

表 3 不同作者定量检测黄连对金葡菌抑菌活性报道情况

作者	报道年代	所用培养基	菌株数	菌株来源	MIC
刘国声 ^[3]	1950	肉膏汤	1	实验室保存	1: 160
中国医科学院药 物研究所 ^[5]	1960	肉膏汤	1	实验室保存	1: 128
陈杏科等 ^[14]	1987	双料基础培养基	1	实验室保存	1: 640
魏长志等 ^[9]	1994	营养琼脂	1	实验室保存	1: 320
本试验	2000	M-H琼脂	112	临床菌株	1: 1 280

* MIC₅₀数值

0.08 mg /mL,因此,要想对一种中药客观地反映其抑菌效果,就必须采用大样本,至少同一菌种的抑菌实验应在 30株以上,否则很难有代表性和重复性。

关于接种细菌方法,过去接种菌株,一般采用手工方法,由于取菌量不一,往往会出现误差,而且手工接种每次只能接种 1株细菌,不仅费时、费力,同时准确性差,建议今后琼脂稀释法应采用多点接种仪接种细菌,不仅易于操作,每次可接种至少 28株细菌,同时由于取菌量一致,从而保证了结果的准确性。

总之,中药抑菌实验宜采用 M-H琼脂,淘汰使用营养琼脂,采用大样本以多点接种仪进行实验,可促进中药抑菌实验逐步走向标准化,为中药尽快走向世界创造条件,发挥中药为全人类服务的重要作用。

参考文献:

- [1] 王浴生,邓文龙,薛春生.中药药理与应用[M].第二版.北京:人民卫生出版社,1998.
- [2] 徐仲吕.89种中药对志贺氏菌痢之体外抗生实验研究[J].中

华医学杂志,1947,3(3): 71-75.

- [3] 刘国声.中药抗生力研究(第二报)[J].中华新医学报,1950,1(4): 285-287.
- [4] 西安医学院附一院检验科.黄连、黄柏及小檗碱对痢疾杆菌及金黄色葡萄球菌抗生作用的观察[J].西安医学院学报,1958,(5): 40-42.
- [5] 中国医学科学院药物研究所.545种中药的抗菌作用筛选[J].药学通报,1960,(2): 59-63.
- [6] 向近敏,叶宗蕃.青霉素与黄连对化脓性葡萄球菌作用的比较[J].中华医学杂志,1957,(4): 276-277.
- [7] 微生物教研组.110种中药抗菌谱试验的初步结果[J].山东医学院学报,1959,(8): 42-45.
- [8] 郝洪贵.62种中药对小儿腹泻致病性大肠杆菌抗菌作用研究[J].辽宁医学杂志,1960,(9): 32-34.
- [9] 魏长志,张来周,时淑平.黄连与香连丸的体外抑菌实验对比[J].山东中医杂志,1994,13(1): 34-35.
- [10] 163医院药局.中药汤剂煎煮方法研究[J].中草药通讯,1976,6(7): 16-18.
- [11] 李仲兴,郑家齐,李家宏.诊断细菌学[M].香港:黄河文化出版社,1992.
- [12] Balows A. Manual of Clinical Microbiology [J]. 5th. Washington, DC: Am Society for Microbiology, 1991.
- [13] 李仲兴,王秀华,赵建宏,等.应用 M-H琼脂进行连翘体外抗菌实验的效果观察[J].中国中药杂志,2000,25(12): 742-745.
- [14] 陈杏科,黄必奎.黄连及其炮制品的体外抗菌研究[J].中成药研究,1987,9(5): 18.

大承气汤对大鼠肠平滑肌细胞内磷酸二酯酶的影响

谢文利¹,林秀珍²,马德禄²,李宏捷^{2*}

(1. 武警医学院 药理教研室,天津 300162 2 天津医科大学,天津 300070)

摘要:目的 探讨大承气汤的“通里攻下”作用与肌醇脂质信号系统的关系,进一步阐明大承气汤的作用机制。方法 采用反相高效液相色谱法分别测定了手术对照组、肠梗阻模型组、不同剂量大承气汤组的大鼠肠平滑肌细胞内磷酸二酯酶(PDE)的含量。结果 体内实验发现:50%、100%、250%大承气汤可使肠梗阻大鼠肠平滑肌细胞内PDE含量明显升高($P < 0.05$)。体外实验发现:50%、100%、250%大承气汤可使肠梗阻大鼠肠平滑肌细胞内PDE含量明显升高($P < 0.05$)。结论 大承气汤可使大鼠肠平滑肌细胞内钙调蛋白(CaM)活性提高,由此推断,大承气汤的通里攻下作用很可能是通过激活肌醇脂质(IP₃)信号转导系统使胃肠道平滑肌细胞内Ca²⁺释放增加,再通过CaM间接地激活一系列的蛋白激酶而实现。

关键词:大承气汤; IP₃; CaM; PDE; 肠道平滑肌

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2001)04-0339-03

* 收稿日期: 2000-07-08

作者简介: 谢文利(1968-),男,湖南,讲师,硕士学位。本科毕业于中国药科大学,硕士毕业于天津医科大学。研究方向为生化药理。
Tel 24372788-78457

Effect of DACHENGQITANG* on phosphodiesterase in enteral smooth muscle cell in rats

XIE Wen-li¹, LIN Xiu-zhen², MA De-lu², LI Hong-jie²

(1. Department of Pharmacology, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China; 2. Tianjin University of Medical Sciences, Tianjin 300070, China)

Key words DACHENGQITANG; IP₃; CaM; PDE; enteral smooth muscles

* DACHENGQITANG is a ready-made recipe of TCM.

大承气汤是《伤寒论》中重要方剂之一,由大黄、枳实、厚朴、芒硝 4味中药组成。以往的实验及临床均证明大承气汤能增强胃肠道推进功能,从而产生泻下作用^[1],近年来,发现肌醇脂质在细胞跨膜信号传递中起着重要作用,其中的 IP₃促进肌收缩的作用机制也已阐明^[2]。由此可见,IP₃是参与调节消化道平滑肌活动的重要物质。本实验选用大鼠不完全肠梗阻模型,采用了酶学分析法测定了大承气汤作用下肠道平滑肌细胞内磷酸二酯酶(PDE)的变化,以探讨大承气汤的“通里攻下”作用是否与肌醇脂质信号系统的作用有关,从而为进一步阐明大承气汤泻下作用的机制提供理论依据。

1 材料

1.1 试剂和药品:大承气汤,浓度为 100% (相当于 1 g 生药 /mL) 天津市南开医院制剂室提供 (实验所用 50% 大承气汤由 100% 大承气汤加双蒸水稀释 1 倍制成,250% 大承气汤由 100% 大承气汤加热浓缩 2.5 倍制成);环磷酸腺苷,腺苷,标准牛血清蛋白,二硫苏糖醇, Sigma 公司出品;苯甲基磺酰氟,中预卫科生物工程部出品。

1.2 仪器: GL-20G-II 型高速冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂; 722 型光栅分光光度计,上海第三分析仪器厂;高效液相色谱仪:美国光谱物理公司 (SP8800 三元梯度泵;检测器 UV-200);选用 254 nm 作为检测波长;色谱柱: 150 nm× 7.8 mm;内装 RB ODS C₁₈, 5μm; SP4400 积分仪。

1.3 动物: Wistar 大鼠,雌雄兼用,体重 190~ 250 g,天津药物研究院动物室提供。

2 方法与结果

2.1 体内实验:取大鼠随机分为 5 组。肠梗阻模型组:取大鼠在乙醚麻醉下,沿腹中线耻骨联合上 2~ 3 cm 处打开腹腔,以回盲部为界,在其向头端 2 cm 处穿线结扎 1/2 回肠,造成不完全性肠梗阻模型。手术后立即用生理盐水 ig,剂量 1 mL/100 g,肠管梗阻 24 h 后再用相同剂量生理盐水 ig 1 次,1 h 后处死动物。手术对照组:手术方法同肠梗阻模型组,只是用粗线穿过 1/2 回肠,但不结扎肠管,没有造成实验性肠梗阻。并在前述实验条件下给予生理盐

水 50%, 100%, 250% 大承气汤治疗组:分别用 50%, 100%, 250% 大承气汤代生理盐水 ig,剂量为 1 mL/100 g (分别相当于 5, 10, 25 g 生药 /kg),其余同肠梗阻模型组。制备大鼠肠平滑肌 PDE 样品^[3]:大鼠断头处死,立即从原切口处打开腹腔,自结扎部位向上剪取梗阻肠管或相应对照组肠管一段。用冷的 Gaddum 生理溶液将肠管冲洗干净。在上述充 O₂ 生理溶液中,将肠平滑肌的环行肌煎成重 50~ 100 mg 的小块。用滤纸吸干水分后加 10 倍容积的 20 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.6) 用玻璃匀浆器制成匀浆,4℃, 14 650× g 离心 30 min,取上清液即为 PDE 样品, - 30℃ 冰箱快速冰冻备用。PDE 测定采用周汉良等建立的方法进行^[4],结果见表 1。模型组肠平滑肌细胞内 PDE 活性明显低于手术对照组 ($P < 0.05$),而 50%, 100%, 250% 大承气汤治疗组肠平滑肌细胞内 PDE 活性明显高于模型组 ($P < 0.05$),且与大承气汤浓度呈正相关,从而反映出 CaM 活性也高于模型组。

表 1 大承气汤体内对 PDE 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	PDE 活性 (nmol/g. protein· min)
手术对照	7	37.16± 5.44
模型	7	14.54± 3.09
50% 大承气汤	7	36.30± 5.54
100% 大承气汤	7	48.02± 9.31 [*]
250% 大承气汤	7	59.63± 10.74

与模型组比较: * $P < 0.05$

2.2 体外实验:取大鼠按文献方法^[5]略加改动制备肠平滑肌细胞悬液:断头处死大鼠,以回盲部为界。在其向头端 2 cm 以上取出一段回肠。用 Gaddum 液将肠管冲洗干净,除去大网膜,小心剥去浆膜和粘膜,纵行肌,将环行肌剪成小块。放入 MEM 培养液中 (pH 7.4),加入 0.1% 胶原酶,在振荡式水浴中温育 15 min, 250× g 离心 5 min,同法再温育 15 min。分散的平滑肌细胞用 50μm 尼龙网过筛,重新悬浮于 MEM 液中。取 4 支试管,加入肠平滑肌细胞悬液,使细胞浓度 5×10^5 /mL,总体积 2 mL。前 3 管分别加入 50%, 100%, 250% 大承气汤各 100μL (分别相当于生药 0.05, 0.1, 0.25 g),第 4 管加入双蒸水 100μL 作为空白对照。摇匀各管,37℃ 水

浴温育 15 min,迅速液氮冷冻终止反应。250× g 离心 5 min 弃去上层液,用 Gaddum 液洗 2 次,重新悬浮试管内沉淀的细胞。然后用与体内实验相同的方法提取 PDE,测定 PDE 含量,结果见表 2。50%、100% 和 250% 大承气汤组 PDE 活性均高于正常对照组 ($P < 0.05$),且与大承气汤浓度呈正相关,从而反映出以上 3 组的 CaM 活性也高于正常对照组。

表 2 大承气汤体外对 PDE 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	PDE 活性 (nmol/g. protein ^o min)
正常对照	6	37.59±5.16
50% 大承气汤	6	53.59±11.07 [*]
100% 大承气汤	6	59.02±11.31 [*]
250% 大承气汤	6	67.63±10.74 [*]

与正常对照组比较: * $P < 0.05$

3 讨论

大承气汤具有通里攻下、泻热除满等作用。动物实验证明大承气汤有明显的胃肠推进及增加肠容积的效应。同时,人体研究也证明,可兴奋小肠肠管的运动功能,导泻的成功与否常是大承气汤取得疗效的关键^[6]。消化道平滑肌活动主要由两个信号转导系统调节。其中环核苷酸系统 (cAMR cGMP) 介导

舒张,肌醇脂质信号系统介导收缩的机制已经阐明。

本实验采用酶学分析法测定 CaM 体内外实验结果显示:大承气汤可使正常和肠梗阻大鼠肠道平滑肌细胞内 CaM 活性提高,作者以往的实验已经证实大承气汤的“通里攻下”的机制是通过作用于肌醇脂质信号系统,使 IB 介导的 Ca^{2+} 通道开放,将 Ca^{2+} 从内质网中释放出来,使细胞内 Ca^{2+} 浓度升高。直接或通过 CaM 间接地激活一些蛋白激酶,调节蛋白的磷酸化,使平滑肌收缩。

参考文献:

- [1] 吴咸中. 急腹症研究 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1988.
- [2] Berzidge M R. Inositol triphosphate and diacylglycerol as second messengers [J]. Biochem J, 1984, 220: 345-347.
- [3] Zhou H L. Agonist-related differences in the relationship between cAMP content and protein kinase activity in canine trachealis [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1992, 261: 1260-1267.
- [4] 周汉良. 反相高效液相色谱测定白细胞与气管平滑肌环核苷酸磷酸二酯酶活性 [J]. 中国药理学通报, 1995, 11(4): 420-423.
- [5] Agnieszka Ladlowicz. Effects of somatostation on inositol-trisphosphate content in mouse spleen lymphocytes [J]. Comp Biochem Physiol, 1992, 101: 661-665.
- [6] 田在善, 沈长虹, 吴咸中, 等. 大承气汤治疗痞满燥实症机理的实验研究 [J]. 中国中药杂志, 1993, 18(3): 170-174.
- [7] 谢文利, 林秀珍, 齐刚. 大承气汤颗粒剂对大鼠肠平滑肌细胞内三磷酸肌醇的影响 [J]. 中草药, 1999, 30(12): 923-925.

风湿 1 号颗粒的抗痛风作用

多月英^{*}, 王宇伟, 申秀萍, 张道莹, 梅学仁
(天津药物研究院, 天津 300193)

摘要:目的 研究风湿 1 号颗粒的抗痛风作用。方法 风湿 1 号颗粒 ig 给药,并用消炎痛和秋水仙碱作对照。结果 在 5、10、20 g 生药剂量下,具有非常显著的抗痛风性关节炎的作用。其中对尿酸钠诱导的小鼠足肿、大鼠足肿和家兔急性痛风性关节炎的抑制作用较强,在以上几种实验性痛风性关节炎模型上,该药的抗痛风作用强于阳性对照药消炎痛和秋水仙碱。结论 风湿 1 号颗粒在临床上能够治疗痛风性关节炎。

关键词: 风湿 1 号; 痛风性关节炎; 抗痛风

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)04-0341-03

Anti-gout effect of No. 1 FENGSHI GRANULES

DUO Yue-ying, WANG Yu-wei, SHEN Xiu-ping, ZHANG Dao-ying, MEI Xue-ren

(Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

Key word No. 1 FENGSHI GRANULES^{*}; gouty arthritis; anti-gout

* No. 1 FENGSHI GRANULES is a recipe of TCM used in the treatment of gouty arthritis

* 收稿日期: 2000-10-16

作者简介: 多月英 (1961-), 女, 内蒙古人, 鄂温克族, 副主任药师。1983 年毕业于佳木斯医学院, 先在黑龙江省大兴安岭卫校任基础部主任, 后在黑龙江省大兴安岭制药厂任技术厂长, 现任山东省威海迪沙药业有限公司副总经理和总工程师, 主要从事新药研究开发工作。电话: 0631-5927805

* 山东威海迪沙药业有限公司 邮编 264205