

芪白平肺颗粒镇咳祛痰平喘作用的实验研究^{*}

孙晓萍^{1,2}, 李卓琼^{1,2}, 常秀娟^{1,2}, 李威^{1,2}, 周军^{1,2},
王振中^{1,2}, 萧伟^{1,2**}

(1. 江苏康缘药业股份有限公司 连云港 222001;

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室 连云港 222001)

摘要 :目的 :考察芪白平肺颗粒(QBPF)的镇咳、祛痰和平喘作用。方法 :采用氨水致小鼠咳嗽,利用小鼠气管酚红排泄法、豚鼠诱喘法评价药物的镇咳、祛痰和平喘作用。结果 :芪白平肺颗粒高中低剂量组均能明显减少小鼠咳嗽次数,对延长咳嗽潜伏期也有一定的作用趋势。芪白平肺颗粒各剂量组均能明显增加酚红排出量,具有较好祛痰作用。芪白平肺颗粒各剂量组能明显延长豚鼠引喘潜伏期,高剂量可明显延长跌扑时间。结论 :芪白平肺颗粒具有较好的止咳、化痰、平喘作用。

关键词 :芪白平肺颗粒 镇咳 祛痰 平喘

doi :10.11842/wst.2016.03.025 中图分类号 :R283 文献标识码 :A

芪白平肺颗粒由黄芪、川芎、薤白、葶苈子、五味子、地龙等组成,有益气温阳、化痰散瘀之功效,临床用于治疗慢性阻塞性肺疾病或支气管哮喘。临床观察23例支气管哮喘患者,总有效率86.96%,对患者喘息、咳嗽、咳痰和肺部哮鸣音等症状均有明显改善^[1]。采用复合因素造模方法复制慢性阻塞性肺病(Chronic Obstructive Pulmonary Disease, COPD)痰瘀阻肺证大鼠模型,造模的同时给予芪白平肺胶囊,观察大鼠一般状况、支气管肺泡灌洗液中细胞总数和分类计数、IL-8、TNF- α 、IFN- γ 等细胞因子,结果发现该药可减少模型大鼠气道炎症细胞的浸润,增强免疫功能^[2]。此外,芪白平肺胶囊可有效防治慢阻肺痰瘀阻肺证模型大鼠低氧血症的产生^[3],显著降低大鼠平均肺动脉压力^[4],显著升高NO水平,降低ET-1水平。本实验采用浓氨水致小鼠咳嗽,利用小鼠气管酚红排泄量法、豚鼠乙酰胆碱及组胺混合诱喘法评价药物的镇咳、祛痰和平喘作用,为临床用药、新药开发提供科学的实验和理

论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF级KM小鼠72只,雌雄各半,由中国人民解放军医学科学院实验动物中心提供,动物生产许可证号SXCK(军)2012-0004,用于镇咳实验;ICR小鼠63只,雄性,由扬州大学比较医学中心提供,用于祛痰实验,动物生产许可证号为SXCK(苏)2012-0004;豚鼠90只,雌雄各半,体质量250g左右,用于平喘实验,由南京市浦口区莱芙养殖场提供,动物生产许可证号为SXCK(苏)2014-0004。

1.1.2 药物与试剂

芪白平肺颗粒(每1g浸膏粉相当于原生药量3.39g,江苏康缘现代药物研究院,批号:140801);枸橼酸喷托维林片(25mg/片,安徽仁和药业有限公司,批号:140101);化痰平喘片(吉林省华港制药有限公司,批号:20130402);氨茶碱(0.1g/片,南京白敬宇制药有限责任公司,批号:130601);磷酸

收稿日期 2015-05-22

修回日期 2015-08-21

* 科学技术部国家科技重大专项“重大新药创制”项目(2013ZX09402203)现代中药创新集群与数字制药技术平台,负责人 萧伟。

** 通讯作者 萧伟 本刊编委,博士,研究员级高级工程师,主要研究方向:中药新药的研究与开发。

组胺(上海紫一试剂厂,批号:zy140820);氯化乙酰胆碱(美国Sigma公司,批号:BCBK5708V)。

1.1.3 仪器与设备

YLS-8A 多功能诱咳引喘仪(山东省医学科学院设备站);FlexStation 3 多功能钙流工作站(美国Molecular Devices公司);BSA323S-CW 电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 芪白平肺颗粒对氨水所致小鼠咳嗽的影响实验

取体质量 18–20 g 的 KM 小鼠 72 只,雌雄各半,适应性喂养 3–4 天后,以 13% 氨水喷雾诱发咳嗽,观察 3 min 内小鼠咳嗽次数,判定咳嗽次数达 3 次以上为筛选合格。取筛选合格的小鼠随机分为 5 组(每组 10 只),分别为对照组(灌胃等量 0.5% CMC)组,喷托维林组(13.00 mg·kg⁻¹),芪白平肺低中高剂量组(1.60 g、3.20 g、6.40 g 生药材/kg),模型组。按上述分组灌胃给药,每天 1 次,连续 7 天,末次给药后 1 h,以 13% 氨水喷雾诱发咳嗽,观察小鼠咳嗽潜伏期(从开始喷雾到引起小鼠第 1 次咳嗽的时间)和 3 min 内出现典型咳嗽的次数(典型咳嗽动作:腹肌收缩或缩胸,同时张大嘴,有咳声)^[5]。

2.2.1 芪白平肺颗粒对祛痰作用的影响

取体重 18–20 g 的 ICR 雄性小鼠 63 只,适应性喂养 3–4 天后,随机分为 6 组:正常组、溶剂对照组(灌胃等量 0.5% CMC)组、化痰平喘片组(1 片/kg),芪白平肺颗粒低中高剂量组(1.60 g、3.20 g、6.40 g 生药材/kg)。按上述分组灌胃给药,每天 1 次,连续 7 天,实验前 1 天禁食不禁水。于末次给药后 30 min,每鼠腹腔注射 2.5% 酚红生理盐水溶液 250 mg·kg⁻¹,腹腔注射 30 min 后脱颈椎处死小鼠,背位固定,分离气管,于喉头下将剪去尖头的 7 号针头插入气管内约 0.4 cm,用 4 号丝线结扎固定,5 mL 注射器吸取 1 mL 5% 碳酸氢钠溶液,往返冲洗呼吸道 3 次,将灌洗液注入试管内,依次再用 2 mL 5% 碳酸氢钠溶液灌洗呼吸道,每次往返 3 次,合并 3 次的灌洗液,静置 30 min 后,吸取上清用酶标仪测定吸光度 A₅₄₅。配制酚红标准曲线范围为 54.00–1.69 μg·mL⁻¹,根据标准曲线方程折算出每只小鼠呼吸道酚红排出量,比较每组小鼠酚红排出量,即排痰量。

2.2.3 芪白平肺颗粒对豚鼠磷酸组胺引喘的影响

实验前 1 天选取体质量 250–300 g 的豚鼠,雌

雄兼用,分别置多功能诱咳引喘仪的喷雾箱内,喷入 0.4% 磷酸组胺和 4% 氯化乙酰胆碱的混合溶液 60 s,喷雾停止后观察 6 min 内豚鼠出现抽搐、跌倒的时间,将喷雾开始到抽搐的时间,记为引喘潜伏期,豚鼠出现跌扑记为跌扑时间。若引喘潜伏期及跌扑时间大于 150 s,或不出现哮喘症状的动物则作为哮喘不合格动物,弃去不用。次日取筛选合格的豚鼠 69 只,随机分为 5 组:正常对照组(灌胃等量 0.5% CMC-Na 溶液)、氨茶碱组(0.05 g·kg⁻¹)、芪白平肺颗粒低中高剂量组(0.95 g、1.90 g、3.80 g 生药材/kg)。所有组实验动物灌胃给药,连续给药 2 天,第 2 天给药后 1 h,分别放入喷雾箱内,依前述方法喷雾磷酸组胺及氯化乙酰胆碱的混合溶液,记录引喘潜伏期及跌扑时间,观察 6 min,大于 6 min 不跌倒者,引喘潜伏期或跌扑时间按 360 s 计算。

1.3 数据处理

资料数据以均数 ± 标准差表示 $\bar{x} \pm s$,量反应资料统计方法采用多因素方差分析,统计软件 SPSS 17.0。

2 实验结果

2.1 芪白平肺颗粒的镇咳作用

将小鼠置于 13% 浓氨水中予以刺激后,小鼠出现咳嗽、眼睛与鼻腔分泌物增加等症状,与对照组比较,喷托维林能明显减少小鼠咳嗽次数($P < 0.01$);芪白平肺颗粒高中低剂量组均能明显减少小鼠咳嗽次数($P < 0.01$),阳性药和芪白平肺颗粒均能有延长咳嗽潜伏期的作用趋势,但无显著差异。结果见表 1。

2.3 芪白平肺颗粒的祛痰作用

小鼠腹腔注射酚红后,尾部与四肢末端皮肤呈现深黄色,0.5 h 后处理小鼠并以 5% 碳酸氢钠溶

表 1 芪白平肺颗粒的镇咳作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	咳嗽潜伏期 /s	咳嗽次数
对照组	—	16.92 ± 10.44	42.69 ± 21.38
喷托维林组	0.013	25.73 ± 11.84	19.82 ± 9.84**
芪白平肺低剂量组	1.60	33.75 ± 38.58	17.25 ± 12.14**
芪白平肺中剂量组	3.20	21.91 ± 11.79	14.73 ± 10.47**
芪白平肺高剂量组	6.40	23.00 ± 12.50	15.40 ± 10.24**

注:与对照组比较,** $P < 0.01$ 。

液灌洗小鼠呼吸道,发现灌洗液呈现粉红至深红的不同色差,将灌洗液置 545 nm 下测定吸光度 A_{545} 。结果发现,与正常组相比溶媒对照组酚红排出量无明显差异。与溶媒对照组相比,化痰平喘片及芪白平肺颗粒各剂量组均能明显增加酚红排出量 ($P<0.05$)。结果见表 2。

酚红标准曲线方程为: $Y=0.0288X+0.0358$; $R^2=0.9989$

2.4 芪白平肺颗粒的平喘作用

吸入 0.4% 磷酸组胺和 4% 氯化乙酰胆碱的混合溶液 60 s 后,豚鼠出现呼吸急促、流涎、抽搐、跌扑等症状,离开诱喘环境后,豚鼠 1 到 2 min 后逐渐恢复正常,阳性药氨茶碱组与对照组相比,豚鼠引喘潜伏期及跌扑时间明显延长 ($P<0.01$);与对照组相比,芪白平肺颗粒高剂量组能明显延长豚鼠引喘潜伏期及跌扑时间 ($P<0.01$),芪白平肺颗粒低中剂量均能延长引喘潜伏期 ($P<0.05$),但对跌扑时间无显著作用。结果见表 3。

3 讨论

慢性阻塞性肺病是一种以持续气流受限为特征的可以预防和治疗的疾病,其气流受限多呈进行性发展,早期表现为咳嗽、咳痰反复发作,进而喘息胸

闷,发展为呼吸困难、呼气气流受限^[6]。COPD 常合并心血管疾病、高血压、心力衰竭、感染等疾病,严重影响患病者的生活质量,增加致残率和病死率^[7]。中医认为该病与肺胀相似,提出本病证候乃肺气亏虚、阳气微弱、痰淤互结所致,是慢性阻塞性肺疾病急性加重的常见临床证候^[8]。肺气虚则宣肃失常而咳嗽、喘促,肺气虚则治节失常,水液不循常道凝聚为痰,可见咳痰。方中黄芪、生晒参大补脾肺之气,合为君药,共奏益气温阳之功;川芎活血行气,薤白理气通阳,葶苈子泻肺平喘,行水消肿,三者共为臣药;地龙清肺定喘、通行经络为佐使药,诸药合用补肺气,平喘祛痰化痰^[9]。

本实验采用浓氨水诱导小鼠咳嗽,以咳嗽潜伏期及咳嗽次数为指标,考察 QBPF 颗粒的止咳作用。结果发现,QBPF 各剂量组均可明显减少咳嗽次数,与对照组相比有显著差异,且咳嗽潜伏期也有下降趋势。采用酚红排出实验观察到药物各剂量组可明显增加酚红排泄量,具有较好祛痰效果。组胺及乙酰胆碱混合喷雾致豚鼠哮喘后,QBPF 各剂量可显著延长哮喘潜伏期,以高剂量效果最佳。综上所述,QBPF 颗粒具有较好镇咳祛痰平喘的功效,为其顺利开发成为能广泛用于临床的上市新药提供了实验依据。

表 2 芪白平肺颗粒对小鼠酚红排泄量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /kg	动物数	A_{545}	酚红排出量 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
正常组	-	11	0.20 ± 0.04	5.86 ± 1.49
溶媒对照组	-	10	0.18 ± 0.05	4.88 ± 1.61
化痰平喘片组	1片	11	0.25 ± 0.09*	7.34 ± 2.98*
芪白平肺低剂量组	1.60 g	11	0.24 ± 0.05**	7.14 ± 1.58**
芪白平肺中剂量组	3.20 g	10	0.24 ± 0.08*	7.26 ± 2.84*
芪白平肺高剂量组	6.40 g	10	0.26 ± 0.09*	7.61 ± 3.06*

注:与溶媒对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

表 3 芪白平肺颗粒的平喘作用 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	动物数	引喘潜伏期 /s	跌扑时间 /s
对照组	-	10	58.80 ± 15.70	117.40 ± 26.18
氨茶碱组	0.05	14	133.57 ± 54.27**	307.43 ± 99.90**
芪白平肺低剂量组	0.95	13	78.92 ± 25.82*	140.62 ± 72.10
芪白平肺中剂量组	1.90	12	84.75 ± 34.84*	153.75 ± 67.35
芪白平肺高剂量组	3.80	13	93.69 ± 33.87**	225.85 ± 120.85**

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

参考文献

- 1 朱慧志, 韩明向, 梅晓冬, 等. 金泰冲剂治疗支气管哮喘的临床研究. 安徽中医学院学报. 2004, 23(4): 11-14.
- 2 王传博, 李泽庚, 彭波等. 芪白平肺胶囊对慢阻肺痰瘀阻肺证模型大鼠支气管肺泡灌洗液细胞因子的影响. 中华中医药杂志 (原中国医药学报), 2012, 27(11): 2807-2809.
- 3 李泽庚, 王传博, 彭波, 等. 芪白平肺胶囊对慢性阻塞性肺疾病痰瘀阻肺证模型大鼠血气分析的影响. 时珍国医国药, 2010, 21(3): 569-570.
- 4 王传博, 李泽庚, 彭波, 等. 芪白平肺胶囊对慢性阻塞性肺疾病痰瘀阻肺证模型大鼠 NO、ET-1 及 FIB 的影响. 中华中医药杂志 (原中国医药学报), 2012, 27(1): 91-93.
- 5 王小兰, 赫金丽, 张国顺, 等. 桑白皮水煎液及化学拆分组分止咳祛痰平喘作用研究. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2014, 16(9): 1951-1956.
- 6 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南 (2013 年修订版) (一). 全科医学临床与教育, 2013, 11(5): 484-494.
- 7 王佳佳, 谢洋, 李建生, 等. 慢性阻塞性肺疾病合并症研究. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2014, 16(12): 2692-2699.
- 8 张海龙, 李建生, 王海峰, 等. 慢性阻塞性肺疾病急性加重危险窗证候分布的临床调查研究. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2014, 16(7): 1587-1592.
- 9 童佳兵, 王传博, 彭波, 等. 芪白平肺胶囊治疗慢性阻塞性肺疾病痰瘀阻肺证疗效分析. 中华中医药学刊, 2012, 30(1): 44-45.

Antitussive, Expectorant and Antiasthmatic Effects of *Qibaipingfei* Granules

Sun Xiaoping^{1,2}, Li Zhuoqiong^{1,2}, Chang Xiujuan^{1,2}, Li Wei^{1,2}, Zhou Jun^{1,2},
Wang Zhenzhong^{1,2}, Xiao Wei^{1,2}

(1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical, Ltd., Lianyungang 222001, China;

2. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001 China)

Abstract: This study was aimed to investigate the antitussive, expectorant and antiasthmatic effects of *Qibaipingfei* (QBPF) granules. Cough model was induced by ammonia. Asthma model was induced by histamine and acetylcholine in guinea pig. And the expectorant experiment was determined by phenol sulphophthalein excretion in mice to evaluate the antitussive, expectorant and antiasthmatic effects of drug. Compared with the model group, the number of cough was significantly decreased in each dose of QBPF groups. And there was lower trend in latency of cough with no significant differences. The excretory amounts of phenol sulphophthalein were increased by all doses of QBPF groups. The latency of asthma was extended in all doses of QBPF groups and fell time was increased by high dose of QBPF group. It was concluded that QBPF granules has significant antitussive, expectorant and antiasthmatic effect.

Keywords: *Qibaipingfei* granules, antitussive, expectorant, antiasthmatic

(责任编辑 :马雅静 张志华 ,责任译审 :王 晶)