

· 药理实验与临床观察 ·

葛根芩连汤拆方对肺炎链球菌抑菌作用比较研究

余林中, 伍杰勇, 罗佳波, 邵红霞*

(第一军医大学 中医系 药理药化教研室, 广东 广州 510515)

摘要: 目的 通过对葛根芩连汤 (GQD) 各配伍组合对肺炎链球菌的抑菌作用差异来探讨其配伍规律。方法 采用液体试管两倍稀释法测定各煎液对肺炎链球菌的最低抑菌浓度 (MIC), 比较各配伍组合后的药效学改变。结果 各配伍煎液的 MIC 不全相同。结论 GQD 各配伍组合水煎液对肺炎链球菌抑菌作用不全相同; 在全方中, 抑菌作用药物主要为黄连与黄芩, 炙甘草与葛根无明显抑菌作用; 两药与黄芩、黄连配伍时对其抑菌拮抗作用不同。

关键词: 葛根芩连汤; 配伍; 抑菌活性; 肺炎链球菌

中图分类号: R 285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)11-1011-03

Comparative study on bacteriostasis among compositions of Gegen Qinlian Decoction against *Streptococcus pneumoniae*

YU Lin-zhong¹, WU Jie-yong, LUO Jia-bo, SHAO Hong-xia

(Department of TCM, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: **Object** To explore the regularity of recipe composition by observing different bacteriostasis among compositions of Gegen Qinlian Decoction (GQD) against *Streptococcus pneumoniae*. **Method-** sTo evaluate the minimal inhibitory concentration (MIC) of 15 decoctions through double-fold dilution method. **Results** Not all of the decoctions are of the same MIC. **Conclusion** Not all of the 15 decoctions have the same bacteriostasis against *S. pneumoniae*. Among the four herbs of GQD *Coptis chinensis* Franch. has the strongest bacteriostasis and the next *Scutellaria baicalensis* Georgi. While *Glycyrrhiza uralensis* Fisch and *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi have no bacteriostasis, but they can influence the bacteriostasis of *C. chinensis* and *S. baicalensis* when combining with them.

Key words: Gegen Qinlian Decoction (GQD); compatibility; bacteriostasis; *Streptococcus pneumoniae*

中药配伍以七情合和为纲, 目前对方剂配伍规律的研究主要是用药理或化学的方法研究中药配伍与药理效应或化学变化之间的关系。笔者曾经提出: 方剂配伍规律研究的核心内容和关键环节在于对方剂物质基础及其运动、变化规律的揭示; 配伍用药“七情合和”的实质在于“化学成分合和”, 即通过方剂配伍-化学成分变化-药理效应改变三者之间的相互联系研究配伍规律^[1]。葛根芩连汤出自《伤寒论》, 由葛根、黄芩、黄连、炙甘草 4 药组成; 方中以葛根为君, 黄芩、黄连为臣, 炙甘草为使。本实验主要通过不同配伍煎液对肺炎链球菌抑菌作用的药效学变化来探讨配伍-药理效应改变的相互联系。

1 材料

1.1 煎液制备: 葛根芩连汤 (GQD) 中葛根 15 g,

广西产豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的根; 黄芩 9 g, 安徽产唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根; 黄连 9 g, 四川产毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根; 炙甘草 6 g, 新疆产豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎的炮制加工品, 以上均符合《中华人民共和国药典》2000 年版规定并加工炮制合格的饮片。药材由第一军医大学中医系中药鉴定室鉴定。依据《伤寒论》煎煮法特点, “先煮葛根、后纳诸药”制备其水煎液。具体方法为: 加水将饮片浸泡 30 min, 先煎葛根 20 min, 再和余药, 共煎 2 次, 每次 30 min, 合并药液, 滤过, 浓缩至 39 mL, 使成 1 g/mL。各配伍组合分别为葛根黄芩黄连炙甘草煎液 (A)、黄连煎液 (B)、葛根黄连煎液

* 收稿日期: 2003-04-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39970886); 广东省自然科学基金项目 (001070); 军队“十五”计划基金重点课题 (01z053)

作者简介: 余林中 (1962—), 男, 安徽合肥人, 医学博士, 副教授, 硕士生导师, 现任第一军医大学中医系药理药化教研室主任, 中国药理学学会中药药理专业委员会常委、副秘书长, 全军中药专业委员会委员、秘书长, 主要从事中药复方药理基础研究及中药新产品开发。Tel: (020) 61648261 (O), 61648262 (O), 61640417 (H) E-mail: yulzh@fimmu.com

(C)、黄芩黄连煎液(D)、黄连炙甘草煎液(E)、葛根黄芩黄连煎液(F)、葛根黄连炙甘草煎液(G)、黄芩黄连炙甘草煎液(H)、黄芩煎液(I)、葛根黄芩煎液(J)、黄芩炙甘草煎液(K)、葛根黄芩炙甘草煎液(L)、炙甘草煎液(M)、葛根炙甘草煎液(N)、葛根煎液(O)。各配伍煎液中生药量同原方,煎法相同,煎后均浓缩至 39 mL,使各配伍组合中各组成药生药浓度与全方中各相应生药浓度相同,调 pH 7.4~7.8,115 °C 高压灭菌 20 min,备用。

1.2 实验菌种及培养基:肺炎链球菌(ATCC31004)来自本院微生物教研室保存标准株。营养肉汤培养基、营养琼脂培养基、血琼脂平板购自环凯微生物公司。葡萄糖酚红肉汤,按周邦靖方法配制^[2]。

2 方法

试管两倍稀释法^[3]:将实验菌株先以平板划线法接种于血琼脂平皿内,37 °C 过夜培养,次日挑选典型单个菌落于 5 mL 营养肉汤培养基中,加入无菌小牛血清 0.5 mL,混匀,37 °C 恒温震荡 8 h,麦氏比浊管比浊并将菌液浓度稀释成 3×10^8 /mL,然后用相应培养基稀释 1 000 倍,备用。将药物按倍比稀释法与葡萄糖酚红肉汤培养基混匀成 1:2,1:4,1:8……等浓度,取各种浓度的含药培养基 2 mL 于无菌小试管中,共 11 管,分别加入 0.1 mL 备好的肺炎链球菌菌液,加入 0.1 mL 无菌小牛血清,混匀,并以一管不加药物作为阳性对照,另一管不加菌液作为阴性对照,置于 37 °C 培养箱 24 h,观察结果,记录各管内细菌生长情况,以不变黄色的最高稀释度作为试验药物的最低抑菌浓度(MIC)。

3 结果

3.1 GQD 拆方对肺炎链球菌的抑菌作用:见表 1。GQD 各拆方煎液对肺炎链球菌的抑菌作用均较弱,其中起主要作用的药物为黄连,黄芩有较弱的抑菌活性,炙甘草与葛根则无明显抑菌作用。

表 1 GQD 中 4 种单药对肺炎链球菌的抑菌作用

Table 1 Bacteriostasis of four Chinese herbs from GQD against *S. pneumoniae*

组别	MIC	组别	MIC
B	1:32	M	-
I	1:8	O	-

3.2 GQD 中含黄连配伍对肺炎链球菌的抑菌作用:见表 2。与黄连配伍的各煎液中,两两配伍煎液的抑菌作用,葛根黄连煎液(C)与黄芩黄连煎液(D)相当,而强于黄连炙甘草煎液(E)。3 者均弱于黄连煎液(B)的作用,表明 3 药能拮抗黄连的抑菌

作用。而黄连黄芩煎液(D)药效优于黄连炙甘草煎液(E)与炙甘草无明显抑菌活性而黄芩仍有抑菌活性有关。炙甘草对黄连抑菌拮抗作用影响强于葛根。在 3 药配伍中葛根黄连炙甘草煎液(G)与葛根黄芩黄连煎液(F)相当,而强于黄芩黄连炙甘草煎液(H)。3 药配伍中可知对黄连黄芩煎液,炙甘草拮抗作用强于葛根;对黄连炙甘草煎液,黄芩拮抗作用强于葛根。其机制可能和各种酸性成分与碱性成分作用产生沉淀有关。

表 2 GQD 中含黄连配伍对肺炎链球菌的抑菌作用
Table 2 Bacteriostasis of GQD including *C. chinensis* against *S. pneumoniae*

组别	MIC	组别	MIC
A	1:16	E	1:4
B	1:32	F	1:16
C	1:16	G	1:16
D	1:16	H	1:8

3.3 GQD 中含黄芩配伍对肺炎链球菌的抑菌作用:见表 3。与黄芩各配伍煎液,两药配伍中葛根黄芩煎液(J)与黄芩炙甘草煎液(K)抑菌作用和黄芩煎液(I)相当,而弱于黄连黄芩煎液(D)。可知炙甘草与葛根对黄芩抑菌作用无明显影响,而黄连的抑菌作用较强,故配伍后其抑菌作用虽整体是拮抗的,但仍强于余药与黄芩的配伍。3 药配伍中,黄芩黄连炙甘草煎液(H)与葛根黄芩炙甘草煎液(L)抑菌作用相当,而弱于葛根黄芩黄连煎液(F)。可见黄芩黄连分别与炙甘草及葛根配伍时,前者抑菌作用弱于后者。炙甘草在与黄芩黄连配伍时的抑菌作用的拮抗较葛根强。其机制可能与酸性药物配伍后相互影响有关。

表 3 GQD 中含黄芩配伍对肺炎链球菌的抑菌作用
Table 3 Bacteriostasis of GQD including *S. baicalensis* against *S. pneumoniae*

组别	MIC	组别	MIC
A	1:16	I	1:8
D	1:16	J	1:8
F	1:16	K	1:8
H	1:8	L	1:8

3.4 GQD 中炙甘草与葛根及两者配伍对肺炎链球菌抑菌作用:炙甘草煎液(M)与葛根煎液(O)无明显抑菌活性,两者配伍后亦无明显的抑菌作用。

3.5 GQD 全方及各配伍对肺炎链球菌抑菌作用比较:从整体来看,全方的抑菌作用仅次于黄连煎液,而与葛根黄连煎液(C)、黄连黄芩煎液(D)、葛根黄芩黄连煎液(F)、葛根黄连炙甘草煎液(G)抑菌作

用相当,强于其他配伍组合,与方中的酸性药相互溶出的影响、酸性与碱性药相互影响及各药的药效累加效应有关。

4 讨论

复方中药物配伍后引起抑菌作用变化,无论其增强、加合还是拮抗,与配伍后煎液中的有效成分变化有关,有效成分增多,抑菌作用相应增强,反之则减弱。GQD 拆方研究中葛根、黄连、黄芩、炙甘草比例为 15 9 9 6,其中葛根、黄芩、炙甘草呈酸性,而黄连有效成分呈碱性。四药配伍时相互之间的影响,以酸性药对碱性药的溶出率影响最大,而酸性药物之间亦会相互影响^[4]。

GQD 具有抑菌作用,其体外对金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌、肺炎双球菌均有一定的抑制作用^[5,6],体内实验表明对金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌、肺炎双球菌亦有明显的抑制作用^[5]。

本实验从药效学角度侧重比较了 GQD 不同配伍煎液对肺炎链球菌抑菌作用差异,从而为结合方

剂配伍—化学成分变化进而全面探讨方剂配伍规律打下基础。

References:

- [1] Luo J B, Yu L Z, Tan X M. Methods of studying regularity of recipe composition [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1999, 15(3): 48-49.
- [2] Zhou B J. *Bacteriostasis and Evaluation Methods of Some Common Chinese Herbs* (常用中药的抗菌作用及其测定方法) [M]. Chongqing: Chongqing Science and Technology Publishing House, 1987.
- [3] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiments* (药理实验方法学) [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1984.
- [4] Lin S L, Zhao L H, Wu Z N, et al. Study on mutual effect of rhubarb, *Coptis chinensis*, amur corktree bark and *Scutellaria baicalensis* Georgi when in a decoction—Effect of compound change on the dissolve rate of efficient composition [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1989, 20(6): 10.
- [5] Tong L, Xu J J, Huang T Y, et al. Study on bacteriostasis and defibrillation of Gegen Qinlian Decoction [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1987(6): 49.
- [6] Tan X M, Chen Y R, Luo J B, et al. Study of Gegen Qinlian Pill on bacteriostasis and respiratory virus [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2000, 16(3): 10-13.

红豆杉细胞提取物抑制肿瘤细胞增殖及诱导凋亡的实验研究

鲁翠涛¹, 赵应征^{2*}, 梅兴国^{2*}

(1. 华中科技大学生命科学与技术学院, 湖北 武汉 430074; 2. 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要: 目的 研究红豆杉细胞提取物对肝癌细胞 SMMC-7721 的生长抑制作用及其机制。方法 运用台盼蓝拒染法测定肿瘤细胞生长曲线, 流式细胞仪和 Giemsa 染色分析肿瘤细胞周期和细胞凋亡。结果 红豆杉细胞二氯甲烷提取物对肝癌细胞 SMMC-7721 的生长有明显的抑制作用, 流式细胞仪分析发现 G₂/M 期肿瘤细胞数量增多, 经 Giemsa 染色发现肿瘤细胞有凋亡发生。结论 红豆杉细胞提取物可以通过诱导细胞发生凋亡而抑制肝癌细胞 SMMC-7721 的生长。

关键词: 红豆杉细胞; SMMC-7721; 细胞增殖; 细胞凋亡

中图分类号: R 286. 91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)11-1013-03

Extract from cultured cells of *Taxus chinensis* on proliferation inhibition and apoptosis induction of tumor cells

LU Cui-tao¹, ZHAO Ying-zheng², MEI Xing-guo²

(1. School of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China;

2. Institute of Toxicology and Pharmacology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: Object To study the inhibitory effect and mechanism of extract from cultured cell of *Taxus chinensis* (Pilg.) Rehd. on hepatocarcinoma cell line SMMC-7721. **Methods** Trypan blue stain assay was

* 收稿日期: 2003-02-16

基金项目: 九五“国家攻关项目(96-C02-03-01)

作者简介: 鲁翠涛(1974—), 女, 湖北天门人, 华中科技大学生命科学与技术学院 2000 级博士研究生, 研究方向为红豆杉细胞药理筛选及大规模细胞培养研究。E-mail: letzyz@sina.com

* 通讯作者 Tel: (010) 66932654