

# 不同胆汁及其制成的胆南星对 LPS 诱导的急性肺损伤大鼠保护作用考察

崔亚晨, 单丽倩, 刘晓峰, 单国顺, 高慧\*  
(辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600)

**[摘要]** **目的:** 比较不同胆汁(猪、牛、羊胆汁)及其制成的胆南星对急性肺损伤大鼠的保护作用, 以期为胆南星的胆汁选择和饮片分级提供参考。**方法:** Wistar 雄性大鼠 96 只, 随机分为空白组、模型组、猪胆汁组、牛胆汁组、羊胆汁组、猪胆南星组、牛胆南星组、羊胆南星组, 各给药组大鼠每天按  $2.52 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  灌胃给予相应药液, 空白组和模型组大鼠每天灌胃给予同体积生理盐水, 共 8 d。第 8 天, 模型组和各给药组大鼠灌胃 1 h 后, 腹腔注射脂多糖(LPS,  $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 制备大鼠肺损伤模型, 注射 LPS 后 3, 6, 24 h 各取 4 只大鼠, 取血和肺组织。测定肺系数、肺含水量及肺组织湿重/干重比值(W/D); 利用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清中的肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), 白细胞介素-6(IL-6), 血栓素  $B_2$ (TXB $_2$ ) 含量, 以及肺组织中超氧化物歧化酶(SOD), 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性和丙二醛(MDA)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)含量; 观察大鼠肺组织病理形态, 计算大鼠肺组织损伤评分。**结果:** 与同时点模型组比较, 猪胆汁、牛胆汁、羊胆汁及其制成的胆南星给药组大鼠肺系数、肺含水量及 W/D 均降低, 且大部分具有显著性差异( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 能够降低模型大鼠血清 TNF- $\alpha$ , IL-6, TXB $_2$  的含量, 降低肺组织中 MDA 和 MMP-9 含量, 以及提高肺组织中 GSH-Px 和 SOD 活性, 且大部分具有显著性差异( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。牛胆汁组和羊胆汁组在大多数评价指标方面优于猪胆汁组, 胆南星(牛胆汁制)和胆南星(羊胆汁制)在大多数评价指标方面优于胆南星组(猪胆汁制), 且部分具有显著性差异( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论:** 不同胆汁(猪、牛、羊)及其制成的胆南星均对 LPS 诱发的急性肺损伤大鼠具有保护作用, 且牛胆汁和羊胆汁治疗效果优于猪胆汁, 胆南星(牛胆汁制)和胆南星(羊胆汁制)治疗效果优于胆南星(猪胆汁制)。

**[关键词]** 猪胆汁; 牛胆汁; 羊胆汁; 胆南星; 急性肺损伤; 炎症因子; 脂多糖

**[中图分类号]** R22; R28; C37; TS193; R96; R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)01-0125-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.201912153

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190719.1602.008.html>

**[网络出版时间]** 2019-07-19 16:55

## Investigation of Protective Effect of Different Bile and Their Arisaema cum Bile on Acute Lung Injury Rats Induced by LPS

CUI Ya-chen, SHAN Li-qian, LIU Xiao-feng, SHAN Guo-shun, GAO Hui\*

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

**[Abstract]** **Objective:** To compare the protective effect of different bile (porcine bile, oxgall and sheep bile) and their Arisaema cum Bile on rats with acute lung injury, so as to provide reference for the selection of bile and the classification of decoction pieces of Arisaema cum Bile. **Method:** Wistar male rats were randomly divided into 8 groups ( $n = 12$ ), including blank group, model group, porcine bile group, oxgall group, sheep bile group, Arisaema cum Bile with porcine bile group, Arisaema cum Bile with oxgall group and Arisaema cum Bile with sheep bile group. Rats in each treatment group were given corresponding drug solution by gavage at  $2.52 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  every day, and rats in the model group and the blank group were given the same volume of normal saline by gavage every

**[收稿日期]** 20190430(007)

**[基金项目]** 国家发改委中医药行业专项(201507004-03); 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-ZY-45)

**[第一作者]** 崔亚晨, 在读硕士, 从事中药炮制学研究, E-mail: cuiyachentcm@163.com

**[通信作者]** \*高慧, 博士, 教授, 从事中药炮制原理研究, Tel: 0411-85890151, E-mail: gaohuitcm@163.com

day for a total of 8 days. On the 8<sup>th</sup> day, after 1 h of administration, rats in the model group and each treatment group were intraperitoneally injected lipopolysaccharide (LPS, 2 mg·kg<sup>-1</sup>) to prepare rat lung injury model. Blood and lung tissues were collected from every four rats at 3, 6, 24 h after LPS injection, respectively. Lung coefficient, lung water content and wet weight/dry weight ratio of lung tissue (W/D) were measured, and the levels of tumor necrosis factor (TNF) - $\alpha$ , interleukin (IL) -6 and thromboxane B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) in serum and the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) and the contents of malondialdehyde (MDA) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in lung tissue were determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The pathological morphology of rat lung tissue was observed and the score of lung tissue injury was calculated. **Result:** Compared with the model group at the same time point, the lung coefficient, W/D, lung water content, contents of TNF- $\alpha$ , IL-6 and TXB<sub>2</sub> in serum, contents of MDA and MMP-9 in lung tissue of rats in each treatment group were all decreased, and most of them had significant differences ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), but the activities of GSH-Px and SOD were all increased, and most of them had significant differences ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The oxgall group and the sheep bile group were superior to the porcine bile group in most of the indexes, the Arisaema cum Bile with oxgall group and the Arisaema cum Bile with sheep bile group were superior to the Arisaema cum Bile with porcine bile group, and some of them had significant differences ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Each bile group and each Arisaema cum Bile group all have protective effects on rats with acute lung injury induced by LPS, and the therapeutic effect of oxgall and sheep bile is better than that of porcine bile, the therapeutic effect of Arisaema cum Bile prepared by oxgall and sheep bile is better than that of Arisaema cum Bile prepared by porcine bile.

[**Key words**] porcine bile; oxgall; sheep bile; Arisaema cum Bile; acute lung injury; inflammatory factors; lipopolysaccharide

胆南星在我国药用历史悠久,具有清热化痰、息风定惊的功效,胆南星中的胆汁具有清热润燥、止咳平喘、解毒的功效<sup>[1-2]</sup>。胆南星最早见于宋代《圣济总录》,十余方中记有天南星“牛胆制”。《小儿药证直诀》《太平惠民和剂局方》和《本草纲目》均记载了同一胆南星的制法——牛胆汁制。《普济本事方》首次记载了羊胆制。古法上多用牛胆汁制胆南星,且《修事指南》有“牛胆汁制去燥烈而清润”的记载。历版《中国药典》记载胆南星是由生天南星细粉与牛、羊或猪胆汁经发酵加工而成。本课题组前期对多家企业及市场进行调研后发现,市场上以猪胆汁制备的胆南星为主,其原因多是因为相较于牛胆汁和羊胆汁,猪胆汁获取更加容易、价格相对低廉。但不同胆汁制成的胆南星在品质及药效方面的差异性尚不明确,“牛胆汁制去燥烈而清润”的科学内涵也未得到阐释。因此,本课题组拟对不同胆汁及其制成的胆南星进行对比研究,以期对胆南星的胆汁种类选择和饮片等级评价提供参考。

本课题组前期对比了不同胆汁及其制成的胆南星在清热作用、抗惊厥作用以及胆酸类成分等方面的差异,结果表明不同胆汁制成的胆南星中胆酸类成分差异明显,药效上也存在一定差异<sup>[3-5]</sup>。从中

医学角度来看,急性肺损伤实为“外邪犯肺、肺失宣降、气机逆乱”,从而导致痰、瘀、热毒等病理产物蕴积于肺,进一步影响气机<sup>[6-7]</sup>,且广泛使用清热解毒类方药进行预防治疗,改善肺部气息功能<sup>[8]</sup>。猪胆汁、牛胆汁、羊胆汁及其制成的胆南星都具有清热、解毒、化痰的功效,很好地体现了“清热化痰”的治疗原则。现代药理研究表明猪胆汁、牛胆汁、羊胆汁及其制成的胆南星具有痰热咳喘、抗炎镇痛、抗菌、抗氧化等药理作用,而急性肺损伤的临床表现也常伴有发热、咳喘、炎症等症状,从药效学角度提示猪胆汁、牛胆汁、羊胆汁及其制成的胆南星可应用于急性肺损伤的临床治疗,但胆南星是否对急性肺损伤(ALI)有治疗作用以及其作用机制尚无相关报道,并且不同胆汁及其制成的胆南星之间是否存在差异也未见报道。因此,本实验拟考察不同胆汁及其制成的胆南星对脂多糖引起的ALI大鼠保护作用的差异,为胆南星饮片的分级及胆南星中胆汁的选择提供实验依据。

## 1 材料

HZ-A6002 型电子天平(瑞安市金讯贸易有限公司),FA1004B 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),Milli-Q Integral 型纯水仪(大连烽木源科

技术有限公司), FSH-2 型可调高速电动匀浆器(江苏金坛市佳美仪器有限公司), H1650-W 型离心机(湖南湘仪试验仪器开发有限公司), LC-E109S 型电磁炉(广东顺德忠臣电器有限公司), HWS-080 型恒温恒湿培养箱(上海精宏实验设备有限公司), Multiskan MK3 型酶标仪(美国赛默飞世尔科技有限公司), BX51 型显微镜(日本 Olympus 公司)。

虎掌南星购自山东省菏泽市, 经辽宁中医药大学尹海波教授鉴定为天南星科植物掌叶半夏 *Pinellia pedatisecta* 的干燥块茎; 猪、牛、羊新鲜胆汁均购自大连开发区农贸市场; 脂多糖(LPS, 美国 Sigma-Aldrich 公司, 批号 Lot#057M4013V), 0.9% 生理盐水注射液(辰欣药业股份有限公司, 批号 1811122823), 乌拉坦(北京 Solarbio 公司, 批号 Lot. No. 330H031); 超氧化物歧化酶(SOD), 丙二醛(MDA), 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px), 肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), 白细胞介素-6(IL-6), 血栓素 B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>), 基质金属蛋白酶-9(MMP-9)酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒均购自上海朗顿生物技术有限公司, 批号分别为 BPE30267, BPE30266, BPE30800, BPE30635, BPE30646, BPE30421, BPE30434。

清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 96 只, 体质量(200 ± 20) g, 购自辽宁长生生物科技有限公司, 合格证号 SCXK(辽)2017-0001, 实验动物饲养于辽宁中医药大学 SPF 级动物房。本实验涉及的动物实验均在辽宁中医药大学动物伦理委员会的批准下进行, 批准号 2018YS(DW)-043-01。

## 2 方法

### 2.1 样品的制备

**2.1.1 胆南星<sup>[2]</sup>** 取虎掌南星细粉过五号筛, 加入净胆汁(经绢布滤过), 约 1:1 比例混合, 置温度 32 ℃, 相对湿度 80% 的恒温恒湿培养箱中发酵 15 d 取出, 至蒸制容器中蒸 1 h 至透, 趁热切成 1.5 ~ 2 cm 的小块, 晒至黑褐色, 即得。

**2.1.2 不同胆汁及其制成的胆南星水提物** 分别取一定量的胆南星样品, 加 10 倍量水回流提取 3 次, 每次 1 h, 4 层纱布过滤, 合并滤液, 即得生药质量浓度均为 0.252 g·mL<sup>-1</sup> 的水提物。分别取一定量胆汁样品, 加水配成 0.252 g·mL<sup>-1</sup> 胆汁药液。

**2.1.3 LPS 溶液** 无菌条件下, 取一定量的 LPS 溶于 0.9% 氯化钠注射液中, 配成 2.5 g·L<sup>-1</sup> LPS 溶液, 备用。

**2.2 大鼠的分组与给药** Wistar 大鼠适应性饲养 1 周, 自由饮食和饮水, 按随机数字表法随机分为 8

组, 包括空白组, 模型组, 猪胆汁组, 牛胆汁组, 羊胆汁组, 胆南星(猪胆汁制)组(简称猪胆南星组), 胆南星(牛胆汁制)组(简称牛胆南星组), 胆南星(羊胆汁制)组(简称羊胆南星组), 每组 12 只, 各组大鼠间体质量经方差分析无显著差异。各给药组给药剂量均为 2.52 g·kg<sup>-1</sup>, 灌胃体积均为 10 mL·kg<sup>-1</sup>, 空白组和模型组每天灌胃同体积的生理盐水, 共 8 d。第 8 天各给药组灌胃给予相应药液 1 h 后, 除空白组外, 其余各组大鼠均腹腔注射 2.5 g·L<sup>-1</sup> LPS (2 mg·kg<sup>-1</sup>) 开始造模<sup>[9-12]</sup>。8 组造模后 3, 6, 24 h<sup>[10]</sup> 各取 4 只大鼠按剂量 40 mg·kg<sup>-1</sup> 腹腔注射 2.5% 乌拉坦麻醉, 仰卧位固定于手术台, 腹主动脉取血和摘取肺组织。

### 2.3 评价指标的检测

**2.3.1 肺系数、肺含水量以及肺组织湿重/干重比值** 大鼠处死后打开胸腔, 暴露肺组织, 取右肺下叶, 称取湿重(W), 再置于 80 ℃ 烘箱中烘 24 h, 称取干重(D), 计算肺组织湿重/干重比值(W/D), 肺系数(肺系数 = W/体质量 × 100%) 和肺含水量[肺含水量 = (W - D)/W × 100%]。

**2.3.2 血清指标** 所有动物处置前, 腹主动脉取血 5 mL, 置于试管中, 不抗凝, 室温下静置 1 h, 8 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 分离血清, 测定血清中 TNF- $\alpha$ , IL-6 和 TXB<sub>2</sub> 的含量, 具体操作按照试剂盒内说明进行。

**2.3.3 肺组织 SOD, GSH-Px 活性及 MDA, MMP-9 的含量** 取各组大鼠剩余右肺组织 0.1 g 放入 10 mL 的离心管中, 用移液枪吸取肺组织质量 9 倍量的磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.2 ~ 7.4) 制成 10% 组织匀浆, 加入离心管中并用高速匀浆机匀浆。再将匀浆液放入离心机中, 于 4 ℃, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min, 取上清液测定肺组织 SOD, GSH-Px 的活性及 MDA, MMP-9 的含量, 具体操作按照试剂盒内说明进行。

**2.3.4 大鼠肺组织的分离与标本的制备** 将固定于解剖台的大鼠保留自主呼吸, 暴露胸腔取出肺组织, 用生理盐水冲洗干净, 分离全肺和心脏, 取左肺中叶约 1 cm × 1 cm × 1 cm 大小组织块, 用 10% 甲醛固定, 予以常规石蜡包埋、切片、苏木素-伊红(HE) 染色, 光镜下观察肺组织病理学变化。

**2.3.5 大鼠肺组织标本病理评分<sup>[13]</sup>** 综合 4 项指标(①肺泡充血; ②出血; ③间隙或血管壁中性粒细胞浸润或聚集; ④肺泡间隔增厚或透明膜形成) 进行肺损伤评分。根据每项指标病变轻重进行 0 ~ 4

分半定量分析,0 分表示极轻微病变;1 分表示轻度病变;2 分表示中度病变;3 分表示重度病变;4 分表示极重度病变,累加各项评分的总分作为 ALI 的病理评分。每张病理切片各取 8 个高倍视野( $\times 400$ )评分,取 8 次评分均值作为该张切片的病理评分,分值越高表示炎症病变程度越严重。

**2.4 统计学分析** 实验结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 23.0 软件分析数据,各组数据采用单因素方差分析统计学分析后,多组间进行方差分析。 $P < 0.05$  和  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 一般体征观察** LPS 造模后,模型组大鼠均出现了不同程度的变化,自主活动明显减少、聚堆、精

神萎靡、呼吸频率加快,个别大鼠出现严重腹泻现象。经给药组治疗后均能够减轻上述症状,空白组则均未出现上述症状。

**3.2 对 ALI 大鼠肺系数, W/D 及肺含水量的影响**  
与同时间点空白组比较,各个时间点模型组大鼠肺系数、肺含水量及 W/D 均明显升高( $P < 0.01$ );与同时间点模型组比较,猪胆汁、牛胆汁、羊胆汁及其制成的胆南星给药组大鼠肺系数、肺含水量及 W/D 均降低,且大部分具有显著性差异( $P < 0.05, P < 0.01$ )。牛胆汁组和羊胆汁组对肺组织的改善效果均比猪胆汁组好,牛胆南星组和羊胆南星组对肺组织的改善效果均比猪胆南星组好。见表 1。

表 1 各组大鼠的肺系数, W/D 及肺含水量( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

Table 1 Values of lung coefficient, W/D and lung water content of rats in each group( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

t/h	组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	W/D	肺系数/%	肺含水量/%
3	空白	-	1.672 ± 0.118 <sup>2)</sup>	0.065 ± 0.004 <sup>2)</sup>	39.975 ± 4.124 <sup>2)</sup>
	模型	-	2.341 ± 0.111	0.110 ± 0.009	57.218 ± 1.931
	猪胆汁	2.52	2.199 ± 0.175	0.088 ± 0.007 <sup>2)</sup>	54.305 ± 3.720
	牛胆汁	2.52	2.055 ± 0.113 <sup>2)</sup>	0.087 ± 0.006 <sup>2)</sup>	51.232 ± 2.689 <sup>1)</sup>
	羊胆汁	2.52	2.108 ± 0.065 <sup>2)</sup>	0.089 ± 0.002 <sup>2)</sup>	52.539 ± 1.471
	猪胆南星	2.52	2.057 ± 0.117 <sup>2)</sup>	0.091 ± 0.005 <sup>2)</sup>	51.274 ± 2.775 <sup>1)</sup>
	牛胆南星	2.52	2.020 ± 0.060 <sup>2)</sup>	0.094 ± 0.005 <sup>2)</sup>	50.458 ± 1.477 <sup>2)</sup>
	羊胆南星	2.52	2.069 ± 0.120 <sup>2)</sup>	0.088 ± 0.006 <sup>2)</sup>	51.556 ± 2.802 <sup>1)</sup>
6	空白	-	1.699 ± 0.096 <sup>2)</sup>	0.066 ± 0.003 <sup>2)</sup>	41.014 ± 3.327 <sup>2)</sup>
	模型	-	2.801 ± 0.100	0.113 ± 0.002	64.268 ± 1.232
	猪胆汁	2.52	1.885 ± 0.099 <sup>2)</sup>	0.084 ± 0.011 <sup>2)</sup>	46.845 ± 2.784 <sup>2)</sup>
	牛胆汁	2.52	1.739 ± 0.196 <sup>2)</sup>	0.081 ± 0.003 <sup>2)</sup>	41.967 ± 6.456 <sup>2,3)</sup>
	羊胆汁	2.52	1.803 ± 0.103 <sup>2)</sup>	0.080 ± 0.005 <sup>2)</sup>	44.416 ± 3.076 <sup>2)</sup>
	猪胆南星	2.52	2.076 ± 0.111 <sup>2)</sup>	0.086 ± 0.010 <sup>2)</sup>	51.732 ± 2.709 <sup>2)</sup>
	牛胆南星	2.52	1.835 ± 0.132 <sup>2,6)</sup>	0.085 ± 0.009 <sup>2)</sup>	45.297 ± 3.896 <sup>2,6)</sup>
	羊胆南星	2.52	1.893 ± 0.071 <sup>2,5)</sup>	0.077 ± 0.010 <sup>2,5)</sup>	47.114 ± 1.939 <sup>2)</sup>
24	空白	-	1.689 ± 0.030 <sup>2)</sup>	0.066 ± 0.001 <sup>2)</sup>	40.765 ± 1.043 <sup>2)</sup>
	模型	-	2.234 ± 0.152	0.094 ± 0.007	55.080 ± 3.038
	猪胆汁	2.52	1.758 ± 0.134 <sup>2)</sup>	0.077 ± 0.010 <sup>2)</sup>	42.887 ± 4.181 <sup>2)</sup>
	牛胆汁	2.52	1.651 ± 0.133 <sup>2)</sup>	0.073 ± 0.006 <sup>2)</sup>	39.114 ± 5.312 <sup>2)</sup>
	羊胆汁	2.52	1.572 ± 0.115 <sup>2,3)</sup>	0.075 ± 0.009 <sup>2)</sup>	36.156 ± 4.519 <sup>2,4)</sup>
	猪胆南星	2.52	1.982 ± 0.141 <sup>2)</sup>	0.083 ± 0.005 <sup>1)</sup>	49.362 ± 3.575 <sup>1)</sup>
	牛胆南星	2.52	1.648 ± 0.038 <sup>2,6)</sup>	0.067 ± 0.003 <sup>2,6)</sup>	39.296 ± 1.409 <sup>2,6)</sup>
	羊胆南星	2.52	1.716 ± 0.170 <sup>2,6)</sup>	0.081 ± 0.008 <sup>2)</sup>	41.293 ± 5.753 <sup>2,6)</sup>

注:同一时间点比较,与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与猪胆汁组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ ;与猪胆南星组比较<sup>5)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>6)</sup>  $P < 0.01$ (表 2~5 同)。

**3.3** 对 ALI 大鼠血清 TNF- $\alpha$ , IL-6 及 TXB<sub>2</sub> 水平的影响 与同时间点空白组比较,模型组大鼠血清 TNF- $\alpha$ , IL-6 和 TXB<sub>2</sub> 含量均明显增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );与同时间点模型组比较,猪胆汁、牛胆汁、羊胆汁及其制成的胆南星给药组大鼠血清

TNF- $\alpha$ , IL-6 和 TXB<sub>2</sub> 含量降低,且大部分差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。牛胆汁组和羊胆汁组治疗效果明显优于猪胆汁组,牛胆南星组和羊胆南星组治疗效果明显优于猪胆南星组。见表 2。

表 2 各组大鼠血清中 TNF- $\alpha$ , IL-6, TXB<sub>2</sub> 的质量浓度 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

**Table 2 Contents of TNF- $\alpha$ , IL-6, TXB<sub>2</sub> in serum of rats from each group ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )** ng · L<sup>-1</sup>

t/h	组别	剂量/g · kg <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup>	TNF- $\alpha$	IL-6	TXB <sub>2</sub>
3	空白	-	156.679 ± 3.318 <sup>2)</sup>	6.274 ± 0.315 <sup>2)</sup>	112.773 ± 2.016 <sup>2)</sup>
	模型	-	229.893 ± 26.032	17.233 ± 2.554	238.909 ± 31.896
	猪胆汁	2.52	211.143 ± 28.859	19.620 ± 4.072	165.500 ± 43.354 <sup>2)</sup>
	牛胆汁	2.52	167.929 ± 26.821 <sup>1)</sup>	15.654 ± 12.376	143.455 ± 37.779 <sup>2)</sup>
	羊胆汁	2.52	197.571 ± 24.338	13.023 ± 7.133	121.409 ± 22.507 <sup>2)</sup>
	猪胆南星	2.52	219.179 ± 23.743	15.015 ± 5.188	151.409 ± 44.828 <sup>2)</sup>
	牛胆南星	2.52	177.929 ± 33.171 <sup>1)</sup>	13.229 ± 3.444	144.818 ± 67.616 <sup>2)</sup>
	羊胆南星	2.52	169.893 ± 30.619 <sup>1)</sup>	6.519 ± 2.447 <sup>1,5)</sup>	141.636 ± 69.220 <sup>2)</sup>
6	空白	-	157.750 ± 1.352 <sup>2)</sup>	6.350 ± 0.167 <sup>2)</sup>	114.136 ± 3.954 <sup>2)</sup>
	模型	-	335.429 ± 37.821	26.180 ± 2.915	281.636 ± 36.654
	猪胆汁	2.52	172.393 ± 2.879 <sup>2)</sup>	15.259 ± 7.770 <sup>2)</sup>	156.182 ± 41.037 <sup>2)</sup>
	牛胆汁	2.52	168.107 ± 10.617 <sup>2)</sup>	15.203 ± 3.390 <sup>2)</sup>	144.818 ± 32.516 <sup>2)</sup>
	羊胆汁	2.52	163.643 ± 39.517 <sup>2)</sup>	8.756 ± 4.720 <sup>2)</sup>	128.227 ± 10.024 <sup>2)</sup>
	猪胆南星	2.52	257.929 ± 54.558 <sup>2)</sup>	14.207 ± 6.594 <sup>2)</sup>	102.091 ± 40.069 <sup>2)</sup>
	牛胆南星	2.52	199.893 ± 31.775 <sup>2,5)</sup>	11.914 ± 3.640 <sup>2)</sup>	97.318 ± 19.574 <sup>2)</sup>
	羊胆南星	2.52	117.571 ± 36.749 <sup>2,6)</sup>	9.188 ± 5.059 <sup>2)</sup>	88.682 ± 48.823 <sup>2)</sup>
24	空白	-	156.857 ± 3.523 <sup>2)</sup>	6.180 ± 0.238 <sup>1)</sup>	111.182 ± 3.857 <sup>1)</sup>
	模型	-	264.179 ± 59.771	14.658 ± 4.565	166.636 ± 32.448
	猪胆汁	2.52	149.893 ± 30.408 <sup>2)</sup>	8.455 ± 10.422	46.636 ± 21.118 <sup>2)</sup>
	牛胆汁	2.52	125.250 ± 66.571 <sup>2)</sup>	5.842 ± 1.831 <sup>1)</sup>	56.636 ± 39.654 <sup>2)</sup>
	羊胆汁	2.52	92.393 ± 52.396 <sup>2,3)</sup>	4.677 ± 2.731 <sup>1)</sup>	78.000 ± 21.571 <sup>2)</sup>
	猪胆南星	2.52	129.893 ± 77.778 <sup>2)</sup>	12.778 ± 14.493	102.545 ± 64.609 <sup>1)</sup>
	牛胆南星	2.52	52.214 ± 21.093 <sup>2,6)</sup>	3.793 ± 7.316 <sup>2,5)</sup>	68.227 ± 25.717 <sup>2)</sup>
	羊胆南星	2.52	115.608 ± 25.556 <sup>2)</sup>	4.940 ± 4.331 <sup>1)</sup>	70.273 ± 23.249 <sup>2)</sup>

**3.4** 对 ALI 大鼠肺组织匀浆 GSH-Px 和 SOD 活力的影响 与同时间点空白组比较,模型组大鼠肺组织匀浆 GSH-Px 和 SOD 的活力均明显降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与同时间点模型组比较,猪胆汁、牛胆汁、羊胆汁及其制成的胆南星给药组大鼠肺组织匀浆 GSH-Px 和 SOD 活力升高,且大部分差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。牛胆汁组和羊胆汁组肺组织匀浆 GSH-Px 和 SOD 活力明显优于猪胆汁组,牛胆南星组和羊胆南星组肺组织匀浆 GSH-Px 活力优于猪胆南星组。见表 3。

**3.5** 对 ALI 大鼠肺组织匀浆 MMP-9 和 MDA 含量的影响 与同时间点空白组比较,模型组大鼠肺组织匀浆 MMP-9 和 MDA 含量明显增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );与同时间点模型组比较,猪胆汁、牛胆汁、羊胆汁及其制成的胆南星给药组大鼠肺组织匀浆 MMP-9 和 MDA 含量降低,且大部分差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。牛胆汁组和羊胆汁组均比猪胆汁组改善效果好,牛胆南星组和羊胆南星组均比猪胆南星组改善效果好。见表 4。

表 3 各组大鼠肺组织匀浆 GSH-Px 和 SOD 活力的测定 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=4$ )

Table 3 Determination of GSH-Px and SOD activities in lung tissue homogenate of rats from each group ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

t/h	组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	GSH-Px /U·mL <sup>-1</sup>	SOD /μg·L <sup>-1</sup>
3	空白	-	178.864 ± 10.603 <sup>2)</sup>	48.580 ± 0.537 <sup>2)</sup>
	模型	-	117.727 ± 10.674	25.247 ± 3.802
	猪胆汁	2.52	121.515 ± 10.458	41.313 ± 5.148 <sup>2)</sup>
	牛胆汁	2.52	154.924 ± 25.930 <sup>2,4)</sup>	44.247 ± 6.223 <sup>2)</sup>
	羊胆汁	2.52	147.954 ± 33.810 <sup>1,3)</sup>	41.847 ± 7.789 <sup>2)</sup>
	猪胆南星	2.52	143.712 ± 12.051 <sup>1)</sup>	41.147 ± 1.113 <sup>2)</sup>
	牛胆南星	2.52	150.090 ± 8.833 <sup>2)</sup>	46.847 ± 5.411 <sup>2)</sup>
	羊胆南星	2.52	144.318 ± 20.988 <sup>1)</sup>	29.702 ± 0.734
	6	空白	-	179.773 ± 6.217 <sup>2)</sup>
模型		-	114.848 ± 12.820	23.113 ± 2.151
猪胆汁		2.52	132.576 ± 16.577	40.481 ± 1.991 <sup>2)</sup>
牛胆汁		2.52	176.818 ± 11.840 <sup>2,4)</sup>	45.180 ± 4.864 <sup>2)</sup>
羊胆汁		2.52	151.061 ± 22.496 <sup>2)</sup>	42.213 ± 13.017 <sup>2)</sup>
猪胆南星		2.52	156.493 ± 15.563 <sup>2)</sup>	39.947 ± 3.219 <sup>2)</sup>
牛胆南星		2.52	176.288 ± 12.305 <sup>2)</sup>	41.813 ± 3.271 <sup>2)</sup>
羊胆南星		2.52	166.894 ± 9.935 <sup>2)</sup>	27.924 ± 1.689
24		空白	-	178.561 ± 8.410 <sup>2)</sup>
	模型	-	116.742 ± 43.144	24.680 ± 3.142
	猪胆汁	2.52	123.030 ± 7.233	33.413 ± 12.921 <sup>1)</sup>
	牛胆汁	2.52	156.515 ± 3.889 <sup>2,4)</sup>	37.680 ± 3.631 <sup>2)</sup>
	羊胆汁	2.52	170.152 ± 9.033 <sup>2,4)</sup>	44.180 ± 7.677 <sup>2,4)</sup>
	猪胆南星	2.52	157.652 ± 33.090 <sup>2)</sup>	40.980 ± 5.330 <sup>2)</sup>
	牛胆南星	2.52	161.894 ± 21.830 <sup>2)</sup>	41.380 ± 5.198 <sup>2)</sup>
	羊胆南星	2.52	160.530 ± 7.591 <sup>2)</sup>	33.258 ± 4.471 <sup>1)</sup>

表 4 各组大鼠肺组织匀浆 MMP-9 和 MDA 含量的测定 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=4$ )

Table 4 Determination of MMP-9 and MDA in lung tissue homogenate of rats from each group ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

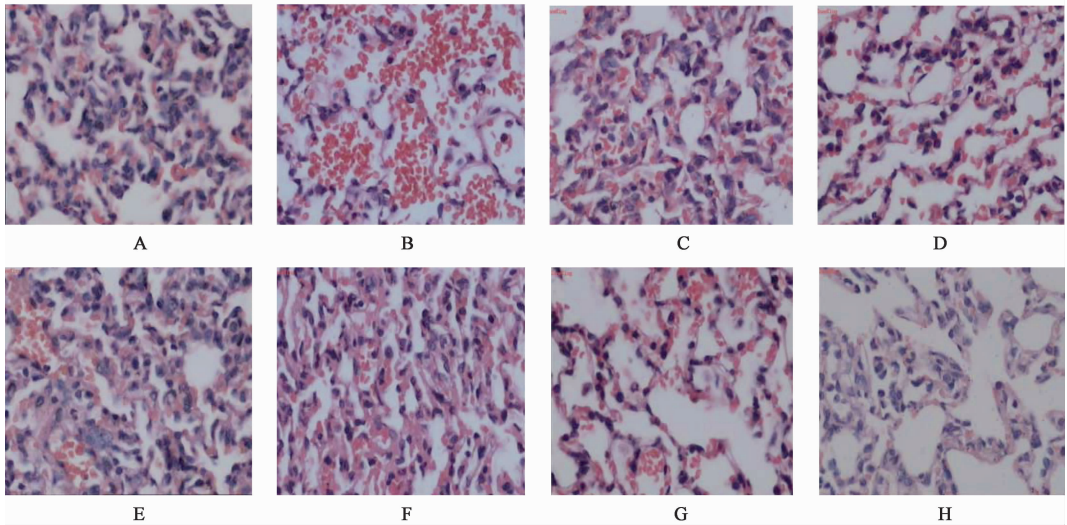
t/h	组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	MMP-9 /μg·L <sup>-1</sup>	MDA /μmol·L <sup>-1</sup>
3	空白	-	20.147 ± 2.420 <sup>2)</sup>	1.991 ± 0.287 <sup>2)</sup>
	模型	-	45.531 ± 5.214	4.621 ± 0.794
	猪胆汁	2.52	33.513 ± 3.381 <sup>1)</sup>	2.975 ± 0.350 <sup>2)</sup>
	牛胆汁	2.52	28.481 ± 9.017 <sup>2)</sup>	2.625 ± 0.801 <sup>2)</sup>
	羊胆汁	2.52	29.731 ± 3.842 <sup>2)</sup>	2.849 ± 0.432 <sup>2)</sup>
	猪胆南星	2.52	41.077 ± 3.123	3.032 ± 0.461 <sup>2)</sup>
	牛胆南星	2.52	22.551 ± 18.101 <sup>2,6)</sup>	2.121 ± 1.120 <sup>2)</sup>
	羊胆南星	2.52	17.359 ± 4.804 <sup>2,6)</sup>	1.659 ± 0.517 <sup>2,6)</sup>
	6	空白	-	22.583 ± 1.410 <sup>2)</sup>
模型		-	55.115 ± 3.463	6.361 ± 0.379
猪胆汁		2.52	42.455 ± 4.676 <sup>1)</sup>	3.983 ± 1.326 <sup>1)</sup>
牛胆汁		2.52	34.859 ± 6.331 <sup>2)</sup>	3.910 ± 1.319 <sup>2)</sup>
羊胆汁		2.52	35.212 ± 0.484 <sup>2)</sup>	1.971 ± 1.084 <sup>2,4)</sup>
猪胆南星		2.52	41.910 ± 10.649 <sup>1)</sup>	1.853 ± 0.531 <sup>2)</sup>
牛胆南星		2.52	28.545 ± 6.931 <sup>2,5)</sup>	1.076 ± 0.439 <sup>2)</sup>
羊胆南星		2.52	14.709 ± 6.469 <sup>2,6)</sup>	1.404 ± 0.131 <sup>2)</sup>
24		空白	-	20.628 ± 1.744 <sup>2)</sup>
	模型	-	35.372 ± 1.734	4.133 ± 1.101
	猪胆汁	2.52	32.423 ± 6.721	3.702 ± 0.829
	牛胆汁	2.52	25.019 ± 0.436	3.658 ± 0.698
	羊胆汁	2.52	28.513 ± 1.556	1.727 ± 0.210 <sup>2,4)</sup>
	猪胆南星	2.52	25.756 ± 23.690	2.816 ± 0.360 <sup>2)</sup>
	牛胆南星	2.52	16.526 ± 3.337 <sup>2)</sup>	2.678 ± 0.227 <sup>2)</sup>
	羊胆南星	2.52	15.222 ± 1.284 <sup>2)</sup>	2.526 ± 0.062 <sup>2)</sup>

3.6 对 ALI 大鼠肺组织的病理评分及病理形态观察 光镜下观察显示,空白组大鼠肺组织由肺泡、肺内支气管分支及间质组成,其形态基本正常,肺泡组织呈粉红色,结构完整,表面光滑,未见明显病变。模型组大鼠肺泡组织间隔增宽,肺泡腔内有大量红细胞渗出,肺间质血管扩张、充血,部分肺泡因受损而变小。与模型组比较,猪胆汁组大鼠肺泡组织间隔增宽,肺间质轻度充血水肿,部分肺泡变小;牛胆汁组大鼠变化明显减轻,肺间质出现轻度充血水肿,少量炎症细胞浸润和肺泡组织间隔轻度增宽;羊胆汁组大鼠肺泡间隔增宽,肺间质血管扩张充血,局部肺泡闭合消失出现小灶肺实变,外围肺泡融合。与模型组比较,猪胆南星组大鼠肺泡组织间隔增宽,肺

间质充血水肿,有大面积肺泡塌陷,甚至闭合;牛胆南星组和羊胆南星组大鼠均出现肺泡间隔轻度增宽,肺间质轻度充血、水肿,肺泡腔内可见少量红细胞渗出及肺泡上皮脱落。见图 1 和表 5。

#### 4 讨论

胆汁一般被认为是制备胆南星的辅料,但从胆汁的用量、最终去向,以及对药性的影响来看,笔者认为,胆南星中的胆汁应是制备原料之一,而非仅作为辅料。且《药品化义》中亦有记载:“胆星,意不重南星而重胆汁,借星以收取汁用,非如他药监制也……”。说明胆汁的种类和用量对胆南星的功效有很大影响,对不同胆汁及其制成的胆南星进行对比研究,有助于揭示胆南星的炮制原理,以确保胆南星



A. 空白组; B. 模型组; C. 猪胆汁组; D. 牛胆汁组; E. 羊胆汁组; F. 猪胆南星组; G. 牛胆南星组; H. 羊胆南星组

图 1 给药 6 h 后各组大鼠的肺组织病理观察 (HE, ×400)

Fig. 1 Pathological observation of lung tissue of rats in each group after 6 hours of administration (HE, ×400)

表 5 各组大鼠给药不同时间后的肺组织病理评分 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

Table 5 Pathological score of lung tissue of rats in each group after different time of administration ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	病理评分/分		
		3 h	6 h	24 h
空白	-	0.625 ± 0.126 <sup>2)</sup>	0.700 ± 0.141 <sup>2)</sup>	0.650 ± 0.129 <sup>2)</sup>
模型	-	3.000 ± 0.408	3.875 ± 0.250	3.250 ± 0.957
猪胆汁	2.52	2.000 ± 0.816	2.750 ± 1.258 <sup>1)</sup>	2.250 ± 1.258
牛胆汁	2.52	1.875 ± 1.181 <sup>1)</sup>	1.500 ± 1.000 <sup>2,3)</sup>	2.000 ± 0.816 <sup>1)</sup>
羊胆汁	2.52	1.750 ± 0.957 <sup>1)</sup>	1.125 ± 0.250 <sup>2,4)</sup>	2.250 ± 0.500 <sup>1)</sup>
猪胆南星	2.52	3.000 ± 0.816	2.250 ± 0.957 <sup>2)</sup>	2.500 ± 1.000
牛胆南星	2.52	1.250 ± 0.500 <sup>2,6)</sup>	1.750 ± 0.500 <sup>2)</sup>	1.500 ± 0.577 <sup>2)</sup>
羊胆南星	2.52	1.500 ± 1.000 <sup>2,6)</sup>	2.125 ± 0.250 <sup>2)</sup>	1.875 ± 0.250 <sup>2)</sup>

的品质和疗效。

TNF- $\alpha$  在 ALI 发展过程极为重要,其可以激活中性粒细胞,释放氧自由基,导致肺组织损伤。LPS 可促进多种炎症性因子的合成和释放,如 TNF- $\alpha$ , IL-6 等<sup>[14-16]</sup>。研究报道,SOD 和 GSH-Px 是生物体内重要的抗氧化酶,MDA 的测定常常与 SOD 的测定相互配合<sup>[17]</sup>。因此,本实验将 TNF- $\alpha$ , IL-6, TXB<sub>2</sub>, SOD, MDA, GSH-Px 作为观察指标。本研究的 ELISA 检测结果显示,LPS 可诱导肺组织中 SOD 活性和 GSH-Px 含量减低,MDA 含量升高;而给予猪胆汁、牛胆汁、羊胆汁及其制成的胆南星后,SOD 活性和 GSH-Px 含量升高,MDA 含量降低。猪胆汁、牛胆汁、羊胆汁及其制成的胆南星可降低促炎症因子 TNF- $\alpha$ , IL-6, TXB<sub>2</sub> 的含量,减轻 LPS 诱导的 ALI 的炎症反应,说明给药后能有效减轻 LPS 诱导的 ALI

的氧化应激损伤。

研究表明,猪胆汁、牛胆汁、羊胆汁及其制成的胆南星均对 LPS 诱导的 ALI 大鼠具有保护作用,能够改善肺组织的病理形态和氧化应激造成的损伤,其可能是通过抑制炎症因子的释放从而对 ALI 大鼠起到保护作用,具体抗炎、抗氧化机制还需要进一步探究。猪胆汁、牛胆汁、羊胆汁及其制成的胆南星对 LPS 诱导的 ALI 大鼠均有明显的治疗作用,提示这 3 种胆汁均可用于制备胆南星。其中牛胆汁和羊胆汁以及二者制成的胆南星在治疗 ALI 方面较猪胆汁及猪胆南星表现出了一定优势,建议在胆南星饮片商品分级中可作为优质产品使用。

本实验所用胆南星是参照当前市场上主流产品的生产工艺,按天南星质量与胆汁体积约 1:1 的比例单次发酵制成,实验中各胆汁组的给药剂量与

制备胆南星时所用胆汁量相当, 研究结果表明等量胆汁经与天南星发酵制成胆南星后, 作用得到保留或有所增强, 由此推测古法多次添加胆汁、多次发酵的“九转南星”能够“借星以收取汁用”, 增强疗效。基于此, 本课题组后续将对按古法所制胆南星的药效学进行评价。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 261.

[2] 贾天柱. 中药炮制学[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2013: 284-285.

[3] 陈江宁, 单国顺, 赵启苗, 等. 不同胆汁制胆南星中胆酸类成分及其解热作用比较[J]. 现代药物与临床, 2017, 32(4): 567-571.

[4] 陈江宁, 单国顺, 刘晓瑜, 等. 胆南星辅料成分分析及其清热作用[J]. 中国现代中药, 2016, 18(7): 837-840.

[5] 刘晓月, 陶鑫, 潘多, 等. 胆南星化学成分的研究[J]. 中成药, 2018, 40(9): 1991-1995.

[6] 张智琳, 周丽梅, 江沂, 等. 清热化痰法对急性肺损伤大鼠干预作用的研究[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(12): 1913-1915.

[7] 庄先飞, 俞苏岚, 樊梦霖, 等. 中药复方防治急性肺损伤的作用机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 326-331.

[8] 郑丰杰, 李宇航, 王庆国, 等. 清热解毒有配伍桔梗汤对急性肺损伤模型治疗作用的实验观察[J]. 中华中

医药学刊, 2008, 26(5): 944-946.

[9] 施展, 刘颖颖, 武荣. 不同剂量脂多糖对新生 SD 大鼠的影响[J]. 中国医药导报, 2016, 13(25): 34-37.

[10] 王婷, 梁华平, 柴鉴深, 等. 三种大鼠急性肺损伤模型比较[J]. 成都医学院学报, 2016, 11(1): 5-9.

[11] 宣国平, 张琳, 钟明媚. 脂多糖致大鼠急性肺损伤模型取材时间选择[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015, 29(2): 136-138.

[12] 张亚平, 张广平, 苏萍, 等. 不同途径吸入脂多糖致大鼠急性肺炎模型的优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(7): 82-88.

[13] Mikawa K, Nishina K, Takao Y, et al. ONO-1714, a nitric oxide synthase inhibitor, attenuates endotoxin-induced acute lung in rabbits[J]. Anesth Analg, 2003, 97(6): 1751-1755.

[14] 陈龙, 朱焯, 陈西艳, 等. 丙泊酚对内毒素性肺损伤大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IL-10 的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2011, 27(8): 815-817.

[15] 熊秋迎, 陈乔, 谢斌, 等. 二冬膏对急性肺损伤模型鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量及 AQP-5 蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(20): 167-170.

[16] 常秀娟, 张帅, 江益平, 等. 从细胞因子风暴探讨热毒宁注射液抗大鼠急性肺损伤作用机制[J]. 中草药, 2015, 46(2): 236-239.

[17] 杨翠萍, 杨晓金, 田真真, 等. 槐定碱对急性肺损伤小鼠肺组织 SOD、MDA 及 TLR4 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 180-184.

[责任编辑 刘德文]