

山苦茶的抗菌和抗病毒作用研究

林海 麦光大 唐小山¹ 徐生淦

(海南医学院,海口 570005; ¹医学科学院生物技术研究所)

摘要 山苦茶的水蒸馏液成分对金黄色葡萄球菌和大肠埃希氏菌等六种试验菌无抗菌作用。但山苦茶的水提取液对大部分试验菌具有一定的抑菌效果。山苦茶干品的水提取液对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好,1:1水提液抑菌环直径为11 mm,最小抑菌浓度1:32;对福氏志贺氏菌的效果次之,抑菌环直径为11.5 mm,最小抑菌浓度为1:8;对铜绿色假单胞菌的抑菌效果最差,纸片法未见抑菌环,稀释法测得最小抑菌浓度为1:2。抗病毒作用研究用CPE法观察,对慢病毒Mae-di病毒1011株无作用,而观察到在1:25的浓度时,对SYN羊二倍体细胞有细胞毒性作用。

关键词 山苦茶; 抗菌; 抗病毒

山苦茶 *Mallotus furettianus* (Bail) 系大戟科野桐属海南岛特产植物,主要分布我国海南岛、中印半岛及苏门答腊岛^[1]。海南人习惯用它的叶子泡制饮料,故俗称为鹧鸪茶。由于它的香味浓郁,有清热解毒、利胆消食的功效,当地居民用作解油腻、助消化的保健饮料。经广东省科学技术情报所国际联机检索,均未见有实验性研究的报告。经我院大量的临床试验及药理实验已经证明山苦茶是治疗胆囊炎、胆结石、消炎止痛、利胆的良药^[2]。为了确定山苦茶真正的药理作用和临床效果,1991年海南省科技厅将这一研究列入省自然科学基金课题给予资助。本报告是这一研究的内容之一。

1 材料与方法

1.1 山苦茶提取液的制备

1.1.1 山苦茶水蒸馏液的制备 称取一定量的山苦茶鲜品,置于蒸馏器内用水浸过面,浸泡2 h后加热蒸馏,第一次收集两倍山苦茶样品重量的蒸馏液。此蒸馏液重蒸馏,收集相当于样品重量的蒸馏液。即是1:1山苦茶蒸馏液,密封灭菌后供抗菌试验。

1.1.2 山苦茶水提液的制备 称取一定量山苦茶干品或鲜品置于大烧杯中,加蒸馏水浸泡过面,静置2 h后加热至沸,文火煮15 min后纱布过滤得第一次水提液,再同样得第二次水提取液,合并二次滤液,加热减压浓缩至相当于山苦茶样品原重量,得1:1水提取液,密封灭菌后供抗菌试验。

抗菌药敏试验液配制 将以上两种提取液分别用纸片法以1:1药液1 ml均匀浸湿标准纸片100片,液体稀释液按倍比梯度,用培养液稀释为1/2,1/4,1/8,1/16,1/32浓度,供药敏实验。

1.1.3 山苦茶醇提取液的制备 供抗病毒试验的山苦茶醇提取液,按山苦茶鲜叶冻干品100 g加入75%乙醇500 ml,浸泡过夜,回流4 h,浓缩至无乙醇味,然后加蒸馏水100 ml,加NaOH调pH至7.4,使其完全溶解于水,并用0.45 μm的微孔滤膜过滤,得含山苦茶1:1的药液。然后按1/5,1/25,1/125及1/625的稀释浓度供抗病毒试验。

1.1.4 试验菌株、病毒株及细胞株

试验菌株 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、白色葡萄球菌(*S. albus*)、大肠埃希

氏菌 (*Escherichia coli*)、铜绿色假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*)、福氏志贺氏菌 (*Shigella flexneri*) 均由中国药品生物制品检定所提供。病毒毒株为梅迪病毒 (Maedi virus) 1011 株, 是一种冰岛羊里发生的慢性传染病病毒。培养病毒的细胞株为 SYN 羊二倍体细胞。以上毒株及细胞株均由冰岛、冰岛大学病理研究所 THORMAR 教授提供。

1.2 实验方法

抑菌药敏试验分纸片法和液体稀释法, 均参照 Kirby-Bauer 法进行^[3,4]。纸片法测定其对各种细菌的抑菌环大小, 液体稀释法经观察细菌生长繁殖情况求出抑菌的最小稀释浓度。

山苦茶的抗慢病毒——梅迪病毒 (Maedi Virus) 的试验方法参考 Frank 所述的方法进行^[5]。将 SYN 细胞接种到细胞培养板上, 培养于 37℃, 5% CO₂ 中 24 h, 待细胞长成单层后, 接种梅迪病毒 1011 株 50×TCID₅₀, 吸附 2 h 后, 加入不同稀释度的上述山苦茶提取液, 同时用抗病毒药物叠氮脱氧胸苷 (AZT, 美国 Burrough Wellcome 公司产品) 作抗病毒阳性对照, 试验浓度为 10, 2, 0.4, 0.08 μg/ml, 再在 37℃, 5% CO₂ 培养箱中培养 4 d, 然后按 CPE 法观察结果。

2 结果

三种山苦茶提取液的抑菌试验结果列于表 1。

Tab 1. The minimal inhibitory concentration and diameter of zone of inhibition of three extracts from *M. fureticus* (MF)

Bacteria name	Minimal inhibitory concentration			Diameter of zone of inhibition		
	Distillate	Water extract (Dried MF)	Water extract (Fresh MF)	Distillate 1:1	Water extract (Dried MF) 1:1	Water extract (Fresh MF) 1:1
<i>Staphylococcus aureus</i>	—	1:32	1:32	5.0	11.0	15.5
<i>S. albus</i>	—	1:8	1:16	5.0	12.0	12.0
<i>Escherichia coli</i>	—	1:4	1:4	5.0	8.0	10.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	1:2	1:2	5.0	5.0	5.0
<i>Salmonella typhi</i>	—	1:8	1:16	5.0	11.0	12.5
<i>Shigella flexneri</i>	—	1:8	1:16	5.0	11.5	13.0

从表 1 可以看出, 山苦茶鲜品的抑菌效果普遍比干品高。而对金黄色葡萄球菌的抑制作用最强, 干品的抑菌环直径为 11.0 mm, 鲜品为 15.5 mm; 最小抑菌浓度均达到本试验的最高稀释度 1:32。其次是对福氏志贺氏菌的抑菌效果较好, 干品的抑菌环直径为 11.5 mm, 鲜品为 13.0 mm; 干品最小抑菌浓度 1:8, 鲜品为 1:16。对其它细菌抑制作用从强到弱排列为伤寒沙门氏菌、白色葡萄球菌、大肠埃希氏菌。对铜绿色假单胞菌的抑制作用最差。

抗病毒作用的实验结果表 2。可以看出对照药物 AZT 浓度在 2 μg/ml 以上时可以完全抑制梅迪病毒产生细胞病变效应 (CPE), 在 0.08 μg/ml 时还表现出对 CP 有一定的作用。而山苦茶则未见有抑制 CPE 的作用, 在

浓度高出 1/25 时对 SYN 羊二倍体细胞产生细胞毒作用。

Tab 2. The CPE test results of MF on Maedi virus 1011

MF Conc.	MF		AZT Conc. μg/ml	AZT	
	1	2		1	2
1/5	toxic	toxic	10	—	—
1/25	toxic	toxic	2	—	—
1/125	+++	+++	0.4	+	+
1/625	+++	+++	0.08	++	++
Virus	+++		Virus	+++	
Control			Control		

参考文献

- 中国科学院华南植物研究所编. 海南植物志. 第二卷. 北京: 科学出版社, 1965: 156
- 华运群. 山苦茶的利胆作用和毒性. 中国药理学通报, 1992; 8(5): 334
- 徐叔云等主编. 药理实验方法, 第二版, 北京: 人民卫生出版社, 1991: 1340
- 张颖悟主编. 临床微生物学. 下册, 大连出版社, 1990: 648—53

5 Frank KB. Visna virus as an *in vitro* model for human immunodeficiency virus and inhibition by ribavirin, phosphono-

formate and 2', 3'-dideoxynucleosides, *Antimicro Agents & Chemother*, 1987;31:1369

Study of Antibacterial and Antivirus of *Mallotus furetianus*

Lin Hai, Mai Guangda, Tang Xiaoshan¹, Xu Shenggan

Hainan Medical College, Haikou 570005; Biotechnology Institute, Chinese Academy of Medical Science

The test for antibacterial and antiviral effects of *Mallotus furetianus* showed that the distillate of *Mallotus furetianus* in water had no effect on six tested bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *E. Coli* etc, but the water extracts from dried leaves of *M. furetianus* exhibited inhibitory effect on almost six tested bacteria. It showed the best inhibitory effect on *S. aureus*. Its diameter of the zone of inhibition was 11 mm. The minimal inhibitory concentration (MIC) was 1 : 32. Its inhibitory effect on *Shigella flexeri* was secondary, the diameter of zone of inhibition was 11.5 mm, and MIC was 1 : 8. Its inhibitory effect on *Pseudomonas aeruginosa* was the worst, there was no inhibitory zone to be seen, and MIC was 1 : 2. The antivirus effect was observed by cytopathic effect (CPE) method. The test showed that there was no effect on slow virus Maedi virus 1011. When the concentration of *M. furetianus* obtained was up to 1 : 25, there was toxic effect on the SYN sheep diploid cells to be observed.

Key words *Mallotus furetianus*; Antibacterial; Antivirus

中药小叶莲及鬼臼类生药学研究

尚明英 导师:徐国钧 徐珞珊 李 萍

(生药学教研室)

小叶莲药用果实,始载于《月王药诊》,之后的许多藏医药文献中多有记载;鬼臼药用根茎及根,始载于《神农本草经》,历代本草亦有记载。经本草考证表明,小叶莲的植物来源为小檗科植物桃儿七(*Sinopodophyllum emodi* (Wall.) Ying; 鬼臼的植物来源应为小檗科八角莲属六角莲(*Dysosma pleiantha* (Hance) Woodson 或八角莲 *Dysosma versipellis* (Hance) M. Cheng.

经药源调查,小叶莲来源单一,鬼臼类基源植物较多,对所采到的 150 余份植物标本进行分类鉴定,计有 3 科 5 属 13 种植物,发现八角莲属 1 新种嵩明八角莲(*Dysosma subrosea* M. Y. Shang et G. J. Xu sp. nov.)。

对小叶莲及 10 种鬼臼类生药和 2 种混用品进行性状、显微特征观察。在此基础上,对 52 件商品进行鉴定,鬼臼类药材来源于小檗科桃儿七属、山荷叶属和八角莲属 9 种植物,并有虎耳草科鬼灯檠属 1 种和秋海棠科秋海棠属 1 种与之混用,其主流商品为桃儿七的根茎及根。首次从小叶莲中分得 8 个化合物,从砒鳞八角莲(*Dysosma furfuracea*)中分得 9 个化合物。

用 HPLC 法测定了小叶莲及鬼臼类生药中主要有效成分鬼臼毒素、去氧鬼臼毒素、去甲去氧鬼臼毒素的含量。对鬼臼毒素、去氧鬼臼毒素、小叶莲根提取物、桃儿七提取物及砒鳞八角莲提取物进行了抗肝癌、艾氏腹水癌及保肝药理实验,结果表明,砒鳞八角莲提取物对肝癌的抑制作用和保肝作用最强;鬼臼毒素对艾氏腹水癌的抑制作用最强。以上研究结果为小叶莲及鬼臼类生药的品种鉴定、质量评价及开发利用提供了科学依据。

(全文待发表)