

## 五爪龙不同提取物体外抗菌活性的研究

朱庆玲, 冯翀

(广东食品药品职业学院实验实训中心, 广州 510520)

**[摘要]** 目的:比较五爪龙不同提取物体外抗菌活性。方法:使用 95% 乙醇对五爪龙中化合物进行提取,然后分别使用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水等萃取剂对乙醇总提物进行分极性段萃取。观察五爪龙各极性段对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、鳎弧菌的抑菌效果。结果:五爪龙四个极性段对大肠杆菌、枯草杆菌、金黄色葡萄球菌、鳎弧菌均具有一定的抑制作用,其中 I、II 段作用更强。结论:五爪龙各极性段和抑菌作用强度有明显差别,其中以乙酸乙酯、石油醚萃取的抑菌作用更强。

**[关键词]** 五爪龙;不同提取物;抑菌活性

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0232-02

五爪龙 *Cayratia Jeponicae* Herba 又名五指毛桃、乌菟莓、拉拉秧、拉拉藤等。属于葡萄科植物乌菟莓的全草,多生于旷野、山谷、林下及路旁<sup>[1]</sup>。五爪龙具有清热解毒、活血散瘀、利尿等功能,可以用于治疗咽喉肿痛、疖肿、痈疽、疔疮、痢疾、尿血、白浊、跌打损伤、毒蛇咬伤等疾病<sup>[2-3]</sup>。常用于治疗呼吸及消化系统疾病。至今对其不同提取物的药理活性研究较少。因此,本研究就五爪龙在抗菌方面的作用进行探讨。

### 1 材料

**1.1 药物** 五爪龙全草,由广州中医药大学提供。

**1.2 菌株和培养基** 大肠杆菌 *Escherichia coli*、金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、枯草杆菌 *Bacillus subtilis*、鳎弧菌 *Vibrisis angnillarumz*,均由中山大学提供。使用牛肉膏蛋白胨培养基以及 2216E 培养基。

**1.3 试剂** 牛肉膏、琼脂、酵母膏、蛋白胨、氯化镁、乙醇、乙酸乙酯、溴化钠、正丁醇、石油醚、二甲基亚砷、氯化钠、氢氧化钠等,均由中山大学提供。

**1.4 仪器** 超净工作台、培养皿、分液漏斗、高压灭菌锅、真空干燥箱、旋转蒸发仪、恒温控制箱。

### 2 方法

**2.1 五爪龙提取液的制备** 五爪龙全草使用乙醇浸泡,后将乙醇提取物经过旋转蒸发。将所得醇提

物分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水等萃取剂在分液漏斗中萃取,每种溶剂萃取 3 次,最终得到 I, II, III, IV 段提取物,在真空干燥箱中放置 2 h 烘干。取干燥后提取物样品各 100 mg,使用二甲基亚砷配成 100 g·L<sup>-1</sup> 的药液,即得五爪龙提取液。

**2.2 各种细菌悬液的制备**<sup>[4]</sup> 牛肉膏蛋白胨培养基用于大肠杆菌、枯草杆菌以及金黄色葡萄球菌的生长;2216E 培养基用于鳎弧菌的生长。将上述菌种接种于适合的试管斜面培养基上。放置于 37 ℃ 恒温箱中培养 18 ~ 24 h 后再用接种环分别挑取少量菌体置于装有无菌生理盐水的试管,然后震荡均匀,制备成菌悬液。调整至菌悬液的密度,使用平板菌落计数法对其菌液浓度进行测定,最后用生理盐水将菌液稀释至 10<sup>5</sup> ~ 10<sup>6</sup> CFU·mL<sup>-1</sup> 的浓度,即得菌悬液。

**2.3 抑菌圈的测定**<sup>[5]</sup> 使用滤纸片法对五爪龙提取物液抑菌圈进行测定。在超净工作台上使用无菌吸管吸取 0.1 mL 的菌悬液,置于相应的营养平板上,再用涂布棒将菌液涂布均匀。然后用已浸过药液的干燥药敏滤纸片(直径为 6 mm)紧贴在含菌培养皿上,每皿贴 3 片(使用二甲基亚砷作对照),每种菌重复上述步骤 3 次。将培养皿置 37 ℃ 恒温箱中培养 24 h,最后测定含药滤纸片抑菌圈的直径大小,取其平均值。

**2.4 MIC 测定** 五爪龙各极性段的最小抑菌浓度(MIC)<sup>[5]</sup>用液体稀释法进行测定。即按每管 5 mL 分装试管将配置细菌液体培养基加入不同浓度的药液,后可配成系列浓度梯度的培养基。再接种相同量的菌液,于 37 ℃ 的恒温震荡培养箱中进行培养 48

**[收稿日期]** 2010-10-18

**[第一作者]** 朱庆玲,实验师,主要从事微生物检验方面的研究, Tel: 020-28854990, 13533307074, E-mail: alinghui@163.com

h,另外取不接种任何菌种的培养基作为空白对照。最后,培养基中完全没有细菌生长时的最低浓度即为各极性段的最小抑菌浓度。

**2.5 最小杀菌浓度(MBC)测定** 分别从各极性段的MIC和大于MIC的试管中吸取培养物0.1 mL并转接在相应的培养基上,37℃中培养48 h,观察菌落的生长情况,记录无菌落生长的最小浓度即为该极性段对该菌株的MBC<sup>[6]</sup>。

### 3 结果与分析

**3.1 五爪龙各极性段的抑菌作用** 五爪龙4个极性段的药液(100 g·L<sup>-1</sup>)对大肠杆菌、枯草杆菌、金黄色葡萄球菌、鳎弧菌均具有一定的抑制作用。I, II, III段对4种菌的抑制作用均非常明显,极性段II对4种细菌的抑制效果都很明显。极性段IV的抑菌效果较弱。见表1。

表1 五爪龙4个极性段提取液的抑菌作用 mm

组别	大肠杆菌	枯草杆菌	金黄色葡萄球菌	鳎弧菌
I	12.3	17.5	6.9	11.7
II	11.6	21.8	7.1	14.8
III	14.8	15.5	16.9	8.9
IV	7.3	12.5	8.0	7.2
二甲基亚砜	0	0	0	0

**3.2 MIC测定结果** 五爪龙I, II段对枯草杆菌的MIC均≥12.5 g·L<sup>-1</sup>,其中I段对大肠杆菌、鳎弧菌的MIC均≥50 g·L<sup>-1</sup>,而极性段II对大肠杆菌、鳎弧菌的最小抑菌浓度≥25 g·L<sup>-1</sup>。极性段III, IV对上述4种菌的MIC均≥50 g·L<sup>-1</sup>。见表2。

表2 五爪龙各极性段的MIC的测定

药物	质量浓度 /g·L <sup>-1</sup>	大肠杆菌	枯草杆菌	金黄色 葡萄球菌	鳎弧菌
I	50	-	-	+	-
	25	+	-	+	+
	12.5	++	-	++	++
	6.25	+++	+	+++	+++
II	50	-	-	+	-
	25	-	-	+	-
	12.5	+	-	++	+
	6.25	++	++	++	++
III	50	-	-	-	+
	25	+	+	+	++
	12.5	++	++	++	++
	6.25	+++	+++	+++	+++
IV	50	+	-	+	+
	25	+	+	++	+
	12.5	++	++	+++	++
	6.25	+++	+++	+++	+++

注:“+++”高度浑浊,“++”中度浑浊,“+”轻微浑浊,“-”不浑浊。

**3.3 MBC测定结果** 极性段I对枯草杆菌的MBC为25 g·L<sup>-1</sup>,而对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌以及鳎弧菌的MBC均为100 g·L<sup>-1</sup>;极性段II对枯草杆菌的MBC为25 g·L<sup>-1</sup>,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的MBC为50 mg·mL<sup>-1</sup>,对鳎弧菌的MBC为100 g·L<sup>-1</sup>;极性段III对枯草杆菌的MBC为50 g·L<sup>-1</sup>;极性段IV无明显的杀菌效果。将结果与表2数据比较可得五爪龙各极性段的MIC均小于MBC。

### 4 结论

本实验表明:五爪龙各极性段的抑菌作用强度有明显差别,其中以乙酸乙酯、石油醚萃取的抑菌作用最强,对弧菌、杆菌、革兰阴性菌以及阳性菌均有一定的抑制作用。可能是因为乙酸乙酯部分所含化学成分多为黄酮类,此类化合物本身就具有很好的抑菌作用。而石油醚部分所含化学成分多为单萜类、倍半萜类,同样具有较好的抑菌作用<sup>[5,7]</sup>。五爪龙长期以来被作为一种杂草或动物饲料使用,其药用价值仍有待开发利用,本实验证实了五爪龙的抗菌作用,为临床应用提供了实验证据。

### [参考文献]

- [1] 刘春玲,魏刚,何建雄,等.五指毛桃不同采收部位挥发油及醇提物成分的分析[J].广州中医药大学学报,2004,21(3):204.
- [2] 蒋林,黄清春,张晚风,等.五指毛桃组织培养研究[J].中药材,2004,27(8):547.
- [3] 刘春玲,徐鸿华.高效液相色谱法测定五指毛桃中补骨脂素的含量[J].中药材,2004,27(8):582.
- [4] 孔繁林,储从家,管新龙,等.临床分离4544株革兰阴性杆菌的耐药分布与变迁[J].中国微生态学杂志,2006,18(3):229.
- [5] 张继东,李淑芳,苑方重,等.奶牛乳房炎病原菌的分离鉴定和中药防治试验[J].中国兽医杂志,2006,42(11):32.
- [6] 刘坦,王健芬,刘志强,等.蓝布正对小鼠抗炎作用的实验研究[J].大理学院学报,2006,5(12):4.
- [7] 刘雪萍,蒋伟哲,黄兴振,等.芒果叶提取物体外抗菌作用研究[J].中国药业,2007,16(9):12.

[责任编辑 何伟]