

## 泰山草乌生物碱对大鼠局灶性脑缺血的保护作用

李红伟<sup>1</sup>,刘雪梅<sup>1</sup>,唐晓凤<sup>1</sup>,苏吉亮<sup>2</sup>

1. 泰山护理职业学院, 山东 泰安 271000  
2. 山东泰山疗养院, 山东 泰安 271000

**摘要:** 研究氧化泰山草乌生物碱对大鼠局灶性脑缺血损伤的保护作用, 采用大鼠永久性大脑中动脉阻塞(Permanent middle cerebral artery occlusion, pMCAO)方法, 建立脑缺血模型。大鼠 pMCAO 术后通过灌胃给予草乌生物碱(20,50,100 mg·kg<sup>-1</sup>), 以神经行为学变化、脑梗死体积和脑含水量等指标评价草乌生物碱对脑缺血的神经保护作用。草乌生物碱高、中剂量组可改善 pMCAO 大鼠神经行为障碍、缩小脑梗死体积、减轻脑水肿有明显作用。实验表明泰山草乌生物碱对大鼠局灶性脑缺血有明显的神经保护作用。

**关键词:** 草乌生物碱; 脑缺血; pMCAO

**中图分类号:** R-332

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-2324(2017)01-0032-04

## Protection of Aconitum Alkaloids in Mount Tai against Focal Cerebral Ischemia in Rats

LI Hong-wei<sup>1</sup>, LIU Xue-mei<sup>1</sup>, TANG Xiao-feng<sup>1</sup>, SU Ji-liang<sup>2</sup>

1. Taishan Vocational College of Nursing, Tai'an 271000, China

2. Taishan Sanatorium of Shandong Province, Tai'an 271000, China

**Abstract:** The aim of this research is to investigate the protection of aconitum alkaloids in Mount Tai on focal cerebral ischemic injury in rats. The permanent middle cerebral artery occlusion (pMCAO) in rats was adopted to establish cerebral ischemia model. The pMCAO postoperative rats were given aconitum alkaloids (20,50,100 mg·kg<sup>-1</sup>) by gavage. Evaluation index including cerebral infarction volume, water content and behavioral symptoms of brain were used to evaluate the protection of aconitum alkaloids in cerebral ischemia nerve. In rat focal cerebral ischemia body model, the high-dose group and middle-dose group of aconitum alkaloids could significantly reduce the cerebellum infarction volume, water content and improve brain behavior signs. The current finding provides the first evidence that aconitum alkaloids in Mount Tai have a direct neuroprotective activity in cerebral ischemic neuronal injury.

**Keywords:** Aconitum alkaloids; cerebral ischemia; pMCAO

泰山草乌的种名为展毛乌头, 隶属于毛茛科, 乌头属, 属于北草乌的一个变种。草乌入药能祛风除湿, 温经止痛, 开痰, 消肿, 可用于治风寒湿痹, 中风瘫痪, 破伤风, 头风, 脘腹冷痛, 痰癖, 气块, 冷痢, 喉痹, 痈疽, 疔疮等。化学成分含乌头碱、中乌头碱、次乌头碱等。性热, 味辛、苦。在《神农本草经》中有“乌头, 味辛温。主中风, 恶风……。生山谷。”的记载。《本草纲目》谓主治“诸风, 风痹血痹, 半身不遂”<sup>[1]</sup>。本项实验利用 pMCAO 动物模型, 观察泰山草乌生物碱对缺血性脑中风大鼠的脑供血改善, 从而证明泰山草乌对人脑缺血的保护作用。

### 1 材料与方法

#### 1.1 药物与试剂

泰山草乌经过提取后的草乌生物碱溶液<sup>[2]</sup>(泰山医学院药学院苏延友教授惠赠), 尼莫地平片(山东健康药业有限公司)。

#### 1.2 动物模型建立与分组

清洁级♂SD 大鼠, 体重 280~320 g, 北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 实验动物许可证号 SYXK(京)2012-0036。

1.2.1 pMCAO 动物模型的建立 采用 Zea-Longa 的颈外动脉(ECA)线栓法, 经左侧颈外动脉插入 4-0 尼龙线, 经颈总动脉(CCA)分叉处、颈内动脉(ICA)颅外段进入 ICA 颅内段到达大脑中动脉(MCA)分支处阻塞 MCA 的其始部, 引起 MCA 供血区的急性脑缺血。假手术组除尼龙线插不到

收稿日期: 2016-12-14

修回日期: 2017-01-02

作者简介: 李红伟(1968-),女,教授,硕士,研究方向:生理学和脑缺血性疾病。E-mail:lihongwei3691@126.com

MCA 其始部位外, 其余步骤相同。动物苏醒后出现左 Horner 征, 提尾时右前肢内收取屈曲, 爬行时向右划圈。有上述体征者为手术成功的标志。

1.2.2 分组 将成功的 MCAO 动物模型 60 只纳入统计范围, 随机分成 6 组, 即假手术组、缺血组、阳性对照组(尼莫地平 4 mg/kg)、草乌生物碱高剂量组 (100 mg/kg)、中剂量组 (50 mg/kg) 和低剂量组 (20 mg/kg) [3]。

### 1.3 干预措施

以草乌生物碱为治疗药物, 尼莫地平作为阳性对照, 参考李曰杉[4]的用药剂量, 治疗组在缺血 2 h 后给予草乌生物碱, 阳性对照组同步给予尼莫地平, 缺血组和假手术组同步给予等容量的蒸馏水。

### 1.4 评价指标

1.4.1 神经行为学症状评分[5] 假手术组动物术后未见神经行为功能异常, 实验动物多数术后 2 h 苏醒, 出现右侧肢体功能障碍, 以前肢为著。手术后 24 h, 对大鼠进行神经行为学症状评分。依据 Zea Longa 5 分制评分标准进行神经功能缺失程度评分。Zea Longa 5 分制评分标准是: 0 分为无神经功能缺陷; 1 分为左侧前肢内收、屈曲; 2 分为自主运动时身体向左侧划圈; 3 分为身体向左侧倾倒; 4 分为不能自主行走并伴有意识障碍。得分越高表示神经功能缺陷程度越重, 反之则轻微。

1.4.2 脑梗死体积测定[6] 把术后 3 d 的大鼠断头取脑, 用大鼠切脑模具自前向后连续切成 7 片 2 mm 厚的冠状切片。脑片用氯化三苯基四氮唑(TTC)37 °C 避光染色, 正常组织呈红色, 梗死组织为白色。高清数码相机拍照, 运用图像分析系统测量脑梗死面积并计算脑梗死体积占大脑总体积的百分比。

1.4.3 大脑含水量测定[7] 取术后 3 d 的死亡大鼠大脑, 剥离脑干和小脑, 对大脑的湿重进行称量, 然后放在 100 °C 的烤箱烘烤, 于 24 h 后取出称重, 大脑的含水量=(大脑湿重-大脑干重)/大脑湿重×100%。

### 1.5 统计学处理

实验数据以 $\pm s$ 表示, 组间比较采用两样本  $t$  检验,  $P < 0.05$  差异为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 泰山草乌生物碱对大鼠神经功能缺损评分的影响

缺血组大鼠 pMCAO 后 24 h 的神经症状评分为  $3.62 \pm 0.27$ , 尼莫地平组神经症状评分为  $2.07 \pm 0.40$ , 草乌生物碱高、中、低剂量组神经症状评分分别为  $1.86 \pm 0.22$ 、 $2.44 \pm 0.31$ 、 $3.41 \pm 0.18$ 。缺血组与草乌生物碱低剂量组相比, 无统计学差异; 缺血组与中剂量组相比, 大鼠 pMCAO 后 24 h 的神经症状评分差异有显著性 ( $P < 0.05$ ); 缺血组与高剂量组相比, 大鼠 pMCAO 后 24 h 的神经症状评分差异有显著性 ( $P < 0.01$ ); 草乌生物碱高剂量组与尼莫地平组相比, 没有统计学意义。结果提示草乌生物碱可改善 pMCAO 大鼠的神经症状, 但并不比尼莫地平效果好。见表 1, 图 1

表 1 草乌生物碱对大鼠神经功能缺失症状的影响  
Table 1 Effect of aconitum alkaloids on nervous function deficit symptoms of rats after pMCAO

项目 Items	实验数据 $\pm$ 标准误 Data $\pm$ S
假手术组	0
缺血组	$3.62 \pm 0.27$
尼莫地平组	$2.07 \pm 0.40$
草乌生物碱低剂量组	$3.41 \pm 0.18$
草乌生物碱中剂量组	$2.44 \pm 0.31$
草乌生物碱高剂量组	$1.86 \pm 0.22$

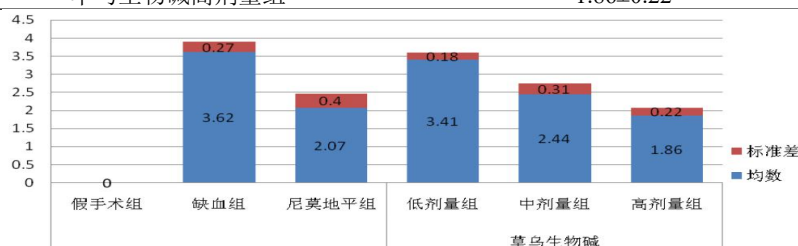


图 1 草乌生物碱对大鼠神经功能缺失症状的影响

Fig.1 Effect of aconitum alkaloids on nervous function deficit symptoms of rats after pMCAO

### 2.2 泰山草乌生物碱对脑梗死体积的影响

假手术组 TTC 染色脑切片呈均匀的橘红色。缺血/再灌注后脑切片上可见苍白色梗死区。缺血组大鼠 pMCAO 后脑梗死体积为  $36.88 \pm 3.92$ ，尼莫地平组脑梗死体积为  $19.24 \pm 4.13$ ，草乌生物碱高、中、低剂量组脑梗死体积分别为  $18.79 \pm 1.99$ 、 $23.76 \pm 2.98$ 、 $34.51 \pm 2.85$ 。缺血组与草乌生物碱低剂量组相比，没有统计学意义；草乌生物碱高、中剂量组和阳性对照组梗死体积较缺血组降低，缺血组与草乌生物碱中剂量组相比，大鼠 pMCAO 后脑梗死体积差异由显著性 ( $P < 0.05$ )；缺血组与草乌生物碱高剂量组相比，大鼠 pMCAO 后脑梗死体积差异由显著性 ( $P < 0.01$ )；草乌生物碱高剂量组与尼莫地平相比，没有统计学意义。结果提示草乌生物碱高、中剂量可缩小 pMCAO 大鼠的脑梗死体积，但不比尼莫地平效果好。见表 2，图 2、图 3。

表 2 草乌生物碱对大鼠脑梗死体积的影响  
Table 2 Effect of aconitum alkaloids on infarction volume of rats after pMCAO

项目 Items	实验数据±标准误 Data±s
假手术组	—
缺血组	$36.88 \pm 3.92$
尼莫地平组	$19.24 \pm 4.13$
草乌生物碱低剂量组	$34.51 \pm 2.85$
草乌生物碱中剂量组	$23.76 \pm 2.98$
草乌生物碱高剂量组	$18.79 \pm 1.99$

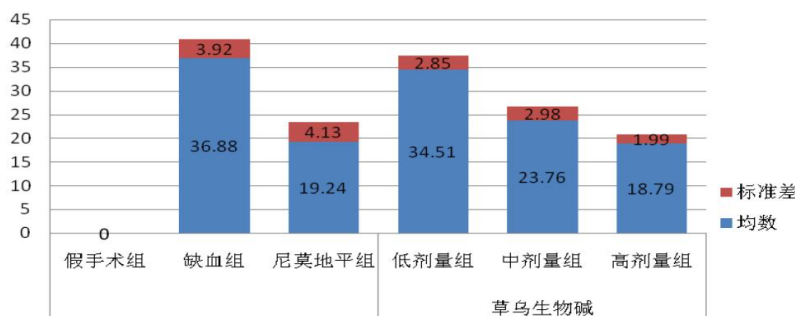


图 2 草乌生物碱对大鼠脑梗死体积的影响  
Fig.2 Effect of aconitum alkaloids on infarction volume of rats after pMCAO

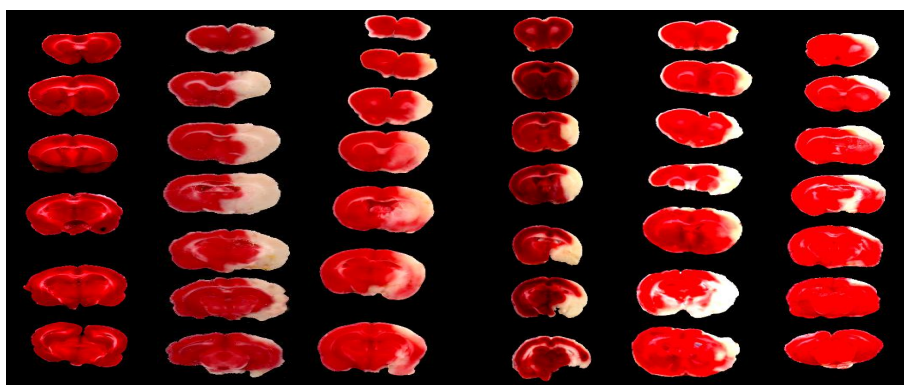


图 3 大鼠各组的脑梗死体积  
Fig.3 Each group of rats cerebral infarction volume

### 2.3 泰山草乌生物碱对大脑含水量的影响

假手术组的大脑含水量为  $(75.11 \pm 0.88)\%$ ，明显低于缺血组  $(82.61 \pm 1.21)\%$ ，两组大脑含水量有统计学差异 ( $P < 0.05$ )。尼莫地平组大脑含水量为  $77.32 \pm 1.02$ ，草乌生物碱高、中、低剂量组大脑含水量分别为  $76.58 \pm 0.91$ 、 $78.46 \pm 0.68$ 、 $81.07 \pm 2.33$ 。缺血组与草乌生物碱低剂量组相比，没有统计学意义；缺血组与草乌生物碱中剂量组相比，大鼠 pMCAO 后大脑含水量差异由显著性 ( $P < 0.05$ )；缺血组与草乌生物碱高剂量组相比，大鼠 pMCAO 后大脑含水量差异由显著性 ( $P < 0.01$ )；草乌生物碱高剂量组与尼莫地平组相比，没有统计学意义。结果提示草乌生物碱可减轻 pMCAO 大

鼠的脑水肿情况,改善脑水肿的作用并不比尼莫地平强。见表 3,图 4。

表 3 草乌生物碱对大鼠大脑含水量的影响 (%)  
Table 3 Effect of aconitum alkaloids on water content of rats after pMCAO

项目 Items	实验数据±标准误 Data±s
假手术组	75.11±0.88
缺血组	82.61±1.21
尼莫地平组	77.32±1.02
草乌生物碱低剂量组	81.07±2.33
草乌生物碱中剂量组	78.46±0.68
草乌生物碱高剂量组	76.58±0.91

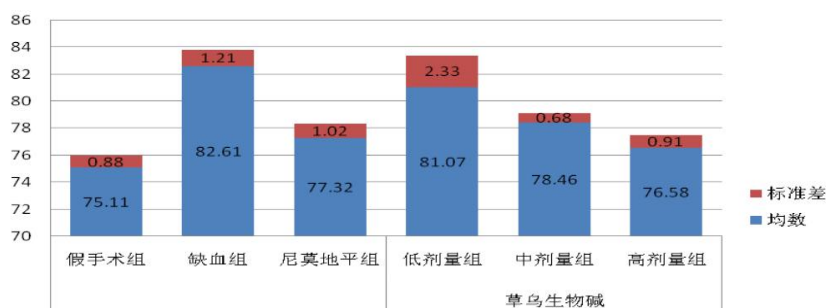


图 4 草乌生物碱对大鼠大脑含水量的影响 (%)  
Fig.4 Effect of aconitum alkaloids on water content of rats after pMCAO

### 3 讨论

缺血性脑卒中模型主要有局灶缺血模型和全脑缺血模型,本实验采用临床上较为常见的局灶性脑缺血模型<sup>[8]</sup>,观察了草乌生物碱对大鼠永久性大脑中动脉阻塞的保护作用。临床上,神经功能损伤评分是诊断和疗效评价的重要指标。损伤后脑梗死体积及神经功能损伤的评定是目前判定此模型成功的关键,也是研究脑缺血治疗药物及方法的主要观察指标<sup>[9]</sup>;脑水肿是脑组织对创伤性刺激的一种病理、生理反应,脑水肿是脑梗死严重并发症,减轻脑水肿对该病的治疗及预后具有重要意义<sup>[10]</sup>。

乌头(制川乌、制草乌)温通血脉而使痰化血行,气血运行通畅<sup>[11]</sup>,实验结果提示:草乌生物碱低剂量组对神经行为改善 pMCAO 大鼠的神经行为、脑梗死体积的减小和降低脑水肿的程度没有作用;草乌生物碱高、中剂量可改善 pMCAO 大鼠神经行为障碍、缩小脑梗死体积、减轻脑水肿有明显作用,但是与尼莫地平相比无明显差异。

### 4 结论

结果表明草乌生物碱能明显改善大鼠行为障碍,减小脑梗死范围,降低脑含水量,说明草乌生物碱对大鼠局灶性脑缺血有明显的神经保护作用。

### 参考文献

- [1] 李时珍.本草纲目[M].北京:人民卫生出版社,1999
- [2] 李永芳,苏延友,夏成才,等.泰山产草乌中总生物碱的提取工艺研究[J].泰山医学院学报,2009,30(1):18-20
- [3] 程刚,程迪,沈夕坤,等.氧化苦参碱对大鼠局灶性脑缺血损伤的保护作用及其抑制凋亡的作用机制[J].中国药理学通报,2013,29(3):387-392
- [4] 李曰彬.治疗心血管疾病小验方[J].医药验方,2003(11):62
- [5] Ding Y, Li J, Rafols JA, *et al.* Prereperfusion saline infusion into ischemic territory reduces inflammatory injury after transient middle cerebral artery occlusion in rats[J]. Stroke, 2002(33):2492-2498
- [6] Yrjänhikki J, Tikka T, Keinänen R, *et al.* Tetracyclines derivative, minocycline, reduces inflammation and protects against focal cerebral ischemia with a wide therapeutic window[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999(96):13496-13500
- [7] Lo WD, Betz A L. Transport of sodium from blood to ischemia brain edema[J]. Stroke, 1987(18):150-154
- [8] 杨学伟,季旭明,郭云良,等.黄连对大鼠缺血脑组织神经营养因子的影响[J].青岛大学医学院学报,2008,44(1):69-71
- [9] 王荣亮,刘小蒙,张营,等.大鼠局灶性脑缺血后神经功能评分与脑梗死体积相关性分析[J].首都医科大学学报,2013,34(1):69-73
- [10] 高靓,杜元灏,李中正,等.井穴放血和薏苡仁对脑缺血大鼠脑水肿影响的实验研究[J].针灸临床杂志,2012,28(3):49-52
- [11] 王新志.运用乌头治疗中风的经验[J].中医临床研究,2012,23(4):96-97