

不同加工方式对 EGCG 抑制金黄色葡萄球菌活性作用的影响

蔡天舒, 李玮玮*, 梁婷, 廖奔兵 (惠州卫生职业技术学院, 广东惠州 516025)

摘要 [目的]研究经不同加工处理后表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)对金黄色葡萄球菌抑菌活性的影响,从而为 EGCG 在食品生产加工中的抑菌应用提供依据。[方法]利用3种不同加工方式对 EGCG 进行处理,采用最低抑菌浓度测定法(MIC法)与纸片琼脂扩散法(KB法)检测 EGCG 的抑菌效果,利用 Baird-Parker 平板计数法检测 EGCG 对牛奶中金黄色葡萄球菌的抑制效果。[结果]EGCG 抑菌能力随着浓度的增高而提升。相同浓度下,EGCG 经过不同加工方式后抑菌能力大小依次为巴氏杀菌法(72 °C, 20 s) > 高压蒸汽灭菌法(121 °C, 15 min) > 薄膜过滤法(0.22 μm),最低杀菌浓度(MBC)依次为 0.062 5、0.125 0 和 1.000 0 mg/mL,经巴氏杀菌法处理的 EGCG 抑菌效果最强。而 EGCG 在牛奶中的抑菌作用不显著。[结论]在多种食品加工条件下,EGCG 对金黄色葡萄球菌具有良好的抑菌活性。

关键词 表没食子儿茶素没食子酸酯;金黄色葡萄球菌;食品加工;牛奶

中图分类号 TS201.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)34-0066-03

The Effect of Different Processing Methods on EGCG against Antibacterial Action of *Staphylococcus Aureus*

CAI Tian-shu, LI Wei-wei*, LIANG Ting et al (Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou, Guangdong 516025)

Abstract [Objective] To research and find the best treatment mode of Epigallocatechin gallate (EGCG) against Antibacterial Action of *Staphylococcus Aureus*, which will provide a reference for application of EGCG in food production and processing. [Method] The EGCG were processed in three different ways. Minimal Inhibitory Concentrations (MIC) and Kirby-Bauer testing measured the antibacterial effect of EGCG. The antibacterial effect of EGCG against *S. aureus* in milk was measured by the Baird-Parker Plate Count Method. [Result] The antibacterial capability of EGCG increased with increasing concentration. The antibacterial capacity of EGCG against *S. aureus* in three different treatments were ordered as Pasteurization (72 °C, 20 s) > High Pressure Steam Sterilization (121 °C, 15 min) > Filtration (0.22 μm), and the minimum bactericidal concentration (MBC) were ordered as 0.062 5, 0.125 0 and 1.000 0 mg/mL respectively. It could be concluded that EGCG treated by pasteurization has the strongest antibacterial activity against *S. aureus*. However, effect of EGCG against *S. aureus* in milk was unremarkable. [Conclusion] Under various food processing conditions, EGCG has strong antibacterial capability against *S. aureus*.

Key words Epigallocatechin gallate (EGCG); *Staphylococcus aureus*; Food processing; Milk

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)广泛分布于自然界中,是最常见的食源性致病菌之一,由肠毒素引发细菌性食物中毒,与食品加工和医药卫生领域的安全息息相关^[1]。在我国,由金黄色葡萄球菌所引起的食物中毒事件逐年上升,其在乳制品、生鲜牛奶、生肉和水产品等多种食品中均有较高的检出率,由此引发的食品安全问题已成为重点研究课题^[2-3]。目前主要利用化学防腐剂如山梨酸、苯甲酸等通过破坏细胞结构来抑制食品中微生物生长,延长贮藏时间和保持品质^[4]。同时,天然植物型防腐剂的研究和应用越来越广泛,食用安全性和广谱抗菌能力得到了充分的证实^[5]。

表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是茶叶中多酚类物质的重要活性成分之一,作为一种天然提取物,具有活性强、毒副作用低、安全性良好的特点^[6-7]。研究表明,EGCG 具有很强的抗氧化、清除自由基、抗肿瘤、保护神经系统、抑菌和抑制细菌毒力的性能^[8]。EGCG 具有广谱抑菌能力,对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、腐败希瓦氏菌等均具有良好的抑制作用^[9-10]。目前,针对 EGCG 作为食品防腐剂,在不同加工方式下对其抑菌活性作用的影响,以及 EGCG 在牛奶中抑菌效果的研究鲜有报道。因此,笔者以金黄色葡萄球菌为研究对象,采用高压蒸汽灭菌法、薄膜过滤法、巴氏

杀菌法 3 种最为主要的食品加工方式对 EGCG 进行处理,研究不同处理方式对 EGCG 抑菌活性的影响,旨在为 EGCG 在食品加工中的抑菌应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株。金黄色葡萄球菌(ATCC29213)。

1.1.2 培养基。Mueller-Hinton 肉汤、Mueller-Hinton 琼脂、Bird-Parker 培养基,均购自北京陆桥技术股份有限公司。

1.1.3 试剂和耗材。EGCG(E4143, Sigma),牛奶(市售超高温灭菌乳),Φ 6 mm 无菌空白药敏纸片(OXOID),96 孔板(Thermo),0.22 μm 针头式过滤器(Millipore)。

1.1.4 仪器与设备。酶标仪(迈瑞),微生物培养箱(宾得),麦氏比浊仪(梅里埃),高压蒸汽灭菌锅(博迅)。

1.2 方法

1.2.1 EGCG 溶液的配制。分别采用高压蒸汽灭菌法(121 °C, 15 min)、薄膜过滤法(0.22 μm 针头式过滤器对所配制的 EGCG 溶液进行过滤处理)、巴氏杀菌法(72 °C, 20 s) 3 种方式对 2 mg/mL 的 EGCG 溶液进行无菌处理,然后使用 MH 肉汤培养基进行梯度稀释,使其终浓度依次为 2.000 0、1.000 0、0.500 0、0.250 0、0.125 0、0.062 5、0.031 3、0.015 7、0.007 8、0.003 9 mg/mL。为保证 EGCG 溶液质量,采取现配现用的方式。

1.2.2 菌液的制备。将培养至对数期的金黄色葡萄球菌 ATCC29213 菌悬液,3 000 r/min 离心 15 min,弃去上清液,菌体沉淀用生理盐水复溶,并将菌悬液调至 0.5 麦氏浊度,此时菌悬液浓度约 1.0×10^8 CFU/mL。

基金项目 惠州市科技计划项目(2015B040010002)。广东省高等教育“创新强校工程”惠州卫生职业技术学院 2016—2020 年建设项目。

作者简介 蔡天舒(1988—),女,黑龙江鹤岗人,讲师,硕士,从事食品安全与质量控制、食品微生物研究。* 通讯作者,讲师,博士,从事微生物检验、肿瘤分子诊断研究。

收稿日期 2017-09-29

1.2.3 EGCG 对金黄色葡萄球菌抑菌能力的测定。按照“1.2.1”与“1.2.2”方法制备 EGCG 溶液与菌悬液,其中菌悬液以 1:10 倍稀释获得 1.0×10^7 CFU/mL。利用最低抑菌浓度测定法(MIC),采用 96 孔板,每孔分别对应加入 190 μ L 的 10 种不同浓度的 EGCG 溶液和 MH 肉汤培养基,同时每孔内加入稀释后的菌液 10 μ L,使菌液终浓度至 5×10^5 CFU/孔。另设置不同浓度的 EGCG 溶液和 MH 肉汤培养基作空白对照,置于 37 $^{\circ}$ C 孵育 24 h 后,利用酶标仪在波长 600 nm 下测定吸光度值。

1.2.4 EGCG 对金黄色葡萄球菌抑菌圈直径的测量。采用纸片琼脂扩散法(K-B 法)观察不同处理方式下 EGCG 对金黄色葡萄球菌的抑菌作用。按照“1.2.1”方法配制 10 种不同浓度 EGCG 溶液。将无菌药敏纸片置于上述 10 种浓度 EGCG 溶液中充分浸泡 12 h,备用。MH 肉汤培养基作为阴性对照。用无菌棉签将浓度为 0.5 麦氏浓度的菌悬液均匀涂布接种于 MH 琼脂平板,涂布 3 次,每次平板旋转 60 $^{\circ}$,最后沿平板内沿涂抹一周,室温干燥 3~5 min,用无菌镊子取药敏纸片,贴于含菌琼脂表面。将以上平板 37 $^{\circ}$ C 倒置培养 24 h,用游标卡尺测量 EGCG 抑菌圈直径。

1.2.5 EGCG 在牛奶中的抑菌检测。将 50 和 25 mg EGCG 粉末分别加入 99 mL 牛奶中,使其终浓度分别为 0.50 和 0.25 mg/mL,并进行巴氏消毒处理。同时将 1 mL 金黄色葡

萄球菌液(1.0×10^7 CFU/mL)加入牛乳中充分混匀,菌液终浓度为 1.0×10^5 CFU/mL。对照组仅将 1 mL 菌液加入 99 mL 牛奶中,不添加 EGCG 粉末,充分混匀。将上述试验组和对照组牛奶于 37 $^{\circ}$ C 静置培养,并分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 取出培养物,按照 GB 4789.10—2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》中的第二法 Baird-Parker 平板计数法检测牛奶中金黄色葡萄球菌的数量,从而测定 EGCG 在牛奶中的抑菌效果。

2 结果与分析

2.1 EGCG 对金黄色葡萄球菌的抑菌能力 最低杀菌浓度(MBC)指抗菌药物完全杀灭细菌所需要的最低浓度,是衡量药物抗菌活性大小的重要指标^[11]。该研究利用不同加工方式处理 EGCG 后,其对金黄色葡萄球菌的抑菌效果如表 1 所示。通过对比研究表明,随着 EGCG 浓度的增加,其抑菌效果逐步增强;巴氏杀菌法、高压蒸汽灭菌法和薄膜过滤法 MBC 分别为 0.062 5、0.125 0 和 1.000 0 mg/mL;当 EGCG 浓度为 0.062 5 mg/mL 时,巴氏杀菌法抑菌率为 100%,而高压蒸汽灭菌法为 59%,薄膜过滤法仅为 45%;当采用 EGCG 最低检测浓度 0.003 9 mg/mL 时,巴氏杀菌法处理后 EGCG 抑菌能力降至 21%,高压蒸汽灭菌法为 18%,薄膜过滤法仅为 4%。由以上结果可看出,经过巴氏杀菌法处理的 EGCG 对金黄色葡萄球菌抑菌活性优于高压蒸汽灭菌法和薄膜过滤法。

表 1 EGCG 对金黄色葡萄球菌抑菌率的测定

Table 1 Determination of bacteriostasis rate of *Staphylococcus aureus* by EGCG

处理方式 Treatment	EGCG 浓度 EGCG concentration//mg/mL									
	0.003 9	0.007 8	0.015 6	0.031 3	0.062 5	0.125 0	0.250 0	0.500 0	1.000 0	2.000 0
巴氏杀菌 Pasteurization	21	43	55	69	100	100	100	100	100	100
高压蒸汽灭菌 High Pressure Steam Sterilization	18	34	42	49	59	100	100	100	100	100
薄膜过滤 Filtration	4	10	13	25	45	90	93	95	100	100

2.2 EGCG 对金黄色葡萄球菌抑菌圈直径的测量 采用纸片琼脂扩散法(K-B 法)进一步测定不同加工处理方式对 EGCG 抑制金黄色葡萄球菌的能力。结果显示(表 2),巴氏杀菌法 > 高压蒸汽灭菌法 > 薄膜过滤法。其中巴氏杀菌法(72 $^{\circ}$ C, 20 s)作用下的 EGCG 抑菌效果最好,其浓度为 2.000 0、1.000 0、0.500 0 和 0.250 0 mg/mL 时,均可见明显

的透明抑菌圈,表现出显著的抑菌能力,此后随着 EGCG 浓度的降低,其抑菌活性也随之下落,当浓度降至 0.031 3 mg/mL 时,抑菌圈完全消失。EGCG 经过高压蒸汽灭菌法和薄膜过滤法处理后,抑菌圈分别在浓度为 0.062 5 和 0.125 0 mg/mL 时完全消失。

表 2 不同加工处理方式下 EGCG 对 *S. aureus* 的抑菌圈直径

Table 2 The results of inhibition zone of EGCG on *S. aureus* under different processing methods

处理方式 Treatment	EGCG 浓度 EGCG concentration//mg/mL									
	0.003 9	0.007 8	0.015 6	0.031 3	0.062 5	0.125 0	0.250 0	0.500 0	1.000 0	2.000 0
巴氏杀菌 Pasteurization	6.0	6.0	6.0	6.0	7.0	7.5	9.0	13.0	16.0	20.0
高压蒸汽灭菌 High Pressure Steam Sterilization	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	7.0	7.3	9.8	12.5	16.2
薄膜过滤 Filtration	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.1	6.5	7.0	8.2

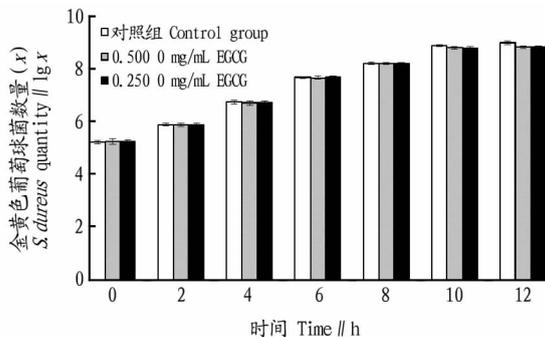
注:抑菌圈的直径包含滤纸片的直径(6.0 mm)在内

Note: The diameter of the bacteriostatic circle contains the diameter of filter paper(6.0 mm)

2.3 EGCG 在牛奶中对金黄色葡萄球菌的抑菌效果 根据上述不同处理方式对 EGCG 抑菌能力影响的结果,选择巴氏杀菌法检测 EGCG 在牛奶中对金黄色葡萄球菌的抑菌效果。由于 EGCG 在浓度 0.500 0 和 0.250 0 mg/mL 时对金黄色葡

萄球菌的抑制率均达 100%,且具有明显抑菌圈,故选择这 2 个浓度条件下研究 EGCG 在牛奶中的抑菌效果。研究结果显示(图 1),当金黄色葡萄球菌初始浓度为 10^5 CFU/mL 时,随着培养时间的延长,对照组与试验组中金黄色葡萄球菌数

量均呈现上升趋势,至12 h时,对照组中金黄色葡萄球菌的数量达到 10^9 CFU/mL,而分别加入0.500 0与0.250 0 mg/mL的EGCG试验组牛奶中的菌落数分别为 6.3×10^8 和 6.5×10^8 CFU/mL。虽然试验组菌落数相对对照组略有降低,但无显著性差异。由此可见,EGCG在牛奶中对金黄色葡萄球菌无显著抑制效果。



注: x (CFU/mL)

图1 EGCG在牛奶中的抑制金黄色葡萄球菌生长检测

Fig. 1 Detection of growth inhibition of *Staphylococcus aureus* in milk by EGCG

3 结论与讨论

金黄色葡萄球菌污染食品后导致其腐败变质,并产生肠毒素引起食源性中毒和胃肠炎症,是引起细菌性食物中毒的主要原因之一^[12]。当食物中金黄色葡萄球菌浓度为 $10^5 \sim 10^6$ CFU/g时,即可产生足够浓度的肠毒素进而使易感人群出现中毒症状^[13]。EGCG作为食品抗氧化剂茶多酚的主要生物活性成分之一,其抗氧化能力和清除自由基能力最强,同时对促进人体健康有积极作用,如抑制细菌生长、调节血脂、抵抗肿瘤、抑制肥胖等^[14]。

为探究EGCG作为食品添加剂在多种食品加工和无菌处理环节中的生物活性,该研究以金黄色葡萄球菌为目标菌,EGCG经高压蒸汽灭菌、巴氏杀菌和薄膜过滤处理后,均具有较强的抑菌效果与杀菌能力。不同处理方式对EGCG活性具有一定的影响,其抑菌能力由大到小依次为巴氏杀菌>高压蒸汽灭菌>薄膜过滤法。其中巴氏杀菌法处理方式下的EGCG抑菌活性效果最强,其MBC为0.062 5 mg/mL,当采用最低EGCG浓度(0.003 9 mg/mL)时,其抑菌率仍为21%。EGCG常温下在水溶液中的溶解性较差,巴氏杀菌法通过72℃加热20 s,适当的短时高温使难溶性于水的EGCG在培养基中的溶解能力增强,抑菌能力提升。EGCG经过高压蒸汽灭菌后对金黄色葡萄球菌的抑制能力下降。李邦玉等^[15]通过紫外可见光谱法研究发现,EGCG在高温条件下会发生部分降解。在薄膜过滤法中,由于EGCG水溶性差,过滤时在0.22 μm无菌滤膜中有附着残留,降低了实际有效抑菌浓度,导致其抑菌能力下降。由此可见,EGCG在溶剂中的溶解能力是影响其抑菌生物活性的重要原因,抑菌活性随着溶解性的增大而增强,并呈现剂量依赖模式,这与申羽佳等^[16]的研究结果是一致的。

EGCG在食品中的抑菌应用研究鲜有报道。骆晓波^[17]

制备了EGCG纳米脂质体与EGCG纳米脂质体可食用膜并将其应用于鳕鱼保鲜,有效延长了保藏期,EGCG表现出良好的抑菌效果。同时有研究表明,茶多酚可应用于三文鱼^[18]、微冻鲫鱼^[19]等食品的贮藏保鲜和抑菌,而EGCG作为茶多酚的主要活性成分,也必然发挥重要的抑菌功能。然而该研究发现,EGCG在牛奶中的抑菌效果不显著。研究发现,EGCG通过破坏细菌细胞膜、细胞壁结构或抑制生长代谢相关酶类活性,导致细菌结构变形和生长抑制甚至死亡^[20-21]。而牛奶中的酪蛋白可与绿茶中EGCG等多酚类活性物质结合,致其抗菌能力减弱^[22-23]。这可能是导致EGCG在牛奶中抑菌效果不显著的主要原因之一。

鉴于EGCG在多种无菌化加工处理后仍具有优良的抑菌活性,在下一步作为食品添加剂的实际应用中,应考虑食物自身潜在的EGCG拮抗成分,以实现合理、有效的应用。该研究为EGCG作为抑菌剂在食品防腐保鲜、生物防控以及药物开发应用奠定了重要基础。

参考文献

- [1] PESAVENTO G, DUCCI B, COMODO N, et al. Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [J]. Food control, 2007, 18(3): 196-200.
- [2] 张兰荣, 王连秀, 张文利. 食品中金黄色葡萄球菌的污染状况及耐药性分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(1): 35-36.
- [3] 索玉娟, 于宏伟, 凌巍, 等. 食品中金黄色葡萄球菌污染状况研究[J]. 中国食品学报, 2008, 8(3): 88-93.
- [4] 石立三, 吴清平, 吴慧清, 等. 我国食品防腐剂应用状况及未来发展趋势[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(3): 157-161.
- [5] 姜拓昱, 仲晗实, 杨兆琪, 等. 常规食品防腐剂简析及一种新型抑菌机理的初步探索[J]. 中国科技论文, 2016, 11(12): 1414-1421.
- [6] 尤新. 绿茶提取物的功能和发展状况[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(3): 321-325.
- [7] 赵丽萍, 邵宛芳. 茶叶中EGCG功效研究进展[J]. 中国农学通报, 2007, 23(7): 143-147.
- [8] 葛建, 林芳, 李明揆, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)生物活性研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 2011, 38(2): 156-163.
- [9] 叶晓锋, 张芳, 朱军莉, 等. EGCG抑制波罗的海希瓦氏菌生物被膜和腐败活性的研究[J]. 茶叶科学, 2016, 36(2): 201-209.
- [10] 王静, 戚向阳, 朱学良, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯及其不同氧化级分的抑菌活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(1): 91-94.
- [11] 郭积燕. 微生物检验技术[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 63.
- [12] LE LOIR Y, BARON F, GAUTIER M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning [J]. Genet Mol Res, 2003, 2(1): 63-76.
- [13] 徐振波, 刘晓晨, 李琳, 等. 金黄色葡萄球菌肠毒素在食源性微生物中的研究进展[J]. 现代食品科技, 2013, 29(9): 2317-2324.
- [14] 温旭辉, 李记英, 蒋洁琳, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯的抗癌机制的研究进展[J]. 食品工业科技, 2013, 34(5): 347-352.
- [15] 李邦玉, 吴媛, 吴虹燕, 等. 紫外可见光谱法研究EGCG的稳定性[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(7): 294-297.
- [16] 申羽佳, 崔海燕, 张东芳, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯通过活性氧生成抑制细菌的生长[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2013, 41(1): 115-118.
- [17] 骆晓波. 表没食子儿茶素没食子酸酯纳米脂质体的制备及其对鳕鱼保鲜效果的研究[D]. 杭州: 中国计量学院, 2015: 33-41.
- [18] 吴乐乐, 周军辉, 刘春娥, 等. 茶多酚对三文鱼保鲜效果研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(13): 173-176.
- [19] 茅林春, 段道富, 许勇泉, 等. 茶多酚对微冻鲫鱼的保鲜作用[J]. 中国食品学报, 2006, 6(4): 106-110.
- [20] NAVARRO-MARTINEZ M D, NAVARRO-PERÁN E, CABEZAS-HERRERA J, et al. Antifolate activity of epigallocatechin gallate against *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(7): 2914-2920.

(下转第119页)

表 3 小大黄各部位对高尿酸血症小鼠血清 Cre 与 Bun 含量的影响 ($n = 10$)Table 3 Effect of various parts of *Rheum pumilum* on Cre and Bun levels in serum of hyperuricemia mice

分组 Group	给药剂量 Administration dosage // g/kg	Cre // mmol/L	Bun // mmol/L
正常组 Normal group	—	0.14 ± 0.03	18.21 ± 3.45
模型组 Model group	—	0.29 ± 0.05 **	26.28 ± 4.65 *
别嘌呤醇组 Allopurinol group	0.01	0.16 ± 0.04 $\Delta\Delta$	27.05 ± 3.45
小大黄总提物低剂量组 Low dose group of total extract from <i>R. pumilum</i>	2.0	0.17 ± 0.04 $\Delta\Delta$	20.98 ± 1.64 Δ
小大黄总提物中剂量组 Medium dose group of total extract from <i>R. pumilum</i>	4.0	0.10 ± 0.01 $\Delta\Delta$	20.70 ± 3.02 Δ
小大黄总提物高剂量组 High dose group of total extract from <i>R. pumilum</i>	8.0	0.11 ± 0.02 $\Delta\Delta$	20.46 ± 2.00 Δ
小大黄乙酸乙酯部位低剂量组 Low dose group of ethyl acetate part from <i>R. pumilum</i>	2.0	0.13 ± 0.03 $\Delta\Delta$	21.28 ± 2.62 Δ
小大黄乙酸乙酯部位中剂量组 Medium dose group of ethyl acetate part from <i>R. pumilum</i>	4.0	0.10 ± 0.02 $\Delta\Delta$	20.95 ± 1.97 Δ
小大黄乙酸乙酯部位高剂量组 High dose group of ethyl acetate part from <i>R. pumilum</i>	8.0	0.20 ± 0.03 Δ	21.70 ± 2.01 Δ
小大黄水部位低剂量组 Low dose group of water part from <i>R. pumilum</i>	2.0	0.13 ± 0.02 $\Delta\Delta$	19.20 ± 4.00 Δ
小大黄水部位中剂量组 Medium dose group of water part from <i>R. pumilum</i>	4.0	0.10 ± 0.01 $\Delta\Delta$	16.30 ± 1.94 Δ
小大黄水部位高剂量组 High dose group of water part from <i>R. pumilum</i>	8.0	0.11 ± 0.02 $\Delta\Delta$	15.08 ± 1.77 $\Delta\Delta$

注:与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

Note: Compared with the normal group, ** $P < 0.01$; compared with the model group, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

3 讨论

痛风是严重威胁人类健康的代谢性疾病, 现有治疗痛风药物主要有别嘌呤醇、苯溴马隆等^[8], 但由于副作用较多, 患者难以长期服用和耐受^[9], 远远不能满足临床需求。因此, 亟需开发高效低毒、作用机制新颖、价格相对低廉的抗痛风药物。该研究采用高尿酸血症模型对小大黄进行降尿酸作用的研究, 发现其总提物和水部位具有一定的降尿酸作用, 提示小大黄的有效部位为水部位, 但小大黄总提物对肝脏 XOD 活性的抑制水平与其降尿酸作用并不平行, 推测其降尿酸的作用除抑制 XOD 活性外还可能存在着其他机制。肾脏在尿酸排泄过程中起着重要作用, 因此高尿酸症常常伴随着肾脏功能损害。血肌酐和尿素氮是检验肾功能的重要指标, 可以反映肾小球滤过和肾小管重吸收的功能。小大黄水部位的中、高剂量(4.0、8.0 g/kg)可显著降低高尿酸血症小鼠肌酐和尿素氮的水平($P < 0.01$), 表明小大黄的水部位还具有保护肾脏作用。

藏药小大黄和西伯利亚蓼为藏药曲玛孜的代表性基原品种, 二者都具有降尿酸的功效, 那么二者的药效物质是否相同呢? 王洪玲等^[10]对二者挥发油进行比较研究, 发现其化学成分组成相差较大, 因此二者具体药效物质基础还有待进一步的研究。此外, 前期研究发现小大黄中含有蒽醌和二苯乙醇类化合物^[5,7], 而蒽醌类(大黄酸、大黄素)^[11]和二苯乙醇类(白藜芦醇)^[12]均具有一定的抗痛风作用, 因此下一

步将对其分离得到的化合物进行 XOD 活性研究, 找到其有效成分, 为以后藏药小大黄的开发和利用提供一定的依据。

参考文献

- [1] 四川省卫生局. 藏药标准[M]. 青海: 青海人民出版社, 1978: 35-36.
- [2] 郑俊华, 张立力, 楼之岑. 大黄属植物化学成分分析[J]. 北京医科大学学报, 1991, 23(1): 51-53.
- [3] 戴晓明, 吴慧平, 陈亮, 等. 小大黄对 ox-LDL 诱导血管平滑肌细胞增生的影响[J]. 中国中医药科技, 2007, 14(5): 345-347.
- [4] 王索安, 完德才让, 李跃华. 小大黄对药物性肝细胞损伤影响的实验研究[J]. 江苏中医药, 2003, 24(1): 51-53.
- [5] 董晓娟, 陈晓虎, 曾锐. UPLC-Q-Exactive 四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用快速分析民族药小大黄的化学成分[J]. 中草药, 2016, 47(14): 2428-2435.
- [6] 王晓云, 王洪玲, 张亚梅, 等. 西伯利亚蓼醇提物对高尿酸血症小鼠尿酸生成和非泄的影响研究[J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(5): 626-631.
- [7] 王洪玲, 梁文娟, 钟国跃, 等. 小大黄根部酚类成分的研究[J]. 中成药, 2016, 38(10): 2197-2200.
- [8] 承良凤, 陆进明. 痛风药物治疗新进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2015, 20(9): 1066-1071.
- [9] YUE C S, HUANG W, ALTON M, et al. Population pharmacokinetic and pharmacodynamics analysis of pegloticase in subjects with hyperuricemia and treatment-failure gout[J]. Clin pharmacol, 2008, 48(6): 708-718.
- [10] 王洪玲, 朱继孝, 任刚, 等. 藏药曲玛孜挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(21): 88-90.
- [11] MA L P, ZHAO L, HU H H, et al. Interaction of five anthraquinones from rhubarb with human organic anion transporter 1 (SLC22A6) and 3 (SLC22A8) and drug-drug interaction in rats[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 153(3): 864-871.
- [12] 王鹏, 丁慧, 孙晓方, 等. 白藜芦醇对急性痛性关节炎大鼠的影响[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(15): 2871-2874.

(上接第 68 页)

- [21] 姜涛, 李岚, 杜阳, 等. 绿茶粗提物对耻垢分枝杆菌的生长抑制研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(1): 84-88.
- [22] BOURASSA P, CÔTÉ R, HUTCHANDANI S, et al. The effect of milk alpha-casein on the antioxidant activity of tea polyphenols[J]. Journal of

photochemistry and photobiology B, 2013, 128: 43-49.

- [23] HATANO T, TSUGAWA M, KUSUDA M, et al. Enhancement of antibacterial effects of epigallocatechin gallate, using ascorbic acid[J]. Phytochemistry, 2008, 69(18): 3111-3116.