

鹅不食草挥发油平喘作用的实验研究

陈强¹, 周春权², 朱贲峰², 彭华毅³, 倪峰² (1.福建中医学院, 福州 350003; 2.福建省中医药研究院, 福州 350003; 3.福建省医学科学研究所, 福州 350001)

摘要: 目的 研究鹅不食草挥发油的平喘作用。方法 应用氯乙酰胆碱和磷酸组胺进行药物性引喘以及离体豚鼠气管条的实验方法。结果 鹅不食草挥发油经口服给药可对抗氯乙酰胆碱和磷酸组胺引起的豚鼠喘息, 明显延长豚鼠引喘潜伏期; 鹅不食草挥发油还显著抑制磷酸组胺引起的豚鼠离体气管平滑肌的收缩。结论 鹅不食草挥发油有良好的平喘解痉作用。

关键词: 鹅不食草; 挥发油; 平喘; 解痉

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2010)06-0473-04

Study on the Antiasthmatic Effects of Essential Oil from *Centipeda minima*

CHEN Qiang¹, ZHOU Chunquan², ZHU Bifeng², PENG Huayi³, NI Feng² (1. Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, China; 2. Fujian Academy of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, Fuzhou 350003, China; 3. Fujian Institute of Medical Sciences, Fuzhou 350001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the antiasthmatic effects of the essential oil from *centipeda minima*. **METHODS** Used the animal model of spray-induced asthma and isolated tracheal smooth muscle of guinea pig to determine the antiasthmatic effects of the oil. **RESULTS** The essential oil significantly prolonged asthma latency and gasping on the guinea pig model of spray-induced asthma by ACH & HT. The oil also inhibited the constriction of tracheal smooth muscle *in vitro*. **CONCLUSION** The essential oil has a good therapeutic effect on asthma.

KEY WORDS: *centipeda minima*; essential oil; antiasthmatic; antispastics.

鹅不食草 [*Centipeda minima* (L.) A. Br. et Aschers.] 系菊科(Compositae)石胡荽属植物, 具有通鼻窍、止咳的功效, 用于风寒头痛, 咳嗽痰多, 鼻塞不通, 鼻渊流涕等症^[1]。鹅不食草始载于南唐《食性本草》, 《本草纲目》中亦有记载, 主产于浙江、湖北、江苏、广东、广西、贵州、江西、福建、安徽、河南等地。在福建鹅不食草俗称为杜网草、猪屎草, 福建省中医药研究院临床组应用加鹅不食草配方治疗小儿咳嗽变异性哮喘(CVA), 取得较好的治疗效果。为探讨其治疗CVA作用机制、明确其药效部位, 笔者采用豚鼠药物性引喘药效学实验方法, 跟踪鹅不食草提取分离各个部位, 发现挥发油是平喘有效部位之一。为此, 进行了鹅不食草挥发油的豚鼠喷雾致喘和离体气管平滑肌螺旋条收缩实验, 以期阐明其平喘作用机制、给临床应用提供科学依据。

1 材料

基金项目: 福建省教育厅资助科技项目(JA05280)

作者简介: 陈强, 男, 副研究员 Tel: (0591)83570371 E-mail: cq@fjtem.edu.cn

1.1 试药

鹅不食草(购自福建省福仁药业有限公司, 产地为福州市闽侯县竹岐村)经福建中医学院药学系中药鉴定教研室杨成梓副教授鉴定为菊科石胡荽属植物鹅不食草 [*Centipeda minima* (L.) A. Br. et Aschers.], 用水蒸气蒸馏, 收集挥发油备用。鹅不食草挥发油(每毫升相当于原生药627 g), 呈浅黄色, 批号: 20081001, 实验时用0.5%吐温-80配制。

1.2 药品

磷酸组胺(批号: F20071017, 国药集团化学试剂有限公司, 5 g·瓶⁻¹); 氯化乙酰胆碱(批号: WL20080320, 国药集团化学试剂有限公司, 沃凯, 5 g·瓶⁻¹); 盐酸异丙肾上腺素(批号: 20050323, 上海禾丰制药有限公司); 醋酸地塞米松片(批号: 080197, 浙江仙琚制药股份有限公司)。

1.3 动物

豚鼠, 白色, 体重 200~300 g, ♂, 由上海

市松江区松联实验动物场提供, 许可证号: SCXK(沪)2007-0011, 质量合格证号: 0046209。

1.4 仪器

多功能超声波雾化器(YUYUE402AI, 江苏鱼跃医疗设备有限公司); RM 6240 生物信号采集分析系统(成都仪器厂); 钢质无缝气瓶(上海高压容器有限公司)。

1.5 数据统计分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用SPSS13.0统计软件进行分析, 多组间比较用One-way ANOVA检验, $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 方法与结果

2.1 豚鼠喷雾致喘法^[2]

筛选豚鼠: 取体重200~250 g健康豚鼠, 用多功能超声波雾化器将0.2%磷酸组胺和1.0%氯乙酰胆碱等容积混合液(临用时新配)以4 mL·min⁻¹流速向密封玻璃容器(容积4 L玻璃罩)开始喷雾, 到玻璃容器内全部充满白色气雾时, 将豚鼠放入其中接受喷雾15 s, 喷雾终止, 立即取出豚鼠, 记录自

接受喷雾起至出现哮喘的时间, 即潜伏期。哮喘分级: I. 呼吸加速; II. 呼吸困难; III. 抽搐; IV. 翻倒。以在120 s内出现翻倒者为筛选合格, 超过者认为不敏感, 弃除。

次日将筛选合格的豚鼠随机分为5组, 分组及给药剂量见表1, 各给药组按剂量灌胃给药, 灌胃容积均为1 mL·(100g bw)⁻¹, 每天灌胃1次, 连续7 d, 其中鹅不食草挥发油的低中高3个剂量组为0.012 5、0.025 0、0.050 0 mL·kg⁻¹; 阳性对照组给地塞米松片5.0 mg·kg⁻¹; 空白对照组给等量生理盐水。末次给药后1 h, 让豚鼠接受喷雾刺激, 方法同前筛选实验, 记录自喷雾起至出现哮喘的潜伏期。哮喘以III抽搐和IV翻倒为标准。若给药后豚鼠在5 min内没有出现抽搐和(或)翻倒, 表明豚鼠对引喘药物完全保护, 设定其潜伏期均以300 s来计算。每组动物均按以上方法同样操作, 每组试验结束后, 必须更换溶液, 以免因浓度偏差而产生错误结果。用单因素方差分析比较引喘潜伏期各组差异的显著性, 结果见表1和表2。

表1 鹅不食草挥发油对豚鼠引喘抽搐潜伏期的影响

Tab 1 The effects on the convulsion latency of essential oil

组别	剂量	动物数	给药前		给药后	
			抽搐动物数	抽搐潜伏期/s	抽搐动物数	抽搐潜伏期/s
空白对照组	等容积	11	11	22.6±4.9	11	22.3±4.5
地塞米松组	5.0 mg·kg ⁻¹	9	9	25.0±4.5	5	151.4±141.3 ²⁾
鹅不食草油低剂量组	0.012 5 mL·kg ⁻¹	11	11	24.2±5.6	10	50.3±83.0
鹅不食草油中剂量组	0.025 0 mL·kg ⁻¹	9	9	22.8±3.5	6	119.1±135.9 ¹⁾
鹅不食草油高剂量组	0.050 0 mL·kg ⁻¹	9	9	21.7±5.4	4	179.6±143.0 ²⁾

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

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

表2 鹅不食草挥发油对豚鼠引喘翻到潜伏期的影响

Tab 2 The effects on the overset latency of essential oil

组别	剂量	动物数	给药前		给药后	
			翻倒动物数	翻倒潜伏期/s	翻倒动物数	翻倒潜伏期/s
空白对照组	等容积	11	11	41.1±7.2	11	40.4±7.8
地塞米松组	5.0 mg·kg ⁻¹	9	9	39.0±5.9	1	273.0±81.0 ¹⁾
鹅不食草油低剂量组	0.012 5 mL·kg ⁻¹	11	11	39.6±6.9	3	229.7±120.4 ¹⁾
鹅不食草油中剂量组	0.025 0 mL·kg ⁻¹	9	9	39.7±6.6	2	245.1±108.9 ¹⁾
鹅不食草油高剂量组	0.050 0 mL·kg ⁻¹	9	9	37.1±5.0	1	272.0±84.0 ¹⁾

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P < 0.01$

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

从表1和表2可见, 鹅不食草挥发油0.025 0和0.050 0 mL·kg⁻¹对0.2%磷酸组胺和1.0%氯乙酰胆碱致豚鼠气管痉挛所引起的哮喘III级抽搐动物数有明显减少, 有延长发生哮喘潜伏期作用, 与空白对照组比较, 差异在统计学上均有显著意义($P < 0.05$ 或 0.01); 鹅不食草挥发油0.012 5、0.025 0

和0.050 0 mL·kg⁻¹明显减少豚鼠因磷酸组胺和氯乙酰胆碱引起的哮喘而发生IV级翻倒动物数, 有显著延长发生哮喘潜伏期作用, 与空白对照组比较, 差异均有显著性($P < 0.01$)。说明鹅不食草挥发油具有平喘作用。

2.2 离体豚鼠气管平滑肌螺旋条收缩实验^[2]

离体气管平滑肌螺旋条的制备：实验用豚鼠，体重 250~300 g。将豚鼠脱臼处死，分离气管，从甲状软骨下至气管下端分叉处，将整段气管剪下，放入盛有改良的 Krebs 液培养皿中，细心剔除气管周围结缔组织。将气管以 2~3 个软骨环的间隔，剪成螺旋条状。每个气管剪成二条螺旋条供用。

先经预试，确定鹅不食草油的有效剂量浓度。正式实验时，将气管螺旋条标本一端固定于麦氏浴槽内的 L 形管上，另一端连接于肌张力换能器上，负荷 1 g，气管条的收缩活动输入 RM 6240 生物信号采集分析系统的换能器自动平衡记录仪记录。浴槽灌注改良 Krebs 液 30 mL (pH=7.0)，恒温 (37±0.5)°C，通 O₂，保持每分钟 50~60 个气泡。

表 3 鹅不食草挥发油对豚鼠离体气管平滑肌的影响

Tab 3 The inhibitory effects on constriction of the essential oil

组别	槽液中药物浓度	标本个数	曲线高度/mm			解痉百分率/%
			给药前	给药后	差值	
吐温溶媒组	/	15	5.9±1.8	5.4±1.6	0.05±0.07	7.6±9.9
鹅不食草油低剂量组	2×10 ⁻⁵ mL·mL ⁻¹	10	5.3±1.7	4.0±1.9	0.13±0.09	27.3±21.6
鹅不食草油中剂量组	4×10 ⁻⁵ mL·mL ⁻¹	11	5.5±2.7	2.8±1.4	0.28±0.16 ¹⁾	49.2±14.4
鹅不食草油高剂量组	8×10 ⁻⁵ mL·mL ⁻¹	12	5.1±2.4	-0.04±1.4	0.52±0.20 ¹⁾	109.7±34.4
异丙肾上腺素组	1.7×10 ⁻⁶ g·mL ⁻¹	10	6.0±2.2	0.8±1.9	0.52±0.22 ¹⁾	90.6±37.1

注：与吐温溶媒组比较，¹⁾P<0.01

Note: Compared with control group, ¹⁾P<0.01

结果显示，当浴槽液中鹅不食草挥发油浓度为 4×10⁻⁵ mL·mL⁻¹ 和 8×10⁻⁵ mL·mL⁻¹ 两个浓度时，均能显著抑制组胺所引起的豚鼠气管平滑肌的收缩效应。

3 讨论

咳嗽变异性哮喘(CVA)又称过敏性咳嗽、咳嗽型哮喘、变异性哮喘、隐匿形哮喘，是儿科久治不愈的顽固性慢性咳嗽病。以持续咳嗽或咳嗽反复发作作为特征，近年来发病率呈上升趋势。国内统计哮喘的发病率为0.9%~1.6%，婴幼儿可达5%，其中过敏性咳嗽约占1/4。众多研究一致认为，CVA是支气管哮喘的特殊类型，是哮喘的早期阶段，若不及时治疗，可转变为典型的哮喘发作。目前小儿CVA的治疗，西医主要是吸入皮质激素、β₂受体兴奋剂、茶碱类药物、抗组胺类药等，虽取得一定疗效，但疗程长，易反复^[3]。近年来，福建省中医药研究院发挥中医辨证论治之优势，在治疗小儿CVA方面积累了一些经验，认为鹅不食草是临床治疗CVA的一味主要有效中药。

稳定 60 min，在此期间换液 3~5 次。描记一段正常曲线，然后加入 0.1% 磷酸组胺 0.05 mL (浴槽内的组胺浓度为 1.7×10⁻⁶ g·mL⁻¹)，描记曲线，当气管平滑肌张力持续升到最高点时，向麦氏浴槽内加入药液，容量为 0.05 mL (pH=7.0)，实验所用药物均按最终浴管浓度计算。描记加药后 5 min 曲线下降幅度(mm)。计算豚鼠气管平滑肌给药前(给组胺后)、后曲线高度的差值^[2]，并用下列公式计算解痉百分率，评定解痉作用。

解痉百分率(%)=(给药前曲线高度-给药后曲线高度)/给药前曲线高度×100%

用单因素方差分析比较各组差异的显著性。实验结果见表3。

鹅不食草中有甾醇类、愈创木内酯类、单萜、三萜及三萜皂苷类、挥发油、黄酮类、百里香酚衍生物等。其中挥发油成分主要含乙酸菊烯酯等，经现代药理研究表明，鹅不食草挥发油具有抗炎作用^[4-5]，对变应性鼻炎AR有干预作用^[6]、对过敏性鼻炎有明显治疗效果^[7-8]，还对大鼠急性肺损伤、急性胸膜炎有明显的保护作用^[9-10]。所以，鹅不食草挥发油不仅是治疗过敏性鼻炎的一种较有前途的药物，随着研究的深入，将更为广泛地用于呼吸系统疾病的治疗。

笔者采用两种方法，整体平喘试验——豚鼠喷雾致喘法和离体气管平滑肌螺旋条实验，对鹅不食草进行平喘药效及其机制探讨。发现鹅不食草挥发油经口服给药可对抗乙酰胆碱和组胺引起的豚鼠喘息，明显延长豚鼠引喘潜伏期的作用。气管平滑肌上存在有组胺H₁受体、M₃受体及β₂等受体，在支气管平滑肌收缩舒张中起重要调节作用。其中组胺H₁受体、M₃受体激动后产生收缩效应，β₂受体激动后产生舒张效应。磷酸组胺作用于

H₁受体产生支气管平滑肌收缩效应。应用豚鼠气管平滑肌条实验,测定鹅不食草挥发油对磷酸组胺诱发的气管平滑肌痉挛的解痉作用,为其治疗哮喘提供实验依据。临床应用的报道以及本文的实验结果均表明鹅不食草挥发油具有很好的平喘效果,该实验结果为鹅不食草的临床应用及进一步研发新药提供实验依据。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2005)Vol I(中国药典 2005 年版.一部)[S]. 2005: 241-242.
- [2] CHEN Q. Study on Methodology of TCM-Pharmacology(中药药理研究方法学)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1993: 645-650.
- [3] LUO S W, LI Y L, CHAO E X. TCM symptomatologic study on cough variant asthma[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med: Clin Med (北京中医药大学学报: 中医临床版), 2007, 14(3): 11-13.
- [4] QIN R A, MEI X, CHEN M, et al. Study on the anti-inflammatory effect and mechanism of volatile oil of Centipeda minima[J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2006, 26(4): 369-371.
- [5] ZHANG L J, XU S J, ZHANG H Z, et al. Study on Anti-inflammatory action of the essential oil from centipeda minima extracted by super borderliine CO₂ and wet distillation [J]. Heilongjiang J Tradit Chin Med(黑龙江中医药), 2007, 36(6): 47-48.
- [6] JI X B, DENG J D, CANG L Q, et al. Observation on serum histamine of experimental allergic rhinitis by centipeda [J]. Chin J Otorhinolaryngol Integrate Tradit West Med (中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志), 2007, 15(6): 451-452.
- [7] YU H M, WEN S L, LIU Z G, et al. An experimental study on the therapeutic effects of herba centipeda on allergic rhinitis [J]. Chin J Otorhinolaryngol Integrate Tradit West Med (中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志), 2001, 9(5): 220-224.
- [8] LIU Z G, YU H M, WEN S L, et al. Histopathological study on allergic rhinitis treated with Centipeda minima [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2005, 30(4): 292-294.
- [9] QAN R A, SHI J L, WAN L, et al. Effects of the volatile oil of sandwort on expression of CD54 in the bronchial epithelium tissue of acute lung injury rat [J].China J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志), 2005, 20(8): 466-468.
- [10] QIN R A, MEI X, WAN L, et al. Effects of the volatile oil of Centipeda minima on acute pleural effusion in rats induced by an intrapleural injection of car [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2005, 30(15):1192-1194.

收稿日期: 2009-08-17