

# 小儿热速清糖浆抗流感病毒和抗菌作用研究

王敏<sup>2</sup>, 陈荣昌<sup>1</sup>, 季宇彬<sup>2</sup>, 韩冰<sup>3</sup>, 葛一蒙<sup>3</sup>, 王姗<sup>1</sup>, 孙桂波<sup>1\*</sup>, 孙晓波<sup>1\*</sup>

(1. 中国医学科学院药用植物研究所药理毒理中心, 北京 100193; 2. 哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心, 哈尔滨 150076; 3. 黑龙江珍宝岛药业股份有限公司, 黑龙江 鸡西 158400)

**【摘要】目的** 检测小儿热速清糖浆的抗病毒及抗菌作用。**方法** 采用细胞培养法计算小儿热速清糖浆对病毒的半数抑制率, 建立肺炎动物模型计算小儿热速清糖浆对肺炎小鼠肺指数和肺抑制率影响。采用试管二倍稀释法测定小儿热速清糖浆体外对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、乙型溶血性链球菌和表皮葡萄球菌最小抑菌浓度和累积抑菌率; 体内实验检测小儿热速清糖浆对金黄色葡萄球菌感染小鼠死亡率的影响。**结果** 小儿热速清糖浆体外抗病毒实验表明在稀释32倍时能完全抑制流感病毒、呼吸道合胞病毒致细胞病变; 体内研究表明流行性感胃病毒所致肺炎小鼠20 mL/kg、40 mL/kg给药治疗作用明显( $P < 0.05$ )。体外抗菌实验研究表明小儿热速清糖浆2倍稀释对6种细菌抑制率可达90%以上; 金黄色葡萄球菌感染小鼠40 mL/kg给药能完全抑制其死亡。**结论** 小儿热速清糖浆在体内外均具有一定的抗病毒及抑菌作用, 能同时达到抗病毒及抗菌效果。

**【关键词】** 小儿热速清糖浆; 抗病毒; 抗菌; 肺炎。

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 08-0083-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.08.015

## Anti-influenza virus and antibacterial effects of Xiaoe Resuqing syrup

WANG Min<sup>2</sup>, CHEN Rongchang<sup>1</sup>, JI Yubin<sup>2</sup>, HAN Bing<sup>3</sup>, GE Yimeng<sup>3</sup>, WANG Shan<sup>1</sup>, SUN Guibo<sup>1\*</sup>, SUN Xiaobo<sup>1\*</sup>

(1. Pharmacology and Toxicology Center, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China; 2. Research Center on Life Sciences and Environmental Sciences, Harbin University of Commerce, Harbin 150076; 3. Hei Long Jiang Zhen Bao Dao Pharmaceutical Corporation, Jixi 158400)

**【Abstract】 Objective** To test the antiviral and antibacterial effects of Xiaoe Resuqing syrup. **Methods** The cell culture method was used to calculate the half-inhibition rate of Xiaoe Resuqing syrup against the virus, and the animal model of pneumonia was established to calculate the effect of Xiaoe Resuqing syrup on the lung index and lung inhibition rate of pneumonia mice. Twofold dilutions of syrup were analyzed in vitro in terms of the minimal inhibitory concentration and cumulative inhibitory rate on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, Beta-hemolytic *Streptococcus*, and *Staphylococcus epidermidis*. To test the effect of Xiaoe Resuqing on mortality of mice infected with *Staphylococcus aureus* in vivo. **Results** In vitro antiviral experiments showed that Xiaoe Resuqing syrup completely inhibited cytopathic effects induced by influenza virus and respiratory syncytial virus when diluted 32 times. In vivo studies also showed that the administration of 20 and 40 mL/kg Xiaoe Resuqing syrup to influenza virus-infected mice had significant effects on lung injury ( $P < 0.05$ ). An in vitro antibacterial experiment showed that twofold dilution of

**【基金项目】** 中国医学科学院医学与健康科技创新工程经费资助(2016-I2M-1-012)。

**【作者简介】** 王敏(1991—), 女, 硕士研究生, 专业: 中药学。E-mail: 1059624379@qq.com

**【通信作者】** 孙晓波(1958—), 男, 教授, 研究方向: 中药及复方药效物质基础及分子机制。E-mail: sun\_xiaobo163@163.com。

孙桂波(1973—), 女, 教授, 研究方向: 中药及复方药效物质基础及分子机制。E-mail: sunguibo@126.com。\* 共同通信作者

Xiaoer Resuqing syrup reduced the numbers of six bacteria by more than 90%. In mice infected by *Staphylococcus aureus* and administered the syrup at 40 mL/kg, mortality was completely avoided. **Conclusions** The antipyretic and antibacterial result of Xiaoer Resuqing syrup showed that this syrup has certain antiviral and bacteriostatic effects both in vitro and in vivo.

**[Keywords]** Xiaoer Resuqing syrup; antivirus; antibacterial; pneumonia

急性呼吸道感染是世界范围内儿童感染发病和死亡的重要原因之一<sup>[1-2]</sup>,造成急性呼吸道感染的病原体 90% 约为病毒,细菌感染为病毒感染后继发感染或直接感染约占 10%。病毒感染主要包括流感病毒,呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)和腺病毒等<sup>[3-4]</sup>。细菌感染主要包括流感嗜血杆菌、肺炎球菌、葡萄球菌和大肠埃希菌等<sup>[5]</sup>。RSV 和流感病毒被证明是导致急性上呼吸道感染的主要原因,RSV 被报道为儿童下呼吸道感染的主要病原体,也是与细菌性病原体相结合最常见的病原体<sup>[6-9]</sup>。小儿热速清糖浆具有清热解毒,泻火利咽等功效<sup>[10-11]</sup>。临床研究表明小儿热速清糖浆对于儿童上呼吸道感染具有确切疗效<sup>[12]</sup>。但对急性下呼吸道感染及病菌感染是否有疗效尚未有临床及实验证明。本文据此对小儿热速清糖浆的抗病毒及抗菌作用进行实验研究,为其治疗下呼吸道感染提供实验支持,并为临床治疗急性呼吸道感染提供进一步的实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

SPF 级 ICR 小鼠 442 只,3 周龄,体重 9~11 g,抗病毒实验小鼠 134 只,抗菌实验小鼠 308 只,雌雄各半,实验动物由吉林大学基础医学院实验动物中心提供[SCXK(吉)2013-0001],在吉林大学基础医学院病原生物教研室进行实验[SYXK(吉)2013-0005],福利伦理审查证号 2015-11-10。

### 1.2 细胞、病毒及菌株

宫颈癌细胞(Helen Lane, Hela)用于呼吸道合胞病毒的培养,犬肾细胞(MDCK canine kidney cell, MDCK)用于流感病毒培养,本实验室保存。甲型流感病毒 FM1 购于武汉病毒研究所。呼吸道合胞病毒 ATCC 标准株(RSV, Long 株)由广州呼吸病研究所馈赠。临床分离株:大肠埃希菌,金黄色葡萄球菌,铜绿假单胞菌,表皮葡萄球菌,乙型溶血性链球菌,肺炎克雷伯菌;耐青霉素和青霉素敏感金黄色葡萄球菌,均为本实验室保存。

### 1.3 主要试剂与仪器

小儿热速清糖浆(批号:z19980095),黑龙江珍宝岛药业股份有限公司;感冒止咳糖浆(批号:20150101),贵州拜特制药有限公司;达菲(批号:SH0047),瑞士巴塞尔豪夫迈·罗氏有限公司;青霉素 V 钾片(批号:815004),重庆科瑞制药有限公司。

DMEM 培养基(批号:8116489,美国 Gibco);胎牛血清(批号:1619279,美国 Gibco);胰蛋白酶(批号:20170912,北京索莱宝);乙醚(批号:20160118,北京化工厂);生理盐水(批号:E17042911,山东华鲁制药)。

CKX41 型倒置相差显微镜(日本 OLYMPUS);MQX 200 型微孔板扫描酶标仪(美国 BioTek instrument);Heraeus BB15 型二氧化碳细胞培养箱(美国 Thermo Scientific)。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 培养基

(1)营养琼脂培养基:培养大肠埃希菌,金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、表皮葡萄球菌。

(2)4% 琼脂培养基:普通肉汤培养基加入 4% 琼脂粉。培养铜绿假单胞菌。

(3)血琼脂培养基:营养琼脂培养基加热溶化,约 55℃ 时注入羊全血,混均。培养乙型溶血性链球菌。

(4)MH 肉汤、MH 琼脂培养基:药物最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)的测定。

#### 1.4.2 药物对病毒致细胞病变作用的影响

FM1 和 RSV 稀释为  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ~ $10^{-9}$  不同稀释度,分别感染 MDCK 和 Hela 细胞,并设细胞对照,计算 50% 细胞感染量(tissue culture infective dose, TCID<sub>50</sub>)。小儿热速清糖浆、感冒止咳糖浆浓度设为 1,达菲为 1000 g/L 用无血清培养基对药物原液进行 2 倍递比稀释 9 个浓度,设 8 个复孔,分别加于 Hela 和 MDCK 单层细胞上,并设细胞对照,96 孔板培养 72 h,每孔加噻唑蓝(3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, thiazolyl blue tetrazolium bromide, MTT)100 μL,孵育 4 h

每孔加二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 150  $\mu\text{L}$  震荡 2 min 酶标仪 570 nm 检测, 计算最大无毒浓度 (maximum non-toxic concentration,  $\text{TC}_0$ ), 50% 细胞中毒浓度 (median toxic concentration,  $\text{TC}_{50}$ )。FM1 和 RSV 以  $100\text{TCID}_{50}^{[13-14]}$  的量攻击细胞,  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  细胞培养箱吸附 2 h, 弃病毒液, 加入各药物最大无毒浓度和待测药物最大无毒浓度 2 倍递比稀释两个浓度每孔 200  $\mu\text{L}$ , 设 8 个复孔。同时设阳性对照药物、细胞对照、病毒对照和空白对照组。培养 5 d, 观察细胞病变作用 (cytopathic effect, CPE) 并记录, 计算药物对 FM1 和 RSV 病毒的半数抑制浓度 (the half maximal inhibitory concentration,  $\text{IC}_{50}$ ), 并计算治疗指数 (therapeutic index,  $\text{TI} = \text{TC}_{50}/\text{IC}_{50}$ )。

#### 1.4.3 药物对 FM1 流感病毒致小鼠肺炎的治疗作用

小鼠 50 只, 随机平均分成 5 组, 乙醚轻度麻醉滴鼻感染  $10^{-1}$ ,  $10^{-2} \sim 10^{-5}$  不同稀释度的流感病毒液 0.1 mL, 观察 14 d, 计算病毒的半数致死量 (median lethal dose,  $\text{LD}_{50}$ )。小鼠 84 只随机分为 7 组, 每组 12 只, 包括正常组、病毒模型组、达菲组 0.0364 g/kg、感冒止咳糖浆组 10 mL/kg 和小儿热速清糖浆高 (40 mL/kg)、中 (20 mL/kg)、低 (10 mL/kg) 剂量组。感染前 1 d 给药, 乙醚浅麻醉下滴鼻感染 FM1  $5\text{LD}_{50}^{[15-17]}$  一次, 连续给药 7 d, 病毒模型和正常对照组灌服等体积的生理盐水。感染后第 6 天解剖, 取肺称重, 计算肺指数和肺指数抑制率, 取各组鼠肺分别修块, 经梯度酒精脱水, 石蜡包埋, 切片 (厚度 5  $\mu\text{mol/L}$ ), 苏木精-伊红染色 (hematoxylin-eosin staining, HE), 光镜下检查。

肺指数 = 肺重/体重  $\times 100\%$

肺指数抑制率 = (感染模型组平均肺指数 - 实验组平均肺指数) / 感染模型组平均肺指数  $\times 100\%$

#### 1.4.4 药物体外抑菌率测定

小儿热速清糖浆和感冒止咳糖浆原液浓度设定为 1, 青霉素 V 钾片 MH 肉汤稀释, 终浓度为 64 mg/mL, MH 肉汤将三种药物进行二倍递比稀释 5 个浓度, 测定乙型溶血性链球菌 MIC 培养基中需加 10% 血清。将细菌接种于各自适用的琼脂平板上,  $37^\circ\text{C}$  培养 24 h 后, 刮取菌苔, 无菌生理盐水稀释, 根据麦氏比浊管测细菌浓度, 配成  $1.5 \times 10^8/\text{mL}$  的菌液。各取 0.1 mL 接种于各药物培养基中, 小儿热速清糖浆和感冒止咳糖浆终浓度依次为: 1、0.5、0.25、

0.125、0.0625、0.0312, 青霉素 V 钾片终浓度依次为 64、32、16、8、4、2 mg/mL; 同时设细菌和培养基对照,  $37^\circ\text{C}$  培养 24 h, 观察并记录, 无细菌生长试管中所含的最小药物浓度即为最小抑菌浓度 (MIC)。

#### 1.4.5 小儿热速清糖浆体内抑菌实验

耐青霉素和青霉素敏感金黄色葡萄球菌分别接种到血琼脂平板上,  $37^\circ\text{C}$ , 18 h。根据麦氏比浊管的浓度, 生理盐水稀释两株细菌成 7 个浓度, 分别为  $0.3 \times 10^9 \text{CFU/mL}$ 、 $0.6 \times 10^9 \text{CFU/mL}$ 、 $0.9 \times 10^9 \text{CFU/mL}$ 、 $1.2 \times 10^9 \text{CFU/mL}$ 、 $1.5 \times 10^9 \text{CFU/mL}$ 、 $1.8 \times 10^9 \text{CFU/mL}$ 、 $2.1 \times 10^9 \text{CFU/mL}$ 。小鼠 140 只, 随机分为 14 组, 每组 10 只, 每只腹腔注射菌液 0.2 mL, 连续观察 7 d, 能使小鼠全部死亡的最低细菌浓度即为最小致死量 (minimum lethal dose, MLD)。小鼠 168 只按体重随机分成 14 组, 每组 12 只, 抗青霉素敏感和耐青霉素金黄色葡萄球菌感染实验各 7 组, 灌胃给药, 分为小儿热速清糖浆高 (40 mL/kg)、中 (20 mL/kg)、低 (10 mL/kg) 组; 感冒止咳糖浆组 10 mL/kg; 青霉素 V 钾片组 33 mg/kg; 正常对照和模型组 (均给予生理盐水灌胃)。提前 3 d 给药, 第 4 天, 除正常组, 其余各组腹腔注射最小致死量菌液每只 0.2 mL, 继续给药 3 d, 每天 1 次。记录动物死亡数。

#### 1.5 统计学方法

采用 Reed-Muench 法计算 50% 细胞感染量 ( $\text{TCID}_{50}$ ) 及治疗指数, 运用 SPSS 19.0 软件对各组实验数据进行统计分析, 结果以平均数  $\pm$  标准差表示 ( $\bar{x} \pm s$ ), Bliss 软件计算动物半数有效量 (Median effice dose,  $\text{ED}_{50}$ ) 值。以  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 小儿热速清糖浆对病毒致细胞病变保护作用

FM1 和 RSV 对 MDCK 和 HeLa 细胞的  $\text{TCID}_{50}$  分别为  $10^{-5.8}$  和  $10^{-4}$ 。小儿热速清糖浆对 MDCK 细胞  $\text{TC}_0$  为 0.0312,  $\text{TC}_{50}$  为 0.9750。对 HeLa 细胞  $\text{TC}_0$  为 0.0156,  $\text{TC}_{50}$  为 0.1280, 达菲对 MDCK 和 HeLa 细胞的  $\text{TC}_0$  均为 0.1250 g/L, 感冒止咳糖浆对 MDCK 和 HeLa 细胞的  $\text{TC}_0$  均为 0.0156。分别感染  $100\text{TCID}_{50}$  FM1 和 RSV 小儿热速清糖浆浓度为 0.0312 对两种病毒抑制明显, 浓度为 0.0156 仅能抑制 RSV, 浓度为 0.0078 对两种病毒均无抑制作用。感冒止咳糖浆 0.0156 对两种病毒抑制明显, 达菲 0.1250 g/L 仅能抑制 FM1。小儿热速清糖浆对 FM1 和 RSV 的

IC<sub>50</sub>分别为 0.0128 和 0.0068。治疗指数分别为 TI = 76.2 和 TI = 18.8,表明小儿热速清糖浆能有效抑制 FM1 和 RSV 致细胞病变作用。

## 2.2 小儿热速清糖浆对 FM1 流感病毒致小鼠肺炎的影响

FM1 对小鼠的半数致死量 LD<sub>50</sub>为 10<sup>-3.32</sup>。小儿热速清糖浆剂量 20 mL/kg 和 40 mL/kg 能明显降低 FM1 所致肺炎小鼠肺指数 ( $P < 0.05$ ),见表 1。正常组小鼠肺、肺泡结构完整,支气管上皮完整,腔内无渗出物,壁上有散在的红细胞。模型组肺为间质性肺炎,肺泡壁增厚,部分肺泡融合,腔内充有炎性细胞和浆液性渗出物,肺泡间隔血管充血,支气管上皮细胞脱落到腔内,管壁增厚,周围大量的炎性细胞浸润;与模型组相比,小儿热速清糖浆 10 mL/kg 对肺的改善较为明显,见图 1。

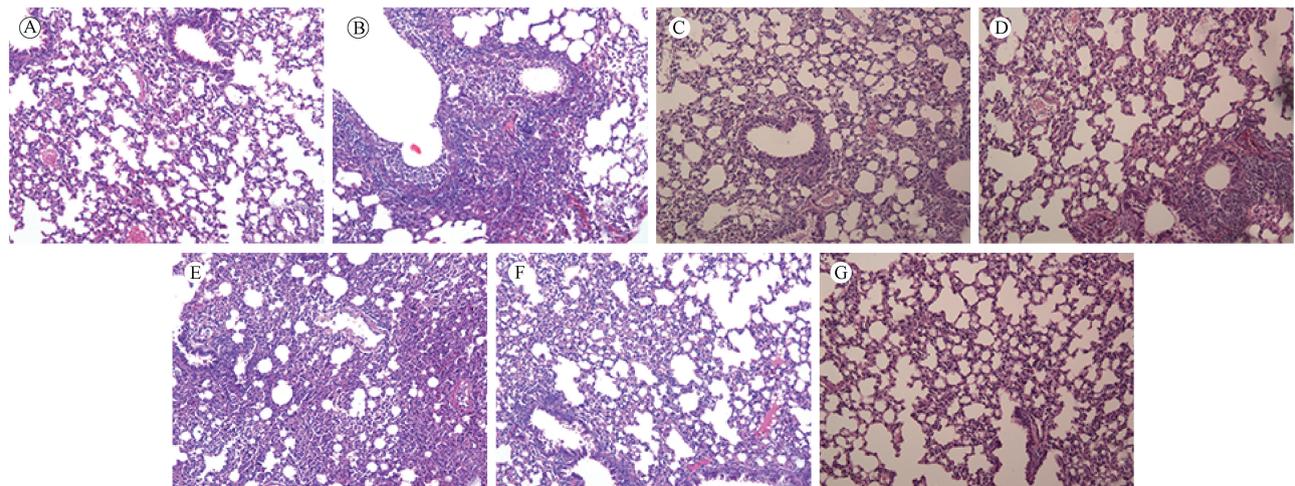
表 1 小儿热速清糖浆对小鼠流感病毒性肺炎的作用( $\bar{x} \pm s, \%$ )

Table 1 Effect of Xiaoyer Resuqing syrup on influenza virus-related pneumonia in mice

组别 Group	剂量 Dose	动物数量 Animal number	肺指数 Lung index	肺指数抑制率 Lung index inhibition rate
病毒对照 Virus control	—	12	1.334 ± 0.234	—
正常对照 Normal control	—	12	0.784 ± 0.078	—
达菲 Duffy	0.0364 g/kg	12	0.757 ± 0.091 **	43.300
感冒止咳糖浆 Cold cough syrup	10 mL/kg	11	0.937 ± 0.181	29.700
	40 mL/kg	12	0.847 ± 0.107 **	36.500
小儿热速清糖浆 Xiaoyer Resuqing Syrup	20 mL/kg	12	0.877 ± 0.145 *	34.300
	10 mL/kg	11	0.996 ± 0.207	25.300

注:与病毒对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

Note. Compared with the virus control group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .



注:(A)正常组;(B)病毒模型组;(C)达菲组 0.0364 g/kg;(D)感冒止咳糖浆组 10 mL/kg;(E)小儿热速清糖浆 40 mL/kg;(F)小儿热速清糖浆 20 mL/kg;(G)小儿热速清糖浆 10 mL/kg。

图 1 对小鼠肺的病理形态影响(HE × 200)

Note. (A) Normal group. (B) Model group. (C) Duffy group 0.0364 g/kg. (D) Cold cough syrup group 10 mL/kg. (E) Xiaoyer Resuqing Syrup 40 mL/kg. (F) Xiaoyer Resuqing Syrup 20 mL/kg. (G) Xiaoyer Resuqing Syrup 10 mL/kg.

Figure 1 Effect of pathological morphology of mice lungs

## 2.3 各组药物对 6 种细菌 MIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub> 及累积抑菌率

小儿热速清糖浆和感冒止咳糖浆体外对 6 种细菌均有很好的抑制效果,青霉素 V 钾片在体外对铜绿假单胞菌无抑制作用,对其它细菌均有抑制作用,见表 2。

小儿热速清糖浆累积抑菌率为乙型溶血性链球菌 > 表皮葡萄球菌 > 金黄色葡萄球菌 > 肺炎克雷伯菌 > 大肠埃希菌 > 铜绿假单胞菌;感冒止咳糖浆的累积抑菌率为肺炎克雷伯菌 > 金黄色葡萄球菌 > 铜绿假单胞菌 > 大肠埃希菌 > 表皮葡萄球菌 > 乙型溶血性链球菌;青霉素 V 钾片累积抑菌率为表皮葡萄球菌 > 乙型溶血性链球菌 > 金黄色葡萄球菌 > 肺炎克雷伯菌 > 大肠埃希菌 > 铜绿假单胞菌,见表 3 和 4。

**表 2** 三种药物对 6 种临床分离菌株的 MIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub> 检测结果  
**Table 2** MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> test results of three different drugs for six clinical isolates

菌株 Strain	药物 Medicine	MIC 范围 MIC range	MIC <sub>50</sub> MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub> MIC <sub>90</sub>
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	A	0.25 ~ 1.00	0.50	0.50
	B	0.25 ~ 1.00	0.25	0.50
	C	4 ~ 32 mg/mL	8 mg/mL	16 mg/mL
大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>	A	0.25 ~ 0.50	0.50	0.50
	B	0.25 ~ 0.50	0.50	0.50
	C	4 ~ 32 mg/mL	16 mg/mL	16 mg/mL
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	A	0.25 ~ 1	0.50	0.50
	B	0.25 ~ 1	0.50	0.50
	C	Not suppress	Not suppress	Not suppress
肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	A	0.25 ~ 0.5	0.50	0.50
	B	0.25 ~ 0.5	0.25	0.50
	C	4 ~ 64 mg/mL	32 mg/mL	64 mg/mL
表皮葡萄球菌 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	A	0.25 ~ 0.50	0.50	0.50
	B	0.25 ~ 0.50	0.50	0.50
	C	4 ~ 16 mg/mL	8 mg/mL	16 mg/mL
乙型溶血性链球菌 <i>Beta hemolytic streptococcus</i>	A	0.25 ~ 0.50	0.25	0.50
	B	0.25 ~ 1.00	0.50	0.50
	C	4 ~ 32 mg/mL	16 mg/mL	32 mg/mL

注: (A) 小儿热速清糖浆; (B) 感冒止咳糖; (C) 青霉素 V 钾片。

Note. (A) Xiaoe Resuqing Syrup. (B) Cold cough syrup. (C) Penicillin V potassium.

**表 3** 小儿热速清糖浆和感冒止咳糖浆对 6 种细菌的累积抑菌率 (%)

**Table 3** Accumulative inhibitory rates of Xiaoe Resuqing syrup and cold cough syrup on six different bacteria

菌株 Strain	MIC							
	0.125		0.250		0.500		1.000	
	A	B	A	B	A	B	A	B
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	7.14	76.10	95.24	92.86	100.00	100.00
大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>	0	0	6.25	37.50	100.00	100.00	—	—
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	2.00	46.00	96.00	80.00	100.00	100.00
肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	6.00	88.00	100.00	100.00	—	—
表皮葡萄球菌 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0	46.67	6.67	100.00	100.00	—	—
乙型溶血性链球菌 <i>Beta hemolytic streptococcus</i>	0	0	57.40	4.80	100.00	61.10	—	—

注: (A) 小儿热速清糖浆; (B) 感冒止咳糖浆。

Note. (A) Xiaoe Resuqing Syrup. (B) Cold cough syrup.

**表 4** 青霉素 V 钾片对 6 种细菌的累积抑菌率 (%)

**Table 4** Accumulative inhibitory rates of penicillin V potassium on six different bacteria

菌株 Strain	MIC					
	2	4	8	16	32	64
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	0	2.38	80.95	100.00	—	—
大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>	0	0	22.92	95.86	100.00	—
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0
肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	2.00	4.00	46.00	86.00	100.00
表皮葡萄球菌 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	46.67	66.67	100.00	—	—
乙型溶血性链球菌 <i>Beta hemolytic streptococcus</i>	0	3.70	27.80	72.20	100.00	—

表 5 小儿热速清糖浆对青霉素敏感和耐青霉素金黄色葡萄球菌感染小鼠的保护作用 ( $n = 12$ )Table 5 The protective effects of Xiaoe Resuqing syrup in mice infected with penicillin-sensitive and penicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

组别 Group	剂量 Dose	死亡率 (%) Death rate	
		青霉素敏感金黄色葡萄球菌 penicillin sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>	耐青霉素金黄色葡萄球菌 penicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
小儿热速清糖浆 Xiaoe Resuqing Syrup	10 mL/kg	58.3	50.0
	20 mL/kg	8.3	16.7
	40 mL/kg	0	0
感冒止咳糖浆 Cold cough syrup	10 mL/kg	0	0
青霉素 V 钾片 Penicillin V potassium	33 mg/kg	0	66.7
细菌对照 Bacterial control	—	100.0	100.0
正常对照 Normal control	—	0	—

## 2.4 小儿热速清糖浆对金黄色葡萄球菌感染小鼠的保护作用

实验结果表明青霉素敏感和耐青霉素金黄色葡萄球菌对小鼠的 MLD 分别为  $1.2 \times 10^9$  CFU/mL 和  $1.5 \times 10^9$  CFU/mL。小儿热速清糖浆 40 mL/kg 对青霉素敏感和耐青霉素金黄色葡萄球菌感染的小鼠保护作用明显,  $ED_{50}$  分别为 0.0989 mL 和 0.1064 mL, 结果见表 5。

## 3 讨论

小儿热速清糖浆是由柴胡、板蓝根、金银花、黄芩、水牛角、连翘、葛根、大黄组成的中药糖浆制剂。目前, 针对 RSV 病毒药物主要有 RSV 免疫球蛋白和病毒唑, 但病毒唑毒性较大, 存在安全问题, 而且呼吸道感染的治疗存在抗生素滥用情况, 既延误病情又浪费财力, 对症用药非常重要<sup>[18-19]</sup>。中药在治疗病毒感染方面有其优势和特点, 与西药相比副作用较低。此外, 在病毒感染期间我们并不能排除细菌感染的可能。本实验待测药物小儿热速清糖浆选择呼吸道感染的主要病毒流感病毒和 RSV 进行相关的抗病毒实验<sup>[9]</sup>, 并选择标准菌进行抗菌试验, 验证其是否同时具有抗病毒和抗菌效果。

本实验选择小儿热速清糖浆的最大无毒浓度为最大给药剂量, 在排除药物本身毒性的条件下, 连续稀释 2 倍给药, 体外实验结果表明小儿热速清糖浆体外对 FM1 流感病毒、呼吸道合胞病毒致细胞病变均有抑制作用, 表明有保护细胞的抗病毒作用。流感病毒是造成急性呼吸道感染的主要病原体, 主要在呼吸道和肺中复制, 容易引起肺炎等并发症<sup>[20-22]</sup>。体内抗病毒试验结果显示, 小儿热速清糖浆 20 mL/kg 和 40 mL/kg 均可有效的抑制流行性感病毒所致的病毒性肺炎, 与病毒对照组比较差

异显著。小儿热速清糖浆在体外对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌均有抑制作用, 抑菌效果与感冒止咳糖浆相近, 而对铜绿假单胞菌的抑菌效果明显好于青霉素 V 钾片, 青霉素 V 钾片在体外对铜绿假单胞菌无抑制作用。金黄色葡萄球菌是引起化脓性感染的主要病菌, 并且容易产生耐药性, 其耐药性发病率逐年增高, 死亡率也逐年递增, 已经成为世界范围内临床治疗的难题, 亟待解决<sup>[23-24]</sup>。而小儿热速清糖浆对青霉素敏感的金黄色葡萄球菌和青霉素耐药的金黄色葡萄球菌感染小鼠均有很好的抑制作用。此研究首次通过实验证明小儿热速清糖浆具有抗病毒以及抗菌作用, 为临床小儿热速清糖浆治疗婴幼儿上呼吸道感染提供了理论依据, 并对临床用药提供指导作用。也为急性呼吸道感染的治疗目前存在的抗生素滥用、疗效差、价格昂贵等问题提供了新的治疗手段。

综上所述, 小儿热速清糖浆具有一定的抗病毒和抗菌的效果, 且其抗菌效果优于抗病毒, 可以考虑应于抗生素耐药型病菌的治疗。但其抗病毒抗菌作用机制及对其他的感染性疾病是否有效果尚不清楚, 仍需进一步的研究及相关临床试验。

## 参考文献:

- [1] Walker CL, Rudan I, Liu L, et al. Global burden of childhood pneumonia and diarrhea [J]. Lancet, 2013, 381 (9875): 1405-1416.
- [2] Hasegawa K, Tsugawa Y, Cohen A, et al. Infectious Disease-related Emergency Department Visits Among Children in the United States [J]. Pediatr Infect Dis J, 2015, 34(7): 681-685.
- [3] 李阿美. 2014-2015 年葫芦岛市急性呼吸道感染病毒病原学研究 [D]. 中国人民解放军军事医学科学院, 2015.
- [4] 刘忠华, 王颖彦, 黄韧, 等. 禽流感 H5N1 型病毒对沙鼠致病性的初步研究 [J]. 实验动物与比较医学, 2005, 25(4): 199-202.

- [ 5 ] 彭路璋. 急性呼吸道感染抗生素用药分析 [J]. 中国当代医药, 2011, 18(3): 142 - 143.
- [ 6 ] Lu Y, Wang S, Zhang L, et al. Ealpidemiology of Human Respiratory Viruses in Children with Acute Respiratory Tract Infections in Jinan, China [J]. Clin Dev Immunol, 2013, 2013: 210490.
- [ 7 ] Sung CC, Chi H, Chiu NC, et al. Viral etiology of acute lower respiratory tract infections in hospitalized young children in Northern Taiwan [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2011, 44(3): 184 - 190.
- [ 8 ] Xiao NG, Zhang B, Duan ZJ, et al. [Viral etiology of 1165 hospitalized children with acute lower respiratory tract infection] [J]. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi, 2012, 14(1): 28 - 32.
- [ 9 ] Moesker FM, van Kampen JJ, van Rossum AM, et al. Viruses as Sole Causative Agents of Severe Acute Respiratory Tract Infections in Children [J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150776.
- [ 10 ] 李延雪, 王云龙, 姜雪敏. HPLC 法测定小儿热速清糖浆中葛根素的含量 [J]. 中国药师, 2012, 15(6): 830 - 832.
- [ 11 ] 李延雪, 孙菲, 苏玉娟. 高效液相色谱法测定小儿热速清糖浆中黄芩苷含量 [J]. 中国药业, 2012, 21(24): 56 - 57.
- [ 12 ] 潘红春, 王海英, 彭苍骄, 等. 小儿热速清糖浆治疗婴幼儿上呼吸道感染疗效观察 [J]. 海峡药学, 2013, 25(8): 126 - 127.
- [ 13 ] 刘相文, 侯林, 崔清华, 等. 金樱子多糖的提取优化及其体外抗病毒活性研究 [J]. 中药材, 2017, 40(7): 1679 - 1682.
- [ 14 ] 赵敬贤. 观辣树水提物抗甲 I 型流感病毒 FM1 株的实验研究 [D]. 广州中医药大学, 2012.
- [ 15 ] 董丹, 王雪峰, 南春红, 等. 不同鼠龄昆明种小鼠流感病毒肺炎动物模型的比较研究 [J]. 天津中医药, 2017, 34(4): 250 - 254.
- [ 16 ] 胡楠楠, 王雪峰, 岳志军, 等. 甲型流感病毒 FM1 株诱导感染不同鼠龄小鼠肺炎模型比较 [J]. 中国中西医结合儿科学, 2014, 6(4): 315 - 318, 385.
- [ 17 ] 李伟. 荔枝核提取液抗甲 I 型流感病毒 FM1 的作用研究 [D]. 广州中医药大学, 2011.
- [ 18 ] 王雯. 基于黄芩抗流感病毒研究的中药药效影响因素探讨 [D]. 北京中医药大学, 2011.
- [ 19 ] Teng CL. Antibiotic prescribing for upper respiratory tract infections in the Asia-Pacific region: A brief review [J]. Malays Fam Physician, 2014, 9(2): 18 - 25.
- [ 20 ] 刘晓艳. 复方龙芩草微乳液抗 H1N1 流感病毒的作用、物质基础及机制研究 [D]. 北京中医药大学, 2016.
- [ 21 ] 赵敬贤. 观辣树水提物抗甲 I 型流感病毒 FM1 株的实验研究 [D]. 广州中医药大学, 2012.
- [ 22 ] 邓巍, 李彦红, 朱华, 等. BALB/c 小鼠和雪貂感染 H7N9 禽流感病毒后的肺组织动态病理学变化 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(1): 13 - 17, 6 - 7.
- [ 23 ] Andersen JL, He GX, Kakarla P, et al. Multidrug Efflux Pumps from Enterobacteriaceae, Vibrio cholerae and Staphylococcus aureus Bacterial Food Pathogens [J]. Int J Environ Res Public Health, 2015, 12(2): 1487 - 1547.
- [ 24 ] Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, et al. Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management [J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28(3): 603 - 661.

[收稿日期] 2017 - 10 - 19