

中 药 大 黄 的 综 合 研 究

I. 大 黄 中 蒽 醌 衍 生 物 抗 菌 效 价 的 研 究

陈琼华 郑武飞 苏学良 赖渭声

(天津医科大学生化教研组及微生物教研组)

中药大黄在祖国医学经验中不但用以缓下、健胃及利胆，并且亦作为消毒消炎之用。关于大黄水煎剂抗菌作用的实验研究，文献已有报告^[1-8]；但关于其抗菌作用有效成分的研究报告很少。据文献^[9]，Costa Rica 地方民间曾用 *Cassia reticulata* 叶的浸出物口服以治疗淋病。1947年，Robbins, Kavanagh 和 Thayer 等^[10,11]曾从此叶分离出一种 Cassic acid，发现其对金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、草分枝杆菌、淋病双球菌、蕈状菌及包皮垢菌等有显著抑制作用，其抑菌最低浓度为4—32微克/毫升；但对大肠杆菌、肺炎杆菌及绿脓杆菌等作用并不显著。其后 Anchel^[12]证明 Cassic acid 即为大黄酸，Alicia 等^[13]也证明 Cassia 和大黄的抗菌成分主要是大黄酸。至于大黄中其他蒽醌衍生物及非蒽醌衍生物是否也有抗菌作用迄未见有报告，前人所试验的细菌种类也只限几种，因此有必要就大黄中各种蒽醌衍生物及非蒽醌衍生物对多种细菌的抗菌效价进行系统的研究。

实验材料与方 法

药品：实验所用大黄为西宁大黄，系购自天津药材公司，并经天津市药品检验所鉴定为 *Rheum Palmatum* L. 以系统分离法^[14]提出各种蒽醌衍生物的结晶，如：大黄酸、大黄素、芦荟大黄素、大黄酚及大黄酚与大黄素甲醚混合物。后者较难分离，初步试验证明其抑菌效价不高，故未进一步进行分离。至于大黄中其他药用成分（非蒽醌衍生物）如三羟二氢蒽（熔点 256°C）、桂皮酸（熔点 133°C）、没食子酸（熔点 220°C）及未知物（340°C 仍不熔）等，虽未做系统抑菌试验，但也曾以对蒽醌衍生物敏感的金黄色葡萄球菌试验其有无抗菌作用。分离出的各种结晶均经颜色、结晶形状、熔点及纸上层析系数 (R_f)^[15]等方法鉴定为纯品，结果见表1。将各种结晶制成钠盐溶液，基础溶液的浓度一般为1.2毫克/毫升。

表1 大 黄 蒽 醌 衍 生 物

名 称	结晶颜色和形状	熔 点 °C	纸上层析 R_f 值 (甲醇-石油醚体系)
大 黄 酸	黄 色 细 针 状	318—320	0.00
芦 荟 大 黄 素	橙 色 针 状	216—220	0.13
大 黄 素	橙 色 大 针 状	251—254	0.50
大 黄 酚	金 黄 色 针 状 闪 光	189—190	0.95
大 黄 素 甲 醚 + 大 黄 酚	浅 黄 色 针 叶 状	180—182	0.90

培养基: 一般細菌用豆湯培养基,嗜血性細菌另加羊血清。

菌种及接种液: 試驗菌种是用天津医科大学微生物教研組菌种室所保存者。將試驗菌种接种 2 白金耳于 2 毫升豆湯培养基中, 37°C 培养 6—8 小时后, 取 4 白金耳加入 8 毫升豆湯中制成接种液。試驗菌每次接种前及增菌后均經涂片染色, 无杂菌污染者方进行試驗。

方法: 將含一定量浓度的葯品溶液置于試管中, 在水浴煮沸消毒半小时, 冷却后照常規方法以培养基逐級稀釋成不同浓度, 每管总体积为 1 毫升, pH 为 7.5—7.9, 然后在 37°C 检菌, 如无細菌生长即可备用。用无菌滴管吸取接种液, 加入含不同浓度葯品的培养基中, 每管 2 滴, 接种后置 37°C 培养 18—24 小时, 观察結果。每次試驗均有不含葯品的培养基, 接种同样試驗菌液, 作为生长对照。

实验結果与討論

大黃中蒽醌衍生物对 26 种細菌的抗菌效价的測定結果如表 2。至于非蒽醌衍生物对金黄色葡萄球菌的抗菌效价为: 三羟二氢蒽及沒食子酸均为 100 微克/毫升, 桂皮酸 800

表 2 大黃蒽醌衍生物抑菌最低浓度
(微克/毫升, 18 小时)

菌 名	大 黄 酸	大 黄 素	芦荟大黄素	大黄素甲醚+ 大黄酚
白色葡萄球菌	12.5	12.5	1.56	100
檸檬色葡萄球菌	25	12.5	3.12	100
金黄色葡萄球菌	25	12.5	6.25	200
甲型鏈球菌	<25	<25	<25	300
乙型鏈球菌	100	100	25	100
枯草杆菌	200	50	100	>200
白喉杆菌	50	<25	<25	200
类白喉杆菌	200	>200	200	>200
肺炎球菌	100	200	200	400
炭疽杆菌	50	12.5	50	200
鼠疫杆菌	300	300	400	200
猪布魯氏杆菌	200	200	300	100
牛布魯氏杆菌	200	300	400	200
羊布魯氏杆菌	400	400	400	200
大腸杆菌	400	500	600	>200
伤寒杆菌	12.5	300	200	300
副伤寒甲杆菌	25	100	50	100
副伤寒乙杆菌	100	200	100	100
志賀氏痢疾杆菌	<25	<25	100	<25
斯氏痢疾杆菌	50	25	50	200
佛氏痢疾杆菌	100	100	50	100
宋内氏痢疾杆菌	400	400	200	100
肺炎杆菌	400	>600	600	>200
变形杆菌	400	400	400	>200
綠脓杆菌	600	>600	>600	>200
腸炎杆菌	400	>600	600	>200

微克/毫升,未知物(340°C 仍不熔者)无抗菌作用。

从以上实验結果可以看出下列几点:

1. 就所試驗的 26 种細菌而言,大黃中各种蒽醌衍生物都有不同程度的抗菌作用。其中以大黃酸、大黃素及芦荟大黃素三者的抗菌作用較強;而大黃酚+大黃素甲醚及其他非蒽醌衍生物則較差。

2. 对大黃酸、大黃素及芦荟大黃素較敏感(100 微克/毫升以下)的細菌为:葡萄球菌(包括白色、柠檬色和金黄色)、鏈球菌(包括甲型和乙型)、白喉杆菌、枯草杆菌、炭疽杆菌、副伤寒杆菌(包括甲和乙)及痢疾杆菌(包括志賀氏、斯氏和佛氏)等 14 种細菌,占所試驗菌种的一半以上;而对各种葡萄球菌和甲型鏈球菌的作用为最強,1.56—25 微克/毫升即可抑制。伤寒杆菌一般不敏感,但对大黃酸相当敏感,12.5 微克/毫升即可抑制。

3. 大黃酚+大黃素甲醚的抗菌作用較差,除了在 <25 微克/毫升可抑制志賀氏痢疾杆菌以外,对其他試驗細菌的抑菌浓度需 100 微克/毫升以上。至于非蒽醌衍生物如三羧二氢蒽、沒食子酸及桂皮酸等抗菌作用也差,以对蒽醌衍生物最敏感的金黄色葡萄球菌而言,非蒽醌衍生物的抑菌浓度也需 100 微克/毫升以上。

4. 从大黃水煎剂抗菌效力的結果^[5]来看,与本实验結果大致符合,因此可以初步得出結論:大黃的抗菌有效成分主要是蒽醌衍生物,尤其是大黃酸、大黃素和芦荟大黃素。其他蒽醌衍生物如大黃高酸因含量很低,未做系統观察。Rhaponticin 系存在于另一品种的大黃(*R. rhaponticum*)中,国产大黃中一般不含,并且据报告^[7],該物質并无抗菌作用。至于大黃中非蒽醌衍生物,經初步試驗,抗菌作用也不強。

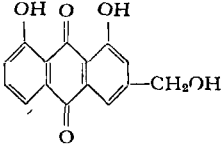
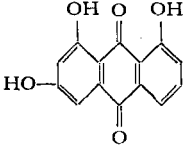
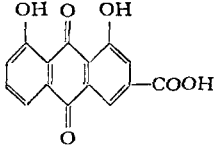
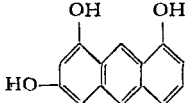
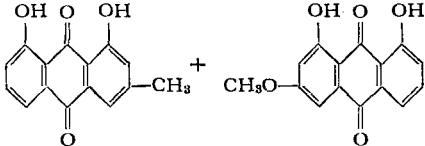
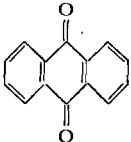
5. 大黃酸、大黃素和芦荟大黃素的抗菌作用較強,而大黃素甲醚+大黃酚及蒽醌本身的抗菌作用較差^[6],由此可以看出,大黃蒽醌衍生物的抗菌效价与化学結構和性質有密切关系,例如:大黃酸 1,9 位有两个羥基,3 位有一个羧基;大黃素和芦荟大黃素除 1,9 位有两个羥基以外,前者在 7 位多一个羥基,后者在 3 位多一个羥甲基。这三种蒽醌衍生物的酸性都較強,抗菌效价也較高。大黃酚+大黃素甲醚虽然 1,9 位有两个羥基,但前者在 3 位系甲基,后者在 7 位系甲氧基,所以酸性較弱,抗菌效价也較低。蒽醌本身因为沒有这些酸性基,几乎沒有抗菌作用。至于三羧二氢蒽虽与大黃素相似,在 1,7,9 位有三个羥基,但非蒽醌的結構,虽有抗菌作用,但也不強。

根据以上初步結果,可以看出大黃中蒽醌衍生物抗菌作用必須具备的基本結構是:1,9-二羥蒽醌,并在 7 位有一羥基(大黃素)或者在 3 位有一羧基(大黃酸)或羥甲基(芦荟、大黃素)。如果 3 位是甲基(大黃酚)或 7 位是甲氧基(大黃素甲醚),或 1,9 位缺少羥基(如蒽醌),或蒽醌衍生物变为蒽的衍生物(如三羧二氢蒽),則抗菌作用大为削弱。茲将化学結構与抗菌效价的关系列如表 3。

小 結

就所試驗的 26 种細菌而言,大黃抗菌有效成分主要是蒽醌衍生物,其中以大黃酸、大黃素和芦荟大黃素作用最好。較敏感的細菌为葡萄球菌、鏈球菌及白喉、枯草、炭疽、伤寒(仅对大黃酸敏感)、副伤寒和痢疾等杆菌,尤以葡萄球菌和鏈球菌最为敏感(1.5—25 微克/毫升)。大黃酚+大黃素甲醚作用最差,除了在 <25 微克/毫升可抑制志賀氏痢疾杆菌而

表 3 大黃蒽醌衍生物抗菌效价与化学结构的关系

名 称	化 学 结 构	抗菌效价, 微克/毫升 (以对金黄色葡萄球菌为例)
芦荟大黄素		6.25
大 黄 素		12.5
大 黄 酸		25.0
三 羟 二 氢 蒽		100
大黄酚 + 大黄素甲醚		200
蒽 醌		无抗菌作用

外,对其他细菌都不很敏感(100 微克/毫升以上)。大黄中非蒽醌衍生物如三羟二氢蒽、没食子酸及桂皮酸等的抗菌作用都不强,例如对金黄色葡萄球菌,抑菌浓度需 100 微克/毫升以上。

实验结果也表明,大黄蒽醌衍生物的抗菌作用与其化学结构有密切关系:1, 9-二羟蒽醌为必需具备的基本结构,在 7 或 3 的位置上添加酸性基如羧基、羟基或羟甲基等,则抗菌作用大为增强;如果 1, 3, 7, 9 位缺少这些酸性基,或蒽醌衍生物变为蒽的衍生物,则抗菌作用大为削弱。

参 考 文 献

- [1] Forest Huddleson, Jean Du Frain, Barrow, K. C. and Marjavia Griefel, Antibacterial Substances in Plants. I. *J. Am. Med. Assoc.*, 1944, **105**, 1663.
- [2] 徐仲吕, 97 种中葯对志賀氏菌液之体外抗生实验研究. 中华医学杂志, 1947, **33**, 71—75.
- [3] Gaw, Z. Y. and Wang, H. P., Survey of Chinese Drugs for Presence of Antibacterial Substances. *Science*, 1949, **110**, 11—12.
- [4] 张維西, In Vitro Antibacterial Activity of Some Common Chinese Herbson Gram-positive Aerobic Bacterial. *Chin. med. J.*, 1949, **67**, 645—656.
- [5] 刘国声, 中葯抗生力研究. 中华新医学报, 1950, **1**, 95—97, 285—289.
- [6] 刘国声、张維西, In Vitro Antibacterial Activity of Some Common Chinese Herbs on Gram-negative Intestinal Pathogens. *Chin. Med. J.*, 1950, **68**, 307—312.
- [7] Renzo Benigni, Substances with Antibiotic Action Contained in Anthraquinonic Drugs. *Fitoterapia*, 1950, **21**, 97; *Chem. Abst.*, 1950, 11036a.
- [8] 前野繁清、植田明, 汉方处方的抗菌性的研究. 日本葯学杂志, 1951, **71**, 86.
- [9] 林启寿, 植物葯品化学, 1956, 472 頁, 人民卫生出版社.
- [10] Robbins, Kavanagh and Thayer, Antibiotic Action of Cassia Reticulata Willd. *Bull. Torrey Botan. Club*, 1947, **74**, 287—292. *Biol. Abst.*, 1948, 16621.
- [11] Frederick Kavanagh, Antibacterial Substances from Fungi and Green Plants. *Adv. in Enzymology*, 1947, **7**, 401, Interscience Publishers Inc.
- [12] Anchel, M., Identification of the Antibiotic Substance from Cassia Reticulata as 4,5-Dihydroxyanthraquinone-2-carboxylic Acid. *J. Biol. Chem.*, 1949, **177**, 169.
- [13] Alicia Marques Mesa, Jesus Guzman Garcia, Rena O. Gravioto and Jose de la Torre, Antibiotic Properties of Some Extracts of Higher Plants. *Ciencia e. Invest.*, 1950, **6**, 471—476; *Chem. Abst.*, 1951, 702h.
- [14] 陈琼华、苏学良, 中葯大黃蒽醌衍生物的簡易系統分离法, 天津医学院論文集, 第三輯, 1962, 53—56 頁, 天津医学出版.
- [15] 苏学良、陈琼华, 中葯大黃蒽醌衍生物的紙上层析, 葯学学报, 待发表.
- [16] Donatelli, L. and Davoli R., *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1946, **21**, 134; *Chem. Abst.*, 1946, 72824.

STUDIES ON CHINESE RHUBARB

I. PRELIMINARY STUDY ON THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ANTHRAQUINONE DERIVATIVES OF CHINESE RHUBARB (*RHEUM PALMATUM* L.)

CHEN CHIUNG-HUA, CHENG WU-FEI, SU HSUEH-LIANG
AND LAI WEI-SHENG

(Departments of Biochemistry and Microbiology, Tientsin Medical College, Tientsin)

ABSTRACT

Pure crystalline anthraquinone derivatives have been isolated from Chinese rhubarb (*Rheum palmatum* L.), and their antibacterial activity on 26 different species of pathogenic bacteria is investigated. From the preliminary result, it is observed that the antibacterial effect of rhubarb is mainly, though not exclusively, due to anthraquinone derivatives, among which rhein, emodin and aloe-emodin are more active. These derivatives are active against *Staphylococci*, *Streptococci*, *Cory. diphtheriae*, *B. substilis*, *B. anthracis*, *Sal. paratyphi*, *Shigella dysenteriae*, and *Sal. typhi* (the last one sensitive to rhein only). The staphylococci and streptococci are highly sensitive, being inhibited even at a concentration of 1.5—25 γ /ml. Other derivatives such as emodin monomethyl ether plus chrysophanol are less effective: they show bacteriostatic action only on *Sh. dysenteriae* at a concentration of 25 γ /ml., and require much higher concentration (100—600 γ /ml.) for other pathogens.

As to non-anthraquinone derivatives, such as trihydroxy-dihydroanthracene, gallic acid, cinnamic acid, etc., the bacteriostatic activity is much inferior. For example, a concentration higher than 100 γ /ml. is required to inhibit the anthraquinone-derivative-sensitive staphylococci.

The antibacterial effect of anthraquinone derivatives of Chinese rhubarb is related to their chemical structure. 1,9-Dihydroxyanthraquinone is the prerequisite of the fundamental structure. If acidic groups such as carboxyl group, hydroxyl group or methyl hydroxyl group are added at position 7 or 3, the bacteriostatic activity is much enhanced. On the other hand, if such groups are absent from position 1, 3, 7, or 9 or anthraquinone derivatives become anthracene derivatives, the inhibitory effect is much reduced.