

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.18.016

# 大黄牡丹皮汤对保加利亚乳酸杆菌体外增殖及其代谢产物乳酸的影响

李超群, 许华\*, 陈亚宾, 高烁烁, 罗文

(广州中医药大学第一附属医院, 广东省广州市白云区机场路 16 号, 510000)

**摘要** 目的 探讨大黄牡丹皮汤治疗肠道疾病的可能机制。方法 实验分为杆菌组、高复组、中复组、低复组和头孢组。杆菌组为含  $10^8$  cfu/ml 保加利亚乳酸杆菌的菌种混悬液; 高复组、中复组、低复组在同杆菌组的菌种混悬液中分别加入制备好的大黄牡丹皮汤冻干粉 4、1、0.25 g, 浓度依次为 40、10、2.5 mg/ml; 头孢组在同杆菌组的菌种混悬液中加入头孢曲松钠药粉 1g, 浓度为 10 mg/ml; 放入恒温为  $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  微生物培养箱中培养 24 h。各组在 0、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 h 测量菌种浓度, 在 0、2、6、10、14、18、22 h 测量培养基中 L 乳酸和 D 乳酸浓度。结果 各组内各时间点菌种浓度、L 乳酸和 D 乳酸浓度整体比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与杆菌组和低复组同时间比较, 其余各组在各时间点菌种浓度差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与头孢组同时间比较, 高复组、中复组、低复组在各时间点菌种浓度均升高 ( $P < 0.05$ )。与高复组同时间比较, 其余各组在各时间点 L 乳酸和 D 乳酸浓度差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与头孢组比较, 其余各组在各时间点 L 乳酸和 D 乳酸浓度差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 大黄牡丹皮汤可以提高保加利亚乳酸杆菌整体的繁殖水平, 显著提高代谢产物 L 乳酸、D 乳酸的分泌量, 尤其以高浓度为佳。

**关键词** 大黄牡丹皮汤; 保加利亚乳酸杆菌; 头孢曲松钠; 体外增殖; 乳酸

肠道微生态作为机体的第九大系统, 在人体的生命活动中具有重要的作用<sup>[1]</sup>。近些年研究发现, 人体的多种疾病的发生常常伴有肠道微生态的失衡, 中药经过胃肠消化吸收, 调整其微生态的平衡, 减少肠道益生菌及代谢产物的易位, 有效拮抗致病菌, 从而达到防止疾病的目的<sup>[2-4]</sup>。保加利亚乳酸杆菌作为胃肠道常见的益生菌种之一, 与肠黏膜紧密结合构成肠道的生物屏障, 通过营养竞争、占位效应及其分泌的各种代谢产物等方式抑制外来致病菌的入侵和定植生长以及条件致病菌的过度生长, 维持肠道的微生态平衡<sup>[5]</sup>。大黄牡丹皮汤具有泻热破瘀、散结消肿之功, 临床上常被用于治疗阑尾炎、急性胰腺炎、腹膜炎、术后粘连性肠梗阻、溃疡性结肠炎等腹腔及肠道炎症性疾病<sup>[6-10]</sup>。本研究通过观察大黄牡丹皮汤对保加利亚乳酸杆菌生长曲线及代谢产物乳酸的变化, 初步探讨其治疗肠道疾病的可能药效机制, 为临床应用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种及培养

保加利亚乳酸杆菌冻干粉(批号: 161128), 山东中科嘉亿生物工程有限公司, 检测报告提示活菌总数约为  $1.28 \times 10^{10}$  cfu/g。液体培养基的配制: 将 63 g 固体乳酸杆菌肉汤培养基 (MRS, 供乳酸杆菌培养专用, 批号: CM1175B) 溶于 1000 ml 蒸馏水中, 高温高压蒸汽灭菌锅消毒 MRS 培养基,  $120^{\circ}\text{C}$  灭菌 15 min, 以备用。将备好的液体培养基分装入 5 个锥形瓶中, 每瓶含 MRS 培养基 100 ml, 将 1 g 保加利亚乳酸杆菌冻干粉(约  $1.28 \times 10^{10}$  cfu/g) 溶于 100 ml MRS 培养基中, 混匀制成菌株悬混液, 杆菌浓度约为  $10^8$  cfu/ml。

### 1.2 药物

大黄牡丹皮汤冻干粉制备: 根据张仲景《金匮要略》记载, 按照原经方配伍: 大黄 18 g, 牡丹皮 9 g, 桃仁 12 g, 冬瓜子 30 g, 芒硝 9 g, 药物购于广州杏园春药店, 水煮 1000 ml; 取药液在冷冻干燥机中  $-50^{\circ}\text{C}$  预冻 5 h;  $-20^{\circ}\text{C}$  低温升华干燥

\* 通讯作者: xuhua212@126.com

14 h, 30℃ 解析干燥 10 h; 冻干样品 -20℃ 条件下放置, 备用。头孢曲松钠 (粉剂, 批号: 7457869-1), 武汉贝尔卡生物医药有限公司。

### 1.3 主要试剂及仪器

D/Lactate Colorimetric/Fluorometric Assay Kit 试剂盒 (批号: K667/627-100), BIOVISION 公司; CO<sub>2</sub> 微生物培养箱 (型号: IGS100), Thermo 公司; 酶标仪 (型号: FC), Thermo 公司。

### 1.4 分组及干预方法

将 5 瓶菌种分瓶标记 1~5 号, 其分别代表: 1 为杆菌组; 2~4 依次为高复组、中复组、低复组; 5 为头孢组。杆菌组为 10<sup>8</sup> cfu/ml 杆菌、100 ml MRS 的菌种混悬液; 高复组、中复组、低复组在同杆菌组的菌种混悬液中分别加入制备好的大黄牡丹皮汤冻干粉 4、1、0.25 g, 配制成药物浓度依次为 40、10、2.5 mg/ml 的菌种混悬液; 头孢组在同杆菌组的菌种混悬液中加入头孢曲松钠药粉 1 g, 配制成浓度为 10 mg/ml 的菌种混悬液。放入恒温为 37℃、5% CO<sub>2</sub> 微生物培养箱中进行培养 24 h。

### 1.5 观察指标及方法

1.5.1 菌种生长曲线的测量 吸取各组菌种混悬液 100 μl 置于 96 孔板中, 每组重复 3 个复孔, 使用酶标仪于波长 600 nm 处进行菌种浓度测量, 菌种浓度以吸光度 OD 值表示。OD 值约以 0.2~1 之间较为真实反映菌种浓度。每隔 2 h 观察 1 次各组菌种浓度变化, 记录下各组菌种在 0、2、4、6、8……18、20、22、24 h 的 OD 值。当菌种繁殖浓度增加到 OD 值远大于 1 时, 取该组菌种混悬液 1 ml, 加入到 9 ml 无菌蒸馏水中进行稀释, 震荡混匀, 制成 10<sup>-1</sup> 稀释度的菌悬液。再取稀释液 3 个复孔, 进行 OD 值 (λ = 600 nm) 测量, 此时真实

OD 值为测量值 × 稀释度倍数 (10)。

1.5.2 代谢产物 L 乳酸和 D 乳酸的测量 采集 0、2、6、10、14、18、22 h 时间点的菌种培养基上清液, 使用 D/Lactate Colorimetric/Fluorometric Assay Kit 试剂盒依据 ELISA 方法对培养液进行 L 乳酸和 D 乳酸的检测。

### 1.6 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析, 用重复测量资料的方差分析方法对结果进行显著性检验,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组保加利亚乳酸杆菌不同时间体外生长菌种浓度比较

表 1 示, 各组内各时间点整体比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。各组在 0 h 时菌种浓度比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与杆菌组和低复组同时间比较, 其余各组在 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 h 时菌种浓度差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 而杆菌组与低复组之间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与头孢组同时间比较, 高复组、中复组、低复组在 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 h 时菌种浓度均升高 ( $P < 0.05$ )。

### 2.2 各组保加利亚乳酸杆菌不同时间分泌 L 乳酸和 D 乳酸浓度比较

表 2 示, 各组内各时间点整体比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 说明各组内各时间点分泌 L 乳酸浓度随时间变化而变化。各组在 0 h 时 L 乳酸的分泌量差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与高复组同时间比较, 其余各组在 2、6、10、14、18、22 h 时 L 乳酸浓度差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表 1 各组保加利亚乳酸杆菌不同时间体外生长菌种浓度比较 (OD 值,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 样本数 | 0 h                       | 2 h                       | 4 h                       | 6 h                       | 8 h                       | 10 h                      | 12 h                      |
|-----|-----|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 杆菌组 | 3   | 0.50 ± 0.04               | 0.65 ± 0.01               | 1.01 ± 0.03               | 2.64 ± 0.25               | 2.98 ± 0.21               | 3.56 ± 0.23               | 3.62 ± 0.02               |
| 高复组 | 3   | 0.49 ± 0.01               | 4.02 ± 0.17 <sup>*△</sup> | 4.01 ± 0.33 <sup>*△</sup> | 4.34 ± 0.29 <sup>*△</sup> | 4.98 ± 0.16 <sup>*△</sup> | 5.64 ± 0.72 <sup>*△</sup> | 5.51 ± 0.60 <sup>*△</sup> |
| 中复组 | 3   | 0.48 ± 0.03               | 2.04 ± 0.28 <sup>*△</sup> | 2.06 ± 0.11 <sup>*△</sup> | 3.45 ± 0.11 <sup>*△</sup> | 3.91 ± 0.59 <sup>*△</sup> | 4.81 ± 0.47 <sup>*△</sup> | 4.76 ± 0.05 <sup>*△</sup> |
| 低复组 | 3   | 0.51 ± 0.01               | 0.80 ± 0.03 <sup>△</sup>  | 1.60 ± 0.10 <sup>△</sup>  | 2.82 ± 0.05 <sup>△</sup>  | 2.97 ± 0.33 <sup>△</sup>  | 3.82 ± 0.3 <sup>△</sup>   | 3.78 ± 0.07 <sup>△</sup>  |
| 头孢组 | 3   | 0.51 ± 0.00               | 0.73 ± 0.05 <sup>*</sup>  | 0.63 ± 0.03 <sup>*</sup>  | 0.72 ± 0.04 <sup>*</sup>  | 0.51 ± 0.13 <sup>*</sup>  | 0.65 ± 0.19 <sup>*</sup>  | 0.52 ± 0.07 <sup>*</sup>  |
| 组别  | 样本数 | 14 h                      | 16 h                      | 18 h                      | 20 h                      | 22 h                      | 24 h                      |                           |
| 杆菌组 | 3   | 3.93 ± 0.04               | 3.72 ± 0.13               | 3.82 ± 0.05               | 3.70 ± 0.10               | 3.73 ± 0.21               | 3.52 ± 0.10               |                           |
| 高复组 | 3   | 6.32 ± 0.81 <sup>*△</sup> | 6.47 ± 0.10 <sup>*△</sup> | 6.67 ± 0.31 <sup>*△</sup> | 6.70 ± 0.19 <sup>*△</sup> | 6.93 ± 0.12 <sup>*△</sup> | 6.15 ± 0.04 <sup>*△</sup> |                           |
| 中复组 | 3   | 5.18 ± 0.59 <sup>*△</sup> | 5.18 ± 0.25 <sup>*△</sup> | 5.52 ± 0.22 <sup>*△</sup> | 4.94 ± 0.39 <sup>*△</sup> | 5.44 ± 0.12 <sup>*△</sup> | 4.82 ± 0.33 <sup>*△</sup> |                           |
| 低复组 | 3   | 3.77 ± 0.59 <sup>△</sup>  | 3.70 ± 0.22 <sup>△</sup>  | 4.16 ± 0.31 <sup>△</sup>  | 3.48 ± 0.43 <sup>△</sup>  | 4.02 ± 0.17 <sup>△</sup>  | 3.45 ± 0.25 <sup>△</sup>  |                           |
| 头孢组 | 3   | 0.63 ± 0.04 <sup>*</sup>  | 0.56 ± 0.17 <sup>*</sup>  | 0.74 ± 0.05 <sup>*</sup>  | 0.64 ± 0.08 <sup>*</sup>  | 0.74 ± 0.02 <sup>*</sup>  | 0.70 ± 0.01 <sup>*</sup>  |                           |

注: 与杆菌组和低复组同时间比较,  $* P < 0.05$ ; 与头孢组同时间比较,  $\Delta P < 0.05$

与头孢组同时间比较, 其余各组在 2、6、10、14、18、22 h 时 L 乳酸浓度差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。其他各组间比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 3 示, 各组内各时间点整体比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 说明各组内各时间点 D 乳酸浓度随时间变化而变化。各组在 0 h 时 D 乳酸的分泌量差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与杆菌组同时间比较, 其余各组在 2、6、10、14、18、22 h 时 D 乳酸浓度差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与高复组同时间比较, 中复组、低复组和头孢组在各时间点 D 乳酸浓度差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与中复组比较, 低复组和头孢组在各时间点 D 乳酸浓度差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与低复组同时间比较, 头孢组在各时间点 D 乳酸浓度差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

中医学认为, 肠道疾病主要病机为湿热瘀结, 而大黄牡丹皮汤具有泻热逐瘀、消肿散结之功。方中大黄泻火逐瘀、通便解毒, 牡丹皮凉血清热、活血散瘀, 二者合用, 共泻肠腑湿热瘀结; 芒硝软坚散结, 协助大黄荡涤实热, 促其速下; 桃仁性善破血, 助大黄以通瘀滞; 冬瓜仁清热利湿, 导肠腑垢浊, 排脓消痈。全方攻下泻热与消肿逐瘀并用, 可使湿热速清, 瘀结速下, 痛随利减, 痈肿得消, 则病症自愈。

头孢曲松钠为广谱三代头孢菌素类抗生素, 对多数革兰阳性菌和阴性菌都有强大的抗菌作用, 是

临床上抗炎性疾病常用的治疗药物之一。有研究表明抗生素可以诱发肠道菌群失调<sup>[1]</sup>, 故本研究采用头孢曲松钠作为研究对照药物。保加利亚乳酸杆菌具有抑制致病菌定植, 维持胃肠道菌群平衡, 促进消化吸收, 增强免疫等作用<sup>[2]</sup>。本研究结果显示, 保加利亚乳酸杆菌菌种在 0~4 h 生长迟缓, 在 4~10 h 时期活菌数大量上升, 10~22 h 活菌繁殖稳定, 22~24 h 活菌数略有下降。大黄牡丹皮汤高、中、低剂量均可以整体上促进保加利亚乳酸杆菌各时期的繁殖, 加速繁殖生长 (2 h 以内) 和延长稳定时期, 尤其以 40 mg/ml 浓度的大黄牡丹皮汤为佳。而头孢曲松钠对保加利亚乳酸杆菌有一定抑制作用, 提示抗生素可能会造成机体短时间的肠内益生菌失调, 应慎用。

乳酸是乳酸杆菌在糖代谢过程中主要酸性末端产物, 有 L、D 两种构型, L 乳酸产生于菌培养液的早期对数期, D 乳酸产生于菌培养液的晚期平衡期, 但过多的乳酸积累会抑制菌种自身的繁殖<sup>[3]</sup>。本研究结果显示, 高浓度大黄牡丹皮汤作用下乳酸杆菌在 0~2 h 就已经开始呈现分泌状态, 说明高浓度复方能够刺激菌种快速合成进入生长对数期所需物质, 产生 L 乳酸不断增多, 明显高于中复组和低复组, 而头孢组对菌种分泌 L 乳酸呈现抑制状态。同时, 在 0~10 h 大黄牡丹皮汤高浓度作用下 D 乳酸的分泌量低于中、低浓度和杆菌组, 在 14~22 h 时高于杆菌组和中、低复组, 而头孢组对菌种分泌 D 乳酸亦呈现抑制状态。因此, 大黄牡丹皮汤能刺激保加利亚乳酸杆菌产生大量有益于人的

表 2 各组保加利亚乳酸杆菌不同时间分泌 L 乳酸浓度比较 (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 样本数 | 0 h            | 2 h                         | 6 h                          | 10 h                         | 14 h                         | 18 h                         | 22 h                         |
|-----|-----|----------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 杆菌组 | 3   | 147.59 ± 7.79  | 146.47 ± 3.83 <sup>*△</sup> | 202.92 ± 11.69 <sup>*△</sup> | 240.29 ± 21.33 <sup>*△</sup> | 273.65 ± 30.30 <sup>*△</sup> | 272.77 ± 22.27 <sup>*△</sup> | 204.45 ± 19.18 <sup>*△</sup> |
| 高复组 | 3   | 143.90 ± 16.83 | 224.81 ± 16.60              | 273.49 ± 28.65               | 282.87 ± 14.19               | 332.67 ± 18.91               | 477.08 ± 24.70               | 526.08 ± 36.45               |
| 中复组 | 3   | 176.86 ± 7.73  | 211.74 ± 3.05 <sup>*△</sup> | 223.85 ± 19.65 <sup>*△</sup> | 257.61 ± 4.23 <sup>*△</sup>  | 290.33 ± 20.33 <sup>*△</sup> | 379.58 ± 50.25 <sup>*△</sup> | 380.14 ± 42.87 <sup>*△</sup> |
| 低复组 | 3   | 149.60 ± 6.28  | 150.80 ± 2.91 <sup>*△</sup> | 205.89 ± 5.20 <sup>*△</sup>  | 224.09 ± 7.46 <sup>*△</sup>  | 276.45 ± 12.89 <sup>*△</sup> | 283.27 ± 17.44 <sup>*△</sup> | 266.59 ± 7.69 <sup>*△</sup>  |
| 头孢组 | 3   | 130.91 ± 6.96  | 148.88 ± 5.72 <sup>*</sup>  | 136.85 ± 6.15 <sup>*</sup>   | 140.14 ± 8.07 <sup>*</sup>   | 175.18 ± 41.52 <sup>*</sup>  | 143.10 ± 11.04 <sup>*</sup>  | 140.14 ± 6.31 <sup>*</sup>   |

注: 与高复组同时间比较, <sup>\*</sup>  $P < 0.05$ ; 与头孢组同时间比较, <sup>△</sup>  $P < 0.05$

表 3 各组保加利亚乳酸杆菌不同时间分泌 D 乳酸浓度比较 (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 样本数 | 0 h          | 2 h                          | 6 h                         | 10 h                         | 14 h                         | 18 h                         | 22 h                         |
|-----|-----|--------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 杆菌组 | 3   | 11.57 ± 0.08 | 18.15 ± 0.45                 | 28.71 ± 0.11                | 40.34 ± 0.48                 | 37.74 ± 0.34                 | 39.19 ± 1.46                 | 37.46 ± 3.52                 |
| 高复组 | 3   | 9.75 ± 0.10  | 14.61 ± 0.08 <sup>*</sup>    | 11.98 ± 2.13 <sup>*</sup>   | 31.24 ± 0.19 <sup>*</sup>    | 42.89 ± 3.11 <sup>*</sup>    | 40.52 ± 0.81 <sup>*</sup>    | 38.22 ± 2.08 <sup>*</sup>    |
| 中复组 | 3   | 11.63 ± 0.19 | 20.35 ± 0.23 <sup>*△</sup>   | 18.31 ± 3.94 <sup>*△</sup>  | 40.15 ± 1.78 <sup>*△</sup>   | 39.52 ± 0.54 <sup>*△</sup>   | 39.09 ± 0.15 <sup>*△</sup>   | 39.88 ± 0.76 <sup>*△</sup>   |
| 低复组 | 3   | 12.33 ± 0.39 | 20.46 ± 0.66 <sup>*△▲</sup>  | 25.20 ± 2.80 <sup>*△▲</sup> | 39.20 ± 2.68 <sup>*△▲</sup>  | 38.39 ± 1.31 <sup>*△▲</sup>  | 39.38 ± 0.55 <sup>*△▲</sup>  | 39.23 ± 0.29 <sup>*△▲</sup>  |
| 头孢组 | 3   | 11.73 ± 0.22 | 11.46 ± 1.07 <sup>*△▲#</sup> | 8.43 ± 1.21 <sup>*△▲#</sup> | 16.61 ± 0.45 <sup>*△▲#</sup> | 16.15 ± 0.22 <sup>*△▲#</sup> | 18.18 ± 0.91 <sup>*△▲#</sup> | 17.01 ± 0.12 <sup>*△▲#</sup> |

注: 与杆菌组同时间比较, <sup>\*</sup>  $P < 0.05$ ; 与高复组同时间比较, <sup>△</sup>  $P < 0.05$ ; 与中复组同时间比较, <sup>▲</sup>  $P < 0.05$ ; 与低复组同时间比较, <sup>#</sup>  $P < 0.05$

体健康的 L 乳酸的同时, 保护菌种自身免受酸性代谢产物的抑制, 从而使乳酸杆菌保持长效的生长状态, 延长菌种寿命。

综上所述, 大黄牡丹皮汤对保加利亚乳酸杆菌菌种的繁殖速度和生理特性具有显著提高作用, 可能是其在肠道微生态失调的相关疾病中起效的作用机制之一, 但仍需进行深入研究。

## 参考文献

- [1] KAHRSTROM CT, PARIENTE N, WEISS U. Intestinal microbiota in health and disease [J]. Nature, 2016, 535 (7610): 47. doi: 10.1038/535047a.
- [2] MAJOR G, SPILLER R. Irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease and the microbiome [J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2014, 21(1): 15-21.
- [3] WHELAN K, QUIGLEY EM. Probiotics in the management of irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease [J]. Curr Opin Gastroenterol, 2013, 29(2): 184-189.
- [4] 谢志玉, 邱光钰. 肠粘膜屏障功能与儿童过敏性紫癜的相关性分析 [J]. 中国实验诊断学, 2015, 19(8): 1396-1397.
- [5] HIJOVA E, KUZMA J, STROJNY L, et al. Ability of

Lactobacillus plantarum LS/07 to modify intestinal enzymes activity in chronic diseases prevention [J]. Acta Biochim Pol, 2016, 64(1): 113-116.

- [6] 胡英兴, 胡望景, 吴斌斌. 大黄牡丹汤不同给药途径治疗阑尾脓肿的临床疗效观察 [J]. 中国中医药科技, 2016, 23(1): 62-63.
- [7] 王长庆, 曹汉彬, 赵伟, 等. 大黄牡丹皮汤治疗重症急性胰腺炎 56 例 [J]. 陕西中医, 2013, 34(11): 1481-1482.
- [8] 易剑锋, 叶葵葵, 蒋文杰, 等. 大黄牡丹皮汤口服联合复方大承气汤保留灌肠在急性化脓性腹膜炎术后的应用 [J]. 甘肃中医药大学学报, 2017, 34(8): 54-57.
- [9] 姜渊宏. 复方大黄牡丹皮汤治疗术后粘连性肠梗阻 108 例临床观察 [J]. 中国实用医药, 2010, 8(5): 48-49.
- [10] 国文文, 张正菊, 王其艳, 等. 大黄牡丹汤治疗溃疡性结肠炎机制研究进展 [J]. 实用中医药杂志, 2016, 32(2): 186-187.
- [11] 孟艳鸽, 李岩. 不同剂量长双歧杆菌对抗生素诱导大鼠肠道菌群失调的疗效观察 [J]. 中国微生态学杂志, 2015, 27(3): 280-283.
- [12] 杨一冲, 蔡丹. 保加利亚乳杆菌发酵特性的研究 [J]. 吉林农业科学, 2012, 37(5): 71-74.
- [13] 柴俊, 邵翠仙, 张以芳. 乳酸杆菌主要代谢产物种类及其特性 [J]. 食品工业科技, 2007(8): 257-260.

## Effects of *Dahuang Mudanpi Decoction* (大黄牡丹皮汤) on Proliferation in vitro and Metabolite Lactic Acid of *Lactobacillus Bulgaricus*

LI Chaoqun, XU Hua, CHEN Yabin, GAO Shuoshuo, LUO Wen

(Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, 510000)

**ABSTRACT Objective** To observe the possible mechanism of *Dahuang Mudanpi Decoction* (大黄牡丹皮汤) in treatment of intestinal disease. **Methods** Five groups including bacillus group, high dosage group, middle dosage group, low dosage group and cephalosporin group. The bacillus group was made of suspension of  $10^8$  cfu/ml lactobacillus bulgaricus. The high dosage group, middle dosage group and low dosage group separately added freeze-dried powder of *Dahuang Mudanpi Decoction* with 4 g (40 mg/ml), 1 g (10 mg/ml), and 0.25 g (2.5 mg/ml) on the basis of bacillus group. The cephalosporin group was added 1 g (10 mg/ml) ceftriaxone sodium powder on the basis of bacillus group. All of these groups were put into microorganism incubator with 37°C, 5% CO<sub>2</sub> for 24 hours. The concentration of bacterium of each group was detected at the 0, 2nd, 4th, 6th, 8th, 10th, 12th, 14th, 16th, 18th, 20th, 22th, 24th hour. The concentration of lactic acid L and lactic acid D was detected at the 0, 2nd, 6th, 10th, 14th, 18th, 22th hour. **Results** The concentration of bacterium, lactic acid L and lactic acid D of each group at each time point was significant different ( $P < 0.05$ ). Simultaneously compared with bacillus group and low dosage group, the concentration of bacterium in other groups at each time point was significantly different ( $P < 0.05$ ). Simultaneously compared with cephalosporin group, the concentration of bacterium in high dosage group, middle dosage group and low dosage group were increased at each time point ( $P < 0.05$ ). Simultaneously compared with high dosage group, the concentration of lactic acid L and lactic acid D of each group at each time point was significant different ( $P < 0.05$ ). Compared with cephalosporin group, the concentration of lactic acid L and lactic acid D of each group at each time point was significant different ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** *Dahuang Mudanpi Decoction* can improve the reproduction ability of lactobacillus bulgaricus and significantly increase the output of lactic acid L and lactic acid D, the high dosage group being especially remarkable.

**Keywords** *Dahuang Mudanpi Decoction*; lactobacillus bulgaricus; ceftriaxone sodium; proliferation in vitro; lactic acid  
(收稿日期: 2018-03-01; 修回日期: 2018-04-17)

编辑: 邓 媛