

多花野牡丹的抑菌活性及总黄酮含量测定

苏燕评¹, 周孙英¹, 刘剑秋²

(1. 福建医科大学药学院, 福建 福州 350004; 2. 福建师范大学生物工程学院, 福建 福州 350007)

Determination of anti-microbial activity and the content of flavonoids of *Melastoma affine* SU Yan-ping¹, ZHOU Sun-ying¹, LIU Jian-qiu² (1. Division of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China; 2. Bioengineering College, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2005, 14(1): 56-57

Abstract: The anti-microbial activities of leaves and stems from *Melastoma affine* D. Don were studied, and the content of flavonoids and their seasonal variation were measured by means of polyamide purging and aluminium color-developing method, rutin was used as a standard. Results showed that the extract had no effects on *Aspergillus flavus* Link, *Aspergillus niger* V. Tiegh. and *Penicillium chrysogenum* Thom but evident inhibitive effects on *Escherichia coli* (Migula) Castellani et Chalmers, *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn, *Staphylococcus aureus* Rosenbach, *Proteus vulgaris* Hauser and *Sarcina lutea* Schröeter. The highest yield of flavonoids from leaves was 3.95% in May, which was regarded as its available component.

关键词: 多花野牡丹; 抑菌活性; 黄酮类化合物

Key words: *Melastoma affine* D. Don; anti-microbial activity; flavonoids

中图分类号: Q949.762.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2005)01-0056-02

多花野牡丹(*Melastoma affine* D. Don)又名炸腰果、野广石榴等^[1], 属野牡丹科(Melastomataceae)野牡丹属(*Melastoma* L.)植物, 在福建主要分布于南靖、华安、龙岩、漳平、永泰、福清、福州等地, 资源丰富^[2]。多花野牡丹全株可供药用, 有消除积滞、收敛止血、散瘀消肿等功效, 捣烂外敷, 可治外伤出血、刀枪伤^[3]。其叶片中含有水不溶性黄酮、水溶性黄酮苷, 具有抗炎、抗菌及抗病毒的作用^[1]。临床报道多花野牡丹已在治疗肠道感染、呼吸道感染、烧伤、宫颈糜烂、皮肤感染等多方面取得效果^[1,4]。预实验证实^[5], 多花野牡丹提取物含有黄酮类化合物、香豆素与萜类内酯化合物、酚类化合物和鞣质、有机酸等, 不含生物碱。本文对多花野牡丹枝条和叶片的抑菌活性进行了研究并测定其1 a内的总黄酮含量的变化。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料 多花野牡丹(*Melastoma affine* D. Don)采自福州鼓山, 分为叶片和枝条, 洗净烘干, 粉碎备用。

1.1.2 仪器 YJ-875B 医用净化工作台; 752 型紫外光栅分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 抑菌活性测定 配置牛肉膏蛋白胨培养基(用于培养细菌)和马铃薯培养基(用于培养霉菌)^[6], 转接活化大肠杆菌[*Escherichia coli* (Migula) Castellani et Chalmers]、枯草杆菌[*Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn]、普通变形菌(*Proteus vulgaris* Hauser)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus*

aureus Rosenbach)、藤黄八叠球菌(*Sarcina lutea* Schröeter)和黄曲霉(*Aspergillus flavus* Link)、黑曲霉(*Aspergillus niger* V. Tiegh.)、产黄青霉(*Penicillium chrysogenum* Thom)。制直径6 mm的滤纸片若干, 湿热灭菌, 取出后备用。称多花野牡丹的叶片和枝条粗粉各5 g, 提取溶剂分别为95%乙醇和蒸馏水, 恒温水浴加热3 h, 温度80℃。过滤, 滤液定容至100 mL, 得4种供试溶液。

制备菌悬液, 吸取0.2 mL的菌悬液至相应的培养基中, 使菌液均匀涂布于培养基表面。将浸有不同溶液的滤纸片贴于培养基上, 分别以浸有无菌水和95%乙醇的滤纸片做对照。将培养皿翻转, 置温箱中培养。待菌丝体生长良好后取出观察抑菌效果, 记录抑菌圈直径。实验重复3次, 计算平均值。

1.2.2 制备芦丁标准曲线^[7] 芦丁为标准品, 聚酰胺粉(60~80目)以60%乙醇预处理。以聚酰胺吸附-硝酸铝显色法于510 nm处测不同浓度芦丁溶液的吸光度, 根据所测得的芦丁溶液的吸光度, 得芦丁浓度 $Y(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$ 与吸光度 A 的线性方程: $Y=0.872A-0.842 \times 10^{-2}$, 线性范围0~0.5 mg, 相关系数 $r=0.9997$ 。

1.2.3 总黄酮含量测定 从2002年3月至2003年3月, 每2个月采1次多花野牡丹的叶片和枝条。取不同月份的叶片和枝条粗粉各1 g于磨口平底烧瓶中, 以70%乙醇为溶剂, 80℃水浴加热3 h提取黄酮类化合物, 过滤, 取滤液(叶的滤液需用石油醚萃取, 去除叶绿素), 将滤液定容至50 mL。准

收稿日期: 2004-07-12

作者简介: 苏燕评(1978-), 女, 福建德化人, 助教, 理学硕士, 主要从事植物资源化学研究。

确吸取滤液 4.0 mL, 加入 500 mg 聚酰胺粉, 搅匀, 转移到砂芯漏斗中, 用 70% 乙醇分数次洗脱, 收集洗脱液, 定容至 50 mL。精确吸取样液 5 mL 于具塞试管中, 加 5% NaNO_2 0.3 mL, 摇匀, 放置 6 min; 加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 0.3 mL, 摇匀, 放置 6 min; 加 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 4 mL 和蒸馏水 0.4 mL, 摇匀, 放置 15 min。空白为: 吸取 5 mL 蒸馏水于具塞试管中, 同上操作。以空白为对照, 于 510 nm 测定吸光度, 通过标准曲线线性方程计算样液中的总黄酮含量 (mg)。由所求得的值做总黄酮含量年度变化曲线^[7]。

样品中总黄酮含量 (%) = $\frac{CV_1V_3}{WV_2V_4} \times \frac{1}{10} \times 100\%$ 。式中, C 为样液所含的黄酮量 (mg); V_1 为抽提定容体积 (mL); V_2 为聚酰胺处理时取样体积 (mL); V_3 为聚酰胺处理后定容体积 (mL); V_4 为显色反应测定取用样液体积 (mL); W 为称样量 (g)。

2 结果和分析

2.1 多花野牡丹枝条和叶片的抑菌活性

多花野牡丹枝条和叶片抑菌活性实验结果见表 1。

表 1 多花野牡丹叶片和枝条的抑菌活性¹⁾

Table 1 The anti-microbial activities of leaves and stems from *Melastoma affine* D. Don¹⁾

| 样品 Sample | 抑菌圈直径/mm Diameter of anti-microbial zone | | | | | | | |
|--------------|--|-----|------|------|------|-----|----|-----|
| | EC | BS | PV | SA | SL | AN | AF | PC |
| 1 | 8.5 | - | 8.3 | - | - | - | - | - |
| 2 | 10.0 | - | 8.9 | - | 9.0 | - | - | - |
| 3 | 10.5 | 9.0 | 9.5 | 9.5 | 10.0 | - | - | - |
| 4 | 10.5 | 9.5 | 10.7 | 10.5 | 9.0 | - | - | - |
| 5 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 6 | 8.6 | 7.5 | 7.5 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | - | 7.0 |

1) 1: 枝条水提物 Water extract from stems; 2: 叶片水提物 Water extract from leaves; 3: 枝条 95% 乙醇提取物 95% ethenol extract from stems; 4: 叶片 95% 乙醇提取物 95% ethanol extract from leaves; 5: 无菌水 Water; 6: 95% 乙醇 95% ethanol; EC: 大肠杆菌 *Escherichia coli* (Migula) Castellani et Chalmers; BS: 枯草杆菌 *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn; PV: 普通变形菌 *Proteus vulgaris* Hauser; SA: 金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* Rosenbach; SL: 藤黄八叠球菌 *Sarcina lutea* Schröeter; AN: 黑曲霉 *Aspergillus niger* V. Tiegh.; AF: 黄曲霉 *Aspergillus flavus* Link; PC: 产黄青霉 *Penicillium chrysogenum* Thom.

从实验结果看, 多花野牡丹叶片和枝条的提取物对黄曲霉、黑曲霉、产黄青霉没有抑制作用而对大肠杆菌、枯草杆菌、普通变形菌、金黄色葡萄球菌、藤黄八叠球菌具有较强的抑菌活性。叶片和枝条的水提液对大肠杆菌和普通变形菌有抑制作用, 对枯草杆菌和金黄色葡萄球菌不敏感, 二者的 95% 乙醇提取液则对 5 种细菌均有较大抑制作用, 这说明乙

醇更容易将植物体内有效抑菌物质提取出来。叶片提取液的抑菌圈直径大于枝条提取液, 说明叶片含有更多的抑菌活性物质。

2.2 枝条和叶片总黄酮含量的季节性变化

多花野牡丹枝条和叶片的总黄酮含量在 1 a 内的变化趋势基本一致 (图 1), 叶片的总黄酮含量明显高于枝条。枝条总黄酮含量在 1 月时最低, 为 0.95%; 叶片总黄酮含量在 11

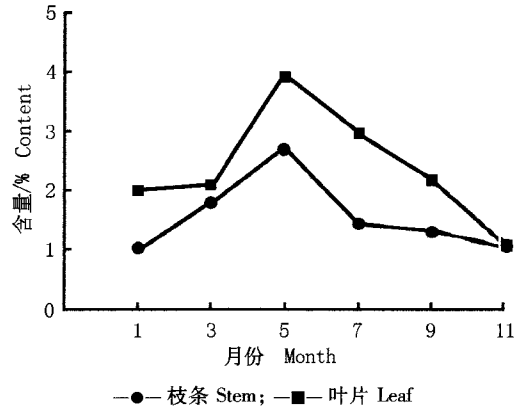


图 1 多花野牡丹枝条和叶片总黄酮含量的季节性变化

Fig. 1 The seasonal variation of content of total flavonoids in stems and leaves from *Melastoma affine* D. Don

月时最低, 为 1.03%; 两者的总黄酮含量均在 5 月份达到最高峰, 分别为 2.73% 和 3.95%; 叶片总黄酮含量比枝条高 1.22%。究其原因, 5、6 月份是多花野牡丹的花期, 在花期之前, 植物的营养生长达到最高点, 叶片和枝条中的黄酮类化合物含量也达到最高水平, 在生殖生长过后的 7、8 月份, 其含量迅速降低。多花野牡丹化学成分中的黄酮类化合物具有抗炎、抗菌作用, 故采收多花野牡丹以 5 月份为宜。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977. 941.
- [2] 福建省科学技术委员会《福建植物志》编写组. 福建植物志(第四卷)[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1989. 113-114.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第五十三卷第一分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1984. 156.
- [4] 姚菊玲, 唐昌越, 何平, 等. 多花野牡丹治疗宫颈糜烂 300 例临床观察[J]. 河南中医, 1990, 10(5): 24-25.
- [5] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000. 595-601.
- [6] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验(第三版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999. 214-215.
- [7] 元晓梅, 蒋明蔚. 聚酰胺吸附-硝酸铝显色法测定山楂及山楂制品中的总黄酮含量[J]. 食品与发酵工业, 1996, 22(4): 27-31.

(责任编辑: 张垂胜)