

大叶胡颓子叶抑菌作用的研究

刘建萍, 由宝昌, 荆亚铃, 于桂香, 李 超

(中国农业大学 烟台研究院, 山东 烟台 264670)

摘 要: 用乙醇对大叶胡颓子叶进行提取, 研究提取物对5种常见的呼吸道感染菌(金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克氏杆菌、鲍曼不动杆菌)的体外抑菌作用。结果表明: 大叶胡颓子叶提取物对5种供试菌皆有较强的抑制作用, 最低抑菌浓度(MIC)为 3.332~6.667 mg/mL, 可为研制开发抗菌消炎新药物提供参考依据。

关键词: 大叶胡颓子叶; 抑菌作用; 最低抑菌浓度

中图分类号: R 285.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)01-0144-02

大叶胡颓子(*Elaeagnus macrophylla* Thunb)是胡颓子科(Elaeagnaceae)胡颓子属(*Elaeagnus*)常绿直立灌木, 又名圆叶胡颓子、冬枣, 产于我国山东青岛、威海滨海及岛屿, 江苏、浙江的沿海岛屿以及台湾, 日本、朝鲜也有分布, 根系发达, 对土壤要求不严, 耐贫瘠、干旱和盐分, 抗病虫、海风、海雾能力强。大叶胡颓子四季常绿, 叶色翠绿, 下面银白色, 匍枝优美。其白花芳香, 可与桂花媲美, 硕果奇特, 色泽美观, 花、果期长达20 d以上。大叶胡颓子叶、枝、花、果具佳, 是一年四季均可供观赏的优良观赏树木, 可用于公园、庭院及街道绿地的立体绿化, 也可用于攀缘棚架、墙角、墙垣、山岩及枯树等。还可做盆景观赏。大叶胡颓子作为防护林树种, 用于荒山水土保持林造林, 也是基岩岸沿海防护林造林树种。此外, 根、叶、果皆可入药, 有收敛、止泻、平喘、止咳, 治吐血不止之效^[1], 民间以果实代丹皮应用, 治妇科病, 作为药材栽培利用。但是关于大叶胡颓子的药理作用, 至今国内外未见报道。现以大叶胡颓子叶的醇提取物进行体外抑菌作用探讨, 旨在为其活性成分的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

大叶胡颓子, 2009年5月18日采于青岛, 叶片风干后粉碎, 过0.25 mm筛。金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克氏杆菌, 均由中国农业大学微生物实验室提供。鲍曼不动杆菌由烟台市毓璜顶医院微生物实验室提供。试验试剂: 95%乙醇、石油醚、氯化钠均为分析纯; 牛肉膏、蛋白胨、琼脂粉, 均为生化

用品; 蒸馏水, 实验室自制。试验仪器: KDM-250型电子控温电热套(金坛市杰瑞尔电器有限公司); SHZ-D(III)型循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂); 旋转浓缩仪(上海亚荣生化仪器厂); FA1104N型电子天平(上海精密科学仪器有限公司); SPX-250BSH-II型生化培养箱(上海新苗医疗器械制造有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 大叶胡颓子叶醇提取物的制备 取大叶胡颓子叶粗粉10 g, 加入100 mL 95%的乙醇浸泡24 h, 回流提取90 min, 抽滤得滤液。药渣加入80 mL 70%的乙醇提取60 min, 滤得药液。2次所得滤液合并置于旋转蒸发器中减压浓缩, 浓缩成10 mL(含生药1 g/mL的药液), 装入小三角瓶, 封口后121℃下高温蒸汽灭菌15 min, 置4℃冰箱中储藏备用。

1.2.2 菌种活化及菌悬液的制备 分别将各供试菌种移接入营养琼脂斜面培养基上, 于37℃培养箱中培养24 h。将活化好的各菌种分别取一环, 制成初试菌悬液, 取适量初始菌悬液用生理盐水将其稀释成含菌量为 $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^6$ CFU/mL的菌悬液备用。

1.2.3 抑菌试验—纸片法^[2] 取0.1 mL的菌悬液涂布于平板培养基(约15 mL), 将灭菌后直径9 mm的滤纸圆片在药液中浸泡20 min后取出, 贴于平板上, 每皿放4片, 以无菌水为对照(以上操作均在无菌条件下进行)。于37℃培养箱中培养24 h, 然后用十字交叉法测定抑菌圈直径, 取平均值, 所得数据进行方差分析。

1.2.4 最低抑菌浓度(MIC)测定—平板涂布法^[3] 用无菌水稀释叶提取物, 使其浓度分别为0.3333、0.1667、0.0833、0.0417、0.0208 g/mL生药。取不同浓度提取液4 mL加入高压灭菌后冷却至50℃左右的100 mL培养基中, 充分混匀, 倾注平皿(约15 mL)。终浓度分别为: 13.3333、6.6667、3.3333、1.6667、0.8333 mg/mL。待培养基冷却后, 用接种环在相应的培养基中涂布供试菌种, 设一不含药物的平皿为对照。于37℃的培养箱中培

第一作者: 刘建萍(1962-), 女, 副教授, 博士, 现主要从事天然产物化学的研究工作。E-mail: liujp816@126.com。

基金项目: 中国农业大学烟台研究院科研基金资助项目(2009)。

收稿日期: 2010-10-08

养 24 h 观察菌体生长情况, 无菌生长的培养基中提取液浓度最低者即为提取液的最低抑菌浓度。

2 结果与分析

2.1 大叶胡颓子叶的抑菌效果

由表 1、2 可知, 叶提取物对 5 种供试菌皆有抑制作用, 抑菌圈比较结果显示, 叶提取物对鲍曼不动杆菌的抑制作用极显著地高于金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、克氏杆菌和铜绿假单胞菌; 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、克氏杆菌的抑制作用显著地高于铜绿假单胞菌; 而金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和克氏杆菌 3 种细菌之间差异不显著。叶提取物对 5 种供试菌的抑制效果排序为: 鲍曼不动杆菌> 金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、克氏杆菌> 铜绿假单胞菌。

表 1 叶提取物对不同细菌抑制效果的方差分析

差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
供试菌间	43. 05	4	10. 7625	15. 8466	2. 9039× 10 ⁻⁵	3. 0556
误差	10. 1875	15	0. 6792			
总变异	53. 2375	19				

表 2 叶提取物对不同细菌抑菌圈的比较

菌种名称	平均值	$\alpha=0. 05$	$\alpha=0. 01$
鲍曼不动杆菌(<i>A. baumannii</i>)	16. 500	a	A
金黄色葡萄球菌(<i>S. aureus</i>)	14. 750	b	B
大肠杆菌(<i>E. coli</i>)	14. 250	b	B
克氏杆菌(<i>K. pneumoniae</i>)	13. 625	b	BC
铜绿假单胞菌(<i>P. Aeruginosa</i>)	12. 000	c	C

2.2 大叶胡颓子叶提取物的 MIC

由表 3 可知, 大叶胡颓子叶提取物对鲍曼不动杆菌的最小抑菌浓度最低, 为 3. 3333 mg/mL, 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、克氏杆菌的最小抑菌浓度为 6. 6667 mg/mL, 对铜绿假单胞菌的最小抑菌浓度为 13. 3333 mg/mL。MIC 的测定结果是提取物对供试菌抑菌效力的又一体现, 最小抑菌浓度越低, 抑菌能力越强, 此结果与滤纸片法测定抑菌效力结果一致。

表 3 大叶胡颓子叶提取物对供试菌的最小抑菌浓度

菌种名称	叶提取物抑菌浓度/ mg · mL ⁻¹					CK
	13. 3333	6. 6667	3. 3333	1. 6667	0. 8333	
金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	—	—	+	+++	+++	+++
鲍曼不动杆菌 <i>A. baumannii</i>	—	—	—	++	+++	+++
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	—	—	++	+++	+++	+++
铜绿假单胞菌 <i>P. Aeruginosa</i>	—	+	++	+++	+++	+++
克氏杆菌 <i>K. pneumoniae</i>	—	—	++	+++	+++	+++

注 CK 为无菌水对照组“—”表示无菌生长; “+”表示菌生长较弱; “++”表示菌生长较强; “+++”表示菌生长强。

3 结论

大叶胡颓子叶的醇提物中存在有效的抗菌成分, 对铜绿假单胞菌、大肠杆菌、肺炎克氏杆菌、鲍曼不动杆菌和金黄色葡萄球菌皆有明显的抑菌效果, 其最低抑菌浓度(MIC)较低, 为 3. 3333 ~6. 6667 mg/mL 生药。其中, 对鲍曼不动杆菌的抑菌效果最强。大叶胡颓子叶对常见的呼吸道致病菌有较强的抑菌作用, 又有平喘、止咳作用, 消炎、止咳、平喘方能标本兼治, 所以, 是治疗呼吸道感染良好的中药材, 可用于研制开发抗菌消炎新药物。大叶胡颓子为常绿灌木, 叶片繁茂, 易于取材, 在生态绿化与制药两方面可兼顾, 大叶胡颓子叶药理作用的研究具有深远的意义。

参考文献

[1] 袁雪丽, 辛兆学, 辛卫忠, 等. 野生观赏木本植物大叶胡颓子驯化及开发利用研究[J]. 山东林业科技, 2007(5): 49-50.
[2] 张均田. 现代药理实验方法[M]. 北京: 北京医科大学协和医科大学联合出版社, 1998: 1409-1415.
[3] 赵淑艳, 呼世斌, 吴焕利, 等. 山茱萸提取物抑菌活性成分稳定性的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(1): 98-101.

Study on the Antibacterial Activity of *Elaeagnus macrophylla* Thunb Leaf Extract

LIU Jian-ping, YOU Bao-chang, JING Ya-ling, YU Gui-xiang, LI Chao
(Yantai Campus, China Agricultural University, Yantai Shandong 264670)

Abstract: Taking alcohol as extracting agent leaf of *Elaeagnus macrophylla* Thunb were extracted from it, the *in vitro* bacteriostasis of the above extracts on against five kinds of common respiratory infections (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*) were studied. The results showed that extracts of *Elaeagnus macrophylla* Thunb leaf were all had better inhibition, and the minimal inhibitory concentration(MIC) was 3. 332 ~6. 667 mg/mL, it provided a reference for the research and development of new antimicrobial anti-inflammatory drugs.

Key words: leaf of *Elaeagnus macrophylla* Thunb; bacteriostasis function; minimal inhibitory concentration