

三种阿魏根提取物的体外抑菌作用研究

高婷婷¹, 余风华¹, 谭 勇^{1,2}, 刘雯霞¹

(1. 新疆石河子大学 药学院, 新疆 石河子 832002; 2. 新疆特种植物药资源省部共建教育部重点实验室, 新疆 石河子 832002)

摘 要:以新疆阿魏、多伞阿魏和大果阿魏为试材, 采用滤纸片扩散法对其根的浸提物和醇提物进行体外抑菌试验。结果表明:在 2 种提取方法中醇提物比浸提物的抑菌效果明显;3 种阿魏根的根醇提取物对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和八叠球菌均具有较好抑菌作用, 对大肠杆菌无抑菌作用, 其中多伞阿魏的抑制作用最强;根浸提物中大果阿魏的抑制作用最弱, 仅对枯草芽孢杆菌有明显的抑菌效果。

关键词:阿魏; 提取物; 滤纸片法; 抑菌作用

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)24-0156-03

阿魏是伞形科(Umbelliferae)阿魏属(*Ferula* L.)植物的总称, 全世界上有 150 种, 主要分布于地中海、中亚及其邻近地区。在我国主要分布于新疆, 共有 26 个种及 1 个变种^[1]。据 2010 版《中华人民共和国药典》记载, 新疆阿魏(*Ferula sinkiangensis* K. M. Shen)和阜康阿魏(*Ferula fukangensis* K. M. Shen)的树脂具有消积、散痞、杀虫之功效^[2], 在过去用于治疗肉食积滞, 腹中痞块和虫积腹痛等疾病, 是一类具有重要药用价值的植物资源。阿魏化学成分复杂, 主要含树脂、树胶和挥发油等, 以倍半萜类、香豆素类和多硫化物为主要生物活性物质^[3-4]。目前, 对于阿魏提取物抑菌活性研究报道较少且主要集中于化学成分及药理作用^[5-9]。该试验采用滤纸片扩散法对新疆阿魏、多伞阿魏(*F. ferulaeoides* K. M.)和大果阿魏(*F. lohmannii* Boiss.)根提取物的体外抑菌活性进行探讨和比较, 以期阿魏抑菌活性物质的开发和利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料:新疆阿魏、多伞阿魏及大果阿魏的根分别采于新疆伊宁地区、石河子阿魏滩和玛纳斯县。

供试菌种:八叠球菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌由石河子大学医学院药理实验室提供, 大肠杆菌由石河子大学药学院病理实验室提供。

第一作者简介:高婷婷(1989-), 女, 硕士研究生, 现主要从事生药学及天然产物化学等研究工作。

责任作者:谭勇(1976-), 男, 教授, 现主要从事药用植物资源及天然药物化学等研究工作。E-mail: xjty321@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30860022); 石河子大学研究生精品课程资助项目(2012yp-kc06)。

收稿日期:2013-08-14

供试培养基:培养细菌采用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基。

仪器及试剂:LDZX-30FBS 立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂); SHA-C 水浴恒温振荡器(金坛市医疗仪器厂); DHP-9162 电热恒温培养箱(上海齐欣科学仪器有限公司); 移液枪(上海狄士医疗器械有限公司); 硫酸庆大霉素注射液(宜昌人福药业有限责任公司); 95%乙醇为分析纯(天津市光复科技发展有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 阿魏根提取物的制备 阿魏根浸提物:将 3 种阿魏根分别粉碎后过 60 目筛, 称取 10 g, 加 100 mL 无菌水浸泡 24 h, 取其滤液, 75℃旋转蒸发仪减压浓缩滤液至干, 用无菌水溶解并定容至浓度相当于 1 g/mL(每 1 mL 药液相当于 1 g 植物干样)^[5]。阿魏根醇提物:称取 10 g 植物样品于 100 mL 锥形瓶中, 加入 5 倍量 95%乙醇, 于超声波清洗器中振荡 20 min, 过滤, 滤渣加入一定量 95%乙醇, 重复提取 5 次, 合并滤液, 75℃旋转蒸发仪减压浓缩滤液至干, 用 95%乙醇溶解并定容至浓度 1 g/mL, 备用。

1.2.2 菌种活化培养及菌液的制备 在无菌条件下, 用接种环将贮存的菌液用平板划线法接种于牛肉膏蛋白胨固体培养基^[10]中, 37℃下培养 24 h 复壮; 取复壮后菌种再接种于液体培养基, 制成菌悬液, 37℃培养 24 h, 待用。

1.2.3 滤纸片法测定抑菌活性 在无菌条件下向牛肉膏蛋白胨琼脂平板中加入 0.4 mL 菌液, 将直径为 6 mm 的滤纸片干热灭菌后置于提取液中浸泡后, 取出, 阴干, 贴于含菌培养基中, 以 95%乙醇和无菌水作空白对照(分别以 CK₁ 和 CK₂ 表示), 硫酸庆大霉素注射液作阳性对照, 37℃倒置培养 48 h, 观察, 用十字交叉法测量抑菌圈直径, 试验重复 3 次取平均值^[11-12]。按下列公

式计算菌落直径:菌落直径=测量直径平均数-6 mm。

1.2.4 最小抑菌浓度(MIC)的测定 3种阿魏根提取物分别用95%乙醇和无菌水稀释,配成若干不同浓度,使含药量分别为1 000、500、250、125、62.5、31.25、15.63、7.81、3.91、1.95 mg/mL,浸泡无菌滤纸片。同时设95%乙醇和无菌水作阴性对照。将浸泡滤纸片置于加有菌液的平板上,分别在供试菌适宜条件下培养48 h后,肉眼观察平板中无细菌生长的最低浓度即为该试药的MIC值^[13]。

2 结果与分析

2.1 3种阿魏根醇提取物对4种细菌的抑制作用

由表1可知,新疆阿魏、多伞阿魏和大果阿魏根醇提取物对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、八叠球菌均具有较好抑菌作用,对大肠杆菌无抑菌作用;其中,多伞阿魏根的醇提物对金黄色葡萄球菌抑制作用最强,与其它2种阿魏有显著性差异($P<0.05$)。3种阿魏根醇提取物对枯草芽孢杆菌的抑制作用无显著性差异($P>0.05$)。新疆阿魏和大果阿魏根的醇提物对枯草芽孢杆菌的抑制作用最强,与其它2种菌有显著差异。可见多伞阿魏根醇提取物的抑菌效果最好。

表1 3种阿魏根醇提取物的抑菌作用

Table 1 Antimicrobial effect of ethanol extracts from three species of *Ferula* root

| 提取物 | 抑菌圈直径/mm | | | |
|-----------------|--------------|--------------|--------------|------|
| | 金黄色葡萄球菌 | 枯草芽孢杆菌 | 八叠球菌 | 大肠杆菌 |
| 新疆阿魏根醇提物 | 13.60±1.44bB | 15.80±1.19aA | 12.70±0.53bB | — |
| 多伞阿魏根醇提物 | 19.32±0.48aA | 16.48±0.96aB | 14.28±0.23aC | — |
| 大果阿魏根醇提物 | 14.32±0.58bB | 15.98±0.83aA | 11.80±1.52bC | — |
| CK ₁ | — | — | — | — |

注:“—”表示无抑菌圈;不同小写字母表示不同阿魏醇提取物对同一菌种的抑菌差异, $P<0.05$;不同大写字母表示同一阿魏醇提取物对不同菌种的抑菌差异, $P<0.05$ 。下同。

2.2 3种阿魏根浸提取物对4种细菌的抑制作用

由表2可知,新疆阿魏和多伞阿魏的根浸提取物对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、八叠球菌均具有较好抑菌作用,大果阿魏仅对枯草芽孢杆菌抑菌效果明显,三者对大肠杆菌均无抑菌作用。其中,新疆阿魏根的浸提物对枯草芽孢杆菌的抑制作用最强,与其它2种菌有显著性差异($P<0.05$)。综上所述,新疆阿魏和多伞阿魏的根浸提取物的抑菌效果较好,大果阿魏的根浸提取物的抑菌效果较差。

2.3 3种阿魏根浸提取物的最小抑菌浓度

由表3可知,从醇提物上比较,多伞阿魏根醇提液对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、八叠球菌的抑制效果比其它2种阿魏好。多伞阿魏根醇提物对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的最小抑菌浓度均为3.91 mg/mL,对八叠球菌的最小抑菌浓度15.63 mg/mL。大果阿魏根浸提物对枯草芽孢杆菌的最小抑菌浓度为250 mg/mL。这一结果与前述的抑菌效果基本一致。

表2 3种阿魏根浸提取物的抑菌效果

Table 2 Antimicrobial effect of extraction from three species of *Ferula* root

| 提取物 | 抑菌圈直径/mm | | | |
|-----------------|--------------|--------------|--------------|------|
| | 金黄色葡萄球菌 | 枯草芽孢杆菌 | 八叠球菌 | 大肠杆菌 |
| 新疆阿魏根浸提物 | 11.44±0.91aB | 13.16±0.74aA | 11.38±0.48aB | — |
| 多伞阿魏根浸提物 | 9.36±0.31bA | 9.18±0.24bA | 8.78±0.22bB | — |
| 大果阿魏根浸提物 | — | 12.42±0.94a | — | — |
| CK ₂ | — | — | — | — |

表3 3种阿魏根提取物的最小抑菌浓度(MIC值)(n=3)

Table 3 MIC of extracts from 3 species of *Ferula* root

| 提取物 | 最小抑菌浓度/mg·mL ⁻¹ | | |
|----------|----------------------------|--------|-------|
| | 金黄色葡萄球菌 | 枯草芽孢杆菌 | 八叠球菌 |
| 新疆阿魏根醇提物 | 31.25 | 3.91 | 1 000 |
| 新疆阿魏根浸提物 | 1 000 | 1 000 | 1 000 |
| 多伞阿魏根醇提物 | 3.91 | 3.91 | 15.63 |
| 多伞阿魏根浸提物 | 500 | 1 000 | 1 000 |
| 大果阿魏根醇提物 | 7.81 | 3.91 | 15.63 |
| 大果阿魏根浸提物 | — | 250 | — |

3 结论

通过比较3种阿魏的抑菌作用可以得出,在2种提取方法中,浸提物抑菌圈直径要小于醇提物的,说明醇提法的效果比浸提法明显。阿魏根醇提物中,多伞阿魏对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、八叠球菌的抑菌作用最强,且最小抑菌浓度的效果也较其它2种好。阿魏根浸提物中,大果阿魏的根浸提取物的抑制作用最弱,仅对枯草芽孢杆菌有明显的抑菌效果。

随着抗生素的广泛使用,微生物的耐药性问题日趋严重,对人类造成了极大威胁。我国中医药历史悠久,传统中药有清热解毒、抗菌等作用^[14],具有相对安全、不良反应小、不易产生耐药性等优点,因此寻求高效、低残留的天然抗菌物质逐渐成为研究热点。该试验通过3种阿魏根提取物的体外抑菌试验,确定了阿魏根中含有抑制细菌生长的活性物质,为开发利用新疆药用阿魏作为抗菌剂及其综合利用提供了理论依据。

参考文献

- [1] 沈观冕. 中草药丛书:阿魏[M]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社,1986.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:176.
- [3] 胡跃,李晓东,李国玉. 阿魏的化学成分研究[J]. 中国现代中药, 2009,11(7):18-19.
- [4] 宋东伟,赵文军,吴雪萍,等. 阿魏属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中成药,2005,27(3):329-332.
- [5] 王春娟,谢慧琴,杨德松. 阿魏不同溶剂提取物抑菌活性测定[J]. 湖北农业科学,2012,51(2):295-297.
- [6] 罗洋,赵红琼,姚刚,等. 新疆阿魏对五种细菌的抑菌作用初探[J]. 中兽医医药杂志,2007,26(5):33.
- [7] 倪慧,姜传义,陈茂齐. 新疆多伞阿魏根中挥发油成分研究[J]. 中成药,2001,23(1):54-57.
- [8] 李肖宇,李国玉,王航宇,等. 大果阿魏化学成分的研究[J]. 中国现代中药,2010,12(8):17-20.

乙醇浸提甘草中总黄酮的工艺研究

郭艳茹, 林 洁

(运城学院 生命科学系, 山西 运城 044000)

摘 要:以甘草为试材,采用乙醇浸提法提取甘草中黄酮类化合物,通过对提取时间、提取温度、料液比及乙醇浓度进行单因素试验,结合响应面软件 Design-Expert 8 对 4 个影响因素进行优化设计,以确定甘草中黄酮类化合物的最佳提取工艺条件。结果表明:响应面优化后的提取条件为乙醇浓度 71.02%,料液比 1:32.83 g/mL,提取时间 2.97 h,提取温度 70.04℃,在该条件下黄酮的最佳得率为 1.328%。

关键词:甘草;黄酮;乙醇浸提;响应面

中图分类号:S 567.71 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)24-0158-04

甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch)属豆科多年生草本植物,又名蜜草、美草。根据《中华人民共和国药典》记录,甘草可以分为“胀果甘草”、“乌拉尔甘草”和“光果甘草”^[1],主要分布于我国的西部地区。甘草是一种大众化的药草,主要药用部分是根和根茎,药材呈圆柱状,直径 0.6~3.5 cm。外皮松紧不一,表面红棕色或灰棕

色,气微,味甜而特殊。主要功效为清热解毒、祛痰止咳,甘草的化学成分复杂,其中使其具有特殊药理作用的物质有黄酮类化合物、多糖、三萜皂苷类物质。人们发现甘草黄酮的药理作用主要表现在抗氧化^[2]、抗病毒、强心^[3]、镇静、抗炎和镇痛等,而后又发现甘草黄酮具有抗衰老^[4]、抗肿瘤等作用,尤其是近几年又发现甘草黄酮类化合物有具有抑制 HIV 病毒增殖的作用,这使得甘草黄酮类化合物的研究和应用成为一大热点。该试验以甘草为试材,运用乙醇加热浸提法(提取时间、提取温度、料液比、乙醇浓度)提取黄酮^[5-8],应用 NaOH-

第一作者简介:郭艳茹(1980-),女,内蒙古赤峰人,硕士,讲师,研究方向为生物工程。E-mail:yanruguo2003@126.com.

收稿日期:2013-09-09

- [9] 张洪泉,胡坚.新疆阿魏的抗炎和免疫药理作用[J].中药药理学通报,1987,3(5):288.
[10] 黄秀梨.微生物学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2004:6-8.
[11] 徐亚军,赵龙飞.野生艾蒿浸提物对大肠杆菌的抑制作用[J].江苏农业科学,2012,40(4):306-308.
[12] 刘华玲,马欣荣,孙振元.地锦叶片正丁醇提取物的抑制作用[J].林

业科学研究,2007,20(6):872-875.

[13] 韩树.忍冬茎叶化学成分及其抑菌活性的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2008.

[14] 张志清,刘剑,李娟.中药抑菌作用研究进展[J].中药材,2008,25(9):688-690.

Study on Antimicrobial Activity *in vitro* of Extracts from Three Species of *Ferula* Root

GAO Ting-ting¹, YU Feng-hua¹, TAN Yong^{1,2}, LIU Wen-xia¹

(1. College of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832002; 2. Key Laboratory of Phytomedicine Resources and Modernization of TCM, Shihezi, Xinjiang 832002)

Abstract: Taking *Ferula sinkiangensis*, *F. ferulaeoides* and *F. lohmanni* as test materials, bacteriostatic test *in vitro* of root extract and alcohol extract were done using filter paper diffusion method. The results showed that: the bacteriostatic effects of alcohol extract was better than extracts significantly; alcohol extracts of 3 species of *Ferula* root against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Sarcine* sp. had good antibacterial effect, no inhibitory effect on *Escherichia coli*, among which the strongest inhibitory effect was *F. ferulaeoides* extract; *F. lohmanni* extract had the weakest inhibitory action, only had obvious bacteriostasis effect on *Bacillus subtilis*.

Key words: *Ferula*; extract; filter paper diffusion method; antimicrobial activity