

# 大叶胡颓子茎的化学成分预试及抗菌作用研究

由宝昌, 刘建萍, 张晓晖, 于 岩, 王金荣, 张燕琴

(中国农业大学 烟台研究院 山东 烟台 264670)

**摘 要:** 采用系统预试法初步分析鉴定了大叶胡颓子茎的化学成分, 测定了其醇提取物对4种常见的呼吸道感染菌(金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克氏杆菌)和革兰氏阳性代表菌(枯草杆菌)的抑制作用。结果表明: 石油醚提取液中含有甾体或三萜类, 95%乙醇提取液中含有酚类、鞣质、有机酸、黄酮、甾体、蒽醌、香豆素与萜类内酯和强心苷, 水提取液中含有糖及苷类、有机酸、蛋白质、氨基酸、皂苷和酚类、鞣质。醇提取物对5种供试菌有较强的体外抑制作用, 最低抑菌浓度(MIC)为3.332~6.667 mg/mL生药。

**关键词:** 大叶胡颓子茎; 成分预试; 体外抗菌作用

**中图分类号:** S 793.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)10-0220-03

大叶胡颓子(*Elaeagnus macrophylla* Thunb)属胡颓子科胡颓子属常绿盐生灌木, 别名海枣, 产于山东省青岛、威海滨海及岛屿, 江苏、浙江的沿海岛屿以及台湾, 日本、朝鲜也有分布。因其耐干旱、瘠薄, 耐盐碱, 抗海风、海雾, 在青岛市绿化中进行广泛栽培。大叶胡颓子不仅是城镇植物景观建设及沿海防护林营造, 荒山裸岩绿化的树种, 也是很好的药用植物, 其根、叶、果皆可入药, 有收敛、止泻、平喘、止咳, 治吐血不止之效<sup>[1]</sup>, 民间以果实代丹皮应用, 治妇科病, 作为药材栽培利用。

由于胡颓子属植物具有很高的经济价值和药用价值, 近年来引起了人们的关注和深入研究。但对大叶胡颓子的研究却很少, 关于其化学成分和药理作用, 未见相关报道。现对大叶胡颓子茎的醇提取物进行了抗菌作用研究, 为开发利用海滨盐生植物—大叶胡颓子提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

大叶胡颓子于2009年5月18日采于青岛, 茎风干后粉碎, 过0.25 mm筛。金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克氏杆菌和枯草杆菌均由中国农业大学生物学院微生物实验室提供。试验试剂: 95%乙醇、石油醚、氯化钠均为分析纯; 牛肉膏、蛋白胨、琼脂粉, 均为生化用品; 纯化水: 实验室自制; 其它试剂: 自配。试验仪器: 电子控温电热套; 旋转浓缩仪(上海亚荣生化仪器厂); AB204 B型电子分析天平(瑞士梅特勒公司); D

型水浴锅(山东龙口市先科仪器公司); 恒温培养箱(山东潍坊医疗器械厂)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 化学成分预试验 石油醚提取液: 大叶胡颓子茎粗粉1 g, 加10 mL石油醚(沸程60~90℃), 密闭浸渍3 h, 过滤, 滤液置表面皿上任其挥发, 残留物进行甾体或三萜类、挥发油和油脂的试验。乙醇提取液: 大叶胡颓子茎粗粉10 g, 加入100 mL石油醚(沸程60~90℃)浸泡3 h, 抽滤。滤渣挥干溶剂, 加95%乙醇100 mL, 在水浴上加热回流1 h, 过滤。滤液留2 mL进行酚类、鞣质、有机酸的预试验, 其余浓缩成浸膏。浸膏分为二部分, 一部分置于研钵中, 用2% HCl溶解, 过滤。取盐酸水溶液进行生物碱试验, 附滤纸上的残渣再以少量乙醇溶解, 作黄酮、蒽醌试验。另一部分浸膏再以少量的醋酸乙酯溶解, 溶液置分液漏斗中加适量5% NaOH振摇, 使酚性物质及有机酸等转入下层氢氧化钠水溶液中, 醋酸乙酯部分用蒸馏水洗至中性, 将醋酸乙酯液2~3 mL在水浴上蒸干, 以1~2 mL乙醇溶解作香豆素与萜类内酯和强心苷的检测。水提取液: 大叶胡颓子茎粗粉5 g, 加入50 mL石油醚(沸程60~90℃)浸泡3 h, 抽滤。滤渣挥干溶剂, 加95%乙醇50 mL, 在水浴上加热回流1 h, 抽滤。滤渣挥干溶剂后, 加水50 mL, 在50~60℃的水浴上加热1 h后过滤, 此滤液在试管及滤纸上做多糖、苷类、有机酸、皂苷、酚类、鞣质、氨基酸、蛋白质、生物碱预试验。

1.2.2 体外抑菌试验 提取物的制备: 大叶胡颓子茎粗粉10 g, 加入100 mL 95%的乙醇浸泡24 h, 回流提取90 min, 抽滤得滤液。药渣加入3倍的70%的乙醇提取60 min, 滤得药液。2次所得滤液合并置于旋转蒸发仪中减压浓缩, 浓缩后的浸膏置干燥箱中烘干(40℃)。菌

第一作者简介: 由宝昌(1960-), 男, 副教授, 研究方向为作物育种及天然产物提取与利用。E-mail: xuenong1234@yahoo.com.cn。

基金项目: 中国农业大学烟台研究院科研基金资助项目(2009)。

收稿日期: 2010-02-22

种活化及菌悬液的制备:分别将各供试菌种移接入营养琼脂斜面培养基上,于 37℃培养箱中培养 24 h。将活化好的各菌种分别取 1 环,制成初试菌悬液,取适量初始菌悬液用生理盐水将其稀释成含菌量为 1.0×10<sup>5</sup> ~ 1.0×10<sup>6</sup> cfu/mL 的菌悬液备用。抑菌试验—纸片法<sup>[3]</sup>:取 0.1 mL 的菌悬液涂布于平板培养基(约 15 mL),将灭菌后直径 9 mm 的滤纸圆片在药液中浸泡 20 min 后取出,贴于平板上,每种菌各设 4 次重复,以无菌水为对照(以上操作均在无菌条件下进行)。于 37℃培养箱中培养 24 h 后测定抑菌圈直径,取平均值,所得数据进行方差分析。最低抑菌浓度(MIC)测定—平板涂布法<sup>[3]</sup>:用

无菌水稀释,使提取物的浓度分别为 166、67、83、33、41.67、20.83、10.42 mg/mL 生药。取不同浓度的提取物 4 mL 加入到高温灭菌后冷却至 50℃左右的 100 mL 培养基中,充分混合,倾注平皿。待培养基冷却后,用接种环涂布供试菌种,在 37℃培养箱中培养 24 h 观察菌体生长情况,无菌生长的培养基中提取物浓度最低者即为 MIC。

2 结果与分析

2.1 大叶胡颓子茎化学成分预试结果

大叶胡颓子茎的石油醚提取液、乙醇提取液和水提取液的化学成分预试结果见表 1。

表 1 大叶胡颓子茎化学成分预试结果					
提取液	检查项目	试验方法	试验现象	试验结果	结论
95% 乙醇	甾体或三萜类	氯仿—浓硫酸反应	氯仿层绿色 硫酸层血红色	+	+
		醋酐—浓硫酸反应	污绿色	+	
		磷钼酸反应	兰色	+	
	挥发油和油脂	△油斑试验	无油斑	—	—
		明胶沉淀反应	无明显现象	—	
	酚类、鞣质	△三氯化铁—铁氰化钾反应	污绿色斑点	+	±
		△重氮化反应	橙红色斑点	+	
	生物碱	碘—碘化钾反应	无沉淀	—	—
		苦味酸反应	无沉淀	—	
		碘化汞钾反应	无沉淀	—	
		碘化铋钾反应	无沉淀	—	
		△醋酸镁反应	UV 灯下橙红色荧光	+	+
	黄酮	盐酸—锌粉反应	加锌粉、不加锌粉均为红棕色	+	
		△三氯化铝反应	UV 灯下橙黄色荧光	+	
		△醋酸镁反应	UV 灯下橙红色荧光	+	+
	蒽醌	△氢氧化钾反应	UV 灯下绿色荧光	+	
		△硼酸反应	UV 灯下橙红色荧光	+	
	香豆素与萜类内酯	开环闭环反应	加碱清晰,加酸浑浊	+	+
		△盐酸羟胺反应	黄色斑点	+	
		苦味酸反应	橙色	+	+
	强心苷	△Kedde 反应	红色斑点	+	
		Lieberman—Burchard 反应	墨绿色	+	+
	甾体	pH 试纸检查	pH 5~6	+	+
		溴酚蓝反应	蓝背景上显黄斑点	+	
水	糖及其苷类	菲林试剂反应	砖红色沉淀	+	+
		α-萘酚反应	紫红色环	+	
		泡沫试验	持久性泡沫	+	+
	皂苷	醋酐—浓硫酸反应	污绿色	+	
		pH 试纸检查	pH 5~6	+	+
	有机酸	溴酚蓝反应	蓝背景上显黄斑点	+	
		茚三酮反应	紫蓝色	+	+
	氨基酸	缩二脲反应	紫红色	+	
		蛋白质沉淀反应	有沉淀	+	
	酚类、鞣质	△三氯化铁—铁氰化钾试验	污绿色斑点	+	±
		△重氮化反应	橙红色斑点	+	
		明胶沉淀反应	无明显现象	—	
多肽 蛋白质	生物碱	碘—碘化钾反应	溶液呈红色 无沉淀	—	—
		苦味酸反应	溶液呈黄色 无沉淀	—	
		碘化汞钾反应	淡黄色, 无沉淀	—	
		碘化铋钾反应	溶液呈黄色 无沉淀	—	

注:标有“△”的反应表示在滤纸上进行,其余的反应皆在试管中进行。“+”表示结果为阳性,“—”表示结果为阴性,“±”表示结果不确定。

表 1 结果表明 石油醚提取液中含有甾体或三萜类 未检测到油脂和挥发油;在 95%乙醇提取液中含有 黄酮、有机酸、甾体、蒽醌、香豆素与萜类内酯和强心苷;无法确定是否存在酚类、鞣质,未检测到生物碱;水提取

液中含有糖及苷类、有机酸、蛋白质、氨基酸和皂苷,无法确定是否存在酚类、鞣质,未检测到生物碱。

2.2 大叶胡颓子茎的抑菌效果

茎提取物对 5 种供试菌的抑菌试验结果见表 2、3。表 3 抑菌圈比较结果显示,铜绿假单胞菌与肺炎克氏杆菌、大肠杆菌、枯草杆菌之间有显著差异,与枯草杆菌有极显著差异,与金黄色葡萄球菌差异不显著;肺炎克氏杆菌、大肠杆菌、枯草杆菌之间没有显著差异。金黄色葡萄球菌与肺炎克氏杆菌、大肠杆菌之间没有显著差异,与枯草杆菌有显著差异。说明大叶胡颓子茎对铜绿假单胞菌的抑制作用显著大于肺炎克氏杆菌、大肠杆菌、枯草杆菌。对金黄色葡萄球菌的抑制作用显著大于枯草杆菌。

表 2 茎提取物对不同细菌抑制效果的方差分析表						
变异来源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
供试菌间	18. 925	4	4. 73125	3. 984211 *	0. 021334	3. 055568
误差	17. 8125	15	1. 1875			
总变异	36. 7375	19				

表 3 茎提取物对不同细菌抑菌圈的比较			
供试菌种	抑菌圈直径/ mm	$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
铜绿假单胞菌	15. 88	a	A
金黄色葡萄球菌	15. 38	ab	AB
肺炎克氏杆菌	14. 00	bc	AB
大肠杆菌	13. 75	bc	AB
枯草杆菌	13. 38	c	B

2.3 大叶胡颓子茎提取物的 MIC

茎提取物对 5 种供试菌的 MIC 见表 4。由表 4 可知,大叶胡颓子茎对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和肺炎克氏杆菌的 MIC 为 3. 332 mg/mL 生药,对枯草杆菌、大肠杆菌的 MIC 为 6. 667 mg/mL 生药。

表 4 大叶胡颓子茎提取物对供试菌的最小抑菌浓度

供试菌	茎提取物抑菌浓度/ mg · mL <sup>-1</sup> 生药					CK
	6. 667	3. 332	1. 668	0. 832	0. 417	
金黄色葡萄球菌	—	—	+	+++	+++	+++
枯草杆菌	—	+	+++	+++	+++	+++
大肠杆菌	—	+	++	+++	+++	+++
铜绿假单胞菌	—	—	+	++	+++	+++
肺炎克氏杆菌	—	—	++	+++	+++	+++

注:CK 为无菌水对照组;“—”表示无菌生长“+”表示菌生长较弱“++”表示菌生长较强“+++”表示菌生长强烈。

3 结论

大叶胡颓子茎中含有黄酮、甾体、糖及苷类、皂苷和酚类、有机酸、蛋白质、氨基酸、蒽醌、香豆素与萜类内酯和强心苷。这些活性物质具有多种药理功能,说明大叶胡颓子茎可能具有多种生物活性。

大叶胡颓子茎的醇提取物中存在有效抗菌成分,对革兰氏阴性菌—铜绿假单胞菌、大肠杆菌、肺炎克氏杆菌,和革兰氏阳性菌—金黄色葡萄球菌、枯草杆菌皆有明显的抑菌效果,其最低抑菌浓度(MIC)较低。其中,对铜绿假单胞菌的抑制效果最大。铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克氏杆菌和大肠杆菌均为常见的呼吸道致病菌,说明大叶胡颓子茎对常见的呼吸道致病菌有较强的体外抑菌作用,可望成为治疗呼吸道感染的中药材,以此研制开发抗菌消炎新药物。

体外抑菌试验结果及化学成分预试结果均说明,大叶胡颓子是值得深入研究、开发和利用的药用植物。

参考文献

[ 1 ] 袁雪丽,辛兆学,辛卫忠等.野生观赏木本植物大叶胡颓子驯化及开发利用研究[ J ].山东林业科技,2007(5): 18.  
[ 2 ] 张均田.现代药理实验方法[ M ].北京:北京医科大学协和医科大学联合出版社,1998: 1409-1415.  
[ 3 ] 赵淑艳,呼世斌,吴焕利等.山茱萸提取物抑菌活性成分稳定性的研究[ J ].食品科学,2008,29(1): 98-101.

The Research on the Chemical Components and Antibacterial Effects from Stems of *Elaeagnus macrphylla* Thunb

YOU Bao-chang, LIU Jian-ping, ZHANG Xiao-hui, YU Yan, WANG Jin-rong, ZHANG Yan-qin  
(Yantai Institute of China Agricultural University, Yantai Shandong 264670)

**Abstract:** The system pre-test method was used to both preliminary analyze the chemical components from stems of *Elaeagnus macrphylla* Thunb and testify the antibacterial effects of the alcohol abstracts to four kinds of common respiratory tract infectious bacteria (*Staphylococcus aureus* Rosenbach, *Escherichia coli*, *P. Aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) and represented gram-positive strain *Bacillus subtilis*. The results showed there were steroids or triterpenes in petroleum ether abstracts. It contains phenols, tannins, organic acid, flavonoids, steroid, anthraquinone, coumarin, terpene lactone and cardiac glycosides in 95% alcohol abstracts. There were glucose and glycosides, organic acids, proteins, amino acids, saponins and phenols and tannins in water abstracts. The alcohol abstracts exhibits a strong antibacterial effect *in vitro* to five test strains and the MIC was 3. 332~6. 667 mg/mL.

**Key words:** stems of *Elaeagnus macrphylla* Thunb; preliminary chemical analysis; antibacterial effect *in vitro*