



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111265535 A

(43)申请公布日 2020.06.12

(21)申请号 202010195995.7

(22)申请日 2020.03.19

(71)申请人 广西馨海药业科技有限公司

地址 545000 广西壮族自治区柳州市鱼峰区葡萄山路7号洛维工业集中区科技孵化项目2号厂房第一层

(72)发明人 杨世林

(74)专利代理机构 北京远大卓悦知识产权代理事务所(普通合伙) 11369

代理人 邓雪明

(51)Int.Cl.

A61K 31/704(2006.01)

A61P 11/00(2006.01)

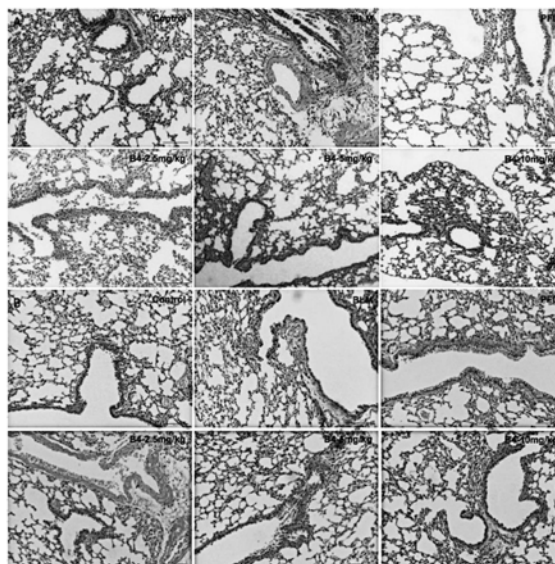
权利要求书1页 说明书10页 附图1页

(54)发明名称

白头翁皂苷B4在制备治疗/预防肺纤维化药物中的用途

(57)摘要

本发明公开了白头翁皂苷B4在制备治疗和/或预防哺乳动物包括人的肺纤维化的药物中的用途。白头翁皂苷B4对肺纤维化具有保护作用,保护机制可能与降低肺纤维化相关炎症因子IL-4、TGF-β1、TNF-α的表达,降低中性粒细胞水平相关,并且注射用白头翁皂苷B4对BLM诱导肺纤维化作用比阳性药更为显著。



1. 白头翁皂苷B4在制备治疗和/或预防哺乳动物包括人的肺纤维化的药物中的用途。
2. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述药物含有治疗有效量的白头翁皂苷B4和药学上可接受的载体。
3. 如权利要求2所述的用途,其特征在于,所述药物被制成药学上允许的剂型。
4. 如权利要求3所述的用途,其特征在于,所述药物被制成注射剂。
5. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述药物下调肺纤维化受试者炎症因子的水平。
6. 如权利要求5所述的用途,其特征在于,所述炎症因子包括IL-4、TGF- β 1、TNF- α 、TGF- β 1。
7. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,白头翁皂苷B4的给药剂量为不低于0.5mg/kg·d。

白头翁皂苷B4在制备治疗/预防肺纤维化药物中的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及医药技术领域。更具体地说,本发明涉及一种白头翁皂苷B4在制备治疗/预防肺纤维化药物中的用途。

背景技术

[0002] 肺纤维化是当各种因素引起肺损伤时,肺间质会分泌胶原蛋白进行修补,如果过度修复,即成纤维细胞过度增殖和细胞外基质大量聚集,就会形成肺纤维化。肺纤维化患者确诊后的平均生存期仅为2.8年,5年生存率低于30%,严重威胁着患者的生命以及生活质量。急性肺损伤由各种直接或间接致伤因素导致的肺泡上皮细胞及毛细血管内皮细胞损伤,造成弥漫性肺间质及肺泡水肿,导致的急性低氧性呼吸功能不全。其主要治疗方法为呼吸支持治疗,如氧疗、无创呼吸机、有创通气为主,从而改善低氧血症。肺纤维化与急性肺损伤的呼吸支持治疗不同,目前治疗肺纤维化主要以吡非尼酮和尼达尼布药物治疗为主,但长期使用易产生耐药性和副作用,肺纤维化是不可逆的,只能减少肺组织纤维化的进一步发展,保持正常肺泡通气功能,药物治疗较少,且有严重的不良反应。因此,探索治疗肺纤维化的新方法,具有十分重要的意义。

[0003] 肺纤维化发病机理越来越复杂及其导致死亡率越来越高的情况下,全面了解其发病机理,对肺纤维化的治疗具有重要的意义。在博来霉素诱导的肺纤维化模型中,激活相关的炎症细胞及炎症因子IL-4、TGF- β 1、TNF- α 等,介导肺泡的炎症损伤,从而促进成纤维细胞活化、增殖、胶原合成,导致基质蛋白沉积和纤维组织生成。此外,氧化/抗氧化失衡引起的氧化应激反应也是肺纤维化发病的重要机制之一。MPO由中性粒细胞分泌催化反应生成过量的氧化物质,导致氧化应激和氧化性组织损伤。因此,抑制炎症因子释放和中性粒细胞,是治疗肺纤维化的有效方法。

[0004] 白头翁皂苷B4是从毛茛科多年生草本植物白头翁中提取具有药理活性的五环三萜类皂苷,其具有免疫调节、抗肿瘤、抗氧化等药理作用,但其治疗肺纤维化的作用尚未见报道。

发明内容

[0005] 本发明的一个目的是解决至少上述问题,并提供至少后面将说明的优点。

[0006] 本发明还有一个目的是提供一种白头翁皂苷B4在制备治疗/预防肺纤维化药物中的用途,白头翁皂苷B4对肺纤维化具有保护作用,保护机制可能与降低肺纤维化相关炎症因子IL-4、TGF- β 1、TNF- α 的表达,降低中性粒细胞水平相关,并且白头翁皂苷B4对BLM诱导肺纤维化作用比阳性药更为显著。

[0007] 为了实现根据本发明的这些目的和其它优点,提供了一种白头翁皂苷B4在制备治疗和/或预防哺乳动物包括人的肺纤维化的药物中的用途。

[0008] 优选的是,所述药物含有治疗有效量的白头翁皂苷B4和药学上可接受的载体。

[0009] 优选的是,所述药物被制成药学上允许的剂型。

- [0010] 优选的是,所述药物被制成注射剂。
- [0011] 优选的是,所述药物下调肺纤维化受试者炎症因子的水平。
- [0012] 优选的是,所述炎症因子包括IL-4、TGF- β 1、TNF- α 、TGF- β 1。
- [0013] 优选的是,白头翁皂苷B4的给药剂量为不低于0.5mg/kg·d。
- [0014] 本发明至少包括以下有益效果:
- [0015] 本发明通过BLM诱导小鼠肺纤维化模型,以评价指标:体重、肺组织HE染色、肺系数、血常规、肺泡灌洗液和血清IL-4、TGF- β 1、TNF- α 肺纤维化相关炎症因子的含量等,评价白头翁皂苷B4是否具有治疗肺纤维化的作用,BLM(3mg/kg)气管滴注给药能够显著诱导小鼠肺纤维化、体重下降、血清中IL-4、TGF- β 1、TNF- α 含量增加、肺泡灌洗液中TGF- β 1显著增加中性粒细胞数增加、肺组织具有炎性细胞浸润、肺泡间隔内成纤维细胞、上皮下肌成纤维细胞增多和肺充血现象;白头翁皂苷B4组能改善小鼠体重下降、显著降低血清中IL-4、TGF- β 1、TNF- α 含量及肺泡灌洗液中TGF- β 1含量、减少中性粒细胞数、改善肺纤维化情况,实验结果表明,白头翁皂苷B4对博来霉素诱导的肺纤维化具有保护作用,保护机制可能与降低肺纤维化相关炎症因子IL-4、TGF- β 1、TNF- α 的表达,降低中性粒细胞水平相关,并且白头翁皂苷B4对BLM诱导肺纤维化作用比阳性药更为显著。
- [0016] 本发明的其它优点、目标和特征将部分通过下面的说明体现,部分还将通过对本发明的研究和实践而为本领域的技术人员所理解。

附图说明

- [0017] 图1为本发明的白头翁皂苷B4对肺组织损伤的作用。

具体实施方式

- [0018] 下面结合附图对本发明做进一步的详细说明,以令本领域技术人员参照说明书文字能够据以实施。
- [0019] 应当理解,本文所使用的诸如“具有”、“包含”以及“包括”术语并不配出一个或多个其它元件或其组合的存在或添加。
- [0020] 需要说明的是,下述实施方案中所述实验方法,如无特殊说明,均为常规方法,所述试剂和材料,如无特殊说明,均可从商业途径获得。
- [0021] 1、材料
- [0022] 1.1实验动物
- [0023] 健康BALB/c小鼠,雌雄各60只,SPF级,体重(雄性 20 ± 2 、雌性 15 ± 2)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物合格证号:SCXK京2016-0006。
- [0024] 1.2药物与试剂
- [0025] 注射用白头翁皂苷B4,以下简称B4(江西本草天工科技有限责任公司,批号:2018042205);博来霉素,以下简称BLM(MedChemExpress公司,批号27403);吡非尼酮,以下简称PFD(MedChemExpress公司,批号:38805);注射用生理盐水(四川科伦药业股份有限公司,批号:L219012211);IL-6、IL-1 β 、TNF- α ELISA测定试剂盒(欣博盛生物科技有限公司,批号:M190530-102a)。
- [0026] 1.3仪器

[0027] Mindray血常规检测仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,型号:BC-5000vet);1/1000精密天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司,型号:ME204E);低温高速离心机(Eppendorf公司,型号:5425R);酶联免疫检测仪(美国BioTek公司,型号:SYNERGYH1);病理图像分析仪(日本OLYMPUS,型号:BX-60);组织研磨机(杰灵仪器制造天津有限公司,型号:TP-24);肺部液体定量雾化器(YAN30012,上海玉颜科学仪器有限公司)。

[0028] 2、方法

[0029] 2.1动物造模及给药

[0030] 健康BALB/c小鼠,雌雄各60只,适应性喂养3天,实验室室温为(25±5)℃,相对湿度(40~70)%。常规饲料喂养,自由饮水。于造模前称小鼠体重并随机分为空白对照组、模型对照组(3mg/kg)、白头翁皂苷B4低剂量组(BLM+白头翁皂苷B4 2.5mg/kg)、白头翁皂苷B4中剂量组(BLM+白头翁皂苷B4 5mg/kg)、白头翁皂苷B4高剂量组(BLM+白头翁皂苷B4 10mg/kg)、阳性对照组(BLM+吡非尼酮300mg/kg)(每组20只,雌雄各半),为了方便记录数据,以上六组后续分别在表格中计为空白对照组、BLM模型组、B4(2.5mg/kg)组、B4(5mg/kg)组、B4(10mg/kg)组、PFD(300mg/kg)组,按照BLM剂量为3mg/kg,气管滴注(i.t)给药1次复制小鼠急性肺纤维化模型。造模前各组小鼠腹腔注射0.4%戊巴比妥钠,0.12mL/10g麻醉后,取小鼠仰卧位,于手术台上,用小鼠开口器打开小鼠口腔,用肺部液体定量雾化器,从会厌软骨开口处将BLM溶液(2mg/mL)(空白对照组注入等量无菌生理盐水)注入肺脏,雄性小鼠注入50μL、雌性小鼠注入50μL,模型即建立完成,待其苏醒后给予水和饲料。白头翁皂苷B4低、中、高剂量组于造模后0h、3h、24h、48h尾静脉(i.v)注射白头翁皂苷B4(2.5、5、10mg/kg),阳性对照组0h、3h、24h、48h灌胃(i.g)给药(300mg/kg),BLM模型组i.v注射等量生理盐水。

[0031] 2.2检测指标

[0032] 2.2.1小鼠体重与生存率

[0033] 每天称量并记录每组小鼠体重,记录并统计72h内各组的死亡数以及存活率的动态变化。

[0034] 2.2.2肺泡灌洗液(BALF)提取测定

[0035] 每组10只小鼠(雌雄各半)于造模后72h处死,打开小鼠胸腔,结扎右肺后进行气管插管,用1mL注射器吸取PBS溶液0.3mL注入气管内,反复连续抽洗3次,如法操作重复3次,合并灌洗液,在4℃下以1600rpm/min离心10min,收集上清液,严格按照ELISA试剂盒说明书操作检测IL-4、TGF-β1、TNF-α含量。

[0036] 2.2.3肺组织指标测定

[0037] 每组10只小鼠(雌雄各半)于造模后72h处死,摘除肺脏,各组进行以下指标观察和测定。

[0038] (1)取整肺,用冰冷生理盐水漂洗后,滤纸吸干表面水分,精密称取重量,用于计算肺系数(肺系数=肺湿重/体重×100%);

[0039] (2)取右肺下叶,用多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,连续切片,进行HE染色,显微镜下观察肺组织病理学改变;

[0040] (3)余肺用冰冷生理盐水漂洗后,滤纸吸干表面水分,精密称取重量,用组织研磨机匀浆后,于-80℃冰箱保存,进行检测HYP活性、IL-4、TGF-β1、TNF-α含量;WB检测炎症相关蛋白表达如α-SMA、TGF-β等。

[0041] 2.2.4血清指标测定

[0042] (1) 小鼠处死前,摘眼球取血于EP管中,吸取25 μ L血溶于5 μ L EDTA-K2抗凝剂中,立即用血常规仪器检测小鼠血液中白细胞、中性粒细胞、红细胞、血小板等常规指标。

[0043] (2) 测定血常规后,剩余血室温血液自然凝固30min后,于4 $^{\circ}$ C、3000r/min离心20min,分离血清,分装冻存于-80 $^{\circ}$ C,严格按照操ELISA操作说明检测血清IL-4、TGF- β 1、TNF- α 炎症因子的含量

[0044] 2.2.5统计学分析

[0045] 多个样本间均数比较。方差齐性数据采用单因素方差分析LSD检验,以P<0.05为差异具有统计学意义。

[0046] 采用SPSS13.0统计软件包,各项指标结果用均数 \pm 标准差(X \pm S)表示,两组间均数比较采用t检验,多组间计量资料比较采用单因素方差分析(one-wayANOVA)和两两比较(LSD法)。P<0.05为差异具有统计学意义。

[0047] 3实验结果

[0048] 3.1白头翁皂苷B4对小鼠体重的影响

[0049] 与空白对照组比较,模型对照组体重均显著降低(P<0.01),与模型对照组比较,阳性对照组和白头翁皂苷B4低、高剂量组小鼠给药后体重均显著高于模型对照组(P<0.01),白头翁皂苷B4低、中、高剂量组小鼠给药后除Day1中剂量组小鼠体重差异不具显著性外(P>0.05),其余各时间点白头翁皂苷B4低、中、高剂量组小鼠体重均显著高于模型对照组(P<0.05或P<0.01),其中Day1白头翁皂苷B4低、高剂量组雌性小鼠、白头翁皂苷B4低、中、高剂量组雄性小鼠、Day2白头翁皂苷B4中、高剂量组雌性小鼠、Day3白头翁皂苷B4低、高剂量组雄性小鼠体重增长差异具有显著性(P<0.05或P<0.01)。

[0050] 结果显示,博来霉素可导致BALB/c小鼠体重减轻和体重增长减慢,而吡非尼酮和白头翁皂苷B4可改善博来霉素所致的体重减轻和体重增长减慢的作用,且白头翁皂苷B4效果更显著,详见表1~表4。

[0051] 表1白头翁皂苷B4对雌性小鼠体重的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别 (mg/kg)	体重(g)			
	Day ₀	Day ₁	Day ₂	Day ₃
空白对照组	14.51 \pm 0.54	15.98 \pm 0.93▲▲	17.31 \pm 0.82▲▲	17.66 \pm 0.93▲▲
BLM 模型组	14.66 \pm 0.88	14.05 \pm 1.19	13.92 \pm 1.25	14.67 \pm 1.38
[0052] PFD (300 mg/kg)组	14.61 \pm 0.68	15.55 \pm 1.11▲▲	15.99 \pm 1.15▲▲	16.32 \pm 1.25▲▲
B4 (2.5 mg/kg)组	14.66 \pm 0.70	15.42 \pm 1.15▲▲	15.85 \pm 1.20▲▲	16.14 \pm 1.77▲
B4 (5.0 mg/kg)组	14.61 \pm 0.66	14.71 \pm 1.06	15.11 \pm 1.03▲	16.55 \pm 1.37▲▲
B4 (10.0 mg/kg)组	14.70 \pm 0.86	15.31 \pm 1.33▲	15.93 \pm 0.72▲▲	16.71 \pm 1.37▲▲

[0053] 注:与模型对照组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01

[0054] 表2白头翁皂苷B4对雄性小鼠体重的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别 (mg/kg)	体重(g)			
	Day ₀	Day ₁	Day ₂	Day ₃
空白对照组	18.33±0.86	19.96±1.10▲▲	20.80±1.38▲▲	21.62±1.44▲▲
BLM 模型组	18.31±0.91	17.20±1.04	17.84±1.14	17.77±1.43
PFD (300 mg/kg)组	18.28±0.73	19.77±1.03▲▲	20.11±1.08▲▲	20.42±1.34▲▲
B4 (2.5 mg/kg)组	18.34±0.88	18.65±1.25▲▲	19.16±1.82▲	20.72±2.20▲▲
B4 (5.0 mg/kg)组	18.34±0.84	18.33±1.16▲	19.13±1.20▲	19.28±0.92▲
B4 (10.0 mg/kg)组	18.33±0.88	18.58±1.10▲▲	19.13±1.18▲	19.97±1.10▲▲

[0056] 注:与模型对照组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01

[0057] 表3白头翁皂苷B4对雌性小鼠体重增长的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别 (mg/kg)	体重(g)			
	Day ₀	Day ₁	Day ₂	Day ₃
空白对照组	1.47±0.83▲▲	1.33±0.58▲▲	0.36±0.28	3.15±0.75▲▲
BLM 模型组	-0.61±0.57	-0.13±0.52	0.75±0.68	0.00±0.90
PFD (300 mg/kg)组	0.94±0.63▲▲	0.44±0.40▲▲	0.34±0.64	1.72±0.73▲▲

组别 (mg/kg)	体重(g)			
	Day ₀	Day ₁	Day ₂	Day ₃
B4 (2.5 mg/kg)组	0.76±0.97▲▲	0.43±0.79	0.29±1.27	1.48±1.58▲
B4 (5.0 mg/kg)组	0.09±0.61	0.40±0.40▲	1.44±0.96	1.94±1.14▲▲
B4 (10.0 mg/kg)组	0.61±1.03▲▲	0.62±0.94▲▲	0.78±1.05	2.02±0.93▲▲

[0060] 注:与模型对照组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01

[0061] 表4白头翁皂苷B4对雄性小鼠体重增长的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别 (mg/kg)	体重(g)			
	Day ₀	Day ₁	Day ₂	Day ₃
空白对照组	1.63±0.58▲▲	0.84±0.41	0.82±0.92	3.29±0.78▲▲
BLM 模型组	-1.11±0.32	0.64±0.42	-0.07±0.85	-0.54±0.74
PFD (300 mg/kg)组	1.48±0.81▲▲	0.34±0.35	0.31±0.81	2.14±0.97▲▲
B4 (2.5 mg/kg)组	0.31±0.95▲▲	0.51±1.09	1.56±0.97▲▲	2.38±2.15▲▲
B4 (5.0 mg/kg)组	-0.00±0.88▲▲	0.80±0.44	0.15±0.78	0.94±0.83▲▲
B4 (10.0 mg/kg)组	0.24±1.26▲▲	0.55±0.72	0.85±0.84▲	1.64±1.54▲▲

[0063] 注:与模型对照组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01

[0064] 3.2白头翁皂苷B4对肺系数、肺组织损伤的影响

[0065] 造模72h后,处死小鼠摘取肺,称重并记录湿重后,计算肺系数;与空白对照组比较,模型对照组小鼠肺系数显著升高(P<0.01);与模型对照组比较,阳性对照组和白头翁皂苷B4低、中、高剂量组小鼠肺系数显著降低(P<0.05或P<0.01)。结果显示,博来霉素可导致BALB/c小鼠肺系数升高,而吡非尼酮和注射用白头翁皂苷B4有降低博来霉素所致肺系数升高的作用,并且注射用白头翁皂苷B4低、中、高剂量组抑制作用较阳性对照组好,详见表5。

[0066] 肺组织HE染色结果如图1所示(上两排为雌性组、下两排为雄性组,10×20倍),空白对照组小鼠肺组织气管黏膜平滑,假复层纤毛柱状上皮杯状细胞和纤毛细胞清晰可见,肺泡未见增厚、充血或水肿等改变,肺泡壁薄,分布整齐,边界清晰;模型对照组小鼠肺组织出现明显实变,肺泡损坏萎陷挤压明显,边界不清晰,有明显的炎性细胞浸润;阳性对照组和白头翁皂苷B4低、中、高剂量组肺组织损伤明显改善,肺泡萎陷明显改善,实变明显缓解,边界较清晰,挤压和炎性改变明显减轻,其中白头翁皂苷B4以白头翁皂苷B4高剂量组改善最为明显。

[0067] 表5白头翁皂苷B4对小鼠肺系数的影响($\bar{x}\pm s$)

组别 (mg/kg)	肺系数 (%)		
	雌性小鼠	雄性小鼠	合计
空白对照组	0.60±0.07(5)▲▲	0.51±0.02(5)▲▲	0.55±0.07(10)▲▲
BLM 模型组	0.79±0.05(5)	0.80±0.11(5)	0.80±0.08(10)
PFD (300 mg/kg)组	0.73±0.05(5)	0.67±0.12(5)	0.70±0.09(10)▲
B4 (2.5 mg/kg)组	0.70±0.10(5)	0.55±0.12(5)▲	0.62±0.13(10)▲▲
B4 (5.0 mg/kg)组	0.68±0.10(5)▲	0.64±0.12(5)▲	0.66±0.10(10)▲▲
B4 (10.0 mg/kg)组	0.64±0.05(5)▲▲	0.64±0.07(5)▲	0.64±0.06(10)▲▲

[0069] 注:与模型对照组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01

[0070] 3.3白头翁皂苷B4对血液中中性粒细胞数的影响

[0071] 与空白对照组比较,模型对照组雌、雄性小鼠血液NEUT水平均显著升高($P<0.01$);与模型对照组比较,阳性对照组和白头翁皂苷B4低、中、高剂量组雌、雄性小鼠血液NEUT水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

[0072] 结果显示,博来霉素可导致BALB/c小鼠血液NEUT水平升高,而吡非尼酮和白头翁皂苷B4有降低博来霉素所致中性粒细胞水平升高的作用,且白头翁皂苷B4作用效果比阳性药PFD效果更显著,详见表6。

[0073] 表6白头翁皂苷B4对小鼠血液NEUT水平的影响($\bar{x}\pm s$)

	组别 (mg/kg)	数量	NEUT# ($10^9/L$)	
			雌性小鼠	雄性小鼠
[0074]	空白对照组	10	0.92±0.45▲▲	0.82±0.37▲▲
	BLM 模型组	10	1.62±0.37	1.97±0.65
	PFD (300 mg/kg)组	10	1.31±0.15▲	1.38±0.45▲▲
	组别 (mg/kg)	数量	NEUT# ($10^9/L$)	
			雌性小鼠	雄性小鼠
[0075]	B4 (2.5 mg/kg)组	10	1.19±0.34▲▲	1.22±0.32▲▲
	B4 (5.0 mg/kg)组	10	1.27±0.25▲	1.32±0.36▲▲
	B4 (10.0 mg/kg)组	10	1.23±0.34▲	1.36±0.37▲▲

[0076] 注:与模型对照组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$

[0077] 3.4白头翁皂苷B4对肺泡灌洗液(BALF)中IL-4、TGF- β 1含量的影响

[0078] 与空白对照组比较,模型对照组小鼠肺泡灌洗液IL-4和TGF- β 1水平显著升高($P<0.01$);与模型对照组比较,阳性对照组小鼠肺泡灌洗液IL-4和TGF- β 1水平均显著降低($P<0.01$),白头翁皂苷B4低、中、高剂量组小鼠肺泡灌洗液IL-4水平均显著降低($P<0.01$),TGF- β 1水平均降低,其中低、中剂量组差异具有显著性($P<0.01$)。

[0079] 结果显示,博来霉素可导致BALB/c小鼠肺泡灌洗液IL-4和TGF- β 1水平升高,而吡非尼酮和白头翁皂苷B4有降低博来霉素所致肺泡灌洗液IL-4和TGF- β 1水平升高的作用,且白头翁皂苷B4中、高剂量作用效果比阳性药PFD更显著,详见表7、表8。

[0080] 表7白头翁皂苷B4对小鼠肺泡灌洗液IL-4水平的影响($\bar{x}\pm s$)

组别 (mg/kg)	IL-4 (pg/mL)		
	雌性小鼠	雄性小鼠	合计
空白对照组	29.77±7.80(5)▲▲	30.12±9.60(5)▲▲	29.94±8.25(10)▲▲
BLM 模型组	80.96±16.69(5)	76.98±4.42(5)	78.97±11.70(10)
PFD (300 mg/kg)组	47.26±11.82(5)▲	50.41±11.01(5)▲▲	48.84±10.90(10)▲▲
B4 (2.5 mg/kg)组	47.74±13.49(5)▲	55.11±17.20(5)	51.42±15.08(9)▲▲
B4 (5.0 mg/kg)组	44.26±8.01(5)▲▲	35.86±12.38(5)▲▲	40.06±10.78(10)▲▲
B4 (10.0 mg/kg)组	52.30±12.59(5)▲	37.68±6.49(5)▲▲	44.99±12.19(10)▲▲

[0082] 注:与模型对照组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01

[0083] 表8白头翁皂苷B4对小鼠肺泡灌洗液TGF-β1水平的影响($\bar{x}\pm s$)

组别 (mg/kg)	TGF-β1 (pg/mL)		
	雌性小鼠	雄性小鼠	合计
空白对照组	111.12±17.16(5)▲▲	129.41±6.12(5)▲▲	120.26±15.51(10)▲▲
BLM 模型组	342.30±90.17(5)	415.67±12.42(5)	378.98±71.96(10)
PFD (300 mg/kg)组	281.71±47.08(5)	320.61±26.70(5)▲▲	301.16±41.50(10)▲
B4 (2.5 mg/kg)组	324.43±35.65(5)	283.73±74.64(5)▲▲	304.08±59.17(9)▲
B4 (5.0 mg/kg)组	300.05±63.35(5)	268.36±112.71(5)	284.21±87.80(10)▲
B4 (10.0 mg/kg)组	339.28±96.02(5)	249.89±51.47(5)▲▲	294.58±86.57(10)

[0086] 注:与模型对照组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01

[0087] 3.5白头翁皂苷B4对血清中IL-4、TGF-β1、TNF-α含量的影响

[0088] 小鼠摘眼球取血,离心后取上清,ELISA试剂盒检测IL-4、TGF-β1、TNF-α含量。与空白对照组比较,模型对照组雌、雄性小鼠血清IL-4、TGF-β1和TNF-α水平均显著升高(P<0.01);与模型对照组比较,阳性对照组雌、雄性小鼠血清IL-4、TGF-β1和TNF-α水平均显著降低(P<0.05或P<0.01);除白头翁皂苷B4低剂量组雌性小鼠TGF-β1水平差异不具显著性外(P>0.05),其余白头翁皂苷B4中、高剂量组雌、雄性小鼠血清IL-4、TGF-β1和TNF-α水平均显著降低(P<0.05或P<0.01)。

[0089] 结果显示,博来霉素可导致BALB/c小鼠血清炎症因子IL-4、TGF-β1和TNF-α水平升高,而吡非尼酮和白头翁皂苷B4有降低博来霉素所致炎症因子升高的作用,且白头翁皂苷B4中、高剂量效果较阳性药PFD更显著,详见表9、表10。

[0090] 表9白头翁皂苷B4对雌性小鼠血清IL-4、TGF-β1和TNF-α水平的影响($\bar{x}\pm s$)

组别 (mg/kg)	n	IL-4 (pg/mL)	TGF-β1 (pg/mL)	TNF-α (pg/mL)
空白对照组	10	17.34±1.69▲▲	904.74±169.29▲▲	66.17±31.69▲▲
BLM 模型组	10	44.36±5.54	1466.83±232.75	210.90±48.18
[0091] PFD (300 mg/kg)组	10	33.60±6.19▲▲	1128.87±280.08▲	155.60±37.86▲▲
B4 (2.5 mg/kg)组	10	33.44±8.16▲	1212.84±222.73	154.30±34.38▲▲
B4 (5.0 mg/kg)组	10	31.62±3.99▲▲	1217.34±144.18▲	157.00±22.50▲▲
B4 (10.0 mg/kg)组	10	32.73±5.58▲▲	1109.73±329.28▲	155.51±40.43▲▲

[0092] 注:与模型对照组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01

[0093] 表10白头翁皂苷B4对雄性小鼠血清IL-4、TGF-β1和TNF-α水平的影响($\bar{x}\pm s$)

组别 (mg/kg)	n	IL-4 (pg/mL)	TGF-β1 (pg/mL)	TNF-α (pg/mL)
空白对照组	10	19.91±2.82▲▲	773.84±98.74▲▲	76.75±34.83▲▲
BLM 模型组	10	50.47±3.99	1585.04±130.27	315.12±43.02
[0094] PFD (300 mg/kg)组	10	40.44±7.47▲▲	1236.75±292.35▲▲	218.01±23.70▲▲
B4 (2.5 mg/kg)组	10	45.35±3.95▲▲	1260.14±258.14▲▲	235.59±48.55▲▲
B4 (5.0 mg/kg)组	10	39.75±8.45▲	1282.95±255.55▲▲	188.32±63.80▲▲
B4 (10.0 mg/kg)组	10	39.92±7.28▲▲	1227.54±309.01▲	212.17±31.91▲▲

[0095] 注:与模型对照组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01

[0096] 3.6结论

[0097] 实验结果表明,白头翁皂苷B4对BLM诱导的肺纤维化具有治疗作用,能够降低BLM诱导的肺系数值,对BLM诱导的肺组织纤维化具有改善作用,同时能够降低血清及肺泡灌洗液中肺纤维化相关炎症因子IL-4、TGF-β1、TNF-α的表达,与LPS诱导肺损伤相关炎症因子IL-6、IL-1β不同,BLM诱导的肺纤维化中,TGF-β1诱导肺间质成纤维细胞转化为肌成纤维细胞,IL-4刺激纤维细胞的增殖以及细胞外基质的产生,从而促进肺纤维化,而白头翁皂苷B4能够降低肺纤维化相关炎症因子的表达。本发明首次发现白头翁皂苷B4在较低剂量对BLM诱导肺纤维化具有治疗作用,其作用效果优于吡非尼酮阳性药和黄柏酮。

[0098] 本发明提取物用作药物时,可以直接使用,或者以药物制剂的形式使用。

[0099] 所述药物制剂含有治疗有效量的本发明白头翁皂苷B4,其余为药物学上可接受的、对人和动物无毒和惰性的可药用载体和赋形剂。

[0100] 所述的可药用载体或赋形剂是一种或多种选自固体、半固体和液体稀释剂、填料以及药物制品辅料。将本发明的药物制剂以单位体重服用量的形式使用。本发明提取物可通过口服或者注射的形式施用于需要治疗的患者。用于口服时,可将其制成片剂、缓释片、控释片、胶囊、滴丸、微丸、混悬剂、乳剂、散剂或颗粒剂(纳米制剂)、口服液、喷雾剂、栓剂等;用于注射时,可制成灭菌的水性或油性溶液、无菌粉针、脂质体或乳剂等。

[0101] 本发明提取物用作药物时,以药物制剂的形式使用,优选为注射剂,其中B4纯度>99%。

[0102] 这里说明的设备数量和处理规模是用来简化本发明的说明的。对本发明的应用、修改和变化对本领域的技术人员来说是显而易见的。

[0103] 尽管本发明的实施方案已公开如上,但其并不仅仅限于说明书和实施方式中所列运用,它完全可以被适用于各种适合本发明的领域,对于熟悉本领域的人员而言,可容易地实现另外的修改,因此在不背离权利要求及等同范围所限定的一般概念下,本发明并不限于特定的细节和这里示出与描述的图例。

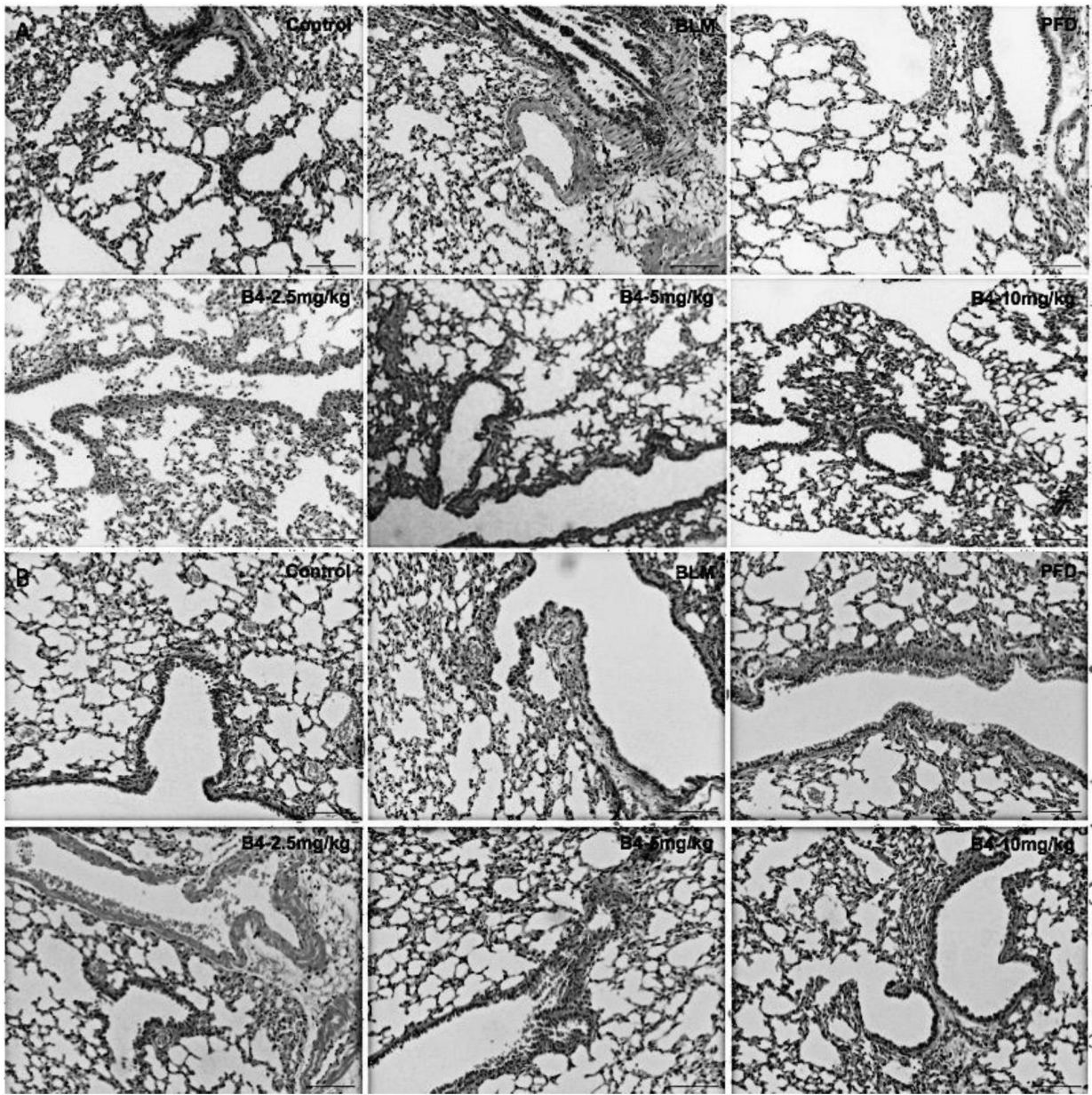


图1