

库尔勒香梨粗多糖镇咳祛痰作用研究

海力茜·陶尔大洪^{1#*}, 李亚童^{1#}, 乌英², 李玲^{1*}

(1. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆维吾尔自治区人民医院药学部, 乌鲁木齐 830001)

摘要: **目的** 探讨库尔勒香梨粗多糖的镇咳、祛痰作用。**方法** 通过浓氨水、二氧化硫刺激法、气管酚红排泄法等实验, 观察库尔勒香梨粗多糖的镇咳、祛痰作用。**结果** 库尔勒香梨粗多糖可以延长咳嗽潜伏期, 减少咳嗽次数, 并可以增加排痰量。**结论** 库尔勒香梨粗多糖有一定的镇咳祛痰作用, 为进一步研究库尔勒香梨生物活性奠定了基础。

关键词: 库尔勒香梨; 粗多糖; 镇咳; 祛痰

Study on the antitussive and expectorant effects of Korla pear crude polysaccharide

HAILIQIAN Tao-Er-Da-Hong^{1#*}, LI Ya-Tong^{1#}, WU Ying², LI Ling^{1*}

(1. School of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2. Department of Pharmacy, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830001, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the antitussive and expectorant effects of the crude polysaccharide of Korla pear. **Methods** The antitussive and expectorant effects of the crude polysaccharide of Korla pear were observed by ammonia, sulfur dioxide stimulation and tracheal phenol red excretion. **Results** The crude polysaccharide could prolong the incubation period of cough, reduce the number of coughs and increase the sputum excretion. **Conclusion** The crude polysaccharide of Korla pear has effects of relieving cough and removing phlegm, which lays the foundation for further study on the pharmacological action of Korla pear.

KEY WORDS: Korla pear; crude polysaccharide; cough; expectorant

0 引言

新疆库尔勒香梨(Korla pear)为蔷薇科梨亚科中的白梨品种, 种植历史悠久^[1-2], 产自新疆库尔勒地区, 具有种

植面积广、年产量高、汁多清甜爽口等特点, 属于新疆梨之上品。咳嗽咳痰是呼吸系统常见和多发症状之一, 作为药食两用的食品, 梨常与贝母一起蒸食, 在生活中用于治疗咳嗽多痰的问题。咳嗽的机制是肺受到外界的影响, 直

基金项目: 新疆维吾尔自治区科技厅项目(2017D01C202)、自治区“十三五”重点学科建设经费支持项目(1007)

Fund: Supported by Xinjiang Uygur Autonomous Region Science and Technology Department Project (2017D01C202), and the Key Disciplines Construction in the 13th Five-year Plan of the Autonomous Region Program (1007)

[#]海力茜·陶尔大洪、李亚童为共同第一作者。

[#]HAILIQIAN Tao-Er-Da-Hong and LI Ya-Tong are co-first authors.

***通信作者:** 海力茜·陶尔大洪, 教授, 主要研究方向为天然药物研究与开发。E-mail: hailiqian2471@sina.com

李玲, 硕士, 主要研究方向为天然药物研究与开发。E-mail: 1120951645@qq.com

***Corresponding author:** HAILIQIAN Tao-Er-Da-Hong, Professor, College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China. E-mail: hailiqian2471@sina.com

LI Ling, Master, College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China. E-mail: 1120951645@qq.com

接影响肺的生理功能,进而引起其他脏器乃至全身症状,对人体健康危害性较大。库尔勒香梨在民间素有滋阴、润肺、消痰、保肝明目之美誉,属于天然食品。香梨中含萜类、维生素、挥发油、黄酮类、生物碱类、矿物质等成分^[3-4],现代药理研究表明,梨属植物果实具有抗氧化、降血糖、抗凋亡等功效^[5-7],其中多糖类化合物,被证实为香梨中发挥作用的有效成分,它能够提高机体淋巴细胞产生抗体的能力^[8]。

目前对于库尔勒香梨止咳平喘作用上的研究报道甚少,因此本研究通过对库尔勒香梨的生物活性方面做初步的探究,为今后库尔勒香梨资源的利用和开发提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 仪器

BS224 型电子分析天平(德国赛多利斯公司);SK5200HP 超声清洗器(上海科导超声仪器有限公司);RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器);UV-2550 紫外分光光度计(日本岛津公司);402 型超声雾化器(上海合力医疗器械厂);DK-S24 型电热恒温水浴锅(上海精密实验设备有限公司);CJ-2F 型超净工作台(苏州市净化设备厂);LXJ-IIB 大容量低速多管离心机(上海安亭公司)。

1.2 试剂与材料

石油醚、无水乙醇、丙酮、乙醚、浓硫酸、无水亚硫酸钠、氯化铵、氨水、二氧化硫、氢氧化钠、碳酸氢钠(分析纯,天津富宇精细化工有限公司);生理盐水(批号:100830481,西安京西双鹤有限公司);磷酸可待因片(H11020672,国药集团工业有限公司);氯化铵片(H42021202,湖北广济药业);苯酚红(25 g,天津市福晨化学试剂厂)。溶液均使用分析纯,现配现用,水为实验室自制超纯水。

库尔勒香梨采自新疆巴音郭楞蒙古自治州库尔勒市,经新疆医科大学药学院天然药物教研室帕丽达·阿不力孜教授鉴定为蔷薇科梨亚科中的白梨品种库尔勒香梨(Korla pear)的新鲜果实。鲜果经过洗净,去梗,削皮,去籽,切片,自然干燥,粉碎,得到新疆库尔勒香梨的碎粉。

1.3 实验动物

SPF 级昆明小鼠,雌雄各半,体质量 18~22 g。实验动物均由新疆医科大学实验动物中心提供,实验动物质量合格证 SCXK2011(新)-0004,实验动物设施使用证明 SCXK2011(新)-0001。

1.4 实验方法

1.4.1 粗多糖的制备

称取干燥粉碎的库尔勒香梨 1000 g,置于 2000 mL 的圆底烧瓶中,按料液比 1:3(g/mL),在 60 °C 水浴加热条件

下,回流提取 2 次,2 h/次,进行脱脂。过滤,将滤渣中溶剂挥干,按滤渣:95%乙醇=1:5(g/mL),在 80 °C 回流提取 2 次,2 h/次,过滤,干燥滤渣,回收滤液中的乙醇。按干燥后的滤渣:水=1:30(g/mL),在 90 °C 水浴加热条件下,回流提取 2 h,共提取 3 次,过滤,合并滤液。分次提取后浓缩、减压干燥,再依次用无水乙醇、丙酮、乙醚按顺序洗涤,真空干燥,得到库尔勒香梨粗多糖^[9]。

1.4.2 急性毒性实验

健康昆明小鼠雌雄各半共 20 只,体质量 18~22 g,随机划分并标记为空白组和给药组,按正常饲养条件饲养。给药组首次灌胃前禁食 12 h,只供水,库尔勒香梨粗多糖以最大浓度溶液(40 mL/kg)以及最大灌胃体积(0.4 mL/10 g)的剂量给药 1 次,空白组给予同体积生理盐水,勤换垫料,给药 4 h 后正常喂食,连续观察 7 d,详细记录动物的饮食、饮水、运动状况、排泄状况等各个指标。7 d 观察期内小鼠无躁动、皮肤变色、发声、蜷缩、死亡等现象,前两日有部分小鼠出现轻微腹泻情况,7 d 后,将小鼠称重、处死、解剖,观察到小鼠内脏无异常变化,给药组小鼠脾脏胸腺有所增长。因为小鼠无死亡,无法预测其半数致死量,因此进行库尔勒香梨粗多糖对小鼠最大耐受量的测定实验,进一步确定其合理的小鼠给药量^[10]。

1.4.3 最大耐受量实验

健康昆明小鼠雌雄各半共 20 只,体质量 18~22 g,随机划分并标记为空白组和给药组,按正常饲养条件饲养,灌胃前禁食 12 h,只供水,给药组以库尔勒香梨粗多糖最大动物可耐受剂量(不会引起动物死亡)8.5 g/kg 及最大灌胃体积 0.4 mL/10 g 给药,一日灌胃 2 次,给药 4 h 后常规饲养,连续观察 24 h,记录小鼠的毒性反应及死亡情况,再饲养观察 7 d,详细记录动物的反应情况,包括动物的饮食、饮水、运动、排泄等各个指标,计算出小鼠对库尔勒香梨粗多糖最大耐受量。观察期内无精神萎靡、毛色异常等现象,但仍有四只小鼠出现了腹泻症状,可见稀便,7 d 后无小鼠死亡,称重,处死,体重与空白组比较无明显差异,观察内脏器官均良好,肉眼未见异常。根据急毒和最大耐受量试验结果,计算最大耐受量(maximum tolerated dose, MTD)=8.5 g/kg,只有超过该剂量,才会出现受试动物死亡情况,所以对于评价某个药物的急性毒性情况,MTD 是一个重要的参考信息。可以说明库尔勒香梨多糖安全性较高,取最大耐受量的 1/4~1/2 作为较安全的剂量,计算库尔勒香梨高中低剂量组给药剂量,分别设定高剂量组为 8 g/kg;中剂量组为 4 g/kg;低剂量组为 2 g/kg^[11]。

1.4.4 给药方法

各剂量组受试动物按 0.2 mL/10 g 吸取药液,连续灌胃给药 10 d,每日 1 次,称重。空白对照组灌胃相同体积的生理盐水,通过急毒实验和最大耐受量实验结果换算得到给予小鼠库尔勒香梨粗多糖的给药量,分别按高剂量组

(8 g/kg)、中剂量组(4 g/kg)、低剂量组(2 g/kg)给药。

1.4.5 库尔勒香梨粗多糖镇咳祛痰作用研究

(1)浓氨水引咳实验

SPF级昆明种小鼠雌雄各半共50只,称重,体质量18~22 g,随机分为5组,每组10只,并标记;库尔勒香梨粗多糖组分为高、中、低剂量组,磷酸可待因(30 mg/kg)为阳性对照组,以生理盐水为空白对照组;每组分别灌胃给药,小鼠每天按0.2 mL/10 g,连续给药10 d,正常饲养,在最后1次灌胃给药1 h后,逐一将小鼠放入钟罩内,使用超声雾化器以最大喷雾量向钟罩内喷入25%~28%氨水气雾15 s对小鼠进行引咳,把小鼠移置罩外,立即使用秒表计时,记录小鼠的咳嗽潜伏期(s)和3 min内咳嗽次数^[12]。(注:小鼠咳嗽的判断是以张大嘴腹肌收缩为佳,可听到轻微咳嗽声;潜伏期是开始喷雾到产生咳嗽的时间)。

(2)二氧化硫引咳实验

SPF级昆明种小鼠50只,雌雄各半,体质量18~22 g,称重,随机分为5组并标记,每组10只,库尔勒香梨粗多糖设为低剂量组、中剂量组、高剂量组,分别以生理盐水为空白对照组,阳性对照组为磷酸可待因(30 mg/kg),每天按0.2 mL/10 g灌胃给药,正常饲养,连续给药10 d,第9 d给完药禁食24 h,不禁水,第10天末次灌胃给药60 min后,取25 mL玻璃皿,加入0.5 g无水亚硫酸钠和5 mL H₂SO₄,用1000 mL烧杯扣住玻璃皿,迅速将小鼠放入烧杯内,记录小鼠的咳嗽潜伏期和2 min内咳嗽次数^[13]。(注:判断咳嗽以收缩张嘴咳嗽为佳,可听到轻微咳嗽声。潜伏期为开始喷雾到产生咳嗽的时间)。

(3)祛痰作用的实验研究

SPF级昆明小鼠,雌雄各半,体质量18~22 g,随机分为5组,每组10只,库尔勒香梨粗多糖高、中、低剂量组,阳性对照组为氯化铵(1 g/kg),空白对照组为生理盐水,灌

胃给药,连续给药10 d,首次灌胃前24 h禁食,只供水,正常饲养,每只小鼠在末次灌胃给药30 min后腹腔注射0.5 mL 5%酚红,15 min后脱颈处死,解剖露出气管,取甲状软骨下至气管分叉处的气管,放入已配好溶液(0.5 mL的1 mol/L NaOH和4 mL盛有5% NaHCO₃溶液)的试管中,振荡2 min,1000 r/min,离心15 min,在波长559 nm处测得吸光度值,计算酚红含量(mg/mL)^[14]。(注:吸光度值越大表示药物的祛痰作用越强)。

精密称取0.025 g苯酚红,用5%的NaHCO₃溶液定容至100 mL容量瓶中(0.25 mg/mL),再从容量瓶中精密量取苯酚红溶液0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL分别置于25 mL容量瓶中,依次加入生理盐水各1 mL,再加1 mol/L的NaOH溶液0.5 mL,使酚红试剂呈碱性,最后用生理盐水定容至25 mL。用紫外可见分光光度法测定在波长559 nm处不同浓度酚红溶液的吸光度(A),以酚红溶液浓度(C)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标,制作标准曲线。

1.4.6 统计方法

采用SPSS 17.0软件对数据进行统计学分析,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 单次测量标准差表示,组间比较采用方差分析进行差异显著性比较,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 浓氨水引咳实验

与空白对照组比较,库尔勒香梨粗多糖3个剂量组和阳性对照组均能延长小鼠咳嗽潜伏期,减少咳嗽次数,具有统计学差异($P < 0.05$);与阳性对照组比较,库尔勒香梨粗多糖3个剂量组能显著减少咳嗽次数,具有统计学差异($P < 0.05$);高中低剂量组止咳率相近,潜伏期也无统计学差异,说明库尔勒香梨粗多糖对浓氨水致小鼠咳嗽有止咳作用。结果见表1。

表1 库尔勒香梨粗多糖对小鼠咳嗽的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 1 Influence of Korla pear crude polysaccharide on mice cough($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g/kg)	咳嗽潜伏期/s	咳嗽次数/(2 min)	止咳率/%
空白对照组	—	26.23±8.80	45.15±10.17	—
磷酸可待因组	0.015	37.90±6.12*	33.00±4.64*	1.573
粗多糖高剂量组	8	36.30±7.62*	14.10±4.31**#	1.506
粗多糖中剂量组	4	35.9±9.05*	19.90±5.51**#	1.470
粗多糖低剂量组	2	35.4±7.26*	23.70±7.38**#	1.469

注:与空白对照组比较* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与阳性对照组磷酸可待因比较# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

2.2 二氧化硫引咳实验

库尔勒香梨粗多糖 3 个剂量组与空白对照组比较,能延长二氧化硫诱发的小鼠咳嗽潜伏期,使咳嗽次数减少,具有统计学差异($P < 0.05$),与阳性对照组比较,高中低剂量组与之作用相近,均能延长咳嗽潜伏期、减少咳嗽次数,具有统计学差异($P < 0.05$),提示库尔勒香梨粗多糖对二氧化硫致小鼠咳嗽有止咳作用。结果见表 2。

表 2 库尔勒香梨粗多糖对二氧化硫致小鼠咳嗽反应的影响
($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Influence of Korla pear crude polysaccharide on sulfur dioxide to cough response in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g/kg)	潜伏期/s	2 min 内咳嗽次数
生理盐水组	—	15.34±1.32	52.44±1.43
磷酸可待因对照组	0.015	42.25±1.36*	34.25±2.00*
粗多糖高剂量组	8	38.33±1.58*	39.40±1.56*
粗多糖中剂量组	4	32.10±1.14*	41.15±1.29*
粗多糖低剂量组	2	25.67±1.15*	45.83±0.94*

注:与生理盐水对照组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与阳性对照组磷酸可待因比较# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

2.3 对小鼠气管道祛痰的效果

与空白对照组比较(结果见图 1、表 3): 库尔勒香梨粗多糖 3 个剂量组与阳性对照组均能显著增加小鼠气管酚红排泄量,具有统计学意义($P < 0.05$);与阳性对照组比较,高中剂量组气管酚红排泄量有稍许增加,无统计学差异,可见库尔勒香梨多糖能显著增加小鼠的气道酚红排泄量,说明其祛痰作用的有效。

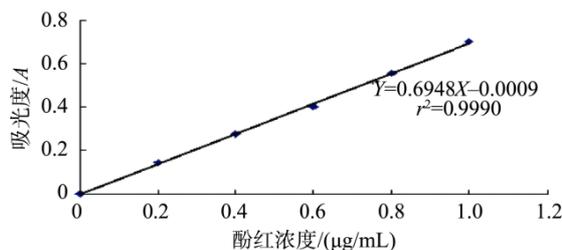


图 1 酚红的标准曲线

Fig.1 Standard curve of red excretion

表 3 对小鼠呼吸道酚红排泄的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Influence on phenol red excretion of respiratory tract in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g/kg)	呼吸道酚红排泄量/(μg/mL)
空白对照组	-	2.08±0.49
氯化铵对照组	1	3.56±0.49*
香梨多糖高剂量组	8	3.84±0.73*
香梨多糖中剂量组	4	3.60±0.49*
香梨多糖低剂量组	2	3.35±0.51*

注:与空白对照组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与氯化铵阳性对照组比较# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

3 结论与讨论

本研究采用建立咳嗽小鼠模型,通过计数单位时间内小鼠的咳嗽次数来分析药物的镇咳作用,成功进行了止咳药物的筛选。结果证实了库尔勒香梨粗多糖对浓氨水和二氧化硫刺激咳嗽小鼠模型具有止咳作用。祛痰作用的实验研究痰液是由气管和支气管的腺体和杯状细胞所分泌,呼吸道中的粘液与气道粘膜下腺分泌的液体、电解质、粘液,抗菌物质的混合物到达气道上皮细胞表面时,这种粘液能吸附气道中的病原体并通过纤毛运动将其排出体外^[15]。氯化铵片是临床使用频率较高效果较好的祛痰药,可以使支气管分泌物大量增加,因此作为阳性对照药。实验结果证明该多糖提取物能参与传入神经或传出神经,抑制咳嗽反射弧中的感受器,而发挥镇咳作用,可促进腺体分泌,使分泌量增加,从而达到祛痰作用。本研究为库尔勒香梨作为保健品的开发提供了参考和依据。

参考文献

- [1] 中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1974. Editorial board of flora of China. Flora of China [M]. Beijing: Science Press, 1974.
- [2] 滕元文. 梨属植物系统发育及东方梨品种起源研究进展[J]. 果树学报, 2017, 34(3): 370-378. TENG YW. Advances in phylogeny of pear and origin of oriental pear varieties [J]. Acta Fruticaria Sin, 2017, 34(3): 370-378.
- [3] 潘俨, 孟新涛, 车凤斌. 库尔勒香梨果实发育成熟的糖代谢和呼吸代谢响应特征[J]. 中国农业科学, 2016, 49(17): 3391-3412. PAN Y, MENG XT, CHE FB. Characteristics of glucose metabolism and respiratory metabolism response in mature Korla pear fruit [J]. Chin J Agric Sci, 2016, 49(17): 3391-3412.
- [4] WANG Y, MAO HJ, LV YH, et al. Comparative analysis of total wax content, chemical composition and crystal morphology of cuticular wax in Korla pear under different relative humidity of storage [J]. Food Chem, 2020, 339.
- [5] 周笑犁, 卢颖, 朱坤珑. 刺梨果渣多糖的发酵制备工艺优化及其抗氧

- 化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(14): 24-29.
- ZHOU XL, LU Y, ZHU KL. Optimization of fermentation process and antioxidant activity of *Rosa roxburghii* Tratt fruit residue polysaccharide [J]. Res Dev Food, 2019, 40(14): 24-29
- [6] 汪磊. 刺梨多糖的分离纯化、降血糖作用及其对肠道微生态的影响[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
- WANG L. Isolation and purification of *Roxburghia polysaccharide* and its hypoglycemic effect on intestinal microecology [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.
- [7] LEI W, CHUN C, BIN Z, *et al.* Structural characterization of a novel acidic polysaccharide from *Rosa roxburghii* Tratt fruit and its α -glucosidase inhibitory activity [J]. Food Funct, 2018, 9: 10.1039.C8FO00561C.
- [8] 张靖, 张俊英, 高文远. 梨属药用植物的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2012, 43(10): 2077-2082.
- ZHANG J, ZHANG JY, GAO WY. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of medicinal plants of *Pyrus* [J]. Chin Herb Med, 2012, 43(10): 2077-2082.
- [9] CHOJ Y, KIM CM, LEE HJ, *et al.* Caffeoyl triterpenes from pear fruit peels and their antioxidant activities against oxidation of rat blood plasma [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61: 4563-4569.
- [10] 王菁. 新疆芫菁总黄酮止咳、平喘、祛痰药理作用的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2012.
- WANG J. study on the antitussive, antiasthmatic and expectorant effects of total flavones of turnip in Xinjiang [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2012.
- [11] LI T, PENG T. Traditional Chinese herbal medicine as a source of molecules with antiviral activity [J]. Antiviral Res, 2013, 97(1): 1-9.
- [12] 付佳琪, 郑凯, 张龙, 等. 力龙康复合木耳粉止咳祛痰作用研究[J]. 黑龙江科学, 2019, 10(6): 43-45.
- FU JQ, ZHENG K, ZHANG L, *et al.* Study on the antitussive and expectorant effects of Lilongkangfu and agaric powder [J]. Heilongjiang Sci, 2019, 10(06): 43-45.
- [13] 张文清, 念其滨, 陈婷婷. 蓝花参止咳化痰的药效及急性毒性试验[J]. 福建中医药大学学报, 2012, 22(5): 42-43.
- ZHANG WQ, NIAN QB, Chen TT. Efficacy and acute toxicity of *Radix cymbidis* in relieving cough and resolving phlegm [J]. J Fujian Univ Tradit Chin Med, 2012, 22(5): 42-43.
- [14] 梁国栋, 吴启进, 娜黑芽. 沙棘糖浆止咳祛痰作用的实验研究[J]. 药学研究, 2020, 39(10): 562-564, 574.
- LIANG GD, WU QJ, NA HY. Antitussive and expectorant effects of sea-buckthorn syrup [J]. Pharm Res, 2020, 39(10): 562-564, 574.
- [15] 李淑莲, 付克, 刘睿妹. 柴芩清肝胶囊对小鼠单核吞噬细胞吞噬功能的影响[J]. 中医药信息, 2009, 26(1): 88.
- LI SL, FU K, LIU RS. Effects of Chaikin Qinggan capsule on phagocytic function of mouse mononuclear phagocytes [J]. Inform Tradit Chin Med, 2009, 26(1): 88

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



海力茜·陶尔大洪, 教授, 主要研究方向为天然药物研究与开发。
E-mail: hailiqian2471@sina.com



李亚童, 硕士, 主要研究方向为天然药物研究与开发。
E-mail: 945299780@qq.com



李玲, 硕士, 主要研究方向为天然药物研究与开发。
E-mail: 1120951645@qq.com