

抗柯萨奇 B 病毒性心肌炎胶囊复方水提物的
镇痛和抗应激作用

张博男¹, 韩淑英¹, 李洁², 马会霞², 郑彩慧², 姚荣妹², 董晓鹏², 王敏², 包巨太^{2*}
(1. 华北煤炭医学院基础部药理学教研室, 河北 唐山 063000;
2. 华北煤炭医学院中医系, 河北 唐山 063000)

〔摘要〕 目的:观察抗柯萨奇 B 病毒性心肌炎胶囊(K-CoxB-JN)复方水提物镇痛作用和抗应激反应能力。方法:健康昆明种小鼠随机分为 5 组,K-CoxB-JN 复方水提物高剂量组、中剂量组、低剂量组,20 mL·kg⁻¹(给药量为 9.6,4.8,2.4 g·kg⁻¹),分别连续 ig 给药,并设阳性对照组及正常对照组。采用醋酸和热刺激致疼痛模型,考察其镇痛活性;采用游泳实验和耐缺氧实验,考察其抗应激作用。结果:K-CoxB-JN 复方水提物对小鼠抗疲劳、耐缺氧等抗应激能力有一定的增强作用。相对于对照组,高剂量给药组可使小鼠游泳时间延长 57 s,耐缺氧存活时间延长 12 min;可以明显抑制醋酸引起的扭体次数,延长热板上小鼠舔后足出现的时间。相对于对照组,高剂量给药组可使小鼠扭体次数减少 20 次;中剂量给药组可使小鼠舔后足时间延长 16 s。结论:K-CoxB-JN 复方水提物具有明显的镇痛和抗应激作用。

〔关键词〕 抗柯萨奇 B 病毒性心肌炎胶囊复方水提物;镇痛;抗应激;耐缺氧

〔中图分类号〕 R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2011)06-0133-03

Experimental Studies of Water Extraction of K-CoxB-JN on
Anti-stress and Analgesic Activities

ZHANG Bo-nan¹, HAN Shu-ying¹, LI Jie², MA Hui-xia², ZHENG Cai-hui²,
YAO Rong-mei², DONG Xiao-peng², WANG Min², BAO Ju-tai^{2*}

(1. Department of Pharmacology, North China Coal Medical University, Tangshan 063000, China;
2. Department of Traditional Chinese Medicine, North China Coal Medical University, Tangshan 063000, China)

〔Abstract〕 **Objective:**To study the anti-stress and analgesic activities of water extraction of K-CoxB-JN, a compound Chinese medicine for treatment of myocarditis. **Method:** Water extraction of K-CoxB-JN was consecutively given to healthy Kunming mice with high (9.6 g·kg⁻¹), medium (4.8 g·kg⁻¹) and low dose (2.4 g·kg⁻¹) ig. At the same time, control group and positive group were set up. Analgesic activity was evaluated in mice model of pain induced by thermal stimulus and acetic acid. Meanwhile, anti-stress activity was evaluated by swimming and anti-hypoxia experiments. **Result:** Water extraction of K-CoxB-JN could enhance anti-stress capability of anti-fatigue and anti-hypoxia. The number of writhing induced by acetic acid was significantly reduced and the time of licking rear feet induced by hot plate stimulation was prolonged. **Conclusion:** Water extraction of K-CoxB-JN has good effects of anti-stress and analgesic capability.

〔Key words〕 Water extraction of K-CoxB-JN; analgesic capability; anti-stress capability; anti-hypoxia

〔收稿日期〕 20100906(008)
〔基金项目〕 国家“十一五”规划科技重大专项重大新药创制候选药物(2009ZX09103-442)
〔第一作者〕 张博男, 硕士, 助教, 从事心血管药理学研究, Tel:0315-3725870, E-mail: zhangbonan1982@126.com
〔通讯作者〕 * 包巨太, 硕士, 教授, 硕士生导师, 从事中药防治心血管疾病研究, Tel:0315-3725030, E-mail: baojutai@sohu.com

抗柯萨奇 B 病毒性心肌炎胶囊(K-CoxB-JN)复方由西洋参、麦冬、五味子、黄芪、丹皮、莱菔子、王不留行组成。课题组前期用此复方治疗柯萨奇 B 病毒性心肌炎 60 例,结果显示本方可以提高患者的抵抗力,增强免疫功能,且无明显不良反应^[1]。本实验在此基础上研究其镇痛和抗应激能力,为缓解病毒性心肌炎患者疼痛症状提供实验依据。

1 材料

1.1 药物 K-CoxB-JN 复方药材(西洋参、黄芪、丹皮、麦冬、五味子、莱菔子、王不留行),均购自石家庄市柏林药材加工厂;K-CoxB-JN 复方水提物(课题组自制);盐酸异丙肾上腺素(isoproterenol, Iso):上海禾丰制药厂(批号 080801);阿司匹林:上海法玛赛制药有限公司(批号 091104);冰醋酸:上海化学试剂有限公司(批号 070609)。

1.2 动物 清洁级,昆明种小鼠,雌雄兼有,体重(20±2)g,北京华阜康生物科技股份有限公司,合格证号 SCXK(京)2009-0004。

1.3 仪器 RB—200 智能热板仪(成都泰盟科技有限公司生产);电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司,型号:98-1-B);电热鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂,型号:GZX-9070 MBE);数显恒温水浴锅(国华电器有限公司,型号:HH-6);MP200A 型电子天平(上海第二天平仪器厂)。

2 方法^[2-3]

2.1 K-CoxB-JN 复方水提物的制备 称取 10 付复方药材(每付西洋参 30 g,麦冬 15 g,五味子 15 g,黄芪 30 g,莱菔子 6 g,王不留行 4 g,丹皮 20 g),分别加入 8,6 倍量水煎煮两次,每次 2 h,合并提取液,趁热过滤,滤液浓缩、干燥至恒重即得水提物,提取率 24%。

2.2 K-CoxB-JN 复方水提物对小鼠应激能力的影响

2.2.1 对小鼠游泳时间的影响 健康昆明种小鼠,雌雄兼有,分笼饲养。适应性饲养 1 周后,随机分为 4 组,每组 10 只,雌雄各半:①K-CoxB-JN 复方水提物高剂量组,20 mL·kg⁻¹(给药量为 9.6 g·kg⁻¹);②中剂量组,20 mL·kg⁻¹(给药量为 4.8 g·kg⁻¹);③低剂量组,20 mL·kg⁻¹(给药量为 2.4 g·kg⁻¹);④正常对照组,每天给予生理盐水 20 mL·kg⁻¹。每天 ig 给药 1 次,连续 7 d。各组小鼠于末次给药后 60 min 进

行游泳实验。将各小鼠放入玻璃水槽,水深 25 cm,水温(23±1)℃,在每只小鼠尾部加体重 10% 质量的负荷,记录游泳时间。

2.2.2 对小鼠缺氧存活时间的影响 采用耐缺氧实验。小白鼠分组给药方法同 2.2.1;末次给药 60 min 后小鼠背部皮下多点 sc Iso 20 mg·kg⁻¹(正常对照组 sc 等容积 NS),15 min 后将小鼠投入盛有 25 g 钠石灰的 250 mL 容积的广口瓶中(每瓶 1 只),凡士林密封瓶口,以呼吸停止为指标,观察小鼠存活时间。

2.3 K-CoxB-JN 复方水提物镇痛作用

2.3.1 对醋酸刺激小鼠疼痛的影响(扭体法) 小鼠实验前禁食 10~12 h,自由饮水。分别设置阴性对照组,ig 生理盐水 20 mL·kg⁻¹,阿司匹林对照组(100 mg·kg⁻¹),K-CoxB-JN 复方水提物高剂量组(9.6 g·kg⁻¹),中剂量组(4.8 g·kg⁻¹),低剂量组剂量组(2.4 g·kg⁻¹),每组 10 只小鼠。每天 ig 给药 1 次,连续 3 d。各组小鼠于末次给药后 60 min ip 0.6% 醋酸溶液 10 mL·kg⁻¹,记录 20 min 内小鼠扭体频数。

2.3.2 对热刺激小鼠疼痛的影响(热板法) 首先筛选阈値在 10~30 s 的雌性小鼠为实验对象,热板温度为(55±0.5)℃。小白鼠分组给药方法同 2.3.1,各组小鼠于末次给药后 60 min 将小鼠放热板上,观察小鼠舔后足出现的时间。

2.4 统计学方法 实验中所有数据均用 instat 统计软件处理,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠应激能力的影响

3.1.1 K-CoxB-JN 复方水提物对小鼠游泳时间的影响 正常对照组小鼠游泳时间为(1.01±0.22) min,K-CoxB-JN 复方水提物高剂量组的小鼠游泳时间为(1.58±0.27) min,有明显的延长作用($P < 0.05$)。K-CoxB-JN 复方水提物中剂量组和低剂量组也可以延长小鼠的游泳时间,但无统计学差异。

3.1.2 K-CoxB-JN 复方水提物对小鼠缺氧存活时间的影响 正常对照组小鼠缺氧存活时间为(18.7±2.6) min,K-CoxB-JN 复方水提物高、中剂量组小鼠缺氧存活时间分别为(30.5±2.1),(25.4±1.9) min,明显延长缺氧小鼠的存活时间,与正常对照组比较具有统计学差异($P < 0.05$)。K-CoxB-JN 复方

水提物低剂量组对缺氧小鼠的存活时间也有一定的延长作用,但无统计学差异。

3.2 K-CoxB-JN 复方水提物镇痛作用实验

3.2.1 对醋酸刺激小鼠疼痛的影响(扭体法) 相对于阴性对照组,阿司匹林对照组和 K-CoxB-JN 复方水提物高,中剂量组在 ig 给药后可以明显抑制由醋酸引起的小鼠扭体次数,具有统计学差异。K-CoxB-JN 复方水提物低剂量组 ig 给药后也可以减少醋酸引起的小鼠扭体次数,但无统计学差异,结果见表 1。

表 1 K-CoxB-JN 复方水提物对醋酸致痛实验中
小鼠扭体次数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	扭体次数 /次	镇痛率 /%
模型组	—	35.4 ± 8.6	
K-CoxB-JN 复方水提物	9.6	15.1 ± 5.3 ¹⁾	57.3
	4.8	22.6 ± 6.4 ¹⁾	36.2
	2.4	30.4 ± 9.8	14.1
阿司匹林对照	0.1	11.1 ± 4.6 ¹⁾	68.7

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.2.2 对热刺激小鼠疼痛的影响(热板法) 与对照组相比,阿司匹林对照组和 K-CoxB-JN 复方水提物中剂量组可明显延长小鼠舔后足出现的时间,具有统计学差异($P < 0.05$)。K-CoxB-JN 复方水提物高,低剂量组在 ig 给药后也可以延长小鼠舔后足出现的时间,但无统计学差异,结果见表 2。

表 2 K-CoxB-JN 复方水提物对热板致痛实验中
小鼠舔后足时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	给药前 /s	给药后 /s
对照	—	15.4 ± 3.6	16.5 ± 3.9
K-CoxB-JN 复方水提物	9.6	16.1 ± 4.3	20.5 ± 4.1
	4.8	15.6 ± 4.5	32.4 ± 9.6 ^{1,2)}
	2.4	17.4 ± 3.9	18.2 ± 2.9
阿司匹林对照	0.1	17.1 ± 4.6	31.1 ± 8.7 ^{1,2)}

注:与同时时间点对照组比较¹⁾ $P < 0.05$;与同组给药前比较

²⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

病毒性心肌炎(VMC)为儿科常见病之一,柯萨奇 B 组病毒(coxsackie virus B, CVB)是其最常见致

病原,约占 30% ~ 50%^[4],在病变的急性期和亚急性期,其临床表现的前驱症状可有发热、疲乏、多汗、心慌、气急、心前区闷痛等。文献报道:以自制清心液(连翘、野菊花、贯众、苦参、虎杖、赤芍、牡丹皮、丹参、生地黄、麦冬、黄芪、炙甘草等)为主治疗小儿柯萨奇病毒性心肌炎 70 例,患者乏力、胸闷憋气、心痛等主症及咽红肿痛、咳嗽、舌质红、苔黄、脉数等热毒兼症均有明显改善^[5]。本研究实验结果表明,K-CoxB-JN 复方水提物高剂量组可以明显延长小鼠的游泳时间,提高小鼠耐疲劳的能力,与对照组相比具有统计学差异;在耐缺氧实验中,K-CoxB-JN 复方水提物高,中剂量组可以明显延长缺氧小鼠的存活时间,降低心肌耗氧量;在研究此复方制剂镇痛药理活性实验中,我们采用了化学刺激诱导的疼痛和热刺激诱导的疼痛两种经典的致痛模型,结果表明,在化学刺激诱导的疼痛模型中,抗柯萨奇 B 病毒性心肌炎复方制剂高,中剂量组和阿司匹林对照组可以明显抑制由醋酸引起的小鼠扭体次数,减轻化学刺激引起的疼痛;在热刺激诱导的疼痛模型中,K-CoxB-JN 复方水提物中剂量组和阿司匹林对照组可以明显延长小鼠舔后足的时间。

综上所述,K-CoxB-JN 复方水提物具有明显的镇痛作用和抗应激活性,对病毒性心肌炎的前驱症状可能具有明显的改善作用,为今后研究其对病毒性心肌炎心肌病变的药理活性提供了前提和基础。

[参考文献]

[1] 邢纪萍,包巨太,李志田,等. 抗柯萨奇 B 中药胶囊治疗病毒性心肌炎的临床疗效评价[J]. 中国临床药理学与治疗学,2003,8(6):701.

[2] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2002:882.

[3] 刘少明,陆松伟,杨建刚. 抗骨质增生巴布剂镇痛抗炎作用研究[J]. 药学服务与研究,2007,7(3):206.

[4] 叶任高. 内科学[M]. 6 版. 北京:人民卫生出版社,2005:341.

[5] 胡思源,贺爱燕,刘虹,等. 清心液为主治疗小儿柯萨奇病毒性心肌炎邪毒侵心型的临床研究[J]. 中医杂志,1999,40(5):297.

[责任编辑 聂淑琴]