

苦针汤的组方研究*

□冯 华 李 星 田维毅 武孔云** 梁光义

(贵阳中医学院 贵州 550002)

摘要:目的:对苗药苦针汤进行组方基础研究和新药开发研究。方法:以该方对金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌、白色葡萄球菌、致病性大肠杆菌(γ)的抑制作用为考察指标,运用混料均匀设计法将组成苦针汤中的4味药配制成12种不同比例的复方,通过抗菌实验,测试用药抗菌能力。结果:建立回归方程,对回归方程及其中各项系数进行检验,求抗菌效果最佳时的变量取值。结论:回归方程通过检验,有意义、可用;苦参、黄芩对抑菌效果的贡献不显著,其余两味药以19.56g和11.84g组方时抗菌效果最佳,优于理论计算值。

关键词:苦针汤 混料均匀设计 组方研究

直肠炎是一种发生在直肠内的炎症。它可以引起疼痛、狂暴、出血,并会引起直肠流脓和血液。肠球菌是人类肠道的正常菌群,也属机会致病菌,近年来,由于使用头孢类抗生素药物,特别是三代头孢菌素的大量应用,导致肠球菌的感染增加,引起人类的各种感染病例不断增加^[1]。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)所致疾病以化脓性炎症最常见,包括皮肤软组织及内脏器官感染,有时可以发生败血症、脓毒血症等。还可以引起食物中毒,假膜炎等毒性炎症^[2]。目前用中药治疗直肠炎症的处方虽然比较多,但是对处方研究较少见。苦针汤处方由黄芩、苦参等中药组成,在贵州苗族地区被人们用于灌肠来治疗直肠炎,由于医生所开的处方比例各不相同,治疗效果也不一样。为了找出治疗直肠炎症的最佳比例的组方,我们以对直肠内常见的致病性微生物的

抗菌能力为考察指标,采用混料均匀设计法对苦针汤进行组方研究,筛选出最佳组方,为今后新药研究打下基础。

一、材料与方法

1. 材料

培养基,LRH-250-II生化培养箱(广东省医疗器械厂),无菌操作台。

2. 药材

黄芩,苦参等4味药材购于贵阳市药材公司,经鉴定符合2005版药典及2003版贵州省中药材、民族药材质量标准。

3. 方法

按文献^[3-6]选用混料均匀设计表 $U_n(n^{s-1})$ 来安排实验,其中 n 为实验次数和水平数, s 为待考察的因素数,在此选表 $U_{12}(12^4)$ 。即对复方中4个因素各取12个不同的水平并设计成12种配方进行考察。取使用

收稿日期:2005-03-20

修回日期:2005-06-20

* 贵州省中药现代化科技生产研究开发专项重大课题资助项目(黔科合中药专字[2003]07):新药“长安灵”研制,负责人:梁光义。

** 联系人:武孔云,教授,硕士生导师,从事新药开发研究,Tel:13195216383,E-mail:wuky2575@sina.com。

表中规定的两列安排苦针方的四味中药。具体算法如下：设 $U_n(n^{s-1})$ 为一个均匀设计表,其中第 i 行第 j 列的元素记为 U_{ij} ; 令 $C_{ij}=(U_{ij}-0.5) / (n-1), i=1, \dots, n, j=1, 2, \dots, n$, 则本列中各组分的配比为: $X_{i1}=1-C_{i1}, X_{i2}=(1-C_{i2}), X_{i3}=C_{i2}C_{i1}, X_{i4}=C_{i1}C_{i2}, i=1, \dots, n$ 。每类中药在方中配比(表1)的前4列,从而组成了12个 $X_1+X_2+X_3+X_4=1$ 的,但配比不同的中药配方,为了称量准确我们把每个组方扩大30倍量。

二、抗菌实验

1. 药物的配制

根据混料均匀设计方案称取药材加8倍量的水煎煮1.5h,6倍量水煎煮1h,合并煎液,浓缩得到浓度为1g/ml溶液30ml,备用。

2. 细菌的培养

将痢疾杆菌(*dysentery bacteria*),金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),白色葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*),致病性大肠杆菌(EPEC)分别转种到液体培养基中,培养6h后,再次转代到液体培养基中培养16h,稀释1000倍,待用。

3. 抗菌试验

参照2005版药典方法,常规管碟法测定各菌株的抑菌圈的半径(cm)(见表1)。

三、数据的处理

1. 以4种菌为指标进行评分

考虑到 Y_1 金黄色葡萄球菌为主要致病菌,赋予权重系数0.5; Y_2 痢疾杆菌0.1; Y_3 致病性大肠杆菌(EPEC)0.3; Y_4 白色葡萄球菌0.1,故 $Y=0.5Y_1+0.1Y_2+0.3Y_3+0.1Y_4$ 结果见表1。

2. 回归处理

将结果 Y 输入计算机,用DPS

统计学软件进行逐步回归处理分析,得到回归方程:

$$Y = -0.93608613 - 0.10255853675X_1 + 0.11340997889 X_2 + 0.005204591961X_1^2 - 0.0007398784459X_2^2 - 0.004926958925X_4^2$$

回归方程的相关系数 $R=0.92254$ 、自由度 $df=6$ 、 F 值=6.8583、显著水平 $p=0.0182$,说明回归方程通过检验,有意义、可用。

3. 对回归方程各个回归系数的检验(结果见表2)。

4. 最佳处方的确定

分别求 Y 对 X_1, X_1^2, X_2, X_2^2 的偏导数,并令其为0,求得最大的抗菌条件为: X_1 以19.56g、 X_2 以9.73g、 X_3 以1.81g、 X_4 以11.84g组方时抗菌效果最佳,理论

表1 混料均匀设计的方案及实验结果 $X(g), Y(cm)$

复方号	(X_1)	(X_2)	(X_3)	(X_4)	(Y_1)	(Y_2)	(Y_3)	(Y_4)	Y
1	1.306	3.1	5.32	20.21	1.1	1.3	1.1	1.4	1.15
2	5.55	11.25	0.55	12.66	1.0	1.3	1.0	1.1	1.04
3	8.37	11.76	8.64	1.23	0	0.5	0.6	0.8	0.43
4	3.26	7.06	18.86	0.82	0	0.4	0.6	0.6	0.40
5	4.35	0.54	11.51	13.06	0.9	1.3	0.8	1.1	0.91
6	15.00	0.97	11.11	2.92	0.9	1.2	0.7	0.9	0.83
7	12.22	14.15	1.97	1.66	0.5	1.5	0.6	0.7	0.67
8	10.11	4.17	1.97	13.76	0.6	1.3	1.4	1.2	1.13
9	2.25	17.94	3.68	6.13	1.1	1.2	1.3	1.0	1.20
10	6.87	3.67	12.17	7.30	1.0	1.1	1.3	1.1	1.17
11	0.42	11.47	12.88	5.28	1.2	1.1	1.5	1.3	1.35
12	19.56	3.36	2.05	4.99	1.0	1.2	1.5	1.3	1.30

表2 对各个回归系数的检验结果

	偏相关	t 检验值	显著水平 p	
$r(Y, X_1)=$	-0.80209	3.28987	0.01330	*
$r(Y, X_2)=$	0.82771	3.61301	0.00859	**
$r(Y, X_1^2)=$	0.81344	3.42561	0.01105	*
$r(Y, X_2^2)=$	-0.43552	1.18509	0.27465	
$r(Y, X_4^2)=$	-0.79991	3.26495	0.01377	*

表3 通过所优选的处方验证结果

实验号	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y	Y 平均值	RSD 平均值
1	1.5	1.2	0.9	0.4	1.18		
2	1.5	1.1	0.9	0.3	1.16	1.17	2.57
3	1.4	1.2	1.0	0.4	1.16		

计算得到最大抑菌圈的半径为 1.574cm。从回归方程和表 2 可看出: X_2 (黄芩)、 X_3 (苦参)对 Y 无显著贡献,故组方时不以考虑,其余两味苗药以 19.56g 和 11.84g 组方时抗菌效果最佳。

四、验证实验

用选出的最佳处方,用上述实验材料重复抗菌实验 3 次。结果见表 3。

五、结果

上述验证结果表明,苦参、黄芩对 Y 的贡献不显著,其余两味药以 19.56g 和 11.84g 组方时抗菌效果最佳,平均最大抑菌圈的半径为 1.17cm,优于理论计算值,RSD 平均值为 2.57,重现性好,说明该方程在

选择的水平范围内,能较好的反映不同组方抗菌能力不同的特性,并优化得到了最优组方条件。

参考文献

- 1 Shi Xue.Children hospital of Beijing, 2004.06. 02.
- 2 《life daily》2001.10.26.
- 3 Tang,Q.Y.,and Feng, M.G.1997. Practical Statistics and DPS Data Processing System.Beijing:China Agricultural Press. 407.
- 4 Fang Kai-Tai, Ma Chang-Xing .Optimum design and uniform design of experiment.Beijing:science press,2001: 144~52.
- 5 Yu Ri Yue, Yu Zhou.HuJun.Study on learning and memorising of Yizhifang in ovariectomized mice by uniform design of experiments with mixtures.Chin J Clin Pharmacol Ther (中国临床药理学与治疗学),2004;9(6):680~682.
- 6 Liu J,Shon Y S ,WeiYP.Application of uniform design during compound preparation.Chin Trad it Pat Me(中成药),1996,18(10):3~5.

Study on Prescription Composition of Kuzhentang Decoction

Feng Hua, Li Xing, Tian Weiyi, Wu Kongyun and Liang Guangyi
(Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002)

Objective To study the composition of the prescription of Kuzhentang decoction, a traditional medicine of Miao nationality in China, in order to lay a foundation for the development of new drugs. **Method** To take the inhibition of this prescription on Staphylococcus aureus, Shigella dysenteriae, Staphylococcus albus and Pathogenic colibacillus (Y) as the index of investigation and choose four medicinal herbs from the prescription of Kuzentang decoction to prepare 12 compound prescriptions by the method of uniform design of blending materials so as to test their ability of antibiosis and establish a regression equation, and then detect the regression equation and all its parameters in order to achieve the variable value of optimal, antibiotic effect. **Conclusion** The regression equation is of significance and applicable. The two medicinal herbes radix Sophora flavescens Ait. and Scutellaria baicalensis Georgi of the prescription do not have remarkable effect on Pathogenic colibacillus, but the other two composed of 19.56g and 11.84g respectively assume optimal effect on antibiosis, whose value is better than that from theoretical computation.

Key Word: Kuszhentang decoction, uniform design of blending materials, study of prescription composition

(责任编辑:王 瑀 周应群,英文译审:秦光道)

美科学家在癌症研究领域取得突破性进展

2005年12月27日《纽约时报》报道,美国科学家通过一种叫做“微阵列”的技术将所有已知的人类基因包被在芯片上,这样就能知道癌变对哪部分基因进行了删除或者改变,从而在基因水平上掌握各种类型癌症的机理。此外 RNA 干扰技术和 DNA 序列测定技术,使得科学家能够按照预先设定进行遗传改造。而且,美国国家癌症研究中心和国家人类基因组研究中心的科学家正在绘制癌症细胞基因变化的图谱,这是攻克癌症的首要一步。下一步,科学家将会找到癌症特定基因变化的靶向药物。麻省理工学院的罗伯特·温格教授认为,科学家已经完成了肿瘤细胞恶性分化方面的研究,该研究比五年前进展了很多,人类攻克癌症的日期将会到来。

(文摘)