

本文引用:刘学武,张乐佳,宋军,吴颖,邹振兴,徐康平,陈静,张宗利. 蓝金口服液治疗上呼吸道感染(风热表证)的作用研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(9): 1457-1464.

## 蓝金口服液治疗上呼吸道感染(风热表证)的作用研究

刘学武<sup>1,2</sup>, 张乐佳<sup>3</sup>, 宋军<sup>3</sup>, 吴颖<sup>3</sup>, 邹振兴<sup>4</sup>, 徐康平<sup>4</sup>, 陈静<sup>3\*</sup>, 张宗利<sup>1,2\*</sup>

(1. 新药药效与安全性评价湖南省重点实验室, 湖南长沙 410331; 2. 湖南普瑞玛药物研究中心有限公司, 湖南长沙 410331; 3. 湖南中嘉生物医药有限公司, 湖南长沙 410336; 4. 中南大学湘雅药学院, 湖南长沙 410013)

**[摘要]** **目的** 探讨蓝金口服液治疗上呼吸道感染(风热表证)的药效学作用。**方法** 分别采用体内、体外实验考察蓝金口服液的抗菌和抗病毒药效作用。采用小鼠乙酸扭体实验、小鼠热板法镇痛实验、酵母致大鼠发热实验、大鼠足趾汗液分泌实验分别考察蓝金口服液的镇痛、解热和发汗作用。**结果** 蓝金口服液对多种临床分离菌均有体外抑制作用。乙型溶血性链球菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和白假丝酵母菌的MIC为25~200 mg/mL; 蓝金口服液体外抑制呼吸道合胞病毒和甲型流感病毒感染细胞的IC<sub>50</sub>分别为3.50、6.58 mg/mL, 安全指数SI分别为194和147。体内研究显示, 蓝金口服液能显著降低小鼠感染细菌(金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、乙型溶血性链球菌)或甲型流感病毒后的死亡率, 显著延长生存天数, 并显著减小感染甲型流感病毒后的肺指数。蓝金口服液具有显著的镇痛、解热和发汗作用。**结论** 蓝金口服液对上呼吸道感染(风热表证)具有显著治疗效果。

**[关键词]** 上呼吸道感染; 风热表证; 蓝金口服液; 抗菌; 抗病毒; 镇痛; 解热; 发汗

**[中图分类号]** R285.5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.09.007

### Effects of Lanjin Oral Liquid on upper respiratory tract infection (wind-heat exterior syndrome)

LIU Xuewu<sup>1,2</sup>, ZHANG Lejia<sup>3</sup>, SONG Jun<sup>3</sup>, WU Ying<sup>3</sup>, ZOU Zhenxing<sup>4</sup>, XU Kangping<sup>4</sup>, CHEN Jing<sup>3\*</sup>, ZHANG Zongli<sup>1,2\*</sup>

(1. Hunan Key Laboratory of Pharmacodynamics and Safety Evaluation of New Drugs, Changsha, Hunan 410331, China;

2. Hunan Prima Pharmaceutical Research Center Co. Ltd, Changsha, Hunan 410331, China; 3. Hunan Zhongjia

Bio-pharmaceutical Co., Ltd., Changsha, Hunan 410336, China; 4. Xiangya School of Pharmaceutical Sciences,

Central South University, Changsha, Hunan 410013, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the pharmacodynamic effects of Lanjin Oral Liquid in the treatment of upper respiratory tract infection (wind-heat exterior syndrome). **Methods** In vivo and in vitro experiments were conducted to investigate the antibacterial and antiviral effects of Lanjin Oral Liquid. The analgesic, antipyretic and sweating effects of Lanjin Oral Liquid were investigated through acetic acid writhing experiment in mice, hot plate analgesic experiment in mice, yeast-induced febrile experiment in rats and sweat secretion experiment in rats. **Results** Lanjin Oral Liquid had in vitro inhibitory effect on various clinical isolated bacterium. The MIC of *Streptococcus hemolyticus*, *Escherichiacoli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Monilia albicans* were all in the range of 25~200 mg/mL; the IC<sub>50</sub> of Lanjin Oral Liquid against respiratory syncytial virus and influenza virus A infected cells in vitro were 3.50 mg/mL and 6.58 mg/mL respectively, and the safety index SI were 194 and 147 respectively. In vivo studies showed that Lanjin Oral Liquid can significantly reduce the mortality of mice infected with bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus b hemolytic*) or influenza virus A, can significantly prolong the survival days, and significantly reduce the lung index after infection with influenza A virus. Lanjin Oral Liquid has significant analgesic, antipyretic and sweating effects. **Conclusion** Lanjin Oral Liquid has significant therapeutic effects on upper respiratory tract infection (wind-

**[收稿日期]** 2021-11-19

**[基金项目]** 湖南省高新技术产业科技创新引领计划项目(2020GK4083)。

**[第一作者]** 刘学武,男,博士研究生,助理研究员,研究方向:中药药理与毒理研究。

**[通信作者]** \* 陈静,女,主任药师, E-mail: 410962199@qq.com; 张宗利,女,硕士,助理研究员, E-mail: zhangzongli@hnse.org。

heat surface syndrome).

[**Keywords**] upper respiratory tract infection; wind-heat exterior syndrome; Lanjin Oral Liquid; antibacterial; antiviral; analgesic; antipyresis; sweating

上呼吸道感染俗称普通感冒,是指自鼻腔至喉部之间的急性炎症的总称,是最常见的呼吸系统疾病<sup>[1-2]</sup>,该病四季、任何年龄均可发病,其病原体多以病毒为主,并在疾病后期常伴有细菌和真菌的继发性感染。临床上对于上呼吸道感染主要采用抗感染和改善症状(如发热、咳嗽、头痛及全身酸痛等)相结合<sup>[3-4]</sup>,西药能获得直接抗感染的作用或降温、镇痛作用,但单一用药往往不能同时获得上述效果,中药则可能达到两者兼顾的治疗效果,但在用药时需遵循中医证候特异性<sup>[5-6]</sup>。因此,快速而有效的中医辨证用药治疗成为研究热点。上呼吸道感染按中医证候分型可分为风热表证、风寒表证、外寒里热证、暑湿证等<sup>[7-9]</sup>,其中以风热表证和风寒表证居多<sup>[8-10]</sup>。目前,市售的上呼吸道感染中成药多选用清热解毒为主<sup>[11]</sup>,但清热解毒药多适用于上呼吸道感染热毒壅盛证<sup>[12-15]</sup>,为满足更广泛的临床需求,开发疏散风热,以透邪外出解表的中成药可能更具有临床适用性。蓝金口服液是由板蓝根、金银花、连翘、射干、柴胡等配伍组成,兼具有清热解毒、疏风透表之功效,主治外感温邪疫毒,邪在卫表,证见发热较甚,微恶风寒,头身痛而无汗,或有微汗,咽痛口干,或颐肿,舌苔薄白或薄黄,脉浮数等,适用于风热表证型上呼吸道感染的治疗,同时可用于流行性感、流行性腮腺炎、急性咽炎、扁桃体炎等上述见症者。本研究通过观察蓝金口服液对体内外的抗菌、抗病毒作用以及解热、发汗、镇痛作用,考察蓝金口服液的直接抗感染作用和改善风热表证所伴有的高热、无汗而头身痛等症状的药效功能。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

SPF级ICR小鼠370只,雌性225只,雄性145只,动物合格证号:43004700024175、4300470005721、43004700026564、43004700014322、43004700019800; SPF级BALB/C小鼠90只,雌雄各半,动物合格证号:430047000035323; SPF级SD大鼠100只,雌雄各半,动物合格证号:43004700019800、43004700019800。以上动物均购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2011-0003、SCXK(湘)2016-0002;在湖南省药物安全评价研究中心屏障环境实验室饲养,实验动物使用许可证号:

SYXK(湘)2015-0016。

### 1.2 菌种、病毒与细胞株

标准菌种:金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (ATCC25923)、大肠埃希菌 *Escherichiacoli* (ATCC25922)、肺炎链球菌 *Strptococous pneumoniae* (ATCC49619)、乙型溶血性链球菌 *Strptococous hemolyticus* (ATCC32210)、白假丝酵母菌 *Monilia albicans* (ATCC10231),均购于南京便诊生物科技有限公司。临床分离菌:金黄色葡萄球菌(18株)、肺炎链球菌(19株)、乙型溶血性链球菌(15株)、大肠埃希杆菌(19株)、肺炎克雷伯菌(20株)、白假丝酵母菌(6株),均系湖南中医药大学第一附属医院细菌室、湖南中医药大学第三附属医院检验科、湖南省儿童医院检验科分离细菌,所有细菌均经过西门子细菌鉴定系统鉴定。

病毒株:甲型流感病毒亚甲型鼠肺适应株H1N1(A/PR/8/34),由湖南师范大学生命科学院病毒研究室赠送,在湖南中医药大学微生物教研室进行培养和传代。呼吸道合胞病毒株(RSV Lon株)购自中国预防医学科学院病毒研究所及儿科研究所。

细胞株:人喉癌细胞株(Hep-2)、犬肾细胞株(DMCK),均购自中南大学湘雅医学院细胞供应中心。

### 1.3 试剂与试药

蓝金口服液(浓缩液),2.703 g生药/mL,批号:20150127,由湖南中嘉药物开发有限公司提供。诺氟沙星片,批号:15032332,由湖南新汇制药股份有限公司生产。氨苄西林胶囊,批号:14022366,由珠海联邦制药股份有限公司中山分公司生产。氟康唑片,批号:20140201,由海南中化联合制药工业股份有限公司生产。阿莫西林胶囊,批号:151121,由安徽安科恒益药业有限公司生产。双黄连口服液,批号:20150127,河南福森药液有限公司生产。利巴韦林片,批号:1605016,由江西汇仁药业有限公司提供。板蓝根颗粒,批号:WXMB16109,由广州云南白药集团股份有限公司提供。硝酸毛果芸香碱滴眼液,批号:14120401,由武汉五景药业有限公司生产。罗通定片,批号:A140701,由山西云鹏制药有限公司生产;阿司匹林片,批号:ZKA1407,由云南白药集团股份有限公司生产。上述受试物或阳性对照药用于体内实验时,于使用前加蒸馏水稀释至所需浓度药液,进行给药;体外抗菌、抗病毒实验用灭菌注射用

水稀释至相应浓度后,用 0.22  $\mu\text{m}$  的滤膜过滤,然后添加至体外培养体系中。RPMI-1640 培养基,购自美国 Sigma 公司。活性干酵母粉,批号:12000222,安琪酵母股份有限公司产品。小牛血清,购自杭州四季青生物有限公司。

#### 1.4 主要仪器

移液器(德国 Eppendorf 公司);CJ-1F 型医用净化工作台(苏州冯氏实验动物设备有限公司);BSC1300-II-B2 型生物安全柜(山东新华医疗器械股份有限公司);DMIL 倒置显微镜(德国 Leica 公司);SpectraMaxi3x 型多功能酶标仪[美谷分子仪器(上海)有限公司];艾科浦超纯水仪(重庆颐洋企业发展有限公司);ME1002E 型电子天平 [梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

## 2 方法

### 2.1 体外抗菌作用

2.1.1 琼脂扩散法测定药物抗菌作用 取对数生长期菌液 0.1 mL(菌液浓度  $1 \times 10^8$  CFU/mL),加入制备好的含无菌培养基的平皿中,均匀铺开菌液后,取直径 6 mm 金属灭菌打孔器于平皿中均匀且垂直打孔,每孔用移液器移取受试药液 200  $\mu\text{L}$ ,每个菌重复 2 次,每次做 3 个平行复孔。于 37  $^{\circ}\text{C}$  培养箱中培养 24 h,测量每个抑菌圈两个垂直方向的直径,以抑菌圈的直径大小表示药物的抗菌作用强弱。

2.1.2 试管稀释法测定药物的最低抑菌浓度 取 10 支无菌试管,每管加入 1.0 mL 液体培养基,第一管加入 200 mg/mL 受试药与液体培养基混匀后,采用连续 2 倍稀释法,用液体培养基对药物进行稀释,使各管实验药物终浓度分别为 200、100、50、25、12.5、6.25、3.13、1.57 mg/mL(各管最终总容量为 1 mL),各实验管分别加入浓度  $1 \times 10^8$  CFU 的各菌株对数生长期培养物 0.1 mL。另设置加等量不含任何药物与细菌或真菌的培养基对照、含细菌或真菌不含药培养基的空白对照。细菌于 37  $^{\circ}\text{C}$  培养 24 h,真菌于 28  $^{\circ}\text{C}$  培养 48 h,肉眼观察不同菌株生长情况,以未见细菌或真菌生长的药物最高稀释度为药物的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。

### 2.2 体内抗菌保护作用

ICR 小鼠 240 只,雌雄各半,随机分为 8 组,每组 30 只(每种细菌 10 只/组),分别为模型对照组、阿莫西林胶囊组(0.26 g/kg)、双黄连口服液组(7.8 mL/kg)、蓝金口服液剂量 1、2、3、4、5 组(1.6、3.1、6.2、12.5、25.0 g 生药/kg)。各组小鼠每天给药 1 次,连续 7 d,

模型对照组每天灌胃给予等体积蒸馏水。于第 4 天给药前,各组小鼠分别腹腔注射引起小鼠 90% 以上死亡的金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、溶血性链球菌(用 5% 活性酵母溶液配制,其中金黄色葡萄球菌为  $7.5 \times 10^7$  CFU/只,肺炎链球菌为  $1.9 \times 10^5$  CFU/只,溶血性链球菌为  $2.5 \times 10^8$  CFU/只),菌液体积每只 0.6 mL,阿莫西林胶囊组小鼠自注射细菌当日起,连续灌胃给药 3 d。各组小鼠自注射细菌后连续观察 7 d,记录动物的死亡情况。

### 2.3 体外抗病毒作用

2.3.1 药物的细胞毒性作用 用细胞维持液将 1.2 g/mL 的蓝金口服液、双黄连口服液分别用细胞维生长持液按连续对倍稀释成 1200、600、300、150、75、37.5 mg/mL;将 100 mg/mL 利巴韦林按用细胞生长维持液连续对倍稀释为 5、2.5、1.25、0.63、0.32、0.16 mg/mL,分别加入 96 孔板已长成单层的 Hep-2 或 DMCK 细胞中,每个稀释度接种 8 个复孔,每孔加入 100  $\mu\text{L}$ ,置于 37  $^{\circ}\text{C}$   $\text{CO}_2$  培养箱中培养 48 h 后,弃培养液上清液,每孔加入 100  $\mu\text{L}$  细胞维持液(含 5 mg/mL 的 MTT,但不含血清的 1640 液),继续培养 2~3 h 后,弃上清液,PBS 洗 3 次,每孔加 DMSO 溶解液 150  $\mu\text{L}$ ,振荡 5~10 min,待结晶完全溶解,酶标仪测得细胞在 570 nm 处 OD 值。计算各稀释度的药物对细胞存活的影响,并计算细胞死亡率/ $\% = (1 - \text{实验孔 OD 均值} / \text{对照孔 OD 测定值均值}) \times 100\%$ ,根据细胞死亡率计算细胞毒性半数中毒浓度( $\text{CC}_{50}$ )。

2.3.2 药物对病毒的抑制作用 分别取已长成单层 Hep-2 细胞或 DMCK 细胞的培养板,倒掉培养液,每孔分别接种 100TCID<sub>50</sub> 的不同病毒液 50  $\mu\text{L}$ ,置 37  $^{\circ}\text{C}$  含 5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中吸附 1 h 后,吸去未吸附的病毒液,用 PBS 洗细胞 2 次后,每孔加入相应稀释度的药物(蓝金口服液、双黄连口服液分别用细胞维持液按连续对倍稀释成 10、5、2.5、1.25、0.63、0.31 mg/mL;利巴韦林用细胞维持液按连续对倍稀释成 25、12.5、6.3、3.2、1.6、0.8  $\mu\text{g/mL}$ )100  $\mu\text{L}$ ,每个稀释度接种 8 个复孔,观察药物对病毒感染细胞后的抑制作用。同时,设病毒对照、阳性对照药物及正常细胞对照。置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养,每日倒置显微镜下观察细胞病变,并记录空斑数,根据病变情况及空白数计算药物对病毒感染细胞的半数有效抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ ),并根据  $\text{CC}_{50}$  计算安全指数  $\text{SI} = \text{CC}_{50} / \text{IC}_{50}$ 。

### 2.4 体内抗病毒保护作用

BALB/C 小鼠 90 只,雌雄各半,体质量 19.0~

24.3 g,先按性别、体质量随机分为9组,每组10只,分别为正常对照组、模型对照组、利巴韦林片组(117 mg/kg)、板蓝根颗粒组(2.6 g/kg)、蓝金口服液1、2、3、4、5组(1.6、3.1、6.2、12.5、25.0 g生药/kg)。除正常对照组外,每只小鼠经鼻滴入10LD50 ( $10^{-5.5}$ )的甲型流感病毒鼠肺适应株,各组小鼠于感染前一天开始灌胃给药,每天1次,连续7 d,正常对照组和模型对照组每天灌服等体积蒸馏水。从病毒感染即日起,逐日观察动物发病症状,死亡数,共14 d,计算各组小鼠的死亡率、平均存活天数以及肺指数。肺指数指机体肺质量与体质量的百分比,以肺指数值的大小表示肺部炎性病变的严重程度。

## 2.5 解热作用

试验大鼠于检疫结束后测肛温2次,选取体温波动小于0.5℃的健康SD大鼠50只,雌雄各半,体质量160.1~199.4 g,按性别、体质量随机分为5组,每组10只,分别为模型对照组、双黄连口服液组(5.4 mL/kg)以及蓝金口服液低、中、高剂量组(2.16、4.32、8.64 g生药/kg)。各组大鼠按10 mL/kg灌胃给予相应浓度药液,1次/d,连续7 d,空白对照组灌胃给予等体积蒸馏水。各组大鼠于给药第5、第6天分别测定肛温一次使之适应。于末次给药前动物禁食不禁水12 h,造模前测定基础肛温值,测定后各鼠背部皮下注射20%干酵母-生理盐水悬液10 mL/kg,于造模后4 h按组别灌胃给予对应药物或蒸馏水,于造模后1、2、4、5、6、8、10 h分别检测各组大鼠肛温,并计算体温波动值 $\Delta T = T_{\text{基础体温}} - T_{\text{造模后体温}}$ 。

## 2.6 发汗作用

SD大鼠50只,雌雄各半,体质量190.4~217.5 g,按性别、体质量随机分为5组,分别为空白对照组、毛果芸香碱组(40 mg/kg)以及蓝金口服液低、中、高剂量组(2.16、4.32、8.64 g生药/kg)。各组大鼠按10 mL/kg灌胃给予相应浓度药液,1次/d,连续7 d,空白对照组灌胃给予等体积蒸馏水。于末次给药后30 min,各组大鼠用75%乙醇擦拭干净右足跖,然后涂上和田-高垣氏A液,待充分干燥后,再薄薄涂上和田-高垣氏B液,20 min后,用40倍放大镜计数足跖部的深紫色着色点(汗点)。

## 2.7 镇痛作用

2.7.1 对小鼠醋酸扭体反应的影响 ICR小鼠50只,体质量18.0~24.8 g,雌雄各半,按性别体重随机分为5组,每组10只,分别为模型对照组、阿司匹林片组(287 mg/kg)以及蓝金口服液低、中、高剂量组(3.1、6.2、12.5 g生药/kg)。各组小鼠按20 mL/kg灌

胃给予相应浓度药液,每天1次,连续7 d,模型对照组灌胃给予等体积蒸馏水。末次给药后30 min,各组小鼠按0.2 mL/只腹腔注射0.7%冰乙酸,记录15 min内各组小鼠扭体反应次数和首次出现扭体反应的潜伏期。

2.7.2 对小鼠热板痛阈值的影响 ICR小鼠80只,雌性。将智能热板测痛仪温度调节到( $55 \pm 0.5$ )℃作为热刺激源,记录小鼠自投入热板至出现舔后足的潜伏期时间,作为该鼠的痛阈值。给药前先测定每只小鼠的痛阈,把痛阈值小于5 s或大于30 s的小鼠剔除。筛选合格小鼠50只,按痛阈值兼顾体质量随机分为5组,每组10只,分别为模型对照组、罗通定组(20 mg/kg)及蓝金口服液低、中、高剂量组(3.1、6.2、12.5 g生药/kg)。每日给药前将罗通定片(碾磨成粉末)及蓝金口服液用蒸馏水按剂量配制成相应浓度,现配现用。各组小鼠按20 mL/kg灌胃给予相应浓度药液,1次/d,连续7 d,模型对照组灌胃给予等体积蒸馏水。于末次给药前及末次给药后30、60、120 min测定各组小鼠痛阈值。

## 2.8 统计方法

统计所用软件为SPSS 16.0。计量资料采用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,用Leven's test方法检验方差齐性。如果没有统计学意义( $P > 0.05$ ),用单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行统计分析。如果One-Way ANOVA有统计学意义( $P < 0.05$ ),用LSD test(参数法)进行比较分析。如果方差不齐( $P < 0.05$ ),则用Kruskal-Wallis检验。如果Kruskal-Wallis检验有统计学意义( $P < 0.05$ ),则用Dunnett's Test(非参数方法)进行比较分析。统计结果以 $\alpha = 0.05$ 为检验界限,其中 $P < 0.05$ 表示有统计学意义, $P < 0.01$ 表示有非常显著性的统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 体外抗菌作用

3.1.1 琼脂扩散法测定药物抗菌作用 蓝金口服液具有较强的抑菌作用,蓝金口服液对革兰氏阳性菌的抑菌作用强于革兰氏阴性菌。蓝金口服液对金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、乙型溶血链球菌的抑菌圈明显大于阳性对照药(氨苄西林)( $P < 0.05$ )。蓝金口服液对大肠埃希氏菌的抑菌圈明显大于阳性对照药(诺氟沙星)( $P < 0.05$ )。蓝金口服液对白假丝酵母菌的抑菌圈明显大于阳性对照药(氟康唑)( $P < 0.05$ )。详见表1。

3.1.2 试管稀释法测定药物的最低抑菌浓度 根据

表1 蓝金口服液对细菌的抑制作用( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

| 药物    | 浓度        | 抑菌圈直径/mm    |             |             |             |             |
|-------|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       |           | 金黄色葡萄球菌     | 肺炎链球菌       | 乙型溶血性链球菌    | 大肠埃希氏菌      | 白假丝酵母菌      |
| 生理盐水  | —         | —           | —           | —           | —           | —           |
| 蓝金口服液 | 500 mg/mL | 15.42±1.26  | 15.22±1.24  | 16.28±1.07  | 9.07±1.03   | 9.10±1.12   |
| 氨苄西林  | 10 μg/mL  | 18.45±1.11* | 27.12±1.19* | 27.97±1.22* | —           | —           |
| 氟康唑   | 10 μg/mL  | —           | —           | —           | —           | 25.91±1.30* |
| 诺氟沙星  | 10 μg/mL  | —           | —           | —           | 21.88±1.34* | —           |

注:同菌种内与阳性对照药物比较,\* $P<0.05$ 。

各个细菌的MIC可知,蓝金口服液对临床分离金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、乙型溶血性链球菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌均具有一定的抑制作用,且蓝金口服液对革兰氏阳性菌(金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、乙型溶血性链球菌)的抑制作用明显优于革兰氏阴性菌(大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌)以及白假丝酵母菌。详见表2。

表2 蓝金口服液对97株临床分离菌的MIC

| 菌名       | 测定结果(mg/mL)   |                   |                   | 标准株 MIC |
|----------|---------------|-------------------|-------------------|---------|
|          | MIC 范围        | MIC <sub>50</sub> | MIC <sub>90</sub> |         |
| 金黄色葡萄球菌  | 25.00~100.00  | 50.00             | 50.00             | 25.50   |
| 肺炎链球菌    | 25.00~50.00   | 25.00             | 50.00             | 25.00   |
| 乙型溶血性链球菌 | 25.00~50.00   | 25.00             | 25.00             | 12.50   |
| 大肠埃希菌    | 50.00~200.00  | 100.00            | 100.00            | 50.00   |
| 肺炎克雷伯菌   | 50.00~200.00  | 100.00            | 200.00            | —       |
| 白假丝酵母菌   | 100.00~200.00 | 200.00            | 200.00            | 50.00   |

### 3.2 体内抗菌保护作用

如图1A所示,模型对照组小鼠注射金黄色葡

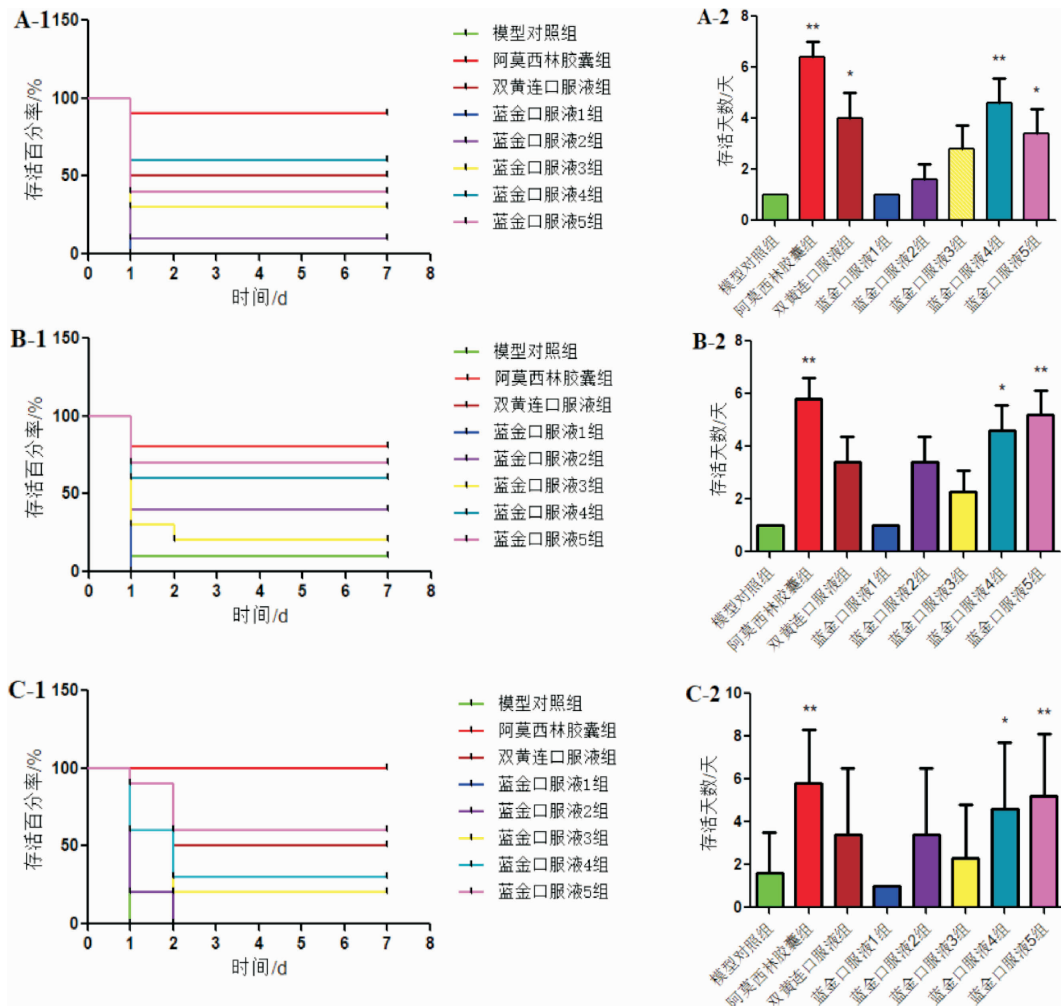


图1 蓝金口服液对小鼠感染细菌后的体内保护作用( $n=10$ )

注:与模型对照组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;A-1、B-1、C-1分别为小鼠感染金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、溶血性链球菌后的生存曲线图;A-2、B-2、C-2分别为小鼠感染金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、溶血性链球菌后的存活天数柱形图。

萄球菌后,存活率为0%;与模型对照组比较,蓝金口服液4、5组小鼠存活率分别达50%、40%,且存活天数均显著延长( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );与模型对照组比较,阿莫西林组和双黄连口服液组小鼠存活率分别为90%、50%,且两组小鼠的存活天数均显著延长( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。如图1B所示,模型对照组小鼠注射肺炎链球菌后,存活率为10%;与模型对照组比较,蓝金口服液剂量4、5组小鼠存活率分别达60%、70%,存活天数显著延长( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );与模型对照组比较,阿莫西林组和双黄连口服液组小鼠存活率分别为80%、40%,且阿莫西林组小鼠存活天数显著延长( $P<0.01$ )。如图1C所示,模型对照组小鼠注射溶血性链球菌后,存活率为0%;与模型对照组比较,蓝金口服液剂量4、5组小鼠存活率分别达30%、50%,且存活天数均显著延长( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );与模型对照组比较,阿莫西林组和双黄连口服液组小鼠存活率分别达100%、50%,且两组小鼠的存活天数均显著延长( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。

### 3.3 体外抗病毒作用

**3.3.1 蓝金口服液对呼吸道合胞病毒的抑制作用** 蓝金口服液、双黄连口服液和利巴韦林片对Hep-2细胞的细胞毒性 $CC_{50}$ 分别为679 mg/mL、5211 mg/mL、1581  $\mu$ g/mL;蓝金口服液、双黄连口服液和奥司他韦胶囊对甲型流感病毒体外空斑形成的抑制作用 $IC_{50}$ 分别为3.5 mg/mL、4.89 mg/mL、6.3  $\mu$ g/mL;根

据 $CC_{50}$ 和 $IC_{50}$ 计算安全指数SI分别为194、104、251。详见图2。

**3.3.2 蓝金口服液对甲型流感病毒的抑制作用** 蓝金口服液、双黄连口服液和利巴韦林对MDCK细胞的细胞毒性 $CC_{50}$ 分别为967 mg/mL、891 mg/mL、1132  $\mu$ g/mL;蓝金口服液、双黄连口服液和利巴韦林片对甲型流感病毒体外空斑形成的抑制作用 $IC_{50}$ 分别为6.58 mg/mL、8.33 mg/mL、3.5  $\mu$ g/mL;根据 $CC_{50}$ 和 $IC_{50}$ 计算安全指数SI分别为147、107、323。详见图3。

### 3.4 蓝金口服液体内抗病毒保护作用

与正常对照组比较,模型组小鼠死亡率、肺指数显著升高( $P<0.01$ ),存活天数降低( $P<0.01$ )。与模型对照组比较,蓝金口服液各剂量组小鼠死亡率、肺指数显著减小( $P<0.01$ ),蓝金口服液2、3、4、5组小鼠存活天数显著延长( $P<0.01$ )。详见图4。

### 3.5 蓝金口服液解热作用

与模型对照组比较,蓝金口服液中剂量组大鼠造模后6 h的体温波动值 $\Delta T$ 显著减小( $P<0.05$ ),蓝金口服液高剂量组大鼠6、8、10 h体温波动值 $\Delta t$ 显著减小( $P<0.05$ );与模型对照组比较,双黄连口服液组大鼠造模后6 h的体温波动值 $\Delta T$ 显著减小( $P<0.05$ )。详见图5。

### 3.6 蓝金口服液发汗作用

与空白对照组比较,蓝金口服液中、高剂量组

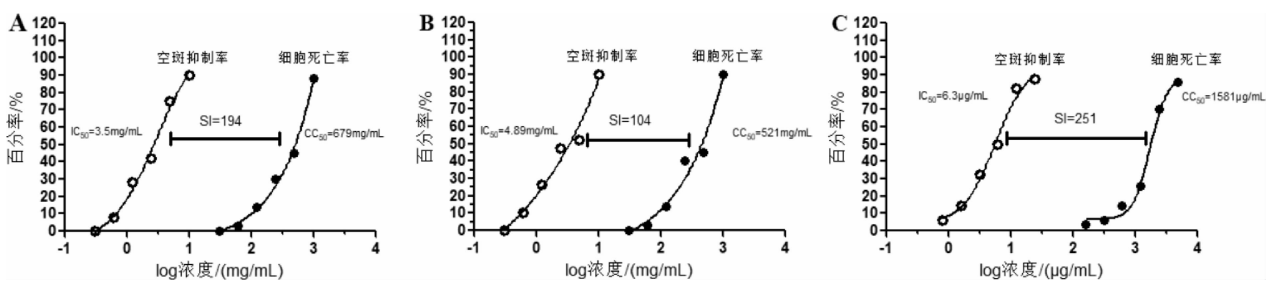


图2 蓝金口服液对呼吸道合胞病毒感染细胞的抑制作用

注:A、B、C分别为蓝金口服液、双黄连口服液、利巴韦林片的抑制曲线图。

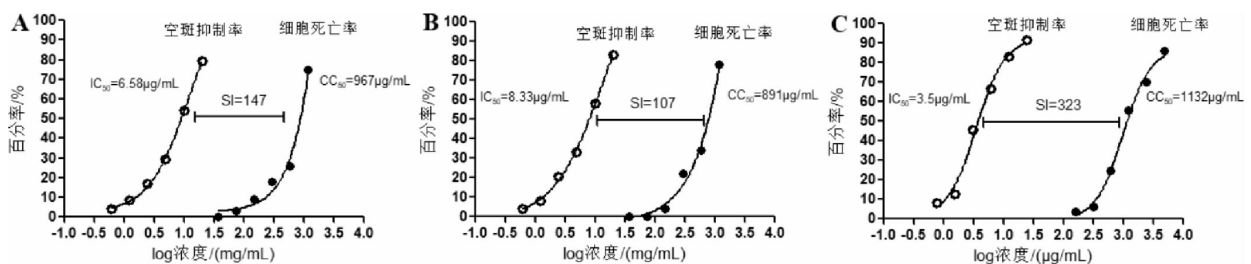


图3 蓝金口服液对甲型流感病毒感染细胞病变的抑制作用( $n=8$ )

注:A、B、C分别为蓝金口服液、双黄连口服液、利巴韦林片的细胞毒性-病毒感染抑制曲线图。

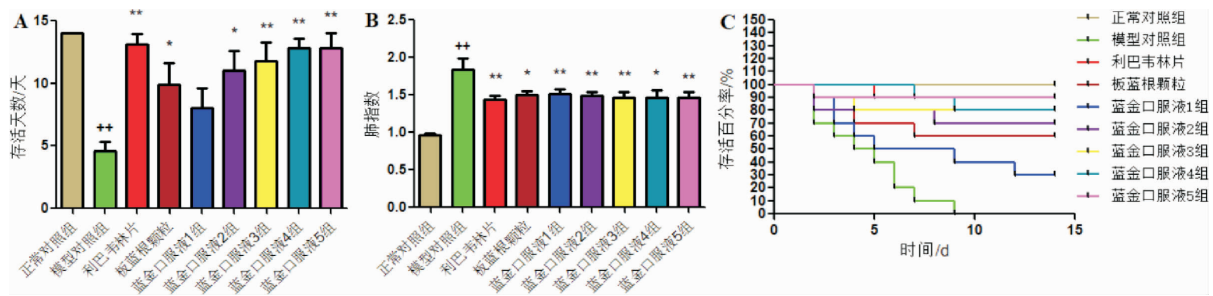


图4 蓝金口服液剂量1、2、3、4、5组对流感病毒感染小鼠存活天数、肺指数及死亡率的影响( $n=10$ )

注:与正常对照组比较, $^{*}P<0.01$ ;与模型组比较, $^{*}P<0.05$ , $^{**}P<0.01$ ;A、B、C分别为小鼠感染甲型流感病毒后的存活天数柱形图、肺指数柱形图、生存曲线图。

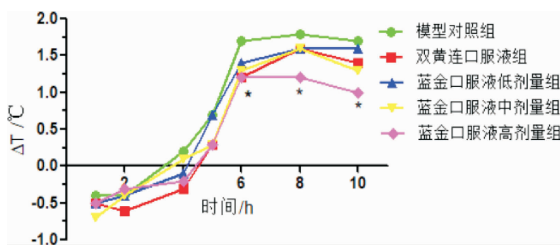


图5 蓝金口服液对干酵母所致大鼠体温升高的影响( $n=10$ )

注:与模型对照组比较, $^{*}P<0.05$ 。

大鼠汗点数显著增加( $P<0.05$ );与空白对照组比较,毛果芸香碱组大鼠足趾汗点数显著增加( $P<0.01$ )。详见图6。

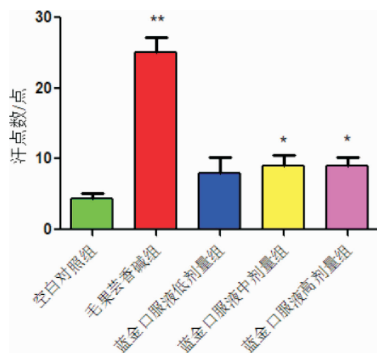


图6 蓝金口服液对大鼠足趾汗液分泌的影响( $n=10$ )

注:与模型对照组比较, $^{*}P<0.05$ , $^{**}P<0.01$ 。

### 3.7 蓝金口服液镇痛作用

3.7.1 外周镇痛作用研究——乙酸扭体法 与模型对照组比较,蓝金口服液高剂量组小鼠扭体潜伏期显著缩短( $P<0.05$ ),中、高剂量组小鼠扭体次数显著减少( $P<0.05$ );与模型对照组比较,阿司匹林组小鼠扭体潜伏期显著缩短( $P<0.01$ ),扭体次数显著减少( $P<0.01$ )。详见图7。

3.7.2 中枢镇痛作用研究——热板法 与模型对照组比较,蓝金口服液高剂量组动物给药后30 min痛阈值显著增加( $P<0.05$ );与模型对照组比较,罗通定组小鼠给药后30、60、120 min痛阈值显著增加( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。详见图8。

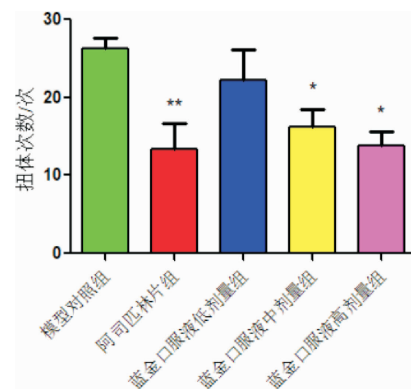


图7 蓝金口服液对乙酸致小鼠扭体反应的影响( $n=10$ )

注:与模型对照组比较, $^{*}P<0.05$ , $^{**}P<0.01$ 。

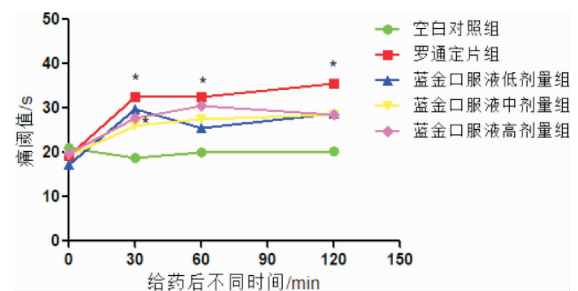


图8 蓝金口服液对热板法小鼠的镇痛作用( $n=10$ )

注:与模型对照组比较 $^{*}P<0.05$ , $^{**}P<0.01$ 。

## 4 讨论

上呼吸道感染属于中医学“外感发热”“伤风感冒”范畴<sup>[6]</sup>,按中医证候分型以风热、风寒、暑湿较为多见,其中以风热犯表证尤为常见<sup>[8-10]</sup>。目前,中医药治疗上呼吸道感染多以清热解毒药为主<sup>[11]</sup>,但清热解毒药较适用于上呼吸道感染热毒壅盛证<sup>[12-15]</sup>。蓝金口服液由板蓝根、金银花、连翘、柴胡、荆芥、射干、甘草组成,根据其处方组成可知,本方兼具有清热解毒、疏风透表之功效,可主治外感温邪疫毒,邪在卫表,适用于风热表证型上呼吸道感染的治疗。流行病学调查显示,风热犯表证占上呼吸道感染的30%~50%<sup>[7-10,17-18]</sup>,属于上呼吸道感染的主要证候类型,且风热感冒的感染病原体多以病毒为主<sup>[18]</sup>,包括流感病毒、鼻病

毒、呼吸道合胞病毒等<sup>[16-18]</sup>,故本研究选用甲型流感病毒和呼吸道合胞病毒作为代表性病毒株,通过体外抗病毒和体内保护实验考察蓝金口服液的抗病毒作用。结果显示,蓝金口服液 32.51 mg/mL 对甲型流感病毒引起的 MDCK 细胞病变及血凝现象有明显的抑制作用,且能显著减少呼吸道合胞病毒引起的 Hep-2 细胞病变空斑数,同时蓝金口服液 1.6、3.1、6.2、12.5、25.0 g 生药/kg 还能显著降低小鼠感染甲型流感病毒后的死亡率,显著延长存活时间,显著减小肺指数,提示蓝金口服液具有显著的抗感冒病毒作用。感冒后期通常伴有细菌和真菌的继发性感染,其病原体包括金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、乙型溶血性链球菌、大肠埃希菌、白假丝酵母菌等<sup>[6]</sup>。故本次研究选用金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、乙型溶血性链球菌、大肠埃希菌、白假丝酵母菌作为代表性菌株,通过体外抗菌和体内保护实验考察蓝金口服液的抗菌作用。结果显示,蓝金口服液具有较强的体外抑菌作用,且对革兰氏阳性菌的抑制作用明显优于革兰氏阴性菌以及白假丝酵母菌。同时,蓝金口服液能够显著延长小鼠感染金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌及溶血性链球菌后的存活时间,提高其存活率,提示蓝金口服液具有体内抗菌作用。

风热表证的症状主要包括发热、咽痛、微恶风寒、头身痛等<sup>[6]</sup>,本次研究通过小鼠乙酸扭体实验和热板痛阈实验考察蓝金口服液的镇痛作用,以体现其对咽痛、头身痛症状的缓解作用,结果显示,蓝金口服液 6.2、12.5 g 生药/kg 能显著抑制醋酸诱导的小鼠扭体次数,蓝金口服液 12.5 g 生药/kg 能显著减少热板所致的小鼠舔足痛阈值,提示蓝金口服液具有明显的外周和中枢镇痛作用。发热是风热表证型感冒主要的临床症状之一,主要表现为内热,故本次实验通过活性酵母诱导大鼠体温升高,结果显示,4.32、8.64 g 生药/kg 的蓝金口服液能显著降低大鼠高热模型的体温,同时还能增加大鼠汗液分泌,提示蓝金口服液具有显著的清热、发汗解表作用,能通过退里热、祛除外邪、解除表证,以达到改善无汗、微恶风寒等症状。通过上述实验结果可知,蓝金口服液对

上呼吸道感染(风热表证)具有显著治疗效果,但其作用机制仍需通过进一步实验探索进行证实。

## 参考文献

- [1] 梅雪,彭衡阳,刘天强,等.上呼吸道感染研究综述[J].亚太传统医药,2012,8(2):187-188.
- [2] 汪思露.急性病毒性上呼吸道感染(风寒表证)中医诊治分析及临床疗效观察[D].成都:成都中医药大学,2019.
- [3] 马融,申昆玲.中成药治疗小儿急性上呼吸道感染临床应用指南(2020年)[J].中国中西医结合杂志,2021,41(2):143-150.
- [4] 吕健,王志飞,谢雁鸣,等.热炎宁合剂治疗急性上呼吸道感染(热毒袭肺证)的临床综合评价[J].中国中药杂志,2022,47(6):1476-1483.
- [5] 孙剑峰.急性上呼吸道感染的中医临床路径及疗效研究[D].成都:成都中医药大学,2014.
- [6] 赵静,张弛,郭玉明,等.重视针对疾病治疗的中成药使用过程中中医证候分类的研究[J].世界科学技术(中医药现代化),2010,12(5):837-839.
- [7] 袭雷鸣.儿童急性上呼吸道感染病原学检测与中医辨证分型相关性研究[D].济南:山东中医药大学,2006.
- [8] 马艳荣.西部部分地区外感发热(上呼吸道感染)中医证候分型的流行病学调查[D].成都:成都中医药大学,2013.
- [9] 罗翌,严夏,李际强,等.急性上呼吸道感染发热 2502 例中医证候分析[J].浙江中医杂志,2005,40(5):221-222.
- [10] 武雯.穴位敷贴联合清感颗粒治疗急性病毒性上呼吸道感染(外感风热证)的研究[J].中国医药科学,2021,11(1):69-71,93.
- [11] 邓海霞,贾思,陀鹏,等.壮药(救必应颗粒)辅助治疗急性上呼吸道感染(风热犯表证)的临床研究[J].蛇志,2019,31(4):501-503.
- [12] 国家中医药管理局.中成药临床应用指导原则[N].中国中医药报,2010-07-02(3).
- [13] 方立静,吴永林,钱玉凡.钱玉凡主任中医师辨证调治小儿扁桃体炎经验[J].中医儿科杂志,2021,17(4):27-29.
- [14] 王媛媛.消瘿止痛散外敷治疗亚急性甲状腺炎(热毒壅盛证)的临床观察[D].郑州:河南中医药大学,2017.
- [15] 王连心,苗青,谢雁鸣,等.蒲地蓝消炎口服液临床应用专家共识[J].中国中药杂志,2019,44(24):5277-5281.
- [16] 方邦江,崔应麟,李志军,等.急性上呼吸道感染中成药应用专家共识[J].中国中西医结合急救杂志,2019,26(2):129-138.
- [17] 魏丽娜,吴力群.小儿上呼吸道感染病毒感染与中医证候相关性研究[J].中国妇幼保健,2018,33(8):1804-1805.
- [18] 苏均维.急性上呼吸道感染中医辨证分型下的病毒学研究[D].广州:广州中医药大学,2007.

(本文编辑 苏维)