

疏风解毒胶囊治疗肺炎配伍合理性及其机制研究

马 莉¹, 黄 妍¹, 侯衍豹¹, 毕海燕⁴, 潘 君⁵, 葛德助⁵, 刘 静^{1*}, 张铁军^{2, 3*}

1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

2. 天津药物研究院, 中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室, 天津 300193

3. 天津药物研究院, 天津市中药质量标志物重点实验室, 天津 300193

4. 安徽医科大学药学院, 安徽 合肥 230032

5. 安徽济人药业有限公司, 安徽 亳州 236800

摘 要: **目的** 对疏风解毒胶囊进行拆方研究, 研究清热解毒组分、解表组分及其配伍组合分别对急性肺炎模型大鼠血清细胞因子水平的影响, 从而分析疏风解毒胶囊配伍合理性。**方法** 制备肺炎链球菌致肺炎大鼠模型, 分为对照组、模型组、头孢氨苄组、疏风解毒胶囊全方组(全方组)、疏风解毒胶囊解表组(解表组)、疏风解毒胶囊清热解毒组(清热解毒组), 连续给药6 d, 检测各组大鼠血清中白细胞介素-1 α (IL-1 α)、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 α 干扰素 (IFN- α)、IFN- γ 水平, 评价组方配伍的合理性。**结果** 疏风解毒胶囊全方、解表组分、清热解毒组分均能显著降低IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-10水平, 全方组大鼠在IL-1 β 水平上 Q 值>1; 疏风解毒胶囊全方、解表组分、清热解毒组分均能显著降低TNF- α 、IFN- γ 水平, 疏风解毒胶囊全方、解表组分能显著降低IFN- α 水平; 全方组大鼠在TNF- α 、IFN- α 水平这2个指标上 Q 值>1。**结论** 疏风解毒胶囊有显著的调节免疫功能的作用, 解表组分和清热解毒组分有显著的协同作用。

关键词: 疏风解毒胶囊; 细胞因子; 白细胞介素; 肿瘤坏死因子; 干扰素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2019) 09-1769-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.09.010

Compatibility rationality and mechanism of Shufeng Jiedu Capsule in treatment of pneumonia

MA Li¹, HUANG Yan¹, HOU Yanbao¹, BI Haiyan⁴, PAN Jun⁵, GE Dezhu⁵, LIU Jing¹, ZHANG Tiejun^{2,3}

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co., Ltd., Tianjin 300301, China

2. National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. Tianjin Key Laboratory of Quality Marker of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

4. College of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

5. Anhui Jiren Pharmaceutical Co., Ltd., Bozhou 236800, China

Abstract: **Objective** In order to study the decomposed on separated complex prescription of Shufeng Jiedu Capsule (SJC) and analyze the compatibility rationality, the effects of heat-clearing and toxin-removing component, exterior-releasing component and their combination on serum cytokines content of rats with acute pneumonia were studied. **Methods** The pneumonia model of rats induced by *Streptococcus pneumoniae* was used, which were divided into control group, model group, cephalexin group, SJC whole prescription group (whole prescription group), SJC exterior-releasing group (exterior-releasing group), SJC heat-clearing and toxin-removing group (heat-clearing and toxin-removing group). After administration for 6 days, content of IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, TNF- α , IFN- α , and IFN- γ was tested to evaluate the compatibility rationality. **Results** The content of IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4

收稿日期: 2019-03-15

基金项目: 国家中药标准化专项资助(ZYBZH-C-AH-02);国家自然科学基金资助项目(81430096);国家自然科学基金资助项目(81703802)

第一作者: 马 莉(1989—),女,研究方向为药理毒理学。Tel: (022)84845247 E-mail: mal8@tjipr.com

*通信作者: 刘 静 E-mail: liuj@tjipr.com

and IL-10 was significantly reduced by the whole prescription, the exterior-releasing component and the heat-clearing and toxin-removing components of SJC. The Q value of rats in the whole prescription group was beyond 1 on the content of IL-1 β . The content of TNF- α and IFN- γ was significantly reduced by the whole prescription, the exterior-releasing components and the heat-clearing and toxin-removing component of SJC. The content of IFN- α was significantly reduced by the whole prescription, the relieving exterior component of SJC. The Q values of rats in the whole prescription group were beyond 1 on the content of TNF- α and IFN- α . **Conclusion** SJC has significant immunomodulatory effect and has a significant therapeutic effect on Streptococcus pneumoniae infection in rats. The exterior-releasing component and the heat-clearing and toxin-removing component have significant synergistic effects.

Key words: Shufeng Jiedu Capsule; cytokine; interleukin; tumor necrosis factor; interferon

疏风解毒胶囊主要用于急性上呼吸道感染属风热症,症见发热、恶风、咽痛、头痛、鼻塞、流涕、咳嗽等,主要组成为虎杖、连翘、板蓝根、柴胡、败酱草、马鞭草、芦根、甘草,功能主治为疏风清热、解毒利咽^[1-3]。文献报道^[4-6]疏风解毒胶囊对病毒性、细菌性感冒均有很好的治疗作用,近年来已被广泛用于治疗流感、上呼吸道感染、慢性支气管炎、社区获得性肺炎、带状疱疹和手足口病等疾病,并取得了较好的临床疗效。前期研究表明,疏风解毒胶囊对肺炎链球菌致大鼠急性肺炎模型有很好的治疗作用^[1]。作为中药复方,疏风解毒胶囊具有多成分、多靶点的作用特点,为了研究其作用机制,采用拆方研究的方法对其配伍合理性及抗炎作用机制进行研究。

1 材料

1.1 药品与试剂

疏风解毒胶囊(全方)浸膏(批号151201,每克浸膏相当于3.42 g生药)、解表组分浸膏(批号151203,每克浸膏相当于3.13 g生药)、清热解毒组分浸膏(批号151202,每克浸膏相当于4.35 g生药)均由天津药物研究院有限公司提供(虎杖、连翘、板蓝根、马鞭草、败酱草、柴胡、芦根、甘草药材均由安徽济人药业有限公司提供,经天津药物研究院张铁军研究员鉴定,各药材均符合《中国药典》2015年版相关标准,相关药材保存于天津药物研究院中药和健康产品研究中心药材库,并按照疏风解毒胶囊原制备工艺制备成相应浸膏);头孢氨苄胶囊,批号1511142,哈药集团三精制药诺捷有限责任公司;白细胞介素-1 α (IL-1 α)、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、 α 干扰素(IFN- α)、 γ 干扰素(IFN- γ)ELISA试剂盒(武汉华美生物工程有限公司);肺炎链球菌,批号15021101,南京便诊生物科技有限公司;安琪活性酵母,批号20150722,安琪酵母股份有限公司。

1.2 仪器

Varioskan Flash 酶标仪, Thermo 公司; E3000-

0.5型电子天平,常熟市双杰测试仪器厂。

1.3 实验动物

SD大鼠,SPF级,雄性,体质量180~200 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号SCXK(京)2012-0001。饲养在天津药物研究院新药评价有限公司实验动物屏障系统[合格证SYXK(津)2011-0005],温度、湿度、换气次数由中央系统自动控制,温度维持在20~26℃,相对湿度维持在40%~70%,通风次数为10~15次/h全新风,光照为12 h明、12 h暗。自由摄食饮水,大鼠饲料由北京科澳协力饲料有限公司提供,饮水为北京凯弗隆北方水处理设备有限公司生产的KFRO-400GPD型纯水机制备的纯净水。

2 方法

2.1 分组、模型制备及给药

雄性SD大鼠48只,随机分成6组,每组8只,分别为对照组、模型组、头孢氨苄组、疏风解毒胶囊全方组(全方组)、疏风解毒胶囊解表组(解表组)、疏风解毒胶囊清热解毒组(清热解毒组)。头孢氨苄组及全方组剂量为2倍大鼠等效剂量,解表组与清热解毒组根据配伍比例设置为2倍大鼠等效剂量。每天ig给药1次,连续给药6 d,对照组及模型组ig给予同体积的蒸馏水,于给药第1~3天,除对照组外,各组大鼠于给药后气管内注射0.2 mL浓度为 1×10^7 CFU/mL肺炎链球菌菌液。菌液制备方法:将肺炎链球菌接种于血碟中,37℃培养20~24 h,再将此菌二次传代,培养20~24 h后用比浊法配制成 1×10^8 CFU/mL菌液后再稀释10倍备用。

2.2 指标测定

2.2.1 血清IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10水平测定 于末次给药后第2天ip 20%乌拉坦5 mL/kg麻醉大鼠,腹主动脉取血3~4 mL于真空采血管中,3 000 r/min离心分离血清,-20℃保存备用,ELISA测定试剂盒测定血清IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10水平。

2.2.2 血清TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 水平测定 血清处理方式同“2.2.1”项,ELISA测定试剂盒测定血清TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 水平。

2.3 数据处理与分析

运用金氏公式^[7-9]评价合并用药作用强度,判断两药物在配伍使用后的效果是否优于单独给药。若 Q 值大于1说明两药合用优于单用,配伍具有合理性。

$$Q = E_{A+B} / (E_A + E_B - E_A \times E_B)$$

E_{A+B} 为合并用药的改善率, E_A 和 E_B 分别为A药和B药单独用药的改善率

采用SPSS 11.5软件,组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA, LSD),数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果与分析

3.1 疏风解毒胶囊对肺炎大鼠血清IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10水平的影响

结果表明(表1、2),与对照组比较,模型组大鼠血清中IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-10水平显著增加,表明模型组大鼠感染肺炎链球菌后,在链球菌荚膜及溶血素刺激下,细胞因子释放增加,引起炎症反应。与模型组比较,头孢氨苄组大鼠血清中IL-1 β 、IL-4水平显著降低,表明头孢氨苄能显著抑制肺炎链球菌,从而减轻免疫系统的应激反应,减少细

胞因子的释放。疏风解毒胶囊全方、解表组分、清热解组均能显著降低IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-10水平,结果表明疏风解毒胶囊能显著降低血清细胞因子含量,减轻炎症反应,对肺炎链球菌致肺炎大鼠有显著的治疗作用。

配伍合理性分析:IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2水平全方组最低、清热解组其次,解表组最高;IL-10水平全方组最低、解表组其次,清热解组最高。全方组大鼠在IL-1 β 指标上 $Q > 1$,表明解表组分与清热解组分配伍后能显著协同降低血清IL-1 β 含量,减轻炎症反应。

3.2 疏风解毒胶囊对肺炎大鼠血清TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 水平的影响

结果(表3、4)表明,与对照组比较,模型组大鼠血清TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 水平显著增加。表明模型组大鼠感染肺炎链球菌后,在链球菌荚膜及溶血素刺激下,细胞因子释放增加,引起炎症反应。与模型组比较,头孢氨苄组大鼠血清中IFN- α 水平显著降低,表明头孢氨苄能显著抑制肺炎链球菌,从而减轻免疫系统的应激反应,减少细胞因子的释放。疏风解毒胶囊全方、解表组分、清热解组均能显著降低TNF- α 、IFN- γ 水平,疏风解毒胶囊全方、解

表1 疏风解毒胶囊对肺炎大鼠血清IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Effect of SJC on content of IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, and IL-10 in serum of rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	质量浓度/(pg·mL ⁻¹)					
		IL-1 α	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10
对照	—	0.168±0.098	0.231±0.144	59.626±12.759	29.889±3.306	44.101±14.200	14.754±5.391
模型	—	5.795±2.801 ^{###}	0.756±0.386 ^{##}	102.982±18.759 ^{###}	52.644±4.462 ^{###}	31.381±11.256	47.172±14.435 ^{###}
头孢氨苄	0.175	3.150±2.552	0.282±0.152 [*]	101.908±14.146	32.014±11.449 ^{**}	26.177±8.131	52.085±12.290
全方	5.400	0.556±0.377 ^{**}	0.091±0.045 ^{**}	65.740±5.536 ^{***}	44.958±6.834	32.278±7.297	31.682±9.200 [*]
解表	1.980	1.087±0.636 ^{**}	0.154±0.122 ^{**}	78.339±26.095 [*]	41.669±7.806 ^{**}	37.426±17.540	19.993±9.884 ^{***}
清热解组	3.420	0.711±0.426 ^{**}	0.144±0.204 ^{**}	65.934±14.509 ^{***}	41.837±9.027 [*]	29.479±11.399	25.564±8.303 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$, 下同

^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group, same as below

表2 肺炎大鼠血清IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-10的改善率及 Q 值 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Improvement rates and Q values of IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, and IL-10 in serum of rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	改善率/%				
		IL-1 α	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-10
头孢氨苄	0.175	47.0	90.3	2.5	90.7	—15.2
全方	5.400	93.1	126.7	85.9	33.8	47.8
解表	1.980	83.7	114.7	56.8	48.2	83.8
清热解组	3.420	90.4	116.6	85.5	47.5	66.7
Q	—	0.946	1.298	0.917	0.464	0.505

表3 疏风解毒胶囊对肺炎大鼠血清TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 3 Effect of SJC on content of TNF- α , IFN- α , and IFN- γ in serum of rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	质量浓度/(pg·mL ⁻¹)		
		TNF- α	IFN- α	IFN- γ
对照	—	2.946±1.395	8.414±3.847	0.042±0.032
模型	—	7.860±3.166 ^{##}	31.982±11.964 ^{###}	1.060±0.605 ^{##}
头孢氨苄	0.175	7.547±3.153	17.902±7.073 [*]	0.586±0.256
全方	5.400	2.852±1.227 ^{**}	8.347±7.355 ^{***}	0.166±0.147 ^{**}
解表	1.980	2.735±3.551 ^{**}	9.196±8.152 ^{***}	0.294±0.130 ^{**}
清热解毒	3.420	3.067±2.232 ^{**}	15.659±18.617	0.225±0.067 ^{**}

表4 肺炎大鼠血清TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 的改善率及Q值 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 4 Improvement rates and Q values of TNF- α , IFN- α , and IFN- γ in serum of rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	改善率/%		
		TNF- α	IFN- α	IFN- γ
头孢氨苄	0.175	6.4	60.0	46.6
全方	5.400	101.9	100.7	87.8
解表	1.980	104.3	97.1	75.2
清热解毒	3.420	97.5	69.6	82.0
Q	—	1.018	1.016	0.919

表组分能显著降低IFN- α 水平。结果表明疏风解毒胶囊能显著降低血清细胞因子含量,减轻炎症反应,对肺炎链球菌致肺炎大鼠有显著的治疗作用。

配伍合理性分析:IFN- α 水平全方组最低、解表组其次,清热解毒组最高;全方组大鼠在TNF- α 、IFN- α 水平这2个指标上 $Q>1$,表明解表组分与清热解毒组分配伍后有显著的协同作用,能协同降低血清TNF- α 和IFN- α 水平,减轻炎症反应。

4 讨论

肺炎是临床常见的一种呼吸系统疾病,通常是由病毒或细菌感染引起的肺部炎症,由其他微生物、某些药物和自身免疫性疾病等疾病引起的也较少见。随着20世纪抗生素和疫苗的引入,肺炎患者生存得到改善。但由于我国抗生素滥用的严峻形势,肺炎链球菌耐药情况比较严重,特别是对阿奇霉素、红霉素、氯林可霉素、四环素及复方磺胺甲噁唑片等耐药率较高,部分可高达95%以上^[10-13],大环内酯类、四环素类以及复方新诺明等抗菌药物已不能作为治疗链球菌性肺炎的有效药物。中医药对提高病人免疫力,减少病原菌耐药上有独特的优势。临床研究结果表明疏风解毒胶囊对肺炎有很好的治疗作用。为了研究疏风解毒胶囊治疗肺炎的作用机制及其配伍合理性,本研究选用了大鼠急

性肺炎模型对疏风解毒胶囊进行拆方研究。

疏风解毒胶囊中虎杖为君药,解表祛风、清热解毒、破瘀通经。连翘,板蓝根共为臣药,连翘疏散风热、清热解毒、消肿散结,能透肌解表;板蓝根清热解毒、凉血利咽。柴胡和表解里、疏肝升阳;败酱草清热解毒、善除痈肿、结热;马鞭草清热解毒、活血散瘀、利水消肿;芦根清降肺胃、消荡郁烦、生津止渴,4药共为佐药。甘草补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛,调和诸药,为使。诸药合用共奏祛风清热、解毒之功^[14]。本研究将疏风解毒胶囊拆方为解表组分(连翘、柴胡、芦根)及清热解毒组分(虎杖、板蓝根、败酱草、马鞭草、甘草),研究不同组分对急性肺炎大鼠的治疗效果,以探讨疏风解毒胶囊治疗肺炎的配伍合理性。

细胞因子全程参与肺炎的发生发展过程,承接固有免疫反应及适应性免疫应答反应,肺炎急性期IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 等致炎性细胞因子含量显著增加^[15]。解表组分虎杖含羟基大黄素与白藜芦醇,可通过抑制蛋白激酶B(Akt)和氨基末端激酶(JNK)通路抑制炎症细胞分化增殖,降低核转录因子(NF- κ B)表达^[16];连翘主要活性成分连翘苷、连翘酯苷等均有报道其抗炎活性,连翘可以主要通过影响NF- κ B通路、酪氨酸激酶/信号转导和转录激活因子(JAK-STAT)通路和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号转导通路,调控着炎症过程中的多种酶及炎症介质的产生,发挥抗炎功效^[17];板蓝根中总苯丙素部位、总有机酸部位、总生物碱部位等有机成分均有抑菌和解热药效,板蓝根多糖可抑制脂多糖(LPS)刺激引起的NF- κ B与DNA结合活性的升高^[18]。本实验中,疏风解毒胶囊解表组分和清热解毒组分有显著的协同作用,两组分配伍用药能显著协同降低细胞因子IL-1 β 、TNF- α 、IFN- α 水平,抑制肺炎发展进程,这与2组分配伍通过多靶点、多途径、多环节发挥协同抗炎及多成分作用有关,从

而在抗菌、抗炎症、增强免疫等方面发挥治疗效果。

参考文献

- [1] 马莉, 黄妍, 侯衍豹, 等. 疏风解毒胶囊对大鼠肺炎模型的抗炎机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(19): 4591-4595.
- [2] 张铁军, 朱月信, 刘素香, 等. 疏风解毒胶囊的系统质量标准提升研究 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 2027-2033.
- [3] 张铁军, 朱月信, 刘岱琳, 等. 疏风解毒胶囊药效物质基础及作用机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2019-2026.
- [4] 欧强, 宁惠明. 疏风解毒胶囊在临床疾病治疗中的应用 [J]. 世界中医药, 2017, 12(10): 2539-2542.
- [5] 姚津剑, 刘元税. 疏风解毒胶囊治疗非重症社区获得性肺炎的临床研究 [J]. 北京医学, 2016, 38(11): 1256-1258.
- [6] 孙文思, 张春菊, 刘文东. 疏风解毒胶囊联合炎琥宁注射液治疗小儿上呼吸道感染的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2018, 33(9): 2298-2302.
- [7] 金正均. 合并用药中的相加 [J]. 中国药理学报, 1980, 1(1): 70-76.
- [8] 戴体俊. 合并用药的定量分析 [J]. 中国药理学通报, 1980, 14(5): 479-480.
- [9] 冯玥, 朱振娜, 胡金芳, 等. 元胡止痛滴丸对痛经模型镇痛作用的配伍合理性和比较优势研究 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(7): 917-921.
- [10] 林祥芳, 刘彩霞, 杨海蔚, 等. 52株侵袭性肺炎链球菌血清型分布及耐药性分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 125(2): 281-283.
- [11] 金国强, 吴俭, 陈晓, 等. 儿童呼吸道感染肺炎链球菌的耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(18): 4452-4454.
- [12] 罗金柱, 周义正, 邱晓燕, 等. 161株肺炎链球菌的分布及耐药性分析 [J]. 检验医学与临床, 2011, 8(20): 2515-2516.
- [13] 张丽娜, 丛培玮, 李乡南. 复方中药对链球菌性肺炎小鼠肺组织炎性细胞因子的影响研究 [J]. 中国全科医学, 2016, 19(12): 1467-1471.
- [14] 钱雅琴, 吴飞虎, 朱玲, 等. 疏风解毒胶囊的临床应用进展 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(8): 1956-1958.
- [15] 姜小丽, 杨宝辉, 杨婷, 等. 肺炎链球菌感染小鼠早期肺组织细胞因子变化研究 [J]. 免疫学杂志, 2013, 29(6): 484-489.
- [16] 肖文渊, 王思芦, 郝应芬, 等. 虎杖乙醇提取物的抗炎及免疫活性初探 [J]. 中兽医医药杂志, 2018, 37(6): 34-36.
- [17] 龚莉虹, 余琳媛, 胡乃华, 等. 连翘抗炎药效物质基础及其作用机理研究进展 [J]. 中药与临床, 2019, 10(1): 43-49.
- [18] 文飞翔. 板蓝根抗炎活性部位抗炎作用的药理机制研究 [J]. 中国医药指南, 2013, 11(30): 41-42.