

红豆杉提取物对慢性阻塞性肺疾病小鼠的药效学评价

张思炎^{1a}, 甘礼社^{1a}, 葛婷^{1a}, 莫建霞^{1a}, 汤慧芳^{1b}, 应成杰², 周长新^{1a*} (1.浙江大学, a.药学院, b.医学院, 杭州 310058; 2.东阳市杰迹威生物科技有限公司, 浙江 东阳 322103)

摘要: 目的 观察红豆杉提取物灌胃给药对吸烟致慢性阻塞性肺病(COPD)模型小鼠的影响, 对其药效进行评价, 并对其作用机制进行初步探讨。方法 C57BL/6 小鼠烟熏 3 个月后, 收集肺泡灌洗液(BALF)和肺组织, 对 BALF 进行白细胞分类计数, 取肺组织做组织切片进行 HE 染色和 AB/PAS 染色, 观察炎症细胞浸润情况, 并对超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)、髓过氧化物酶(MPO)活性和 TNF- α 、KC、MIP-2 表达量进行测定。结果 红豆杉提取物具有降低白细胞总数的作用, 可显著增加 SOD、GSH 含量, 抑制 MPO 活性, 且具有显著抑制 TNF- α 、KC 炎症因子的作用。结论 红豆杉提取物对 COPD 动物模型有一定的治疗效果, 其作用机制可能与抑制中性粒细胞迁移、抑制炎症细胞因子的产生、抑制黏液分泌有一定关系。

关键词: 慢性阻塞性肺疾病; 红豆杉; 塞托溴铵

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)06-0669-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.06.006

引用本文: 张思炎, 甘礼社, 葛婷, 等. 红豆杉提取物对慢性阻塞性肺疾病小鼠的药效学评价[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(6): 669-674.

Pharmacodynamics Evaluation of *Taxus Chinensis* Extract on Chronic Obstructive Pulmonary Disease Mice

ZHANG Siyan^{1a}, GAN Lishe^{1a}, GE Ting^{1a}, MO Jianxia^{1a}, TANG Huifang^{1b}, YING Chengjie², ZHOU Changxin^{1a*} (1.Zhejiang University, a.College of Pharmaceutical Sciences, b.School of Medicine, Hangzhou 310058, China; 2.Dongyang Jierwei Biotechnology Co., Ltd., Dongyang 322103, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the effect of *Taxus chinensis* extract on chronic obstructive pulmonary disease(COPD) mice, evaluate its efficacy, and study its mechanisms. **METHODS** Smoke mice model for COPD was established, and the broncho alveolar lavage fluid(BALF) and lung tissues were finally collected for total differential white blood cells counting and HE and AB/PAS staining. The SOD, GSH, MPO activity, as well as TNF- α , KC and MIP-2 expression were determined to evaluate inflammatory infiltration. **RESULTS** The extract of *Taxus chinensis* significantly decreased the content of WBC, increased the activity of SOD and GSH, and inhibited MPO activity and TNF- α and KC inflammatory factors. **CONCLUSION** The extract of *Taxus chinensis* show effectiveness on COPD mice model, with its mechanism of action associated with inhibition of migration of neutrophil, the generation of inflammatory cytokines and mucus secretion of airway.

KEYWORDS: chronic obstructive pulmonary disease(COPD); *Taxus chinensis*; tiotropium bromide

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是呼吸系统疾病中的常见病和多发病, 患病率和病死率均居高不下。调查显示, 我国 40 岁及以上人群 COPD 患病率高达 13.7%^[1], 其病因可能是多种环境因素与机体自身生长因素长期相互作用的结果。吸入刺激物(如香烟等)可引起过度的炎症反应, 逐渐导致气流受限。目前广泛认为气道、肺实质及肺血管的慢性炎症是 COPD 的特征性改变^[2-3]。炎症反应使得巨噬细胞、中性粒细胞和 T 细胞显著升高, 进而引发氧化应激反应, 而氧化应激又可激活前炎基因的表

达, 引发一系列的肺部炎症反应, 从而导致气道上皮损伤, 气流受限, 蛋白酶/抗蛋白酶失衡等, 使得 COPD 进程加速^[4-5]。在炎症反应中, 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)是首先产生的一种广泛的前炎症细胞因子, 在 COPD 的急性发作中常伴有 TNF- α 的急剧增高, 其后果是促进炎症细胞趋化和活化, 破坏气道结构^[6-7]。角蛋白趋化因子(keratinocyte chemoattractant, KC)和巨噬细胞炎症蛋白 2(Macrophage-inflammatory protein 2, MIP-2)是 CXC 类趋化因子中的重要成员, 这些趋化因子的表达水平反映了机体炎症情况^[8-9]。

基金项目: 浙江省中医药管理局重点项目(2012ZZ009)

作者简介: 张思炎, 男, 硕士生 Tel: 18868103053 E-mail: zhoucx10@zju.edu.cn

E-mail: 21619050@zju.edu.cn

*通信作者: 周长新, 男, 博士, 副教授 Tel:

红豆杉, 也称紫杉, 是一种常绿针叶乔木或灌木, 散生于林中, 是经过第四纪冰川遗留下来的古老树种, 在地球上已有 250 万年的历史, 是世界上公认的濒临灭绝的天然珍稀抗肿瘤植物^[10], 红豆杉属植物具有突出的广谱抗肿瘤活性, 其中主要的活性成分是紫杉醇^[11]。近年来, 随着研究的深入, 发现红豆杉属植物还具有抗老年痴呆、降血糖、免疫调节、减轻缺血再灌注导致的心肌损伤、保肝等多方面的药理作用^[12-15]。然而红豆杉具有一定的毒性, 在很大程度上限制了其临床应用。本研究通过对红豆杉的叶、干、根、皮按一定比例在 55~65°白酒进行浸渍减毒处理^[16], 获得了红豆杉无毒提取物, 并首次采用经典的烟熏小鼠模型^[17], 对该提取物进行 COPD 动物药效学评价研究。

1 材料

1.1 材料

清洁级 C57BL/6 小鼠 60 只, ♀♂各半, ♀体质量为(20±2) g, ♂体质量为(25±2) g, 4~8 周龄, 购买于南京生物医药研究院, 实验动物生产许可证号: SCXK(苏)2015-0001; 质量合格证: 201705990。所有操作和实验流程均遵守《实验动物管理条例》, 每天人工控制日照 12 h(8: 00—20: 00), 夜照 12 h(20: 00—8: 00), 动物在实验前均自由进食和进水。

1.2 药品与试剂

红豆杉提取物(东阳市杰迹威生物科技有限公司, 原东阳市成杰红豆杉开发有限公司, 批号: 20170913); 噻托溴铵喷雾剂[思力华能倍乐, 上海勃林格殷格翰药业有限公司, 批号: 国 J20120047; 规格: 0.226 34 mg·L⁻¹(以噻托溴铵计), 每瓶含噻托溴铵 2.5 μg, 每瓶 60 揆]; 白沙烟(湖南中烟工业有限责任公司, 焦油 10 mg, 烟碱 1.0 mg, 一氧化碳 13 mg); BSA(德国 Sigma Aldrich); 30% H₂O₂(国药集团化学试剂有限公司); 超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号: 20171208; 规格: 100T/96 样)、谷胱甘肽(GSH)试剂盒(批号: 20171205; 规格: 100T/96 样)、髓过氧化物酶(MPO)试剂盒(批号: 20171219; 规格: 100T/48 样)均来自南京建成生物工程研究所; 小鼠 TNF-α、KC、MIP-2 ELISA 试剂盒(Duoset, R&D Systems, 批号分别为 840143, 840171, 840135); 磷酸缓冲盐溶液、无水乙醇、氯化钠、磷酸盐(市售分析纯试剂, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.3 仪器

TE-10 型香烟烟雾暴露装置(Teague Enterprises, 美国); 立式压力蒸汽灭菌器(上海博迅实业有限公司医疗设备厂); N 085 Pari Boy 雾化吸入器(德国百瑞有限公司); AG 245 型电子天平(瑞典 Mettler Toledo); 905-ULTS 型低温冰箱(美国 Thermo Scientific); F6/10 型匀浆机(德国 FLUKO); HH-W-420 型数显恒温三用水箱(国旺实验仪器厂); D3024R 型冷冻离心机(美国 SLICOGEM); AF100 型制冰机(美国 Scontman); EG1150H 型石蜡包埋机、RM2135 型轮转式石蜡切片机均来自德国 Leica; CX31 型光学显微镜(日本 Olympus); ELX800UX Bio-tek 酶标仪(美国 instrument); NanoDrop 2000 微量紫外分光光度计(美国 Thermo); 涡旋混合器(其林贝尔制造有限公司)。

2 方法

2.1 分组

将 60 只小鼠随机分为正常组、模型组、噻托溴铵组和红豆杉高、低剂量组。正常组正常饲养, 使用空气暴露; 模型组用生理盐水灌胃; 噻托溴铵组给予噻托溴铵雾化剂 5 μg·kg⁻¹; 红豆杉高、低剂量组分别灌胃给予红豆杉 100, 300 mg·kg⁻¹。

2.2 小鼠吸烟模型的制备和给药方法

参考文献^[17-18], 除空白组外, 各组小鼠均在给药结束 0.5 h 后进行烟雾暴露。每个循环 10 支烟, 每天 10 个循环, 烟全部吸完再闷 1 h 后取出小鼠, 共造模 93 d。暴露装置中, 总悬浮颗粒物的含量为 0.16~0.18 mg·L⁻¹, CO 浓度为 400~500 ppm。

2.3 对吸烟模型小鼠的影响

小鼠末次攻击后 24 h 眼球采血处死。结扎右肺, 暴露气管行气管插管, 用生理盐水 0.5 mL 分 2 次进行支气管肺泡灌洗, 混匀后进行细胞总数计数, 以 250×g 离心 10 min, 取细胞沉淀涂片, 晾干后行 HE 染色, 每个标本计数白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞和单个核细胞(巨噬细胞)的比例, 记录各自的百分比, 并计算得到各类细胞绝对值。取右下肺叶用中性福尔马林液固定, 做石蜡切片, 进行 HE 染色和 AB/PAS 染色; 取右肺中、下叶, 放入-80 °C 保存, 用于 SOD、GSH、MPO 活性和 TNF-α、KC、MIP-2 表达量的测定。

2.3.1 白细胞计数及白细胞分类计数 取 50 μL 支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid,

BALF)加入 450 μL 白细胞计数液,用低倍镜计数 4 个大格白细胞数量,根据“白细胞总数/ mL =4 个大格白细胞总和/ $4 \times 20 \times 10^4$ ”计算白细胞总数。用高倍镜观察瑞氏吉姆萨染片,计数 200 个白细胞中中性粒细胞、巨噬细胞和淋巴细胞的数目。

2.3.2 石蜡切片制作及 HE 染色 取置于 4% 甲醛溶液中进行固定的右下肺组织,常规脱水、透明、浸蜡、包埋。切片厚度 4 μm ,常规脱蜡、脱水、透明,苏木素染色 30 s,自来水冲洗 1 min,伊红着色 10 s,再进行常规脱水、透明,最后滴加中性树胶封片。对每只小鼠 HE 染色的切片进行分析。染色切片按相似气管和血管周围炎症细胞浸润数目进行评分。

2.3.3 AB/PAS 染色 切片脱蜡至水、水洗、高碘酸染色、水洗 Schiff 液染色、偏重亚硫酸钠作用、流水冲洗,苏木精复染,水洗,蓝化,透明,最后滴加中性树胶封片。以染色观察气道的黏液分泌,蓝色提示为酸性黏液,紫红色提示为中性黏液。黏液评分以阳性的杯状细胞数占整个气道上皮细胞数的百分比表示。评分标准如下:0 分, <5%; 1 分, 5%~25%; 2 分, 25%~50%; 3 分, 50%~75%; 4 分, >75%。这些炎症以及黏液的评分均在不知情的研究人员单独完成,即采取单盲法。

2.3.4 肺组织匀浆制备及 SOD 和 GSH 活性、MDA 含量的测定 从 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出右肺中下叶样本,置于冰上,称重(mg)并记录,匀浆后离心,取上清液,按各试剂盒要求检测 SOD、GSH 活性和 MDA 含量。

2.3.5 肺组织中 TNF- α 、KC、MIP-2 的表达 采用 ELISA 法测定,按说明书操作。用酶标仪在 450 nm 下测定(室温; 20 min),记录测量结果并进行分析。

2.3.6 MPO 酶学动力测定法 依次新鲜配置 Homogenate Buffer 和 Assay Buffer,配完置于冰中,现配现用。每个 EP 管加 30 μL Homogenate Buffer,充分混匀,12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min。取上清于排管,冰上按每孔 5 μL 加入 96 孔酶标板,每样本 3 个复孔。开启酶标仪,于酶标仪边上,按每孔 250 μL 加入 Assay Buffer,迅速(15 min 内)在 460 nm 下测定 OD 值。

2.4 统计学处理

所有数据用 SPSS 10.0 统计软件处理,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组均数先行方差齐性检验,各

样本均数的比较采用方差分析和两样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 红豆杉提取物对小鼠的影响

熏烟小鼠的 BALF 白细胞总数较正常组明显升高,红豆杉提取物有一定降低白细胞总数的作用,但没有明显的量效关系。同时阳性对照药物噻托溴铵也有一定抑制白细胞渗出的作用。红豆杉低剂量组作用强度与噻托溴铵雾化组相当。结果见图 1。

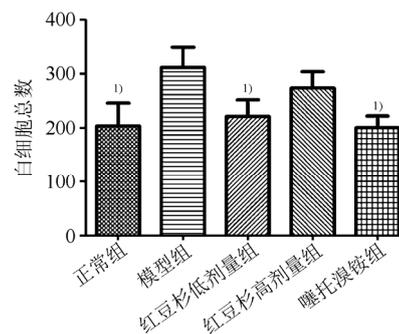


图 1 红豆杉提取物对 COPD 小鼠支气管肺泡灌洗液中白细胞总数的影响与模型组比较, $^{1)}P < 0.05$ 。

Fig. 1 Effect of *Taxus chinensis* extract on the total number of WBC in BALF of mouse with COPD Compared with model group, $^{1)}P < 0.05$.

3.2 红豆杉提取物对肺组织病理改变的影响

熏烟后肺组织病理切片可见明显炎症改变,气道、血管周围及组织间隙均可见炎症细胞围绕;红豆杉提取物对肺大泡的形成及气道、血管周围及组织间隙的炎症细胞有一定抑制作用。噻托溴铵组也有一定抑制作用,与低剂量红豆杉提取物相当。结果见图 2~3。

3.3 红豆杉提取物对肺组织匀浆中 SOD 活性的影响

与正常组相比,模型组 SOD 含量显著降低 ($P < 0.05$);与模型组相比,红豆杉提取物低、高剂量均具有明显增加 SOD 含量的作用 ($P < 0.05$),作用强度与噻托溴铵相当。结果见图 4。

3.4 红豆杉提取物对肺组织匀浆中 MPO 活性的影响

测定 10% 的肺组织匀浆中 MPO 的活性,结果表明,与正常组相比,吸烟诱导的 COPD 模型肺组织匀浆中 MPO 活性明显上升 ($P < 0.05$),低剂量红豆杉提取物具有抑制 MPO 活性的作用 ($P < 0.05$),噻托溴铵的作用与低剂量红豆杉提取物相当。结果见图 5。

3.5 红豆杉提取物对肺组织匀浆中 GSH 活性的影响

与模型组相比,高、低剂量红豆杉提取物均有增加 GSH 含量的作用($P<0.05$),作用强度优于噻托溴铵组。结果见图 6。

3.6 红豆杉提取物对肺组织匀浆中细胞因子含量的影响

与正常组相比,吸烟诱导的 COPD 肺组织匀浆中细胞因子含量明显上升;与模型组比较,红豆杉提取物能降低 MIP-2 的含量,但作用强度较弱,未见统计学差异,而噻托溴铵组作用不明显。高剂量红豆杉提取物能够显著抑制 KC 炎症因子的分泌($P<0.05$);高、低剂量红豆杉提取物均可显著抑制 TNF- α 的表达($P<0.05$),作用强度均优于噻托溴铵。结果见图 7。

4 讨论

COPD 属于全身性的炎症反应性疾病。在 COPD 病情发展过程中,体内炎性细胞因子可逐渐在气道内以及肺部组织中积聚,其中 TNF- α 主要由活化后的巨噬细胞产生,属于前炎症因子,其激活后还可以刺激肺内的其他细胞产生更多的细胞因子,如 MIP-2、KC 的产生,从而放大局部的炎症反应,而炎症细胞的激活又能反过来增加内源性氧化物释放、加剧氧化应激反应,破坏氧化与抗氧化能力的平衡,造成患者的肺部结构破坏,致肺血管发生重构。因此炎性因子含量的显著增高、机体抗氧化能力下降可能是导致 COPD 患者出现肺动脉高压、慢性肺损害以及肺部功能减退等严重并发症的主要原因^[19-23]。

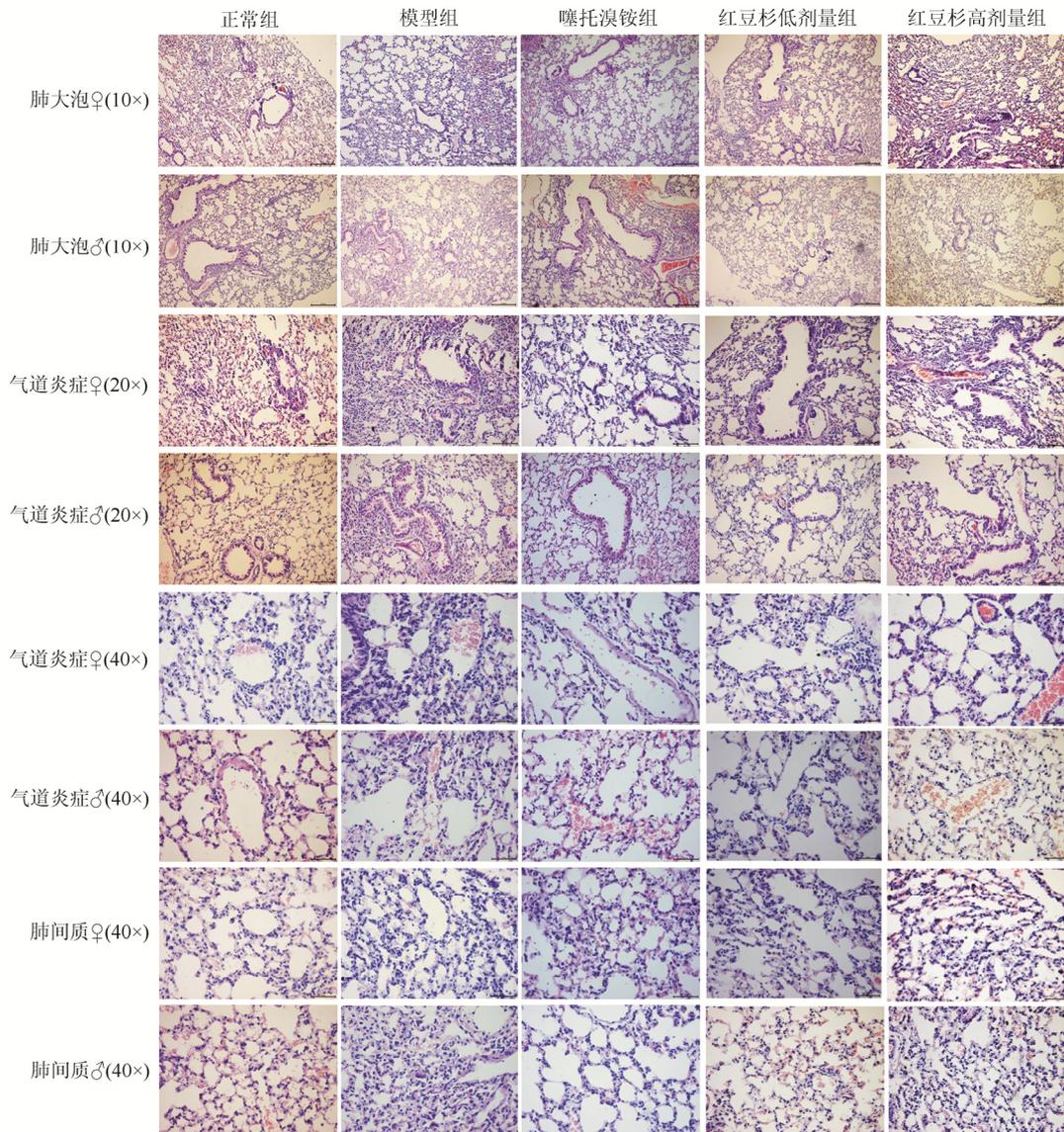


图 2 组织病理图

Fig. 2 Histopathology

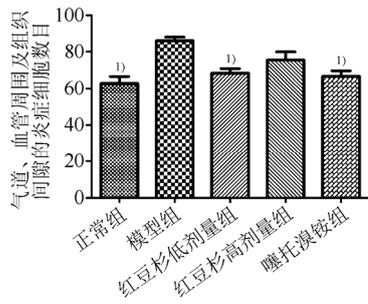


图3 红豆杉提取物对 COPD 小鼠肺组织中炎症病理变化的影响
与模型组比较, $^{1)}P<0.05$ 。

Fig. 3 Effect of *Taxus chinensis* extract on the pathological changes of inflammation in lung tissues of mouse with COPD Compared with model group, $^{1)}P<0.05$.

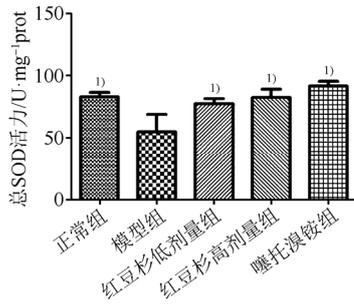


图4 红豆杉提取物对 COPD 小鼠肺组织匀浆中 SOD 含量的影响
与模型组比较, $^{1)}P<0.05$ 。

Fig. 4 Effect of *Taxus chinensis* extract on the content of SOD in the lung tissues homogenate of mouse with COPD Compared with model group, $^{1)}P<0.05$.

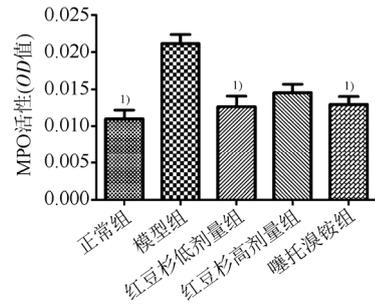


图5 红豆杉提取物对 COPD 小鼠肺组织匀浆中 MPO 活性的影响
与模型组比较, $^{1)}P<0.05$ 。

Fig. 5 Effect of *Taxus chinensis* extract on the activity of MPO in the lung tissues of mouse with COPD Compared with model group, $^{1)}P<0.05$.

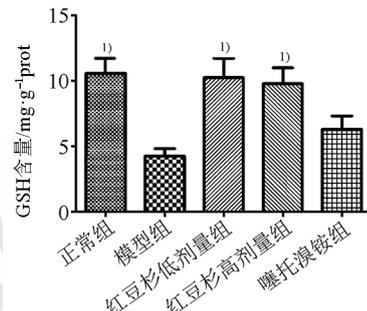


图6 红豆杉提取物对 COPD 小鼠肺组织匀浆中 GSH 含量的影响
与模型组比较, $^{1)}P<0.05$ 。

Fig. 6 Effect of *Taxus chinensis* extract on the content of GSH in the lung tissues of mouse with COPD Compared with model group, $^{1)}P<0.05$.

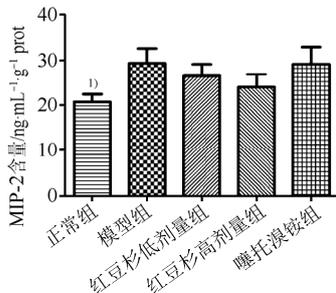
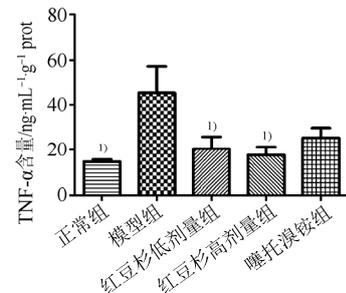
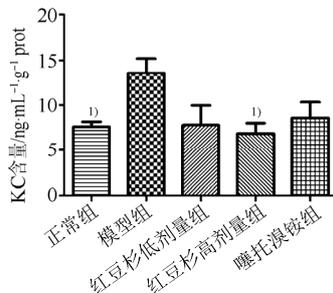


图7 红豆杉提取物对 COPD 动物模型肺组织匀浆中细胞因子含量的影响
与模型组比较, $^{1)}P<0.05$ 。

Fig. 7 Effect of *Taxus chinensis* extract on the content of Cytokine in the lung tissues of mouse with COPD Compared with model group, $^{1)}P<0.05$.



本研究结果发现,对烟雾诱导的 COPD 小鼠,其肺组织病理切片可见明显炎症改变,气道周围、血管周围及组织间隙均可见炎症细胞围绕,而红豆杉提取物能降低炎症细胞因子 MIP-2 的含量,显著抑制 KC 炎症因子的分泌和 TNF- α 的表达,对于肺大泡的形成及气道周围、血管周围及组织间隙的炎症细胞均有一定抑制作用,提示该提取

物对 COPD 患者可能具有良好的抗炎作用。

氧化应激是已经被公认的 COPD 的发病机制之一,针对氧化应激这一发病机制使用药理抗氧化剂或促进内源性抗氧化剂水平,被认为是治疗 COPD 的有效方法。目前认为 GSH 是肺部和全身抵抗氧化应激的关键抗氧化剂, SOD 是重要的肺部抗氧化酶。而 MPO 氧化应激损伤后中性粒细胞

聚集释放的产物,可引发气道黏液高分泌和肺气肿。本研究中,吸烟诱导的 COPD 模型小鼠肺组织匀浆中 GSH 含量及 SOD 活性均显著降低,MPO 活性明显升高。给药后,GSH 含量及 SOD 活性均显著升高,而 MPO 活性被明显抑制,表明红豆杉提取物具有提高 SOD 活性,增加 GSH 含量,抑制 MPO 的作用。

本研究采用经典的香烟烟雾 3 个月暴露模型,基本上反映了 COPD 的病理特征,相当于 COPD I 期或 II 期水平,而晚期病变如肺气肿、肺纤维化等则需要更长时间建模^[24-25]。本研究通过对模型小鼠肺组织病理切片及肺组织匀浆中多种炎症趋化因子 TNF- α 、MIP-2、KC 等的检测,以及氧化应激时 SOD、GSH、MPO 活力的测定,较全面地评价了减毒红豆杉提取物的药效,初步探讨了其作用机制,为进一步开发红豆杉提供了理论依据。

综上所述,红豆杉提取物对 COPD 动物模型有一定的治疗效果。红豆杉提取物能抑制 COPD 动物肺大泡的形成,对于气道周围、血管周围及组织间隙的炎症细胞以及肺组织中黏液分泌也有一定抑制作用。红豆杉提取物能明显增加 GSH、SOD 等含量,显著降低 TNF- α 、KC 等炎症因子以及肺组织 MPO 活性的作用,作用强度优于或相当于阳性药噻托溴铵雾化剂。

以上结果表明红豆杉提取物对 COPD 动物模型的作用机制可能与抑制中性粒细胞迁移、抑制炎症细胞因子的产生、抑制黏液分泌及抗氧化应激损伤有一定关系。

REFERENCES

- [1] WANG C, XU J, YANG L. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China(the China Pulmonary Health [CPH] study): a national cross-sectional study [J]. *Lancet*, 2018, 391(10131): 1706-1717.
- [2] TOCZYNSKA I, ZWOLINSKA E, CHCIALOWSKI A. Influence of inhaled corticosteroids on bronchial inflammation and pulmonary function in chronic obstructive pulmonary disease with moderate obstruction [J]. *Adv Exp Med*, 2018, 1047(38): 41-52
- [3] KIM H P, LIM H, KWON Y S. Therapeutic potential of medicinal plants and their constituents on lung inflammatory disorders [J]. *Biomol Ther*, 2017, 25(2): 91-104
- [4] PRISCILA B G, NELILMA C R. Multi-target natural products as alternatives against oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease(COPD) [J]. *Eur J Med Chem*, 2019(163): 911-931.
- [5] RUSSELL P B, JAMES D C. Oxidative stress in airways [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002(166): 38-43.
- [6] SONG Y J, LIU Y K, ZHOU Z H. The clinical study of serum hs-CRP, TNF- α , PCT and IL-6 in patients with acute

- exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2017, 10(9): 13550-13556.
- [7] PITSIU G, KYRIAZIS G, HATZIZIS O. Tumor necrosis factor-alpha serum levels, weight loss and tissue oxygenation in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Resp Med*, 2002, 96(8): 594-598.
- [8] TOSHIYA I, MASATO W, KEITARO N. Bronchial epithelial cells produce CXCL1 in response to LPS and TNF α : A potential role in the pathogenesis of COPD [J]. *Exp Lung Res*, 2018, 44(7): 323-331.
- [9] JING H Y, LIU L Y, ZHOU J F. Inhibition of C-X-C Motif Chemokine 10(CXCL10) protects mice from cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Med Sci Monit*, 2018(24): 5748-5753.
- [10] 刘颖,肖艳. 红豆杉及其紫杉醇研究开发进展[J]. *中医药信息*, 2005, 22(4): 34-35.
- [11] ZHANG J. Medicinal value of anti-cancer plant *Taxus Chinensis* [J]. *China Pharm(中国药业)*, 2014, 23(1): 1-3.
- [12] GU Q, LI Y P, CHEN Y C. Sciadopitysin: active component from *Taxus chinensis* for anti-Alzheimer's disease [J]. *Nat Prod Res*, 2013, 27(22): 2157-2160.
- [13] WENG H B, HAN W K, XIONG Y W. *Taxus chinensis* ameliorates diabetic nephropathy through down-regulating TGF- β 1/Smad pathway [J]. *Chin J Nat Med*, 2018, 16(2): 90-96.
- [14] YE Z W, YANG X L, SHI J N. The development of biological activity and study on extraction and purification for *Taxus Polysaccharides* [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2013, 30(5): 549-552.
- [15] YU J H, WANG Y B, QIAN H. Polyphenols from *Taxus chinensis* var. *Mairei* prevent the development of CCl4-induced liver fibrosis in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 142(1): 151-160.
- [16] 应成杰. 红豆杉无毒提取物的工艺: 中国, ZL200910152866.3 [P]. 2010-03-17.
- [17] VLAHOS R, BOZINOVSKI S. Recent advances in pre-clinical mouse models of COPD [J]. *Clin Sci*, 2014, 126(4): 253-265.
- [18] ZHUO S M, LI N, ZHENG Y. Expression of the lymphocyte chemokine XCL1 in lung tissue of COPD mice, and its relationship to CD4(+)/CD8(+) ratio and IL-2 [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 73(2): 505-511.
- [19] 葛均波,徐永健. 内科学[M]. 第8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013, 21-27.
- [20] 何志义,冉丕鑫,钟南山. 氧化/抗氧化失衡与慢性阻塞性肺疾病[J]. *国外医学呼吸系统分册*, 2003(23): 5-7.
- [21] DADVAND P, NIEUWENHUISEN M J, AGUST À. Air pollution and biomarkers of systemic inflammation and tissue repair in COPD patients [J]. *Eur Respir J*, 2014, 44(3): 603-613.
- [22] SUN S M, ZHANG Z, WANG Y Q. Correlation between level of serum inflammatory factors and pulmonary function in patients with acute exacerbation and stable stage of COPD [J]. *Chin General Pract(中国全科医学)*, 2014, 17(24): 2790-2793.
- [23] 周洪. COPD 患者炎症细胞因子与 BODE 指数关系的研究[D]. 南昌大学, 2016.
- [24] CHURG A, SIN D D, WRIGHT J L. Everything prevents emphysema are animal models of cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease any use [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 45(6): 1111-1115.
- [25] GUAN Y, LI F F, HONG L. Protective effects of liquiritin apioside on cigarette smoke-induced lung epithelial cell injury [J]. *Fund Clin Pharmacol*, 2011, 26(2012): 473-483.

收稿日期: 2019-02-12

(本文责编: 蔡珊珊)