

鱼腥草破壁饮片抗细菌内毒素作用研究

代耀兰^{1,2}, 李韶菁², 杨若聪³, 吴传鸿⁴, 段飞鹏³, 陈炜璇^{5,6}, 弓 铭³, 王佩佩³, 李雪丽³, 孙 燕², 成金乐^{5,6*}, 闫智勇^{1*}

1. 西南交通大学生命科学与工程学院, 四川 成都 610031
2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700
3. 北京中医药大学, 北京 100029
4. 澳门大学中国医学科学研究院 中医药质量研究国家重点实验室, 澳门 999078
5. 国家中医药管理局 中药破壁饮片技术与应用重点研究室, 广东 中山 528437
6. 中山市中智药业集团有限公司, 广东 中山 528437

摘要: **目的** 考察鱼腥草破壁饮片抗内毒素(LPS)作用, 并与传统饮片作用进行比较。**方法** 采用 BALB/c 小鼠鼻滴 LPS 建立肺部炎症模型, 检测血液中炎症细胞数和病理学观察肺组织炎症程度; 采用尾 iv 内毒素致大鼠炎症模型, 检测血液中白细胞数和血浆中 LPS 含量, 酶联免疫法(ELISA)检测血清中炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量; 采用鲎试剂试验法, 观察鱼腥草破壁饮片提取物体外抗细菌内毒素作用。**结果** 鱼腥草破壁饮片和传统饮片均可不同程度降低 BALB/c 小鼠全血中白细胞含量, 减轻肺组织病理炎症细胞浸润, 且破壁饮片呈明显的剂量依赖关系; 鱼腥草破壁饮片与传统饮片均可不同程度显著降低大鼠全血中白细胞、血浆中内毒素和血清中 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 含量; 与传统饮片比较, 鱼腥草破壁饮片可明显降低血清中 IL-1 β 、TNF- α 含量; 相同剂量或相同稀释比例下, 鱼腥草破壁饮片体外抗细菌内毒素作用均显著强于鱼腥草传统饮片。**结论** 鱼腥草破壁饮片具有良好的抗内毒素作用, 且在一定程度上优于鱼腥草传统饮片。

关键词: 鱼腥草; 破壁饮片; 内毒素; 炎症; IL-1 β ; IL-6; TNF- α

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)18-4225-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.18.031

Anti-lipopolysaccharide effect of ultrafine granular powder of *Houttuynia cordata*

DAI Yao-lan^{1,2}, LI Shao-jing², YANG Ruo-cong³, WU Chuan-hong⁴, DUAN Fei-peng³, CHEN Wei-xuan^{5,6}, GONG Ming³, WANG Pei-pei³, LI Xue-li³, SUN Yan², CHENG Jin-le^{5,6}, YAN Zhi-yong¹

1. College of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China
2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China
3. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
4. State Key Laboratory of Quality Research in Chinese Medicine, Institute of Chinese Medical Sciences, University of Macau, Macao 999078, China
5. Key Laboratory of Technologies and Applications of Ultrafine Granular Powder of Herbal Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Zhongshan 528437, China
6. Zhongshan Zhongzhi Pharmaceutical Group Co., Ltd., Zhongshan 528437, China

Abstract: Objective To study the anti-lipopolysaccharide (LPS) effect of the ultrafine granular powder of *Houttuynia cordata* and the effects in comparison with traditional decoction pieces. **Methods** BALB/c mice were injected with LPS through nose to establish lung inflammation model. The number of leukocytes in mice whole blood was examined, and the degree of the

收稿日期: 2019-04-02

基金项目: 广东省省级科技计划项目: 中山火炬高新区数字医疗与健康科技产业集群中药质量研究平台建设(2014B010108013); 中山市协同创新专项资金项目: 中山市中药破壁饮片技术与应用协同创新中心(2016C1014)

作者简介: 代耀兰, 在读硕士, 研究方向为药理与毒理。Tel: 15708453763 E-mail: yaolandai05@126.com

***通信作者** 闫智勇, 博士, 教授, 研究方向为中药神经、肿瘤药理学研究, 以及创新中药开发。Tel: 18828058165 E-mail: yzhiy@home.swjtu.edu.cn
成金乐, 教授, 研究方向为创新中药研究与开发。E-mail: gdcjl9@126.com

inflammation of lung tissue by pathology was observed. Rat inflammatory model was induced by injection of LPS into tail vein. The number of leukocytes in mice whole blood, content of LPS in plasma were examined, the content of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The limulus test method was used to detect the anti-lipopolysaccharide effect of the ultrafine granular powder of *H. cordata* *in vitro*. **Results** The ultrafine granular powder of *H. cordata* and traditional decoction pieces can reduce the level of leukocytes in mice whole blood in various degrees, and alleviated the infiltration of inflammatory cells in pathological lung tissue, and there was a positive dosage dependent relation. For the two decoction pieces, the number of leukocytes in rat whole blood, the content of LPS in plasma, the levels of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in serum decreased in different degrees were found. Compared with traditional decoction pieces group, the content of IL-1 β and TNF- α of serum in ultrafine granular powder group were significant decreased. The ultrafine granular powder of *H. cordata* showed better anti-inflammatory activity than traditional decoction pieces *in vitro* at the same concentration and same dilution ratio. **Conclusion** The ultrafine granular powder of *H. cordata* has satisfactory anti-lipopolysaccharide effect, and the effect is better than traditional decoction pieces in some extent.

Key words: ultrafine granular powder of *Houttuynia cordata* Thunb; lipopolysaccharide; inflammation; IL-1 β ; IL-6; TNF- α

鱼腥草为三白草科植物蕺菜 *Houttuynia cordata* Thunb. 的新鲜全草或干燥地上部分, 具有清热解毒、消痈排脓、利尿通淋的功效, 主要用于肺痈吐脓、痰热咳嗽等^[1]。作为传统的清热解毒中药, 鱼腥草因其显著的解热、抗炎作用, 临床上用于治疗呼吸道感染相关疾病^[2-3]。鱼腥草破壁饮片是鱼腥草传统饮片经超微粉碎技术处理制备而成的新型中药饮片。中药破壁饮片为全成分入药, 采用现代加工技术, 克服传统中药饮片吸收率低、服用不便等弊端。本研究采用小鼠急性肺损伤、大鼠炎症、体内实验和体外与细菌内毒素共孵育实验, 考察鱼腥草破壁饮片的体内外抗内毒素作用, 同时比较鱼腥草破壁饮片与传统饮片的抗内毒素作用优势。

1 材料

1.1 药物与试剂

鱼腥草破壁饮片(批号 20160905)、鱼腥草传统饮片(批号 20160902), 由中山市中智药业集团有限公司提供; 地塞米松注射液(批号 1704292, 河南润泓制药股份有限公司); 脂多糖(LPS, 批号 076M4029V)、氨基磺酸胺(批号 MKBH5859V)、羰基二胺(批号 LP70Q127), 购于美国 Sigma 公司; 亚硝酸钠(批号 161218), 购于北京海诚远宏科技有限公司; 动态显色法鲎试剂(批号 1701050)、细菌内毒素检查用水(批号 1702130), 购于湛江安度斯生物有限公司; 细菌内毒素工作标准品(批号 150601-201782), 中国食品药品检定研究院; 大鼠白细胞介素-6(IL-6) ELISA 试剂盒(批号 R170703-003)、大鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒(批号 R170701-007)、大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α) ELISA 试剂盒(批号 R170701-102a), 购于欣博盛生物科

技有限公司。

1.2 主要仪器

M5 多功能酶标仪, 美国分子仪器公司; Auto 2 EVOS 智能显微成像系统, 美国 Thermo 公司; TEK-IIMINI 血细胞分析仪, 江西特康科技有限公司。

1.3 实验动物

SPF 级 BALB/c 小鼠 84 只, 体质量(20 $\pm$ 2) g, 动物生产许可证号 SCXK(军)2012-0004, 实验动物质量合格证号 No. 0010698。SPF 级 SD 大鼠 84 只, 体质量(200 $\pm$ 20) g, 动物生产许可证号 SCXK-(军)2012-0004 和 SYXK(京)2016-0013; 实验动物质量合格证号 No. 0010386 和 No. 11400500028338。

2 方法

2.1 受试药物剂量的确定

以生药量计算, 鱼腥草破壁饮片成人每日最大服用量为 12 g(根据《中国药典》2015 年版中鱼腥草用量及预试验筛选得出的有效剂量), 成人体质量按 60 kg 计, 即成人服用剂量为 0.2 g/kg, 小鼠的等效剂量为人体的 9 倍, 则小鼠的等效剂量为 1.8 g/kg; 大鼠的等效剂量为人体的 6 倍, 则大鼠的等效剂量为 1.2 g/kg, 以等效剂量作为中剂量, 以等效剂量的 1/2 和 2 倍分别作为低剂量和高剂量。

2.2 对 LPS 致小鼠急性肺损伤的保护作用

2.2.1 受试药品的配制 分别称取鱼腥草破壁饮片 0.9、1.8、3.6 g 及鱼腥草传统饮片 1.8 g(为保证有效成分的稳定性及受试样品处理的均衡性, 传统饮片用打粉机磨成细粉), 加入生理盐水 20 mL, 浸泡 24 h, 用时混悬后按照 10 mL/kg 体积给药。

2.2.2 分组、造模及给药 将 BALB/c 小鼠随机分

为 7 个组, 每组 12 只, 雌雄各半, 分别为对照组、模型组、地塞米松组 (0.01 g/kg)、鱼腥草传统饮片组 (1.8 g/kg) 及鱼腥草破壁饮片低、中、高剂量 (0.9、1.8、3.6 g/kg) 组。除对照组外, 其余各组小鼠分别于实验第 1、2、3 天经乙醚吸入麻醉后, 滴鼻给予 LPS (0.5 g/L) 25 μ L, 并 ip LPS (0.5 g/L) 100 μ L 建立急性肺损伤模型, 每天造模 30 min 后分别 ig 给予相应药物, 阳性对照组 sc 地塞米松, 对照组和模型组 ig 等体积纯水。给药 3 d, 于末次给药 24 h 后, 小鼠眼眶取血用于白细胞计数; 取右肺置 10% 中性福尔马林磷酸盐缓冲液中固定后, 石蜡包埋, HE 染色观察病理学改变。

2.3 对 LPS 致炎大鼠炎症因子水平和 LPS 廓清能力的影响

2.3.1 受试样品的配制 分别称取鱼腥草破壁饮片 1.2、2.4、4.8 g 及鱼腥草传统饮片 2.4 g (为保证有效成分的稳定性及受试样品处理的均衡性, 传统饮片用打粉机磨成细粉), 加入生理盐水 20 mL, 配成混悬液, 浸泡 24 h, 用时混悬后按照 10 mL/kg 体积给药。

2.3.2 分组、造模及给药 SD 大鼠随机分为 7 组, 每组 12 只, 雌雄各半, 分别为对照组、模型组、地塞米松组 (0.005 g/kg)、鱼腥草传统饮片组 (1.2 g/kg) 及鱼腥草破壁饮片低、中、高剂量 (0.6、1.2、2.4 g/kg) 组。各组大鼠禁食 16 h, 分别 ig 给予相应药物, 阳性对照组 sc 地塞米松, 对照组和模型组 ig 等体积纯水, 各组均为单次给药, 给药 0.5 h 后给药组和模型组大鼠分别尾 iv LPS 100 μ g/kg, 12 h 后乙醚麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 取少量血进行血常规检测白细胞数量; 取全血 1 mL 于抗凝管中, 采用检测试剂盒检测血浆中 LPS 水平; 另取 4 mL 血液离心取血清, 采用 ELISA 试剂盒检测血清中炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平。

2.4 抗细菌内毒素体外实验

2.4.1 受试样品的配制 参考本研究体内实验的最大剂量, 以生药量计算, 动物实验的最大给药质量浓度为 3.6 g/mL, 以此质量浓度为体外实验的质量浓度。分别称取鱼腥草破壁饮片和传统饮片 36 g, 研磨成细粉, 加入细菌内毒素检查用水 10 mL, 配成混悬液, 用细菌内毒素检查用水再稀释 20 倍, 浸泡 24 h, 滤过待用。

2.4.2 体外抗内毒素实验 将鱼腥草破壁饮片及传统饮片受试样品倍比稀释 100、500、2 500、12 500、50 000 倍, 得到系列质量浓度供试样品, 每个质量

浓度各 3 支试管。取各质量浓度的受试样品 200 μ L 与 1 ng/mL (1 ng 相当于 2.5 U) 的内毒素 200 μ L 于 37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min。同时设置药物阴性对照组 (阴性对照组加入细菌内毒素检查用水 200 μ L, 其余操作与受试样品操作一致)。分别取各管反应液 100 μ L, 与鲎试剂 100 μ L 混匀, 置于 37 $^{\circ}$ C 水浴孵育 30 min, 取出后加入亚硝酸钠溶液 500 μ L, 混匀后加入氨基磺酸胺 500 μ L, 再加入萘乙二胺 500 μ L 混匀, 于波长 405 nm 测定吸光度 (A) 值。按照鲎试剂盒说明书测定标准曲线, 并用标准曲线回归方程计算各反应液中的内毒素水平, 计算各质量浓度药物对内毒素的清除率。

清除率 = (总内毒素的量 - 剩余内毒素的量) / 总内毒素的量

2.5 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析, 计量资料应用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 符合正态分布的计量资料, 采用单因素方差分析进行检验; 对于不符合正态分布的计量资料, 采用秩和检验。

3 结果

3.1 对 LPS 致小鼠急性肺损伤的影响

3.1.1 对 LPS 致急性肺损伤小鼠全血中白细胞数量的影响 LPS 致小鼠急性肺损伤后, 模型组小鼠全血中白细胞数量显著高于对照组 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 鱼腥草破壁饮片各剂量、鱼腥草传统饮片及阳性药地塞米松均可不同程度降低小鼠全血中白细胞数量 ($P < 0.01$), 破壁饮片组具有明显的剂量依赖关系。鱼腥草破壁饮片不同剂量组与鱼腥草传统饮片组比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$)。结果见表 1。

表 1 鱼腥草破壁饮片对 LPS 致急性肺损伤小鼠血中白细胞数量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of ultrafine granular powder of *H. cordata* on number of leukocytes in blood of mice with acute lung injury induced by LPS ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	白细胞计数/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)
对照	—	6.47 $\pm$ 0.80
模型	—	14.48 $\pm$ 4.88 ^{##}
地塞米松	0.01	9.85 $\pm$ 2.82 ^{**}
鱼腥草传统饮片	1.8	5.61 $\pm$ 1.74 ^{**}
鱼腥草破壁饮片	0.9	7.37 $\pm$ 5.02 ^{**}
	1.8	5.68 $\pm$ 1.52 ^{**}
	3.6	4.28 $\pm$ 1.54 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group

3.1.2 对 LPS 致急性肺损伤小鼠肺组织病理的影响
肺组织 HE 染色结果显示, 对照组, 小鼠肺组织肺泡壁完整, 无增厚, 无炎细胞浸润, 无充血; 模型组肺泡壁破坏增厚, 肺泡腔内可见大量炎细胞浸润, 肺泡壁毛细血管扩张充血; 阳性药地塞米松显著改善肺部病理改变, 肺泡壁相对完整, 肺泡壁的增厚

得到改善, 炎细胞浸润及肺泡壁毛细血管扩张亦有所改善。鱼腥草破壁饮片不同剂量可显著改善肺泡状态, 肺泡壁增厚减少, 炎性浸润及充血现象也有所改善。鱼腥草传统饮片组小鼠的肺泡壁增厚仍较严重, 且炎细胞浸润严重, 改善不明显。结果见图 1。

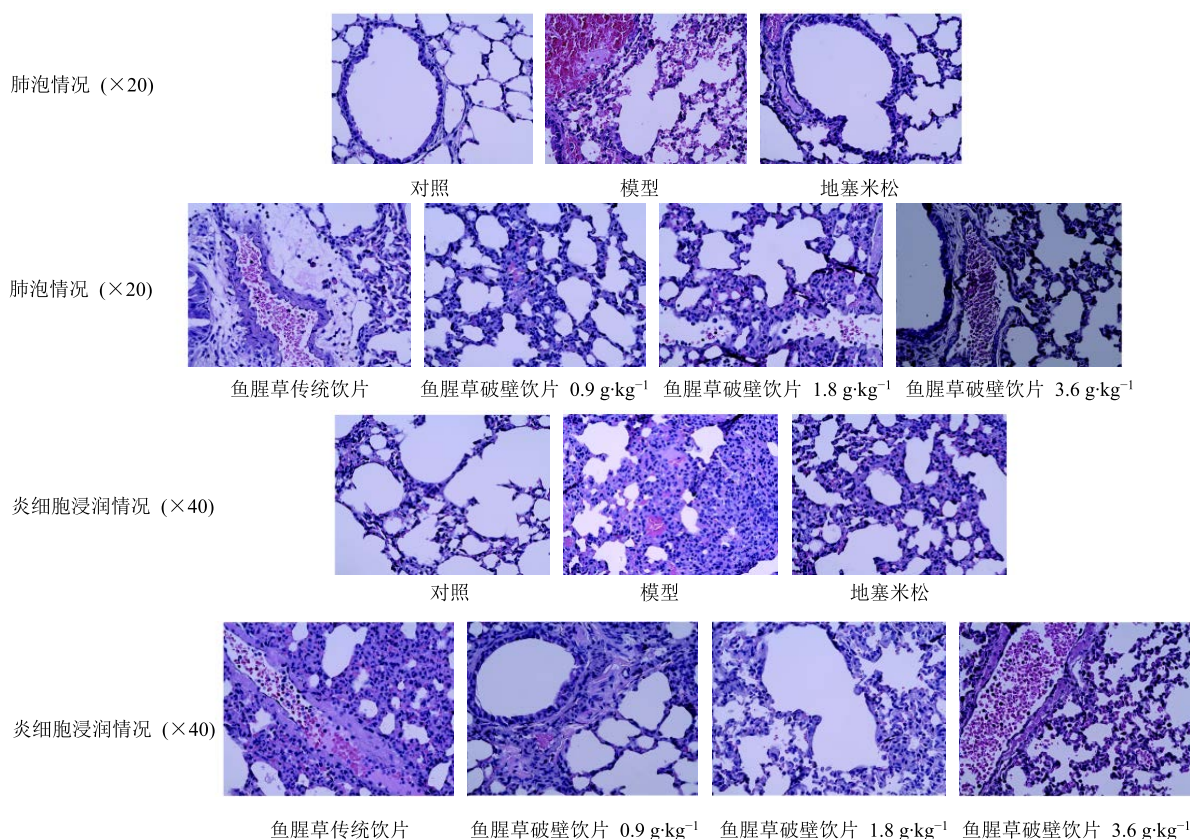


图 1 鱼腥草破壁饮片对 LPS 致急性肺损伤小鼠肺部病理的影响

Fig. 1 Effect of ultrafine granular powder of *H. cordata* on lung pathology in mice with acute lung injury induced by LPS

3.2 对 LPS 致炎大鼠炎症因子水平和内毒素廓清能力的影响

3.2.1 对 LPS 致炎大鼠全血中白细胞数量的影响
LPS 致大鼠炎性损伤后, 模型组大鼠全血中白细胞数量显著高于对照组 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 鱼腥草破壁饮片各剂量、鱼腥草传统饮片及阳性药地塞米松均可不同程度降低全血中白细胞数量 ($P < 0.05$ 、 0.01)。鱼腥草破壁饮片不同剂量组与鱼腥草传统饮片组比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

3.2.2 对 LPS 致炎大鼠血浆中 LPS 水平的影响
LPS 致大鼠炎性损伤后, 模型组大鼠血浆中 LPS 水平显著高于对照组 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 鱼腥草破壁饮片中、高剂量及阳性药地塞米松均可不

同程度降低血浆中 LPS 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01); 鱼腥草传统饮片组和鱼腥草破壁饮片低剂量组大鼠血浆中 LPS 水平与模型组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。鱼腥草破壁饮片不同剂量组与鱼腥草传统饮片组比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

3.2.3 对 LPS 致炎大鼠血清中炎症因子水平的影响
LPS 致大鼠炎性损伤后, 模型组大鼠血清中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平均显著高于对照组 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 鱼腥草破壁饮片各剂量、鱼腥草传统饮片及阳性药地塞米松均可不同程度降低大鼠血清中细胞因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01)。鱼腥草破壁饮片不同剂量组与鱼腥草传统饮片组比较, 大鼠血清中 IL-6 水平差异无显著性 ($P > 0.05$); 鱼腥草破壁饮片高、中剂量组与鱼腥草传统

表 2 鱼腥草破壁饮片对 LPS 致炎大鼠全血中白细胞数量和血浆中 LPS 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Table 2 Effect of ultrafine granular powder of *H. cordata* on number of leukocytes in whole blood and level of LPS in plasma of LPS-induced inflammatory rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	白细胞计数/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	血浆 LPS/ (U·mL ⁻¹)
对照	—	3.57 ± 2.22	0.33 ± 0.09
模型	—	5.38 ± 1.82 [#]	0.63 ± 0.15 ^{##}
地塞米松	0.005	2.95 ± 1.30 ^{**}	0.48 ± 0.12 [*]
鱼腥草传统饮片	1.2	3.58 ± 1.78 ^{**}	0.52 ± 0.12
鱼腥草破壁饮片	0.6	3.49 ± 1.80 ^{**}	0.53 ± 0.12
	1.2	3.73 ± 1.94 [*]	0.47 ± 0.09 [*]
	2.4	2.94 ± 1.32 ^{**}	0.44 ± 0.15 ^{**}

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group表 3 鱼腥草破壁饮片对 LPS 致炎大鼠血清中炎症因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Table 3 Effect of ultrafine granular powder of *H. cordata* on content of inflammatory factors in serum of LPS-induced inflammatory rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	IL-1β/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	1 095.64 ± 209.35	729.17 ± 178.95	1 994.17 ± 88.80
模型	—	2 650.77 ± 229.37 ^{##}	2 507.44 ± 292.38 ^{##}	4 030.28 ± 770.46 ^{##}
地塞米松	0.005	1 036.08 ± 197.18 ^{**}	572.24 ± 265.75 ^{**}	1 895.30 ± 104.30 ^{**}
鱼腥草传统饮片	1.2	1 036.08 ± 197.18 ^{**}	733.93 ± 253.83 ^{**}	2 063.33 ± 127.04 ^{**}
鱼腥草破壁饮片	0.6	1 209.23 ± 345.60 ^{**}	560.71 ± 131.07 ^{**}	1 968.33 ± 71.92 ^{**△}
	1.2	1 193.85 ± 255.98 ^{**}	530.36 ± 262.15 ^{**△}	1 978.33 ± 92.90 ^{**△}
	2.4	1 079.44 ± 213.98 ^{**}	387.18 ± 234.99 ^{**△△}	1 942.27 ± 84.09 ^{**△}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$; 与鱼腥草传统饮片组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs traditional decoction pieces of *H. cordata*表 4 鱼腥草破壁饮片体外抗细菌内毒素作用 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Table 4 Effect of ultrafine granular powder of *H. cordata* on lipopolysaccharide in vitro ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	稀释倍数	反应液中剩余内 毒素/(ng·mL ⁻¹)	内毒素 清除率/%
传统饮片	100	0.023 ± 0.016	97.748 ± 1.574
	500	0.177 ± 0.037	82.348 ± 3.696
	2 500	0.475 ± 0.155	52.535 ± 15.460
	12 500	0.671 ± 0.041	32.918 ± 4.086
	50 000	0.865 ± 0.057	13.534 ± 5.706
破壁饮片	100	0.004 ± 0.001	99.867 ± 0.017
	500	0.079 ± 0.029 [*]	98.816 ± 0.275 [*]
	2 500	0.108 ± 0.015 [*]	95.089 ± 0.202 [*]
	12 500	0.353 ± 0.139 [*]	90.136 ± 1.022 [*]
	50 000	0.588 ± 0.085 [*]	41.175 ± 8.466 [*]

与同等稀释倍数的鱼腥草传统饮片组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{*} $P < 0.05$ vs traditional decoction pieces of *H. cordata*

饮片组比较,在抑制血清 IL-1β 方面,差异显著 ($P < 0.05$ 、0.01);鱼腥草破壁饮片高、中、低剂量组与鱼腥草传统饮片组比较,在抑制血清 TNF-α 方面,差异显著 ($P < 0.05$)。结果见表 3。

3.3 体外抗细菌内毒素作用

鱼腥草破壁饮片及传统饮片不同稀释液与 1 ng/mL 内毒素共同孵育后,其反应液中内毒素的量随着稀释比例的升高而升高。与此同时,随着 2 种饮片供试液稀释倍数的增加,其对内毒素的清除率降低。其中,鱼腥草破壁饮片体外抗细菌内毒素作用,于稀释 100、500、2 500、12 500、50 000 倍时,均显著强于鱼腥草传统饮片 ($P < 0.05$)。结果见表 4。

4 讨论

鱼腥草为三白草科植物蕺菜 *Houttuynia cordata* Thunb. 的新鲜全草或干燥地上部分,始载于《名医

别录》,其后历代本草文献都有记载“以清解肺热见长,为治肺雍之要药”^[4]。鱼腥草味辛,微寒,归肺经,具有清热解毒、消痈排脓、利尿通淋的功能,主要用于肺痈吐脓、痰热咳嗽等。现代研究表明,鱼腥草主要含有挥发油、黄酮、生物碱、多糖、有机酸类等活性成分。鱼腥草具有广泛的药理作用,除了抗菌、抗病毒和免疫增强作用外,还具有抗炎、抗肿瘤、抗过敏、平喘等功效^[5]。鱼腥草具有较好的抗炎活性,对多种致炎介质引起的炎症渗出和组织水肿均有明显的抑制作用,临床上多用于治疗呼吸道感染。研究显示,鱼腥草可抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 Toll 样受体 4 (TLR4) 蛋白的表达,并影响 LPS-TLR4 信号通路下游核转录因子-κB (NF-κB) 和丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 的活化,抑制炎症因子产生,从而发挥抗炎作用^[6]。

传统中药饮片是中医临床应用的主要方式之一,有几千年的应用经验与理论认识的支撑,可随证加减,用时需煎煮。但传统饮片在煎煮应用时,有效利用率较低,且受加工方法的限制,不能将不同组织部位、不同细胞的有效物质组分进行均匀分配,无法保证传统中药饮片的均匀性。与传统饮片相比,中药破壁饮片具有成分利用率高,质量均一,应用方式简单、快捷和灵活等特点^[7]。本研究所用鱼腥草破壁饮片是将鱼腥草传统饮片超微粉碎至 $D_{90} < 45 \mu\text{m}$ 的均匀粉体,可以改变传统饮片的均匀性,有利于中药质量的可控性,有效成分的暴露便于溶出和利用,可以提高其有效成分的利用率。与鱼腥草传统饮片比较,破壁饮片细胞破壁率及有效成分的溶出度均增加,使体内生物利用度和药物疗效亦明显提高^[8]。本研究主要研究鱼腥草破壁饮片抗内毒素作用,同时与鱼腥草传统饮片的效果进行比较。体外抗内毒素结果显示,鱼腥草破壁饮片于体外与内毒素的反应液中可显著降低反应液中内毒素的含量;并且相同剂量或相同稀释比例条件下,鱼腥草破壁饮片体外抗细菌内毒素作用均显著强于鱼腥草传统饮片的作用。提示鱼腥草破壁饮片具有很好的体外抗内毒素的作用。

地塞米松是一种常用的糖皮质激素,能稳定细胞膜,抑制促炎细胞因子的释放,有镇静、止痛和抗交感神经作用,故在小鼠急性肺损伤及大鼠内毒素致炎实验中用作阳性药^[9]。

急性肺损伤是由于弥漫性肺泡-毛细血管膜损伤导致的以非心源性肺水肿和炎症为病理特征的急性呼吸衰竭。炎性介质调控的失衡在急性肺损伤的发病机制中发挥着重要作用^[10]。本研究采用内毒素致小鼠急性肺损伤模型,评价鱼腥草破壁饮片抗急性肺损伤的作用。结果显示,鱼腥草破壁饮片可显著降低小鼠血中白细胞的数量,改善小鼠肺部病理改变,抑制肺部肺泡壁的增厚以及炎症浸润。提示鱼腥草破壁饮片对内毒素致动物急性肺部损伤具有一定的保护作用。

TNF- α 是炎症发展中重要的细胞因子。TNF- α 可激活内皮细胞,导致肺水肿,在急性肺损伤患者血清和肺泡灌洗液(BALF)中可检测到 TNF- α 水平升高。IL-1 β 是由活化的巨噬细胞分泌的细胞因子。在急性肺损伤早期,IL-1 β 在血浆、BALF 中的水平均升高。IL-6 在炎性介质刺激下由各种淋巴细胞等所释放,是介导炎症反应的主要细胞

因子。在生理状态下一般不表达,经 LPS 等刺激后高表达,IL-6 较为可靠地反映了肺组织局部损伤的程度^[11]。

LPS 是革兰阴性菌外膜上的主要成分,在细菌大量繁殖或死亡时,释放到细胞外,与 TLR4 结合后,激活下游 NF- κ B 信号转导通路,促进炎症因子的释放,如 IL-6、IL-1 β 及 TNF- α 等,介导炎症反应^[12]。内毒素在创伤、感染引起的全身炎症反应综合征及脓毒症中是重要的致病因子。大鼠尾 iv 内毒素后,可导致出现全身炎症,体内白细胞升高,炎症因子亦有所升高。本研究结果显示,鱼腥草破壁饮片可显著降低大鼠血中白细胞数量;降低血浆中 LPS 含量;并可不同程度降低大鼠血清中炎性因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的含量。其中,同等剂量下,鱼腥草破壁饮片在 LPS 廓清能力及对炎性因子 IL-1 β 和 TNF- α 的清除作用均优于鱼腥草传统饮片,且单因素方差分析,具有显著性差异。由于传统中药饮片受细胞壁阻挡而无法溶出的成分,经超微粉碎技术加工后,打破了传统饮片的细胞结构,有利于药效成分的释放,所形成的饮片超微粉比表面积增大,促进了细胞内药效成分的溶出。与传统饮片相比,中药破壁饮片可由于药效成分的溶出速率和溶出量的提高。因此在相同给药浓度下,鱼腥草破壁饮片的药效成分含量高于其传统饮片,其抗炎效果优于普通饮片。

综上所述,从体外抗内毒素实验、小鼠急性肺损伤保护及大鼠致炎实验 3 个方面,从体外和体内 2 个层面,以大、小鼠为实验动物进行实验,结果提示鱼腥草破壁饮片具有良好的抗内毒素作用,且在一定程度上优于鱼腥草传统饮片。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 王慧玲,崔伟,秦鑫,等. 鱼腥草对致热大鼠下丘脑 cAMP 和腹中隔区精氨酸加压素含量的影响 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007, 12(1): 78-81.
- [3] 崔小花,王莉,李幼平,等. 鱼腥草注射液治疗呼吸系统疾病有效性评价 [J]. 中国循证医学杂志, 2011, 11(7): 786-798.
- [4] 颜正华. 中药学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [5] 杜向群,陈敏燕,许颖. 鱼腥草成分、药理的研究进展 [J]. 江西中医药, 2012, 43(2): 66-68.
- [6] Chun J M, Nho K J, Kim H S, et al. An ethyl acetate fraction derived from *Houttynia cordata* extract inhibit the production of inflammatory markers by suppressing

- NF- κ B and MAPK activation in lipopolysaccharide-stimulated RAW264. 7 macrophages [J]. *BMC Compl Altern Med*, 2014, doi: 10.1186/1472-6882-14-234.
- [7] 成金乐, 赖智填, 陈炜璇, 等. 中药破壁饮片——传统中药饮片的传承和创新 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(9): 1546-1552.
- [8] 沈 浔, 王慧玲, 彭丽华, 等. 鱼腥草破壁饮片指纹图谱研究 [J]. 今日药学, 2015, 25(10): 688-693.
- [9] 林 琴, 王广发, 汤秀英, 等. 地塞米松对内毒素致急性肺损伤大鼠肺的保护作用 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2006, 38(4): 393-396.
- [10] 邱海波, 潘家琦, 赵永强, 等. 内毒素诱导器官损伤中炎症性细胞因子的表达及药物治疗探讨 [J]. 中华医学杂志, 1996, 7(4): 254-257.
- [11] Yang G, Hamacher J, Gorshkov B, *et al.* The dual role of TNF in pulmonary edema [J]. *J Cardiovasc Dis Res*, 2010, 1(1): 29-36.
- [12] 王 凯, 刘小虹. 喘可治对小鼠急性肺损伤 TLR4/NF- κ B/NLRP3 通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(22): 237-242.