

妇安消疹洗液体外抑菌与抗炎效果研究[△]

陈芳^{1*}, 陈黎¹, 肖子靖², 杜晓¹, 常明泉^{1#} (1. 十堰市太和医院药学部, 湖北 十堰 442000; 2. 湖北医药学院药学院, 湖北 十堰 442000)

中图分类号 R932 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2021)03-0289-03

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2021.03.008

摘要 目的:探讨妇安消疹洗液体外抑菌和抗炎功效,为临床合理用药提供依据。方法:采用平皿稀释法考察妇安消疹洗液原液和50%、25%、12.5%妇安消疹洗液对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、大肠埃希菌及白色念珠菌的抑菌效果。建立小鼠动物模型,将60只健康小鼠分为空白组、模型组、金归洗液组和妇安消疹洗液组(包括低、中及高浓度组),每组10只,观察不同浓度妇安消疹洗液对二硝基氯苯(DNCB)诱发小鼠耳肿胀的抗炎效果。结果:妇安消疹洗液原液和50%、25%、12.5%妇安消疹洗液对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、大肠埃希菌和白色念珠菌均能产生不同程度的抑菌效果,具有量效关系。妇安消疹洗液中、高浓度组小鼠的炎症抑制效果与模型组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),妇安消疹洗液对DNCB的抗炎效果随着药液浓度的递增而增强。结论:妇安消疹洗液具有良好的抑菌、抗炎效果,适用于妇科、皮肤科相关细菌感染及炎症等疾病的治疗。

关键词 妇安消疹洗液; 抑菌; 抗炎

Study on Antibacterial and Anti-Inflammatory Effects of Fu'an Xiaozhen Lotion *in vitro*[△]

CHEN Fang¹, CHEN Li¹, XIAO Zijing², DU Xiao¹, CHANG Mingquan¹ (1. Dept. of Pharmacy, Shiyan Taihe Hospital, Hubei Shiyan 442000, China; 2. College of Pharmacy, Hubei Medical College, Hubei Shiyan 442000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To explore the antibacterial and anti-inflammatory effects of Fu'an Xiaozhen lotion *in vitro*, so as to provide basis for clinical rational drug use. **METHODS:** The antibacterial effects of original solution, 50%, 25% and 12.5% Fu'an Xiaozhen lotion on *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* were investigated by plate dilution method. The mouse model was established, and 60 healthy mice were divided into the blank group, the model group, the Jingui lotion group and Fu'an Xiaozhen lotion group (including low, medium and high concentration group), with 10 cases in each group. The anti-inflammatory effects of different concentrations of Fu'an Xiaozhen lotion on ear swelling in mice induced by dinitrochlorobenzene (DNCB) were observed. **RESULTS:** The original solution, 50%, 25% and 12.5% of Fu'an Xiaozhen lotion had different degrees of antibacterial effects on *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* and *C. albicans*, with the dose-effect relationship. Compared with the model group, there was statistically significant difference in anti-inflammatory effects of medium-concentration and high-concentration Fu'an Xiaozhen lotion ($P<0.05$). The anti-inflammatory effects of Fu'an Xiaozhen lotion on DNCB increased with the increasing concentration of the lotion. **CONCLUSIONS:** Fu'an Xiaozhen lotion has significant antibacterial and anti-inflammatory effects, which is suitable for the treatment of diseases related to bacterial infection and inflammation in gynecology and dermatology.

KEYWORDS Fu'an Xiaozhen lotion; Antibacterial; Anti-inflammatory

目前,一些妇科阴道炎症的治疗多采用具有抗菌消炎效果的化学溶液或复方中药洗液稀释后腔道冲洗、口服抗菌药物和阴道栓剂给药的三联疗法。皮肤科湿疹、特应性皮炎等的治疗采用外用糖皮质激素、保湿润肤乳膏和口服抗组胺药的三联疗法较多。近年来,中药复方洗液陆续应用于阴道炎、湿疹及特应性皮炎的治疗。妇安消疹洗液是湖北医药学院附

属太和医院自主研发的中药复方外用洗液,批准文号为鄂药制字Z20180417,规格为250 ml/瓶^[1-2],该药目前主要在皮肤科用于湿疹、汗疱疹及特应性皮炎的药浴和外涂治疗,在妇科主要用于阴道炎的冲洗治疗。该药的临床疗效已获得肯定,但其药理作用尚不明确。为了明确妇安消疹洗液治疗上述疾病的作用机制,弥补药理研究的空白,为临床科学用药建立依据,本研究采用平皿稀释法研究其体外抑菌效果,建立炎症小鼠实验模型研究其抗炎效果。

1 材料

1.1 仪器

1374-A2型净化工作台(赛默飞世尔苏州仪器有限公司);

[△] 基金项目:湖北省卫健委项目(No. WJ2019M057);太和科研基金(No. 2018JJXM057)

* 副主任药师。研究方向:医院药学。E-mail: 13997800322@163.com

通信作者:主任药师。研究方向:新药研究。E-mail: 907622985@qq.com

WATER JNCKETED INCUBATR 型水套式恒温培养箱(上海力申科学仪器有限公司);HGZF-II-101-2 型电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械有限公司);FST 型耳打孔器(北京友诚嘉业生物科技有限公司,6 mm/11.5 cm);zr-08 型小鼠固定器(上海普辛仪器科技有限公司);YC-300L 型医用冷藏箱(中科美菱低温科技股份有限公司);GL 1241-1SCN 型分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司,精度 0.1 mg);RE-52AX 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 药品与试剂

金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、大肠埃希菌及白色念珠菌株均来自湖北医药学院附属太和医院感染与免疫性疾病研究所;营养肉汤、琼脂培养基购自青岛海博生物技术有限公司(批号:161108),二硝基氯苯(DNCB)(天门恒昌化工有限公司;规格:100 g;含量 98.0%;批号:20181206);0.9%氯化钠溶液(青岛海博技术有限公司;规格:100 ml;批号:20181112);金归洗液(浙江圣华药业有限公司;批号:20190224);妇安消疹洗液原液(湖北医药学院附属太和医院;批号:20180411);高浓度妇安消疹洗液(取妇安消疹洗液原液 100 ml 在旋转蒸发仪上 65℃ 旋转浓缩至 50 ml,即得);中浓度妇安消疹洗液(同妇安消疹洗液原液);低浓度妇安消疹洗液(取妇安消疹洗液原液 50 ml 加纯化水按体积比 1:2 的比例稀释,搅拌均匀,即得)。

1.3 实验动物

实验动物取自湖北医药学院动物实验中心,小鼠型号为 C57BL/6/ICR,平均体重为(20±2)g,所用小鼠 6 个周龄,分组时雌雄均等,动物的使用许可证为 SYXK(鄂)2016-0031;实验许可证为 SCXK(鄂)2016-0008,实施场所在湖北医药学院附属太和医院武当中医药研究所动物实验室。实验小鼠每日给予专用固体鼠食,保证充足饮水和所需的维生素,在恒湿、恒温的条件下饲养。

2 方法

2.1 体外抑菌实验

在超净工作台下按照无菌规程操作,采用平皿培养基打孔灌药法^[3-5]。取干热灭菌后的 10 ml 玻璃试管 6 支,编号。1 号试管加入妇安消疹洗液原液 3 ml,第 2、3 及 4 号试管各加入 0.9%氯化钠溶液 3 ml,吸取妇安消疹洗液原液 3 ml 加入 2 号试管中,混匀,取 2 号试管中混合均匀的妇安消疹洗液 3 ml 于 3 号试管中,摇匀,然后取 3 号试管中混合均匀的妇安消疹洗液 3 ml 于 4 号试管中,混匀,5 号试管中加金归洗液原液 3 ml,6 号试管加入无菌 0.9%氯化钠溶液 3 ml。取琼脂培养基在水浴上加热熔化,放至约 40℃,加 20 ml 至灭菌平皿中,摇匀,待凝固,用无菌打孔器(直径 6 mm)在平皿培养基上均匀打 4 孔,将各平皿孔中分别加入第 1—6 号试管中相应溶液 0.2 ml,最后再将金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、大肠埃希菌和白色念珠菌均匀接种于各孔四周,于 37℃ 恒温培养箱中培养 24 h,取出,测量每个平皿中抑菌圈直径,取均值,比较抑菌效果。

2.2 DNCB 致炎实验

将 60 只合格小鼠分为 6 组,每组 10 只,分别为空白组、模型组、金归洗液组和妇安消疹洗液组(包括低、中及高浓度

组),每组雌雄均等^[6-8]。用剃毛器小心剃去每组小鼠左右耳廓毛发,注意剃毛时勿伤及皮肤,备皮面积约为 2 cm×2 cm,备皮完成后逐一检查小鼠耳廓,将有损伤的小鼠淘汰,替补合格小鼠。左耳为实验区,右耳为参照区,小鼠左耳造模,对空白组和模型组小鼠左耳剃毛处分别涂抹 0.9%氯化钠溶液 0.1 ml,金归洗液组小鼠涂抹金归洗液原液 0.1 ml,妇安消疹洗液低、中及高浓度组小鼠分别给予相应浓度的妇安消疹洗液 0.1 ml。24 h 后,空白组小鼠不给予任何药物,模型组、金归洗液组和妇安消疹洗液组小鼠左耳廓剃毛处均给予 5% DNCB 丙酮溶液 0.05 ml 使其致敏,24 h 后再给予同样剂量的 5% DNCB 丙酮溶液 1 次,以增强其致敏效果。于第 6 日给药 1 h 后,对每组小鼠行激敏攻击,方法为在左耳廓两面均匀涂抹 5% DNCB 丙酮溶液 20 μl,涂抹 1 h 后将小鼠处死,在每组小鼠左耳和右耳对应处用打孔器分别打取同样面积大小的耳片,用分析天平分别称重,依法计算各组小鼠的耳肿胀度,计算各组药物对小鼠炎症的抑制率,抑制率=(模型组耳肿胀度-给药组耳肿胀度)/模型组耳肿胀度×100%,比较抗炎效果。

2.3 统计学方法

该实验结果与数据分析采用 SPSS 20.0 软件,组内结果均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表述;成对实验结果应用 LSD-t 法分析;多组间实验数据采用方差分析; $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 体外抑菌效果

妇安消疹洗液对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、大肠埃希菌及白色念珠菌抑菌圈(mm)的大小代表其抑菌效果,实验结果显示,4 个菌株抑菌圈随该药液稀释倍数的增加而减小,表明妇安消疹洗液对上述 4 个菌种均有一定的体外抑菌作用,其抑菌效果与药液的浓度具有量效关系,见表 1。

表 1 妇安消疹洗液体外抑菌效果($\bar{x} \pm s$, mm/抑菌圈, $n = 4$)
Tab 1 Antibacterial effects of Fu'an Xiaozhen lotion *in vitro* ($\bar{x} \pm s$, mm/antibacterial circle, $n = 4$)

菌株	妇安消疹洗液				金归洗液	0.9%氯化钠溶液
	原液	稀释 1 倍	稀释 2 倍	稀释 3 倍		
金黄色葡萄球菌	24	18	15	12	24	0
绿脓杆菌	20	15	12	9	22	0
大肠埃希菌	19	15	11	8	18	0
白色念珠菌	21	14	11	8	20	0

3.2 抗炎效果

妇安消疹洗液各浓度均能不同程度抑制由 5% DNCB 丙酮溶液引起的小鼠耳肿胀度,其中,妇安消疹洗液中、高浓度组的炎症抑制效果与模型组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),妇安消疹洗液对 DNCB 的抗炎效果随着药液浓度的升高而增强,其抗炎强度具有量效关系,见表 2。

4 讨论

中医范畴的肝郁化热、脾虚聚湿、湿热下注及带下病可能是由念珠菌引起的附件炎与阴道炎^[9],该病常瘙痒难忍,使人焦躁不安,羞于启齿,影响生活。而皮肤病中的特应性皮炎、湿疹不仅有瘙痒症状,也常伴有金黄色葡萄菌、绿脓杆菌

表 2 妇安消疹洗液抗炎效果($\bar{x}\pm s, n=10$)
Tab 2 Anti-inflammatory effects of Fu'an Xiaozhen lotion
($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	给药剂量/(ml/cm ²)	耳肿胀度/mg	抑制率/%
空白组	—	0.7±0.3	—
模型组	—	23.1±5.4	—
金归洗液组	0.1	11.5±2.2 ^a	50.22 ^a
低浓度组	0.1	15.6±3.3	32.47
中浓度组	0.1	13.9±2.6 ^a	44.16 ^a
高浓度组	0.1	10.7±2.4 ^a	53.68 ^a

注:与模型组比较, *P<0.05; “—”代表无相关数据
 Note: vs. the model group, *P<0.05; “—” means no relevant data

感染。因此,对上述疾病的治疗,根据具体病症,除给予基础治疗并应用相应口服药物外,采用具有抗菌消炎、止痒的中药洗液冲洗、涂搽也能产生独特的效果^[10]。随着妇安消疹洗液用途的拓宽,虽然在一些疾病的治疗中获得了肯定疗效,但不同疾病具有不同的病理特征、病因病机,包括所感细菌种类。因此,对抗炎药理作用、抗菌谱进行多角度的研究,为临床应用提供科学依据十分必要。

妇安消疹洗液是以野菊花、苦参、漏芦、土茯苓、蛇床子和白矾 6 味中药组方,经过水煎提取、过滤、沉淀、离心、浓缩及灭菌等工艺制备而成的中药复方外用洗液。野菊花中所含糖苷、黄酮、萜类具有抗炎、抗病毒作用,对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、大肠埃希菌和白色念珠菌等能发挥较强的抑菌作用^[11-12]。苦参碱、蛇床子素可杀虫止痒、抗过敏,具有抗组胺样作用;土茯苓中的落新妇苷、漏芦中的噻吩类及萜类物质具有抗菌消痈、改善外周微循环的功效,通过抑制组胺、毒性物质的释放产生抗炎作用,上述活性物质能减轻 DNCB 诱导的小鼠耳肿胀炎症反应^[13-14]。蛇床子中的花椒毒酚除具有抗炎作用外,还具有一定的镇痛与表面麻醉效果,其可能通过抑制 N-型钙通道,阻滞小鼠神经传导^[15]。落新妇苷具有选择性免疫抑制作用,可对小鼠炎症及超敏反应产生抑制作用,通过抑制组胺、毒性物质的释放减轻 DNCB 诱导小鼠的耳肿胀^[16-17]。噻吩类物质的抗炎、改善外周微循环作用可活化小鼠皮损部位的细胞因子,促进其游走,从而对小鼠因 DNCB 导致的渗出、结痂产生修复作用^[18-19]。白矾具有较强的蛋白凝固作用,低浓度有收敛、消炎和防腐作用,其溶液通过进入小鼠皮下组织细胞,抑制、延迟细胞介导反应,降低免疫球蛋白与细胞表面受体的结合,抑制白细胞介素的合成与释放,促进 Th1/Th2 的平衡,产生免疫抑制作用,从而改善外周免疫状态^[20-21]。本研究所用对照药物金归洗液也属于中药复方外用洗液,具有抗菌消炎、清热、祛湿和止痒的作用,对接触性皮炎、脂溢性皮炎、神经性皮炎、外阴瘙痒及带下量多具有良好的治疗作用。

本研究结果显示,妇安消疹洗液对所选实验菌株具有良好的抑菌作用,对 DNCB 诱导的小鼠耳肿胀具有显著的抑制作用,这与妇安消疹洗液组方药物所含活性成分有关。由白色念珠菌感染引起的妇科附件炎及阴道炎症应用中药洗液灌注冲洗有利于直接杀灭细菌,还可促进感染部位创面愈合,抑制炎性渗出(白带)。妇安消疹洗液体外抑菌抗炎效果研究填补了该制剂基础研究的部分空白,可为该制剂在临床中的合

理、科学用药提供依据。其他相关药理研究将持续开展。

参考文献

[1] 何秀丽,景海霞,李炯,等. 妇安消疹洗液对小鼠迟发型变态反应的影响[J]. 广西中医药,2020,43(3):73-76.

[2] 吴蕊,常明泉,陈芳,等. 妇安消疹洗液治疗手部汗疱疹的临床研究[J]. 中医药导报, 2019,25(13): 69-70,73.

[3] 余应嘉,叶淑芳,陈庆状,等. 妇洁康洗剂对小鼠抗炎止痒及体外抑菌的作用[J]. 现代医院,2019,19(6):871-873,877.

[4] 杨小良,李瑶,刘振飞. 鬼灯笼提取物的体外抑菌实验[J]. 中医药信息,2019,36(6):35-37.

[5] 历雪,夏青,李艳,等. 几种中药提取液对常见的致病菌体外抑菌及抗氧化活性的初步研究[J]. 长春理工大学学报:自然科学版,2019,42(1):139-142.

[6] 冯萍,陈芳,陈少秀,等. 氯强油搽剂对小鼠迟发型变态反应的影响[J]. 儿科药科学杂志,2020,26(8):3-6.

[7] 高月,王万林,谢雪艳,等. 结合体外抗菌抗炎活性评价筛选艾纳香油的提取工艺[J/OL]. 中药材,2020(5):1198-1201

[8] 王婷婷,张燕,杨志敏,等. 连翘及连翘叶抑菌抗炎活性及其主要化学成分研究[J]. 中国药物与临床,2019,19(14):2380-2381.

[9] 徐丹红. 金刚藤胶囊联合西药治疗慢性附件炎临床研究[J]. 新中医,2020,52(3):69-72.

[10] 吕秀英. 蛇床子汤外阴阴道冲洗辅助治疗湿热下注型霉菌性阴道炎的效果[J]. 临床医学研究与实践,2019,4(27):154-155.

[11] 刘磊磊,肖卓炳. 野菊花的化学成分研究[J]. 中草药,2018,49(22):5254-5258.

[12] 陈玉娥,孙杨杨,钟慧怡,等. 电感耦合等离子质谱法测定野菊花中多种无机元素[J]. 药物分析杂志,2020,40(3):562-567.

[13] 王思为,张峰,郑晓燕,等. 土茯苓活性分子落新妇苷联合顺铂对入肺癌 A549 细胞凋亡的影响[J]. 中药材,2017,40(12):2941-2945.

[14] 洪军,胡建业,张慧敏,等. 不同提取方法对禹州漏芦多糖含量及抗菌抗氧化活性的影响[J]. 食品科技,2017,42(11):232-235.

[15] 庄正陵,吴志明,柯广水,等. 花椒毒酚通过抑制炎症治疗大鼠膝关节关节炎的实验研究[J]. 军事医学,2019,43(10):767-771.

[16] 徐萍,张森,徐玉彬,等. 落新妇苷预处理对大鼠肝脏缺血再灌注损伤和 Bcl-2、Bax 表达的影响[J]. 中国药师,2016,19(11):2055-2058.

[17] 严爱娟,郭增喜,张文婷,等. 产地及生长年限对土茯苓中落新妇苷含量的影响[J]. 中国现代应用药学,2016,33(6):803-806.

[18] 杨美珍,王晓琴,刘勇,等. 祁州漏芦化学成分与药理活性研究[J]. 中成药,2015,37(3):611-618.

[19] 金海南,刘莉园,金芳多,等. 祁州漏芦水提取物对叔丁基过氧化氢诱导血管内皮细胞损伤的保护作用[J]. 中国药学杂志,2018,53(16):1366-1372.

[20] 端木玮晨,匡海学,王秋红. 白矾的本草考证[J]. 广东药科大学学报,2019,35(3):466-469.

[21] 沈紧治,王政,苏玉纯. 差示扫描量热法对 5 种硫酸盐类矿物药的分析鉴别研究[J]. 中国医院用药评价与分析,2019,19(6):717-720.

(收稿日期:2020-04-08)