

实验研究

清开灵注射液对实验性
肝损伤保护作用的生物化学初步研究

齐治家* 钱家骏* 乔亭祥** 侯文华***

安宫牛黄丸是祖国医学抢救温病重症的“三宝(局方至宝丹、紫雪丹、安宫牛黄丸)”之一,是由牛黄、麝香、犀角、珍珠等药组成,具有清热解毒、镇静安神的功效,凡热邪内陷、神昏谵语、高热烦躁、抽搐惊厥者,可用此方治疗。

本院中药系从中医基本理论入手,运用现代科学知识,对安宫牛黄丸进行剂型改良,并制成清开灵注射液⁽¹⁾,临床试用于神经系统感染所引起的高热、抽搐、昏迷及中毒性脑病等均有较好的疗效⁽²⁾。北京第一传染病院⁽³⁾应用清开灵注射液治疗病毒性慢性重症黄疸腹水型肝炎,也已取得较满意的疗效。本院组织胚胎教研室⁽⁴⁾通过动物实验证实,清开灵I号注射液对实验性四氯化碳肝损伤具有保护作用。为进一步阐明清开灵I号注射液的作用机理,提供一些理论依据,本实验观察清开灵I号注射液对血氨氮、血尿素氮和血乳酸含量的影响。

材料和方法

清开灵I号注射液系北京中医学院制药厂产品(批号790417)。实验用化学试剂规格均为分析纯。实验动物选择正常大鼠,体重160~250克,雌雄兼用,随机分成4组。正常组:未做任何处理。肝损伤组:本组按四氯化碳注射的不同部位分为两批观察。第一批实验的大鼠每隔3日皮下注射0.4毫升/100克体重四氯化碳1次,经5次注射后,隔日断头取血测定;第二批实验的大鼠行开腹手术,于肠系膜下静脉注射15%四氯化碳(石蜡油配制)0.02毫升/100克体重⁽⁵⁾,每周1次,经3次注射后,隔3日断头取血测定。治疗组:除按肝损伤组给同样剂量的四氯化碳外,每日每只大鼠皮下注射清开灵I号注射液1毫升。清开灵组:不做肝损伤处理,按治疗组给同样剂量的清开灵I号注射液。

血氨氮测定方法:取抗凝全血1毫升、硫酸铵标准应用液1毫升,分别加入于两个测血氨氮的扩散瓶中(本实验用25毫升三角瓶),再加入饱和碳酸钾溶液2毫升,迅速盖上带有玻璃扩散棒(先蘸好1当量硫酸溶液)的橡胶塞,将扩散瓶轻旋数周使血样与试剂充分混合(切勿沾到玻璃扩散棒上),置于37℃水浴中,保温扩散30分钟后,小心取下橡胶塞,玻璃扩散棒应向下,插入盛有3毫升无氨蒸馏水的15毫升三角瓶中,彻底洗下玻璃扩散棒上吸附的硫酸铵,最后加入0.5毫升奈氏试剂显色,于分光光度计420毫微米波长比色。血氨氮(微克氮/100毫升全血)计算值按下列公式求得:

$$\frac{\text{样品液读数}}{\text{标准液读数}} \times 100$$

血乳酸和尿素氮测定分别按广东省人民医院检验科方法⁽⁶⁾和King⁽⁷⁾氏等方法进行。

实验结果

一、清开灵I号注射液对大鼠血氨氮的影响:测定各组大鼠血氨氮的平均值见表1。正常组为56.96±

表1 各组血氨氮值(微克%)比较表

组别	第一批实验 均值±标准差(鼠数)	第二批实验 均值±标准差(鼠数)
正常组	56.96±15.68(10)	56.96±15.68(10)
肝损伤组	99.94±20.72(10) [△]	71.00±8.24(5)
治疗组	53.65±7.16(8)**	51.00±7.62(5)*

[△] 与正常组相比较P<0.001

* 与肝损伤组相比较P<0.01

** 与肝损伤组相比较P<0.001

* 北京中医学院生化教研室

** 中医研究院骨伤科研究所

*** 北京中医学院东直门医院基础室

15.68 微克% (均值±标准差, 下同), 清开灵组 (8 只大鼠) 为 53.80 ± 11.49 微克%, 两组之间无明显差异 ($P > 0.05$)。在第一批实验中, 经用四氯化碳皮下注射处理的肝损伤组和治疗组, 其血氨氮值分别为 99.94 ± 20.72 微克% 和 53.65 ± 7.16 微克%, 肝损伤组的血氨氮值较正常组明显增高 ($P < 0.001$), 治疗组与肝损伤组相比较, 血氨氮值则明显减低 ($P < 0.001$)。在第二批实验中, 经用四氯化碳于肠系膜下静脉注射处理的肝损伤组和治疗组, 其血氨氮值分别为 71.00 ± 8.24 微克% 和 51.00 ± 7.62 微克%, 两组比较治疗组亦见明显降低 ($P < 0.01$)。以上结果表明清开灵 I 号注射液具有降低肝损伤引起的血氨氮增高的作用。

二、清开灵 I 号注射液对大鼠血尿素氮的影响: 各组血尿素氮的测定结果见表 2。正常组为 41.88 ± 4.55 毫克%, 清开灵组 (8 只大鼠) 为 40.68 ± 3.67 毫

表 2 各组血尿素氮值(毫克%)比较表

组 别	第一批实验 均值±标准差(鼠数)	第二批实验 均值±标准差(鼠数)
正 常 组	$41.88 \pm 4.55(8)$	$41.88 \pm 4.55(8)$
肝损伤组	$73.85 \pm 15.42(8)^{\Delta\Delta}$	$55.32 \pm 9.85(5)^{\Delta}$
治 疗 组	$41.46 \pm 5.30(8)^{*}$	$31.16 \pm 3.74(5)^{*}$

Δ 与正常组比较 $P < 0.01$

$\Delta\Delta$ 与正常组比较 $P < 0.001$

$*$ 与肝损伤组比较 $P < 0.001$

克%, 两组无明显差异 ($P > 0.05$)。经用四氯化碳皮下注射处理的肝损伤组和治疗组, 其血尿素氮平均值分别为 73.85 ± 15.42 毫克% 和 41.46 ± 5.30 毫克%, 肝损伤组的血尿素氮平均值与正常组和治疗组者相比较均见明显增高 ($P < 0.001$)。经用四氯化碳于肠系膜下静脉注射处理的肝损伤组和治疗组, 其血尿素氮平均值分别为 55.32 ± 9.85 毫克% 和 31.16 ± 3.74 毫克%, 肝损伤组的血尿素氮平均值亦明显较正常组和治疗组者为高 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.001$)。以上结果表明, 清开灵 I 号注射液对四氯化碳肝损伤引起的大鼠血尿素氮升高具有抑制作用。

三、清开灵 I 号注射液对大鼠血乳酸含量的影响: 正常组 (5 只大鼠) 的血乳酸含量平均为 13.65 ± 3.25 毫克, 清开灵组 (6 只大鼠) 平均为 11.35 ± 1.69 毫克%, 两组比较无明显差异 ($P > 0.05$)。经皮下注射四氯化碳的肝损伤组 (7 只大鼠) 其血乳酸含量平均为 18.93 ± 1.88 毫克%, 与正常组比较有非常显著

性差异 ($P < 0.01$)。经皮下注射四氯化碳处理的治疗组 (8 只大鼠), 其血乳酸含量平均为 11.30 ± 2.48 毫克%, 与肝损伤组相比也有非常显著性差异 ($P < 0.001$)。结果表明, 清开灵 I 号注射液对四氯化碳肝损伤大鼠的血乳酸升高有下降作用。

四、清开灵 I 号注射液对大鼠生活表现的影响: 清开灵组大鼠注药后, 可见食欲稍增, 自由活动增加, 对刺激反应正常, 体重稍有增加; 肝损伤组大鼠在注射四氯化碳后食欲减退, 活动减少, 对刺激反应迟钝, 后期出现昏迷, 体重锐减 50% 以上; 治疗组大鼠食欲减退, 活动少, 对刺激反应较迟钝, 体重略有减轻 (见表 3)。从各组实验鼠的生活表现, 可看出清开灵 I 号注射液对大鼠肝脏损伤有一定的保护作用。

表 3 各组大鼠的表现情况

组 别	鼠数	食欲情况	自由活动	对刺激反应	体重增减 克/只(增减率%)
正 常 组	10	正常	正常	正 常	+39.6(100)
肝损伤组	13	锐减	很少	迟 钝	-20.2(-51.09)
治 疗 组	12	减退	减少	较迟钝	-0.08(-0.20)
清开灵组	14	稍增	增加	正 常	+4.08(10.30)

讨 论

根据现有资料可以认为, 蛋白质代谢障碍可能是肝昏迷发病的生化基础。目前关于肝性昏迷发病机理主要有氨中毒学说、假神经递质学说和个别氨基酸代谢紊乱学说。由于不同类型的肝昏迷病人, 在疾病的不同阶段其代谢变化不尽相同, 因此不能用单一学说解释肝昏迷的发病机理, 应从多方面去分析这些变化的相互联系和相互制约的关系。

氨是机体蛋白质代谢的一种中间产物, 是由氨基酸经脱氨基作用或由尿素经水解而来。近来人们特别重视尿素在肠内被尿素酶分解的作用⁽⁸⁾。据估计在肠内氨的日产量为 4.2 克, 其中 3.5 克来源于尿素水解。而肾脏也是生成氨的来源。

砷中毒时血氨增加, 并易于通过血脑屏障, 肝硬变由于利尿剂的应用及高醛固酮症, 出现低血钾, 此时细胞内钾向细胞外移动, 代之细胞外的钠、氢进入细胞内, 血液 pH 升高, 血氨增加, 砷中毒时氨排出障碍。

血氨含量因测定方法不同而异, 其正常值为 0.5~1.0 微克氮/毫升, 代偿性肝病患者一般是增加, 如若增高到正常值的两倍以上时, 多引起意识障碍⁽⁹⁾。血氨上升伴有脑内氨升高, 氨可使三羧酸循环障碍,

耗氧量下降, ATP 的生成量减少, 同时谷氨酰胺的生成系统亢进。

本实验中部分大鼠是按北京中医学院组织胚胎教研室⁽⁴⁾皮下给予四氯化碳的剂量, 造成大鼠中毒性肝炎, 实验动物肝脏具有大量变性和坏死的病理特点。狗经口给予四氯化碳 0.5 毫升/公斤体重, 可引起肝肾、心脏的退行变性, 经皮下注射给药时, 其中毒作用较强⁽¹⁰⁾。0.05~2.0 毫升/公斤体重, 5 小时后即可观察到肝细胞机能障碍, 3~5 日出现坏死, 10 日后上述变化消失, 并可发现特殊的肝细胞。肝硬变时内毒素血症不仅能引起功能性肾功能衰竭, 而且能引起腐蚀性胃炎、腹水, 预后不良⁽¹¹⁾。本实验的几项生化指标再次证明, 四氯化碳造成肝损伤组的血氨浓度、血乳酸含量比正常组明显增加, 血尿素的含量亦显著地高于正常组。血尿素升高, 说明应用该剂量的四氯化碳, 肝细胞并非全部坏死, 由于肝脏代偿功能强, 尿素的合成能力没有明显下降, 加之肾功能障碍, 可使尿素排出减少, 致使血尿素相对地升高。当给予大鼠皮下注入清开灵 I 号注射液时 (治疗组), 血氨、血乳酸水平比肝损伤组明显地下降, 血尿素水平亦下降, 后者的下降可能由于动物注入清开灵 I 号注射液后, 氨的生成减少、或氨变成其它含氮物质 (蛋白质), 抑或是经清开灵 I 号注射液的作用改善了肾脏功能, 增加了尿的排出。清开灵 I 号注射液具有使血氨和血乳酸下降、恢复肝脏功能的作用, 这可能是减轻肝性昏迷的主要机理之一。

另外, 腹腔内静脉注射四氯化碳造成肝损伤的大鼠经清开灵 I 号注射液的治疗, 也获得相同的结果。

在脑组织的物质代谢中, 人们也特别注意到 5-羟色胺⁽¹²⁾、 γ -氨基丁酸、核苷⁽¹³⁾、L-多巴等物质, 引

起肝性脑病的中毒因子除氨及胺类之外, 尚有氨基酸经肠道细菌作用生成的硫醇、吲哚、甲基吲哚、酚及低级脂肪酸⁽¹⁴⁾等物质。总之, 清开灵注射液的作用机制尚须从各方面 (假神经递质) 进行研究。

承陈文为副教授对本文提出宝贵意见, 特此致谢

参 考 文 献

- (1) 北京中医学院中药系安宫牛黄丸剂改小组: 安宫牛黄丸新剂型的研究。新医药学杂志 (8):12, 1975。
- (2) 秦皇岛市传染病院等: 内部资料, 1974。
- (3) 北京市第一传染病院: 中西医结合免疫疗法治疗病毒性肝炎慢性重症黄疸腹水型的初步探讨。待发表, 1979。
- (4) 北京中医学院组织胚胎教研室: 清开灵 I 号对实验性肝损伤保护作用的组织学、组织化学研究。中医药研究参考 1:13, 1979。
- (5) 童坦君、刘具职: 肝癌大鼠的解毒及解毒机制的初步研究。生物化学与生物物理学报 5:618, 1956。
- (6) 广东省人民医院检验科: 临床检验操作规程 (生化部分), 1976。
- (7) King EJ, et al: Micro—Analysis in Medical Biochemistry. P 14, J&A churchill ltd London, 1956。
- (8) Summers Kill WHJ, et al: Ammonio metabolism in the gut. Amer J Clin Nutr 23:633, 1970。
- (9) 木谷威男: 肝脏昏迷的生化, 肝脏, P 590, 高桥忠雄编, 医学书院, 1964。
- (10) 久保田池: 四氯化碳的经口投与后生体内に於ける運命と作用とに就いて。日内会志 13:861, 大15。
- (11) Kidney: Failure in liver disease. Brit Med J 1:1375, 1978。
- (12) Borges FF, et al: Serotonine metabolism in liver disease. J clin Invest 38:715, 1959。
- (13) Geiger A, et al: Cytidine and uridine requirement of the brain. J Neurochem 1:93, 1956。
- (14) 高桥善弥太: 肝疾患と脂質代謝, 肝疾患と脂肪攝取の問題。日消志 60:571, 1963。
- (15) Maspero H: Les Procédés de “Nourir le Principe Vital” dans le religion Taoiste ancienne, Journal Asiatique P 177—252, Avril-Juin, 1937。
- (16) Красносельский ГИ, и др.: Китайская Лечебная гимнастика. Вopr Курор Физиот и ЛФК 1:53, 1957。
- (17) Красносельский ГИ: Древнекитайская гигиеническая гимнастика для лиц пожилого возраста, Воронеж, 1957。
- (18) Rose-Neil S: Acupuncture in “Unconventional Medicine” (Ed. A. Hill), P 62, Crown Publisher, 1978。
- (19) Editorial: Acupuncture in America. Med World News 15(28):35—40, 1974。
- (20) Conference News, Can Med Assoc J 112:356, 1975。
- (21) Waylonis GW: Subcutaneous electrical stimulation (Acupuncture) in the clinical practice of physical medicine. Arch Phys Med Rehab 57 (4):161—165, 1976。
- (22) Yue SS, et al: Acupuncture for the treatment of chronic pain, a controlled study. Arch Phys Med Rehab 57(11):570, 1976。
- (23) Spoerill WZ, et al: Acupuncture. Can Med Assoc J 110:751, 1974。
- (24) Watts AW: The Spirit of Zen, Butler and Tanner, 1936。
- (25) 智顗: 修习止观坐禅法要, 北京图书馆藏本。
- (26) Munsterberg H: Zen and Oriental Art P 13-29, Charles E Tuttle Co, 1971。
- (27) Kleinsorge H, et al: Technik der Relaxation: Selbstentspannung, Veb Gustav Fischer Verlag, 1961。

(上接第68页)