

## 浙贝止咳颗粒镇咳祛痰及抗菌作用研究

王海青<sup>1,2</sup>, 阚红卫<sup>2\*</sup>, 靳康<sup>1,2</sup>, 石静丽<sup>2</sup>, 梁燕<sup>2</sup>, 田军<sup>3</sup>, 杨士友<sup>2</sup>

(1. 安徽大学生命科学学院, 合肥 230023; 2. 安徽省药物研究所药理室, 安徽省药品临床前安全评价中心, 安徽省中药研究与开发重点实验室, 合肥 230022;  
3. 安徽省药物研究所中药二室, 合肥 230022)

**[摘要]** **目的:** 观察浙贝止咳颗粒的镇咳、祛痰、抗菌等相关药效学作用。**方法:** 将小鼠随机分为NS、阳性药和浙贝止咳颗粒高、中、低剂量组(24.4, 12.2, 6.1 g·kg<sup>-1</sup>), ig 6 d, 采用小鼠氨水引咳实验观察其镇咳作用, 小鼠酚红排泌实验观察其祛痰作用; 将大鼠随机分为NS、阳性药和浙贝止咳颗粒高、中、低剂量组(18.4, 9.2, 4.6 g·kg<sup>-1</sup>), ig 6 d, 采用毛细管排痰实验观察其祛痰作用; 体内外抗菌实验观察其对相关细菌的抗菌作用及对细菌感染的小鼠死亡保护作用。**结果:** 浙贝止咳颗粒高、中剂量可延长氨水所致小鼠咳嗽的潜伏期, 减少咳嗽次数( $P < 0.01$ ); 增加小鼠离体气管酚红排泌量及大鼠毛细管排痰量( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 对金黄色葡萄球菌(抑菌圈直径14 mm, MIC 3.9 g·L<sup>-1</sup>, MBC 7.8 g·L<sup>-1</sup>)和肺炎链球菌(抑菌圈直径16 mm, MIC 15.6 g·L<sup>-1</sup>, MBC 31.2 g·L<sup>-1</sup>)有较强的体外抗菌作用, 对金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌引起小鼠死亡有一定的保护作用( $P < 0.01$ )。**结论:** 浙贝止咳颗粒具有明显的镇咳、祛痰、抗菌作用。

**[关键词]** 浙贝止咳颗粒; 镇咳; 祛痰; 抗菌

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0207-04

## Antitussive, Expectorant and Antibacterial Actions of Zhebei Zhike Granules

WANG Hai-qing<sup>1,2</sup>, KAN Hong-wei<sup>1\*</sup>, JIN Kang<sup>1,2</sup>, SHI Jing-li<sup>2</sup>, LIANG Yan<sup>1</sup>, TIAN Jun<sup>3</sup>, YANG Shi-you<sup>2</sup>

(1. Anhui University School of Life Science, Heifei 230023, China; 2. Pharmacological Department, Anhui Institute of Material Medica, Anhui Provincial Center for Drug Safety Pre-clinical Evaluation, The Key Lab of Chinese Traditional Medicine Research and Development, Heifei 230022, China;  
3. Traditional Chinese Medicine Department, Anhui Institute of Material Medica, Heifei 230022, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the antitussive, expectorant and antibacterial effects of Zhebei Zhike granules. **Method:** Mice were divided into 5 groups randomly: Normal saline (NS) group, positive group, high dose group, middle dose group and low dose group of Zhebei Zhike granules (24.4, 12.2, 6.1 g·kg<sup>-1</sup>), after 6 d by ig administration, the antitussive effect was studied by the cough model induced by ammonia in mice, the expectorant effect was studied by a mouse model of phenol red test. Rats were divided into 5 groups randomly: NS group, positive group, high dose group, middle dose group and low dose group of Zhebei Zhike granules (18.4, 9.2, 4.6 g·kg<sup>-1</sup>), after 6 d by ig administration, the expectorant effect was studied by testing the amount of phlegm secreted in rats. Experimental research on antibacterial action of Zhebei Zhike granules was applied to observe the antibacterial effect. **Result:** The experimental results showed that high dose group and middle dose group of Zhebei Zhike granules could produce a protective effect on the cough induced by ammonia ( $P < 0.01$ ), increase phenol red excretion in mice and phlegm expelling in rats ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The granules showed obvious antibacterial

**[收稿日期]** 20110121(005)

**[第一作者]** 王海青, 硕士研究生, 呼吸和抗感染药物药理, Tel: 0551-3669825, E-mail: whqing2011@163.com.

**[通讯作者]** \* 阚红卫, 硕士, 副研, 研究方向: 呼吸和抗感染药物药理, Tel: 0551-3669825, E-mail: hongweikan@163.com.

actions against *Staphylococcus aureus* (the diameter of inhibition zone is 14mm, MIC is  $3.9 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , MBC is  $7.8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) and *Streptococcus pneumonia* (the diameter of inhibition zone is 16mm, MIC is  $15.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , MBC is  $31.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), and also showed some protective effect to mice infected with bacteria ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Zhebei Zhike granules have obvious antitussive, expectorant and antibacterial actions.

[**Key words**] Zhebei Zhike granules; antitussive action; expectorant action; antibacterial action

浙贝止咳颗粒是由传统中药复方经现代制剂工艺研制而成的中药新药。本品由黄芩、贝母、款冬花、紫菀等药味组成,功能为散寒宣肺,化痰,止咳,平喘,民间用于风寒袭肺型急性气管-支气管炎所致的咳嗽,咳痰稀薄,咽痒,气急等症。本实验主要考察了浙贝止咳颗粒的镇咳、祛痰及抗菌作用。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级昆明种小鼠,体重 18 ~ 22 g,雌雄各半;SPF 级 SD 大鼠,体重 180 ~ 220 g,雌雄各半,均由安徽省实验动物中心提供,许可证号 SCXK(皖)2005-001。

**1.2 菌株** 金黄色葡萄球菌(26001);肺炎链球菌(31002)。均购自中国药品生物制品检定所。

**1.3 药品及试剂** 浙贝止咳颗粒,全方组成:紫苏叶、苦杏仁(炒)、黄芩(炒)、枳壳、款冬花、浙贝母各 300 g,法半夏 200 g,生甘草 100 g。制法:紫苏叶、枳壳、法半夏加入 10 倍量水提取挥发油 4 h。挥发油备用,蒸馏后的水溶液另器收集,药渣与苦杏仁等加 10 倍量水煎渣 2 次,每次 1 h。合并煎渣液,滤过,滤液与蒸馏后的水溶液浓缩至相对密度为 1.10(80℃测)的清膏。放冷,加乙醇使含醇量达 70%,静置 24 h,倾取上清液,滤过,滤液减压回收乙醇,浓缩至稠膏,加入淀粉、甜菊素适量,制粒 1 000 g,喷入上述挥发油,混匀,分装即得。安徽省药物研究所中药二室提供,批号 20101114。浙贝止咳汤剂,全方组成同浙贝止咳颗粒,制法同浙贝止咳颗粒制法至浓缩至稠膏(制粒前),安徽省药物研究所中药二室提供,批号 20101112。注射用青霉素钠,哈药集团制药总厂,批号 A100706511;阿莫西林分散片,海口市制药厂有限公司,批号 100306;咳喘宁,陕西天洋制药有限公司,批号 090303;氯化铵,上海无机化工研究所,批号 GB-658-77。

**1.4 仪器** UV-420 型紫外-可见分光光度计,日本岛津公司;CO<sub>2</sub> 培养箱,美国赛默飞世尔科技公司;Class II Biological Safety Cabinet, THE BAKER

COMPANY。

## 2 方法

**2.1 镇咳作用**<sup>[1]</sup> 取昆明种小鼠 60 只,随机分生理盐水组,咳喘宁组( $0.72 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),浙贝止咳颗粒高、中、低剂量组(按生药量计 24.4, 12.2, 6.1  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),分别 ig  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  相应供试液,连续 6 d,末次给药 1 h 后,将小鼠置于 5 000 mL 玻璃钟罩内,以 400 ~ 500 mmHg 恒压将 28% 的氨水喷入钟罩,喷雾 5 s,然后观察记录小鼠的咳嗽潜伏期及 1 min 内咳嗽次数。

### 2.2 祛痰作用

**2.2.1 对小鼠排泌酚红的影响**<sup>[1-3]</sup> 取昆明种小鼠 60 只,分组及 ig 如 2.1 所述。末次给药前禁食 1 d,次日上午给药后 30 min, ip 0.5% 酚红溶液,30 min 后将动物拉颈椎处死,分离气管,以 5% 碳酸氢钠来回冲洗 3 次,合并冲洗液,3 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清液,用 UV240 分光光度计于 546 nm 波长处测定吸光度(A)。

**2.2.2 对大鼠毛细管排痰量的影响**<sup>[2-3]</sup> 取 SD 大鼠 50 只,随机分成 5 组,分别为生理盐水组,氯化铵组( $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),浙贝止咳颗粒高、中、低剂量组( $18.4, 9.2, 4.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),ig 6 d 后 ip 乌拉坦麻醉,分离气管,插入长约 5 cm 内径 0.8 mm 的毛细玻管,记录痰液分泌量,以毛细玻管内痰液长度(mm)作为评价祛痰效果。

### 2.3 体外抗菌实验

**2.3.1 杯碟法**<sup>[4]</sup> 测抑菌圈直径吸取  $1 \times 10^7$  CFU/mL 的菌悬液 0.5 mL 涂布到琼脂平板上(肺炎链球菌用血平板),放上牛津杯,各加入 1.35, 0.67, 0.33  $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  (以生药计)的药液,并设对照。37℃ 培养 24 h(肺炎链球菌 37℃, 10% CO<sub>2</sub> 培养)后,测量抑菌圈直径。

**2.3.2 最低抑菌浓度(MIC)测定** 采用试管稀释法<sup>[4]</sup>,将药液倍比稀释成 10 个浓度,每个试管 1 mL,各加入 0.1 mL  $1 \times 10^6$  CFU/mL 的菌悬液;并设菌种对照和药物对照。37℃ 培养 24 h(肺炎链球菌

37 ℃,10% CO<sub>2</sub> 培养)后观察各管有无菌生长,完全抑制细菌生长所含的最小药物浓度即为药物的最低抑菌浓度。

**2.3.3 最低杀菌浓度(MBC)测定**<sup>[4]</sup> 从上述无细菌生长的各管取材分别划线接种于(血)平板,于37 ℃培养24 h(肺炎链球菌37 ℃,10% CO<sub>2</sub> 培养)后观察结果,平板上菌落数不大于5个的1管,其药物浓度即为最低杀菌浓度。

**2.4 体内抗菌实验**

**2.4.1 对金黄色葡萄球菌感染的小鼠死亡保护作用**<sup>[5]</sup> 取昆明种小鼠70只,随机分为7组,分别为正常对照组,生理盐水对照组,浙贝止咳颗粒高、中、低剂量组(24.4,12.2,6.1 g·kg<sup>-1</sup>),汤剂组(12.2 g·kg<sup>-1</sup>),阿莫西林组(0.3 g·kg<sup>-1</sup>)。ig 给药,于第4天取最低致死剂量(MLD)为10<sup>8</sup> CFU/mL(含5%的活性干酵母)的金黄色葡萄球菌悬液以0.5 mL/只给各组小鼠 ip,继续 ig 给药3 d。记录小鼠死亡数,计算各组小鼠死亡率。

**2.4.2 对肺炎链球菌感染的小鼠死亡保护作用**<sup>[5]</sup> 取昆明种小鼠70只,分组及给药如2.4.1所述。于第4天取最低致死剂量(MLD)为1×10<sup>5</sup> CFU/mL(含5%的活性干酵母)的肺炎链球菌悬液以0.5 mL/只给各组小鼠 ip,继续 ig 给药3 d。记录小鼠死亡数,计算各组小鼠死亡率。

**2.5 统计学方法** 各组数据采用SPSS17.0 进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异采用单因素方差分析,率的比较采用 $\chi^2$  检验分析。 $P < 0.05$  有统计学意义。

**3 结果**

**3.1 对氨水致小鼠咳嗽的影响** 与生理盐水组相比,咳喘宁和浙贝止咳颗粒高、中剂量组均能明显延长动物咳嗽潜伏期,显著减少小鼠咳嗽次数,差异显著。见表1。

**3.2 对小鼠排泌酚红的影响** 与生理盐水组相比,咳喘宁和浙贝止咳颗粒高、中剂量组均可不同程度地增加小鼠气管段的酚红排泌量,差异显著。见表1。

**3.3 对大鼠毛细管排痰量的影响** 结果表明,与生理盐水组相比,氯化铵和浙贝止咳颗粒高、中、低剂量组均能增加大鼠痰液分泌量,差异显著。见表2。

**3.4 体外抗菌实验** 结果表明,浙贝止咳颗粒对金黄色葡萄球菌的MIC为3.9 g·L<sup>-1</sup>,MBC为7.8 g·

L<sup>-1</sup>,对球菌肺炎链球菌的MIC为15.6 g·L<sup>-1</sup>,MBC为31.2 g·L<sup>-1</sup>,汤剂对金黄色葡萄球菌的MIC为7.8 g·L<sup>-1</sup>,MBC为15.6 g·L<sup>-1</sup>,对球菌肺炎链球菌的MIC为31.2 g·L<sup>-1</sup>,MBC为62.5 g·L<sup>-1</sup>。浙贝止咳颗粒在1.35 g·mL<sup>-1</sup>剂量时其抑菌圈明显,见表3。

**表1 浙贝止咳颗粒对氨水致小鼠咳嗽和排泌酚红的影响**( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

| 组别     | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | 咳嗽潜伏期/s                     | 咳嗽数/次                     | 酚红排泌/A                      |
|--------|-----------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| 生理盐水   | -                     | 23.25 ± 6.06                | 6.50 ± 3.71               | 0.133 ± 0.051               |
| 浙贝止咳颗粒 | 24.4                  | 37.50 ± 7.44 <sup>2)</sup>  | 3.08 ± 1.68 <sup>2)</sup> | 0.184 ± 0.053 <sup>2)</sup> |
|        | 12.2                  | 33.82 ± 10.19 <sup>2)</sup> | 3.25 ± 1.86 <sup>2)</sup> | 0.168 ± 0.045 <sup>1)</sup> |
|        | 6.1                   | 27.83 ± 6.97                | 5.17 ± 1.59               | 0.142 ± 0.038               |
| 咳喘宁    | 0.72                  | 31.83 ± 7.71 <sup>1)</sup>  | 4.67 ± 2.50 <sup>1)</sup> | 0.154 ± 0.027 <sup>1)</sup> |

注:与生理盐水组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表2,4同)。

**表2 浙贝止咳颗粒对大鼠毛细管排痰量的影响**( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别     | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | 排痰值/mm                     |
|--------|-----------------------|----------------------------|
| 生理盐水   | -                     | 13.45 ± 1.90               |
| 浙贝止咳颗粒 | 18.4                  | 28.13 ± 7.09 <sup>2)</sup> |
|        | 9.2                   | 24.66 ± 6.29 <sup>2)</sup> |
|        | 4.6                   | 19.16 ± 3.28 <sup>1)</sup> |
| 氯化铵    | 1.0                   | 20.32 ± 4.50 <sup>1)</sup> |

**表3 药物对细菌抑菌圈的测定**

| 药物                 | 质量浓度/g·mL <sup>-1</sup> | 抑菌圈直径/mm |       |
|--------------------|-------------------------|----------|-------|
|                    |                         | 金黄色葡萄球菌  | 肺炎链球菌 |
| 浙贝止咳颗粒             | 1.35                    | 14       | 16    |
|                    | 0.67                    | 12       | 13    |
|                    | 0.33                    | 8        | 9     |
| 汤剂                 | 1.35                    | 11       | 12    |
| 青霉素钠 <sup>1)</sup> | 10                      | 30       | 32    |
| 无菌蒸馏水              | -                       | 0        | 0     |

注:<sup>1)</sup>青霉素钠的质量浓度为U·mL<sup>-1</sup>。

**3.5 对金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌感染的小鼠死亡保护作用** 结果表明,与生理盐水组比较,阿莫西林组、汤剂组和浙贝止咳颗粒高、中剂量组均有显著性差异,见表4。

**4 讨论**

急性气管-支气管炎是由于生物性或非生物性致病因素引起的支气管黏膜急性炎症。主要临床表现为咳嗽、咳痰,部分患者可伴气喘。若治疗不当病情迁延,易反复发作导致慢性支气管炎、支气管扩

张的发生。本类疾病发病率高,人群普遍易感,小儿、老人、营养不良及患有慢性病者更易患病。目前西医治疗中对抗生素的滥用往往给患者造成种种损

伤特别是影响机体的免疫功能,且容易产生耐药性<sup>[6]</sup>。

表 4 浙贝止咳颗粒对金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌感染的小鼠死亡保护作用( $n = 10$ )

| 组别     | 剂量<br>/g·kg <sup>-1</sup> | 金黄色葡萄球菌 |                  | 肺炎链球菌 |                  |
|--------|---------------------------|---------|------------------|-------|------------------|
|        |                           | 死亡数/只   | 死亡率/%            | 死亡数/只 | 死亡率/%            |
| 正常对照   | -                         | 0       | 0                | 0     | 0                |
| 模型     | -                         | 10      | 100              | 10    | 100              |
| 浙贝止咳颗粒 | 24.4                      | 3       | 30 <sup>2)</sup> | 3     | 30 <sup>2)</sup> |
|        | 12.2                      | 4       | 40 <sup>2)</sup> | 4     | 40 <sup>2)</sup> |
|        | 6.1                       | 8       | 80               | 6     | 60 <sup>1)</sup> |
| 浙贝止咳汤剂 | 12.2                      | 5       | 50 <sup>1)</sup> | 4     | 40 <sup>2)</sup> |
| 阿莫西林   | 0.3                       | 2       | 20 <sup>2)</sup> | 3     | 20 <sup>2)</sup> |

中医药对急性气管-支气管炎的治疗取得了一定成效,前景广阔,但仍然存在不少问题尚须解决。如治疗的药物虽多,尚无公认的、行之有效的中药制剂;大多数药物仅限于临床疗效观察,动物实验研究甚少,中药复方发挥疗效的有效成分、作用方式、途径和靶点等机理尚不十分清楚<sup>[7]</sup>。浙贝止咳颗粒系根据治疗风寒袭肺型气管-支气管炎民间验方研制,对于气管-支气管炎引起的咳嗽,咽痒的抗菌及抗炎作用明显,治疗的针对性加强。

本研究证明浙贝止咳颗粒能明显延长小鼠咳嗽潜伏期,显著减少小鼠的咳嗽次数;浙贝止咳颗粒 3 个剂量组均可不同程度地增加小鼠气管段的酚红排泌量,以浙贝止咳颗粒中剂量效果为佳,有较好的祛痰作用;能明显增加大鼠排痰量;对受试菌有不同程度的体外抗菌作用,结果显示浙贝止咳颗粒体外抗菌作用明显;对降低感染金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌的小鼠死亡有一定保护作用。综上所述,浙贝止咳颗粒具有明显的镇咳、祛痰、抗菌作用。关于浙贝止咳颗粒的抗菌、抗病毒机制有待于进一步

的研究。

[参考文献]

[1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:636,639,642.

[2] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海:上海科技出版社,1991:432.

[3] 洪广祥,张燕萍,黄敬耀,等. 冬苑止咳颗粒治疗急性支气管(风寒袭肺证)的临床及实验研究[J]. 中华中医药杂志,2006,21(12):739.

[4] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:1654,1657,1661.

[5] 黄晓丹,索娟,洗彦芳,等. 精制藿胆方抗菌作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(8):49.

[6] Ralph Gonzales, M D MSPH, Merle A Sande M D. Uncomplicated Acute Bronchitis [J]. Annals Internal Medicine, 2000, 133(12):981.

[7] 墙建军,田正鉴. 中医药治疗急性气管-支气管炎研究进展[J]. 中国中医急症,2005,14(11):1107.

[责任编辑 聂淑琴]