

小儿咽扁颗粒抗急性咽炎药理作用研究

张可可¹ 陈建新¹ 张 芬³ 段娟慧³ 代耀兰⁴ 杨若聪⁴ 吴传鸿⁵

段飞鹏¹ 李京忠¹ 赵慧辉¹ 李韶菁^{1,2}

(1 北京中医药大学, 北京, 100029; 2 中国中医科学院中药研究所, 北京, 100700; 3 华润三九医药股份有限公司, 深圳, 518110; 4 西南交通大学生命科学与工程学院, 成都, 610031; 5 澳门大学, 澳门, 999078)

摘要 目的: 根据小儿咽扁颗粒的临床适应证, 研究小儿咽扁颗粒对于急性咽炎的治疗作用, 证明其疗效, 并初步分析其作用环节。方法: 采用咽部氨水喷雾的方法, 诱发大鼠急性咽炎 (Acute Pharyngitis), 观察小儿咽扁颗粒对急性咽炎大鼠免疫功能、血清炎性反应因子的影响以及对咽部黏膜的保护作用。结果: 连续给药 7 d 后, 模型组与正常组比较, 大鼠表观指标评分比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 小儿咽扁颗粒低剂量组可显著性降低表观指标评分。连续给药 7 d 后, 病理学指标结果显示小儿咽扁颗粒低、中、高剂量组可不同程度改善咽部炎性反应情况。血清炎性因子检测结果显示, 小儿咽扁颗粒不同剂量组可不同程度降低血清炎性因子 TNF- α 浓度 ($P < 0.05$; $P < 0.01$)。结论: 小儿咽扁颗粒对急性咽炎大鼠有增强免疫功能、降低血清炎性反应因子的作用, 对咽部黏膜有一定保护作用。

关键词 小儿咽扁颗粒; 急性咽炎; 氨水喷雾; 抗炎; 药理; 大鼠; 免疫

Study on the Pharmacological Effects of Xiaoer Yanbian Granules in the Acute Pharyngitis

Zhang Keke¹, Chen Jianxin¹, Zhang Fen³, Duan Juanhui³, Dai Yaolan⁴, Yang Rucong⁴,

Wu Chuanhong⁵, Duan Feipeng¹, Li Jingzhong¹, Zhao Huihui¹, Li Shaojing^{1,2}

(1 Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2 Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3 Huarun Sanjiu Medical & Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen 518110, China; 4 School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China; 5 University of Macau, Macao 999078, China)

Abstract Objective: To study the therapeutic effects of Xiaoer Yanbian Granules on acute pharyngitis according to its clinical indications. **Methods:** Acute pharyngitis in rats was induced by pharyngeal ammonia spray to observe the effects of Xiaoer Yanbian Granules on the immune function and serum inflammatory factors, and the protective effect in pharynx mucosa. **Results:** After 7 days of continuous administration, there was a significant difference in the apparent index score between the model group and the normal group ($P < 0.05$). The low dose of Xiaoer Yanbian Granules significantly reduced the apparent index score. After 7 days of continuous administration, the pathological results showed that the low, medium and high doses of Xiaoer Yanbian Granules could improve the pharyngeal inflammation to different degrees. The results of serum inflammatory factor test showed that the concentration of serum inflammatory factor TNF- α was decreased to different degrees in different dosage groups of Xiaoer Yanbian Granules ($P < 0.05$; $P < 0.01$). **Conclusion:** Xiaoer Yanbian Granules could improve immune function, reduce serum inflammatory factors of rats with acute pharyngitis and protect the pharynx mucosa to some extent.

Key Words Xiaoer Yanbian Granules; Acute pharyngitis; Ammonia spraying; Anti-inflammatory; Pharmacology; Rats; Immunity

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2019.05.020

急性咽炎 (Acute Pharyngitis, AP) 为咽部黏膜与黏膜下组织的急性炎性反应, 多累及咽部的淋巴组织。炎性反应可以波及整个咽部, 或者发生在局部。此病可以为原发性, 也可以继发于急性鼻窦炎或者急性扁桃体炎之后^[1]。究其病因多为细菌和病毒感染、环境刺激所致。目前临床主要采用抗生素治疗、抗病毒药物治疗。中医认为, 急性喉痹多以风、热、

寒、疫相因为患, 内有积热, 复感风寒、风热相搏、壅滞咽喉而起。症见咽喉一侧或两侧红肿疼痛, 发音困难、吞咽不利, 多伴有发热恶寒、头痛、咳嗽、脉浮数等^[2]。

AP、扁桃体炎是儿科的常见病、多发病, 由于小儿生理特点与成年人不同, 儿童的肝肾功能、中枢神经系统、内分泌系统等均未发育完全, 药物在体内吸

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81274133); 中国中医科学院“自主选题”项目 (ZXKT17040)

作者简介: 张可可 (1989. 12—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中西医结合基础, E-mail: zkk2000@qq.com

通信作者: 李韶菁 (1974. 03—), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 中药组效关系和分子药理学研究, E-mail: shaolingli2004@126.com; 赵慧辉

(1977. 05—), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 中医药防治冠心病、糖尿病、高血压等疾病, E-mail: hh686@126.com

收、分布、代谢与排泄的过程与成年人不完全相同^[3]。西药治疗有一定不良反应。而中医运用整体辨证的方法,不良反应低,价格低廉^[4],更容易被患儿家长所接受。

小儿咽扁颗粒为华润三九(黄石)产品,由金银花、射干、金果榄、桔梗、玄参、麦冬、人工牛黄、冰片组成,具有清热利咽,解毒止痛的功效^[5]。方中金银花甘寒入肺,泻火解毒。其有效成分为绿原酸和黄酮类^[6-7]。射干泻火解毒,散血消瘀,火降则血散肿消,而痰结自解,消心脾老血,行太阴厥阴之积痰。既能宣散风热,又能凉血解毒,为治疗喉痹咽痛之要药^[8]。其主要有效成分为酚酸类、环烯醚萜类、黄酮类^[9]。二药合用,共为君药^[5]。金果榄性味苦寒,清热解毒,滋阴降火,止渴生津,利咽,有止痛之功效,适用于各种儿科疾病、其道疾病、急慢性扁桃体炎。其主要有效成分为生物碱、二萜类、甾醇类^[10-11]。玄参苦微寒,能壮水之主,以制阳光。益精明目,利咽喉,通二便。其主要有效成分为环烯醚萜、苯丙素、萜类、苯酚及苯乙醇苷、甾醇、黄酮、脂肪酸、糖类^[11-12]。麦冬甘微苦寒,清心润肺,泻热除烦,消痰止咳,行水生津。主要有效成分为高异黄酮类^[13]。桔梗宣通气血,泻火散热,佐以载诸药上浮。主要有效成分为桔梗总皂苷和桔梗皂苷 D^[14]。四药相配,宣肺滋阴共奏,共为臣药^[5]。牛黄泻热除烦镇惊,除小儿百病。主要有效成分为胆红素、胆汁酸^[15]。冰片,主要由松节油、樟脑等为原料经化学方法合成^[16],芳香走窜,通诸窍,散郁火。使诸药补而不滋腻,二药相合,共为佐使^[5]。本方的组方思路立足于本病的宏观病机和微观病理因素,在清热药中配伍开窍药,诸药相配,相辅相成,清热利咽,润肺解毒止痛^[5]。

鉴于小儿咽扁颗粒作为临床儿科常用药物,目前研究报道相对较少,尚缺少系统的学术研究作为支撑,所以本文对小儿咽扁颗粒进行了抗 AP 药理作用的系统研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 Sprague-Dawley 大鼠共 70 只,雌雄各半,体质量 180 ~ 220 g (合格证号 11804700015201, 许可证号 SCXK(京)2016-0010)。

1.1.2 药品 小儿咽扁颗粒(华润三九(黄石)药业有限公司,生产批号 1803007Z),以无菌生理盐水配制成混悬液。阿司匹林肠溶片(拜耳医药保健有限公司,生产批号 BJ38903),研磨成粉末以纯水制

成混悬液。

1.1.3 试剂与仪器 用生理盐水配制成 25% 氨水溶液。ELISA 试剂盒 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 试剂盒(欣博盛生物科技有限公司)。溶血剂,稀释液,清洗液(江西特康科技有限公司,赣食药监械生产许 20110014 号)。

喉头喷雾器(购于江苏平安医疗器械有限公司),江西特康三群血细胞分析仪(江西特康科技有限公司,赣食药监械生产许 20110014 号),显微镜(Nikon Digital Sight DS-U3),酶标仪(SUNRISE 16039400)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 正常组和模型组,每组 10 只。依照参考文献^[17-18]的方法制备大鼠 AP 模型。用喉头喷雾器 25% 的氨水向其咽部喷雾,2 次/d,上、下午各 1 次,每次喷 3 下,连续喷 3 d。

1.2.2 给药方法 设正常组(生理盐水 10 mL/kg),模型组(生理盐水 10 mL/kg),阳性药阿司匹林组(200 mg/kg),小儿咽扁颗粒高剂量组(12 g/kg),小儿咽扁颗粒中剂量组(6 g/kg)和小儿咽扁颗粒低剂量组(3 g/kg),每组 10 只。于实验第 4 天开始,灌胃给药,1 次/d,连续给药 7 d。

1.2.3 检测指标与方法 1) 表观指标:分别于连续造模第 3 天和连续给药第 7 天肉眼观察各组大鼠咽部情况,进行表观指标评分,并按下述评判标准记录,具体评分标准见表 1:积分 3,频繁搔抓口部,饮水,并出现咽部充血、肿胀,鼓膜呈鲜红色;积分 2,咽部肿胀,部分充血;积分 1,咽部肿胀,无充血;积分 0,无上述情况。

表 1 表观指标评分标准

表观指标	指标分级		
	0	1	2
咽部颜色	轻度色变	中度色变	明显色变
咽部红肿面积	较小	中等	较大
嘴部皮毛脱落	轻度脱落	中度脱落	明显脱落
唾液分泌情况	较少	中等	较多
皮毛色泽	基本正常	干燥无光泽	明显干燥无光泽
咳嗽情况	正常	轻度咳嗽	明显咳嗽
体质量	基本正常	轻度下降	明显下降
活动能力	基本正常	轻度下降	明显下降

2) 病理学指标检测:咽黏膜下的结缔组织是否正常、黏膜下腺的炎细胞浸润是咽炎模型成功与否的重要标志。模型制备成功后,光镜观察可见咽黏膜下结缔组织增生情况、黏膜下有无大量炎细胞浸润。通过 AP 模型观察比较致病动物表观指标、血

常规(白细胞分类)及咽部局部炎性反应病理组织学情况,对药物的作用效果进行评价。

1.3 统计学方法 指标评分结果以中位数表示,其余结果以($\bar{x} \pm s$)表示,表观指标评分采用非参数秩和检验进行统计分析,其余指标多组比较采用单因素方差分析进行结果统计。

2 结果

2.1 小儿咽扁颗粒对大鼠表观指标评分改善作用 25%氨水连续造模 3 d 后,模型组与正常组比较,表观指标评分比较,差异有统计学意义;连续给药 7 d 后,模型组与正常组比较,表观指标评分比较,差异有统计学意义;小儿咽扁颗粒低剂量组可显著性降低表观指标评分。

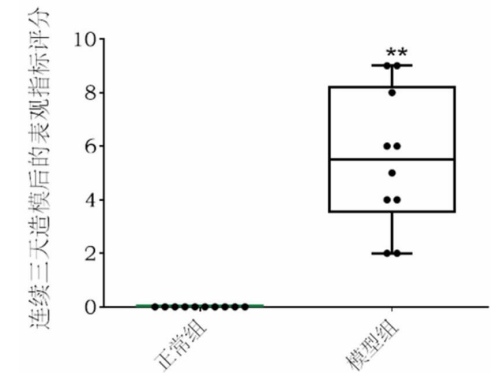


图 1 连续给药 3 d 造模后表观指标评分

注:数据以中位数(四分位数)的形式表示,采用非参数秩和检验进行统计学分析,模型组与正常组比较,** $P < 0.01$

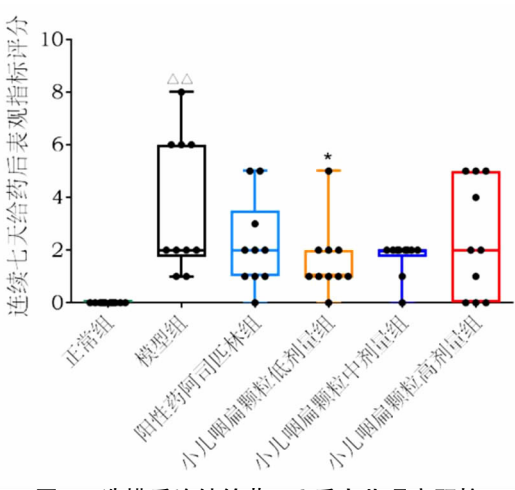


图 2 造模后连续给药 7 d 后小儿咽扁颗粒对表观指标评分改善作用

注:数据以中位数(四分位数)的形式表示,采用非参数秩和检验进行统计学分析,模型组与正常组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$;给药组与模型组比较,* $P < 0.05$

2.2 小儿咽扁颗粒对体质量的影响 连续给药 7 d 后,模型组与正常组比较,大鼠体质量显著下降;阳性药阿司匹林组和小儿咽扁颗粒低、中、高剂量

组大鼠体质量增加程度均高于模型组,但无统计学意义。

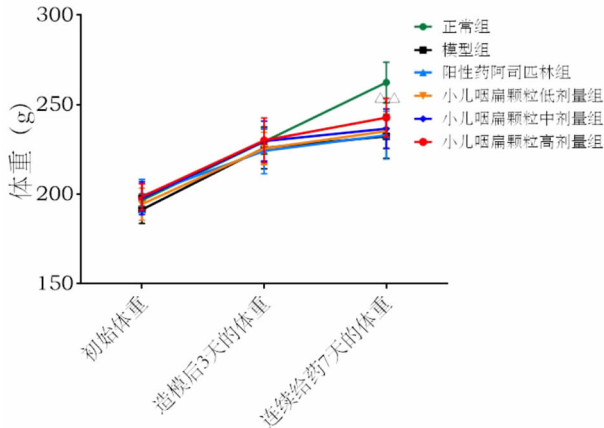


图 3 大鼠体质量变化趋势

2.3 小儿咽扁颗粒对大鼠咽部病理改善作用 取材时观察大鼠咽部病变,咽黏膜充血肿胀,血管扩张及浆液渗出情况。取会厌软骨附近咽部黏膜及其下组织进行切片,HE 染色,观察组织病变形态如下。如图 4 所示正常组上皮结缔组织无炎细胞浸润,模型组咽黏膜下结缔组织出现增生,细胞排列略为致密,提示有结缔组织增生;模型组细胞间质出现空泡化表现,提示存在组织水肿;并且在细胞间质之间存在不同程度的炎细胞浸润。如图 5 所示,正常组腺体间细胞间质增生不明显,且无炎细胞浸润,而模型组腺体之间细胞间质明显增生,且出现大量炎细胞浸润;阳性药阿司匹林组、小儿咽扁低剂量组、小儿咽扁中剂量组、小儿咽扁高剂量组结缔组织增生有所改善,且无明显炎细胞浸润,且组织水肿不明显。如图 6 所示,正常组在肌层肌纤维排列致密紧凑规则,模型组肌层肌纤维排列疏松紊乱,且出现皱缩,细胞间隙增宽,提示有水肿的发生。阳性药阿司匹林组、小儿咽扁低剂量组、小儿咽扁中剂量组、小儿咽扁高剂量组水肿程度和细胞增生程度均不明显。

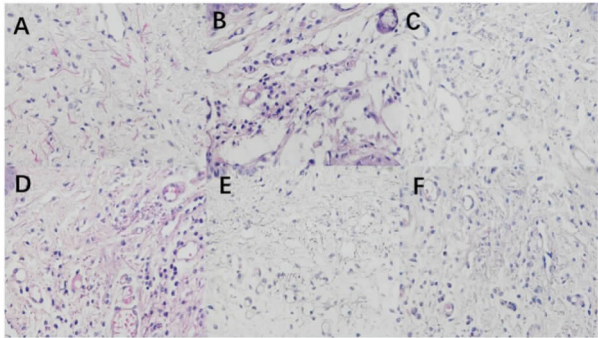


图 4 大鼠咽部病理改变(上皮,HE 染色, $\times 400$)

注:A:正常组;B:模型组;C:阿司匹林组;D:小儿咽扁颗粒低剂量组;E:小儿咽扁颗粒中剂量组;F:小儿咽扁颗粒高剂量组

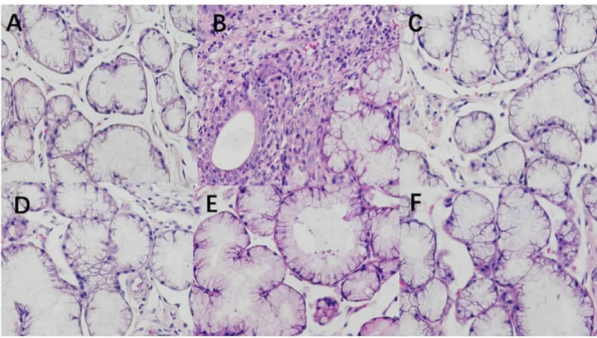


图 5 大鼠咽部病理改变(腺体,HE 染色,×400)
注:A:正常组;B:模型组;C:阿司匹林组;D:小儿咽扁颗粒低剂量组;E:小儿咽扁颗粒中剂量组;F:小儿咽扁颗粒高剂量组

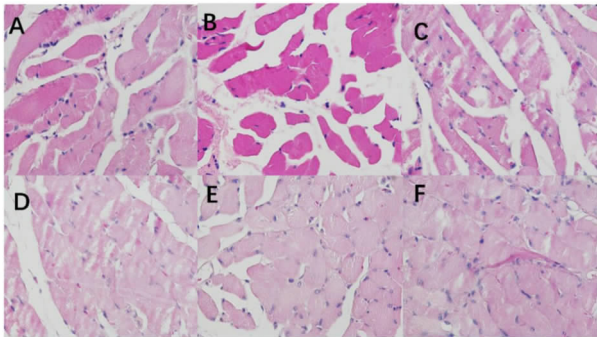


图 6 大鼠咽部病理改变(肌层,HE 染色,×400)
注:A:正常组;B:模型组;C:阿司匹林组;D:小儿咽扁颗粒低剂量组;E:小儿咽扁颗粒中剂量组;F:小儿咽扁颗粒高剂量组

2.4 小儿咽扁颗粒对 AP 大鼠血清炎症因子影响

2.4.1 小儿咽扁颗粒对血清中 TNF- α 的影响 造模给药 7 d 后,模型组与正常组比较,TNF- α 呈现明显上升趋势($P < 0.01$),小儿咽扁颗粒各给药组与模型组比较,血清 TNF- α 水平有显著降低($P < 0.01, P < 0.05$)。

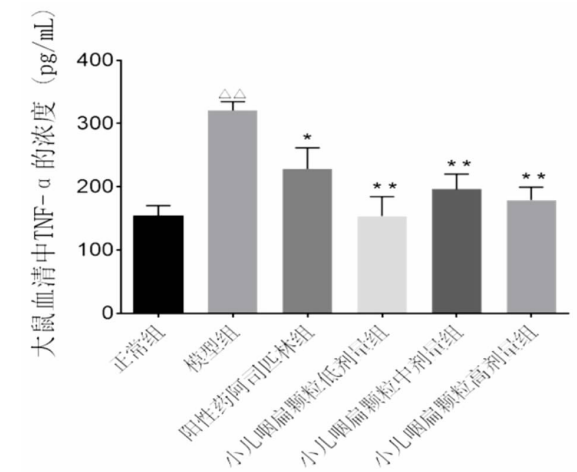


图 7 小儿咽扁颗粒对血清中 TNF- α 的影响
注:数据以($\bar{x} \pm s$)的形式表示,采用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析

2.4.2 小儿咽扁颗粒对血清中 IL-1 β 的影响 造

模给药 7 d 后,模型组与正常组比较,呈现明显上升趋势,差异有统计学意义($P < 0.05$);小儿咽扁颗粒中剂量组与模型组比较,可降低 IL-1 β 浓度,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。

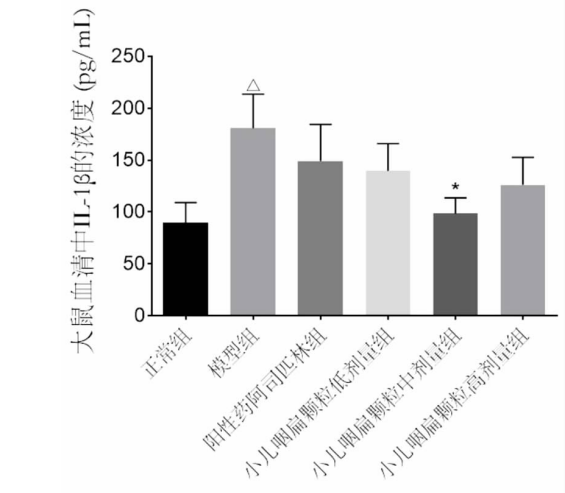


图 8 小儿咽扁颗粒对血清中 IL-1 β 的影响
注:数据以($\bar{x} \pm s$)的形式表示,采用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析

2.4.3 小儿咽扁颗粒对血清中 IL-6 的影响 造模给药 7 d 后,模型组与正常组比较,呈现明显上升趋势,差异有统计学意义($P < 0.01$);小儿咽扁颗粒低剂量组与模型组比较,可降低 IL-6 浓度,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

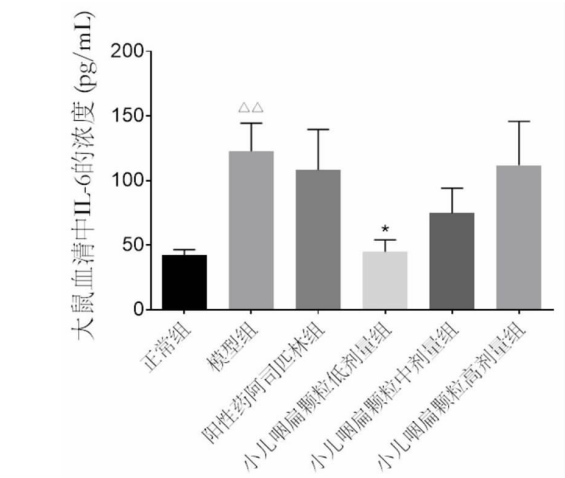


图 9 小儿咽扁颗粒对血清中 IL-6 的影响
注:数据以($\bar{x} \pm s$)的形式表示,采用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析

3 讨论

实验采用氨水咽部喷雾的方法制作的 AP 的模型,其原理是采用化学因素刺激咽部黏膜,生物学特征与临床 AP 有一定的相似性。

25% 氨水连续造模 3 d 后,模型组与正常组比较,表观指标评分比较,差异有统计学意义;连续给

药 7 d 后,模型组与正常组比较,表观指标评分比较,差异有统计学意义;小儿咽扁颗粒低剂量组可显著性降低表观指标评分。这说明小儿咽扁颗粒可以显著降低表观指标评分。

连续给药 7 d 后,模型组与正常组比较,大鼠体质量显著下降;阳性药阿司匹林组和小儿咽扁颗粒低、中、高剂量组大鼠体质量增加程度均高于模型组。

病理学指标结果显示,阳性药阿司匹林组与小儿咽扁颗粒低、中、高剂量组可不同程度改善咽部病理情况。模型组的上皮下、肌层、腺体层均有不同程度的炎细胞浸润,组织间隙排列疏松、紊乱、有不同程度的增宽,表明组织水肿的发生。各给药组炎细胞浸润程度有所降低,组织排列紧密规则,水肿发生程度不明显。这表明小儿咽扁颗粒对组织炎细胞浸润和组织水肿有一定作用。

通过检测血清中的炎性反应标记物 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 来判断评价小儿咽扁颗粒的抗炎作用。肿瘤坏死因子- α (TNF- α),是主要由活化的巨噬细胞分泌的参与全身炎性反应并构成急性期反应的细胞因子^[19]。实验结果显示,模型组与正常组比较,血清中 TNF- α 水平显著上升($P < 0.05$),说明造模后组织内的炎性反应发生。小儿咽扁颗粒低中高剂量组与模型组比较,TNF- α 水平显著下降($P < 0.05$),说明小儿咽扁颗粒对炎性反应有一定的作用。白细胞介素-1 β (IL-1 β),是一种由巨噬细胞分泌的前体蛋白经半胱天冬酶 1 (CASP1/ICE) 蛋白水解而成的一种细胞因子,具有致热和介导炎性反应的作用,可造成人体组织破坏、水肿形成等多种病理损伤过程^[20]。通过实验测定 IL-1 β 的含量,来判断炎性反应的严重程度。模型组与正常组比较,IL-1 β 水平显著上升($P < 0.01$),说明模型组炎性反应的发生,提示造模成功。小儿咽扁中剂量药组与模型组比较,IL-1 β 呈现明显下降($P < 0.05$),说明小儿咽扁颗粒对咽部急性炎性反应有一定的作用。白细胞介素-6 (IL-6),是一种由 IL6 基因编码的细胞趋化因子,主要由巨噬细胞分泌,可穿过血脑屏障作用于下丘脑,改变体温调定点,引起机体发热^[20]。另外,IL-6 作为一种促炎因子,可以刺激急性期蛋白质合成,以及骨髓内中性粒细胞的产生。实验发现模型组与正常组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$);小儿咽扁低剂量组与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。说明小儿咽扁中剂量对 AP 有一定的作用。

综上所述,小儿咽扁颗粒对 AP 大鼠从症状改善、抗炎及咽部病理状态改善等方面均显示具有较

好的治疗作用。由于实验采用的模型是化学刺激的模型,为了更进一步接近临床病理过程,今后会采用细菌、真菌对实验动物进行造模^[21],继续观察小儿咽扁颗粒的治疗作用。

参考文献

- [1] 田勇泉.耳鼻咽喉头颈外科[M].北京:人民卫生出版社,2013:128.
- [2] 漆浩,张瑞贤,王发渭,等.二十世纪中医药最佳处方(五官科卷)[M].北京:人民卫生出版社,2003:138.
- [3] 姚冰,潘洁,王远光,等.儿科用药现状与分析[J].中国医院用药评价与分析,2011,11(1):41-44.
- [4] 郑天瑛,杨小琼,蓝丹,等.中药方剂联合超声雾化治疗慢性咽喉炎的临床观察[J].中国医药科学,2015,5(12):38-39.
- [5] 国家药典编委会.中华人民共和国药典临床用药须知-中药成方制剂卷[M].北京:中国医药科技出版社,2010:774.
- [6] Ma WW, Zhang AH, Sun H, et al. Metabolomics Deciphering Therapeutic Effects and Mechanism of Traditional Chinese Medicines[J]. World J Tradit Chin Med, 2016, 2(3):17-24.
- [7] 于兴娟.清凉消暑金银花[N].中国中医药报,2018-7-23(7).
- [8] 马云,王尧尧,王蕾,等.忍冬花发育期间形态与 13 种活性成分含量变化[J].中药材,2018,41(7):1559-1565.
- [9] 覃文格,罗试计,杨文进,等.西名壮医杨顺发应用金果榄治疗疾病经验[J].中国民族医药杂志,2017,23(7):12-14.
- [10] 胡奇志,贾宪生,胡成刚.金果榄质量评价[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(15):57-60.
- [11] 许福泉,旭东,陈士林.玄参化学成分及药理活性研究进展[J].中国现代中药,2013,15(9):753-759.
- [12] 刘芳,周小江,袁志鹰,等.玄参药材等级质量标准研究(I)—基于肉桂酸含量的差异性[J].湖南中医杂志,2018,34(7):181-185.
- [13] 童菊华,庞小存,王威,等.杭麦冬与川麦冬中高异黄酮类成分和抗氧化活性的比较[J].中草药,2015,46(20):3091-3095.
- [14] 谭玲玲,侯晓敏,胡正海,等.不同产地桔梗药材中桔梗总皂苷和桔梗皂苷 D 的测定[J].中草药,2015,46(11):1682-1684.
- [15] 张宇静,夏晶,仇佳思,等.牛黄中胆汁酸的药理作用及定量分析方法研究进展[J].国际药学研究杂志,2016,43(2):268-274.
- [16] 滕毅,杨海玲.冰片在药代动力学方面的研究进展[J].中国临床药理学与治疗学,2015,20(4):469-475.
- [17] 急性咽炎动物模型制备规范(草案).中华中医药学会.中药实验药理专业委员会[J].中药药理与临床,2018,34(1):175-178.
- [18] 张凯,杨晓瑞.小儿喉痹方治疗急性咽炎药理作用研究[J].亚太传统医药,2017,13(8):6-9.
- [19] Masters SL, Simon A, Aksentjevich I, et al. Horror autoinflammatory: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease[J]. Annu Rev Immunol, 2009, 27:621-668.
- [20] Walsh LJ, Trinchieri G, Waldorf HA, etc. Human dermal mast cells contain and release tumor necrosis factor alpha, which induces endothelial leukocyte adhesion molecule 1[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88(10):4220-4424.
- [21] Banks WA, Kastin AJ, Gutierrez EG. Penetration of interleukin-6 across the murine blood-brain barrier[J]. Neurosci Lett, 1994, 179(1-2):53-56.
- [22] 梁璐,朴晋华,马建丽.急性和慢性咽炎的发病机制与动物模型建立的研究现状[J].临床医药实践,2012,21(7):540-542.