

· 化学与分析 ·

基于生物热力学的黄连不同提取部分抑菌活性分析

杨宏博^{1,2}, 苏敏¹, 刘慧浪¹, 王京昆¹, 赵艳玲^{2*}

(1. 云南省药物研究所, 云南白药集团创新研发中心, 云南省中药和民族药新药创制
企业重点实验室, 昆明 650111;
2. 中国人民解放军 302 医院 中药研究所, 北京 100039)

[摘要] 目的:从生物热力学角度,探讨黄连不同提取部分抑菌作用差异,为黄连活性成分的研究提供新思路 and 理论依据。方法:采用微量量热法,在 LB 培养基,37 ℃ 条件下,接种量为 1×10^5 个/mL 无菌条件下,建立大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和志贺氏痢疾杆菌的生物热动力学方法。利用该方法,绘制了 3 种菌分别在黄连水提取物、生物碱部分和非生物碱部分作用下的生长热谱图($P-t$ 图),得到相应的生物热动力学参数(主要包括生长速率常数 k ,细菌生长抑制率 I ,半数药物浓度抑制率 IC_{50} ,最大产热功率 P_{max} 和细菌整达到 P_{max} 的时间 t_{max}),综合分析不同提取部分对 3 种菌生长代谢作用差异。结果:黄连水提取物和生物碱部分对 3 种菌生长有较强抑制作用,抑制顺序均为生物碱部分 > 水提取物,而黄连非生物碱部分对 3 种菌生长不产生抑制作用,甚至有助菌生长的作用。同一提取部分对不同菌抑制作用顺序均为金黄色葡萄球菌 > 志贺氏痢疾杆菌 > 大肠埃希菌。结论:通过微量量热法实验结果分析,黄连的活性成分为生物碱部分,对金黄色葡萄球菌的生长抑制能力最强。

[关键词] 生物热力学; 微量量热法; 黄连; 水提取物; 生物碱部分; 非生物碱部分

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2017)16-0051-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017160051

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170526.1101.072.html>

[网络出版时间] 2017-05-26 11:01

Antibacterial Activities of Different Extracts from *Coptidis Rhizoma* Based on Biothermodynamics

YANG Hong-bo^{1,2}, SU Min¹, LIU Hui-lang¹, WANG Jing-kun¹, ZHAO Yan-ling^{2*}

(1. Yunnan Institute of Meteria Medica, Yunnan Baiyao Group Innovation and R&D Center,
Yunnan Province Company Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine and Ethnic Drug of
New Drug Creation, Kunming 650111, China;
2. Institute of Chinese Materia Medica, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the antibacterial activity differences of various extracts of *Coptidis Rhizoma* from the perspective of biothermodynamics, and to provide a new idea and evidence for the study on active components of *Coptidis Rhizoma*. **Method:** Microcalorimetry was used to establish biothermodynamics of *Escherichia coli* (EC), *Staphylococcus aureus* (SA) and *Shigella dysenteriae* (SD) on Luria-Bertani (LB) medium under the sterile conditions of 37 ℃ with an inoculum concentration of 1×10^5 cell/mL. This method was used to plot growth thremogram curves of these three bacteria upon the treatments by aqueous extracts, alkaloids and non-alkaloid constituents of *Coptidis Rhizoma*. The differences in the growth metabolism of these bacteria upon various

[收稿日期] 20170107(005)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2007CB512607);国家自然科学基金项目(30772740)

[第一作者] 杨宏博, 硕士, 工程师, 从事药理毒理学研究, Tel:15559918463, E-mail: yanghongboo@126.com

[通讯作者] * 赵艳玲, 博士, 研究员, 从事药理学研究, Tel:13681208998, E-mail: zhao2855@263.net

treatments were assayed on the basis of corresponding biothermodynamics parameters (mainly including growth rate constant (k), growth inhibition ratio (I), inhibition ratio in half of drug concentration (IC_{50}), maximum heat output (P_{max}) and the time to reach P_{max} (t_{max}). **Result:** The aqueous extracts and alkaloids significantly inhibited the growth of the three bacteria, and all the orders were alkaloids > aqueous extracts; non-alkaloid constituents had no significant inhibitory effects, and even had promotion effects to these three bacteria. The order of the antibacterial ability was SA > SD > EC for the same extraction part. **Conclusion:** In summary, the microcalorimetry analysis reveals that in *Coptidis Rhizoma*, the main active components are alkaloids that display the strongest antibacterial activities against SA.

[**Key words**] biothermodynamics; microcalorimetry; *Coptidis Rhizoma*; aqueous extract; alkaloids constituents; monalkaloids constituents

生物热动力学是用来研究生命体系的热力学过程以及化学反应的微量热量变化。在生物体生长、繁殖、衰亡过程中,伴随代谢有热量释放,释放的热量会随生长期的变化而变化。微量量热法作为生物热动力学分析手段,能监测生物体系所固有的代谢热过程,研究物质对生物体代谢的影响,定性定量地测定生物机体生长代谢过程中以及药物与机体相互作用过程中的能量转移和热变化。当生物体在生长代谢过程受到药物作用时,其代谢热谱曲线会相应地发生改变。因此,通过具有高灵敏度的微量量热仪连续地测量、比较生物体自身和在药物作用下的热谱曲线,并采用适当的数学模型解析不同药物作用下的生物体生长热谱曲线中蕴含的热力学参数,就可以定性、定量地研究药物对生物体的作用,从而客观地表征药物作用于生物体的生物活性^[1-2]。

在本研究中,主要利用生物热力学方法-微量量热法,以能量(热量)为基点研究黄连不同提取部位(即水提物、生物碱部分和非生物碱部分)作用于微生物生长代谢过程的能量转移和热变化,探讨黄连不同提取部分对微生物的生长代谢作用的影响,考察黄连活性部分对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和志贺氏痢疾杆菌的抑菌作用的差异,为黄连活性成分的研究提供新方法和理论依据。

1 材料

TAM Air Isothermal Calorimeter 型微量热仪,并配以 Pico TC-80 数据采集和分析软件,实验时系统控温于 37 °C,波动 ±0.02 °C,可同时进行 8 个供试品的测量(瑞典 Thermometric 公司)。

大肠埃希菌(EC,批号 CCTCC AB91112),金黄色葡萄球菌(SA,批号 CCTCC AB910393),志贺氏痢疾杆菌(SD)均由中国食品药品检定研究院提供。

LB 液体培养基:取 NaCl 5 g,蛋白胨 10 g,酵母膏 5 g,溶于 1 L 水中,调 pH 为 7.0 ~ 7.2。121 °C

高压蒸气灭菌 30 min,冰箱中放置备用。

黄连由解放军三〇二医院中药房提供,经解放军三〇二医院中医药研究所肖小河研究员鉴定确认为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* 的干燥根茎。配制样品所用水均为无菌去离子水,所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 黄连总生物碱和不同化学提取部位的制备

2.1.1 黄连水煎液的制备 取干燥的黄连(粗粉)210 g,分别加入 10 倍量 40 °C 去离子水浸泡 30 min,回流提取 3 次(10 倍量水 2 h,8 倍量水 1 h,6 倍量水 0.5 h),合并各提取液,75 °C 减压浓缩,待浓缩液质量浓度至 1.15 g·mL⁻¹,放于 50 °C 真空减压条件下进行干燥,待恒重后,得黄连水提物干浸膏 52.5 g,作为供试品备用。

2.1.2 黄连生物碱与非生物碱部分的制备 黄连(粗粉)按黄连水煎液制备法进行水提,浓缩,加稀盐酸调 pH 至 5 ~ 6,得弱酸性水溶液,加入足量的新鲜配制的雷氏铵盐饱和水溶液进行沉淀,静置 24 h,过滤得沉淀物,再用少量水洗涤 2 次,滤干。将沉淀溶于丙酮中,滤过不溶物,滤液即为雷氏生物碱复盐丙酮溶液。滤液过中性氧化铝柱,丙酮冲洗至淡红色,得丙酮洗脱液,加入硫酸钡饱和水溶液,形成雷氏铵盐沉淀,滤过,滤饼放于 40 °C 真空减压条件下进行干燥,待恒重后,得非生物碱部分。再将丙酮滤液中加入氯化钡溶液,滤除沉淀,最后所得滤液即为季胺生物碱的盐酸盐,浓缩,放于 40 °C 真空减压条件下进行干燥,待恒重后,得生物碱部分^[3]。样品在测定时采用无菌水溶解,配制成混悬液,均相当于原药材 200 g·L⁻¹。

2.2 生物热动力学参数表征意义和计算方法 根据微生物生长代谢的特征和化学动力学、热力学原理,LIU 等^[4]对微生物生长和代谢过程的热动力学

进行了系统地研究,建立了微生物热动力学的指数模型,此模型反映了微生物基本的生长模式和特征,其数学表达式为 $n_t = n_0 e^{k(t-t_0)}$ (1)。

其中 n_0 是 t_0 时的细菌数, n_t 是 t 时的细菌数, k 是细菌在指数生长期时的生长速率常数。令每个细菌输出的热功率为 P , 则 $Pn_t = Pn_0 e^{k(t-t_0)}$, 即 $P_t = P_0 e^{k(t-t_0)}$ (2)。

根据公式(2)可知,在细菌的指数模型过程中的指数生长期有 $P_t = P_0 \exp(kt)$ 或 $\ln P_t = \ln P_0 + kt$ (3),其中 P_0 为 t_0 时所测细菌的热功率, P_t 为 t 时所测细菌的热功率。

对热谱曲线的指数生长期取一系列的 $\ln P_t - t$ 数据,在 Origin Pro7.5 软件中,运用偏最小二乘法进行线性拟合,从线性方程的斜率即可求出细菌生长的速率常数 k 值。

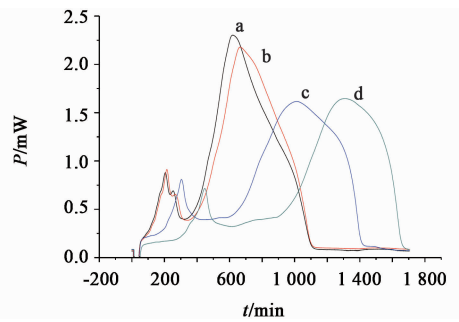
P_{\max} (μW) 和 t_{\max} (min) 可从微量量热仪 Pico TC-80 工作站采集的 DATA 文件中直接获得,分别代表细菌整个生长期达到最大产热功率值及其出现的时间。

细菌生长抑制率(I)为 $I = (k_1 - k_2) / k_1 \times 100\%$ (4),式中, k_1 为空白组细菌的生长速率常数, k_2 为试药组的生长速率常数。

半数抑制浓度(IC_{50}) 用来衡量细菌对药物的敏感性, IC_{50} 越小,表明细菌对药物越敏感^[4]。

2.3 黄连不同提取部分对 3 个不同菌种生长代谢过程热谱图的绘制及参数记录 将处于对数生长期的细菌接种于 50 mL 培养基中,摇匀,最终的接种量为 1×10^5 个/mL⁻¹,向每个安瓿瓶中准确加入细菌培养基溶液 5 mL,然后向每个安瓿瓶中依次加入不同浓度除菌后的黄连测试药液,加盖瓶塞,密封后放入 37 °C 恒温的微量量热仪中,用 Pico TC-80 工作站数据采集软件实时跟踪记录细菌生长过程热功率-时间曲线($P-t$ 图),当曲线重新返回基线时,实验结束。重复上面实验方法,对黄连各化学提取部分设计浓度梯度,分别对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和志贺氏痢疾杆菌进行生物热力学抑菌实验研究。见图 1~3,表 1~3。

从 $P-t$ 图可以看出,黄连水提物和生物碱部分对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和志贺氏痢疾杆菌产生较强生长抑制作用,且生物碱部分抑制作用最强。 $P-t$ 图中,处在指数生长期的细菌,生长明显受到抑制,所需时间延长,峰高也呈总体下降趋势。非生物碱部分与空白组的热谱图基本一致,并没有产生细菌生长抑制作用,反而有促进细菌生长的倾向。



a. 空白组;b. 非生物碱部分;c. 水提物;d. 生物碱部分(图 2,3 同)

图 1 大肠埃希菌在黄连不同提取部分的产热曲线(6.0 g·L⁻¹)

Fig. 1 Growth thermograms curves of EC in different extraction parts of Coptidis Rhizoma (6.0 g·L⁻¹)

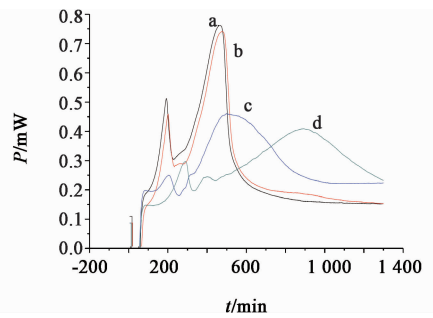


图 2 金黄色葡萄球菌在黄连不同提取部分的产热曲线(1.0 g·L⁻¹)

Fig. 2 Growth thermograms curves of SA in different extraction parts of Coptidis Rhizoma (1.0 g·L⁻¹)

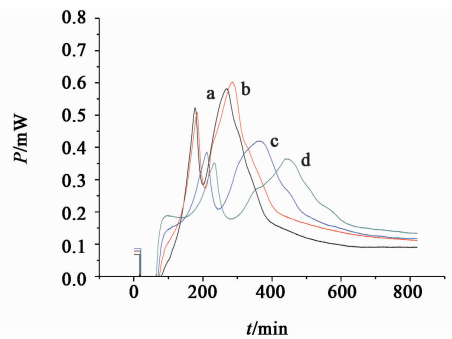


图 3 志贺氏痢疾杆菌在黄连不同提取部分的产热曲线(2.5 g·L⁻¹)

Fig. 3 Growth thermograms curves of SD in different extraction parts of Coptidis Rhizoma (2.5 g·L⁻¹)

黄连不同的化学提取部分对 3 种菌生长抑制强弱顺序均为生物碱部分 > 水提物 > 非生物碱部分。

从表中各参数热力学结果可以发现,不同浓度的黄连水提物和生物碱部分对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和志贺氏痢疾杆菌均产生不同程度的抑制作用,而且随着浓度的逐渐增加,对 3 种菌的抑制能力也随之加强,而黄连非生物碱部分随着质量浓度的增加对 3 种菌没有抑制作用。观察表中,黄连

表 1 大肠埃希菌在黄连不同提取部分不同浓度热力学参数

Table 1 Thermodynamics parameters of EC from different extraction parts of Coptidis Rhizoma with different concentrations

样品	$C/g \cdot L^{-1}$	k/min^{-1}	$I/\%$	$IC_{50}/g \cdot L^{-1}$	$P_{max}/\mu W$	t_{max}/min
空白	0	0.027 15	-	-	2 216	633
水提物	2	0.025 28	6.89	8.20	1 965	744
	4	0.022 74	16.24		1 738	839
	6	0.016 13	40.59		1 621	1 013
	8	0.013 69	49.58		1 615	1 212
	10	0.011 26	58.53		1 603	1 272
生物碱部分	2	0.024 39	10.17	7.36	1 953	776
	4	0.019 87	26.81		1 725	958
	6	0.015 13	44.27		1 619	1 315
	8	0.012 96	52.27		1 592	1 679
	10	0.008 74	67.81		1 578	1 724
非生物碱部分	2	0.026 85	1.10	-	2 207	632
	4	0.026 74	1.51		2 195	638
	6	0.026 81	1.25		2 177	627
	8	0.026 72	1.58		2 148	634
	10	0.026 63	1.92		2 094	636

$C (g \cdot L^{-1})$: 检测样品的浓度。

表 2 金黄色葡萄球菌在黄连不同提取部分不同浓度下热力学参数

Table 2 Thermodynamics parameters of SA from different extraction parts of Coptidis Rhizoma with different concentrations

样品	$C/g \cdot L^{-1}$	k/min^{-1}	$I/\%$	$IC_{50}/g \cdot L^{-1}$	$P_{max}/\mu W$	t_{max}/min
空白	0	0.026 39	-	-	795	441
水提物	0.2	0.025 17	4.62	1.28	786	449
	0.3	0.022 34	15.35		734	492
	0.6	0.018 52	29.82		692	514
	1	0.015 68	40.58		479	476
	1.5	0.012 13	54.04		434	553
生物碱部分	0.2	0.024 12	8.6	1.12	773	452
	0.3	0.021 53	18.42		721	518
	0.6	0.017 65	33.12		685	593
	1	0.013 97	47.06		476	801
	1.5	0.010 18	61.42		421	824
非生物碱部分	0.2	0.026 13	0.99	-	792	443
	0.3	0.026 09	1.14		793	445
	0.6	0.026 11	1.06		788	447
	1	0.025 97	1.59		786	446
	1.5	0.025 91	1.82		783	451

表 3 志贺氏痢疾杆菌在不同提取部分不同浓度下热力学参数

Table 3 Thermodynamics parameters of *SD* from different extraction parts of *Coptidis Rhizoma* with different concentrations

样品	$C/g \cdot L^{-1}$	k/min^{-1}	$I/\%$	$IC_{50}/g \cdot L^{-1}$	$P_{max}/\mu W$	t_{max}/min
空白	0	0.026 83	-	-	607	314
水提物	0.2	0.026 13	2.61	2.49	603	317
	0.5	0.023 96	10.70		591	321
	1.0	0.021 67	19.23		579	324
	1.5	0.019 23	28.33		567	320
	2.5	0.013 21	50.76		468	383
	生物碱部分	0.2	0.026 02	3.02	1.85	593
0.5		0.021 35	20.42		561	359
1.0		0.017 64	34.25		512	384
1.5		0.014 38	46.40		451	417
2.5		0.011 37	57.62		387	461
非生物碱部分		0.2	0.026 81	0.07	-	604
	0.5	0.026 75	0.3		605	311
	1.0	0.026 72	0.41		602	309
	1.5	0.026 69	0.52		598	305
	2.5	0.026 53	1.12		595	301

水提物和生物碱部分对 3 种菌的抑制率 I 和 IC_{50} 可以看出,黄连生物碱部分对 3 种菌的抑制作用最强,这与上面的产热曲线图的分析结果相符,且对金黄色葡萄球菌的 IC_{50} 最小,仅为 $1.28 g \cdot L^{-1}$ 。说明黄连的同一化学部分(水提物或生物碱部分)对不同菌抑制作用顺序均为金黄色葡萄球菌 > 志贺氏痢疾杆菌 > 大肠埃希菌。

2.4 3 种测试菌的生物热动力学的方法学考察

在细菌的生长过程中,其指数生长期内的产热功率与培养时间之间符合公式(3),用 Origin Pro7.5 软件进行线性拟合可以得到细菌的生长速率常数 k 及其相关系数 R 。大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和志贺氏痢疾杆菌分别重复进行 6 次试验,经计算得到 3 种菌的生长速率常数 k 及其相关系数 R ,见表 4。

由表 4 可知,大肠埃希菌的生长速率常数 $k = (0.027 15 \pm 0.000 258) min^{-1}$,所有的相关系数均超过了 0.990 0,显示出很好的重复性和相关性^[5]。金黄色葡萄球菌的生长速率常数 $k = (0.026 39 \pm 0.000 204) min^{-1}$,所有的相关系数均超过了 0.990 0,显示出很好的重复性和相关性^[6-7]。志贺氏痢疾杆菌的生长速率常数 $k = (0.026 83 \pm 0.000 293) min^{-1}$,所有的相关系数均超过了 0.990,显示出很好的重复性和相关性^[8]。

表 4 3 个菌种在 37 °C 的生长速率常数和相关系数

Table 4 Growth rate constant and correlation coefficient of three kinds of bacteria at 37 °C

No.	大肠埃希菌		金黄色葡萄球菌		志贺氏痢疾杆菌	
	k/min^{-1}	R	k/min^{-1}	R	k/min^{-1}	R
1	0.026 53	0.994 7	0.026 31	0.999 4	0.026 31	0.998 4
2	0.027 21	0.999 6	0.026 75	0.997 4	0.027 08	0.996 1
3	0.027 72	0.996 2	0.026 41	0.999 6	0.026 59	0.995 2
4	0.026 97	0.999 0	0.026 53	0.999 2	0.026 92	0.997 2
5	0.027 54	0.998 1	0.026 17	0.998 6	0.027 15	0.998 1
6	0.026 88	0.997 3	0.026 18	0.998 8	0.026 95	0.997 3

3 讨论

黄连是我国的传统中药,应用历史悠久,具有解热、镇痛、抗菌、抗病毒等多种药理作用,现代临床应用广泛^[9-10]。本研究采用化学分离方法,将黄连的水提取物分为两部分,即生物碱部分和非生物碱部分,并应用生物热力学方法,研究不同浓度梯度的各黄连提取部分对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和志贺氏痢疾杆菌生长代谢影响,绘制了各黄连提取部分对 3 种菌的热谱图($P-t$ 图),得到了不同浓度梯度下对 3 种菌的生长代谢热活性参数,如 k , IC_{50} , P_{max} 等。

由生物热力学结果看出,黄连生物碱部分为黄连的活性部分,对3种菌均有较强地抑制作用,说明黄连具有广谱的抗菌活性。此外,由热活性参数表可以发现,黄连生物碱部分对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和志贺氏痢疾杆菌抑制的 IC_{50} 分别为7.36, 1.12, 1.85 $g \cdot L^{-1}$,由此可见,黄连生物碱部分对3种菌的抑制作用有很大的差异,其对金黄色葡萄球菌的 IC_{50} 最小,抑制作用最强,提示黄连对葡萄球菌抑制作用具有专属性。而非生物碱部分对3种菌的抑制作用表现微弱。通过生物热力学方法研究,分析结果能够体现黄连的生物活性即抑菌作用,与黄连的活性部位相关。

近些年来,通过对黄连的不断深入研究,学者们已经证实黄连中的生物碱是其主要活性成分,目前已从黄连中分离获得主要包括小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马汀、表小檗碱等在内的多达21种生物碱,其中以小檗碱含量最高^[10-11]。大量研究表明黄连生物碱的抗菌作用是其最显著的药效作用,已广泛应用于临床。但对于黄连生物碱的抗菌作用研究,国内外的学者们主要是以单一生物碱成分或是几个生物碱单体的一定比例的组合来考察其抗菌作用的,即便是有少量的文献报道针对黄连总生物碱的抗菌作用研究,也是以传统的实验方法进行的,很难对细菌抑制作用的全过程进行综合考察^[12-13]。而在本实验研究中,通过应用生物热力学方法与单纯化学分析方法测定黄连中有效活性成分相比较,更具有实用价值和优势,反映了中药的整体效应,符合中药的整体观,同时该研究方法具有实时、在线、灵敏、准确、高效、普适性好等特点。热力学指标体现了药物作用于生物体生长代谢的整体能量变化和热效应,从而为黄连活性成分的研究提供新思路 and 理论依据。

[参考文献]

[1] YANG Y, LIU Y, ZHU J, et al. Microcalorimetric study on the transcription start site mutagenesis[J]. J Therm Anal Calorim, 2004, 75(1): 293-300.
[2] ZHANG S F, YAN D, TANG H Y, et al. The toxic

effect of solubilizing excipients on *Tetrahymena thermophila* BF₃ growth investigated by microcalorimetry [J]. Sci Bull, 2010, 55(18): 1870-1876.

[3] 鄢丹. 基于道地药材和生物效价检测的中药质量控制模式和方法的初步研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2007.
[4] LIU Y, LIANG H G, CAO J L, et al. Kinetics of the action of Na₂SeO₃ on bacillus subtilis growth as studied by microcalorimetry [J]. Chin J Chem, 2002, 20(2): 117-122.
[5] LI X, LIU Y, LIANG H, et al. The action of the selenomorpholine compounds on *Escherichia coli* growth by microcalorimetry [J]. J Therm Anal Calorim, 2002, 67(3): 589-595.
[6] LI X, LIU Y, WU J, et al. Microcalorimetric study of *Staphylococcus aureus* growth affected by selenium compounds [J]. Thermochimica Acta, 2002, 387(1): 57-61.
[7] LI X, LIU Y, WU J, et al. The effect of the selenomorpholine derivatives on the growth of *Staphylococcus aureus* studied by microcalorimetry [J]. Thermochimica Acta, 2001, 375(1): 109-113.
[8] 汤厚宽, 何洁, 屈松生. 福式志贺氏生长的微量热法研究 [J]. 湖北农学院学报, 1999, 19(1): 92-93.
[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 303.
[10] 王利红, 唐文照, 辛义周. 黄连中生物碱成分及药理作用研究进展 [J]. 山东中医药大学学报, 2015, 39(4): 389-392.
[11] WU T C, Sheu S J. Quantitative analysis of the eight quaternary alkaloids in *Coptidis Rhizoma* by high-performance liquid chromatography [J]. Chin Pharmaceut J, 1993, 45(2): 157-162.
[12] 李俊贤, 王嘉毅, 张乐乐, 等. 微量热法研究中药黄连6种生物碱之间相互作用关系 [J]. 药学学报, 2013, 48(12): 1807-1811.
[13] 樊冬丽, 廖庆文, 鄢丹, 等. 黄连不同炮制品中生物碱类成分的比较研究 [J]. 解放军药学报, 2006, 22(4): 276-279.

[责任编辑 顾雪竹]