

# 外感风痧片体内抑菌、抗病毒作用的试验研究

蒋林<sup>1</sup> 李茂<sup>2</sup> 黎明<sup>1</sup> 吴玉强<sup>1</sup>

(1 广西中医学院制药厂, 广西南宁, 530023; 2 广西中医药研究院)

**摘要** 目的: 考察外感风痧片对呼吸道感染常见的细菌、病毒的体内抑制作用和对动物模型的镇咳、祛痰作用。方法: 采用体内实验方法, 观察外感风痧片的抗菌、抗病毒作用, 采用小白鼠氨水引咳法、毛细管法观察镇咳、排痰作用。结果: 外感风痧片对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌感染小鼠和流感病毒性肺炎小鼠有明显的保护作用, 并延长小白鼠咳嗽潜伏期、增加大白鼠排痰量。结论: 外感风痧片具有明显的抗菌、抗病毒作用及镇咳、祛痰作用。

**关键词** 外感风痧片

## Study on in vivo Antibacterial and Antivirus Effects of Waigan Fengsha Tablets

Jiang Lin<sup>1</sup>, Li Mao<sup>2</sup>, Li Ming<sup>1</sup>

(1 Pharmaceutical factory, Guangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi Province, Post code: 530023; 2 Guangxi Research Institute of Traditional Chinese Medicine)

**Abstract Objective:** To explore the in vivo antibacterial and antivirus effects of Waigan Fengsha Tablets for respiratory infection, and its effect on cough and phlegm on the animal models. **Methods:** The anti-infection effects were examined in vivo, positive controlled experiments and amelioration of cough and phlegm were observed on mice induced by ammonia. **Results:** The tablets has remarkable protective effects for mice contracted with Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, or viral pneumonia, prolongs latent period for cough, and increases expectoration. **Conclusion:** Waigan Fengsha Tablets has significant antibacterial, antiviral, cough-stopping effects.

**Key Words** Waigan Fengsha Tablets

外感风痧片是广西中医学院制药厂根据壮族民间验方研制生产的制剂, 由山芝麻、藤苦参、狗仔花、苍耳草、岗梅、两面针等壮药组成, 具有祛风清热的作用, 临床用于流行性感胃引起的咽喉肿痛, 四肢酸痛等症。我们参照新药流行性感胃药药理研究模型<sup>[1]</sup>, 对外感风痧片的主要药效学进行了研究。现将其试验结果报道如下。

## 1 材料

1.1 药物 外感风痧片(每片相当于生药材 2.759g), 由广西中医学院制药厂提供, 批号 20040816。阳性对照药为感冒清热颗粒; 硫酸庆大霉素注射液, 批号 050318, 江苏四环生物股份有限公司产品; 阿司匹林片(0.5g/片, 批号 050316) 和复方甘草片(批号 050126) 为西南药业股份有限公司产品; 病毒唑, 批号 030606, 湖北省医药工业研究所产品。吗啡注射液, 批号 030608, 东北制药集团公司沈阳第一制药厂出品。

1.2 动物 wistar 大鼠, 体重 180~220g, 6~7 周龄, 普通级, 合格证号为桂医动字 11005; 昆明小白鼠, 体重 18~22g, 6~7 周龄, 普通级, 桂医动字 11004; 豚鼠体重 200~220g, 广西中医学院实验动物室提供。

1.3 菌株及病毒 金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肺炎链球菌、乙型链球菌、肺炎克雷氏杆菌、绿脓杆菌、大肠杆菌、白色念珠菌, 由广西医科大学第一附属医院

检验科细菌室分离鉴定提供。细胞和病毒: Hep-2 细胞由武汉大学典型培养物保藏中心提供。Eagle (MEM) 干粉培养基(购自 GIBCO 公司); 呼吸道合胞病毒, 病毒滴度为 106 TCID<sub>50</sub>/0.1mL、单纯疱疹病毒 II 型、流感病毒甲 3 型、CVB4 病毒病, 病毒滴度为 103 TCID<sub>50</sub>/0.1mL、腺病毒 3 型, 病毒滴度为 103 TCID<sub>50</sub>/0.1mL 由中国预防医学科学院病毒学研究所提供; 单纯疱疹病毒 I 型(HSV-1) 由中国药品生物制品检定所提供。各种病毒经常规传代测定感染滴度后用于实验。

1.4 仪器 普通隔水式培养箱, 余姚县恒温箱厂产品; CO<sub>2</sub> 培养箱, 美国 NAPCO 公司产品; 倒置光学显微镜, 日本 OLYMPUS 公司产品; 可见光分光光度计, 722 型, 上海精密科学仪器有限公司产品; 分析天平, LI-BROR AEL-200, 日本岛津公司产品。

## 2 方法

2.1 体内抗菌试验<sup>[2]</sup> 采用金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、肺炎链球菌、表皮葡萄球菌的临床菌株。将上述菌种少许菌苔, 分别接种于 2mL 肉汤培养基中, 37℃ 恒温箱中增菌 6h, 分别取 0.1mL 菌液, 转种至 10mL 培养基中培养 18h 作为原菌液。用 5% 干酵母稀释原菌液后, 测定 100% 最小致死量(mLD), 以此致死量作为感染菌量。每个菌种试验 50 只小鼠, 随机分为 5 组, 每

组 10 只,雌雄各半。设模型对照组、阳性药(硫酸庆大霉素)对照组和外感风痧片 3 个剂量 10.18g/kg、5.09g/kg、2.54g/kg 组。腹腔注射菌液 0.5mL/只,感染后立即灌胃给药,每日 2 次,硫酸庆大霉素皮下注射 36mg/kg 每日,模型对照组给等体积生理盐水,连续给药观察 7 天内小鼠死亡数,并统计各组动物的死亡百分率。与模型对照组比较,用卡方法检验组间差异的显著性。

2.2 抗病毒试验

2.2.1 外感风痧片的 Hep-2 细胞毒性测定<sup>[3]</sup> 在 96 孔板上,加  $8 \times 10^4$ /mL 浓度的 Hep-2 细胞 1.0mL/孔,培养 24h,加含药维持液。药物浓度为 400、800、1600、3200、6400、12800、25600ug/mL;37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养,观察 CPE。- :无细胞病变;+ :25% 有病变;+ + :50% 有病变;+ + + :75% 有病变;+ + + + :100% 有病变。每一药物浓度均重复 4 孔;同时设正常细胞对照;以药物浓度的对数为横坐标,相应的 CPE 百分率为纵坐标,直线回归法计算出药物对 Hep-2 细胞的半数中毒浓度(TC<sub>50</sub>)和亚中毒浓度(SC),以亚中毒浓度作为药物抗病毒试验,进行 50% 抑制浓度(IC<sub>50</sub>)测定。

2.2.2 对甲 3 型流感病毒、呼吸道合胞病毒、疱疹病毒(HSV1、2)、腺病毒 3、CVB4 病毒的抑制作用(IC<sub>50</sub>测定)<sup>[4]</sup> 在 96 孔板上,加  $0.8 \times 10^5$ /1mL 浓度的 Hep-2 细胞 1.0mL/孔,培养 48h,弃生长液,加 100 TCID<sub>50</sub>/0.1mL 的病毒液 0.1mL/孔,37℃ 5% CO<sub>2</sub>,吸附 60min,弃病毒液,加含药维持液(外感风痧片浓度为 200、400、600、800、1000、1200、1400ug/mL,病毒唑浓度为 10、20、30、40、50、60、70ug/mL),每一药物浓度均重复 3 孔,同时设病毒对照及正常细胞对照。37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养 48h,观察 CPE。以药物浓度的对数为横坐标,相应 CPE 百分率为纵坐标,用直线回归计算药物的 50% 抑制浓度(IC<sub>50</sub>),并按照  $TI = TC_{50}/IC_{50}$  计算药物的治疗指数(TI)。

2.2.3 对小鼠流感病毒性肺炎的保护作用<sup>[5]</sup> 取昆明种小鼠 50 只,体重 13~16g,随机分为 5 组,每组 10 只。设模型对照组,阳性药感冒清热颗粒对照组,外感风痧片 10.18g/kg、5.09g/kg、2.54g/kg 组。将各组小鼠以乙醚轻度麻醉,用 15LD<sub>50</sub> 的流感病毒(鼠肺适应株 FM<sub>1</sub>)进行滴鼻感染。感染前一天开始给药,连续 5 天,感染后第 4 天将小鼠处死,称体重后,取肺称重,计算肺指数(100 × 肺重/体重)。与模型对照组比较,用 t 检验法检验组间差异的显著性。

2.3 外感风痧片镇咳作用 采用小白鼠氨水引咳法<sup>[6]</sup>。取 5 立升真空玻璃干燥器,打开盖上的活塞,通

空气,容器底部放一培养皿,存放浓氨水。选取小鼠 50 只,体重 18~22g,雌雄各半,随机分为 5 组。设模型对照组、阳性药复方甘草片组、外感风痧片 10.18、5.09、2.54g/kg 组。灌胃给药后 1h,将小鼠放入已存有 0.5mL 氨水容器中,观察记录 15min 内各组小鼠咳嗽潜伏期。与模型对照组比较,用 t 检验法检验组间差异的显著性。

2.4 外感风痧片祛痰作用 采用毛细管法<sup>[7]</sup>。取 wistar 大鼠 50 只,体重 250~270g,雌雄各半,随机分为 5 组,每组 10 只。设正常对照组,阳性药复方甘草片组,外感风痧片 5.09g/kg、2.54g/kg、1.27g/kg 组。用乌拉坦 1g/kg 腹腔麻醉,仰位固定,剪开颈中部皮肤,分离出气管,与甲状腺软骨下缘正中两软骨环之间,用尖锐针头扎一小孔,插入毛细管,使毛细管接触气管底部表面,借以吸取痰液。当毛细管痰液充满时,立即另换一根,以毛细管吸取痰液长度为评价药物的化痰指标。记录给药前 2h 的正常分泌量,灌胃给药后继续收集 2h 的分泌量。与模型对照组比较,用 t 检验法检验组间差异的显著性。

3 结果

表 1 外感风痧片对呼吸道常见病毒的影响

病毒	外感风痧片		病毒唑	
	IC <sub>50</sub>	TI	IC <sub>50</sub>	TI
流感病毒甲 3	722.6	5.21	36.5	17.62
腺病毒 3	812.1	4.64	30.07	21.39
疱疹病毒 1	632.7	5.95	69.65	9.23
疱疹病毒 2	676.0	5.57	80.17	8.02
呼吸道合胞病毒	779.7	4.83	33.8	19.02
CVB4 病毒	632.7	5.95	43.22	14.88

注: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, 与模型对照组比较。

表 2 外感风痧片对小鼠流感病毒性肺炎的保护作用

组别	鼠数	剂量(g/kg)	肺指数
模型对照	10	1.405 ± 0.168	
感冒清热颗粒	10	5.28	1.267 ± 0.118 *
外感风痧片	10	10.18	1.254 ± 0.138 *
外感风痧片	10	5.09	1.305 ± 0.166
外感风痧片	10	2.54	1.292 ± 0.131

注: \* P < 0.05, 与模型对照组比较。

表 3 外感风痧片组小鼠咳嗽潜伏期的影响

组别	动物数(只)	剂量(g/kg)	咳嗽潜伏期(s)
模型对照	10	—	135.2 ± 22.1
复方甘草片	10	4.0	154.9 ± 19.3 *
外感风痧片	10	10.18	154.0 ± 15.4 *
外感风痧片	10	5.09	148.7 ± 25.8
外感风痧片	10	2.54	141.5 ± 17.7

注: \* P < 0.05, 与模型对照组比较。

表4 外感风痧片的祛痰作用

组别	动物数 (只)	剂量 g/kg	排痰量(cm)	
			给药前	给药后
正常对照	10	—	2.02 ± 0.25	2.06 ± 0.22
复方甘草片	10	4.0	2.09 ± 0.17	2.31 ± 0.19 *
外感风痧片	10	5.09	2.08 ± 0.19	2.29 ± 0.26 *
外感风痧片	10	2.54	2.09 ± 0.28	2.11 ± 0.29
外感风痧片	10	1.27	2.01 ± 0.20	2.17 ± 0.25

注: \*  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

1) 体内抗菌试验: 外感风痧片 10.18g/kg、5.09g/kg、2.54g/kg 对金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌感染的小鼠保护率均分别为 60%、50%、30% 和 60%、50%、20%; 但对肺炎链球菌、大肠杆菌感染的小鼠在本实验所用剂量下未见明显保护作用。2) 抗病毒试验: 外感风痧片和病毒唑对 Hep-2 细胞的半数中毒浓度 ( $TC_{50}$ ) 分别为 3766.9ug/mL 和 643.2ug/mL; SC 分别为 606.3ug/mL 和 202.6ug/mL。抑制病毒的  $IC_{50}$  和 TI 见表 1。外感风痧片组的肺指数比模型对照组小, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。提示本品对小鼠流感病毒性肺炎有保护作用 (见表 2)。3) 镇咳作用: 外感风痧片组小白鼠咳嗽潜伏期比模型对照组长, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。提示外感风痧片有镇咳作用 (表 3)。4) 祛痰作用: 外感风痧片组大鼠给药后

排痰量比模型对照组多, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 提示外感风痧片有祛痰作用 (表 4)。

#### 4 讨论

外感风痧片对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌感染小鼠和流感病毒性肺炎小鼠有明显的保护作用, 并延长小白鼠咳嗽潜伏期、增加大白鼠排痰量, 提示外感风痧片具有抗菌、抗病毒、镇咳、祛痰等作用, 结合本项目前期的研究工作结果, 表明外感风痧片具有抗菌、抗病毒、镇咳、祛痰、抗炎、镇痛和免疫增强作用, 提示外感风痧片临床用于风热感冒, 咽喉肿痛有一定药效学依据。

#### 参考文献

- [1] 王北婴, 李仪奎. 中药新药研制开发技术与方法. 上海科技出版社, 2001: 481-486.
- [2] 李仪奎. 中药药理实验方法学. 上海科技出版社, 1991: 289-292.
- [3] 韩锐. 抗癌药物研究与实验技术. 北京医科大学协和医科大学联合出版社, 1997: 801.
- [4] 杜平主编. 医用实验病毒学. 北京: 人民军医出版社, 1985 年第一版: 111.
- [5] 徐叔云编. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1723.
- [6] 李仪奎主编. 中药药理实验方法学. 上海上海科学技术出版社, 1991: 424-425.
- [7] 胡继娅. 健华感冒液的祛痰作用. 海峡药学, 2002, 14(5): 33.

(2008-10-06 收稿)

## 欢迎订阅 2010 年《世界中医药》杂志

《世界中医药》杂志为世界中医药学会联合会会刊, 是中国第一本面向全球发行的中医药学术期刊。本刊为中国科技核心期刊、中国核心期刊(遴选)数据库全文收录期刊, 中国学术期刊综合评分数据库统计源期刊, 中国知网期刊数据库收录期刊。主要栏目包括: 论坛、理论研究、临床研究、临床报道、名老中医经验、医案医话、临床经验交流、针灸研究、中医药教学、文献研究、实验研究、中药研究、中医药国际化、各地中医药、综述等。本刊为双月刊, 国际标准大 16 开本, 全年 6 期, 面向国内外公开发行。国内刊号 CN 11-5529/R, 订阅代号: 80-596, 国内定价: 人民币 10.00 元/期, 全年 60.00 元。国际刊号 ISSN 1673-7202, 订阅代号: BM4982, 国外定价 10.00 \$ (USD)/期, 全年 60.00 美元。

邮购地址: 北京市朝阳区小营路 19 号财富嘉园 A 座 303 室, 《世界中医药》杂志编辑部, 邮编: 100101。电话: 0086-10-58650023, 0086-10-58239055, 传真: 0086-10-58239066, E-mail: wfcms2006zss@163.com, 联系人: 汪焰。