维普资讯 http://www.cqvip.com

黄酮和甾体类化合物的抗真菌活性*

周立刚[1] 张颖君[2] 蔡 艳[2+] 刘玉青[2] 王锦亮[2] 王君健[1] 杨崇仁[2++]

([1] 华中理工大学药物研究所 武汉 430074)

([2] 中国科学院昆明植物研究所 昆明 650204)

摘 要 用琼脂扩散法对从药用植物中分离到的12个黄酮和5个甾体化合物进行了抗真菌活性实验，其中黄芩甙元(baicalein)、funkioside C和胡萝卜甙(daucosterol)对尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和白色念珠菌(*Candida albicans*)的生长均有抑制作用，对尖孢镰刀菌的最低抑菌浓度(MIC)分别为0.112、0.217和0.108g/L，对白色念珠菌的MIC分别为0.264、0.310和0.078g/L。对其构效关系进行了初步讨论。

关键词 黄酮，甾体，尖孢镰刀菌，白色念珠菌，抗真菌活性

从植物中寻找具抗真菌活性的先导化合物或抗真菌药物是当前新药研究的热点之一[1]。本文以尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和白色念珠菌(*Candida albicans*)为代表菌，对从药用植物中分离到的12个黄酮和5个甾体化合物的体外抗真菌活性进行了筛选，并初步讨论其构效关系。

1 材料和方法

1.1 菌种来源

尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* Schlecht)和白色念珠菌(*Candida albicans* Berkh ATCC10231)菌株由日本涌永制药株式会社提供。

1.2 培养基

固体培养基组成：葡萄糖20g/L，水解酪蛋白5g/L，磷酸二氢钾1g/L，酵母浸膏2g/L，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g/L，琼脂15g/L；

将固体培养基去除琼脂即为液体培养基。

培养基的pH值在灭菌前调为5.7±0.1。固体培养基用于菌种传代保存和抑菌活性测定。液体培养基用于真菌的悬浮培养和测定最低抑菌浓度(MIC)。

1.3 生物量的测定

将菌液过滤收获，于60℃烘干至恒重，然后计算每升培养液中含菌体的克数(g/L)，以此表示菌液中所含的生物量。

收稿日期：1996年11月27日

* 云南省应用基础研究基金资助项目(95B087Q)

+ 贵阳医学院1996年实习生，现在贵阳市武当区防疫站工作。

++ 通讯联系人 Author to whom correspondence should be addressed

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.4 抗菌活性的筛选

用琼脂扩散法(agar diffusion test)[2]进行抗菌活性筛选，用液体稀释法(serial dilution test in liquid medium)[3]测定最低抑菌浓度。

1.5 菌体的悬浮培养

每 50ml 三角瓶内装培养基 20ml，测试化合物用二甲基亚砜(DMSO)溶解，加入到培养基中，每 20ml 培养基中加入 20μl 处于对数生长期的菌液，于 160rpm、28℃暗培养。菌液培养一段时间后，过滤收获，测定菌液的 pH 值，菌体于 60℃烘干至恒重。每个样品处理均重复 3 次。

1.6 测试化合物

所有测试的天然黄酮及甾体化合物均由本研究小组从药用植物中分离得到，其中：

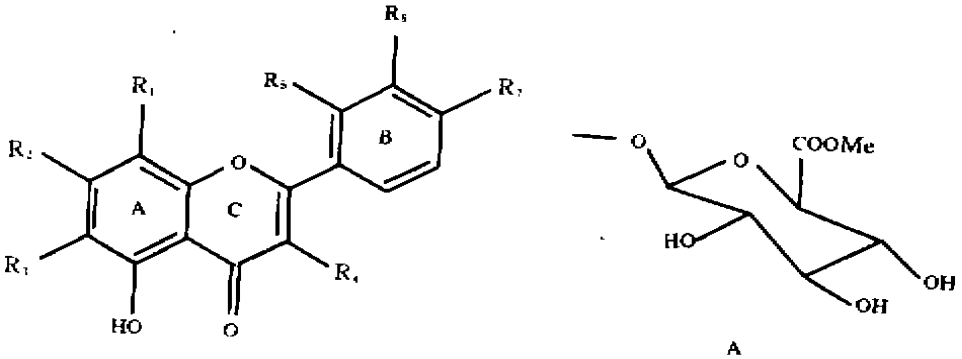
1.6.1 黄酮类化合物：5,6-二羟基-7-甲氧基黄酮(negletin)(2)，5,6-二羟基-7-甲氧基黄酮 6-O-β-D-葡萄糖甙(negletin 6-O-β-D-glucopyranoside)(3)和 5,7,2'-三羟基黄酮 2'-O-β-D-葡萄糖甙(5,7,2'-trihydroxyflavone 2'-O-β-D-glucopyranoside)(5)分离自唇形科植物羽萼(*Colebrookea oppositifolia* Smith)[4]；5,6-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮(ladanein)(6)分离自唇形科植物荆芥(*Schizonepeta tenuifolia* Benth)；黄芩甙元(baicalein)(1)、5,8,2'-三羟基-7-甲氧基黄酮(5,8,2'-trihydroxy-7-methoxy-flavone)(7)和木蝴蝶素 A 7-O-葡萄糖醛酸甲酯(oroxylin A 7-O-glucuronide methylate)(4)分离自唇形科植物滇黄芩(*Scutellaria amoena* C. H. Wright)；槲皮素 3-O-葡萄糖甙(quercetin 3-O-glucoside)(12)分离自唇形科植物夏枯草(*Prunella vulgaris* L.)[5]；山萘酚 3-O-鼠李糖甙(kaempferol 3-O-rhamnoside)(8)和槲皮素 3-O-鼠李糖甙(quercetin 3-O-rhamnoside)(9)分离自茶科植物云南山茶(*Camellia reticulata* Lindl.)；槲皮素 3-O-半乳糖甙(quercetin 3-O-galactoside)(10)和山萘酚 3-O-葡萄糖甙(kaempferol 3-O-glucoside)(11)分离自壳斗科植物青冈(*Cyclobalanopsis glauca* Oersted)。

1.6.2 甾体类化合物：薯蓣皂甙元(diosgenin)(13)，funkioside C(14)，滇黄精甙 A(kinglanoside A)(15)，25-(R)-PO-8(16)和胡萝卜甙(daucosterol)(17)分离自百合科植物滇黄精(*Polygonatum kingianum* Coll. *et* Hemsl.)[6]。

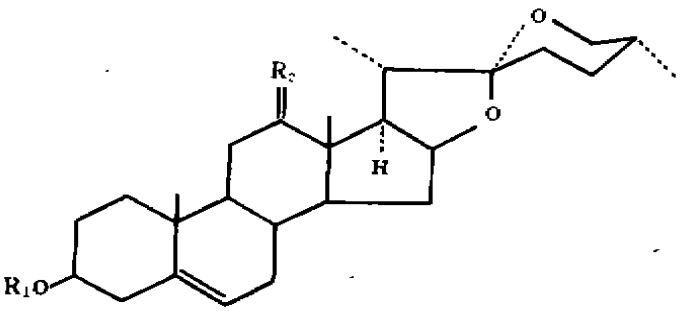
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
1	-H	-OH	-OH	-H	-H	-H	-H
2	-H	-OMe	-OH	-H	-H	-H	-H
3	-H	-OMe	-OGlu	-H	-H	-H	-H
4	-H	-OA	-OMe	-H	-H	-H	-H
5	-H	-OH	-H	-H	-OGlu	-H	-H
6	-H	-OMe	-OH	-H	-H	-H	-OMe
7	-OH	-OMe	-H	-H	-OH	-H	-H
8	-H	-OH	-H	-ORha	-H	-H	-OH
9	-H	-OH	-H	-ORha	-H	-OH	-OH
10	-H	-OH	-H	-OGal	-H	-OH	-OH
11	-H	-OH	-H	-OGlu	-H	-OH	-OH
12	-H	-OH	-H	-OGlu	-H	-OH	-OH

Glu：β-D-glucopyranosyl；Rha：α-L-rhamnopyranosyl；Gal：β-D-galactopyranosyl

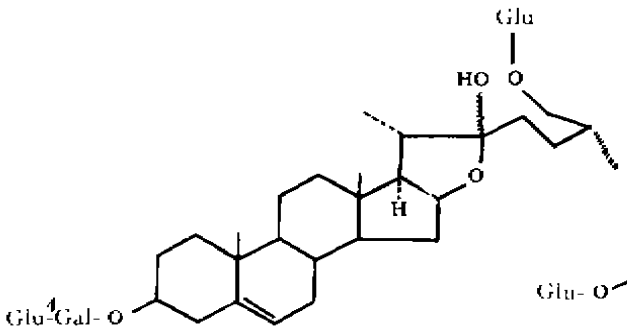
维普资讯 http://www.cqvip.com



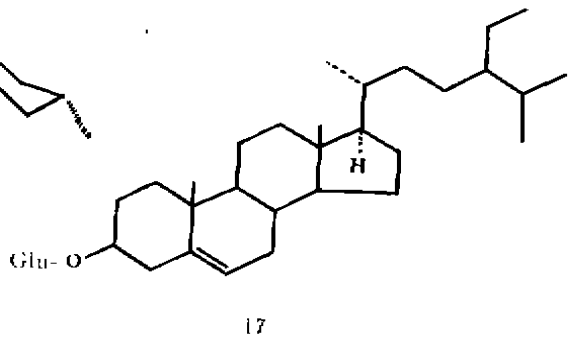
A



	R_1	R_2
13	-H	H_2
14	-Gal[4]-Glu	H_2
15	-Gal[6]-Glu	O



16



17

2 结果和讨论

2.1 对尖孢镰刀菌和白色念珠菌的抑菌试验

17 个化合物对尖孢镰刀菌和白色念珠菌抗菌活性的筛选结果如表 1 所示。其中 1、14 和 17 在所试浓度范围内对尖孢镰刀菌和白色念珠菌的生长均有抑制作用，其抑菌圈试验和 MIC 结果如表 2 所示。

尖孢镰刀菌和白色念珠菌分别是植物和人体常见的病原菌，通常用于抗真菌试验的代表菌[7]，所试验的 12 个黄酮化合物中，仅 1 对尖孢镰刀菌和白色念珠菌的生长均有抑制作用。1 为 A 环 C-5、C-6 和 C-7 位羟基取代、B 环无取代的黄酮类化合物，其 C-6 和 C-7 位羟基若被甲

维普资讯 http://www.cqvip.com

氧基取代或配糖化(如化合物 2、3、4、6、7),则抗菌活性消失。化合物 5 的 C-6 位无含氧基取代,而 B 环配糖化,亦无抗菌活性。化合物 8～12 为黄酮醇 C-3 位羟基配糖化的黄酮甙,其 C-6 位无氧取代基,而 B 环有羟基,则均未显示有抗菌活性。尽管所测试化合物有限,上述初步结果表明 A 环具羟基、B 环无取代基的黄酮甙元有明显的抗菌活性。

表 1 黄酮和甾体化合物对尖孢镰刀菌和白色念珠菌抗菌活性

Tbale 1 Antifungal activities of flavonoids and steroids on *F. oxysporum* and *C. albicans*

化合物 Compounds	化合物浓度 Conc. of compounds (g/L)	尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*	白色念珠菌 *C. albicans*	化合物 Compounds	化合物浓度 Conc. of compounds (g/L)	尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*	白色念珠菌 *C. albicans*
	1.175	+	+		1.495	−	−
1	0.294	+	−	10	0.374	−	−
	0.073	−	−		0.093	−	−
	0.018	−	−		0.023	−	−
	1.535	−	−		0.840	−	−
2	0.384	−	−	11	0.210	−	−
	0.096	−	−		0.053	−	−
	0.024	−	−		0.013	−	−
	1.255	−	−		1.130	−	−
3	0.315	−	−	12	0.283	−	−
	0.079	−	−		0.071	−	−
	0.020	−	−		0.018	−	−
	1.260	−	−		1.345	−	−
4	0.315	−	−	13	0.336	−	−
	0.079	−	−		0.084	−	−
	0.020	−	−		0.020	−	−
	1.055	−	−		1.355	−	+
5	0.264	−	−	14	0.339	+	−
	0.066	−	−		0.085	−	−
	0.016	−	−		0.021	−	−
	1.050	−	−		1.110	−	−
6	0.263	−	−	15	0.278	−	−
	0.066	−	−		0.069	−	−
	0.016	−	−		0.017	−	−
	1.310	−	−		0.820	−	−
7	0.328	−	−	16	0.205	−	−
	0.082	−	−		0.051	−	−
	0.020	−	−		0.013	−	−
	1.345	−	−		1.890	+	+
8	0.336	−	−	17	0.473	−	−
	0.084	−	−		0.118	−	−
	0.021	−	−		0.030	−	−
	1.150	−	−				
9	0.288	−	−				
	0.072	−	−				
	0.018	−	−				

* 每孔加入化合物应用液为 60μl;+:表示有抑菌活性;−:表示无抑菌活性。

所测试的 4 个 C-27 甾体化合物中,仅 14 对尖孢镰刀菌和白色念珠菌的生长均表现出抑制活性,其甙元 13 却无抗菌活性,提示 C-3 位羟基的配糖化能使 C-27 甾体化合物的抗菌活性提高。和 14 的相比,15 在 C-12 位上多了一个羟基,显示无抗菌活性。16 为呋甾烷型甾体皂甙,无抗菌活性。已有文献报道过类似的结果,即呋甾烷皂甙无抗菌活性,而其相应的螺甾烷皂甙却具有明显的抗菌作用。在 C-27 甾体皂甙的生源合成途径上,螺甾烷型为呋甾烷型酶解后脱一分子葡萄糖而使 F 环关环形成的,因此螺甾烷型的甾体皂甙有可能是植物在被真菌感染后,由贮藏在体内原生的呋甾烷型甾体皂甙转化形成的具有抗真菌活性植物防卫素(phytoalexin)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 2 化合物 1、14 和 17 对尖孢镰刀菌和白色念珠菌生长的抑制作用

Tbale 2 Inhibition of compounds 1, 14 and 17 on the growth of *F. oxysporum* and *C. albicans*

试验菌 Fungi	化合物 Compounds	琼脂扩散试验 Agar diffusion tset		MIC (g/L)
		化合物浓度 Conc. of compounds (g/L)	抑菌圈直径 Inhibitory zone (mm)	
尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*	1	1.175	17.28	0.112
	14	1.355	16.38	0.217
	17	1.890	18.00	0.108
白色念珠菌 *C. albicans*	1	1.175	15.30	0.264
	14	1.355	12.00	0.310
	17	1.890	16.40	0.078

* 每孔加入化合物应用液为 60μl

2.2 化合物 1 对尖孢镰刀菌和白色念珠生长的影响

为了确定化合物对真菌悬浮培养生长影响合适的收获期，观察了尖孢镰刀菌和白色念珠菌悬浮培养的生长动态，结果如图 1 和图 2 所示。用于化合物抗真菌活性筛选的尖孢镰刀菌悬浮培养最佳收获时间为培养 72h，而白色念珠菌的最佳收获时间为培养 60h。尖孢镰刀菌菌液 pH 值变化为培养开始时下降，然后缓缓回升。而白色念珠菌菌液 pH 值变化为在培养开始时迅速下降，然后回升，逐渐稳定在 3.8 左右。

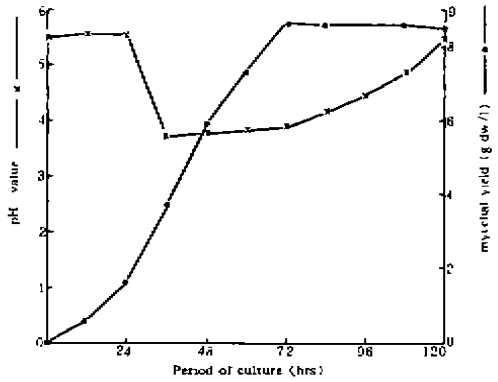


图 1 尖孢镰刀菌悬浮培养生长动态

Fig. 1 Growth kinetics of *F. oxysporum* in suspension culture

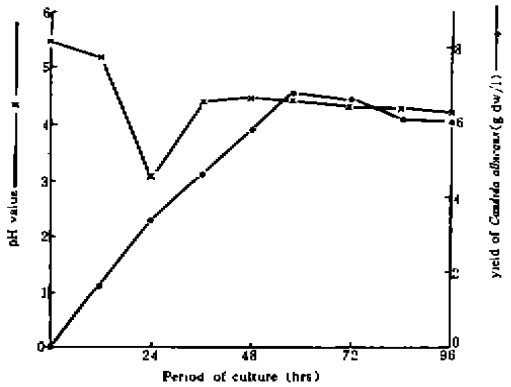


图 2 白色念珠菌悬浮培养动态

Fig. 2 Growth kinetics of *C. albicans* in suspension culture

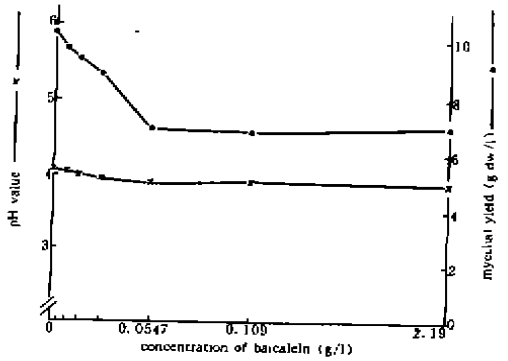


图 3 黄芩甙元(1)对尖孢镰刀菌悬浮培养的影响

Fig. 3 Effects of baicalein(1) on suspension culture of *F. oxysporum*

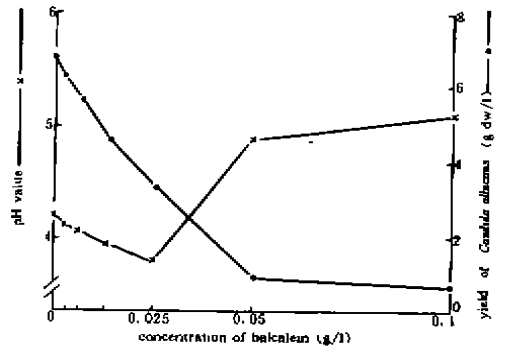


图 4 黄芩甙元(1)对白色念珠菌悬浮培养的影响

Fig. 4 Effects of baicalein(1) on suspension culture of *C. albicans*

维普资讯 http://www.cqvip.com

1 对尖孢镰刀菌悬浮培养的影响结果如图 3 所示。在所试浓度范围内，1 能抑制尖孢镰刀菌的生长，最适抑制浓度为 0.109g/L，但对菌液 pH 值的影响不明显。1 对白色念珠菌悬浮培养的影响结果如图 4 所示。在所试浓度范围内，1 能明显地抑制白色念珠菌的生长，且呈量效关系，但对菌液 pH 值的影响亦不明显。

参 考 文 献

1 Phillipson JD. *Phytochemistry*, 1995, 38(6): 1319～1343

2 肖晓蓉著. 口腔微生物学及实用技术. 北京：北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社，1993，160～167

3 中华人民共和国卫生部医政司编. 全国临床检验操作规程. 东南大学出版社，1991，460～465

4 Yang F, Wang HQ, Yang CR. *Phytochemistry*, 1996, 42(3): 867～869

5 张颖君，杨崇仁. 云南植物研究，1995，17(4)：468～472

6 Li XC, Yang CR, Ichikawa M *et al*. *Phytochemistry*, 1992, 31(10): 3559～3563

7 Grayer RJ, Harborne JB. *Phytochemistry*, 1994, 37(1): 19～42

ANTIFUNGAL ACTIVITIES *IN VITRO* OF FLAVONOIDS AND STEROIDS FROM MEDICINAL PLANTS

Zhou Ligang[1], Zhang Yingyun[2], Cai Yan[2], Liu yuqing[2],
Wang Jinliang[2], Wang Junjian[1], Yang Chongren[2]

([1] *Institute of Materia Medica, Huazhong University of Science and Technology*, Wuhan 430074)

([2] *Kunming Institute of Botany, Academia Sinica*, Kunming 650204)

Abstract The antifungal activities of 12 flavonoids and 5 steroids were screened by the method of agar diffusion test. Compounds baicalein (1), funkioside C (14) and daucosterol (17) showed antifungal activities of inhibiting growth of both *Fusarium oxysporum* and *Candida albicans*. The values of minimal inhibitory concentration (MIC) of compounds 1, 14 and 17 on growth of *F. oxysporum* were measured as 0.112g/L, 0.217g/L and 0.109g/L respectively, and MIC values of compounds 1, 14 and 17 on growth of *C. albicans* were measured as 0.264g/L, 0.310g/L and 0.078g/L respectively. The relationships between the structures and their antifungal activities were discussed.

Key words flavonoids, steroids, *Fusarium oxysporum*, *Candida albicans*, antifungal activities

欢迎订阅 欢迎投稿

《应用与环境生物学报》(季刊)

刊号 ISSN 1006-687X / CN 51-1482/Q 邮发代号：62-15

《应用与环境生物学报》是由国家科委批准，中国科学院主管，中国科学院成都生物研究所主办并于 1995-03-25 由科学出版社出版的全国学术性科技期刊(学报级)。主要报道我国应用生物学、环境生物学及相关科学领域的基础研究、应用基础研究和应用研究的成果，包括研究论文、研究简报和本刊特约的综述或述评。

《应用与环境生物学报》是我国科学研究院、研究所、各大专院校以及各科技情报所、图书馆必备的科技刊物，是我国科学工作者、大专院校师生以及有关科技工作者进行科学交流的良好园地。

《应用与环境生物学报》为季刊，季末月 25 日出版，每期 96 页，期定价 11.00 元。全国各地邮局(所)均可订阅。新订户可向本刊编辑部补购 1995、1996、1997 各卷(卷价分别为 32.00 元、44.00 元和 44.00 元)编辑部地址：610041 成都市人民南路 4 段 9 号：中国科学院成都生物研究所学报编辑部 电话：()28)5229903 (联系人：刘东瀚)