

化痰通络汤对大鼠脑缺血再灌注后“肠-脑”轴损伤的保护作用

唐 三^{1,2}, 杨筱倩¹, 朱秋燕¹, 丁 煌³, 刘晓丹³, 黄美婷⁴, 熊海龙⁴, 李 莹⁴,
邓常清^{3*}, 黄小平^{1,3*}

(1. 湖南中医药大学血管生物学实验室, 湖南 长沙 410208; 2. 湘潭县中医医院, 湖南 湘潭 411228;
3. 湖南中医药大学中西医结合心脑血管疾病防治湖南省重点实验室, 细胞生物学与分子技术湖南省高校重点实验室, 湖南 长沙 410208; 4. 湖南中医药大学中医学院, 湖南 长沙 410208)

摘要: **目的** 探讨化痰通络汤对大鼠脑缺血再灌注后“肠-脑”轴损伤的保护作用。**方法** 60 只雄性大鼠随机分为假手术组, 模型组, 化痰通络汤低、中、高剂量组 (7. 16、14. 33、28. 66 g/kg), 阳性药物组 (依达拉奉 4 g/kg+丁酸梭菌 5.0×10^8 cfu/mL), 建立大鼠局灶性脑缺血再灌注模型, 采用神经功能评分和病理形态学检测评价脑组织损伤, ELISA 法检测肠道及脑组织中 MTL、SS、VIP、5-HT、NA、DA、TLR4、IL-1 β 、IL-6 水平。**结果** 与模型组比较, 化痰通络汤中、高剂量组与阳性药物组大鼠神经功能缺损评分降低 ($P < 0.01$); 化痰通络汤各剂量组、阳性药物组大鼠细胞损伤率降低 ($P < 0.01$), 脑组织中 TLR-4、IL-1 β 、IL-6、MTL、VIP、SS 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 5-HT、DA、NA 水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 十二指肠中 TLR-4、IL-1 β 、IL-6、VIP、SS、DA、NA 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), MTL、5-HT 水平升高 ($P < 0.01$)。**结论** 化痰通络汤能通过调节神经-内分泌-免疫系统, 改善脑缺血再灌注后脑与肠的功能状态, 实现对脑缺血再灌注损伤后的胃肠功能紊乱调节和脑保护作用。

关键词: 化痰通络汤; 脑缺血再灌注; “肠-脑”轴损伤

中图分类号: R285. 5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)07-2343-07

doi: 10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2023. 07. 040

缺血性脑卒中是一种脑血管病变引起血流中断或减少, 导致脑组织缺血缺氧变性坏死的疾病, 严重危害人类健康^[1]。中医认为, 中风后脑窍血脉痹阻, 气机不畅, 升降失调, 则胃肠失于通降, 轻则腹胀闷, 重则腹痛可扪及腹中有燥屎, 或胃肠出血等^[2], 可见脑与肠在生理上相互作用, 病理上互相影响, 联系紧密^[3]。现代医学对“肠-脑”轴进行深入研究, 发现大脑和胃肠道进行复杂的双向调节, 并发现调节肠道功能是治疗中风、抑郁症等中枢神经系统病的重要突破口^[2]。

急性缺血性中风具有起病急、发展迅速的特点, 有学者提出痰、瘀致病论, 认为痰瘀互结是急性脑梗死的主要病机, 治疗中风病需痰瘀共治, 应选取化痰通络之法治疗。化痰通络汤是由中医经典方剂半夏白术天麻汤化裁而成,

能对抗脑缺血再灌注脑组织损伤, 提高胃肠道蠕动, 减轻十二指肠黏膜损伤, 减少肠黏膜通透性和肠道有害物质入血, 从而发挥对脑缺血再灌注后“脑-肠”轴损伤的保护作用^[4], 但其作用机制尚不清楚。因此, 本研究通过建立大鼠局灶性脑缺血再灌注模型, 探讨化痰通络汤对脑缺血再灌注大鼠“肠-脑”轴损伤的保护机制, 为化痰通络汤治疗缺血性中风中提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 220~250 g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (湘) 2019-0004, 饲养于湖南中医药大学动物实验中心, 实验动物使用许可证号 SYXK (湘) 2019-0009, 自然笼养, 室温 22~26 ℃, 12 h/12 h 明暗交替, 自由饮水

收稿日期: 2021-05-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573875); 湖南省高校创新平台开放基金项目 (18K067); 湖南省研究生优秀教学团队项目 ([2019] 370-118); 湖南省大学生创新训练项目 (S202110541058); 湖南中医药大学“十三五”一级学科基础医学建设项目 (06)

作者简介: 唐 三 (1994—), 男, 硕士, 从事心脑血管疾病及中药组 (成) 分配伍研究。Tel: (731) 88458710, E-mail: 439435471@qq.com

*** 通信作者:** 邓常清 (1963—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事心脑血管疾病及中药组 (成) 分配伍研究。Tel: (731) 88458258, E-mail: dchangq@sohu.com
黄小平 (1974—), 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事心脑血管疾病及中药组 (成) 分配伍研究。Tel: (731) 88458013, E-mail: 569229858@qq.com

网络出版日期: 2022-05-30

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220527.1830.002.html>

进食，实验前适应性饲养 3~5 d，给药前禁食 12 h，自由饮水。本实验符合湖南中医药大学动物伦理委员会要求，审批编号 LL2019100902。

1.2 药物 化痰通络汤由法半夏、天竺黄（亳州市沪谯药业有限公司，批号 1905160252、1904030462），天麻、茯苓、白术、丹参（湖南中医药大学第一附属医院，批号 YP19070502、PR19070801、CK19061604、HY19052201），胆南星（四川百胜药业有限公司，批号 180906），香附、大黄（湖南三湘中药饮片有限公司，批号 2019050401、2018102901）组成，均购自湖南中医药大学第一附属医院门诊药房，经湖南中医药大学左亚杰教授鉴定为正品。依达拉奉注射液购自福建天泉药业股份有限公司，批号 1910142，规格 15 mg/支（10 mL）。

1.3 试剂 丁酸梭菌（商城北纳创联生物科技有限公司，批号 BNCC337239）；RCM 强化梭酸培养基（批号 20200619）、氧气指示剂（批号 20200703）（青岛高科技工业园海博生物技术有限公司）；日本三菱 MGC 厌氧产气袋（规格 C-35，北京缘生化科技有限公司，批号 6270LJ-3）；水合氯醛〔稀希爱（上海）化成工业发展有限公司，批号 C10232288〕。BCA 试剂盒（杭州联科生物技术股份有限公司，批号 A00755）；胃动素（MTL，批号 Z08036488）、血管活性肠肽（VIP，批号 Z10036490）、生长抑素（SS，批号 Z09036489）、5-羟色胺（5-HT，批号 C0364050358）、多巴胺（DA，批号 Z1103649）、去甲肾上腺素（NA，批号 Z15036443）、白介素-1 β （IL-1 β ，批号 Y26036485）、白介素-6（IL-6，批号 Y27036486）、toll 样受体 4（TLR4，批号 Z07036487）酶联免疫分析试剂盒（武汉基因美生物工程有限公司）。

1.4 仪器 安全类型 II B 型单级微手术电凝器（武汉春光医疗美容仪器有限公司）；BSC-1300 II A2 型生物安全柜、SW-CJ-1FD 型超净工作台（苏州安泰空气技术有限公司）；DEN-1 型比浊仪（英国 Grant 公司）；252114 型麦氏比浊管（美国 Pro-Lab 公司）；C-32 MGC 型厌氧培养罐（日本三菱公司）；TP-200D 型电子分析天平（湘仪天平仪器设备有限公司）；RMZ135 型精密轮转切片机（德国 Leica 公司）；Axioscope 5+AxioCam 503 color 型光学扫描显微镜+显微镜摄像头〔蔡司科技（苏州）有限公司〕；3111 型二氧化碳培养箱、75002425 型高速冷冻离心机（美国 Thermo Fisher 公司）；3008637 型 6 多功能酶标仪（瑞士 Tecan 公司）。

2 方法

2.1 化痰通络汤制备 参考文献〔5〕报道，取法半夏 20 g、天麻 20 g、茯苓 20 g、白术 15 g、胆南星 10 g、天竺黄 10 g、丹参 30 g、香附 10 g、大黄 15 g，加 8 倍量水浸泡 30 min 后加热煮沸 30 min，12 层过滤纱布过滤，残渣加 6 倍量水煮沸 30 min，合并 2 次滤液，浓缩，即得（生药量 2.28 g/mL）。

2.2 菌液制备 称取强化梭酸培养基（RCM）38.0 g，置

于 1 000 mL 烧杯中，加入蒸馏水 800 mL，加热搅拌至混匀，继续加水定容至 1 000 mL，平均分在 3 个锥形瓶中，在 121 $^{\circ}$ C、0.1 MPa 下灭菌 30 min，冷却。取适量丁酸梭菌接种于培养基中，置于 CO₂ 培养箱中厌氧缸内培养 24~48 h，采用麦氏比浊法检测菌液浊度，换算成相应浓度单位，待菌液浓度达到约 5.0 $\times$ 10⁸ cfu/mL 时用于实验。

2.3 造模、分组及给药 参考文献〔6-7〕报道，建立大鼠大脑中动脉阻塞局灶性脑缺血再灌注模型，阻断 2 h 后拔出线栓，再灌注 24 h，而假手术组大鼠仅将颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉游离出来，不进行结扎、插线。60 只大鼠随机分为假手术组，模型组，化痰通络汤低、中、高剂量组（7.16、14.33、28.66 g/kg），阳性药物组，每组 10 只，化痰通络汤各剂量组大鼠于造模前 2 h 开始灌胃给药，每次间隔 12 h，每天 2 次（共给药 3 次）；阳性药物组大鼠于造模后腹腔注射依达拉奉 4 mg/kg，并灌胃给予 5.0 $\times$ 10⁸ cfu/mL 丁酸梭菌 0.7 mL，每天 2 次（共给药 2 次）；假手术组、模型组大鼠灌胃给予等体积生理盐水（共给药 3 次）。给药结束后处死大鼠并取材，进行指标检测。

2.4 指标检测

2.4.1 神经功能缺损评分 采用 Longa 法〔8〕评分检测神经功能缺损程度，标准见表 1。

表 1 神经功能评分标准

评分/分	神经功能缺损症状
0	大鼠正常,未观察到神经功能缺失症状
1	大鼠不能完全伸展脑缺血对侧前爪(轻度局灶性神经功能障碍)
2	大鼠向脑缺血对侧转圈(中度局灶性功能障碍)
3	大鼠爬行时向脑缺血对侧倾倒(重度神经功能障碍)
4	大鼠不能自行行走,意识丧失(极重度神经功能障碍)

2.4.2 HE 染色观察大鼠脑组织病理变化 参考文献〔9〕报道，每组随机挑选 5 只大鼠，再灌注 24 h 后麻醉，腹主动脉采血，心脏灌注生理盐水 200 mL 后断头取脑，去除小脑和脑干，置于 4% 多聚甲醛中固定 24~48 h，经视交叉平面冠状切取脑组织，梯度乙醇脱水，二甲苯透明，石蜡包埋，切片（4 μ m），HE 染色，在显微镜下观察缺血皮质区随机 5 个不重叠视野区的损伤细胞，损伤细胞表现为核固缩、核溶解、嗜酸性样变性、空泡样变性等改变。计数每个视野的细胞总数及损伤细胞数，计算细胞损伤率。

2.4.3 ELISA 法检测大鼠肠道及脑组织中脑肠肽、神经递质、炎症因子水平 取每组另外 5 只大鼠十二指肠组织与患侧脑组织各 100 mg，置于 2 mL EP 管中，冰上剪成小块，加入 1 000 μ L PBS 制成匀浆液，2~8 $^{\circ}$ C、3 000 r/min 离心 10 min，取上清液，在-20 $^{\circ}$ C 下分装保存，按照酶联免疫分析试剂盒说明书操作，检测 MTL、SS、VIP、5-HT、NA、DA、TLR4、IL-1 β 、IL-6 水平。

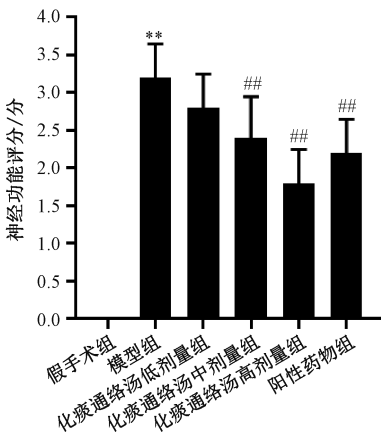
2.5 统计学分析 通过 SPSS 24.0 软件进行处理，数据以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较时方差齐者采用 LSD 检验，不齐者采用 Dunnet's T3

检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 化痰通络汤对大鼠神经功能缺损评分的影响 与假手术组比较,模型组大鼠神经功能缺损评分升高 ($P<0.01$);与模型组比较,化痰通络汤中、高剂量组和阳性药物组大鼠神经功能缺损评分降低 ($P<0.01$),并呈剂量依赖性,见图 1。

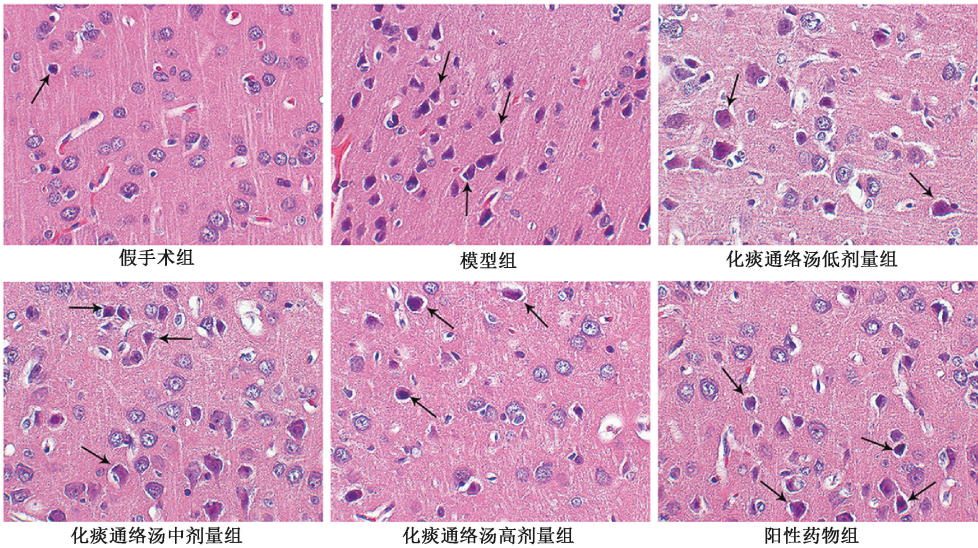
3.2 化痰通络汤对大鼠神经细胞损伤的影响 假手术组大鼠皮质区脑组织细胞结构完整,形态规则,连接紧密,核仁清晰可见,偶见损伤细胞;模型组大鼠细胞稀疏、排列紊乱,细胞核不规整,可见核固缩深染或出现嗜酸样变性,损伤细胞增多;化痰通络汤各剂量组、阳性药物组大鼠核固缩与嗜酸样变性均有不同程度改善,损伤细胞减少,见图 2。与假手术组比较,模型组大鼠细胞损伤率升高 ($P<0.01$);与模型组比较,化痰通络汤各剂量组、阳性药物组大鼠细胞损伤率降低 ($P<0.01$),并呈剂量依赖性,见



注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

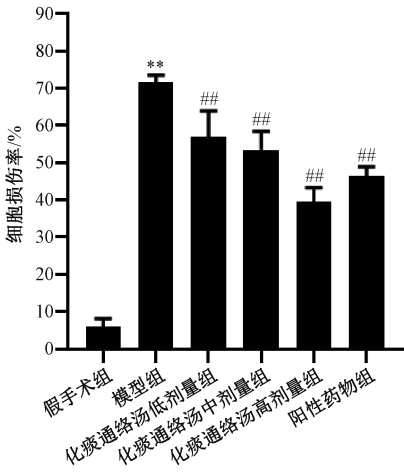
图 1 化痰通络汤对大鼠神经功能缺损评分的影响 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

图 3。



注:箭头所指细胞核深染固缩或出现嗜酸样变,即为损伤细胞。

图 2 各组大鼠大脑皮质区病理变化 (HE, $\times 400$)

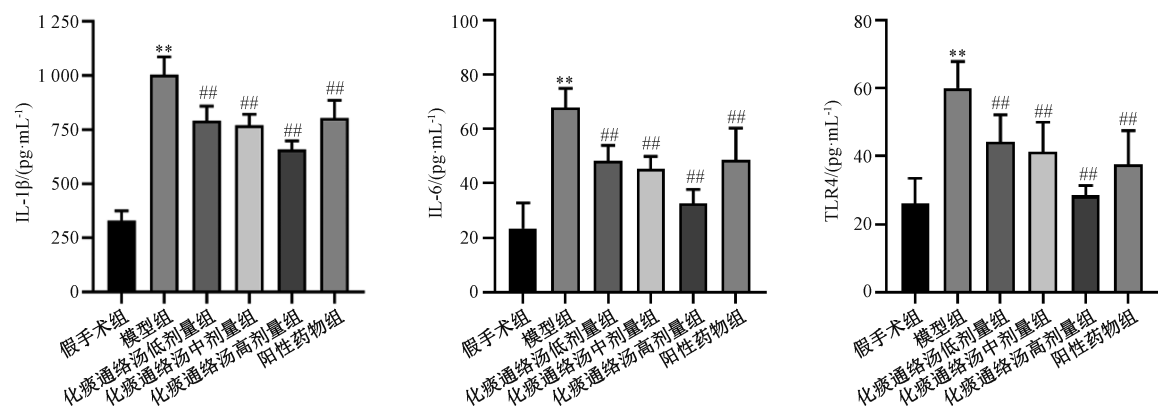


注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

图 3 化痰通络汤对大鼠神经细胞损伤的影响 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

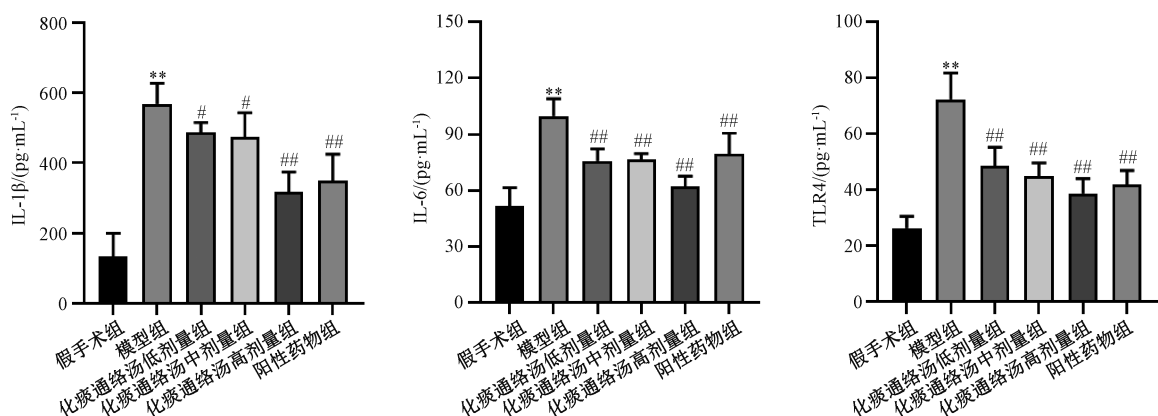
3.3 化痰通络汤对大鼠脑组织与十二指肠中 IL-1 β 、IL-6、TLR-4 水平的影响 与假手术组比较,模型组大鼠脑组织与十二指肠中 TLR-4、IL-1 β 、IL-6 水平升高 ($P<0.01$);与模型组比较,化痰通络汤各剂量组、阳性药物组大鼠脑组织与十二指肠中 TLR-4、IL-1 β 、IL-6 水平降低 ($P<0.05, P<0.01$),并呈剂量依赖性,见图 4~5。

3.4 化痰通络汤对大鼠患侧脑组织与十二指肠中 MTL、VIP、SS 水平的影响 与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中 MTL、VIP、SS 水平升高 ($P<0.01$);与模型组比较,化痰通络汤各剂量组、阳性药物组大鼠脑组织中 MTL、VIP、SS 水平降低 ($P<0.05, P<0.01$),见图 6。与假手术组比较,模型组大鼠十二指肠中 MTL 水平降低 ($P<0.01$),VIP、SS 水平升高 ($P<0.01$);与模型组比较,化痰通络汤各剂量组、阳性药物组大鼠十二指肠中 MTL 水平升高 ($P<0.01$),VIP、SS 水平降低 ($P<0.05, P<0.01$),见图 7。



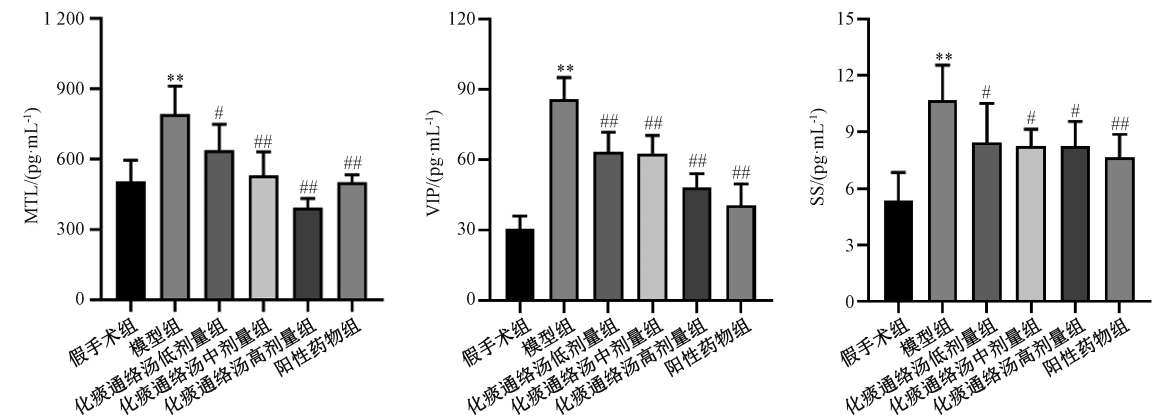
注：与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

图 4 化痰通络汤对大鼠脑组织中 IL-1β、IL-6、TLR-4 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)



注：与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 5 化痰通络汤对大鼠十二指肠中 IL-1β、IL-6、TLR-4 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)



注：与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

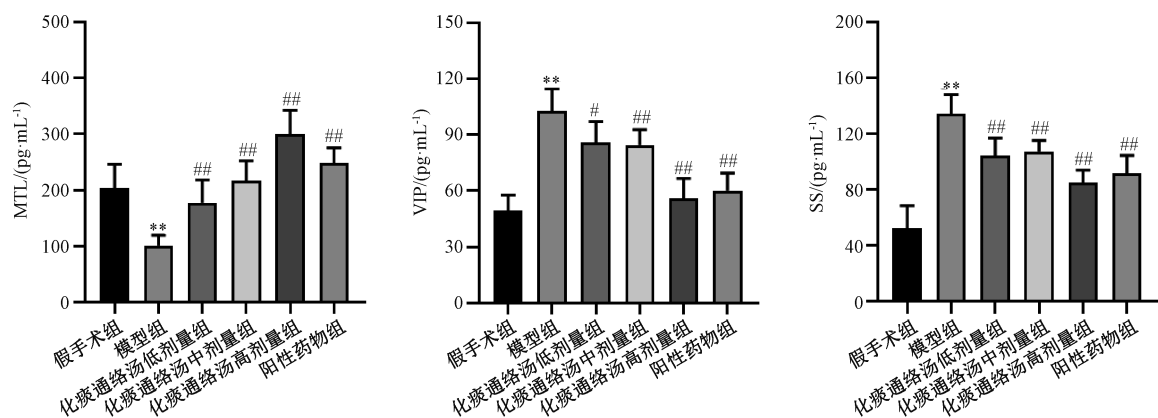
图 6 化痰通络汤对大鼠脑组织中 MTL、VIP、SS 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

3.5 化痰通络汤对大鼠患侧脑组织与十二指肠中 5-HT、DA、NA 水平的影响 与假手术组比较，模型组大鼠脑组织中 5-HT、DA、NA 水平降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，化痰通络汤各剂量组、阳性药物组大鼠脑组织中 5-HT、DA、NA 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见图 8。与假手术组比较，模型组大鼠十二指肠中 5-HT 水平降低 ($P<0.01$)，DA、NA 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，化痰通络汤各剂量组、阳性药物组大鼠十二指肠中 5-HT 水平升高 ($P<0.01$)，DA、NA 水平降低 ($P<0.01$)，见图 9。

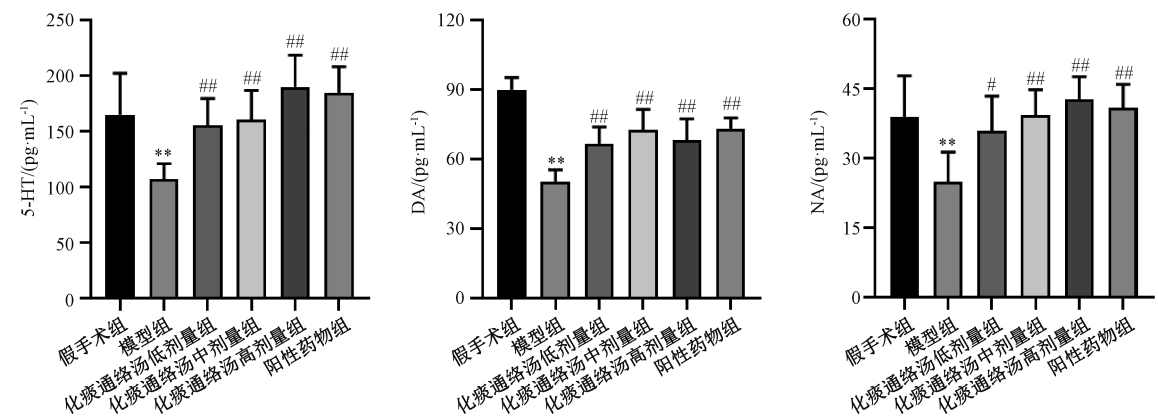
痰通络汤各剂量组、阳性药物组大鼠十二指肠中 5-HT 水平升高 ($P<0.01$)，DA、NA 水平降低 ($P<0.01$)，见图 9。

4 讨论

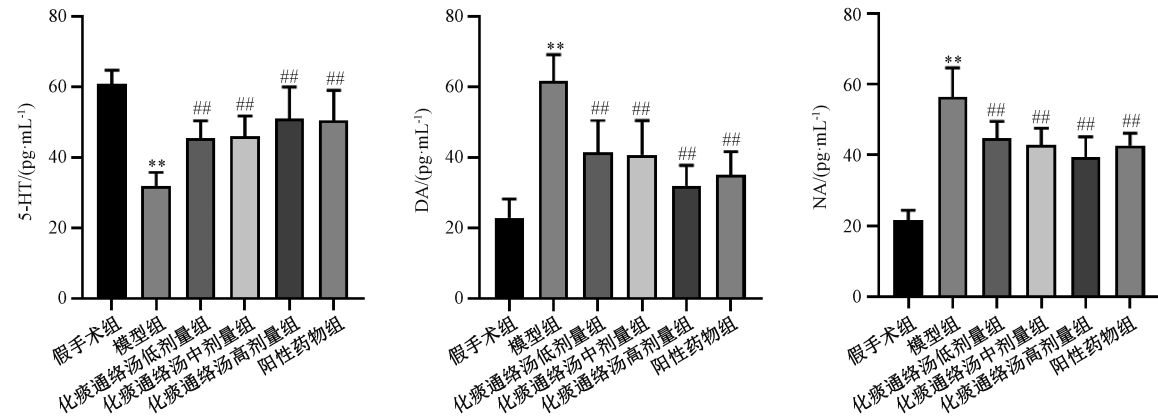
“肠-脑”轴是将脑和胃肠道联系起来的双向信号调节系统^[3]。肠道可以通过神经信号、内分泌信号、免疫信号、肠道微生物信号^[10-12]，将收集的信息传递至大脑并调节大脑的相关功能。脑也可以通过自主神经系统的交感支、副



注：与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。
图 7 化痰通络汤对大鼠十二指肠中 MTL、VIP、SS 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)



注：与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。
图 8 化痰通络汤对大鼠脑组织中 5-HT、DA、NA 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)



注：与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。
图 9 化痰通络汤对大鼠十二指肠中 5-HT、DA、NA 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

交感支，下丘脑-垂体-肾上腺轴和交感-肾上腺轴以及下行单胺能神经传导。化痰通络汤以化痰通络为主，辅以熄风，主治缺血性中风-风痰阻络证，用于缺血性中风急性期和恢复期的治疗。临床研究表明，化痰通络汤还能够改善神经功能缺损、血液流变学、炎症因子、血脂水平及内皮功能等，从而达到脑保护的作用^[13-15]。

脑缺血再灌注后，缺血脑组织中的炎症细胞因子推进了炎症反应的进程，IL-1 β 作为主要的促炎因子，在免疫过程中激活小胶质细胞与其他免疫细胞，进而加重缺血再灌注后的损伤^[16]。研究发现，肠道菌群失调可以激活肠道免疫细胞上的 Toll 样受体并促进炎症细胞因子 IL-1 β ，IL-6 的释放^[17]。本研究结果显示，脑缺血再灌注后脑组织与十二

指肠 IL-1β、IL-6、TLR-4 水平均升高，化痰通络汤能降低脑组织与十二指肠 IL-1β、IL-6、TLR-4 水平，提示其能一定程度降低脑内与肠道内炎症因子的分泌与释放，从而减轻卒中后胃肠道与脑的继发性损伤，对缺血性卒中有保护作用。

正常情况下，肠分泌细胞能够分泌大量胃肠肽，如 MTL、VIP、SS 等，其生理功能主要是增加或降低胃肠神经兴奋性，进而促进或者抑制胃肠蠕动^[18-19]；还能分泌大量神经信号，如 5-HT^[20-21]、NA、DA^[22-23]等，其通过迷走神经影响中枢神经系统，从而产生抑制或兴奋作用^[24-25]，还可以通过介导神经-免疫-内分泌信号来调节神经系统功能^[26]。本研究结果显示，脑缺血再灌注后，化痰通络汤能减轻神经功能缺损症状，降低神经功能缺损评分，减轻核固缩与嗜酸样变性的程度，减少细胞损伤，提示化痰通络汤有对抗脑缺血再灌注损伤的作用。脑缺血再灌注后脑组织中 MTL、VIP、SS 水平均升高，5-HT、DA、NA 水平均降低；十二指肠中 VIP、SS、DA、NA 水平均升高，MTL、5-HT 水平降低。化痰通络汤能降低脑组织 MTL、VIP、SS 水平，而升高 5-HT、DA、NA 水平；降低十二指肠中 VIP、SS、DA、NA 水平，而升高 MTL、5-HT 水平，提示化痰通络汤可能通过调节脑缺血再灌注后脑组织和肠道 MTL 分泌，同时抑制脑组织与肠道 VIP、SS 分泌，起促进胃肠道蠕动、改善胃肠道功能，还可以通过升高肠道 5-HT 水平，而降低肠道 DA、NA 水平，促进脑缺血再灌注后脑与肠内 5-HT 的分泌，同时促进脑内 DA、NA 分泌而抑制肠道 DA、NA 的分泌，从而发挥提高神经系统的兴奋性、促进胃肠道蠕动和改善胃肠道功能，从而实现对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护和神经损伤功能的恢复。

综上所述，化痰通络汤能够减少脑缺血再灌注大鼠炎症因子分泌、促进肠道 MTL 释放，抑制 VIP、SS 生成，同时促进 5-HT 释放与调节 DA、NA 分泌的作用，其抗脑缺血再灌注损伤的作用可能与通过减少炎症因子的分泌、调节胃肠激素、脑肠肽与相应神经递质的释放，从而促进脑缺血再灌注后胃肠道运动、改善胃肠道功能与神经功能有关。

参考文献：

[1] Merson T D, Bourne J A. Endogenous neurogenesis following ischaemic brain injury: insights for therapeutic strategies [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, 56: 4-19.

[2] 袁梦果, 李建香, 过伟峰. 基于脑-肠轴浅探“脑病治肠”论治中风的科学内涵 [J]. 中国中医急症, 2016, 25(10): 1894-1896.

[3] Collins S M, Surette M, Bercik P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10(11): 735-742.

[4] 唐 三, 杨筱倩, 朱秋燕, 等. 化痰通络汤对脑缺血/再灌注大鼠“肠-脑”轴的干预作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(18): 32-41.

[5] 邱丽丽, 李 灿, 范珊珊, 等. 不同煎煮方法对麻黄细辛

附子汤煎剂质量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43 (2): 316-324.

[6] 丁 煌, 唐 三, 杨筱倩, 等. 冰片配伍黄芪甲苷与三七总皂苷对脑缺血/再灌注后血脑屏障通透性的影响 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(11): 1516-1523.

[7] Sun J, Wang F Y, Ling Z X, *et al.* Clostridium butyricum attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in diabetic mice via modulation of gut microbiota [J]. *Brain Res*, 2016, 1642: 180-188.

[8] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.

[9] 欧阳 波, 刘晓丹, 杨筱倩, 等. 冰片配伍黄芪甲苷和三七总皂苷对大鼠脑缺血再灌注损伤神经元的保护作用 [J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(10): 1210-1215.

[10] Mayer E A, Tillisch K. The brain-gut axis in abdominal pain syndromes [J]. *Annu Rev Med*, 2011, 62: 381-396.

[11] Mayer E A. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 12 (8): 453-466.

[12] Rogers G B, Keating D J, Young R L, *et al.* From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways [J]. *Mol Psychiatry*, 2016, 21(6): 738-748.

[13] 王 林, 李红波, 吴粤湘, 等. 加味化痰通络汤治疗急性脑梗塞临床疗效分析 [J]. 广州中医药大学学报, 2021, 38 (2): 261-266.

[14] 覃桂革, 黄立武. 化痰通络汤加减治疗缺血性和出血性中风病风痰阻络证患者疗效及对血清炎症因子的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(8): 835-837.

[15] 刘 睿. 化痰通络汤联合针灸治疗对脑卒中后遗症期患者神经功能修复的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(7): 1472-1475.

[16] 徐耀铭, 齐晓飞. 白介素-1β 与脑缺血再灌注损伤的研究进展 [J]. 国际老年医学杂志, 2015(4): 183-186.

[17] Li X J, You X Y, Wang C Y, *et al.* Bidirectional brain-gut-microbiota axis in increased intestinal permeability induced by central nervous system injury [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2020, 26(8): 783-790.

[18] Kieffer T J. In memoriam—John C. Brown, PhD, DSc, FRSC, 1938-2016: discoverer of GIP and motilin [J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(5): 1169-1171.

[19] Zhang R, Leeper C N, Wang X F, *et al.* Immunomodulatory vasoactive intestinal peptide amphiphile micelles [J]. *Biomater Sci*, 2018, 6(7): 1717-1722.

[20] 魏小丽, 王宇航, 李 成, 等. 针刺天枢穴联合莫沙必利治疗对习惯性便秘患者血清 VIP、MTL、5-HT 的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(7): 95-98.

[21] 谭 婷, 陈 鹏. 5-羟色胺对脑缺血再灌注损伤的保护机制 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2004(6): 1376-1377.

[22] Thorner M O. Dopamine is an important neurotransmitter in the autonomic nervous system [J]. *Lancet*, 1975, 1 (7908):

662-665.

[23] Goldberg L I. Cardiovascular and renal actions of dopamine: potential clinical applications [J]. *Pharmacol Rev*, 1972, 24 (1): 1-29.

[24] Barrett E, Ross R P, O' Toole P W, *et al.* γ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine [J]. *J Appl Microbiol*, 2012, 113 (2): 411-417.

[25] Lyte M. Microbial endocrinology in the microbiome-gut-brain axis: how bacterial production and utilization of neurochemicals influence behavior [J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9 (11): e1003726.

[26] 蔡唤唤. 多巴胺调节免疫系统功能的研究进展 [J]. 南通大学学报 (医学版), 2020, 40 (4): 354-357.

五味子总木脂素对咳嗽高敏豚鼠的止咳作用及其机制研究

钟 山¹, 王 东^{2#}, 王勇杰^{1,2}, 赖思琪¹, 蔡蝶仪¹, 刘晓东¹, 沈水容¹, 赖克方^{1*}
(1. 呼吸疾病国家重点实验室, 国家呼吸系统疾病临床研究中心, 国家呼吸医学中心, 广州呼吸健康研究院, 广州医科大学附属第一医院, 广东 广州 510180; 2. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: **目的** 探讨五味子总木脂素对咳嗽高敏豚鼠的止咳作用及其机制。**方法** 将豚鼠分为空白组、模型组、溶剂组 (0.5% CMC-Na)、可待因组 (30 mg/kg) 和五味子总木脂素低、中、高剂量组 (200、400、800 mg/kg), 每组 10 只, 采用香烟烟雾诱导建立咳嗽高敏豚鼠模型, 灌胃给予相应药物。烟熏结束后, 记录豚鼠咳嗽次数, 分类计数肺泡灌洗液 (BALF) 炎症细胞, HE 染色观察气道、肺组织病理学变化, ELISA 法检测肺组织诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、白介素-8 (IL-8) 及脑组织中 5-羟色胺 1A 受体 (5-HT_{1A})、5-羟色胺转运蛋白 (SERT) 水平, 比色法检测肺组织中超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性。**结果** 与模型组比较, 五味子总木脂素高剂量组能减少豚鼠咳嗽次数 ($P<0.05$, $P<0.01$), 降低 BALF 中性粒细胞比例 ($P<0.01$), 降低肺组织 iNOS、IL-8 水平和脑组织 5-HT_{1A}、SERT 水平 ($P<0.05$, $P<0.01$), 增加肺组织 SOD、GSH-Px 活性 ($P<0.05$), 改善气道、肺组织病理损伤。**结论** 总木脂素是五味子止咳的重要药效物质, 其止咳机制与降低气道炎症及气道氧化应激有关, 与镇静作用可能也有一定关联。

关键词: 五味子; 总木脂素; 止咳活性; 炎症; 氧化应激; 镇静作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)07-2349-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.07.041

五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实, 习称“北五味子”, 是传统的敛肺止咳中药, 具有治疗“久嗽虚喘”的功效^[1]。国内外许多学者对五味子的物质基础做了大量探索, 从中分离得到的化合物主要包括木脂素、多糖、有机酸、三萜、五味子油、挥发油等^[2-3]。系统的文献检索结果表明, 虽然五味子自古以来都用于咳嗽尤其是久咳的治疗^[4-6], 但有关其治疗咳嗽的药效评价、药效物质、作用机制及药物开发方面却鲜有报道。课题组前期研究发现, 五味子 95% 乙醇提取物能够降低柠檬酸诱导的豚鼠咳嗽次数, 并推测其有效成分为木脂素^[7-8]。本研究在此基础上, 采用香烟烟雾诱导建立慢性咳嗽高敏豚鼠模型, 评价五味子总木脂素对慢

性咳嗽的作用, 并探讨其机制。

1 材料

1.1 仪器 TU-1901 紫外分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); 数码摄影一体化系统 (日本 Nikon 公司); 高速冷冻离心机、核酸蛋白分析仪 (美国 Beckman Coulter 公司); WBP 小动物肺功能仪 (美国 Buxco 公司); 香烟烟雾染毒箱 (实验室自制, 100 cm×60 cm×60 cm); 细胞分类计数仪 (苏州市东吴医用电子仪器厂); 全波长酶标仪 (美国 Thermo Fisher 公司)。

1.2 试剂与药物 五味子总木脂素 (实验室自制, 木脂素含量 53.9%, 五味子甲素、五味子乙素、五味子醇甲含量分别为 14.6%、6.1%、3.8%)。“红玫”牌过滤嘴香烟

收稿日期: 2021-12-14
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573575); 广州市科技局资助项目 (SL2022A03J00621); 广州医科大学科研能力提升计划项目 (2023)
作者简介: 钟 山 (1978—), 女, 博士, 高级工程师, 从事治疗咳嗽、哮喘中药研究。Tel: (020) 83205190, E-mail: zhong-shan@126.com
#共同第一作者: 王 东 (1975—), 男, 副教授, 研究方向为生药学。Tel: 15802496827, E-mail: dongwang@syphu.edu.cn
*通信作者: 赖克方 (1963—), 男, 博士, 教授, 从事咳嗽、哮喘诊断与治疗研究。Tel: (020) 83062806, E-mail: klai@163.com