

细果角茴香生物碱最低抑菌浓度测定

韦佩涛 (青海省西宁市八一路陆军四医院, 青海西宁 810007)

摘要 [目的]研究细果角茴香中总生物碱的抑菌活性,为细果角茴香的合理开发利用提供理论依据。[方法]采用超声辅助提取细果角茴香中总生物碱,以金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和大肠埃希菌为供试菌种,采用琼脂平板稀释法进行MIC的测定。[结果]细果角茴香中总生物碱对供试菌种的最低抑菌浓度分别为:大肠埃希菌0.8 mg/ml,金黄色葡萄球菌0.4 mg/ml,枯草芽孢杆菌1.6 mg/ml。[结论]细果角茴香总生物碱对供试细菌都有一定的抑菌作用。

关键词 细果角茴香(Herb of Thinfruit Hypecoum);总生物碱;最低抑菌浓度

中图分类号 S567 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)27-10986-03

Determination of minimum inhibitory concentration of Herb of Thinfruit Hypecoum

WEI Pei-tao (The Forth hospital of land force in Bayi road of Xining City of Qinghai Province, Xining 810007)

Abstract [Objective] To study on antibacterial activity of total alkaloids in Herb of Thinfruit Hypecoum, and provide a theoretical basis for the rational development and utilization of Herb of Thinfruit Hypecoum. [Methods] By ultrasonic assisted extraction, total alkaloids in Herb of Thinfruit Hypecoum were extracted, of which minimum inhibitory concentration(MIC) was determined by agar dilution method, using *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* as tested strains. [Results] MIC of total alkaloids in Herb of Thinfruit Hypecoum of the tested strains were: 0.8 mg/ml of *E. coli*, 0.4 mg/ml of *S. aureus* and 1.6 mg/ml of *B. subtilis*. [Conclusion] The total alkaloid in Herb of Thinfruit Hypecoum has antibacterial activity on the tested strains.

Key words Herb of Thinfruit Hypecoum; Total alkaloids; Minimum inhibitory concentration

细果角茴香(Herb of Thinfruit Hypecoum),异名角茴香,藏名巴尔巴大、哇日哇哒,为罂粟科(Papaveraceae)角茴香属(*Hypercom*)一年生草本植物裂角茴香(*Hypercom leprosarium* Hook. f. et Thomas)的干燥全草,主要分布于西藏、四川、甘肃、青海、陕西和河北等地^[1-3]。《西藏常用中草药》中记载,细果角茴香能“解热镇痛,消炎解毒。治伤风感冒,头痛,四肢关节疼痛,胆囊炎,并解食物中毒^[4-5]。”《陕甘宁青中草药选》中记载,细果角茴香能“治流感,咽喉肿痛,目赤^[6]。”

现代分析化学和天然产物化学研究发现,裂角茴香的干全草含生物碱约0.38%,从中分离出原阿片碱85%,血根碱0.1%,白屈菜红碱及黄连碱痕迹量,无定形非酚型碱7.8%,无定形酚型碱2.7%。笔者采用超声辅助提取法提取细果角茴香中的总生物碱,并采用琼脂平板稀释法进行MIC的测定^[7-15],研究其抑菌活性,以期对细果角茴香的进一步开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象。细果角茴香生物碱,由实验室制备。

1.1.2 供试菌种。大肠埃希菌(*Escherichia coli*),批号:[CMCC(B)44102],金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),批号:[CMCC(B)26003],枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),批号:[CMCC(B)63501],均购自中国药品检验所。

1.1.3 主要仪器。ZHJH-1112C超净工作台,购自郑州南北仪器设备有限公司;BCD-176XZ Haier冰箱,购自海尔公司;GHP-9050隔水式恒温培养箱,购自上海比朗有限公司;HZQ-X100A恒温振荡培养箱,购自上海将来实验设备有限

公司;TH-1060高温高压灭菌锅,购自(鑫科)企业有限公司;TGL-16C高速离心机(台式),购自江苏省金坛市友联仪器研究所;SB-5200D超声波清洗机,宁波新芝生物科技股份有限公司;GZX-9076MBE数显鼓风干燥箱,购自上海沪粤明科学仪器有限公司。

1.1.4 主要试剂。营养琼脂培养基、HCl(1 mol/L)、NaOH(1 mol/L)和乙醇等均为国产分析纯,市售;蒸馏水,实验室自制。

1.2 方法

1.2.1 培养基的制备。取牛肉膏3.0 g,蛋白胨10.0 g,氯化钠5.0 g,琼脂18.0 g,蒸馏水1 000 ml,pH 7.2~7.4,于121℃灭菌30 min,制备营养琼脂培养基(g/L),用于抗菌活性测试(细菌)。

1.2.2 供试菌种的活化。将金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和大肠埃希菌等细菌的新鲜培养物接种至营养肉汤培养基中或营养琼脂培养基上,于30~35℃培养18~24 h,进行活化处理。

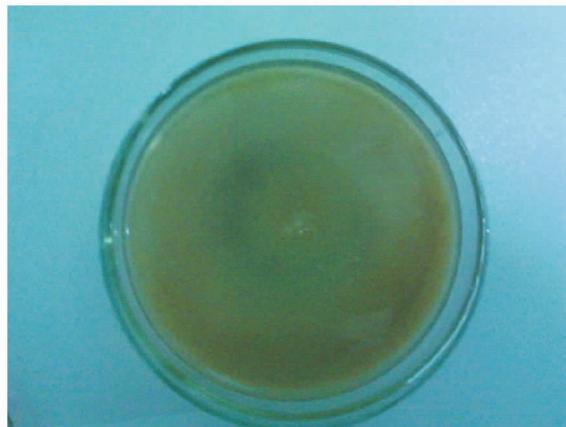
1.2.3 最小抑菌浓度的测定。采用琼脂平板稀释法。将细果角茴香生物碱总提取物用无菌蒸馏水进行倍比稀释,制备系列浓度稀释液,然后用无菌吸管将稀释液分别定量加入到无菌培养皿中,与定量加入的培养基充分混匀,静置凝固后,制成含样品平板,按皿底的记号,把菌种接种在平板上,置35~37℃培养18~24 h,观察细菌生长情况;另取一个稀释系列,不接种任何菌种作为对照,以完全没有菌生长的最低浓度作为该提取物的最低抑菌浓度(MIC)。

2 最小抑菌浓度的测定

图1~3和表1表明,细果角茴香生物碱对供试菌大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均有抗菌活性,并且最低抑菌浓度分别为:大肠埃希菌0.8 mg/ml,金黄色葡萄球菌0.4 mg/ml,枯草芽孢杆菌1.6 mg/ml。

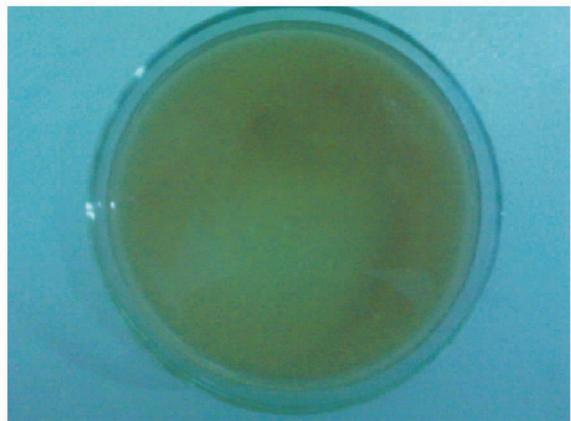


0.8 mg/ml (菌种无生长)



0.4 mg/ml (菌种有生长)

图 1 不同浓度生物碱对大肠埃希菌的抑制结果



0.4 mg/ml (菌种有生长)



0.2 mg/ml (菌种有生长)

图 2 不同浓度生物碱对金黄色葡萄球菌的抑制结果



1.6 mg/ml (菌种无生长)



0.8 mg/ml (菌种有生长)

图 3 不同浓度生物碱对枯草芽孢杆菌的抑制结果

表 1 不同浓度总生物碱对 3 种供试菌的抑制情况

菌种	总生物碱的浓度//mg/ml							
	25.0	12.5	6.3	3.2	1.6	0.8	0.4	0.2
大肠埃希菌	-	-	-	-	-	-	+	+
金黄色葡萄球菌	-	-	-	-	-	-	-	+
枯草芽孢杆菌	-	-	-	-	-	+	+	+

注：“-”表示无菌生长，“+”表示有菌生长。

3 结论与讨论

抗生素及合成类抗菌药物的限制使用,导致动物疾病的防治难度加大,使畜产品的生产成本增加,效益降低。因此,寻找安全、高效、价廉和使用方便的抗生素及合成类抗菌药物的替代品正成为许多研究的方向,而来源于植物的抑菌中草药及其提取物正符合此要求,因此抑菌中草药及其提取物成为目前研究的新热点。

试验结果表明,细果角茴香生物碱对 3 种供试细菌的抗菌活性较强,有开发利用价值。细果角茴香总粗提取物和总生物碱部分除了具有较强的抑菌活性外,还具有广泛的药理作用,如抗流感、抗肿瘤和免疫增强作用等,这些作用还有待于进一步的研究。

参考文献

- [1] 青海省药品检验所. 青海省藏药研究所. 中国藏药[M]. 上海:上海科学技术出版社,1996:343.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986:436.
- [3] 孙明学. 大兴安岭森林植物[M]. 哈尔滨:东北林业大学出版社,2006:3.
- [4] 中国医学科学院药物研究所. 中药志[M]. 北京:人民卫生出版社,1982:276.
- [5] 郎楷永,陈心启,罗毅波,等. 中国植物志(第 17 卷)[M]. 北京:科学出版社,1999:228,388.
- [6] 雒成林,刘锋林. 藏医与中医对手参的应用探讨[J]. 甘肃中医学院报,

2001,18(4):43.

- [7] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草. 藏药卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,2002:100.
- [8] 张丹,王亚芳,张建军. 藏药旺拉提取物 CE 对亚急性衰老小鼠学习记忆及抗氧化能力的影响[J]. 中国新药杂志,2005,14(11):1301.
- [9] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海植物志. 第一卷[M]. 西宁:青海人民出版社,1997.
- [10] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志[M]. 西宁:青海人民出版社,1991.
- [11] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986.
- [12] 韩公羽,沈企华. 植物药有效成分的研究与开发[M]. 杭州:杭州大学出版社,1991.
- [13] 邢福国,刘阳. 花生粕总黄酮的提取工艺[J]. 食品研究与开发,2010,31(1):61-63.
- [14] 文怀秀,邵赞,陶燕铎,等. RP-HPLC 法测定藏药细果角茴香原阿片碱的含量[J]. 药物分析杂志,2009,29(1):137-139.
- [15] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志[M]. 西宁:青海人民出版社,1991:248.

(上接第 10985 页)

钾养分和长效性^[17]。

表 4 不同施肥处理的经济效益

处理	紫云英支出 元/hm ²	稻肥支出 元/hm ²	总投入 元/hm ²	总收入 元/hm ²	效益 元/hm ²	产投比
A	0	0	0	8 006	-	-
B	0	1 907	1 907	11 356	1 444	0.76
C	660	1 907	2 567	12 276	1 703	0.66
D	660	1 526	2 186	13 011	2 819	1.29
E	660	1 144	1 804	11 643	1 832	1.02
F	660	763	1 423	10 274	845	0.59

注:N 价格 5.22 元/kg, P₂O₅ 价格 3.83 元/kg, K₂O 价格 6.67 元/kg, 早稻价格为 1.84 元/kg, 紫云英种籽价格为 12 元/kg, 播种紫云英的劳动成本为 10 元/kg。

配施紫云英还改善了水稻的农艺性状,提高了产量和养分利用率,带来良好的经济效益^[18],其中以处理 D 的效果最好,对比处理 B 区(不施紫云英,施 100% 化肥)产量增加 899.0 kg/hm²,增幅为 14.6%,而且可以节约 20%~40% 化肥施用量,易为农民接受,建议在紫云英一早稻种植区加以推广,推荐最佳经济施用量为 N 115.2 kg/hm²、P₂O₅ 70.8 kg/hm²、K₂O 98 kg/hm²。

参考文献

- [1] 吕家珑,张一平,王旭东,等. 长期单施化肥对土壤性状及作物产量的影响[J]. 应用生态学报,2001,12(4):569-572.
- [2] 黄国勤,王兴祥,钱海燕,等. 施用化肥对农业生态环境的负面影响及对策[J]. 生态环境,2004,13(4):656-660.
- [3] 吴建富,施翔,肖青亮,等. 我国肥料利用现状及发展对策[J]. 江西农业大学学报,2003,25(5):725-727.
- [4] 朱兆良,孙波. 中国农业面源污染控制对策研究[J]. 环境保护,2008,

394(8):4-6.

- [5] 马文奇,张福锁,张卫锋. 关乎我国资源、环境、粮食安全和可持续发展的化肥产业[J]. 资源科学,2005,27(3):33-40.
- [6] 王琴,郭晓彦,张丽霞,等. 紫云英配施不同量化肥对水稻产量及经济效益的影响[J]. 河南农业科学,2013,42(5):77-81.
- [7] 高玲,刘国道. 绿肥对土壤的改良作用研究进展[J]. 北京农业,2007(12):29-33.
- [8] 陈志宏,李晓芳,负旭疆,等. 我国草种质资源的多样性及其保护[J]. 草业科学,2009,26(5):1-6.
- [9] 肖嫩群,沈宝明,谭周进. 紫云英还田方式对烟田土壤微生物及酶的影响[J]. 核农学报,2010,24(1):130-135.
- [10] 杨俊岗,李长喜. 信阳紫云英研究[M]. 北京:农业科学技术出版社,2005:19-20.
- [11] 张璐,张文菊,徐明岗,等. 长期施肥对中国 3 种典型农田土壤活性有机碳库变化的影响[J]. 中国农业科学,2009,42(5):1646-1655.
- [12] 林新坚,曹卫东,吴一群,等. 紫云英研究进展[J]. 草业科学,2011,28(1):135-140.
- [13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,2005:265-271.
- [14] 胡霁堂. 植物营养学(上册)[M]. 北京:中国农业出版社,2003.
- [15] 冯敏玉,方正,严芳,等. 江西省稻田土壤养分现状[J]. 安徽农业科学,2010,38(25):13764-13766.
- [16] 张珺瑾. 种植利用紫云英对南方稻田土壤肥力形状影响的研究[D]. 北京:中国农业科学院,2011.
- [17] 王璐,吴建富,潘晓华,等. 紫云英和稻草还田免耕抛栽对水稻产量和土壤肥力的影响[J]. 中国农学通报,2010,26(20):299-303.
- [18] 王杨才,戴波. 紫云英还田对水稻氮肥用量及其产量的影响[J]. 现代农业科技,2010(13):54-58.
- [19] ZHANG H P, LIU Q, PENG J W, et al. Effects of FCMP compound fertilizer on development and yield of early rice [J]. Agricultural Science & Technology, 2012, 13(11):2299-2302
- [20] 王静. 紫云英种植管理技术[J]. 畜牧与饲料科学,2012,34(1):60.
- [21] 刘春增,刘小粉,李本银,等. 紫云英还田对水稻产量、土壤团聚性及其有机碳和全氮分布的影响[J]. 华北农学报,2012(6):224-228.
- [22] 唐杉,王允青,曹卫东,等. 不同还田条件下稻田紫云英氮素释放规律及效应[J]. 安徽农业科学,2013,41(7):2945-2947.