



中国药物警戒
Chinese Journal of Pharmacovigilance
ISSN 1672-8629, CN 11-5219/R

《中国药物警戒》网络首发论文

题目：蒲地蓝消炎口服液联合阿莫西林对肺炎链球菌感染的协同作用
作者：时宇静, 鲍岩岩, 郭姗姗, 孙静, 赵荣华, 包蕾, 耿子涵, 姚荣妹, 高英杰, 崔晓兰
收稿日期：2020-10-14
网络首发日期：2021-01-19
引用格式：时宇静, 鲍岩岩, 郭姗姗, 孙静, 赵荣华, 包蕾, 耿子涵, 姚荣妹, 高英杰, 崔晓兰. 蒲地蓝消炎口服液联合阿莫西林对肺炎链球菌感染的协同作用. 中国药物警戒. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5219.R.20210119.1019.002.html>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

中图分类号：R969.2 文献标志码：A

蒲地蓝消炎口服液联合阿莫西林对肺炎链球菌感染的协同作用

时宇静¹, 鲍岩岩¹, 郭姗姗¹, 孙静¹, 赵荣华¹, 包蕾¹, 耿子涵¹, 姚荣妹¹, 高英杰¹, 崔晓兰^{1*} (1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

摘要: 目的 阿莫西林 (Amoxicillin, Amx) 具有广谱抗菌作用, 蒲地蓝消炎口服液 (PDL) 具有抗炎、免疫调节和抗菌活性。为了增强抗菌药效、减少 Amx 的不良反应, 本研究对二者联合应用的抗肺炎链球菌感染效果进行了研究。**方法** 以肺炎链球菌滴鼻感染 ICR 小鼠建立小鼠细菌性肺炎模型; 以肺指数、肺组织病理评分、炎症因子表达等作为评价指标, 考察 PDL 和 Amx 联用对肺炎链球菌感染小鼠肺炎的保护作用。**结果** PDL 液和 Amx 联用能显著抑制肺炎链球菌引起的小鼠肺炎病变, 两药联用对感染小鼠具有协同抗感染作用, 其中 Amx (每日 0.37 g/kg) 与 PDL (每日 5.5 ml/kg) 联用的联合指数为 0.12, 对肺炎的治疗表现为强协同作用, 肺指数抑制率达到 61.22%, 肺指数显著低于模型对照组和单一药物组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); Amx (每日 0.37 g/kg) 与 PDL (每日 2.75 ml/kg) 联用的联合指数为 0.57, 为协同作用。两药联用能显著抑制感染小鼠体重下降, 改善小鼠肺组织病理损伤 ($P < 0.01$), 同时显著抑制细菌感染诱导的小鼠血清炎症因子白细胞介素-6 (IL-6) ($P < 0.01$)、白细胞介素-8 (IL-8) ($P < 0.05$)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) ($P < 0.01$)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) ($P < 0.01$) 的表达升高。**结论** PDL 和 Amx 联用对肺炎链球菌感染小鼠肺炎具有协同治疗作用, 在临床上具有重要的应用价值。

[关键词] 蒲地蓝消炎口服液; 阿莫西林; 肺炎链球菌; 协同作用

Synergistic effect of Pudilan Xiaoyan oral liquid combined with amoxicillin on *Streptococcus pneumoniae* infection

Shi Yujing¹, Bao Yanyan¹, Guo Shanshan¹, Sun Jing¹, Zhao Ronghua¹, Bao Lei¹, Geng Zihan¹, Yao Rongmei¹, Gao Yingjie¹, Cui Xiaolan^{1*}

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

Abstract: Objective Amoxicillin has broad-spectrum antibacterial effect. Pudilan Xiaoyan oral

liquid has anti-inflammatory, immunomodulatory and antibacterial activities. In order to enhance the antibacterial effect and reduce the adverse reactions of amoxicillin, the anti Streptococcus pneumoniae infection effect of the combination of amoxicillin and amoxicillin was studied.

Methods ICR mice were intranasally infected with Streptococcus pneumoniae. The protective effect of amoxicillin combined with Pudilan Xiaoyan oral liquid on Streptococcus pneumoniae infection in mice was investigated by using lung index, lung tissue pathological score and expression of inflammatory factors as evaluation indexes. **Results** Amoxicillin combined with Pudilan Xiaoyan oral liquid could significantly inhibit the pneumonia induced by Streptococcus pneumoniae in mice. The combination index of amoxicillin ($0.37 \text{ g kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) and Pudilan Xiaoyan oral liquid ($5.5 \text{ g kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) is 0.12, which indicates strong synergism effect on infected mice. Lung index inhibition rate is 61.22%, and lung index of combination group was significantly lower than that of model control group and single drug group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The combination index of amoxicillin ($0.37 \text{ g kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) and Pudilan Xiaoyan oral liquid ($2.75 \text{ mL kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) is 0.57, which indicates synergism effect on infected mice. The combination of the two drugs can significantly inhibit the weight loss of infected mice, improve the pathological damage of lung tissue ($P < 0.01$), and significantly inhibit the increase of serum inflammatory factors IL-6 ($P < 0.01$), KC ($P < 0.05$), TNF- α ($P < 0.01$), MCP-1 ($P < 0.01$) induced by bacterial infection. **Conclusion** Amoxicillin and Pudilan Xiaoyan oral liquid have synergistic therapeutic effect on pneumonia in mice infected with Streptococcus pneumoniae, which indicates important clinical application value.

[Key words] Pudilan Xiaoyan oral liquid; Amoxicillin; Streptococcus pneumoniae; Synergistic effect

基金项目：重大新药创制科技重大专项资金资助（2019ZX09721001-005-001）；中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助（ZZ10-018-09, ZXKT17052）。

作者简介：时宇静，博士，副研究员，硕导，研究方向为中药防治感染性疾病药效机制研究。

*通信作者：崔晓兰，硕士，研究员，研究方向为中药抗感染药效机制研究。E-mail: cuixiaolan2812@126.com

肺炎链球菌是引发细菌性肺炎、脑膜炎和菌血症的常见病原菌，是儿童、老人和免疫缺陷患者致病、致死的主要病因^[1]。使用抗生素是标准治疗方案，然而肺炎链球菌对抗生素的耐药性日益增加，给临床治疗带来困难^[2]。每年新发肺炎链球菌感染病例 120 万，越来越多的肺炎链球菌感染性肺炎对至少 1 种抗生素耐药^[3]。因此，积极研究非抗生素的抗菌治疗策略及与抗生素联合用药防治策略具有重要价值。

阿莫西林（Amoxicillin, Amx）是广谱 β -内酰胺类抗生素，临床常用于治疗肺炎链球菌感染性疾病。但伴随广泛用药，其药品不良反应也不断出现^[4]。蒲地蓝消炎口服液（PDL）是由黄芩、蒲公英、板蓝根和苦地丁 4 种中药按照一定工艺加工而成的中药复方制剂，功能清热解毒、抗炎消肿，临床研究和实验研究均显示其对于肺炎具有一定疗效^[5-8]。本研究采用肺炎链球菌感染小鼠肺炎模型评价了蒲地蓝消炎口服液与阿莫西林单独用药及两者联用对感染小鼠的治疗作用，旨在为中药与抗生素联合用药治疗细菌感染性肺炎提供实验依据。

1 材料

1.1 实验药物 PDL，济川药业集团有限公司，批号：1701414，性状：棕黄色澄清液体，规格：10ml/支。Amx 胶囊，哈药集团制药总厂，批号：A1611005，性状：白色至黄色粉末，规格：0.5g。

1.2 实验动物 SPF 级 ICR 小鼠（动物许可证号：SCXK(京)2016-0011，合格证号：11400700216923），雌雄各半，体重（14 \pm 1）g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司。

1.3 菌株 肺炎链球菌（*Streptococcus pneumoniae*），标准菌株 CMCC31001，购自北京北纳创联生物技术研究院，本实验采用加入 5% 脱纤维羊血的 Mueller-Hinton 培养基、35 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件传代扩增并 -80 $^{\circ}$ C 保藏。

1.4 试剂和仪器 乙醚（国药集团化学试剂有限公司）；无菌脱纤维羊血（北京华越洋生物科技有限公司）；Mueller-Hinton 培养基（英国 Oxoid 公司）；ProcartaPlex 多因子检测试剂盒（美国 ThermoFisher 公司）；MAGPIX 液相悬浮芯片系统（美国 Luminex 公司）。

2 方法

2.1 药物剂量设计 阿莫西林：人临床常规用量为每日 2 g/60kg，最大剂量不超过每日 4 g/60kg。实验时小鼠用量分别为每日 0.37 g/kg 和每日 0.74 g/kg，分别相当于临床常规用量和临床最大用量。PDL：人临床用量为每日 30 ml/60kg，实验时小鼠用量分别为每日 5.5 ml/kg

和每日 2.75 ml/kg, 分别相当于临床等倍和临床 0.5 倍剂量。实验时采用 Amx 2 个剂量、PDL 2 个剂量单独给药及 Amx、PDL 不同剂量相互组合给药方式, 给药方案见表 1。

2.2 小鼠肺指数的测定 ICR 小鼠 100 只, 按体重随机分成正常对照组、模型对照组、Amx (0.74)组、Amx (0.37)组、PDL(5.5)、PDL(2.75)组、Amx(0.74) +PDL(5.5)组、Amx(0.74) +PDL(2.75)组、Amx(0.37) +PDL(5.5)组、Amx(0.37) +PDL(2.75)组, 每组 10 只。除正常对照组外, 将小鼠用乙醚轻度麻醉, 以 1×10^9 cfu/ml 肺炎链球菌滴鼻感染, 每只 50 μ L, 正常对照组滴予等量生理盐水。感染后 1 h 开始给药, 各给药组每次按 0.2 mL/10g 灌胃给药, 每日 1 次, 连续 3 d; 联合给药各组先给予阿莫西林, 间隔 2 h 再给予蒲地蓝消炎口服液; 正常对照组和模型对照组在同等条件下给予蒸馏水。每天称取小鼠体质量。第 4 d 称重后解剖, 称肺重, 计算肺指数及肺指数抑制率^[9-11]。肺指数 (%) = 肺湿重(g) / 体重 (g) \times 100; 肺指数抑制率 (%) = (模型对照组平均肺指数 - 药物组平均肺指数) / (模型对照组平均肺指数 - 正常对照组平均肺指数) \times 100。

2.3 小鼠肺组织病理学检查 将称取的肺组织固定于 10% 福尔马林溶液中, 做肺横切面连续切片, 每隔 100 μ m 取切片 1 张, 共 3 张。常规 HE 染色, 在 400 倍光镜下, 进行病理学检查。参照 Szapiel^[12]肺炎分级镜下观察标准, 0~IV 级如下: 0 级: 小鼠肺组织、肺间质未见有炎症, 肺泡未见有肿大, 结构正常; I 级: 小鼠肺组织、肺泡未见有增大, 肺间质有局限性渗出, 支气管周围未见明显炎症; II 级: 小鼠肺组织、肺泡内有轻度红血球和炎症细胞渗出, 支气管周围有轻度炎症; III 级: 小鼠肺组织、肺泡内有大量渗出性的组织细胞和炎症细胞, 支气管周围炎症较重; IV 级: 小鼠肺组织、肺泡内有大量炎症细胞和组织细胞增生较弥漫, 支气管周围大面积炎症, 失去了正常肺组织结构。

2.4 小鼠血清细胞因子的测定 小鼠于感染后第 4 天称重后眼眶取血, 离心分离血清, 采用液相芯片方法检测细胞因子 IL-6、KC、TNF- α 、MCP-1 的表达。

2.5 数据分析 所有数据均用统计软件 SPSS 20.0 进行统计学处理, 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 小鼠肺指数和血清细胞因子表达组间比较采用单因素方差分析, 小鼠肺组织病理组间比较采用秩和检验。联合用药实验结果采用 CalcuSyn 2.1 软件进行统计, 分析药物相互作用的情况。CalcuSyn 分析方法根据 Prichard 和 Shipman^[13]的方法, 采用 CalcuSyn 2.1 数据分析与统计评价程序, 对蒲地蓝消炎口服液和阿莫西林胶囊单用浓度、肺指数抑制率, 以及相对应浓度联用后的肺指数抑制率进行分析, 得到联合指数 (combination index, CI)。在 95% 的置信

范围, $CI < 0.9$ 认为两药在相应的条件下具有协同作用, $CI < 0.1$ 时认为具有极强的协同作用, $0.1 < CI < 0.3$ 时认为具有强协同作用, $0.3 < CI < 0.7$ 时认为具有一定的协同作用, $0.9 < CI < 1.1$ 时认为具有相加作用。

3 结果

3.1 联合用药对肺炎链球菌感染小鼠肺炎模型肺指数的影响 采用肺炎链球菌感染正常小鼠后引发肺部炎症, 肺质量增加, 肺指数相应明显增高, 与正常对照组比较有显著性差异 ($P < 0.01$); 单独应用 Amx (每日 0.74 和 0.37 g/kg) 和 PDL (每日 5.5 ml/kg) 肺指数显著低于模型对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), PDL 剂量为 $2.75 \text{ ml kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ 时也有一定程度降低肺指数作用, 但与模型对照组比较差异不显著 ($P > 0.05$)。Amx (每日 0.74 和 0.37 g/kg) 分别与 PDL (每日 5.5 和 2.75 ml/kg) 联用评价其对肺炎链球菌感染小鼠肺炎是否有协同抑制作用, 各联合用药组肺指数均显著低于模型对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), Amx (每日 0.37 g/kg) 与 PDL (每日 5.5 ml/kg) 联用肺指数也显著低于 Amx 和 PDL 的单独应用 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 肺指数抑制率为 61.22%, 而 Amx (每日 0.37 g/kg) 和 PDL (每日 5.5 ml/kg) 的单独用药组小鼠肺指数抑制率分别为 28.49% 和 26.42% (表 1)。

表 2 显示, Amx (每日 0.37 g/kg) 与 PDL (每日 5.5 ml/kg) 联用后联合指数为 0.12, 对肺炎的抑制表现为强协同作用; Amx (每日 0.37 g/kg) 与 PDL (每日 2.75 ml/kg) 联用后联合指数为 0.57, 表现为协同作用; Amx (每日 0.74 g/kg) 与 PDL (每日 5.5 ml/kg) 联用后联合指数为 0.91, 表现为相加作用。此外, Amx (每日 0.37 g/kg) 与 PDL (每日 5.5、2.75 ml/kg) 联用对感染小鼠体重下降的抑制作用优于单用 Amx 和 PDL (图 1)。

表 1 Amx 和 PDL 单独用药及联合用药对肺炎链球菌感染致小鼠肺炎模型肺指数的影响 ($n = 10$)

Table 1 Effects of PDL and Amx used alone or in combination on lung index of mice infected with *S. pneumoniae*. $n = 10$

组别	剂量		肺指数/%	肺指数抑制率/%
	PDL/ ml/(kg · d)	Amx/ g/(kg · d)		
Normal	--	--	0.67 ± 0.08	--

Model	--	--	1.18±0.17 ^{##}	--
Amx (0.74)	--	0.74	1.00±0.13 [*]	35.86
Amx (0.37)	--	0.37	1.04±0.12 [*]	28.49
PDL(5.5)	5.5	--	1.05±0.10 [*]	26.42
PDL(2.75)	2.75	--	1.08±0.07	19.87
Amx(0.74) +PDL(5.5)	5.5	0.74	0.97±0.17 ^{**}	41.11
Amx(0.74) +PDL(2.75)	2.75	0.74	1.03±0.17 [*]	29.15
Amx(0.37) +PDL(5.5)	5.5	0.37	0.87±0.11 ^{**ΔΨΨ}	61.22
Amx(0.37) +PDL(2.75)	2.75	0.37	0.99±0.16 ^{**}	38.19

注：与正常对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型对照组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ ；与 Amx (0.74) 组比较，^Δ $P < 0.05$ ；与 PDL(5.5)组比较，^{ΨΨ} $P < 0.01$

Note: $\bar{x} \pm s$. ^{##} $P < 0.01$ vs Normal; ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ vs Model; ^Δ $P < 0.05$ vs Amx (0.74) used alone; ^{ΨΨ} $P < 0.01$ vs PDL(5.5) used alone

表 2 Amx 和 PDL 联合用药对肺炎链球菌感染致小鼠肺炎模型肺指数抑制率 IR 和联合指数 CI 的影响 ($n = 10$)

Table 2 Lung index inhibition rate and combination index of concentrations of PDL combined with Amx in mice infected with *S. pneumoniae*. $n = 10$.

Amx		PDL		Combination IR/%	CI
Conc./ g/(kg d)	IR/%	Conc./ ml/(kg d)	IR/%		

0.74	35.86	5.5	26.42	41.11	0.91
0.74	35.86	2.75	19.87	29.15	2.31
0.37	28.49	5.5	26.42	61.22	0.12
0.37	28.49	2.75	19.87	38.19	0.57

注: Conc.: 药物浓度, IR: 肺指数抑制率, CI: 联合指数。当 $CI < 0.9$ 时具有协同作用: $CI < 0.1$ 表示具有极强协同作用, $0.1 < CI < 0.3$ 表示具有强协同作用, $0.3 < CI < 0.7$ 表示具有协同作用, $0.7 < CI < 0.85$ 表示具有适度协同作用, $0.85 < CI < 0.9$ 表示具有轻微协同作用, $0.9 < CI < 1.1$ 表示具有相加作用。

Note: $CI < 0.9$ indicates synergism; $CI < 0.1$ indicates very strong synergism, $0.1 < CI < 0.3$ indicates strong synergism, $0.3 < CI < 0.7$ indicates synergism, $0.7 < CI < 0.85$ indicates moderate synergism, $0.85 < CI < 0.9$ indicates slight synergism, $0.9 < CI < 1.1$ indicates additive. (Conc.: concentration; IR: lung index inhibition rate; CI: combination index)

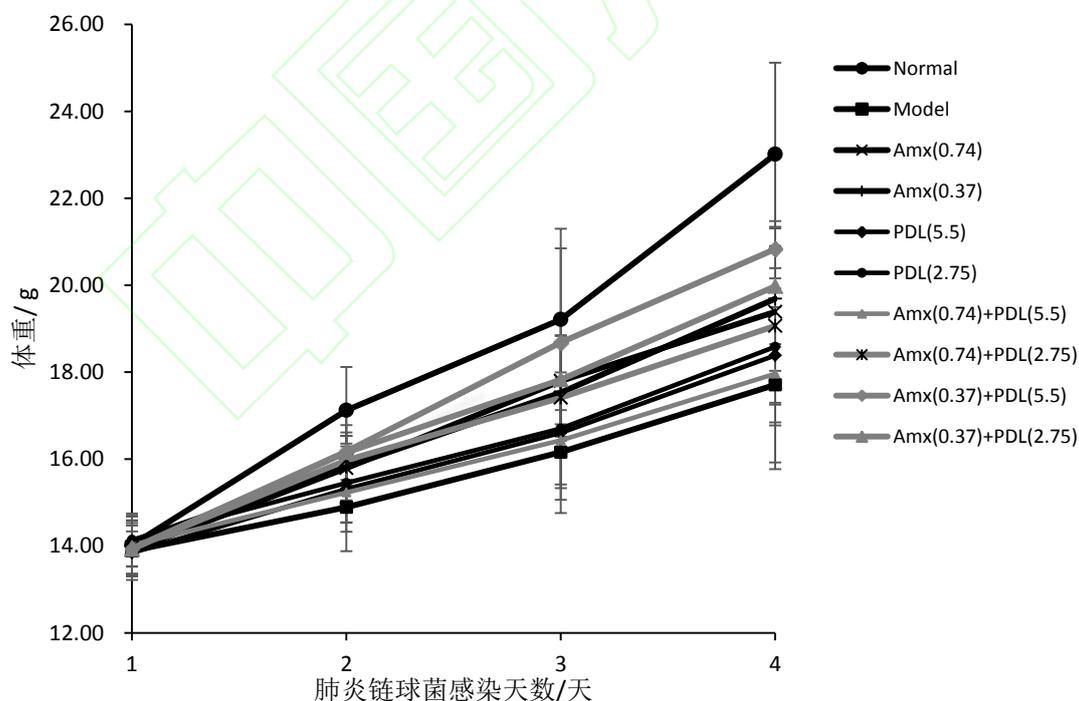


图 1 Amx 和 PDL 单独用药及联合用药对肺炎链球菌感染致小鼠肺炎模型体重的影响($n = 10$)

Figure 1 Body weight changes during treatment of *S. pneumoniae* infection in mice with

Amoxicillin and PDL used alone or in combination. $n = 10$, $\bar{x} \pm s$

3.2 联合用药对肺炎链球菌感染小鼠肺炎模型肺组织病理的影响 为进一步考察 Amx 联合 PDL 对感染肺炎链球菌后小鼠肺炎的抑制作用, 本实验对小鼠肺部组织进行了病理学观察。镜下病理观察显示, 正常对照组小鼠肺切片肺泡正常, 肺泡结构清晰, 无渗出现象。而模型对照组小鼠肺实质内有大量炎症细胞渗出, 失去正常肺组织结构, 渗出细胞主要以中性粒细胞为主, 并有红细胞渗出, 肺内有大量增生组织和上皮细胞增生, 肺泡大小不均匀, 肺间质明显增宽, 病理检查阳性评分显著高于正常对照组 ($P < 0.01$)。Amx 组小鼠肺组织渗出明显减轻, 肺泡结构清晰, 炎性症状较模型组明显减轻, 病理检查阳性评分显著低于模型对照组 ($P < 0.01$), 但肺间质增宽现象依然明显, 有红细胞露出现象。PDL 组小鼠肺组织炎性症状有改善趋势, 但依然存在, 有渗出现象, 有红细胞露出现象, 病理检查评分与模型对照组无显著差异 ($P > 0.05$)。联合用药后, 肺部炎症明显好转, 肺泡结构清晰、排列均匀、肺间质厚度均匀、无渗出、充血等现象, 病理检查评分显著低于模型对照组 ($P < 0.01$) (图 2、表 3)。

表 3 Amx 和 PDL 单独用药及联合用药对肺炎链球菌感染致小鼠肺炎模型肺组织病理评分的影响 ($n = 10$)

Table 3 Lung tissue pathology score of PDL and Amx used alone or in combination on mice infected with *S. pneumoniae*. $n = 10$.

组别	剂量		病理变化动物计数					P
	PDL/ ml/(kg d)	Amx/ g/(kg d)	0	I	II	III	IV	
Normal	--	--	10	0	0	0	0	<0.01
Model	--	--	0	0	3	5	2	--
Amx (0.37)	--	0.37	0	4	6	0	0	<0.01
PDL(5.5)	5.5	--	0	2	1	7	0	>0.05

Amx(0.37) +PDL(5.5)	5.5	0.37	0	4	6	0	0	<0.01
Amx(0.37) +PDL(2.75)	2.75	0.37	0	4	5	1	0	<0.01

注：P value 表示与模型对照组比较 P 值。

Note: Comparison of P value with model group.

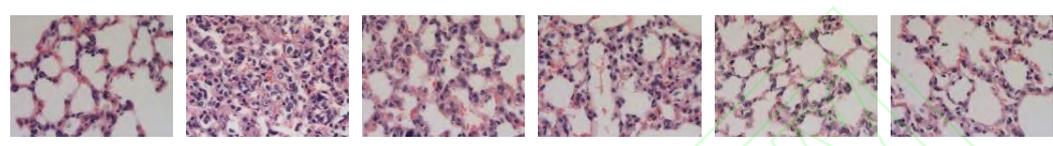
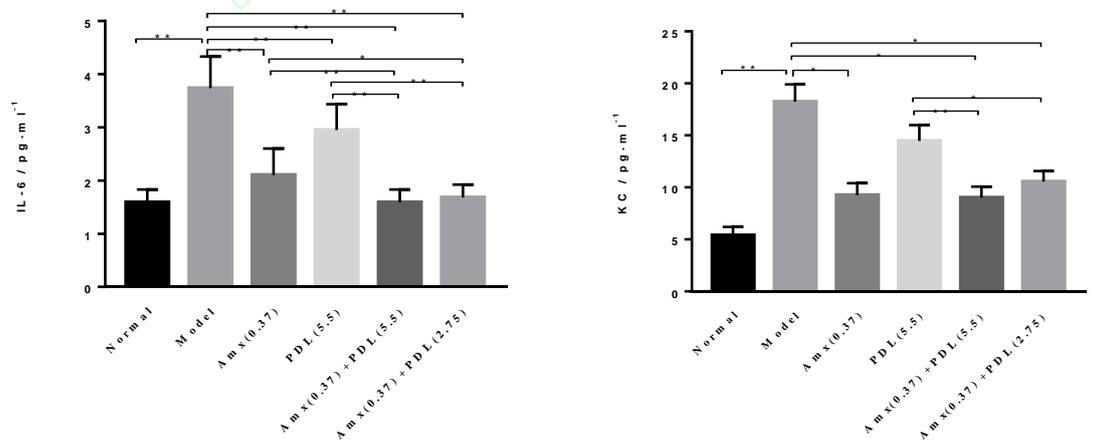


图 2：肺炎链球菌感染模型小鼠肺组织镜下病理变化情况

Figure 2 Pathological changes of lung tissue of mice (HE stain ×400).

3.3 联合用药对肺炎链球菌感染小鼠肺炎模型血清炎症因子的影响 采用肺炎链球菌感染正常小鼠后，小鼠血清炎症细胞因子 IL-6、KC、TNF- α 、MCP-1 均明显增高，与正常对照组比较均有显著性差异 ($P < 0.01$)；单独应用 Amx（每日 0.37 g/kg）显著降低血清 IL-6、KC、TNF- α 和 MCP-1 含量，单独应用 PDL（每日 5.5 ml/kg）显著降低血清 IL-6 和 MCP-1 含量，两药联用各组均显著降低 IL-6、KC、TNF- α 和 MCP-1 含量，与模型对照组比较均有显著性差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；两药联用对 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 的抑制作用显著优于 Amx（每日 0.37g/kg）和 PDL（每日 5.5 ml/kg）单独用药 ($P < 0.05$, $P < 0.01$) (图 3)。因此，PDL 与 Amx 联用有利于减少肺炎链球菌感染诱导的炎症因子的产生。



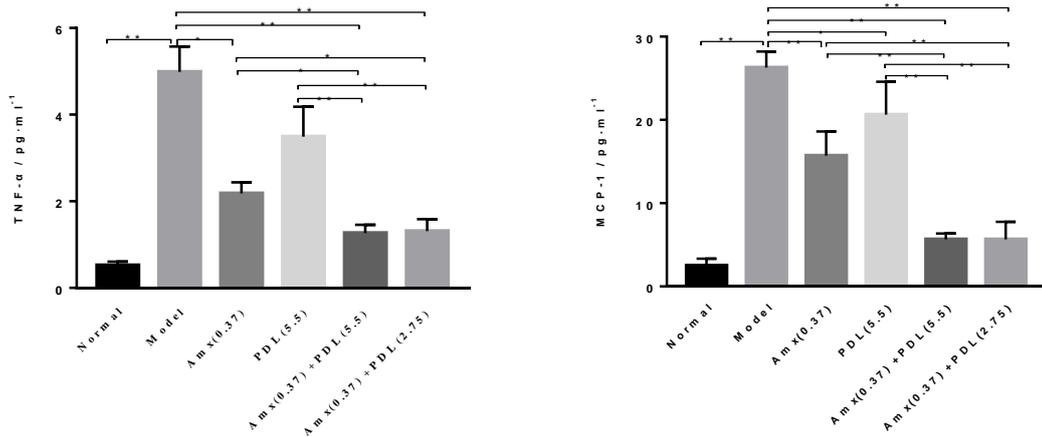


图 3 Amx 和 PDL 单独用药及联合用药对肺炎链球菌感染致小鼠肺炎模型血清 IL-6, KC, TNF- α and MCP-1 表达的影响 ($n = 10$)

Figure 3 Effects of Amx ($0.37 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) and PDL ($5.5 \text{ ml kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) used alone or in combination on expression of IL-6, KC, TNF- α and MCP-1 of mice on day 4 post infection of *S. pneumoniae*.. Concentrations of IL-6, KC, TNF- α and MCP-1 in serum collected from mice were determined by multiplex immunoassay. $n = 10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ between groups.

4 讨论

β -内酰胺类作为治疗肺炎链球菌感染的首选药物已经有 50 多年历史，其使肺炎链球菌菌血症的死亡率从 80% 下降至 17%^[14]。Amx 是最常用的半合成青霉素类广谱 β -内酰胺类抗生素，对大多数致病的革兰阳性和阴性菌具有强大的抑制剂杀灭作用，其中对肺炎链球菌、溶血性链球菌等链球菌属及需氧革兰阳性球菌、需氧革兰阴性菌的不产 β -内酰胺酶菌株具有良好的抗菌活性，广泛用于治疗敏感菌引起的呼吸道感染、尿路、胆道感染等疾病。然而 β -内酰胺类抗生素是通过不可逆地结合于细菌细胞壁上的青霉素结合蛋白 (PBPs)，而杀灭肺炎链球菌，抗生素的大量使用能够促进多重耐药的肺炎链球菌的出现，即细菌发生碱基突变，通过编码改变肺炎链球菌 PBPs 基因，从而对抗生素产生耐药性^[15]。另外，伴随 Amx 广泛用药，不良反应也不断出现，临床研究表明^[4]，服用 Amx 后，在机体内会转化成青霉烯酸、青霉噻唑酸等半抗原物质，而此类物质会和蛋白质相结合，而产生大量过敏性抗原，进而引起皮肤红疹、过敏、恶心呕吐、过敏性休克、肾功能损害等过敏反应。

PDL 具有清热解毒、抗炎消肿作用，其中黄芩可泻火解毒、清热燥湿、凉血；板蓝根可凉血、清热解毒；蒲公英可清肝明目、清热解毒；苦地丁可清热解毒。研究发现^[16] PDL

具有抗炎、抗菌、抗病毒和免疫调节作用。临床广泛应用于与抗生素联合治疗细菌性感染，临床研究表明，采用 PDL 配合抗生素治疗呼吸道感染、社区获得性肺炎、急性化脓性中耳炎等均能显著改善患者症状，降低不良反应发生率，降低患者炎症因子 IL-6、IL-8、IL-1、TNF- α 水平^[17-19]。实验研究表明^[5]，PDL 对急性肺损伤模型具有保护作用，可减轻大鼠急性肺损伤模型中肺组织的炎症反应，其机制与 NF- κ B、IL-10 的表达相关，对肺组织的病理损伤有修复作用。PDL 可减轻 LPS 引起的小鼠肺组织病理损伤，降低血清中 IL-10、TNF- α 和 NF- κ B 等炎症介质，通过代谢组学分析，推测 IL4I1 和 ASPA 等相关蛋白可能是 PDL 治疗 LPS 肺损伤的潜在靶点^[20]。本研究采用肺炎链球菌感染小鼠肺炎模型评价了 PDL 与 Amx 单独应用及二者联用对感染小鼠的治疗作用，旨在为中药与抗生素联合用药治疗细菌性肺炎提供实验依据，为其临床上得到有效、合理应用提供保障。

本研究显示，采用肺炎链球菌滴鼻感染后，引发小鼠肺部炎症，肺指数明显增高；肺实质内有大量炎症细胞渗出，主要以中性粒细胞为主，伴有红细胞渗出，肺内大量细胞增生，肺泡大小不均匀，肺间质明显增宽；血清炎性细胞因子 IL-6、KC、TNF- α 、MCP-1 表达均明显增高。单独应用 PDL 临床用量（每日 5.5 ml/kg）可以显著降低肺指数，肺指数抑制率为 26.42%，可以降低血清 IL-6 和 MCP-1 表达；单独应用 Amx 临床常规用量（每日 0.37 g/kg）可以显著降低肺指数，肺指数抑制率为 28.49%，可以降低血清 IL-6、KC、TNF- α 和 MCP-1 表达，两者单独应用均显示出对肺炎链球菌引发的小鼠肺炎具有一定治疗作用，但不能完全保护感染小鼠，小鼠肺组织炎性症状有改善趋势，但依然有渗出和红细胞露出现象。PDL（每日 5.5 ml/kg/d）与 Amx 临床常规用量（每日 0.37 g/kg）联用对肺炎的治疗作用的联合指数为 0.12， $0.1 < CI < 0.3$ ，显示出强协同作用，肺指数抑制率达到 61.22%，显著高于单独应用 Amx 临床最大用量（每日 0.74 g/kg）后的肺指数抑制率 35.86%；两药联用对体重下降的恢复作用优于单独应用 Amx 和 PDL；肺部炎症明显好转，肺泡结构清晰、排列均匀、肺间质厚度均匀、无渗出、充血等现象，肺组织病理检查评分显著降低；两药联用还明显降低 IL-6、KC、TNF- α 和 MCP-1 含量，并且对 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 的降低作用显著优于二者单独用药。PDL（每日 2.75 ml/kg）与（每日 0.37 g/kg）联用的联合指数为 0.57， $0.3 < CI < 0.7$ ，显示出协同作用，虽然疗效弱于 PDL（每日 5.5 ml/kg¹）与 Amx（每天 0.37 g/kg）联用，但疗效也显著优于二者单用。

本研究结果提示，PDL 单用抑制了肺炎链球菌感染诱导的小鼠炎症因子 IL-6 和 MCP-1 的表达，使小鼠的肺部炎症减轻，其对肺炎链球菌感染性肺炎具有一定治疗作用；PDL 与

Amx 联用，可在治疗肺炎链球菌感染性肺炎中获得增强疗效的强协同作用，可以降低 Amx 在临床用量范围内的使用量，中药在与抗生素联合用药治疗细菌感染性肺炎中具有减少抗生素用量的潜在价值，本研究为临床应用提供实验数据支持。然而，仍有必要开展随机、双盲、安慰剂对照的真实世界临床试验，以证实 PDL 联合 Amx 对肺炎链球菌感染的协同增效的作用。

参考文献

- [1] Antonio S, Jacobo P S, Ruth B A, et al. Whole Exome Sequencing Identifies New Host Genomic Susceptibility Factors in Empyema Caused by *Streptococcus pneumoniae* in Children: A Pilot Study[J]. *Genes*, 2018, 9(5):240.
- [2] Wang C Y, Chen Y H, Fang C, et al. Antibiotic resistance profiles and multidrug resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae* in pediatrics: A multicenter retrospective study in mainland China[J]. *Medicine (医学)*, 2019, 98(24):e15942.
- [3] Catia Cillóniz, Garcia-Vidal C , Ceccato A , et al. Antimicrobial Resistance Among *Streptococcus pneumoniae*[M]// *Antimicrobial Resistance in the 21st Century*. 2018.
- [4] Mick S, Jungmee K, Kyoungsoon P, et al. Signal detection of adverse drug reaction of amoxicillin using the Korea adverse event reporting system database[J]. *Journal of Korean Medical Science*, 2016, 31(9):1355-1361.
- [5] Yang YF, Zhang GP, Gao YH, et al. Effect of Pudilan Xiaoyan Oral Liquid on Acute Lung Injury Rat Induced by Lipopolysaccharide[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae (中国实验方剂学杂志)*, 2019, 25(13):55-59.
- [6] Qian WJ, Yang R, Xie T, et al. Metabolomics on Pudilan Xiaoyan Oral Liquid in treatment of Influenza A/H1N1-induced pneumonia based on GC-MS[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs (中草药)*, 2018, 49(10):2258-2264.
- [7] Tang YH. Effect of Pudilan Xiaoyan oral liquid on community acquired pneumonia with fever[J]. *Henan Medical Research (河南医学研究)*, 2016, 25(4): 674-675.
- [8] Liu YX, Sun J, Xu TF. Treatment of 120 children with common pneumonia with Pudilan and penicillin[J].

Chinese Journal of Medicinal Guide (中国医药导刊), 2013,15(5):832-834.

- [9] Wang Q, Mi G, Hickey D, et al. Azithromycin-loaded respirable microparticles for targeted pulmonary delivery for the treatment of pneumonia[J]. *Biomaterials* (生物材料), 2018, 160:107-123.
- [10] Deng Y, Ding RW, Zhang YP, et al. Effects of different liquiritin in Gansu on pneumonia in mice infected with streptococcus pneumoniae[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae* (中国实验方剂学杂志), 2011, 17(23): 212-214.
- [11] Zhao JW, Li SQ, Liu YJ, et al. Pharmacodynamic difference of *Scutellaria baicalensis* pith-noddecayed and *Scutellaria baicalensis* pith-decayed on pneumonia based on antibacterial activity and pathological parameters[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* (中草药), 2018, 49(17):4064-4070.
- [12] Szapiel SV, Elson NA, Fulmer TD, et al. Bleomycin-induced interstitial pulmonary disease in the nude, athymic mouse[J]. *American Review of Respiratory Disease*, 1979, 120(4):893-899.
- [13] Mark N. Prichard, Charles Shipman Jr. A three-dimensional model to analyze drug-drug interactions[J]. *Antiviral Research*, 1990, 14(4-5):181-205.
- [14] Paradisi F, Corti G, Cinelli R. Streptococcus pneumoniae as an agent of nosocomial infection: treatment in the era of penicillin-resistant strains[J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2001, 7(4):34-42.
- [15] Charpentier E, Tuomanen E. Mechanisms of antibiotic resistance and tolerance in *Streptococcus pneumoniae*. *Microbes and Infection*, 2000, 2(15):1855-1864.
- [16] Zhou XL, Li G, Fu HM. Advances of pharmacological effects and clinical pediatric application of Pudilan Xiaoyan oral liquid[J]. *Sichuan Journal of Physiological Sciences* (四川生理科学杂志), 2019, 41(1):59-61+69.
- [17] Tang YH. Effect of Pudilan Xiaoyan oral liquid on community acquired pneumonia with fever[J]. *Henan Medical Research* (河南医学研究), 2016, 25(4):674-675.
- [18] Han Z, Li HF, Li JY, et al. Clinical observation of Pudilan oral liquid combined with western medicine in the treatment of upper respiratory tract infection[J]. *Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine* (现代中西医结合杂志), 2017, 26(5):533-535.

- [19] Xie H, Sun WZ, Feng HY. Clinical effect of Pudilan Xiaoyan oral liquid combined with lomefloxacin on patients with acute suppurative otitis media[J]. Chinese Traditional Patent Medicine (中成药), 2020,42(8):2246-2248.
- [20] Gang Tian, Chao Li, Yuanyuan Zhai, et al. GC-MS based metabolomic profiling of lung tissue couple with network pharmacology revealed the possible protection mechanism of Pudilan Xiaoyan Oral Liquid in LPS-induced lung injury of mice[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 124:109833.

(收稿日期:2020-10-14 编辑:彭丽丽)

