

## 两种煎法所得麻杏石甘汤煎剂 对 A 型流感病毒感染小鼠的治疗作用

郭小鸽,肖子曾,卢芳国\*,李玲,谭露,杨胜辉,蔡锐,朱应武,张波,向琴  
(湖南中医药大学,长沙 410208)

**[摘要]** 目的:比较研究麻黄先煎和 4 味药同煎所得麻杏石甘汤煎剂对 A 型流感病毒感染小鼠的治疗效果。方法:采用鼻腔接种法建立 A 型流感病毒小鼠肺部感染模型,实验设正常对照组、模型对照组、麻黄先煎组、4 味药同煎组、奥司他韦组,经灌胃连续给药 7 d。分别于感染后治疗的第 4,7 天检测小鼠体重,第 7 天,常规检测肺质量指数;光学显微镜技术观察病理变化,透射电子显微镜技术观察肺组织超微结构。结果:①体重:感染后治疗 4,7 d,与正常对照组比较,模型对照组体重显著下降( $P < 0.05$ );治疗 7 d,与模型对照组比较,奥司他韦组、麻黄先煎组体重显著增加( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。②肺指数:与正常对照组比较,模型对照组肺指数显著增加( $P < 0.01$ );与模型对照组比较,各治疗组肺指数明显降低( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),其中麻黄先煎组与模型对照组比较,较显著性差异( $P < 0.01$ ),高于 4 味药同煎组与模型对照组比较的差异性( $P < 0.05$ )。③肺部病理变化:与正常对照组比较,模型对照组肺正常组织结构消失,肺泡内有大量炎症细胞浸润。与模型对照组比较,各治疗组肺组织病理变化得到改善,其中奥司他韦组、麻黄先煎组肺部病变程度较 4 味药同煎组轻。④肺组织超微结构:与正常对照组比较,模型对照组小鼠肺组织超微结构受到破坏,表现为核膜与质膜模糊不清,细胞器减少,线粒体嵴减少或消失,内质网出现空泡样病变,胞浆内有大量病毒颗粒,各治疗组肺组织细胞超微结构得到改善,其中奥司他韦组、麻黄先煎组小鼠肺组织超微结构较 4 味药同煎组完整。结论:麻黄先煎煎剂抗 A 型流感病毒作用优于 4 味药同煎煎剂。

**[关键词]** 麻杏石甘汤;煎法;A 型流感病毒;肺指数;病理变化;超微结构

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0227-05

**[doi]** 10.11653/syfy2013210227

## Therapeutic Effect of Maxing Shigan Decoction Proceeded by Two Boiling Methods in Mice Infected with Influenza A virus

GUO Xiao-ge, XIAO Zi-zeng, LU Fang-guo\*, LI Ling, TAN Lu, YANG Sheng-hui,  
CAI Rui, ZHU Ying-wu, ZHANG Bo, XIANG Qin  
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**[Abstract]** **Objective:** A comparative study of two boiling method (ephedra first boiling and four herbs with boiling) the proceeds Maxin Shigan decoction of influenza A virus infection in mice. **Method:** Nasal inoculation method to establish the type A influenza virus lung infection in mice model, experimental set normal comparison group, model comparison group, ephedra first boiling group, four herbs with boiling group, oseltamivir group, 7 days of continuous given medicines by intragastric. Respectively, 4 days and 7 days after infection to

**[收稿日期]** 20130117(011)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81072751);湖南省科技计划项目(2009SK3120);国家“863 计划”专项课题(2009AA10Z403);湖南省卫生厅科研课题(2010014);湖南省高校科技创新团队《感染性疾病中医药防治研究》建设项目(15);湖南省省级精品课程《免疫学与病原生物学》建设项目(48);湖南省重点学科《中西医结合基础》建设项目(100602);湖南中医药大学重点学科《病原生物学》建设项目(1);湖南省学位与研究生教育教学改革研究项目(JG2011B030);湖南省自然科学基金项目(13JJ6062);湖南省教育厅科学研究重点项目(13A066)

**[第一作者]** 郭小鸽,硕士,从事《伤寒论》辨证思维方法的研究,Tel:15084909074,E-mail:guoxiaoge5302@126.com

**[通讯作者]** \*卢芳国,博士,教授,博士生导师,从事中医药防治感染性疾病的研究,Tel:13647310305,E-mail:lufanguo@tom.com

detect the body weigh of mice, on the 7th day, routine testing lung weight index; observation of lungchanges by optical microscopy techniques, lung tissues were observed ultrastructure by transmission electron microscopy techniques. **Result:** ① Body weight: 4 days and 7 days after infection, compared with the normal comparison group, model comparison group significant weight loss ( $P < 0.05$ ), 7 days after therapy, compared with the model comparison group, Oseltamivir group, ephedra first boilinggroup significant weight gain ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). ② Lung index: compared with the normal comparison group, the mouse lung index of model comparison group increased significantly ( $P < 0.01$ ). Compared with the model comparison group, lung index was significantly reduced in all treatment groups ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). The significant difference ( $P < 0.01$ ) about of the ephedra first boiling group compared with the model comparison group is higher than thefour herbs with boiling group compared with the model comparison group on the significance ( $P < 0.05$ ). ③Lung pathological changes: compared with the normal comparison group, the mouse lungs normal tissue structure disappeared, the alveolar inflammatory cell infiltration. Compared with the model comparison group, lung tissue of all treatment groups pathological change significantly improvely, among oseltamivir group and ephedra first boiling group, the level of lung disease in mice is lighter than four herbs with boiling group. ④ Lung tissue ultrastructure: compared with thenormal comparison group, the mouse lung tissue ultrastructure of model comparison group was damaged, theperformance of the nuclear membrane and the plasma membrane are blurred, reduced organelle, the mitochondrial cristaeis reduce ordisappear, endoplasmic reticulum emerges vacuolar lesions, there are a large number of virus particles in the cytoplasm, each treatment group lung tissue structure has been improved. Among oseltamivir group and ephedra first boiling group, the extent of lung tissue ultrastructure diseasein mice is completer than four herbs with boiling group. **Conclusion:** The ephedra first boiling decoction is more effective than the four herbs with boilingdecoction on againingnig type A influenza virus.

[ **Key words** ] Mxing Shigan decoction; boiling method; type A influenza virus; lung index; pathological changes; ultrastructure

麻杏石甘汤由麻黄 9 g,杏仁(去皮尖)9 g,石膏(碎,棉裹)18 g,炙甘草 6 g 组成,临床上已广泛用于感冒、上呼吸道感染等多种疾病的治疗<sup>[1]</sup>。然而,目前该方用药的煎煮方法多数是 4 味药同煎获煎剂,与《伤寒论》中的描述不同。《伤寒论》原文对本方煎法的叙述为:麻黄去节、杏仁去皮尖、石膏碎,棉裹;上 4 味,以水七升,煮麻黄,减二升,去上沫,内诸药,煮取二升,去渣,温服一升<sup>[2]</sup>。马以泉等<sup>[3]</sup>通过一系列实验证明了麻杏石甘汤具有较好的解热,抗炎,镇咳,抑菌和抗病毒作用,对甲型 H1N1 流感也有很好的疗效<sup>[4]</sup>。本项目组在通过一系列实验证明麻杏石甘汤具有较好的抗炎,抑菌和抗流感病毒作用的基础上<sup>[5-7]</sup>,研究了不同煎煮方法所得麻杏石甘汤煎剂对 A 型流感病毒感染小鼠治疗作用的影响。

## 1 材料

**1.1 药物** 麻杏石甘汤的药材由麻黄 9 g,杏仁(去皮尖)9 g,石膏(碎,棉裹)18 g,炙甘草 6 g 组成。药材购自湖南中医药大学中医专家门诊部。煎煮方法:①4 味药同煎:加 4 味药总量 10 倍量水,浸泡 30

min;煎煮 30 min,过滤;药渣加 7 倍量水,煎煮 20 min,过滤;合并滤液。②麻黄先煎:加麻黄药量 10 倍量水,泡麻黄 30 min;当麻黄浸泡 20 min 时,余药加药量 10 倍量水浸泡 30 min;先煎麻黄 10 min,再加余药一起煎煮 30 min,过滤;药渣加 7 倍量水,煎煮 20 min,过滤;合并滤液。药液浓缩至含生药 1 g·mL<sup>-1</sup>。盐酸奥司他韦(批号 20091002,上海三维制药有限公司),蒸馏水配成 1.082 g·L<sup>-1</sup>药液。

**1.2 病毒株** A 型流感病毒小鼠肺适应株(A/PR/8/34),由湖南师范大学病毒研究室陈则教授惠赠。经 10 日龄鸡胚尿囊腔接种培养传代,微量血凝试验滴定病毒效价,血凝效价 1:640 以上者可供试验用。正式试验前测定小鼠病毒半数致死量(LD<sub>50</sub>)<sup>[6]</sup>,正式试验用 50 个单位的 LD<sub>50</sub>(50 LD<sub>50</sub>)的病毒液。

**1.3 动物** 6~8 周 BALB/c 小鼠 50 只,体重 18~20 g,雌雄各半,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号 SCXK(湘)2009-0004。动物批号 HNASLKJ20102118。

**1.4 仪器** SW-CJ-2FD 型超净工作台(成都市苏净科学器材有限公司),JY400 型电子天平(上海精

密科学仪器公司),RMZ135型精密轮转切片机(德国LEICA公司),XSS-2A型摄影生物显微镜(江南光学仪器厂)。图像分析软件(Motic Advanced 6.0),透视电子显微镜(日本JEOL)。

## 2 方法

**2.1 制备模型** 实验动物适应性饲养2~3 d后称重,除正常对照组动物外,其余动物均制成感染模型;在乙醚轻度麻醉下,每只小鼠鼻内接种50 LD<sub>50</sub>流感病毒液0.05 mL<sup>[6]</sup>。正常对照组动物隔离饲养在同等条件下的房间,并按同样方法鼻腔接种生理盐水0.05 mL。

**2.2 动物分组与给药** 流感病毒感染模型按随机数字表随机分成模型对照组、麻黄先煎组、4味药同煎组、奥司他韦组、每组10只小鼠。同步设正常对照组。各治疗组于感染后24 h开始灌胃给药,每天1次,每次0.4 mL,连续给药7 d。正常对照组和模型对照组同步灌胃给生理盐水0.4 mL。最后1次给药后禁水、禁食8 h,取标本进行指标检测。动物给药剂量按动物每公斤体重占人体表面积比值计算,各治疗组均按临床等效剂量给药<sup>[7]</sup>。

**2.3 观测指标** ①体重:按常规检测;②肺指数:病毒感染后治疗的第7天,称小鼠体重后,取肺脏称质量,计算肺指数。

肺指数( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) = 肺脏质量(mg)/体重(g);

③肺组织病理变化:用4%多聚甲醛固定一小叶肺组织、石蜡包埋、切片(4~5  $\mu\text{m}$ )、HE染色后,在光学显微镜下观察各组小鼠肺脏的病理变化。④肺组织超微结构:用2.5%戊二醛固定100 mg肺组织、Epen812环氧树脂包埋、超薄切片后,用透射电子显微镜观察细胞超微结构。超微结构观察在湖南师范大学电镜室完成。

**2.4 统计分析** 计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SPSS 16.0统计软件分析,组间显著性比较用 $t$ 检验, $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

## 3 结果

**3.1 两种煎法所得麻杏石甘汤煎剂对A型流感病毒感染小鼠体重的影响** 由表1可知:感染前各組体重无显著差异,感染后治疗的第4天,与正常对照组比较,模型对照组体重均显著下降( $P < 0.05$ ),与模型对照组比较,各治疗组体重增加无统计学差异;感染后治疗的第7天,与正常对照组比较,模型对照组体重显著下降( $P < 0.01$ );与模型对照组比较,奥司他韦组、麻黄先煎组的体重显著增加( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ )。

表1 两种煎法所得麻杏石甘汤煎剂对A型流感病毒感染小鼠体重的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	感染前	感染后治疗的第4天	感染后治疗的第7天
正常对照	19.58 ± 1.05	27.47 ± 0.99	25.53 ± 2.55
模型	19.37 ± 1.35	22.639 ± 2.85 <sup>1)</sup>	18.71 ± 2.45 <sup>1)</sup>
奥司他韦	19.97 ± 1.32	24.32 ± 1.27 <sup>2)</sup>	24.61 ± 3.32 <sup>3)</sup>
麻黄先煎	18.97 ± 0.99	23.52 ± 2.33 <sup>2)</sup>	22.74 ± 2.70 <sup>4)</sup>
4味药同煎	18.967 ± 1.15	24.50 ± 3.23 <sup>2)</sup>	22.30 ± 2.19

注:与正常对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ;与模型对照组比较<sup>3)</sup> $P < 0.01$ ,<sup>4)</sup> $P < 0.05$ (表2同)。

**3.2 两种煎法所得麻杏石甘汤煎剂对A型流感病毒感染小鼠肺指数的影响** 由表2可知:感染后治疗的第7天,与正常对照组比较,模型对照组小鼠肺指数显著增加( $P < 0.01$ );与模型对照组比较,各治疗组肺指数明显降低( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ )。麻黄先煎组与4味药同煎组比较,肺指数均无差异显著,但麻黄先煎组与模型对照组比较,在统计学上的显著性( $P < 0.01$ )高于4味药同煎组与模型对照组比较的显著性( $P < 0.05$ )。

表2 两种煎法所得麻杏石甘汤煎剂对A型流感病毒感染小鼠肺指数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

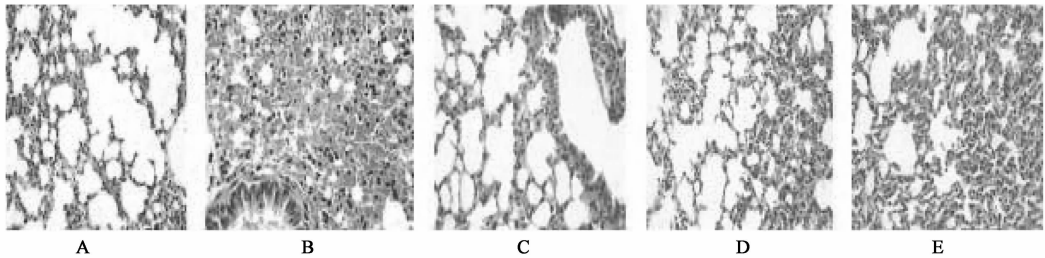
组别	肺质量 /mg	肺指数 /mg·g <sup>-1</sup>
正常对照	155.00 ± 21.67	6.05 ± 0.30
模型对照	311.67 ± 34.30 <sup>1)</sup>	16.95 ± 3.32 <sup>1)</sup>
奥司他韦	171.67 ± 24.01 <sup>3)</sup>	7.17 ± 1.88 <sup>3)</sup>
麻黄先煎	178.00 ± 8.36 <sup>3)</sup>	7.89 ± 0.79 <sup>3)</sup>
4味药同煎	202.50 ± 17.07 <sup>3)</sup>	9.09 ± 0.23 <sup>4)</sup>

**3.3 两种煎法所得麻杏石甘汤煎剂对A型流感病毒感染小鼠肺组织病理变化的影响** 由图1可知:正常对照组小鼠肺泡为正常大小,间隔不增宽,无渗出物,肺间质与肺泡内未见炎性细胞浸润。模型对照组小鼠肺泡等正常的组织结构消失,结缔组织增生,肺泡内有大量炎症细胞浸润。奥司他韦组、麻黄先煎组、4味药同煎组组织病理变化损伤显著改善,肺泡形态结构基本完整,肺泡内浸润的炎症细胞减少。麻黄先煎组组织病理变化改善情况优于四味药同煎组,表现炎症细胞相当少些。

**3.4 两种煎法所得麻杏石甘汤煎剂对A型流感病毒感染小鼠肺组织超微结构的影响** 由图2可知:正常对照组小鼠肺组织的细胞结构完整,线粒体、内质网、高尔基复合体,板层小体等细胞器丰富,核膜

清晰可见。与正常对照组比较,模型对照组小鼠肺组织超微结构受到破坏,表现为核膜与质膜模糊不清,细胞器减少,线粒体嵴减少或消失,内质网出现空泡样病变,胞浆内有大量病毒颗粒,各治疗组肺组

织细胞结构较完整,细胞器丰富,线粒体和内质网的改变程度低于模型对照组,其中奥司他韦组、麻黄先煎组小鼠肺组织超微结构的破坏程度较四味药同煎组轻。



A. 正常对照组;B. 模型对照组;C. 奥司德他韦组;D. 麻黄先煎组;E. 4 味药同煎组(图 2 同)

图 1 两种煎法所得麻杏石甘汤对 A 型流感病毒感染小鼠肺组织病理切片(HE, ×100)

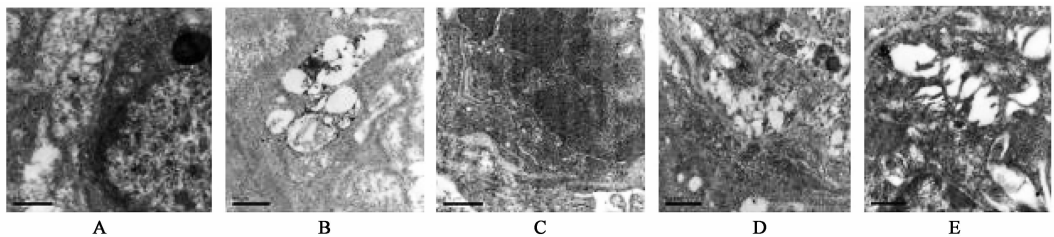


图 2 两种煎法所得麻杏石甘汤对 A 型流感病毒感染小鼠肺组织超微结构的影响(×5 万)

#### 4 讨论

清热解毒、宣肺透邪是流感防治的基本法则<sup>[8]</sup>。麻杏石甘汤来自《伤寒论》,是辛凉解表剂的代表方,主治肺热火盛的肺炎和热邪犯肺的哮喘<sup>[9]</sup>。研究表明:该方具有镇咳、祛痰、平喘、解热、抗炎、抗病毒、改善血液循环等多种现代药理作用,已广泛用于感冒、上呼吸道感染、气管炎、支气管肺炎、肺心病、荨麻疹、扁桃体炎以及结肠炎等多种疾病治疗。然而,关于本方药物煎煮法的讨论从古至今不同医家见解不一。古代医家李士材曰“凡服麻黄去根节,煮数沸、掠去上沫,沫令人烦,根节能止汗故也”;南京中医药大学伤寒教研组编著的《伤寒论译释》也认为“麻黄应该先煮,去其上沫,因麻黄之沫能令人心烦”<sup>[10]</sup>;赵文颖等<sup>[11]</sup>用原子吸收分光光度法分测定了其中 6 种金属元素(Ca, Mg, Mn, Zn, Cu, Fe)的含量并加以分析比较和探讨。在麻黄先煎的情况下:当石膏与麻黄用量比为 5:1 时, Zn, Mn 元素含量高,能与更多的麻黄碱形成配合物,使麻黄碱在人体中更好地发挥平喘作用,以缓解支气管痉挛,而且 Zn, Mn 元素以配合物形式存在,配合人体内平衡会发生移动,将麻黄碱均匀缓慢地释放

出来,减少由单纯盐酸麻黄碱引起的心搏过速、心悸、呕吐等副作用,实验数据表明当石膏与麻黄用量比为 3:1 时, Ca 元素含量最多。药理实验研究证实,天然石膏 1:1 煎剂对发热动物有解热作用。汤剂中大量的 Ca 元素有利于发挥生石膏清热的作用。中药煎煮方法不同,煎剂的有效成分不同,抗病毒效应自然有异<sup>[12]</sup>。本实验结果显示:麻杏石甘汤的煎煮方法不同对其疗效具有一定的影响,其中麻黄先煎所得煎剂对 A 型流感病毒感染小鼠的治疗效果优于 4 味药同煎煎剂。

可以肯定:麻黄先煎所得煎剂对 A 型流感病毒感染小鼠的治疗效果优于 4 味药同煎煎剂的原因是复杂的。在未来的研究中,将从药物成分、机体免疫反应、病毒敏感性等方面进行深入研究,以丰富这一经典方的内涵。

#### [参考文献]

[1] 邓中甲. 方剂学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2006:46.  
[2] 熊曼琪,王庆国,关庆增,等. 伤寒学[M]. 北京:中国中医药出版社,2006:92.

## 升麻治疗乙型病毒性肝炎的活性部位筛选

黄贵平<sup>1</sup>, 李存玉<sup>2</sup>, 刘兰平<sup>3</sup>, 李贺敏<sup>2</sup>, 李红阳<sup>2</sup>, 彭国平<sup>2\*</sup>

(1. 江苏大学附属金坛医院, 江苏 常州 213200;

2. 南京中医药大学药学院, 南京 210023; 3. 南京中医药大学科技处, 南京 210023)

**[摘要]** 目的: 筛选升麻药材中治疗乙型病毒性肝炎的药用活性部位。方法: 采用树脂分离技术, 制备升麻总酚酸、总皂苷部位, 并以拉米夫定为阳性药, 选择 HBV 转基因小鼠作为受试动物, 以小鼠血清中 HBsAg 及 HBeAg 为指标; 以 HepG2-2.2.15 细胞株为模型, 检测细胞内核心颗粒 HBV DNA 的变化, 考察升麻水提液、总酚酸、总皂苷、升麻苷及阿魏酸 5 个组分对 HBsAg 及 HBeAg 的影响。结果: 5 个组别对小鼠血清中 HBsAg 及 HBeAg 均有一定的降低作用, 且总酚酸显著降低 HBsAg 及 HBeAg, 与对照组有显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 且阿魏酸是其中的有效成分; 总皂苷可以降低 HBsAg, 与对照组有较显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 但是升麻苷对 HBsAg 及 HBeAg 的作用均无显著性差异; 升麻总酚酸能明显降低 HepG2-2.2.15 细胞胞浆核心颗粒 HBV DNA 水平 ( $P < 0.01$ )。结论: 升麻中的总酚酸部位是其治疗乙型病毒性肝炎的药用活性部位, 本研究为治疗乙型病毒性肝炎的药物开发提供了数据参考。

**[关键词]** 升麻; 乙型病毒性肝炎; 酚酸; 皂苷; 升麻苷; 阿魏酸

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0231-05

**[doi]** 10.11653/syjf2013210231

## Screening of Potent Active Components of Cimicifugae Rhizoma for Treating Hepatitis B Virus

HUANG Gui-ping<sup>1</sup>, LI Cun-yu<sup>2</sup>, LIU Lan-ping<sup>3</sup>, LI He-min<sup>2</sup>, LI Hong-yang<sup>2</sup>, PENG Guo-ping<sup>2\*</sup>

(1. Jintan Affiliated Hospital of Jiangsu University, Changzhou 213200, China;

2. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

3. Science and Technology Department, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

**[收稿日期]** 20130615(017)

**[基金项目]** 南京中医药大学中药学一级学科开放课题(2011ZYX3-008); 康缘中医药科技创新基金(HZ1006KY)

**[第一作者]** 黄贵平, 副主任中药师, 从事中药成分分析及药理作用研究, Tel: 13862680867, E-mail: guolao100@sina.com

**[通讯作者]** \* 彭国平, 博士, 研究员, 从事中药成分分离、精制及制剂工艺研究, Tel: 025-86798186, E-mail: guopingpeng@sohu.com

- [3] 马以泉, 曹灵勇. 麻杏石甘汤药理作用研究[J]. 中国药业, 2005, 14(4): 32.
- [4] 王晓静, 王融冰, 李兴旺. 11 例甲型 H1N1 流感确诊病例临床特征及治疗情况分析[J]. 中医杂志, 2009, 50(7): 297.
- [5] 卢芳国, 朱应武, 田道法, 等. 12 个中药复方体外抗菌作用的研究[J]. 湖南中医学院学报, 2004, 24(4): 9.
- [6] 李玲, 卢芳国, 熊兴耀, 等. 麻杏石甘汤加味方对 A 型流感病毒感染小鼠的免疫保护作用[J]. 中华中医药学报, 2010, 28(2): 36.
- [7] 卢芳国, 张波, 严杰, 等. 麻杏石甘汤对 A 型流感病毒感染小鼠 IL-2、IL-4 蛋白表达水平的影响[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(3): 475.
- [8] 王永炎. 中医内科学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 24.
- [9] 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, 18(8): 285.
- [10] 南京中医学院伤寒教研组. 伤寒论译释. 上册[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1980: 15.
- [11] 赵文颖, 于海兰, 杨澍平, 等. 麻杏石甘汤中金属元素含量的分析[J]. 中草药, 1999, 26(3): 750.
- [12] 马强, 李晓晶, 丁海东, 等. 不同配伍条件下麻杏石甘汤中钙离子溶出规律[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 67.

[责任编辑 邹晓翠]