

- 850-863.
- [7] JOVCEVSKA I, KOCEVAR N, KOMEL R. Glioma and glioblastoma-how much do we (not) know? [J]. Mol Clin Oncol, 2013, 1(6): 935-941.
- [8] MAZLOOM A, ZANGENEH A H, PAULINO A C. Prognostic factors after extraneural metastasis of medulloblastoma [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2010, 78(1): 72-78.
- [9] ZHU Y, ZHUANG J X, WANG Q, et al. Inhibitory effect of benzyl isothiocyanate on proliferation *in vitro* of human glioma cells [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(4): 2607-2610.
- [10] CHAUDHARY A K, PANDYA S, GHOSH K, et al. Matrix metalloproteinase and its drug targets therapy in solid and malignancies: an overview [J]. Mutat Res, 2013, 753(1): 7-23.
- [11] SHUMAN MOSS L A, JENSEN-TAUBMAN S, STETLER-STEVENSON W G. Matrix metalloproteinases: changing roles in tumor progression and metastasis [J]. Am J Pathol, 2012, 181(6): 1895-1899.
- [12] ICZKOWSKI K A. Cell adhesion molecule CD44: its functional roles in prostate cancer [J]. Am J Transl Res, 2011, 3(1): 1-7.
- [13] MERZAK A, KOCHECKPOUR S, PILKINGTON G J. CD44 mediates human glioma cell adhesion and invasion *in vitro* [J]. Cancer Res, 1994, 54(15): 3988-3992.
- [14] YOSHIDA T, MATSUDA Y, NAITO Z, et al. CD44 in human glioma correlates with histopathological grade and cell migration [J]. Pathol Int, 2012, 62(7): 463-470.
- [15] CHAN A M, TAKAI S, YAMADA K, et al. Isolation of a novel oncogene, NET1, from neuroepithelioma cells by expression cDNA cloning [J]. Oncogene, 1996, 12(6): 1259-1266.
- [16] SYMONS M, RUSK N. Control of vesicular trafficking by Rho GTPases [J]. Curr Biol, 2003, 13(10): R409-418.
- [17] ROSSMAN K L, DER C J, SONDEK J. GEF means go: turning on RHO GTPases with guanine nucleotide-exchange factors [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2005, 6(2): 167-180.
- [18] MURRAY D, HORGAN G, MACMATHUNA P, et al. NET1-mediated RhoA activation facilitates lysophosphatidic acid-induced cell migration and invasion in gastric cancer [J]. Br J Cancer, 2008, 99(8): 1322-1329.
- [19] LEYDEN J, MURRAY D, MOSS A, et al. Net1 and Myeov: computationally identified mediators of gastric cancer [J]. Br J Cancer, 2006, 94(8): 1204-1212.
- [20] FANGUSARO J R, CALDAS H, JIANG Y, et al. Survivin: An inhibitor of apoptosis in pediatric cancer [J]. Pediatr Blood Cancer, 2006, 47(1): 4-13.
- [21] YANG J, SONG K, KREBS T L, et al. Rb/E2F4 and Smad2/3 link survivin to TGF-beta-induced apoptosis and tumor progression [J]. Oncogene, 2008, 27(40): 5326-5338.
- [22] ZIMMERMANN A K, LOUCKS F A, SCHROEDER E K, et al. Glutathione binding to the Bcl-2 homology-3 domain groove: a molecular basis for Bcl-2 antioxidant function at mitochondria [J]. J Biol Chem, 2007, 282(40): 29296-29304.
- [23] WANG L, CHANVORACHOTE P, TOLEDO D, et al. Peroxide is a key mediator of Bcl-2 down-regulation and apoptosis induction by cisplatin in human lung cancer cells [J]. Mol Pharmacol, 2008, 73(1): 119-127.
- [24] QIAO Q, JIANG Y, LI G. Inhibition of the PI3K/AKT-NF- κ B pathway with curcumin enhanced radiation-induced apoptosis in human Burkitt's lymphoma [J]. J Pharmacol Sci, 2013, 121(4): 247-256.
- [25] HUANG C Y, FONG Y C, LEE C Y, et al. CCL5 increases lung cancer migration via PI3K, Akt and NF- κ B pathways [J]. Biochem Pharmacol, 2009, 77(5): 794-803.

收稿日期：2014-07-24

蚕虫草不同提取物止咳化痰作用研究

李福明¹, 韦敏^{2*}, 吕晔², 蒋翠平³, 肖明富³(1.杭州市口腔医院, 杭州 310006; 2.江苏省中国科学院植物研究所, 南京 210014; 3.江苏富柏传媒有限公司, 南京 210008)

摘要：目的 研究蚕虫草水提取物和 70%、95%乙醇提取物的止咳、祛痰作用。方法 采用氨水喷雾法造模, 记录小鼠咳嗽潜伏期以及 3 min 内的咳嗽次数; 采用枸橼酸喷雾法造模, 记录豚鼠咳嗽潜伏期以及 5 min 内的咳嗽次数; 采用酚红气管排泌法观察祛痰作用。结果 与对照组比较, 蚕虫草水提取物和 70%乙醇提取物高中剂量、95%乙醇提取物高剂量均可显著延长咳嗽潜伏期、减少咳嗽次数、增加酚红排泌量; 水提取物低剂量显著延长咳嗽潜伏期和咳嗽次数, 对酚红排泌量无显著影响; 70%乙醇提取物低剂量对上述指标均无明显影响; 95%乙醇提取物中低剂量对咳嗽潜伏期和咳嗽次数组均无明显影响, 但可明显增加酚红排泌量。结论 蚕虫草具有明显止咳祛痰作用, 水溶性成分作用强于醇溶性成分。

关键词：蚕虫草; 止咳; 化痰

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1007-7693(2015)05-0548-04

DOI：10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.05.007

作者简介：李福明, 男, 硕士, 主治医师 Tel: 18857182436
Tel: (025)84347076 E-mail: wmkq@163.com

E-mail: lfmkq@163.com *通信作者：韦敏, 女, 博士, 助理研究员,

Antitussive and Expectorant Effects of Different Extracts of *Cordyceps Militaris*(L.) Link.

LI Fuming¹, WEI Min^{2*}, LYU Ye², JIANG Cuiping³, XIAO Mingfu³(¹.Hangzhou Dental Hospital, Hangzhou 310006, China; ².Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Science, Nanjing 210014, China; ³.Jiangsu Fubai Media Co., Ltd., Nanjing 210008, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the antitussive and expectorant effects of water and 70%, 95% ethanol extracts of *Cordyceps militaris*(L.) Link.. **METHODS** The incubative period and the times of cough in 3 min of mice were observed after sprayed by ammonia. The incubative period and the times of cough in 5 min of guinea pigs were observed after sprayed by citric acid. A phenol red excretion test was used to investigate the expectorant effect of the different extracts of *Cordyceps militaris*(L.) Link. in mice. **RESULTS** Compared with control group, the high and low doses of water and 70% ethanol extracts significantly prolonged the incubative period and the excretion of phenolsulfonphthalein, and reduced the times of cough. The low dose of water extract increased the incubative period and reduced the times of cough, but had no significant effect on the excretion of phenolsulfonphthalein. The low dose of 70% ethanol extracts had no significant effect on the above indexes. The middle and low doses of 95% ethanol extracts had no significant effects on the incubative period and the times of cough, but significantly increased the excretion of phenolsulfonphthalein. **CONCLUSION** *Cordyceps militaris* (L.) Link. has significant antitussive and expectorant efficacy, and the efficacy of the water-soluble components is stronger than the alcohol-soluble components.

KEY WORDS: *Cordyceps militaris*(L.) Link.; antitussive; expectorant

北冬虫夏草 *Cordyceps militaris* (L.) Link.亦称北虫草或蛹虫草，是一种国内外公认的既可食用又可药用的真菌^[1]，是寄生于夜蛾科等蛹体上的不同于冬虫夏草的另一种虫草。目前，人工栽培北虫草主要是利用大米(小麦)和蚕蛹做寄主，形态与天然虫草有很大差别。以家蚕幼虫为寄主栽培北虫草，也简称为蚕虫草，其虫草形态更接近天然虫草^[2]。

蚕虫草作为冬虫夏草的首选替代品，《本草从新》中就有“冬虫夏草甘平保肺，益肾，补精髓，止血化痰，已劳咳，治膈症皆良”的记载，但是蚕虫草止咳祛痰方面的药效及药效物质基础的研究报道较少^[3]。为了进一步开发利用蚕虫草的资源，本实验采用多种动物模型对蚕虫草不同溶媒提取物的止咳化痰作用及药效物质基础进行了系统研究。

1 材料

1.1 动物

昆明种小鼠，♂♀各半，体质量 18~22 g；豚鼠，♂♀兼用，体质量 150~190 g，均由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供，合格证号：SCXK(沪)2008-0016。

1.2 试剂与仪器

蚕虫草：由课题组自我培育，批号：20140618，其菌种经江苏省中科院植物研究所吕畔研究员鉴定为北虫草菌 *Cordyceps militaris* (L.) Link.，干燥后备用。念慈庵蜜炼川贝枇杷膏(香港京都念慈总

厂有限公司，批号：Y3808010，规格：300 mL)。EL303 电子天平(梅特勒-托力多)；WH-802 型超声雾化器(广东粤华医疗器械厂)；小鼠/豚鼠玻璃容器(自制)；RE-52A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)；DZF-6050 真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

2 方法

2.1 受试药制备

取蚕虫草粉末 100.0 g，分别加 10 倍量 95%乙醇、70%乙醇、水，回流提取 2.5 h，过滤，重复 2 次，合并滤液，浓缩得浸膏，给药剂量以相当于原药材质量计算(卫生部 2009 年 3 号公告，北虫草的人服用剂量为 $2 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$)。小鼠灌胃剂量分别为 1.2, 0.6, 0.3 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ；豚鼠灌胃剂量分别为 0.8, 0.4, 0.2 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.2 对氨水引咳小鼠的影响

采用小鼠氨水引咳法^[4]，3 min 内不发生咳嗽的小鼠不予选用，待小鼠稳定 2 d 后，取合格小鼠 110 只，♂♀各半，按体质量随机分为 11 组：模型对照组(生理盐水)、念慈庵蜜炼川贝枇杷膏组($10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、蚕虫草不同溶媒提物高、中、低剂量组，连续给药 7 d，末次给药前禁食不禁水 12 h，于末次给药 1 h 后，将小鼠置于自制密闭玻璃容器中，超声雾化器喷入氨水 20 s 后，立即取出小鼠，记录小鼠咳嗽潜伏时间和 3 min 内咳嗽次数。

2.3 对枸橼酸引咳^[5]豚鼠的影响

将豚鼠放入自制密闭玻璃容器内，待其在容

器内稳定 1 min 后, 用超声波雾化吸入器匀速将 17.5 g·L⁻¹的枸橼酸喷入容器内, 喷雾时间为 40 s, 以豚鼠出现第 1 声响亮的咳嗽声为准, 开始记录 5 min 内咳嗽次数, 咳嗽次数<10 次和>30 次者不予选用。次日将筛选出的合格的豚鼠 77 只随机分 11 组, 按“2.2”项下方法分组, 每组 7 只, 连续给药 7 d, 于末次给药前禁食不禁水 12 h, 末次给药后 1 h 用枸橼酸引咳, 记录咳嗽潜伏期及 5 min 内咳嗽次数。

2.4 对小鼠酚红排泌量^[4]的影响

取昆明种小鼠 110 只, ♂♀各半, 随机分 11 组, 按“2.2”项下方法分组, 每组 10 只, 连续给药 7 d, 于末次给药前禁食不禁水 12 h, 末次给药 30 min 后, 给小鼠腹腔注射 0.5% 苯酚红溶液 0.5 mL, 注射 1 h 后断颈处死, 沿甲状软骨剪下一段气管, 剪下的气管要求等长, 放入离心管中, 加入 3 mL 生理盐水和 1 mol·L⁻¹的氢氧化钠溶液 0.2 mL, 离心(转速 2 000 r·min⁻¹)5 min, 取上清液, 于紫外可见分光光度计 546 nm 处测量并记录吸光值, 制备标准曲线后计算相应的苯酚红含量。

2.5 统计方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 18.0 软件 *t* 检验法进行统计学分析。

3 结果

3.1 对小鼠氨水引咳的抑制作用

与模型对照组比较, 念慈庵蜜炼川贝枇杷膏及蚕虫草水提物高中低剂量、70% 醇提物高中剂量、95% 醇提物高剂量均可显著延长小鼠咳嗽潜伏期和减少小鼠咳嗽次数($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 结果见表 1。

表 1 蚕虫草不同提取物对小鼠咳嗽的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab. 1 Antitussive effect of different extracts of *Cordyceps militaris*(L.) Link. on mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	咳嗽潜伏期/s	咳嗽次数/次
模型对照组	—	18.98±4.45	28.68±5.56
念慈庵蜜炼川贝枇杷膏组	10.0	50.36±11.53 ²⁾	13.52±4.05 ²⁾
水提物高剂量组	1.2	50.10±11.50 ²⁾	11.70±2.40 ²⁾
水提物中剂量组	0.6	36.92±10.39 ²⁾	14.30±4.37 ²⁾
水提物低剂量组	0.3	36.58±9.35 ²⁾	14.56±2.63 ²⁾
70%醇提物高剂量组	1.2	43.08±10.30 ²⁾	12.28±2.55 ²⁾
70%醇提物中剂量组	0.6	33.60±8.94 ²⁾	17.87±5.19 ¹⁾
70%醇提物低剂量组	0.3	27.07±7.35	20.67±3.35
95%醇提物高剂量组	1.2	37.05±10.30 ¹⁾	16.58±2.81 ²⁾
95%醇提物中剂量组	0.6	21.84±6.46	25.03±4.36
95%醇提物低剂量组	0.3	20.03±4.03	26.53±7.25

注: 与模型对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

3.2 对豚鼠枸橼酸引咳的抑制作用

与模型对照组比较, 念慈庵蜜炼川贝枇杷膏及蚕虫草水提物高中低剂量、70% 醇提物高中剂量组、95% 醇提物高剂量组可显著延长豚鼠咳嗽潜伏期和减少豚鼠咳嗽次数的作用($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 结果见表 2。

表 2 蚕虫草不同提取物对豚鼠咳嗽的影响($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

Tab. 2 Antitussive effect of different extracts of *Cordyceps militaris*(L.) Link. on guinea pigs($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	咳嗽潜伏期/s	咳嗽次数/次
模型对照组	—	20.35±3.24	26.29±6.32
念慈庵蜜炼川贝枇杷膏组	10.0	69.52±8.33 ²⁾	14.05±4.08 ²⁾
水提物高剂量组	1.2	75.92±6.30 ²⁾	13.82±4.37 ²⁾
水提物中剂量组	0.6	67.60±5.19 ²⁾	18.42±3.61 ²⁾
水提物低剂量组	0.3	57.79±4.83 ²⁾	19.46±1.76 ²⁾
70%醇提物高剂量组	1.2	65.29±5.42 ²⁾	14.51±3.76 ²⁾
70%醇提物中剂量组	0.6	61.52±8.66 ²⁾	23.02±3.28 ¹⁾
70%醇提物低剂量组	0.3	32.77±3.58	26.27±1.31
95%醇提物高剂量组	1.2	56.15±4.66 ²⁾	19.59±3.23 ¹⁾
95%醇提物中剂量组	0.6	39.99±3.65	32.23±2.13
95%醇提物低剂量组	0.3	31.65±2.65	35.46±0.97

注: 与模型对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

3.3 对小鼠酚红排泌量的影响

与模型对照组比较, 念慈庵蜜炼川贝枇杷膏组和蚕虫草水提物高中剂量、70% 醇提物高中剂量、95% 醇提物高中低剂量均可显著增加小鼠气管酚红排泌量($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 提示蚕虫草水及醇提物具有一定的祛痰作用, 结果见表 3。

表 3 蚕虫草不同提取物对小鼠的祛痰作用($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

Tab. 3 Expectorant effect of different extracts of *Cordyceps militaris*(L.) Link. on mice($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	酚红/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
模型对照组	—	0.35±0.08
念慈庵蜜炼川贝枇杷膏组	10.0	0.50±0.11 ²⁾
水提物高剂量组	1.2	0.48±0.08 ²⁾
水提物中剂量组	0.6	0.46±0.06 ²⁾
水提物低剂量组	0.3	0.38±0.05
70%醇提物高剂量组	1.2	0.43±0.07 ²⁾
70%醇提物中剂量组	0.6	0.42±0.05 ¹⁾
70%醇提物低剂量组	0.3	0.32±0.04
95%醇提物高剂量组	1.2	0.44±0.06 ²⁾
95%醇提物中剂量组	0.6	0.40±0.03 ¹⁾
95%醇提物低剂量组	0.3	0.39±0.03 ¹⁾

注: 与模型对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

4 讨论

在研究药物镇咳作用时，多采用机械、化学和电刺激等方法刺激动物的神经和感受器，诱发咳嗽。本实验采用化学刺激法，用氨水和枸橼酸雾化吸入，刺激副交感神经系统，引发咳嗽。试验结果表明蚕虫草水提物对氨水和枸橼酸诱发的咳嗽均具有明显的抑制作用，能有效抑制咳嗽次数和延长咳嗽潜伏期，镇咳效果明显作用，此作用较醇提取物强。70%醇提物高中剂量及95%醇提物高剂量也具有止咳作用。

痰液是引起咳嗽的一个重要因素，气管、支气管和肺泡的上皮杯状细胞、黏膜下腺体分泌呼吸道分泌液，润滑气道膜、保护上皮纤毛的正常生理运动，当呼吸道受炎症因子侵入时，纤毛运动减慢，黏膜上皮破损，黏蛋白分泌异常，最终导致黏液分泌增加，积累的黏液变成痰状物质，刺激呼吸道黏膜引起咳嗽。因此，稀释痰液，改善呼吸道分泌物的增加，可以发挥祛痰作用^[6]。本实验采用气管酚红排泌法观察蚕虫草不同溶媒提取物的祛痰作用，实验结果表明，蚕虫草水提物及醇提物灌胃给药7 d后，均能明显以促进小鼠气

管的酚红排泌，增加小鼠气管痰液分泌量，具有明显的祛痰作用。可能是通过促进支气管分泌物的排泄，使痰液黏度下降，易于咳出，此作用水溶性成分与醇溶性成分相当。

蚕虫草具有明显止咳祛痰作用，其水溶性成分止咳作用强于醇溶性成分，祛痰作用两者相当，具体作用机制有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] 陆巍杰, 唐永范, 唐亮, 等. 北冬虫夏草、冬虫夏草及食用菌中核苷类功效成分的比较研究[J]. 中国科技产业, 2012(9): 54-57.
- [2] 潘中华. 蚕虫草的培育研究[J]. 江苏蚕业, 2001, 23(4): 13-14.
- [3] 顾寅钰, 张亚平, 娄齐年, 等. 蚕虫草研究现状[J]. 现代农业科技, 2007(18): 154-155.
- [4] CHEN J M, XU Z W, YAN W J, et al. Antitussive and expectorant effects of garlic oil on experimental mice [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(3): 261-264.
- [5] XU S Y, BIAN R L, CHEN X. Methodology of Pharmacological Experiment(药理实验方法学) [M]. 3th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 1363-1364.
- [6] QIN L, HU C P. Role of bronchial epithelial in dysfunction of respiratory immunity [J]. Int J Pathol Clin Med(国际病理科学与临床杂志), 2010, 30(14): 304-308.

收稿日期: 2014-12-29

怀菊花多成分含量测定及指纹图谱的模式识别研究

李婷婷, 张琴, 赖森亚, 杨书^{*}(成都医学院, 成都 610083)

摘要: 目的 建立怀菊花中多种活性成分含量的HPLC检测方法, 构建怀菊花的指纹图谱识别模式。方法 采用HPLC检测10批怀菊花样品绿原酸、3,4-二咖啡酰基奎宁酸、3,5-二咖啡酰基奎宁酸、4,5-二咖啡酰基奎宁酸和木犀草素等化合物的含量, 建立指纹图谱。运用主成分分析及聚类分析对指纹图谱进行模式识别研究, 并采用相似度评价软件进行相似度评价。色谱柱为SWELL Chromplus C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.3%甲酸水溶液, 梯度洗脱, 流速为0.8 mL·min⁻¹; 进样量: 10 μL; 检测波长: 350 nm; 柱温: 25℃。结果 绿原酸的含量为0.04%~0.27%, 3,4-二咖啡酰奎宁酸的含量为0.01%~0.21%, 3,5-二咖啡酰奎宁酸的含量为0.45%~1.09%, 4,5-二咖啡酰奎宁酸的含量为0.32%~0.96%, 木犀草素的含量为0.02%~0.18%。怀菊花的指纹图谱确定了15个共有峰, 根据前3个主成分将10批样品分为5类。结论 本方法简便、准确、重现性好, 为怀菊花多成分的含量测定提供参考方法, 并为怀菊花的质量控制提供科学依据。

关键词: 怀菊花; 多成分含量测定; 指纹图谱; 模式识别

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)05-0551-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.05.008

基金项目: 四川省教育厅科研项目(13ZB0230); 校基金科研项目(CYZ13-010)

作者简介: 李婷婷, 女, 硕士, 实验师 Tel: (028)62739572 Email: ltts-1983@163.com *通信作者: 杨书, 男, 硕士, 副教授 Tel: 18581831978 E-mail: 446197867@qq.com