

(*Solanum menlongena* L.)

茄葉中抗感染皮膚黴菌之成份研究

高中組教師組化學科第三名

省立埔里高級工業學校

作者：謝 秋 香



一、研究動機

本作者於 71 年 3 月參加全國科學展覽作品（生物科高中教師組）報告中，判斷茄葉中抗感染皮膚的黴菌（*Cladosporium Cladosporioides*）成分之薄層析展開圖之 R_f 值，約為 0.77 ~ 0.63，但未能萃取此有效成分，方便應用於醫療上，故繼續研究之。

二、研究目的

研究出能從大量茄葉中，經濟、簡便的萃取分離出有效成分的方法，俾能收集茄農於栽培茄子的過程中，摘下的茄葉運送到藥廠，予製備成抗感染皮膚黴菌的藥物，實際應用於醫療上，開發醫藥資源。

三、研究設備器材

(一)藥品：

1. 試料：茄 (*Solanum melongena* L.) 之葉部
黴菌 (*Cladosporium Cladosporiodes*)
2. 沙羅氏洋菜 (*Sabouraud's Dextrose Agar*)
3. 萃取溶媒：甲醇、乙醚。
4. 薄層析：Merck kieselgel GF 254 (Type 60)
5. 管柱填充劑：Merck (70-230 mesh ASTM)
Kieselgel 60。
6. 展開溶媒：苯、乙酸乙酯、丙酮、氯仿、甲醇、甲苯。

(二)儀器：分液漏斗，恒溫箱，高壓滅菌器、滅菌濾紙、鉑金絲棒、培養皿、吸量管、減壓濃縮器、薄層析設備(展開槽、玻璃板、毛細管)、管柱層析設備(玻璃管柱)。

四、研究過程

將研究萃取茄葉中有效成分的實驗步驟，分爲四項說明：

(一)茄葉用沸水萃取法

1. 稱取新鮮茄葉 34 公斤，洗淨用切菜刀切細加水煮沸 5 小時。
2. 加熱濃縮到水份幾乎乾(茄葉蓄含水份狀態)。
3. 趁熱取出茄葉，用壓擠豆漿之壓板機壓榨出液汁，濃縮擠出之溶液，至析出褐棕色粒狀物沸滾著，即停止加熱，靜置過夜。
4. 第二天觀察：鍋底爲淡棕色沉澱(重約 0.7 公斤)，上方爲棕黑色澄清液(上層)，中間爲濃稠棕黑色液(中層)，上、中層共重約 2.5 公斤，分別收集在三個 1 公升細口瓶中。

(二)沸水萃取物用甲醇、乙醚做溶解度試驗：

1. 取上層、中層、下層之沸水萃取物，約 1 ml 體積，於三支試管中，各加入甲醇 1 ml ，三支均產生灰棕色，鬆散之沉澱，因為上層、中層之沉澱物反應顏色均相同，故判定可合併處理之。
2. 取上層、中層、下層之沸水萃取物，約 1 ml 體積，於三支試管中各加入乙醚 1 ml ，三支均完全不互溶，上層仍為乙醚之澄清液，沸水萃取物，固結於試管，如此萃取效果甚差，故判定含水多之沸水萃取物，不能用純乙醚直接萃取。
3. 取上層沸水萃取物約 1 ml 體積，加甲醇 2 ml ，振搖靜置取澄清之上層甲醇萃取液，移入另一支試管中，加等體積乙醚 2 ml ，則產生大量黑色稠狀液之沉澱（此沉澱物做抗菌試驗，無效），上層液呈黃色。

※故判定甲醇萃取液，需加等體積乙醚才可使大量親水性雜質析出沉澱。

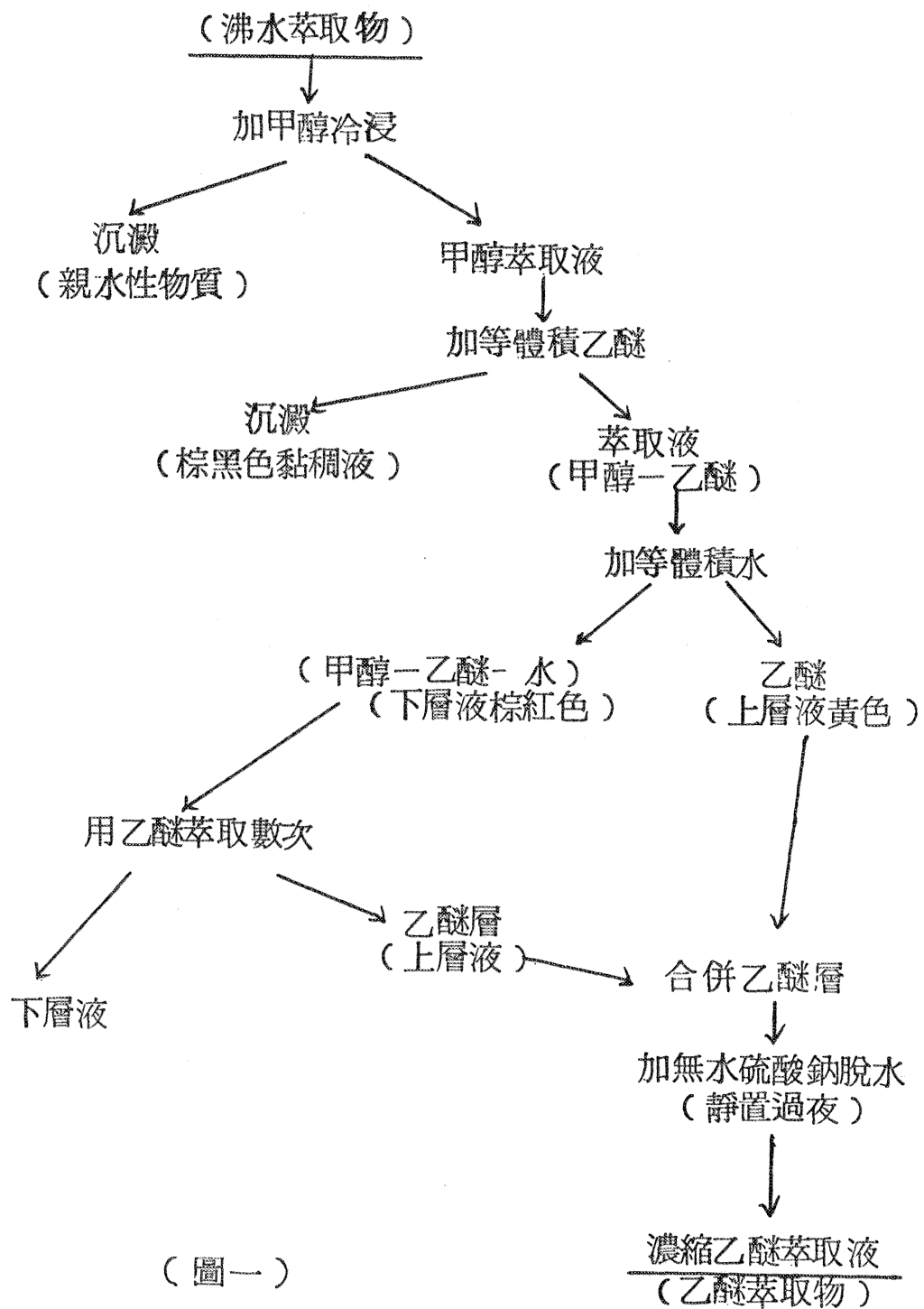
4. 將 3. 甲醇—乙醚之萃取之黃色液取 2 ml 移入另一支試管中，加等體積之水 2 ml ，則析出上層乙醚黃色液 0.8 ml 。

※由上述之沸水萃取物溶解度試驗，決定下列大量沸水萃取物之萃取方法。

(三)沸水萃取物用甲醇—乙醚之萃取步驟（如圖一）。

(四)乙醚萃取物之層析分離法：

1. 將乙醚萃取物 20 克 填置在 200 克 矽膠粉填充之管柱上，用濕式法做管柱層析分離，沖提液溶媒用氯仿與甲醇，逐次變大極性沖提。
2. 收集沖提液，減壓濃縮之，濃縮液做薄層析試驗，依 R_f 值高低合併，編號為 $1f$ ， $2f$ ， $3f$ ， $4f$ ， $5f$ ， $6f$ ， $7f$ 。
3. 將 $3f$ ， $4f$ ， $5f$ （含有上螢光點或上螢光點與下螢光點間成分）三瓶沖提液合併，減壓濃縮，驅逐溶媒。
4. 3. 濃縮物加 50 ml 氯仿溶解之。用 5% 碳酸氫鈉萃取五次。則分為 A 層（為上層鹼性水層）及 B 層（為下層氯仿層）。




5. 將A層液，加5%鹽酸中和，則析出白色混濁沉澱，用氯仿10 ml 萃取六次。合併氯仿萃取液，減壓濃縮之，得濃縮物12克，用150克矽膠粉，做管柱層析〔以苯、乙酸乙酯(7:3)為沖提液〕及經數次厚層析分離，得分離物編號為E1，上光，E~A E5，下後。

6. 將 B 層 (氯仿層) 減壓濃縮，驅逐溶媒，濃縮物做管柱層析，以苯、乙酸乙酯 (7 : 3) 為沖提液，分離物可得上光及編號為 6 (x) 之抗菌有效成分。

五、研究結果

- (一) 將各分離物 1f , 2f , 6f , 7f 及 E1 , 上光 , E ~ A , 下後 , 6 (x) , 做抗黴菌 *Cladosporium Cladosporiodes* 試驗，發現 1f , 2f , E1 , 6 (x) 有明顯的抗菌圈。
- (二) 由 1f , 2f , E1 , 經數次厚層析法分離，得到 1f ^① , 1f b , 有抗黴菌 *Cladosporium Cladosporiodes* 效力之純物質。
- (三) 上螢光點測定熔點 130° ~ 133 °C , 測定其 IR , Mass , NMR 之光譜圖及參考資料 (1 ~ 5) , 推測其可能為二甲氧基香豆素 (Dimethoxy coumarin) 類。

1 IR 光譜圖

(1) $V_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ (cm}^{-1} \text{)}$: 1710 (C = O) , 1610 , 1550 , 1510 (示有苯環  之環伸縮振動) , 1100 (-C - O -) 。

(2) 與參考資料 1 , P 913 , D 圖對照，吸收峰位置不完全相同，故推測此上螢光點物質，非 5 , 7 - Dimethoxy coumarin 。

2 Mass 光譜圖

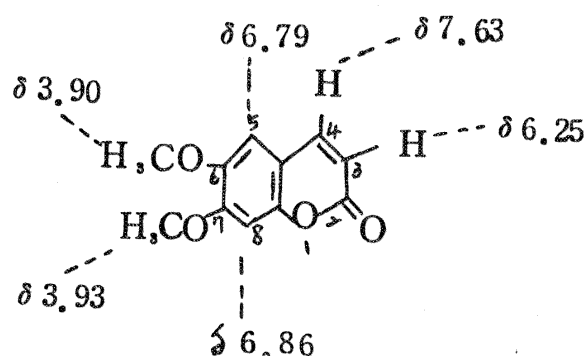
(1) $m/e \text{ (\%)}$: 207 (M + 1 , 10) , 206 (M + 1 , 10) , 206 (M + , 66) , 192 (12) , 191 (100) , 178 (37) , 168 (82) , 163 (20) , 140 (10) , 138 (32) , 135 (11) , 97 (6) , 80 (22) , 71 (10) , 69 (10) 。

(2) 此質譜之斷裂式與參考資料 2 , P. 180 ~ 181 , 很相似，

但各個 m/e 之相對強度 (%) 却都不同，該文依 m/e (%) 之大小順序排列為 206 (M^+ , 100), 191, 163, 178, 135, 而此上螢光點為: 191 (100), 168 (82), 206 (M^+ , 66), 178 (37), 138 (32), 163 (20)。

3. PMR 光譜圖

- (1) δ ($CDCl_3$) (ppm), 8.30 (s), 7.60 (d, $J=10\text{Hz}$, 7.51 (s), 6.83 (s), 6.40 (s), 6.22 (d, $J=10\text{Hz}$, 6.18 (s), 在 3.94 (s), 3.91 (s) 示有兩個甲氧基 ($-OCH_3$) 之氫質子訊號。
- (2) 將此光譜之 δ 6.22 (d, $J=10\text{Hz}$), δ 7.60 (d, $J=10\text{Hz}$) 與參考資料 3, coumarin NMR 光譜圖對照; (C_3 之 H, δ 6.42, C_4 之 H, δ 7.72), 極相似。
- (3) 將光譜圖與參考資料 5, 研究所得之 6,7 - Dimethoxy Coumarin 之 NMR 光譜對照, 亦極相似, 將該文之 δ (ppm) 位標示於結構式, 如下:



兩者最大不同處是上螢光點在 δ 6.83 (s) 只有一個單峰訊號, 與上式 δ 6.79 (s, 5H) δ 6.86 (s, 6H); 應有二個單峰吸收訊號不同。

4. 由以上 IR, Mass, PMR 光譜圖, 推測此上螢光點化合物, 非 5,7 - Dimethoxy coumarin, 而極可能為 6,7 - Dimethoxy coumarin, 可能因含極少許之與其緊密在一起之黃色物質。因而光譜圖不一致。但亦可能為 5.6

~ Dimethoxy 或 7, 8 ~ Dimethoxy 或 6, 8 ~ Dimethoxy 類，應再做紫外光光譜圖及測定黃色結晶物質之光譜，以比較、判斷結構。

六、討 論

- (一) 菌種 (*Cladosporium Cladosporiodes*) 在第一報中名稱用絮狀表皮真菌 (*Epidermophyton folium*) 係錯誤，此菌種經台大醫院曾嬉燕小姐鑑定：為 *Cladosporium Cladosporiodes*，參考資料 6, P 40，原文中所描述生長情況與特性與第一報 P 5 中所描述絮狀表皮真菌之生長過程相同。
- (二) 如果甲醇萃取液，加入其 $\frac{1}{2}$ 體積的乙醚，則產生之沉澱物甚少，而加入等體積乙醚，產生之大量黑色黏稠物，附在試管壁乾燥後，成堅硬物，有甜味如蔗糖濃溶液之乾燥物。根據本人之治療經驗，此乾燥物似乎是茄葉煮沸水熱浸患水泡之手指，會在傷口處留下堅硬褐色點之物質，此褐色點易使患處惡化，故在治療應用上，宜除去之。用乙醚萃取物治療，即已除去此物質了，效果應該要好。
- (三) 茄葉中抗感染皮膚黴菌之有效成分，應如何利用？根據本實驗結果及本作者之治療經驗，認為依照本實驗之分離過程至成為乙醚萃取物之成品，是最好之應用階段，理由如下：
- 1 乙醚萃取物中含有 $1f^{(1)}$ ， $1f^b$ ， $6(x)$ 均為極易溶於乙醚之物質，這四個成分均有抗菌 *Cladosporium Cladosporiodes* 之效能。
 - 2 上螢光物質對紅色黴菌及淡黃色糊狀黴菌有效，此物甚易溶於氯仿中，然在大量乙醚中仍可溶。
 - 3 皮膚感染黴菌，常是數種菌類，同時感染，而茄葉之沸水浸液，趁熱 ($50^{\circ}\text{C} \sim 60^{\circ}\text{C}$) 浸泡感染黴菌，起水泡發癢之手指時，其殺菌、生肌、止癢之功效與「足爽」甚相似，因此，猜想茄葉中除了殺菌成分之外，是否含有中和組織胺 (*histamine*) 或抑制黏液 (淋巴液) 自病灶處分泌之成分

(副交感神經阻斷劑)。例如分離得之上螢光點爲 coumarin 類結構之化合物，又參考資料 8，茄種「egg plant」已研究出含有 Caffeic acid, p-coumaric, cinnamic acid 等成分，這些化合物，都是生理活性很大的物質。

七、結論

- (一) 茄葉中確定含有抗黴菌成分，但其成分甚複雜，含有螢光成分甚多，而有效成分無螢光，緊密與螢光成分連結在一起，不易用傳統植物化學分析法分離，本作者之實驗方法，似乎可去蕪存菁，較易分離出有效成分，可應用於自大量茄葉中，以簡易的萃取操作手續，即可提煉出抗感染皮膚黴菌之有效成分。
- (二) 本實驗結果，僅敲開了提煉出茄葉抗菌有效成分之鎖，分離得抗菌有效成分 1f^①，1f^b，6(x) 應純化，再結晶，以便測定光譜，判定其化學結構，並做抗菌譜試驗，盼望有專家學者繼續研究，以開發醫藥資源。

八、參考資料

- (一) The Aldrich Library of Infrared Spectra (2rd, 1978) by Charles J. Pouchert。
- (二) 有機化學者のた女のマススペクトル解説；廣川化學シリーズ10，株式會社廣川書店。
- (三) NMR Spectra Catalog (Comiled by No So Bhacca LoFo Johnson and J. N. Shoolery, 1962)，225号 coumarin。
- (四) Hand book of Naturally Occurring Compounds (Volume I. Acetogenins, Shikimates and Carbohydrates) (T.K. DEVON A.I. SCOOT)，1975
- (五) Australian Journal of Chemistry. Vol. 21, No 11 - 12, 1968, 3079.

- (六) Color Atlas & Text book of Diagnostic Microbiology (konemen). 合記出版社
- (七) Vorel's Text book of practical organic chemistry (4rd) p. 132-133. Fig. I, 92.
- (八) Chemical Abstract Vol. 98, 14374 K, 1983.

評語：作者應用茄葉於抗黴菌研究，雖然變因控制不理想，研究方法有缺陷，結論不確定，但作者研究精神可嘉，應鼓勵其繼續研究。