

大蒜油对实验小鼠的镇咳祛痰作用

陈佳敏, 许志威*, 鄢文佳, 郑浩锋, 梁盛华, 田旭东, 李维榕(中山大学中山医学院, 广州 510080)

摘要: 目的 探讨大蒜油对小鼠的镇咳祛痰作用。方法 以玉米油作为溶剂溶解大蒜油, 将大蒜油分高(100 mg·kg⁻¹)、中(50 mg·kg⁻¹)、低(25 mg·kg⁻¹)3种浓度灌胃小鼠后, 采用氨水引咳法观察大蒜油镇咳作用, 同时取气管进行病理组织学检查, 并以氢溴酸右美沙芬糖浆(10 mL·kg⁻¹)作阳性对照。采用酚红气管排泌法观察大蒜油祛痰作用, 并以盐酸氨溴索口服溶液(4 mL·kg⁻¹)作阳性对照。结果 大蒜油的镇咳、祛痰作用与溶剂对照组比较有显著的差异性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 并存在剂量效应关系; 大蒜油还可抑制气管黏膜炎症、充血及黏液分泌, 其综合药理作用优于氢溴酸右美沙芬糖浆。结论 大蒜油具有显著的镇咳祛痰及黏膜保护作用。

关键词: 大蒜油; 镇咳; 祛痰

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2015)03-0261-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.001

Antitussive and Expectorant Effects of Garlic Oil on Experimental Mice

CHEN Jiamin, XU Zhiwei*, YAN Wenjia, ZHENG Haofeng, LIANG Shenghua, TIAN Xudong, LI Weirong
(Medical School of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the antitussive and expectorant effect of garlic oil on experimental mice. **METHODS** Corn oil was used to dilute garlic oil, and intragastric administration high(100 mg·kg⁻¹), middle(50 mg·kg⁻¹) and low(25 mg·kg⁻¹) doses of garlic oil on mice. Then antitussive test was observed on mice with cough induced by ammonia water, and tissue slicing and HE staining were made to observe structure changes of tracheal tissue in each group. A phenol red excretion test was used to investigate the expectorant effect of garlic oil in mice. Dextromethorphan hydrobromide(10 mL·kg⁻¹) and ambroxol hydrochloride syrup 4 mL·kg⁻¹ were adopted for positive drug control. **RESULTS** Garlic oil was significantly effective on mice with cough($P < 0.05$ or 0.01). There was an obvious dose-response relationship in the antitussive and expectorant effects of garlic oil in comparison with model group. In addition, garlic oil inhibited inflammatory reaction, congestion and mucous secretion in tunica mucosa tracheae. Moreover, garlic oil had better pharmacological actions than dextromethorphan hydrobromide. **CONCLUSION** Garlic oil has significant antitussive, expectorant and tracheal mucosal protection efficacy.

KEY WORDS: garlic oil; antitussive; expectorant

大蒜又名胡蒜、葫、独蒜、独头蒜, 是百合科葱属植物的地下鳞茎。大蒜富含生物活性成分和营养成分, 作为民间用药在我国及世界各地皆有数千年的历史。中医中大蒜具有“通五脏、达诸窍、去寒湿、避邪恶、消臃肿、化积食”等功能。目前已证明大蒜具有抗菌、抗病毒、降血脂、降血压、抗氧化、提高免疫功能及抗肿瘤等功效。大蒜中起主要作用的是大蒜油, 其含量仅占大蒜的 0.2%^[1]。近年来国内外对大蒜油的研究较多, 但对其镇咳、祛痰作用的研究^[2-4]报道甚少。本实

验对大蒜油的镇咳、祛痰作用进行研究, 为开发、利用大蒜油资源提供参考。

1 材料

1.1 动物

SPF 级昆明小鼠, ♀♂兼用, 体质量约 40 g, 由中山医学院实验动物中心提供, 实验动物合格证号: SCXK(粤)2011-0029。

1.2 药品与试剂

大蒜油(河南许昌元化生物科技有限公司, 批号: YH-140713, 大蒜素含量约为 30%, 药品级);

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(81102709); 广东省中医药管理局建设中医药强省科研基金(20141055); 2014 年国家级大学生创新创业训练计划项目(201410558075)

作者简介: 陈佳敏, 女 Tel: 13580571410
E-mail: xuzhiwei19810115@aliyun.com

E-mail: 1617711840@qq.com

*通信作者: 许志威, 女, 博士, 讲师 Tel: 13570241047

氢溴酸右美沙芬糖浆(拜耳医药保健有限公司启东分公司,批号:16284,规格:0.15 g:100 mL);盐酸氨溴索口服溶液(上海勃林格殷格翰药业有限公司,批号:A98033,规格:0.6 g:100 mL);10%甲醛、苏木精-伊红染液、25%浓氨水、酚红、碳酸氢钠、蒸馏水均由中山大学中山医学院实验室提供。

1.3 仪器

UV 5200 型紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司);WH-2000 型超声波雾化器(广东粤华医疗器械厂有限公司);SC-3612 低速离心机(科大创新股份有限公司);EG1160 病理切片包埋系统(德国 Leica);EG1120 制蜡机(德国 Leica);倒置生物显微镜(Olympus 公司)。

2 方法^[5-6]

2.1 镇咳实验

2.1.1 引咳实验 取昆明小鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,♀♂各半,即氢溴酸右美沙芬糖浆^[7](10 mL·kg⁻¹)处理组、溶剂对照组(玉米油处理)、大蒜油低剂量组(25 mg·kg⁻¹)、大蒜油中剂量组(50 mg·kg⁻¹)、大蒜油高剂量组(100 mg·kg⁻¹)。连续给药 2 d,上、下午各一次。第 3 天上午给药前禁食不禁水 12 h,给药 1 h 后,将小鼠放入 1 000 mL 的大烧杯并罩住烧杯口,用超声喷雾器以最小风速向烧杯中通入 25%氨水,喷雾 15 s 后关闭,观察并记录咳嗽潜伏期^[2]及 2 min 内咳嗽次数(以腹肌收缩,同时张大嘴为小鼠咳嗽 1 次),计算咳嗽抑制率^[8],并求出止咳活性^[9]。咳嗽抑制率=(空白组咳嗽数-给药组咳嗽数)/空白组咳嗽数×100%。止咳活性=给药组咳嗽抑制率/阳性药组咳嗽抑制率×100%。

2.1.2 气管黏膜上皮病理组织学检查 引咳后将小鼠颈椎脱臼处死,仰卧位固定,暴露气管,剥离气管周围组织,剪下部分气管标本用 10%的甲醛溶液固定,按常规方法制作病理切片及 HE 染色,在光学显微镜下观察其气管黏膜上皮的病变,以病变改善情况来显示大蒜油对轻度气道炎症的治疗作用。

2.2 祛痰实验

2.2.1 酚红标准曲线 准确称取一定量的酚红,加 5%碳酸氢钠溶液溶解,配成 1 mL 含 100 μg 酚红的溶液,然后顺次稀释为每毫升含酚红 1, 2, 3, 4, 5, 6 μg,于 546 nm 处测得吸光度(A)。以酚红

剂量(C)为横坐标、吸光度(A)为纵坐标,制作标准曲线,计算回归方程。

2.2.2 酚红排泌实验 取昆明小鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,♀♂各半,即盐酸氨溴索口服溶液处理组,溶剂对照组(玉米油处理)、大蒜油低剂量组(25 mg·kg⁻¹)、大蒜油中剂量组(50 mg·kg⁻¹)、大蒜油高剂量组(100 mg·kg⁻¹)。连续给药 2 d,上、下午各一次。第 3 天上午给药前禁食不禁水 12 h,给药 30 min 后,给小鼠腹腔注射 0.25%酚红溶液 10 mL·kg⁻¹。1 h 后将小鼠颈椎脱臼处死,仰卧位固定,暴露气管,剥离气管周围组织,自甲状软骨下至气管分支前剪下一段气管,要求每只小鼠剪下的气管等长,放入离心管中,加入 5 mL 5%碳酸氢钠溶液,3 000 r·min⁻¹离心 5 min 后,取上清液,用分光光度计在 546 nm 处测量并记录吸光值。代入上述回归方程计算小鼠酚红排泌量^[10]。

2.2.3 统计学方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 17.0 软件处理实验数据,并进行 *t* 检验及方差分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 镇咳作用

3.1.1 引咳实验结果 与溶剂对照组比较,大蒜油各组的小鼠咳嗽潜伏期均延长(*P*<0.01),而小鼠 2 min 内咳嗽次数减少(*P*<0.01),与溶剂对照组比较具有显著差异;大蒜油的镇咳作用随剂量增加而增加,高剂量组(100 mg·kg⁻¹)镇咳效果优于氢溴酸右美沙芬糖浆处理组(*P*<0.05)。大蒜油的低、中、高剂量组镇咳作用明显,其中中、高剂量组咳嗽抑制率及止咳活性要比氢溴酸右美沙芬糖浆处理组强;且大蒜油的咳嗽抑制率及止咳活性随剂量增加而增加,存在明显的量效关系。具体结果见表 1 和表 2。

表 1 大蒜油对小鼠的镇咳作用(*n*=10, $\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Antitussive effect of garlic oil on mice(*n*=10, $\bar{x} \pm s$)

分组	咳嗽潜伏期/s	咳嗽次数/次
溶剂对照组	8.0±3.6	48.6±15.1
氢溴酸右美沙芬糖浆处理组	33.7±10.6 ¹⁾	25.2±10.0 ¹⁾
大蒜油低剂量组	20.3±8.9 ¹⁾²⁾	30.6±7.5 ¹⁾
大蒜油中剂量组	40.9±10.7 ¹⁾	21.6±7.0 ¹⁾
大蒜油高剂量组	54.3±8.5 ¹⁾²⁾	14.6±7.0 ¹⁾³⁾

注:与溶剂对照组相比,¹⁾*P*<0.01;与氢溴酸右美沙芬糖浆处理组相比,²⁾*P*<0.01,³⁾*P*<0.05。

Note: Compared with control group, ¹⁾*P*<0.01; compared with dextromethorphan hydrobromide syrup treatment group, ²⁾*P*<0.01, ³⁾*P*<0.05.

表2 大蒜油对小鼠咳嗽的抑制作用

Tab. 2 Inhibitory effect of garlic oil on mice with cough

分组	咳嗽抑制率/%	止咳活性
溶剂对照组	-	-
氢溴酸右美沙芬糖浆处理组	48.1	-
大蒜油低剂量组	37.0	76.9
大蒜油中剂量组	55.6	115.6
大蒜油高剂量组	70.0	145.5

3.1.2 气管黏膜上皮病理组织学检查结果 光镜下观察, 正常小鼠气管黏膜上皮的细胞组成和结构见图 1A。溶剂对照组小鼠气管黏膜上皮脱落, 黏膜充血明显, 大量炎性细胞浸润, 黏膜分泌物显著增多, 见图 1B 箭头所示。大蒜油低剂量组小鼠气管黏膜充血较溶剂对照组减弱, 炎症细胞减少, 见图 1C 箭头所示。大蒜油中剂量组小鼠上述病变显著好转, 黏膜分泌物显著减少, 黏膜上皮再生, 接近正常小鼠气管壁结构, 见图 1D。大蒜油高剂量组和氢溴酸右美沙芬糖浆处理组小鼠病变基本消失, 与正常小鼠的气管壁比较基本无差别, 见图 1E 和 1F。

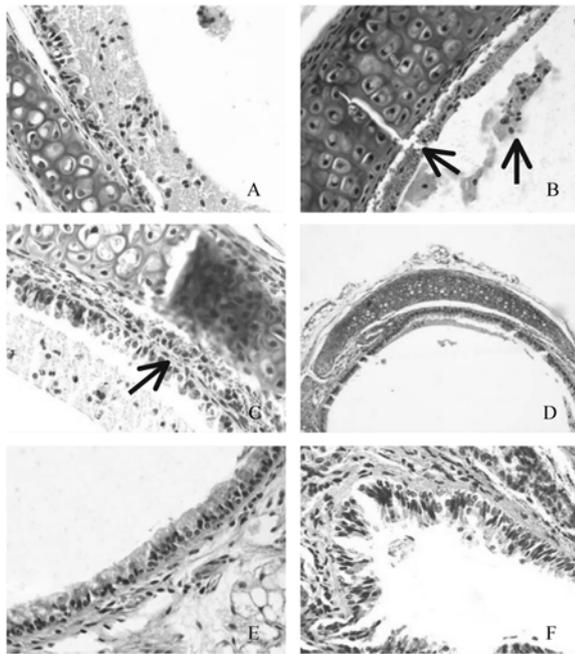


图1 各组小鼠气管黏膜上皮病理切片分析

A-正常组(400×); B-溶剂对照组(400×); C-大蒜油低剂量组(400×); D-大蒜油中剂量组(100×); E-大蒜油高剂量组(400×); F-氢溴酸右美沙芬糖浆处理组(400×)

Fig.1 Histopathological examination of trachea mucosa epithelium in each mice group

A-normal mice(400×); B-solvent control group(400×); C-low dose group(400×); D-middle dose group(100×); E-high dose group(400×); F-dextromethorphan hydrobromide syrup treatment group(400×)

3.2 祛痰实验结果

由酚红溶液标准曲线得回归方程为 $y=$

$0.1197x+0.0206$ 。

相对于溶剂对照组, 盐酸氨溴索口服溶液处理组和大蒜油中、高剂量组能增加气道酚红的排泌量($P<0.01$ 或 $P<0.05$); 同时, 大蒜油各组的酚红排泌量随剂量的增加而增加, 且大蒜油高剂量组($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)增加酚红排泌的作用与盐酸氨溴索口服溶液处理组相当。结果见表 3。

表3 大蒜油对小鼠的祛痰作用($n=10, \bar{x}\pm s$)

Tab. 3 Expectorant effect of garlic oil on mice($n=10, \bar{x}\pm s$)

分组	酚红排泌量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
溶剂对照组	0.38 ± 0.12
盐酸氨溴索口服溶液处理组	$0.68\pm 0.11^{1)}$
大蒜油低剂量组	$0.50\pm 0.13^{3)}$
大蒜油中剂量组	$0.58\pm 0.11^{2)}$
大蒜油高剂量组	$0.77\pm 0.29^{1)}$

注: 与溶剂对照组相比, $^{1)}P<0.01, ^{2)}P<0.05$; 与氢溴酸右美沙芬糖浆处理组相比, $^{3)}P<0.05$ 。

Note: Compared with control group, $^{1)}P<0.01, ^{2)}P<0.05$; compared with dextromethorphan hydrobromide syrup treatment group, $^{3)}P<0.05$ 。

4 讨论

咳嗽是人体清除呼吸道内的分泌物或异物的保护性呼吸反射动作, 在一般情况下, 咳嗽具有重要的呼吸道防御功能; 咳嗽是呼吸道的反复感染、异物、过热过冷的工期、刺激性气体或过敏因素的刺激下, 支气管分泌大量痰液。咳嗽、咳痰是临床常见的症状, 多种疾病(如感冒、急慢性气管炎、支气管炎、肺炎等)均可出现, 且咳嗽常伴咳痰^[1]。严重且持续的咳嗽、咳痰使病人不适, 可造成呼吸道组织和功能的损伤, 并可引起全身多种并发症。临床上的镇咳药、祛痰药的种类繁多, 作用机制也不尽相同, 但多数药物具有不同程度的各种不良反应。而中药镇咳, 特别像大蒜这种生活中经常接触到的食材, 其不良反应相对较小, 而且对人体其他方面有很多益处^[1]。

本实验通过浓氨水诱发小鼠咳嗽, 用大蒜油提取物进行治疗, 观察大蒜油的镇咳作用。结果证明大蒜油对小鼠浓氨水引起的咳嗽有明显的抑制作用, 能明显延长咳嗽潜伏期, 减少咳嗽次数。大蒜油低、中、高剂量组镇咳作用显著, 其中大蒜油高剂量组($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)的镇咳作用比氢溴酸右美沙芬糖浆处理组($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)强。大蒜油目前主要用于护肝研究^[12-13]。本实验参考相关文献中大蒜油的剂量, 通过预实验的结果, 对剂量进行调整, 而氢溴酸右美沙芬糖浆剂量是通过说明书上的

成人用药剂量换算为小鼠剂量,二者具有可比性。

轻微的气道炎症可能是咳嗽重要的发病机制。本实验通过对引咳后小鼠气管做病理切片,观察小鼠气管黏膜的变化。本实验结果显示,大蒜油对小鼠气管黏膜炎症有显著的抑制作用。大蒜油能减少黏膜充血及炎症细胞浸润,还能减少气管黏膜分泌物,且与其剂量相关。大蒜作为民间用药,被认为是天然抗菌药物,大蒜油对小鼠气管黏膜轻微炎症有显著的抑制作用可能与大蒜油的抗细菌、抗病毒作用有关。

本实验通过给小鼠腹腔注射酚红,利用酚红部分从气管分泌的特点,用分光光度计测出气管离心上清液内酚红的量。结果表明大蒜油中、高剂量组能增加小鼠气管分泌酚红的量,与溶剂对照组相比有统计学差异,说明大蒜油可以促进小鼠气管的酚红分泌,增加小鼠气管痰液分泌量。其中,大蒜油高剂量组($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)的祛痰作用与盐酸氨溴索口服溶液处理组($4\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)相当,提示大蒜油具有明显祛痰作用。

综上所述,大蒜油具有显著的镇咳、祛痰作用,其稳定支气管黏膜的综合药理效应在一定的实验条件下优于氢溴酸右美沙芬糖浆,但有关大蒜油所含镇咳、祛痰的有效成分及作用机理尚待进一步探讨。

REFERENCES

- [1] WANG J P, YU K X, GAO C X. Present situation of study on extracting and utilizing of garlic oil [J]. Storage and

Process(保鲜与加工), 2002(4): 11-12.

- [2] SU B, LI S Y, CHEN Y F, et al. Comparison of *Pinellia ternata* and its processed products on antitussive and expectorant effects [J]. J Guangdong Pharm Univ(广东药学院学报), 2013, 29(2): 181-184.
- [3] CHEN Y F, JIANG T, TANG C P, et al. Ficus microcarpa antitussive expectorant effect of different extracts comparative study [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm(中医药导报), 2010, 16(7): 98-99.
- [4] GAO J X, ZHANG L M, LU X M. Comparative study of wild *Pinelliae* Rhizome and cultivated *Pinelliae* Rhizome on cough expectorant [J]. J Tradit Chin Med Univ Hunan(湖南中医药大学学报), 2010, 30(7): 25-27.
- [5] FU S J, HUANG X Z, WU L L, et al. Experimental study on the antitussive, apophlegmatic and antiasthmatic effect of extract of Jianhua [J]. Med Plant, 2014(2): 31-33, 38.
- [6] HU H Z, DONG Z, ZHU Y, et al. Pharmacology and toxicology of extract from *Arcangelisia gusanlung* [J]. Chin Herb Med, 2013, 5(2): 109-115.
- [7] 白立群. 复方美沙芬解热镇痛镇咳抗炎作用的药效学研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2008.
- [8] HONG F. An experimental study on the pharmacodynamics of Qinrezhike granules [J]. Prog Pharm Sci(药学进展), 2005(3): 129-132.
- [9] 王志寒. 1-甲基海因合成路线的筛选及其止咳活性研究[D]. 吉林大学, 2009.
- [10] LIU L, YANG H, LIAO J, et al. Study on relieving cough, expelling phlegm, and immunomodulation of Shuanghuanghua granule [J]. Drug Eval Res(药物评价研究), 2013(6): 431-434.
- [11] AZIKIWE C C A, UNEKWE P C, AMAZU L U, et al. Antitussive activity of *Triclisia dictyophylla* of the family Menispermaceae [J]. Asian Pacific J Trop Med, 2009(4): 33-40.
- [12] ZENG T, ZHANG C L, WANG Q, et al. Preventive effect of garlic oil and diallyltrisulfide on the acute ethanol-induced liver injury [J]. J Toxicol(毒理学杂志), 2008, 22(3): 197-199.
- [13] ZHANG C L, ZENG T, WANG Q S, et al. The preventive effect of garlic oil on the acute chemical liver injury induced by carbon tetrachloride [J]. J Toxicol(毒理学杂志), 2008, 22(4): 291-293.

收稿日期: 2014-8-21

芳香新塔花总黄酮对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用

陈秋红¹, 李钦¹, 杨伟俊², 赵吟¹, 郑高利¹, 张信岳^{1*} (1.浙江省医学科学院药物研究所, 杭州 310013; 2.新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004)

摘要: 目的 研究芳香新塔花总黄酮(*Ziziphora clinopodioides* flavonoids, ZCF)对大鼠离体心脏缺血再灌注(I/R)损伤的保护作用。方法 SD大鼠40只,随机分为5组:空白组, I/R组, ZCF低剂量组($12.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), ZCF中剂量组($25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), ZCF高剂量组($50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),采用Langendorff法建立离体大鼠心脏I/R模型。观察I/R期间室内压最大上升速率($+dp/dt_{\max}$)、室内压最大下降速率($-dp/dt_{\max}$)、左心室舒张压(LVEDP)、冠脉流量(CF)和心率(HR)。测定心肌组织中肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、超氧化物歧化酶(SOD)活性以及丙二醛(MDA)含量。结果 ZCF高剂量组和中剂量组均可显著改善I/R

基金项目: 国家自然科学基金地区科学(81160527)

作者简介: 陈秋红,女,硕士生 Tel: (0571)88215600 E-mail: 229436347@qq.com *通信作者: 张信岳,男,硕士,研究员 Tel: (0571)88215600 E-mail: zhangxy2003@aliyun.com