

痰热清吸入溶液的药效学评价

周雅阳^{1,2}, 张广平², 宋玲², 高云航², 张海静², 马梦², 张钟秀², 陈腾飞²,
侯红平², 杨依靠², 苏萍², 高双荣², 杜江^{1*}, 叶祖光^{2*}

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:明确痰热清吸入溶液的镇咳、祛痰、解热及抗炎作用,为该制剂的进一步研发提供依据与数据支撑。方法:采用小鼠氨水引咳法及气管酚红排泌法分别观察痰热清吸入溶液的镇咳及祛痰作用;通过腹腔注射细菌脂多糖(LPS)建立大鼠发热模型,观察痰热清吸入溶液的解热作用;通过雾化吸入 LPS 建立大鼠急性肺炎模型,观察痰热清吸入溶液的抗炎作用。结果:痰热清吸入溶液可减少由氨水引发的小鼠咳嗽次数,增加小鼠气管酚红排泌量;降低 LPS 所致的大鼠体温及其相关调节因子前列腺素 E₂(PGE₂)和环磷酸腺苷(cAMP)的水平;降低 LPS 所致大鼠急性肺炎支气管肺泡灌洗液(BALF)中白细胞(WBC)计数和中性粒细胞比例(NEUT),降低肺组织中核转录因子- κ B(NF- κ B)和白细胞介素-1 β (IL-1 β)的水平。结论:痰热清吸入溶液具有明显的镇咳、祛痰、解热及抗炎作用,值得进一步研发和推广。

[关键词] 痰热清吸入溶液;镇咳;祛痰;解热;抗炎;白细胞计数;前列腺素 E₂

[中图分类号] R22;R28;R96;C37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)12-0071-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190954

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190116.1428.009.html>

[网络出版时间] 2019-01-17 10:39

Pharmacodynamic Evaluation of Tanreqing Inhalation Solution

ZHOU Ya-yang^{1,2}, ZHANG Guang-ping², SONG Ling², GAO Yun-hang², ZHANG Hai-jing²,
MA Meng², ZHANG Zhong-xiu², CHEN Teng-fei², HOU Hong-ping², YANG Yi-fei², SU Ping²,
GAO Shuang-rong², DU Jiang^{1*}, YE Zu-guang^{2*}

(1. Guiyang University of Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To clarify the antitussive, expectorant, antipyretic and anti-inflammatory effects of Tanreqing inhalation solution, and provide basis and data support for further research and development of this preparation. **Method:** The methods of cough induced by ammonia and tracheal phenol red excretion were used to observe the antitussive and expectorant effects of Tanreqing inhalation solution in mice. The fever model of rats was established by intraperitoneal injection of bacterial lipopolysaccharide (LPS) to observe the antipyretic effect of the Tanreqing inhalation solution, the acute pneumonia model of rats was established by atomizing LPS inhalation, and the anti-inflammatory effect of Tanreqing inhalation solution was observed. **Result:** Tanreqing inhalation solution could reduce the number of coughs in mice induced by ammonia water, increase the amount of phenol red excretion in mouse trachea, decrease the levels of body temperature and its related regulatory factors of prostaglandin E₂

[收稿日期] 20181106(017)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09201002-007,2017ZX09201002-006);首都卫生发展科研专项(首发 2018-4-4231)

[第一作者] 周雅阳,在读硕士,从事中药药理与毒理学研究,E-mail:375789730@qq.com

[通信作者] *杜江,教授,从事苗医药理论与物质基础研究,E-mail:dujiang.gz@163.com;

*叶祖光,研究员,从事中药药理与毒理学研究,E-mail:yezuguang@sina.com

(PGE₂) and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) of rats induced by LPS, decrease the white blood cell (WBC) count and the neutrophil ratio (NEUT) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of rats with LPS-induced acute pneumonia, and reduce the levels of nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B) and interleukin-1 β (IL-1 β) in lung tissue. **Conclusion:** Tanreqing inhalation solution has obvious antitussive, expectorant, antipyretic and anti-inflammatory effects, which is worthy of further development and promotion.

[Key words] Tanreqing inhalation solution; antitussive; phlegm; antipyretic; anti-inflammatory; white blood cell count; prostaglandin E₂

痰热清注射液由黄芩、熊胆粉、山羊角、金银花、连翘 5 味中药组成,功效清热解毒、止咳祛痰、利胆,常用于治疗呼吸系统疾病^[1]。其疗效突出、应用广泛,但同时也产生了一些无法避免的不良反应^[2-3]。临床上将注射液以雾化吸入的方式给药增加了用药安全性^[4]。然而直接将注射液雾化给药属于经验性用药,忽略了注射剂和雾化剂剂型不同所导致的生产和质量控制指标上的差异,实际是不太合理的^[5]。近年来,雾化吸入剂型发展迅速,大量吸入药物如吸入性糖皮质激素^[6]、支气管扩张剂^[7]等不断更新换代。但是中药吸入剂型发展缓慢,基础研究薄弱,并没有药理药效方面的研究报道。

痰热清吸入溶液是在注射液基础上改良研制而成的吸入性液体制剂,与原剂型相比具有用药剂量小、起效迅速、疗效佳、全身不良反应少、无需患者刻意配合等优势。有研究表明 Boy SX 型红芯雾化器的粒径分布最窄,有效微细粒子沉积最多,最适合痰热清吸入溶液的使用^[8]。因此,本实验利用 Boy SX 型红芯雾化器对比研究痰热清吸入溶液与注射液的镇咳、祛痰、解热及抗炎作用,从药效学角度探索和评价其剂型改进的科学性与合理性,为痰热清方的后续新药研发提供实验依据。

1 材料

FinePointe 型无创气道动力学研究系统, FinePointe 型暴露塔和 FinePointe™ 型全身体积描记系统(美国 DSI Buxco 公司), TurboBoy SX 型红芯雾化器(德国 Pari 公司), SpectraMax i3x 型酶标仪(美国 Molecular Devices 公司), 3-18KS 型高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司), BSA3202S-CW 型电子天平(德国 Sartorius 公司), JXFSTPRP-24 型全自动样品快速研磨仪(上海净信科技), ADVIA 2120 型全自动血液分析仪(德国 Siemens 公司), MC-347 型电子体温计(日本欧姆龙公司)。

氢溴酸右美沙芬分散片(石药集团欧意药业有限公司,批号 209170203), 盐酸氨溴索注射液(浙江康恩贝制药股份有限公司,批号 170206), 碳酸氢钠

(国药集团化学试剂有限公司,批号 20160120), 阿司匹林肠溶片(沈阳奥吉娜药业有限公司,批号 H20065051), 细菌脂多糖(LPS)干粉(美国 Sigma 公司,批号 057M4013V), 地塞米松磷酸钠注射液(郑州卓峰制药有限公司,批号 160603186), 核转录因子- κ B(NF- κ B)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉华美生物工程有限公司,批号 Y01030674), 白细胞介素-1 β (IL-1 β)ELISA 试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号 SEKR-0002), 前列腺素 E₂(PGE₂)和环磷酸腺苷(cAMP)ELISA 试剂盒(英国 Abcam 公司,批号分别为 ab133021 和 ab138880), 痰热清吸入溶液和痰热清注射液(上海凯宝药业股份有限公司,批号分别为 1705115X 和 1705115)

SPF 级雄性 Wistar 大鼠,体质量(180 ± 20) g; SPF 级昆明种小鼠,体质量(20 ± 2) g;均购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2016-0011。本实验涉及的所有动物实验相关操作均在中国中医科学院中药研究所动物伦理委员会的批准下进行,批准号 20172001。

2 方法

2.1 氨水引咳试验 取小鼠 90 只,雌雄各半,适应性喂养 3 d,采用 FinePointe™ 型无创气道动力学研究系统以 1.2 mL·min⁻¹ 的速率雾化 13% 浓氨水刺激 12 s 后记录小鼠的咳嗽潜伏期及 3 min 内的咳嗽次数^[9]。判断咳嗽依据为剧烈收缩腹肌并张嘴,时可闻到轻微的咳嗽声。将以下几种情况的小鼠剔除:①咳嗽次数过少或过多的小鼠;②潜伏期 < 15 s 或 > 2 min;③动物死亡、状态不佳、反应异常剧烈等^[10]。待小鼠稳定 2 d,取合格小鼠 70 只,雌雄各半,按体质量随机分为 7 组,分别为空白组,阳性组(氢溴酸右美沙芬组),痰热清注射液组(静脉注射组)以及雾化 2.5 min 组,雾化 5 min 组,雾化 10 min 组,雾化 20 min 组。阳性组小鼠灌胃给予氢溴酸右美沙芬分散片(18 mg·kg⁻¹)1 h 后刺激小鼠并记录咳嗽潜伏期及 3 min 内咳嗽次数;静脉注射组小鼠尾静脉给予痰热清注射液(3 g·kg⁻¹)30 min 后

刺激;雾化给药组小鼠经动物口鼻暴露塔分别雾化给予痰热清吸入溶液 2.5, 5, 10, 20 min 后立即刺激。计算各组小鼠的抑制率和延长率。抑制率 = (空白组咳嗽次数 - 给药组咳嗽次数) / 空白组咳嗽次数 × 100%; 延长率 = (给药组咳嗽潜伏期 - 空白组咳嗽潜伏期) / 空白组咳嗽潜伏期 × 100%。

2.2 小鼠气管酚红分泌试验 取小鼠 70 只,雌雄各半,适应性喂养 3 d,分组及给药方式同 2.1 项,仅阳性组小鼠改为静脉给予盐酸氨溴索注射液 ($6.75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),连续给药 3 d。末次给药后 30 min 腹腔注射 2.5% 酚红生理盐水溶液 ($250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),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 8 号小鼠灌胃针插入气管内约 0.4 cm,用 7 号丝线结扎固定,1 mL 注射器吸取 5% NaHCO_3 溶液 0.5 mL 注入气管内盥洗呼吸道,静置 30 s 后吸出,注入离心管中,如此重复 2 次,共 3 次。合并灌洗液, $2\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,吸取上清液于 560 nm 处测定吸光度 A 。准确称取一定量酚红,加 5% NaHCO_3 使溶解,使酚红质量浓度达 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,依次稀释成质量浓度分别为 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的系列溶液,于 560 nm 处测定 A ,以酚红质量浓度为横坐标, A 为纵坐标,得标准曲线的回归方程 $Y = 11.605X - 0.2616 (r = 0.9999)$ 。根据标准曲线计算每只小鼠呼吸道酚红排出量。

2.3 解热试验 取 Wistar 雄性大鼠 104 只,适应性喂养 5 d。利用电子体温计测量每只大鼠的肛温(每次实验前让动物排空粪便)^[11],每天早晚各 1 次,连续 3 d,使其适应环境和测温刺激。大鼠禁食不禁水 10 h 后测量 1 次肛温,0.5 h 后再测 1 次,以 2 次测量的平均值作为动物的基础体温,选择肛温 $36.5 \sim 37.5 \text{ }^\circ\text{C}$ 且 2 次测量值的波动范围 $\leq 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ 的大鼠用于实验。按体温随机挑选 10 只大鼠作为空白组,其余大鼠腹腔注射 LPS ($60 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 造模,空白组给予同体积的生理盐水。6 h 后将温度升高 $\geq 0.6 \text{ }^\circ\text{C}$ 以上的大鼠用于后续实验,其余剔除。根据造模前后大鼠体温变化 (ΔT) 进行随机分组,组别分为模型组,阳性组(阿司匹林组),静脉注射组,雾化 2.5 min 组,雾化 5 min 组,雾化 10 min 组和雾化 20 min 组,每组 10 只。阳性组灌胃给予阿司匹林肠溶片 ($0.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),静脉注射组尾静脉给予痰热清注射液 ($2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),雾化给药组经动物口鼻暴露塔分别雾化给予痰热清吸入溶液 2.5, 5, 10, 20 min 后连续监测 4 h 内大鼠体温的变化并记录。末次测温后,立即断头处死大鼠,迅速取出全脑,在冰浴条件

下分离下丘脑存放于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱内。3 d 后取冻存的下丘脑称重,按组织质量和提取液体积 1:9 的比例加入预冷的磷酸盐缓冲液 (PBS), 60 Hz 匀浆 2 min,于 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 离心 10 min,取上清液用 ELISA 试剂盒检测 PGE_2 和 cAMP 的含量,实验按照试剂盒说明书操作。

2.4 抗炎试验 取 Wistar 大鼠 80 只,雌雄各半,适应性喂养 5 d,采用体质量随机分组法将其分为空白组,模型组,阳性组(地塞米松组),静脉注射组,雾化 2.5 min 组,雾化 5 min 组,雾化 10 min 组,雾化 20 min 组,每组 10 只。除空白组外,其他各组大鼠分别吸入 LPS 溶液 ($5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 30 min 进行造模,造模后立即给药^[12],并于 15 h 后进行第 2 次给药。阳性组尾静脉给予地塞米松磷酸钠注射液 ($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),静脉注射组尾静脉给予痰热清注射液 ($2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),雾化给药组经动物口鼻暴露塔分别雾化给予痰热清吸入溶液 2.5, 5, 10, 20 min。于末次给药后 1 h,将大鼠麻醉,仰面固定,腹主动脉取血,暴露胸腔,结扎右肺,将 PBS 1 mL 从切开的支气管缓缓打入左肺,静置平衡 30 s 后缓缓抽出,如此重复 2 次,收集所有灌洗液。取出右肺组织冻存以便进行后续指标检测。

2.4.1 肺灌洗液细胞分类计数 取收集的肺灌洗液 1 mL,于 $1\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 离心 10 min,将离心沉淀的细胞团用 Hank's 液 1 mL 重悬,用移液器将细胞吹散,用全自动血液分析仪进行细胞分类和计数。

2.4.2 肺组织炎症因子检测 取冻存肺组织,按组织质量和提取液体积 1:9 的比例加入预冷的 PBS, 60 Hz 匀浆 3 min,于 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 离心 10 min,取上清液用 ELISA 试剂盒检测 NF- κ B, IL- 1β 的含量,实验按照试剂盒说明书操作。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据进行单因素方差分析 (One-way ANOVA),方差齐性时用最小显著性差异法 (LSD) 检验,方差不齐性时用 Tamhane's T^2 法检验, $P < 0.05$ 表示差异具有显著性。

3 结果

3.1 对小鼠咳嗽的影响 与空白组比较,静脉注射组和雾化不同时间组小鼠的咳嗽次数显著降低,其中以雾化 5 min 组和雾化 20 min 组的效果最明显 ($P < 0.001$),且这两组与静脉注射组相比亦有统计学差异 ($P < 0.05$)。另外,与空白组比较,静脉注射组和雾化不同时间组小鼠的咳嗽潜伏期均有延长趋

势,但仅静脉注射组的差异具有统计学意义($P < 0.01$)。各组小鼠的咳嗽潜伏期和 3 min 内咳嗽次数的详细实验数据见表 1。

表 1 痰热清吸入溶液对氨水引咳小鼠的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

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

组别	咳嗽潜伏期 /s	3 min 内的咳嗽数/次	延长率 /%	抑制率 /%
空白	33.30 ± 9.59	52.40 ± 12.95	-	-
氢溴酸右美沙芬	65.90 ± 28.9	21.20 ± 9.17 ³⁾	97.90	59.54
静脉注射	54.50 ± 10.34 ²⁾	31.20 ± 8.19 ¹⁾	63.66	40.46
雾化 2.5 min	47.30 ± 18.11	24.50 ± 6.13 ²⁾	42.04	53.24
雾化 5 min	57.20 ± 21.81	18.80 ± 5.18 ^{3,4)}	71.77	64.12
雾化 10 min	49.20 ± 18.27	24.40 ± 10.57 ²⁾	47.75	53.44
雾化 20 min	57.20 ± 23.56	16.40 ± 7.86 ^{3,4)}	71.77	68.70

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.001$ (表 2~5 同);与静脉注射组比较⁴⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 对小鼠气管酚红排泄的影响 空白组、盐酸氨溴索组、静脉注射组、雾化 2.5 min 组、雾化 5 min 组、雾化 10 min 组、雾化 20 min 组小鼠的酚红排泄

表 2 痰热清吸入溶液对 LPS 发热模型大鼠体温的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Tanreqing inhalation solution on body temperature of rats with LPS fever model($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	基础体温	不同时间点 ΔT				
		致热 6 h	给药 1 h	给药 2 h	给药 3 h	给药 4 h
空白	37.06 ± 0.16	-0.03 ± 0.36	-0.14 ± 0.39	-0.02 ± 0.33	0.06 ± 0.36	0.14 ± 0.27
模型	37.17 ± 0.18	1.00 ± 0.30 ²⁾	0.67 ± 0.23 ³⁾	0.51 ± 0.40 ²⁾	0.59 ± 0.21 ¹⁾	0.53 ± 0.28 ¹⁾
阿司匹林	37.05 ± 0.27	0.99 ± 0.29 ²⁾	0.13 ± 0.39 ⁶⁾	0.05 ± 0.40 ⁴⁾	0.05 ± 0.46 ⁵⁾	-0.13 ± 0.46 ⁶⁾
静脉注射	37.11 ± 0.26	1.01 ± 0.31 ²⁾	0.53 ± 0.42	0.15 ± 0.43 ⁴⁾	0.24 ± 0.55 ⁴⁾	0.35 ± 0.31
雾化 2.5 min	37.17 ± 0.18	0.99 ± 0.29 ²⁾	0.67 ± 0.26	0.57 ± 0.45	0.48 ± 0.32	0.27 ± 0.27
雾化 5 min	37.14 ± 0.25	0.97 ± 0.34 ²⁾	0.47 ± 0.38	0.18 ± 0.42	0.18 ± 0.32 ⁴⁾	0.21 ± 0.35 ⁴⁾
雾化 10 min	37.17 ± 0.19	1.00 ± 0.32 ²⁾	0.35 ± 0.23 ⁴⁾	0.12 ± 0.35 ⁴⁾	0.12 ± 0.30 ⁵⁾	0.06 ± 0.60 ⁵⁾
雾化 20 min	37.16 ± 0.14	0.98 ± 0.31 ²⁾	0.28 ± 0.43 ⁴⁾	0.04 ± 0.40 ⁵⁾	0.07 ± 0.37 ⁵⁾	0.12 ± 0.33 ⁴⁾

注:与模型组比较⁴⁾ $P < 0.05$,⁵⁾ $P < 0.01$,⁶⁾ $P < 0.001$ (表 3~5 同)。

3.4 对 LPS 致急性肺炎的影响 与空白组比较,模型组大鼠支气管肺泡灌洗液(BALF)中白细胞(WBC)计数、中性粒细胞比例(NEUT),肺组织中的 NF- κ B 和 IL-1 β 的含量均显著升高($P < 0.01$, $P < 0.001$),表明 LPS 诱导的大鼠出现了明显的急性肺损伤。与模型组比较,雾化 10,20 min 组大鼠 BALF 中 WBC 计数和 NEUT,肺组织中 NF- κ B 和 IL-1 β 的含量显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);雾化 5 min 组

量分别为(0.33 ± 0.07), (0.46 ± 0.11), (0.46 ± 0.14), (0.44 ± 0.09), (0.51 ± 0.15), (0.49 ± 0.14), (0.52 ± 0.13) mg·L⁻¹。与空白组比较,盐酸氨溴索组、静脉注射组和雾化不同时间组小鼠的酚红排泄量均显著增加($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$),其中以雾化 5 min 和雾化 20 min 的效果最明显,但这两组与静脉注射组相比无统计学差异。随着雾化时间的延长,雾化不同时间组小鼠呼吸道的酚红排泄量有增加的趋势,但量效关系不明显。

3.3 对发热大鼠的影响 与空白组比较,其他各组大鼠在腹腔注射 LPS 6 h 后体温均极显著升高($P < 0.01$),提示发热模型建立成功。与模型组比较,静脉给药组大鼠在给药后 2~3 h 体温显著降低($P < 0.05$),但给药后 4 h 体温又出现上升趋势;雾化 10,20 min 组大鼠在给药后 1 h 体温便显著降低,且一直持续到给药后 4 h($P < 0.05$, $P < 0.01$)。进一步分析各给药组大鼠下丘脑中相关体温调节因子的含量,结果显示与模型组比较,雾化 10,20 min 组大鼠下丘脑中 PGE₂,cAMP 的含量显著降低($P < 0.05$),而静脉注射组大鼠却无显著性差异。各组大鼠体温和下丘脑中 PGE₂,cAMP 含量的详细实验数据见表 2,3。

NEUT 比例显著降低($P < 0.05$);静脉注射组大鼠肺组织中 NF- κ B 含量显著降低($P < 0.01$),其余指标均无统计学差异。见表 4,5。

4 讨论

痰热清注射液通过静脉给药具有疗效好、见效快、可避免肝脏首过效应等特点,但由于其化学成分复杂、入血组分多,极易产生不良反应,因此,如何在保留药效的基础上降低其不良反应成为了热门的

表 3 痰热清吸入溶液对 LPS 发热模型大鼠下丘脑中 PGE₂ 和 cAMP 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of Tanreqing inhalation solution on contents of PGE₂ and cAMP in hypothalamus of rats with LPS fever model

组别	PGE ₂ /ng·g ⁻¹	cAMP/nmol·g ⁻¹
空白	43.09 ± 12.85	0.24 ± 0.06
模型	75.84 ± 14.36 ³⁾	0.35 ± 0.06 ²⁾
阿司匹林	47.52 ± 20.13 ⁵⁾	0.26 ± 0.04 ⁴⁾
静脉注射	64.55 ± 9.67	0.32 ± 0.06
雾化 2.5 min	67.20 ± 20.51	0.38 ± 0.09
雾化 5 min	62.95 ± 19.35	0.36 ± 0.07
雾化 10 min	57.51 ± 12.71 ⁴⁾	0.26 ± 0.01 ⁴⁾
雾化 20 min	58.33 ± 11.16 ⁴⁾	0.26 ± 0.05 ⁴⁾

表 4 痰热清吸入溶液对 LPS 致急性肺炎大鼠 BALF 中 WBC 计数和 NEUT 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of Tanreqing inhalation solution on WBC count and NEUT in BALF of acute pneumonia rats induced by LPS ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	WBC 计数/(×10 ⁹ 个/L)	NEUT/%
空白	0.05 ± 0.01	19.96 ± 13.18
模型	0.46 ± 0.20 ²⁾	64.90 ± 25.28 ³⁾
地塞米松	0.07 ± 0.05 ⁴⁾	54.70 ± 23.60
静脉注射	0.26 ± 0.18	48.83 ± 26.12
雾化 2.5 min	0.24 ± 0.17	61.60 ± 25.09
雾化 5 min	0.34 ± 0.18	38.24 ± 27.16 ⁴⁾
雾化 10 min	0.15 ± 0.07 ⁴⁾	28.59 ± 20.17 ⁵⁾
雾化 20 min	0.10 ± 0.08 ⁴⁾	40.67 ± 25.52 ⁴⁾

表 5 痰热清吸入溶液对 LPS 致急性肺炎大鼠肺组织中 NF-κB 和 IL-1β 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect of Tanreqing inhalation solution on contents of NF-κB and IL-1β in lung tissue of rats with acute pneumonia caused by LPS ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	NF-κB	IL-1β
空白	0.12 ± 0.01	0.34 ± 0.04
模型	0.31 ± 0.06 ³⁾	0.80 ± 0.13 ³⁾
地塞米松	0.14 ± 0.03 ⁶⁾	0.39 ± 0.15 ⁶⁾
静脉注射	0.20 ± 0.05 ⁵⁾	0.74 ± 0.13
雾化 2.5 min	0.23 ± 0.06	0.70 ± 0.22
雾化 5 min	0.26 ± 0.05	0.69 ± 0.17
雾化 10 min	0.19 ± 0.06 ⁴⁾	0.57 ± 0.18 ⁵⁾
雾化 20 min	0.19 ± 0.03 ⁵⁾	0.61 ± 0.20 ⁴⁾

研究方向。将痰热清方由注射液改变剂型为吸入溶

液可在一定程度上解决了此难题。一方面,雾化吸入给药具有肺部靶向性,可以避免肝脏首过效应和胃肠道降解,可提高呼吸道的药物浓度,因而能保留甚至提高原方治疗作用;另一方面,吸入溶液起效剂量为静脉注射剂量的 1/10,药物使用量大幅度降低,而且不直接进入血液,从而可减少不良反应的发生,提高临床用药安全性。

本实验研究结果表明,小剂量(2.5 min)吸入痰热清吸入溶液时,在祛痰、镇咳方面相较原注射剂型起效时间更快、疗效更强。其原因可能是雾化剂型使药物以小分子形式在气管上附着,与肺部黏膜结合,直接作用于病变部位,药效强而准确;另外,雾化给药的方式使小分子扩散速度快,能湿化呼吸道、稀释痰液,促进积痰排出,减少了痰液对呼吸道黏膜的刺激,故间接起到镇咳和平喘作用。高剂量(10, 20 min)吸入能够治疗 LPS 所致的急性肺炎模型和发热模型,效果强于注射剂。这可能是因为雾化溶液的细小颗粒能快速被肺吸收,作用面积广泛,有效降低了炎性细胞的浸润以及 NF-κB, IL-1β 等炎症因子的水平,进而改善肺部病变情况,发挥抗炎作用^[13];另外,药物能通过肺部经肺循环快速扩散至大脑甚至全身,使 PGE₂^[14] 和 cAMP^[15] 等相关体温调节因子下调,从而降低大鼠体温,发挥解热作用。此结果与文献^[16]报道吸入溶液具有治疗全身疾病作用相符。

虽然吸入溶液各种作用效果均优于注射液,但是吸入溶液在雾化给药过程中并没有明确的量效关系,可能是因为动物对雾化气体接受程度不一致,吸入肺部的药物量有一定差异;也可能是由于剂型的改变使药物作用靶器官不同引起了拮抗作用,具体原因还有待深入研究确定。中药雾化吸入制剂的应用,能提高中药的用药安全性、丰富中医药治疗手段、增强药物疗效,是今后呼吸疾病防治研究的主要方向之一。本课题组目前已对痰热清吸入溶液的药效进行了评价,后期将结合药代动力学对其组织分布特点及代谢产物进行分析,同时借助分子生物学手段,从分子、器官和整体动物水平对药理机制进行系统研究,以期明确痰热清吸入溶液的作用机制,为其他吸入溶液的开发提供实验依据。

[参考文献]

[1] 韩燕鸿,张荷.痰热清注射液治疗小儿上呼吸道感染的系统评价[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(12):215-219.

- [2] 梅娜,王景红,张婧,等. 141例痰热清注射液不良反应分析[J]. 中日友好医院学报, 2017, 31(4): 236-238.
- [3] 许思华. 痰热清注射液的不良反应分析[J]. 北方药学, 2017, 14(2): 151-152.
- [4] Heyder J. Deposition of inhaled particles in the human respiratory tract and consequences for regional targeting in respiratory drug delivery[J]. Proc Am Thorac Soc, 2004, 1(4): 315-320.
- [5] 中华医学会呼吸病学分会《雾化吸入疗法在呼吸疾病中的应用专家共识》制定专家组. 雾化吸入疗法在呼吸疾病中的应用专家共识[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(34): 2696-2708.
- [6] Vogelmeier C F, Criner G J, Martinez F J, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report [J]. Respirology, 2017, 22(3): 575-601.
- [7] 申昆玲,邓力,李云珠,等. 支气管舒张剂在儿童呼吸道常见疾病中应用的专家共识[J]. 临床儿科杂志, 2015, 33(4): 373-379.
- [8] 李翠,聂其霞,杜学航,等. 不同压缩式雾化器对痰热清吸入溶液体外沉积性能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(13): 12-16.
- [9] 孙俊生,黄震,彭敏,等. 单侧迷走神经切断对小鼠咳嗽及相关神经肽蛋白表达的影响[J]. 中国医学前沿杂志;电子版, 2018, 10(3): 22-24.
- [10] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2001: 1363.
- [11] 苏青,吴婷婷,黄雅兰,等. 黄芩提取物制备过程中化学成分及药效的变化规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(14): 1-6.
- [12] 张亚平,张广平,苏萍,等. 不同途径吸入脂多糖致大鼠急性肺炎模型的优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(7): 82-88.
- [13] Victor V M, Rocha M, De la Fuente M. Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis [J]. Int Immunopharmacol, 2004, 4(3): 327-347.
- [14] Lennie T A, Hirvonen M D, Mc Carthy D O, et al. Fever and the acute elevation in whole-body thermogenesis induced by lateral hypothalamic lesions [J]. Physiol Behav, 1995, 58(2): 237-243.
- [15] Corbett S W, Kaufman L N, Keesey R E. Thermogenesis after lateral hypothalamic lesions: contributions of brown adipose tissue [J]. Am J Physiol, 1988, 255 (Pt1): E708-E715.
- [16] Bird J H, Biggs T C, King E V. Controversies in the management of acute tonsillitis: an evidence-based review[J]. Clin Otolaryngol, 2015, 39(6): 368-374.

[责任编辑 刘德文]