

芒果核提取物动物体内外的抗菌作用及安全性研究

莫武桂, 刘华钢, 郑陈光, 黄维真, 贝为武, 余尚扬, 韦 蓉

基金项目: 广西壮族自治区卫生厅科研课题(合同号: Z2008198)

作者单位: 530003 南宁, 广西壮族自治区妇幼保健院(莫武桂, 郑陈光, 黄维真, 贝为武, 余尚扬, 韦 蓉);
530021 南宁, 广西医科大学(刘华钢)

作者简介: 莫武桂(1960-), 女, 研究生学历, 副主任医师, 研究方向: 儿童危重症及传染病。E-mail: mowugui6088@yahoo.com.cn

[摘要] 目的 研究芒果核提取物动物体内外抑菌效果及其使用的安全性。方法 采用二倍稀释法及琼脂扩散法, 观察芒果核提取物对常见肠道感染致病菌(标准和耐药)志贺痢疾杆菌、福氏痢疾杆菌、大肠埃希菌的体外抑菌作用; 采用小鼠复制感染模型观察芒果核提取物动物体内抑菌效果; 用小鼠空腹经口灌胃给予芒果核提取物做急性毒性试验。结果 芒果核提取物对标准和耐药志贺痢疾杆菌、福氏痢疾杆菌、大肠埃希菌有不同程度体外抑菌作用, 其最低抑菌浓度(MIC)分别为 7.8、7.8、7.8、15.6、15.6 mg/ml 和 15.6 mg/ml, 抑菌圈直径分别为 20、18、21、19、17、18 mm; 动物体内大、中、小剂量对(标准及耐药组)福氏痢疾杆菌及志贺痢疾杆菌感染小鼠有明显抑菌作用; 小鼠灌胃最大耐受量 40 g/kg, 相当临床用量的 50 倍。结论 芒果核提取物对常见 3 种肠道感染菌具有较明显的体内外抑菌作用及具有良好的安全性。

[关键词] 芒果核提取物; 体外抑菌作用; 体内抑菌作用; 最低抑菌浓度; 急性毒性实验

[中图分类号] R 965 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2009)08-0779-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2009.08.02

Bacteriostasis and safty of mango seed extractive in vitro and in vivo MO Wu-gui, LIU Hua-gang, ZHENG Chen-guang, et al. Maternal and Children's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi 530003, China

[Abstract] **Objective** To study the bacteriostasis and its practical safety of mango seed extractive in vivo and vitro. **Methods** The bacteriostasis in vitro of mango seed extractive, double-diluted and agar-diffused, on common intestinal infection pathogenic bacteria(standard and tolerated): *Bacillus shigae*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli* were observed; the bacteriostasis in vivo of mango seed extractive were observed on duplicated infected model mouse; the acute toxicity test was conducted in fasting mouse gavaged with mango seed extractive. **Results** Mango seed extractive possesses bacteriostasis in vitro of different degrees on standard and tolerated *Bacillus shigae*, *Shigella flexneri* and *Escherichia coli*, respectively with minimal inhibitory concentrations 7.8 mg/ml, 7.8 mg/ml, 7.8 mg/ml, 15.6 mg/ml, 15.6 mg/ml, 15.6 mg/ml and with bacteriostasis collar diameters 20 mm, 18 mm, 21 mm, 19 mm, 17 mm, 18 mm. Large, medium and low dosages had evident bacteriostasis on the mice infected with *Shigella flexneri* and *Bacillus shigae*. Maximal tolerated dose of intragastric administration for the mouse was 40 g/kg, (equivalently 50 times clinic dosage). **Conclusion** Mango seed extractive possesses evident bacteriostasis and favorable safety in vivo and vitro on 3 types of common intestinal infection bacteria.

[Key words] Mango seed extractive; Bacteriostasis in vitro; Bacteriostasis in vivo; Minimal inhibitory concentration; Acute toxicity test

随着抗生物药物的广范应用,微生物耐药性已成为全球关注的严峻问题。由于多重耐药菌、多重感染以及许多新的病原微生物引起的感染对人类健

康造成极大威胁,且日趋严重,我们从临床工作中观察到部分纯天然抗生物药物有很好的抗菌疗效。为挖掘芒果核的药用价值,对其提取物进行了动物体

内外抗菌作用的研究,同时为了确保其安全性,根据中药临床前毒理学评价的指导原则,并对芒果核进行了急性毒性试验研究,旨在为开发利用芒果核资源提供科学根据及临床应用提供一定药理学基础,现将研究结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 取材 将南宁地区生长成熟芒果核除去坚壳及衣,日光晒干,取 50 g 切碎,加水 200 ml 浸泡,30 min 后加热煮沸,文火 15 min 滤出,再加水 100 ml,按上述方法再次操作虑出药液,合并 2 次药液,用文火浓缩至 50 ml,制成原液备用。

1.1.2 菌株 标准志贺痢疾杆菌、福氏痢疾杆菌和大肠埃希菌均由广西医科大学微生物教研室提供,耐药志贺痢疾杆菌、福氏痢疾杆菌和大肠埃希菌均由广西壮族自治区妇幼保健院检验科细菌室提供,常规牛肉膏、水解酪蛋白培养基 37 °C 培养 24 h 后吸取菌液用培养基稀释,用血细胞计数板计数将菌悬液调整为约 10⁶ 个/ml 备用。

1.1.3 实验动物 清洁小鼠雌雄各半,体重 18 ~ 22 g,由广西医科大学实验动物中心提供。

1.2 方法

1.2.1 最低抑菌浓度(MIC)测定 采用二倍稀释法测定芒果核提取物 MIC,即取 12 支无菌试管编号,1~10 号为一定梯度芒果核提取物含菌液;11 号取菌悬液 1 ml 为不加试验药物的菌液对照管,12 号管取芒果提取物 1 ml 为不加菌悬液的药物对照管,稀释后的芒果核提取物最终浓度为 500、250、125、62.5、31.2、15.6、7.8、3.9、1.95、0.98 mg/ml,摇匀后置于 37 °C 的恒温箱中培养 24 h 后观察结果。

1.2.2 判定标准 首先观察 11 号菌液对照管细菌呈混浊状生长,而 12 号药物对照管无细菌生长,呈透明状的前提下,以不出现混浊的最低芒果核提取物浓度为其 MIC。

1.2.3 抑菌实验 将标准和耐药志贺痢疾杆菌、福氏痢疾杆菌、大肠埃希菌分别用取菌环致密接种到血平板培养基表面,以无菌操作将已用芒果核提取物浸泡的带有药液的直径 0.6 cm 的滤纸片贴到培养基上,37 °C 培养 24 h,观察测量抑菌环直径。重复 3 次,取其平均值。

1.2.4 急性毒性试验 动物分组:采用雌、雄分别随机均衡分组法,共分 2 组,每组 20 只,雌雄各半。采用空腹经口灌胃给药。各组药物浓度为最大浓度,灌胃体积相同,均为每只每次给药 0.4 ml,每隔

12 h 给药 1 次,共给药 2 次,按急性毒性试验常规方法灌胃^[1],测定芒果核最大给药量,灌胃前禁食 12 h,但不禁水。对照组给予相同剂量的生理盐水。

1.2.5 结果观察 实验前先将动物按性别分笼在实验室群养观察 1 d。给药后当天密切观察 12 h,并详细记录观察结果,以后每天上午 8 时~9 时及下午 3 时~4 时各观察 1 h,并记录观察结果,共连续观察 14 d。对观察其中死亡的动物立即进行尸体解剖,对尸检中发现异常者,进行病理切片检查。

1.2.6 体内抑菌实验 将复苏生长良好的(标准和耐药)志贺痢疾杆菌、福氏痢疾杆菌分别配成每 ml 含 9 亿个菌的菌悬液,各菌组各取清洁小鼠 100 只,18 ~ 22 g,由广西医科大学动物实验中心提供,随机分为 5 组,每组 20 只。A 组:正常对照组,灌入无菌生理盐水 1 ml;B 组、C 组、D 组、E 组给每只小鼠经灌胃针灌入菌悬液 1 ml 分 2 次(间隔 8 h),感染第 3 天做粪便的细菌培养,确认模型复制成功后,C 组、D 组、E 组分别为低浓度组、中等浓度组、高浓度组,分别给予 0.25 g/ml、0.5 g/ml、1 g/ml 不同浓度的芒果核提取物 1 ml/kg,相当生药 0.25 g/kg、0.5 g/kg、1 g/kg,2 次/d,连续给药 5 d;B 组为空白对照组复制感染模型后给等量生理盐水,给药后第 1、4、7 d 后,取小鼠粪便适量做细菌培养并观察各组小鼠的大便性状 14 d,以粪便细菌培养阳性率及死亡率为评价指标,比较各组与空白对照组的粪便细菌培养阳性率及死亡率并进行统计学处理。

2 结果

2.1 最低抑菌浓度 芒果核提取物对临床常见肠道致病菌的 MIC 见表 1。可见该提取物对临床常见 3 种标准及耐药肠道致病菌有较明显的体外抑制作用,其中对志贺痢疾杆菌有较强的抑菌作用,MIC 为 7.8 mg/ml。

表 1 芒果核提取物体外最低抑菌浓度(MIC)测定结果(mg/ml)

细菌菌株	标准株	耐药株
志贺痢疾杆菌	7.8	7.8
福氏痢疾杆菌	7.8	15.6
大肠埃希菌	15.6	15.6

2.2 抑菌实验 芒果核提取物对临床常见肠道致病菌的抑菌圈直径见表 2。其中对标准福氏痢疾杆菌有较强的抑菌作用。

表 2 芒果核提取物体外抑菌圈直径测定结果(mm)

细菌菌株	标准株	耐药株
志贺痢疾杆菌	20	18
福氏痢疾杆菌	21	19
大肠埃希菌	17	18

2.3 体内抑菌实验 芒果核提取物大、中、小剂量对(标准及耐药组)福氏痢疾杆菌及志贺痢疾杆菌感染小鼠有明显体内抑菌作用。福氏痢疾杆菌组给

予芒果核提取物大、中、小剂量后感染小鼠的体内抑菌情况见表3;志贺痢疾杆菌组给予芒果核提取物大、中、小剂量后感染小鼠的体内抑菌情况见表4。

表3 福氏痢疾杆菌组给予芒果核提取物大、中、小剂量组后感染小鼠的体内抑菌情况

分 组	例数	小鼠粪便培养阳性率(%)									死亡率%
		低浓度			中浓度			高浓度			
		1 d	4 d	7 d	1 d	4 d	7 d	1 d	4 d	7 d	
正常对照组	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
空白对照组(标准)	20	95	85	90	-	-	-	-	-	-	25
空白对照组(耐药)	20	100	90	85	-	-	-	-	-	-	30
福氏痢疾杆菌组(标准)	20	85	40 [△]	10 [△]	75*	20 [△]	10 [△]	75*	25 [△]	10 [△]	10
福氏痢疾杆菌组(耐药)	20	80*	45 [△]	15 [△]	75*	25 [△]	10 [△]	80*	20 [△]	10 [△]	5

注:福氏痢疾杆菌组(标准)较其空白对照组(标准):[△] $P < 0.01$, * $P < 0.05$;福氏痢疾杆菌组(耐药)较其空白对照组(耐药):* $P < 0.05$,[△] $P < 0.01$

表4 志贺痢疾杆菌组给予芒果核提取物大、中、小剂量组感染小鼠后的体内抑菌情况

分 组	例数	小鼠粪便培养阳性率(%)									死亡率%
		低浓度			中浓度			高浓度			
		1d	4d	7d	1d	4d	7d	1d	4d	7d	
正常对照组	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
空白对照组(标准)	20	90	80	85	-	-	-	-	-	-	25
空白对照组(耐药)	20	95	85	85	-	-	-	-	-	-	20
志贺痢疾杆菌组(标准)	20	80 [△]	45 [△]	15*	75 [△]	25*	10*	75 [△]	25*	10*	5
志贺痢疾杆菌组(耐药)	20	85	40*	15*	80	20*	5*	80	25*	10*	10

注:志贺痢疾杆菌组(标准)较其空白对照组(标准):[△] $P < 0.05$, * $P < 0.01$;志贺痢疾杆菌组(耐药)较其空白对照组(耐药):* $P < 0.01$

2.4 急性毒性试验 试验中,小鼠灌服1d药物,观察2周,两组均未见动物任何异常反应,各组动物试验组体重增长差异无异常变化,芒果核组和空白对照组动物无异常差别,灌药后14d,处死小鼠,解剖,肉眼观察及病理组织学检查心、肝、脾、肺、肾、脑、小肠,均未发现异常。试验结果表明:小鼠24h内共灌胃给予芒果核(生药)40g/kg,即最大耐受量达(生药)40g/kg,相当临床用量的50倍。

3 讨论

3.1 芒果核为漆树科植物芒果的成熟干燥种子,目前国内外对芒果树的药用研究主要是集中在芒果叶提取天然多酚类化合物芒果苷(又名知母宁)上,包括在中枢神经系统、呼吸系统及心血管系统的作用。抗细菌、病毒、肿瘤、辐射、糖尿病,保肝利胆、抗氧化及免疫调节等方面作用已做了部分研究,也对芒果树除了芒果核以外不同植株部位的芒果苷含量做了比较,但对芒果核的研究仅限在生药鉴定方面,我们通过芒果核提取物进行体外抑菌试验,发现该提取物对临床常见3种呼吸道及3种肠道致病菌有较明显的体外抑制作用^[2],说明该提取物有较广谱的抑菌作用。芒果核提取物为酸性,pH为4.44,在1999

年就曾有用用于治疗肺支原体感染取得良好效果的报告^[3]。近期也有用于配伍后治疗儿童反复上呼吸道感染^[4]及成人慢性胃炎^[5],取得良好效果且均未见毒副作用的相关报告,说明其对呼吸道及胃肠道的感染有较好治疗作用,其服用对儿童及成人是安全的。本研究通过小鼠做规范的急性毒性实验更支持这点,我们也观察到部分临床治疗细菌性痢疾效果很好的病例,故本研究可为临床使用芒果核治疗常见肠道感染性疾病提供药理学及安全性的理论基础。

3.2 芒果核提取物对耐药的志贺痢疾杆菌、福氏痢疾杆菌及大肠埃希菌也有较明显体外及动物体内抑菌作用,这值得我们特别关注,说明该提取物不仅对常见肠道感染标准菌株有明显体外抑菌作用,同时对其耐药菌株也有较明显体内外抑菌作用,但在人体内抑菌活性如何,是否与动物体内效果一致,可否部分替代耐药菌株感染的治疗尚需进一步研究。临床应用中观察到沸水冲泡1h后饮用比水煎服效果更佳,故其作用机理是否仅仅因其中含有芒果苷具有的抗菌作用^[6,7],还是同时含有其他抑菌成分易挥发或高温分解尚待进一步分析、研究。

3.3 芒果核按毒性分级标准属无毒类物,可不进行蓄积毒性实验^[8]。用药每天共2次,共观察14d,检测小鼠血常规、肝肾功能结果未见显著差异,7种脏器作病理解剖学肉眼及病理组织学检查均未见病理学改变,提示芒果核具有良好的安全性。芒果核在产地资源相当丰富,且价格低廉,值得我们做进一步的深入研究。

参考文献

1 陈奇. 中药药理研究方法论[M]. 第1版. 北京:人民卫生出版社,1994:112-115.
 2 莫武桂,黄维真,贝为武. 芒果核提取物体外抑菌作用的研究[J]. 第四军医大学学报,2008,29(5):417.

3 何灿森. 芒果核汤治疗支原体肺炎40例[J]. 中国民间疗法,1999,7(5):34.
 4 段娟,李宜瑞. 复感宁方防治广州地区小儿反复呼吸道感染临床研究[J]. 广州中医药大学学报,2007,24(1):25-29.
 5 张学斌,刘丰,余绍源,等. 益胃饮治疗慢性胃炎(胃阴不足及气阴不足证)60例疗效观察[J]. 新中医,2006,38(1):38-40.
 6 Bairy I, Reeja S, Siddharth, et al. Evaluation of antibacterial activity of mangifera indica on anaerobic dental microflora based on in vivo studies[J]. Indian J Pathol Microbiol,2002,45(3):307-310.
 7 刘雪萍,蒋伟哲,黄兴振,等. 芒果叶提取物体外抗菌作用研究[J]. 中国药业,2007,16(9):12-13.
 8 袁伯俊,王治乔. 新药临床前安全性评价与实验[M]. 第1版. 北京:军事医学科学出版社,1997:29-301.
 [收稿日期 2009-03-12][本文编辑 韦挥德 黄晓红]

论 著

常规 LASIK 术后早期近视患者点扩散函数变化研究

黄建忠, 赵武校, 刘伟民, 杨佳, 林恩韦, 刘洪婷, 罗武强, 李志超

基金项目:广西区卫生厅基金课题(Z2006164)

作者单位:530021 南宁,广西壮族自治区人民医院视光科,广西视光中心

作者简介:黄建忠(1959-),男,大学本科,副主任医师,研究方向:准分子激光角膜屈光手术。E-mail:dr_huang@yeah.net

通讯作者:刘伟民(1955-),男,硕士研究生学历,主任医师,研究方向:弱视与视知觉学习。E-mail:lwm3s@yahoo.com.cn

【摘要】 目的 探讨常规 LASIK 术后早期近视患者点扩散函数变化规律。方法 抽取2008-03-07到广西视光中心接受常规 LASIK 手术的35例近视患者(共70只眼),其中男18例,女17例;年龄16~36岁;屈光度-0.50~-10.50DS(等效球镜)。采用美国 VISX 公司生产的 WaveScan 波前像差仪对所有患者进行波前像差检测,收集每位患者常规 LASIK 术前、术后1天、1周、1个月、3个月和6个月共六个时间点的点扩散函数数据。将点扩散函数数据按检测时间分组后,使用 SPSS13.0 统计软件,采用 One-way ANOVA 单因素方差分析, LSD 法比较六组间点扩散函数值的差异。结果 35例近视患者术后早期的波前像差检测结果显示,点扩散函数值在术后各检测时间点均表现出不同程度的波动性。点扩散函数值在术后各时间点比较均无统计学差异($P>0.05$),但术前与术后各时间点的点扩散函数值比较均存在统计学差异($P<0.01$)。结论 LASIK 手术可显著改善近视患者的视觉质量,术后早期近视患者的点扩散函数值维持相对稳定。

【关键词】 近视; 等效球镜; 点扩散函数

【中图分类号】 R 778.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2009)08-0782-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2009.08.03

Study on the variation of myopic point spread functions after conventional LASIK HUANG Jian-zhong, ZHAO Wu-xiao, LIU Wei-min, et al. Department of Visual Science and Optometry Center, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

【Abstract】 Objective To investigate the variation of myopic point spread functions after conventional LASIK. **Methods** Thirty five myopic out-patients (male 18, female 17) underwent conventional LASIK between