

取4次,每次30ml,合并提取液,蒸干,残渣用甲醇定容至5ml,即得样品溶液。吸取样品溶液10 μ l,按上述色谱条件进样。测得峰面积Y,代入回归方程: $\ln Y = 0.6461 \ln X - 1.3924$ 即可计算出X值。

2.4 检查 应符合颗粒剂项下有关的粒度、水分、溶化性、装量差异、微生物限度规定(中国药典2005版一部附录I C)。

3 讨论

复方芪莼颗粒为口服颗粒剂,具清热利湿,益气退黄,兼理气之功效,用于各类乙型病毒性肝炎。为了能适用于兼有糖尿病、肥胖和心血管疾病等限制糖摄入量的患者,本品制成无糖型制剂。

本制剂只用了1.25倍的辅料,而且是无糖型制剂,粘度较大,给制粒带来较大难度。试验之初采用75%乙醇作为粘合剂,软材较为松软,但随着搅拌时间的递进,由于乙醇的挥发软材逐渐变硬,无法搅拌均匀,经试验后选择纯化水作为粘合剂;粘合剂用量十分重要,量少了软材松散易于搅拌但细颗粒多,量多了软材较粘但粗颗粒多,因此使用适量的粘合剂才能保证获得合格的成品率;软材搅拌时间长短同样重要,时间短了搅拌不均匀制剂质量受到影响,时间太长又影响粒度。通过反复实践,体会到制作的关键在于粘合剂的选择与用量的掌握和搅拌时间的控制。

本制剂采用薄层色谱法鉴别。鉴别之一系黄芪的特征鉴别。黄芪^[3]主要成分为皂苷类物质,功能补气固表,利尿托毒,排脓,敛疮生肌,其煎剂对小鼠急性中毒性肝炎(CCl₄)、内毒素中毒肝损伤、半乳糖、醋氨酚肝损伤均能减轻肝毒引起病变和死亡。以黄芪甲苷为对照品,鉴别处方中的黄芪。经阴性对照实验

及三批样品的检测,说明该方法可行(见附图1)。鉴别之二系葛根^[3]的特征鉴别。葛根含有黄酮类物质,以葛根素为对照品,鉴别处方中的葛根。采用乙酸乙酯提取后再点样,展开,分离效果好。经阴性对照实验及三批样品的检测,说明该方法可行(见附图2);处方中另一味君药栀子根^[4],功效清热、凉血、解毒,治感冒高热和黄疸型肝炎。为茜草科植物山栀的 *Gardenia jasminoides* Ellis 的根。有效成分尚不明确故不列入鉴别;郁金^[3]的正品来源为姜科植物温郁金,姜黄、广西莪术或蓬莪术的干燥块根。其来源广,成分不一,故不列入鉴别。

方中主要成分为黄芪甲苷,其含量测定多为薄层扫描法,重现性差。又因黄芪甲苷的最大吸收波长为201nm,为末端吸收,难于用紫外检测器检测。现采用高效液相色谱-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD)测定颗粒中黄芪甲苷的含量。在测量中,其峰面积值与对照品浓度不成线性关系,而将峰面积与对照品浓度分别取对数后可得到理想的线性关系($r = 0.9999$);经加样回收率试验,平均回收率为97.3%,RSD为1.90%^[2]。本方法简便、分离度高,重现性及回收率良好,为完善该药品的质量标准提供依据。

参考文献

- [1]刘训红,王玉玺,房克慧,等.中药材薄层色谱鉴别[M].天津:天津科学技术出版社,1990.
- [2]袁文杰,张怡评. HPLC-蒸发光散射检测法测定复方芪莼颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 中国药品标准,2006,37(3):39-41.
- [3]肖培根.新编中药志[M].北京:化学工业出版社,2002:574-962.
- [4]江苏新医学院.中药大辞典[M].上海:上海科学技术出版社,1996:4087.

(上接第66页)

- | | | |
|---|---|---|
| <p>[24]李莹,王春芳,马润琳.陈建杰教授健脾补肾法治疗脂肪肝经验[J].中华实用中西医杂志,2005,18(3):42.</p> <p>[25]祝峻峰,李卫山.消脂汤治疗脂肪肝68例[J].中西医结合肝病杂志,2001,11(2):10.</p> <p>[26]孟青芳. 脂肝合剂联合肝病治疗仪治疗非酒精性脂肪肝45例[J].陕西中医,2007,28(9):1123-1125.</p> <p>[27]张金生,彭勃.橄榄降脂胶囊治疗高脂</p> | <p>血症性脂肪肝80例[J].陕西中医,2007,28(9):1122-1123.</p> <p>[28]郑颖俊. 消脂复肝汤治疗脂肪肝的疗效观察[J].中西医结合肝病杂志,2007,17(1):12.</p> <p>[29]成易伟,甘璐.清脂复肝汤治疗非酒精性脂肪肝60例[J].新中医,2007,39(1):45.</p> <p>[30]杨晋原.活血消脂益肝汤治疗脂肪肝[J].山西中医,2008,24(2):57.</p> <p>[31]邹祥发,陈福冈,王福敏.清肝汤治疗非</p> | <p>酒精性脂肪肝30例[J].陕西中医,2008,29(1)20-21.</p> <p>[32]赵琦.祛脂愈肝汤加减治疗脂肪肝32例[J].陕西中医,2008,29(1):19-20.</p> <p>[33]范建高,曾民涛.脂肪肝[M]上海:上海医科大学出版社,2000:249-253.</p> <p>[34]杨钦河,凌家生,吴伟康.中医药治疗脂肪肝的用药规律分析[J]中华中医药杂志,2005,20(9):525-527</p> |
|---|---|---|

咳喘宁对支气管哮喘大鼠气道炎症的影响[※]

● 杨牧祥* 于文涛 徐华洲

摘 要 目的:观察咳喘宁对支气管哮喘大鼠气道形态学和肺泡灌洗液(BALF)中淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞的影响。方法:40 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、咳喘宁高剂量组(2.7g 生药/ml)、咳喘宁低剂量组(1.35g 生药/ml)、桂龙咳喘宁胶囊对照组(0.41g/kg 体重),每组 8 只。除正常组外以卵蛋白致敏并吸入激发法制备大鼠支气管哮喘模型,各治疗组均从第 1 次哮喘激发开始(造模第 3 周)至处死前每天灌胃给药,激发并给药 4 周后处死大鼠,回收 BALF,作细胞总数浓度计数,计算嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞的比例;取肺组织 HE 染色,彩色图象分析仪测量支气管管壁厚度、平滑肌厚度。结果:与正常组比较,模型组大鼠 BALF 细胞总数、嗜酸性粒细胞和淋巴细胞比例明显增加($P < 0.01$),支气管管壁和平滑肌厚度明显增加($P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组细胞总数、嗜酸性粒细胞和淋巴细胞比例以及支气管管壁和平滑肌厚度均显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);且高、低剂量组优于桂龙咳喘宁胶囊组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论:咳喘宁可减轻支气管哮喘大鼠炎症反应,抑制气道重塑。

关键词 咳喘宁 支气管哮喘 气道炎症 大鼠

支气管哮喘是一种由多种细胞特别是肥大细胞、嗜酸性细胞和 T 淋巴细胞参与的慢性气道炎症^[1]。本病反复发作,可导致气道重塑,致使病情顽固难愈。咳喘宁是根据中医理论及多年临床观察研制的治疗支气管哮喘的有效方药,为了进一步阐明其作用机制,课题组观察了该药对支气管肺泡灌洗液(BALF)炎细胞数目和气道病理形态学的影响,报道如下。

1 材料与方 法

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠 40 只,雌雄各半,鼠龄

40 天,体重 180 ~ 200g,由华中科技大学同济医学院实验动物学部提供,动物合格证号:SCXK(鄂)2004-007。

1.2 药物 咳喘宁:由炙麻黄、炒杏仁、紫菀、款冬花、五味子、炙百部、地龙、炙黄芪、太子参、桃仁、丹参、淫羊藿等中药组成,使用前水煎分别浓缩成含量为 2.7g 生药/ml(高剂量组)和 1.35g 生药/ml(低剂量组)的混悬液。桂龙咳喘宁胶囊:山西桂龙医药有限公司生产,批准文号:国药准字 Z20053135,生产批号:050706,0.3g/粒,使用前用生理盐水溶解成浓度为 0.041g/ml 的混悬液。

1.3 试剂及仪器 卵蛋白:美国 Sigma 公司生产。氢氧化铝:天津市化学试剂三厂生产,分析纯。彩色图象分析仪:武汉同济医科大学千屏影像科技公司生产。BH-2 光学显微镜:Olympus 公司生产。彩云 JWC-201D 型超声物化器:鞍山市同信医用仪器厂生产。

1.4 分组及给药 动物随机分为 5 组,即正常组、模型组、咳喘宁高剂量组(简称高剂量组)、咳喘宁低剂

※基金项目 河北省科技攻关计划项目(No:06276102D-37)

*作者简介 杨牧祥,男,博士研究生导师,教授,主任医师。兼任中华中医药学会第四届理事会理事,河北省中医药学会第四、五届理事会副会长,并为国家中医药管理局确定的全国名老中医药专家,享受国务院特殊津贴专家,国家级科技成果鉴定评审专家,中华中医药学会科学技术奖评审专家。主要从事肺系疾病研究,已获省部级科技进步奖及教学成果奖 12 项,主编或参编出版医学著作 51 部,发表学术论文 179 篇。

•作者单位 河北医科大学中医学院(050091)

量组(简称低剂量组)、桂龙咳喘宁胶囊对照组(简称桂龙咳喘宁组),每组 8 只。各治疗组均从第 1 次哮喘激发开始(造模第 3 周)至处死前每天灌胃给药,剂量见表 1,正常组、模型组予 0.5% 的羧甲基纤维素钠液灌胃,1 日 1 次,连续 4 周。

1.5 模型建立 参考文献[2],除正常组外,各组大鼠腹腔内注射 10% 卵蛋白和 10% 氢氧化铝混合液 1ml,致敏后第 15 天用 1% 卵蛋白喷雾激发大鼠哮喘发作,隔日 1 次,每次 20min,共激发 4 周。以大鼠出现呼吸加快、口唇发绀、腹肌痉挛、点头呼吸及站立不稳等表现为激发成功。正常对照组以生理盐水代替卵蛋白进行腹腔注射及雾化吸入。

1.6 指标检测及方法

1.6.1 BALF 细胞数目的检测 经 3% 戊巴比妥腹腔注射麻醉,颈动脉放血处死动物后,立即经气管注入 Hanks 液 5ml 2 次,轻轻按摩动物的胸部 20~30s 后回收 BALF,回收率大于 90%。BALF 离心后沉淀细胞重悬于 2ml Hank's 液中,作细胞总数浓度计数,取部分涂片,Wright-Giemsa 染色,油镜下观察,计数 200 个细胞中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞的比例。

1.6.2 气道形态学观察 麻醉完全后,取右肺中叶

4% 多聚甲醛固定,脱水、包埋、切片,HE 染色观察,并参照文献[3]测量大鼠气道壁的面积,并用气管内周长进行标准化。采用 NYD1000 型图像分析软件测定完整支气管管腔的内周长(Pi)、管壁面积(WA)、支气管平滑肌的面积,用 Pi 进行标准化,分别以 WA/Pi、支气管平滑肌的面积/Pi 表示支气管管壁厚度、支气管平滑肌厚度。

1.7 统计分析 采用 SPSS11.5 软件进行统计处理,统计方法用单因素方差分析和 q 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠 BALF 细胞数目的比较 与正常组比较,模型组大鼠细胞总数、嗜酸性粒细胞和淋巴细胞比例明显增加($P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组细胞总数、嗜酸性粒细胞和淋巴细胞比例均显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);且高、低剂量组优于桂龙咳喘宁组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 1。

2.2 各组大鼠气道形态学参数的比较 与正常组比较,模型组大鼠支气管管壁和平滑肌厚度明显增加($P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组均可显著降低支气管管壁和平滑肌厚度($P < 0.01$);且高、低剂量组优于桂龙咳喘宁组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 2。

表 1 各组大鼠 BALF 细胞数目的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/Kg)	动物数	细胞总数 ($\times 10^9/L$)	嗜酸性粒细胞 (%)	中性粒细胞 (%)	淋巴细胞 (%)
正常组	-	8	$0.37 \pm 0.15^{**}$	$1.63 \pm 0.42^{**}$	23.8 ± 6.76	$10.6 \pm 3.5^{**}$
模型组	-	8	3.13 ± 1.14	27.9 ± 6.13	20.3 ± 8.93	22.6 ± 7.64
高剂量组	27.0	8	$1.28 \pm 0.62^{**\Delta\Delta}$	$15.8 \pm 4.30^{**\Delta}$	22.9 ± 6.62	$15.6 \pm 5.57^{**\Delta\Delta}$
低剂量组	13.5	8	$1.63 \pm 0.86^{**\Delta}$	$20.3 \pm 5.61^*$	23.6 ± 4.86	$16.9 \pm 6.26^{*\Delta}$
桂龙咳喘宁组	0.41	8	$2.23 \pm 0.96^*$	$21.4 \pm 5.97^*$	24.2 ± 5.47	21.7 ± 7.62

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与桂龙咳喘宁组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

表 2 各组大鼠气道形态学参数的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/Kg)	动物数	支气管数	支气管管壁厚度 (%)	支气管平滑肌厚度 (%)
正常组	-	8	24	$2.52 \pm 1.07^*$	$1.17 \pm 0.86^*$
模型组	-	8	24	7.64 ± 1.91	4.02 ± 1.49
高剂量组	27.0	8	24	$4.12 \pm 1.51^{*\Delta\Delta}$	$2.05 \pm 1.04^{*\Delta\Delta}$
低剂量组	13.5	8	24	$4.49 \pm 1.62^{*\Delta\Delta}$	$2.22 \pm 1.08^{*\Delta}$
桂龙咳喘宁组	0.41	8	24	$5.69 \pm 1.64^*$	$2.95 \pm 0.94^*$

注:与模型组比较,* $P < 0.01$;与桂龙咳喘宁组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。