

五虎汤 6 种活性成分对离体豚鼠气管平滑肌的作用

迟天燕, 纪雪飞, 夏明钰, 荣语媚, 邱 峰, 邹莉波*
(沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016)

[摘要] 目的: 观察灌胃五虎汤制剂后大鼠体内出现的 6 种化学成分麻黄碱、甘草酸、甘草次酸、龙脑、松油醇、苯乙醇的平喘作用。方法: 采用豚鼠离体气管螺旋条法筛选 6 种化学成分的平喘作用。结果: 6 种物质对组胺所致豚鼠气管平滑肌的收缩均有抑制作用。结论: 以上成分为五虎汤平喘作用的物质基础。

[关键词] 五虎汤; 平喘; 豚鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)03-0052-04

Effect of Six Extractions from Wuhu Decoction on Isolated Tracheal Smooth Muscle in Guinea Pig

CHI Tian-yan, JI Xue-fei, XIA Ming-yu, RONG Yu-mei, QIU Feng, ZOU Li-bo*
(Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of ephedrine, glycyrrhizic acid, glycyrrhetic acid, borneol, terpineol and phenethyl alcohol which were extracted from Wuhu Decoction on isolated tracheal smooth muscle in guinea pig. **Methods:** The effects of these six extractions from Wuhu Decoction were in vitro investigated in the contraction of tracheal strips of the guinea pig trachea. **Results:** Six extractions from Wuhu-Tang can prevent histamine-induced in vitro bronchoconstriction of guinea pig. **Conclusion:** The results indicated that these compounds had antiasthmatic effect and might be the base of antiasthmatic effect of Wuhu Decoction.

[Key words] Wuhu Decoction; antiasthmatic effect; guinea pig

[收稿日期] 2008-04-08

[通讯作者] * 邹莉波, Tel: (024) 23986260; E-mail: libozou@163.com

五虎汤源于《医宗金鉴》, 由麻黄 12 g, 杏仁 12 g, 石膏 40 g, 甘草 9 g, 桑白皮 15 g, 细辛 5 g, 生姜 15 g, 7 味中药组成。功效为宣泄肺热, 平治暴喘, 适用于风热客肺, 痰热壅肺的发热喘促病症。临床上主

要用于肺热咳喘等呼吸系统疾病,具有良好的疗效^[1,2]。本研究通过对大鼠灌胃五虎汤制剂后的血浆、尿、胆汁中的化学成分进行分析和鉴定所获得的 6 种化学成分麻黄碱、甘草酸、甘草次酸、龙脑、松油醇、苯乙醇的平喘作用进行了筛选,以确定五虎汤的体内物质作用基础。

1 材料

1.1 药品与试剂 麻黄碱、甘草酸、甘草次酸、龙脑、松油醇、苯乙醇:由沈阳药科大学中药学院邱峰教授提供;磷酸组织胺(上海丽珠东风生物技术有限公司);其他试剂均为沈阳化学试剂厂产品。

1.2 动物 成年豚鼠,体重 300 g,雄性,由中国医

科大学实验动物中心提供,合格证号:辽实动字 034 号。

1.3 仪器 超级恒温水浴器,辽阳市恒温仪器厂;RM6240BD 型多道生理信息采集处理系统,成都仪器厂;麦式浴槽;张力换能器。

2 方法

2.1 气管条的制备 将豚鼠猛击头部致死,迅速切开颈部皮肤,分离气管,从甲状软骨下至气管与肺连接处剪下,气管放入盛有营养液的培养皿,仔细剔除气管周围结缔组织,将气管剪成 2 mm × 2 cm 螺旋条。

6 种五虎汤活性成分对组胺所致豚鼠离体气管平滑肌收缩的收缩百分率($\bar{x} \pm s, n = 8$)

样品	组别	组胺(mol·L ⁻¹)								
		1 × 10 ⁻⁸	3 × 10 ⁻⁸	1 × 10 ⁻⁷	3 × 10 ⁻⁷	1 × 10 ⁻⁶	3 × 10 ⁻⁶	1 × 10 ⁻⁵	3 × 10 ⁻⁵	1 × 10 ⁻⁴
龙脑	空白对照组	12.3 ± 9.3	14.7 ± 6.9	19.9 ± 6.7	21.5 ± 6.9	33.2 ± 9.7	46.0 ± 15.0	63.4 ± 18.8	83.0 ± 11.9	100 ± 0
	1 × 10 ⁻⁵	6.6 ± 5.7	6.9 ± 7.2 ¹⁾	12.3 ± 12.0	16.8 ± 13.2	24.0 ± 13.3	31.2 ± 15.0	46.0 ± 16.4	62.5 ± 15.5 ¹⁾	94.9 ± 16.6
	1 × 10 ⁻⁴	4.8 ± 3.0 ¹⁾	6.0 ± 2.7 ²⁾	8.9 ± 5.3 ²⁾	13.8 ± 6.9 ¹⁾	14.8 ± 10.3 ¹⁾	26.3 ± 14.0 ¹⁾	40.3 ± 17.7 ¹⁾	51.6 ± 25.5 ²⁾	69.0 ± 12.6 ³⁾
	1 × 10 ⁻³	3.4 ± 1.3 ¹⁾	4.3 ± 2.4 ²⁾	3.9 ± 1.8 ³⁾	5.30 ± 2.0 ³⁾	11.2 ± 8.5 ³⁾	14.0 ± 8.1 ³⁾	19.8 ± 7.8 ³⁾	29.2 ± 10.5 ³⁾	44.1 ± 7.2 ³⁾
松油醇	空白对照组	9.0 ± 6.8	15.4 ± 10.9	21.9 ± 14.2	25.3 ± 13.8	32.7 ± 12.0	45.6 ± 14.4	62.0 ± 16.8	84.4 ± 12.3	100 ± 0
	1 × 10 ⁻⁵	7.6 ± 5.2	11.2 ± 5.1	17.2 ± 8.3	19.6 ± 8.9	24.1 ± 12.8	34.1 ± 29.6	54.5 ± 26.4	73.5 ± 23.7	90.3 ± 14.6
	1 × 10 ⁻⁴	6.0 ± 3.3	8.8 ± 4.0	13.0 ± 6.9	17.5 ± 10.5	21.8 ± 11.5	30.4 ± 10.4 ¹⁾	47.1 ± 11.0	65.4 ± 13.8 ¹⁾	74.9 ± 9.2 ³⁾
	1 × 10 ⁻³	3.5 ± 3.7	6.0 ± 4.6 ¹⁾	7.0 ± 4.1 ¹⁾	10.0 ± 4.6 ²⁾	12.9 ± 6.2 ²⁾	20.7 ± 6.4 ³⁾	31.7 ± 10.8 ³⁾	49.9 ± 10.4 ³⁾	55.9 ± 11.2 ³⁾
苯乙醇	空白对照组	12.0 ± 12.0	18.6 ± 12.1	26.5 ± 11.3	38.0 ± 11.5	53.7 ± 19.0	66.3 ± 20.0	78.9 ± 17.7	90.9 ± 9.8	100 ± 0
	1 × 10 ⁻⁵	8.9 ± 7.2	11.6 ± 8.8	17.5 ± 11.9	24.7 ± 15.4	33.0 ± 20.9	49.8 ± 23.3	65.0 ± 19.9	75.2 ± 14.5 ¹⁾	94.2 ± 2.2 ³⁾
	1 × 10 ⁻⁴	3.1 ± 1.3	3.6 ± 2.0 ¹⁾	14.1 ± 11.5	18.5 ± 14.2	31.5 ± 20.7	46.3 ± 19.4	59.7 ± 11.7	73.1 ± 8.7	86.1 ± 1.0 ³⁾
	1 × 10 ⁻³	18.7 ± 10.9	22.2 ± 8.4	31.1 ± 10.7	33.4 ± 14.3	38.7 ± 13.4	46.4 ± 10.2	55.0 ± 11.6	64.4 ± 7.5 ²⁾	73.9 ± 2.5 ³⁾
甘草次酸	空白对照组	17.5 ± 16.3	17.3 ± 15.2	28.0 ± 25.4	30.6 ± 25.7	40.7 ± 29.1	50.0 ± 24.7	64.0 ± 18.6	76.4 ± 13.4	100 ± 0
	1 × 10 ⁻⁵	14.6 ± 18.7	10.9 ± 8.4	16.1 ± 8.8	27.1 ± 19.3	37.9 ± 16.3	45.3 ± 13.4	59.7 ± 11.1	74.9 ± 12.2	89.2 ± 8.8 ²⁾
	1 × 10 ⁻⁴	8.3 ± 4.3	16.3 ± 11.5	19.2 ± 12.4	20.0 ± 15.2	28.9 ± 14.1	37.5 ± 15.9	50.2 ± 19.8	64.0 ± 16.1	77.4 ± 8.3 ³⁾
	1 × 10 ⁻³	8.0 ± 6.1	14.1 ± 10.0	14.2 ± 6.6	19.0 ± 6.6	24.9 ± 9.2	29.4 ± 9.8	36.4 ± 9.2 ²⁾	41.6 ± 7.1 ³⁾	50.0 ± 2.5 ³⁾
甘草酸	空白对照组	12.8 ± 6.3	18.6 ± 7.2	23.3 ± 8.3	30.4 ± 9.3	33.6 ± 8.7	45.3 ± 8.0	65.1 ± 6.1	85.0 ± 7.2	100 ± 0
	1 × 10 ⁻⁵	5.7 ± 4.0 ¹⁾	9.5 ± 6.4 ¹⁾	13.7 ± 7.2 ¹⁾	20.0 ± 11.7	24.2 ± 13.1	36.9 ± 15.3	53.1 ± 15.6	78.6 ± 11.8	93.8 ± 1.4 ³⁾
	1 × 10 ⁻⁴	4.4 ± 1.7 ²⁾	5.8 ± 4.0 ³⁾	11.0 ± 8.2 ²⁾	17.3 ± 7.7 ¹⁾	25.1 ± 11.2	37.3 ± 14.1	52.3 ± 16.9	69.3 ± 14.7 ²⁾	88.1 ± 5.1 ³⁾
	1 × 10 ⁻³	2.9 ± 1.8 ³⁾	3.8 ± 3.1 ³⁾	6.4 ± 4.0 ³⁾	11.0 ± 5.4 ³⁾	16.8 ± 6.1 ³⁾	23.8 ± 11.4 ³⁾	36.0 ± 14.3 ³⁾	51.4 ± 10.4 ³⁾	68.0 ± 6.7 ³⁾
麻黄碱	空白对照组	5.0 ± 2.6	7.4 ± 4.9	16.3 ± 12.2	22.8 ± 14.4	35.4 ± 15.6	52.9 ± 14.5	71.0 ± 12.8	88.5 ± 7.6	100 ± 0
	1 × 10 ⁻⁵	7.3 ± 4.8	12.0 ± 6.0	18.1 ± 6.3	25.5 ± 7.0	34.6 ± 9.5	49.7 ± 12.2	67.3 ± 12.9	78.7 ± 10.6	85.5 ± 5.4 ³⁾
	1 × 10 ⁻⁴	3.0 ± 3.0	8.3 ± 6.0	14.3 ± 8.1	18.9 ± 7.3	29.5 ± 11.3	40.7 ± 16.6	62.3 ± 13.3	73.8 ± 8.0 ²⁾	76.4 ± 7.7 ³⁾
	1 × 10 ⁻³	7.1 ± 3.8	10.1 ± 5.9	15.1 ± 3.7	17.8 ± 3.9	19.3 ± 5.8 ¹⁾	24.7 ± 7.6 ³⁾	31.2 ± 6.7 ³⁾	43.1 ± 8.3 ³⁾	50.5 ± 5.1 ³⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01, ³⁾ P < 0.001。

2.2 6 种五虎汤移入体内成分对组胺所致豚鼠气管平滑肌的收缩抑制作用 配制 Krebs-Henseleit 液, 葡萄糖调节 pH 值至 7.4, 通氧饱和 30 min; 麻黄碱、甘草酸溶于蒸馏水, 配成相应浓度。龙脑、甘草次酸、松油醇及苯乙醇以 95% 乙醇助溶, 加入蒸馏水, 配成所需浓度的溶液。95% 乙醇的体积分别占总体积的 20%, 20%, 30%, 30%。水浴恒定在 $37 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$, 气管条一端系在 L 型氧气钩上, 放入麦式浴槽中, 将另一端接张力换能器, 通氧, 保持每分钟 40~60 个气泡。打开 RM6240BD 型多道生理信息采集处理系统及张力换能器, 使之稳定, 记录 2 g 负荷时曲线升高高度。气管在浴槽中稳定 30 min 后, 给磷酸组胺使浴槽终浓度为 $1 \times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 曲线达到最大值时冲洗至基线, 再给同浓度的磷酸组胺, 如此直至曲线达到的最大值基本相同, 视为稳定。先加入空白溶液(对照)或 $10^{-5} \sim 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 受试物, 稳定 5 min 后, 累积剂量加药法加入磷酸组胺 $10^{-8} \sim 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 观察并记录曲线变化。每加入 1 个浓度的受试物之前, 都应使曲线基本恢复到基线位置。以对照处理的磷酸组胺收缩幅度为 100%, 计算受试物各浓度下, 气管的收缩百分率, 并计算 PD'_2 。本论文采用非竞争性拮抗剂 PD'_2 作为参数, 来考察受试物作用的强弱。

2.3 统计处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

由图 1~6 可见, 受试药物可使磷酸组胺的对数浓度-效应曲线最大效应压低, 但曲线位置不变, 说明 6 种受试物对组胺所致豚鼠离体气管平滑肌的收缩有抑制作用, 该作用为非竞争性拮抗。 PD'_2 值分别为: $\text{PD}'_{2\text{龙脑}} = 4.264 0$; $\text{PD}'_{2\text{甘草次酸}} = 3.944 7$; $\text{PD}'_{2\text{麻黄碱}} = 3.861 4$; $\text{PD}'_{2\text{松油醇}} = 3.808 0$; $\text{PD}'_{2\text{甘草酸}} = 3.134 0$; $\text{PD}'_{2\text{苯乙醇}} = 2.834 7$ 。

4 讨论

本实验结果表明, 麻黄碱、甘草酸、甘草次酸、龙脑、松油醇、苯乙醇对组胺所致离体豚鼠气管平滑肌收缩均有抑制作用, 且均为非竞争性拮抗组胺的作用, 其作用强弱顺序如下: 龙脑 > 甘草次酸 > 麻黄碱 > 松油醇 > 甘草酸 > 苯乙醇。有文献报道龙脑可对抗 α -肾上腺素受体的兴奋^[3], 从而使平滑肌松弛, 缓解哮喘症状; 龙脑还具有较强的抗炎作用, 其机制可

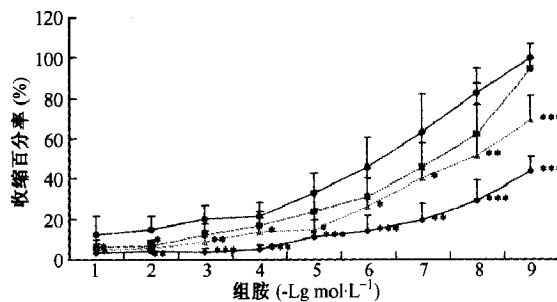


图 1 龙脑对组胺收缩豚鼠离体支气管平滑肌量效曲线的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

●-●: 空白对照; ■-■: 龙脑 $1 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$;
▲-▲: 龙脑 $1 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; ◆-◆: 龙脑 $1 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
注: 与空白对照组比较: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ (下同)。

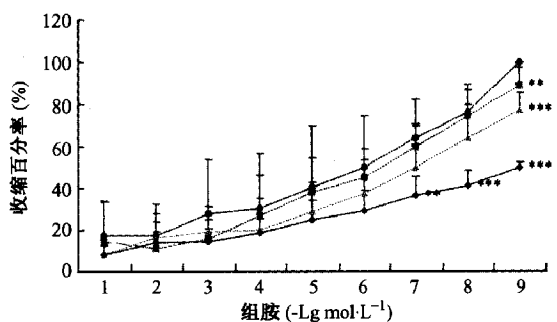


图 2 甘草次酸对组胺收缩豚鼠离体支气管平滑肌量效曲线的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

注: ●-●: 空白对照; ■-■: $1 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$;
▲-▲: $1 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; ◆-◆: $1 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

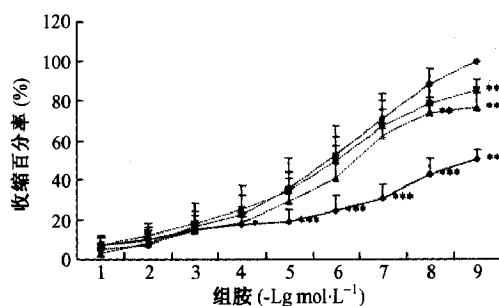


图 3 麻黄碱对组胺收缩豚鼠离体支气管平滑肌量效曲线的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

注: ●-●: 空白对照; ■-■: $1 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$;
▲-▲: $1 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; ◆-◆: $1 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

能是拮抗 PGE 和其他炎症介质的释放^[4]。麻黄中的平喘有效成分麻黄碱用于临床平喘机制已被阐明, 包括 β -受体激动作用, 抗炎作用及抗过敏作用。甘草次酸是中药甘草酸的体内代谢成分, 其平喘作用机制可能与抗炎作用有关^[5]。目前未见到有文献报道甘草次酸的直接平喘作用, 但甘草次酸钠可显著

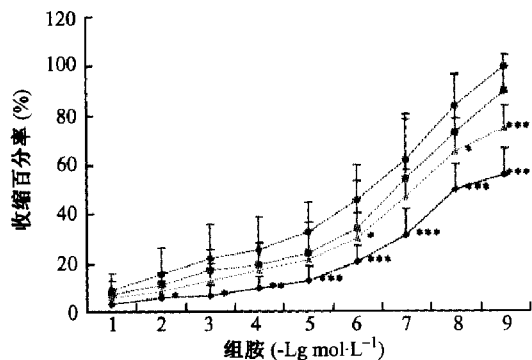


图4 松油醇对组胺收缩豚鼠离体支气管平滑肌量效曲线的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

注: ●-●:空白对照; ■-■: $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$;
▲-▲: $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; ◆-◆: $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

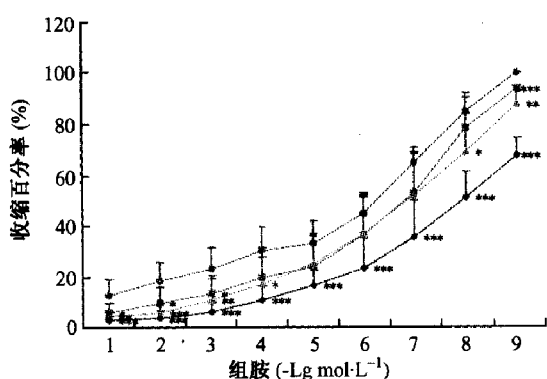


图5 甘草酸对组胺收缩豚鼠离体支气管平滑肌量效曲线的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

注: ●-●:空白对照; ■-■: $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$;
▲-▲: $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; ◆-◆: $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

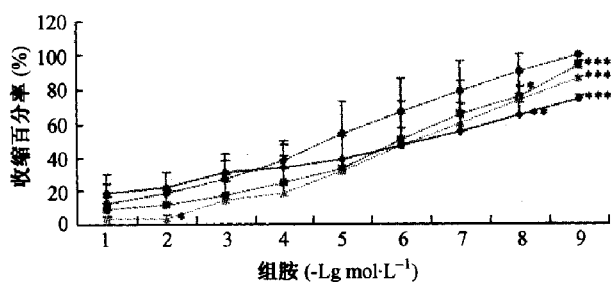


图6 苯乙醇对组胺收缩豚鼠离体支气管平滑肌量效曲线的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

注: ●-●:空白对照; ■-■: $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$;
▲-▲: $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; ◆-◆: $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

对抗组胺和乙酰胆碱引起的豚鼠气管收缩和离体豚鼠肺溢流量,能升高细胞内cAMP水平,从而降低细胞内 Ca^{2+} 浓度,达到松弛气管平滑肌、降低气道

阻力的作用^[6]。松油醇药理作用尚未见报道。本实验结果表明松油醇有平喘作用,其机制可能为松弛平滑肌作用及抗变态反应、抗过敏作用^[7]。一些体外实验证明,甘草酸可增强巨噬细胞产生NO的能力^[8],从而通过非肾上腺素能非胆碱能神经系统发挥平喘作用。苯乙醇胺类化合物是一类 β_2 -肾上腺素受体激动剂^[9]。苯乙醇胺类具有较强的抗菌活性,它也是连翘的主要成分,对其平喘作用的机制还有待进一步研究。

本课题研究的6种物质均是给大鼠灌胃五虎汤后,在动物排泄物中得到的成分。这种对中药复方活性成分的研究方法,避免了直接用中药分离提取化学成分或者从血液中分离化学成分进行药理研究的局限性和复杂性,为中药作用机制在分子水平上研究提供了更直接、更可靠的基础。

[参考文献]

- [1] 赖天松. 临床方剂手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1992. 28-28.
- [2] 杨 旺. 五虎汤佐治小儿肺炎 99 例[J]. 中西医结合杂志, 1991, 11(4): 240-240.
- [3] 贾筠生, 严凌鹤, 莫启忠, 等. 苏冰滴丸抗心肌缺血原理的实验研究[J]. 上海中医药杂志, 1982, (5): 46.
- [4] 江光池, 杨胜华, 冯旭军. 龙脑和异龙脑的抗炎作用[J]. 华西药学杂志, 1990, 5(3): 190-191.
- [5] 杨锦南, 朱 明. 甘草次酸及其衍生物药理作用研究进展[J]. 中国药理学通报, 1997, 13(2): 110-114.
- [6] 包金凤. 甘草次酸药理作用研究进展[J]. 兰州医学院学报, 1994, 20(1): 50-52.
- [7] 唐法娣, 王 砚, 谢强敏, 等. 单萜类的气管扩张和抗变态反应作用[J]. 中药药理与临床, 1999, 15(6): 8-10.
- [8] 高学敏. 中药学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 1483.
- [9] 赵冬梅, 郭秋明, 程卯生, 等. 苯乙醇胺类化合物的合成及其支气管扩张活性[J]. 中国药物化学杂志, 2000, 10(4): 262-265.