

基于灰色关联分析的藤茶不同极性部位在小鼠体内抗炎作用的谱-效关系研究[△]

刘雯^{1*}, 刘云², 刘进宝³, 郭海姣¹, 郑丽贞¹, 周丽园¹, 钟燕妮¹, 覃洁萍^{1#}(1. 广西中医药大学药学院, 南宁 530001; 2. 徐州医科大学附属医院检验科, 江苏徐州 221002; 3. 广西国际壮医医院人力资源部, 南宁 530200)

中图分类号 R282 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)19-2382-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.19.14

摘要 目的: 研究藤茶不同极性部位的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱与其体内抗炎作用的谱-效关系。方法: 取藤茶药材, 以70%乙醇回流提取, 再分别以石油醚、氯仿、乙酸乙酯、水饱和正丁醇萃取, 或直接以水煎煮, 浓缩后获得藤茶不同极性部位。建立二甲苯致小鼠耳肿胀炎症模型, 以地塞米松为阳性对照, 分别考察藤茶不同极性部位的抗炎活性。采用HPLC法建立藤茶不同极性部位的指纹图谱, 色谱柱为Poroshell 120 EC-C₁₈, 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液(梯度洗脱), 流速为1 mL/min, 柱温为25 ℃, 检测波长为365 nm, 进样量为5 μL。运用灰色关联度法分析藤茶不同极性部位HPLC指纹图谱共有峰与其抗炎药效之间的谱-效关系, 计算关联系数、关联度并进行排序。结果: 小鼠抗炎实验结果显示, 藤茶70%乙醇提取总部位、乙酸乙酯萃取部位、水提取部位的抗炎活性最明显(小鼠耳肿胀抑制率分别为54.07%、30.54%、30.45%)。藤茶不同极性部位HPLC指纹图谱中共确定了5个共有峰。谱-效关系分析结果显示, 5个共有峰的关联度均大于0.6; 其中, 抗炎效果较强的是3号峰和2号峰(二氢杨梅素), 两者的关联度均大于0.8。结论: 藤茶对二甲苯致小鼠耳肿胀的抗炎作用是多组分协同作用的结果; 3号峰未知成分和二氢杨梅素可能是藤茶抗炎作用的主要活性成分。

关键词 藤茶; 指纹图谱; 抗炎活性; 谱-效关系; 灰色关联分析

Study on Spectrum-effect Relationship of Anti-inflammatory Effect of Different Polar Parts of *Ampelopsis grossedentata* in Mice Based on Grey Relational Analysis

LIU Wen¹, LIU Yun², LIU Jinbao³, GUO Haijiao¹, ZHENG Lizhen¹, ZHOU Liyuan¹, ZHONG Yanni¹, QIN Jieping¹
(1. College of Pharmacy, Guangxi University of TCM, Nanning 530001, China; 2. Dept. of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Jiangsu Xuzhou 221002, China; 3. Dept. of Human Resources, International Zhuang Medical Hospital of Guangxi, Nanning 530200, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the spectrum-effect relationship of HPLC fingerprint of different polar parts of *Ampelopsis grossedentata* with its *in vivo* anti-inflammatory effect. METHODS: *A. grossedentata* was reflux extracted with 70% ethanol, then extracted with petroleum ether, chloroform, ethyl acetate and water saturated *n*-butanol; or it was directly decocted with water and then concentrated to obtain different polar parts. The xylene-induced mice ear swelling model was established; using dexamethasone as positive control, anti-inflammatory activity of different polar parts of *A. grossedentata* was investigated. Fingerprints of different polar parts of *A. grossedentata* were established by HPLC. The determination was performed on Poroshell 120 EC-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (gradient elution) at the flow rate of 1 mL/min. The column temperature was 25 ℃. The detection wavelength was set at 365 nm, and sample size was 5 μL. The grey relational analysis method was used to analyze the spectrum-effect relationship of HPLC fingerprint common peaks of different polar parts of *A. grossedentata* with its anti-inflammatory effect. The correlation coefficient and correlation degree were calculated and ranked. RESULTS: Anti-inflammatory experiment showed that the anti-inflammatory effects of 70% ethanol extraction part, ethyl acetate extraction part and water extraction part were the most significant (inhibitory rates of ear swelling were 54.07%, 30.54%, 30.45%). Five common peaks were determined in HPLC fingerprints of different polar parts from *A. grossedentata*. The

[△] 基金项目: 广西高校中药提取纯化与质量分析重点实验室项目(No.桂教科研[2014]6号); 广西中医药大学引进博士科研启动基金项目(No.2017BS024); 广西中医药大学校级科研项目(No.2018QN005)

* 工程师, 博士。研究方向: 中药活性成分分析及质量控制。E-mail: 123745789@qq.com

通信作者: 教授, 硕士生导师, 硕士。研究方向: 中药活性成分分析及质量控制。E-mail: 594724071@qq.com

spectrum-effect analysis results showed that the correlation of 5 common peaks were higher than 0.6; among them, peak 3 and peak 2 (dihydromyricetin) had the strongest anti-inflammatory effect, and their correlation degrees were both greater than 0.8. CONCLUSIONS: The anti-inflammatory effect of *A. grossedentata* on xylene-induced ear swelling in mice is the result of multi-component synergy; unknown

substance of peak 3 and dihydromyricetin may be the main active components of *A. grossedentata*.

KEYWORDS *Ampelopsis grossedentata*; Fingerprint; Anti-inflammatory activity; Spectrum-effect relationship; Grey relational analysis

葡萄科蛇葡萄属植物显齿蛇葡萄 *Ampelopsis grossedentata* (Hand.-Mazz.) W. T. Wang 是一种茶药两用植物^[1],广泛分布于我国广东、广西、湖南、湖北等长江以南地区。藤茶是显齿蛇葡萄的干燥嫩茎叶,其味甘、性凉,具有清热解毒、消炎利咽之功效,民间主要用于治疗咽喉炎、皮肤病、感冒发烧等症^[2-3]。现代研究表明,藤茶有效成分为黄酮类物质,主要包括二氢杨梅素、杨梅素、杨梅苷、芦丁、槲皮素、木犀草素等,具有抗炎、抗肿瘤、降血糖等药理作用^[4-5]。目前对于藤茶的研究主要是单方面研究其化学成分或药理作用等^[6-9],尚未从整体化学组分水平研究其抗炎活性相关物质,也无法表征其抗炎物质基础。谱效关系研究能够表征中药化学成分-药效相关关系,可以较为快捷地从复杂体系中筛选活性化合物^[10-13]。本研究以藤茶的抗炎作用为目标,通过制备藤茶不同极性部位并采集其高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,然后采用经典抗炎模型考察上述不同极性部位在小鼠体内的抗炎活性,并通过灰色关联分析法^[11,13]研究上述极性部位的HPLC指纹图谱与抗炎活性之间的关联性,旨在探讨藤茶发挥抗炎作用的物质基础,为后期深入开发利用藤茶资源提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

e2695型HPLC仪,含四元泵、柱温箱、可变波长检测器(美国Waters公司);SQP型百万分之一电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];CW2002-Z型红外外炉[艾美特电器(深圳)有限公司];HWS-26型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司);RE-600A型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);DHG-9203A型电热恒温鼓风干燥箱(上海齐欣科学有限公司)。

1.2 药品与试剂

二氢杨梅素、杨梅素对照品(实验室自制,纯度均大于99.0%);醋酸地塞米松片(浙江仙琚制药股份有限公司,批号:170784,规格:0.75 mg);0.9%氯化钠注射液(贵州科伦药业有限公司,批号:D18120504;作生理盐水用);乙腈为色谱纯,石油醚(60~90℃)、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇、磷酸、二甲苯等试剂均为分析纯,水为纯净水。

藤茶药材产自湖南张家界,由广西中医药大学中药鉴定学教研室谭勇教授鉴定为葡萄科蛇葡萄属植物显齿蛇葡萄 *A. grossedentata* (Hand.-Mazz.) W. T. Wang 的干燥嫩茎叶。

1.3 动物

SPF级昆明种小鼠,雌性,体质量18~22 g,购自广西医科大学动物实验中心,动物生产许可证号:SCXK

(桂)2014-0002。所有动物均适应性饲养3天后进行药理学实验。

2 方法与结果

2.1 藤茶不同极性部位的提取制备

2.1.1 藤茶70%乙醇提取总部位 藤茶药材粉碎后,称取粗粉500 g,加入70%乙醇5 000 mL加热回流提取2次,分别提取1、0.5 h;合并提取液,减压浓缩至无醇味,称定浓缩液质量后混匀。取上述浓缩液约一半量,称定质量,减压回收乙醇后以水浴蒸干,得藤茶70%乙醇提取总部位,记为“Ⅰ部位”(得率为46.01%)。

2.1.2 藤茶不同有机溶剂萃取部位 取“2.1.1”项下剩余浓缩液,加入水1 000 mL分散,然后依次用等体积石油醚、氯仿、乙酸乙酯、水饱和正丁醇多次萃取,每种溶剂均萃取至无色;将各溶剂萃取液分别合并,减压回收溶剂后浓缩至干,称定质量,得到藤茶不同极性溶剂萃取样品,分别记为“Ⅱ~Ⅴ部位”(得率分别为2.15%、6.74%、14.63%、4.38%)。

2.1.3 藤茶水提取部位 称取“2.1.1”项下藤茶药材粗粉100 g,加入水1 000 mL,煎煮2次,每次1 h;合并煎煮液,水浴浓缩至干,称定质量,得藤茶水提取部位,记为“Ⅵ部位”(得率为33.35%)。

2.2 藤茶不同极性部位的体内抗炎活性考察

采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验考察藤茶不同极性部位的体内抗炎活性。取小鼠80只,分为8组,分别为藤茶不同极性部位组[Ⅰ~Ⅵ部位组,0.07 g/10 g(按生药量计)];给药剂量根据前期样品溶解度、药液黏稠度、小鼠耐受性等因素的预实验结果进行设置]、阴性对照组(生理盐水)和阳性对照组(地塞米松,0.045 mg/10 g;剂量参考文献方法^[14]按人/小鼠等效剂量换算后设置),每组10只。Ⅰ~Ⅵ部位提取物根据其出膏得率,以0.5%CMC-Na溶液配制成相应药物溶液(质量浓度均为0.35 g/mL,按生药量计);地塞米松以0.5%CMC-Na溶液配制成质量浓度为0.225 mg/mL的药物溶液。各组小鼠分别灌胃生理盐水或相应药物溶液,每日1次,灌胃体积均为0.2 mL/10 g,连续给药5 d。在末次给药30 min后,于各组小鼠右耳的内外两侧均匀涂抹二甲苯10 μL进行致炎。1 h后处死小鼠,用打孔器在其左右耳相同位置处打孔,称量并记录其左、右耳片的质量,计算小鼠的耳肿胀度及肿胀抑制率[耳肿胀度=右耳片质量-左耳片质量;耳肿胀抑制率=(模型组耳片肿胀度-给药组耳片肿胀度)/模型组耳片肿胀度×100%]。采用SPSS 24.0软件对实验数据进行统计分析;数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果显示,与阴性对照组比较,阳性对照组和 I、IV、VI 部位组(70%乙醇提取总部位、乙酸乙酯萃取部位、水提取部位)小鼠耳肿胀度均显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);其中,在各极性部位中,70%乙醇提取总部位的耳肿胀抑制率最高(54.07%),其次为乙酸乙酯萃取部位(30.54%)、水提取部位(30.45%),提示上述 3 个部位的体内抗炎效果较强,详见表 1。

表 1 藤茶不同极性部位对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 1 Effects of different polar parts of *A. grossedentata* on xylene-induced ear swelling in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	耳肿胀度,mg	肿胀抑制率,%
阴性对照组	9.82±0.99	
阳性对照组	1.59±0.45**	83.81
I 部位组	4.51±0.78**	54.07
II 部位组	8.86±3.18	9.76
III 部位组	8.67±1.51	11.71
IV 部位组	6.82±1.15*	30.54
V 部位组	8.69±3.55	11.51
VI 部位组	6.83±1.93*	30.45

注:与阴性对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note:vs. negative control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

2.3 藤茶不同极性部位的 HPLC 指纹图谱建立

2.3.1 溶液制备 (1)混合对照品溶液:精密称取杨梅素、二氢杨梅素对照品各适量,置于同一量瓶中,加入甲醇溶解制成每 1 mL 含杨梅素 56.7 μg 、二氢杨梅素 103.2 μg 的混合对照品溶液。(2)藤茶不同极性部位供试品溶液:分别称取藤茶 I ~ VI 部位样品各适量,置于不同量瓶中,加入甲醇溶解制成质量浓度分别为 3.00、3.37、6.02、3.05、9.10、3.02 mg/mL (以干膏量计)的供试品溶液。

2.3.2 色谱条件 色谱柱:Poroshell 120 EC-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 4.0 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~20 min, 10% A→15% A; 20~40 min, 15% A→19% A; 40~66 min, 19% A→32% A; 66~67 min, 32% A→10% A);流速:1 mL/min;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;检测波长:365 nm;进样量:5 μL 。

2.3.3 方法学考察 (1)精密密度试验:取“2.3.1(2)”项下的 I 部位供试品溶液,按“2.3.2”项下色谱条件连续进样分析 6 次,记录各色谱峰保留时间和峰面积。结果,各色谱峰保留时间和峰面积的 RSD 均小于 1%,表明方法精密密度良好。(2)重复性试验:取“2.1.2”项下的 I 部位萃取物样品共 6 份,精密称定,按“2.3.1(2)”项下方法配制供试品溶液,再按“2.3.2”项下色谱条件进样分析,记录各色谱峰保留时间和峰面积。结果,各色谱峰保留时间和峰面积 RSD 均小于 3%,表明方法重复性良好。(3)稳定性试验:取“2.3.1(2)”项下的 I 部位供试品溶液,于室温条件下放置 0、2、4、8、12、24 h 后再按“2.3.2”项下色谱条件进样分析,记录各色谱峰保留时间和峰面积。结果,

各色谱峰保留时间和色谱峰面积的 RSD 均小于 3%,表明供试品溶液在室温条件下放置 24 h 较稳定。

2.3.4 指纹图谱的建立 取“2.3.1”项下的混合对照品溶液和 I ~ VI 部位供试品溶液,按“2.3.2”项下色谱条件进样分析,采集色谱图。将色谱图“cdf”格式文件导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》中,生成指纹图谱。结果,共确定了 5 个共有峰,详见图 1(图中,R 表示共有模式,S1~S2 分别表示 I ~ VI 部位供试品溶液)。

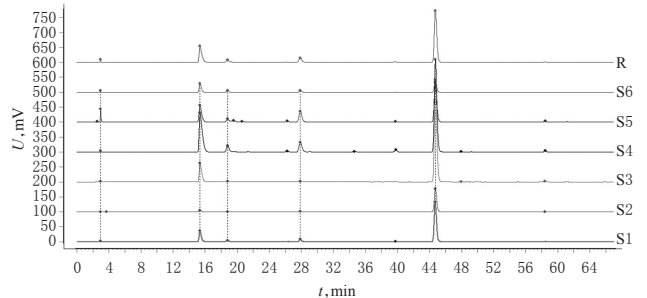
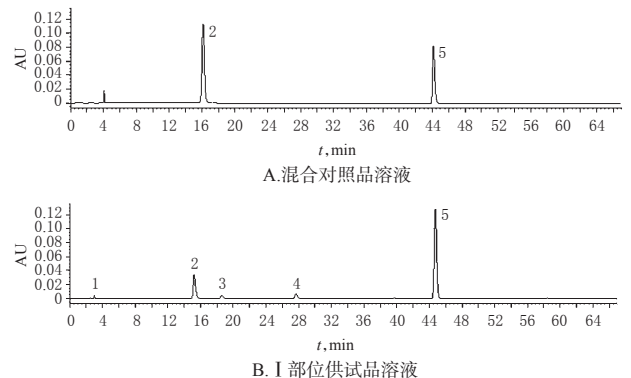


图 1 藤茶不同极性部位的 HPLC 指纹图谱

Fig 1 HPLC fingerprint of different polar parts of *A. grossedentata*

2.3.5 HPLC 指纹图谱特征峰的标定 取“2.3.1(1)”项下混合对照品溶液,按“2.3.2”项下色谱条件进样分析并采集色谱图,然后与“2.3.4”项下得到的色谱图共有峰进行比对。结果显示,2 号峰为双氢杨梅素,5 号峰为杨梅素。混合对照品溶液和藤茶极性部位供试品溶液的高效液相色谱图见图 2(其中,供试品溶液以 I 部位供试品溶液为代表进行峰位比对,其余部位供试品样品图略)。



注:2.双氢杨梅素;5.杨梅素

Note:2. dihydromyricetin; 5. myricetin

图 2 混合对照品溶液和藤茶极性部位供试品溶液的高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of mixed control solution and test solution of different polar parts of *A. grossedentata*

2.4 藤茶不同极性部位 HPLC 指纹图谱与抗炎活性的灰色关联度分析

2.4.1 数据集建立 以藤茶 6 个不同极性部位(I ~ VI)

样品的HPLC指纹图谱中5个共有峰峰面积(即按称样量和出膏得率折算成相等生药量后对应的峰面积)和上述样品对小鼠耳肿胀的抑制率建立数据集,结果见表2。

表2 藤茶不同极性部位的HPLC指纹图谱共有峰面积和抑制率

Tab 2 Common peak area of HPLC fingerprints and inhibition rate of different polar parts of *A. grossedentata*

样品	共有峰峰面积					耳肿胀抑制率, %
	1号峰	2号峰	3号峰	4号峰	5号峰	
I部位	67 019.9	2 137 667.0	268 293.6	477 208.8	8 282 217.3	54.07
II部位	15 911.7	11 439.4	1 363.3	3 968.7	221 537.0	9.76
III部位	2 188.8	324 993.2	16 235.8	7 918.6	1 690 908.9	11.71
IV部位	27 584.4	3 484 770.2	499 315.6	844 999.8	6 973 527.8	30.54
V部位	23 657.2	121 459.8	22 598.4	87 189.6	301 006.5	11.51
VI部位	75 779.7	1 234 275.5	274 353.9	270 540.6	1 883 136.2	30.45

2.4.2 数据无量纲化处理 由于表2数据中峰面积和肿胀抑制率的量纲不一致,因此采用均值化法对数据进行无量纲化处理: $K'_{i(j)} = K_{i(j)} / \overline{K_{i(j)}}$, $K'_{i(t)} = K_{i(t)} / \overline{K_{i(t)}}$ 。式中, $K'_{i(j)}$ 为原始数据均值化处理后的数据, $K_{i(j)}$ 为原始数据, $\overline{K_{i(j)}}$ 为第*i*批样品第*j*个指标的均值化处理后的数据,*t*为参考序列^[11,13],结果见表3。

表3 原始数据无量纲化处理结果

Tab 3 Dimensionless processing results of raw data

样品	均值化共有峰峰面积					均值化耳肿胀抑制率
	1号峰	2号峰	3号峰	4号峰	5号峰	
I部位	1.896	1.753	1.488	1.692	2.568	2.192
II部位	0.450	0.009	0.008	0.014	0.069	0.396
III部位	0.062	0.267	0.090	0.028	0.524	0.475
IV部位	0.780	2.858	2.768	2.997	2.162	1.238
V部位	0.669	0.100	0.125	0.309	0.093	0.467
VI部位	2.143	1.012	1.521	0.959	0.584	1.234

2.4.3 关联系数的计算 以藤茶不同极性部位(I~VI)对小鼠耳肿胀的抑制率为参考序列(*t*),以峰面积为比较序列(*j*),求参考序列与比较序列的灰色关联系数: $\zeta_{i(j)} = (\min \Delta K_{i(j)}' + \rho \times \max \Delta K_{i(j)}') / (|K_{i(j)}' - K_{i(t)}'| + \rho \times \max \Delta K_{i(j)}')$,式中,分辨系数 ρ 取值为0.5^[11,13],结果见表4。

表4 灰色关联系数计算结果

Tab 4 Calculation results of grey relation coefficient

样品	共有峰				
	1号峰	2号峰	3号峰	4号峰	5号峰
I部位	0.677	0.815	0.716	0.752	0.610
II部位	1.000	0.851	0.912	0.822	0.647
III部位	0.586	1.000	0.915	0.782	1.000
IV部位	0.557	0.419	0.458	0.393	0.369
V部位	0.774	0.865	0.951	1.000	0.611
VI部位	0.373	0.987	1.000	0.899	0.459

2.4.4 关联度和关联序的计算 分别计算各参考序列与比较序列之间的灰色关联系数的均值,即关联度,并对其进行排序,组成关联序,结果见表5。由表5可见,5个共有峰峰面积与小鼠耳肿胀抑制率的关联度均大于0.6,说明藤茶抗炎作用是多组分协同作用的结果^[9]。根

据关联序结果可知,抗炎效果较强的是3号峰和2号峰,两者关联度均大于0.8。

表5 藤茶不同极性部位的共有峰与肿胀抑制率的关联度和关联序

Tab 5 Correlation degree and order between common peaks and swelling inhibition rate of different polar parts of *A. grossedentata*

共有峰	关联度	关联序
1号峰	0.661 3	4
2号峰	0.822 7	2
3号峰	0.825 2	1
4号峰	0.774 9	3
5号峰	0.616 1	5

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

本研究考察了多种十八烷基硅烷键合相色谱柱,发现 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 4.0 μm) 的分离效果明显优于其他 5.0 μm 粒径的色谱柱;采用乙腈-0.1% 磷酸水溶液进行梯度洗脱,获得的色谱图基线平稳,色谱峰峰形状佳、分离度好。

3.2 藤茶不同极性部位的谱-效关系分析

藤茶功效清热解毒、消炎利咽,民间主要用于治疗咽喉炎、皮肤病、感冒发烧等症,因此本研究选择抗炎活性作为藤茶药效学指标对其药效进行评价;中药指纹图谱作为一种综合的可量化的检测手段,可以反映中药中化学成分的构成和含量,故本研究选择HPLC指纹图谱作为检测藤茶中化学成分的手段。灰色关联法是根据因素之间发展趋势的相似或相异程度,作为衡量因素间关联程度的一种方法,该方法对样本数量和数据规律性的要求较低,适用于评价中药化学成分与药效之间的关联程度,筛选功效成分^[11,13]。本研究采用灰色关联分析对藤茶不同极性部位的谱-效关系进行考察,旨在筛选出藤茶中的抗炎活性物质。结果显示,藤茶不同极性部位的HPLC指纹图谱中共确定了5个共有峰;二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验结果显示,70%乙醇提取总部位、乙酸乙酯萃取部位、水提取部位的抗炎作用显著;进一步通过灰色关联度法分析后发现,5个共有峰对藤茶抗炎效果的贡献均较大(关联度均大于0.6),其中抗炎效果较强的是3号峰(未知成分)和2号峰(二氢杨梅素)。

综上所述,藤茶对二甲苯致小鼠耳肿胀的抗炎作用是多组分协同作用的结果;HPLC指纹图谱中的3号峰未知成分和二氢杨梅素是藤茶抗炎作用的主要活性成分。其中,3号峰对应的未知成分尚需进一步进行结构分析。

参考文献

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴: 补编第二册[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 349.
- [2] 王婉莹. 藤茶传统药理学及抗氧化活性的初步研究[D]. 北京: 北京协和医学院药用植物研究所, 2014.

淫羊藿次苷 II 调节 miR-141-3p/Notch/Nrf2 轴对局灶性脑缺血模型大鼠神经功能的改善作用研究^Δ

高琛^{1*}, 支应鹏^{2#} (1. 济南市中医医院脑病科, 济南 250012; 2. 济南市中医医院高血压科, 济南 250012)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)19-2386-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.19.15

摘要 目的: 研究淫羊藿次苷 II (ICS II) 通过调节微核糖核酸-141-3p/Notch 信号通路/核因子 E2 相关因子 2 (miR-141-3p/Notch/Nrf2) 轴对局灶性脑缺血模型大鼠神经功能的改善作用。方法: 将大鼠分为假手术组、模型组、尼莫地平组 (20 mg/kg) 和 ICS II 低、中、高剂量组 (4、8、16 mg/kg), 每组 20 只。构建局灶性脑缺血大鼠模型 24 h 后, 分别灌胃生理盐水或相应药物, 每天 2 次, 连续给药 3 d。对各组大鼠神经功能缺损进行评分; 采用 2, 3, 5-三苯基氯化四氮唑 (TTC) 染色法测定大鼠脑梗死体积; 测定大鼠脑组织含水量、血脑屏障通透性; 采用苏木精-伊红 (HE) 染色法观察大鼠脑组织病理学变化; 采用实时荧光定量 PCR 法测定大鼠脑组织中 miR-141-3p 表达水平; 采用 Western blotting 法测定大鼠脑组织中 Notch、Nrf2 蛋白表达水平。结果: 与假手术组比较, 模型组大鼠神经功能缺损评分和脑组织中 Notch-1、Nrf2 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$), 脑梗死体积、脑组织含水量、血脑屏障通透性、miR-141-3p 表达水平显著升高 ($P < 0.05$); 脑皮质细胞分布杂乱, 可见大量神经细胞炎性浸润和坏死。与模型组比较, ICS II 各剂量组大鼠神经功能缺损评分和脑组织中 Notch-1、Nrf2 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$), 脑梗死体积、脑组织含水量、血脑屏障通透性、miR-141-3p 表达水平显著降低 ($P < 0.05$); 脑皮质细胞排列规则, 神经细胞炎性浸润和坏死数明显减少。结论: ICS II 能促进局灶性脑缺血模型大鼠神经功能的恢复, 这可能与下调 miR-141-3p 水平, 从而激活 Notch/Nrf2 轴有关。

关键词 淫羊藿次苷 II; 微核糖核酸-141-3p; Notch 信号通路; 核因子 E2 相关因子 2; 局灶性脑缺血模型; 大鼠

Study on Improvement Effects of Icariside II on Neurological Function of Focal Cerebral Ischemia Model Rats by Regulating miR-141-3p/Notch/Nrf2 Axis

GAO Chen¹, ZHI Yingpeng² (1. Dept. of Encephalopathy, Jinan Hospital of TCM, Jinan 250012, China; 2. Dept. of Hypertension, Jinan Hospital of TCM, Jinan 250012, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the improvement effects of icariside II (ICS II) on neurological function of focal cerebral ischemia model rats by regulating miR-141-3p/Notch/nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2) axis (miR-141-3p/Notch/Nrf2). METHODS: The rats were divided into sham operation group, model group, nimodipine group (20 mg/kg) and ICS II low-dose, medium-dose and high-dose groups (4, 8, 16 mg/kg), with 20 rats in each group. Twenty-four hours after establishing

- [3] 许利嘉, 马培, 肖伟, 等. 别样茶-藤茶的古今应用历史初步调查[J]. 中国现代中药, 2012, 14(4): 62-66.
- [4] HOU XL, TONG Q, WANG WQ, et al. Dihyromyricetin protects endothelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidative stress damage by regulating mitochondrial pathways[J]. *Life Sci*, 2015. DOI: 10.1016/j.lfs.2015.03.007.
- [5] 侯小龙, 王文清, 施春阳, 等. 二氢杨梅素药理作用研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(2): 603-609.
- [6] 付明, 黎晓英, 王登宇, 等. 显齿蛇葡萄叶中黄酮类化合物的研究[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(7): 574-578.
- [7] 白秀秀, 夏广萍, 赵娜夏, 等. 张家界产莓茶中的酚性化学成分[J]. 中药材, 2013, 36(1): 65-67.
- [8] HOU W, HU SY, SU ZZ, et al. Myricetin attenuates LPS-

induced inflammation in RAW264.7 macrophages and mouse models[J]. *Future Med Chem*, 2018, 10 (19): 2253-2264.

- [9] 周春权, 林静瑜, 姚欣, 等. 藤茶总黄酮体外抗肿瘤实验研究[J]. 中国医药科学, 2012, 2(9): 50-51.
- [10] 蔡晓翠, 毛艳, 贺金华, 等. 新疆一枝蒿不同极性部位体外抗炎作用的谱-效关系分析[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(9): 1580-1589.
- [11] 梁健钦, 王剑, 熊万娜, 等. 基于灰色关联分析的芒果叶提取物抗炎作用的谱效关系[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(1): 121-125.
- [12] 相美容, 王孝霞, 孙启慧, 等. 细辛不同极性部位 HPLC 指纹图谱与其镇痛抗炎活性的谱效关系研究[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(12): 2603-2607.
- [13] 孙振阳, 张景珍, 王思雨, 等. 基于灰色关联度法评价西红花饮片质量[J]. 中成药, 2019, 41(10): 2430-2434.

(收稿日期: 2020-04-03 修回日期: 2020-08-05)

(编辑: 段思怡)

^Δ 基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目 (No. 2019-0555)

* 主治中医师, 硕士。研究方向: 中西医结合治疗脑病基础及临床。E-mail: 2713853661@qq.com

通信作者: 主治中医师, 硕士。研究方向: 中西医结合治疗心脑血管病基础及临床。E-mail: lishuming26@126.com