

玉叶金花提取液对动物模型抗炎抑菌作用研究

邢文善^{1*}, 李艳华², 朱玉花², 王秋香¹

(1. 长春医学高等专科学校, 长春 130031; 2. 长春市儿童医院, 长春 130061)

[摘要] **目的:**选择玉叶金花提取液对动物模型进行抗炎、抑菌作用研究分析。**方法:**将小鼠随机分为对照组、阳性对照组和玉叶金花提取液高、中、低剂量组(24, 12, 6 g·kg⁻¹)灌胃给药,采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀、棉球肉芽肿、角叉菜胶致大鼠足跖肿胀等炎症模型,以及体外抑菌实验,评价玉叶金花提取液的抗炎、抑菌作用。**结果:**玉叶金花提取液明显抑制小鼠耳廓肿胀($P < 0.05$)、大鼠棉球肉芽肿以及大鼠足跖肿胀的形成($P < 0.05$);玉叶金花提取液对多种致病菌均有明显的抑制作用($P < 0.05$)。其半数抑菌浓度(MIC₅₀)金黄色葡萄球菌 0.95 μg·mL⁻¹、大肠埃希菌 0.75 μg·mL⁻¹、肺炎球菌 0.65 μg·mL⁻¹、链球菌 0.50 μg·mL⁻¹、痢疾杆菌 0.25 μg·mL⁻¹。**结论:**玉叶金花提取液对急慢性炎症有明显的抑制及体外抑菌作用。

[关键词] 玉叶金花提取液; 抗炎; 抑菌; 动物模型; 耳廓肿胀; 足跖肿胀; 肉芽肿

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0267-04

[doi] 10.11653/syjf2013190267

Anti-inflammatory and Anti-bacterial Activities of Extracts from *Mussaenda parviflora* Extract in Animal Models

XING Wen-shan^{1*}, LI Yan-hua², ZHU Yu-hua², WANG Qiu-xiang¹

(1. Changchun Medical College, Changchun 130031, China;

2. Children's Hospital of Changchun City, Changchun 130061, China)

[Abstract] **Objective:** To select *Mussaenda extract* on animal models of inflammatory, antibacterial research and analysis. **Method:** The mice were randomly divided into control group, positive control group and *M. parviflora* extract high, medium and low dose group (24, 12, 6 g·kg⁻¹) administered orally, using xylene-induced mouse ear profile swelling, granuloma; carrageenan-induced rat paw edema inflammation model, and antibacterial experiments *in vitro* evaluation *M. parviflora* extract anti-inflammatory, effect. **Result:** *M. parviflora* extract significantly inhibited mouse ear edema ($P < 0.05$), as well as rat granuloma rat paw edema formation ($P < 0.05$); *M. parviflora* extract on a variety of pathogenic bacteria were inhibited ($P < 0.05$), the minimum inhibitory concentration (MIC₅₀) *Staphylococcus aureus* 0.95 μg·mL⁻¹, *E. coli* 0.75 μg·mL⁻¹, pneumococcal 0.65 μg·mL⁻¹, *Streptococcus* 0.50 μg·mL⁻¹, *Shigella* 0.25 μg·mL⁻¹. **Conclusion:** *M. parviflora* extract on acute and chronic inflammation and *in vitro* inhibition significantly inhibitory effect.

[Key words] *Mussaenda parviflora* extract; anti-inflammatory; anti-bacterial; animal models; edema of mouse ear; paw swelling; granuloma

玉叶金花产于广东、广西、海南、福建、湖南、江

西、浙江、香港和台湾^[1]。生于灌丛、溪谷、山坡或村旁。味甘、淡、凉,其藤与根可入药,具有凉血解毒、清热解暑等功效,临床上可以用于普通感冒、发热、咳嗽、中暑、跌打、咽喉肿痛等症状^[2],对小鼠有抗早孕作用,在广西人们时常采摘玉叶金花熬制防暑、解毒凉茶的习俗。现代药理研究报道,玉叶金花所包括的叶、茎含豆甾醇、β-谷甾醇、三萜酸类阿江

[收稿日期] 20130425(127)

[基金项目] 吉林省教育厅“十二五”科学技术研究项目[吉教科合字(2013)第547号]

[通讯作者] *邢文善,副教授,从事药物制剂、中药提取等研究, Tel: 0431-84825155, E-mail: 13578878292 @ 139.com

酸、苏索酸、对-羟基桂皮酸、山栀子苷甲酯等^[3]。根据其功效和主治,本文参照中药药理研究方法^[4],主要对玉叶金花提取液的药效进行实验研究,探讨其主要的抗炎、抑菌作用,为其临床应用提供依据。

1 材料

1.1 药品与动物 玉叶金花,购于广西纯正堂制药厂,产于广西;经长春医学高等专科学校生药教研室程利敏副教授鉴定为茜草科植物玉叶金花 *Mussaenda parviflora* Miq. 的干燥根。普通青霉素购于华北制药股份有限公司,批号 S11062401。泼尼松购于天津太平洋制药有限公司,批号 20111208。角叉菜胶购于东京化成工业株式会社,批号 127H-1227。吡啶美辛胶囊购于河北永丰药业有限公司,批号 20120521。NIH 小鼠、SD 大鼠各 300 只,雌雄兼用,NIH 小鼠体重 18 ~ 22 g,SD 大鼠体重 200 ~ 220 g(广东省医学实验动物中心提供,许可证号 2008A020)。

1.2 玉叶金花提取液的制备 将 100 g 干燥的玉叶金花全草切断、粉碎、过筛(筛网目数 100),去除细小颗粒,然后加入 1 L 的纯净水,在加热器皿上点火加热、回流、提取 3 次,合并滤液,然后浓缩至 100 g·L⁻¹ 的药液,冷藏保存,备用,即为玉叶金花提取液。根据实验要求分为高、中、低剂量。

1.3 实验用致病菌种 由长春市儿童医院中心实验室提供的临床分离株:金黄色葡萄球菌、肺炎球菌、大肠埃希菌、链球菌、痢疾杆菌等。

1.4 试剂和仪器 分析天平,营养琼脂,旋转蒸发器,电热恒温培养箱,自动台式灭菌器,过滤器,超净台,0.45 μm 滤膜,7.0 mm 打孔器,微量加样器。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 12.0 软件统计分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验比较组间差异,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 方法与结果

2.1 玉叶金花提取液的抗炎作用

2.1.1 玉叶金花提取液对二甲苯所致小鼠耳廓炎症的影响 随机选取体重为 20 ~ 22 g 的健康小鼠 50 只,随机分成 5 组,每组 10 只,设空白对照组,阳性对照组吡啶美辛胶囊,实验组玉叶金花提取液高、中、低剂量组;各组小鼠均连续灌胃给药,空白对照组给予等量纯化水,阳性对照组在试验当日 1 次给予吡啶美辛胶囊 10 mg·kg⁻¹,给药体积均为 20 mL·kg⁻¹。各组灌胃给药 3 d 后,每只小鼠于末次给药后 1 h 分别行人工致炎,方法采用行右耳廓正反面

均匀涂布二甲苯 0.05 mL,同时留取左耳不涂为正常对照,小鼠右耳廓致炎肿胀后 1 h,采取断颈椎的方法处死小鼠,同一时间段内摘取小鼠左、右两耳,使用 7.0 mm 打孔器于两耳同一部位切下、称重,求其两耳质量差值,计算炎症肿胀程度,并根据公式统计肿胀抑制率,结果见表 1。

表 1 玉叶金花提取液对二甲苯所致小鼠耳廓炎症的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	耳肿胀程度 /mg	肿胀抑制率 /%
空白	-	9.5 ± 2.2	0
吡啶美辛	1 × 10 ⁻²	5.2 ± 2.1 ¹⁾	42.25
玉叶金花提取液	6	8.2 ± 1.9	16.43
	12	7.2 ± 1.6 ¹⁾	23.27
	24	6.2 ± 2.0 ¹⁾	32.61

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ (表 2 ~ 4 同)。

据表 1 可知,与空白对照组比较,玉叶金花提取液中、高剂量组明显抑制二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀($P < 0.05$);上述结果表明玉叶金花提取液对免疫炎症反应有一定的抑制作用。

2.1.2 玉叶金花提取液对角叉菜胶所致大鼠足跖炎症的影响 随机选取体重为 200 ~ 220 g 的健康大鼠 50 只,随机分成 5 组,每组 10 只,设空白对照组,阳性药吡啶美辛对照组,玉叶金花提取液高、中、低剂量组;各组小鼠均行连续灌胃给药,空白对照组给予等量的纯化水,阳性对照组在试验前日和试验当日各给药 1 次,给药体积均为 20 mL·kg⁻¹。各组小鼠均行连续灌胃给药 5 d 后,同时测量大鼠足跖容量,末次灌胃给药 1 h 后于大鼠右后足跖皮下注入 1% 角叉菜胶溶液 0.1 mL 致炎,致炎后的 2, 4, 6 h 测量大鼠足容量,计算致炎前后足容量差值,计算炎症抑制率及肿胀度,并与对照组同期进行统计学比较,结果见表 2。

据表 2 可知,与空白对照组比较,大鼠足趾肿胀程度在玉叶金花提取液中、高剂量组致炎后第 2、4、6 天明显低于对照组($P < 0.05$);说明玉叶金花提取液能够明显抑制角叉菜胶所致的大鼠足趾肿胀。

2.1.3 玉叶金花提取液对大鼠棉球肉芽肿炎症的影响 选用体重 200 ~ 220 g 的 SD 大鼠,随机分成 5 组,每组 10 只,设空白对照组,阳性对照组泼尼松,实验组玉叶金花提取液高、中、低剂量组;试验前腹腔注射麻醉 2 min 后仰卧位固定,无菌条件下切长约 1 cm 小口,将 20 mg 高压灭菌棉球滴入 20 万单

表2 玉叶金花提取液对角叉菜胶所致大鼠足跖炎症的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	足容积/mL			
		致炎前	致炎后		
			2 h	4 h	6 h
空白	-	0.623 ± 0.085	0.341 ± 0.125	0.801 ± 0.076	0.886 ± 0.146
吲哚美辛	1×10^{-2}	0.642 ± 0.079	0.138 ± 0.114 ¹⁾	0.142 ± 0.047 ¹⁾	0.221 ± 0.227 ¹⁾
玉叶金花提取液	6	0.648 ± 0.082	0.216 ± 0.091	0.651 ± 0.163	0.715 ± 0.201
	12	0.702 ± 0.064	0.237 ± 0.088 ¹⁾	0.423 ± 0.127 ¹⁾	0.427 ± 0.191 ¹⁾
	24	0.706 ± 0.053	0.261 ± 0.083 ¹⁾	0.361 ± 0.121 ¹⁾	0.356 ± 0.182 ¹⁾

位/mL的青霉素注射液0.2 mL后,从切口处植入左右腋部皮下后缝合皮肤。手术当日起,连续给药14 d,1次/d。空白对照组给予等量纯化水,给药体积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。各组小鼠于末次给药24 h后采取断颈椎的方法处死,切开皮肤,取出棉球及包裹在外边的肉芽组织,烘干后使用天平称重。肉芽肿质量为所称得的总质量减去棉球原质量,其值即作为炎症反应指标,使用统一公式计算炎症抑制率,结果见表3。

$$\text{炎症抑制率} = (\text{对照组棉球质量} - \text{给药组棉球质量}) / \text{对照组棉球质量} \times 100\%$$

表3 玉叶金花提取液对大鼠棉球肉芽肿炎症的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	肉芽肿质量/ mg	炎症抑制率/%
空白	-	89.5 ± 12.2	0
泼尼松	1×10^{-2}	75.2 ± 11.1 ¹⁾	19.11
玉叶金花提取液	6	88.4 ± 10.5	1.59
	12	77.2 ± 10.6 ¹⁾	15.35
	24	76.2 ± 12.0 ¹⁾	37.21

据表3可知,与空白对照组比较,中、高剂量玉叶金花提取液作用的大鼠棉球肉芽肿质量明显降低($P < 0.05$);上述结果表明玉叶金花提取液能够明显减少炎症肉芽肿的形成,抑制慢性炎症性增生反应。

2.2 玉叶金花提取液的体外抑菌作用 选用体重200~220 g的SD大鼠,随机分成5组,每组10只,设空白对照组,阳性对照组青霉素,实验组玉叶金花提取液高、中、低剂量组;空白对照组给予等量的纯化水。阳性药组于试验前日和试验当日各腹腔注射青霉素1次,空白对照组和实验组采用每日早、晚各灌胃给药1次,连续2 d。各组末次给药后1 h,采取腹主动脉取血的方法制备含药血清并备用。

玉叶金花提取液的体外抑菌实验:分别将上述多种致病菌加入到培养皿,注入营养琼脂培养基20 mL,在培养基上用外径6 mm的灭菌不锈钢打孔器打孔,所打的2孔等距离分布,每孔滴入1滴溶化的琼脂培养液。设空白对照组和实验组,以生理盐水溶液作空白对照,实验组采用吸取100 μL 玉叶金花提取液加入孔内,置37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱培养24 h,每组平行做5次,测量抑菌圈直径。结果见表4。

据表4可知,与空白组比较,玉叶金花提取液中、高剂量组大鼠含药血清对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎球菌、链球菌、痢疾杆菌等致病菌均有显著的抑制作用($P < 0.05$)。其半数抑菌浓度(MIC_{50})分别为0.95, 0.75, 0.65, 0.50, 0.25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。结果表明玉叶金花提取液的大鼠含药血清具有一定的体外抑菌作用。

表4 大鼠含药血清对不同菌株的抑菌作用($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	抑菌圈/mm				
		金黄色葡萄球菌	肺炎球菌	大肠埃希菌	链球菌	痢疾杆菌
空白	-	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
青霉素	10	20.2 ± 6.1 ¹⁾	19.1 ± 5.9 ¹⁾	23.2 ± 8.9 ¹⁾	24.5 ± 4.7 ¹⁾	22.1 ± 6.4 ¹⁾
玉叶金花提取液	6	8.4 ± 5.5	8.1 ± 5.1	9.1 ± 4.8	8.5 ± 6.7	8.4 ± 5.6
	12	12.2 ± 6.6 ¹⁾	11.5 ± 8.3 ¹⁾	14.8 ± 6.3 ¹⁾	15.4 ± 7.9 ¹⁾	16.8 ± 6.1 ¹⁾
	24	16.6 ± 8.7 ¹⁾	14.9 ± 8.4 ¹⁾	18.5 ± 6.7 ¹⁾	19.5 ± 5.4 ¹⁾	20.1 ± 7.3 ¹⁾

3 讨论

玉叶金花提取液的确切疗效报道甚少,与玉叶金花相关的研究寥寥无几,而关于其药效机制方面的基础研究也较少,市场上所售的玉叶金花清热片含玉叶金花、穿心莲、梔子、倒扣草、玄参、人工牛黄等,具有清热解表,利咽消肿等功效^[5]。但因其成分众多,其各自作用及其相互影响尚待进一步明确。本文主要对玉叶金花提取液的抗炎、抑菌两方面的药效进行了初步探讨。

炎症是机体对被损害组织的一种防御和修复反应。炎症过程可分为早、中、晚 3 个阶段。研究表明,多种中草药提取物对急慢性炎症都有确切的疗效^[6-7]。对中药成分的药效研究多采用人工制造动物模型的方法^[8-9],本文采用经典的实验动物模型对玉叶金花提取液抗炎抑菌作用进行了研究,以小鼠化学药物所致耳肿胀和足肿胀为主的急性炎症模型和大鼠棉球肉芽肿增生为主的慢性炎症模型,观察玉叶金花提取液对炎症各期的影响。结果显示,不同浓度的玉叶金花提取液均可减轻炎症性水肿,抑制致炎剂引起的急性炎症及慢性炎症反应,而剂量越高作用越显著。本实验结果显示,玉叶金花提取液对于动物模型炎症反应具有较好的抑制作用,实验结果表明玉叶金花提取液高剂量组的抗炎作用较为显著。

同时,体外抑菌实验结果也显示玉叶金花提取液具有抑菌作用,其中对金黄色葡萄球菌、肺炎球菌、大肠埃希菌、链球菌、痢疾杆菌等多种常见致病菌均有抑制生长作用。结果表明玉叶金花提取液对急性肿胀和慢性肉芽肿炎症均有明显抑制作用,提示玉叶金花提取液具有对抗急性炎症和慢性炎症作用^[10]。本实验结果与潘利明等研究的玉叶金花水提物对急性炎症和慢性炎症具有的抑制作用相一致,实验结果与其相关主治功效相符,抗炎作用较为显著。从实验结果看,高浓度的玉叶金花提取液抑菌效果最好,玉叶金花提取液高剂量组大鼠含药血清对多种细菌的抑菌圈直径接近阳性对照组,其抑制作用较强。在一定浓度范围内,玉叶金花提取液的抗炎作用与浓度具有一定的相关性。

此研究与临床应用一致,实验结果与资料所载该药合成制剂具有的相关主治功效相符,因此,玉叶金花提取液的抗菌药物价值为进一步开发奠定基

础。在提取中药材中活性成分时,应根据玉叶金花溶解特性,选择适宜的提取溶剂进行研究,进而将有效成分以最大量提取出来^[11-12]。但目前对该植物的化学成分研究较少,因此有必要对其化学组成成分进行实验研究,在后续的研究中采用现代提取设备制备成的成分制剂^[13],使其在抗炎抑菌实验中呈现更好的药效,进一步分析其确切组成,阐明其物质基础,为将来生产并制备制剂提供科学依据。

[参考文献]

- [1] 福建医药研究所. 福建药物志 [M]. 第 1 册. 福州: 福建人民出版社, 1979: 447.
- [2] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 713.
- [3] 吴寿金, 赵泰, 秦永祺. 现代中草药成分化学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 146.
- [4] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1145.
- [5] 韦奇志, 周智, 陈邦树, 等. 玉叶清火片药效学试验 [J]. 广东药学院学报, 2003, 19(1): 32.
- [6] 令红艳. 不同板蓝根制剂腺苷含量测定及其抗炎作用比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11): 143.
- [7] 文建军. 枸杞子提取液对各种常见细菌抑菌及抗炎作用实验研究 [J]. 医药论坛杂志, 2012, 33(7): 23.
- [8] 冯秀丽, 许庆华, 赵晓云, 等. 金银花及其复方的体外抑菌活性与体内抗炎作用 [J]. 沈阳药科大学学报, 2013, 30(1): 36.
- [9] 杨婧, 杨丽珍, 王亚贤, 等. 不同制备工艺葛根芩连汤抗炎抑菌作用比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 224.
- [10] 潘利明, 林励, 胡旭光. 玉叶金花水提物的抗炎抑菌作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(23): 248.
- [11] 王海青, 阚红卫, 靳康, 等. 浙贝止咳颗粒镇咳祛痰及抗菌作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 207.
- [12] 王君明, 崔瑛. 山豆根化学成分、药理作用及毒性研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 229.
- [13] 李雨田, 顾雪竹, 张村. 了哥王的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24): 252.

[责任编辑 蔡仲德]