

文章编号:1005-376X(2005)05-0330-02

【论 著】

金荞麦抗菌活性研究

王立波,邵萌,高慧媛,吴斌,吴立军

(沈阳药科大学中药学院,辽宁 沈阳 110016)

【摘要】 目的 探讨金荞麦乙醇提取物乙酸乙酯的萃取部分(待测样品)的抑菌作用,并对此部分进行分离纯化以研究其抗菌活性的物质基础。方法 与复方板蓝根颗粒做对比,采用平皿稀释法及动物实验对待测样品进行体外及体内实验,测定其对各试验菌的最小抑菌浓度(MIC)和对肺炎链球菌感染小鼠的体内保护作用。并采用多种色谱方法对此部分进行分离纯化。结果 体外抑菌试验表明,待测样品对乙型溶血性链球菌、肺炎球菌有明显的抑制作用;体内抑菌实验表明此部分对肺炎球菌菌株所致的小鼠感染有保护作用;从该活性部分分离得到8个化合物为:反式对羟基桂皮酸甲酯(trans-*p*-hydroxy cinnamic methyl ester, I), 3, 4-二羟基苯甲酰胺(3, 4-dihydroxy benzamide, II), 原儿茶酸(proto catechuic acid, III), 原儿茶酸甲酯(proto catechuic acid methyl ester, IV), 木犀草素(luteolin, V), 槲皮素(quercitrin, VI), 芸香苷(rutin, VII), (-)-表儿茶素[(-)-epicatechin, VIII]。结论 待测样品在体内及体外均有较强的抑菌活性,而具有抗菌作用的物质基础为酚酸类及黄酮类化合物。

【关键词】 金荞麦;抑菌作用;化学成分**【中图分类号】**R378**【文献标识码】**AStudy on bacteriostasis of *Fagopyrum cymosum* Meisn

WANG Li-bo, SHAO Meng, GAO Hui-yuan, et al.

(School of Traditional Chinese Medicines, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

【Abstract】 Objective To study on bacteriostasis of extract of *Fagopyrum cymosum* (Trev.) Meisn. with ethanol and ethyl acetate. Then separated this partion. Methods Compared with Banlangen, minimal inhibitory concentration (MIC) *in vitro* and the protection *in vivo* to the mice which infected with *Streptococcus pneumoniae* of the extract effecting on bacteria was assayed by petri dish dilution and zooperly. By solvent extraction, various method of isolation. Results This extract had different bacteriostatic activity on different *Bacillus*. The second of *Hemolytic streptococcus* and *Pneumococcus* were obviously restrained. And 8 compounds were isolated and purified from this partion. Conclusions The extract of *Fagopyrum cymosum* (Trev.) Meisn. with ethanol and ethyl acetate had obviously restrained on the second of *Hemolytic streptococcus* and *Pneumococcus*. The compounds isolated from the partion presume bacteriostatic activity.

【Key words】 *Fagopyrum cymosum*; Bacteriostasis; Chemical constituent

金荞麦[*Fagopyrum cymosum* (Trev.) Meisn.] 是蓼科荞麦属植物,又名赤地利、金锁银开、天荞麦、荞麦三七等^[1]。其性平、微凉、味苦及酸涩,具有清肺排痰、活血散瘀和健脾利湿之功效,主治肺脓疡、咽喉肿痛、瘰疬、菌痢和痛经等症。但传统中药多为水煎剂,未经加工提取,用药量大而药效迟缓。为此,对金荞麦药材用乙醇提取后经乙酸乙酯萃取,得到的浸膏作为抑菌试验样品,通过对金黄色葡萄球菌 ATCC 25925,大肠埃希菌 ATCC 25922 和铜绿假单胞菌 ATCC 27853 的药物敏感性试验,与复方板蓝根颗粒的抑菌作用相比较,观察样品的抑菌作用。并对此活性部位进行分离纯化以确定金荞麦抗菌活性的物质基础。

1 材料与方法

1.1 药品 待测药物:金荞麦提取物的乙酸乙酯萃取浸膏(由沈阳药科大学提供)。对照药物:复方板蓝根颗粒(广西南宁生物化学制药厂),批准文号:ZZ-4358-桂卫药准字(1992)第 004022 号。

1.2 实验菌株 体外抑菌试验菌株:国际标准株:金黄色葡萄球菌 ATCC 25925,大肠埃希菌 ATCC 25922 和铜绿假单胞菌 ATCC 27853;临床分离株:金黄色葡萄球菌 8 株,铜绿假单胞菌 9 株,乙型溶血性链球菌 8 株,肺炎链球菌 6 株,大肠埃希菌 9 株,肺炎克雷伯杆菌 8 株。体内抑菌试验菌株:金黄色葡萄球菌 S9811,肺炎球菌 9904,均为阳性产菌株。以上体内及体外所用菌株均自临床标本中分离,由吉林大学基础医学院微生物教研室鉴定保存。

1.3 培养基 普通肉汤培养基,普通琼脂培养基,4%琼脂培养基,巧克力培养基。根据菌株特点选用

培养基。体外抑菌试验药物原液制备:分别于普通琼脂培养基,4%琼脂培养基,巧克力平板培养基中加入待测样品与复方板蓝根颗粒。待测样品浓度为 500、250、62.5、31.25、15.62 和 7.81 g/L。复方板蓝根颗粒终浓度为 1 500、750、375、187.5、93.75、46.875 和 23.437 5 g/L。体内抑菌试验药物原液制备:根据 LD₅₀, LD₀ 计算的待测样品用量为:0.76、0.38、0.19、0.098、0.049 g/kg。阳性对照药复方板蓝根颗粒为 20 g/kg,为人用量的 10 倍。体内抑菌试验动物:昆明小鼠,体重 18~22 g,雌雄均用,由吉林大学动物部提供(吉林省实验动物管委会 9400009)。

1.4 实验方法

1.4.1 体外抑菌试验 待测样品最小抑菌浓度(MIC)测定:采用平皿稀释法,将细菌分别接种于各自适用的平板培养基中,37℃培养 12 h 后,从平板中刮取菌苔,以无菌生理盐水稀释,用麦氏比浊管测定细菌浓度,配制成 9×10⁶ CFU/ml 细菌稀释液,从各种细菌稀释管中分别取 0.05 ml 菌液,点种于各药物平板及不含药物的对照板上,37℃培养 12 h 后观察结果,以待测药物抑菌的最低浓度为最小抑菌浓度(MIC)。化脓链球菌、肺炎链球菌和流感嗜血杆菌置于 5% CO₂ 孵箱中培养 24 h 观察结果。

1.4.2 体内抗菌试验 将小鼠随机分成 8 组,每组 10 只,1~5 组为待测样品组,灌胃给药;第 6 组为阳性对照组,灌胃给复方板蓝根颗粒;第 7 组为阴性对照组,灌胃给生理盐水;第 8 组为模型组,灌胃给生理盐水。除正常组外,其余组腹腔注射最小致死量的肺炎链球菌菌液(15×10⁶ CFU/ml),同时分别给待测样品、复方板蓝根颗粒和生理盐水,连续给药 7 d,1 次/d。记录动物死亡数。

2 结果

2.1 体外抑菌试验 MIC 测定 见表 1。

【收稿日期】2005-01-28**【作者简介】**王立波(1980-),女,在读硕士,从事天然药化研究;吴立军,通讯作者,E-mail:wulijun-111@hotmail.com

2.2 体内抑菌试验测定待测样品对肺炎链球菌感染小鼠的体内保护作用 见表 2。

表 1 待测样品对 6 种细菌体外 MIC 测定结果

细菌	株数	药物	MIC 范围(g/l)	MIC50(g/L)	MIC90(g/L)
金黄色葡萄球菌	8	待测样品	62.5~125	62.5	125
		复方板蓝根颗粒	750~1500	750	1500
乙型溶血性链球菌	8	待测样品	31.25~62.5	31.25	62.5
		复方板蓝根颗粒	375~750	375	750
肺炎球菌	6	待测样品	31.25~62.5	31.25	62.5
		复方板蓝根颗粒	375~750	375	750
大肠埃希菌	9	待测样品	125~250	125	250
		复方板蓝根颗粒	375~750	375	750
肺炎克雷伯杆菌	8	待测样品	125~250	125	250
		复方板蓝根颗粒	187.5~375	187.5	375
铜绿假单胞菌	9	待测样品	62.5~125	62.5	125
		复方板蓝根颗粒	375~750	375	750

表 2 待测样品对肺炎链球菌感染小鼠的体内保护试验结果

药物	剂量(g/kg)	对数剂量	动物数(只)	死亡数(只)	死亡率(%)
待测样品	0.78	-0.1079	10	2	20
	0.39	-0.4089	10	3	30
复方板蓝根颗粒	20		10	2	20
生理盐水			10	10	100

注:根据试验结果,ED₅₀为:0.2312 g/kg 95%可信限:lg(-1.4646±0.7803);95%可信区间:(0.1059-0.5044);99%可信限:lg(-1.4646±1.4321);99%可信区间:(0.0552-0.968)

3 讨论

中药金荞麦的全草的乙醇提取物对鸡白痢沙门菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌和肺炎链球菌均有抑制作用^[2]。对金荞麦提取物进行的体外抗菌试验研究结果表明,金荞麦提取物对乙型溶血性链球菌、肺炎球菌有明显的抑菌作用,对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌也有一定的抑制作用,对肺炎克雷伯杆菌和大肠埃希菌的抑制作用相对较弱。该结果在金荞麦的抑菌作用的研究方面有了重要的新进展。体内抑菌作用试验结果表明金荞麦提取物对肺炎球菌菌株所致小鼠感染有明显的保护作用。鉴于此部分有较强的抑菌活性,为进一步明确其发挥作用的有效成分,对此部分进行分离纯化,得到 8 个化合物,分别为:反式对羟基桂皮酸甲酯(trans-*p*-hydroxy cinnamic methyl ester, I), 3, 4-二羟基苯甲酰胺(3, 4-dihydroxy benzamide, II), 原儿茶酸(protocatechuic acid, III), 原儿茶酸甲酯(protocatechuic acid methyl ester, IV), 木犀草素(luteolin, V), 槲皮素(quercitrin, VI),

芸香苷(rutin, VII), (-)-表儿茶素[(-)-epicatechin, VIII]。且文献报道酚酸类及黄酮、黄烷类化合物均有较强的抑菌作用^[3,4],从以上对金荞麦的提取物进行的抑菌试验结果可知其中起主要抑菌作用的成分可能为此 2 类化合物。因金荞麦对肺炎球菌有极强的抑菌作用,而研究单体化合物的抑菌作用将有重要的意义。对于该实验活性部位所分离得到的单体化合物的抑菌试验正在实验研究过程中。

【参考文献】

[1]中国医学科学院药物研究所. 中草药现代研究[M]. 第 2 卷. 北京:北京医科大学-中国协和医科大学联合出版社, 1996. 280.
 [2]国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999. 629-632.
 [3]张卫东, HA ThiBangTam, 陈万生, 等. 中药灯盏细辛中酚酸类化合物的结构与活性研究[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(8): 579-582.
 [4]潘玲, 李纯. 茶多酚与黄铜的抗菌活性研究[J]. 福建茶叶, 1991, (2): 40-43.

(上接第 329 页)92.43、58.50, 对照组日产蛋率(%)、蛋重(g)分别为 82.35、55.67, 实验组比对照组日产蛋率、蛋重分别提高 10.08%、5.08%($P < 0.01$); 实验组料蛋比(%)和死亡率(%)分别为 2.53、2.52, 对照组料蛋比和死亡率(%)分别为 3.74、4.69, 实验组比对照组料蛋比和死亡率分别降低 32.16%、46.26%($P < 0.01$), 破蛋率也有相应改善, 但差异无显著性($P > 0.05$)。产蛋后期, 实验组比对照组产蛋率提高 3.46%, 死亡率降低 58.50%, 实验组与对照组之间产蛋率及死亡率差异有显著性($P < 0.01$); 而实验组与对照组之间的蛋重、破蛋率、料蛋比差异无显著性($P > 0.05$)。

3 讨论

规模化、集约化养鸡生产蓬勃发展, 良种鸡、种蛋鸡不断引进, 随之而来的饲料工业也成了亟待解决的问题, 目前用于畜禽的饲料添加剂种类很多, 如矿物质、微量元素、中草药和抗生素等, 皆不能圆满地解决生产实际。近 10 年崛起的微生物饲料添加剂, 以其独特的优势, 无毒、副作用, 价格低廉, 使用安全和能防病治病等, 而深受养殖业的青睐, 在短暂的几年时间, 迅速占领市场, 为社会带来了良好的效益。

菌, 3 株菌均为动物肠道的正常生理菌^[5], 并在动物肠道中占绝对优势。它们通过调整肠道菌群平衡, 维持正常生理功能, 提高机体免疫功能及本身的营养作用, 而在动物体内发挥良好的功能, 如增重、提高生产性能和防病治病等。

该实验可以看出, 生态制剂能有效地提高产蛋高峰期、蛋鸡的产蛋性能和降低产蛋后期蛋鸡的死亡率, 说明: 该生态制剂用于蛋鸡提高生产性能防病治病是可行的, 值得推广。

【参考文献】

[1]Vincent Biourge, Céline Vallet, Anne Levesque. The use of probiotics in the diet of dogs[J]. J Nutrit, 1998, 128(12):
 [2]Hart AL, Stagg AJ, Kamm MA. Use of probiotics in the treatment of inflammatory bowel disease[J]. Clin Gastroenterol, 2003, 36(2): 111-119.
 [3]井冈、司振书. 微生物制剂在蛋鸡生产中的应用[J]. 动物科学与动物医学, 2003, 20(12): 42.
 [4]沈宪文、田野、金春英. 中国家禽, 1999, 21(11): 20.
 [5]赖国旗、张德纯、韦克, 等. 健康动物肠道正常菌群的分离与鉴定[J]. 中国微生物学杂志, 1997, 9(2): 23.
 [6]张德纯、赖国旗、韦克, 等. 正常动物肠菌群的微囊变化及保质观察[J]. 中国微生物学杂志, 1996, 8(5): 17.

该实验所用制剂为双歧杆菌、乳杆菌和嗜热链球