

胆木叶片抗大鼠急性咽炎作用研究

章晨峰¹, 曹亮¹, 衡晴晴¹, 寇俊萍², 李娜¹, 丁岗¹, 王振中¹, 萧伟^{1*}

(1. 江苏康缘药业股份有限公司, 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏连云港 222000;
2. 中国药科大学, 南京 211198)

[摘要] **目的:**探讨胆木叶片对大鼠急性咽炎的治疗作用。**方法:**取大鼠随机分为空白组、模型组、阿司匹林组(0.20 g·kg⁻¹)、胆木叶片组(按生药量计,25.8,12.9,6.5 g·kg⁻¹),每天2次,连续ig给药3 d。采用氨水喷雾刺激,观察大鼠一般状态,病理改变情况,测定咽部组织一氧化氮(NO),髓过氧化物酶(MPO)等指标;采用局部注射金黄色葡萄球菌2次后,观察大鼠一般状态、测量体温,观察细菌菌落数,测定NO,MPO等指标。**结果:**氨水喷雾刺激后,与正常组比较,模型组咽部组织NO,MPO含量较空白组明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,胆木叶片高、中、低剂量组及阿司匹林组咽部组织NO,MPO含量明显降低,有显著统计学意义($P < 0.01, P < 0.05$)。局部注射金黄色葡萄球菌后,与正常组比较,模型组血清NO,MPO含量明显升高,菌落数增多,体温升高($P < 0.01$);与模型组比较胆木叶片高、中剂量组及阿司匹林组血清NO,MPO含量明显降低,菌落数明显减少,体温降低($P < 0.01, P < 0.05$)。**结论:**胆木叶片对急性咽炎有较好的治疗作用。

[关键词] 胆木叶片;急性咽炎;氨水喷雾;细菌感染

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)23-0097-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015230097

Effect of Leaves of *Nauclea officinalis* Tablet on Actue Pharyngitis of Rats ZHANG Chen-feng¹, CAO Liang¹, HENG Qing-qing¹, KOU Jun-ping², LI Na¹, DING Gang¹, WANG Zhen-zhong¹, XIAO Wei^{1*}
(1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222000, China; 2. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of the leaves of *Nauclea officinalis* tableton on acute pharyngitis of rat models. **Method:** Rats were randomly divided into 6 groups, normal group, model group, aspirin group (0.20 g·kg⁻¹), the leaves of *N. officinalis* tablets groups (25.8, 12.9, 6.5 g·kg⁻¹). Each drug was administrated to mice orally twice a day for 3 days. Their commonly living conditions and bacterial colony were observed, the pharyngeal tissues were pathologically examined, the nitric oxide (NO) and myeloperoxidase (MPO) of the pharyngeal tissues and serum were determined, and the temperature were tested by directly spraying ammonia water and applying *Staphylococcus aureus* into pharyngeal mucosa. **Result:** The leaves of *N. officinalis* tablet could be decrease the content of NO and MPO in the pharyngeal tissues and serum, and also decrease the temperature; pathologic changes of rats with actue pharyngitis were improved in different degree; the leaves of *N. officinalis* tablets restrain the growth of the bacteria. **Conclusion:** The leaves of *N. officinalis* tablet has a good curative effect on acute pharyngitis.

[Key words] the leaves of *Nauclea officinalis*; acute pharyngitis; ammonia spraying; bacterial infection

胆木叶为茜草科乌檀属植物胆木的干燥叶。胆木,别名乌檀、熊胆树、黄羊木,味苦、性寒,具有清热解毒,消肿止痛之功效^[1],用于治疗急性扁桃体炎,急性咽喉炎,急性结膜炎及上呼吸道感染;以胆木心

[收稿日期] 20141215(005)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项项目(2013ZX09402203)

[第一作者] 章晨峰,博士,高级工程师,从事中药新药研究与开发,Tel:0518-81152367,E-mail:zhangchenf@163.com

[通讯作者] *萧伟,博士,研究员级高级工程师,从事中药新药的研究与开发,Tel:0518-81152367,E-mail:kanionlunwen@163.com

材开发的品种有胆木注射液、胆木浸膏片及胆木浸膏糖浆中药制剂,而以胆木叶开发的品种却鲜有报道,唐菲等考察了胆木叶 60% 乙醇提取物具有抗炎和镇痛作用^[2],笔者前期研究结果显示,胆木叶醇提、洗脱纯化后的提取部位群具有显著的镇痛、抗炎作用^[3],本文在前期基础上采用醇提-大孔树脂纯化等工艺路线制得胆木叶片,对胆木叶片的抗急性咽喉炎的作用进行了研究,以期对胆木叶片的开发利用及临床用药提供依据。

1 材料

1.1 药品 胆木叶片[经南京中医药大学药学院吴德康教授鉴定为茜草科植物胆木 *Nauclea officinalis* 的干燥叶,0.38 g(制剂)/片,每片异长春花苷内酰胺含量不少于 7.11%,由江苏中康药物科技有限公司提供,批号 20110708],阿司匹林肠溶片(南京白敬宇制药有限责任公司,批号 111009)。

1.2 动物 清洁级 SD 大鼠,由浙江省实验动物中心提供,合格证号 SCXK(浙)2008-0033;清洁级 Wistar 大鼠,由苏州工业园区爱尔麦特科技有限公司提供,合格证号 SCXK(苏)2009-0001。

1.3 试剂与菌株 氨水(南京化学试剂有限公司,批号 11032130183),甲醛(上海中试化工总公司,批号 20060912),水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司,批号 20100111),一氧化氮(NO)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20120224),髓过氧化物酶(MPO)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20120224),金黄色葡萄球菌(临床分离菌株,由中国药科大学药学院微生物教研室提供)。

1.4 仪器 MP12001 型电子天平(上海市恒平科学仪器有限公司),FA1004 型电子天平(上海天平厂),L56-03 型喉头喷雾器(上海市嘉定区医疗设备厂),680 型酶标仪(美国伯乐公司),DK-8B 型恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司),EG1150H 型石蜡包埋机、ASP200S 型全自动全封闭脱水机, RM2235 型手动轮转式石蜡切片机,DM3000 型光学显微镜(德国 Leica 公司)。

2 方法

2.1 对氨水诱导的急性咽喉炎大鼠模型的影响 取雄性 Wistar 大鼠 60 只,随机分为空白组,模型组,阿司匹林组(0.20 g·kg⁻¹),胆木叶片高、中、低剂量组[按生药量计(下同),25.8,12.9,6.5 g·kg⁻¹],每组 10 只。模型的复制^[4]:用喉头喷雾器将 25% 的氨水向其咽部喷雾(散布面积 150 mm²),每天 2 次,上、下午各 1 次,每次喷 3 下,连续喷 3 d,使咽部黏膜因

急性刺激而充血肿胀,形成急性炎症。空白组用蒸馏水代替氨水。造模 3 d 后,各组 ig 给予相应药液 10 mL·kg⁻¹,每天 2 次,连续 3 d。每天观察记录造模后各组大鼠活动情况,咽部黏膜肉眼所见情况。末次给药后次日,大鼠麻醉,仰卧固定,暴露咽腔,取咽部组织,生理盐水冲洗后,1/2 组织常规制片,光镜下观察各组大鼠咽部组织的病理改变,根据无、轻度、中度、重度病变程度,记为“-”,“+”,“++”,“+++”。另 1/2 组织匀浆后测定 NO, MPO 等指标。

2.2 对细菌感染诱导的急性咽喉炎大鼠模型的影响

取雄性 SD 大鼠 84 只,分组与给药剂量同 2.1,每组 12 只。模型的复制^[5]:除空白组外,其余动物用 4% 水合氯醛 10 mL·kg⁻¹ ip 麻醉,然后用镊子翻开上颌口颊,暴露部分黏膜,用注射针头以接近与口腔黏膜水平方向,注射含菌量 1 × 10⁹ CFU·mL⁻¹, 0.1 mL/只的金黄色葡萄球菌。操作程度以略有点状出血为度。24 h 后同法对大鼠进行第 2 次感染;空白组接种灭菌后的相应肉汤培养基。造模后,各组 ig 给予相应的药液 10 mL·kg⁻¹,每天 2 次,连续 3 d。每天观察记录造模后各组大鼠活动,咽部黏膜肉眼所见情况等,并测定大鼠肛温。末次给药后次日,大鼠麻醉,取血 1.5 mL,4 ℃,3 000 r·min⁻¹离心 10 min,分离血清,测定血清 NO, MPO 指标;大鼠仰卧固定,暴露咽腔,用消毒镊子和剪子剪取咽部组织置无菌试管中,在无菌条件下用镊子夹住黏膜涂布于琼脂平面培养基上,涂布半径为 1.5 cm 的圆形面积,于 37 ℃ 培养 24 h 观察细菌菌落生长情况,并计算抑制率。

抑制率 = (模型组 - 给药组) / (模型组 - 空白组) × 100%

2.3 统计分析 统计软件采用 SPSS 13.0,计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,等级资料采用秩和检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对氨水诱导的急性咽喉炎大鼠模型的影响

3.1.1 对一般状态的影响 造模第 1 天开始,大部分大鼠逐渐出现频频搔抓口部,跳跃不安,黏液分泌增多,咽部黏膜充血、肿胀呈鲜红色等现象,第 3 天症状较明显;正常组未出现上述情况。给药后,大鼠渐恢复正常;模型组大鼠精神状态欠佳、被毛失光泽、咽部红肿症状无明显改善。

3.1.2 对咽喉炎大鼠咽部组织 NO, MPO 含量的影响 与正常组比较,模型组咽部组织 NO, MPO 含量明显升高($P < 0.01$)。给药后,与模型组比较,胆木叶片高、中、低剂量组及阿司匹林组咽部组织 NO, MPO 含量明显降低($P < 0.01, P < 0.05$)。见表 1。

表 1 胆木叶片对氨水诱导急性咽炎大鼠咽部组织 NO, MPO 含量影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of leaves of *Nauclea officinalis* tablet on NO, MPO content in pharyngeal tissue of rats with spraying ammonia water ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

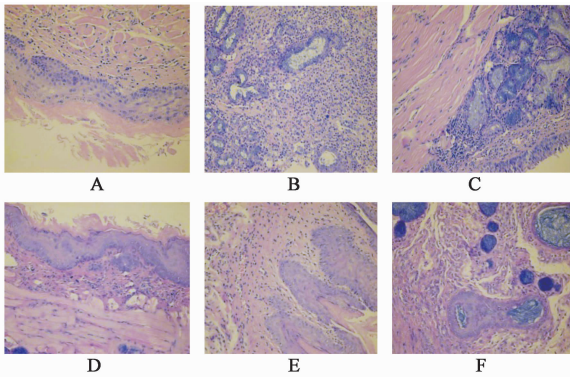
组别	剂量/g·kg ⁻¹	NO/μmol·g ⁻¹	MPO/U·g ⁻¹
正常	-	0.93 ± 0.20	0.20 ± 0.07
模型	-	2.86 ± 1.25 ¹⁾	0.40 ± 0.20 ¹⁾
阿司匹林	0.2	1.85 ± 0.71 ²⁾	0.22 ± 0.10 ²⁾
胆木叶片	25.8	1.17 ± 0.45 ³⁾	0.22 ± 0.10 ²⁾
	12.9	1.43 ± 0.87 ³⁾	0.23 ± 0.10 ²⁾
	6.5	1.43 ± 0.83 ³⁾	0.25 ± 0.08 ²⁾

注:与正常组相比¹⁾ $P < 0.01$;与模型组相比²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 2~5 同)。

表 2 胆木叶片对氨水诱导急性咽炎大鼠咽部黏膜组织病理学影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of leaves of *N. officinalis* tablet on pharyngeal tissue pathology in rats with spraying ammonia water ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	炎细胞浸润				溃疡形成		黏膜鳞状上皮增生/分			病变评分/分
		-	+	++	+++	-	+	+	++	+++	
正常	-	7	2	1	0	10	0	8	2	0	1.60 ± 1.07
模型	-	0	3	3	4	7	3	3	4	3	4.40 ± 2.06 ¹⁾
阿司匹林	0.2	2	4	2	2	8	2	3	6	1	3.40 ± 2.00
胆木叶片	25.8	2	2	4	2	10	0	6	4	0	3.00 ± 1.49
	12.9	3	3	4	0	10	0	5	5	0	2.60 ± 1.35 ³⁾
	6.5	2	6	2	0	9	1	5	5	0	1.26 ± 0.03 ³⁾



A. 正常组; B. 模型组; C. 阿司匹林 0.20 g·kg⁻¹组; D. 胆木叶 25.8 g·kg⁻¹组; E. 胆木叶 12.9 g·kg⁻¹组; F. 胆木叶 6.5 g·kg⁻¹组

图 1 胆木叶片对氨水诱导的急性咽炎大鼠咽部组织病理变化的影响 (HE, ×100)

Fig. 1 Effect of leaves of *N. officinalis* tablet on pathological changes of pharyngeal tissue in rats with spraying ammonia water (HE, ×100)

3.2 对细菌感染诱导的急性咽炎大鼠模型的影响

3.2.1 对一般状态的影响 造模后第 1 天大鼠逐渐出现活动迟缓,被毛失去光泽,可观察到咽部红肿、受感染黏膜呈现明显红肿或有点状的脓性分泌

3.1.3 对咽炎大鼠咽部组织病理学的影响 正常组大鼠咽喉表面黏膜完整,未见溃疡形成,黏膜下见散在炎症细胞浸润,个别例炎症细胞浸润稍重,黏膜下间质内可见丰富的黏液腺及浆液腺,鳞状上皮分布正常,无明显增生。模型组大鼠咽部组织炎性变化明显,表现为黏膜下弥漫性急性慢性炎症细胞浸润、局部溃疡的形成和鳞状上皮明显增生。胆木叶组,炎细胞浸润程度减轻;咽喉黏膜完整,除小剂量有 1 例其余组未见溃疡形成;鳞状上皮不同程度增生。阿司匹林组有 2 例咽喉黏膜破溃,形成溃疡,其余未见溃疡形成,黏膜下可见急性慢性炎症细胞浸润,鳞状上皮不同程度增生。见表 2,图 1。

物等现象,第 2 天症状较明显;正常组未出现上述情况。给药后大鼠症状有所改善;模型组大鼠精神状态欠佳、咽部红肿症状无明显改善。

3.2.2 对咽炎大鼠血清 NO, MPO 含量的影响 与正常组比较,模型组血清 NO, MPO 含量明显升高 ($P < 0.01$)。给药后,与模型组比较,胆木叶片高、中剂量组及阿司匹林组血清 NO, MPO 含量明显降低 ($P < 0.01, P < 0.05$),见表 3。

表 3 胆木叶片对细菌感染诱导急性咽炎大鼠血清 NO, MPO 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3 Effect of leavels of *N. officinalis* tablet on NO, MPO content in serum of rats with bacterial infection ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NO/μmol·L ⁻¹	MPO/U·L ⁻¹
正常	-	26.16 ± 3.31	29.50 ± 7.00
模型	-	44.34 ± 4.85 ¹⁾	57.75 ± 17.62 ¹⁾
阿司匹林	0.2	28.99 ± 5.17 ³⁾	31.29 ± 6.72 ³⁾
胆木叶片	25.8	26.06 ± 3.31 ³⁾	38.80 ± 8.39 ²⁾
	12.9	35.66 ± 7.19 ²⁾	38.35 ± 9.60
	6.5	39.49 ± 8.17	42.37 ± 19.73

3.2.3 对咽炎大鼠咽部组织菌落数的影响 与正常组比较,模型组菌落数显著增多($P < 0.01$)。给药后,与模型组比较胆木叶片高、中、低剂量组、阿司匹林组菌落数明显减少($P < 0.01$),见表 4。

表 4 胆木叶片对细菌感染急性咽炎大鼠咽部组织菌落数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 4 Effect of leaves of *N. officinalis* tablet on number of bacterial colonies in pharyngeal tissue of rats with bacterial infection ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	菌落数/个	抑制率/%
正常	-	5.5 ± 5.8	-
模型	-	253.5 ± 34.1 ¹⁾	-
阿司匹林	0.2	13.5 ± 4.9 ³⁾	96.79
胆木叶片	25.8	6.6 ± 6.9 ³⁾	99.54
	12.9	42.8 ± 18.8 ³⁾	84.95
	6.5	105.0 ± 18.9 ³⁾	59.88

3.2.4 对咽炎大鼠体温的影响 造模前,各组大鼠体温无显著性差异;造模后,与正常组比较,模型组大鼠体温升高($P < 0.01$);给药后,与模型组比较,胆木叶高、中、低剂量组及阿司匹林组体温显著降低($P < 0.01$)。见表 5。

表 5 胆木叶片对细菌感染诱导急性咽炎大鼠体温的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 5 Effect of leaves of *N. officinalis* tablet on temperature of rats with bacterial infection ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	体温/ $^{\circ}C$		
		初始体温	造模 2 d 后	给药 2 d 后
正常	-	34.56 ± 0.44	34.67 ± 0.50	34.65 ± 0.54
模型	-	34.93 ± 0.84	35.93 ± 0.25 ¹⁾	35.48 ± 0.47 ¹⁾
阿司匹林	0.2	34.99 ± 0.77	35.90 ± 0.41 ¹⁾	34.63 ± 0.42 ²⁾
胆木叶片	25.8	34.80 ± 0.41	35.58 ± 0.42 ¹⁾	34.71 ± 0.48 ³⁾
	12.9	34.98 ± 0.62	35.52 ± 0.52 ¹⁾	34.67 ± 0.56 ³⁾
	6.5	34.67 ± 0.63	35.54 ± 0.53 ¹⁾	34.69 ± 0.40 ³⁾

4 讨论

急性咽炎是临床常见病,多发病,占咽喉部疾病的 7% ~ 17%。另外,该疾病多属于上呼吸道疾病的一部分,有起病急、发展快的特点,如治疗不及时,急性咽炎常反复发作转为慢性,并可引起诸多并发症,使治疗变得困难。

本研究显示,氨水刺激和细菌感染诱导的急性咽炎大鼠精神状态欠佳、被毛失光泽、咽部出现明显红肿症状。给予胆木叶片后,大鼠症状逐渐恢复,改善大鼠的一般状态;同时对体重下降有一定的抵抗作用。金黄色葡萄球菌感染后,激活“产内生致热

源细胞”,产生和释放“内生致热源(EP)”,EP 细胞通过 PEG₂ 或 cAMP 增多使机体发热^[6],给药后,对体温升高有一定的拮抗作用。炎症组织中白细胞浸润是炎症发展的早发事件,活化的白细胞可释放大量的炎性介质触发或放大炎症级联反应,从而间接或直接地引起组织损伤^[7];在急性炎症部位,致炎物和炎症介质可诱导或增加 NO 的合成和释放,并通过增加局部血流,促进水肿的形成,NO 作为炎症介质之一,又可进一步促进炎症级联反应,诱导组织损伤^[8-9]。MPO 是中性粒细胞的功能和激活标志,含量的增高可反映中性粒细胞在某一组织中的增高,间接反应局部组织炎症^[10],给药后,大鼠咽部组织及血清的 NO, MPO 含量明显降低,提示胆木叶片对大鼠局部或全身性炎症反应有一定抑制作用。同时,给药后,咽部组织病理变化形态学有所减轻,表现为炎细胞浸润程度减轻;咽喉黏膜完整,未见溃疡形成;鳞状上皮不同程度增生等,提示胆木叶片对大鼠咽炎病理改变有改善作用;胆木叶片对大鼠咽部组织细菌的生长也有明显的抑制作用。综上所述,胆木叶片具有明显抑制大鼠急性咽炎的作用,为胆木叶片用于急性咽炎的治疗提供药理学依据。

[参考文献]

[1] 《中华本草》编委会,中国中医药管理局. 中华本草[M]. 上海:上海科技出版社,1999:456.

[2] 唐菲,王豪,骆辉,等. 胆木叶的抗炎镇痛作用研究[J]. 中国医药导刊, 2009,11(7):1191-1192.

[3] 曹亮,李娜,姜雅琼,等. 胆木叶提取部位群的抗炎镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24): 124-127.

[4] 封银曼,王停,高志卿,等. 急性咽炎动物模型研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(3):52-55.

[5] 梁璐,朴晋华,高天红,等. 注射用炎琥宁对实验性急性咽炎动物模型的疗效与作用机制研究[J]. 药物评价研究, 2012,35(3):165-168.

[6] 熊薇. 热感清颗粒药效学的实验研究[D]. 长春:吉林大学, 2006.

[7] 徐兴祥. 炎症过程中白细胞募集的分子机制[J]. 国外医学:呼吸系统分册, 2001, 21(1):13-15.

[8] 张银中. 一氧化氮在炎症反应中的作用[J]. 国外医学:麻醉学与复苏分册, 1997,18(1):1-4.

[9] 蒋波,楚正绪. 一氧化氮与炎症[J]. 国外医学:生理、病理科学与临床分册, 1998, 18(1):44-47.

[10] 李惠,包宗明. 髓过氧化物酶及其多态性与冠状动脉疾病的研究进展[J]. 中国心血管病研究杂志, 2007, 5(1):70-72.

[责任编辑 聂淑琴]