

中藥在牙科臨床上之應用

一、對口腔常在菌之抑菌效果

胡雅萍 王正怡* 楊玲玲**

摘 要

口腔常在菌以鏈球菌及葡萄球菌為最多，所以一旦因齲齒而造成牙髓病變後，在根管內所發現之細菌也以此為多。本研究是以中國古醫書中有關治療牙疾之處方，選用其單方約四十八種，分別測試其正己烷及 50% 酒精抽取物等對各種鏈球菌及葡萄球菌之抑菌效果。

結果發現黃連之抑菌效果為所有使用之四十八種中藥中之冠，其抑菌之成分存在於 50% 酒精抽取物，及氯仿層中；而正己烷層無抑菌能力。而黃連之主成分小檗鹼鹽酸鹽及硫酸鹽對 *Strep. mutans* FA1, MT703R, MT557, 6715 DP, *Staph. aureus*, *Strep. mutans* OMZ-176, *Strep. salivarius*, *faecalis*, 及 *Strep. mutans* 10449 之最低抑菌濃度約為 125-250 $\mu\text{g/ml}$ 。

前 言

我國古代醫書中，如唐朝之備急千金要方⁽¹⁾，宋朝之醫說⁽²⁾，明朝之玉機微義⁽³⁾，太醫奇效良方⁽⁴⁾，古今醫統大全⁽⁵⁾，醫學正傳⁽⁶⁾，六科準繩⁽⁷⁾等，皆有牙痛之記載，包括牙齦腫痛，齲蝕，出血，牙根露出，動搖等症狀；又認為牙疾之原因很多，而產生了各種不同之治療方式⁽¹⁻⁷⁾。

根據上列各古書中有關治療牙疾，消腫止痛之處方，將它們約略分為口服煎劑，漱口劑，擦劑，丸劑等四大類，除了煎劑乃口服用藥外，其他三類皆為局部使用。由於古書中之記載並未將齲齒及牙周病做一很清晰之分界，但在臨床上，由現在的研究可以看出⁽⁸⁾，齲齒及牙周病形成之主因乃在細菌，是以推論在其所使用之局部治療牙疾的中藥中，應有抗菌之能

力。雖然所使用之處方皆為複方，但相信在其中之單方中應可找到具有抗菌能力之中藥，故而先不論其複方是否有加乘作用，本實驗係任意挑選其中之四十八種單方來測試對於口腔內常在菌⁽⁸⁾之抑菌效果。

材料與方法

一、中藥之抽取及稀釋

由前文所述之眾醫書之處方中挑出四十八種單方，包括白芷、細辛、巴豆、鶴虱子、獨活、大黃、荊芥、川芎、升麻、白朮、沒藥、乳香、皂角子、知母、香附子、骨碎補、胡椒、高良薑、防風、黃柏、蛇床子、藜蘆、乾薑、葶藶、薑黃、薄荷、黃連、青皮、川椒、防己、草豆蔻、益智、草烏、龍膽草、甘草、桑椹、桂心、胖大海、砂仁、茵陳蒿、杏仁、萊菔子、牛膝、麻黃、麻黃根、粉丹皮、蕪荑仁

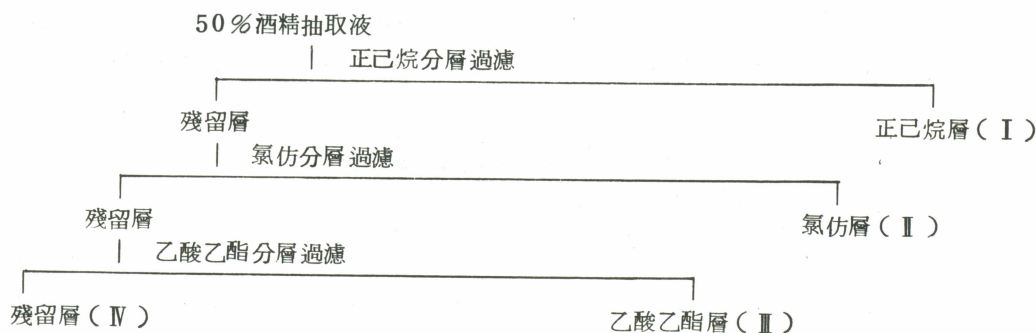
台北醫學院牙醫系及附設醫院牙科 * 台北醫學院微生物學科 ** 台北醫學院生藥學科
民國七十五年十二月二十九日受理

、五倍子等，中藥材分別切碎，各精取五十公克，於 70 °C 下，分別以 500 毫升之正己烷 (n-Hexane) 及 50 % 酒精溶液抽取二次，每次 6 小時，然後將二種濾液分別合併，於 40 °C 下減壓濃縮，再行乾燥所得之物即做為下列實驗所需之試藥，並秤得藥品之重量予以記錄之。

將由正己烷及 50 % 酒精溶液分別抽取所得之中藥抽取物分別以 30 % 之酒精溶液及滅菌之蒸餾水做成 10mg/ml 之儲存液，以備實驗之用。

另取獨活、鶴虱子、黃連等三種切碎之中藥材各 50 公克，以 50 % 酒精溶液抽取兩次而得之抽取液 (Extract)，依次加入正己烷，氯仿 (Chloroform)，及乙酸乙酯 (ethyl acetate)，各於室溫下抽取二次，並做分層過濾 (如圖 1) 而得四種抽取液，亦分別於 40 °C 下減壓以濃縮乾燥，所得即為試藥，並以 30 % 酒精溶液做成 10mg/ml 之儲存液。

圖 1 :



30 % 酒精溶液稀釋，而後加入含有已滅菌之溶融的 BHI Agar 中，做成懸浮液，使最終濃度為 1000 μg/ml (有意義濃度)⁽¹⁰⁾，待試藥充分混合均勻，立刻倒入培養皿中，待培養基冷卻凝固後，以 0.001 毫升之接種環 (loop) 沾已測好 OD 之細菌種入培養皿上，使菌種間之距離保持 2 cm 以上，並以 30 % 酒精溶液為對照組，測試所加入之溶劑— 30 % 酒精溶液— 有無抑菌之能力。將培養皿置於

二、菌種之準備

本實驗所採用之菌種為美國 ATCC 之 *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans* NC-TC 10449, *Streptococcus mutans* OMZ-176, *Staphylococcus aureus*, 及日本東京 NIH 之 *Streptococcus mutans* FA1(b), MT703R(e), MT557(f), 6715DP(g), 共計九種，皆保存於 -40 °C 之冰箱中。

做實驗時，先將冰凍之菌種解凍，然後倒入 BHI broth 中，在 37 °C 下培養 24 小時，再以畫線法 (streaking) 塗於培養皿，在同樣條件之下培養隔夜，然後將菌落悉數刮下，以 0.85 % 氯化鈉水溶液做成細胞懸浮液，調整其 Turbidity 為 0.07 O.D. Unit (波長 550 nm)⁽⁹⁾ 後備用。

三、抗菌作用之測定

(一) 篩選試驗

將由正己烷抽取所得之試藥儲存液分別以

37 °C 厭氧箱中兩天後，觀察細菌生長之情形，並記錄之。

(二) 最低抑菌濃度之測定

第一部分：

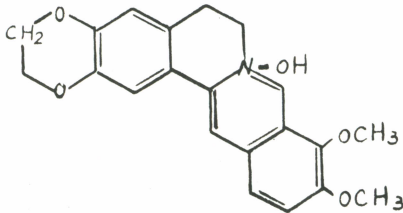
將由篩選試驗中所挑出之中藥，將其正己烷抽取得之試藥儲存液分別以 30 % 酒精溶液做一連續之稀釋，各自加入含有已滅菌之溶融的 BHI Agar 中，做成懸浮液，使最終濃度為 1000, 750, 500, 250, 125, 及 67.5 μg/ml,

待試藥充分混合均勻，立刻倒入培養皿中，冷卻凝固後，將前面所備已知 O.D. 之九個菌種分別以相同之方法種入培養皿中，在同樣之條件下培養兩天後，觀察並記錄之。對照組是以 30% 酒精溶液代替試藥為之。

第二部分：

將由分層過濾所得之試藥儲存液，另外同時因為黃連之水抽取物被證實有抑菌作用⁽¹¹⁾，故而加入黃連之 50% 酒精抽取物，乃其成分小檗鹼（如圖 2）之鹽酸鹽（berberine HC1）及硫酸鹽（berberine H₂SO₄）加以比較。

圖 3：Berberine 之結構式



結果

(一)篩選試驗：

在加入濃度為 1000 μ g/ml 之四十八種中藥之正己烷抽取液的培養皿內種菌，兩天後，觀察其結果，發現川芎、皂角子、胡椒、防風、藜蘆、葶藶、黃連、青皮、防己、龍膽草、甘草、茵陳蒿、杏仁、萊菔子、牛膝、麻黃、麻黃根、升麻、巴豆、香附子、骨碎補、高良

薑、薑黃、川椒、桂心、胖大海等二十六種，完全沒有抑菌之效果，故先將以剔除。

(二)最低抑菌濃度之測定：

第一部分：

經由篩選試驗挑出之二十二種中藥，再以上述之方法在六個連續稀釋液所製作之培養皿中，在種入已知 O.D. 為 0.07 之九種菌株兩天後，觀察所得到之結果為稀釋至 250 μ g/ml 仍對三種以上之菌株有抑菌作用者，如獨活、鶴虱子、五倍子等（如表 1），而其中又以獨活及鶴虱子為最，故而挑選出來做進一步之測試，希望能找出這些中藥之抑菌成分究竟存在於那一種溶劑中；但由於黃連之抗菌能力存在於水溶液中⁽¹¹⁾，所以亦加入做第二部分之測試。

第二部分：

獨活、鶴虱子、黃連及其成分小檗鹼之抑菌結果如表 2，其中顯示所有中藥之乙酸乙酯層在 1000 μ g/ml 時皆無抑菌之能力。黃連之正己烷層在濃度 1000 μ g/ml 下時毫無抑菌之

表 1：各種不同濃度之中藥對口腔內常在菌之抑菌力

藥物	濃度		
	750	500 (μ g/ml)	250
獨活	7/9	6/9	4/9
鶴虱子	5/9	5/9	5/9
五倍子	3/9	3/9	3/9

#：被抑制之菌株數目 *：所有細菌之總數

表 2：1000 μ g/ml 濃度之藥物在各種抽取液中之抑菌比例

藥物	溶劑或抽取成分				小檗鹼 鹽酸鹽	小檗鹼 硫酸鹽	50% 酒精
	正己烷層	氯仿層	乙酸乙酯層	殘留層			
黃連	0/9	9/9	0/9	9/9	9/9	9/9	9/9
鶴虱子	5/9	1/9	0/9	0/9			
獨活	5/9	2/9	0/9	0/9			

#：被抑制之菌株數目

*：所有細菌之總數

表3：各種中藥對不同口腔細菌之最低抑菌濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

中藥名稱	最低抑菌濃度 MIC ($\mu\text{g/ml}$)								
	FA1	MT703R	MT557	6715DP	STAPH	OMZ176	SALIV	FAECA	10449
黃連 (I)	500	750	1000	500	1000	500	1000	1000	1000
黃連 *	67.5	500	500	500	250	500	500	250	500
黃連 (IV)	67.5	750	750	750	750	750	750	750	750
berberine HCl	125	125	250	125	250	125	125	125	125
berberine H ₂ SO ₄	125	250	250	250	250	125	125	250	250
鶴虱子 (I)	1000	750	i	750	i	500	i	1000	i
獨活 (I)	750	750	i	750	i	i	1000	1000	i

1 : *Streptococcus mutans*
 3 : *Staphylococcus aureus*
 i : inactive, > 1000 $\mu\text{g/ml}$
 I : 正己烷
 IV: 殘留層

2 : *Streptococcus salivarius*
 4 : *Streptococcus faecalis*
 * : 50% 酒精抽取液
 II: 氯仿

能力，此正與前面所做之篩選試驗之結果相符，而其有效抑菌之成分分別存在於氯仿層及殘留層中，同時 50 % 酒精溶液之抽取物亦有抑菌作用；小檗鹼鹽酸鹽及硫酸鹽在 250 $\mu\text{g/ml}$ 之濃度時仍然可抑制所有使用菌株之生長。

鶴虱子及獨活之有效抑菌成分則存在於正己烷及氯仿層中，但其最低抑菌濃度約在 500 - 1000 $\mu\text{g/ml}$ 之間 (如表 3)。將此三種中藥加以比較，顯示黃連之成分小檗鹼對九個不同菌株之最低抑菌濃度皆在 125-250 $\mu\text{g/ml}$ 之間，就連較難纏之 *Streptococcus faecalis*⁽¹²⁾ 亦不例外，黃連殘留層及 50 % 酒精溶液抽取物對 *Streptococcus mutans* FA1 之最低抑菌濃度達到 67.5 $\mu\text{g/ml}$ 。

討 論

由古醫書之治療牙疾處方中所任意挑選之中藥四十八種，其氣味皆屬“辛辣”之藥物，與牙科臨床上常用之局部止痛藥物頗相類似，此類藥物之成分多半含有精油 (essential oil)⁽¹¹⁾，這也是為何本實驗以具極性之正己烷抽取之主因。接著又以不同之溶劑抽取，主要是希望能做進一步之分析，瞭解各有效抑菌成分究竟可以在那一種抽取液中得到，以做為將來更進一步研究分析藥物之用。

在四十八種中藥抗菌作用測定之結果知鶴虱子、獨活、黃連三者皆有抗菌能力，其中尤以黃連較好；再者黃連之主要抑菌成分為小檗鹼 (berberine)，其游離基為水溶性，通常以呈鹽類型較易得到⁽¹¹⁾。1949年浮田⁽¹¹⁾等已證明試管內小檗鹼對黃色葡萄球菌 (寺島株) 及連鎖狀球菌具有抗菌作用。此乃因小檗鹼會攪亂細菌之氨基酸代謝，使細菌不能營正常之代謝，而造成有抗菌作用之關鍵所在。

Namba 先生⁽¹³⁾ 等在 1982 年曾以多種中藥做有關齲齒預防之實驗，他們採用甲醇抽取物，且以 broth 稀釋法來測定，由其結果得知：黃連之最低抑菌濃度為 200 $\mu\text{g/ml}$ ，而小檗鹼鹽酸鹽則為 50 $\mu\text{g/ml}$ 。本實驗是以由生藥學科提供之從黃連抽取分離之小檗鹼鹽酸鹽及硫酸鹽，加上黃連之 50 % 酒精溶液抽取物，做一比較。所得之小檗鹼之最低抑菌濃度為 125-250 $\mu\text{g/ml}$ ，較之為差，此可能是因為抽取藥物之方式不同所造成的。

再者黃連之 50 % 酒精抽取物之抑菌效果比經由分層過濾而得之氯仿層 (I)，殘留層 (IV) 要好，很可能是因為黃連之抑菌成分經由各種抽取液抽取後而分散，甚至正己烷層 (I) 毫無抑菌之效果。由於小檗鹼乃黃連之成分，是以同樣之濃度下其抑菌能力自然要比其

他抽取物強。

S. *Faecalis* 及 *Staphylococcus aureus* 為兩種較難纏之細菌⁽¹²⁾，因為它們對許多抗菌劑皆有抗藥性，故不易由根管內除去，此在根管沖洗消毒方面造成較大之困擾。但由於根管治療學之進步，根管抑菌劑 (Antiseptics) 及消毒劑 (Disinfectants)，抗菌劑 (Antimicrobial agents) 之發展，在牙科臨床上有不少之助益；根管內用藥如丁香油 (eugenol)，蟻醛甲酚合劑 (Formocresol)，木榴油 (beech wood cresote)，Cresatin，或 Paramonochlorophenol 等或甚至加入抗生素，使抗菌的能力更廣。但因抗生素本身較不穩定，且根管內用藥有毒性，都不是理想的根管治療藥物。

由於牙科臨床所使用藥物之方式多為局部藥敷，即以棉球沾藥物放入窩洞之中，再加以封填；或者以沖洗之方式洗滌根管，以達止痛，殺菌之效。再說本實驗所採用之中藥為一般市面上常用之藥物，既然可以煎服表示對組織應無不良之影響。是以應對組織沒有毒性。如此，於牙科臨床上使用中藥之黃連來止痛及消炎可能較為優良。

參考文獻

- 唐·孫思邈：備急千金要方，台北，何家出版社，卷第六下，七竅病下，齒病第六。P. 121-123, 1970。
- 宋·張果：醫說，台北，新文豐出版公司，口齒喉舌耳，P. 303-311, 1981。
- 明·徐用誠撰，劉純續增：玉機微義，台北，卷之三十，牙齒門，P. 1017 - 1036, 1981。
- 明·方賢輯：太醫奇效良方，台北，旋風出版社，卷之六十二，牙齒門，P. 1302-1335, 1972。
- 明·徐春甫撰，葛宗禮刊本：古今醫統大全，台北，新文豐出版公司，卷之六十四，齒侯門，P. 4228-4274, 1978。
- 明·虞搏：醫學正傳，下冊，台北，新文豐出版公司，齒病，四十卷之五，P. 623-630, 1981。
- 明末王肯堂：六科準繩，台北，宇宙醫藥出版社，卷八，齒，P. 37-46，及類方P. 17-21, 1962。
- GEORGE W BURNET, S. SCHUSTER: Oral microbiology and infectious disease, Baltimore: Williams & Wilkins, Chapter 16-18, p. 141-222, 1978.
- TSUNEO NAMBA, MASA TSUNEZUKA, MASAC HATTORI: Dental Caries Prevention by Traditional Chinese Medicines 4. Part II. Potent Antibacterial action of Magnoliae Cortex Extracts against Streptococcus Mutans. J Med Plant Res 44; 100-106, 1982.
- MITSCHER LA, LEE RP, BATHALA MS, et al.: Antimicrobial Agents from Higher Plants II. Lloydia, 35(2); 157, 1972.
- 顏焜燐：常用中藥之藥理，台北、國立中國醫藥研究所，P. 218-231, 1974。
- WEINE FS: Endodontic Therapy, Library of Congress Cataloging in Publication Data, U.S.A. 3rd ed. Chapter 14. Microbiology of Endodontics. p. 547-550, 1982.

Chinese Herbs Used in Dental Clinic

1. Inhibitory Effects on Normal Oral Flora

YAR-PIN HU, *CHENG-YI WANG and **LING-LING YANG

SUMMARY

Inhibitory effects of forty-eight kinds of chinese herbs extracted from 500ml of 50% alcohol, n-Hexane, chloroform, and ethyl acetate on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus faecalis*, and *Staphylococcus aureus* were investigated by plate dilution method.

The result shows that the 50% alcohol extract of *Coptidis Rhizoma* (黃連) and its component named berberine HCl, berberine H₂SO₄ are the most effective Chinese herbs to inhibit bacteria growth. The minimal inhibitory concentration (MIC) of berberine to *Streptococcus mutans* FA1, MT703R, MT557, 6715DP, NCTC 10449, OMZ-176, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* are 125-250 μ g/ml.

School of Dentistry, Taipei Medical College.

*Department of Microbiology, Taipei Medical College.

**School of Pharmacy, Taipei Medical College.

Received for Publication: December 29, 1986.