000 U · kg<sup>-1</sup>,用 0.9% 氯化钠注射液 1 mL 稀释后经尾静脉缓慢注射。联合治疗各组强力霉素(Sigma 公司,批号:RC-D-9891)在缺血后 2 h 稀释后

30 mg · kg<sup>-1</sup>经尾静脉注射。

### 1.2 大鼠自体血栓 MCAO 模型的制作

**1.2.1 血栓的制备** 取大鼠动脉血 1.0 mL,注入加有 75 μL 柠檬酸钠(0.109 mol · L<sup>-1</sup>)的 EP 管内,混匀后 4 000 r · min<sup>-1</sup>离心 1 min。按 5 : 1 吸取血浆及少量红细胞共 100 μL,加入 50 万 U · L<sup>-1</sup>凝血酶 1 μL 和 1 mol · L<sup>-1</sup>氯化钙溶液 20 μL,立即混匀吸入 4 号硬膜外麻醉导管内,约 2 min 后将已凝固的血栓注入盛有 PBS 溶液的培养皿内,得到直径为 0.35 mm 的血栓,用眼科剪将其剪成长度为 1.0 mm 的栓子备用。

**1.2.2 模型的制作** 取左侧颈部直切口,分离左颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉,并结扎翼腭动脉。从颈外动脉插入 24 G 静脉留置针,用 4 号硬膜外麻醉导管吸取 8 ~ 10 个血栓,接至静脉留置针末端,将栓子注入颈内动脉,主要栓塞颈内动脉末端或大脑中动脉起始段。动物苏醒后按 Bederson 评分标准进行神经功能评分,有体征者入选。

### 1.3 检测指标及方法

**1.3.1 MMP-9 免疫组织化学染色** 石蜡切片脱蜡后,用 SABC 法进行免疫组织化学染色,苏木精复染,中性树胶封片。用 Image-Pro Plus 4.5 图像分析系统进行分析,MMP-9 蛋白表达的强弱通过计算阳性细胞的平均吸光度值来表示。

**1.3.2 脑梗死体积百分比测定** 在 24 h 处死大鼠,断头取脑,去除嗅球、小脑和低位脑干,剩余部分立即冠状切成 5 片,置于 2% TTC 溶液中染色,37 °C 水浴 20 min。用 Photoshop7.0 图像分析软件测出各层的梗死面积,总面积之和乘以层厚即为体积,从而计算出梗死体积百分比。

[收稿日期] 2008-08-19

[基金项目] \*重庆市卫生局课题(基金编号:04-1-44)

[作者简介] 蒋国会(1979 -),女,重庆人,医师,硕士,主要从事脑血管病研究。电话:(0)15978990076, E-mail:jiangguohuisn@163.com。

**1.3.3 血脑屏障通透性的测定** 在相应时间点经尾静脉注射 2% 伊文思蓝  $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 2 h 后 0.9% 氯化钠溶液心脏灌注, 断头取缺血侧大脑半球称质量后置入 4 mL 甲酰胺中,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴 48 h,  $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min, 取上清液于 632 nm 波长处比色, 从标准曲线查得伊文思蓝含量。

称取 4.73 mg 伊文思蓝置于一带刻度的容量瓶中, 加入 0.9% 氯化钠溶液稀释至 25 mL, 静置后取上清液 0.3 mL 加 5.7 mL 甲酰胺混匀作为第 1 管, 从第 1 管取出 3 mL 加入 3 mL 甲酰胺作为第 2 管, 照此类推, 共做 5 管, 其浓度依次为 0.946, 0.473, 0.237, 0.118,  $0.059 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。将试管置于试管架上, 放入  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  恒温水浴箱中水浴 48 h, 然后分别测得吸光度值, 并制出伊文思蓝标准曲线。

**1.3.4 脑出血量的测定** 采用分光光度法<sup>[2]</sup>, 大鼠麻醉后 0.9% 氯化钠溶液心脏灌注, 断头取脑, 取病灶侧半球置于匀浆器中, 加入组织裂解液充分匀浆, 将匀浆液移取到 2 mL EP 管内,  $4 \text{ }^\circ\text{C}$   $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 30 min, 取上清液 0.6 mL 加入盛有 2.4 mL Drabkin's 试剂试管中, 充分静置 15 min, 于 540 nm 波长处比色。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS13.0 统计软件包对数据进行统计处理, 计量资料数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较用 *t* 检验,  $P < 0.05$  表示差异有显著性。

**2 结果**

**2.1 MMP-9 免疫组织化学结果** 在正常脑组织内未见有 MMP-9 免疫阳性细胞表达, 脑缺血后主要在缺血区皮质神经元及血管内皮细胞表达, 海马及纹状体也见少量表达。不同时间尿激酶溶栓后 MMP-9 表达进一步增加, 和缺血对照组比较差异有显著性 (均  $P < 0.05$ ), 且随溶栓时间延迟, MMP-9 表达增高更显著, 9 和 12 h UK 组与 6 h UK 组比较均差异有显著性 (均  $P < 0.05$ )。在 MCAO 后 2 h 用强力霉素干预溶栓治

疗组与相应时间点单用尿激酶溶栓组比较, MMP-9 平均吸光度值均明显降低 (均  $P < 0.05$ ), 说明强力霉素能有效抑制不同时间尿激酶溶栓后 MMP-9 高表达。结果见表 1。

**2.2 脑梗死体积百分比** 大鼠脑缺血 24 h 后, TTC 染色可见明显脑梗死灶, 缺血对照组平均脑梗死体积比例 ( $32.43 \pm 9.93$ )%。缺血 6 h 尿激酶溶栓后脑梗死体积百分比明显低于脑缺血对照组 ( $P < 0.05$ ), 超过时间范围 (9 h, 12 h) 尿激酶溶栓治疗和缺血对照组脑梗死灶也缩小, 但差异无显著性, 12 h 溶栓组和 6 h 溶栓组比较脑梗死体积明显增加 ( $P < 0.05$ )。不同时间点联合治疗组与单用尿激酶组比较脑梗死体积百分比明显降低。说明 6 h 时间范围尿激酶溶栓使血管有效再通, 而降低脑梗死体积, 超过时间范围治疗会降低溶栓效果, 强力霉素能进一步降低脑梗死体积, 增加溶栓疗效。

**2.3 伊文思蓝含量及脑出血量** 脑缺血对照组伊文思蓝含量 ( $5\ 774.00 \pm 1\ 659.70$ )  $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ , 6 h 和 9 h 尿激酶溶栓后伊文思蓝含量较脑缺血对照组增加, 但差异无显著性, 12 h 溶栓组伊文思蓝含量明显增加 ( $P < 0.05$ )。而强力霉素干预组与同时段单用尿激酶组比较均明显下降, 6 h 和 9 h 组差异有显著性 (均  $P < 0.05$ )。脑缺血后很少有脑出血发生, 而溶栓治疗后出现出血性转化, 脑出血量显著增加, 尤其是超过时间范围溶栓脑出血量增加更明显。由表内数据可见强力霉素干预组脑出血量较单用溶栓组有降低趋势, 但差异无显著性, 考虑与标本数量少有关, 增加标本量可能获得阳性结果。说明尿激酶溶栓治疗后加重血脑屏障破坏和出血性转化, 且严重程度与溶栓时间有相关性, 而强力霉素对其有干预作用。

**3 讨论**

2003 年美国卒中协会卒中委员会 (NINDS) 根据

表 1 7 组大鼠不同时间 MMP-9 含量、脑梗死体积、伊文思蓝含量及脑出血量测定结果

组别与时间	大鼠/只	MMP-9 平均吸光度	脑梗死体积比例/ %	伊文思蓝含量/ ( $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ )	脑出血量/ $\mu\text{L}$
UK 组	6				
6 h		$0.227 \pm 0.022^{*1}$	$17.06 \pm 9.73^{*1}$	$6\ 283.83 \pm 1\ 099.28$	$3.16 \pm 8.84$
9 h		$0.293 \pm 0.030^{*1*2}$	$21.62 \pm 4.41$	$6\ 612.67 \pm 1\ 139.18$	$4.92 \pm 11.43^{*1}$
12 h		$0.326 \pm 0.034^{*1*2}$	$27.00 \pm 6.08^{*2}$	$7\ 035.67 \pm 1\ 321.82^{*1*2}$	$7.56 \pm 11.83^{*1}$
UK + Doxy 组	6				
6 h		$0.147 \pm 0.020^{*3}$	$11.98 \pm 3.70^{*1*3}$	$4\ 027.17 \pm 1\ 158.96^{*1*3}$	$2.79 \pm 7.94$
9 h		$0.185 \pm 0.033^{*3}$	$17.51 \pm 3.81^{*1}$	$4\ 733.83 \pm 1\ 330.03^{*3}$	$4.06 \pm 11.27$
12 h		$0.233 \pm 0.031^{*2*3}$	$22.63 \pm 9.21^{*2}$	$6\ 169.33 \pm 1\ 612.91^{*2}$	$5.30 \pm 8.73$
脑缺血对照组	6	$0.158 \pm 0.010$	$32.43 \pm 9.93$	$5\ 774.00 \pm 1\ 659.70$	$0.00 \pm 1.48$

与脑缺血对照组比较, <sup>\*1</sup> $P < 0.05$ ; 与同组 6 h 比较, <sup>\*2</sup> $P < 0.05$ ; 与相应时间点 UK 组比较, <sup>\*3</sup> $P < 0.05$

迄今的临床研究得出:急性缺血性脑卒中唯一有效的治疗方法为静脉内 t-PA 溶栓治疗,但 t-PA 溶栓治疗最严重的并发症是溶栓后出血<sup>[3]</sup>。研究发现,脑缺血和再灌注后 MMPs 表达明显增高,尤其是 MMP-9,其与脑血管和血脑屏障(BBB)破坏密切相关,在脑缺血/再灌注的病理过程中,MMP-9 的激活导致血脑屏障损伤,微血管破坏,脑水肿加重,甚至导致出血性转化<sup>[4]</sup>。PREFFERKORN 等<sup>[5]</sup>在研究发现 t-PA 溶栓治疗会使基质金属蛋白酶(MMPs)激活,尤其是 MMP-9 mRNA 表达水平会明显增高,与溶栓后出血的发生相关。

MMPs 是一组锌离子依赖中性蛋白酶,其中 MMP-9 又称明胶酶 B,在脑缺血尤其是溶栓后其表达水平显著增高,其主要作用除了降解、破坏明胶外,还直接降解血管外基膜的主要成分即层黏连蛋白和纤黏蛋白等,且破坏血管内皮细胞间的紧密连接,还诱导炎症反应,因此能够破坏毛细血管壁和 BBB 的完整性,引起水分与血浆蛋白外渗,致细胞间隙内水分增多而形成血管源性脑水肿,还可引起红细胞的渗出及漏出,发生出血性转化<sup>[6]</sup>。

笔者在本实验中发现 MCAO 24 h 后 MMP-9 免疫阳性细胞主要在缺血区皮质神经元及血管内皮细胞表达,海马及纹状体也见少量表达。不同时间(6,9,12 h)尿激酶溶栓治疗 MMP-9 表达显著增加,且其表达水平与溶栓时间呈正相关,同时伴有 BBB 通透性和脑出血量增加,与 DING 等<sup>[4]</sup>的研究结果一致。在缺血后 6 h 尿激酶溶栓使闭塞血管及时再通而降低脑梗死体积,9 和 12 h 尿激酶溶栓仍可使部分血管再通,脑梗死体积下降,但不如 6 h 组明显。

溶栓治疗诱导 MMPs 激活,导致溶栓后 MMP-9 高表达,导致基底膜降解,炎性细胞浸润,而破坏毛细血管壁和 BBB 的完整性,发生溶栓后 BBB 破坏和颅内出血性转化。PREFFERKORN 等<sup>[5]</sup>的研究表明,广谱 MMPs 抑制剂 BB-94 联合 rtPA 溶栓可维持血管壁和 BBB 的完整性,可明显减轻 BBB 破坏和溶栓后出血的发生,并降低脑梗死体积。笔者在本实验中选择广谱基质金属蛋白酶抑制剂强力霉素联合尿激酶溶栓治疗,研究结果与国外报道一致。

强力霉素是一种半合成的四环素类抗生素,除有抗炎作用外,还有螯合二价阳离子的特性,该性质与强力霉素抑制缺血病灶周围白细胞黏附、浸润和抑制 MMP-9 活性的作用密切相关。国内外许多实验研究发现强力霉素能抑制白细胞黏附、浸润,增加脑血流量,减轻脑损害及细胞凋亡,缩小梗死病灶体积和改善神经功能。BURGGRAF 等<sup>[7]</sup>报道强力霉素具有抑制急

性缺血性脑卒中 rt-PA 溶栓诱导的 MMP-9 高表达,改善溶栓效果,降低溶栓并发症。国内陈昊<sup>[8]</sup>的研究发现四环素衍生物米诺环素提高短暂性脑缺血大鼠脑组织乳酸脱氢酶(LDH)活力,调节缺血再灌注损伤时保护性神经生长因子高亲和力受体 TrkA mRNA 的表达,激活其下游信号分子 PI-3K/Akt 信使途径,抑制缺血性脑损伤时由于谷氨酸过度释放导致的神经元凋亡的发生,减少钙离子( $Ca^{2+}$ )超载所致的脑组织损伤,从而发挥其脑保护作用。

笔者在本实验中观察了强力霉素对不同时间(6,9,12 h)尿激酶溶栓效果和并发症的影响,发现强力霉素能有效抑制不同时间尿激酶溶栓后 MMP-9 高表达,降低脑梗死体积,减轻溶栓后 BBB 破坏和出血性转化,对不同时间溶栓大鼠具有神经保护作用。强力霉素作用于脑缺血再灌注损伤的多个环节,其脂溶性高,容易透过 BBB,在脑脊液和脑组织中能达到较高浓度,而且其作为广谱抗生素在临床已用多年,其口服易吸收,使用方便,不良反应小等优点为作为神经保护药的临床应用提供了前提条件,强力霉素联合溶栓治疗可能是扩展溶栓治疗时间范围的可行措施。

[DOI] 10.3870/yydb.2009.08.007

#### [参考文献]

- [1] TSUJI K, AOKI T, TEJIMA E, *et al.* Tissue plasminogen activator promotes matrix metalloproteinase-9 upregulation after focal cerebral ischemia [J]. *Stroke*, 2005, 36(9): 1954 - 1959.
- [2] ASAHI M, ASAHI K, WANG X, *et al.* Reduction of tissue plasminogen activator-induced hemorrhage and brain injury by free radical spin trapping after embolic focal cerebral ischemia in rats [J]. *Cereb Blood Flow Metab*, 2000, 20(3): 452 - 457.
- [3] ADAMS H P, ADAMS R J, CHAIR J M, *et al.* Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke: A scientific statement from the stroke council of the American Stroke Association [J]. *Stroke*, 2003, 34(4): 1056 - 1083.
- [4] DING Y H, LI J, RAFOLS J A, *et al.* Reduced brain edema and matrix metalloproteinase (MMP) expression by pre-reperfusion infusion into ischemic territory in rat [J]. *Neurosci Lett*, 2004, 30(2): 35 - 39.
- [5] PFEFFERKORN T, ROSENBERG G A. Closure of the blood-brain barrier by metalloproteinase inhibition rtPA-mediated mortality in cerebral ischemia with delayed reperfusion [J]. *Stroke*, 2003, 34(8): 2025 - 2030.
- [6] KELLY M A, SHUAIB A, TODD K G. Matrix metalloproteinase activation and blood-brain barrier breakdown following thrombolysis [J]. *Exp Neurol*, 2006, 200(1):

38 - 49.

2007, 25(3): 506 - 513.

[7] BURGGRAF D, TRINKL A, DICHGANS M, *et al.* Doxycycline inhibits MMPs via modulation of plasminogen activators in focal cerebral ischemia [J]. *Neurobiol Dis*,

[8] 陈 昊. 米诺环素对大鼠脑缺血-再灌注损伤模型的神经保护作用[J]. *医药导报*, 2006, 25(8): 743 - 745.

# 一口钟提取物治疗大鼠佐剂性关节炎研究

陈芳芳, 沈楠, 雷钧涛, 丁肖梁, 李永亮, 刘斌, 郝程杰, 王媛, 张秀荣

(吉林医药学院, 132013)

**[摘要]** 目的 探讨一口钟不同溶剂提取物对大鼠佐剂性关节炎的治疗作用。方法 采用不同有机溶剂对一口钟进行提取, 得到各溶剂的提取物。将 70 只雄性 Wistar 大鼠随机分为正常组、模型组、石油醚组、三氯甲烷组、乙酸乙酯组、95% 乙醇组和 5% 乙醇组各 10 只; 正常组大鼠左后足跖皮内注射 0.9% 氯化钠注射液, 每只 0.1 mL; 其他各组大鼠左后足跖皮内注射弗氏完全佐剂, 每只 0.1 mL。实验第 10 天, 正常组和模型组给予 0.9% 氯化钠注射液灌胃, 其他各组分别灌胃给予一口钟不同溶剂提取物, 均 0.5 mL · (200 g)<sup>-1</sup>, 连续 16 d。检测各组大鼠足跖肿胀、脾脏指数、胸腺指数及血清一氧化氮含量。结果 除一口钟石油醚提取物组外, 与模型组比较, 其他各提取物均能显著抑制大鼠左后足跖肿胀; 一口钟不同溶剂提取物组大鼠胸腺指数、脾脏指数均显著增高, 血清一氧化氮浓度显著降低。结论 一口钟提取物对大鼠佐剂性关节炎有显著治疗作用, 推测一口钟治疗佐剂性关节炎有效部位为脂溶性成分。

**[关键词]** 一口钟; 类风湿关节炎; 佐剂性关节炎

**[中图分类号]** R286; R965 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-0781(2009)08-0990-03

## Effects of Yikouzhong Extracts on Adjuvant Arthritis in Rats

CHEN Fang-fang, SHEN Nan, LEI Jun-tao, DING Xiao-liang, LI Yong-liang, LIU Bin, HAO Cheng-jie, WANG Yuan, ZHANG Xiu-rong (*Jilin Medical College, Jilin 132013, China*)

**ABSTRACT Objective** To explore effects of different solvent extractions of *yikouzhong* (fruit of *eucalyptus globulus*) on rat adjuvant arthritis. **Methods** Different extracts were obtained from *yikouzhong* with different organic solvents. 70 Female Wistar rats were randomly divided into normal group (saline), model group, petroleum ether group, chloroform group, acetoacetate group, 95% ethanol group and 50% ethanol. Adjuvant arthritis (AA) in rats was established by intradermal injection with Freund's complete adjuvant (0.1 mL / one) in Wistar rats, while 0.9% sodium chloride as normal control. The rats in normal and model controls were treated with normal saline, others with different extracts, all at 0.5 mL · (200 g)<sup>-1</sup>, for consecutive 16 d. Swelling in foot pads, spleen index, thymus index as well as levels of nitric oxide (NO) in sera were determined. **Results** Compared with model group, all extracts significantly inhibited foot pad swelling, but petroleum group. Meanwhile, the thymus index, spleen index and serum concentrations of NO were markedly reduced by different solvent extracts. **Conclusion** Extracts from *yikouzhong* has obvious therapeutic effect on rat adjuvant arthritis, the active components of which is supposed to be liposoluble.

**KEY WORDS** *Yikouzhong*; Rheumatoid arthritis; Adjuvant arthritis

蓝桉 (*Eucalyptus globules Labill*) 是桃金娘科桉属植物<sup>[1]</sup>, 可全草入药, 桉叶作为传统中药具有抗菌、抗炎、抗氧化和局麻等作用, 桉油味微辛、苦, 性平, 具疏风解热、祛湿解毒、杀虫等功效; 蓝桉根皮具有顺气化痰、祛风除湿等功效; 其果实为钟状半球形、褐色、表面

略披白霜坚韧的木质蒴果, 入药俗称“一口钟”, 是我国民间用药, 其性平, 味微苦, 具有降脂降压、通络舒筋、祛风利湿等多种功效<sup>[2]</sup>。经检索文献, 笔者未见一口钟有效部位治疗类风湿关节炎的研究。笔者在本实验中通过建立大鼠佐剂性关节炎模型, 从抗炎和免疫调节作用两方面探讨一口钟提取物对风湿性关节炎的治疗作用并寻找其有效部位。

### 1 材料

**1.1 实验动物** Wistar 大鼠 (200 ~ 250 g), 雄性, 80 只, 由吉林医药学院实验动物中心提供。饲养条件: 各组相同条件下饲养, 自由摄食、饮水, 温度 18 ~ 26 ℃, 湿度 65% ~ 75%。

**[收稿日期]** 2008-09-26

**[作者简介]** 陈芳芳 (1986 -), 女, 山东济宁人, 主要研究方向: 药物制剂。电话: (0) 15043267369, 0432 - 2115161, E-mail: ff20060412@126.com。

**[通讯作者]** 张秀荣 (1959 -), 女, 山东沂水人, 教授, 从事药物制剂研究。电话: 0432 - 4560316, E-mail: yxzr@163.com。