

# Antimicrobial effects of chinese herbal extracts

彭皓、蔡明勳

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

## ABSTRACT

Since there are more infectious bacteria with resistances to clinical used antibiotics, it is necessary to search for new compounds or extracts that can inhibit or suppress growths of bacteria. We used microorganism including bacteria, fungi and pathogens, to test whether extracts from 5 Chinese herbs and plant can inhibit or suppress growths of microorganism, respectively. We first used filter diffusion assay to test if extracts can inhibit bacterial growths. We next determined the minimum inhibitory concentrations (MICs) of different anti-bacterial extracts. The results showed that the Chinese mahogany and phellodendron, *Paonia lactiflora* Pall, Guava extracts of the MIC of the bacteria *Staphylococcus epidermidis* was 0.0200 mg/ml and > 1.9223 mg/ml, 0.0599 mg/ml, 0.0200 mg/ml; The MIC against *Bacillus cereus* were 0.0892 mg/ml, 0.0918 mg/ml, 0.9736 mg/ml, 0.5111 mg/ml and 0.0595 mg/ml. Chinese mahogany and Galangin, Guava, phellodendron, *Paonia lactiflora* Pall, on fungal *Saccharomyces cerevisiae* the MIC was > 1.9147 mg/ml, 0.4199 mg/ml, 1.7316 mg/ml, 0.5911 mg/ml and > 1.9147 mg/ml. The MIC against *Candida albicans* were > 1.9184 mg/ml, 0.2728 mg/ml, > 1.9166 mg/ml, 0.6882 mg/ml and > 1.9175 mg/ml. Chinese mahogany and Galangin, Guava, phellodendron, *Paonia lactiflora* Pall, on pathogenic *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus* the MIC was 1.5499 mg/ml, 0.5768 mg/ml, 1.0706 mg/ml, > 1.9225 mg/ml and > 1.9227 mg/ml. Galangin, guava extract *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* the MIC was 0.0798 mg/ml and 1.3612 mg/ml. The anti-bacterial effects of extracts of the less practical, the higher the MIC, the effectiveness of medical treatment in the future the higher.

Keywords : anti-microorganisms、 anti-biotics、 chinese herbal extracts、 minimum inhibitory concentration.

## Table of Contents

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

## REFERENCES

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.