

# 醒神喷鼻液对出血模型动物的保护作用研究<sup>△</sup>

李翎\*,方永奇,邹衍衍(广州中医药大学第一附属医院,广州 510405)

中图分类号 R743.34;R971 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)31-2890-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.31.04

**摘要** 目的:研究醒神喷鼻液对出血模型动物的保护作用。方法:参考文献复制大鼠脑出血模型,以神经症状评分判断模型是否复制成功。60只大鼠分为正常对照(滴鼻,空白基质)组、模型(滴鼻,空白基质)组、醒脑静(腹腔注射,7.6 ml/kg)组与醒神喷鼻液高、中、低剂量(滴鼻,0.496、0.248、0.124 g/kg)组。大鼠给药3 d后复制模型,复制模型成功后,大鼠再给药1 d,末次给药24 h后取血液和脑组织,酶联免疫法测定内皮素(ET)、降钙素基因相关肽(CGRP),计算ET/GRP值。50只小鼠分为正常对照(滴鼻,空白基质)组、氨甲苯酸(腹腔注射,2.4 mg/kg)组与醒神喷鼻液高、中、低剂量(滴鼻,1.08、0.54、0.27 g/kg)组,每天给药2次,连续4 d,末次给药30 min后,剪尾法测定出血时间。结果:与模型组比较,醒神喷鼻液高剂量组大鼠脑组织中CGRP含量显著增加( $P < 0.05$ ),醒神喷鼻液高、中、低剂量组大鼠血液中的CGRP含量显著增加,脑组织与血液的ET/CGRP显著降低( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ )。与正常对照组比较,醒神喷鼻液高、中、低剂量组小鼠出血时间显著缩短( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ )。结论:醒神喷鼻液能减轻模型动物脑组织损伤程度和保护脑神经细胞,可减少出血量,减轻出血引起的脑水肿程度。

**关键词** 醒神喷鼻液;脑出血;内皮素;降钙素基因相关肽

## Study on the Protective Effect of Xingshen Nasal Spray on Cerebral Hemorrhage Model Animal

LI Ling, FANG Yong-qi, ZOU Yan-yan (The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the protective effect of Xingshen nasal spray on cerebral hemorrhage model animal. METHODS: By literature review, the cerebral hemorrhage model of rat was induced. The neurological symptom score was applied to evaluate the models. Sixty rats were divided into normal control group (nasal drops, matrix), model group (matrix, nasal drops), Xingnaojing group (7.6 ml/kg, intraperitoneal injection) and Xingshen nasal spray high-dose, medium-dose and low-dose groups (0.496, 0.248, 0.124 g/kg, nasal drops). The cerebral hemorrhage model of rats was induced 3d after medication. After modeling, model rats were given medicines for a day, and blood and cerebral samples were collected 24h after last administration. The levels of ET and CGRP were determined by ELISA, and ET/CTRTP was calculated. Fifty mice were divided into normal control group (matrix, nasaldrops), aminomethylbenzoic acid group (2.4 mg/kg, intraperitoneal injection) and Xingshen nasal spray high-dose, medium-dose and low-dose groups (1.08, 0.54, 0.27 g/kg, nasal drops). They were given medicines twice a day for consecutive 4 d. 30 min after the last administration, bleeding time was determined with the method of tail cutting. RESULTS: Compared with model group, the levels of CGRP in blood tissue increased significantly in Xingshen nasal spray high-dose group ( $P < 0.05$ ). The levels of CGRP in blood increased significantly in Xingshen nasal spray high-dose, medium-dose and low-dose groups, while ET/CGRP decreased in cerebral tissue and blood. Compared with normal control group, the bleeding time of rats in Xingshen nasal spray high-dose, medium-dose and low-dose groups could be shortened ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). CONCLUSIONS: Xingshen nasal spray can relieve cerebral injury and protect cerebral nerve cells of the model animal, and can decrease the amount of bleeding and the levels of brain edema caused by bleeding.

**KEY WORDS** Xingshen nasal spray; Cerebral hemorrhage; ET; CGRP

- 急性毒性作用研究[J].中国药房,2011,22(39):3 658.
- [5] 陈萍,王爱武,王福文.口溃宁颗粒对小鼠的抗炎和镇痛作用[J].中国医院药学杂志,2012,32(1):26.
- [6] 王立为,刘新民,余世春,等.枇杷叶抗炎和止咳作用研究[J].中草药,2004,35(2):174.
- [7] 柳玉萍,于森,尹祥敏.绞股蓝总苷对小鼠呼吸道炎症及

- 免疫增强作用的观察[J].中国医院药学杂志,2009,29(13):1 091.
- [8] 郭丰,王瑞红,刘晓放.氢溴酸右美沙芬缓释胶囊镇咳作用的研究[J].中国实用医药,2008,3(1):50.
- [9] 周小江,曾南,贾敏如.肺经草止咳化痰有效部位的初步筛选[J].中国民族民间医药杂志,2005(72):46.
- [10] 周庆,皮慧芳,张鹏,等.胆酸浙贝乙素酯的镇咳和祛痰药效学观察[J].中国医院药学杂志,2011,31(5):388.

<sup>△</sup> 基金项目:广东省科技厅科技计划项目(No.2007B031408005)  
\* 副研究员。研究方向:中药药理学。电话:020-36591225。  
E-mail:liling88800@126.com

(收稿日期:2012-09-05 修回日期:2012-10-30)

醒神喷鼻液由石菖蒲、猪牙皂和冰片等组成,为纯中药制剂。研究显示,石菖蒲有醒脑开窍的作用,能保护脑细胞,抑制神经细胞凋亡<sup>[1]</sup>。醒神喷鼻液以石菖蒲为主要成分,有芳香开窍、清热祛痰的作用,临床用于治疗急性期中风。内皮素(ET)在脑出血急性期发病过程中引起脑血管痉挛,从而造成脑出血的组织损伤加重<sup>[2]</sup>。降钙素基因相关肽(CGRP)是已知体内作用最强烈的舒血管多肽,在中枢、外周神经系统等组织中均有分布<sup>[3]</sup>,CGRP与ET的拮抗作用保证脑血管的正常舒缩功能。本研究利用大鼠脑出血模型,观察醒神喷鼻液对脑出血损伤后的脑组织和血液中ET与CGRP含量的影响,同时利用小鼠出血实验观察该药对出血时间的影响,以为其临床应用提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

MK3型酶标仪、MK2型洗板机[赛默飞世尔(上海)仪器有限公司];BX50型显微镜(日本Olympus公司);AE200型电子分析天平(瑞士Mettler公司);微量移液器(日本Nichiryo公司);BL-310型生物机能实验仪(成都泰盟电子有限公司);LAB Standardw/18型脑立体定位仪(美国Stoelting公司)。

### 1.2 药品与试剂

醒神喷鼻液(广州中医药大学第一附属医院实验中心,批号:20100526);醒脑静注射液(无锡山禾药业股份有限公司,批号:100315);胶原酶Ⅶ(美国Sigma公司);ET、CGRP试剂盒(美国RB公司);氨甲苯酸注射液(山东圣鲁制药有限公司,批号:1003254);水合氯醛(上海五联化工厂)。

### 1.3 动物

SPF级KM小鼠50只,♀♂兼半,体质量18~22g;SPF级SD大鼠60只,♀♂兼半,体质量200~220g,均由广州中医药大学实验动物中心提供[动物使用许可证号:SCXK(粤)2008-0020]。

## 2 方法

### 2.1 大鼠脑出血实验<sup>[4]</sup>

2.1.1 分组与给药 实验分为6组,即正常对照(滴鼻,空白基质)组、模型(滴鼻,空白基质)组、醒脑静(ip,7.6 ml/kg)组与醒神喷鼻液高、中、低剂量(滴鼻,0.496、0.248、0.124 g/kg)组,每天给药2次,连续4d。

2.1.2 复制模型<sup>[5]</sup> 给药3d后ip水合氯醛(300 mg/kg)麻醉,固定于脑立体定位仪上,常规消毒,切开头部正中皮肤,暴露颅骨,剥离骨膜暴露前囟,在前囟后1 mm、旁开3.2 mm处钻孔,沿钻孔垂直进针5 mm定位尾状核,缓慢注入胶原酶Ⅶ2 μl(含胶原酶1 u/μl,肝素钠5.421 u/μl),留针5 min,缓慢拔出针头,缝合皮肤。大鼠苏醒后,进行神经症状评分判断脑出血模型是否成功,1分以上可判断模型复制成功。神经症状按5级评分:无神经症状,0分;不能完全伸展手术对侧前爪或后爪,1分;向手术对侧转圈,2分;向手术对侧倾倒,3分;不能自主行走且意识不清,4分<sup>[6]</sup>。

2.1.3 指标的测定 末次给药24 h后取血,用生理盐水进行心脏灌流,血液完全排出后,取脑,以酶联免疫法测定大鼠血液、脑组织中ET、CGRP的含量。

### 2.2 小鼠出血实验

实验分为5组,即空白对照(滴鼻,空白基质)、氨甲苯酸(ip,24 ml/kg)与醒神喷鼻液高、中、低剂量(滴鼻,1.08、0.54、0.27 g/kg)组。每天给药2次,连续4d。末次给药30 min后,将小鼠固定在鼠盒内,在其尾部相同长度处(约5 mm)用剪刀横断其尾尖,待血液自行溢出开始计时,每隔30 s用滤纸吸去血滴1次,直至血流自然停止(滤纸吸时无血)为止,即为出血时间。

### 2.3 统计学方法

用SPSS 13.0软件对数据进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 醒神喷鼻液对模型大鼠脑组织中ET、CGRP含量的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠脑组织ET含量显著增加,CGRP含量显著减少,ET/CGRP比值显著升高( $P < 0.05$ );与模型组比较,醒神喷鼻液高剂量组大鼠脑组织中CGRP含量显著增加( $P < 0.05$ ),醒神喷鼻液高、中、低剂量组ET/CGRP比值显著降低( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ )。醒神喷鼻液对模型大鼠脑组织中ET、CGRP含量的影响见表1。

表1 醒神喷鼻液对模型大鼠脑组织中ET和CGRP含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 Effects of Xingshen nasal spray on ET and CGRP in cerebral tissue of model rats( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量,g/kg	ET, μg/g	CGRP, ng/g	ET/CGRP
正常对照组	10		0.063 ± 0.020	0.078 5 ± 0.024 2	0.802
模型组	10		0.149 ± 0.112*	0.017 0 ± 0.012 0**	8.765*
醒神喷鼻液高剂量组	10	0.496	0.093 ± 0.022	0.062 8 ± 0.048 6 <sup>#</sup>	1.481 <sup>##</sup>
醒神喷鼻液中剂量组	10	0.248	0.102 ± 0.046	0.025 8 ± 0.012 2	3.953 <sup>##</sup>
醒神喷鼻液低剂量组	10	0.124	0.098 ± 0.026	0.018 9 ± 0.008 0	5.185 <sup>#</sup>
醒脑静组	10	7.6 ml/kg	0.122 ± 0.067	0.023 7 ± 0.008 6	5.148 <sup>#</sup>

与正常对照组比较:\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较:<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$

vs.normal control group:\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;vs.model group:<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$

### 3.2 醒神喷鼻液对模型大鼠血液中ET、CGRP含量的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血液中ET含量显著增加,CGRP含量显著减少,ET/CGRP比值显著升高( $P < 0.05$ );与模型组比较,醒神喷鼻液高、中、低剂量组大鼠血液中CGRP含量显著增加,ET/CGRP比值显著降低( $P < 0.01$ )。醒神喷鼻液对模型大鼠血液中ET、CGRP含量的影响见表2。

### 3.3 醒神喷鼻液对小鼠出血时间的影响

与正常对照组比较,醒神喷鼻液高、中、低剂量组小鼠出血时间显著缩短( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ )。醒神喷鼻液对小鼠出血时间的影响见表3。

## 4 讨论

表2 醒神喷鼻液对模型大鼠血液中ET和CGRP含量的影响  
( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 2 Effects of Xingshen nasal spray on ET and CGRP in the blood of model rats( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量,g/kg	ET, $\mu\text{g/ml}$	CGRP, ng/ml	ET/CGRP
正常对照组	10		2.838 $\pm$ 1.495	3.365 $\pm$ 1.113	0.843
模型组	10		4.973 $\pm$ 1.905*	0.309 $\pm$ 0.446**	16.094*
醒神喷鼻液高剂量组	10	0.496	3.581 $\pm$ 0.789	2.506 $\pm$ 2.095 <sup>##</sup>	1.429 <sup>##</sup>
醒神喷鼻液中剂量组	10	0.248	4.873 $\pm$ 1.556	2.278 $\pm$ 2.184 <sup>#</sup>	2.139 <sup>##</sup>
醒神喷鼻液低剂量组	10	0.124	4.786 $\pm$ 1.049	2.342 $\pm$ 2.407 <sup>#</sup>	2.044 <sup>##</sup>
醒脑静组	10	7.6 ml/kg	4.576 $\pm$ 1.584	2.235 $\pm$ 2.346 <sup>#</sup>	2.047 <sup>##</sup>

与正常对照组比较: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$

vs. normal control group: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group: # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$

表3 醒神喷鼻液对小鼠出血时间的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 3 Effects of Xingshen nasal spray on the bleeding time of rats( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量,g/kg	出血时间,min
正常对照组	10		2.80 $\pm$ 1.46
醒神喷鼻液高剂量组	10	1.08	1.22 $\pm$ 0.75**
醒神喷鼻液中剂量组	10	0.54	1.35 $\pm$ 0.82*
醒神喷鼻液低剂量组	10	0.27	1.45 $\pm$ 0.93*
氨甲苯酸组	10	24 ml/kg	1.25 $\pm$ 0.54**

与正常对照组比较: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

vs. normal control group: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

CGRP为内源性血管舒张物质,通过与ET的拮抗作用,达到动态平衡,保持脑血管的舒缩功能<sup>[7]</sup>。脑出血发病时ET直接参与脑血管痉挛,缺血缺氧后产生更多的ET,加剧了脑血管痉挛,造成脑神经细胞损伤加剧<sup>[8]</sup>,动态平衡被打破,舒缩功能不能正常发挥作用。若在脑出血早期增加CGRP含量,维持ET和CGRP的动态平衡,减轻脑血管痉挛,降低脑组织损伤程度,可达到保护脑神经细胞的作用。

醒神喷鼻液能增加脑出血模型大鼠脑组织和血液中的CGRP含量,保证了CGRP对ET的拮抗作用,抑制了ET的大

量释放,ET/CGRP比值较模型组明显降低,说明其有一定的维持ET和CGRP动态平衡的作用,从而能抑制脑血管痉挛,扩张血管并提高脑血流量,减轻了脑出血发病时的缺血缺氧状态,脑组织损伤的程度得到减轻,提示该药对脑神经细胞有保护作用。醒神喷鼻液也能显著缩短小鼠出血时间,显示该药有一定抑制出血的作用,并可减轻出血引起的脑水肿程度。上述结果提示,醒神喷鼻液对出血性中风的脑组织有一定保护作用,能降低脑神经细胞损伤程度。

### 参考文献

- [1] 方永奇,匡忠生,谢宇辉,等.石菖蒲对缺血再灌注脑损伤大鼠神经细胞凋亡的影响[J].现代中西医结合杂志,2002,11(17):1647.
- [2] 周任,巩守平,吕健,等.亚低温对鼠脑外伤后血浆内皮素含量变化的影响[J].陕西医学杂志,2002,31(8):677.
- [3] Fitzsimmons TJ, Zhao X, Wank SA. The extracellular domain of receptor activity-modifying protein 1 is sufficient for calcitonin receptor-like receptor function[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(16):14313.
- [4] 刘芳,王丽娜,吴玉波.醒脑静注射液对脑出血大鼠IL-1 $\beta$ 蛋白及其mRNA表达的影响[J].中国药房,2009,20(6):415.
- [5] Rosenberg GA, Mun-Bryce S, Wesley M, et al. Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats[J]. *Stroke*, 1990, 21(5):801.
- [6] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1994:484.
- [7] Kuroda M, Yoshikawa D, Nishikawa K, et al. Volatile anesthetics inhibit calcitonin gene-related peptide receptor-mediated responses in pithed rats and human neuroblastoma cells [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, 311(3):1016.

(收稿日期:2012-09-18 修回日期:2012-12-12)

## 国家卫生和计划生育委员会副主任马晓伟会见巴西驻华大使

本刊讯 2013年7月12日,国家卫生和计划生育委员会副主任马晓伟在京会见了新任巴西驻华大使莱昂,双方就加强中巴两国卫生合作进行了交流。

马晓伟祝贺莱昂大使履新,并表示,中巴两国长期以来在卫生领域保持着良好的合作关系。近年来,两国在双边以及20国集团、金砖框架等多边机制下,在医疗技术、慢病防治与

健康覆盖、药品研发、医疗技术等领域的合作不断发展,卫生交流呈现出良好态势。中方愿意与巴方一道积极推动这种合作关系的务实、深入发展,提高两国人民的健康水平。

莱昂表示,中巴两国在卫生健康领域面临着相似的困难和挑战,巴方愿意加强与中国在医疗卫生领域的交流与合作,互相学习和借鉴。