

仙人掌醇提物的抑菌试验

★ 叶波 (江西东风药业技术中心 乐平 333300)

摘要:采用滤纸片法,对仙人掌醇提物进行抑菌活性实验,探讨了在不同浓度、不同 pH 值以及样品热处理(水浴 100 ℃、湿热灭菌 121 ℃)后的抑菌效果。结果表明:仙人掌醇提物浓度在 0.07% ~ 0.9% 范围内,对大肠杆菌、酵母菌、枯草杆菌、金黄色葡萄球菌和青霉抑制作用最适浓度分别为 0.3%、0.9%、0.5%、0.9% 和 0.3%,在 pH=5~9 范围内,最适 pH 分别为 6、6、6、8 和 9,仙人掌醇提物对细菌作用的热稳定性较好,对霉菌作用的热稳定性却较差。

关键词:仙人掌醇提物;抑菌试验;热稳定性

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

Studies on Antimicrobial Activity of Ethanol Extract from Cactus

YE Bo

Jiangxi Dongfeng pharmaceutical co. ltd, Leping 333300

Abstract: The antibacterial action of ethanol extract from cactus with a series of bacterium, yeasts and fungi was studied by the methods of agar diffusion. The effects of concentration, pH value and heat-treatment on antibacterial action were researched. Bacteria inhibition test showed that ethanol extract from cactus had inhibition effect on bacterium, yeasts and fungi.

Key words: Cactus; Antibacterial action; Thermal stability

0 前言

仙人掌在我国作为药用首载于清代赵学敏所著的《本草纲目拾遗》,据该书记载,仙人掌味淡性寒、功能行气活血、清热解毒、消肿止痛、健脾止泻、安神利尿,可内服外用治疗多种疾病。《陆川本草》记载有消炎解毒、排脓生肌的作用,用于疮痍疔肿咳嗽的治疗。《广西中草药》载:仙人掌止泻,治肠炎腹泻。

通常认为仙人掌所含的某些有机酸等有一定的抑菌作用。刘寿山的研究工作表明仙人掌中的异鼠李素和槲皮素的葡萄糖苷、异槲皮苷、三萜化合物对金黄色葡萄球菌、枯草杆菌等有抑制作用^[1]。陈淑冰等的实验也证明了仙人掌水煎液对急性和慢性炎症均有明显的抑菌作用^[2]。辽宁省中医研究所,沈阳市第四人民医院,沈阳市骨科医院药理实验证实仙人掌有抑菌作用,对急、慢性炎症都有明显地抗炎作用,并是免疫增效剂,有降血糖作用和抗胃溃疡作用^[3]。仙人掌中的多种成分,如生物碱、甾体化合物、黄酮类、皂苷类、酸性物质(如芥子酸、咖啡酸、果酸等)以及叶绿素等都有抑制微生物生长的作用^[4]。仙人掌的抑菌作用可能是上述多种抑菌组分综合作用的结果。因此没有必要将其中的抑菌有效成分一一分离出来进行抑菌研究^[5]。而且仙人掌所含

有的化学成分是十分复杂的,它的每种药理作用究竟是哪种化学成分所发挥的作用,仙人掌化学成分的分离纯化及其各自具体的药理作用,这一领域还有待进一步研究。本实验采用滤纸片法,研究仙人掌醇提物的抑菌效果,为开发和应用仙人掌提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品

仙人掌醇提物(由基础化学实验室提供)提取流程:仙人掌→粉碎→95%乙醇浸泡→抽提过滤→蒸馏浓缩→烘干成浸膏。

1.2 供试菌种

细菌 3 株:大肠杆菌 *Escherichia coli*,金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*,枯草杆菌 *Bacillus subtilis*。

霉菌 1 株:青霉 *Penicillium citrinum*。

酵母菌 1 株:酵母 *Yeasts*。

以上菌种都由江西东风药业生化研究所提供。

1.3 所需试剂和仪器

试剂:牛肉膏、蛋白胨、琼脂、蔗糖、NaCl、95%的无水乙醇、HCl(1mol/L)、NaOH(1mol/L),以上试剂都由江西东风药业生化研究所提供。

仪器:超净工作台 CJ-1680、手提式压力蒸汽灭菌器 YXQ-SG41.280、数显恒温水浴锅 HH-6、双目生物显微镜 YS2-H、光照培养箱 LRH-250G、电子天平、恒温干燥箱。

1.4 培养基的配制^[11]

1.4.1 细菌培养基 采用牛肉膏蛋白胨固体培养基:牛肉膏 3 g,蛋白胨 10 g,NaCl 5 g,琼脂 20 g,水 1000 ml,pH:7.2~7.4。将上述配料加热融化即可。

1.4.2 霉菌培养基 采用马铃薯培养基(PDA):马铃薯(去皮)200 g,蔗糖 20 g,琼脂 18 g,水 1000 ml,pH 自然。将马铃薯去皮,切成约 2 cm² 小块,放入 1500 ml 的烧杯中煮沸 30 min,同时用玻璃棒搅拌防止糊底,然后用双层纱布过滤,取其滤液加糖及琼脂,补足水分至 1000 ml 煮沸即得。

1.4.3 酵母菌培养基 采用马铃薯培养基(PDA),制备方法同上。

1.5 供试菌液

将用试管活化好的菌种,分别用接种环挑取少许菌苔于装有 10 ml 无菌水的试管内,振荡均匀,制成菌悬浮液。用血球计数板计数,调整菌悬浮液的浓度,使其含菌体或孢子约为 10⁷~10⁸/ml,振荡培养半小时即得供试菌悬浮液,待用。

1.6 抑菌测定方法

1.6.1 含菌双碟平板的制备^[6] 把以上各种培养基湿热灭菌(121℃)后,分别倒入无菌培养皿中,形成平板备用。用 1 ml 无菌吸管分别吸取 0.2 ml 菌悬浮液,滴到上述平板上,左右来回倾斜培养皿,使菌悬浮液均匀平铺在培养基平板上,待用。

表 1 不同浓度仙人掌醇提物的抑菌效果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

菌种	抑菌圈直径/mm							
	醇提物浓度(%)	0.07	0.09	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
大肠杆菌		8.17±0.38	7.67±0.93	8.5±0.89	8.33±0.27	8±0	8±1.13	8.5±1.44
酵母菌		6.5±0	6.83±0.52	6.5±0	7±0.61	8.33±1.36	6.5±0	9.17±0.88
枯草杆菌		7.83±0.27	7.33±0.76	7.67±0.2	8.33±0.55	9.33±0.76	8.33±0.38	7.83±0.74
金黄色葡萄球菌		6.5±0	6.5±0	7.5±0.77	8.17±0.61	9.67±1.74	8.33±0.42	7.5±1.51
青霉菌		6.83±0.41	6.5±0	9.5±1.53	8.17±1.17	8.33±1.5	8.5±1.58	8.17±1.33

由表 1 可知:仙人掌醇提物对大肠杆菌和枯草杆菌在 0.07%~0.9% 浓度范围内变化不大,其平均抑菌圈直径(简称 AACD,单位:mm)大部分都在 7.5 以上;在 0.07%~0.9% 浓度范围内对酵母菌无作用(AACD 都是 6.5),0.5%、0.9% 的作用效果较好(AACD 都在 8.0 以上);对金黄色葡萄球菌在 0.07%、0.09% 时无效,≥0.1% 时才有效,且抑菌作

1.6.2 抑菌实验 采用滤纸片法。先用打孔器将干净的吸水性强的优质滤纸(本实验采用双圈牌定性滤纸 GB/7194-93)制成直径 6.5 mm 的小圆纸片(约 1000 只),干热灭菌后备用。将无菌滤纸片投入盛有不同浓度样品溶液中,浸泡 2~4 h 后,用无菌镊子将其平铺在无菌培养皿中,放在紫外灯下(灭菌作用)让其自然风干。再在无菌条件下,用无菌镊子将其贴于上述已准备好的含菌平板上,每个平板贴 3 片,每个处理重复 2 次,然后放入 32℃ 的恒温培养箱中培养 36 h,取出观察,测量抑菌直径的大小(借助放大镜)。

1.7 浓度对仙人掌醇提物抑菌活性的影响

将仙人掌醇提物置于无菌水中充分摇匀,配制不同浓度(系列浓度 0.07%、0.09%、0.1%、0.3%、0.5%、0.7%、0.9%)的样品溶液,采用滤纸片法分别做抑菌活性试验,以观察不同浓度其抑菌效果。

1.8 pH 值对仙人掌醇提物抑菌活性的影响

将以上各培养基在灭菌前调制成 pH 值为 5、6、7、8、9 系列的培养基。同样采用滤纸片法分别做其抑菌活性试验(样品浓度为:0.5%),以观察不同 pH 值下其抑菌效果的变化。

1.9 温度对仙人掌醇提物、咖啡因抑菌活性的影响

称取样品(干样)分别在水浴 100℃、湿热灭菌 121℃ 下恒温保持 15 min,热处理后,以枯草杆菌、青酶作为试验菌,采用滤纸片法(样品浓度为:0.5%),然后测定抑菌效果。

2 结果与分析

2.1 仙人掌醇提物的抑菌作用

2.1.1 浓度对仙人掌醇提物抑菌活性的影响 结果见表 1。

用随着浓度的增加而递增。对青霉在浓度较低(0.07%、0.09%)时效果很弱,几乎没有,但在 0.1%、0.3% 时效果最好,而在 0.7%、0.9% 时效果又较弱。

2.1.2 pH 值对仙人掌醇提物抑菌活性的影响 结果见表 2。

表 2 仙人掌醇提物在不同 pH 值下的抑菌效果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

菌种	抑菌圈直径/mm				
	pH 值	5	6	7	8
大肠杆菌		无菌生长	10.5±2.18	9.33±1.46	7.5±0.98
酵母菌		9±1.41	10±1.08	8.33±0.63	8.17±1.03
枯草杆菌		无菌生长	9.33±0.49	8.5±0.2	8.67±1.13
金黄色葡萄球菌		无菌生长	8.33±1.16	7.83±1.3	9±0.41
青霉菌		8.83±1.78	9.5±1.67	9±0.58	9±1.37

由表 2 可知:pH=5 时,大肠杆菌、枯草杆菌和金黄色葡萄球菌都无菌生长;pH=6,7,9 时对大肠杆菌效果较好,pH

=8 时效果较差;pH=6 时,对酵母菌的效果最好,太酸或碱性都较弱且 pH≥6 其效果逐渐减弱;pH≥6 其对枯草杆菌作

癌痛消颗粒对大鼠移植性肝癌细胞凋亡及 Bcl-2 表达影响的研究*

★ 魏录翠¹ 韦艾凌² 黄小琪² (1. 湖南中医药大学 长沙410007;2. 广西中医学院第一附属医院 南宁530023)

摘要:目的:观察癌痛消颗粒对大鼠移植性肝癌细胞凋亡及 Bcl-2 表达的影响。方法:采用 Walker-256 瘤株进行 SD 大鼠的移植性肝癌的造模,造模成功后随机分为4组,癌痛消颗粒高剂量组、癌痛消颗粒低剂量组、5-Fu 组、模型组,每组10只,分别给予相应药物治疗,最后处死大鼠,取出瘤块,用免疫组化法检测瘤块中 Bcl-2 的表达情况,应用流式细胞仪检测肿瘤细胞凋亡率;另设正常组大鼠10只,不进行造模及给药,供实验结束时取肝脏组织作空白对照用。结果:和正常组比较,模型组大鼠的细胞凋亡率下降、Bcl-2 升高,运用癌痛消颗粒或 5-Fu 治疗后细胞凋亡率升高、Bcl-2 下降。结论:癌痛消颗粒对大鼠移植性肝癌细胞具有诱导凋亡作用,其机理与下调 Bcl-2 基因蛋白的表达有关。

关键词:癌痛消颗粒;Bcl-2;细胞凋亡;实验研究

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

临床和实验研究表明:中医药治疗肝癌具有改善症状、增强免疫力、提高生存质量、延长生存期、减轻放化疗毒副作用、在一定程度上稳定或缩小瘤体的作用。癌痛消颗粒为纯中药制剂,组方具有化痰

软坚、健脾理气、解毒抗癌的功效,经临床应用对原发性肝癌患者的症状及体征有明显改善作用。本实验通过建立大鼠移植性肝癌模型,分别用免疫组化法和流式细胞仪检测 Bcl-2 的表达和细胞凋亡率的

* 基金项目:广西科学基金资助(桂科自 0640148)

用效果逐渐减弱;pH ≥ 6 其对金黄色葡萄球菌的作用效果都可以,且变化不大;偏酸或偏碱对青霉的作用效果较好,pH=7 时效果最差。

2.1.3 温度对仙人掌醇提取物抑菌活性的影响 结果见表3。

表3 仙人掌醇提取物抑菌活性的耐热性试验($\bar{x} \pm s, n=6$)

菌种	抑菌圈直径/mm	
	温度/℃	
	100	121
枯草杆菌	7.83 $\pm$ 0.89	9 $\pm$ 0.82
青霉菌	6.5 $\pm$ 0	6.5 $\pm$ 0

表3可知:耐热性试验表明仙人掌醇提取物对枯草杆菌作用的热稳定性很好;对青霉作用的热稳定性较差。

3 结论

实验结果表明,仙人掌醇提取物对细菌、酵母菌和霉菌都有一定的抑菌作用。仙人掌醇提取物在0.07%~0.9%浓度范围内对大肠杆菌和枯草杆菌作用较好且变化不大,其最适作用浓度分别为0.3%和0.5%;对酵母菌作用在0.9%最好;对金黄色葡萄球菌在 $\geq 0.1\%$ 时才有效,且抑菌作用随着浓度的增加而递增;对青霉的作用浓度在0.1%~0.3%范围内最好。总的来看,pH=6 时仙人掌醇提取物的抑菌作用

都较好;pH=5 时,大肠杆菌、枯草杆菌和金黄色葡萄球菌都无菌生长。pH=8 时,对大肠杆菌的作用最弱;对酵母菌的作用效果太酸或太碱都较弱且 pH ≥ 6 其效果逐渐减弱;对枯草杆菌作用效果随 pH 值递减;偏酸或偏碱对青霉的作用效果较好。耐热性试验表明,仙人掌醇提取物对细菌作用的热稳定性很好,对霉菌作用的热稳定性较差。

参考文献

- [1] 刘寿山. 中药研究文献摘要[M]. 北京:科技出版社,1979;206.
- [2] 陈淑冰,唐雨文,孟华民,等. 仙人掌抗炎作用的研究[J]. 中药药理与临床,1991,7(6):33-34.
- [3] 张治,张宏,余健. 仙人掌药理研究进展[J]. 时珍国医国药,2000,11(2):33-36.
- [4] 翁佩芳,吴祖芳. 仙人掌浸提液的抑菌作用[J]. 宁波大学学报,2001(1):39.
- [5] 王钊,林琳,鲍世铨. 我国海南仙人掌的成分分析及开发前景. 天然产物与开发,2000(1):44-48.
- [6] 吴传茂,吴周和. 丁香提取液的抑菌作用研究[J]. 湖北工学院学报,2000,15(1):43-45.

(收稿日期:2008-05-13)