

· 名方研究 ·

# 安宫牛黄丸对脑梗塞造型大鼠血清乳酸脱氢酶同工酶的影响

汤毅珊, 潘华新, 王培训, 王宁生 (广州中医药大学临床药理研究所, 广州 510405)

**摘要:**目的 研究生理、病理状态下安宫牛黄丸对机体作用的不同特点, 从复方配伍减毒的角度探讨复方中朱砂、雄黄的药理作用机制。方法 将 SD 大鼠随机分成正常组、正常 + 安宫牛黄丸组、脑梗塞造型组 (光化学诱导大鼠大脑中动脉闭塞)、脑梗塞造型 + 安宫牛黄丸组。采用琼脂糖凝胶电泳法测定正常组和脑梗塞造型组大鼠不给药和给药 (剂量为 0.13 g/kg) 后 7 d 的血清中乳酸脱氢酶同工酶 LDH<sub>1-5</sub> 含量。结果 与正常对照组比较, 脑梗塞造型组大鼠血清 LDH<sub>1</sub>、LDH<sub>2</sub> 含量明显升高 ( $P < 0.01$ ); 正常 + 安宫牛黄丸组大鼠血清 LDH<sub>1-3</sub> 含量均显著升高 ( $P < 0.001$ )。与造型组比较, 造型 + 安宫牛黄丸组大鼠血清 LDH<sub>3</sub> 显著升高 ( $P < 0.01$ )。结论 在正常生理状态下较长时间服用安宫牛黄丸后, 对心肌、肾、红细胞、脾等有一定的损伤作用, 而在局灶性脑梗塞病理状态下安宫牛黄丸对机体的损伤作用比在正常生理状态下小, 显示安宫牛黄丸在生理、病理状态下对机体的作用方式和途径可能存在差异。

**关键词:** 安宫牛黄丸/药理学; 乳酸脱氢酶同工酶类/血液; 脑梗塞; 疾病模型, 动物

**中图分类号:** R285.5    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1003-9783 (2002) 05-0296-02

安宫牛黄丸出自清代吴鞠通《温病条辨》, 由牛黄、水牛角浓缩粉、麝香、珍珠、朱砂、雄黄、黄连、黄芩、栀子、郁金、冰片等 11 味药组成<sup>[1]</sup>。具有清热解毒、豁痰开窍的功效, 主治热病、邪入心包、高热惊厥、神昏谵语。由于组方中的朱砂、雄黄分别含有 HgS 和 As<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, 其使用的安全性受到质疑, 并成为安宫牛黄丸和其他含朱砂、雄黄中成药对外出口的主要障碍。本实验试图通过观察生理、病理状态下安宫牛黄丸对机体作用的不同特点, 从复方配伍减毒的角度来阐明其药理机制。

## 1 材料与方法

**1.1 动物与分组** SD 大鼠, 雄性, 体重 250 g ~ 300 g, 由广东省卫生厅动物场提供。大鼠随机分成 4 组: 正常组、正常 + 安宫牛黄丸组、脑梗塞造型组、脑梗塞造型 + 安宫牛黄丸组, 每组 6 只。

**1.2 药品与试剂** 2% 戊巴比妥钠; 四碘四氯荧光素二钠 (rose begal, 玫瑰红 B), 分析纯, 称取玫瑰红 B 0.5 g, 溶于生理盐水, 浓度为 3%, 经 0.2 μm 滤膜超滤后遮光低温保存备用; 0.3% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 溶液; 琼脂糖凝胶电泳法测定 LDH 同工酶所需试剂<sup>[3]</sup>, 按要求制备。

**1.3 主要仪器** 360 氦离子激光器 (南京电子管厂

生产, 由中山医科大学肿瘤研究所激光治疗室提供); 开颅手术器械; 电泳仪; 恒温箱; UVP GDS 7600 凝胶成像系统。

**1.4 大鼠脑梗塞造型方法**<sup>[2]</sup> 以戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射麻醉, 常规皮肤消毒, 于同侧眼与耳连线中点处作一长约 1.5 cm 的垂直稍带弧形切口, 分离颞肌至其与颞骨的交界处, 切断其后份 1/2, 暴露卵圆孔上方鳞骨下份隆起, 在颞弓与颞鳞骨接合处的前端 2 mm 处用牙科钻作一直径为 5 mm 的骨窗, 切开硬脑膜使大脑中动脉暴露, 经股静脉注射玫瑰红 B (25 mg/kg) 后, 将由激光器光导纤维射出的光束 (波长 560 nm, 功率 300 W) 对准大脑中动脉部位照射 10 min, 照射完毕缝合手术切口。

**1.5 给药方法** 正常 + 安宫牛黄丸组、造型 + 安宫牛黄丸组按 0.13 g/kg (相当于 10 倍人体剂量) 胃饲安宫牛黄丸 (广东佛山制药一厂提供, 以适量 0.3% CMC-Na 混匀), 正常组和造型组以等剂量生理盐水灌胃, 共 7 d。

## 1.6 指标检测

**1.6.1 标本的制作** 给药 7 d 后各组大鼠用毛细管刺眼眶取血法分别取全血约 1 mL, 室温下放置 20 min, 然后以 2500 r/min 离心 10 min, 小心吸取上清液即为血清标本 (溶血标本不用)。常温下保存备用。

收稿日期: 2002-05-03

作者简介: 汤毅珊 (1970-), 女, 助理研究员, 主要从事中药重金属安全性评价和中药药物动力学研究。

基金项目: 国家攀登计划资助项目 (试启动课题), 项目负责人王宁生。

1.6.2 乳酸脱氢酶同工酶 (LDH<sub>1-5</sub>) 的检测 参照王志芬的琼脂糖凝胶电泳法<sup>[3]</sup>。

1.7 统计学方法 组间比较采用 *t* 检验。

## 2 结果

给药 7 d 后各组大鼠血清中乳酸脱氢酶同工酶的

含量测定结果见表 1。结果表明,与正常对照组比较,脑梗塞造型组大鼠血清 LDH<sub>1</sub>、LDH<sub>2</sub> 含量明显升高 ( $P < 0.01$ );正常 + 安宫牛黄丸组大鼠血清 LDH<sub>1-3</sub> 含量均显著升高 ( $P < 0.001$ )。与造型组比较,造型 + 安宫牛黄丸组大鼠血清 LDH<sub>3</sub> 显著升高 ( $P < 0.01$ )。

表 1 安宫牛黄丸对脑梗塞大鼠血清乳酸脱氢酶同工酶含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组 别	N/只	LDH <sub>1</sub>	LDH <sub>2</sub>	LDH <sub>3</sub>	LDH <sub>4</sub>	LDH <sub>5</sub>
正常组	6	11.25 ± 0.70	8.26 ± 0.90	12.86 ± 0.90	30.10 ± 1.20	37.53 ± 2.70
脑梗塞造型组	6	13.30 ± 1.20 <sup>△△</sup>	10.13 ± 1.70 <sup>△△</sup>	10.93 ± 2.10	28.18 ± 0.80	37.46 ± 3.20
正常 + 安宫牛黄丸组	6	17.02 ± 0.46 <sup>△△△</sup>	14.70 ± 0.18 <sup>△△△</sup>	15.47 ± 0.13 <sup>△△△</sup>	22.97 ± 0.56	29.84 ± 0.41
造型 + 安宫牛黄丸组	6	12.33 ± 0.70	10.99 ± 1.10	15.51 ± 2.60 <sup>***</sup>	22.62 ± 3.00	38.55 ± 2.60

注:与正常组比较,△△  $P < 0.01$ ,△△△  $P < 0.001$ ;与造型组比较,\*\*\*  $P < 0.001$ 。

## 3 讨论

乳酸脱氢酶广泛存在于生物细胞内,是糖酵解过程中的关键酶之一,它有 5 种同工酶 LDH<sub>1-5</sub>。人的心肌、肾和红细胞中以 LDH<sub>1</sub> 和 LDH<sub>2</sub> 最多,脾、胰、甲状腺、肾上腺和淋巴结等以 LDH<sub>3</sub> 最多,骨骼肌和肝中以 LDH<sub>4</sub> 和 LDH<sub>5</sub> 最多,说明 LDH 同工酶的分具有明显的组织特异性。由于不同脏器或组织的同工酶谱型不同,当其发生病变后,释放到血清中的各种同工酶的比例也不一致,所以,血清酶的同工酶谱型的改变能精确地反映出患病的部位和损伤的程度。在心肌梗塞、病毒性或风湿性心肌炎、克山病时,血清 LDH<sub>1</sub> 和 LDH<sub>2</sub> 显著升高,尤以 LDH<sub>1</sub> 最明显,有人认为 LDH<sub>1</sub>/LDH<sub>2</sub> 比值大于 1 是诊断心肌梗塞的特异性指标;肝细胞受损时,血清 LDH 总活力和 LDH<sub>5</sub> 明显升高<sup>[4]</sup>。肾脏受损时,LDH<sub>2、3、4</sub> 的活性增高。所以,判断化学物质对机体的早期影响,检测血清中的 LDH 同工酶较检测总酶的活性有更高的敏感性和特异性<sup>[5]</sup>。

本实验正常 + 安宫牛黄丸组大鼠与正常对照组相比,血清 LDH<sub>1-3</sub> 含量均显著升高,提示在正常生理状态下较长时间服用安宫牛黄丸后,对心肌、肾、红细胞、脾等有一定的损伤作用,而造型 + 安宫牛黄丸组大鼠与造型对照组相比,仅 LDH<sub>3</sub> 明显升高,表明安宫牛黄丸在局灶性脑梗塞病理状态下对机体的损伤

作用比在正常生理状态下小,也就是说安宫牛黄丸在生理、病理状态下,对机体的作用方式和途径很可能存在差异。推测安宫牛黄丸中的朱砂和雄黄在其适应证的病理状态下,其中的 HgS 和 As<sub>2</sub>S<sub>2</sub> 可能与某些病理性的因子相作用而发生形态改变,失去毒性或部分毒性作用被拮抗,从而表现出较少或较低的毒性。根据以往国内外有关研究成果<sup>[6,7]</sup>,结合本实验结果,我们有理由认为:重金属和砷化物对机体的毒性作用强度除与其含量有关外,还与其使用剂量、存在状态、活性、与其它物质的拮抗或协同作用、个体的生理病理状态等有关。

### 参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [S]. 广州: 广东科学技术出版社, 1995. 298.
- [2] 王伟, 董为伟, 傅雅各, 等. 光化学诱导鼠大脑中动脉闭塞及再通模型 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 1996, 22(1): 27-30.
- [3] 王志芬, 孙秀华, 杜杰, 等. LDH 同工酶琼脂糖凝胶电泳法的改进 [J]. 中华医学检验杂志, 1992, (5): 315.
- [4] 李恩, 王士昌. 基础与临床专题讲座选 (下册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 11.
- [5] 福建部队总医院. 临床医学检验 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1978. 327.
- [6] 刘清, 王子健, 汤鸿宵. 重金属形态与生物毒性及生物有效性关系的研究进展 [J]. 环境科学, 1996, 17(1): 89-92.
- [7] 曹治权. 微量元素与中医药 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 1993.

本刊为中国科技论文统计源期刊

**Keywords:** @ Complex EGb/pharmacology; Cerebral ischemia/TCD therapy; Disease models, animal

(original article on page291)

### Effects of *Angong Niuhuang Wan* on Amounts of Isoenzymes of Serum Lactate Dehydrogenase in Rats with Cerebral Infarct

TANG Yishan, PAN Huaxin, WANG Peixun, WANG Ningsheng (Institute of Clinical Pharmacology, Guangzhou University of TCM, Guangzhou, 510405)

**Abstract: Objective:** To investigate the different effects of *Angong Niuhuang Wan* on normal and pathological body. **Methods:** Cerebral infarct rat models were established by photochemically initiated thrombosis. The rats were randomly allocated to four groups. The control group and the model group were treated with 0.9% NaCl for seven days, and the control + drug group and the model + drug group with *Angong Niuhuang Wan* 0.13g/kg for seven days. Then amounts of isoenzymes of serum lactate dehydrogenase(LDH1 ~ 5) were determined by the method of gel electrophoresis. **Results:** The amounts of LDH1 and LDH2 in the model group increase obviously as compared with the control group( $P < 0.01$ ). The amounts of LDH1 ~ 3 in control + drug group increase significantly as compared with the control group( $P < 0.001$ ). The amounts of LDH3 in control + drug group increased significantly as compared with the model group( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Injury made by *Angong Niuhuang Wan* is less in state of cerebral infarct than that in normal state.

**Keywords:** *Angong Niuhuang Wan*/drug effects; Lactate dehydrogenase isoenzymes/blood; Cerebral; Disease models, animal

(original article on page296)

### Determination of Chrysophanol in *Kuiyanqing Xiangkouye* by HPLC

YANG Junxuan<sup>1</sup>, CHEN Li<sup>1</sup>, PU Xiaodong<sup>2</sup> (1. Chongqing Hilan Pharmaceutical Co. Ltd., Chongqing 400020; 2. College of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing 400010)

**Abstract: Objective:** To establish a determination method of chrysophanol in *Kuiyanqing Xiangkouye*. **Methods:** HPLC with Diamond™ C<sub>18</sub> column (4.6 × 200mm, 5μm) was used. Methanol: 0.1% phosphoric acid (85:15) was used as mobile phase. The flow rate was 1.0mL/min. The detection wavelength was at 254nm. **Results:** The linearity of chrysophanol was in the range of 0.06462 ~ 1.03392 μg. The recovery was 97.67% and RSD was 1.37%. **Conclusion:** This method is convenient and with a good resolution and can be used for the quality control of *Kuiyanqing Xiangkouye*.

**Keywords:** @ *Kuiyanqing Xiangkouye* / chemistry; Chrysophanol / analysis; Chromatography, high pressure liquid

(original article on page300)

### Studies on Quality Standard of *Niaoduqing* Tablet

SUN Dongmei, NING Deshan, YANG Youbao, GAN Zhenhua (Guangdong Provincial Institute of TCM, Guangzhou 510095)

**Abstract: Objective:** To study the quality standard of *Niaoduqing* Tablet, a preparation of Chinese herbal medicine. **Methods:** Thin layer chromatography (TLC) was used for the identification of Radix et Rhizoma Rhei, Radix Polygoni Multiflori, Radix Sophorae Flavescentis, Radix Salviae Miltiorrhizae and Rhizoma Chuanxiong in *Niaoduqing* Tablet. TLC scanning was used for the determination of astragaloside IV and HPLC for determination of paeoniflorin in *Niaoduqing* Tablet. **Results:** TLC identification were highly specific. A good linearity for astragaloside IV was ranged 1.006 ~ 9.064 μg and that for paeoniflorin was ranged 0.176 ~ 0.880 μg. The average recovery of astragaloside IV was 97.69% (RSD = 2.13%) and that of paeoniflorin was 97.47% (RSD = 0.87%). **Conclusion:** This method can be used for the standard of quality control of *Niaoduqing* Tablet.

**Keywords:** @ *Niaoduqing* Tablet/chemistry; @ Astragaloside / analysis; @ Paeoniflorin/analysis; Chromatography, thin layer; Chromatography, high pressure liquid

(original article on page302)

### Determination of Icarin in *Naoling* Granule by HPLC

XIONG Daishui<sup>1</sup>, FAN Songling<sup>1</sup>, YUAN Xujiang<sup>2</sup>, LUO Xiuping<sup>2</sup> (Guangdong Institute of TCM, Guangzhou 510095; 2. Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405)

**Abstract: Objective:** To establish a method for determining icarin content in *Naoling* Granule. **Methods:** Water-soluble ethyl-ac-