

2.2 吡啶硫苷降解物对小鼠免疫功能的影响: 给小鼠右腋窝  $sc$   $S_{180}$  癌细胞悬液  $0.2\text{ mL}$ , 分组及给药方法同 2.1.1, 连续 6 d, 第 7 天开始给每只小鼠  $im$  PHA  $6\text{ mg/kg}$ , 连续 3 d, 第 10 天由小鼠尾静脉取血推片, 瑞氏染色, 显微镜下数 100 个淋巴细胞, 淋巴细胞及过渡态细胞数, 计算淋巴细胞转化率<sup>[4]</sup>。结果表明, 2 号 50% INDL-GLN 和 1 号 25% INDL-GLN 治疗组与生理盐水组相比, 有极显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 而 CTX 组与生理盐水组比较, 无明显差异 ( $P > 0.05$ ), 见表 2

表 2 吡啶硫苷降解物对  $S_{180}$  小鼠的淋巴细胞转化率的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别               | 动物数<br>(只) | 剂量<br>( $\text{mg/kg}$ ) | 淋巴细胞转化率<br>(%)     |
|------------------|------------|--------------------------|--------------------|
| 1 号 25% INDL-GLN | 10         | 27                       | $37.00 \pm 4.80^*$ |
| 1 号 50% INDL-GLN | 10         | 54                       | $32.40 \pm 5.10$   |
| 2 号 25% INDL-GLN | 10         | 180                      | $30.10 \pm 3.70$   |
| 2 号 50% INDL-GLN | 10         | 360                      | $40.50 \pm 6.20^*$ |
| CTX              | 10         | 20                       | $9.80 \pm 2.60$    |
| 生理盐水             | 10         | -                        | $29.00 \pm 5.30$   |

与生理盐水组比较: \*  $P < 0.01$

### 3 讨论

油菜是白花菜目十字花科中我国种植面积最大的油料作物, 吡啶类硫苷是油菜籽硫苷中的重要组成部分。自 1974 年加拿大育出第一双低油菜品种, 世界各国油菜育种家致力于降低油菜籽中硫苷含量

研究, 并选育出适于不同生态种植的双低油菜品种。研究发现这些双低油菜品种降低的硫苷含量主要是脂肪族硫苷, 而吡啶类硫苷含量保持相对稳定。本研究采用从双低油菜籽中提取的吡啶类硫苷进行试验, 结果 2 号 50% 吡啶硫苷降解物治疗组抑瘤率 71%, 1 号 25% 吡啶硫苷降解物治疗组抑瘤率 59%, 从组织形态学上观察, 吡啶硫苷治疗组与生理盐水空白组相比, 有明显的抑瘤作用, 同时能提高淋巴细胞转化率, 说明吡啶硫苷降解物能抑制移植性肿瘤的生长, 具有抗肿瘤的作用<sup>[5]</sup>, 其机制可能是通过增强机体免疫力来实现的, 而两种不同提取法制备的高低浓度的吡啶硫苷其抗肿瘤作用不同, 可能与吡啶硫苷纯度所含杂质成分有关, 有待进一步的深入研究。

#### 参考文献:

- [1] Peiwu I, Soren M, Peter M, *et al.* Micellar electrokinetic Capillary chromatography as a fast, cheap, and efficient HPLC Method for separation and quantification of intact and desulfo glucosinolates [J]. *Geirc Bulletin*, 1994, 10: 64-69.
- [2] 李和根, 陈秀华, 姚玉龙, 等. 金复康治疗肝癌的实验研究 [J]. *中草药*, 2000, 13(7): 533-535.
- [3] 韩 锐. 肿瘤化学预防及药物治疗 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1992.
- [4] 朱忠勇. 实用医学检验学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1992.
- [5] Yannai S, Bradlow H L. *International Euro Food Tox III*. [M]. *Olsztyn Poland*, 1994.

## 四逆汤有效成分不同组合抗心肌缺血再灌注损伤的作用研究

孙慧兰, 吴伟康\*

(中山大学中西医结合研究所, 广东 广州 510080)

摘要: 目的 考察四逆汤有效成分不同组合抗心肌缺血再灌注损伤的作用。方法 采用正交试验法, 以超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 以及乳酸为指标, 考察附子生物碱 (A)、干姜挥发油 (B)、甘草酸粗品 (C) 3 个因素。结果 3 种有效成分最佳剂量为  $A_4B_4C_4$ , 3 因素对 SOD 和 MDA 影响大小顺序为  $A > C > B$ , 对乳酸影响大小顺序为  $A > B > C$ 。结论 3 种有效成分临床极量组合的疗效最佳。附子生物碱是四逆汤有效成分组合中的关键因素, 干姜挥发油和甘草酸粗品也是组方中不可或缺的因素。

关键词: 四逆汤; 有效成分; 心肌缺血再灌注; 正交设计

中图分类号: R286.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)04-0333-04

\* 收稿日期: 2000-10-11

基金项目: 中山大学“211工程”重点建设项目 (98176); 广东省中医药管理局科研基金项目 (100118)

作者简介: 孙慧兰 (1972-), 女, 山西太原人, 1995 年本科毕业于山西中医学院临床专业, 1997 年硕士毕业于湖南中医药研究院中医内科专业, 1997~1999 年在山西中医药研究院中心实验室从事中药新药的开发工作, 现为中山大学中西医结合研究所在读博士生, 导师吴伟康教授, 主要从事中西医结合心血管病理生理学研究, Tel 020-87331624 E-mail: hjjlosh@263.com

Studies on protective effect of SINI TANG<sup>\*</sup> comprising active components combined at different dosage on myocardial ischemia reperfusion injury in mice

SUN Hui-lan, WU Wei-kang

(Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou Guangdong 510080, China)

**Abstract** **Object** To study the protective effect of SINI TANG comprising active components combined at different dosage on myocardial ischemia reperfusion injury in mice. **Methods** In the studies, the experiment was performed by orthogonal design, the levels of SOD, MDA and lactate in cardiac muscle were regarded as criterion for evaluation of the every composition, three active components were studied including the alkaloid (A) from *Aconitum carmichaeli* Debx., the volatile oil (B) from *Zingiber officinale* Rosc. and crude glycyrrhizic acid (C) from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. **Results** The optimal composition comprised A at dose of 31.2 mg/kg, B at dose of 1.84 μL/kg and C at dose of 4.68 mg/kg (A<sub>4</sub>B<sub>4</sub>C<sub>4</sub>). The effect of three active components on SOD and MDA was A> C> B and lactate was A> B> C. **Conclusion** The optimal SINI TANG composition comprises three active components combined at clinical maximal dosage showed the best therapeutic efficacy, of which A is a key factor and B, C are necessary factors for the composition in SINI TANG.

**Key words** SINI TANG; active components; myocardial ischemia reperfusion; orthogonal design  
<sup>\*</sup> SINI TANG is Chinese herbal decoction with the function of recuperating depleted yang and rescuing the patient from collapse.

四逆汤是汉代张仲景《伤寒杂病论》中用于治疗少阴虚寒证的主方,由附子、干姜、甘草组成。具有温中祛寒,回阳救逆之效。近年来发现四逆汤具有很好的抗心肌缺血及再灌注损伤,保护心肌的作用<sup>[1]</sup>。但目前对这种疗效的化学物质基础尚不清楚。一般认为四逆汤组成中与心血管系统相关的化学成分为附子中的生物碱、干姜中的挥发性成分及甘草中的三萜皂苷类<sup>[2]</sup>。我们通过正交试验综合考察了这3种成分抗心肌缺血再灌注氧自由基损伤及无氧酵解的作用。

1 材料

- 1.1 药材:附子、干姜、甘草购自广州市药材公司
- 1.2 实验动物:昆明种小鼠(23±1)g,雌雄各半,由中山医科大学实验动物中心提供
- 1.3 主要试剂:垂体后叶素(批号001226),上海第一生化药业公司上海生物化学制药厂;硫代巴妥酸(TBA),Sigma公司。
- 1.4 主要仪器:内切式匀浆机,中山医科大学仪器厂;R-100型低速冷冻离心机,日本TOMY SEIKO公司

2 方法

- 2.1 动物模型:垂体后叶素(Pit)性心肌缺血动物模型,小鼠ip Pit(20 U/kg),5 min后冠脉营养血流量(NBF)已经有十分显著的下降,至20 min时降到最低点,然后逐步回升,至80 min恢复到注药前水平,而且伴随显著的自由基反应<sup>[3]</sup>。最近发现小

鼠在ip Pit后80~100 min有心肌细胞凋亡的现象,可能是缺血再灌注所致<sup>[4]</sup>。因此,我们采用该缺血再灌注模型。

- 2.2 实验方法:四逆汤有效成分——附子生物碱(A)、干姜挥发油(B)、甘草酸粗品(C)由本所制剂室提取。综合参考《伤寒论》四逆汤原方剂量、临床用量及有效成分提取极量确定实验水平数和小鼠每日服用剂量,选用正交表L<sub>16</sub>(4<sup>5</sup>)安排实验,因素及水平如表1。

表1 四逆汤有效成分L<sub>16</sub>(4<sup>5</sup>)正交设计因素水平表

| 水平 | 因 素          |              |              |           |           |
|----|--------------|--------------|--------------|-----------|-----------|
|    | A<br>(mg/kg) | B<br>(mg/kg) | C<br>(mg/kg) | 空白<br>(D) | 空白<br>(E) |
| 1  | 0            | 0            | 0            |           |           |
| 2  | 7.8          | 0.46         | 1.17         |           |           |
| 3  | 15.6         | 0.92         | 2.34         |           |           |
| 4  | 31.2         | 1.84         | 4.68         |           |           |

昆明种小鼠随机分为16组,每组8只,雌雄各半。实验前3 d按上述正交表及相应药物ig(0.2 mL/10 g体重),每日1次,第3天ig 30 min后ip Pit(20 U/kg)造模,ip 80 min后取心肌测SOD活力、MDA及乳酸含量。

- 2.3 统计分析:用直观分析法和方差分析法对实验结果进行分析。

3 实验结果

四逆汤有效成分正交实验结果:见表2

- 3.1 用直观分析法分析试验结果

表 2 四逆汤有效成分正交试验结果

| 试验号       | 因素     |        |        |        |        | SOD               | MDA            | 乳酸                   |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|-------------------|----------------|----------------------|
|           | A      | B      | C      | D      | E      | ( $\mu$ / 100 mg) | (nmol /100 mg) | ( $\mu$ mol /100 mg) |
| 1         | 1      | 1      | 1      | 1      | 1      | 101. 4            | 69. 3          | 2. 41                |
| 2         | 1      | 2      | 2      | 2      | 2      | 100. 9            | 67. 6          | 2. 03                |
| 3         | 1      | 3      | 3      | 3      | 3      | 102. 6            | 68. 7          | 1. 87                |
| 4         | 1      | 4      | 4      | 4      | 4      | 110. 4            | 60. 1          | 1. 91                |
| 5         | 2      | 1      | 2      | 3      | 4      | 107. 2            | 63. 1          | 1. 83                |
| 6         | 2      | 2      | 1      | 4      | 3      | 105. 8            | 63. 0          | 1. 75                |
| 7         | 2      | 3      | 4      | 1      | 2      | 113. 4            | 56. 4          | 1. 75                |
| 8         | 2      | 4      | 3      | 2      | 1      | 112. 5            | 58. 6          | 1. 71                |
| 9         | 3      | 1      | 3      | 4      | 2      | 111. 2            | 57. 6          | 1. 71                |
| 10        | 3      | 2      | 4      | 3      | 1      | 117. 1            | 52. 2          | 1. 56                |
| 11        | 3      | 3      | 1      | 2      | 3      | 114. 3            | 55. 1          | 1. 32                |
| 12        | 3      | 4      | 2      | 1      | 4      | 114. 7            | 55. 9          | 1. 05                |
| 13        | 4      | 1      | 4      | 2      | 3      | 120. 1            | 47. 4          | 1. 40                |
| 14        | 4      | 2      | 3      | 1      | 4      | 115. 7            | 54. 1          | 1. 28                |
| 15        | 4      | 3      | 2      | 4      | 1      | 117. 7            | 50. 7          | 0. 91                |
| 16        | 4      | 4      | 1      | 3      | 2      | 118. 8            | 49. 3          | 0. 88                |
| $K_1$     | 415. 3 | 439. 9 | 440. 3 | 445. 2 | 448. 7 |                   |                |                      |
| $K_2$     | 438. 9 | 439. 5 | 440. 5 | 447. 8 | 444. 3 |                   |                |                      |
| SOD $K_3$ | 457. 3 | 448. 0 | 442. 0 | 445. 7 | 442. 8 |                   |                |                      |
| $K_4$     | 472. 3 | 456. 4 | 461. 0 | 445. 1 | 448. 0 |                   |                |                      |
| $R$       | 57. 0  | 16. 9  | 20. 7  |        |        |                   |                |                      |
| $K_1$     | 265. 7 | 237. 4 | 236. 7 | 235. 7 | 230. 8 |                   |                |                      |
| $K_2$     | 241. 4 | 236. 9 | 237. 3 | 228. 7 | 230. 9 |                   |                |                      |
| MDA $K_3$ | 220. 8 | 230. 9 | 239. 0 | 233. 3 | 234. 2 |                   |                |                      |
| $K_4$     | 201. 5 | 223. 9 | 216. 1 | 231. 4 | 233. 2 |                   |                |                      |
| $R$       | 64. 2  | 13. 5  | 22. 9  |        |        |                   |                |                      |
| $K_1$     | 8. 22  | 7. 35  | 6. 36  | 6. 49  | 6. 59  |                   |                |                      |
| 乳酸 $K_2$  | 7. 04  | 6. 62  | 5. 82  | 6. 46  | 6. 37  |                   |                |                      |
| $K_3$     | 5. 64  | 5. 85  | 6. 57  | 6. 14  | 6. 34  |                   |                |                      |
| $K_4$     | 4. 47  | 5. 55  | 6. 62  | 6. 28  | 6. 07  |                   |                |                      |
| $R$       | 3. 75  | 1. 80  | 0. 80  |        |        |                   |                |                      |

3. 1. 1 比较极差大小排定因素影响顺序: A 对氧自由基指标 SOD 和 MDA 影响最大,其次是 C,最后是 B; A 对无氧代谢指标乳酸影响最大,其次是 B,最后是 C

3. 1. 2 由综合平均值的大小选取各因素的最佳水平组合: A<sub>4</sub> B<sub>4</sub> C<sub>4</sub> (附子生物碱 31. 2 mg /kg,干姜挥发油 1. 84  $\mu$  L/kg,甘草酸粗品 4. 68 mg /kg)

3. 2 用方差分析法分析试验结果: 见表 3~ 5

表 3 SOD 方差分析表

| 方差来源 | 平方和                                                     | 自由度 | 均方  | F 值 | P 值     |
|------|---------------------------------------------------------|-----|-----|-----|---------|
| A    | SS <sub>A</sub> = 451                                   | 3   | 150 | 150 | < 0. 01 |
| B    | SS <sub>B</sub> = 48                                    | 3   | 16  | 16  | < 0. 01 |
| C    | SS <sub>C</sub> = 76                                    | 3   | 25  | 25  | < 0. 01 |
| D    | SS <sub>误</sub> = SS <sub>D</sub> + SS <sub>E</sub> = 7 | 6   | 1   |     |         |

表 4 MDA 方差分析表

| 方差来源 | 平方和                                                     | 自由度 | 均方  | F 值 | P 值     |
|------|---------------------------------------------------------|-----|-----|-----|---------|
| A    | SS <sub>A</sub> = 567                                   | 3   | 189 | 189 | < 0. 01 |
| B    | SS <sub>B</sub> = 30                                    | 3   | 10  | 10  | < 0. 01 |
| C    | SS <sub>C</sub> = 88                                    | 3   | 29  | 29  | < 0. 01 |
| D    | SS <sub>误</sub> = SS <sub>D</sub> + SS <sub>E</sub> = 7 | 6   | 1   |     |         |

从表 4 可知,各因素对 MDA 影响主次顺序为

A> C> B,与直观分析所得结论一致

表 5 乳酸方差分析表

| 方差来源 | 平方和                                                     | 自由度 | 均方    | F 值    | P 值     |
|------|---------------------------------------------------------|-----|-------|--------|---------|
| A    | SS <sub>A</sub> = 1. 5                                  | 3   | 0. 50 | 71. 43 | < 0. 01 |
| B    | SS <sub>B</sub> = 0. 49                                 | 3   | 0. 16 | 22. 86 | < 0. 01 |
| C    | SS <sub>C</sub> = 0. 1                                  | 3   | 0. 03 | 4. 28  | > 0. 05 |
| D    | SS <sub>误</sub> = SS <sub>D</sub> + SS <sub>E</sub> = 7 | 6   | 0. 07 |        |         |

从表 5 可知,各因素对乳酸影响主次顺序为 A> B> C,与直观分析所得结论一致 C 因素对于乳酸无明显影响

4 讨论

良好的血液循环是心肌组织细胞获得充足的氧和营养物质供应并排出代谢产物的基本保证,各种原因造成的心肌组织血液灌流量减少可使心肌细胞发生缺血性损伤,尽早恢复其血液灌流是减轻缺血性损伤的根本措施。近年来,随着溶栓疗法、动脉搭桥术、经皮腔内冠脉血管成形术 (PTCA)、心脏外科体外循环等方法的建立和推广,使缺血心肌重新获得血液供应,明显减轻了心肌细胞损伤,提高了临床疗效。但是在动物实验和临床观察中也发现,恢复

血液再灌注后,部分动物或患者心肌细胞功能代谢障碍及结构破坏反而加重,发生了缺血再灌注损伤。再灌注过程中氧自由基大量生成是造成这种损伤的重要原因之一。另外,缺血及再灌注过程中无氧酵解产物乳酸增加,造成的心肌组织细胞酸中毒也是导致缺血再灌注损伤的原因。附子生物碱、干姜挥发油及甘草酸粗品都可不同程度地提高心肌氧自由基清除剂 SOD 活性,降低心肌氧自由基反应产物 MDA 含量,并可减少心肌无氧酵解产物乳酸的生成。3 种有效成分临床极量组合的疗效最佳。无论对于心肌氧自由基损伤还是无氧酵解的疗效,附子都是处方中的关键因素。干姜挥发油对无氧酵解的疗效起较重要作用而甘草酸粗品对氧自由基损伤的疗效起较重要作用。说明附子生物碱是四逆汤有效成分组合

中的关键因素,干姜挥发油和甘草酸粗品也是组方中不可或缺的因素。这种有效成分的组合特性从另一侧面体现了中药处方配伍的科学性以及治疗疾病的多靶点的特性。通过四逆汤组成方药有效成分的提取,可以减少其毒副作用,从而增加临床治疗的有效剂量,并为将其制成缓释剂奠定基础。

参考文献:

- [1] 吴伟康,苏建文,林曙光,等. 四逆汤防治 PTCA 术后再灌注损伤的作用机制及中医辨证分型的临床研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 1999, 19(1): 23-26.
- [2] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用 [M]. 北京: 学苑出版社, 1998.
- [3] 吴伟康,侯灿,罗汉川,等. 垂体后叶素性心肌缺血模型再探 [J]. 中国病理生理杂志, 1993, 9(2): 124-127.
- [4] 黄辉,吴伟康,陈建萍,等. 新型缺血再灌注模式诱导小鼠心肌细胞凋亡 [J]. 中国心血管杂志, 1999, 4(3): 159-161.

## 调肝导浊中药对家兔实验性动脉粥样硬化脂质代谢的影响

金 华,陆一竹,陈 静,范英昌\*  
(天津中医学院,天津 300193)

**摘要:**目的 观察调肝导浊中药对家兔实验性动脉粥样硬化 (AS) 血 ApoB 含量、动脉硬化指数 (AI) 及体外培养大鼠肝细胞膜低密度脂蛋白 (LDL) 受体的影响,探讨调肝导浊中药防治 AS 的作用机制。方法 高胆固醇饮食饲喂家兔造成 AS 模型,并体外培养大鼠肝细胞,原位杂交检测肝细胞膜 LDL 受体 mRNA 表达。观察药物对 ApoB 含量、AI 及 LDL 受体的影响。结果 (1) 调肝导浊中药可有效降低血清 ApoB 含量,降低 AI,与模型组比较具有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ )。 (2) 调肝导浊中药对 LDL 受体途径具有良好调节作用。结论 调肝导浊中药对于 AS 的防治作用与其对脂蛋白及载脂蛋白的调节作用密不可分。

**关键词:** 调肝导浊;动脉硬化指数;载脂蛋白;动脉粥样硬化;低密度脂蛋白受体

中图分类号: R286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)04-0336-03

### Effect of Chinese drug TIAOGAN DAOZHUO\* on lipid metabolism of experimental atherosclerosis in rabbit

JIN Hua, LU Yi-zhu, CHEN Jing, FAN Ying-chang  
(Tianjin College of TCM, Tianjin 300193, China)

**Key words** TIAOGAN DAOZHUO; atherogenic index; apolipoprotein; atherosclerosis; low density lipoprotein acceptor

\* TIAOGAN DAOZHUO is a Chinese herb prescription with the function of regulating the disorder of *qi* and removing turbid *qi*.

高脂血症是动脉粥样硬化 (AS) 的原因已被确认,其中血浆胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白 (LDL) 过高均为 AS 的危险因子,而高密度脂蛋白 (HDL) 则对其具有防治作用。我们采用实验性 AS

家兔模型,观察调肝导浊中药对载脂蛋白 (Apo) 含量及动脉硬化指数 (AI) 的影响;并体外培养大鼠肝细胞,原位杂交检测肝细胞膜 LDL 受体 mRNA 表达。

\* 收稿日期: 2001-08-29  
基金项目: 天津市自然科学基金资助课题 (No. 003607911)