

## 小檗碱对小麦诱抗及发育的影响及其复方水剂的制备

孙睿<sup>1</sup>, 李朋钰<sup>1</sup>, 延冬<sup>1</sup>, 师建华<sup>2</sup>, 葛喜珍<sup>1\*</sup>

(1. 北京联合大学生物化学工程学院, 北京 100023; 2. 石家庄市农林科学院, 河北石家庄 050000)

**摘要** [目的]探讨植物源农药小檗碱对小麦的生长的影响及其复方水剂配方。[方法]采用梯度稀释法、土壤培育方法、单因素筛选法、正交试验设计方法等研究小檗碱对小麦诱抗及发育的影响及其复方水剂的制备。[结果]施用小檗碱防治小麦枯萎病时,土壤中安全施用小檗碱浓度为0.4~4.0 g/kg。小檗碱复方水剂配方为小檗碱0.000 1%、山豆根3%、吐温-80 5%、木质素磺酸钙2%、山梨酸钾0.25%、水杨酸0.25%、尿素1.1%、有机硅消泡剂(硅油)2%、渗透剂T 2%。[结论]在施用植物源农药小檗碱治疗小麦枯萎病时,应控制其在土壤中的浓度低于4 g/kg。复方水剂制备时,应加入多种助剂使其稳定性更高。

**关键词** 小檗碱;山豆根;水剂;分解率;流点**中图分类号** S512.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)06-0126-04**Effects of Berberine on Induced Resistance and Development of Wheat and Preparation of Mixture**

SUN Rui, LI Peng-yu, YAN Dong et al (College of Biochemical Engineering, Beijing Union University, Beijing 100023)

**Abstract** [Objective] The aim was to explore effects of berberine on induced resistance and development of wheat and preparation of mixture. [Method] Effects of berberine on induced resistance and development of wheat and preparation of mixture were studied by gradient dilution method, soil cultivation method, single factor screening method, orthogonal test design method, and so on. [Result] The concentration of berberine in the soil for controlling wheat wilt was 0.4-4.0 g/kg. The formula of berberine compound water agent was as followed: berberine 0.000 1%, mountain bean root 3%, Tween-80 5%, lignosulfonate 2%, potassium sorbate 0.25%, salicylic acid 0.25%, urea 1.1%, organic silicon defoamer (silicone oil) 2%, penetrant T 2%. [Conclusion] The application concentration of berberine in the treatment of wheat wilt should be less than 4 g/kg in the soil. Preparation of complex water agent should be added a variety of additives to make it more stable.

**Key words** Berberine; Soybean root; Water agent; Decomposition rate; Flow point

小麦种植产量高,栽培面积大。小檗碱对痢疾杆菌、大肠杆菌、肺炎双球菌、金葡萄菌、链球菌、伤寒杆菌及阿米巴原虫有抑制作用<sup>[1]</sup>。李美狄等<sup>[2]</sup>研究了盐酸小檗碱对绿豆种子萌发及幼苗生长的影响,发现盐酸小檗碱对绿豆种子萌发和幼苗生长具有促进作用。

山豆根(*Euchresta japonica*),名黄结、柔枝槐、苦豆根,还有称其为广豆根等,药性苦,寒,有毒。归肺、胃经。功效清热解毒,利咽消肿,现代临床应用于治疗咽喉、牙龈肿痛、心血管系统疾病、癌症等<sup>[2]</sup>。根据北豆根提取物剂型的研究进展<sup>[3]</sup>,山豆根的制备有以下剂型:北豆根片、北豆根胶囊、北豆根软胶囊、北豆根口腔崩解片、北豆根分散片、胶体溶液、经皮给药等。目前,关于小檗碱与山豆根的复方水剂剂型的研究鲜见报道。鉴于此,笔者研究了小檗碱对小麦诱抗及发育的影响,并探讨了小檗碱与山豆根复方水剂的制备,旨在为生物源植物生长调节物质的创制和应用提供理论依据。

**1 材料与方**

**1.1 材料** 10:1山豆根,陕西天之润生物科技有限公司;98%硫酸小檗碱,陕西天之润生物科技有限公司;顺丁烯二酸二仲辛酯磺酸钠(快速渗透剂T),山东优索化工科技有限公司;有机硅消泡剂,山东临沂鲁南化工研究所;木质素磺酸钙,天津市光复精细化工研究所;山梨酸钾,天津市光复精细化工研究所;水杨酸,天津市光复精细化工研究所;尿素,天津市光复精细化工研究所;吐温-80,北京化工厂。

**1.2 方法****1.2.1 小檗碱在土壤中对小麦发芽生长的最低抑制浓度试**

验。选取颗粒饱满、大小一致的小麦种子播种在小檗碱浓度为10.000 00、1.000 00、0.100 00、0.001 00、0.000 01 g/kg的花盆土壤中,每个浓度设3个平行,每盆15粒种子,播种后观察并记录其出芽个数及出芽高度。根据第1次试验结果得出的浓度设定3个系列浓度,进一步确定最低抑制浓度。同上重复试验步骤,绘制浓度曲线,确定最低抑制浓度。

**1.2.2 小檗碱与山豆根复方水剂的制备。**

**1.2.2.1 分散剂的筛选。**将各种分散剂分别配成统一百分比的水溶液,用超声波清洗器使其全部溶解,称量100 mL小烧杯,向其中加入3 g山豆根超细粉,用胶头滴管慢慢滴加配制好的分散剂水溶液。滴加分散剂供试液的同时观察粉末是否能形成自由滴落的水滴液体,不断搅拌并记录滴加供试液的质量,重复6次,用如下公式计算分散剂对供试原药的流点:

$$\text{分散剂对原药的流点} = \frac{\text{滴加} 5\% \text{分散剂水溶液质量}}{\text{供试原药的质量}}$$

**1.2.2.2 防冻剂的筛选。**取250 mL山豆根小檗碱水剂的试样置于250 mL锥形瓶中,在制冷器中冷却至温度为-2~2℃,先放置1 h,期间每15 min搅拌1次,每次20 s,观察表面是否有颗粒物或溶剂析出。将烧杯放回制冷器,继续放置7 d,取出,置于室温下待其融化,测试悬浮率指标<sup>[4]</sup>。

**1.2.2.3 防腐剂的筛选。**以山梨酸钾、水杨酸作为防腐剂的添加对象,在不同的添加量下,分别测定有效成分山豆根的分解率。采用紫外分光光度计绘制标准曲线,利用吸光度确定主要成分的含量变化。确定防腐剂的品种,再进一步确定防腐剂的最佳含量<sup>[5]</sup>。

**1.2.2.4 表面活性剂的筛选。**在250 mL三角瓶中分别将NP-15、OP-10、吐温-80 3种表面活性剂配制系列浓

**作者简介** 孙睿(1994—),女,北京人,硕士研究生,研究方向:中药学。

\* 通讯作者,教授,博士,从事植物资源农药研究。

**收稿日期** 2017-11-30

度,按国家标准 GB5549—1990 的方法,用界面张力仪测定相应浓度溶液的表面张力。在 28 °C 左右下,1 个样品平行测量 6 次,得到平均值,使其乘以校正因子,乘积值为实际表面张力。为了使试验结果更加准确,测定加有表面活性剂的原药的悬浮率<sup>[6]</sup>。

$$\text{悬浮率}(\%) = \frac{111 \times (C - Q)}{C}$$

式中, $Q$  为在底部 25 mL 的质量, g;  $C = W \times A / 100$ , 为在整个量筒中的质量(g), 其中  $W$  为加入量筒中的制剂的质量(g),  $A$  为剂型中含有质量的百分率。

**1.2.2.5 消泡剂的筛选。**取混合剂各 20 mL,置于直筒刻度摇瓶中,水浴加热至 70 °C,上下摇荡 15 次,静置,记录加入消泡剂的质量、原液泡沫高度、消泡高度和消泡率。

**1.2.2.6 渗透剂的筛选。**配制含有 10% 表面活性剂的小檗碱山豆根水剂,分别加入占原液比例 0.5%、1.0%、2.0% 的渗透剂 GFC 和 0.5%、1.0%、2.0% 的渗透剂 T 于叶片上进

行展布试验,记录渗透剂展开直径。亦可采用帆布法进行试验,该试验采取这种方法。

**1.2.2.7 正交试验测定各稳定剂最佳含量。**由于表面活性剂、分散剂、防腐剂、防冻剂在单因素筛选过程中对主成分的影响相对较大,故设计为 4 个因素,进一步精准地确定最佳用量。而渗透剂和消泡剂对原液影响较小,易确定用量,故设计为 2 个因素。加之 1 组空白。

## 2 结果与分析

**2.1 小檗碱在土壤中对小麦发芽生长的最低抑制浓度** 由图 1 可知,第 4 天之后的出芽颗数方差 ( $\leq 0.97$ ) 均不大,可以明显看出当土壤中小檗碱浓度小于 8.0 g/kg 时,植物源农药小檗碱对小麦出芽并无影响,但随小檗碱浓度增大,小麦株高降低。当小檗碱浓度大于 4.0 g/kg 时,小檗碱对小麦出芽具一定的抑制作用。故高浓度小檗碱对小麦生长有影响,浓度过高可抑制小麦种子的萌发。在施用植物源农药小檗碱防治小麦枯萎病时土壤中小檗碱浓度应低于 4.0 g/kg。

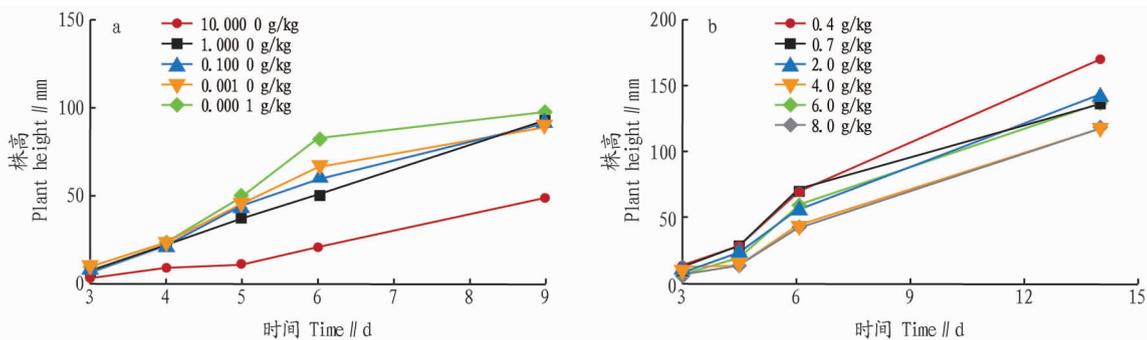


图 1 不同浓度小檗碱对小麦株高的影响

Fig. 1 Effect of different concentrations of berberine on plant height of wheat

**2.2 低温稳定性测试** 由表 1 可知,乙二醇在搅拌过程中有不稳定溶剂析出,再根据凝固百分比试验将其排除。由表 2 可知,添加尿素的供试液悬浮率最高,说明经过几天的低温贮藏,供试液中虽然有沉降的溶剂,但仍然比原液的悬浮率高,起到了一定的稳定作用。故排除丙三醇,选择尿素作为防冻剂。

**2.3 分散剂的筛选结果** 由图 2 可知,木质素磺酸钙的流点较低,且含有对植物有益的钙元素,钠元素对土壤有一定程度的破坏,故选择木质素磺酸钙作为湿润分散剂。

表 1 不同防冻剂对水剂表面现象的影响

Table 1 Effect of different antifreeze on the surface of aqueous agent

时间 Time min	原药 The original drug	丙三醇 Glycerol	乙二醇 Ethylene glycol	尿素 Urea
15	无变化	无变化	无变化	无变化
30	无变化	无变化	有少量变化	无变化
45	无变化	无变化	有少量变化	无变化
60	无变化	无变化	无变化	无变化

表 2 加入防冻剂后水剂悬浮率的测试

Table 2 After adding antifreeze agent liquid suspension test

试验次数 Number of experiments	防冻剂 Antifreeze	$Q$ //g	$W$ //g	$A$ //%	$C$	悬浮率 Suspension rate//%
1	丙三醇	0.010 1	101.135 5	1	0.010 1	0
2	丙三醇	0.004 5	101.135 5	1	0.010 1	61.54
1	尿素	0.003 2	101.023 9	1	0.010 1	69.00
2	尿素	0.002 9	101.023 9	1	0.010 1	79.12
1	乙二醇	0.010 1	101.004 9	1	0.010 1	0
2	乙二醇	0.010 1	101.004 9	1	0.010 1	0
1	原液	0.010 1	100.000 0	—	—	0
2	原液	0.007 6	100.000 0	—	—	27.47

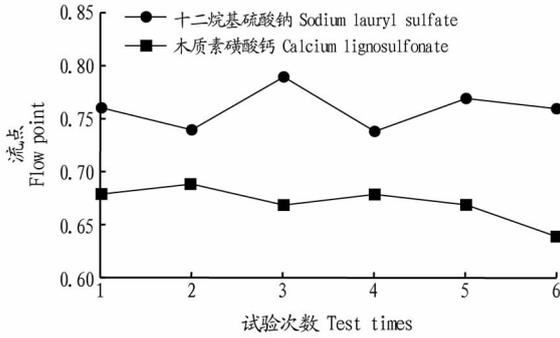


图2 不同分散剂的流点测试

Fig.2 Different dispersant flow point test

## 2.4 防腐剂的筛选结果

**2.4.1 产生絮状物情况。**将0.5%的防腐剂水杨酸、山梨酸钾分别置入100 mL 3%小檗碱山豆根复配水剂中,全部溶解后置于常温培养箱中,每天记录外观变化,第19天测量其水溶液中山豆根含量,加之空白原液对比,得最佳防腐剂。原液在第7天产生了大面积絮状物,表面有菌落。添加水杨酸的供试液在第18天有少量絮状物,表面无菌落。加有山梨酸钾的供试液在19 d中一直保持无絮状物、无沉淀、无菌落的表面特征。故以山梨酸钾作为防腐剂。

**2.4.2 紫外测量山豆根含量情况。**由于山豆根属于中药,其主要成分复杂,紫外分光光度计无法测定其主成分的含量,故测量山豆根中黄酮成分的含量。具体操作方法参照山豆根中总黄酮的含量测定<sup>[7]</sup>。取5 mL标准液定容至50 mL,取1 mL定容后的液体于50 mL容量瓶中,加入1.2 mL 5% NaNO<sub>2</sub>,放置6 min,再加入2 mL 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>放置6 min,加入20 mL 4% NaOH,用60%乙醇定容。15 min后测量。

由图3可知,山梨酸钾与水杨酸的吸光度差距不大,且均比原液的吸光度大,可见加入防腐剂的供试液主成分的分解率降低。故水杨酸和山梨酸钾均可作为防腐剂。

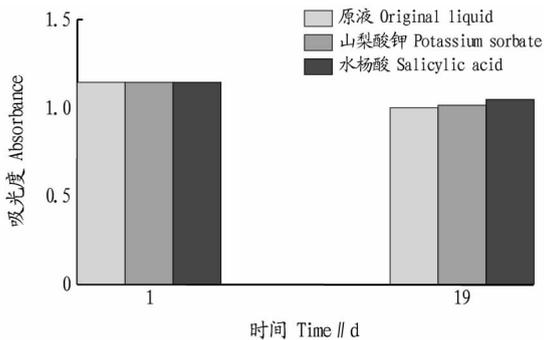


图3 紫外分光光度法分析总黄酮的吸光度

Fig.3 UV analysis of total flavonoids absorbance

**2.5 表面活性剂的筛选结果** 由图4可知,加入吐温-80的供试液悬浮率较高,且吐温-80相比其他2种表面活性剂更易溶于水,故选择吐温-80作为最佳表面活性剂。

**2.6 消泡剂的筛选结果** 由图5可知,乙醇和有机硅消泡剂的消泡率相近,无法筛选出最佳消泡剂。但常温时搅拌加有乙醇的供试液时表面有泡沫,当加热至70℃时表面泡沫消失,故筛选出有机硅消泡剂为最佳消泡剂。

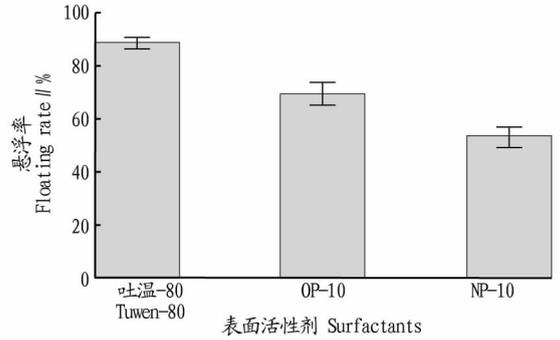


图4 不同表面活性剂对水剂悬浮率的影响

Fig.4 Effect of different surfactants on aqueous suspension

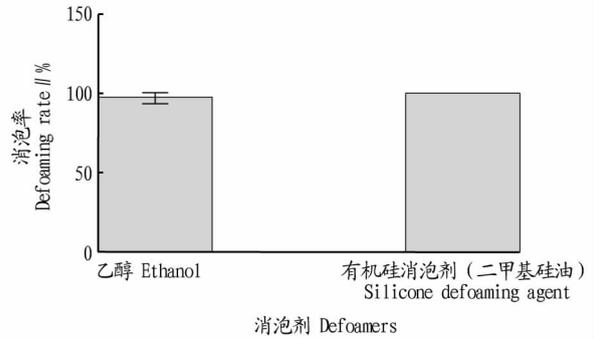


图5 不同消泡剂对水剂消泡率的影响

Fig.5 Effect of different defoamers on the defoaming rate of liquid chemicals

**2.7 渗透剂的筛选结果** 渗透剂T有少量气味,易溶于水。渗透剂JFC无气味但难溶于水。由图6可知,渗透剂T与渗透剂JFC的渗透效果相同,故以易溶于水的渗透剂T作为最佳渗透剂。

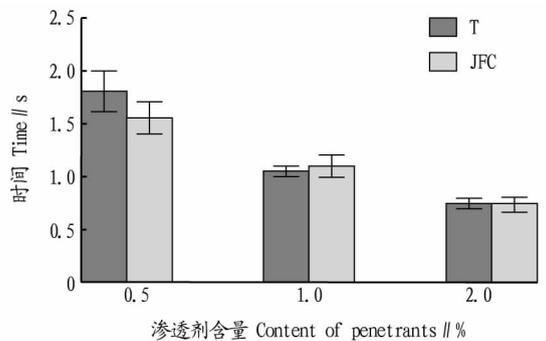


图6 不同渗透剂对水剂渗透率的影响

Fig.6 Influence of different penetrants on liquid penetrant

**2.8 复配水剂正交试验结果** 由表3可知,渗透剂的影响最大,其次是表面活性剂、防腐剂、防冻剂、消泡剂、分散剂。最佳复配方案为表面活性剂5%、分散剂2%、防腐剂0.5%、防冻剂1.1%、消泡剂2%、渗透剂2%、小檗碱0.0001%、山豆根3%,用水定容至100%。

## 3 结论与讨论

小檗碱对痢疾杆菌、大肠杆菌、肺炎双球菌、金葡菌、链球菌、伤寒杆菌及阿米巴原虫有抑制作用,也有研究将小檗碱用于农用杀菌剂<sup>[8]</sup>。该研究表明,在土壤中安全施用小檗碱浓度为0.4~4.0 g/kg,种子的生长受较多因素影响,其具

体的系统机理需进一步研究。该试验研究了田间农药小檗碱含量的浓度范围,对其应用于农作物尤其是小麦有一定的指导意义。

表3 复配水剂的正交试验设计方案与结果

Table 3 Orthogonal test table and result of compounding agent

试验号 Test No.	因素 Factors							分解率 Decomposition rate//%	悬浮率 Floating rate//%	渗透率 Permeability//%	消泡率 Defoaming rate//%	综合分 Compre- hensive points	
	表面活性剂 Surfactant//%	分散剂 Dispersant//%	防腐剂 Preservatives//%	防冻剂 Antifreeze//%	消泡剂 Defoaming agent//%	渗透剂 Penetrating agent//%	空白 Blank						
1	3	0.5	0.4	0.5	1	1	1	18.11	96.72	93.71	8.30	1.806 2	
2	3	1.0	0.5	0.7	1	2	2	7.76	100	91.60	100	2.838 4	
3	3	1.5	0.6	0.9	2	1	2	16.81	100	95.00	100	2.781 9	
4	3	2.0	0.7	1.1	2	2	1	10.19	100	89.60	100	2.794 1	
5	5	0.5	0.5	0.9	2	2	1	0	100	92.70	100	2.927 0	
6	5	1.0	0.4	1.1	2	1	2	5.51	100	91.40	100	2.858 9	
7	5	1.5	0.7	0.5	1	2	2	0	100	92.00	100	2.920 0	
8	5	2.0	0.6	0.7	1	1	1	10.68	100	92.50	100	2.818 2	
9	7	0.5	0.6	1.1	1	2	2	0.58	100	93.20	100	2.926 2	
10	7	1.0	0.7	0.9	1	1	1	8.32	100	91.64	100	2.833 2	
11	7	1.5	0.4	0.7	2	2	1	11.34	100	87.60	100	2.762 6	
12	7	2.0	0.5	0.5	2	1	2	0	100	93.37	100	2.933 7	
13	9	0.5	0.7	0.7	2	1	2	2.14	100	93.94	100	2.918 0	
14	9	1.0	0.6	0.5	2	2	1	17.76	100	88.77	100	2.710 1	
15	9	1.5	0.5	1.1	1	1	1	14.80	100	94.74	100	2.799 4	
16	9	2.0	0.4	0.9	1	2	2	0	100	92.74	90.00	2.827 4	
$k_1$	2.555 2	2.644 4	2.563 8	2.592 5	2.721 1	2.671 3	2.681 4						
$k_2$	2.881 0	2.810 2	2.874 6	2.834 3	2.835 8	2.838 2	2.875 6						
$k_3$	2.863 9	2.816 0	2.809 1	2.842 4									
$k_4$	2.813 7	2.843 4	2.866 3	2.844 7									
R	1.303 5	0.796 0	1.243 4	1.008 6	0.917 3	1.335 3	1.553 7						
因素主次	F > A > C > D > E > B												
最优方案	A <sub>2</sub> B <sub>4</sub> C <sub>2</sub> D <sub>4</sub> E <sub>2</sub> F <sub>2</sub>												

该研究表明,小檗碱和山豆根的复方水剂的最佳配方为小檗碱 0.000 1%、山豆根 3%、吐温-80 5%、木质素磺酸钙 2%、山梨酸钾 0.25%、水杨酸 0.25%、尿素 1.1%、有机硅消泡剂 2%、渗透剂 T 2%、水 84.399 9%。今后需进一步研究该水剂的稳定性、药效产率及其对大田农作物的功效,为生物源植物生长调节物质的创制和应用提供理论依据。

#### 参考文献

- [1] 李俊平,吴春芝,岳文,等.小檗碱的临床新用途及新剂型研究进展[J].中国药房,2016,27(22):3154-3158.
- [2] 李美狄,孙玮悦,宗颖,等.盐酸小檗碱对绿豆种子萌发及幼苗生长的影响[J].种子科技,2016,34(7):119-120.
- [3] 李希新.山豆根的研究概况[J].山东中医药大学学报,2000,24(3):235-237.
- [4] 项翥行.防冻剂检验标准研究[J].低温建筑技术,1989(3):32-37,52.
- [5] 徐广春,顾中言,徐德进,等.促进稻田农药利用效率的表面活性剂筛选[J].中国农业科学,2013,46(7):1370-1379.
- [6] 严敏,王立雄,田仁奎,等.注射液中多种防腐剂的同时检测方法筛选[J].食品与机械,2015,31(6):98-101.
- [7] 张桂芝,张靖.市售山豆根的光谱指纹图谱鉴定研究[J].时珍国医国药,2006,17(6):1026-1028.
- [8] 葛喜珍,李可意,刘学尧,等.小檗碱复方对桃褐腐病的田间防效和安全性评价[J].安徽农业科学,2015,43(10):124-125.
- [9] 区又君,刘泽伟.千年笛鲷幼鱼的饥饿和补偿生长[J].水产学报,2007,31(3):323-328.
- [10] KIM M K,LOVELL R T. Effect of restricted feeding regimens on compensatory weight gain and body tissue changes in channel catfish *Ictalurus punctatus* in ponds[J]. Aquaculture,1995,135(4):285-293.
- [11] WANG Y,CUI Y,YANG Y,et al. Compensatory growth and related bioenergetic mechanism in hybrid tilapia (*Tilapia mossambicus* × *T. niloticus*) [R]. Wuhan, China; Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Science,1999:41-57.
- [12] WEATHERLEY A H,GILL H S. Recovery growth following periods of restricted rations and starvation in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson[J]. Journal of fish biology,1981,18(2):195-208.
- [13] 楼宝,毛国民,骆季安,等.不同的饥饿时间对黑鲷补偿生长的影响[J].浙江海洋学院学报(自然科学版),2006,25(4):385-389.
- [14] GAYLORD T G,GATLIN D M III. Dietary protein and energy modifications to maximize compensatory growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. Aquaculture,2001,194(3/4):337-348.

- [15] KIM M K,LOVELL R T. Effect of restricted feeding regimens on compensatory weight gain and body tissue changes in channel catfish *Ictalurus punctatus* in ponds[J]. Aquaculture,1995,135(4):285-293.
- [16] RUSSELL N R,WOOTTON R J. Appetite and growth compensation in the European minnow, *Phoxinus phoxinus* (Cyprinidae), following short periods of food restriction[J]. Environmental biology of fishes,1992,34(3):277-285.
- [17] JOBLING M,MIGLAVS I. The size of lipid depots: A factor contributing to the control of food intake in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*? [J]. Journal of fish biology,1993,43(3):487-489.
- [18] 姜志强,贾泽梅,韩延波.美国红鱼继饥饿后的补偿生长及其机制[J].水产学报,2002,26(1):67-72.
- [19] BARCLAY M C,DALL W,SMITH D M. Changes in lipid and protein during starvation and the moulting cycle in the tiger prawn, *Penaeus esculentus* Haswell[J]. Journal of experimental marine biology and ecology,1983,68(3):229-244.
- [20] 邓利,张波,谢小军.南方鲇继饥饿后的恢复生长[J].水生生物学报,1999,23(2):167-173.

(上接第79页)