

广藿香精油气相-质谱联用法分析 及其体外抑菌活性研究

段晓梅, 杨琼英*

(云南轻纺职业学院, 昆明 650300)

摘要: **目的** 分析广藿香精油的化学成分并进行体外抑菌活性评估, 为广藿香精油的药理活性研究提供依据。**方法** 采用气相-质谱联用法(GC-MS)对广藿香精油进行分析, 并计算各成分相对含量。通过牛津杯法对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌及白色念珠菌的抑菌圈直径来评价体外抑菌效果。**结果** 鉴定出20种挥发性成分, 其中广藿香醇含量最高, 占35.62%。抑菌实验显示广藿香精油对金黄色葡萄球菌和白色念珠菌具有较强的抑制作用, 对大肠埃希菌抑菌效果较弱。**结论** 广藿香精油成分复杂, 具有较强的体外抑菌活性, 为后续广藿香精油的开发研究奠定基础。

关键词: 广藿香; 精油; 气相色谱-质谱; 抑菌

0 引言

广藿香, 拉丁名 *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth., 又叫刺蕊草, 是一种唇形科属植物。很多年前, 我国广东地区就已栽培供药用, 故名“广藿香”^[1], 目前在广东、广西、云南等地均有种植。广藿香用途广泛, 藿香正气水、抗病毒口服液等许多中成药的主要成分中均有广藿香, 临床上用来治疗各种菌群紊乱引起的肠道疾病。现代药理学研究表明, 广藿香不仅展现出了显著的抗菌与抗病毒特性, 有效抵御外界病原体的侵袭, 而且在调节胃肠道功能、缓解炎症疼痛等方面亦有显著的功效^[2-3]。其抑菌作用主要是广藿香中的挥发油对多种胃肠道致病菌、皮肤致病菌有较强的抑制作用^[4]。广藿香挥发油作为广藿香发挥药效的主要成分, 主要包括广藿香酮、广藿香醇、单萜烯、倍半萜烯、醇类、酮类等多种化合物^[5]。

目前对广藿香精油的研究主要集中在抑菌机制、应用开发研究等方面, 对于广藿香挥发油各成分间抑菌作用的相互影响报道并不多见。本实验采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)这一高效且灵敏的分析手段来鉴定广藿香挥发油的化学成分, 并对体外抑菌活性进行研究, 探索各成分间抑菌效果的相互影响, 为后续广藿香精油的药效物质研究及开发新的高效低毒的抗菌药物奠定基础。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

广藿香精油, 产地广东, 广东汇群中药饮片股份有限公司, 规格10 mL。体外抑菌实验所用受试菌株均由大理大学基础医学院微生物与免疫教研室提供。仪器及试剂见表1。

表1 仪器及试剂名称、厂家

名称	厂家
SERIES II型二氧化碳恒温培养	Thermo Scientific
7890A/5975C型	
GC-MS气相色谱-质谱联用仪器	Agilent Technologies
盐酸左氧氟沙星	扬子江药业集团有限公司
克霉唑	白云山何济公制药厂
沙氏琼脂培养基	北京索莱宝科技有限公司
营养琼脂培养基	北京陆桥技术股份有限公司

1.2 方法

1.2.1 GC-MS分析

(1)样品制备: 将广藿香精油溶解在色谱纯甲醇中。制成3 mg/mL。使用孔径为0.22 μm的滤膜, 过滤, 进样。

(2)GC-MS分析条件: 采用朱玲、钟雯雯文献报道^[6-7]中GC-MS分析条件。HP-5MS色谱柱, 规格为30 m×250 μm×0.25 μm, 采用高纯度氦气作为载气。初

第一作者: 段晓梅, 硕士, 研究方向为中药抗炎药理学。

* 通信作者: 杨琼英, 硕士, 研究方向为中药药理与应用研究。E-mail: 1693889714@qq.com

始温度为 60 °C, 保留 1 min 后以 2 °C/min 上升至 69 °C, 保留 1 min 后升温速率减缓至 0.1 °C/min, 温度达到 70 °C, 维持 2 min, 再次以 2 °C 的速率提升至 180 °C, 保持 2 min。最终, 温度升至 300 °C, 升温速率为 30 °C/min。进样量为 2 μ L, 采用 10:1 的分流比进行分流进样, 流量为 1.0 mL/min。质谱部分则采用 EI 离子源, 离子源温度保持在 230 °C。电离能量被设定为 70 eV, 质量扫描范围覆盖了从 m/z 50 到 550 的区间。电离能量 70 eV, 质量扫描范围为 m/z 50~550。

1.2.2 抑菌实验

(1) 菌悬液的制备: 菌悬液的制备方法参照钟雯雯文献报道^[7]制备。

(2) 实验操作: 本实验依据钟雯雯、席祖卫文献^[7-8]所述方法, 选用经典的牛津杯法来评估抗菌活性。均匀涂布菌悬液, 牛津杯按照倒“品”字形的布局, 每皿放置 3 个。牛津杯中分别加入 200 μ L 不同浓度梯度的阳性药和广藿香精油。其余操作按照文献进行。牛津杯抑菌直径 d (mm) 敏感性判断标准具体为: d 大于 20 mm 时, 判定为

“极敏”; d 在 15 至 20 mm 之间时, 为“高敏”; 当 d 在 10 至 15 mm 之间时, 为“中敏”; d 小于 10 mm 时, 为“低敏”^[7-9]。

1.2.3 统计学方法

采用 SPSS 24.0 统计处理, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 若符合正态分布, 则应用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 统计。若不符合正态分布, 则采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 表示组间差异具有统计学意义, 使用 GraphPad Prism 8 作图。

2 结果与分析

2.1 GC-MS 成分分析结果

在定量分析方面, 参照席祖卫等人^[8]采用峰面积归一化法来计算各化学组分的相对含量。对于定性分析, 借助 NIST11.L 这一权威的标准质谱库进行检索。要求检索结果的相似度必须达到 90% 以上, 并参考相关文献资料, 通过综合比对和分析, 确定各化学组分的相对含量和化学结构式, 见图 1。成分鉴定结果见表 2。

表 2 广藿香精油中的主要化学成分

序号	化合物名称	保留时间 /min	CAS No.	相对含量 /%
1	柠檬烯	4.31	005989-27-5	1.21
2	环己烯	8.38	020307-84-0	1.02
3	4,7-Methanoazulene,1,2,3,4,5,6	9.23	000514-51-2	1.06
4	1,5-Methanocycloprop[a]indene	9.75	052617-34-2	2.08
5	α -愈创木烯	10.20	003691-12-1	9.34
6	塞舌尔烯	10.37	020085-93-2	1.73
7	广藿香烯	10.59	000560-32-7	3.78
8	芳樟醇	10.64	000489-40-7	3.87
9	β -愈创木烯	11.24	087745-31-1	7.48
10	甘菊烯	11.43	003691-11-0	6.05
11	α -马阿里烯	11.62	000489-28-1	3.17
12	环己醇	12.09	000639-99-6	0.97
13	甘菊醇	13.68	021698-41-9	3.07
14	广藿香醇	14.00	005986-55-0	35.62
15	2H-Cyclopropa[g]benzofuran,4,5	14.96	102681-49-2	5.21
16	广藿香酮	15.07	0023800-56-8	4.66
17	棕榈酸甲酯	18.44	000112-39-0	1.89
18	硬脂酸甲酯	21.57	000112-61-8	1.36
19	十六碳酰胺	22.37	000629-54-9	2.54
20	油酰胺	25.03	000301-02-0	3.89

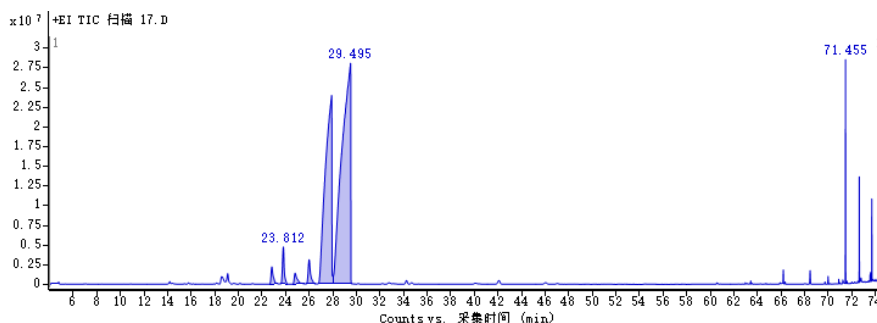


图 1 广藿香精油总离子流图

2.2 抑菌实验结果

效果为极敏;对白色念珠菌的抑菌效果为高敏;对大肠杆菌抑菌效果为低敏。

表3结果显示,广藿香精油对金黄色葡萄球菌的抑菌

表3 广藿香精油对供试菌株的抑菌活性分析($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	浓度或体积/($\mu\text{g/mL}$)	抑菌圈直径/mm		
		金黄色葡萄球菌	大肠埃希菌	白色念珠菌
盐酸左氧氟沙星	27	28.13 \pm 0.11	27.31 \pm 0.32	—
	13	27.43 \pm 0.67	25.13 \pm 0.44	—
	6.6	23.06 \pm 0.46	21.78 \pm 0.44	—
	3.3	19.23 \pm 0.23	17.16 \pm 0.45	—
	1.7	13.08 \pm 0.55	11.13 \pm 0.63	—
克霉唑	100	—	—	21.38 \pm 0.28
	50	—	—	18.76 \pm 0.33
	25	—	—	17.27 \pm 0.35
	12.5	—	—	14.21 \pm 0.36
	6.25	—	—	10.05 \pm 0.46
广藿香精油	200 μL	21.33 \pm 0.56	9.24 \pm 0.42	19.13 \pm 0.44
无菌生理盐水	200 μL	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00

注:0.00 mm 为牛津杯的外径,即无抑菌圈且牛津杯内有试验。

3 讨论与结论

本文通过实验对广藿香精油成分进行分析,共鉴定出20种化合物,其中含量较高的为 α -愈创木烯(35.62%)、 β -愈创木烯(9.34%)、甘菊烯(6.05%)、广藿香酮(4.66%)、2H-Cyclopropa[g]benzofuran,4,5(5.21%)、油酰胺(3.89%)、芳樟醇(3.87%)、广藿香烯(3.78%)等,其中醇类、烯萜类化合物含量较高,和张珊珊文献报道一致^[10]。

为了更深入地了解广藿香挥发油对这些病原菌的具体作用机制,本研究采用牛津杯法开展了针对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、白色念珠菌的体外抗菌实验。实验结果显示,广藿香精油对金黄色葡萄球菌的抑制作用尤为显著,表现在抑制圈的大小、细菌生长速度的减缓以及菌落形成单位的减少等多个方面。相比之下,虽然广藿香精油对大肠埃希菌的抑制作用相对较弱,但仍然表现出一定的抗菌活性,这提示我们广藿香精油可能在复杂的微生物环境中通过多种机制发挥抗菌作用。同时,广藿香精油对白色念珠菌也展现出了抑制效果,其程度介于对金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌效果之间,提示广藿香精油具有广谱的抗菌性。

广藿香挥发油中的化学成分鉴定结果显示,广藿香醇的含量高达35.6%,成为广藿香精油中最主要的成分之一。同时, α -愈创木烯的含量也达到了9.34%,广藿香烯占3.78%,广藿香酮占比为4.66%。这些高含量的化学成分可能通过协同作用,共同增强了广藿香精油的抗菌活性。本课题组将继续深化对广藿香挥发油中其他化学成分的分离与分析工作。通过结合先进的色谱技术和质谱技术,我们有望发现更多潜在的抗菌有效成分。这一系列研究不仅

将为广藿香精油的深入开发提供坚实的科学依据,还将为拓展其在抗菌领域的应用前景奠定重要基础。我们期待在未来的研究中能够发掘出更多具有应用价值的天然抗菌成分,为后续广藿香精油的开发研究提供一定的参考依据。

参考文献

- [1] 李薇,高艺,陈瑜珍,等.采后处理对广藿香药材中精油组分含量的影响[J].时珍国医国药,2023,34(8):1974-1975.
- [2] 王磊,李跟旺.广藿香抗菌消炎调节免疫作用的最新研究[J].西部中医药,2018,31(2):138-140.
- [3] 马川,彭成,李馨蕊,等.广藿香化学成分及其药理活性研究进展[J].成都中医药大学学报,2020,43(1):72-80.
- [4] 曾庆钱,蔡岳文,严振,等.广藿香精油的杀虫作用及其活性成分分析[J].植物资源与环境学报,2006,15(3):21-25.
- [5] 常怡雪,甘君妍,王玮哲,等.广藿香功效及应用进展[J].热带农业科学,2019,39(12):68-74.
- [6] 朱玲,陆西星,薛楠楠,等.大西洋雪松精油的成分分析及其体外活性[J].食品研究与开发,2023,44(7):151-156+184.
- [7] 钟雯雯,杨绍坤,李梓萌,等.广藿香精油GC-MS分析及其体外药理活性研究[J].广州化工,2023,51(021):80-84.
- [8] 席祖卫,王雨佳,陈金虎,等.维吉尼亚雪松精油的GC-MS分析及体外药理活性研究[J].药物分析杂志,2022,42(2):335-341.
- [9] 刘胜帅,薛楠楠,段银祥,等.绿花白千层叶油的GC-MS分析及其体外抑菌、抗炎活性研究[J].中国药理学杂志,2019,54(16):1292-1298.
- [10] 张珊珊,田云恒,王鹤达,等.广藿香油成分分析及在卷烟中应用研究[J].安徽农业科学,2023,51(13):172-176.