文章编号:1001-6880(2018)1-0127-07

油茶籽粕中茶皂素的优化提取及抑菌活性的研究

鲍妮娜*,丁富成,胡巧缘

宿州学院生物与食品工程学院,宿州 234000

摘　要:以油茶籽粕为原料,采取超声波辅助乙醇提取法,考察了料液比、浸提时间、超声时间、乙醇体积分数对茶皂素得率的影响,并用响应面优化实验设计得出最优提取条件,优化条件为:料液比 1∶7(m/V)、浸提时间 93 min、超声时间 36 min、乙醇体积分数 55%,在该条件下茶皂素得率为 14.708%。依照此优化方案进行验证实验,结果显示模型可靠性较高,可以较好的预测实际情况。同时茶皂素抑菌效果表明茶皂素对金黄色葡萄球菌有较好的抑菌效果,而对大肠杆菌没有抑菌效果。

关键词:茶皂素;超声波辅助乙醇提取法;响应面优化;抑菌性

中图分类号:TQ423.2　　**文献标识码**:A　　DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.1.022

Extraction and Bacteriostasis Effect of Tea Saponin in Oil-tea Camellia Seed Cake

BAO Ni-na*, DING Fu-cheng, HU Qiao-yuan

College of Biological and Food Engineering, Suzhou University, Suzhou 234000, China

Abstract: Using camellia seed cake as raw material, the effect of solid to liquid ratio, extraction time, ultrasonic time and volume fraction of ethanol on the yield of tea saponin was studied by using ultrasonic assisted ethanol extraction method. The optimal extraction was carried out using the response surface optimization experiment. The optimal conditions were as follows: solid to liquid ratio was 1∶7 (m/V), extraction time 93 min, ultrasonic time 36 min, volume fraction of ethanol 55%, and the yield of tea saponin was 14.708% under these conditions. According to this optimization scheme, the testing results showed that the model had high reliability and can predict the actual situation. Meanwhile, the results of bacteriostatic effect showed that tea saponin had better bacteriostasis effect on *Staphylococcus aureus*, but had no bacteriostasis effect on *Escherichia coli*.

Key words: tea saponin; ultrasonic assisted ethanol extraction method; response surface optimization experiment; bacteriostatic effect

我国每年产生的油茶籽在一百万吨左右,剩余残留的油茶籽粕产量为七十万吨/年[1],且呈增长的趋势[2],榨完油后的茶籽饼大部分都被废弃,甚至当做垃圾烧掉,得不到很好的利用。茶皂素是一种五环三萜类皂苷,其基本结构由皂苷元、糖体、有机酸构成[3],同时也是一类良好的表面活性剂,其起泡和去污效果强[4],同时还具备抗菌消炎[5]、抗高血压、抗渗透和抑制酒精吸收等生物活性[6,7]。我国对茶皂素的研究直到 20 世纪 80 年代才有较大的突破[8],茶皂素提取工艺研究报道较多,包括水提法、醇提法以及超声波/微波辅助提取法。提取工艺中很多利用正交法优化。而利用超声波辅助乙醇溶液提取的方法并利用响应面优化提取的方法进行研究相对较少,尤其是一般均设计三因素三水平的优化实验,罕见有设计四因素三水平的优化实验。本文采用超声波辅助乙醇溶液的方法并设计了四因素三水平的响应面优化实验提取茶籽粕中的茶皂素,相较于其他的优化提取工艺的实验次数多[9],因素水平多[10],结果更精确,同时考察了茶皂素的抑菌活性,为后续研究奠定了一定的理论基础。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

1.1.1　实验材料与试剂

浓硫酸、石油醚、丙酮,香草醛、无水乙醇,均为

收稿日期:2017-08-24　　接受日期:2017-10-30

基金项目:宿州区域发展协同创新中心学生开放课题(2015SZXTXSKF02);宿州学院教授(博士)科研启动基金(2015JB09);宿州学院药物生物技术研究所开放课题(2015YKF04)

*通信作者　E-mail:ninabao1984@163.com

分析纯国药集团化学试剂有限公司;茶皂素标准品(BM161107052),分析纯上海宝曼生物科技有限公司;大肠杆菌、金黄色葡萄球菌(安徽农业大学生命科学学院)。

1.1.2 实验仪器

722 型紫外可见分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司;SHZ-D 循环水真空泵,巩义市予华仪器有限公司;RE-501 型旋转蒸发器,巩义市科瑞仪器有限公司;TG16A-WS 台式高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;KQ5200E 数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;BBS-SCD-A 超净工作台,北京王堂南翼科技有限公司;SHP-250 型生化培养箱,上海三发科学仪器有限公司;G154DWS 型高压蒸汽灭菌锅,厦门致微仪器有限公司;ZWY-240 恒温培养振荡器,上海智城分析仪器制造有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 香草醛-硫酸法测定茶皂素的含量[11]

1.2.1.1 标准曲线绘制

称取 10.0 mg 茶皂素标准样品,加入适量乙醇(80%)溶解,10 mL 容量瓶定容,摇匀,得到浓度 1 mg/mL 的标准溶液,备用。分别取 5 支试管按表 1 顺序加入所需试剂,在冰水浴环境中缓缓加入浓硫酸,充分震荡后,放于 60 ℃水浴锅中 15 ~ 20 min,然后继续放到冰水浴环境中,10 min 后,在 550 nm 下测定茶皂素的吸光度[12],建立茶皂素质量浓度(C)-吸光度值(A)之间的线性关系,得到茶皂素的标准曲线方程:$y = 0.5087x + 0.0235$,$R^2 = 0.9909$。

表 1 茶皂素标准曲线试剂添加顺序表

Table 1 Tea saponin standard curve reagent adding sequence

试剂 Reagent	1	2	3	4	5
茶皂素标准溶液 Standard solution of tea saponin (mL)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
80% 乙醇 80% Ethanol (mL)	0.4	0.3	0.2	0.1	0
香草醛溶液 Vanillin solution (mL)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
77% 浓硫酸 77% sulfuric acid (mL)	4	4	4	4	4

1.2.1.2 样品含量测定

取自提得到的茶皂素粗品,依据 1.2.1 中的步骤进行操作,计算茶皂素的纯度和得率。

茶皂素纯度和得率的计算公式如下:

茶皂素的纯度:$X(\%) = CVn/M_1$

茶皂素的得率:$Y(\%) = XM_2/M$

式中:X:茶皂素的纯度(%);Y:茶皂素的得率(%);C:样品溶液的浓度(mg/mL);V:测量液的体积(mL);n:样品的稀释倍数;M_1:测吸光度 A 所需的原料(mg);M_2:茶皂素粗品(mg);M:原材料茶籽粕的质量(mg)。

1.2.2 茶皂素的显色验证实验

香草醛—浓硫酸显色法是目前较为常用的茶皂素显色验证方法,其反应原理可能是:皂苷在浓硫酸氧化作用下脱氢,与香草醛加成反应后,生成红色物质[13]。此方法相对其他皂苷验证方法,具有实验操作方便,耗时短且反应灵敏等优点。

1.2.3 油茶籽饼粕的预处理

将油茶籽饼粉碎成细小颗粒,过 40 目筛,干燥,脱脂,干燥,备用。

1.2.4 茶皂素的提取流程

称取适量干燥处理好的茶籽粕粉末→石油醚脱脂→超声波辅助乙醇浸提→离心分离→旋转蒸发浓缩→加入沉淀剂→离心分离→干燥获得粗茶皂素

1.2.5 超声波辅助乙醇提取法

称取 5 份处理好的茶籽粕,每份 10 g,考察料液比、浸提时间、超声时间及乙醇体积分数对茶皂素提取率的影响。

实验参数设置为:(1)料液比:1∶3、1∶5、1∶7、1∶9、1∶11 (m/V);(2)浸提时间:30、60、90、120、150 min;(3)超声时间:20、30、40、50、60 min;(4)乙醇体积分数:45%、55%、65%、75%、85%。

1.2.6 响应面(Box-Behnken)实验设计

通过单因素实验,以料液比(A)、浸提时间(B)、超声时间(C)、乙醇体积分数(D)为变量,每个因素设置 3 个水平,用-1、0、+1 进行水平编码,因素水平编码表方案见表 2。据此进行中心组合实验设计,每组实验重复 3 次,结果求平均值,茶皂素得率

天然产物研究与开发

为响应值。选用 Design-Expert 软件进行数据拟合分析,设计了 4 因素 3 水平,进行响应面实验。

表 2　响应面分析因素水平编码表

Table 2　Independent variable and experimental levels for Box-Behnken design

因素 Factor	编码 Code	水平 Level		
		-1	0	1
料液比 Solid to liquid ratio	A	1∶6	1∶7	1∶8
浸提时间 Extraction time (min)	B	75	90	105
超声时间 Ultrasonic time (min)	C	35	40	45
乙醇体积分数 Volume fraction of ethanol (%)	D	50	55	60

1.2.7　茶皂素抑菌性研究

选用牛津杯法进行抑菌实验。用移液枪吸取 150 μL 菌液,轻轻用涂布棒将菌液均匀的涂布在培养基表面,然后用镊子夹取牛津杯,在培养基表面垂直放置并使其稳定,再在牛津杯中加入不同质量浓度的的茶皂素溶液,于冰箱中放置 3 ~4 h,让其充分扩散。37 ℃正置培养 24 h,观察实验结果。

2　结果与讨论

2.1　料液比对茶皂素得率的影响

由图 1 可知,料液比为 1∶3(m/V)时,茶皂素得率较低;随着料液比由 1∶3(m/V)增加到 1∶7(m/V)时,茶皂素得率逐渐增加,当料液比超过 1∶7(m/V),茶皂素的得率略有下降,后逐渐趋于平稳。考虑到实验溶剂使用太少,浸提不彻底,达不到实验的效果;实验溶剂使用太多,实验药品消耗太多,回收耗能、工作量大,成本消耗较高,因此选用料液比 1∶7(m/V)为实验条件。

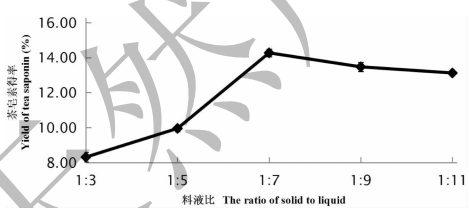

图 1　料液比对茶皂素得率的影响

Fig. 1　Effects of solid to liquid ratio on yield of tea saponin

2.2　浸提时间对茶皂素得率的影响

理论上来说,浸提时间越长,茶皂素提取率越高。但在实际实验中,当反应到达一定限度后,传质动力减少,浸出速度减慢,提取率不再增加,因此可以确定一个最佳浸提时间。从图 2 中可以明显看出,浸提时间在 30 min 时,得率较低;之后,随浸提时间增加,得率呈较快速度增加。浸提时间为 90 min 时,茶皂素得率达到最大;随着浸提时间的继续增加,得率下降,这可能是因为浸提时间的增加,浸提液中除茶皂素外其他物质,如蛋白、单宁、鞣质等杂质的溶出,包裹了茶皂素,从而使茶皂素浸提得率降低。因此选择浸提时间为 90 min 较为合理。

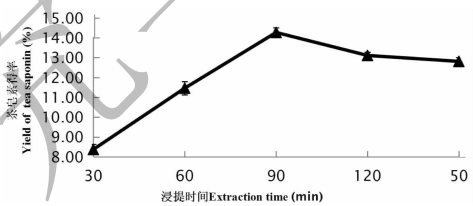

图 2　浸提时间对茶皂素得率的影响

Fig. 2　Effects of extraction time on yield of tea saponin

2.3　超声时间对茶皂素得率的影响

植物中的活性成分进行提取时,通常需要将植物细胞破坏,使其中的有效成分释放出来。对于传统的浸提法,搅拌,震荡不能很好的将植物细胞破坏;而对于化学方法,则易导致提取成分的活性丧失,达不到实验目的。对于超声波辅助提取法,其在工作时,产生其特有的空化作用[14],使受到持久的挤压和拉伸,可以很好的破坏植物细胞壁,从而使细胞破裂,释放出活性成分。

由图 3 可看出,超声时间在前 40 min,随超声时间的增加,茶皂素得率逐渐提高;当时间为 40 min 时,茶皂素得率到达最大值;超声时间在 40 ~50 min 之间,得率略有下降;随着超声时间的继续增加,茶皂素得率开始下降。猜测其可能是超声时间过长,产生局部高温,皂素中相关物质糊化,亦或其他杂质的溶出,使茶皂素得率下降。综合其上考虑,选择超声时间为 40 min 较为适宜。

2.4　乙醇体积分数对茶皂素得率的影响

由图 4 可以看出,乙醇体积分数为 55% 时,茶皂素得率达到最大值。之后随着乙醇体积分数的增

天然产物研究与开发

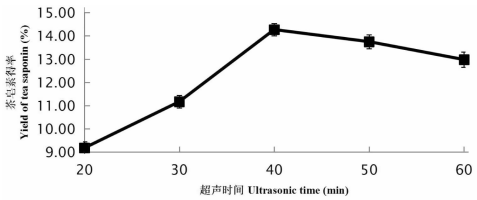

图 3　超声时间对茶皂素得率的影响

Fig. 3　Effects of ultrasonic time on yield of tea saponin

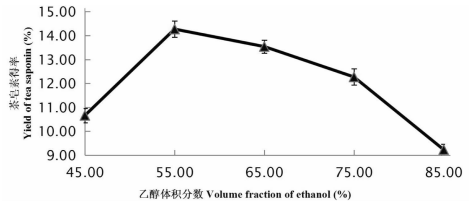

图 4　乙醇体积分数对茶皂素得率的影响

Fig. 4　Effects of volume fraction of ethanol on yield of tea saponin

加,茶皂素得率逐渐降低。原因可能是由于随着乙醇体积分数的增加,萃取液的体系极性减小,茶皂素的极性大小范围不在其范围内[15],萃取较困难,因此得率不高 ,所以选择体积分数为55%的乙醇较为合适。

2.5　响应面优化分析

按照设计的方案进行实验浸提,实验设计表格及茶皂素得率结果见表3。实验结果的方差分析,见表4。

表 3　中心组合实验设计及响应值

Table 3　Design and result of Box-Behnken analysis

序号 No.	A	B	C	D	R (%)
1	1	0	1	0	11.78
2	0	0	0	0	14.18
3	1	-1	0	0	9.43
4	0	0	0	0	14.27
5	1	0	0	-1	9.85
6	-1	0	0	-1	11.25
7	0	0	1	1	12.03
8	0	-1	1	0	9.78
9	-1	0	0	1	9.75
10	0	0	0	0	14.32
11	-1	0	1	0	9.82
12	0	1	1	0	9.25
13	-1	0	-1	0	13.17
14	0	-1	0	-1	9.05
15	1	1	0	0	10.12
16	0	0	1	-1	9.84
17	0	1	-1	0	12.18
18	-1	1	0	0	9.28
19	0	0	0	0	14.35
20	0	0	-1	1	12.74
21	0	0	0	0	14.23
22	0	1	0	1	10.58
23	1	0	-1	0	12.82
24	0	0	-1	-1	13.23
25	1	0	0	1	12.95
26	-1	-1	0	0	9.18
27	0	-1	-1	0	11.04
28	0	-1	0	1	9.74
29	0	1	0	-1	9.21

天然产物研究与开发

由表 4 可知,模型的 F 值为 664.35,可以说明此分析是显著的,只有 0.01% 的概率说明模型是由于干扰噪声引起的误差。对表 3 中的实验结果进行处理,得到关于茶皂素得率的回归方程:

$R_1 = 14.27 + 0.37A + 0.20B - 1.06C + 0.45D + 0.15AB + 0.58AC + 1.15AD - 0.42BC + 0.17BD + 0.67CD - 1.71A2 - 3.03B2 - 0.68C2 - 1.61D2$。上述方程的 R^2 为 0.9970,回归方程中失拟项 $P = 0.1607 > 0.05$,是非显著的,说明回归方程的拟合度较好,可信度较高,通过回归方程可以很好的预测真实实验数值。

表 4 方差分析结果

Table 4 Analysis of variance

因素 Factor	平方和 Sum of square	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	*F* 值 *F*-value	*P* 值可能性 Probability > *F*
模型 Model	100.99	14	7.21	664.35	<0.0001
A	1.69	1	1.69	155.41	<0.0001
B	0.48	1	0.48	44.21	<0.0001
C	13.4	1	13.4	1233.94	<0.0001
D	2.39	1	2.39	220.49	<0.0001
AB	0.087	1	0.087	8.01	0.0133
AC	1.33	1	1.33	122.86	<0.0001
AD	5.29	1	5.29	487.18	<0.0001
BC	0.7	1	0.7	64.21	<0.0001
BD	0.12	1	0.12	10.65	0.0057
CD	1.8	1	1.8	165.37	<0.0001
A^2	19.03	1	19.03	1752.75	<0.0001
B^2	59.67	1	59.67	5495	<0.0001
C^2	2.98	1	2.98	274.54	<0.0001
D^2	16.82	1	16.82	1549.25	<0.0001
剩余 Residue	0.15	14	0.011		
失拟项 Lack of fit	0.13	10	0.013	2.87	0.1607
纯误差 Pure error	0.019	4	4.65E-03		
总差 Sum	101.14	28			

利用 Design-Expert8.0 软件设计响应面实验,研究参数及其交互作用对茶皂素提取的影响,三维响应面图显示和反应每个变量的实验水平之间的相互作用。图 5(a)所示为因素 A 和因素 B 的交互作用对茶皂素得率的影响,随着料液比和浸提时间的增加,茶皂素得率呈先上升,后下降的趋势,这极有可能是由于料液比的增大和浸提时间的增长增加了其溶解度,但由于浸提时间过长增加其他杂质的溶入,从而影响茶皂素的得率。图 5(b)为因素 A 和因素 C 的交互作用对茶皂素得率的影响,随着料液比和超声时间的增加,茶皂素得率呈先升高后降低的趋势,这可能是由于超声时间的继续增加,破坏了茶皂素的结构从而导致得率降低。图 5(c)为因素 A 和因素 C 的交互作用对茶皂素得率的影响,茶皂素得率随着料液比和乙醇体积分数的增加呈现先增加后降低的趋势,这可能是由于随着乙醇体积分数的增加改变了溶液极性从而使得率降低。图 5(d)为因素 B 和因素 C 的交互作用对茶皂素得率的影响,茶皂素得率随着浸提时间和超声时间的增加呈现先上升后降低的趋势。图 5(e)为因素 B 和因素 D 的交互作用对茶皂素得率的影响,茶皂素得率随着超声时间和乙醇体积分数的增加先增加后降低。图 5(f)为因素 C 和因素 D 的交互作用对茶皂素得率的影响,茶皂素得率随着超声时间和乙醇体积分

天然产物研究与开发

数的增加呈现先增加后降低的趋势。

通过对模型回归方程的求解,得出茶皂素优化提取条件为:料液比 1∶7(m/V)、乙醇体积分数 55%、浸提时间 93 min、超声时间 36 min,在该条件下茶皂素得率为 14.708%。根据此优化条件进行验证实验,实验三次,平均值为 14.67%,实验结果与模型优化模拟结果基本一致,说明模型在实际实验中,可靠性较高,更加肯定了模型的可信度。

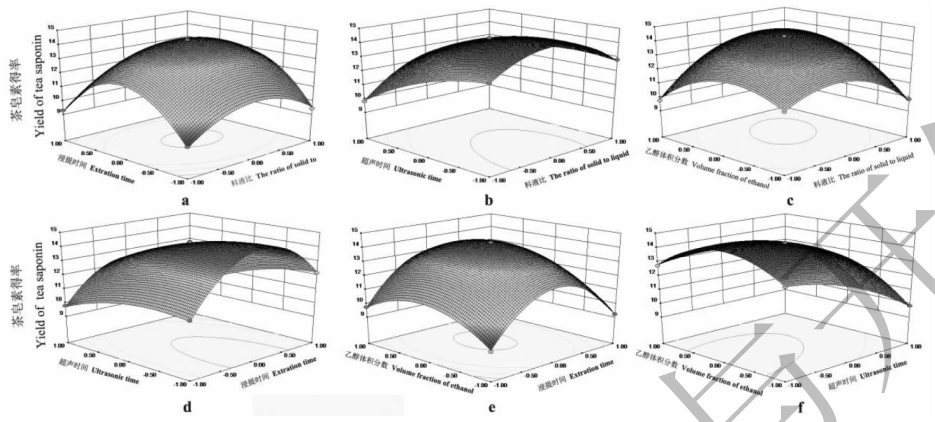

图 5 料液比和浸提时间(a)、料液比和超声时间(b)、料液比和体积分数(c)、浸提时间和超声时间(d)、浸提时间和乙醇体积分数(e)及超声时间和乙醇体积分数(f)的交互作用对茶皂素提取的影响

Fig. 5 Response surface plots showing the mutual effects of solid to liquid ratio and extraction time (a), solid to liquid ratio and ultrasonic time (b), solid to liquid ratio and volume fraction of ethanol (c), extraction time and ultrasonic time (d), extraction time and volume fraction of ethanol (e) as well as ultrasonic time and volume fraction of ethanol (f) on yield of tea saponin

2.6 抑菌实验结果分析

抑菌实验结果见表 5,由表 5 可以看出,茶皂素对金黄色葡萄球菌具有明显的抑菌效果,且抑菌效果随茶皂素浓度的增大而增强,对大肠杆菌抑菌效果不明显。

表 5 测定抑菌圈直径大小

Table 5 Determination of inhibition zone diameter

供试菌种 Testing bacteria	抑菌圈直径大小 Inhibition zone diameter (mm)		
茶皂素浓度 Tea saponin concentration	40 mg/mL	50 mg/mL	60 mg/mL
金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*	9	12	16
大肠杆菌 *Escherichia coli*	0	0	0

3 结论

本文以茶皂素为研究对象,采用乙醇-超声波辅助提取方法,研究了料液比、浸提时间、超声时间及乙醇体积分数等因素对茶皂素提取率的影响,并以响应面设计对其提取进行优化,优化最佳条件为:料液比 1∶7(m/V)、浸提时间 93 min、超声时间 36 min、乙醇体积分数 55%,该条件下茶皂素得率为 14.708%。并与传统的热水浸提法和醇提取法相比[16],使用超声波辅助提取法提取茶籽粕中的茶皂素具有较大的优势,相较于其他两种方法具有提高提取率、工艺简单,减少提取时间,易操作等优点。对茶皂素在抑菌方面进行初步研究,发现茶皂素对金黄色葡萄球菌具有明显的抑菌效果,且抑菌效果随茶皂素浓度的增大而增强,对大肠杆菌的抑菌效果不明显。

参考文献

1 State Statistics Bureau (国家统计局). China Statistical Abstract (中国统计摘要) [M]. Beijing: China Statistics Press, 2010: 124.

天然产物研究与开发

2 State Forestry Bureau (国家林业局). National oil tea industry development plan, (全国油茶产业发展规划) 2009-2020, 2009: 15-23.

3 Murakami T, Nakamura J, Masuda H, *et al*. Bioactive saponins and glycosides. XV. saponin constituents with gastroprotective effect from the seeds of tea plant, *Camellia sinensis* L. va. assamica Pierre, cultivate in Sri Lanka: structures of assamsaponins A, B, C, D and E[J]. *Chem Pharm Bull*, 1999, 47: 1759-1764.

4 Zhang XH (张星海), Yang XQ(杨贤强). Recent advances in study on properties and application of tea saponin[J]. *Tea in Fujian*, 2003, 25: 217-219.

5 Mao HL, Wang JK, Zhou YY, *et al*. Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs [J]. *Livest Sci*, 2010, 129: 56-62.

6 Kim JD, Khan MI, Shin JH, *et al*. HPLC fractionation and pharmacological assessment of green tea seed saponins for antimicrobial, anti-angiogenic and hemolytic activities [J]. *Biotechnol Bioproc E*, 2015, 20: 1035-1043.

7 Wang Y, Ren N, Rankin GO, *et al*. Anti-proliferative effect and cell cycle arrest induced by saponins extracted from tea (*Camellia sinensis*) flower in human ovarian cancer cells [J]. *J Funct Foods*, 2017, 37: 310-321.

8 Xiong DL(熊道陵), Zhang TJ(张团结), Chen JZ(陈金洲), *et al*. Research progress in extraction processing and application of tea saponin[J]. *Chem Ind Eng Pro*, 2015, 34: 1080-1087.

9 Du ZX(杜志欣), Zhang CJ(张崇坚), Wan DJ(万端极). Optimization of extraction process of tea saponin by ultrasonic-assisted ethanol method[J]. *Chem Bioeng*, 2015, 32(3): 56-59.

10 Ren HJ(任慧璟). The extraction and purification of tea saponin and application in daily chemical products[D]. Shang Hai: Shanghai Ocean University (上海海洋大学), MSc, 2016.

11 Fu CL (傅春玲), Hong QH (洪奇华), Ruan H(阮辉), *et al*. Study on quantitative determination of tea saponin[J]. *J Hangzhou Univ, Nat Sci*, 1997, 24: 239-241.

12 Liu YG (刘尧刚). Studies on extraction and purification of saponin from camellia seed meal[D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University (武汉轻工大学), MSc, 2009.

13 Chen Y(陈莹). Extraction, purification and surface activity of the saponins from camellia seed meal[D]. Hangzhou: Zhejiang University(浙江大学), MSc, 2012.

14 Wang MT(汪茂田), Xie PS(谢培山), Wang ZD(王忠东), *et al*. Extraction, isolation and structure identification of natural organic compounds[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004: 35-36.

15 Wang L(王兰). The extraction and properties characterization of tea saponins from the tea seeds[D]. Xian: Shaanxi University of Science & Technology, MSc, 2012.

16 Wang W(王武), Fang HM(方红美), Liu JS(刘京生), *et al*. Study on extraction technology of saponin from tea seed meal[J]. *Food Sci*, 2008, 29: 230-233.

(上接第 145 页)

28 Pröbstlea A, *et al*. Novel pyridine and 1, 4-dihydropyridine alkaloids from *Houttuynia cordata*[J]. *Nat Prod Res*, 1994, 4: 235-240.

29 Xue XY (薛兴阳), *et al*. Study on antitumor activity of *houttuynia cordata* alkaloids on human large cell lung cancer [J]. *Mod J Integr Tradi Chin West Med* (现代中西医结合杂志), 2016, 25: 2972-2978.

30 Likhitwitayawuid K, *et al*. Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the tubers of *Stephania pierrei*[J]. *J Nat Prod*, 1993, 56(9): 1468-1478.

31 Chen JJ, *et al*. New dimeric aporphine alkaloids and cytotoxic constituents of *Hernandia nymphaeifolia*[J]. *Planta Med*, 1996, 62: 528-533.

32 Hoet S, *et al*. Alkaloids from *Cassytha filiformis* and related aporphines: antitrypanosomal activity, cytotoxicity, and interaction with DNA and topoisomerases[J]. *Planta Med*, 2004, 70: 407-413.

33 Boustie J, *et al*. Antipoliovirus structure-activity relationships of some aporphine alkaloids[J]. *J Nat Prod*, 1998, 61: 480-484.

34 Tao QQ, *et al*. New sesquiterpenoids from the edible mushroom Pleurotus cystidiosus and their inhibitory activity against α-glucosidase and PTP1B[J]. *Fitoterapia*, 2016, 111: 29-35.

35 Wu GM (吴桂梅), *et al*. The relationship between insulin resistance and inflammatory factors and the progress of traditional Chinese medicine[J]. *Jilin J Trad Chin Med* (吉林中医药) 2012, 32: 1288-1290.

天然产物研究与开发