

复方双花口服液抗菌作用研究

宋红月 谢念祥 牛惠珍 刘林祥

(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

摘 要 用复方双花口服液对体内外抗菌作用进行研究。研究使用多株(30~50)临床分离菌株作为试验菌株,以半数抑菌浓度判定抗菌作用强度,同时以细菌感染的小白鼠脓肿模型进行体内试验。实验结果应更接近于临床情况。

关键词 双花口服液 抗菌作用 琼脂稀释法 脓肿模型

In Vitro and in Vivo Antibacterial Activities of the Compound Honeysuckle Flower Oral Liquid

Song Hongyue Xie Nianxiang Niu Huizhen Liu Linxiang

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing, 100700)

Abstract: In vitro and in vivo antibacterial activities of the "Compound Honeysuckle Flower Oral Liquid" were investigated. The experiments employed multiple clinical isolates as test organisms in vitro and an infected mouse abscess model for in vivo study. The results appeared close to that of clinical features.

Key Words: Honeysuckle flower oral liquid, antibacterial activity, agar dilution, mouse abscess model

复方双花口服液是北京宣武医院研制的治疗细菌感染中药制剂。经多年临床试用,取得较好疗效。本研究的目的是用细菌学方法测定该制剂在体外抑制细菌生长及在小鼠感染模型体内的作用。

1 材料和方法

1.1 试验菌株 用于体外抑制作用研究的细菌共三种,其中金黄色葡萄球菌 51 株,大肠杆菌 51 株,乙型溶血性链球菌 30 株,均为北京医科大学第一附属医院惠赠的临床分离株的斜面培养物。所用标准菌株均为本室保

存的菌种(购自卫生部药品及生物制品研究所)。用于小白鼠感染的金黄色葡萄球菌系本实验室由东直门医院外科化脓性感染患者分离的临床株。该菌株经本室鉴定为甘露醇发酵阳性,血浆凝固酶阳性及血平板上完全溶血。胰酶消化大豆胨琼脂(TSA,OXOID 产品)斜面传代保存。实验前通过动物传代一次。

1.1.1 培养基 试验所用 TSA 为英国 OXOID 公司产品。TSA 血平板是以 TSA 为基础,补充以 5% 脱纤维兔血。

1.1.2 实验动物 本试验采用原中医研究

院动物房培育的 NIH 小白鼠, 14~16g, 雌雄各半。

1.1.3 药物制剂 试验用制剂由北京宣武医院制剂室提供。原制剂生药含量为 10.87g/ml, 不含防腐剂。试验前用无菌蒸馏水稀释至所需浓度。体外试验前煮沸消毒 30min。

1.2 体外抑菌试验方法 本试验采用琼脂稀释法^[1,2]: 在融化的 TSA 中加入不同浓度的双花口服液制剂, 倾注成含不同药物浓度的平板, 置 37℃ 温箱中过夜作无菌检查并使培养基表面干燥。由试验菌株 24h 斜面培养物上刮取少许菌落置于 2ml 0.05% 酵母粉水中制成悬液, 比浊至麦氏比浊管 1 号管的 1/2, 再用酵母粉水稀释 40 倍。该悬液中细菌含量约为 $6 \times 10^4 \sim 6 \times 10^5$ CFU/5 μ l, 用微量加样器吸取稀释好的菌液 5 μ l, 分别滴种于不同药物浓度的平板培养基上。同时接种不含药物的平板培养基作为对照。接种后的平板置 37℃ 温箱中培养 24h。观察并记录不同药物浓度平板上生长被抑制的菌株数、抑制率及半数抑菌浓度 (IC₅₀)。

1.2.1 小白鼠脓肿模型^[3] 取金黄色葡萄球菌斜面培养物接种于 2ml TSB 中, 37℃ 培养 7h 取该培养物 0.1ml 转种于 10ml TSB 中, 再培养 17h。将上述 7~17h 培养物用 5% 无菌胃膜素 (北京生化制药厂产品) 悬液作 30 倍稀释。拔去小白鼠背部毛, 于裸露处皮下接种菌悬液 0.1ml, 感染后逐日观察背部脓肿形成及痊愈情况, 测量并记录脓肿面积。

1.2.2 小白鼠腹腔内感染模型^[4] 金黄色

葡萄球菌的培养方法同前。用 5% 胃膜素悬液将 7~17h 培养物稀释 7 倍。腹腔内注射, 每只 0.5ml, 逐日观察并记录死亡数。

1.2.3 动物给药 从感染前 2 日开始灌胃给药, 每日每只灌喂药物制剂 0.6g (生药, 以体重计, 相当于 50kg 成人每日用量的 100 倍), 分 2 次给予, 共 9d。青霉素 G 钾盐注射剂作为阳性药物对照, 每鼠每日 5000 单位, 肌肉注射。

2 结果

2.1 体外抑菌试验

2.1.1 对标准菌株的作用 标准菌株中包括常见的化脓性球菌及肠道杆菌, 枯草杆菌作为常见的芽胞杆菌以观察该制剂对细菌芽胞的作用。复方双花制剂对各标准菌株的最低抑菌浓度 (MIC, mg/ml) 如下: 金黄色葡萄球菌: 25, 白色葡萄球菌: 100, 大肠杆菌: 100, 变形杆菌: 25, 绿脓杆菌: 100, 福氏 2a 痢疾杆菌: 100, 宋内氏痢疾杆菌: 6.25, 副伤寒甲杆菌: 50, 肠球菌: 100, 枯草杆菌: 400。结果表明复方双花制剂对金黄色葡萄球菌的抑菌力比大部分其他细菌稍强, 对芽胞杆菌作用很低。

2.1.2 对临床分离菌株的作用 复方双花制剂对革兰氏阳性的金黄色葡萄球菌的作用远较革兰氏阴性的大肠杆菌为强 (表 1, 表 2)。抑制半数大肠杆菌所需的药物浓度 8 倍于金黄色葡萄球菌 (抑制金黄色葡萄球菌的 IC₅₀ = 6.64mg/ml, 大肠杆菌的 IC₅₀ = 50.69mg/ml.)

表 1 复方双花口服液对金黄色葡萄球菌生长的抑制作用

试验菌株	药物浓度 (mg/ml)										
	400	200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39
被抑制菌株数	51/51	51/51	51/51	51/51	50/51	43/51	29/51	1/51	0/51	0/51	0/51
被抑制百分率	100	100	100	100	98.0	84.3	56.8	1.9	0	0	0

表 2 复方双花口服液对大肠杆菌生长的抑制作用

试验菌株	药物浓度 (mg/ml)						
	400	200	100	50	25	12.5	6.25
被抑菌株数	50/51	50/51	46/51	15/51	8/51	4/51	1/51
被抑百分率	98.0	98.0	90.1	29.4	15.6	7.8	1.9

乙型溶血性链球菌对复方双花口服液制剂的抵抗力比上述两种细菌都要强 (IC₅₀ = 235.11mg/ml) (表 3)。

2.2 复方双花口服液对感染动物的保护作用

表 3 复方双花口服液制剂对乙型链球菌生长的抑制作用

试验菌株	药物浓度(mg/ml)					
	800	400	200	100	50	25
被抑制菌株数	30/30	25/30	8/30	4/30	1/30	0/30
被抑制百分率	100	83.3	26.6	13.3	3.3	0

用 复方双花口服液制剂对于小白鼠背部皮下脓肿的痊愈有明显的促进作用。该制剂虽然未能在细菌感染后抑制脓肿形成,但在脓肿面积及结痂时间上均与细菌感染对照有明显的统计学差异(表 4)。

表 4 复方双花口服液制剂抑制小白鼠脓肿形成的作用($\bar{x} \pm s$)

组别	感染后时间(h)	脓肿面积(mm ²)	结痂动物数
对 照 组	24	74.7 $\pm$ 33.7	
	48	73.1 $\pm$ 32.5	
	72	69.7 $\pm$ 26.6	
	96	67.7 $\pm$ 27.1	
	120		1/10
	144		2/10
药 物 组	24	61.0 $\pm$ 63.4	
	48	37.7 $\pm$ 34.6*	
	72	35.3 $\pm$ 32.4*	
	96	34.2 $\pm$ 29.6*	
	120		9/10**
	144		9/10*

与同期对照组比较 * $P < 0.06$ ** $P < 0.001$

2.2.1 青霉素 G 钾盐作为阳性对照药物的实验 结果表明,感染后第 1d,对照组动物全部发生脓肿,而给予青霉素的动物 10 只中无 1 只出现脓肿。到第 2d,青霉素组有 6 只动物出现脓肿,但面积显著小于对照组(表 5),以后即很快结痂。到第 6d 全部痊愈,而对照组直到第 7d 只有 3 只结痂。

表 5 青霉素对小白鼠皮下脓肿的作用

组 别	脓肿动物数		脓肿面积(mm ² , $\bar{x} \pm s$)	
	24h	48h	24h	48h
对照组	10/10	10/10	45.8 $\pm$ 20.8	45.4 $\pm$ 18.7
青霉素组	0/10	6/10	0	9.8 $\pm$ 9.7***

与同期对照组比 *** $P < 0.001$ 24h, 48h: 感染后时间

2.2.2 死亡保护实验 结果没有观察到复方双花口服液制剂保护作用,而青霉素则显

示明显的保护作用(表 6)。

表 6 复方双花口服液制剂对小白鼠的死亡保护作用

实验组别	死亡数
对照组	9/10
药物组	9/10
青霉素组	0/10**

与对照组比 ** $P < 0.01$

3 讨论

复方双花口服液由金银花、穿心莲、大青叶和玄参组成。前三味药都具有清热解毒、治疗痈肿疮毒的功能,在细菌感染中能够起到抑制细菌的作用。玄参除了能滋阴润燥外,还有降火解毒的作用。所以数药配合,在临床上显示出较好的疗效。

在本研究中,复方双花制剂在体外对金黄色葡萄球菌的作用最强,25mg/ml 的药物浓度即可以抑制 98% 的试验菌株, $IC_{50} = 6.64\text{mg/ml}$ 。复方双花制剂的临床用量,成人每日合 20g 生药,为其 IC_{50} 的 3000 多倍。中药(特别是复方)对机体的作用是多方面的,所以临床有较好的疗效并不能完全依它有无较强的抑菌作用来解释。

复方双花口服液制剂在小白鼠腹腔内感染的模型中虽然没有显示出保护作用,但却能使动物皮下脓肿的发展受到抑制,并能促进脓肿的痊愈过程。这在我们过去的类似研究中是不多见的^[3],说明复方双花口服液临床上的良好的治疗作用是有根据的。

参考文献

- 1 Brown, W. J. and P. E. Waatti. Antimicrob. Agents Chemother, 1980, 17: 629
- 2 Erricssen, H. M. and J. C. Sherrris. Acta Path. Microbiol. Scand., Sec. B, Suppl, 1971, 217
- 3 刘林祥, 宋红月. 微生物学通报, 1983, 10: 168
- 4 高玉桂, 宋玉梅, 杨友义. 药学学报, 1979, 14: 75

(收稿: 1997-02-18)