

艾叶油的呼吸系统药理研究 - II ,抗过敏作用

谢强敏 唐法娣 王 砚 杨秋火 卞如濂(杭州 310031 浙江大学,国家医药管理局新药研究管理中心浙江呼吸药物研究实验室)

摘要 目的:本文研究艾叶油的抗过敏作用。方法:采用致敏豚鼠气管 Schultz-Dale 反应,组胺或氨甲酰胆碱引起的豚鼠气管收缩,大鼠被动皮肤过敏,5-羟色胺引起的大鼠皮肤毛细血管通透性增强,豚鼠肺组织释放过敏性慢反应物质(SRS-A),SRS-A 收缩豚鼠回肠等试验。结果:艾叶油抑制致敏豚鼠气管 Schultz-Dale 反应(IC_{50} :98.6 mg/L);100 mg/L 明显降低组胺或氨甲酰胆碱引起的豚鼠气管收缩 pD_2 值;明显抑制大鼠被动皮肤过敏(ID_{50} :0.22 g/kg)和 5-羟色胺引起的大鼠皮肤毛细血管通透性增强反应(ID_{50} :0.52 g/kg);抑制豚鼠肺组织释放 SRS-A(IC_{50} :49.7 mg/L);拮抗 SRS-A 对豚鼠回肠的收缩(IC_{50} :34.9 mg/L)。结论:艾叶油具有抗过敏作用,对呼吸道过敏反应有保护作用,是其治疗支气管哮喘和慢性气管炎作用机制之一。

关键词 艾叶油;色甘酸钠;抗过敏药;卵白蛋白;组胺;5-羟色胺;氨甲酰胆碱;过敏性慢反应物质;气管;肺

Studies on the respiratory pharmacology of essential oil extracted from *Artemisia argyi* - II , effects of antianaphylactic effects

ABSTRACT OBJECTIVE: To evaluate the antianaphylactic effects of essential oil extracted from *Artemisia argyi* .

METHODS: The following experiments were carried out: tracheal Schultz-Dale reaction in the sensitized guinea-pigs , histamine or carbarylcholine-induced tracheal contraction in guinea-pig , the passive cutaneous anaphylaxis and 5-HT-induced cutaneous capillary permeability in rats , the release of SRS-A in the lung of guinea pigs , and SRS-A-induced ileum contraction in guinea pig . **RESULTS:** The oil of *Artemisia argyi* inhibited the tracheal Schultz-Dale reaction in the sensitized guinea-pigs (IC_{50} : 98.6 mg/L) . At the concentration of 100 mg/L , the oil inhibited histamine or carbarylcholine-induced tracheal contraction in guinea-pig , shifting the dose-effect curve to the right . Moreover , the oil significantly inhibited the passive cutaneous anaphylaxis and 5-HT-induced cutaneous capillary permeability in rats (ID_{50} : 0.22 and 0.52 g/kg) , inhibited the release of SRS-A in the lung of guinea pigs (IC_{50} : 49.7 mg/L) , and inhibited the SRS-A-induced ileum contraction in guinea pig (IC_{50} : 34.9 mg/L) as well . **CONCLUSION:** Oil of *Artemisia argyi* has the effects of antianaphylaxis . It is beneficial for the treatment of asthma and chronic bronchitis .

KEY WORDS *artemisia argyi* essential oil , cromolyn sodium , antiallergic agents , ovalbumin , histamine , carbamylcholine , serotonin , SRS-A , trachea , lung

在前文中已经报道了艾叶油的支气管扩张、镇咳和祛痰作用^[1] ,并对艾叶油中分离的单体 α -萜品烯醇、葛缕醇、葛缕酮^[2]、 β -丁香烯醇^[3]进行了药理作用及机理探讨。本文重点研究艾叶油的抗过敏作用,现将研究方法和结果总结如下。

1 材料

1.1 药物与试剂 艾叶油(杭州正大青春宝药业有限公司,采用真空精溜法提取,批号:950120),盐酸沙丁胺醇(江苏盐城制药厂,批号:940212),色甘酸钠(上海信谊制药厂,批号:931001),富马酸酮替芬(上海第十六制药厂,批号:890902),卵白蛋白片(上海化学试剂采购供应站,批号:950105),磷酸组织胺(中科院上海生物化学研究所,批号:8605149),精制天花粉(中科院上海有机化学研究所惠赠,批号:860703),氢氧化铝凝胶(锦州渤海制药厂,批号:860111),浓缩百日咳菌苗液(浓度50亿/ml,卫生部上海生物制品研究所特制),伊文思蓝(上海化学试剂采购供应站从Fluka进口分装,批号:82-11-02),5-羟色胺硫酸肌酐(上海化学试剂采购供应站从瑞士进口分装,批号:650228),氨甲酰胆碱(CCH, Sigma Chemical Company,批号:104F-0834)。

1.2 动物 Hartley品系豚鼠、SD品系大鼠、NIH品系小鼠(浙江医科大学实验动物中心,合格证号:浙实验动物实施条件准字22-9601018)。

1.3 仪器 402型超声雾化器(上海合力医疗器械厂),721型分光光度计(上海分析仪器三厂),台式平衡记录仪(上海大华仪表厂)。

2 方法

2.1 豚鼠离体气管 Schultz-Dale 试验 按文献方法^[4],致敏豚鼠:5%卵白蛋白溶液1.0 ml分两后肢大腿im,0.8 ml ip以加强免疫,4周后处死豚鼠,取出气管,制备成气管片,气管条置37℃含KHPS液水浴槽内,通氧气,气管静止张力为1.5g,张力反应通过换能器输入记录仪,稳定30~40 min后,对照组加卵白蛋白2.4 mg/L,反应停止后再加入BaCl₂ 2×10^{-5} mol/L,使其达最大收缩反应;处理组先加入不同浓度艾叶油与标本接触5 min,再加入2.4 mg/L卵白蛋白,反应停止后再加入BaCl₂ 2×10^{-5} mol/L,使其达最大收缩反应。计算时以卵白蛋白/BaCl₂的最大收缩百分率作为指标。

2.2 组胺或氨甲酰胆碱引起的豚鼠气管平滑肌收缩试验 气管条置37℃含KHPS液水浴槽内,通氧气,气管静止张力为1.5g,张力反应通过换能器输入记录仪。稳定30~40 min后,加组胺或氨甲酰胆碱后记录量效曲线,换液后,加入艾叶油100 mg/L,与气管作用5 min后,开始累加组胺或CCH,求出组胺或CCH的pD₂。

2.3 大鼠被动皮肤过敏试验(PCA) SD大鼠,体重(150±16.0)g,♂♀各半,按文献方法^[5]实验。共6只,每鼠用精制天花粉1 mg和氢氧化铝凝胶200 mg混匀后于四足掌皮下注射,然后腹腔注射百日咳菌苗 1×10^9 ,14 d,从颈动脉取血,分离得血清置冰箱备用。此抗血清比价为1:120。另取正常SD大鼠48只,♂♀各半,体重130~160 g,用乙醚麻醉后,在大鼠背中线两侧将毛剪光,取上述抗血清1:40稀释,在两侧各皮内注射两

点,每点 0.1 ml,72h 后,艾叶油或扑尔敏 ig 1h 或色甘酸钠 iv 5 min 后,1 %伊文思蓝生理盐水 5ml/kg 和 0.2 %精制天花粉 5ml/kg,iv。30min 后处死大鼠,剪下蓝斑皮肤,剪碎后置试管内,加入丙酮-生理盐水(7:3)混合溶液 5ml,浸泡 48h 后,2000r/min 离心,取上清液,OD 610nm 测光密度。

2.4 组胺和 5-羟色胺诱发大鼠皮肤毛细血管通透性试验 取正常 SD 大鼠 48 只,♀ ♂各半,体重 130 ~ 160g,用乙醚麻醉后,在大鼠背中线两侧将毛剪光,每点皮内注射 0.02 %磷酸组胺 0.1 ml 或 0.005 % 5-羟色胺硫酸肌酐 0.1 ml 各 2 点,随即以 0.5 %伊文思蓝 5ml/kg iv,30 min 后,处死大鼠,剪下皮肤蓝斑,剪碎后置试管内,加丙酮-生理盐水 5ml,浸泡 48h,2000r/min 离心,取上清液,OD 610nm 测光密度。

2.5 致敏豚鼠肺组织释放 SRS-A 试验 按文献方法^[6],致敏豚鼠同上,放血处死,打开胸腔,用 Tyrode 氏液冲洗肺动脉使肺组织内的血液洗净,然后取出肺脏,将其剪成 1 mm³ 的碎块,经滤纸吸去水份后称取肺组织,每份 200mg 置试管内,加入 Tyrode 氏液 2.5 ml 或含有不同浓度艾叶油的 Tyrode 氏液 2.5 ml,37℃水浴 5 min,然后加 0.1 %卵白蛋白 0.5 ml 攻击,置 37℃水浴振摇 15 min,取出后用滤纸过滤得到含有过敏介质的滤液。SRS-A 测定:取正常豚鼠回肠 1cm,置 10ml 浴槽中,以 37℃Tyrode 液营养,张力换能器接记录仪描记,稳定 30 min,先以组胺定标,标出定量组胺所引起的回肠收缩高度,然后换入含阿托品 1 μg/ml,扑尔敏 0.06 μg/ml 的 Tyrode 氏液,稳定 10 min,加入不同的肺滤液,记录滤液引起的回肠收缩高度,然后与组胺引起回肠收缩的高度相比较。1u SRS-A = 5ng 组胺引起的收缩高度,计算出艾叶油的抑制 %。

2.6 SRS-A 引起离体豚鼠回肠收缩试验 实验方法同 SRS-A 测定法,先加入试验药物,接触 10 min,再加入 SRS-A。描记收缩幅度,计算艾叶油的抑制 %。

2.7 统计方法 用微机和 Sigma Stat 统计软件 (SigmaStat 1.01 for Windows 95,1992,Jandel corporation,USA),具体方法见结果中的表注。 $\bar{x} \pm s$.Bliss 权重法计算 ID₅₀和其 95 %可信限。

3 结果

3.1 对豚鼠离体气管 Schultz-Dale 反应的影响 艾叶油能明显抑制豚鼠气管 Schultz-Dale 反应,IC₅₀(95 %可信限)为 98.6(69.5 ~ 139.8) mg/L。

3.2 拮抗组胺或氨甲酰胆碱引起的豚鼠气管平滑肌收缩作用 艾叶油 100mg/L 对组胺和 CCH 均有明显的拮抗作用,给药前组胺和 CCH 的 pD₂ 值分别为 5.39

表 1 艾叶油对豚鼠离体气管 Schultz-Dale 反应的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, n = 8)

组 别	浓度/ mg·L ⁻¹	收缩幅度/ %	抑制/ %
对照		74.8 ± 17.4	
艾叶油	1	73.0 ± 24.3	2.1
	10	62.2 ± 18.7	16.8
	100	41.3 ± 15.3 ^{*1}	44.7
	1000	9.2 ± 7.2 ^{*2}	87.7

注:统计方法: Dunnett's,与对照组比较,^{*1} P < 0.05,^{*2} P < 0.01

± 0.07 和 7.44 ± 0.11,给药后的 pD₂ 值分别为 4.99 ± 0.15(P < 0.05)和 7.03 ± 0.09(P < 0.05)。

3.3 对大鼠 PCA 组胺和 5-羟色胺诱发大鼠皮肤毛细血管通透性增强的抑制作用 艾叶油 ig 呈剂量反应抑制大鼠 PCA 和 5-羟色胺引起的大鼠皮肤毛细血管通透性增高,ID₅₀(95 %可信限)分别为 0.22(0.15 ~ 0.32) g/kg和 0.52(0.42 ~ 0.65) g/kg,而对组胺引起的大鼠皮肤毛细血管通透性增高无明显影响(P > 0.05),色甘酸钠 5mg/kg iv 抑制大鼠 PCA 与生理盐水组比较, P < 0.001,结果见表 2。

表 2 艾叶油对大鼠 PCA 组胺和 5-羟色胺引起的大鼠皮肤毛细血管高通透性的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, n = 8)

组 别	剂 量	伊文思蓝渗出量/ μg·点 ⁻¹		
		PCA	组 胺	5-羟色胺
生理盐水	10ml/kg	3.34 ± 0.51	1.13 ± 0.15	4.38 ± 0.88
艾叶油	0.1g/kg	2.12 ± 0.59	1.01 ± 0.16	4.63 ± 0.66
	0.3g/kg	1.38 ± 0.44 ^{*1}	0.98 ± 0.10	2.36 ± 0.63 ^{*1}
	0.6g/kg	1.23 ± 0.51 ^{*2}	0.89 ± 0.10	1.79 ± 0.50 ^{*2}
色甘酸钠	5mg/kg	0.23 ± 0.21 ^{*3}		
扑尔敏	5mg/kg		0.57 ± 0.14 ^{*2}	3.64 ± 0.83

注:统计方法: Dunnett's,与生理盐水组比较,^{*1} P < 0.05,^{*2} P < 0.01,^{*3} P < 0.001。色甘酸钠组 iv,其余组均 ig

3.4 对致敏豚鼠肺组织释放 SRS-A 的影响 艾叶油呈剂量反应抑制致敏豚鼠肺组织释放 SRS-A,IC₅₀(95 %可信限)为 49.7(36.5 ~ 67.9) mg/L,结果见表 3。

3.5 拮抗 SRS-A 对豚鼠回肠的收缩作用 艾叶油明显抑制 SRS-A 对豚鼠回肠的收缩作用,IC₅₀(95 %可信限)为 34.9(24.5 ~ 49.7) mg/L,见表 4。

4 讨论

支气管哮喘是一种变态反应性疾病,发作时炎症细胞被激活,释放炎症介质和细胞因子(chemokines),引起支气管收缩、粘膜细胞高分泌、微血管渗漏、支气管高反应性^[7,8]。因此抑制炎症细胞活化、稳定细胞

表 3 艾叶油对致敏豚鼠肺组织释放 SRS- A 的抑制作用($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组 别	浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	SRS- A 释放 / $\text{IU} \cdot \text{g 肺组织}^{-1}$	抑制/ %
对照		6850 $\pm$ 587	
艾叶油	1	6583 $\pm$ 698	3.9
	10	5637 $\pm$ 394	17.7
	50	3650 $\pm$ 253 ^{*1}	46.7
	250	1640 $\pm$ 178 ^{*2}	76.1

注:统计方法: Dunnett' s , 与对照组比较, ^{*1} $P < 0.05$, ^{*2} $P < 0.01$

表 4 艾叶油对 SRS- A 引起豚鼠回肠收缩的抑制作用($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	收缩幅度/ g	抑制/ %
对照	8		0.86 $\pm$ 0.26	
艾叶油	6	1	0.82 $\pm$ 0.18	4.7
	8	10	0.56 $\pm$ 0.15 ^{*1}	34.9
	8	50	0.35 $\pm$ 0.16 ^{*2}	59.3
	7	250	0.24 $\pm$ 0.18 ^{*2}	72.1

注:统计方法: Dunnett' s , 与对照组比较, ^{*1} $P < 0.05$, ^{*2} $P < 0.01$

膜,阻止炎症介质和细胞因子形成和释放的药物能预防变态反应性疾病^[9]。但选择性很强的药物如抗组胺药、抗白三稀、肥大细胞稳定剂、支气管扩张剂单独应用时难以达到控制哮喘的目的,这是因为哮喘发作是一个比较复杂、多环节的病理过程。在前面一文中已报道了艾叶油_{ig}或气雾吸入对组胺和乙酰胆碱引起的豚鼠哮喘具有保护作用,明显延长哮喘潜伏期;并呈剂量依赖保护致敏豚鼠抗原攻击引起的呼吸频率、潮气量和气道流速改变;松弛静息豚鼠离体气管平滑肌;呈剂量依赖抑制枸橼酸引起的豚鼠咳嗽反应和促进小鼠气道酚红排泄。在本文中研究了艾叶油能抑制致敏豚

鼠气管 Schultz- Dale 反应;能明显降低组胺或氨甲酰胆碱引起的豚鼠气管收缩 pD_2 值;能明显抑制大鼠被动皮肤过敏和 5-羟色胺引起的大鼠皮肤毛细血管通透性增强反应;能抑制豚鼠肺组织释放 SRS- A 和拮抗 SRS- A 对豚鼠回肠的收缩反应。这些资料充分证明了艾叶油在支气管扩张、抗过敏、镇咳和祛痰多方面的药理作用,虽然作用不是很强,但其作用范围较广,符合哮喘发病变态反应→炎症→气道痉挛的病理变化过程的防治,这些在临床哮喘和慢性气管炎治疗中已得到了验证。

参考文献

1 谢强敏,卞如濂,杨秋火,等.艾叶油的呼吸系统药理研究.1/支气管扩张、镇咳和祛痰作用.中国现代应用药学杂志,1999,16(4):16.

2 唐法娣,谢强敏,王砚,等.葛缕酮的气道扩张作用和呼吸道抗过敏作用.中国药理学通报,1999,15(3):235.

3 唐法娣,卞如濂,谢强敏,等.β-丁香烯醇的药理研究.中国药理学通报,1991,7(2):145.

4 Bobichaud LJ, Webster K, Herzig DJ. Inhibition of a modified Schultz- Dale reaction by isoproterenol and procaterol. J Allergy Clin Immunol, 1980, 65: 216.

5 卞如濂,谢强敏,郭海燕,等.新平喘药噻哌酮的药理作用初步观察.浙江医科大学学报,1982,11:236.

6 卞如濂,杨秋火,陈莲凤,等.变态反应的慢反应物质(SRS- A)的提取和检定法及艾叶油的抗 SRS- A 作用的探索.浙江医科大学学报,1981,11(4):22.

7 Nadel JA, Busse WW. Asthma. Am J Respir Crit Care Med, 1998, 157: s130.

8 Alam RA. Chemokines in allergic inflammation. Eur Respir J, 1997, 99: 273.

9 Beaker JW, Bierman CW. Prophylactic anti-asthma drugs. In: Page CP and Metzger EJ, eds. Drugs and Lung. New York: Raven Press. 1994: 221.