

蛤蚧定喘胶囊药效学及毒理学研究

邹节明¹, 潘佐静¹, 李美珠², 李爱华^{2*}

(1. 桂林三金药业股份有限公司药物研究所, 广西 桂林 541004; 2. 广东省药物研究所 药理室, 广东 广州 510180)

摘要: 目的 探讨蛤蚧定喘胶囊的药理作用。方法 观察平喘、祛痰、止咳、抗炎、免疫、抑菌、抗过敏、急性及长期毒性作用。结果 蛤蚧定喘胶囊可对抗豚鼠离体气管的痉挛, 延长豚鼠哮喘潜伏期, 增加大鼠气管痰液分泌量, 促进家鸽气管纤毛运动, 延长小鼠咳嗽潜伏期, 抑制小鼠耳肿胀和大鼠肉芽肿增生, 促进小鼠溶血素生成和淋巴细胞转化率, 降低豚鼠过敏反应指数和休克死亡率, 具有抑菌作用。最大耐受量为临床日用量的 500 倍, 长期毒性试验未见明显毒性反应。结论 蛤蚧定喘胶囊具有平喘、祛痰、止咳、抗炎、免疫、抑菌和抗过敏等作用, 无毒副作用。

关键词: 蛤蚧定喘胶囊; 平喘止咳; 祛痰

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)04-0343-04

Study on pharmacodynamics and toxicology of Gejie Dingchuan Capsule

ZOU Jie-ming¹, PAN Zuo-jing¹, LI Mei-zhu², LI Ai-hua²

(1. Institute of Pharmaceutical Research, Guilin Sanjin Pharmaceutical Co., Ltd., Guilin 541004, China;

2. Department of Pharmacology, Guangdong Institute of Materia Medica, Guangzhou 510180, China)

Abstract Object To inquire into the effect on pharmacology of Gejie Dingchuan Capsule (GJDCC).

Methods The observation of relieving cough and asthma, removing phlegm, immunity, antibiosis and antiinflammation, antianaphylaxis, and acute and long-term toxicity was carried out. **Results** GJDCC could resist the convulsion of the isolated trachea of guinea pigs, lengthen the asthma incubation period of guinea pigs, increase the phlegm liquid secreting capacity of isolated rat trachea, promote the pigeon trachea cilium motion, lengthen the mice cough incubation period, restrain the mice ear swelling and rat swelling hyperplasia of granulation, promote the mice producing of serum hemolysin and the lymphocyte conversion rate, and reduce the guinea pig allergic reaction index and shock death rate. It possessed the bacteriostasis, the biggest capacity of bearing consumption was 500 times the clinical daily use and in long-term toxicity test there were not the clear toxicity reactions. **Conclusion** GJDCC has the function of relieving asthma and cough, removing phlegm, antibiosis and antiinflammation, antianaphylaxis and immunity, without poisonous side effect.

Key words Gejie Dingchuan Capsule (GJDCC); relieving cough and asthma; removing phlegm

蛤蚧定喘胶囊是三金集团桂林中药制药厂在传统产品蛤蚧定喘丸的基础上经过剂型改革而研制的新制剂, 由蛤蚧、鳖甲、紫苑等中药组成。具有滋阴清肺化痰、平喘止咳等功效, 临床用于治疗肺肾两虚、痰热咳嗽气喘具有良好的疗效。本实验对蛤蚧定喘胶囊的药效学及毒理作用进行了研究。

1 实验材料

1.1 药物: 蛤蚧定喘胶囊由三金集团桂林中药制药厂生产, 批号 961206; 蛤蚧定喘丸由桂林三金药业集团公司提供, 批号 961201

1.2 动物: NIH 小鼠, 体重 (20±2) g, 购自广东省

医用实验动物场, 动物质量合格证书号: 95A51 SD 大鼠, 体重 (180±20) g; 封闭群豚鼠, 体重 (180±20) g, 购自第一军医大学实验动物中心, 质量合格证书号: 粤检证字 P6A20 和 P6A27 家鸽, 体重 (350±20) g, 购自农贸市场。动物饲养温度和相对湿度分别为 23℃~27℃ 和 50%~70%。

2 方法与结果

2.1 平喘作用

2.1.1 对豚鼠离体气管影响: 体重 200~250 g 豚鼠, 击头致昏, 常规分离气管。按文献^[1]方法制备离体气管螺旋条, 将标本置入 37℃、持续通纯 O₂ 的 50

* 收稿日期: 2002-09-21

作者简介: 邹节明 (1943-), 男, 湖南常德人, 博士生导师, 现任桂林三金药业股份有限公司董事长、总工程师, 中国药典委员会委员, 中国中医药管理局中医药工作专家咨询委员会委员, 《中草药》杂志副主任编委, 中国中药协会副会长, 北京中医药大学及武汉大学生命科学院客座教授, 长期从事中药制剂创新研究与产业化开发, 设计与主持研发桂林西瓜霜、脑脉泰胶囊等中药新药 36 种, 发表学术论文 51 篇, 专著 3 部。

mL改良 Krebs 生理溶液槽里,以 SYH 型二导生理记录仪描记张力曲线 待标本稳定约 30 min 后加入磷酸组胺 (使浴槽内浓度为 $1.67 \times 10^{-5} \text{ g/mL}$),当张力曲线达最高时,加入药液,对照组加等体积 NS,记录给药 3 min 内张力曲线下落幅度 (差值),用 *t* 检验 (下同) 比较组间差异显著性,结果见表 1

2.1.2 对豚鼠药物性哮喘的影响:取体重 (180±20) g 豚鼠,用 0.4% 磷酸组胺和 2% 乙酰胆碱 1:1 混合液 1 mL/只,50 kPa 恒压喷雾,挑选 2 min 内出现 IV 级哮喘反应 (呼吸困难抽搐跌倒) 的合格动物 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只 第 2 天 ig 给药,1 h 后按上法再次喷雾致喘,比较给药前后哮喘潜伏期差异,结果见表 2

表 1 蛤蚧定喘胶囊对豚鼠离体气管的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of GJDCC on isolated trachea in guinea pigs ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	终浓度 /($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	张力曲线高度 /mm		下降幅度 /mm
		给药前	给药后	
对照	-	4.60±0.90	4.20±0.95	0.40±0.18
蛤蚧定喘丸	1.00	4.55±1.00	2.40±0.48	2.15±0.71*
蛤蚧定喘胶囊	1.00	4.67±1.10	2.52±0.69	2.15±0.87*
	0.50	4.70±0.88	2.82±1.00	1.88±0.54*
	0.25	4.66±1.10	3.28±0.96	1.38±0.40*

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

表 2 蛤蚧定喘胶囊对豚鼠药物性哮喘的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of GJDCC on drug-induced asthma in guinea pigs ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	哮喘潜伏期 <i>s</i>		延长时间 <i>s</i>
		给药前	给药后	
对照	-	65.9±10.1	69.7±10.7	4.2±3.0
蛤蚧定喘丸	1.00	62.7±10.8	96.8±13.8	34.1±17.4*
蛤蚧定喘胶囊	1.00	68.3±11.7	99.8±15.0	31.5±14.7*
	0.50	65.5±12.7	86.0±21.0	21.5±14.7*
	0.25	68.2±11.4	86.7±18.5	18.5±12.4*

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

表 1 和 2 结果表明,3 个剂量的蛤蚧定喘胶囊均能显著对抗组胺引起离体气管的痉挛作用,并明显延长药物性哮喘潜伏期,与对照组比较差异均有非常显著意义 ($P < 0.01$),提示该药有显著的平喘作用

2.2 祛痰作用

2.2.1 对大鼠气管排痰量影响 (毛细玻管引流法):体重 (180±20) g 大鼠 50 只,雌雄各半,随机分为 5 组,每组 10 只,ig 给药后乌拉坦 1 g/kg ip 麻醉,在甲状软骨下气管正中插入一根内径约 0.8

mm 长 8 cm 毛细玻管使之刚好接触气管底部,记录 2 h 内平均每小时玻管内痰液上升高度,结果见表 3 表 3 蛤蚧定喘胶囊对大鼠气管排痰量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of GJDCC on phlegm outputting capacity of trachea in rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	排痰量 /($\text{cm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$)
对照	-	2.4±0.6
蛤蚧定喘丸	1.00	6.5±1.2*
蛤蚧定喘胶囊	1.00	6.1±1.1*
	0.50	4.3±1.5*
	0.25	3.7±1.2

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

2.2.2 对家鸽气管纤毛运动的影响:体重 (350±20) g 家鸽 50 只,雌雄兼用,随机分为 5 组,每组 10 只 ig 给药 1 h 后,将鸽颈部拉呈水平位,常规分离气管,由近心端气管内壁下注中华墨汁约 0.02 mL,观察墨汁 1 min 向前运行的距离,结果见表 4

表 4 蛤蚧定喘胶囊对家鸽气管纤毛运动的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of GJDCC on ciliary motion of trachea in pigeons ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	墨汁走距 /($\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$)
对照	-	0.98±0.22
蛤蚧定喘丸	1.00	1.40±0.32*
蛤蚧定喘胶囊	1.00	1.62±0.42*
	0.50	1.35±0.30*
	0.25	1.29±0.31*

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

如表 3 和 4 所示,3 个剂量的蛤蚧定喘胶囊均能不同程度地增加大鼠气管排痰量,加速鸽子气管纤毛的运动,与对照组比较差异均有显著意义 ($P < 0.05, 0.01$)

2.3 镇咳作用:取小鼠 100 只,体重 (19±1) g,雌雄各半,随机分为 5 组,每组 20 只,ig 给药 1 h 后,10% 氨水 1 mL/只,50 kPa 恒压喷雾 30 s,记录咳嗽潜伏期,结果见表 5 3 个剂量的蛤蚧定喘胶囊均有镇咳作用,与对照组比较差异均有显著意义 ($P < 0.05, 0.01$)

2.4 免疫作用

2.4.1 对小鼠溶血素生成的影响:体重 (19±1) g 小鼠 50 只,雌雄各半,随机分为 5 组,每组 10 只。每天 ig 给药 1 次,连续给药 10 d,给药第 3 天每只 ip 5% 鸡红细胞 0.2 mL 致敏,7 d 后断头取血,按文献^[1,2]方法测定血清溶血素吸光度 (*A*) 值,计算半数溶血值 (HC_{50}),结果见表 6

表 5 蛤蚧定喘胶囊对小鼠实验性咳嗽的影响 ($\bar{x} \pm s, n=20$)

Table 5 Effect of GJDCC on experimental cough in mice ($\bar{x} \pm s, n=20$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	咳嗽潜伏期 /s
对照	-	12.3 ± 5.9
蛤蚧定喘丸	1.00	21.1 ± 9.0*
蛤蚧定喘胶囊	1.00	20.3 ± 8.6*
	0.50	19.3 ± 9.4*
	0.25	17.5 ± 8.7

与对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs control group

表 6 蛤蚧定喘胶囊对小鼠血清溶血素生成的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 6 Effect of GJDCC on formation of serum hemolysin in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	HC ₅₀
对照	-	11.3 ± 5.5
蛤蚧定喘丸	1.00	69.8 ± 25.3*
蛤蚧定喘胶囊	1.00	70.0 ± 19.9*
	0.50	48.2 ± 27.0*
	0.25	46.2 ± 24.0*

与对照组比较: ** P < 0.01

** P < 0.01 vs control group

2.4.2 对体内淋巴细胞转化功能影响: 小鼠 60 只, 体重 (19 ± 1) g, 雌雄各半, 随机分为 5 组, 每组 12 只。每天 ig 给药 1 次, 连续给药 10 d, 给药第 6 天按文献^[3] im 植物血凝素 (PHA) 6 mg/kg, 每日 1 次, 连续 3 次, 第 11 天剪尾取血推片, 用瑞氏-吉姆萨染色, 油镜下计数 200 个淋巴细胞转化率, 结果见表 7

表 7 蛤蚧定喘胶囊对小鼠淋巴细胞转化率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 7 Effect of GJDCC on lymphocyte conversion rate in mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	淋巴细胞转化率 /%
对照	-	17.5 ± 6.1
蛤蚧定喘丸	1.00	27.4 ± 5.0*
蛤蚧定喘胶囊	1.00	28.2 ± 3.7*
	0.50	24.8 ± 5.0
	0.25	22.0 ± 5.0

与对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs control group

如表 6 和 7 所见, 蛤蚧定喘胶囊 3 个剂量组均能明显增加小鼠血清溶血素生成量, 提高体内淋巴细胞转化率, 与对照组比较差异均有显著意义 (P < 0.05, 0.01), 提示该药对体液免疫和细胞免疫均有增强作用

2.5 抗过敏作用: 按照卵蛋白气雾吸入引喘法^[4]选

取体重 (180 ± 20) g 豚鼠 50 只, 雌雄兼用, 随机分为 5 组, 每组 10 只。每只豚鼠大腿外侧 im 4% 卵蛋白生理盐水, 并同时 ip 4% 氢氧化铝凝胶各 0.2 mL 致敏。第二天开始 ig 给药, 每天 1 次, 连续 14 d。末次给药 1 h 后, 5% 卵蛋白生理盐水 1 mL 只, 50 kPa 恒压喷雾 30 s, 观察记录 60 min 内动物过敏反应指数 (过敏反应指数参照文献^[5]的评定方法, 即 0 无任何反应; 1 萎靡 躁动不安或搔痒; 2 呼吸加快或促迫; 3 呼吸困难, 喘息或口唇紫绀; 4 震颤、抽搐; 5 休克死亡), 结果见表 8 用药各组均能不同程度地降低过敏反应指数和死亡率, 与对照组比较, 大中剂量组差异均有显著意义 (P < 0.05), 提示蛤蚧定喘胶囊对豚鼠过敏性支气管痉挛和过敏性休克死亡有一定的保护作用。

表 8 蛤蚧定喘胶囊对豚鼠过敏性支气管痉挛的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 8 Effect of GJDCC on anaphylactic bronchospasm in guinea pigs ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	死亡率 /%	过敏反应指数
对照	-	40	4.2 ± 0.8
蛤蚧定喘丸	1.0	20	2.6 ± 1.8
蛤蚧定喘胶囊	1.0	20	2.4 ± 1.9
	0.5	30	2.5 ± 1.9
	0.25	40	2.9 ± 2.0

与对照组比较: * P < 0.05

* P < 0.05 vs control group

2.6 抗炎作用

2.6.1 对二甲苯致小鼠耳廓炎症的影响: 小鼠 50 只, 体重 (19 ± 1) g, 雌雄各半, 随机分为 5 组, 每组 10 只。ig 给药 30 min 后, 于左耳滴二甲苯 0.05 mL 致炎, 30 min 后脱颈椎处死动物, 用直径 7 mm 打孔器取左右耳片称重, 以两耳片重量差值为炎症肿胀度, 结果见表 9

2.6.2 对大鼠皮下棉球肉芽肿的影响: 体重 (180 ± 20) g 雄性大鼠 50 只, 随机分为 5 组, 每组 10 只。1% 戊巴比妥钠 ip 麻醉 30 mg/kg, 由腹股沟皮下植入 20 mg 的无菌棉球, 术后 4 h 开始 ig 给药, 每天 1 次, 连续 7 d。第 8 天断颈处死动物, 剥离皮下棉球肉芽肿置 60°C 烘箱干燥 12 h, 称干重, 减去棉球重量则为肉芽肿重量, 结果见表 10

表 9 和 10 结果显示, 3 个剂量组的蛤蚧定喘胶囊均能明显抑制小鼠耳廓炎症肿胀度和大鼠皮下肉芽的增生, 与对照组比较差异均有显著意义 (P < 0.05, 0.01), 说明该药对急、慢性炎症有较好的抗炎作用。

表 9 蛤蚧定喘胶囊对二甲苯致小鼠耳廓炎症的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 9 Effect of GJDCC on xylene-induced ear inflammation in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (g ^o kg ⁻¹)	肿胀度 / mg
对照	-	6.1 ± 1.7
蛤蚧定喘丸	1.0	3.9 ± 1.2 *
蛤蚧定喘胶囊	1.0	3.3 ± 1.2 *
	0.5	4.3 ± 1.3
	0.25	4.5 ± 1.3

与对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs NS control group

表 10 蛤蚧定喘胶囊对大鼠皮下棉球肉芽肿的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 10 Effect of GJDCC on subcutaneous cotton ball granuloma in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (g ^o kg ⁻¹)	肉芽肿重 / mg
对照	-	193 ± 54
蛤蚧定喘丸	1.0	104 ± 47 *
蛤蚧定喘胶囊	1.0	94 ± 32 *
	0.5	123 ± 25 *
	0.25	130 ± 33 *

与对照组比较: ** P < 0.01

** P < 0.01 vs control group

2.7 体外抑菌作用: 选用金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、肺炎球菌、卡他球菌和白喉杆菌(菌种均来自北京生物制品研究所)共 5 种呼吸道感染常见的病原菌和条件致病菌进行试验。按照液体试管法将 1 g / mL 的蛤蚧定喘胶囊和蛤蚧定喘丸药液分别用肉汤从 1: 5 开始作两倍稀释至 1: 640, 每管总量 1 mL, 受试药液所含的生药量依次为 0.20, 0.10……0.0015 g 8 个浓度, 流通蒸汽灭菌。供链球菌试验用则在灭菌药液中另加 1% 葡萄糖 0.1 mL (6~ 8 h 培养物), 37℃ 培养 18 h, 观察实验结果, 并判定最小抑菌浓度 (MIC)。结果见表 11

表 11 蛤蚧定喘胶囊体外抑菌试验结果

Table 11 Effect of GJDCC on bacteriostatic test *in vitro*

药物	MIC / (g ^o mL ⁻¹)				
	金黄色葡萄球菌	乙型溶血性链球菌	肺炎球菌	卡他球菌	白喉杆菌
蛤蚧定喘胶囊	0.0125	0.05	0.10	0.20	0.05
蛤蚧定喘丸	0.10	0.10	0.10	0.20	0.05

结果显示蛤蚧定喘胶囊和蛤蚧定喘丸对所试菌种均有不同程度的抑菌作用, 其中胶囊对金黄色葡萄球菌和乙型链球菌的作用明显强于丸剂, 对其余 3 种菌种两种剂型的抑菌作用相当。

2.8 急性毒性试验: 取 NIH 小鼠 20 只, 体重 20 g, 雌雄各半, 禁食 12 h 后, 各鼠按 0.5 mL / 10 g 体重 ig 给药, 9 h 后重复给药 1 次。观察给药后 7 d 内

小鼠的外观、行为、食量、排泄、死亡等情况。结果给药后动物外观、行为、食量、排泄均未见异常, 全部存活, 第 7 天体重增长 (6.4 ± 1.5) g, 增重率为 33.5%。求得小鼠最大耐受量为 25 g / kg, 相当于临床用量的 500 倍。

2.9 长期毒性试验: 取 Wistar 普通级大鼠 80 只, 雌雄各半, 体重 (120 ± 20) g, 按原药材 15.7, 7.85, 3.93 g / kg (分别为临床拟用日剂量的 100, 50, 25 倍) 的剂量分别给大鼠连续 ig 蛤蚧定喘胶囊, 对照组给自来水, 连续 12 周, 观察大鼠的外观、行为、食量、排泄、死亡等情况; 采血作血液学、血液生化学检查; 剖取心、肝、脾、肺、肾、子宫、睾丸称重, 计算脏器系数, 取主要脏器作肉眼观察及组织学检查。结果表明, 大鼠连续 ig 12 周, 未见明显的毒性反应, 停药观察 2 周亦未见明显的延缓毒性反应。

3 讨论

蛤蚧定喘胶囊能对抗组胺所致离体气管的痉挛, 延长豚鼠对组胺和乙酰胆碱混合液诱发的哮喘反应潜伏期, 增加大鼠气管痰液排出量, 促进家鸽气管的纤毛运动, 抑制二甲苯所致小鼠耳廓炎症肿胀度和大鼠皮下肉芽肿的增长, 促进小鼠体内溶血素生成和淋巴细胞转化率, 降低卵蛋白诱发豚鼠过敏反应指数和死亡率, 表明该药具有显著的平喘、祛痰、止咳、抗炎、免疫作用, 对豚鼠过敏性支气管痉挛和过敏性休克死亡具有一定的保护作用, 其作用随剂量的增加而加强。体外抑菌试验证明, 蛤蚧定喘胶囊对金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、肺炎球菌、卡他球菌和白喉杆菌均有不同程度的抑菌作用, 其中对金黄色葡萄球菌的作用最强。同等剂量的蛤蚧定喘胶囊和蛤蚧定喘丸的作用比较说明两种剂型的药效学作用基本一致, 但胶囊剂对金黄色葡萄球菌和乙型链球菌的作用明显强于丸剂。

急性毒性及长期毒性试验表明, 蛤蚧定喘胶囊按拟用日剂量及疗程在临床应用是安全的。

References

- [1] Chen Q. *Methodology in Pharmacological Study on Chinese Materia Medica* (中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1993.
- [2] Wu T, Guo C H. Measurement of haemolysis of immunity with the chicken red blood cell [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1985, 16 (1): 28.
- [3] Wu T. Initial observation that the lymphocyte changes bring out with PHA in mice body [J]. *Shanghai J Immunol* (上海免疫学杂志), 1984, 2 (1): 57.
- [4] Li Y K. *Methodology in Pharmacological Experiment on Chinese Materia Medica* (中药药理实验方法学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publisher, 1991.
- [5] Liu S Y. Experiment research of resisted irritability effect of Kangminling [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1992, 14 (1): 31-32.