

利脑心胶囊对大鼠实验性脑梗塞 及小鼠脑缺血后能量代谢的改善作用

国家医药管理局天津药物研究院(300193) 周庆宇* 徐为人 魏月芳

摘 要 口服给予利脑心 0.25 和 0.5g 生药/kg,能明显改善实验性脑梗大鼠的神经症状,使脑梗塞面积显著减小,延长断头后小鼠喘气时间,并能增加其脑内 ATP 和磷酸肌酸(Pcr)含量,降低其乳酸含量。将 1×10^{-5} 和 1×10^{-4} g/ml 浓度的利脑心液进行大鼠脑在位灌流对大鼠血管无明显影响。试验结果表明,利脑心的脑保护作用可能与改变能量代谢有关,而与脑血管阻力无关。

关键词 利脑心 大鼠实验性脑梗塞 ATP 磷酸肌酸 乳酸 大鼠脑血管在位灌流

利脑心胶囊由葛根、川芎、丹参、鹿心、首乌等组成,临床上应用利脑心防治某些心脑血管疾病已有多年,且疗效显著。本文研究了利脑心对大鼠实验性脑梗塞模型及小鼠脑缺血后能量代谢的影响,从而观察其作用特点。

1 材料

药物:利脑心,淡棕色粉末,由吉林敖东制药厂提供,批号 940708,每克相当于原生药 6.0g,以蒸馏水配成混悬液给予动物口服灌胃。通脉冲剂阳性对照药,由吉林敖东制药厂提供,批号 940710,每克相当于原生药 4.5g,配制方法同上。盐酸罂粟碱阳性对照药,青海制药厂产品,批号 800903。用于大鼠脑灌流的药液,以 K-H 液配制,在应用浓度没有沉淀,灌流前 10000r 离心 2min 除去各种微粒。

试剂:红四氮唑为北京化工厂产品;磷酸肌酸激酶和辅酶 I 为 Sigma 公司产品;ADP、ATP 和磷酸肌酸钠为中科院上海生化所提供。

仪器:高频电刀(上海医疗仪器厂);UV-190 型紫外分光光度计(日本岛津公司);恒速注射器(德国 HSE 公司);医用张丝压力传感器(国营长城科学仪器厂);台式自动平衡记录仪(上海大华仪表厂)。

动物:健康成年 Wistar 大鼠和昆明种小鼠,雌雄兼用,均由国家医药管理局天津药物研究院实验动物室提供。

2 方法与结果

2.1 对大鼠实验性脑梗塞的影响^[1]:大鼠 60 只,体重 220~280g,随机均分为 6 组,每组 10 只,雌雄各半。利脑心 3 个剂量组分别口服灌胃给药 0.125、0.25 和 0.5g/kg(相当于原生药 0.75、1.5 和 3.0g/kg),容量为 1ml/100g 体重,阳性对照组给予通脉冲剂 0.5g/kg(相当于原生药 2.25g/kg)。空白组和模型组给予同容量水。每天一次,连续 6d。于第 6 天给药后 1h,用乙醚麻醉大鼠,取仰卧位固定,在眼眶后作垂直切口,分离并剪断颞肌以暴露颞骨;在颞骨根上方人工钻一骨孔,再用咬式血管钳向下咬至颞顶,形成 $3 \times 4\text{mm}^2$ 的骨孔。轻抬脑叶,除空白组进行假手术外,用高频电刀双极电凝阻断其他组动物大脑中动脉,使之凝闭;以止血棉局部轻压止住可能产生的动脉出血。术后缝合,第 2 天进行动物行为观察。按文献标准分级^[1],用等级指数法进行生物统计学处理。

结果,模型组大鼠手术后全部出现异常神经症状,利脑心 0.25 和 0.5g/kg 具有明显减轻大鼠大脑中动脉阻断导致缺血性脑梗塞

* Address: Zhou Qingyu, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, State Pharmaceutical Administration of China, Tianjin

而引起的异常神经症状,与模型组相比具有明显差异(P 值分别 <0.05 和 0.01)(表)。

表 利脑心对实验性脑梗塞大鼠神经症状分级的影响

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (只)	0级	1级	Ⅱ级	P 值
空白		10	10	0	0	
模型	—	10	0	4	6	$<0.01^*$
通脉冲剂	0.5	10	5	5	0	$<0.01^{\Delta}$
利脑心	0.125	10	0	7	3	$>0.05^{\Delta}$
	0.25	10	4	5	1	$<0.05^{\Delta}$
	0.5	10	6	3	1	$<0.01^{\Delta}$

与*空白组相比, Δ 与模型组相比

观察之后将大鼠断头处死,分离大脑,用 0°C 生理盐水冲洗,放入 -20°C 冰箱冷冻5min后取出,人工切片,片厚1mm,1%TTC染色(用 $\text{pH}7.4\sim7.8$ 的 0.2mol/L 磷酸缓冲液配制), 37°C 温育 $5\sim7\text{min}$,用生理盐水洗去染料,脑片取出置于座标纸上,描画脑片和梗塞区域轮廓,计算梗塞区域所占脑片的百分比,用 t 检验法进行生物统计学处理。

结果,利脑心具有剂量依赖性降低脑梗塞面积的作用,与模型组相比均有统计学差异($P<0.01$),且作用强度明显大于同等剂量的通脉冲剂($P<0.05$)(图1)。

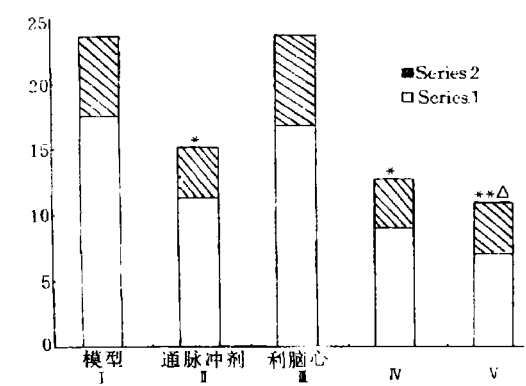


图1 利脑心对实验性脑梗塞面积占脑片面积百分比的影响

与空白组相比 * $P<0.05$ ** $P<0.01$
与阳性药通脉冲剂组相比 $\Delta P<0.05$ I-模型组 II-通脉冲剂 0.5g/kg 组 III-利脑心 0.125g/kg 组 IV-利脑心 0.25g/kg 组 V-利脑心 0.5g/kg 组 Series 1-平均数 Series 2-标准差

2.2 对小鼠脑缺血后能量代谢的作用^[2]:小鼠50只,体重 $20\sim23\text{g}$,随机均分为5组,每组10只,雌雄各半,利脑心3个剂量组分别口服灌胃给药 0.125 、 0.25 和 0.5g/kg (相当于原生药 0.75 、 1.5 和 3.0g/kg),容量为 $0.2\text{ml}/10\text{g}$ 体重,阳性对照组给以通脉冲剂 0.5g/kg ,空白组给以同容量水,每天一次,连续6d,于第6天给药后1h,在小鼠耳后部位迅速断头,同时记录喘息延续时间;然后迅速将大脑取出,称重,立即置于 -20°C 冰箱内。于冷冻脑组织中加入 0.1mol/L $\text{HCl}-99\%$ 乙醇溶液 0.5ml ,制成匀浆,再加 0.3mol/L HClO_4 (含 1mmol/L EDTA)溶液 2.5ml ,混匀后,以 $3000\text{r}, 4^{\circ}\text{C}$ 离心 10min ,上清液中加入 1.5mol/L KOH 、 0.4mol/L 咪唑和 0.3mol/L KCl 的混合液 0.45ml , 10000r 离心 10min ,上清液置于 20°C ,用酶学法测定脑组织中的ATP、Pcr和乳酸(LA)含量,按脑重换算后以 t 检验法进行生物统计学处理,结果见图2、3。

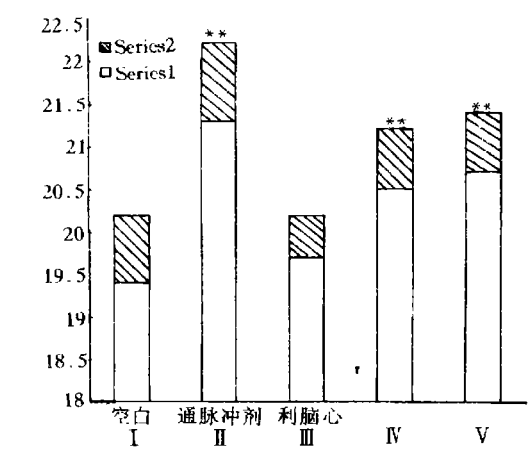


图2 利脑心对断头后小鼠喘气的维持时间的影响

I-空白组 II-通脉冲剂 0.5g/kg 组 III-利脑心 0.125g/kg 组 IV-利脑心 0.25g/kg 组 V-利脑心 0.5g/kg 组 Series 1-平均数 Series 2-标准差 与空白组相比 ** $P<0.01$

利脑心口服给药 0.25 和 $0.5\text{g/kg}\cdot\text{d}$,连续6d,可使小鼠断头后继续喘气时间显著

延长,还可使小鼠脑组织中 ATP 和 Pcr 含量明显增加,LA 含量明显降低,且均具有剂量依赖性关系。表明利脑心能降低小鼠脑缺血后能量消耗,保护脑组织,从而延长小鼠断头后继续喘气的时间。

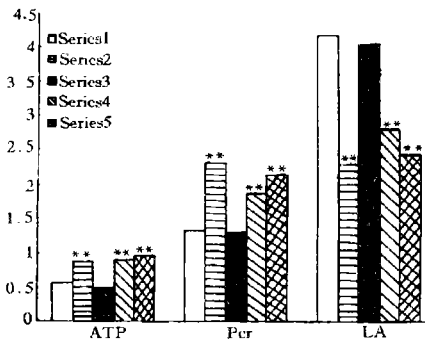


图 3 利脑心对断头小鼠脑内 ATP、Pcr 和 LA 含量的影响
Series 1-空白组 Series 2-利脑心剂 0.5g/kg 组 Series 3-利脑心 0.125g/kg 组 Series 4-利脑心 0.25g/kg 组 Series 5-利脑心 0.5g/kg 组 与空白组相比 **P<0.01

2.3 对大鼠脑血管阻力的影响^[3]:大鼠 8 只,体重 250~300g,雌雄各半,用 1.5g/kg 乌拉坦腹腔注射麻醉,俯卧固定,并分离头背尾部的皮肤和骨膜,在头颅正中线的枕骨缝尾侧处钻一个 1~2mm 小孔并暴露出窦汇,将大鼠翻身仰卧固定,切开颈部正中皮肤,分离左右颈内动脉和静脉,左右颈外动脉和静脉,以及翼颌动脉;从右颈总动脉插入一尼龙套管至右侧颈内动脉,并将插管固定,与灌流系统的体外循环管道相连,迅速打开胸腔,于主动脉根部结扎升主动脉,同时结扎除插管外的所有已分离的血管,将动物翻身背向上,在窦汇上作一小切口作为灌流液的外排出口;动脉插管中缓慢注入 500u 肝素(溶于 1ml 充氧温生理盐水中)清洗脑循环中残存的大部分血液,用恒速注射器灌流改良 K-H 液(37±0.5℃),pH7.3,充以 95%O₂ 和 5% CO₂ 混合气体,速度为 0.53ml/min,稳定 10min 后通过张丝压力传感器和自动平衡记录仪描记灌流液对脑血管床产生的后压力;

然后分别换以含盐酸罂粟碱 10⁻⁴g/ml、利脑心 10⁻⁵和 10⁻⁴g/ml 或通脉冲剂 10⁻⁴g/ml 的灌流液,观察药物对该压力变化的影响。结果显示,阳性对照药盐酸罂粟碱(10⁻⁴g/ml)具有明显降低后压力的作用,与试验初期相比,压力降低 24.1±13.5%,而利脑心 10⁻⁵和 10⁻⁴g/ml 以及通脉冲剂 10⁻⁴g/ml 灌流对大鼠在脑血管阻力无明显影响。

3 讨论

在临床上,脑梗塞多发生在大脑动脉的某一支,尤以大脑中动脉最为常见,以阻断大鼠大脑中动脉形成的局灶性脑缺血模型,比较接近于临床,重现性好,便于观察^[4]。

大脑所需血量占心输出量的比例并不与其重量占体重的比例相对应,脑的氧耗量占全身氧耗量的五分之一左右,且脑组织本身几乎没有贮氧和贮能的能力,完全依赖血流供给氧气和葡萄糖,因此小鼠断头后,脑供血中断,能量代谢发生紊乱,脑内的 ATP 和 Pcr 迅速耗竭,葡萄糖水平迅速下降。而乳酸和多种脂肪酸特别是花生四烯酸明显升高,并出现脑细胞功能障碍^[5]。

利用中药治疗脑梗塞的基本原则是活血化瘀。利脑心方剂中的葛根、川芎、丹参都具有改善心脑血管血液循环的作用,首乌则有降血脂的作用。在小鼠断头实验中,利脑心能使脑 ATP 和 Pcr 含量明显高于模型组,LA 含量明显低于模型组,提示其脑保护作用可能与改变能量代谢有关,而与脑血管阻力无关。

参考文献

1 严德瑾,等.中华神经精神科杂志,1988,21(1):3
2 冯亦璞,等.药学报,1989,24(2):89
3 徐叔云,等.药理实验方法学.北京:人民卫生出版社,1991.934
4 尚镇祥,等.脑血管疾病,北京:人民卫生出版社,1979.353
5 江苏新医学院.中药大辞典.上海:人民出版社,1977.1136、2308

(1995-07-19 收稿)

**Beneficial Effect of Linaoxin Capsule on Experimental Cerebral Infarction in Rats
and Brain Energy Metabolism in Cerebral Ischemic Mice**

Zhou Qingyu, Xu Weiren, Wei Yuefang

Linaoxin, a herbal preparation composed of *Salvia miltiorrhiza*, *Ligusticum wallichii*, *Pueraria lobata*, and *Polygonum multiflorum* etc., at doses of 0.25 and 0.5g/kg (ig) significantly improved the neural symptoms of experimental cerebral infarction and reduced the size of infarcted area in rats. At the same doses it also significantly prolonged the breathing time of mice after decapitation and showed effects on brain energy metabolism including the increase of brain ATP and phosphocreatine (Pcr) levels and decrease of brain lactic acid (LA) level. Linaoxin suspension at concentrations of 1×10^{-5} and 1×10^{-4} g/ml for in situ perfusion of brain vessels in rats showed little effect on vessel resistance. The above results suggested that the protective effects of Linaoxin on brain might be related to the alteration of brain energy metabolism rather than its association with brain vessel resistance.

清喉利咽冲剂的药理作用

天津市医药科学研究所(300070) 赵树仪* 常思勤 周连发 田秀英 蒋燮荣
天津市乐仁堂制药厂 马祖强

摘 要 清喉利咽冲剂能明显抑制二甲苯诱发的小鼠耳壳肿胀及蛋清性大鼠足肿胀,降低大鼠棉球肉芽肿重量,还能显著减少小鼠扭体反应次数、提高小鼠痛阈。此外,它也具有抑菌作用。
关键词 清喉利咽冲剂 抗炎 抑菌 镇痛

清喉利咽方剂来源于中国第一历史档案馆,清太医院御药房配方药档,为清宫“已妃”所用者。清喉利咽冲剂(以下简称冲剂)系天津乐仁堂制药厂根据药剂学及中医理论,采用现代的科学方法提取精制而成。经多年临床验证,对急慢性咽炎均有一定的疗效。本文着重对该方剂的药理作用进行了初步探讨。

1 实验材料

清喉利咽浸膏,每克浸膏含 1.55g 生药,由天津乐仁堂制药厂提供。醋酸可的松系上海第九制药厂产品。阿斯匹林片由沈阳医学院制药厂生产。

实验所需菌种由中国药品生物制品检定所供给。

Wistar 大鼠由北京医科大学动物室供

给,昆明种小鼠购自北京生物制品检定所动物室。

2 方法与结果

2.1 对二甲苯诱发正常小鼠耳壳炎症的影响⁽¹⁾:体重 22~24g 小鼠 50 只,均分 5 组,雌雄各半。每日灌胃给予冲剂 8、12、16g/kg,连续 3d,对照组给予等体积水。醋酸可的松 30mg/kg 皮下 1 次给予。末次灌胃给药后 1h,皮下给药后 30min,于小鼠右耳部均匀涂抹二甲苯 40μl 致炎。致炎后 20min,齐耳根部剪下小鼠左右两耳,在同一部位用 8mm 角膜环钻取下两耳园片,扭力天平称重,以左右两耳重量差值表示耳部炎症肿胀程度。结果见表 1,冲剂 12、16g/kg 灌胃给药,对二甲苯诱发小鼠耳壳炎症有明显的抑制作用,但

* Address: Zhao Shuyi, Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin