

响应曲面法优化毛果鱼藤总生物碱的 提取工艺及其抑菌活性

杨立芳¹, 刘洪存¹, 支媛¹, 郭洋洋¹, 闫文超³, 姜明国^{2*}, 谭学才¹, 石灵芳²

(1. 广西民族大学 化学化工学院, 广西高校微生物与植物资源利用重点实验室, 广西高校食品安全与药物分析化学重点实验室, 南宁 530006; 2. 广西民族大学 海洋与生物技术学院, 南宁 530006; 3. 中国药科大学 药学院, 南京 210009)

[摘要] 目的:利用响应曲面分析法优化毛果鱼藤总生物碱的提取工艺,并检测其抑菌活性。方法:以毛果鱼藤为原料,采用微波提取法,设计单因素实验,分别考察了料液比、乙醇体积分数、提取时间、微波提取功率、提取次数5个单因素对毛果鱼藤总生物碱提取效果的影响;采用响应曲面法优化毛果鱼藤总生物碱的提取工艺,提高总生物碱的提取效率,并考察总生物碱的体外抑菌作用。结果:毛果鱼藤总生物碱的最佳提取工艺条件为微波功率400 W,提取温度为70℃,料液比为1:23,乙醇体积分数为70%,提取时间为23 min,在此条件下,以盐酸小檗碱计,总生物碱提取率为0.107 7 mg·g⁻¹;抑菌实验表明,毛果鱼藤总生物碱对金黄色葡萄球菌有一定的抑菌作用。结论:微波法提取生物碱工艺方法科学、稳定,且生物碱具有良好的抑菌作用。

[关键词] 毛果鱼藤; 总生物碱; 抑菌活性; 响应曲面

[中图分类号] R282.2;R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)23-0028-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016230028

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160920.0921.028.html>

[网络出版时间] 2016-09-20 9:21

Optimization of Extraction Process and Antibacterial Activity of Total Alkaloids from *Derris eriocarpa* Based on Response Surface Method

YANG Li-fang¹, LIU Hong-cun¹, ZHI Yuan¹, GUO Yang-yang¹, YAN Wen-chao³,
JIANG Ming-guo^{2*}, TAN Xue-cai¹, SHI Ling-fang²

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Colleges and Universities Key Laboratory of Utilization of Microbial and Botanical Resources, Key Laboratory of Guangxi Colleges and Universities for Food Safety and Pharmaceutical Analytical Chemistry, Guangxi University for Nationalities, Nanning 530006, China; 2. School of Marine Sciences and Biotechnology, Guangxi University for Nationalities, Nanning 530006, China; 3. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extraction conditions of total alkaloids from *Derris eriocarpa* by response surface method, and detect their antibacterial activity. **Method:** Microwave extraction was used for one-single factor experiment of *D. eriocarpa* to investigate the effects of solid-liquid ratio, ethanol volume fraction, extraction time, microwave power, and number of extraction times on the extraction of total alkaloids from *D. eriocarpa*. Response surface method (RSM) was employed to optimize the extraction process, improve the

[收稿日期] 20151105(019)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81560713);广西教育厅科学研究项目(YB2014101)

[第一作者] 杨立芳,博士,教授,从事天然产物化学成分及活性研究,Tel:0771-3267019,E-mail: yanglf1990@163.com

[通讯作者] *姜明国,博士,教授,从事生物技术与生物活性评价,Tel:0771-3260111,E-mail: mzxyjiang@163.com

extraction efficiency of total alkaloids, and investigate the *in vitro* antibacterial effect of total alkaloids. **Result:** The optimal extraction parameters were as follows: microwave extraction power of 400 W, extraction temperature of 70 °C, solid-liquid ratio of 1:23, extraction time of 23 min and ethanol volume fraction of 70%. The experiment extraction yield of the total alkaloids was 0.107 7 mg·g⁻¹ under these optimal conditions measured by berberine hydrochloride. The antibacterial activity data suggested that the total alkaloids had a certain inhibitory effect on the *Staphylococcus aureus*. **Conclusion:** The microwave extraction method for total alkaloids from *D. eriocarpa* was efficient and stable, and the total alkaloids showed good antibacterial effect.

[**Key words**] *Derris eriocarpa*; total alkaloids; antibacterial activity; response surface method

生物碱,又名植物碱,是广泛存在于自然界中的一类重要的天然有机化合物,也是中草药中重要的有效成分之一,具有抗肿瘤^[1]、抗炎^[2]、抗微生物^[3]、抗阿米巴原虫^[4]、杀菌^[5]等生物活性,目前用于临床的生物碱药品已达 80 多种。随着对天然药物化学和分子生物学研究的不断深入,越来越多的具有抑菌和杀菌活性的生物碱类化合物被发现,尤其是以传统中药或民间、民族药用植物中发现新的抗菌活性的生物碱是重点选择的研究对象。目前抗生素被广泛使用,耐药细菌增多,从多样性的天然植物中提取具有抗菌活性的生物碱,对研发抗菌新药尤其是抗耐药菌新药具有深远的意义。

毛果鱼藤主要分布在广西、云南等地区,具有镇咳化痰^[6]、利尿除湿的功效,在广西民间常被用于治疗膀胱炎、肾炎、尿道炎、咳嗽等,并显示显著疗效,因而具有较高的药用价值和开发价值,也因此引起了越来越多研究人员的关注。近几年,对毛果鱼藤化学成分、生物活性的研究也取得了一些新进展,课题组^[7]以及 Zhang 等^[8]先后从该植物中分离出了 20 多个化合物,包括 1 个新白藜芦醇类衍生物,3 个新异黄酮类化合物,1 个首次从天然产物中分离到的二苯乙烯类化合物,这些结果显现了该药材富含新化合物的潜质及具深入研究的价值。另外研究还发现该药材含有香豆素类,二苯乙烯类、生物碱类、萜类等衍生物。对毛果鱼藤提取工艺^[9-10]、药理、毒理学等方面的研究^[6, 11-12]均处于起始阶段,但初步的活性研究结果已显示其具有较好的抗菌、抗氧化活性,这更凸显了其具有进一步研究的价值。课题组从毛果鱼藤不同极性部位的预实验中还发现毛果鱼藤尚含有丰富的生物碱类成分。迄今为止,对毛果鱼藤生物碱的研究尚未见有报道,对毛果鱼藤生物碱类化合物提取工艺及抑菌活性的研究也未见报道,研究毛果鱼藤生物碱成分将有利于进一步充分利用毛果鱼藤资源。本实验拟采用单因素实验结合响应曲面法优化毛果鱼藤总生物碱提取工艺,并考察总生物碱对

不同菌种的抑菌效果。上述研究将为毛果鱼藤成分研究及深度开发利用提供理论依据。

1 材料

SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司),LD5-2A 型低速离心机(北京京立离心机有限公司),XH-100A 型微波催化合成/萃取仪(北京祥鹤科技发展有限公司),DZF-6050 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),ZHJH-1109B 型超净工作台(上海智城分析仪器制造有限公司),HHB11 型电热恒温培养箱(天津市实验仪器厂)。

盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110713-200208),盐酸左氧氟沙星(山东鲁抗医药,批号 130701),所有试剂均为分析纯;金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),变形杆菌(*Proteus bacillus vulgaris*),大肠埃希菌(*Escherichia coli*),肺炎克雷伯杆菌(*Klebsiella pneumonia*),铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),均由广西民族大学海洋与生物技术实验室提供,批号分别为 CMCC26003, CMCC49027, CMCC44102, CMCC46117, CMCC10104;毛果鱼藤藤茎采自广西靖西,经广西中医药大学田慧教授鉴定为毛果鱼藤 *Derris eriocarpa* 的藤茎,标本存放于广西民族大学药物资源与天然药物化学实验室。

2 方法^[1, 13-14]

2.1 标准曲线的绘制^[15] 精密称取盐酸小檗碱对照品 7.90 mg,用甲醇溶解,定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,即得质量浓度为 0.79 g·L⁻¹的盐酸小檗碱对照品溶液。利用紫外分光光度计,在 200~800 nm,对稀释后的盐酸小檗碱对照品溶液进行扫描,确定最大吸收波长为 350 nm。

分别精密吸取盐酸小檗碱对照品溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mL,稀释到 10 mL,摇匀。以甲醇作为空白溶液,在 350 nm 处测定其吸光度 *A*,平行测定 3 次,取平均值,得回归方程 $Y = 0.134 1X - 0.006 4 (R^2 = 0.999 1)$ 。

2.2 单因素提取试验^[16-17] 精密称取经粉碎后的毛果鱼藤粉末 5.0 g,用乙醇溶液做提取剂,用微波法进行提取^[18-19]。确定提取温度为 70 ℃,提取时间为 20 min,超声功率为 400 W,料液比为 1:20,提取次数为 1 次,分别考察体积分数为 45% 乙醇,55% 乙醇,65% 乙醇,75% 乙醇,85% 乙醇对提取效率的影响。其他组单因素试验条件设置参照表 1。

表 1 毛果鱼藤总生物碱单因素设计

Table 1 Single-factor design of extraction conditions of total alkaloids from *Derris eriocarpa*

单因素条件	固定因素条件
料液比 (1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30)	乙醇体积分数 65%, 提取时间 20 min, 微波功率 400 W, 提取次数 1 次
提取时间 (10, 5, 20, 25, 30 min)	乙醇体积分数 65%, 料液比 1:20, 微波功率 400 W, 提取次数 1 次
微波功率 (200, 300, 400, 500, 600 W)	乙醇体积分数 65%, 料液比 1:20, 提取时间为 20 min, 提取次数 1 次
提取次数 (1, 2, 3 次)	乙醇体积分数 65%, 料液比 1:20, 提取时间为 20 min, 微波功率为 400 W
乙醇体积分数 (45%, 55%, 65%, 75%, 85%)	提取时间 20 min, 料液比 1:20, 超声功率 400 W, 提取次数 1 次

提取结束后,将提取液 3 000 r·min⁻¹ 离心 20 min 滤过,滤液置于旋转蒸发仪上浓缩,所得浸膏用 HCl 溶液 (0.1% ~ 1%) 50 mL 溶解,3 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,滤过,用氨水调节滤液 pH 10,然后置于旋转蒸发仪上浓缩,用少量水溶解浸膏,三氯甲烷萃取,将三氯甲烷层溶液浓缩,即得总生物碱。用甲醇溶解总生物碱,并定容至 25 mL 量瓶中,在波长 350 nm 处用紫外分光光度计进行检测分析。

通过对乙醇体积分数 (45%, 55%, 65%, 75%, 85%), 料液比 (1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30), 提取时间 (10, 5, 20, 25, 30 min), 微波功率 (200, 300, 400, 500, 600 W), 提取次数 (1, 2, 3 次) 5 个因素,考察对提取率的影响。

2.3 响应曲面试验设计^[17, 20] 为了分析各因素间的交互作用对总生物碱提取率的影响,在单因素试验的基础上,根据 Box-Behnken 中心组合试验设计原理^[18],运用 Design Expert V8.0.6 软件设计响应面试验,分别选取了提取时间、料液比、乙醇体积分数进行三因素三水平 (表 2) 的响应曲面设计,优化总生物碱的提取工艺。

2.4 总生物碱抑菌实验^[21] 取直径为 6 mm 的纸片进行高压灭菌,烘干纸片,在无菌的条件下,将灭菌后的纸片放入质量浓度为 0.865 5 g·L⁻¹ 总生物

表 2 响应曲面分析因素和水平

Table 2 Factors and levels of response surface analysis

水平	提取时间 (A) /min	体积分数 (B) /%	料液比 (C) /g·mL ⁻¹
-1	15	50	1:15
0	20	65	1:20
1	25	80	1:25

碱溶液中浸泡;用涂布法将各供试菌液涂布接种在培养基上,将浸泡在生物碱溶液中的纸片放到培养基上,盐酸左氧氟沙星溶液 0.04 g·L⁻¹ 浸泡过的滤纸片作为阳性组 (+),甲醇溶液浸泡过的滤纸片作为阴性组 (-);将培养皿置于 37 ℃ 的培养箱中培养 24 h,测量并记录抑菌圈直径 (Φ),每组实验重复 3 次。抑菌效果的判断标准:Φ > 6 mm,表明有抑菌作用;Φ ≤ 6 mm,为无抑菌作用,即无效 (-);10 mm > Φ > 6 mm 为低度敏感 (+);15 mm > Φ > 10 mm 为中度敏感 (++) ;Φ > 15 mm 为高度敏感 (+++)。

2.5 数据分析 实验所有数据均取自 3 次重复检测结果的平均值,单因素实验数据用 Origin 软件绘制趋势曲线^[22],采用 SPSS 17.0 软件对单因素实验数据进行方差分析。采用 Design Expert V8.0.6 进行响应曲面实验设计与分析。

3 结果与分析

3.1 单因素结果分析

3.1.1 乙醇体积分数对生物碱提取率的影响 随着乙醇体积分数的增加,总生物碱提取率先增加后减少,当乙醇体积分数为 65% 时,提取率最高,表明 65% 的乙醇提取效果最佳。其方差分析结果见图 1,表 3。

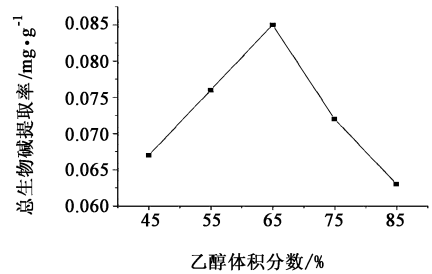


图 1 乙醇体积分数对总生物碱提取率的影响

Fig. 1 Effect of ethanol volume fraction on extraction yield of total alkaloids

3.1.2 料液比对生物碱提取率的影响 随着料液比增加,总生物碱提取率增加,当料液比达到 1:20 时达到最高点,继续增大料液比,提取率变化不明显,从减少试剂用量和保证提取效率等方面考虑,认定 1:20 为最优的料液比。其方差分析结果见图 2,表 4。

表 3 乙醇体积分数对提取率影响的方差分析

Table 3 Variance analysis of effect of ethanol volume fraction on extraction yield

差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
组间	0.001 901	4	0.000 475	154.978 3	5.97×10^{-9}	3.478 05
组内	3.07×10^{-5}	10	3.07×10^{-6}			
总计	0.001 932	14				

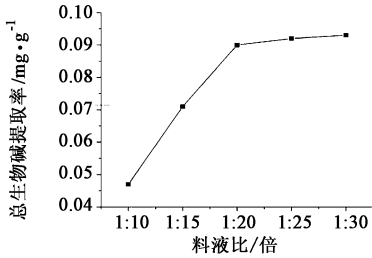


图 2 料液比对总生物碱提取率的影响

Fig. 2 Effect of solid-liquid ratio on extraction yield of total alkaloids

3.1.3 提取时间对生物碱提取率的影响 随着提取时间的延长,总生物碱提取量逐渐增加,当提取时

间达 20, 25 min 时提取率变化不显著,从节约能源等因素考虑,选择 20 min 为最佳提取时间。其方差分析结果见图 3, 表 5。

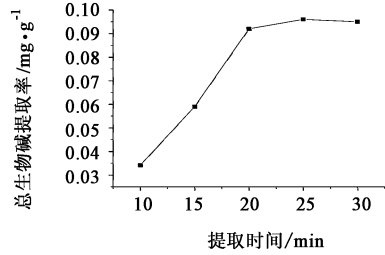


图 3 提取时间对总生物碱提取率的影响

Fig. 3 Effect of extraction time on extraction yield of total alkaloids

表 4 料液比对提取率影响的方差分析

Table 4 Variance analysis of effect of solid-liquid ratio on extraction yield

差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
组间	0.010 705	4	0.002 676	836.322 9	1.41×10^{-12}	3.478 05
组内	0.000 032	10	3.2×10^{-6}			
总计	0.010 737	14				

表 5 提取时间对提取率影响的方差分析

Table 5 Variance analysis of effect of extraction time on extraction yield

差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
组间	0.020 233	4	0.005 058	1 285.975	1.65×10^{-13}	3.478 05
组内	3.93×10^{-5}	10	3.93×10^{-6}			
总计	0.020 272	14				

3.1.4 微波功率对生物碱提取率的影响 随着提取功率的增大,总生物碱提取率先升高后下降,在 400 W 处出现小高峰,此后随着功率继续增大,提取率呈下降趋势,故选择 400 W 为最佳提取功率。其方差分析结果见图 4, 表 6。

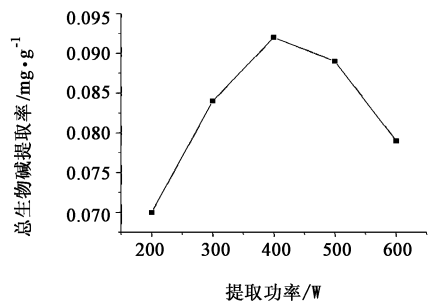


图 4 提取功率对总生物碱提取率的影响

Fig. 4 Effect of extraction power on extraction yield of total alkaloids

3.1.5 提取次数对生物碱提取率的影响 随着提取次数的增加,总生物碱提取率逐渐增大,提取次数为 3 次时,总生物碱提取率的增加趋势不明显,说明提取次数为 2 次时,总生物碱已基本提取完全,故提取次数选为 2 次为佳。其方差分析结果见图 5, 表 7。

表 6 提取功率对提取率影响的方差分析

Table 6 Variance analysis of effect of extraction power on extraction yield

差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
组间	0.0019 81	4	0.000 495	742. 85	2.54×10^{-12}	3. 478 05
组内	6.67×10^{-6}	10	6.67×10^{-7}			
总计	0.001 988	14				

表 7 提取次数对提取率影响的方差分析

Table 7 Variance analysis of effect of number of extraction times on extraction yield

差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
组间	0.002 134	2	0.001 067	320.033 3	8.01×10^{-7}	5. 143 253
组内	0.000 02	6	3.33×10^{-6}			
总计	0.002 154	8				

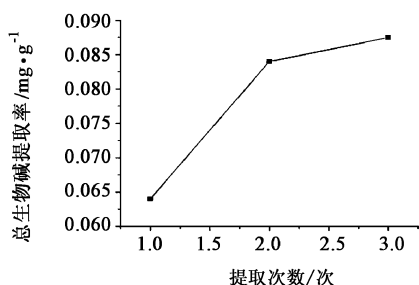


图 5 提取次数对总生物碱提取率的影响

Fig. 5 Effect of number of extraction times on extraction yield of total alkaloids

3.2 响应面试验结果

3.2.1 回归模型的建立 根据响应面法的设计原理,三因素三水平试验设计得到 17 组试验结果,见表 8。

运用 Design-Expert 软件对上述 17 组响应曲面实验进行数据分析处理,得到提取率与各个因素之间的关系方程,编码因子的回归方程如下。

$$Y = 0.097 + 5.625 \times 10^{-3}A + 9.625 \times 10^{-3}B + 0.013C - 5.000 \times 10^{-3}AB + 2.500 \times 10^{-4}AC - 0.011BC + 5.500 \times 10^{-4}A^2 - 0.023B^2 - 8.200 \times 10^{-3}C^2$$

式中 A 为提取时间, B 为乙醇体积分数, C 为料液比。

回归方程中各项系数的绝对值代表相应因素对总生物碱提取率的影响程度,各项系数的正负分别代表正影响和负影响。拟合模型的修正相关系数平方 $R^2 = 0.929 41$ 。

3.2.2 响应曲面二次模型的方差分析 整体模型达到显著水平 ($P < 0.05$),表明该二次方程模型比较显著,该模型具有统计学意义;失拟项在 $\alpha = 0.1$ 水平不显著 ($P = 0.063 5$),说明拟合程度较好。由模型的方差分析结果,可以看出 C, B^2 对总生物碱提取率影响极显著 ($P < 0.01$), B, BC 对总生物碱提

表 8 总生物碱提取响应曲面分析与结果

Table 8 Experimental design and results for response surface analysis

No.	提取时间 /min	体积分数 /%	料液比 /g·mL ⁻¹	总生物碱量 /mg·g ⁻¹
1	20	80	1:25	0.087
2	15	50	1:20	0.058
3	25	50	1:20	0.08
4	20	65	1:20	0.094
5	20	50	1:25	0.082
6	20	80	1:15	0.072
7	15	80	1:20	0.079
8	20	65	1:20	0.097
9	25	65	1:25	0.103
10	20	65	1:20	0.098
11	15	65	1:15	0.077
12	20	65	1:20	0.093
13	25	80	1:20	0.081
14	15	65	1:25	0.092
15	20	65	1:20	0.105
16	25	65	1:15	0.087
17	20	50	1:15	0.022

取影响显著 ($P < 0.05$)。由 F 值的大小可以推断,三个因素对毛果鱼藤总生物碱提取率的影响程度由大到小顺序为 $C > B > A$ 。见表 9。

3.2.3 响应曲面分析 响应曲面图中的响应值与各影响因素所构成的三维空间的曲面图及其在二维平面上的等高线图,能够直观地反映出各因素及各因素间的交互作用对总生物碱提取率的影响。图 6 结果显示了料液比和提取时间对毛果鱼藤中总生物碱提取率的交互影响。提取时间在 20 min 左右、料液比在 1:20 ~ 1:25 时,总生物碱提取量达最大值。

在乙醇的体积分数不变的前提下,在料液比

表 9 回归模型的方差分析

Table 9 Variance analysis for regression model

方差来源	平方和	<i>f</i>	均方	<i>F</i>	<i>P</i> (<i>F</i> > <i>F</i> _α)
Model	5.703 × 10 ⁻³	9	6.336 × 10 ⁻⁴	9.47	0.003 6
<i>A</i>	2.531 × 10 ⁻⁴	1	2.531 × 10 ⁻⁴	3.78	0.092 9
<i>B</i>	7.411 × 10 ⁻⁴	1	7.411 × 10 ⁻⁴	11.07	0.012 6
<i>C</i>	1.405 × 10 ⁻³	1	1.405 × 10 ⁻³	20.99	0.002 5
<i>AB</i>	1.000 × 10 ⁻⁴	1	1.000 × 10 ⁻⁴	1.49	0.261 1
<i>AC</i>	2.500 × 10 ⁻⁷	1	2.500 × 10 ⁻⁷	3.736 × 10 ⁻³	0.953 0
<i>BC</i>	5.062 × 10 ⁻⁴	1	5.062 × 10 ⁻⁴	7.56	0.028 5
<i>A</i> ²	1.274 × 10 ⁻⁶	1	1.274 × 10 ⁻⁶	0.019	0.894 2
<i>B</i> ²	2.315 × 10 ⁻³	1	2.315 × 10 ⁻³	34.6	0.000 6
<i>C</i> ²	2.831 × 10 ⁻⁴	1	2.831 × 10 ⁻⁴	4.23	0.078 7
残差	4.684 × 10 ⁻⁴	7	6.682 × 10 ⁻⁵		
失拟性	3.792 × 10 ⁻⁴	3	1.264 × 10 ⁻⁴	5.67	0.063 5
纯误差	8.920 × 10 ⁻⁵	4	2.230 × 10 ⁻⁵		
总差	6.171 × 10 ⁻³	16			

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

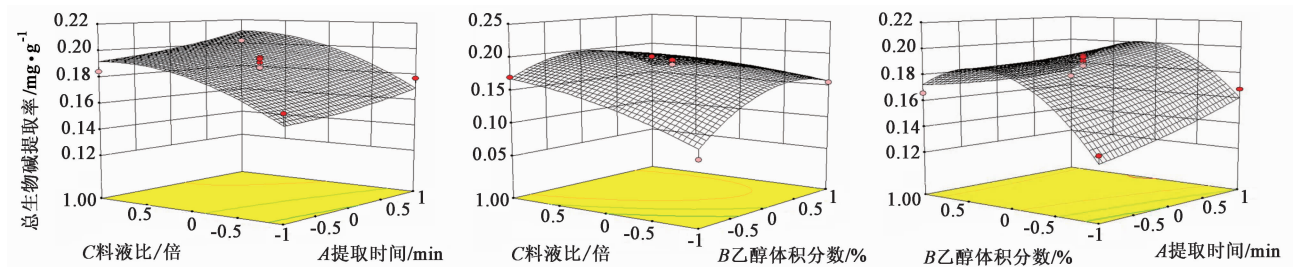


图 6 料液比、提取时间和乙醇体积分数的交互作用对总生物碱提取率影响

Fig. 6 Effects of solid-liquid ratio, extraction time and ethanol volume fraction on extraction yield of total alkaloids

1:20 ~ 1:25, 出现峰值, 表示在此范围内提取率有最大值, 由响应曲面图可以看出料液比与乙醇体积分数的交互作用对总生物碱提取率的影响比较显著。

在乙醇体积分数不变的情况下, 在提取时间为 20 min 左右出现峰值。在此条件下, 总生物碱提取率达最大值。

3.2.4 响应面试验结果的验证 利用 Design-Expert 软件结合 Box-Behnken 设计法设计响应曲面实验, 建立了数学模型, 得到最优提取工艺参数, 即提取时间为 23.27 min, 乙醇体积分数为 69.86%, 料液比为 1:22.99, 毛果鱼藤中总生物碱, 以盐酸小檗碱计, 提取量为 0.113 8 mg·g⁻¹。为了便于实际操作, 选择提取时间为 23 min, 料液比 1:23, 乙醇体积分数为 70%, 提取功率为 400 W, 在此条件下进行实验验证, 得到总生物碱平均提取量, 以盐酸小檗碱计, 为 (0.107 7 ± 0.004 5) mg·g⁻¹, 与理论提取量接近, 说明该模型较可靠。

3.3 抑菌试验结果 如图 7 所示, 总生物碱提取物质量浓度为 0.865 5 g·L⁻¹ 时, 对金黄色葡萄球菌有一定的抑菌作用 [抑菌圈为 (1.10 ± 0.12) cm], 属于高度敏感, 但对大肠埃希菌、变形杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯杆菌几乎没有抑制作用, 显示了毛果鱼藤总生物碱提取物具有选择性抑菌作用。

4 结论

本研究以毛果鱼藤中总生物碱提取率为指标, 通过单因素实验, 考察了料液比、提取时间、乙醇体积分数、提取功率和提取次数对毛果鱼藤总生物碱提取率的影响。在此基础上, 利用 Design-Expert 软件结合 Box-Behnken 设计法设计响应曲面试验, 建立了数学模型, 得到最佳提取工艺参数: 提取时间为 23 min, 料液比为 1:23, 乙醇体积分数为 70%, 以盐酸小檗碱计, 总生物碱提取率为 0.107 7 mg·g⁻¹。此外, 通过对毛果鱼藤总生物碱提取物进行体外抑菌作用的研究表明, 质量浓度为 0.865 5 g·L⁻¹ 毛果

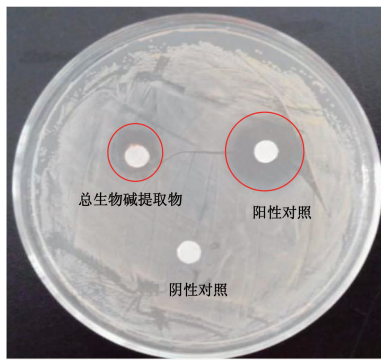


图7 总生物碱提取物抑制金黄色葡萄球菌作用

Fig.7 Inhibitory effect of total alkaloids on staphylococcus aureus

鱼藤总生物碱提取物可选择性抑制金黄色葡萄球菌的生长,对变形杆菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯杆菌、铜绿假单胞菌均没有抑制作用。毛果鱼藤总生物碱抑制金黄色葡萄球菌生长的具体化学成分及抑菌作用机制还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 程磊,周秀佳. 植物生物碱抗肿瘤机制[J]. 中草药, 2004,35(2): 216-221.

[2] 钱利武,戴五好,周国勤,等. 苦参及山豆根主要生物碱镇痛抗炎作用研究[J]. 中成药, 2012, 34(8): 1593-1596.

[3] Nurgun E, Semiha O, Fatma T. Alkaloid profile and antimicrobial activity of *Lupinus angustifolius* L. alkaloid extract[J]. *Phytochem Rev*, 2007,6(1): 197-201.

[4] Chatterjee D K, Iyer N, Ganguli B N. Antiamoebic activity of chonemorphone, a steroidal alkaloid, in experimental models[J]. *Parasitol Res*, 1987, 74(1): 30-33.

[5] Song H J, Liu Y X, Liu Y X, et al. Synthesis and antiviral and fungicidal activity evaluation of β -carboline, dihydro- β -carboline, tetrahydro- β -carboline alkaloids, and their derivatives [J]. *J Agric Food Chem*, 2014,62(5): 1010-1018.

[6] 陈少锋,余胜民,黄琳芸,等. 土甘草止咳祛痰作用研究[J]. 时珍国医国药, 2009,20(11): 2691-2692.

[7] Yang L F, Wang K, Jiang M G, et al. Isolation and characterization of a new bioactive isoflavone from *Derris eriocarpa*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2015, 17(10): 1-8.

[8] Zhang H X, Lunga P K, Li Z J, et al. Flavonoids and

stilbenoids from *Derris eriocarpa*[J]. *Fitoterapia*, 2014, 95(2):147-153.

[9] 杨立芳,刘洪存,姜明国,等. 响应曲面法优选毛果鱼藤中香豆素类成分提取工艺的研究[J]. 药物分析杂志, 2015,35(3): 506-511.

[10] 杨立芳,刘洪存,许海棠,等. 毛果鱼藤黄酮类化合物提取工艺及抑菌作用的研究[J]. 中成药, 2014,36(11): 2413-2417.

[11] 杨东爱,郭力城,余胜民,等. 土甘草抗炎镇痛作用研究[J]. 中国民族医药杂志, 2009,15(11): 54-55.

[12] 杨东爱,余胜民,黄琳芸,等. 壮药土甘草水提物及醇提物毒理学研究[J]. 时珍国医国药, 2009,20(7): 1586-1587.

[13] 李纯毅,李赞忠,李发旺. 生物碱的提取分离方法研究进展[J]. 内蒙古石油化工, 2007(12): 162-165.

[14] 曹珍珍,周林燕,毕金峰,等. 辣椒精中辣椒碱类化合物的纯化方法[J]. 食品工业科技, 2015, 36(6): 147-152.

[15] 高丹丹,郭鹏辉,祁高展,等. 响应面法优化薄荷全草总黄酮的提取工艺[J]. 食品工业科技, 2015,36(2): 299-303.

[16] 郭婕,刘中华,袁淑培,等. 黑豆中大豆异黄酮微波提取工艺的优化[J]. 食品工业科技, 2015,36(5): 255-257.

[17] 许远,魏和平,吴彦,等. 响应面优化襄荷总黄酮提取及抗氧化研究[J]. 食品工业科技, 2015,36(5): 233-239.

[18] 葛飞,石贝杰,龚倩,等. 响应面法优化草菇液态发酵菌丝体中总三萜的微波提取工艺[J]. 食品工业科技, 2015,36(3): 270-274.

[19] 王恒超,严静,陈锦屏,等. 微波辅助法提取柿子黄酮及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2012,33(18): 232-235.

[20] 蒋德旗,黄利敏,王艳,等. 响应面优化纤维素酶法提取桂花多糖工艺及其抗氧活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2):271-275.

[21] 孙婕,尹国友,吴郭杰,等. 非莱籽蛋白抑菌作用研究[J]. 中国食品添加剂, 2015(3): 77-83.

[22] 吴燕,盛尊来,高凌飞,等. 响应面法优化丁香叶总酚酸提取工艺[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 286-290.

[责任编辑 邹晓翠]