

玉叶金花水提物的抗炎抑菌作用

潘利明^{1,2}, 林励^{2*}, 胡旭光¹

(1. 广东药学院, 广州 510006; 2 广州中医药大学, 广州 510006)

[摘要] 目的:研究玉叶金花水提物的抗炎、抑菌作用。方法:将小鼠随机分为对照组、阳性对照组和玉叶金花水提物高、中、低剂量组(33.6, 16.8, 8.4 g·kg⁻¹), ig 4 d, 以二甲苯致小鼠耳肿胀模型观察其抗炎作用;将大鼠随机分为对照组、阳性对照组和玉叶金花水提物高、中、低剂量组(24, 12, 6 g·kg⁻¹), 以角叉菜胶致大鼠足趾肿胀模型及大鼠棉球肉芽肿模型观察其抗炎作用;通过体外抑菌试验, 观察玉叶金花提取物的抑菌作用。结果:玉叶金花水提物的中、高剂量能显著减轻二甲苯致小鼠的耳肿胀度($P < 0.05$);玉叶金花水提物中、高剂量可明显抑制由角叉菜胶引起的大鼠2, 3 h的足肿胀度($P < 0.05$);玉叶金花水提物给药组肉芽肿的质量较空白对照组明显减少;玉叶金花水提物对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎球菌、链球菌、痢疾杆菌均有抑菌作用, 其最小抑菌浓度(MIC)分别为125, 31.3, 15.7, 62.5, 62.5 mg·kg⁻¹。结论:玉叶金花水提物具有明显的抗炎及抗菌作用。

[关键词] 玉叶金花; 抗炎; 抑菌; 耳肿胀; 足肿胀; 肉芽肿

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0248-04

Studies on Anti-inflammatory and Antibacterial Activities of Aqueous Extract from *Mussaenda pubescens*

PAN Li-ming^{1,2}, LIN Li^{2*}, HU Xu-guang¹

(1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antiphlogistic and antibacterial effect of aqueous extract from *Mussaenda pubescens*. **Method:** Mice were divided into 5 groups randomly: normal saline (NS) group, positive group, high dose group, middle dose group and low dose group of aqueous extract from *M. pubescens* (33.6, 16.8, 8.4 g·kg⁻¹). After 4 d by ig administration, dimethylbenzene-induced mouse ear edema model was used to evaluate the anti-inflammation effect. Rats were divided into 5 groups randomly: normal saline (NS) group, positive group, high dose group, middle dose group and low dose group of aqueous extract from *M. pubescens* (24, 12, 6 g·kg⁻¹). Using models of carrageenan-induced paw edema and cotton-peller-induced granuloma, anti-inflammation effect was evaluated. Bacteriostasis effect of aqueous extract from *M. pubescens* was investigated by the method of bacteriostatic test *in vitro*. **Result:** The middle and high dose of the extract could significantly relieve ear-swelling caused by dimethylbenzene ($P < 0.05$). The middle and high dose of the extract could significantly inhibit paw swelling in rats within 2, 3 hours ($P < 0.05$). The granuloma quality was significantly reduced by the extract compared with the control group ($P < 0.05$). The aqueous extract had antibacterial effects on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pneumococcus*, *Streptococcus*, *Shigella*, and the minimum inhibitory concentration (MIC) was 125, 31.3, 15.7, 62.5, 62.5 mg·kg⁻¹, respectively. **Conclusion:** Aqueous extract from *M. pubescens* has significant anti-inflammatory and antibacterial effects.

[Key words] *Mussaenda pubescens*; anti-inflammatory; antibacterial; ear edema; paw edema; granuloma

[收稿日期] 20120502(006)

[第一作者] 潘利明, 在读博士, 实验师, 从事中药资源开发与新药研究, Tel:020-39352178, E-mail:635533515@qq.com

[通讯作者] * 林励, 学士, 研究员, 从事中药资源开发与新药研究, Tel:020-39358270, E-mail:lwyll@gzhtcm.edu.cn

玉叶金花是茜草科玉叶金花属植物,茎叶入药,具有清热解暑、凉血解毒等功效,用于感冒、中暑、发热、咳嗽、肠炎、肾炎水肿、咽喉肿痛、跌打、蛇伤及断肠草、木薯、野菌中毒等症^[1-3]。在福建民间曾用于抗生育,在广西人们有采摘玉叶金花熬制防暑、解毒凉茶的习惯。但尚未见其现代药理研究报道。根据其功效和主治,本实验进行了玉叶金花水提物抗炎、抑菌方面的初步研究,为其临床应用提供依据。

1 材料

1.1 药材与试剂 玉叶金花原植物采摘于广州大学城,经广东药学院李书渊教授鉴定为茜草科玉叶金花属植物玉叶金花 *Mussaenda pubescens*。玉叶金花水提物的制备:将玉叶金花原植物干燥、切断、粉碎后过 20 目筛,10 倍量水加热回流提取 3 次,合并滤液,于水浴上浓缩至相当于含生药 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的药液,即为玉叶金花水提物,冷藏保存,备用。角叉菜胶(Sigma 公司,批号 127H-1227);阿司匹林(山东新华制药有限公司,批号 20110409);乙酸泼尼松(天津太平洋制药有限公司,批号 090508);青霉素(华北制药股份有限公司,批号 S0907203)。其他试剂均为分析纯。金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎球菌、链球菌、痢疾杆菌均由广东药学院微生物学与免疫学教研室提供。

1.2 动物 NIH 小鼠,18 ~ 22 g,雌雄兼用,动物许可证号 SCXK(粤)20080002;SD 大鼠,200 ~ 220 g,雌雄兼用,动物许可证号 2008A020;由广东省医学实验动物中心提供,符合 SPF 级标准。

1.3 仪器 YPB1003 型-电子天平(上海光正医疗仪器有限公司),PV-200 型-足肿容积测量仪(成都泰盟科技有限公司)。

2 方法

2.1 玉叶金花水提物的抗炎作用

2.1.1 对小鼠耳廓肿胀的影响^[4-6] 取小鼠 60 只,雌雄各半,随机均分 5 组,即空白对照组,阳性对照组,玉叶金花提取物高、中、低剂量组。阳性对照组按 $0.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给予阿司匹林混悬液,空白对照组给予等量生理盐水(NS),玉叶金花提取物 3 个给药组分别按 $33.6, 16.8, 8.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,灌胃给药,每日 1 次,连续 4 d。于末次给药 1 h 后,各组小鼠均右耳廓正反面均匀涂布二甲苯每只 0.05 mL,左耳不涂为正常耳。致炎肿胀后 1 h,脱颈椎处死小鼠,每鼠剪下左、右两耳片,用 6 mm 直径打孔器分别在同一部位打下两耳片,电子天平称重,以左、右耳片质量

之差作为肿胀度,比较各组间差异,计算肿胀度(mg)。

2.1.2 对大鼠足跖肿胀的影响^[4-6] 动物分组方法及各组给药方法同 2.1.1,阳性对照组按 $0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给予阿司匹林混悬液,空白对照组给予等量生理盐水(NS),玉叶金花提取物 3 个给药组分别按 $24, 12, 6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,灌胃给药,每日 1 次,连续 4 d。末次给药前先用足跖容积测量仪测定大鼠右足跖容积,给药后 30 min,予每只大鼠右后足跖(右后足掌心向踝关节方向)注射 1% 角叉菜胶 0.1 mL 致炎,分别测量给药后 1, 2, 3, 4, 5 h 大鼠右足跖容积,计算足肿胀度,比较各组的差异。

足肿胀度 = 肿胀后各时间点足容积 - 肿胀前足容积

2.1.3 对大鼠肉芽组织增生的影响^[4-6] 大鼠 60 只随机分 5 组,分为高、中、低 3 个给药组及空白对照组、乙酸泼尼松阳性药组,高、中、低 3 个给药组给药剂量同 2.1.2,在无菌条件下将 2 个 20 mg 的高压灭菌脱脂棉球分别滴加 $10 \text{ 万 U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 青霉素 0.1 mL,50 °C 烘箱烘干后,分别植入大鼠两侧腹股沟皮下,缝合伤口,手术当天开始灌胃给药,给药 1 次/d,连续 7 d,第 8 天颈椎脱臼致死,取出棉球及包裹在外边的肉芽组织,置 70 °C 烤箱放置 1 h 后,电子天平称重,减去原棉球质量,即为肉芽肿净重,比较各组肉芽肿质量,取两个肉芽肿的均值进行统计。

2.2 玉叶金花水提物抑菌作用观察

^[7-8]

2.2.1 抑菌圈直径的测定 分别将金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎球菌、链球菌、痢疾杆菌加入到直径 9 cm 灭菌培养皿,然后注入已溶化冷却至 45 ~ 50 °C 的营养琼脂培养基 20 mL,待琼脂凝固后,用外径 6 mm 的灭菌不锈钢打孔器在培养基上打 2 个等距离的孔,再用滴管吸取溶化的琼脂培养基,每孔滴入 1 滴。吸取 100 μL 玉叶金花提取液加入孔内,以生理盐水溶液作空白对照,置 37 °C 培养箱培养 24 h,测量抑菌圈直径,每组平行做 5 次。

2.2.2 最小抑菌浓度(MIC)测定 采用 2 倍稀释法,将玉叶金花水提物用灭菌蒸馏水倍比稀释成浓度为 500, 250, 125, 62.5, 31.3, 15.7, 7.9, 3.95 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的不同提取液,每个浓度设 5 个平行管,分别和等量的双倍浓度的营养肉汤相混合,并分别设不含玉叶金花提取物的肉汤培养基为对照管。然后将实验菌液(金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎球菌、链球菌、痢疾杆菌,菌液浓度用比浊管比浊,并调整密度为 $10^5 \sim 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$) 0.1 mL 分别接种各试管中,置 37 °C 培养箱培养 24 h,观察有无细菌生长,肉

汤清亮透明表示无细菌生长(-),肉汤浑浊表示有细菌生长(+),以能抑制细菌生长的提取物最高稀释度作为其最低抑菌浓度(MIC)。

2.3 数据统计学处理 计量资料采用 SPSS 12.0 统计软件进行处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,实验数据采用 *t* 检验比较组间差异, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 玉叶金花水提物的抗炎作用

3.1.1 对小鼠耳廓肿胀的影响 结果表明玉叶金花水提物的中、高剂量能显著减轻二甲苯致炎小鼠的耳肿胀度($P < 0.05$),低剂量则作用不显著,提示玉叶金花水提物中高剂量有抑制急性炎症的作用,结果见表 1。

表 2 玉叶金花水提取物对角叉菜胶所致大白鼠后足跖肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	V(致炎前足趾 体积)/mL	致炎后不同时间的足肿胀度/mL				
			1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
对照	-	1.16 ± 0.07	0.35 ± 0.1106	0.70 ± 0.10	0.77 ± 0.14	0.72 ± 0.20	0.62 ± 0.21
玉叶金花	6	1.18 ± 0.19	0.34 ± 0.15	0.68 ± 0.13	0.77 ± 0.08	0.72 ± 0.08	0.60 ± 0.15
	12	1.18 ± 0.15	0.34 ± 0.23	0.53 ± 0.16 ¹⁾	0.66 ± 0.18 ¹⁾	0.68 ± 0.21	0.60 ± 0.17
	24	1.17 ± 0.09	0.32 ± 0.13	0.50 ± 0.09 ¹⁾	0.61 ± 0.21 ¹⁾	0.66 ± 0.12	0.55 ± 0.17
阿司匹林	0.1	1.19 ± 0.06	0.15 ± 0.07 ²⁾	0.39 ± 0.23 ²⁾	0.45 ± 0.16 ²⁾	0.57 ± 0.19	0.58 ± 0.11

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

3.1.3 对棉球诱导的大鼠肉芽组织增生的影响 结果显示玉叶金花水提物的低、中、高剂量组肉芽肿的质量较空白对照组明显减少,具有统计学意义($P < 0.05$),提示该提取物有明显抑制慢性炎症增殖的作用,结果见表 3。

3.2 玉叶金花水提物的抑菌作用

3.2.1 对抑菌圈直径影响 结果表明玉叶金花水提取物对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎球菌、链球菌、痢疾杆菌均有抑菌作用,其抑菌直径分别为(16.05 ± 1.48), (16.29 ± 0.39), (15.88 ± 1.17), (11.23 ± 2.13), (12.17 ± 1.15) mm,与对照组比较, $P < 0.01$,结果见表 4。

表 4 玉叶金花水提取物抑菌效果($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	抑菌圈直径				
	金黄色葡萄球菌	大肠埃希菌	肺炎球菌	链球菌	痢疾杆菌
对照	-	-	-	-	-
玉叶金花水提液	16.05 ± 1.48 ²⁾	16.29 ± 0.39 ²⁾	15.88 ± 1.17 ²⁾	11.23 ± 2.13 ²⁾	12.17 ± 1.15 ²⁾

表 1 玉叶金花水提取物对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	耳肿胀度/mg
对照	-	6.51 ± 2.39
玉叶金花	8.4	5.38 ± 1.27
	16.8	4.72 ± 0.93 ¹⁾
	33.6	3.64 ± 1.17 ¹⁾
阿司匹林	0.2	2.59 ± 1.08 ²⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

3.1.2 对大鼠足跖肿胀的影响 结果表明,玉叶金花水提取物中、高剂量可明显抑制由角叉菜胶引起的大鼠 2,3 h 的足肿胀度($P < 0.05$),低剂量则作用不显著,提示玉叶金花水提取物中高剂量有抑制急性炎症的作用,结果见表 2。

表 3 玉叶金花水提取物对大鼠棉球肉芽肿的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	肿胀度 /mg
对照	-	112.89 ± 19.39
玉叶金花	6	90.77 ± 12.46 ¹⁾
	12	82.35 ± 16.37 ¹⁾
	24	70.06 ± 21.06 ²⁾
乙酸泼尼松	0.01	50.64 ± 12.42 ²⁾

3.2.2 最小抑菌浓度(MIC)测定 玉叶金花水提取物对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎球菌、链球菌、痢疾杆菌均有抑菌作用,其 MIC 分别为 125, 31.3, 15.7, 62.5, 62.5 mg·kg⁻¹,结果见表 5。

表5 玉叶金花水提物最低抑菌浓度实验结果

浓度 /mg·kg ⁻¹	金黄色 葡萄球菌	大肠 埃希菌	肺炎球菌	链球菌	痢疾杆菌
500	-	-	-	-	-
250	-	-	-	-	-
125	MIC-	-	-	-	-
62.5	+	-	-	MIC-	MIC-
31.3	+	MIC-	-	+	+
15.7	+	+	MIC-	+	+
7.9	+	+	+	+	+
3.95	+	+	+	+	+

注:“+”表示有细菌生长,“-”表示无细菌生长。

4 讨论

本实验结果显示,玉叶金花水提物可降低小鼠二甲苯所致的耳肿胀度和大鼠角叉菜胶所致足肿胀,表明对急性炎症有抑制作用;又能显著减轻大鼠棉球肉芽肿质量,表明对慢性炎症也有抑制作用,实验结果与资料所载该药的相关主治功效相符,同时实验结果表明高剂量组的抗炎作用较为显著。

抑菌实验表明玉叶金花水提物对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎球菌、链球菌、痢疾杆菌均有抑菌作用。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,为玉叶金花药用价值的进一步开发奠定基础。

玉叶金花是茜草科玉叶金花属植物,具有清热

解暑、凉血解毒等功效,用于感冒、中暑、发热、咳嗽、肠炎、肾炎水肿、咽喉肿痛等症,本实验结果也显示玉叶金花水提物具有消炎、抑菌作用,这与临床应用一致,但目前对该植物的化学成分研究较少,因此还需进一步从该植物的化学成分方面来阐明其抗炎抑菌的作用原理,阐明其物质基础。

[参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册[M]. 上海:上海人民出版社,1986:176.
- [2] 南京药学院. 中草药学. 下册[M]. 南京:江苏人民出版社,1980:1062.
- [3] 福建医药研究所. 福建药物志. 第1册[M]. 福州:福建人民出版社,1979:447.
- [4] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1994:713.
- [5] 叶绿萍,黄志俭,刘小意,等. 赶山鞭水提取物及醇提取物毒性及抗炎镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(17):204
- [6] 邓琪,黄美景,郭丽冰,等. 三丫苦抗炎镇痛作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):125
- [7] 蒋桂华,敬小莉,张俊,等. 苍耳草水及丙酮提取物的体外抗菌实验研究[J]. 华西药理学杂志,2011,26(4):345
- [8] 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.

[责任编辑 李玉洁]

《天津中医药》2013年征订启事

《天津中医药》(原名《天津中医》)创刊于1984年,是由天津市卫生局主管、天津中医药大学、天津中医药学会和天津中西医结合学会主办的综合性中医药学术期刊。本刊继承与发展并重,中医与中药兼顾,理论与实践并举,坚持中医特色,内容丰富,实用性强,是中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊、《CAJ-CD规范》执行优秀期刊、美国《化学文摘》(CA)俄罗斯《文摘杂志》(AJ)和波兰哥白尼索引(IC)源期刊、天津市一级期刊。2011年被评为天津市优秀期刊、获得全国高校优秀科技期刊二等奖、第3届全国中医药优秀期刊奖。本刊设有专家论坛、名医精粹、博士之窗、临床论著、针灸与推拿、理论探讨、实验研究、中药研究、国际交流、留学生园地、科研动态、综述等专栏,以满足广大读者日益增长的需要。

本刊国内外公开发行,ISSN:1672-1519,CN:12-1349/R。国内邮发代号为6-83,国外发行代号:1040-BM,2013年每期定价6.00元,全年6期定价为36元。合订本60元。本刊编辑部也办理邮购。邮购地址:天津市南开区鞍山西道312号《天津中医药》编辑部收,邮编:300193,电话:(022)59596310,传真:(022)59596595,E-mail: xuebaobj@tjutm.edu.cn; xuebaobj@126.com