

# 一种自拟中药复方及其含药血清的抑菌效果

邱 妍, 毛龙娟, 董发明, 林 霖  
(河南科技大学 动物科技学院, 河南 洛阳 471003)

**摘要:** 为了探讨自拟复方对大肠杆菌的抑菌效果, 选用 7 种常见中药组成复方, 以白头翁汤作为对照, 采取传统水煎法提取药液, 利用纸片法和试管二倍稀释法测定中药复方药液对大肠杆菌的抑菌效果; 并分别制备 2 种复方的含药血清, 观察含药血清的抑菌效果。结果表明: 自拟复方药液的抑菌圈直径为 20.3 mm, 最小抑菌质量浓度为 31.25 mg/mL, 白头翁汤药液的抑菌圈直径为 15.5 mm, 最小抑菌质量浓度为 125.0 mg/mL; 以免为试验动物, 最后一次给药后 1 h 采集的自拟复方的免含药血清抑菌效果最佳, 抑菌圈直径为 11.5 mm, 白头翁汤的免含药血清则是在最后一次给药后 2 h 采集的抑菌效果最佳, 抑菌圈直径为 11.0 mm。自拟复方的总体抑菌效果优于白头翁汤, 为自拟复方的深入研究进而应用于兽医临床提供了理论基础。

**关键词:** 自拟中药复方; 白头翁汤; 大肠杆菌; 含药血清; 抑菌

**中图分类号:** S853.74 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)12-0146-03

## The Effect of Antibacterial Activity of a Self-made Chinese Medicine Compound and Drug-containing Serum

QIU Yan, MAO Long-juan, DONG Fa-ming, LIN Lin

(College of Animal Technology, Henan Science and Technology University, Luoyang 471003, China)

**Abstract:** In order to explore the antibacterial effect of a kind of self-made Chinese medicine compound on *E. coli*, seven common Chinese herbal medicines were selected as a compound. *Pulsatilla* decoction was used as a control and the liquid were extracted by the traditional decoction. The antibacterial activity was determined by disc diffusion method and tube double dilution method. The medicines of these compounds containing serums were prepared to observe the antibacterial effect. The results showed that the inhibition zone diameter of self-made Chinese medicine compound was 20.3 mm, longer than the 15.5 mm of *Pulsatilla* decoction. The minimal inhibitory concentration (MIC) of self-made Chinese medicine compound was 31.25 mg/mL while that of *Pulsatilla* decoction was 125.0 mg/mL. The antibacterial effect of drug-containing serum of self-made compound collected at 1 h after the last dose was better, but for *Pulsatilla* decoction the serum collection time was better at 2 h. The inhibition zone diameters of drug-containing serums were 11.5 mm and 11.0 mm, respectively. This indicated that the overall of the antibacterial effect of self-made compound is better than *Pulsatilla* decoction, providing a theoretical basis for further studying of the self-made compound and its practical application.

**Key words:** self-made Chinese medicine compound; *Pulsatilla* decoction; *E. coli*; drug-containing serum; antibacteria

收稿日期: 2012-09-16

基金项目: 洛阳市科技攻关项目(1101015a); 河南科技大学博士启动基金项目(09001240)

作者简介: 邱 妍(1980-), 女, 河南台前人, 副教授, 博士, 主要从事中兽药相关研究。E-mail: qiuyan135@sina.com

致病性大肠杆菌是一年四季均可致病且多呈地方流行性的一种病菌,幼畜尤其是生长较快的畜禽对该病菌最易感,死亡率极高。目前,控制大肠杆菌病的主要方法仍是药物防治。在养殖过程中,合理应用抗菌素不仅可以促进畜禽的生长,还可以预防和治疗疾病。但如果长期不合理使用甚至滥用,不但起不到防病治病的效果,反而会产生耐药性等不良后果,严重危害人类健康。

中草药不易产生抗药性和耐药性,其来源广泛、方剂多样、价格低廉、标本兼治,安全低毒,而且能够增强动物机体抗病力和抗应激能力,促进生长,应用中草药防治疫病具有独特的优势。研究证明,多数清热解毒、清热燥湿类中药有较好的抑菌活性<sup>[1]</sup>。多数报道都是采用体外试验来测定中药的抑菌活性,但体外抑菌试验不能反映药物在体内抑菌的真实情况,用含药血清进行抑菌试验能较真实地反映该中药的药效,有利于抗菌机制的阐明。本试验选择 7 种常见中药,根据中药配伍原则组成自拟复方,以经典方剂白头翁汤作为对照,通过体外抑菌试验测定其抑菌效果,并测定其含药血清的抑菌效果和含药血清的最佳采集时间,为该自拟复方在兽医临床上的进一步应用提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

黄芩、连翘、穿心莲、马齿苋、大蒜、石榴皮、杨树花、白头翁、黄连、黄柏、秦皮,均购于洛阳市涧西区好一生北京同仁堂店,所有药物经鉴定均符合生药质量标准。致病性大肠杆菌由河南科技大学动物科技学院微生物试验室提供;直径 9 mm 的圆形滤纸片,灭菌,干燥,备用。

### 1.2 试验动物

7 月龄大耳白兔 10 只,雌雄各半,购于河南科技大学试验动物中心。

### 1.3 中药药液的制备

自拟复方汤剂:黄芩、连翘、穿心莲、马齿苋、大蒜、杨树花、石榴皮各 30 g 切碎,加水 400~500 mL,浸泡 30 min 后煮沸,文火煎 30 min,滤出煎液;药渣加水 300 mL 煎煮,过滤;重复 3 次,过滤合并滤液,浓缩至 1 g/mL,抽滤,灭菌备用。白头翁汤剂:按照 4:2:3:4 称取白头翁、黄连、黄柏、秦皮,共 234 g,煎煮及保存方法同上。

### 1.4 动物分组及灌喂

大耳白兔置于洁净环境中饲喂 1 个月,饲料中

不添加任何药物,确定兔状态良好。之后将兔随机分为 A、B 两组,耳缘静脉采血,分离血清,冷冻保存。次日灌胃给药,A 组灌喂自拟复方汤剂,B 组灌喂白头翁汤剂,剂量为 1.5 g/kg 体质量,早晚各 1 次,连续给药 5 d。分别于最后一次给药后 0.5、1、2、4、8 h 耳缘静脉采血 2 mL,分离血清,冷冻保存备用。

### 1.5 药敏试验

将无菌纸片分别在含药血清及复方药液中浸泡 5 min,沥干,均匀贴在涂好菌液的营养琼脂板上,并设置阴性血清、生理盐水纸片做对照,置 37 °C 下恒温培养,6~8 h 后测量并记录各纸片周围抑菌圈直径大小,各重复 5 次取平均值。

### 1.6 最小抑菌浓度的测定

大肠杆菌菌液用生理盐水以 10 倍比分别稀释为  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$  和  $10^{-8}$ 。各吸取 20  $\mu$ L 均匀涂于琼脂平板上,各做 2 个重复,置 37 °C 下培养。18~20 h 后计算菌落平均数量。根据菌液的稀释度计算出细菌量,调整细菌浓度为  $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$  个/mL。复方药液及含药血清的最小抑菌浓度采用试管二倍法进行测定<sup>[2]</sup>。

### 1.7 数据分析

数据以平均值+标准差表示,并用 SPSS 软件进行 Duncan's 分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 2 种中药复方对大肠杆菌的抑菌效果

本试验用纸片法测定了 2 种中药复方对大肠杆菌的抑制效果,结果显示,2 种复方药液均有明显抑菌圈,自拟复方的抑菌圈直径为 20.3 mm,白头翁汤的抑菌圈直径为 15.5 mm,两者相比,自拟复方的抑菌圈直径比白头翁汤的大 4.8 mm,差异显著 ( $P < 0.05$ )。

### 2.2 2 种中药复方的最小抑菌浓度

本试验用试管二倍稀释法测定了 2 种中药复方对大肠杆菌的最小抑菌浓度。由表 1 可见,当自拟复方稀释度为  $2^{-1} \sim 2^{-5}$  时,试管内液体均澄清,当自拟复方稀释到  $2^{-6}$  时,试管内液体开始稍有浑浊,此后浑浊度随药物浓度下降而逐渐升高。而白头翁汤稀释浓度为  $2^{-1} \sim 2^{-3}$  时,试管内液体均澄清,当白头翁汤稀释到  $2^{-4}$  时,试管内液体开始稍有浑浊,此后浑浊度随药物浓度下降而逐渐升高。这表明自拟复方的最小抑菌浓度为  $2^{-5}$  g/mL 药液浓度,即 31.25 mg/mL;白头翁汤的最小抑菌浓度为  $2^{-3}$  g/mL 药液浓度,即 125.0 mg/mL。

表 1 2 种中药复方不同质量浓度药液对大肠杆菌的抑菌效果

药液质量浓度/(g/mL)	2 <sup>-1</sup>	2 <sup>-2</sup>	2 <sup>-3</sup>	2 <sup>-4</sup>	2 <sup>-5</sup>	2 <sup>-6</sup>	2 <sup>-7</sup>	2 <sup>-8</sup>	2 <sup>-9</sup>	0
自拟复方	—	—	—	—	—	+	++	++++	++++	++++
白头翁汤	—	—	—	+	++	+++	+++	++++	++++	++++

注: +表示浑浊度, —表示澄清。

### 2.3 2 种中药复方不同时间的含药血清对大肠杆菌的抑菌效果

本试验用兔作为试验动物, 在最后一次灌胃给药后的几个不同时间点分别采血, 用纸片法测定了 2 种中药复方含药血清的抑菌效果。结果显示, 在最后一次灌胃自拟复方后 1 h 采集的含药血清的抑菌圈

直径最大, 为 11.5 mm, 在最后一次灌胃白头翁汤后 2 h 采集的含药血清的抑菌圈直径最大, 为 11.0 mm, 均与阴性对照血清差异显著 ( $P < 0.05$ )。自拟复方的含药血清抑菌圈大于白头翁汤的, 并且抑菌圈直径均和采血时间有相关性。表中阴性血清的抑菌圈为 9.0 mm, 仅是指纸片的直径, 无抑菌效果。

表 2 2 种中药复方不同时间的含药血清对大肠杆菌的抑菌圈直径

mm

项目	最后一次给药后时间/h				
	0.5	1	2	4	8
自拟复方	11.1±0.6 <sup>b</sup>	11.5±0.6 <sup>b</sup>	11.0±0.5 <sup>b</sup>	10.2±0.4 <sup>b</sup>	9.4±0.2 <sup>a</sup>
白头翁汤	10.6±0.5 <sup>b</sup>	10.8±0.5 <sup>b</sup>	11.0±0.6 <sup>b</sup>	10.0±0.2 <sup>ab</sup>	9.1±0.1 <sup>a</sup>
阴性对照	9.0±0.0 <sup>a</sup>	9.0±0.0 <sup>a</sup>	9.0±0.0 <sup>a</sup>	9.0±0.0 <sup>a</sup>	9.0±0.0 <sup>a</sup>

注: 同列数据肩标字母不同者差异显著 ( $P < 0.05$ ); 表中直径指抑菌圈的外边缘直径。

## 3 讨论

白头翁汤具有清热燥湿、凉血止痢之功效, 为公认的湿热痢疾的首选方剂, 目前兽医临床上常用于细菌性痢疾的治疗, 效果显著<sup>[3-4]</sup>。然而中药方剂多种多样, 只要配伍得当, 也可以发挥强效作用。本试验在前期试验的基础上选择了 7 种中药自拟复方, 以白头翁汤作为对照, 通过体外抑菌试验初步探讨此自拟复方的抑菌效果。研究发现, 自拟复方药液的最小抑菌浓度明显低于白头翁汤, 说明自拟复方对大肠杆菌的体外抑菌效果优于白头翁汤。

但是单纯的体外抑菌试验不能完全说明体内的效果, 因此, 还测定了 2 种中药复方含药血清的抑菌效果, 较真实地反映中药复方的药效, 使试验结果的可信度大大提高。结果表明, 通过比较不同采血时间的含药血清对大肠杆菌的抑菌圈, 显示白头翁汤在最后一次给药后 2.0 h 为最佳采血时间, 与此前相关研究结果相符<sup>[5]</sup>。而自拟复方的含药血清的采集时间在给药后 1.0 h 为最佳。这可能与中药成

分复杂有关, 不同的药物达到血药浓度高峰的时间不同。李仪奎等<sup>[6]</sup>报道多数中药达峰浓度的时间为 1~2 h, 采血时间应以此时间段为宜, 本试验研究结果与之相符, 为将自拟复方应用到兽医临床实践奠定了理论基础。

### 参考文献:

- [1] 蒋丹, 王关林. 22 种中草药抑菌活性的研究[J]. 辽宁高职学报, 2003, 5(4): 140-141.
- [2] 马兴树. 禽传染病试验诊断技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [3] 秦振华. 白头翁汤加味治疗暴发性犊牛血痢[J]. 中兽医医药杂志, 2006, 25(4): 50-51.
- [4] 温伟. 中药白头翁汤加味治疗雏鸡白痢的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2009(5): 109-110.
- [5] 陈绍辉, 常乐, 肖荪, 等. 白头翁汤含药血清抑菌作用观察[J]. 中国兽医杂志, 2008, 44(9): 14-15.
- [6] 李仪奎, 吴健宇. 血清药理学试验中采血时间的通法方案[J]. 中国药理学通报, 1999, 15(6): 569-570.