

# 中草藥萃取物之抗微生物研究

彭皓、蔡明勳

E-mail: 322034@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

由於越來越多有致病力與傳染力的細菌，在臨床上被發現具有抗生素抗藥性，所以必須尋找新的化合物或天然萃取物來抑制或治療細菌感染。我們利用各種微生物，包含實驗室常用指示細菌、病原菌和真菌，來測試五種中草藥植物之萃取物是否具有抑制微生物生長的功效。本研究首先使用濾紙擴散分析法來試驗萃取物是否能抑制細菌生長，然後再測定不同萃取物的最低抑菌濃度(minimum inhibitory concentration, MIC)。結果顯示香椿、黃柏、白芍和番石榴的萃取物對*Staphylococcus epidermidis*的MIC分別為0.0200 mg/ml、>1.9223 mg/ml、0.0599 mg/ml與0.0200 mg/ml；香椿、高良薑、黃柏、白芍和番石榴的萃取物對*Bacillus cereus*的MIC分別為0.0892 mg/ml、0.0198 mg/ml、0.9736 mg/ml、0.5111 mg/ml與0.0595 mg/ml；香椿、高良薑、番石榴、黃柏、白芍萃取物對酵母菌*Saccharomyces cerevisiae*的MIC分別為>1.9147 mg/ml、0.4199 mg/ml、1.7316mg/ml、0.5911 mg/ml與>1.9147 mg/ml；對念珠菌*Candida albicans*的MIC分別為>1.9184 mg/ml、0.2728 mg/ml、>1.9166mg/ml、0.6882 mg/ml與>1.9175 mg/ml；香椿、番石榴、黃柏、高良薑、白芍萃取物對病原菌*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*的MIC分別為1.5499 mg/ml、1.0706 mg/ml、>1.9225 mg/ml、0.5768 mg/ml與>1.9227 mg/ml；高良薑和番石榴萃取物對病原菌*Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*的MIC分別為0.0798 mg/ml與1.3612 mg/ml。我們發現這五種中草藥植物的萃取物對革蘭氏陽性菌有明顯抑菌效果，但對格蘭氏陰性菌則無效，對酵母菌和真菌則有較低的抑制效果。這些具有抗菌效果的萃取物，其MIC越小實用性就越高，未來在日常生活與醫療領域上的效用也越高，其中許多植物萃取物對測試的細菌之MIC甚至低於常用的抗生素—Ampicillin，因此有進一步研究的必要。

關鍵詞：抗微生物、抗生素、中草藥萃取物、最低抑菌濃度

## 目錄

封面內頁 簽名頁 授權書 iii 中文摘要 iv 英文摘要 vi 誌謝 vii 目錄 viii 圖目錄 xii 表目錄 xvi 1 前言 1 2 文獻回顧 3 2.1 香椿的介紹 3 2.1.1 香椿的成分和功效 3 2.2 白芍的介紹 4 2.2.1 白芍的成分和功效 5 2.3 番石榴的介紹 7 2.3.1 番石榴的成分和功效 8 2.4 高良薑的介紹 10 2.4.1 高良薑的成分和功效 10 2.5 黃柏的介紹 11 2.5.1 黃柏的成分和功效 12 2.6 微生物 13 2.6.1 細菌 13 2.6.2 真菌 14 2.6.3 病原菌 15 2.7 實驗目的 16 3 材料與方法 17 3.1 實驗材料 17 3.1.1 天然植物萃取物的材料 17 3.1.2 菌種 17 3.2 實驗藥品 17 3.3 實驗器材 18 3.4 微生物培養基配置 18 3.4.1 培養基組成 18 3.4.1.1 Nutrient Beef Extract Agar (NA)固態培養基 19 3.4.1.2 Nutrient Beef Extract (NB) 液態培養基 19 3.4.1.3 Yeast extract Peptone Dextrose (YPD)固態培養基 19 3.4.1.4 Yeast extract Peptone Dextrose (YPD)液態培養基 19 3.5 菌株培養之條件 20 3.6 測出菌株的菌落數 20 3.7 植物萃取液的製備 21 3.8 測試植物萃取物對細菌生長的抑制效果 21 3.8.1 抑菌圈實驗 21 3.8.1.1 細菌和病原菌的抑菌圈實驗 21 3.8.1.2 真菌的抑菌圈實驗 22 3.9 測最低抑菌濃度(Minimum inhibitory concentration, MIC)數值 22 3.9.1 細菌、病原菌的MIC測定 23 3.9.2 真菌的MIC測定 23 4 結果與討論 24 4.1 五種天然萃取物對微生物的抑菌圈實驗 24 4.1.1 五種天然萃取物對仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)抗菌作用 24 4.1.2 五種天然萃取物對黃金葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*) 抗菌作用 28 4.1.3 五種天然萃取物對大腸桿菌(*Escherichia coli*)抗菌作用 31 4.1.4 五種天然萃取物對葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*)抗菌作用 33 4.1.5 五種天然萃取物對枯草桿菌(*Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*) 抗菌作用 36 4.1.6 五種天然萃取物對綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*) 抗菌作用 38 4.1.7 五種天然萃取物抗菌實驗比較 40 4.1.8 五種天然萃取物對酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)抗菌作用 43 4.1.9 五種天然萃取物對念珠菌(*Candida albicans*)抗菌作用 45 4.2 液態培養基測試 47 4.2.1 白芍萃取物對微生物液態培養基的MIC測試 47 4.2.2 香椿萃取物對微生物液態培養基的MIC測試 52 4.2.3 高良薑萃取物對微生物液態培養基的MIC測試 57 4.2.4 番石榴萃取物對微生物液態培養基的MIC測試 63 4.2.5 黃柏萃取物對微生物液態培養基的MIC測試 70 5 結論 76 參考文獻 80 圖2.1 香椿全樹圖 4 圖2.2A 白芍圖 6 圖2.2B 赤芍圖 6 圖2.2C 芍藥之外觀 7 圖2.3A 番石榴葉 9 圖2.3B 番石榴果實剖面圖 9 圖2.4 高良薑葉圖 11 圖2.5 黃柏圖 13 圖4.1.1A 五種天然萃取物對仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)抑菌結果 26 圖4.1.1B 萃取物對仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)的抑菌圈實驗放大圖 27 圖4.1.1C 萃取物對仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)的抑菌圈實驗放大圖 27 圖4.1.1D 萃取物對仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)的抑菌圈實驗放大圖 27 圖4.1.2A 五種天然萃取物對黃金葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)抑菌結果 29 圖4.1.2B 萃取物對黃金葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)的抑菌圈實驗放大圖 30 圖4.1.2C 萃取物對黃金葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)的抑菌圈實驗放大圖 30 圖4.1.2D 萃取物對黃金葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)的抑菌圈實驗放大圖 30 圖4.1.3 五種天然萃取物對大腸桿菌(*Escherichia coli*)抑菌結果 32 圖4.1.4A 五種天然萃取物對葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*)抑菌結果 34 圖4.1.4B 萃取物對葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*)的抑菌圈實驗放大圖 35 圖4.1.5A 五種天然萃取物對枯草桿菌(*Bacillus subtilis* subsp.

spizizenii) 抑菌結果 37 圖4.1.5B 萃取物對枯草桿菌(*Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*) 的抑菌圈實驗放大圖 38 圖4.1.6 五種天然萃取物對綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*) 抑菌結果 39 圖4.1.8A 五種天然萃取物對酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*) 抑菌結果 44 圖4.1.8B 萃取物對酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*) 的抑菌圈實驗放大圖 44 圖4.1.9A 五種天然萃取物對念珠菌(*Candida albicans*) 抑菌結果 45 圖4.1.9B 萃取物對念珠菌(*Candida albicans*) 的抑菌圈實驗放大圖 46 圖4.2.1A 白芍萃取物對仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*) 液態培養基的測試 48 圖4.2.1B 白芍萃取物對黃金葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*) 液態培養基的測試 49 圖4.2.1C 葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*) 白芍萃取物對液態培養基的測試 50 圖4.2.1D 白芍萃取物對酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*) 液態培養基的測試 51 圖4.2.1E 白芍萃取物對念珠菌(*Candida albicans*) 液態培養基的測試 51 圖4.2.2A 香椿萃取物對仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*) 液態培養基的測試 53 圖4.2.2B 香椿萃取物對葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*) 液態培養基的測試 54 圖4.2.2C 香椿萃取物對黃金葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*) 液態培養基的測試 55 圖4.2.2D 香椿萃取物對酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*) 液態培養基的測試 56 圖4.2.2E 香椿萃取物對念珠菌(*Candida albicans*) 液態培養基的測試 56 圖4.2.3A 高良薑萃取物對枯草桿菌(*Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*) 液態培養基的測試 58 圖4.2.3B 高良薑萃取物對葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*) 液態培養基的測試 59 圖4.2.3C 高良薑萃取物對仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*) 液態培養基的測試 60 圖4.2.3D 高良薑萃取物對酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) 液態培養基的測試 61 圖4.2.3E 高良薑萃取物對念珠菌(*Candida albicans*) 液態培養基的測試 62 圖4.2.4A 番石榴萃取物對枯草桿菌(*Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*) 液態培養基的測試 64 圖4.2.4B 番石榴萃取物對葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*) 液態培養基的測試 65 圖4.2.4C 番石榴萃取物對仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*) 液態培養基的測試 66 圖4.2.4D 番石榴萃取物對黃金葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*) 液態培養基的測試 67 圖4.2.4E 番石榴萃取物對酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*) 液態培養基的測試 68 圖4.2.4F 番石榴萃取物對念珠菌(*Candida albicans*) 液態培養基的測試 69 圖4.2.5A 黃柏萃取物對仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*) 液態培養基的測試 70 圖4.2.5B 黃柏萃取物對黃金葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*) 液態培養基的測試 71 圖4.2.5C 黃柏萃取物對葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*) 液態培養基的測試 71 圖4.2.5D 黃柏萃取物對酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*) 液態培養基的測試 72 圖4.2.5E 黃柏萃取物對念珠菌(*Candida albicans*) 液態培養基的測試 73 表4.1.7A 五種天然萃取物對細菌抑菌圈實驗統整表 40 表4.1.7B 五種天然萃取物對病原菌抑菌圈實驗統整表 41 表4.1.7C 五種天然萃取物對真菌抑菌圈實驗統整表 42 表5A 五種天然萃取物對細菌之MIC統整表 76 表5B 五種天然萃取物對病原菌之MIC統整表 77 表5C 五種天然萃取物對真菌之MIC統整表 78

## 參考文獻

1. 卜憲章、肖桂武、古練權等。2000。高良薑化學成分研究。中藥材23(2):84。
2. 王美玲。1989。台灣黃柏莖皮之研究。靜宜女子文理學院應用化學研究所碩士論文。
3. 王珮愷。2000。椿葉水萃取液在Alloxan所誘發的糖尿病鼠中降血糖作用之研究。高雄醫學大學醫學研究所碩士論文。
4. 安川惠。2003。高良薑的抗促癌作用。國外醫學，中醫中藥分冊。25(1):53。
5. 李幸祥。2007。藥草圖鑑事典(01)。農學股份有限公司出版。台北。
6. 李幸祥。2007。藥草圖鑑事典(03)。農學股份有限公司出版。台北。
7. 李幸祥。2007。藥草圖鑑事典(06)。農學股份有限公司出版。台北。
8. 林金絲。2002。實用傳染病防治學。華杏出版股份有限公司。台北市。
9. 邱年永、張光雄。1989。原色台灣藥用植物圖鑑(01)。南天出版社。台北。
10. 邱年永。2008。原色台灣藥用植物圖鑑(05)。南天出版社。台北。
11. 徐明達。2004。細菌的世界。天下雜誌股份有限公司。台北。
12. 徐雯敏。2004。香椿對老化促進小鼠學習記憶力、抗氧化狀態與精子品質之影響。靜宜大學食品營養學系碩士論文。
13. 張明發、沈雅琴。2000。溫裡藥溫經止痛除痺的藥理研究。中國中醫藥信息雜誌。7(1):30。
14. 張碧芬、袁紹英、遊呈祥。2004。微生物學的世界。天下遠見出版有限公司。台北。
15. 曾聰徹、陳瑞青。1985。真菌學之最近發展。國科會生物科學中心專刊。12:207。
16. 黃忠村。2001。應用微生物。復文書局。台南。
17. 楊馥瑜。2003。香椿對人類精子生理功能之探討。成功大學生物學系研究所碩士論文。
18. 劉小紅、張尊聽、段玉峰等。2002。市售天然植物香料的抗氧化作用研究。食品科學。23(1):143。
19. 蔡竹固。1989。植物病原簡介(二)真菌。嘉義農專農藝學報。21:19-40。
20. 蕭孟芳。2002。圖解醫學微生物學與感染症。合記圖書出版社。台北市。
21. 賴志河、張芸潔。2002。醫護微生物及免疫學。新文京開發出版。台北。
22. 應紹舜。1988。台灣高等植物彩色圖誌(3)。應紹舜印行。台北。
23. 顏焜熒。1996。原色生藥學。南天書局。台北。
24. Alexo CJ. 1996. Introductory Mycology. John Wiley & Sons. Inc. New York. U. S. A. p.868.
25. Chen F, Lu HT and Jiang Y. 2004. Purification of paeoniflorin from paeonia lactiflora Pall. By high-speed counter-current Chromatography. J Chromatogr A. 1040:205-208.
26. Daitetsu S, Kaoru K, Kiyotaka K. 2002. Aritimet principles of *Alpinia officinarum*. Kunio J Nat Prod. 65:1315.
27. Dean G, Guan Y and Hui G. 2006. A new phenolic glycoside from paeonia lactiflora. Fitoterapia. 77:613-614.
28. Edmonds JM and Staniforth M. 1998. Curtis 's Botanical Magazine. Toona Sinensis (Meliaceae). 15(3):186-193.
29. Furusawa Y, Kurosawa Y and Chuman I. 1973. Trypsin inhibitor in oriental drug plants and its antiinflammatory effect. Nippon Nogei Kagaku Kaishi. 47:359-365.
30. Hino K, Yamaguchichi S, Ida Y, Satoh Y, Maoka T and Itoh Y. 1995. Antioxidative activities of constituents in *Phellodendron amurense* bark. Igaku to seibutsugaku. 131:59-62.
31. Hisashi M, Toshio M, Hiromi M and Masayuki Y. 2003. Antiallergic principles from *Alpinia galanga*: structural requirements of phenylpropanoids for inhibition of degranulation and release of TNF- and IL-4 in RBL-2H3 cells. Bioorg Med Chem Lett. 13:3197-3202.
32. Hsieh TJ, Liu TZ, Chia YC, Chern CL, Lu FJ, Chuang MC, Mau SY, Chen SH, Syu YH and Chen CH. 2004. Protective effect of methyl gallate from *Toona sinensis* (Meliaceae) against hydrogen peroxide-induced oxidative stress and DNA damage in MDCK cells. Food Chem Toxicol. 42(5):843-50.
33. Huang Y, Xie S and Zhang Y. 2001. Lotion for treating tinea pedis. Zhongcayao. 32:127-128.
34. Jennifer M, Edmonds and Martin S. 1998. Bentham-Moxon Trust. Toona Sinensis. 186-196.
35. Kim DH, Song MJ,

Bae EA and Han MJ. 2000. Inhibitory effect of herbal medicines on rotavirus infectivity. *Biol Pharm Bull.* 23:356-358. 36. Kondo Y and Suzuki H. 1991. Suppression of tumor cell growth by berberrubine, a pyrolyzing artifact of berberine. *Shoyakugaku Zasshi.* 45:35-39. 37. Lee SE, Hwang HJ, Ha JS. 2003. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life Science.* 73:167. 38. Lee SM, Li ML, Tse YC, Leung SC, Lee MM, Tsui SK, Fung KP, Lee CY and Wave MM. 2002. Paeonia Radix, a Chinese herbal extract, inhibit hepatoma cells growth by inducing apoptosis in a p53 independent pathway. *Life Sci.* 71:2267-2277. 39. Leopold J, Gerhard B, Mohamed PS. 2003. Analysis of the essential oils of the leaves, stems, rhizomes and roots of the medicinal plant *Alpinia alangal* from southern India. *Acta Pharm.* 53:73. 40. Marcelin O, Saulnier L and Brillouet JM. 1991. Extraction and characterisation of water-soluble pectic substances from guava (*Psidium guajava* L.). *Carbohydrate Research.* 212:159-167. 41. Min Z, Katherine TL and Polau L. 2002. Protective effect of a plant formula on ethanol-induced gastric lesions in rats. *Phytother Res.* 16:276. 42. Miyazawa M, Fujioka J and Ishikawa Y. 2002. Insecticidal compounds from *Phellodendron amurense* active against *Drosophila melanogaster*. *J Sci Food Agric.* 82:830-833. 43. Moon CK, Sim KS, Lee SH, Park KS, Yun YP, Ha BJ and Lee CC. 1983. Antitumor activity of some phytobased polysaccharides and their effects on the immune function. *Arch Pharmacol Res.* 6:123-131. 44. Moon YH, Su JS and William WA. 2001. Anti-genotoxicity of galangin as a cancer chemopreventive agent candidate. *Mutation Res.* 488:135. 45. Namba T, Shiraki K and Kurokawa M. 1998. Development of antiviral agents from traditional medicines. *Int Congr Ser.* 1157:67-87. 46. Otsuka H, Tsukui M, Matsuoka T, Goto M, Fujimura H, Hiramatsu Y and Sawada T. 1974. Antiinflammatory screening by a fertile egg method. *Yakugaku Zasshi.* 94:796-801. 47. Park JC, Y.B. Yu, J.H. Lee, J.S. Chol and K.D. Ok. 1996. Phenolic Compounds from the Rachis of *Cedrela sinensis*. *Kor J Pharmacogn.* 27(3):219-223. 48. Park KS, Kang KC, Kim JH, Adams DJ, Johng TN and Paik YK. 1999. Differential inhibitory effects of protoberberines on sterol and chitin biosyntheses in *Candida albicans*. *J Antimicrob Chemother.* 43:667-674. 49. Qureshi S, Shah AH and Ageel AM. 1992. Toxicity studies on *Alpinia galangal* and *curcuma longa*. *Planta Med.* 58:124-127. 50. Soares FD, Pereira T, Maio MM and Monteiro AR. 2007. Volatile and non-volatile chemical composition of the white guava fruit (*Psidium guajava*) at different stages of maturity. *Food Chemistry.* 100:15-21. 51. Su RH, Kim M, Nakajima S, Takahashi S and Liu M. 1994. Amides from the fruits of *Phellodendron chinense*. *Zhiwu Xuebao.* 36:817-820. 52. Tanaka T, M. F, Ochi T and Kouno I. 2003. Paeonianins A-E, New Dimeric and Monomeric Ellagitannins from the Fruits of *Paeonia lactiflora*. *J Nat Prod.* 66:759-763. 53. Tsai LY, Huang CC, Hsiao JK, Lin SK and Chang CS. 2003. Effects of *Toona sinensis* Roemer Concentrate on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced Oxidative Damage in HL-60 and K562 Cell Lines. 中華民國醫事檢驗學會九十二年度學術發表會, 台北榮民總醫院致德樓. 54. Wang L, Hu Y, Tu P, Wu Z, Zheng J and Guo D. 2001. Antifungal activity screening on 13 crude drug extracts and chemical constituents. *Zhongcaoyao.* 32:241-244. 55. Wu HK and Sheu SJ. 1996. Capillary electrophoretic determination of *Paeonia Radix*. *J Chromatogr A.* 753:139-146. 56. Wu TS, Hsu MY, Kuo PC, Sreenivasulu B, Damu AG, Su CR, Li CY and Chang HC. 2003. Constituents from the leaves of *Phellodendron amurense* var. *wilsonii* and their bioactivity. *J Nat Prod* 66:1207-1211. 57. Wu WN, Mitscher LA and Beal JL. 1976. A note on the isolation and identification of the quaternary alkaloids of *phellodendron wilsonii*. *Lloydia.* 39:249-252. 58. Xian G and Liang B. 2000. Experimental observation on bactericidal efficacy of compound disinfectant solution of Chinese drugs and chlorhexidine. *Zhongguo Xiaoduxue Zazhi.* 17:229-231. 59. Xu HM, Wei W, Jia XY, Chang Y and Zhang L. 2007. Effects and mechanisms of total glucosides of paeony on adjuvant arthritis in rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 109:442-448. 60. Yang HO, Ko WK, Kim JY and Ro HS. Paeoniflorin: an antihyper-lipidemic agent from *paeonia lactiflora*. *Fitoterapia.* 75:45-49. 61. Lee Sheng-Hsien, Chang Ku-Shang, Su Min-Sheng, Huang Yung-Sheng and Jang Hung-Der. 2007. Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi. *Food Control.* 18(12):P1547-1554.