

扭肚藤水煎液体外抗菌活性研究

刘蓉¹, 刘西霞¹, 周强¹, 曾娟¹, 刘欠¹, 张伟¹, 张美军²

(1. 长沙医学院, 湖南 长沙, 410219;

2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙, 410208)

[摘要] 目的: 研究扭肚藤水煎液对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希氏菌的体外抗菌活性, 为临床规范使用该药提供实验依据。方法: 制备扭肚藤水煎液, 采用牛津杯法初筛检测其抑菌作用, 再分别应用液体培养基2倍稀释法和琼脂平板法检测其最低抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)。结果: 扭肚藤水煎液对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希氏菌均有较强的抑菌作用。扭肚藤提取物对金黄色葡萄球菌 MIC 为 62.5mg/L, MBC 为 125mg/ml; 对大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌的 MIC 均为 125mg/L, MBC 均为 250mg/ml。

[关键词] 扭肚藤; 抗菌活性; 最低抑菌浓度; 最低杀菌浓度; 实验研究

[中图分类号] R282.710.5 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2019.03.065

In vitro antimicrobial activity of Jasminum elongatum water decoction

LIU Rong¹, LIU Xixia¹, ZHOU Qiang¹, ZENG Juan¹, LIU Qian¹, ZHANG Wei¹, ZHANG Meijun²

(1. Changsha Medical University, Changsha 410219, Hunan, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the in vitro antimicrobial activity of *Jasminum elongatum* water decoction against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *Escherichia coli*, and to provide an experimental basis for standard use of this drug in clinical practice. Methods: *Jasminum elongatum* water decoction was prepared, and the Oxford cup method was used for primary determination of its antimicrobial effect. The two-fold liquid medium dilution method and the agar plate method were used to determine its minimal inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). Results: *Jasminum elongatum* water decoction had a strong antimicrobial effect against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *Escherichia coli*. *Jasminum elongatum* extract had an MIC of 62.5mg/L and an MBC of 125mg/ml against *Staphylococcus aureus* and an MIC of 125mg/L and an MBC of 250mg/ml against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*.

[Key words] *Jasminum elongatum*; antimicrobial effect; minimal inhibitory concentration; minimum bactericidal concentration; experimental study

扭肚藤 [*Jasminum elongatum* (Bergius) Wiid] 为木犀科素馨属植物, 生长于山坡、河旁、灌木丛及混交林中, 用扦插或种子繁殖, 多分布在广东、海南、广西、云南等地。其花为白色, 形似素馨花, 又名白花茶、假素馨, 各地别名还有猪肚勒、左扭藤、毛毛茶、别旁茶。其味微苦, 性凉, 归胃、大肠经。因该药具有清热利湿的作用, 临床上常用于治疗湿热腹痛泻痢, 广东、广西民间多用于治疗湿热腹痛、肠炎、痢疾、四肢麻痹肿痛、瘰疬、疥疮等疾病, 外用还能治疗跌打损伤、骨折和类风湿性关节炎^[1-2]。

本研究检测扭肚藤水煎液对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希氏菌等菌的体外抑菌活性, 以探讨该药抗

感染的作用机制, 为临床规范用药提供实验依据, 现报告如下。

1 实验材料

1.1 实验药物 扭肚藤生药, 购置于广州南北行中药饮片有限公司(产地: 广东; 批号: 170810)

1.2 供试菌种 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, ATCC6538)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*, ATCC 6633)、大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*, ATCC35401), 均购置于广东省微生物菌种保藏中心。

1.3 主要仪器与设备 SW-CJ-1F 型单人双面净化工作台, 苏州净化设备有限公司生产; DH3600 II 型电热恒温培

基金项目: 长沙医学院大学生研究性学习与创新性实验项目(长医教[2017]18号-034)

第一作者: 刘蓉, 女, 2015级口腔专业本科生

通讯作者: 刘西霞, 女, 讲师, 研究方向: 病原生物学

养箱,天津泰斯特仪器有限公司生产;JA2003 电子天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司生产;高压蒸汽灭菌锅,山东新华医疗器械股份有限公司生产。

2 实验方法

2.1 扭肚藤水煎液的制备 取100g干扭肚藤,加8倍蒸馏水浸泡30min,武火加热至沸腾,再文火煎煮30min,收集药液,药渣加2倍水同第1次煎煮方法煎再煮2次,合并3次药液过滤。90℃浓缩至100ml,即1ml药液含1g扭肚藤生药(1g/ml)^[3]。置4℃冰箱保存备用。

2.2 培养基的制作 普通营养琼脂平板的制备:称取蛋白胨10g、牛肉膏3g、氯化钠5g、琼脂20g,加入蒸馏水1000ml,加热煮沸,调PH值为7.4,分装入三角烧瓶中,121.3℃高压灭菌15min,待温度降至60℃时倾倒入无菌玻璃平皿中,制备成营养琼脂平板。4℃冰箱保存备用。MH营养肉汤培养基的制备:称取胰蛋白胨15g、植物蛋白胨5g、氯化钠5g,溶解于1000ml蒸馏水中,调PH值为7.4,分装于三角烧瓶中,121.3℃高压灭菌15min,冷却后置4℃冰箱保存备用。

2.3 标准菌株菌悬液的制备 将金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌及枯草杆菌标准菌株分别接种营养琼脂平板,置于37℃温箱中培养24~48h,再从平板中挑取单个菌落转种至营养肉汤培养基,37℃培养12~18h,参照麦氏比浊管用0.9%灭菌氯化钠溶液稀释成0.5麦氏单位(含菌数为 1.5×10^8 cfu/ml)。

2.4 扭肚藤水煎液原液抑菌活性的初筛检测 应用牛津杯法测定扭肚藤水煎液原液的抑菌活性。分别取0.5麦氏单位的金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌及枯草杆菌标准菌0.1ml菌悬液涂布于3个营养琼脂平板表面,用无菌镊子在培养基表面垂直放上已高压灭菌的牛津杯,再在杯中加入扭肚藤水煎液原液(1g/ml)0.1ml,以无菌蒸馏水作为对照,室温下静置5~10min。置于37℃电热恒温培养箱培养48h。分别测量每一个抑菌圈2个垂直方向的直径大小,取其均值作为抑菌圈大小结果。试验重复3次。

2.5 液体培养基连续2倍稀释法检测扭肚藤水煎液最低抑菌浓度 取无菌试管27根,在试管架上放置成3排,每排9根。以无菌操作方法分别在每根试管中加入MH肉汤培养基0.5ml,然后分别在每排第1根试管中加入扭肚藤水煎液原液(1g/ml)0.5ml,混匀后取出0.5ml加入至第2管中,依此继续稀释至第7管,从第7管中取出0.5ml丢弃至烧杯中。各管中药物浓度分别稀释为500L、250、125、62.5、31.25、15.625、7.8125mg/L。第8管为不加药物的细菌对照,第9管为不加药物和细菌的培养基空白对照。分别在试管架上3排试管的第1~8管中接种0.5麦氏单位的金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌及枯草杆菌标准菌待测菌液0.05ml。于37℃电热恒温箱培养24h后肉眼观察结果,药液管中培养基发生浑浊,表示供试菌生长,药物无抑菌作用;药液管清亮表示供试菌生长受到抑制。以完全无菌生长的最低药物浓度为该药物的最低抑菌浓度(MIC)。试验

重复3次。

2.6 肉汤营养琼脂平板法检测扭肚藤水煎液最低杀菌浓度

分布取无菌生长试管中药液肉汤0.05ml,均匀涂布于营养琼脂平板表面,置37℃电热恒温培养箱中培养24h,以未见细菌生长或菌落数低于5个的最低药物浓度为扭肚藤水煎液的最低杀菌浓度(MBC)。试验重复3次。

3 实验结果

3.1 扭肚藤水煎液原液抑菌活性的初筛检测结果 初筛试验结果如表1所示,扭肚藤提取物原液(1g/ml),对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径为23.3mm;对大肠埃希氏菌的抑菌圈直径为21.8mm;对枯草芽孢杆菌的直径为22.0mm。根据药理学实验方法^[3],抑菌圈直径 ≥ 16 mm为高度敏感,11~15mm为中度敏感, ≤ 10 mm为轻度敏感,3种细菌对扭肚藤水煎液原液(1g/ml)均为高度敏感,表明扭肚藤水煎液原液对3种细菌均有较强的抑菌作用。

表1 扭肚藤提取物原液对各菌的抑菌圈直径(mm)

样品	金黄色葡萄球菌	大肠埃希氏菌	枯草芽孢杆菌
扭肚藤提取物	23.3	21.8	22.0

3.2 扭肚藤水煎液对3种细菌MIC和MBC的测定结果 扭肚藤水煎液对金黄色葡萄球菌的MIC为62.5mg/L,对大肠埃希氏菌、枯草芽孢杆菌的MIC均为125mg/L;对金黄色葡萄球菌的MBC为125mg/L,对大肠埃希菌与枯草芽孢杆菌的MBC均为250mg/L。(见表2)

表2 扭肚藤水煎液对3种细菌MIC和MBC的测定结果(mg/ml)

扭肚藤水煎液	金黄色葡萄球菌	大肠埃希氏菌	枯草芽孢杆菌
MIC	62.5	125	125
MBC	125	250	250

4 讨论

目前,临床针对感染性疾病主要以抗生素治疗为主,然而,随着抗生素的滥用,细菌的耐药性问题日渐突出,包括导致患者机体免疫力下降、菌群失调与二重感染、药品的不良反应增加、造成医疗资源的浪费以及污染环境等^[4]。中药具有成本低、来源广、毒副作用较小的特点,从具有清热解毒功效的中药中寻找新的抗感染的药物具有较为广阔的发展前景^[5-7]。扭肚藤属于民间中草药,主要用于治疗湿热腹痛、肠炎、痢疾、四肢麻痹肿痛、瘰疬、疥疮等疾病。林举真等^[8]通过实验证明扭肚藤对猪溶血性链球菌有较好的抑制作用。李沛波等^[9]研究发现,以扭肚藤、火炭母和石榴皮3味中药组成的复方扭肚藤胶囊对蓖麻油致泻模型(小肠性腹泻模型)、大黄或番泻叶致泻模型(大肠性腹泻模型)、致病性大肠杆菌所致的小鼠腹泻模型(细菌性腹泻模型)具有一定的止泻作用,显示扭肚藤具有较好的抗大肠杆菌感染作用。

为阐明扭肚藤对临床常见金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌及枯草芽孢杆菌的抑菌作用,我们对 (下转第176页)

- inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing ROR gammat function[J]. *Nature*, 2008, 453(7192): 236-240.
- [15] 安方玉, 颜春鲁, 刘永琦, 等. 黄芪多糖减轻慢性镉暴露诱导的大鼠肝脏损伤[J]. *基础医学与临床*, 2018, 38(2): 189-193.
 - [16] 安方玉, 颜春鲁, 刘永琦, 等. 黄芪多糖对镉染毒大鼠肾损伤的保护作用[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34(1): 49-52.
 - [17] 李杨, 杨玲玲, 白彦丽, 等. 黄芪多糖对气阴两虚 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤生长、转移及细胞周期的影响[J]. *肿瘤防治研究*, 2018, 45(3): 131-137.
 - [18] 赵海梅, 鹿秀云, 岳海洋, 等. 黄芪多糖对结肠炎小鼠结肠黏膜 JAK/STAT 信号的调控作用[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(1): 145-146.
 - [19] Zhao HM, Wang Y, Huang XY, et al. Astragalus polysaccharide attenuates rat experimental colitis by inducing regulatory T cells in intestinal Peyer's patches[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(11): 3175-3185.
 - [20] 靳娜, 孟德维, 杜晓. 黄芪多糖对 COPD 大鼠炎症反应和肺功能的影响[J]. *中国中医急症*, 2018, 27(8): 1399-1402.
 - [21] 臧凯宏, 李应东, 朱丽娟, 等. 黄芪多糖对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜的修复作用及其作用机制研究[J]. *甘肃中医药大学学报*, 2018, 35(3): 5-10.
 - [22] 程燕, 陈志明, 李莉, 等. 黄芪多糖对脓毒症大鼠心脏功能及炎症因子水平的影响[J]. *浙江中医药大学学报*, 2018, 42(5): 354-359.
 - [23] 张莹, 贾英杰, 李小江. 注射用黄芪多糖联合 CIK 细胞治疗中晚期气虚型非小细胞肺癌的临床观察[J]. *中草药*, 2018, 49(7): 1647-1651.
 - [24] 王美阁. 黄芪多糖对非小细胞肺癌患者免疫功能的影响[J]. *光明中医*, 2017, 32(3): 335-337.
 - [25] 于海艳, 陈高峰. 注射用黄芪多糖辅助治疗非小细胞肺癌的 Meta 分析[J]. *长春中医药大学学报*, 2018, 34(2): 295-298.
 - [26] 刘素霞. 黄芪多糖对非小细胞肺癌患者髓源性抑制细胞的影响[D]. 杭州: 浙江大学医学院, 2017.
 - [27] 崔伟, 刘爱珍, 谢琼, 等. 黄芪多糖联合新辅助化疗 TP 方案对宫颈癌患者免疫抑制细胞 Treg 和 MDSC 的影响[J]. *华南国防医学杂志*, 2018, 32(4): 238-241.
 - [28] 杨爱军. 瘤源性 von Willebrand Factor 对肿瘤扩散能力的影响及其受黄芪多糖作用的研究[D]. 兰州: 兰州大学基础医学院, 2018.
 - [29] 朱平先, 周洪, 李博, 等. 黄芪多糖对冠心病及血管内皮的药理作用与研究进展[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2010, 18(8): 1191-1193.
 - [30] 邱轸文, 高伟, 吴炬, 等. 黄芪多糖注射液对哮喘患者支气管灌洗液或痰液炎症细胞计数和相关因子水平的影响[J]. *解放军预防医学杂志*, 2018, 36(6): 746-749.
 - [31] 乔尚, 靳二东, 郭曙军, 等. 黄芪多糖对冠心病患者心电图及血清中相关因子水平表达的影响[J]. *中国医学创新*, 2018, 15(2): 65-69.
 - [32] 金玺, 卞蓉荣, 沈山海. 黄芪多糖治疗糖尿病作用机制的研究进展[J]. *医学综述*, 2013, 19(11): 2026-2028.
 - [33] 魏春秀, 罗旭昇, 杨薇, 等. 大柴胡汤在眼科疾病治疗中的运用[J]. *广州中医药大学学报*, 2017, 34(2): 290-292.
 - [34] 尹连荣, 高健生. 黄芪对高血压大鼠视网膜神经节细胞的保护作用[J]. *北京中医药大学学报*, 2016, 39(10): 828-832.
 - [35] 王爱青, 何媛. 黄芪多糖对急性高血压大鼠眼压、视网膜、内外颗粒层、视神经纤维及 caspase-3、视网膜神经节细胞凋亡影响随机平行对照研究[J]. *实用中医内科学杂志*, 2018, 32(1): 61-64.
 - [36] 彭清华. 中西医结合眼底病学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2011: 143.
 - [37] 彭清华. 中医眼科学[M]. 4 版. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 143.

(收稿日期: 2018-12-19)

(上接第 143 页) 该药进行系列体外抑菌试验。结果显示, 扭肚藤水煎液对上述 3 种细菌均有较好的抗菌活性, 对金黄色葡萄球菌最低抑菌浓度为 62.5mg/ml, 最低杀菌浓度为 125mg/ml; 对大肠埃希菌及枯草芽孢杆菌的最低抑菌浓度均为 125mg/L, 最低杀菌浓度均为 250mg/ml。本研究结果充分证实了扭肚藤具有较好的抗感染效果。对于扭肚藤抗感染的机制, 目前研究发现, 扭肚藤中含有原儿茶酸、咖啡酸、水杨酸、异香草酸、阿魏酸、咖啡酸甲酯、咖啡碱、东莨菪内酯等化学成分^[10]。扭肚藤消炎止泻的效果可能与其所含的多种化学物质有关, 我们将在后期的试验中进一步探讨。

参考文献

- [1] 孔令锋, 李书渊. 扭肚藤的生药学研究[J]. *广东药学院学报*, 2008, 6(5): 449-451.
- [2] 谈远锋, 黄茂春. 扭肚藤的生药鉴定研究[J]. *中国医药指南*, 2008, 6(23): 125-126.
- [3] 冯筱巍, 左国营, 王根春, 等. 28 种云南中草药体外抗菌活性筛选[J]. *西南国防医药*, 2011, 21(7): 719-712.
- [4] 刘叶, 杨悦. 我国抗生素滥用现状分析及建议[J]. *中国现代医生*, 2016, 54(29): 160-164.
- [5] 王锋, 左国营, 韩峻, 等. 37 种滇产中草药体外抗菌活性筛选[J]. *中国临床药理学杂志*, 2013, 29(7): 523-526.
- [6] 唐庆芝, 魏长志. 清热解毒药与抗菌、抗病毒药的抗感染作用分析[J]. *河北中医*, 2013, 35(6): 910-911.
- [7] 齐永红, 张志建. 清热解毒药替代抗菌药物的临床应用分析[J]. *中国伤残医学*, 2014, 22(3): 285.
- [8] 林举真, 彭治道, 黄万亨, 等. 20 种草药对猪溶血性链球菌的抑菌试验[J]. *中兽医学杂志*, 1984(4): 5-6.
- [9] 李沛波, 王永刚, 彭维, 等. 复方扭肚藤胶囊对实验性腹泻的影响[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(3): 323-325.
- [10] 胥爱丽, 陈雪, 江洁怡, 等. 扭肚藤的化学成分研究[J]. *中药材*, 2016, 39(8): 1779-1781.

(收稿日期: 2018-08-28)