

## 走马胎醇提物镇咳祛痰作用实验研究

黄永毅<sup>1</sup>, 谭秋兰<sup>2</sup>, 罗莹<sup>1</sup>, 黄彦峰<sup>1</sup>, 庞文杰<sup>1</sup>, 潘勇<sup>3</sup>

(1. 右江民族医学院机能实验教学中心, 广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院 2011 级药学本科班, 广西 百色 533000;

3. 右江民族医学院有机化学与药物化学教研室, 广西 百色 533000)

**摘要:**目的 研究走马胎醇提物的镇咳祛痰作用。方法 采用氨水引咳法, 小鼠气管酚红排泌法建立咳嗽和致痰模型, 观察走马胎醇提物高、中、低剂量给药后的镇咳和祛痰作用。结果 走马胎醇提物各组引咳潜伏期高于正常对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 2 min 内咳嗽次数低于正常对照组 ( $P < 0.01$ ); 小鼠气管酚红的排泌量高于正常对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结论 走马胎醇提物具有明显的镇咳、祛痰作用。

**关键词:** 走马胎; 镇咳; 祛痰

**中图分类号:** R285.5

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-5817(2018)05-0427-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2018.05.006

走马胎为紫金牛科紫金牛属植物走马胎 (*Ardisia gigantifolia* Stapf) 的干燥根茎, 主要分布于广西、广东、福建、江西等地。本品具有壮筋骨、活血祛瘀的功效, 味辛, 性温, 用于风湿筋骨疼痛、产后血瘀、痢疾、跌打损伤等疾病的治疗<sup>[1-2]</sup>。龙杰超等<sup>[3]</sup>报道, 走马胎含有三萜皂苷类、酚类、岩白菜素类、挥发油类、苯醌类等成分。本实验对走马胎醇提物进行镇咳祛痰作用的研究, 现将结果报道如下。

### 1 材料与方 法

1.1 动物 清洁级昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 18~22 g, 由右江民族医学院实验动物中心提供, 合格证号: SYXK 桂 2017-0004。

1.2 药物 氯化铵 (广州新建精细化工厂产品, 批号: 20140715); 苯酚红 (天津光复精细化工研究所, 批号: 20140427); 碳酸氢钠 (天津大茂化学试剂厂, 批号: 20141009); 岩白菜素片 (昆明全新生物制药有限公司, 批号: 130903)。

1.3 药材 走马胎采购于百色药市, 经右江民族医学院附属医院中药房副主任药师刘春荣鉴定为紫金牛科紫金牛属植物走马胎的干燥根茎。

1.4 仪器 梅特勒 ME104 分析天平 (梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司); 安亭 TGL-16G 低速离心机 (上海安亭科学仪器厂); UV-722 紫外分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司); RE-301 型旋转蒸发器 (上海荣光设备有限公司)。

### 1.5 方 法

1.5.1 走马胎醇提物制备 称取走马胎约 500 g, 加

适量无水乙醇浸泡 1 h, 加入 1500 ml 无水乙醇, (80±5) °C 进行回流提取 2 h, 分别回流提取 2 次, 合并滤液, 过滤, 旋转蒸发器浓缩滤液至无乙醇味, 得到乙醇提取物。

1.5.2 镇咳实验氨水引咳法<sup>[4-5]</sup> 筛选合格小鼠 50 只 (选取 2 min 发生咳嗽反应的小鼠), 按体重随机分为 5 组: 正常对照组 (给予等体积生理盐水)、阳性对照组 (岩白菜素)、走马胎醇提液高剂量组、走马胎醇提液中剂量组、超胎醇提液低剂量组, 连续 14 d, 每只小鼠按 0.1 ml/10 g 灌胃。末次给药前 12 h 禁食不禁水, 于末次给药 1 h 后, 将氨水棉球 (1 ml 氨水/棉球) 放入倒扣的 1000 ml 圆口烧杯下让氨气在烧杯内饱和, 再放入小白鼠观察记录各组小鼠咳嗽潜伏期 (从放入烧杯内到第一次咳嗽的时间) 以及 2 min 内的咳嗽次数 (以小鼠腹肌收缩, 即缩胸, 同时张大嘴为准, 有时会有咳声)。

1.5.3 祛痰实验气管酚红法<sup>[4-5]</sup> 取 18~22 g 小鼠 50 只, 按体质量随机分为 5 组, 每组各 10 只, 正常对照组 (给予等体积生理盐水)、阳性对照组 (氯化铵溶液)、走马胎醇提液高剂量组、走马胎醇提液中剂量组、走马胎醇提液低剂量组, 每只小鼠按 0.1 ml/10 g 灌胃, 连续 14 d。末次给药前禁食不禁水 12 h, 末次给药 1 h 后, 腹腔注射 0.5% 酚红 0.1 ml/10 g, 注射酚红 1 h 后, 脱颈椎处死小鼠, 剥离气管周围组织, 将自甲状软骨下至气管分支处的一段气管剪下, 放入盛有 2 ml 生理盐水的试管中, 再加入 5% NaHCO<sub>3</sub> 溶液 0.1 ml, 离心 20 min, 取上清液, 于波长 546 nm 处用紫外可见

第一作者简介: 黄永毅 (1977-), 男, 实验师, 研究方向: 中草药药效学, E-mail: jnhyy@139.com

通信作者简介: 潘勇 (1978-), 男, 讲师, 研究方向: 中草药药效学, E-mail: 285806805@qq.com

分光光度计测吸光度。吸光度 A 数值可以反映出祛痰作用强弱。

1.5.4 酚红标准曲线的制备 精密称取约 0.02 g 酚红,加入 5%碳酸氢钠溶解并定容到 100 ml,分别吸取母液 0.125 ml、0.25 ml、0.5 ml、0.75 ml、1.00 ml、1.25 ml、1.50 ml、1.75 ml、2.00 ml 置于各个 100 ml 容量瓶中并定容到相应刻度,浓度分别为(0.27 mg/L、0.54 mg/L、1.06 mg/L、1.60 mg/L、2.12 mg/L、2.66 mg/L、3.18 mg/L、3.72 mg/L、4.24 mg/L),分光光度法在 546 nm 处测吸光度 OD,OD 值为 Y 轴,浓度(mg/L)为 X 轴,线性回归得标准曲线  $Y = 0.1458X + 0.0045$ ,  $R^2 = 0.9993$ ,曲线线性范围为(0.27 ~ 4.24 mg/L)。

1.5.5 统计学方法 实验数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示,应用 SPSS 24.0 软件做单因素方差分析,组间两两比较用 LSD 法,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

2.1 走马胎醇提液镇咳实验 走马胎醇提液低、中、高剂量组和岩白菜素组引咳潜伏期时间均高于正常对照组( $P < 0.01$ );低、中、高剂量组引咳潜伏期时间均高于岩白菜素组( $P < 0.01$ ),低、中、高剂量组和岩白菜素组 2 min 内咳嗽次数低于正常对照组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );低、中、高剂量组 2 min 内咳嗽次数均低于岩白菜素组( $P < 0.01$ ),提示醇提液有镇咳作用,且效果优于岩白菜素;低、中、高剂量组引咳潜伏期时间和咳嗽次数分别组间两两比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),说明药物在给药过程中镇咳无量效关系。结果见表 1。

表 1 各组小鼠咳嗽潜伏期、咳嗽次数

测定结果 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g/kg)	咳嗽潜伏期 (s)	咳嗽次数 (次/2 min)
正常对照组	—	32.60 ± 6.83	34.40 ± 5.54
岩白菜素组	5	46.90 ± 8.52 <sup>b</sup>	27.70 ± 6.50 <sup>a</sup>
低剂量组	5	65.80 ± 10.17 <sup>bc</sup>	15.60 ± 7.09 <sup>bc</sup>
中剂量组	10	68.20 ± 9.57 <sup>bc</sup>	16.10 ± 7.39 <sup>bc</sup>
高剂量组	20	72.80 ± 14.96 <sup>bc</sup>	18.70 ± 5.17 <sup>bc</sup>
F		26.708	16.611
P		<0.001	<0.001

注:与正常对照组比较,a:  $P < 0.05$ ,b:  $P < 0.01$ ;与岩白菜素组比较:c:  $P < 0.01$

2.2 走马胎醇提液祛痰实验 走马胎醇提液低、中、高剂量组和氯化铵组的酚红排泄量均高于正常对照组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );低、中、高剂量组与氯化铵组酚红排泄量组间两两比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。以上结果显示,走马胎醇提液能够促进呼吸道酚红排泄,具有祛痰作用,效果与氯化铵相当,无量

效关系,结果见表 2。

表 2 各组小鼠的气管酚红排泄量

测定结果 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g/kg)	酚红排泄量(mg/L)
正常对照组	—	1.31 ± 0.52
氯化铵组	0.5	2.52 ± 0.83 <sup>b</sup>
低剂量组	5	1.98 ± 0.47 <sup>a</sup>
中剂量组	10	2.16 ± 0.61 <sup>b</sup>
高剂量组	20	2.38 ± 0.77 <sup>b</sup>
F		5.216
P		0.002

注:与正常对照组比较,a:  $P < 0.05$ ,b:  $P < 0.01$

## 3 讨论

小鼠氨水引咳法和酚红排泄法是药理实验中一种用于筛选镇咳祛痰药物的可靠实验方法。

氨水是一种强的化学刺激物,吸入氨水气雾的小鼠因呼吸道感受器受到刺激,引发咳嗽。凡是能降低气道感受器敏感性或抑制咳嗽反射弧中某个环节的药物都会表现出镇咳作用;通过测定气管段中酚红排泄量,可以判断出药物的祛痰效果。实验中以引咳潜伏期,咳嗽次数和酚红排泄量作为观察指标,有镇咳、祛痰作用的试药会明显延长引咳潜伏期,减少咳嗽次数,以及促进酚红排泄。本试验主要针对民间药材走马胎醇提取物中是否具有镇咳和祛痰作用进行研究,结果显示走马胎醇提取物能明显延长氨水诱导的小鼠咳嗽潜伏期,降低咳嗽次数,且效果优于岩白菜素,还能够促进小鼠气管的酚红排泄量增加,效果与氯化铵相当,提示该药醇提取物具有明显镇咳、祛痰作用。

有文献报道<sup>[6]</sup>,走马胎乙醇提取物中主要含有大叶紫金牛酚、香豆素类、三萜皂苷类以及甾醇类化合物,大叶紫金牛酚具有抗氧化活性,香豆素类的主要成分为岩白菜素类化合物,其具有镇咳祛痰作用<sup>[7]</sup>,三萜皂苷类化合物中含有的齐墩果酸,具有较强的抗炎作用,三萜皂苷中的其他成分具有一定的活血作用,实验结果显示走马胎在镇咳实验过程中,与岩白菜素组比较,低、中、高剂量组潜伏期延长和咳嗽次数减少均有明显差异( $P < 0.01$ ),说明走马胎提取物除了含有岩白菜素的成分外,可能还含有其他镇咳作用的成分或者其他成分与岩白菜素在镇咳方面有协同作用。

走马胎醇提取物具有镇咳、祛痰作用,对于治疗伴有痰的咳嗽具有一定的临床意义和参考价值。本次实验中醇提液的镇咳祛痰作用无量效关系,其镇咳、祛痰方面的活性成分和药理机制等都有待于进一步研究。

(下转第 440 页)

本研究结果显示,试验组术后化疗肿瘤直径与对照组比较差异具有统计学意义( $P < 0.001$ )。试验组中治疗有效患者 18 例,无效患者 12 例;对照组中治疗有效患者 10 例,无效患者 20 例,试验组的治疗有效率为 60.00%,高于对照组的 33.33%,且差异具有统计学意义;秩和检验结果显示,试验组的临床疗效优于对照组。试验组中不良反应发生率为 50.00%;对照组为 46.67%,两组不良反应发生率差异无统计学意义,试验组不良反应发生率偏高可能是由于顺铂会引起恶心、呕吐等消化道反应,其发生率高达 88.74%<sup>[8]</sup>。这与李翔等<sup>[9]</sup>以及任江虹<sup>[10]</sup>的研究结果保持一致。Ivanov 等<sup>[11]</sup>认为单纯的手术治疗不能取得较好的疗效,患者容易复发。因此,对于早中期宫颈癌患者来说,可在术前选择紫杉醇联合顺铂的新辅助化疗方案进行化疗。

综上所述,紫杉醇联合顺铂的新辅助化疗方案可为手术提供有利条件,有效提高早中期宫颈癌的近期疗效,且该方案不增加患者的不良反应,用药安全可靠,值得在临床上推广应用。

#### 参考文献:

- [1] 王彤,武明辉,吴玉梅,等.北京市宫颈癌 17 年发病率变化及趋势分析[J].北京医学,2017,39(6):599-602,封 3.
- [2] 陈姝,王庆一.腹腔镜下广泛子宫切除并盆腔淋巴结清扫治疗早期宫颈癌的临床体会[J].右江民族医学院学报,

2014,36(6):870-871.

- [3] 范瑜红,方华英,伍晓慧,等.紫杉醇联合卡铂在晚期宫颈癌新辅助化疗中的应用研究[J].中国生化药物杂志,2017,37(4):379-381.
- [4] 杨学宁,吴一龙.实体瘤治疗疗效评价标准-RECIST[J].循证医学,2004,4(2):85-90,111.
- [5] 赵辉.新辅助化疗在治疗局部晚期宫颈癌中的应用进展[J].重庆医学,2018,47(4):558-560.
- [6] 张琴,黄余良.宫颈癌的新辅助化疗进展[J].西南军医,2018,20(1):56-59.
- [7] 梁恭博,郝壮,袁野,等.紫杉醇联合铂系配合物抗肿瘤作用的研究进展[J].国际检验医学杂志,2013,34(2):184-186.
- [8] 李小勤,孟媛媛,耿晓星.新辅助化疗对宫颈癌的疗效观察[J].实用癌症杂志,2013,28(5):538-540.
- [9] 李翔,鲁艳明,张瑶,等.紫杉醇联合顺铂新辅助化疗在早中期宫颈癌治疗中的临床应用[J].实用药物与临床,2016,19(2):148-151.
- [10] 任江虹.紫杉醇联合顺铂新辅助化疗治疗早中期宫颈癌的效果观察[J].河南医学研究,2017,26(12):2155-2157.
- [11] Ivanov I. Radical surgical treatment with nerve-sparing technique in early cervical cancer—stage I A-II A. Our and foreign experience [J]. Akush Ginekol (Sofia), 2010,49(2):50-52.

收稿日期:2018-05-11;修回日期:2018-10-22

(上接第 428 页)

#### 参考文献:

- [1] 戴卫波,董鹏鹏,梅全喜.走马胎的化学成分、药理作用研究进展[J].天然产物研究与开发,2018,30(4):717-723.
- [2] 戴卫波,吴凤荣,董鹏鹏,等.走马胎对类风湿性关节炎模型大鼠踝关节组织病理学的影响[J].中药材,2017,40(5):1203-1207.
- [3] 龙杰超,徐传贵,韦贵元,等.中药走马胎研究进展[J].中医药导报,2017,23(21):75-78,81.

- [4] 潘勇,韦健全,郑子敏,等.木蝴蝶对小鼠的镇咳祛痰作用研究[J].右江民族医学院学报,2008,30(4):550-551.
- [5] 张鑫,孙继燕,杨全,等.杓楔茎干止咳祛痰作用研究[J].辽宁中医杂志,2018,45(7):1514-1515.
- [6] 魏蓉,负健全,谢思明,等.走马胎资源与利用研究进展[J].广东林业科技,2015,31(5):94-98.
- [7] 刘斌,谭成玉,池晓会,等.岩白菜素的研究进展[J].西北药学杂志,2015,30(5):660-662.

收稿日期:2018-08-07;修回日期:2018-10-08