

工程牛黄组方牛黄降压丸与原方剂 对 SHR 血压影响的比较研究

李旭,王蕾,种影影,吕楠,陈卫平*
(天津市医药科学研究所,天津 300020)

[摘要] **目的:**评价工程牛黄组方的牛黄降压丸的降压作用,与原方剂进行疗效比较,为替代原组方中人工牛黄提供药效学依据。**方法:**采用自发性高血压大鼠(SHR)进行降压试验观察,分为模型对照组、原牛黄降压丸组和阳性药对照组,以及新组方牛黄降压丸 80%, 60%, 30%, 10% 替代组。分别灌胃给予各受试药(给药剂量均为 $1.76 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),连续给药 14 d,采用 ALC-NIBP 无创血压测定分析系统,分别测定给药 0, 5 h, 6, 10, 14 d, 停药后 3, 7 d 的血压情况。**结果:**给药 5 h 后,80% 工程牛黄替代组出现明显降血压作用[收缩压(SBP, 139.25 ± 19.24) mmHg,舒张压(DBP, 05.69 ± 19.18) mmHg],与对照组[SBP(187.2 ± 19.24) mmHg, DBP(123.76 ± 18.43) mmHg]比较,具有统计学差异($P < 0.05$)。80% 和 60% 工程牛黄替代组均于给药 6 d 表现出明显的降血压作用,与模型对照组比较 SBP 具有统计学差异($P < 0.01$),于给药 6 d 后各组降低 DBP 效果趋于稳定,以 80% 和 60% 工程牛黄替代组最为明显。停药后各受试组大鼠仍表现出明显的降压作用,以 80% 工程牛黄替代组降压效果最佳。80% 和 60% 工程牛黄替代组具有明显的减慢心率的作用,此作用与工程牛黄含量比例成正比,而原组方未见该作用。**结论:**工程牛黄替代品的牛黄降压丸组方的降压作用优于原组方,具有用量少、起效快、作用强且作用持久的优点。

[关键词] 工程牛黄; 人工牛黄; 牛黄降压丸; SHR; 降血压; 心率

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)15-0265-04

[doi] 10.11653/syfy2013150265

Comparative Study between Effect of Engineering Niu Huang Jiangya Capsule and Artificial Niu Huang Jiangya Capsule on Blood Pressure in Spontaneously Hypertension Rats

LI Xu, WANG Lei, CHONG Ying-ying, LV Nan, CHEN Wei-ping*
(Tianjin Medicine Institute, Tianjin 300020, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the effect of engineering Niu Huang Jiangya capsule (ENJC) and artificial Niu Huang Jiangya capsule (ANJC) on blood pressure in spontaneously hypertension rats (SHR). **Method:** SHR were randomly divided into 7 groups in accordance with the systolic blood pressure: model control

[收稿日期] 20120810(005)

[第一作者] 李旭,在读研究生,从事心脑血管药理学研究,Tel:022-27236137,E-mail:lixu198423@yahoo.cn

[通讯作者] * 陈卫平,副研究员,从事心脑血管药物研发,Tel:022-27236137,E-mail:weiping9679@163.com

- [8] 曹燕,庞市宾,徐磊,等. 金鸡菊提取物体外抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12):144. [11] 牛英鹏,吕莹,曲天敏,等. 淫羊藿对羟基自由基的清除作用[J]. 中国运动医学杂志, 2000, 19(4):434.
- [9] 韦霄,黄兴贤,蒋运生,等. 3 种金花茶组植物提取物的抗氧化活性比较[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(5):639. [12] 袁海龙,肖小河. 论口服中药日服次数合理性研究的现状与方法[J]. 世界科学技术——中医现代化, 2011, 13(12):952.
- [10] 赵启鹏,兰莎,张艺,等. 糖脉康颗粒清除 DPPH 自由基的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21):41.

[责任编辑 李玉洁]

group, ANJC group and enalapril control group, and ENJC groups (80%, 60%, 30%, 10% alternated respectively). SHR were given oral drug for 14 d accordingly. ALC-NIBP blood pressure monitoring system was employed to determine blood pressure before drug given and at 5 h, 6, 10, 14 d after drug administration, the blood pressure of 3, 7 d after drug application was also monitored. **Result:** After administration of 5 h, the rats of 80% ENJC showed significantly ($P < 0.05$) reduced blood pressure [(SBP (139.25 ± 19.24) mmHg, DBP (105.69 ± 19.18) mmHg)], compared with the control group [(SBP (187.2 ± 19.64) mmHg, DBP (123.76 ± 18.43) mmHg)]. On the 6 d of administration 80% and 60% ENJC showed significant antihypertensive effect, and the reduced DBP tended to be stable. After taking drug for 14 days, the hypotensive effect of 80% ENJC was most obvious. ENJC of 80% and 60% had significant effect of reducing heart rate. The function is proportional to the dose of ENJC. ANJC did not show the similar effect. **Conclusion:** Antihypertensive effect of ENJC is better than the original ANJC, with less dose, rapid onset and stonger and lasting effect.

[Key words] engineering bezoar; artificial bezoar; Niu Huang Jiangya capsule; SHR; antihypertensive effect; heart rate

牛黄降压丸是达仁堂独家研制生产的纯中药制剂,由牛黄、羚羊角、珍珠、水牛角浓缩粉、白芍、决明子、川芎、黄芩素、郁金、冰片、甘松、薄荷等 20 多味中药组成。有清心化痰、平肝安神功效。通过多年的临床应用验证已成为我国中药降压药的首选,牛黄作为其主药之一,功效卓著。经统计,我国用牛黄做原料的国家标准药品共有 600 多个品种,市场需求量很大。但我国天然牛黄产量低、资源匮乏。在 2000 - 2002 年国家药监局已发文禁用天然牛黄,这更加剧了天然牛黄的供需矛盾。很多应该用天然牛黄投料的中成药都改由胆酸^[1]、去氧胆酸^[2]、牛胆粉、胆红素、微量元素等原料混合而成的人工牛黄^[1-2],或几种牛黄掺兑使用,使牛黄应用产生混乱,影响了牛黄传统中药的地位,急需对牛黄市场进行规范。近年来,通过生物技术研制出一种天然牛黄的替代品——工程牛黄^[3]。本研究对工程牛黄不同含量配比的牛黄降压丸与原组方对高血压大鼠 (SHR) 降压作用效果进行比较。为工程牛黄作为替代品提供药理学依据。

1 材料

1.1 动物 SHR, 雄性, 每组 12 只, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 体重 260 ~ 280 g。许可证号 SCXK(京)2005-0002。

1.2 药物 原牛黄降压丸(含人工牛黄)棕黄色粉末, 由天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂提供, 专为试验用样品, 批号 SH08001; 新组牛黄降压丸(含工程牛黄, 替代人工牛黄)棕黄色粉末, 替代含量比例有 80%, 60%, 30%, 10% 替代 4 种, 由天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂提供, 专为试验用样品, 批号 SH08002, SH08003,

SH08004, SH08005; 马来酸依那普利片^[5](阳性对照药), 扬子江药业集团江苏制药股份有限公司生产, 批号 07112301。

1.3 仪器 ALC-NIBP 型无创血压测定分析系统, 恒温实验箱(上海奥尔科特生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 分组与给药 试验开始前 1 周, 将 SHR 放入无创血压测定分析系统固定器适应性测定血压 1 周, 每只大鼠至少测定 3 次, 选择 3 次血压差值不超过 $\pm 10\%$ 的大鼠为合格动物, 按照大鼠 3 次收缩压 (SBP) 平均值随机分为 7 组, 分别为模型对照组、80%, 60%, 30%, 10% 替代组、原牛黄降压丸组、依那普利阳性对照组。各牛黄降压丸剂量为 $1.76 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (为临床人用剂量的 80 倍), 除首日剂量为 $0.88 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 外, 此后每天给药 2 次, 给药间隔为 5 h, 2 次给药量均为 $0.88 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 依那普利剂量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (为人临床常用剂量的 30 倍), 均灌胃给药, 模型对照组灌胃蒸馏水, 体积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.2 血压测定 本降压实验包括观察多次给药后 0 h, 5 h, 6, 10, 14 d 的慢性降压作用及停药 3, 7 d 后血压变化情况。由于血压测定仪在 1 h 内可测定数量有限, 为保证试验的准确与客观性, 按照“平行原则”, 进行大鼠血压的测定, 次日上午药前测血压陆续测定各大鼠药后各时间点血压。

2.3 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 对 SHR SBP 的影响 80% 工程牛黄替代组于首次给药 5 h 后, 出现明显的降低 SBP 的作用 [SBP

(139.25 ± 19.24) mmHg], 与对照组 [(SBP (187.21 ± 19.64) mmHg)] 比较, 差异显著 ($P < 0.05$)。且工程牛黄各替代组具有明显的量效关系, 原方降低 SBP 效果仅与低含量工程牛黄配比组效果相仿。给药 6~14 d 后, 80% 和 60% 工程牛黄替代组均表现出明显的降血压作用, SBP 明显低于模型组 ($P < 0.01, P < 0.05$)。停药后 7 d, 80% 工程牛黄替代组仍有明显降压作用。见表 1, 图 1。

3.2 对 SHR DBP 的影响 80% 工程牛黄替代组于

首次给药 5 h 后, 出现明显的降 DBP 的作用 [DBP (105.69 ± 19.18) mmHg], 与模型组 [(DBP (123.76 ± 18.43) mmHg)] 比较, 差异显著 ($P < 0.05$)。工程牛黄各替代组表现出明显的量效关系, 而原方组降低 DBP 的作用反与高含量的工程牛黄配比组相仿。给药 6~14 d, 各组降低 DBP 效果均趋于稳定, 以 80% 和 60% 工程牛黄替代组最为明显 ($P < 0.05$)。停药后, 各组降低 DBP 的作用不明显。见表 2, 图 2。

表 1 两种牛黄降压丸样品对 SHR SBP 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

mmHg

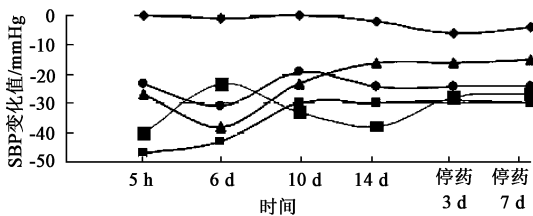
组别	剂量 /g·kg ⁻¹	SBP						
		0 h	5 h	6 d	10 d	14 d	停药 3 d	停药 7 d
模型	0	183.24 ± 10.16	187.21 ± 19.64	182.44 ± 12.31	182.93 ± 10.51	181.58 ± 9.96	177.62 ± 9.94	179.81 ± 10.12
工程牛黄 80% 替代	1.76	186.58 ± 6.06	139.25 ± 19.24 ²⁾	143.40 ± 7.97 ²⁾	156.52 ± 12.39 ¹⁾	156.92 ± 17.00 ¹⁾	157.44 ± 15.46 ¹⁾	157.48 ± 13.82 ¹⁾
工程牛黄 60% 替代	1.76	181.84 ± 10.79	154.10 ± 18.54	143.28 ± 15.05 ¹⁾	158.72 ± 20.54 ¹⁾	165.02 ± 24.14	165.49 ± 13.53	166.29 ± 13.20
工程牛黄 30% 替代	1.76	180.03 ± 8.15	158.20 ± 18.99	154.76 ± 18.44	166.51 ± 14.90	165.39 ± 21.11	164.87 ± 14.49	166.72 ± 13.81
工程牛黄 10% 替代	1.76	182.67 ± 9.08	167.84 ± 17.45	174.12 ± 19.70	155.74 ± 12.17 ²⁾	168.08 ± 16.64	168.71 ± 14.66	162.86 ± 15.48
牛黄降压原方	1.76	181.05 ± 8.54	158.64 ± 23.49	150.39 ± 23.33	162.38 ± 17.57 ¹⁾	157.14 ± 16.36 ¹⁾	157.02 ± 11.02 ¹⁾	168.40 ± 10.51
依那普利	0.01	181.56 ± 10.50	140.99 ± 27.78 ¹⁾	158.13 ± 25.07	147.80 ± 23.37 ²⁾	142.64 ± 17.65 ²⁾	152.54 ± 17.95 ²⁾	154.14 ± 15.34 ²⁾

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。1 mmHg = 0.133 kPa。

表 2 两种牛黄降压丸样品对 SHR DBP 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

mmHg

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	DBP						
		0 h	5 h	6 d	10 d	14 d	停药 3 d	停药 7 d
模型	0	137.11 ± 10.53	123.76 ± 18.43	128.62 ± 12.57	138.54 ± 14.67	136.38 ± 8.37	134.58 ± 11.04	133.79 ± 7.35
工程牛黄 80% 替代	1.76	138.46 ± 6.57	105.69 ± 19.18 ¹⁾	118.19 ± 12.74 ¹⁾	120.11 ± 10.79 ¹⁾	120.62 ± 11.85 ¹⁾	123.75 ± 11.11	124.76 ± 7.95
工程牛黄 60% 替代	1.76	130.60 ± 10.13	116.50 ± 17.42	116.15 ± 20.62	118.34 ± 12.63 ¹⁾	123.22 ± 17.44	126.05 ± 7.87	122.26 ± 10.99
工程牛黄 30% 替代	1.76	132.51 ± 17.46	121.43 ± 16.53	119.56 ± 14.83	122.99 ± 11.72	124.14 ± 15.10	121.61 ± 15.10	124.41 ± 10.80
工程牛黄 10% 替代	1.76	136.64 ± 10.24	120.31 ± 11.41	128.45 ± 11.51	116.02 ± 9.19 ²⁾	126.95 ± 9.40	126.55 ± 12.36	125.31 ± 18.13
牛黄降压原方	1.76	133.92 ± 8.29	130.12 ± 14.13	116.21 ± 15.01	122.14 ± 10.40 ¹⁾	119.61 ± 11.11 ¹⁾	120.29 ± 7.78 ¹⁾	120.14 ± 11.79
依那普利	0.01	133.59 ± 9.22	108.22 ± 22.54	114.51 ± 13.21	113.45 ± 17.76 ²⁾	109.38 ± 11.48 ²⁾	110.48 ± 14.30 ²⁾	116.58 ± 13.78 ³⁾



—◆— 模型组; —■— 80% 工程牛黄替代 1.76 g·kg⁻¹ 组;
—▲— 80% 工程牛黄替代 1.76 g·kg⁻¹ 组;
—●— 原牛黄降压 1.75 g·kg⁻¹ 组;
—×— 依那普利 0.01 g·kg⁻¹ 组 (图 2~3 同)

图 1 牛黄降压丸对 SHR 的 SBP 变化的影响

3.3 对心率的影响 80% 和 60% 工程牛黄替代组大鼠于给药前期表现明显的减慢心率的作用, 于给

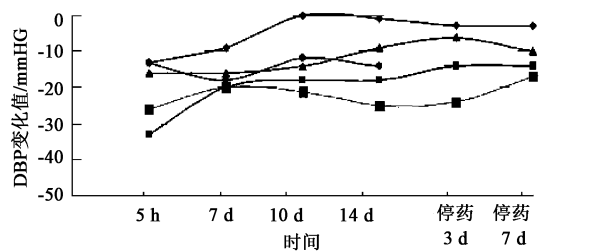


图 2 牛黄降压丸对 SHR 的 DBP 变化的影响

药 10 d 后进入药效平稳期, 有效控制大鼠心率的加快。此作用与工程牛黄含量比例成正比, 而原方剂未见明显的减慢大鼠心率的作用。见图 3。

4 讨论

体外培育牛黄是模拟体内胆结石形成的原理和

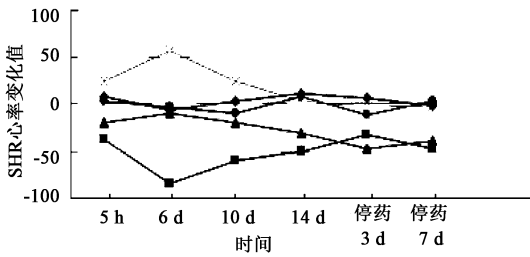


图 3 牛黄降压丸对 SHR 心率变化的影响

生物化学过程,运用现代生物工程技术,在体外培育的牛胆红素钙结石。指纹图谱研究结果表明,与替代品相比,体外培育牛黄与天然牛黄成分相近,且质量标准更稳定^[6-7]。体外培育牛黄的药理学研究证实其具有镇痛^[8]、抗炎^[8]、抗氧化^[9]等作用。而对体外培育牛黄进行组方配伍的药效研究是证明该替代品确实有效的实验依据^[9]。本实验旨在对不同含量配比的工程牛黄进行降 SBP 作用的比较,探讨其作用特点及量效关系。实验结果表明,工程牛黄组方的牛黄降压丸的降 SBP 效果更为显著,优于原方组,与原方比较,具有起效快、作用强等特点,据此指导临床可缩短服药周期、降低药量,减少不良反应的发生;实验结果表明工程牛黄降压丸降低 DBP 作用明显,结合工程牛黄替代组心率明显减慢的作用综合分析,工程牛黄降压丸可改善心舒末期存血量减少,促进舒张完全。而是否通过改善动脉管壁弹性起作用,需通过进一步实验证实。从给药开始,80%和60%配比工程牛黄的牛黄降压丸组表现出明显减慢心率的作用,且减慢程度强于原方组,推测与该组方可降低心肌耗氧量,保护心脏有关。天然牛黄中起降压作用的成分很多,研究最多的是牛磺酸,牛磺酸的降压作用既作用于中枢也作用于外周^[10],减慢心率、降低心肌耗氧量的作用即是通过作用于外周达到降压的效果,因此可推测工程牛黄中含有的牛磺酸应远高于原方中牛黄的含量。

综上,工程牛黄替代样品降压作用具有用量少、起效快、作用强且持久等特点;同时也发现其有减慢大鼠心率的作用。在牛黄降压丸组方的研究中发现其不仅具有降压、镇静、安神的作用,而且也具有抗血小板聚集^[11]、降血脂^[12]的作用。因此,对工程牛黄进行有效的组方配伍,观察其在心功能^[13]及血流

动力学方面的影响,是今后工作的重点,可为工程牛黄替代人工牛黄提供更多的药效依据。

[参考文献]

- [1] 王志强,刘海津.薄层扫描法测定天然牛黄与人工牛黄胆酸含量比较[J].中医学报,2011,26(10):161.
- [2] 叶蓓蓓,潘莉,王栋,等.薄层扫描法同时测定人工牛黄中胆酸及猪去氧胆酸的含量[J].药物分析杂志,2010,30(4):706.
- [3] 王文燕,赵强,张铁军,等.牛黄降压丸的高效液相指纹图谱研究[J].中草药,2010,41(1):56.
- [4] 柳占彪,马涛,贾晓旭,等.牛黄降压方对自发性高血压大鼠肾小动脉影响的病理形态观察[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(17):122.
- [5] 岳竹君,邹志东,李冬华,等.益肾法对自发性高血压大鼠血压和肾血流影响的研究[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(1):42.
- [6] 丁岗,盛龙生,李明慧,等.体外培育牛黄与天然牛黄指纹图谱的比较研究[J].中国天然药物,2004,2(5):309.
- [7] 李珂,齐永秀,于秀玲,等.酶促牛黄与天然牛黄 HPLC 指纹图谱比较研究[J].中成药,2011,33(1):1.
- [8] 张韶辉,张延琳,王文权,等.体外培育牛黄镇痛作用的电生理机制[J].中国药理学通报,2008,24(8):1073.
- [9] 王蕾,孙宝珍,吕楠,等.工程黄与人工黄之牛黄降压丸单次给药对自发性高血压大鼠降压作用比较观察[J].中成药,2010,32(9):1598.
- [10] 吴晏,曹红波,高秀梅,等.天然牛黄对自发性高血压大鼠收缩压及脑组织中 SOD、MDA 和 NO 含量的影响[J].辽宁中医药大学学报,2011,13(5):48.
- [11] 任建勋,林成仁,王敏,等.牛黄降压丸对正常大鼠血小板功能的影响与作用机制的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(11):34.
- [12] 蔡秉惠.牛黄降压丸联合卡托普利治疗原发性高血压疗效观察[J].天津药学,2009,21(4):36.
- [13] 毛秉豫,黄显章.加味四物汤降压作用及对左心室壁厚影响的研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(11):171.

[责任编辑 李玉洁]