

复合中草药成膜喷剂的研制及抗菌消炎镇痛效果^{*}

张 磊, 李佳琪, 何钦钦, 杨 宪
(重庆师范大学 生命科学学院, 重庆 401331)

摘要:【目的】研制一种辅助创伤伤口愈合的复合中草药成膜喷剂并评价它的抗菌、消炎和镇痛效果。【方法】以大肠杆菌(*Escherichia coli*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)和铜绿假单胞杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)为受试菌,采用药敏片抑菌圈试验、悬液定量试验,确定该复合中草药成膜喷剂的配方;采用小鼠醋酸扭体法、小鼠耳廓肿胀法和眼部过敏性试验评价该复合中草药成膜喷剂的消炎和镇痛效果。【结果】以山银花(*Lonicerae flos*)煎煮液、木香(*Aucklandiae lappa*)挥发油、酢浆草(*Oxalis corniculata*)煎煮液和仙鹤草(*Agrimonia pilosa*)煎煮液的最佳抑菌药液相对密度分别为 0.5, 0.5, 1 和 1 作为最佳配方制作复合中草药成膜喷剂;该喷剂对大肠杆菌、表皮葡萄球菌、铜绿假单胞杆菌的抑菌圈直径分别为 22.80, 26.70 和 11.10 mm,最低抑菌浓度分别为 0.10, 0.25 和 0.25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,对上述 3 种细菌作用 2 min 后的杀灭率达到 98% 以上;复合中草药成膜喷剂对小鼠眼黏膜无刺激性作用,对小鼠内脏疼痛显示出较强的镇痛作用,且能明显降低小鼠右耳肿胀程度。【结论】研制出的复合中草药成膜喷剂具有较好的抗菌、消炎和镇痛效果。

关键词: 酢浆草; 仙鹤草; 山银花; 木香; 成膜喷剂; 抗菌; 消炎; 镇痛

中图分类号: Q599

文献标志码: A

文章编号: 1672-6693(2021)06-0122-07

创伤伤口是人体组织或器官最常见的伤口类型,在临床医学中将它分为物理性创伤伤口、化学性创伤伤口和生物性创伤伤口^[1-4]。最近的研究表明:全世界平均每日约有 1.6 万人的死因与创伤伤口得不到及时有效的处理有关^[5]。目前市场上用于创伤伤口处理的常见药物剂型有软膏、喷剂、贴片等,但都存在一定的缺陷;或是含有抗生素会导致细菌的抗药性增加,或是有效成分相对单一导致疗效不佳,或是需要多次上药从而容易造成伤口二次感染。因此,这些创伤伤口药物已经无法满足人们的需求。

酢浆草(*Oxalis corniculata*)又名酸浆草,具有清热解毒、镇痛、抗炎、消肿、除血瘀、抗真菌、抗惊厥、抗溃疡、抗癌、抗氧化、降血脂等多种功效^[6],常用于治疗喉痛、发烧、小儿干热、跌打损伤、毒蛇咬伤等^[7]。山银花(*Lonicerae flos*)是菰腺忍冬(*Lonicera hypoglaucha*)、黄褐毛忍冬(*Lonicera macrantha*)或者华南忍冬(*Lonicera confusa*)的花或花蕾,具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、降血糖、保肝、抗氧化治疗疮、增强免疫力等功效^[8-9],是一种用途极为广泛的传统食用药材,在市场上被广泛用于制作饮料、食品、保健品等。仙鹤草(*Agrimonia pilosa*)味涩收敛,具有缩短凝血时间、抗菌消炎、抗病毒、降低血糖、治疗肿瘤等功效^[10-11],常用于治疗各种出血症状^[12]。木香(*Aucklandiae lappa*)是菊科(*Asteraceae*)植物云木香(*Aucklandia costus*)的干燥根,大多呈黄褐色^[13],具有止痛、抗过敏、健脾、抗溃疡等作用^[14],且木香挥发油和水提取物对某些病原微生物的抑制效果更强^[15]。早期研究表明^[16],创伤修复包括快速止血、炎症修复、细胞增殖、组织重建等 4 个阶段,因此如能将上述 4 种常用的中草药联合使用,将能充分发挥它们在镇痛、止血化瘀、抗菌消炎等方面的功效,有助于创伤伤口的快速修复。为此,本研究选取上述 4 种中草药作为原料,研制成一种复合中草药成膜喷剂,通过单因素抑菌圈试验研究了该喷剂的最佳配方,并通过最小抑菌浓度、不同作用时间的平均杀灭率、眼部过敏性测试、小鼠(*Mus musculus*)扭体次数、小鼠耳廓肿胀度等实验评价了该喷剂的抗菌、消炎、镇痛效果。

^{*} 收稿日期:2021-05-12 网络出版时间:2021-11-20 07:15

资助项目:国家自然科学基金(No. 31671939);重庆市科技兴林攻关项目(No. 2018-12);重庆市基础研究与前沿探索项目(No. cstc2018jcyjAX0171)

第一作者简介:张磊,女,副教授,博士,研究方向为生物毒素与药物研发,E-mail:leizhang0215@126.com;通信作者:杨宪,男,教授,博士,E-mail:464997677@qq.com

网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.n.20211118.0906.002.html

1 材料与方法

1.1 实验微生物与动物

实验用大肠杆菌(*Escherichia coli*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、铜绿假单胞杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)均来自重庆师范大学生命科学学院微生物实验室;42~56日龄 SPF 级昆明种小鼠,采购自重庆两江创亨医药检验认证科技有限公司,许可证号:SYXK(渝)2018-0007。

1.2 实验药物与仪器

本研究所用药物主要有:冰片(云南林缘香料有限公司)、对氯间二甲苯酚(山东奥友生物科技有限公司)、K30 聚乙烯吡咯烷酮(博爱新开源制药有限公司)、冰乙酸(成都市科龙化工试剂厂)、二甲苯(成都市科隆化学品有限公司)、阿司匹林肠溶片(拜耳医药保健有限公司)、金万红烧伤烫伤膏(江西樟都药业有限公司)和无水乙醇(上海南桥有限责任公司)。

本研究所用仪器主要有:TDL-40B 型离心机(常州赛普实验仪器厂)、HWS-150 型智能恒温恒湿箱(上海谷宁仪器有限公司)、BS-1E 型数显恒温振荡培养箱(常州市金坛晨阳电子仪器厂)、DGG-9146A 电热恒温鼓风干燥箱(上海森信实验仪器有限公司)、BHC-1300IIA2 型生物安全柜(阿尔泰实验室设备北京有限公司)和 BSY-2500Y 型高速多功能粉碎机(永康市铂欧五金制品有限公司)。

1.3 复合中草药成膜喷剂的制备

根据 2015 年版《中华人民共和国药典》^[17]中记载的挥发油测定法甲法制备木香挥发油放入冰箱备用。取洗净干燥后的山银花 60 g、酢浆草 60 g 和仙鹤草 150 g 置于药锅中,添加 2 700 mL 水充分浸泡 40 min 后,再煎煮 60 min 取煎煮液;然后向药锅中加入上述体积的水煎煮 60 min 后取煎煮液,如此重复 2 次;最后将 3 份煎煮液混合,静置过滤后浓缩至药液相对密度为 1.05 左右。待浓缩液冷却后向其中加入体积分数为 95% 的乙醇溶液调整溶液中乙醇体积分数至 40%。取 4.5 g 对氯间二甲苯酚、20 g 冰片和 0.5 g 木香挥发油,用 80 mL 体积分数为 95% 的乙醇溶液溶解并加入到上述制备好的浓缩液中,充分搅拌后放入冰箱于 3℃ 下静置 24 h,然后取出在室温条件下以 5 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,收集上清液,并将其中的乙醇体积分数调节至 40%~45%,定容至 1 000 mL。最后向溶液中加入 80 g 聚乙烯吡咯烷酮 K30,待它完全溶解后将溶液密封保存在无菌罐中。

1.4 抑菌实验

1.4.1 单因素及复合中草药成膜喷剂抑菌圈实验 通过对表皮葡萄球菌、大肠杆菌和铜绿假单胞杆菌的抑制作用确定酢浆草煎煮液、木香挥发油、仙鹤草煎煮液、山银花煎煮液和复合中草药成膜喷剂成品的杀菌剂量范围。将细菌悬液和琼脂培养基倒入无菌平皿中混合均匀凝固后,再将 3 个均浸有 5 μL 上述 5 种药液之一(其中药液相对密度分别为 1,0.5 和 0.25)、直径为 7 mm 的药敏片呈三角形接种于培养基上^[18];在无菌操作箱中静置 15 min 使药敏片与培养基贴合紧密后,于 37℃ 恒温培养箱内培养 8~18 h,观察并记录实验结果。如此对 5 种药液的抑菌作用进行考察,其中抑菌圈直径大于 7 mm 时被认为有抑菌作用。

1.4.2 复合中草药成膜喷剂最低抑菌浓度实验 采用悬液定量实验法^[19],用生理盐水将复合中草药成膜喷剂稀释成复合中草药成分质量浓度分别为 1.00,0.75,0.5,0.25,0.10 和 0.05 μg·mL⁻¹ 的稀释液,分别取 1 mL 再与 1 mL 的营养肉汤混合,然后接种 0.1 mL 所需菌悬液,混匀。将所有接种管置于 37℃ 中培养 24 h,观察并记录结果。若接种管内出现混浊,表示其中存在所接种的细菌,记为“+”号;若接种管内透明无杂质,表示其中无所接种的细菌,记为“-”号。

1.4.3 复合中草药成膜喷剂悬液定量杀菌试验 按照 2017 年版《消毒技术规范》^[20]中规定的方法进行实验。在无菌试管中加入 4.0 mL 复合中草药成膜喷剂和 1.0 mL 菌悬液,混匀并静置 30 min 后,取 0.5 mL 混合液与 4.5 mL 中和剂(含质量分数为 1% 的硫代硫酸钠和质量分数为 3% 的吐温 80)混匀。采用稀释倒平板法检测复合中草药成膜喷剂对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和铜绿假单胞杆菌的杀灭率。

1.5 动物实验

1.5.1 急性眼部刺激实验 选取实验用小鼠 10 只,雌雄各半,在实验前检查小鼠角膜、虹膜及结膜有无病变或炎症等情况。用无菌滴管吸取 0.1 mL 的复合中草药成膜喷剂滴入小鼠右眼作为实验组,同时用无菌滴管吸取 0.1 mL 生理盐水滴入小鼠左眼作为对照组。在完成上述操作后,以人工方式闭合小鼠的上下眼睑 30 s。观察并记录处理 0,24,48 h 后每只小鼠眼部充血程度或水肿情况,并根据“眼刺激反应分级标准”确定复合中草药成

膜喷剂对眼睛的刺激程度^[21]。

1.5.2 醋酸扭体镇痛实验 选取体质量相近的实验用小鼠 50 只,雌雄各半,随机平均分为 5 组,其中:3 组为低剂量组、中剂量组、高剂量组,分别施用药物质量浓度(按生药质量计算)为 0.25,0.5 和 1 g·mL⁻¹的复合中草药成膜喷剂;另有 1 组阳性对照组,施用金万红烧烫伤膏;还有 1 组为空白对照组,不施加任何药物,按每 1 kg 小鼠体质量施用 10 mL 的生理盐水。将小鼠脱毛后,连续 3 d 将受试药物涂抹在皮肤上,最后 1 次皮肤给药 1 h 后,用注射器皮下腹腔注射 10 mL 质量分数为 0.7%的醋酸溶液,并记录小鼠在 15 min 内扭体的次数^[22]。

1.5.3 鼠耳肿胀法 本实验的分组方案与醋酸扭体镇痛实验相同,仅将阳性对照组的给药方案改为按每 1 kg 小鼠体质量施用 0.5 mg 阿司匹林。连续 3 d 灌胃给药,每日 1 次。在第 3 天给药 1 h 后,用 0.05 mL 二甲苯涂抹在每只小鼠的左耳上使之致炎。二甲苯作用 1 h 后用颈部脱臼法处死小鼠,用打孔器在小鼠耳朵中间部位打下耳部组织并测定该组织块的质量,统计数据并计算肿胀度和肿胀抑制率。肿胀度为同一小鼠左耳组织块质量与右耳组织块质量的差值。肿胀抑制率^[23]计算公式为:

$$\text{肿胀抑制率} = \frac{\text{空白对照组肿胀度} - \text{其他处理组肿胀度}}{\text{空白对照组肿胀度}} \times 100\%。$$

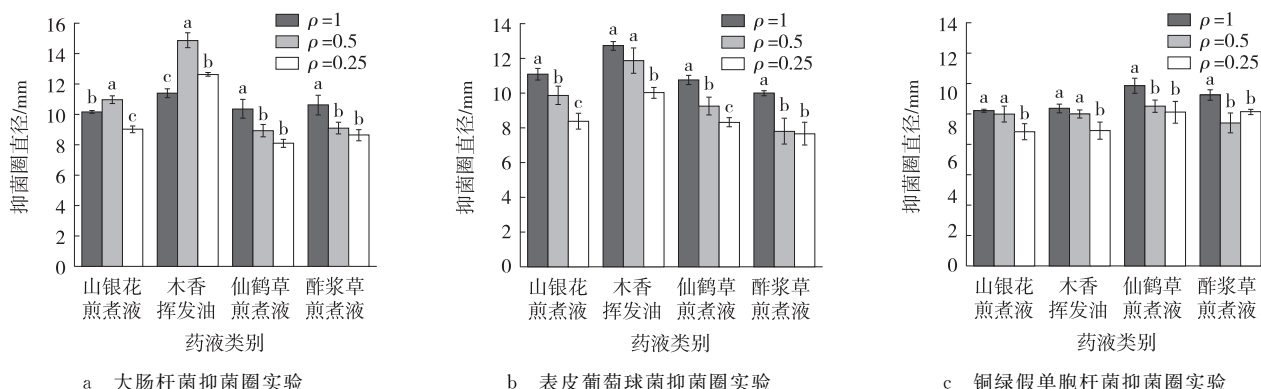
1.6 数据处理

采用 SPSS 23.0 统计软件对数据进行常规计算及统计分析,所有数据结果以“平均值±标准差”表示,药物对实验动物及微生物的影响通过单因素方差分析来加以考察,其中组间数据差异的比较采用 Turkey 法,当 $p < 0.05$ 时,统计结果表示具有统计学意义。

2 结果

2.1 单因素抑菌圈实验结果

由图 1 可知,不同药液相对密度的山银花煎煮液、酢浆草煎煮液、仙鹤草煎煮液和木香挥发油对 3 种受试菌均具有抑菌作用。木香挥发油对大肠杆菌和表皮葡萄球菌表现出较好的抑菌效果,当药液相对密度为 0.5 时对大肠杆菌的抑菌效果分别是药液相对密度为 0.25 和 1 时的 1.18 倍和 1.30 倍,与后两者的差异具有统计学意义($p < 0.05$)。然而,木香挥发油在药液相对密度为 1 和 0.5 时对表皮葡萄球菌和铜绿假单胞杆菌的抑菌效果无统计学意义上的差异。山银花煎煮液在药液相对密度为 0.5 时对大肠杆菌的抑菌效果也优于药液相对密度为 1 和 0.25 时,差异均具有统计学意义($p < 0.05$)。但是,山银花煎煮液在药液相对密度为 1 和 0.5 时对铜绿假单胞杆菌的抑菌效果无统计学意义上的差异。酢浆草煎煮液和仙鹤草煎煮液在药液相对密度为 1 时对 3 种受试菌的抑菌效果均明显优于药液相对密度为 0.5 和 0.25 时,与后两者的差异均有统计学意义($p < 0.05$)。因此,确定选用山银花煎煮液、木香挥发油、仙鹤草煎煮液和酢浆草煎煮液的药液相对密度分别为 0.5,0.5,1 和 1 作为最佳配方来制作复合中草药成膜喷剂。



注:不同字母表示某一药物在不同相对密度下对受试细菌的抑制效果差异具有统计学意义($p < 0.05$)。ρ表示药液相对密度,下同

图 1 单因素抑菌圈实验

Fig. 1 Single factor bacteriostatic zone experiment

2.2 复合中草药成膜喷剂的抑菌圈实验结果

由封三彩图 2 可知,复合中草药成膜喷剂对大肠杆菌、表皮葡萄球菌和铜绿假单胞杆菌抑制效果最佳时的

相对密度均为 1,对应的抑菌圈大小分别为:22.80,26.70 和 11.10 mm。与单因素抑菌圈实验结果类似,复合中草药成膜喷剂对大肠杆菌和表皮葡萄球菌的抑菌效果要优于对铜绿假单胞杆菌的抑菌效果。

2.3 复合中草药成膜喷剂最低抑菌浓度实验结果

由表 1 可知,复合中草药成膜喷剂对大肠杆菌表皮葡萄球菌铜绿假单胞杆菌 3 种受试细菌的最低抑菌浓度以药物质量浓度计依次为:0.10,0.25 和 0.25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

表 1 复合中草药成膜喷剂的最低抑菌浓度
Tab.1 Minimal inhibitory concentration of the compound Chinese herbal film-forming spray

药物质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	大肠杆菌	表皮葡萄球菌	铜绿假单胞杆菌	药物质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	大肠杆菌	表皮葡萄球菌	铜绿假单胞杆菌
1.00	—	—	—	0.25	—	—	—
0.75	—	—	—	0.10	—	+	+
0.50	—	—	—	0.05	+	+	+

注:“+”表示接种管内存在所接种细菌,“—”表示接种管内不存在所接种细菌

2.4 复合中草药成膜喷剂的悬液定量杀菌试验结果

表 2 显示,作用时间越长,复合中草药成膜喷剂对 3 种受试细菌的杀灭率越强,在 2 min 内对它们的杀灭率在 98%以上。该喷剂对表皮葡萄球菌的作用效果最强,仅需 2 min 就能 100%杀灭悬液内表皮葡萄球菌;作用为 4 min 时,该喷剂对悬液内大肠杆菌、铜绿假单胞杆菌的杀灭率也达到了 100%。

表 2 复合中草药成膜喷剂的悬液定量杀菌试验
Tab.2 Quantitative bactericidal test on the suspension of the compound Chinese herbal film-forming spray

作用时间/min	对不同受试细菌的杀灭率/%			作用时间/min	对不同受试细菌的杀灭率/%		
	大肠杆菌	表皮葡萄球菌	铜绿假单胞杆菌		大肠杆菌	表皮葡萄球菌	铜绿假单胞杆菌
1	88.1	92.3	90.0	4	100.0	100.0	100.0
2	99.8	100.0	98.3	5	100.0	100.0	100.0

2.5 复合中草药成膜喷剂的急性眼刺激实验结果

由封三彩图 3 可知,供试小鼠在眼内滴入复合中草药成膜喷剂 0,24,48 h 时后,眼部均无水肿、充血等现象,根据“眼刺激反应分级标准”判定该复合中草药成膜喷剂对眼部无刺激性。

2.6 复合中草药成膜喷剂的醋酸扭体镇痛实验结果

表 3 显示:与空白对照组相比,使用烧伤膏以及中剂量、高剂量复合中草药成膜喷剂可在统计学意义上减少醋酸所致的小鼠扭体次数($p<0.05$),对醋酸腹腔注射所致的小鼠内脏疼痛均有较好抑制作用;同时,中剂量组、高剂量组与使用烧伤膏的阳性对照组的小鼠扭体次数无统计学意义上的差异,表明这 3 组所用药物的效果基本一致。

表 3 复合中草药成膜喷剂对醋酸致小鼠疼痛(扭体)的影响
Tab.3 Effects of the compound Chinese herbal film-forming spray on pain (writhing body) induced by acetic acid in mice

组别	扭体次数/次	组别	扭体次数/次
空白对照组	18.1±2.74	中剂量组	11.5±1.75 ^{a*}
阳性对照组(烧伤膏)	10.5±1.36 ^{a*}	高剂量组	10.8±1.66 ^{a*}
低剂量组	15.1±1.30 ^b		

注:*表示与空白对照组的差异具有统计学意义($p<0.05$)。不同小写字母表示非空白对照组的各处理组间差异具有统计学意义($p<0.05$),下同

2.7 复合中草药成膜喷剂的鼠耳肿胀法实验结果

由表 4 可知:与空白对照组相比,中剂量的复合中草药成膜喷剂能在统计学意义上减轻二甲苯所致的小鼠

耳肿胀程度($p < 0.05$);而阳性对照组和高剂量组中小鼠耳肿胀受抑制程度则更为明显,与对照组相比肿胀抑制率的差异在 $p < 0.01$ 水平上具有统计学意义。另外,高剂量组与阳性对照组的肿胀抑制率无统计学意义上的差异,表明两组所用药物效果近似一致。

表 4 复合中草药成膜喷剂对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响

Tab. 4 Effects of the compound Chinese herbal film-forming spray on auricle swelling induced by xylene in mice

组别	肿胀度/mg	肿胀抑制率/%	组别	肿胀度/mg	肿胀抑制率/%
空白对照组	4.08±0.45		中剂量组	2.75±0.71 ^{b*}	32.60
阳性对照组(阿司匹林)	1.53±1.05 ^{***}	62.50	高剂量组	1.75±1.16 ^{***}	57.11
低剂量组	3.45±0.62 ^b	15.44			

注:*,**分别表示与空白对照组的差异在 $p < 0.05$, $p < 0.01$ 水平上具有统计学意义

3 讨论和结论

帮助创伤伤口愈合,最重要的是进行高效的止血、抗菌、消炎和镇痛。目前市场上大多数治疗创伤的药剂主要采用 1 种药物成分,不仅价格昂贵,而且药效单一。复方制剂则通过合理的药物配比扩大了适用范围。本研究选取了木香、酢浆草、山银花和仙鹤草共 4 种常用中草药,综合了木香的止痛抗菌和抗氧自由基损伤、山银花的消肿祛脓和疏散风热、仙鹤草的快速凝血、酢浆草的消炎止痛除血瘀等功效,在单因素实验的基础上确定了 4 种中草药的最佳抑菌相对密度,从而设计了复方制剂中各种中草药的配比。此外,创伤会使皮肤或黏膜受到损伤,让肌体失去天然保护屏障。伤口表面直接暴露在空气中,易受到病菌的多次感染,伤口的修复过程因此也会被延长。因此,伤口的二次感染仍是目前为止创伤伤口难以愈合的重要原因之一^[5,24]。目前,大多数治疗方法都是采用局部消毒和每天给药的方式,药物、消毒剂、纱布等与伤口表面频繁接触容易对伤口表面造成多次伤害从而延长伤口愈合时间。为了促进伤口愈合和减轻患者的痛苦,本研究特别将上述复方中草药制作为成膜喷剂形式,可一喷成膜、再喷破膜,让药剂在皮肤表面形成一道屏障,防止伤口的二次感染。

有研究表明,金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌、铜绿假单胞杆菌、肠球菌(*Enterococcus*)和表皮葡萄球菌最容易在创伤患者伤口中繁殖^[25]。为此,特别选取了大肠杆菌、表皮葡萄球菌和铜绿假单胞杆菌作为受试细菌,以便考察本研究制成的复方中草药成膜喷剂是否适用于擦伤、摔伤、划伤、烫伤、咬伤、烧伤、日常消毒等场景。在提取工艺方面,本研究采用了水煎煮法,该方法相比于回流提取法、水蒸气蒸馏法等方法更加简便。在提取过程中,本研究还对提取时间、加水量、提取次数等提取工艺参数进行了优化,使整个提取工艺更加稳定可靠,这为后续的工业化生产提供了依据。此外,本研究考虑到这一喷剂可能会接触眼部,因此特别进行了急性眼刺激实验,结果表明复合中草药成膜喷剂对眼部无明显刺激性,安全性较好。

综上所述,鉴于目前市场上大部分用于创伤伤口药物存在着诸多缺点和问题,本研究以常用的具有消毒抗炎杀菌功效的 4 种中草药制成了一款复方中草药成膜喷剂,其中多种药物的协同作用使伤口愈合效果更好,而且不含抗生素,价格也较为低廉。该药剂采用喷膜剂形式,与常用的软膏、贴片等剂型相比使用更加简单,药物分散均匀,有利于发挥中草药多途径、多爆点整合调节的特点。同时,该药剂可在创伤表面形成具有良好透气性的生物膜,回弹性能好,尤其适合关节部位使用。总之,与市场上大部分相关产品相比,本研究制成的复合中草药成膜喷剂具有安全、高效、方便等优势,值得进一步研究。

参考文献:

- [1] 蒋琪霞,创伤性伤口感染处理现状及应对策略[J]. 创伤外科杂志,2019,21(6):401-404.
JIANG Q X. Current situation and countermeasure of traumatic wound infection management[J]. Journal of Traumatic Surgery, 2019,21(6):401-404.
- [2] JACK S P D, PETROSKY E, LYONS B H, et al. Surveillance for violent deaths-national violent death reporting system, 27 states, 2015[J]. MMWR-Morbidity and Mortality Weekly Report, 2018,67(11):1-14.
- [3] FRIEDLSTAT J, BROWN D A, LEVI B. Chemical, electrical, and radiation injuries[J]. Clinics in Plastic Surgery, 2017,44(3): 657-669.

- [4] JIANG B G, LIANG S, PENG Z R, et al. Transport and public health in China: the road to a healthy future[J]. *Lancet*, 2017, 390(10): 1781-1791.
- [5] KUMAR C S, VASUDEVA N, RAO D V, et al. Outcomes of topical phenytoin in the management of traumatic wounds[J]. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*, 2021, 13(6): 116-121.
- [6] KATAYOON K, ELHAM S, NAHID B, et al. Biogenic silver nanoparticles using *Oxalis corniculata* characterization and their clinical implications[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2019, 54(11): 1-14.
- [7] 张宝, 李勇军, 马雪, 等. 酢浆草的化学成分及药理活性研究进展[J]. *中药材*, 2020, 43(10): 2587-2595.
- ZHANG B, LI Y J, MA X, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Oxalis corniculata* [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2020, 43(10): 2587-2595.
- [8] LI Y K, LI W, FU C M, et al. *Lonicera japonica* flos and *Lonicera* flos: a systematic review of ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology[J]. *Phytochem Review*, 2019, 21(6): 1111-1116.
- [9] CHEN W C, LIOU S S, TZENG T F, et al. Wound repair and anti-inflammatory potential of *Lonicera japonica* in excision wound-induced rats[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 12: 226-234.
- [10] QI X H, CAI L, ZHAO P. *Quasipucciniastrum agrimoniae*, gen. et sp. Nov. on *Agrimonia* (Rosaceae) from China[J]. *Mycology*, 2019, 10(3): 141-150.
- [11] KWON J E, LEE Y G, KANG J H, et al. Anti-viral activity of compounds from *Agrimonia pilosa* and *Galla rhois* extract mixture[J]. *Bioorganic chemistry*, 2019, 93(9): 1-5.
- [12] 李君, 杨杰. 仙鹤草主要化学成分与药理作用研究进展[J]. *中国野生植物资源*, 2020, 39(4): 54-60.
- LI J, YANG J. Research advances on the main chemical constituents and pharmacological action of *Agrimoniae Herba* [J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2020, 39(4): 54-60.
- [13] 毛景欣, 王国伟, 易漫, 等. 川木香化学成分及药理作用研究进展[J]. *中草药*, 2017, 48(22): 4797-4803.
- MAO J X, WANG G W, YI M, et al. Research progress on chemical constituents in *Vladimiriae Radix* and their pharmacological activities[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2017, 48(22): 4797-4803.
- [14] SEO C S, LIM H S, JEONG S J, et al. Anti-allergic effects of sesquiterpene lactones from the root of *Aucklandia lappa* Decne [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 12(5): 7789-7795.
- [15] LIU J X, HUANG D F, HAO D L, et al. Chemical composition, antibacterial activity of the essential oil from roots of *Radix aucklandiae* against selected food-borne pathogens[J]. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2014, 5(13): 1043-1047.
- [16] GIACOBBE D R, RICCARDI N, VENA A, et al. Mould infections of traumatic wounds: a brief narrative review[J]. *Infectious Diseases and Therapy*, 2020, 9(1): 1-15.
- [17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015.
- [18] 刘伟, 张莹莹, 周文杰. 复方彻清膏微乳的制备及稳定性研究[J]. *中草药*, 2018, 49(14): 3252-3260.
- LIU W, ZHANG Y Y, ZHOU W J. Preparation and stability of compound Cheqinggao microemulsion[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2018, 49(14): 3252-3260.
- [19] NANTHAKUMAR R, MUTHUMANI P, GIRIJA K. Anti-inflammatory and antibacterial activity study of some novel quinazolinones[J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2014, 7(6): 1049-1054.
- [20] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 消毒技术规范[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2017.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. Technical standard for disinfection[S]. Beijing: National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, 2017.
- [21] 刘锐玲, 李芸, 靳宝芬, 等. 纳米银妇科抑菌喷剂的毒理学研究[J]. *中国消毒学杂志*, 2013, 30(12): 1122-1124.
- LIU Y L, LI Y, JIN B F, et al. The toxicologic study of nano silver gynecological antibacterial spray[J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2013, 30(12): 1122-1124.
- [22] ZAKARIA Z A, GHANI Z D, NOR R N, et al. Antinociceptive, anti-inflammatory, and antipyretic properties of an aqueous extract of *Dicranopteris linearis* leaves in experimental animal models[J]. *Journal of Natural Medicines*, 2008, 62(2): 179-182.
- [23] 连少雄, 郑晨果, 金纯, 等. 痔愈喷剂抗炎镇痛作用的动物实验研究[J]. *中华中医学杂志*, 2014, 32(5): 1125-1127.
- LIAN S X, ZHEN C G, JIN C, et al. Animal experiment research on hemorrhoid healing spray anti-inflammatory and analgesic effect[J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2014, 32(5): 1125-1127.
- [24] WUTHISUTHIMETHAWEE P, LINDQUIST S, SANDLER N, et al. Wound management in disaster settings[J]. *World*

Journal of Surgery, 2015, 39(4): 842-853.

[25] 王君韬, 李英, 谈建. 创伤患者伤口感染常见病原菌及抗生素的选择[J]. 中华医院感染学杂志, 2003, 13(2): 168-170.

WANG J R, LI Y, TAN J. Common bacteria distribution and antibiotics choice in trauma patients with wounds[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2003, 13(2): 168-170.

Study on Preparation and Anti-Bacterial and Anti-Inflammatory Effects of Compound Chinese Herbal Film-Forming Spray

ZHANG Lei, LI Jiaqi, HE Qinqin, YANG Xian

(College of Life Science, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: [Purposes] To prepare and evaluate antibacterial, anti-inflammatory and analgesic effects of a compound Chinese herbal film-forming spray by using *Oxalis corniculata*, *Agrimonia pilosa*, *Lonicerae flos*, *Aucklandia lappa*. [Methods] *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* were used as the test bacteria. The formula of the compound Chinese herbal film-forming spray was determined by bacteriostatic circle test with drug sensitive tablets and suspension quantitative test. The anti-inflammatory and analgesic effects of the compound Chinese herbal medicine film-forming spray were evaluated by the methods of writhing body with acetic acid, swelling of auricle and hypersensitivity test of eyes. [Findings] The best antibacterial relative densities 0.5, 0.5, 1 and 1 of *Lonicerae flos* decoction, volatile oil from *Aucklandia lappa*, *Oxalis corniculata* decoction, and *Agrimonia pilosa* decoction were used as the best formulas to make the compound Chinese herbal film-forming spray. The diameter of bacteriostatic circles of this spray on *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* were 22.80, 26.70 and 11.10 mm, respectively. The MIC were 0.10, 0.25 and 0.25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. The two minutes bactericidal rate reached more than 98%. The compound Chinese herbal film-forming spray has no adverse effect on the eye mucosa of mice, has dramatic analgesic effect on the visceral pain of mice, can significantly reduce the swelling degree of the right ear of mice. [Conclusions] The compound Chinese herbal film-forming spray has obvious anti-bacterial, anti-inflammatory and analgesia effects.

Keywords: *Oxalis corniculata*; *Agrimonia pilosa*; *Lonicerae flos*; *Aucklandia lappa*; film-forming sprays; anti-bacterial; anti-inflammatory; analgesia

(责任编辑 方 兴)

(接正文108~109页)

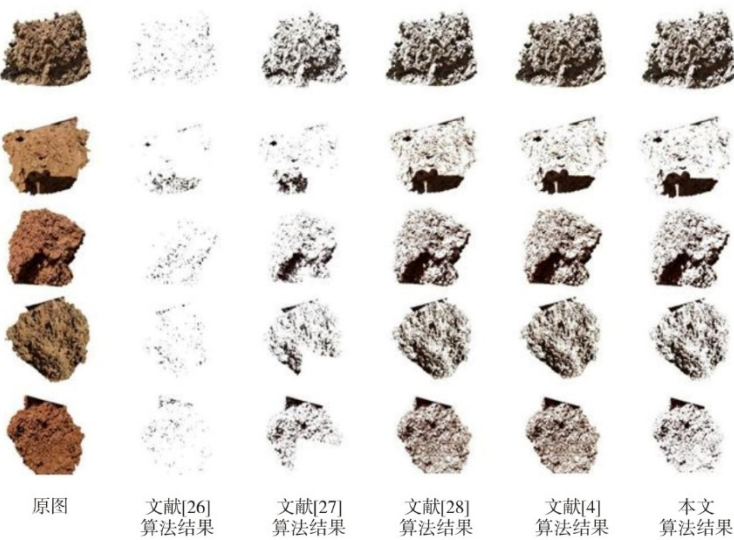


图8 不同算法对第18组样本的阴影检测结果
Fig. 8 Shadow detection results of the 18th group of samples with different algorithms

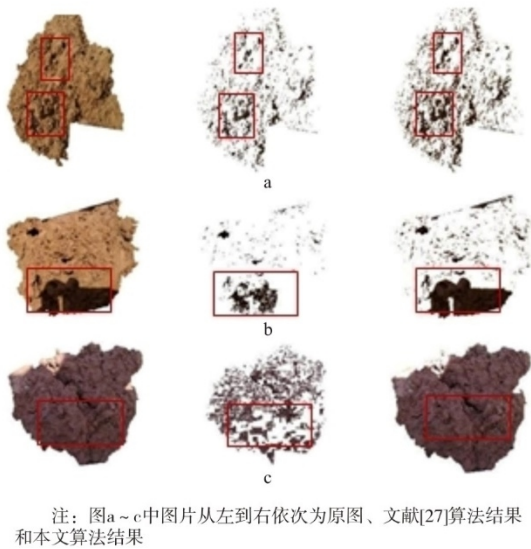
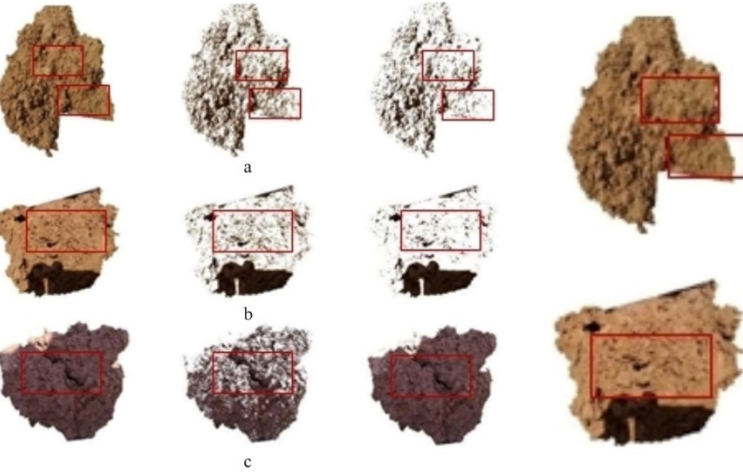
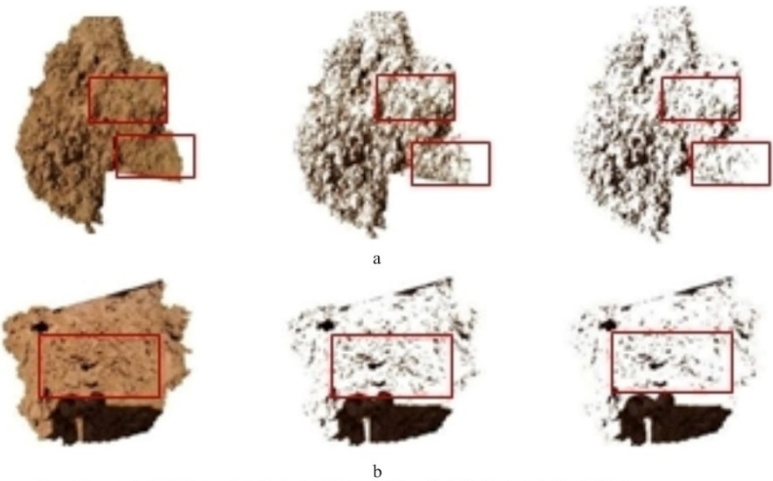


图9 文献 [27] 与本文算法示例图
Fig. 9 Example diagrams of algorithms in reference [27] and this paper



注：图a~c中图片从左到右依次为原图、文献[28]算法结果和本文算法结果
图10 文献[28]与本文算法示例图
Fig. 10 Example diagrams of algorithms in reference [28] and this paper



注：图a, b中图片从左到右依次为原图、文献[4]算法结果和本文算法结果
图11 文献[4]与本文算法示例图
Fig. 11 Example diagrams of algorithms in reference [4] and this paper

(接正文124~125页)

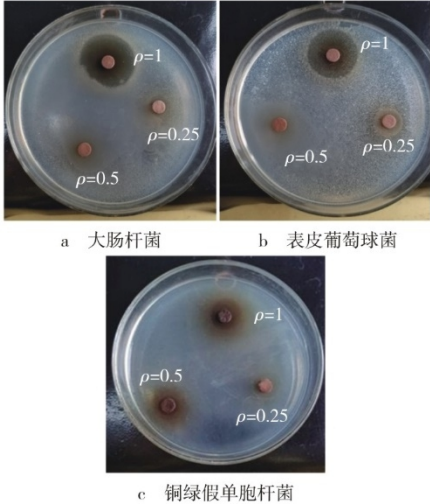


图2 复合中草药成膜喷剂的实验抑菌效果
Fig. 2 The antibacterial effect of the compound Chinese herbal film-forming spray

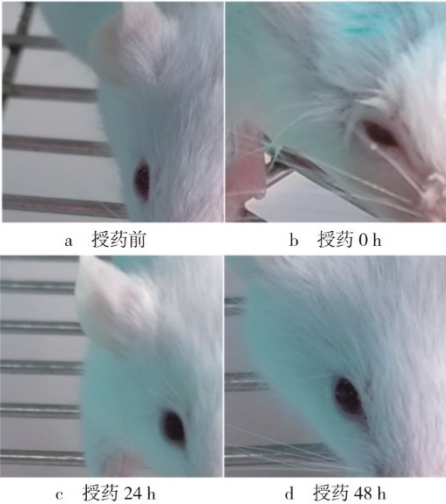


图3 复合中草药成膜喷剂的急性眼刺激实验
Fig. 3 Acute eye irritation test of the compound Chinese herbal film-forming spray