

[2] ZICHE M, DONNINI S, MORBIDELLE L. Development of new drugs in angiogenesis[J]. *Curr Drug Targets*, 2004, 5(3):485-493.

[3] GNANT M F, TURNER E M, ALEXANDER H R. Effects of hyperthermia and tumour necrosis factor on inflammatory cytokine secretion and procoagulant activity in endothelial cells[J]. *Cytokine*, 2000, 12(4):339-347.

[4] WIEDMANN M W, CACA K. Molecularly targeted therapy for gastrointestinal cancer[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2005, 5(3):171-193.

[5] CLAVEL G, BESSIS N, BOISSIER M C. Recent data on the role for angiogenesis in rheumatoid arthritis[J]. *Joint Bone Spine*, 2003, 70(5):321-326.

[6] NAGASHIMA M, SHU G, YAMAMOTO K, et al. The ability of disease modifying antirheumatic drugs to induce and maintain improvement in patients with rheumatoid arthritis. epidemiology of DMARDs treatment in Japan[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2005, 23(1):27-35.

[7] FRELIN C, LADOUX A, DANGELO G. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis[J]. *Ann Endocrinol (Paris)*, 2000, 61(1):70-74.

[8] SIMONETTI O, LUCARINI G, GOTERI G, et al. VEGF is likely a key factor in the link between inflammation and angiogenesis in psoriasis: results of an immunohistochemical study [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2006, 19(4):751-760.

[9] CLAVEL G, BESSIS N, LEMEITER D, et al. Angiogenesis markers (VEGF, soluble receptor of VEGF and angiopoietin-1) in very early arthritis and their association with inflammation and joint destruction[J]. *Clin Immunol*, 2007, 124(2):158-164.

[10] VINCENTI M P, BRINCKERHOFF C E. Transcriptional regulation of collagenase (MMP-1, MMP-13) genes in arthritis: integration of complex signaling pathways for the recruitment of gene-specific transcription factors [J]. *Arthritis Res*, 2002, 4(3):157-164.

[11] NAGASHIMA M, YOSHINO S, ISHIWATA T, et al. Role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *J Rheumatol*, 1995, 22(9):1624-1630.

[12] GAYE C, OLIVER F G, CHARLOTTE B, et al. Early joint erosions and serum levels of matrix metalloproteinase 1, matrix metalloproteinase 3, and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2001, 44(10):2263-2274.

## 加味厚朴温中汤抗腹泻与体外抗菌效应研究\*

贺卫和<sup>1</sup>, 陈晓阳<sup>1</sup>, 邹志<sup>2</sup>, 李云耀<sup>1</sup>, 伍参荣<sup>1</sup>, 李晟<sup>1</sup>

(湖南中医药大学 1. 药学院药理教研室; 2. 2005 级硕士班, 长沙 410007)

**[摘要]** 目的 观察加味厚朴温中汤抗腹泻与体外抗菌效应。方法 抗腹泻实验采用常规腹泻模型, 体外抗菌采用连续倍比稀释法测定最低抑菌浓度(MIC), 采用管碟法测定最低杀菌浓度(MBC)。结果 加味厚朴温中汤可减少大黄性腹泻小鼠稀粪便数、粪便总数及稀粪便率; 加味厚朴温中汤对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、福氏痢疾杆菌、伤寒杆菌 MIC 分别为 62.25, 15.56, 62.25, 31.13, 31.13 mg · mL<sup>-1</sup>, MBC 分别为 62.25, 31.13, 62.25, 62.25, 31.13 mg · mL<sup>-1</sup>。结论 加味厚朴温中汤有抗腹泻和体外抗菌作用。

**[关键词]** 加味厚朴温中汤; 抗腹泻; 最低抑菌浓度; 最低杀菌浓度

**[中图分类号]** R286; R965 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-0781(2010)02-0152-03

### Antidiarrheal and *in vitro* Antibacterial Effects of Jiawei Houpu Wenzhong Decoction

HE Wei-he<sup>1</sup>, CHEN Xiao-yang<sup>1</sup>, ZOU Zhi<sup>2</sup>, LI Yun-yao<sup>1</sup>, WU Can-rong<sup>1</sup>, LI Sheng<sup>1</sup> (1. Department of Pharmacology, College of Pharmacy; 2. Class of Graduates, Grade 2005, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

**ABSTRACT Objective** To study the antidiarrheal and *in vitro* antibacterial effects of jiawei houpu wenzhong decoction.

**Methods** The conventional mouse model of diarrhea was used to carry out the antidiarrheal experiment; the minimal inhibitory concentration(MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) were determined for decoction by two fold tube dilution test and cup-plate method, respectively. **Results** Jiawei houpu wenzhong decoction reduced the number and rate of watery feces induced by rhubarb( $P < 0.05, P < 0.01$ ), The MIC of kiawei houpu wenzhong decoction against escherichia coli, staphylococcus aureus rosenbach, bacillus proteus, shigella dysenteriae, salmonellatyphi were 62.25, 15.56, 62.25, 31.13, 31.13 mg · mL<sup>-1</sup>, respectively; and MBC of which against escherichia coli, staphylococcus aureus rosenbach, bacillus proteus, shigella dysenteriae, salmonellatyphi were 62.25, 31.13, 62.25, 62.25, 31.13 mg · mL<sup>-1</sup> respectively. **Conclusion** Jiawei houpu wenzhong decoction has antidiarrheal and *in vitro* antibacterial effects.

**KEY WORDS** Jiawei houpu wenzhong decoction; Antidiarrheal; MIC; MBC

加味厚朴温中汤由平胃散(《太平惠民和剂局方》)和厚朴温中汤(《内外伤辨惑》)加减化裁而来,临床用于治疗急性肠炎、炎症性肠病、肠易激综合征、小肠吸收不良综合征等胃肠功能紊乱之湿困脾胃证,能显著改善患者胸脘痞闷、不欲饮食、肠鸣腹泻等胃肠功能紊乱症状。笔者在本实验中进一步观察加味厚朴温中汤抗腹泻作用与体外抗菌作用,探讨其作用机制,以期为临床应用提供理论与实验依据。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** NIH 小鼠 60 只,体质量(18 ± 22)g,雌雄各半,由湖南中医药大学动物实验中心提供,合格

[收稿日期] 2009-05-11

[基金项目] \* 湖南省自然科学基金资助项目(基金编号:06JJ4032)

[作者简介] 贺卫和(1972-),男,湖南双峰人,讲师,硕士,主要从事药理学教学及中药有效成分药效学研究。电话:0731-88458238, E-mail: heweihe2003@yahoo.com.cn。

[通讯作者] 陈晓阳(1955-),女,教授,主任医师,硕士,主要从事中药药性理论基础与应用研究。电话:0731-88458235, E-mail: cxy53@126.com。

证号:医动字第 20-001 号。

**1.2 试药** 加味厚朴温中汤(由厚朴、苍术、茯苓、陈皮、炙甘草、草豆蔻、木香、干姜、生姜、黄连等组成,第一次将药物以 2 倍体积水浸泡 30 min,回流提取,煎开后 10 min 纱布过滤出药液,减压浓缩成相应浓度,4 °C 保存备用。低、中、高剂量分别含生药 0.364, 0.728, 1.456 g · mL<sup>-1</sup>, 分别相当于临床等效剂量的 1, 2, 4 倍),煎剂组药材由湖南中医药大学附属第一医院提供;硫酸阿托品片(山东省莒南制药厂提供,规格:每片 0.3 mg,批号:070201)。

**1.3 菌株** 金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、变形杆菌、福氏痢疾杆菌、伤寒杆菌均由湖南中医药大学免疫教研室提供。

**1.4 培养基** 普通肉汤琼脂培养基(批号:2005-0616)、普通肉汤培养基(批号:20050801)均购于杭州微生物试剂有限公司。

**1.5 仪器** 恒温培养箱、生物显微镜、超净工作台等。

### 1.6 方法

**1.6.1 抗腹泻实验** 参照文献[1]方法进行。取健康无腹泻小鼠 60 只,称体质量标记,随机分为 6 组:正常对照组,模型组,加味厚朴温中汤低、中、高剂量组,硫酸阿托品组(简称阿托品组),每组 10 只,雌雄各半。参照前期预实验结果,除正常对照组外,其他各组采用灌胃 200% 大黄冷浸液制备小鼠腹泻模型<sup>[2]</sup>。造模成功后正

常对照组和模型组小鼠灌胃给予 0.9% 氯化钠溶液,加味厚朴温中汤低、中、高剂量组分别灌胃给予加味厚朴温中汤 8.1, 16.2, 32.4 g · kg<sup>-1</sup>,阿托品组灌胃给予硫酸阿托品溶液 0.000 12 g · kg<sup>-1</sup>。然后单只置于铺有滤纸的观察盒中,观察 7 h 内每只小鼠的湿粪便数目和总粪便数目(每小时换一次滤纸)。小鼠稀粪便率(%) = 7 h 内总稀粪便数/总粪便数 × 100%。

### 1.6.2 体外抗菌实验

**1.6.2.1 菌种的活化** 大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、福氏痢疾杆菌、伤寒杆菌上午 9:50 活化,下午 16:00 取出。

**1.6.2.2 菌液的制备** 将以上活化的菌株划线培养后,挑选典型菌落接种于普通肉汤琼脂培养基,经 37 °C 培养 18 ~ 24 h,连续传代 3 次,取其菌落用普通肉汤培养基制成菌液含量 2 × 10<sup>6</sup> 个 · mL<sup>-1</sup> 的菌悬液(麦氏计数法)。

**1.6.2.3 加味厚朴温中汤最低抑菌浓度(MIC)测定** 采用连续倍比试管稀释法,参照文献[1,3],取普通肉汤培养基按说明配制好后,分装于 8 支试管,每管 1.0 mL,于 121 °C (1.05 kg · cm<sup>-1</sup>) 高压灭菌 15 min 备用。将准备好的加味厚朴温中汤均用肉汤培养基进行倍比稀释 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 第 1 ~ 5 管药液浓度分别为 125.00, 62.25, 31.13, 15.56, 7.78 mg · mL<sup>-1</sup>。然后每管加入准备好的菌液 0.1 mL。同时设加菌不加药的菌液对照为阳性对照。不加药不加菌的培养基为空白对照。摇匀后于 37 °C 培养 24 h,观察有无细菌生长,以未见细菌生长的最低药物浓度为加味厚朴温中汤 MIC。

**1.6.2.4 加味厚朴温中汤最低杀菌浓度(MBC)测定** 采用管碟法,参照文献[1,3],取普通肉汤琼脂培养基制备若干平皿,于 121 °C (1.05 kg · cm<sup>-1</sup>) 高压灭菌 15 min,接种环粘取 MIC 测定中无菌生长试管中的溶液 0.05 mL,在琼脂平皿上均匀涂布。37 °C 培养 24 h,观察有无细菌生长,以未见细菌生长者最低药物浓度为加味厚朴温中汤 MBC。

**1.7 统计学方法** 计量资料用( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 SPSS13.0 统计学软件,组间均数比较采用 *t* 检验。

## 2 结果

**2.1 加味厚朴温中汤对腹泻小鼠粪便情况影响** 与正常对照组比较,模型组稀粪便数、总粪便数和稀粪便率均显著升高(均  $P < 0.01$ );与模型组比较,加味厚朴温中汤高剂量组和阿托品组以上 3 项指标均显著下降(均  $P < 0.01$ ),中剂量组稀粪便数和稀粪便率均显著降低(均  $P < 0.01$ ),总粪便数降低( $P < 0.05$ )。低剂量组稀粪便率显著降低( $P < 0.01$ ),稀粪便数、粪便总数

降低(均 $P < 0.05$ ),结果见表1。

**2.2 加味厚朴温中汤 MIC 测定结果** 培养 24 h 后观察各管变化,如试管澄清,认为该管无菌生长,有抑菌作用;若试管混浊,表明有菌生长,药液无抑菌作用。加味厚朴温中汤对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、福氏痢疾杆菌、伤寒杆菌 MIC 分别为 62.25, 15.56, 62.25, 31.13, 31.13 mg · mL<sup>-1</sup>,结果见表 2。

**2.3 加味厚朴温中汤 MBC 测定结果** 加味厚朴温中汤对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、福氏痢

疾杆菌、伤寒杆菌 MBC 分别为 62.25, 31.13, 62.25, 62.25, 31.13 mg · mL<sup>-1</sup>,结果见表 3。

### 3 讨论

加味厚朴温中汤由厚朴、苍术、茯苓、陈皮、炙甘草、草豆蔻、木香、干姜、生姜、黄连等组成,在临床上能显著改善患者腹泻症状。笔者在本实验中采用灌胃大黄冷浸液制备小鼠腹泻模型,小鼠出现排便次数增多和粪便稀薄等症状。阿托品为 M 受体阻断药,可以缓解肠蠕动而止泻,加味厚朴温中汤亦可以降低腹泻小

表 1 6 组小鼠 7 h 内粪便情况测定结果

Tab. 1 Defecation of rats in 6 groups within 7 hours

$\bar{x} \pm s$

组别	大鼠/只	剂量/(g · kg <sup>-1</sup> )	稀粪便数/次	总粪便数/次	稀粪率/%
加味厚朴温中汤					
低剂量组	10	8.1	15.30 ± 1.64 <sup>*1</sup>	25.90 ± 1.09 <sup>*1</sup>	63.10 ± 2.150 <sup>*2</sup>
中剂量组	10	16.2	13.10 ± 0.98 <sup>*2</sup>	25.00 ± 2.18 <sup>*1</sup>	52.40 ± 4.07 <sup>*2</sup>
高剂量组	10	32.4	12.10 ± 1.78 <sup>*2</sup>	24.20 ± 2.26 <sup>*2</sup>	48.40 ± 4.42 <sup>*2</sup>
阿托品组	10	0.000 12	12.00 ± 2.34 <sup>*2</sup>	22.10 ± 3.05 <sup>*2</sup>	54.30 ± 3.23 <sup>*2</sup>
模型组	10	...	22.50 ± 0.83 <sup>*3</sup>	31.30 ± 2.08 <sup>*3</sup>	71.90 ± 3.27 <sup>*3</sup>
正常对照组	10	...	3.10 ± 1.23	19.40 ± 1.56	16.20 ± 2.16

与模型组比较, <sup>\*1</sup> $P < 0.01$ , <sup>\*2</sup> $P < 0.05$ ;与正常对照组比较, <sup>\*3</sup> $P < 0.01$

Compared with model group, <sup>\*1</sup> $P < 0.01$ , <sup>\*2</sup> $P < 0.05$ ; Compared with normal group, <sup>\*3</sup> $P < 0.01$

表 2 加味厚朴温中汤 MIC 测定结果

Tab. 2 MIC of jiawei houpu wenzhong decoction

菌株	药物稀释度与浓度/(mg · mL <sup>-1</sup> )					空白对照	阳性对照
	1 : 1 (125.00)	1 : 2 (62.25)	1 : 4 (31.13)	1 : 8 (15.56)	1 : 16 (7.78)		
大肠埃希菌	-	-	+	+	+	-	+
金黄色葡萄球菌	-	-	-	-	+	-	+
变形杆菌	-	-	+	+	+	-	+
福氏痢疾杆菌	-	-	-	+	+	-	+
伤寒杆菌	-	-	-	+	+	-	+

“+”表示试管有菌生长,“-”表示试管无菌生长

“+”shows bacterial growth in tube,“-”shows no bacterial growth in tube

表 3 加味厚朴温中汤 MBC 测定结果

Tab. 3 MBC of jiawei houpu wenzhong decoction

菌株	细菌生长情况	MBC mg · mL <sup>-1</sup>
大肠埃希菌	-	62.25
金黄色葡萄球菌	-	31.13
变形杆菌	-	62.25
福氏痢疾杆菌	-	62.25
伤寒杆菌	-	31.13

“-”表示试管无菌生长

“-”shows no bacterial growth in tube

鼠稀粪便数、粪便总数及稀粪率。因大黄有效成分大黄酸乙酰酮通过刺激大肠黏膜,使肠蠕动增加而引起腹泻,故推测加味厚朴温中汤可通过缓解肠蠕动而抑制急性腹泻。结合笔者前期的小肠推进实验<sup>[4]</sup>中抑制小

肠推进功能的作用,进一步表明加味厚朴温中汤治疗腹泻的作用机制与抑制胃肠推进运动有关。

腹泻原因有非感染和感染之分,细菌感染是腹泻常见原因,有文献报道引起腹泻的最常见细菌是志贺菌<sup>[5]</sup>,其次为大肠埃希菌、伤寒杆菌、变形杆菌、霍乱弧菌等,金黄色葡萄球菌亦可引起。笔者在本实验中采用连续倍比稀释法测定了加味厚朴温中汤对常见致泻菌福氏痢疾杆菌、大肠埃希菌、变形杆菌、伤寒杆菌、金黄色葡萄球菌 MIC,采用管碟法测定 MBC。结果提示该方在体外对上述常见致泻菌有一定抑制、杀灭作用,该作用亦可能为其临床上治疗腹泻的机制之一。但是体外抗菌实验的环境与体内不同,因此该提取物还需进一步通过动物体内实验来证明其抗菌作用。

现代药理研究表明<sup>[6]</sup>,方中厚朴、木香、陈皮、茯苓

均可抑制肠平滑肌运动治疗腹泻;同时厚朴可抑制金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌,生姜能抑制伤寒杆菌、霍乱弧菌等,黄连可抑制金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌、大肠埃希菌、变形杆菌、伤寒杆菌,茯苓可抑制金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、变形杆菌等。结合本研究结果,笔者认为,加味厚朴温中汤具有一定的抗腹泻和体外抗菌作用。

[DOI] 10.3870/yydb.2010.02.006

#### [参考文献]

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社,2006:262,276.
- [2] 北京师范大学生物系消化生理教研组. 中医脾虚证动物

模型的造型[J]. 中华医学杂志,1980,60(2):83-86.

- [3] 张卓然. 医学微生物实验学[M]. 北京:科学出版社,1998:26-27,57,216.
- [4] 陈晓阳,邹志,李晟,等. 加味厚朴温中汤对湿阻证大鼠 MTL、SS 及小肠推进功能的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2008,28(6):32-34.
- [5] 鲍桂乐. 感染性腹泻病原菌的分布及耐药性分析[J]. 实验与检验医学,2008,26(5):523.
- [6] 徐晓玉. 中药药理学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:62,77,81,95,96,179.

## 《医药导报》全面推行 DOI 编码

(本刊讯)自 2009 年第 1 期起,《医药导报》已全面启用全球通用数字对象唯一标识符(digital object unique identifier,DOI)。这意味着自 2009 年第 1 期起在《医药导报》发表的论文将获得国际通用的唯一永久标识。

《医药导报》论文的 DOI 编码为 DOI:10.3870/yydb.yyyy.mm.nnn,其中 10.3870 为中文 DOI 注册中心分配给华中科技大学期刊的前缀,yydb 为《医药导报》拼音的第一个字母组合,yyyy 为期刊出版年,mm 为期刊当年出版的期数,nnn 为论文流水号。如《医药导报》2010 年第 1 期第 8 篇论文的 DOI 编码如下,DOI:10.3870/yydb.2010.01.008。

详细资料和 DOI 查询请参考中文 DOI 主页,网址 <http://www.chinadoi.cn>。