

[文章编号] 1000-2782(1999)05-0075-04

# 地锦草体外抑菌有效部位的筛选试验

宋晓平,王晶钰,李引乾,张为民,陈福星\*,高建军\*

(西北农业大学动物科学与动物医学学院,陕西杨陵 712100)

**摘要** 采用水煎、水醇和五部位提取法从地锦草中提得组成成分不同的 7 种提取物,以肠道致病性大肠杆菌 O<sub>78</sub>:K<sub>80</sub>、沙门氏菌 C<sub>79-1</sub>、金黄色葡萄球菌为目的菌株进行体外抑菌试验。结果表明,水煎提取物对大肠杆菌 O<sub>78</sub>:K<sub>80</sub>、沙门氏菌 C<sub>79-1</sub>、金黄色葡萄球菌的最小抑菌质量浓度分别为 10, 10, 12.5 g/L;水醇提取物对上述试验菌的最小抑菌质量浓度依次为 5, 7.5, 10 g/L;五部位法所得 5 种提取物的抑菌浓度均大于 15 g/L。

**关键词** 地锦草;体外抑菌;有效部位

[中图分类号] S853.74 [文献标识码] A

地锦草 (*Euphorbia humifusa* Wild) 属大戟科大戟属植物,有铺地锦、血见愁、草血竭、花被单、奶汁草等 40 多个别名,生于田间路旁和庭院,全国各地均有分布。地锦草属清热解毒类中药,具有清热解毒、活血止血、利湿通乳之功效,常用于治疗泻痢、痈肿疔疮、出血、湿热黄疸和乳汁不通等病证<sup>[1,2]</sup>,其成分主要有黄酮、有机酸、甾醇、萜和单宁类化合物<sup>[3]</sup>。关于地锦草的抑菌有效部位尚未见报道。本试验旨在通过对地锦草体外抑菌有效部位的筛选,为地锦草制剂的进一步研制及其在兽医临床上的应用提供试验依据。

## 1 试验材料

地锦草 1997 年 9 月采集于陕西省周至县境内,去根,晒干,粉碎后备用。

试验菌株 大肠杆菌 O<sub>78</sub>:K<sub>80</sub>、沙门氏菌 C<sub>79-1</sub>、金黄色葡萄球菌,由西北农业大学流行病教研组提供。

## 2 试验方法

### 2.1 地锦草提取物的制备

2.1.1 水煎提取物和水醇提取物的制备 地锦草 100 g,加水适量煎提 2 次(分别 60 min, 40 min),合并 2 次煎提液。其中 1/2 浓缩成浸膏,即为水煎提取物(A);其余 1/2 浓缩至小体积,加 2 倍量无水乙醇,4℃ 冰箱内静置 24 h,滤除沉淀,回收乙醇,浓缩成浸膏,即为水醇提取物(B)。

2.1.2 五部位提取物的制备 地锦草粉(40 目) 200 g,依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇和水进行水浴回流提取,每种溶剂提取 3 次,每次 3 h,分别合并分次提取液,减压

[收稿日期] 1998-09-21

[基金项目] 西北农业大学中兽医研究所资助项目

[作者简介] 宋晓平(1963-),男,副教授,在读博士;\* 本校九八届本科毕业生

回收溶剂,即得 5 种不同溶剂提取物,依次为提取物 C, D, E, F, G.

## 2.2 地锦草提取物的体外抑菌试验

2.2.1 菌液制备 将大肠杆菌、沙门氏菌、葡萄球菌分别接种于普通灭菌肉汤或血清肉汤中,37℃恒温培养 18~24 h,用生理盐水稀释,调其含菌量在  $1.0 \times 10^5$  CFU/mL.

2.2.2 纸片法和挖洞法抑菌试验 上述 7 种地锦草提取物 A~G 各 0.50 g,分别用原提取溶剂配成质量浓度为 500 g/L 的供试药液,将 120℃干热灭菌 2 h 的圆形滤纸片(直径 6 mm)置供试液中浸泡 2 h,取出挥干溶剂,于备好的普通琼脂平板表面平涂一层试验菌液,用无菌小镊子将药纸片轻置其上,并进行同浓度的挖洞法抑菌试验,每洞滴加 0.1 mL 供试药液,37℃恒温培养 24 h,观察结果,如此重复 1 次,取其平均值.

2.2.3 地锦草提取物最低抑菌浓度测定 ① 平皿倾注法抑菌试验. 地锦草提取物 A~G 分别用原溶剂溶解,加至营养琼脂培养基中配成 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 g/L 的不同质量浓度(按原生药量计算),  $1.1 \text{ kg/cm}^2$  蒸汽压灭菌 20 min 后倒板,分别接种大肠杆菌 O<sub>78</sub>: K<sub>80</sub>,沙门氏菌 C<sub>79-1</sub>,金黄色葡萄球菌菌液 0.1 mL,用 L 型灭菌玻璃棒涂均匀,37℃恒温培养 24 h,观察结果,如此重复 1 次,取其平均值. ② 试管法抑菌试验. 提取物 A~G,分别用原提取溶剂溶解,依次配成 125, 125, 500, 500, 500, 250, 500 g/L 的 7 种不同质量浓度的试验药液,采用试管法测定抑菌力,方法参见表 1.

表 1 试管法最低抑菌浓度(MIC)的测定方法

mL

试样	管 号						
	1	2	3	4	5	6	7
肉汤	4.8	4.6	4.4	4.2	4.0	5.0	5.0
药液	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	-	-
菌液	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	-

判断时,凡稀释管中无细菌生长者,其最高稀释倍数即为药液对细菌的抑菌效价,如药液颜色深,肉眼不易判定有无细菌生长者,则取一铂环接种于营养琼脂平板,37℃培养 18~24 h 后观察,若无细菌生长,则该稀释度即为药物的抑菌效价.

## 3 结 果

### 3.1 纸片法和挖洞法抑菌试验

纸片法和挖洞法抑菌试验结果表明:地锦草提取物 A, B, G 对 O<sub>78</sub>: K<sub>80</sub>,沙门氏菌 C<sub>79-1</sub>,金黄色葡萄球菌有一定的抑菌作用,提取物 C, D, E, F 抑菌圈直径小于 10 mm,抑菌效果不明显(表 2).

表 2 提取物 A~G 纸片法(挖洞法)抑菌圈直径

mm

菌 株	A	B	C	D	E	F	G
大肠杆菌	11(12)	11(13)	6(8)	6(8)	8(10)	8(10)	12(13)
沙门氏菌	12(12)	13(14)	7(8)	6(7)	8(9)	7(8)	10(12)
葡萄球菌	10(15)	12(15)	6(9)	6(8)	8(10)	8(9)	10(10)

注:括号内数字为挖洞法试验结果.

### 3.2 地锦草提取物最低抑菌浓度测定

地锦草提取物平皿倾注法和试管法抑菌试验结果表明,水煎提取物 A 和水醇提取物

B具有明显的抑菌作用,对大肠杆菌 O<sub>78</sub>:K<sub>80</sub>,沙门氏菌 C<sub>79-1</sub>和金黄色葡萄球菌的抑菌质量浓度小于 12.5 g/L,而五部位提取物 C, D, E, F, G 抑菌质量浓度大于 15 g/L,抑菌效果不明显(表 3,表 4)

表 3 地锦草各提取物平皿倾注法最小抑菌质量浓度 g/L

菌株	A	B	C	D	E	F	G
大肠杆菌	10	5	> 50	> 50	> 50	> 15	> 40
沙门氏菌	10	10	> 50	> 50	> 50	15	40
葡萄球菌	20	20	> 50	> 50	> 50	15	> 40

表 4 地锦草各提取物试管法最小抑菌质量浓度 g/L

菌株	A	B	C	D	E	F	G
大肠杆菌	10	5	> 50	> 50	50	25	> 50
沙门氏菌	10	7.5	> 50	> 50	40	> 25	50
葡萄球菌	12.5	10	> 50	> 50	50	> 25	> 50

## 4 讨 论

1) 中草药的抑菌药敏等级目前尚无统一标准,参照抗生素的相应药敏标准可分为高敏、中敏、轻敏或耐药 4 级<sup>[4]</sup>,即抑菌环直径大于 20 mm 为高敏,10~20 mm 为中敏,小于 10 mm 为耐药。本试验结果表明,地锦草提取物 A, B, G, 无论对革兰氏阴性的 大肠杆菌 O<sub>78</sub>:K<sub>80</sub>,沙门氏菌 C<sub>79-1</sub>,还是革兰氏阳性的金黄色葡萄球菌,抑菌效果都达到了中敏,这与中医药认为地锦草具有清热解毒功能,以及地锦草治疗菌痢、肠炎和腹泻等肠道疾病的治愈率达 94%~97% 的临床报道<sup>[5,6]</sup>基本吻合。

2) 本试验中水煎提取物 A 对大肠杆菌 O<sub>78</sub>:K<sub>80</sub>,沙门氏菌 C<sub>79-1</sub>和金黄色葡萄球菌的体外最低抑菌质量浓度分别为 10, 10, 12.5 g/L;水醇提取物 B 对上述试验菌的最低抑菌质量浓度分别为 5, 7.5, 10 g/L,说明地锦草水煎液经乙醇沉淀鞣质、蛋白质和多糖等成分后的抑菌效果与水煎提取物比较,抑菌效果略有增强,这对进一步制备地锦草片剂和针剂具有理论指导意义。

3) 中草药有效部位的筛选,多根据化合物结构“相似相容”的原理,采用极性由弱渐强的不同溶剂系统提取,极性不同的成分则分散在不同的溶剂中,通过活性试验筛选出有效部位,可为进一步成分分离或制剂研制提供依据。本试验以致病性大肠杆菌 O<sub>78</sub>:K<sub>80</sub>,沙门氏菌 C<sub>79-1</sub>和金黄色葡萄球菌作为目的菌株,用于筛选地锦草有效抑菌部位,结果表明,水煎提取物 A 和水醇提取物 B 的抑菌作用明显优于五部位提取物 C, D, E, F, G,这可能是中草药化学成分间组合效应的又一例证。中草药化学成分复杂,功能多样,从原植物中所提取的单一成分有时不及原植物中各种成分的组合,如孙静芸对麻黄的成分进行研究后指出,用麻黄比单用麻黄碱的止咳平喘效果更好,副作用更低<sup>[7]</sup>,关于地锦草各部位提取物间的组合效应正在进一步研究中。

致谢: 试验过程中,曾得到岳治权教授及王虹老师的热心指导和帮助,特此谢忱。

## [参考文献]

- [1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1975. 346~ 347.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海人民出版社, 1977. 1656, 827~ 829.
- [3] 李荣芷, 何云庆, 刘 虎, 等. 地锦草化学成分的研究 [J]. 北京医学院学报, 1983, 15(1): 72~ 74.
- [4] 郑钧镛. 药品微生物检验技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985. 350~ 351.
- [5] 张宝林. 地锦草在儿科临床上的应用 [J]. 浙江中医杂志, 1984, 19(2): 91.
- [6] 邹春良. 地锦草与芍药汤加减治疗急性菌痢的功效对比 [J]. 江西中医药, 1992, 23(2): 60.
- [7] 郭士宁, 张克家. 中兽医方剂的组合效应 [J]. 中兽医杂志, 1996(18): 43~ 44.

## Selection of bacteriostasis positions of *Euphorbia humifusa* wild *in vitro*

SONG Xiao-ping, WANG Jing-yu, LI Yin-qian  
ZHANG Wei-min, CHEN Fu-xing, GAO Jian-jun

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Northwestern  
Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract** Seven kinds of extract were obtained from *Euphorbia humifusa* Wild by water decoction, water ethanol and five position methods, and were conducted bacteriostasis test with intestine pathogenic Colon bacillus O<sub>78</sub> : K<sub>80</sub>, Salmonella Pullorum C<sub>79-1</sub>, staphylococcus aureus for target bacteria *in vitro*. The results indicated that the minimum concentration of bacteriostasis of water decoction extract for Colon bacillus O<sub>78</sub> : K<sub>80</sub>, Salmonella Pullorum C<sub>79-1</sub> staphylococcus aureus was 10, 10, 12.5 g/L crude drug, respectively. The minimum concentration of bacteriostasis of water ethanol extract on above-mentioned test bacteria was 5, 7.5, 10 g/L crude drug, successively. The concentration of bacteriostasis of five kinds of extract which obtained by five position method was higher than 15 g/L crude drug.

**Key Words** *Euphorbia humifusa* wild; bacteriostasis *in vitro*; effective position