

苍艾香熏油体外抑菌作用研究*

明溪, 何晓山, 陈柏君, 熊磊[△]

(云南中医学院第一附属医院, 云南 昆明 650021)

〔摘要〕目的: 进一步研究将熊磊教授临床经验方用现代制剂工艺制成的苍艾香熏油的体外抑菌作用, 比较复方挥发油与各组方中单药挥发油的抑菌效果。方法: 采用打孔法检测苍艾香熏油及各单药挥发油对各实验菌的体外抑菌作用, 并用左氧氟沙星及酮康唑制剂为阳性对照, 分别初步求出其抑菌作用的量效关系。结果: 苍艾香熏油对金黄色葡萄球菌、乙型链球菌、白色念珠球菌均有体外抑菌作用, 并在一定剂量范围内呈量效关系。但对铜绿假单胞菌不敏感。金黄色葡萄球菌、乙型链球菌、白色念珠球菌对受试单味组方药的挥发油均敏感; 铜绿假单胞菌仅对花椒挥发油敏感。

〔关键词〕苍艾香熏油; 单药挥发油; 体外抑菌作用

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1000—2723(2011)01—0010—04

苍艾香熏油是在总结熊磊教授临床用药经验基础上选用苍术、艾叶、藿香等含挥发油成分, 气味清香, 抗菌力强的中药而研制的新型气道吸入剂。为进一步研究其体外抑菌作用, 并对复方挥发油与各单药挥发油的体外抑菌作用, 探讨组方的合理性与必要性, 拟进行第二次抑菌实验。本实验通过几种受试药物对金黄色葡萄球菌、乙型链球菌、铜绿假单胞菌、白色念珠球菌的药物敏感性试验, 观察抑菌作用。现将实验结果报道如下:

1 实验材料

1.1 仪器

电热恒温培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)、超净工作台(梅州市纪元应用研究所)、高压蒸汽灭菌锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)、旋转接种仪(珠海迪尔生物工程公司)。

1.2 药物

中药材购于昆明绿生药业, 经鉴定、筛选、粉碎备用。阳性对照药左氧氟沙星胶囊由常州兰陵制药有限公司生产, 批号为: H20053334; 酮康唑胶囊由广东彼迪药业有限公司生产, 批号为: H20059399。实验前分别将其配制为50ug/mL备用。

1.3 培养基的制备

营养肉汤培养基由郑州博赛生物技术股份有限公司提供, 批号: 200701105。培养基按常规制成营养肉汤琼脂平板; 营养肉汤经高压蒸汽灭菌法灭菌备用。

1.4 实验菌种

金黄色葡萄球菌(Ym1030)、乙型溶血性链球菌(Ym1021)、铜绿假单胞菌(CMCC)、白色念珠球菌(Ym2005)由北京生物制品鉴定所菌种中心提供, 云南省药物研究所保存。

1.5 菌种的复苏及菌液的配制

取保存之菌种分别复苏于营养肉汤中, 37℃培育18~24h后转种于营养肉汤琼脂平板上, 37℃再培育18~24h后取单个菌落再次转种于营养肉汤中, 37℃培育18~24h后用麦氏比浊法调整浓度为 3×10^6 cfu/mL用于实验。

2 实验方法

2.1 挥发油的制备

复方挥发油: 取苍术、艾叶各100g, 藿香、佩兰、苍术、艾叶、香薷、丁香、花椒各50g(共450g), 置于5000mL的圆底烧瓶中, 分别加入8

*基金项目: 云南省教育厅科学研究基金立项项目(NO: 06J347C)

收稿日期: 2010—10—15 修回日期: 2010—12—01

作者简介: 明溪(1982~), 女, 云南昆明人, 主要从事儿科临床工作。△通讯作者: 熊磊, E-mail: xigua8279@wotmail.com

倍量水,浸泡 2h,按《中华人民共和国药典 2000 版一部》(附录 XD),提取挥发油,将所得挥发油用无水硫酸钠进行脱水备用。

组方药物挥发油:用相同方法分别提取藿香、佩兰、苍术、艾叶、香薷、丁香、花椒的挥发油,脱水备用。

2.2 受试药液的制备

参照文献方法^[1,2],取灭菌试管 15 支,编号后排列于试管架上,按照无菌操作法,第 1 管移加 100% 的苍艾复方挥发油 3mL;用食用花生油作为溶剂,用等倍稀释法将 2~5 号试管试剂稀释成 50%,25%,12.5%,6.25% 的苍艾复方挥发油各 3mL,混匀备用。(注:每 mL 复方挥发油中含原药材约 80g)。第 6、7、8 号试管分别加 50ug/mL 的左氧氟沙星水溶液、酮康唑水溶液及食用花生油 3mL;第 9~15 号试管分别加入 100% 的藿香、佩兰、苍术、艾叶、香薷、丁香、花椒挥发油各 3mL (每 mL 挥发油中含原药材量:藿香约 125g、佩兰约 80g、苍术约 40g、艾叶约 40g、香薷约 10g、丁香约 10g、花椒约 15g);以上试液经高压蒸汽灭菌法灭菌,冷却备用。

2.3 实验方法

按照无菌操作法,取标号灭菌平皿,加经高压灭菌、融化后冷却到 40℃ 的营养肉汤琼脂培养基 20mL 摇匀,待凝固后,先用直径 6mm 的无菌打孔器在平板上打孔 (0.2mL/孔),以各孔抑菌效果不

相互影响为前提,设计每皿打孔数见表 1:

表 1 平皿打孔数及所加受试液			
打孔数	1 孔/皿	2 孔/皿	3 孔/皿
所加受试液	①100% 苍艾香熏油	① 50% 与 6.25% 苍艾香熏油	① 100% 藿香、佩兰、苍术挥发油
	②100% 食用花生油 (阴性对照)	② 25% 与 12.5% 苍艾香熏油	
	③50μg/mL 的左氧氟沙星水溶液 (阳性对照)	③ 100% 艾叶与香薷挥发油	
	④50μg/mL 的酮康唑水溶液 (阳性对照)	④ 100% 丁香与花椒挥发油	

之后按实验计划依次在各孔分别加入以上配好的受试液,最后用旋转接种仪将培养好的金黄色葡萄球菌、乙型链球菌、铜绿假单胞菌、白色念珠球菌分别接种于各皿洞口四周,37℃ 培养 24h 后观察并测出抑菌圈直径。中药抑菌药敏结果的判断参照相应抗生素标准^[3],抑菌圈直径 > 20mm 为高敏,10~20mm 为中敏,< 10mm 为耐药。

3 结果与讨论

3.1 结果 (见表 2)。

表 2 苍艾香熏油体外抑菌实验结果								
菌株	苍艾香熏油 (g/mL)					阳性对照		阴性对照
	80/100%	40/50%	20/25%	10/12.5%	5/6.25%	左氧/50ug/mL	酮康唑/	食用花生油/100%
金黄色葡萄球菌	90	23	18	14	14	55	—	6
乙型链球菌	25	20	13	12	960	—	6	
铜绿假单胞菌	8	7	6	6	6	55	—	6
白色念珠球菌	55	30	15	12	10	—	33	6

注:表格中数字为抑菌圈直径平均值

结果表明,金黄色葡萄球菌、乙型链球菌、白色念珠球菌对受试的各浓度苍艾香熏油均敏感;对铜绿假单胞均表现为不敏感。阴性对照组中各试验

菌生长良好,孔周菌苔光滑连续,无抑菌圈。

体外抑菌实验结果表明,苍艾香熏油对金黄色葡萄球菌、乙型链球菌,白色念珠球菌均有体外抑

菌作用，并且在一定剂量范围内随剂量增加而增强。

在本实验室条件下，与浓度为 50ug/mL 的阳性对照药左氧氟沙星、酮康唑相比，中高浓度（40g/mL、80g/mL）的苍艾香熏油对金黄色葡萄球菌、乙型链球菌、白色念珠球菌具有高度抑制作用。其中，对金黄色葡萄球菌、乙型链球菌的抑制作用优于 50ug/mL 的左氧氟沙星；对白色念珠球菌的抑制作用优于 50ug/mL 的酮康唑。

金黄色葡萄球菌对藿香、佩兰、苍术、艾叶、

香薷、丁香、花椒均高度敏感，其中以丁香、花椒最优；乙型链球菌对除佩兰外的所试药物均敏感，香薷、丁香、花椒为高敏，苍术，藿香，艾叶为中敏，其中丁香最优；铜绿假单胞菌仅对花椒中度敏感，对藿香，佩兰，苍术，艾叶，香薷，丁香不敏感；白色念珠球菌对所试药物均敏感，除对香薷中敏外均呈高敏。与浓度为 50ug/mL 的阳性对照药左氧氟沙星、酮康唑相比，无一种单药挥发油的抑菌作用优于阳性对照，（见表 3）。

表 3 部分组方药物挥发油体外抑菌实验结果

菌株	藿香	佩兰	苍术	艾叶（g/mL）	香薷	丁香	花椒	阳性对照		阴性对照
	125	80	40	40	133	10	15	左氧	酮康唑	食用花生油
	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	50ug/mL		100%
金黄色葡萄球菌	30	27	30	20	24	46	47	55	—	6
乙型链球菌	11	8	18	12	22	36	20	60	—	6
铜绿假单胞菌	8	9	9	6	6	9	10	55	—	6
白色念珠球菌	27	30	30	28	11	28	27	—	33	6

注：表格中数字为抑菌圈直径平均值

3.2 讨论

为再次验证苍艾香熏油的抑菌作用，并对比复方挥发油与各组方药物挥发油的抑菌效果，探讨组方的合理性及必要性，故本次实验在第一次预试试验基础上，进一步选取临床上常见的几种上呼吸道致病菌作为实验菌种，对不同浓度复方挥发油及 7 种单药挥发油进行了抑菌实验。结果显示，苍艾香熏油对除铜绿假单胞菌外的各实验菌种有明显抑制作用，其中，对金黄色葡萄球菌、乙型链球菌的抑制作用优于 50ug/mL 的左氧氟沙星；对白色念珠球菌的抑制作用优于 50ug/mL 的酮康唑；各单药挥发油亦有不同程度的抑菌作用，但复方挥发油明显优于单药挥发油。

本研究选用苍术、艾叶、藿香等含挥发油成分较多、气味清香、抗菌谱广、抗菌抗病毒能力强、取材方便，价格便宜的药物，符合“芳香化浊避秽”的用药原则，部分药物还有增强机体特异性和非特异性免疫的功能^[6,7]。通过提取药物主要活性成分^[8]——挥发油，拟制成用于“上感”的气道吸入剂，使药物有效成分直接作用于病变部位，提高局部病灶药物浓度，加快吸收速度^[9]；同时，

挥发油有很好的促透作用，能较快透过呼吸道粘膜发挥药效，一举两得。推测其亦可以杀灭致病病毒，同时避免药物首过效应，减小肝脏负担，避免滥用抗生素而出现的耐药现象和不良反应，方便家长且易于被患儿接受。

目前以中药复方制成水煎剂经肺给药治疗上呼吸道感染的研究已有，但其机理研究尚不成熟；未见直接提取复方挥发油制成新型吸入剂的报道，关于复方挥发油的药效学研究更是鲜见，本研究为中药气道吸入剂治疗“上感”提供了研究思路和方法，并为下一步新药研发及临床运用提供部分实验依据。

[参考文献]

[1] 马绪荣. 药品微生物检验手册 [M]. 北京：科学出版社，2000：197-206.

[2] 章育正. 医学微生物学 [M]. 上海：上海科学技术出版社，1991：212.

[3] 郑均镛. 药品微生物及检验技术 [M]. 北京：人民卫生出版社，1991：212.

[4] 陈灏珠. 实用内科学 [M]. 11 版. 北京：人民卫生出版社，2001：296.

[5] 冯益真，张瑞风. 实用小儿呼吸病学 [M]. 北京：北

京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1995: 244.

[6] 梅全喜. 艾叶的药理作用研究概况 [J]. 中草药, 1996, 27 (5): 311 – 314.

[7] 曾虹燕, 周朴华, 唐艳林. 石香薷挥发油提取的比较研究 [J]. 天然产物研究于开发, 2003, 15 (2): 135 – 137.

[8] 滑艳, 邓雁如, 汪汉卿. 各种挥发油的药理活性及在医学方面的应用 [J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15 (5): 467 – 470.

[9] 禄晓红, 赵华民. 中药超声雾化吸入治疗喘息性疾病 60 例疗效观察 [J]. 临床医学, 2002, 22 (7): 25 – 26.

(编辑: 岳胜难)

The Research of the Extra – corporeal Bacteriostasis of the Incense – fumigating Oil of Rhizoma Atractylodis & Folium Artemisiae Argyi (No. 2)

MING Xi, HE Xiao – shan, CHEN Bo – jun, Corresponding Author: XIONG Lei
(The First Affiliated of Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 65021)

[**ABSTRACT**] objective: To further research the incense – fumigating oil of R&F, based on the clinical experienced prescription of professor XiongLei and modern pharmacology research. The extra – corporeal bacteriostasis of the incense – fumigating oil of Rhizoma atractylodis & Folium artemisiae argyi, and compare the extra – corporeal bacteriostasis of mixed Volatile Oil and single unmixed Volatile Oil. Methods: to detect the extra – corporeal bacteriostasis of the Incense – fumigating Oil of Rhizoma atractylodis & Folium artemisia argyi and single unmixed volatile oil to different experimental bacteria by the methods of punching, and to figure out its dose – effect relationship of extra – corporeal bacteriostasis respectively by using Levofloxacin Hydrochloride and Fluconazole as positive control. Results: The Incense – fumigating Oil of Rhizoma atractylodis & Folium artemisiae argyi has extra – corporeal bacteriostasis on such bacteria as Staphylococcus aureus, beta streptococcus, candida albicans. Furthermore, its effect, within a certain degree of dose, can boost up with the increasing of dose. However, there is no avail on pseudomonas aeruginosa. Staphylococcus aureus, beta streptococcus, candida albicans are sensitive to single unmixed Volatile oil which in the experiment, Pseudomonas aeruginosa just sensitive to the Volatile oil of Zanthoxylum bungeanum Maxim.

[**KEY WORDS**] The incense – fumigating oil of rhizoma atractylodis & folium artemisiae argyi; single unmixed volatile oil; extra – corporeal bacteriostasis

(原文见第 8 页)

Discussion on the Herbal Prescription Features in Materia Medica of South Yunnan

QUE Ling, LI Hao – rong
(Immunopharmacology Labortary of Traditional Chinese Medicine,
Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 650500, China)

[**ABSTRACT**] Materia Medica of South Yunnan possessed unique features since it paid great attention to the medicine using methods and taking time. For example, it was good at using fresh herbs, using powder formulations, using drugs as food, especially using wine in various ways for therapy. This work is worth studying profoundly because it reflects the thought of syndrome differentiation and treatment in traditional Chinese medicine diagnosis, as well as shows distinct characters of minority and folk medicine.

[**KEY WORDS**] materia medica of south yunnan; herbal prescription features