

中药提取液体外抗肠道念珠菌的作用

邓洁华, 王刚生, 马耀辉, 史敏, 李波

邓洁华, 王刚生, 马耀辉, 史敏, 李波, 河北医科大学第二医院 河北省石家庄市050000

作者贡献分布: 此课题由王刚生与邓洁华设计; 研究过程由王刚生指导; 邓洁华、马耀辉、史敏及李波操作完成; 数据分析由邓洁华、马耀辉及史敏完成; 本论文写作由邓洁华、王刚生及马耀辉完成。

通讯作者: 王刚生, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院皮肤科。djh092@163.com

电话: 0311-66002375

收稿日期: 2009-11-24 修回日期: 2010-01-25

接受日期: 2010-01-26 在线出版日期: 2010-03-08

Antifungal effect of extracts of 32 traditional Chinese herbs against intestinal *Candida* in vitro

Jie-Hua Deng, Gang-Sheng Wang, Yao-Hui Ma, Min Shi, Bo Li

Jie-Hua Deng, Gang-Sheng Wang, Yao-Hui Ma, Min Shi, Bo Li, Department of Dermatology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Gang-Sheng Wang, Department of Dermatology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping Western Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. djh092@163.com

Received: 2009-11-24 Revised: 2010-01-25

Accepted: 2010-01-26 Published online: 2010-03-08

Abstract

AIM: To investigate the antifungal activity of alcohol extracts of 27 traditional Chinese herbs (TCHs) and extracting oils from 5 TCHs against intestinal *Candida* (*C. albicans*, *C. krusei*, and *C. tropicalis*) in vitro.

METHODS: The alcohol extracts of 27 TCHs were serially diluted to concentrations ranging from 50 to 3.125 g/L, while the extracting oils from 5 TCHs were serially diluted to concentrations ranging from 5 to 0.0097 mL/L. The minimum inhibitory concentrations (MICs) of these herb extracts against intestinal *Candida* were then determined.

RESULTS: The alcohol extracts of 6 (cortex pseudolaricis, coptis chinensis, phellodendron amurense, Chinese gall, cassia, and clove), 4 (patchouli, Chuanxiong, acorus calamus, and fructus cnidii), and 2 (fructus schizandrae and fennel) TCHs had

mean MICs of 1.56 g/L to 3.25 g/L, 12.5 g/L, and 50 g/L, respectively. The alcohol extracts of the remaining 15 TCHs exhibited no antifungal effect. The extracting oils from 5 TCHs (cassia oil, Agastache rugosa oil, clove oil, small fennel oil, and fructus schizandrae oil) showed potent antifungal effect against intestinal *Candida*.

CONCLUSION: The alcohol extracts of 6 TCHs and extracting oils from 5 TCHs have significant antifungal activity against pathogenic *Candida* species (*C. albicans*, *C. krusei*, and *C. tropicalis*).

Key Words: Intestinal *Candida*; Alcohol extract of traditional Chinese herb; Extracting oil from traditional Chinese herb; Antifungal activity

Deng JH, Wang GS, Ma YH, Shi M, Li B. Antifungal effect of extracts of 32 traditional Chinese herbs against intestinal *Candida* in vitro. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(7): 741-743

摘要

目的: 观察27种中药醇提液及5种中药提取油对肠道念珠菌(白念、热带、克柔氏)的体外抗菌活性。

方法: 采用试管药基法将27种中药醇提取液倍比稀释成浓度50-3.125 g/L, 中药提取油倍比稀释成5-0.0097 mL/L, 对肠道念珠菌进行MIC观察。

结果: 27种中药醇提取液中有6种(土槿皮、黄连、黄柏、五倍子、桂皮、丁香)MIC均值为1.56-3.25 g/L, 4种(广藿香、川芎、菖蒲、蛇床子)MIC均值12.5 g/L, 2种(五味子、小茴香)MIC均值50 g/L, 对念珠菌有不同程度的抑制作用, 其他15种中药醇提取液无抑制作用。5种中药提取油(桂皮油、藿香油、丁香油、小茴香油、五味子油)对念珠菌均有较强的抑制作用。

结论: 6种中药醇提取液及5种中药提取油对念珠菌(白念、热带、克柔氏)均有较强的抑制作用。

关键词: 肠道念珠菌; 中药醇提取液; 中药提取油; 抗菌活性

背景资料
念珠菌感染在院内真菌感染中占首位, 肠道念珠菌感染仅次于下呼吸道占第2位, 以白念珠菌最多, 其次是热带念珠菌、克柔氏念珠菌。由于临床上高效安全的抗真菌药物较少, 因此, 念珠菌感染的发病率呈上升趋势。

同行评议者
高国全, 教授, 中山大学中山医学院生化系

研发前沿
念珠菌耐药株日渐增多, 目前, 抗真菌药物较多、不良反应较大, 且无良好的中药治疗。

邓洁华, 王刚生, 马耀辉, 史敏, 李波. 中药提取液体外抗肠道念珠菌的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18(7): 741-743
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/741.asp>

0 引言

由于临床上广泛应用广谱抗生素、糖皮质激素、免疫抑制剂等, 使肠道真菌感染的发病率日益增加. 而抗真菌治疗的药物仍以西药为主: 价格昂贵、不良反应多, 易产生耐药菌株, 他们虽然对某些真菌感染有效, 但从高效、低毒、抗真菌谱和耐药性方面评价, 没有一种令人满意. 近年来, 许多国内外学者对中草药抗真菌实验做了大量的筛选工作, 发现有许多中草药及其提取物有很好的抗真菌作用^[1-7]. 本研究用32种中药的提取液对肠道念珠菌(白念珠菌、热带念珠菌、克柔氏念珠菌)进行体外抗菌活性的测定, 为治疗肠道念珠菌感染开发高效、低毒的天然药物奠定基础.

1 材料和方法

1.1 材料 中药提取液: (1)醇提液: 土槿皮、黄连、黄柏、五倍子、桂皮、丁香、蛇床子、广藿香、五味子、川芎、菖蒲、小茴香、天冬、石榴皮、板蓝根、苦参、儿茶、乌梅、地肤子、马勃、虎杖、香附、决明子、半夏、川芎、石决明、蒲黄; (2)挥发油: 桂皮油、藿香油、丁香油、小茴香油、五味子油. 均由河北医科大学制药厂提取并提供. 念珠菌临床株: 来自我院真菌室, 均为致病性真菌(从肠道真菌病患者便中分离, 直接镜检可见大量菌丝及芽生孢子, 培养有酵母样菌落生长, 经鉴定为白念珠菌10株、热带念珠菌10株及克柔氏念珠菌10株). 标准株: 白念珠菌1株、热带念珠菌1株及克柔氏念珠菌1株, 均来自中科院微生物所.

1.2 方法

1.2.1 药基配制: 将中药醇提取液及中药提取油(溶于950 mL/L乙醇内, 配成100 mL/L的药物母液)分别溶于高压灭菌(120 °C, 0.1 Pa, 20 min)后的葡萄糖蛋白胨琼脂基(40 g/L葡萄糖, 10 g/L蛋白胨, 20 g/L琼脂)内, 趁热(60 °C左右)充分混合, 中药醇提取液倍比稀释成50、25、12.5、6.25、3.125、1.56及0.78 g/L(以生药计算). 中药提取油倍比稀释成10、5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.156、0.078、0.039及0.0195 mL/L的系列药物浓度, 药物终浓度中乙醇不超过50 mL/L培养基, 每个试管5 mL放置斜面.

1.2.2 菌种接种: 挑取已活化的菌株, 加入8.5 g/L氯化钠溶液中, 用血细胞计数板将菌悬液浓度调节为 1×10^8 CFU/L. 每个试管药基内接种100 μ L菌悬液, 每个浓度接种2管, 置36 °C恒温箱内,

每日观察生长情况, 并记录, 120 h后判读结果.

1.2.3 MIC值的判读: 用葡萄糖蛋白胨琼脂基加菌悬液管作阳性对照, 用葡萄糖蛋白胨琼脂基管作阴性对照. 将每管生长的情况与阳性及阴性对照管比较, 以无真菌生长的最低药物浓度药基管为MIC终点.

2 结果

2.1 中药醇提液抗念珠菌的MIC值 27种中药醇提液有6种(桂皮、丁香、五味子、土槿皮、黄连、黄柏)MIC均值1.56-3.25 g/L, 4种(广藿香、川芎、菖蒲、蛇床子)MIC均值12.5 g/L, 2种(五味子、小茴香)MIC均值50 g/L, 对肠道念珠菌(白念、热带、克柔氏)有不同程度的抑制作用, 见表1. 其他15种醇提液(天冬、石榴皮、板蓝根、苦参、儿茶、乌梅、地肤子、马勃、虎杖、香附、决明子、半夏、川芎、石决明、蒲黄)均无抑菌作用.

2.2 中药提取油抗念珠菌的MIC值 5种中药提取油(桂皮油、藿香油、丁香油、小茴香油、五味子油)对肠道念珠菌均有较强的抗菌作用, 抗菌作用依次为桂皮油(0.039 mL/L)、藿香油(0.078-0.156 mL/L)、丁香油(0.156-0.313 mL/L)、小茴香油(0.156-0.313 mL/L)、五味子油(0.313 mL/L), 见表2.

3 讨论

近年来, 许多学者对中草药抗真菌作用进行了大量的筛选试验, 发现许多种中草药具有抗真菌作用, 宫毓静等用164种中药乙醇提取物进行抗真菌作用研究, 发现黄连、土皮、肉桂、丁香、珊瑚姜、紫草素等有不同程度的抗真菌作用^[8]. 相比较传统抗真菌药物如氟康唑, 中草药具有抗真菌作用强、不易耐药、低毒性等优点^[9-11]. 且我们曾发现肉桂油对小鼠肠道念珠菌有抑制作用^[12]. MIC值为抑制病菌生长繁殖的最低药物浓度, 测定抗真菌药物的MIC值为抗真菌药物临床应用提供实验依据, 并可进行致病真菌耐药的监测^[9,13]. 中草药抗真菌MIC值测定, 为筛选抗真菌中草药提供依据. 由于各作者对中药提取方法以及提取有效成分不同, 抗真菌作用的MIC值出现差异. 经水煎或与培养基共同高压, 可使某些药物的有效成分破坏. 本实验采用了中药的醇提取液和提取油两种方法, 如: 桂皮油对念珠菌MIC(0.039 mL/L)、醇提液(1.56 g/L), 藿香油(0.078-0.156 mL/L)、醇提液(12.5 g/L), 丁香油(0.156-0.313 mL/L)、醇提液(1.56 g/L), 小茴香油(0.156-0.313 mL/L)、醇提液(50 g/L), 五味子

相关报道
宫毓静等用164种中药乙醇提取物进行抗真菌作用研究, 发现黄连、土皮、肉桂、丁香、珊瑚姜、紫草素等有不同程度的抗真菌作用.

表 1 中药醇提取液抗念珠菌MIC分布 (g/L)

中药	白念临床株(<i>n</i> = 10)		标准株 (<i>n</i> = 1)	热带临床株(<i>n</i> = 10)		标准株 (<i>n</i> = 1)	克柔氏临床株(<i>n</i> = 10)		标准株 (<i>n</i> = 1)
	范围	均值		范围	均值		范围	均值	
桂皮	1.56-3.25	1.56	1.56	0.78-3.25	1.56	1.56	1.56-3.25	1.56	1.56
丁香	1.56-3.25	1.56	1.56	1.56-3.25	1.56	1.56	3.25-6.25	3.25	3.25
五倍子	3.25-6.25	3.25	3.25	0.78-3.25	1.56	1.56	3.25-6.25	3.25	3.25
土槿皮	1.56-6.25	3.25	3.25	1.56-6.25	3.25	3.25	3.25-6.25	3.25	3.25
黄连	3.25-6.25	3.25	3.25	3.25-12.50	6.25	6.25	3.25-6.25	3.25	3.25
黄柏	3.25-6.25	3.25	3.25	3.25-6.25	3.25	3.25	3.25-6.25	3.25	3.25
广藿香	6.25-25.00	12.50	12.50	6.25-12.50	6.25	6.25	6.25-12.50	6.25	6.25
川芎	6.25-25.00	12.50	12.50	12.50-25.00	12.50	12.50	12.50-25.00	25.00	25.00
菖蒲	12.50-25.00	12.50	12.50	6.25-12.50	12.50	12.50	12.50-25.00	25.00	25.00
蛇床子	12.50-25.00	12.50	12.50	12.50-25.00	25.00	25.00	12.50-25.00	25.00	25.00
五味子	25.00-50.00	50.00	50.00	25.00-50.00	50.00	50.00	25.00-50.00	50.00	50.00
小茴香	25.00-50.00	50.00	50.00	25.00-50.00	50.00	50.00	25.00-50.00	50.00	50.00

表 2 中药提取油抗念珠菌MIC分布 (mL/L)

中药	白念临床株(<i>n</i> = 10)		标准株 (<i>n</i> = 1)	热带临床株(<i>n</i> = 10)		标准株 (<i>n</i> = 1)	克柔氏临床株(<i>n</i> = 10)		标准株 (<i>n</i> = 1)
	范围	均值		范围	均值		范围	均值	
桂皮油	0.019-0.039	0.039	0.039	0.039-0.019	0.039	0.039	0.039-0.078	0.078	0.078
藿香油	0.078-0.156	0.078	0.078	0.078-0.313	0.156	0.156	0.078-0.156	0.156	0.156
丁香油	0.156-0.313	0.156	0.156	0.078-0.313	0.156	0.156	0.078-0.156	0.156	0.156
小茴香油	0.078-0.313	0.156	0.156	0.156-0.625	0.313	0.313	0.078-0.313	0.156	0.156
五味子油	0.156-0.313	0.313	0.313	0.313-0.625	0.313	0.313	0.313-0.625	0.313	0.313

油(0.313 mL/L)、醇提液(50 g/L), 抗念珠菌的效果也有明显差异, 中药提取油对念珠菌的抗菌作用优于中药醇提取液。文献报道, 桂皮油、丁香油、八角茴香油、藿香油^[14]、五味子油在1 mL/L以下的浓度下, 有很强的抗真菌作用。本实验进一步证明了其抗菌作用。因中药醇提取液、中药水提取液或中药提取的挥发油所做的体外抗真菌实验, 均为中药抗真菌初筛阶段。为临床提供高效、低毒抗真菌制剂, 还需对中药抗真菌有效化学成分、作用机制及药理作用等进一步研究, 为合成新的抗真菌中药制剂奠定理论基础。

4 参考文献

- 1 马廉兰, 张文平, 曾祥风, 张瑞芸, 程小浪. 116种中草药对白念珠菌的抑菌实验. 赣南医学院学报 1998; 18: 189-192
- 2 谢子梅, 许扬. 抗真菌中药的作用机理研究进展. 中国中药杂志 2004; 29: 200-202
- 3 江涛, 曹煜, 赵秀华, 夏明静. 22种中草药有效成分抗真菌研究及新剂型应用. 中华皮肤科杂志 1999; 32: 316-318
- 4 李俭, 李立秋, 薛艳华, 卓越, 马淑霞, 聂清. 三种中药

挥发油抗真菌作用的实验观察. 中国微生态学杂志 1997; 8: 31-32

- 5 杨得坡, Jean-Pierre C, Joëue M. 藿香和广藿香挥发油对皮肤癣菌和条件致病真菌的抑制作用. 中国药理学杂志 2000; 35: 9-11
- 6 谢小梅, 张文平, 傅颖媛, 许杨. 肉桂醛与柠檬醛抗曲霉菌作用机制的研究. 中草药 2004; 35: 430-432
- 7 张文平, 刘志春, 刘建新, 傅颖媛. 微量法测定肉桂醛、柠檬醛体外抗深部真菌活性. 赣南医学院学报 2004; 24: 364-366
- 8 宫毓静, 安汝国, 虞慧, 王理达, 郑俊华, 果德安. 164种中药乙醇提取物抗真菌作用研究. 中草药 2002; 33: 42-47
- 9 于晓虹, 杨国玲, 刘晓明, 王华. 氟康唑、特比萘芬和伊曲康唑对白念珠菌的体外敏感性试验. 中国皮肤性病学杂志 2008; 22: 668
- 10 滕炳会, 于长平, 杜文莉, 张克伟. 43株念珠菌分离鉴定和药敏试验研究. 预防医学论坛 2007; 13: 722-723
- 11 张文平, 王小丽, 黄真, 谢水祥. 肉桂醛体外诱导白色念珠菌耐药的实验. 中国临床康复 2006; 10: 148-150
- 12 马耀辉, 邓洁华, 王刚生, 张晓光, 王爱学, 四荣联. 肉桂油对小鼠胃白念珠菌感染的治疗作用. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1545-1547
- 13 秦晓峰, 吴建华, 黄懿, 张丽娟, 顾军. 微量稀释法测定白念珠菌对氟康唑的MIC值及两种药敏试验的比较. 中国麻风皮肤病杂志 2009; 25: 87-89
- 14 张广文, 蓝文建, 苏镜媛, 曾陇梅, 杨得坡, 王发松. 广藿香精油化学成分分析及其抗菌活性(). 中草药 2002; 33: 210-212

创新盘点

本文研究了部分中药抗念珠菌的MIC值, 对比了中药醇提液与提取油的抗真菌活性。

同行评价

本文探讨了多种中药提取液对肠道念珠菌的抑制效果, 为临床应用提供了基础依据, 具有一定的创新性。

编辑 李瑞敏 电编 吴鹏朕