

安宫清开灵对自发性高血压大鼠脑出血模型前炎症细胞因子与黏附分子含量的影响^{*}

□徐 雅 李澎涛^{**} 陈 杰 贾 旭

(北京中医药大学神经科学研究中心 北京 100029)

摘 要:目的:观察安宫清开灵注射液对胶原酶诱导的自发性高血压大鼠 (SHR)脑出血模型脑组织中前炎症细胞因子 TNF- α 、L-1 β 以及血清中黏附分子 sICAM-1 含量的影响,探讨安宫清开灵注射液阻抑脑出血后炎症反应的作用环节以及作用效果。方法:基底核注射胶原酶法复制大鼠脑出血模型;应用放射免疫法检测脑组织匀浆中 TNF- α 和 L-1 β 含量的变化,酶联免疫吸附方法检测血清中 sICAM-1 含量。结果:脑出血 48h 和 7d,大鼠脑组织匀浆中 TNF- α 和 L-1 β 的含量以及血清中 sICAM-1 含量均显著升高;安宫清开灵注射液各剂量组脑内 TNF- α 和 L-1 β 的含量以及血清中 sICAM-1 含量显著低于模型组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论:安宫清开灵注射液可以显著抑制前炎症细胞因子 TNF- α 和 L-1 β 的生成,以脑出血急性期 (出血后 24h) 的抑制作用较突出,也可以阻抑黏附分子 sICAM-1 的合成与分泌,并随着用药剂量增加而效应增强的剂量依赖关系。可见安宫清开灵注射液对炎症反应的启动具有显著的阻抑作用。

关键词:脑出血 炎症反应 前炎症细胞因子 黏附分子 安宫清开灵注射液

急性脑出血 (Intracerebral Hemorrhage, ICH) 是严重威胁人类健康的主要疾病之一,国际最新统计数据表明,每 12 秒钟就有 1 位脑卒中新发病者,每 21 秒钟就有 1 人死于脑卒中,而在我国每年约有 140 余万人发生急性脑出血,病死率约为 40% ~ 60%,存活者中约 70% ~ 80% 留有病残。而目前依然缺乏明显有效

的治疗脑出血的手段,即使通过手术等综合性抢救措施挽救了患者的生命,但是往往留下许多后遗症,患者生活质量得不到保障。近几年来炎症反应在急性中枢神经系统疾病如出血和缺血性中风、颅脑损伤、急性脱髓鞘和病毒感染等中发挥的作用受到广泛的重视,炎症反应可以导致继发性脑损伤^[1,2]。

为了寻求更加有效的治疗手段,我们采用胶原酶诱导的自发性高血压大鼠脑出血模型,观察安宫清开

收稿日期:2007-03-07

修回日期:2007-03-22

^{*} 科技部高技术研究发展计划 (863 计划) 项目 (2002AA2Z3220):清开灵注射液的二次开发,负责人:李澎涛。

^{**} 联系人:李澎涛,教授,本刊学术副主编,博士生导师,主要研究方向:神经病理学与实验方剂学研究; Tel: 010-64287015, E-mail: Lptao@263.net

灵注射液干预启动炎症反应的关键细胞因子 - 前炎症细胞因子和黏附分子的作用特征,为出血性中风的治疗提供新的思路。

一、材料与方法

1 实验动物及分组

健康自发性高血压大鼠 60 只,雌雄各半,体重 250 ~ 300 g,购于北京维通利华实验动物中心,合格证号 SCKX(京)2002 - 0003。将动物随机分为正常组(N)、模型组(M)、低剂量组(QL)、中剂量组(QM)、高剂量组(QH)、阳性药对照组(C)6组,每组 10 只动物。

2 试剂及器材

主要试剂: 型胶原酶(美国 Sigma 公司)。

仪器: SN - 2 型脑立体定位仪(日本 NARISHIGE 公司产品);微量进样器(上海保西玻璃仪器厂);电动匀浆器 DY891 型(宁波新芝生物科技股份有限公司);电子分析天平 AE160 型(瑞士 METTLER 公司);低温离心机 DDL - 5 型(上海安亭科学仪器厂);放射免疫 γ 计数器 SN - 682 型(上海核福光电仪器有限公司)。

3 大鼠脑出血模型的建立

参照 Rosenberg^[3]等报道的方法,大鼠经水合氯醛(0.4g/kg)腹腔注射麻醉后,按包新民等^[4]的方法将大鼠固定在立体定位仪上,取头皮正中切口,剪开骨膜,暴露前囟,于前囟后 1mm,中线向左旁开 4mm 处钻一直径为 1mm 的小孔,用固定于立体定位仪的微量进样器沿钻孔进针,进针深度为 5mm(即尾状核位置),缓慢注射 型胶原酶 0.5U(用等渗盐水配制成 1U/ μ l)。注射后留针 5min,退针后缝合皮肤,回笼饲养,给予正常进食、进水,室温控制在 25 $^{\circ}$ C。入组大鼠均为实验结束时取脑证实颅内明确血肿。

4 给药方式及途径

采用腹腔注射给药。除正常对照组外,其余各组造模后立即给药一次,以后每隔 24h 给药一次。安宫清开灵注射液低剂量组为 0.1mL/100g 体重;中剂量

组为 0.2mL/100g 体重;高剂量组为 0.4mL/100g 体重;阳性对照组腹腔注射清开灵注射液 0.3mL/100g 体重;各给药组均以生理盐水稀释至 0.9mL/100g 体重;模型组腹腔注射生理盐水 0.9mL/100g 体重。安宫清开灵注射液(简称安宫清开灵,由栀子苷、黄芩苷、珍珠母、猪去氧胆酸等组成,药物组分含量为 90mg/mL),清开灵注射液(简称清开灵,由胆酸、珍珠母、猪去氧胆酸、栀子、水牛角、板蓝根、黄芩苷、金银花组成,药物组分及生药含量为 313mg/mL),两药均由北京中医药大学药厂提供。

5 取材处理

造模后 48h 和 7d,大鼠经水合氯醛麻醉,在冰上迅速取出全脑,沿注射胶原酶进针孔,切取针孔前后约 2mm 的脑组织(约 400mg),置入预冷的 0.9% 的生理盐水中进行匀浆(0.25mL/100mg),3500rpm,20min,取上清液,分装, - 80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。

6 样品的测定

放射免疫方法测定脑匀浆中 TNF - α 和 IL - 1 β 含量,试剂盒由中国人民解放军总医院东亚放免研究所提供。酶联免疫吸附方法测定血清中 sICAM - 1 含量,ELISA 检测试剂盒购于美国 R&D 公司。均严格按照试剂盒说明书操作。

7 统计学处理

各组实验数据用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间显著性检验采用 t 检验。

二、结果

1 脑出血后脑组织 TNF - α 含量的变化以及安宫清开灵注射液对其含量的影响

脑出血后 48h 和 7d,脑组织中 TNF - α 的含量显著升高 ($P < 0.01$),出血后 48h 升高的幅度大于出血后 7d;阳性对照组(清开灵注射液治疗组)脑组织中 TNF - α 的含量在出血后 48h 与模型组比较略有下降趋势,但与出血后 7d 相似,与模型组之间的差异没有统计学意义 ($P > 0.05$);安宫清开灵注射液各剂量组在出血后 48h,脑组织中 TNF - α 的含量显著低于模

型组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 并呈现出剂量依赖关系, 大剂量组脑内 $\text{TNF-}\alpha$ 的含量低于阳性对照组 ($P < 0.01$), 而出血后 7d 与模型组比较其差异没有统计学意义 ($P > 0.05$)。如表 1 所示。

2 脑出血后脑组织 $\text{L-1}\beta$ 含量的变化以及安宫清开灵注射液对其含量的影响

与 $\text{TNF-}\alpha$ 的表达规律相似, 脑出血后脑内 $\text{L-1}\beta$ 的含量显著升高 ($P < 0.01$)。阳性对照组 (清开灵注射液治疗组) 在出血后 48 小时脑组织中 $\text{L-1}\beta$ 含量显著低于模型组 ($P < 0.01$)。而在出血后 7d, 与模型组比较其差异没有统计学意义 ($P > 0.05$); 安宫清开灵注射液各治疗组在脑出血后 48h 和 7d 脑内 $\text{L-1}\beta$ 的含量与模型组比较差异显著 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 其中出血后 48h 各剂量组脑内 $\text{L-1}\beta$ 的含量下降显著, 大剂量组与阳性对照组比较差异显著 ($P < 0.01$), 而出血后 7d, 中、大剂量组脑内 $\text{L-1}\beta$ 的含量显著低于阳性对照组 ($P < 0.05$)。如表 1 所示。

3 脑出血后血清 sICAM-1 含量的变化以及安宫清开灵注射液对其含量的影响

脑出血发生后, 血清中的 sICAM-1 的含量显著增加 ($P < 0.01$), 一直持续到出血后的 7d; 阳性对照组 (清开灵注射液治疗组) 在出血后 48h 血清 sICAM-1 含量与模型组比较略有下降的趋势, 但无统计学意义, 而在出血后 7d, 阳性对照组血清 sICAM-1 含量显著低于模型组 ($P < 0.01$); 出血后 48h 和 7d, 安宫清开灵注射液各治疗组血清中 sICAM-1 的含量与模型组比较显著下降 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 并呈现出剂量依

赖关系。大剂量组血清中 sICAM-1 的含量显著低于阳性对照组 ($P < 0.01$)。如表 1 所示。

三、讨 论

中枢神经系统是一个免疫豁免器官, 受到有限的免疫细胞的监视; 而潜在性损伤发生后, 固有的小胶质细胞被激活, 诱导趋化因子的产生和外周免疫细胞的募集, 如出血性中风伴有强烈的炎症反应, 其中首先是白细胞浸润, 继而发生巨噬细胞的积聚^[5]。白细胞和巨噬细胞可以表达炎性分子, 这些炎性分子能够通过复杂的级联反应损伤中枢神经系统^[6-8]。在炎症反应的初期, 前炎症细胞因子如 $\text{L-1}\beta$ 和 $\text{TNF-}\alpha$ 可以激活血管内皮细胞, 使其募集巨噬细胞、中性粒细胞和 T 淋巴细胞穿过血脑屏障^[9]。

我们前期的免疫组化研究结果显示, 脑出血的早期, 安宫清开灵注射液可以显著抑制出血灶及周围区 $\text{L-1}\beta$ 、 $\text{TNF-}\alpha$ 和 ICAM-1 的表达^[10]。本研究中, 安宫清开灵注射液各剂量组在脑出血的早期 (即出血后的 24h) 能够显著抑制脑组织匀浆中前炎症细胞因子 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{L-1}\beta$ 以及血清中黏附分子 sICAM-1 的合成与分泌, 表明安宫清开灵注射液对炎症反应的启动具有一定的抑制作用。不但抑制了前炎症细胞因子 $\text{TNF-}\alpha$ 和 $\text{L-1}\beta$ 的合成与分泌, 并且对在炎症反应最初阶段发挥重要作用的黏附分子 sICAM-1 具有显著的阻抑作用。出血后 7d, 安宫清开灵注射液对脑组织匀浆中 $\text{L-1}\beta$ 和血清中 sICAM-1 的合成与分泌仍存在持续的抑制作用。

表 1 脑出血 48h 和 7d 脑组织匀浆中 $\text{TNF-}\alpha$ 和 $\text{L-1}\beta$ 含量和血清中 sICAM-1 含量的变化

N		脑出血 48h			脑出血 7d		
		$\text{TNF-}\alpha$ (ng/mL)	$\text{L-1}\beta$ (ng/mL)	sICAM-1 (pg/mL)	$\text{TNF-}\alpha$ (ng/mL)	$\text{L-1}\beta$ (ng/mL)	sICAM-1 (pg/mL)
N	10	1.715 $\pm$ 0.222	0.098 $\pm$ 0.015	400.96 $\pm$ 93.73	1.715 $\pm$ 0.222	0.098 $\pm$ 0.015	399.41 $\pm$ 71.03
M	10	3.076 $\pm$ 0.639	0.134 $\pm$ 0.023	675.60 $\pm$ 96.70	2.180 $\pm$ 0.221	0.123 $\pm$ 0.027	512.34 $\pm$ 41.43
QL	10	2.579 $\pm$ 0.338	0.095 $\pm$ 0.014	398.39 $\pm$ 82.77	2.126 $\pm$ 0.413	0.099 $\pm$ 0.045	455.70 $\pm$ 83.66
QM	10	2.629 $\pm$ 0.238	0.091 $\pm$ 0.021	508.54 $\pm$ 54.95	2.222 $\pm$ 0.357	0.097 $\pm$ 0.025	317.45 $\pm$ 61.78
QH	10	2.446 $\pm$ 0.346	0.082 $\pm$ 0.014	437.62 $\pm$ 30.50	2.217 $\pm$ 0.501	0.090 $\pm$ 0.039	355.80 $\pm$ 81.46
C	10	2.882 $\pm$ 0.459	0.104 $\pm$ 0.019	557.32 $\pm$ 68.42	2.255 $\pm$ 0.310	0.126 $\pm$ 0.039	370.68 $\pm$ 49.59

注: 与正常组比较 $P < 0.05$, $P < 0.01$; 与模型组比较: $P < 0.05$, $P < 0.01$; 与阳性对照药比较: $P < 0.05$, $P < 0.01$ 。

1 安宫清开灵注射液对 TNF - α 的作用特征

在正常的情况下, TNF - α 的表达是通过 mRNA 的快速转录来进行调节的^[11]。然而,在脑炎症反应过程中,巨噬细胞和小胶质细胞被激活产生高水平的 TNF - α 。TNF - α 也可由星形胶质细胞^[12-14]释放,少部分由神经元分泌^[15]。由于在炎症反应过程中 TNF - α 是由许多细胞释放的,因此被认为是炎症反应过程中重要的神经毒性介质^[6,16],大量研究表明实验性和临床脑出血后均可以快速诱发前炎症细胞因子的产生,脑实质和脑脊液中均可检测到 TNF - α 的存在^[17]。在中枢神经系统内 TNF - α 的水平急剧升高的情况下,如缺血^[6,7]与出血性中风^[18,16]或多发性硬化^[19], TNF - α 可以启动一系列的细胞中毒性级联反应^[7,8]。可见前炎症细胞因子 TNF - α 作为炎症应答的关键介质在脑出血的病理过程中发挥病理性损伤作用^[20],因此减轻 TNF - α 的有害作用是众望所归。针对 TNF - α 这一靶点,以大剂量组的作用效果比较突出,并发现药物发挥作用的时间是在脑出血急性期(出血后 24h)。

尽管 TNF - α 在脑出血过程中发挥致病性作用,但是很显然 TNF - α 对维持正常的生长和发育是必需的,其中包括神经元和神经胶质的生命维持和存活^[21]。几位研究者证实 TNF - α 在缺血性应激中发挥神经保护作用^[21,22]。因此,无论何时脑实质内 TNF - α 以结构性水平存在都是必要的。在出血诱发后,安宫清开灵注射液在出血早期可以减少 TNF - α 的表达如 TNF - α 水平在脑出血诱发后显著下降,而在出血诱发后 7d,安宫清开灵注射液能够有效的调节 TNF - α 的产生,没有清除细胞存活所需要的那部分以结构性水平存在的 TNF - α ,因此在脑组织内仍保持一定水平的 TNF - α 。相关的研究显示, TNF - α 受体基因敲除的脑缺血和癫痫模型小鼠身上,脑损伤反而加重^[21],可能是由于神经元缺乏 TNF - α 受体,导致其无法结合病理生理性应激反应所必需的结构性的 TNF - α 所致,由此可见安宫清开灵注射液对 TNF - α 的合成和分泌过程具有良性调节作用,既可以抑制 TNF - α 的急剧性升高对脑组织的继发性损伤,又可以保证结构性水平 TNF - α 对组织的保

护作用。

2 安宫清开灵注射液对 IL - 1 β 的作用特征

大量的研究显示 IL - 1 的增加可以加重缺血后的继发性损害,而减少 IL - 1 反应的因素可以降低损伤的程度^[23,24]。另一方面,阻断 IL - 1R1 的信号传导可以保护脑细胞免受中风导致的继发性损伤,可以减轻脑水肿和免疫细胞的募集,同时可以抑制 NOS 介导的自由基损伤^[25]。三个剂量的安宫清开灵注射液对脑出血后 IL - 1 β 的抑制作用都比较突出,虽然在出血后 7d 仍有持续的抑制作用,但其在脑出血的早期(出血后 24h)抑制作用的强度更大。

3 安宫清开灵注射液对 sICAM - 1 的作用特征

而 ICH 后血肿周围炎症反应的前提条件是炎症细胞粘附于血管内皮细胞。黏附分子是介导粘附的重要因素,其中起核心作用的是细胞间黏附分子(ICAM - 1),它是表达在血脑屏障内皮细胞的一种跨膜糖蛋白,介导炎症细胞参与血脑屏障内皮细胞损害的病理过程。正常情况下, ICAM - 1 可以在内皮细胞有低水平的表达,但在毒性细胞因子,如 TNF - α 、IL - 1、IFN - γ 等刺激下表达可明显增高,可使激活的小胶质细胞与 ICAM - 1 阳性神经元相黏附,引起神经元损伤^[26]。ICAM - 1 还可以从血管内皮细胞表面脱落,成为可溶性 ICAM - 1 分子(soluble ICAM - 1, sICAM - 1),但仍保持与 LFA - 1 结合的功能^[27],因此血中 sICAM - 1 含量的变化可以间接反应 ICAM - 1 的变化。针对 sICAM - 1 这一靶点,安宫清开灵注射液的阻抑效果与用药的剂量之间存在明显的量效关系,随着剂量的增加,药物对 sICAM - 1 的抑制作用增强。安宫清开灵注射液阻抑 sICAM - 1 生成的机制可能与其对前炎症细胞因子 IL - 1 β 和 TNF - α 的抑制作用是密不可分的。通过与阳性对照药清开灵注射液的作用效果进行比较,我们不难发现,安宫清开灵注射液抑制前炎症细胞因子和黏附分子生成的作用优于清开灵注射液,并且其作用效果呈剂量依赖性。

总之,安宫清开灵注射液对脑出血诱发的前炎症细胞因子 TNF - α 和 IL - 1 β 以及黏附分子 sICAM - 1 的急剧升高具有强烈的抑制作用,能够良性调节 TNF - α

的合成与分泌,对脑出血后的炎症反应的启动具有一定的抑制作用。但是其发挥作用的具体机制有待进一步的探讨。

参考文献

- Arvin B, Neville LF, Barone FC, *et al* Brain injury and inflammation: a putative role of TNF alpha *Ann N Y Acad Sci*, 1995, 765 62 ~ 71
- Arvin B, Neville LF, Barone FC, *et al* The role of inflammation and cytokines in brain injury *Neurosci Biobehav Rev*, 1996, 20 (3) 445 ~ 452
- GA. Rosenberg, S Mun - Bryce, M Wesley, *et al* Collagenase - Induced Intracerebral Hemorrhage in Rats *Stroke*, 1990, 21 801 ~ 807.
- 包新民, 舒斯云. 大鼠脑立体定位图谱. 北京: 人民卫生出版社, 1991. 21 ~ 29.
- Marc R. Del Bigio, Hui - Jin Yan, *et al* Experimental intracerebral hemorrhage in rats: magnetic resonance imaging and histopathological correlates *Stroke*, 1996, 27 2312 ~ 2320.
- F. C. Barone, B. Arvin, R. F. White, *et al* Tumor necrosis factor - alpha: a mediator of focal ischemic brain injury. *Stroke*, 1997, 28 1233 ~ 1244
- Feuerstein G, Wang X, Barone FC. Cytokines in brain ischemia: the role of TNF alpha *Cell Mol Neurobiol*, 1998, 18 (6) 695 ~ 701.
- Feuerstein GZ, Liu T, Barone FC. Cytokines, inflammation, and brain injury: role of tumor necrosis factor - alpha *Cerebrovasc Brain Metab Rev*, 1994, 6 341 ~ 360.
- Del Zoppo G, Ginis I, Hallenbeck JM, *et al* Inflammation and stroke: putative role for cytokines, adhesion molecules and NOS in brain response to ischemia *Brain Pathol*, 2000; 10 (1) 95 ~ 112.
- 徐雅, 李澎涛, 陈杰, 等. 安宫清开灵注射液对自发性高血压大鼠脑出血后炎症反应的影响. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2007, 9 (1): 32 ~ 35.
- Gearing AJ, Beckett P, Christodoulou M, *et al* Processing of tumor necrosis factor - alpha precursor by metalloproteinases *Nature*, 1994, 370 555 ~ 557.
- Bethea JR, Gillespie GY, Chung JY, *et al* Tumor necrosis factor production and receptor expression by a human malignant glioma cell line, D54 - MG *J Neuroimmunol*, 1990, 30 (1) 1 ~ 13.
- Chen P, Mayne M, Power C, *et al* The Tat protein of HIV - 1 induces tumor necrosis factor - alpha production: implications for HIV - 1 associated neurological diseases *J Biol Chem*, 1997, 272 (36) 22385 ~ 22388.
- Chung JY, Norris JG, Benveniste EN. Differential tumor necrosis factor alpha expression by astrocytes from experimental allergic encephalomyelitis - susceptible and - resistant rat strains *J Exp Med*, 1991, 173 (4) 801 ~ 811.
- Tchelingirian JL, Quinoneiro J, Booss J, *et al* Localization of TNF alpha and L - 1 alpha immunoreactivities in striatal neurons after surgical injury to the hippocampus *Neuron*, 1993, 10 (2) 213 ~ 224.
- Ffrench - Constant C. Pathogenesis of multiple sclerosis *Lancet*, 1994, 343 271 ~ 275.
- Meistrell ME 3rd, Botchkina GI, Wang H, *et al* Tumor necrosis factor is a brain damaging cytokine in cerebral ischemia *Shock*, 1997, 8 (5) 341 ~ 348.
- Tomimoto H, Akiguchi I, Wakita H, *et al* Glial expression of cytokines in the brains of cerebrovascular disease patients *Acta Neuropathol (Berl)*, 1996, 92 (3) 281 ~ 287.
- Sharief MK, Hentges R. Association between tumor necrosis factor - alpha and disease progression in patients with multiple sclerosis *N Engl J Med*, 1991, 325 (7) 467 ~ 472.
- M. Mayne, W. Ni, H. J. Yan. Antisense oligodeoxynucleotide inhibition of tumor necrosis factor - alpha expression is neuroprotective after intracerebral hemorrhage *Stroke*, 2001, 32 240 ~ 248.
- Bruce AJ, Boling W, Kindy MS, *et al* Altered neuronal and microglial responses to excitotoxic and ischemic brain injury in mice lacking TNF receptors *Nat Med*, 1996, 2 (7) 788 ~ 794.
- Nawashiro H, Martin D, Hallenbeck JM. Inhibition of tumor necrosis factor and amelioration of brain infarction in mice *J Cereb Blood Flow Metab*, 1997, 17 (2) 229 ~ 232.
- Loddick SA, Rothwell NJ. Neuroprotective effects of human recombinant interleukin - 1 receptor antagonist in focal cerebral ischaemia in the rat *J Cereb Blood Flow Metab*, 1996, 16 (5) 932 ~ 940.
- Hara H, Fink K, Endres M, *et al* Attenuation of transient focal cerebral ischemic injury in transgenic mice expressing a mutant ICE inhibitory protein *J Cereb Blood Flow Metab*, 1997, 17 (4) 370 ~ 375.
- Jelena Lazovic, Anirban Basu Hsiao - Wen Lin. Neuroinflammation and Both Cytotoxic and Vasogenic Edema Are Reduced in Interleukin - 1 Type 1 Receptor - Deficient Mice Conferring Neuroprotection *Stroke*, 2005, 36 (10) 2226 ~ 2231.
- Hery C, Sebire G, Peudenier S, *et al* Adhesion to human neurons and astrocytes of monocytes the role of interaction of CR3 and ICAM - 1 and modulation by cytokines *J Neuroimmunol* 1995, 57 101 ~ 109.
- Rothlein R, Mainolfi EA, Czajkowski M, *et al* A form of circulating ICAM - 1 in human serum. *J Immunol*, 1991, 147 3788 ~ 3793.

(Continued on Page 72)

components using HPLC - DAD - MS 18 Danshen injection samples collected from different pharmacies were analyzed on a Zorbax Extend C18 column, with a gradient of acetonitrile and 0.05% TFA at a flow rate of $0.8 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, and detected at 288nm. Meanwhile, a typical injection was analyzed using HPLC - DAD - MS technique. The investigation results suggest that the 18 Danshen injection samples analyzed have a large difference in both quantity and content, regarding the key constituents. 15 peaks of salvianolic acids were identified, through comparing with the benchmarks and HPLC - MS analysis. It is concluded that the established HPLC fingerprint process is both reliable and specific, and can be used for the comprehensive quality control of Danshen injections.

Keywords: *Salvia miltiorrhiza*; Danshen injection; fingerprint; HPLC - MS

(责任编辑:王 瑀,责任编审:张志华,责任译审:邹春申)

(Continued from Page 49)

Effects of An Gong Qing Kai Ling Injection on Proinflammatory Factors and Adhesion Molecules in Spontaneous Hypertensive Rat Having Intracerebral Hemorrhage

Xu Ya, Li Pengtao, Chen Jie, Jie Xu

(Beijing University of Chinese Medicine, 100029 Beijing)

This paper studies the effects of An Gong Qing Kai Ling Injection on the level of $\text{TNF-}\alpha$, $\text{L-1}\beta$ in the brain tissue, and sICAM - 1 in the serum of SHR s having an intracerebral hemorrhage, in an attempt to understand the links and effects of An Gong Qing Kai Ling Injection in repressing inflammatory reactions. In the study, SHR s were randomly divided into six groups: normal, model, low - dose treatment, middle - dose, high - dose, and positive control. Intracerebral hemorrhage was induced in SHR s using collagenase. RIA (radioimmunoassay) was employed to measure the concentration of $\text{TNF-}\alpha$ and $\text{L-1}\beta$ in SHR s' brain tissues, following the attack of cerebral hemorrhage. sICAM - 1 determination was made using an ELISA (enzyme - linked immunosorbent assay), in line with the manufacturer's instruction. Results showed that after 48h and 7 days of intracerebral hemorrhage induction, the median $\text{TNF-}\alpha$, $\text{L-1}\beta$ and sICAM - 1 levels in the model was higher than that of control ($P < 0.01$). The median $\text{TNF-}\alpha$, $\text{L-1}\beta$ and sICAM - 1 levels in the treated groups was lower than that of model ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The median $\text{TNF-}\alpha$, $\text{L-1}\beta$ and sICAM - 1 levels in the high - dose group was lower than that of the positive group ($P < 0.01$). It is found that An Gong Qing Kai Ling Injection is of a noticeable effect on reducing the level of inflammatory factors, especially in the 48 hours after the onset. In addition, it cuts down the level of sICAM - 1 in a dose - dependent manner. It is concluded that An Gong Qing Kai Ling Injection has a noticeable effect in preventing the onset of inflammation, allowing efficient regulation of $\text{TNF-}\alpha$ without eliminating the constitutive levels that are required for the cell survival.

Keywords: intracerebral hemorrhage; inflammation; proinflammatory factor; adhesion molecule; An Gong Qing Kai Ling Injection

(责任编辑:王 瑀,责任编审:张志华,责任译审:邹春申)