

心安颗粒体外抗病毒作用

陈美娟, 杨思进, 秦大莲, 李 亮, 李 华*

(泸州医学院药学院 药理教研室, 四川 泸州 646000)

心安颗粒是在中医理论指导下以传统和现代理论及临床实践为立论依据研制的用于治疗病毒性心肌炎 (VMC) 的纯中药制剂, 自临床使用以来对 VMC 的疗效显著。病毒 (尤其是柯萨奇病毒) 感染是引起 VMC 的直接原因, 病毒感染的体征、体内病毒滴度是诊断 VMC 的重要依据。病毒本身可损伤心肌, 同时可引发免疫反应, 自由基对心肌的进一步损伤^[1,2], 抗病毒药物能从根本上对 VMC 进行治疗, 据此本实验采用 HeLa 细胞体外感染柯萨奇病毒 B₃ 株 (CVB₃) 观察心安颗粒对病毒的作用。

1 材料

1.1 病毒株和细胞株: 柯萨奇病毒 B₃ 株 (CVB₃) 购自中国预防医学科学院病毒所; HeLa 细胞株购自中国科学院上海细胞生物研究所。

1.2 药品与试剂: 心安颗粒, 呈深棕色, 相当于原生药 2.4 g/g, 临时时配成混悬液, 由泸州医学院附属中医院提供, 批号 980922。RPM I-1640 培养液、胎牛血清 (美国 Gibco 公司)。

1.3 仪器: 细胞培养板 (美国 Corning 公司); CO₂ 孵箱 (美国 Shel-lab)。

2 方法^[3,4]

采用组织细胞半数感染量 (TCID₅₀) 的方法, 确定 CVB₃ 的毒力。在测定药物对 HeLa 细胞的最大无毒浓度的基础上, 进一步用心安颗粒作用于 CVB₃ 感染的单层细胞, 根据对细胞病变的抑制效果, 确定药物抗 CVB₃ 的药效。

2.1 药物配制: 用 RPM I-1640 培养液将心安颗粒 (3100 mg/mL) 按 1:50、1:100、1:200、1:400、1:800、1:1600、1:3200 和 1:6400 比例进行稀释, 其药液质量浓度分别为原生药 62、31、15.5、7.75、3.87、1.93、0.96 和 0.48 mg/mL。

2.2 药物对 HeLa 细胞的最大无毒浓度 (TD₀) 测定: 在 96 孔细胞培养板的 HeLa 单层细胞中, 分别加入不同质量浓度的心安颗粒和黄芪精口服液, 置

37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 96 h, 观察细胞病变。

2.3 CVB₃ 的毒力测定: 96 孔板培养 HeLa 单层细胞, 接种 CVB₃ 不同稀释度 (10⁻¹~10⁻¹⁰/mL) 病毒液, 每一稀释度接种 6 孔, 置 37℃ 培养 96 h, 观察细胞病变, 确定其 TCID₅₀。

2.4 心安颗粒对细胞病变的抑制试验: 在 96 孔培养板的 HeLa 单层细胞内, 每孔感染 CVB₃ 100 TCID₅₀, 2 h 后倾去病毒液, 分别加入不同质量浓度的心安颗粒, 培养 96 h 后观察细胞病变。在另一组试验中, 每孔先加不同质量浓度的心安颗粒, 2 h 后倾去药液, 每孔加入 CVB₃ 100 TCID₅₀, 培养 96 h 后观察细胞病变 (“-”表示无细胞病变; “+”表示有 25% 细胞发生病变; “++”表示有 50% 细胞发生病变; “+++”表示有 75% 细胞发生病变; “++++”表示有 100% 细胞发生病变)。

3 结果

实验测得心安颗粒对 HeLa 细胞的 TD₀ 为 31 mg/mL。CVB₃ 的 TCID₅₀ 为 10⁻⁸/mL。表 1 可见, 心安颗粒质量浓度为 31 mg/mL 时, 对 HeLa 细胞有保护作用, 可以抑制 CVB₃ 的活性。表 2 可见, 先加入心安颗粒后, 15.5 mg/mL 药物可以抑制 CVB₃ 对 HeLa 细胞的病理损伤。可见, 先用心安颗粒对 HeLa 细胞作用后, 抗 CVB₃ 的药效更好。

表 1 心安颗粒对 CVB₃ 感染的 HeLa 细胞的治疗作用

Table 1 Therapeutic effect of Xin'an Granule on HeLa cell infected by CVB₃

组 别	剂 量	细胞病变			
		1 号孔	2 号孔	3 号孔	4 号孔
细胞对照	-	-	-	-	-
CVB ₃	-	++++	++++	++++	++++
心安颗粒	31 mg·mL ⁻¹	-	-	-	+
	15.5 mg·mL ⁻¹	+++	++++	++++	+++
	7.75 mg·mL ⁻¹	++++	++++	++++	++++
	3.87 mg·mL ⁻¹	++++	++++	++++	++++
	1.93 mg·mL ⁻¹	++++	++++	++++	++++
	0.96 mg·mL ⁻¹	++++	++++	++++	++++

* 收稿日期: 2005-04-07

基金项目: 四川省教育厅重点项目 [川教科 (1998) 143#]; 中医药管理局基金项目 (2000-18); 泸州医学院新药研发基金 (2002-1#)

作者简介: 陈美娟 (1969—), 女, 四川泸州人, 泸州医学院副教授, 医学硕士, 从事药理学教研工作, 曾获省政府三等奖、市科技进步三等奖。Tel: (0830) 3108595 E-mail: chenmeijuan@263.net

表 2 心安颗粒对 CVB₃感染的 HeLa 细胞损伤的预防作用
Table 2 Preventive effect of Xin'an Granule on HeLa cell damage emanated from CVB₃ infection

组别	剂量	细胞病变			
		1 号孔	2 号孔	3 号孔	4 号孔
细胞对照	-	-	-	-	-
CVB ₃	-	++++	++++	++++	++++
心安颗粒	31 mg · mL ⁻¹	-	-	-	-
	15.5 mg · mL ⁻¹	-	-	-	-
	7.75 mg · mL ⁻¹	+++	+++	+++	++++
	3.87 mg · mL ⁻¹	++++	++++	++++	++++
	1.93 mg · mL ⁻¹	++++	++++	++++	++++
	0.96 mg · mL ⁻¹	++++	++++	++++	++++

4 讨论

病毒性心肌炎是一种由病毒感染所致的以心肌炎性病变为主的疾病。近年来,国内病毒性心肌炎的发病率有所升高,能引起心肌炎的病毒很多,以肠道病毒包括柯萨奇 A、B 组病毒、ECHO 病毒、灰髓炎病毒等为常见,尤其是柯萨奇 B 组病毒(CVB)为多见,所以本实验选用 HeLa 细胞体外感染 CVB₃ 观察心安颗粒抗病毒的作用,结果表明,在体外心安颗粒确实能特异性抑制 CVB₃ 病毒引起的细胞病变,先用药物后对感染 CVB₃ 的抑制效果更好,说明其对 CVB₃ 预防比治疗作用明显。

心安颗粒由黄芪、苦参、生地、麦冬、板蓝根、赤芍等组成,方中生地、麦冬、赤芍、苦参、板蓝根均属

清热药,均有抗炎抗菌作用。其中赤芍对流感病毒有一定抑制作用;板蓝根也有抗病毒作用;实验资料表明黄芪能降低 CVB₃ 小鼠心肌中病毒 RNA 及病毒滴度,有抗病毒作用^[5];文献报道从苦参中提取的苦参总碱在体外能抑制 CVB₃ 繁殖,并能进入细胞发挥抗病毒作用^[6]。本实验结果与文献报道一致,其抗 CVB₃ 机制可能是直接抑制病毒复制,也可能仅是保护细胞,或者两者皆有,这有待进一步研究。

致谢: 本实验由华西医科大学微生物学教研室病毒室协助完成。

References:

[1] Fukae S, A shizawa N, Morikawa S, et al A fatal case of fulminant myocarditis with human herpesvirus-6 infection [J]. Intern Med, 2000, 39(8): 632-635.
[2] Beck M A. Nutritionally induced oxidative stress: effect on viral disease [J]. Clin Nutr, 2000, 71(6): 1676-1681.
[3] Hsiung G D. Diagnostic Virology [M]. 3rd ed London: Yaie University Press, 1982.
[4] Huang J X. Medical Virology-base and Experimental Technology (医学病毒学基础及实验技术) [M]. Beijing: Science Publishing Company, 1990.
[5] Yang Y Z, Xiong D D. Therapeutic status of viral myocarditis [J]. Chin J New Drug Clin Res (中国新药与临床杂志), 1998, 17(5): 307-309.
[6] Wang X F, Wang Y M. Evolving of experimental study on prevention and cure CVB₃ viral myocarditis by traditional Chinese medicine [J]. Liaoning J Tradit Chin Med (辽宁中医杂志), 2000, 27(2): 95-97.

关于举办中国医药领域知识产权保护学术研讨会的通知(第一轮)

受国家食品药品监督管理局委托,中国药学会定于 2006 年 3 月中旬在北京市举办“中国医药领域知识产权保护学术研讨会”,公开向社会征集有关情况、观点、意见和建议。

- 一、会议主题: 加强医药知识产权保护,提高医药产业创新能力。
 - 二、会议安排: 正式会期两天。
 - 三、征文内容与要求: (1) 医药创新和知识产权保护; (2) 医药知识产权及其保护国际现状与趋势; (3) 中国药品领域知识产权现状分析; (4) 未来我国发展医药创新和加强知识产权保护的构想。
 - 四、参会对象: 全国食品药品监督管理局、知识产权局等主管部门领导和管理人员; 全国制药企业、高等院校、科研院所等相关领域及专利中介机构科技专家和管理人员、法律工作者等。
 - 五、时间与地点: 2006 年 3 月中旬,北京市。
 - 六、论文证书和继续教育学分: 本次会议征集的论文经我会专家审评录用者,将编印成论文集,如论文作者需要将发给论文证书。本次会议授予中国药学会 I 类继续药学教育学分 4 分。
 - 七、收费标准: 每位参会代表需交纳会务费 800 元。食宿费自理。
 - 八、报名方式: 请参会代表于 2006 年 3 月 5 日前将“报名回执表”传真、邮寄或 E-mail 至中国药学会学术部。
- 通讯地址: 北京市西城区北礼士路甲 38 号中国药学会 邮 编: 100810
联系人: 孙文虹、鲁毅 电 话: (010)68325163 (010)68331188-2216
传 真: (010)88361536 E-mail: yxhwag@cpha.org.cn yxhwag@sina.com