

## 海南岛6种药用植物提取物抑菌活性的研究

陈忠 张晓婷 高唐英 刘佳 李继东 陈光英\* (海南师范大学热带药用植物化学省重点实验室, 海南海口571158)

**摘要** [目的] 测定6种海南药用植物提取物的抑菌活性, 为其合理开发提供参考。[方法] 采用常规扩散法测定猪肚木(根、茎、叶)、血桐、黄皮(核、叶)、鸡屎藤(茎、叶)、毛鸡屎藤叶、苍耳的不同极性溶剂提取浸膏对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、毛霉和黑曲霉的抑制活性。[结果] 猪肚木茎氯仿提取物、血桐没食子酸粗提物、黄皮果核石油醚提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌具有明显的抑制作用, 且血桐没食子酸粗提物对毛霉、黑曲霉生长也有抑制作用。[结论] 猪肚木茎氯仿提取物、血桐没食子酸粗提物和黄皮果核石油醚提取物具有抗菌活性。

**关键词** 猪肚木; 血桐; 黄皮; 抑菌活性

中图分类号 S567.1+9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)07-03033-02

## Study on the Antimicrobial Activities of Extracts from Six Kinds of Medicinal Plants in Hainan Island

CHEN Zhong et al (Key Lab of Tropical Medicinal Plant Chemistry of Hainan Province, Hainan Normal University, Haikou, Hainan 571158)

**Abstract** [Objective] The research aimed to study the antimicrobial activities of extracts from 6 kinds of medicinal plants from Hainan Island and provide references for their reasonable development. [Method] The conventional diffusion method was applied to test the antimicrobial activities of different polar solvent extracts from *Canthium horridum*, *Mcaranga tanarius*, *Clausena lansium*, *Paederia scandens*, *Paederia cavalerie* and *Xanthium sibiricum* on *Escherichia coli*, *Streptomyces aureus*, *Bacillus subtilis*, *mucor* and *Aspergillus niger*, respectively. [Result] The chloroform extracts from *C. horridum*, gallic acid crude extracts from *M. tanarius*, petroleum ether extract from fruit core of *C. lansium* had obvious antimicrobial effects on *E. coli*, *B. subtilis* and *S. aureus*. And gallic acid crude extracts from *M. tanarius* had antimicrobial effects on *mucor* and *A. niger*. [Conclusion] The chloroform extracts from *C. horridum*, gallic acid crude extracts from *M. tanarius* and petroleum ether extracts from fruit core of *C. lansium* had antimicrobial activities.

**Key words** *Canthium horridum*; *Mcaranga tanarius*; *Clausena lansium*; Antimicrobial activity

植物源药物具有取材天然、来源广泛、作用平稳、毒副作用相对较小等优点, 是无公害农药生产的理想来源<sup>[1-2]</sup>。从植物特别是药用植物中寻找生物活性物质是创制新型农药的重要途径之一。猪肚木、血桐、黄皮、鸡屎藤、毛鸡屎藤、苍耳是海南民间较为常见的药用植物。因此, 笔者对其不同部位不同溶剂的提取物进行抑菌活性测试, 以期为进一步分离纯化及药物的研发提供思路和理论依据。

## 1 材料与方

**1.1 材料** 供试菌种: 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、毛霉和黑曲霉均由海南师范大学生科院何斌老师提供。植物提取物: 猪肚木(根、茎、叶) 正丁醇、乙酸乙酯、石油醚、氯仿提取物; 血桐正丁醇、乙醇、乙酸乙酯、石油醚、没食子酸(XTX)、-萘酚(XPY)提取物; 黄皮果核乙醚、乙酸乙酯、石油醚提取物, 黄皮叶乙醚、石油醚提取物; 鸡屎藤叶乙醇、乙醚、石油醚提取物, 鸡屎藤茎乙醇、乙醚提取物, 不分部位的鸡屎藤丙酮、乙酸乙酯、石油醚、氯仿提取物; 毛鸡屎藤叶乙醇、乙醚提取物; 苍耳水、乙醇提取物均由海南省热带药用植物化学重点实验室提供。

**1.2 方法** 使用前按一定比例配制成0.025、0.050、0.075、0.100、0.125、0.150、0.175、0.200 g/ml 浓度梯度的样品, 于冰箱(0~4℃) 储存备用<sup>[3]</sup>。用配好的不同浓度梯度的提取液浸透滤纸片( $d=12.56$  mm), 待其自然晾干后放入接有菌种的培养皿中, 每个培养皿中放置3片, 每个样本做6个平行样, 另一个培养皿中放入空白滤纸片作对照。利用扩散作用, 使滤纸片的药品溶入培养基中<sup>[4-6]</sup>。细菌在经过24 h, 37℃, 真菌在经过48 h, 28℃培养后<sup>[7]</sup>, 观察培养皿中是否有抑菌圈, 有抑菌圈的用游标卡尺采用十字交叉法测量其抑菌圈大小, 抑菌圈直径计算公式:

$$d = \bar{x} \pm SD$$

式中,  $\bar{x} = \sum X / n$ ,  $SD = \sqrt{\frac{X^2 - (\sum X)^2 / n}{n - 1}}$ ,  $n=6$ , 取平均值。

## 2 结果与分析

**2.1 猪肚木各器官提取物对供试菌的抑菌效果** 猪肚木根、叶溶剂提取物与茎正丁醇、乙酸乙酯、石油醚提取物对5种供试菌均无抑菌效果, 但猪肚木茎氯仿提取物对3种供试细菌具有抑菌效果, 对2种供试真菌无抑菌效果。由表1可知, 猪肚木茎氯仿提取物的最低抑菌浓度为0.075 g/ml, 最小抑菌直径为14.2 mm, 最大的为22.0 mm。

表1 猪肚木茎氯仿提取物对供试细菌的抑菌效果

Table 1 The inhibition effect of chloroform extracts from the stems of *Canthium horridum* on the test bacteria

浓度 g/ml	大肠杆菌 mm	枯草杆菌 mm	金黄色葡萄球菌 mm
Concentration	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
0.025	0	0	0
0.050	0	0	0
0.075	14.2 ± 0.18	15.0 ± 0.94	19.6 ± 0.60
0.100	16.0 ± 1.90	17.5 ± 1.37	19.9 ± 1.10
0.125	20.6 ± 1.08	15.3 ± 0.75	21.4 ± 0.94
0.150	20.5 ± 0.63	19.2 ± 0.69	18.6 ± 0.83
0.175	20.6 ± 1.18	22.0 ± 0.80	18.7 ± 1.24
0.200	20.7 ± 1.10	22.0 ± 2.23	20.7 ± 0.46

注: 0 为没有抑菌效果; 表中数据已减去空白对照。下同。

Note: 0 stands for no antibacterial effect; The data are the results with removing blank control. The same as below.

**2.2 黄皮各器官提取物对供试菌的抑菌效果** 黄皮各提取物对供试真菌均无抑制作用。由表2可知, 黄皮果核乙醚、石油醚提取物对供试细菌均有抑菌效果, 石油醚提取物比乙醚提取物的抑菌效果明显, 最大抑菌直径为23.20 mm, 但乙酸乙酯提取物只能抑制金黄色葡萄球菌, 抑菌直径为15.90 mm; 黄皮叶石油醚仅对大肠杆菌、枯草杆菌均有抑菌效果, 而其乙醚提取物只对枯草杆菌具有抑菌效果。

基金项目 教育部重点科技项目资助(207090)。

作者简介 陈忠(1963-), 男, 海南海口人, 教授, 从事天然产物药理学研究。\*通讯作者, E-mail: chgying123@163.com。

收稿日期 2008-12-08

表2 黄皮提取物对供试细菌的抑菌效果

Table 2 The inhibition effect of extracts from *Causena lansium* on the test bacteria

部位	提取物	大肠杆菌	枯草杆菌	金黄色葡萄球菌
Parts	Extracting agents	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
果核 Core	乙醚	17.86 ±0.83	15.22 ±0.88	21.56 ±1.11
	石油醚	19.60 ±1.49	17.00 ±0.40	23.20 ±0.46
	乙酸乙酯	0	0	15.90 ±1.38
叶 Leaves	石油醚	15.00 ±0.94	14.00 ±0.28	0
	乙醚	0	18.00 ±0.03	0

2.3 血桐提取物对供试菌的抑菌效果 由表3可知,血桐石油醚提取物对枯草杆菌最小抑菌直径为16.1 mm,最大为

18.6 mm,对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度为0.050 g/ml,最小抑菌直径为15.5 mm,最大为20.1 mm,对其他3种菌无抑菌效果;乙醇提取物只对枯草杆菌、金黄色葡萄球菌有抑菌作用,最小抑菌直径为15.3 mm,最大为21.7 mm;乙酸乙酯提取物对3种细菌具有抑菌作用,对真菌无抑菌作用,最小抑菌直径为15.7 mm,最大为21.8 mm;正丁醇提取物只对金黄色葡萄球菌具有抑菌作用,最小抑菌直径为16.1 mm,最大为20.2 mm;XPY提取物对3种细菌均具有抑菌效果,对2种真菌无抑菌效果,最大抑菌直径为24.3 mm;XTX提取物对供试5种菌都有抑菌效果,且对真菌的抑菌效果比对细菌的效果明显,最大抑菌直径可达42.4 mm。

表3 血桐提取物对供试菌的抑菌效果

Table 3 The inhibition effect of extracts from *Micranga tanarius* on the test bacteria

提取物	浓度 g/ml	大肠杆菌	枯草杆菌	金黄色葡萄球菌	毛霉	黑曲霉
Extracting agents	Concentration	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Micor</i>	<i>Aspergillus niger</i>
石油醚 Petroleum ether	0.025	0	16.1 ±0.20	0	0	0
	0.050	0	17.5 ±1.14	15.5 ±0.79	0	0
	0.075	0	18.0 ±0.89	17.3 ±0.82	0	0
	0.100	0	18.6 ±1.88	20.1 ±0.99	0	0
乙醇 Ethanol	0.025	0	15.3 ±1.64	15.7 ±0.57	0	0
	0.050	0	17.7 ±1.31	15.3 ±0.82	0	0
	0.075	0	20.6 ±0.53	17.2 ±0.45	0	0
	0.100	0	21.7 ±0.79	19.7 ±0.86	0	0
乙酸乙酯 Ethyl acetate	0.025	0	18.1 ±0.79	17.7 ±0.25	0	0
	0.050	0	19.7 ±1.43	21.2 ±0.66	0	0
	0.075	0	18.8 ±0.99	21.8 ±0.38	0	0
	0.100	15.7 ±0.59	20.4 ±0.90	21.8 ±0.76	0	0
正丁醇 n-butanol	0.025	0	0	16.1 ±0.11	0	0
	0.050	0	0	18.5 ±0.72	0	0
	0.075	0	0	19.0 ±0.42	0	0
	0.100	0	0	20.2 ±0.81	0	0
XPY	0.025	0	0	0	0	0
	0.050	0	0	0	0	0
	0.075	16.8 ±1.50	17.8 ±1.90	0	0	0
XTX	0.100	18.9 ±1.25	24.3 ±1.82	>0	0	0
	0.025	16.6 ±0.77	26.1 ±0.21	24.3 ±0.39	39.5 ±0.51	40.0 ±0.41
	0.050	18.7 ±1.36	26.5 ±0.43	24.4 ±0.96	39.7 ±0.37	41.3 ±1.04
	0.075	20.7 ±0.67	29.3 ±0.68	24.6 ±0.53	41.0 ±1.17	42.2 ±1.11
	0.100	25.2 ±0.44	29.3 ±1.29	25.3 ±1.32	41.3 ±0.81	42.4 ±2.43

注: >0 表示有抑菌圈但无法测量。

Note: >0 stands for having unmeasured antibacterial circle.

2.4 鸡屎藤、毛鸡屎藤、苍耳提取物对供试菌的抑菌效果

鸡屎藤9种提取物、毛鸡屎藤2种提取物、苍耳2种提取物对供试的3种细菌与2种真菌均无抑制作用。

### 3 小结与讨论

(1) 血桐XTX提取物的抑菌范围比其他35种提取物的抑菌范围广,对供试的5种菌均具有抑制作用,且抑菌效果比其他提取物明显,对黑曲霉的抑菌直径可达42.4 mm,因此血桐XTX提取物具有开发植物源药物的潜能。

(2) 猪肚木茎氯仿提取物对供试细菌具有抑制作用,而其根、叶氯仿提取物却无抑制作用,可能是由于植物的不同器官所含的化学成分种类和抑菌物质的含量不同。目前对猪肚木抑菌成分的研究甚少,到目前为止,只有Herath等从鱼骨木属植物中分离到了2个生物碱类化合物<sup>[8]</sup>,但该属植

物的化学成分和药理活性还有待于进一步深入系统研究。

(3) 黄皮果核、叶不同有机溶剂的提取物抑菌效果不同,因为不同的有机溶剂对抗菌有效成分的影响不同。目前,医药界对黄皮各组织的化学成分均已进行了研究。A. Chakraborty等研究结果显示,黄皮中所含的咪唑类生物碱活性物质对革兰氏阴性、阳性菌有良好的抑制活性<sup>[9]</sup>。从潘瑞乐对黄皮属植物研究<sup>[10]</sup>及刘序铭等对黄皮(E)-N(2-苯乙基)肉桂酰胺成分的研究<sup>[11]</sup>,可推测黄皮有效抑菌活性成分可能是酰胺类化合物。

(4) 试验中血桐的6种提取物都具有抑菌效果,且XTX提取物的抑菌谱最广。目前对血桐的相关报道较少,王天山等从血桐茎皮的石油醚提取浸膏中分离得到3个甾体化合

(下转第3050页)

取率均无显著影响,最佳组合为 $A_1B_4C_3D_3$ 。由于因素B、D对咖啡酸乙酯提取率影响不大,为节约试剂和能源,建议在工业生产中选择 $B_3D_2$ 这两个水平进行提取。综上所述,从牵牛子中同时提取咖啡酸、咖啡酸乙酯的最佳条件为 $A_1B_3C_3D_2$ ,即提取剂为95%乙醇,提取温度为70℃,料液比为1:20,提取时间为4 h。

表2  $L_{16}(4^4)$  正交试验结果Table 2 The results of  $L_{16}(4^4)$  orthogonal experiment

试验号 Est No.	A	B	C	D	咖啡酸 提取率 % Extraction rate of caffeic acid	咖啡酸乙酯 提取率 % Extraction rate of ethyl caffeate
1	1	1	2	2	0.314	0.200
2	1	2	3	3	0.332	0.035
3	1	3	4	4	0.294	0.023
4	1	4	1	1	0.295	0.029
5	2	1	1	4	0.193	0.018
6	2	2	4	1	0.241	0.021
7	2	3	3	2	0.290	0.027
8	2	4	2	3	0.170	0.030
9	3	1	4	3	0.187	0.022
10	3	2	1	2	0.204	0.022
11	3	3	2	1	0.221	0.026
12	3	4	3	4	0.244	0.023
13	4	1	3	1	0.255	0.018
14	4	2	2	4	0.174	0.020
15	4	3	1	3	0.176	0.020
16	4	4	4	2	0.213	0.024
$R_i(CA)$	0.104	0.014	0.063	0.040		
最佳组合	$A_1$	$B_3$	$C_3$	$D_2$		
Optimum combination						
$R_i(EC)$	0.007	0.007	0.004	0.006		
最佳组合	$A_1$	$B_1$	$C_3$	$D_3$		
Optimum combination						

注:CA代表咖啡酸(caffeic acid);EC代表咖啡酸乙酯(ethyl caffeate)。

Nte: CA stands for caffeic acid and EC stands for ethyl caffeate.

(上接第3034页)

物,2个三萜类化合物和没食子酸乙酯<sup>[12]</sup>。从该属植物已经报道的化合物中,具有重要的抗环氧化酶2活性<sup>[13]</sup>,也有抗菌活性<sup>[14]</sup>。因此,该试验的结果将会为血桐的进一步研究提供理论依据。

#### 参考文献

- [1] 陈利军,尹健,熊建伟,等.7种药用植物提取物抑菌活性测定[J].安徽农业科学,2006,34(21):5562-5571.
- [2] 刘胜贵,徐方美,张兰兰,等.植物提取物体外抑菌试验的方法研究[J].怀化学院学报,2006,24(2):67-69.
- [3] 冯俊涛,祝木金,于平儒.西北地区植物源杀菌剂初步筛选[J].西北农林科技大学学报,2002,30(6):129-137.
- [4] 黄秀梨.微生物学实验指导[M].北京:高等教育出版社,1997.
- [5] 张治琰.抗生素药品检验[M].北京:人民卫生出版社,1987.
- [6] 吴秩清.使用天然抗菌化合物保护作物[J].农药译丛,1996,18(3):9-12.
- [7] 郭爱莲,张顾红,李轶.15种中草药材菌效果及机理的研究[J].西北大学学报,1996,26(3):243-246.
- [8] HERATH WH MW,SULTANBAYA MUS. Alkaloidal and other constituents of *Uncaria elliptica* and *Cantium decocum*[J].Phytochemistry,1979,18:1385-1387.

2.3 验证试验 根据试验结果,在最佳条件 $A_1B_3C_3D_2$ 下进行3次验证试验,得到咖啡酸提取率分别为0.330%、0.335%、0.334%,平均提取率为0.333%;咖啡酸乙酯提取率分别为0.031%、0.030%、0.034%,平均提取率为0.032%,平均提取率与表2中数据相比分别高于和仅次于最高值。

#### 3 结论与讨论

《中国药典》<sup>[1]</sup>指出,牵牛子中咖啡酸和咖啡酸乙酯的总量不得少于0.200%。该试验得到咖啡酸和咖啡酸乙酯的总量为0.365%,符合药典的要求,产率较高。

由于咖啡酸和咖啡酸乙酯物理化学性质比较相近,且具有相同的最大紫外吸收波长,给测定两者中单一物质的含量带来了困难。笔者选用有机溶剂萃取法将两者分离出来,操作简便快捷,分离效果好。

在提取过程中,随着乙醇体积分数的降低,牵牛子中越来越多的蛋白质等杂质溶入提取液中,过滤困难,需要用体积分数较高的乙醇将其析出才能进行后续试验。该试验结果表明,从牵牛子中同时提取咖啡酸、咖啡酸乙酯的最佳组合为 $A_1B_3C_3D_2$ ,即提取剂为95%乙醇,提取温度为70℃,料液比为1:20,提取时间为4 h。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:化学工业出版社,2005:177-178.
- [2] 朱颜.中药的药理与应用[M].北京:人民卫生出版社,1958:201.
- [3] GULLINI. Antioxidant activity of caffeic acid[J]. Toxicology,2006,217:213-220.
- [4] 齐悦,王玉丽,张士俊,等.抗炎天然产物研究进展[J].中草药,2007,38(12):1761-1770.
- [5] 陶君彦,熊富良,张琼光,等.木瓜药材中绿原酸、咖啡酸提取工艺研究[J].中成药,2007,29(6):904-906.
- [6] 张西如,姜建国.正交试验研究蒲公英注射液的提取工艺[J].中成药,2007,29(7):1075-1077.
- [9] CHAKRABORTY A,CHOWDHURY B K,BHATTACHARYYA P. Clausenol and clausenine - two carbazole alkaloids from *Clausena anisata*[J].Phytochemistry,1995,40(1):295-298.
- [10] 潘瑞乐,朱兆仪.黄皮属药用植物研究进展[J].国外医药·植物药分册,1990,5(6):335-337.
- [11] 刘序铭,万树青.黄皮不同部位(E)-N-(2-苯乙基)肉桂酰胺的含量及杀菌活性[J].农药,2008,47(1):33-35.
- [12] 王天山,刘冰晶,华淑艳,等.海南血桐茎皮脂溶性甾体和三萜类化学成分研究[J].中药材,2008,31(3):372-374.
- [13] BEUTLER J A,SHOEMAKE R H,TANYA JOHNSON,et al. Cytotoxic Geranyl Silbenes from *Mcaranga schweinfurthii*[J].J Nat Prod,1998,61:1509-1512.
- [14] SALAH MA,ERDAL BEDR,TOYANG NJ,et al. Antifungal deroid diterpenes from *Mcaranga nonandra*(L.) Miell. Et Arg.(Euphorbiaceae)[J].J Agric Food Chem,2003,51:7606-7610.
- [15] 王春娟,谢慧琴,吴晓峰,等.新疆五种特色植物提取物抑菌活性初步研究[J].石河子大学学报:自然科学版,2006,24(2):192-194.
- [16] YIN L G,WEI Q,ZHANG C,et al. Antifungal activity of extracts from *Cero-dendrum burgei* leaves against two species of phytopathogens[J].Agricultural Science & Technology,2008,9(1):143-145.
- [17] 李玲玲,周文明,洪东风,等.海桐种子及果皮抑菌活性初步研究[J].西北农业学报,2007,16(3):274-276.