

鱼金清解口服液的处方筛选研究

赵涛 张晓红 卢露 党艳妮 谢伟 南景一

(陕西步长制药有限公司,陕西省咸阳市渭阳路西延段123号,712000)

关键词 鱼金清解口服液;处方筛选

鱼金清解口服液是在国家药品标准“鱼金注射液”处方组成基础上^[1],由鱼腥草、金银花2味药材经提取制成的口服液体剂,临床疗效确切,主要用于热毒内盛而致的上呼吸道感染、支气管肺炎、化脓性疾病、妇科炎症与术后发热的病症。鱼金清解口服液包含了挥发性成分和水溶性成分^[2-3],这些成分在水中稳定性好,适合于做成口服液制剂。众所周知,中药制剂疗效与处方组成、剂量等因素有关,我们结合鱼金清解口服液的功能主治,通过体内、外抗菌试验筛选出处方的最佳配比,为该制剂的临床疗效奠定了基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器 AE100 电子分析天平(瑞士梅特勒公司);电热恒温培养箱(上海医疗器械七厂);压力蒸汽灭菌器(上海医用核子仪器厂);电热蒸馏水器(北京市医疗设备厂);电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械厂);无菌净化工作台(苏净集团苏州安泰空气技术有限公司)。

1.2 试药 大肠埃希菌 ATCC25922 株,金黄色葡萄

球菌 ATCC25925 株,绿脓假单胞菌 ATCC27853 株,表皮葡萄球菌 ATCC26069 株,甲型溶血性链球菌 32209 株,乙型溶血性链球菌 32210 株,肺炎球菌 31001 株,流感嗜血杆菌 58535 株,肺炎克雷伯菌 46104 株,白色假丝酵母菌 85021 株;鱼金清解口服液处方 1、2 和 3 的试验制剂,由陕西步长制药有限公司生产提供。

2 方法与结果^[4-5]

2.1 体外抗菌试验方法与结果 1) 药液的配制: 移取鱼金清解口服液处方 1、2、3 分别 10mL, 与 90mL 肉汤混匀后, 用孔径 0.22 μ m 超微滤器过滤除菌, 无菌药液置 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。2) 菌液配制: 将 37 $^{\circ}$ C、24h 培养的实验菌接种于肉汤, 置普通培养箱 37 $^{\circ}$ C、24h 培养, 比浊法进行细菌计数, 用肉汤调配成 10⁶CFU/mL 菌液备用。3) MIC、MBC 测定: 将药液用肉汤由 10% 为起点进行连续二倍梯度稀释, 依次加到 96 孔细胞培养板上, 0.2mL/孔。再加入浓度为 10⁶CFU/mL 的实验菌液 0.01mL/孔。同时设立细菌以及培养基对照。置 4 $^{\circ}$ C 作用 12h, 于普通培养箱 37 $^{\circ}$ C、48h 培养, 观察结

法,也因中药煎剂都是悬液,颗粒较粗,扩散受到限制,实验结果难以控制,而在临床上不能作为一个标准方法推广;平板稀释法,只需制成两个系列稀释度含药平板,一个稀释度可同时测多种细菌,操作简便,结果准确;采用活菌计数法,用中药原液可以测出用管碟法所不能测出的中药抑菌作用。在 1/2 浓度中,试管法只能测出 20% 试验药的抑菌作用,而活菌计数法则能测出所有试验药对细菌的作用。但采用活菌计数法进行实验,在试验前需对试验菌在生理盐水中存活情况进行测定,对厌氧性的菌、营养要求高的菌如肺炎球菌、脑膜炎球菌等显然不能使用此法。试管法、平板法、管碟法抑菌效果有差异,试管法因为中药颜色深,最不准确;平板法不能最大限度提高中药浓度,对于高 MIC 中药测定不利;管碟法结合了试管法浓度高、准确和平板法显示稳定的优点,比较适合中药 MIC 的测定。

刃天青微孔板显色法利用活细胞线粒体酶可以将

蓝色的刃天青还原为粉红色的原理,测定细胞的代谢活性及增殖反应,刃天青显色法以其简便、快速、灵敏等优点,愈来愈多地应用于检测各种细菌对化学药物的敏感性^[5],是以上方法中较为理想的一种方法。

参考文献

- [1] 阎平,陈蕾. 胡桃椒提取物对白念珠菌生长的抑制作用. 中国微生物学杂志, 2005, 17(5): 335-338.
- [2] NCCLS/CLIS. Perfrom ance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing, fifteenth informational supplement M 100 - S15, 125 (1): 44 - 52.
- [3] 杨致邦. 引起医院内感染暴发流行的马红球菌的生物学特征. 中国人兽共患病杂志, 1997, 12(3): 17-19.
- [4] 村中幸二. 尿的定量的细菌检查法. 临床检验, 1996, 30: 587.
- [5] Sarker SD, Nahar L, Kumarasamy Y. Microtitre plate - based antibacteri- al assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. Methods, 2007, 42: 321 - 4.

(2011-10-11 收稿)

果。无细菌生长孔最小药物浓度为最小抑菌浓度 (MIC)。再依次将各无细菌生长孔的培养物用无菌蒸馏水稀释 10 倍, 吸取 0.01mL 点种于普通琼脂平板, 置普通培养箱 37℃、48h 培养, 无细菌生长点种区域所对应的药物最小浓度为最小杀菌浓度 (MBC)。结果见表 1、表 2。

从表 1、表 2 可见, 处方 2、处方 3 配比的体外抗菌效果优于处方 1, 处方 2、处方 3 之间无统计学意义。

2.2 体内抗菌试验方法与结果 1) 金黄色葡萄球菌和乙型溶血性链球菌菌液的制备、注射及计数: 金黄色葡萄球菌用 MH 琼脂培养基, 乙型溶血性链球菌用血平板, 各传代 1 次, 取新鲜菌体用于试验。取金黄色葡萄球菌菌液用 MH 肉汤, 乙型溶血性链球菌用 5% 胎牛血清的 MH 肉汤培养液, 37℃ 培养箱中培养 24h 后,

表 1 不同处方配比的鱼金清解口服液对标准菌株的 MIC

菌株	MIC(g 生药/mL)		
	处方 1	处方 2	处方 3
大肠埃希菌 ATCC25922 株	0.18	0.2	0.2
金黄色葡萄球菌 ATCC25925 株	0.045	0.025	0.025
绿脓假单胞菌 ATCC27853 株	无作用	无作用	无作用
表皮葡萄球菌 ATCC26069 株	0.09	0.05	0.05
甲型溶血性链球菌 32209 株	0.0225	0.05	0.05
乙型溶血性链球菌 32210 株	0.01125	0.00625	0.00625
肺炎球菌 31001 株	0.045	0.025	0.025
流感嗜血杆菌 58535 株	0.18	0.1	0.1
肺炎克雷伯菌 46104 株	无作用	无作用	无作用
白色假丝酵母菌 85021 株	无作用	无作用	无作用

表 2 不同处方配比的鱼金清解口服液对标准菌株的 MBC

菌株	MBC(g 生药/mL)		
	处方 1	处方 2	处方 3
大肠埃希菌 ATCC25922 株	无作用	无作用	无作用
金黄色葡萄球菌 ATCC25925 株	0.18	0.2	0.2
绿脓假单胞菌 ATCC27853 株	无作用	无作用	无作用
表皮葡萄球菌 ATCC26069 株	0.18	0.2	0.2
甲型溶血性链球菌 32209 株	0.18	0.2	0.2
乙型溶血性链球菌 32210 株	0.09	0.025	0.025
肺炎球菌 31001 株	0.18	0.1	0.1
流感嗜血杆菌 58535 株	无作用	无作用	无作用
肺炎克雷伯菌 46104 株	无作用	无作用	无作用
白色假丝酵母菌 85021 株	无作用	无作用	无作用

1:1 混合, 用灭菌生理盐水稀释, 再用 721 型分光光度计在 550nm 波长处比色, 调金黄色葡萄球菌和乙型溶血性链球菌混合菌液的浓度使 OD 值至 0.42, 取出部分菌液作细菌计数。每只小鼠注射菌液 0.5mL。每只

小鼠注射金黄色葡萄球菌和乙型溶血性链球菌量约为 4×10^7 个, 为预试验证实的最小致死剂量。2) 不同处方配比的鱼金清解口服液对金黄色葡萄球菌和乙型溶血性链球菌小鼠的保护作用: 48 只小鼠随机分为 4 组, 每组 12 只, 即模型对照组 (无菌生理盐水), 鱼金清解口服液处方 1、2 和 3 组。首次给药后 6h, 注射最小致死量的金黄色葡萄球菌和乙型溶血性链球菌, 造模 4h, 各组给药, 每日 2 次, 连续 5d。结果见表 3、表 4。

表 3 不同处方配比的鱼金清解口服液对金黄色葡萄球菌 ATCC25925 株感染小鼠体内保护实验结果

配比号	ED50(g 生药/kg)	95% 可信限(g 生药/kg)
处方 1	4.2638	3.1469 ~ 5.7772
处方 2	2.5386	1.6681 ~ 3.8634
处方 3	2.9161	1.9449 ~ 4.3721

表 4 不同处方配比的鱼金清解口服液对乙型溶血性链球菌 32210 株感染小鼠体内保护实验结果

配比号	ED50(g 生药/kg)	95% 可信限(g 生药/kg)
处方 1	1.1251	0.7993 ~ 1.5831
处方 2	0.6250	0.4117 ~ 1.0539
处方 3	0.7695	0.5269 ~ 1.123

从表 3、表 4 可见, 3 个处方配比的鱼金清解口服液在体内对细菌感染小鼠的保护作用以处方 2 效果最好, 处方 2、处方 3 明显优于处方 1。

3 讨论

我们采用药效学的体内外抗菌实验进行处方筛选, 参照上述试验研究结果, 并且充分考虑各个试验参数设立及其评价方法, 最终综合考评研究结果得出: 鱼金清解口服液 3 个处方配比中, 处方 2 作用效果最好, 故选择处方 2 作为鱼金清解口服液的制剂处方。

参考文献

[1] 戴冰. 鱼腥草注射液的研究近况. 湖南中医药导报, 1994, 10(1): 33-34.
 [2] 黄虹, 等. 均匀设计和模式识别法优化鱼腥草口服液制备工艺. 中成药, 2000, 22(10): 684-687.
 [3] 阎巧娟, 等. 金银花中绿原酸提取纯化工艺的优化. 中国农业大学学报, 2002, 7(2): 22-26.
 [4] 阮鸣, 等. 金银花挥发油的萜类化学成分研究进展. 时珍国医国药, 2005, 16(1): 59-60.
 [5] 赵良忠, 等. 金银花水溶性抗菌物质的提取及其抑菌效果研究. 中国生物制品学杂志, 2006, 3(19): 201-203.

(2012-02-01 收稿)