

心脑舒片的药效学实验研究

苟伟¹, 李静莉², 李西宽¹, 史小莲, 刘传镐¹, 刘俊田^{1*}

(1. 西安交通大学医学院, 陕西 西安 710061; 2. 山西长治医学院药理教研室, 山西 长治 046000)

[摘要] 目的: 研究心脑舒片的药效学, 以期为临床应用提供理论基础。方法: 观察心脑舒片对气虚模型家兔和阴虚模型小鼠的作用以及对正常小鼠的免疫功能、抗应激能力和记忆力的影响。结果: 心脑舒片可明显改善气虚家兔的一般状况, 增加红细胞、血红蛋白和血清总蛋白含量; 改善阴虚小鼠的一般状况, 增加自主活动并延长低温水中存活时间; 增强小鼠特异性和非特异性免疫功能及抗应激能力; 改善小鼠记忆力。结论: 心脑舒片具有补气养阴作用。

[关键词] 心脑舒片; 药效; 阴虚模型; 气虚模型; 免疫功能

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)08-0031-04

心脑舒片为中药复方制剂, 由人参、麦冬、五味子、党参、黄芪等五味中药组成, 具有补气养阴之功效, 临床用于气阴两虚而致的头晕目眩、失眠健忘、短气肢倦、自汗盗汗等治疗。根据心脑舒片的功效与主治, 我们对心脑舒片进行了补气、养阴、对免疫功能的影响、抗应激、改善记忆力等方面的药效学实验研究, 以期为临床应用提供理论基础。

1 实验材料

1.1 实验药物 心脑舒片, 褐色粉末, 0.3g/粒。成人口服给药, 每次4粒, 每日2次。每克药粉相当于生药3.66g, 批号010619, 由陕西开元制药有限公司提供, 临用前以蒸馏水配成所需浓度的溶液使用。

1.2 对照药及主要试剂 心脑舒口服液, 山东环中制药股份公司生产, 批号010802; 氢溴酸东莨菪碱注射液, 上海禾丰制药有限公司生产, 批号020201; 氯化可的松注射液, 西安利君制药股份有限公司生产, 批号011022; RPMI1640, Gibco产品; Con A, Sigma产品; MTT, Sigma产品; 胎牛血清, 华美公司产品。

1.3 实验器材 752C型紫外可见分光光度计, 上海第三分析仪器厂生产; DY-II酶标测定仪, 华光光学仪器厂生产; DCCO-20二氧化碳培养箱, 日本DICCO株式会社生产; YLS-1A多功能小鼠自主活动记录仪, 山东省医学科学院设备站生产。

1.4 实验动物 新西兰大耳白家兔, I级, 动物合

格证号: 陕医动证字第08-016号; ICR品系小白鼠, I级, 动物合格证号: 陕医动证字第08-004号, 均由西安交通大学医学院实验动物中心提供。

2 实验方法及结果

2.1 补气实验 家兔48只, 雌雄各半, 随机分为6组。第一组为正常对照组, 给生理盐水; 第二组为模型对照组, 给生理盐水; 第三组为阳性对照组, 给心脑舒口服液2.92g生药/kg; 第四、五、六组为心脑舒片组, 分别给心脑舒片0.73、1.46、2.92g生药/kg。除正常对照组外, 其余各组按文献方法^[1]造气虚模型, 每日由耳动脉放血10mL, 连续7d。7d后, 家兔形成慢性贫血而见气虚症。造模同时灌胃给药, 10mL/kg, 每天1次, 连续7d。造模前观察家兔一般状况, 测量体重和体温。实验期间每日观察家兔一般状况。末次灌胃给药1h后, 测量家兔体重和体温; 耳动脉采血, 测定红细胞、血红蛋白和血清总蛋白。结果见表1。

表1 心脑舒片对气虚家兔红细胞、血红蛋白和血清总蛋白的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量 (g生药/kg)	Hb (g/L)	RBC ($\times 10^{12}/L$)	血清总蛋白 (g/L)
正常对照组	—	129.2 \pm 16.8 ¹⁾	5.18 \pm 0.66 ²⁾	53.0 \pm 3.9
模型对照组	—	106.2 \pm 16.2	4.15 \pm 0.74	51.4 \pm 4.2
心脑舒口服液	2.92	116.7 \pm 13.3	4.65 \pm 0.54	55.0 \pm 3.9
心脑舒片	0.73	105.8 \pm 3.3	4.05 \pm 0.18	56.2 \pm 4.0
心脑舒片	1.46	107.0 \pm 17.7	4.13 \pm 0.70	54.6 \pm 4.4
心脑舒片	2.92	128.2 \pm 16.4 ¹⁾	5.00 \pm 0.53 ¹⁾	54.2 \pm 1.7

与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)。

[收稿日期] 2006-01-04

[通讯作者] 刘俊田, Tel: (029) 82655188; Fax: (029) 82655188,

E-mail: ljt@xjtu.edu.cn

结果表明,模型对照组家兔一般状况较差,精神萎靡不振,蜷缩,活动明显减少;造模前后体重和体温无明显变化($P > 0.05$);红细胞和血红蛋白减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);血清总蛋白减少,但统计学无显著性差异($P > 0.05$)。心脑舒片可较明显地改善气虚家兔的一般状况,给药组家兔(特别是大剂量组)精神好转,活动增加;红细胞和血红蛋白增加,大剂量组有显著性差异($P < 0.05$);血清总蛋白增加,但统计学无显著性差异($P > 0.05$)。结果说明,心脑舒片对气虚家兔有补气作用。

2.2 养阴实验 小鼠 60 只,雌雄各半,随机分为 6 组。第一组为正常对照组,给等容积生理盐水;第二组为模型对照组,给等容积生理盐水;第三组为阳性对照组,给心脑舒口服液 7.32g 生药/kg;第三、四、五组为心脑舒片组,分别给心脑舒片 1.83 3.66 7.32g 生药/kg。灌胃给药,20mL/kg,每天 1 次,连续 5d。第 6d 起除正常对照组外其余各组小鼠均皮下注射氢化可的松注射液 50mg/kg,每天 1 次,连续 4d,同时继续给药。末次灌胃给药 1h 后,称小鼠体重,用多功能小鼠自主活动记录仪测定 5min 内小鼠自主活动次数,然后测定小鼠在低温(4℃)水中的存活时间。以实验结束时小鼠体重、自主活动次数和在低温水中的存活时间反映小鼠的阴虚程度^[2,3],结果见表 2。

表 2 心脑舒片对糖皮质激素型阴虚模型小鼠的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g 生药/kg)	体重 (g)	5min 内自主活 动次数(次)	低温水中存 活时间(min)
正常对照组	—	23.81 ± 2.70 ²⁾	162.1 ± 31.4 ²⁾	5.91 ± 2.07 ¹⁾
模型对照组	—	20.78 ± 1.91	116.7 ± 34.5	4.13 ± 0.78
心脑舒口服液	7.32	22.96 ± 0.89 ²⁾	158.2 ± 33.2 ¹⁾	5.72 ± 1.12 ²⁾
心脑舒片	1.83	21.62 ± 2.66	132.1 ± 38.1	4.70 ± 1.35
心脑舒片	3.66	22.30 ± 3.04	142.4 ± 42.5	5.34 ± 1.20 ¹⁾
心脑舒片	7.32	22.90 ± 1.17 ²⁾	168.1 ± 47.4 ¹⁾	5.89 ± 0.73 ¹⁾

结果表明,糖皮质激素型阴虚模型组小鼠体重增长缓慢,自主活动减少,低温水中存活时间缩短($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。心脑舒片可使阴虚小鼠体重增长,自主活动增加,低温水中存活时间延长,大剂量组有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果说明,心脑舒片对糖皮质激素型阴虚模型小鼠有改善作用,具有养阴作用。

2.3 对免疫功能的影响 采用腹腔巨噬细胞—鸡

红细胞法测定吞噬细胞吞噬功能,采用 HC50 法测定血清抗体,采用 MTT 染色法测定淋巴细胞增殖反应^[1,2]。每个实验均为小鼠 50 只,雌雄各半,随机分为 5 组。第一组为阴性对照组,给等容积生理盐水;第二组为阳性对照组,给心脑舒口服液 7.32g 生药/kg;第三、四、五组为心脑舒片组,分别给心脑舒片 1.83 3.66 7.32g 生药/kg。灌胃给药,20mL/kg,每天 1 次,连续 14d。

2.3.1 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响 各组小鼠给药后第 7d 腹腔注射 5% 可溶性淀粉溶液 0.5mL/只,第 11d 腹腔第二次注射 5% 可溶性淀粉溶液 0.5mL/只。给药第 14d,各组小鼠腹腔注射普通肉汤 2mL/只,轻揉腹部,10min 后处死小鼠,剖开腹腔,吸取腹腔液 0.1mL 于洁净载物片上,加 1% 鸡红细胞悬液 0.1mL,充分混匀,置于湿盒内 37℃ 水浴 30min,用生理盐水漂洗 3 次,室温自然干燥。将标本片进行瑞氏染色,光镜下计数巨噬细胞中发生吞噬的巨噬细胞数以及被吞噬的鸡红细胞总数,计算吞噬百分率和吞噬指数,结果见表 3。

表 3 心脑舒片对小鼠巨噬细胞吞噬功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g 生药/kg)	吞噬百分率 (%)	吞噬指数
阴性对照组	—	41.9 ± 7.7	1.76 ± 0.17
心脑舒口服液	7.32	73.7 ± 7.8 ²⁾	3.67 ± 0.35 ²⁾
心脑舒片	1.83	45.5 ± 8.62	1.78 ± 0.22
心脑舒片	3.66	70.5 ± 7.88 ²⁾	3.36 ± 0.41 ²⁾
心脑舒片	7.32	74.3 ± 9.7 ²⁾	3.55 ± 0.37 ²⁾

与阴性对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (下同)。

结果表明,心脑舒片能增加小鼠腹腔巨噬细胞吞噬百分率和吞噬指数,大、中剂量组有显著性差异($P < 0.01$),说明心脑舒片可以提高小鼠吞噬细胞的吞噬功能,增强机体非特异性免疫功能。

2.3.2 对小鼠血清溶血素含量的影响 各组小鼠给药第 10d 腹腔注射 50% 绵羊红细胞悬液 0.2mL/只。给药 14d 后,摘取小鼠眼球采血,分离血清,56℃ 30min 灭活补体。将各组小鼠血清用生理盐水稀释 800 倍,取 0.5mL 稀释血清与 0.5mL 5% 绵羊红细胞 1mL 1:10 稀释新鲜豚鼠血清(补体)于试管中混合,37℃ 水浴反应 30min,冰浴终止反应。然后 1500r/min 离心 10min。取上清液 1mL 于另一试管,加入 3mL 都氏试剂,反应 10min。同时制备 50% 标准溶血管。540nm 比色,计算血清溶血素滴度,结果

见表 4。

结果表明,心脑舒片升高小鼠血清溶血素水平,中、大剂量组有显著性差异($P < 0.01$),说明心脑舒片能促进小鼠特异性抗体的产生和分泌。

2.3.3 对小鼠脾脏 T 淋巴细胞增殖的影响 各组小鼠给药 14d 后,处死小鼠,无菌摘取脾脏,将小鼠脾脏用含抗生素的无 Ca^{2+} Mg^{2+} 的 Hank's 液冲洗 3 次,剥去包膜,置无菌玻璃平皿中,加入 2mL 完全细胞培养液,用无菌 T.B. 注射器芯在 100 目钢网上将脾脏研磨,用 2~3mL RPMI 1640 液冲洗过滤成单个脾细胞悬液。用台盼兰染色法计活脾细胞数,活细胞应不少于 95%,用完全细胞培养液稀释成 10^6 /mL 脾细胞悬液。将脾细胞悬液加入 96 孔细胞培养板,0.1mL/孔,每个样本平行 4 孔,前两孔每孔加入 10 μ g/mL Con A 溶液 0.1mL,后两孔每孔加入细胞培养液 0.1mL。置 5% CO_2 培养箱 37 $^{\circ}C$ 培养 48h,每孔加 1mg/mL MTT 溶液 0.1mL,37 $^{\circ}C$ 反应 6h。1500r/min 离心 10min,弃去上清液,用 0.01M PBS(pH7.4) 洗涤 2 次,每次 1500r/min 离心 10min,弃去上清液,加酸化异丙醇 0.2mL/孔,室温反应 10min,在酶标仪 640nm 处读取 OD 值,计算淋巴细胞增殖指数,结果见表 4。

表 4 心脑舒片对小鼠血清溶血素含量及脾脏淋巴细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g 生药/kg)	溶血素滴度 (HC ₅₀ 单位/mL)	淋巴细胞 增殖指数
阴性对照组	—	190.51 \pm 33.52	2.45 \pm 0.32
心脑舒口服液	7.32	263.61 \pm 41.90 ²⁾	3.85 \pm 0.44 ²⁾
心脑舒片	1.83	165.47 \pm 31.06	2.34 \pm 0.28
心脑舒片	3.66	235.98 \pm 24.54 ²⁾	2.49 \pm 0.18
心脑舒片	7.32	261.12 \pm 35.05 ²⁾	3.52 \pm 0.46 ²⁾

结果表明,心脑舒片升高小鼠脾脏淋巴细胞增殖指数,大剂量组有显著性差异($P < 0.01$),说明心脑舒片能促进小鼠脾脏淋巴细胞增殖反应。

2.4 抗应激实验^[1]

2.4.1 耐寒冷实验 小鼠 50 只,雌雄各半,动物分组及给药剂量见表 5,连续给药 7d。末次给药 1h 后,将小鼠放入 -4 $^{\circ}C$ 冰箱中,2h 后取出,记录各组小鼠存活数,计算存活百分率。以小鼠存活百分率的高低反映小鼠的耐寒能力,结果见表 5。

结果表明,心脑舒片增加小鼠在寒冷中的存活百分率,中、大剂量组有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),说明心脑舒片能增强小鼠的耐寒能力。

2.4.2 耐疲劳实验 小鼠 50 只,雌雄各半,动物分组 给药剂量及给药天数同 2.4.1。末次给药 1h 后,将小鼠放入水桶中(水深 20cm,水温 20 \pm 0.5 $^{\circ}C$),记录小鼠自放入水桶中至头部沉入水中 10s 不再浮出水面的时间,此为小鼠游泳时间。以小鼠游泳时间的长短反映小鼠的耐疲劳能力,结果见表 5。

结果表明,心脑舒片延长小鼠游泳时间,大剂量组有显著性差异($P < 0.05$),说明心脑舒片能增强小鼠的耐疲劳能力。

2.4.3 耐缺氧实验 小鼠 50 只,雌雄各半,动物分组 给药剂量及给药天数同 2.4.1。末次给药 1h 后,将小鼠放入盛有 15g 钠石灰的磨口瓶中,用凡士林涂抹瓶口使之不漏气,观察小鼠呼吸,记录自小鼠放入瓶中、盖严瓶口至呼吸停止的时间,此为小鼠存活时间。以小鼠存活时间的长短反映小鼠的耐缺氧能力,结果见表 5。

表 5 心脑舒片对小鼠抗应激能力的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g 生药/kg)	4 $^{\circ}C$ 2h 存活 率(%)	游泳时间 (min)	耐缺氧时间 (min)
阴性对照组	—	20	18.41 \pm 6.12	14.36 \pm 1.18
心脑舒口服液	7.32	90 ²⁾	23.87 \pm 2.55 ¹⁾	21.38 \pm 4.09 ²⁾
心脑舒片	1.83	60	18.81 \pm 7.27	15.92 \pm 2.44
心脑舒片	3.66	70 ¹⁾	19.42 \pm 5.81	17.97 \pm 5.04 ¹⁾
心脑舒片	7.32	100 ²⁾	23.38 \pm 2.68 ¹⁾	21.22 \pm 4.12 ²⁾

结果表明,心脑舒片延长小鼠在常压缺氧条件下的存活时间,中、大剂量组有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),说明心脑舒片能增强小鼠常压下的耐缺氧能力。

2.5 改善记忆力实验 小鼠 50 只,雌雄各半,动物分组及给药剂量见表 6,连续给药 10d。第 9d 上午开始训练,训练前 20min 各组小鼠腹腔注射氢溴酸东莨菪碱注射液 2mg/kg 造成记忆缺损模型,然后将小鼠放入明箱内训练 5min。末次给药 1h 后,将小鼠再次放入明箱内,记录小鼠自放入明箱内到钻洞进入暗箱的潜伏期及 5min 内进入暗箱的错误次数。以潜伏期的长短和错误次数的多少反映小鼠的记忆能力,结果见表 6。

结果表明,心脑舒片能延长小鼠钻洞进入暗箱的潜伏期,减少 5min 内进入暗箱的错误次数,各剂量组均有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),说明心脑舒片对东莨菪碱致小鼠获得性记忆障碍有改善作用。

表6 心脑舒片对东莨菪碱致小鼠
获得性记忆障碍的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (g 生药/kg)	潜伏期 (s)	5min 内错误次数 (次)
阴性对照组	—	49.7 ± 30.4	3.5 ± 1.4
心脑舒口服液	7.32	83.9 ± 36.8 ¹⁾	1.8 ± 1.6 ¹⁾
心脑舒片	1.83	90.7 ± 57.5	2.2 ± 1.1 ¹⁾
心脑舒片	3.66	106.5 ± 70.2 ¹⁾	1.9 ± 1.3 ¹⁾
心脑舒片	7.32	121.8 ± 84.7 ¹⁾	1.6 ± 1.1 ²⁾

3 讨论

阴虚是指阴气虚不能制约阳气而阳气相对亢盛,故表现为虚热性症状如低热、五心烦热、消瘦、盗汗、舌红少苔、脉细数等。气虚是指机体的一身之气不足及其功能低下的病理状态,表现为少气乏力、精神萎顿、自汗、易感冒、舌淡、脉虚等^[4]。本实验结果表明,心脑舒片可明显改善气虚家兔和阴虚小鼠的一般状况,增强小鼠的特异性和非特异性免疫功能,增强小鼠的抗应激能力,并可改善记忆力,这些可能是其临床应用的现代药理学基础。心脑舒片由人

参、麦冬、五味子、党参、黄芪五味中药组成,复方的作用与其组成单方是分不开的,其中人参为“百草之王”具有调气养血、安神益智、生津止咳、滋补强身之功效;麦冬具有养阴生津、润肺清心的功效;五味子具有补益五脏、滋肾益肺、敛阴止汗等功效;而党参兼有补气和养血的作用;黄芪更是补中益气的良药;故心脑舒片具有补气养阴之功效。

[参考文献]

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 1002, 706, 713.
- [2] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科技出版社, 1991. 275, 155.
- [3] 夏洪生, 张永峰, 刘立昌, 等. 归蓉补血片对小鼠阴虚证模型作用的实验研究[J]. 湖北中医学院学报, 2001, 3(2): 23.
- [4] 孙广仁. “六虚”概念及其相互关系考辨[J]. 中医药学刊, 2004, 22(10): 1781-1782.