

含与不含朱砂和雄黄的安宫牛黄丸对大鼠局灶性脑缺血的影响^{*}

赵 雍¹ 曹春雨¹ 王秀荣¹ 崔海峰¹ 王跃生¹ 王志民¹ 叶祖光² 杜贵友¹

内容提要 目的:观察含与不含朱砂和雄黄的安宫牛黄丸对大鼠中动脉栓塞模型大鼠脑梗塞面积、脑含水量及过氧化氢酶(CAT)、脂质过氧化物(LPO)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、乳酸(LD)含量的影响,探讨安宫牛黄丸中朱砂、雄黄对药效的影响。方法:动物连续灌胃给药3天后,采用大鼠中动脉三氯化铁法造成大鼠脑局灶性缺血。分别用TTC染色法、烘干称重法、TBA法和按试剂盒说明书,测定大鼠脑梗塞面积、脑含水量和LPO、CAT、GPx、LD的含量。结果:含与不含朱砂、雄黄的安宫牛黄丸各剂量组大鼠中动脉栓塞大鼠脑梗塞面积明显减少,脑缺血侧含水量降低,CAT和GPx含量增加,LPO和LD含量降低。结论:含与不含朱砂、雄黄的安宫牛黄丸对大鼠中动脉栓塞大鼠脑组织损伤均有一定的保护作用,两者之间未见显著差异,提示安宫牛黄丸中朱砂、雄黄对大鼠脑缺血梗塞的保护作用未有明显影响。

关键词 安宫牛黄丸 朱砂 雄黄 脑梗塞

Effect of Angong Niuhuang Pill Containing or Not Containing Cinnabar and Realgar on Cerebral Focal Ischemia in Rats ZHAO Yong, CAO Chun-yu, WANG Xiu-rong, et al *Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing (100700)*

Objective: To explore the influence of cinnabar and realgar in Angong Niuhuang Pill (ANP) on the effect of ANP by comparing the effects of ANP with or without cinnabar and realgar on the cerebral infarction area, water content, catalase (CAT), lipid peroxidase (LPO), glutathione peroxidase (GPx), lactic acid (LD) levels in brain of rat model of middle cerebral arterial occlusion (MCAO). **Methods:** Animal was made to form cerebral focal ischemia model by MCAO with FeCl₃, after medicated for 3 days, and the above-mentioned parameters were determined separately by TTC stain, oven-dried and weighing, TBA method with test kit. **Results:** ANP, both with or without cinnabar and realgar, could reduce the area of cerebral infarction, brain water content, increase the level of CAT and GPx and lower the level of LPO and LD, suggesting that ANP could antagonize the free radical production in brain tissue. **Conclusion:** Both the ANP with or without cinnabar and realgar show protective effect on cerebral injury caused by MCAO, no significant difference is found between them, indicating that cinnabar and realgar have no influence on the protective effect of ANP on cerebral ischemic infarction in rats.

Key words Angong Niuhuang Pill, cinnabar, realgar, cerebral infarction

安宫牛黄丸中的朱砂、雄黄的作用历来是医家议论的问题之一,随着中医中药与国际接轨的出口要求,对安宫牛黄丸中的朱砂、雄黄的作用研究显得越来越重要。对比含与不含朱砂、雄黄的安宫牛黄丸对大鼠中动脉栓塞大鼠脑梗塞面积、脑含水量及过氧化氢酶(CAT)、脂质过氧化物(LPO)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和乳酸(LD)含量的影响,对评估朱砂、雄黄在该方中的作用有较重要意义。

材料和方法

1 药物与试剂 安宫牛黄丸,北京同仁堂集团提供。用蒸馏水稀释配成30、15、7.5g丸/100ml的浓度备用。安宫牛黄丸原药粉(不含朱砂、雄黄),北京同仁堂集团提供。用蒸馏水稀释配成13、6.6、3.3g粉/100ml的浓度备用。氯代三苯基四氮唑(TTC),北京化工厂生产,批号:821218。GPx、CAT、LD试剂盒,南京建成生物工程研究所生产,批号:010912。三氯乙酸,北京南尚乐化工厂生产,批号:980210。硫代巴比妥酸,上海试剂二厂生产,批号:901006。

2 动物 SD大鼠,雄性,288只,体重(182±14)

^{*} 国家科技部“九五”攻关课题(No.242)

1. 中国中医研究院中药研究所(北京 100700); 2. 国家药品监督管理局药品审评中心

g 二级,购自中国医学科学院实验动物研究所繁育场。

3 方法

3.1 动物分组及大鼠大脑中动脉栓塞模型的制备 将 288 只大鼠,分为 3 批,每批 96 只。每批动物按体重随机分为 8 组:对照组、模型组、安宫牛黄丸小(0.75g 丸/kg)中(1.5g 丸/kg)大剂量(3.0g 丸/kg)组及不含朱砂、雄黄安宫牛黄丸小(0.33g 粉/kg)中(0.66g 粉/kg)大剂量(1.3g 粉/kg)组,每组 12 只。按体重灌胃给予各药液 1.0ml/100g,对照组和模型组给予等体积蒸馏水,均连续给药 3 天。于第 2 天药后 1h 用 10% 水合氯醛(350mg/kg,腹腔注射)麻醉动物。按文献^[1]方法,暴露大鼠右侧大脑中动脉,将吸有 50% 三氯化铁溶液(1mol/L 盐酸)的小片定量滤纸敷于大脑中动脉上,用解剖显微镜观察血栓形成后取下滤纸,缝合创口。对照组除不敷盖三氯化铁滤纸外,其余手术步骤同模型组。造模后 23h 再灌胃给药 1 次。于造模后 24h 断头取脑。

3.2 脑梗塞面积的测定 大鼠断头后迅速取出全脑,除去嗅球、小脑和低位脑干,剩余部分在 4℃ 下冠状切成 5 片。迅速将脑片置于 TTC 染液中(每 5ml 染液中含 4% TTC 1.5ml,1mol/L K₂HPO₄0.1ml),37℃ 避光温孵 30min,取出后置于 10% 甲醛溶液中避光保存。经染色后非缺血区为玫瑰红色,梗塞区为白色。将白色组织仔细分离称重,以梗塞组织重量占总脑重量的百分比作为脑梗塞面积^[1,2]。

3.3 脑含水量的测定 大鼠断头后迅速取出全脑,取右半球,称湿重,110℃ 烘干 24h,称干重,计算脑含水量。

3.4 脑生化指标的测定 大鼠断头后迅速取出全脑,将右半球分为海马和皮层,制成 10% 匀浆。分别采用 TBA 和按试剂盒说明书,测定 LPO、CAT、GPx、LD 各项生化指标。

3.5 统计学处理 多组计量资料用方差分析,组间比较用 *t* 检验。

结 果

1 安宫牛黄丸对大脑中动脉栓塞模型大鼠梗塞面积的影响 见表 1。含与不含朱砂、雄黄的安宫牛黄丸大、中、小 3 个剂量组大脑中动脉栓塞模型大鼠脑梗塞面积明显减少,与模型组比较,差异均有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。提示:安宫牛黄丸可明显减少大鼠大脑中动脉栓塞引起的脑梗塞面积,朱砂、雄黄对安宫牛黄丸减少大脑中动脉栓塞模型大鼠脑梗塞面

万方数据

积无明显影响。

2 安宫牛黄丸对大脑中动脉栓塞模型大鼠脑含水量的影响 见表 1。安宫牛黄丸中、小剂量组和不

含朱砂和雄黄的安宫牛黄丸大、中剂量组大脑中动脉栓塞模型大鼠脑含水量明显减少,与模型组比较,差异均有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。提示:安宫牛黄丸可明显减少大鼠大脑中动脉栓塞引起的脑含水量,朱砂、雄黄对安宫牛黄丸降低脑含水量的作用无明显影响。

表 1 安宫牛黄丸对大脑中动脉栓塞大鼠脑梗塞面积和脑含水量的影响 (% $\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量(g/kg)	动物数	脑梗塞面积	脑含水量
对 照		12	0.01±0.004	78.5±0.3
模 型		12	4.51±2.25 *	79.8±0.8 *
安宫牛黄丸小剂量	0.75	12	2.98±1.65△	78.4±1.6△△
安宫牛黄丸中剂量	1.5	12	2.61±1.40△△	76.7±3.5△△
安宫牛黄丸大剂量	3.0	12	3.19±1.45△	79.8±0.7
不含朱砂和雄黄安宫牛黄丸小剂量	0.33	12	2.35±1.08△△	79.4±0.4
不含朱砂和雄黄安宫牛黄丸中剂量	0.66	12	2.49±1.24△△	79.2±0.4△△
不含朱砂和雄黄安宫牛黄丸大剂量	1.3	12	3.18±2.01△	79.1±0.5△△

注:与对照组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$

3 安宫牛黄丸对大脑中动脉栓塞大鼠脑组织 LPO、CAT、GPx 和 LD 的影响 见表 2。安宫牛黄丸与不含朱砂和雄黄的安宫牛黄丸大、中、小剂量组大脑中动脉栓塞大鼠皮层和海马 LPO 含量显著降低,与模型组比较,差异均有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。安宫牛黄丸中剂量与不含朱砂和雄黄的安宫牛黄丸大、中剂量组大脑中动脉栓塞大鼠皮层 CAT 含量明显增加,与模型组比较,差异均有显著性($P<0.01$)。安宫牛黄丸大、中、小剂量组与不含朱砂和雄黄的安宫牛黄丸大、小剂量组大脑中动脉栓塞模型大鼠皮层 GPx 含量明显增加,与模型组比较,差异均有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。安宫牛黄丸中、小剂量组和不

含朱砂和雄黄的安宫牛黄丸小剂量组大脑中动脉栓塞模型大鼠海马 LD 含量明显降低,与模型组比较,差异均有显著性($P<0.01$)。提示:安宫牛黄丸对大脑中动脉栓塞大鼠脑组织有明显的抗氧化作用,朱砂、雄黄对安宫牛黄丸的抗氧化作用无显著影响。

讨 论

安宫牛黄丸方源于《温病条辨》,具有“芳香化浊而利诸窍、咸寒保肾水而安心体、苦寒通火腑而泻心”的功效,主治“瘟毒热盛,神昏谵语,狂躁不安,浊痰内闭,

表 2 安宫牛黄丸对大鼠脑中动脉栓塞大鼠脑组织 LPO、CAT、GPx 和 LD 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量(g/kg)	n	LPO 含量(nmol/g 湿组织)		皮层 CAT 含量	皮层 GPx 含量	海马 LD 含量
			海马	皮层	(u/mg pro)	(u/mg pro)	(mmol/L)
对 照		12	64.9±1.9	121.2±4.5	9.70±5.44	4.73±0.52	16.92±1.19
模 型		12	92.8±1.7**	166.1±4.0**	4.35±2.34**	3.83±0.31**	17.84±1.03*
安宫牛黄丸小剂量	0.75	12	68.5±4.5 ^{△△}	170.8±5.9 [△]	4.81±3.31	4.17±0.14 ^{△△}	15.09±0.84 ^{△△}
安宫牛黄丸中剂量	1.5	12	60.2±1.9 ^{△△}	220.8±10.8 ^{△△}	9.08±2.85 ^{△△}	4.05±0.13 [△]	15.25±0.36 ^{△△}
安宫牛黄丸大剂量	3.0	12	58.0±4.7 ^{△△}	116.2±3.9 ^{△△}	4.66±2.52	3.21±0.08 ^{△△}	18.05±0.48
不含朱砂和雄黄安宫牛黄丸小剂量	0.33	12	57.3±2.5 ^{△△}	206.4±13.5 ^{△△}	6.14±2.43	4.35±0.41 ^{△△}	15.60±0.34 ^{△△}
不含朱砂和雄黄安宫牛黄丸中剂量	0.66	12	52.2±3.8 ^{△△}	170.7±4.9 [△]	7.60±1.01 ^{△△}	3.91±0.15	18.28±0.52
不含朱砂和雄黄安宫牛黄丸大剂量	1.3	12	34.9±3.6 ^{△△}	136.7±9.0 ^{△△}	7.31±1.55 ^{△△}	3.24±0.64 [△]	24.12±1.11

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$

痉厥抽动,不省人事……^{〔3〕},现代医学多用于治疗脑血管意外、脑损伤性意识障碍、高热、原发性肝癌、肝昏迷、小儿重症性肺炎等,尤其对治疗肺性脑病疗效显著^{〔4〕}。但是,安宫牛黄丸中的剧毒成分朱砂、雄黄的作用一直是历代医家所关注的问题之一,它不仅影响了安宫牛黄丸的临床应用,而且由于汞砷含量过大导致安宫牛黄丸进入国际市场受到限制。安宫牛黄丸进行配方改革迫在眉睫。早在 1975 年北京中医学院中药系就对安宫牛黄丸进行了原方分析研究,拆方后除去朱砂、雄黄制成了新型复方制剂——清开灵针剂和清开灵滴鼻剂,经临床验证,效果良好^{〔5〕}。本课题在保持安宫牛黄丸原有配方不变的基础上,选择与安宫牛黄丸临床应用相近的动物模型,单纯地加减朱砂、雄黄进行药效作用的比较,针对性研究朱砂、雄黄对安宫牛黄丸药效作用的影响。实验结果表明:安宫牛黄丸各剂量组对大鼠脑中动脉栓塞模型大鼠能明显减少梗塞面积,降低缺血侧脑含水量,提高缺血脑组织的抗自由基生成能力,提示安宫牛黄丸对大鼠脑中动脉栓塞模型大

鼠脑组织损伤具有一定的改善和保护作用,这与其临床应用效果相符。通过安宫牛黄丸与不含朱砂、雄黄的安宫牛黄丸对大鼠脑中动脉栓塞模型大鼠脑组织损伤改善作用的比较研究表明,两者无显著性差异。这一研究结果为改进安宫牛黄丸配方,在一定的临床应用范围内减少方中重金属含量提供了科学依据。

参 考 文 献

1. 刘小光,徐理纳.一种能评价溶栓药和抗栓药的大鼠大脑中动脉栓塞模型.药学报 1995;30(11):662.
2. 张硕峰,沈欣,于丽,等.通解定风片对大鼠局灶性脑缺血的防治作用.中国实验方剂学杂志 2000;4(4):43.
3. 彭怀仁主编.中医方剂大辞典.北京:人民卫生出版社,1996:766—767.
4. 刘小虹,梁直英.安宫牛黄丸散治疗肺性脑病的临床研究.新中医 1998;30(6):12—14.
5. 北京中医学院中药系安宫牛黄丸剂改专题研究小组.安宫牛黄丸新剂型的研究.新医药学杂志 1975(8):12—13.

(收稿 2001-11-01 修回 2002-04-05)