

宝铎草的止咳、祛痰作用研究

马莹^{1,2}, 沈祥春^{2*}, 茅向军¹

(1. 贵州省食品药品检验所, 贵阳 550004; 2. 贵阳医学院药理研究室, 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 研究宝铎草提取物的止咳、祛痰作用。方法: 将小鼠随机分为空白、阳性药、乙酸乙酯层提取物高、低剂量(2.5, 1.25 g·kg⁻¹)和水层提取物高、低剂量(2.5, 1.25 g·kg⁻¹)组, ig 给药 5 d。采用小鼠氨水引咳实验观察其镇咳作用, 小鼠气管段酚红排泌实验观察其祛痰作用。取兔离体气管条, 随机分为阳性药组、宝铎草乙酸乙酯层高、中、低剂量(100, 10, 1.0 g·L⁻¹)和水层高、中、低剂量(100, 10, 1.0 g·L⁻¹)组, 采用纤毛运动实验观察其促进纤毛运动作用。结果: 宝铎草乙酸乙酯层提取物止咳作用显著($P < 0.01$); 乙酸乙酯层及水层提取物均可影响酚红分泌($P < 0.05$); 乙酸乙酯层及水层提取物高剂量组可明显加快兔离体气管纤毛运动速率($P < 0.01$)。结论: 宝铎草乙酸乙酯层及水层提取物具有止咳、祛痰作用; 其止咳作用有效成分主要分布于乙酸乙酯层。

[关键词] 宝铎草; 引咳; 酚红分泌; 纤毛运动; 有效成分

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0261-03

Study on the Anti-cough and Anti-sputum Effects of *Disporum sessile*

MA Ying^{1,2}, SHEN Xiang-chun^{2*}, MAO Xiang-jun¹

(1. Guizhou Institute For Food and Drug Control, Guiyang 550004;

2. Pharmacological Research Section of Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To study *Disporum sessile*'s effects of anti-cough and anti-sputum. **Method:** Mice were randomly divided into 6 groups: blank, positive medicine, ethyl acetate layer high, low doses (2.5, 1.25 g·kg⁻¹) and water layer high, low doses (2.5, 1.25 g·kg⁻¹). Drugs were ig administrated for 5 days. Cough caused by strong ammonia in mice was used to evaluate anti-cough effect. Phenol red applied to trachea in mice was used to observe the efficacy of anti-sputum. Trachea clips isolated from rabbit were randomly divided into groups: positive medicine, ethyl acetate layer low, medium, high doses (100, 10, 1.0 g·L⁻¹) and water layer high, medium, low doses (100, 10, 1.0 g·L⁻¹). The model of cilia movement was applied to observe the efficacy of promotion of cilia movement. **Result:** The ethyl acetate layer showed significant anti-cough effect ($P < 0.01$). The phenol red concentration of the water layer was higher than that of the ethyl acetate layer with no significant difference. High concentration of the ethyl acetate layer and the water layer could obviously quicken the speed of the rabbit's cilia movement. **Conclusion:** The acetate layer and the water layer extract of *Disporum sessile* has the effects of anti-cough and anti-sputum. The herb's active ingredients of anti-cough effect mainly exists in ethyl acetate layer.

[Key words] *Disporum sessile*; aqua ammonia; cough inducing; phenol red secretion; cilia movement; effective component

宝铎草为百合科植物宝铎草的干燥根及根茎, 为贵州苗族常用特色地产药物。宝铎草在我省多个

地区应用广泛, 亦为我省苗族传统草药, 具润肺止咳、健脾消积之功效, 用于虚损咳喘, 痰中带血, 肠风

[收稿日期] 20120308(007)

[第一作者] 马莹, 硕士, 从事药品与保健品质量控制及安全监测研究, Tel: 0851-6808862, E-mail: maying26@163.com

[通讯作者] * 沈祥春, 博士, 教授, 从事中药民族药药理及心血管药理研究, Tel: 0851-6909274, E-mail: shenxiangchun@126.com

下血,食积胀满^[1]。《贵州省中药材、民族药材质量标准(2003 年版)》中“百尾参”项下收录了宝铎草,所附两项化学鉴别试验指明其中含有生物碱和黄酮类物质^[2]。虽然宝铎草在民间使用广泛,但其有关研究资料极少,其化学成分及药理作用鲜见报道,有效部位及作用机制尚不明确。本课题针对其在民间的适应症及相关典籍对其药效的简单描述,针对其止咳、化痰药理作用进行研究,为其进一步的开发利用提供试验数据和一定的理论依据。

1 材料

1.1 药品和试剂 宝铎草采于贵州安顺,经贵阳中医学院陈德媛研究员鉴定为百合科植物宝铎草 *Disporum sessile* (Thunb.) D. Don。宝铎草提取物(自制):取宝铎草干燥药材 18 kg,剪碎,打成粗粉,用 95% 乙醇加热回流提取 3 次,回收乙醇得提取液 1.8 L。将总提取液用乙酸乙酯萃取,乙酸乙酯层浓缩得浸膏 120.6 g,水层部分浓缩至 2.0 L。复方甘草口服溶液,太极集团重庆涪陵制药厂有限公司,批号 10100098;复方桔梗止咳片,吉林益民堂制药有限公司,批号 20110201;所用试剂试药均为分析纯。

1.2 仪器 TU-1901 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);20 倍解剖显微镜(美国 BAUSCH&LOMB)。

1.3 动物 昆明种小鼠,新西兰大白兔,由贵阳医学院实验动物中心提供,动物合格证号 SCXK(黔)2002-0001。

2 方法^[3]

2.1 止咳作用 取体重为(20±2) g 的健康小鼠,雌雄各半,按体重随机分为 4 组,即空白对照组、复方甘草口服溶液组(3.33 mL·kg⁻¹)、宝铎草提取物高、低剂量组(2.5, 1.25 g·kg⁻¹)。灌胃给药 3 次/d,连续给药 5 d,末次给药 30 min 后,进行引咳试验:将浸有浓氨水的脱脂棉球(取质量为 0.2 g 的脱脂棉球,吸取浓氨水 1 mL,注射于棉球上,即得)放入倒扣的玻璃钟罩内,1 min 后,将小鼠置于玻璃钟罩中,同时开始计时。记录小鼠引咳潜伏期(从放入钟罩至开始咳嗽的时间)及 2 min 内小鼠的咳嗽次数。

2.2 祛痰作用

2.2.1 对小鼠气管酚红分泌量的影响 取体重为(20±2) g 的健康小鼠,雌雄各半,按体重随机分为 4 组,即空白对照组、复方桔梗止咳片组(0.19 g·kg⁻¹)、宝铎草提取物高、低剂量组(2.5, 1.25 g·kg⁻¹)。灌胃给药 3 次/d,连续给药 5 d,末次给药

30 min 后,进行酚红分泌试验:小鼠腹腔注射 5% 酚红生理盐水溶液 0.01 mL·g⁻¹ 体重。30 min 后,脱颈处死小鼠,分离出气管。用 0.5% 碳酸氢钠溶液 0.6 mL 冲洗气管 3 次,重复 3 次,合并冲洗液。将冲洗液离心 15 min (3 000 r·min⁻¹),取上清液,用紫外-可见分光光度计在 546 nm 波长处测量吸光度(A),根据酚红标准溶液浓度回归方程,计算冲洗液中的酚红浓度。

2.2.2 对兔离体气管段纤毛运动速率的影响 取兔用木棒敲击后脑致死,分离出气管,剪取喉头至气管分叉处的气管段,置通氧气的台氏液中保存备用。实验时剪取气管段约 1 cm,正中剪开,纵向分成 2 片。取单片,喉头端朝上,斜放于 37℃ 台氏液湿润的棉花上。将一小滴印度墨汁滴于气管段下端,用低倍解剖显微镜观察,记录墨汁颗粒运行 2 mm 所需要的时间,然后将气管片放入 37℃ 氧饱和的台氏液中将墨汁洗净,重复上述实验 2 次,计算每次墨汁的运行速率和 3 次的平均值。再将气管片放入宝铎草提取物高、中、低浓度(100, 10, 1.0 g·L⁻¹)及复方桔梗止咳片溶液(0.14 g·mL⁻¹)中,浸泡 5 min,取出,再重复上述实验 3 次。计算每次墨汁的运行速率和 3 次的平均值。

3 结果

3.1 止咳作用 乙酸乙酯层提取物的止咳试验结果显示,低剂量及高剂量组小鼠的咳嗽次数明显减少($P < 0.01$);低浓度的引咳潜伏期与空白组相比显著差异($P < 0.05$),高剂量的引咳潜伏期与空白组相比有极显著差异($P < 0.01$)。水层提取物的止咳试验结果显示,其低剂量组的咳嗽次数与空白组相比无显著性差异,高剂量组的咳嗽次数与空白组相比差异显著;而低剂量组和高剂量组的引咳潜伏期与空白组相比均无显著性差异。结果显示宝铎草乙酸乙酯层提取物能明显延长引咳时间及减少咳嗽次数,而水层无明显止咳效果,只有高剂量的提取物能一定程度地减少咳嗽次数。见表 1。

3.2 对小鼠气管酚红分泌量的影响 乙酸乙酯高剂量组、水层高剂量组酚红分泌量与空白组相比均具显著性差异($P < 0.01$),水层低剂量组与空白组相比有显著差异($P < 0.05$),乙酸乙酯低剂量组与空白组间无显著性差异。水层部分酚红浓度均值略高于乙酸乙酯部分,但无明显差异。结果显示,宝铎草化痰作用的有效部位在乙酸乙酯层及水层均有分布,高剂量组的化痰效果较为明显。见表 2。

表1 宝铎草提取物对氨水诱发小鼠实验性咳嗽模型的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	引咳潜伏期 /s	咳嗽次数 /次
空白	-	8.36 ± 2.06	88.2 ± 5.47
乙酸乙酯层提取物	1.25	10.60 ± 3.77 ¹⁾	78.3 ± 8.00 ²⁾
	2.5	11.0 ± 2.07 ²⁾	59.9 ± 6.80 ²⁾
水层提取物	1.25	8.23 ± 1.62	82.2 ± 7.14
	2.5	7.07 ± 2.02	80.2 ± 8.73 ¹⁾
复方甘草口服溶液	3.33	10.69 ± 2.17 ¹⁾	78.8 ± 7.67 ¹⁾

注:与空白组相比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表2~3同)。

表2 宝铎草提取物对小鼠气管段酚红分泌模型的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	酚红浓度 /mg·L ⁻¹
空白	-	1.037 ± 0.122
乙酸乙酯层提取物	1.25	78.3 ± 8.00
	2.5	59.9 ± 6.80 ²⁾
水层提取物	1.25	82.2 ± 7.14 ¹⁾
	2.5	80.2 ± 8.73 ²⁾
复方桔梗止咳片	3.33	2.165 ± 0.215

3.3 对兔离体气管段纤毛运动速率的影响 乙酸乙酯低剂量、中剂量组浸泡后的气管段纤毛运动速度与空白组相比均无显著性差异,高浓度组及阳性组的运动速度与空白组相比均有显著性差异。水层低剂量、中剂量组浸泡后的气管段纤毛运动速度与空白剂量相比均无显著性差异,高剂量组及阳性药组的运动速度与空白组相比均有显著性差异($P < 0.05$)。结果显示宝铎草乙酸乙酯层及水层低剂量、中剂量(相当于原药材1,10 g·L⁻¹)提取物溶液对兔离体气管段的纤毛运动速度无明显影响;高浓度(相当于原药材100 g·L⁻¹)提取物溶液能显著提高兔离体气管段的纤毛运动速度。见表3。

表3 宝铎草提取物对兔离体气管段纤毛运动速度的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 /g·L ⁻¹	空白组速率 (浸泡前) /mm·min ⁻¹	实验组速率 (浸泡后) /mm·min ⁻¹
复方桔梗止咳片	140	0.572 ± 0.040	0.661 ± 0.056 ¹⁾
乙酸乙酯层提取物	1.0	0.624 ± 0.076	0.649 ± 0.091
	10	0.619 ± 0.106	0.647 ± 0.091
	100	0.607 ± 0.094	0.736 ± 0.080 ¹⁾
复方桔梗止咳片	140	0.554 ± 0.042	0.670 ± 0.045 ¹⁾
水层提取物	1.0	0.545 ± 0.067	0.508 ± 0.034
	10	0.521 ± 0.034	0.548 ± 0.023
	100	0.525 ± 0.012	0.631 ± 0.028 ¹⁾

4 讨论

本实验所采用小鼠咳嗽模型为验证止咳作用的经典模型,旨在针对宝铎草对咳嗽症状的疗效进行研究。陈燕等^[4]用该模型验证了止咳祛痰糖浆的止咳作用。中医理论中的化痰是指通过润肺生津,增加呼吸道中液体的分泌,改善呼吸道的干燥状态,改变痰的黏稠状态。小鼠气管段酚红排泄法以酚红的排泄量为指标观察药物的化痰作用。汪永忠等^[5]用该模型验证了咳喘平颗粒的祛痰作用。人呼吸道存在由呼吸道黏膜纤毛柱状上皮细胞上的纤毛和杯状细胞与黏膜下腺体分泌的黏液组成的黏液纤毛转运系统^[6]。加快呼吸道纤毛运动速率是化痰的重要机制,本实验用兔的离体气管段纤毛运动实验观察经宝铎草药液浸泡前后纤毛运动速率的差别,以研究宝铎草对呼吸道纤毛运动的影响,探索其化痰机制。

宝铎草具有较明显的止咳、祛痰作用,其止咳、化痰作用的有效部位不尽相同,各部分提取液高、低剂量的药效也有所差异。其止咳作用有效部位主要集中在乙酸乙酯层;祛痰作用有效部位分散于乙酸乙酯层及水层;高剂量组祛痰效果更明显。乙酸乙酯层及水层高剂量组(相当于原药材100 g·L⁻¹)可显著加快兔离体气管纤毛运动速率,可推断促进呼吸道纤毛运动、加速痰液的排出是其祛痰机制之一。据报道通过配伍能提高中药止咳祛痰的药理作用,宝铎草与其他民族药的配伍作用还需进一步研究。

[参考文献]

- [1] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 贵州:贵州科技出版社,2003:162.
- [2] 梁光义. 中药化学[M]. 北京:人民卫生出版社,1998:171.
- [3] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验学方法[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2001:1359.
- [4] 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,2007,13(2):20.
- [5] 汪永忠,夏伦祝. 咳喘平颗粒镇咳、祛痰、平喘药效学研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(6):46.
- [6] 肖永营. 呼吸道黏膜纤毛清除率与慢性支气管炎的关系[J]. 医学研究生学报,2001,14(6):530.

[责任编辑 李玉洁]