

# 黄连解毒汤加味透皮吸收剂对小鼠口腔菌群及溶菌酶活性的影响

李君<sup>1</sup>, 姜欣<sup>1\*</sup>, 李海权<sup>1</sup>, 马国秀<sup>2</sup>

(1. 辽宁中医药大学免疫微生物教研室, 辽宁 沈阳 110032;

2. 沈阳市第四人民医院检验科, 辽宁 沈阳 110032)

**[摘要]** 目的: 观察黄连解毒汤加味透皮吸收剂对小鼠口腔菌群及口腔溶菌酶活性的影响。方法: 以健康小鼠外敷黄连解毒汤加味透皮吸收剂, 观察小鼠用药后口腔菌群数、口腔溶菌酶活性、血清体外抑菌作用, 并与正常对照组、阿莫西林组、联合用药组进行比较。结果: 黄连解毒汤加味经透皮吸收后, 小鼠口腔菌群与正常对照组比较有明显差异( $P < 0.05$ ), 口腔溶菌酶活性有一定程度提高。血清体外抑菌实验中, 对金黄色葡萄球菌、白色念珠菌的抑菌作用黄连解毒汤加味敷药组略优于正常对照组, 但无统计意义; 联合用药组其口腔菌群数明显低于单独黄连解毒汤加味敷药与单独使用阿莫西林( $P < 0.05$ ), 提示黄连解毒汤加味透皮吸收剂与阿莫西林合用可提高疗效。结论: 黄连解毒汤加味透皮吸收剂经皮肤吸收后, 对口腔菌群数、口腔溶菌酶活性、血清体外抑菌有积极作用。黄连解毒汤加味透皮吸收剂协同抗生素可增加生物效应, 优于单独使用抗生素和单独敷药的抗菌作用。

**[关键词]** 黄连解毒汤加味透皮吸收剂; 急性上呼吸道感染; 口腔正常菌群; 口腔溶菌酶; 体外抑菌

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)03-0045-03

急性上呼吸道感染作为一种常见病和多发病, 积极防治至关重要。中药透皮吸收具有不同于一般给药方法的独特优点, 日益受到医学界的重视。有报道证明黄连解毒汤加味透皮吸收剂透皮吸收量恒定, 药物较长时间敷于皮肤表面, 对全身产生持久的药理效应<sup>[1]</sup>。本实验观察了黄连解毒汤加味透皮吸收剂外用经皮吸收对小鼠口腔菌群、口腔溶菌酶和血清体外抑菌性的影响, 以治疗和预防上呼吸道感染。

## 1 材料

**1.1 动物** 昆明种小鼠 80 只, 雌雄各半, 体重 18~22 g, 鼠龄 7~8 周, 分笼饲养, 每笼 10 只, 自由饮水, 饲料为标准颗粒饲料, 以上动物由辽宁中医药大学动物实验室提供。

**1.2 药物** 黄连解毒汤加味透皮吸收剂由辽宁中医药大学基础医学院微生物免疫教研室提供, 原方加味大黄等, 按常规煎制后再浓缩至 300%, 然后以聚乙二醇为基质并加入 5% 透皮吸收促进剂氮酮及

适量水制成膏剂, 每克膏剂约含经浓缩的中药 0.5g; 阿莫西林干悬液(产地昆明, 批号 050119)。

**1.3 菌株** 金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、绿脓杆菌、表皮葡萄球菌(由辽宁中医药大学基础医学院微生物免疫教研室提供)。

**1.4 口腔溶菌酶活性测试基质** 溶壁微球菌(购于北京生物制品所), 制成浓度为 0.24 mg/mL 的药液。

**1.5 仪器与设备** DYML-S30L 电脑压力蒸气灭菌器, 沈阳盛达生物电子设备有限公司; HH-B11-500 电热恒温培养箱, 上海跃进医疗器械厂; HZS-H 水浴振荡器, 哈尔滨东联电子技术开发有限公司; 101-OA 数显式电热恒温干燥箱, 上海阳光实验仪器有限公司; 1169REL# 1 生物安全柜, 美国热电公司; A110SN 小动物储存柜, 美国热电(法国)公司; Jouan 台式大型离心机, 上海新力仪器有限公司提供。

## 2 方法

**2.1 分组与给药方法** 小鼠随机分 4 组, 分别是正常对照组, 黄连解毒汤加味敷药组, 阿莫西林组, 联合用药(黄连解毒汤加味敷药+阿莫西林)组, 每组 20 只。给药方法: 黄连解毒汤加味敷药组和联合用药组背部备皮(3 cm × 3 cm)后, 于每晚用黄连解毒汤加味透皮吸收剂剂量 50 g 中药/kg, 外敷于备皮部

**[收稿日期]** 2006-06-26

**[通讯作者]** \* 姜欣, Tel: 13386836314; E-mail: qichen\_2002@Yahoo.com.cn。

位 12 h, 第 2 日清晨温水洗掉药剂, 连续用药 7 d。阿莫西林组与联合用药组另每日灌胃阿莫西林药液 3 次, 剂量 30 mg/kg。

**2.2 口腔正常菌群测定** 于用药后第 8 天清晨用无菌咽刷小鼠口腔取菌, 涂于血液固体培养基表面(血含量 1: 20), 各组小鼠取菌接种量均为咽刷涂满直径 4.5 cm 平皿的培养基, 并于 37 °C 温箱培养 24 ~ 48 h, 检查菌落数。计数菌落总数并计数致病菌落数, 将菌落周围带溶血环、菌落小呈现灰色视为肺炎球菌, 菌落周围为透明溶血环视为乙型溶血性链球菌, 草绿色溶血环视为甲型溶血性链球菌的菌落。并通过镜下进一步确定。

**2.3 口腔溶菌酶测试** 于用药后第 8 天清晨, 每只小鼠口腔注入 1 mL 生理盐水, 然后回抽约 0.1~ 0.2 mL 漱口液备检。将供试唾液 0.1~ 0.2 mL 置小试管中, 放于 37 °C 水浴中预热 5 min, 再加入测试基质 1.8 mL 混匀, 2 min 后加一滴 5 mol/L KOH, 终止反应, 然后测其透光度 T1%。另取供试唾液 0.1~ 0.2 mL, 先加一滴 KOH, 然后放 37 °C 水浴中预热 5 min, 再加入基质 1.8 mL, 作用 2 min, 测透光度 T0%, 最后用 T1%, T0% 之差, 从标准曲线上查检品中溶菌酶含量。

**2.4 血清体外抑菌实验** 各组末次用药 12 h 后于第 8 天清晨, 小鼠摘眼球取血, 血液离心后分离血清备用。采用无菌血液营养培养基, 将适量金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、绿脓杆菌、白色念球菌分别

均匀涂于血液培养基和沙氏培养基表面, 取制备的无菌滤纸片(直径 5 mm), 分别浸小鼠血清均匀粘于培养基上, 置入 37 °C 温箱培养 24 h 后, 观察抑菌圈的大小。

**2.5 统计分析方法** 实验数据中口腔正常菌群测定与口腔溶菌酶测试记录数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 进行 *t* 检验, 血清体外抑菌试验数据进行  $\chi^2$  检验。

### 3 结果

**3.1 药物对口腔菌群的影响** 结果见表 1。

表 1 用药 7 d 对小鼠口腔正常菌群影响比较( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (g/kg)	菌落总数 (个)	致病菌菌落数 (个)
正常对照组	—	48.4 ± 12.5	6.0 ± 1.5
黄连解毒汤加味敷药组	50(外敷)	31.2 ± 8.6 <sup>1)</sup>	3.4 ± 1.2 <sup>1)</sup>
阿莫西林组	0.03(灌胃)	26.0 ± 5.7 <sup>1)</sup>	3.0 ± 1.2 <sup>1)</sup>
联合用药组	0.03(灌胃) + 50(外敷)	13.1 ± 6.1 <sup>2)</sup>	1.8 ± 0.9 <sup>2, 3)</sup>

注: 与正常对照组比较<sup>1)</sup> *P* < 0.05; 与黄连解毒汤加味敷药组比较<sup>2)</sup> *P* < 0.05; 与阿莫西林组比较<sup>3)</sup> *P* < 0.05。(下同)

**3.2 药物对口腔溶菌酶活性的影响** 结果见表 2。

表 2 用药 7 d 对小鼠口腔溶菌酶活性影响比较(*n* = 10)

组别	剂量 (g/kg)	酶活性 (μg/mL)
正常对照组	—	20.1 ± 2.8
黄连解毒汤加味敷药组	50(外敷)	24.8 ± 7.8
阿莫西林组	0.03(灌胃)	25.3 ± 6.5 <sup>1)</sup>
联合用药组	0.03(灌胃) + 50(外敷)	27.2 ± 10.6 <sup>1)</sup>

**3.3 药物血清的体外抑菌实验** 结果见表 3。

表 3 用药 7 d 血清体外抑菌实验结果比较(*n* = 10)

组别	剂量 (g/kg)	金黄色葡萄球菌		白色念球菌		绿脓杆菌		表皮葡萄球菌	
		有	无	有	无	有	无	有	无
正常对照组	—	2	8	1	9	0	10	1	9
黄连解毒汤加味敷药组	50(外敷)	5	5	4	6	1	9	4	6
阿莫西林组	0.03(灌胃)	6	4 <sup>1)</sup>	7	3 <sup>1)</sup>	1	9	5	5 <sup>1)</sup>
联合用药组	0.03(灌胃) + 50(外敷)	9	1 <sup>1)</sup>	8	2 <sup>1)</sup>	0	10	7	3 <sup>1)</sup>

注: \* 有: 有抑菌环, 无: 无抑菌环。

## 4 讨论

黄连解毒汤源于唐代王焘所著之《外台秘要》, 为一切火毒证的代表方。黄连解毒汤原方以其应用广泛, 疗效确切, 成为国内外研究热点。祖国医学通常采用清热解毒的中药来治疗“热性”疾病, 即感染性疾病。药理研究表明, 此方有抗菌、消炎作用<sup>[2]</sup>。临床研究显示, 其对呼吸系统疾病取得显著效果<sup>[3]</sup>。在原方黄连、黄芩、黄柏、栀子中另加大黄等中药制

成的透皮吸收剂经试验已证明其主要成分可通过动物皮肤渗透到体液中, 并引起体内寄生细菌发生动态变化, 受试动物血清对革兰阳性球菌有抑制作用<sup>[1]</sup>。

黄连解毒汤加味透皮吸收采用内病外治法, 可以不经过消化系统酶的作用, 保证了药物治疗活性成分不损失, 药物在皮肤间还有储存作用, 维持稳定持久的血药浓度, 可提高了疗效, 减 (下转第 55 页)

(上接第 46 页)少给药次数。本课题选取黄连解毒汤加味制成透皮吸收剂,发挥其清热解毒、抗菌抗病毒优势,直接透过皮肤吸收,内病外治,以期达到减轻临床症状,控制炎症发展及治愈的目的。

本实验研究可见黄连解毒汤加味透皮吸收剂对小鼠口腔菌群有抑制作用,其中致病菌菌落数明显低于正常对照组,有显著差异( $P < 0.05$ ),黄连解毒汤加味敷药与阿莫西林同用其效果则更加显著,均优于单独使用阿莫西林或单独使用敷药( $P < 0.05$ )。实验中黄连解毒汤加味敷药组小鼠口腔溶菌酶活性有一定提高。以上结果提示黄连解毒汤加味透皮吸收剂对口腔微生态平衡有调节作用,对呼吸系统感染有一定治疗和预防作用。小鼠血清体外抑菌实验,用药组血清对金黄色葡萄球菌、白色念球菌、表皮葡萄球菌表现出明显抑菌环,但黄连解毒汤加味敷药组与正常对照组尚无显著差异,而联合用药组

及阿莫西林组实验结果与正常对照组比有统计学意义( $P < 0.05$ )。通过本次实验研究表明黄连解毒汤加味透皮吸收剂与抗生素联合应用其抗菌作用优于单纯敷药、单纯使用抗生素。将黄连解毒汤加味透皮吸收剂同抗生素合用为急性呼吸道感染的治疗提供了一种新的方法。药物透皮吸收又有着口服药无法比拟的毒副作用小、用药方法简便等优点,这些为今后的实验研究并应用于临床奠定了基础。

#### [参考文献]

- [1] 姜欣,冯云,吕乃群. 中药透皮吸收及其抗感染生物效应的研究[J]. 辽宁中医杂志, 1997, 24(2): 81-83.
- [2] 高荣慧. 黄连解毒汤的临床应用[J]. 国外医学·中医中药分册, 2002, 24(3): 148-151.
- [3] 史红庭,倪鸿翔. 黄连解毒汤加味治疗肺炎型肺炎球菌病 70 例[J]. 安徽中医临床杂志, 1995, 7(4): 9-10.