



# 氢溴酸樟柳碱对血管性痴呆模型大鼠的神经保护作用及其抗氧化应激机制研究\*

秦颀雪<sup>1</sup>, 邱艳<sup>1</sup>, 钟健<sup>1</sup>, 欧阳智<sup>1</sup>, 金璐璐<sup>1</sup>, 吴海林<sup>2△</sup>, 曾焯<sup>1△</sup>

1. 四川大学华西基础医学与法医学院 生物医学工程研究室(成都 610041); 2. 平和县医院 重症医学科(漳州 363700)

**【摘要】目的** 血管性痴呆(VD)是一种常见的与脑血管疾病相关的认知功能障碍。本研究旨在探究氢溴酸樟柳碱(AH)对VD的治疗效果及其潜在的抗氧化应激机制。**方法** 通过永久性双侧颈总动脉闭塞法在SD大鼠上建立VD模型,并分为假手术组、VD组和不同剂量的AH治疗组( $n=4$ )。利用Bederson评分法评估各组大鼠的神经功能,并结合爬杆试验分析各组大鼠的肢体协调能力。采用酶联免疫吸附法测定血清和大脑中的超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)含量,以评估氧化应激水平。此外,通过TUNEL实验评估细胞凋亡情况,使用DCFH-DA探针检测神经细胞的活性氧(ROS)水平。使用M1-M5抑制剂,探究AH对M受体的可能作用机制。**结果** 与假手术组相比,VD组大鼠神经功能与肢体协调能力受损( $P<0.01$ ),血清和大脑中的SOD活性降低[血清:( $100.70\pm 18.95$ ) U/mL vs. ( $44.22\pm 7.11$ ) U/mL,  $P<0.001$ ; 大脑:( $131.77\pm 8.34$ ) U/mg vs. ( $84.39\pm 4.10$ ) U/mg,  $P<0.01$ ], MDA浓度升高[血清:( $12.03\pm 1.01$ ) nmol/mL vs. ( $17.74\pm 1.00$ ) nmol/mL,  $P<0.001$ ; 大脑:( $4.41\pm 0.30$ ) nmol/mg vs. ( $6.17\pm 0.70$ ) nmol/mg,  $P<0.05$ ]。AH治疗能够改善VD大鼠的神经功能与肢体协调能力,特别是高剂量AH治疗组与VD组相比,SOD活性提高[血清:( $44.22\pm 7.11$ ) U/mL vs. ( $98.67\pm 0.86$ ) U/mL,  $P<0.001$ ; 大脑:( $84.39\pm 4.10$ ) U/mg vs. ( $162.83\pm 17.36$ ) U/mg,  $P<0.001$ ]和MDA浓度降低[血清:( $17.74\pm 1.00$ ) nmol/mL vs. ( $6.68\pm 0.06$ ) nmol/mL,  $P<0.001$ ; 大脑:( $6.17\pm 0.70$ ) nmol/mg vs. ( $3.96\pm 0.77$ ) nmol/mg,  $P<0.01$ ]效果最为显著。AH治疗还减少了TUNEL阳性细胞数量( $P<0.01$ ),并呈剂量依赖性,AH浓度从低到高时凋亡细胞占比分别为( $36.10\pm 9.07$ )%、( $9.60\pm 5.63$ )%、( $3.43\pm 0.92$ )%,表明其对细胞凋亡具有抑制作用。在体外实验中,AH处理能够降低HT22和NSC-34细胞的MDA浓度( $P<0.01$ ),提高SOD活性( $P<0.01$ ),并降低ROS水平,呈现剂量依赖性。M2受体抑制剂可以降低氧化应激损伤中的ROS水平,提示AH作为M受体拮抗剂,可能通过抑制M2受体发挥作用。**结论** 氢溴酸樟柳碱通过调节SOD和MDA水平,减轻氧化应激损伤,改善神经功能和肢体协调能力,对VD具有潜在的治疗效果。AH的神经保护作用可能与其抗氧化应激和抗凋亡机制有关,且M2受体可能是其作用的关键靶点。这些结果为VD治疗新策略开发提供了重要的理论基础。

**【关键词】** 血管性痴呆 樟柳碱 氧化应激 超氧化物歧化酶 丙二醛 M受体

## Neuroprotective Effects of Anisodine Hydromide in a Rat Model of Vascular Dementia and the Antioxidative Stress Mechanisms Involved

QIN Yixue<sup>1</sup>, QIU Yan<sup>1</sup>, ZHONG Jian<sup>1</sup>, OUYANG Zhi<sup>1</sup>, JIN Linlu<sup>1</sup>, WU Hailin<sup>2△</sup>, ZENG Ye<sup>1△</sup>. 1. Institute of Biomedical Engineering, West China School of Basic Medical Sciences and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Critical Care Medicine, Pinghe County Hospital, Zhangzhou 363700, China

△ Corresponding author, WU Hailin, E-mail: 603252857@qq.com; ZENG Ye, E-mail: ye@scu.edu.cn

**[Abstract] Objective** Vascular dementia (VD) is a common cognitive dysfunction associated with cerebrovascular disease. This study is aimed at investigating the therapeutic effect of anisodine hydromide (AH) on VD and the potential antioxidative stress mechanisms involved. **Methods** A VD model was established in Sprague-Dawley (SD) rats through permanent bilateral common carotid artery occlusion. The rats were divided into a sham group, a VD model group, and AH treatment groups receiving AH at low, medium, or high doses ( $n=4$ ). The neurological function of the rats in each group was evaluated using the Bederson scale, and limb coordination ability was assessed using the pole climbing test. Superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) levels in the serum and brain were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to assess the level of oxidative stress. In addition, apoptosis was assessed by TUNEL assay, and reactive oxygen species (ROS) levels in neuronal cells were determined using dichloro-dihydro-fluorescein diacetate (DCFH-DA) probe. The potential mechanism of action of AH on M receptors was investigated using M1-M5 inhibitors. **Results** Compared with the sham group, the nerve function and limb coordination of rats in the VD model group were significantly impaired ( $P<0.01$ ), and the SOD levels were significantly decreased in the serum ( $[100.70\pm 18.95]$  U/mL vs.  $[44.22\pm 7.11]$  U/mL,  $P<0.001$ ) and the brain ( $[131.77\pm 8.34]$  U/mg vs.  $[84.39\pm 4.10]$  U/mg,  $P<0.01$ ), MDA levels were significantly increased in the serum ( $[12.03\pm 1.01]$  nmol/mL vs.  $[17.74\pm 1.00]$  nmol/mL,  $P<0.001$ ) and

\* 四川大学技术开发项目(No. 23H0050、No. 21H0265)资助

△ 通信作者, 吴海林, E-mail: 603252857@qq.com; 曾焯, E-mail: ye@scu.edu.cn

出版日期: 2025-03-20

the brain ( $[4.41 \pm 0.30]$  nmol/mg vs.  $[6.17 \pm 0.70]$  nmol/mg,  $P < 0.05$ ). AH treatment significantly improved the neurological function and limb coordination ability of VD rats. In comparison with the VD group, the high-dose AH treatment group, in particular, exhibited the most significant increase in SOD levels in the serum ( $[44.22 \pm 7.11]$  U/mL vs.  $[98.67 \pm 0.86]$  U/mL,  $P < 0.001$ ) and the brain ( $[84.39 \pm 4.10]$  U/mg vs.  $[162.83 \pm 17.36]$  U/mg,  $P < 0.001$ ), and the most significant decrease in MDA levels in the serum ( $[17.74 \pm 1.00]$  nmol/mL vs.  $[6.68 \pm 0.06]$  nmol/mL,  $P < 0.001$ ) and the brain ( $[6.17 \pm 0.70]$  nmol/mg vs.  $[3.96 \pm 0.77]$  nmol/mg,  $P < 0.01$ ). AH also reduced the number of TUNEL positive cells ( $P < 0.01$ ) in a dose-dependent manner. The percentage of apoptotic cells was  $(36.10 \pm 9.07)\%$ ,  $(9.60 \pm 5.63)\%$ , and  $(3.43 \pm 0.92)\%$ , respectively, for AH treatment at low, medium, and high concentrations, indicating that AH had an inhibitory effect on apoptosis. According to findings from the *in vitro* experiments, AH treatment reduced the MDA content ( $P < 0.01$ ), increased the SOD activity ( $P < 0.01$ ), and decreased the ROS levels of HT22 and NSC-34 cells in a dose-dependent manner. M2 receptor inhibitors could reduce the ROS level in oxidative stress injury, suggesting that AH, as an M2 receptor antagonist, might exert its effect by inhibiting the M2 receptor. **Conclusion** AH modulates SOD and MDA levels and reduces oxidative stress injury, thereby improving neurological function and limb coordination and showing potential therapeutic effects in VD. The neuroprotective effects of AH may be related to its antioxidative stress and antiapoptotic mechanisms, and the M2 receptor may be a potential target of its actions. These findings provide an important theoretical basis for the development of new therapeutic strategies for VD.

**[Key words]** Vascular dementia Anisodine Oxidative stress Superoxide dismutase Malondialdehyde M receptor

血管性痴呆(vascular dementia, VD)是一种与脑血管疾病相关的认知功能障碍。在VD的病理过程中,氧化应激扮演着关键角色<sup>[1]</sup>。氧化应激是体内氧化还原平衡失调导致的活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)过量产生,这些自由基能够对生物分子(包括脂质、蛋白质、核酸等)造成损伤<sup>[2]</sup>。这种氧化损伤可能影响脑血管的功能、神经元的结构和功能,从而加剧认知功能障碍<sup>[3]</sup>。由于大脑具有高氧需求和较高的不饱和脂肪酸含量,因此对氧化应激特别敏感,长期脑灌注不足会加剧氧化应激<sup>[4]</sup>。

樟柳碱(anisodine)是一种从茄科植物中提取的生物碱,研究显示,樟柳碱具有抗氧化和神经保护作用,能够改善脑缺血再灌注损伤,并减轻由氧化应激引起的脑损伤<sup>[5-6]</sup>。樟柳碱通过竞争性阻断M胆碱能受体,干扰神经冲动传递,从而减轻神经细胞的损伤<sup>[7]</sup>。为了改善其化学不稳定性,中国研发出其氢溴酸盐形式的新药<sup>[8]</sup>,目前已应用于临床,在治疗急性缺血性脑卒中等疾病中效果显著<sup>[9-10]</sup>。但目前关于樟柳碱在治疗VD方面以及其对氧化应激的具体影响机制的探讨仍然不足。本研究采用血管性痴呆永久性双侧颈总动脉闭塞(permanent bilateral common carotid artery occlusion, or 2-vessel occlusion, 2-VO)大鼠模型,探究樟柳碱对VD的治疗作用,并通过对血清和大脑中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的测定,进一步揭示其作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 氢溴酸樟柳碱与M受体抑制剂的制备

在药物制备过程中,使用双蒸水制备20 mg/mL氢溴

酸樟柳碱(批号为271101,成一制药),8.5 mol/L的M1抑制剂Biperiden Hydrochloride(HY-13204, MCE),68 mmol/L的M2抑制剂Gallamine Triethiodide(S2471, Selleck)。使用二甲基亚砜(DMSO, D2650, Sigma)制备46 mmol/L的M受体抑制剂Atropine(HY-B1205, MCE),16 mmol/L的M3抑制剂Darifenacin HBr(S3144, Selleck),200 mmol/L的M4抑制剂Tropicamide(S1913, Selleck)和50 mmol/L的M5抑制剂Aclidinium Bromide(S4031, Selleck),作为药物阳性对照。

### 1.2 慢性脑缺血模型的建立与分组治疗

依据完全随机多个样本均数比较计算公式,选取体质量在200~250 g的健康SD大鼠(购于四川大学动物实验中心),随机分为假手术组、慢性脑缺血模型组(VD组)以及氢溴酸樟柳碱治疗组(分为低、中、高三个剂量),每组4只。VD组以及氢溴酸樟柳碱治疗组通过双侧颈总动脉结扎法制备慢性脑缺血模型。本研究已获得四川大学医学伦理委员会的批准(批准号:K2021014)。

大鼠禁食12 h后,在吸入麻醉状态下(5%异氟烷+95%氧气用于诱导;3%异氟烷+97%氧气用于维持)进行手术:进行正中切口以暴露双侧颈总动脉,小心分离这些动脉与周围组织(包括迷走神经),并用可吸收手术缝合线在颈外动脉起源点下方约1 cm处进行结扎。假手术组大鼠接受相同的外科手术操作,但不进行动脉结扎。

术后第1天开始,低、中、高剂量氢溴酸樟柳碱治疗组大鼠分别注射相应质量浓度(10、20、40  $\mu\text{g/mL}$ )的氢溴酸樟柳碱注射液,每天注射1次,经尾静脉注射10 d+肌肉注射5 d。假手术组和模型组则给予等量的生理盐水。

### 1.3 神经功能评价

造模12 h后参考Bederson评分法对各组大鼠进行神

经功能评分。Bederson评分的4个功能等级:0分为无神经损伤症状;1分为悬尾实验不能完全伸展对侧前爪;2分为前肢抵抗对侧推力能力下降;3分为向对侧转圈。

爬杆试验用于检测各组大鼠的肢体协调能力。将大鼠置于杆顶,头朝下,仔细观察其下降的能力。得分越高,表明大鼠的肢体协调能力越差。0分为顺着杆子一步一步往下走,1分为滑下杆子,2分为无法抓住杆子,3分为右膝反射消失。

#### 1.4 SOD和MDA酶联免疫吸附法

造模12 h后,从大鼠颈总动脉采集约2 mL血液至肝素抗凝管中,并充分混匀。将血液样本在4 °C下以3 000 r/min离心15 min,取上清液按照试剂盒的说明书进行操作,以检测血液中MDA和SOD活性水平。

按大鼠体质量,造模12 h后,使用体积分数10%水合氯醛(0.3 mL/100 g)对大鼠进行腹腔内注射安乐死。将大鼠脑组织在0.1 mol/L PBS(pH7.4)中匀浆,4 °C 10 000×g离心15 min以去除细胞碎片。上清液按照试剂盒的说明书进行操作,以检测MDA和SOD活性水平。

#### 1.5 TUNEL实验

取脑固定于体积分数为4%多聚甲醛中,采用TUNEL法观察脑组织的凋亡情况。脑组织切片用二甲苯浸洗2次,每次5 min,然后用梯度乙醇(无水乙醇、90%乙醇、75%乙醇、纯水)依次浸洗一次。用Proteinase K工作液在21~37 °C下处理组织15~30 min后PBS漂洗2次。再使用TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(11684817910,瑞士Roche公司)检测脑组织的细胞凋亡情况。

#### 1.6 细胞培养

NSC-34鼠神经元细胞和HT22小鼠海马神经元细胞均购自北纳生物(BNCC)。细胞复苏后,使用含有10%胎牛血清(13011-8611,四季青)和1%双抗(15300-054, Gibco)的DMEM培养基(SH30243.01, Hyclone)进行培养。37 °C、体积分数5%CO<sub>2</sub>,使用对数生长期的细胞进行分组实验,具体分组设置:静态对照(CT)组,缺氧/复氧模型(H/R)组及其AH治疗(10或20 μg/mL)组和M1-M5抑制剂处理组。

#### 1.7 细胞缺氧/复氧模型构建

利用厌氧袋(AnaeroPouch GasPak, Mitsubishi Gas Chemical)和密封培养袋构建细胞缺氧/复氧模型。细胞在1%血清培养基中刺激后,置于含有AnaeroPouch的密封培养袋中,37 °C下缺氧3 h,然后复氧3 h。

#### 1.8 MDA浓度与SOD活性测定

收集细胞,用PBS洗涤1~2遍,沉淀用预冷的PBS在冰浴下匀浆,匀浆液10 000×g 4 °C离心10 min,取上清。使

用脂质氧化检测试剂盒(Beyotime, China)和SOD活性检测试剂盒(Beyotime, China)分别检测MDA浓度和SOD活性。

#### 1.9 ROS水平检测

使用DCFH-DA探针(Beyotime)检测细胞ROS活性。用预热的无血清培养液按照1:1 000稀释DCFH-DA,使终浓度为10 μmol/L。去除玻底培养皿的细胞培养液,每孔加入150 μL稀释好的DCFH-DA,37 °C细胞培养箱内孵育30 min,每隔5 min颠倒混匀一次。用预热PBS缓冲液快速洗涤细胞1次,以去除未进入细胞内的DCFH-DA。加入150 μL经无血清培养基稀释的Hoechst 33342,孵育约8 min后,使用倒置荧光显微镜观察原位装载探针的细胞并拍照记录。

#### 1.10 统计学方法

实验数据采用SPSS 22.0软件进行统计分析。所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。首先检验数据的正态分布性,然后进行方差齐性检验。对于符合正态分布且方差齐的数据集,采用单因素方差分析(ANOVA)及LSD事后检验分析组间差异方法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 神经行为评价

造模12 h后,与假手术组相比,VD组Bederson评分(图1A)以及爬杆试验评分(图1B)均增加( $P < 0.01$ ),经AH处理后,Bederson评分与爬杆试验评分均下降,尤其在40 μg/mL AH条件下,Bederson评分降低最多( $P < 0.01$ ),表明40 μg/mL AH对神经功能的改善效果最佳。

### 2.2 血管痴呆SOD活性与MDA浓度变化

VD组与假手术组相比,SOD活性降低[血清:(100.70±18.95) U/mL vs. (44.22±7.11) U/mL,  $P < 0.001$ ; 大脑:(131.77±8.34) U/mg vs. (84.39±4.10) U/mg,  $P < 0.01$ ]。经AH处理后,SOD活性逐渐恢复,尤其在40 μg/mL AH下,血清SOD活性[(98.67±0.86) U/mL]恢复至假手术组水平(图2A),大脑中SOD活性[(162.83±17.36) U/mg]甚至高于假手术组(图2C)。

使用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定MDA浓度,结果显示较假手术组,VD组MDA浓度升高[血清:(12.03±1.01) nmol/mL vs. (17.74±1.00) nmol/mL,  $P < 0.001$ ; 大脑:(4.41±0.30) nmol/mg vs. (6.17±0.70) nmol/mg,  $P < 0.05$ ]。AH处理能够降低MDA浓度,20 μg/mL AH处理后,血清MDA浓度[(8.34±0.10) nmol/mL]已低于假手术组( $P < 0.001$ )(图2B),40 μg/mL AH处理后,大脑中MDA浓度恢复[(3.96±0.77) nmol/mg]至假手术组水平

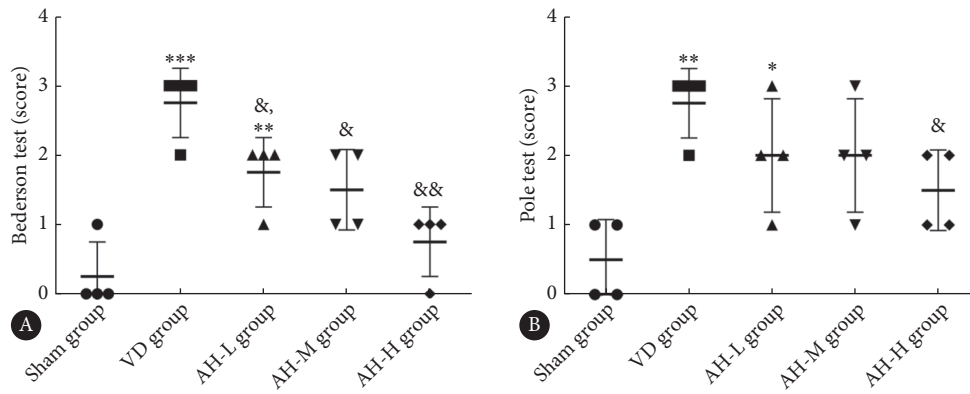


图 1 AH对VD大鼠神经行为的影响

Fig 1 The effect of AH on the neurobehaviors in VD rats

VD group: vascular dementia model group; AH-L group: AH 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  treatment group; AH-M group: AH 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  treatment group; AH-H group: AH 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  treatment group. A, The Bederson Test was performed; B, the pole climbing test was performed. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , vs. Sham group; &  $P < 0.05$ , &&  $P < 0.01$ , vs. VD group.  $n = 4$ .

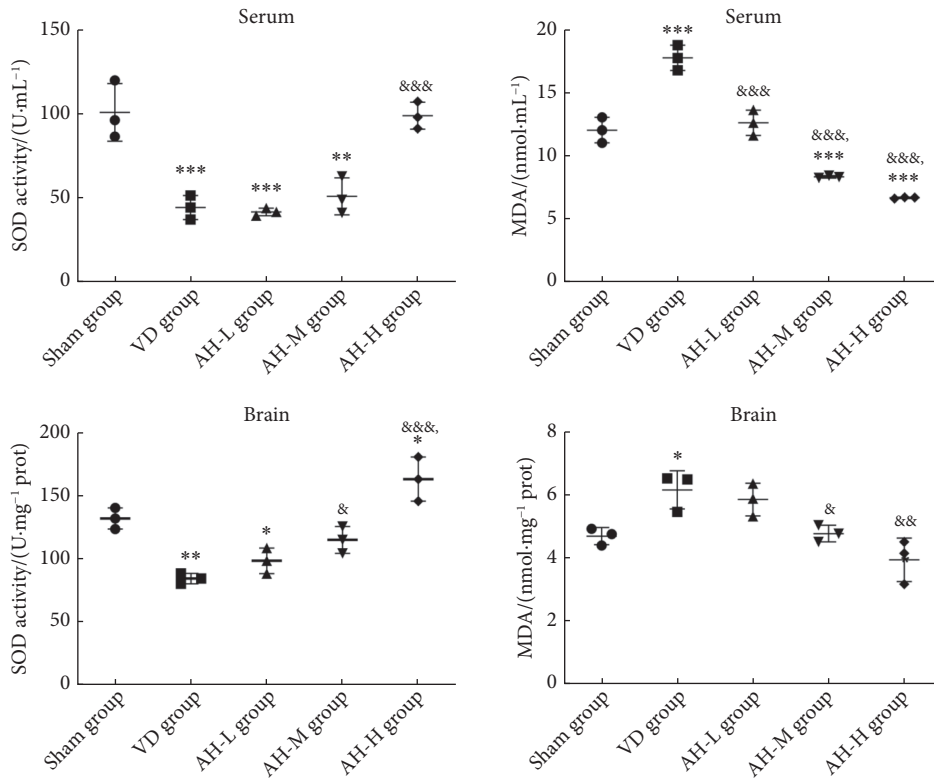


图 2 血管痴呆大鼠的大脑和血清中SOD活性与MDA浓度变化

Fig 2 Changes in SOD and MDA activities in the brain and serum of VD rats

The abbreviations are explained in the note to Fig 1. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , vs. Sham group; &  $P < 0.05$ , &&  $P < 0.01$ , &&&  $P < 0.001$ , vs. VD group.  $n = 3$ .

(图2D)。

### 2.3 氢溴酸樟柳碱对细胞凋亡的影响

TUNEL检测结果显示,与假手术组[(2.48±0.9)%]相比,VD组大鼠脑组织中TUNEL阳性细胞数量增多[(64.05±9.82)%,  $P < 0.001$ ],表明细胞凋亡水平上升。AH治疗能够减少TUNEL阳性细胞数量,随着AH质量浓度的增加,凋亡细胞数量进一步减少[低、中、高剂量组分别为(36.10±

9.07)%、(9.60±5.63)%、(3.43±0.92)%],3组间差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )(图3)。

### 2.4 氢溴酸樟柳碱对体外神经细胞氧化应激的影响

结果见图4。在HT22和NSC-34细胞中,缺氧/复氧(hypoxia/re-oxygenation, H/R)处理引起氧化应激,表现为H/R组MDA浓度分别升高至CT组的(2.03±0.16)倍和(2.92±0.11)倍( $P < 0.01$ ),SOD与CT组相比降低[HT22:

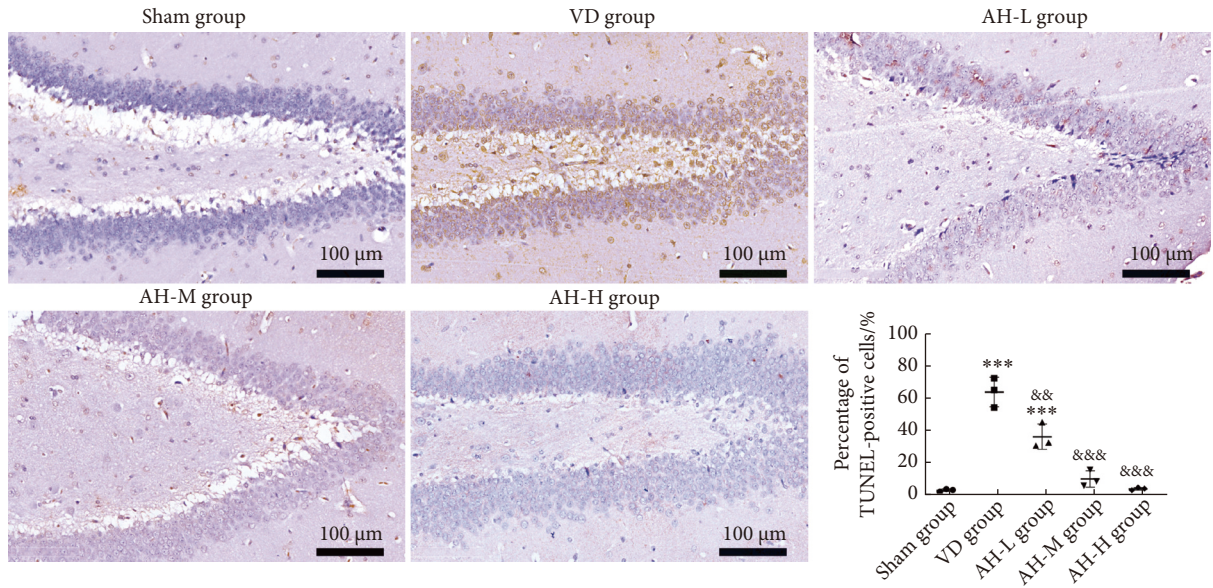


图 3 TUNEL法检测脑组织的细胞凋亡情况

Fig 3 Evaluation of apoptosis in the brain tissue via TUNEL assay

The abbreviations are explained in the note to Fig 1. \*\*\*  $P < 0.001$ , vs. Sham group; \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , vs. VD group.  $n = 3$ .

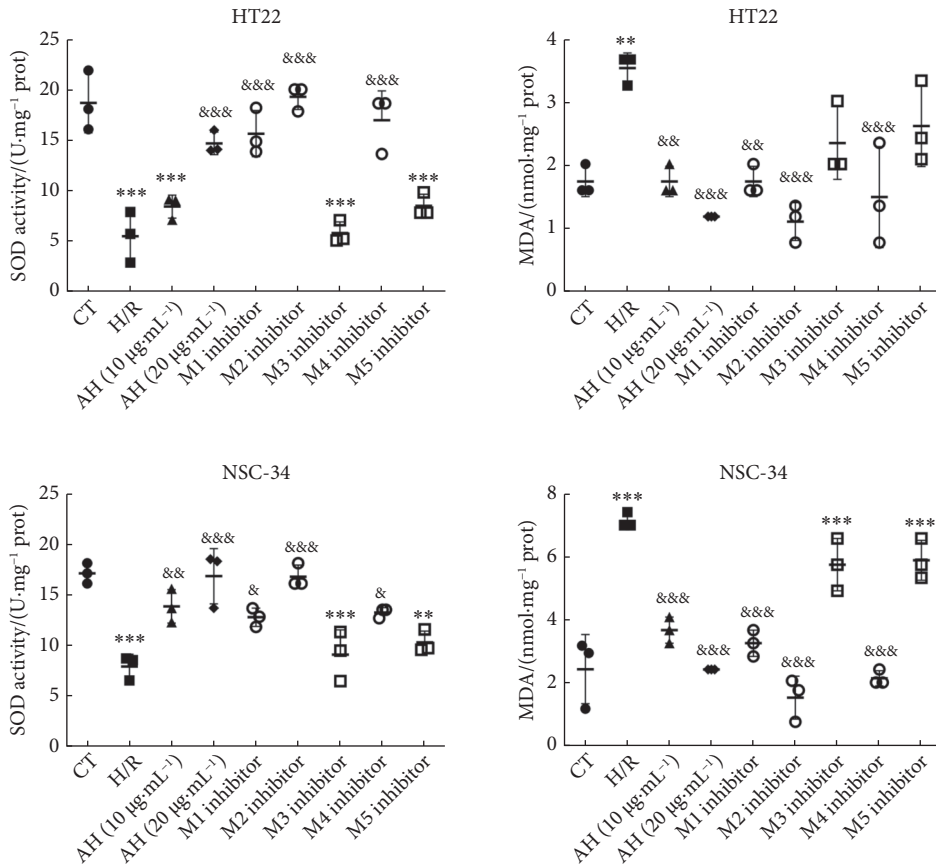


图 4 AH处理后HT22和NSC-34细胞中MDA浓度和SOD活性变化

Fig 4 Changes in MDA and SOD activities in HT22 and NSC-34 cells after AH treatment

\*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , vs. CT (Control) group; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , vs. H/R (hypoxia/re-oxygenation) group.  $n = 3$ .

( $18.70 \pm 3.22$ ) U/mg vs. ( $5.53 \pm 2.31$ ) U/mg,  $P < 0.001$ ; NSC-34: ( $17.09 \pm 1.00$ ) U/mg vs. ( $7.93 \pm 1.39$ ) U/mg,  $P < 0.001$ 。

AH处理能够改善这一状况, 20 µg/mL AH组在提高SOD活性和降低MDA含量方面优于10 µg/mL AH组。

### 2.5 AH降低神经细胞ROS水平的机制

AH可能通过抑制M2受体来降低氧化应激损伤中的ROS水平。在NSC-34和HT22细胞中, AH均显著降低了ROS水平, 并且20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 强于10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 存在剂量依赖性。M2抑制剂作为药物阳性对照也可以抑制ROS水平, 表明M2受体可能是AH调节氧化应激损伤中ROS水平的关键靶点(图5、图6)。

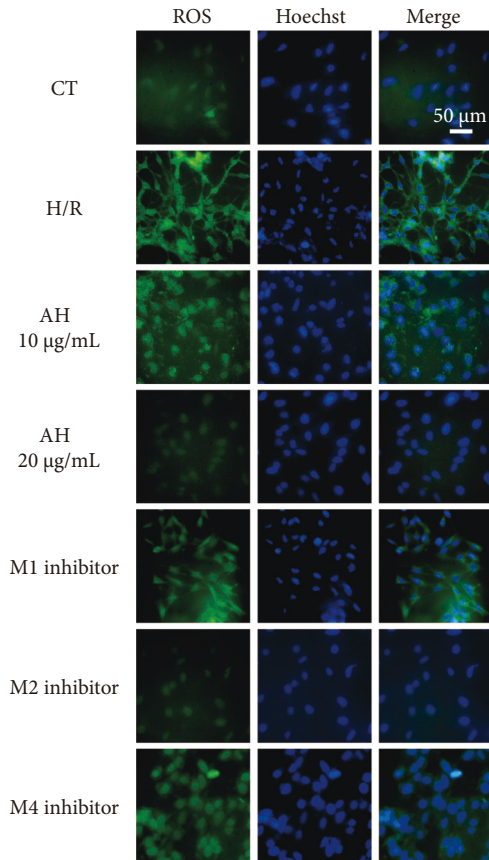


图5 荧光显微镜下观察HT22细胞中ROS水平变化

Fig 5 Changes in ROS activity in HT22 cells observed via fluorescence microscopy

## 3 讨论

AH是一种具有神经保护作用的生物碱, 特别是在调节神经递质失衡和胆碱能功能方面, AH显示出了改善记忆缺陷的潜力<sup>[11-12]</sup>。本研究中TUNEL结果显示了海马区神经细胞的凋亡情况。海马神经元细胞是海马区的主要细胞组成, 说明AH对海马区神经元细胞有保护作用。CHEN等<sup>[5]</sup>的研究中也揭示了小剂量AH对慢性脑低灌注大鼠具有神经保护作用, 可通过激活ERK1/2信号通路和降低脑组织 $\text{Ca}^{2+}$ 水平来抑制急性脑缺血再灌注损伤模型中的细胞凋亡的能力<sup>[13]</sup>。这些发现为AH在治疗VD方面的应用提供了科学依据。

本研究发现, AH能够改善VD大鼠模型的神经功能

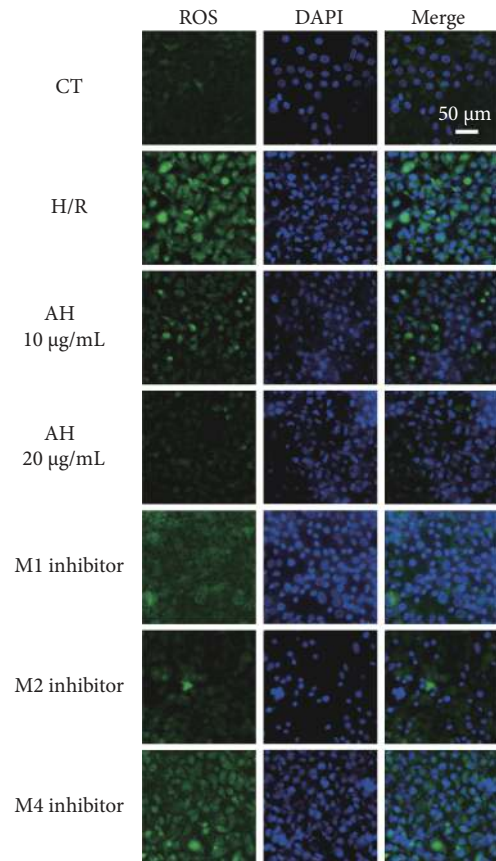


图6 荧光显微镜下观察NSC-34细胞中ROS水平变化

Fig 6 Changes in ROS activity in NSC-34 cells observed via fluorescence microscopy

缺损和氧化应激状态。体外实验进一步表明, AH可降低H/R诱导的神经细胞ROS水平, 且M2受体抑制剂具有类似效果, 提示M2受体通路可能参与了H/R诱导的氧化应激。考虑到AH是一种M受体拮抗剂, 其降低ROS的作用可能与抑制M2受体有关, 但这需要进一步的直接证据, 以明确M2受体在AH神经保护机制中的确切作用。此外, AH的中枢神经作用和其强大的透过血脑屏障的能力, 为其作为潜在的VD治疗药物提供了进一步开发的前景。

VD常常和阿尔茨海默病(AD)共存, 鉴别诊断困难<sup>[14]</sup>。事实上, VD以及AD与氧化应激密切相关<sup>[15-16]</sup>。同时, 脑血管功能障碍、血脑屏障(BBB)通透性增加和脑血流量(CBF)减少是包括AD在内晚期痴呆病理生理学的关键组成部分<sup>[12]</sup>。尽管AH在AD中的作用尚未被广泛研究, 但其在减少氧化损伤方面的效果已经显现。GREILBERGER等<sup>[13]</sup>的研究表明, MDA浓度在神经退行性疾病中显著增加, 而本研究发现, AH处理能够显著降低模型组大脑和血清中的MDA浓度, 这一结果表明AH可能通过调节MDA浓度来提供神经保护。

此外, 本研究还观察到模型组大脑和血清中SOD活性的降低, 这反映了永久性双侧颈总动脉闭塞诱导的氧

化应激损伤。而AH处理能够提高SOD活性,这一结果进一步证实了AH在提高细胞抗氧化防御能力方面的潜力。

综上所述,本研究证实氢溴酸樟柳碱能够减轻血管性痴呆模型大鼠的神经损伤和氧化应激,其机制可能涉及抗氧化、抗凋亡以及对M2胆碱能受体的拮抗作用。AH是治疗血管性痴呆的潜在药物,尤其是其强大的透过血脑屏障能力和和中枢神经系统作用。这些发现为AH作为治疗VD的潜在药物提供了实验依据。

\* \* \*

**作者贡献声明** 秦颐雪负责数据审编、正式分析、调查研究、研究方法、可视化、初稿写作和审读与编辑写作,邱艳负责调查研究、研究方法、可视化、初稿写作和审读与编辑写作,钟健和欧阳智负责调查研究、研究方法、初稿写作和审读与编辑写作,金璘璐负责正式分析、调查研究和审读与编辑写作,吴海林负责调查研究、初稿写作和审读与编辑写作,曾焯负责论文构思、正式分析、经费获取、调查研究、研究方法、监督指导、可视化、初稿写作和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

**Author Contribution** QIN Yixue is responsible for data curation, formal analysis, investigation, methodology, visualization, writing--original draft, and writing--review and editing. QIU Yan is responsible for investigation, methodology, visualization, writing--original draft, and writing--review and editing. ZHONG Jian and OUYANG Zhi are responsible for investigation, methodology, writing--original draft, and writing--review and editing. JIN Linlu is responsible for formal analysis, investigation, and writing--review and editing. WU Hailin is responsible for investigation, writing--original draft, and writing--review and editing. ZENG Ye is responsible for conceptualization, formal analysis, funding acquisition, investigation, methodology, supervision, visualization, writing--original draft, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**Declaration of Conflicting Interests** All authors declare no competing interests.

## 参 考 文 献

- [1] ZHU T, ZHU M, QIU Y, *et al.* Puerarin alleviates vascular cognitive impairment in vascular dementia rats. *Front Behav Neurosci*, 2021, 15: 717008. doi: 10.3389/fnbeh.2021.717008.
- [2] WHITE A L, TALKINGTON G M, OUVRIER B, *et al.* Reactive oxygen species, a potential therapeutic target for vascular dementia. *Biomolecules*, 2024, 15(1): 6. doi: 10.3390/biom15010006.
- [3] SONG T, SONG X, ZHU C, *et al.* Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, neuroinflammation, and metabolic alterations in the progression of Alzheimer's disease: a meta-analysis of *in vivo* magnetic resonance spectroscopy studies. *Ageing Res Rev*, 2021, 72: 101503. doi: 10.1016/j.arr.2021.101503.
- [4] RAJEEV V, FANN D Y, DINH Q N, *et al.* Pathophysiology of blood brain

barrier dysfunction during chronic cerebral hypoperfusion in vascular cognitive impairment. *Theranostics*, 2022, 12(4): 1639-1658. doi: 10.7150/thno.68304.

- [5] MEN X, JI H, ZHANG C, *et al.* Anisodine hydrobromide injection promotes neural remodeling and recovery after ischemic stroke in mice. *Gen Physiol Biophys*, 2024, 43(6): 485-498. doi: 10.4149/gpb\_2024036.
- [6] 刘星亮, 姜展, 范磊, 等. 氢溴酸樟柳碱联合丁苯酞对老年2型糖尿病合并脑小血管病患者的临床疗效分析. *中华老年心脑血管病杂志*, 2022, 24(6): 652-665. doi: 10.3969/j.issn.1009-0126.2022.06.024.
- [7] LIU X L, LOU Z, FAN L, *et al.* Clinical efficacy of hydrobromate salpinine combined with butylphthalide in elderly patients with type 2 diabetes mellitus complicated with cerebral small vessel disease. *Chin J Geriatr Heart Brain Vessel Dis*, 2022, 24(6): 652-665. doi: 10.3969/j.issn.1009-0126.2022.06.024.
- [8] WANG S B, YANG X Y, DU G H. Anisodine, in natural small molecule drugs from plants. Singapore: Springer Singapore, 2018: 175-180.
- [9] LIU Y, WANG L, WAN F, *et al.* Effects of anisodine hydrobromide on the cardiovascular and respiratory functions in conscious dogs. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 4263-4276. doi: 10.2147/DDDT.S268113.
- [10] 董志领, 韩丽丽, 段朋仓, 等. 氢溴酸樟柳碱注射液治疗急性缺血性脑卒中随机对照临床试验. *药物流行病学杂志*, 2021, 30(5): 296-300. doi: 10.19960/j.cnki.issn1005-0698.2021.05.002.
- [11] DONG Z L, HAN L L, DUAN P C, *et al.* Anisodine hydrobromide injection for the treatment of acute ischemic stroke: A randomized controlled trial. *Chin J Pharmacoevidemol*, 2021, 30(5): 296-300. doi: 10.19960/j.cnki.issn1005-0698.2021.05.002.
- [12] WANG Y, WAN F, HU P, *et al.* Efficacy and safety of anisodine hydrobromide injection for acute ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1290755. doi: 10.3389/fphar.2023.1290755.
- [13] WAN F, JIN L, QIN Y, *et al.* Modulation of muscarinic receptors by anisodine hydrobromide in cerebral ischemia. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2023, 69(11): 17-24. doi: 10.14715/cmb/2023.69.11.3.
- [14] 贵永堃, 杜任苗, 孙玉莹, 等. 氢溴酸樟柳碱片治疗脑小血管病相关认知障碍的临床研究. *世界临床药物*, 2019, 40(12): 850-857. doi: 10.13683/j.wph.2019.12.006.
- [15] GUI Y K, DU R M, SUN Y Y, *et al.* Clinical study of anisodine hydrobromide in treatment of cognitive impairment associated with cerebral small vessel disease. *World Clinical Drug*, 2019, 40(12): 850-857. doi: 10.13683/j.wph.2019.12.006.
- [16] GREILBERGER J, KOIDL C, GREILBERGER M, *et al.* Malondialdehyde, carbonyl proteins and albumin-disulphide as useful oxidative markers in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Free Radic Res*, 2008, 42(7): 633-638. doi: 10.1080/10715760802255764.
- [17] GARCÍA-CULEBRAS A, CUARTERO M I, PEÑA-MARTÍNEZ C, *et al.* Myeloid cells in vascular dementia and Alzheimer's disease: Possible therapeutic targets? *Br J Pharmacol*, 2024, 181(6): 777-798. doi: 10.1111/bph.16159.
- [18] BUTTERFIELD D A, HALLIWELL B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20(3): 148-160. doi: 10.1038/s41583-019-0132-6.
- [19] GRANDE G, QIU C, FRATIGLIONI L. Prevention of dementia in an ageing world: evidence and biological rationale. *Ageing Res Rev*, 2020, 64: 101045. doi: 10.1016/j.arr.2020.101045.

(2024-07-10收稿, 2025-01-20修回)

编辑 汤洁



**开放获取** 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

**OPEN ACCESS** This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2025 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*