

· 基础研究 ·

不同规格平贝母止咳 祛痰 抗炎的药效研究[△]

赵倩, 李波, 沈莹, 孟祥才*

黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040

[摘要] 目的: 比较大、中、小粒平贝母止咳、祛痰、抗炎功效, 探讨采用大小作为平贝母药材质量评价标准的科学性。方法: 采用小鼠氨水引咳法比较不同大小平贝母的止咳作用; 采用小鼠气管段酚红排痰法比较祛痰作用; 采用小鼠耳廓肿胀法比较抗炎作用。结果: 止咳作用中贝母有优于小贝母的趋势; 祛痰作用三者效果接近; 抗炎作用中贝母有优于小贝母的趋势, 但差异均无统计学意义。结论: 以平贝母的大小评价药材质量缺乏科学依据。

[关键词] 平贝母; 止咳; 祛痰; 抗炎; 质量评价

[中图分类号] R285.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-4890(2020)09-1475-04

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20191115002

Antitussive, Expectorant and Anti-inflammatory Effects of Fritillariae Ussuriensis Bulbus

ZHAO Qian, LI Bo, SHEN Ying, MENG Xiang-cai*

Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the rationality of evaluation the quality of the Fritillariae Ussuriensis Bulbus by the size of the bulbs based on the cough, expectorant and anti-inflammatory effects. **Methods:** The antitussive effect was tested by ammonium hydroxide causing cough method in mice, the sputum effect was observed by tracheal phenol red shedding method in mice, the anti-inflammatory effects was measured by mice ear swelling method. **Results:** In terms of antitussive, the medium size Fritillariae Ussuriensis Bulbus seemed to show better effect than small size one. In terms of expectoration, they had all similar effect. In terms of anti-inflammatory, the medium size one seemed to show better effect than the small size one. Although there existed a trend, there was no statistical difference. **Conclusion:** There is no scientific basis for using small size as an index to evaluate the quality of Fritillariae Ussuriensis Bulbus.

[Keywords] Fritillariae Ussuriensis Bulbus; antitussive effect; expectorant effect; anti-inflammatory effects; quality evaluation

平贝母为百合科植物平贝母 *Fritillaria ussuriensis* Maxim. 的干燥鳞茎, 主要分布在我国黑龙江、吉林、辽宁3省, 20世纪60年代以前曾为川贝母的伪品^[1]。经研究证明, 平贝母具有良好的止咳、祛痰、抗炎作用^[2], 《中华人民共和国药典》2010年版开始收录, 现已成为东北的道地药材。随着平贝母的栽培技术不断成熟, 其种植面积不断扩大, 成为常用药材之一。

平贝母通常采用不同大小的鳞茎进行无性繁殖, 不同大小的鳞茎均可入药。小贝母是2~3年生植株, 此期间为营养生长期, 只产生分化的叶, 鳞茎明显增大; 中贝母是4~5年生植株, 地上部分开始抽茎, 但通常不能开花结实; 大贝母是开花结果植株, 此期间叶片光合作用产生的大量营养物质用于

地上茎的生长和花果的生长, 必然影响地下鳞茎的生长发育和代谢。因此, 不同生长年限平贝母的质量可能存在差异。贝母商品价格也存在较大差异, 小粒平贝母不仅流通较快, 而且价格几乎是中粒和大粒的2倍^[3-4], 然而目前平贝母大小规格与质量的关系并不明确。本研究通过评价平贝母止咳、祛痰、抗炎等主要药效指标, 对3种规格的平贝母进行比较, 以为合理评价平贝母药材质量提供参考。

1 仪器与试剂**1.1 实验动物**

雄性 SPF 级昆明种小鼠由辽宁省实验动物资源中心辽宁长生生物技术股份有限公司提供, 动物质量合

[△] [基金项目] 2018年中医药公共卫生服务补助专项(财社[2018]43号)

* [通信作者] 孟祥才, 教授, 博士生导师, 研究方向: 药用植物生物学及栽培; Tel: (0451)87266802, E-mail: mengxiangcai000@163.com

格证号: SCXK(黑)2016-004, 体质量(20±2)g。动物饲养于恒温(22℃)、相对湿度为50%的动物房中。

1.2 试药

平贝母于2019年6月1日采自黑龙江中医药大学药用植物园, 经黑龙江中医药大学孟祥才教授鉴定为百合科贝母属植物平贝母 *F. ussuriensis* Maxim.。氢溴酸右美沙芬糖浆(江西药都仁和制药有限公司, 批号: H20073933); 盐酸氨溴索口服溶液(华润三九药业有限公司, 批号: H20103009); 醋酸地塞米松片(百正药业股份有限公司, 批号: H41022763); 苯酚红、氨水、二甲苯(天津市致远化学试剂有限公司); 碳酸氢钠(天津博迪化工股份有限公司)。

1.3 仪器

VICTOR X3 型酶标仪(美国 PerkinElmer 公司); AG135 型电子分析天平(瑞士 Metter Toledo 公司); KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市舒美超声仪器有限公司); Julabo TW20 型数显恒温水浴锅(德国 Julabo 有限公司); KDC-160HR 型高速低温离心机(合肥科大创新有限公司)。

2 方法

2.1 药品制备

大粒平贝母为6年生鳞茎(直径190mm左右), 中粒平贝母为4~5年生鳞茎(直径140mm左右), 小粒平贝母为2~3年生鳞茎(直径110mm左右)。将不同规格平贝母分别打成粉末, 过四号筛, 称取粉末10.0g, 于7倍量75%乙醇中浸泡2h, 加热回流提取3次, 1.5h/次, 滤过, 合并滤液于60℃下减压浓缩, 用0.9%氯化钠溶液稀释为0.2g·mL⁻¹(以生药量计)的药液^[5]。紫外分光光度法于412nm处检测, 得大、中、小粒平贝母总生物碱质量分数分别为0.224%、0.217%和0.251%。

2.2 止咳实验

选取体质量为(20±2)g的小鼠50只, 按体质量随机分为模型组、阳性对照氢溴酸右美沙芬组、大贝母组、中贝母组和小贝母组。适应性喂养3d后, 模型组给予0.9%氯化钠溶液, 氢溴酸右美沙芬组给予0.0117g·kg⁻¹的氢溴酸右美沙芬溶液, 不同规格贝母组按2.0g生药/kg的剂量给予醇提取物, 各组均按0.2mL·g⁻¹灌胃给药, 连续灌胃给药5d, 每天给药1次。末次给药后1h后, 进行氨水引咳, 将小鼠放入倒置的玻璃钟罩内, 立即将含0.8mL浓

氨水(25.0%~28.0%)的棉球放入玻璃钟罩内, 引咳30s后立即取出, 观察咳嗽潜伏期(放入氨水至引发咳嗽的间隔时间)和2min内的咳嗽次数, 以小鼠腹肌收缩或缩胸, 同时张大嘴, 为1次^[6], 并按公式(1)计算咳嗽抑制率。

$$\text{咳嗽抑制率} = \frac{\text{模型组平均咳嗽次数} - \text{用药组平均咳嗽次数}}{\text{模型组平均咳嗽次数}} \times 100\% \quad (1)$$

2.3 祛痰实验

精密称取酚红1.00mg, 5%的碳酸氢钠溶解后, 配成10μg·mL⁻¹酚红溶液, 顺次配成10.00、5.00、2.50、1.25、0.625μg·mL⁻¹的溶液, 用酶标仪在波长546nm下测定吸光度(A)值^[7]。以酚红浓度为横坐标, A值为纵坐标, 根据不同酚红标准溶液质量浓度和A值绘制标准曲线。

选取体质量在(20±2)g的雄性小鼠60只, 按体质量随机分对照组(给予0.9%氯化钠溶液)、模型组(给予0.9%氯化钠溶液)、盐酸氨溴索组、大贝母组、中贝母组和小贝母组, 适应性喂养3d。不同规格贝母组均按2.0g生药/kg的剂量给予醇提取物, 各组均按0.2mL·g⁻¹灌胃给药, 连续给药5d, 每天1次。末次给药后1h后, 除对照组外, 其他各组小鼠按0.02mL·g⁻¹腹腔注射2.0%的酚红0.9%氯化钠溶液, 40min后, 脱颈椎处死小鼠, 仰卧固定, 颈部拉直, 分离出自甲状软骨下至气管分叉处的一段相同长度的气管, 将各气管段放入预先盛有2mL NaHCO₃溶液的试管中超声35min, 3000r·min⁻¹离心10min(离心半径5cm), 取上清液, 于546nm处测A值。与酚红标准曲线对比, 求得酚红的质量浓度^[8]。

2.4 抗炎实验

选取体质量为(20±2)g的雄性小鼠60只, 随机分为对照组(给予0.9%氯化钠溶液)、模型组(给予0.9%氯化钠溶液)、地塞米松组、大贝母组、中贝母组和小贝母组, 适应性喂养3d。不同规格贝母组均按2.0g生药/kg的剂量给予醇提取物, 各组均按0.2mL·g⁻¹灌胃给药, 连续灌胃5d, 每天给药1次。末次给药后1h, 除对照组外, 其他各组在每组小鼠左耳背腹两侧均匀涂布二甲苯各50μL致炎, 40min后颈椎脱臼处死, 沿耳廓基线均匀剪下两耳, 用直径为7mm的打孔器打下左右两耳圆形组织块, 分别称质量^[9], 按照公式(3)计算肿胀率, 按照公式(4)计算肿胀度。

$$\text{肿胀率} = (\text{左耳质量} - \text{右耳质量}) / \text{左耳质量} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{肿胀度} = \text{左耳质量} - \text{右耳质量} \quad (3)$$

2.5 统计方法

实验数据采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 利用 SPSS 23.0 统计软件处理, 两两比较采用 LSD-*t* 检验, 多组间比较采用 One-way ANOVA 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 不同规格平贝母的止咳作用

与模型组比较, 阳性药氢溴酸右美沙芬和各贝母均能显著减少小鼠氨水致咳嗽的次数 ($P < 0.01$); 氢溴酸右美沙芬组能显著延长咳嗽潜伏期 ($P < 0.01$), 各贝母能够延长咳嗽潜伏期, 但差异无统计学意义, 见表 1。

表 1 不同规格平贝母的止咳作用 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	2 min 内 咳嗽次数	咳嗽潜 伏期/s	咳嗽抑 制率/%
模型		9.6 ± 2.5	5.83 ± 1.59	
氢溴酸右美沙芬	0.011 7	4.8 ± 2.9**	12.60 ± 6.97**	50.0
小贝母	2.0	5.9 ± 3.4**	7.86 ± 3.89	38.5
中贝母	2.0	5.3 ± 1.5**	9.41 ± 5.45	44.7
大贝母	2.0	7.3 ± 2.6	9.56 ± 4.81	23.9

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3.2 不同规格平贝母的祛痰作用

与模型组比较, 阳性药盐酸氨溴索和各贝母均能显著增加小鼠的酚红分泌量 ($P < 0.05$), 各贝母组间差异无统计学意义, 见表 2。

表 2 不同规格平贝母的祛痰作用 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	A	酚红分泌量/ μg
对照		0.04 ± 0.01	0.07 ± 0.03
模型		0.11 ± 0.02	1.00 ± 0.34 ^{##}
盐酸氨溴索	0.015 6	0.18 ± 0.03	2.02 ± 0.41**
小贝母	2.0	0.15 ± 0.03	1.66 ± 0.88*
中贝母	2.0	0.17 ± 0.04	1.94 ± 0.57**
大贝母	2.0	0.18 ± 0.06	1.99 ± 0.88**

注: 与对照组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 下同。

3.3 不同规格平贝母的抗炎作用

与模型组相比, 阳性药醋酸地塞米松组和各贝

母组均能显著降低小鼠的耳肿胀率, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。各贝母组间差异无统计学意义, 见表 3。

表 3 不同规格平贝母的抗炎作用 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	耳肿胀度/mg	耳肿胀率/%
对照		1.2 ± 0.5	8.4 ± 3.5
模型		19.7 ± 1.6	163.6 ± 23.9 ^{##}
醋酸地塞米松	0.002	8.7 ± 2.2	73.5 ± 22.3**
小贝母	2.0	12.2 ± 3.3	89.0 ± 21.8**
中贝母	2.0	11.1 ± 5.4	80.2 ± 40.8**
大贝母	2.0	13.9 ± 3.6	102.3 ± 27.9*

4 讨论

药用植物的生长年限是影响药材质量的主要因素之一。防风、当归等伞形科植物的药材为营养生长期的地下部分, 进入生殖生长后木质部纤维化严重, 质量下降, 甚至无法使用^[10-11]。栽培 2 年的白及主要药效成分多糖的含量低于栽培 3 年生的含量^[12]; 南重楼为多年生植物, 其药效成分皂苷的积累量以 8 年生较高^[13]; 随着生长年限的不断增长, 黄精 5 年生主要次生代谢产物含量达到峰值^[14]。不同生长年限的平贝母均可入药。小贝母是未抽茎植株, 中贝母是抽茎但未开花植株, 大贝母是开花植株。目前, 小鼠氨水引咳法、小鼠酚红排泄法及小鼠耳肿胀法分别是用于评价平贝母药物止咳、祛痰和抗炎作用的经典药理模型^[5,15], 通过上述模型证明, 醇溶性成分中的生物碱是止咳、祛痰和抗炎的主要成分^[16]。本研究止咳作用药理研究表明, 中贝母有优于小贝母的趋势。祛痰作用药理研究表明, 3 种规格贝母药效相近。抗炎作用药理研究表明, 中贝母有优于小贝母的趋势。小贝母大小及形状与川贝母极其相似, 在 20 世纪 60 年代以前, 平贝母曾做川贝的伪品, 小贝母市场价格颇高可能受川贝母质量评价方法的影响。以小贝母作为优质药材缺乏科学依据, 应根据其药理功效作出合理调整。

参考文献

- [1] 桂镜生, 杨树德. 川贝母与平贝母的资源状况调查及市场供求分析[J]. 云南中医学院学报, 2008, 31(6): 36-39.
- [2] 卢敏玲, 曾丽翘, 林艳英, 等. 中药平贝母的研究概况[J]. 轻工科技, 2014, 30(4): 26-28.

(下转第 1484 页)

- [6] 王文军,丁一,窦芳,等. 分子对接在中药药效物质筛选及作用机制研究中的应用进展[J]. 中国药师,2018,21(6):1020-1023.
- [7] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1991:1071.
- [8] 华永庆,段金廛,朱荃,等. 缩宫素诱导的小鼠离体痛经模型的实验方法研究[J]. 中国药理学通报,2008,24(4):489-493.
- [9] MATUCCI R, NESI M, MARTINO M V, et al. Carbachol dimers as homobivalent modulators of muscarinic receptors[J]. Biochem Pharmacol,2016,108:90-101.
- [10] 吴皓萌,敖海清,黄绍刚,等. 疏肝健脾方干预腹泻型肠易激综合征内脏高敏感性大鼠的效应机制[J]. 中华中医药杂志,2018,33(1):317-320.
- [11] 刘新光. 肠易激综合征发病机制的研究现状[J]. 中华消化杂志,2001,21(7):391-392.
- [12] SANDERS K. Regulation of smooth muscle excitation and contraction [J]. J Neurogastroenterol Motil, 2010, 20(S1):39-53.
- [13] UNNO T, KWON S C, OKAMOTO H, et al. Receptor signaling mechanisms underlying muscarinic agonist-evoked contraction in guinea-pig ileal longitudinal smooth muscle[J]. Br J Pharmacol,2010,139(2):337-350.
- [14] EHLERT F J, OSTROM R S, SAWYER G W. Subtypes of the muscarinic receptor in smooth muscle[J]. Life Sci, 1997,61(18):1729-1740.
- [15] 曾煜,郭忻. 胃肠离子通道及其影响因素与平滑肌运动的研究进展[J]. 中国药房,2007,18(16):1268-1269.
- [16] 戴芸. 钙离子在胃肠平滑肌收缩机制中的作用[J]. 国际消化病杂志,2002,22(1):17-20.
- [17] 冉小库,孙云超,刘霞,等. 茯苓对正常小鼠胃肠功能的影响[J]. 中国现代中药,2015,17(7):686-689.
- [18] 王军,韩金峰,程会昌,等. 茯苓粗提物对家兔离体空肠和盲肠张力的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(3):196-197.
- [19] 陈威,颜光烈. 钙激活的钾离子通道与血管性疾病[J]. 心血管康复医学杂志,2005,14(2):183-186.
- [20] 汪慧慧,付守廷,朱岚,等. 色满类化合物 HEF-05 对家兔离体小肠平滑肌的作用及机制[J]. 中国新药杂志,2010(16):1459-1462.
- [21] ATTA A H, EL-SOUD K A. The antinociceptive effect of some Egyptian medicinal plant extracts [J]. J Ethnopharmacol,2004,92(2):303-309.

(收稿日期:2019-10-16 编辑:田苗)

(上接第1477页)

- [3] 赵喜进,赵帅. 国内五大药市部分中药材近期市场行情[J]. 特种经济动植物,2019,22(9):52-54.
- [4] 付丽梅. 平贝母药用功效和市场价格分析[J]. 中国林副特产,2017(2):67-68.
- [5] 陈泓竹,张世洋,黄雅彬,等. 平贝母和川贝母总生物碱含量及其镇咳、抗炎作用比较研究[J]. 食品工业科技,2017,38(15):63-67.
- [6] 王翰华,杨晓春,崔明超. 浙贝母叶与浙贝母花醇提物的止咳、化痰及平喘活性研究[J]. 天津医药,2016,44(10):1225-1228.
- [7] 早克然·司马义,于洋,麦合苏木·艾克木,等. 牛至草水提物的抗炎、止咳、祛痰及体外抗氧化作用研究[J]. 新疆医科大学学报,2017,40(12):1580-1584.
- [8] 李晓杰. 制平贝母对呼吸系统的保护作用研究[D]. 长春:吉林大学,2018.
- [9] 江泓,杨场,陈胡兰,等. 蝉蜕止咳祛痰平喘有效部位筛选[J]. 中国现代中药,2017,19(1):56-59.
- [10] 张丹,木盼盼,郭梅,等. 基于防风皮部和木部色原酮含量差异探讨抽茎防风的药用价值[J]. 中国中药杂志,2019,44(18):3948-3953.
- [11] 陆则权,张金文,任丽蓉,等. 当归抽茎植株生理生化特征分析[J]. 中草药,2011,42(11):2326-2329.
- [12] 彭焱,董爱文,唐克华. 白及不同生长时期主要成分的动态变化[J]. 贵州农业科学,2019,47(8):124-128.
- [13] 赵飞亚,陶爱恩,董洪,等. 不同生长年限南重楼主要次生代谢产物积累与其质量的关联性研究[J]. 时珍国医国药,2018,29(3):694-697.
- [14] 周新华,肖智勇,曾平生,等. 林下生境及生长年限对多花黄精生长和药用活性成分含量的影响[J]. 西南林业大学学报:自然科学版,2019,39(4):155-160.
- [15] 李媛,王玉娥,白关亚,等. 基于主成分与止咳祛痰功效比较研究平贝母、伊贝母和川贝母[J]. 中医药导报,2018,13(24):46-49.
- [16] 王谦博,侯素云,王振月,等. 平贝母药材质量标准研究[J]. 中医药学报,2009,37(6):76-78.

(收稿日期:2019-11-15 编辑:田苗)