

生品和蜜炙款冬花不同提取物的镇咳祛痰作用

凌珊¹, 易炳学¹, 龚千锋^{1*}, 肖永庆²

(1. 江西中医学院, 南昌 330004; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] **目的:**研究款冬花生品与蜜炙品不同溶媒提取物的镇咳、祛痰作用。**方法:**镇咳实验:昆明种小鼠,随机分成空白、阴性(溶剂)对照、阳性枸橼酸喷托维林对照组(0.01 g·kg⁻¹)、生品和蜜炙款冬花(按生药量计,下同)水提物高、低剂量组(6.20, 3.10 g·kg⁻¹)、醇提取物高、低剂量组(6.0, 3.0 g·kg⁻¹)、乙酸乙酯和石油醚提取物高、低剂量组(0.5, 0.25 g·kg⁻¹)。给药体积为 25 mL·kg⁻¹,连续 ig 给药 5 d,然后观察 25% 浓氨水定量喷雾后出现咳嗽的潜伏期及 2 min 内的咳嗽次数。祛痰实验:SD 大鼠随机分成空白、阴性、阳性氯化铵对照组(0.16 g·kg⁻¹)、生品和蜜炙款冬花水提物高、低剂量组(2.70, 1.35 g·kg⁻¹);醇提取物高、低剂量组(3.0, 1.5 g·kg⁻¹)、乙酸乙酯和石油醚提取物高、低剂量组(0.25, 0.125 g·kg⁻¹)。给药体积为 25 mL·kg⁻¹,连续 ig 给药 3 d,毛细管法记录末次给药后 2 h 大鼠痰液分泌量。**结果:**与模型对照组相比,生品和蜜炙款冬花醇提取物镇咳效果显著,咳嗽潜伏期明显延长($P < 0.05$),咳嗽次数明显减少($P < 0.01$)。两者水提物也有部分镇咳作用。与模型对照组痰量相比,蜜炙款冬花水提物高、低剂量组,生款冬花乙酸乙酯提取低剂量组,蜜炙款冬花乙酸乙酯提取物高剂量组痰量明显增多($P < 0.05$)。此外,生款冬花各溶媒提取物组小鼠体重下降显著($P < 0.05$)。**结论:**款冬花具有镇咳、祛痰作用。其镇咳成分极性较大,易溶于水和乙醇;祛痰成分极性较小,脂溶性较大。生款冬花各溶媒提取物可能具有一定毒性。

[关键词] 款冬花; 炮炙; 镇咳; 祛痰

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0187-04

[doi] 10.11653/syjf2013110187

Antitussive and Expectorant Activity of Different Extracts from the Crude and Honey-stir-baked *Tussilago farfara* Flower

LING Shan¹, YI Bing-xue¹, GONG Qian-feng^{1*}, XIAO Yong-qing²

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antitussive and expectorant activity of different extracts from the crude and honey-stir-baked *Tussilago farfara* flower. **Method:** Antitussive experiment: Mice were randomly divided into the normal control group, the negative control group (the solvent), the positive control group (pentoxifyverine citrate, 0.01 g·kg⁻¹), the high, low-dose group of aqueous extract (6.20, 3.10 g·kg⁻¹), the high, low-dose group of alcohol extract (6.0, 3.0 g·kg⁻¹), the high, low-dose group of ether and ethyl acetate extract (0.5, 0.25 g·kg⁻¹) from the crude and honey-stir-baked *T. farfara* flower. The intragastric administration volume was 25 mL·kg⁻¹ for 5 days. The latent period of cough and frequency of cough in 2 min were determined after 25% ammonia quantitative spray. Expectorant experiment: SD rats were randomly divided into the normal control group, the negative control group, the positive control group (NH₄Cl, 0.16 g·kg⁻¹), the high, low-dose group of aqueous extract (2.70, 1.35 g·kg⁻¹), the high, low-dose group of alcohol extract (3.0, 1.5 g·kg⁻¹), the high, low-dose group of ether and ethyl acetate extract (0.25, 0.125 g·kg⁻¹) from the crude and

[收稿日期] 20121022(009)

[基金项目] 国家中医药行业专项课题(201007012-2-9)

[第一作者] 凌珊, 硕士研究生, 从事中药药理学研究, E-mail:viola8704@126.com

[通讯作者] * 龚千锋, 教授, 从事中药学研究, E-mail:qunggf2002@163.com

honey-stir-baked *T. farfara* flower. The intragastric administration volume was $25 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ for 3 days. The secretory volume of sputum was determined by glass capillary method after 2 h of the last administration. **Result:** Compared with model control group, Ethanol extracts of the crude and honey-stir-baked *T. farfara* flower had strong antiasthmatic activity, could prolong the latent period of cough ($P < 0.05$) and reduce the frequency of cough ($P < 0.05$) significantly. At the same time, aqueous extracts of the crude and honey-stir-baked *T. farfara* flower had some antitussive effect. Expectorant experiment: compared with model control group, the volume of sputum was increased significantly ($P < 0.05$) in high, low-dose group of aqueous extract from honey-stir-baked *T. farfara* flower, low-dose group of ethyl acetate extract from crude *T. farfara* flower and high dose group of ethyl acetate extract from honey-stir-baked *T. farfara* flower. Moreover, the body weight of mice significantly reduced in the group of different solvent extracts from crude *T. farfara* flower ($P < 0.05$). **Conclusion:** *T. farfara* flower has antitussive and expectorant activity. Its antitussive ingredients possess high-polarity and are soluble in water and ethanol freely; But its expectorant ingredients possess low-polarity and are fat-soluble. At the same time, different solvent extracts of crude *T. farfara* flower may have some toxicity.

[**Key words**] *Tussilago farfara*; processed drug; antitussive activity; expectorant activity

款冬花为菊科植物款冬的干燥花蕾,性味辛、温,入肺经,有润肺下气、止咳化痰之功^[1]。前人仅对其生品进行了镇咳和心血管等方面的药理研究,证明了款冬花水煎剂具有镇咳作用,其醇和醚提取物具有升高血压作用。但未见有对临床常用的炮炙品蜜炙款冬花的研究报道,因此本文在初步分离提取款冬花活性成分的基础上,分别对款冬花生品和蜜炙品的水提物、醇提物、乙酸乙酯提取物和石油醚提取物进行了初步的镇咳和祛痰实验,以确定款冬花生品与蜜炙品的镇咳和祛痰的有效部位以及其极性,为款冬花生品与炮制品质量控制及其安全性方面提供有力支持。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,体重 $18 \sim 22 \text{ g}$; SD 大鼠,体重 $180 \sim 220 \text{ g}$,雌雄兼用,由江西中医学院动物中心提供,清洁级,合格证号 SCXK-2005-0001。

1.2 药物 生品款冬花 *Tussilago farfara* L.,河南产,购自江西樟树天齐堂中药饮片有限公司,经江西中医学院生药教研室鉴定。蜜炙款冬花制备^[2],将干净款冬花按照蜜炙法用蜜水炒至表面棕褐色,具蜜香气,略有黏性但不黏手为止。生品和蜜炙款冬花各溶媒提取物由本校药物化学实验室提供。

1.3 试剂 25% 氨水(江西洪都生物化学有限公司产品,生产批号 101101),乌拉坦(国药集团化学试剂有限公司产品,生产批号 T20110214),枸橼酸喷托维林片(天津药业焦作有限公司产品,生产批号 11022221)。

1.4 仪器 超生雾化引咳装置(江苏鱼跃医疗设备股份有限公司),AR1140/C 型电子分析天平(奥豪

斯上海公司),WT10002K 电子天平(常州万泰天平仪器有限公司),GZX-9070MBE 数显鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),智能恒温电热套(巩义市予华仪器有限责任公司),HH-S 恒温水浴锅(江苏省金坛市医疗仪器厂),BCD-179K 冷藏冷冻箱(青岛海尔股份有限公司),药典筛(浙江上虞市道墟张兴纱筛厂)。

2 方法

2.1 镇咳实验(浓氨水喷雾法)^[3-4] 小鼠置于特制的玻璃钟罩内,使用超声雾化喷雾器进行 25% 浓氨水定量喷雾,5 s 后立即取出,记录小鼠从接受喷雾开始到出现咳嗽的潜伏期,以及 2 min 内的咳嗽次数。剔除喷雾后 2 min 不咳嗽者。合格小鼠 2 d 后随机分成空白、阴性(溶剂)对照、阳性枸橼酸喷托维林对照组($0.01 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),生品和蜜炙款冬花水提物高、低剂量组($6.20, 3.10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$);醇提取物高、低剂量组($6.0, 3.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),乙酸乙酯和石油醚提取物^[5]高、低剂量组($0.5, 0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。水提取物以生理盐水为阴性对照,有机溶剂提取物以精制植物油为阴性对照,以枸橼酸喷托维林为阳性对照^[6-8]。给药体积为 $25 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,连续 ig 给药 5 d,每日称重。于末次给药后 1 h,25% 浓氨水定量喷雾,5 s 后立即取出。记录小鼠从接受喷雾开始到出现咳嗽的潜伏期及 2 min 内的咳嗽次数。

2.2 祛痰实验(毛细玻管法)^[3-4] SD 大鼠随机分成空白组、阴性组、阳性药氯化铵对照组($0.16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、生品和蜜炙款冬花水提物高、低剂量组($2.70, 1.35 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$);醇提取物高、低剂量组($3.0, 1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、乙酸乙酯和石油醚提取物高、低剂量组

(0.25, 0.125 g·kg⁻¹)。给药体积为 25 mL·kg⁻¹, 连续 ig 给药 3 d。末次给药 1 h 后 ip 乌拉坦 (1 g·kg⁻¹) 麻醉大鼠, 然后将其仰卧位固定, 剪开颈中皮肤, 分离气管, 插入毛细管, 吸取气管内痰液。以毛细管吸取痰液的长度作为评价药物的祛痰效果。记录 2 h 大鼠痰液分泌量。

2.3 数据处理 本实验计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据采用 SPSS 10.0 进行统计学处理, 计量资料比较采用单因素方差分析, 两组间数据比较采用 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 镇咳实验 生品和蜜炙款冬花水提物组、醇提物组、乙酸乙酯提取物组均有镇咳作用, 其中以生款冬花水提物小剂量组、生品和蜜炙款冬花醇提物组镇咳效果最好, 不仅能显著减少小鼠 2 min 内咳嗽次数, 而且明显延长了其咳嗽潜伏期。见表 1~2。

表 2 款冬花醇、乙酸乙酯及石油醚提取物的镇咳作用 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 咳嗽潜伏期/s | 2 min 内咳嗽数/次 | 咳嗽抑制率/% |
|-------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|---------|
| 空白对照 | - | 120 | 0 | - |
| 模型对照 | - | 9 ± 7 | 15.6 ± 6.4 | - |
| 枸橼酸喷托维林 | 0.01 | 32 ± 29 | 4.1 ± 4.0 | 85.9 |
| 生款冬花醇提取物 | 6.00 | 64 ± 36 ^{3,4)} | 3.4 ± 2.7 ²⁾ | 87.3 |
| | 3.00 | 69 ± 37 ^{3,4)} | 3.0 ± 3.0 ²⁾ | 88.9 |
| 蜜款冬花醇提取物 | 6.00 | 66 ± 36 ^{3,4)} | 2.9 ± 3.1 ²⁾ | 88.4 |
| | 3.00 | 71 ± 33 ^{3,4)} | 2.3 ± 3.1 ²⁾ | 90.1 |
| 生款冬花乙酸乙酯提取物 | 0.50 | 53 ± 35 ³⁾ | 5.7 ± 3.8 ¹⁾ | 76.1 |
| | 0.25 | 53 ± 31 ³⁾ | 5.5 ± 4.2 ¹⁾ | 75.3 |
| 蜜款冬花乙酸乙酯提取物 | 0.50 | 54 ± 33 ³⁾ | 5.5 ± 3.8 ¹⁾ | 77.6 |
| | 0.25 | 54 ± 37 ³⁾ | 5.6 ± 3.1 ¹⁾ | 76.4 |
| 生款冬花石油醚提取物 | 0.50 | 43 ± 31 ²⁾ | 6.2 ± 5.0 | 60.5 |
| | 0.25 | 39 ± 28 ¹⁾ | 6.4 ± 4.2 | 62.9 |
| 蜜款冬花石油醚提取物 | 0.50 | 43 ± 30 ²⁾ | 6.6 ± 3.9 | 63.7 |
| | 0.25 | 40 ± 30 ¹⁾ | 6.3 ± 2.8 | 63.0 |

注: 与模型对照组相比¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01, ³⁾ *P* < 0.001; 与枸橼酸喷托维林组相比⁴⁾ *P* < 0.05。

3.2 祛痰实验 蜜款冬花水提物组、生款冬花乙酸乙酯低剂量组、蜜款冬花乙酸乙酯高剂量组都有明显祛痰效果。尤以蜜炙款冬花乙酸乙酯提取物大剂量组祛痰效果最好。见表 4~5。

4 讨论

款冬花性味辛、温, 入肺经, 有润肺下气、止咳化痰之功。本品辛散质润、温而不燥, 为润肺止咳化痰良药, 适用于多种咳嗽气喘。无论外感、内伤咳嗽、寒性和热性咳嗽, 均可选用, 故有治疗咳嗽要药之称^[9-10]。其以温而不热、辛而不燥、甘而不滞为特点, 因此对于肺虚久嗽、肺寒痰多之咳嗽最为适用, 如治疗痰饮郁结的射干麻黄汤(《金匱要略方论》); 治疗寒咳的款冬花汤(《圣济总录》)。

表 1 款冬花水提物的镇咳作用 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 咳嗽潜伏期/s | 2 min 内咳嗽数/次 | 咳嗽抑制率/% |
|---------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|---------|
| 空白对照 | - | 120 | 0 | - |
| 模型对照 | - | 7 ± 7 | 18.4 ± 13.6 | - |
| 枸橼酸喷托维林 | 0.01 | 32 ± 29 | 4.1 ± 4.0 | 85.9 |
| 生款冬花 | 6.20 | 63 ± 34 ^{2,3)} | 3.7 ± 3.6 ¹⁾ | 87.2 |
| | 3.10 | 70 ± 37 ^{2,3)} | 3.2 ± 3.1 ¹⁾ | 88.7 |
| 蜜炙款冬花 | 6.20 | 47 ± 34 ¹⁾ | 5.0 ± 3.6 ¹⁾ | 82.8 |
| | 3.10 | 44 ± 30 ¹⁾ | 4.8 ± 2.7 ¹⁾ | 80.4 |

注: 与模型对照组相比¹⁾ *P* < 0.01, ²⁾ *P* < 0.001; 与枸橼酸喷托维林组相比³⁾ *P* < 0.05。

生款冬花水提物与醇提物组小鼠体重下降明显, 且动物有死亡, 因此推测生款冬花可能具有一定毒性。见表 3。

本研究在初步分离提取款冬花活性成分的基础上, 分别对款冬花的水提物、醇提物、乙酸乙酯提取物和石油醚提取物进行了传统的镇咳、祛痰实验。结果表明, 除水提物外, 款冬花生品与蜜炙品醇提物均具有显著地镇咳效果, 且低剂量组镇咳效果优于高剂量组, 其中以蜜炙款冬花醇提物低剂量组镇咳效果最佳。同时发现蜜款冬花水提物组、生款冬花乙酸乙酯低剂量组和蜜款冬花乙酸乙酯高剂量组都有明显祛痰效果, 其中以蜜炙款冬花乙酸乙酯提取物高剂量组祛痰效果最好。由此可以推断, 款冬花镇咳成分极性较大, 易溶于水与乙醇; 其祛痰成分极性较小, 水溶性较小。同时发现生款冬花水提物与

表 3 款冬花提取物对小鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | 体重/g | |
|--------------|---------------------------|------------|--------------------------|
| | | 第 0 d | 第 5 d |
| 生理盐水对照 | - | 20.8 ± 1.2 | 22.5 ± 1.3 |
| 植物油对照 | - | 20.9 ± 1.0 | 22.8 ± 0.7 |
| 枸橼酸喷托维林 | 0.01 | 20.5 ± 0.6 | 19.6 ± 0.6 |
| 生款冬花水提取物 | 6.20 | 20.7 ± 1.7 | 16.2 ± 0.9 ¹⁾ |
| | 3.10 | 19.8 ± 0.8 | 17.1 ± 0.8 ¹⁾ |
| 蜜炙款冬花水提取物 | 6.20 | 20.8 ± 0.2 | 20.9 ± 0.9 |
| | 3.10 | 20.3 ± 0.4 | 22.7 ± 0.6 |
| 生款冬花醇提取物 | 6.00 | 20.4 ± 1.0 | 19.4 ± 1.3 ²⁾ |
| | 3.00 | 19.6 ± 1.1 | 19.8 ± 0.8 ²⁾ |
| 蜜炙款冬花醇提取物 | 6.00 | 21.5 ± 0.7 | 20.3 ± 0.7 |
| | 3.00 | 20.8 ± 0.9 | 21.6 ± 1.3 |
| 生款冬花乙酸乙酯提取物 | 0.50 | 20.3 ± 0.8 | 17.5 ± 0.2 ³⁾ |
| | 0.25 | 20.6 ± 0.3 | 18.3 ± 1.8 ³⁾ |
| 蜜炙款冬花乙酸乙酯提取物 | 0.50 | 21.2 ± 1.3 | 18.6 ± 1.2 ³⁾ |
| | 0.25 | 20.3 ± 0.8 | 18.2 ± 0.5 ³⁾ |
| 生款冬花石油醚提取物 | 0.50 | 20.7 ± 0.4 | 15.8 ± 0.3 ³⁾ |
| | 0.25 | 19.8 ± 1.6 | 16.4 ± 0.3 ³⁾ |
| 蜜炙款冬花石油醚提取物 | 0.50 | 20.3 ± 0.2 | 16.8 ± 0.4 ³⁾ |
| | 0.25 | 20.8 ± 1.2 | 16.0 ± 1.1 ³⁾ |

注:与生理盐水组相比¹⁾ $P < 0.01$;与植物油对照组相比²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。

表 4 款冬花水提取物的祛痰作用 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 痰量/mm |
|-----------|-----------------------|---------------------------|
| 模型对照 | - | 4.98 ± 1.37 |
| 氯化铵 | 0.16 | 9.08 ± 1.56 |
| 生款冬花水提取物 | 2.70 | 8.18 ± 1.58 |
| | 1.35 | 8.22 ± 1.72 |
| 蜜炙款冬花水提取物 | 2.70 | 9.32 ± 1.83 ¹⁾ |
| | 1.35 | 9.28 ± 1.34 ¹⁾ |

注:与模型对照组相比¹⁾ $P < 0.05$ (表 5 同)。

表 5 款冬花醇、乙酸乙酯及石油醚提取物的祛痰作用 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 痰量/mm |
|--------------|-----------------------|---------------------------|
| 模型对照 | - | 5.94 ± 1.28 |
| 氯化铵 | 0.16 | 9.08 ± 1.56 |
| 生款冬花醇提取物 | 3.00 | 6.98 ± 2.01 |
| | 1.50 | 7.05 ± 1.69 |
| 蜜炙款冬花醇提取物 | 3.00 | 8.37 ± 1.68 |
| | 1.50 | 8.06 ± 1.88 |
| 生款冬花乙酸乙酯提取物 | 0.25 | 8.68 ± 1.75 |
| | 0.125 | 9.21 ± 1.52 ¹⁾ |
| 蜜炙款冬花乙酸乙酯提取物 | 0.25 | 9.63 ± 1.54 ¹⁾ |
| | 0.125 | 8.33 ± 1.42 |
| 生款冬花石油醚提取物 | 0.25 | 5.91 ± 1.32 |
| | 0.125 | 5.27 ± 1.19 |
| 蜜炙款冬花石油醚提取物 | 0.25 | 4.03 ± 1.32 |
| | 0.125 | 4.51 ± 1.07 |

醇提取物小鼠体重下降明显,且有不同程度死亡现象。有报道称款冬花中含具有肝毒性的吡咯里西啶生物碱,如千里光宁、肾形千里光碱、全缘千里光碱等^[11-12],因此我们推测小鼠体重降低可能与款冬花中吡咯里西啶生物碱有一定关系,但具体原因尚需更进一步研究。

我国从南北朝刘宋时期就有采用甘草水浸,炒,焙及蜜水拌炒等炮制款冬花的方法,目前其炮制品以蜜炙为主。款冬花经炮制后药性温润,润肺止咳作用增强,毒性降低。本文确定了款冬花生品与蜜炙品的镇咳和祛痰的有效部位以及其极性,为款冬花生品与炮制品质量控制及其安全性方面提供了强有力的支持。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:312.

[2] 任群峰, 刘天禄. 款冬花蜜炙经验[J]. 新疆中医药, 2000, 18(4):46.

[3] 陈奇. 中药药理研究方法论学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1993:339.

[4] 李仪奎. 中药药理实验方法论学[M]. 2版. 上海:上海科学技术出版社, 2006:674.

[5] 王筠默. 药学报款冬花的药理研究(二)对心血管系统的作用[J]. 1979, 14(5):268.

[6] 张学梅, 刘凡亮, 梁文波, 等. 白芥子提取物的镇咳、祛痰及平喘作用研究[J]. 中草药, 2003, 34(7):635.

[7] 颜晓燕, 童志远, 晏子俊, 等. 暗紫贝母及浙贝母醇水提取物镇咳、祛痰及平喘作用比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16):250.

[8] 陈燕, 滕宝霞, 刘玉玲. 止咳祛痰糖浆镇咳、祛痰及平喘的药效学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 2(13):20.

[9] 刘毅, 王允, 万德光, 等. 款冬花本草考证[J]. 中药材, 2010, 33(4):634.

[10] 刘可越, 张铁军, 高文远, 等. 款冬花的化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(22):1837.

[11] 濮社班, 徐德然, 张勉, 等. 中药款冬花中肝毒吡咯里西啶生物碱的 LC/MSⁿ 检测[J]. 中国天然药物, 2004, 2(5):293.

[12] 回连强, 高双荣, 刘婷, 等. 款冬花及其总生物碱的肝毒性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4):238.

[责任编辑 聂淑琴]