

重楼总皂苷及不同皂苷成分对痤疮相关病原菌 抑菌效果的评价

王奇颢¹, 孙东杰¹, 何黎¹, 徐丹¹, 吴文娟¹, 李谦¹, 刘海洋², 杜艳³

[摘要] 目的 研究重楼总皂苷及不同重楼皂苷成分 I, II, III, V, VI, VII, H 对痤疮相关病原菌(痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌)的抑菌效果。方法 通过液体微量稀释法检测重楼总皂苷及不同皂苷成分对痤疮相关病原菌的最小抑菌浓度(MIC)。结果 重楼总皂苷对痤疮丙酸杆菌 NCTC737, ATCC6919, 表皮葡萄球菌 ATCC12228, 金葡菌 ATCC6538 的 MIC 分别为 2.5, 5.0, 5.0, 1.25mg/mL; 重楼皂苷 I, II, III, V, VI, VII, H 对痤疮丙酸杆菌 NCTC737 的 MIC 分别为 0.6, 1.2, 2.5, 5.0, 2.5, 2.5, 10.0mg/mL; 对表皮葡萄球菌 ATCC12228 的 MIC 分别为 1.2, 1.2, 5.0, 5.0, 2.5, 2.5, 10.0mg/mL; 对金葡菌 ATCC6538 的 MIC 分别为 0.6, 0.6, 2.5, 5.0, 2.5, 2.5, 10.0mg/mL。结论 重楼总皂苷具有较好抑制痤疮相关病原菌的作用; 重楼皂苷 I, II, VI, VII 在体外对痤疮发病相关菌具有明确的抑制作用, 其中重楼皂苷 I 的抑菌作用最强。

[关键词] 重楼皂苷; 痤疮; 痤疮丙酸杆菌; 表皮葡萄球菌; 金黄色葡萄球菌; 最小抑菌浓度

[中图分类号] R 758.73+3

[文献标识码] A

[文章编号] 1001-7089(2016)09-0899-03

[DOI] 10.13735/j.cjdv.1001-7089.201602102

Evaluation of the Inhibitory Effect of Total Saponins of Polyphylla and its Fraction on Acne-associated Pathogens

WANG Qi-sa¹, SUN Dong-jie¹, HE Li¹, XU Dan¹, WU Wen-juan¹, LI Qian¹, LIU Hai-yang², DU Yan³

(1. Department of Dermatology, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650031, China; 2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650031, China; 3. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650031, China)

[Corresponding author] SUN Dong-jie, E-mail: sundongjieder@aliyun.com

[Abstract] **Objective** To study the inhibitory effect of total saponins, polyphylla I, II, III, V, VI, VII, and H on acne-associated pathogens (*Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*). **Methods** Liquid microdilution method was used to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of total saponins and its fractions on *P. acnes*, *S. epidermidis* and *S. aureus*'s. **Results** MICs of total saponins on *Propionibacterium acnes* NCTC737, ATCC6919, *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, *Staphylococcus aureus* ATCC6538 were 2.5, 5.0, 5.0, 1.2mg/mL, respectively; MICs of polyphylla I, II, III, V, VI, VII and H on *Propionibacterium acnes* NCTC737 were 0.6, 1.2, 2.5, 5.0, 2.5, 2.5, 10.0mg/mL respectively; MICs of polyphylla I, II, III, V, VI, VII and H on *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 were 1.2, 1.2, 5.0, 5.0, 2.5, 2.5, 10.0mg/mL respectively, while their MICs on *Staphylococcus aureus* ATCC6538 were 0.6, 0.6, 2.5, 5.0, 2.5, 2.5, 10.0mg/mL respectively. **Conclusion** Total saponins of polyphylla can effectively inhibit acne-associated pathogens; polyphylla I, II, VI and VII, in particularly polyphylla I, also effectively inhibit acne-associated pathogens in vitro.

[Key words] Polyphylla; Acne; *Propionibacterium acnes*; *Staphylococcus epidermidis*; *Staphylococcus aureus*; Minimum inhibitory concentration

[基金项目] 省应用基础研究(昆医联合专项, 2014FB045)

[作者单位] 1. 昆明医科大学第一附属医院皮肤科, 云南 昆明 650031; 2. 中国科学院昆明植物所, 云南 昆明 650031; 3. 昆明医科大学第一附属医院检验科, 云南 昆明 650031

[通讯作者] 孙东杰, E-mail: sundongjieder@aliyun.com

[网络出版时间] 2016-07-20 10:44 **[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1197.R.20160720.10:44.005.html>

众所周知,痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌是毛囊皮脂腺的主要常驻菌^[1],也是痤疮发病的重要致病相关菌,是抗痤疮药物治疗的重要靶点^[2]。系统或局部使用抗生素类药物为目前治疗痤疮的主要方法之一,但抗生素耐药问题日趋严重,限制了抗生素在痤疮治疗中的应用,也影响了治疗痤疮的效果^[3]。因此,开发具有不同于抗生素抑菌机制的痤疮治疗药物较为迫切。

已有实验研究证明,部分草药有一定抑菌作用^[4-6],民间偏方中,重楼对疖肿、化脓性感染有较好的治疗作用^[7],这为我们寻找抗痤疮致病相关菌提供了启示:重楼能否用于痤疮抗菌治疗?重楼性寒、味苦,具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊等功效,用于咽喉肿痛、毒蛇咬伤、跌打伤痛等证。目前对重楼药理作用的研究主要是利用它的醇提取物,其中重楼皂苷是醇提取物的主要成分,重楼皂苷是重楼药理作用的主要活性成分^[8]。笔者的前期研究表明滇重楼乙醇提取物在体外有较好的抑制痤疮丙酸杆菌等痤疮发病相关菌的能力,具有开发成为痤疮治疗药物的前景^[5]。但尚不明确重楼皂苷是否为主要抑菌成分,以及哪种皂苷成分抑菌活性最强。因此我们利用重楼总皂苷及不同皂苷成分,体外观察其对痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌的抑制效果,以明确重楼皂苷抑菌效果最强的具体成分,为开发重楼治疗痤疮药物提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 药品

1.1.1 重楼总皂苷(中国科学院昆明植物所刘海洋惠赠)及重楼皂苷成分 I (CAS 编号:50773-41-6,分子式: $C_{44}H_{70}O_{16}$, 分子量:855.02), II (CAS 编号:76296-72-5,分子式: $C_{44}H_{70}O_{16}$, 分子量:855.017), III (CAS 编号:19057-60-4,分子式: $C_{45}H_{72}O_{16}$, 分子量:869.05), V (CAS 编号:19057-67-1,分子式: $C_{39}H_{62}O_{12}$, 分子量:722), VI (CAS 编号:55916-51-3,分子式: $C_{39}H_{62}O_{13}$, 分子量:738.90), VII (CAS 编号:76296-75-8,分子式: $C_{51}H_{84}O_{22}$, 分子量:1049.22), H (CAS 编号:81917-50-2,分子式: $C_{44}H_{70}O_{17}$, 分子量:870)(购于南京普怡生物科技有限公司)。实验前取待测样品 10mg 溶于 0.1mL DMSO 中,进一步稀释使用。

1.1.2 红霉素、克林霉素标准品 (Sigma, USA)

实验前分别取 1mg 溶于 1mL 的 DMSO 中,进一步稀释使用。

1.2 菌种 痤疮丙酸杆菌 2 株:分别为 NCTC737(第四军医大学西京医院全军皮肤病研究所齐显龙惠赠)、ATCC6919(广东微生物菌种保存中心);表皮葡萄球菌 1 株:ATCC12228;金黄色葡萄球菌 1 株:ATCC6538(广东微生物菌种保存中心)。

1.3 菌种培养 痤疮丙酸杆菌 NCTC737, ATCC6919 用 BHI 液体培养基厌氧恒温 37℃ 培养 48h;表皮葡萄球菌 ATCC12228、金黄色葡萄球菌 ATCC6538 用 BHI 液体培养基恒温 37℃ 培养 24h。实验前调整菌液浓度为 0.5 个麦氏浊度(约为 1.5×10^8 CFU/mL),用液体培养基稀释菌液,加入 96 孔板中细菌终浓度为 1×10^5 CFU/mL。

1.4 抑菌活性测定 具体参照 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory)^[11]。最小抑菌浓度 (MIC)通过液体微量稀释法测定。在加入药物后经培养数小时后 96 孔板内无细菌生长(浊度)的最低药物浓度。浊度用酶标仪 (BioTek ELX800) OD630nm 测定。

1.5 分组 阳性对照为红霉素和克林霉素;阴性对照为不加测定药物仅含培养基和细菌。药品浓度按照倍比稀释,共 8 个稀释梯度,重楼总皂苷及重楼皂苷成分稀释后 96 孔板第一孔终浓度为 10mg/mL;红霉素和克林霉素稀释后 96 孔板第一孔终浓度为 0.1mg/mL,同时每个稀释度设 2 个复孔。

2 结果

见表 1~2。依据浊度测定结果,重楼总皂苷对痤疮丙酸杆菌 NCTC737、ATCC6919、表皮葡萄球菌 ATCC12228 及金葡菌 ATCC6538 的 MIC 分别为 2.5, 5.0, 5.0, 1.2mg/mL;重楼皂苷 I, II, III, V, VI, VII, H 对痤疮丙酸杆菌 NCTC737 菌株的 MIC 分别为 0.6, 1.2, 2.5, 5.0, 2.5, 2.5, 10.0mg/mL,对痤疮丙酸杆菌 ATCC6919、表皮葡萄球菌 ATCC12228 及金葡菌 ATCC6538 的 MIC 趋势大致相同。

3 讨论

在本研究中,各实验菌株的阴性对照组细菌均正常生长,阳性对照药物的 MIC 也在实验要求的标准范围内,说明实验体系(菌株、细菌培养方法和检测方法等)符合实验要求。由上述结果可看出,重楼总皂苷

表 1 重楼总皂苷体外对痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌的 MIC (mg/mL)
Tab. 1 The MIC of total saponins on the *P. acnes*, *S. epidermidis* and *S. aureus* in vitro (mg/mL)

Drug	<i>P. acnes</i> (NCTC737)	<i>P. acnes</i> (ATCC6919)	<i>S. epidermidis</i> (ATCC12228)	<i>S. aureus</i> (ATCC6538)
Polyphylla	2.5	5.0	5.0	1.25
Erythromycin	0.05	0.05	0.0125	0.025
Clindamycin	0.025	0.025	0.00625	0.0125

表 2 不同重楼皂苷成分体外对痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌的 MIC (mg/mL)
Tab. 2 The MIC of different polyphylla saponins on *P. acnes*, *S. epidermidis* and *S. aureus* in vitro (mg/mL)

Bacterial strain	Polyphylla							Postive control	
	I	II	III	V	VI	VII	H	Erythromycin	Clindamycin
<i>P. acnes</i> (NCTC737)	0.625	1.25	2.5	5.0	2.5	2.5	10.0	0.05	0.025
<i>P. acnes</i> (ATCC6919)	1.25	1.25	5.0	5.0	2.5	2.5	10.0	0.05	0.025
<i>S. epidermidis</i> (ATCC12228)	1.25	1.25	5.0	5.0	2.5	2.5	10.0	0.012 5	0.006 25
<i>S. aureus</i> (ATCC6538)	0.625	0.625	2.5	5.0	2.5	2.5	10.0	0.025	0.012 5

及重楼皂苷 I, II, VI, VII 在体外对痤疮相关病原菌(痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌)具有明确的抑制作用,其中重楼皂苷 I 的抑菌作用最强;重楼皂苷 III、V 对上述细菌有一定的抑制作用;而重楼皂苷 H 抑菌作用较弱。

重楼目前提取出的化学成分主要为甾体皂苷和游离氨基酸,还有植物甾醇,植物蜕皮激素及少量的黄酮和微量元素^[8],大量研究表明甾体皂苷是重楼主要药理作用成分^[10]。笔者的前期研究也发现重楼醇提取物具有较好的抑菌效果,醇提取物主要含有皂苷类物质^[5]。本实验发现重楼总皂苷对痤疮相关病原菌具有明确的抑制作用,且多种皂苷成分也均具有一定的抑菌效果,说明以往研究中重楼提取物的抑菌作用可能主要来源于重楼皂苷。由本实验结果得知,几种皂苷成分均具有一定抑菌效果,但抑菌强度有明显差异,其中重楼皂苷 I 的抑菌作用最强。以往有研究表明,皂苷的苷元不同、所连的糖基不同,其药理活性也存在较大差异,如重楼皂苷 I, II 具有细胞毒活性;重楼皂苷 III 具有止血活性;而重楼皂苷 I ~ III 均具有免疫调节活性^[11]。这可能是由于不同皂苷由于其侧链差异导致其药理作用各有侧重。

大量研究表明:重楼皂苷除具有抑菌作用,还具有一定的抗炎、调节免疫、止血等作用,它可以抑制多发性创伤模型大鼠血清 TNF-α, IL-1 及 IL-6 等前炎症因子水平的升高,从而减轻炎症损害^[12]。众所周知,痤疮是毛囊皮脂腺的慢性炎症,除了抗菌以外,抗炎治疗也是痤疮治疗的重要靶点^[13]。所以理想的痤疮治疗药物应是兼具抗菌、抗炎多重机制,重楼可能是这样理想治疗药物的候选。同时重楼皂苷与外用抗生素组合使用,协同抑菌,并能发挥重楼的抗炎作用,有望达到痤疮治疗的较理想效果。重楼皂苷抗痤疮外用制剂具有较好的应用前景,在深入研究重楼皂苷的安全性基础上,重楼提取物口服抗痤疮制剂也应有一定的开发前景。

从本研究结果也可以发现不同重楼皂苷成分 MIC 值均较高,明显弱于抗生素的抑菌强度,其他具有抗菌作用的中草药都存在类似情况^[4,6]。在抗生素耐药情

况日趋加重的情况下,开发不同于抗生素抗菌机制痤疮痤疮治疗药物仍有现实意义。综上所述,重楼皂苷对痤疮相关病原菌均有一定的抑制作用,有待开发成为新型抗痤疮药物。此外,目前重楼皂苷抑菌、抗炎机制尚不明确,这也将成为我们进一步研究的方向。

(志谢:在本研究开展过程中,获得了第四军医大学全军皮肤病研究所齐显龙博士以及昆明医科大学第一附属医院检验科杜艳副教授的无私帮助,在此一并志谢!)

[参 考 文 献]

[1] 卢艳红. 痤疮病因学研究进展[J]. 中国保健营养(中旬刊), 2013, 9:147-148.

[2] 汪薇,付萍. 痤疮丙酸杆菌致病机制研究进展[J]. 国际皮肤性病杂志, 2010, 36(2):86-88.

[3] 林新瑜,冉玉平. 痤疮丙酸杆菌的耐药性研究进展[J]. 中华医学美容杂志, 2009, 15(3):209-210.

[4] Choi JS, Bae HJ, Kim SJ, et al. In vitro antibacterial and anti-inflammatory properties of seaweed extracts against acne inducing bacteria, *Propionibacterium acnes*[J]. J Environ Biol, 2011, 32(3):313-318.

[5] 孙东杰,涂颖,何黎. 滇重楼乙醇提取物对痤疮发病相关菌抑制作用的研究[J]. 皮肤病与性病, 2013, 35(2):67-69.

[6] 廖恒利,林新瑜. 中药水提物对 *P. A* 体外抑制作用及对兔耳痤疮模型的疗效研究[D]. 泸州医学院, 2013.

[7] 刁燕春,吴镒. 重楼的成分及药理作用[J]. 中外健康文摘, 2014, 19:26.

[8] 赵保胜,朱寅获,马勇,等. 中药重楼研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11):267-269.

[9] National Committee for Clinical Laboratory Standards 1997. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria: Tentative Standard M11-A4 [S]. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA, USA, 1997.

[10] 赵玉,马百平. 滇重楼中甾体皂苷类成分的研究[D]. 中国人民解放军军事医学科学院, 2007.

[11] 武珊珊,高文远,段宏泉,等. 重楼化学成分和药理作用研究进展[J]. 中草药, 2004, 35(3):344-347.

[12] 凌丽,梁昌强,单立婧,等. 重楼总皂苷对多发性创伤大鼠血清细胞因子水平的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(6):243.

[13] McInturf JE, Wang SJ, Machleidt T, et al. Granulysin-derived peptides demonstrate antimicrobial and anti-inflammatory effects against *Propionibacterium acnes*[J]. J Invest Dermatol, 2005, 125(2):256-263.



论文写作，论文降重，
论文格式排版，论文发表，
专业硕博团队，十年论文服务经验



SCI期刊发表，论文润色，
英文翻译，提供全流程发表支持
全程美籍资深编辑顾问贴心服务

免费论文查重：<http://free.paperyy.com>

3亿免费文献下载：<http://www.ixueshu.com>

超值论文自动降重：http://www.paperyy.com/reduce_repetition

PPT免费模版下载：<http://ppt.ixueshu.com>

阅读此文的还阅读了：

- [1. 时间、药量对空气抗感片空气抑菌的影响](#)
- [2. 不同添加成分对书画装裱浆糊抑菌效果的评价试验](#)
- [3. 应用秩相关分析简化系统综合评价指标体系](#)
- [4. 不同骨架材料控制三七总皂苷多成分体外均衡释放的特征](#)
- [5. 滇重楼总皂苷含量和菌根侵染率与土壤因子的关系](#)
- [6. 茶叶的抑菌效果研究初报](#)
- [7. 沥青路面评价模型研究\(英文\)](#)
- [8. 用流体组分数据评估油藏的封隔化作用](#)
- [9. 不同产地翼首草中总皂苷的含量比较](#)
- [10. HPLC法测定不同产地重楼属植物中7种甾体皂苷成分](#)
- [11. HPLC测定不同产地滇重楼中的4种重楼皂苷](#)
- [12. 不同乳杆菌对常见病原菌的抑菌效果研究](#)
- [13. 酶法提取重楼中总皂苷工艺研究](#)
- [14. 不同产地柴胡中总皂苷及柴胡皂苷a含量测定](#)
- [15. 不同产地桔梗中总皂苷成分与质量的相关性研究](#)
- [16. 痤疮的严重程度与患者焦虑及抑郁相关性研究](#)

- [17. 不同来源西洋参中人参总皂苷及人参皂苷Rb₁含量的比较](#)
- [18. 西洋参类保健食品中总皂苷与人参皂苷Re、Rb₁等功效成分含量相关性研究](#)
- [19. 华紫珠和杜虹花的成分、毒性与抑菌作用比较](#)
- [20. 两种面膜治疗痤疮的疗效比较](#)
- [21. 皮康圣对犬猫皮肤病原性真菌的抑制作用](#)
- [22. 重楼总皂苷对人鼻咽癌细胞CNE-2Z周期及凋亡的影响](#)
- [23. 4种重楼不同部位4种重楼皂苷含量的分析](#)
- [24. 痤疮72例综合治疗效果观察](#)
- [25. 重楼总皂苷对人肺癌细胞A549的增殖抑制作用及对细胞周期的影响](#)
- [26. 标本保存液改进的探索](#)
- [27. 不同地区桔梗中总皂苷含量分析](#)
- [28. 面粉中主要成分对挂面品质的影响](#)
- [29. 浅谈《投资项目可行性研究指南》与《建设项目经济评价方法与参数》的几点不同](#)
- [30. 奶牛乳腺炎病原菌的中草药体外抑制试验](#)
- [31. 重楼总皂苷的纯化工艺研究](#)
- [32. 油基水泥浆在石油钻采工程中的应用](#)
- [33. 博禾牌洁肤康抑菌乳液抑菌试验效果研究](#)
- [34. 不同产地的知母中总皂苷和菝葜皂苷元的含量测定](#)
- [35. 老鹰茶总皂苷的超声提取及抑菌活性研究](#)
- [36. 重楼皂苷对SGC-7901细胞增殖抑制及诱导凋亡的实验研究](#)
- [37. 小儿白血病输血的要求、有效性及副作用观察](#)
- [38. 正交设计法优选重楼总皂苷提取工艺](#)
- [39. 重楼总皂苷对脂多糖诱导大鼠腹腔巨噬细胞分泌TNF- \$\alpha\$ 及IL-1 \$\beta\$ 的影响](#)
- [40. 不同中药对奶牛乳房炎病原菌抑菌效果的观察](#)
- [41. 维甲酸酐治疗扁平疣和痤疮](#)
- [42. 树脂技术用于重楼总皂苷纯化工艺的研究](#)
- [43. 云南省不同地区滇重楼4种皂苷含量的比较](#)
- [44. 长药隔重楼中甾体皂苷成分的分离与结构鉴定](#)
- [45. 不同提取方法对菝葜中总皂苷提取效果的影响](#)
- [46. 套圈沟道超精研磨屑组份的分析](#)
- [47. 麦冬总皂苷不同提取方法的比较研究](#)
- [48. 花椒油抑菌效果探讨](#)
- [49. Isolation and Antifungal Evaluation of Rumex cyprius Murb Extracts](#)
- [50. 吉林省不同产地人参总皂苷含量的比较](#)