

## 9种蓼科植物抗菌活性

王培卿<sup>1</sup>, 张橡楠<sup>2</sup>, 刘瑜新<sup>1,3</sup>, 李昌勤<sup>1</sup>, 康文艺<sup>1\*</sup>

(1. 河南大学中药研究所, 河南 开封 475004;

2. 河南医药技师学院, 河南 开封 475008; 3. 河南大学淮河医院, 河南 开封 475001)

**[摘要]** 目的: 研究9种蓼科植物的体外抗菌活性。方法: 采用纸片扩散法和多孔板法研究9种蓼科植物的不同提取物对金黄色葡萄球菌(SA)、耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(MRSA)和 $\beta$ -内酰胺酶阳性的金黄色葡萄球菌(ESBLs-SA)的抑制活性。结果: 四季红甲醇提取物和四季红乙酸乙酯提取物质量浓度在 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对SA, MRSA和ESBLs-SA的抑菌圈直径较大, 其中四季红乙酸乙酯提取物对3种菌均有抑制作用, MIC全部为 $0.0625 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 多孔板法中, 辣蓼乙酸乙酯提取物( $\text{IC}_{50} 0.45 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )活性最好。结论: 实验证明蓼科植物提取物对SA, MRSA, ESBLs-SA有较好的抑制作用, 尤其是四季红和辣蓼的抗菌活性较显著。

**[关键词]** 蓼科; 抗菌活性; 金黄色葡萄球菌; 耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌;  $\beta$ -内酰胺酶阳性的金黄色葡萄球菌

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0109-04

**[doi]** 10.11653/syfj2013170109

## Antibacterial Activities of Nine Polygonaceae Plants

WANG Pei-qing<sup>1</sup>, ZHANG Xiang-nan<sup>2</sup>, LIU Yu-xin<sup>1,3</sup>, LI Chang-qin<sup>1</sup>, KANG Wen-yi<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, Henan University, Kaifeng 475004, China;

2. Henan Institute of Medical Technical, Kaifeng 475008, China;

**[收稿日期]** 20121211(009)

**[基金项目]** 河南省教育厅自然科学基金(2009B360001); 河南大学校内基金(2011YBZR015)

**[第一作者]** 王培卿, 在读硕士, 从事中药活性成分及新药开发, Tel: 0378-3880680, E-mail: huobingstar@163.com

**[通讯作者]** \* 康文艺, 教授, 从事中药活性成分及新药研究, Tel: 0378-3880680, E-mail: kangwenyi@hotmail.com

含量调整用药剂量。

本试验所收集的10批无名异药材中, 有5批重金属限度超标。因此对矿物药的质量标准的制定迫在眉睫<sup>[9]</sup>, 否则将会制约矿物类中药产业的发展<sup>[10]</sup>。

### [参考文献]

[1] 高小恒, 陈达艳, 薛进. 无名异本草考证[J]. 实用中医药杂志, 2011, 27(8): 555.  
[2] 柴林巧, 孙燕萍, 王科钦, 等. 无名异药理学研究概况[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(6): 59.  
[3] 廖慧, 周常奇, 张平, 等. 活血祛瘀消肿膏用于治疗跌打损伤的临床疗效观察[J]. 中国医院用药评价与分析, 2012, 12(6): 538.  
[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.

[5] 孙文基, 谢世昌. 天然药物成分定量分析[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003: 293.  
[6] 陈新梅. 矿物药无名异的显微观察[J]. 齐鲁药事, 2012, 31(9): 524.  
[7] 王德昌. 近年矿物药研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(6): 63.  
[8] 彭丽华, 高俊熙, 萧永沁, 等. 外敷中药复方对促进骨折愈合的体外研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 151.  
[9] 王旭, 于江泳, 倪龙, 等. 中成药本体对照标准幅度质量控制模式的探索[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 274.  
[10] 肖永庆, 李丽, 张村, 等. 浅谈中药饮片生产、营销过程监管策略[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 292.

[责任编辑 邹晓翠]

3. Huaihe Hospital of Henan University, Kaifeng 475001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate the antimicrobial activity of nine plants of Polygonaceae *in vitro*. **Method:** Disc diffusion methods and porous plate methods were used to evaluate the inhibitory activity of different extracts of nine Polygonaceae plants against *Staphylococcus aureus* (SA), Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and ESBLs-SA. **Result:** The results indicated that methanol extract of *Polygonum capitatum* D. Don and ethyl acetate extract of *P. capitatum* at the concentration of  $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  had a larger inhibiting diameter than that of other extracts of plants, among them MIC in the ethyl acetate extract of *P. capitatum* against SA, MRSA and ESBLs-SA was  $0.0625 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . The ethyl acetate extract of *P. hydropiper* L. var *hispidum* (Jook. F.) Steward. showed the highest inhibitory effect ( $\text{IC}_{50} 0.45 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) in porous plate methods. **Conclusion:** Results showed that nine plants extracts of Polygonaceae have better inhibitory activity against the tested bacteria, especially *P. capitatum* and *P. hydropiper* L. var *hispidum* (Jook. F.) Steward. showed more significant antimicrobial activity.

**[Key words]** Polygonaceae; antimicrobial activity; SA; MRSA; ESBLs-SA

蓼科 Polygonaceae 主要分布于北温带,我国有 13 属约 269 种,属种超过了世界属种的 1/4<sup>[1]</sup>。蓼科植物多数具有清热解毒、散结消肿、活血止痛、顺气解痉、收敛止泻、通经利尿等功效,其中何首乌、虎杖、药用大黄、羊蹄等为常用的中药材。从 20 世纪 80 年代开始,蓼科植物化学成分研究逐渐受到关注,发现黄酮及蒽醌类化合物<sup>[2]</sup>在该科植物中普遍存在,此外还含有芪、酮、萜、有机酸等化合物<sup>[3]</sup>。药理研究表明具有抗菌<sup>[4]</sup>、抗氧化<sup>[5]</sup>、调节血脂<sup>[6]</sup>、降血糖和抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶<sup>[7-13]</sup>等活性。

本文对采集的 9 种蓼科植物进行了体外抗菌活性筛选,为进一步发现具有抗菌活性的蓼科植物,指导追踪分离抗菌活性成分。

## 1 材料

**1.1 药材** 何首乌、首乌藤、四季红、辣蓼和蛇倒退于 2007 年 10 月采集于贵州省都匀地区,由黔南州民族师范学院郭治友教授鉴定为蓼科蓼属 *Radix Polygonum multiflori*, *Cauliset folium Polygoni multiflori*, *Polygonum capitatum* D. Don, *Polygonum hydropiper* L. var *hispidum* (Jook. F.) Steward, *P. perfoliatum* L.。大马蓼、酸模叶蓼、粘毛蓼、头状蓼、尼泊尔酸模和齿果酸模 2006 年 7 月采集于河南省伏牛山区,经过河南大学中药研究所李昌勤副教授鉴定为 *P. nodosum* Pers, *P. lapothifolium* L. var. *salicifolium* Sibith., *P. viscosum* Buch-Ham. ex D. Don, *P. alatum* Buch-Ham. ex D. Don, *Rumex nepalensis* Spreng., *R. dentatus* L.。

**1.2 供试菌株** 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, SA) ATCC25923 购买于上海天呈生物信息

有限公司(批号 TC-26),耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌 (Methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA) 和 ESBLs-SA 由河南大学附属淮河医院临床分离得到,经全自动微生物分析仪 VITEK-AMS 鉴定,符合率 99%。

**1.3 培养基** Nutrient Agar(北京奥博星生物技术有限公司),Broth Medium(北京奥博星生物技术有限公司),试剂均为分析纯。

**1.4 仪器** LRH-150 型生化培养箱(上海一恒科技有限公司),索氏提取器,LDZX-30KB 型立式压力蒸气灭菌器(上海申安医疗器械厂),JJ-CJ-2FD 型洁净工作台(吴江市净化设备总厂),ZWX-201A 型紫外线空气消毒器,电子天平 (Mettler-Toledo),旋转蒸发器(Heidolph)。

## 2 方法

**2.1 提取** 将各样品分别置索氏提取器中,依次分别加入石油醚、乙酸乙酯、甲醇各 300 mL,回流 7 h,浓缩回收溶剂得到相应的提取物。

**2.2 样品的制备** 用 DMSO 溶解样品浸膏,配制成  $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液备用。

**2.3 供试菌株的活化** 将所有供试菌种接入斜面培养基,置于  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  恒温培养箱内培养 24 h,待用。

**2.4 制备平板** 细菌培养基采用琼脂培养基,将配制好的培养基移入锥形瓶, $121 \text{ }^\circ\text{C}$  高压蒸气灭菌 15 min 后,冷却至  $50 \sim 60 \text{ }^\circ\text{C}$ ,在超净工作台里倾注平板,冷却为固体培养基,备用。

**2.5 菌液的制备** 菌株活化后,将菌种接于肉汤培养基,制备成一定浓度的菌悬液备用, $4 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱保存(不超过 12 h)。

**2.6 含药纸片的制备** 将样品各提取液浸膏释稀,灭菌备用。每张纸片(直径6 mm)分别加溶液各5  $\mu\text{L}$ ,空白对照组加无菌蒸馏水5  $\mu\text{L}$ ,阴性对照组加分析纯DMSO 5  $\mu\text{L}$ 。

**2.7 K-B 实验法** 在超净工作台上将灭菌后的琼脂培养基倒入培养皿中,平皿标记后,用无菌移液管移取已配好的菌液0.1 mL加入平皿中,用涂布器将菌液涂布均匀,将上述纸片等距置于含菌平板,制成带菌平板。室温放置3~5 min后,贴加含药纸片,置入37  $^{\circ}\text{C}$ 恒温生化箱培养24 h,观察菌落生长情况,精确测定抑菌圈直径<sup>[7]</sup>。各稀释液的每项抑菌实验均平行重复2次。

**2.8 最低抑菌浓度(MIC)的测定** 将样品用适量的溶剂(DMSO)进行倍比稀释后,每张纸片分别加样品溶液5  $\mu\text{L}$ ,空白对照组加无菌蒸馏水5  $\mu\text{L}$ ,阴性对照组加分析纯DMSO 5  $\mu\text{L}$ ,完全没有抑菌直径的最低浓度为该物质的最低抑菌浓度(MIC),所有操作均在无菌条件下进行。

**2.9 半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)的测定**<sup>[8-13]</sup> 将在肉汤培养基中培养18 h的金黄色葡萄球菌菌液(SA, MRSA, ESBLs-SA) 90  $\mu\text{L}$ 分别加入洁净无菌的96孔培养板中,然后加入不同浓度梯度的样品母液10  $\mu\text{L}$ ,溶剂(DMSO)终浓度为1/10样品母液浓度。同时设阴性对照、空白对照和溶剂对照,每个处理3个重复。将96孔板于37  $^{\circ}\text{C}$ 下,培养20 h后,用酶标仪测定595 nm处的吸光值(A),各样品以相同条件下的上清液A作为空白对照,减去空白对照即为含菌量的A,相应上清液是在10 000/6 min的条件下制备,对应吸取100  $\mu\text{L}$ 。按下面公式计算出抑制率(%):

$$\text{抑制率} = \frac{(A_{\text{溶剂对照}} - A_{\text{对照上清}}) - (A_{\text{药液}} - A_{\text{药液上清}})}{A_{\text{阳性}} - A_{\text{阴性上清}}} \times 100\%$$

以样品浓度和抑制率作图,求出线性回归方程,计算抑制率为50%时的浓度即为IC<sub>50</sub>值。

### 3 结果

**3.1 抑菌圈的测定** 按照2.6项实验方法分别进行试验,各样品的抑菌圈数据见表1。

**3.2 MIC的测定** 实验各样品按照2.7项实验方法进行试验,对SA, MRSA, ESBLs-SA的MIC实验数据见表2。

**3.3 IC<sub>50</sub>的测定** 选取MIC较好的样品进行IC<sub>50</sub>的测定,包括以下样品:辣蓼石油醚提取物对SA是3.69  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、对MRSA是0.84  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,辣蓼乙酸乙酯

表1 各提取物对受试菌种的抑菌圈

样品	初筛质量 浓度 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	抑菌圈(平均值)/mm		
		SA	MRSA	ESBLs-SA
何首乌根石油醚提取物	50	9	NA	NA
何首乌藤石油醚提取物	50	10	NA	NA
大马蓼甲醇提取物	50	NA	9	NA
粘毛蓼石油醚提取物	50	9	8	8
粘毛蓼乙酸乙酯提取物	50	NA	8	NA
粘毛蓼甲醇提取物	50	NA	8	NA
辣蓼石油醚提取物	50	10	12	NA
辣蓼乙酸乙酯提取物	50	10	8	NA
头状蓼甲醇提取物	50	NA	9	NA
蛇倒退乙酸乙酯提取物	50	9	NA	NA
蛇倒退甲醇提取物	50	NA	8	NA
尼泊尔酸模根石油醚提取物	50	NA	8	9
尼泊尔酸模根乙酸乙酯提取物	50	8	8	NA
齿果酸模乙酸乙酯提取物	50	NA	8	NA
四季红石油醚提取物	50	9	NA	NA
四季红乙酸乙酯提取物	50	10	10	10
四季红甲醇提取物	50	15	15	15
空白		0	0	0
DMSO		0	0	0
阳性对照(小檗碱)	2.5	15	16	16

注:NA为无抑菌圈;初筛浓度是以提取物计。

提取物对SA是0.45  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,四季红石油醚提取物对SA是4.34  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,四季红乙酸乙酯提取物对SA是2.11  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、对MRSA是0.80  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、对ESBLs-SA是1.54  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,四季红甲醇提取物对SA是1.05  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、对MRSA是1.15  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、对ESBLs-SA是1.63  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

### 4 讨论

由表1可知,在50  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 下各样品浸膏对SA的抑菌圈>10 mm比较:四季红甲醇提取物(15 mm)>四季红乙酸乙酯提取物(10 mm)=辣蓼石油醚提取物(10 mm)=辣蓼乙酸乙酯提取物(10 mm)=何首乌藤石油醚提取物(10 mm);对MRSA的抑菌圈>10 mm比较:四季红甲醇提取物(15 mm)>辣蓼石油醚提取物(12 mm)>四季红乙酸乙酯提取物(10 mm);对ESBLs-SA的抑菌圈>10 mm比较:四季红甲醇提取物(15 mm)>四季红乙酸乙酯提取物(12 mm)。

表 2 各提取物对受试菌种的 MIC mg/disc

样品	SA	MRSA	ESBLs-SA
何首乌根石油醚提取物	0.125	NT	NT
何首乌藤石油醚提取物	0.062 5	NT	NT
大马蓼石油醚提取物	0.062 5	NT	NT
大马蓼乙酸乙酯提取物	0.25	NT	NT
大马蓼甲醇提取物	NT	0.062 5	NT
粘毛蓼石油醚提取物	0.125	0.25	0.25
粘毛蓼乙酸乙酯提取物	NT	0.25	NT
粘毛蓼甲醇提取物	NT	0.25	NT
辣蓼石油醚提取物	0.062 5	0.031 3	NT
辣蓼乙酸乙酯提取物	0.062 5	NT	NT
头状蓼甲醇提取物	NA	0.25	NT
蛇倒退乙酸乙酯提取物	0.125	NT	NT
蛇倒退甲醇提取物	NT	0.25	NT
尼泊尔酸模根 P	NT	0.25	0.125
尼泊尔酸模根乙酸乙酯提取物	0.25	0.25	NT
齿果酸模乙酸乙酯提取物	NT	0.125	NT
四季红石油醚提取物	0.125	NT	NT
四季红乙酸乙酯提取物	0.062 5	0.062 5	0.062 5
四季红甲醇提取物	0.062 5	0.062 5	0.031 3
阳性对照(小檗碱)	0.000 156	0.000 156	0.000 156

注:NT 为未测定

由表 1,2 可知,在  $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  下所研究植物的 3 个部位(石油醚部位,乙酸乙酯部位、甲醇部位)均有抗菌活性的是大马蓼、粘毛蓼和四季红。其中粘毛蓼石油醚提取物,四季红乙酸乙酯提取物和四季红甲醇提取物对 3 种受试菌种均有抗菌活性,其对 SA 的 MIC 值依次为  $0.125, 0.062 5, 0.062 5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 对 MRSA 的 MIC 值依次为  $0.25, 0.062 5, 0.062 5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 对 ESBLs-SA 的 MIC 值依次为  $0.25, 0.062 5, 0.031 3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结果显示四季红乙酸乙酯提取物抗菌活性最好,对 3 种菌均有抑制作用,但仍低于阳性对照(小檗碱)。

对相应样品浸膏的  $\text{IC}_{50}$  进行比较,对 SA 的抑制作用大小为辣蓼乙酸乙酯提取物 ( $0.45 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) > 四季红甲醇提取物 ( $1.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) > 辣蓼石油醚提取物 ( $3.69 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) > 四季红石油醚提取物 ( $4.34 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ); 对 MRSA 的抑制作用大小为四季红乙酸乙酯提取物 ( $0.80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) > 辣蓼石油醚提取物 ( $0.84 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) > 四季红甲醇提取物 ( $1.15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ); 对 ESBLs-

SA 的抑制作用大小为四季红乙酸乙酯提取物 ( $1.54 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) > 四季红甲醇提取物 ( $1.63 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 但所有提取物对 3 种菌株的活性均低于阳性对照药物小檗碱。

综上所述,试验中 9 种蓼科植物提取物对 SA, MRSA, ESBLs-SA 有较好的抑制作用,总体评价四季红和辣蓼的抑菌效果较好。蓼科植物在植物源农药、医药、兽药、食品添加剂等方面有着良好的开发前景。如能进一步明确活性植物中的有效成分,对开发各种治疗致病菌感染药物具有一定意义。

### [参考文献]

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第 1 卷[M]. 北京:科学出版社, 2004:162.
- [2] 杨阳,杨颖博,朱斌,等. 头花蓼的化学成分 II [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23):92.
- [3] 周荣汉. 药用植物化学分类学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1998:256.
- [4] Zuo G Y, Wang G C, Zhao Y B, et al. Screening of Chinese medicinal plants for inhibition against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 120:287.
- [5] Wang K J, Zhang Y J, Yang C R. Antioxidant phenolic compounds from rhizomes of *Polygonum paleaceum* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 96:483.
- [6] 高王宣,胡英杰,符林春. 何首乌二苯乙炔苷的调节血脂作用[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(4):323.
- [7] 陈百泉,李昌勤,常星,等. 头花蓼对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8):151.
- [8] 寇彤,孟晓敏,常建涛,等. 何首乌对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制作用[J]. 大连轻工业学院学报, 2006, 25(4):239.
- [9] 康文艺,张旭,刘瑜新. 何首乌对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性[J]. 精细化工, 2009, 26(10):965.
- [10] 史高峰,吕玲玉,陈学福,等. 甘薯叶浸膏抑菌活性的研究[J]. 中成药, 2010, 32(1):133.
- [11] 唐静,谈满良,赵江林,等. 多孔板-MTT 比色法测定植物抗菌成分对细菌的抑制活性[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(6):949.
- [12] 熊海燕,王为国,王存文,等. 介绍测量菌液浓度的一种方法[J]. 四川食品与发酵, 2003, 30(4):45.
- [13] 薛岚. 中药虎杖的药理研究进展[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(11):651.

[责任编辑 邹晓翠]