

癃闭欣通颗粒镇痛、抗炎及抗菌作用的实验研究

黄世福^{1*}, 董自波², 杨士友¹, 陈 菡¹, 徐鹏夫¹

(1. 安徽省药物研究所, 安徽 合肥 230022; 2. 鲁南厚普制药有限公司, 山东 临沂 276003)

[摘要] 目的: 观察癃闭欣通颗粒的主要药理作用。方法: 采用醋酸扭体、热板致痛; 二甲苯致耳廓肿胀、棉球肉芽肿、角叉菜胶致足肿胀; 体内、外抑菌等试验方法。结果: 癃闭欣通颗粒可明显对抗醋酸所致小鼠的扭体次数增加, 提高热板所致小鼠的痛阈值; 抑制二甲苯所致小鼠耳廓的肿胀度, 抑制大鼠棉球肉芽肿的增长, 抑制角叉菜胶所致大鼠的足肿胀度, 并可对抗大鼠因角叉菜胶所致足组织及血清中 PGE₂ 的含量的升高和对抗大鼠因角叉菜胶所致足组织中 MDA 含量的升高; 同时具有明显的体内外抑菌作用。结论: 癃闭欣通颗粒具有明显的镇痛、抗炎、抗菌作用。

[关键词] 癃闭欣通颗粒; 镇痛; 抗炎; 抗菌

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)04-0050-05

Experimental Study of Longbi Xintong Granule on the Analgesia, Anti-inflammation and Antimicrobial

HUANG Shifu^{1*}, DONG Zi-bo², YANG Shi-you¹, CHEN Han¹, XU Pengfu¹

(1. Anhui Institution of Pharmacy, Hefei Anhui 230022, China;

2. Lunan Houpu Pharmaceutical Co. Ltd, Linyi Shandong 276003, China)

[Abstract] **Objective:** To observe pharmacological effect of Longbi xintong granule. **Method:** We observed the analgesia effect of the granule by acid induced wristle and hot-plate induced pain in mice. Its anti-inflammatory effect was tested in xylene caused mice ear edema, cotton caused granuloma hyperplasia in rat, and carrageenin caused paw edema in rat. Its antimicrobial effect was tested in vitro and vivo in mice. **Results:** Longbi xintong Granule could significantly reduce the wristle reaction times in mice, prolong the latent time of reaction on hot-plate in mice. It could significantly inhibit the ear edema caused by xylene in mice, granuloma hyperplasia caused by cotton and edema of paws caused by carrageenin in rats. Longbi xintong Granule could significantly reduce the content of PGE₂ in paw tissue and serum, and could significantly reduce the content of MDA in paw tissue in inflammatory rats. It could inhibit capillary permeability and improve the antimicrobial activity in vivo and vitro. **Conclusion:** Longbi xintong Granule has obvious effect on analgesia, anti-inflammation and antibiosis.

[Key words] Longbi Xintong granule; analgesia; anti-inflammation; antimicrobial

癃闭欣通颗粒是根据医院临床验方, 经现代提取工艺研制而成的中药新药。该药由苦参、黄柏等药味组成。具有清热祛湿、活血通络、化瘀行水之功能, 用于治疗慢性前列腺炎。本研究采取多种动物

模型, 观察该品种的药理作用, 为临床合理用药提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠, 皖医动准第 01 号; Wistar 大鼠, 皖医动准第 03 号, 均由安徽省医学科学研究所实验动物中心提供。

1.2 药品及主要试剂 癃闭欣通颗粒, 该药由苦

[收稿日期] 2005-06-14

[通讯作者] 黄世福, Tel: (0551) 3632371, E-mail: huangluo123@sina.com

参、黄柏等药味组成,成人临床日用量为 2.02g/kg (按生药算,以下同),山东鲁南厚普制药有限公司,批号:030515;前列通瘀胶囊,珠海星光制药有限公司生产,批号:030116;角叉菜胶:辽宁省药物研究所分装:丙二醛(malondialdehyde,MDA)测定试剂盒,南京建成生物工程研究所产品,批号:20040112;菌种和菌液制备:所有菌种均来源于安徽中医学院微生物学教研室,金黄色葡萄球菌为标准株 ATCC25923,大肠杆菌为标准菌株 ATCC25922,从中国药品生物制品检定所菌种保存中心购入,其他菌种为从患者身上采集分离获得,并经鉴定确证。

1.3 主要仪器 热板仪、大鼠足爪测量仪,安徽省药物研究所自制;JA1003 型上皿电子天平,上海精科天平厂;UV-240 紫外分光光度计,日本 Shimadzu 公司生产;721 型分光光度计,上海第三分析仪器厂出品;SW-CJ-2FD 双人单面净化工作台,苏州净化设备有限公司制造;SKP-01 电热恒温培养箱,湖北黄石市医疗器械厂。

2 方法

2.1 镇痛作用

2.1.1 对小鼠醋酸所致扭体次数的影响^[1] 取小鼠,随机分组,按表 1 分别灌胃给予 0.2mL/10g 相应供试液,连续 7d,于末次给药后 30min 腹腔注射 0.6% 醋酸 0.2mL/10g,记录注射致痛剂后 15~25min 内各鼠扭体次数。

2.1.2 对小鼠热板所致痛阈值的影响^[1] 取♀性小鼠,随机分组,按表 2 分别灌胃给予 0.2mL/10g 相应供试液,连续 7d,末次给药后 0.5,1.0h 将小鼠放入热板上,用秒表记录小鼠自投入热板至出现舔后足的时间作为该鼠的痛阈值。

2.2 抗炎作用

2.2.1 对小鼠二甲苯所致耳廓肿胀度的影响^[1] 取♂小鼠,随机分组,按表 3 分别灌胃给予 0.2mL/10g 相应供试液,连续 7d,末次给药后 0.5h 每鼠用乙醚麻醉,将二甲苯致炎液涂在小鼠左耳前后两面,每面约 0.025mL,共 0.05mL/每耳,右耳作对照,1h 后,将小鼠断头处死,沿耳廓基线剪下两耳,用 9mm 直径打孔器分别在同一部位打下圆耳片,用扭力天平称重。每鼠的左耳片重量减去右耳片重量即为肿胀程度。

2.2.2 对大鼠棉球肉芽肿的影响^[1] 选用♂大鼠,随机分组,在乙醚浅麻醉无菌条件下作胸部切口,将

已称重的棉球(经高温灭菌,每个棉球再加氨苄青霉素 1mg/0.1mL 适量,50℃烘箱烤干后),植入大鼠两侧腋窝部皮下。手术完待动物清醒后按表 4 剂量分别灌胃给予 1mL/100g 相应供试液,连续 7d,第 8d 将大鼠给完药 1h 后处死,然后剥离并取出棉球肉芽组织。于 60~90℃烘箱内干燥 1h 后称重,减去原棉球重量,即为肉芽肿净重。

2.2.3 对角叉菜胶所致大鼠足肿胀度的影响^[2]

选用♂大鼠,随机分 6 组(其中多出一组只给生理盐水不做足肿胀试验,按下方法取足组织及血清备用),按表 5 连续灌胃给药 7d,第 7d 给药 1h 后,于每只大鼠右后足皮下注射 1% 的角叉菜胶生理盐水溶液 0.1mL 致炎,分别在致炎前和致炎后 1.2.3.4h 用自制足爪容积测量仪测量致炎侧足爪容积,以致炎前后足爪容积差值表示肿胀度。4h 后于股动脉放血处死大鼠,血标本 3000r/min 离心 15min,取上清液于 -20℃冰箱保存待测生化指标。从踝关节 0.5cm 处剪下炎性肿胀足爪,称重,剪碎,加入生理盐水 5mL 浸泡 1h,离心浸泡液,取上清液于 -20℃冰箱保存待测生化指标。

2.2.4 对炎症模型大鼠血清和足爪组织中 PGE₂ 及 MDA 含量的影响^[3] 吸取大鼠足肿胀法项下已配制好的上清液或血清 0.1mL,加 0.5mol/L KOH-甲醇溶液 2mL,在 50℃下异构化 20min,用甲醇稀释至 5mL,278nm 处测定其光密度值。足爪中的 PGE₂ 以每克炎性组织相当的吸收光密度值表示 PGE₂ 的含量,血清中 PGE₂ 以每毫升血清的吸收光密度值表示。吸取大鼠足肿胀法项下已配制好的上清液或血清 0.1mL,严格按照试剂盒步骤进行。MDA 含量计算公式:

$$\text{血清中 MDA 含量(nmol/mL)} = \frac{\text{测定管吸光度} - \text{测定空白管吸光度}}{\text{标准管吸光度} - \text{标准空白管吸光度}} \times \text{标准品浓度} \\ (10\text{nmol/mL}) \times \text{样本稀释倍数}$$

$$\text{组织中 MDA 含量(nmol/mgprot)} = \frac{\text{测定管吸光度} - \text{测定空白管吸光度}}{\text{标准管吸光度} - \text{标准空白管吸光度}} \times \text{标准品浓度} \\ (10\text{nmol/mL}) \div \text{蛋白含量}$$

2.3 抑菌试验^[1,2]

2.3.1 固体培养基抑菌试验 采用管碟法。药物用无菌蒸馏水配制成 1122mg(以生药计)/mL 的浓溶液,阳性对照药前列通瘀胶囊用无菌蒸馏水配制成 500mg(以浸膏计)/mL 的浓溶液,用无菌滴管将药物

加入到牛津杯中,以牛津杯加满为止,阴性对照加无茵生理盐水。细菌 37℃培养 24h,观察抑菌圈直径 (mm)。

2.3.2 最低抑菌浓度(MIC)的测定 取试管,均分 2 组,按每一菌种设一排(11支)试管。将癃闭欣通颗粒和前列通瘀胶囊分别配成 2.805g 生药/mL 和 0.25g 内容物/mL 溶液作为原浓度。用液体培养基按倍比稀释法将受试药物原浓度稀释,在每管 2mL 的药液、培养液混合液中加入菌液 0.1mL(经 37℃培养 6h 的菌液的 1:100 的稀释液),最后一管留作肉汤对照,振摇均匀后放 37℃培养 24h。观察试管的混浊度,以试管澄明作为抑菌阳性管。

2.3.3 对金黄色葡萄球菌所致小鼠死亡率的影响 取小鼠 120 只,随机均分成 6 组。按表 9 分别灌胃给予 0.2mL/10g 相应供试液,每日一次,连续 3d,末次给药后每鼠腹腔注射经过预试后的金黄色葡萄球菌菌液 0.5mL(含菌约 1.5 亿),给药当天同一剂量重复给药二次,继续给药 7d,观察 1w 内小鼠的死亡率。

2.4 结果进行统计学分析 量反应资料进行单侧 *t* 检验,质反应资料进行 χ^2 检验。

3 结果

3.1 镇痛作用

3.1.1 对小鼠因醋酸所致扭体次数的影响 癃闭欣通颗粒可明显对抗因 0.6% 醋酸所致小鼠的扭体次数增加,其中中、大剂量与生理盐水组相比较有显著意义,为 $P < 0.05$ 。见表 1

表 1 对 0.6% 醋酸所致小鼠扭体次数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	扭体次数(次)
生理盐水	0.2mL/10g	17.8 ± 11.2
前列通瘀	1.0	8.8 ± 6.0 ¹⁾
癃闭欣通	10.1	10.6 ± 8.9
癃闭欣通	20.2	7.9 ± 5.5 ¹⁾
癃闭欣通	40.4	7.1 ± 3.7 ¹⁾

注:与生理盐水组比较¹⁾ $P < 0.05$

3.1.2 对小鼠热板所致痛阈值的影响 癃闭欣通颗粒可明显提高因热板所致小鼠的痛阈值,其中在给药后 30min 和 60min 时与生理盐水组相比较有显著意义,中、大剂量分别为 $P < 0.05$ 和 $P < 0.001$ 。提示癃闭欣通颗粒具有一定的镇痛作用。见表 2

3.2 抗炎作用

3.2.1 对小鼠二甲苯所致耳廓肿胀度的影响 给

予癃闭欣通颗粒及前列通瘀胶囊后,小鼠耳廓肿胀度降低,其中中、大剂量组与生理盐水组相比较有显著意义,为 $P < 0.05$,提示癃闭欣通颗粒能减轻二甲苯所致小鼠耳廓的肿胀程度。见表 3

表 2 对小鼠因热板所致痛阈值的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	30min 痛阈值(s)	60min 痛阈值(s)
生理盐水	0.2mL/10g	26.7 ± 7.6	27.2 ± 9.8
前列通瘀	1.0	38.0 ± 9.8 ²⁾	35.1 ± 11.9
癃闭欣通	10.1	36.0 ± 9.6 ¹⁾	33.0 ± 11.5
癃闭欣通	20.2	37.8 ± 10.7 ¹⁾	37.0 ± 7.5 ¹⁾
癃闭欣通	40.4	39.8 ± 6.4 ³⁾	42.5 ± 6.9 ³⁾

注:与生理盐水组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.001$ (下同)

表 3 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	耳廓肿胀度(mg)
生理盐水	0.2mL/10g	11.8 ± 5.1
前列通瘀	1.0	7.1 ± 3.5 ¹⁾
癃闭欣通	10.1	9.0 ± 4.3
癃闭欣通	20.2	7.0 ± 3.0 ¹⁾
癃闭欣通	40.4	6.7 ± 3.4 ¹⁾

3.2.2 对大鼠棉球肉芽肿的影响 癃闭欣通颗粒三剂量及前列通瘀均可明显抑制大鼠棉球肉芽肿的增长,与生理盐水组相比较,有非常显著意义,其中小、中、大剂量组经统计分析分别为 $P < 0.05$, $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 。见表 4

表 4 对大鼠棉球肉芽肿的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(g/kg)	肉芽肿重量(mg)
生理盐水	1.0mL/100g	114.4 ± 18.4
前列通瘀	0.5	92.7 ± 10.1 ¹⁾
癃闭欣通	5.05	97.3 ± 12.1 ¹⁾
癃闭欣通	10.1	93.7 ± 14.5 ¹⁾
癃闭欣通	20.2	86.3 ± 12.4 ²⁾

3.2.3 对角叉菜胶所致大鼠足肿胀度的影响 癃闭欣通颗粒及前列通瘀均可明显抑制大鼠因角叉菜胶所致足肿胀度,与模型组相比较,有非常显著意义,其中中、大剂量组经统计分析分别为 $P < 0.05 \sim P < 0.001$ 。提示癃闭欣通颗粒具有一定的抗炎作用。见表 5

3.2.4 对炎症模型大鼠血清和足爪组织中 PGE₂ 及 MDA 含量的影响 模型大鼠足爪给予角叉菜胶后,足组织及血清中 PGE₂ 及 MDA 的含量升高。癃闭欣通颗粒对足组织 PGE₂、MDA 以及血清中 PGE₂ 含量

的升高有明显的抑制作用($P < 0.05 \sim P < 0.001$), 颗粒具有一定的抗炎作用。见表 6 而对血清中 MDA 含量未见明显影响, 提示癃闭欣通

表 5 对角叉菜胶诱导大鼠足肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(g/kg)	足肿胀度(mL)			
		1h	2h	3h	4h
模型组	1.0mL/100g	0.68 ± 0.37	0.85 ± 0.44	0.86 ± 0.21	0.77 ± 0.29
前列通瘀	0.5	0.33 ± 0.16 ¹⁾	0.47 ± 0.21 ¹⁾	0.52 ± 0.17 ²⁾	0.44 ± 0.20 ¹⁾
癃闭欣通	5.05	0.47 ± 0.20	0.56 ± 0.11	0.74 ± 0.29	0.63 ± 0.33
癃闭欣通	10.1	0.35 ± 0.17 ¹⁾	0.48 ± 0.10 ¹⁾	0.52 ± 0.11 ³⁾	0.50 ± 0.09 ¹⁾
癃闭欣通	20.2	0.38 ± 0.14 ¹⁾	0.48 ± 0.17 ¹⁾	0.55 ± 0.18 ²⁾	0.46 ± 0.11 ¹⁾

注: 与模型组比较: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$ (下同)。

表 6 对炎症大鼠血清和足爪组织中 PGE₂ 及 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(g/kg)	PGE ₂		MDA	
		血清	足爪组织	血清	足爪组织
		(A 值/mL)	(A 值/g 组织)	(nmol/mL)	(nmol/mgprot)
生理盐水	—	0.266 ± 0.022 ¹⁾	0.268 ± 0.045 ³⁾	2.9477 ± 1.1610 ¹⁾	0.7994 ± 0.5130 ²⁾
模型组	—	0.421 ± 0.171	0.647 ± 0.191	4.8479 ± 2.0757	1.6206 ± 0.3745
前列通瘀	0.5	0.300 ± 0.046	0.373 ± 0.225 ¹⁾	4.0332 ± 1.1507	1.0402 ± 0.5985 ¹⁾
癃闭欣通	5.05	0.292 ± 0.020	0.595 ± 0.150	4.5752 ± 0.9027	1.2593 ± 0.7411
癃闭欣通	10.10	0.258 ± 0.038 ¹⁾	0.386 ± 0.265 ¹⁾	4.0717 ± 1.1218	1.0638 ± 0.4927 ¹⁾
癃闭欣通	20.20	0.283 ± 0.042 ¹⁾	0.282 ± 0.072 ³⁾	3.8531 ± 1.8171	0.9991 ± 0.6411 ¹⁾

3.3 抑菌试验

3.3.1 固体培养基抑菌试验 由表 7 结果可见, 癃闭欣通颗粒 1.122g(以生药计)/mL 的浓溶液对肠道等常见的 6 种菌均有一定的抗菌作用, 其抑菌圈的直径在 10~ 17mm 之间。

表 7 对各种细菌抑菌圈直径的测定结果(mm)

细菌	癃闭欣通颗粒	前列通瘀胶囊	生理盐水
金黄色葡萄球菌	13.6 ± 1.1	12.7 ± 1.1	—
白色葡萄球菌	12.8 ± 0.7	13.5 ± 1.0	—
甲副伤寒杆菌	13.0 ± 1.1	11.9 ± 1.1	—
乙副伤寒杆菌	14.6 ± 1.6	12.5 ± 1.3	—
伤寒杆菌	13.3 ± 0.8	12.7 ± 1.0	—
大肠杆菌	14.0 ± 1.1	14.1 ± 1.4	—

3.3.2 最低抑菌浓度(MIC)的测定 从表 8 结果可见, 癃闭欣通颗粒对所试验的 6 种细菌均有抑菌作用, MIC 值从 0.1753~ 0.7013g 生药/mL。

3.3.3 对金黄色葡萄球菌所致小鼠死亡率的影响 由表 9 结果可见, 癃闭欣通颗粒 20.2 40.4g 生药/kg 剂量下对金黄色葡萄球菌引起的小鼠死亡有一定的保护作用。

表 8 癃闭欣通颗粒及前列通瘀胶囊的 MIC 值测定

菌种	癃闭欣通颗粒的 MIC (g 生药/mL)	前列通瘀胶囊的 MIC (g 内容物/mL)
金葡菌	0.7013	0.0625
白葡菌	0.7013	0.0313
甲副伤寒杆菌	0.7013	0.0313
乙副伤寒杆菌	0.3506	0.0625
伤寒杆菌	0.1753	0.0625
大肠杆菌	0.7013	0.0625

表 9 对金黄色葡萄球菌引起的小鼠腹腔感染死亡模型的影响($n = 20$)

药物	剂量 (g 生药/kg)	死亡数(n)				死亡率 (%)
		24h	48h	72h	7d 共死	
空白组	5% 干酵母	1	—	—	1	5.0
生理盐水	0.2mL	15	2	—	17	85.0
前列通瘀	1.0	3	4	2	10	50.0 ¹⁾
癃闭欣通	10.10	8	3	2	13	65.0
癃闭欣通	20.20	3	3	2	9	45.0 ¹⁾
癃闭欣通	40.40	3	4	1	8	40.0 ²⁾

注: 与生理盐水组比较: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

癃闭欣通颗粒是本院临床验方,经现代提取工艺研制而成的中药新药,按国家食药监局 2005 年 5 月颁布的《药品注册管理办法》属中药、天然药物注册分类第 6 类。该药由苦参、黄柏等药味组成。具有清热祛湿、活血通络、化瘀行水之功能,用于治疗慢性前列腺炎。我们的药理学研究结果表明,本品具有镇痛、抗炎、抗菌作用,并可对抗大鼠因角叉菜胶所致足组织及血清中 PGE₂ 的含量的升高和对抗大鼠因角叉菜胶所致足组织中 MDA 的含量的升高,另外本品还具有活血化瘀、利尿及对消痔灵所致实验性前列腺炎模型病理组织学改变有一定的治疗和

预防等药理作用(将发表论文继续讨论),这与中医药治疗慢性前列腺炎理论相一致,为该药的临床应用提供了理论依据。

[参考文献]

- [1] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991. 353, 350, 300, 304, 286-292.
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 364, 259-264.
- [3] 尹艳艳, 明亮, 李前进, 等. 天泉通治疗慢性前列腺炎的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2004, 11(5): 269-271.