

清肺消炎丸对豚鼠的镇咳平喘作用研究

侯媛媛¹, 李若洁², 程彬峰¹, 王利强¹

1 南开大学 药学院, 天津 300071

2 南开大学 生命科学学院, 天津 300071

摘要 **目的:** 研究清肺消炎丸对豚鼠的镇咳平喘作用。**方法:** 采用枸橼酸诱发豚鼠咳嗽模型, 记录引咳后 3 min 内的咳嗽次数, 观察清肺消炎丸的镇咳作用。采用豚鼠离体气管平滑肌收缩实验和组胺引喘的活体动物实验对清肺消炎丸的平喘作用进行评价。离体实验中测定药物对乙酰胆碱引起的气管平滑肌收缩的收缩曲线, 计算收缩百分率; 整体动物实验中测定给药后豚鼠的延喘时间用来表征药物平喘作用的强弱。**结果:** 清肺消炎丸能有效减少豚鼠的咳嗽次数, 显著延长咳嗽潜伏期; 对豚鼠离体气管收缩的抑制效果较好; 对组胺致喘豚鼠的哮喘潜伏期有明显的延长作用。**结论:** 清肺消炎丸具有良好的镇咳、平喘药理活性, 为药物的临床应用和进一步开发提供了依据。

关键词 清肺消炎丸; 镇咳; 平喘

中图分类号: R974

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2010) 02-0103-03

Antitussive and anti-asthmatic effect of Qingfeixiaoyan Pill in guinea pigs

HOU Yuan-yuan¹, LI Ruo-jie², CHENG Bin-feng¹, WANG Li-qiang¹

1 College of Pharmacy, Nankai University, Tianjin 300071, China

2 College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China;

Abstract **Objective:** To study antitussive and anti-asthmatic effect of Qingfeixiaoyan Pill in guinea pigs. **Methods:** The animal cough model induced by citric acid was developed to evaluate the antitussive effect. Qualified guinea pigs were divided into five groups randomly: high, medium, and low concentration Qingfeixiaoyan Pill groups, pentoxifylline positive control group, and control group. The number of cough during three minutes was recorded after the cough was induced. Meanwhile, guinea pig models of isolated trachea *in vitro* and histamine-induced asthma *in vivo* were used to investigate the anti-asthmatic effect of Qingfeixiaoyan Pill. *In vitro* experiment, concentration-response curves of contractile isolated trachea induced by acetylcholine (ACh) were obtained and the concentration producing 50% of the maximal response was determined. *In vivo* experiment, the latent period of animals after dosage was used to demonstrate the anti-asthmatic effect. **Results:** Qingfeixiaoyan Pill decreased the frequency of cough and prolonged the latency of induced cough. Moreover, it significantly inhibited ACh-induced trachea contractions and prolonged the latent period of asthma by histamine in guinea pigs. **Conclusion:** Qingfeixiaoyan Pill has remarkable antitussive and anti-asthmatic effects, which provides the evidence for clinical application and further development.

Key words Qingfeixiaoyan Pill (QXP); antitussive; anti-asthmatic

清肺消炎丸源自医圣张仲景《伤寒论》中的治咳平喘经方——麻杏石甘汤, 由麻黄、石膏、地龙、牛蒡子、葶苈子、牛黄、苦杏仁(炒)和羚羊角等 8 味中药组成, 既能宣通, 又清内热, 还有化痰、止咳、平喘的功效, 对咳、痰、喘疗效显著。临床上主要用于痰热阻肺, 咳嗽气喘, 胸胁胀痛, 吐痰黄

稠; 上呼吸道感染, 急性支气管炎, 慢性支气管炎急性发作及肺部感染见上述证候者。为验证其疗效并为药物的进一步开发提供实验依据, 我们采用致咳化学物质诱发豚鼠的试验性咳嗽模型、豚鼠离体气管平滑肌收缩模型以及组胺引喘的豚鼠哮喘模型, 进行了清肺消炎丸的镇咳、平喘作用的药效学研究。

收稿日期: 2010-01-23

作者简介: 侯媛媛 (1985—), 女, 讲师。E-mail: houyy@nankai.edu.cn

1 材料与仪器

1.1 药品及试剂

清肺消炎丸(批号 080512)由天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂提供;沙丁胺醇及乙酰胆碱购自 Alfa Aesar 公司;盐酸普萘洛尔片为天津力生制药股份有限公司产品;枸橼酸喷托维林片(批号 0811017)为天津力生制药股份有限公司产品;其余试剂均为分析纯。

1.2 动物

英国种豚鼠,体质量(150±10)g,雌雄各半,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证编号 SCXK(京)2008-0003。

1.3 仪器

恒温平滑肌槽、张力传感器以及生物信号采集系统(盟泰生物技术公司),超声波雾化器(亚都科技有限公司)。

2 方法

2.1 枸橼酸致敏的豚鼠镇咳实验^[1]

取(150±10)g 豚鼠,雌雄各半,置玻璃钟罩内,以超声喷雾器喷入(0.5 mL/min)17.5%枸橼酸 40 s,记录 5 min 内豚鼠咳嗽次数,并将选出的豚鼠(5 min 内咳嗽次数 10~30)随机分为 5 组($n=6$),分别为空白对照生理盐水组;阳性对照枸橼酸喷托维林组;清肺消炎丸高、中、低 3 个剂量组。每天 2 次 ig 给药,持续一周。最后一次给药 2 h 后,按上述条件重新致敏,记录 5 min 内咳嗽次数。镇咳效果以豚鼠咳嗽次数减少百分比来表示。

2.2 豚鼠离体气管收缩实验^[2]

豚鼠击头致昏,剥取气管,剪成气管片(4 mm×8 mm),并固定于盛有 Krebs-Henseleit 缓冲液(20 mL)的 37℃恒温管中,持续通入 95% O₂ 和 5% CO₂ 的混合气体,静息负荷 1 g 重物后,加入乙酰胆碱(Ach),记录最大收缩效应,作为空白对照。经 Krebs-Henseleit 缓冲液反复冲洗,待肌张力恢复至基线后,加入待测药物和系列稀释的 Ach,分别测量收缩曲线,计算收缩百分率。

收缩百分率=(给药前曲线高度-给药后曲线高度)/给药前曲线高度×100%。

2.3 磷酸组胺致敏的豚鼠哮喘实验^[3]

取(150±10)g 豚鼠,雌雄各半,置玻璃钟罩内,以超声喷雾器喷入(0.5 mL/min)0.1%磷酸组胺+2%乙酰胆碱溶液 10 s,逐个记录豚鼠产生哮喘

的时间,并将选出的哮喘豚鼠随机分为 7 组($n=6$),分别为空白对照生理盐水组;阳性对照沙丁胺醇高、中、低剂量组以及清肺消炎丸高、中、低 3 个剂量组。阳性药物沙丁胺醇组及空白对照生理盐水的给药方式为引喘前喷雾给药。清肺消炎丸及其对照药物组每天 2 次 ig 给药,持续一周。最后一次给药 2 h 后,按上述条件引喘,记录豚鼠潜伏期。

3 结果

3.1 对枸橼酸诱发豚鼠咳嗽的影响

连续给予与清肺消炎丸一周后,高剂量和中剂量清肺消炎丸均能有效减少豚鼠的咳嗽次数。使用 GraphPad Prism 5.0 软件对数据进行多样本配对 t 检验的统计学分析,结果表明清肺消炎丸高剂量和中剂量与空白对照组比较,具有统计学意义。表 1 中数据显示对枸橼酸致敏豚鼠具有显著的镇咳作用。

表 1 清肺消炎丸对枸橼酸致敏豚鼠的镇咳作用
($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Effect of QXP on cough model of guinea pig induced by citric acid($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	给药剂量($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	镇咳百分比/%
空白对照	—	-28.31±10.41
枸橼酸喷托维林	20	92.95±8.08**
清肺消炎丸	2650	94.87±13.20**
	880	11.51±20.4*
	290	-33.69±14.89

与空白对照比较: ** $P<0.01$, * $P<0.05$;

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

3.2 对豚鼠离体气管收缩的抑制作用

结果如图 1 所示,空白对照组的 EC₅₀ 值为 6.809×10^{-6} mol/L,清肺消炎丸的 EC₅₀ 值为 3.553×10^{-5} mol/L,为空白对照的 5.23 倍;阳性对照药物沙丁胺醇(10^{-6} mol/L)的 EC₅₀ 值为空白对照的 6.81 倍。实验结果表明,清肺消炎丸对乙酰胆碱引起的豚鼠离体气管平滑肌收缩有较好的解痉作用。

为了进一步研究药物的作用机制,在加入药物前我们选用了非特异性 β 受体阻断剂普萘洛尔预处理 20 min,用于阻断 β_2 受体激动药与受体的结合,再考察阻断后的药物对豚鼠离体气管平滑肌的作用效果。实验结果表明,阻断 β 受体通路后阳性药物沙丁胺醇的药物作用曲线明显左移,阻断效果良好,数据未显示。配体-受体通路被阻断后,清肺消炎丸

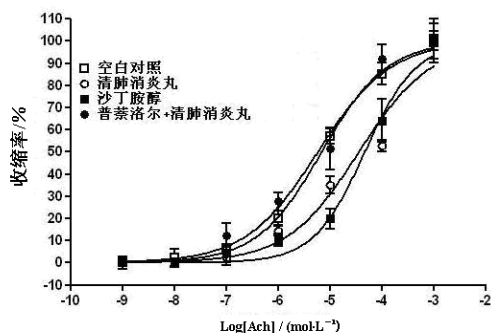


图1 清肺消炎丸对豚鼠离体气管收缩的抑制效果
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig.1 Effect of QXP on dose-response curves of Ach contracting tracheal of guinea pig ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

的 EC_{50} 值为 5.725×10^{-6} mol/L, 接近于空白对照组, 说明清肺消炎丸的解痉作用主要是通过 β 受体相关信号通路实现的。

3.3 对组胺致敏豚鼠的抗哮喘作用

实验结果如表2所示, 经 GraphPad Prism 5.0 软件进行多样本配对 t 检验的统计学分析, 高、中剂量的清肺消炎丸均能有效延长豚鼠的组胺致喘时间 ($P < 0.001, 0.01$)。

表2 清肺消炎丸对组胺致喘豚鼠的平喘作用($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 2 Effect of QXP on asthma model of guinea pig induced by sprayed histamine ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	给药剂量 ($mg \cdot g^{-1}$)	延喘时间/%
空白对照	—	-14.76 ± 31.07
沙丁胺醇	1.92×10^{-3}	$142.01 \pm 34.21^{***}$
	1.92×10^{-5}	$72.78 \pm 10.29^{**}$
	1.92×10^{-7}	$38.31 \pm 10.15^*$
清肺消炎丸	3.975	$176.80 \pm 35.34^{***}$
	1.325	$107.40 \pm 21.13^{**}$
	0.441	22.52 ± 32.07

与空白对照比较: *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$;
*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ vs control group

4 讨论

目前临床用于治疗哮喘的药物中, β_2 受体激动药是主流, 如沙丁胺醇、沙美特罗等。 β_2 受体在呼吸系统中分布广泛, 不仅分布在气道平滑肌, 在气管上皮、血管及其内皮、肺泡 II 型细胞、肺组织内胆碱神经、感觉神经等均有分布。当气道 β_2 受体被激动药激活时会产生很多有利于缓解与消除喘息的效应; 作用于气道平滑肌产生松弛和抑制增生、对抗气道重塑的效应; 作用于上皮细胞可以增强纤

毛运动, 促进 Na^+ 吸收和 Cl^- 、水的排除, 促进黏液清除; 作用于血管内皮可以抑制微血管裂隙, 减少渗出; 作用于肺泡 II 型细胞促进表面活性物质的合成与分泌^[4]。在清肺消炎丸处方中, 麻黄是起主要药理活性的君药。现代研究表明, 麻黄中含有多种结构相似的生物碱, 其中含量最高的为麻黄碱, 此外还包括伪麻黄碱等化合物。麻黄碱具有苯乙胺的基本结构, 对 β_2 肾上腺素受体的选择性较强, 对支气管平滑肌有明显的松弛和解痉作用^[5]。在实验中发现, 当 β 受体-配体作用通路被阻断后, 清肺消炎丸对收缩平滑肌的松弛作用基本消失, 而通路畅通时, 药物对平滑肌的松弛作用明显。此现象充分说明药物是通过 β_2 受体通路发挥药理作用的, 起效的物质基础推测主要是麻黄碱等 β_2 受体激动药。而处方中其他味药材是否含有 β_2 受体激动药, 或者是否存在其他作用途径还有待进一步研究。

从药理作用机制来看, 镇咳药主要分为中枢性和外周性 2 类^[6]。枸橼酸诱发的豚鼠咳嗽反应主要通过 C 纤维释放递质引起咳嗽反射和支气管收缩反应, 因此可归类为外周性咳嗽模型^[7,8]。本实验中清肺消炎丸对枸橼酸诱发的豚鼠咳嗽有明显的抑制作用, 可显著延长咳嗽潜伏期, 减少咳嗽次数, 说明清肺消炎丸具有明显的镇咳作用。并且实验结果提示, 清肺消炎丸可能作用于相关的化学感受器, 抑制支气管黏膜对刺激的反应性而表现出外周性镇咳作用。而清肺消炎丸是否具有中枢性镇咳作用尚需采用电刺激喉上神经的中枢性咳嗽模型进行验证。

参考文献:

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1993.
- [2] Eiji H, Sato T, Hirota K, et al. The relaxant effect of propofol on guinea pig tracheal muscle is independent of airway epithelial function and β -adrenoceptor activity [J]. *Anesth Analg*, 1999, 89(1):191-196.
- [3] Vogel H G, Vogel W H. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays* [M]. Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 1997.
- [4] 李明华, 殷凯生, 朱桂立. 哮喘病学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1998.
- [5] 刘 曠, 石 倩, 杨 洋, 等. 麻黄碱与伪麻黄碱平喘效果及机制比较研究[J]. 2009, 40(5):771-774.
- [6] 吕圭源. 药理学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2003.
- [7] 胡 晓, 黄贤华, 赖 飞, 等. 花椒毒酚的镇咳、平喘及祛痰作用研究[J]. 中药药理与临床, 2006, 22(3,4):40-42.
- [8] 李志民, 谢强敏, 锅 磊, 等. 咳停片对豚鼠咳嗽反射的抑制作用及析方研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 2002, 19(2):98-100.