

## 青刺果总生物碱抗菌活性研究

孙惠峰, 张济麟, 代继玲, 柳波, 郭蕴苹

(昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南昆明 650500)

**[摘要]** **目的** 研究青刺果总生物碱的抑菌特性. **方法** 用倍比稀释法测定青刺果总生物碱对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、志贺菌和白色念珠菌的最低抑菌浓度和最低杀菌浓度. **结果** 青刺果总生物碱对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、志贺菌和白色念珠菌的最低抑菌浓度 (MIC) 分别 0.08 mg/mL, 0.625 mg/mL, 1.25 mg/mL, 2.5 mg/mL; 最低杀菌浓度 (MBC) 分别为 0.16 mg/mL, 1.25 mg/mL, 2.5 mg/mL, 5 mg/mL. **结论** 青刺果总生物碱对受试菌具有较好的抑菌效果, 为青刺果的开发利用提供了有效依据.

**[关键词]** 青刺果; 总生物碱; 抑菌活性

**[中图分类号]** R282.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 10-0012-03

## Antimicrobial Activity of Alkaloids in Prinsepia Utilis Royle

SUN Hui-feng, ZHANG Ji-lin, DAI Ji-ling, LIU Bo, GUO Yun-ping

(School of Pharmaceutical Science & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the antibacterial characteristics of alkaloids from Prinsepia Utilis Royle. **Methods** Dilution method was used for the determination of the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration of Prinsepia Utilis Royle alkaloids on Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Shigella and Candida albicans. **Results** The minimum inhibitory concentration (MIC) of Prinsepia Utilis Royle alkaloids on Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Shigella and Candida albicans was 0.08 mg/mL, 0.625 mg/mL, 1.25 mg/mL, 2.5 mg/mL, respectively, while the minimum bactericidal concentration (MBC) was 0.16 mg/mL, 1.25 mg/mL, 2.5 mg/mL, 5 mg/mL, respectively. **Conclusions.** Prinsepia Utilis Royle alkaloids have good antibacterial effect on bacteria, this may provide effective basis for the development and utilization of Prinsepia Utilis Royle.

**[Key words]** Prinsepia Utilis Royle; Alkaloids; Antimicrobial activity

青刺果 (Prinsepia Utilis Royle) 为蔷薇科扁核木属植物青刺尖的果实, 分布于我国云南、四川、贵州、西藏等省<sup>[1]</sup>. 青刺果用途广泛, 在云南地方民间具有悠久的药用历史, 当地人常用青刺果油搽抹或用青刺果的叶、根煮服, 具有较好的清热消炎、排毒解毒的作用<sup>[2]</sup>, 冬季手脚干燥、开裂、生冻疮, 用青刺果油涂抹能使皮肤润泽嫩滑, 并能治疗冻疮; 用青刺果油搽抹脚或用青刺果煮

水洗脚, 对缓解脚气 (香港脚) 有明显疗效<sup>[3]</sup>等. 现代食品研究也证实青刺果是一种天然抑菌防腐剂, 其提取物对多种细菌、酵母菌和霉菌都有很好的抑菌效果<sup>[4]</sup>.

青刺果在食用和保健等领域已经开展了大量研究工作, 但其抑菌作用的研究非常有限, 对青刺果抑菌活性成分及其抑菌机理的研究, 至今未见报道. 本文从青刺果中生物碱出发, 选择 4 种

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (81160405); 云南省应用基础研究计划资助项目 (2013FZ058); 云南省天然药物药理重点实验室开放研究基金资助项目 (2013G014)

**[作者简介]** 孙惠峰 (1987~), 男, 江苏苏州市人, 在读硕士研究生, 主要从事天然药物化学研究工作.

**[通讯作者]** 郭蕴苹. E-mail:pigeon5073@163.com; 柳波. E-mail:liukaibaobao@yahoo.com.cn

常见菌为供试菌种, 采用体外抑菌活性测试方法研究其抑菌活性强度, 对青刺果总生物碱的抗菌活性作初步研究, 旨在为开发天然抑菌剂提供试验依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

**1.1.1 原料与菌种** 青刺果采于云南泸沽湖, 经鉴定为蔷薇科扁核木属植物青刺尖的果实; 金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、志贺菌、白色念珠菌由昆明医科大学病原生物学与免疫学实验室提供.

**1.1.2 设备仪器** 全自动立式电热压力蒸汽灭菌锅, YXQ-LS30SII 型, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; 净化工作台, SW-CJ-2F 型, 苏州净化设备有限公司; 气浴恒温恒湿箱, SHZ-82A 型, 上海荣华仪器设备有限公司; 恒温恒湿培养箱, SPX-150C 型, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; 电子天平, A L104 型, 梅特勒-托利多化学仪器有限公司; 瑞士 BUCHI 旋转蒸发器, R-210 型, 上海岛通应用科技有限公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 青刺果总生物碱的制备** 将青刺果烘干、粉碎后称取 500 g, 用 80% 乙醇, 80 °C 提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 过滤后减压浓缩至浸膏状; 经 2% 的盐酸溶解, 过滤, 滤液置于分液漏斗中, 用氯仿萃取 3 次, 除去杂质, 再加浓氨水调 pH 至 11, 正丁醇萃取 3 次, 合并正丁醇相, 浓缩, 得生物碱粗品<sup>[3]</sup>; 用乙醇溶解生物碱粗品, 通过 AB-8 大孔树脂, 用不同梯度乙醇进行洗脱, 每 100 mL 作为一个流分, 以改良碘化铋钾作为显色剂进行检测, 反应呈阳性的合并, 浓缩得总生物碱, 烘干称重, 备用.

**1.2.2 培养基的制备<sup>[5]</sup>** 营养琼脂培养基: 牛肉膏

3 g, 蛋白胨 10 g, NaCl 5 g, 琼脂 15 g, 加蒸馏水 1 000 mL 溶解, 调节 pH 7.2 ~ 7.4, 高压蒸汽 121 °C 下灭菌 30 min 备用.

**1.2.3 沙氏培养基** 蛋白胨 1 g, 琼脂 1.5 g, 葡萄糖 4 g, 加蒸馏水 1 000 mL 溶解, 高压蒸汽 121 °C 下灭菌 30 min 备用.

**1.2.4 菌液制备** 取 -20 °C 低温保存的各受试标准菌种划线接种到已灭菌的固体培养基, 37 °C 条件下经过 24 ~ 48 h 培养后, 用无菌生理盐水校正浓度 (麦氏比浊法调整浓度) 为  $3.00 \times 10^6$  mg/mL, 即为供试菌的菌悬液.

**1.2.5 供试药液配置** 青刺果总生物碱用营养琼脂培养基配置成 5 mg/mL (金黄色葡萄球菌), 10 mg/mL (大肠杆菌), 10 mg/mL (志贺菌), 用沙氏培养基配置成 10 mg/mL (白色念珠菌).

**1.2.6 最低抑菌浓度 (MIC) 和最低杀菌浓度 (MBC) 的测定** 采用倍比稀释法. 将上述 4 种供试药液分别稀释后, 加入培养基中混合均匀, 用平板划线法接种, 加药后置 37 °C 恒温箱中培养 18 ~ 24 h 后, 肉眼观察试管内液体澄清的最低药物浓度记为最低抑菌浓度 (MIC).

在 MIC 值的基础上, 分别将上述无菌生长试管中的肉汤划线接种于琼脂平板上, 37 °C 恒温箱中培养 18 ~ 24 h 后取出, 以平板上无菌落生长的最低药物浓度作为其最低杀菌浓度 (MBC).

## 2 结果

总生物碱对上述 4 种菌液的最低抑菌浓度 (MIC) 见表 1. 表 1 结果显示青刺果总生物碱对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、志贺菌和白色念珠菌的最低抑菌浓度 (MIC) 分别为 0.08 mg/mL、0.625 mg/mL、1.25 mg/mL、2.5 mg/mL.

总生物碱对上述 4 种菌液的最低杀菌浓度

表 1 青刺果总生物碱的最低抑菌浓度 (MIC)

Tab. 1 The MIC of Alkaloids of *Prinsepia Utilis* Royle

供试菌	青刺尖果总生物碱浓度 (mg/mL)										
	10.00	5.00	2.50	1.25	0.625	0.3125	0.16	0.08	0.04	0.00	C0
金黄色葡萄球	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+++	+++
大肠杆菌	-	-	-	-	-	+	++	++	+++	+++	+++
志贺菌	-	-	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
白色念珠菌	-	-	-	+	+	++	++	++	+++	+++	+++

注: “-” 无菌生长; “+” 菌体生长少; “++” 菌体生长较多; “+++” 菌体生长很多; “C0” 加营养培养基, 不加细菌和药物, 阴性对照试验.

(MBC) 见表 2。表 2 是 MBC 值结果, 可知青刺果总生物碱对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、志贺菌

和白色念珠菌的最低杀菌浓度 (MBC) 分别为: 0.16 mg/mL、1.25 mg/mL、2.5 mg/mL、5 mg/mL。

表 2 青刺尖果总生物碱的最低杀菌浓度 (MBC)  
Tab. 2 The MBC of Alkaloids of Prinsepia Utilis Royle

供试菌	青刺尖果总生物碱浓度 (mg/mL)										
	10.00	5.00	2.50	1.25	0.625	0.3125	0.16	0.08	0.04	0.00	CO
金黄色葡萄球	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+++	+++
大肠杆菌	-	-	-	-	+	++	++	++	+++	+++	+++
志贺菌	-	-	-	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
白色念珠菌	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

### 3 讨论

从上述表 1 和表 2 的结果表明: 青刺果总生物碱对 4 种供试菌均具有较好的抑制作用, 其中对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌效力尤为显著, 这与青刺果水提液抑菌效果研究结论是一致的<sup>[5,6]</sup>, 只是青刺果总生物碱表现出更强的抑菌能力。

而 4 种供试细菌的 MBC 值仅为相应 MIC 值的 2 倍, 说明了青刺果总生物碱具有较好的抗耐药性。抗菌药物在临床感染治疗中起重要作用, 但是由于抗菌药物的广泛和不合理应用, 导致病原菌对使用的各种抗菌药物日益耐受<sup>[7]</sup>。青刺果总生物碱具有良好抗耐药性, 是一种高效的抑菌剂。由此看出, 青刺果总生物碱对致病菌有强的抑菌效果, 与民间用于治病的习俗互为佐证。

因此, 青刺果总生物碱比较青刺果水提物具有更强的抑菌活性, 尤其对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌 MIC 仅为 0.08 mg/mL, 0.625 mg/mL, 同时也表现出克服细菌耐药性的强大能力。在青刺果植物中, 总生物碱含量丰富, 提取方便, 因此利用我国丰富的青刺果资源提取天然抗菌剂不失为增加农民收入的好途径, 作为天然抗菌药, 其开发和利

用前景广阔。

#### [参考文献]

- [1] 俞德浚, 陆玲娣, 谷粹芝, 等. 中国植物志(第三十八卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1986: 458 - 469.
- [2] 董丽萍. 大理州野生青刺果经济价值及栽培技术初探[J]. 林业调查规划, 2004, 9(9): 287 - 288.
- [3] 梅文泉, 汪禄祥, 黎其万, 等. 云南青刺果仁、叶微量元素成分分析[J]. 广东微量元素科学, 2002, 9(7): 53 - 56.
- [4] 朱正良, 樊建, 赵天瑞, 等. 青刺果提取液的抑菌对比研究[J]. 云南师范大学学报, 2002, 22(6): 49 - 54.
- [5] 钱存柔. 微生物学实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1984: 39 - 40.
- [6] 张荣先, 仇博宇, 赵佳, 等. 青刺果不同部位水提取液的抑菌效果[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(2): 408 - 409.
- [7] 徐华丽, 王碧羽. 医院常见病原菌及其耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(20): 3 225 - 3 226.

(2014-06-19 收稿)