

三伏三九贴止咳、祛痰、平喘作用实验研究*

陈永亮¹, 舒东¹, 陶银利¹, 谢小林¹, 陶静¹, 刘杰¹, 袁樱¹, 刘琼¹, 谭长现¹, 施汀兰^{2△}

(1. 重庆市忠县中医医院, 重庆 404300; 2. 重庆市中药研究院, 重庆 400065)

摘要:目的 探讨三伏三九贴对实验动物的止咳、祛痰、平喘作用。方法 采用小鼠浓氨水喷雾法、大鼠毛细支气管法观察三伏三九贴的止咳、祛痰作用;采用组胺致豚鼠哮喘和卵清蛋白引发豚鼠过敏性哮喘试验观察三伏三九贴的平喘作用。结果 三伏三九贴能明显延长小鼠的咳嗽潜伏期,并可减少咳嗽次数,增加大鼠痰液分泌量,延长豚鼠引喘潜伏期和哮喘潜伏期并减轻哮喘症状。结论 三伏三九贴具有明显的止咳、祛痰、平喘作用。

关键词:三伏三九贴;止咳;祛痰;平喘;动物实验

中图分类号:R932;R285.5;R256.1

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)04-00016-03

Study on the Antitussive, Expectorant and Anti-Asthmatic Effects of Sanfusanjiu Paste

CHEN Yongliang¹, SHU Dong¹, TAO Yinli¹, XIE Xiaolin¹, TAO Jing¹, LIU Jie¹, YUAN Ying¹, LIU Qiong¹, TAN Changxian¹, SHI Tinglan²

(1. Zhongxian Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing, China 404300; 2. Chongqing Academy of Chinese Material Medica, Chongqing, China 400065)

Abstract: **Objective** To investigate the antitussive, expectorant and anti-asthmatic effects of Sanfusanjiu Paste on the experimental animals. **Methods** Through concentrated ammonia water spray method in mice and capillary sputum excretion method in rats, the antitussive and expectorant effects of Sanfusanjiu Paste were observed. Through the experiments of asthma induced by histamine and allergic asthma induced by ovalbumin in guinea pigs, the asthmatic effect of Sanfusanjiu Paste was observed. **Results** Sanfusanjiu Paste could significantly prolong the incubation period of cough and reduce the frequency of cough in mice, increase the secretion of sputum in rats, prolong the latency of asthma induction and asthma in guinea pigs, and alleviate the symptoms of asthma. **Conclusion** Sanfusanjiu Paste has obvious antitussive, expectorant and anti-asthmatic effects.

Key words: Sanfusanjiu Paste; antitussive; expectorant; anti-asthmatic; animal experiment

三伏药贴源于宋代王执中《针灸资生经》最早提到的“天灸”,即用旱莲草外敷治疟,用药后皮肤局部起疱如灸疤,今称药物发泡灸。清代张璐《张氏医通》中采用白芥子、细辛、延胡索、甘遂共为末,入麝香,调敷肺俞、膏肓、百劳等穴治哮喘。本研究中采用的三伏三九贴是在张氏方基础上加减应用,通过以肤固表、以表托里、以经通脏、以穴驱邪,达到扶正强身的目的,适用于哮喘、咳嗽、慢性支气管炎疾病的治疗。本研究中通过动物实验,探讨三伏三九贴止咳、祛痰及平喘的药理作用,为临床应用提供药理学基础。

1 动物、试药与仪器

动物:SPF级KM小鼠60只,雌雄各半,体质量18~22g;SPF级SD大鼠60只,雌雄各半,体质量180~220g;普通级Hartley豚鼠,160只,雌雄各半,其中80只体质量为150~200g,其余80只为250~300g。以上实验动物均由重庆市中药研究院实验动物研究所提供,生产许可证号:SCXK(渝)2012-0006,动物使用许可证号:SYXK(渝)2012-0003。所用动物适应性饲养1周。

试药:三伏三九贴(重庆市忠县中医医院,批号为20170714);咳特灵胶囊(广东罗浮山国药股份有限公司,

批号为L17B022);氨水(重庆川东化工<集团>有限公司,批号为20140401);乌拉坦(成都市科龙化工试剂厂,批号为2015032701);磷酸组胺(西亚试剂,批号为M3639);卵清蛋白(OVA,北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司,批号为080M1705V)。

仪器:UW-4200S型电子天平(岛津国际贸易有限公司);BSA3202S型电子天平(赛多利斯科学仪器<北京>有限公司);YLS-8A型多功能诱咳引喘仪(济南益延科技发展有限公司)。

2 方法与结果

2.1 穴位选择

考虑到临床使用和实验的可操作性,选取小鼠、大鼠、豚鼠脊柱两旁双侧的肺俞、厥阴俞、心俞、督俞、膈俞。穴位参照《实验针灸学》大鼠常用针灸穴位而定^[1-2]。

2.2 小鼠止咳试验(浓氨水喷雾法)^[2-3]

KM小鼠50只,采用随机分组法分为5组,各10只(雌雄各半),即空白对照组(A组),咳特灵组(B组,咳特灵胶囊口服灌胃),三伏三九贴给药组(C₁组、C₂组、C₃组)。各组于给药前1d备皮,将小鼠胸椎两侧(包括肺俞、厥阴俞、心俞和膈俞)毛发剪去,范围约为2cm×

*基金项目:重庆市社会民生与科技创新专项[cstc2016shmszx130052];重庆市基本科研业务费项目[cstc2017jxjl-jbky130010]。

第一作者:陈永亮,男,大学本科,主任中药师,研究方向为针刀治疗,(电话)023-54456998(电子信箱)269238226@qq.com。

△通信作者:施汀兰,女,硕士研究生,研究方向为药理毒理学,(电话)023-89029150(电子信箱)289643518@qq.com。

表1 动物止咳、祛痰、平喘试验结果($\bar{X} \pm s, n=10$)

组别	小鼠止咳试验			大鼠祛痰试验			豚鼠哮喘试验	
	生药剂量(g/cm ²)	咳嗽潜伏期(s)	咳嗽次数(次)	生药剂量(g/cm ²)	给药前2h痰液分泌量(mL)	给药后2h痰液分泌量(mL)	生药剂量(g/cm ²)	引喘潜伏期(s)
A组	-	23.10±4.93	58.70±8.27	-	1.55±0.11	1.62±0.11	-	69.10±27.19
B组	0.22 [△]	59.60±24.78 [#]	12.20±2.74 [#]	0.11 [△]	1.53±0.12	2.42±0.41 [#]	0.082 [△]	243.70±46.55 [#]
C ₁ 组	0.23	43.80±18.71 [#]	23.40±5.87 [#]	0.23	1.47±0.10	2.07±0.46 [*]	0.23	203.90±31.10 [#]
C ₂ 组	0.25	47.10±20.47 [#]	16.60±10.42 [#]	0.25	1.49±0.11	2.00±0.41 [*]	0.25	209.90±46.92 [#]
C ₃ 组	0.21	35.40±6.19 [#]	20.40±3.34 [#]	0.21	1.52±0.11	2.13±0.44 [#]	0.21	185.00±32.71 [#]

注:与A组比较,* $P<0.05$,[#] $P<0.01$ 。△数据单位为g/kg,表2同。

2 cm。将各样品贴敷于整个去毛区(A组用灭菌纱布吸附后贴敷于脱毛区),用特制胶布固定,6 h后,去除覆盖物。以上各组均每日给药1次,连续5 d,末次给药30 min后,将小鼠置多功能诱咳引喘仪中,采用28%氨水喷雾10 s,以小鼠出现腹肌收缩、缩胸、张大嘴(咳声有无均可)作为咳嗽标准,观察并记录小鼠3 min内的咳嗽次数和咳嗽潜伏时间(s)。与A组相比,B组和C₁组、C₂组、C₃组小鼠咳嗽潜伏期明显延长,咳嗽次数明显减少($P<0.01$),提示三伏三九贴对小鼠有良好的止咳作用。详见表1。

2.3 大鼠祛痰试验(毛细玻璃管法)^[4-5]

SD大鼠50只,分组、给药方法同2.1项。试验前禁食不禁饮8~12 h后,给予乌拉坦1.0 g/kg(10 mL/kg)腹腔注射麻醉,仰位固定(注意保暖)。剪开颈部正中皮肤,分离出气管。在甲状软骨下缘正中的软骨环之间用尖锐的注射针头扎一小孔,插入玻璃毛细管1根,刚好接触气管底部,吸取气管后部之痰液。当毛细管内痰液充满时,立即另换1根。以毛细管吸取痰液长度评价祛痰效果。记录给药前2 h和给药后2 h痰液分泌量。与A组相比,给药后2 h B组和C₁组、C₂组、C₃组大鼠痰液分泌量明显增加($P<0.01$ 或 $P<0.05$),提示三伏三九贴对大鼠有较好的祛痰作用。详见表1。

2.4 豚鼠哮喘试验^[5-6]

将Hartley豚鼠放入多功能诱咳引喘仪,吸入0.2%磷酸组织胺溶液15 s,喷雾停止后观察6 min内豚鼠引喘潜伏期,以出现抽搐为标志,将引喘潜伏期大于150 s的豚鼠淘汰,取筛选合格的豚鼠50只,分组、给药方法同2.1项。分组后将豚鼠胸椎两侧脱毛,总面积约2 cm×3 cm,包括肺俞、厥阴俞、心俞和膈俞穴。分别给予各样品,每组均每日给药1次,连续5 d,末次给药后1 h进行试验。按上述筛选方法测定并记录豚鼠的引喘潜伏期(从吸入药液到豚鼠第1次发生抽搐的时间),若豚鼠在6 min内无抽搐反应,则引喘潜伏期以360 s计。与A组相比,B组和C₁组、C₂组、C₃组豚鼠引喘潜伏期明显延长($P<0.01$),提示三伏三九贴对组胺所致豚鼠哮喘有明显的平喘作用。详见表1。

2.5 豚鼠过敏性哮喘试验^[7-9]

取Hartley豚鼠60只,按照随机分组法分为空白对照组,模型组,三伏三九贴A、B、C组和咳特灵(咳特灵胶囊,口服灌胃)组。参照文献方法,每只豚鼠第1天腹腔注射10%OVA 0.9%氯化钠溶液1 mL致敏。致敏第9天,背部(与人类肺俞、膈俞、膻中穴位相对应的位置)去毛备皮,范围约2 cm×3 cm。致敏第10天,各组隔天给药1次,共5次。致敏第14天将豚鼠置多功能诱咳引喘仪内,通入1%OVA 0.9%氯化钠注射液激发,每次15 s,隔天1次,共3次。在第3次激发时,测定末次给药1 h后豚鼠哮喘潜伏期(即从喷雾开始到豚鼠出现点头呼吸的时间),记录出现哮喘的潜伏期和哮喘情况。每只动物观察6 min,无哮喘发作者哮喘潜伏期以360 s计。哮喘症状评分共分4级。1分,呼吸困难;2分,呼吸困难+咳嗽;3分,呼吸困难+咳嗽+跌倒;4分,死亡;未见上述症状记为0分。与空白对照组比较,模型组豚鼠哮喘潜伏期明显缩短,哮喘症状评分明显增加($P<0.01$);与模型组相比,咳特灵组和三伏三九贴A、B、C组豚鼠哮喘潜伏期明显延长($P<0.01$)、哮喘症状明显减轻($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。提示三伏三九贴对OVA引发的豚鼠过敏性哮喘有明显的平喘作用。详见表2。

表2 豚鼠过敏性哮喘试验结果($\bar{X} \pm s, n=10$)

组别	生药剂量(g/cm ²)	哮喘潜伏期(s)	哮喘症状评分(分)
空白对照组	-	360.00	0
模型组	-	100.90±15.75 [△]	2.60±0.70 [△]
咳特灵组	0.082 [△]	222.70±21.61 [#]	1.40±0.70 [#]
三伏三九贴A组	0.23	213.10±20.31 [#]	1.80±0.79 [*]
三伏三九贴B组	0.25	200.50±28.77 [#]	1.80±0.79 [*]
三伏三九贴C组	0.21	192.30±26.69 [#]	1.90±0.74 [*]

注:与空白对照组比较,△ $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,[#] $P<0.01$ 。

3 讨论

氨水为化学刺激性物质,其气雾吸入呼吸道后,可刺激呼吸道上皮下的感受器而引起咳嗽。本研究结果显示,三伏三九贴能明显延长小鼠咳嗽潜伏期,减少3 min内咳嗽次数,与空白对照组相比,有显著差异,说明三伏