

白术镇咳祛痰、镇痛和止血潜在作用的实验研究

安 然 梁茂新

(辽宁中医药大学基础医学院,辽宁省沈阳市皇姑区崇山东路 79 号,110847)

[摘 要] 目的 通过动物实验验证白术的镇咳祛痰、镇痛和止血的潜在作用。方法 通过浓氨水喷雾诱咳法建立小鼠咳嗽模型,观察白术的镇咳作用;采用酚红祛痰法观察祛痰作用;利用热板法、冰醋酸刺激扭体法建立小鼠疼痛模型,观察其镇痛作用;通过检测大鼠凝血酶原时间 (PT)、部分凝血活酶时间 (APTT)、纤维蛋白原 (FbgC)、凝血酶时间 (TT)含量等指标探讨其止血作用。结果 白术能延长小鼠咳嗽潜伏期,减少小鼠咳嗽次数 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);增加小鼠呼吸道酚红分泌量 ($P < 0.05$);提高小鼠痛阈 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);减少小鼠扭体反应次数 ($P < 0.05$);白术可降低大鼠 FbgC 延长 PT 与 APTT ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 白术水煎液具有镇咳祛痰、镇痛及抗凝血作用。

[关键词] 白术;镇咳祛痰;镇痛;止血;抗凝血

Experimental Research on the Potential Effect of Baizhu in Antitussive, Expectorant, Analgesia, and Hemostatic

AN Ran, LIANG Maixin

(School of Basic Medicine, Liaoning University of Chinese Medicine, Shenyang 110847)

ABSTRACT Objective To verify the potential functions of *Baizhu* (白术 *Atractylodes Macrocephala*) in antitussive, expectorant, analgesia, and hemostatic by animal experimental study. **Methods** The mice cough models were established with the method of strong aqua ammonia spraying and the antitussive function of *Baizhu* was observed in the experimental treatment. The expectorant effect was observed with phenol red secretion. Hot-plate and glacial acetic acid stimulation withing method was used to bake model of pain and to test the analgsia effect. While its hemostatic function was explored by detecting the indices including prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), fibrinogen C (Fbg C), and thrombin time (TT), etc. **Results** *Baizhu* could extend the cough incubation period, reduce the frequency of cough ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), increase the phenol red excretion of respiratory tract ($P < 0.05$), increase pain threshold ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), reduce the time of body-twisting caused by pain ($P < 0.05$), reduce Fbg C, and prolong PT and APTT ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** *Baizhu* decoction has the functions of antitussive, expectorant, analgesia, and anticoagulation.

Key Words *Baizhu* (白术 *Atractylodes Macrocephala*); Antitussive and expectorant; Analgesia; Hemostatic; Anticoagulation

白术为临床常用的补气药,现今基本按照《中华人民共和国药典》和《中药学》确定的功能使用。我们借助《普济方》数据库管理系统对配伍白术方剂的病证分布和构成进行分析,可提炼出总体功能。以白术为关键词检得含白术方剂 4755 首,治疗病证 938 种。其中治疗各种疼痛(尚未包括痹痛) 219 方,咳嗽喘促 124 方,各种出血 63 方,含白术的安胎方(56 方)和止汗方(41 方)应用频次较少,其安胎和止汗功能均被《中华人民共和国药典》收载,我们推测白术具有镇痛、镇咳祛痰和止血的潜在功能^[1]。本研究进行了验证性实验,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物

昆明种小鼠,体重 18~ 22g,购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心,实验动物合格证号:

SCXK(军)2007-004;Wistar 大鼠,雌雄各半,体重 180~ 220g,购自中国医科大学实验动物中心,实验动物合格证号:SCXK(辽)2008-0005

1.2 药物及试剂

白术(购于辽宁中医药大学药房),桂龙咳喘宁胶囊,安徽桂龙药业有限公司生产,国药准字 Z20053135;氢溴酸右美沙芬胶囊(咳泰),郑州羚锐制药股份有限公司,国药准字 H10940085;羧甲司坦片,广州白云山制药股份有限公司,国药准字 H44023211;元胡止痛片,江西九连山药业有限公司,国药准字 Z36021119;阿司匹林片,维康医药集团沈阳延风制药有限公司,国药准字 H10960331;云南白药,云南白药集团股份有限公司,国药准字 H44023211;肾上腺色腭片(安络血片),上海医药(集团)有限公司信谊制药总厂委托,国药准字 H31022042;浓氨水,国药集团化学试剂有限公司,批号: T20080613;苯酚红,国药集团化学试剂有限公司,批号: F20070129;碳酸氢钠,天津市博迪化工有限公司,批号: 20070111;冰乙酸(B-6),天津市恒兴化学试剂制造有限公司,批号: 20070228

基金项目:教育部高等学校博士学科点专项科研基金资助(20070162004);辽宁省教育厅高等学校科学研究项目资助(2005244)

通讯作者:梁茂新,lmxin@126.com,(024)31207015

1.3 仪器

ACS-3C电子秤, YLS- 8A多功能诱咳引喘仪, 721型分光光度计, GT-8402型热板测痛仪, 日本 Sysmex Ac-500Ac-300全自动血凝仪

1.4 实验方法

1.4.1 氨水引咳实验^[2] 将 84只小鼠按随机数字表法分为空白对照组, 白术 1 2 3 4组, 桂龙咳喘宁组, 咳泰组, 共 7组, 每组 12只。连续灌胃给药 3天, 末次给药 50min后, 分别将小鼠置于加有浓氨水的 YLS- 8A多功能诱咳引喘仪的玻璃容器内, 喷雾 15s后观察并记录每只小鼠咳嗽(张大嘴、腹肌收缩 甚至可闻及咳嗽声)的潜伏期(由注入氨水开始至发生咳嗽所需的时间为潜伏期)及 2min内咳嗽次数。

1.4.2 白术水煎液对小鼠呼吸道酚红分泌量的影响^[3] 取 84只小鼠, 雌雄各半, 按随机数字表法分为 7组, 即空白对照组、白术 1 2 3 4组、桂龙咳喘宁胶囊组和羧甲司坦组, 每组 12只。连续灌胃给药 7天, 空白对照组给予等容积的蒸馏水。试验前各组小鼠禁食 16h, 末次给药后 50min, 腹腔注射 3%的酚红溶液 0.2ml/10g 体重 30min后, 空气栓塞处死小鼠, 剥离气管周围组织, 剪下自甲状软骨下至气管分支处的一段气管, 放入盛有 3ml生理盐水的试管中, 再加入 3%的碳酸氢钠溶液 0.1ml, 使气管段中的酚红完全释放, 用 721型分光光度计测波长在 546nm 范围内的 OD值, 用酚红做一标准曲线, 根据曲线计算酚红含量。

酚红标准曲线: $Y = 0.0594X + 0.0054R = 0.99989999$ [Y为吸光度 OD值; X为酚红含量 ($\mu\text{g/ml}$)]

1.4.3 热板法实验^[4] 将雌性小鼠置于热板上, 以放在热板上至出现舔后足的时间 (s)作为该鼠的痛阈值, 凡舔足时间小于 5s或大于 30s或跳跃者弃之不用。筛选合格小鼠 70只, 重复测其正常痛阈值, 取 2次正常痛阈平均值作为该鼠给药前痛阈值。随机分为 7组, 即白术 1 2 3 4组, 元胡止痛片组和阿司匹林组, 每组 10只。连续灌胃给药 3天, 空白对照组灌服等量蒸馏水。末次给药后, 测定小鼠给药后 30 60 90 120min的痛阈值。如痛阈值超过 60s, 即停止测试而按 60s记录。

1.4.4 冰醋酸扭体实验^[5] 取小鼠 70只, 雌雄各半, 分组同上。连续灌胃给药 3天, 空白对照组灌服等量蒸馏水。末次给药 50min后, 将每只小鼠以 0.1ml/10g 体重腹腔注射 0.6%的醋酸。观察注射后 15min内小鼠扭体(腹部内凹、伸展后肢、臀部抬高)次数。

1.4.5 止血实验 取 Wistar大鼠 70只, 雌雄各半, 随机分为 7组, 每组 10只。分别为空白对照组、白术 A B

G D组、云南白药组和安络血片组。实验各组分别灌胃给予相应药物, 空白对照组给予等量蒸馏水, 每日 1次, 连续 7天。末次给药后 50min, 乙醚麻醉, 分别经腹主动脉取抗凝血 3ml送检, 应用 Sysmex Ac-500Ac-300全自动血凝仪检测大鼠凝血酶原时间 (PT)、部分凝血活酶时间 (APTT)、纤维蛋白原 (Fbg C)、凝血酶时间 (TT)含量等指标。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0统计分析软件处理, 计量数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 白术水煎液对浓氨水引咳小鼠的影响

表 1 示, 白术 2组及咳泰组均能延长小鼠咳嗽潜伏期, 白术 1 2 3组与咳泰组均能减少小鼠咳嗽次数, 与空白对照组比较, 有统计学差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 白术各组分别与阳性对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组小鼠咳嗽潜伏期、2min内咳嗽次数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	给药剂量 (g/kg)	咳嗽潜伏期 (s)	2min内咳嗽次数 (次)
空白对照组	12	-	26.58± 8.34	56.17± 20.59
白术 1组	12	0.78	20.25± 8.55	37.42± 14.86
白术 2组	12	1.56	33.75± 7.94 [*]	40.67± 8.71 [*]
白术 3组	12	3.12	22.25± 8.62	34.25± 16.48 [*]
白术 4组	12	6.24	21.00± 8.32	49.17± 13.57
桂龙咳喘宁组	12	1.17	27.92± 9.42	46.92± 17.30
咳泰组	12	0.02	34.58± 10.00 [*]	36.25± 15.54

注: 与空白对照组比较, * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$

2.2 白术水煎液对小鼠呼吸道酚红分泌量的影响

表 2 示, 白术 2 3 4组, 桂龙咳喘宁组和羧甲司坦组均能增加小鼠呼吸道酚红分泌量, 与空白对照组比较, 有统计学差异 ($P < 0.05$)。综合 2个实验结果, 可确认白术 2组镇咳祛痰作用最为显著。

表 2 各组小鼠呼吸道酚红浓度的比较 ($\mu\text{g/ml}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	给药剂量 (g/kg)	酚红浓度
空白对照组	12	-	2.20± 1.06
白术 1组	12	0.78	2.81± 1.10
白术 2组	12	1.56	3.53± 1.86
白术 3组	12	3.12	3.59± 1.65
白术 4组	12	6.24	3.59± 1.47
桂龙咳喘宁组	12	1.17	3.59± 1.64
羧甲司坦组	12	0.195	3.65± 1.76

注: 与空白对照组比较, * $P < 0.05$

2.3 白术水煎液对大鼠凝血功能的影响

表 3 示, 白术 A B两组均能减少 Fbg C。同时, 白

表 3 各组大鼠凝血功能的比较 (x±s)

组别	鼠数	给药剂量 (g /kg)	PT(s)	APTT(s)	FbgC(g /L)	TT(s)
空白对照组	10	—	15. 14± 0. 21	18. 37± 0. 51	2. 02± 0. 14	27. 67± 2. 39
白术 A组	10	0. 54	15. 22± 0. 26	18. 42± 0. 45	1. 90± 0. 11 ^f	27. 06± 1. 39
白术 B组	10	1. 08	16. 08± 0. 30 [*]	18. 99± 0. 68 [*]	1. 89± 0. 14 ^f	29. 13± 3. 97
白术 C组	10	2. 16	15. 70± 2. 10	19. 22± 0. 89 ^g	1. 98± 0. 11	29. 10± 1. 70
白术 D组	10	4. 32	14. 49± 1. 65	18. 86± 0. 99	1. 93± 0. 11	30. 26± 1. 96
云南白药组	10	0. 36	14. 23± 0. 57 [*]	20. 45± 0. 99	2. 02± 0. 12	28. 46± 2. 29
安络血片组	10	0. 001	14. 06± 0. 25 [*]	19. 79± 1. 15	1. 98± 0. 11	26. 33± 1. 13

注:与空白对照组比较,* P<0. 05,* * P<0. 01

表 4 各组小鼠不同时间点痛阈的比较 (s, x±s)

组别	鼠数	给药剂量 (g/kg)	给药前	给药后 30min	给药后 60min	给药后 90min	给药后 120min
空白对照组	10	—	18. 50± 6. 43	17. 50± 6. 82	19. 60± 8. 33	20. 90± 9. 77	19. 00± 8. 92
白术 1组	10	0. 78	19. 65± 4. 42	18. 60± 7. 50	21. 50± 8. 10	29. 10± 10. 17	35. 60± 13. 99 [*] ▲
白术 2组	10	1. 56	19. 20± 8. 34	18. 80± 9. 57	18. 30± 5. 77	31. 80± 9. 31 [*] ▲	36. 50± 11. 17 [*] ▲▲
白术 3组	10	3. 12	17. 90± 6. 41	17. 80± 11. 61	19. 10± 11. 12	26. 70± 10. 57	30. 10± 12. 66 [▲]
白术 4组	10	6. 24	17. 25± 4. 85	19. 80± 7. 15	19. 00± 9. 81	28. 20± 11. 70	31. 20± 15. 21 ^f ▲
元胡止痛片组	10	1. 17	17. 55± 5. 02	17. 00± 6. 04	19. 50± 9. 65	31. 90± 8. 67 [*] ▲	39. 40± 14. 59 [*] ▲▲
阿司匹林组	10	0. 234	17. 55± 4. 47	16. 30± 6. 27	23. 60± 6. 62 [*]	29. 90± 7. 39 [*] ▲	27. 20± 7. 38 [*] ▲

注:与本组给药前比较,* P<0. 05,* * P<0. 01;与空白对照组同时时间点比较,▲P<0. 05,▲▲P<0. 01

术B组延长了PT与APTT,白术C组延长了APTT,白术D组延长了PT,与空白对照组比较,具有统计学差异(P<0. 05或P<0. 01)。由此可知,白术可能有抗凝血的作用,且白术B组抗凝血作用较明显。

2.4 白术水煎液对小鼠物理致痛的影响

表4示,白术1234组、元胡止痛片组在给药后90min及120min,与阿司匹林组在给药后60min90min及120min均能延长小鼠的痛阈(P<0. 05或P<0. 01);其中白术134组在给药后120min,白术2组、元胡止痛片组及阿司匹林组在给药后90min及120min时小鼠的痛反应时间,与空白对照组比较有统计学差异(P<0. 05或P<0. 01)。说明白术对热板刺激致痛有较明显的抑制作用。

表5示,白术234组与元胡止痛片组、阿司匹林组均能减少小鼠扭体反应次数,与空白对照组比较有统计学差异(P<0. 05或P<0. 01),白术各组分别与阳性对照组比较,无统计学意义(P>0. 05)。结合表3,确认白术有镇痛作用。

表 5 各组小鼠扭体反应的比较 (次, x±s)

组别	鼠数	给药剂量 (g /kg)	扭体反应
空白对照组	10	—	14. 30± 5. 17
白术 1组	10	0. 78	12. 30± 8. 76
白术 2组	10	1. 56	8. 90± 6. 03 ^g
白术 3组	10	3. 12	8. 70± 6. 25 ^g
白术 4组	10	6. 24	7. 80± 6. 81 ^f
元胡止痛片组	10	1. 17	7. 90± 7. 81 ^f
阿司匹林组	10	0. 234	5. 20± 5. 09 [*]

注:与空白对照组比较,* P<0. 05,* * P<0. 01

3 讨论

《中华人民共和国药典》确定白术具有健脾益气、燥湿利水、止汗和安胎功能,用于脾虚所食少、腹胀、泄泻、痰饮、眩晕、水肿、自汗和胎动不安等。但检索古代含白术方剂的病证分布和构成情况,发现白术镇咳化痰、止痛和止血功用也常用于临床之中,进而为药物新功能的发现提供新的线索。本研究显示,白术水煎液具有镇咳、祛痰及镇痛作用。然止血功能未能得到证实,却发现白术有一定的抗凝血作用,与古代将其用于多种出血的情况相反,而与早期文献报道的白术煎剂灌服显著延长大鼠凝血酶原时间^[5],可使健康人凝血酶原时间和凝血时间显著延长的研究结果相吻合。对此矛盾情况,尚需进一步探讨。

本研究在白术传统功能基础上,确认了其镇咳、祛痰、镇痛和抗凝血的新功能,由于这些功能存在于古代方剂中且大量使用,故为当今中医临床配伍白术扩大应用到这些病症提供了重要线索和依据。

参考文献

[1] 安然,梁茂新.白术失传和潜在功能的文献考察[J].中华中医药杂志,2010,25(1):14-16.
[2] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].2版.上海:上海科学技术出版社,2006:428.
[3] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993:377,642.
[4] 徐叔云.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1982:513.
[5] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草(精选本)[M].上海:上海科学技术出版社,1998:1896.

(收稿日期:2009-11-24;修回日期:2010-08-07)

编辑:行之]