

细胞凋亡目前已成为生物学研究热点之一, AD 与细胞凋亡关系密切, 但海马注射兴奋性氨基酸 QA 所致的 AD 大鼠模型中, 是否有凋亡出现, 国内外文献未见报道。本实验结果显示: QA 注射 12 h, 20 d 后流式细胞仪检测, 发现模型组海马细胞凋亡率分别达 $11.1\% \pm 1.3\%$, $21.4\% \pm 1.8\%$, 透射电镜下发现有典型的凋亡细胞特征, 且在一般凋亡形态特征基础上, 出现大量自食性空泡, 内质网膨胀, 有人称此为 II 型凋亡细胞^[9]。提示 QA 所致 AD 动物模型中神经元死亡形成为细胞凋亡。实验中还发现预给药 5 d, 海马微注射 QA 12 h 后, 流式细胞仪检测海马细胞凋亡率, Que 组明显低于模型组, 电镜下海马细胞结构明显好于模型组; 再继续给药 15 d 检测海马细胞凋亡率, 与模型组相比有显著差异。说明其有明显抑制 QA 诱导海马细胞凋亡的作用。而预先给予 Que 及阳性药氯胺酮 (非竞争性 NMDA 受体拮抗剂) 也有拮抗 QA 诱导海马细胞凋亡的作用, 表明 Que 可以拮抗兴奋性氨基酸介导的神经毒性。也从一个侧面证明了细胞凋亡是 AD 最终结局, 抗海马细胞凋亡有抗 AD 的作用。

References

- [1] Gu Z L, Xie M L, Qian Z N. Effect of quercetin on chemiluminescence of human platelets induced by arachidonic acid [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1993, 14(3): 263-265.
- [2] Cotman C W. A potential role for apoptosis neurodegeneration and Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 1995, 10: 19-21.
- [3] Li Y J, Gu Z L. Apoptosis and gene regulation in Alzheimer's disease [J]. *Foreign Medical Sciences-Geriatrics* (国外医学·老年医学分册), 1998, 19(4): 169-172.
- [4] Stone T W, Perkins M N. Quinolinic acid: A potent endogenous excitant at amino acid receptors in CNS [J]. *Eur J Pharmacol*, 1981, 72: 411-412.
- [5] Li Y J, Gu Z L, Liang Z Q. Effect of aspirin on learning and memory in Alzheimer's disease rats and its molecular mechanism [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2000, 16: 570-573.
- [6] Nicoletti I, Migliorati G. A rapid and simple method for measuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry [J]. *J Immunol Methods*, 1999, 139(1): 271.
- [7] Xu S Y, Bian R L, Chen X, et al. *Methodology in Pharmacological Experiments* (药理实验方法学) [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.
- [8] Qin Z H. Stimulation of N-methyl-D-aspartate receptors induces apoptosis in rat brain [J]. *Brain Res*, 1996, 725: 166.
- [9] Marlangue C C, Zouaoui A D, Repressa A, et al. Apoptotic features of selective neuronal death in ischemia, epilepsy and gp 120 toxicity [J]. *TIN S*, 1996, 19: 109-111.

白芥子提取物的镇咳、祛痰及平喘作用研究

张学梅¹, 刘凡亮², 梁文波¹, 王永奇³, 邢福有³, 张巍峨³, 乌兰³, 付子栋⁴, 吴丽霞^{4*}

(1. 大连大学医学院 药理教研室, 辽宁 大连 116622; 2. 大连大学 科研处, 辽宁 大连 116622; 3. 大连大学生物工程学院, 辽宁 大连 116622; 4. 金泽大学药学部 天然医药分子化学研究室, 日本)

摘要: 目的 研究白芥子不同溶媒提取物的镇咳、祛痰、平喘药理作用。方法 浓氨水喷雾法、毛细玻璃管法、喷雾致喘法。结果 炒白芥子醇提取物有明显的镇咳作用; 白芥子水提取物有良好的祛痰作用; 炒白芥子石油醚提取物可显著对抗 4% 氯化乙酰胆碱诱导的豚鼠哮喘。结论 白芥子具有镇咳、祛痰和平喘作用。其镇咳成分极性偏小; 祛痰成分极性偏大, 水溶性大; 平喘成分的极性小, 脂溶性大。

关键词: 白芥子; 镇咳; 祛痰; 平喘

中图分类号: R286.4 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)07-0635-03

Antitussive, expectorant and antiasthmatic effects of *Brassica alba* extracts

ZHANG Xue-mei¹, LIU Fan-liang², LIANG Wen-bo¹, WANG Yong-qi³,
XING Fu-you³, ZHANG Wei-e³, WU Lan³, FU Zi-dong⁴, WU Li-xia⁴

(1. Department of Pharmacology; 2. Department of Scientific Research; 3. College of Bio-engineering, Dalian University, Dalian 116622, China; 4. Pharmaceutical Department of Kanazawa University, Japan)

Key words *Brassica alba* (L.) Boiss.; antitussive; expectorant; antiasthma

收稿日期: 2002-10-12

作者简介: 张学梅 (1970-) 女, 湖南宁乡人, 1993年毕业于大连医科大学获医学学士学位, 2002年 9月大连医科大学获医学硕士学位, 现在大连大学医学院药理教研室工作, 讲师, 主要从事抗炎、抗过敏中药的研究和开发, 1999年所参与的大连市科委项目“复方雷公藤多苷的研究”获大连市科学技术进步三等奖。

白芥子为十字花科一年生或越年生芥属草本植物白芥 *Brassica alba* (L.) Boiss. 的种子。辛,温,归肺、胃经,具有温肺化痰,利气散结的功效。多用于寒痰壅滞,咳嗽气喘,胸满肋痛等证。本实验研究白芥子不同溶媒提取物的止咳、祛痰及平喘作用,力图确定白芥子的有效化学成分。

1 材料

1.1 动物:昆明种小鼠,体重 18~22 g,雌雄兼用,购自大连大学动物中心;SD大鼠,180~220 g,雌雄兼用;幼年豚鼠,体重 150~200 g,雌雄兼用,购自大连医科大学动物中心。

1.2 药物:白芥子,河北产,大连大学中药教研室鉴定。炒白芥子依据 2000年版《中华人民共和国药典》,将白芥子置于炒制容器中文火炒至深黄色、爆裂、有香辣气为止。炒白芥子中所含白芥子苷高于白芥子。白芥子及炒白芥子的水煎液、95%乙醇提取物及石油醚提取物均由生物工程学院植化室提供。

1.3 试剂:18.3%氨水,辽阳白塔试剂化工厂产品,批号 951205;咳必清片,丹东制药厂产品,批号 0010109;4%氯化乙酰胆碱,军事医学科学院科技部条件处提供,批号 910708;氨茶碱,山西省曙光制药厂产品,批号 990829;氯化铵,大连无机化工厂产品;植物油,青岛嘉里植物油有限公司生产。

1.4 仪器:恒压雾化引咳及引喘装置。

2 方法

2.1 镇咳实验(浓氨水喷雾法)^[1,2]:昆明种小鼠,体重 18~22 g,雌雄各半,浓氨水定量恒压(18.7 kPa)喷雾,5 s后立即取出,记录小鼠从接受喷雾开始到出现咳嗽的潜伏期,以及 2 min 内的咳嗽次数。喷雾后 2 min 不咳嗽者舍弃。合格小鼠 2 d 后随机分组,分为白芥子不同溶媒提取物大、小剂量实验组和阴性、阳性对照组。水提取物以生理盐水为阴性对照,醇、醚提取物以精制植物油为阴性对照,以咳必清为阳性对照。每组分别按表 1、2、3 剂量 0.2 mL/10 g ig 相应的药物。给药后 1 h,分别接受 18.3%氨水定量喷雾,5 s 后立即取出,记录小鼠从接受喷雾开始到出现咳嗽的潜伏期及 2 min 内的咳嗽次数,分别观察白芥子不同提取物的镇咳作用。

2.2 祛痰实验(毛细玻管法)^[1,2]:成年 SD 大鼠 180~220 g,雌雄兼用,分组及给药方法同 2.1 以氯化铵为阳性对照组。给药后 1 h ip 乌拉坦 1 g/kg,大鼠麻醉后仰卧位固定,剪开颈中皮肤,分离气管,插入毛细管,吸取气管内痰液。以毛细管吸取痰液的长度作为评价药物的祛痰效果。记录 2 h 大鼠痰

液分泌量。观察白芥子不同提取物的祛痰作用。

2.3 平喘实验(喷雾致喘法)^[1,2]:豚鼠体重 150~200 g,雌雄兼用,将豚鼠放入喷雾装置内,以 4%氯化乙酰胆碱定量恒压(53.3~66.6 kPa)喷雾,每只豚鼠接受喷雾 5 s 后立即取出,记录豚鼠从接受喷雾开始到出现喘息性抽搐跌倒的潜伏期。引喘潜伏期 > 120 s 的舍弃。合格豚鼠分组及给药方法同 2.1,以安茶碱为阳性对照组。给药后 1 h,将豚鼠放入喷雾装置内,以 4%氯化乙酰胆碱定量恒压喷雾 5 s,记录豚鼠的引喘潜伏期。观察白芥子不同提取物的平喘作用。

2.4 数据处理:数据用 SPSS10.0 软件处理。

3 结果

3.1 镇咳实验结果:见表 1、2。结果表明白芥子水提取物小剂量组、炒白芥子醇提取物小剂量组、白芥子醚提取物大、小剂量组对浓氨水诱导的小鼠咳嗽,均有明显的镇咳作用,尤其是炒白芥子醇提取物小

表 1 白芥子水提取物的镇咳作用 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Antitussive effect of aqueous extract of *B. alba* ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量 / (g·kg ⁻¹) | 动物 / 只 | 咳嗽潜伏期 / s | 咳嗽次数 / (次·2min ⁻¹) |
|------|----------------------------|--------|----------------|--------------------------------|
| NS对照 | - | 10 | 6.2 ± 5.86 | 15.8 ± 11.18 |
| 咳必清 | 0.010 | 30 | 33.2 ± 23.86 | 5.1 ± 3.14 |
| 白芥子 | 0.686 | 10 | 24.3 ± 22.99* | 6.5 ± 3.72 |
| | 0.343 | 10 | 59.3 ± 39.77** | 4.9 ± 4.15* |
| 炒白芥子 | 0.611 | 10 | 50.8 ± 30.16** | 4.4 ± 2.84* |
| | 0.305 | 10 | 47.3 ± 44.21* | 4.0 ± 2.67* |

与 NS 对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs NS control group

表 2 白芥子醇及醚提取物的镇咳作用 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Antitussive effect of alcohol and ether extract of *B. alba* ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量 / (g·kg ⁻¹) | 动物 / 只 | 咳嗽潜伏期 / s | 咳嗽次数 / (次·2min ⁻¹) |
|----------|----------------------------|--------|-----------------|--------------------------------|
| 植物油对照 | - | 20 | 9.1 ± 6.79 | 12.8 ± 8.16 |
| 咳必清 | 0.010 | 30 | 33.2 ± 23.86 | 5.1 ± 3.14 |
| 白芥子醇提取物 | 0.324 | 10 | 52.3 ± 32.63** | 4.0 ± 2.67* |
| | 0.162 | 10 | 54.8 ± 37.03** | 3.9 ± 2.23* |
| 炒白芥子醇提取物 | 0.322 | 10 | 54.5 ± 38.32** | 4.1 ± 2.51* |
| | 0.161 | 10 | 56.6 ± 41.44** | 2.5 ± 1.65**△ |
| 白芥子醚提取物 | 1.56 | 10 | 63.6 ± 41.90**△ | 5.3 ± 8.35 |
| | 0.78 | 10 | 73.7 ± 50.70**△ | 4.6 ± 6.59* |
| 炒白芥子醚提取物 | 2.20 | 10 | 50.6 ± 38.39** | 5.2 ± 7.13 |
| | 1.10 | 10 | 53.3 ± 44.12** | 7.0 ± 8.65 |

与植物油对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与阳性对照组比较: △ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group of plant oil; △ $P < 0.05$ vs positive control group

剂量组,使小鼠的咳嗽次数明显减少的同时使小鼠咳嗽的潜伏期明显的延长,镇咳效果明显

3.2 祛痰实验结果:见表 3,4 结果表明炒白芥子水提取物和白芥子水提取物都有明显的祛痰作用,尤其是白芥子水提取物大剂量组祛痰效果明显。

3.3 平喘实验结果:见表 5,6 结果表明炒白芥子醚提取物小剂量组对 4% 氯化乙酰胆碱诱发豚鼠哮喘有明显预防作用。

表 3 白芥子水提取物的祛痰作用 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Expectorant effect of aqueous extract of *B. alba* ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量 / (mg·kg ⁻¹) | 动物只 | 痰量 / mm |
|------|-----------------------------|-----|--------------------------|
| NS对照 | - | 6 | 5.44± 1.57 |
| 氯化铵 | 0.666 | 10 | 9.16± 5.47 |
| 白芥子 | 0.686 | 6 | 13.17± 11.53* |
| | 0.343 | 6 | 10.77± 5.87 [†] |
| 炒白芥子 | 0.611 | 6 | 10.55± 4.80 [†] |
| | 0.305 | 6 | 12.63± 3.47 [†] |

与 NS对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs NS control group

表 4 白芥子醇及醚提取物的祛痰作用 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Expectorant effect of alcohol and ether extract of *B. alba* ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量 / (mg·kg ⁻¹) | 动物只 | 痰量 / mm |
|----------|-----------------------------|-----|-------------------------|
| 植物油对照 | - | 10 | 6.10± 3.36 |
| 氯化铵 | 0.666 | 10 | 9.16± 5.47 |
| 白芥子醇提取物 | 0.324 | 6 | 4.93± 4.33 |
| | 0.162 | 6 | 6.53± 4.27 |
| 炒白芥子醇提取物 | 0.322 | 6 | 6.37± 3.32 |
| | 0.161 | 6 | 6.18± 3.67 |
| 白芥子醚提取物 | 1.560 | 6 | 3.98± 1.43 |
| | 0.780 | 6 | 7.57± 4.53 |
| 炒白芥子醚提取物 | 2.200 | 6 | 9.02± 4.14 |
| | 1.100 | 6 | 9.07± 6.35 [†] |

与植物油对照组比较: * P < 0.05

* P < 0.05 vs control group of plant oil

表 5 白芥子水提取物的平喘作用 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Antiasthmatic effect of aqueous extract of *B. alba* ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量 / (mg·kg ⁻¹) | 动物只 | 引喘潜伏期 / s |
|------|-----------------------------|-----|---------------|
| NS对照 | - | 6 | 66.45± 19.28 |
| 氯化铵 | 125 | 9 | 128.73± 53.18 |
| 白芥子 | 0.686 | 6 | 51.44± 10.64 |
| | 0.343 | 6 | 59.28± 14.26 |
| 炒白芥子 | 0.611 | 6 | 70.9± 30.19 |
| | 0.305 | 6 | 71.09± 56.35 |

4 讨论

白芥子具有温肺化痰,利气散结的功效,临床上常用来消肿毒及祛痰等。作为三子养亲汤的味药,有明显的祛痰作用,属于恶心性祛痰药。目前国内对白

表 6 白芥子醇及醚提取物的平喘作用 ($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Antiasthmatic effect of alcohol and ether extract of *B. alba* ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量 / (mg·kg ⁻¹) | 动物只 | 引喘潜伏期 / s |
|----------|-----------------------------|-----|-----------------|
| 植物油对照 | - | 6 | 60.29± 16.55 |
| 氯化铵 | 125 | 9 | 128.73± 53.18 |
| 白芥子醇提取物 | 0.324 | 6 | 54.27± 15.50 |
| | 0.162 | 6 | 46.90± 14.30 |
| 炒白芥子醇提取物 | 0.322 | 6 | 65.60± 16.54 |
| | 0.161 | 6 | 53.94± 14.02 |
| 白芥子醚提取物 | 1.560 | 6 | 76.78± 52.86 |
| | 0.780 | 6 | 50.93± 9.38 |
| 炒白芥子醚提取物 | 2.200 | 6 | 75.76± 36.11 |
| | 1.100 | 6 | 133.53± 53.14** |

与植物油对照组比较: *** P < 0.001

*** P < 0.001 vs control group of plant oil

芥子的药理研究主要侧重于其抑菌作用、辐射保护作用 and 抗雄激素作用^[3]。在临床可用于治疗呼吸道疾病、高血压和抑制前列腺增生并有一定的抗衰老功效^[4,5]。国外有关白芥子的临床报道与国内相似,也是作为化痰剂、催吐剂、缓痛剂、刺激剂,但它还被用于治疗坏血病,用作发汗剂、利尿剂、兴奋剂等,内服时还可治疗胃肠功能紊乱^[6]。

本研究在初步分离提取白芥子活性成分的基础上,分别对白芥子的水提取物、醇提取物、石油醚提取物进行了传统的镇咳、祛痰和平喘实验。结果显示,除了白芥子水提取物的大剂量组具有良好的祛痰作用外,炒白芥子醇提取物小剂量组还具有显著的镇咳作用;炒白芥子石油醚提取物小剂量组具有平喘作用。据此可以判定,白芥子镇咳平喘的有效成分集中于其极性小的成分中,脂溶性比较大;其祛痰的成分则集中在其极性大的成分中,水溶性较大。至于白芥子镇咳、祛痰、平喘作用的药理机制及其有效成分的确定有待于进一步的研究。

References

- [1] Chen Q. *Methodology in pharmacological study on Chinese Materia Medica* (中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.
- [2] Xu S Y. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1982.
- [3] Li Q. Radiation protection effects of sinapine on drosophila melanogaster in a sex-linked recessive lethal test system [J]. *Acta Biol Exp Sin* (实验生物学报), 1993, 26(3): 269-274.
- [4] Bo L H. Study on the anti-senile effects of complex white mustard seed adhesive plaster [J]. *Chin J Tradit Med Sci Technol* (中国中医药科技), 1997, 4(4): 228-230.
- [5] Gao Y H. The clinical application of *Brassica alba*. [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 1998, 9(4): 304.
- [6] Ou M R. A brief review on the study of seeds of *Brassica alba* [J]. *Straits Pharm J* (海峡药学), 2001, 13(2): 8.