

湖北贝母镇咳、祛痰、平喘药效部位的筛选

张勇慧¹, 阮汉利¹, 曾凡波¹, 皮慧芳¹, 赵薇², 吴继洲^{1*}

(1. 华中科技大学同济医学院药学院, 湖北 武汉 430030 2. 武汉大学化学与分子科学学院, 湖北 武汉 430071)

摘要: 目的 以镇咳、祛痰、平喘为药效学指标, 跟踪湖北贝母活性部位。方法 以不同溶剂提取湖北贝母浸膏, 经药理筛选得到最佳提取溶剂的组分。再分别以酸碱法和溶剂法对最佳提取溶剂的组分浸膏进行分离, 得到活性部位。结果 50% 乙醇是最好的提取溶剂; 综合分析不同部位的镇咳、祛痰、平喘活性实验结果, 样品 C 即酸碱法的氯仿部位 (主要含生物碱) 效果较好。结论 酸碱法的氯仿部位 (即总生物碱) 是其镇咳、祛痰、平喘综合活性较好的部位, 实验结果与文献关于贝母呼吸系统活性在生物碱部位的报道相一致。

关键词: 湖北贝母; 镇咳; 祛痰; 平喘

中图分类号: R286.4 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)11-1016-03

Effective part screening on antitussive, expectorant and antiasthmatic activities of *Fritillaria hupehensis*

ZHANG Yong-hui¹, RUAN Han-li¹, ZENG Fan-bo¹, PI Hui-fang¹, ZHAO Wei², WU Ji-zhou¹

(1. School of Pharmacy of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; 2. School of Chemical and Molecular Science, Wuhan University, Wuhan 430071, China)

Abstract Object To track the effective part of antitussive, expectorant and antiasthmatic activities of *Fritillaria hupehensis* Hsiao et K. C. Hsia. **Methods** Different solvents were used to extract the Beimu powder, and to get the extraction of the best solvent according to the activities. After that, the extraction was isolated with the acid-base method and solvent method, to obtain the effective part. **Results** Ethanol 50% is the best extracting solvent. The third sample-CHCl₃ part of acid-base method (mainly containing alkaloids) is better according to the antitussive, expectorant and antiasthmatic activities. **Conclusion** CHCl₃ part of acid-base method (mainly containing alkaloids) is the most effective part of antitussive, expectorant and antiasthmatic. This result is coincidence with the literature that the active part of respiratory system of the plants of *Fritillaria* L. is the alkaloid part.

Key words *Fritillaria hupehensis* Hsiao et K. C. Hsia; antitussive; expectorant; antiasthmatic

中药贝母系百合科贝母属 (*Fritillaria* L.) 多种植物的干燥鳞茎, 在我国有悠久的药用历史。一般依其功效分为浙贝和川贝两大体系, 一直为清热润肺、止咳化痰之要药, 临床上有以贝母入药的多种中药制剂在发挥着防治疾病的良好作用。湖北贝母原野生于鄂西自治州, 俗称“板贝”或“窑贝”, 民间习作川贝药用, 历史悠久。1991年湖北贝母被《中华人民共和国卫生部药品标准》收载^[1], 现已收载于《中华人民共和国药典》2000年版中, 发展成为仅次于浙贝母的第二大主流品种。吴继洲等运用现代分离方法和波谱技术对湖北贝母的化学成分作了较为全面的研究。本研究从新药开发的角度, 以镇咳、祛痰、平喘为药效学指标, 跟踪其活性部位, 期望能寻找到天然、高效、低毒的镇咳、祛痰、平喘药物。

1 材料

1.1 动物: 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 (20±2) g; SD大鼠, 体重 150~220 g; 豚鼠, 雌雄兼用, 体重 (170±20) g, 均由本校实验动物中心提供。

1.2 仪器及试剂: RE-52A型旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; 各种化学试剂, 分析纯。

1.3 药物的提取与分离: 取湖北贝母鳞茎研粉, 过20目筛, 称取贝母粉5份, 分别用95%, 75%, 50%, 30%乙醇和50%丙酮水溶液各提取3次, 每次1.5h, 提取液合并后浓缩至膏状。将各提取浸膏配成相当于生药材2g/100mL的水混悬液, 分别编号为I~V。III号分别以酸碱法和溶剂法进行分离, 得到酸碱法正丁醇组、溶剂法水提组、酸碱法氯

* 收稿日期: 2003-03-18

基金项目: 湖北省科技厅重大社会发展基金项目 (972P1102)

作者简介: 张勇慧 (1972-), 男, 湖北浠水人, 华中科技大学同济医学院药学院讲师, 博士, 主要从事天然活性成分及中药新药开发研究。Tel: (027) 83657870 E-mail: zhangyh@mails.tjmu.edu.cn

仿组、酸碱法氯仿盐酸盐组 (pH 5) 溶剂法醋酸乙酯组、酸碱法氯仿硫酸盐组 (pH 4.5) 溶剂法正丁醇组 7个不同部位,编号为 A~ G,分别配成相当于生药材约 20 g/100 mL水混悬液,备用

2 实验方法

2.1 镇咳实验:取体重 (20± 2) g小鼠,雌雄各半,随机分组,各组 ig 给药,1 h后,将小鼠置于倒置的 500 mL烧杯内,用 1 mL注射器吸取氨水 0.15 mL注入烧杯内放的棉球中,观察咳嗽潜伏期和 3 min内咳嗽次数

2.2 祛痰实验

2.2.1 酚红标准曲线的测定:分别配制标准浓度酚红溶液,以分光光度计测定吸光度 (A),以 A对酚红含量 C回归,得回归方程 $A = 0.042 + 1.105 C$, $r = 0.99$

2.2.2 方法:取体重 (20± 2) g小鼠,雌雄各半,随机分组,实验前禁食不禁水 12 h,ig 给药,给药后 0.5 h ip 0.5% 酚红溶液 0.5 mL,30 min后处死小鼠 (尽量不损伤气管),仰位固定于手术板上,剪开颈正中皮肤,分离气管,于喉头下将平头针头插入气管内 0.3 cm,用丝线结扎固定后以 1 mL注射器吸取 5% NaHCO₃溶液 0.5 mL,通过针头来回灌洗呼吸道 3次 (每次不作停留),将灌洗液注入一比色管中,重新吸取 5% NaHCO₃溶液 0.5 mL如上再灌洗 3次,再同样灌洗 3次,如此共抽洗 9次,合并洗出液,用分光光度计在波长 546 nm处测 A值

2.3 平喘实验:取 (170± 20) g豚鼠 (幼年豚鼠),雌雄均可,逐一测定引喘潜伏期,挑选合格者。将豚鼠放入 402型超声雾化器中,以 53 kPa (400 mmHg)的恒压喷入 2% 氯化乙酰胆碱和 0.4% 组胺的等量混合液 15 s,密切注意豚鼠的反应,观察 6 min内豚鼠出现喘息性抽搐的潜伏期即引喘潜伏期 (从喷雾停止到出现喘息性抽搐的时间) 与发生抽搐的动物数 如见到豚鼠跌倒应立即取出,以免死亡,并记录引喘潜伏期,若引喘潜伏期大于 150 s则认为不敏感而不予选用,次日将合格豚鼠按体重随机分组,ig 给药,用药 30 min后以同样条件引喘并测定引喘潜伏期与发生抽搐动物数的变化

3 结果

3.1 不同溶剂提取物的镇咳、祛痰、平喘活性:见表 1~ 3 镇咳作用:各样品均显示不同程度镇咳作用,与生理盐水对照组比较差异显著,其中样品 III显示非常显著的镇咳作用,与对照组比较差异非常显著。祛痰作用:样品 IV显示显著性祛痰作用,与生理盐水

对照组比较差异显著;样品 I 和 III也显示较好的祛痰活性。平喘作用:各样品用药前后引喘潜伏期差值都有较大的增加,其中样品 I 和 III用药前后引喘潜伏期差值与生理盐水对照组比较差异显著。各样品均显示较好的镇咳、祛痰、平喘活性,综合分析各样品 3种活性实验结果,样品 III效果最佳,故对样品 III进行进一步的药理筛选与追踪

表 1 湖北贝母不同溶剂提取物镇咳作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Antitussive effect of extracts of *F. hupehensis* with different solvents ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	咳嗽潜伏期 / s	咳嗽次数 / (次·3 min ⁻¹)
生理盐水	-	47.46± 6.87	72.89± 15.54
福尔可定	0.040	98.34± 34.17*	31.33± 16.09**
I	0.8	66.63± 21.73*	61.80± 14.03
II	0.8	56.05± 15.64	48.70± 24.98
III	0.8	75.74± 18.40*	35.00± 19.82*
IV	0.8	61.92± 17.95*	56.70± 14.64
V	0.8	56.00± 22.57	37.80± 23.05*

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs NS group

表 2 湖北贝母不同溶剂提取物祛痰作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Expectorant effect of extracts of *F. hupehensis* with different solvents ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	A值
生理盐水	-	0.17± 0.066
愈创木酚甘油醚	0.1	0.29± 0.104
I	0.8	0.27± 0.104
II	0.8	0.15± 0.030
III	0.8	0.27± 0.093
IV	0.8	0.30± 0.127
V	0.8	0.21± 0.034

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs NS group

表 3 湖北贝母不同溶剂提取物平喘作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 3 Antiasthmatic effect of extracts of *F. hupehensis* with different solvents ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	引喘潜伏期 / s		
		用药前	用药后	差值
生理盐水	-	60.00± 11.53	65.33± 15.18	5.33± 4.72
盐酸麻黄碱	0.025	57.66± 5.50	195.66± 142.86	138.00± 137.36
I	0.25	50.00± 11.78	76.33± 10.02	26.33± 5.86*
II	0.25	43.00± 4.58	69.00± 19.00	26.00± 14.22
III	0.25	54.66± 14.01	79.33± 7.76	24.67± 6.66
IV	0.25	52.00± 9.54	64.33± 10.50	12.33± 1.15
V	0.25	44.33± 7.02	78.66± 26.50	34.33± 19.50

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs NS group

3.2 不同分离部位的镇咳、祛痰、平喘活性:见表 4~ 6 镇咳作用:样品 B, C, D, F, G显示显著的镇咳作用,与生理盐水组比较差异显著。祛痰作用:各样

品与生理盐水组比较未显示显著性祛痰作用,此结果可能与样品剂量有关。平喘作用:各组均显示一定的平喘活性,其中样品 A 显示显著的平喘活性;样品 C, F, G 用药前后引喘潜伏期差值也有较大的增加,但由于个体之间差异较大,统计差异未显示显著性,可能是动物数较少之故。

表 4 湖北贝母不同部位镇咳作用 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Antitussive effect of different fractions

in *F. hupehensis* ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 $I/(g \cdot kg^{-1})$	咳嗽潜伏期 I/s	咳嗽次数 $I/(\text{次} \cdot 3 \text{min}^{-1})$
生理盐水	-	37.83±21.71	66.17±18.43
福尔可定	0.040	52.83±14.65	22.83±7.8 [*]
A	2	42.33±6.74	50.83±25.18
B	2	35.50±10.52	41.00±20.7 [†]
C	2	53.50±15.57	35.50±13.1 ^{**}
D	2	57.33±25.84	21.17±15.05 ^{**}
E	2	40.00±15.70	42.17±35.02
F	2	69.00±28.54	18.33±23.23 [*]
G	2	73.00±28.25	16.25±7.37 ^{**}

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs NS group

表 5 湖北贝母不同部位祛痰作用 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Expectorant effect of different fractions

in *F. hupehensis* ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 $I/(g \cdot kg^{-1})$	A 值
生理盐水	-	0.152±0.07
愈创木酚甘油醚	0.1	0.35±0.16
A	2	0.203±0.09
B	2	0.199±0.14
C	2	0.214±0.09
D	2	0.195±0.10
E	2	0.177±0.10
F	2	0.224±0.09
G	2	0.192±0.07

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs NS group

表 6 湖北贝母不同部位平喘作用 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 Antiasmatic effect of different fractions

in *F. hupehensis* ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 $I/(g \cdot kg^{-1})$	引喘潜伏期 I_s		
		用药前	用药后	差值 I_s
生理盐水	-	48.75±8.88	47.75±7.27	-1.00±4.83
盐酸麻黄碱	0.02	46.33±5.13	52.67±3.51	6.30±2.08
A	2	40.67±4.16	50.00±4.36	9.33±0.58
B	2	40.33±9.07	51.67±14.22	8.00±11.79
C	2	50.67±3.79	82.67±51.47	32.00±47.76
D	2	46.00±10.15	53.00±9.54	7.00±15.62
E	2	48.33±5.51	56.67±5.03	8.34±9.29
F	2	44.00±7.81	55.67±7.23	11.67±15.04
G	2	40.33±3.21	58.00±13.74	17.67±15.14

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs NS group

4 讨论

根据不同溶剂提取物的镇咳、祛痰、平喘活性,得出 50% 乙醇是最好的提取溶剂。综合分析不同部位的镇咳、祛痰、平喘活性实验结果,样品 C (主要含生物碱) 效果较好,这与文献关于贝母呼吸系统活性在生物碱部位的报道一致。据此笔者将对样品 C 作进一步分离,直至单体并探索生物活性。

References

- [1] Xiong W, Guo X L, He J L, et al. Preliminary pharmacological studies on *Fritillaria hupehensis* Hsiao et K. C. Hsia [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1986, 17(3): 19-22.
- [2] Yao L N, Sun H Q, Qi Y D, et al. Respiratory system pharmacological activities of the crude alkaloids of *Fritillaria hupehensis* Hsiao et K. C. Hsia, *Fritillaria ebeiensis* G. D. Yu et G. Q. Ji and *Fritillaria ebeiensis* var. *purpurea* G. D. Yu et P. Li [J]. *Acta Univ Med Tongji* (同济医科大学学报), 1993, 22(1): 47.
- [3] Sun H Q, Yao L N, Chen D Z, et al. Pharmacological studies on the crude alkaloids of three *Beimus* [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1993, 9(Suppl): 42.
- [4] Xu S Y. *Methodology in Pharmacological Experiments* (药理实验方法学) [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994.
- [5] Li Y K. *Methodology in Pharmacological Experiments on Chinese Materia Medica* (中药药理实验方法学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1991.

党参、黄芪对实验性心肌缺血大鼠心电图影响的比较

张晓丹,佟欣,刘琳,朱英淑*

(哈尔滨商业大学药学院,黑龙江哈尔滨 150076)

摘要:目的 比较党参与黄芪提取物对实验性心肌缺血大鼠的保护作用。方法 采用垂体后叶素 (Pit) 法建立心肌缺血动物模型,以 II 导联心电图 T 波和 S-T 段位移及心率的变化为指标,观察党参和黄芪对实验性心肌缺血大

* 收稿日期: 2003-01-27

作者简介: 张晓丹 (1958-),女,哈尔滨人,教授,医学硕士,主要从事药理学研究 Tel (0451) 84838207