

文章编号:1674-7054(2014)02-0194-05

高良姜花和果实的化学成分及生物活性

翟红莉¹ 李倩³ 王辉² 曾艳波² 蔡彩虹² 梅文莉² 戴好富^{1,2}

(1. 海南大学 园林园艺学院 海南 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所/农业部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室, 海南 海口 571101; 3. 四川农业大学 农学院, 四川 成都 611130)

摘 要: 采用高效液相色谱法(HPLC)测定海南省不同产地的高良姜花和果实乙醇提取物中槲皮素、异鼠李素、高良姜素和山奈素的含量, 通过滤纸片琼脂扩散法测定其对白色念珠菌、金黄色葡萄球菌和茄科雷尔氏菌的抑制活性。结果表明, 高良姜花中只含有槲皮素, 果实中含有槲皮素、高良姜素、山奈素; 高良姜花和果实的提取物对金黄色葡萄球菌、白色念珠菌和茄科雷尔氏菌均有一定的生长抑制活性。

关键词: 高良姜; 花; 果实; 化学成分; 生物活性

中图分类号: R 284.1

文献标志码: A

高良姜(*Alpinia officinarum* Hance.)为姜科(Zingiberaceae)山姜属(*Alpinia* Roxb.)多年生草本植物, 被大量用作中药材、调味料、香料及驱虫剂等^[1], 并具有一些生物活性, 包括抗肿瘤、抗溃疡、抗氧化作用、抗病毒、降血糖、抗菌和抑菌特性等多种功效^[1-15]。目前, 高良姜的需求很大, 需要大面积种植。“高良姜之乡”广东徐闻的种植面积约4 466 hm², 产量占全国90%以上。海南气候与广东徐闻相似, 温度和光照适合种植高良姜, 且拥有大面积橡胶林, 因此, 近年来已大量引种并进行橡胶林下种植。在高良姜采收过程中有大量花、果和茎叶被弃之田间地头, 不仅处理麻烦, 而且容易给下一茬高良姜传播病害。本研究通过高效液相色谱法(HPLC)对高良姜花和果实中黄酮类化合物槲皮素、异鼠李素、高良姜素和山奈素进行定量测定, 并通过滤纸片琼脂扩散法测定高良姜对白色念珠菌、金黄色葡萄球菌和茄科雷尔氏菌的活性, 旨在为其开发应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 植物材料 高良姜花和果实的样品于2013年4月采自海南, 由中国热带农业科学院热带生物技术研究所代正福副研究员鉴定, 凭证标本(HK201304)存放于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。样品分别编号为1 2 3 4, 橡胶林下种植, 种植土壤均为红土。其中, 1 2号样品采自文昌新桥镇, 种植2年; 3 4号分别采自海口文岭和定安黄竹(随机选取), 种植年限均为3年。

1.2 仪器及分析条件 仪器: Agilent 1260 Infinity 高效液相色谱仪(G1311C 四元泵、G1329B 标准自动进样器、G1316A 柱温箱、G1315D DAD 检测器, Agilent 公司, 美国); Sartorius BP221S 电子天平(塞多利斯公司, 德国); N-1000 (2L) 立式旋转蒸发仪(爱朗仪器有限公司, 上海); HS 10260D 超声波清洗仪(恒奥科技发展有限公司, 天津)。

色谱条件: 色谱柱为 Kromasil-C18 柱(4.6 mm × 150 mm 5 μm); 流动相为乙腈-0.5% 甲酸($V_{\text{乙腈}}$:

收稿日期: 2014-03-15

基金项目: 海南省重大科技专项(ZDZX2013008-4)资助; 海南省中药现代化专项资金资助(2011ZY002, 2012ZY008)

作者简介: 翟红莉(1977-), 女, 海南大学园林园艺学院2008级博士研究生, E-mail: zhaizhaitl@163.com

通信作者: 戴好富(1974-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 天然产物化学, E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

$V_{0.5\% \text{ 甲酸}} = 62 : 38$); 检测波长: 266 nm; 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温: $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

试剂和标准样品: 乙腈、甲酸为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。高良姜素对照品 (MUST-12120306)、山奈素对照品 (MUST-12063010)、异鼠李素对照品 (MUST-12112001)、槲皮素对照品 (MUST-12072505) 均购自中国药品生物制品检定所。

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、白色念珠菌 (*Candida albicans*) 由中国热带农业科学院热带生物技术研究所洪葵教授提供。茄科雷尔氏菌 (*Ralstonia solanacearum*) 由云南大学莫明河教授提供。

1.3 供试样品溶液制备 精密称取高良姜花和果实新鲜样品 10 g, 粉碎后用 $\varphi = 95\%$ 的乙醇超声辅助提取 3 次 (每次 10 min), 离心, 取上清, 浓缩, 用甲醇定容于 25 mL 容量瓶中, 取少量微孔滤膜过滤后备用。

1.4 抑菌活性测定 采用滤纸片琼脂扩散法^[16]测定化合物的抗菌活性。金黄色葡萄球菌和茄科雷尔氏菌采用 NA 培养基, 白色念珠菌采用 YPD 培养基。将金黄色葡萄球菌、茄科雷尔氏菌和白色念珠菌分别制成菌悬液 ($105 \sim 107 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$), 用棉签将其均匀涂布于供试无菌平板, 制成含菌平板。然后将花和果实的提取物配成溶液 ($0.5 \text{ mg} \cdot \mu\text{L}^{-1}$), 取 $50 \mu\text{L}$ 配成提取物溶液分别滴加于灭菌滤纸片上 ($\phi = 6 \text{ mm}$), 待溶剂挥发干后, 将滤纸片贴于含菌平板上, 每处理重复 3 次。金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 以 $10 \mu\text{L}$ $0.08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫酸卡那霉素为阳性对照, 白色念珠菌 (*C. albicans*) 以 $10 \mu\text{L}$ $12.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氟康唑作为阳性对照; 茄科雷尔氏菌 (*R. solanacearum*) 以 $10 \mu\text{L}$ $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的多菌灵为阳性对照; 各菌均以甲醇为阴性对照。金黄色葡萄球菌 $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养; 白色念珠菌 $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养; 茄科雷尔氏菌 $32 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养。24 h 后观察结果, 测量并记录抑菌圈直径。

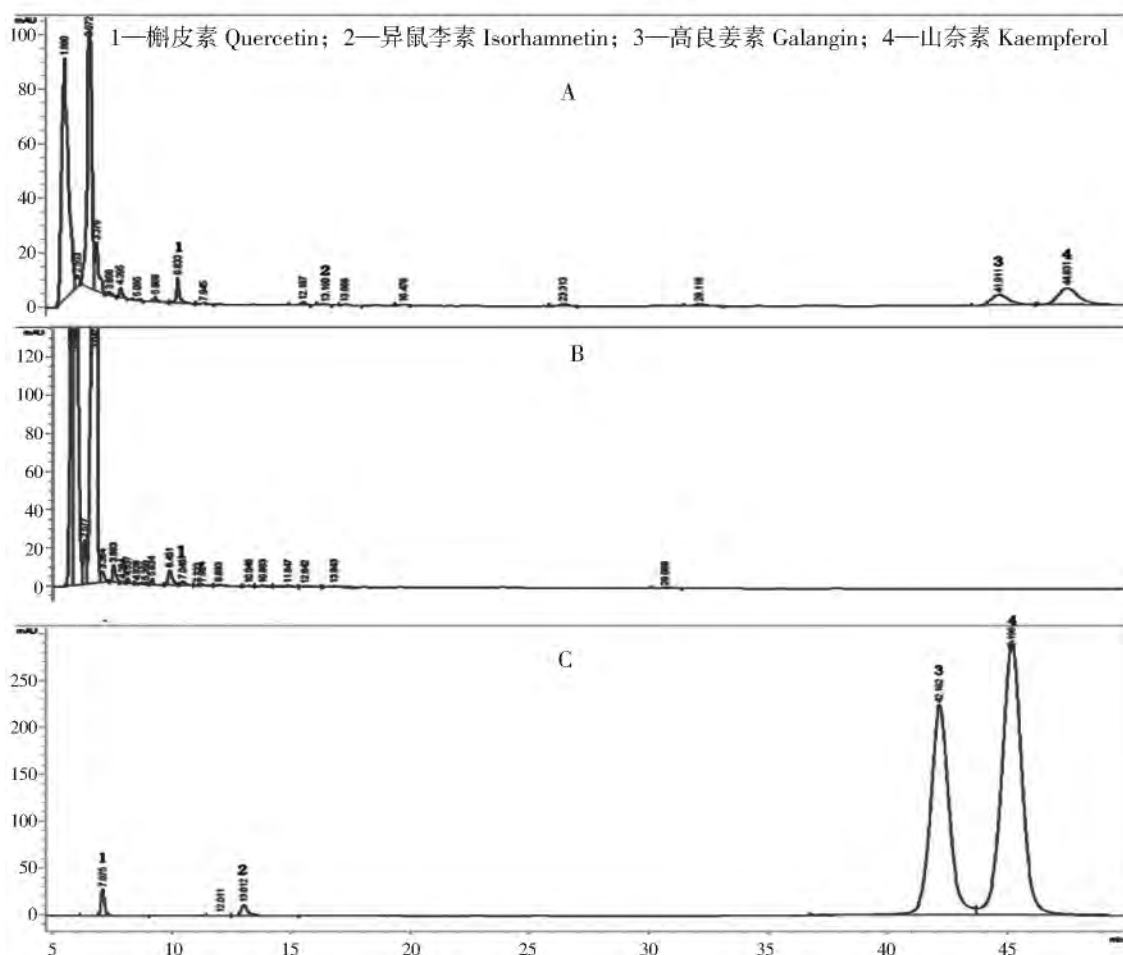


图1 标准样品及样品色谱图

A: 样品果3 色谱图 B: 样品花1 色谱图 C: 标准样品色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of standards and samples

A: Chromatogram of Fruit 3; B: Chromatogram of Flower; C: Chromatogram of the standards

2 结果与分析

2.1 高良姜花和果实中槲皮素、异鼠李素、高良姜素、山奈素的含量 高良姜花和果实(鲜样)4种成分的含量见表1和图1。从表1可见,高良姜花中仅含有槲皮素,未能检测到其他3种成分;果实中除了检测到槲皮素外,还检测到少量高良姜素和山奈素,其中海口产的高良姜果实中还含有少量异鼠李素。果实中槲皮素的含量是花中含量的2倍,这可能是因为花中含水较多造成的。

表1 高良姜花和果实的槲皮素、异鼠李素、高良姜素、山奈素的含量

Tab. 2 Contents of quercetin, isorhamnetin, galangin and kaempferol in flowers and fruits of *A. officinarum* $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

编号 No.	槲皮素 Quercetin	异鼠李素 Isorhamnetin	高良姜素 Galangin	山奈素 Kaempferol
花1 Flower 1	0.009 7	—	—	—
花2 Flower 2	0.010 3	—	—	—
花3 Flower 3	0.018 8	—	—	—
花4 Flower 4	0.009 8	—	—	—
果2 Fruit 2	0.024 1	—	0.063 4	0.028 2
果3 Fruit 3	0.031 0	0.003 3	0.075 8	0.079 8
果4 Fruit 4	0.026 3	—	0.069 9	0.04 97

2.3 高良姜花和果实提取物对白色念珠菌和金黄色葡萄球菌的活性测定 以滤纸片琼脂扩散法^[16]测定了($n=3$)7个高良姜样品对金黄色葡萄球菌、白色念珠菌和茄科雷尔氏菌的抗菌活性(见表2)。结果表明,高良姜花和果实对3株病原菌均表现出一定的生长抑制活性,其中对茄科雷尔氏菌的相对抑制作用最强,接近或超过阳性对照多菌灵。比照表2中的4种黄酮类化合物的含量可见,抗菌活性的强弱和化合物的含量并不呈正相关,由此推断高良姜花和果实中可能有其他活性成分在发挥抗菌作用。

表2 高良姜花和果实对3种病原菌的抑制活性

Tab. 3 Inhibitory activities of flowers and fruits of *A. officinarum* against 3 pathogenic microorganisms mm

样品 Samples	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	白色念珠菌 <i>C. albicans</i>	茄科雷尔氏菌 <i>R. solanacearum</i>
花1 Flower 1	10.0	10.0	7.8
花2 Flower 2	12.4	8.0	8.0
花3 Flower 3	12.0	6.5	8.0
花4 Flower 4	12.0	6.2	7.5
果2 Fruit 2	14.0	8.2	10.0
果3 Fruit 3	7.4	7.6	9.0
果5 Fruit 5	14.6	9.2	10.8

注:滤纸圆片直径为6 mm,甲醇作阴性对照;*S. aureus*以硫酸卡那霉素作为阳性对照,抑菌圈直径分别为29.4~35.6 mm;*C. albicans*以氟康唑作为阳性对照,抑菌圈直径为26~29 mm;*R. solanacearum*以多菌灵作为阳性对照,抑菌圈直径为10.05 mm

The diameter of the filter paper is 6 mm, and methanol was used as the negative control. The diameter of the inhibitory zone was 29.4–35.6 mm when kanamycin sulfate was used as positive control against *S. aureus*. The diameter of the inhibitory zone was 26–29 mm when fluconazole was used as positive control against *C. albicans*. Carbendazim was used as positive control against *R. solanacearum*, and the diameter of the inhibitory zone was 10.05 mm

3 结 论

目前,养殖业为防止动物疾病暴发,在饲养动物时大量使用非营养性动物饲料添加剂(抗生素、驱虫药物、激素等)和兽药,直接导致肉类蛋类和养殖区环境大量兽药残留^[17]。近年来兽药残留成为影响动物源性食品安全性的重要因素,为人们普遍关注的一个社会热点问题。高良姜的花和果实含有槲皮素,果实还含有高良姜素和山奈素,这些化合物除了具有良好的抗菌活性,还具有抗病毒、抗氧化等多种药理活性,因此,高良姜花和果实有望应用于饵料生物的培养,或投放到鱼虾养殖池中或直接添加到动物饲料中,以达到防病的效果。

茄科雷尔氏菌是一种破坏性很强的土传病原菌,其寄主广泛,有超过200种的寄主植物^[18]。它对一些经济作物有重大危害,如马铃薯、番茄、花生、烟草、香蕉和大蕉的枯萎病。现阶段控制这种枯萎病有效的方法是植物育种、田间卫生、作物轮作、使用合成杀菌剂,但效果有限^[19]。这些合成杀菌剂的大量使用污染了农作物和环境。高良姜花和果实的提取物对茄科雷尔氏菌有很好的抑制作用,有望将其开发成植物源农药。

参考文献:

- [1] 中国药典委员会. 中国药典: II部 [S]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 236.
- [2] MITSUI S, KOBAYASHI S, NAGAHORI H, et al. Constituents from seeds of *Alpinia galanga* Willd. and their anti-ulceractivities [J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1976, 24(10): 2377–2382.
- [3] JANSSEN M A, SCHEFFER J J C. Acetoxychavicol acetate, an antifungal component of *Alpinia galanga* [J]. Planta Medica, 1985, 51(6): 507–511.
- [4] ITOKAWA H, MORITA H, SUMITOMO T, et al. Antitumor principles from *Alpinia galangal* [J]. Planta Medica, 1987, 53(1): 32–33.
- [5] KONDO A, OHIGASHI H, MURAKAMI A, et al. 1'-Acetoxychavicol acetate as a potent inhibitor of tumor promoter-induced Epstein-Barr virus activation from *Languas galanga*, a traditional Thai condiment [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 1993, 57(17/18/19): 1344–1345.
- [6] LY T N, SHIMOYAMADA M, KATO K, et al. Isolation and characterization of some antioxidative compounds from the rhizomes of smaller galanga (*Alpinia officinarum* Hance) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(17): 4924–4929.
- [7] AKHTAR M S, KHAN M A, MALIK M T. Hypoglycaemic activity of *Alpinia galanga* rhizome and its extracts in rabbits [J]. Fitoterapia, 2002, 73(7/8): 623–628.
- [8] EUMKEB G, SAKDARAT S, SIRIWONG S, et al. Reversing β -lactam antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* with galangin from *Alpinia officinarum* Hance and synergism with ceftazidime [J]. Phytomedicine, 2010, 18(1): 40–45.
- [9] KONNO K, SAWAMURA R, SUN Y, et al. Antiviral activities of diarylheptanoids isolated from *Alpinia officinarum* against respiratory syncytial virus, poliovirus, measles virus, and herpes simplex virus type 1 in vitro [J]. Natural Product Communications, 2011, 6(12): 1881–1884.
- [10] 江涛, 唐春萍, 陈艳芬, 等. 高良姜总黄酮对大鼠实验性胃溃疡模型的影响 [J]. 中药材, 2009, 32(2): 260–262.
- [11] BLEIER W, CHIRIKDJIAN J J. Flavonoids from galanga rhizome (*Alpinia officinarum* Hance) [J]. Planta Medica, 1972, 22(2): 145–151.
- [12] UEHARA S, YASUDA I, AKIYAMA K, et al. Diarylheptanoids from the rhizomes of *Curcuma xanthorrhiza* and *Alpinia officinarum* [J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1987, 35(8): 3298–3304.
- [13] LY T N, YAMAUCHI R, KATO K. Volatile components of the essential oils in galanga (*Alpinia officinarum* Hance) from Vietnam [J]. Food Science and Technology Research, 2001, 7(4): 303–306.
- [14] LY T N, YAMAUCHI R, SHIMOYAMADA M, et al. Isolation and structural elucidation of some glycosides from the rhizomes of smaller galangal (*Alpinia officinarum* Hance) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(17): 4919–4924.
- [15] 李隆云, 钟国跃, 卫莹芳, 等. 中国中药种质资源的保存与评价研究 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(9): 641–645.
- [16] 徐叔云, 卞如瀛, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1651–1653.
- [17] 赵青, 胡玉敏. 饲料添加剂残留的生态危害与对策 [J]. 家畜生态, 2004, 11, 25(4): 207–210.

- [18] YABUUCHI , E , KOSAKO , Y , YANO , I , et al. Transfer of two Burkholderia and an Alcaligenes species to Ralstonia gen. nov. : proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston , Palleroni and Doudoroff 1973) comb. nov. , *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov [J]. Microbiology Immunology , 1995 , 39 : 897 – 904.
- [19] CIAMPI-PANNO L , FERNANDEZ C , BUSTAMANTE P , et al. Biological control of bacterial wilt of potatoes caused by *Pseudomonas solanacearum* [J]. American Potato Journal , 1989 , 66 (5) : 315 – 332.

Chemical Constituents and Biological Activities of Flowers and Fruits of *Alpinia Officinarum* Hance

ZHAI Hongli¹ , LI Qian³ , WANG Hui² , ZENG Yanbo² , CAI Caihong² , MEI Wenli² , DAI Haofu^{1 2}

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture , Hainan University , Haikou 570228 , China ; 2. Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops , Ministry of Agriculture / Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology , Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences , Haikou 571101 , China ; 3. College of Agronomy , Sichuan Agricultural University , Chengdu 611130 , China)

Abstract: The quantitative analysis of chemical constituents quercetin , isorhamnetin , galangin and kaempferol of flowers and fruits of *Alpinia officinarum* in different localities of Hainan Province was performed with HPLC , and their antimicrobial activities against *Candida albicans* , *Staphylococcus aureus* and *Ralstonia solanacearum* were assayed by the filter paper agar diffusion method. The results showed that the flowers of *A. officinarum* only contained quercetin while the fruits contained quercetin , galangin and kaempferol. The extracts of the flowers and fruits of *A. officinarum* both had an inhibitory effect on the growth of *S. aureus* , *C. albicans* and *R. solanacearum*.

Key words: *Alpinia officinarum* Hance ; flower ; fruit ; chemical constituent ; biological activity