

百部生品、蜜炙品入药对小儿百部止咳糖浆功效的影响

陈晓霞*, 张旭, 贾天柱

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600)

[摘要] **目的:**探讨百部生品、蜜炙品分别入小儿百部止咳糖浆复方后止咳活性及其治疗小鼠肺炎作用的差异。**方法:**采用柠檬酸豚鼠引咳模型,研究不同剂量生百部复方、蜜炙百部复方的止咳差异。以脂多糖刺激小鼠肺炎模型及合胞病毒小鼠肺炎模型,研究分别口服给予生百部复方、蜜炙百部复方后小鼠肺泡灌洗液中白细胞介素-4(IL-4),IL-10, γ 干扰素(IFN- γ)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的含量变化,并对其肺组织进行病理切片比较。**结果:**与同剂量生百部复方组相比,蜜炙百部复方中、高剂量组止咳作用显著增强;与生百部复方高剂量组比较,蜜炙百部复方高剂量组肺炎模型中肺组织炎症细胞浸润显著降低,IFN- γ /IL-4 显著回调。**结论:**临床使用百部止咳及治疗呼吸道疾病时建议以蜜炙百部入药,以更好地发挥疗效。

[关键词] 百部; 生品; 蜜炙品; 小儿百部止咳糖浆; 炎症因子

[中图分类号] R283.1;R943.1;R974+.2;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)21-0023-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016210023

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160705.1433.008.html>

[网络出版时间] 2016-07-05 14:33

Comparison on Pharmacodynamic Differences Between Xiao'er Baibu Zhike Tangjiang with Raw or Processed Products of Stemonae Radix

CHEN Xiao-xia*, ZHANG Xu, JIA Tian-zhu

(College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate difference of antitussive activity and treatment of pneumonia in mice between Xiao'er Baibu Zhike Tangjiang with raw or processed products of Stemonae Radix. **Method:** Cough model of guinea pigs induced by citric acid was established to investigate antitussive difference between raw products compound and processed products compound with different doses. Lipopolysaccharide was adopted to stimulate mice pneumonia model and syncytial virus mouse pneumonia model, raw products compound and processed products compound were orally administered, concentration of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-10 (IL-10), γ -interferon (IFN- γ) and IL-4 in rats bronchoalveolar lavage fluid were detected, lung tissues were sliced. **Result:** Compared with the same dose of raw products compound, middle and high dose of processed products compound showed distinctly stronger antitussive activity; compared with the high dose of raw products compound, high dose of processed products compound showed lower inflammatory cell infiltration and more regressive ratio of IFN- γ /IL-4. **Conclusion:** In order to play a better therapeutic effect, honey-processed Stemonae Radix should be used to prepare Xiao'er Baibu Zhike Tangjiang.

[Key words] Stemonae Radix; raw products; honey-processed products; Xiao'er Baibu Zhike Tangjiang; inflammatory factor

百部为止咳杀虫类药物,临床常用来治疗咳嗽、哮喘、蛲虫病等。前期研究表明蜜炙百部止咳作用

[收稿日期] 20150918(014)

[基金项目] 辽宁省教育厅一般项目(L2013376);国家教育部博士点基金新教师类项目(20132133120004)

[通讯作者] *陈晓霞,博士,副教授,从事中药炮制及药物分析研究,Tel:13644099631,E-mail:whitesnowbin@163.com

强于生品,主要有效部位为生物碱^[1]。但在临床应用中,百部常与其他药物配伍入复方治疗咳嗽^[2-3]。本实验选取 2015 年版《中国药典》收录的小儿百部止咳糖浆^[4]为研究对象,分别以百部生品、蜜炙品入复方,考察百部生品、蜜炙品在复方中治疗作用的差异性,为揭示百部生品和蜜炙品异用提供参考。小儿百部止咳糖浆主要用于治疗由于痰热蕴肺所致的小儿咳嗽、痰多、百日咳等证,故将热象和肺部病变作为肺热证模型的主要指标^[5],由脂多糖或合胞病毒引起的急性肺炎症状符合肺热证^[5-6]。故本文以豚鼠柠檬酸引咳试验研究百部生品、蜜炙品分别入复方后的止咳药效差异,以脂多糖刺激小鼠急性肺炎及合胞病毒引发小鼠急性肺炎模型,研究百部生品、蜜炙品分别入复方后的药理学差异,为中药炮制研究探索新思路。

1 材料

DFY-500D 型粉碎机(大德药机),FA-B 型 1/1 万电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司)。白细胞介素-4(IL-4),IL-10, γ 干扰素(IFN- γ)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)试剂盒(美国 R&D 公司);脂多糖、包埋剂和苏木精-伊红(HE)染色剂均购自美国 Sigma 公司,小鼠呼吸道合胞病毒(武汉病毒库),磷酸可待因(青海制药厂,批号 20131223),柠檬酸(沈阳沈一精细化学品有限公司),水为重蒸水,试剂均为分析纯。

百部饮片购于安徽亳州药材市场,产地湖北,经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定为百部科植物对叶百部 *Stemona tuberosa* 的块根。将蜂蜜 12.5 g 用适量水溶解,与百部饮片 100 g 混匀,按蜜炙法(2015 年版《中国药典》)炒至不粘手制备蜜炙百部;陈皮、

甘草、知母、黄芩、苦杏仁、枳壳、桔梗、桑白皮、麦冬、制南星均购于大连市同仁堂药店,经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定,均符合 2015 年版《中国药典》的要求;依据 2015 年版《中国药典》小儿百部止咳糖浆^[4]制法制备药品溶液 1 L。另以生百部替换复方中蜜炙百部,同样制备小儿生百部止咳糖浆溶液。按 2015 年版《中国药典》小儿 2 岁以上 1 d 给药剂量换算成豚鼠 1 d 给药 2 次剂量为中质量浓度 0.09 g·mL⁻¹,按照倍数折算配制成低质量浓度 0.045 g·mL⁻¹及高质量浓度 0.18 g·mL⁻¹的溶液。

英国种纯白短毛豚鼠,体重(300 ± 50) g,合格证号 SCXK(辽)2013-0002;清洁级 BALB/c 小鼠,体重约 20 g,合格证号 SCXK(辽)2013-0005;雌雄各半,均由大连医科大学提供,于标准条件下饲养,适应环境 1 周后开始实验。

2 方法与结果

2.1 豚鼠柠檬酸引咳试验 同文献[7]中实验方法,取初筛合格的豚鼠 64 只,随机分为 8 组,包括空白组(按 10 mL·kg⁻¹给予生理盐水),阳性组(按 0.007 g·kg⁻¹给予磷酸可待因),生百部复方高(0.18 g·mL⁻¹),中(0.09 g·mL⁻¹),低(0.045 g·mL⁻¹)剂量组,蜜炙百部复方高(0.18 g·mL⁻¹),中(0.09 g·mL⁻¹),低(0.045 g·mL⁻¹)剂量组,按给药体积 10 mL·kg⁻¹口服给药,每天 2 次,口服给药 3 d 后,柠檬酸引咳,记录豚鼠 5 min 内咳嗽次数及咳嗽潜伏期,计算咳嗽抑制率及止咳活性,见表 1。

$$\text{咳嗽抑制率} = (\text{生理盐水组咳嗽数} - \text{给药组咳嗽数}) / \text{生理盐水组咳嗽数} \times 100\%$$

$$\text{止咳活性} = \text{给药组咳嗽抑制率} / \text{可待因组咳嗽抑制率} \times 100\%$$

表 1 生、蜜炙百部分别入小儿百部止咳糖浆后的止咳差异比较($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Difference of antitussive activity between Xiao'er Baibu Zhike Tangjiang with raw or processed products of *Stemona Radix* ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	5 min 内咳嗽数/次	咳嗽潜伏期/s	咳嗽抑制率/%	止咳活性/%
空白	-	91.25 ± 13.50	38.63 ± 6.52	-	-
磷酸可待因	0.007	41.38 ± 7.42 ²⁾	101.13 ± 10.48 ²⁾	54.47	100.00
生百部复方	0.45	81.63 ± 9.94	46.88 ± 9.58	10.87	19.99
	0.9	73.50 ± 11.11 ¹⁾	59.50 ± 10.92 ¹⁾	19.02	34.35
	1.8	75.38 ± 20.32 ¹⁾	56.25 ± 7.59 ¹⁾	17.56	32.58
炙百部复方	0.45	73.25 ± 5.01	66.63 ± 8.12 ^{2,3)}	19.08	35.68
	0.9	61.75 ± 11.08 ^{2,3)}	80.75 ± 16.85 ^{2,3)}	32.35	59.90
	1.8	57.50 ± 7.11 ^{2,3)}	89.00 ± 7.82 ^{2,3)}	36.12	66.71

注:与空白组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01;同剂量复方面比较³⁾P < 0.05。

结果发现与空白组比较,生百部及蜜炙百部复方中、高剂量组均具有显著止咳作用,既能减少咳嗽次数,又能延长咳嗽潜伏期。蜜炙百部复方低剂量组能够显著延长咳嗽潜伏期。但同剂量相比,中、高剂量蜜炙百部复方组止咳作用显著优于生百部复方组;在选定剂量内,蜜炙百部复方组剂量与咳嗽抑制率和止咳活性成正比。生百部复方组高剂量组与中剂量组相差较小。

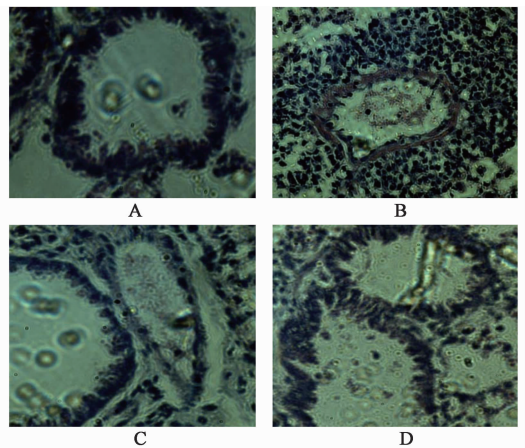
2.2 脂多糖肺炎模型建立及给药 72 只 BALB/c 小鼠,按体重、性别随机分 6 组(空白组,模型组,生百部复方高、低剂量组,蜜炙百部复方低、高剂量组),每组 12 只。空白组及模型组按 20 mL·kg⁻¹ 分别灌胃给予生理盐水,其他给药组按同法给予不同剂量药物,每天 1 次,连续给药 7 d。第 7 天给药 1 h 后除空白组外,将其他组小鼠麻醉后,用移液枪吸取 1 g·L⁻¹ 脂多糖 50 μL,滴于小鼠咽后壁造模。

2.3 病毒性肺炎模型建立及给药 72 只 BALB/c 小鼠,按体重、性别随机分 6 组(空白组,模型组,生百部复方低、高剂量组,蜜炙百部复方低、高剂量组),每组 12 只。除空白组外,其他各组小鼠用乙醚轻度麻醉后,以 15 个半数致死量(LD₅₀)小鼠呼吸道合胞病毒 0.05 mL 滴鼻感染。给药组于感染 1 h 后开始每只小鼠按 20 mL·kg⁻¹ 口服给药,每天 2 次,直至感染后第 7 天。空白组及模型组按同法给予等量水,在病毒实验室完成。

2.4 HE 染色 造模 12 h 后取出脂多糖造模小鼠肺组织,甲醛固定 12 h,常规石蜡包埋,切片,HE 染色,见图 1。结果显示除空白组外,各组肺部组织染色切片均有炎症细胞浸润,其中模型组炎症细胞侵蚀现象较严重,有充血现象,少见正常形态的肺泡细胞;生百部复方高剂量组炎症细胞减少但依然可见充血严重,蜜炙百部复方高剂量组炎症细胞较少,病变情况较轻。

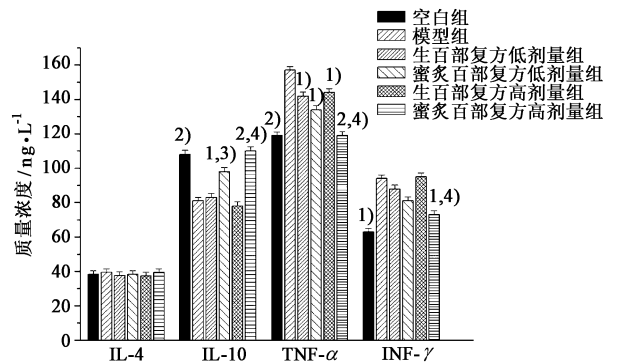
2.5 IL-4, IL-10, IFN-γ 和 TNF-α 的含量测定

2.5.1 脂多糖肺炎小鼠模型支气管肺泡灌洗液 收集造模 12 h 后小鼠支气管肺泡灌洗液,按酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒说明书进行测定,见图 2。结果显示与空白组比较,模型组中 IL-10 含量显著下降,IFN-γ 及 TNF-α 含量显著升高。与模型组比较,蜜炙百部复方低、高剂量组显著回调了 IL-10 及 TNF-α 含量,生百部复方各组均显著回调 TNF-α 含量;蜜炙百部复方高剂量组 IFN-γ 含量显著降低。同剂量蜜炙百部复方组较生百部复方组更能显著回调 IL-10 含量;蜜炙百部复方高剂量组较生百部复



A. 空白组; B. 模型组; C. 生百部复方高剂量组; D. 蜜炙百部复方高剂量组
图 1 脂多糖刺激引起小鼠急性肺炎模型肺组织病例形态学观察
Fig. 1 Morphological changes in lung tissues of acute pneumonia mice induced by LPS stimulation

方高剂量组更能显著降低 TNF-α 及 IFN-α 含量。各组中 IL-4 含量不存在显著性差异,但与模型组比较,蜜炙百部复方高剂量组的 IFN-γ/IL-4 显著降低了,且较生百部复方高剂量组回调显著。



与模型组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01; 同剂量复方方向比较³⁾ P < 0.05, ⁴⁾ P < 0.01 (图 3 同)
图 2 脂多糖肺炎小鼠模型支气管肺泡灌洗液中 IL-4, IL-10, IFN-γ 及 TNF-α 的表达(x̄ ± s, n = 12)
Fig. 2 Expression of IL-4, IL-10, IFN-γ and TNF-α in bronchoalveolar lavage fluid of acute pneumonia mice induced by LPS stimulation after 12 h(x̄ ± s, n = 12)

2.5.2 合胞病毒小鼠急性肺炎模型肺泡灌洗液 见图 3。结果显示合胞病毒小鼠肺炎模型中肺泡灌洗液中炎症因子含量除 IFN-γ 外,与脂多糖刺激引起小鼠急性肺炎模型结果相类似。与空白组比较,模型组主要显著影响了 IL-10, IFN-γ 及 TNF-α 含量。与模型组比较,生百部复方高、低剂量组均能显著回调 TNF-α 含量,但对其他炎症因子无显著影响;蜜炙百部复方高、低剂量组对 IL-10 及 TNF-α 均较生百部复方高、低剂量组有显著的回调能力,蜜

炙百部复方高剂量组较生百部复方高剂量组 IFN- γ 回调显著,低剂量组较模型组有显著性差异,但与生百部复方组无显著性差异。

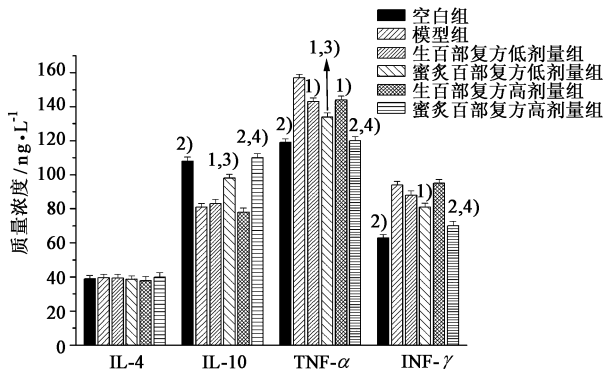


图 3 合胞病毒小鼠急性肺炎模型肺泡灌洗液中 IL-4, IL-10, IFN- γ 及 TNF- α 含量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 3 Expression of IL-4, IL-10, IFN- γ and TNF- α in bronchoalveolar lavage fluid of acute pneumonia mice after being infected with syncytial virus for 7 d ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

2.6 统计方法 采用 SPSS 10.0 统计软件数据分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,方差分析组间差异采用 t 检验, $P < 0.001$ 表示有极显著性差异, $P < 0.01$ 表示有显著性差异, $P < 0.05$ 表示有明显差异。

3 讨论

在豚鼠柠檬酸引咳试验中,蜜炙百部复方组在给定剂量内量效关系成正比,而生百部复方组并未有此关系;且在实验过程中发现相同条件下饲养,生百部复方高剂量组豚鼠脱毛、厌食现象严重,这可能和百部具小毒有关系,拟在后续实验中进一步研究。本文以 2015 年版《中国药典》收录的方剂为实验材料,考察生、蜜炙百部在复方方剂中替换前后止咳药效的差异,结合前期对其化学成分变化的研究^[7],认为蜜炙百部入小儿百部止咳糖浆复方后,能够促进主要成分的药效成分溶出,从而增强了止咳作用,这为解释百部临床炮制使用提供了实验依据。

对于肺炎产生机制,中医认为是正气不足、阴精虚亏导致^[8]。西医则认为肺炎是人体免疫应答过

程中由于病毒或细菌等引起了细胞因子的过度表达^[9]。其中辅助性 T 细胞 1 (Th1) 释放的 IL-4 促进 B 细胞的增殖、分化和类别转换;IL-10 对免疫反应起抑制性的负反馈作用;TNF- α 能参与急性和慢性炎症反应,诱导炎性细胞分泌细胞因子;IFN- γ 能诱导细胞表达 IL-2 受体,从而促进 T 细胞增殖,进一步扩大免疫应答。当 Th1 与 Th2 平衡被打破,则免疫功能失调,常以 IFN- γ /IL-4 代表 Th1/Th2 细胞比值来评价免疫功能^[10]。

[参考文献]

[1] 陈晓霞,鞠成国,夏林波,等. 对叶百部生品及蜜炙品不同极性部位止咳化痰作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3): 146-149.

[2] 黄祥远,侯小涛,戴航. 复方百部止咳颗粒中百部的鉴别以及苦杏仁苷含量测定[J]. 右江医学, 2007, 35(5): 503-505.

[3] 张颖娟,郭阿霞. 复方百部颗粒组方药味配伍比例优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20): 40-42.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 531-532.

[5] 欧敏. 中医药防治呼吸道病毒感染性疾病研究现状[J]. 北京中医药大学学报, 1998, 21(3): 58-61.

[6] 郭玲,李文静,徐明江,等. 吸入脂多糖诱导小鼠急性肺炎模型的建立[J]. 北京大学学报, 2009, 41(2): 226-228.

[7] 陈晓霞,魏熙婷,邓仕任,等. 生、蜜炙百部替换入复方方剂后化学成分研究[J]. 广州化工, 2013, 41(13): 136-138.

[8] Chen H D, Fraire A E, Joris L, et al. Specific history of heterologous virus infections determines antiviral immunity and immunopathology in the lung[J]. Am J Pathol, 2003, 163(4): 1341-1355.

[9] Tamura S, Kurata T. Defense mechanisms against influenza virus infection in the respiratory tract mucosa[J]. J Infect Dis, 2004, 189(6): 236-247.

[10] 窦肇华,张远强,郭顺根. 免疫细胞学与疾病[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 863-864.

[责任编辑 刘德文]