

山苍子挥发油及其主要成份柠檬醛 抗真菌作用的研究

北京中医学院中西医结合研究室

周 勇 陶君梯 张家俊

内容提要 本研究证实了山苍子挥发油为广谱抗真菌药物,其主要成份为柠檬醛。柠檬醛气熏或直接抗真菌有效剂量相当于生药 $0.0006\text{g}/\text{cm}^3$ 或 $0.014\text{g}/\text{ml}$ 培养基,是一种作用较强的广谱杀真菌成份。根据山苍子挥发油的 LD_{50} 量与有效剂量相比其毒性很低,实用研究证明药物气熏有阻止物质霉变的作用;通过体内及有关实验进一步研究,将有助于临床或有关物品防霉应用的可能性。

我们从中草药挥发油筛选防霉药物过程中,发现山苍子挥发油有较好抗真菌作用,因而对山苍子挥发油主要成份柠檬醛也进行了抗霉菌作用实验研究,报告如下。

材料与方法

一、试验材料

1. 试验菌株: 试验中共用了 12 种真菌,其中一般真菌九株: 链格孢霉、木霉、黄曲霉、黑曲霉、土曲霉、焦曲霉、腊叶芽枝霉、拟青霉及产黄青霉,以上菌株由中国科学院微生物研究所提供;致病性真菌三株: 石膏样小芽胞菌、狗小芽胞菌、白色念珠菌,由首都医院临床分离。

2. 试验用培养基: 抗真菌试验用的培养基为查氏和沙氏培养基(包括平板、液体两种)。

3. 真菌接种材料: 试验用真菌接种到查氏斜面培养基上, 25°C 培养 3~5 天,用 2ml 生理盐水洗下,用血球计数板计孢子数目,最后稀释到 50 万孢子/ml 作为试验用。

4. 试验用药物: 山苍子挥发油(每 ml 山苍子挥发油相当生药 20g)及柠檬醛(浓度为 90%)均由上海香料厂出品(二厂)。黄曲霉毒素 B_1 为中国科学院劳动卫生研究所提供。

二、试验方法

1. 平皿法: 取一环试验真菌划线接种在沙氏平板上,每一块平板接种 5~6 种真菌。另取一灭菌对称平皿碟,内放入无菌滤纸,按试验要求加入不同量的药物。立即将已接种真菌培养皿碟倒置在药皿碟上,然后用塑料胶带将平皿间缝密封,整个容积为 150cm^3 ,置 25°C 培养 7 天,以观察药物挥发性气体

的气熏抗真菌作用。按同法作空白对照。药物有效剂量计算按抑制全部试验真菌生长最小量,除以试验容器的体积(cm^3),亦即有效剂量为每立方厘米内抑制全部试验真菌所含最小药物量(ml)。

2. 试管法: 将挥发油吐温混悬液,同沙氏液体培养基稀释成含不同浓度药物系列,同时以吐温 80 作空白对照。于每一系列的每一管中接种一株试验真菌液 0.1ml, 25°C 培养 7 天,观察结果。有效剂量为能抑制全部试验真菌生长的最小药物浓度。

3. 转种试验法: 为了确定药物的抗菌作用是抑菌作用还是杀菌作用,从最低药物浓度抑菌管(试管法)中,取一环培养液转种到无药沙氏液体培养管中, 25°C 培养 7 天,仍无真菌生长者为杀菌作用,若重新有真菌生长者为抑菌作用。

4. 抗真菌实用研究——防止霉菌对大米、布、纸及中药材霉变及其灭菌效果的试验方法: 大米 5g、中草药材 4g 各平铺一层于平皿内,白棉布及白色滤纸剪成宽 2cm 长 6cm 的长方形,以上物品均以 8 磅灭菌,对装有大米、及中草药材每一个平皿中,分别接种黄曲霉、黑曲霉、焦曲霉及产黄青霉(每种霉菌均以沙氏汤配成 10 万孢子/ml 菌液)0.3ml,布及纸分别浸于上述菌液中,然后将种有霉菌的大米及中草药平皿放入直径 24cm 的干燥器中,布及纸挂于架上也置于干燥器内,实验罐于罐底放三个平皿,每个平皿加柠檬醛 1ml,对照罐不加药,实验罐及对照罐内均加入少量水以保证罐内湿度,然后涂凡士林加盖密封,置 25°C 培养 7 天,肉眼观察大米、药材、布及纸有无霉菌生长,与此同时,进一步进行转种试验,以确定药物杀霉作用,其方法,以无菌手续取对照组及试验组大米(三粒)、中草药(相等大小二根),布及纸剪成相

等大小的一小块，分别接种于沙氏汤及沙氏琼脂倾注平皿，25℃培养7天，观察结果。

5. 对黄曲霉毒素降解试验方法：取黄曲霉毒素B₁ (10μg/ml) 100μl 加到一小称量瓶（直径2cm 高2cm）中，用氩气赶走溶剂，去盖，置于加有2ml 山苍子油或柠檬醛直径为8.5cm 皿碟中，再用另一个同样的皿碟对扣并用塑料胶带密封，对照以水2ml 代替药物，每一种同样作三份，置37℃温箱中，不同时间取出一组皿碟测定药物对霉毒素的降解，测定方法用薄层点板，在紫外光365nm 波长下，与黄曲霉毒素B₁ 标准的最小检测量荧光强度比较定量⁽¹⁾。

实验结果

一、山苍子挥发油及其主要成份柠檬醛气熏（平皿法）抗十二株真菌有效剂量分别为 2×10^{-5} ml/cm³ 及 3×10^{-5} ml/cm³，相当生药为 0.0012g/cm³、0.0006g/cm³。直接（试管法）抗十二株真菌有效剂量为 15×10^{-4} ml 药物/ml 培养基及 7×10^{-4} ml 药物/ml 培养基，相当生药为 0.03g/ml 培养基及 0.014g/ml 培养基。说明山苍子挥发油及其主要成份柠檬醛是一种作用较强的广谱抗真菌药物。

二、转种试验结果证明山苍子挥发油和柠檬醛对所有试验真菌菌株呈杀菌作用。

三、防止物质霉变实用研究结果证明，柠檬醛气熏能阻止霉菌（黄曲霉、黑曲霉、焦曲霉、及产黄青霉）对大米、布、纸及中药材的霉变，七天培养后，肉眼观察对照组长满了霉菌，所试验物品由于霉变而变质，但试验组所试验物品肉眼观察无霉菌生长，并且取材转种培养也无霉菌生长，证明药物杀灭了接种在其上的霉菌。

四、山苍子挥发油毒性试验，采用本院动物室供给昆明种小鼠灌胃进行LD₅₀测定，LD₅₀为3.25±0.22ml/kg，相当生药为65±4.4g/kg。

五、山苍子挥发油和柠檬醛气熏对黄曲霉毒素B₁降解结果，气熏第八天分别降解17%及29%，第十二天分别降解54.55%及61.54%。

讨 论

山苍子又名山鸡椒 (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) 为樟科植物，其挥发油主要成份为柠檬醛、甲基庚稀酮⁽²⁾。我们未对山苍子挥发油进行分析，只对其主要成份柠檬醛进行抗真菌试验，发现其抗真菌强度比山苍子挥发油强一倍，这可能是由于柠檬醛为其主要成份之故。山苍子挥发油抗真菌作用除柠檬醛外不排除有其他成份有抗真菌作用，但柠檬醛是主要抗真菌有效成份是肯定的。

平皿法及试管法测出药物抗菌有效剂量不同，这可能接种菌量不同（试管法接种菌量为50万孢子/ml 0.1ml，而平皿法只接种一环）及试验方法不同有关。

根据山苍子挥发油LD₅₀为3.25±0.2ml/kg，按生药计算相当65±4g/kg，与抗真菌有效剂量相比其毒性是很低的。

本研究主要是实验室内抗真菌效果的测定，结果表明山苍子挥发油有较强的广谱抗真菌作用，其主要有效成份为柠檬醛，因而发现一种新的抗真菌成份，有一定的理论意义。其次本药具有下列特点：（1）抗真菌作用强。（2）广谱抗霉剂，对九种一般霉菌及三种致病真菌均有抗菌效果。（3）为杀真菌作用，而不是抑菌作用。（4）毒性低。所以通过体内试验及有关试验进一步研究，完全有用于临床或有关物品防霉广泛应用的可能性。

参 考 文 献

- 1 中华人民共和国卫生部. 食品卫生检验方法(理化部分). 第2版. 北京: 技术标准出版社, 1979: 57—62
- 2 江苏新医学院. 中药大辞典. 下册, 第1版. 上海: 人民出版社, 1977: 1572—1573.

欢迎订阅《黑龙江中医药》杂志

《黑龙江中医药》杂志是普及与提高相结合的中医药综合性刊物。从一九八四年突出临床，注重实用为主。新开设争鸣园地、经方运用、学术探讨、国内外中医药学术动态等栏目。每期56页，单价0.30。代号(14—29)。欢迎广大读者踊跃到邮局(所)订阅。破订亦可。如有漏订者，请与本刊邮购部联系。

《黑龙江中医药》杂志社启