

冰硼膜治疗口腔溃疡的实验研究

朱婉萍*, 黄飞华, 孔繁智, 章辰芳
(浙江省中医药研究院, 浙江 杭州 310007)

[摘要] 目的: 观察冰硼膜治疗口腔溃疡的主要药理作用。方法: 采用临床常见病原菌进行冰硼膜体外抑菌试验; 采用小鼠腹腔注射醋酸, 观察冰硼膜对毛细血管通透性的作用; 用二甲苯使小鼠耳廓肿胀, 观察抗肿胀作用; 采取家兔口唇黏膜涂抹碘酚溶液和家兔口腔黏膜组织匀浆作为抗原致敏动物的方法, 造成家兔口腔溃疡模型 I 和模型 II, 观察对口腔溃疡愈合的作用; 用小鼠热板法观察镇痛作用。结果: 冰硼膜能有效抑制体外病原菌, 显著抑制小鼠腹腔毛细血管通透性; 缓解二甲苯所致小鼠耳廓肿胀; 促进家兔口腔溃疡愈合; 提高小鼠痛阈。结论: 冰硼膜具有抑菌、杀菌、镇痛、抗肿胀及促使口腔溃疡愈合等作用。

[关键词] 冰硼膜; 口腔溃疡; 药效学研究

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)03-0062-03

Studies on the Curative Effects of Bingpeng Mo on Mouth Ulcer

ZHU Wan-ping*, HUANG Fei-hua, KONG Fan-zhi, ZHANG Chenfang
(Zhejiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang Hangzhou 310007)

[Abstract] **Objective:** To observe the curative effects of Bingpeng Mo on mouth ulcer. **Methods:** The inhibition tests of Bingpeng Mo against clinical pathogenic bacteria were done in vitro. The mice were injected intraperitoneally with acetic acid to observe Bingpeng Mo effects on the permeability of capillary vessels. The swelling ear modle of mouse was established by using xylene to study Bingpeng Mo effect of anti-swelling. The rabbit mouth ulcer model I and modle II were set up by smearing iodine-phenol solution onto lips and injecting the tissue homogenate of mouth mucosa as an allergen, respectively, and the functions of Bingpeng Mo on mouth ulcer were studied. The analgesic effects of Bingpeng Mo was also tested by hot plate method in mice. **Results:** Bingpeng Mo could effective inhibit the growing of pathogenic bacteria in vitro and inhibit the permeability of capillary vessels of mice. It could notability restrain the swelling of mice ear, accelerate rabbit's mouth ulcer healing and increase the pain threshold in mice. **Conclusions:** Bingpeng Mo have the good fuctions of bacteriostatic and bactericidal action, easing pain, anti-swelling and improving mouth ulcer.

[Key words] Bingpeng Mo; mouth ulcer; pharmacodynamical research

口腔黏膜溃疡是口腔常见疾病之一, 人群发病率为 10%~17%, 特定人群发病率高达 60%, 我院应用海洋生物提取壳聚糖为成膜辅料, 结合中医治疗口疮(口腔溃疡)的中药名方冰硼散(硼沙、冰片、朱砂、玄明粉)研制而成口腔溃疡贴膜新剂型——冰

硼膜。本文对冰硼膜体外抑菌, 动物口腔溃疡的愈合, 镇痛等方面做了初步探讨, 为临床用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 冰硼膜液(含冰硼散 10 mg/mL 的壳聚糖液, 组成为硼沙、玄明粉、朱砂、冰片, 其比例为 1:1:0.1:0.1), 批号: 980806, 冰硼膜(大小为 1.5 × 1.5 cm², 含冰硼散 0.5 mg/cm²), 批号: 98080, 浙江省中医药研究院提供。基本制备工艺为朱砂、硼砂粉碎成

[收稿日期] 2006-11-02

[通讯作者] * 朱婉萍, Tel: (0571) 88849087; E-mail: zhwanp@163.com

细粉后与玄明粉混匀,与冰片加乙醇的1%乙醇溶液及壳聚糖液混合,制膜,成片。对照用药冰硼散,批号:980504,浙江东方制药有限公司生产。银黄口服液,批号:00032822,杭州洁康药业有限公司。巴米尔(乙酰水杨酸水溶片),批号:9712031,阿斯特拉制药有限公司。

1.2 培养基 营养肉汤,批号:960213,中国药品生物制品检定所。营养琼脂,批号:970116,中国药品生物制品检定所。

1.3 菌株 金黄色葡萄球菌,ATCC 25925 中国药品生物制品检定所。大肠杆菌,ATCC 25922 中国药品生物制品检定所。乙型溶血性链球菌、白色念球菌、流感杆菌均为浙江大学医学院微生物教研室保存菌种。

1.4 动物 健康家兔50只(日本大耳白),2.0~3.2 kg,雌雄各半,浙江省中医药研究院动物房提供,合格证号:22-9601009;昆明种小鼠,雌性,健康,浙江省中医药研究院动物房提供,合格证号:22-9601017。

1.5 抗炎抑菌实验 采取临床4种40株常见菌。采用标准试管2倍稀释法测定:冰硼膜液(含生药10 mg/mL)、银黄口服液用含血清营养汤2倍稀释,并将各稀释液分别置于试管中,后加入菌液混匀,置(37±1)℃培养18 h后。观察试管细菌生长情况,确定最小抑菌浓度(MIC)。接种菌株于培养皿观察细菌生长情况确定最小杀菌浓度(MBC)。设银黄口服液作对照。

1.6 对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 取健康昆明种小鼠50只,18~22 g,按体重、性别分成5组,10只/组,雌雄各半,分别为冰硼膜(200,100,50 mg(生药)/kg)、冰硼散(100 mg(生药)/kg)、空白膜液组。口服灌胃给药容积均为0.2 mL/10 g。给药0.5 h后腹腔注射0.6% HAc 0.2 mL/只,30 min后小鼠尾静脉注射0.5%伊文思蓝0.1 mL/只,20 min后用生理盐水6.0 mL充分冲洗腹腔,合并冲洗液

3 000 r/min离心15 min,取上清液在590 nm处测吸光度(A),计算渗出抑制率。

1.7 对小鼠耳肿胀的影响 小鼠60只,雌雄各半,体重25~28 g,分为6组,分别为含生药10 mg/mL的冰硼膜液(20 mL/kg、10 mL/kg、5 mL/kg)、银黄口服液、巴米尔(100 mg/kg)、空白组。口服灌胃,给药容积均为0.2 mL/10 g。连续灌胃3 d(1 d/次),末次给药1 h后于小鼠左耳涂二甲苯20 μL只,30 min后处死动物,以直径7 mm的打孔器打下小鼠左右两侧同部位的耳片,精密称重,计算肿胀度和肿胀抑制率。

1.8 冰硼膜对家兔口腔溃疡的愈合试验 取健康家兔56只,雌雄各半,在家兔口唇黏膜涂抹碘酚溶液和家兔口腔黏膜组织匀浆作为抗原免疫动物的方法,造成家兔口腔溃疡模型I和模型II。两模型动物各28只,将出现口腔溃疡的家兔模型I和模型II分成4组,每组7只,模型对照组,冰硼膜1组(低浓度0.5 mg/cm²)、冰硼膜2组(高浓度1.0 mg/cm²)、冰硼散组,以上各组每天均用药3次,贴于溃疡部位。直至各组模型兔口腔溃疡愈合为止。统计各用药组的溃疡愈合天数。

1.9 镇痛试验 取适量小鼠,分别置于加热到55℃的金属板上,以舔后足为观察指标,记录从小鼠放入到开始舔后足的时间,作为疼痛潜伏时间,挑选疼痛潜伏时间在5~30 s内的小鼠50只,均匀分成5组,每组10只。分别为冰硼膜(2,1,0.5 mg生药)、冰硼散(1 mg生药)、空白膜液组。脚底外涂给药,给药体积为每脚0.2 mL,在给药前分别测试各鼠疼痛潜伏时间,重复2次,取其平均值。测试各组小鼠涂药后5,30,60 min的疼痛潜伏时间。计算疼痛抑制率。

2 结果

2.1 冰硼膜体外抑菌试验 结果见表1,冰硼膜液对金黄色葡萄球菌、流感杆菌等有较好的抑制和杀灭作用。

表1 冰硼膜体外抑菌试验结果(液体试管法)

| 细菌名称 | 菌株数 (株) | 冰硼膜液 | | 银黄口服液 | |
|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | MIC(mg/mL) | MBC(mg/mL) | MIC(mg/mL) | MBC(mg/mL) |
| 金黄色葡萄球菌 | 15 | 0.018~0.142 | 0.142~0.285 | 0.036~0.285 | 0.142~0.570 |
| 流感杆菌 | 3 | 0.018~0.142 | 0.142~0.285 | 0.142~0.570 | 0.570~1.140 |
| 肺炎链球菌 | 10 | 0.018~0.071 | 0.071~0.142 | 0.142~0.570 | 0.570~1.140 |
| 溶血性链球菌(甲型) | 6 | 0.018~0.071 | 0.071~0.142 | 0.071~0.570 | 0.071~1.140 |
| 溶血性链球菌(乙型) | 6 | 0.018~0.071 | 0.071~0.142 | 0.036~0.285 | 0.071~1.140 |

2.2 冰硼膜对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响结果见表 2。

表 2 冰硼膜对醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增加的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量(mg 生药/kg) | 吸收度(A) | 抑制率(%) |
|------|--------------|-----------------------------|--------|
| 空白膜液 | — | 0.289 ± 0.179 | — |
| 冰硼膜 | 200 | 0.144 ± 0.045 ¹⁾ | 50.2 |
| | 100 | 0.161 ± 0.060 ¹⁾ | 44.3 |
| | 50 | 0.335 ± 0.133 | |
| 冰硼散 | 100 | 0.154 ± 0.056 ¹⁾ | 46.7 |

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。(下同)

2.3 冰硼膜对二甲苯致小鼠耳肿胀的抑制作用结果见表 3。

表 3 冰硼膜对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量(mL/kg) | 肿胀度(mg) | 抑制率(%) |
|-----------|-----------|---------------------------|--------|
| 空白 | — | 9.21 ± 2.99 | — |
| 冰硼膜 | 20 | 6.03 ± 1.93 ¹⁾ | 34.5 |
| | 10 | 6.47 ± 2.27 ¹⁾ | 29.8 |
| | 5 | 6.54 ± 2.69 | 29.0 |
| 银黄口服液 | 20 | 6.55 ± 2.16 ¹⁾ | 28.9 |
| 巴米尔(g/kg) | - 0.1 | 5.72 ± 2.23 ²⁾ | 37.9 |

表 6 冰硼膜对热板法致小鼠疼痛反应的影响

| 组别 | 剂量(mg 生药) | 给药前潜伏时间(s) | 15 min | | 30 min | | 60 min | |
|------|-----------|--------------|----------------------------|----------|---------------|----------|-----------------------------|----------|
| | | | 延长时间(s) | 疼痛抑制率(%) | 延长时间(s) | 疼痛抑制率(%) | 延长时间(s) | 疼痛抑制率(%) |
| 空白膜液 | — | 22.22 ± 4.47 | 1.50 ± 3.33 | 6.7 | 1.77 ± 4.87 | 8.0 | 1.42 ± 6.67 | 6.4 |
| 冰硼膜 | 2 | 22.08 ± 4.15 | 12.73 ± 8.00 ²⁾ | 57.7 | 12.28 ± 9.89 | 78.3 | 14.31 ± 10.67 ¹⁾ | 64.8 |
| | 1 | 21.12 ± 3.90 | 11.61 ± 6.33 ²⁾ | 55.0 | 16.38 ± 11.93 | 77.6 | 14.23 ± 12.56 ¹⁾ | 67.4 |
| | 0.5 | 22.10 ± 2.40 | 2.30 ± 4.45 | 10.4 | 2.77 ± 2.18 | 12.5 | 3.92 ± 5.52 | 17.7 |
| 冰硼散 | 1 | 22.89 ± 2.91 | 8.67 ± 5.22 ²⁾ | 37.9 | 5.52 ± 6.60 | 24.1 | 2.35 ± 2.10 | 10.3 |

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

口腔溃疡是口腔黏膜中最常见的疼痛性疾病,中医称“口疮”,心脾积热型为最常见。冰硼膜中冰硼散(硼沙、冰片、朱砂、玄明粉)具有清热解毒、消肿止痛、生肌等功效。以壳聚糖为成膜辅料的冰硼膜具有良好的成膜性及与人体组织的相容性,冰硼膜贴于口腔黏膜的溃疡面上,有保护创面、杀菌、消炎、生肌、促使黏膜修复的作用,膜内药物集中在溃疡面上,缓慢释放,使局部保证有效的药物浓度,又消除了冰硼散使用不便及多数药物不能进入疮面发挥作用的缺点。本试验亦表明,冰硼膜对试验菌有较好的抑菌、杀菌作用;对金黄色葡萄球菌、流感杆菌等

2.4 冰硼膜对家兔口腔溃疡愈合的影响 结果见表 4~ 5。

表 4 冰硼膜对家兔口腔溃疡 I 的药效作用($\bar{x} \pm s, n = 7$)

| 组别 | 剂量(mL/cm ²) | 口腔溃疡愈合用药天数(d) |
|---------|-------------------------|---------------------------|
| 对照组 | — | 7.28 ± 0.48 |
| 冰硼膜 1 组 | 0.5 | 6.14 ± 0.69 ¹⁾ |
| 冰硼膜 2 组 | 1.0 | 6.00 ± 0.57 ¹⁾ |
| 冰硼散组 | 1.0 | 6.57 ± 0.45 ¹⁾ |

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。(下同)

表 5 冰硼膜对家兔口腔溃疡 II 的药效作用($\bar{x} \pm s, n = 7$)

| 组别 | 剂量(mL/cm ²) | 口腔溃疡愈合用药天数(d) |
|---------|-------------------------|--------------------------|
| 对照组 | — | 2.8 ± 0.44 |
| 冰硼膜 1 组 | 0.5 | 2.0 ± 0.35 ¹⁾ |
| 冰硼膜 2 组 | 1.0 | 1.9 ± 0.22 ¹⁾ |
| 冰硼散组 | 1.0 | 2.1 ± 0.55 ¹⁾ |

2.5 冰硼膜对热板法致小鼠疼痛反应的影响 结果见表 6。

有较好的抑制和杀灭作用;能抑制醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透;能降低二甲苯致小鼠耳肿胀度;动物口腔溃疡模型用药时间明显少于散剂组,药效有所提高;外涂给药具有良好的镇痛作用。可见,冰硼膜有着较高的临床实用价值和广泛的市场前景。

[参考文献]

- [1] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京人民卫生出版社, 1982. 513.
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京人民卫生出版社, 1993. 307.