

益生菌/草本提取物复方清咽作用的实验研究

郭俊霞¹, 郝婧宇², 张 静¹, 马于巽¹, 冯亚芳¹, 米生权¹, 张艳贞¹, 常 平¹,
陈 文¹, 吴春梅², 冷候喜², 赵子夫^{2*}

(1. 北京联合大学生物活性物质与功能食品北京市重点实验室, 北京 100191;

2. 内蒙古乳业技术研究院有限责任公司, 呼和浩特 010110)

摘 要: 目的 探讨益生菌/草本提取物复方的清咽作用。**方法** 大鼠灌胃给予益生菌和/或草本提取物 45 d, 依据 2012 修订的保健食品“清咽功能检验方法”进行大鼠棉球植入实验、大鼠足趾肿胀实验及小鼠耳肿胀实验。**结果** 棉球植入实验中, 益生菌高剂量、草本中剂量和高剂量、益生菌低剂量+草本中剂量、益生菌低剂量+草本高剂量、益生菌高剂量+低/中/高剂量草本剂量组, 大鼠肉芽肿净量显著低于对照组($P<0.05$), 具有干预肉芽肿(慢性炎症)形成的作用; 足趾肿胀实验中, 致炎 1 h 后, 草本高剂量组大鼠足趾肿胀率显著降低($P<0.05$), 致炎 1、2、6 h 后, 益生菌高剂量+草本高剂量组足趾肿胀率均显著低于对照组($P<0.05$)且低于益生菌高剂量组和草本高剂量组, 提示益生菌草本高剂量复方干预致炎剂诱发的足趾肿胀作用效果优于单独给予高剂量益生菌或高剂量草本; 小鼠耳廓肿胀实验中, 各组耳廓肿胀值及肿胀率均无显著变化。**结论** 高剂量草本和益生菌草本高剂量复方样品具有清咽作用, 且益生菌草本高剂量复方干预致炎剂诱导的急性炎症效果优于高剂量草本。

关键词: 清咽; 益生菌; 罗汉果; 金银花; 菊花

Experimental study on throat-clearing effect of the combination of probiotics and herbal extract

GUO Jun-Xia¹, HAO Jing-Yu², ZHANG Jing¹, MA Yu-Xun¹, FENG Ya-Fang¹, MI Sheng-Quan¹,
ZHANG Yan-Zhen¹, CHANG Ping¹, CHEN Wen¹, WU Chun-Mei², LENG Hou-Xi², ZHAO Zi-Fu^{2*}

(1. Beijing Key Laboratory of Bioactive Substances and Functional Foods, Beijing Union University, Beijing 100191, China; 2. Inner Mongolia Dairy Technology Research Institute Co., Ltd., Hohhot 010110, China)

ABSTRACT: Objective To explore the throat-clearing effect of the combination of probiotics and herbal extract. **Methods** The experimental rats were administrated intragastrically probiotics and/or herbal extracts while the control rats was given with water instead for 45 d. The cotton ball implantation test in rats, toe swelling test in rats, and ear swelling test in mice were performed according to the "Test Method of Throat-clearing Effect for Health Food" revised in 2012. **Results** In the cotton ball implantation test, the net amount of granulomas in the groups of high dose probiotic, medium or high dose herb, low dose probiotics mixed with medium or high dose herb, high dose probiotics mixed with low or medium or high dose herb were significantly lower than the control group ($P<0.05$), which had the effect of interfering with the formation of granuloma (chronic inflammation). In the toe swelling test, the toe swelling rate in the high dose herb group was significantly reduced after 1 h of inflammatory agent injection

*通讯作者: 赵子夫, 副高级工程师, 主要研究方向为乳品研发。E-mail: zhaozif@yili.com

*Corresponding author: ZHAO Zi-Fu, Associate Senior Engineer, Inner Mongolia Dairy Technology Research Institute Co, Ltd Hohhot, No.8 Jinshan Road, Jinshan Development Zone, Hohhot 010110, China. E-mail: zhaozif@yili.com

($P<0.05$). After 1, 2, 6 h of inflammatory agent injection, the toe swelling rates in high dose probiotics mixed with high dose herb group was significantly lower than those in the control group ($P<0.05$) and also lower than those in the high dose probiotics group and high dose herb group, suggesting that the compound of high dose probiotics and herb extracts interfered with the toe swelling induced by the inflammatory agent and the reducing-effect was better than those in the high dose probiotics and high dose herb extracts groups; In ear swelling test, there were no significant difference between each group mice on the swelling value and swelling rate of auricle. **Conclusion** The samples of high dose herbal extracts group and high dose probiotics mixed with high dose herbal extracts group have the throat-clearing effect, and the effect of the combination is better than herbal extracts alone in the intervention of acute inflammation induced by inflammatory agents.

KEY WORDS: throat-clearing effect; probiotics; *Momordica grosvenori*; honeysuckle; chrysanthemum

1 引言

咽炎是常见的上呼吸道疾病,是咽黏膜、黏膜下组织的炎症,表现为咽部干燥充血、肿痛、灼热及异物感等。成年人咽炎的发病率约为 20%,气候、生活条件、工作环境等都是发病的影响因素,尤其在季节变换时节发病率增加,其中又以吸烟者居多^[1]。

尽管抗生素对咽炎有一定疗效,但长期或反复使用抗生素易引起咽部菌群失调,且复发率高,也易产生耐药性。而我国传统中医药对咽炎防治有较好的效果,如罗汉果具有清热润肺、利咽开音的功效,广泛应用于治疗咽喉肿痛和咳嗽^[2];菊花可疏散风热、消肿解毒,用于治疗疗疮痈肿、咽喉肿痛等病症^[3];金银花多作为宣散风热、清热解毒等配方,治疗热毒疮痈、咽喉肿痛等各种热性病^[4]。

益生菌是对人体健康有益的活的微生物。研究表明益生菌能够调节胃肠菌群失调、增强肠道免疫功能、抑制过敏反应,被广泛应用于功能食品和膳食补充剂中^[5,6]。动物实验显示,益生菌可有效改善炎症性肠病^[7],还可减轻肠道内毒素 LPS 感染引起的全身炎症反应综合征^[8]。使用益生菌唾液链球菌 K12 有利于控制咽炎扁桃体炎,并可减少抗生素使用^[9]。从健康人群咽部筛选出的益生菌唾液乳杆菌能显著改善金黄色葡萄球菌诱导的大鼠咽炎病理特征和疾病指数^[10]。

因此本研究中先将罗汉果、金银花、菊花粗提物等以一定比例混合,配制成本草提取物,再与益生菌进行复配,按照 2012 修订的保健食品“清咽功能检验方法”进行大鼠棉球植入实验、大鼠足趾肿胀实验、及小鼠耳肿胀实验,探讨益生菌/草本提取物复方的清咽作用,以期对益生菌/草本提取物的应用提供依据。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 受试样品

唾液链球菌商业菌粉(*Streptococcus salivarius*, 活菌

数 3×10^{10} CFU/g),由内蒙古乳业技术研究院有限责任公司提供;金银花提取物(绿原酸含量 $>5\%$)、罗汉果提取物(罗汉果甜苷 V 含量 $>25\%$)、枇杷提取物(熊果酸含量 $>15\%$)等,按照一定比例混合配制成本草提取物样品,由内蒙古乳业技术研究院有限责任公司提供。

2.1.2 主要仪器与试剂

BS110S 电子天平(美国 Sartorius 公司);Py-200 足趾容积测定仪(精密度 0.01 mL,成都泰盟软件有限公司);电热 X-MTB 恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司);YLS-25A 电动耳肿打孔器[测量内径 6~8 mm,安合盟(天津)科技发展有限公司];葡聚糖(医药级,分子量 40000,上海阿拉丁试剂公司);二甲苯(分析纯,北京化工厂有限责任公司)等。

2.1.3 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,体重 100~120 g;SPF 级雄性 BALB/C 小鼠,体重 18~22 g。购于北京维通利华实验动物技术有限公司。

2.1.4 饲料

大小鼠饲料购于北京科澳协力饲料有限公司,按照国标 GB 14924.3-2010 配制而成。

2.2 方法与结果判定

依据《保健食品检验与评价技术规范(2012 修订版)》中的“清咽功能检验方法”制定实验方案。采用大鼠足趾肿胀实验和小鼠耳肿胀实验制备急性炎症模型,以大鼠棉球植入实验制备慢性炎症模型。当大鼠棉球植入实验结果阳性、同时大鼠足趾肿胀实验或小鼠耳肿胀实验结果任意一项阳性时,可判定该受试样品清咽功能动物实验结果为阳性。

2.2.1 小鼠耳肿胀实验

BALB/C 小鼠(18~22 g)144 只,饲养于 SPF 级动物房。在实验环境[室温(23±2) °C,相对湿度为 40%~55%,12:12 h 明暗交替]下适应 5 d 后,根据体重随机分为 12 组:对照组、益生菌低剂量组(0.286×10^9 CFU/d/kg·bw)(J1 组)、益生菌高剂量组(1.43×10^9 CFU/d/kg·bw)(J2 组)、草本低剂量组

(0.08 g/d/kg·bw)(C1 组)、草本中剂量组(0.537 g/d/kg·bw)(C2 组)、草本高剂量组(2.686 g/d/kg·bw)(C3 组)、以及益生菌/草本的各剂量复配组(J1C1、J1C2、J1C3、J2C1、J2C2 和 J2C3 组), 每组 12 只。各组小鼠每日自由饮水摄食, 并灌胃相应剂量的受试样品。45 d 后按照技术规范中描述的方法进行耳肿胀实验。

取 20 μ L 二甲苯, 滴加在小鼠右耳外侧面耳廓的中央, 使其自由扩散, 右耳局部因刺激引起毛细血管充血、通透性增加致急性炎症。30 min 后, 将小鼠脱臼处死, 剪下双耳, 用 9 mm 直径打孔器在两耳相同部位打下耳片并称量, 以(右侧耳片-左侧耳片)重量之差为耳廓肿胀值, 计算耳廓肿胀率。比较各组小鼠耳廓肿胀率, 判断受试样品是否具有干预急性炎症的作用。

耳廓肿胀率(%)=耳廓肿胀值/对照耳片重量 \times 100%

2.2.2 大鼠足趾肿胀实验

SD 大鼠(100~120 g)120 只, 分组及饲养条件同 2.2.1, 因小鼠代谢率是大鼠代谢率的 2 倍, 故所有剂量均为相应小鼠组的 1/2。持续喂饲 45 d 后按照下述方法进行足趾肿胀实验。

实验结束当天给予受试样品 1 h 后, 测量各组大鼠右后足趾的容积, 作为 0 h 的足趾容积。随后, 在大鼠右后足趾皮下注入 0.1 mL 1%葡聚糖 4 万单位致炎, 造成足趾肿胀, 并分别于第 1、2、4、6 h 4 次测量足趾容积。每次同一部位测量 3 次, 取平均值。再以第 1、2、4、6 h 所测足趾容积与 0 h 的足趾容积之差为肿胀值, 计算各个时间段的足趾肿胀率。比较各组大鼠足趾肿胀率, 判断受试样品是否具有干预急性炎症的作用。

肿胀率(%)=肿胀值/致炎前足趾容积 \times 100%

2.2.3 大鼠棉球植入实验

SD 大鼠(100~120 g)120 只, 分组及饲养条件同 2.2.1。整个实验中持续给予受试样品 45 d。于实验结束前 8 d 于

大鼠皮下植入棉球诱导慢性炎症, 引起类似临床炎症后期病理变化中的肉芽组织增生。首先用乙醚浅麻醉大鼠, 两侧腹股沟处脱毛消毒, 在无菌条件下切开皮肤, 分别植入经灭菌并干燥处理的等重棉球后缝合。实验结束当天, 给予受试物 1 h 后, 麻醉处死大鼠, 在原缝合处剪开皮肤, 剥离出棉球肉芽组织, 称重, 于 60 $^{\circ}$ C 干燥 1 h 后再称重, 计算肉芽肿净量。比较各组大鼠肉芽肿净量, 判断受试样品是否具有干预慢性炎症的作用。同时, 取肝脏、脾脏、胸腺等脏器, 称重并计算各脏器指数。

肉芽肿净量(mg) = 干燥后棉球肉芽肿重量 - 原棉球重量

2.3 统计学分析

实验数据以平均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 用 SPSS 软件进行单因素方差分析, $P<0.05$ 表示差异显著。

3 结果与分析

3.1 益生菌/草本提取物复方对大鼠棉球肉芽肿形成的影响

由表 1 可见, 实验前各组大鼠体重无差异; 经口给予大鼠不同剂量的受试物 45 d 后, 各组大鼠与对照组比较体重均无显著变化, 提示各受试样品对大鼠正常生长无影响。与对照组比较, 各组大鼠肉芽肿重量都有减少趋势, 并且 J1/J2 组、C1/C2/C3 组都有随样品剂量增加而肉芽肿重量减少的趋势; 其中 J2、C2、C3、J1C2、J1C3、J2C1、J2C2、J2C3 等 8 组大鼠肉芽肿重量显著低于对照组($P<0.05$), 提示这 8 组样品具有干预肉芽肿形成的作用。表 2 则显示, 各组大鼠的肝脏、脾脏、胸腺等脏器重量与脏器指数均无显著变化, 提示受试样品对大鼠的免疫器官无明显影响。

表 1 益生菌/草本提取物复方对大鼠体重和肉芽肿形成的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Effect of the combination of probiotics and herbal extract on body weights and granulomas in rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	实验前体重/g	实验体重/g	肉芽肿净量/g	抑制率/%
对照组	135.6 \pm 6.9	396.6 \pm 50.1	0.614 \pm 0.191	
J1 组	135.7 \pm 5.4	408.1 \pm 34.9	0.506 \pm 0.184	17.6
J2 组	135.8 \pm 7.4	402.0 \pm 47.7	0.452 \pm 0.143 *	26.4
C1 组	136.0 \pm 7.4	420.9 \pm 27.6	0.515 \pm 0.123	16.1
C2 组	135.3 \pm 5.7	400.3 \pm 45.5	0.440 \pm 0.185 *	28.3
C3 组	134.8 \pm 5.9	429.3 \pm 40.8	0.415 \pm 0.128 *	32.4
J1C1 组	135.8 \pm 7.8	433.2 \pm 31.3	0.549 \pm 0.117	10.6
J1C2 组	134.8 \pm 6.3	403.9 \pm 33.3	0.406 \pm 0.181 *	33.9
J1C3 组	135.6 \pm 7.7	414.5 \pm 38.7	0.399 \pm 0.131 *	35
J2C1 组	134.5 \pm 7.1	419.5 \pm 28.1	0.432 \pm 0.131 *	29.6
J2C2 组	134.9 \pm 7.7	421.1 \pm 37.5	0.436 \pm 0.112 *	29
J2C3 组	134.9 \pm 7.7	402.9 \pm 26.3	0.422 \pm 0.123 *	31.3

注: *与对照组相比, 差异显著($P<0.05$)。

表 2 益生菌/草本提取物复方对大鼠脏器、脏器指数的影响($\bar{x} \pm s$)Table 2 Effect of the combination of probiotics / herbal extracts on organ weights and organ indexes in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	脏器/g	脾脏/g	胸腺/g	脏器指数/%	脾脏指数/%	胸腺指数/%
对照组	14.02±2.75	0.74±0.15	0.43±0.19	3.77±0.47	0.20±0.03	0.11±0.04
J1 组	14.31±2.46	0.78±0.25	0.44±0.17	3.53±0.54	0.19±0.06	0.11±0.04
J2 组	13.72±3.24	0.77±0.31	0.40±0.22	3.24±0.71	0.19±0.06	0.10±0.05
C1 组	14.95±1.31	0.81±0.13	0.51±0.11	3.66±0.36	0.19±0.03	0.12±0.03
C2 组	14.09±2.70	0.71±0.15	0.44±0.19	3.56±0.60	0.18±0.03	0.11±0.04
C3 组	15.38±2.69	0.75±0.17	0.54±0.21	3.68±0.37	0.17±0.04	0.12±0.04
J1C1 组	15.49±1.78	0.88±0.12	0.59±0.22	3.56±0.55	0.20±0.02	0.14±0.05
J1C2 组	13.93±2.50	0.76±0.17	0.48±0.18	3.46±0.53	0.19±0.04	0.12±0.04
J1C3 组	14.04±3.11	0.80±0.20	0.51±0.16	3.46±0.71	0.19±0.04	0.13±0.04
J2C1 组	15.59±3.94	0.85±0.23	0.55±0.17	3.83±0.82	0.20±0.05	0.13±0.04
J2C2 组	14.54±2.80	0.75±0.21	0.48±0.24	3.54±0.32	0.18±0.05	0.11±0.05
J2C3 组	13.44±1.78	0.73±0.23	0.53±0.13	3.32±0.29	0.18±0.05	0.13±0.03

3.2 益生菌/草本提取物复方对大鼠足趾肿胀率的影响

由表 3 可见, 实验前各组大鼠体重无差异; 经口给予不同剂量的受试物 45 d 后, 各组大鼠与对照组比较体重均无显著变化, 再次表明各受试样品对大鼠正常生长无影响。

表 3 益生菌/草本提取物复方对大鼠体重的影响($\bar{x} \pm s$)Table 3 Effect of the combination of probiotics / herbal extracts on body weights in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	实验前体重/g	实验体重/g
对照组	172.3±10.2	446.0±39.3
J1 组	169.0±8.4	450.9±40.4
J2 组	176.6±9.5	472.8±45.2
C1 组	167.4±8.7	440.5±29.6
C2 组	168.1±9.5	454.2±21.0
C3 组	168.4±14.7	434.1±38.1
J1C1 组	169.8±6.8	458.3±15.2
J1C2 组	170.5±8.9	439.4±30.0
J1C3 组	171.5±7.8	442.1±46.4
J2C1 组	166.9±9.0	434.4±29.7
J2C2 组	172.9±11.3	481.1±37.1
J2C3 组	171.5±8.8	447.4±13.9

表 4 为受试物对大鼠足趾肿胀率的影响结果。注射致炎剂后, 随着时间的延长对照组大鼠足趾肿胀率呈现逐渐下降趋势, 表明大鼠在急性致炎后 6 h 内足趾肿胀逐渐缓解, 趋于自我恢复。

在致炎后各时间段与对照组相比较, J1/J2 组、C1/C2/C3 组大鼠均表现出随样品剂量增加足趾肿胀率降低的趋势, 并呈一定的量效关系趋势。

在注射致炎剂 1 h 后, 与对照组比较 C3 组大鼠足趾肿胀率下降了 31.7% ($P < 0.05$), 其后不随着时间的延长而进一步显著降低, 提示 C3(高剂量草本提取物)样品在短时间内有效干预致炎剂诱发的足趾肿胀。

在注射致炎剂 1、2、6 h 后, 与相应对照组比较, J2C3 组大鼠足趾肿胀率均显著下降 ($P < 0.05$)。致炎 4 h 后, J2C3 组大鼠足趾肿胀率虽比对照组下降了 17.4%, 但标准差较大, 未出现显著差异。结果提示 J2C3(高剂量益生菌+高剂量草本提取物)样品在 3 个时间点均表现出干预致炎剂诱发的足趾肿胀作用。

3.3 益生菌/草本提取物复方对小鼠耳肿胀的影响

表 5 显示, 各受试样品对小鼠体重无影响。与对照组比较, 虽然各组小鼠耳廓肿胀值及肿胀率均无显著变化, 但 J1C3(低剂量益生菌+高剂量草本提取物)样品使小鼠耳肿胀率下降了 30.4% ($P > 0.05$), 提示该复方样品对致炎剂诱发的小鼠耳肿胀有干预的趋势。

表 4 益生菌/草本提取物复方对大鼠足趾肿胀率的影响($\bar{x} \pm s$)Table 4 Effect of the combination of probiotics/ herbal extracts on toe swelling rates in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	注射致炎剂后 1 h	注射致炎剂后 2 h	注射致炎剂后 4 h	注射致炎剂后 6 h
对照组	0.470±0.119	0.403±0.082	0.345±0.073	0.300±0.060
J1 组	0.475±0.082	0.418±0.096	0.375±0.062	0.340±0.067
J2 组	0.412±0.078	0.376±0.118	0.330±0.086	0.293±0.071
C1 组	0.445±0.125	0.418±0.108	0.394±0.084	0.341±0.061
C2 组	0.414±0.118	0.395±0.105	0.346±0.093	0.341±0.054
C3 组	0.321±0.082 *	0.325±0.113	0.315±0.083	0.306±0.121
J1C1 组	0.393±0.103	0.406±0.063	0.377±0.069	0.307±0.080
J1C2 组	0.374±0.127	0.380±0.068	0.350±0.069	0.312±0.085
J1C3 组	0.362±0.101	0.339±0.093	0.344±0.102	0.281±0.094
J2C1 组	0.461±0.122	0.406±0.090	0.359±0.074	0.305±0.100
J2C2 组	0.377±0.115	0.388±0.139	0.359±0.085	0.295±0.069
J2C3 组	0.302±0.111 *	0.300±0.106 *	0.285±0.134	0.209±0.072 *

注: *与对照组相比, 差异显著($P < 0.05$)。

表 5 益生菌/草本提取物复方对小鼠体重及耳肿胀率的影响($\bar{x} \pm s$)Table 5 Effect of the combination of probiotics / herbal extracts on body weights and auricle swelling rates in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	实验前体重/g	实验体重/g	耳肿值/g	耳肿率/%
对照组	21.35±1.33	26.22±1.15	0.0044±0.0015	0.418±0.162
J1 组	21.26±1.16	25.62±1.01	0.0037±0.0018	0.374±0.214
J2 组	21.36±0.92	26.46±1.37	0.0039±0.0015	0.367±0.140
C1 组	21.26±1.12	26.21±1.70	0.0050±0.0010	0.458±0.092
C2 组	21.29±1.06	26.28±1.15	0.0048±0.0017	0.440±0.146
C3 组	21.32±0.99	26.18±1.47	0.0042±0.0014	0.370±0.158
J1C1 组	21.38±0.95	25.69±1.07	0.0046±0.0019	0.403±0.181
J1C2 组	21.36±1.18	26.41±0.99	0.0041±0.0015	0.368±0.146
J1C3 组	21.29±0.78	26.50±1.63	0.0034±0.0016	0.291±0.128
J2C1 组	21.38±1.13	26.36±1.43	0.0042±0.0013	0.379±0.130
J2C2 组	21.20±1.22	26.23±1.33	0.0038±0.0016	0.353±0.161
J2C3 组	21.38±0.85	25.76±1.85	0.0039±0.0010	0.396±0.103

4 结论与讨论

咽炎的病理生理学改变是广泛的咽黏膜损伤和白细胞、中性粒细胞的渗出, 咽部局部菌群失调, 导致咽部炎症和引起疼痛。而清咽作用的机理主要为干预咽部炎症反应和调节菌群失调从而缓解疼痛等不适。保健食品清咽功能检验方法是以大鼠足趾肿胀实验及小鼠耳肿胀实验判断受试样品是否具有干预急性炎症的作用, 以大鼠棉球植入

实验判断受试样品是否具有干预慢性炎症的作用。当证实受试样品具有干预急性和慢性炎症的作用后才可确定其具有清咽作用。

现代药学研究显示, 罗汉果中黄酮类对革兰氏阳性菌具有显著的抑制作用, 罗汉果水提取物能明显减少枸橼酸或辣椒素引起的豚鼠咳嗽次数和延长咳嗽潜伏期^[11,12]。金银花中的马钱素、忍冬甙等药用成分有很好的抗炎活性, 金银花醇提物对放线黏杆菌、变形链球菌、牙龈类杆菌等

具有良好的抗菌活性^[13]。野菊花水提物能明显抑制蛋清所致大鼠足趾肿胀,而野菊花中的三萜烯二醇、三醇及其相应的棕榈酸酯和肉豆蔻酸酯、以及挥发油对 TPA 引起的小鼠耳水肿也有显著作用,特别是挥发油在高浓度时效果最为突出,表明菊花成分对异物蛋白致炎、化学性致炎均有抑制作用,但可能作用机制不同^[14]。体外共培养实验显示,口腔益生菌唾液链球菌对咽炎常见致病菌 A 族 β 溶血链球菌^[15]、对口腔致口臭菌牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌^[16]具有显著抑菌作用。因此,将多种具有清热抗炎作用的药食两用物质配合使用、并结合益生菌的抗炎作用,更好发挥多种活性成分的协同作用来开发清咽保健产品是值得研究探讨的课题。

本研究中,将罗汉果、金银花、菊花等的粗提物以一定比例混合,配制成草本提取物,探讨该配方的有效清咽剂量,同时也与益生菌复配,探讨益生菌/草本复方的清咽效果及其优势。结果表明,益生菌、草本提取物、及其复方对二甲苯诱导的小鼠耳肿胀无明显干预作用,但对于致炎剂诱导的大鼠足趾肿胀率表现出一定的量效关系趋势的缓解作用,高剂量草本提取物(C3)在 1 h 内即可有效干预,复配样品 J2C3 在 1、2、4、6 h 的 4 个时间点的干预作用均优于 C3 和 J2,在 6 h 时达到差异显著。这一结果提示益生菌/草本提取物的复配能够更好地干预致炎剂诱导的(急性炎症)足趾肿胀。在大鼠棉球植入实验中,J2、C2、C3 都可显著减少肉芽肿净量,但其复配样品不能使肉芽肿净量进一步降低。以上结果表明,高剂量益生菌样品 J2 仅表现为大鼠棉球植入实验结果为阳性,而高剂量草本提取物组 C3 及其复配 J2C3 组在大鼠棉球植入实验和大鼠足趾肿胀实验中结果均为阳性,而各组分和复配组方中低中剂量的受试样品并未表现出实验结果阳性,提示样品需要达到一定的剂量才能发挥有效作用,并且 J2C3 的复配在干预急性炎症方面效果优于 C3。

有研究称唾液链球菌可分泌唾液素 A 和唾液素 B 两种羊毛硫抗生素,可能是其抑制致病菌的有效成分^[15]。从健康人群咽部筛选的另一类益生菌唾液杆菌给予咽炎大鼠模型,研究发现随着有益菌丰度增加,潜在有害菌群丰度降低;同时 PI3K/Akt/mTOR 途径介导的自噬功能增强和 TLR/PI3K/Akt /mTOR 信号途径的免疫应答反应降低,因此推测益生菌可能通过调节咽部微生物菌、自噬功能和免疫应答而改善咽炎疾病^[10]。而罗汉果、金银花、菊花等具有良好的对致病菌的抗菌活性。且金银花提取物可使得放射性食管炎的致炎因子 TNF α 、IL-6 和 TGF- β 1 明显降低,Th/Tc 细胞比值升高,具有显著增强免疫反应的作用^[17]。因此可能益生菌和传统清咽抗炎的药食两用物质一起具有协同作用,共同调节菌群失调和免疫反应,从而更好地改善咽炎的炎性反应。

《保健食品检验与评价技术规范(2012 修订版)》中

“清咽功能评价方法”的结果判定原则:大鼠棉球植入实验结果阳性,同时大鼠足趾肿胀实验或小鼠耳肿胀实验结果任意一项阳性,可判定该受试样品清咽功能动物实验结果为阳性。据此,本实验可确定 C3、J2C3 受试样品清咽功能动物实验结果为阳性。

C3(高剂量草本)、J2C3(益生菌高剂量+草本高剂量)复配样品具有清咽作用,且 J2C3 复方干预致炎剂诱导的急性炎症效果优于 C3。

参考文献

- [1] Leone CA, Caruso AA, Allocca V, et al. Pilot study on the effects of high molecular weight sodium hyaluronate in the treatment of chronic pharyngitis [J]. Int J Immunol Pharm, 2015, 28(4): 532.
- [2] 张庆莲, 黄娟, 吴智慧, 等. 罗汉果的药理及开发应用的研究概况[J]. 药学研究, 2017, 36(3): 164-165, 186.
Zhang QL, Huang J, WU ZH, et al. Research overview of pharmacology and application development of *Siraitia grosvenorii* [J]. J Pharm Res, 2017, 164-165, 186.
- [3] 董森, 张楚楚, 侯学雯, 等. 生药野菊花药用成分作用及提取进展研究[J]. 科技资讯, 2019, 19(6): 198-200.
Tong M, Zhang CC, Hou XW, et al. Research on the function and extraction of medicinal components of *Chrysanthemum indicum* [J]. Sci Technol Inform, 2019, 19(6): 198-200.
- [4] 陈继明, 洪超群. 金银花药理作用分析[J]. 亚太传统医药, 2015, 11(5): 43-44.
Chen JM, Hong CQ. Pharmacological action analysis of honeysuckle [J]. Asia-Pac Tradit Med, 2015, 11(5): 43-44.
- [5] Neef A, Sanz Y. Future for probiotic science in functional food and dietary supplement development [J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2013, 16(6): 679-687.
- [6] 毛友辉, 朱薇, 邓放明, 等. 益生菌的研究进展及其在食品中的应用[J]. 现代生物医学进展. 2011, 11(20): 3978-3977.
Mao YH, Zhu W, Deng FM, et al. Progress in study of probiotics and its application in foods [J]. Prog Mod Biomed, 2011, 11(20): 3978-3977.
- [7] 马淑荣, 沈可欣, 周长玉, 等. 益生菌在炎症性肠病中的作用观察[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(1): 150-152.
Ma SR, Shen KX, Zhou CY, et al. Role of probiotics in inflammatory bowel disease [J]. Chin J Lab Diagn, 2013, 17(1): 150-152.
- [8] 章丽燕. 乳酸杆菌减少肠道内毒素诱导新生 SD 大鼠全身炎症反应综合症表达的实验研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2005.
Zhang LY. *Lactobacillus rhamnosus* GG decreases lipopolysaccharide-induced systemic inflammation in a gastrotomy-fed infant rat model [D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2005.
- [9] Gregori G, Righi O, Rizzo P, et al. Reduction of group A beta-hemolytic streptococcus pharyngo-tonsillar infections associated with use of the oral probiotic *Streptococcus salivarius* K12: A retrospective observational study [J]. Ther Clin Risk Manag, 2016, 12: 87-92.
- [10] Jia GC, Liu XF, Che N, et al. Human-origin *Lactobacillus salivarius* AR809 protects against immunosuppression in saureus-induced pharyngitis via Akt-mediated NF- κ B and autophagy signaling pathways [J]. Food Funct, 2020, 11(1): 270-284.
- [11] 何凯霞, 肖艺, 张丽, 等. 罗汉果果实总黄酮的含量变化及其抑菌作用

- [J]. 氨基酸和生物资源, 2013, 35(4): 16–20.
- He KX, Xiao Y, Zhang L, *et al.* Changes of contents of total flavonoids and antibacterial activity in fruit of *Siraitia grosvenorii* [J]. Amino Acid Biotic Res, 2013, 35(4): 16–20.
- [12] 李坚, 李沛波, 袁干军. 罗汉果水提取物的止咳作用研究[J]. 海南医学院学报, 2008, 14(1): 16–18.
- Li J, Li PB, Yuan GJ. The antitussive effect of water extract of *Momordica grosvenori* fruit [J]. J Hainan Med Univ, 2008, 14(1): 16–18.
- [13] 林丹, 赵国玲, 刘佳佳. 中药金银花药用成分的提取及抑菌实验的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 5(2): 436–437.
- Lin D, Zhao GL, Liu JJ. Extration of active components from *Flos lonicerae* and their bacteriostatic test [J]. Nat Prod Res Dev, 2013, 5(2): 436–437.
- [14] 蒋征奎, 李晓, 罗彬. 野菊花挥发油抗炎镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(16): 124–127.
- Jiang ZK, Li X, Luo B. anti-inflammatory and analgesic effects of essential oil from *Chrysanthemi indic* Flos [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2015, 21(16): 124–127.
- [15] 潘云, 陈向东, 汪辉. 唾液链球菌 K12 防治口腔及相关疾病的研究进展[J]. 药学与临床研究, 2017, 25(3): 243–247.
- Pan Y, Chen XD, Wang H. Research progress of *Streptococcus salivarius* K12 in prevention and treatment of oral related disease [J]. Pharm Clin Res, 2017, 25(3): 243–247.
- [16] 杨雯洁, 叶玮. 2 种益生菌对口臭致病菌抑菌作用的体外研究[J]. 口腔医学, 2015, 35(2): 179–182.
- Yang WJ, Ye W. Experiment research of antagonistic effects of two probiotics on halitosis pathogens [J]. Stomatology, 2015, 35(2): 179–182.
- [17] 宋长亮, 杜雪菲, 杨琼, 等. 金银花水煎液对放射性食管炎患者的免疫调节作用[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 7(4): 580–583.
- Song CL, Du XF, Yang Q, *et al.* Immunomodulatory effect of honeysuckle decoction on patients with radiation esophagitis [J]. Mod Oncol, 2019, 7(4): 580–583.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



郭俊霞, 博士, 副教授, 主要研究方向为功能食品研究。
E-mail: junxia@buu.edu.cn



赵子夫, 硕士, 副高级工程师, 主要研究方向为乳品研发。
E-mail: zhaozif@yili.com