doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2022.02.009

银黄解毒消肿胶囊对急性咽炎模型鼠的抗炎止痛作用*

黄 莉[1],王 兴[2],罗黎霞[2],杨 宁[2],贺 灿[2],陈 可[2],谢嘉驰[2],罗纯清[2△]

(1. 湖南中医药大学第一附属医院,湖南 长沙 410007; 2. 湖南省湘潭市中医医院,湖南 湘潭 411100)

摘要:目的 探讨银黄解毒消肿胶囊对急性咽炎模型鼠的抗炎及止痛作用。**方法** 将60只SD大鼠随机分为空白对照组(A组,等体积0.9%氯化钠溶液),模型组(B_1组,等体积0.9%氯化钠溶液),阳性药物组(C_1组,咽炎含片1.1 g/kg)及银黄解毒消肿胶囊低、中、高剂量组(D_1组、D_2组、D_3组,2.02,4.04,8.08 g/kg),各10只。用喉头喷雾器向大鼠喷25%氨水以复制急性咽炎大鼠模型,建模成功后,各组大鼠咽部喷雾相应药物或灌胃0.9%氯化钠溶液,每日1次,连续7 d。采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测大鼠血清白细胞介素1β、肿瘤坏死因子－α、前列腺素E_2水平,观察大鼠咽部黏膜病变情况,并进行病理组织形态学评分。将50只雌性ICR小鼠随机分为模型组(B_2组,等体积0.9%氯化钠溶液),阳性药物组(C_2组,罗通定片0.02 g/kg)及银黄解毒消肿胶囊低、中、高剂量组(D_4组、D_5组、D_6组,2.92,5.84,11.68 g/kg),各10只,分别灌胃相应药物或0.9%氯化钠溶液,每日1次,连续3 d,采用热板实验测定痛阈值;另取50只雌性ICR小鼠,同热板实验分组及给药(记为B_3,C_3,D_7,D_8,D_9组),采用扭体实验记录扭体次数。**结果** 与B_1组比较,C_1组、D_1组、D_2组、D_3组大鼠白细胞计数、中性粒细胞计数,以及白细胞介素1β、肿瘤坏死因子－α、前列腺素E_2水平均显著降低($P<0.01$),且咽部黏膜上皮层增生,固有层水肿,小血管扩张、充血,炎性细胞浸润情况均明显改善,病理组织形态学评分明显降低($P<0.01$);与B_2组比较,C_2组、D_4组、D_5组、D_6组小鼠给药后30 min起痛阈值明显升高($P<0.01$);与B_3组比较,C_3组、D_3组、D_7组、D_8组、D_9组小鼠扭体次数明显减少($P<0.01$)。**结论** 银黄解毒消肿胶囊能缓解急性咽炎模型鼠的炎性反应程度及疼痛,其抗炎机制可能与下调血清IL－1β,TNF－α,PGE_2水平有关。

关键词:银黄解毒消肿胶囊;急性咽炎;大鼠;小鼠;抗炎;镇痛;作用机制

中图分类号:R932;R285.5 **文献标志码:A** **文章编号:1006－4931(2022)02－0032－04**

Anti－Inflammatory and Analgesic Effects of Yinhuang Jiedu Xiaozhong Capsules on Acute Pharyngitis in Rats

HUANG Li[1], *WANG Xing*[2], *LUO Lixia*[2], *YANG Ning*[2], *HE Can*[2], *CHEN Ke*[2], *XIE Jiachi*[2], *LUO Chunqing*[2]

(1. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan, China 410007; 2. Xiangtan Chinese Medicine Hospital, Xiangtan, Hunan, China 411100)

Abstract: Objective To investigate the anti－inflammatory and analgesic effects of Yinhuang Jiedu Xiaozhong Capsules on acute pharyngitis in rats. **Methods** A total of 60 SD rats were randomly divided into blank control group (group A, equal volume of 0.9% Sodium Chloride Solution), model group (group B_1, equal volume of 0.9% Sodium Chloride Solution), positive drug group (group C_1, 1.1 g/kg of Yanyan Buccal Tablets), and Yinhuang Jiedu Xiaozhong Capsules low－, medium－ and high－dose groups (groups D_1, D_2 and D_3, 2.02, 4.04, 8.08 g/kg), with 10 rats in each group. The rat model of acute pharyngitis was established by spraying 25% ammonia with a throat spray. After successful modeling, rats in each group were sprayed with corresponding drugs or gavaged with 0.9% Sodium Chloride Solution once a day for 7 d. The levels of serum interleukin－1β (IL－1β), tumor necrosis factor－α (TNF－α) and prostaglandin E_2 (PGE_2) were detected by the enzyme－linked immunosorbent assay (ELISA). The pathological changes of pharyngeal mucosa of rats were observed and pathomorphological scores were performed. A total of 50 female ICR mice were randomly divided into model group (group B_2, equal volume of 0.9% Sodium Chloride Solution), positive drug group (group C_2, 0.02 g/kg of Rotundine Tablets), and Yinhuang Jiedu Xiaozhong Capsules low－, medium－ and high－dose groups (group D_4, D_5 and D_6, 2.92, 5.84, 11.68 g/kg), with 10 rats in each group, they were given corresponding drugs or 0.9% sodium Chloride Solution once a day for 3 d. The pain threshold was measured by the hot plate test. Another 50 female ICR mice were grouped and administered with hot plate test groups (groups B_3, C_3, D_7, D_8 and D_9), the inhibition rate of writhing reaction was calculated by the writhing test. **Results** Compared with those in group B_1, the white blood cell count (WBC), neutrophil count, the levels of IL－1β, TNF－α and PGE_2 in groups C_1, D_1, D_2 and D_3 decreased significantly ($P<0.01$), the pharyngeal mucosal epithelium proliferated, lamina propria edema, small vessel dilation and congestion, inflammatory cell infiltration in groups C_1, D_1, D_2 and D_3 improved significantly, and the pathomorphological scores in groups C_1, D_1, D_2 and D_3 decreased significantly ($P<0.01$). Compared with those in group B_2, the pain threshold of mice in groups C_2, D_4, D_5 and D_6 increased significantly since 30 min after

*基金项目:湖南省中医药科研计划项目[201681];湖南省"十三五"中医重点专科建设项目[湘中医药函〔2017〕86号];湖南省老中医药专家学术经验继承项目[湘中医药函〔2020〕37号];湖南省湘潭市指导性科技计划项目[ZDX－SF2019015];湖南中医药大学校级科研基金[2020XJJJ044]。

第一作者:黄莉,女,博士,主管中药师,研究方向为中药制剂学,(电话)0731－85600544(电子信箱)huanglily0101@163.com。

△通信作者:罗纯清,男,硕士,主管药师,研究方向为中药制剂学,(电话)0731－55519265(电子信箱)546817327@qq.com。

administration ($P < 0.01$). Compared with those in group B_3, the writhing times of mice in groups C_3, C_3, D_7, D_8 and D_9 decreased significantly ($P < 0.01$). **Conclusion** Yinhuang Jiedu Xiaozhong Capsules can alleviate the clinical manifestations of inflammation and pain in model mice, and its anti-inflammatory mechanism may be related to the down-regulation of serum IL-1β, TNF-α and PGE_2 levels.

Key words: Yinhuang Jiedu Xiaozhong Capsules; acute pharyngitis; rats; mice; anti-inflammatory; analgesia; mechanism

银黄解毒消肿方为湘潭市中医医院临床经验方，有清热解毒、散结活血功效，临床多用于治疗急性咽炎和慢性咽炎急性发作，疗效较好，目前拟开发成胶囊剂[1]。本研究中通过考察银黄解毒消肿胶囊对急性咽炎模型鼠的抗炎止痛作用及相关炎性指标的影响，探讨其可能的抗炎作用机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试药与动物

仪器：BC-5500型五分类血液细胞分析仪（深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司）；B203LED型生物显微镜（重庆奥特光学仪器有限公司）；YLS-6B型智能热板仪（上海精密仪器仪表有限公司）；EnSpire型多功能酶标仪（美国Perkin Elmer公司）；RM2235型石蜡切片机、TP1020型全自动脱水机、HI1220型烤片机、HI1210型摊片机、EG1150H+C型组织包埋机、DFC 420C型病理成像系统，均购自德国Leica公司。

试药：银黄解毒消肿胶囊（湘潭市中医医院制剂科自制，每粒含牡丹皮、赤芍、知母、连翘、山银花、黄连、黄芩药材各10 g，大黄5 g；生药量为5.34 g/g）；罗通定片（四川迪菲特有限公司，批号为191902，规格为每片30 mg）；咽炎含片（西安博爱制药有限公司，批号为20190206，每片相当于原生药2.6 g）。苏木素-伊红（HE）染液、4%多聚甲醛，以及白细胞介素1β（IL-1β）、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）和前列腺素E_2（PGE_2）酶联免疫试剂盒（批号分别为abs551801，abs551818，abs124338，均购自爱必信上海生物科技有限公司）；氨水、水合氯醛、冰醋酸均为分析纯，水为纯化水。

动物：健康SD大鼠60只，雌雄各半，体质量180~220 g；ICR小鼠100只，雌性，体质量18~22 g。均购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，实验动物生产许可证号SCXK（湘）2019-0004。所有动物均于湖南省药物安全评价研究中心屏障环境中正常饲养，自由饮水、进食，饲养温度18~20 ℃，相对湿度65%~70%。

1.2 方法

1.2.1 急性咽炎模型大鼠实验

建模与分组：将60只SD大鼠随机分为空白对照组（A组，0.9%氯化钠溶液灌胃）、模型组（B_1组，0.9%氯化钠溶液灌胃）、阳性药物组（C_1组，咽炎含片1.1 g/kg，喉头喷雾给药）及银黄解毒消肿胶囊低、中、高剂量组（D_1，D_2，D_3组，2.02，4.04，8.08 g/kg，喉头喷雾给药）各10只。除A组外，其余组大鼠喉头喷雾25%氨水，每日2次（上午、下午各1次），每次喷3下（约0.5 mL），连续喷3 d，以复制大鼠急性烟炎模型。建模成功（大鼠咽部出现黏膜充血、肿胀及挠抓口咽）[2-5]后第4天起，各组大鼠分别给予相应药物或0.9%氯化钠溶液，每日1次，连续7 d。

检测指标：1）血常规与炎性因子。末次给药1 h后麻醉大鼠，腹主动脉采血2份，1份用于检测中性粒细胞和白细胞计数；另1份以4 000 r/min的速率离心10 min，取上清液，置EP管中，-80 ℃保存，采用酶联免疫吸附（ELISA）法检测血清IL-1β，TNF-α，PGE_2水平。2）咽部黏膜病理形态学。取大鼠咽部黏膜及黏膜下组织，常规切片、石蜡包埋、HE染色后，在显微镜下观察病理组织形态学，并评分。评分标准，黏膜上皮增生程度，无增生计0分，偶见增生计1分，部分增生计2分，明显增生计3分；炎性细胞浸润程度，无炎性细胞计0分，偶见炎性细胞计1分，散在炎性细胞计2分，大量炎性细胞计3分。

1.2.2 小鼠热板实验

小鼠筛选及分组、给药：将小鼠放至已预热至（52±0.5）℃的恒温金属板上，记录每只小鼠的反应时间，以热板反应的潜伏期表示其痛阈值。选择痛阈值在5~30 s之间的小鼠50只，随机分为模型组（B_2组，等体积0.9%氯化钠溶液）、阳性药物组（C_2组，罗通定片0.02 g/kg）及银黄解毒消肿胶囊低、中、高（D_4，D_5，D_6组，2.92，5.84，11.68 g/kg），各10只，均称定质量后灌胃相应药物或0.9%氯化钠溶液，每日1次，连续3 d。给药前重复测定其正常痛阈值，取2次正常痛阈平均值作为该小鼠给药前的痛阈值[6-9]。

检测指标：末次给药后30，60，90，120 min测定小鼠痛阈值，若60 s仍无反应，其痛阈值以60 s计。

1.2.3 小鼠扭体实验

动物分组及给药：同1.2.2项下操作，仅组名变为（B_3组、C_3组及D_7-D_9组）。

检测指标：记录15 min内各组小鼠扭体反应次数，并计算扭体反应抑制率。扭体反应抑制率（%）=（B组扭体次数-给药组扭体次数）/B组扭体次数×100%。

1.3 统计学处理

采用Graphpad Prism 8.3统计学软件分析。计量资料以$\bar{X} \pm s$表示，组间比较行单因素方差分析，两两比较用LSD检验。$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 急性咽炎模型大鼠实验

血白细胞、中性粒细胞计数：与A组比较，B_1组大鼠血液中的白细胞计数、中性粒细胞计数均显著升高（$P < 0.01$）；与B_1组比较，C_1组、D_1组、D_2组、D_3组大鼠的白细胞及中性粒细胞计数均显著降低（$P < 0.01$）。详见表1。

血清炎性因子水平：与A组比较，B_1组大鼠血清IL－1β，TNF－α，PGE_2水平均显著升高（$P < 0.01$）；与B_1组比较，C_1组、D_1组、D_2组、D_3组大鼠血清IL－1β，TNF－α，PGE_2水平均显著降低（$P < 0.01$）。详见图1。

咽部黏膜病理组织形态学：与A组比较，B_1组病理组织形态学评分显著升高（$P < 0.01$）；与B_1组比较，C_1组、D_1组、D_2组、D_3组大鼠的病理组织形态学评分显著降低（$P < 0.01$）。详见表1。A组大鼠黏膜上皮完整，排列整齐，固有层未见水肿、血管充血、炎性细胞浸润等变化；B_1组大鼠黏膜上皮层明显增生，固有层水肿，小血管扩张、充血，大量炎性细胞浸润；C_1组大鼠黏膜上皮层轻度增生，固有层区域有少量的炎性细胞浸润；D_1组大鼠黏膜上皮层明显增生，固有层水肿，少量炎性细胞浸润；D_2组大鼠黏膜上皮层轻度增生，固有层少量炎性细胞浸润；D_3组大鼠黏膜上皮完整，排列整齐，固有层未见水肿、血管充血、炎性细胞浸润等变化。详见图2。

表1 各组大鼠白细胞、中性粒细胞计数及咽部黏膜病理组织形态学评分比较（$\bar{X} \pm s, n = 10$）

Tab. 1 Comparison of the WBC, neutrophils count and pathomorphological scores of pharyngeal mucosa in each group（$\bar{X} \pm s, n = 10$）

组别	白细胞计数（$\times 10^9\ L^{-1}$）	中性粒细胞计数（$\times 10^9\ L^{-1}$）	形态学评分（分）
A组	1.70 ± 0.66	0.18 ± 0.07	1.7 ± 0.7
B_1组	6.24 ± 0.86$^{\#}$	1.10 ± 0.23$^{\#}$	6.2 ± 0.9$^{\#}$
C_1组	3.00 ± 0.51*	0.52 ± 0.31*	3.0 ± 0.5*
D_1组	3.46 ± 0.37*	0.22 ± 0.17*	5.0 ± 0.6*
D_2组	4.01 ± 0.23*	0.33 ± 0.12*	4.0 ± 0.2*
D_3组	5.03 ± 0.61*	0.46 ± 0.09*	3.5 ± 0.4*

注：与A组比较，$^{\#}P < 0.01$；与B_1/B_2/B_3组比较，$^{*}P < 0.01$。图1、表2同。

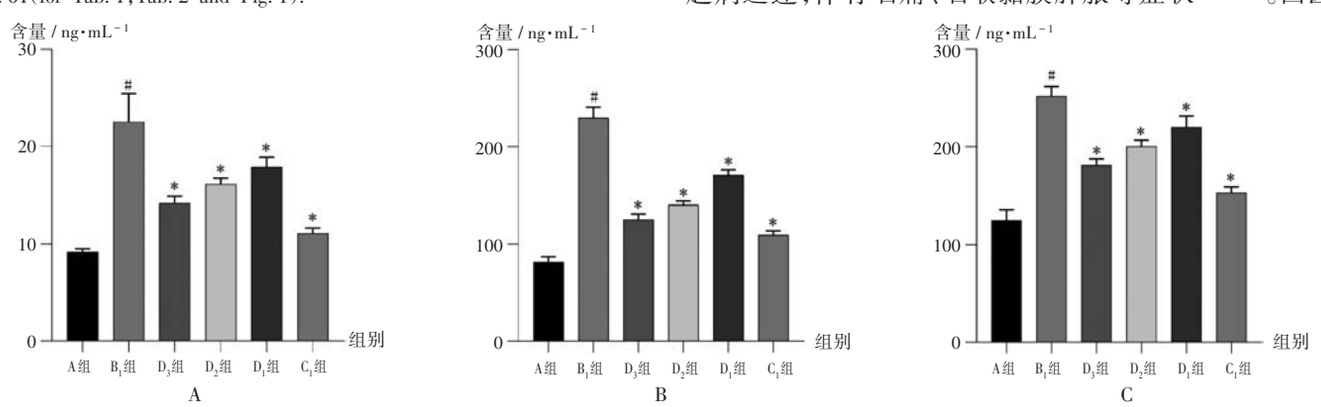
Note: Compared with those in group A, $^{\#}P < 0.01$ (for Tab. 1, Tab. 2 and Fig. 1); Compared with those in groups B_1, B_2 and B_3, $^{*}P < 0.01$ (for Tab. 1, Tab. 2 and Fig. 1).

2.2 小鼠热板实验及扭体实验

与B_2组比较，C_2组、D_4组、D_5组、D_6组小鼠的热板痛阈值明显升高，且痛阈值均在给药后90 min时达峰值；与B_3组比较，C_3组、D_7组、D_8组、D_9组小鼠的扭体次数明显减少（$P < 0.01$）。详见表2。

3 讨论

急性咽炎以病毒、细菌感染多见，属中医“急喉痹”范畴，外因多与风、寒、热之邪气侵袭，上犯咽喉及肺胃热盛，上攻咽喉有关，内因多与脏腑功能失调有关。其起病迅速，伴有咽痛、咽喉黏膜肿胀等症状[10-11]。西医



A. IL－1β B. TNF－α C. PEG_2

图1 各组大鼠血清炎性因子含量比较（$\bar{X} \pm s, n = 10$）

A. IL－1β B. TNF－α C. PEG_2

Fig. 1 Comparison of serum inflammatory cytokines levels of rats in each group（$\bar{X} \pm s, n = 10$）

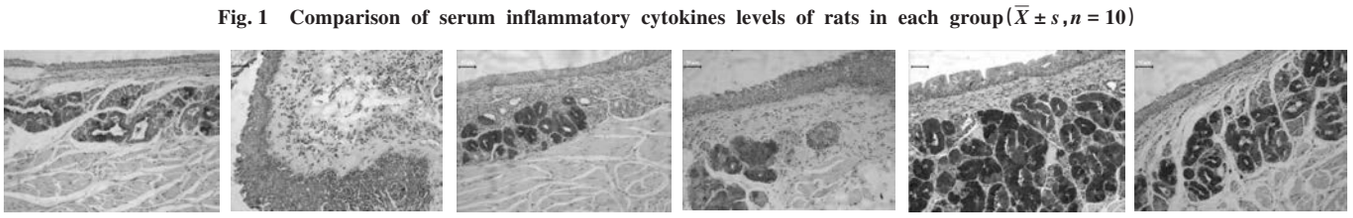


图2 各组大鼠咽部黏膜病理组织形态学（HE，× 200）

Fig. 2 Pathomorphology of pharyngeal mucosa of rats in each group（HE, × 200）

表 2 各组小鼠痛阈值和扭体次数比较($\bar{X} \pm s$, $n = 10$)

Tab. 2 Comparison of pain threshold and writhing times of mice in each group($\bar{X} \pm s$, $n = 10$)

组别	痛阈值(s)					扭体次数
	给药前	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 90 min	给药后 120 min	(次)
B_1/B_2组	21.10±2.07	20.90±3.51	21.00±2.61	21.70±2.83	21.10±3.21	26.9±1.97
C_1/C_2组	21.40±2.58	36.60±2.24*	40.70±3.74*	40.80±3.87*	38.90±4.35*	8.9±1.92*
D_1/D_2组	21.80±2.64	35.80±1.94*	36.30±2.45*	29.20±3.68*	23.20±3.40*	16.9±3.96*
D_2/D_3组	21.50±3.98	34.60±1.56*	35.50±2.01*	42.40±3.50*	32.80±5.04*	15.1±3.30*
D_1/D_3组	21.00±2.53	34.20±2.27*	37.10±2.12*	41.10±3.83*	36.90±5.05*	8.3±1.79*

多采用青霉素及大环内酯类等抗菌药物治疗，但长期使用易产生耐药性[12]。

银黄解毒消肿胶囊组方中，牡丹皮味苦性寒，善清营分、血分实热；赤芍味苦性寒，入肝经，清风热所致赤目肿痛。两者配伍，共奏清热凉血之功效。大黄苦降，使上炎之火下泄；知母主入肺经，长于泻肺热、润肺燥；连翘、山银花、黄连共清心火，散上焦风热，能缓解咽喉肿痛。诸药配伍，可凉血解毒，散结消肿。现代药理学研究表明，其处方药味中所含丹皮酚、知母总多糖、连翘苷、赤芍总苷等有效成分能抑制毛细血管通透性，抑制白细胞炎性趋向性，从而降低炎症部位白细胞计数水平；大黄蒽醌、山银花酚酸类、小檗碱等有效成分具有广谱抗病原微生物作用，通过抑制细菌核酸、蛋白质合成、糖代谢等途径改善模型大鼠机体发热、疼痛及肿胀症状[13-19]。

现代药理学研究表明，IL-1β通过促进B细胞增殖、分化产生抗体从而诱导细胞发生炎症；TNF-α是炎症启动的细胞因子，能促进炎性细胞聚集、炎性介质释放；两者释放相互促进，可加重炎症症状。PEG_2是重要的免疫负调节剂，能抑制TNF-α，IL-2等促炎介质的合成，增加IL-4，IL-10等抗炎介质的合成[20-22]。本研究结果显示，与B_1组比较，D_1组、D_2组、D_3组大鼠给药后，咽喉黏膜病变症状明显改善，血清IL-1β，TNF-α，PGE_2水平均明显降低($P < 0.01$)。

急性咽炎患者出现的咽痛多为灼痛，吞咽动作可加重其疼痛感，病程多在1周左右。热板法和扭体法均为评价药物止痛作用的常用动物疼痛模型。本研究结果表明，银黄解毒消肿胶囊对中枢性和外周性疼痛均有良好的镇痛作用，镇痛强度与罗通定片相似，但其止痛机制有待后续进一步研究。

综上所述，银黄解毒消肿胶囊能缓解急性咽炎模型鼠的炎性程度及疼痛，其抗炎机制可能与下调血清IL-1β，TNF-α，PGE_2水平有关。

参考文献

[1] 谢嘉驰，罗纯清，王 兴. 银黄解毒胶囊的制备工艺及薄层色谱鉴别研究[J]. 亚太传统医药，2019，15(6)：27-30.
[2] 封银曼，王 停，高志卿，等. 急性咽炎动物模型研究[J]. 中国实验方剂学杂志，2001，7(3)：52-55.
[3] 梁 璐，朴晋华，高天红，等. 注射用炎琥宁对实验性急性咽炎动物模型的疗效与作用机制研究[J]. 药物评价研究，2012，35(3)：165-168.
[4] 王 停，荆 鲁，鲁献斌，等. 玉枢含片对急性咽炎大鼠血清白介素-6及肿瘤坏死因子等指标的影响[J]. 北京中医药大学学报，2002，25(4)：31-33.
[5] LIU BS, BAI M, PENG MF, et al. Anti-inflammatory effect and the effect on acute pharyngitis rats model of compound Lobelia oral liquid[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2019, 26(3)：577-581.
[6] 梁德东，马钦海，于青田，等. 银翘马勃散对急性咽炎模型大鼠的治疗作用及其抗炎镇痛解热的作用[J]. 中药药理与临床，2017，33(3)：8-11.
[7] 陈 奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京：人民卫生出版社，2010：426-427.
[8] 甘 露，任振堃，叶 彪，等. 威灵仙不同提取物的抗炎、镇痛、平痉作用[J]. 华西药学杂志，2020，35(2)：179-182.
[9] 苗明三. 常用医药研究动物模型[M]. 北京：人民卫生出版社，2007：36.
[10] 张 霞，谢雁鸣，李光熙，等. 中医药治疗急性咽炎的优势与问题探讨[J]. 中国中药杂志，2017，42(19)：3819-3825.
[11] 杨 霄. 中西医治疗急慢性咽喉炎现状[J]. 河南中医，2014，34(1)：172-175.
[12] 周 凌，张竞飞. 中医药治疗急性咽炎的临床研究进展[J]. 中医药学报，2012，40(4)：135-137.
[13] 翟春梅，孟祥瑛，付敬菊，等. 牡丹皮的现代药学研究进展[J]. 中医药信息，2020，37(1)：109-114.
[14] 王 玉，杨 雪，夏鹏飞，等. 大黄化学成分、药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中草药，2019，50(19)：4821-4837.
[15] 盖晓红，刘素香，任 涛，等. 黄连的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药，2018，49(20)：4919-4927.
[16] 翁丽丽，陈 丽，宿 莹，等. 知母化学成分和药理作用[J]. 吉林中医药，2018，38(1)：90-92.
[17] 吴修红，孙晓兰，胡妮娜，等. 赤芍功效物质基础研究进展[J]. 中医药信息，2017，34(2)：120-122.
[18] 夏 伟，董诚明，杨朝帆，等. 连翘化学成分及其药理学研究进展[J]. 中国现代中药，2016，18(12)：1670-1674.
[19] 李锦燊，吴洪文. 山银花化学成分与药理活性研究进展[J]. 北方药学，2014，11(2)：71-73.
[20] 吴飞虎，宋任洁，钱雅琴，等. 疏风解毒胶囊对急性咽炎大鼠干预作用及机制探讨[J]. 现代中西医结合杂志，2021，30(9)：923-925.
[21] 李 洋，黄 健，肖 薇，等. 润喉清咽口崩片对急性咽炎动物模型的药效学研究[J]. 中华中医药杂志，2021，36(3)：1612-1615.
[22] 高雨嫣，束安梅，朱逸晖，等. 六灵解毒丸对急性咽炎的治疗作用研究[J]. 南京中医药大学学报，2020，36(6)：846-852.

(收稿日期：2021-06-25；修回日期：2021-09-20)