

正源方提取物对小鼠的抗疲劳、耐缺氧与镇痛作用^Δ

曲永红^{1,2*}, 党欢¹, 王鹏远¹, 王晓娟^{1#}, 唐志书², 唐俊琪³(1.第四军医大学口腔医院药剂科/军事口腔医学国家重点实验室, 西安 710032; 2.陕西中医学院药学院, 陕西咸阳 712046; 3.西安医学院药学院, 西安 710021)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)07-0901-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.07.11

摘要 目的:研究正源方提取物对小鼠的抗疲劳、耐缺氧及镇痛作用。方法:实验分为正常对照(等容生理盐水)组、十全大补丸(1.75 g/kg)组与正源方提取物高、中、低剂量(12.00、6.00、3.00 g/kg)组,ig给药,每天1次,连续9 d。采用负重游泳实验和转棒实验,观察正源方提取物对小鼠的抗疲劳作用;采用常压耐缺氧法测定小鼠存活时间;采用光热辐射甩尾法测定小鼠的痛阈值。结果:与正常对照组比较,正源方提取物高、中剂量组小鼠力竭游泳时间、转棒时间延长;正源方提取物高、中、低剂量组小鼠存活时间延长,痛阈值增高,差异均有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论:正源方提取物对小鼠具有明显的抗疲劳、耐缺氧与镇痛作用。

关键词 正源方;抗疲劳;耐缺氧;镇痛;小鼠

Anti-fatigue, Hypoxia Tolerance and Analgesia Effects of Zhengyuan Prescription Extract on Mice

QU Yong-hong^{1,2}, DANG Huan¹, WANG Peng-yuan¹, WANG Xiao-juan¹, TANG Zhi-shu², TANG Jun-qi³(1.State Key Laboratory of Military Stomatology, Dept. of Pharmacy, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 2.College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi Xianyang 712046, China; 3. College of Pharmacy, Xi'an Medical College, Xi'an 710021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the anti-fatigue, hypoxia tolerance and analgesia effect of Zhengyuan prescription extract on mice. METHODS: The experiments were divided into normal control group (isovolumic normal saline), Shiquan dabu pills group (1.75 g/kg), and Zhengyuan prescription extract high-dose (12.00 g/kg), medium-dose (6.00 g/kg) and low-dose (3.00 g/kg) groups randomly and evenly. Drugs were intragastric administered for 9 days, once a day. Loaded swimming test and rotarod test were used to evaluate the anti-fatigue effects of Zhengyuan fang extract on mice. Meanwhile, hypoxia tolerance method under ordinary pressure and tail-flick method were taken to test the living time and pain value respectively. RESULTS: Compared with normal control group, the loaded swimming time and rotarod time increased in Zhengyuan prescription extract high-dose group and medium-dose group. Living time prolonged and pain value increased in Zhengyuan prescription extract high-dose group, medium-dose group and low-dose group. There were statistic significant difference ($P<0.01$ or $P<0.05$). CONCLUSIONS: Zhengyuan prescription extract has significant anti-fatigue, hypoxia tolerance and analgesia effects on mice.

KEYWORDS Zhengyuan prescription; Anti-fatigue; Hypoxia tolerance; Analgesia; Mice

正源方是中医门诊经验方,处方由西洋参、当归、南沙参、仙鹤草、重楼5味中药组成,具有扶正解毒、止血生血的功效,临床上常用于放、化疗后的辅助用药及辐射损伤引起的血小板减少、毛发脱落、皮肤红斑、皮疹、紫癜等^[1],临床应用安全、有效。中医药擅长对人体进行整体调理,综合调整人体免疫功能,平衡机体阴阳气血内环境,促进人体阴阳平衡、气血调和,在治疗慢性疲劳综合征方面有其独特优势^[2]。为了进一步阐明正源方的药效,笔者对其在抗疲劳、耐缺氧与镇痛方面进行了考察,为正源方的临床应用提供理论依据。

1 材料

Δ 基金项目:国家科技重大专项项目(No.2011ZX09401-308-037);陕西省重点科技创新团队计划项目(No.2012KCT-20)

* 硕士研究生。研究方向:中药制剂与新剂型。电话:029-84773998。E-mail:quyonghong0359@126.com

通信作者:主任药师,硕士生导师。研究方向:中药药剂学。E-mail:wxyjy231@fmmu.edu.cn

1.1 仪器

YLS-12A型鼠尾光照测痛仪(山东省医学科学院设备站);SE1501F型电子天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司];JL-Behv-RRTM型转棒实验分析系统(上海吉良科技有限公司)。

1.2 饮片

西洋参饮片(批号:111201)、当归饮片(批号:110901)、南沙参饮片(批号:111201)、仙鹤草饮片(批号:111101)、重楼饮片(批号:111101)均购自西安盛兴中药饮片有限责任公司。

1.3 药品与试剂

十全大补丸(河南省宛西制药股份有限公司,批号:120201,规格:200丸/瓶);钠石灰(上海五四化学试剂有限公司,批号:130304);水为双蒸水。

1.4 动物

清洁级KM小鼠,♀♂兼用,体质量18~22 g,由第四军医大学实验动物中心提供[实验动物使用许可证号:SCXK(军)]

2 方法

2.1 正源方提取物的制备

取西洋参、当归、南沙参、仙鹤草、重楼饮片适量,加水浸泡30 min,煎煮3次,滤过,合并滤液,浓缩成含生药量为0.60 g/ml的溶液。4℃贮藏,备用。

2.2 负重游泳实验^[9]

考察正源方提取物对小鼠抗疲劳能力的影响。60只KM小鼠随机均分为5组,即正常对照(等容生理盐水)组、十全大补丸(1.75 g/kg)组与正源方提取物高、中、低剂量(12.00、6.00、3.00 g/kg)组;ig给药,给药容积为20 ml/kg,每天1次,连续9 d。在预实验中,正源方提取物小鼠最大给药量为24 g/kg[相当于36.72 g(生药)/kg,成人以60 kg计,每天的临床剂量为0.104 g(生药)/kg,成人每日用量=4粒/次×3次/d×0.34 g/粒×1.53 g(生药)/60 kg=0.104 g(生药)/kg]。十全大补丸参考成人每次的剂量(8~10丸)进行药理学折算给药计算。末次给药1 h后,于小鼠尾部系一质量为小鼠体质量10%的铅皮,将小鼠置于水深约30 cm的游泳箱中,水温为(25±1)℃。以小鼠全身没于水面以下,以3次不能浮出水面的时间,作为力竭游泳时间。以该时间为指标,比较各组小鼠的游泳运动能力并计算游泳力竭时间延长率[(给药组力竭游泳时间-正常对照组力竭游泳时间)/正常对照组力竭游泳时间×100%]。

2.3 转棒实验^[10]

考察正源方提取物对小鼠抗疲劳能力的影响。按仪器说明书对小鼠进行转棒训练。在正式进行转棒测试前3 d,每天将各组小鼠置于转速为30 r/min转棒疲劳仪上,进行适应性训练,剔除跳跃或抱轴小鼠。分组与给药同“2.2”项下方法。末次给药1 h后,将小鼠放置于转速为30 r/min的电动转棒疲劳仪上,开启电源,以3 min内不落降为标准,记录每只小鼠的疲劳转棒时间并计算转棒时间延长率[(给药组转棒时间-正常对照组转棒时间)/正常对照组转棒时间×100%]。

2.4 常压耐缺氧实验^[5-9]

考察正源方提取物对小鼠耐缺氧能力的影响。分组与给药同“2.2”项下方法。末次给药1 h后,将小鼠放入150 ml广口瓶内,每瓶放1只,瓶内装有10 g钠石灰,用凡士林涂抹瓶口后加瓶塞,计时。以小鼠呼吸停止为指标,观察小鼠因缺氧而死亡的时间并计算耐缺氧存活时间延长率(%)[(给药组存活时间-正常对照组存活时间)/正常对照组存活时间×100%]。

2.5 光热辐射甩尾实验^[7]

考察正源方提取物对小鼠光热辐射疼痛反应的影响。分组与给药同“2.2”项下方法。用光照测痛仪将一束光照射到鼠尾上产生集热效应,使鼠尾的局部升温产生疼痛,超过忍耐的痛阈时,小鼠将产生有效的甩尾逃避。以小鼠出现甩尾反应的时间作为痛反应指标,计算痛阈提高率[(用药组痛阈-正常对照组痛阈)/正常对照组痛阈×100%]。分组及给药同“2.2”项下方法。末次给药1 h后分别测定小鼠的痛阈。如果小鼠出现照射16.01 s无反应,则将其取出,其痛阈反应值按16.01 s计算。痛阈提高率(%)=(给药后的痛阈-正常对照痛阈)/正常对照痛阈×100%。

2.6 统计学方法

采用SPSS 13.0软件处理实验数据。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多

组间单因素比较先用单因素分析其正态分布,后以LSD法进行统计。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 负重游泳实验结果

与正常对照组比较,正源方提取物高、中剂量组小鼠力竭游泳时间延长,差异有统计学意义($P < 0.01$),延长率分别为61.98%、135.94%、142.19%。结果表明,正源方提取物具有明显的抗疲劳作用。各组小鼠力竭游泳时间检测结果见表1。

表1 各组小鼠力竭游泳时间检测结果($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 1 Results of exhaustive swimming time of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量,g/kg	力竭游泳时间,min	延长率,%
正常对照组		1.92±1.71	
十全大补丸组	1.75	3.11±2.02	61.98
正源方提取物高剂量组	12.00	4.53±1.81*	135.94
正源方提取物中剂量组	6.00	4.65±2.43*	142.19
正源方提取物低剂量组	3.00	2.74±1.37	42.71

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.01$

3.2 转棒实验结果

与正常对照组比较,十全大补丸组与正源方提取物高、中剂量组小鼠转棒时间延长,差异有统计学意义($P < 0.01$),延长率分别为44.66%、62.28%、89.46%。结果表明,正源方提取物能提高小鼠的抗疲劳能力。各组小鼠转棒时间检测结果见表2。

表2 各组小鼠转棒时间检测结果($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 2 Results of rotarod time of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量,g/kg	转棒时间,min	延长率,%
正常对照组		27.23±6.22	
十全大补丸组	1.75	39.39±8.94*	44.66
正源方提取物高剂量组	12.00	44.19±7.23*	62.28
正源方提取物中剂量组	6.00	51.59±10.06*	89.46
正源方提取物低剂量组	3.00	27.93±6.24	2.57

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.01$

3.3 常压耐缺氧实验结果

与正常对照组比较,十全大补丸组与正源方高、中、低剂量组小鼠存活时间延长,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),延长率分别为16.00%、20.81%、29.02%、16.67%。结果表明,正源方提取物能提高小鼠常压耐缺氧能力。各组小鼠存活时间检测结果见表3。

表3 各组小鼠存活时间检测结果($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 3 Results of living time of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量,g/kg	存活时间,min	延长率,%
正常对照组		12.06±1.48	
十全大补丸组	1.75	13.99±2.56*	16.00
正源方提取物高剂量组	12.00	14.57±3.14*	20.81
正源方提取物中剂量组	6.00	15.56±3.25**	29.02
正源方提取物低剂量组	3.00	14.07±2.25*	16.67

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.4 光热辐射甩尾实验结果

与正常对照组比较,十全大补丸组与正源方提取物高、中、低剂量组小鼠痛阈升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),提高率分别为99.71%、62.07%、77.44%、60.63%。结果表明,正源方提取物能提升小鼠的痛阈。各组小鼠甩尾痛阈检测结果见表4。

表4 各组小鼠甩尾痛阈检测结果($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 4 Results of pain value of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量,g/kg	痛阈值,s	痛阈提高率,%
正常对照组		6.96 ± 1.38	
十全大补丸组	1.75	13.90 ± 2.55*	99.71
正源方提取物高剂量组	12.00	11.28 ± 3.71*	62.07
正源方提取物中剂量组	6.00	12.35 ± 3.31*	77.44
正源方提取物低剂量组	3.00	11.18 ± 3.07*	60.63

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.01$

4 讨论

从中医辨证的角度来看,疲劳被认为是由血气、精髓虚竭,脾胃气弱或肾气不足,或阴不足、阳有余等原因引起的阴虚生内热;疲劳与形体、精气和肺、脾、肾等脏腑功能密切相关^[8-9]。正源方来自中医临床经验方,方中西洋参大补气阴,当归补血活血,仙鹤草止血生血,沙参养阴润燥,重楼解毒止痛,五药合用具有补气与补血养阴同用、止血与生血兼顾、润肠与解毒的基本特点。

本文采用小鼠ig给药的方法,对正源方提取物进行了抗疲劳、耐缺氧与镇痛作用研究。疲劳是机体在一定环境条件下,由于长时间或过于繁重、紧张的劳动而引起的工作效率暂时明显降低的一种生理病理现象^[10-12]。在抗疲劳研究中,小鼠游泳实验和转棒实验是作为判断小鼠运动耐力的客观指标,通过这两个实验,客观地反映了用药组和正常对照组小鼠的运动耐力。研究表明,正源方提取物能够明显延长小鼠的力竭游泳时间和转棒时间,说明正源方提取物能明显对抗小鼠的运动性疲劳。

缺氧是一种紧张性刺激,可使机体产生各种应激性反应。缺氧代偿期,由于酸性代谢产物和二氧化碳蓄积,可以通过外周与中枢化学感受器或直接刺激中枢,引起呼吸加深加快、心跳加强加快、心搏出量增加以及血液重新分配,以保证心脏、脑等重要器官的血液供应。持续稳定的缺氧刺激可使机体建立缺氧适应,这对机体维护自身平衡和内环境稳定是有益的,但是过强或长期的缺氧应激则会给机体带来严重危害,导致最终因能量供应不足而死亡^[13-14]。研究结果表明,正源方提取物各剂量组均能明显延长小鼠的缺氧存活时间,说明正源方提取物具有一定的耐缺氧能力。光热辐射甩尾法是评价药物中枢镇痛活性的常用方法,不同剂量的正源方提取物能明显延长小鼠在甩尾实验中的甩尾痛阈,说明正源方

提取物具有良好的镇痛作用。

综上,正源方提取物能明显延长小鼠的力竭游泳时间和转棒时间,增强小鼠常压耐缺氧能力,延长小鼠光热辐射甩尾痛阈。本研究初步揭示了正源方的抗疲劳、耐缺氧与镇痛作用,为以后研究正源方的其他药理作用及其开发成一种新的抗疲劳中药奠定了基础。

参考文献

- [1] 曲永红,王鹏远,王晓娟,等.正源方对⁶⁰Co-γ射线致小鼠损伤的保护作用研究[J].中成药,2014,36(3):468.
- [2] 陈利平,吴整军,仝战旗,等.抗疲劳中药对小鼠抗疲劳及调节免疫作用的研究[J].中华中医药学刊,2012,30(3):493.
- [3] 张颖,张立木,李同德,等.紫荆叶对模型小鼠的消炎镇痛及耐缺氧抗疲劳作用研究[J].中国药房,2009,20(36):2817.
- [4] 王德才,陈美华,辛晓明.泰山四叶参提取物对小鼠耐缺氧及抗疲劳能力的影响[J].泰山医学院学报,2007,28(6):401.
- [5] 扈婧.运动型复合泡腾片的制备及其抗缺氧和抗疲劳效果的研究[J].食品科技,2013,38(9):68.
- [6] 王瑞,王苏会,闫荟,等.四珍力维胶囊对小鼠的急性毒性及耐缺氧、抗疲劳作用[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(7):86.
- [7] 陈玉立,陈素,刘向明.龙血竭镇痛和阻滞神经传导作用的实验研究[J].时珍国医国药,2010,21(10):2446.
- [8] 肖婷婷,郭倩,田成旺,等.抗运动性疲劳中药及其复方的研究进展[J].现代药物与临床,2013,28(3):446.
- [9] 郑伟,杨洪波.中药抗运动性疲劳研究进展述评[J].体育学刊,2010,17(6):107.
- [10] Zhou S, Wang Y, Tian H, et al. Anti-fatigue effects of Panax notoginseng in simulation plateau-condition mice [J]. Pharmacogn Mag, 2012, 8(31): 197.
- [11] 宋伟峰,苏俊芳,罗淑媛.荔枝多糖抗疲劳作用的实验研究[J].中药材,2012,35(9):1485.
- [12] Kim DI, Kim KS. Walnut extract exhibits anti-fatigue action via improvement of exercise tolerance in mice[J]. Lab Anim Res, 2013, 29(4): 190.
- [13] 丘婷,李天河,吴思,等.六味地黄汤生物制剂对小鼠耐寒、耐缺氧及抗疲劳作用的实验研究[J].广东药学院学报,2011,27(6):621.
- [14] 张红英,李迎军,朴日龙,等.大力新合剂对小鼠的耐缺氧及抗疲劳作用[J].中国医院药学杂志,2010,30(3):185.

(收稿日期:2014-04-17 修回日期:2014-07-05)

(编辑:张静)