

玄参破壁粉粒体内抗菌实验研究

张洪利¹, 刘瑶^{2*}, 成金乐³, 邓雯³

(1. 广东食品药品职业学院实训中心, 广州 510520; 2. 广东省
中药研究所, 广州 510520; 3. 中山市中智药业集团有限公司, 广东 中山 528437)

[摘要] **目的:** 研究玄参破壁粉粒的体内抗菌作用。**方法:** 金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌分别培养 18 h 增殖后, 用 5% 酵母浸出粉溶液稀释成不同浓度, ip 感染小鼠, 选用 80% ~ 100% 致死率的金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌的稀释液, 感染给药小鼠, 观测给药小鼠在染菌后 7 d 内的平均存活天数和死亡率。**结果:** 玄参破壁粉粒 3.5, 2.8, 2.1, 1.4 g·kg⁻¹ 及其常规饮片的 3.5 g·kg⁻¹ 剂量均能不同程度的抑制金黄色葡萄球菌小鼠的死亡率并延长平均存活天数; 玄参破壁粉粒 3.5, 2.8 g·kg⁻¹ 及其常规饮片的 3.5 g·kg⁻¹ 剂量均能不同程度的抑制绿脓杆菌小鼠的死亡率并延长平均存活天数。**结论:** 玄参破壁粉粒直接给药具有一定的体内抗菌作用, 与常规饮片的提取液体内抗菌作用等效。

[关键词] 玄参; 破壁粉粒; 金黄色葡萄球菌; 绿脓杆菌

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0178-03

Study on the Antibacterial Effect of Scrophulariae Radix Particle in Infected Mice Body

ZHANG Hong-li¹, LIU Yao^{2*}, CHENG Jin-le³, DENG Wen³

(1. Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China;
2. Guangdong Traditional Chinese Medical Institute, Guangzhou 510520, China;
3. Zhong zhi Chinese Medicine CO. LTD., Zhongshan 528437, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antibacterial effect of Scrophulariae Radix particle in infected mice. **Method:** *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were cultured for 18 hours and then 5% yeast liquor was added each of them to a suitable level which made 80% -100% infected mice death. Then each of the suitable bacterial liquor was inoculated into the abdominal cavity of mice who had given corresponding medicines for 7 days. Death rate and average survival time were both observed and analyzed within 7 days after infected. **Result:** 3.5, 2.8, 2.1, 1.4 g·kg⁻¹ of Scrophulariae Radix particle and 3.5 g·kg⁻¹ dose of conventional processed product can inhibit the death rate caused by *S. aureus* in mice and extend the average survival time; 3.5, 2.8 g·kg⁻¹ Scrophulariae Radix particle and 3.5 g·kg⁻¹ dose of conventional processed product can inhibit the death rate caused by *P. aeruginosa* in mice and prolong the average survival days. **Conclusion:** Directly administrated Scrophulariae Radix particle has the equivalent antibacterial activity with conventional processed products.

[Key words] Scrophulariae Radix; particle; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*

玄参为玄参科植物玄参 (*Scrophularia ningpoensis* Hemsl.) 的干燥根。性微寒, 味甘、苦、

[收稿日期] 20110427(008)

[基金项目] 2008 年度粤港关键领域重点突破招标项目(200801)

[第一作者] 张洪利, 硕士, 从事生物化学、食品化学研究, Tel:020-28854990, E-mail: zhanghl@gdzy.edu.cn

[通讯作者] * 刘瑶, 硕士, 从事中药复方药理研究, Tel:020-28854995, E-mail: liuy@gdzy.edu.cn

咸,具有凉血滋阴、泻火解毒的功效。玄参中除了含有特征性成分环烯醚萜苷类(主要是哈巴苷、哈巴酯苷),还含有其他成分如苯丙素苷(主要是安哥拉苷、阿克替苷)、有机酸类、梓醇等也具有明显、广泛的活性,玄参具有抗菌、抗炎、保肝等作用^[1]。玄参破壁粉粒是中山中智药业集团公司利用现代先进的超微粉碎技术,将玄参饮片进行细胞级粉碎,并采用专利成型技术加工而成的一种新型中药饮片。本文对玄参破壁粉粒体内抗菌作用进行研究,并与常规饮片进行药效学比较,为玄参破壁粉粒的临床开发利用提供依据与参考。

1 材料

1.1 药品及试剂 玄参破壁粉粒(每1g粉粒含1g生药)、玄参饮片均由中山中智药业集团有限公司提供,生产批号20090504。将玄参饮片按临床常规煎煮方法进行煎煮,每1mL水煎液含1g生药,待用。头孢拉定胶囊,广东华南药业集团有限公司生产,批号090601。盐酸左氧氟沙星,哈药集团三精制药诺捷有限责任公司生产,批号100162。酵母浸出粉(YEAST EXTRACT),购自OXOID公司,批号1063282-02。

1.2 动物 SPF级ICR种NIH小鼠,体重18~22g,雌雄各半,由南方医科大学实验动物中心提供,许可证号SCXK(粤)2006-0015。

1.3 菌株和培养基 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)购自广东省微生物研究所微生物菌种保藏中心。培养基为营养肉汤培养基。

1.4 设备 超净工作台(THERMO ELECTRON CORPORATION)。LDZX-40BI型立式自动电热压力蒸气灭菌器(上海申安医疗器械)。

2 方法

2.1 金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌感染菌液密度筛选 将金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌接种到普通肉汤培养基培养18h后进行细菌计数为 6.4×10^7 CFU/mL,4℃冷藏备用。

选取小鼠36只,体重18~22g,雌雄各半,随机分为6组,分别为5个菌液稀释组和1个空白对照组,每组6只。5个菌液稀释组,每组分别ip以5%干酵母生理盐水溶液稀释的菌溶液(稀释度分别为 1×10^{-1} , 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5}),给药量0.5 mL/只;空白对照组ip5%酵母浸出粉-生理

盐水溶液0.5 mL/只。观察染菌后2d内动物的死亡率,并选取感染死亡率为80%~100%的稀释浓度作为正式实验的感染菌液浓度^[2]。

2.2 对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌感染小鼠的保护作用 选取小鼠80只,体重18~22g,雌雄各半,随机分为8组,即空白对照组、模型对照组、阳性对照组(金黄色葡萄球菌感染使用药物为头孢拉定 $0.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$;绿脓杆菌感染使用药物为盐酸左氧氟沙星 $0.14 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、玄参饮片组、玄参破壁粉粒组、玄参破壁粉粒4/5剂量组、玄参破壁粉粒3/5剂量组、玄参破壁粉粒2/5剂量组。各组给药情况如下:阳性对照组给予头孢拉定 $0.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (折合临床给药3g/60kg),盐酸左氧氟沙星 $0.14 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (折合临床给药0.6g/60kg);玄参饮片组给予玄参饮片水煎液 $3.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (折合临床给药15g/60kg);玄参破壁粉粒组给予玄参破壁粉粒 $3.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (折合临床给药15g/60kg);玄参破壁粉粒4/5剂量组给予玄参破壁粉粒 $2.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$;玄参破壁粉粒3/5剂量组给予玄参破壁粉粒 $2.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$;玄参破壁粉粒2/5剂量组给予玄参破壁粉粒 $1.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。玄参破壁粉粒组及其饮片组动物按剂量连续ig给药7d,1次/d。空白对照组和模型对照组ig等量生理盐水,阳性对照组在感染菌前1d开始给药1次。感染前小鼠禁食12h,第8天,选80%~100%小鼠死亡的金黄色葡萄球菌酵母浸出粉稀释液或绿脓杆菌酵母浸出粉稀释液0.5 mL/只,给小鼠造成感染,空白对照组注射等量干酵母浸出粉-生理盐水溶液,0.5 mL/只。感染后6h,阳性对照组再给药1次,继续给药1d^[3]。观察和记录各组动物感染后7d内的反应情况以及死亡数。

2.3 统计学处理 死亡数据为分类资料,用SPSS 13.0统计软件的Fishers' exact检验进行统计分析, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌密度筛选 结果显示5%酵母浸出粉-生理盐水对照组无死亡, 10^{-1} 稀释密度的金黄色葡萄球菌菌液(即菌落密度为 6.4×10^6 CFU/mL)致死率为83.3%,确定为本次实验感染的菌液密度。绿脓杆菌菌液原液(即菌落密度为 1.88×10^8 CFU/mL)致死率为80%,确定为本次实验感染的菌液密度。

3.2 对金黄色葡萄球菌感染小鼠的保护作用 与

空白组对照比较,模型对照组的动物死亡率为 80% ($P < 0.01$),表明密度为 6.4×10^6 CFU/mL 金黄色葡萄球菌的干酵母悬液能明显引起小鼠死亡。与模型对照组比较,头孢拉定组死亡率明显降低 ($P < 0.01$),且平均存活天数明显增加;玄参饮片组、玄参破壁粉粒等剂量组死亡率明显降低 ($P < 0.05$),且平均存活天数较模型组小鼠明显增加,玄参破壁粉粒抗金黄色葡萄球菌具有剂量依赖性。见表 1。

表 1 玄参破壁粉粒及其常规饮片对金黄色葡萄球菌感染小鼠的保护作用 ($n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	死亡数 /只	平均存活时间 /d	死亡率 /%
空白	-	0	7.0	0.0
模型	-	8	2.5	80.0
头孢拉定	0.7	0	7.0	0.0 ²⁾
玄参饮片	3.5	2	5.8	20.0 ¹⁾
玄参破壁粉粒	3.5	2	5.8	20.0 ¹⁾

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 玄参破壁粉粒及其常规饮片对绿脓杆菌感染小鼠的保护作用 ($n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	死亡数/只	平均存活时间/d	死亡率/%
空白	-	0	7.0	0.0
模型	-	9	1.7	90.0
盐酸左氧氟沙星	0.14	0	7.0	0.0 ²⁾
玄参饮片	3.5	2	5.9	20.0 ²⁾
玄参破壁粉粒	3.5	3	5.4	30.0 ¹⁾
	2.8	5	4.1	40.0
	2.1	8	2.4	80.0
	1.4	8	2.4	80.0

本实验在进行玄参饮片与玄参破壁粉粒药效比较分析时,首先选定中效剂量。依据 2005 年版药典成人的用药剂量折合成动物的给药剂量,并通过预试验找出玄参常规饮片的中效剂量。为了体现破壁粉粒节约药材的特点,在玄参常规饮片中剂量的基础上以其 1/2,1/4,1/8 剂量作为玄参破壁粉粒药效学试验不同剂量组。实验结果表明,玄参破壁粉粒,具有与常规饮片水煎液等同的效果,且服用方便,显示其具有良好的开发前景。

[参考文献]

[1] 夏聪华,石森林,葛卫红,等.玄参药理活性研究进

展[J].中国药师,2008,11(8):911.

4 讨论

玄参为我国特有的传统中药,主要用于温病热入营血,阴虚内热等证。现代药理研究表明,玄参对金黄色葡萄球菌有效,对白喉、伤寒杆菌次之,对乙型链球菌等作用差^[4-5]。本实验结果显示,玄参破壁粉粒及其常规饮片预防给药对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌感染均具有不同程度的保护作用,显示了其具有一定的体内抗菌作用。等剂量的玄参破壁粉粒与常规饮片水煎液的体内抗菌作用等效。

[2] 徐叔云,卞如濂,陈修,等.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2002:1647.

[3] 林彦君,缪舒益,李佳川,等.中药感舒体内抗菌实验研究[J].时珍国医国药,2008,19(10):2469.

[4] 俞静静,陈素红,吕圭源.玄参“凉血滋阴”药效相关研究概况[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(9):63.

[5] 胡瑛瑛,黄真.玄参的化学成分及药理作用研究进展[J].浙江中医药大学学报,2008,32(2):268.

[责任编辑 聂淑琴]