

宁夏大蓟提取物不同极性部位对 4 种念珠菌的体外抑菌活性

叶莉¹, 杨凤琴², 梁军¹, 赵淑红¹, 高亦珑^{1*}

(1. 宁夏医科大学高职学院, 银川 750004; 2. 宁夏医科大学检验学院, 银川 750004)

[摘要] 目的: 观察宁夏大蓟提取物的不同极性部位对 4 种念珠菌体外抑菌活性。方法: 大蓟水提取物、大蓟正丁醇提取物、大蓟乙酸乙酯提取物用试管二倍稀释法联合琼脂平板法, 进行体外抑菌活性研究。结果: 大蓟水提取物、大蓟乙酸乙酯提取物对 4 种念珠菌最小抑菌浓度(MIC)均 $>1.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 大蓟正丁醇提取物对 4 种念珠菌有抑菌作用, 对白色念珠菌、克柔念珠菌 MIC 均为 $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 对热带念珠菌、其他念珠菌 MIC 均为 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结论: 大蓟水提取物、大蓟乙酸乙酯提取物无抑菌作用, 大蓟正丁醇提取物对 4 种念珠菌有抑菌作用。

[关键词] 宁夏大蓟提取物的不同极性部位; 念珠菌; 体外抑菌试验; 最小抑菌浓度

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0222-02

大蓟为菊科管状花亚科菜蓟族属植物的干燥地上部分或根^[1]。大蓟性凉, 味甘、苦, 归心、肝经, 功效为凉血止血、祛瘀痛, 主治吐血、衄血、尿血、血淋、血崩、带下、肠风、肠痈、痈疡肿毒、疔疮、高血压及肝炎等^[2]。目前国内外学者对大蓟的化学成分及其药理作用进行大量的研究^[3-4], 但对大蓟的化学成分与抑菌作用相关的文献报道较少。本实验通过研究宁夏大蓟提取物对 4 种念珠菌(白色念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌、其他念珠菌)体外抑菌试验, 对其不同极性部位进行抑菌活性筛选, 观察其对 4 种念珠菌抑菌效果, 明确其最低抑菌浓度(MIC), 确定大蓟抑菌活性有效部位, 为大蓟提取物在抗微生物感染方面的开发利用提供参考依据。

1 材料

1.1 试验菌株 白色念珠菌(*Candida albicans*)、热带念珠菌(*Candida Tropicalis*)、克柔念珠菌(*Candida Krusei*)、其他念珠菌均来源于宁夏医科大学附属医院医学检验中心。

1.2 药品与试剂 大蓟: 采自宁夏西吉, 原植物经宁夏医科大学高职学院高级讲师赵淑红鉴定为菊科植物蓟 *Cirsium japonicum* Fish ex DC。聚氧乙烯脱水

山梨醇单油酸酯(吐温-80)为化学纯(国药集团化学试剂有限公司, 批号 F20090507), 1, 2-丙二醇为化学纯(北京化学试剂公司, 批号 081126), 胡麻油(宁夏滴滴香食用油有限公司)。

1.3 培养基 水解酪蛋白液体培养基(批号 20100226)、水解酪蛋白琼脂培养基(批号 20100226)、沙保弱氏固体培养基(批号 20100227), 均购自杭州天和微生物制品有限公司, 使用时按使用说明配制。

1.4 仪器设备 DNP-9162 电热恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司), BHC-1300IIA/B₃ 生物安全柜(苏州安泰空气技术有限公司), YQX-LS50A 全自动高压蒸气灭菌器(上海申安科学仪器有限公司), AL-204 电子天平(梅特勒科学仪器有限公司), 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

2 方法

2.1 供试药液的提取分离^[5] 大蓟全草 500 g 用 70% 乙醇 3 L 在水浴恒温 85 °C 条件下煎煮 2 次, 共 3 h(混合液沸腾后开始计时), 过滤得滤液。用旋转蒸发仪回收乙醇后得到提取物的浓缩液(置分液漏斗中), 分别用正丁醇(1:1)、乙酸乙酯(1:1)、水溶液萃取 2 次, 得到小蓟正丁醇提取物 22.3 g, 小蓟乙酸乙酯提取物 8.8 g, 小蓟水提取物 45.5 g。

2.2 抑菌试验 试管二倍稀释法联合琼脂平板法^[6]

2.2.1 菌液制备 将各种受试标准菌株接种于灭菌培养基中, 37 °C, 18 ~ 24 h 培养后, 用无菌生理盐

[收稿日期] 2011-06-21

[基金项目] 宁夏医科大学面上课题(XM2010046)

[第一作者] 叶莉, 副教授, 从事中药药理学研究, Tel: 13014259898, E-mail: yel4111@163.com

[通讯作者] * 高亦珑, 教授, 从事中药药理学研究, Tel: 13995202855, E-mail: gaoyilong855@163.com

水校正浓度至 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ CFU/mL,即为供试菌的菌悬液。

2.2.2 供试药物的抑菌试验 系列药液管的配制:将大蓟水提取部分、正丁醇提取部分、乙酸乙酯提取部分供试药物原液分别用无菌蒸馏水、1,2-丙二醇、胡麻油溶解,配制为 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 药液,用水解酪蛋白双料液体培养基从第1管进行倍比稀释至第10管,稀释倍数分别为 1:2,1:4,1:8,1:16,1:32,1:64,1:128,1:256。每管加相应受试标准菌液各 $50 \mu\text{L}$,充分混匀,置 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 培养箱培养 18~24 h。再从每一管中取培养物 $10 \mu\text{L}$,转种到水解酪蛋白琼脂培养基、沙保弱氏固体培养基上,用 L 棒涂布,置 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 培养箱培养 18~24 h,以不生长菌落的最高药物稀释度为该药物对该种细菌的 MIC。平行做 3 次,以 2 次或 3 次相同结果为准。

2.2.3 溶剂对照的抑菌试验 用直径 6 mm 滤纸片浸入 1,2-丙二醇、胡麻油原液后取出贴在含菌固体培养基上培养 18~24 h,观察抑菌圈直径,以观察溶解正丁醇提取物、乙酸乙酯提取物的溶剂丙二醇、胡麻油溶解对抑菌实验是否有影响。

3 结果

3.1 对念珠菌抑菌活性成分筛选的抑菌实验 大蓟水提取物、大蓟乙酸乙酯提取物对 4 种念珠菌的 MIC 均 $>1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;大蓟正丁醇提取物对 4 种念珠菌有抑菌作用, MIC 为 $0.25 \sim 0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。见表 1。

表 1 大蓟提取物对 4 种念珠菌体外抑菌试验(MIC) $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

受试物	白色念珠菌	热带念珠菌	克柔念珠菌	其他念珠菌
大蓟水提取物	>1.00	>1.00	>1.00	>1.00
大蓟正丁醇提取物	0.25	0.5	0.25	0.5
大蓟乙酸乙酯提取物	>1.00	>1.00	>1.00	>1.00

3.2 溶剂对照 溶剂 1,2-丙二醇、胡麻油对 4 种念珠菌无抑菌作用。

4 结论

从本实验的抑菌结果得出:宁夏大蓟水提取物、大蓟乙酸乙酯提取物对 4 种念珠菌无抑菌作用。大

蓟正丁醇提取物对 4 种念珠菌有明显的抑菌活性,对白色念珠菌、克柔念珠菌的 MIC 达到 $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,对热带念珠菌、其他念珠菌的 MIC 为 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。实验结果证实宁夏大蓟的抑菌作用主要集中在大蓟正丁醇提取物部位,但大蓟的抑菌活性成分仍不清楚^[2]。究竟是哪一种或几种活性成分在起作用至今未见报道,有待于进一步做筛选研究。

白色念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌、其他念珠菌是条件致病菌,主要引起皮肤、黏膜及内脏的急性或亚急性炎症,一般以白色念珠菌、热带念珠菌毒力最强,亦最多见,在女性阴道炎中由念珠菌引起的感染占到 $80\% \sim 90\%$ ^[7]。不洁卫生巾的使用以及使用局部温度和湿度的增加,乱用妇科清洗消毒用品如妇炎洁等(其中含有杀菌药物如醋酸氯定等成分),使阴道内正常菌群之间失去相互制约,使念珠菌繁殖而感染。目前用于念珠菌病治疗的药物品种少,咪唑类、两性霉素 B、制霉菌素作为抗真菌常用药已使用多年,但这些药物对肝肾、胃肠道、血液系统损害严重。念珠菌性阴道炎容易复发。因此,开发和利用宁夏大蓟药物资源用于女性阴道感染性疾病具有重要的临床价值和现实意义。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2005:18.
- [2] 符玲,龚千锋,钟凌云.大蓟的研究进展综述[J].江西中医药,2003,34(10):42.
- [3] 植飞,孔令义,彭司勋.大蓟化学成分的研究[J].药学学报,2003,38(6):442.
- [4] 植飞,孔令义,彭司勋.中药大蓟的化学及药理研究进展[J].中草药,2001,32(7):664.
- [5] 杨义芳,孔德云.中药提取分离手册[M].北京:化学工业出版社,2008:132.
- [6] 杨凤琴,黄文华,米家鹏,等.复方大黄提取物体外的抑菌作用研究[J].宁夏医学杂志,2007,29(12):1061.
- [7] 乐杰.妇产科学[M].北京:人民卫生出版社,2002:286.

[责任编辑 何伟]