

铁棒锤挥发油的提取及生物活性研究

马志晗

兰州交通大学生物与制药工程学院, 甘肃 兰州

收稿日期: 2025年4月12日; 录用日期: 2025年6月18日; 发布日期: 2025年6月30日

摘要

铁棒锤(*Aconitum pendulum* Busch), 系毛茛科(*Ranunculaceae*)乌头属(*Aconitum*)多年生草本植物, 有极高的药用价值, 常以块根入药, 具有祛风除湿、活血止痛的功效。本研究使用气-质联用(Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC/MS)技术, 从铁棒锤油状物组分中鉴定出27个化合物, 其中脂类化合物数量最多。为进一步探究铁棒锤中挥发油的应用范围, 对其进行了抑菌活性测定, 实验结果表明该物质以计量依赖的方式对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌有一定的抑制效果, 而对金黄色葡萄球菌无明显的抑制作用。

关键词

铁棒锤, 挥发油, 抑菌活性

Research on the Extraction and Biological Activity of Volatile Oil from *Aconitum pendulum* Busch

Zhihan Ma

College of Biological and Pharmaceutical Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou Gansu

Received: Apr. 12th, 2025; accepted: Jun. 18th, 2025; published: Jun. 30th, 2025

Abstract

Aconitum pendulum Busch, a perennial herb of the genus *Aconitum* in the family *Ranunculaceae*, has high medicinal value. Its tuberous roots are commonly used in traditional medicine for their effects in dispelling wind and dampness, promoting blood circulation, and relieving pain. In this study, Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS) was used to identify 27 compounds from *Aconitum*

pendulum Busch. To further explore the application scope of the volatile oil from *Aconitum pendulum*, its antibacterial activity was determined. The experimental results showed that this substance exhibited a dose-dependent inhibitory effect on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, while having no significant inhibitory effect on *Staphylococcus aureus*.

Keywords

Aconitum pendulum Busch, Volatile Oil, Antibacterial Activity

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

铁棒锤(*Aconitum pendulum* Busch)为毛茛科乌头属多年生草本植物,主产于我国青藏高原东缘及西南、西北高海拔山区,其植株形态特征鲜明,具有倒圆锥形块根,茎秆高度在 26~100 厘米之间且表面无毛,叶片呈宽卵形且两面均无毛被覆盖,7~9 月开黄色或蓝色花。中医认为,铁棒锤块根性温、味辛苦,有大毒,经规范炮制后可入药,具祛风除湿、活血止痛之效,常用于治疗跌打损伤、风湿痹痛、骨折及冻疮等[1][2]。现代药理研究表明,其药效物质基础主要为二萜生物碱及挥发油成分,具有抑菌、杀虫、抗炎、抗肿瘤等活性[3]。值得注意的是,生品因含高毒性乌头碱类成分[4]-[6],需经水煮 6~8 小时等炮制工艺降低毒性,临床应用需严格控制剂量并配伍甘草等减毒药材。

挥发油作为中药材的重要次生代谢产物,主要通过水蒸气蒸馏法、溶剂萃取法、微波提取法、超声波提取法、冷压榨法、酶解提取法等技术提取[7],其成分涵盖萜类、芳香族化合物及脂肪族衍生物等。研究显示,用微波法与超声波法提取出的铁棒锤挥发油化学成分差异较大,说明不同方法对某些成分有着不同的针对性[8]。同时,中药挥发油对大肠杆菌等革兰氏阴性菌具有显著抑制作用,而对多数革兰氏阳性菌及真菌抑制效果较弱[9],这种选择性抑菌活性为开发天然抗菌药物提供了实验依据。提取后的挥发油成分复杂,需借助现代分析技术进行分离鉴定。气-质谱联用仪(GC-MS)是解析挥发油成分的关键工具。该技术结合了气相色谱的高效分离能力与质谱的精准定性优势[10],通过程序升温使挥发性成分按沸点和极性差异依次分离,再经电子轰击离子源(EI)生成特征碎片离子,结合数据库匹配,可快速鉴定化合物结构。

随着中医药现代化进程加速,天然药用植物活性成分的研究备受关注。但目前对铁棒锤中挥发油的探索存在明显不足,其化学成分尚未得到系统解析,抗菌活性方面的研究也相对较少。基于此,本研究采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)等先进技术,剖析铁棒锤挥发油的化学组成,并通过体外抑菌实验,评估其对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制效果,期望挖掘该植物挥发油的潜在药用价值,为其在医药领域的合理开发与应用奠定理论基础。

2. 实验部分

2.1. 挥发油的提取与鉴定

2.1.1. 实验仪器与材料

本实验中所用到的主要仪器及生产厂家见表 1。

Table 1. Main experimental instruments**表 1.** 主要实验仪器

仪器名称	型号	生产厂家
真空干燥箱	DZF-6010	巩义市予华仪器有限责任公司
循环水式真空泵	XS105	海门市其林贝尔仪器
旋转蒸发器	N-1100	上海爱朗仪器有限公司
超声清洗器	KQ-250B	昆山市超声仪器有限公司
电子天平	XS105	瑞士梅特勒-托利多集
气质联用仪	7890B	安捷伦科技有限公司
超纯水机	Sartorius arium 611-UF	德国赛得利斯公司

本实验中所用到的试剂材料及生产厂家见表 2。

Table 2. Main experimental reagents**表 2.** 主要实验试剂

试剂/材料	纯度/型号	生产厂家
甲醇	分析纯	天津市大茂化学试剂有限公司
二氯甲烷	分析纯	天津市大茂化学试剂有限公司
柱层析硅胶	200~300 目	青岛海洋化工厂
大孔树脂	D101	西安蓝晓科技新材料股份有限公司

2.1.2. 挥发油的提取

将 10 kg 干燥的铁棒锤粉碎后经甲醇浸泡后减压浓缩, 调节 pH 值至 3, 用二氯甲烷萃取得到二氯甲烷提取物。经大孔树脂柱层析法, 甲醇 - 水体系作为洗脱剂进行脱色和粗分, 分别以 10%、30%、50%、80%、100% 的甲醇分为组分 A~E。取组分 E 经正相硅胶柱层析, 以二氯甲烷 - 甲醇(50:1~1:1)为洗脱剂, 得到油状物, 使用气质联用仪对其进行分析。

GC 条件: 采用程序升温模式, 色谱柱初始温度 60℃, 保持 2 min, 以 5℃/min 速率升温至 280℃, 保持 2 min; 汽化室温度设定为 250℃, 载气选用高纯氦气(即纯度 $\geq 99.999\%$), 恒压模式下柱前压力为 52.7 kPa, 平均流速 1.0 mL/min, 分流比 40:1, 进样量 1.0 μ L。

EI 条件: 采用电子轰击离子源(EI⁺), 离子源温度 230℃, 四极杆温度 150℃, 电子能量 70 eV, 发射电流 34.6 μ A, 倍增器电压 1388 V; 接口温度与柱终温同步(280℃), 溶剂延迟 5 min, 质量扫描范围 m/z 10~550 amu。

2.1.3. 挥发油成分的鉴定

如表 3 所示, 从铁棒锤油状物中鉴定得到 27 个化合物, 以脂类化合物为主, 其占比达 81.5%, 包括十六烷酸甲酯、亚油酸乙酯等脂肪酸衍生物。

2.2. 挥发油的抗菌活性研究

2.2.1. 实验仪器与材料

本实验中所用到的主要仪器及生产厂家见表 4。

Table 3. GC-MS determination results of oily substance in *Aconitum pendulum* Busch**表 3.** 铁棒锤油状物的 GC-MS 测定结果

序号	化学名称	保留时间	化学式
1	Octanoic acid, methyl ester	9.78	C ₉ H ₁₈ O ₂
2	Dodecane	11.9	C ₁₂ H ₂₆
3	Nonanoic acid, 9-oxo-methyl ester	18.86	C ₁₀ H ₁₈ O ₃
4	2,4-Di-tert-butylphenol	20.69	C ₁₄ H ₂₂ O
5	Methyl tetradecanoate	24.87	C ₁₅ H ₃₀ O ₂
6	14-Pentadecenoic acid	26.81	C ₁₅ H ₂₈ O ₂
7	Pentadecanoic acid, methyl ester	27.13	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
8	13-Methyltetradec-9-enoic acid methyl ester	27.35	C ₁₆ H ₃₀ O ₂
9	Methyl 16-hydroxyhexadecanoate	27.59	C ₁₇ H ₃₄ O ₃
10	Hexadecanoic acid, methyl ester	29.26	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
11	cis-10-Heptadecenoic acid methyl ester	31.64	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
12	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	32.77	C ₁₉ H ₃₄ O ₂
13	7-Methyl-Ztetradecen-1-ol acetate	33.5	C ₁₉ H ₃₄ O ₂
14	Methyl stearate	34.37	C ₁₉ H ₃₈ O ₂
15	Linoleic acid ethyl ester	34.84	C ₂₀ H ₃₆ O ₂
16	Cyclopropaneoctanoic acid, 2-octyl-, methyl ester	35.59	C ₂₀ H ₃₈ O ₂
17	Methyl 9.cis.,11.trans.t,13.trans.-octadecatrienoate	36.02	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
18	6,9,12-Octadecatrienoic acid, methyl ester	36.42	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
19	cis-11,14-Eicosadienoic acid, methyl ester	37.1	C ₂₁ H ₃₈ O ₂
20	Linoleic acid ethyl ester	37.37	C ₂₀ H ₃₆ O ₂
21	Methyl 2-[2-({2-[2-((2-pentylcyclopropyl)methyl)cyclopropylmethyl]cyclopropyl}methyl)ethyl]butanoate	37.49	C ₂₅ H ₄₂ O ₂
22	Eicosanoic acid, methyl ester	37.62	C ₂₁ H ₄₂ O ₂
23	Pyrano[4,3-b]benzopyran-1,9-dione,5a-methoxy-9a-methyl-3-(1-propenyl)perhydro	38.17	C ₁₇ H ₂₄ O ₅
24	Pentyl linoleate	39.07	C ₂₃ H ₄₂ O ₂
25	Campesteroln	39.99	C ₂₈ H ₄₈ O
26	(Z)-13-Docosenoic acid, methyl ester13	40.53	C ₂₃ H ₄₄ O ₂
27	Methyl 20-methyl heneicosanoate	40.96	C ₂₃ H ₄₆ O ₂

Table 4. Main experimental instruments**表 4.** 主要实验仪器

仪器名称	型号	生产厂家
超净工作台	SW-CJ-2D	苏州净化设备有限公司
立式压力蒸汽灭菌锅	BXM-30R	上海博讯实业有限公司医疗设备厂
恒温培养箱	SPX-250-GB	上海琅玕实验设备有限公司

续表

恒温摇床	TS 系列	上海习仁科学仪器有限公司
电子天平	XS105	瑞士梅特勒-托利多集
超声清洗器	KQ-250B	昆山市超声仪器有限公司
真空干燥箱	DZF-6010	巩义市予华仪器有限责任公司
循环水式真空泵	XS105	海门市其林贝尔仪器
旋转蒸发仪	N-1100	上海爱朗仪器有限公司

本实验中所用到的试剂材料及生产厂家见表 5。

Table 5. Main experimental reagents
表 5. 主要实验试剂

试剂	纯度	生产厂家
琼脂	生化试剂	上海广瑞生物科技有限公司
蛋白胨	生化试剂	天津市大茂化学试剂有限公司
酵母提取物	生化试剂	北京奥博星生物科技有限责任公司
氯化钠	分析纯	天津市大茂化学试剂有限公司
乙醇	分析纯	天津市大茂化学试剂有限公司

本实验所使用的病原菌菌株均由兰州交通大学天然药物研究所提供, 3 种供试菌株分别为: 大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)。

2.2.2. 实验操作

菌悬液的制备: 在超净台内进行无菌操作, 使用灭菌接种环从斜面培养基或甘油冻存管中挑取少量菌体, 于固体培养基平板表面进行四区划线接种。将平板倒置放入 37℃ 恒温培养箱, 培养 18~24 小时直至单菌落充分形成。用接种环挑取单菌落接种于 5~10 mL 液体培养基, 置于振荡培养箱中以 200 rpm 转速进行恒温培养 4~6 小时。待菌体进入对数生长期(OD_{600} 约为 0.6~0.8), 将培养液转移至灭菌离心管, 3000~5000 rpm 离心 5 分钟收集菌体。弃上清液后, 加入无菌生理盐水重悬沉淀, 通过梯度稀释法校准浓度, 最终制备成活菌密度为 $10^6 \sim 10^8$ CFU/mL 的菌悬液。

LA 培养基(1 L): 10 g 蛋白胨, 5 g 酵母提取物, 5 g 氯化钠, 16 g 琼脂, 混合加热溶解, 压力蒸汽灭菌锅 121℃、103.4 kPa, 灭菌 30 min。

在无菌操作台中, 将灭菌后的 LA 液体培养基冷却至 50℃, 取 25 mL 趁热倒入无菌培养皿(直径 90 mm), 静置 30 分钟待其完全凝固。取 100 μ L 菌悬液滴加于 LA 平板表面, 使用无菌涂布棒轻柔涂布均匀, 室温静置 5 分钟使菌液完全渗入培养基。随后, 使用 5 mm 打孔器获取滤纸片并高温灭菌, 用无菌镊子取灭菌后的滤纸片, 对称贴置于平板表面两侧。

将挥发油样品用无菌溶剂分别配制成 1 mg/mL、3 mg/mL、5 mg/mL 待测液, 取 10 μ L 滴加于一侧滤纸片中央; 另一侧滤纸片滴加 10 μ L 同体积纯溶剂作为空白对照, 用抑菌纸作为阳性对照。每个处理设置 3 组平行实验, 平板倒置放入 37℃ 恒温培养箱, 培养 24 小时后观察抑菌圈形成情况, 使用游标卡尺以十字交叉法测量抑菌圈的直径。

3. 讨论与结论

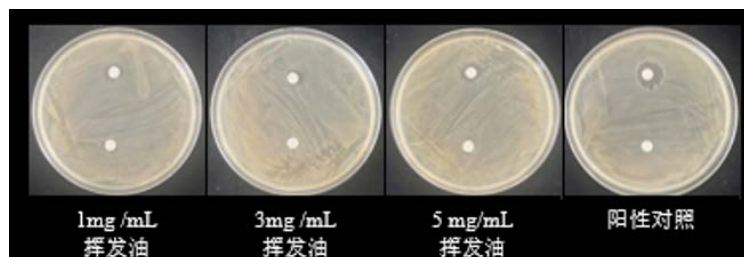


Figure 1. The inhibitory effect on *Escherichia coli*

图 1. 对大肠杆菌的抑制效果

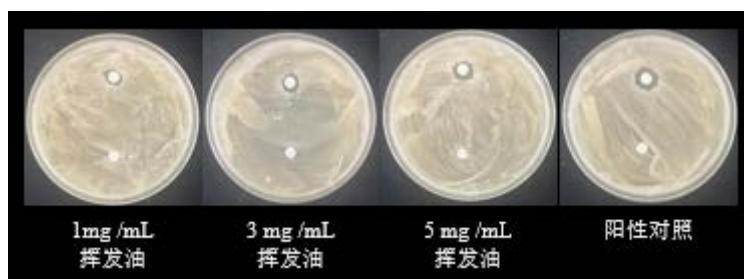


Figure 2. The inhibitory effect on *Bacillus subtilis*

图 2. 对枯草芽孢杆菌的抑制效果

Table 6. The inhibition results of 5 mg/mL *Aconitum pendulum* volatile oil against three kinds of bacteria

表 6. 5 mg/mL 铁棒锤挥发油对三种细菌的抑制结果

菌株	抑菌圈直径
大肠杆菌	8.06 ± 0.14
枯草芽孢杆菌	11.31 ± 0.71
金黄色葡萄球菌	-

中药挥发油是中药材中具挥发性的油状活性成分，也是中药药效物质的重要组成部分，其在传统方剂及现代制剂中应用广泛。本研究提取了铁棒锤块茎中挥发油成分，并进行气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析，鉴定出 27 个化合物，并对其展开体外抑菌活性实验，测试菌株包括：金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)。图 1 表明，铁棒锤挥发油对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的抑制作用呈剂量依赖性，1 mg/mL 时挥发油对大肠杆菌的抑制效果不明显(抑菌圈直径为 5.69 mm)，3 mg/mL 时抑菌圈直径为 6.25 mm，同样抑制效果较弱，直至浓度提高到 5 mg/mL 才显示出一定的抑制作用(抑菌圈直径为 8.06 mm)；图 2 表明，1 mg/mL 的挥发油对枯草芽孢杆菌已表现出明显的抑制作用(抑菌圈直径为 7.32 mm)，提高浓度至 3 mg/mL 后，抑制效果也有一定的增强(抑菌圈直径为 10.04 mm)，当浓度升至 5 mg/mL 时的抑制效果与阳性对照相差不大(抑菌圈直径为 11.31 mm)；而对金黄色葡萄球菌无抑制作用(如表 6 所示)。

本文研究了铁棒锤中挥发油部分的成分，从中鉴定出 27 种化合物，其中脂类化合物占 81.5%，并对挥发油进行了体外抑菌活性测定，证明该挥发油对枯草芽孢杆菌的抑制效果较为明显，对大肠杆菌有微弱的抑制作用，而对金黄色葡萄球菌无抑制作用。以上结论说明铁棒锤油状物在抗菌领域有着潜在的应

用价值, 并为后续进行开发相关应用提供一定依据。

参考文献

- [1] 陕西省革命委员会卫生局商业局. 陕西中草药[M]. 北京: 科学出版社, 1971.
- [2] 杨竞生, 初称江搓. 迪庆藏药[M]. 昆明: 云南民族出版社, 1989.
- [3] 符华林. 我国乌头属药用植物的研究概况[J]. 中药材, 2004(2): 149-152.
- [4] Sun, J., Sun, Q., Li, X., Li, W., Li, Y., Zhou, Y., *et al.* (2024) Species Identification and Genetic Diversity Analysis of Medicinal Plants *Aconitum pendulum* Busch and *Aconitum flavum* Hand.-Mazz. *Plants*, **13**, Article 885. <https://doi.org/10.3390/plants13060885>
- [5] Wang, B., Dong, J., Ji, J., Yuan, J., Wang, J., Wu, J., *et al.* (2016) Study on the Alkaloids in Tibetan Medicine *Aconitum pendulum* Busch by HPLC-MS n Combined with Column Chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, **54**, 752-758. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmw002>
- [6] Yu, L., Li, S., Pu, L., Yang, C., Shi, Q., Zhao, Q., *et al.* (2022) Traditional Tibetan Medicine: Therapeutic Potential in Rheumatoid Arthritis. *Frontiers in Pharmacology*, **13**, Article 938915. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.938915>
- [7] 廖晓凤, 王一飞. 艾叶挥发油的质量控制和提取工艺研究进展[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2024, 45(6): 631-640.
- [8] 杨长花, 李华, 王西芳. 微波法与超声波法比较研究铁棒锤的挥发油[J]. 西北药学杂志, 2017, 32(2): 142-146.
- [9] 王梓渝, 陈佳, 徐彦熙, 等. 4 种中药提取物对稻瘟病菌的抑菌活性和田间防效[J]. 农药, 2024, 63(11): 843-848.
- [10] 陶静雨, 闫玉鑫. GC-MS 技术的应用研究进展[J]. 云南化工, 2022, 49(3): 1-3.