

in Clementine(Clementine 数据挖掘方法及应用) [M]. Beijing: Publishing House of Electronics Industry, 2010.

[6] IBM Corporation. ModelingNodes. [DB/OL].IBM Corporation, 2011: 84-96[2012-08-19]. ftp://ftp.software.ibm.com/software/analytics/spss/documentation/modeler/14.2/en/.

[7] ZHANG J W, HAN G S, ZHANG W. Application of C5. 0

Algorithm in passing ball training of RoboCup [J]. Computer Computer Simulation(计算机仿真), 2006, 23(4): 132-134.

[8] JIANG Z L. Introduction to Artificial Neural Networks (人工神经网络导论) [M]. Beijing: Higher Education Press, 2001: 15-54.

收稿日期: 2012-04-20

## 水蛭对血瘀证家兔血脂代谢及相关基因表达的影响

杨洪雁<sup>1</sup>, 张香东<sup>2</sup>, 刘可园<sup>1</sup>, 杜智恒<sup>1</sup>, 白秀娟<sup>1\*</sup> (1.东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030; 2.吉林农业大学中药材学院, 长春 130118)

**摘要:** 目的 观察水蛭对实验性血瘀证家兔血脂代谢及其相关基因表达的影响。方法 采用复合因素(饥饿+高脂饲料+注射肾上腺素)建立血瘀证模型, 造模结束后将实验动物随机分成5组, 高中低水蛭剂量组、模型对照组、空白对照组, 三个剂量组分别按 0.30, 0.15, 0.075g·kg<sup>-1</sup> 给血瘀证家兔灌胃 30 d。分别于造模结束时、灌胃第 10, 20, 30 天心脏取血, 检测血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量; 采用荧光实时定量 PCR 技术检测家兔肝脏低密度脂蛋白受体(LDL-R)、载脂蛋白 E(ApoE) mRNA 的表达。结果 与模型组相比, 水蛭能显著降低血清中 TC、TG、LDL-C 水平( $P<0.05$ ), 能显著上调血瘀证家兔肝脏中 LDL-R mRNA、ApoE mRNA 的表达( $P<0.05$ )。结论 水蛭具有调节血瘀证家兔血脂代谢的作用, 其机制可能与上调 LDL-R 基因和 ApoE 基因转录水平有关。

**关键词:** 水蛭; 血瘀证; 血脂代谢; LDL-R; ApoE

中图分类号: R972.6

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)09-0959-05

## Effect of Hirudo on Blood Metabolism and Its Related Gene Expression in Blood Stasis Syndrome Rabbits

YANG Hongyan<sup>1</sup>, ZHANG Xiangdong<sup>2</sup>, LIU Keyuan<sup>1</sup>, DU Zhiheng<sup>1</sup>, BAI Xiujuan<sup>1\*</sup> (1.College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2.College of Chinese Traditional Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To observe the effects of Hirudo on blood metabolism and its related gene expression in blood stasis syndrome rabbits. **METHODS** The blood stasis syndrome rabbit's models induced by complex factors(starvation+high-fat feeding+adrenaline) were established. Model rabbits randomly divided into five groups, rabbits in Hirudo groups were daily administered with Hirudo(0.30, 0.15, 0.075 g·kg<sup>-1</sup>) for 30 days, and rabbits in the normal and model groups were daily administered with 0.9% NaCl. The serum TC, TG, LDL-C in each different treated rabbit group were determined after models established, 10, 20, 30 d administration, respectively. The mRNA expressions of LDL-R and ApoE in liver tissue were quantified by Realtime-PCR. **RESULTS** Compared with normol group, Hirudo groups could remarkably decrease the levels of serum TC, TG, LDL-C( $P<0.05$ ). The result of realtime-PCR demonstrated that the Hirudo could remarkably increase the mRNA expressions of LDL-R and ApoE in liver tissue of rabbit's model group. **CONCLUSION** Hirudo has the effect of regulating lipid metabolism of blood stasis syndrome rabbits, the mechanism is likely related to increasing LDL-R and ApoE mRNA expression.

**KEY WORDS:** Hirudo; blood stasis syndrome; lipid metabolism; LDL-R; ApoE

水蛭是一味传统中药。《神农本草经》曾记载:“水蛭味咸平,主逐恶血、瘀血、月闭,破血瘕积聚。无子,利水道。”传统多用于血滞经闭,微瘕积聚及跌打损伤等症<sup>[1]</sup>。近年来,水蛭的医用

研究越来越广泛,从水蛭的化学成分、炮制方法到药理作用均日益深入<sup>[2-4]</sup>。大量研究表明水蛭具有调血脂、抗血栓的作用<sup>[5-7]</sup>。本实验观察水蛭对实验性血瘀证家兔血脂代谢的影响,并且采用实

作者简介: 杨洪雁, 女, 博士 Tel: 13796075409 E-mail: xiaopiqiu\_yes@163.com

\*通信作者: 白秀娟, 女, 博士, 教授, 博导 Tel: 13766843278 E-mail: bxj630306@163.com

时荧光定量 PCR 技术测定家兔肝脏低密度脂蛋白受体(LDL-R)、载脂蛋白 E(ApoE)mRNA 的表达,旨从分子水平探讨水蛭抗血瘀证的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

家兔,♀,体质量为 2.5~3.0 kg,由东北农业大学经济动物实验室提供。

### 1.2 药物与试剂

水蛭购于哈尔滨中药材大市场,由东北农业大学白秀娟教授鉴定;肾上腺素、胆固醇、生理盐水、无水乙醇等常规试剂购于哈尔滨伊士达生物工程有限公司;RNA 提取试剂盒、cDNA 第一链合成试剂盒、荧光定量试剂盒购于哈尔滨海基生物科技有限公司;RealtimePCR 引物由华大基因合成;甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)等试剂盒购于中生北控生物科技股份有限公司。

### 1.3 分组及模型制备

造模阶段将家兔按照体质量随机分成 2 组,模型组 65 只,对照组 20 只,造模结束后,将模型组家兔按照体质量随机分成 4 组,分别为水蛭高剂量组、水蛭中剂量组、水蛭低剂量组、模型对照组。

试验采用“饥饿+高脂饲料+肾上腺素”复合因素方法制备血瘀证模型。预试期 7 d,每天称体质量和采食量,预试期结束,计算平均采食量。试验开始时,每天饲喂平均采食量的 1/3,试验第 2 天开始模型组每只家兔隔日皮下注射肾上腺素  $0.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,共计 20 次,对照组皮下注射同剂量生理盐水,试验从第 10 天开始饲喂高脂饲料(饲料中添加 5%胆固醇),直到造模期结束,对照组饲喂正常饲料,试验期每 10 d 测量动物体质量 1 次,并根据体质量调整饲料的饲喂量及肾上腺素注射量。

造模结束后,将模型组按照体质量随机分成水蛭高、中、低 3 种剂量给药组,分别灌喂 0.30, 0.15,  $0.075 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  剂量的水蛭,治疗期 30 d,模型组和对照组灌胃同剂量的生理盐水。

### 1.4 实验样本的采集及测定

分别于造模结束时、水蛭治疗第 10, 20, 30 天进行血液样品的收集,制备血清。采用全自动生化仪检测血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)。分别于造模结束时各组(模型组和对照组)和水蛭治疗时期第 10, 20, 30

天每组各取 5 只体质量相近的家兔处死后迅速取其肝脏,随后立即分装于冻存管中并置于液氮中速冻,  $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存待用,用于肝脏总 RNA 的提取及基因表达的研究。

### 1.5 肝脏总 RNA 提取及相关基因表达研究

按 Trizol 试剂盒提取家兔肝脏组织总 RNA。提取的 RNA 通过紫外分光光度计测定 OD260, OD280 nm 的吸光度值,计算 RNA 纯度和浓度,按反转录试剂盒说明书将 RNA 反转录成 cDNA,反转录体系为: TotalRNA 0.1~2  $\mu\text{g}$ ,  $5\times\text{RTMaster-Mix}$  4  $\mu\text{L}$ , Oligo(dT) 15 Primer 1  $\mu\text{L}$ , 补足 RnaseFree  $\text{H}_2\text{O}$  到 20  $\mu\text{L}$ , 混匀。反转录条件为:  $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$  5 min;  $42 \text{ }^{\circ}\text{C}$  30~60 min;  $85 \text{ }^{\circ}\text{C}$  5 min, 终止反应。

家兔管家基因 GAPDH 基因的引物序列为: 上游: AATCCACTGGCGTCTTCACC, 下游: TTCACGCCCATCACAAACA, 序列长度 118 bp; LDL-R 基因上游引物: GCCCAATGGCATCACC, 下游引物: CGTCCGTCCAGAACAACACTT; 序列长度为 182 bp, ApoE 基因上游引物: CCGCTTCTGG GATTACCTG, 下游引物: CTTCCATCAGCAT CGTCAGTT, 序列长度为 104 bp。

荧光定量反应体系 20  $\mu\text{L}$ , 包括:  $2\times\text{SYBR Green PCR Mix}$  10  $\mu\text{L}$ ,  $50\times\text{ROX Reference Dye}$  0.4  $\mu\text{L}$ , 上下游引物(20  $\mu\text{M}$ )各 0.2  $\mu\text{L}$ , 其余用 dd $\text{H}_2\text{O}$  补足, 混匀, 反应在美国应用生物系统公司(ABI)的 7500 型仪器中进行, 反应条件为:  $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$  2 min;  $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$  5 s;  $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$  35 s, 35~45 cycles, 反应结束后自动生成溶解曲线, 结果以  $C_t$  值表示。相对定量采用比较  $C_t$  值法, 以公式  $F=2^{-\Delta\Delta C_t}$  来计算各处理组和对照组之间目的基因的表达差异。

### 1.6 试验数据统计分析

实验结果采用  $\bar{x}\pm s$  表示, 实验数据由软件 SPSS17.0 单因素试验统计分析进行方差分析, 差异显著时采用 DUNCAN 多重比较检验法对各组进行比较, 以  $P<0.01$ (差异极显著)和  $0.01<P<0.05$ (差异显著)作为差异显著性判断标准。

## 2 结果

### 2.1 水蛭对血瘀证家兔血清 TC、TG、LDL-C 影响

造模结束时, 模型组与对照组相比, TC、TG、LDL-C 均显著升高( $P<0.01$ ), 在水蛭治疗期, 3 个水蛭组均能不同程度的降低 TC、TG、LDL-C 的含量, 与同时期模型组相比差异极显著( $P<0.01$ ), 从表中可以看出, 在给药 10, 20 d 时, 3 个剂量

组对 TC、TG、LDL-C 的降低作用随着剂量的升高而增大, 给药第 30 天, 3 个剂量组对 3 个指标的降低作用随着剂量的增大呈现减弱的趋势, 结果见表 1~3。

**表 1** 水蛭对血瘀证家兔总胆固醇(TC)的影响( $\bar{x} \pm s$ )

**Tab 1** Effects of Hirudo on TC of blood stasis syndrome rabbits( $\bar{x} \pm s$ )

组别	造模后	给药 10 d	给药 20 d	给药 30 d
模型组	22.51±0.18	20.80±0.40	15.34±0.30	7.41±0.21
对照组	0.84±0.08 <sup>1)</sup>	0.79±0.09 <sup>1)</sup>	0.96±0.15 <sup>1)</sup>	0.88±0.10 <sup>1)</sup>
水蛭高剂量组		15.22±0.15 <sup>1)</sup>	10.52±0.16 <sup>1)</sup>	4.56±0.11 <sup>1)</sup>
水蛭中剂量组		18.60±0.46 <sup>1)</sup>	11.38±0.17 <sup>1)</sup>	4.14±0.08 <sup>1)</sup>
水蛭低剂量组		19.05±0.13 <sup>1)</sup>	12.88±0.27 <sup>1)</sup>	3.72±0.16 <sup>1)</sup>

注: 与模型组相比, <sup>1)</sup> $P < 0.01$

Notes: Compared with model group, <sup>1)</sup> $P < 0.01$

**表 2** 水蛭对血瘀证家兔甘油三酯(TG)的影响( $\bar{x} \pm s$ )

**Tab 2** Effects of Hirudo on TG of blood stasis syndrome rabbits( $\bar{x} \pm s$ )

组别	造模后	给药 10 d	给药 20 d	给药 30 d
模型组	5.82±0.28	5.28±0.10	4.33±0.12	1.96±0.11
对照组	0.85±0.05 <sup>1)</sup>	0.81±0.04 <sup>1)</sup>	0.86±0.09 <sup>1)</sup>	0.92±0.11 <sup>1)</sup>
水蛭高剂量组		3.38±0.03 <sup>1)</sup>	2.61±0.08 <sup>1)</sup>	1.55±0.10 <sup>1)</sup>
水蛭中剂量组		4.44±0.15 <sup>1)</sup>	2.88±0.10 <sup>1)</sup>	1.38±0.10 <sup>1)</sup>
水蛭低剂量组		4.58±0.09 <sup>1)</sup>	3.09±0.12 <sup>1)</sup>	1.14±0.08 <sup>1)</sup>

注: 与模型组相比, <sup>1)</sup> $P < 0.01$

Notes: Compared with model group, <sup>1)</sup> $P < 0.01$

**表 4** LDL-R 基因在家兔肝脏中的表达量( $\bar{x} \pm s$ )

**Tab 4** LDL-R genes expression in rabbit livers( $\bar{x} \pm s$ )

	高剂量组	中剂量组	低剂量组	模型组	空白组
造模后				0.487±0.024	1.000 <sup>1)</sup>
10 d	0.711±0.039 <sup>1)</sup>	0.666±0.092 <sup>1)</sup>	0.593±0.064 <sup>2)</sup>	0.468±0.114	1.000 <sup>1)</sup>
20 d	0.984±0.117 <sup>1)</sup>	0.993±0.039 <sup>1)</sup>	0.716±0.039 <sup>1)</sup>	0.529±0.045	1.000 <sup>1)</sup>
30 d	1.233±0.045 <sup>1)</sup>	1.106±0.065 <sup>1)</sup>	1.067±0.074 <sup>1)</sup>	0.726±0.054	1.000 <sup>1)</sup>

注: 与模型组相比, <sup>1)</sup> $P < 0.01$ , <sup>2)</sup> $P < 0.05$

Notes: Compared with model group, <sup>1)</sup> $P < 0.01$ , <sup>2)</sup> $P < 0.05$

**2.2.2** 水蛭对血瘀证家兔肝脏 ApoE mRNA 表达的影响 造模结束时, 模型组 ApoE 基因表达量显著下降, 与对照组相比差异极显著( $P < 0.01$ ), 在水蛭治疗时期, 3 个水蛭组对血瘀证家兔肝脏组织的 ApoE 基因的表达量有显著的上调作用。试验第 10 天, 3 个水蛭组对家兔肝脏 ApoE 基因表达量的上调作用随着水蛭剂量的升高逐渐增大, 高、中 2 个剂量组 ApoE 基因表达量与模型

**表 3** 水蛭对血瘀证家兔低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的影响( $\bar{x} \pm s$ )

**Tab 3** Effects of Hirudo on LDL-C of blood stasis syndrome rabbits( $\bar{x} \pm s$ )

组别	造模后	给药 10 d	给药 20 d	给药 30 d
模型组	13.96±0.85	8.90±0.09	7.22±0.11	5.19±0.13
对照组	0.38±0.03 <sup>1)</sup>	0.27±0.05 <sup>1)</sup>	0.33±0.07 <sup>1)</sup>	0.27±0.05 <sup>1)</sup>
水蛭高剂量组		6.95±0.10 <sup>1)</sup>	5.24±0.21 <sup>1)</sup>	4.07±0.07 <sup>1)</sup>
水蛭中剂量组		8.05±0.11 <sup>1)</sup>	5.44±0.10 <sup>1)</sup>	3.81±0.16 <sup>1)</sup>
水蛭低剂量组		8.35±0.09 <sup>1)</sup>	6.00±0.13 <sup>1)</sup>	3.37±0.12 <sup>1)</sup>

注: 与模型组相比, <sup>1)</sup> $P < 0.01$

Notes: Compared with model group, <sup>1)</sup> $P < 0.01$

## 2.2 水蛭对血瘀证家兔肝脏 LDL-R 和 ApoE 基因表达的影响

**2.2.1** 水蛭对血瘀证家兔肝脏 LDL-R 基因表达的影响 造模结束时, 模型组 LDL-R 基因的表达量显著下降, 与对照组相比差异极显著( $P < 0.01$ ); 在水蛭治疗时期, 不同剂量水蛭对血瘀证家兔肝脏组织的 LDL-R 基因的表达量均有显著的上调作用。试验第 10 天, 3 个水蛭剂量组对家兔肝脏 LDL-R 基因表达量的上调作用随着水蛭剂量的升高逐渐增强, 高、中两个剂量组与模型组相比差异极显著( $P < 0.01$ ), 低剂量组与模型组相比差异显著( $0.01 < P < 0.05$ ), 同时模型组与空白组之间差异极显著( $P < 0.01$ ); 试验第 20 天, 3 个剂量组对 LDL-R 基因的表达量依然呈现上调的趋势, 中剂量组对 LDL-R 基因的表达量的上调作用最强; 试验第 30 天, 3 个水蛭剂量组对 LDL-R 基因的表达量的上调作用与 10 d 时的趋势一致。结果见表 4。

组相比差异极显著( $P < 0.01$ ); 试验第 20 天, 与第 10 天时趋势一致, 3 个剂量组 ApoE 基因的表达量与模型组相比差异均极显著( $P < 0.01$ ), 同时, 此时期模型组与第 10 天相比, ApoE 表达量有所升高; 试验第 30 天, 各水蛭组对家兔肝脏 ApoE 基因的上调作用随着水蛭剂量的增大呈现下降的趋势, 以低剂量组对 ApoE 基因表达量的上调作用最强。结果见表 5。

表 5 ApoE 基因在家兔肝脏中的表达量( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 5 *ApoE* genes expression in rabbit livers( $\bar{x} \pm s$ )

	高剂量组	中剂量组	低剂量组	模型对照组	空白对照组
造模后				0.647±0.034	1.000 <sup>2)</sup>
10 d	2.594±0.184 <sup>1)</sup>	1.926±0.196 <sup>1)</sup>	1.547±0.105	0.669±0.014	1.000
20 d	2.490±0.112 <sup>1)</sup>	2.156±0.126 <sup>1)</sup>	2.125±0.125 <sup>1)</sup>	0.838±0.024	1.000
30 d	2.758±0.112 <sup>1)</sup>	2.677±0.131 <sup>1)</sup>	3.401±0.196 <sup>1)</sup>	0.792±0.189	1.000

注: 与模型组相比, <sup>1)</sup> $P < 0.01$

Notes: Compared with model group, <sup>1)</sup> $P < 0.01$

### 3 讨论

血瘀证是中医中最常见的一种证候, 是指瘀血内阻, 血行不畅, 以局部出现青紫肿块、疼痛拒按, 或心、肝、脑等主要脏器瘀血阻络, 功能障碍等为常见的证候, 是多种疾病形成的本质原因。对于血瘀证的研究越来越受到中医学者的欢迎, 近年来, 对血瘀证的研究不断深入并取得了一定的进展, 涉及到血瘀证动物模型的制备<sup>[8-10]</sup>、血瘀证的诊断标准<sup>[11-12]</sup>及各种药物对血瘀证的治疗作用及作用机制<sup>[13-15]</sup>的研究等。

水蛭是一种常见的中药, 有着广泛的药理作用, 主要用于心脑血管疾病的治疗中, 关于水蛭治疗血瘀证也有相关报道, 谢艳华等<sup>[16]</sup>研究发现, 水蛭对血瘀证大鼠血液流变学部分指标有降低作用; 梁进权等也得出类似的结果<sup>[17]</sup>。为探讨水蛭的抗血瘀证作用机制, 应从脂类运输及胆固醇合成的代谢动态入手。脂蛋白受体是一类跨细胞膜上的糖蛋白, 能与相应的脂蛋白配体(ApoE 和 ApoB100)作用, 特异识别与结合配体的脂蛋白, 故又称为 ApoB、ApoE 受体<sup>[18]</sup>。LDL-R 是目前研究最多的脂蛋白受体之一, 它广泛分布于全身各组织, 能通过影响血浆 LDL 清除的快慢, 调节血浆脂蛋白水平, 以维持细胞胆固醇浓度的动态平衡, 其合成受细胞内胆固醇水平负反馈调节, 当 LDL-R 基因变异或 LDL-R 表达下调, LDL-R 合成不足时, 对 LDL 的分解、代谢能力下降, 将使血清 LDL 浓度增加, 由于循环中的 LDL-C 主要通过肝脏 LDL-R 途径清除, 因此肝脏 LDL-R 表达的变化能够决定并反映血中胆固醇的代谢水平<sup>[19]</sup>。而 ApoE 作为 LDL-R 的配体之一, 在胆固醇和其他脂质的代谢中也起着至关重要的作用, 参与脂蛋白的转化与代谢, 与血浆甘油三酯含量正相关, 当 ApoE 基因表达量显著提高时, 可以增加 ApoE 与 LDL-R 结合数量, 从而降低血浆中 LDL, 可使过

多的胆固醇在肝脏中分解, 起到降低血脂的作用<sup>[20]</sup>。

本研究通过复合多因素制备家兔血瘀证模型, 旨在对水蛭治疗血瘀证的作用机制进行初步探讨, 结果表明水蛭能够明显降低血瘀证家兔的 TC、TG、LDL-C, 说明水蛭具有明显的调节血脂代谢紊乱的作用, 进而对血瘀证进行缓解和治疗。在明确了水蛭的调脂作用之后, 研究了水蛭对肝组织 LDL-R 基因和 ApoE 基因表达量的影响。从实验结果可以看出, 造模完成时, 模型组家兔的肝脏两个基因的表达量与对照组相比显著下降( $P < 0.05$ ), 说明复合因素导致了家兔的血瘀证进而抑制了两个基因的转录, 致使表达水平下降, 从而引起血循环中 LDL 的堆积, 因此模型组家兔血清 LDL-C 及 TC 显著升高、TG 显著下降。在水蛭治疗阶段, 三个水蛭组能显著上调两个基因的表达量, 表明水蛭能解除血瘀证对两个基因转录的抑制作用, 增多了 LDL-R 和 ApoE 的数量, 使 LDL-C 的清除加快, 因此降低了血中 LDL-C、TC 的水平, 升高了 TG 的水平, 进而调节血脂代谢紊乱, 对血瘀证有一定的治疗作用。

综上, 水蛭能够调节脂质代谢紊乱进而对血瘀证有一定的治疗作用, 其机制可能是通过降低血瘀证家兔血清中 TC、TG、LDL-C 的含量、增强 LDL-R 基因和 ApoE 基因表达水平来实现的。但是由于水蛭本身富含多种有效成分, 有着广泛的药理作用, 其抗血瘀证的主效成分及其作用机制有待于进一步的研究。

### REFERENCES

- [1] YANG H Y, DU Z H, BAI X J. Research progress on pharmacological effects of Hirudo [J]. J Northeast Agric Univ (东北农业大学学报), 2012, 43(3): 128-133.
- [2] WANG M M, YANG Y B. Chemical constituents and pharmacological effects of Hirudo [J]. Heilongjiang J Tradit Chin Med(黑龙江中医药), 2008, (2): 47-48.
- [3] SUN A G. Analysis on processing and clinical application of Hirudo [J]. Chin Med Mod Dis Educ China (中国中医药现代

- 远程教育), 2009, 7(9): 233.
- [4] LI K M, ZHANG G, WU J B. Research situation on pharmacological effects of Hirudo [J]. Tradit Chin Med Res (中医研究), 2007, 20(2): 62-64.
- [5] WANG X M, TENG S H, LI S Z, et al. Effects of leech injection on thrombus formation in rats [J]. J N Bethune Univ Med Sci (白求恩医科大学学报), 1998, 24(5): 469-470.
- [6] RAN C F, BAI S J, YANG J. Experiment study on the antithrombotic effect of leech injection [J]. Modern Rehabilitation (现代康复), 2001, 5(5): 73-74.
- [7] LI N, ZHAO X, ZHANG W G. Observation of curative effect on hyperlipidemia of Hirudo [J]. Chin J Misdiagn (中国误诊学杂志), 2008, 8(4): 802-803.
- [8] CHEN Y B, WANG Q, LAI S L. A preliminary study on establishment of cellular injury models of blood stasis syndrome [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med(广州中医药大学学报), 2001, 18(2): 109-114.
- [9] HE L, JIANG W Y, MAO T M. Preliminary exploration on establishing a simulated model of acute and chronic after-qi-stagnation blood stasis by adrenaline injection [J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2004, 24(3): 244-246.
- [10] CHENG X M, DU H L, LI D. Establishment of syndrome model of blood stasis due to cold accumulation in rats [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med(中国中医基础医学杂志), 2005, 11(8): 604-605.
- [11] WU C Y. On development of researches on blood stasis [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med(南京中医药大学学报), 2004, 20(3): 133-136.
- [12] YIN J X, TIAN J Z, WANG Y Y, et al. Evaluation criterion of tongue appearances in rat model of syndrome of blood stasis [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med(北京中医药大学学报), 2007, 30(8): 529-531.
- [13] LING X M, DING H, LUO S D, et al. Study on the pharmacological mechanism of angelica polysaccharide on the immunocompetence and the effects of its anti-oxidation [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2002, 22(10): 584-586.
- [14] HU X Q, CHEN L G, QU Y. Effects of Shenghua Decoction on the expression of adhesion molecules in vascular endothelial cells of blood-stasis rats [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2007, 28(9): 1330-1333.
- [15] TONG W X, LI Z H, KOU Q A, et al. Clinical study on the treatment of fatty liver disease(qi-stagnation of and blood-stasis) with Jiangzhi Tongluo soft capsules [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2001, 21(6): 660-664.
- [16] XIE Y H, WANG S W, CUI H M. The effects of hirudoon normal and experimental hemostasis rats' blood rheology [J]. J Fourth Mil Med Univ(第四军医大学学报), 1996, 17(2): 101-103.
- [17] LIANG J Q, MI S Q, WANG N S, et al. Effect of different combinations of Hirudo and Tabanus on hemorheological parameters in rat model of blood stasis syndrome [J]. Chin New Drugs J(中国新药杂志), 2009, 18(12): 1141-1144, 1154.
- [18] BROWN M S, GOLDSTEIN J L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis [J]. Science, 1986, 232(4746): 34-47.
- [19] STULNIG T M, KLOCKER H, HARWOOD H J. *In vivo* LDL receptor and HMG-CoA reductase regulation in human lymphocytes and its alterations during aging [J]. J Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1995, 15: 872-878.
- [20] YAN S, LIU G R, LIU F. Effects of "Li Pi Tiaozi capsule" on expressions of ApoE and ApoCIII mRNA in dyslipidemia rats [J]. Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志), 2011, 45(2): 60-62.

收稿日期: 2013-03-01

## 喹啉酮类小分子 p53-MDM2 结合抑制剂 3D-QSAR 研究

尤贤霞<sup>1</sup>, 周琴<sup>1</sup>, 胡雁<sup>2</sup>, 胡纯琦<sup>1,2\*</sup> (1.绍兴文理学院化学化工学院, 浙江 绍兴 312000; 2.浙江大学-巴黎高等师范学院药物化学联合实验室, 浙江大学药学院, 杭州 310058)

**摘要:** 目的 设计、合成高活性的小分子 p53-MDM2 结合抑制剂, 建立具有预测能力的 3D-QSAR 模型。方法 采用分子模拟软件 Sybyl, 利用比较分子场方法(CoMFA)、比较分子相似性指数法(CoMSIA), 选择已报道的具有 p53-MDM2 结合抑制活性的一类有相同母核的 21 个异喹啉酮衍生物作为训练集, 7 个作为预测集进行 3D-QSAR 模型的建立和验证。**结果** 模型具有较高  $q^2(q^2_{\text{CoMFA}}=0.545, q^2_{\text{CoMSIA}}=0.528)$  和  $r^2(r^2_{\text{CoMFA}}=0.984, r^2_{\text{CoMSIA}}=0.972)$  值, 表明 2 组模型具有较高的拟和能力及预测能力。**结论** 该模型具有较高的预测能力, 为设计、合成高活性的小分子 p53-MDM2 结合抑制剂提供了理论依据。

**关键词:** 比较分子场法; 比较分子相似性指数法; p53-MDM2; 结合抑制剂; 异喹啉酮

中图分类号: R914.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)09-0963-07

基金项目: 浙江省自然科学基金青年项目(LQ13H300001)

作者简介: 尤贤霞, 女 Tel: (0575)88341521 E-mail: yxxd2013@yahoo.com.cn \*通信作者: 胡纯琦, 女, 博士, 讲师 Tel: (0575)88341521 E-mail: hucq@usx.edu.cn