

抑石膏样毛癣菌组方的优化

孟楣*, 王晓玉, 吴溪, 魏良兵

(安徽中医学院第一附属医院, 国家三级中药药剂实验室, 安徽省中药研究与开发重点实验室, 合肥 230031)

[摘要] 目的: 在鹅掌疯醋浸剂组方基础上优化抑石膏样毛癣菌的组方。方法: 通过体外抑菌法对石膏样毛癣菌进行拆方分析研究, 根据各提取液的抑菌能力优化组方的药味。结果: 鹅掌疯醋浸剂组方提取液对石膏样毛癣菌的最小抑菌浓度为 $1.25 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 单味药抑菌能力是土荆皮 > 花椒 > 黄柏 > 大黄 > 百部、苦参, 缺一味药的组方对石膏样毛癣菌抑菌能力是缺苦参、缺百部 > 缺黄柏、缺大黄 > 缺花椒 > 缺土槿皮。结论: 优化后的抑石膏样毛癣菌组方为原组方除去苦参、百部两味药, 土荆皮为君药, 新组方对石膏样毛癣菌的抑菌能力与原组方相当。

[关键词] 体外抑菌法; 石膏样毛癣菌; 组方

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0200-02

鹅掌风是由有害真菌红色毛癣菌、石膏样毛癣菌、白色念珠菌等感染手足部位而出现的皮肤损害, 安徽中医学院第一附属医院研制的院内制剂鹅掌疯醋浸剂(注册号: 皖药制字 Z20050075) 临床使用效果明显, 研究表明该方具有很强的抑红色毛癣菌、石膏样毛癣菌、白色念珠菌的作用, 然而在临床治疗中, 对因石膏样毛癣菌感染所致的鹅掌风疾病也同样使用该方, 治疗缺乏针对性, 故本文将应用体外抑菌法对该组方药味进行优化, 为临床治疗因石膏样毛癣菌感染所致的皮肤损害提供更有针对性的药物组方。

1 材料

1.1 仪器 HH-B11-360 电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂), BMJ-400C 霉菌培养箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂), YXQ-LS-75G 立式压力蒸气灭菌器(上海博讯实业有限公司医疗设备厂), AIRTECH SW-CJ-2FD 净化工作台(苏净集团苏州安泰空气技术有限公司)。

1.2 药材 黄柏、花椒、大黄、苦参、土槿皮等药材(均由安徽中医学院第一附属医院中药房提供, 且经安徽中医学院药学院生药教研室周建理教授鉴定)。

1.3 培养基 营养肉汤培养基(批号 20091216, 北京奥博生物技术有限公司)。

1.4 菌种 石膏样毛癣菌(南京皮肤病研究所提供, 批号 20100509)。

2 方法

2.1 供试液的制备^[1] 按比例称取鹅掌疯醋浸剂组方各药材, 加 65% 乙醇回流提取 2 次, 第 1 次回流提取 2 h 加 10 倍量 65% 乙醇, 第 2 次回流提取 1.5 h 加 8 倍量 65% 乙醇, 滤过, 合并醇提取液, 药渣加水 8 倍量煎煮 1.5 h, 滤过, 滤液同醇提取液合并, 合并液浓缩至生药 $5 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度。

2.2 菌液的制备^[2] 将培养皿中的菌种用无菌生理盐水冲洗, 再用无菌研磨器在无菌生理盐水中研成菌悬液, 经血细胞计数池计数(营养肉汤培养基、 $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 72 h, 即可), 将菌液密度调节至 $1 \times 10^5 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$, 取上述菌液适量, 用 0.9% 无菌氯化钠溶液稀释至约为 $50 \sim 100 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$, 备用。

2.3 鹅掌风组方提取液最低抑菌浓度(MIC)的测定^[3-4] 取 2.1 制备的鹅掌风组方提取液, 按(1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128) 比例稀释, 得到鹅掌风组方不同生药质量浓度的供试液($2.5, 1.3, 0.6, 0.3, 0.2, 0.1, 0.04 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 将以上 7 个不同质量浓度溶液分别加入培养皿中, 进行体外抑菌试验, 观察各稀释液对石膏样毛癣菌的最小抑菌浓度(MIC)。

2.4 单味药材抑石膏样毛癣菌能力的考察 分别称取每味药材一定量(鹅掌疯醋浸剂组方), 按 2.1 制备方法制得 6 组单味药材的提取液, 将每组提取液浓缩至质量浓度 $1.25 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (MIC), 并分别进行体外抑菌试验, 并记录试验结果。

[收稿日期] 20101020(004)

[基金项目] 安徽中医学院临床科研基金项目(2008lck-012)

[通讯作者] * 孟楣, 主任药师, 硕士生导师, 主要从事中药新药研发, Tel: 0551-2838558, E-mail: ahzyymm@163.com

2.5 拆方抑菌能力的考察 将鹅掌疯醋浸剂组方中的6味药材依次除去一味,组成缺味组方,即缺土荆皮组、缺黄柏组、缺苦参组、缺大黄组、缺花椒组、缺百部组(6个缺味组方)。按组方比例称取每组药材,再根据2.1方法制备提取液,将每组缺味组方的提取合并液分别浓缩至生药质量浓度为 $1.25\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (MIC),最终得到缺味组方供试液,用这6种供试液对石膏样毛癣菌进行体外抑菌试验,并记录实验结果。

2.6 鹅掌疯醋浸剂新组方抑菌能力的验证 按2.1方法制备鹅掌风醋浸剂新组方与原组方提取液,浓缩至生药 $1.25\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,分别取新组方与原组方的提取供试液各5 mL进行抑菌试验,验证鹅掌风醋浸剂新组方的抑菌能力,记录试验结果。

3 结果

3.1 鹅掌风组方提取液对石膏样毛癣菌的 MIC 鹅掌风组方提取液对石膏样毛癣菌的 MIC 为 $1.25\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

3.2 单味药材提取液对石膏样毛癣菌抑菌能力 单味药材提取液对石膏样毛癣菌抑菌能力大小是土荆皮>花椒>黄柏>大黄>百部、苦参,其中土荆皮抑菌能力最强。

3.3 缺一味药的组方提取液对石膏样毛癣菌抑菌能

力 缺一味药的组方提取液对石膏样毛癣菌抑菌能力大小是缺苦参、缺百部>缺黄柏、缺大黄>缺花椒>缺土槿皮,土荆皮抑菌能力最强。综合3.2实验结果新组方为原组方除去苦参、百部两味药。

3.4 验证实验 结果表明新组方对石膏样毛癣菌的抑菌能力与原组方相当(MIC为 $1.25\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

4 讨论

由以上实验结果可知,本实验中单味药材土荆皮的抑菌能力最强,缺味药材组方中土荆皮亦不可缺,故说明土荆皮对石膏样毛癣菌抑菌能力最强,综合实验结果和中药组方原则得出土荆皮为本组方君药。

[参考文献]

- [1] 孟楣,刘先华,肖丹. 正交试验优选鹅掌疯醋浸剂的提取工艺[J]. 中国医院药学杂志,2006,26(2):168.
- [2] 黄宁,王贞生,林滔,等. 复方白癣皮酊及其拆方对甲真菌病常见致病菌的抑菌试验研究[J]. 中国人兽共患病杂志,2005,21(12):1124.
- [3] 应群芳,张慧华. 黄芩不同炮制品的体外抑菌作用研究[J]. 山东中医杂志,2007,26(10):711.
- [4] 费娜,杨俊杰. 大黄等四种中草药体外抑菌活性比较[J]. 黑龙江医药科学,2010,33(1):18.

[责任编辑 聂淑琴]