

产地、生长期、商品规格等不同因素对罗汉果止咳作用的影响

唐慧勤¹, 龙颖², 董威³, 肖喜泉¹, 米惠¹, 王勤¹, 田慧^{1*}

1. 广西中医药大学 广西中药药效研究重点实验室, 广西 南宁 530001

2. 桂林市中医医院 药剂科, 广西 桂林 541002

3. 嘉兴第一医院 药剂科, 浙江 嘉兴 314000

摘要: 目的 考察不同因素对罗汉果止咳作用的影响。方法 采用氨水引咳法, 按序贯法(即上下法)求半数有效量的原理, 计算小鼠半数引咳时间(EDT_{50}), 以给药组与对照组 EDT_{50} 比值(R)评价不同产地、育苗方式、果实生长期、商品规格罗汉果以及干罗汉果与鲜罗汉果的止咳作用。结果 湖南衡阳、广西南宁、广西永福县龙江及百寿采收的罗汉果均有止咳作用($R > 130\%$), 尤其是广西永福县龙江和百寿的罗汉果止咳作用显著($R > 150\%$); 扦插苗和组培苗生长得到的罗汉果均有止咳作用($R > 130\%$); 果实生长期 40~45 d 和 60~70 d 的未成熟果无止咳作用($R < 130\%$); 鲜果和干果都有止咳作用($R > 130\%$), 但干果作用显著($R > 150\%$); 一级果和响果有止咳作用($R > 130\%$), 二级果没有止咳作用($R < 130\%$)。结论 不同产地、繁育技术、是否烘干对罗汉果的止咳作用影响不大, 但果实生长期和商品规格对罗汉果的止咳作用有影响。

关键词: 罗汉果; 止咳作用; 产地; 生长期; 商品规格

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)20-3051-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.20.015

Effect of various factors such as habitat, growth period, and commercial specification on antitussive effect of *Siraitia grosvenorii*

TANG Hui-qin¹, LONG Ying², DONG Wei³, XIAO Xi-quan¹, MI Hui¹, WANG Qin¹, TIAN Hui¹

1. Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Efficacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China

2. Department of Pharmacy, Guilin Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guilin 541002, China

3. Department of Pharmacy, The First Hospital of Jiaying, Jiaying 314000, China

Abstract: Objective To observe the effects of various factors on the antitussive effect of *Siraitia grosvenorii*. **Methods** According to the sequential method (i.e., up and down method) for the principle of median effective dose, the antitussive effect of *S. grosvenorii* was observed and the median effective time (EDT_{50}) of cough induced by NH_3 aq. in mice was calculated. **Results** *S. grosvenorii* from Hunan-Hengyang, Nanning-Tanluo, Yongfu-Longjiang, and Baishou have the antitussive effect, especially in Yongfu-Longjiang and Baishou ($R > 150\%$). The fruits obtained from cuttage seedlings and tissue culture seedlings have the antitussive effect, while the immature fruits have not ($R < 130\%$). Both the fresh fruit and dried fruit ($R > 130\%$) have the significant antitussive effect, and so first class fruit and ringing fruit do ($R > 130\%$). However secondary class fruit does not have the antitussive effect ($R < 130\%$). **Conclusion** The factors, except the habitat, breeding technology, and whether drying or not, such as growth period and commercial specification may influence the antitussive effect of *S. grosvenorii*.

Key words: *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey; antitussive effect; habitat; growth period; commercial specification

罗汉果系葫芦科(Cucurbitaceae)罗汉果属 *Siraitia* Merr. 植物罗汉果 *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey 的干燥果实, 是我国特有的经济、药用植物, 盛产于广西永福、临桂等北部地区,

湖南、广东等省的阴湿山区也有分布, 为药食两用植物。其性凉、味甘、无毒, 在民间的药用历史悠久, 具有清热润肺、利咽开音之功效, 可以治疗肺结核、哮喘、百日咳、急慢性气管炎和急慢性扁桃

收稿日期: 2015-06-02

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(2012GXNSFBA053088); 广西教育厅科研重点课题(201202ZD054); 国家自然科学基金资助项目(81160518)

作者简介: 唐慧勤(1979—), 女, 讲师, 医学硕士, 从事药理学和中药药理学研究。Tel: (0771)2279423 E-mail: 478839447@qq.com

*通信作者 田慧(1973—), 女, 教授, 硕士, 从事中药鉴定学研究。Tel: (0771)4953513 E-mail: 377244732@qq.com

体炎等疾病^[1]。目前罗汉果的育苗方式主要是扦插苗和组培苗,果实在点花后 80~85 d 成熟(生长期 5~55 d 为未成熟果,75 d 以上为成熟果,60~70 d 为未完全成熟果),栽培区域从桂北地区扩大到桂南地区及周边省份^[2-3],从商品学的角度将其分成优级、一级和二级果^[4],传统上认为大果比小果好,因此价格高。但产地、生长期、栽培方式、商品规格等因素对罗汉果药效的影响尚未见报道。本实验采用氨水引咳法,研究罗汉果对小鼠的止咳作用,考察不同因素对罗汉果止咳作用的影响,从药效学角度为其质量评价提供参考依据。

1 材料与仪器

1.1 药品与试剂

罗汉果样品共 14 批,购自罗汉果各主要产地广西永福、湖南衡阳、广西南宁,均经广西中医药大学药学院中药鉴定教研室田辉教授鉴定为葫芦科罗汉果属植物罗汉果 *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey 的成熟果实,具体信息见表 1。可待因购于青海制药厂有限公司(批号 20090614)。

表 1 罗汉果样品信息

Table 1 Information of *S. grosvenorii*

编号	产地	育苗方式	生长期/d	干/鲜果	商品规格
1	湖南衡阳	组培	85~90	干果	未做评级
2	南宁坛洛乡	组培	85~90	干果	未做评级
3	永福县百寿镇	组培	85~90	干果	未做评级
4	永福县百寿镇	扦插	85~90	干果	未做评级
5	永福县龙江乡	组培	85~90	干果	未做评级
6	永福县龙江乡	扦插	85~90	干果	未做评级
7	永福县龙江乡	组培	85~90	鲜果	未做评级
8	永福县龙江乡	组培	40~45	干果	未做评级
9	永福县龙江乡	扦插	40~45	干果	未做评级
10	永福县龙江乡	组培	60~70	干果	未做评级
11	永福县龙江乡	扦插	60~70	干果	未做评级
12	永福县龙江乡	扦插	85~90	干果	一级果
13	永福县龙江乡	扦插	85~90	干果	二级果
14	永福县龙江乡	扦插	85~90	干果	响果

1.2 动物

昆明种小鼠 358 只,雌雄各半,体质量 18~22 g,购自广西医科大学实验动物中心,许可证号 SCXKG 桂 2009-0002。温度控制在 18~26 °C,相对湿度 50%~70%。

1.3 仪器

自制恒雾喷雾器,压力 24 kPa (180 mmHg)。

2 方法

2.1 罗汉果提取物的制备

所有罗汉果样品分别分 3 次提取,第 1 次加 10 倍量水,煎煮 1.5 h;第 2 次加 8 倍量水,煎煮 1 h;第 3 次加 5 倍量水,煎煮 1 h;合并滤液,挥干至密度为 1.05,水浴加热浓缩至 1 倍药材水量,加入等量 95%乙醇。冷藏静置 48 h 沉淀,抽滤,浓缩成浸膏。

2.2 氨水引咳法药效学观察^[5-6]

昆明种小鼠随机分成 16 组(每组 22 或 23 只),分别为对照组(给予等容积的纯净水)、阳性组(可待因 60 mg/kg)、各罗汉果提取物(生药剂量 20 g/kg)组,按 20 mL/kg ig 给药,每天 1 次,连续给药 5 d(阳性组给药 2 d)。末次给药后 1 h,使用雾化装置,开动真空泵,压力表调节至 180 mmHg,加氨水 1 mL,预喷 5 s,将小鼠置于玻璃钟罩内,使小鼠接受恒压氨水喷雾刺激至预定的时间,刺激停止后,立即取出小鼠,观察 1 min 内出现 3 次以上典型咳嗽动作(嘴张大或有咳嗽声)者,为有“咳嗽”,否则为“无咳嗽”。按序贯法(即上下法)求半数有效量的原理,若前 1 只小鼠为有咳嗽,则后 1 只用低 1 级的时间刺激;相反则后 1 只用高 1 级的时间刺激,相邻 2 个时间的对数组距固定在 0.1 之间,凡出现咳嗽的以“+”表示,不出现咳嗽的以“-”表示,统计结果。按公式计算小鼠半数引咳时间(EDT₅₀)和 R 值,R 值>130%为药物有止咳作用,R 值>150%则表明有显著止咳作用。

$$EDT_{50} = \lg^{-1} c/n$$

n 为动物数, c 为 rx 值的总和, r 为每剂量的动物数, x 为剂量(即喷雾时间)的对数

$$R = \text{给药组 EDT}_{50} / \text{对照组 EDT}_{50}$$

3 结果

3.1 不同产地罗汉果止咳作用的比较

与对照组比较,湖南衡阳、广西南宁、广西永福百寿和龙江的罗汉果提取物均有止咳作用($R > 130\%$),尤其是广西永福百寿和龙江的罗汉果提取物止咳作用显著($R > 150\%$)。结果见表 2。

3.2 不同育苗方式罗汉果止咳作用比较

与对照组比较,组培苗和扦插苗生长起来的罗汉果提取物均有止咳作用($R > 130\%$)。结果见表 3。

3.3 不同果实生长期的罗汉果止咳作用比较

与对照组比较,果实生长期 40~45、60~70 d 的未成熟罗汉果(无论组培苗或是扦插苗)均无

表2 不同产地罗汉果止咳作用比较

Table 2 Comparison on antitussive effect of *S. grosvenorii* from various habitats

组别	动物数/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	EDT ₅₀ /s	R/%
对照	22	—	40.23	—
可待因	22	0.06	66.53**	165
湖南衡阳(编号1)	22	20	55.08*	137
南宁坛洛(编号2)	22	20	52.30*	130
永福百寿(编号3)	22	20	70.79**	176
永福龙江(编号5)	23	20	81.10**	201

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01, 下同
*P<0.05 **P<0.01 vs control group, same as below

表3 不同育苗方式罗汉果止咳作用比较

Table 3 Comparison on antitussive effect of *S. grosvenorii* by different cultivation measures

组别	育苗方式	动物数/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	EDT ₅₀ /s	R/%
对照	—	22	—	40.23	—
可待因	—	22	0.06	66.53**	165
永福百寿(编号3) 组培	—	22	20	70.79**	176
永福百寿(编号4) 扦插	—	22	20	81.28**	202
永福龙江(编号5) 组培	—	23	20	81.10**	201
永福龙江(编号6) 扦插	—	22	20	56.23**	140

止咳作用 (R<130%), 而果实生长期 85~90 d 的成熟罗汉果(无论组培苗或是扦插苗)均有止咳作用 (R>130%), 可见果实生长期对罗汉果的止咳作用影响较大。结果见表4。

3.4 干罗汉果与鲜罗汉果止咳作用比较

与对照组比较, 干罗汉果与鲜罗汉果均有止咳作用 (R>130%), 而干罗汉果止咳作用显著 (R>150%)。结果见表5。

3.5 不同商品规格的罗汉果止咳作用比较

与对照组比较, 一级果和响果均有止咳作用 (R>130%), 而二级果没有止咳作用 (R<130%)。结果见表6。

4 讨论

民间罗汉果泡茶饮, 可清热解暑、润肺止咳, 临床上也制成多种制剂用于治疗呼吸系统疾病^[4]。可见, 止咳作用是罗汉果的主要药理作用, 可作为质量评价的重要指标之一。

罗汉果是广西桂北地区的传统特产, 95%以上

表4 不同果实生长期罗汉果止咳作用比较

Table 4 Comparison on antitussive effect of *S. grosvenorii* of various growth periods

组别	生长期/d	动物数/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	EDT ₅₀ /s	R/%
对照	—	22	—	40.23	—
可待因	—	22	0.06	66.53**	165
永福龙江(编号5) 85~90	85~90	23	20	81.10**	201
永福龙江(编号6) 85~90	85~90	22	20	56.23**	140
永福龙江(编号8) 40~45	40~45	23	20	37.84	94
永福龙江(编号9) 40~45	40~45	23	20	43.55	108
永福龙江(编号10) 60~70	60~70	23	20	34.28	85
永福龙江(编号11) 60~70	60~70	23	20	42.66	106

表5 干罗汉果与鲜罗汉果止咳作用比较

Table 5 Comparison on antitussive effect of dry and fresh *S. grosvenorii*

组别	干/鲜果	动物数/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	EDT ₅₀ /s	R/%
对照	—	22	—	40.23	—
可待因	—	22	0.06	66.53**	165
永福龙江(编号5) 干果	干果	23	20	81.10**	201
永福龙江(编号7) 鲜果	鲜果	22	20	52.70	131

表6 不同商品规格罗汉果止咳作用比较

Table 6 Comparison on antitussive effect of *S. grosvenorii* with various commercial specifications

组别	商品规格	动物数/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	EDT ₅₀ /s	R/%
对照	—	22	—	40.23	—
可待因	—	22	0.06	66.53**	165
永福龙江(编号12) 一级果	一级果	23	20	53.21*	132
永福龙江(编号13) 二级果	二级果	22	20	42.66	106
永福龙江(编号14) 响果	响果	22	20	56.23*	140

的罗汉果工艺来自广西永福和临桂两县的山区原产地, 尤其是永福县。本课题组分别从湖南衡阳、广西南宁坛洛和广西永福龙江乡、百寿镇采收罗汉果, 发现均有止咳作用, 尤其是采自龙江乡和百寿镇的罗汉果。龙江乡西邻百寿镇, 位于同一纬度: 北纬 24.5°~25.5°, 全年无霜期长, 夏季高温较少, 果实成熟期早晚温差大, 罗汉果生长期气候适宜, 生产出来的罗汉果品质好, 是全国最大的罗汉果生产基地和批发市场。

目前,罗汉果的育苗方式主要是扦插苗和组培苗,实验证明2种方式培养出来的罗汉果均有止咳作用($R>130\%$),育苗方式不影响罗汉果药效。但组培苗有种苗不带病毒、生长旺盛、产量高、适应性广泛等优点,是最值得提倡和推广的一种栽培方法。

此外,发现罗汉果的果实生长期对止咳作用的影响非常大,未成熟果无止咳作用($R<130\%$),成熟果止咳作用显著($R>150\%$)。未成熟罗汉果(生长期5~55 d)主要含罗汉果苷 II E、III(罗汉果苷 II E 味极苦),成熟罗汉果(生长期75 d以上)主要含罗汉果苷 V,而其最佳采收日期为生长日龄80~85 d以后^[4]。文献报道罗汉果止咳的活性成分为罗汉果苷 V^[7-9],因此成熟果有较强止咳作用,而未成熟或尚未充分成熟的罗汉果因不含罗汉果苷 V 或量少而无止咳作用或作用弱。

罗汉果在市场上主要以干果形式流通,鲜果的交易量较少,因为干果含水量 $<15\%$,易于保存(如进行包装,安全期为6个月)和运输,化学性质稳定,而鲜果虽然滋味甘甜,但汁液丰富,在运输中容易损坏,即使在冰箱中冻存,7~14 d后也会发生霉变。本实验发现,鲜果和干果都有止咳作用($R>130\%$),但干果作用更显著($R>150\%$)。未经加工过的鲜罗汉果在香味、香气和主要甜味成分上与干罗汉果有一定差异,如它们都有止咳活性成分罗汉果苷 V,但鲜果另含有罗汉果新苷和罗汉果黄素,干果也独有罗汉果苷 III E、VI 等成分。罗汉果不仅有罗汉果 V 发挥作用,更是多种成分共同作用的结果,这些成分或协同或拮抗,所以鲜、干罗汉果所含活性成分的差异可能是导致它们止咳作用有差异的主要原因。

从商品学角度对罗汉果进行划分,有优级、一级、二级果。另在评级标准中描述罗汉果为摇之不响。而相反摇动有响声的称为响果,被认为是不合格、品质不好的果,不能参与评级。本实验结果得出二级果没有止咳作用($R<130\%$),一级果和响果有止咳作用($R>130\%$)。就理化指标而言,一级果所含罗汉果总苷($>3.5\%$)、总糖(16.5%~17.9%)、水浸出物(37.0%~39.9%)均高于二级果,二级果含罗汉果总苷($>3.2\%$)、总糖(15.0%~

16.4%)、水浸出物(32.0%~36.9%);而感官指标上,一级果对果形、滋味、果实状态要求较高,而二级果可带微苦和允许烤焦现象^[4],说明其存在碳化现象,与半夏褐变过程相似^[10],致使其有效活性成分减少,从而可能影响了二级果的止咳作用。相反,响果却有止咳作用。传统认为尚未充分成熟的嫩果容易加工成响果,随着对罗汉果研究的深入,发现即使是成熟果在烘烤加工的时候,果心也会慢慢收缩变小,与外壳的接触面变小甚至是完全脱离,从而变成响果。罗汉果越干燥,响果出现的概率也越高,而与质量可能无关,也不影响其药效。故仅凭借经验对响果的认识是有限的。本实验结果提示,响果是否为合格品,不仅要形态学,更要从化学指标和药效学指标评价,或许将来可以不作为商品评级的标准。

综上所述,不同因素对罗汉果的止咳作用有不同影响,而本实验首次从药效学角度对罗汉果的质量进行了评价,是对罗汉果质量评价标准的补充,并为建立罗汉果新的评价方法提供了实验基础。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2010.
- [2] 李琦,肖聪.罗汉果的质量标准[J].中国药师,2010,13(5):654-656.
- [3] 蒋水元,李锋,李虹,等.罗汉果组培苗规范化种植生产操作规程(SOP)[J].广西植物,2007,27(6):867-872.
- [4] 李锋,蒋水源,李典鹏.罗汉果栽培与化学研究[M].南宁:广西科学技术出版社,2010.
- [5] 孙燕燕,林宏,李旭,等.小儿抗病毒颗粒药效学研究[J].中草药,2011,42(10):2080-2082.
- [6] 王勤,李爱媛,黄荣奇,等.罗汉果的祛痰止咳通便作用[J].广西中医学院学报,1998,15(1):62-64.
- [7] 刘婷,王旭华,李春,等.罗汉果皂苷V的镇咳、祛痰及解痉作用研究[J].中国药学杂志,2007,42(20):1534-1536.
- [8] 陈瑶,范小兵,王永祥,等.罗汉果甜苷的止咳祛痰作用研究[J].中国食品添加剂,2006,74(1):41-43.
- [9] 李坚,李沛波,袁干军.罗汉果水提取物的止咳作用研究[J].海南医学院学报,2008,14(1):16-18.
- [10] 吴玉良,景亚凤,申琴,等.半夏褐变抑制条件及其对药理作用的影响[J].中草药,2012,43(8):1523-1525.