

食用仙人掌提取物缓解支气管哮喘的研究初探

高中组 个人项目

2016-07

华东师范大学第二附属中学
朱婧
邮编:201210

摘要

背景:用植物制成药物来治疗疾病的方式是我们传统文化的结晶，仙人掌是民间常用于治疗支气管哮喘的植物。但仙人掌是否能够有效缓解支气管哮喘，且仙人掌的有效成分是什么还不得而知。

方法:根据这一科学问题，本课题采用了谷本系数的相似度比较方法初步筛选出可能的有效成分，并在哮喘动物模型中观察这些成分的效应。

结果:首先以麻黄碱作为模板分子，利用谷本系数比较仙人掌中的主要的生物碱成分和麻黄碱之间的相似度，结果发现食用仙人掌可能可以治疗哮喘，并且药效可能是由于生物碱，作用机理与麻黄碱类似，都为松弛支气管平滑肌，收缩血管，兴奋中枢神经。在哮喘动物模型中，我们观察到食用仙人掌能够缓解支气管哮喘，且其中仙人掌生物碱的效果较好，在仙人掌的生物碱中，大麦芽碱的效果较好。主要缓解的机理为松弛支气管平滑肌，收缩血管。

结论:仙人掌对哮喘有一定的治疗效应，有很好的利用前景，值得进一步开发。

关键词: 食用仙人掌 生物碱 支气管哮喘 大麦芽碱 谷本系数

Abstract

Background: Vegetable drug, used to treat disease, is the crystal of our traditional culture. Cactus, as a Chinese herb, is often applied in the treatment of bronchial asthma. But whether cactus can really relieve bronchial asthma, and what compound in the cactus can relieve asthma remains unknown.

Methods: Based on this scientific question, this project aims to select the effective compounds to asthma through comparing the similarity among several compounds of cactus via tanimoto coefficient, then to observe the effect of these compounds in animal models of asthma.

Results: The ephedrine as template molecules was compared its similarity with compounds contained in cactus. So it is supposed that cactus may be able to alleviate asthma and alkaloid is the effective compound of cactus. Its underlying mechanism is similar to ephedrine which can relax bronchial smooth muscle, contract blood vessels and excite the central nervous system. In animal models of asthma, we confirmed that cactus can relieve bronchial asthma. In cactus alkaloid is proven effective and hordenine most effective among alkaloids. Main mechanism is to relax bronchial relax muscle and contract blood vessels. Meanwhile, alkaloid can also alleviate the airway inflammation.

Conclusion: Cactus can have a beneficial effect on asthma with a promising prospect, and is worthy of further research.

Key words: cactus; alkaloid; bronchial asthma; hordenine; tanimoto coefficient

目录

| | |
|--------------------------------------|----|
| 摘要 | 2 |
| 1. 研究背景 | 6 |
| 2. 研究方法 | 7 |
| 2.1 主要仪器和试剂 | 7 |
| 2.2 研究流程 | 8 |
| 2.3 谷本系数计算相似度 | 8 |
| 2.4 仙人掌提取物制备 | 9 |
| 2.4.1 仙人掌水提物的制备 | 9 |
| 2.4.2 仙人掌乙醇粗提物的制备 | 9 |
| 2.4.3 仙人掌生物碱的制备 | 9 |
| 2.5 小鼠哮喘模型的建立 | 10 |
| 2.5.1 实验分组 | 10 |
| 2.5.2 灌胃给药 | 10 |
| 2.6 小鼠标本的采集 | 10 |
| 2.7 血清与支气管肺泡灌洗液（BALF）中的IgE测定 | 11 |
| 2.8 肺组织切片 | 11 |
| 2.8.1 肺组织的固定 | 11 |
| 2.8.2 肺组织脱水 | 11 |
| 2.8.3 组织透明 | 11 |
| 2.8.4 组织浸蜡与包埋 | 11 |
| 2.8.5 组织切片 | 11 |
| 2.8.6 苏木精，伊红染色 | 11 |
| 2.8.7 光学显微镜观察拍片 | 12 |
| 3. 实验结果 | 12 |
| 3.1 谷本系数计算结果 | 12 |
| 3.2 小鼠支气管哮喘模型评价 | 13 |
| 3.2.1 小鼠总体行为学记录 | 13 |
| 3.2.2 小鼠白细胞指标 | 13 |
| 3.3 仙人掌的缓解效果 | 13 |
| 3.3.1 小鼠行为学记录 | 13 |
| 3.3.2 小鼠白细胞指标 | 14 |
| 3.3.3 各组小鼠总IgE水平（ $\mu\text{g/ml}$ ） | 14 |
| 3.4.3 肺组织病理学观察 | 16 |

| | |
|-------------------|----|
| 4. 讨论..... | 16 |
| 4.1 结果的分析 | 16 |
| 4.2 前人的结论比较 | 17 |
| 4.3 创新点 | 17 |
| 4.4 展望..... | 17 |
| 5. 结论..... | 18 |
| 致谢 | 19 |
| 参考文献 | 20 |

1. 研究背景

支气管哮喘作为一种非常常见的疾病，很多人都深受其“害”。特别是近年来，空气质量严重恶化，雾霾现象日趋频繁，支气管哮喘的发病几率也越来越大。很多人在换季时，灰尘较大时，或者有花粉时就会引发支气管哮喘。我的父亲患有支气管哮喘，冬春换季时便会发病，苦不堪言，一家人为他的支气管哮喘操碎了心。最近舅妈从同事那里听说食用仙人掌适量，去刺及皮后，上锅蒸熟，加白糖适量后服用，对哮喘疗效甚佳，打算一试。而中医世家也有对仙人掌缓解支气管哮喘的介绍：治支气管哮喘：仙人掌茎，去皮和棘刺，蘸蜂蜜适量熬服，每日一次，每次服药为本人手掌之 1 / 2 大小，症状消失即可停药（《全国中草药汇编》）^[1]。而我却对此提出了质疑：这个偏方是否真的可信？对于目前比较流行的食用仙人掌这一品种的仙人掌是否具有缓解支气管哮喘的作用？于是我以此为目的展开了本课题的研究。

近几年的研究表明，仙人掌中主要含有各种微量元素，如钙、镁、铁、铜等，黄酮类化合物，生物碱类化合物，多糖和超氧化物歧化酶（SOD）等，其中的生物碱类成分大多具有生理活性。目前的研究表明生物碱类物质具有平喘化痰、镇咳、松弛平滑肌，消肿利尿，抗肿瘤，抗炎，抗菌，降压，扩冠，抗矽肺，解有机磷中毒等作用^[2]。仙人掌中生物碱的含量较高，种类复杂。美国普渡大学对仙人掌中生物碱中的含量和种类做了详细的研究，但对于食用仙人掌的生理活性的研究国内外都比较少。

支气管哮喘是一种常见的慢性气道炎症疾病。是一种由嗜酸性粒细胞、T 淋巴细胞，肥大细胞等参与的炎症反应^[3]。哮喘病因及发病机制比较复杂，目前哮喘的药物治疗仍然存在很多问题，缺乏根治哮喘的药物，激素治疗存在严重副作用。因此，需要研发新的治疗药物。

祖国医学中有很多验方用于治疗喘病，因此我们可以从我国的传统药物—中药中寻找合适的药方来缓解哮喘。

目前对于中药活性成分的研究十分热门，其意义在于中药活性成分部分可直接成为新药，并且可以有效避免一些中药的毒性，可以为中药复方提供基础，可以推进中药的现代化。目前中药天然药物活性成分的研究方法主要为活性指导下的靶向追踪分离方法和体内代谢方法。^[20]由于中药难以建立合适的活性模型，而且中药制剂的多样性，可能有多重成分共同作用于一种疾病，缺一不可，使得中药活性成分的研究较为困难。本课题所采用的研究方法可以为中药活性成分的研究提供一些新的思路。然而，有关食用仙人掌能否缓解支气管哮喘却鲜有报道。

由于人体实验的局限性，目前对于哮喘的研究往往通过建立与人体类似的哮喘动物模型来进行。^[5]目前国内外对于支气管哮喘的研究都比较多，方法和药物也不尽相同。因此，我们系统建立规范动物模型来考核食用仙人掌能否缓解支气管哮喘。

所以，本研究目的是探究食用仙人掌能否缓解支气管哮喘和本研究所采用的利用谷本系数确定中草药中有效成分这一方法的有效性。本研究主要是为民间偏方仙人掌熬服后能够缓解支气管哮喘提供一定的理论依据，并为中草药的药理作用和有效成分的研究提供一种新的方法。

2. 研究方法

2.1 主要仪器和试剂

SPF 级 BALB/c 小鼠雌性（周龄 4 周，体重在 20g 左右）（斯莱克，中国）

卵白蛋白（OVA）（sigma，美国）

氢氧化铝凝胶（赛默飞公司，美国）

PBS 磷酸缓冲盐溶液（thermo fisher，美国）

10 年生米邦塔仙人掌（Opuntia Milpa Alta）（金欣仙人掌，中国）

小鼠免疫球蛋白（IgE）ELISA 检测试剂盒（R&D systems，美国）

多聚甲醛，二甲苯，苏木精，双蒸水，1%盐酸酒精，伊红（都为分析纯）（国药集团化学试剂有限公司，中国）

小鼠雾化吸入仪器（艾蒂安品牌，中国）

sysmex XE-2100（sysmex，日本）

多功能反应器（上海申生科技有限公司，中国）

旋转蒸发器（上海申生科技有限公司，中国）

电子天平（梅特勒-托利多，中国）

酶标仪（Labsystems Multiskan MS，芬兰）

TL-18M 台式高速冷冻离心机（上海离心机械研究所有限公司，中国）

石蜡包埋机（Leica，美国）

切片机（Leica，美国）

烤片机（Leica，美国）

倒置显微镜（LeicaDMI，美国）

2.2 研究流程

经过文献查阅和与指导老师交流，本研究决定先利用谷本系数判断食用仙人掌中已知化学成分与常用缓解支气管哮喘的药物之间的相似度，发现食用仙人掌中的生物碱可缓解支气管哮喘。再分别对仙人掌的生物碱提取物，仙人掌乙醇提取物和仙人掌水提物进行药理实验验证，观察初步结果。根据相似度计算结果猜测仙人掌中的大麦芽碱和酪胺可缓解支气管哮喘。接着，对大麦芽碱和酪胺进行药理实验验证。最终判断食用仙人掌是否真的能够缓解支气管哮喘和本研究所用研究方法的有效性。

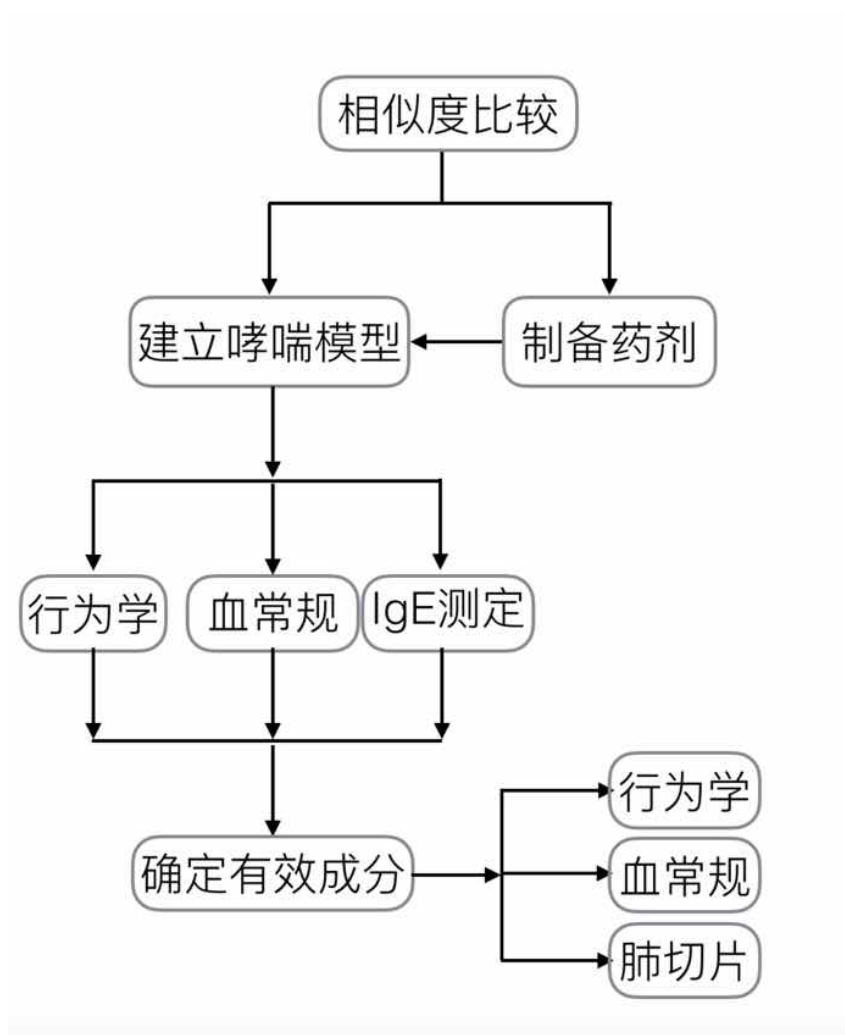


图 1：本课题的研究流程

2.3 谷本系数计算相似度

谷本系数(Tanimoto/Jaccard coefficient)一种度量两个集合之间的相似程度的算法，相似系数介于 0 到 1 之间，是一种常用的 2 维分析分子之间相似程度的方法^[6]。

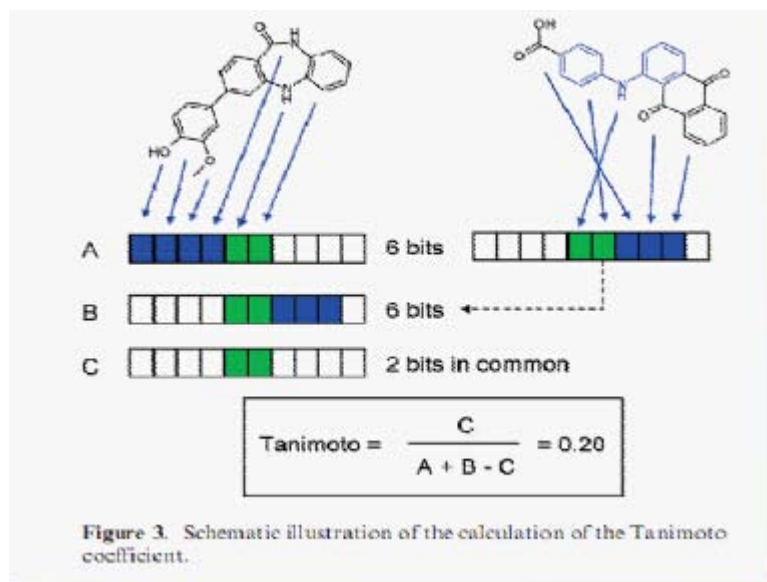


图 2：谷本系数计算方法示例

2.4 仙人掌提取物制备

2.4.1 仙人掌水提物的制备

将新鲜米邦塔仙人掌 15g 切成块，至于烧杯中，加水浸提，过滤，减压蒸发浓缩至 200ml，加 95%乙醇 150ml，取沉淀，即得仙人掌水提物，取 40mg 水提物溶于 50ml 蒸馏水。^[7]

2.4.2 仙人掌乙醇粗提物的制备

取新鲜米邦塔仙人掌 150g 切成块放在托盘中，放入 90℃的电热鼓风干燥箱中烘干 3 小时。将干片按物料比 1: 15 加入 95%乙醇密封保存^[8]，静置 3 天。滤去不溶物，滤液用旋转蒸发仪于 45℃的水温下减压浓缩蒸干液体即得仙人掌乙醇粗提物。称取仙人掌乙醇粗提物 40mg，加入 50ml 的水配成 0.8mg/ml 的溶液。

2.4.3 仙人掌生物碱的制备

取新鲜的米邦塔仙人掌 150g 切成块放在托盘中，放入 90℃的电热鼓风干燥箱中烘干 3 小时。取烘干的仙人掌放入多功能反应器中，加入 95%的乙醇，水浴加热至药液 50℃保持 3 小时，放出药液过滤出药渣，将澄清药液减压浓缩至每毫升含 1g 生药。加入 10%的稀盐酸调节 pH 值为 3，充分搅拌，滤去不溶物质，将上层清液继续浓缩至 200ml，加入 20%的氢氧化钠溶液调节 pH 值为 10，加入 300ml 二氯甲烷，萃取 3 次，合并二氯甲烷层，减压浓缩回收二氯甲烷，得二氯甲烷部位干燥物，为仙人掌中的生物碱。量取 40mg 仙人掌生物碱并加入 50ml 的水配成 0.8mg/ml 的溶液^[8]。

2.5 小鼠哮喘模型的建立

取 2mg OVA 溶于 1000 μ l PBS 中，然后加入 1000 μ l Al(OH)₃ 凝胶，充分混匀于 d1，d7，d14 对小鼠进行腹腔注射 100 μ l。

取 OVA 400mg 溶于 40ml PBS 溶液中，使用专用雾化仪器，于 d25，d26，d27 对小鼠进行雾化^[9]。



图 3: 模型建立示意图

2.5.1 实验分组

(1) 为了测定仙人掌生物碱，乙醇提取物与水提取物对支气管哮喘的缓解作用，我随机对 20 只雌性小鼠进行分组，分别为生物碱组、乙醇粗提取物组、水提取物组、模型对照组和空白对照组，每组 4 只小鼠

(2) 为了探究食用仙人掌中大麦芽碱和酪胺对支气管哮喘的缓解作用，我随机对 20 只小鼠进行分组，5 只大麦芽碱组，5 只酪胺组，5 只模型对照组，5 只空白对照组。

2.5.2 灌胃给药

按每次每只小鼠 0.1ml 进行灌胃。

参照《药理实验方法学》记录小鼠打喷嚏次数，抓鼻次数和哮喘程度。计分方法为：以小鼠没有出现喷嚏记为 0 分，出现 1~3 个喷嚏记为 1 分，出现 4~10 个喷嚏记为 2 分，出现 >11 个喷嚏记为 3 分；没有出现抓鼻记为 0 分，轻度抓鼻记为 1 分，频繁抓鼻记为 2 分，抓鼻不止记为 3 分；呼吸正常记为 0 分，呼吸急促记为 1 分，明显喘息记为 2 分，喘息致死记为 3 分。^[10]

2.6 小鼠标本采集

(1) 小鼠禁食 12h 后，眶静脉取血 0.1ml 与 EDTA 盐混合。取 0.1ml 的混合液与 1ml PBS 充分混合置于一次性人体血样采集器中。利用 sysmex XE-2100 进行检测。

(2) 每只小鼠注射 1% 的戊巴比妥铵 0.1ml 麻醉后，打开胸腔，心脏取血约 1ml。4℃ 1500 转离心 10min，收集上清，-20℃ 冻存备用^[11]。

(3) 每只小鼠注射 1%的戊巴比妥铵 0.1ml 麻醉后, 打开胸腔, 充分暴露气管进行气管插管, 0.9%NaCl 溶液灌洗 3 次。肺泡灌洗液 (BALF) 于 4℃1500 转离心 10min, 收集上清, -20℃冻存备用^[11]。

2.7 血清与支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中的 IgE 测定

冻存的血清 7 和肺泡灌洗液采用双抗体夹心 ELISA 法检测总 IgE 含量, 具体操作见说明书^[11]。

2.8 肺组织切片^{[12][13]}

2.8.1 肺组织的固定

取左肺上叶分离, 置于 4%多聚甲醛中, 4 度下固定 24h。取出放于小白组织盒子中, 自来水流水冲洗过夜。

2.8.2 肺组织脱水

将放有肺组织的白色组织盒依次置于 75%酒精 2h, 85%酒精 2h, 95%酒精 1.5h, 100%酒精中 1h, 依次进行脱水。

2.8.3 组织透明

将脱好水的肺组织依次放于乙醇: 二甲苯 (1:1) 中 50min, 二甲苯 I (100%) 中 25min, 二甲苯 II (100%) 中 25min, 进行透明。

2.8.4 组织浸蜡与包埋

将组织块从二甲苯 II 中取出后置于纯蜡 I 中 35min, 后置于纯蜡 II 中 2h, 纯蜡 III 中过夜, 使组织块充分浸蜡。将蜡缸转移至石蜡包埋台中, 取出组织, 修剪成长方形。包埋好的蜡块置于室温过夜后切片。

2.8.5 组织切片

(1) 将包埋好的蜡块, 将蜡块放置于包埋机的相应位置, 安装上新的刀片, 蜡块的切面与刀面要平行。

(2) 向展片机中加入双蒸水加到 2/3 的位置, 加热到 42 摄氏度, 调整切片厚度为 4-6 μ m, 连续切出 5-7 个连续组织块后, 用毛笔将组织块置于展片机中, 充分展平。

(3) 调整烤片机的温度到 62 摄氏度, 将展好片的组织块, 用载玻片捞起标记好后置于 62 度的烤片机上, 烤片时间为 2 个小时。

(4) 将烤好的片子放于切片盒中, 放置于 55 摄氏度的烘箱中。

2.8.6 HE 染色

(1) 脱蜡: 将肺切片依次放于二甲苯 I (100%) 10min、二甲苯 II (100%) 10min。

(2) 苏木精，伊红染色：将切片放于二甲苯：乙醇（1:1）5min，然后将切片放于100%酒精3min中，然后分别用苏木精，伊红进行染色3-5s。

(3) 二甲苯透明：将切片依次通过二甲苯：乙醇（1:1）5min-二甲苯 I 5min-二甲苯 II 5min，之后将玻片放于载玻片板上，用大枪头滴加两滴中性树脂，避免气泡产生，加盖盖玻片，放于通风橱中至中性树脂完全干固。

(4) 上述操作步骤均在通风橱中完成。

2.8.7 光学显微镜观察拍片

3. 实验结果

3.1 谷本系数计算结果

用二维分子相似性计算方法谷本系数来计算模板分子与仙人掌中化学成分的相似度，其方法为 $J(A,B) = \frac{|A \cap B|}{|A \cup B|}$ ，如：

表 1. 麻黄碱与大麦芽碱之间相似度的计算结果

| | 苯环 | 羟基 | 甲氨基 | 氨基 | 甲基 | 甲基 |
|------|----|----|-----|----|----|----|
| 麻黄碱 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 大麦芽碱 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 |

$J(\text{麻黄碱}, \text{大麦芽碱}) = 0.8$

表 2. 麻黄碱与 2-苯乙酰胺之间的相似度

| | 苯环 | 酰胺基 | 甲氨基 | 羟基 |
|--------|----|-----|-----|----|
| 麻黄碱 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 2-苯乙酰胺 | 1 | 1 | 0 | 0 |

$J(\text{麻黄碱}, \text{2-苯乙酰胺}) = 0.25$

表 3. 麻黄碱与酪胺之间的相似度

| | 苯环 | 羟基 | 氨基 | 甲氨基 | 甲基 |
|-----|----|----|----|-----|----|
| 麻黄碱 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 酪胺 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 |

$J(\text{麻黄碱}, \text{酪胺}) = 0.6$

3.2 小鼠支气管哮喘模型评价

3.2.1 小鼠总体行为学记录

表 4. 各组小鼠气道炎症评分 (1)

| 组别 | 炎症均分 |
|------|------|
| 空白对照 | 0.0 |
| 模型对照 | 7.5 |

3.2.2 小鼠白细胞指标

OVA 致敏激发后小鼠的中性粒细胞数较小鼠血常规指标高, 单核细胞数较小鼠血常规指标高。符合致敏小鼠支气管哮喘症状后的变化情况。表 5 ($\bar{X} \pm S$) ($10^9/L$)

| | 白细胞总数 | 淋巴细胞数 | 中性粒细胞数 |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 空白对照组 | 0.50 \pm 0.20 | 0.33 \pm 0.04 | 0.08 \pm 0.01 |
| 哮喘模型组 | 0.66 \pm 0.18 | 0.40 \pm 0.17 | 0.12 \pm 0.03 |

由小鼠的一系列行为和小鼠血液白细胞中的白细胞总数, 淋巴细胞数和单核细胞数的变化可表明小鼠支气管哮喘模型建立成功。

3.3 仙人掌的缓解效果

3.3.1 小鼠行为学记录

表 6. 各组小鼠气道炎症评分 (2)

| 组别 | 炎症均分 |
|----------|------|
| 空白对照 | 0.0 |
| 模型对照 | 7.5 |
| 仙人掌水提物 | 5.0 |
| 仙人掌乙醇提取物 | 3.8 |
| 仙人掌生物碱 | 1.4 |

3.3.2 小鼠白细胞指标

| | 白细胞总数 | 中性粒细胞数 | 淋巴细胞数 |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 模型对照 | 1.21 \pm 0.24 | 0.19 \pm 0.12 | 1.00 \pm 0.15 |
| 仙人掌水提物 | 0.94 \pm 0.14 | 0.16 \pm 0.13 | 0.65 \pm 0.16 |
| 仙人掌乙醇提取物 | 0.78 \pm 0.17 | 0.10 \pm 0.03 | 0.55 \pm 0.23 |
| 仙人掌生物碱 | 0.71 \pm 0.08 | 0.06 \pm 0.06 | 0.63 \pm 0.08 |

表 7 ($\bar{x} \pm s$) 根据哮喘模型的要求测定了白细胞总数, 中性粒细胞数和淋巴细胞数 ($10^9/L$), 实验结果发现仙人掌生物碱组各项指标基本回归正常, 仙人掌乙醇提取物组指标偏向正常小鼠指标, 仙人掌水提物组中性细胞粒数较高, 单核细胞数基本正常。

3.3.3 各组小鼠总 IgE 水平对应的 OD 值

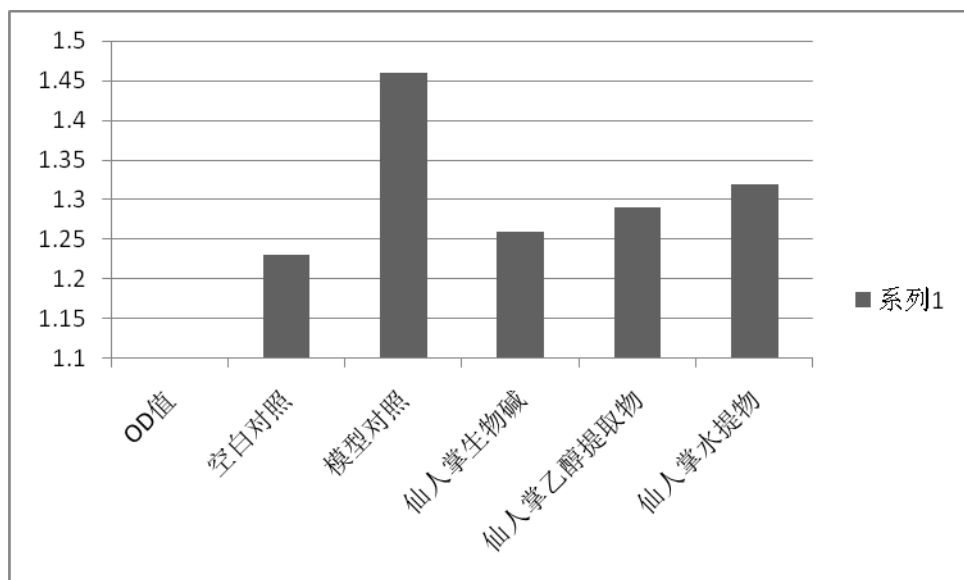


图 3: 各组小鼠总 IgE 水平 ($\bar{x} \pm s$) 根据哮喘模型的要求我测定了小鼠血清 IgE 水平对应的 OD 值, OD 值与 IgE 正相关, OD 值越高, IgE 数目越多, 小鼠的哮喘症状越严重, 实验结果发现生物碱组的 IgE 水平总体最接近空白对照, 其次乙醇组, 再次水提物组。

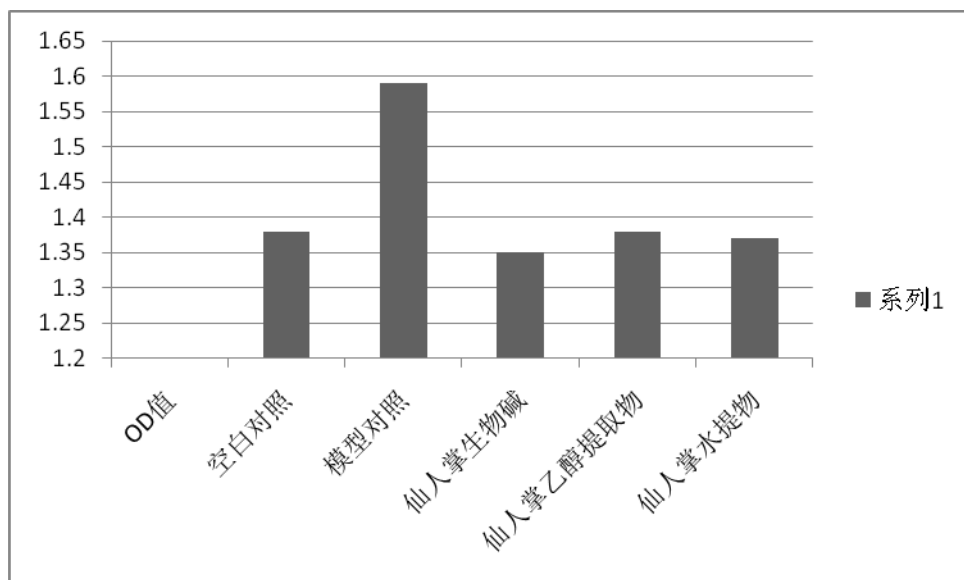


图 4: 各组小鼠总 IgE 水平 ($\bar{x} \pm s$) 根据哮喘模型的要求我测定了小鼠肺泡灌洗液中的 IgE 水平对应的 OD 值, OD 值与 IgE 正相关, OD 值越高, IgE 数目越多, 小鼠的哮喘症状越严重, 实验结果发现生物碱组的 IgE 水平总体最接近空白对照, 其次乙醇组, 再次水提取物组。

3.4.1 行为学记录

表 9: 各组小鼠气道炎症评分 (3)

| 组别 | 炎症均分 |
|------|------|
| 空白对照 | 0.0 |
| 模型对照 | 7.5 |
| 大麦芽碱 | 1.0 |
| 酪胺 | 2.1 |

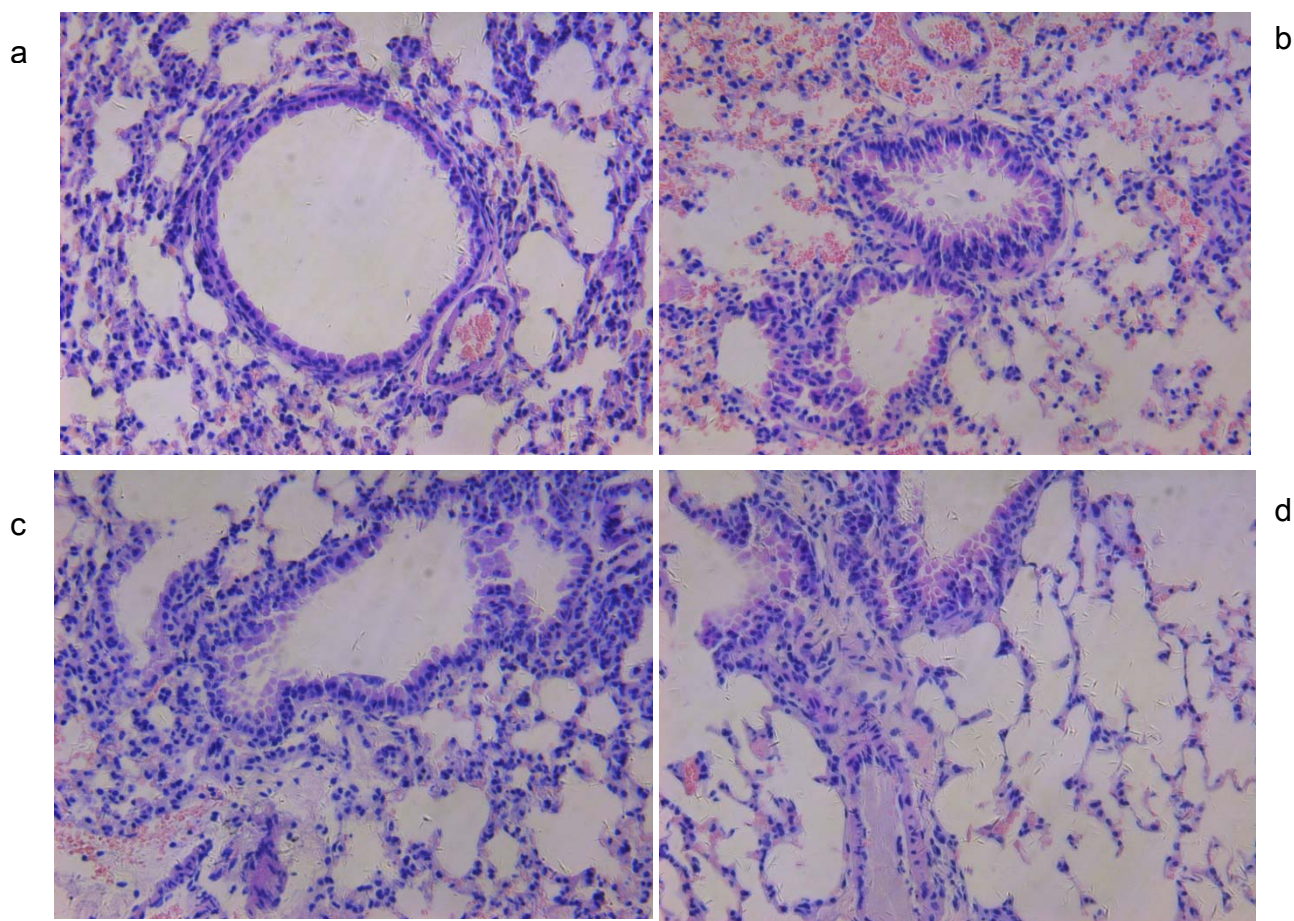
3.4.2 小鼠白细胞指标

根据哮喘模型评价的要求我测定了白细胞数，中性粒细胞数和单核细胞数的含量，根据结果可知大麦芽碱组数据基本正常，酪胺组数据偏向正常。表 10 ($\bar{x} \pm s$)

| | 白细胞总数 | 淋巴细胞数 | 中性粒细胞数 |
|------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 空白对照 | 0.50 \pm 0.20 | 0.33 \pm 0.04 | 0.08 \pm 0.01 |
| 模型对照 | 0.66 \pm 0.18 | 0.54 \pm 0.17 | 0.12 \pm 0.03 |
| 大麦芽碱 | 0.49 \pm 0.06 | 0.40 \pm 0.06 | 0.07 \pm 0.04 |
| 酪胺 | 0.49 \pm 0.12 | 0.41 \pm 0.09 | 0.07 \pm 0.03 |

3.4.3 肺组织病理学观察

为了能够更清晰地观察到大麦芽碱和酪胺对于支气管哮喘的缓解作用，进行了肺组织切片。结果表明大麦芽碱和酪胺的确能够缓解支气管哮喘，且大麦芽碱的效果比酪胺好。



4 讨论图 3:为小鼠肺组织病理切片 HE 染色图 (放大 20 倍), a 为空白对照组, b 为模型对照组, c 为大麦芽碱组, d 为酪胺组。

4.1. 结果的分析

本课题借助谷本系数判断出，食用仙人掌的生物碱中，大麦芽碱和酪胺与麻黄碱的相似度较高。由此推断，食用仙人掌可能具有缓解支气管哮喘的作用。

接着我制备了食用仙人掌的乙醇粗提物、水提物和生物碱进行药理实验验证，实验结果表明仙人掌的确具有缓解支气管哮喘的作用，并且仙人掌生物碱的效果优于乙醇提取物，乙醇提取物的效果优于水提物。

在后续的研究中，我选择了与麻黄碱相似度较高的大麦芽碱和酪胺进行动物实验，实验结果发现大麦芽碱和酪胺也的确具有缓解支气管哮喘的作用，可显著降低血液中的白细胞总数，中性粒细胞数和淋巴细胞数。而且，相似度较高的大麦芽碱的效果较好。

本研究实验数据可靠，结果可信。

4.2 前人的结论比较

在前人的研究中已经得知了食用仙人掌生物碱的主要成分及其含量^[7]，我进一步拓展，计算出食用仙人掌中的主要生物碱成分与模板分子麻黄碱之间的相似度，发现了与麻黄碱较为相似的生物碱——大麦芽碱和酪胺。大麦芽碱药理作用类似麻黄碱。^{[14][15]}酪胺，又名对羟基苯乙胺，是一类含氮低分子的生物胺，对动植物和微生物有重要的生理作用，具有易发生氧化的特性。可用于酶联免疫传感器的信号放大^[16]。在前人的研究中，因为对于小鼠支气管哮喘模型的建立与评价已经较为成熟^[17]，因此本研究借鉴前人对于模型建立和评价的一些方法，建立了小鼠支气管哮喘模型。

我们通过实验发现，仙人掌缓解支气管哮喘的活性成分中有生物碱在起作用，并且由于结构相似的物质可能具有相似的化学性质^[18]，仙人掌缓解支气管哮喘的机理可能与麻黄碱相同，都能够松弛支气管平滑肌，收缩血管，兴奋中枢神经^[19]。

4.3 创新点

(1) 利用谷本系数计算各个化合物之间的相似度，大致确定活性成分。将计算机化学与植物学和药理学实验相结合，多学科交叉地研究课题。为中草药活性成分的研究提供了新的思路。

(2) 将中国传统治疗方法——中药与西医的研究方法相结合，推进了中药的现代化。

(3) 由于关于食用仙人掌的药理活性的这一方面研究较少，本研究可以为后续的食用仙人掌的研究提供一定的依据。

展望

继续开展和研究这方面的工作的具体计划如下：

(1) 进一步深化本课题的研究，具体步骤如下：

①使用分子模拟与比较软件如 Corina 和 sybyl 进行精确的三维分子相似性比较而不是停留在二维平面的大致相似度分析，并且希望找出更多食用仙人掌中含有的能够缓解支气管哮喘的化合物。

②寻找食用仙人掌生物碱中其他对支气管哮喘有缓解作用的化合物并进行药理实验验证，对于其中相似度较高但功效不出众的部位进行结构改造。

③由于生物碱具有一定的毒性，因此需要测定戊巴比妥半数有效量和戊巴比妥半数致死量，确定合适的生物碱用量。

④探索食用仙人掌中是否还有其他除生物碱外的化合物具有缓解支气管哮喘的作用。

⑤选择其他品种的仙人掌进行研究。

(2) 利用 zinc 网站，以麻黄碱为模板分子，找出与麻黄碱相似度较高的天然活性产物，分析其药用部位，并对其进行一定的结构改造，提高化合物的活性，使改造后化合物能够真正用于临床研究。

5 结论

5.1 食用仙人掌对小鼠支气管哮喘缓解作用良好。

食用仙人掌生物碱中的大麦芽碱和酪胺与麻黄碱的相似度较高。药理实验结果表明食用仙人掌对支气管哮喘的缓解作用良好，尤其是生物碱提取物部分。

5.2 大麦芽碱对支气管哮喘的缓解作用优于酪胺。

食用仙人掌生物碱中的大麦芽碱与模板分子麻黄碱的相似度最高。因此食用仙人掌生物碱中大麦芽碱对支气管哮喘的缓解作用良好。药理实验结果表明，大麦芽碱对支气管哮喘的缓解作用优于酪胺。

5.3 本研究所使用的方法合理。

本研究说明了本研究所采用的利用谷本系数确定中草药中有效成分这一方法的有效性

致谢

经过一年的努力和研究，我完成了整个课题的研究。尽管本课题还是有很多值得改进的地方，但是在支气管哮喘的临床医学研究上还是跨出了不小的一步。在这一过程中，我得到了学校老师，瑞金医院的老师，上海中医药大学老师，华东师范大学老师和生物公司的老师的帮助。非常感谢他们耐心细致的指导，让我完成了本课题中的研究。

参考文献

- [1]仙人掌及其药用价值介绍见网页：[仙人掌（石竹沙漠植物）](#) 百度百科
- [2]方涛. 食用仙人掌中生物碱物质的提取与分析[M] 安徽农业大学 2008
- [3]裴海寅, 奚肇庆. 中医治疗哮喘的研究进展. 中医学报[J]. 2013, 28(1): 21-23
- [4]李美容, 王敏. 哮喘小鼠模型的建立与评价. 临床肺科杂志[J]. 2011, 16(5): 664-665
- [5]苏新明, 陈晓平, 康健. 支气管哮喘小鼠模型气道血管变化及其影响因子分析. 中国组织化学与细胞化学杂志[J]. 2009, 18(2): 151-155
- [6]Fligner MA, Verducci JS. A Modification of the Jaccard-Tanimoto Similarity Index for Diverse Selection of Chemical Compounds Using Binary Strings. Technometrics [J]. 2002, 44 (2): 110-113.
- [7]赵声兰, 陈朝银, 段家贵. 仙人掌提取物的抑菌作用研究. 食品工业科技[J]. 2003, 5:41-43
- [8]吴阔, 唐咏, 王萍萍, 陈丹, 刘鹏举, 裴雪亮. 仙人掌中提取生物碱工艺的优化. 安徽农业科学[J]. 2007, 35 (12) : 3658-3659.
- [9]沈华浩, 王平莉. 支气管哮喘小鼠模型应用评价. 中华结核和呼吸杂志[J]. 2005, 28(4) : 284-286.
- [10] 相云, 尚云晓. 唾液乳杆菌对哮喘 Balb/c 小鼠血清及肺组织匀浆中 IL4、IFN- γ 及 IgE 的影响. 国际儿科学杂志[J]. 2015, 42(5) : 582-586.
- [11] 冉苇, 邓宜红, 庄义军, 李雪萍, 程训佳. 以粉尘螨提取液为致敏原产生高水平 IgE 的改良小鼠哮喘模型的建立和评估. 中国免疫学杂志[J]. 2014, 30(2) :235-239.
- [12] 李红芬, 郑肇巽, 马品耀, 平国强. HE 染色原理和试剂配制及染色过程中的若干问题的探讨. 医学信息[J]. 2011, 24(4) : 1985-1986.
- [13] 田玉旺, 李琳, 朱红艳, 邢宜, 苗金红. 常规 HE 染色易出现的问题、原因及解决方法. 诊断病理学杂志[J]. 2008, 15(6) : 500-501.
- [14]王雄, 吴金虎. 大麦芽的研究概述. 中药材[J]. 2010, 33(9) : 1503-1508.
- [15]李继珩. 麻黄素及其临床研究现状. 医药导报[J]2001, 20(1) : 11-12.
- [16]刘梦琴, 蒋健晖, 冯泳兰, 黄勇, 沈国励, 俞汝勤. 基于酪胺信号放大的新型免疫传感器. 分析化学研究简报[J]. 2010, 38(2) : 258-262.
- [17] 唐晓媛, 于化鹏, 邓火金, 陈新, 樊慧珍, 龚雨新, 刘俊芳. 不同剂量致敏原对小鼠哮喘模型气道反应性的影响. 现代医学[J]. 2011, 39(2) : 121-125.

- [18] 蒋雨惜. 应用分子相似性搜索方法发现活性天然产物及潜在药用植物初探. 华师大二附中 2012
- [19] 麻黄碱作用与用途见网页: [麻黄碱 百度百科](#).
- [20] 姚新生. 中药天然药物活性成分的研究方法. 药学服务与研究[J]. 2003, 3(4): 205-209.
- [21] 欧阳方平, 徐慧, 郭爱敏, 李燕峰. 分子模拟方法及其在分子生物学中的应用. 生物信息学[J]. 2005, 1(3): 33-36.
- [22] 张宁, 徐永健, 张珍祥, 李超乾. 核因子-kB 对支气管哮喘大鼠淋巴细胞增殖和凋亡的调节作用及雷公藤甲素对其影响. 中国中西医结合杂志[J]. 2004, 24(5): 435-438.