

款冬花不同提取物对豚鼠离体回肠收缩作用的研究

王金凤¹, 杨苏蓓², 毛培江²(1.浙江中医药大学, 杭州 310053; 2.浙江省中药研究所有限公司, 杭州 310023)

摘要: 目的 研究比较款冬花各个不同提取物对豚鼠离体回肠收缩的作用。方法 通过石油醚、乙酸乙酯、CO₂ 超临界萃取等方法制备款冬花多个提取物, 将离体豚鼠回肠悬吊于克-亨试液中, 观察给药后豚鼠回肠的收缩作用, 计算豚鼠回肠收缩幅度抑制率。结果 款冬花各个不同提取物均能降低组胺引起的豚鼠离体回肠收缩幅度。结论 款冬花各个提取物能明显抑制豚鼠回肠收缩运动。

关键词: 款冬花; 豚鼠离体回肠; 组胺

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2010)09-0781-04

Study the Effects of Different Extracts of *Tussilago Farara* L. on the Contraction of Isolated Ileum of Guinea Pig

WANG Jinfeng¹, YANG Subei², MAO Peijiang²(1.Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2.Zhejiang Research Institute of Traditional Chinese Medicine Co. Ltd, Hangzhou 310023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate and compare the effect of different extracts of *Tussilago farara* L. on the contraction of isolated ileum of guinea pig. **METHODS** By the method of petroleum, acetoacetate and supercritical CO₂, the *Tussilago Farara* L. was extracted Isolated ileum of guinea pig was put in K-H solution. The contraction extent of isolated ileum was observed. Inhibition ratio of the contraction extent was calculated. **RESULTS** Different extracts of *Tussilago Farara* L. decreased the contraction extent of isolated ileum of guinea pig caused by histamine. **CONCLUSION** The extracts of *Tussilago Farara* L. significantly inhibited the contraction of isolated ileum of guinea pig .

KEY WORDS: *Tussilago Farara* L; isolated guinea pig ileum; histamine

款冬花(*Tussilago Farara* L.)为菊科植物款冬的干燥花蕾, 又名冬花、九九花等。中国药典 2005

年版收载, 款冬花性温, 味辛、微苦, 具有润肺下气, 止咳化痰等功能, 用于新久咳嗽, 喘咳痰多,

作者简介: 王金凤, 女, 硕士 Tel: 15858152368 E-mail: jordan106@163.com

中国现代应用药学 2010 年 9 月第 27 卷第 9 期

Chin JMAP, 2010 September, Vol.27 No.9

• 781 •

劳嗽咳血，款冬花为止咳化痰良药，临床应用疗效显著。本研究探讨款冬花各个不同提取物拮抗组胺作用强弱，为款冬花抗过敏性鼻炎有效部位药效筛选提供基础。

1 材料与方法

1.1 药材

款冬花药材：购于安徽新兴中药材饮片有限公司，批号：20080508，经浙江省中药研究所有限公司夏正燕工程师鉴定为款冬花 *Tussilago Farara* L.。

1.2 药品

组胺(histamine，批号：1703，上海丽珠东风生物技术有限公司)；扑尔敏(马来酸氯苯那敏注射液，批号：07051413，无锡市第七制药有限公司)；聚氧乙烯蓖麻油缩合物(cremophor BL，运宏化工试剂辅料有限公司)；克-亨试液(NaCl 6.92g，KCl 0.35g，MgSO₄·7H₂O 0.29 g，KH₂PO₄ 0.16 g，NaHCO₃ 2.1 g，CaCl 0.28 g，葡萄糖 2.0 g，用蒸馏水配成 1 000 mL 溶液)。

1.3 动物

豚鼠，清洁级，♀ ♂ 兼用，体重(250±20)g，购自浙江省医学科学院实验动物中心，合格证号：SCXK(苏)2004-0003。

1.4 主要仪器

MD2000 Superlab 生物信号采集分析系统(江苏生物医学工程学会医电研究所)；HA221-40-08 超临界萃取装置(江苏南通华安超临界萃取有限公司)。

2 方法与结果

2.1 款冬花不同提取物的制备

2.1.1 款冬花 95%乙醇、石油醚与乙酸乙酯提取物的制备 款冬花药材粗粉 95%乙醇回流提取，回收溶剂至无醇味得 95%乙醇提取物，取部分 95%乙醇提取物，加水混悬，用石油醚、乙酸乙酯分别萃取，回收溶剂，分别得石油醚提取物和乙酸乙酯提取物。

2.1.2 款冬花 CO₂ 超临界提取物的制备 款冬花药材粗粉置超临界萃取釜中，将 CO₂ 冷却后由高压泵加压到预定压力，选择所要求的萃取条件(萃取釜温度 40 ℃，分离釜温度 30 ℃，CO₂ 流速 48 kg·h⁻¹，压力 20 MPa，萃取时间 5 h)萃取，得淡黄色超临界提取物。

取部分超临界提取物经水蒸汽蒸馏，得款冬花超临界挥发油提取物，剩余水溶液经正己烷萃取，

回收正己烷，得超临界正己烷提取物。款冬花各提取物得率见表 1。

表 1 款冬花各提取物的得率

Tab 1 The extract yielding rate of the *Tussilago Farara* L. extracts

样品	得膏率/%
95%乙醇提取物	13.8
石油醚提取物	1.28
乙酸乙酯提取物	2.59
超临界提取物	1.72
超临界挥发油提取物	0.11
超临界正己烷提取物	1.32

2.2 溶液的配制

2.2.1 样品溶液的配制 上述提取物分别加入蓖麻油 1.7 g，加蒸馏水，研磨，配置成乳液。石油醚提取物和乙酸乙酯提取物配制成 1 mL 含生药 0.75 g、1.5 g 和 3.0 g 的低、中、高剂量的样品溶液，其余提取物配制成 1 mL 含生药 3.0 g 的样品溶液，置 4 ℃冰箱备用。

2.2.2 蓖麻油空白溶液的配制 取与样品溶液等量的蓖麻油，加入蒸馏水，配制成 0.067 g·mL⁻¹ 蓖麻油空白溶液，置 4 ℃冰箱备用。

2.2.3 扑尔敏溶液的配制 取注射用扑尔敏一支，用蒸馏水配制成 0.06 mg·mL⁻¹ 溶液，置 4 ℃冰箱备用。

2.2.4 组胺溶液的配制 取组胺，用蒸馏水配制成 0.05 mg·mL⁻¹ 溶液，置 4 ℃冰箱备用。

2.3 款冬花不同提取物对组胺所致豚鼠离体回肠收缩作用

2.3.1 豚鼠回肠标本的制备^[1-3] 豚鼠禁食 12 h，饮水不限，击后脑处死后，剖腹，在距回盲部 1 cm 处剪断，取出回肠约 10 cm 左右一段，放入预冷克-亨液中，沿肠壁除去肠系膜，用注射器向肠腔注入克-亨液冲洗，剪成长 1.5 ~ 2 cm 的标本。将标本浸置于含 20 mL 温度为 (37±0.5)℃ 克-亨液的麦氏浴槽中，持续通氧气，一端固定于通气钩上，另一端连接固定于肌张力换能器上并引至计算机接口，标本初负荷 2 g，调整张力换能器及 MD2000 Superlab 生物信号采集分析系统，记录回肠段自发收缩，待回肠段收缩稳定后进行实验。

2.3.2 模型的建立 取正常回肠，如上述回肠标本制备，待回肠收缩曲线稳定后，记录回肠自发收缩

活动5 min平均张力,以此为正常对照组,加入组胺20 μL ,达最大收缩稳定后,记录加入组胺后5 min的平均张力为模型组,正常回肠加入组胺前与加入组胺后有显著性差异($P<0.05$),表明模型制备成功,结果见表2。

表2 豚鼠回肠肌张力变化($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 The change of the contraction of isolated ileum of guinea pig($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	收缩张力
正常对照组	1.98 $\pm$ 0.05
模型组	2.24 $\pm$ 0.04 ¹⁾

注:与正常对照组比较,¹⁾ $P<0.05$

Note: Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.05$

2.3.3 溶剂对模型建立的影响 取正常回肠,如上述方法制备离体回肠标本,待回肠收缩曲线稳定后,加入组胺20 μL ,达最大收缩稳定后,加入蓖麻油溶液,记录加入组胺20 μL 后5 min的平均张力为模型组,加入蓖麻油溶液后5 min的平均张力为溶剂对照组,模型组与溶剂对照组无显著性差异($P>0.05$),表明蓖麻油溶液对豚鼠离体回肠的收缩无干扰作用,结果见表3。

表3 蓖麻油溶剂对离体豚鼠回肠收缩的比较

Tab 3 Effect of castor oil solvent on contraction of isolated ileum of guinea pig

组别	收缩张力
模型组	2.23 $\pm$ 0.05
溶剂对照组	2.20 $\pm$ 0.06 ¹⁾

注:与模型组比较,¹⁾ $P>0.05$

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P>0.05$

2.3.4 给药剂量、分组及途径 实验分扑尔敏组、款冬花95%乙醇提取物组、石油醚提取物低、中、高剂量组、乙酸乙酯提取物低、中、高剂量组、超临界提取物组、超临界挥发油提取物组和超临界正己烷提取物组。取正常回肠,如上述回肠标本制备,待回肠收缩曲线稳定后,加入组胺20 μL ,达最大收缩时,分别加入扑尔敏溶液20 μL 及不同提取物样品溶液,对照组加入组胺后给予等容量的蓖麻油溶液,观察并记录加组胺后以及给药后5 min的平均张力,求出抑制率。按以下公式计算其抑制率:

抑制率=(给药前张力-给药后张力)/给药前张力 $\times 100\%$

2.3.5 数据处理 采用SPSS16.0软件处理,各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,样本比较采用 t 检验。

2.4 结果

2.4.1 款冬花提取物对组胺所致豚鼠离体回肠收缩曲线 组胺能够刺激平滑肌收缩,引起肌张力升高,款冬花不同提取物能拮抗组胺引起的离体回肠痉挛,主要表现为肌张力显著下降。但离体回肠描记曲线显示,组胺致离体回肠肌张力升高后,加入款冬花不同提取物,款冬花各提取物与扑尔敏相比,离体豚鼠回肠肌张力先呈短暂的上升后迅速下降,而扑尔敏组则直接降低组胺致离体回肠肌张力升高,见图1。

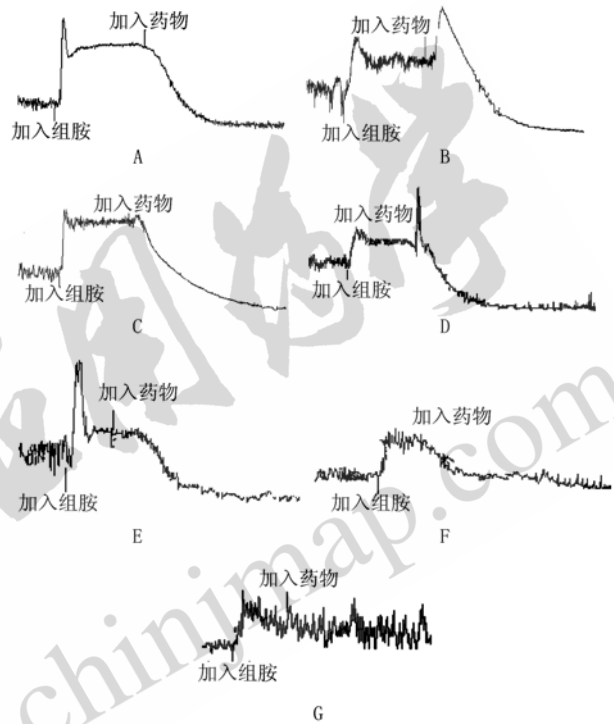


图1 款冬花不同提物对组胺所致离体豚鼠回肠收缩曲线 A-扑尔敏组; B-95%乙醇提取物组; C-石油醚提取物组; D-乙酸乙酯提取物组; E-超临界CO₂提取物组; F-超临界CO₂ N-己烷提取物组; G-超临界CO₂挥发油提取物组

Fig 1 The contraction curve of isolated ileum of guinea pig caused by histamine from the different extracts of *Tussilago Farara L.*

A- puermin group; B-95% ethanol extract group; C-petroleum ether extract group; D-acetoacetate extract group; E-supercritical CO₂ extract group; F-supercritical CO₂ N-hexane extract group; G- supercritical CO₂ essential oil extract group

2.4.2 款冬花不同提取物对组胺所致豚鼠离体回肠收缩作用 款冬花不同提取物均可降低组胺致豚鼠离体回肠肌张力升高,与对照组相比有显著性差异($P<0.05$);与扑尔敏组比较,超临界挥发油提取物有显著性差异($P<0.05$),其它各组无明显差异;款冬花不同提取物能拮抗组胺引起的痉挛,主要表

现为收缩幅度减弱,肌张力显著下降,款冬花95%乙醇提取物组、石油醚高剂量组、乙酸乙酯高剂量组、超临界提取物组、超临界正己烷提取物组的拮抗作用无显著性差异($P>0.05$);石油醚提取物高剂

量与中、低剂量组有显著差异($P<0.05$);乙酸乙酯提取物高剂量与中、低剂量组有显著性差异($P<0.05$);超临界提取物组、超临界正己烷提取物组与挥发油组有显著性差异($P<0.05$),结果见表4。

表 4 款冬花不同提取物对组胺离体豚鼠回肠收缩作用($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab 4 The contraction effect of the different extracts of *Tussilago Farara* L. on isolated ileum of guinea pig($n=8, \bar{x} \pm s$)

组 别	终浓度/mg·mL ⁻¹	收缩张力/g		抑制率/%
		给药前	给药后	
对照组	—	2.21±0.30	2.16±0.28	2.26±1.41
扑尔敏	0.06×10 ⁻³	2.22±0.32	1.34±0.20 ¹⁾	39.60±9.81
95%乙醇提取物	3	2.45±0.43	1.23±0.36 ¹⁾	49.78±11.15
石油醚提取物低剂量	0.75	2.05±0.23	1.51±0.23 ¹⁾	26.34±2.21
石油醚提取物中剂量	1.5	2.10±0.31	1.52±0.21 ¹⁾	27.62±17.16
石油醚提取物高剂量	3	2.50±0.32	1.26±0.21 ¹⁾	49.59±16.75
乙酸乙酯提取物低剂量	0.75	2.00±0.32	1.53±0.31 ¹⁾	23.50±7.44
乙酸乙酯提取物中剂量	1.5	2.01±0.27	1.21±0.39 ¹⁾	39.80±18.98
乙酸乙酯提取物高剂量	3	2.20±0.29	1.10±0.38 ¹⁾	49.70±17.70
超临界提取物	3	2.08±0.31	1.28±0.24 ¹⁾	38.46±7.67
超临界挥发油提取物	3	1.79±0.25	1.58±0.23 ¹⁾²⁾	11.73±7.67
超临界正己烷提取物	3	1.82±0.27	1.31±0.24 ¹⁾	28.02±7.70

注:与对照组比较,¹⁾ $P<0.05$,与扑尔敏组比较,²⁾ $P<0.05$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; Compared with puermin group, ²⁾ $P<0.05$

3 讨论

临床上常用款冬花醇浸膏治疗哮喘,复方款冬花注射液治疗慢性气管炎。本研究表明,款冬花各个提取物均能降低组胺对豚鼠离体回肠的强烈兴奋收缩作用。溶剂极性由弱到强,石油醚<正己烷(与CO₂超临界相近)<乙酸乙酯<95%乙醇,各种溶剂提取物对豚鼠离体回肠抑制作用的结果为款冬花95%乙醇提取物、石油醚提取物、乙酸乙酯提取物无明显差异,表明款冬花抑制豚鼠回肠收缩的主要是脂溶性成分。通过对款冬花不同提取物中总黄酮含量的测定与款冬花不同提取物指纹图谱分析,研究发现款冬花95%乙醇提取物、乙酸乙酯提取物中总黄酮高于其他提取物;款冬花石油醚提取物与超临界提取物主要含有萜类化合物,黄酮含量较低。但是从提取工艺的可行性考察,CO₂超临界提取方法优于其它提取方法,在下一步研究中可通过对CO₂超临界工艺优化得到与预期结果相近的产物。

组胺致豚鼠离体回肠肌张力升高后,加入款冬花不同提取物,款冬花各提取物与扑尔敏相比,离

体豚鼠回肠肌张力先呈短暂的上升后迅速下降,而扑尔敏组则直接降低组胺致离体回肠肌张力升高,可能是款冬花不同提取物含有的成份较复杂,某种成份导致了豚鼠回肠肌张力短暂上升。在进一步研究中应对款冬花超临界提取物分离纯化与工艺考察,以期得到可直接抵抗组胺致离体豚鼠回肠肌张力升高的款冬花提取物。

REFERENCES

- [1] MA X S, FAN X P, CHEN Z, et al. Effects of rhizoma atractylodis macrocephalae on the contraction of isolated ileum of guinea pig [J]. Chin J New Gastroenterol, 1996, 4(11): 603-604.
- [2] MO Z X, ZHU Z H, HE H J. Effects of ligustrazine on morphine withdrawal contracture in the isolated guinea pig ileum [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2007, 18 (4): 769-770.
- [3] TAO Y, XIAO Y X, SHI M Y, et al. Effect of the ethanol extracts of Glehoma longituba on isolated ileum smooth muscle of guinea pig and the intestine movement function of mice [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2004, 24(2): 65-66.

收稿日期: 2009-12-28