

江香薷不同极性提取物的抗菌活性研究

李知敏¹, 孙彦敏¹, 王 妹¹, 彭 亮^{1*}, 任 鹏²

(1. 江西科技师范大学药学院, 江西南昌 330013;

2. 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川绵阳 621010)

摘要:采用溶剂萃取法制备5种江香薷提取物,并用纸片法和肉汤稀释法比较了这5种提取物分别对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌等常见菌的体外抗菌效果,结果显示江香薷的乙酸乙酯提取物对三种检测细菌的MIC为15.60 $\mu\text{g}/\text{mL}$,石油醚提取物、正丁醇提取物和醇溶物的MIC为31.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$,而水提物在实验浓度范围内抗菌作用不明显。由此可知江香薷具有抗菌活性,其中以乙酸乙酯提取物作用最显著。

关键词:江香薷, 抗菌, 枯草芽孢杆菌, 金黄色葡萄球菌, 大肠杆菌

Study on bacteriostatic activity of *Mosla chinensis* 'Jiangxiangru' extracts

LI Zhi-min¹, SUN Yan-min¹, WANG Mei¹, PENG Liang^{1*}, REN Peng²

(1. School of Pharmacy, Jiangxi Science & Technology Normal University, Nanchang 330013, China;

2. School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China)

Abstract: Five different polarity extracts from *Mosla chinensis* 'Jiangxiangru' were prepared by solvent extraction method. To compare the bacteriostatic activity of different extracts on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, disk diffusion method and broth dilution method were used. The results showed that four organic solvent extracts had various bacteriostatic activities on the tested germ, but the aqueous extract had little bacteriostatic activity. In addition, the ethyl acetate extract had the lowest MIC (minimal inhibitory concentration), which was 15.60 $\mu\text{g}/\text{mL}$. While, MIC of petroleum ether extract and ethanol extract were 31.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Thus, *Mosla chinensis* 'Jiangxiangru' had antibacterial activity, and the ethyl acetate extract had the most significant effect.

Key words: *Mosla chinensis* 'Jiangxiangru'; bacteriostatic activity; *Bacillus subtilis*; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)16-0115-03

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.16.016

江香薷(*Mosla chinensis* 'Jiangxiangru')为唇形科石荠苎属植物,2010年版《中国药典》记载的正品香薷之一,江西省道地药材,分布于分宜、宜春、新余等地^[1]。香薷始载于《名医别录》:“味辛微温,主霍乱腹痛,吐下散水肿”,有发汗解表、祛暑化湿、利水消肿之功效,《本草纲目》云:“世医治暑病,以香薷为首药”。临床用于治疗恶寒发热、头痛无汗、腹痛吐泻、小便不利等症的暑湿感冒。江香薷化学成分含有黄酮类^[2]及挥发油^[3],但有关其药效活性研究非常缺乏,仅有极少量文献报道江香薷中的挥发油成分具有抗菌、解痉、镇静和镇痛作用^[4-5],而对江香薷其他成分的生物活性则未见研究报告。

现如今,随着抗菌药物的广泛使用,耐药细菌不断出现,同时细菌的耐药性也在不断增强。耐药菌,尤其是多重耐药菌的不断增多,给疾病的治疗带来

了极大困难。因此,对细菌耐药性的检测、监测和评价就非常必要且十分迫切。测定抗菌药物在体外对微生物有无抑制作用的方法称为药物敏感性实验,简称药敏实验^[6]。细菌药敏实验常用方法按其效果可分为量药物最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)的肉汤稀释法和琼脂稀释法,测量含药纸片抑菌圈直径大小的K-B(Kirby-Bauer)纸片琼脂扩散法及稀释法和扩散法相结合的E-test实验(Epsilometer-test)^[7]。本研究采用溶剂萃取法制备5种江香薷提取物,并用纸片法和肉汤稀释法研究江香薷5种提取物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌等常见菌的体外抗菌效果。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

江香薷药材 购自江西黄庆仁棧大药房;大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)由西南科技大学生命科学与工程学院提供;蛋白胨、牛肉浸膏、营养琼脂粉、MH培养基 广东环凯生物科技

收稿日期:2013-11-07 * 通讯联系人

作者简介:李知敏(1980-),女,硕士研究生,研究方向:天然药物化学。

基金项目:江西省自然科学基金(20122BAB215017);江西科技师范大学科研项目(KY2010ZY10)。

有限公司。

FDU-1100型冻干机 日本东京理化;LR4000型旋转蒸发仪 德国海道夫;BHC-1000II型生物安全柜 苏净安泰;SPX-100B-Z型生化培养箱 苏州江东精密仪器有限公司;LDZM-40KCS型灭菌锅 河南兄弟仪器公司。

1.2 实验方法

1.2.1 江香薷提取物的制备^[8] 江香薷药材以75%的乙醇溶液按1:10料液比,于80℃下回流提取2h,重复3次,合并提取液,旋转蒸发至无醇味后,分别用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇依次萃取,每次萃取5次。合并各萃取液后,旋转蒸发除去大部分萃取溶剂,将萃取液悬浮于少量蒸馏水中,继续旋转蒸发除去剩余溶剂,冻干后得江香薷的石油醚提取物(MCJ-1)、乙酸乙酯提取物(MCJ-2)、正丁醇提取物(MCJ-3)和醇溶物(MCJ-4)。经过乙醇提取后的药材残渣以1:10料液比的沸水回流提取2h,重复3次,合并提取液,旋转蒸发除去大部分水后,冻干得江香薷水提物(MCJ-5)。

MCJ-1、MCJ-2、MCJ-3和MCJ-4用DMSO助溶,再用无菌水配制为10mg/mL的母液,MCJ-5直接用无菌水配制为相同浓度的母液。各提取物的母液在实验前过滤除菌,再用无菌水分别稀释至62.50、31.25、15.60、7.80μg/mL,DMSO在药液中的终浓度最大不超过5%。

1.2.2 纸片法检测江香薷提取物的抑菌活性 用移液枪接种检测菌(含菌量约10⁷CFU/mL,接种量为0.1mL)到平板上,用涂布环涂布均匀,接种后的平板在室温中干燥3~5min,使培养基表面的水分吸收。把灭菌后的纸片(d=6mm)放于相应的药物浓度中浸泡,将浸泡后的纸片视为含药浓度为相应浓度。在37℃条件下培养24h,取出观察并记录抑菌圈大小,取其平均值。并以氨苄西林药物在同条件下观察其抑菌圈作为对照。以抑菌圈直径>15mm为高度敏感、10~15mm为中度敏感,7~9mm为低度敏感,低于7mm视为没有抑菌效果。

1.2.3 最低抑菌浓度(MIC)的测定 取4支试管,分别加入2mL MH液体培养基。以二倍稀释法配制各管抗菌药物的最终浓度依次为62.50、31.25、15.60、7.80μg/mL。另取1支试管加入2mL MH液体培养基,作为对照。用移液枪吸取0.1mL检测菌液加入到各试管中,所有的试管在35℃下孵育24h后观察结果,以肉眼未见细菌生长的最低药物浓度为该药对检测菌的MIC,并辅以对不同浓度的提取液处理过的菌液涂布平板,进行菌落计数,验证结果。

2 结果与分析

2.1 江香薷提取物的抑菌活性

不同极性的江香薷提取物在62.50、31.25、15.60、7.80μg/mL四个浓度下,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑制作用分别见表1~表3。

从表1~表3的数据可以看出,江香薷的水提物在实验浓度范围内,对三种细菌无明显的抑制作用。而其余4种江香薷提取物则具有不同程度的抑菌活性,而且随着药物浓度的增加,抑菌活性也有所增加。从抑菌圈大小来看,江香薷醇溶物对大肠杆菌和

表1 江香薷提取物对大肠杆菌的抑菌圈直径(mm, $\bar{x}\pm s, n=5$)

样品	浓度(μg/mL)			
	7.80	15.60	31.25	62.50
MCJ-1	9.64±0.32	9.65±0.88	9.85±0.65	11.67±0.97
MCJ-2	9.50±1.32	10.11±0.26	10.67±1.05	11.69±0.96
MCJ-3	8.95±0.61	9.53±0.81	9.67±0.67	11.59±1.23
MCJ-4	10.68±0.62	10.80±0.75	11.43±0.64	13.44±0.59
MCJ-5	-	-	-	-

注:“-”表示无抑菌作用;表2、表3、表4同。

表2 江香薷提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径(mm, $\bar{x}\pm s, n=5$)

样品	浓度(μg/mL)			
	7.80	15.6	31.250	62.50
MCJ-1	8.30±0.36	8.79±0.91	10.03±1.27	11.93±1.69
MCJ-2	7.55±0.14	7.85±0.58	8.00±0.7	10.05±1.04
MCJ-3	7.63±0.32	10.30±1.28	11.65±0.82	12.49±1.55
MCJ-4	8.97±0.93	10.43±0.49	10.73±1.21	11.02±1.68
MCJ-5	-	-	-	-

表3 江香薷提取物对枯草芽孢杆菌的抑菌圈直径(mm, $\bar{x}\pm s, n=5$)

样品	浓度(μg/mL)			
	7.80	15.60	31.25	62.50
MCJ-1	7.92±0.49	9.83±0.71	10.20±0.62	11.15±0.84
MCJ-2	9.80±0.56	9.97±0.55	11.12±0.56	11.23±0.35
MCJ-3	10.53±0.55	10.89±0.42	11.21±1.52	11.62±0.33
MCJ-4	9.53±0.57	10.25±0.72	10.62±0.84	11.77±0.70
MCJ-5	-	-	-	-

枯草芽孢杆菌的抑制作用显著,江香薷正丁醇提取物对金黄色葡萄球菌的抑制作用显著。

2.2 江香薷提取物的最低抑菌浓度

5种不同极性的江香薷提取物对三种检测细菌的最低抑菌浓度(MIC)见表4。

表4 江香薷提取物的最低抑菌浓度(μg/mL)

提取物/菌种	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌
MCJ-1	31.25	31.25	31.25
MCJ-2	15.60	15.60	15.60
MCJ-3	31.25	31.25	31.25
MCJ-4	31.25	31.25	31.25
MCJ-5	-	-	-

(下转第120页)

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57 (12): 5376-5380.

[7] Kumar S, Mishra B B, Saxena S, *et al.* Inhibition of pericarp browning and shelf life extension of litchi by combination dip treatment and radiation processing[J]. Food Chemistry, 2012, 131 (4): 1223-1232.

[8] Arzu O, Ahmet C, Oktay A, *et al.* Purification and characterisation of a polyphenol oxidase from boletus erythropus and investigation of its catalytic efficiency in selected organic solvents[J]. Food Chemistry, 2010, 119(3): 1044-1049.

[9] Altunkaya A, Gokmen V. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*) [J]. Food Chemistry, 2008, 107 (3): 1173-1179.

[10] 邱爱东, 苟琳, 郭舒予. L-苹果酸对酪氨酸酶的抑制作用研究[J]. 食品科技, 2010, 35(11): 261-263.

[11] Liu Wei, Zou Liqiang, Liu Junping, *et al.* The effect of citric acid on the activity, thermodynamics and conformation of mushroom polyphenol oxidase[J]. Food Chemistry, 2013, 140(12): 289-295.

[12] Daroit J D, Correa F A P, Klug V T, *et al.* Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from araucaria angustifolia (Bert. O. Ktze) seeds[J]. Journal of Food Biochemistry, 2010, 34(6): 1216-1230.

[13] Ellman G L. Tissue sulfhydryl groups[J]. Archives of

Biochemistry and Biophysics, 1959, 82(1): 70-77.

[14] Liu Wei, Liu Jianhua, Liu Chengmei, *et al.* Activation and conformational changes of mushroom polyphenol oxidase by high pressure microfluidization treatment[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2009, 10(2): 142-147.

[15] Xu Yanshun, Xia Wenshui, Yang Fang, *et al.* Protein molecular interactions involved in the gel network formation of fermented silver carp mince inoculated with *Pediococcus pentosaceus* [J]. Food Chemistry, 2010, 120(3): 717-723.

[16] Si Yuexiu, Yin Shangjun, Park D, *et al.* Tyrosinase inhibition by isophthalic acid: kinetics and computational simulation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2011, 48(4): 700-704.

[17] 刘晓丹, 黄璜, 陈清西. 苯甲酸对蘑菇酪氨酸酶抑制作用机理的研究[J]. 厦门大学学报, 2003, 42(1): 102-106.

[18] Kanade S R, Paul B, Rao A G A, *et al.* The conformational state of polyphenol oxidase from field bean (*Dolichos lablab*) upon SDS and acid-pH activation[J]. Biochemical Journal, 2006, 395: 551-562.

[19] Neamtu S, Tosa N, Bogdan M. Spectroscopic investigation of tolmetin interaction with human serum albumin[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2013, 85: 277-282.

[20] 许强, 杨科利. 电场对脂肪酶紫外光谱及其活性的影响[J]. 食品工业科技, 2008, 29(9): 143-144.

(上接第116页)

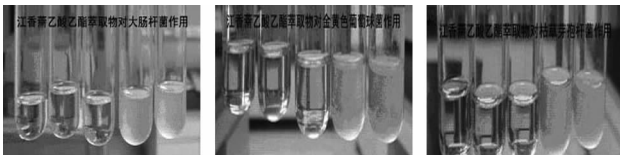


图1 江香薷乙酸乙酯萃取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌以及枯草芽孢杆菌的最低抑菌浓度

Fig.1 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* minimum inhibitory concentration of ethyl acetate extract of *Mosla chinensis* 'Jiangxiangru'

注: 从左向右浓度依次为62.50、31.25、15.60、7.80、3.90 $\mu\text{g/mL}$ 。

比较江香薷5种提取物对3种常见细菌的抑菌效果, 从表4的数据可以看出, 江香薷5种提取物的抑菌效果不同, 其中以乙酸乙酯萃取物抑菌效果显著, 最低抑菌浓度可达15.60 $\mu\text{g/mL}$, 石油醚萃取物、正丁醇萃取物以及醇溶物次之, 而水提物的抑菌作用最弱。这可能是由于不同溶剂萃取使提取液中的化学成分不同, 导致提取出的抑菌物质种类不同, 在抑菌效果上表现出一定的差异。由图1可看出, 在浓度为15.60 $\mu\text{g/mL}$ 时, 江香薷乙酸乙酯萃取物对3种细菌抑菌作用显著, 证明江香薷提取物具有良好的抑菌作用。

3 结论与讨论

刘华^[9]和胡浩武^[2]分别从江香薷的乙酸乙酯提取物中分离得到了木犀草素、黄芩素-7-甲醚、槲皮素、金圣草黄素和芹菜素等黄酮类化合物, 并证明其具有良好的抑菌作用, 而本实验中也发现江香薷乙酸乙酯萃取部分的抑菌效果较好, 这可能与乙酸乙酯

部位所萃取物质具有很好的抗菌作用有关。而江香薷的石油醚提取中含有百里香酚和香荆芥酚^[10], 这可能是石油醚提取物的抗菌作用来源。本实验仅限于对江香薷有机溶剂粗提物抑菌活性的研究, 证明其具有抗菌作用, 而对江香薷中抑菌活性成分的分离、纯化及其抑菌机理尚需进一步研究和探讨。

参考文献

- [1] 胡珊梅, 范崔生, 袁春林. 江香薷的本草考证和药材资源的研究[J]. 江西中医学院学报, 1994, 6(2): 31-34.
- [2] 胡浩武, 谢晓鸣, 张普照, 等. 江香薷黄酮类化学成分研究[J]. 中药材, 2010, 33(2): 218-219.
- [3] 罗光明, 杨光义, 刘红宁, 等. 江香薷挥发油提取工艺优化[J]. 中药材, 2006, 29(3): 284-287.
- [4] 吴廷楷, 周永录, 周世清, 等. 四种香薷挥发油药理作用比较研究[J]. 中药材, 1992, 15(8): 36-38.
- [5] 张亚红, 刘红宁, 朱卫丰. 江香薷研究进展[J]. 中药材, 2002, 25(2): 146-147.
- [6] 凌代文. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 130.
- [7] 周宁, 张建新, 樊明涛, 等. 细菌药物敏感性实验方法研究进展[J]. 食品工业科技, 2010, 33(9): 459-465.
- [8] 袁珂, 吕洁丽, 贾安. 含羞草化学成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(17): 1293-1294.
- [9] 刘华, 沈娟娟, 张东明, 等. 江香薷极性成分的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8): 84-86.
- [10] 刘华, 李桂生, 罗永明, 等. 江香薷醇提物石油醚部位化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 69-70.