

华泽兰根的化学成分及其体外抑菌活性研究

刘梦元¹, 虞丽娟¹, 李燕慈¹, 田珂¹, 李路军^{1,2*}, 吴正治^{2*}

¹生物资源绿色转化湖北省协同创新中心, 武汉 430062; ²深圳市老年医学研究所, 深圳 518020

摘要: 利用硅胶、Sephadex LH-20、HPLC 等各种色谱分离技术, 从华泽兰根的乙醇提取物中分离得到 9 个化合物, 通过理化性质和 NMR 波谱数据对它们进行了结构鉴定, 分别为: 达玛二烯醇乙酸酯(**1**)、(2R,3S)-5-乙酰基-6-羟基-2-异丙烯基-3-乙氧基苯并二氢呋喃(**2**)、甾甾醇(**3**)、邻苯二甲酸二丁酯(**4**)、12,13-dihydroxyeuparin(**5**)、5-乙酰-6-羟基-2-异丙烯基苯并呋喃(**6**)、2,5-二乙酰基-6-羟基苯并呋喃(**7**)、ruscodibenzofuran(**8**)、2-乙酰-5-(1-炔丙基)-噻吩-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(**9**)。化合物**1**、**2**、**4**和**8**为首次从该种植物中分离得到, 其中**2**、**4**和**8**为首次从该属植物中分离得到。采用牛津杯法评价部分化合物对 5 种病原菌的抑菌活性, 并用肉汤稀释法测定各自的 MIC 值, 结果显示, 测试化合物对 5 种菌具有不同程度的抑菌活性, 其中, **1**、**6**和**8**对肺炎克雷伯菌有较强抑菌活性, MIC 值分别为 0.98、0.98 μg/mL 和 0.49 μg/mL, 化合物**7**对大肠埃希菌显示较强抑菌活性 (MIC ≤ 3.91 μg/mL), 化合物**1**、**2**、**6**和**7**对铜绿假单胞菌有较强抑菌活性, MIC 值均为 7.81 μg/mL, 可见化合物**1**及苯并呋喃类化合物**2**、**6**、**7**、**8**为华泽兰根主要抑菌活性成分。

关键词: 华泽兰; 化学成分; 苯并呋喃; 抑菌活性

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.11.013

Chemical Constituents from *Eupatorium chinense* L. Root and Their *in Vitro* Antibacterial Activity

LIU Meng-yuan¹, YU Li-juan¹, LI Yan-ci¹, TIAN Ke¹, LI Lu-jun^{1,2*}, WU Zheng-zhi^{2*}

¹Hubei Collaborative Innovation Center for Green Transformation of Bio-Resources, Wuhan 430062, China;

²Shenzhen Institute of Geriatrics, Shenzhen 518020, China

Abstract: Nine compounds were isolated and purified from the roots of *Eupatorium chinense* L. by various chromatographic techniques such as column chromatography on silica gel, Sephadex LH-20 and preparative HPLC. Their structures were elucidated by physicochemical properties and NMR, and were identified as dammaradienyl acetate (**1**), (2R,3S)-5-acetyl-6-hydroxy-2-isopropenyl-3-ethoxy-benzodihydrofuran (**2**), stigmasterol (**3**), phthalic acid dibutyl ester (**4**), 12,13-dihydroxyeuparin (**5**), 5-acetyl-6-hydroxy-2-isopropenyl benzofuran (**6**), 2,5-diacetyl-6-hydroxy benzofuran (**7**), ruscobenzofuran (**8**), 2-acetyl-5-(prop-1-ynyl)-thiophen-3-O-β-D-glucopyranoside (**9**). Compounds **1**, **2**, **4** and **8** were isolated from the species for the first time, among which **2**, **4** and **8** were isolated from *Eupatorium* genus for the first time. *In vitro* antibacterial activity against 5 kinds of pathogenic bacteria was investigated by Oxford cup method, MIC was also measured by broth dilution method. All the tested compounds showed antibacterial activities at varying degree on five kinds of bacteria. Compound **1**, **6** and **8** showed strong inhibitory effect on *Klebsiella pneumoniae* with the MIC 0.98 μg/mL, 0.98 μg/mL and 0.49 μg/mL respectively, compound **7** strongly inhibited *Escherichia coli* with MIC 3.91 μg/mL. Compound **1**, **2**, **6** and **7** showed strong inhibitory effect on *Pseudomonas aeruginosa* with the same MIC 7.81 μg/mL. The results indicated that the main active antibacterial ingredients may be related to **1** and benzofurans **2**, **6**, **7** and **8**.

Key words: *Eupatorium chinense* L.; chemical constituents; benzofurans; antibacterial activity

华泽兰 (*Eupatorium chinense* L.) 为菊科 (Com-

positae) 泽兰属 (*Eupatorium*) 植物, 多年生草本或半灌木, 常生长于山谷、林缘、草地或灌木丛中, 主要分布于中国东南部至西南部各省。其干燥根, 又名广东土牛膝、多须公、斑骨相思等。具有清热解毒、凉血利咽、抗炎镇痛的功效, 主治白喉、蛾喉、咽喉肿痛

收稿日期: 2015-04-13 接受日期: 2015-09-21

基金项目: 湖北省自然科学基金 (2011CDB066); 湖北省教育厅优秀中青年人才项目 (Q20120109)

* 通讯作者 Tel: 86-27-88663882; E-mail: lilujunhuda@163.com

等症,有“喉科圣药”之称,对喉部疾病疗效显著,民间使用极为广泛^[1]。目前文献报道从泽兰属植物中分离到的主要化学成分为黄酮类和倍半萜类化合物^[2,3]。为分离其中抗菌活性成分,合理开发利用这一药用植物资源,本实验对华泽兰根的化学成分进行了系统的研究。从华泽兰根95%乙醇提取物中分离得到9个化合物,分别鉴定为达玛二烯醇乙酸酯(1)、(2*R*,3*S*)-5-乙酰基-6-羟基-2-异丙烯基-3-乙氧基苯并二氢呋喃(2)、豆甾醇(3)、邻苯二甲酸二丁酯(4)、12,13-dihydroxyeuparin(5)、5-乙酰-6-羟基-2-异丙烯基苯并呋喃(6)、2,5-二乙酰基-6-羟基苯并呋喃(7)、ruscodibenzofuran(8)、2-乙酰-5-(1-炔丙基)-噻吩-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(9),化合物1、2、4和8为首次从该种植物中分离得到,其中2、4和8为首次从该属植物中分离得到。在此基础上,采用牛津杯法评价部分苯并呋喃类化合物的抑菌活性,并用肉汤稀释法测定它们的MIC值。以上研究丰富了该植物的化学成分研究内容,探索其抗菌活性的物质基础,有利于寻找具有潜在药物开发价值的抗菌活性先导化合物,为充分开发利用华泽兰奠定了理论基础。

1 材料与方法

1.1 仪器

Varian INOVA 600 型核磁共振仪(内标为TMS,美国Varian公司),WNMR 400 型核磁共振仪(中科开物);X-6 显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司,温度未校正);EZ Purifier MPLC(苏州利德科技有限公司);Knauer smartline 型半制备 HPLC(德国,诺尔),Agilent 1100 分析型 HPLC(美国,安捷伦科技公司),YMC-Pack ODS-A 系列色谱柱(250 mm \times 4.6 mm,5 μ m,1 mL/min;250 mm \times 9.4 mm,5 μ m,3 mL/min),ZF-6 型三用紫外线分析仪(上海嘉鹏科技有限公司);旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);SHZ-D(III)循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司);iMark 酶标仪;96 孔平底微孔板(Costar3599,USA,Corning);游标卡尺(富远);牛津杯(Φ 6 mm)。

1.2 试剂

LB 培养基,哥伦比亚血琼脂平板(广东环凯微生物科技有限公司);KF 链球菌肉汤培养基:青岛海博生物技术有限公司;氨苄青霉素(AMP,BIO-SHARP 公司生产,批号 0339);Sephadex LH-20(GE

Healthcare,Bio-sciences AB,Sweden);薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄、柱色谱用硅胶(100~200 目,200~300 目)均为青岛海洋化工厂产品;色谱甲醇为美国 Tedia 公司产品;色谱乙腈为美国 fisher 公司产品;其他试剂为分析纯。

1.3 材料与菌种

实验用药材采自湖南省冷水江市和青镇,经中国科学院华南植物园宁祖林博士鉴定为菊科泽兰属(*Eupatorium*)植物华泽兰(*Eupatorium chinense* L.)的干燥根,样品标本保存于湖北大学中药生物技术湖北省重点实验室。实验所选菌种:大肠埃希菌(*Escherichia coli*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)5 种标准菌株由华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科馈赠。

1.4 提取与分离

华泽兰干燥根 17.5 kg,适当粉碎后用 90% 乙醇回流提取 3 次,每次提取 2 h,合并提取液,减压回收溶剂至无醇味,用适量水混悬,分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇依次萃取,回收溶剂得石油醚萃取物 375 g,乙酸乙酯萃取物 412 g,正丁醇萃取物 1071 g。取石油醚萃取物经硅胶(100~200 目)柱色谱,用石油醚-乙酸乙酯系统(100:1~1:100)梯度洗脱得 A~G 7 个流份。C 流份再次通过硅胶(200~300 目)柱色谱,石油醚-乙酸乙酯(65:1)洗脱,所得流份重结晶得化合物 1(8.84 mg);D 流份经过硅胶(200~300 目)柱色谱,用石油醚-乙酸乙酯(50:1~40:1)洗脱得流份 D₁~D₅,D₃ 经过半制备 HPLC(甲醇:水=7:3)得化合物 2(27.6 mg);E 流份经过硅胶(200~300 目)柱色谱用石油醚-乙酸乙酯系统(15:1~10:1)洗脱得到化合物 3(10.8 mg);G 流份经过硅胶(200~300 目)柱色谱用石油醚-乙酸乙酯系统(1:1)洗脱得到 G₁ 和 G₂,G₁ 通过制备薄层色谱得化合物 4(70.74 mg);G₂ 经过半制备 HPLC(乙腈:水=6:4)得化合物 5(4.88 mg)。取乙酸乙酯萃取物经硅胶(100~200 目)柱色谱,用二氯甲烷-甲醇(100:1,50:1,25:1,10:1,5:1,2:1,1:1,1:100)梯度洗脱,得到 A~H 8 个流份,B 流份经过 MPLC(甲醇:水=6:4)得化合物 6(48.72 mg)和化合物 8(78.10 mg);C 流份经过 MPLC(二氯甲烷:甲醇=75:25),再过 Sephadex LH-20 凝胶得化合物 7(29.89 mg)。E 流份经过 MPLC(二氯甲烷:甲醇=10:1)得

到 E₁ ~ E₆ 6 个流份, E₂ 流份经过半制备 HPLC (乙腈: 水 = 1:19 ~ 1:0) 得化合物 **9** (3.21 mg)。

1.5 化合物抑菌活性测定

1.5.1 样品溶液的配制

将分离得到的单体化合物 1~4、6~8 分别用 DMSO 溶解配制成 2 mg/mL 的样品溶液, 备用。

1.5.2 菌悬液制备

取肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌分别接种于 LB 营养琼脂培养基上, 肺炎链球菌接种于哥伦比亚血琼脂培养基培养上, 37 °C 复苏培养 24 h 得到单菌落, 用接种环挑 1~2 个菌落分别接种于配好的 LB 液体培养基, 取肺炎链球菌单菌落接种到 KF 链球菌肉汤培养基中, 分别于 37 °C, 280 rpm 的摇床中培养 8~10 h, 得实验用菌液 (10⁶ ~ 10⁷ CFU/mL), 备用。

1.5.3 抑菌活性筛选

抑菌活性采用牛津杯法进行。在无菌超净工作台中, 将配制好的肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌分别均匀涂抹在 LB 固体培养基上, 肺炎链球菌均匀涂抹在哥伦比亚血琼脂培养基培养上。取消毒灭菌后的牛津杯放置在培养基表面, 分别加入样品溶液 200 μL, 勿使其外溢, 选用 DMSO 为空白对照, 50 μg/mL 的 AMP 作为阳性对照, 置于 37 °C 恒温培养箱中培养 18 h, 游标卡尺测量各自的抑菌圈直径。每个样品平行测定 3 次, 取平均值作为最终结果。

1.5.4 最低抑菌浓度测定

肉汤稀释法^[4]测定 MIC 值, 二倍稀释法配制系列浓度的样品溶液, 终浓度分别为: 250、125、62.5、31.25、15.63、7.81、3.91、1.95、0.98、0.49、0.25、0.125 μg/mL。分别加入 20 μL, 10⁶ ~ 10⁷ CFU/mL 细菌悬浮液, 不添加样品的为对照组。试管 37 °C 温浴 16~18 h, 用酶标仪在 600 nm 条件下测样品 OD 值, MIC 值为明显抑制细菌生长的最低化合物浓度。

2 结果与分析

2.1 结构鉴定

化合物 1 白色粉末, 易溶于氯仿, mp. 263 ~ 265 °C。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 0.84, 0.85, 0.86, 0.87, 0.97, 1.62, 1.69 (21H, s, 7 × CH₃), 2.04 (3H, s, CH₃COO), 5.13 (1H, tt, J = 7.0, 1.3 Hz, H-24), 4.74 (1H, d, J = 1.3 Hz, H-21 α), 4.71 (1H, d, J = 1.3 Hz, H-21 β), 4.48 (1H, dd, J =

11.2, 4.8 Hz, H-3); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 38.1 (C-1), 23.9 (C-2), 81.2 (C-3), 37.4 (C-4), 56.2 (C-5), 18.4 (C-6), 35.6 (C-7), 40.7 (C-8), 51.1 (C-9), 39.0 (C-10), 21.6 (C-11), 25.2 (C-12), 48.0 (C-13), 49.6 (C-14), 31.6 (C-15), 29.2 (C-16), 45.6 (C-17), 16.4 (C-18), 16.7 (C-19), 153.0 (C-20), 107.7 (C-21), 34.5 (C-22), 27.3 (C-23), 124.8 (C-24), 131.6 (C-25), 25.8 (C-26), 17.9 (C-27), 28.2 (C-28), 15.9 (C-29), 16.1 (C-30), 171.1 (C-31, Ac), 21.4 (C-32, Ac)。以上数据与文献^[5]基本一致, 化合物 **1** 鉴定为达玛二烯醇乙酸酯。

化合物 2 白色针晶 (氯仿), 易溶于乙酸乙酯, 难溶于甲醇, mp. 62 ~ 65 °C。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 1.24 (3 H, t, J = 7.0 Hz, H-16), 1.69 (3 H, br. s, H-14), 2.56 (3 H, s, H-11), 3.60 (2 H, q, J = 7.0 Hz, H-15), 4.75 (1 H, d, J = 2.0 Hz, H-3), 5.06 (1 H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 4.91 (1 H, br. s, H-13 α), 5.03 (1 H, br. s, H-13 β), 6.41 (s, 1H, H-7), 7.71 (1H, s, H-4), 12.98 (1H, s, OH); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 93.1 (C-2), 82.2 (C-3), 129.3 (C-4), 118.7 (C-5), 167.3 (C-6), 98.9 (C-7), 167.4 (C-8), 114.7 (C-9), 202.4 (C-10), 26.4 (C-11), 141.6 (C-12), 113.4 (C-13), 17.7 (C-14), 63.9 (C-15), 15.6 (C-16)。以上数据与文献^[6]基本一致, 化合物 **2** 鉴定为 (2R, 3S)-5-乙酰基-6-羟基-2-异丙烯基-3-乙氧基-苯并二氢呋喃。

化合物 3 白色晶体 (氯仿), 与硫酸-乙醇试剂反应显红色, mp. 145 ~ 146 °C。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 5.35 (1H, br. d, J = 5.0 Hz, H-6), 3.55 (1H, m, H-3), 0.69 (3H, s, CH₃-18), 0.83 (3H, s, CH₃-19), 0.91 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-21), 5.13 (1H, dd, J = 8.0, 15.1 Hz, H-22), 5.01 (1H, dd, J = 8.0, 15.1 Hz, H-23), 0.84 (3H, d, J = 6.3 Hz, CH₃-26), 0.79 (3H, d, J = 5.5 Hz, CH₃-27), 0.81 (3H, t, J = 7.4 Hz, CH₃-29); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 37.6 (C-1), 32.0 (C-2), 72.1 (C-3), 40.6 (C-4), 141.0 (C-5), 121.9 (C-6), 32.2 (C-7), 32.2 (C-8), 50.5 (C-9), 36.8 (C-10), 21.2 (C-11), 40.0 (C-12), 42.6 (C-13), 56.3 (C-14), 24.6 (C-15), 29.1 (C-16), 57.2 (C-17), 12.3 (C-18), 19.6 (C-19), 42.5 (C-20), 21.2 (C-21), 138.5 (C-22), 129.6 (C-23), 51.5 (C-24), 31.9

(C-25), 19.2 (C-26), 21.3 (C-27), 25.6 (C-28), 12.5 (C-29)。以上数据与文献^[7]基本一致, 化合物**3**鉴定为豆甾醇。

化合物 4 黄色油状物质, 易溶于氯仿, 难溶于丙酮, 甲醇。¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ : 7.70 (2H, dd, $J = 3.42, 5.88$ Hz, H-2, 5), 7.51 (2H, dd, $J = 3.42, 5.88$ Hz, H-3, 4), 4.30 (4H, t, $J = 6.96$ Hz, H-1', 1''), 1.75 (4H, tt, $J = 6.96, 7.68$ Hz, H-2', 2''), 1.43 (4H, tq, $J = 7.56, 7.72$ Hz, H-3', 3''), 0.95 (6H, t, $J = 7.56$ Hz, H-4', 4''); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ : 167.8 (C-7, 8), 131.0 (C-1, 6), 128.9 (C-2, 5), 132.4 (C-3, 4), 65.7 (C-1', 1''), 30.7 (C-2', 2''), 19.3 (C-3', 3''), 13.8 (C-4', 4'')。以上数据与文献^[8]基本一致, 化合物**4**鉴定为邻苯二甲酸二丁酯。

化合物 5 白色粉末, 溶于氯仿, UV_{254nm}下显紫色荧光, mp. 169 ~ 171 °C。¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ : 1.59 (3H, s, H-14), 2.67 (3H, s, H-11), 3.69 (1H, d, $J = 11.16$ Hz, H-13 α), 4.00 (1H, d, $J = 11.16$ Hz, H-13 β), 6.66 (1H, s, H-3), 6.97 (1H, s, H-7), 7.91 (1H, s, H-4); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ : 161.2 (C-2), 103.8 (C-3), 123.8 (C-4), 117.1 (C-5), 159.7 (C-6), 99.9 (C-7), 161.4 (C-8), 121.1 (C-9), 204.2 (C-10), 27.0 (C-11), 72.4 (C-12), 68.9 (C-13), 23.5 (C-14)。以上数据与文献^[9]基本一致, 化合物**5**鉴定为 12, 13-dihydroxyeu-parin。

化合物 6 黄绿色晶体 (氯仿), 易溶于氯仿, 可溶于甲醇、丙酮, mp. 118 ~ 120 °C。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 2.08 (3H, s, H-14), 2.66 (3H, s, H-11), 5.17 (1H, s, H-13 α), 5.74 (1H, s, H-13 β), 6.52 (1H, s, H-3), 6.95 (1H, s, H-7), 7.88 (1H, s, H-4), 12.48 (1H, s, OH); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 158.2 (C-2), 102.6 (C-3), 123.7 (C-4), 122.1 (C-5), 159.9 (C-6), 99.7 (C-7), 161.9 (C-8), 117.2 (C-9), 204.0 (C-10), 26.9 (C-11), 132.4 (C-12), 113.9 (C-13), 19.4 (C-14)。以上数据与文献^[10]基本一致, 化合物**6**鉴定为 5-乙酰基-6-羟基-2-异丙烯基-苯并呋喃。

化合物 7 黄色晶体, 易溶于氯仿, 可溶于甲醇、丙酮, mp. 144 ~ 146 °C。¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ : 7.46 (1H, s, H-3), 8.17 (1H, s, H-4), 7.08 (1H, s, H-7), 2.60 (3H, s, H-13), 2.73 (3H, s, H-

11), 12.56 (1H, s, OH-6); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ : 153.9 (C-2), 113.2 (C-3), 127.1 (C-4), 118.6 (C-5), 160.2 (C-6), 100.5 (C-7), 163.5 (C-8), 119.9 (C-9), 204.1 (C-10), 27.1 (C-11), 188.1 (C-12), 26.6 (C-13)。以上数据与文献^[9]基本一致, 化合物**7**鉴定为 2, 5-二乙酰基-6-羟基-苯并呋喃。

化合物 8 白色晶体, 易溶于氯仿, 可溶于甲醇、丙酮, mp. 143 ~ 145 °C。¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ : 12.78 (1H, s, OH-6), 8.30 (1H, s, H-4), 7.10 (1H, s, H-7), 7.13 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-14), 7.03 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-13), 2.76 (3H, s, H-11), 2.53 (3H, s, H-16), 2.74 (3H, s, H-17); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ : 155.7 (C-2), 121.7 (C-3), 124.8 (C-4), 116.4 (C-5), 163.2 (C-6), 100.2 (C-7), 161.4 (C-8), 119.3 (C-9), 203.8 (C-10), 26.9 (C-11), 118.5 (C-12), 128.1 (C-13), 124.7 (C-14), 130.0 (C-15), 15.0 (C-16), 19.7 (C-17)。以上数据与文献^[11]基本一致, 化合物**8**鉴定为 rus-codibenzofuran。

化合物 9 白色晶体, mp. 118 ~ 119 °C。¹H NMR (CD₃COCD₃, 400 MHz) δ : 7.14 (1H, s, H-4), 5.10 (1H, d, $J = 7.56$ Hz, H-1'), 4.71, 4.45, 4.34, 3.82 (4H, br. s 4 \times OH), 3.91 (1H, dd, $J = 11.4, 2.0$ Hz, H-6' α), 3.72 (1H, dd, $J = 11.4, 5.6$ Hz, H-6' β), 3.59 (1H, m, H-3'), 3.54 (2H, m, H-2', H-5'), 3.48 (1H, m, H-4'), 2.53 (3H, s, H-10), 2.09 (3H, s, H-8); ¹³C NMR (CD₃COCD₃, 100 MHz) δ : 125.3 (C-2), 157.3 (C-3), 124.0 (C-4), 130.2 (C-5), 73.7 (C-6), 95.5 (C-7), 4.4 (C-8), 190.1 (C-9), 29.8 (C-10), 103.4 (C-1'), 74.7 (C-2'), 78.2 (C-3'), 71.2 (C-4'), 78.3 (C-5'), 62.5 (C-6')。以上数据与文献^[12]基本一致, 化合物**9**鉴定为 2-乙酰-5-(1-炔丙基)-噻吩-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。

2.2 抑菌活性筛选

华泽兰中分离得到的化合物**1~4**和**6~8**抑菌活性实验结果如表**1**所示, 结果表明, 除化合物**2**对肺炎链球菌无明显抑菌活性外, 测试化合物对供试菌均具有不同程度的抑菌活性。相对于阳性对照组, 它们对肺炎克雷伯菌均具有较强的抑菌活性, 化合物**7**明显抑制大肠埃希菌生长, 化合物**1, 6~8**对铜绿假单胞菌具有明显的抑菌活性, 所有测试化合物对金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌显示较弱抑菌活性。

表1 华泽兰根部分化合物抑菌活性筛选 ($n=3$)Table 1 Antibacterial activities of compounds from *E. chinense* root ($n=3$)

供试样品及对照药 Sample and standard	供试菌(抑菌圈直径 mm) Microbial strain (inhibitory zone diameter mm)				
	肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>	铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	肺炎链球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>
1	17.47	7.84	9.88	9.04	15.06
2	15.47	7.70	7.34	8.67	-
3	13.77	7.36	7.59	8.65	12.62
4	13.19	7.84	7.81	12.33	15.06
6	16.03	7.98	8.86	8.12	10.98
7	14.20	9.18	10.79	11.27	14.56
8	17.01	7.75	8.98	12.31	13.80
AMP	13.91	9.22	7.56	23.8	35.78

注:表中抑菌圈直径为3次结果的平均值,“-”表示抑菌圈直径 ≤ 6.0 mm。

Note: data were mean value of three parallel experiments;“-” indicated inhibitory zone was no more than 6.0 mm.

2.3 最低抑菌浓度测定

化合物1~4和6~8对5种供试菌的MIC值,见表2。由表中MIC值可知,化合物2对肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌的MIC值分别为3.91、3.91 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。化合物1、6和8对肺炎克雷伯菌抑菌活性最强,MIC值分别为0.98、0.98 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和0.49 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

5种测试菌种,化合物7对大肠埃希菌显示最强抑菌活性($\text{MIC} \leq 3.91 \mu\text{g}/\text{mL}$)。化合物1、2、6和7对铜绿假单胞菌的MIC值均为7.81 $\mu\text{g}/\text{mL}$,化合物3对所有测试菌的MIC均大于250 $\mu\text{g}/\text{mL}$,所有测试化合物对金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌的MIC均大于250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表2 华泽兰根部分化合物最低抑菌浓度

Table 2 The minimal inhibitory concentrations of compounds from *E. chinense* root

供试样品 Sample	供试菌(最低抑菌浓度 $\mu\text{g}/\text{mL}$) Microbial strain (minimal inhibitory concentrations $\mu\text{g}/\text{mL}$)				
	肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>	铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	肺炎链球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>
1	0.98	-	7.81	-	-
2	3.91	3.91	7.81	-	-
3	-	-	-	-	-
4	-	15.63	-	-	-
6	0.98	7.81	7.81	-	-
7	31.25	3.91	7.81	-	-
8	0.49	0.98	125	-	-

注:“-”:MIC > 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

Note:“-” indicated the minimal inhibitory concentrations was more than 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

3 结论

本实验利用硅胶、Sephadex LH-20、HPLC等各种色谱分离技术,从华泽兰根的乙醇提取物中分离得到9个化合物,其中,1、6和8对肺炎克雷伯菌有较强抑菌活性,MIC值分别为0.98 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.98 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和0.49 $\mu\text{g}/\text{mL}$,化合物7对大肠埃希菌显示较强抑菌活性($\text{MIC} \leq 3.91 \mu\text{g}/\text{mL}$),化合物1、2、6和7对铜绿假单胞菌有较强抑菌活性,MIC值均为

7.81 $\mu\text{g}/\text{mL}$,由此推测化合物1及苯并呋喃类化合物2、6、7、8为华泽兰根主要抑菌活性成分。

参考文献

- Zhang DY (张丹雁), Wang H (王宏), Lai XZ (赖秀珍). A preliminary study of chemical constituents of Guangdong Tu-Niu-Xi. *Chin J Folk Med* (中国民族民间医药杂志), 1999, 39: 232-234.

(下转第1949页)