

药用植物到手香水提液镇咳祛痰作用研究

王玲¹,管淑玉²,梁颖¹

(1. 广东食品药品职业学院,广东 广州 510520;2. 广东药科大学,广东 广州 510006)

摘要:目的 对到手香水提液镇咳祛痰作用研究。**方法** 采用水蒸气蒸馏法对到手香水提液进行提取,采用到手香水提液对小鼠进行氨水引咳法的镇咳实验,采用到手香水提液对小鼠进行气管酚红排泄量影响的祛痰实验。**结果** 到手香水提液 6、12、24 g·kg⁻¹ 剂量组对小鼠的镇咳、祛痰作用与对照组比较,差异有统计学意义。**结论** 到手香水提液有显著的镇咳祛痰作用,具有医药开发利用价值。

关键词:到手香;水提液;镇咳;祛痰

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.03.008

Antitussive and expectorant effects of water soluble extractive of *Coleus amboinicus* Lour

WANG Ling¹,GUAN Shuyu²,LIANG Ying¹

(1. Guangdong Food and Drug Vocational College,Guangzhou,Guangdong 510520,China;

2. Guangdong Pharmaceutical University,Guangzhou,Guangdong 510006,China)

Abstract:**Objective** To investigate the antitussive and expectorant effects of water soluble extractive of *Coleus amboinicus* Lour. **Methods** The antitussive effects were investigated through observing the cough time and 50% effect time induced by ammonium hydroxide in mice. The expectorant activity was studied by testing the amount of phlegm secreted in mice. **Results** Water soluble extractive (6, 12, 24 g·kg⁻¹) of *Coleus amboinicus* Lour. could obviously prolong the latent period, decrease the frequency of cough and promote mouse tracheal phenol red secretion in comparison with the control group. **Conclusions** Water soluble extractive of *Coleus amboinicus* Lour. has significant antitussive and expectorant efficacy.

Keywords: *Coleus amboinicus* Lour; water soluble extractive; antitussive; expectorant

到手香(*Coleus amboinicus* Lour.),别名左手香、印度薄荷,得此名因用手触摸该植物叶片后,手指间会留下浓烈的香气。到手香为唇形科鞘蕊花属植物,原产于印度和东南亚;广泛分布于南部非洲、南美洲,在国外作为一种香料,同时作为药用植物和杀虫剂、杀菌剂应用,该植物在广东潮汕地区民间偶有种植,当地人用它来治疗喉痛与咳嗽。联合国粮农组织 1999 年农业服务公告 137 号公布的《用作谷物杀虫剂的香料与药用植物》中列举了世界上 100 余种具有杀虫与杀菌活性的植物和植物精油,到手香列入其中^[1],国内的中药典籍和植物志、植物名录均未收录。到手香繁殖采用扦插法,春秋季节为适宜期,生长迅速,全草功效为清凉、消炎、祛风、解毒。当前未查到有报道到手香水提液的镇咳祛痰作用,而在广东潮汕地区人们将到手香鲜嫩叶洗净后口衔用来治咳嗽,因此对到手香水提液进行镇咳祛痰药效学研究很有意义。本文对

到手香水提液进行镇咳祛痰作用研究,为到手香进一步的开发利用提供有力的理论基础和科学依据。

1 实验材料

1.1 药材 到手香:引种于广东省阳江市阳西县中山大学(原中山医科大学)药材基地,在中山大学南校区校内繁殖,由中山大学测试中心夏锋高级工程师与生命科学院叶创兴教授共同鉴定为到手香。浓氨水(广州化学试剂厂,批号 20150612),美沙芬片(广州光华药业股份有限公司,批号 T23004),苯酚红(广州化学试剂厂生产,批号 150904),痰咳净(广州羊城药业股份有限公司生产,批号 150315)。

1.2 实验动物 NIH 小鼠,普通级标准,由广东省卫生厅动物实验中心提供,合格证号:粤检证字第 2015A022 号。

2 实验方法

2.1 到手香水提液的制备 取到手香植物地上部分,晾干,剪碎,精密称取碎叶适量,加入 10 倍量蒸馏水浸泡 2 h,90~100℃ 回流提取 6 h,冷却,双层纱布过滤,清洗 3 次滤渣并过滤,合并滤液。重复

以上操作,多次提取,合并多次提取所得滤液,用布氏漏斗抽滤,得到的滤液为到手香稀溶液。于70℃温度、-0.08 MPa 压力、60 r·min⁻¹的条件下,对到手香稀溶液进行减压蒸馏浓缩^[2],得到到手香浓溶液。精密量取适量浓溶液,用蒸馏水稀释后为到手香水提液,制成浓度为0.3、0.6、1.2 kg·L⁻¹的高、中、低三个剂量溶液,供镇咳祛痰实验用。

2.2 到手香水提液镇咳作用试验(对氨水引起小鼠咳嗽的影响)设计^[3-6]

2.2.1 试验设计 采用改进的引咳实验装置,在恒压条件(压力为101 kPa)下对小鼠进行氨引咳。因为小鼠性别变化会影响实验进行中的梯度,因此本实验采用雄性动物进行实验。

2.2.2 动物分组 选择健康,体质量在18.0~22.0 g的NIH小鼠共75只,并按照体质量进行排序分层,再采用层内单纯随机法分成5组,每组15只小鼠。设为:阴性对照组(生理盐水)、阳性对照组(美沙芬溶液,给药剂量为0.03 g·kg⁻¹)、到手香水提液高、中、低三个剂量组。并根据初试验测试结果按倍量法设定给药剂量为24、12、6 g·kg⁻¹。

2.2.3 试验方法 小鼠灌胃给药(0.4 mL/20 g)1 h后,将小鼠放入密闭玻璃缸中,依据序贯法原则按预定的时间喷入浓氨水气雾,喷雾结束后立即取出小鼠,观察1 min内是否有咳嗽反应。咳嗽判断方法:若1 min内出现3次及以上典型咳嗽动作(腹肌收缩或缩胸,同时张大嘴,有时可有咳声)者,算作“有咳嗽”。否则算作“无咳嗽”。以停止接触氨水刺激之后1 min内咳嗽次数不小于3次判为阳性,若个别动物在实验过程中出现死亡或休克亦判为咳嗽阳性。其首次咳嗽时间以及2 min内咳嗽次数同时作为科学数据作其它处理。

2.2.4 数据处理 用序贯法(上下法)求出引起半数小鼠咳嗽的喷雾时间(EDT₅₀)。计算R值,若R值大于130%,即表明药物具有止咳作用。若R值大于150%,即表明药物有显著的止咳作用。计算公式:EDT₅₀=log⁻¹c/n[式中n为动物数,c为rx值的总和,r为每剂量组的动物数,x为剂量(即喷雾时间)的对数]。R=给药组的EDT₅₀/对照组的EDT₅₀×100%。

2.3 到手香水提液祛痰作用试验(对小鼠气管酚红排泄量的影响)设计^[4-7]

2.3.1 酚红标准曲线的绘制 精密称取一定量的酚红,用5%碳酸氢钠溶解,配成每1 mL含12.5 ng的溶液,然后顺次进行倍比稀释成每毫升含酚红6.250 0、3.125 0、1.562 5、0.781 3、0.390 6、

0.195 3、0.097 7、0.048 8 ng的溶液,用分光光度计于546 nm波长测定其光密度(OD值),计算回归方程:酚红含量=OD值×7.626 6-0.055 4,r=0.995 6,绘制标准曲线。

2.3.2 试验方法 取健康NIH小鼠50只,按照体质量进行排序,采用随机区组分组法分成5组,每组10只小鼠,设为:阴性对照组(生理盐水)、阳性对照组(0.01 kg·L⁻¹痰咳净溶液,给药剂量为0.2 g·kg⁻¹)、到手香水提液高、中、低剂量组,根据初试验测试结果按倍量法设定给药剂量为24、12、6 g·kg⁻¹。小鼠禁食不禁水12 h后,灌胃0.4 mL/20 g,30 min后经腹腔注射5%酚红生理盐水溶液0.2 mL/20 g,30 min后采用断颈椎法处死小鼠,剪下小鼠气管,放入预先盛有1.5 mL的5% NaHCO₃溶液试管中,超声5 min,促使气管段中的酚红释放出来。将各试管中溶液于分光光度计546 nm处测OD值。将各试管含气管段放置过夜,24 h后重测OD值。

2.3.3 数据处理 根据酚红含量和动物体质量计算出校正酚红含量,用SPSS11.0统计软件进行方差分析,P<0.05为差异有统计学意义。计算公式:校正酚红含量=酚红含量(ng)/小鼠体质量(kg);化痰率(%)=给药组校正酚红含量/空白对照组校正酚红含量×100%。

2.4 统计学方法 采用SPSS17.0进行数据分析。观测指标中的酚红含量等为计量资料,比较采用单因素方差分析+两两比较LSD-t检验。化痰率等为计数资料,比较采用χ²检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 到手香水提液镇咳作用试验(对氨水引起小鼠咳嗽的影响) 本实验中阳性对照药物美沙芬的镇咳效果R=133.63%,即镇咳效果为有效,说明本实验条件结果可靠。样品组的R>130%,说明到手香水提液对氨水诱导的小鼠咳嗽有明显的镇咳作用,具体数据见表1。

表1 到手香水提液对小鼠镇咳药理实验结果

组别	鼠数	样品浓度/ g·L ⁻¹	给药剂量/ g·kg ⁻¹	EDT ₅₀	R值/ %	止咳 效果
阴性对照组	15	—	—	29.31	—	—
阳性对照组	15	1.5	0.03	39.17	133.63	有效
水提液高剂量组	15	1200	24	43.45	148.24	有效
水提液中剂量组	15	600	12	42.91	146.40	有效
水提液低剂量组	15	300	6.0	40.46	138.04	有效

注:“—”表示此项无数据。

表 2 到手香水提液对小鼠祛痰药理实验结果

组别	鼠数	给药剂量/ g · kg ⁻¹	动物气管酚红含量/ (ng, $\bar{x} \pm s$)	校正酚红含量/ (ng · kg ⁻¹ , $\bar{x} \pm s$)	化痰率/%
阴性对照组	10	—	0.30 ± 0.07	15.46 ± 4.07	—
阳性对照组	10	0.2	0.86 ± 0.40	45.03 ± 21.82	291.30 ^a
水提液高剂量组	10	24.0	0.67 ± 0.29	34.19 ± 14.93	221.17 ^a
水提液中剂量组	10	12.0	0.63 ± 0.23	32.15 ± 11.81	207.96 ^a
水提液低剂量组	10	6.0	0.50 ± 0.19	24.56 ± 8.75	158.89 ^a

注:与阴性对照组比较,^a*P* < 0.05。

3.2 到手香水提液祛痰试验(对小鼠气管酚红排泄量的影响) 本实验中阳性对照药物痰咳净的祛痰率为 291.30%,与阴性对照组比较差异有统计学意义(*P* < 0.05),说明本实验条件结果可靠。实验结果表明,到手香水提液使小鼠气管酚红排泄量增加,有明显的祛痰作用,具体数据见表 2。

4 讨论

氨水具有强烈的刺激性臭味,用空压机将浓氨水通过雾化器雾化喷入动物容器内,小鼠吸入后,刺激呼吸道感受器,即可引发反射性咳嗽。凡能抑制咳嗽中枢或降低呼吸道感受器敏感性的药物均有镇咳作用^[8],即能抑制氨水引起的咳嗽。本实验中到手香水提液高中低剂量组均具有明显的镇咳作用,而到手香水提液镇咳药理作用机制是属于中枢性还是属于外周性,有待进一步实验研究。动物呼吸道分泌量增多,有利于附着呼吸道黏膜的浓痰变稀,从气管壁脱落,起到祛痰作用。小鼠腹腔注射酚红生理盐水后,酚红会随呼吸道分泌液排出,酚红排泄量的多少可以反映出呼吸道分泌液的量。本实验中到手香水提液能增加小鼠气管酚红排泄量,有利于附着气管黏膜的浓痰变稀,从气管壁脱落,起到祛痰作用。到手香水提液含有蛋白质、氨基酸、皂苷、鞣质、糖及其苷类、酚类和有机酸等化学成分^[9];其中镇咳祛痰作用的有效成分及其作用机制尚待进一步实验研究和探讨。因为有些药用植物具有镇咳祛痰作用,同时也具有平喘作用,笔者曾进行豚鼠离体气管平滑肌收缩的影响实验、2%乙酰胆碱和 0.1%组织胺混合液喷雾致喘豚鼠

的影响实验^[10],对到手香水提液平喘作用进行研究,结果显示到手香水提液对喷雾致喘豚鼠的引喘潜伏期、对豚鼠离体气管平滑肌收缩均没有显著抑制作用。本实验中到手香水提液有明显镇咳祛痰作用,为进一步药效学研究及合理开发利用到手香提供了理论基础和科学依据。

参考文献

[1] PETER G. The use of spices and medicinals as bioactive protectants for grains[M]. Food and Agriculture Organization of the United Nations,1999:59.

[2] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:202.

[3] 陈会丛,杨海润,钟雨秋,等. 同仁堂儿童清肺口服液的镇咳、祛痰、平喘作用的实验研究[J]. 中医药导报,2016,22(6):37-39.

[4] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2006:1360-1364.

[5] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2006:433-437.

[6] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2011:623-630.

[7] 马家宝,王力宁,杨正腾. 麻杏二陈特禀咳颗粒镇咳、抗炎和祛痰作用实验研究[J]. 中国药业,2016,25(24):13-15.

[8] 梁盛华,许志威. 镇咳、祛痰药物研究进展[J]. 中国药房,2015,26(25):3578-3580.

[9] 王玲,管淑玉,梁颖. 到手香化学成分初步研究[J]. 时珍国医国药,2013,24(6):1328-1329.

[10] 邓恢进,李霞,张金美,等. 苦橘咳喘合剂的止咳化痰作用与急性毒性[J]. 医药导报,2015,34(5):603-605.

(收稿日期:2017-04-28,修回日期:2017-08-30)