

小儿肺热咳喘颗粒清热解毒、止咳平喘作用研究

杜芬芬¹, 霍璇^{2,3}, 冯玥^{2,3}, 申秀萍^{2,3}, 刘全国⁴, 应森林^{1*}, 胡金芳^{2,3*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193
2. 天津市新药非临床评价技术工程中心, 天津 300301
3. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301
4. 海南葫芦娃药业集团股份有限公司, 海南 海口 460105

摘要: 目的 研究小儿肺热咳喘颗粒(XFKP)清热解毒、止咳平喘作用。方法 采用牛奶致热家兔模型观察 XFKP 的解热作用; 制备脂多糖(LPS)肺炎小鼠模型, 观察 XFKP 对支气管肺泡灌洗液中超氧化物歧化酶(SOD)、髓过氧化物酶(MPO)活性及炎症细胞的积聚的影响; 采用小鼠氨水、豚鼠磷酸组胺诱咳引喘模型, 观察 XFKP 的止咳平喘作用。结果 与对照组比较, 高、中剂量 XFKP 能够显著降低发热家兔体温 ($P < 0.05$); 高、中剂量 XFKP 明显降低肺炎模型小鼠肺内积水量和肺泡中白细胞总数、淋巴细胞数, 且高剂量组能显著抑制 MPO 活性 ($P < 0.05, 0.01$); 高、中剂量 XFKP 组能够显著地延长小鼠咳嗽潜伏期, 减少咳嗽次数, 延长豚鼠引喘潜伏期 ($P < 0.05, 0.01$)。结论 小儿肺热咳喘颗粒具有显著的清热解毒、止咳平喘作用。

关键词: 小儿肺热咳喘颗粒; 清热; 解毒; 止咳; 平喘

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2017)12-1706-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.12.006

Study on efficiencies of heat-clearing, detoxicating, antitussive and antiasthmatic for Xiaoer Feire Kechuan Particles

DU Fen-fen¹, HUO Xuan^{2,3}, FENG Yue^{2,3}, SHEN Xiu-ping^{2,3}, LIU Quan-guo⁴, YING Sen-lin¹, HU Jin-fang^{2,3}

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China
2. Tianjin Engineering Research Center of drug preclinical assessment technology Tianjin 300301, China
3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co., Ltd., Tianjin 300301, China
4. Hainan Huluwa Pharmaceutical Group Co. Ltd., Haikou 570100, China

Abstract: objective To study the efficiencies of heat-clearing, detoxicating, antitussive, and antiasthmatic for Xiaoer Feire Kechuan Particles (XFKP). **Methods** The heat-clearing, detoxicating effects were investigated in the rabbits and mice models induced by milk and lipopolysaccharide (LPS), respectively. Moreover, the activities were detected for SOD, MPO and the numbers of inflammatory cells were also counted in bronchoalveolar lavage fluid from mice model. Also, the models were induced by ammonia and phosphoric acid histamine in mice or guinea pigs to observe the cough suppression and relieving asthma of XFKP. **Results** Compared with control group, XFKP with high and medium dose groups significantly lowered the temperature of rabbits' model ($P < 0.05$); XFKP with high and medium dose groups obviously reduced the fluid in the lungs of mice pneumonia model and total number of pulmonary alveolar leukocytes and lymphocytes, and significantly prolonged the cough incubation period in mice model to reduce the times of cough and the asthma incubation period in guinea pigs model ($P < 0.05$ or 0.01). Additionally, the high dose group inhibited the activity of MPO ($P < 0.05$), conspicuously. **Conclusion** In this paper, the efficiencies of heat-clearing, detoxicating, antitussive and antiasthmatic for Xiaoer Feire Kechuan Particles were confirmed.

Key words: Xiaoer Feire Kechuan Particles; heat-clearing; detoxication; cough suppression; relieving asthma

收稿日期: 2017-08-23

基金项目: 国家科技重大新药创制项目(2015ZX09501004); 天津市科技计划项目(16PTGCCX00090)

作者简介: 杜芬芬(1990—), 女, 硕士, 研究方向为抗炎免疫临床与实验研究。

*通信作者 应森林, 男, 教授。E-mail: yingsl888@163.com

胡金芳, 女, 副研究员。Tel: (022)84845248 E-mail: hujf@tjipr.com

小儿肺炎是儿科呼吸系统常见疾病之一,发病率和死亡率均居儿科疾病首位^[1]。中医称之为肺炎喘嗽,临床以咳嗽、发热、气促、胸闷为主要症状,咳嗽之后,喘促加重,可出现呼吸困难,表现为鼻翼煽动、点头呼吸、三凹征等。西医治疗主要以抗生素、抗病毒药为主,有明显的不良反应和副作用,大量使用易发生耐药性,不利于儿童的长期健康。近代研究证实,中药治疗小儿肺炎具有抗菌、促进细胞损伤修复、增加机体免疫能力、降低气道高反应性等作用^[2],且副作用小,疗效好,临床广泛应用,具有很好的发展前景。小儿肺热咳喘颗粒(Xiaoer Feire Kechuan Particles, XFKP)由麻黄、苦杏仁、生石膏、甘草、金银花、连翘、知母、黄芩、板蓝根、麦冬、鱼腥草组成,用于感冒、支气管炎、喘息性支气管炎、支气管肺炎等属痰热壅肺证者,具有清热解毒、宣肺止咳、化痰平喘的功效^[3]。本实验通过多种模型研究小儿肺热咳喘颗粒清热解毒、止咳平喘的作用,为临床应用提供参考。

1 材料

1.1 动物

SPF级ICR小鼠,体质量11~13 g,120只,雌雄各半;日本大耳白兔,体质量0.8~1.0 kg,48只,雌雄各半;Hartley豚鼠,体质量150~200 g,50只,雌雄各半;均由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号SCXK(京)2012-0001。

1.2 药物与主要试剂

XFKP,2.65 g生药/g颗粒,批号160901,海南葫芦娃制药有限公司提供;葵花牌小儿肺热咳喘口服液,规格10 mL/支,1.78 g生药/mL,批号201604008;黑龙江葵花药业股份有限公司提供;阿司匹林,阿斯利康制药有限公司提供,批号1401102;超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号20161008)、髓过氧化物酶(MPO)试剂盒(批号20161014),均购于南京建成生物工程研究所;脂多糖(LPS),Sigma,批号044M4004V。

1.3 主要仪器

Varioskan Flash酶标仪(Thermo Scientific);YSL-8A多功能诱咳引喘仪(济南益延科技发展有限公司);ADVIA2120血液分析仪(Siemens Healthcare Diagnostics Inc);BRAUN Thermoscan(IRT4520)温度计(Mexico, Germany)。

2 方法

2.1 对发热家兔的影响

选用大耳白兔48只,雌雄各半,分组前1~2 d用体温计测量各家兔体温,使家兔习惯耳温测定操作^[4],分组当天测定各家兔基础体温,随机分为6组:对照组,模型组,XFKP高、中、低剂量(4、2、1 g/kg)组,阿司匹林(0.2 g/kg,阳性药)组,每组8只,雌雄各半。每天ig给药1次,连续给药3 d,对照及模型组ig给予等体积蒸馏水。于给药第3天测量各组家兔基础体温,模型及各给药组家兔在给药后立即sc牛奶5 mL/只,随后观察家兔体征变化,测量2、4、5.5 h后各组家兔体温。计算给药后各时间点各组家兔体温与基础体温差值。

2.2 对肺炎模型小鼠的影响

选用合格的ICR种小鼠60只,随机分为对照组,模型组,XFKP高、中、低剂量(14.0、7.0、3.5 g/kg)组,小儿肺热咳喘口服液(18 mL/kg)组,每组10只,雌雄各半。每天ig给药1次,连续给药7 d,对照、模型组给予相同体积的蒸馏水。造模前禁食8 h,于给药第7天,小鼠ip 40 mg/kg戊巴比妥钠麻醉,模型和给药组气管内单次滴入20 μ g/10 μ L(浓度为2 mg/mL)的LPS^[5],对照组滴入等体积生理盐水。末次给药24 h后,脱颈椎处死小鼠,取左肺称湿质量后干燥,称干质量,计算肺内积水量;取右肺以支气管肺泡灌洗液冲洗,洗液用于检测SOD(WST-1法)、MPO(比色法)活性,操作严格按照试剂盒说明书进行;并通过血细胞分析仪测定洗液中炎症细胞积聚。

2.3 对氨水喷雾致小鼠咳嗽的影响

选用合格的ICR种小鼠50只,随机分为模型组,XFKP高、中、低剂量(14.0、7.0、3.5 g/kg)组,小儿肺热咳喘口服液(18 mL/kg)组,每组10只,雌雄各半。每天ig给药1次,连续3 d,模型组给予同体积蒸馏水。于末次给药后40 min,将每只动物分别置于喷雾装置内,用诱咳引喘仪匀速喷入12.5%的氨水,持续5 s,仪器自动记录小鼠咳嗽潜伏期,并记数3 min内小鼠咳嗽次数^[5]。

2.4 对豚鼠组胺喷雾引喘模型的影响

选用经筛选合格的豚鼠50只,体质量150~200 g,随机分为模型组,XFKP高、中、低剂量(6.4、3.2、1.6 g/kg)组,小儿肺热咳喘口服液(8 mL/kg)

组, 每组 10 只, 雌雄各半。每天 ig 给药 1 次, 连续 3 d, 模型组给予同体积蒸馏水。于末次给药后 40 min, 将每只动物分别置于喷雾装置内, 浓度为用诱咳引喘仪匀速喷入 0.2% 的磷酸组胺溶液, 持续 18 s, 记录豚鼠引喘潜伏期。

2.5 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析。

3 结果

3.1 对发热家兔体温的影响

与对照组比较, 模型组家兔 sc 牛奶后 2、4 h 家兔体温明显升高 ($P < 0.05$ 、0.01); 与模型组比较,

XFKP 高、中剂量组能够显著降低给药后 2、4 h 体温与基础体温差值 ($P < 0.05$), 阳性药阿司匹林显著降低家兔给药后 2、4、5.5 h 体温与基础体温差值 ($P < 0.01$), 说明 XFKP 具有解热作用。见表 1。

3.2 对肺内积水量及肺泡中白细胞的影响

如表 2 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肺内积水量和肺泡中白细胞总数、淋巴细胞数明显升高 ($P < 0.05$ 、0.01), 中性粒细胞数增多, 但无统计学差异。与模型组比较, XFKP 高、中剂量组以及阳性药组小鼠肺内积水量和肺泡中白细胞总数、淋巴细胞数明显降低 ($P < 0.05$ 、0.01), 中性粒细胞数有降低趋势, 且作用均呈剂量相关性。

表 1 XFKP 对牛奶致家兔发热的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of XFKP on rabbits' heat model induced by milk ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组	剂量/ (g·kg ⁻¹)	基础体温/°C	大鼠体温与基础体温差值/°C		
			给药后 2 h	给药后 4 h	给药后 5.5 h
对照	—	37.4±0.47	0.06±0.34	-0.08±0.63	0.03±0.66
模型	—	37.3±0.54	1.03±0.71 ^{##}	0.70±0.55 [#]	0.34±0.57
XFKP	4.0	37.4±0.65	0.50±0.79 [*]	0.44±0.65 [*]	0.27±0.51
	2.0	37.6±0.73	0.38±0.31 [*]	0.23±0.23 [*]	0.87±0.97
	1.0	37.5±0.43	0.05±0.61	0.01±0.59	0.03±0.49
阿司匹林	0.2	37.3±0.64	-0.5±0.72 ^{**}	-0.74±0.81 ^{**}	-0.71±0.58 ^{**}

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

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

表 2 XFKP 对小鼠肺炎模型肺内积水量、肺泡中白细胞的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of XFKP on pleural effusion and leukocyte in alveoli of mice pneumonia model ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肺内积水量/g	白细胞总数/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	中性粒细胞数/ ($\times 10^7 \cdot L^{-1}$)	淋巴细胞数/ ($\times 10^7 \cdot L^{-1}$)
对照	—	0.070±0.007	0.197±0.098	4.5±2.6	9.9±4.8
模型	—	0.083±0.014 [#]	0.513±0.266 ^{##}	9.1±7.1	31.1±20.9 [#]
XFKP	14.0	0.069±0.010 [*]	0.280±0.150 [*]	5.3±2.3	10.1±3.4 [*]
	7.0	0.072±0.004 [*]	0.270±0.110 [*]	8.0±4.6	9.0±3.8 ^{**}
	3.5	0.072±0.012	0.413±0.216	10.0±5.5	19.3±14.0
小儿肺热咳喘口服液	18.0 mL·kg ⁻¹	0.072±0.011 [*]	0.260±0.090 [*]	4.3±2.0	14.1±7.8 [*]

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

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

3.3 对小鼠肺泡中 MPO、SOD 活性的影响

如表 3 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肺泡 MPO 活性明显提高 ($P < 0.05$), SOD 活性有所降低。与模型组比较, XFKP 高剂量组 MPO 活性明显降低 ($P < 0.05$), XFKP 剂量组有升高 SOD 活性的

趋势, 且呈剂量相关性。

3.4 对氨水喷雾致小鼠咳嗽的影响

如表 4 所示, XFKP 高、中剂量组能够显著地延长小鼠咳嗽潜伏期, 减少咳嗽次数 ($P < 0.01$)。与阳性对照药小儿肺热咳喘口服液止咳作用强度相当。

表3 XFKP对小鼠肺泡中MPO、SOD活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of XFKP on activities of MPO, SOD in alveoli of mice pneumonia model ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	MPO/(U·L ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)
对照	—	0.083±0.019	15.44±6.03
模型	—	0.110±0.022 [#]	13.88±3.68
XFKP	14.0	0.081±0.026 [*]	16.07±3.79
	7.0	0.090±0.024	17.05±3.05
	3.5	0.109±0.022	15.65±2.50
小儿肺热咳喘口服液	18.0 mL·kg ⁻¹	0.106±0.013	13.73±6.67

与对照组比较: [#]*P*<0.05; 与模型组比较: ^{*}*P*<0.05

[#]*P*<0.05 vs control group; ^{*}*P*<0.05 vs model group

表4 XFKP对氨水喷雾致小鼠咳嗽的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of XFKP on cough mice model induced by ammonia liquor ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量/(g·kg ⁻¹)	咳嗽潜伏期/s	咳嗽次数
模型	—	27.8±15.6	17.4±5.3
XFKP	14.0	65.7±29.0 ^{**}	7.0±3.9 ^{**}
	7.0	83.0±39.1 ^{**}	7.5±4.17 ^{**}
	3.5	30.7±11.3	13.3±6.3
小儿肺热咳喘口服液	18.0 mL/kg	61.7±20.4 ^{**}	7.6±3.2 ^{**}

与模型组比较: ^{**}*P*<0.01

^{**}*P*<0.01 vs model group

3.5 对豚鼠平喘作用的影响

如表5所示, XFKP高、中剂量显著地延长豚鼠引喘潜伏期 (*P*<0.05), 并呈剂量相关性, 阳性对照药小儿肺热咳喘口服液的平喘作用亦较显著 (*P*<0.05)。

表5 XFKP对磷酸组胺引喘豚鼠模型的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect of XFKP on gasping guinea pigs model induced by histamine phosphate liquor ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量/(g·kg ⁻¹)	引喘潜伏期/s
模型	—	73±16
XFKP	6.4	112±41 [*]
	3.2	96±27 [*]
	1.6	85±24
小儿肺热咳喘口服液	18.0 mL/kg	87±12 [*]

与模型组比较: ^{*}*P*<0.01

^{**}*P*<0.01 vs model group

4 讨论

小儿肺热咳喘颗粒是麻杏石甘汤的加减方, 麻杏石甘汤出自我国经典医学著作《伤寒论》, 主治肺热喘咳, 现多用于肺炎、慢性支气管炎、支气管哮喘、麻疹、百日咳等属于邪热闭肺者。原方中麻黄、石膏同为君药, 麻黄为肺经之专药, 宣肺解表而平喘, 石膏清泻肺胃之热以生津, 两药相配, 既能宣肺, 又能泄热, 相合相成; 杏仁苦降肺气, 止咳平喘, 既助石膏沉降下行, 又助麻黄清泻肺热, 是为臣药; 甘草既能解毒清热, 又能调和药性, 固护胃气, 是为佐使^[6]。本方辅以知母、麦冬清热滋阴润肺, 金银花、连翘、黄芩、板蓝根、鱼腥草清热解毒, 加大清肺泻热解毒之力, 以期达到更好的疗效。现代实验研究证实, 麻杏石甘汤有明显的镇咳、祛痰、降低支气管痉挛、抗过敏、减少炎症细胞浸润、促进吞噬细胞功能, 增强机体免疫力, 抗炎及退热的功效^[7], 且现代药理研究亦证明黄芩^[8]、板蓝根^[9]、鱼腥草^[10-11]具有明显的抗菌、抗病毒作用, 金银花^[12]有解热和抗炎作用。

小儿肺炎主要是一个炎症反应的过程, 临床以咳嗽、发热、气促、胸闷为主要症状。从实验中可以看出, XFKP可以显著降低发热家兔体温, 降低小鼠肺内积水量和肺泡中白细胞总数、中性粒细胞数、淋巴细胞数, 表明XFKP可以抑制肺内炎症细胞形成, 从而减轻气道炎症反应, 起到清热解毒的作用。中性粒细胞是急性炎症反应的主要炎症细胞, 而MPO是中性粒细胞活性的标志物, 可代表细胞浸润情况, SOD能够降低自由基水平、调节炎症反应。实验中检测了小鼠肺泡灌洗液中MPO、SOD的活性, 结果显示, XFKP高剂量对MPO活性具有显著抑制作用, 对SOD活性的提高作用呈一定的剂量相关性。通过小鼠和豚鼠的致咳引喘试验发现, XFKP有显著的止咳平喘作用。从整体实验数据来看, XFKP中剂量(7 g/kg, 相当于18.6 g生药量)组的止咳平喘效果与阳性对照药小儿肺热咳喘口服液(18 mL/kg, 相当于32 g生药量)相当或更优, 而XFKP所用生药量更少。在保持疗效的同时, XFKP可以进一步降低生产成本, 且便于服用、携带、贮存。综上所述, XFKP确有良好的清热解毒、止咳平喘的作用, 其作用效果不低于口服液制剂, 本实验为XFKP临床上用于治疗小儿肺炎者提供参考。

参考文献

- [1] 柯玲玲, 卞显辉, 傅亚瑜, 等. 中医药治疗小儿肺炎研究进展 [J]. 中医药临床杂志, 2016, 28(10): 1488-1492.
- [2] 袁 昕, 闫慧敏. 中医内治法治疗小儿肺炎进展 [J]. 环球中医药, 2014, 7(4): 316-320.
- [3] 张秀英, 胡 玲, 赵国华, 等. 小儿肺热咳喘颗粒治疗儿童支气管肺炎的临床观察 [J]. 中草药, 2016, 47(11): 1931-1934.
- [4] 徐叔云, 卞如濂. 药理试验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [5] Xie Y C, Xin W D, Wu X M, et al. Inhibitory effects of flavonoids extracted from licorice on lipopolysaccharide-induced acute pulmonary inflammation in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2009, 2(9): 194-200.
- [6] 邓中甲. 方剂学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2017.
- [7] 肖 科. 麻杏石甘汤治疗儿科疾病举隅 [J]. 实用中医药杂志, 2009, 51(4): 254.
- [8] 陈丽平. 黄芩有效化学成分及抑菌作用的研究分析 [J]. 中国实用医药, 2011, 6(10): 167.
- [9] 郑 汝, 梁锦丽. 板蓝根不同提取部位抗菌活性的实验性研究 [J]. 海峡药学, 2010, 22(4): 32-34.
- [10] Yin J, Li G, Yang Q, et al. *In vitro* and *in vivo* effects of *Houttuynia cordata* on infectious bronchitis virus [J]. *Avian Pathol*, 2011, 40(5): 491-498.
- [11] Liu G, Xiang H, Zhang K, et al. Transcriptional and functional analysis shows sodium houttuyniate-mediated inhibition of autolysis in staphylococcus aureus [J]. *Molecules*, 2011, 16(10): 8848-8865.
- [12] 雷 玲, 李兴平, 白筱璐, 等. 金银花抗内毒素、解热、抗炎作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(1): 115-117.