

# 6-姜酚对幽门螺杆菌的抑菌作用研究

张云玲, 郑一敏, 胡少南, 刘红

(重庆理工大学药学与生物工程学院, 重庆 400054)

**摘要:** 探讨生姜中姜辣素的主要成分 6-姜酚体外抗 HP (*Helicobacter pylori*, HP) 的作用。分别采用 95%乙醇和自来水提取生姜中抗 HP 的成分, 以阿莫西林为阳性对照, 以溶剂 50% PEG400 和无菌水为空白对照, 体外法测定生姜提取物和标准品 6-姜酚对 HP 的抑菌作用的最小抑菌浓度 (MIC)。生姜醇提取物对 HP 的 MIC 为 1.00 mg/mL, 6-姜酚的 MIC 为 0.02 mg/mL, 生姜水提取物对 HP 在体外无抑菌作用。6-姜酚是生姜对 HP 的抑菌作用的主要活性成分之一。

**关键词:** 生姜; 提取物; 幽门螺旋杆菌; 最小抑菌浓度 (MIC)

**文章编号:** 1673-9078(2013)6-1259-1261

## Anti-*Helicobacter pylori* effect of 6-gingerol *in vitro*

ZHANG Yun-ling, ZHENG Yi-min, HU Shao-nan, LIU Hong

(Science and Technology Pharmaceutical and Biological Engineering Institute of Chongqing University, Chongqing 400054, China)

**Abstract:** Study on the *in vitro* anti-HP (*helicobacter pylori*) effect of 6-gingerol in the gingerols of ginger. Use ethylalcohol 95% and tap water to collect gingerols contained in ginger with amoxicillin as the positive control and 50% PEG400 as the blank control, and test the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) concerning the *in vitro* anti-HP effect of 6-gingerol in the gingerols of ginger. In respect of the *in vitro* anti-HP effect, The MIC of the ethanol extract of ginger is 1.00 mg/mL, the 6-gingerol 0.02 mg/mL. The aqueous extract of ginger has no antibacterial effect *in vitro*. The bacteriostatic active material contained in the ginger is 6-gingerol in the gingerols.

**Key words:** gingerols; 6-gingerol; *helicobacter pylori* (HP); minimal Inhibitory; concentration (MIC)

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, HP) 是微需氧革兰氏阴性杆菌, 它特异性地寄居在人的胃粘膜。据调查幽门螺杆菌至少感染着世界人口的一半, 它是引发慢性胃炎, 消化性溃疡和胃癌的根本原因<sup>[1]</sup>。目前流行的治疗 HP 感染的方案是同时服用质子泵抑制剂加两种抗生素 (克拉霉素、阿莫西林、四环素、甲硝唑等选两种) 的三联疗法<sup>[2]</sup>和以这些抗生素为主的四联疗法。但近年来随着幽门螺杆菌对抗生素耐药率的不断上升<sup>[3]</sup>, 这些治疗方案的根除率在不断的下降。因此, 寻找一种安全, 高效抗 HP 的新药成为现在临床药学的迫切重要的任务。姜 (*Zingiber officinale* Rosc) 是姜科姜属草本植物, 具有辛辣和芳香气味, 利用的部位为生姜的块状茎<sup>[4]</sup>, 生姜含有多种营养和功能成分, 具有很高的营养和保健价值, 是一种重要的调味品, 又是一种重要的药食两用食物资源<sup>[5]</sup>, 生姜的化学成分很复杂, 主要有挥发油、姜辣

素和二苯基庚烷及黄酮类化合物<sup>[6-7]</sup>, 可把生姜作为单一组分的抗氧化剂和防腐剂<sup>[8-9]</sup>。据有关文献报道, 生姜的醇提取物具有多种抗菌作用<sup>[10]</sup>, 其主要抗菌成分为生姜中的姜辣素, 如郑俏然等<sup>[11]</sup>采用乙醇对生姜进行提取, 发现提取液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌均表现有抑菌作用。但目前为止, 未见体外抑制和杀死 HP 的报道。本文就针对目前的现状对生姜的醇提取物进行抑制幽门螺杆菌的研究, 研究结果如下:

### 1 材料

#### 1.1 药材

生姜 (购自重庆永辉超市), 经重庆理工大学药学与生物工程学院天然药化实验室傅善权教授鉴定为姜科姜属生姜 (*Zingiber officinale* Rosc) 的块状茎。

#### 1.2 药物与试剂

6-姜酚标准品, (批号: Must-11030401); 胎牛血清, 天津市灏洋生物制品科技有限公司; 幽门螺杆菌培养基 (固体), 青岛高科园海博生物技术有限公司; 微需氧袋, 梅里埃生物公司, 法国。

厌氧罐 2.5 L, 梅里埃生物公司, 法国; 微生物培养基添加剂, 青岛高科园海博生物技术有限公司; 实

收稿日期: 2012-12-21

基金项目: 重庆理工大学研究生创新基金项目资助项目编号 (YCX2012103)

作者简介: 张云玲 (1983-), 女, 硕士研究生

通讯作者: 郑一敏 (1963-), 男, 博士, 教授, 主要从事天然产物的开发与研究工作

验所用的试剂为分析纯。

### 1.3 菌种

幽门螺旋杆菌菌株 NCTCJ99, 临床分离菌株 SW-2 均有第三军医大学解庆华老师惠赠。

## 2 方法

### 2.1 生姜的醇提取

称取新鲜生姜 50.82 g, 用研钵捣碎后, 在 97 °C 用 150 mL 体积分数为 95% 的无水乙醇提取 1 h, 过滤后在 50 °C 下进行浓缩, 作为生姜醇提取液。提取液在 70 °C 水浴锅上蒸干备用。生姜中的姜辣素成分主要有溶剂浸提法得到<sup>[13]</sup>, 常用溶剂有乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙醚。邹磊<sup>[14]</sup>通过硅胶干柱层析、2 次制备薄板层析、葡萄糖凝聚 (Sephadex LH-20) 层析和重结晶等分离纯化方法, 获得了结晶, 通过紫外-可见光谱、红外光谱、质谱等测定证实所获得的结晶为姜酚。姜酚中 6-姜酚含量最高, 其生物活性也最强, 因此 6-姜酚常被作为评价生姜抑菌活性的主要成份<sup>[14]</sup>。

### 2.2 生姜的水提物

称取 72.51 g 新鲜生姜, 切成细丝后用研钵捣碎, 注入 200 mL 的自来水在 95 °C 水浴中浸提 1 h 后过滤, 过滤后在 60 °C 减压浓缩并量取浓缩液。浓缩液在 75 °C 烘箱中烘干备用, 作为水提物。

### 2.3 榨汁法提取生姜中的姜辣素

称取新鲜生姜 56.83 g, 切成 1 cm×1 cm 的正方形, 放入榨汁机中, 注入 30 mL 的温开水, 在室温下进行榨汁 15 min 后过滤, 滤液在 60 °C 下减压浓缩, 浓缩液在 70 °C 水浴上蒸干备用。

### 2.4 微波提取生姜中姜辣素

称取新鲜生姜 60.26 g, 切成细丝后用研钵捣碎, 加入 150 mL 的自来水, 用微波提取 25 min, 滤液在 60 °C 下减压浓缩, 浓缩液在 70 °C 水浴上蒸干备用。

### 2.5 超声提取生姜中姜辣素

称取新鲜生姜 58.26 g, 切成细丝后用研钵捣碎, 加入 150 mL 的自来水, 超声提取 25 min, 滤液在 60 °C 下减压浓缩, 浓缩液在 70 °C 水浴上蒸干备用。

## 2.2 生物活性的测定

### 2.2.1 菌株培养

采用微需氧培养法, 在微需氧环境下气体达到微需氧条件 (85% 氮气、10% 二氧化碳、5% 氧气<sup>[2]</sup>), 幽门螺旋杆菌菌株接种于含 7% 的马血清固体平板上, 每 100 mL 固体 HP 培养基中添加 1 mL 微生物添加剂, 在 37 °C 恒温培养 48 h 后。经快速尿素酶、氧化酶、涂片革兰氏染色和触酶鉴定为阳性后, 在血清平板上划线微需氧环境传代培养, 所得菌株就是我们所用的

实验菌株。

### 2.2.2 生物活性测定方法

倍比稀释法测定最小抑菌浓度 (minimal inhibitory concentration, MIC): ①样品的制备: 将生姜醇提取物用 50% 的 PEG400 配制成 50.00 mg/mL 的母液, 然后用 50% 的 PEG400 进行稀释。分别称取生姜水提物, 榨汁提取物, 微波提取物和超声提取物用无菌水配制成 50.00 mg/mL 的母液, 且用无菌水配制的过膜除菌, 用无菌水进行稀释。五个样品最后都稀释成浓度为 20.00 mg/mL、10.00 mg/mL、5.00 mg/mL、2.50 mg/mL、1.00 mg/mL、0.50 mg/mL 系列。6-姜酚标准品用 50% 的 PEG400 配制成 1.00 mg/mL 的母液, 再用 50% 的 PEG400 稀释成浓度 0.50 mg/mL、0.20 mg/mL、0.10 mg/mL、0.05 mg/mL、0.02 mg/mL、0.01 mg/mL 系列。②转接实验 HP 菌株 (涂菌): 将培养好的 HP 菌株, 用布氏肉汤洗脱下来, 稀释成浓度大约为  $1 \times 10^8$  CFU/mL 的 HP 菌悬液, 用移液枪吸取 0.1 mL HP 菌悬液, 用涂布棒均匀的涂抹在固体培养基表面, 待固体培养基表面干后, 用打孔法做 HP 的抑菌实验, 孔径直径为 12 mm, 每孔加入各样品 0.1 mL, 用 1 ppm 的阿莫西林 (50% PEG 400 配制) 做阳性对照, 用溶剂 50% PEG400 和无菌水做空白对照。将制作好的平板放入恒温 37 °C 微需氧环境下培养 48 h, 观察抑菌圈的并测量其大小。所有实验均重复 3 次。

判断标准<sup>[12]</sup>: 高度敏感: 抑菌圈直径 > 35.0 mm; 中度敏感: 25.0 mm < 抑菌圈直径 < 35.0 mm; 不敏感: 抑菌圈直径 < 25.0 mm

## 3 实验结果

用 95% 乙醇提取生姜后的样品在一定浓度范围内, 体外对 HP 具有很强的抑菌效果, 最小抑菌浓度为 1.00 mg/mL, 标准品 6-姜酚的最小抑菌浓度为 0.02 mg/mL, 而其它提取物无抑菌活性。各样品在体外对 HP 的抑菌圈直径的大小和 MIC 值见表 1, 表 2, 表 3。

## 4 结论

4.1 通过体外抑菌试验得出, 用 95% 的乙醇可以从生姜中提取姜辣素而其他方法基本不能从生姜中提取出所要的成分姜辣素。

4.2 目前 HP 的首治根治率约 70%, 补救疗法也有 9~10% 的失败率<sup>[14]</sup>中药具有能从根本治愈疾病的特点, 且其具有安全性高, 副作用小的特点, 是广大患者的首选药物。生姜为药食兼用食材, 经常食用能健胃强体, 延长寿命。

表 1 不同浓度生姜提取物体外抗 HP 的抑菌圈直径 (d/mm)

Table 1 The bacteriostatic ring diameter of different concentration in ginger extraction against Helicobacter pylori strains in vitro

浓度/ (mg/mL)	抑菌圈直径/(d/mm)									
	NCTCJ99					SW-2				
	醇提	水提	榨汁	微波	超声	醇提	水提	榨汁	微波	超声
50.00	35.7	-	-	-	-	35.9	-	-	-	-
20.00	33.4	-	-	-	-	34.3	-	-	-	-
10.00	32.1	-	-	-	-	31.5	-	-	-	-
5.00	30.6	-	-	-	-	30.1	-	-	-	-
2.50	29.4	-	-	-	-	29.3	-	-	-	-
1.00	26.1	-	-	-	-	26.9	-	-	-	-
0.50	25.3	-	-	-	-	25.2	-	-	-	-
50%PEG400 无菌水	25.3	-	-	-	-	25.2	-	-	-	-

注：“-”表示无抑菌活性。

表 2 不同浓度的 6-姜酚体外抗 HP 的抑菌圈直径 (d/mm)

Table 2 The bacteriostatic ring diameter of different concentration 6-gingerol against Helicobacter pylori strains in vitro

浓度 (mg/mL)	抑菌圈直径	
	NCTCJ99	SW-2
1.00	41.2	41.3
0.50	38.5	38.1
0.20	35.4	35.2
0.10	32.2	32.1
0.05	29.3	29.0
0.02	26.1	25.9
0.01	25.0	25.0
50%PEG400	25.0	25.0

表 3 各样品体外抗 HP 的 MIC 值 (mg/mL)

Table 3 The MIC values of each composition against Helicobacter pylori strains in vitro

样品	HP 菌株	
	NCTCJ99	SW-2
生姜醇提取物	1.00	1.00
生姜水提取物	-	-
生姜榨汁提取	-	-
生姜微波提取	-	-
生姜超声提取	-	-
6-姜酚	0.02	0.02
阳性对照药物	0.001	0.001

注：“-”表示无抑菌活性。

辣素的主要成分，其生物活性也最强。6-姜酚的体外抗 HP 的作用机理，可能是 6-姜酚与 HP 生长所需的一些酶的相互作用，抑制了 HP 的生长以致杀死 HP。本实验为进一步研究姜辣素中主要成分 6-姜酚对 HP 的抑制作用及其作用机理提供了实验数据。

参考文献

- [1] Peter Molnar, Jozse Deli, Toru Tanaka, et al. Carotenoids with anti-Helicobacter pylori Activity from Golden Delicious Apple [J]. phytother. Res, 2010, 24: 644-648
- [2] 韩艳,王庆伟,张琰,等.丁香对幽门螺杆菌的体外抑菌作用 [J].医药导报,2011,30(3):302-303
- [3] Adamek R J, Suerbaum S, Pfaffenbach B, et al. Primary and acquired Helicobacter pylori resistance to clarithromycin, metronidazole, and amoxicillin-influence on treatment outcome [J]. Am J Gastro, 1998, 93(3): 386-389
- [4] 张鲁明,王龙厚.乙醇提取姜辣素的工艺条件研究[J].中国农学通报,2010,26(19):58-61.
- [5] 李大峰,贾冬英.生姜及其提取物在食品加工中的应用[J].中国调味品,2011,2(36):20-23
- [6] 王宇,巨勇,王钊.花椒属植物中生物活性成分研究近况[J].中草药,2002,33(7):666-670
- [7] 唐课文,阎建辉,许友.花椒挥发油的化学成分分析[J].分析化学,2003,31(3):384
- [8] 王丽平,李占杰.陕北宜川(壶口)大红袍花椒挥发油化学成分的研究[J].食品科学,2008,24(12):99-100
- [9] 贾利蓉,赵惠峰.汉源青花椒挥发油的成分分析[J].食品与机械,2008,24(3):105-108
- [10] 邓开野,周海钰,邢盼盼.生姜的抗菌和抗氧化作用的研究进展[J].中国调味品,2012,2(37):28-31
- [11] 郑俏然,姚成强.大蒜及生姜提取液抑菌性能的对照研究[J].

4.3 有学者研究发现，生姜能促进胃酸和胃液的分泌，促进胃蛋白酶的合成，减弱胃蛋白酶的作用。生姜的抗菌成分主要是姜辣素，6-姜酚为生姜醇提物姜

- 农产品加工学报,2011,2:23-25
- [12] 陈碰玉,林蒙,陈艳,等.新鲜生姜对幽门螺杆菌抑菌杀菌作用的实验研究[J].中医药通报,2002,1(1):49-50
- [13] 崔俊杰,李琼.生姜及其提取物研究进展[J].上海应用技术学院学报,2009,3:229-233
- [14] 邹磊.生姜中生物活性物质及其研究进展[J].中国酿造,2009,12:6-8

现代食品科技