

不同产地五倍子体外抗菌作用研究

付雪艳^{1,2}, 康小兰¹, 李婷婷¹, 于良¹, 郝文婧¹, 黄水金¹

1. 宁夏医科大学 药学院, 宁夏 银川 750004

2. 宁夏医科大学 宁夏回药现代化工技术研究中心, 宁夏 银川 750004

摘要: 目的 考察五倍子不同产地(河北曲阳、浙江嘉兴、湖南桑植、陕西西乡、云南凤县)的体外抗菌作用。方法 五倍子醇提浸膏用倍半稀释法稀释成不同浓度药液, 采用管碟法测定各产地五倍子的最小抑菌浓度(MIC)。结果 河北、浙江、湖南、陕西、云南所产五倍子醇提浸膏对金黄色葡萄球菌的MIC依次为6.25、1.562 5、1.562 5、3.125、0.781 25 mg/L; 对大肠杆菌的MIC依次为3.125、12.5、6.25、6.25、3.125 mg/L; 对白色念珠菌的MIC依次为6.25、1.562 5、3.125、1.562 5、3.125 mg/L; 对绿脓杆菌的MIC依次为12.5、6.25、6.25、6.25、3.125 mg/L。结论 河北、浙江、陕西、云南、湖南所产五倍子均有抑菌作用, 其中云南产五倍子醇提物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌抑菌作用最强, 陕西、浙江产五倍子醇提物对白色念珠菌的抑菌作用强。

关键词: 五倍子; 抑菌作用; 产地

中图分类号: R978

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2013)06-0439-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.06.009

Research on *in vitro* antibacterial activity of *Galla Chinensis* from different origins

FU Xue-yan^{1,2}, KANG Xiao-lan¹, LI Ting-ting¹, YU Liang¹, HAO Wen-jing¹, HUANG Shui-jin¹

1. College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

2. Ningxia Research Center of Modern Hui Medicine Engineering and Technology, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

Abstract: Objective To evaluate the *in vitro* antibacterial activity of ethanol extract from *Galla Chinensis* (EEGC) from different origins (Hebei, Zhejiang, Hunan, Shaanxi, and Yunnan provinces). **Methods** EEGC was diluted into different concentration by half times dilution method. Minimum inhibitory concentration (MIC) of *Galla Chinensis* from different origins was determined by cylinder-plate method. **Results** The MIC values of EEGC from above five provinces against *Staphylococcus aureus* were 6.25, 1.562 5, 1.562 5, 3.125, and 0.781 25 mg/L. The MIC values against *Escherichia coli* were 3.125, 12.5, 6.25, 6.25, and 3.125 mg/L. The MIC values against *C. albicans* were 6.25, 1.562 5, 3.125, 1.562 5, and 3.125 mg/L. The MIC values against *Pseudomonas aeruginosa* were 12.5, 6.25, 6.25, 6.25, and 3.125 mg/L. **Conclusion** *Galla Chinensis* from the five provinces all have bacteriostatic action, EEGC from Yunnan province has the strongest bacteriostatic action against *S. aureus*, *E. coli*, and *P. aeruginosa*. In addition, EEGC from Shaanxi and Zhejiang province exhibits the notable bacteriostatic action against *C. albicans*.

Key words: *Galla Chinensis*; bacteriostatic action; producing area

五倍子 *Galla Chinensis*, 别名文蛤、百虫仓、木附子等, 为漆树科植物盐肤木、青麸杨或红麸杨叶上的虫瘿, 主要由五倍子蚜寄生而形成^[1-2]。秋季采摘, 置沸水中略煮或蒸至表面呈灰色, 杀死蚜虫, 取出, 干燥。按外形不同, 分为肚倍和角倍。作为传统中药, 始载于《开宝本草》, 具有敛肺降火、涩肠止泻、固精缩尿、止汗、止血、解毒、敛疮等多种临床功效^[1]。民间利用五倍子治疗伤口发炎感染, 同时五倍子在龋病和牙周病等众多口腔疾病研究^[3]

也表明五倍子醇提取物对众多细菌具有明显抑菌作用, 这与五倍子的物质基础息息相关。五倍子的化学成分主要包括鞣质、五倍子油、树脂、蛋白质、脂肪、淀粉、蜡质、矿物质等, 它们的组成随种类、产地、成熟程度不同而有较大差异^[4]。五倍子鞣质是五倍子的主要功能成分和含量最多的成分, 鞣质特殊的化学结构和化学特性赋予了其特有的生理活性^[5]。已有研究表明, 五倍子鞣质对细菌、真菌有很强的抑制作用^[6-7]。张霞等^[8]研究了五倍子对金黄

收稿日期: 2013-06-18

作者简介: 付雪艳, (1977—), 女, 博士, 副教授, 主要从事天然药物化学研究。Tel: 13469502661 E-mail: fuxueyan1215@163.com

色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌效果,结果表明五倍子具有较好的抑菌和杀菌效果。参考相关研究论文得出五倍子具有抑菌作用^[3,9,10]。湖北中医学院利用中药粉膜疗法治疗宫颈糜烂的成功临床试验证明在妇科炎症疾病的治疗上具有可行性。由于生活节奏加快,女性所承受的各种压力不断加重,妇科疾病发病率越来越高。现有调查表明70%以上的妇女都患有不同程度的妇科炎症,绝大多数的妇科炎症是因细菌感染引发。虽然已有大批针对妇科疾病的药物,然而多数药物未能解除广大妇女困扰。本实验选取妇科炎症的致病菌大肠杆菌、金色葡萄球菌、绿脓杆菌、白色念珠菌进行体外抑菌实验。由于五倍子在全国分布较广,因此选取陕西西乡、湖南桑植、河北曲阳、浙江嘉兴、云南凤县5个代表性产地进行对比研究不同产地五倍子抑菌作用,旨在观察不同地区五倍子抑菌效果,筛选出最小抑菌浓度(MIC),为后续妇科炎症药物的开发及其物质基础作用机制研究奠定实验基础。

1 材料

1.1 菌株

大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念球菌、绿脓杆菌均由宁夏医科大学检验系实验中心提供。

1.2 药材

陕西西乡五倍子由西安博羿生物科技有限公司购买,湖南桑植五倍子由湖南龙山县现代中药材开发有限责任公司购买,河北曲阳五倍子由安国市百合中药饮片有限公司购买,浙江嘉兴五倍子由浙江嘉信医药股份有限公司购买,云南凤县五倍子由昆明双星科技开发有限公司购买,均经宁夏医科大学药学院付雪艳教授鉴定。

1.3 仪器及试剂

洁净工作台(SW—CJ—2FD 苏州安泰空气技术有限公司)、数控超声波清洗器(KQ—500DA 昆山市超声仪器有限公司)、电热鼓风干燥箱、(DHG—9075A 上海一恒科学仪器有限公司)、立式压力蒸汽灭菌器(LDZX—50KBS 上海申安医疗器械厂)、恒温摇床(HS—200B 上海和呈医疗器械有限公司)、电磁炉、冰箱、移液枪。

MH 营养肉汤、营养琼脂、营养肉汤(北京奥博星生物技术有限公司)。

2 方法

2.1 供试品的制备

称取5个地区五倍子粉末各25g(过10目筛)

于相应烧杯中,各加入70%乙醇250 mL超声提取30 min,滤过,滤渣再加70%乙醇100 mL超声提取30 min,合并两次滤液,浓缩得到浸膏,将浸膏用蒸馏水溶解后于25 mL量瓶定容,即得1 g/mL供试品药液。

2.2 菌悬液制备

实验前所有试管培养皿锥形瓶等在高压蒸汽灭菌锅(121 °C, 0.12 MPa)内经过高温消毒。并按照说明书配置好足量的MH 营养肉汤,双料(54 µg/mL);单料(2.7 µg/mL)。将大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念球菌、绿脓杆菌分别取一株接种到3 mL双料MH 营养肉汤中,在37 °C恒温摇床(60 w/min)培养18 h使其活化。再将上述活化好的菌液各取60 µL分别接种于6 mL单料营养肉汤中,在37 °C恒温摇床(60 w/min)培养6 h,即得供试菌悬液。

2.3 体外抗菌作用

采用经典体外抗菌实验二倍递增稀释法^[11-14],将装有不同稀释浓度的1 mL药液试管中,分别接种“2.2”项下的4种供试菌悬液,经37 °C、18 h培养后,观察各种类细菌生长情况,记录。

含药试管的制备及接种:已知供试样品均为含生药1 g/mL的药液,设定含药试管浓度分别为100、50、25、12.5、6.25、3.125 µg/mL,……,即稀释至10×、20×、40×、80×、160×、……。用移液枪取100 µL供试菌悬液接种在装有稀释后1 mL含药试管上。

2.4 抑菌效果检测

由于药液本身有一定的浑浊度无法准确观察细菌生长状况,所以将菌液涂在琼脂平板内培养。取高压灭菌好的琼脂平板,将“2.3”项下中各试管药液用接种环接种在琼脂平板上,放入摇床培养18 h,最后观察实验结果并记录最小抑菌浓度。

3 结果

结果见表1。可以看出河北、浙江、湖南、陕西、云南所产五倍子均有抑菌作用,其中云南所产对大肠杆菌、金色葡萄球菌、绿脓杆菌的MIC最低,浙江、陕西产对白色念球菌的MIC最低。

4 讨论

五倍子中的主要有效成分为鞣质,五倍子鞣质能够与蛋白质发生结合,生成鞣质蛋白,对细菌有直接的杀灭作用^[15]。Tian等^[6]认为五倍子鞣质抑菌活性强弱与溶液的极性有关,研究发现,五倍子的

表1 不同产地五倍子提取物 MIC
Table 1 MIC of EEGC from different origins

产地	MIC/(mg·L ⁻¹)			
	大肠杆菌	金色葡萄球菌	白色念球菌	绿脓杆菌
河北	3.125	6.25	6.25	12.5
浙江	12.5	1.562 5	1.562 5	6.25
湖南	6.25	1.562 5	3.125	6.25
陕西	6.25	3.125	1.562 5	6.25
云南	3.125	0.781 25	3.125	3.125

醋酸乙酯、乙醇、水的提取物菌有很好的抗菌能力,并明显强于苯甲酸钠、山梨酸钾和尼泊尔金乙酯五。Wu-Yuan 等^[16]通过对五倍子乙醇提取液的气相色谱分析,发现其有典型的鞣酸特性,故本实验采用五倍子乙醇提取物为研究对象。不同地区的五倍子提取液对供试细菌有不同程度的抑菌效果。我国五倍子产区分布广泛,本试验选用5个主产区五倍子醇提物进行研究,比较不同地区五倍子抑菌效果,筛选出最小抑菌浓度。细菌可通过产酶、细胞膜通透性改变、外排、线粒体突变、耐药基因传递等机制导致耐药率上升,而且长期使用抗生素治疗还可诱导菌群失调和真菌的二重感染^[17]。五倍子具有资源丰富、毒副作用小等优势,开展不同地区五倍子对女性妇科炎症细菌大肠杆菌、金色葡萄球菌、绿脓杆菌、白色念珠菌抗菌活性的研究,为筛选开发妇产科新型抗菌药物提供实验依据。

参考文献

- [1] 陈仁寿. 国家药典中药实用手册 [M]. 第2版. 江苏: 江苏科技出版社, 2007.
- [2] 宁永功. 常见中草药临床新用 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2008.
- [3] 姜创, 吴相, 刘军海. 超声辅助法提取五倍子中单宁酸的工艺研究 [J]. 食品与发酵科技, 2009, 45(2): 11-13.
- [4] 李秀萍, 李春远, 渠桂荣, 等. 五倍子的研究概况 [J].

中医药学报, 2002, 30(3): 72-74.

- [5] 江凯. 五倍子单宁提取纯化及生理活性的研究进展 [J]. 农产品加工(学刊), 2013, 5: 60-63.
- [6] Tian F, Li B, Ji B P, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla Chinensis*: The polarity affects the bioactivities [J]. *Food Chem*, 2009, 113(1): 173-179.
- [7] Chen J C, Ho T Y, Chang Y S, et al. Anti-diarrheal effect of *Galla Chinensis* on the *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin and ganglioside interaction [J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 103: 385-391.
- [8] 张霞, 孙宝忠, 哈斯格根, 等. 五倍子抑菌物质的提取及其抑菌作用的研究 [J]. 食品工业科技, 2010, 31(7): 290-294.
- [9] 冯淑萍, 王晓娟, 薛妮娜. 五倍子生药学研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2008, 22(5): 24-25.
- [10] 徐竺婷, 李鸣宇. 10种中药有效成分抑制口腔主要致病菌比较 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2000, 17(4): 277-279.
- [11] 周邦靖. 常用中药的抗菌作用及其测定方法 [M]. 重庆: 科学技术文献出版社重庆分社, 1987.
- [12] 方中达. 植病研究方法 [M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [13] 李建农, 包定元. 中药复方抗菌作用的实验研究进展 [J]. 四川生理科学杂志, 2002, 22(4): 27.
- [14] 郭爱莲, 张疏红, 李轶. 15种中药材抑菌效果及机理的研究 [J]. 西北大学学报: 自然科学版, 1996, 26(3): 243-247.
- [15] 徐勤. 鞣质的研究进展 [J]. 华夏医学, 2004, 17(1): 113-116.
- [16] Wu-Yuan C D, Chen C Y, Wu R T, et al. Gallotannins inhibit growth, water-insoluble glucan synthesis, and aggregation of mutans streptococi [J]. *J Dent Res*, 1988, 67: 51-55.
- [17] 张秀珍. 要加强我国临床细菌室厌氧菌的培养技术 [J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(3): 33-34.