

# 抗柯萨奇 B 病毒性心肌炎胶囊总黄酮对小鼠 急性阿霉素心肌损伤的保护作用

李洁<sup>1\*</sup>, 韩淑英<sup>2</sup>, 马会霞<sup>1</sup>, 吴范武<sup>1</sup>, 张博男<sup>2</sup>, 郑彩慧<sup>1</sup>, 包巨大<sup>1</sup>

(1. 河北联合大学中医学院, 河北 唐山 063000; 2 河北联合大学药理学教研室, 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)总黄酮对阿霉素所致小鼠急性心肌损伤的作用, 并探讨其可能作用机制。方法: 选取正常昆明种小鼠 175 只, 随机分为 7 组, 即 K-CoxB-JN 黄酮高、中、低剂量组(0.8, 0.4, 0.2 g·kg<sup>-1</sup>), 模型组, 心血康组, 正常组, 原方水煎组, 每组 25 只, 每天 ig 1 次, 1 周后 ip 阿霉素 20 mg·kg<sup>-1</sup> 建立小鼠急性心肌损伤模型, 24 h 后眼球取血测定血清心肌酶水平、超氧化物歧化酶(SOD)活性及丙二醛(MDA)含量, 测定心脾指数。结果: K-CoxB-JN 总黄酮能显著降低小鼠心肌酶活性, 黄酮中剂量组乳酸脱氢酶(LDH)水平有所下降, α-羟丁酸脱氢酶(HBDH)水平降低明显( $P < 0.01$ ); 黄酮高、中剂量组心脏指数明显降低( $P < 0.01$ ), 黄酮中剂量组脾指数有显著性差异( $P < 0.05$ )。黄酮高、中剂量组 SOD 活力明显升高( $P < 0.01$ ), 黄酮中剂量组 MDA 含量有显著性降低( $p < 0.01$ ), 以黄酮中剂量效果最为明显。结论: K-CoxB-JN 总黄酮对小鼠急性心肌损伤有保护作用, 其作用机制可能与抗氧化、清除氧自由基有关。

**[关键词]** 抗柯萨奇 B 病毒性心肌炎胶囊; 总黄酮; 阿霉素; 心肌损伤

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0207-03

## Protection of Total Flavonoids in K-CoxB-JN Against Acute Myocardial Injury Caused by Adriamycin in Mice

LI Jie<sup>1\*</sup>, HAN Shu-ying<sup>2</sup>, MA Hui-xia<sup>1</sup>, WU Fan-wu<sup>1</sup>,  
ZHANG Bo-nan<sup>2</sup>, ZHENG Cai-hui<sup>1</sup>, BAO Ju-tai<sup>1</sup>

(1. Hebei United University Traditional Chinese Medicine College, Tangshan 063000, China;

2. Hebei United University Pharmacology Faculty Working Office, Tangshan 063000, China)

**[Abstract]** **Objective:** to observe protection of total flavonoids in anti-coxsackie B complex capsule (K-CoxB-JN) against acute myocardial injury caused by adriamycin in mice and to discuss the feasible mechanism. **Method:** One hundred and seventy five Kunming mice were selected and divided into 7 groups, including high dose group of flavonoid (0.8 g·kg<sup>-1</sup>), middle dose group of flavonoid (0.4 g·kg<sup>-1</sup>), low dose group of flavonoid, model group (0.2 g·kg<sup>-1</sup>), Xinxuekang group, blank group and original formula group. There are 25 mice in each group. After a week, model of acute myocardial injury was established by adriamycin injection of 20 mg·kg<sup>-1</sup>. Blood was collected after 24 h of model building, then determination of myocardial enzyme like SOD and MDA were performed as well as indexes of heart and spleen. **Result:** Activity of myocardial enzymes was decreased drastically with total flavonoids in K-CoxB-JN, as well as indexes of heart and spleen, especially middle dose group of flavonoid. **Conclusion:** Total flavonoids in K-CoxB-JN do protect mice against acute myocardial injury. The possible mechanism may be related to antioxidation and scavenging of oxygen free radicals.

**[Key words]** Anti-coxsackie B Complex capsule; total flavonoids; adriamycin; myocardial injury

**[收稿日期]** 20110321(010)

**[通讯作者]** \*李洁, 硕士, 从事中医药治疗病毒性心肌炎,  
Tel: 0315-3725541, E-mail: lijie0502@163.com

抗柯萨奇 B 病毒性心肌炎胶囊(K-CoxB-JN)是  
经基础研究和临床应用证实的对病毒性心肌炎具有  
良效的中药复方, 是针对严重危害人类健康和生命

而临床尚无理想治疗药物的病毒性心肌炎所研发的中药复方。本实验通过阿霉素(adriamycin, ADR)诱导小鼠建立心肌损伤模型,观察 K-CoxB-JN 总黄酮对小鼠心肌损伤的保护作用,并初步探讨其可能机制。

### 1 材料

**1.1 动物** 健康雄性昆明种小鼠(北京华埠康生物科技股份有限公司,合格证号 SCXK(京)2009-0004),清洁级,体重(20 ± 2)g,在华北煤炭医学院屏障环境动物房进行喂养。

**1.2 药品及试剂** K-CoxB-JN 复方由西洋参、黄芪、丹皮、麦冬、五味子、莱菔子、王不留行按 30:30:20:15:15:6:4 组成,实验所用中草药均购自石家庄市柏林药材加工厂(批号 20100225);注射用盐酸阿霉素(ADR,浙江海正药业股份有限公司,批号 20040416);谷草转氨酶(AST)试剂盒(批号 20100111)、血清肌酸激酶(CK)测定试剂盒(批号 20100111)、乳酸脱氢酶(LDH)测定试剂盒(批号 20100111)、α-羟丁酸脱氢酶(HBDH)试剂盒(批号 20100111)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所;心血康(成都地奥制药集团有限公司,批号 1001094)。

**1.3 K-CoxB-JN 总黄酮提取物制备方法** 取 10 付复方中药粗粉,加入 6~8 倍量 80% 乙醇,煎煮提取 3 次,每次 1.5~2 h,混合提取液,用旋转蒸发器回收乙醇,浓缩提取液,用石油醚和乙酸乙酯分别萃取 3 次,所得浓缩液采用水浴锅蒸发成膏状,在 70 °C 鼓风干燥机中干燥,即为黄酮提取物粉剂(总黄酮含量达 53.6%)。

**1.4 K-CoxB-JN 水提物制备方法** 取 10 付复方中药粗粉,分别加入 8,6 倍量水煎煮 2 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%。

**1.5 仪器** 电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司),旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),电热鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂),电子天平(FA2104N 上海菁海仪器有限公司)、离心机(TDL-5-A 上海安亭科学仪器厂),全自动生化分析仪(URIT-8020 北京朗普信科技有限公司),数显恒温水浴锅(国华电器有限公司),Bio-Rad3550 型自动酶联免疫测定仪(美国 Bio-Rad 公司)等。

## 2 方法

**2.1 动物分组** 小鼠 175 只,适应性喂养 7 d,随机分为 7 组,即黄酮高、中、低剂量组(按总黄酮量计算,ig 黄酮制剂为人用量的 20,10,5 倍药量给药 0.8,0.4,0.2 g · kg<sup>-1</sup>)、模型组(ig 等容积生理盐水)、心血康组(ig 按人用量的 10 倍药量给药即 0.1 g · kg<sup>-1</sup>)、正常组、原方水煎组(ig 原方药液按人用量的 10 倍药量给药即 6 g · kg<sup>-1</sup>),每组 25 只,每天 ig 1 次,1 周后 ip 阿霉素 20 mg · kg<sup>-1</sup> 建立小鼠急性心肌损伤模型。

**2.2 血清心肌酶测定** 建立小鼠急性心肌损伤模型 24 h 后摘取眼球取血,用全自动生化分析仪测定血清 AST,LDH,HBDH,CK-NAC,按照试剂盒说明书操作。取冷冻心肌制备 10% 组织匀浆,用酶标仪按按试剂盒说明分别测定心肌组织 MDA 含量及 SOD 活性。

**2.3 心脾指数的测定** 取血后迅速打开腹腔摘取脾脏,称重,脾指数 = 脾质量(mg)/体重(g);打开胸腔快速摘取心脏用等渗生理盐水反复冲洗后,滤纸吸干,即刻用电子天平称心脏质量,测心重指数(HWI) = 全心质量(mg)/体重(g);

**2.4 统计学处理** 实验数据用 SPSS 13.0 统计软件包进行分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  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 对小鼠血清心肌酶的影响** 模型组心肌酶水平显著高于正常组,各用药组与模型组比较 AST 水平明显降低,黄酮中剂量组与模型组相比,LDH 水平有所下降,HBDH 水平降低明显( $P < 0.01$ ),黄酮中剂量组效果优于其他治疗组。见表 1。

表 1 K-CoxB-JN 总黄酮对小鼠血清心肌酶的影响( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )  
U · L<sup>-1</sup>

组别	剂量 /g · kg <sup>-1</sup>	AST	CK-NAC	LDH	HBDH
正常		186 ± 16 <sup>2)</sup>	642 ± 153 <sup>2)</sup>	1997 ± 196 <sup>2)</sup>	911 ± 70 <sup>2)</sup>
模型		365 ± 37	1074 ± 185	3712 ± 38	1627 ± 155
总黄酮	0.2	298 ± 34	972 ± 135	3561 ± 225	1572 ± 214
	0.4	268 ± 30 <sup>2)</sup>	934 ± 180	2745 ± 235 <sup>2)</sup>	1264 ± 98 <sup>2)</sup>
	0.8	317 ± 40 <sup>1)</sup>	1278 ± 220	3374 ± 285	1449 ± 122
心血康	0.1	318 ± 16 <sup>1)</sup>	1052 ± 110	3917 ± 223	1677 ± 100
原方水煎	6	267 ± 11 <sup>2)</sup>	941 ± 95	3547 ± 295	1546 ± 113

注:与模型组相比<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

**3.2 对小鼠心脏指数、脾指数的影响** 结果表明,

黄酮高、中剂量组和原方水煎组与模型组比较以及心脏指数明显降低( $P < 0.01$ ),黄酮中剂量组与模型组相比。脾指数有显著性差异( $P < 0.05$ )。见表 2。

**3.3 对 SOD,MDA 的影响** 结果显示黄酮高、中剂量组和原方水煎组与模型组相比,SOD 活力明显升高( $P < 0.01$ ),黄酮中剂量组与模型组比较,MDA 含量有显著性降低( $P < 0.01$ )。见表 3。

表 2 K-CoxB-JN 总黄酮对小鼠脾指数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )  
mg · g<sup>-1</sup>

组别	剂量 /g · kg <sup>-1</sup>	心脏指数	脾指数
正常	-	0.4086 ± 0.0122 <sup>2)</sup>	0.1043 ± 0.0131 <sup>2)</sup>
模型	-	0.4584 ± 0.0233	0.1627 ± 0.0109
总黄酮	0.2	0.4486 ± 0.0203	0.1583 ± 0.0124
	0.4	0.4222 ± 0.0163 <sup>2)</sup>	0.1492 ± 0.0101 <sup>1)</sup>
	0.8	0.4246 ± 0.0229 <sup>2)</sup>	0.1579 ± 0.0112
心血康	0.1	0.4599 ± 0.0156	0.1617 ± 0.0154
原方水煎	6	0.4192 ± 0.0115 <sup>2)</sup>	0.1451 ± 0.0064 <sup>2)</sup>

表 3 K-CoxB-JN 总黄酮对小鼠心肌匀浆 SOD,  
MDA 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )

组别	剂量 /g · kg <sup>-1</sup>	SOD /U · mL <sup>-1</sup>	MDA /μmol · L <sup>-1</sup>
正常	-	455.8 ± 50.1 <sup>2)</sup>	68.9 ± 15.1
模型	-	318 ± 91.7	89.6 ± 16.8
总黄酮	0.2	324.7 ± 85.3	77.6 ± 13.7
	0.4	365.6 ± 93.7 <sup>2)</sup>	68.4 ± 22.2 <sup>2)</sup>
	0.8	361.7 ± 43.7 <sup>2)</sup>	74.3 ± 10.3 <sup>1)</sup>
心血康	0.1	221.2 ± 41.2 <sup>2)</sup>	78.4 ± 12.7 <sup>1)</sup>
原方水煎	6	278.2 ± 36.7 <sup>2)</sup>	70.8 ± 11.8 <sup>2)</sup>

## 4 讨论

ADR 具有严重的心脏毒性,对心脏的急性毒性作用主要表现为心肌炎、心律失常等,ADR 的心脏毒性机制尚未完全阐明,一般认为与体内形成大量自由基及脂质过氧化有关,并引起心肌细胞能量代谢紊乱,导致心脏功能受损<sup>[1]</sup>。黄酮类化合物具有降脂、抗心律失常、清除自由基、抗氧化、抗菌及抗病毒、抗炎和免疫调节的作用<sup>[2]</sup>。K-CoxB-JN 总黄酮主要为西洋参黄酮、黄芪总黄酮、麦冬黄酮、莱菔子总黄酮、王不留行总黄酮。孟祥颖等<sup>[3]</sup>通过双波长

薄层扫描法对西洋参黄酮的含量进行测定,首次发现了西洋参根和果中黄酮的存在。研究表明黄芪总黄酮具有抗损伤、抗突变、抗肿瘤和抑制动脉粥样硬化等多种生物学效应,黄芪总黄酮是黄芪中分离的抗氧化清除自由基的主要活性成分,去除总黄酮后能够弱化黄芪提取物的抗氧化功效<sup>[4]</sup>。麦冬黄酮具有良好的抗炎、抗应激、抗组胺、心血管保护功能和磷酸化抑制剂的作用<sup>[5]</sup>。

本实验采用 ADR 诱导建立小鼠心肌急性损害模型,结果显示 K-CoxB-JN 总黄酮可以降低心肌酶水平。心肌酶是心肌细胞内的酶类物质,具有催化心肌细胞代谢和调节心肌细胞电活动的作用。如果心肌细胞发生坏死、破裂,心肌酶就会释放入血液当中,因此,临床一般将心肌酶检查的水平来间接衡量心肌细胞的损害程度。此实验表明黄酮中剂量组可以明显降低心肌酶水平,减轻心肌细胞的损害。血清 SOD 和 MDA 的变化分别反映冠状动脉内皮功能、心肌清除自由基能力和脂质过氧化程度。SOD 是体内合成的自由基清除剂,具有清除氧自由基的作用,其活性的强弱可反映机体清除自由基能力的大小,SOD 有保护冠状动脉内皮细胞的作用。MDA 是脂质过氧化物生成过氧化物的最终分解产物,脂质过氧化与缺血心肌损伤有关,其含量常常反映机体细胞脂质过氧化程度,也间接反映细胞受自由基攻击的严重程度<sup>[6]</sup>。实验结果显示 K-CoxB-JN 总黄酮可以降低 MDA 含量,提高 SOD 活力,表明 K-CoxB-JN 总黄酮对小鼠心肌损伤的保护作用可能与其抗氧化、清除自由基有关。

## [参考文献]

- [1] 陈立娟,郭家彬,彭双清.阿霉素致大鼠心脏氧化损伤及其机制的研究[J].毒理学杂志,2006,20(3):147.
- [2] 姚新生,吴立军,吴继洲.天然药物化学[M].北京:人民卫生出版社,2004:177.
- [3] 孟祥颖,李向高,刘大有.西洋参不同部位中黄酮的含量测定[J].长春中医学院学报,2002,6(18):45.
- [4] 王玲,董玲,汪德清,等.黄芪提取物免疫调节作用的实验研究[J].军医进修学院学报,2005,26(4):2931.
- [5] 江洪波,田祥琴,胡小兵,等.麦冬中几种二氢高异黄酮的立体结构[J].华西药学杂志,2006,21(5):416.
- [6] 赵锐,杨春玫,张宝山,等.磁场对急性心肌梗死大鼠心肌丙二醛、三磷酸腺苷及红细胞超氧化物歧化酶含量的影响[J].中国老年学杂志,2007,27(4):303.

[责任编辑 聂淑琴]