

精制藿胆方抗菌作用研究

黄晓丹¹, 索娟², 洗彦芳², 侯少贞², 陈建南², 叶木荣², 苏子仁^{2*}

(1. 广州王老吉药业股份有限公司, 广东 广州 510450; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510405)

[摘要] 目的: 研究精制藿胆方抗菌作用。方法: 体外抗菌试验采用液体试管法, 观察精制藿胆方的最低抑菌浓度; 体内抗菌试验采用治疗感染肺炎双球菌、乙型溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌的小鼠模型的方法。结果: 体外抗菌试验对所试菌种(金黄色葡萄球菌、甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌、肺炎链球菌、卡他球菌、白喉棒状杆菌、大肠埃希菌、绿脓假单胞菌及白色念珠菌)均有不同程度的抗菌作用; 体内抗菌试验对肺炎双球菌、乙型溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌有较强的抑制作用。结论: 精制藿胆方体内外对多个菌株有抗菌作用。

[关键词] 精制藿胆方; 体外抗菌作用; 体内抗菌作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)08-0049-03

中医认为“鼻渊”病常由于胆经郁热, 上移鼻窍, 又为湿热所阻, 浊气壅塞, 化腐成脓。藿胆丸为中医治“鼻渊”代表性成药, 有清热化浊, 宣通鼻窍之功

效, 精制藿胆方由藿胆丸精制而成, 用于风寒化热, 胆火上攻引起的鼻塞欠通, 鼻渊头痛等症。精制藿胆方由广藿香油、猪胆粉组成。猪胆粉苦寒, 有清热解毒, 消炎利胆之功效; 广藿香油擅清胆经之热, 芳香上窜, 化脓利湿。二者合用, 可清风热, 通鼻窍, 主治风热上扰引起的鼻塞欠通。根据其功能主治, 本文观察抗菌作用, 进而探讨其作用机理, 以期对人类

[收稿日期] 2006-11-07

[通讯作者] * 苏子仁, Tel: (020) 36585814; E-mail: suziren@gzhtcm.edu.cn

慢性鼻炎、鼻窦炎的防治有所借鉴。

1 材料

1.1 受试药物及剂量 精制藿胆方,成人临床用量为 0.932 g/d,批号:20050501,由广州中医药大学新药中心提供。阳性对照药:阿莫西林胶囊,250 mg/粒,香港联邦制药有限公司生产,批号:16453。

精制藿胆方成人临床用量为 0.932 g/d,以成人 60 kg 计为 $0.0155 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。本试验低、中、高 3 个剂量组,分别设为 155, 310, 620 mg/kg,上述剂量为临床用药剂量的 10, 20, 40 倍(按体重计算),对照药物剂量按该试验中受试药物的中剂量倍数,根据临床剂量换算。

1.2 实验动物 NIH 小鼠(合格证号 2005A0001),SPF 级;由广州中医药大学实验动物中心提供,正常饲养 3 d 后供试。

1.3 菌种 金黄色葡萄球菌(26112)、甲型溶血性链球菌(32209)、乙型溶血性链球菌(32210)、肺炎链球菌(31001)、卡他球菌、白喉棒状杆菌(38101)、大肠埃希氏菌(44113)、绿脓假单胞菌(10211)及白色念珠菌(98001),共 9 种。卡他球菌由细菌检验室从咽喉标本分离,白色念珠菌为广州市药品检定所惠赠,其余菌种均由北京中国药品生物制品检定所提供。

1.4 培养基 营养肉汤、1% 葡萄糖肉汤、1% 血清肉汤、沙保氏培养基,均按常规制备。

2 方法与结果

2.1 体外抗菌试验(液体试管法) 精制藿胆制剂以营养肉汤配制成每毫升含生药量 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 g 4.9×10^{-5} g 共 13 个药物浓度,每管总量 1 mL,蒸汽灭菌。对链球菌的试验尚需在灭菌药液中添加 1% 葡萄糖,对肺炎链球菌和白喉棒状杆菌则加 10% 灭活兔血清,对白色念珠菌的试验则用沙保氏培养液配制药液。

对照 菌种对照为不含药物的培养基加试验菌;药物对照为不加试验菌的药液。

每排药液的各个浓度管及菌种对照管分别加入 1:2 000 的试验菌液(8 h 培养物)0.1 mL,37 °C 培养。18 h 后观察结果。对白色念珠菌的试验则用 24 h 培养物,药液加菌液后 28 °C 培养 48 h 观察结果。以浊度为指标肉眼观测各管有无菌生长。

判定最小抑菌浓度(MIC) MIC 是指完全抑制试验菌生长所含的最小药物浓度。结果见表 1。

表 1 结果表明,精制藿胆方对所试菌种(主要是

引起呼吸道感染的常见病原菌和条件致病菌)均有不同程度的抗菌作用,对各菌的 MIC 介于 6.2 mg/mL ~ 200 mg/mL 之间,对大多数试验菌种的抗菌作用强。

表 1 精制藿胆方体外最小抑菌浓度

菌种	MIC(mg/mL)
金黄色葡萄球菌	6.2
甲型溶血性链球菌	12.0
乙型溶血性链球菌	12.0
肺炎链球菌	6.2
卡他球菌	25.0
白喉棒状杆菌	12.0
大肠埃希氏菌	50.0
绿脓假单胞菌	200.0
白色念珠菌	50.0

注:菌种对照各菌生长正常。药物对照无菌生长。

2.2 体内抗菌试验

2.2.1 对肺炎双球菌感染小鼠死亡率的保护作用

取 NIH 小鼠 70 只,雌雄各半,体重(18~ 22) g,随机分为 5 组,空白对照组,精制藿胆方高、中、低剂量组,阿莫西林组。预先灌胃给药 1 d,上、下午各 1 次,于第 2 天取浓度为 12×10^9 /mL 肺炎双球菌混悬液以 0.5 mL/只给各组小鼠腹腔注射,于注射后 1, 6 h,各灌胃给药 1 次,阴性对照组灌胃给予等容积的蒸馏水,连续观察 7 d,记录每日小鼠的死亡数,计算各组小鼠死亡率,采用卡方检验比较各组间差异,结果见表 2。

表 2 精制藿胆方对肺炎双球菌感染小鼠死亡保护作用(n=14)

组别	剂量 (mg/kg)	死亡数 (n)	死亡率 (%)
空白	—	12	85.7
阿莫西林	1 000	0	0 ²⁾
精制藿胆方	155	10	71.2 ^{1,4)}
粗制藿胆方	310	4	28.6 ^{2,3)}
精制藿胆方	620	2	14.3 ²⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与阿莫西林组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。(下同)

表 2 结果表明,与空白对照组比较,精制藿胆方高、中剂量组、阿莫西林组均有显著性差异($P < 0.01$),精制藿胆方低剂量组有差异($P < 0.05$),显示精制藿胆方对肺炎链球菌致小鼠死亡有保护作用;与阿莫西林组比较,精制藿胆方高剂量组无差异($P > 0.05$),精制藿胆方中剂量组有差异($P < 0.05$),精制藿胆方低剂量组有显著性差异($P < 0.01$),提示精制藿胆方高剂量组对肺炎双球菌致小鼠死亡的保护作用与阿莫西林相当。实验表明精制藿胆方高、中、低剂量均能明显降低感染肺炎双球菌致小鼠死亡

率,有良好的量效关系,对感染肺炎双球菌小鼠死亡有保护作用。

2.2.2 对乙型溶血性链球菌感染小鼠死亡率的保护作用 取 NIH 小鼠 78 只,雌雄各半,体重 18~ 22 g,随机分为 5 组。空白对照组,精制藿胆方高、中、低剂量组,阿莫西林组。预先灌胃给药 1 d,上、下午各 1 次,于第 2 d 取浓度为 12×10^9 /mL 乙型溶血性链球菌混悬液以 0.5 mL/只给各组小鼠腹腔注射,于注射后 1,6 h,各灌胃给药 1 次,空白对照组灌胃给予等容积的蒸馏水,连续观察 7 d,记录每日小鼠的死亡数,计算各组小鼠死亡率,采用卡方检验比较各组间差异,结果见表 3。

表 3 结果表明,与空白对照组比较,精制藿胆方高、中剂量组、阿莫西林组均有显著性差异 ($P < 0.01$),精制藿胆方低剂量组有差异 ($P < 0.05$),显示精制藿胆方对降低感染溶血性链球菌致小鼠的死亡有保护作用(死亡率小于 70%);与阿莫西林阳性对照组比较,精制藿胆方高、中剂量组有差异 ($P < 0.05$),精制藿胆方低剂量组有显著性差异 ($P < 0.01$),显示精制藿胆方对降低感染溶血性链球菌致小鼠死亡的保护作用不如阿莫西林;实验表明精制藿胆方有良好的量效关系,各剂量组均能降低感染溶血性链球菌致小鼠的死亡率(死亡率小于 70%)。

表 3 精制藿胆方对乙型溶血性链球菌感染小鼠死亡保护作用

组别	剂量 (mg/kg)	n	死亡数 (n)	死亡率 (%)
空白	—	16	15	93.7
阿莫西林	1 000	16	0	0 ²⁾
精制藿胆方	155	16	9	56.3 ^{1,4)}
精制藿胆方	310	15	4	26.7 ^{2,3)}
精制藿胆方	620	15	5	33.3 ^{2,3)}

2.2.3 对金黄色葡萄球菌感染小鼠死亡率的保护作用 取 NIH 小鼠 80 只,雌雄各半,体重 18~ 22 g,随机分为 5 组。空白对照组,精制藿胆方高、中、低剂量组,阿莫西林组。预先灌胃给药 1 d,上、下午各 1 次,于第 2 天取浓度为 30×10^9 /mL 金黄色葡萄球菌混悬液以 0.5 mL/只给各组小鼠腹腔注射,于注射后 1,6 h,各灌胃给药 1 次,空白对照组灌胃给予等容积的蒸馏水,连续观察 7 d,记录每日小鼠的死亡数,计算各组小鼠死亡率,采用卡方检验比较各组间差异,结果见表 4。

表 4 结果表明,与空白对照组比较,阿莫西林组

有显著性差异 ($P < 0.01$),精制藿胆方高、中、低剂量均无统计学差异,但对感染金黄色葡萄球菌的小鼠死亡率有降低趋势(死亡率均小于 70%),显示精制藿胆方对降低感染金黄色葡萄球菌的小鼠死亡率有一定保护作用。与阿莫西林阳性组比较,精制藿胆方高、中、低剂量均有显著性差异 ($P < 0.01$),显示精制藿胆方对降低感染金黄色葡萄球菌的小鼠死亡率的作用不如阿莫西林。实验表明精制藿胆方各剂量组能降低感染金黄色葡萄球菌小鼠的死亡率(死亡率均小于 70%)的趋势。

表 4 精制藿胆方对金黄色葡萄球菌感染小鼠死亡保护作用

组别	剂量 (mg/kg)	n	死亡数 (n)	死亡率 (%)
空白	—	16	12	75.0
阿莫西林	1 000	16	0	0 ²⁾
精制藿胆方	155	16	10	62.5 ⁴⁾
精制藿胆方	310	15	9	60.0 ⁴⁾
精制藿胆方	620	16	8	50.0 ⁴⁾

3 讨论

精制藿胆方体外抗菌实验对所试菌种(主要是引起呼吸道感染的常见病原菌和条件致病菌金黄色葡萄球菌、甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌、肺炎链球菌、卡他球菌、白喉棒状杆菌、大肠埃希氏菌、绿脓假单胞菌及白色念珠菌)均有不同程度的抗菌作用,对各菌的 MIC 介于 6.2×10^{-3} g/mL~ 2.0×10^{-1} g/mL 之间;体内抗菌实验对肺炎双球菌、乙型溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌有较强的抑杀活性。中药一般较少有抑菌作用,有体内抗菌作用就更少了。精制藿胆方以上的抗菌药理实验证明了其具有很好的体内外抗菌作用,特别是引起呼吸道感染的常见病原菌和条件致病菌,其作用在某些方面甚至接近于阿莫西林,这为其临床用于风寒化热、胆火上攻引起的鼻塞欠通、鼻渊头痛提供了实验依据。

本实验只是从呼吸道感染的常见病原菌和条件致病菌一个方面探讨了精制藿胆方的抗菌作用,对于精制藿胆方的其他方面的抑菌功能,还需要我们今后做大量的实验和临床工作来进一步探讨。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 中药新药研究指南[S]. 1994. 39.
[2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 278.