

青翘石油醚提取物的抑菌活性研究

马文兵¹, 马雪梅¹, 赵平², 薛慧清^{2*}

(1. 中北大学化工与环境学院, 太原 030051; 2. 山西中医学院实验中心, 太原 030024)

[摘要] 目的: 研究青翘石油醚提取物的抑菌活性。方法: 青翘石油醚提取物以石油醚-乙酸乙酯为流动相通过硅胶柱层析得到不同极性组分。以金色葡萄球菌、大肠杆菌和白色念珠菌为代表菌种, 用 K-B 纸片扩散法对不同极性组分的抑菌活性进行了初步研究。结果: 青翘石油醚提取物各极性组分对供试菌均有一定的抑制活性, 但抑菌活性与各组分浓度不成简单的正比关系。结论: 青翘不同极性组分对金色葡萄球菌、大肠杆菌和白色念珠菌均有抑制作用。

[关键词] 青翘; 石油醚提取物; 抑菌活性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0180-03

Study on Antimicrobial Activities of Petroleum Ether Extract from Green *Forsythia suspensa*

MA Wen-bing¹, MA Xue-mei¹, ZHAO Ping², XUE Hui-qing^{2*}

(1. College of Chemical Engineering and Environment, North University of China, Taiyuan 030051;
2. Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antimicrobial activities of petroleum ether extract from Green *Forsythia suspensa*. **Method:** The petroleum ether extract was subjected to column chromatography on silica gel using petroleum ether with increasing volume of ethyl acetate as eluent to give different fractions. The antimicrobial activities of different fractions on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* were studied by K-B paper dispersion. **Result:** The petroleum ether extract from green *F. suspensa* showed antimicrobial activity against tested mold. But the antimicrobial activities of all the fractions were not relevant to the concentration of extract. **Conclusion:** The antimicrobial activities of different fractions on *S. lococcus aureus*, *E. coli* and *C. albicans* were significant.

[Key words] Green *Forsythia Suspensa*; petroleum ether extract; antimicrobial activities

连翘为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* 的干燥果实。果实初熟尚带绿色时采收称为青翘, 果实熟透颜色发黄时采收称为老翘^[1]。临床多习惯用老翘, 对连翘的研究也集中于对老翘的研究^[2-3], 对青

翘的研究较少。连翘含有木质素类化合物、黄酮类化合物和挥发油等, 具有抗病原体、抗炎、解热等作用, 其中抗菌是其最主要的药理作用之一且青翘的抗菌活性高于老翘^[4-5]。本试验旨在通过青翘石油醚提取物的体外抗菌活性研究, 为青翘抗菌活性成分的进一步筛选提供依据。

1 材料

1.1 药材 青翘, 2008 年 6 月购自山西省安泽县连翘 GAP 生产基地, 植物标本由山西省药检所郭文菊研究员鉴定。

1.2 试剂与菌株 金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、大肠杆菌 *Escherichia coli*、白色念珠菌 *Candida*

[收稿日期] 2010-11-20

[基金项目] 山西省科技攻关项目(20080311052-1)

[第一作者] 马文兵, 博士, 讲师, 从事化学成分与活性研究, Tel: 13835143810, E-mail: mawenbing@live.nuc.edu.cn

[通讯作者] * 薛慧清, 教授, 博士, 从事天然药物分离分析与活性研究, Tel: 0351-2272277, E-mail: xuehuiqing@sina.com

albicans,均由山西省药品检验所提供。营养琼脂培养基、庆大霉素细菌药敏试纸购自杭州天和微生物试剂有限公司;牛肉膏购自北京市海淀区微生物培养基制品厂,蛋白胨购自北京奥特博星生物技术有限责任公司,所用试剂均为分析纯。

1.3 仪器 206D型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);CA-111型冷却水循环系统(上海爱郎仪器有限公司);SHB-3A型水循环真空泵(郑州长城科工贸有限公司);HPX-9052 MBE型数显电热恒温培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);SW-CJ-

1FD型洁净工作台(苏州净化设备有限公司);BS224S-L型电子分析天平(德国Sartorius公司)。

2 方法

2.1 青翘石油醚提取物的制备 取青翘 200 g,粉碎,用石油醚加热回流提取 4 次,每次 1 h,减压浓缩回收溶剂,得总提取物 30 g。提取物经硅胶柱层析得到 9 个不同极性组分(表 1),硅胶柱层用 200~300 目柱层析硅胶 300 g 作固定相,用石油醚-乙酸乙酯作流动相。

表 1 不同极性流动相所得的各组分

组分	Fr 1	Fr 2	Fr 3	Fr 4	Fr 5	Fr 6	Fr 7	Fr 8	Fr 9
流动相	50:1	30:1	20:1	15:1	10:1	5:1	3:1	2:1	甲醇冲柱

2.2 抑菌活性分析

2.2.1 药敏纸片的制备^[6] 将普通定性滤纸用打孔机打成直径为 6 mm 的圆形纸片,经 121 °C,20 min 高压灭菌,干燥。分别取干燥后的不同待试样品 0.5,1.0,2.0 mg,用合适的溶剂溶解,将滤纸片放入溶液中,反复吸取、晾干,直至将溶液吸干,备用。

2.2.2 培养基的制备 固体培养基和液体培养基按文献方法制备^[7]。

2.2.3 菌悬液的制备 用接种环分别取各菌种,接种于液体培养基中,37 °C 培养 24 h,用灭菌生理盐水分别稀释至 1×10^{-5} CFU·mL⁻¹,备用。

2.2.4 药物抑菌作用测定 采用 K-B 纸片扩散法^[8],用无菌移液管吸取稀释好的菌悬液 0.1 mL,置于培养基中央,用涂布棒涂布均匀。用无菌镊子夹取含药滤纸片贴在培养基表面,以含药量为 10 µg 的庆大霉素细菌药敏试纸为阳性对照。37 °C 培养 24 h 后,观察并测量抑菌圈直径,结果以 mm 表示,见表 2~4。每种不同含药量的样品对 3 种细菌均做 3 组平行对照,结果取平均值。

3 结果与分析

3.1 青翘石油醚提取物不同极性组分的抑菌作用比较 用青翘石油醚提取物不同极性组分,以金黄色葡萄球菌、细菌大肠杆菌和霉菌白色念珠菌作为指示菌进行抑菌实验,结果见表 2~4。

从表 2 看出,极性 <20:1 的各组分对金黄色葡萄球菌均没有抑制作用。极性 >15:1 的各组分对金黄色葡萄球菌均有一定的抑制作用。当纸片含药量为 0.5 mg 时不同极性组分显示相同的抑菌活性。

当纸片药量增加时其部分极性组分的活性略有增加,但活性增强没有与浓度增加成线性关系。当纸片含药量分别为 1 mg 和 2 mg 时不同极性组分的抑菌活性也没有明显的差别,极性最大的组分表现了最强的活性。极性 >15:1 的组分,含药量为 1 mg 对金黄色葡萄球菌有较好的抑制活性。

表 2 不同极性组分对金黄色葡萄球菌的抑菌圈(n=3)

样品	抑菌直径/mm		
	0.5 mg	1.0 mg	2.0 mg
Fr 1	-	-	-
Fr 2	-	-	-
Fr 3	-	-	-
Fr 4	-	12	10
Fr 5	8	10	10
Fr 6	8	9	10
Fr 7	8	8	8
Fr 8	-	8	8
Fr 9	8	15.5	16
庆大霉素		36	

注:“-”表示没有明显抑菌圈(表 3~4 同)。

从表 3 可知,极性 <20:1 的各组分随含药量的增加对大肠杆菌表现出一定的抑制作用,但效果不明显。极性 >15:1 的各组分药量为 0.5 mg 时其抑菌活性基本相同,也就是成分的极性对其抑菌活性没有影响。纸片药量增加,抑菌活性增加,当药量分别为 1.0 mg 和 2.0 mg 时,较药量为 0.5 mg 时其抑菌活性不同程度的增加,但活性的增加与含药量的增加不成线性关系。极性 >15:1 的组分,含药量为 1 mg 对大肠杆菌有较好的抑制活性。

表 3 不同极性组分对大肠杆菌的抑菌圈 ($n=3$)

样品	抑菌直径/mm		
	0.5 mg	1.0 mg	2.0 mg
Fr 1	-	-	6.7
Fr 2	-	8.3	8.5
Fr 3	-	-	-
Fr 4	10	-	10.5
Fr 5	-	14	14.5
Fr 6	8	13.8	13
Fr 7	8	13.5	8
Fr 8	8	12	11
Fr 9	8	10	16
庆大霉素		33	

从表 4 可知,极性 < 15:1 的各组分对白色念珠菌均没有抑制作用,而极性 > 15:1 的各组分对白色念珠菌均有一定的抑制作用。对白色念珠菌有抑制作用的各组分,其活性与药量的多少基本没有关系,说明浓度与抑菌作用强弱之间并不成简单的正比关

表 4 不同极性组分对白色念珠菌的抑菌圈 ($n=3$)

样品	抑菌直径/mm		
	0.5 mg	1.0 mg	2.0 mg
Fr 1	-	-	-
Fr 2	-	-	-
Fr 3	-	-	-
Fr 4	-	-	-
Fr 5	7	8	8.5
Fr 6	7	8.5	7.5
Fr 7	7	7	7
Fr 8	9	-	9.5
Fr 9	10	9	9.5
庆大霉素		28	

系。极性 > 10:1 的组分,含药量为 0.5 mg 时对白色念珠菌有较好的抑制活性。

4 讨论

本研究表明:青翘石油醚提取物的不同极性组分对 3 种菌株均表现不同程度的抑菌作用,且极性 > 15:1 的组分都抑菌作用较好。综上,不同极性组分的抑菌作用强弱与其浓度之间不成正比关系,含药量为 1 mg 时对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌均表现较好的抑制活性,含药量为 0.5 mg 时对白色念珠菌有较好的抑制活性。因此,以往参照抗生素求最小抑菌浓度(MIC)的方法很难准确地反映青翘的抑菌活性,应该寻求它的“最适抑菌浓度”。

研究结果可以指导青翘石油醚提取物中抑菌活性成分的分离纯化,为更好的发挥青翘抑菌作用奠定了基础。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2005:117.
- [2] 张海燕.连翘化学成分及药理活性的研究进展[J].中药材,2000,23(10):657.
- [3] 王伟芳,刘东雷,徐绥绪,等.连翘中的新化合物[J].沈阳药科大学学报,1999,16(2):138.
- [4] 张恩户,赵子剑,张英,等.连翘及其制剂抗菌效价的生物测定法[J].中国中医基础医学杂志,2005,11(10):782.
- [5] 牛新华,邱世翠,邸大琳,等.连翘体外抑菌作用的研究[J].时珍国医国药,2002,13(6):342.
- [6] 段飞,张双民,杨健雄.连翘叶提取物抑菌作用的研究[J].西北药学杂志,2005,20(2):66.
- [7] 徐威.微生物学实验[M].北京:中国医药科技出版社,2004:40.
- [8] 管远志,王艾琳,李坚,等.医学微生物学实验技术[M].北京:化学工业出版社,2006:22.

[责任编辑 何伟]