研究论文

吉祥草药材抗炎、止咳作用及谱效关系

金兆磊[1,2]，赵 超[1,2]，陈华国[1,2]，周 欣[*1,2]，杨世林[1,2]

（1. 贵州师范大学 天然药物质量控制研究中心，贵州 贵阳 550001；2. 贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室，贵州 贵阳 550001）

摘要：研究了吉祥草药材不同提取部位抗炎、止咳活性。分别采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀法、小鼠氨水引咳法，观察吉祥草药材不同提取部位抗炎、止咳作用。结果表明，吉祥草药材食用酒精提取物3个剂量给药组都有非常显著的抗炎作用（$P<0.05$），高、低剂量组明显延长咳嗽时间（$P<0.05$），高剂量组明显减少咳嗽次数（$P<0.05$）；水提物3个剂量组同样具有明显抗炎作用（$P<0.05$），水提高剂量组能明显增多咳嗽次数（$P<0.05$），减少咳嗽时间（$P<0.05$）；石油醚提取物各剂量组均没有显著抗炎及止咳作用。可见，吉祥草药材食用酒精提取物及水提物具有较好的抗炎、止咳活性。

关键词：吉祥草；不同溶剂提取物；抗炎活性；止咳活性

中图分类号：R 285.5；Q 95-331　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2013)05—0556—04

Experimental Studies on Anti-Inflammatory and Antitussive Activity of Extract from *Reineckia carnea* and Associated Pharmacodynamics

JIN Zhao-lei[1,2]，*ZHAO Chao*[1,2]，*CHEN Hua-guo*[1,2]，*ZHOU Xin*[*1,2]，*YANG Shi-lin*[1,2]

（1. The Research Center for Quality Control of Nature Medicine Guizhou Normal University，Guiyang 550001，China；2. Key Laboratory for Information System of Mountainous Areas and Protection of Ecological Environment，Guiyang 550001，China）

Abstract：The objective of this study is to study relieving a cough and anti-inflammation effects of different extract part from Reineckia carnea. For this，the different extract part of Reineckia carnea were orally administrated to coughing mice induced by ammonia liquor in mice and xylene-induced mouse ear swelling model in mice，respectively，to investigate their medication effect on coughing and anti-inflammation. It was found that both ethanol extract and water extract had obvious effect on anti-inflammation（$P<0.05$），ethanol extract lengthened the latent period of cough at high and low dose（$P<0.05$），and high dose decrease cough frequency（$P<0.05$）. The water extract fraction lengthened the latent period of cough as well as the ethanol extract at high dose. The petroleum ether extract had not obvious effect on anti-inflammation and coughing. Based on the aboved results，it can concluded that the anti-inflammatory，cough active chemical composition were mainly

收稿日期：2013-01-10

基金项目：贵州省社发攻关项目（黔科合SY字[2011]3014号）；贵州省科技创新人才团队建设项目（黔科合人才团队(2011)4008）；贵州省教育厅特色重点实验室项目（黔科合KY[2012]005号）；2012大学生科技创业计划项目（筑科合同(2012)5号）。

* **通信作者**：周 欣（1962—），女，安徽霍邱人，教授，博士研究生导师，主要从事中药质量控制及新药开发。E-mail：alice9800@sina.com

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

concentrated in the consumption of alcohol extract parts and water extract high doses parts.
Keyword: *Reineckia carnea*, different solvent extract, anti-inflammation activity, antitussive activity

药用吉祥草为百合科吉祥草属植物吉祥草(*Reineckia carnea*(Andr.)Kunth)的干燥全草,史载于隋唐时期陈藏器《本草拾遗》,在《本草纲目》《中药大辞典》等中均有记载。吉祥草又名观音草、小叶万年青、瑞草等,具有清肺止咳、解毒利咽、凉血止血、止痛散瘀等功效。其主要分布在我国华东、中南、西南各省,它是我国苗族地区常用的传统草药之一[1]。

国内外关于吉祥草药材药理的研究报道不多,关于吉祥草药材的抗炎活性、止咳活性研究更是少见。张元[2]等人研究发现,吉祥草总皂苷灌胃给药能够抑制氨水引起的小鼠咳嗽,总皂苷皮下注射给药具有较好的抗炎作用;Nan Han[3]等人利用水溶剂回流提取吉祥草药材,得到母液部分,另外将母液通过柱层析(D-101 大孔树脂)梯度洗脱,得到不同部位。分别为:水、体积分数 30%乙醇、体积分数 60%乙醇及体积分数 90%乙醇洗脱部分。通过药理实验,发现体积分数 60%、体积分数 90%乙醇洗脱部位具有明显的止咳、化痰效果。因此,为进一步发现吉祥草药材抗炎、止咳活性部位,本实验中利用不同极性溶剂提取药材,通过二甲苯致小鼠耳廓肿胀和小鼠氨水引咳经典实验方法筛选,初步确定吉祥草材抗炎、止咳有效活性部位。

1 材料与方法

1.1 动物

昆明种小鼠,雌雄各半,体质量 18~22 g,由长沙东创实验动物科技服务部提供(SPF 级),许可证号:SCXK(湘)2009-0012。

1.2 药物

吉祥草药材,采于贵州贵阳小河区,原植物经贵州师范大学天然药物质量控制中心陈华国副研究员鉴定为百合科吉祥草(*Reineckia carnea*(Andr) Kunth.)。

1.3 药物制备

取上述 3 份吉祥草干药材粗粉各 50 g,精密称定,分别加入 10 倍量蒸馏水、食用酒精及石油醚,加热回流提取 2 次,每次 2 h,合并 2 次滤液,减压浓缩至干,精密称定,计算各溶剂提取物得膏率:石油醚提取得率 1.5%,食用酒精提取得率 23.2%,水提取得率 43.3%。

阿司匹林,规格:25 mg × 100 片,神威药业有限公司产品,批号:1103052;磷酸可待因口服液Ⅲ,规格:每 5 mL 含磷酸可待因 4 mg、盐酸麻黄碱 5 mg、马来酸氯苯那敏 2.5 mg、远志流浸膏 20.5 μL、海葱流浸膏 9.0 μL、克斯兰纳流浸膏 4.5 μL,香港万辉药业有限公司产品,批号:110401。

1.4 仪器与试剂

Agilent 1260 型高效液相色谱仪,1260 Infintiy 蒸发光散射检测器 (G4218A),AL 204 万分之一电子分析天平,购自梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;402 AI 型超声雾化器,江苏鱼跃医疗设备股份有限公司产品;DFY-200 型高速万能粉碎机,温岭市林大机械有限公司产品;氨水、二甲苯,均为分析纯试剂,重庆川东化工(集团)有限公司化学试剂厂产品。

2 方 法

2.1 抗炎活性部位的研究

二甲苯致小鼠耳廓肿胀[4]。取小鼠 110 只,雌雄各半,随机分成 11 组:生理盐水对照组(空白组),石油醚提取物高、中、低剂量组,食用酒精提取物高、中、低剂量组,水提取物高、中、低剂量组(生药量 7.50、3.25、1.63 g/kg),阿司匹林阳性对照组。阳性药按 300 mg/kg 药量给药,其余给药组按相应剂量给药,每日 1 次,给药体积按 20 mL/kg,连续给药 7 d。末次给药 45 min 后,于小鼠右耳均匀涂二甲苯 40 μL 致炎,左耳不涂为正常耳。15 min 后脱颈处死,将左、右两耳片切下,以 8 mm 打孔器取下左、右耳片,立即用天平称质量(mg),计算左右耳肿胀度及抑制率,比较各组之间的抗炎活性差异。

耳肿胀度=右耳质量-左耳质量

$$抑制率=\frac{对照组耳廓肿胀度-给药组耳廓肿胀度}{对照组耳廓肿胀度}\times 100\%$$

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 止咳活性部位研究

氨水引咳法[4]。取小鼠 80 只，雌雄各半，随机分成 8 组：生理盐水对照组（空白组），石油醚提取物高、低剂量组，食用酒精提取物高、低剂量组，水提取物高、低剂量组（生药量 7.50、1.63 g/kg），磷酸可待因口服液阳性对照组。阳性药按 15 mL/kg 药量给药，其余给药组按相应剂量给药，每日 1 次，给药体积按 20 mL/kg，连续给药 6 d。末次给药 1 h 后，按氨水气雾引咳法，用超声雾化器雾化氨水（质量分数 25%氢氧化铵），使雾化氨水均匀地喷入倒扣的 500 mL 容积密闭玻璃钟罩内，然后迅速将小鼠放入充满氨水雾气的钟罩内，喷雾 5 s，以小鼠收缩腹部并张口作为咳嗽指标，记录咳嗽潜伏期和开始咳嗽后 2 min 内咳嗽次数。

2.3 统计学处理

结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示，实验数据采用 SPSS18.0 统计软件进行统计学处理，采用单因素方差分析，显著性检验标准为 $P<0.05$。

2.4 吉祥草不同极性提取物 HPLC-ELSD 指纹图谱

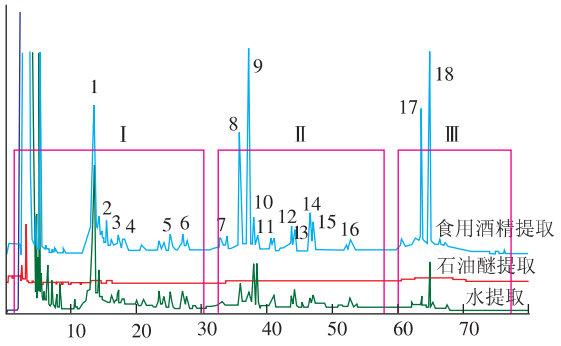
液相色谱条件：Diamonsil（R）C18 色谱柱（4.6 mm × 250 mm，5 μm）；ELSD 检测器：漂移管温度 85 ℃，氮气压力 350 kPa，增益值为 6。流动相为乙腈（B）-水（A）溶液梯度洗脱，具体质量分数如下：0~5 min，10% B；5~8 min，10%~25% B；8~15 min，25% B；15~25 min，25%~27% B；25~27 min，27%~30% B；27~35 min，30%~37% B；35~55 min，37%~42%；55~60 min，42%~65% B；60~70 min，65%~95% B；体积流量 0.8 mL/min，柱温 25 ℃，进样量 30 μL。

取吉祥草药材不同极性提取物（换算成等量生药材），在上述色谱条件下，分别注入液相色谱仪，记录 80 min 色谱图，见图 1，通过与对照品色谱图的比较，图中 16 号峰为凯提 5-*O*-*β*-D-吡喃葡萄糖皂苷，17 号峰为 1,6-二羟基-8-甲基-口山酮。

3 结果与分析

3.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀度的影响

实验结果表明，食用酒精提取物 3 个剂量组、水提物 3 个剂量组及阳性给药组对小鼠耳廓肿胀均有明显的抑制作用，其中食用酒精提取物高剂量组抑制率高达到 70%，以上各组与空白对照组比较，差异显著（$P<0.05$），说明具有较好的抗炎作用；石油醚提取物各组均没有明显作用，结果见表 1。



16：凯提5-O-β-D-吡喃葡萄糖皂苷；
17：1,6-二羟基-8-甲基-口山酮

图 1 不同溶剂提取物 HPLC-ELSD

Fig. 1 HPLC-ELSD of different solvent extract

表 1 不同给药组对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响

Table 1 Effect of different drug groups on xylene-induced mouse ear swelling $\bar{x}\pm s$, n=10

组别	剂量/(mg/kg)	耳廓肿胀度/mg	抑制率/%
空白对照组	–	5.28±1.66	
阳性给药组	300.00	2.22±0.43***	58
石油醚高剂量组	115.20	3.54±0.66	33
石油醚中剂量组	57.60	3.56±0.72	33
石油醚低剂量组	28.80	3.60±1.08	32
食用酒精高剂量组	1737.20	1.57±0.56***	70
食用酒精中剂量组	868.60	2.19±0.50***	59
食用酒精低剂量组	434.30	2.31±0.62***	56
水提高剂量组	3247.80	2.11±0.42**	60
水提中剂量组	1623.90	2.84±0.52*	46
水提低剂量组	811.95	3.21±0.56*	39

注：与空白对照组比较 *$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$。

3.2 对氨水气雾致小鼠咳嗽的影响

实验结果表明，食用酒精提取物高、低剂量组均能延长小鼠咳嗽潜伏期（$P<0.05$），高剂量组还能明显减少咳嗽次数（$P<0.05$），说明食用酒精提取物具有较好的止咳作用；水提物高剂量组能够延长咳嗽潜伏期（$P<0.05$），减少咳嗽次数（$P<0.05$），同样具有止咳作用；石油醚提取物没有明显的止咳活性。结果见表 2。

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2　不同给药组对氨水所致小鼠咳嗽的影响

Table 2　Effect of different drug groups on cough of mice induced by ammonia　　$\bar{x}\pm s$, n=10

组别	剂量/(mgkg)	咳嗽潜伏期/s	咳嗽次数
空白对照组	–	25.65±5.65	9.14±2.34
阳性给药组	–	59.77±7.80***	3.43±0.57***
石油醚高剂量组	115.20	30.15±6.22	7.71±1.70
石油醚低剂量组	28.80	19.02±3.06	8.00±1.63
食用酒精高剂量组	1737.20	62.56±12.22*	4.20±0.39**
食用酒精低剂量组	434.30	54.23±7.93*	5.83±1.72
水提高剂量组	3247.80	55.74±7.76***	5.56±1.33*
水提低剂量组	811.95	37.72±7.56	9.00±1.29

注:与空白对照组比较 $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$。

4 结 语

文献报道，吉祥草药材中主要含有甾体类、皂苷类化合物[5]。药材经不同极性溶剂提取后,其化学成分按极性大小集中,由图 1 可知,水提物化学成分集中在Ⅰ部分，醇提取物化学成分主要分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ部分。结合药理数据,醇提取物具有较好的抗炎、止咳活性。由此可知,具有活性作用的化学成分很有可能集中在Ⅱ、Ⅲ部分。水提物高剂量组同样具有较好的抗炎、止咳活性,这很有可能是不同类型化学成分具有相同的活性。

通过不同极性提取溶剂筛选吉祥草药材的抗炎、止咳生物活性部位。结果显示,醇提物、水提物都具有较好活性，石油醚提取物没有明显效果,说明吉祥草药材中起活性作用的化学成分主要为极性相对较大的化合物。为进一步分析药材中化学成分,在相同的色谱条件下,对其进行 HPLC–ELSD 分析,初步将药理数据与 HPLC–ELSD 结合,为下一步吉祥草药材药效物质基础研究及其“谱效”关系研究提供理论参考依据,这将有利于吉祥草药材及其相关药品更深入的研究与开发。

参考文献:

[1] 邱德文,杜江. 中华本草·苗药卷[S] .贵阳:贵州科技出版社,2005:254.

[2] 张元,杜江,许建阳,等. 吉祥草总皂苷溶血、止咳、化痰、抗炎作用的研究[J]. 武警医学,2006,17(4):282–284.
ZHANG Yuan,Du Jiang,XU Jiang–yang,et al. Pharmacological study of total Saponins from *Reineckia carnea* on hemolysis, relieving a cough,abolishing phlegm and inflammation[J]. **Medical Journal the Chinese People's Armed Police Forces**, 2006,17(4):282–284.(in Chinese)

[3] Han N,Chang C L,Wang Y C,et al. The in vivo expectorant and antitussive activity of extract and fractions from *Reineckia carnea*[J]. **Journal of Ethnopharmacology**,2010,131:220–223.

[4] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社,2006:347,626.

[5] 周欣,刘海,赵超,等. 吉祥草化学成分研究[J] .中国中药杂志,2008,33(23):2793–2796.
ZHOU Xin,LIU Hai,ZHAO Chao,et al. Studies on chemical constituents of herbs of Reineckia carnea[J]. **China Journal of Chinese Materia Medic**,2008,33(23):2793–2796.(in Chinese)

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net