

- [16] 包红朵, 钟翔, 王恬. 甜菜碱与脂肪代谢[J]. 家畜生态报道, 2008, 29(3): 6-10.
- [17] Lowry KR, Izquierdo OA, Baker DH. Efficacy of betaine relative to choline as a dietary methyl donor[J]. Poult Sci, 1987, 66: 135-140.
- [18] 唐勇, 张万星, 宋光耀, 等. 张万星胰岛素抵抗人群皮下脂肪组织中脂肪甘油三酯脂酶和激素敏感性脂肪酶表达减低[J]. 临床荟萃, 2010, 25(1): 25-28.

(编辑: 宋威)

柚皮苷对豚鼠离体气管平滑肌作用的机制研究

裴 昆¹, 夏放高², 陈海芳¹, 罗小泉¹, 易徐航¹, 董 晶¹, 杨武亮¹ (1. 江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004; 2. 江西钟山药业有限责任公司, 江西 九江 332501)

摘要: **目的** 考察柚皮苷对正常及多种致痉剂诱导的豚鼠气管平滑肌收缩功能的影响及其作用机制。**方法** 采用离体气管恒温灌流的方法, 取豚鼠气管, 在 K-H 液中制备豚鼠离体气管环, 在其静息张力状态下以及用乙酰胆碱(Ach)、组胺(His)、氯化钙(CaCl₂)、无钙时 Ach 诱导细胞内钙释放和高钙时诱发细胞外钙内流条件下, 通过 BL-420S 生物机能实验系统测定其张力的变化, 考察柚皮苷对离体豚鼠气管平滑肌张力的影响。**结果** 柚皮苷低剂量浓度(0.0172~0.5504)mmol·L⁻¹ 时, 对静息状态下的豚鼠离体气管平滑肌有一定的收缩作用, 高剂量浓度(0.5504~1.3780)mmol·L⁻¹ 时舒张气管平滑肌, 且呈剂量依赖性; 使致痉剂 Ach、His、CaCl₂ 收缩豚鼠离体气管平滑肌的量效曲线非平行性右移, 最大效应降低; 抑制加入高钙后引发细胞外钙内流导致的收缩。**结论** 柚皮苷舒张气管平滑肌作用机制可能与抑制豚鼠气管平滑肌上 M 受体、H₁ 受体和阻断 Ca²⁺ 通道从而抑制细胞 Ca²⁺ 内流有关。

关键词: 柚皮苷; 豚鼠; 气管平滑肌; 细胞外钙内流

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2015)01-0017-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.005

Study on Therapeutic Mechanism of Naringin on Isolated Tracheal Smooth Muscle of Guinea Pigs

PEI Kun¹, XIA Fanggao², CHEN Haifang¹, LUO Xiaoquan¹, YI Xuhang¹, DONG Jing¹, YANG Wuliang¹ (1. Ministry of Education Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China; 2. Jiangxi Zhongshan Pharmaceutical Co., Ltd, Jiujiang 332501 Jiangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of naringin on the contraction of isolated tracheal smooth muscle of guinea pigs induced by resting tension or spasmogens, and to explore its therapeutic mechanism. **Methods** Isolated tracheal thermostatic perfusion method was used. The guinea pig tracheal smooth muscle was isolated in the K-H solution. Under the resting tension or stimulated by acetylcholine(Ach), histamine (His), calcium chloride(CaCl₂), calcium-free Ach-induced intracellular Ca²⁺ releasing, or extracellular Ca²⁺ influx at the high concentration of Ca²⁺, the tension of isolated guinea pig tracheal smooth muscle was observed by BL-420S biological function experiment systems, and the effect of naringin on the tension was evaluated. **Results** Naringin at the concentrations of 0.0172~0.5504 mmol·L⁻¹ could induce the contraction of isolated trachea at resting state, and when at the concentrations of 0.5504~1.3780 mmol·L⁻¹, naringin could induce the relaxation of the isolated trachea in concentration-dependent

收稿日期: 2014-09-17

作者简介: 裴昆, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药物质基础与质量控制。Email: peikun1208@163.com。通讯作者: 杨武亮, 教授, 研究方向: 中药物质基础与质量控制研究。Email: yangwuliang@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金(81460575, 81260612); 江西省自然科学基金(20132BAB205092); 江西中医药大学江西省研究生创新专项资助项目(YC2014-S281)。

manner. Naringin could result into the non-parallelled rightward move and the decline of maximal effect of the cumulative concentration-response curve of Ach, His or CaCl_2 , and could counteract the contraction induced by extracellular Ca^{2+} influx. **Conclusion** Naringin could relax tracheal smooth muscle by acting on M-receptor and histamine receptor and blocking Ca^{2+} passage, thus inhibiting extracellular Ca^{2+} influx.

Keywords: Naringin; Guinea pigs; Tracheal smooth muscle; Extracellular Ca^{2+} influx

化橘红为芸香科植物化州柚 (*Citrus grandis* ‘Tomentosa’) 或柚 (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) 的未成熟或近成熟的干燥外层果皮^[1], 其性温, 味苦、辛, 具有理气宽中、燥湿化痰之功效, 用于咳嗽痰多, 食积伤酒。其主要成分为黄酮、挥发油、多糖和香豆素等。《纲目拾遗》描述化橘红“治痰症”。化橘红因其化痰止咳作用显著, 明清时期就被誉为治痰珍品, 对痰症有确切疗效。研究^[2-4]提示, 化橘红中黄酮具有较好的化痰、止咳平喘作用, 而且呈剂量相关性, 而柚皮苷又是化橘红黄酮中的主要有效成分。目前, 关于化橘红离体研究^[5]不多, 也未见对化橘红中柚皮苷的药效作用研究。为探究化橘红中柚皮苷是否为其平喘作用的有效成分, 本实验采用离体气管恒温灌流方法制备豚鼠离体气管环, 观察柚皮苷对气管平滑肌静息张力和多种致痉剂的影响, 并初步探讨柚皮苷对离体气管平滑肌的作用机制。为化橘红的进一步开发、临床应用及药效物质基础研究提供实验依据。

1 材料

1.1 药品及试剂 柚皮苷, 从柑橘属植物化橘红中分离提纯得到, 氢谱($^1\text{H-NMR}$), 碳谱($^{13}\text{C-NMR}$), 质谱(ESI-MS)鉴定, 含量采用高效液相色谱法(HPLC)峰面积归一化法计算不低于 98 %; 氯化乙酰胆碱 (Acetylcholine Chloride, Ach), 上海源叶生物科技有限公司, 批号: YY12478; 磷酸组胺 (Histamine Phosphate, His), 上海晶纯实业有限公司, 批号: H106192; 氯化钙(CaCl_2), 广东汕头市西陇化工厂, 批号: 0707282。K-H 营养液(1000 mL 蒸馏水中含有 NaCl 7.67 g、KCl 0.344 g、 MgCl_2 0.254 g、 CaCl_2 0.202 g、 NaHCO_3 2.125 g、 KH_2PO_4 0.16 g、葡萄糖 2.189 g), 以上各试剂均为国产分析纯。水为去离子水(18 m Ω)。

1.2 动物 豚鼠, 雌雄兼有, 体质量(300 $\pm$ 50)g, 由上海生旺实验动物养殖有限公司提供, 动物许可证号: SCXK(沪)2012-0007。

1.3 仪器 BL-420S 生物机能实验系统, HV-4 离体组织器官恒温灌流系统, HW-1000 超级恒温水浴,

TM-WAVE 软件, 均为成都泰盟科技有限公司提供; JH-2 肌张力传感器, 中国北京航天医学工程研究所; AE240 十万分之一电子天平, 瑞士 Mettler 梅特勒仪器公司。

1.4 药物配制 精密称取柚皮苷 100 mg 置于 25 mL 容量瓶中, 用去离子水定容, 超声溶解, 得含柚皮苷 4 mg $\cdot\text{mL}^{-1}$ 的供试品溶液; 氯化乙酰胆碱用去离子水配成 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} mol $\cdot\text{L}^{-1}$; 磷酸组胺用去离子水配成 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} mol $\cdot\text{L}^{-1}$; CaCl_2 用去离子水配成 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} mol $\cdot\text{L}^{-1}$, 以上供试品溶液置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中备用。

1.5 豚鼠气管环制备 取豚鼠击头处死, 迅速取出气管, 浸入冷的通入 95 % O_2 、5 % CO_2 混合气体的 K-H 液中, 去除气管周围结缔组织后, 剪成约 3~5 mm 左右的气管环, 放入盛有 10 mL K-H 液的恒温浴槽中, 恒温浴槽持续通入含 5 % CO_2 和 95 % O_2 的混合气体, 温度保持(37 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。上端接肌张力换能器, 采用 BL-420S 生物机能实验系统软件记录肌张力的变化。标本初始负荷张力 2.0 g, 每 15 min 换 1 次 K-H 营养液, 平衡 60 min 后, 待气管环张力稳定后开始实验^[6]。

1.6 柚皮苷对豚鼠离体气管平滑肌静息张力的影响 待气管环稳定后, 描记一段正常曲线, 随后将柚皮苷采用累积浓度法加入, 其累积终浓度分别为 0.01, 0.04, 0.08, 0.16, 0.24, 0.32, 0.40, 0.48, 0.56, 0.64, 0.80 mg $\cdot\text{mL}^{-1}$, 记录豚鼠气管平滑肌静息张力的变化。

1.7 柚皮苷对乙酰胆碱(Ach)和磷酸组胺(His)量效曲线的影响 待气管环稳定后, 采用累积浓度法从 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 5×10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 5×10^{-3} , 10^{-2} mol $\cdot\text{L}^{-1}$ 开始建立 Ach 量效曲线, 记录各浓度引起气管收缩张力值(E), 以加入药物孵育前的 Ach 引起的最大收缩幅度(E_{max})为 100 %, 以 $E/E_{\text{max}} \times 100$ % 计算收缩率, 测定 Ach 量效关系曲线。待标本张力不再上升时冲洗气管环数次, 每 15 min 更换 1 次 K-H 营

养液,待基线重新平衡后,加入终浓度 0.2067, 0.4134 mmol·L⁻¹ 柚皮苷,孵育 20 min,并分别重复上述 Ach 的加入过程,记录各浓度引起的气管收缩张力值,计算其收缩率,重复建立 Ach 的量效曲线。按上述方法,将 Ach 换成 His(10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 5 × 10⁻⁴, 10⁻³ mol·L⁻¹),建立 His 的量效曲线,并考察柚皮苷对磷酸组胺量效曲线的影响,按照以上操作设置溶剂(水)空白对照组。

1.8 柚皮苷对氯化钙(CaCl₂)量效曲线的影响 离体气管环先用无钙 K-H 液平衡 60 min,待标本稳定后,换无钙高钾 K-H 液平衡 30 min,待基线稳定后,描记一段正常曲线,随后采用累积加药法从 10⁻⁶, 5 × 10⁻⁶, 10⁻⁵, 5 × 10⁻⁵, 10⁻⁴, 5 × 10⁻⁴, 10⁻³, 5 × 10⁻³, 10⁻² mol·L⁻¹ 开始建立 CaCl₂ 量效曲线,记录各浓度引起气管收缩张力值(E),以加入药物孵育前的 CaCl₂ 引起的最大收缩幅度(E_{max})为 100 %,以 E/E_{max} × 100 % 计算收缩率,制定 CaCl₂ 量效关系曲线。冲洗 3 次,重新平衡 30 min,换无钙高钾 K-H 液,10 min 后分别加入终浓度 0.2067, 0.4134 mmol·L⁻¹ 柚皮苷,孵育 20 min,再按上述方法制备 CaCl₂ 量效曲线。

1.9 柚皮苷对 Ach 所致两种收缩成分的影响 以无钙 K-H 营养液平衡气管标本 60 min,待标本稳定后,先加入 Ach(终浓度为 2 × 10⁻⁵ mol·L⁻¹)引发气管第一相收缩,待收缩至坪值,加入 CaCl₂ (终浓度为 1.5 × 10⁻³ mol·L⁻¹)引发气管第二相收缩至稳定,此时作为最大收缩 100 %。以此为对照,冲洗数遍,重新平衡后,为更好的考察柚皮苷对 Ach 所致两种收缩成分的影响,在无钙 K-H 液中给予 3 个不同浓度的柚皮苷(0.2067, 0.4134, 0.8268 mmol·L⁻¹)孵育 8 min,按照上述步骤再次加入 Ach 和 CaCl₂,观察柚皮苷引起第一相和第二相收缩张力的变化率。

1.10 统计学处理方法 采用 SPSS17.0 统计软件分析,数据用“均数±标准差”(x̄±s)表示,组间比较采用 One-way ANOVA 检验。

2 结果

2.1 柚皮苷对豚鼠离体气管平滑肌静息张力的影响 为了便于计算,将 1.6 项下柚皮苷浓度进行对数运算,柚皮苷浓度的对数值作为横坐标,变化率作为纵坐标,绘制曲线图,见图 1。结果柚皮苷在低剂量浓度 0.0172~0.5504 mmol·L⁻¹(lgC: -2~-0.5) 范围内具有剂量依赖性收缩静息状态下的豚鼠离体气管平滑肌的作用,高剂量浓度 0.5504~1.3780 mmol·L⁻¹(lgC:

-0.5~-0.1) 范围内具有剂量依赖性舒张豚鼠离体气管平滑肌的作用,即对豚鼠离体气管平滑肌有双向调节作用。

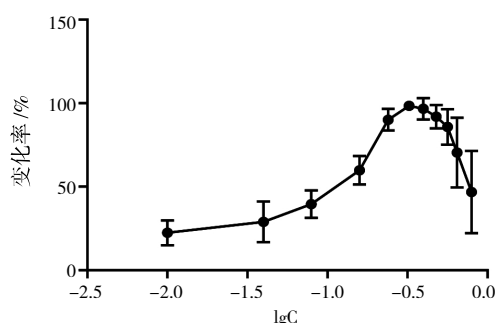
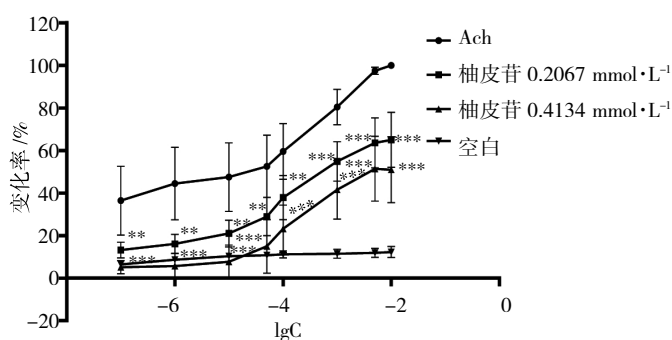


图 1 柚皮苷对豚鼠离体气管平滑肌静息张力的影响(x̄±s, n=8)

Figure 1 Effects of naringin on the contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle under resting tension

2.2 柚皮苷对 Ach、组胺量效曲线的影响 加入柚皮苷 0.2067, 0.4134 mmol·L⁻¹ 孵育之后,使 Ach、His 收缩豚鼠离体气管平滑肌的量效曲线非平行性右移,最大效应降低,其降低强度 His > Ach,并呈剂量依赖性,即给药浓度越高,右移越明显,最大效应下降越大。Ach 量效曲线中,与 Ach 对照组比较,柚皮苷 0.2067, 0.4134 mmol·L⁻¹ 组差异均有显著性意义(P < 0.01, P < 0.001),见图 2。His 量效曲线中,与 His 对照组比较,柚皮苷 0.2067, 0.4134 mmol·L⁻¹ 组差异均有显著性意义(P < 0.01, P < 0.001),见图 3。

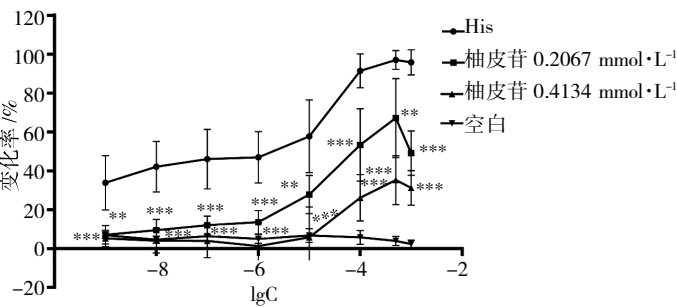


注:与 Ach 对照组比较, **P < 0.01, ***P < 0.001。

图 2 柚皮苷对 Ach 收缩豚鼠离体气管平滑肌收缩的作用(x̄±s, n=8)

Figure 2 Effects of naringin on the contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle induced by Ach

2.3 柚皮苷对氯化钙(CaCl₂)量效曲线的影响 在未加入柚皮苷时, CaCl₂ 引起豚鼠离体气管平滑肌收缩,且随着药物浓度增大收缩率逐渐增大,加入柚皮苷之后, CaCl₂ 的量效曲线非平行性右移,随着柚皮苷浓度的增加,收缩强度明显降低。与 CaCl₂ 组比较,柚

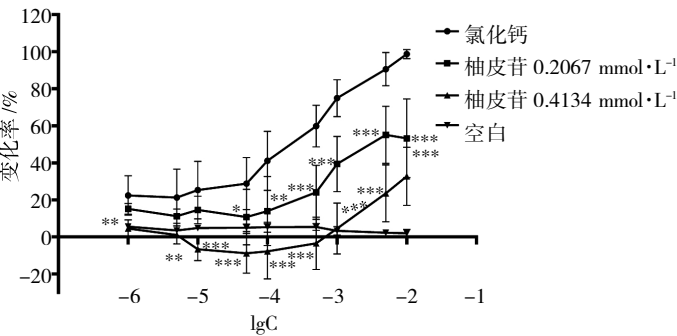


注：与 His 对照组比较，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ 。

图 3 柚皮苷对 His 收缩豚鼠离体气管平滑肌收缩的作用($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Figure 3 Effects of naringin on the contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle induced by His

皮苷 0.2067, 0.4134 mmol·L⁻¹ 组差异均有显著性意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。结果显示, 在加入高钾去极化引起钙内流后, 引起气管平滑肌明显收缩, 加入柚皮苷后对钙内流有明显的抑制作用, 且呈剂量依赖性, 即给药浓度越高, 量效曲线右移越明显, 最大效应下降越大, 见图 4。



注：与 CaCl₂ 对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ 。

图 4 柚皮苷对 CaCl₂ 收缩豚鼠气管平滑肌量效曲线的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Figure 4 Effects of naringin on the contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle induced by CaCl₂

2.4 柚皮苷对 Ach 所致两种收缩成分的影响 在无钙条件下, 加入 Ach (终浓度为 2×10^{-5} mol·L⁻¹) 后引起的第一相依内钙收缩所占的比例较大, 柚皮苷对 Ach 致豚鼠离体气管环的第一相依内钙收缩抑制作用不明显。柚皮苷 0.4134 和 0.8268 mmol·L⁻¹ 两个浓度对高浓度 CaCl₂ 所致第二相依外钙收缩有显著的抑制作用, 与对照组比较, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 且对细胞外钙内流的抑制作用具有剂量依赖关系; 但对细胞内钙释放无明显的抑制作用。以上结果表明, 柚皮苷拮抗外钙内流是其抑制 Ach 收缩

气管平滑肌效应的主要作用机制, 见表 1。

表 1 柚皮苷对 Ach 诱发的两相收缩的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 1 Effects of naringin on the two-phase contraction of isolated guinea pig tracheal smooth muscle induced by Ach

组别	剂量 /mmol·L ⁻¹	依内钙拮抗率 /%	依外钙拮抗率 /%	总拮抗率 /%
对照组	-	0.36 ± 0.20	-1.11 ± 0.20	-0.75 ± 0.10
柚皮苷组	0.2067	8.47 ± 24.2	12.76 ± 22.10	21.23 ± 14.00
	0.4134	-0.56 ± 8.50	21.15 ± 14.70*	20.59 ± 4.80
	0.8268	-12.08 ± 3.50	52.19 ± 7.30**	40.11 ± 7.10**

注：与对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

3 讨论

豚鼠气管平滑肌主要分布着 M 受体、β₂ 受体和 H₁ 受体。β₂ 受体兴奋使气管平滑肌舒张, M 受体和 H₁ 受体兴奋使气管平滑肌收缩^[7]。因此, 本实验从兴奋或抑制受体的角度出发, 研究柚皮苷对气管平滑肌的舒张作用。文献报道^[3,8]化橘红的主要有效部位总黄酮在较低剂量时便有止咳作用, 而柚皮苷又是化橘红黄酮苷中主要活性成分, 故本实验从单一成分与活性部位间相关性进行实验, 研究柚皮苷对离体豚鼠气管平滑肌收缩功能的影响, 并初步探讨其作用机制。

结果表明, 柚皮苷对静息时豚鼠离体气管平滑肌具有双向调节作用, 即低剂量具有收缩、高剂量具有舒张气管平滑肌的作用。柚皮苷对 Ach 和 His 所致的豚鼠离体气管平滑肌收缩具有较好的舒张活性, 使其量效曲线非平行性右移, 最大效应降低, 并呈剂量依赖性, 表明柚皮苷对 Ach 和 His 有明显的非竞争性拮抗作用。研究还发现, 柚皮苷对 CaCl₂ ($10^{-6} \sim 10^{-2}$ mmol·L⁻¹) 收缩气管平滑肌有明显舒张作用 ($P < 0.01$), 表明柚皮苷对外钙内流引起的收缩有明显的抑制作用; 在无钙条件下, 柚皮苷对 Ach 引起细胞内钙释放导致的收缩抑制作用不明显, 但能抑制高钙引发细胞外钙内流所致的收缩, 且随浓度的增加, 抑制作用越明显, Ach 通过启动 M 受体依赖型 Ca²⁺ 通道发挥作用^[9], 柚皮苷能抑制 Ach 引起的气管收缩, 表明其作用机制也可能与抑制 Ca²⁺ 内流有关。

综上所述, 柚皮苷舒张气管平滑肌作用机制可能与抑制气管平滑肌 M 受体、H₁ 受体和阻断 Ca²⁺ 通道从而抑制细胞 Ca²⁺ 内流有关。柚皮苷低剂量兴奋豚鼠离体气管平滑肌的作用机制还有待进一步研究。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 176.

[2] 潘华新, 梁瑞燕, 曹柳英, 等. 柚总黄酮祛痰、止咳作用研究[J].

- 中药材, 2007, 30(1): 80-82.
- [3] 马艳艳. 化橘红有效部位组合规律的药效研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2008.
- [4] 侯秀娟. 化橘红多糖的提取纯化、体外抗氧化及生物活性的研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2013.
- [5] 关骏良, 吴钊华, 吴万征. 化橘红提取物对豚鼠离体气管平滑肌收缩功能的影响[J]. 中药材, 2004, 27(7): 515-517.
- [6] 徐叔云, 卞如谦, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 443.
- [7] 安明胜, 孙双勇, 安春娜, 等. 含花青素及甘草酸的中药提取物对豚鼠气管松弛作用的比较[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(8): 945-950.
- [8] 王雯. 化橘红总黄酮提取纯化工艺及其功效研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2013.
- [9] Rang HP, Dale MM. Pharmacology[M]. New York: Churchill Livingstone, 1995: 254-258.
- (编辑: 宋威)

淫羊藿苷对氧糖剥夺所致 PC12 细胞损伤的保护作用

莫镇涛¹, 李文娜¹, 翟玉荣¹, 石京山², 龚其海² (1. 遵义医学院珠海校区药理教研室, 广东 珠海 519041; 2. 遵义医学院基础药理省部共建教育部重点实验室, 贵州 遵义 563000)

摘要: **目的** 研究淫羊藿苷对氧糖剥夺 PC12 细胞所致炎症损伤的保护作用。 **方法** 采用 PC12 细胞复制氧糖剥夺 2 h 细胞损伤模型。实验分成 6 组, 即正常组, 模型组, 尼莫地平组 ($10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 淫羊藿苷高、中、低剂量组 (10^{-5} , 10^{-6} , $10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。将淫羊藿苷各剂量组预给药 1 h 加氧糖剥夺期间给药 2 h 后, 用 MTT 法检测细胞活力, ELISA 法检测细胞上清液的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6 (IL-6) 含量。 **结果** 淫羊藿苷各剂量组均能显著降低氧糖剥夺 PC12 细胞上清液的 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量, 提高细胞的活力, 与模型组比较, 差异均有显著性意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。 **结论** 淫羊藿苷能减轻氧糖剥夺 PC12 细胞所致的炎症损伤, 具有细胞保护作用。

关键词: 淫羊藿苷; PC12 细胞; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-1 β ; 白细胞介素-6

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2015)01-0021-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.006

Protective Effect of Icaritin Against PC12 Cells Inflammatory Injury Induced by Oxygen Glucose Deprivation

MO Zhentao¹, LI Wenna¹, ZHAI Yurong¹, SHI Jingshan², GONG Qihai² (1. Department of Pharmacology, Zhuhai Campus of Zunyi Medical College, Zhuhai 519041 Guangdong, China; 2. Ministry of Education Key Laboratory of Basic Pharmacology, Zunyi Medical College, Zunyi 563000 Guizhou, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the protective effects of icaritin on inflammatory injury of PC12 cells induced by oxygen glucose deprivation (OGD). **Methods** The ischemic stroke model of PC12 cells was induced by OGD for 2 h. PC12 cells were divided into normal group, model group, Nimodipine ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) group, and high-, medium- and low-dosage icaritin groups (10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} mol/L icaritin respectively). Icaritin groups were pretreated with the corresponding concentrations of icaritin for one hour and then were treated with icaritin for 2 hours during OGD. After the treatment, cell viability was measured using MTT assay. Tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6) contents in PC12 cell supernatant were analyzed using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Icaritin at the concentrations of 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} mol/L significantly decreased TNF- α , IL-1 β , IL-6 contents in cell supernatant and increased the cell viability of PC12 cells following OGD injury (*vs* model group, $P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** Icaritin could reduce inflammatory damage of PC12 cells induced

收稿日期: 2014-10-27

作者简介: 莫镇涛, 男, 副教授, 研究方向: 中医药治疗脑病机理研究。Email: mozhentao1@163.com。通讯作者: 龚其海, 教授, 研究方向: 神经药理学。Email: gqh@zmc.edu.cn。

基金项目: 教育部新世纪优秀人才支持计划 (NCET-11-0927); 贵州省联合基金重点项目 (黔科合 J 字 LKZ[2013]04 号); 遵义医学院博士启动基金 (F-590)。