

# 楚雄地区几种传统中药提取物的生物活性初探

张明, 邹云川, 丁重帅, 夏龙 (楚雄医药高等专科学校药理学系, 云南楚雄 675005)

**摘要** [目的]研究几种楚雄地区常见中药材提取物的抑菌活性。[方法]选取了云南省楚雄地区4种常见中药材,采用不同溶剂,选用回流提取,测定提取物抑菌活性。[结果]山藿香、水金凤、绣球防风、透骨草这4种药用植物采用50%乙醇加热回流提取3次所得产物抑菌效果最好,对4种细菌和2种真菌均有不同程度的抑制作用。[结论]这几种药材来源广、提取方便、抑菌效果好,可为进一步开发提供理论依据。

**关键词** 药用植物;提取物;抑菌活性

中图分类号 S567 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)34-166-02

## Biological Activities of Several Kinds of Traditional Chinese Medicine Extracts in Chuxiong

ZHANG Ming, ZOU Yun-chuan, DING Chong-shuai et al (Department of Pharmacy, Chuxiong Medical College, Chuxiong, Yunnan 675005)

**Abstract** [Objective] The research aimed to study the antibacterial activity of the extract of local Chinese medicinal materials in Chuxiong. [Method] Four kinds of local Chinese medicinal materials in Chuxiong were selected. Biological activity of extracts was determined by different solvents, reflux extraction. [Result] The four kinds of medicinal plants used 50% ethanol to heat reflux and three extract the product to had the best antibacterial effect. To four kinds of bacteria and two kinds of fungi had different degrees of inhibition. [Conclusion] The source of these materials was wide, the extraction was convenient, and the antibacterial effect was good, which can provide a theoretical basis for further development.

**Key words** Medicinal plant; Extract; Antibacterial activity

云南省是世界上药用植物资源分布最多的区域之一,楚雄彝族自治州地处云南省中部,楚雄州境内气候属亚热带季风气候,但由于山高谷深,气候垂直变化明显。因为独特的地理位置和气候条件,楚雄州的动植物资源丰富,楚雄州有林地面积11.54万 $\text{hm}^2$ ,森林面积10.89万 $\text{hm}^2$ ,森林覆盖率达39.5%。楚雄州的植物种类有6000多种,主要是森林、中草药、野生食用菌等,其中药用植物资源丰富,近年来逐渐成为经济发展热门产业<sup>[1-2]</sup>。

山藿香、水金凤、绣球防风、透骨草这几种药用植物在楚雄州内大部分地区都有生长,一直作为地方性传统药材使用,前人多从药用角度进行研究,也有一些药理作用文献报道<sup>[3-5]</sup>,但对这几类药材的抑菌活性等研究未见报道,因此笔者采用带药平板涂布法和菌丝生长速率法分别测定了这几种药材对病原微生物的生物活性,为这些传统药用植物进一步综合开发利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 药材。**山藿香 *Teucrium viscidum* Bl. var. *viscidum*; 水金凤 *Impatiens noli-tangere* L.; 绣球防风 *Leucas ciliata* Benth.; 透骨草 *Phryma leptostachya* L. subsp. *asiatica* (Hara) Kitamura; 所有药材均采自楚雄周边地区,自然晒干,全株粉碎。

**1.1.2 菌种。**细菌:大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、变形杆菌;真菌:白色念珠菌、星状石膏样毛癣菌、红色毛癣菌。

**1.1.3 培养基。**细菌培养基为营养琼脂培养基,真菌培养

基为沙氏培养基。

**1.1.4 仪器。**恒温干燥箱、植物粉碎机、超声波清洗仪、恒温电热套、旋转蒸发仪、手持压力灭菌锅、双人单面无菌操作台、恒温培养箱。

### 1.2 方法

**1.2.1 供试品处理。**分别称取山藿香、水金凤、绣球防风和透骨草各3份,每份48g,编号1#~12#,装入圆底烧瓶;1#、4#、7#、10#加入35%乙醇,2#、5#、8#、11#加入50%乙醇,3#、6#、9#、12#加入蒸馏水,加热回流提取3次,3次回流固液比分别为1:12、1:10、1:8,回收3次溶液,浓缩提取液,转移至容量瓶,定容至100ml,最终得3份山藿香提取液(1#、2#、3#)、3份水金凤提取液(4#、5#、6#)、3份绣球防风提取液(7#、8#、9#)、3份透骨草提取液(10#、11#、12#),测抑菌情况。

**1.2.2 药材提取液对致病细菌抑菌效果测定。**采用带药平板涂布法<sup>[6]</sup>进行测定。

**1.2.2.1 带药平板制备。**将供试菌种在营养琼脂平板培养基上扩大培养,备用。将药材提取液灭菌,备用。无菌条件下,吸取1ml提取液(对照组用无菌水代替)与9ml热熔的培养基混匀,使供试培养基药液浓度为相当于投药量0.048g/ml;倒入直径为9cm的玻璃培养皿中,制成薄厚均匀的带药平板培养基备用。

**1.2.2.2 接种。**用接种环挑取少量供试菌到50ml的无菌水中,制成浓度约 $10^6 \sim 10^7$  cfu/ml的菌悬液。吸取100 $\mu\text{l}$ 菌悬液至对照及带药平板培养基,用灭菌的涂布棒将菌液涂布均匀,每个处理设3个重复。

**1.2.2.3 培养观察。**置于 $27 \pm 1$  °C恒温培养箱中培养,分别于24、48h观察结果,平板上只要有菌落生长,无论菌落大小均用“+”表示,平板上完全没有菌落生长,用“-”表示。

**1.2.3 药材提取液对真菌抑菌效果测定。**白色念珠菌抑菌

**基金项目** 楚雄医药高等专科学校2013年校本项目“几种楚雄地方药材的活性成分初探”。

**作者简介** 张明(1985-),男,云南楚雄人,助教,硕士,从事天然产物提取、分离、纯化与生物活性测定研究。

**收稿日期** 2015-11-05

情况测定,培养基改为沙氏培养基,其余方法与细菌抑菌活性测定相同方法。星状石膏样毛癣菌、红色毛癣菌采用菌丝生长速率法<sup>[7]</sup>进行测定。

**1.2.3.1 带药平板制备。**将供试菌种在沙氏培养基平板上扩大培养,备用。将药材提取液灭菌,备用。无菌条件下,吸取 1 ml 药液(对照组用无菌水代替)与 9 ml 热熔的培养基混匀,使供试培养基药液浓度为相当于投药量 0.048 g/ml;倒入直径为 9 cm 的玻璃培养皿中,制成薄厚均匀的带药平板培养基备用。

**1.2.3.2 接种。**用直径为 0.4 cm 的打孔器在已扩大培养的供试菌落边缘切取菌饼,将菌饼接入带药培养基上,使有菌丝的一面朝下,每皿接 3 个菌饼,呈品字形分布,每个处理设 3 个重复。

**1.2.3.3 培养观察。**置  $27 \pm 1$  °C 的恒温培养箱中培养,用十字交叉法测量培养 120 h(星状石膏样毛癣菌)、148 h(红色毛癣菌)后的菌落直径,根据下式求出抑制率:菌落直径(cm) = 测量直径 - 0.4、抑制率 = (对照菌落直径 - 处理菌落直径)/对照菌落直径 × 100%。

## 2 结果与分析

**2.1 采用带药平板涂布法抑菌情况** 从表 1 可以得出,4 种不同的药材对 4 种细菌均有抑菌效果,在相当于投药量为 0.048 g/ml 浓度下,对白色念珠菌无抑菌效果;4 种不同的药材采用不同的溶剂提取,活性有差异;相同条件下,培养 24、48 h 抑菌效果差异不大,除个别菌抑菌情况有变化,大部分结果相同。建议采用 48 h 抑菌效果作为最终结果判定标准。

表 1 带药平板涂布法抑菌情况

供试品	大肠埃希菌		金黄色葡萄球菌		枯草芽孢杆菌		变形杆菌		白色念珠菌	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
对照	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1#	---	---	---	---	---	---	---	+++	+++	+++
2#	---	---	---	---	---	---	---	---	+++	+++
3#	---	---	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++
4#	---	---	+++	+++	---	---	+++	+++	+++	+++
5#	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6#	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7#	---	---	---	---	---	---	---	+++	+++	+++
8#	---	---	---	---	---	---	---	---	+++	+++
9#	---	---	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++
10#	---	---	---	---	---	---	---	---	+++	+++
11#	---	---	---	---	---	---	---	---	+++	+++
12#	---	---	---	---	---	---	---	---	+++	+++

注:“+”表示有菌落生长;“-”表示完全没有菌落生长。

**2.2 菌丝生长速率法抑菌情况** 从表 2 可以看出,4 种不同的药材对星状石膏样毛癣菌和红色毛癣菌这 2 种真菌均有不同程度的抑制作用;4 种药材采用 3 种不同的溶剂提取,50% 乙醇为溶剂的组别(2#、5#、8#、11#)比采用其他溶剂(35% 乙醇、水)提取的组抑菌效果更好。

表 2 菌丝生长速率法抑菌情况 %

供试品	星状石膏样毛癣菌	红色毛癣菌
1#	61.77 ± 6.44b	56.60 ± 3.27c
2#	82.01 ± 16.33a	77.67 ± 1.44a
3#	23.42 ± 4.19e	38.68 ± 0.94e
4#	26.84 ± 4.45e	31.13 ± 1.63e
5#	29.32 ± 4.96e	34.59 ± 1.09e
6#	6.19 ± 3.86g	11.01 ± 6.07f
7#	31.98 ± 3.78d	34.28 ± 2.72e
8#	51.15 ± 2.92c	56.92 ± 9.07c
9#	18.88 ± 0.51f	30.82 ± 8.51e
10#	50.15 ± 4.54c	60.38 ± 4.90b
11#	64.90 ± 3.58b	77.99 ± 3.03a
12#	34.22 ± 1.84d	49.06 ± 10.63d

注:数据为 3 次重复抑制率的平均值。每列数据后字母相同者表示在 5% 水平上差异不显著(DMRT)。

## 3 结论

通过试验表明,山藿香、水金凤、绣球防风、透骨草这几种药用植物采用 50% 乙醇回流提取 3 次之后所得提取物生物活性较好,对 4 种细菌和 2 种真菌均有不同程度的抑制效果。

这几种药材在楚雄州境内大部分地区均有生长,来源稳定,提取方法简便,便于大规模生产用,而提取物的生物活性明显,可以进一步研究,并为综合开发利用打下良好基础。

## 参考文献

- [1] 刘爱忠,裴盛基,陈三阳. 云南楚雄彝族植物崇拜的调查研究[J]. 生物多样性,2000(1):131-137.
- [2] 胡钟胜,龙伟,谭军,等. 楚雄烟区烤烟生态气候因子评析[J]. 中国烟草科学,2012(1):71-76.
- [3] 冯邦朝,苏仕林. 广西大玉岭风景区野生药用维管植物初探[J]. 福建林业科技,2013(2):157-163.
- [4] 何森,李海芯,吕明月,等. 水金凤的研究进展[J]. 北方园艺,2014(21):196-199.
- [5] 冯筱巍,左国营,王根春,等. 28 种云南中草药体外抗菌活性筛选[J]. 西南国防医药,2011(7):30-33.
- [6] 覃旭,邓业成,张明,等. 粤蛇葡萄及几种杀菌药剂对柑橘溃疡病菌的抑菌活性[J]. 农药,2010(8):78-80.
- [7] 玉艳珍,邓业成,张明,等. 中药植物金钱吊乌龟对植物病原真菌的抗菌活性[J]. 植物保护,2010,36(2):123-126.