

还阳参醇提物止咳祛痰平喘及抗炎作用的实验研究

彭照琪, 岳永花, 李小贝, 贺石麟, 倪 艳*

山西省中医药研究院, 山西 太原 030012

摘要: **目的** 探讨还阳参醇提物对实验动物的止咳、祛痰、平喘及抗炎作用。**方法** 分别采用氨水引咳法、气管酚红排泄法、组织胺致喘息法观察还阳参醇提物的止咳、祛痰、平喘作用;采用二甲苯致小鼠耳肿胀和蛋清致大鼠足趾肿胀法观察还阳参醇提物抗急性炎症的作用;气管内注入脂多糖法建立大鼠慢性支气管炎模型,观察受试物对模型大鼠肺组织的病理学改变。**结果** 还阳参醇提物能显著减少小鼠的咳嗽次数、增加小鼠气道酚红排泄量、延长组织胺所致豚鼠喘息的潜伏期、可减轻蛋清所致的大鼠足趾肿胀度,与对照组比较差异具有显著性 ($P < 0.05$ 或 0.01);还阳参醇提物能减轻慢性支气管炎大鼠黏膜上皮细胞的坏死和脱落,抑制黏膜层和黏膜下层炎性细胞浸润。**结论** 还阳参醇提物有明显的止咳、祛痰、平喘及抗炎作用,对慢性支气管炎大鼠模型的支气管黏膜有保护作用。

关键词: 还阳参;慢性支气管炎;止咳;祛痰;平喘;抗炎

中图分类号: R974 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2012)06-0423-04

Antitussive, expectorant, anti-asthma, and anti-inflammatory effects of alcohol extracts from *Crepis turczaniowii*

PENG Zhao-qi, YUE Yong-hua, LI Xiao-bei, HE Shi-lin, NI Yan

Shanxi Institute of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012, China

Abstract: **Objective** To identify the effects of the alcohol extracts from *Crepis turczaniowii* (AECT), such as antitussive, expectorant, anti-asthma, and anti-inflammation, on the experimental animals. **Methods** The cough models of mice were established by ammonia liquor, Phenol Red excretion, and histamine; The acute inflammation models of mice were made by xylene and albumen; The models of chronic bronchitis of rats were made by intratracheal instillation of lipopolysaccharide to observe the lung pathematology. **Results** AECT could reduce the cough frequency of mice, increase the excretion of phenol red, prolong the latency of asthma induced by histamine, reduce the paw edema extent of rats induce by albumen, compared with the control groups ($P < 0.05$, 0.01). The histopathological examination revealed AECT could reduce the mortification and desquamation of mucosal epithelial cells in rats with chronic bronchitis and inhibited the mucous and submucosa infiltration of inflammatory cells. **Conclusion** AECT have the antitussive, expectorant, anti-asthma, and anti-inflammatory effects and could protect the bronchial mucosa of rats with chronic bronchitis.

Key words: *Crepis turczaniowii* C. A. Mey.; chronic bronchitis; antitussive; expectorant; anti-asthma; anti-inflammation

还阳参为菊科植物屠还阳参 *Crepis turczaniowii* C. A. Mey. 的全草,别名屠还阳参、驴打滚儿草,主要分布在山西、内蒙古一带,在山西省北部地区资源尤为丰富。在《中药大辞典》、《全国中草药汇编》、《中华药海》等书中均有记载,其味苦,性微寒,具有益气、止咳平喘、清热降火之功效,用于治疗慢性支气管炎、肺结核等呼吸系统疾病^[1-2]。本实验通过现代药理学方法明确其止咳、祛痰、平喘及抗炎的作用。

1 实验材料

1.1 实验动物

SD 大鼠,雌雄各半,体质量(200±20)g; KM 种小鼠,雌雄各半,体质量(18±2)g;豚鼠,雌雄各半,体质量(150±20)g,均由山西省中医药研究院实验动物中心提供,许可证号 SCXK 晋 2010-0002。

1.2 受试药物及实验仪器

还阳参药材于 2011 年 8 月采集于山西山阴,经

收稿日期: 2012-09-16

基金项目: 山西省科技攻关项目(20120313015-1); 太原市科技项目(12024730)

作者简介: 彭照琪,硕士研究生,研究方向为中药化学。Tel: 15525078172 E-mail: 1608567450@qq.com

*通讯作者 倪 艳(1965—),女,主任药师,硕士研究生导师,主要从事中药药效物质基础研究。E-mail: niyan_01@hotmail.com

山西省中医药研究院中药方剂研究所倪艳教授鉴定为菊科植物还阳参 *Crepis turczanowii* C. A. Mey. 的全草。取还阳参干燥全草, 用 70% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1 h, 合并提取液, 回收乙醇并浓缩至稠膏, 低温干燥, 得干浸膏还阳参醇提物(AECT), 1 g 相当于生药 27.02 g。醋酸地塞米松片(天津太平洋制药有限公司, 批号 110804); 脂多糖(Sigma 公司分装)。

PV—200 足趾容积测量仪(成都泰盟科技有限公司); TU—1901 双束可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)。

2 实验方法

2.1 小鼠氨水引咳实验^[3]

KM 种小鼠随机分为 5 组, 即对照组, 醋酸地塞米松片组(0.4 mg/kg, 阳性对照), 还阳参醇提物高、中、低剂量(1.5、0.75、0.38 g/kg)组, 每组 10 只。按上述剂量 ig 给药, 体积 10 mL/kg, 每天一次, 连续 7 d, 对照组给予等体积生理盐水。于末次给药后 30 min, 将每只小鼠置于玻璃罩内, 罩内预先放入 10% 氨水棉球, 观察小鼠的咳嗽潜伏期和 2 min 内的咳嗽次数。

2.2 气管酚红排泄实验^[4]

动物分组、给药同“2.1”项。末次给药 30 min 后, ip 5% 酚红溶液 10 mL/kg。于 30 min 后处死小鼠, 取长 1 cm 气管放入盛有 1 mL 生理盐水的试管中, 振荡 30 min, 将冲洗液吸入试管内, 加入 1 mol/L NaOH 0.1 mL, 在 546 nm 处比色, 通过酚红标准曲线计算酚红浓度。

2.3 平喘实验^[5]

将豚鼠置于喷雾箱内, 喷入 1 mg/mL 磷酸组胺溶液 1 mL, 记录豚鼠出现抽搐、哮喘等过敏反应的潜伏期, 淘汰超过 150 s 仍无反应的豚鼠。选出合格豚鼠 50 只, 随机分为 5 组, 即对照组, 醋酸地塞米松片组(0.2 mg/kg, 阳性对照), 还阳参醇提物高、中、低剂量(0.75、0.38、0.19 g/kg)组, 每组 10 只。按上述剂量 ig 给药, 每天 1 次, 连续 7 d, 对照组给予等体积生理盐水。末次给药后 1 h, 将豚鼠置于喷雾箱内, 喷入 1 mg/mL 磷酸组胺 1 mL, 记录各组豚鼠出现抽搐、哮喘等过敏反应的潜伏期。

2.4 抗炎实验

2.4.1 小鼠耳肿胀实验^[6] 动物分组、给药同“2.1”项。末次给药 30 min 后在小鼠右耳涂布致炎剂二甲苯(0.05 mL/只), 左耳不做任何处理。30 min 后处

死小鼠, 剪下双耳用 8 mm 直径打孔器分别在同一部位打下圆耳片, 称质量, 计算耳肿胀度。

$$\text{耳肿胀度} = \text{右耳片质量} - \text{左耳片质量}$$

2.4.2 大鼠足肿胀实验 SD 大鼠 50 只, 动物分组、给药同“2.3”项。末次给药 30 min 后用 PV—200 足趾容积测量仪测定大鼠右足体积一次。分别于注射蛋清后 1、2、3、4、5、6 h 测定大鼠足肿胀度。

$$\text{肿胀度} = \text{致炎后右足的体积} - \text{实验前右足的体积}$$

2.5 大鼠慢性支气管炎模型肺组织病理学观察

大鼠慢性支气管炎模型复制^[7]: SD 大鼠 60 只, 动物分组同“2.3”项, 每组 12 只。ip 1% 戊巴比妥钠麻醉大鼠后, 仰卧位固定于操作台上, 剪去颈部的毛后, 常规消毒、铺巾, 纵向切开颈部皮肤, 逐层分离, 暴露气管, 以 4 号针头穿刺气管并缓慢注入脂多糖 200 μ L (200 μ g), 缝合切口, 对照组气管内注入等量生理盐水, 术后 3 d, 各组 ig 给予相应药物, 每天 1 次, 连续给药 7 d 后, 麻醉大鼠, 迅速取肺组织, 用 10% 福尔马林溶液固定, HE 染色。

2.6 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理, 组间比较用单因素方差分析(One-Way ANOVA)。

3 实验结果

3.1 还阳参醇提物的止咳、祛痰、平喘作用

3.1.1 小鼠氨水引咳实验 还阳参醇提物高、中剂量组和阳性对照组均能延长小鼠的咳嗽潜伏期, 减少咳嗽次数, 与对照组比较, 还阳参醇提物高、中剂量组和阳性对照组具有显著差异($P < 0.01$ 或 0.05), 见表 1。

表 1 还阳参醇提物对氨水所致小鼠咳嗽的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of AECT on cough model of mice induced by ammonia liquor ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	咳嗽潜伏期/s	咳嗽次数/次
对照	—	48.21 ± 13.05	32.58 ± 5.77
醋酸地塞米松片	0.000 4	61.96 ± 15.52**	18.33 ± 5.09**
还阳参醇提物	1.50	60.17 ± 10.33**	20.17 ± 5.81**
	0.75	56.34 ± 15.36*	27.54 ± 6.25*
	0.38	55.12 ± 11.94	27.33 ± 9.03

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下表同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group, same as below

3.1.2 小鼠气管酚红排泄实验 酚红的标准曲线为 $Y = 23.446X - 0.173$, 与对照组比较, 还阳参醇提物

高、中剂量组和阳性对照组能够显著增加小鼠气管酚红的排泄量 ($P < 0.05$ 或 0.01), 见表 2。

表 2 还阳参醇提物对酚红排泄量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 2 Effect of AECT on excretion of phenol red
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	酚红浓度/(μg·mL ⁻¹)
对照	—	2.24 ± 0.88
醋酸地塞米松片	0.000 4	3.95 ± 1.04**
还阳参醇提物	1.5	3.68 ± 0.93**
	0.75	3.44 ± 1.02*
	0.38	3.08 ± 0.54

3.1.3 还阳参醇提物对豚鼠的平喘作用 还阳参醇提物高、中、低剂量组和阳性对照组能显著延长组织胺所导致的豚鼠喘息的潜伏期, 与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$ 或 0.01), 见表 3。

3.2 还阳参醇提物的抗炎作用

3.2.1 小鼠耳肿胀实验 还阳参醇提物高、中剂量组和阳性对照组能显著减轻二甲苯引起的小鼠耳肿胀程度 ($P < 0.05$), 见表 4。

3.2.2 大鼠足肿胀实验 还阳参醇提物中、低剂量组和阳性对照组在 6 h 内能显著减轻蛋清引起的大鼠足肿胀程度, 与对照组比较具有显著差异 ($P < 0.05$ 或 0.01), 见表 5。

3.2.3 大鼠慢性支气管炎模型肺组织病理学观察 病理组织学检查见图 1, 模型组支气管黏膜上皮变

性、坏死、脱落, 支气管壁出现炎性充血、水肿, 有大量的炎性细胞浸润, 支气管内有大量黏液性炎性渗出物。还阳参醇提物高、中剂量组可显著减轻慢性支气管炎模型大鼠支气管黏膜层和黏膜下层炎性细胞的浸润、减轻黏膜上皮细胞的坏死和脱落, 减少气道分泌物。

表 3 还阳参醇提物对豚鼠的平喘作用 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 3 Anti-asthma effect of AECT on Guinea pigs
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	潜伏期/s	
		给药前	给药后
对照	—	48.52 ± 8.47	55.40 ± 6.17
醋酸地塞米松片	0.000 2	49.94 ± 7.11	130.59 ± 22.29**
还阳参醇提物	0.75	49.67 ± 8.73	124.71 ± 20.77**
	0.38	48.44 ± 7.25	90.47 ± 14.89**
	0.19	50.28 ± 8.08	88.90 ± 17.67*

表 4 还阳参醇提物对小鼠耳肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 4 Effect of AECT on ear edema of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肿胀度/mg
对照	—	7.40 ± 2.70
醋酸地塞米松片	0.000 4	5.37 ± 2.46*
还阳参醇提物	1.5	5.60 ± 2.10*
	0.75	5.70 ± 2.40*
	0.38	6.20 ± 2.80

表 5 还阳参醇提物对大鼠足肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 5 Effect of AECT on paw edema of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	不同时间足肿胀程度/mm ³					
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
对照		0.97 ± 0.13	1.20 ± 0.14	0.96 ± 0.17	0.84 ± 0.18	0.71 ± 0.14	0.61 ± 0.14
醋酸地塞米松片	0.000 2	0.72 ± 0.21**	0.90 ± 0.11**	0.74 ± 0.28*	0.63 ± 0.28*	0.52 ± 0.23*	0.42 ± 0.26
还阳参醇提物	0.75	0.85 ± 0.10*	0.96 ± 0.13*	0.85 ± 0.17	0.70 ± 0.19	0.62 ± 0.19	0.51 ± 0.12
	0.38	0.80 ± 0.12**	0.97 ± 0.25*	0.77 ± 0.24	0.61 ± 0.22*	0.60 ± 0.25	0.43 ± 0.24
	0.19	0.76 ± 0.17**	0.94 ± 0.15**	0.75 ± 0.25*	0.67 ± 0.29*	0.52 ± 0.20*	0.39 ± 0.17**

4 讨论

慢性支气管炎是严重危害人类健康的常见病、多发病, 临床上以咳嗽、咯痰或伴有喘息及反复发作作为特征, 病情进展缓慢, 常可并发阻塞性肺气肿, 甚至肺动脉高压、肺源性心脏病而危及生命。在我国, 随着人口老龄化进程的加快, 其发病率呈上升趋势。抗感染和激素是治疗慢性支气管炎的关键,

但长期反复广谱抗生素的应用, 可致细菌产生耐药性, 而激素的不良反应大, 因此慢性支气管炎已成为急待解决的问题。

我国传统中医药在治疗慢性支气管炎方面有丰富的经验。还阳参在山西省雁北地区大面积野生, 民间主要用于治疗慢性支气管炎、肺结核等慢性疾病, 具有良好的疗效; 本实验结果表明还阳参醇提

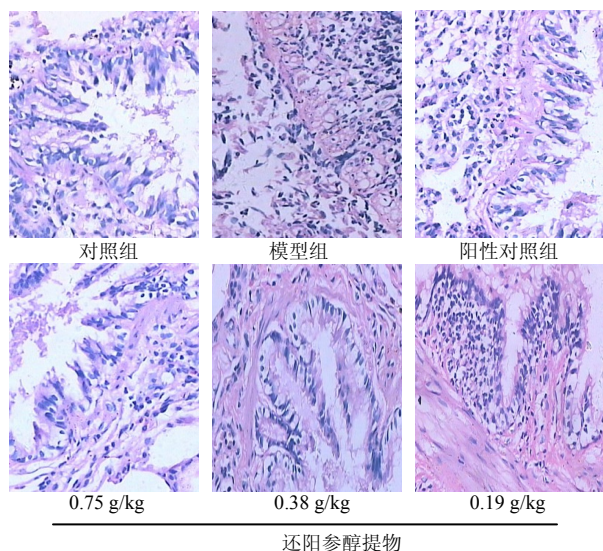


图1 各组慢性支气管炎大鼠肺组织病理学观察

Fig. 1 Pathematological observation of lung tissues in rats with chronic bronchitis in each group

物能减少小鼠咳嗽的次数, 增加小鼠气道酚红排泄量, 延长组织胺所致豚鼠喘息的潜伏期, 减轻蛋清所致的大鼠足跖肿胀程度, 与对照组比较均差异显著 ($P < 0.05$ 或 0.01)。病理学观察还阳参醇提取物能减轻慢性支气管炎大鼠黏膜上皮细胞的坏死和脱落, 抑制支气管黏膜层和黏膜下层炎性细胞的浸润。

实验结果显示还阳参醇提取物具有明确的止咳、祛痰、平喘及抗炎作用, 对慢性支气管炎模型大鼠的支气管黏膜有保护作用。为还阳参运用于临床治疗慢性支气管提供了理论依据, 为课题组进一步研究还阳参治疗慢性支气管的物质基础及其作用机制提供了科学依据。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上册. 上海: 上海人民出版社, 1977.
- [2] 冉先德. 中华药海 [M]. 下卷, 第一册. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 1993.
- [3] 李仪奎. 中药药理实验方法学 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1991.
- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 第三版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [5] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
- [6] 张均智, 莫刚, 杨成芳, 等. 茅莓正丁醇组分的抗炎作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 159.
- [7] 马楠, 崔德健, 梁延杰, 等. 气管内注入脂多糖法建立大鼠慢性支气管炎模型 [J]. 基础医学与临床, 2000, 20(4): 87-89.