

反应具有抑制作用。非酶糖基化作用与心血管系统疾病密切相关,因此推测西红花酸对非酶糖基化反应的抑制作用可能是其具有广泛心血管药理活性的原因之一。但西红花酸对于体内的非酶糖基化的影响及细胞水平的作用,以及其作用机制等^[16,17]还有待进一步探索。

References:

- [1] Brownlee M, Vlassara H, Kooney A, *et al.* Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking [J]. *Science*, 1986, 232(27): 1629-1632.
- [2] Zhu B H, Guan Y Y. Diabetes complications and PKC [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2000, 16(1): 4-6.
- [3] Xu Y. MAPK cascade and diabetes complications [J]. *Foreign Med Sci; Endocrinol* (国外医学:内分泌学分册), 2001, 21(1): 8-10.
- [4] Han C, Pan J Q. Pharmacodynamic study of Chinese traditional medicine of nonenzymatic glycosylation inhibitor [J]. *Chin New Drugs J* (中国新药杂志), 2000, 9(11): 749-752.
- [5] Zheng N. Glycation and lipoxidation end products and carbonyl stress [J]. *Foreign Med Sci; Endocrinol* (国外医学:内分泌学分册), 2002, 22(1): 37-40.
- [6] Yu W P, Qian Z Y, Xu G L, *et al.* Effects of crocetin on $[Ca^{2+}]_i$ change in myocardium cell induced by H_2O_2 [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(1): 68-71.
- [7] Shen X C, Qian Z Y. Effect of crocetin on ATPase and hydroxyproline in myocardial hypertrophy rat induced by overload pressure [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(6): 534-537.
- [8] Rao S Y, Qian Z Y. Cardioprotective effect of crocetin against low glucose and hypoxia injury in cultured rat cardiac myocytes [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(4): 427-429.
- [9] Xi L, Qian Z Y, Shen X C, *et al.* Crocetin prevents dexamethasone-induced insulin resistance in rats [J]. *Planta Med*, 2005, 71: 1-6.
- [10] Sui L R, Hou F Y, Miao C S, *et al.* Inhibitory effects of some Chinese herb components on nonenzymatic glycosylation *in vitro* [J]. *J Norman Bethune Univ Med Sci* (白求恩医科大学学报), 1998, 24(6): 585-586.
- [11] Cheng M F, Xiao J, Zhou L N, *et al.* Nonenzymatical glycation of protein *in vitro* and its inhibition by aminoquanidin or metformin [J]. *Acta Acad Med Shanghai* (上海医科大学学报), 1998, 25(1): 35-37.
- [12] Ge Y, Zhang J Q, Zhou Y P. The inhibitory effects of some Chinese herbs or its components on albumin nonenzymatic glycosylation [J]. *Acad J Second Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 1995, 16(4): 333-336.
- [13] Neepner M, Schmidt A M, Brett J, *et al.* Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins [J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(21): 14998-15004.
- [14] Yu W P, Qian Z Y, Xu G L, *et al.* Effects of crocetin on the myocardial cell damages due to oxidative stress [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2003, 34(5): 452-455.
- [15] Martin G, Goh E, Neff A W. Evaluation of the developmental toxicity of crocetin on *Xenopus* [J]. *Food Chem Toxicol*, 2002, 40(7): 959-964.
- [16] Abe R, Shimizu T, Sugawara H, *et al.* Regulation of human melanoma growth and metastasis by AGE-AGE receptor interactions [J]. *J Invest Dermatol*, 2004, 122(2): 461-467.
- [17] Brodsky S V, Gealekman O, Chen J, *et al.* Prevention and reversal of premature endothelial cell senescence and vasculopathy in obesity-induced diabetes by ebselen [J]. *Circ Res*, 2004, 94(3): 377-384.

湖北贝母生物碱单体的镇咳、祛痰和平喘作用

张勇慧¹, 阮汉利¹, 皮慧芳¹, 蔡金艳¹, 曾凡波¹, 赵 薇², 吴继洲^{1*}

(1. 华中科技大学同济药学院, 湖北 武汉 430030; 2. 武汉大学化学与分子科学学院, 湖北 武汉 430071)

湖北贝母 *Fritillaria hupehensis* Hsiao et K. C.

Hsia 收载于《中国药典》2000年版一部中,是仅次于浙贝母的第二大贝母主流品种。在药理研究方面,熊玮等^[1]初步研究表明其乙醇提取物对多种平滑肌有明显松弛作用,对豚鼠有平喘作用,能提高小鼠耐受常压缺氧能力,其总生物碱对平滑肌的作用、对猫血压及心肌的作用与阿托品相似。本课题组通过系统的镇咳、祛痰、平喘药效学筛选,发现湖北贝母呼吸系统的药效学活性部位在总生物碱,并对其提取工艺进行了优化。本实验研究湖北贝母中各生物碱单体在等剂量条件下的镇咳、祛痰、平喘活性,期望能够寻找到一种天然、高效、低毒的镇咳、祛痰、平喘

药物。

1 材料与仪器

1.1 动物:昆明种小鼠,雌雄各半,体重(20±2)g;豚鼠,体重150~220g,均由本校实验动物中心提供。

1.2 仪器:402型超声雾化器,超声波清洗器。

1.3 药物:湖北贝母生物碱单体鄂贝甲素、鄂贝乙素、浙贝甲素、浙贝乙素、湖贝甲素苷、湖贝甲素、鄂贝新均由吴继洲教授提供,均为色谱纯。湖北贝母总生物碱(总碱)系从湖北贝母中采用常规溶剂法直接提取,生药材中的质量分数为0.49%,主要成分为浙贝乙素、湖贝甲素等11种生物碱单体。采用等

收稿日期:2004-10-24

基金项目:湖北省科技厅重大社会发展基金资助项目(972P1102)

作者简介:张勇慧,男,博士,副教授,主要从事天然活性成分及中药新药开发研究。

*通讯作者 吴继洲 Tel: (027) 83692739

剂量给药方式,依据梯度给药预试验结果,分别称取各单体 3 mg,用 0.1% CMC-Na 溶液稀释至 10 mL,超声 10 min,摇匀,备用。阳性对照药物:磷酸可待因片剂(北京申顺制药厂,批号 030203);愈创木酚甘油醚(吉林省恒和维康药业有限公司,批号 20030901119,规格 0.2 g);麻黄碱(赤峰艾克制药科技股份有限公司,批号 040506)。

2 方法^[2,3]

2.1 镇咳实验:取体重(20±2) g 小鼠,雌雄各半,随机分组(湖北贝母各生物碱单体组、总碱组、阴性组、阳性组,共 10 组),每组 10 只。各给药组均 ig 给予相应药物 3 mg/kg,阴性组给予 0.1% CMC-Na 溶液,阳性组 ig 可待因(30 mg/kg)。给药 1 h 后,置于倒置的 500 mL 烧杯内,用 1 mL 注射器吸取氨水 0.15 mL 注入烧杯内放的棉球中,观察咳嗽潜伏期和 3 min 内咳嗽次数。

2.2 祛痰实验

2.2.1 酚红标准曲线的测定:分别配制标准浓度酚红溶液,以分光光度计测定吸光度(A)值,以 A 值对酚红质量浓度(X)回归,得回归方程: $A = 0.042 + 1.105 X$, $r = 0.99$ 。

2.2.2 方法:取体重(20±2) g 小鼠,雌雄各半,随机分组,阳性组 ig 愈创木酚甘油醚(25 mg/kg),其余各组 ig 给药同 2.1 项。实验前禁食不禁水 12 h,ig 给药,给药后 0.5 h,小鼠 ip 0.5% 酚红溶液 0.5 mL,30 min 后处死小鼠(尽量不损伤气管),仰位固定于手术板上,剪开颈正中皮肤,分离气管,于喉头下将头磨平的针头插入气管内 0.3 cm,丝线结扎固定,以 1 mL 注射器吸取 5% NaHCO₃ 溶液 0.5 mL,通过针头来回灌洗呼吸道 3 次(每次不作停留),将灌洗液注入比色管中,重新吸取 5% NaHCO₃ 溶液 0.5 mL 如上再灌洗 3 次,再第 3 次同样灌洗,如此共用洗液 1.5 mL,抽洗 9 次,合并洗出液,用分光光度计在波长 546 nm 处测 A 值。

2.3 平喘实验:取(170±20) g 豚鼠(幼年豚鼠),雌雄均可,逐一测定引喘潜伏期,挑选合格者。将豚鼠放入 402 型超声雾化器中,以 53 kPa(400 mmHg)的恒压喷出 2% 氯化乙酰胆碱和 0.4% 组胺等量混合液 15 s,密切注意豚鼠的反应,观察 6 min 内豚鼠出现喘息性抽搐的潜伏期即引喘潜伏期(从喷雾停止到出现喘息性抽搐的时间)与发生抽搐的动物数。如见到豚鼠跌倒应立即取出,以免死亡,并记录引喘潜伏期,若引喘潜伏期大于 150 s 则认为不敏感而不予选用,次日将合格豚鼠按体重随机

分组(同 2.1 项),各给药组 ig 给予各药物 3.3 mg/kg,阳性组 ig 麻黄碱 4 mg/kg,用药 30 min 后以同样条件引喘并测定引喘潜伏期与发生抽搐动物数。

2.4 统计学方法:本实验结果采用 Dunnett-t 检验。

3 结果

在同等剂量条件下,湖北贝母各生物碱单体 ig 给药(3 mg/kg)对小鼠的镇咳、祛痰作用,对豚鼠(3.3 mg/kg)的平喘作用见表 1~3。

鄂贝甲素、湖贝甲素苷和总碱有显著镇咳作用,与阴性组比较差异显著($P < 0.05, 0.01$),见表 1。

表 1 湖北贝母各生物碱单体对小鼠的镇咳作用($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Antitussive effect of each single alkaloids from *F. hupehensis* on mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	咳嗽潜伏期/s	咳嗽次数/(次·3 min ⁻¹)
阴性	—	58.9±14.1	13.1±4.2
阳性	30	91.1±25.2**	7.4±2.4**
鄂贝甲素	3	87.0±30.7*	3.9±1.9**
鄂贝乙素	3	71.1±18.6	15.2±6.1
浙贝甲素	3	76.2±25.2	12.0±5.7
浙贝乙素	3	65.5±21.9	11.0±4.2
湖贝甲素苷	3	83.6±24.4*	10.8±5.1
湖贝甲素	3	50.3±13.9	15.3±7.8
鄂贝新	3	62.1±28.1	15.1±5.8
总碱	3	98.7±15.6**	6.8±1.7**

与阴性组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs negative group

鄂贝甲素、鄂贝新显示显著的祛痰活性,与阴性组比较差异显著($P < 0.05, 0.01$),均强于总碱。见表 2。

鄂贝新显示显著的平喘活性,明显强于总碱。见表 3。

表 2 湖北贝母各生物碱单体对小鼠的祛痰作用($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Expectorant effect of each single alkaloids from *F. hupehensis* on mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	酚红排泄量/(μg·mL ⁻¹)
阴性	—	0.076 0±0.03
阳性	25	0.102 0±0.03*
鄂贝甲素	3	0.099 4±0.02**
鄂贝乙素	3	0.058 2±0.03
浙贝甲素	3	0.061 0±0.01
浙贝乙素	3	0.065 0±0.02
湖贝甲素苷	3	0.078 0±0.03
湖贝甲素	3	0.080 0±0.03
鄂贝新	3	0.091 0±0.03
总碱	3	0.073 0±0.03

与阴性组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs negative group

表 3 湖北贝母各生物碱单体对豚鼠的

平喘作用 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Antiasthmatic effect of each single alkaloids from *F. hupehensis* on guinea pig ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	用药前引喘 潜伏期/s	抽搐动物/ 动物总数	用药后引喘 潜伏期/s	引喘潜伏 期差值/s
阴性	—	34.2 ± 9.9	8/8	49.2 ± 16.8	15.0 ± 12.07
阳性	4	35.0 ± 9.5	8/8	76.7 ± 15.1	41.8 ± 17.0**
鄂贝甲素	3.3	33.2 ± 9.1	8/8	47.5 ± 9.7	14.3 ± 7.9
鄂贝乙素	3.3	31.0 ± 9.4	8/8	78.7 ± 57.6	47.7 ± 49.9
浙贝甲素	3.3	33.0 ± 6.7	8/8	68.0 ± 21.0	35.0 ± 26.0
浙贝乙素	3.3	32.8 ± 8.7	8/8	81.7 ± 57.8	48.8 ± 56.2
湖北贝母	3.3	33.7 ± 12.7	8/8	48.5 ± 21.5	14.8 ± 16.4
湖北贝母	3.3	33.7 ± 5.4	8/8	50.2 ± 15.7	16.5 ± 15.2
鄂贝新	3.3	33.0 ± 3.1	8/8	82.0 ± 42.4	49.0 ± 38.3*
总碱	3.3	30.5 ± 3.6	8/8	52.7 ± 16.2	22.2 ± 13.8

与阴性组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs negative group

4 讨论

湖北贝母各生物碱单体均有一定的镇咳、祛痰活性,其中鄂贝甲素、湖北贝母素的镇咳作用很强,在可待因 1/10 的剂量条件下,与阴性组比较显示显著的镇咳作用,表明此两种生物碱单体的镇咳活性具有良好的前景,非常值得关注。鄂贝甲素、鄂贝新显示显著的祛痰活性,均强于总碱,其祛痰活性值得关注。鄂贝新显示显著的平喘活性,明显强于总碱,其平喘活性值得关注。

References:

- [1] Xiong W, Guo X L, He J L. Primary study on pharmacological effects of *Fritillaria hupehensis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1986, 17(3): 19-22.
- [2] Li Y K. *Methodology in Pharmacological Experiment on Chinese Materia Medica* (中药药理实验方法学) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1991.
- [3] Xu S Y. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.

乌索酸对小鼠实验性肝损伤的保护作用

熊筱娟¹, 陈武¹, 肖小华², 崔江龙³, 徐丽英²

(1. 宜春学院, 江西 宜春 336000; 2. 江西省药物研究所, 江西 南昌 330029; 3. 宜春市第一人民医院, 江西 宜春 336000)

乌索酸又名熊果酸、乌苏酸,从忍冬科接骨木属植物陆英 *Sambucus chinensis* Lindl. 中提取。陆英作为抗肝炎中药早已应用于临床,具有显著的降酶、退黄、增进食欲、恢复肝功能的作用。乌索酸在陆英活性成分中所占比例较高。本实验研究乌索酸对小鼠实验性急性肝损伤的保护作用。

1 材料

1.1 动物:昆明种小鼠,18~22 g,雄性,购自中国科学院上海动物中心,动物合格证号为 SCXK (沪) 2003—0003。

1.2 药品与试剂:乌索酸(质量分数>93%)由宜春学院生物工程研究所药化实验室从植物陆英中提取,用 0.2% 泊洛沙姆(泊洛沙姆 F68,上海运宏化工制剂辅料技术有限公司出品)助溶,超声振荡后备用。联苯双酯滴丸(上海华氏制药有限公司,批号 348003);CCl₄(益林化工厂出品,批号 941213);D-氨基半乳糖(D-GalN,中国人民解放军防化所提供);卡介苗(BCG,上海生物制品研究所出品,批号

20044001);脂多糖(LPS,Flaka 公司出品);丙氨酸转氨酶(ALT)测定试剂盒(批号 20010504)、天冬氨酸转氨酶(AST)测定试剂盒(批号 20011201)均为中生北控生物科技股份有限公司出品。

1.3 仪器:BT—224 半自动生化分析仪,意大利出品;Au—640 全自动生化分析仪,日本宝灵曼公司出品。

2 方法与结果

2.1 对 CCl₄致小鼠急性肝损伤的影响^[1]:取昆明种小鼠 60 只,按体重随机分为 6 组,分别为正常组,模型组,乌索酸高、中、低剂量(60、30、15 mg/kg)组,阳性对照药联苯双酯(200 mg/kg)组。各组动物每天分别按 0.2 mL/kg ig 给予 NS 或受试药,连续给药 6 d,末次给药后 1 h,ip 0.1% CCl₄橄榄油溶液 0.1 mL/10 g (对照组除外)。禁食 16 h,眼眶采血,测血清 ALT、AST 水平。剖取同一位置小块肝脏称质量,用生理盐水制成 10% 肝组织匀浆,测其中丙二醛(MDA)水平,计算 $\bar{x} \pm s$,并与模

收稿日期:2005-01-13

基金项目:国家“863”计划重点资助项目(2002AA2Z3217)

作者简介:熊筱娟(1957—),女,江西省人,副教授,硕士生导师,主要研究方向为药理,主要从事天然药物新药研究与开发。