

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.12.07

五倍子提取物有效成分含量分析与体外抑菌活性比较

李云超^{1,2}, 魏思敏^{1,2}, 田启明^{1,2}, 赵昕^{1,2}, 李金贵^{1,2*}

(1. 扬州大学兽医学院, 江苏 扬州 225009; 2. 江苏省高校动物重要疫病与人畜共患病防控协同中心, 江苏扬州 225009)

[收稿日期] 2021-07-05 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021) 12-0038-07 [中图分类号] S859.79

[摘要] 传统中药五倍子(*Galla chinensis*, GC)被证明具有较好的抑菌效果,但其抑菌活性与活性成分之间的关联性不够明确。本研究采用大孔树脂从 GC 水提物(water extracts of GC, GCE)中分离五倍子单宁(gallotannins, GT)并收集大孔树脂脱 GT 后的剩余物(GTrE);高效液相色谱法用于测定 GCE 中没食子酸(gallic acid, GA)和没食子酸甲酯(methyl gallate, MG)含量;然后通过最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)法比较了 GCE 与其活性成分对耐药大肠杆菌(*E. coli*)和金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)的抑菌活性,分析了活性成分含量与五倍子抑菌活性的关联性。结果表明,GCE 对耐药 *E. coli* 和 *S. aureus* 具有显著的抑制作用。GT 和 GTrE 与 GCE 的抑菌作用类似,两者在 GCE 中的含量分别为 58.3% 和 22.8%,联合使用多呈现相加作用,对不同 *E. coli* 菌株的 MIC 范围为 5~20 mg/mL;对不同 *S. aureus* 菌株的 MIC 范围为 0.156~0.625 mg/mL。这提示 GCE、GT 和 GTrE 对 *S. aureus* 抑制的选择性更强。GA 对上述两种菌的 MIC 范围为 5~10 mg/mL, MG 则为 1.25~2.5 mg/mL,但 GA 和 MG 在 GCE 中的含量较低,分别为 3.1665% 和 0.0899%。以上结果表明 GCE 具有显著的抑菌活性,GA 和 MG 与其抑菌作用相似,但两者在 GCE 中的浓度远远低于它们的 MICs。故推测含量较高的 GT 和 GTrE 以及未知组分的联合可能是五倍子发挥抑菌活性的主要成分。

[关键词] 五倍子提取物;抑菌活性成分;含量分析;抑菌活性比较

Quantitative Analysis and Comparison of the Potential Anti-bacterial Active Components of *Galla chinensis* Extract *in vitro*

LI Yun-Chao^{1,2}, WEI Si-min^{1,2}, TIAN Qi-ming^{1,2}, ZHAO Xin^{1,2}, LI Jin-gui^{1,2*}

(1. College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

2. Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou 225009, China)

Corresponding author: LI Jin-gui, E-mail: jgli@yzu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(32072911); 江苏省高校优势学科建设工程项目

作者简介: 李云超, 博士研究生, 从事中兽药开发与应用研究。

通讯作者: 李金贵。E-mail: jgli@yzu.edu.cn

Abstract: *Galla chinensis* (GC) has been proved to have a good antibacterial effect, but the relationship between its antibacterial activity and active components is not clear. In this study, gallotannins (GT) were separated from GC water extracts of GC (GCE) by macroporous adsorption resin and GTrE was collected; The content of gallic acid (GA) and methyl gallate (MG) in GCE was determined by HPLC; Then, the inhibitory activity of GCE and its active components to *E. coli* and *S. aureus* was compared by the minimum inhibitory concentration (MIC) method, and the relationship between the content of active components and the antibacterial activity was analyzed. The results showed that GCE had significant inhibitory effects on drug resistant *E. coli* and *S. aureus* clinical isolates and its MIC was 8 mg/ml and 0.125 mg/mL, respectively. Their contents in GCE was 58.3% and 22.8%, and the combination of GCE and GTrE to bacteria showed additive effect. The MICs of GT and GTrE to different *E. coli* strains range from 5 to 20 mg/mL, for different *S. aureus* strains, the range was 0.156 ~ 0.625 mg/mL indicating that GCE, GT and GTrE have stronger inhibiting selectivity for *S. aureus*. In addition, the MICs of GA to the two bacteria range from 5 to 10 mg/mL, for MG, the range was 1.25 ~ 2.5 mg/mL, but the contents of GA and MG in GCE were only 3.1665% and 0.0899%, respectively. Therefore, the results suggested that GCE had significant antibacterial activity, GA and MG have the similar action to those of GCE, but their concentrations in GCE were far lower than their MICs. However, the high contents of GT and GTrE or unknown components and their combination may be the main components of gallnut to play antibacterial activity.

Key words: *Galla chinensis* (GC); active components; antibacterial activity

植物是许多现代药物发现和开发的重要来源。约 25% 的现代药物来源于植物,但仅有 5 ~ 15% 的植物被研究过其药用价值^[1]。目前,天然植物、中草药或药用植物、功能性食品得到了广泛的研究,在糖尿病、免疫调节、抗炎和抗菌活性等方面获得了一些很有价值的治疗药物^[2-4]。

在药用植物中,五倍子(*Galla chinensis*, GC)作为一种传统中药材已有上千年的使用历史,对腹泻、痢疾、败血症、炎症、龋病等多种疾病有防治作用,还有抗癌、抗生育、抗氧化等功效^[5]。GC 的水提取物(aqueous extract of GC, GCE)含有大量的单体和聚合多酚,如没食子酸单宁(Gallotannin, GT)、没食子酸(gallic acid, GA)和没食子酸甲酯(Methyl gallate, MG)以及一些碳水化合物、蛋白质和其他成分^[6]。目前已经从 GCE 中鉴定了几种化合物的分子结构(图 1)^[7,8]。GT 是一种水解单宁,被认为是 GC 的主要成分,其含量往往占五倍子干重的 50% 以上。GA 又称五倍子酸,化学名为 3,4,5-三羟基苯甲酸,是结构最简单的天然多酚类化合

物;MG 为 GA 的衍生物。三者均已被证明具有抗氧化、抗炎、抗微生物等生物学活性^[9,10]。结构-活性关系研究表明,GT 抗氧化活性随着没食子酰基数量的增加而增强,其中含 6 ~ 7 个没食子酰基的 GT 对伤寒沙门菌和蜡样芽孢杆菌的抗菌活性最好^[11],且含量相对较高而被认为是 GCE 抗菌活性的关键物质。然而,少有研究对 GT、GA 和 MG 在 GCE 中的含量和抗菌作用进行比较。为此,本研究采用大孔树脂对 GCE 中 GT 进行分离,同时收集脱 GT 后的剩余物(GTrE),然后采用高效液相色谱法(HPLC)测定两者中 GA 和 MG 的含量,并比较各组分对临床分离耐药菌的抑制作用。

2 材料和方法

2.1 菌株 大肠杆菌(*E. coli*)和金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)临床分离株,由扬州大学动物医院畜禽门诊部王彦红博士赠予。标准菌株 ATCC25922 和 ATCC29213 为本实验室保存株。

2.2 试验药品 五倍子(*Galla chinensis*, GC),购自中国同仁堂药店(中国扬州)。试验用抗生素氨

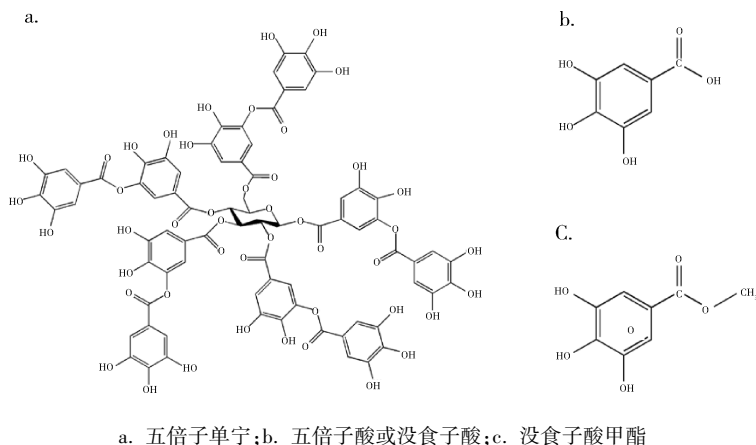


图 1 五倍子中已知分子结构的几种化合物

苄西林 (AMP)、头孢噻肟 (CTX)、头孢唑肟 (CEF)、多西环素 (DOX)、卡那霉素 (KAN)、阿米卡星 (AMK)、链霉素 (STR)、环丙沙星 (CIP)、恩诺沙星 (ENR)、新霉素 (NEO) 和黏杆菌素 (COL) 等购自上海吉智生化科技有限公司 (中国上海), 分别以无菌蒸馏水或培养基中制备成新鲜储备溶液。LB 培养基购自 Thermo Scientific™。GT、GA 和 MG 对照品购自北京索拉比奥科技有限公司。HPLC 级和分析级溶剂购自上海阿拉丁生化科技有限公司。

2.3 五倍子提取物的制备 将 GC 粉碎成 100 目的粉末, 称取 5.0 g 加入 50 mL 去离子水中煎煮 2 h; 将水煎液通过 Whatman 1 号滤纸以去除颗粒物, 滤液经旋转蒸发器减压浓缩, 溶于无菌水中并调整浓度为 0.5 g/mL, 4 °C 保存备用^[12]。

2.4 大孔树脂吸附法提取没食子酸单宁 (GT) 和脱单宁剩余物 将 2.3 节方法获取的水提物 GCE 装载在大孔树脂 (XDA-6) 柱上。XDA-6 树脂分离 GT 的最佳工艺参数如下: 1) 吸附条件: 吸附温度 28 °C、柱径高比 1:8, 进料量 2.0 bv, 流速 1.0 bv/h; 2) 解吸: 洗脱溶剂为水溶液/乙醇 (15:85 v/v), 洗脱液体积 2.0 bv, 流速 1.0 bv/h^[13]。将分离出来的 GT 和脱 GT 剩余溶液结晶物 (GTrE) 分别收集、干燥、称重后发现 5 g GC 粉末提取物中分离获得的 GT 和 GTrE 分别为 2.915 g 和 1.14 g。然后称取适量并配制成相应浓度的溶液与 GA 和 MG 等一起用于抗菌活性评价。

2.5 高效液相色谱法检测 GCE、GT 和 GTrE 中 GA 和 MG 含量 所有标准品和试验样品均在日本岛津 HPLC 系统上检测, 色谱柱为 Inertsil ODS-3 C18 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以甲醇 (A) 和 0.5 % H₃PO₄ 水溶液 (B) 为流动相。HPLC 程序见表 1 所示; 上样体积为 20 μL、柱温为 35 °C。对于 GA, 设定流速为 1 mL/min, 流动相 A/B 比例为 15/85; 对于 MG, 流速为 0.5 mL/min, 流动相 A/B 比例为 40/60, 两者的检测波长均为 275 nm。

2.6 药敏试验和药物联合作用的棋盘试验 使用微量肉汤稀释法测定受试抗生素、GCE 及其化学组分对上述两种临床分离菌株的 MIC^[14]。根据 CLSI 判定标准解释 MIC 结果, 以标准菌株 ATCC25922 和 ATCC29213 作为试验质控菌。

根据所测得的 GT 和 GTrE 对每种菌株的 MIC 值, 采用棋盘稀释法测定 GT 和 GTrE 的联合的分级抑菌浓度 (fractional inhibitory concentration, FIC): 即将 GT 和 GTrE 分别用钙离子调节的无菌 MH 肉汤倍比稀释为 2 MIC、1 MIC、1/2 MIC、1/4 MIC、1/8 MIC、1/16 MIC 和 1/32 MIC, 各取 50 μL 分别排列在 96 孔板的行与列上, 然后每孔加入 100 μL 处于对数生长期的测试菌液, 使菌液浓度为 5 × 10⁵ CFU/mL, 同时以无菌 MH 肉汤作为阴性对照, 不含药物的稀释菌液作为阳性对照, 然后在 37 °C 下培养 16 ~ 20 h 读取结果, 以无细菌生长的最低药物浓度为 MIC。GT 和 GTrE 之间的相互

作用通过计算分数抑制浓度指数 (FICI) 来确定。结果判定标准如下;FICI≤ 0.5 为协同作用;0.5 < FICI <1 为相加作用;1 < FICI < 4 为无交互作用;FICI >4.0,为拮抗作用^[15]。同时设定阳性和阴性对照孔,每个数据至少重复 3 次。

2.7 统计分析 试验数据以平均值 ± 标准误 (Mean ± SE) 表示,并采用 PRISM (6.0 版) 软件进行差异显著分析,*P* <0.05 时表示差异显著。

3 结果与分析

3.1 临床分离菌的耐药性测试结果 11 种受试抗生素对 *E. coli* 和 *S. aureus* 临床分离株的 MIC 测试结果见表 1。根据 CLSI 判定标准,这些菌株对 11 种抗生素表现出不同的耐药性。在受试菌株中,4 株临床分离 *E. coli* 均对 6 种以上的抗生素表现出明显的耐药性;3 株 *S. aureus* 则对受试的四种抗生素 (STR、KAN、CIP、ENR) 表现出耐药性。这说明分离菌株均为多药耐药菌株。

3.2 GCE 及其组分对 *E. coli* 和 *S. aureus* 的抑制

作用比较 试验比较了大孔树脂分离的 GCE、GTrE 和商品化 GT、GA 和 MG 对两种临床分离菌的抑菌作用,MIC 测试结果见表 3。GCE 对 *E. coli* 和 *S. aureus* 菌株的 MIC 分别为 8 和 0.25 mg/mL,即 *E. coli* 不同菌株的 MIC 是对 *S. aureus* MIC 的 32 倍,说明 GCE 对 *S. aureus* 的抑制作用较强,有一定的选择性。商品化的 GT 与我们大孔树脂分离的 GT 对两种耐药菌的抑制作用类似,且与 GCE 类似,都对 *S. aureus* 有较强的抑制作用。纯品 GA 对 *E. coli* 的 MIC 与 GCE 接近,但对 *S. aureus* 的 MIC 则是 GCE 的 20 倍或 40 倍;MG 也表现出类似的趋势,故 GA 和 MG 对 *S. aureus* 的抑制作用明显低于 GCE、GT。GTrE 对两种耐药菌的抑制作用略强于 GCE。

以上数据均显示,GCE、GTrE、GT 对 *S. aureus* 的抑制作用更强,而纯品 GA 和 MG 对 *E. coli* 和 *S. aureus* 的 MIC 相似,GA 和 MG 对 *S. aureus* 的抑制作用均明显弱于 GCE、GTrE、GT (表 2)。

表 1 不同抗生素对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌临床分离株的 MIC 测定
Tab 1 MICs of different antibiotics for clinical *E. coli* and *S. aureus* isolates.

抗生素 菌株	MIC (μg · mL ⁻¹)										
	AMP	CTX	CEF	AMK	STR	KAN	DOX	NEO	CIP	ENR	COL
<i>E. coli</i> 0301E1 – H2	>2048	>2048	1024	4	256	512	32	64	8	4	1
<i>E. coli</i> 0310E1 – 3	>2048	>2048	1024	2	128	64	32	32	64	16	0.5
<i>E. coli</i> 0220E1 – 1	2048	2048	128	4	512	1024	32	512	16	4	1
<i>E. coli</i> 0501E2 – H2	>2048	>2048	1024	4	512	1024	2	512	32	8	1
<i>S. aureus</i> 150420G	0.5	0.25	0.5	0.5	128	64	0.5	2	8	4	4
<i>S. aureus</i> 1803D3	2	1	0.5	0.5	256	256	8	4	32	32	4
<i>S. aureus</i> 1708D7	16	0.5	1	0.5	128	256	4	4	32	32	2
ATCC29213	0.5	0.125	0.0625	0.5	1	1	0.125	0.125	0.25	0.0039	2
ATCC25922	4	0.125	0.0625	2	4	0.5	0.5	1	0.0078	0.0039	0.5

注:*E. coli* 对不同抗生素耐药的判定标准:AMP: MIC≤8 μg/mL 为敏感,>32 μg/mL 为耐药;CTX: MIC≤1 μg/ml 为敏感,>4 μg/mL 为耐药;AMK: MIC≤16 μg/mL 为敏感,>64 μg/mL 为耐药;KAN: MIC≤16 μg/mL 为敏感,>64 μg/mL 为耐药;DOX: MIC≤4 μg/mL 为敏感,>16 μg/mL 为耐药;CIP: MIC≤1 μg/mL 为敏感,>4 μg/mL 为耐药;对 CEF, STR, NEO 和 ENR 暂无标准 (CLSI, 2017)。

表 2 GCE 及其组分对大肠杆菌和金葡萄临床分离株的 MICs

Tab 2 MICs of GCE and its components for clinical *E. coli* and *S. aureus* isolates.

菌株	药品	MIC/(mg · mL ⁻¹)				
		GCE	纯品 GT	纯品 GA	纯品 MG	样品 GT
<i>E. coli</i> 0301E1 – H2		8	10	5	2.5	20
<i>E. coli</i> 0310E1 – 3		8	10	10	2.5	20
<i>E. coli</i> 0220E1 – 1		8	5	10	2.5	10
<i>E. coli</i> 0501E2 – H2		8	5	5	2.5	10
ATCC25922		8	10	5	2.5	10
<i>S. aureus</i> 150420G		0.25	0.625	5	2.5	0.625
<i>S. aureus</i> 1803D3		0.25	0.625	5	2.5	0.625
<i>S. aureus</i> 1708D7		0.25	0.625	10	2.5	0.625
ATCC29213		0.25	0.3125	5	1.25	0.625

注: GCE, 五倍子提取物; GT, 五倍子单宁; GA, 五倍子酸; MG, 五倍子酸甲酯; GTrE, 五倍子脱单宁剩余物。

3.3 大孔树脂分离 GT 与 GTrE 对两种临床分离菌的联合作用 上述试验已证明 GT 和 GTrE 对两种受试菌均具有明显的抑菌作用,但两者的联合效应还不清楚。本试验经过 FICI 测定发现,除了对

E. coli 中的两个分离株(*E. coli* 0301E1 – H2 和 *E. coli* 0220E1 – 1)表现为无相互作用外,两者联合应用对其余菌株的抑制均显示出相加作用(表 3)。

表 3 分离 GT 和 GTrE 对临床分离株的分级抑菌浓度指数

Tab 3 FICI of separated GT in combination with GTrE for clinical *E. coli* and *S. aureus* isolates.

菌株	MICs (mg · mL ⁻¹)		MICs of GTrE (mg · mL ⁻¹)		FICI	相互作用判定
	单用 GT	联合 GTrE	单用 GTrE	联合 GT		
<i>E. coli</i> 0301E1 – H2	20	10	5	5	1.5	无相互作用
<i>E. coli</i> 0310E1 – 3	20	5	5	2.5	0.75	相加作用
<i>E. coli</i> 0220E1 – 1	10	10	5	2.5	1.5	无相互作用
<i>E. coli</i> 0501E2 – H2	10	5	5	2.5	1	相加作用
ATCC25922	10	5	5	1.25	0.75	相加作用
<i>S. aureus</i> 150420G	0.625	0.156	0.156	0.078	0.75	相加作用
<i>S. aureus</i> 1803D3	0.625	0.156	0.156	0.078	0.75	相加作用
<i>S. aureus</i> 1708D7	0.625	0.156	0.156	0.078	0.75	相加作用
ATCC29213	0.625	0.156	0.156	0.078	0.75	相加作用

注:GT,分离单宁;GTrE,脱单宁剩余物。FICI ≤ 0.5,协同作用;0.5 < FICI ≤ 1, 相加作用;1 < FICI ≤ 4,no interaction;FICI > 4.0,拮抗作用。

3.4 GCE 中 GA 和 MG 的 HPLC 定量测定 以浓度为 X 轴,峰面积为 Y 轴,绘制了 GA 和 MG 的标

准曲线(图 2),得到回归方程。两者标准曲线的相关系数均大于 0.999,说明线性关系良好。

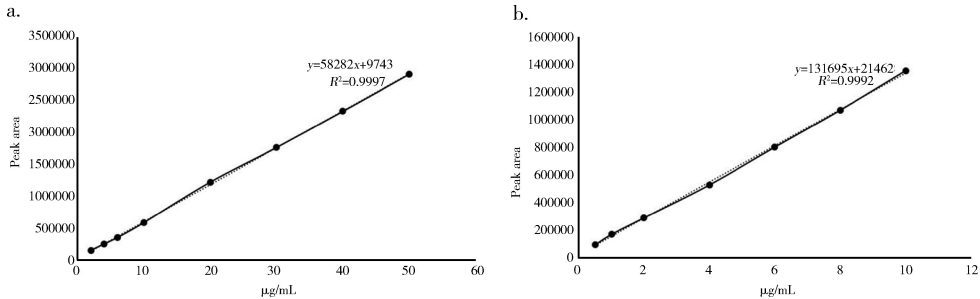


图 2 GA(a)和 MG(b)的标准曲线及回归方程

Fig 2 Standard curve of GA (a) and MG (b), and their regression equation

GA 和 MG 的线性范围分别为 2 ~ 50 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.5 ~ 10 $\mu\text{g/mL}$ (表 4)。根据图 2 的回归方程和样品的峰面积计算不同提取物干燥样品中 GA 和 MG 的含量百分比(表 4)。结合前面表 2 的结果可以发现 GCE 对不同分离株 *E. coli* 的 MICs 为 8 mg/mL,然而,GA 在 GCE 中的含量仅为 3.1665%,这意味着 GCE 中 GA 的实际浓度为 0.25 mg/mL;但纯品 GA 对 *E. coli* 的 MICs 为 5 ~ 10 mg/mL,这是 GCE 中 GA 实际浓度的 20 倍以上。与之相似的是,纯品 MG 对受试菌株的 MIC 虽然略低于 GA,但其在 GCE 中的含量更低,仅为 0.0899%,实际浓度则为 0.0072 mg/mL,纯品 MG 对 *E. coli* 的 MIC 为 2.5 mg/mL,是 GCE 中 MG 实际浓度的 340 多倍。结合表 2 中的数据,纯品 GA 和 MG 对 *S. aureus* 的 MIC 均明显高于 GCE、GT 和 GTrE。这提示 GA 和 MG 应该不是五倍子提取物抗菌活性的主要成分。

表 4 GCE、分离 GT 和 GTrE 中 GA 和 MG 含量的测定

Tab 4 Contents of GA and MG in GCE and its different extract.				
测试成分	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	不同提取物中的含量 (w/w%)		
		GCE	分离 GT	GTrE
GA	2 - 50	3.1665	0.3958	3.1818
MG	0.5 - 10	0.0899	0.0799	0.0066

4 讨论与结论

目前,多药耐药菌的传播速度比新药创制的速度快,引起了较为严重的公共卫生危机,从天然植物或中药中筛选具有抗菌活性的提取物及其组合来替代现有抗菌药已经成为一种现实且有益的探索。近年来的研究表明,五倍子(GC)或其提取物具有很强的抗病毒、抗癌、保肝、止泻和抗氧化活性^[5],在抗菌方面证明对大肠杆菌和变形链球菌生物被膜的形成具有显著的抑制作用^[16]。

尽管已有很多 GC 提取物抗菌活性的报道,但其活性成分的关联性还没有完全确定。对 GC 中有效成分结构与抗菌效应关系的初步研究表明,GC 粗提物及其它成分具有显著的防龋效果,由于粗提物含有多种化合物,其生物活性是多种化合物协同作用和/或拮抗作用的结果,故目前仍不清楚

其确切的抗菌机制^[8]。研究发现 GCE 和 GTrE 对两种临床分离耐药菌均具有明显的抗菌活性,两者对临床分离菌株(*E. coli* 和 *S. aureus*)的 MIC 相似,但它们对 *E. coli* 的 MIC 是 *S. aureus* 的 32 倍,说明 GC 提取物对 *S. aureus* 抑制作用的选择性更强,因而有望用于防治 *S. aureus* 引起的感染。本研究使用大孔树脂获得的 GT,干燥后称重发现可达到 GC 干重的 58.3%,与商品 GT 对比研究发现,两者对 *E. coli* 和 *S. aureus* 具有相似的抑菌作用;脱单宁后剩余部分的干燥品,即 GTrE,含量达到 GC 干重的 22.8%,且其对两种受试菌的抑制作用略好于 GT。故推测 GT 和 GTrE 很可能是 GC 发挥抗菌作用的有效成分。

此外,研究还测定了 GCE 中 GA 和 MG 的含量,并检测了其抑菌活性,发现它们对 *E. coli* 的 MIC 与 GCE 或 GT 接近,但对 *S. aureus* 的作用明显弱于 GCE,分析两者在 GCE、GTrE 中的含量发现,两者在 GCE 和 GTrE 中含量有类似的规律,GA 在 GCE 中的含量为 3.16% 左右,与报道的 2 ~ 4% 范围一致^[17];而 MG 仅为 0.0899%,比报道的含量略高^[18],故总体上看,两者含量都比较低,在 GCE 中的浓度且远远低于其纯品的 MICs(表 4)。故可以推测 GA 和 MG 应该不是 GC 提取物中的主要抑菌活性成分。

综上所述,GCE 与其中含量较高的 GT 对临床分离耐药大肠杆菌和金葡菌均有显著的抑制作用,但对金葡菌的抑制作用更强,有望成为控制该菌感染的候选药物;GA 和 MG 虽具有抗菌活性,但在 GCE 中的含量很低,故可能不是主要的抗菌成分。除 GT 外,GC 中还有未经鉴定的化合物或其组合具有类似强度的抑菌作用,还需要进一步研究。

参考文献:

[1] Islam M A, Alam F, Khalil M I, et al. Natural products towards the discovery of potential future antithrombotic drugs [J]. Curr Pharm Des, 2016, 22(20): 2926 - 2946.

[2] Khan F, Sarker M M, Ming L C, et al. Comprehensive review on phytochemicals, pharmacological and clinical potentials of gym-

- nema sylvestre [J]. Front Pharmacol, 2019,10:1223.
- [3] Sarker M M R, Gohda E, Promotion of anti - keyhole limpet hemocyanin IgM and IgG antibody productions *in vitro* by red bell pepper extract [J]. Journal of Functional Foods, 2013,5(4): 1918 - 1926.
 - [4] Imam H, Mahbub N U, Khan M F, *et al.* Alpha amylase enzyme inhibitory and anti - inflammatory effect of lawsonia inermis [J]. Pak J Biol Sci, 2013,16 (23):1796 - 1800.
 - [5] 孙会娟, 张 瑜, 赵 涛. 中药五倍子及其活性成分的研究进展. 基层医学论坛, 2018, 22(19): 2728 - 2730.
Sun H J, Zhang Y, Zhao T. Research progress of gallnut and its active components [J]. The Medical Forum, 2018, 22 (19): 2728 - 2730.
 - [6] 郑兰娟, 罗艳萍, 汪玉娇, 等. 五倍子抗菌抗炎作用研究进展 [J]. 中国病原生物学杂志, 2011, 6(11):868 - 869.
Zheng L J, Luo Y P, Wang Y J, *et al.* Research Progress on antibacterial and anti - inflammatory effects of *Galla chinensis* [J]. Chinese Journal of pathogenic biology, 2011, 6(11):868 - 869.
 - [7] Salminen J P. Two - dimensional tannin fingerprints by liquid chromatography tandem mass spectrometry offer a new dimension to plant tannin analyses and help to visualize the tannin diversity in plants [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66: 9162 - 9171.
 - [8] Zhang T, Chu J, Zhou X. Anti - carious effects of *Galla chinensis*; a systematic review [J]. Phytother Res, 2015, 29: 1837 - 1842.
 - [9] 郑雪花, 杨 君, 杨跃辉. 没食子酸药理作用的研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(1):94 - 98.
Zheng X H, Yang Jun, Yang Y H. Research progress on pharmacological effects of gallic acid [J]. Chinese Journal of hospital pharmacy, 2017, 37(1):94 - 98.
 - [10] 李启凤, 李一凡, 张金芳, 等. 没食子酸甲酯抑制胶质瘤细胞中 Akt 和 ERK1/2 活性发挥抗肿瘤作用 [J]. 宁夏医科大学学报. 2020, 42(8):757 - 764.
Li Q F, Li Y F, Zhang J F, *et al.* Methyl gallate inhibits the activities of Akt and ERK1 / 2 in glioma cells and plays an antitumor role [J]. Journal of Ningxia Medical University, 2020, 42 (8): 757 - 764
 - [11] Tian F, Li B, Ji B, *et al.* Identification and structure - activity relationship of gallotannins separated from *Galla chinensis* [J]. LWT - Food Science and Technology, 2009, 42:1289 - 1295.
 - [12] Zhang Y, Djakpo O, Xie Y, *et al.* Anti - quorum sensing of *Galla chinensis* and *Coptis chinensis* on bacteria [J]. LWT - Food Science and Technology, 2019,101: 806 - 811.
 - [13] Lu C, Luo X, Lu L, *et al.* Preliminary extraction of tannins by 1 - butyl - 3 - methylimidazole bromide and its subsequent removal from *Galla chinensis* extract using macroporous resins [J]. Journal of Separation Science, 2013,36: 959 - 964.
 - [14] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty - seventh informational supplement M100 - S27 [S]. Wayne, PA: CLSI, 2017: 32 - 33.
 - [15] Bezerra Dos Santos A T, Araújo T F, Nascimento da Silva L C, *et al.* Organic extracts from *Indigofera suffruticosa* leaves have antimicrobial and synergic actions with erythromycin against *Staphylococcus aureus* [J]. Front Microbiol, 2015,6:13.
 - [16] Shao D, Li J, Li J, *et al.* Inhibition of gallic acid on the growth and biofilm formation of *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans* [J]. J Food Sci, 2015, 80 (6) M1299 - 1305.
 - [17] 郭姝彤, 刘永仙, 艾彩莲, 等. 五倍子有效成分提取分离、药理作用及临床应用研究进展 [J]. 陕西中医, 2015, 36(6): 762 - 764.
Guo S T, Liu Y X, Ai C L, *et al.* Research progress on extraction, separation, pharmacological action and clinical application of active components of gallnut [J]. Shaanxi traditional Chinese medicine, 2015, 36 (6): 762 - 764.
 - [18] 刘路洁, 夏林波, 张 冉, 等. 中药五倍子中没食子酸甲酯的含量测定研究 [J]. 广州化工, 2021, 49(10):85 - 86.
Liu L J, Xia L B, Zhang R, *et al.* Determination of methyl gallate in gallnut [J]. Guangzhou chemical industry, 2021, 49 (10):85 - 86.

(编辑:陈 希)