

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2025.01.016

盐酸小檗碱碳点的合成及抗菌性能研究

朱肖俊, 王帆, 吴新悦, 王峰

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:文章以盐酸小檗碱为原料,通过一步水热法合成盐酸小檗碱碳点(berberine hydrochloride carbon dots,BCDs)。利用透射电子显微镜(transmission electron microscope,TEM)、傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform infrared spectroscopy,FTIR)、紫外-可见分光光度计和荧光分光光度计对BCDs的形貌、结构和光学性质进行表征;通过细菌生长曲线和稀释涂布平板法,分别以食源性革兰氏阳性金黄色葡萄球菌和革兰氏阴性大肠杆菌为模式菌种,研究BCDs的抗菌性能。结果表明:制备的BCDs粒径小、分散性好,且具有荧光性质;BCDs相较于盐酸小檗碱,具有更强的抗菌能力,且对革兰氏阳性菌的抗菌效果优于对革兰氏阴性菌的;当BCDs质量浓度分别为40、320 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑制效果最好。

关键词:纳米技术;抗菌;碳点;盐酸小檗碱;食源性

中图分类号:R318.08

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2025)01-0106-06

Synthesis of berberine hydrochloride carbon dots and their antibacterial properties

ZHU Xiaojun, WANG Fan, WU Xinyue, WANG Feng

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: Berberine hydrochloride carbon dots (BCDs) were synthesized by a one-step hydrothermal method using berberine hydrochloride (Ber) as the raw material. The morphology, structure, and optical properties of BCDs were characterized by transmission electron microscope (TEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), ultraviolet-visible (UV-vis) spectroscopy, and fluorescence spectroscopy. The antibacterial properties were studied by bacterial growth curves and spread plate method using foodborne Gram-positive *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and Gram-negative *Escherichia coli* (*E. coli*) as model strains. The results showed that BCDs have a small particle size, good dispersion, and fluorescence properties. BCDs have a stronger antibacterial ability than the raw materials, and the antibacterial effect against Gram-positive bacteria was better than that against Gram-negative bacteria. When BCDs concentration was 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 320 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively, the inhibition effect against *S. aureus* and *E. coli* was the best.

Key words: nanotechnology; antibacterial; carbon dots; berberine hydrochloride; foodborne

细菌感染相关疾病每年困扰数百万人,是人类在健康领域面临的全球性挑战之一^[1]。随着常规抗生素的广泛使用和滥用,细菌对这些抗生素产生的耐药性是亟待解决的关键问题^[2]。研究表明:耐药菌的增加已导致食源性疾病的增

加^[3];随着成本和技术难度的增加,细菌耐药性的进化速度预计会超过新型抗生素的研发速度^[4];食品中的各种抗生素残留会对公众健康产生各种不利影响,包括过敏反应、肝毒性、致突变性、致癌性等^[5]。新的替代抗菌剂的生产是解决已存在和

收稿日期:2022-09-26;修回日期:2022-10-22

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31971314);安徽省重点研究与开发计划国际合作专项资助项目(202104b11020015)

作者简介:朱肖俊(1998—),男,安徽芜湖人,合肥工业大学硕士生;

王峰(1983—),男,安徽合肥人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师,通信作者,E-mail:fengw420@hfut.edu.cn.

潜在问题的迫切需要。

纳米技术的快速发展催生了许多具有应用前景的抗菌纳米材料^[6]。其中,碳基纳米材料为抗击细菌感染带来了新的希望。与常用的金属和金属氧化物纳米颗粒不同,碳基纳米材料包括富勒烯、纳米金刚石、碳纳米管、石墨烯及其衍生物,对哺乳动物细胞和组织的副作用相对较小。近年来出现的碳点具有荧光性质、尺寸小、合成成本低、环保、水分散性好、毒性低和生物相容性好等诸多优良性质^[7]。这些优点使碳点在诸多应用中具有吸引力,如抗肿瘤靶向药物递送、生物传感、光催化、发光二极管、生物成像和荧光标记^[8]。目前大多数抗菌碳点的抗菌机制是利用光能通过形成活性氧杀菌,但这通常需要光照射和过氧化氢的参与,在抗菌应用上更为复杂。除此之外,碳点的抗菌机制还包括与细菌细胞核内 DNA 的结合、对细胞膜的物理、机械损伤及对细菌代谢的抑制,从而实现了对细菌的清除^[9]。因此,碳点被认为是治疗细菌相关感染有潜力的抗菌剂。

碳点的合成原料来源广泛。通常,抗菌药物为来源的碳点具有较多不同活性的官能团,在高温或高压处理的苛刻合成过程中,药物的生物活性能否得以保留具有很高的研究价值^[10]。近年来,研究人员采用各种天然药物、提取药物和临床药物作为碳源,通过不同的方法制备各种基于药物的碳点。由带正电荷的生物多胺合成的生物基多胺碳点可以附着在细菌上,用于治疗细菌性角膜炎^[11];通过水热法从替硝唑和甲硝唑中提取的碳点有效地抑制了牙龈卟啉单胞菌的生长^[12];研究人员还使用硫酸庆大霉素^[13]、氨苄西林^[14]、硫酸卡那霉素^[15]和阿司匹林^[16]作为碳源来合成相应的碳点。这些研究表明,以基于药物的碳点作为抗菌剂是提高细菌性传染病治疗效率有前景的候选药物。

本文以盐酸小檗碱为唯一原料,通过简单的一步水热法合成盐酸小檗碱碳点(berberine hydrochloride carbon dots,BCDs)。小檗碱是从中药黄连中分离的一种季铵生物碱,是黄连抗菌的主要有效成分,已经在临床上被广泛用于治疗细菌性腹泻,同时已有研究发现小檗碱对胃肠炎、高血脂症和冠状动脉疾病有效^[17]。小檗碱还被应用在农业上作为抗细菌、真菌和病毒的药物^[18]。本文研究了BCDs对食源性革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌的杀菌效果,结果表明,以抗菌药物合成的碳点不仅没有丧失原有的抗菌能

力,甚至还增强了杀菌效果。因此,本文研究有助于推动新型抗菌纳米材料的开发。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大肠杆菌(*E. coli*)和金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)由本实验室提供;盐酸小檗碱和琼脂均购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司;LB肉汤购于上海博微生物科技有限公司;磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline,PBS)购于北京兰杰柯科技有限公司;实验用水均为超纯水。

KQ-100E 台式超声波清洗器;Centrifuge 5430-R 台式高速冷冻离心机;DSX-30L 手提式高压蒸汽灭菌器;AlphaClean 1300 超净工作台;DHG-9101-0A 型电热恒温鼓风干燥箱;H-NY-2102C 型智能恒温培养振荡器;FD-1A-50 冷冻干燥机。

1.2 盐酸小檗碱碳点的合成

超声水浴条件下,盐酸小檗碱(50 mg)溶解在超纯水(50 mL)中;将混合溶液转移到100 mL 聚四氟乙烯反应釜中,置于烘箱中于 180 °C 反应 10 h;取出冷却到室温的棕黄色溶液,10 000 r/min 下离心 10 min,去除沉淀,所得上清液通过 0.22 mm 微孔膜过滤器去除较大颗粒;将溶液用透析袋(MWCO 为 500 Da)在超纯水中透析 24 h,去除未反应的盐酸小檗碱,期间每隔 3 h 更换 1 次超纯水;真空冷冻干燥得到BCDs粉末^[19]。

1.3 材料的表征

利用 JEM-2100F 透射电子显微镜(transmission electron microscope,TEM)观察样品的形貌及粒径大小;利用 Lambda 465 紫外-可见分光光度计测定样品的光谱吸光度;利用 F-7100 荧光分光光度计测定样品的荧光光学性质;利用 Spectrum 3 傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform infrared spectroscopy,FTIR)分析样品表面官能团;利用 Nano ZS90 激光粒度分析仪测定样品表面电势。

1.4 抗菌性能的研究

1.4.1 细菌培养

分别挑取大肠杆菌和金黄色葡萄球菌单菌落,接种到 5 mL 液体 LB 培养基中,以 150 r/min 的转速在 37 °C 恒温培养箱培养过夜,得到初代细菌悬液。取 100 μ L 细菌悬液,以 1:50 的体积比重新接种到新鲜培养基中,继续震荡 12 h 后,

5 000 r/min下离心 5 min 去除上清;1×PBS 洗涤 3 次,重悬在 1×PBS 中。细菌密度通过紫外-可见光谱测量 600 nm 处吸光度值来确定,同时测定吸光度值对应的菌落形成单位(colony-forming unit, CFU)。将细菌悬液稀释得到含 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL 的细菌储液,置于 4 °C 冰箱待用^[20]。

1.4.2 细菌生长曲线

在 96 孔板中用 LB 培养基稀释得到一系列 100 μ L 不同质量浓度的 BCDs 溶液(0、10、20、40、80、160、320 μ g/mL),每孔加入 10 μ L 细菌悬液($10^6 \sim 10^7$ CFU/mL),分别在 0、2、4、6、8、10、22 h 时用 Infinite M PLEX 多功能微孔板检测仪(酶标仪)测出 600 nm 处的吸光度;最后根据每个时间点对应的 A_{600} 值做不同质量浓度 BCDs 下细菌的生长曲线。

1.4.3 标准平板计数法

用 1×PBS 将 BCDs 或盐酸小檗碱稀释成不同质量浓度,然后将 10 μ L 大肠杆菌($10^6 \sim 10^7$ CFU/mL)与 990 μ L BCDs 混合,设定终质量浓度为 0、40、80、160 μ g/mL。避光孵育 2 h 后,用 1×PBS 稀释,接种在 LB 琼脂平板上,并在 37 °C 恒温培养箱中再孵育 24 h。对于金黄色葡萄球菌也进行同样处理,质量浓度设置为 0、10、20、40、80 μ g/mL。细菌的存活率通过观察菌落形成单位来确定。

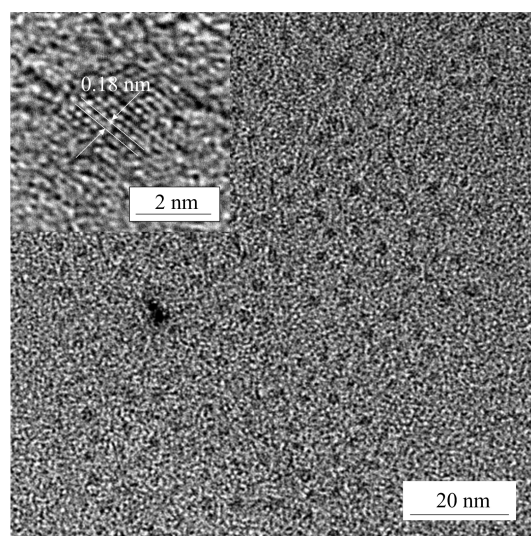
2 结果与讨论

2.1 盐酸小檗碱碳点的表征

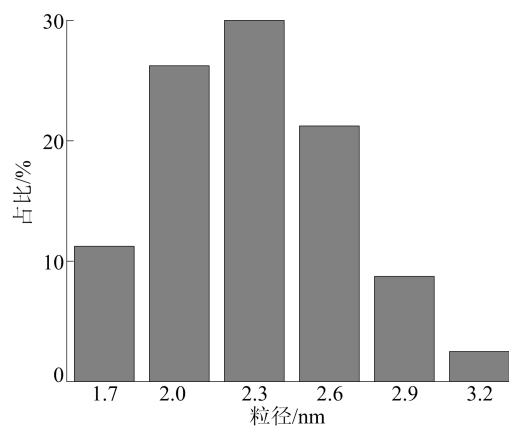
碳点可通过自下而上和自上而下 2 种方法制备。自上而下法是将大尺寸石墨烯、碳纳米纤维、碳纳米管或其他块状碳材料分解成碳点,自下而上法是通过小分子或聚合物作为前体的聚合和碳化来实现的。2 种制备方法都可以通过化学氧化、激光烧蚀、电化学合成、水热/溶剂热合成、热解反应和微波处理来实现^[21]。本文以盐酸小檗碱为唯一原料,通过一步水热法合成 BCDs。通过 TEM 对样品形貌和粒径大小进行表征,结果如图 1 所示。从图 1 可以看出,BCDs 外观为球形,平均粒径为 (2.28 ± 0.36) nm,具有良好的分散性和均匀性。由图 1a 可知,0.18 nm 晶格条纹对应于石墨碳的(100)晶面。此外,在水溶液中测得 BCDs 的 Zeta 电位约为 +12 mV,表明 BCDs 表面带正电。

利用 FTIR 分析 BCDs 的生物活性基团在

BCDs 合成后是否保留,结果如图 2 所示。



(a) TEM 图片



(b) 粒径分布

图 1 BCDs 的 TEM 图及粒径分布

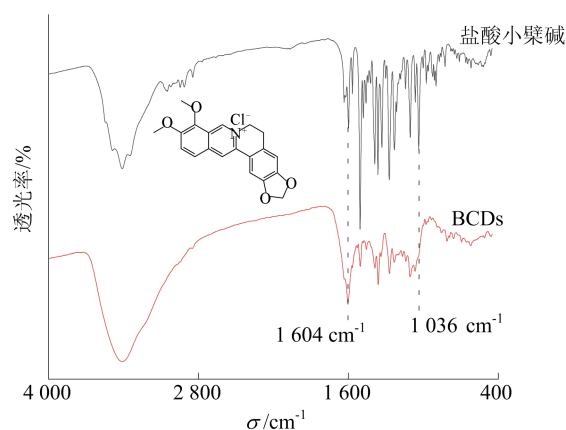


图 2 BCDs 的 FTIR 谱图

从图 2 可以看出:1 604 cm^{-1} 处的吸收峰对应于 C=N 伸缩振动,在 BCDs 中依然存在;1 036 cm^{-1} 处的吸收峰对应于 C—O—C 的伸缩振动,但在 BCDs 中消失,这可能是由于碳化过程

导致碳点表面官能团发生了变化。

紫外-可见光吸收光谱和荧光光谱用于盐酸小檗碱和 BCDs 光学性质的研究,结果如图 3 所示。从图 3a 可以看出,盐酸小檗碱在 226、270、340、420 nm 处的吸收峰和芳香环的 $n-\sigma$ 跃迁、 $\pi-\pi^*$ 跃迁、 $\pi-\pi^*$ 跃迁、 $n-\pi^*$ 跃迁一一对应。水热处理后,BCDs 与盐酸小檗碱有相似的紫外吸收,BCDs 在 226、420 nm 处的光学吸收有明显降低,这可能是由于碳点核心形成的石墨碳结构及其表面官能团发生了改变。从图 3b 可以看出,BCDs 水溶液的最大光致发光强度是在 390 nm 处激发,并在 490 nm 处发射。对照实验表明,盐酸小檗碱水溶液基本没有荧光。

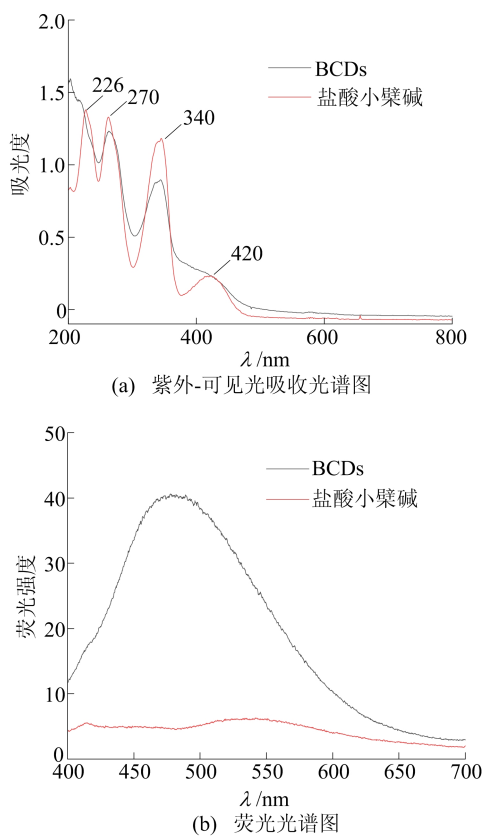


图 3 光学性质表征

2.2 碳点的抗菌性能

为了评价 BCDs 的抗菌活性,本研究分别选用大肠杆菌(革兰氏阴性菌)和金黄色葡萄球菌(革兰氏阳性菌)作为模式微生物,通过测量细菌 A_{600} 值研究在不同质量浓度下 BCDs 的时间依赖性和抗菌活性,如图 4 所示。从图 4a 可以看出:对于金黄色葡萄球菌,随着 BCDs 质量浓度增加到 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$,前 8 h 内细菌的生长相较于对照组受到了较明显的抑制;质量浓度增大到 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$

时,细菌的生长已被完全抑制。结果表明,合成的 BCDs 对金黄色葡萄球菌有着优异的抗菌功效。从图 4b 可以看出:对于大肠杆菌,前 4 h 内,BCDs 质量浓度增加到 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,细菌生长才被抑制;继续增加 BCDs 质量浓度至 320 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,大肠杆菌被完全抑制。

结果表明,BCDs 对 2 种类型细菌的相互作用效果并不相同,BCDs 对革兰氏阳性细菌金黄色葡萄球菌的抗菌效果显著高于革兰氏阴性细菌大肠杆菌。

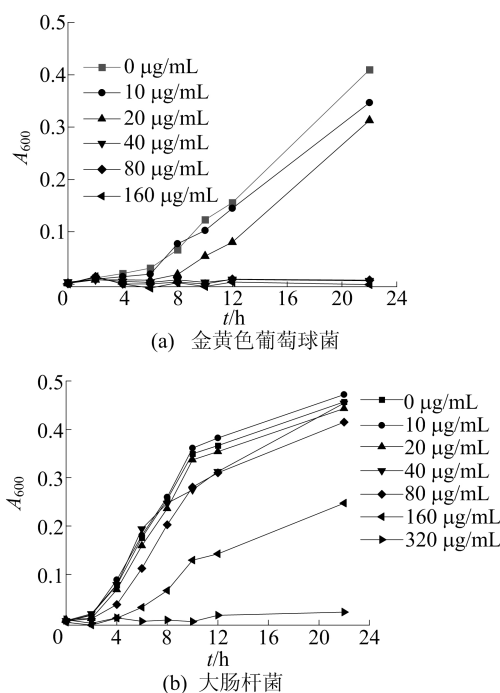


图 4 盐酸小檗碱碳点对细菌的生长抑制曲线

革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的细胞壁都是由肽聚糖组成的亲水细胞壁,但整体结构有很大差异。对于革兰氏阳性细菌,例如金黄色葡萄球菌,其细胞壁结构相对简单,外层是一层厚厚的肽聚糖,含有许多带负电荷的磷壁酸,内层是磷脂双分子层结构。外层肽聚糖层是相对多孔的,可以提供许多阴离子位点,促进带正电的 BCDs 与细菌的结合,导致膜通透性增加,细菌内容物泄露,最终死亡。然而,对于革兰氏阴性菌,其细胞壁比革兰氏阳性菌复杂,相对较薄的肽聚糖层外还有一层复合脂多糖的外膜。这些脂多糖由二价阳离子交叉桥接,这可能导致与 BCDs 的结合较弱。此外,革兰氏阴性菌外膜内存在小通道的孔蛋白也可能阻断纳米颗粒进入细菌细胞,从而防止碳点侵入细菌^[22]。

采用标准平板计数法鉴定 BCDs 与细菌短时间孵育后的细菌存活率。将大肠杆菌和金黄色葡萄球菌与不同质量浓度的 BCDs 在 $1 \times \text{PBS}$ 下孵育 2 h, 然后稀释平板计数, 结果如图 5 所示。从图 5 可以看出: 细菌的存活率与 BCDs 的质量浓度负相关; 对于金黄色葡萄球菌, 在较低质量浓度 ($10 \mu\text{g}/\text{mL}$) BCDs 处理下, 细菌的存活率已经下降到约 20%; 随着质量浓度增加到 $40 \mu\text{g}/\text{mL}$, 细菌存活率基本为 0。这与上述实验结果相符; 对于大肠杆菌, 在短时间实验条件下, 即使 BCDs 质量浓度增加到 $160 \mu\text{g}/\text{mL}$, 细菌的存活率依然有 50%。结果表明, BCDs 对 2 种类型细菌的抑菌效果有着较大的差异。

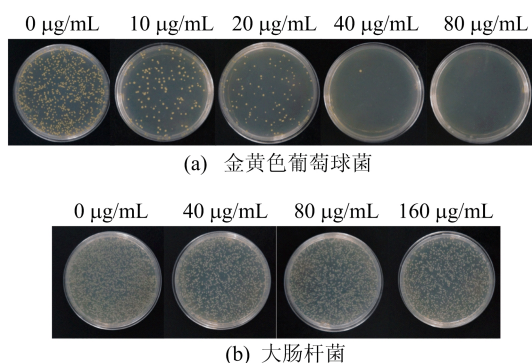


图 5 盐酸小檗碱碳点的抗菌结果

此外, 本文还研究了盐酸小檗碱与细菌孵育后的细菌存活率, 结果如图 6 所示。

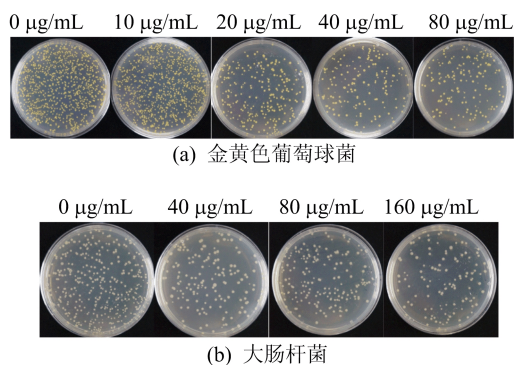


图 6 盐酸小檗碱的抗菌结果

从图 6a 可以看出, 对于金黄色葡萄球菌, 盐酸小檗碱在 $20 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时开始表现出一定的抑菌效果, 继续增加质量浓度到 $80 \mu\text{g}/\text{mL}$, 依然有约 30% 的细菌存活。从图 6b 可以看出, 对于大肠杆菌, 即使在 $160 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的高质量浓度下, 也没有表现出明显的抑菌效果。结果表明, 通过盐酸小檗碱合成的 BCDs, 杀菌效果得到较明显提升。

3 结 论

本文通过一步水热法, 以盐酸小檗碱为原料合成了 BCDs, 并进行形貌、结构和光学性质的表征。结果表明, 合成的 BCDs 尺寸均匀, 具有良好的光学性能。进一步的抗菌实验结果表明, 与盐酸小檗碱相比, BCDs 的杀菌效果明显增强。由于革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌细胞壁结构的差异, BCDs 对革兰氏阳性菌的杀菌效果显著高于革兰氏阴性菌。综上所述, 本文开发的基于抗菌药物的碳基纳米材料作为一种新型抗菌剂, 在食品包装和生物医学领域具有一定的潜力。

[参 考 文 献]

- [1] LEVY S B, MARSHALL B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses [J]. *Nature Medicine*, 2004, 10(12): S122-S129.
- [2] MARTÍNEZ J L. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments [J]. *Science*, 2008, 321(5887): 365-367.
- [3] COHEN M L. Changing patterns of infectious disease [J]. *Nature*, 2000, 406(6797): 762-767.
- [4] TAMMA P D, COSGROVE S E, MARAGAKIS L L. Combination therapy for treatment of infections with Gram-negative bacteria [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2012, 25(3): 450-470.
- [5] HASHEMPOUR-BALTORK F, HOSSEINI H, SHOJAEE-ALIABADI S, et al. Drug resistance and the prevention strategies in food borne bacteria: an update review [J]. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2019, 9(3): 335-347.
- [6] LIU Y, SHI L Q, SU L Z, et al. Nanotechnology-based antimicrobials and delivery systems for biofilm-infection control [J]. *Chemical Society Reviews*, 2019, 48(2): 428-446.
- [7] LI P L, HAN F X, CAO W W, et al. Carbon quantum dots derived from lysine and arginine simultaneously scavenge bacteria and promote tissue repair [J]. *Applied Materials Today*, 2020, 19: 100601.
- [8] XIN Q, SHAH H, NAWAZ A, et al. Antibacterial carbon-based nanomaterials [J]. *Advanced Materials*, 2019, 31(45): 1804838.
- [9] LIM S Y, SHEN W, GAO Z Q. Carbon quantum dots and their applications [J]. *Chemical Society Reviews*, 2015, 44: 362-381.
- [10] WU L N, YANG Y J, HUANG L X, et al. Levofloxacin-based carbon dots to enhance antibacterial activities and combat antibiotic resistance [J]. *Carbon*, 2022, 186: 452-464.
- [11] JIAN H J, WU R S, LIN T Y, et al. Super-cationic carbon quantum dots synthesized from spermidine as an eye drop formulation for topical treatment of bacterial keratitis [J]. *ACS Nano*, 2017, 11(7): 6703-6716.
- [12] LIANG G F, SHI H, QI Y J, et al. Specific anti-biofilm activity of carbon quantum dots by destroying *P. gingivalis*

- biofilm related genes[J]. International Journal of Nano-medicine, 2020, 15: 5473.
- [13] LI P L, LIU S, CAO W W, et al. Low-toxicity carbon quantum dots derived from gentamicin sulfate to combat antibiotic resistance and eradicate mature biofilms [J]. Chemical Communications, 2020, 56(15): 2316-2319.
- [14] JIJIE R, BARRAS A, BOUCKAERT J, et al. Enhanced antibacterial activity of carbon dots functionalized with ampicillin combined with visible light triggered photodynamic effects[J]. Colloids and Surfaces B(Biointerfaces), 2018, 170: 347-354.
- [15] LUO Q, QIN K H, LIU F, et al. Carbon dots derived from kanamycin sulfate with antibacterial activity and selectivity for Cr⁶⁺ detection[J]. Analyst, 2021, 146 (6): 1965-1972.
- [16] XU X W, ZHANG K, ZHAO L, et al. Aspirin-based carbon dots, a good biocompatibility of material applied for bioimaging and anti-inflammation[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2016, 8(48): 32706-32716.
- [17] TIAN Y Y, TANG G, GAO Y H, et al. Carrier-free small molecular self-assembly based on berberine and curcumin incorporated in submicron particles for improving antimicrobial activity[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2022, 14(8): 10055-10067.
- [18] LIANG W L, CHENG J L, ZHANG J D, et al. pH-responsive on-demand alkaloids release from core-shell ZnO@ZIF-8 nanosphere for synergistic control of bacterial wilt disease[J]. ACS Nano, 2022, 16(2): 2762-2773.
- [19] ZHANG F, ZHANG M, ZHENG X, et al. Berberine-based carbon dots for selective and safe cancer theranostics[J]. RSC Advances, 2018, 8(3): 1168-1173.
- [20] CHEN S, YAN Y, YU Y, et al. Ferric ions as a catalytic mediator in metal-EGCG network for bactericidal effect and pathogenic biofilm eradication at physiological pH[J]. Advanced Materials Interfaces, 2021, 8(23): 2101605.
- [21] HE C, XU P, ZHANG X H, et al. The synthetic strategies, photoluminescence mechanisms and promising applications of carbon dots: current state and future perspective [J]. Carbon, 2022, 186: 91-127.
- [22] EZATI P, RHIM J W, MOLAEI R, et al. Preparation and characterization of B, S, and N-doped glucose carbon dots: antibacterial, antifungal, and antioxidant activity[J]. Sustainable Materials and Technologies, 2022, 32: e00397.

(责任编辑 闫杏丽)

(上接第 105 页)

- [6] 张蓉, 苏兆亮, 赵文娟, 等. 抗神经炎症天然产物的研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(5): 730-737.
- [7] LEE N Y, CHUNG K S, JIN J S, et al. Effect of chicoric acid on mast cell-mediated allergic inflammation *in vitro* and *in vivo* [J]. Journal of Natural Products, 2015, 78 (12): 2956-2962.
- [8] LIU Q, CHEN Y W, SHEN C, et al. Chicoric acid supplementation prevents systemic inflammation-induced memory impairment and amyloidogenesis via inhibition of NF- κ B [J]. The FASEB Journal, 2017, 31(4): 1494-1507.
- [9] FONSECA F N, PAPANICOLAOU G, LIN H, et al. *Echinacea purpurea* (L.) Moench modulates human T-cell cytokine response [J]. International Immunopharmacology, 2014, 19(1): 94-102.
- [10] 张婧. 引种紫锥菊中烷基酰胺类成分的标准化研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- [11] ATTLA O, JUDIT S P, MICHAEL S, et al. *Echinacea purpurea*-derived alkylamides exhibit potent anti-inflammatory effects and alleviate clinical symptoms of atopic eczema[J]. Journal of Dermatological Science, 2017, 88(1): 67-77.
- [12] GOEL V, CHANG C, SLAMA J V, et al. Alkylamides of *Echinacea purpurea* stimulate alveolar macrophage function in normal rats[J]. International Immunopharmacology, 2002, 2(2/3): 381-387.
- [13] 王莹雪, 卞育婕, 周玉奇, 等. 帕金森病动物模型神经炎症反应与损伤的研究进展 [J]. 神经解剖学杂志, 2017, 33(1): 90-94.
- [14] 伏健. 紫锥菊提取工艺优化及对小鼠免疫调节的研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2016.
- [15] 孔令锋. 国产栽培紫锥菊药材品质评价研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2006.
- [16] LUO X B, CHEN B, YAO S Z, et al. Simultaneous analysis of caffeic acid derivatives and alkamides in roots and extracts of *Echinacea purpurea* by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection-electrospray mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2003, 986(1): 73-81.
- [17] CECH N B, ELEAZER M S, SHOFFNER L T, et al. High performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry for simultaneous analysis of alkamides and caffeic acid derivatives from *Echinacea purpurea* extracts[J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1103(2): 219-228.
- [18] 任传忠, 肖猛, 李玮, 等. 硫辛酸对 MPTP 诱导的小鼠帕金森病模型的神经保护作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(1): 127-133.
- [19] 姚庆和, 高国栋. 帕金森病模型小鼠的行为学特征及其检测方法研究 [J]. 中国临床康复, 2004, 8(28): 6177-6179.
- [20] 陈世坚, 李舸, 张钰, 等. MPTP 诱导帕金森病小鼠亚急性与慢性模型比较及评价 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(8): 1247-1252.

(责任编辑 闫杏丽)