

# 银花平感颗粒抗菌作用的实验研究

万浩芳<sup>1</sup> 周惠芬<sup>2</sup> 万海同<sup>2</sup> 张宇燕<sup>2</sup> 杨洁红<sup>2</sup> 余道军<sup>2</sup> 何昱<sup>1</sup>

(1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

**【摘要】** 目的 观察中药银花平感颗粒对金黄色葡萄球菌(金葡菌)的抗菌作用。方法 采用小鼠腹腔注射金葡菌液致小鼠感染模型,连续给予银花平感颗粒 2.0、1.0、0.5 mg/kg 组中药银花平感颗粒 5 000.0、2 500.0、1 250.0 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 共 7 d,以双黄连口服液和清热解毒口服液作为阳性对照药物;记录各组小鼠的死亡率;同时采用体外抗菌活力测定实验,观察银花平感颗粒的体外抗菌活力变化。结果 银花平感颗粒对金葡菌感染大鼠具有明显的保护作用,且呈量效正相关关系(模型组大鼠死亡率为 88.9%(16/18),双黄连口服液组为 81.2%(13/16),清热解毒口服液组为 43.8%(7/16),银花平感颗粒 0.5、1.0、2.0 mg/kg 组死亡率为 75.0%(12/16)、50.0%(8/16)、31.2%(5/16))。体外抗菌活力测定表明,银花平感颗粒 0.117 mg/L 即对大肠杆菌、肺炎球菌、肺炎克雷伯菌、乙型链球菌、痢疾杆菌、流感杆菌、金葡菌都具有显著的抗菌作用,其抗菌药物浓度明显低于其他中药和青霉素,抗菌谱也宽。结论 银花平感颗粒对金葡菌感染小鼠具有明显体内保护作用;且银花平感颗粒抗菌谱广,对临床上常见致病菌均有抑制作用。

**【关键词】** 银花平感颗粒; 抗菌作用; 金黄色葡萄球菌; 体外抗菌活力

**An experimental study on antibacterial effects of Yinhua Pinggan granule** Wan Haofang\*, Zhou Huiifen, Wan Haitong, Zhang Yuyan, Yang Jiehong, Yu Daojun, He Yu. \*College of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

Corresponding author: He Yu, Email: heyu0923@hotmail.com

**【Abstract】 Objective** To observe the antimicrobial effect of Yinhua Pinggan granule (YHPG) on *staphylococcus aureus*. **Methods** Infection models of mice were established by intraperitoneal injection of *staphylococcus aureus* liquid, and the mice in the YHPG 2.0, 1.0 and 0.5 mg/kg group were sequentially administrated YHPG orally at doses of 5 000.0, 2 500.0, 1 250.0 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> for 7 days respectively. The Shuanghuanglian (SHL) and Qingrejiedu (QRJD) oral liquids were used as the positive control drugs. The mortality was recorded in each group. Meanwhile, the changes in the antibacterial activity of YHPG were observed by the antibacterial activity assay experiment in vitro. **Results** The protective effect of the YHPG on mice infection of *staphylococcus aureus* was remarkable, representing a dose dependent manner. The mortality in the model group, SHL, QRJD groups and 3 YHPG (0.5, 1.0 and 2 mg/kg) subgroups were 88.9% (16/18), 81.2% (13/16), 43.8% (7/16), 75.0% (12/16), 50.0% (8/16), 31.2% (5/16), respectively. The antibacterial activity assay in vitro showed that YHPG 0.117 mg/L possessed significant activity on *escherichia coli*, *streptococcus pneumoniae*, *pneumonia grams klebsiella*, *beta streptococcus*, *bacillus dysenteriae*, *influenza bacillus*, *staphylococcus aureus* bacteria, YHPG antibacterial drug concentration was significantly lower than the concentrations of other traditional Chinese medicines (TCM) and penicillin, and its antibacterial spectrum was broad. **Conclusion** YHPG has significant protective effects on mice infected with *staphylococcus aureus*, indicating that YHPG with antibacterial broad-spectrum has inhibitory effects on common clinical pathogenic bacteria.

**【Key words】** Yinhuapinggan granule; Antimicrobial effect; *Staphylococcus aureus*; Antimicrobial activity in vitro

银花平感颗粒(原名金平感颗粒)处方是由麻黄汤等方药加减而成,主要由金银花、麻黄、苦杏仁、虎杖、甘草等组成,具有清热解毒,宣肺疏邪等功效,已获国家发明专利(ZL03151188.0)和中药新药证书(国药证字 Z20120004)及生产证书。用于上呼吸道在病毒感染时有继发细菌感染等的治疗。本研究通过给小鼠腹腔注射金黄色葡萄球菌(金葡菌)液

复制小鼠感染模型,观察银花平感颗粒对金葡菌感染小鼠的体内抗菌作用,检测其体外抗菌活力。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物及菌株选择

**1.1.1 体内抗菌:** 清洁级 ICR 小鼠,雌雄各半,体质量 20~22 g,由浙江中医药大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(沪)2013-0016;金葡菌 ACTT25923。

**1.1.2 体外抗菌活力:** 菌种为流感杆菌,970717;大肠杆菌,25922ATCC;金葡菌,6538;乙型溶血性链球菌,32172;肺炎双球菌,31230;肺炎克雷伯菌,

doi: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.02.005

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81573868);浙江省自然科学基金资助项目(LZ14H270001;LR13H270001);浙江省公益性技术应用研究计划项目(2015C37077)

通讯作者:何昱,Email:heyu0923@hotmail.com

46114;痢疾杆菌,51309。血平板培养基;MH培养基;普通肉汤;普通平板。

菌种均来源于北京中国生物制品检定所,由浙江大学医学院医学微生物实验室尹秀老师提供。

**1.2 主要药物:**银花平感颗粒(由杭州华东医药集团康润制药有限公司生产),批号:001106;双黄连口服液:(91)卫药准字 Z-83-3,由黑龙江完达山制药厂出品,批号:20001109,具有清热解毒,抗菌消炎的功效,适用于病毒或细菌引起的肺炎、上呼吸道感染等;清热解毒口服液:浙卫药准字(1996)第 072401 号,由浙江英特制药有限公司生产,批号:20010531,具有清热毒的功效,用于流感、上呼吸道感染;青霉素钠:冀卫药准字(1995)第 000004 号,由华北制药股份有限公司生产,批号:0102201。

**1.3 体内抗菌实验方法<sup>[1-2]</sup>:**按随机数字表法将小鼠分为 6 组,模型组;阳性对照双黄连口服液组、清热解毒口服液组;不同剂量银花平感颗粒 2.0、1.0、0.5 mg/kg 组。除模型组 18 只外,其余各组均为 16 只。采用腹腔注射  $1.9 \times 10^9$  mL 金葡菌液(100% 最小致死量)0.5 mL 的方法复制小鼠金葡菌感染模型,于注射菌液即刻(0 h)、6 h,各组分别给药一次,双黄连口服液组灌服双黄连口服液  $8.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,清热解毒口服液组灌服清热解毒口服液  $8.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,不同剂量银花平感颗粒 2.0、1.0、0.5 mg/kg 组分别灌胃 5 000.0、2 500.0、1 250.0  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  银花平感颗粒,模型组灌服等体积生理盐水,连续给药观察 7 d,记录各组小鼠死亡率。

**1.4 伦理学:**本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

**1.5 体外抗菌活力测定实验方法:**含药平板制备<sup>[2-3]</sup>:在 50 mL 试管内用倍比稀释法将银花平感颗粒用 80 °C MH 琼脂培养基稀释成 0.500、0.250、0.125、0.063、0.031、0.016、0.008、0.004 g/mL 含药液培养基,每管 15 mL,待冷却至 45 °C 后每管加 1 mL 新鲜兔血,混匀倒入 9 cm 无菌平板中,最后制成平板含药量为 0.468、0.234、0.117、0.059、0.029、0.015、0.008、0.004 g/mL;以同样方法将清热解毒口服液、双黄连口服液制成含新鲜兔血的 MH 平板(试管内加 14 mL MH 琼脂),其含药量为 0.500、0.250、0.125、0.063、0.031、0.016、0.008、0.004 mL/mL;另将青霉素钠用生理盐水稀释成 1:100 及 1:10,其含药量为 0.667、0.067  $\mu\text{g/mL}$ ,然后各取 1 mL 加入 15 mL (含 1 mL 新鲜兔血)的 MH 琼脂中,倒入 9 cm 无菌平板中。

**细菌接种:**将不同的含药平板、MH 平板、MH 血平板划分成 8 个大小一致的区域并编号,然后每一区域按顺序用划线法接种含  $10^5$  mL 下列菌液(已经培养 18 h):大肠杆菌、肺炎球菌、肺炎克雷伯菌、乙型链球菌、痢疾杆菌、流感杆菌、金葡球菌、生理盐水,置于 37 °C 培养箱内培养 24 h,观察细菌生长情况,确定各药对不同细菌的最低抑均浓度(MIC)。

**1.6 统计学处理:**使用 SPSS 19.0 统计软件处理数据,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,计数资料采用  $\chi^2$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 各药物对金葡菌感染小鼠的体内保护作用(表 1):**清热解毒口服液组、不同浓度银花平感颗粒组小鼠死亡率均较模型组降低,且以银花平感颗粒大剂量组降低最显著( $P < 0.01$ )。表明大剂量银花平感颗粒对金葡菌感染具有明显的抗感染作用,且呈量效相关性。

表 1 各药物对金葡菌感染小鼠的体内保护作用

组别	动物数 (只)	死亡率 [% (只)]
模型组	18	88.9(16)
双黄连口服液组	16	81.2(13)
清热解毒口服液组	16	43.8(7) <sup>a</sup>
银花平感颗粒 2.0 mg/kg 组	16	31.2(5) <sup>b</sup>
银花平感颗粒 1.0 mg/kg 组	16	50.0(8) <sup>a</sup>
银花平感颗粒 0.5 mg/kg 组	16	75.0(12)

注:与模型组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$

**2.2 不同浓度银花平感颗粒、清热解毒口服液、双黄连口服液、青霉素的体外抑菌作用(表 2~5):**银花平感颗粒对各菌的 MIC 作用明显低于双黄连口服液和清热解毒口服液,抗菌作用明显优于双黄连口服液和清热解毒口服液,但不及青霉素。

表 2 银花平感颗粒的体外抑菌作用

药物浓度 (g/mL)	银花平感颗粒							
	大肠杆菌	肺炎球菌	肺炎克雷伯菌	乙型链球菌	痢疾杆菌	流感杆菌	金葡菌	生理盐水
0.468	-	-	-	-	-	-	-	-
0.234	-	-	-	-	-	-	-	-
0.117	+/-	-	-	-	-	-	-	-
0.059	+	+	+	-	-	-	-	-
0.029	+	+	+	+/-	-	-	-	-
0.015	+	+	+	+	+/-	-	-	-
0.008	+	+	+	+	+	+	+/-	-
0.004	+	+	+	+	+	+	+	-
菌株对照	+	+	+	+	+	+	+	+

表 3 清热解毒口服液的体外抑菌作用

药物浓度 (mL/mL)	清热解毒口服液							
	大肠杆菌	肺炎球菌	肺炎克雷伯菌	乙型链球菌	痢疾杆菌	流感杆菌	金葡菌	生理盐水
0.500	-	-	-	-	-	-	-	-
0.250	+	-	+/-	-	-	-	+/-	-
0.125	+	-	+/-	+/-	+/-	-	+	-
0.063	+	+	+	+	+/-	-	+	-
0.031	+	+	+	+/-	+/-	+/-	+	-
0.016	+	+	+	+	+	+	+	-
0.008	+	+	+	+	+	+	+	-
0.004	+	+	+	+	+	+	+	-
菌株对照	+	+	+	+	+	+	+	+

表 4 双黄连口服液的体外抑菌作用

药物浓度 (mL/mL)	双黄连口服液							
	大肠杆菌	肺炎球菌	肺炎克雷伯菌	乙型链球菌	痢疾杆菌	流感杆菌	金葡菌	生理盐水
0.500	+	-	+	-	-	-	-	-
0.250	+	-	+	-	+/-	-	-	-
0.125	+	-	+	+/-	-	-	+/-	-
0.063	+	+	+	+	+/-	+	+	-
0.031	+	+	+	+	+/-	+	+	-
0.016	+	+	+	+	+	+	+	-
0.008	+	+	+	+	+	+	+	-
0.004	+	+	+	+	+	+	+	-
菌株对照	+	+	+	+	+	+	+	+

表 5 青霉素的体外抑菌作用

药物浓度 (U/mL)	青霉素							
	大肠杆菌	肺炎球菌	肺炎克雷伯菌	乙型链球菌	痢疾杆菌	流感杆菌	金葡菌	生理盐水
0.667	-	-	-	-	-	-	-	-
0.067	+	-	+	-	-	+	-	-
菌株对照	+	+	+	+	+	+	+	+

### 3 讨论

根据吴鞠通：“治上焦如羽，非轻不举”，叶天士：“在卫汗之可也”及《素问·至真要大论》：“风淫于内，治以辛凉，佐以苦甘”之训，结合本项目组临床诊治，我们认为感冒初起存在着风热时毒侵袭肺卫，肺失宣降，卫表郁闭较甚的病机变化，证属邪在肺卫证，针对本证病机变化宜采用清热解毒，宣肺解表疏邪法治之，可使热毒得以清解，表郁得以疏散。

银花平感颗粒处方由金银花、麻黄、苦杏仁、虎杖、甘草等中药组成，可用于时行感冒初起邪在肺卫证，证属风热时毒客表，肺失宣降，表郁较甚者。银花平感颗粒方中寒、温药并用，辛凉、辛温、甘凉、苦寒之品合用，解表与止咳药并用，清解热毒与解表疏邪之法合用，祛邪与扶正共用，可达标本同治之效。

西药抗菌药物虽抗菌作用强，但有许多毒副作用，易致过敏、二重感染、细菌耐药等，一定程度上限制了其临床应用<sup>[4-8]</sup>；研究表明单味中药抗菌谱较窄，抗菌作用也难适应复杂病情的需要；中药复方有多组分、多途径、多靶点等特征，其抗菌谱广，且具有高效、低毒、不易耐药等优点<sup>[9-14]</sup>。

本研究表明银花平感颗粒具有显著抗感染作用，对小鼠感染金葡菌具有显著体内保护作用。体外实验还表明银花平感颗粒具有显著抗菌作用，其 MIC 低，对金葡菌效果尤为明显，具有抗菌谱广特征，对临床上常见的致病菌均有抑制作用，表明银花平感颗粒具有广谱抗菌作用。

### 参考文献

- [1] 陈红, 曾南, 吴春燕, 等. 银翘解毒水的药理研究[J]. 中药药理与临床, 1998, 14(5): 11-13.
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 275-281.
- [3] 张秀珍. 当代细菌检验与临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 429-432.
- [4] 刘洋, 黄琼. 716 例抗生素不良反应分析[J]. 亚太传统医药, 2015, 11(9): 136-137.
- [5] 董燕子. 分析抗生素在临床用药中的合理性[J]. 中国医药指南, 2015, 13(14): 72-73.
- [6] 任少华. 关于院内肺炎经验性抗生素治疗的研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 1996, 8(12): 759-761.
- [7] 杨文霞. 合理选用抗生素治疗支气管及肺部细菌感染[J]. 中华危重病急救医学, 1997, 9(4): 232-233.
- [8] 陈德宁. 林可霉素过敏反应 1 例[J]. 中华危重病急救医学, 2003, 15(2): 102.
- [9] 阮贤妹, 史道华. 中药有效成分及单体抗菌作用机制的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2015, 27(2): 244-248.
- [10] 孙茜, 左国营, 郝晓燕, 等. 22 种中草药提取物体外抗菌实验研究[J]. 贵阳医学院学报, 2015, 40(2): 125-129.
- [11] 李娟, 张学顺, 傅春升. 中药抗菌作用的研究进展[J]. 中国药业, 2014, 23(2): 90-93.
- [12] 杨秀捷, 张晨, 齐文升, 等. 重症加强治疗病房鲍曼不动杆菌耐药性分析及其与中医证候的关系[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2007, 14(4): 222-224.
- [13] 陈夏, 高荷玲, 蔡宪安, 等. 白虎汤加减在肾移植术后感染高热中的应用[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2004, 11(3): 173-175.
- [14] 曾庆祥, 胡德珍. 银麻合剂治疗温热流行性感冒的退热效果观察[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2004, 11(3): 176-178.

(收稿日期: 2015-11-27)  
(本文编辑: 邸美仙 李银平)