

栀子环烯醚萜苷治疗脑缺血损伤的作用机制研究

杨军宣¹, 张海燕², 赵成城¹, 黄勤挽¹, 杨明^{1,2*}

(1. 成都中医药大学药学院, 成都 611137;
2. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

[摘要] 目的:探讨近几年来栀子环烯醚萜苷治疗脑缺血损伤的作用机制,为栀子环烯醚萜苷类成分的进一步研究和应用提供参考。方法:查阅国内外相关文献并进行归纳、总结。结果:环烯醚萜苷类成分是栀子药材的主要化学成分。研究表明,它不仅有明显的保肝利胆、解热、镇静等作用,而且对缺血性脑损伤亦有保护作用。关于栀子环烯醚萜苷类成分对缺血性脑损伤的保护作用研究较多,其作用机制是多方面的。结论:栀子环烯醚萜苷治疗脑缺血损伤的作用机制有待进一步研究。

[关键词] 栀子环烯醚萜苷;脑缺血;作用机制;研究进展

[中图分类号] R 285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)06-0277-04

Progress in Studies on Mechanism of Gardenia Iridoid
Glycosides for Cerebral Ischemic Injury

YANG Jun-xuan¹, ZHANG Hai-yan², ZHAO Cheng-cheng¹, HUANG Qin-wan¹, YANG Ming^{1,2*}

(1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;
2. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] Objective: To review the progress in studies on mechanism of gardenia iridoid glycosides for treatment of cerebral ischemic injury, so as to provide more information on gardenia iridoid glycosides for further research and application. Method: The literatures published home and abroad in recent years were consulted and summarized. Result: Gardenia iridoid glycosides are the main chemical components in Fructus Gardeniae. Modern studies show that gardenia iridoid glycosides not only have protective effects in liver gallbladder, antipyretic, sedative and other effects, but also have protective effects against ischemic brain injury. Currently there are more studies about gardenia iridoid glycosides against ischemic brain injury, and the mechanism is multifaceted. Conclusion: More studies are needed on the mechanism of gardenia iridoid glycosides for treatment of cerebral ischemic injury.

[Key words] gardenia iridoid glycosides; cerebral ischemia; mechanism; research progress

栀子为茜草科植物 *Gardenia jasminoides* Ellis. 的干燥成熟果实,具有泻火除烦,清热利尿,凉血解毒之功效。用于热病心烦,黄疸尿赤,血淋涩痛,血热吐衄,目赤肿痛,火毒疮疡,外治扭挫伤痛^[1]。其化学成分主要含:环烯醚萜苷类、有

机酸类、色素、挥发性成分、多糖及其他成分等^[2]。近些年对栀子及其有效成分的研究表明,其在消化系统、心脑血管系统、中枢神经系统以及抗肿瘤方面等具有广泛的药理作用^[3]。临床亦开始尝试用于缺血性脑损伤等脑血管疾病的治疗,如王永炎院士基于“毒损脑络”病机假说,形成栀子、丹参等配伍的解毒通络方剂的临床疗效已初现端倪。近年来,关于栀子环烯醚萜苷类成分治疗脑缺血损伤的作用机制研究较多,现将其综述如下。

1 对脑组织能量代谢障碍的影响

脑缺血损伤的发病基础是能量代谢障碍,继而诱发其他发病环节。线粒体是真核细胞的一种重要细胞器,是细胞进行呼吸作用的主要场所,机体的三磷酸腺苷(ATP)90%来自

[收稿日期] 20100108(014)
[第一作者] 杨军宣,在读博士,中药新制剂研究, Tel: (028) 61800127, E-mail: yjxhawk@ sina. com
[通讯作者] * 杨明,教授,博士生导师,主要从事中药新制剂、新剂型、新技术研究, E-mail: yangming16 @ 126. com

线粒体氧化磷酸化,为细胞及其自身代谢提供大量能量。研究表明,脑缺血再灌注可引起线粒体结构和功能异常,而线粒体异常会引起其他细胞器及整个细胞的变化,从而进一步加重损伤。李伟华等^[4]研究发现,缺氧缺糖培养 8 h 再灌注 12 h 对神经细胞可造成明显损伤,SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞可见较多细胞突起皱缩、变圆、轮廓不清,凋亡率明显上升,线粒体活性显著降低。栀子苷可显著减轻上述损伤,提高线粒体的活性。从而说明保护线粒体的活性是栀子苷拮抗神经细胞缺氧缺糖再灌注损伤的内在机制之一。

星形胶质细胞(Ast)与神经元联系密切,在脑缺血区的早期变化可增强神经元对低糖和缺氧的耐受性,并且通过调节细胞外液 K^+ 浓度和摄取谷氨酸以及表达神经营养因子对缺血性神经元有明显的保护作用^[5]。钟相根等^[6]研究发现,脑缺血后 Ast 迅速激活,在脑缺血区发生肥大和增生性变化,合成与分泌多种神经营养因子,缓冲细胞外 K^+ 和代谢多种神经递质,因而活性 Ast 对缺血性损伤神经元发挥保护作用。在缺血 12 h 时段,清开灵有效组分均有一定程度的促进 Ast 反应性增生进而保护受损神经元的作用,其中黄芩苷、栀子苷组作用最强。酸性钙结合蛋白(S-100 β)可调节蛋白激酶 C 和钙调蛋白的磷酸化及 RNA 的合成,从而调节细胞的能量代谢;可增强 ATP 酶的活性。

2 对炎症的影响

炎症是由级联反应大量细胞毒性成分诱导的氧自由基(OFR)和其他介质导致细胞因子和致炎症酶原产生的结果。脑缺血时,神经元、星形胶质细胞、小胶质细胞、白细胞和内皮细胞被激活,开始表达细胞因子。细胞因子刺激白细胞和内皮细胞上黏附分子及其受体的表达,促使白细胞黏附到内皮细胞上,继而附壁、穿出并在缺血脑区聚集,白细胞释放的毒性产物及白细胞的吞噬和免疫作用加重了梗死。其中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、E-选择素(E-selectin)等细胞因子和黏附分子参与了这一过程并起到重要作用,拮抗它们的作用有可能减轻脑损伤的程度,缓解神经系统症状。朱晓磊等^[7-8]研究发现,胆酸、栀子苷及其配伍对抑制脑缺血后炎症因子和黏附分子的表达具有良好的作用,从而能够减轻炎症损伤。其中胆酸和栀子苷配伍作用尤为突出,可以在多时段、多环节干预炎症反应过程、阻抑脑缺血损伤级联反应从而发挥阻抑对神经元的损害作用。栀子苷亦可阻抑血浆血管性血友病因子(vWF)的表达。徐雅等^[9]研究发现,胆酸、栀子苷、珍珠母及合方可显著降低脑组织中 TNF- α 含量(抑制合成与分泌)。徐丽荣等^[10]研究发现,栀子苷、胆酸等均可阻抑脑组织中 E-selectin 表达。单核细胞趋化蛋白(MCP-1)是一种在脑缺血后脑内炎症反应发生过程中起重要作用的趋化因子,其表达增加与缺血脑组织损伤部位单核细胞集聚和神经胶质细胞活化有关。周峻伟等^[11]研究发现,珍珠母、胆酸、栀子苷、黄芩苷可以显著降低缺血脑组织的 MCP-1 含量。珍珠母、胆酸、栀子苷、黄芩苷的保护作用可能与通过降低缺血部

位脑组织中 MCP-1 的表达,进而减少小胶质细胞活化和单核巨噬细胞在损伤部位积聚等有关。杨奎等^[12-13]研究发现,栀子总环烯醚萜苷可以干预炎症反应,阻止神经元凋亡;亦可以抑制核转录因子 NF-kappaB(NF-kB)活化,减少炎症因子释放,从而减轻脑水肿。

3 对脑血管内皮细胞的影响

生理情况下,血管内皮细胞通过对内皮素(ET-1)、血栓素 A_2 (TXA $_2$)、前列环素(PGI $_2$)等活性物质的合成、释放、转化、灭活来保持它们在血液中一定的浓度比,从而维持脑微血管的正常舒缩。而脑微血管的正常舒缩对调节脑部供血、维持脑内环境的稳定和生命活动的正常进行,具有十分重要的意义。急性脑缺血时,机体内 TXA $_2$ 、PGI $_2$ 、ET-1 含量发生明显变化,这种变化反应于脑微血管,使脑微血管挛缩,血管内皮受损,进一步加重缺血后脑损伤。徐丽荣等^[14]观察脑缺血后不同时间段 MCAO 大鼠血浆 ET-1、TXB $_2$ 等表达水平及清开灵注射液有效组分黄芩苷、栀子苷、胆酸、珍珠母水解液对其表达的影响。结果发现,血浆 ET-1 含量在不同时段均升高,合方、栀子苷阻抑缺血 24 h 血浆 ET-1 高表达;血浆 TXB $_2$ 含量在缺血 12 h 显著升高,各有效组分均有阻抑其高表达作用;各组分能增加 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 的表达,降低 TXB $_2$ /6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 的比值和 vWF 含量,从而减轻内皮细胞损伤,改善微血管灌流。丁嵩涛等^[15]研究发现,栀子苷能明显提高 H $_2$ O $_2$ 损伤的内皮细胞的存活率,提高细胞内 SOD、GSH-Px、NOS 活性,使培养液中 NO 含量增加,降低细胞内 ROS 水平,减少 H $_2$ O $_2$ 诱导的细胞凋亡率,恢复血管内皮细胞增殖。

4 对神经细胞凋亡的影响

近年研究发现了许多与细胞凋亡相关的信号途径,如一些细胞因子、生长因子、肿瘤坏死因子调控细胞凋亡进程。星形胶质细胞与神经元联系密切,脑缺血损伤后所激发的星形胶质细胞反应已远远超出了对神经元的营养支持和清除变性坏死组织的作用;在脑缺血区的早期变化可增强神经元对低糖和缺氧的耐受性,并且通过调节细胞外液 K^+ 浓度和摄取谷氨酸以及表达神经营养因子对缺血性神经元有明显的保护作用。李伟华等^[4]研究发现缺氧缺糖对神经细胞可造成明显损伤,SH-SY5Y 细胞可见较多细胞突起皱缩、变圆、轮廓不清,凋亡率明显上升。栀子苷等可显著减轻上述损伤,对神经细胞有保护作用。张占军等^[16]通过磁共振,研究发现栀子苷加胆酸组分配伍具有脑神经保护作用。郑加嘉等^[17]研究发现,黄芩苷、栀子苷对脑缺血损伤神经元具有保护作用,促进星形胶质细胞等产生碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)是其主要作用途径。李伟华等^[18]研究发现,缺血再灌注损伤可明显抑制脑组织神经生长因子(NGF)的表达,再灌注 24 h,牛黄、栀子均可促进 NGF 的表达,而二者配伍后作用明显降低;再灌注 72 h、牛黄的作用不显著,栀子可明显增强 NGF 的表达,二者配伍未显示出明显的配伍效应。严华等^[19]研究发现,缺血损伤可使神经胶质细胞 NGF 分泌量减少。清开灵总方组、黄芩苷组、栀子苷组神经胶质细胞分

泌 NGF 的量明显增多,对缺血损伤具有保护作用。钟相根等^[6]研究发现,Ast 针对缺血损伤迅速激活,在脑缺血区发生肥大和增生性变化。激活的 Ast 能合成与分泌多种神经营养因子,对缺血性损伤神经元发挥保护作用;其中黄芩苷、栀子苷组作用最强。李利娟等^[20]观察栀子苷对血管性痴呆大鼠行为学和脑组织病理改变的影响,结果病理检查显示与模型组相比,栀子苷治疗组大鼠皮层及海马神经元的凋亡坏死明显减轻。杨奎等^[21]研究发现,栀子总环烯醚萜苷可以干预脑出血后炎症反应,阻止神经元凋亡。Liu JH 等^[22]研究发现,栀子苷的神经保护作用与磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)的信号传导有关。

5 对自由基损伤的影响

氧自由基(OFR)可与生物膜上不饱和脂肪酸反应,形成脂质过氧化物,破坏膜结构;或引起 Ca^{2+} 超载;或造成细胞成分之间的交联,使神经元丧失功能。李传云等^[23]通过检测牛黄、栀子对大鼠局灶性脑缺血再灌注不同时段脂质过氧化损伤的影响,结果发现栀子可明显升高缺血再灌注 24 h 脑组织超氧化物歧化酶(SOD)活性、降低丙二醛(MDA)含量。杨奎等^[24]研究表明栀子总环烯醚萜苷可以抑制血红素氧合酶-1(HO-1)表达,增强抗氧化能力,从而减轻脑水肿。张小燕等^[25]研究栀子苷对局灶性脑缺血大鼠脑组织基因表达谱的影响,结果表明在脑缺血后栀子苷进一步上调谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的表达,说明栀子苷对缺血性脑神经损伤中的自由基损伤具有很好的拮抗作用。

6 对 Ca^{2+} 超载的影响

Ca^{2+} 超载可引起神经递质释放,神经细胞过度兴奋,加剧能量消耗;可破坏线粒体的电子传递链,终止 ATP 产生,乳酸大量堆积,加重脑组织酸中毒;可干扰神经细胞物质代谢和损害血脑屏障^[26]。钙结合蛋白以多拷贝形式存在并选择性地与钙离子高亲合性结合。局灶性脑缺血导致能量代谢障碍,ATP 合成减少,大量钙离子通过电压依赖性钙通道涌入胞内。张小燕等^[25]研究发现,栀子苷上调钙结合蛋白表达,说明栀子苷对缺血性脑神经损伤具有一定的保护作用,结果和文献所报道一致^[27-28]。Yamazaki M 等^[29]研究发现,栀子苷元通过抑制 A23187(Ca^{2+} 载体)保护 Neuro2a 细胞,提示其对缺血性脑损伤可能有保护作用。

7 结语

脑缺血损伤是一个复杂的病理过程,涉及脑组织能量代谢紊乱、兴奋性氨基酸毒性、自由基损伤、 Ca^{2+} 超载、炎症、血小板激活、神经细胞凋亡等多个环节^[26]。近年来研究报道栀子苷治疗脑缺血损伤,其中对炎症影响的研究较多,作用机制主要是减少脑组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、E-选择素(E-selectin)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)等细胞因子和黏附分子的表达,减轻白细胞与血管内皮细胞间的黏附作用,从而抑制炎症的发生与发展有关。其次是对神经细胞凋亡的影响研究较多,作用机制主要是增强 NGF 的表达,激活胶质细

胞(Ast),合成与分泌多种神经营养因子,对缺血性损伤神经元发挥保护作用。而关于栀子苷对脑组织能量代谢障碍的影响、对兴奋性氨基酸毒性的影响、对自由基损伤的影响、对 Ca^{2+} 超载的影响、对血小板激活的影响、对 NO 释放的影响等研究报道较少,有的研究尚为空白。当前任何一种药物针对单一环节作用对于脑缺血损伤的治疗都是局限的,必须在多个环节上进行干预才能从根本上阻断脑缺血后的神经元持续损伤。中药的特点是多成分、多途径、多靶点综合作用。研究表明,栀子苷可以在多时段、多环节干预炎症反应过程,保护脑血管内皮细胞,拮抗脑缺血损伤级联反应,从而发挥阻抑对神经元的损害作用^[7]。而栀子总环烯醚萜苷类成分的作用是否优于单一成分栀子苷,有待进一步深入研究。研究表明,口服大剂量的栀子水提物、醇提物及京尼平苷导致明显的肝、肾病理学改变,具有肝、肾毒性^[30]。而采用其他给药途径是否能减低其肝、肾毒性,有待进一步进行比较研究。同时,采用抗炎、镇静、凝血及化学性肝损伤指标,观察栀子不同炮制品的作用,研究表明不同炮制品之间作用有差异^[31]。而其对脑缺血性损伤的作用是否有差异,亦有待进一步研究。综上所述,栀子作为清开灵制剂的主要组成及王永炎院士解毒通络方剂的主要药物,其临床疗效已得到肯定,有必要对栀子进行深入系统的研究,为开发新的治疗脑缺血的药物奠定基础。同时,我国栀子药材资源非常丰富,为其新药开发亦提供了资源保证。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:化学工业出版社,2005:173.
- [2] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用[M]. 北京:学苑出版社,1997:3169.
- [3] 那莎,郭国田. 栀子及其有效成分药理研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2005,12(1):91.
- [4] 李伟华,朱陵群,王硕仁,等. 黄芩苷、栀子苷对神经细胞缺氧缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. 中国药理学杂志,2004,39(5):344.
- [5] Kuwabara K, Matsumoto M, Ikeda J, et al. Purification and characterization of a novel stress protein, the 150-Kda oxygen regulated protein (OPR150), from cultured rat astrocytes and its expression in ischemic mouse brain[J]. Biol Chem, 1996, 271:5025.
- [6] 钟相根,李澎涛,王永炎,等. 清开灵有效组分对大鼠缺血脑组织星形胶质细胞活化的影响[J]. 中国医药学报,2004,19(6):338.
- [7] 朱晓磊,张娜,李澎涛,等. 胆酸、栀子苷配伍对脑缺血时脑组织 TNF- α , IL-1 β 和 ICAM-1 含量的影响[J]. 北京中医药大学学报,2004,27(6):26.
- [8] 朱晓磊,张娜,李澎涛,等. 栀子苷阻抑脑缺血损伤级联反应的作用环节探讨[J]. 中国中药杂志,2004,29

- (11);1065.
- [9] 徐雅,李澎涛,谢利军,等. 清开灵不同组分对大鼠 MCAO 模型脑组织中肿瘤坏死因子的影响特征[J]. 中华中医药杂志,2007,22(7):443.
- [10] 徐丽荣,马世彬,李澎涛,等. 清开灵有效组份对局灶性脑缺血大鼠脑组织细胞间黏附分子表达的影响[J]. 中草药,2004,35(6):666.
- [11] 周峻伟,季绍良,李澎涛. 珍珠母、胆酸、栀子苷、黄芩苷对局灶性脑缺血大鼠缺血脑组织单核细胞趋化蛋白的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2004,11(6):500.
- [12] 杨奎,闵志强,石娅萍,等. 栀子总环烯醚萜苷对脑出血大鼠炎症反应与神经元凋亡的影响[J]. 中药新药与临床药理,2009,20(1):8.
- [13] 杨奎,石娅萍,向靓,等. 栀子总环烯醚萜苷对脑出血大鼠血肿周围 NF-KB 表达的影响[J]. 中药药理与临床,2007,23(6):26.
- [14] 徐丽荣,马世彬,李澎涛,等. 清开灵有效组分对 MCAO 大鼠脑微血管内皮细胞的影响[J]. 中药材,2004,27(5):348.
- [15] 丁嵩涛,刘洪涛,李文明,等. 栀子苷对氧化应激损伤血管内皮细胞的保护作用[J]. 中国药理学通报,2009,25(6):725.
- [16] 张占军,王忠,李澎涛,等. 磁共振 DWI 技术在栀子苷、胆酸及配伍治疗脑缺血大鼠研究中的应用[J]. 中国中西医结合杂志,2006,26(4):332.
- [17] 郑加嘉,周泉漫,曾繁涛. 黄芩苷、栀子苷对缺血脑组织神经营养因子含量的影响[J]. 广东药学院学报,2006,22(3):320.
- [18] 李伟华,李传云. 牛黄栀子配伍对大鼠局灶性脑缺血再灌注不同时段神经生长因子(NGF)含量的影响[J]. 中国民康医学杂志,2004,16(3):129.
- [19] 严华,张永祥,黄璐琦,等. 清开灵及有效成分对培养大鼠缺血损伤神经胶质细胞分泌 NGF 的影响[J]. 中国中医基础医学杂志,2003,9(2):31.
- [20] 李利娟,李宏霞,吴欣桐,等. 栀子甙对血管性痴呆大鼠行为学和脑组织病理改变的影响[J]. 四川大学学报:医学版,2009,40(4):604.
- [21] 杨奎,闵志强,石娅萍,等. 栀子总环烯醚萜苷对脑出血大鼠炎症反应与神经元凋亡的影响[J]. 中药新药与临床药理,2009,20(1):8.
- [22] Liu J H, Yin F, Guo L X, *et al.* Neuroprotection of geniposide against hydrogen peroxide induced PC12 cells injury: involvement of PI3 kinase signal pathway[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2009,30(2):159.
- [23] 李传云,李澎涛,潘彦舒,等. 牛黄、栀子配伍对大鼠局灶性脑缺血再灌注不同时段脂质过氧化损伤的影响[J]. 中国医药学报,2004,19(9):528.
- [24] 杨奎,石娅萍,向靓,等. 栀子总环烯醚萜苷对脑出血大鼠血红素氧合酶-1 表达的影响[J]. 中药新药与临床药理,2008,19(1):9.
- [25] 张小燕,张占军,王忠,等. 栀子苷对局灶性脑缺血大鼠脑组织基因表达谱的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2005,25(1):42.
- [26] 陈奇. 中药药效研究思路与方法[M]. 北京:人民卫生出版,2005:214.
- [27] Freund T F, Buzsaki G, Leon A, *et al.* Relationship of neuronal vulnerability and calcium binding protein immunoreactivity in ischemia[J]. Exp Brain Res, 1990, 83(1):55.
- [28] Yenari M A, Minami M, Sun G H, *et al.* Calbindin d28k overexpression protects striatal neurons from transient focal cerebral ischemia[J]. Stroke,2001,32(4):1028.
- [29] Yamazaki M, Chiba K, Yoshikawa C. Genipin suppresses A23187-induced cytotoxicity in neuro2a cells [J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2009, 32(6):1043.
- [30] 王波,杨洪军,高双荣,等. 栀子对大鼠肝肾毒性的病理学观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(5):45.
- [31] 李文,张村,陈红,等. 生栀子、焦栀子 50% 和 95% 乙醇洗脱部位药效学比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(11):37.

[责任编辑 蔡仲德]