

平贝母雪梨配伍抗炎作用研究

李霞¹, 高文远^{1,*}, 黄丽晶^{1,2}, 张艳军²

(1. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2. 天津中医药大学中药学院, 天津 300193)

摘要: 目的: 观察平贝母水提物、雪梨梨汁以及平贝雪梨饮(BLY)的抗炎作用及其作用机制。方法: 通过二甲苯导致小鼠耳肿胀实验、鸡蛋清致大鼠足趾肿胀实验及对小鼠毛细血管通透性的影响分别观察平贝母水提物、雪梨梨及BLY的抗炎作用, 同时通过测定小鼠炎性渗出物中前列腺素(PGE₂)和丙二醛(MDA)含量研究三者的抗炎机制。结果: 三者均能减轻二甲苯所致的耳廓肿胀; 能降低小鼠毛细血管通透性; 能减轻鸡蛋清致大鼠足趾肿胀; 能抑制小鼠炎性渗出物中PGE₂和MDA含量的升高, 且梨汁和BLY均与PGE₂和MDA含量呈量效关系。结论: 平贝母水提物和雪梨梨汁都具有抗炎作用, 同等剂量的BLY作用效果比平贝母水提物和雪梨梨汁抗炎作用之和更为显著, 三者对PGE₂和MDA含量升高具有负调节作用, 提示其抗炎作用与抗PGE₂和MDA含量升高有关。

关键词: 平贝母水提物; 雪梨梨汁; 平贝雪梨饮(BLY); 抗炎作用

Anti-inflammatory Effect of *Fritillaria ussuriensis* Maxim. Combined with Snow Pear Juice

LI Xia¹, GAO Wen-yuan^{1,*}, HUANG Li-jing^{1,2}, ZHANG Yan-jun²

(1. School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. School of Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

Abstract: Objective: To investigate anti-inflammatory effects and action mechanisms of aqueous extract of *Fritillaria ussuriensis* Maxim., snow pear juice and Pingbei Xueli Yin (BLY). Methods: Animal models of auricular edema induced by xylene in mice, capillary permeability induced by acetic acid in mice and paw edema induced by albumen in rats were established to observe anti-inflammatory effects of aqueous extract of *Fritillaria ussuriensis* Maxim., snow pear juice and BLY. The contents of PGE₂ and MDA in inflammatory exudates were measured to explore anti-inflammatory mechanisms of three samples. Results: Aqueous extract of *Fritillaria ussuriensis* Maxim., snow pear juice and BLY exhibited good attenuation effects on auricular edema induced by xylene, paw edema induced by albumen and permeability increase of capillary induced by acetic acid. Meanwhile, the three experimental samples revealed an obvious inhibition effect on the increase of PGE₂ and MDA. Moreover, snow pear juice and BLY exhibited an obvious dose-dependent inhibition effect on the increase of PGE₂ and MDA. Conclusion: All of them have a good anti-inflammatory effect. A synergistic effect of *Fritillaria ussuriensis* Maxim. and snow pear juice on anti-inflammation is achieved. The three administration samples all had a negative regulation function on the level of PGE₂ and MDA, which suggests that the anti-inflammatory effect might be related to the reduction of PGE₂ and MDA levels.

Key words: aqueous extract of *Fritillaria ussuriensis* Maxim.; snow pear juice; BLY; anti-inflammatory effect

中图分类号: R965.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)01-0235-05

平贝母(*Fritillaria ussuriensis* Maxim.)为百合科多年生草本植物平贝母的干燥鳞茎,是我国常用的中药材,常用于清咽润喉类的保健食品中。主要含生物碱、皂苷、腺苷、胸苷等活性成分。具有清热润肺,化痰止咳等功效^[1-4]。雪梨梨富含各种有机酸、蛋白质、矿物质和多种维生素等。具有生津止渴、止咳化痰、清

热降火、润肺去燥等功能。自古以来,民间即有“贝母梨”的验方流传,常用于治疗咳嗽、急性扁桃体炎、慢性气管炎等,均取得较好疗效。

川贝是清咽类保健食品配方中常用的中药之一,川贝雪梨膏即是以川贝母与雪梨梨配伍的产品。药典规定,川贝母和平贝母同是百合科植物,其性味、主治

收稿日期: 2009-03-03

作者简介: 李霞(1979—),女,博士研究生,研究方向为天然产物药物化学。E-mail: lixia2008@tju.edu.cn

* 通信作者: 高文远(1965—),男,教授,博士,研究方向为中药和天然药物新产品的研究以及中药和天然药物的质量控制。E-mail: pharmgao@tju.edu.cn

功能、用法用量等基本相同,是同类同效品种。在此基础上,本实验室研制出了以平贝母和雪花梨配伍的清咽类保健饮品——平贝雪梨饮(BLY),实验证明其具有良好的抗炎效果。但对于其是何种物质通过何种途径发挥抗炎效果尚无相关依据,因此,本实验对平贝母水提物、雪花梨汁及BLY进行体内抗炎作用研究,并对其抗炎机理进行初步探讨,为贝母和雪梨的合理配伍提供理论依据,也为进一步开发利用平贝母和梨的食用和药用价值提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

昆明种小鼠,雌性,体重(20±2)g;SD大鼠,雌性,体重(200±20)g,均由中国医学科学院实验动物研究所提供。

1.2 材料与试剂

平贝母:采自黑龙江林区,经天津大学药学院高文远教授鉴定为真品。实验前加9倍体积的水煎煮提取3次,2h/次,合并提取液,浓缩至含生药材1.0kg/L的合剂,置冰箱冷藏室备用。

雪花梨清汁:采用河北沧州雪花梨,经挑选、洗涤、去核、榨汁、粗滤、澄清、精滤等工艺制得,置冰箱冷藏室备用。

BLY:按一定比例(每100mL BLY中含平贝母按生药材计算为3g)加入平贝母水提物浸膏和雪花梨清汁,再加入少量蜂蜜和柠檬酸等制得,置冰箱冷藏室备用。

二甲苯 天津市赢达稀贵化学试剂厂;冰醋酸 天津光复科技发展有限公司;伊文氏蓝;醋酸地塞米松片 天津力生制药股份有限公司。

1.3 仪器与设备

LDZ5-2离心机 北京雷勃尔离心机厂;754紫外-可见分光光度计 天津市普瑞斯仪器有限公司;CP225D型电子天平 北京赛多利斯仪器系统有限公司。

1.4 平贝母水提物、梨汁及BLY对炎症反应的影响

1.4.1 平贝母水提物、梨汁及BLY对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响^[5]

取健康昆明小鼠88只,雌性,称重,随机分为11组,每组8只,即:阴性对照组(生理盐水组),平贝母水提取液高、中、低剂量组(相当于生药材量1、0.5、0.25g/kg),雪花梨汁高、中、低剂量组(30、15、7.5mL/kg),BLY的高、中、低剂量组(33.6、16.8、8.4mL/kg),地塞米松(DXM)阳性对照组(0.01g/kg)。以上各组给药方法均为灌胃,每天一次,连续30d。末次给药45min后在乙醚麻醉下将100%二甲苯0.1mL均匀涂在小鼠右耳前后两面,左耳作对照。1.5h后将小鼠脱

颈处死,沿耳廓基线剪下两耳,用9mm直径打孔器分别在左右耳的同一部位打下圆耳片,电子天平称质量,以右耳质量减去左耳质量的差值为肿胀值。以两耳片的质量之差作为肿胀度进行统计学检验,以平贝母水提物为例,计算肿胀抑制率。

$$\text{肿胀抑制率}/\% = \frac{\text{正常对照组肿胀值} - \text{平贝母水提物组肿胀值}}{\text{正常对照组肿胀值}} \times 100$$

1.4.2 平贝母水提物、梨汁和BLY对冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性的影响^[6]

取昆明小鼠88只,雌性,称重,分组及给药剂量同1.4.1节,连续灌胃给药30d。于末次给药1.5h后尾静脉注射0.5%伊文氏蓝生理盐水溶液10mL/kg,10min后腹腔注射0.7%冰醋酸10mL/kg,20min后脱颈处死小鼠,每只腹腔注射生理盐水5mL,轻柔腹部3min,从腹腔中收集腹腔洗出液3mL(冲洗液如被血液污染,则弃去不用),1000r/min,离心5min,取上清液用754紫外-可见分光光度计,于λ=590nm处测定吸光度。

1.4.3 对蛋清所致大鼠足趾肿胀的影响^[7]

取健康SD大鼠,雌性,称重,分组及给药剂量同1.4.1节,连续灌胃给药30d,于末次给药1h后,每只大鼠左后足趾皮下注射10%鸡蛋清液0.1mL。随后于致炎后30min、1、3、5h分别测定左后足趾厚度一次(用游标卡尺测量大鼠踝关节下0.5cm处足趾中央厚度),计算肿胀率。

$$\text{肿胀率}/\% = \frac{\text{致炎后足趾厚度} - \text{致炎前足趾厚度}}{\text{致炎前足趾厚度}} \times 100$$

1.5 抗炎机制初步探讨

1.5.1 平贝母、雪花梨汁和BLY对炎症渗出物中前列腺素(PGE₂)含量的影响^[8]

昆明种小鼠,称重,分组及给药剂量同1.4.1节。连续给药7d,末次给药后30min,在右后足趾皮下注射1%角叉菜胶0.1mL致炎,4h后处死小鼠,于踝关节上0.5cm处剪切炎性肿胀足,称重,充分剪碎,用生理盐水5mL浸泡1h,取出,离心浸泡液,吸取上清液0.1mL,加0.5mol/L KOH-甲醇溶液2mL,在50℃下异构化20min,用甲醇稀释至2mL,置紫外-可见分光光度计(λ=278nm)测定吸光度,以每克炎性组织相当的吸光度表示PGE₂的含量。

1.5.2 BLY对炎症渗出物中MDA含量的影响

昆明种小鼠,称重,分组及给药剂量同1.4.1节。连续给药7d,末次给药后30min,在右后足趾皮下注射1%角叉菜胶0.1mL致炎,4h后处死小鼠,于踝关节上

0.5cm处剪切炎性肿胀足,称重,充分剪碎,于0.45mL三氯醋酸(TCA)中浸泡,4h后弃炎足,加入0.1mol/L盐酸水溶液1mL,1%硫代巴比妥酸(TBA)0.55mL,于90~95℃保温15min,再加入2mL生理盐水稀释,3000r/min离心5min。取上清液于波长532nm处测吸光度,MDA含量按以下式计算^[9]。

$$\text{MDA 含量}/(\mu\text{g/kg}) = \frac{A \times 72 \times 2 \times 10^6}{1.37 \times 10^5 \times \text{炎足质量}}$$

1.6 数据处理

数据统计方法以 $\bar{x} \pm s$ 表示,总体间用单因素资料方差分析,两组间比较采用 t 检验。

2 结果与分析

2.1 平贝母水提取物、梨汁及BLY对炎症反应的影响

2.1.1 平贝母水提取物、梨汁及BLY对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

表1 平贝母水提取物、雪花梨汁及BLY对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响
Table 1 Effects of aqueous extract of *Fritillaria ussuriensis* Maxim., snow pear juice and BLY on auricular edema induced by xylene in mice

组别	剂量	肿胀度/mg	肿胀率/%
生理盐水组	10mL/kg	16.0 ± 2.44	—
地塞米松组	0.01g/kg	7.1 ± 2.10**	55.62**
平贝母水提取物低剂量组	0.25g/kg	12.8 ± 4.09	20.19
平贝母水提取物中剂量组	0.5g/kg	11.8 ± 4.39	26.29
平贝母水提取物高剂量组	1g/kg	10.8 ± 4.93*	32.19*
雪花梨汁低剂量组	7.5mL/kg	13.6 ± 2.05	14.71
雪花梨汁中剂量组	15mL/kg	12.7 ± 4.50	20.50
雪花梨汁高剂量组	30mL/kg	11.5 ± 3.96*	28.33*
BLY低剂量组	8.4mL/kg	10.4 ± 3.75*	35.05*
BLY中剂量组	16.8mL/kg	9.2 ± 3.25**	42.25**
BLY高剂量组	33.6mL/kg	8.0 ± 3.81**	49.69**

注:与对照组相比* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$,下同。

结果见表1,与生理盐水组相比,平贝母和梨汁中、低剂量组对二甲苯所致小鼠耳肿胀有一定的抑制作用,但没有显著性差异,只有高剂量组有显著性差异($P < 0.05$)。BLY各剂量组对二甲苯所致小鼠耳肿胀均有明显抑制作用($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$),随剂量增加抑制作用增强,且高剂量组与地塞米松阳性对照组抑制作用相近。

2.1.2 平贝母水提取物、梨汁和BLY对冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性的影响

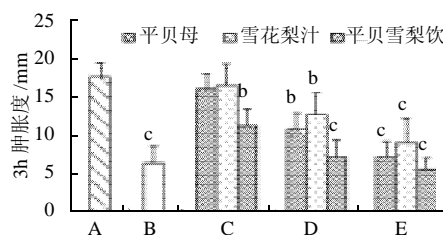
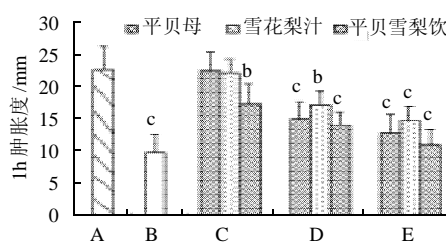
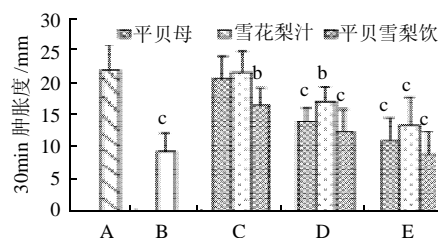
表2结果表明,与生理盐水组相比,平贝母和雪花梨汁的高剂量组在一定程度上能抑制冰醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性增加($P < 0.05$),低剂量组无统计学

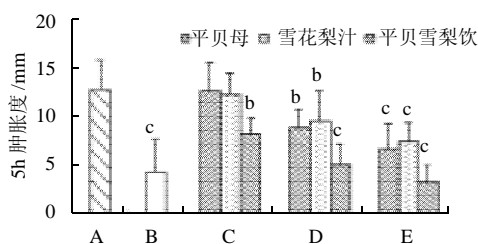
意义($P > 0.05$)。BLY的高剂量组显示出明显的抑制作用($P < 0.01$),且与地塞米松组作用接近。

表2 平贝母水提取物、雪花梨汁和BLY对冰醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性的影响
Table 2 Effects of aqueous extract of *Fritillaria ussuriensis* Maxim., snow pear juice and BLY on capillary permeability induced by acetic acid in mice

组别	剂量	A	抑制率/%
生理盐水组	10mL/kg	0.335 ± 0.045	—
地塞米松组	0.01g/kg	0.155 ± 0.018**	53.72**
平贝母水提取物低剂量组	0.25g/kg	0.305 ± 0.037	8.76
平贝母水提取物中剂量组	0.5g/kg	0.295 ± 0.037	11.94
平贝母水提取物高剂量组	1g/kg	0.246 ± 0.029*	26.57*
雪花梨汁低剂量组	7.5mL/kg	0.312 ± 0.037	6.87
雪花梨汁中剂量组	15mL/kg	0.296 ± 0.029*	11.45
雪花梨汁高剂量组	30mL/kg	0.258 ± 0.027**	22.99*
BLY低剂量组	8.4mL/kg	0.247 ± 0.037	26.31*
BLY中剂量组	16.8mL/kg	0.203 ± 0.029*	39.58**
BLY高剂量组	33.6mL/kg	0.168 ± 0.027**	49.66**

2.1.3 平贝母水提取物、梨汁和BLY对蛋清所致大鼠足趾肿胀的影响





与对照组相比, $b.P \leq 0.05$; $c.P \leq 0.01$ 。A.空白组(生理盐水组); B. DXM 组; C、D 和 E 分别代表平贝母水提物, 雪花梨汁和 BLY 的低、中和高三个剂量组。

图1 平贝母水提物、雪花梨汁和 BLY 对蛋清所致大鼠足趾肿胀的影响
Fig.1 Effects of aqueous extract of *Fritillaria ussuriensis* Maxim., snow pear juice and BLY on paw edema induced by albumen in rats

由图1可见, 与生理盐水组相比, 在30min和1h后平贝母中、高剂量组对鸡蛋清所致大鼠足趾肿胀有明显抑制作用($P < 0.01$), 在3h和5h后, 有一定的抑制作用($P < 0.05$)。雪花梨汁的中、高剂量组在30min到5h内对蛋清所致大鼠足趾肿胀都有一定的抑制作用。BLY的中、高剂量组对鸡蛋清所致大鼠足趾肿胀有明显抑制作用($P < 0.01$)并与阳性对照组接近。低剂量组中只有BLY组大鼠足趾肿胀率有降低趋势, 且显示出了一定的差异性($P < 0.05$), 平贝母和梨汁均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 抗炎机制初步探讨

2.2.1 平贝母、雪花梨和 BLY 对炎症渗出物中 PGE_2 含量的影响

表3 平贝母、雪花梨汁和 BLY 对炎症渗出物中 PGE_2 含量的影响
Table 3 Effects of aqueous extract of *Fritillaria ussuriensis* Maxim., snow pear juice and BLY on PGE_2 content

组别	剂量	A ($\times 10^{-2}$)
生理盐水组	10mL/kg	4.41 \pm 0.62
地塞米松组	0.01g/kg	1.32 \pm 0.33**
平贝母水提物低剂量组	0.25g/kg	3.25 \pm 0.41**
平贝母水提物中剂量组	0.5g/kg	3.08 \pm 0.55**
平贝母水提物高剂量组	1g/kg	3.97 \pm 0.37*
雪花梨汁低剂量组	7.5mL/kg	4.02 \pm 0.57
雪花梨汁中剂量组	15mL/kg	3.17 \pm 0.52**
雪花梨汁高剂量组	30mL/kg	1.99 \pm 0.38**
BLY 低剂量组	16.8mL/kg	3.68 \pm 0.82**
BLY 中剂量组	33.6mL/kg	2.31 \pm 0.56**
BLY 高剂量组	67.2mL/kg	1.53 \pm 0.85**

由表3可见, 平贝母的低、中剂量组与空白对照组比较, PGE_2 含量均显著降低, 但高剂量组反而没有显著性差异。梨汁的中、高剂量组和 BLY 以及阳性对照组与空白对照组比较, PGE_2 含量均显著降低, 差异显著($P < 0.01$), 略比阳性对照组低, 且 PGE_2 含量与剂量有关。但总的来说, 三者的抗炎机制可能与拮抗 PGE_2 的合成或释放有关。

2.2.2 平贝母、雪花梨和 BLY 对炎症渗出物中 MDA 含量的影响

表4 平贝母、雪花梨汁和 BLY 对炎症渗出物中 MDA 含量的影响
Table 4 Effects of aqueous extract of *Fritillaria ussuriensis* Maxim., snow pear juice and BLY on MDA content

组别	剂量	MDA 含量 / ($\mu\text{g/kg}$)
生理盐水组	10mL/kg	251.3 \pm 71.4
地塞米松组	0.01g/kg	151.2 \pm 68.3**
平贝母水提物低剂量组	0.5g/kg	203.5 \pm 63.1*
平贝母水提物中剂量组	1g/kg	187.8 \pm 55.6**
平贝母水提物高剂量组	2g/kg	176.3 \pm 50.7**
雪花梨汁低剂量组	15mL/kg	213.1 \pm 57.8
雪花梨汁中剂量组	30mL/kg	192.6 \pm 72.3**
雪花梨汁高剂量组	60mL/kg	181.4 \pm 50.8**
BLY 低剂量组	16.8mL/kg	190.5 \pm 72.6**
BLY 中剂量组	33.6mL/kg	179.3 \pm 56.9**
BLY 高剂量组	67.2mL/kg	158.6 \pm 55.2**

从表4可以看出, 三者的中、高剂量组均可明显拮抗角叉菜胶性炎症渗出物中的 MDA 含量增高, 说明三者的抗炎机制可能与抑制 MDA 的合成或释放有关。

3 讨论

炎症是机体对组织损伤所发生的一种特异性防御反应, 是机体对创伤局部的应答, 炎症对机体的危害主要由炎症过程中释放的多种炎症介质共同作用所致。炎症主要表现为组织损伤、血液循环障碍和渗出、组织增生等三方面的病理变化。早期炎症反应以毛细血管扩张和通透性亢进、渗出、组织肿胀为主, 特别是渗出变化对于判定是否为炎症反应具有重要意义^[10]。本实验结果显示: 平贝母水提物、雪花梨汁均能显著抑制二甲苯所致的耳廓肿胀; 能减轻蛋清致大鼠足趾肿胀; 降低小鼠毛细血管通透性。说明三者能减轻炎症早期出现的组织损伤, 较强地抑制毛细血管通透性亢进, 从而减轻血管内液体成分和细胞成分渗出到组织间隙, 避免足趾肿胀, 起到了较好的抗炎作用。

此外, 从实验结果还可以看出, 平贝母和雪花梨的配伍作用尤为显著, 同等剂量的 BLY 作用效果比平贝母和雪花梨抗炎作用之和更为显著, 为传统方剂中贝母和梨配伍提供了合理的依据。配伍结果还说明平贝母和雪花梨起抗炎作用时可能存在协同作用, 至于两者具体的哪种活性成分产生协同抗炎作用, 需要进行进一步的研究。

前列腺素 E 既是炎症介质, 又是免疫调节物, 参与一系列重要的生理与病理过程^[11]。 PGE_2 作为一种重要的炎症介质, 引起炎症反应性水肿、渗出、局部红斑和充血, 产生红肿热痛的症状, 介导炎症的发生发展。丙二醛是一种脂质过氧化产物, 它可激活环氧化酶

(COX),一方面促进花生四烯酸生成前列腺素,导致细胞代谢紊乱形成炎症;另一方面可影响白三烯代谢引起炎症。此外,中性粒细胞浸润可释放大量自由基,自由基可直接与膜脂质、蛋白质、糖类等生物大分子作用,损伤组织细胞引起炎症反应,MDA可作为体内自由基水平的间接反映指标,代表损伤涉及脂质过氧化反应的程度^[12-13]。平贝母水提取物、梨汁和BLY可降低炎症组织渗出液中PGE₂的含量,推测其可能通过抑制COX的活性,减少PGE₂的合成,减轻了炎性渗出和水肿。另外,三者还可显著降低炎症组织中MDA的含量,提示抑制组织炎症中脂质过氧化物产物形成可能是三者抗炎作用的又一机制。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 2005版. 北京:化学工业出版社, 2005: 65.
- [2] 李萍, 季晖, 徐国钧, 等. 贝母类中药的镇咳祛痰作用研究[J]. 中国药科大学学报, 1993, 24(6): 360-362.
- [3] 曲淑岩, 姜秀莲, 陈颖莉, 等. 平贝母鳞茎与茎叶药理研究[J]. 特产研究, 1990, 13(1): 19-20.
- [4] DAE-GILL K, HYUNCHEOL O H, DONG-KI C, et al. Effects of bulb of *Fritillaria ussuriensis* maxim, on angiotensin converting enzyme and vascular release of NO/cGMP in rats[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2002, 81(1): 49-55.
- [5] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 中药实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 905.
- [6] 马瑜红, 李玲, 欧阳静萍, 等. 荔枝草抗炎作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(9): 2209-2210.
- [7] 吕江明, 贾薇, 李春艳. 黄海棠提取物抗炎镇痛效应的研究[J]. 实用中西医结合临床, 2008, 8(4): 87-89.
- [8] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 308.
- [9] FABRIS F, CASONATO A, MARCO D E, et al. The effect of certain antiplatelet drugs on *in vitro* malonyldehyde (MDA) production[J]. Arzneimittel-Forschung Drug Research, 1979, 29(11): 981-985.
- [10] 内蒙古农业大学, 华南农业大学. 家畜病理学[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 1991: 87.
- [11] 李莹, 秦献辉, 李旭东, 等. 复方鱼腥草胶囊抗炎作用及机制实验研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(5): 371-373.
- [12] 胡福良, 朱威, 陈民利, 等. 工蜂蛹及其提取物对慢性炎症和免疫性炎症的作用及机理[J]. 浙江大学学报, 2005, 31(5): 587-592.
- [13] 李勇文, 李丽, 李植飞, 等. 五味藤抗炎作用及其机制初探[J]. 中国中医杂志, 2006, 15(8): 898-900.