

马齿苋水提取物的平喘作用研究

王国玉 李 伟 赵 翠 王浩宇

(河北省承德医学院附属医院,承德,067000)

摘要 目的:观察马齿苋水提取物(Water Extract of Portulaca Oleracea L, WEPO)平喘作用及对气管平滑肌张力的影响。方法:采用超声雾化磷酸组胺-氯化乙酰胆碱诱发豚鼠喘息模型,选取引喘潜伏期 <120 s豚鼠,随机分为WEPO 1.25 g/kg、2.5 g/kg、5.0 g/kg(生药)剂量组,阳性对照组(氨茶碱20 mg/kg)和空白对照组。以引喘潜伏期及因呼吸困难、窒息发生抽搐跌倒动物比率为指标,评价WEPO的平喘作用;采用豚鼠离体完整气管毛细管法,以毛细管液面高度的变化值(Δh)和 $\sqrt{\Delta h}$ 为指标,观察WEPO对气管平滑肌张力的影响。结果:WEPO低、中、高3个剂量组豚鼠引喘潜伏期分别为 (108.2 ± 19.1) s, (211.3 ± 45.2) s和 (226.9 ± 41.5) s,均明显长于空白对照组 (59.5 ± 10.8) s($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),WEPO中、高剂量组发生抽搐跌倒动物比率分别为40%和30%,显著低于空白对照组100%($P < 0.05$)。WEPO低、中、高剂量组 Δh 值分别为 (-5.02 ± 1.03) , (-8.78 ± 2.04) , (-10.32 ± 2.24) ,与空白对照组 (-0.5 ± 0.21) 比较差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);WEPO低、中、高剂量组 $\sqrt{\Delta h}$ 值分别为 (2.24 ± 1.01) , (2.96 ± 1.42) , (3.21 ± 1.49) 高于空白对照组 (0.71 ± 0.45) 。结论:WEPO对豚鼠喘息模型有显著的平喘作用,其作用与松弛气管平滑肌,改善通气量有关。

关键词 马齿苋;水提取物;平喘;气管平滑肌

Study on Anti-asthma of Water Extract of Portulaca Oleracea

Wang Guoyu, Li Wei, Zhao Cui, Wang Haoyu

(Affiliated Hospital of Chengde Medical College Hebei Province, Chengde 067000, China)

Abstract Objective: To evaluate the effects of WEPO on the anti-asthma and on tension of tracheal smooth muscle. **Methods:** Asthmatic model was induced by ultrasonic atomization inhalation of histamine phosphate-acetylcholine chloride in guinea pig. The guinea pigs whose incubation period of asthma was less than 120s were selected and divided randomly they into 5 groups which were 1.25 g/kg, 2.5 g/kg, 5.0 g/kg of WEPO group, Ami 20 mg/kg group and control group. To evaluate anti-asthma the latent period induced asthma, the numbers of tracheal smooth muscle, the height of liquid in the capillary was recorded, and the difference of height of liquid between before and after treated by WEPO(Δh) and $\sqrt{\Delta h}$ were computed. **Results:** The latent period induced asthma in low, medium and high-dose group were (108.2 ± 19.1) s, (211.3 ± 45.2) s and (226.9 ± 41.5) s respectively and these were lower than (59.5 ± 10.8) s control group($P < 0.05$ or $P < 0.01$). In WEPO medium and high-dose group the rate of asphyxia of animals were 40% and 30% respectively, and these were significantly lower than in control group($P < 0.05$). In low, medium and high dose group, Δh were (-5.02 ± 1.03) , (-8.78 ± 2.04) , (-10.32 ± 2.24) respectively and these were significantly lower than (-0.5 ± 0.21) in control group($P < 0.05$ or $P < 0.01$). In low, medium and high-dose group $\sqrt{\Delta h}$ were (2.24 ± 1.01) , (2.96 ± 1.42) , (3.21 ± 1.49) , these were significantly lower than (0.71 ± 0.45) in control group($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** WEPO has significant anti-asthmatic effect and the effects are related with relaxation of tracheal smooth muscle and improve ventilation.

Key Words Portulaca oleracea L; Water extract; Relieving asthma; Tracheal smooth muscle

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.10.025

马齿苋是马齿苋科马齿苋属一年生草本植物,分布广泛,生长迅速^[1],营养丰富,含有多营养物质,为天然保健食品^[2-3];对于多种致病菌有较强的抑制作用,称之为“天然抗生素”。《中华人民共和国药典》收载马齿苋具有清热解毒、凉血止血、止痢^[4]等作用,对于小儿百日咳、病毒性肝炎、扁平疣有治疗作用,亦有

升血钾及收缩子宫的作用^[5],对于皮肤粗糙干燥、夜盲症、矽肺、肺结核、皮炎、各种痈肿等治疗有效。现代药理研究表明马齿苋具有抗菌、抗病毒^[6]、降血脂、降血糖、抗动脉硬化^[7-8],抗衰老、抗氧化、提高机体免疫力等多种作用^[9]。民间应用马齿苋治疗咳嗽、哮喘有明显疗效,且无不良反应。目前未见关于马齿苋平喘作

基金项目:承德市科技局资助项目(编号:20122158)

作者简介:王国玉(1980—),女,河北省承德市人,医学硕士,承德医学院附属医院主治医师,主要研究方向:哮喘的治疗, E-mail: wgy031213@163.com

通信作者:王浩宇(1978—),主治医师,承德医学院附属医院,主要研究方向:哮喘的治疗

用研究的报道,本研究采用超声雾化磷酸组胺-氯化乙酰胆碱诱发的豚鼠哮喘模型观察马齿苋的平喘作用;采用离体气管平滑肌实验,初步探讨马齿苋对气管平滑肌张力的影响,为其临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 药物 马齿苋干燥地上部分采自河北省承德市,经承德医学院药用植物研究室赵春颖副研究员鉴定为马齿苋科植物 *Portulaca oleracea* L. 的干燥地上部分。药材标本保存于承德医学院中药研究所药理毒理研究室。WEPO 的制备^[10]:取干燥马齿苋 50 g,加入 8 倍量的蒸馏水浸泡 3 h,煎煮 30 min,过滤。滤渣加适量蒸馏水再煎煮 30 min,过滤,合并滤液,减压浓缩至 100 mL,得马齿苋水提取液(含生药 0.5 g/mL),备用,临用时用蒸馏水稀释为适当浓度。

1.2 试剂 磷酸组胺(Histamine Diphosphate, His),上海恒盛生物科技有限公司生产,批号:20100224;氯化乙酰胆碱(Acetylcholine Chloride, AchC),上海蓝源生物科技有限公司生产,批号:20101024;氨茶碱溶液(Aminophylline, Ami):内蒙古蒙欣药业有限公司生产,批号:100904。

1.3 实验仪器 MacLab/4e 生理记录仪,恒温离体浴槽,张力换能器均为澳大利亚 AD Instrument 生产。

1.4 实验动物 豚鼠,雌雄兼用,体重 160~180 g(平喘实验)、300~350 g(离体气管实验)。由承德医学院实验动物中心提供。

1.5 方法

1.5.1 平喘实验^[11] 幼年豚鼠,体重 160~180 g,雌雄兼用,分别置于 4 000 mL 容积的密闭钟罩内,以超声雾化器喷雾 2% 氯化乙酰胆碱和 0.1% 磷酸组胺等容积混合液 15 s,立即取出豚鼠,记录豚鼠的引喘潜伏期(从喷雾开始到哮喘发作、呼吸极度困难,直至抽搐跌倒的时间),选取引喘潜伏期 <120 s 豚鼠 50 只供试验用。第 2 天将引喘潜伏期合格的豚鼠随机分为 5 组:WEPO 5.0 g/kg、2.5 g/kg、1.25 g/kg 组,Ami 20 mg/kg 组及空白对照组。每组 10 只,灌胃给药(ig),空白对照组 ig 等容积蒸馏水。连续给药 3 d,末次给药后 45 min,以药前同样方法引喘。记录引喘潜伏期及发生抽搐跌倒动物数。不喘者引喘潜伏期以 360 s 计。

1.5.2 离体完整气管实验(毛细管法)^[12] 取体重 300~350 g 豚鼠 60 只,雌雄兼用,处死,快速取下从喉头至气管分叉处的整条气管,置于盛有氧饱和 Krebs-Henseleit 营养液中,轻轻剥去其外周组织,用营养液冲净管腔内容物,按照文献方法^[8],将气管固定于离体完

整气管描记装置上。用注射器将整个系统充满营养液,排出气泡。将整个描记装置放入 20 mL 恒温麦氏浴槽内,恒温为 37 ℃,从浴槽底部通入 95% O₂ + 5% CO₂,15~20 个气泡/min,待毛细管内液面恒定 20 min,将此时液面作为药前液面高度。分别给予不同剂量的 WEPO(终浓度分别为 300 μg/mL,150 μg/mL,75 μg/mL);Ami(终浓度为 30 μg/mL)和 His(终浓度为 0.01 μg/mL),空白对照组给等体积的营养液。记录用药后毛细管检压计内液面高度,按文献方法^[13]计算给药前后液面高度的变化值(Δh)及 $\sqrt{\Delta h}$ 。

1.6 统计学方法 实验数据用($\bar{x} \pm s$)表示,计量资料采用单因素方差分析(one-way ANOVA)比较各组间差异的显著性,计数资料采用卡方检验(χ^2 检验)比较各组间差异的显著性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 WEPO 对 Ach-His 诱发豚鼠喘息潜伏期的影响

WEPO 各剂量组动物的引喘潜伏期均显著长于空白对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),并有一定的剂量依赖关系,提示 WEPO 对氯化乙酰胆碱和磷酸组胺诱发豚鼠的喘息模型有抑制作用,结果见表 1。

表 1 WEPO 对 Ach-His 诱发豚鼠喘息潜伏期的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

分组	剂量(g/kg)	潜伏期(s)		
		药前	A 药后	潜伏期延长(%)
空白对照	-	45.3 ± 8.1	59.5 ± 10.8	31.35
WEPO	1.25	41.8 ± 5.7	108.2 ± 19.1	158.85*
WEPO	2.5	42.9 ± 6.5	211.3 ± 45.2	168.4**
WEPO	5.0	45.2 ± 7.4	226.9 ± 41.5	181.3**
Ami	0.02	45.6 ± 8.1	278.0 ± 33.9	232.4**

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

2.2 WEPO 对喘息动物抽搐跌倒比率的影响 WEPO 2.5 g/kg 和 5.0 g/kg 剂量组动物抽搐跌倒比率分别为 40% 和 30%,显著低于空白对照组(100%);WEPO 1.25 g/kg 组动物抽搐跌倒的比率为 70%,低于空白对照组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。提示 WEPO 可减轻模型动物喘息的严重程度,结果见表 2。

表 2 WEPO 对喘息动物跌倒比率的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

分组	剂量(g/kg)	跌倒动物数(n)	跌倒比率(%)
空白对照	-	10 [△]	100
WEPO	1.25	7 [△]	70
WEPO	2.5	4*	40
WEPO	5.0	2*	30
Ami	0.02	2*	20

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与 Ami 组比较,[△] $P < 0.05$ 。

2.3 WEPO 对离体完整气管环状肌张力的影响

表3 WEPO 对豚鼠离体完整气管环状肌张力的影响 (n = 10, $\bar{x} \pm s$)

药物	剂量(μg/mL)	液面高度(mm)		Δh(mm)	$\sqrt{\Delta h}$
		药前	药后		
营养液对照	—	24.76 ± 5.1	24.24 ± 3.71	-0.5 ± 0.21	0.71 ± 0.45
WEPO	75	25.1 ± 4.5	20.1 ± 3.2	-5.02 ± 1.03 * ^{△△}	2.24 ± 1.01
WEPO	150	24.6 ± 3.7	15.8 ± 4.1	-8.78 ± 2.04 ** ^{△△}	2.96 ± 1.42
WEPO	300	23.9 ± 4.3	13.6 ± 3.1	-10.32 ± 2.24 ** ^{△△}	3.21 ± 1.49
Ami	30	25.3 ± 5.1	12.1 ± 2.5	-13.23 ± 3.42 ** ^{△△}	3.64 ± 1.85
His	0.01	24.8 ± 5.2	36.9 ± 5.3	12.13 ± 2.56 **	3.48 ± 1.60

注:药前与药后比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01;与 His 比较,^{△△}*P* < 0.01。

WEPO 可浓度依赖性降低毛细管液面的高度,各浓度组 Δh 和 $\sqrt{\Delta h}$ 均显著低于空白对照组,提示 WEPO 具有显著的松弛气管环状肌的作用,结果见表 3。

3 讨论

联合应用 His 和 Ach 诱发哮喘是一种常用哮喘模型,豚鼠是一种过敏体质的动物,易于诱发哮喘,His 和 Ach 通过引起豚鼠支气管痉挛,诱发喘息,严重的致使动物窒息,导致抽搐跌倒,具有松弛气管平滑肌作用的药物可减轻喘息的程度,减少动物由于支气管痉挛引起的窒息、抽搐跌倒的发生率。本研究结果显示,WEPO 延长引喘潜伏期,减少抽搐跌倒动物数,证明 WEPO 可抑制 His、Ach 诱发的支气管痉挛,减轻支气管痉挛的程度,说明马齿苋对支气管痉挛性喘息有明显的抑制作用。

离体完整气管毛细管实验的基本原理是气管的环状肌张力改变时,气管腔道容积发生改变,气管的长度基本保持恒定。所以,毛细管检压计液面的高度变化(Δh)与腔道容积变化值(ΔC²)呈正比(Δh ∝ ΔC²)。环状肌松弛时腔道容积增大,液面下降,反之,环状肌收缩时,腔道容积减小,液面升高。因此,气管环状肌反应与 Δh 的平方根($\sqrt{\Delta h}$)呈比例变化, $\sqrt{\Delta h}$ 可更客观的反应腔道容积变化与液面改变的比例关系^[13]。结果显示,WEPO 各浓度组检压计液面的高度显著下降,Δh 和 $\sqrt{\Delta h}$ 值显著大于空白对照组,说明其具有松弛气管环状肌,降低气管平滑肌张力,扩大气管腔道,改善气管的通气量,产生缓解喘息的作用。综上结果证明马齿苋具有较强的平喘作用,其作用与松弛气管环状肌密切相关。

哮喘是严重危害人类健康的常见病和多发病,哮喘病因复杂,包括病毒,细菌感染;过敏;某些药物或刺激性物质诱发的支气管痉挛等,发病机制至今尚未完全明确^[14]。目前临床用于治疗哮喘的药物主要是 β 受体激动剂,M 受体阻断剂、磷酸二酯酶抑制剂等^[15],均通过兴奋或抑制受体而产生松弛气管平滑肌的作

用,疗效可靠,但作用单一,不良反应较多,有许多禁忌证,限制其临床应用。

马齿苋具有清热解毒、抗病毒、抗菌、抗过敏,清除超氧自由基、提高机体免疫力等多种功效,近期研究证明,马齿苋有明显的镇咳、祛痰、抗炎等作用,对哮喘可产生多环节、多层次的综合性治疗作用,且无明显的不利反应,资源丰富,价格低廉,是一种值得深入研究可开发的药物。

参考文献

[1]胡宗进.马齿苋的开发利用[J].中国野生植物资源,1996,15(2):278-290.

[2]谭丽霞,周求良,尹建国,等.马齿苋的营养成分分析及其开发利用[J].中国野生植物资源,2000,19(21):49-50.

[3]郑华艳,王戩.马齿苋的开发利用[J].农产品开发,2000,5(7):22-23.

[4]高学敏.中药学[M].北京:中国中医药出版社,2002:150.

[5]赵旭功,吴经纬,张西荣,等.马齿苋的药理研究及临床应用[J].山东医药工业,2002,21(4):34-36.

[6]朱玉玲.马齿苋的药理活性及开发利用价值[J].开封医学学报,1998,18(1):47.

[7]贺圣文,赵仁宏,吴洪娟.野生马齿苋对家兔动脉粥样硬化形成影响[J].中华预防医学杂志,1997,31(2):91.

[8]王晓波,刘殿武,王本华,等.马齿苋对高脂动物血脂及脂质过氧化作用的干预实验研究[J].河北医科大学学报,2003,24(5):261-263.

[9]贺圣文,尤敏,苗乃法,等.野生马齿苋对 PHA 诱导的家兔淋巴细胞增值的影响[J].廊坊医学院报,1996,18(3):206-207.

[10]陈安山,刘志超,夏婷,等.地枇杷水煎液对小鼠镇咳作用的实验研究[J].右江民族医学院报,2009,31(5):784-785.

[11]张会宇,向绍杰,孟莉,等.中药细辛不同提取物平喘活性分析[J].辽宁中医杂志,2011,38(3):551-552.

[12]徐淑云,卞如濂.药理实验方法学[M].2版.北京:人民卫生出版社,1991:901-907.

[13]徐淑云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2002:1370-1371.

[14]罗砚曦.复方蛇床子平喘作用机制初探[J].中国医疗前沿,2009,4(1):6-7.

[15]葛均波,徐永健,梅长林,等.内科学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013:33-35.