

凤眼草抑菌活性成分的研究

宋玉民,王璞玉,卞常鑫,张琼

(西北师范大学化学化工学院,甘肃兰州 730070)

摘要:对苦木科臭椿属植物臭椿的果实凤眼草(*Ailanthus altissima*)的95%乙醇提取液的抑菌活性进行了研究。利用系统溶剂萃取法得到了石油醚提取物、氯仿提取物、乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物,重点研究了4种提取物对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌性和最低抑菌浓度。结果表明,乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物均有不同程度的抑菌活性。

关键词:凤眼草;抑菌活性;最低抑菌浓度

中图分类号:TQ 461

文献标识码:A

文章编号:1672-5425(2011)11-0087-02

凤眼草(*Ailanthus altissima*)为苦木科臭椿属药用植物臭椿的果实,又称臭椿子、春铃子,主要分布于浙江、江苏、湖北、河北、河南、天津、北京、甘肃东南等地,以浙江、河北产量较大。臭椿因具有较好的改善和保护自然环境作用,不同部位可入药且活性较好而受到学者的广泛关注。臭椿各个部位的化学成分及其组分的含量略有不同,例如,其干皮和根皮中主要是苦木苦味素类化合物,其次是生物碱类化合物;叶子中主要是黄酮类化合物;果实中主要是脂肪油类,其次是苦木苦味素类化合物^[1]。臭椿根或干的皮称为槽白皮,又称椿皮,为《中华人民共和国药典》收载品^[2]。迄今为止,人们对臭椿的干皮和根皮做了大量的研究工作,而对其叶与果实研究较少。

臭椿的药理活性多以抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗炎、治疗疟疾等方面为主^[3],具有清热燥湿、涩肠、止血、止带、杀虫等多种功效。早在1966年,美国学者Beurchat等^[4]运用酶水解方法从臭椿叶中制备得到叶绿素酸酯,通过比浊法就其对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和荧光假单胞菌的抗菌活性进行评估,结果发现叶绿素酸酯具有较好的活性。1969年,俄国学者从臭椿叶中分离得到一种具有较好抗病毒效果的成分^[5]。近年来,我国学者沈逸萍^[6]研究发现,凤眼草的水煎煮液对所选的9种菌株均有不同程度的杀菌作用,尤其是对绿脓杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的作用较强。赵春超等^[7~9]从凤眼草的水溶液和95%乙醇提取物中提

取出了40多种化合物,其中黄酮类和木脂素类化合物具有抗菌性。

作者在此对凤眼草的95%乙醇提取液进行了抑菌活性研究,为进一步有效利用凤眼草资源提供一定的依据。

1 实验

1.1 材料、试剂、菌株与仪器

干凤眼草,兰州复兴厚药材公司。

95%乙醇、石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇、甲醇,均为分析纯;营养肉汤,杭州微生物试剂有限公司;琼脂粉,北京奥博星生物技术有限责任公司。

枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、大肠杆菌(*E. coli*)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*),中国典型培养物菌种保藏中心。

R-1002型旋转蒸发仪,牛津杯($\Phi=8$ mm),石家庄伟天科学仪器设备有限公司;TB-85型恒温器,日本岛津公司;LDZX 40CI型立式自动压力蒸汽灭菌锅,上海中安医疗器械厂;DHG9070A型电热恒温干燥箱,上海益恒实验仪器有限公司;生化培养箱,国华电器;SNCJ LBU型无菌操作台,苏净集团安泰公司;DENSIMAT型细菌电比浊仪,法国生物梅里埃公司。

1.2 提取方法

取干凤眼草3.5 kg用95%乙醇室温浸泡7 d,反

基金项目:甘肃省教育厅资助项目(1101-05)

收稿日期:2011-09-09

作者简介:宋玉民(1951-),女,甘肃张掖人,教授,研究方向:生物无机化学,E-mail:songym@nwnu.edu.cn.

复浸泡3次。取上层清液,用旋转蒸发仪蒸馏后得到206.89 g浸膏,浸膏溶解于热水中,依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇反复萃取3次,得到石油醚提取物112.68 g、氯仿提取物19.95 g、乙酸乙酯提取物13.72 g、正丁醇提取物22.18 g。

1.3 培养基的制备及菌种的培养

培养基的制备:300 mL蒸馏水煮沸,按比例准确加入营养肉汤5.4 g、琼脂粉6.0 g,加热煮沸促其溶解,并补足由于蒸发失去的水分,分装于10 mL的菌种管中,高压蒸汽灭菌后制成斜面培养基;将培养基高压蒸汽灭菌后冷却到60℃,倒入已灭菌的培养皿中,水平放置,即得平板培养基。

在培养好的斜面菌种管内加入10 mL无菌水制成菌悬液,用移液枪取200 μL (10^7 cfu \cdot mL $^{-1}$)菌悬液加入到培养皿中,用无菌刮刀涂布均匀,静置片刻。

1.4 抑菌性能测试

采用滤纸片法^[10]测试4种提取物对枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)、大肠杆菌(*E. coil*)的抑菌活性。将4种提取物分别溶解于相应的萃取溶剂中,配制成饱和溶液,将无菌滤纸片(直径 $d=6$ mm)在其中浸渍,分别置于含上述菌的平板培养基上,在37℃培养箱中培养24 h,测量抑菌圈直径的大小。

最低抑菌浓度(MIC)的测定:称取10.8 g营养肉汤溶解在600 mL蒸馏水中,煮沸后得到液体培养基;在每支试管中分别加入5 mL营养肉汤液体培养基,灭菌;采用倍比稀释法,向第一支试管中加入5 mL 4 mg \cdot mL $^{-1}$ 样品,摇匀后取出5 mL加入第二支试管,混匀后取出5 mL加入第三支试管,依此类推,使每支试管中样品的浓度(mg \cdot mL $^{-1}$)分别为2.0、1.0、0.5、0.25、0.125、0.0625;分别向每支试管中加入200 μL 菌液,置于37℃摇床培养18 h后测定MIC。

2 结果与讨论

2.1 抑菌圈

根据《消毒技术规范2002》中对抑菌作用的判断:抑菌圈直径 >20 mm表示抑菌效果强,抑菌圈直径在10~20 mm表示抑菌效果中等,抑菌圈直径 <10 mm表示抑菌效果弱,即抑菌圈直径越大则抑菌活性越高。4种提取物分别对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径大小见表1。

表1 4种提取物的抑菌圈直径/mm

Tab 1 Inhibition zone diameter for four kinds of extracts/mm

细菌种类	石油醚 提取物	氯仿 提取物	乙酸乙酯 提取物	正丁醇 提取物
枯草芽孢杆菌	6.0~6.5	8.0~8.5	9.5~10.0	18.0~18.5
大肠杆菌	7.0~7.5	8.5~9.0	10.5~11.0	16.0~16.5
金黄色葡萄球菌	0	7.5~8.0	12.0~12.5	23.5~24.0

由表1可知,对枯草芽孢杆菌,石油醚和氯仿提取物有弱抑菌性,乙酸乙酯和正丁醇提取物有中等抑菌性。对大肠杆菌,石油醚和氯仿提取物有弱抑菌性,乙酸乙酯和正丁醇提取物有中等抑菌性。对金黄色葡萄球菌,石油醚提取物无抑菌性,而氯仿提取物有弱抑菌性,乙酸乙酯提取物有中等抑菌性,正丁醇提取物的抑菌性较强。

2.2 最低抑菌浓度(MIC)

乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度测试结果见表2。

表2 2种提取物的最低抑菌浓度/mg \cdot mL $^{-1}$

Tab 2 The MIC value of two kinds of extracts/mg \cdot mL $^{-1}$

提取物	枯草芽孢杆菌	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
乙酸乙酯提取物	0.125	0.25	0.5
正丁醇提取物	0.250	0.25	0.5

由表2可知,等量的2种提取物在相同时间内对3种菌的最低抑菌浓度不同。乙酸乙酯提取物对枯草芽孢杆菌的最低抑菌浓度最小,为0.125 mg \cdot mL $^{-1}$;正丁醇提取物对枯草芽孢杆菌和大肠杆菌的最低抑菌浓度均为0.25 mg \cdot mL $^{-1}$ 。由此得出,乙酸乙酯提取物对枯草芽孢杆菌的抑菌效果较好,正丁醇提取物对枯草芽孢杆菌和大肠杆菌的抑菌效果较好。

3 结论

对苦木科臭椿属植物臭椿的果实凤眼草(*Ailanthus altissima*)的95%乙醇提取液的抑菌性进行了研究。利用系统溶剂萃取法得到石油醚提取物、氯仿提取物、乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物,以其对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌进行抑菌实验,结果显示,乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物均具有不同程度的抑菌作用,乙酸乙酯提取物对枯草芽孢杆菌的抑菌效果较好,正丁醇提取物对枯草芽孢杆菌和大肠杆菌的抑菌效果较好,为进一步有效利用凤眼草资源提供了依据。

(下转第92页)

- 版社,1996:222.
- [4] 李咏华,葛发欢,苏薇薇.水母雪莲花研究进展[J].中药材,2004,27(4):297-299.
- [5] 杨若明,蓝叶芬,蓝翁驰,等.两种藏药雪莲花的元素测定[J].中央民族大学学报,2005,14(2):120-123.
- [6] 牛迎风,韩春梅,邵赞,等.十二种花类药材中八种微量元素的含量测定及比较研究[J].光谱学与光谱分析,2009,29(7):1997-2000.
- [7] 许萍,牟仁祥,曹赵云,等.密闭式微波消解方法综述[J].光谱实验室,2009,26(1):57-59.
- [8] 唐睿,李添朋,古学斌,等.ICP-OES法测定穿心莲药材中6种重金属元素溶出特性的研究[J].光谱学与光谱分析,2010,30(2):528-531.
- [9] 吴雪莲,王文华.电感耦合等离子体发射光谱法在食品分析中的应用[J].现代仪器,2009,15(6):15-18.
- [10] 中国营养学会.中国居民膳食营养素参考摄入量[M].北京:中国轻工出版社,2010:144-252.

Determination and Analysis of Mineral Elements of *Saussurea Medusa Maxim.* by the Method of Microwave Digestion and ICP-OES

GU Yuan-zi, RENG Yuan, ZHENG Min-yan, WEI Yong-sheng

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Xianyang Normal University, Xianyang 712000, China)

Abstract: Using wet microwave digestion procedure with $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ to prepare samples, the mineral elements in *Saussurea medusa Maxim.* from the Qing-Tibet plateau were completely determined and analyzed by inductively coupled plasma optical emission spectrometer(ICP-OES). The results showed there were 17 mineral elements in *Saussurea medusa Maxim.*. They were K, Ca, P, Mg, Al, S, Fe, Si, Na, Mn, Ti, Sr, Ba, B, Zn, Cu and Cr. The RSD of the determining result was between 0.60% and 7.25%. Compared to daily foods, the *Saussurea medusa Maxim.* is very rich in Ca, Mg, Fe and Mn, which are parts of necessary metals of the human body. Their qualities were $1724.4 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$, $386.5 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$, $165.5 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ and $8.54 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$, respectively. These results provided some reference to relative research of *Saussurea medusa Maxim.*.

Keywords: *Saussurea medusa Maxim.*; mineral element; ICP-OES; microwave digestion

(上接第88页)

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局中华本草编委会.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1977:3829-3830.
- [2] 姚新生.天然药物化学[M].北京:人民卫生出版社,1988:360-361.
- [3] 吕金顺,熊波,郭迈,等.臭椿中新苦木苦素的结构鉴定[J].中山大学学报,2002,41(3):37-41.
- [4] Beuchat L R, Lechowich R V, Schanderl S H, et al. Inhibition of bacterial growth by chlorophyllide[J]. Quart Bull, 1966, 48(3): 411-416.
- [5] Chirkina N N, Degtyareva A P. Chemical nature of the antiviral principle of some higher plants[C]. Fitontsidy, Mater Soveshch, 1969:147-150.
- [6] 沈逸萍.凤眼草体外抗菌实验研究[J].时珍国医国药,1999,10(7):499-502.
- [7] 赵春超,邵建华,王金辉,等.凤眼草的化学成分[J].中草药,2006,37(12):1768-1771.
- [8] 赵春超,邵建华,李铄.凤眼草化学成分的研究[J].中国中药杂志,2009,34(17):2197-2199.
- [9] 赵春超.凤眼草和蓬子菜化学成分及生物活性研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2007.
- [10] 应建浙,卯晓岚,马启明,等.中国药用真菌图鉴[M].北京:科学出版社,1987:409-449.

Study on Antimicrobial Activity of Constituents in *Ailanthus Altissima*

SONG Yu-min, WANG Pu-yu, BIAN Chang-xin, ZHANG Qiong

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The antimicrobial activity of 95% ethanol extract liquor of *Ailanthus altissima* was studied. Using the system solvent extraction method, four extracts were obtained including petroleum ether extract, chloroform extract, ethyl acetate extract and *n*-butanol extract. The antimicrobial activity and minimum inhibitory concentration of the four kinds of extracts for *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were focused on. Results showed the ethyl acetate extract and *n*-butanol extract had some varying degrees of antimicrobial activity.

Keywords: *Ailanthus altissima*; antimicrobial activity; minimum inhibitory concentration