

芒果苷单钠盐的抑菌作用研究

袁叶飞^{1,2*}, 邓家刚², 胡祥宇¹, 欧贤红³

(1. 泸州医学院, 四川 泸州 646000; 2. 广西中医学院, 南宁 530001;
3. 桂林医学院, 广西 桂林 541004)

〔摘要〕 目的:观察芒果苷单钠盐的抑菌作用。方法:以咽喉及上呼吸道常见致病菌肺炎双球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和流感嗜血杆菌为受试菌,分别通过体外抑菌和体内抑菌实验来观察芒果苷单钠盐的抑菌作用。结果:体外研究显示芒果苷单钠盐对肺炎双球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和流感嗜血杆菌均表现出一定的抑制作用。其最小抑菌质量浓度分别为 10.0,5.0,10.0,2.5 g·L⁻¹。体内研究显示芒果苷单钠盐可显著提升菌液感染小鼠的存活率。结论:芒果苷单钠盐具有明显的抑菌作用。

〔关键词〕 芒果苷单钠盐;抑菌作用;肺炎双球菌;肺炎克雷伯菌;金黄色葡萄球菌;流感嗜血杆菌

〔中图分类号〕 R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2011)06-0173-03

Bacteriostatic Action of Mangoferin Monosodium Salt

YUAN Ye-fei^{1,2*}, DENG Jia-gang², HU Xiang-yu¹, OU Xian-hong³

(1. Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China;
2. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China;
3. Guilin Medical College, Guilin 541004, China)

〔收稿日期〕 20101006(001)
〔基金项目〕 广西应用基础研究专项(0731054);广西青年基金资助项目(0640052);广西教育厅资助项目(200507049)
〔通讯作者〕 *袁叶飞,副教授,博士学位,主要从事中草药化学成分及药效筛选研究工作,Tel:13158621302

通络生骨胶囊为木豆叶提取物,为治疗股骨头坏死的中药新药,长期服用未见明显毒副作用。文献报道其具有改善病变部位血液运输,促进骨髓基质干细胞向成骨细胞分化,抑制其向脂肪细胞的分化,促进骨钙素、降钙素合成,同时改善骨密度^[3,4]等多种有利骨形成的作用,以往研究多关注其在骨坏死机制上的药效及机制探讨,对于应力缺失性骨质疏松尚未涉及。本研究结果提示预防给与通络生骨胶囊,可减少应力缺失造成的骨质疏松,提示该药物可用于航天以及长期卧床患者骨质疏松的预防。

〔参考文献〕

[1] 孙联文,庄逢源. 微重力导致骨质疏松的研究进展[J]. 中华航空航天医学杂志,2004,15(1):54.

[2] 孙客. 废用性骨质疏松症临床研究现状[J]. 中国康复医学杂志,2001,16(2):125.

[3] 陈杰,马进,丁兆平,等. 一种模拟长期失重影响的大鼠尾部悬吊模型[J]. 空间科学学报,1993,13(2):159.

[4] 佟海英,胡素敏,周鹏,等. 中药复方对模拟失重大鼠骨代谢的影响[J]. 中国中药杂志,2008,33(7):79.

[5] 刘少军,邓彦,王海彬,通络生骨胶囊对骨髓基质干细胞成骨和成脂肪分化的影响[J]. 四川中医,2008,26(3):22.

[6] 杨俊兴,方斌,徐传毅,等. 通络生骨胶囊对激素性股骨头坏死大鼠骨钙素,降钙素与骨密度的影响[J]. 广州中医药大学学报,2007,24(1):41.

〔责任编辑〕 聂淑琴

[**Abstract**] **Objective:** To investigate the bacteriostatic action of mangoferin monosodium salt. **Method:** Bacteriostasis *in vivo* and *in vitro* experiments for *Diplococcus pennmoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* was examined respectively to observe the antibiosis effect of mangoferin monosodium salt. **Result:** Mangoferin monosodium salt showed some extents of antibiosis effect to *D. pennmoniae*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *H. influenzae* for *in vitro* experiment. The minimal inhibitory concentration (MIC) were 10.0, 5.0, 10.0, 2.5 g·L⁻¹, respectively. Mangoferin monosodium salt also showed significant *in vivo* protection effect in infected mouse. **Conclusion:** Mangoferin monosodium salt has good bacteriostatic action.

[**Key words**] mangoferin monosodium salt; bacteriostati action; *Diplococcus pennmoniae*; *Klebsiella pneumoniae*; *Staphylococcus aureus*; *Haemophilus influenzae*

芒果苷,又名芒果素、知母宁。它广泛存在与于百合科植物知母、漆树科芒果树、扁桃树的叶、果实和树皮,龙胆科植物东北龙胆、川西獐芽菜,水龙骨科植物光石韦等植物中。芒果叶具有分布地域广,药材资源丰富,原料易得,价格低廉,甚至四季可采集等优点,其主要成分芒果苷的含量达 1.92%^[1]。芒果苷具有多方面的生理活性和药理作用,有止咳、祛痰、平喘及抗炎、免疫、保肝利胆、抗脂质过氧化、抗病毒、抗肿瘤、抗菌和抗糖尿病等作用^[2]。但芒果苷是一种四羟基的吡酮碳糖苷,水溶性极差,难以制成合适浓度的稳定药液,影响了其疗效及其应用。增加难溶性药物的溶解度以满足治疗需要,是中药制剂的重要问题。通过结构修饰可改善药物的溶解性。我们前期利用芒果苷中的 3-酚羟基酸性较强的性质,使其与碳酸氢钠反应成盐,再通过盐析使芒果苷单钠成盐析出这一原理制备得到了水溶性芒果苷单钠盐^[3]。前期的研究表明芒果苷单钠盐具有止咳、化痰、平喘、抗炎的药效作用^[4],本文重点研究其抑菌作用,为其开发成抗呼吸系统疾病新药提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 KM 小鼠,雌雄各半,体重(20±2)g,由泸州医学院动物实验中心提供,生产许可证号 SCXK(川)2008-17,使用许可证号 SCXK(川)2008-065。

1.2 受试菌 选择咽喉及上呼吸道常见致病菌作为受试菌,包括肺炎双球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和流感嗜血杆菌,受试菌均为临床分离株。肺炎双球菌和肺炎克雷伯菌用 MH 血琼脂培养基,金黄色葡萄球菌用普通肉汤培养基,流感嗜血杆菌采用 HTM 培养基。MH 血琼脂培养基,上海东海医化试剂公司生产,批号 001032;营养肉汤培养基,中国药品生物制品检定所提供,批号 040214;HTM 培

养基为英国 OXOID 公司产品。各菌种及所使用培养基均来自于泸州医学院免疫教研室,所用器具均于 121℃ 高压灭菌 15 min。

1.3 受试药物 芒果苷单钠盐自制(纯度 95% 以上),以各菌种相应培养基配成 80 g·L⁻¹ 供体外抑菌试验,以生理盐水配成 30, 15 g·L⁻¹ 供体内抑菌试验。

2 方法

2.1 体外抑菌试验 预先将制备好的各受试菌种液体培养基分装于角烧瓶内高压灭菌。取容量为 5 mL 的玻璃试管,分别加入各菌种相应液体培养基 2 mL,每菌种 8 管共 32 管。各菌种对应试管均在第 1 管中加入含 80 g·L⁻¹ 的芒果苷单钠盐 2 mL,混匀后,取出 2 mL 加入第 2 管中,依次将药液成倍稀释成 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256 系列溶液,即含药量为 40.0, 20.0, 10.0, 5.0, 2.5, 1.25, 0.625, 0.313 g·L⁻¹。各管药液培养基最终量为 2 mL。将实验菌种接种于相应液体培养基中,37℃ 培养 20~22 h,用生理盐水稀释至 10⁻³ 浓度。将各管中分别加入 0.1 mL 菌液(含菌量约为 2×10⁵~9×10⁵ CFU·mL⁻¹),同时分别设含药液不含菌液的阴性对照组和含菌液不含药液的阳性对照组。(36±1)℃ 培养 24 h 后观察菌种生长情况,并作平皿划线,继续分离培养。

2.2 体内抑菌试验 将上述菌种分别接种于相应液体培养基试管内,于 37℃ 培养 16~18 h,将此培养的菌液用生理盐水以 10 倍顺序依次稀释为 1×10⁻¹, 10⁻², 10⁻³……10⁻⁸ 等不同浓度菌液,即 9 mL 无菌生理盐水加 1 mL 菌悬液为 1×10⁻¹,依此类推。预试时将不同浓度的每种受试菌悬液分别 ip 于体重为 20 g 左右的小鼠,每个浓度组 4 只,每只 0.5 mL,观察动物在 3 d 内的死亡情况。正式实验选用小鼠 180 只,每菌种随机分为芒果苷单钠盐高剂量

组(300 mg·kg⁻¹)、芒果苷单钠盐低剂量组(150 mg·kg⁻¹)和模型对照组(生理盐水),每组 15 只,雌雄各半。正式实验时使用预试引起小鼠 80% ~ 90% 死亡的菌液浓度进行感染,每鼠 ip 0.5 mL,于感染前 1 d 以及感染后 6,12 h,各菌种所分 3 组分别 ip 给药 3 次,给药容积为 10 mL·kg⁻¹。观察 3 d 内小鼠的死亡情况,所得数据统计用卡方检验,分析软件为 SPSS13.0。

3 结果

表 1 芒果苷单钠盐的体外抑菌活性

菌种	稀释倍数								阴性对照	阳性对照	最小抑菌质量 浓度/g·L ⁻¹
	2	4	8	16	32	64	128	256			
肺炎双球菌	-	-	(+)	+	+	+	+	+	-	+	10.0
肺炎克雷伯菌	-	-	-	(+)	+	+	+	+	-	+	5.0
金黄色葡萄球菌	-	-	(+)	+	+	+	+	+	-	+	10.0
流感嗜血杆菌	-	-	-	-	(+)	+	+	+	-	+	2.5

注:(-)液体澄清,分离培养无菌;(+)液体澄清,分离培养有菌;+液体混浊,分离培养有菌。

3.2 芒果苷单钠盐的体内抑菌试验

表 2 结果显示,芒果苷单钠盐高、低剂量组对肺炎双球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和流感嗜

3.1 芒果苷单钠盐的体外抑菌试验

表 1 结果显示,芒果苷单钠盐对肺炎双球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和流感嗜血杆菌的最小抑菌质量浓度分别为 10.0,5.0,10.0,2.5 g·L⁻¹,表明芒果苷单钠盐在一定浓度范围内对上述 4 种咽喉及上呼吸道常见致病菌均有抑制作用,其中对流感嗜血杆菌抑制作用最强,其次为肺炎克雷伯菌,再次为肺炎双球菌和金黄色葡萄球菌。

血杆菌感染均有明显的抗感染作用,能提高小白鼠的存活数,与模型对照组比较有显著意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 2 芒果苷单钠盐 ip 给药 3 次对感染小鼠的存活保护作用($n = 15$)

只

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	肺炎双球菌		肺炎克雷伯菌		金黄色葡萄球菌		流感嗜血杆菌	
		存活	死亡	存活	死亡	存活	死亡	存活	死亡
芒果苷单钠	300	13 ²⁾	2	14 ²⁾	1	12 ²⁾	3	13 ²⁾	2
	150	9 ¹⁾	6	10 ²⁾	5	9 ¹⁾	6	10 ¹⁾	5
模型对照	-	3	12	2	13	3	12	4	11

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

现代药理研究表明,芒果苷具有抗氧化、抗细菌、抗病毒、免疫调节及抗肿瘤等多方面的生理活性和药理作用。前期我们利用芒果苷与碳酸氢钠反应制备得到了芒果苷单钠盐,改善了芒果苷的水溶性。本实验采用倍比稀释法研究了其体外抑菌活性,结果表明芒果苷单钠盐在一定浓度范围内对咽喉及上呼吸道常见致病菌肺炎双球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和流感嗜血杆菌均有抑制作用。体内抑菌试验表明,芒果苷单钠盐对肺炎双球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和流感嗜血杆菌引起的小白鼠感染均有明显的抗感染作用。综上所述,芒果苷经结构修饰转变成水溶性芒果苷单钠盐后,同样具

有明显的抑菌作用,为其开发成抗呼吸系统疾病新药提供了实验依据。

[参考文献]

[1] 黄海滨,李学坚,梁秋云. RP-HPLC 法测定芒果叶中芒果苷的含量[J]. 中国中药杂志,2003,28(9):839.
[2] 黄潇,彭志刚. 芒果苷药理作用研究概况[J]. 中国药师,2007,10(1),73.
[3] 袁叶飞,邓家刚. 芒果苷单钠盐的制备工艺[J]. 中国医院药学杂志,2008,28(3),181.
[4] 袁叶飞,邓家刚,余昕,等. 芒果苷单钠盐的药效学实验研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(4),816.

[责任编辑 聂淑琴]