

天山花楸平喘胶囊镇咳、祛痰、平喘、抗炎及免疫作用研究

王丹¹, 向阳², 常军民¹

(1. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011;

2. 新疆医科大学第一附属医院检验科, 乌鲁木齐 830054)

[摘要] **目的:**研究天山花楸平喘胶囊的镇咳、祛痰、抗炎、平喘及免疫调节作用。**方法:**设立模型对照组、天山花楸平喘胶囊(1, 2, 4 g·kg⁻¹)组、阳性药组。采用小鼠氨水引咳和气管酚红排泄法评价天山花楸平喘胶囊的镇咳和祛痰作用, 采用2%氯化乙酰胆碱和0.1%磷酸组织胺等容积混合液致大鼠哮喘法, 观察对大鼠的哮喘潜伏期; 采用小鼠足肿胀法评价抗炎作用; 通过碳廓清和血清溶血素的测定评价对小鼠的免疫调节作用。**结果:**天山花楸平喘胶囊能明显延长小鼠咳嗽潜伏期, 减少咳嗽次数; 能促进小鼠气管酚红排泄; 对磷酸组胺引起的大鼠哮喘具有保护作用, 使大鼠哮喘潜伏期明显延长; 并极显著的抑制小鼠足跖肿胀度($P < 0.01$)。天山花楸平喘胶囊能显著提高小鼠的碳廓清指数($P < 0.05$)以及血清溶血素水平($P < 0.01$)。**结论:**天山花楸平喘胶囊具有良好的镇咳、祛痰、抗炎、平喘及免疫调节作用。

[关键词] 天山花楸平喘胶囊; 镇咳; 祛痰; 抗炎; 哮喘; 免疫

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0262-04

[doi] 10.11653/syjf2013230262

Effects of Tianshan Huaqiu Pingchuan Capsule on Relieving Cough Dispelling Phlegm and Anti-inflammation

WANG Dan¹, XIANG Yang², CHANG Jun-min^{1*}

(1. Pharmacy College, Xinjiang University, Urumqi 830011, China;

2. First Affiliated Hospital of Xinjiang University, Urumqi 830054, China)

[Abstract] **Objective:** To research the effects of *Tianshan Huaqiu* Pingchuan capsule on relieving cough, dispelling phlegm and anti-inflammation. **Method:** The establishment of the model control group, *Tianshan Huaqiu* Pingchuan capsule (1, 2, 4 g·kg⁻¹) group, positive drug group. Using ammonia induced cough in mice and evaluate tracheal phenol red excretion of Pingchuan capsules antitussive and expectorant function, to observe the frequency of cough and phenol red excretion; using 2% acetylcholine chloride and 0.1% histamine phosphate and volume of mixing liquid induced rat asthma, observe the asthma incubation period of *Tianshan Huaqiu* Pingchuan capsule on rats with mice; anti-inflammatory effect foot swelling method in evaluation of *Tianshan Huaqiu* Pingchuan capsule; regulation by measuring the carbon clearance and hemolysin immune evaluation of *Tianshan Huaqiu* Pingchuan capsules in mice. **Result:** *Tianshan Huaqiu* Pingchuan capsule could obviously prolong the latent period and decrease the frequency of cough, promote mouse tracheal phenol red secretion; Rat asthma caused by histamine phosphate has a protective effect, make the rat asthma latency prolonged; and significantly inhibit the swelling degree ($P < 0.01$). In addition, *Tianshan Huaqiu* Pingchuan capsule can significantly improve the mice carbon clearance index ($P < 0.05$) and the level of serum hemolysin ($P < 0.01$). **Conclusion:** *Tianshan Huaqiu* Pingchuan capsule has the apparent significant antitussive, expectorant

[收稿日期] 20130520(011)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区科技支撑计划项目(201133127)

[第一作者] 王丹, 硕士, 研究员, 从事天然药物研究工作, Tel: 15276867527, E-mail: wd7527@126.com

[通讯作者] * 常军民, 博士, 教授, 从事天然药物研究工作, Tel: 0991-4366620, E-mail: ejmcejn2471@sohu.com

antiasthmatic, anti-inflammation, and immunological regulative functions.

[**Key words**] Tianshan Huaqiu pingchuan capsules; relieving cough; dispelling phlegm; anti-inflammatory; asthma; immunity

天山花楸,别名花楸,为蔷薇科花楸属植物天山花楸的干燥嫩枝叶,是新疆特有的民间植物药,以果实、嫩枝叶及茎皮入药^[1]。其果实味苦甘、性平,嫩枝叶及茎皮味苦、无毒,具有清热润肺、补脾生津之功效。天山花楸对哮喘、咳嗽有一定的疗效,用于治疗慢性支气管炎、肺结核、水肿等症^[2-4],按照中药5类新药要求,制备了天山花楸平喘胶囊。本研究对天山花楸平喘胶囊的止咳、祛痰、抗炎、平喘及免疫作用进行了考察。

1 材料

1.1 药物与试剂 天山花楸,于2011年10月中旬购自新疆呼图壁林场,秋季叶尚绿时采收,即时干燥,经新疆医科大学药学院生药学教研室帕丽达教授鉴定为天山花楸(*Sorbus tianschanica* Ruper.)干燥嫩枝叶;课题组按中药5类新药要求由新疆国药制药厂制得天山花楸平喘胶囊,批号20121029。地塞米松磷酸钠注射液(湖北天药业股份有限公司,批号42020019),氯化铵(北京中新制药厂,批号120901),苯酚红(天津市福晨化学试剂厂,批号20110410),碳酸氢钠(分析纯,天津市富精化工有限公司,批号20070803),磷酸组织胺(上海三爱思试剂有限公司,批号20060903),氯化乙酰胆碱(上海三思试剂有限公司,批号030527),生理盐水(西安京西双鹤有限公司,批号100830481)。急支糖浆[广州星群(药业)股份有限公司,批号EH10028],印度墨汁(England使用前用生理盐水稀释5倍,超声波处理后离心以弃去沉淀物)。绵羊红细胞(SRBC,批号20121123)。蛋清(市场上购买新鲜鸡蛋,去壳及去蛋黄)而得。

1.2 仪器 402型-气体压缩机(上海合力医疗器械厂),TD5A-WS-离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司),s22PC-可见分光光度计(上海棱光技术有限公司)AL204-分析天平、JB/T 5347-1991-电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

1.3 动物 昆明种小鼠18~22 g,雌雄兼用,SD大鼠160~200 g,雌雄兼用,均由新疆医科大学实验动物中心提供,生产许可证号SCXK(新)2011-0004,动物使用许可证号SYXK(新)2011-0004。

2 方法

2.1 小鼠氨水引咳实验 采用浓氨水喷雾法^[5]。

取小鼠50只,雌雄各半,体重18~22 g,按性别、体重均匀分成5组,每组10只。空白组(等容积0.9%氯化钠溶液,阳性对照组(急支糖浆,2.6 mL·kg⁻¹,相当于临床日用量的2倍);天山花楸平喘胶囊内容物高、中、低剂量组(4,2,1 g·kg⁻¹)均ig,1次/d,连续7 d,末次给药后1 h,将小鼠放入诱咳引喘仪中恒压喷入浓氨水气雾,观察小鼠咳嗽潜伏期及3 min内咳嗽次数。计算其止咳率。

$$\text{止咳率} = \frac{\text{给药组止咳潜伏期}}{\text{对照组止咳潜伏期}} \times 100\%$$

2.2 小鼠气管酚红排泄实验 采用气管段酚红排泄法^[5]。小鼠50只,体重18~22 g,按体重与性别均匀分成5组:空白组(等容积0.9%氯化钠溶液),天山花楸平喘胶囊高、中、低剂量组(剂量同**2.1**),阳性对照组氯化铵,1 g·kg⁻¹),均ig,1次/d,连续7 d。末次药后1 h,5 g·L⁻¹酚红溶液ip 0.5 mL/只,30 min后断颈处死动物,剥离气管周围组织,剪下自甲状软骨至气管分支处一段气管,放入盛有2 mL生理盐水的试管中,用4%碳酸氢钠2 mL冲洗剪下的气管3次,再加入1 mol·L⁻¹的氢氧化钠1滴,使成碱性,加4%碳酸氢钠至5 mL,离心取上清液,用分光光度计于546 nm处测吸光度(A)。

2.3 对大鼠药物性哮喘的影响 采用组胺引喘法^[5]。大鼠50只,体重180~220 g,按体重与性别均匀分成5组,空白组(等容积0.9%氯化钠溶液),天山花楸胶囊高,中,低剂量组(剂量同**2.1**),阳性对照组(氨茶碱1 g·kg⁻¹),均ig,1次/d,连续7 d,末次药后1 h,每次雌雄各1只大鼠放入气雾箱用超声雾化器持续喷入8 g·L⁻¹乙酰甲胆碱和0.1%磷酸组织胺(等体积),观察大鼠的哮喘反应,记录大鼠的哮喘潜伏期(即从喷雾开始到哮喘发作,呼吸困难,直至抽搐跌倒的时间),超过180 s以180 s计。

2.4 抗炎实验 采用蛋清足肿胀法^[6]。小鼠50只,雌雄各半,体重18~22 g,随机分为5组,空白组(等容积0.9%氯化钠溶液),天山花楸平喘胶囊高、中、低3个剂量(同**2.1**)组、阳性对照组(地塞米松,1.4×10⁻³ g·kg⁻¹,相当于7倍用量),所有药物均用蒸馏水混悬,按20 mL·kg⁻¹,ig,1次/d,连续7 d。末次给药前,以螺旋测微仪测量右后足跖厚度,作为致

炎前右后足正常厚度。末次给药后 1 h, 小鼠右后足跖 sc 注射蛋清 0.1 mL/只致炎, 测量注入致炎后 1, 2, 3 h 后右足跖厚度, 并减去致炎前小鼠右后足正常厚度为各鼠在不同时点的足肿胀度。

2.5 免疫试验

2.5.1 碳粒廓清法^[7] 小鼠 60 只, 体重 18~22 g, 雌雄各半, 随机分成 5 组, 每组 12 只。空白对照组(等容量蒸馏水), 阳性对照组(地塞米松, $1.4 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 相当人 7 倍用量), 天山花楸平喘胶囊高、中、低剂量(同 2.1)组。1 次/d, 连续 7 d, 末次给药后尾静脉注射墨汁 $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$; 墨汁一经注入, 立即计时。于注射后 2 min(t_1) 和 10 min(t_2) 分别用吸管经眼内眦静脉取血 0.02 mL。(吸管在吸取血液前吸吹一下 $20 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的肝素溶液以防血液凝固)将血液加入盛有 0.1% Na_2CO_3 溶液 2 mL 试管中, 摇匀, 用 721 分光光度计在 600 nm 波长处测 A。取血后脱颈椎法处死动物, 取出小鼠肝脏与脾脏, 用滤纸吸干脏器表面血污, 称重。计算廓清指数(K)和吞噬指数(α)。

$$K = \log A_1 - \log A_2 / (t_2 - t_1)$$

$$\alpha = \text{体重} / (\text{肝重} + \text{脾重}) \times K^{1/3}$$

2.5.2 血清溶血素法^[5] 昆明种小鼠 60 只, 体重 18~22 g, 随机分成 5 组, 每组 12 只。空白对照组(等容量蒸馏水), 阳性对照组(地塞米松, $1.4 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 相当人 7 倍用量), 天山花楸平喘胶囊高、中、低剂量(同 2.1)组。先 ig 给药, 1 次/d, 连续 7 d, 第 7 天对小鼠进行免疫: 将绵羊红细胞(SRBC)用生理盐水洗涤 3 次后, 配成 20% SRBC 溶液, 每鼠 0.2 mL, ip。然后继续 ig 给药至免疫第 5 天, 小鼠眼眶后静脉丛取血, 离心得血清, 取 20 μL 血清用生理盐水稀释 500 倍, 取 1 mL, 再加入 20% SRBC 溶液、补体(1:10 稀释的混合豚鼠血清)和生理盐水各 0.5 mL, 于温箱内温育 0.5 h 后, $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液于 540 nm 处测定(A)。

2.6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计学分析, 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用方差分析, 以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠氨水引咳实验 与空白对照组相比, 天山花楸平喘胶囊 3 个剂量组和急支糖浆能显著延长小鼠咳嗽潜伏期, 明显减少咳嗽次数($P < 0.05$), 高剂量组的作用强于急支糖浆组($P < 0.05$), 说明天山花楸平喘胶囊对氨水引起的小鼠咳嗽有一定的止咳作用。见表 1。

表 1 天山花楸平喘胶囊对小鼠的止咳作用($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	咳嗽潜伏期 /s	咳嗽数 次/3 min
对照	-	36 ± 18.24	50 ± 4.67
天山花楸 平喘胶囊	4	$58 \pm 12.34^{1,3)}$	$10 \pm 6.78^{1,3)}$
	2	$49 \pm 20.48^{1)}$	$14 \pm 4.23^{1)}$
	1	$30 \pm 18.54^{1)}$	$19 \pm 5.45^{1)}$
急支糖浆 ⁵⁾	2.6	$46 \pm 28.12^{1)}$	$20 \pm 3.82^{1)}$

注: 与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与急支糖浆组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~6 同)。⁵⁾ 剂量单位 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

3.2 小鼠气管酚红排泄实验 酚红的标准曲线为 $Y = 0.1732X - 0.0084, r = 0.9995$ 。与空白对照组比, 天山花楸平喘胶囊($4, 2, 1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)氯化钠组均能显著增加小鼠气管酚红的排泄量, 改善率分别为 8.4%, 17.6%, 4.2% 和 38% ($P < 0.01$), 表明天山花楸平喘胶囊能增强小鼠的气管酚红排泄量, 说明有祛痰作用。见表 2。

表 2 天山花楸平喘胶囊对小鼠气管酚红排泄量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	气道酚红排泄量 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	改善率 /%
对照	-	1.42 ± 0.32	
天山花楸平喘胶囊	4	$1.54 \pm 0.78^{1,4)}$	8.4
	2	$1.67 \pm 0.47^{1,3)}$	17.6
	1	$1.48 \pm 0.75^{1,4)}$	4.2
氯化铵	1	$1.96 \pm 0.23^{2)}$	38.0

3.3 组胺引喘试验 与空白对照组相比, 天山花楸平喘胶囊 3 个剂量组能显著延长大鼠的引喘潜伏期($P < 0.01$), 有一定的平喘作用。其作用强度不如氨茶碱($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 天山花楸平喘胶囊对大鼠的平喘作用($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	引喘潜伏期 /s	延长率 /%
对照	-	81.54 ± 14.46	
天山花楸平喘胶囊	4	$137.56 \pm 26.34^{2)}$	56
	2	$125.34 \pm 16.76^{2,3)}$	44
	1	$106.23 \pm 18.12^{2,4)}$	25
氨茶碱	1	$173.54 \pm 20.54^{2)}$	92

3.4 小鼠足肿胀实验 注射蛋清后, 小鼠足跖在 10 min 后开始肿胀程度明显。天山花楸平喘胶囊

4,2,1 g·kg⁻¹和地塞米松在不同时点均可显著抑制小鼠足肿胀程度($P < 0.01$, $P < 0.05$),其中2 h后天山花楸平喘胶囊低剂量组抗炎效果最显著,见表4。

表4 天山花楸平喘胶囊对小鼠的抗炎作用($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	肿胀度/mm		
		1 h	2 h	3 h
对照		1.105 ± 0.11	1.307 ± 0.19	1.508 ± 0.13
天山花楸平喘胶囊	4	0.932 ± 0.16 ²⁾	0.725 ± 0.25 ²⁾	0.546 ± 0.16 ²⁾
	2	0.967 ± 0.08 ¹⁾	0.713 ± 0.14 ²⁾	0.643 ± 0.17 ²⁾
	1	1.073 ± 0.19 ¹⁾	0.634 ± 0.09 ^{1,3)}	0.579 ± 0.07 ³⁾
地塞米松	1.4 × 10 ⁻³	0.968 ± 0.13 ¹⁾	0.863 ± 0.21 ²⁾	0.624 ± 0.15 ²⁾

3.5 对小鼠碳粒廓清指数的影响 与对照组比较,天山花楸平喘胶囊各剂量组可明显提高小鼠廓清指数和吞噬指数($P < 0.05$)。天山花楸平喘胶囊在此剂量下能提高小鼠的非特异性免疫功能,见表5。

表5 天山花楸平喘胶囊对小鼠碳廓清及巨噬细胞吞噬功能的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	廓清指数/K	吞噬指数/ α
对照	-	0.024 0 ± 0.013 8	3.981 ± 0.891
天山花楸平喘胶囊	4	0.035 3 ± 0.015 6 ²⁾	4.656 ± 0.387 ^{1,3)}
	2	0.030 1 ± 0.012 4 ^{1,3)}	4.460 ± 0.864 ^{1,3)}
	1	0.028 0 ± 0.008 6 ^{1,3)}	4.910 ± 1.009 ¹⁾
地塞米松	1.4 × 10 ⁻³	0.039 1 ± 0.011 9 ²⁾	5.286 ± 1.091 ²⁾

3.6 对小鼠血清溶血素的影响 与正常对照组相比,4,2,1 g·kg⁻¹天山花楸平喘胶囊组能显著升高小鼠的血清溶血素($P < 0.01$),低剂量组和地塞米松组与正常对照组相比无显著性差异。提示天山花楸平喘胶囊能提高小鼠的体液免疫功能。见表6。

表6 天山花楸平喘胶囊对小鼠血清溶血素抗体生成的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	A
对照	-	0.340 ± 0.203
天山花楸平喘胶囊	4	0.745 ± 0.320 ^{2,4)}
	2	0.605 ± 0.154 ^{2,3)}
	1	0.479 ± 0.322
地塞米松	1.4 × 10 ⁻³	0.436 ± 0.126

4 讨论

从实验结果可以看出,天山花楸平喘胶囊可延长由浓氨水诱导的小鼠咳嗽的潜伏期,明显增加小鼠排痰量,明显延长磷酸组胺所致豚鼠哮喘的潜伏期,此外,天山花楸平喘胶囊还具有明显抑制小鼠足跖肿胀度,使小鼠的碳廓清指数、吞噬指数明显升高以及升高小鼠血清溶血素的生成的作用,证明天山花楸平喘胶囊有很好的镇咳、祛痰、平喘、抗炎和免疫调节作用。从中医辨证来讲,痰、咳、喘三者关系密切,互为因果,在治疗时化痰药与止咳平喘药常配伍应用^[8]。一般咳嗽有痰者为多,痰多又容易引起咳嗽,而祛痰药多能止咳。咳嗽与喘关系密切,且止咳可以平喘,平喘有利于排痰止咳^[9]。天山花楸平喘胶囊以新疆特有的民族药材天山花楸为原料药,经提取纯化制备而成,通过以上实验,证明其具有镇咳、祛痰、抗炎、平喘以及免疫调节作用,有望开发成为一种新的平喘药物。

[参考文献]

- [1] 常军民,杨玲玲,热娜·卡斯木. 天山花楸醋酸乙酯部位化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(02):175.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 第36卷[M]. 北京:科学出版社,1974:284.
- [3] 张芹,李根,唐辉. 天山花楸不同的提取部分对心肌缺血性保护作用的筛选[J]. 中国药理学通报,2009,25(2):277.
- [4] 马俊鹏,常军民,卢冬梅. 天山花楸水提取液镇咳平喘作用的实验研究[J]. 西北药学杂志,2008,23(3):186.
- [5] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 上海:上海科学技术出版社,2002:1370,1380,1433.
- [6] 钟建春,张艳,丁振涛,叶克难. 人工冬虫夏草多糖提取物对小鼠免疫功能的影响[J]. 中山大学学报:自然科学版,2011,50(6):100.
- [7] 刘辉,林敬连,郭月秋. 因中药免疫组学而对中药四君子汤免疫调节作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(7):126.
- [8] 文丹丹,王敏,麻杏石甘汤治疗咳嗽变异性哮喘的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,16(8).
- [9] 沈映君. 中药药理学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1997:138.

[责任编辑 李玉洁]