

# 对叶百部生品及蜜炙品不同极性部位止咳化痰作用比较

陈晓霞, 鞠成国, 夏林波, 魏熙婷, 贾天柱\*

(辽宁中医药大学 国家中医药管理局中药炮制重点研究室,  
辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600)

**[摘要]** **目的:**比较对叶百部生、炙品不同极性部位止咳化痰作用差异性,为百部作为止咳类药物发挥传统功效时生熟用药提供实验支持,为进一步揭示百部蜜炙原理奠定基础。**方法:**清洁级昆明种小鼠 200 只,随机分为 20 组,10 只/组,雌雄各半。第 1 组为空白对照组,ig 给予生理盐水;第 2 组为阳性对照组,ig 给予可待因  $6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;其他组为给药组,给药容积为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。给药小鼠给药前禁食 8 h,禁水 2 h,连续给药 2 d,末次给药后 1 h,采用小鼠氨水引咳法,对对叶百部生品及蜜炙品的不同部位,包括水煎液、总生物碱提取物及非生物碱提取液(各设 3 个剂量,按生药量计均为  $20, 10, 5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )的止咳作用进行比较。取昆明种小鼠 200 只,随机分为 20 组,10 只/组,雌雄各半。第 1 组为空白对照组,ig 给予生理盐水;第 2 组为阳性对照组,ig 给予氯化氨  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;其他组为给药组,给药剂量为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。给药小鼠给药前禁食 8 h,禁水 2 h,连续给药 2 d,末次给药后 0.5 h,采用气管酚红法,研究生、炙品不同极性部位化痰效果。**结果:**与空白组对比,对叶百部生品不同部位均具有显著的止咳作用( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ , 或  $P < 0.001$ ),而炙品的水煎液及总生物碱提取物有显著的止咳作用( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ , 或  $P < 0.001$ ),但其非碱部分只有高剂量有显著的止咳作用( $P < 0.001$ )。对于对叶百部生、炙品相同极性部位比较,发现生、炙品水煎液中剂量及高剂量之间均有显著差异( $P < 0.05$ ),而总碱提取物低剂量和中剂量有显著性差异( $P < 0.05$ ),非生物碱提取液仅高剂量有显著性差异( $P < 0.05$ ),均显示炙品止咳活性强于生品。化痰实验仅生品水煎液高剂量和炙品水煎液高剂量有显著的效果( $P < 0.05$ ),其他均和空白组之间无显著差异。**结论:**对叶百部蜜炙后止咳作用增强的主要部位为总生物碱提取物部位及水煎液部位,而其化痰作用生、炙品均较弱,说明百部不是通过化痰起到止咳功效。

**[关键词]** 对叶百部;不同极性部位;止咳化痰

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)03-0146-04

## The Difference in Antitussive and Expectorant Activity between the Different Polar Fractions of Crude and Processed *Stemona tuberosa*

CHEN Xiao-xia, JU Cheng-guo, XIA Ling-bo, WEI Xi-ting, JIA Tian-zhu\*

(College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine(TCM),

The Key Laboratory of TCM Processing Technology and Principle,

The Liaoning Research Center for TCM Processing Technology, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the difference in antitussive and expectorant activity between the different polar fractions of crude and processed *Stemona tuberosa* Lour to support the traditional theory of honey-stir-baked *S. tuberosa*. **Method:** The antitussive activity and the expectorant activity of different polar fractions of crude and processed *S. tuberosa*, including water solution, total alkaloids and non-alkaloids were observed, the antitussive activity can be drawn by ammonia inducing cough and the expectorant activity be depended on detecting the quantity of phenolsulfonphthalein excretion in rat. **Result:** Compared with the blank group, the different polar fractions of crude and honey-stir-baked Baibu showed distinct antitussive action ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  or  $P < 0.001$ ), except for the low and middle dose of the non-alkaloids. Otherwise, the high and middle dose of water

**[收稿日期]** 20110419(004)

**[基金项目]** 2010,2011 年中医药行业科研专项项目(201107007)

**[第一作者]** 陈晓霞,博士研究生,讲师,从事中药炮制及药物分析研究,Tel: 041187586006, E-mail: whitesnowbin@163.com

**[通讯作者]** \*贾天柱,博士生导师,教授,从事中药炮制学研究,Tel: 041187586011, E-mail: jiatz@lnutcm.edu.cn

solution, the middle and low dose of total alkaloids, the high dose of non-alkaloid in crude and processed *S. tuberosa*, showed distinct difference ( $P < 0.05$ ). The antitussive activity of processed Baibu was more significant than the crude one. However, the result of expectorant experiment showed only the high dose of water solution of crude Baibu and the high dose of processed one had expectorant activity. **Conclusion:** The main position which strengthen antitussive activity after honey-stir-baked is the water solution and total alkaloids, neither crude nor processed *S. tuberosa* showed strong expectorant activity, the conclusion can be drawn that the antitussive efficacy of *S. tuberosa* is not in reducing the adhesiveness airway secretions.

[**Key words**] *Stemona tuberosa*; different polar fraction; antitussive and expectorant activity

百部为杀虫止咳常用药之一<sup>[1]</sup>,最早收载于《名医别录》。然而百部品种复杂,中国有9种,可入药者6种,目前药典收载了对叶百部、蔓生百部及直立百部。叶阳课题组对于百部研究较为全面,从不同的百部中分离出了100多个生物碱,发现不同种百部生物碱之间差异较大,即使同种百部其由于地域差异引起的化学成分变化也较大<sup>[2-5]</sup>。迄今药典收载的3种百部中均含有的生物碱十分少见,仅有金刚大碱。徐国钧等人报道了3种百部中总生物碱为其止咳作用的有效部位<sup>[6]</sup>,而胡君萍等对药典三种百部的生品进行了不同极性部位止咳作用研究比较,也指出生物碱部分为主要止咳部位,其他水煎液和非生物碱部分均具有一定的止咳活性<sup>[7]</sup>,随后的研究中主要对不同化学结构的生物碱单体止咳活性进行研究,总结规律。按照百部碱3种分类法,各类生物碱均具有止咳活性,其中对叶百部传统功效研究较多,表明斯替宁类止咳活性较强<sup>[8-9]</sup>。之上所述均是对百部生品传统功效物质基础的研究,而百部炮制历史悠久,始载于晋·葛洪《肘后备急方》,现代药典也收载其蜜炙品,认为其能增强止咳润肺功效,但是现代对于百部炮制研究较少,很难解释其为何需要炮制,炮制后如何能增强功效。仅有以其入复方药进行的药效学研究报道<sup>[10]</sup>。本论文对对叶百部生、制品不同极性部位止咳活性分别进行了考察,并采用SPSS 10.0进行统计研究,旨在为百部发挥止咳功效传统炮制提供理论支持,同时找到止咳功效较生品强的极性部位。另外,很多止咳类药物同时具有化痰作用,为了进一步弄清楚百部止咳的途径,本实验对百部生制品不同极性部位对鼠气管酚红排泄量的影响,研究对叶百部化痰作用。

## 1 材料

**1.1 动物** 清洁级昆明种小鼠,合格证号SCXK(辽)2010-0002,体重18~22 g,雌雄各半,大连医科大学实验动物中心提供。

**1.2 药物** 百部饮片购于安徽亳州药材市场,产地

为湖北,经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定为对叶百部 *Stemona tuberosa*。

**1.3 仪器与试剂** 岛津U3010型紫外-可见分光光度计,粉碎机,超声仪,旋蒸仪(上海亚荣),电子天平(上海精密仪器公司)。磷酸可待因(青海制药厂,批号951223)氯化铵片,(呼和浩特制药厂,批号980112)均购于大连医科大学附属医院,酚红(分析纯,上海化学试剂厂),氨水(沈阳沈一精细化学品有限公司)。其他实验用试剂均为分析纯,试验用水为双蒸水。

## 2 方法

### 2.1 对叶百部炮制与供试品制备

**2.1.1 对叶百部蜜炙品制备** 取对叶百部饮片,大小分档,取长为1~2 cm 饮片100 g放入适当容器中,用适量水溶解的12.5 g蜂蜜,加入饮片中拌匀,闷润至取出后药材内部无干芯全部润透。置事先预热的炒锅内,文火140℃翻炒6 min至表面棕黄色,内部黄色。

**2.1.2 对叶百部生、炙品药材水煎液制备** 分别取对叶百部生、炙品药材粗粉(20目),加10倍量蒸馏水煎煮1 h,过滤,滤渣继续用10倍水煎煮1 h,过滤,合并滤液,滤液浓缩至适量后,参考文献[7]将滤液配制成分别含生药2.0, 1.0, 0.5 g·mL<sup>-1</sup>的药液。

**2.1.3 对叶百部生、炙品总生物碱提取物及非生物碱提取物的制备** 分别取对叶百部生、炙品粗粉(20目),10倍量95%乙醇超声提取40 min,过滤,残渣加水煎煮1 h/2次(1),滤液旋转蒸干,以4% HCl溶解,CHCl<sub>3</sub>萃取,酯层旋干(2),水层以35%氨水调节pH至9~10,沉淀以CHCl<sub>3</sub>萃取2次,水层为(3),CHCl<sub>3</sub>层旋转至干为总生物碱提取物,以1%聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯(吐温-80)配置成含生药2.0, 1.0, 0.5 g·mL<sup>-1</sup>溶液;将(1)(2)(3)合并浓缩配制成含生药2.0, 1.0, 0.5 g·mL<sup>-1</sup>的非生物碱溶液。

**2.2 氨水引咳实验** 昆明种小鼠，雌雄各半，禁食不禁水 12 h。置于 500 mL 烧杯中，在直径小于烧杯的表面皿内放一棉球，上面加盖筛网，向棉球中注入 0.5 mL 氨水，迅速将烧杯倒置，使得氨水刺激小鼠引发咳嗽。以动物腹肌强烈收缩，同时张嘴呼气为准。以 1 min 内咳嗽次数大于或等于 3 次判定为引咳初筛合格。

取上述引咳初筛合格的小鼠 200 只，随机分为 20 组，10 只/组，雌雄各半。第 1 组为空白对照组，ig 给予生理盐水；第 2 组为阳性对照组，ig 给予可待因  $6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ；对叶百部生品水煎液、炙品水煎液，生品生物碱、炙品生物碱、生品非生物碱液、炙品非生物碱液均各设 3 个剂量，按生药量计均为 20, 10,  $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，给药容积为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。给药小鼠给药前禁食 8 h，禁水 2 h，连续给药 2 d，末次给药后 1 h 进行试验。依照上法以氨水刺激小鼠引发咳嗽。观察并记录各组小鼠以及小鼠 2 min 内咳嗽次数。计算咳嗽抑制率，并求出止咳活性。

$$\text{咳嗽抑制率} = (\text{空白组咳嗽数} - \text{给药组咳嗽数}) / \text{空白组咳嗽数} \times 100\%$$

$$\text{止咳活性} = \text{给药组咳嗽抑制率} / \text{可待因组咳嗽抑制率} \times 100\%$$

**2.3 小鼠化痰实验** 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  $\mu\text{g}$  的溶液，然后顺次稀释为每毫升含酚红 1, 2, 3, 4, 5, 6  $\mu\text{g}$ ，于波长 546 nm 处测得吸光度 (A) 分别为 0.112, 0.235, 0.360, 0.478, 0.590, 0.700。以酚红剂量 (C) 为横坐标、A 为纵坐标，做标准曲线。得到回归方程： $A = 0.1178 C + 0.0002$  ( $r = 0.9993$ ,  $n = 6$ )。

取昆明小鼠 200 只，随机分为 20 组，10 只/组，雌雄各半。第 1 组为空白对照组，ig 给予生理盐水；第 2 组为阳性对照组，ig 给予氯化氨  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ；其他组 ig 给药剂量同 2.3 容积为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。给药小鼠给药前禁食 8 h，禁水 2 h，连续给药 2 d，末次给药后 0.5 h 注入 0.25% 酚红溶液  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，30 min 后将小鼠断颈处死，仰位固定，剥离气管周围组织，剪下自甲状软骨至气管分支处一段气管，用 1 mL 注射器抽取 5% 碳酸氢钠溶液 0.5 mL，冲洗气管 3 次，每次来回抽吸 3 次，合并 3 次洗出液， $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min，用分光光度计在波长 546 nm 处，测定酚红 A。代入上述回归方程计算小鼠酚红排泄量。

**2.4 统计方法** 采用 SPSS 10.0 统计软件数据分

析，实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示，先做方差分析组间差异采用 t 检验， $P < 0.05$  有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 生、炙品对叶百部不同极性部位止咳活性对比研究** 生、炙品水煎液，总生物碱提取液及非生物碱液较空白对照组比较，均有较为显著的止咳作用，其总生物碱提取物的止咳活性较水提液及非碱液均高，蜜炙品水煎液与阴性对照组比较有显著性差异，总生物碱提取物较阴性对照组有极显著性差异，但炙品非碱液低剂量没有显著性作用，中、高剂量有显著性差异，说明止咳效果与各极性部位均存在剂量依赖。另外，对炙品 3 种极性部位高、中、低剂量横向比较发现，止咳活性为生物碱提取液 > 水提液 > 非碱提取液。见表 1。

表 1 对叶百部不同极性部位止咳作用比较研究 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	咳嗽数 /次	咳嗽抑制率 /%	止咳活性 /%
空白对照	-	$84.5 \pm 5.7$	-	-
可待因	0.006	$42.7 \pm 12.9^{3)}$	58.6	100
生品水煎液	20	$72.0 \pm 5.3^{1)}$	14.8	25.3
	10	$73.7 \pm 3.7^{1)}$	13.2	22.6
	5	$76.3 \pm 3.7^{1)}$	9.7	16.5
炙品水煎液	20	$54.8 \pm 11.8^{2)}$	25.6	59.9
	10	$56.5 \pm 8.3^{3)}$	33.1	56.6
	5	$62.8 \pm 14.2^{1)}$	35.1	43.8
生品生物碱	20	$53.0 \pm 5.7^{3)}$	37.3	63.6
	10	$60.2 \pm 4.9^{3)}$	28.8	49.2
	5	$68.8 \pm 10.3^{1)}$	18.5	31.6
炙品生物碱	20	$41.2 \pm 15.0^{3)}$	50.7	86.5
	10	$43.0 \pm 10.3^{3)}$	49.1	83.8
	5	$45.6 \pm 6.8^{3)}$	45.8	78.1
生品非碱液	20	$58.7 \pm 6^{3)}$	30.5	52.1
	10	$62.7 \pm 8.7^{1)}$	28.8	44.1
	5	$70.3 \pm 5.4$	16.7	28.6
炙品非碱液	20	$62.0 \pm 4.1^{3)}$	26.2	44.8
	10	$64.2 \pm 8.2$	24.1	41.1
	5	$69.5 \pm 9.8$	17.8	30.3

注：与空白对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ，<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ，<sup>3)</sup>  $P < 0.001$  (表 2 同)。

**3.2 生、炙品不同极性部位间止咳活性差异性比较** 生、炙品水煎液止咳活性对比统计，由表 1 可以看出，生品和炙品水煎液低剂量之间止咳功效不存在显著性差异，而中等剂量其止咳活性存在显著性差异 ( $P < 0.01$ )，高剂量之间存在明显差异 ( $P <$

0.05),止咳活性炙品高于生品。表1统计了生、炙品总生物碱止咳活性差异性,结果显示炙品总生物碱止咳活性高、中剂量均明显高于生品( $P < 0.05$ ),低剂量组有显著差异。而对于生、炙品非生物碱在止咳活性上的差异则仅见高剂量存在明显差异,生品优于炙品。

**3.3 生、炙品对叶百部不同极性部位化痰作用** 结果表明百部生、炙品不同极性部位化痰作用均不显著,仅见生、制品水煎液高剂量组有显著的化痰作用。说明百部强于止咳,而非化痰。见表2。

表2 对叶百部不同极性部位对小鼠呼吸道酚红排泄量影响比较( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量	酚红排泄量 C
	/g·kg <sup>-1</sup>	/μg·mL <sup>-1</sup>
空白对照	-	1.84 ± 0.46
氯化氨	0.006	7.77 ± 2.95 <sup>3)</sup>
生品水煎液	20	6.45 ± 1.79 <sup>3)</sup>
	10	2.81 ± 1.04
	5	2.5 ± 1.6
炙品水煎液	20	6.53 ± 1.17 <sup>3)</sup>
	10	2.10 ± 0.92
	5	1.33 ± 0.78
生品生物碱	20	2.69 ± 0.64
	10	2.53 ± 0.66
	5	1.73 ± 0.86
炙品生物碱	20	1.47 ± 0.41
	10	0.82 ± 0.52
	5	1.17 ± 0.27
生品非碱液	20	3.48 ± 2.14
	10	1.86 ± 1.14
	5	1.99 ± 1.21
炙品非碱液	20	1.49 ± 0.29
	10	1.27 ± 0.71
	5	1.09 ± 0.26

#### 4 讨论

百部古代文献及现代药典中均记载有炮制品,但目前国内外研究主要集中在生品的研究。生品研究中认为主要止咳活性部位为生物碱,水煎液及非碱液也具有一定的止咳活性,而生百部有小毒,服用量大引起胃部不适,严重者会产生呕吐,头晕症状。历代文献用不同的炮制品,认为能够起到减毒增效的作用。本论文考察对叶百部生品及蜜炙品不同极性部位对小鼠的止咳及化痰活性,统计结果显示炙品生物碱的止咳活性最高,说明蜜炙确实能够增强润肺止咳功效,其主要有效成分还是生物碱部分,而水煎液也有一定作用。因此临床用百部止咳时,应当以制品入药。至于炮制是否能够减毒,怎样减毒

有待进一步从生物碱化学成分变化角度进行研究。

另外镇咳药物进行止咳主要通过3种途径:①调节神经元;②抑制中枢神经;③减少黏液分泌物<sup>[11]</sup>,百部主治久咳不止,小儿百日咳等,其止咳途径前期报道主要是生物碱通过抑制中枢神经方式达到效果,但其是否能够通过化痰减少咳嗽未见报道,本论文对对叶百部不同极性部位的化痰活性进行了统计研究,发现与止咳实验中同等剂量的百部,只有生、炙品水煎液高剂量组有显著的化痰作用,其他均不显著。进一步证实百部生物碱是止咳主要活性部位,止咳途径主要通过抑制中枢神经系统,减少咳嗽次数。

#### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:88.
- [2] 刘军,郑霞.不同产地对叶百部中生物碱差异[J].黑龙江中医药,2009,3(1):45.
- [3] Lin L G, Li K M, Tang C P, et al. Antitussive stemoninine alkaloids from the roots of *Stemona tuberosa* [J]. J Nat Prod, 2008, 71(6):1107.
- [4] Lin L G, Dien P H, Tang C P, et al. Alkaloids from the Roots of *Stemona cochinchinensis* [J]. Hel Chi Acta, 2007, 90(11):2167.
- [5] Guo A, Jin L, Deng Z W, et al. New *Stemona* alkaloids from the roots of *Stemona sessilifolia* [J]. Chem Biodiversity, 2008, 5(4):598.
- [6] 徐国钧,徐璐珊.常用中药材品种整理和质量研究[M].南方协作组.第2册.福州:福建科学技术出版社,1997:55.
- [7] 胡君萍,张囡,毛一卿,等.《中国药典》3种百部的止咳作用比较[J].中国中药杂志,2009,34(23):3096.
- [8] Lin L G, Leung H P, Zhu J Y, et al. Croomine-and tuberostemonine-type alkaloids from roots of *Stemona tuberosa* and their antitussive activity [J]. Tetrahedron, 2008, 64(44):10155.
- [9] Xu Y T, Shaw P C, Jiang R W, et al. Antitussive and central respiratory depressant effects of *Stemona tuberosa* [J]. J Ethnopharmacology, 2010, 128(3):679.
- [10] 李建荣,林娜,高晓山.儿童咳液主要药效学研究[J].中国实验方剂学杂志,1999,5(4):47.
- [11] Michael J Carr. Antitussives: the pharmacological pipeline [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2009, 22(2):152.

[责任编辑 聂淑琴]