

细辛挥发油抗真菌作用及其有效成分黄樟醚的研究

周 勇* 姚三桃*** 吴 琦** 谭允育** 张家俊* 陶君娣* 翁玉椿*

真菌能引起物质霉变,特别是中药药材等,历年因发生霉变所造成的损失是很可观的;致病性真菌还可引起人类及牲畜一些真菌性疾病,其中如一些产毒霉菌(如黄曲霉等)可以引起癌症,危害人民健康甚大^(1,2)。

细辛为常用中草药之一,有祛风散寒止痛的功能,多年来国内外对细辛及其挥发油进行了药理、临床研究,发现它有解热、镇痛及抑菌等多方面的作用。我们在筛选抗霉药物中发现细辛挥发油有抗真菌作用,并对其抗真菌的有效成分黄樟醚进行了研究。现将结果报道如下。

材料与方法

一、试验材料

1. 试验菌株:试验中共用16株真菌。其中一般真菌11株:链格孢霉、黄曲霉、黑曲霉、土曲霉、焦曲霉、球毛壳、腊叶芽枝霉、木霉、聚多曲霉、拟青霉及黄青霉,以上霉菌由中国科学院微生物研究所提供;致病性真菌5株:石膏样小芽孢菌、狗小芽孢菌、红色毛霉、白色念珠菌及絮状表皮癣菌,由首都医院临床分离。

2. 试验用培养基:抗真菌试验所用的培养基为查氏或沙氏培养基(包括平板、斜面及液体三种培养基)。

3. 真菌接种材料:试验真菌接种到查氏斜面培养基上,25℃培养3~5天,用2毫升灭菌生理盐水洗下,用血球计数板计数孢子数目,最后稀释到50万孢子/毫升作为试验用。

4. 试验药物:细辛挥发油由细辛(*Asarum sieboldi* Miq.)提取;黄樟醚由上海土产品进出口公司提供,纯度为97.5%;甲醛(分析纯)由北京化工三厂出品;石炭酸(分析纯)由天津化学第一厂出品。

二、试验方法

1. 平板法: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。另取一灭菌对称皿碟,内放入灭菌滤纸,按实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,然后用塑料胶带将皿的缝隙密封,整个容积为150立方厘米,置25℃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的细辛挥发油的最小量,除以试验容器的体积(立方厘米),亦即有效剂量为每立方厘米空间内抑制全部试验真菌所含最小药物量(毫升)。

2. 倾注试管斜面法:将试验所用的细辛挥发油与等量的灭菌吐温研磨混合,配成不同浓度的细辛挥发油混悬液,倒入一定量溶化的2%沙氏琼脂内,混合摇匀,然后按等体积分装成含不同药量的倾注试管斜面。取一环试验真菌划线接种于含药的琼脂斜面上,25℃培养7天,观察结果。有效剂量为每毫升培养琼脂内抑制全部试验真菌生长所含最小药物量(毫升)。以吐温80作空白对照。

3. 试管法:将挥发油吐温混悬液,用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0.1毫升,25℃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。

4. 转种试验法:为了确定药物的抗菌作用是抑菌作用还是杀真菌作用,我们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琼脂平板上,或取一环培养液转种到无药沙氏液体培养管中,25℃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。

结 果

一、细辛挥发油、黄樟醚的抗真菌效果

* 北京中医学院中西医结合研究室

** 北京中医学院微生物教研组

*** 中医研究院中药研究所

两种药物对 16 种真菌,同时采用平皿法、倾注试管斜面法及试管法三种方法,进行抗真菌效果的观察。

1. 平皿法:

(1) 细辛挥发油:当药物量为 0.5、0.05 和 0.01 毫升时,在所试验的 16 株真菌中分别有 16、16 和 3 株(球毛壳、红色毛霉、絮状表皮癣菌)真菌的生长受到抑制;当药物量减少到 0.005 毫升时,对所有 16 株试验真菌生长均无抑制作用、细辛挥发油的有效剂量为 3×10^{-4} 毫升/厘米³。

(2) 黄樟醚:试验结果,加入 0.5、0.05 和 0.01 毫升药物时,16 株真菌的生长均受到抑制;而当药物剂量减少到 0.005 毫升时,所有试验菌株均生长良好,不受抑制。黄樟醚的有效剂量为 6×10^{-5} 毫升/厘米³。

(3) 40%甲醛:药物量为 0.5、0.05 和 0.01 毫升时,16 株试验真菌中分别有 16、16 和 1 株(絮状表皮癣菌)真菌的生长受到抑制;当药物剂量为 0.005 毫升时,16 株真菌均生长良好。40%甲醛的有效剂量为 3×10^{-4} 毫升/厘米³。

(4) 空白对照:16 株真菌均生长良好。

2. 倾注试管斜面法:

(1) 细辛挥发油:加入 0.01、0.001 和 0.0005 毫升细辛挥发油时,16 株试验真菌中分别有 16、16 和 4 株(球毛壳、腊叶芽枝霉、狗小芽孢菌和絮状表皮癣菌)真菌的生长受到抑制;加入药物量为 0.0001 毫升时,所有试验菌株均生长良好,不受抑制。细辛挥发油的有效剂量为 10^{-5} 毫升/毫升培养基。

(2) 黄樟醚:当药物剂量为 0.01、0.001 和 0.0005 毫升时,16 株试验真菌的生长均受到抑制;而当药物剂量为 0.0001 毫升时,16 株试验真菌中除絮状表皮癣菌的生长受到抑制外,其余 15 株真菌均生长良好。黄樟醚的有效剂量为 5×10^{-4} 毫升/毫升培养基。

(3) 吐温 80 对照:16 株试验真菌全部生长良好。

3. 试管法:试验结果,细辛挥发油、黄樟醚和石炭酸的有效剂量分别为 10^{-5} 、 6×10^{-4} 和 12×10^{-4} 毫升/毫升培养基。

以上实验结果看出:黄樟醚的气熏抗真菌作用较细辛挥发油者强 4 倍,较 40%甲醛也强 4 倍;黄樟醚的直接抗真菌效果为细辛挥发油的 0.6~1 倍,为石炭酸的 1 倍。说明细辛有效成分黄樟醚是一种较强的广谱抗霉成分。

二、转种试验

试验结果表明,细辛挥发油对链格孢霉、木霉、

聚多曲霉、黄青霉等为抑菌作用,对其它真菌为杀菌作用;黄樟醚对所有 16 种试验真菌均为杀菌作用。

三、细辛挥发油的抗真菌主要有效成分的研究

1. 气相色谱法对细辛挥发油进行定性和定量分析:本试验所用的细辛挥发油经标准品定性的主要成分为甲基丁香酚、黄樟醚、龙脑、蒎烯等。抗真菌效果试验表明,纯度为 97.5% 的黄樟醚有较强的抗真菌效果,其抗真菌效果比细辛挥发油强,而甲基丁香酚、蒎烯等无抗真菌作用。

2. 细辛挥发油中黄樟醚含量对抗真菌效果的影响:在试验过程中,发现细辛挥发油的抗真菌效力与黄樟醚含量有关。当黄樟醚含量为 11.7% 时其气熏(平皿法)抗真菌的有效剂量为 3×10^{-4} 毫升/厘米³;当黄樟醚含量为 4.8% 时,其有效剂量下降为 3×10^{-5} 毫升/厘米³。

3. 细辛挥发油不同分馏馏分的抗真菌效果:将细辛挥发油进行减压蒸馏,取其中四个馏分(A、B、C、D 馏分),分别做黄樟醚气相色谱定量分析及抗真菌试验(平皿法)。其结果见附表。

附表 细辛挥发油四个分馏馏分黄樟醚含量和抗真菌效果的关系

分馏部分	分馏温度(°C)	黄樟醚含量(%)	抗真菌的有效剂量
A 馏分*	59~61	甚微 [△]	3×10^{-3}
B 馏分	117~122	65.2	$< 6 \times 10^{-6}$
C 馏分	130	甚微 ^{△△}	无效
D 馏分	>130	甚微	无效

* 真空度为 16 毫米汞柱;△ 主要为蒎烯类化合物等;

△△ 主要为甲基丁香酚等

附表说明在细辛挥发油的四个馏分中,以 B 馏分的抗真菌效果为最好,黄樟醚含量也最高。A 馏分有一定的抗真菌作用,可能与此部分含有其它抗真菌成分有关。综合上述试验结果,黄樟醚为细辛挥发油中抗真菌的主要有效成分是比较肯定的。

讨 论

细辛为常用中草药之一,曾有报道细辛对溶血性链球菌、痢疾杆菌、伤寒杆菌及结核杆菌等有一定抑制作用^(3,4),但未见到有抗真菌的报道。

在细辛挥发油的主要成分中只有黄樟醚、甲基丁香酚、 α -蒎烯、 β -蒎烯等经标准品定性外,其余成分未进行鉴定。经标准品定性的几个成分与文献报道基本一致^(5,6)。

三种试验方法所得有效剂量不同,气熏作用(平

皿法) 所得有效剂量比直接作用 (倾注试管斜面法及试管法) 小, 考虑可能与实验条件不同 (主要是接种的菌量不同) 有关; 其次细辛挥发油中除黄樟醚为主要有效成分外, 也可能还有其它抗真菌作用的成分。

黄樟醚的抗真菌效力比 40% 甲醛、石炭酸都强, 甲醛、石炭酸是传统公认的防腐剂, 所以黄樟醚是一种具有较强的广谱抗真菌作用的化学成分。对其毒副作用尚未进行研究。

小 结

本研究发现了细辛挥发油、黄樟醚为广谱抗真菌药物, 并证明黄樟醚抗真菌作用为杀菌作用, 而细辛挥发油对部分试验真菌只起到抑菌作用。药物无论通过挥发性气体熏或直接作用都有抗真菌作用。其

次, 确定了黄樟醚为细辛挥发油抗真菌主要有效成分, 其抗真菌有效剂量强达 6×10^{-8} 毫升/立方厘米, 其杀菌作用较 40% 甲醛强 4 倍, 比石炭酸强 1 倍, 所以黄樟醚是一种较强的广谱抗真菌的化学成分。但由于对其全面药理作用尚不清楚, 所以其实际意义还有待进一步研究。

参 考 文 献

- (1) 孟昭赫等: 真菌毒素研究进展. 56、285 页, 人民卫生出版社, 1978。
- (2) 杨璞娜等: 湖北卫生 (6): 16, 1980。
- (3) 微生物学教研组: 山东医学院学报 (8): 42, 1959。
- (4) 王徽等: 植物学报 2(2): 312, 1953。
- (5) 长沢元夫: 药学杂志 (日) 81: 129, 1961。
- (6) 斋木保久等: 同上 87: 1529, 1967。

斑 蝥 性 味 辛 寒 的 商 榷

南京化学工业公司医院 宁再安

古今医书和药典多谓斑蝥性味辛寒, 然而亦偶见“或作甘咸温”(谢观编纂《中国医学大辞典》)。辛甘咸或可兼备, 但寒温性质迥然不同, 应予分辨。

一、外用熨热, 发赤起泡

斑蝥外用, 或加工研粉防护不严, 都能刺激皮肤和粘膜, 引起充血发赤、熨热、疼痛和水泡。这与搽薄荷油 (辛凉) 的清凉感相反, 而与外敷毛茛 (辛温) 的反应一致。据葛瑞昌报告 (赤脚医生杂志 1979 年 3 期), 外敷斑蝥粉过量, 可引起似 II 度烧伤样的症状和体征, 并致人死亡。

二、内服灼痛, 尿血吐血

斑蝥小剂量内服, 其毒性反应主要表现在泌尿系统, 如尿频急, 小便灼痛, 尿深茶色, 或肉眼血尿 (一般煎服 2 只即可发生)。其次为消化系统, 如口干咽燥, 消化道灼痛, 恶心呕吐, 或吐血水、血块, 或便血 (吞服散剂更为明显)。前者与膀胱湿热或心移热于小肠一致, 后者与胃火炽盛或热迫大肠相似, 亦与内服巴豆 (辛热) 的中毒反应雷同。

误服或误用斑蝥过量, 可迅速引起少尿、尿闭、尿毒症, 各脏器充血、出血, 个别可损害神经系统导致痿证。少数中毒严重而救不及时者, 可因急性肾功能不全, 和全身循环衰竭而死亡。据陈金华报告 (云南医药 1981 年 1 期), 斑蝥中毒死亡的典型特征是: 尸体发斑、发泡 (色红, 多在 10 小时以内发生)、高度肿胀 (腹胀尤甚)。这些不但说明斑蝥致死前的反应,

与因热致病的相应病症类似, 而且证实尸体的特征, 也与斑蝥火热之毒相关。

三、解毒救急, 凉药对抗

经云: “热者寒之”。斑蝥毒性猛烈, 古今医书所载解毒救急方药皆为寒凉之品。如《本草纲目》载, 杨登甫云: “但毒之行, 小便必涩痛不可当, 以木通、滑石、灯芯导之”。李时珍认为: 靛汁、黄连、黑豆、葱、茶等皆能解其毒。后人用黄柏、玉簪花根、冷水调六一散等, 亦皆寒凉类药物。

四、验证临床, 热证罔效

斑蝥的主要功效: 外用攻毒蚀疮, 内服破血散结。主治疮疽、癰疽、症瘕、狂犬咬伤。疽、癰疽、症瘕, 一般都不属阳证、热证。狂犬病有恐水的特殊症状, 与一般热证口渴喜饮截然不同。据庄志双验证 (辽宁中医杂志 1981 年 2 期) 证实, 用斑蝥治狂犬病确有卓效。

笔者曾用斑蝥制剂, 酒浸外搽治疗神经性皮炎, 水煎内服治疗风寒痹痛或胎死腹中; 熬膏滋内服治疗单纯风寒型咳嗽等, 都有一定疗效。

总之, 斑蝥性味辛热, 其毒乃火毒。凡中医辨证属寒证, 或无热象者均可用之; 而热证或阴虚内热者当列为禁忌。外用剂量应小, 内服 (尤为散剂) 以糯米炒制弃虫用米, 取其气而不取其质最宜。斑蝥虽有剧毒, 误用过量而救不及时常可杀人, 但取用得当并不可怕, 且每见奇效。