

## 中文摘要

### 研究目的

神經退行性疾病如阿爾采默氏病 (Alzheimer's disease, AD), 帕金森病 (Parkinson's disease, PD), Huntington 舞蹈病 (Huntington disease), 肌萎縮側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 及脊髓肌萎縮症 (Spinal muscular atrophy) 等和特定的神經細胞減少和蛋白聚集有關。和其他器官相比, 大腦存在著高代謝率和相對較低的細胞再生能力的問題, 因此易受到活性氧自由基 (ROS) 的攻擊。

我國將步入老齡化社會, 神經退行性疾病治療意義重大。為了有效地治療這類疾病, 尋找和鑒定新的藥物靶點非常重要。中藥一般是通過調節機體整體狀況而起作用, 藥性較平和, 且毒副作用小。開發中藥很有前景和意義。本研究主要集中在研究從虎杖中分離到的單體 2-甲氧基-6-乙醯基-7-甲基胡桃醌, 採用細胞活性檢測法、流式細胞儀檢測細胞凋亡和壞死的方法、線粒體膜電位方法篩選是否對  $H_2O_2$  誘導 PC12 細胞損傷有保護作用及存在的機制。

### 研究方法

1. 建立  $H_2O_2$  誘導的 PC12 細胞損傷模型
2. MTT 法檢測不同濃度的虎杖的石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取部位、95% 醇提部位不同濃度對 PC12 細胞存活率的影響
3. LDH、MTT 法測定虎杖的乙酸乙酯萃取部位及從中分離的單體對  $H_2O_2$  誘導的 PC12 細胞損傷的影響
4. 流式細胞儀檢測 2-甲氧基-6-乙醯基-7-甲基胡桃醌對  $H_2O_2$  誘導的 PC12 細胞線粒體膜電位的影響
5. Annexin V/PI 法檢測 2-甲氧基-6-乙醯基-7-甲基胡桃醌對  $H_2O_2$  誘導的 PC12 細胞凋亡的影響
6. 螢光倒置顯微鏡觀察 2-甲氧基-6-乙醯基-7-甲基胡桃醌對  $H_2O_2$  誘導的 PC12 細胞凋亡的影響
7. 流式細胞儀檢測 2-甲氧基-6-乙醯基-7-甲基胡桃醌對  $H_2O_2$  誘導的 PC12 細胞周期的影響

## 研究結果

1. 建立了濃度為880 $\mu$ M的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>誘導PC12細胞損傷模型。
2. MTT法結果顯示MAM濃度為9.6-0.3 $\mu$ M對細胞無毒性。
3. LDH法、MTT法結果顯示MAM在濃度為9.6-0.3 $\mu$ M可以增強細胞存活率，降低LDH的釋放。
4. 濃度為4.8 $\mu$ M、1.2 $\mu$ M、0.3 $\mu$ M的MAM可以降低PC12細胞線粒體膜電位的去極化。
5. MAM（4.8 $\mu$ M、1.2 $\mu$ M、0.3 $\mu$ M）減少了PS外翻，降低了細胞凋亡。
6. 採用Hochest 33324 染色, 用螢光顯微鏡觀察細胞凋亡過程中細胞核的改變的結果顯示：MAM（4.8 $\mu$ M、1.2 $\mu$ M、0.3 $\mu$ M）減少了核固縮。
7. MAM（4.8 $\mu$ M、1.2 $\mu$ M、0.3 $\mu$ M）對細胞S期具有抑制作用。
8. 虎杖的乙酸乙酯萃取部位以及從此部位分離的單體，虎杖苷、大黃素甲醚-8-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黃素-8-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷對880 $\mu$ M的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>誘導PC12細胞損傷有保護作用。

## 研究結論

MAM在濃度為4.8 $\mu$ M、1.2 $\mu$ M、0.3 $\mu$ M可以降低H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>誘導的PC12細胞LDH的釋放，膜電位的下降，減少PS外翻，減少細胞核固縮。通過抑制H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>誘導的細胞損傷而達到對PC12細胞的保護作用。

**關鍵字:** 虎杖；2-甲氧基-6-乙醯基-7-甲基胡桃醌；過氧化氫；PC12細胞；保護作用