化州橘红多糖对小鼠消炎、止咳及化痰功效的影响研究

侯秀娟，沈勇根，徐明生，樊少武，黄靓

（江西农业大学食品科学与工程学院，江西省天然产物与功能食品重点实验室，江西南昌 330045）

摘要：本试验研究了化州橘红多糖的消炎、止咳、化痰作用。采用二甲苯耳廓肿胀致炎法来观察化州橘红多糖对小鼠的消炎作用；小鼠浓氨水引咳法来观察化州橘红多糖的止咳作用；小鼠气管段酚红排泌法观察化州橘红多糖的化痰作用。化州橘红多糖对二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀有不同程度的抑制作用，其中化州橘红多糖低、中、高剂量组的肿胀抑制率分别为 24.93%、34.84%和 48.72%，阿司匹林阳性对照组的肿胀抑制率为 52.83%；化州橘红多糖能明显的延长浓氨水刺激引起的小鼠的咳嗽潜伏期及减少 2 min 内的咳嗽次数，其中化州橘红多糖高剂量组的效果好于磷酸苯丙哌林片阳性对照组；化痰试验显示化州橘红多糖中、高剂量组与空白对照组之间存在极显著性差异（P<0.01），低剂量组差异不明显，即化州橘红多糖能够增加小鼠气管段酚红的排泌量。结果表明化州橘红多糖具有较好的消炎、止咳及化痰作用。

关键词：化州橘红多糖；消炎；止咳；化痰

文章篇号：1673-9078(2013)6-1227-1229

Dephlogisticate, Antitussive and Expectorant Effects of Polysaccharides from *Exocarpium citri grandis* on Mice

HOU Xiu-juan, SHEN Yong-gen, XU Ming-sheng, FAN Shao-wu, HUANG Liang

(Key Laboratory of Natural Product and Functional Food of Jiangxi province, College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: The dephlogisticate ,antitussive and expectorant effects of the polysaccharides from *Exocarpium citri grandis* (ECP) were studied. The models of edema induced by xylene, cough induced by concentrated ammonia water and phenel red execretion in mice were used to observe the dephlogisticate effect, the antitussive effect and the expectorant effect, respectively. Result showed that ECP could inhibit the edema induced by xylene in mice. The swelling inhibition rates in low, middle and high dose group were 24.93%, 34.84% and 48.72%, respectively. The swelling inhibition rate in the positive control group was 52.83%. It was also found that ECP could prolong cough incubation period and reduce the cough times in 2 minutes induced by concentrated ammonia water. There was a significant difference ($P < 0.01$) between the control group and the middle/high dose groups, which meant that the ECP could increase phenel red execretion in mice. ECP showed a significant dephlogisticate, antitussive and expectorant effects.

Key words: *Exocarpium citri grandis* polysaccharide; dephlogisticate; antitussive; expectorant

化州橘红又名“化皮”、“化州陈皮”、“抽皮橘红”等，是芸香科（Rutaceae）柑橘属（Citrus）植物化州柚（*C1 grandisvar1 tom entosa Hort1*）或柚（*C1 grandis Osbeck*）的未成熟或近成熟的干燥外层果皮，可治疗风寒咳嗽、喉痒痰多、食积伤酒和呕恶痞闷等症[1]。（前人的研究进展）黄飞龙等[2]的研究结果表明，化州橘红主要有效成分有挥发油、黄酮、香豆素类化合物、多糖等。目前已知化州橘红皮的内含物具有抗氧化、抗过敏、降血压和抗肿瘤等作用[3]。有研究显示多糖具有降血糖、降血脂、抗氧化、抗炎等多种生物活性[4]。虫草多糖也具有抗肿瘤、增强机体免疫力、治疗肝的病毒性感染等药理作用[5]。（研究的切入点）马艳艳等[6]对化州橘红挥发油、总多糖、总黄酮等主要有效部位的阵痛抗炎、化痰止咳作用进行研究，结果发现总多糖、挥发油、总黄酮这几种有效成分都有以上所说的功效，而且与剂量呈现一定的相关性。周博文

收稿日期：2013-02-22

基金项目：江西省教育厅项目（GJJ11404）；修水华昂实业有限公司横向课题

作者简介：侯秀娟（1987-），女，硕士研究生，主要从事天然产物的开发与综合利用

通讯作者：沈勇根（1971-），男，副教授，硕士生导师

等[7]从化州橘红中分离得到多糖类成分，经药理实验和临床观察，表明化州橘红多糖具有显著的止咳化痰作用，对慢性支气管炎和肺气肿均有良好的治疗效果，未见毒副作用。江西修水种植化州橘红已有 400 多年的历史，总面积 5000 多亩，大多为鲜果销售，收益较少。实验以修水化州橘红为实验原料，对其主要功效成分多糖的消炎、化痰及止咳作用进行研究，旨在为修水化州橘红的进一步开发和利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

化州橘红：江西华昂实业有限公司提供；粗多糖：新鲜的化州橘红切片过烘干、粉碎得化州橘红粉末，然后经脱脂、脱单糖及甙类等干扰成分、热水提取、醇沉、脱蛋白、透析、醇沉、冷冻干燥等步骤得到纯度为 74.29 %的化州橘红粗多糖，装入自封袋在 4 ℃冰箱中储藏备用。

1.2 试剂

氯化钠（AR）、二甲苯（AR）、苦味酸（AR）、25%浓氨水（AR）、苯酚红（AR）、氢氧化钠（AR）、氯化铵（AR）；阿司匹林肠溶片，拜耳医药保健有限公司生产，批号 120328；磷酸苯丙哌林胶囊，天津金虹胜利药业有限公司生产，批号 120201；1 mL 注射器、小鼠灌胃针头（12#55 mm）、手术剪、眼科镊、小试管（5 mL）。

1.3 实验动物

昆明种小白鼠，体重 18~22 g，雌雄各半，由南昌大学医学院提供。

1.4 方法

1.4.1 消炎实验[7]

取小白鼠 70 只，雌雄各半，随机分为空白对照组（药液为灭菌的生理盐水）、化州橘红多糖低剂量组（20 mg/kg）、化州橘红多糖中剂量组（40 mg/kg）、化州橘红多糖高剂量组（80 mg/kg）以及阳性对照组（阿司匹林肠溶片组，300 mg/kg），每组 14 只，实验前禁食但不禁水 12 h。按 20 mL/kg 的剂量灌胃给予相应药液，每天 1 次，连续灌胃 7 d。最后 1 次灌胃 30 min 后，在小鼠右耳正反两面分别用移液枪推注 20 μL 二甲苯使其致炎，左耳不做处理作为自身空白对照。致炎 30 min 后，采用颈椎脱臼法处死小白鼠，剪下双耳，用内径为 6 mm 的打孔器打下左右耳相应部位的圆片，迅速用分析天平称重，计算出耳廓肿胀率及肿胀抑制率。

耳廓肿胀率（%）=（右耳重量 - 左耳重量）/ 右耳重量 *100

$$肿胀抑制率（\%）=\frac{（对照组耳廓肿胀率-给药组耳廓肿胀率）}{对照组耳廓肿胀率}*100$$

1.4.2 止咳实验[8]

取小白鼠 70 只，雌雄各半，随机分为空白对照组（药液为灭菌的生理盐水）、化州橘红多糖低剂量组（20 mg/kg）、化州橘红多糖中剂量组（40 mg/kg）、化州橘红多糖高剂量组（80 mg/kg）以及阳性对照组（磷酸苯丙哌林片，60 mg/kg），每组 14 只，实验前禁食但不禁水 12 h。按 20 mL/kg 的剂量灌胃给予相应药液，每天 1 次，连续灌胃 7 天。最后 1 次灌胃 1 h 后，将 1000 mL 大烧杯倒扣在实验台上，用喷雾器往里面持续喷入 10 s 的 25%的浓氨水后，将小白鼠放进大烧杯里并开始计时，以腹肌收缩、张大嘴呼吸及出现咳嗽声为指标，记录小鼠首次咳嗽的时间以及 2 min 内的咳嗽次数。

1.4.3 化痰实验[9]

1.4.3.1 酚红标准曲线的绘制

精密称取酚红 25 mg，溶解定容至 100 mL，摇匀。分别准确量取配制好的酚红溶液 0.05 mL、0.1 mL、0.15 mL、0.2 mL、0.25 mL、0.3 mL、0.35 mL、0.4 mL 于 25 mL 容量瓶中，然后分别加入 1 mol/L 的 NaOH 溶液各 0.1 mL 使溶液呈现碱性，最后用生理盐水定容至 25 mL，摇匀。在 546 nm 处测定不同浓度酚红溶液的吸光度值。以酚红浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制酚红溶液的标准曲线。得到回归方程 $y=0.162x+0.0014$，$R^2=0.9992$（酚红浓度在 0.5~4 μg/mL 范围内存在着良好的线性关系）。

1.4.3.2 动物实验

取小白鼠 70 只，雌雄各半，随机分为空白对照组（药液为灭菌的生理盐水）、化州橘红多糖低剂量组（20 mg/kg）、化州橘红多糖中剂量组（40 mg/kg）、化州橘红多糖高剂量组（80 mg/kg）以及阳性对照组（氯化铵，500 mg/kg），每组 14 只，实验前禁食但不禁水 12 h。按 20 mL/kg 的剂量灌胃给予相应药液，每天 1 次，连续灌胃 7 d。最后一次给药 30 min 后腹腔注射 5%的酚红生理盐水 0.5 mL/只，注射 30 min 后颈椎脱臼法处死。将小鼠仰位固定在泡沫板上，剪开颈正中皮肤，拨开气管周围组织，剪下自甲状软骨至气管分支处的一段气管，放入预先盛有 3 mL 生理盐水及 0.1 mL1moL/L 的氢氧化钠溶液的 5 mL 小试管中。超声波清洗 10 min，使得小鼠气管中的酚红完全释放出来。于 546 nm 处测定溶液的吸光度值，根据标准曲线的回归方程计算出酚红含量。

1.5 数据分析

实验用 DPS v6.55 统计软件分析，数据结果用平

均值±标准误表示，通过方差分析进行组间检验，进行两两比较，分析数据的差异显著性。

2 结果与讨论

2.1 酚红标准曲线

酚红标准曲线见图1。

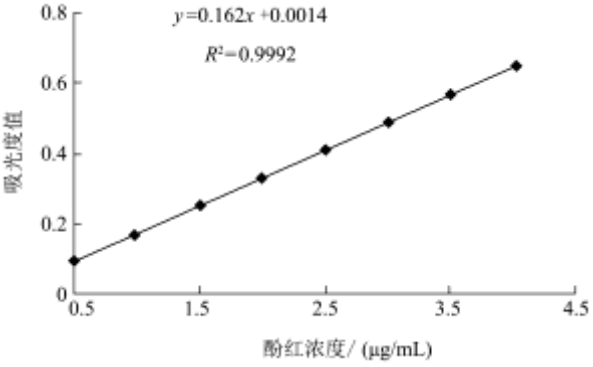


图 1 酚红标准曲线

Fig.1 Standard curve of phenol red

2.2 化州橘红多糖对二甲苯引起的小白鼠耳廓肿胀的影响

表 1 化州橘红多糖对二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀的影响

Table 1 Effect of ECP on xylene-induced ear edema in mice

组别	数量	肿胀率/%	肿胀抑制率/%
空白对照组	12	$57.91\pm1.03^{a,A}$	0
低剂量组	14	$43.47\pm2.22^{b,B}$	24.93
中剂量组	12	$37.74\pm2.17^{b,BC}$	34.84
高剂量组	14	$29.70\pm2.78^{c,CD}$	48.72
阳性对照组	12	$27.32\pm3.27^{c,D}$	52.83

注：同行肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05)，不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。

由表 1 得知，与空白对照组相比各给药组均存在极显著性差异（P<0.01），低剂量和中剂量、高剂量和阳性对照组两组之间差异显著（P<0.05），低剂量和高剂量及阿司匹林组之间差异极显著（P<0.01）。这说明化州橘红多糖能够明显抑制由二甲苯引起的小白鼠耳廓肿胀的程度，即化州橘红多糖具有消炎的功效。

2.3 化州橘红多糖对浓氨水所致小白鼠咳嗽的抑制作用

由表 2 得知，各个给药组与空白对照组之间存在极显著性差异（P<0.01），低、中、高剂量组每两组之间都差异极显著（P<0.01），高剂量组和阳性对照组之间差异不显著，且高剂量组的效果优于阳性对照组。表明，化州橘红多糖可以显著延长小白鼠的咳嗽潜伏期，同时可以减少小白鼠 2 min 内的咳嗽次数，即化州橘红多糖具有止咳的功效。

表 2 化州橘红多糖对浓氨水所致小鼠咳嗽的抑制作用

Table 2 The antitussive effect of ECP on mouse cough model induced by NH_4OH

组别	数量	首咳时间/s	咳嗽次数
空白对照组	14	17.71 ± 1.56^{A}	50.36 ± 1.21^{A}
低剂量组	14	28.00 ± 1.65^{B}	39.79 ± 2.35^{B}
中剂量组	14	47.36 ± 3.00^{C}	29.43 ± 1.34^{C}
高剂量组	14	69.29 ± 3.12^{D}	10.79 ± 1.23^{D}
阳性对照组	14	62.36 ± 3.14^{D}	15.14 ± 1.64^{D}

注：同列肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05)，不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。

2.4 化州橘红多糖对小白鼠气管酚红排泌量的影响

表 3 化州橘红多糖对小鼠气管段酚红排泌量的影响

Table 3 Effect of ECP on the excretion of phenol red in mice

组别	数量	吸光度值	酚红排泌量/(μg/mL)
空白对照组	13	0.16 ± 0.01^{A}	0.98A
低剂量组	12	0.16 ± 0.01^{A}	1.00A
中剂量组	11	0.22 ± 0.01^{B}	1.35B
高剂量组	12	0.32 ± 0.01^{C}	1.95C
阳性对照组	9	0.26 ± 0.01^{D}	1.58D

注：同列肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05)，不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。

在小鼠实验中，气管段酚红法的原理是利用酚红部分地从气管排泌的特点，在化痰药的作用下，随着支气管分泌的增加，由呼吸道粘膜排出的酚红也增多，通过计算酚红的排泌量，得知药物化痰作用的强弱[7]。由表 3 得知，中、高剂量组和阳性对照组与空白对照组之间存在极显著性差异（P<0.01），低剂量组和空白对照组之间差异不显著，中剂量组、高剂量组、阳性对照组每两组之间的差异都极显著（P<0.01）。说明化州橘红多糖可以促进小鼠气管内酚红的排泌，即化州橘红多糖具有化痰的功效。

3 结论

化州橘红多糖对二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀有不同程度的抑制作用，其中化州橘红多糖低、中、高剂量组的肿胀抑制率分别为 24.93%、34.84%和 48.72%，阿司匹林阳性对照组的肿胀抑制率为 52.83%；能明显的延长小鼠的咳嗽潜伏期及减少 2 min 内的咳嗽次数，其中化州橘红多糖高剂量组显著降低了小鼠 2 min 内的咳嗽次数，其效果好于磷酸苯丙哌林片阳性对照组；与空白对照组酚红排泌量相比，化州橘红中、高剂量组及阳性对照组都明显提高了酚红的排泌量。说明化州橘红多糖具有较好的消炎、止咳及化痰作用。

参考文献

[1] 中华人民共和国药典委员会编 1.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:化学工业出版社,2005

[2] 黄飞龙,马三梅.化橘红主要有效成分的分析方法[J].安徽农学通报,2007,13(13):26-28

[3] Mokbel M S, Hashinaga F. Evaluation of the antioxidant activity of extracts from buntan (Citrus grandis Osbeck) fruit tissues [J]. Food Chemistry, 2006, 94 (4) : 529-534

[4] 王涛,赵谋明.多糖的研究进展[J].现代食品科技,2007,23(1):103-106,95

[5] 程维蓉,段丽红,郑必胜.冬虫夏草及其多糖的研究与应用进展[J].现代食品科技,2006.22(4):284-286,289

[6] 马艳艳.橘红有效部位组合规律的药效研究[D].广东:广州中医药大学,2008

[7] 周博文,胡文雄,吴俊景.化州橘红多糖的药用研究[J].中国药学杂志,1993,28(3):135

[8] 兰云,尹军强,罗文敏,等.念慈庵川贝枇杷膏止咳化痰平喘药效学的研究[J].贵州科学,2010,28(4):98-100

[9] 伍虹.化橘红主要功能性成分分析及其果茶的研制[D].南昌:江西农业大学,2011

现代食品科技