

# 藏柴胡多糖提取工艺优化、结构表征及其药理活性研究

赵小亮<sup>1,2</sup>, 王宝忠<sup>1</sup>, 康兴兴<sup>1</sup>, 向紫骏<sup>1</sup>, 漆凯丽<sup>1</sup>, 张晶<sup>1,2</sup>, 张伟杰<sup>1,2\*</sup>

(1. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州 730050; 2. 甘肃省中藏药筛选评价及深加工高校重点实验室, 甘肃兰州 730050)

**摘要:** **目的** 优化藏柴胡多糖提取工艺, 并对其进行结构表征, 考察其抗氧化、降血脂活性。**方法** 在单因素试验基础上, 以提取时间、提取温度、料液比为影响因素, 多糖得率为评价指标, 正交试验优化提取工艺。采用PMP柱前衍生-HPLC法测定单糖组成, HPGPC法测定其分子量。考察多糖体外抗氧化活性和体外降血脂活性。**结果** 最佳条件为提取时间3.5 h, 提取温度85 °C, 料液比1:32.5, 多糖得率为2.43%。多糖主要由甘露糖(Man)、鼠李糖(Rha)、葡萄糖(Glc)、半乳糖(Glc)、半乳糖醛酸(GalA)、阿拉伯糖(Ara)等单糖组成, 比例为3.4:9.4:28.1:18.5:22.1:18.5, 平均分子量为40.85 kDa。多糖质量浓度为10 mg/mL时, 与甘氨酸钠、牛黄胆酸钠、混合胆酸盐、胆酸钠的结合率分别为45.0%、36.5%、46.3%、57.9%; 为5 mg/mL时, 对超氧阴离子自由基、羟自由基、DPPH自由基的清除率分别为51.7%、70.5%、74.9%。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于提取具有抗氧化、降血脂活性的藏柴胡多糖。

**关键词:** 藏柴胡; 多糖; 提取工艺; 结构表征; 抗氧化活性; 降血脂活性

**中图分类号:** R284.2

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2024)06-1985-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.06.035

藏柴胡是伞形科植物窄竹叶柴胡 *Bupleurum marginatum* Wall. ex DC. var. *stenophyllum* (Wolff) Shan et Y. Li 的干燥根, 主产于我国贵州、甘肃定西、西藏等地区<sup>[1]</sup>, 其作为民族药<sup>[2-3]</sup>是柴胡的新替代品<sup>[4]</sup>。研究表明, 柴胡多糖是柴胡有效成分之一, 具有增强免疫功能、抗病毒、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、降血脂等作用<sup>[3-5]</sup>。邓寒霜等<sup>[5]</sup>采用热水提取法得到柴胡多糖, 通过响应面法发现其最优提取工艺为温度95 °C, 料液比1:45, 时间1.5 h。陈雁雁等<sup>[6]</sup>以得率为评价指标, 得到柴胡多糖最优提取工艺为超声时间0.5 h, 料液比1:21, 超声次数2次。

多糖作为活性生物大分子之一, 在食品、保健品、化妆品、医药等行业有良好的应用前景。目前, 对柴胡多糖的研究较多, 而鲜有对藏柴胡多糖提取工艺、结构表征、降血脂活性研究方面的报道。因此, 本实验优化藏柴胡多糖的提取工艺, 对其结构进行表征, 并评价其抗氧化、降血脂活性, 以期为该成分开发利用奠定基础。

## 1 材料

BJ-800A型多功能粉碎机购自德清拜杰电器有限公司; DHG-9030A型恒温电热鼓风干燥箱购自上海精宏实验设备有限公司; B220型恒温水浴锅购自上海亚荣生化仪器厂; AB104-N型电子分析天平购自梅特勒-托利多仪器(上海)公司; LC-20AD型高效液相色谱仪购自日本岛津公司;

RE-52AA型旋转蒸发器、YTLG-12D-80型冷冻干燥机、YTUP-15型超纯水仪购自上海叶拓科技有限公司; UV754N型紫外分光光度计购自上海佑科仪器仪表有限公司; Nexus 670型红外光谱仪购自美国尼高力公司; Thermo Fisher C<sub>18</sub>型色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm)购自美国Thermo Fisher Scientific公司; Shodex OHpak SB-804 HQ型色谱柱(8.0 mm×300 mm, 10 μm)购自日本昭和电工株式会社。

单糖对照品(分析纯, 包括阿拉伯糖、半乳糖、甘露糖、鼠李糖、半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸、岩藻糖、氨基半乳糖、氨基葡萄糖和葡萄糖)购自美国Sigma公司; 系列葡聚糖对照品(5 000、12 000、25 000、50 000、410 000 Da)(分析纯)均购自北京谱析-标准物质中心。1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)(分析纯)均购自北京索莱宝科技有限公司; 牛血清白蛋白(BSA)(分析纯)购自盐城赛宝生物科技有限公司。藏柴胡购自甘肃省兰州市黄河中药材市场, 经专家鉴定为伞形科植物窄竹叶柴胡 *Bupleurum marginatum* Wall. ex DC. var. *stenophyllum* (Wolff) Shan et Y. Li 的干燥根。

乙腈(色谱纯)购自上海吉至生化科技有限公司; 磷酸二氢钾、硫酸钠等其他试剂(分析纯)均购自国药集团化学试剂有限公司。

收稿日期: 2023-04-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(31860250, 32260231); 国家大学生创新创业训练计划项目(DC2022571); 甘肃省高校教师创新基金项目(2023A-020); 甘肃省自然科学基金(18JR3RA148)

作者简介: 赵小亮(1982—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为糖化学与糖药物。Tel: 18793186610, E-mail: zhxl819@163.com

\*通信作者: 张伟杰(1975—), 男, 博士, 教授, 研究方向为糖基医用生物材料。Tel: 13919787990, E-mail: brossica@163.com

## 2 方法

2.1 前处理 药材置于40℃烘箱中干燥后粉碎,过60目筛,索氏提取器回流脱脂5次(脱脂液80%乙醇),每次3h,充分干燥后备用。

2.2 单因素试验 以水为溶剂,分别在提取次数3次、料液比1:30、提取时间3h条件下,考察提取温度50、60、70、80、90℃对多糖得率的影响;在提取时间3h、提取温度80℃、料液比1:30条件下,考察提取次数1、2、3、4、5次对多糖得率的影响;在提取时间3h、提取次数3次,提取温度80℃条件下,考察料液比1:20、1:25、1:30、1:35、1:40对多糖得率的影响;在提取次数3次、料液比1:30、提取温度80℃条件下,考察提取时间1、2、3、4、5h对多糖得率的影响。合并提取液,浓缩,4倍量乙醇沉淀,苯酚-硫酸法<sup>[7-8]</sup>测定总糖含量,计算多糖得率<sup>[9]</sup>,公式为得率=(多糖质量/药材质量)×100%。

2.3 正交试验 在单因素试验基础上进行正交试验<sup>[9]</sup>,因素水平见表1。

表1 正交试验因素水平

水平	因素		
	A 提取时间/h	B 提取温度/℃	C 料液比
1	2.5	75	1:27.5
2	3.0	80	1:30.0
3	3.5	85	1:32.5

### 2.4 多糖提取纯化及理化性质分析

2.4.1 提取纯化 按优化工艺提取多糖,醇沉3次后加入超纯水,以截留分子量7kDa的透析袋进行透析,在透析外液总溶解固体(TDS)<20mg/L后减压浓缩,冷冻干燥得多糖。

2.4.2 蛋白含量测定 采用Bradford法<sup>[10]</sup>,分别配制100、80、60、40、20μg/mL牛血清白蛋白(BSA),根据回归方程 $Y=5.095X-0.0303$ ( $R^2=0.9926$ )计算蛋白含量。

2.4.3 总糖含量测定 采用苯酚-硫酸法<sup>[8-9]</sup>,分别配制100、80、60、40、20μg/mL葡萄糖对照品溶液,各取1mL加入试管中,吸取0.5mL5%苯酚溶液,摇匀,滴加5mL浓硫酸,沸水浴15min,在490nm波长处测定吸光度。以吸光度(A)对对照品质量浓度(X)进行回归,得方程为 $A=6.8067X-0.0465$ ( $R^2=0.9921$ ),在20~100μg/mL范围内线性关系良好,根据上述回归方程计算总糖含量。

### 2.5 总糖含量测定方法学考察

2.5.1 精密度试验 取0.1mg/mL葡萄糖对照品溶液0.5mL,按“2.4.3”项下方法平行测定6次吸光度,测得其RSD为3.01%,表明仪器精密度良好。

2.5.2 重复性试验 取同一批多糖,按“2.4.1”项下方法制备6份供试品,按“2.4.3”项下方法测定吸光度,测得其RSD为2.71%,表明该方法重复性良好。

2.5.3 稳定性试验 取同一批多糖,按“2.4.1”项下方

法制备供试品,室温下于0、1、2、3、4、5h按“2.4.3”项下方法测定吸光度,测得其RSD为1.21%,表明溶液在5h内稳定性良好。

2.5.4 加样回收率试验 取同一批多糖,按“2.4.1”项下方法制备9份供试品,每3份1组,分别按50%、100%、150%水平加入对照品溶液,重复3次,按“2.4.3”项下方法测定吸光度,计算回收率。结果,多糖平均加样回收率分别为95.42%、97.35%、96.96%,RSD分别为1.07%、3.14%、3.25%。

2.6 红外光谱分析 多糖在放有P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>的真空干燥箱中干燥48h,称取2~3mg,干燥KBr压片,在4000~400cm<sup>-1</sup>波数范围内扫描,得到红外光谱图<sup>[11]</sup>。

2.7 分子量测定 采用HPGPC法<sup>[12]</sup>,多糖用0.1mol/L Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>配制成5mg/mL溶液,过膜,选择示差折光率检测器和Shodex OHpak SB-804 HQ线性色谱柱;流动相0.1mol/L Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>;柱温35℃;体积流量0.6mL/min;进样量50μL,根据回归方程 $Y=-0.2156X+7.7628$ ( $R^2=0.9994$ )计算分子量。

### 2.8 单糖组成分析

2.8.1 多糖降解 取多糖1~2mg,加200μL水充分溶解,置于安瓿瓶中,加200μL4mol/L三氟乙酸,封口,在105℃下降解6h后氮吹仪吹干,加入400μL甲醇,反复吹干,除去TFA,备用<sup>[11]</sup>。

2.8.2 PMP柱前衍生 样品加入100μL超纯水溶解,再加入100μL0.3mol/LNaOH混匀,接着加入120μL0.5mol/LPMP甲醇溶液,70℃水浴60min,加入100μL0.3mol/L盐酸中和,反应液用氯仿萃取5次,除去未反应的PMP,过膜后进样分析<sup>[13]</sup>。采用Thermo Fisher C<sub>18</sub>色谱柱;流动相磷酸盐缓冲液-乙腈(83:17);体积流量1mL/min;柱温30℃;检测波长245nm,根据对照品出峰时间和峰面积确定单糖种类和相对摩尔比<sup>[13]</sup>。

2.9 抗氧化活性研究 分别配制5、2.5、1.25、0.625、0.3125mg/mL多糖溶液,以质量浓度为横坐标,清除率为纵坐标绘图,计算自由基清除率,公式为清除率=[1-(A<sub>i</sub>-A<sub>j</sub>)/A<sub>c</sub>]×100%,其中A<sub>i</sub>为反应液吸光度,A<sub>j</sub>为样品吸光度,A<sub>c</sub>为以蒸馏水代替反应液吸光度。

2.9.1 DPPH自由基清除能力 将不同质量浓度多糖溶液与0.1mmol/LDPPH乙醇溶液等体积混匀,室温避光静置30min,在517nm波长处测定吸光度<sup>[11]</sup>。

2.9.2 羟自由基清除能力 取不同质量浓度多糖溶液各1mL,分别加入1mL9mmol/L水杨酸溶液、0.05mol/LFeSO<sub>4</sub>溶液、8.8mmol/LH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,混合均匀,在37℃下水浴30min,在510nm波长处测定吸光度<sup>[14]</sup>。

2.9.3 超氧阴离子清除能力 取不同质量浓度多糖溶液各200μL,加入1mL50mmol/LTirs-HCl(pH=8.0)溶液,37℃水浴20min,加入200μL50mmol/L已预热的邻苯三酚,混合均匀,反应4min,加入1滴浓盐酸中止反应,在320nm波长处测定吸光度<sup>[9]</sup>。

2.10 降血脂活性研究 参考樊伟伟等<sup>[15]</sup>报道, 配制人工胃液和人工肠液, 0.05 mol/L 磷酸缓冲液 (pH = 8.0) 分别配制 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mmol/L 胆酸盐 (胆酸钠、甘氨酸胆酸钠、牛磺胆酸钠和 3 种胆酸盐等体积混合物) 标准溶液, 加入 7.5 mL 60% 硫酸溶液, 混匀, 70 °C 水浴加热 20 min, 迅速冰浴 5 min, 紫外可见分光光度法在 387 nm 波长处测定吸光度, 以胆酸盐浓度为横坐标 ( $X$ ), 吸光度为纵坐标 ( $A$ ) 进行回归。结果, 混合胆酸盐、牛磺胆酸钠、甘氨酸胆酸钠、胆酸钠回归方程分别为  $A = 1.312 3X + 0.078 8$  ( $R^2 = 0.996 4$ )、 $A = 1.685 7X + 0.109 1$  ( $R^2 = 0.992 4$ )、 $A = 1.322 3X + 0.196 8$  ( $R^2 = 0.991 8$ )、 $A = 0.872 7X + 0.222 4$  ( $R^2 = 0.991 4$ ), 在 0.1~0.5 mmol/L 范围内线性关系良好。

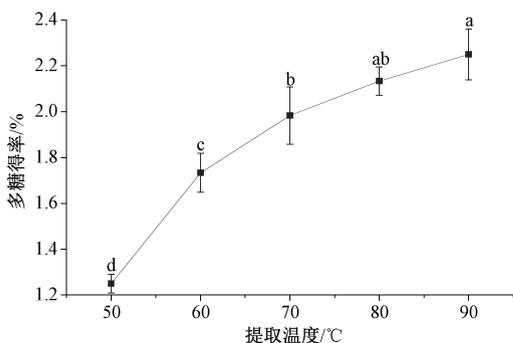
取 2、4、6、8、10 mg/mL 多糖溶液及人工胃液各 1 mL, 置于具塞试管中, 37 °C 恒温振荡消化 1 h, 调节 pH 值至 6.8, 加入 4 mL 人工肠液, 37 °C 恒温振荡消化 1 h 后加入 4 mL 1.0 mmol/L 胆酸盐溶液, 37 °C 恒温振荡 1 h, 4 000 r/min 离心 20 min, 取 2.5 mL 上清液, 加入 7.5 mL 60% 硫酸溶液, 混匀, 70 °C 水浴加热 20 min, 迅速冰浴 5 min, 在 387 nm 波长处测定吸光度, 计算胆酸盐结合率, 公式为结合率 =  $[(A_0 - A_1) / A_0] \times 100\%$ , 其中  $A_0$  为胆酸盐加入量,  $A_1$  为胆酸盐剩余量。

2.11 数据分析 通过 SPSS Statistics 26 软件进行处理, Origin Pro 2021 软件进行绘图, 数据以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 所有实验均重复 3 次。  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 单因素试验

3.1.1 提取温度 由图 1 可知, 随着提取温度增加多糖得率升高, 为 90 °C 时达到最大值 2.25%, 而大于 70 °C 时无明显变化 ( $P > 0.05$ ), 结合经济成本、实际情况, 以及温度过高对多糖结构的影响, 最终以 80 °C 为工艺优化的中心值。

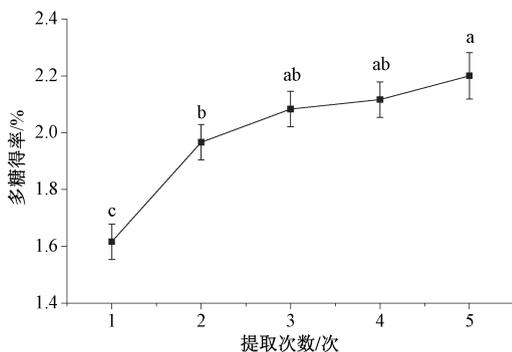


注: 不同小写英文字母表示有统计学差异 ( $P < 0.05$ )。

图 1 提取温度对多糖得率的影响

3.1.2 提取次数 由图 2 可知, 随着提取次数增加多糖得率升高, 为 5 次达到最大值 2.20%, 而大于 3 次时无明显变化 ( $P > 0.05$ ), 结合经济成本、实际情况, 最终以 3 次为工艺优化的中心值。

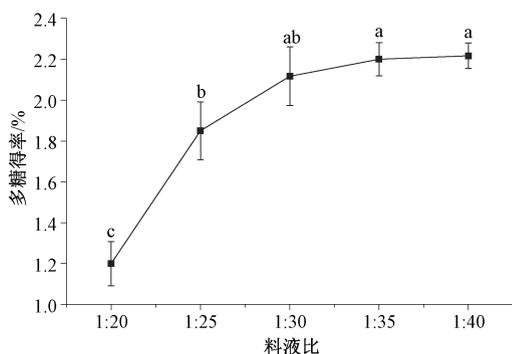
3.1.3 料液比 由图 3 可知, 随着料液比增加多糖得率升



注: 不同小写英文字母表示有统计学差异 ( $P < 0.05$ )。

图 2 提取次数对多糖得率的影响

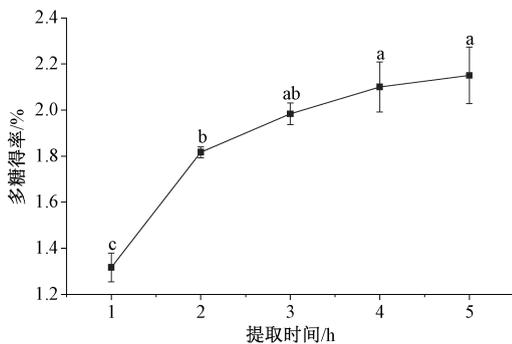
高, 为 1:40 时达到最大值 2.22%, 而大于 1:30 时无明显变化 ( $P > 0.05$ ), 结合经济成本、实际情况, 最终以 1:30 为工艺优化的中心值。



注: 不同小写英文字母表示有统计学差异 ( $P < 0.05$ )。

图 3 料液比对多糖得率的影响

3.1.4 提取时间 由图 4 可知, 随着提取时间延长多糖得率升高, 为 5 h 时达到最大值 2.10%, 而大于 3 h 时无明显变化 ( $P > 0.05$ ), 结合经济效益、实际情况, 最终以 3 h 为工艺优化的中心值。



注: 不同小写英文字母表示有统计学差异 ( $P < 0.05$ )。

图 4 提取时间对多糖得率的影响

3.2 正交试验 在单因素试验基础上, 固定提取次数 3 次, 选择提取时间 ( $A$ )、提取温度 ( $B$ )、料液比 ( $C$ ) 作为影响因素, 多糖得率作为评价指标, 采用  $L_9(3^4)$  正交试验<sup>[16]</sup>, 结果见表 2。由此可知, 各因素影响程度依次为  $B > A > C$ , 即料液比影响最小, 提取温度影响最大; 最优提

取工艺为  $A_3B_3C_3$ ，即料液比 1 : 32.5，提取温度 85 °C，提取时间 3.5 h。

表 2 正交试验结果

试验号	因素				多糖得率/%
	A	B	C	D (空白列)	
1	1	1	1	1	1.75
2	1	2	2	2	2.00
3	1	3	3	3	2.13
4	2	1	2	3	1.89
5	2	2	3	1	2.21
6	2	3	1	2	2.29
7	3	1	3	2	1.96
8	3	2	1	3	2.18
9	3	3	2	1	2.37
$K_1$	5.91	5.63	6.25	6.36	—
$K_2$	6.39	6.39	6.26	6.25	—
$K_3$	6.51	6.79	6.30	6.20	—
$k_1$	1.97	1.88	2.08	2.12	—
$k_2$	2.13	2.13	2.07	2.08	—
$k_3$	2.17	2.26	2.1	2.07	—
R	0.20	0.38	0.03	0.05	—

方差分析见表 3。由此可知，模型  $P < 0.05$ ，具有高度显著性；决定系数  $R^2 = 0.985$ ，调整后  $R^2 = 0.941$ ，表明模型预测值与实验值有较好的相关性；各因素影响程度依次为  $B > A > C$ ，与表 2 一致。

表 3 方差分析结果

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.299	6	0.050	22.323	0.043
时间	0.067	2	0.034	15.045	0.062
温度	0.231	2	0.116	51.821	0.019
料液比	0	2	0	0.104	0.905
误差	0.004	2	0.002	—	—
总计	39.616	9	—	—	—
修正后总计	0.304	8	—	—	—

取药材脱脂粉末 1 g，共 3 份，按上述优化工艺进行验证试验<sup>[6]</sup>，测得多糖得率分别为 2.31%、2.45%、2.54%，平均值为 2.43%，高于表 2 中的各组合，表明提取工艺优化成功。

3.3 红外光谱 由图 5 可知，3 419  $\text{cm}^{-1}$  为羟基特征吸收峰，2 935  $\text{cm}^{-1}$  为 C-H 伸缩振动吸收峰，1 737  $\text{cm}^{-1}$  为甲酯化的羰基特征振动吸收峰<sup>[17]</sup>，1 614  $\text{cm}^{-1}$  为自由羧基的羰基特征振动吸收峰，1 146、1 098、1 021  $\text{cm}^{-1}$  均为吡喃糖残基糖环的特征振动吸收峰，892  $\text{cm}^{-1}$  为  $\beta$ -糖苷键的特征吸收峰，833  $\text{cm}^{-1}$  为  $\alpha$ -糖苷键的特征吸收峰<sup>[18]</sup>，表明含有糖醛酸的酸性多糖。

3.4 分子量、理化指标 多糖分子量、总糖含量、蛋白含量分别为 40.85 kDa、80.45%、1.90%，表明该成分纯度高，分子量分布窄，重复性好，具有进一步开发利用的价值。

3.5 单糖组成 由图 6 可知，多糖是由 GalA、Gal、Glc、Ara、Rha、Man 组成的酸性杂多糖，相对摩尔比为 28.1 :

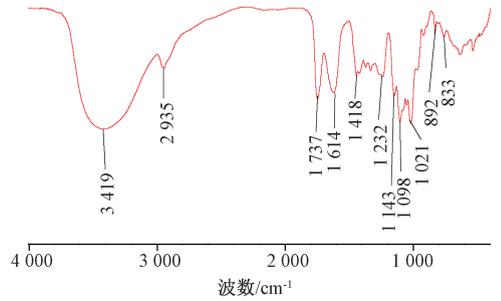


图 5 藏柴胡多糖红外光谱图

22.1 : 18.5 : 18.5 : 9.4 : 3.4，推测属于果胶类多糖。

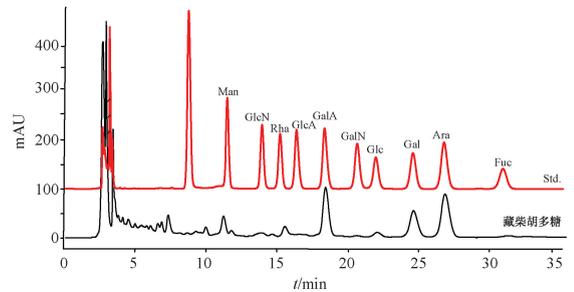


图 6 藏柴胡多糖单糖组成 HPLC 色谱图

### 3.6 抗氧化活性

3.6.1 DPPH 自由基 由图 7 可知，随着多糖质量浓度增加清除活性升高，在 0~5 mg/mL 范围内具有明显的浓度依赖性，为 5 mg/mL 时达到最大值 74.9%。

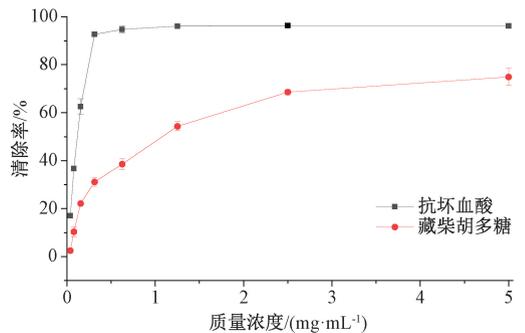


图 7 藏柴胡多糖对 DPPH 自由基的清除率

3.6.2 超氧阴离子自由基 由图 8 可知，随着多糖质量浓度增加清除活性升高，在 0~5 mg/mL 范围内具有明显的浓度依赖性，为 5 mg/mL 时达到最大值 51.7%。

3.6.3 羟自由基 由图 9 可知，随着多糖质量浓度增加清除活性升高，在 0~5 mg/mL 范围内具有明显的浓度依赖性，为 5 mg/mL 时达到最大值 70.5%。

3.7 降血脂活性 由图 10 可知，随着质量浓度增加多糖对胆酸盐的结合能力升高，其中对胆酸钠的结合能力最强，其次是对甘氨酸胆酸钠和牛磺胆酸钠；为 10 mg/mL 时与胆酸钠、牛磺胆酸钠、甘氨酸胆酸钠、混合胆酸盐的结合率分别为 57.9%、36.5%、45.0%、46.3%，表明多糖可通过与胆酸钠和甘氨酸胆酸钠结合来达到降血脂效果。

唐茹萌等<sup>[19]</sup>报道，裙带菜多糖质量浓度为 10 mg/mL

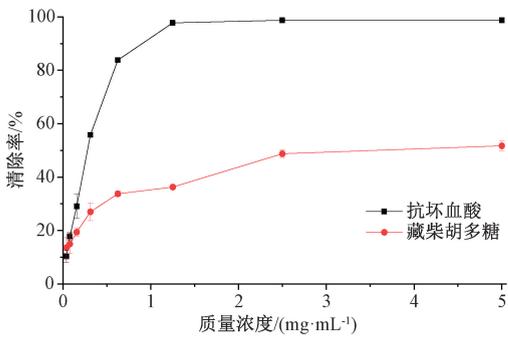


图 8 藏柴胡多糖对超氧阴离子自由基的清除率

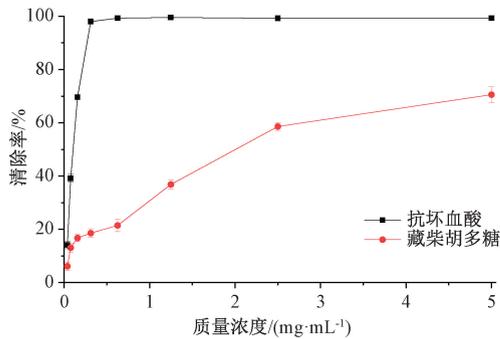


图 9 藏柴胡多糖对羟自由基的清除率

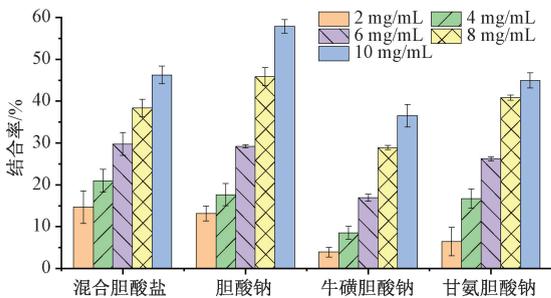


图 10 藏柴胡多糖对胆酸盐的结合率

时与牛磺胆酸钠的结合率为 52.3%；于美汇等<sup>[20]</sup>发现，黑木耳多糖对牛磺胆酸钠的结合率为 38.91%。另外，体内胆酸盐对降血脂和降胆固醇有重要作用，多糖较高的胆酸盐结合率可能与其复杂的空间结构和半乳糖醛酸含量有关<sup>[21-22]</sup>，具体机制还需进一步研究。

#### 4 讨论与结论

多糖结构与其活性密切相关，温和的提取条件有利于该成分结构的完整性，通过合理的工艺设计和参数优化可提高其得率，减少外界因素对其结构的影响。本实验发现，温度对多糖得率有显著影响，在最优提取工艺下其得率为 2.43%。

藏柴胡多糖是主要由 GalA、Gal、Glc 和 Ara 组成的杂多糖，具有一定的体外抗氧化活性和降血脂活性。本实验发现，藏柴胡多糖对 DPPH 自由基的清除效果最好，与胆酸钠的结合率最高，并且与其质量浓度呈正相关。

多糖可通过直接清除自由基、提高抗氧化酶活性、调节抗氧化相关基因表达等多种途径来发挥抗氧化作用，并

且具有显著抗氧化活性的该类成分也成为新型天然抗氧化剂的重要来源。药物通过与胆酸盐结合来降低其在肝肠循环过程中的积累，促进胆固醇的代谢，从而达到降血脂目的，目前已有多糖类药物在临床上用于降血脂。另外，不同来源、提取方法所得多糖结构不同，其抗氧化、降血脂作用也存在差异。

综上所述，本研究对藏柴胡多糖提取工艺的优化，以及对该成分抗氧化、降血脂活性的研究，可为其进一步开发利用奠定基础。

#### 参考文献:

- [1] 黄涵签, 王潇晗, 付航, 等. 柴胡属药用植物资源研究进展[J]. 中草药, 2017, 48(14): 2989-2996.
- [2] Huang H Q, Zhang X, Xu Z X, et al. Fast determination of saikosaponins in *Bupleurum* by rapid resolution liquid chromatography with evaporative light scattering detection[J]. *J Pharmaceut Biomed Anal*, 2009, 49(4): 1048-1055.
- [3] 席啸虎, 夏召弟, 王世伟, 等. 藏柴胡和北柴胡定性及 3 种成分定量的近红外光谱技术快速分析[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(2): 382-386.
- [4] Zhang G X, Wang H, Jiang J M, et al. The complete chloroplast genome of *Bupleurum marginatum* var. *stenophyllum* (H. Wolff) Shan & Yin Li (*Apiaceae*), a new substitution for Chinese medicinal material, *Bupleuri Radix* (Chai hu) [J]. *Mitochondrial DNA B*, 2021, 6(2): 441-443.
- [5] 邓寒霜, 杨丽娜. 响应面法优化柴胡多糖提取工艺[J]. 中国现代中药, 2018, 20(6): 742-747.
- [6] 陈雁雁, 赵雅兰, 张淑香, 等. Box-Behnken 响应面法优化柴胡多糖的超声提取工艺[J]. 化学工程师, 2022, 36(2): 71-75; 81.
- [7] DuBois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. *Anal Chem*, 1956, 28(3): 350-356.
- [8] 王占一, 廖成斌, 公金艳, 等. 石榴瓢多糖提取工艺的优化及其抑制透明质酸酶活性[J]. 中成药, 2020, 42(9): 2266-2271.
- [9] 任一杰, 赵小亮, 王宝忠, 等. 油橄榄叶多糖的提取工艺优化及其理化性质和抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2022, 43(23): 245-251.
- [10] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72(1-2): 248-254.
- [11] Wang L B, Li L Y, Gao J Y, et al. Characterization, antioxidant and immunomodulatory effects of selenized polysaccharides from dandelion roots [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 260: 117796.
- [12] Yuan Q X, Li H, Wang Q, et al. Deaminative-cleaved *S. monotuberculatus* fucosylated glycosaminoglycan: Structural elucidation and anticoagulant activity [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 298: 120072.

- [13] Wang X J, Zhao X L, Lv Y J, et al. Extraction, isolation and structural characterization of a novel polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 132: 864-870.
- [14] Wang L, Li X Y, Wang B B. Synthesis, characterization and antioxidant activity of selenium modified polysaccharides from *Hohenbuehelia serotina* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 120(Pt B): 1362-1368.
- [15] 樊伟伟, 陈洁, 黄惠华, 等. 海南苦丁茶浸提液对胆酸盐结合能力及其降血脂作用的研究[J]. *粮食与食品工业*, 2018, 25(4): 31-33; 37.
- [16] 魏倩倩, 夏梦瑶, 邓爱华, 等. 正交试验优化桃胶中多糖提取工艺[J]. *农产品加工*, 2022, 23(12): 24-26.
- [17] He M J, Yang Y J, Shao Z L, et al. Chemical structure and anticoagulant property of a novel sulfated polysaccharide from the green alga *Cladophora oligoclada* [J]. *Mar Drugs*, 2021, 19(10): 554.
- [18] Zheng T T, Gu D H, Wang X F, et al. Purification, characterization and immunomodulatory activity of polysaccharides from *Leccinum crocipodium* (Letellier.) Watliag [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 148: 647-656.
- [19] 唐茹萌, 焦文雅, 桑亚新, 等. 裙带菜多糖体外和体内降血脂活性[J]. *食品科学*, 2022, 43(1): 142-149.
- [20] 于美汇, 赵鑫, 尹红力, 等. 碱提醇沉黑木耳多糖体外和体内降血脂功能[J]. *食品科学*, 2017, 38(1): 232-237.
- [21] 钱雅雯, 魏佳, 张政, 等. 籽瓜多糖提取工艺的响应面优化及其降血脂活性[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(2): 101-107.
- [22] 蔡为荣, 孙元琳, 汤坚. 果胶多糖结构与降血脂研究进展[J]. *食品科学*, 2010, 31(5): 307-311.

## 金蝉花胶囊制备工艺优化及其质量标准建立

刘尚煜<sup>1</sup>, 廖扬振<sup>2</sup>, 皮继岚<sup>1</sup>, 吴敏<sup>1</sup>, 魏渊<sup>1</sup>, 欧阳臻\*

(1. 江苏大学药学院, 江苏镇江 212013; 2. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013)

**摘要:** 目的 优化金蝉花胶囊制备工艺, 并建立其质量标准。方法 以药辅比、辅料比(微晶纤维素:乳糖)、润湿剂(乙醇)体积分数、润湿剂用量为影响因素, 成型率、吸湿率、休止角、堆密度为评价指标, 正交试验优化制备工艺。TLC法定性鉴别腺苷, HPLC法测定尿苷、腺嘌呤、肌苷、鸟苷、腺苷、*N*<sup>6</sup>-(2-羟乙基)腺苷的含量。结果 最佳条件为微晶纤维素:乳糖比例1:4, 药辅比1:1, 加入颗粒总量25%的90%乙醇, 过20目筛, 在60℃下干燥30 min, 临界相对湿度为73%, 选用0号胶囊灌装。TLC斑点清晰, 分离度良好。6种成分在各自范围内线性关系良好( $r \geq 0.9999$ ), 平均加样回收率100.59%~102.08%, RSD 0.6%~1.8%。每粒胶囊含核苷类成分不低于3.231 mg/g。结论 该方法合理稳定, 可为金蝉花胶囊的实际生产及质量控制提供依据。

**关键词:** 金蝉花胶囊; 制备工艺; 质量标准; 正交试验; TLC; HPLC

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)06-1990-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.06.036

金蝉花又名蝉花, 为我国民间传统中药材, 最早记载于《雷公炮炙论》<sup>[1]</sup>。《证类本草》<sup>[2]</sup>记载, 蝉花可直接用于治疗婴幼儿“天吊, 惊痫瘦疰, 夜啼心悸”; 《本草纲目》<sup>[3]</sup>记载, “(蝉花)功同蝉蜕, 又止疰”, 可见其临床用药的安全性及有效性。现代研究表明, 金蝉花化学成分为多糖、核苷类、多球壳菌素、麦角甾醇等<sup>[4]</sup>, 具有抗衰老<sup>[5-10]</sup>、免疫调节<sup>[11]</sup>、改善肾功能<sup>[12]</sup>、抗肿瘤<sup>[13-14]</sup>、解热镇痛<sup>[15]</sup>等药理活性。

课题组前期对民间长期使用、确有疗效但未被法定

标准收录(或仅被地方标准收录)的金蝉花开展新药临床前研究, 为开发中药创新资源提供依据<sup>[16]</sup>, 并发现该药材浸膏吸湿性较大, 易受潮结块, 在高温、高湿环境下不稳定。为了提高金蝉花生物利用度及稳定性, 本实验将其制成胶囊剂, 在改善其吸湿性的同时可掩盖不良气味, 并优化其制备工艺, 再采用HPLC法测定尿苷、腺嘌呤、肌苷、鸟苷、腺苷、*N*<sup>6</sup>-(2-羟乙基)腺苷6种核苷类成分的含量, 以期为该制剂质量标准建立提供参考依据。

收稿日期: 2024-01-28

基金项目: 国家重点研发计划(中医药现代化研究专项)(2018YFC1706105); 中央本级重大增减支项目(2060302)

作者简介: 刘尚煜(1999—), 女, 硕士生, 从事中药新剂型、新制剂研究。Tel: 15110950009, E-mail: 2212115009@stmail. ujs. edu. cn

\*通信作者: 欧阳臻(1964—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药资源及新药研究。Tel: 13862440638, E-mail: zhenouyang@ ujs. edu. cn