

咽乐含片主要药效学实验研究

蔡 鹰*

(中国人民解放军第四五四医院, 江苏 南京 210002)

[摘要] 目的: 咽乐含片药效学研究。方法: 采用大鼠蛋清致足肿胀试验, 二甲苯致小鼠耳廓肿胀试验, 大鼠棉球植入致肉芽肿试验, 小鼠酚红实验, 小鼠被动皮肤过敏反应试验, 体外抑菌试验, 观察咽乐含片的药效作用。结果: 咽乐含片可抑制大鼠足肿胀, 小鼠耳肿胀, 大鼠肉芽肿形成及小鼠被动皮肤过敏反应, 增加小鼠酚红排泄量, 还有体外抑菌作用。结论: 咽乐含片有显著的抗炎, 抗变态反应和抑菌作用。

[关键词] 咽乐含片; 抗炎作用; 抑菌作用; 抗变态反应作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)05-0062-03

咽乐含片是我院开发的治疗急慢性咽炎的新制剂, 由金银花、甘草、桔梗、木蝴蝶、南沙参等八味药组成, 具有清热、养阴、祛痰、利咽功效。经过预试验, 证明其抗炎作用部位在醇提部位, 说明其有效成份为一组极性较大的成分。为进一步验证其药效, 我们用水提醇沉法制得药液, 进行实验研究。

1 实验材料

1.1 试药 金银花、甘草、桔梗、木蝴蝶、南沙参等八味药药材由亳州市中药材公司提供。按配方取药材适量, 第一次加 10 倍量水, 第二、三次加 8 倍量水, 煎煮三次, 每次煎煮 1h, 过滤, 滤液浓缩成 1g 生药/mL 的药液, 加乙醇适量使成含醇量达 70%, 放置过夜, 上清液浓缩至无醇味, 加水稀释至 0.5g 生药/mL 的药液, 备用。

1.2 动物 昆明种小鼠, 体重 20 ± 2 g, SD 大鼠, 140 ~ 160g, 雌雄各半, 由南京中医药大学动物实验中心提供, 合格证号 SYXK(苏)2002-0053。

1.3 二甲苯 上海化学试剂有限公司 AR, 批号 20020715。

2 方法与结果

2.1 大鼠蛋清性足肿胀试验^[1] 选取 SD 大鼠 40 只, 雌雄各半, 体重为 160~180g, 随机分组, 每组 10 只, 灌胃给药 10d, 实验前每鼠左后足踝关节处用记号笔作一清晰横线, 排水法测鼠足体积, 然后灌胃给药, 1h 后每鼠左后足跖皮下注射 10% 鲜鸡蛋清 0.25mL, 分别于 0.5、1、2、3、4、5h 各测鼠足体积 1 次, 计算足肿胀度, 结果见表 1。结果用 SPSS 统计软件处理, 独立样本 *t* 检验。

表 1 咽乐含片对大鼠蛋清性足肿胀的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 g/kg	足肿胀度(mL)					
		0.5h	1h	2h	3h	4h	5h
空白对照组	—	108.3 ± 33.2	118.6 ± 26.9	95.6 ± 27.5	82.6 ± 21.8	71.9 ± 18.1	58.9 ± 18.7
含片组	5	81.8 ± 22.9	85.5 ± 27.6	73.5 ± 20.4	58.6 ± 24.7 ¹⁾	50.2 ± 16.7 ¹⁾	40.8 ± 17.9 ¹⁾
含片组	10	75.6 ± 25.6 ¹⁾	78.6 ± 22.3 ¹⁾	63.5 ± 23.6 ¹⁾	55.0 ± 18.1 ¹⁾	47.7 ± 21.4 ¹⁾	34.6 ± 16.2 ²⁾
阿斯匹林组	0.3	62.6 ± 19.8 ²⁾	74.1 ± 28.5 ²⁾	58.1 ± 18.9 ²⁾	52.9 ± 16.5 ²⁾	42.3 ± 15.6 ²⁾	33.2 ± 12.4 ²⁾

注: 与空白对照组比较 ¹⁾ $P < 0.05$ ²⁾ $P < 0.01$ ³⁾ $P < 0.001$, 下同。

2.2 二甲苯所致小鼠耳廓肿胀试验 取体重 18~22g 小鼠 44 只, 随机分为 4 组, 每组 11 只, 分别按表

所示剂量灌胃给药, 给药 4d, 末次给药后 0.5h, 将二甲苯 50μL 涂于小鼠的右侧耳廓两面, 左侧耳廓作为对照, 致炎 30min 后, 脱颈椎处死小鼠, 剪下耳廓, 用 8mm 打孔器取下耳片称重, 换算成每 10g 体重的耳片重量(mg), 以左右耳片重量之差为指标, 计算各组肿胀度, 肿胀抑制率, 结果见表 2。

[收稿日期] 2006-01-10

[通讯作者] 蔡鹰, Tel: (025) 80865307; E-mail: caiying1967@126.com

表 2 咽乐含片对二甲苯所致小鼠耳廓炎症的影响($\bar{x} \pm s, n=11$)

组别	剂量 (g/kg)	耳肿胀度 (mg/10g)	抑制率 (%)
空白对照组	—	6.8 ± 1.2	
咽乐含片组	5	4.9 ± 0.8 ¹⁾	28
咽乐含片组	10	4.3 ± 0.6 ²⁾	36
阿斯匹林	0.3	3.6 ± 0.9 ³⁾	47

2.3 大鼠棉球植入抑制肉芽肿试验^[1] 取体重 140~160g 健康大鼠 40 只,雌雄各半,随机分为 4 组,每组 10 只,分别按表所示剂量灌胃给药,对照组给同等容量的生理盐水,1 次/d,连续 10d,给药后第 3d,各组动物用乙醚麻醉,腹部用碘酒消毒,酒精脱碘,沿大鼠腹中线切 1cm 小口,持眼科镊将 20mg 的高压灭菌棉球(滴加庆大霉素 0.2mL)从切口处植入一侧腹股沟处,缝合皮肤切口。末次给药后 1h,大鼠乙醚麻醉,打开切口,取出棉球,剔除脂肪,称重,并于 60℃ 烘干,再称重,减去棉球原重量,即得肉芽肿干重和湿重,结果见表 3。

表 3 咽乐含片对大鼠棉球肉芽肿影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	肉芽湿重 (g)	肉芽干重 (g)
空白对照组	—	0.325 ± 0.055	0.142 ± 0.033
含片组	5	0.233 ± 0.029 ¹⁾	0.128 ± 0.023
含片组	10	0.184 ± 0.038 ²⁾	0.094 ± 0.019 ¹⁾
地塞米松组	0.02	0.140 ± 0.024 ²⁾	0.048 ± 0.036 ²⁾

2.4 小鼠酚红实验法^[1] 取体重 18~22g,健康小鼠 40 只,随机分为 4 组,每组 10 只,分别按表所示

表 5 咽乐对小鼠被动皮肤过敏反应的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 g/kg	蓝斑面积 mm ²	抑制率 (%)	光密度值	抑制率 (%)
空白对照组	—	22.80 ± 5.19		0.124 ± 0.075	—
咽乐含片组	5	16.23 ± 5.12 ¹⁾	28.8	0.083 ± 0.041 ¹⁾	33.0
咽乐含片组	10	14.16 ± 4.13 ¹⁾	37.9	0.076 ± 0.032 ¹⁾	38.7
色甘酸钠组	0.025	12.73 ± 3.28 ²⁾	44.2	0.055 ± 0.026 ³⁾	55.6

2.6 抑菌试验^[2] 平板打孔扩散法药敏试验:营养琼脂按说明,溶化高压灭菌,冷却 45℃ 左右倒板,厚度为 4mm,冷却备用。用直径为 6mm 的打孔器打洞,用划线法将细菌接种在平板上,用无菌滴管取制好的药液 0.1mL 加入洞中,每种两孔,盖上盖,放入 35℃ 温箱 24h,观察抑菌圈,计算其抑菌值,结果见表 6。

剂量灌胃给药,实验前禁食 12h,于第 5d 给药后 30min 后注射酚红(1mg/10g),30min 后处死,取下气管,用 NaHCO₃ 溶液冲洗气管,将冲洗液合并,比色,测量气管排出的酚红量的光密度,计算出相应的酚红量(μg),结果见表 4。

表 4 咽乐含片对小鼠气管排泄酚红的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	酚红含量 (μg)
空白对照组	—	0.98 ± 0.35
咽乐含片组	5	1.37 ± 0.84 ¹⁾
咽乐含片组	10	1.56 ± 0.57 ¹⁾
氯化铵组	0.03	1.67 ± 0.98 ²⁾

2.5 小鼠被动皮肤过敏反应^[1]致敏 取小白鼠 6 只,体重 30g 左右,每只小鼠两后脚掌分别注入浓度为 2.4mg/mL 天花粉注射液 0.05mL,同时皮下注射氢氧化铝凝胶 0.1mL,12h 眼眶后取血,离心,取血清混匀冷冻备用。另取小白鼠 40 只,雌雄各半,体重 18~22g,将上述血清用生理盐水按 1:5 稀释后,在每只鼠腹壁皮内注射两个点,每点 0.03mL,48h 后随机分为 4 组,口服给药(色甘酸钠组静脉给药)50min 后,每只鼠静脉注射 0.12% 天花粉注射液(用 1% 伊文思兰-生理盐水配制)24mg/kg。注射后 20min 处死,翻转腹部皮肤,测定每只鼠的蓝斑面积,并取下蓝斑皮片,剪碎,放入含丙酮-生理盐水(7:3)混合液 5mL 试管内浸泡,放置 24h,离心,取上清液,用分光光度计在 λ=610nm 处测定光密度值。结果见表 5。

表 6 咽乐含片的抑菌试验结果(g/mL)

实验菌株	抑菌直径(mm)			
	0.25	0.5	0.75	1.0
金黄色葡萄球菌	—	12	15	18
乙型溶血性链球菌	—	10	13	16

3 讨论

根据治疗慢性咽炎中药的药效学研究规定,以清热解毒,扶正固本,生津润燥作用为主要药效作用,清热解毒以抗炎,抑菌作用为指标,针对慢性咽炎有淋巴组织增生等病理改变,选用大鼠同种被动皮肤过敏反应,生津润燥作用选用小鼠酚红实验法观察所试药物是否能增加痰液量,借以说明其作用。

所用剂量经预试验选择,考虑实验时的时间安排问题,只选择两个剂量。用纸片药敏试验法因滤纸吸药量少未见明显抑菌作用,后改用平板打孔扩散法增加给药量。

该方对多种炎症模型有作用,对引起急慢性咽炎的常见菌种在体外有抑制其生长的作用,慢性咽炎患者具咽部痒感,阵发性干咳等症状及变应原检

测有阳性率高达 50% ~ 60% 的报道,均提示变态反应因素在慢性咽炎发病中具有重要作用,对小鼠被动皮肤过敏反应的试验初步表明了该方有抗变态反应作用。小鼠酚红实验表明该方有生津润燥的作用。咽乐含片能从整体上改善症状,药理实验证明它具有抗炎抑菌和抗变态反应的作用,其具体的作用机理,有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 陈奇. 中药药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 356, 357, 747, 642.
- [2] 赵启越. 26 种中草药抑菌试验观察[J]. 牡丹江医学院学报, 2000, 21(3): 36-37.