

甘桔冰梅片防治咽炎作用研究

唐大轩, 葛麟, 王莉, 王尧, 谭正怀

(四川省中医药科学院 国家中医药管理局中药质量生物学评价重点实验室, 成都 610041)

摘要 目的: 评价甘桔冰梅片防治咽炎相关药效学作用。方法: 利用局部多次涂抹氨水复制大鼠慢性咽炎动物模型, 观察甘桔冰梅片对大鼠慢性咽炎病理学改善作用; 同时还考察了甘桔冰梅片大抗炎以及止咳作用。结果: 甘桔冰梅片 1.33g/kg 2.66g/kg 5.32g/kg 均可减轻氨水致大鼠咽部粘膜慢性充血、炎细胞浸润、纤维结缔组织增生、淋巴滤泡增生以及粘液腺肥大等病理表现, 与模型组比较有统计学意义。甘桔冰梅片还具有延长枸橼酸诱导豚鼠咳嗽的潜伏期、减少氨水诱导小鼠咳嗽的次数, 显著抑制大鼠棉球肉芽增生、减轻角叉菜胶致小鼠足肿胀、减轻二甲苯致小鼠耳肿胀、显著抑制组织胺致大鼠皮肤通透性增高以及 DNFB 致小鼠迟发型超敏反应, 与模型组比较有统计学意义。结论: 甘桔冰梅片可显著减少慢性咽炎模型大鼠的炎细胞浸润, 同时还有止咳、抗炎等作用。为临床合理应用甘桔冰梅片防治咽炎提供了较好的实验依据。

关键词 甘桔冰梅片; 咽炎; 药理作用

慢性咽炎主要为咽黏膜慢性炎症, 为临床上常见病、多发病, 以中年人多见。甘桔冰梅片由桔梗、薄荷、射干等中药组成, 具有疏风清热, 利咽开音功效。用于风热犯肺引起的失音证, 急性慢性咽炎。本文对甘桔冰梅片防治慢性咽炎的药效学进行了系列研究, 现报告如下。

1 材料

1.1 试验药物 甘桔冰梅片药粉: 每克药粉相当于 2.658 克原生药, 由重庆华森制药有限公司提供, 批号为 070828。本实验剂量按原生药 g/kg 体重计算。咽炎片: 批号为 080107, 西安科力药业有限公司生产。醋酸泼尼松片: 5mg/片, 批号为 060266 浙江仙琚制药股份有限公司出品。磷酸可待因片: 30mg/片, 批号为 20080302 北京中顺制药厂出品。以上药物临用前用羧甲基纤维素钠 (0.5% CM C) 配成所需浓度的混悬液备用。

1.2 试剂 青霉素钠: 批号 Y0511314 每瓶 80 万单位, 华北制药股份有限公司生产。氨水: AR, 批号为 20080121 成都市科龙化工试剂厂出品。

1.3 动物 昆明种小鼠 SPF 级; SD 大鼠, SPF 级, 生产合格证号为 SCXK(川 2008-19 号), 均由四川省中医药科学院实验动物中心提供。豚鼠: 英国种, 壹级, 合格证号为 SCXK(川 2004-14 号), 由四川省实验动物专委会养殖场提供。四川省中医药科学院药理毒理研究所, SPF 级动物使用环境, 使用许可证号为 SYXK(川) 2008-100 号。

2 方法与结果

2.1 对氨水致慢性咽炎大鼠模型的影响 根据参考文献所

表 2 甘桔冰梅片对氨水致大鼠慢性咽炎的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	粘膜充血	炎细胞浸润	纤维结缔组织增生	淋巴滤泡增生	粘液腺肥大	总分
对照组	0.00 ± 0.00*	0.10 ± 0.32*	0.20 ± 0.63	0.00 ± 0.00*	0.00 ± 0.00	0.30 ± 0.95*	
模型组	0.40 ± 0.52	1.50 ± 0.71	0.90 ± 0.88	0.60 ± 0.69	0.30 ± 0.48	3.70 ± 2.58	
甘桔冰梅 1.33	0.20 ± 0.42	1.10 ± 0.74	1.10 ± 0.99	0.30 ± 0.48	0.10 ± 0.32	2.80 ± 2.09	
甘桔冰梅 2.66	0.11 ± 0.33	0.56 ± 0.73	0.44 ± 0.53	0.11 ± 0.33	0.11 ± 0.33	1.33 ± 1.80*	
甘桔冰梅 5.32	0.11 ± 0.33	0.33 ± 0.50*	0.33 ± 0.71	0.11 ± 0.33	0.00 ± 0.00	0.89 ± 1.69*	
咽炎片 1.25	0.24 ± 0.43	0.33 ± 0.49*	0.35 ± 0.70	0.23 ± 0.44	0.01 ± 0.03	1.11 ± 1.83*	
泼尼松 0.01	0.10 ± 0.32	0.50 ± 0.53*	0.20 ± 0.42*	0.00 ± 0.00*	0.00 ± 0.00	0.80 ± 0.63*	

与模型组比较 * P < 0.05 ** P < 0.01 (下同)

提供的方法略做修改复制大鼠咽炎模型^[1,2], 将体重为 150g~200g 的雄性大鼠 70 只, 随机按表 2 分组, 灌胃给药, 每天 1 次, 连续 7 天。在给药后第 1、3、5 天, 分别在各组大鼠 (对照组除外) 咽部均匀涂抹 15% 氨水, 每天 1 次, 每次持续时间约 5sec 末次灌胃给药后 24 小时, 处死动物, 取咽部组织置于 10% 福尔马林中固定行病理学观察, 按表 1 的标准进行打分。

表 1 慢性咽炎评分标准

病变	评分			
	0	1	2	3
粘膜充血	无	轻度	中度	重度
粘液腺肥大	无	轻度	较明显	明显
炎性细胞浸润	无	少量浆细胞和巨噬细胞等炎性细胞浸润	有较多浆细胞和巨噬细胞等炎性细胞浸润	大量浆细胞和巨噬细胞等炎性细胞浸润
纤维结缔组织增生	无	轻度	较明显	明显
淋巴滤泡增多	无	少量增多	较明显	明显增多

显微镜下可见对照组大鼠咽喉部粘膜上皮为复层扁平上皮, 覆盖较薄的角化层, 粘膜固有层内有较多的粘液腺; 未见粘膜充血、溃疡、炎细胞浸润、淋巴滤泡增生、纤维增生、粘液腺肥大等病理改变。模型组多数标本明显可见粘膜充血、炎细胞 (以浆细胞、巨噬细胞为主) 浸润以及淋巴滤泡增生现象, 伴有有一定程度的纤维增生及粘液腺肥大的改变, 上述病变符合慢性咽炎的病理表现。其粘膜充血、炎细胞浸润、淋巴滤泡增生以及总评分, 均显著高于对照组, 有统计学意义。甘桔冰梅片各剂量组可在一定程度上改善咽炎模型大鼠咽喉部的粘膜充血、炎细胞浸润以及淋巴滤泡增生等现象。其中甘桔冰梅片 2.66g/kg 和 5.32g/kg 的作用较好, 在减少炎细胞浸润以及总评分方面与模型组比较有统计学意义。

2.2 对枸橼酸诱导豚鼠咳嗽反应的影响 取体重为 250~350g 的豚鼠,雌雄兼用。先进行筛选,即把动物放入容积为 5000 ml 的玻璃罩中,将 17.5% 的枸橼酸用超声雾化器雾化(2ml/min) 1min,并从雾化时开始计数豚鼠在 5min 内的咳嗽次数,选取在 5min 内咳嗽次数在 10 次以上的动物作为实验动物;然后将合格动物根据咳嗽次数、体重、性别按表 3 随机分组灌胃给药;每天灌胃给药一次,连续 3 次,末次给药后 50min 内进行镇咳实验(方法同预选时一样),计数 5min 内各动物的咳嗽次数及咳嗽发作的潜伏期,结果见表 3。

表 3 甘桔冰梅片对枸橼酸诱导豚鼠咳嗽反应的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	鼠数 (只)	潜伏期 (s)	咳嗽次数 (5min)
模型		11	66.1 ± 11.9	23.2 ± 9.6
甘桔冰梅	1.33	11	79.5 ± 31.8	15.8 ± 8.4
甘桔冰梅	2.66	11	82.5 ± 41.1	20.8 ± 9.3
甘桔冰梅	5.32	11	99.4 ± 41.9*	18.3 ± 9.3
咽炎片	1.25	11	113.8 ± 63.2*	13.8 ± 10.1*

从表 3 可见,甘桔冰梅片 5.32g/kg 可显著延长枸橼酸诱导豚鼠咳嗽的潜伏期,与模型组比较有统计学意义;而其他剂量组也有延长豚鼠咳嗽的潜伏期和减少豚鼠咳嗽次数趋势,但与模型组比较无统计学意义。

2.3 甘桔冰梅片对氨水致小鼠咳嗽反应的影响 取体重为 18~22g 的小鼠 83 只,雌雄兼用。按表 4 将动物随机分组、灌胃给药;每天 2 次,连续 2 天。磷酸可待因在试验前灌胃给药一次,末次给药后 60min,将小鼠置于一倒置的容积为 500 mL 内置一棉球的烧杯中,在向棉球上加浓氨水 0.2 ml/只时开始计时,观察并记录各动物的咳嗽潜伏期和 3min 内各动物的咳嗽次数,结果见表 4。

表 4 甘桔冰梅片对氨水致小鼠咳嗽反应的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	鼠数 (只)	潜伏期 (s)	咳嗽次数 (3min)
模型		13	70.6 ± 12.8	47.0 ± 11.3
甘桔冰梅	1.33 × 2	14	70.5 ± 14.7	41.7 ± 10.4
甘桔冰梅	2.66 × 2	14	59.7 ± 23.2	32.9 ± 14.8*
甘桔冰梅	5.32 × 2	14	68.9 ± 16.3	40.9 ± 14.8
咽炎片	1.25 × 2	14	76.6 ± 17.1	44.2 ± 18.8
可待因	0.03	14	85.1 ± 21.6*	29.8 ± 14.2**

从表 4 可见,甘桔冰梅片中剂量可显著减少氨水诱导小鼠咳嗽的次数,与模型组比较有统计学意义;而其他剂量组也有减少小鼠咳嗽的次数趋势,但与模型组比较无统计学意义。

2.4 对大鼠棉球肉芽组织增生的影响 取体重为 180~210g 的雄性大鼠 58 只,在无菌条件下,腹腔注射乌拉坦 800mg/kg 麻醉下将无菌的棉球(20mg/个)植于大鼠左右鼠蹊部皮下各一个,术后肌注庆大霉素 1 万 U/kg,术后第二天将大鼠按表 5 随机分组灌胃给药。每天 1 次,连续 7 天,在末次给药后 24 小时将动物称重并放血处死动物,将肉芽组织置于 80℃ 烘箱内干燥 6 小时后称重,同时取大鼠的胸腺、脾脏及肾上腺称湿重并计算其脏器指数,结果进行统计学处理,结果见表 5。

从表 5 可见,甘桔冰梅片 1.33g/kg 和 5.32g/kg 可显著抑制大鼠棉球肉芽增生,与模型组比较有统计学意义;同时,甘桔冰梅片在抑制棉球肉芽增生时不影响其他免疫器官指数,与模型组比较无统计学意义。

2.5 对角叉菜胶致小鼠足肿胀的影响 取体重为 20~23g 的雄性小鼠,将动物随机分为 6 组,即模型组,甘桔冰梅片 1.33

表 5 甘桔冰梅片对大鼠棉球肉芽增生的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	鼠数 (只)	胸腺 (mg/100g)	脾脏 (mg/100g)	肾上腺 (mg/100g)	棉球肉芽 (mg/100g)
模型		10	212.8 ± 40.0	727.1 ± 502.8	21.2 ± 2.5	61.6 ± 8.4
甘桔冰梅	1.33	10	191.8 ± 27.9	839.4 ± 424.6	23.2 ± 5.2	52.1 ± 8.5*
甘桔冰梅	2.66	10	188.6 ± 46.6	804.4 ± 332.1	23.9 ± 4.4	54.8 ± 12.1
甘桔冰梅	5.32	9	176.2 ± 36.7	765.2 ± 383.2	23.8 ± 3.8	49.2 ± 7.6**
咽炎片	1.25	10	191.7 ± 57.2	718.9 ± 338.5	22.8 ± 6.5	56.2 ± 7.6
泼尼松	0.01	9	77.8 ± 36.9**	628.6 ± 327.2	18.2 ± 3.8	48.5 ± 16.7*

2.66 和 5.32g/kg 咽炎片 1.25g/kg 和泼尼松 10mg/kg 灌胃给药,每天 2 次,连续 3 天,在末次给药后 40min 在小鼠右后足跖部皮下注射 1% 角叉菜胶(0.05ml/只)致炎,4 小时后处死小鼠,在长短毛交界处剪下左右后足称重,结果,模型组左右足重量差为 112.6 ± 14.3 (mg 下同),甘桔冰梅片 1.33g/kg 2.66g/kg 5.32g/kg 咽炎片 1.25g/kg 和泼尼松 10mg/kg 均可显著抑制角叉菜胶致小鼠足肿胀,其左右足重量差分别为 80.9 ± 25.2 71.8 ± 19.7 83.3 ± 13.9 82.6 ± 26.6 25.6 ± 7.2 与模型组比较有统计学意义。

2.6 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响 取体重为 20~23g 的雄性小鼠,将动物随机分为 6 组,即模型组,甘桔冰梅片 1.33 2.66 和 5.32g/kg 咽炎片 1.25g/kg 和泼尼松 10mg/kg 灌胃给药,每天 2 次,连续 3 天,在末次给药后 30min 在小鼠左耳均匀涂布二甲苯(0.05ml/只),在造型后 30 分钟处死动物,用直径为 8mm 的不锈钢冲子取下左右耳片称重。结果,模型(18.0 ± 3.4 mg 下同),甘桔冰梅片 2.66g/kg(14.6 ± 2.8)和 5.32g/kg(11.5 ± 3.2),咽炎片 1.25g/kg(10.9 ± 3.4)和泼尼松 10mg/kg(6.6 ± 3.1),均可显著抑制二甲苯致小鼠耳肿胀,与模型组比较有统计学意义。

2.7 对醋酸致小鼠腹腔通透性增高的影响 取体重为 18~22g 的小鼠 64 只,雌雄兼用,随机分为 7 组,分别为甘桔冰梅片 1.33 2.66 和 5.32g/kg 咽炎片 1.25g/kg 和泼尼松 10mg/kg 模型组及正常对照组。灌胃给药,每天 2 次,连续 3 天,在末次给药后 60 分钟腹腔注射 0.7% 冰醋酸 0.1ml/10g 并尾静脉注射 1% 伊文思兰 0.1ml/10g 30 分钟后处死动物,腹腔注射生理盐水 2ml/只,轻揉其腹部约 2min 后剪开其腹腔,收集冲洗液,离心,取上清液在波长为 590nm 处测定其吸光度,结果模型组(0.809 ± 0.237)的吸光度显著高于对照组(0.015 ± 0.011),而甘桔冰梅片 1.33g/kg(0.645 ± 0.199)、2.66g/kg(0.714 ± 0.141)和 5.32g/kg(0.702 ± 0.168)均对醋酸致小鼠腹腔通透性增高的抑制作用,与模型组比较无统计学意义。咽炎片 1.25g/kg(0.615 ± 0.128)和泼尼松 10mg/kg(0.589 ± 0.092)则有较好的抑制作用。

2.8 对组织胺致大鼠皮肤通透性增加的影响 取体重为 130~180g 的雄性大鼠 70 只,将动物按表 6 随机分组、灌胃给药,每天 1 次,连续 5 天,在末次给药 60 分钟在大鼠背部皮内注射 1% 组织胺 0.10ml/只,同时尾静脉注射 1% 伊文思兰 0.1ml/100g 并在静脉注射后 30min 时处死动物,取下兰染皮肤在测量其直径后绞碎,置于 5ml 的溶剂中(1:1 丙酮生理盐水)浸泡 24 小时,离心 15min(2000rpm),取上清液在 640nm 处测定其 OD 值,结果见表 6。

从表 6 可见,甘桔冰梅片 5.32g/kg 组可显著抑制组织胺致大鼠皮肤通透性增高,与模型组比较有统计学意义。

表 6 甘桔冰梅片对组织胺致大鼠皮肤通透性增加的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	鼠数 (只)	OD 值	兰染直径 (mm)	兰染面积 (cm ²)
对照		10	0.006 ± 0.004 [*]	0.00 ± 0.00 [*]	0.00 ± 0.00 [*]
模型		10	0.065 ± 0.051	1.32 ± 0.77	1.14 ± 0.89
甘桔冰梅	1.33	10	0.036 ± 0.019	0.73 ± 0.56	0.64 ± 0.64
甘桔冰梅	2.66	10	0.034 ± 0.014	0.99 ± 0.69	1.11 ± 0.98
甘桔冰梅	5.32	10	0.013 ± 0.012 [*]	0.61 ± 0.51 [*]	0.38 ± 0.39 [*]
咽炎片	1.25	10	0.043 ± 0.059	1.00 ± 0.72	1.15 ± 1.11
泼尼松	0.01	10	0.029 ± 0.015 [*]	0.63 ± 0.39 [*]	0.42 ± 0.34 [*]

表 7 甘桔冰梅片对 DNFB 致小鼠迟发型超敏反应的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	鼠数 (只)	耳片肿胀度 (mg)	胸腺指数 (mg/10g)	脾脏指数 (mg/10g)
对照		10	2.8 ± 1.8 [*]	20.2 ± 5.8 [*]	33.3 ± 8.9 [*]
模型		11	14.2 ± 4.3	33.0 ± 7.8	59.6 ± 20.2
甘桔冰梅	1.33 × 2	10	12.1 ± 4.7	30.2 ± 5.5	49.4 ± 6.1
甘桔冰梅	2.66 × 2	10	9.2 ± 4.2 [*]	32.6 ± 5.6	49.7 ± 4.6
甘桔冰梅	5.32 × 2	11	8.2 ± 3.3 [*]	27.4 ± 5.8	51.2 ± 13.7
咽炎片	1.25 × 2	10	10.3 ± 3.3 [*]	27.2 ± 7.8	39.5 ± 14.6
泼尼松	0.01 × 2	10	5.1 ± 1.9 [*]	10.9 ± 4.1 [*]	26.3 ± 11.8 [*]

2.9 对 2,4-二硝基氟苯 (DNFB) 致小鼠迟发型超敏反应的影响 取小鼠体重为 18~22g 的雄性小鼠,在腹部脱毛后(脱毛面积为 3 × 3cm²) 24 小时,将动物按表 7 随机分为组灌胃给药。灌胃给药,每天 2 次,连续 7 天,在第一次给药后 1 小时将各组动物脱毛区均匀涂布 1% 2,4-二硝基氟苯 (DNFB) 0.1ml/只(除对照组外),次日加强一次。在末次给药后 60 分钟后,所有动物左耳均匀涂布 1% DNFB 20μl/只激发,激发 24 小时后处死动物,用直径为 8mm 的不锈钢冲子取下左右耳片称重,以其左右耳片的重量差作为肿胀度进行统计学处理,同时取胸腺及脾脏称重,并计算其脏器指数,从表 7 可见,甘桔冰梅片中、大剂量组均可显著抑制 DNFB 致小鼠迟发型超敏反应。

临床表现为咽部不适感,如干燥、发痒、灼热,以及异物感等。慢性咽炎病变部位特殊,病因复杂,症状顽固,西医大多采用抗生素类药物治疗或辅以地塞米松等激素类制剂,但疗效不佳,易反复发作^[3]。本研究结果表明:甘桔冰梅片可显著减少大鼠咽部粘膜慢性充血、炎细胞浸润(以浆细胞、淋巴细胞为主)、纤维结缔组织增生、淋巴滤泡增生以及粘液腺肥大等病理表现,同时还有一定的镇咳、抗炎等作用。这些作用可能与其用于防治急性慢性咽炎取得良效有关,其详细作用机理有待进一步深入研究。

3 讨论

慢性咽炎的病变主要在咽部粘膜层,粘膜慢性充血,血管周围有淋巴细胞、白细胞及浆细胞浸润,但以淋巴细胞为主,粘膜及粘膜下层结缔组织增生,粘液腺肥大,粘液分泌增多,其主要

参考文献

- 1 封银曼,王婷,高志卿,姚建平.急性咽炎动物模型研究.中国实验方剂学杂志,2001;7(3):52,55
- 2 彭顺林,钟渠,熊大经,等.慢性咽炎动物模型研究.成都中医药大学学报,1999;22(1):51
- 3 宋燕萍.地塞米松对迅速缓解急性咽炎症状的疗效观察.中国新医学论坛,2007;7(7):71

临床研究

复方丹参滴丸不良反应 238 例分析*

束云,李贻奎,李连达**

(中国中医科学院西苑医院,北京 100091)

复方丹参滴丸是治疗冠心病心绞痛的中成药,由丹参、三七、冰片组成,含有丹参素、原儿茶醛、三七皂苷 R1 人参皂苷 Rg1 和 Rb1 等成分,临床应用广泛。在 1997 年向美国 FDA 申请注册,至今 13 年,尚未获准进入美国医药市场。不良反应报告日益增多,迄今尚未引起足够的重视,本文收集 1994 年 1 月~2008 年 12 月有关复方丹参滴丸不良反应的临床报告,进行整理、分析,为保障临床用药安全提供依据。

织委员会 (CDMS) 分级标准:不良反应发生率 ≥ 10% 者为“十分常见”;1~10% 者为“常见”;0.1~1% 者为“偶见”;0.01~0.1% 者为“罕见”;不良反应发生率 ≤ 0.01% 者为“十分罕见”。复方丹参滴丸的不良反应发生率应属“常见”级。该药不良反应发生率,在临床研究报告中有较大差距,例如,陈氏^[1]报告为 60%,李氏^[2]报告为 56.7%,杨氏^[3]报告 23.3%,张氏^[4]报告 21.1%,姚氏^[5]报告 20%,储氏^[6]报告 15.8%,黄氏^[7]报告 10.8%,闫氏报告 3.11%,还有的报告为 0。本文统计其不良反应发生率为 2.7%。

1 复方丹参滴丸不良反应发生率

在 274 篇复方丹参滴丸临床研究报告中^[1-274],观察病例 16116 例,其中进行不良反应观察的 147 篇报告,8697 例患者中,发生不良反应者 238 例(占 2.74%)。根据国际医学科学组

2 复方丹参滴丸不良反应的临床症状

复方丹参滴丸不良反应的临床症状涉及多个系统、多种症

* 基金项目:中医药科学技术研究专项(Na 06-07ZQ16);

** 通讯作者