

## 蛇葡萄素的抑菌作用研究

刘吉华, 高山林\*, 朱丹妮, 余伯阳, 蔡紫阳

(中国药科大学中药学院, 南京 210038)

**摘要 目的** 对瑶族藤茶中主要成分蛇葡萄素的体外抗菌活性进行评价。**方法** 以两倍稀释法测定了蛇葡萄素对五个实验菌株的抑菌效果, 并与相同实验条件下盐酸黄连素的抑菌效果相比较, 另外还研究了培养基 pH 值和菌液浓度对蛇葡萄素抑菌作用的影响。**结果** 蛇葡萄素对实验菌株有较好的抑菌作用, 其抑菌作用较盐酸黄连素相当或略强。菌液浓度增高, 其 MIC 和 MBC 随之增高, 对试验菌株, 酸性、碱性条件下蛇葡萄素的抑菌作用显著增强。

**关键词** 蛇葡萄素; MIC; MBC

**中图分类号**: R. 285. 5 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-5048(2002)05-0439-03

瑶族藤茶为葡萄科蛇葡萄属植物显齿蛇葡萄 *Ampelopsis grossedentata* (Hand-Mazz) W. T. wang 的茎叶<sup>[1]</sup>, 主要分布于广东、广西、云南、贵州、湖南、江西、福建等地, 性凉, 味甘淡, 具有清热解毒、祛风湿强筋骨的作用, 相传已有几百年的应用历史, 民间常用以治疗感冒、退热、风湿病及咽喉肿痛等病症, 还具有解酒作用。近年来对其水提物、有效组分总黄酮的研究表明, 藤茶的水提物具有较好的抑菌消炎镇痛作用<sup>[2-4]</sup>, 其总黄酮具有抗血小板聚集和血栓形成、降血脂抗氧化及抗肿瘤等作用<sup>[5,6]</sup>。蛇葡萄素 (Ampelopsin, Dihydromyricetin) 为藤茶中的主要黄酮类成分<sup>[7]</sup>, 本文报道了蛇葡萄素对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌等 5 个常见致病菌株的抑菌研究结果, 并考察了培养基 pH 值及菌液浓度对抑菌效果的影响。所有试验均在严格无菌操作下进行, 对试验使用的器皿及废液均进行高压灭菌处理。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

1.1.1 试验菌株 大肠杆菌 1(ATCC 25922)、大肠杆菌 2(临床分离菌株)、金黄色葡萄球菌 1(ATCC 25923)、金黄色葡萄球菌 2(临床分离菌株)、白色念珠菌(临床分离菌株)、铜绿假单胞菌(ATCC 27853), 以上菌株均由军事医学研究所微生物研究

室惠赠。

1.1.2 培养基 营养肉汤培养基<sup>[8]</sup>。

1.1.3 实验仪器 恒温培养箱, 恒温振荡器、超净工作台。

1.1.4 实验药品 蛇葡萄素(由本研究组朱丹妮提供, 经 HPLC 面积归一法测定其纯度为 99.5%), 盐酸黄连素(南京第二制药厂)。

#### 1.2 实验方法

1.2.1 实验菌液培养方法 将经活化的斜面菌种一环, 转接到牛肉膏蛋白胨液体培养基(20 ml/150 ml 三角瓶)中, 37℃, 180 r/min 振荡培养 24 h。

1.2.2 试验菌液的稀释 如果没有特别说明, 试验菌液为以无菌水将培养菌液稀释 1000 倍, 作为测定 MIC 实验菌液。

1.2.3 菌液浓度的测定 采用稀释平板活菌记数法, 参照文献<sup>[8]</sup>方法进行。

1.2.4 MIC 和 MBC 的测定方法 参照文献<sup>[9]</sup>进行。以两倍稀释法测定蛇葡萄素的 MIC, 取完全抑菌培养物涂布肉汤平板, 没有细菌生长的药物浓度即为其最低杀菌浓度 MBC。

1.2.5 不同 pH 值肉汤培养基的制备 将制备的肉汤培养基以盐酸或氢氧化钠调到所需的 pH 值, 分装小试管, 1.05 kg/cm<sup>2</sup>, 121.3℃ 灭菌 20 min。

1.2.6 菌液浓度的测定 采用稀释平板活菌记数

法,参照文献<sup>[8]</sup>方法进行。

## 2 结果

### 2.1 蛇葡萄素及盐酸黄连素对各实验菌株的最低抑菌浓度

见表1。

Tab 1. The MIC and MBC of Ampelopsin and Berberine Hydrochloride to the experiment strains

| strains              | Ampelopsin<br>(mg/ml) |      | Berberine Hydrochloride<br>(mg/ml) |      |
|----------------------|-----------------------|------|------------------------------------|------|
|                      | MIC                   | MBC  | MIC                                | MBC  |
| <i>S. aureus</i> 1   | 0.23                  | 0.45 | 0.11                               | 0.23 |
| <i>S. aureus</i> 2   | 0.06                  | 0.11 | 0.23                               | 0.90 |
| <i>E. coli</i> 1     | 1.80                  | 1.80 | 3.60                               | 3.60 |
| <i>E. coli</i> 2     | 1.80                  | 1.80 | 1.80                               | 1.80 |
| <i>C. albicans</i>   | 0.45                  | 1.80 | 3.60                               | 3.60 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 0.90                  | 1.80 | 3.60                               | 3.60 |

从上表可以看出,蛇葡萄素对各个试验菌株均有较强的抑菌和杀菌效果,其抑菌和杀菌效果为盐酸黄连素的相当或略强。

### 2.2 培养基 pH 条件对蛇葡萄素抑菌效果的影响

将培养基以盐酸或氢氧化钠分别调 pH 5.0、7.0和9.0,测定了不同 pH 条件下蛇葡萄素的抑菌效果,结果见表2。

Tab 2. The effect of the antibacterial activity of Ampelopsin in different culture pH conditions

| Strains              | pH 5.0 |     | pH 7.0 |      | pH 9.0 |      |
|----------------------|--------|-----|--------|------|--------|------|
|                      | MIC    | MBC | MIC    | MBC  | MIC    | MBC  |
| <i>S. aureus</i> 1   | -      | -   | 0.23   | 0.45 | 0.03   | 0.11 |
| <i>S. aureus</i> 2   | -      | -   | 0.06   | 0.11 | 0.03   | 0.06 |
| <i>E. coli</i> 1     | -      | -   | 1.80   | 1.80 | 0.23   | 0.45 |
| <i>E. coli</i> 2     | -      | -   | 1.80   | 1.80 | 0.23   | 0.45 |
| <i>C. albicans</i>   | -      | -   | 0.45   | 1.80 | -      | -    |
| <i>P. aeruginosa</i> | -      | -   | 0.90   | 1.80 | 0.11   | 0.23 |

Note: indicate the bacteria can't grow.

上表说明,中性 pH 条件有利于细菌的生长,酸性和碱性条件下蛇葡萄素的抑菌活性比中性条件下有很大的增强。

### 2.3 不同接种菌液浓度对蛇葡萄素抑菌效果的影响因素

将培养的试验菌液以无菌水稀释至不同浓度,测定了其蛇葡萄素抑菌作用的影响,结果见表3。

在抑菌试验中,接种菌液的浓度对试验所得的

MIC 和 MBC 的值有着很大的影响,上表的试验数据表明,随着接种菌液浓度的增加,蛇葡萄素的 MIC 和 MBC 也相应增加。在抑菌试验中,接种菌液的浓度常为 $10^3$  CFU/ml。

Tab 3. The effect of the antibacterial activity of Ampelopsin in different start concentration of strain cultures(mg/ml)

| strains              | 10 <sup>3</sup> CFU/ml |      | 10 <sup>5</sup> CFU/ml |      | 10 <sup>7</sup> CFU/ml |      |
|----------------------|------------------------|------|------------------------|------|------------------------|------|
|                      | MIC                    | MBC  | MIC                    | MBC  | MIC                    | MBC  |
| <i>S. aureus</i> 1   | -                      | -    | 0.06                   | 0.11 | 1.80                   | 1.80 |
| <i>S. aureus</i> 2   | -                      | -    | 0.06                   | 0.06 | 0.11                   | 0.45 |
| <i>E. coli</i> 1     | 0.45                   | 1.80 | 0.90                   | 1.80 | *                      | *    |
| <i>E. coli</i> 2     | 0.90                   | 0.90 | 1.80                   | 1.80 | *                      | *    |
| <i>C. albicans</i>   | 0.11                   | 0.22 | 0.22                   | 0.45 | 0.90                   | 0.90 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 0.22                   | 0.45 | 0.45                   | 0.45 | 0.90                   | 1.80 |

Note: indicate the bacteria can't grow, the MIC and MBC are less than 0.01 mg/ml. \* indicate all experiment bacteria can grow.

## 3 讨论

瑶族藤茶具有治疗感冒发热,咽喉肿痛、黄疸型肝炎等作用,已有数百年的应用历史,并能增强人体的免疫力。对其化学研究表明,其主要成分为黄酮类化合物蛇葡萄素。从以上对蛇葡萄素单体化合物的抑菌实验结果可以看出,在酸性或碱性条件下,蛇葡萄素的抑菌作用比中性条件下强,随着接种菌液浓度的增加,其最低抑菌浓度和最低杀菌浓度均增加,但对实验所用菌株仍有很好的抑菌和杀菌效果。

在酸性和碱性条件下,蛇葡萄素的抑菌活性比中性条件下强,主要原因是在酸性和碱性条件下,细菌的对外界不良环境的抵抗能力减弱,同时,蛇葡萄素分子中的化学基团在酸碱条件下电离程度改变,使得蛇葡萄素的溶解性增加,导致有效药物浓度增加所致。

林芹等<sup>[9]</sup>曾报道了复方藤茶的抑菌试验结果,表明其具有较好的抑制常见致病菌的作用,从本试验的结果和文献资料可以得出,蛇葡萄素即为复方藤茶中的主要抑菌成分,鉴于蛇葡萄素具有多种药理活性<sup>[2-6]</sup>,对其进行进一步的研究开发具有重大意义。

## 参考文献

- [1] 中国科学院植物研究所主编:中国高等植物图鉴[M],补编第2册,北京:科学出版社,1983,355.
- [2] 周雪仙(Zhou XX),曾湘华(Zeng XH),李秋娥等(Li QE). 江

- 华瑶族防感藤茶的药理研究[J]. 中国民族医药杂志(*Chin J Ethnomed Ethnopharm*), 1996, 2(4): 37-39.
- [3] 林建峰(Lin JF), 李双官(Li ShG), 朱惠(Zhu H)等. 藤茶的抗炎镇痛作用研究[J]. 福建医药杂志(*Fujian Med J*), 1995, 17(4): 39-40.
- [4] 董明娇(Dong MJ). 藤茶散治疗化脓性皮肤病33例[J]. 广西中医药(*Guangxi J Tradit Clin Med*), 1997, 20(5): 39.
- [5] 钟正贤(Zhong ZHX), 覃洁萍(Tan JP), 周桂芬(Zhou GF)等. 广西瑶族藤茶中双氢杨梅树皮素的药理研究. 中国民族医药杂志(*Chin J Ethnomed Ethnopharm*), 1998, 4(3): 42-44.
- [6] 刘育德(Liu YD), 丘明祺(Qiu MQ), 梁婷韵(Liang TY). 无刺根蛇葡萄素的提取及其对黑色素瘤的抑制作用[J]. 中山医科大学学报(*Acad J Sun Yat-Sen Univ Med Sci*), 1999, 20(2): 127-129.
- [7] 覃洁萍(Tan JP), 许学键(Xu XJ), 李剑江(Li JJ). 广西瑶族藤茶化学成分的研究. 天然产物研究与开发(*Nat Prod Res Dev*), 1997, 9(4): 41-43.
- [8] 范秀容(Fan XR), 李广武(Li GW), 沈萍(Shen P). 微生物学实验(第二版). 高等教育出版社, 北京, 1989.
- [9] 林芹(Lin Q), 林英辉(Lin YH). 复方藤茶的抑菌试验[J]. 广西中医学院学报(*J Guangxi Coll Tradit Clin Med*), 2000, 17(2): 41.

## Studies on Antibacterial Activity of Ampelopsin

LIU Ji-Hua, ZHU Dan-Li, YU Bo-Yang, CAI Zhi-Yang

China Pharmaceutical University, Nanjing, 210038, Nanjing, China

**ABSTRACT** AIM To evaluate the antibacterial activity of ampilopsin from *Ampelopsis grossedentata* (Hand-Mazz) W. T. wang *in vitro*. **METHOD** MIC determination of ampelopsin antibacterial which was used in experiment was performed by the tube double dilution method, and MBC was performed by plate coating method. The MIC and MBC of each bacterium were compared with berberine hydrochloride which was tested under the same condition. In addition, the influence on the activity of ampelopsin by pH condition of culture medium and the concentration of liquid bacterial germ was investigated. **RESULTS** Ampelopsin has stronger antibacterial activity than that of berberine hydrochloride. The MIC and MBC of ampilopsin were increased with the concentration of liquid bacterial germ, and were decreased when the pH of culture medium was under acidic or alkaline condition.

**KEY WORDS** Antibacterial; Ampelopsin; MIC; MBC

## WTO·2002·首届中国医药行业投融资论坛

2002年12月8~9日,在第49届全国药品广交会召开之际,国际健康工程联合会和《医药》杂志社联合中国政府机构、世界各国投资机构代表、中国著名学者、中国医药行业精英代表和医药企业代表汇集羊城,参加 WTO·2002·首届中国医药行业投融资论坛。

**会议议题与演讲嘉宾:**①全球华人投资网络的形成及全球范围内的资本与技术转移(华登国际投资集团 陈立武);②内地市场在华投资网络中的地位(汇亚集团执行副总裁 王干芝);③台湾省和中国大陆间投资界的互动及治疗创投经验(台湾风险投资协会会长、怡和创投董事长 王伯元);④新加坡投资业发展的道路、经验及对中国的启示(新加坡政府直接投资有限公司高级副总裁、北京代表处首席代表 洪荣兴);⑤海外留学人员在整合全球商业资源上的作用(环球金融集团亚洲联合控股公司(GFGAsia)CEO 许静静);⑥全球通信产业的发展及通信产业投资的未来(软银亚洲信息基础投资基金 CEO 阎炎);⑦中国传媒产业投资的机遇与风险(IDG 集团高级副总裁 熊小鸽);⑧风险投资商如何设计企业的治理机构(上海联创投资管理有限公司总裁 冯涛);⑨东南亚风险投资的特点与中国企业的机会(祥峰投资管理集团高级副总裁 杨俊达);⑩中国的投资机会及产业投资策略(集富(Jafco)创业投资(香港)有限公司董事兼执行副总裁 陈镇洪);⑪亚洲技术投资的风险与应对策略(intel capital 中国总经理 祁子平);⑫在中国投资的经验与教训(霸菱投资(香港)有限公司 徐新);⑬怎样控制投资中国企业的风险(Fidelity ventures 董事兼总经理 欧柏德);⑭在中国开展高技术风险投资的策略与方法(宏基技术投资亚太有限公司董事长 卢宏镒);⑮中国医药零售连锁店的发展前景(中国医药商业协会常务副会长 朱长洁);⑯中国医药行业投资前景分析(中国医药行业协会秘书长 康弘);⑰加入世贸后医药行业的应对措施和发展方向(国家经贸委经济运行局副局长 于明德)。