

咽舒宁颗粒祛痰镇痛及抑菌作用

罗友华*, 杨辉, 黄亦琦, 黄恺飞, 曾伟成, 许光辉

(厦门市医药研究所厦门市天然药物研究与开发重点实验室, 福建 厦门 361008)

[摘要] **目的:**观察咽舒宁颗粒的祛痰、镇痛、抑菌等药效。**方法:**将小鼠随机分为对照、阳性药和咽舒宁颗粒高、中、低剂量组(11.00, 5.50, 2.75 g·kg⁻¹), ig 7 d, 采用小鼠气管酚红排泄实验观察其祛痰作用, 小鼠热板实验和醋酸扭体实验观察其镇痛作用, 采用体外抗菌实验观察其对相关细菌的抑菌作用。**结果:**咽舒宁颗粒可增加小鼠离体气管酚红排泄量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 提高热板所致小鼠的痛阈值($P < 0.05$); 对抗醋酸所致小鼠扭体次数增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 对金黄色葡萄球菌[最小抑菌浓度(MIC) 0.250 g·mL⁻¹, 最小杀菌浓度(MBC) 0.500 g·mL⁻¹]、甲型溶血性链球菌(MIC 0.062 g·mL⁻¹, MBC 0.250 g·mL⁻¹)、乙型溶血性链球菌(MIC 0.031 g·mL⁻¹, MBC 0.062 g·mL⁻¹)、变形杆菌(MIC 0.125 g·mL⁻¹, MBC 0.250 g·mL⁻¹)、肺炎链球菌(MIC 0.125 g·mL⁻¹, MBC 0.500 g·mL⁻¹)有较强的体外抑菌作用。**结论:**咽舒宁颗粒具有明显的祛痰、镇痛和抑菌作用。

[关键词] 咽舒宁颗粒; 药效学; 祛痰; 镇痛; 抑菌

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0287-04

Expectorant, Analgesic and Antibacterial Effects of Yanshuning Granules

LUO You-hua*, YANG Hui, HUANG Yi-qi, HUANG Kai-fei, ZENG Wei-cheng, XU Guang-hui
(Xiamen Medicine Institute, Xiamen Natural Medicine Research
and Development Key Laboratorie, Xiamen 361008, China)

[Abstract] **Objective:** To study the expectorant, analgesic and antibacterial effects of Yanshuning granules. **Method:** Mice were divided into 6 groups randomly: normal control group, positive groups, high dose group, middle dose group and low dose group of Yanshuning granules (11.00, 5.50, 2.75 g·kg⁻¹), after 7 d by ig administration, the expectorant effect was studied by a mouse model of phenol red test. The analgesic effect was studied by mouse models of hot-plate induced pain and acetic acid-induced writhing reaction. Experimental research on antibacterial action *in vitro* of Yanshuning granules was applied to observe the antibacterial effect. **Result:** The experimental results showed that Yanshuning granules could significantly increase phenol red excretion in mice ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). It could significantly prolong the latent time of reaction on hot-plate in mice ($P < 0.05$), reduce the writhing times in mice ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The granules showed obvious antibacterial actions against *Staphylococcus aureus* [minimal inhibitory concentration (MIC) is 0.250 g·mL⁻¹, minimal bactericidal concentration (MBC) is 0.500 g·mL⁻¹], *A-hemolytic streptococcus* (MIC is 0.062 g·mL⁻¹, MBC is 0.250 g·mL⁻¹), *Beta hemolytic streptococcus* (MIC is 0.031 g·mL⁻¹, MBC is 0.062 g·mL⁻¹), *Proteus* (MIC is 0.125 g·mL⁻¹, MBC is 0.250 g·mL⁻¹) and *Streptococcus pneumoniae* (MIC is 0.125 g·mL⁻¹, MBC is 0.500 g·mL⁻¹). **Conclusion:** The granules has obvious expectorant, analgesic and antibacterial effects.

[Key words] Yanshuning granules; pharmacodynamics; expectorant effect; analgesic effect; antibacterial effect

[收稿日期] 20120407(002)

[基金项目] 厦门市科技局项目(3502Z20084038);福建省医学创新课题(2012-CXB-40);厦门科技计划指导性项目(ZD2011S0554)

[通讯作者] *罗友华, 硕士, 主任药师, 从事中药新药研究, Tel:0592-2050262, E-mail:youhualuo@163.com

咽炎是临床常见病、多发病,祖国医学统称为“喉痹”,其主要临床表现为咽部不适感,如干燥、发痒、灼热、微痛及异物感等。西医大多采用抗生素类药物治疗,而中医药治疗咽炎不良反应少、作用温和持久、具综合治疗作用,因此近年研究更多关注到中医药的治疗。咽舒宁颗粒由板蓝根、玄参、桔梗、甘草等组成,是由厦门市医药研究所黄亦琦主任医师临床应用多年的验方开发而成的现代中药无糖颗粒,能清热解毒、祛痰利咽,用于咽喉肿痛、口咽干燥以及急、慢性咽喉炎和扁桃体炎见以上证候者的治疗,临床使用疗效良好。本实验研究了咽舒宁颗粒的祛痰、镇痛、抑菌等药效作用,为咽舒宁颗粒的新药开发提供依据,现报导如下。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,雌雄兼用,体重 18~22 g,动物许可证号 SCXK(闽)2004-0001,厦门大学抗癌研究中心提供。

1.2 菌株 金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、甲型溶血性链球菌(ATCC32209)、乙型溶血性链球菌(ATCC32210)、变形杆菌(ATCC49619)、肺炎链球菌(ATCC13315)均购自中国药品生物制品检定所。

1.3 药品与试剂 咽舒宁颗粒,由厦门市医药研究所制剂室提供,批号 070330。板蓝根、玄参、桔梗、甘草等中药饮片购自厦门鹭燕制药有限公司,经厦门市医药研究所杨辉副主任药师鉴定均符合《中国药典》正品要求。健民咽喉片,武汉健民药业集团股份有限公司,批号 0609169。板蓝根颗粒,广州白云山和记黄埔中药有限公司,批号 J8F045。阿司匹林肠溶片,亚宝药业太原制药有限公司,批号 061002。氯化氨(分析纯),批号 0702031;冰醋酸(分析纯),批号 061109;苯酚红,批号 060513,均购自汕头市西陇化工厂有限公司。M-H 肉汤,青岛海博生物技术有限公司,批号 061225。琼脂粉,北京奥博星生物技术有限公司,批号 070214。琼脂培养基,北京陆桥技术有限责任公司,批号 070219。血平板:厦门中讯达有限公司,批号 070326。

1.4 仪器 UV-2501PC 型紫外分光光度计(日本岛津公司),BP-211D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司),GZX-9146MBE 型电热恒温鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司),ZH-2 型自动漩涡混合器(天津药典标准仪器厂),YLS-6B 型智能热板仪(山东省医学科学研究所),SW-CJ-2F 型洁净工作台、BHG-1000-II-B2 型生物安全柜(苏净集团苏州安泰空气技术有限公司),WGZ-2-XJ 型细菌浊

度计(上海昕瑞仪器仪表有限公司)。

2 方法

2.1 祛痰试验(对小鼠气管酚红分泌量的影响)

2.1.1 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),以 A 对酚红含量 C 回归,得回归方程 $A = 0.0331 + 0.1653C$, $r = 0.9997$ 。

2.1.2 对小鼠气管酚红分泌量的影响 小鼠 60 只,雌雄各半,按体重分层随机分为 6 组,每组 10 只,分别是对照组、氯化铵组、健民咽喉片组、咽舒宁颗粒高、中、低剂量组(浓度按生药量计依次为 0.55,0.28,0.14 g·mL⁻¹,分别相当于临床用药 20,10,5 倍)。每天灌胃 1 次,给药体积为 20 mL·kg⁻¹,连续 7 d,末次灌胃 30 min 后,腹腔注射 2.5% 的苯酚红溶液 10 mL·kg⁻¹ 体重,0.5 h 后处死小鼠,解剖取出小鼠的气管,放入试管中,再在试管中加入 2 mL 生理盐水和 0.1 mL 的 1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液,振荡 1 min 后,避光放置 0.5 h,3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 后取上清液用分光光度计于 552 nm 处测定吸光度(A),按上述酚红标准曲线计算酚红量^[1]。

2.2 镇痛试验

2.2.1 对热板引起小鼠疼痛的影响 雌性小鼠,分组前先进行筛选,调节小鼠热板测痛仪,使温度保持在(55±0.5)℃,每次取一只小鼠,放入测痛仪内,记录自放入到出现舔后足所需的时间(s)作为该鼠的基础痛阈值(下同)。凡<5 s 或>30 s 出现舔后足者以及喜跳跃者,一律弃去不用。取舔后足时间为 5~30 s 的合格小鼠,按给药前痛阈值分层,随机分为 6 组,每组 10 只,分别是对照组、阿司匹林组、健民咽喉片组、咽舒宁颗粒高、中、低剂量组。标记,重测痛阈值两次,取平均值作为该鼠给药前的痛阈值。每天灌胃 1 次(给药浓度和体积同 2.1.2 项),连续 7 d。末次灌胃后分别在 60,120,180 min 测定各小鼠痛阈值。若小鼠在测痛仪 60 s 仍无痛觉反应,应取出按 60 s 计,以免烫伤小鼠。记录用药前后各组小鼠痛阈值,比较各组痛阈值的变化^[2]。

2.2.2 对醋酸致小鼠扭体反应的影响 小鼠 60 只,按体重随机分为 6 组,分组情况同 2.2.1。每天灌胃 1 次(给药浓度和体积同 2.1.2 项),连续 7 d。末次灌胃后 60 min,各鼠腹腔注射 0.6% 醋酸溶液(10 mL·kg⁻¹ 体重)。观察并记录注射醋酸后 15 min 内小鼠出现扭体反应的次数,进行组间差异性比较,并按公式[镇痛率(%)=(对照组扭体次数均值-给药组扭体次数均值)/对照组扭体次数均值

×100%]计算各组药物镇痛百分率^[2]。

2.3 抑菌试验

2.3.1 最低抑菌浓度(MIC)的测定 取无菌试管12支,排成1排,除第1管加入1.5 mL MH肉汤外,其余每管加入MH肉汤1 mL,在第1管加入咽舒宁颗粒原液0.4 mL(浓度按生药量计为5 g·mL⁻¹,pH 6.5)混匀,然后吸取1 mL至第2管,混匀后再吸取1 mL至第3管,如此连续倍比稀释至第10管,并从第10管中吸取1 mL弃去,第11管为不含药物的生长对照,第12管为不含药物和菌的空白对照。然后在1~11管每管内分别加入已标化的实验菌液各0.1 mL。将接种好的稀释管塞好塞子,置37℃普通空气培养箱培养24 h后观察空白对照,以确定其是否污染,同时肉眼观察,以无细菌生长的药物最低浓度管为受试菌的MIC^[3]。

2.3.2 最低杀菌浓度(MBC)的测定 测出MIC后,在未见细菌生长各管的培养物涡旋混匀后,分别吸取培养物0.1 mL涂布于普通平板或血平板上,37℃再培养18 h,用活菌计数法检查平皿上菌落,平均数小于5个的最小稀释度的药物浓度即为MBC^[3]。

2.4 统计方法 采用《中国医学百科全书·医学统计学》统计软件包(第三版)(PEMS3.1)进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为有统计意义。

表2 咽舒宁颗粒对热板引起小鼠疼痛反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	给药前痛阈 /s	给药后痛阈/s		
			60 min	120 min	180 min
对照	-	15.23 ± 5.81	14.75 ± 7.08	13.34 ± 4.79	14.72 ± 4.25
咽舒宁颗粒	11.00	15.94 ± 4.78	21.41 ± 7.85	21.64 ± 5.98 ¹⁾	22.37 ± 6.37 ¹⁾
	5.50	14.96 ± 3.83	23.69 ± 7.40 ¹⁾	22.61 ± 7.57 ¹⁾	22.31 ± 5.93 ¹⁾
	2.75	15.63 ± 6.08	19.90 ± 5.62	19.12 ± 4.97	19.10 ± 5.06
阿司匹林片	0.20	16.63 ± 2.95	25.78 ± 6.40 ¹⁾	22.95 ± 9.49 ¹⁾	23.36 ± 4.09 ¹⁾
健民咽喉片	3.67	15.84 ± 7.50	20.43 ± 7.37	21.02 ± 6.61 ¹⁾	21.09 ± 8.41

3.2.2 对醋酸致小鼠扭体反应的影响 表3表明,各给药组小鼠15 min内扭体次数与对照组比较,咽舒宁颗粒高剂组和阿司匹林组均有非常显著性差异($P < 0.01$),咽舒宁颗粒中、低剂组和健民咽喉片组均有显著性差异($P < 0.05$),说明咽舒宁颗粒能明显抑制醋酸引起的小鼠扭体反应,对化学性刺激有一定的镇痛作用。

3.3 体外抑菌作用 最低抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)的测定结果见表4。由表4可见:咽舒宁颗粒对5种常见咽炎致病菌均有抑制作用,

3 结果

3.1 祛痰作用 表1提示各给药组小鼠气管酚红分泌量与对照组比较,咽舒宁颗粒高剂组、氯化铵组和健民咽喉片组均有非常显著差异($P < 0.01$),咽舒宁颗粒中、低剂组有显著差异($P < 0.05$),高、中、低3个剂量组的效果存在一定的剂量依赖性关系。说明咽舒宁颗粒能促进小鼠气管酚红分泌量,具有稀释痰液,起到祛痰的效果。

表1 咽舒宁颗粒对小鼠气管酚红分泌量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	酚红浓度/μg·mL ⁻¹
对照	-	0.38 ± 0.11
咽舒宁颗粒	11.00	0.80 ± 0.17 ²⁾
	5.50	0.51 ± 0.12 ¹⁾
	2.75	0.50 ± 0.11 ¹⁾
氯化铵	1.0	0.89 ± 0.16 ²⁾
健民咽喉片	3.67	0.71 ± 0.16 ²⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表2,3同)。

3.2 镇痛作用

3.2.1 对热板引起小鼠疼痛反应的影响 表2显示,各给药组小鼠痛域值与对照组比较,咽舒宁颗粒高剂组(120,180 min)、中剂组和阿司匹林片组(60,120,180 min)、健民咽喉片组120 min均有显著性差异($P < 0.05$),说明咽舒宁颗粒能抑制热板法致小鼠足痛,对热刺激有一定的镇痛作用。

表3 咽舒宁颗粒对醋酸致小鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	15 min内扭体数	抑制率
		/次	/%
对照	-	29.40 ± 8.34	-
咽舒宁颗粒	11.00	10.00 ± 6.24 ²⁾	65.99
	5.50	19.20 ± 6.44 ¹⁾	34.69
	2.75	23.63 ± 6.63 ¹⁾	19.63
阿司匹林片	0.20	8.00 ± 3.27 ²⁾	72.79
健民咽喉片	3.67	20.40 ± 8.83 ¹⁾	30.61

抑菌效果比板蓝根颗粒强。

表 4 咽舒宁颗粒对 5 种咽炎致病菌的影响

药物	标准菌株	MIC/g·mL ⁻¹	MBC/g·mL ⁻¹
咽舒宁颗粒	金黄色葡萄球菌(ATCC25923)	0.250	0.500
	甲型溶血性链球菌(ATCC32209)	0.062	0.250
	乙型溶血性链球菌(ATCC32210)	0.031	0.062
	变形杆菌(ATCC49619)	0.125	0.250
	肺炎链球菌(ATCC13315)	0.125	0.500
板蓝根颗粒	金黄色葡萄球菌(ATCC25923)	0.500	1.000
	甲型溶血性链球菌(ATCC32209)	0.125	0.500
	乙型溶血性链球菌(ATCC32210)	0.125	0.500
	变形杆菌(ATCC49619)	0.250	0.500
	肺炎链球菌(ATCC13315)	0.250	1.000

4 讨论

中药抗菌力度不如抗生素强,但关于细菌或病毒感染性咽炎的治疗,中医有多种方法,清热解毒、抗菌抑菌是其中的 1 个方法,驱邪外出也是其他 4 个重要方法之一^[3]。本研究表明,咽舒宁颗粒能显著增加小鼠气管酚红排泄量,使小鼠呼吸道分泌液增加,这与其中桔梗^[4]、甘草^[5]的祛痰功效及它们的协同作用^[6]有关。其作用机制可能是对咽部黏膜的直接刺激反射性地引起呼吸道分泌亢进,从而使痰液稀释、易于排出。因此,咽舒宁颗粒能使咽部病原体通过咯痰而直接排出体外,达到治疗咽炎的效果^[4]。

本试验显示,咽舒宁颗粒对金黄色葡萄球菌、甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌、变形杆菌、肺炎链球菌等咽炎致病菌有一定的抑制作用,抑菌效果比板蓝根单方颗粒强,这与咽舒宁颗粒中板蓝根^[7-8]、玄参^[9]、甘草^[10]等的抑菌报道相近。本试验还可见,咽舒宁颗粒对小鼠热刺激疼痛模型(热板法)和化学刺激疼痛模型(醋酸扭体法)均有镇痛作用,这与咽舒宁颗粒中玄参^[11]等的镇痛作用相关。

综上所述,咽舒宁颗粒具有明显的祛痰、镇痛和抑菌作用,为咽舒宁颗粒治疗急慢性咽炎提供了部分药效学实验依据。有关咽舒宁颗粒治疗咽炎的抗炎药效作用另文发表,其治疗咽炎的抗病毒、免疫等作用机制有待进一步研究。

【致谢】福建中医药大学药学院吴符火教授及本科实习生潘秀铭、陈丽雅、陈婉蓉的帮助。

【参考文献】

[1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 642.

[2] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学. 3 版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 882, 1657.

[3] 沈丕安. 中药药理与临床运用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 551, 698.

[4] 梁仲远. 桔梗水提液的镇咳祛痰作用研究[J]. 中国药房, 2011, 35(22): 3291.

[5] 俞腾飞, 田向东, 李仁, 等. 甘草黄酮、甘草浸膏及甘草次酸的镇咳祛痰作用[J]. 中成药, 1993, 15(3): 32.

[6] 刘彬, 齐云, 宋杨, 等. 甘草皂苷与桔梗皂苷合用的时间协同研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(4): 28.

[7] 陈凯, 窦月, 陈智, 等. 板蓝根抗病毒与抗内毒素等清热解毒药效作用及化学基础研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 275.

[8] 孙静, 宋光明, 李玲, 等. 板蓝根提取物体内外抑菌作用研究[J]. 武警医学, 2011, 22(5): 412.

[9] 张洪利, 刘瑶, 成金乐, 等. 玄参破壁粉粒体内抗菌实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 178.

[10] 丁长玲, 邱世翠, 宫照龙, 等. 甘草的体外抑菌作用研究[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(9): 518.

[11] 王琿, 陈平, 张丽萍, 等. 玄参总色素提取物抗炎镇痛活性的研究[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(17): 1456.

【责任编辑 李玉洁】