

位碳上的氢被取代后均使化合物失去活性,表明 N-1 或乙烯基上的氢是维持该类化合物活性的关键之一^[2]。化合物 II 中苯环邻位羟基的存在,与吡啶酮上羰基之间微弱的氢键作用既有利于化合物保证以顺式构象为主,同时又避免酮式-烯醇式互变异构体产生。

同时结合化合物的动力学稳定的三维结构和活性实验结果分析表明,当吡啶酮的平面与芳香环的平面共平面时活性较低,而二者处于近于垂直状态时活性增加。化合物 III 由于其具有烯醇互变的结构,导致与氮原子连接的氢失去。另一方面,即使是酮式结构,吡啶酮环和苯环间共平面程度较大,这也可能导致活性下降(浓度为 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,抗肿瘤活性为 36.08%)。而化合物 IV 中两个吡啶环基本上属于共平面(浓度为 $0.001 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,抑制肿瘤活性最高时只有 29.26%)。

笔者在本实验中合成了几种新化合物,其结构笔者均未见报道,与已报道的有活性的类似物相比,具有

结构简单、体外抑制肿瘤活性较强等优点,且有继续研究的价值。

【参考文献】

- [1] Li S, Ngoc T, Liang C X, *et al.* Design, synthesis, and evaluations of substituted 3-[(3-or-4-Carboxyethylpyrrol-s-yl)methylidene] indolin-2-ones as inhibitors of VEGF, FGF, and PDGF receptor tyrosine kinases [J]. *J Med Chem*, 1999, 42, 5120-5130.
- [2] Moosa M. Structures of the tyrosine kinase domain of fibroblast growth factor receptor in complex with inhibitors [J]. *Science*, 1997, 276: 955-960.
- [3] 王葆仁. 有机合成反应 [M]. 北京: 科学出版社, 2002. 682.
- [4] Tang P C. 3-heteroaryl-2-indolinone compounds for the treatment of disease [J]. *USP Pharm*, 1998, 11(8): 1998.
- [5] 宁永成. 有机化合物结构鉴定与有机波谱学 [M]. 北京: 科学出版社, 2002. 98-141.

热咳停颗粒的止咳与抗菌作用研究

张 庆, 张长弓

(华中科技大学同济医学院药学院生药系, 武汉 430030)

【摘要】 目的 研究热咳停颗粒的止咳和抗菌作用。方法 分别采用豚鼠氨水引咳法和电刺激猫喉上神经引咳法制作动物咳嗽模型, 研究热咳停颗粒 $5, 10, 20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 对豚鼠和猫的止咳作用; 采用腹腔接种肺炎球菌的方法制作感染小鼠模型, 分别在注射肺炎球菌前 1 h 和注射后 1.6, 12 h 给予小鼠热咳停颗粒药液灌胃, 测定热咳停颗粒对感染小鼠的保护作用。结果 热咳停颗粒 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可明显延长氨水诱导豚鼠咳嗽的潜伏期, 减少豚鼠的咳嗽次数(均 $P < 0.01$), 且止咳作用呈剂量依赖性。给予热咳停颗粒 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 给药后 1~3 h 猫的咳嗽阈值明显升高 ($P < 0.01$); $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 给药后 0.5~3.5 h 猫的咳嗽阈值明显升高 ($P < 0.01$)。热咳停颗粒对肺炎球菌腹腔攻击小鼠有一定的治疗作用, 随着剂量的增加, 小鼠感染肺炎球菌后 5 d 的存活率也增加。结论 热咳停颗粒有明显的镇咳和抗菌作用, 镇咳和抗菌作用与剂量相关, 剂量越高作用越显著, 作用时间也随之延长。

【关键词】 热咳停颗粒; 止咳作用; 抗菌作用

[中图分类号] R286; R965 [文献标识码] A [文章编号] 1004-0781(2005)05-0383-03

Antitussive and Antibacterial Study of *Reketing* Granules

ZHANG Qing, ZHANG Chang-gong (Division of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT Objective Study the antitussive and antibacterial effect of the *reketig* granules. **Method** ① The antitussive and antibacterial effects of *reketig* granules were studied in cough models of guinea pigs induced with ammonia and in cough models of cats induced with electronic stimulation to the superior larynx nerves. The effects of *reketig* granules in the doses of 5, 10, 20 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ were observed. ② The infection model mice were made by abdominal injection of certain *S. pneumoniae*. *reketig* granules in doses (crude herbs) 5, 10, 20 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ were fed to the model mice, i. g., 1 h before, and 1.6 h and 12 h after the injection of *S. pneumoniae*. Therefore, the infection - preventive effects of *reketig* granules were observed. **Results** ① The dose above 10 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ could prolong the time to cough induced by ammonia, and the cough frequency was decreased as the dose increased. ② The dose of 10 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ could significantly increase the voltage of the cats' cough threshold within 1.0~3.5 h after feeding *reketig* granules. The dose of 20 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ crude drug could significantly increase the voltage of the cats' cough threshold within 0.5~3.5 h after feeding *reketig* granules. *Reketig* granules have certain therapeutic effect to *S. pneumoniae* infection. As the dose increased, the 5 d survival rate of infected mice increased.

Conclusion The antitussive effect of *reketing* granules is correlated to the dosage, the antitussive time becomes longer as the dose increases.

KEY WORDS *Reketing* granules; Antitussive effect; Antibacterial

热咳停颗粒根据《圣惠方》中前胡散方加减制成,由前胡、苦杏仁、黄芩等药物组成。以“宣肺止咳、祛痰平喘”之法治标,“理气和胃,燥湿化痰”之法治本。全方共奏宣肺止咳、理气化痰之功效,达标本兼治的目的。笔者在本实验中采用豚鼠氨水引咳法和电刺激猫喉上神经引咳法以及肺炎球菌腹腔攻击小鼠的方法制作模型,研究了热咳停颗粒的止咳和抗菌作用。

1 材料与方

1.1 材料 热咳停颗粒(华中科技大学同济医学院药学院自制,批号:030906);注射用链霉素灭菌粉末(华北制药厂生产,批号:990508);昆明种小鼠[雌雄不拘,体重(20±1)g]、豚鼠[雌雄不拘,体重(200±20)g]、猫[雌雄不拘,体重(2.5±0.5)kg]均由同济医学院医学实验动物中心提供;肺炎球菌菌种(取临床分离的肺炎球菌接种于含10%血清的肉汤培养基中,于37℃条件下培养18h,取出备用)。

1.2 止咳作用实验

1.2.1 豚鼠氨水引咳实验 取豚鼠50只,雌雄各半,体重(200±20)g,随机分为5组,每组10只,雌雄各半。阴性对照组灌胃给予纯化水,每只0.8mL;阳性对照组给予喷托维林(商品名:咳必清,贵州亦凌制药厂生产,批号:H021215)药液灌胃,15mg·kg⁻¹;实验组1,2,3均灌胃给予热咳停颗粒制成的药液,以含热咳停颗粒的量计分别为5,10,20g·kg⁻¹。灌胃给药后1h,将5组豚鼠分别置于玻璃罩中,将氢氧化铵以气泵等压力匀速风喷入5s,观察自喷雾开始至豚鼠出现咳嗽的潜伏期及3min内各组豚鼠的咳嗽次数^[1]。

1.2.2 猫电刺激喉上神经引咳实验 取猫30只,雌雄不拘,体重(2.5±0.5)kg,随机分为5组,即阴性、阳性对照组和实验组1,2,3。分组后将猫给予氯醛糖(以丙烯甘油溶解)腹腔注射麻醉,80mg·kg⁻¹。然后将猫以背式固定于手术台上,沿颈正中中线切开皮肤,分离皮下组织和喉上神经,将保护电极与喉上神经接触,将石蜡涂在神经与电极接触部位固定电极,以备刺激。切开腹部皮肤,暴露部分腹直肌,将丝线一端固定于腹直肌,另一端连接于换能器,猫咳嗽时,膈肌活动牵引

腹直肌,生理仪便可记录其咳嗽的次数及强度。分离阳性对照组猫的股静脉,以便给药。

各组动物在手术完成后(给药前)开始刺激喉上神经,并确定每只猫的电刺激引咳阈值。电刺激条件:JL-C4型生理刺激仪,刺激频率50Hz,脉冲宽度0.5ms。连续刺激5s,两次刺激间隔时间为3min,刺激电压由小至大,逐步递增,每侧喉上神经在连续5s内出现咳嗽的电压值即为这只猫的咳嗽阈值。测完每只猫的咳嗽阈值后,实验组1,2,3均以食管插管法给予热咳停颗粒制成的药液灌胃,按热咳停颗粒的量计分别为5,10,20g·kg⁻¹;阴性对照组给予0.9%氯化钠注射液,每只5mL;阳性对照组给予盐酸可待因股静脉注射,3mg·kg⁻¹。给药后每隔30min测定咳嗽阈值1次,观察药物对各组猫镇咳作用持续的时间、作用强度(阈值)^[2,3]。

1.3 抗菌作用实验

1.3.1 致病菌最小致死量(MLD)的测定 将“1.1”项下制备的的菌液用0.9%氯化钠注射液依次稀释成浓度为1.0×10⁻¹,1.0×10⁻²,1.0×10⁻³,1.0×10⁻⁴g·L⁻¹的菌液备用。取昆明种小鼠40只,体重(20±1)g,雌雄各半,随机分为4组,每组10只,雌雄各半。实验组1,2,3,4小鼠腹腔依次注射浓度为1×10⁻¹,1×10⁻²,1×10⁻³和1×10⁻⁴g·L⁻¹的菌液。观察接种后7d内各组小鼠死亡数。结果见表1。从表1中可见,肺炎球菌对小鼠的MLD为1×10⁻²g·L⁻¹。

表1 肺炎球菌对小鼠的MLD

给菌量/(g·L ⁻¹)	动物数/只	死亡数/只	死亡率/%
1×10 ⁻¹	10	10	100
1×10 ⁻²	10	8	80
1×10 ⁻³	10	3	30
1×10 ⁻⁴	10	0	0

1.3.2 热咳停颗粒对肺炎球菌感染小鼠的保护作用实验 取昆明种小鼠50只,雌性,体重(20±1)g,随机分成5组,即阴性对照组、阳性对照组和实验组1,2,3。实验组1,2,3分别灌胃给予热咳停颗粒制成的药液,以热咳停生药计,给药剂量分别为5,10,20g·kg⁻¹;阳性对照组腹腔注射链霉素,剂量1.0mg·kg⁻¹;阴性对照组不给予任何药物。各组小鼠在注射肺炎球菌前1h以上述剂量给药1次,随后每组小鼠腹腔接种培养备用的浓度为1×10⁻²g·L⁻¹的肺炎球菌,0.02mL·g⁻¹。注射菌种后1,6,12h各组分

[收稿日期] 2004-10-16 [修回日期] 2004-11-10

[作者简介] 张庆(1973-),男,湖北武汉人,主管药师,在读硕士,主要从事中药资源的研究。

[通讯作者] 张长弓(1956-),男,湖北恩施人,副教授,硕士生导师,主要从事生药研究。电话:027-83657852。

别以以上剂量给药 1 次。观察 5 d 内各组小鼠死亡情况^[2]。

2 结果

2.1 对豚鼠的止咳作用 结果见表 2。由表 2 可知,与阴性对照组比较,实验组 3 和阳性对照组豚鼠的潜伏期明显延长,咳嗽次数显著减少,且均差异有极显著性(均 $P < 0.01$);实验组 2 豚鼠的潜伏期亦延长,咳嗽次数亦明显减少(均 $P < 0.05$),提示高剂量($20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)热咳停颗粒延长豚鼠咳嗽潜伏期和减少豚鼠咳嗽次数的作用与喷托维林相当,且这种作用呈剂量依赖性,高剂量热咳停颗粒的止咳作用更明显。

2.2 对猫的止咳作用 结果见表 3。由表 3 可知,给

予热咳停颗粒后,实验组 1,2,3 猫引咳作用阈值与给药

表 2 热咳停颗粒对豚鼠的止咳作用 $\bar{x} \pm s, n = 10$

组别	潜伏期/s	咳嗽次数/次
实验组 1	82.4 ± 17.8	21.6 ± 7.5
实验组 2	92.8 ± 16.7 ^{*1}	17.7 ± 5.9 ^{*1}
实验组 3	102.4 ± 18.5 ^{*2}	10.6 ± 3.7 ^{*2}
阳性对照组	115.6 ± 25.6 ^{*2}	12.9 ± 12.9 ^{*2}
阴性对照组	65.1 ± 8.7	27.4 ± 7.4

注:与阴性对照组比较,^{*1} $P < 0.05$;^{*2} $P < 0.01$

前比较,均有明显升高。与阴性对照组比较,实验组 2 和 3 显著升高,且这种作用呈剂量依赖性,随着剂量升高,药物作用时间也随之延长。热咳停颗粒 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 与盐酸可待因 $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的止咳作用相当。

表 3 热咳停颗粒对猫引咳阈值的影响

$V, \bar{x} \pm s, n = 6$

组别	给药前阈值	给药后阈值					
		30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
实验组 1	7.2 ± 1.8	7.7 ± 2.1	8.1 ± 1.9	9.1 ± 2.5	8.6 ± 2.1	8.3 ± 2.7	7.8 ± 1.7
实验组 2	6.8 ± 1.5	7.6 ± 2.6	11.6 ± 2.9	12.8 ± 3.4 ^{*1}	12.4 ± 2.2 ^{*1}	12.8 ± 3.6 ^{*1}	10.5 ± 2.5 ^{*2}
实验组 3	7.1 ± 1.5	9.6 ± 2.7 ^{*2}	13.3 ± 3.7 ^{*1}	14.6 ± 3.7 ^{*1}	15.2 ± 3.1 ^{*1}	14.3 ± 3.7 ^{*1}	13.2 ± 2.1 ^{*2}
阳性对照组	6.9 ± 1.7	17.8 ± 3.4 ^{*1}	14.8 ± 2.8 ^{*1}	13.6 ± 2.8 ^{*1}	13.4 ± 3.1 ^{*1}	11.6 ± 2.7 ^{*2}	9.2 ± 1.9
阴性对照组	6.4 ± 1.4	6.7 ± 1.7	6.9 ± 2.2	6.8 ± 1.9	6.5 ± 1.7	7.1 ± 2.4	6.9 ± 2.1

注:与阴性对照组比较,^{*1} $P < 0.01$,^{*2} $P < 0.05$

2.3 热咳停颗粒对肺炎球菌感染小鼠的保护作用 结果见表 4。由表 4 可知,热咳停颗粒对感染肺炎球菌的小鼠有明显的保护作用,且药效随着给药剂量的增加而增加,但热咳停颗粒 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的疗效仍然比链霉素 $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的疗效低。

表 4 热咳停颗粒对感染肺炎球菌小鼠的保护作用 只

组别	实验小鼠数	5 d 内存活数
实验组 1	10	1
实验组 2	10	4 ^{*1}
实验组 3	10	7 ^{*2}
阳性对照组	10	10 ^{*2}
阴性对照组	10	0

注:与阴性对照组比较,^{*1} $P < 0.05$,^{*2} $P < 0.01$

3 讨论

本实验中热咳停颗粒的处方根据《圣惠方》中前胡散方加减,由前胡、苦杏仁、黄芩等药物组成,以宣肺

止咳、化痰平喘、清热燥湿而设。主药可健脾燥湿、和胃止呕,同时伍以湿性药以制主辅药之凉性,调和诸药之便,而达标本兼治之目的。

由实验可知,给予高剂量热咳停颗粒可明显延长动物咳嗽潜伏期,且咳嗽次数随给药剂量增加而减少。结果提示热咳停颗粒剂量 $> 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时有止咳作用。且对肺炎球菌腹腔攻击小鼠有一定的治疗作用。即本方有明显的止咳作用,并对感染肺炎球菌的小鼠有明显的保护作用。其祛痰及平喘作用尚在研究中。

[参考文献]

- [1] 徐叔云,卞如廉,陈修,等. 药理实验方法学[M]. 第 4 版. 北京:人民卫生出版社,2002. 514 - 515.
- [2] 李仪奎,王钦茂,周金黄,等. 中药药理实验方法学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1991. 419 - 420.
- [3] 吴启端. 双伯炎痛喷雾剂抗炎镇痛作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,1994,5(5):49.