

蜂胶左金丸含药血清抗幽门螺杆菌的实验研究

李 平¹, 楚更五^{1*}, 周 华², 徐 帆³, 王根春³, 张建英¹, 聂 坚¹

(1. 云南中医学院, 云南 昆明 650200; 2. 昆明医学院第一附属医院放疗科, 云南 昆明 650031;
3. 成都军区昆明总医院, 云南 昆明 650031)

[摘要] 目的: 应用中药血清药理学研究方法研究蜂胶左金丸含药血清抗 Hp 的作用。方法: 经灌胃给药后, 采集分离大鼠血清, 采用打孔琼脂扩散法, 对 3 种不同处理(新鲜未灭活、新鲜灭活、冰冻后血清) 后含药大鼠血清进行体外抑菌试验。结果: 用不同剂量 3 种不同处理的含蜂胶左金丸血清对幽门螺旋菌(Hp) 有明显抑制作用, 且呈一定的量效关系; 新鲜未灭活含药血清抑制 Hp 作用较新鲜灭活血清强; 冰冻后血清抗菌作用降低。结论: 在含药血清体外抑菌实验中, 抗菌效果以使用新鲜未灭活血清为最好, 灭活及冰冻 3 周的血清的抗菌效果会降低。

[关键词] 左金丸; 血清药理学; 抗菌试验; 幽门螺杆菌

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)03-0059-02

我们在体外抑菌试验研究中发现, 蜂胶左金丸有明显的抗幽门螺杆菌(Hp) 作用, 由于中药复方制剂存在化学成分复杂, 理化性质不确定等因素, 传统的体外试验不能准确反映其在体内环境中真实的药效过程。本试验采用血清药理学方法, 用大鼠服药后的含药血清代替该方水提醇沉制剂进行体外抑菌实验, 并探讨了制备含药血清及其处理方法对抗菌作用的影响。

1 材料与方法

1.1 实验药物 蜂胶左金丸浸膏: 蜂胶左金丸由黄连、吴茱萸、蜂胶按 6: 1: 0.5 组成, 制剂由云南中医学院药学院制剂室制作完成。每克浸膏含 3.82 g 生药材。氨苄西林胶囊: 香港联邦制药厂生产, 批号: 6216333077649797。

1.2 实验动物 SD 大鼠, 体重(210~250)g, 雌雄各半, 由四川省医学科学院实验动物研究所提供。动物合格证号: SCXK(川)2004-16。

1.3 菌株 H. pylori SS1 标准菌株, 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所馈赠。

1.4 试剂与器材 培养基 哥伦比亚琼脂中添加 5.3% 浓度小牛血清和 2.6% 浓度混合抗生素, 调 pH

值为 7.5; 比浊管, 卫生部药品生物制品检定所出品; 电热恒温水浴箱 HH.W21.420 型, 天津市泰斯特仪器有限公司。

2 方法

2.1 含药血清的制备^[1] 选取 20 只健康大鼠, 雌雄各半, 随机分成 5 组, 每组 4 只。分别为: 蜂胶左金丸 3.25, 6.5, 13 g·kg⁻¹ 组; 氨苄西林阳性对照 0.75 g·kg⁻¹ 组; 生理盐水对照组。均为 1 日剂量, 灌胃给药, 每日 2 次, 共 3 d, 每次给药容量均为 10 mL·kg⁻¹。末次给药后 1 h, ip 乌拉坦 1.5 g·kg⁻¹ 麻醉, 自腹腔静脉无菌采血, 注入无菌负压采血管, 2 000 r·min⁻¹ 离心分离血清, 将各组 4 只大鼠的血清混合, 每组大鼠血清分为 2 份: 1 份直接置 -20℃ 冰箱保存; 另 1 份为新鲜血清, 取部分新鲜血清放入 56℃ 电热恒温水浴箱中灭活 30 min, 与新鲜未灭活血清同时放入 4℃ 冰箱于 2 h 内使用。

2.2 菌液制备 通过比浊法, 用无菌生理盐水将 Hp 菌液调整浓度为: 1×10⁸ CFU·mL⁻¹ 备用。

2.3 新鲜含药血清体外抑菌试验 用打孔琼脂扩散法进行含药血清体外抑菌试验。取哥伦比亚琼脂 15 mL 中添加 0.8 mL 新生小牛血清和 0.4 mL 混合抗生素, 制备好琼脂平板, 在培养基标记位置上打 6 mm 圆孔, 待平板略干后, 用无菌棉签蘸取上述菌液均匀涂布于琼脂平板表面, 分别在相应圆孔中无菌加入灭活和未灭活新鲜血清各 30 μL, 分组为: 3 组不同剂量含蜂胶左金丸血清组、含氨苄西林血清组、

[收稿日期] 2007-06-28

[基金项目] 云南省自然科学基金资助项目(2003C0089M)

[通讯作者] * 楚更五, Tel: (0871) 6270995, E-mail: chugengwu@yahoo.com.cn

含生理盐水的空白血清组及生理盐水,放入含 5% O₂、10% CO₂、85% N₂ 的微需氧培养罐,在 95% 湿度、37 ℃恒温条件下培养 3 d 后取出,测量抑菌圈直径,以抑菌圈直径的大小反映药物抑菌作用的强弱。双份试验,取其平均值。

2.4 冰冻保存对含蜂胶左金丸血清抗 Hp 作用的影响 将- 20 ℃冰冻保存 3 周后的各组含药血清取出,室温解冻,用打孔琼脂扩散法做冰冻含药血清抑菌试验,方法同 2.3。

3 结果

蜂胶左金丸含药血清抗 Hp 实验结果,见表 1。

实验组别	抑菌圈直径(mm)		
	未灭活血清	灭活血清	冰冻 3 周含药血清
蜂胶左金低剂量组血清	11	9	8.5
蜂胶左金中剂量组血清	12	10	9.0
蜂胶左金高剂量组血清	15	14	10.5
氨苄西林组血清	20	18	12.0
生理盐水组血清	9	7	7.5
生理盐水	—	—	—

结果显示:含新鲜未灭活和灭活各测试药血清均出现大小不等的抑菌圈,灭活后含药血清抑菌圈较未灭活血清小;新鲜未灭活和灭活的不同剂量蜂胶左金丸含药血清抑菌作用均呈现量效依赖关系,随药物剂量增加抑菌圈逐渐加大。- 20 ℃冰冻保存 3 周后未灭活各含药血清仍具有抗菌能力,与新鲜含药血清相比,抑菌圈减小;不同剂量蜂胶左金丸含药血清抑菌作用仍呈现量效依赖关系。新鲜生理盐水血清对照组对 Hp 也有抑制作用,但均小于 3 个不同剂量蜂胶左金丸组抑菌圈。

4 讨论

本实验用中药浸膏剂经口服一段时间后,采集其含药血清进行体外药理实验,它在某种程度上克服了中药制剂本身的理化性质等不确定因素的干

扰,不仅反映药物可吸收部分的直接作用,也可反映药物在机体作用下形成的代谢物诱生的机体内源性物质的影响。还排除了各种影响因素的干扰,使之更接近药物在体内环境中产生药理效应的真实过程,从而提高结果的可信度。

本研究采用含药血清对 Hp 进行抑菌活性试验,结果显示大鼠新鲜血清以及冰冻 3 周后的血清均能抑制 Hp 的生长,表明大鼠新鲜血清中含有对 Hp 抑制或杀灭作用的活性物质,但是经加热或冰冻灭活后的血清,较未灭活的血清抗菌能力下降。说明血清经灭活后失去了某种抗菌物质,但仍然存在着抗菌的活性物质,该活性物质究竟是什么,有待于继续跟踪研究,为研发抗 Hp 的生物活性物质奠定基础。

本研究发现蜂胶左金丸 3 个不同剂量组抑菌圈均大于生理盐水血清对照组,证实了其抗 HP 的作用,且不同剂量蜂胶左金丸含药血清抑菌作用呈量效依赖关系,随药物剂量增加抑菌作用增强。说明在本次用药区间该方血药浓度随用量增加而增加。此结果与我们前期使用水提醇沉制剂所做的体外抑菌实验结果相同。

本研究中还发现,- 20 ℃冰冻保存 3 周后含药血清仍具有抗菌能力,与新鲜含药血清相比,抑菌作用减弱,说明冷冻灭活可能使动物体内某些活性成分失活;不同剂量蜂胶左金丸含药血清的抑菌作用仍呈量效依赖关系。

综上,在含药血清体外抑菌实验中,以使用新鲜未灭活血清为宜,如要判断吸收药物成分的直接抗菌作用,或排除血清中的蛋白成分的作用,可选用灭活血清。一般最好选用未灭活的新鲜血清,这样既可全面反应中药的作用,又与体内实验和临床用药情况相符。

[参考文献]

[1] 李仪奎,吴健宇.血清药理实验中采血时间的通法方案[J].中国药理学通报,1999,15(6):569-570.