

中藥藥理之研究：十種止喘中藥 之藥理評估

Pharmacological Studies of Chinese Herbal Drugs: Pharmacological Evalutaion of Ten Anti-asthmatic Chinese Herbal Drugs

廖志飛

國立陽明大學藥理學研究所

摘要

為了探討具有止喘作用之中藥是否直接作用在呼吸道平滑肌，本研究評估苦參、秦皮、山豆根、苦杏仁、紫菀、款冬花、枇杷葉、香附、側柏葉、艾葉等十種中藥之水抽提物對 carbachol、histamine、KCl 引致天竺鼠離體氣管收縮之舒張作用。如以產生 50% 舒張所需之濃度 (IC_{50}) 為每毫升含 30 毫克原生藥重當具有顯著作用之指標，則可舒張 carbachol ($10^{-6}M$) 收縮作用者有 (IC_{50} , mg/ml)：苦參 (7.1)、山豆根 (0.7)、紫菀 (21.8)、款冬花 (12.0)、香附 (12.7)、艾葉 (14.3)；可舒張 histamine ($10^{-4}M$) 收縮作用者有：苦參 (22.7)、山豆根 (13.7)、香附 (18.0)、艾葉 (16.5)；可舒張 KCl (60 mM) 收縮作用者有：苦參 (26.6)、秦皮 (28.0)、山豆根 (15.0)、香附 (8.3)、艾葉 (18.7)。由 IC_{50} 值之比較知對 carbachol 作用較有選擇性者有：苦參、山豆根、紫菀；對 KCl 作用較有選擇性者有：香附。山豆根對 carbachol 之濃度-舒張作用曲線可因 b 型交感神經接受器拮抗劑 propranolol ($10^{-6}M$) 存在下向右移，顯示山豆根之作用有 b 型交感神經接受器活化之參與。接受器結合實驗顯示除香附、側柏葉外，其餘八種中藥均可與 muscarinic acetylcholine (M)、histamine H_1 (H_1) 接受器或 L 型鈣離子通道之 dihydropyridine (DHP) 結合處有相互作用。這些

結果對上述中藥舒張氣管之作用機轉提供是否直接作用在 M 、 H_1 接受器或 DHP 結合處層面之證據。

關鍵詞：氣管舒張作用，中藥，藥物接受器，苦參，山豆根，款冬花，香附，艾葉

Abstract

In order to evaluate whether anti-asthmatic Chinese herbal drugs directly act on the airway smooth muscles, the present study examined the relaxing effects of the water extracts from *Sophorae radix* (SR), *Fraxini cortex* (FC), *Menispermis rhizoma* (MR), *Armeniacae semen* (AS), *Asteris radix et rhizoma* (ARR), *Farfarae flos* (FF), *Eriobotryae folium* (EF), *Cyperis rhizoma* (CR), *Biotae folium et ramulus* (BFR), and *Artemisiae argyi folium* (AAF) on carbachol-, histamine- and KCl-induced contractions of the guinea-pig isolated tracheal preparations. When the IC_{50} value was set at or below 30 mg/ml as an index, the drugs showed significant effects were (IC_{50} , mg/ml): SR (7.1), MR (0.7), ARR (21.8), FF (12.0), CR (12.7), and AAF (14.3) for carbachol ($10^{-6}M$); SR (22.7), MR (13.7), CR (18.0), and AAF (16.5) for histamine ($10^{-4} M$); SR (26.6), FC (28.0), MR (15.0), CR (8.3), and AAF (18.7) for KCl (60 mM). When the IC_{50} values among three spasmogens for each drug were compared, the drugs showed selective action were SR, MR, and ARR for carbachol and CR for KCl. The concentration-relaxing effect curve of MR on carbachol-induced contractions was shifted to the right by the pretreatment of a β -adrenoceptor antagonist propranolol ($10^{-6}M$), indicting the activation of β -adrenoceptors was involved in the relaxing effect of MR. Receptor binding assays indicated that 8 Chinese drugs, except CR and BFR, interacted with the muscarinic acetylcholine (M), histamine H_1 receptors, or the dihydropyridine (DHP) binding site of L-type Ca^{2+} channel. Therefore, these results provided the evidence to explain the action mechanisms of bronchial relaxing effects of these

Chinese drugs at the level of M, H₁ receptors or DHP binding sites.

Keywords: bronchial relaxing effects, Chinese herbal drugs, drug receptors, Sophorae Radix, Menisperm rhizoma, Farfarae flos, Cyperi rhizoma, Artemisiae argyi folium

壹、前言

氣喘是現今最常見的慢性呼吸道阻塞性疾病之一。根據衛生署的生物統計資料顯示：氣喘名列台灣地區十大死因的第九位。由病因學的觀點來看，氣喘是一種由多因子參與產生的疾病。傳統上，我們可將它分為二大類：外因性(過敏性)和內因性(特異質性，idiosyncratic)的氣喘。外因性氣喘是一種因過敏原而引發的第一型過敏反應，通常伴隨有個人或家族性的過敏疾病。相對地，aspirin、肺部病毒感染、寒冷、汙染性刺激物(例如 SO₂)、壓力等都可能引起內因性氣喘。雖然在病因學上有這樣的分類，但通常病人卻都有重複的特徵出現，例如，病人被診斷為外因性氣喘後，暴露於有關內因性氣喘的介質後，同樣會引發氣管痙攣。氣喘最大的特徵就是呼吸道平滑肌的收縮，而呼吸道的收縮可經由外來環境、荷爾蒙或發炎產生的媒介物(mediator)和神經傳遞物質(neural transmitter)，這一連串的初級訊號傳遞物質(first messenger)與平滑肌上之接受器結合後，再經不同的機轉增加細胞內鈣離子濃度來促進平滑肌收縮(1)。因此，氣喘治療之原則包括：(一)防止暴露過敏原；(二)減少支氣管發炎及高反應性；(三)擴張狹窄之支氣管。擴張狹窄之支氣管平滑肌一般可藉由二個機轉：(一)降低細胞內游離鈣離子濃度；(二)直接抑制平滑肌上接受器活化。已知支氣管平滑肌之舒張劑有：(一)接受器阻斷劑(如 anti-muscarinics、antihistamines 等)；(二)鈣離子通道阻斷劑；(三) b-adrenoceptors 致效劑；(四)鉀離子通道開啟劑；(五) alkylxanthines；(六) protein kinase C 抑制劑；(七) calmodulin 拮抗劑；(八) PI cycle 調節劑(1)。

中醫藥典籍中記載有很多止咳平喘、潤燥化痰、清熱瀉火、行氣降氣、補脾益腎等功用之治喘中藥。這些中藥有一些已被現代之藥理實驗證實具有抗喘之作用，特別是對抗 histamine 引起之氣管收縮作用，但少有以藥物接受器結合實驗來探討其是否會直接作用

在 histamine 接受器或其它接受器上 (2-4)。因此針對上述前三類之作用機轉，本計畫評估有止喘作用如苦參等 10 種中藥 (表一)，主要著重在呼吸道平滑肌之 L 型鈣離子通道及 muscarinic acetylcholine (M)、histamine H_1 (H_1)、 β -adrenoceptors (β) 等藥物接受器上，並以天竺鼠之離體氣管標本來做藥效評估。此計畫之執行除可證實這些中藥是否有舒張氣管平滑肌之藥理作用及是否直接作用在氣管平滑肌之鈣離子通道或藥物接受器上外，其成果將對這些中藥藥理作用機轉有深一層之了解，並有助於由中藥發現有效之成份，進而提供是否值得進一步研發之資訊。

貳、材料與方法

一、實驗藥品及試劑

Sodium chloride, magnesium chloride, potassium chloride, D-glucose, calcium chloride, atropine sulfate salt, pyrilamine maleate salt, DL-propranolol hydrochloride, nifedipine, carbamylcholine chloride (carbachol), histamine dihydrochloride, terbutaline hemisulfate salt, Trizma base, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) disodium salt 及 Hepes 購自 Sigma Chemical Co.；放射性標定藥物 [N-methyl- 3H]scopolamine methylchloride ($[^3H]$ NMS, 80.4 Ci/mmol), [pyridinyl-5- 3H]pyrilamine ($[^3H]$ pyrilamine, 24.8 Ci/mmol), levo[ring, propyl 3H (N)]dihydroalprenololHCL($[^3H]$ dihydroalprenolol, 120Ci/mmo及 [isopropyl-1, 3- 3H]nimodipine ($[^3H]$ nimodipine, 121.1 Ci/mmol) 皆購自 Du Pont, NEN.

二、中藥水抽提物之製備

把購自臺北市中藥行之藥材(表一)，取適量磨碎或搗碎後以五倍量之二次水煮沸 30 分後取抽提液，如此反複抽提三次。把抽提物以 Whatman 1 號濾紙過濾後經 60°C 加熱濃縮至約 400 ml 後冷凍，再經冷凍真空乾燥 (Freeze-mobile 12, The Vitis Company, Gardiner, NY) 以製得粉末狀之水抽提物，並求得產率。依產率，取適量水提取物以適量之二次水配成每毫升相當含 0.5 克原藥材重量之溶液，冷藏備用。本研究所用之藥物濃度均以原藥材重量 (mg)/ml 表示。

三、離體器官之實驗

本實驗探討中藥水抽提物是否會使氣管平滑肌產生收縮或對抗不同收縮劑引致之收縮。依以前建立之方法 (5) 稍加改變進行 (6)。即把實驗動物 (250-300 g Hartley 天竺鼠，購自國科會國家實驗動物繁殖及研究中心) 棒打頭部並放血犧牲後，取氣管並清除附著之脂肪和結締組織後，以 spiral 切法切成條狀 (寬約 2-3 公分，長約 20-25 公分)。把標本給予適當之張力 (1 g) 懸吊於含 10 ml Krebs 生理鹽水之恆溫 (37°C) 器官槽內，並持續充以 95% O₂ + 5% CO₂。以新鮮之 Krebs 生理鹽水換洗幾次並靜置 1 小時後才開始實驗。於預試驗，標本分別以 carbachol (0.1-100 mM)、histamine (1-1000 mM) 及 KCl (75-120 mM) 累積給藥方式做濃度-反應圖，以便選用適當收縮劑之濃度來評估中藥水抽提物之作用。而中藥水抽提物作用之評估，除評估中藥水抽提物本身之作用外，並評估其對抗 carbachol、histamine 或 KCl 之作用。如中藥水抽提物本身可引起標本收縮則求其 pD₂ (-log EC₅₀) 值；如能對抗 carbachol、histamine 或 KCl 引致之收縮反應，則以各收縮劑產生之最大收縮反應為 100 %，求各中藥水抽出物舒張 50 % 收縮之濃度 (IC₅₀)。在 propranolol 預處理之實驗中，預處理 propranolol (10⁻⁶M) 10 分後才投予適當濃度之 carbachol 誘導氣管收縮，當其達到穩定收縮後，再投予中藥水抽提物，並建立濃度-作用曲線；另外，以未預處理 propranolol 當作對照組，各求出中藥水抽提物之 IC₅₀ 值以作統計比較。

Krebs 生理鹽水之組成如下 (mM)：NaCl 118; KCl 4.7; MgSO₄·7H₂O 1.2, KH₂PO₄ 1.2; NaHCO₃ 25; glucose 11.1; CaCl₂ 2.5, 維持在 37°C，並充以 95% O₂ + 5% CO₂。

四、藥物接受器結合實驗 (6)

本實驗建立不同藥物接受器結合評估法來評估中藥水抽提物是否會作用到藥物接受器或結合處。

1. 藥物接受器之來源及樣品製備

於本研究選用天竺鼠之肺臟當 M、H₁ 及 b 等接受器之來源，而以心臟當 DHP 結合處之來源。選用之組織經剪碎後加入適量之研磨溶液 (50 mM Tris + 5 mM EDTA, pH 7.4) 以均質機 (Ultra-Turrax T25, Janke & Kunkel GmbH & Co. KG) 中速 (13,500 rpm, 1 min 兩次) 磨碎成均質液，經紗布過濾及高速離心 (1000 x g, 10 min) 得上層液。此上層液經超高速離心 (28,000 x g, 20 min)

得第一次細胞膜粒，經懸浮於研磨溶液後經超高速離心以得第二次細胞膜粒，再以適量之結合溶液（154 mM NaCl + 20 mM Tris + 5 mM MgCl₂，pH 7.4）製成藥物接受器樣品。

2. 藥物接受器之結合實驗

依不同藥物接受器之樣品及選用之 radioligand 而有不同之 protocol。一般而言其相似之步驟如下：於 15 ml 之 pp 試管加入適量或不同濃度之 radioligand (25 ml)、不同濃度之被測藥物或藥物接受器之拮抗劑 (25 ml)，再加入適量之藥物接受器樣品 (200 ml)，振搖均勻後於 30°C 之水浴槽中培養適當時間（M、H₁ 接受器、DHP 結合處：30 分；b 接受器：45 分）以達平衡結合，後加入 10 ml 冰冷沖洗溶液（150 mM NaCl + 20 mM Hepes, pH 7.4）以停止反應，立即倒入置有玻璃纖維濾片（24 mm Whatman GF/C glass fiber filter）之 Millipore 真空過濾裝置，再以 10 ml 之冰冷沖洗溶液沖洗過濾 1 次。把几乎乾燥之玻璃纖維濾片置入含 10 ml β 射線計數液（Ecoscient, National Diagnostics）之閃爍計數瓶中以 β Counter（Liquid Scintillation System, model LS 3801, Beckman）測 β 放射性。本研究使用之 radioligand 及測定 nonspecific binding 之藥物如下：M: [³H]NMS, 10 mM atropine; H₁: [³H]pyrilamine, 10 mM pyrilamine; β : [³H]dihydroalprenolol, 10 mM propranolol ; DHP 結合處： [³H]nimodipine, 10 mM nifedipine（於暗光下實驗）。

於飽合結合實驗（saturation binding assay），係使用 5-6 個濃度之 radioligand 以得到理想之飽合結合曲線；實驗數據經由電腦套裝軟體 'GraFit'（Erithacus Software）中之 "BIND" 程式經 data fitting 後可得 radioligand 對接受器之解離常數（K_d）及最大結合數目（B_{max}）。於競爭性結合實驗（competition binding assay），係使用一個固定濃度之 radioligand 及幾個不同濃度之測試藥物，以求得藥物競爭 radioligand 結合至接受器之競爭曲線；實驗數據經由電腦套裝軟體 'GraFit' 中之 "IC50" 程式經 data fitting 後可得藥物競爭 radioligand 結合至接受器一半所需之濃度（IC₅₀），再經由 Cheng & Prusoff (7) 之方程式： $K_i = IC_{50} / (1 + F/K_d)$ ，求得藥物之抑制常數（K_i）。此程式中之 F 及 K_d 分別表示 radioligand 之加入濃度及 K_d 值。K_i 值與 K_d 值理論上同義，均表示藥物對接受器之親和力大小。

3. 蛋白質含量之測定 (8)

藥物接受器樣品之蛋白質含量以 Coomassie Protein Assay Reagent (Pierce) 測定。

參、結果與討論

為配合國人服用中藥常用水煎煮劑，本計畫以中藥之熱水抽提物來研究。表二列出十種止喘中藥經熱水抽提之產率，其中以款冬花之產率最高 (58.5%)，而以苦杏仁之產率最低 (4.0%)。以此產率配製相當於原生藥重 500 mg/ml 之中藥水溶液，以評估其對天竺鼠離體氣管之舒張作用及其與 M、H₁、b₂ 等接受器或 L-型鈣離子通道之 DHP 結合處之相互作用。

依前研究 (6) 選用可使天竺鼠離體氣管產生相當收縮強度之三種收縮劑即 carbachol (10⁻⁶M)、histamine (10⁻⁴M) 及 KCl (60 mM) 來比較藥物是否會產生舒張作用及是否具有選擇性之作用。表三列出各中藥舒張此三種收縮劑產生收縮強度一半所需之濃度 (即 IC₅₀)，結果顯示除苦杏仁 (> 90 mg/ml) 外，其餘 9 種中藥均可與濃度有關地舒張 carbachol、histamine 或 KCl 引致離體氣管收縮之作用。如以 IC₅₀ 值低於每毫升含 30 毫克原生藥重當具有較顯著作用之指標，則可舒張 carbachol 收縮作用者有 (IC₅₀, mg/ml)：苦參 (7.1)、山豆根 (0.7)、紫菀 (21.8)、款冬花 (12.0)、香附 (12.7)、艾葉 (14.3)，以山豆根最強。可舒張 histamine 收縮作用者有：苦參 (22.7)、山豆根 (13.7)、香附 (18.0)、艾葉 (16.5)，亦以山豆根較強。可舒張 KCl 收縮作用者有：苦參 (26.6)、秦皮 (28.0)、山豆根 (15.0)、香附 (8.3)、艾葉 (18.7)，以香附最強。由 IC₅₀ 值之比較知各中藥對此三收縮劑之舒張作用無明顯選擇性者有：秦皮、枇杷葉、側柏葉及艾葉；有選擇性者有：苦參根 (carbachol > histamine = KCl)、山豆根 (carbachol > histamine = KCl)、紫菀 (carbachol > histamine > KCl)、款冬花 (carbachol > histamine ≥ KCl) 及香附 (KCl > carbachol > histamine)。值得注意的是款冬花於低濃度 (1-10 mg/ml) 時會使離體氣管產生收縮作用，而再高濃度則收縮作用漸減至消失 (圖一)。款冬花之收縮作用只部份 (24%) 被 M 接受器拮抗劑 atropine (10⁻⁵M) 預處理所抑制但不受 H₁ 接受器拮抗劑 pyrilamine (10⁻⁵M) 所影響，顯示款冬花除活化 M 接受器外還有其它收縮機轉參與，值得進一步探討。

為了探討中藥對 carbachol 之舒張作用是否會產生去敏感現象，經評估連續實驗（即第二次）之舒張作用，由二次 IC_{50} 值之比較知各中藥並未明顯產生去敏感現象（表四）。

先前研究（6）顯示 b_2 接受器致效劑 terbutaline 對 KCl 引致之氣管收縮無明顯舒張作用，但可舒張 carbachol 及 histamine 引致之收縮作用，其 IC_{50} 值分別為 0.27 及 0.18 mM。其舒張作用可被 b 接受器拮抗劑 propranolol ($10^{-6}M$) 所阻斷。為了探討苦參、山豆根、款冬花、香附及艾葉對 carbachol 之舒張作用是否有活化 b 接受器之參與，因此本研究使用 propranolol 來探討。由圖二至圖六知，其劑量作用曲線可因 propranolol 存在而向右移動者只有山豆根（圖三）；其舒張之 IC_{50} 值由 0.7 ± 0.2 變為 2.24 ± 0.8 mg/ml ($n=5$)，有 3 倍多之變化。此結果顯示山豆根對 carbachol 之舒張作用有活化 b 接受器之參與，而苦參、款冬花、香附及艾葉則無。

為了探討中藥是否會直接作用在 M、 H_1 、 b_2 等接受器及 L-型鈣離子通道之 DHP 結合處，本研究使用競爭性接受器結合實驗來評估。先前研究（6）已建立 M、 H_1 等接受器及 DHP 結合處之評估法，本研究繼續建立 b_2 接受器之評估法，其 radioligand 結合至天竺鼠肺臟細胞膜之接受器或結合處之 K_d (nM) 與 B_{max} (fmol/mg protein) 值分別為 M: 0.25 ± 0.04 、 253 ± 48 ; H_1 : 4.3 ± 0.9 、 425 ± 113 ; DHP: 0.9 ± 0.1 、 476 ± 99 (6); b_2 : 1.7 ± 0.5 、 996 ± 67 。由表五知，於所試之最高濃度下 (50 mg/ml) 與 radioligand 無明顯競爭結合作用於 M 者有苦杏仁、枇杷葉、香附子、側柏葉；於 H_1 者有秦皮、紫菀、款冬花、枇杷葉、香附子、側柏葉、艾葉；於 DHP 者有苦杏仁、紫菀、枇杷葉、香附子、側柏葉；於 b_2 者有苦杏仁、香附子、側柏葉。同樣地由 K_i 值之比較可知各中藥對這些接受器或結合處之作用是否有選擇性，結果顯示苦參根：M = H_1 $\geq$ b_2 > DHP；秦皮：DHP = b_2 $\geq$ M；山豆根： H_1 $\geq$ b_2 = M $\geq$ DHP；紫菀： b_2 = M；款冬花：M = b_2 = DHP；艾葉：DHP > b_2 > M。因先前研究（6）已顯示 M 接受器拮抗劑 atropine， H_1 接受器拮抗劑 pyrilamine 及作用在 DHP 結合處之鈣離子通道阻斷劑 nifedipine 相當選擇性地分別舒張 carbachol、histamine、KCl 引致之氣管收縮，其 IC_{50} 值雖比其對接受器或結合處之 K_i 值稍大但相近（20倍差以下），因此本接受器結合實驗結果除可用來解釋中藥之作用機轉是否發生在接受器層面外，亦暗示其含有作用在這些接受器或結合處之成份，可以此來導引有效成份之分離與純化。

以下就本研究探討之十種中藥分別討論：

1、苦參

據報導口服苦參 fluidextract 可對抗 histamine 引致天竺鼠氣喘之作用 (4)，本研究顯示苦參水抽提物除對 histamine 引致之氣管收縮有舒張作用外，亦對 carbachol、KCl 引致之氣管收縮有舒張作用，其中以對 carbachol 之作用最強，但此作用不是經由活化 b_2 接受器所致。因接受器結合實驗亦顯示其可直接作用在 M、 H_1 接受器與 DHP 結合處，且其 K_i 值比相對之 IC_{50} 值小或相近，因此推論苦參含有作用在這些接受器或結合處之成份而具有 anti-muscarinic, anti-histamine 及鈣離子通道阻斷之作用。苦參會作用在鈣離子通道之 DHP 結合處與 Han et al. (9) 之報導吻合。又據報導苦參之成份氧化苦參鹼 (oxymatrine) 如口服使用可作為抗氣喘劑，但靜脈注射給藥則無效，因而推斷氧化苦參鹼之抗氣喘作用可能是由其代謝物苦參鹼 (matrine) 所引起 (10)。苦參另一成份 sophocarpine 亦具有支氣管舒張作用 (11)，又成份 vexibinol 與 kurarinone 具有鈣離子通道阻斷作用 (12)；此外苦參之 flavone 成份可抑制 cAMP phosphodiesterase (13) 而有助平滑肌之舒張。至於苦參具有 anti-muscarinic, anti-histamine 之成份為何，則還未有報導，值得進一步探討。雖然 b_2 接受器結合實驗亦顯示其可直接作用在 b_2 接受器但由 propranolol 之實驗知其作用在 b_2 接受器可能扮演類似拮抗劑之作用，此需進一步以其他實驗方法來證實。據報導 sophocarpine 經由作用在中樞 b 接受器而具有止咳之作用 (13)，因此值得以接受器結合實驗探討 sophocarpine 是否直接作用在 b 接受器及其親和力之大小。

2、秦皮

秦皮水抽提物對 carbachol、histamine、KCl 引致之氣管收縮需較高之濃度才有舒張作用且無明顯選擇性，其 IC_{50} 值在 28-36.5 mg/ml 間。由接受器結合實驗知秦皮不會直接作用在 H_1 接受器，但會直接作用在 M、 b_2 接受器及 DHP 結合處，因此秦皮舒張 histamine 之收縮作用與 H_1 接受器無關，而可能與其作用在 DHP 結合處而阻斷鈣離子通道有關，此推測主要之依據為 (a) 作用在 DHP 結合處鈣離子通道阻斷劑 nifedipine 可舒張 histamine 引致之收縮 (6)；(b) 秦皮對 DHP 結合處有較強之作用，亦可舒張 KCl 引致之收縮作用，顯示秦皮是一種鈣離子通道阻斷劑。後者之結果與 Han et al. (9) 之報導吻合。至於作用在 b_2 接受器是否對秦皮之舒張作用扮演重要角色，則有待進一步探討。據報導秦皮主成份之一 esculetin 可抑制 5-lipoxygenase 之活性 (15)，而

可抑制與氣喘有關之發炎收縮物質 leukotrienes 之生合成，至於 esculetin 是否會直接作用在接受器或鈣離子通道還未有報導。esculetin 對離體氣管有舒張作用及 antihistamine 作用，口服後除有 antihistamine 作用外，亦有鎮咳祛痰之作用 (4)。

3、山豆根

山豆根水抽提物對 carbachol、histamine、KCl 引致之氣管收縮均有舒張作用，其中以對 carbachol 之作用最強，而此舒張作用與活化 b_2 接受器亦有關係。因接受器結合實驗亦顯示其可直接作用在 M、 H_1 、 b_2 接受器與 DHP 結合處，且其 K_i 值（除 M 接受器外）比相對之 IC_{50} 值小或相近，因此推論苦參含有作用在這些接受器或結合處之成份而具有 anti-muscarinic, anti-histamine、鈣離子通道阻斷及 b_2 接受器致效之作用。與同屬植物苦參比較，除山豆根有 b_2 接受器致效之作用外，其餘均很類似，此可能與其含有相似之成份如氧化苦參鹼、苦參鹼有關 (3)。據報導口服山豆根之總生物鹼或氧化苦參鹼可減輕 histamine 在天竺鼠引致之氣喘 (4)，暗示氧化苦參鹼扮演重要角色。至於山豆根活化 b_2 接受器之成份為何，則有待進一步之探討。

4、苦杏仁

苦杏仁水抽提物對 carbachol、histamine、KCl 引致之氣管收縮均無明顯之舒張作用，而接受器結合實驗亦顯示其不直接作用在 M、 b_2 接受器與 DHP 結合處，但可作用在 H_1 接受器，但其 K_i 值為 22.0 mg/ml，不是很強。據報導當低劑量之苦杏仁服用後，其所含之 amygdalin 會在體內分解產生氫氰酸 (hydrocyanic acid) 而具有鎮咳抗氣喘作用 (4)，也許離體氣管缺乏此分解酵素，而無法呈現此作用，此有待進一步之探討。

5、紫菀

據報導紫菀煎劑有祛痰及鎮咳作用 (3)，但未有止喘之報導。高濃度之紫菀加甘草可抑制 histamine 引致天竺鼠氣管之收縮但對 acetylcholine 之收縮則不明顯，於加入款冬花後才有抑制作用 (16)。然而本研究顯示紫菀水抽提物對 carbachol、histamine、KCl 引致之氣管收縮均有舒張作用，其中以對 carbachol 之作用最強，而對後二者之作用則需要高濃度。接受器結合實驗顯示其可直接作用在 M、 b_2 接受器，而不會作用在 H_1 接受器與 DHP 結合處，因此推論紫菀含有作用在 M、 b_2 接受器之成份而具有 anti-muscarinic 之作用。至於其氣管舒張作用是否有活化 b_2 接受器之參與，則有待進一步探討。

6、款冬花

據報導款冬花具止咳、祛痰並略有平喘作用 (3)。本研究顯示款冬花水抽提物對 carbachol、histamine、KCl 引致之氣管收縮均有舒張作用，其中以對 carbachol 之作用最強，而對後二者之作用則需要高濃度。對 carbachol 之作用無活化 b_2 接受器之參與。接受器結合實驗顯示其可直接作用在 M、 b_2 接受器及 DHP 結合處，而不會作用在 H_1 接受器，因此推論款冬花含有作用在 M 接受器及 DHP 結合處之成份而具有 anti-muscarinic 及鈣離子通道阻斷之作用，至於其舒張 histamine 之作用則不是直接作用在 H_1 接受器，而作用在 b_2 接受器則可能為拮抗作用。據報導由款冬花 methylene chloride 抽提物中分離之成份 L-652,469 (14-acetoxy-7 beta-(3'-ethylcrotonoyloxy)-notonipetranone)，具有血小板活化因子 (PAF) 接受器及 DHP 結合處之雙重拮抗作用 (17)，是否款冬花水抽提物中作用在 DHP 結合處之成份即是此成份，則有待進一步確認。又據報導 (3) 在天竺鼠的氣管-肺灌流試驗顯示款冬花醚提取液於小量時可使支氣管略有舒張但大劑量反而收縮，此兩相作用於本研究使用水抽提物亦發現，只是其在小濃度可使氣管收縮而大濃度時則漸消失，而其收縮作用只部份活化 M 接受器。因此款冬花收縮氣管之作用機轉與其活性成份，值得進一步探討。

7、枇杷葉

雖然〈滇南本草〉稱枇杷葉"止咳嗽，消痰定喘，能斷痰絲，化頑痰，散吼喘，止氣促"，但經臨床試驗顯示其止咳作用強，祛痰作用差；對單純氣管炎較好，對哮喘則無效 (3)。本研究顯示枇杷葉水抽提物對 carbachol、histamine、KCl 引致之氣管收縮需很高之濃度才具有舒張作用，暗示其在活體動物之氣管舒張可能不會顯著。接受器結合實驗顯示其可直接作用在 b_2 接受器，但不會作用在 M、 H_1 接受器及 DHP 結合處，因此推論苦參之氣管舒張作用不是直接作用在 M、 H_1 接受器及 DHP 結合處而產生阻斷作用，至於是否有活化 b_2 接受器之參與，則有待進一步探討。

8、香附

據報導香附之酒精抽提物對 histamine 引致天竺鼠氣管痙攣，有保護作用 (4)，而本研究顯示香附水抽提物對 carbachol、histamine、KCl 引致之氣管收縮均有舒張作用，但無明顯選擇性，其 IC_{50} 值在 8.3-18.0 mg/ml 間。香附對 carbachol 之舒張作用，沒有活化 b_2 接受器之參與。接受器結合實驗顯示其不直接作用在 M、 H_1 、 b_2 接受器及 DHP 結合處，因此推論香附之氣管舒張

作用不是直接作用在 M、H₁、b₂ 接受器及 DHP 結合處，而另有其它作用機轉參與，此有待進一步之探討。

9、側柏葉

據報導側柏葉具有鎮咳、祛痰之作用。對 histamine 引致天竺鼠氣喘無明顯保護作用，但能舒張天竺鼠離體氣管平滑肌，並可部份阻斷 acetylcholine 的作用，但不能解除 acetylcholine 之致痙作用 (3)。本研究顯示側柏葉水抽提物對 carbachol、histamine、KCl 引致之氣管收縮需在較高濃度才有舒張作用，但無明顯選擇性，其 IC₅₀ 值在 38.7-46.5 mg/ml 間。接受器結合實驗顯示其不直接作用在 M、H₁、b₂ 接受器及 DHP 結合處，因此推論側柏葉之氣管舒張作用不是直接作用在 M、H₁、b₂ 接受器及 DHP 結合處，而另有其它作用機轉參與，此有待進一步之探討。

10、艾葉

據報導同屬植物野艾 (*Artemisia vulgaris* L.) 之浸劑對天竺鼠支氣管有舒張作用 (3)，而艾葉油不管是口服、腹腔注射、肌肉注射或噴霧吸入對 acetylcholine-histamine 引致兔子氣喘均有止喘作用 (4)。在天竺鼠離體氣管平滑肌之研究顯示艾葉油可舒張 acetylcholine、histamine 或氯化鋇引致之收縮，而此作用不被 propranolol 或蛇根鹼預處理所阻斷，顯示艾葉油直接作用在氣管平滑肌，而不經由活化 b 接受器及釋放交感神經傳遞物質 (4)。符合上述報導，本研究亦顯示艾葉水抽提物對 carbachol、histamine、KCl 引致之氣管收縮均有舒張作用且無明顯選擇性，其 IC₅₀ 值在 14.3-18.7 mg/ml 間。又其對 carbachol 之舒張作用，沒有活化 b₂ 接受器之參與。接受器結合實驗顯示其不直接作用在 H₁ 接受器，但可直接作用在 M、b₂ 接受器及 DHP 結合處，因此推論艾葉之氣管舒張作用與是直接作用在 DHP 結合處及 M 接受器較有關。具報導艾葉精油成份 α -terpineol、trans-carveol 及 4-terpineol 具有止喘活性 (10)，但這些成份是否會直接作用在 DHP 結合處或 M、b₂ 接受器還未有報導，值得進一步探討。

肆、結論及建議

為了探討止喘中藥是否會直接作用在呼吸道平滑肌，本計畫評估十種中藥水抽提物對 carbachol、histamine、KCl 引致天竺鼠離體氣管收縮之舒張作用。結果顯示除苦杏仁外其於九種中藥均有強弱不等之氣管舒張作用。使用 b 型交感神經接受器拮抗劑 propranolol 來探討中藥之氣管舒張作用是否有活化 b 型交感神經接受器之參與，結果顯示山豆根有此作用。進一步以接受器結合實

驗來探討中藥是否會直接與 muscarinic acetylcholine (M)、histamine H_1 (H_1)、 b_2 型交感神經等接受器或 L 型鈣離子通道之 dihydropyridine (DHP) 結合處有相互作用，結果顯示除香附、側柏葉外，其餘八種中藥均可與 M、 H_1 、 b_2 接受器或 DHP 結合處呈現不同強度之相互作用及相對之選擇性。這些結果對上述中藥舒張氣管之作用機轉提供是否直接作用在 M、 H_1 、 b_2 等接受器或 DHP 結合處層面之證據。

綜合上述，本研究就苦參等十種中藥除證實是否有舒張氣管平滑肌之藥理作用外，並探討其是否直接作用在氣管平滑肌上之鈣離子通道或藥物接受器。這些成果除對此十種中藥之藥理作用有進一步及深一層之了解，而有助提昇使用這些中藥之醫療品質外，並有助於導引由這些中藥中發現分離新奇、有效之活性成份加以研發。因此，本研究是一種基礎與應用兼顧之中藥研發工作，值得繼續推行。

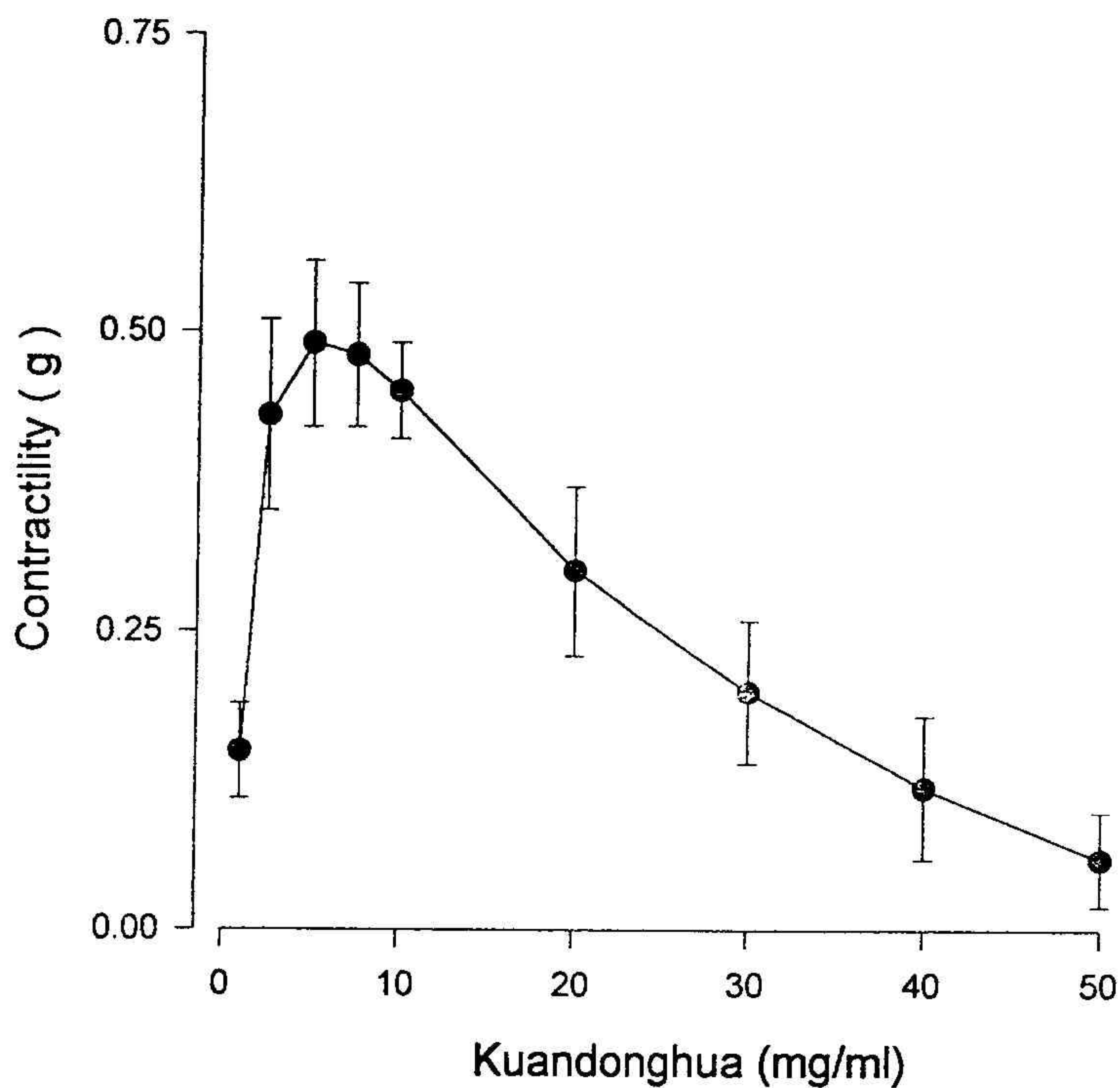
伍、參考文獻

1. Devendra KA, Robert, GT: Airway smooth muscle: modulation of receptor and response. CRC Press, Boca Raton, pp 39-68, 1990.
2. 行政院衛生署：中華民國中藥典範。行政院衛生署中醫藥委員會中藥典編輯委員會，臺北，1985。
3. 江蘇新醫學院：中藥大辭典，商務印書館香港分館，1979。
4. Chang HM, But PPH: Pharmacology and Applications of Chinese Materia Medica. World Scientific Publishing Co Pte Ltd., Singapore, 1986.
5. Liao JF, Shum AYC, Chen, CF: Effect of different spasmogens on isolated airway smooth muscles of the rat: A comparison of head-blow treatment with ether anesthetization treatment. Chin Med J 34: 429-433, 1984.
6. Liao JF, Shi CC, Chen SY, Fu YT, Chen, CF: Spasmolytic effect of water extract of Stemona radix on the guinea-pig tracheal smooth muscle in vitro. J Ethnopharmacol 57; 57-62, 1997.
7. Cheng YC, Prusoff, WH: Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 percent inhibition (IC_{50}) of

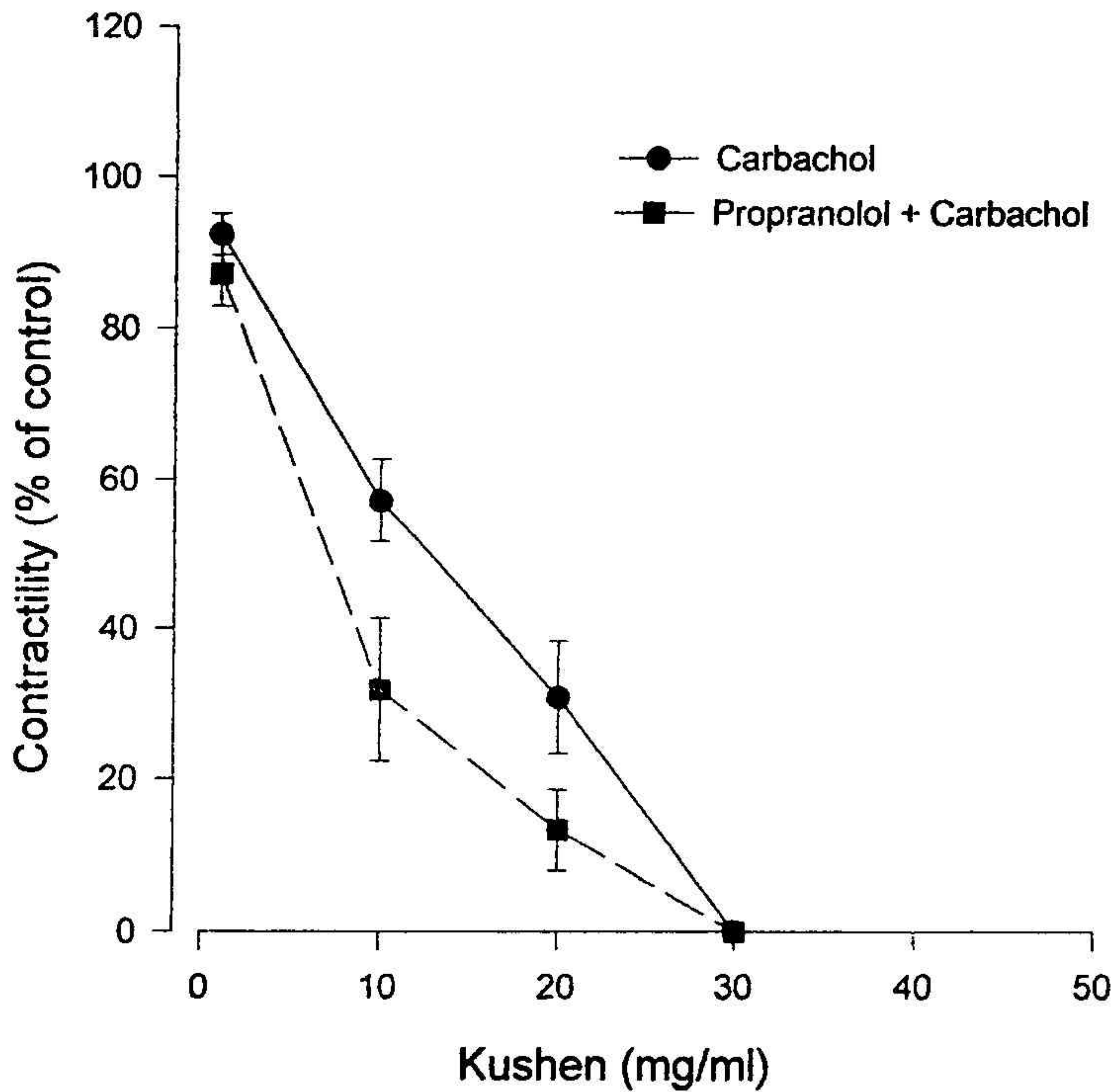
- an enzymatic reaction. *Biochem Pharmacol* 22; 3099-3108, 1973.
8. Bradford MM: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72; 248-254, 1976.
 9. Han GQ, Pan JX, Li CL, Tu F: The screening of Chinese traditional drugs by biological assay and the isolation of some active components. *Int J Chin Med* 16; 1-17.
 10. Tang W, Eisenbrand G: Chinese Drugs of Plant Origin. Springer-Verlag, New York, pp. 931-943, 1992.
 11. Yao DF, Li YQ, Wang JX, Liu CR, Cheng Y: relation between the bronchospasmolytic action of sophocarpine and cAMP content of the mesencephalon. *Acta Pharmacol Sin* 7; 65-66, 1986.
 12. Yamahara J, Kobayashi G, Iwamoto M, Chisaka T, Fujimura H, Takaishi Y, Yoshida M, Tomimatsu T, Tamai Y: Vasodilatory active principles of *Sophora flavescens* root. *J Ethnopharmacol* 29; 79-85, 1990.
 13. Ohmoto T, Aikawa R, Nikaido T, Sankawa U, Wu LJ, Ueno A, Fukushima S: Inhibition of adenosine 3',5'-cyclic monophosphate phosphodiesterase by components of *Sophora flavescens* Aiton. *Chem Pharm Bull* 34; 2094-2099, 1986.
 14. Li YQ, Yao TF, Yu SL, Chao ML, Cheng Y, Wang CH: Pharmacological effects of kugancao (*Sophora alopecuroides*) and sophocarpine. *Chin Trad Herb Drugs* 11; 555-557, 1980.
 15. Neichi T, Koshihara Y, Murota T: Inhibitory effect of esculetin on 5-lipoxygenase and leukotriene biosynthesis. *Biochim Biophys Acta* 753; 130-132, 1983.
 16. Liu LM, Yu ZF, Wu CY: Studies of the spasm-relieving effect of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.-*Aster tataricus* L. F. pulvis mixture on the trachea in guinea pigs. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih* 18; 566-567, 1993.
 17. Hwang SB, Chang MN, Garcia ML, Han QQ, Huang L, King

VF, Kaczorowski GJ, Winkvist RJ: L-652,469: a dual
receptor antagonist of platelet activating factor and
dihydropyridines from *Tussilago farfara* L. Eur J
Pharmacol 141; 269-281, 1987.

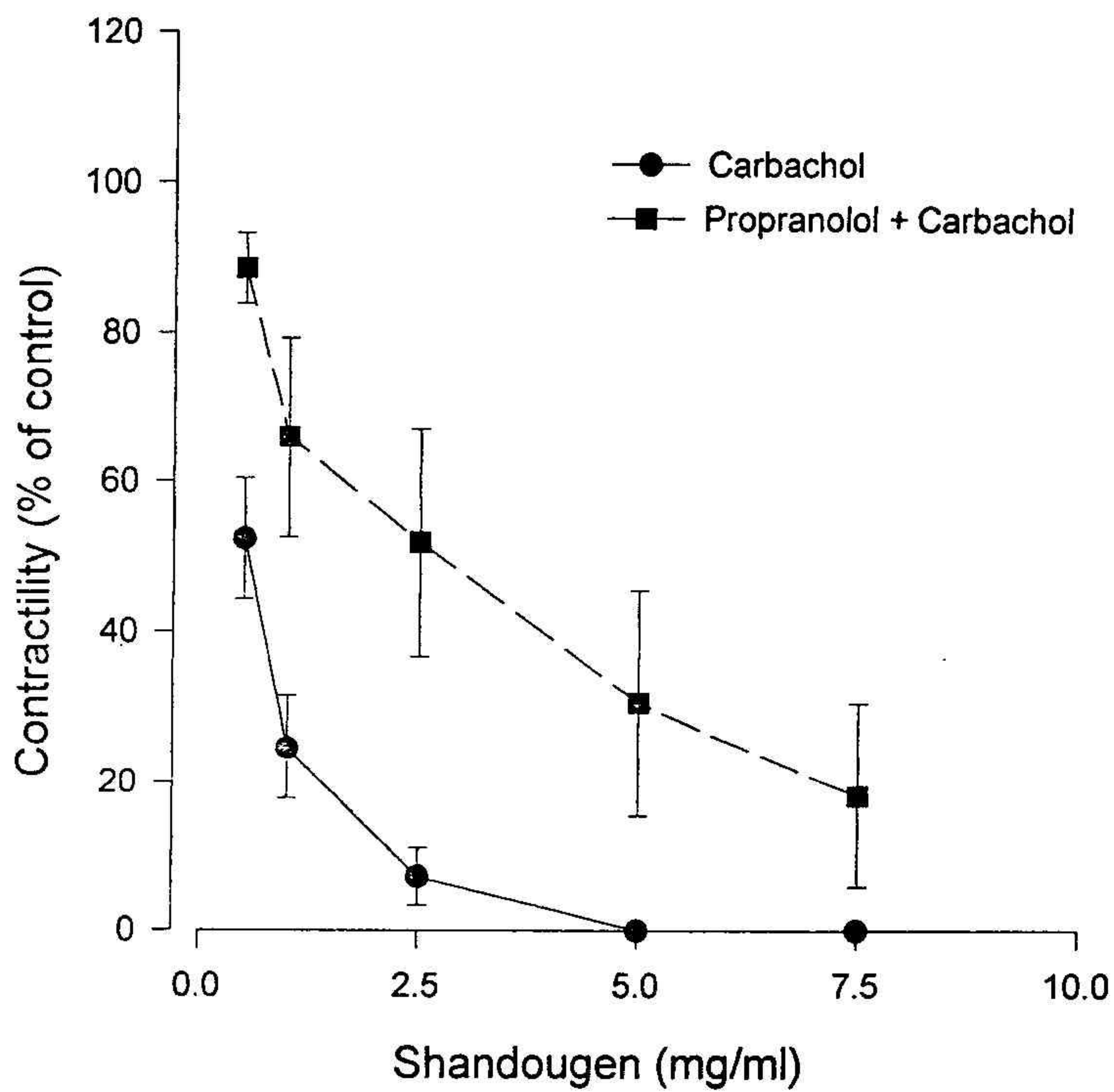
圖一、款冬花對天竺鼠離體氣管之作用



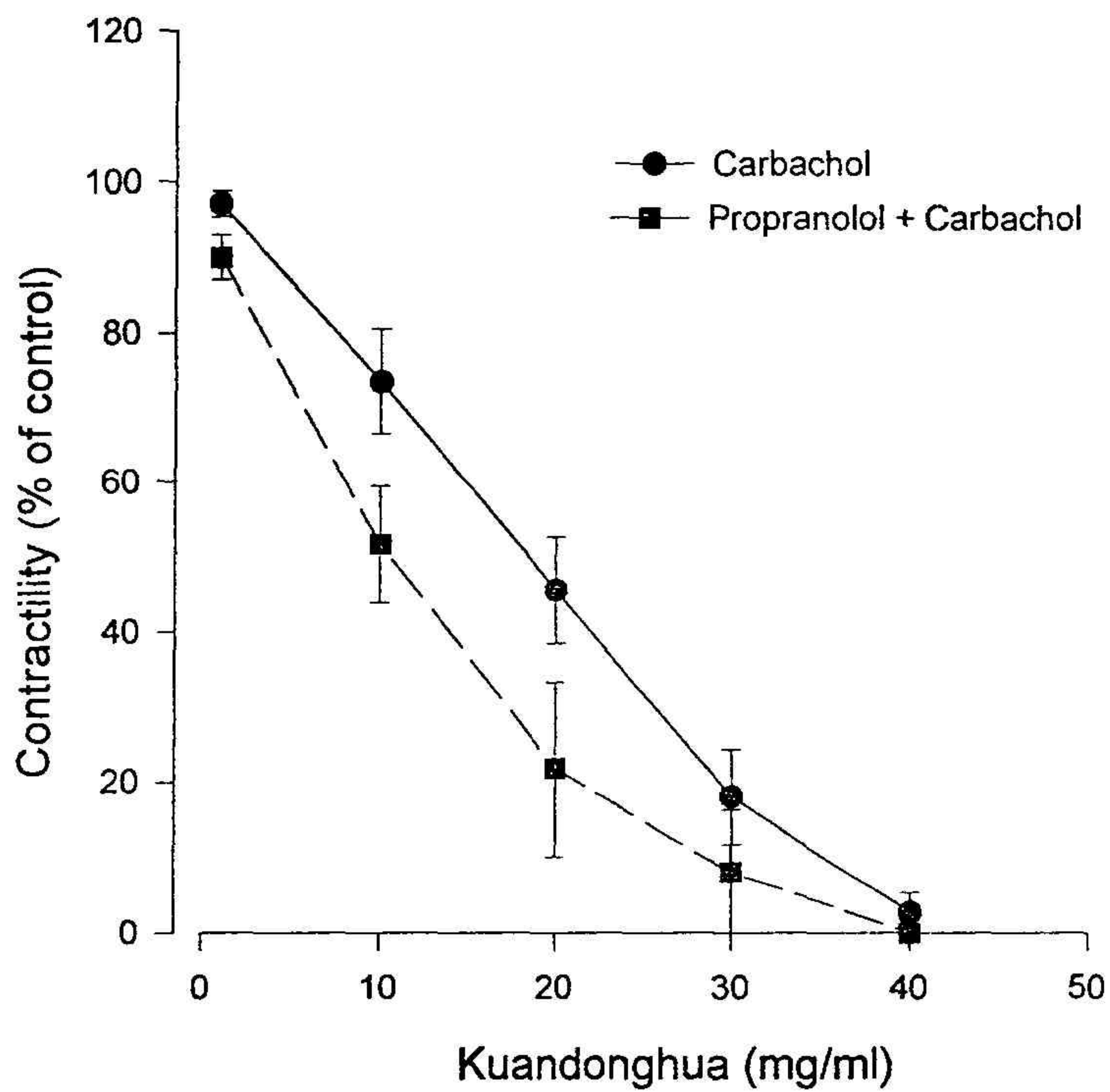
圖二、Propranolol 預處理對苦參舒張 Carbachol 引致天竺鼠離
體氣管收縮作用之影響



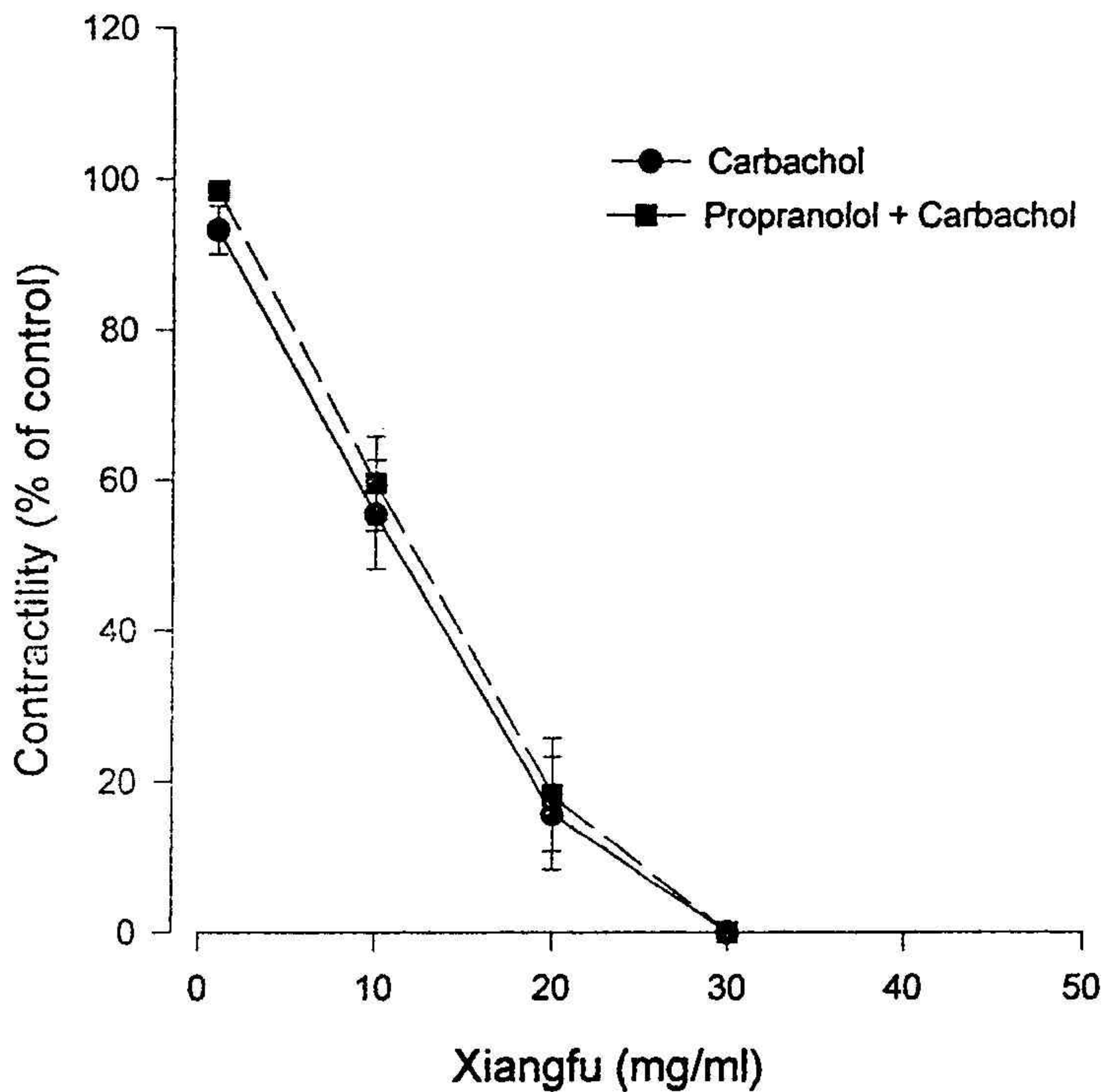
圖三、Propranolol 預處理對山豆根舒張 Carbachol 引致天竺鼠
離體氣管收縮作用之影響



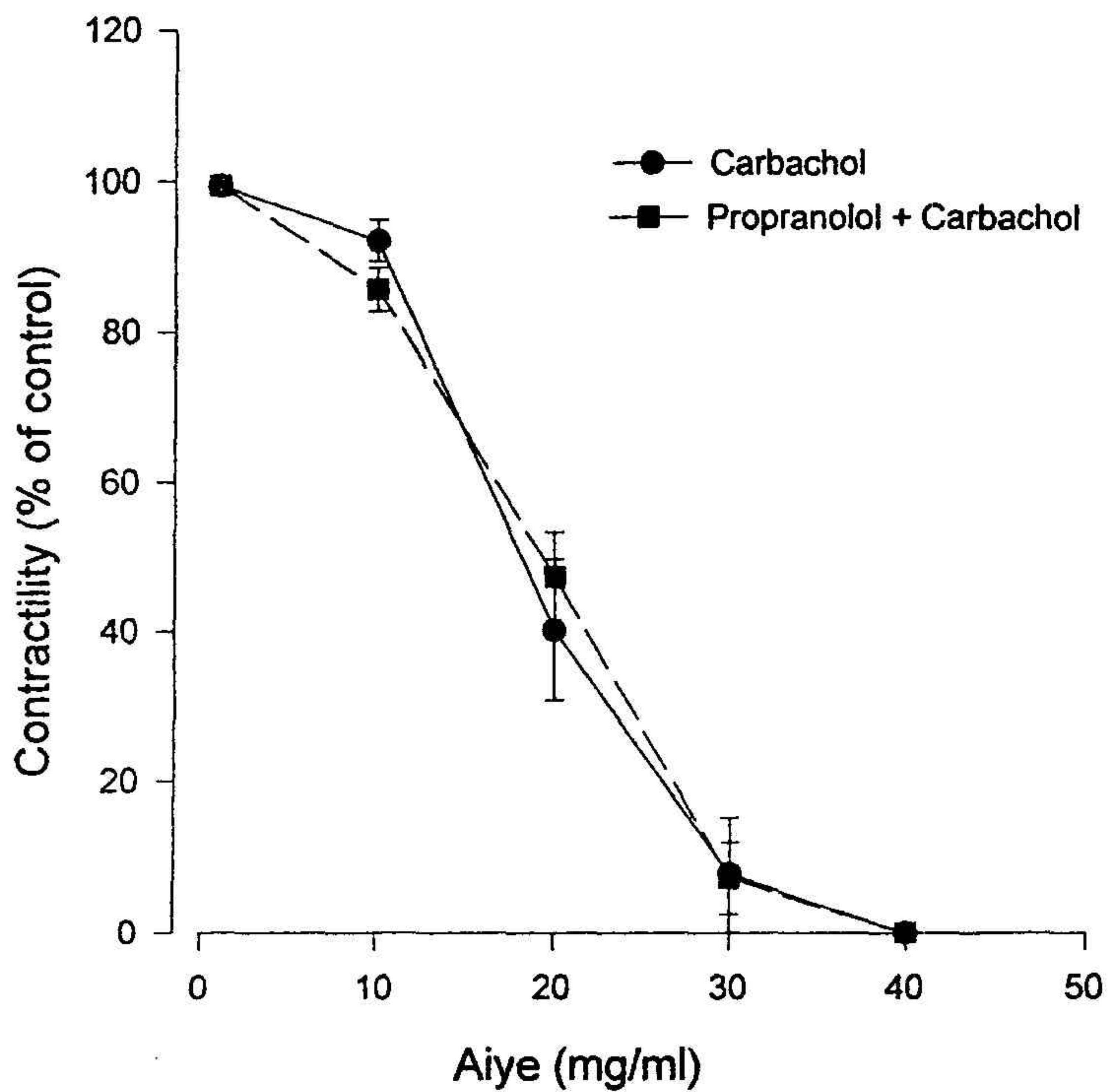
圖四、Propranolol 預處理對款冬花舒張 Carbachol 引致天竺鼠
離體氣管收縮作用之影響



圖五、Propranolol 預處理對香附舒張 Carbachol 引致天竺鼠離體氣管收縮作用之影響



圖六、Propranolol 預處理對艾葉舒張 Carbachol 引致天竺鼠離體氣管收縮作用之影響



表一、被測試之中藥

-
- | | |
|--------|--|
| 1. 苦參 | (Sophorae Radix) 為豆科苦參 [<i>Sophora flavescens</i> AIT.] 之乾燥根 (98) (2624) [736] |
| 2. 秦皮 | (Fraxini Cortex) 為木犀科小葉白臘樹 [<i>Fraxinus bungeana</i> DC.] 之樹皮 (100) (3628) [945] |
| 3. 山豆根 | (Menisperm Rhizoma) 為豆科直廣豆根 [<i>Sophora subprostrata</i> CHUN et T. CHEN] 之乾燥根莖 (157)(348)[108] |
| 4. 苦杏仁 | (Armeniaca Semen) 為薔薇科杏 (<i>Prunus armeniaca</i> LINN.) 之乾燥成熟種子 (401) (2240) [775] |
| 5. 紫菀 | (Asteris Radix et Rhizoma) 為菊科紫菀 (<i>Aster tataricus</i> L. f.) 之乾燥根及根莖 (403) (4866) [1176] |
| 6. 款冬花 | (Farfarae Flos) 為菊科款冬 (<i>Tussilago farfara</i> LINN.) 之乾燥花蕾 (405) (4782) [1160] |
| 7. 枇杷葉 | (Eriobotryae Folium) 為薔薇科枇杷 (<i>Eriobotrya japonica</i> (THUNB.) LINDL.) 之乾燥葉 (407) (2541) |
| 8. 香附 | (Cyperi Rhizoma) 為莎草科莎草 (<i>Cyperus rotundus</i> LINN.) 之乾燥根莖 (452) (3442) [893] |
| 9. 側柏葉 | (Biotae Folium et Ramulus) 為柏科側柏 [<i>Biota orientalis</i> (L.) ENDL.] 之乾燥枝葉 (481) (2840) [812] |
| 10. 艾葉 | (Artemisiae Argyi Folium) 為菊科艾 (<i>Artemisia argyi</i> LEVL. et VANT.) 的乾燥葉 (502) (1175) [298] |
-

括弧內之數目為 "中華民國中藥典範"(9)上之頁次；畫有底線之數目為"中藥大辭典"(10)上中藥之編號。中括弧內之數目為 Chang & But(11)上之頁次。

表二、十種中藥水抽提物之產率

中藥名	產率(%)*
1. 苦參	17.1
2. 秦皮	9.8
3. 山豆根	25.3
4. 苦杏仁	4.0
5. 紫菀	47.8
6. 款冬花	58.5
7. 枇杷葉	11.8
8. 香附	14.0
9. 側柏葉	12.5
10. 艾葉	19.4

* 產率(%)=(水抽提物重/原生藥重)x100%

表三、中藥舒張 Carbachol、Histamine 或 KCl 引致天竺鼠離體
氣管收縮之 IC₅₀ 值

中藥	Carbachol (10 ⁻⁶ M)	Histamine (10 ⁻⁴ M)	KCl (60 mM)
1. 苦參	7.1±1.2 (6)*	22.7±3.4 (4)	26.6±1.0 (3)
2. 秦皮	31.3±2.7 (7)	36.5±1.4 (3)	28.0±3.1 (3)
3. 山豆根	0.7±0.2 (5)	13.7±1.1 (8)	15.0±2.1 (6)
4. 苦杏仁	>90 (3)	>90 (9)	>90 (4)
5. 紫菀	21.8±3.7 (3)	44.5±0.8 (3)	64.3±3.3 (3)
6. 款冬花	12.0±2.1 (10)	32.4±2.7 (6)	49.1±7.2 (6)
7. 枇杷葉	78.3±6.0 (3)	88.5±5.4 (3)	62.6±6.4 (3)
8. 香附	12.7±1.4 (9)	18.0±1.9 (8)	8.3±0.8 (9)
9. 側柏葉	46.5±1.0 (3)	46.4±4.2 (4)	38.7±3.7 (3)
10. 艾葉	14.3±1.3 (6)	16.5±1.0 (7)	18.7±1.0 (7)

*實驗數據以 IC₅₀ 值 (mg/ml) 之 mean±S.E.M. 表示，括弧內之數目為實驗數

表四、比較連續給予二次中藥舒張 Carbachol
引致天竺鼠離體氣管收縮作用之IC₅₀ 值

中 藥	第一次	第二次
1. 苦參	7.1±1.2 (6)*	6.2±1.5 (6)
2. 秦皮	31.3±2.7 (7)	30.4±8.1 (3)
3. 山豆根	0.7±0.2 (5)	0.7±0.2 (4)
5. 紫菀	21.8±3.7 (3)	27.1±5.5 (3)
6. 款冬花	12.0±2.1 (10)	12.2±1.1 (6)
7. 枇杷葉	78.3±6.0 (3)	76.7±3.1 (3)
8. 香附	12.7±1.4 (9)	16.2±1.6 (5)
9. 側柏葉	46.5±1.0 (3)	46.1±1.6 (3)
10. 艾葉	14.3±1.3 (6)	13.7±1.7 (3)

*實驗數據以 IC₅₀ 值 (mg/ml) 之 mean±S. E. M. 表示，

括弧內之數目為實驗數

表五、中藥對 Muscarinic (M)、Histamine H_1 接受器、
Dihydropyridine (DHP) 結合處及 b_2 接受器之 K_i 值

中 藥	M	H_1	DHP	b_2
1. 苦參	3.9±0.5(4)*	4.2±2.3(4)	24.4±2.8(3)	9.7±0.7(3)
2. 秦皮	25.4±0.9(4)	-	7.8±2.4(3)	16.4±6.1(3)
3. 山豆根	12.6±1.5(4)	2.5±0.2(3)	18.3±3.4(4)	12.0±4.4(3)
4. 苦杏仁	-	22.0±4.5(4)	-	-
5. 紫菀	11.0±1.4(4)	-	-	9.8±2.3(3)
6. 款冬花	7.2±0.7(4)	-	10.3±3.0(6)	9.7±2.1(3)
7. 枇杷葉	-	-	-	20.7±8.5(3)
8. 香附	-	-	-	-
9. 側柏葉	-	-	-	-
10. 艾葉	27.0±2.3(3)	-	4.5±0.8(5)	13.4±4.3(3)

*實驗數據以 K_i 值 (mg/ml) 之 mean±S.E.M. 表示，括弧內之數目為實驗數

-：表示於測試之最高濃度 50 mg/ml 下無法求得 IC_{50} 值，因此亦無法求得

K_i 值