

七个中药复方对小鼠止咳化痰作用的对比实验

张晓菊¹, 吴媛¹, 蒋春燕¹, 张超颖¹, 兰新财²

(1. 金华职业技术学院; 2. 金大康动物保健品有限公司 浙江金华 321017)

【摘要】 目的 为了筛选出防治猪呼吸道疾病综合征 (PRDC) 有效的中药复方制剂, 对七个具有止咳化痰作用的中药复方制剂进行了对比实验。方法 以小鼠为实验动物, 用右美沙芬、氯化铵作阳性药, 生理盐水作空白对照, 采用浓氨水引咳法和气管段酚红分泌法, 对七个中药复方制剂的止咳化痰作用进行了观测。结果 方7、方5可显著延长小鼠的咳嗽潜伏期 ($P < 0.05$), 减少5 min内的咳嗽次数 ($P < 0.05$), 除方4组外, 其他中药组的气管酚红排放量显著低于对照组 ($P < 0.05$), 并且方7、方5和氯化铵组小鼠的酚红排放量显著低于其他处理组 ($P < 0.05$)。结论 七个中药复方组中, 方5、方7的止咳化痰作用最显著, 可在进一步实验研究后, 作为PRDC的治疗药物。

【关键词】 中药复方; 止咳化痰; 浓氨水引咳法; 气管段酚红分泌法; 小鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2014) 02-0066-04

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2014.02.015

Experimental comparison of the antitussive and expectorant effects of seven traditional Chinese medicine compounds in mice

ZHANG Xiao-ju¹, WU Yuan¹, JIANG Chun-yan¹, ZHANG Chao-ying¹, LAN Xin-cai²

(1. Jinhua Polytechnic College; 2. Jin Dakang Animal Health Co. Ltd, Jinhua Zhejiang 321017, China)

【Abstract】 Objective In order to screen effective traditional Chinese medicine compounds to prevent and control porcine respiratory disease syndrome (PRDC), seven compound preparations of traditional Chinese medicine were tested and to analyze their antitussive and expectorant effects in mice. **Methods** Two hundred 6-week old ICR mice (male: female = 1:1) were used in this study. Dextromethorphan and ammonium chloride were used as positive control drugs, and physiological saline was used as blank control. The antitussive and expectorant effects of the seven Chinese medicine compounds (groups 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) were observed by ammonia-induced cough model and tracheal phenol red secretion method in mice. **Results** The results showed that compounds 7 and 5 significantly prolonged the cough incubation period ($P < 0.05$), and reduced the cough times within 5 min ($P < 0.05$). Except for the group 4, tracheal phenol red excretion in the other groups was significantly lower than that of blank control group ($P < 0.05$), and phenol red excretion in the mice of groups 7, 5 and ammonium chloride group was significantly lower than that in other treatment groups ($P < 0.05$). **Conclusions** The Chinese medicine compounds 5 and 7 show most evident expectorant effects, and worthy of further validation of them as a drug in the treatment of porcine respiratory disease syndrome.

【Key words】 Traditional Chinese medicine compound; Antitussive and expectorant; Ammonia induced cough model, Tracheal phenol red secretion method; Mice

[基金项目] 浙江省科技厅公益技术研究农业项目(2011C22033)。

[作者简介] 张晓菊(1970-), 女, 副教授, 硕士。研究方向中西医结合防治畜禽疾病。E-mail: 826245575@qq.com。

目前养殖场集约化程度高,猪呼吸道疾病综合征(PRDC)发病率增高,是危害养猪生产的最重要疾病之一。据报道,PRDC 发病率一般为 5% ~ 60%,发病猪死亡率为 20% ~ 90%^[1]。高密度的饲养环境使猪体自身正气不足,尤其是特异性抗病正气不足,导致外感温热病邪乘虚而入,侵入机体暂为伏邪。如遇气候环境异常,具有非时令之寒热潮湿,导致猪体正气再衰,机体抗邪无力,则温热病邪逾时而发,使肺气升降失常而表现出咳嗽、咽喉肿痛、黏膜发绀、痰浊渗出等临床症状。因此,根据 PRDC 的临床症状、病变特征和病机,中兽医辨证为肺经温(瘟)病范畴,其治疗呼吸道病有四大法:清热解毒、宣肺利咽、化湿消痰、益气养阴。据此,课题组自拟了 7 个中药复方,建立以小鼠为实验模型,以筛选、验证这些中药复方制剂止咳化痰的效果,为中药制剂在防治 PRDC 上的应用提供实验数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

清洁级小鼠 200 只,6 周龄,体重 18 ~ 20 g,雌雄各半,由金华市药品检验所提供【SCXK(浙)2010-0046】,实验在金华职业技术学院医学院实验动物中心进行【SYXK(浙)2010-0022】。

1.1.2 中药制剂

选取具有清热解毒、宣肺化痰、益气养阴、利咽消肿的中药原料(各味中药均购自金华市尖峰大药房连锁有限公司),组成方 1、方 2、方 3、方 4、方 5、方 6 和方 7 共七个复方。①方 1 组:生石膏、知母、芦根、石菖蒲、前胡、桔梗、麻黄、浙贝、枳壳、炙甘草、五味子;②方 2 组:黄芩、炒栀子、芦根、石菖蒲、桔梗、葶苈子、乌梅、瓜蒌仁、冬瓜子、炙甘草;③方 3 组:生石膏、知母、芦根、桔梗、瓜蒌、贝母、大黄、芒硝、炙甘草;④方 4 组:栀子、黄芩、金银花、连翘、前胡、桑白皮、南沙参、麦门冬;⑤方 5 组:射干、山豆根、瓜蒌、贝母、桑白皮、葶苈子、苏子、五味子;⑥方 6 组:射干、山豆根、黄芩、金银花、鱼腥草、麦门冬、太子参、五味子;⑦方 7 组:生石膏、知母、玄参、栀子、黄芩、大黄、葶苈子、苏子、炙甘草。各组中药复方分别加 10 倍蒸馏水浸泡半小时后,煎煮 1 h,收取滤液,减压浓缩至 1 g/mL,4℃ 冰箱保存备用。

1.1.3 药物

浓氨水(NH₃),分析纯,浙江中星化工试剂有限

公司生产,批号:20110925;氯化铵,分析纯,衢州巨化试剂有限公司生产,批号:20111001。氢溴酸右美沙芬片,淄博万杰制药有限公司,批号:1201001。临用前用蒸馏水配成所需浓度的混悬液。

1.1.4 仪器

721 型可见分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司生产。分析天平,上海上天精密仪器有限公司生产。提取中药的仪器:TC-15 套式恒温器,海宁市新华医疗器械厂生产;浓缩中药用 R-501 旋转蒸发器,上海申胜生物技术有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 止咳实验(浓氨水引咳法^[2])

实验小鼠随机分 9 种处理,分别为空白对照处理(生理盐水按每只 0.2 mL 灌服),阳性处理(右美沙芬按 0.1 g/kg 体重,每只 0.2 mL 灌服),七个不同复方的中药处理(按 0.1 g/kg 体重,每只 0.2 mL 灌服)。每个处理均设 2 个重复,每重复 5 只小鼠(已预先剔除对浓氨水不敏感者)。

实验组上下午各灌胃给药 1 次,灌药前 4 h、灌药后 4 h 内禁食不禁水,连续用药 7 d。末次给药后 1 h,分别将小鼠逐一置于倒置的 500 mL 玻璃容器内,将浓氨水 0.2 mL 用注射器尽量均匀的喷洒在棉花团上,盖上器皿一定时间(约 10 s)诱咳,观察自盖上器皿后开始至小鼠出现咳嗽的潜伏期及 5 min 内的咳嗽次数(注:小鼠咳嗽的判断以剧烈收缩腹肌并张嘴为准,时可闻到轻微的咳嗽声)。

1.2.2 化痰实验(气管段酚红法^[3])

除阳性药物用氯化铵按 0.1 g/kg 体重,每只 0.2 mL 灌服外,其余分组及处理方法同止咳实验。

末次给药 30 min 后 ip 注射 0.5% 酚红溶液 0.5 mL,30 min 后处死小鼠,剥离气管周围组织,甲状软骨下缘及气管分支处用小血管夹夹住气管,然后剪下甲状软骨下至气管分支处的一段气管,将各气管段放入预先盛有 4 mL 5% NaHCO₃ 溶液试管中静置 1 h,然后于分光光度计 546 nm 处测 A 值,置 4℃ 存放 24 h 后,重测 A 值,取二者平均值,根据标准酚红曲线计算酚红含量(μg/mL)。

标准酚红曲线的绘制:分析天平准确称取 0.01 g 酚红,加 5% 碳酸氢钠溶解,配成 1 mL 含 100 μg,然后顺次稀释成每毫升含酚红 0.1、0.3、0.5、0.7、1.3、5、10 μg,用分光光度计测 A 值,以酚红剂量为横坐标,A 值为纵坐标,根据酚红浓度和 A 值计算出回归方程,绘制酚红标准曲线(图 1)。据所测的 A

值,即可从标准曲线上查出酚红的排泌量。

1.3 数据处理

所有资料均用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,方差分析和多重比较均用 SAS 8.0 版本,多重比较采用 Fish's LSD 法。

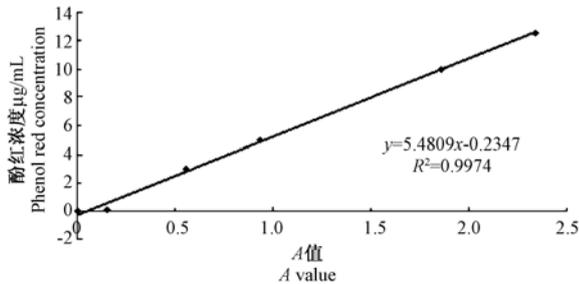


图 1 酚红标准曲线图

Fig. 1 The phenol red standard curve

表 1 各中药复方对小鼠的止咳作用 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 1 Antitussive effect of each Chinese medicine compound on the mice

组别 Groups	潜伏期时间/s Incubation period	5 min 内咳嗽次数/次 Cough times in 5 min/n
方 1 组 Group 1	9.357 \pm 1.77 ^a	84.57 \pm 6.65 ^a
方 2 组 Group 2	10.229 \pm 1.00 ^a	68.00 \pm 3.92 ^c
方 3 组 Group 3	8.029 \pm 0.60 ^a	77.86 \pm 2.94 ^c
方 4 组 Group 4	6.857 \pm 0.63 ^a	91.43 \pm 3.08 ^a
方 5 组 Group 5	31.629 \pm 1.71 ^c	25.57 \pm 1.65 ^b
方 6 组 Group 6	12.671 \pm 3.31 ^a	80.00 \pm 4.06 ^a
方 7 组 Group 7	35.614 \pm 2.38 ^c	23.29 \pm 2.37 ^b
右美沙芬组 Dextromethorphan group	31.029 \pm 2.76 ^c	22.14 \pm 1.26 ^b
生理盐水组 Physiological saline group	7.586 \pm 0.95 ^a	91.71 \pm 2.10 ^a

注:同一列中字母相同者为差异无显著性 ($P > 0.05$),字母不同者为差异有显著性 ($P < 0.05$),下同。

Note: The same letter in the same column indicates non-significant difference, $P > 0.05$. Different letters indicate significant difference, $P < 0.05$. The same below.

2.2 化痰实验

各处理对小鼠气管段酚红分泌量影响的结果见表 2,表 2 中数据显示,除方 4 组外,其他中药组和氯化铵组的气管酚红排泌量显著低于对照组 ($P <$

表 2 中药复方对小鼠的化痰作用 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 2 Expectorant effect of each Chinese medicine compound on the mice

组别 Groups	气管酚红的吸光度 (546 nm 处) Tracheal phenol red absorbance	气管酚红的排泌量/ $\mu\text{g/mL}$ Amount of tracheal phenol red excretion
方 1 组 Group 1	0.2 \pm 0.02 ^{bc}	1.07 \pm 0.12 ^{bc}
方 2 组 Group 2	0.2 \pm 0.03 ^{bc}	0.89 \pm 0.08 ^{cd}
方 3 组 Group 3	0.17 \pm 0.02 ^{dc}	0.81 \pm 0.10 ^d
方 4 组 Group 4	0.28 \pm 0.02 ^a	1.59 \pm 0.06 ^a
方 5 组 Group 5	0.1 \pm 0.01 ^e	0.55 \pm 0.01 ^e
方 6 组 Group 6	0.2 \pm 0.03 ^{bc}	1.16 \pm 0.16 ^b
方 7 组 Group 7	0.1 \pm 0.01 ^e	0.53 \pm 0.01 ^e
氯化铵组 Ammonium chloride group	0.11 \pm 0.01 ^e	0.53 \pm 0.04 ^e
生理盐水组 Physiological saline group	0.25 \pm 0.02 ^{ab}	1.42 \pm 0.09 ^a

注:同表 1。

Note: the same as table one.

2 结果

2.1 止咳实验

各处理对小鼠止咳作用的影响见表 1。如表 1 所示,方 5 和方 7 组的潜伏时间与右美沙芬组接近,但显著高于对照和其他方剂组 ($P < 0.05$);同时,方 5 和方 7 组的 5 min 内咳嗽次数与右美沙芬组接近,与方 2、方 3 组均显著低于对照和其他方剂组 ($P < 0.05$)。结果表明,方 7 和方 5 可延长小鼠咳嗽潜伏期,减少 5 min 内咳嗽次数,具有明显的止咳作用。

0.05),并且方 7、方 5 和氯化铵组小鼠的酚红排泌量显著低于其他处理组 ($P < 0.05$)。表明,中药复方 1~3、5~7 均有明显的化痰作用,方 5、方 7 的化痰作用更明显。

3 讨论

PRDC 的症状是咳嗽、咯痰、呼吸困难等,这些症状互为因果。积痰可引咳,可阻塞细支气管而致呼吸困难,进而造成继发或混合感染。咳嗽、咯痰若不加以控制,会使疾病进一步恶化。故对呼吸道疾病进行对症治疗,对防止疾病发展、并发症的发生和原发疾病的进一步恶化具有重要的意义。

中药的组方配伍是中兽医常用的治法,用不同药味进行配伍或相同药物、不同用量配伍成不同方剂是中药复方发挥不同疗效的“奥秘”,即中药配比是复方总体效应变化的核心,是复方功效的关键^[4]。因此课题组对“清热解毒、宣肺利咽、化湿祛痰、益气养阴”类中药进行不同配伍,形成七个中药复方,进行止咳化痰的对比实验,以筛选、验证这些中药复方制剂的临床功效。

酚红祛痰实验利用酚红从气管排泄的特点,在化痰药的作用下,随着支气管分泌物的增加,由呼吸道黏膜排出的酚红量也增加,用分光光度计测出酚红的排泄量,就可得知药物化痰作用的强弱。本研究结果显示,方 5、方 7 能显著抑制小鼠氨水刺激诱发的咳嗽和明显促进小鼠气管酚红的排泄量,提示该两方可以作用于有关的化学器官,抑制支气管黏膜对刺激的反应性而表现出止咳作用;可通过增加呼吸道上皮的纤毛运动,促进支气管腺体的分泌,使痰液稀释、黏度下降,易于咳出而发挥化痰作用。

方 5 中的山豆根、射干宣肺利咽化痰,清热解毒;瓜蒌、贝母具有清热解毒、宣肺利咽化痰之功;葶苈子、苏子降气止咳,利水祛痰。李国信等^[5]的实验也表明射干提取物能明显增加小鼠气管酚红排泄量。研究表明贝母具有止咳化痰、抗菌、抗炎作用,通过多层次、多环节、多途径发挥综合调控效应,既能抑制致病因素,又能改善症状^[6]。冯冰虹等^[7]报道,桑白皮水煎剂氯仿萃取物对氨水所致小鼠咳嗽有镇咳作用,能明显延长小鼠咳嗽出现的潜伏期和减少 2 min 内的咳嗽次数。进一步研究发现,桑白皮丙酮提取物有明显镇咳和祛痰作用^[8]。五味子挥发油具有镇咳作用,五味子酸性成分具有祛痰作用,五味子多糖可显著提高巨噬细胞功能,促进淋巴细胞转化,具有较好的增强免疫作用。五味子粗多糖、五味子水煎剂具有升高白细胞及增强免疫功能的作用。现代医学常用于急慢性肺部疾病等都具有良好作用^[9]。

方 7 中石膏、知母、栀子、黄芩、大黄清泻肺火;知母、玄参具有凉血滋阴利咽;炙甘草益气止咳化痰。现代药理学研究表明,黄芩具有明显舒张支气管,改善气道痉挛作用^[10]。赵铁华等^[11]证实黄芩对金葡菌、肺炎链球菌、甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌等有明显的抗菌活性。因此认为黄芩总黄酮可用于细菌引起的上呼吸道感染疾病的预防和治疗。玄参具有解热、抗菌、抗炎等药理作用。

因而综观方 5、方 7 全方,功补兼施,标本兼治,既能化痰止咳,又能宣肺利咽,提高免疫功能,故能延长小鼠的咳嗽潜伏期,减少咳嗽次数,并能增加小鼠气管对酚红的排泄量,即有祛痰作用。但方 5、方 7 的配伍作用机制及其止咳化痰作用机制需做进一步的研究。

本次实验结果显示,方 5、方 7 对小鼠氨水引咳模型有明显的抑制作用,并能明显增加小鼠气管对酚红的排泄量,显示有较好的化痰作用,为其临床应用提供了科学的实验依据。

参 考 文 献

- [1] 白芳华,李新春.猪呼吸道疾病综合症及防控对策探讨[J].榆林学院学报,2008,18(2):18-20.
- [2] 徐叔云,卞如谦,陈修,等.药理实验方法学(第3版)[M].北京:人民卫生出版社,2003:1359.
- [3] 徐叔云,卞如谦,陈修,等.药理实验方法学(第3版)[M].北京:人民卫生出版社,2003:1363.
- [4] 肖红斌,刘艳秋,王莉,等.基于成分相互作用的中药复方组分配伍研究[J].世界科学技术—中医药现代化,2011,13(2):240.
- [5] 李国信,齐越,秦文艳,等.射干提取物止咳祛痰药理实验研究[J].实用中医内科杂志,2008,22(2):3.
- [6] 孙涛.贝母止咳颗粒治疗急性支气管炎的作用机理研究[D].中国博士学位论文全文数据库(网络版),2011,10,代号:E057-27.
- [7] 冯冰虹,赵宇红,黄建华.桑白皮的有效成分筛选及其药理学研究[J].中药材,2004,27(3):204-205.
- [8] 冯冰虹,苏浩冲,杨俊杰.桑白皮丙酮提取物对呼吸系统的药理作用[J].广东药学院学报,2005,21(1):47-49.
- [9] 崔洪,姚望,张丞.华中五味子中化学活性成分及药理作用研究进展[J].河南科技大学学报(医学版),2010,28(4):318-320.
- [10] 罗诚浩,宋旭艳,魏敏,等.黄芩苷与木犀草素混合物镇咳祛痰平喘作用的实验研究[J].世界中西医结合杂志,2012,7(3):212.
- [11] 赵铁华,邓淑华,杨鹤松,等.黄芩茎叶活性部位抗菌作用的研究[J].中国药理学通报,2007,23(7):882-886.

[收稿日期] 2013-10-23