

## 双黄花颗粒镇咳祛痰及免疫作用研究

刘林<sup>1</sup>, 杨蕙<sup>1</sup>, 廖君<sup>2</sup>, 易亚乔<sup>2</sup>, 彭买姣<sup>2</sup>, 王宇红<sup>2\*</sup>

1. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410007

2. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208

**摘要:** **目的** 观察双黄花颗粒的镇咳、祛痰及调节免疫作用。**方法** 通过小鼠氨水引咳和豚鼠枸橼酸引咳试验, 观察双黄花的镇咳作用; 通过小鼠酚红排泄试验观察双黄花的祛痰作用; 通过小鼠碳粒廓清试验, 观察双黄花的调节免疫作用。**结果** 在小鼠氨水引咳试验中, 双黄花高、中剂量组能显著延长浓氨水致咳的潜伏期, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 双黄花高剂量组能显著减少小鼠浓氨水致咳的次数, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 在豚鼠枸橼酸引咳试验中, 双黄花高剂量组能显著延长豚鼠枸橼酸引咳的潜伏期和减少咳嗽次数, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 在小鼠酚红排泄试验中, 双黄花高剂量组能显著增加气管酚红排泄量, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 在小鼠碳粒廓清试验中, 双黄花高、中剂量组显著提高小鼠廓清指数和吞噬指数, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05, 0.01$ )。**结论** 双黄花颗粒具有较好的镇咳、祛痰及调节免疫作用。

**关键词:** 双黄花颗粒; 急性上呼吸道感染; 镇咳; 祛痰; 调节免疫

**中图分类号:** R974 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2013)06-0431-04

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.06.007

## Study on relieving cough, expelling phlegm, and immunomodulation of Shuanghuanghua Granule

LIU Lin<sup>1</sup>, YANG Hui<sup>1</sup>, LIAO Jun<sup>2</sup>, YI Ya-qiao<sup>2</sup>, PENG Mai-jiao<sup>2</sup>, WANG Yu-hong<sup>2</sup>

1. First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

**Abstract: Objective** To evaluate the relieving cough, expelling phlegm, and immunomodulation of Shuanghuanghua Granule (SG). **Methods** Cough was induced by ammonia in mice and citric acid in guinea pig. The number of cough was recorded to indicate the effect of SG. The expectorant activities were detected by testing the amount of phlegm secreted in mice. Immunomodulation was evaluated by testing the expectorant carbon clearance in mice. **Results** Cough was induced by ammonia in mice, high- and mid-dose SG groups could apparently prolong the coughing incubation period ( $P < 0.05$ ) and high-dose SG group could apparently reduce coughing frequency ( $P < 0.05$ ); Cough was induced by citric acid in guinea pig, high-dose SG group could apparently increase phenol red excretion in mice ( $P < 0.05$ ); In the expectorant activities experimental, high-dose SG group could apparently increase phenol red sputem excretion in mice ( $P < 0.05$ ); In the expectorant carbon clearance in mice, high- and mid-dose SG groups could apparently decrease the expurgatory index and phagocytic index ( $P < 0.01, 0.05$ ). **Conclusion** SG has the significant effects of relieving cough, expelling phlegm, and immunomodulation.

**Key words:** Shuanghuanghua Granule; acute upper respiratory infection; relieving cough; expelling phlegm; immunoregulation

双黄花颗粒是由黄芪、黄芩、金银花等中药组成复方颗粒制剂, 具有清宣肺卫、解毒益气、平衡阴阳之效。临床上用于治疗风热阻肺(卫)兼气虚证急性上呼吸道感染疗效显著, 能明显改善急性上

呼吸道感染患者的临床症状, 降低体温、缩短发热患者的解热时间<sup>[1]</sup>, 对急性上呼吸道感染患者有一定的抗病毒作用, 且无不良反应<sup>[2]</sup>。实验研究表明双黄花颗粒具有较好抗炎、解热作用是其重要药理

收稿日期: 2013-08-13

基金项目: 湖南省教育厅科研项目(11B090); 湖南省中医药管理局科研项目(2009030)

作者简介: 刘林(1984—), 男, 助教, 医学在读博士, 主要从事中药新药药理研究。Tel: (0731)85369072 E-mail: 286410883@qq.com

\*通信作者 王宇红, 教授, 博士生导师, 主要从事中药神经精神药理研究。Tel: (0731)85369072 E-mail: wyh107@126.com

作用基础之一<sup>[3]</sup>。为探讨其他药理作用机制与特点,本研究通过动物试验来研究其镇咳、祛痰及调节免疫作用,为其进一步开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 药物

双黄花颗粒,由湖南中医药研究院提供,批号20110611,临床用量为28.8 g/d。莲花清瘟胶囊,石家庄以岭药业股份有限公司生产,批号110154,临床用量4.2 g/d;磷酸可待因片,青海制药厂有限公司提供,批号20100707;盐酸左旋咪唑,山东仁和堂药业有限公司,批号130106;氯化铵,成都金山化学试剂有限公司,批号20090821。

### 1.2 动物

SPF级ICR小鼠180只;豚鼠80只,均购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,生产许可证号SCXK(湘)2009-0004。

### 1.3 试剂

印度墨汁,进口分装,由Solarbio公司提供;角叉菜胶,由Sigma公司提供;浓氨水,长沙延风化学试剂有限公司提供,批号20100422;苯酚红,天津市大茂化学试剂厂,批号20100629;水合氯醛,天津市科密欧化学试剂有限公司,批号2011030。

### 1.4 仪器

AY—120电子分析天平,日本岛津公司;DT—1000A电子天平,江苏常熟市意欧仪器仪表有限公司;YLS—8A多功能诱咳引喘仪,山东省医学科学院设备科BL—420F生物机能实验系统,成都泰盟科技有限公司;TG16—WS台式高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;UV—1800紫外分光光度计,日本岛津公司。

### 1.5 方法

**1.5.1 小鼠氨水引咳试验<sup>[4]</sup>** 取ICR小鼠60只,雌雄各半,体质量18~22 g,随机分为6组,每组10只,即空白对照组(蒸馏水),阳性对照组(可待因0.047 g/kg),莲花清瘟胶囊组(1.092 g/kg),双黄花颗粒高(14.976 g/kg)、中(7.488 g/kg)、低(3.744 g/kg)剂量组,每组10只。ig给药,给药体积20 mL/kg,每日一次,连续给药5 d,末次给药后1 h,将小鼠逐只放入YLS—8A多功能诱咳引喘仪,以多功能诱咳引喘仪喷出28%浓氨水30 s引咳,喷雾终止后立即取出小鼠,记录2 min内小鼠的咳嗽次数(腹肌收缩或缩胸,同时张大嘴,有时可有咳声者,算作“有咳嗽”)。个别动物在试验中出现死亡

或休克,判为咳嗽阳性。末次给药1 h后进行小鼠氨水引咳试验,并计算小鼠咳嗽次数及潜伏期。

**1.5.2 豚鼠枸橼酸引咳试验<sup>[4-5]</sup>** 取豚鼠80只,雄性,250~300 g,适应性喂养后,将豚鼠放入多功能引咳仪中,吸入17.5%枸橼酸雾化气1 min,观察豚鼠在10 min内的咳嗽次数,剔除咳嗽15次以下的。挑选符合要求的豚鼠60只,根据咳嗽次数随机分为6组:空白对照组(蒸馏水),阳性对照组(可待因0.028 g/kg),莲花清瘟胶囊组(0.651 g/kg),双黄花颗粒高(8.928 g/kg)、中(4.464 g/kg)、低(2.232 g/kg)剂量组,每组10只。ig给药,给药体积20 mL/kg,每日一次,连续给药5 d,末次给药1 h后,将豚鼠放入多功能引咳仪中,吸入17.5%枸橼酸雾化气1 min,观察豚鼠咳嗽潜伏期及在10 min内的咳嗽次数。

**1.5.3 小鼠酚红排泄试验<sup>[4-5]</sup>** 取ICR小鼠60只,SPF级,雌雄各半,体质量18~22 g,按体质量随机分组,分别为空白对照组(蒸馏水),阳性对照组(氯化铵1 g/kg),莲花清瘟胶囊组(1.092 g/kg),双黄花颗粒高(14.976 g/kg)、中(7.488 g/kg)、低(3.744 g/kg)剂量组,每组10只。ig给药,每日一次,给药体积20 mL/kg,连续给药7 d,末次给药后30 min,ip 2.5%酚红生理盐水溶液10 μL/g。注射30 min后处死动物,固定鼠体,分离气管,气管插管并与注射器相连,用5% NaHCO<sub>3</sub> 1 mL,缓慢注入气管内,然后轻轻吸出,如此反复3次,合并3次灌洗液放置一定时间使杂质沉淀,得到的透明红色上清液,用分光光度计波长545 nm比色,根据酚红标准曲线计算酚红量。

**1.5.4 小鼠碳粒廓清试验<sup>[6]</sup>** 取ICR小鼠60只,雄性,体质量18~22 g,根据体质量随机分为6组:空白对照组(蒸馏水),阳性对照(左旋咪唑0.023 g/kg)组;莲花清瘟胶囊组(1.092 g/kg),双黄花颗粒高(14.976 g/kg)、中(7.488 g/kg)、低(3.744 g/kg)剂量组。每组10只,ig给药,给药体积20 mL/kg,每天1次,连续7 d。末次给药1 h后,小鼠尾iv 20%印度墨汁(10 μL/g),分别于注入墨汁后2 min和10 min后经眼眶静脉采血20 μL,加入2 mL 0.1% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液中。于680 nm处测吸光度(A)值。按照公式计算各组廓清指数(K)和吞噬指数(α)。

$$\text{廓清指数 } K = (\lg A_2 - \lg A_{10}) / (t_2 - t_1)$$

$$\text{吞噬指数 } \alpha = \text{体质量} / (\text{肝质量} + \text{脾质量}) \times K^{1/3}$$

1.5.5 统计方法 计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 并通过 SPSS16.0 统计软件处理, 组间比较采用 *t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 对浓氨水引咳试验的影响

结果见表 1, 与对照组比较, 双黄花高、中剂量组能显著延长浓氨水致咳的潜伏期, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 低剂量对小鼠致咳的潜伏期影响不明显; 双黄花高剂量组能显著减少浓氨水致咳的次数, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 中、低剂量对小鼠致咳的次数影响不明显。

表 1 双黄花对浓氨水致咳试验的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effect of SG on cough induced by ammonia in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	潜伏期/s	咳嗽次数/次
对照	—	32.8±10.8	25.3±12.4
磷酸可待因	0.047	51.0±13.0**	12.2±7.5**
连花清瘟胶囊	1.092	47.1±14.5*	13.9±7.6*
双黄花颗粒	14.976	46.0±11.1*	14.5±6.8*
	7.488	43.5±10.4*	15.8±8.7
	3.744	41.3±12.5	20.3±8.0

与对照组比较: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

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

### 2.2 对豚鼠枸橼酸引咳试验的影响

结果见表 2, 与对照组比较, 双黄花高剂量组能显著性延长枸橼酸引咳的潜伏期和减少咳嗽次数, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 双黄花中、低剂量组对小鼠致咳的潜伏期影响不明显。

### 2.3 对小鼠酚红排泄试验的影响

结果见表 3, 与对照组比较, 双黄花高剂量组能显著增加气管酚红排泄量, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 中、低剂量对小鼠气管酚红排泄量作用影响不明显, 但具有一定的增加酚红排泄量的趋势。

表 2 双黄花对豚鼠枸橼酸引咳试验的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of SG on cough induced by citric acid in guinea pig ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/	潜伏期/s	咳嗽次数/次
对照	—	90.8±27.83	28.8±10.38
磷酸可待因	0.028	148.6±23.08**	8.8±7.96**
连花清瘟胶囊	2.772	137.2±21.97**	11.1±8.86**
双黄花颗粒	8.928	120.8±29.88*	13.0±4.85**
	4.464	101.1±32.76	20.0±8.44
	2.232	86.5±25.02	22.9±7.36

与对照组比较: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

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

表 3 对小鼠酚红排泄试验的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect of SG on phenol red excretion in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	酚红排泄量/(μg·mL <sup>-1</sup> )
对照	—	5.44±1.99
氯化铵	1.000	10.70±2.38**
连花清瘟胶囊	1.092	7.68±2.96*
双黄花颗粒	14.976	8.38±3.81*
	7.488	7.83±2.13
	3.744	5.58±1.88

与对照组比较: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

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

### 2.4 对小鼠碳粒廓清试验的影响

结果见表 4, 与对照组比较, 双黄花颗粒高、中剂量组显著提高小鼠廓清指数和吞噬指数, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $0.01$ ); 低剂量对小鼠廓清指数和吞噬指数的作用不明显。

表 4 双黄花对小鼠碳粒廓清试验的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Effect of SG on expectorant carbon clearance in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	K	$\alpha$
对照	—	0.016±0.006	3.01±0.81
左旋咪唑	0.023	0.052±0.015**	5.08±1.02**
连花清瘟	1.092	0.037±0.012**	4.35±0.62**
双黄花颗粒	14.976	0.034±0.010**	4.13±0.70**
	7.488	0.026±0.013*	3.85±0.80*
	3.744	0.022±0.011	3.68±0.66

与对照组比较: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

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

## 3 讨论

急性上呼吸道感染属于中医学上的“感冒”证概念范畴, 属于是临床医学上比较常见的呼吸道疾病, 以发热、流涕、鼻塞、打喷嚏、咽喉痛、咳嗽等症状为主要表现, 临床上治疗一般以消炎、退热和对症治疗为主。

双黄花颗粒由黄芩、黄芪、金银花等经现代工艺加工制备而成, 具有清宣肺卫、解毒益气、平衡阴阳之效, 临床上常用于治疗急性上呼吸道感染患者, 能明显改善患者咳嗽、咽燥、痰黏或黄等症状, 疗效甚为满意。金银花富含挥发油、黄酮类、有机酸、三萜皂苷类等化学成分, 具有解热、抗炎、抗菌、抗病毒、调节免疫等药理作用<sup>[7]</sup>。金银花中含有一种天然黄酮类化合物木犀草素, 临床研究表明

其具有良好的止咳、祛痰、消炎的疗效<sup>[8]</sup>。黄芩主要有效成分为黄芩素、黄芩苷,具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤等药理作用<sup>[9]</sup>。已有研究表明黄芩苷和木犀草素具有一定镇咳、祛痰和平喘效应<sup>[10]</sup>。黄酮类成分是黄芪中主要活性成分,具有增强机体免疫功能、广泛的抗菌作用等药理作用<sup>[11]</sup>。本研究显示双黄花颗粒可显著性延长小鼠浓氨水致咳的潜伏期和减少浓氨水致咳的次数,显著性延长枸橼酸引咳的潜伏期和减少咳嗽次数;显著性增加小鼠气管酚红排泄量,显著提高小鼠廓清指数和吞噬指数。提示双黄花颗粒具有较好的镇咳、祛痰和调节免疫作用。

#### 参考文献

- [1] 贺海霞,胡学军,蔡光先,等.双黄花颗粒治疗急性上呼吸道感染临床观察[J].中国中医急症,2011,20(10):1551,1645.
- [2] 蔡光先,贺海霞,伍参荣,等.双黄花颗粒对急性上呼吸道感染患者血清病毒含量的影响[J].中华中医药学刊,2012,30(4):684-685.
- [3] 刘林,莫韦皓,邓东方,等.双黄花颗粒抗炎解热药理作用的实验研究[J].中国中医急症,2013,22(6):887-940.
- [4] 魏伟,李希美,李元健.药理实验方法学[M].人民卫生出版社,2010年:1147-1152.
- [5] 海力茜·陶尔大,洪周芳,杨珊,等.维药恰麻古儿止咳、祛痰及平喘的药效学研究[J].中成药,2011,33(4):682-685.
- [6] 张喜民,李敏,邓英,等.抱茎獐牙菜正丁醇提取部位对肝损伤保护及免疫调节作用的研究[J].中成药,2011,33(1):139-141.
- [7] 孙立娟.金银花的成分及药理学研究[J].中国实用医药,2011,6(30):239-340.
- [8] 范文辉,黄茂援.木犀草素对哮喘小鼠气道重塑的影响及机制探讨[J].安徽医药,2006,10(9):647-649.
- [9] 宋琳莉,孟庆刚.黄芩的药理作用研究进展[J].中华中医药学刊,2008,26(8):1676-1678.
- [10] 罗诚浩,宋旭艳,魏敏,等.黄芩苷、木犀草素混合物镇咳祛痰平喘作用的实验研究[J].世界中西医结合杂志,2012,7(7):212-215.
- [11] 颜培宇,于晓红,张德山,等.黄芪总黄酮对免疫功能低下小鼠T细胞极化的影响[J].浙江中医药大学学报,2008,32(2):163-164.