DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251224002
引用格式: 廖贤, 于肇麒, 王春明, 等. 复方黄精膏提取工艺优化及其免疫调节活性评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(10): 46–57.
LIAO X, YU ZQ, WANG CM, *et al*. Optimization of extraction process and evaluation of immune regulating activity of compound *Polygonati rhizoma* ointment [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(10): 46–57. (in Chinese with English abstract).

复方黄精膏提取工艺优化及其免疫调节活性评价

廖　贤[1], 于肇麒[1], 王春明[2], 于静文[1], 李　猛[3], 于纯森[1*]

(1. 黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨　150040; 2. 哈尔滨誉研堂中医门诊集团股份有限公司, 哈尔滨　150040; 3. 黑龙江省绿色食品科学研究院, 哈尔滨　150040)

摘　要: 目的　优化复方黄精膏功效成分的提取工艺, 并评价其免疫调节活性。**方法**　以粗多糖、总皂苷、虫草素含量和干膏率为评价指标, 通过层次分析法(analytic hierarchy process, AHP)-客观赋权法(criteria importance through intercriteria correlation, CRITIC)混合加权法和 Box-Behnken 设计-响应面法对提取工艺参数进行优化; 采用碳廓清实验、迟发型变态反应实验和血清血溶素实验以评价其免疫调节活性。**结果**　复方黄精膏功效成分的最佳提取工艺为提取时间 117 min, 提取次数 3 次, 提取温度 94 ℃, 料液比 1:14 (g:mL)。复方黄精膏能增强小鼠迟发型变态反应能力, 提高单核-巨噬细胞的吞噬能力和血清溶血素的含量。**结论**　该工艺合理可行, 最佳工艺下提取的复方黄精膏具有良好的免疫调节活性, 为复方黄精膏的进一步开发与应用提供了参考。

关键词: 复方黄精膏; 提取工艺优化; 小鼠; 免疫调节活性

Optimization of extraction process and evaluation of immune regulating activity of compound *Polygonati rhizoma* ointment

LIAO Xian[1], YU Zhao-Qi[1], WANG Chun-Ming[2], YU Jing-Wen[1], LI Meng[3], YU Chun-Miao[1*]

(1. *College of Pharmacy*, *Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine*, *Harbin* 150040, *China*; 2. *Harbin Yuyantang Traditional Chinese Medicine Clinic Co*., *Ltd*., *Harbin* 150040, *China*; 3. *Heilongjiang Provincial Green Food Science Research Institute*, *Harbin* 150040, *China*)

ABSTRACT: Objective　To optimize the extraction process of the functional components of compound *Polygonati rhizoma* ointment and evaluate its immune regulating activity. **Methods**　Using crude polysaccharides, total saponins, cordycepin content and dry extract rate as evaluation indicators, the extraction process parameters were optimized through analytic hierarchy process (AHP)-criteria importance through intercriteria correlation (CRITIC) mixed weighting method and Box-Behnken design response surface methodology. Carbon clearance test, delayed type hypersensitivity test and serum hemolysin test were used to evaluate its immune regulating activity. **Results**　The optimal extraction process for the functional components of compound *Polygonati rhizoma* ointment was 117 min of extraction time, 3 times of extraction, extraction temperature of 94 ℃ and a solid-liquid ratio of 1:14 (g:mL). Compound *Polygonati rhizoma* ointment could enhance the delayed type hypersensitivity ability of mice, improve the

收稿日期: 2025-12-24
基金项目: 黑龙江省应用技术研究与开发计划项目(GA20C017); 黑龙江中医药大学科研基金项目(2019BJP04)
第一作者: 廖贤(1998—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为药食同源植物功能因子评价。E-mail: 905766197@qq.com
***通信作者:** 于纯森(1978—), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为中药保健食品研制与开发。E-mail: yuchunmiao@163.com

phagocytic ability of monocytes macrophages and increase the content of serum hemolysin. **Conclusion** The process is reasonable and feasible, and the compound *Polygonati rhizoma* ointment extracted under the optimal process has good immune regulatory activity, providing a reference for the further development and application of compound *Polygonati rhizoma* ointment.

KEY WORDS: compound *Polygonati rhizoma* ointment; extraction process optimization; mice; immune regulating activity

0　引　言

社会现代化进程加快, 人们生活与工作压力增大, 伴随作息、饮食不规律等问题, 导致机体免疫力普遍下降。人体感染病毒之后是否发病及病情轻重, 取决于病原体与机体免疫力的相互作用, 而病原体的最终清除依赖于免疫系统[1]。因此, 增强免疫功能对维护机体健康至关重要。在此背景下, 通过膳食调节免疫成为食品科学研究热点, 其中药食同源类中药因其作用温和, 能够逐渐增强或调节免疫功能而备受关注[2]。复方黄精膏由人参、黄精、枸杞、蛹虫草组成, 其中人参大补元气, 复脉固脱, 补脾益肺, 生津安神, 是治疗虚劳补益第一要药[3]。黄精补气养阴、健脾益肾, 能使五藏调和, 肌肉充盛, 骨髓强坚[4]。枸杞性平味润, 入肝肾经, 能补益精气、滋肝补肾, 对于腰膝酸痛、内热消渴以及血虚萎黄等虚劳精亏类疾病有显著效果[5]。蛹虫草入肺肾经, 能补肺阴、补肾阳, 调节阴阳平衡, 起扶正固本之功效。诸药合用, 共奏健脾益气、补肾填精之功, 达到增强免疫力之保健功效[6]。本研究旨在明确复方黄精膏的药效物质基础, 建立质量控制标准, 并开展动物实验揭示其作用机制, 在前人对于黄精单味药研究充分的基础上, 进一步探究本四味复方的药效成分与质量控制, 推动传统药食复方从经验应用走向标准化、现代化开发。

在目前允许申请的 24 种保健食品功能中, “有助于增强免疫力”功能声称产品数量位居各功能声称之首, 且每年批准的该功能声称产品在所有批准产品中占 30%左右, 其市场潜力巨大[7]。兰韬等[8]对 4620 种保健产品的有效成分数量进行分析, 发现“有助于增强免疫力”类产品对应的功效成分多达 46 种, 其中粗多糖、总皂苷以及虫草素均在其列。现有研究多集中于单一成分或常规复方的功效验证, 针对由人参、黄精、枸杞、蛹虫草组成的复方黄精膏, 其功效成分提取、定量分析及免疫调节作用研究仍较为缺乏。

基于此, 本研究以复方黄精膏为对象, 对其主要功效成分进行提取与分析, 提取工艺以粗多糖、总皂苷、虫草素含量和干膏率得率作为考察指标, 采用层次分析法(analytic hierarchy process, AHP)-客观赋权法(criteria importance through intercriteria correlation, CRITIC)法结合响应面实验优化复方黄精膏功效成分提取工艺, 以小鼠碳廓清实验、迟发型变态反应实验和血清血溶素实验评价复方黄精膏免疫调节活性, 旨在明确该复方的免疫调节物质基础, 为其质量评价、功效验证及后续开发提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　仪器与设备

RE52-99 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); SHZ-III型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸易有限公司); XMTA-608 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); ME203E 分析天平(精度 0.001 g, 瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); ZNHW 型数显控温电热套(上海力辰邦西仪器科技有限公司); SC-3610 低速离心机(安徽中科中佳科学仪器公司); SP-752 紫外-可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司); XMTD-204 数显式电热恒温水浴锅(上海跃进医疗器械有限公司); Spectra Max M2 型多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司); TGL-16G 型飞鸽牌高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂); C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent 1260 Infinity 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司)。

1.2　试剂与材料

人参皂苷标准品(纯度≥98%)、虫草素标准品(纯度≥98%)、葡萄糖标准品(纯度≥99%)、豚鼠血清补体、都氏试剂、巴比妥钠(sodium azide, SA)缓冲液(分析纯)(上海源叶生物科技有限公司); 香草醛、冰醋酸、高氯酸、甲醇、正丁醇、Na_2CO_3(分析纯, 天津市富宇精细化工有限公司); 苯酚、无水乙醇(分析纯, 西陇科学股份有限公司); 浓硫酸(分析纯, 天津市大茂有限公司); 绵羊红细胞(sheep red blood cell, SRBC)(广州鸿泉生物科技有限公司); 印度墨汁(海标科技有限公司); 生理盐水(哈尔滨三联药业股份有限公司); 注射用环磷酰胺(江苏恒瑞医药股份有限公司)。

黄精、人参、枸杞(哈药集团世一堂中药饮片有限责任公司); 蛹虫草(安徽美康源生物科技有限公司); 低聚异麦芽糖粉、木糖醇(山东福田药业有限公司); 陈皮汁(西安世泽源生物科技有限公司); 雄性 SPF 级 KM 小鼠, 体重 18~22 g, 由辽宁长生生物技术股份有限公司提供, 许可证号 SCXK(辽)2020-0001。

1.3　实验方法

1.3.1　复方黄精膏的提取工艺研究

按配方称取饮片: 黄精 15 g, 人参 3 g, 枸杞子 15 g, 蛹虫草 5 g, 加入一定比例水浸泡后, 采用加热回流提取法进行多次提取, 过滤药渣, 将提取液合并, 减压浓缩, 即得复方黄精膏功效成分水提液。

1.3.2 复方黄精膏中粗多糖、总皂苷、虫草素的含量测定

(1)对照品溶液的制备

取适量葡萄糖对照品, 精密称定后置于 10 mL 容量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 混匀, 即制成质量浓度为 0.1 mg/mL 的葡萄糖对照品储备液; 取适量人参皂苷 Re 标准样品, 置于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 混匀, 配制成质量浓度为 0.2 mg/mL 的人参皂苷 Re 对照品储备液; 取虫草素对照品适量, 置于 25 mL 容量瓶中, 用超纯水溶解并定容至刻度, 混匀, 即配制成质量浓度为 0.1 mg/mL 的虫草素对照品储备溶液[9−11]。

(2)供试品溶液的制备

取复方黄精膏功效成分水提液 1 mL, 加入无水乙醇 10 mL, 静置 24 h, 以 3500 r/min 离心 20 min, 分离沉淀与上清液, 分别按以下方法制备各供试品溶液: 取上述沉淀, 烘干后置于 100 mL 容量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 超声溶解 15 min, 精密移取 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加蒸馏水定容至刻度, 摇匀, 即得粗多糖供试品溶液; 取上述上清液, 挥干, 残渣加 5 mL 蒸馏水溶解, 转移至分液漏斗中, 加入 30 mL 水饱和正丁醇, 萃取 3 次(每次 1 h), 合并正丁醇层, 于 60 ℃减压浓缩至干, 残渣用甲醇溶解并转移至 50 mL 容量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 即得总皂苷供试品溶液; 取上述上清液, 烘干, 残渣加超纯水溶解并转移至 5 mL 容量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得虫草素供试品溶液。

取不同体积葡萄糖对照品储备液, 分别加入蒸馏水稀释成质量浓度为 10、20、30、40、50、60 μg/mL 的标准系列溶液, 分别取 1 mL 于试管中, 每份加入 1 mL 5%苯酚试液、5 mL 浓硫酸, 涡旋混匀 5 s, 90 ℃水浴 30 min 后, 冰水浴冷却至室温, 于 490 nm 波长处测定吸光度值。

取人参皂苷 Re 对照品储备液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mL 于 10 mL 具塞试管中, 置水浴中挥干溶剂, 依次加入 0.2 mL 5%香草醛溶液、0.8 mL 高氯酸, 轻摇混匀至残渣溶解, 置 60 ℃水浴中加热 15 min, 取出, 冰水浴冷却至室温后, 加入 5.0 mL 冰乙酸, 摇匀, 以相应溶剂为空白, 立即于 560 nm 波长处测定吸光度值。

取不同体积的虫草素对照品储备液, 加超纯水稀释成质量浓度为 20、40、60、80、100 μg/mL 的标准系列溶液, 以甲醇-水(15:85, *V*:*V*)作为流动相; 色谱柱: C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流速: 1 mL/min; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 260 nm; 进样量: 10 μL, 以上作为色谱条件进行峰面积测定。

1.3.3 干膏率的测定

吸取功效成分提取液 20 mL, 转移至已称重的干燥蒸发皿中, 于水浴锅上蒸至近干后, 放入 105 ℃真空干燥箱中烘干至恒重, 冷却后精密称定其重量, 按公式(1)[12]计算干膏率:

干膏率/%=[(干膏重量/g×提取液总体积/mL)/(饮片总重/g×取样量/mL)]×100% (1)

1.3.4 综合评分计算公式的确定

根据配方组成及预实验结果, 设置粗多糖、总皂苷、虫草素、干膏率的权重系数分别为 0.3、0.3、0.3、0.1, 在单因素考察过程中的综合评分计算公式(2)如下:

综合评分=[(粗多糖含量/最大粗多糖含量)×0.3+(总皂苷含量/最大总皂苷含量)×0.3+(虫草素含量/最大虫草素含量)×0.3+(干膏率/最大干膏率)×0.1]×100 (2)

式中: 粗多糖、最大粗多糖、总皂苷、最大总皂苷、虫草素、最大虫草素含量单位均为 mg/g; 干膏率、最大干膏率单位为%。

1.3.5 单因素考察

按原料配方量准确称取中药饮片, 加水至饮片全部浸没, 每隔 30 min 滤出吸水膨胀后的饮片, 并称量饮片的总重量, 直至重量不再发生变化, 则表明饮片吸水量已达饱和。按公式(3)计算各时间节点的吸水率:

吸水率/%=[(饮片吸水后重量/g–饮片吸水前重量/g)/饮片吸水前重量/g]×100% (3)

以浸泡时间为横坐标(*X*, min), 含水率为纵坐标(*Y*, %)绘图, 考察饮片浸泡时间对综合评分的影响。

按原料配方量分别称取饮片, 加水浸泡 120 min 后, 根据文献[13]方法修改如下: 各因素固定水平为:提取温度 80 ℃, 提取次数 2 次, 提取时间 1.5 h, 料液比 1:12 (g:mL, 下同), 考察的浸泡时间分别为 30、60、90、120、150 min; 考察的提取温度分别为 60、70、80、90、100 ℃; 考察的提取次数分别为 1、2、3 次; 考察的提取时间分别为 30、60、90、120、150 min; 考察的料液比分别为 1:8、1:10、1:12、1:14、1:16。加热回流提取, 测定功效成分粗多糖、总皂苷、虫草素含量和干膏率, 考察各单因素指标对综合评分的影响。

1.3.6 Box-Behnken 响应面实验设计

在单因素实验基础上, 以功效成分粗多糖、总皂苷、虫草素含量、干膏率为评价指标, 料液比(*A*)、提取时间(*B*)、提取温度(*C*)、提取次数(*D*)为影响因素, 按–1、0、1 的水平进行 Box-Behnken 响应面实验设计, 因素水平表见表 1。

表 1 Box-Behnken 响应面法因素水平

Table 1 Factors and levels for Box-Behnken response surface method

因素	水平		
	–1	0	1
A(料液比)(g:mL)	1:12	1:14	1:16
B(提取时间)/min	90	120	150
C(提取温度)/℃	80	90	100
D(提取次数)/次	1	2	3

1.3.7 指标权重的确定

本研究在指标成分重要性的选择上, 主要基于各药的

功能主治以及药理作用强弱。根据各成分对复方黄精膏药效的贴合度确定优先顺序为: 粗多糖含量>总皂苷含量>虫草素含量>出膏率, 并由此确定权重系数。在水提法的基础上, 将 AHP-CRITIC 混合加权法运用到复方黄精膏的提取过程中, 使得确定权重系数的方案更加符合主客观相统一的原则, 实验结果更科学、合理。AHP 法是一种常用来解决多目标复杂问题的综合分析方法, 通过将定量分析和定性分析相结合, 用研究者的经验判断各目标成分之间的相对重要性, 构建判断矩阵, 使用特征根法或一致性指标计算判断矩阵的权重向量, 并最终求解各指标权重, 选择出最佳方案[14]。

(1) AHP 法确定权重系数

根据复方黄精膏中各原料的功能主治、有效成分含量及药理作用强弱, 将虫草素含量、粗多糖含量、总皂苷含量和干膏率作为权重指标予以量化, 即将 4 个指标分为 4 个层次, 并确定各指标的优先顺序为粗多糖含量>总皂苷含量>虫草素含量>出膏率, 构建两两成对比较的优先判断矩阵, 同时赋予各指标相对评分。

(2) CRITIC 法确定权重系数

CRITIC 法主要通过指标成分的对比强度和指标之间的冲突性, 对指标进行客观赋权, 能减少指标之间信息的重叠, 有利于得到合理可信的评价结果[15]。在水提法的基础上, 本研究将 AHP-CRITIC 混合加权法运用到复方黄精膏的提取过程中, 使得确定权重系数的方案更加符合主客观相统一的原则, 实验结果更科学更合理[16]。与单一活性成分的提取相比, 该方法的优势在于能够同时提取多种活性成分, 并对活性成分作出科学合理的综合评价, 这不仅能够大大提高中药复方成分的提取效率, 还能够充分利用各活性成分之间的协同作用, 提高复方的药效, 为中药复方制剂中多种功效成分的提取工艺研究提供一定参考。根据公式(4)计算指标成分值, 将响应面实验结果中的数据进行无量纲化处理, 并输入 SPSS 21.0 软件中, 得到 4×4 相关系数矩阵。

$$\text{指标成分值}=(\text{实测值}-\text{最小值})/(\text{最大值}-\text{最小值}) \quad (4)$$

(3) AHP-CRITIC 混合加权法

根据公式(5)计算出干膏率、粗多糖、虫草素、总皂苷的权重系数。

$$\omega_{综合ij}=\omega_{\mathrm{AHP}ij}\times\omega_{\mathrm{CRITIC}ij}/\sum(\omega_{\mathrm{AHP}ij}\times\omega_{\mathrm{CRITIC}ij}) \quad (5)$$

式中: $\omega_{综合ij}$ 为计算得出的最终权重; $\omega_{\mathrm{AHP}ij}$ 为通过 AHP 法计算得到的主观权重; $\omega_{\mathrm{CRITIC}ij}$ 为通过 CRITIC 法计算得到的主观权重。

1.3.8　复方黄精膏有助于增强免疫力功能实验研究

(1)复方黄精膏的制备

取原料配方量饮片, 浸泡 2 h, 分别加入 14 倍量水加热回流提取 3 次, 合并提取液, 减压浓缩得相对密度不低于 1.20 的清膏, 再按优化后的辅料量, 加入 15%的甜味剂(木糖醇:低聚异麦芽糖=3:2, *m*:*m*)、10%的陈皮汁, 混合均匀, 加热浓缩至相对密度约为 1.30 时, 冷却即得。

(2)动物分组与灌胃

正常适应性喂养小鼠一周, 温度条件为 20~26 ℃, 湿度 40%~70%, 12 h 日光昼夜交替照明, 实验室定时通风排气, 实验期间动物自由饮水进食。将小鼠分为碳廓清实验组(A 组)、迟发型变态反应及血清血溶素组(B 组), 每组各 50 只, 再将 A 组、B 组小鼠分别按体重随机分为 5 组, 即空白对照组、模型组、复方黄精膏低、中、高剂量组, 每组各 10 只。空白对照组和模型组小鼠给予同体积蒸馏水, 复方黄精膏低、中、高剂量组灌胃量分别为 6.50、16.25、32.50 g/(kg·d)(相当于人体推荐用量的 2、5、10 倍)。每日按 0.2 mL/10 g 的容量经口灌胃给予受试物, 每日 2 次, 连续灌胃 30 d, 每周称重 1 次。

(3)碳廓清实验

A 组小鼠除空白组外其他各组小鼠从灌胃第 21 d 开始造模, 连续 3 d 灌胃后腹腔注射环磷酰胺[40 mg/(kg·d)]。最后一次灌胃结束后, 采用尾静脉注射法向小鼠体内注入 4 倍稀释印度墨汁(10 mL/kg)。注入墨汁后第 2 min (t_1)、10 min (t_2), 分别从内眦静脉丛取血 20 μL, 并立即将其加入到 2 mL 0.1% Na_2CO_3 溶液中。以 0.1% Na_2CO_3 溶液作空白对照, 在 600 nm 波长处测定光密度值(OD), 2 min 时记录为 OD_1、10 min 时记录为 OD_2。将小鼠处死, 取肝脏和脾脏, 用滤纸吸干脏器表面血污, 分别称重。按下式计算吞噬指数 *a*。以吞噬指数 *a* 表示小鼠的碳廓清能力, *k* 代表碳阔清速率常数。计算如公式(6)和(7)所示。

$$k=(\lg OD_1-\lg OD_2)/(t_2-t_1) \quad (6)$$

$$a=\text{体重}/(\text{肝重}+\text{脾重})\times\sqrt[3]{k} \quad (7)$$

(4)迟发型变态反应实验

B 组小鼠除空白组外其他各组小鼠从灌胃第 21 d 开始造模, 连续 3 d 灌胃后腹腔注射环磷酰胺[40 mg/(kg·d)]。灌胃第 25 d, 除空白组外, 各组小鼠腹腔注射 0.2 mL 2% (*V*:*V*) SRBC 细胞悬液, 进行初次免疫。免疫 4 d 后, 测量左后足跖部厚度, 然后在测量部位皮下注射 20% (*V*:*V*) SRBC 细胞悬液, 每只鼠 20 μL, 注射后于 24 h 测量左后足跖部厚度, 同一部位测量 3 次, 取平均值。以两次攻击前后的平均值差值代表小鼠足趾增厚的程度。

(5)血清溶血素实验

迟发性变态反应测量完成后, 各组小鼠眼球取血于离心管中, 放置 1 h, 血清充分析出后, 2000 r/min 离心 10 min, 收集上层血清。取 20 μL 血清, 用 SA 缓冲液按 1:200 (*V*:*V*) 比例稀释。将稀释后的血清 1 mL 置试管内, 依次加入 10% (*V*:*V*) SRBC 细胞悬液 0.5 mL、豚鼠血清补体[用 SA 缓冲液按 1:8 (*V*:*V*)稀释]1 mL。另设不加血清的对照管(以 SA 缓冲液替代)。置 37 ℃恒温水浴中保温 30 min 后, 冰浴终止反应, 2000 r/min 离心 10 min, 取上清液 1 mL, 加都氏试剂 3 mL,

同时取 10% (*V*:*V*) SRBC 0.25 mL 加都氏试剂至 4 mL，充分混匀，放置 10 min 后，以空白管作对照，于 540 nm 处以对照管作空白，分别测定各管光密度值。按公式(8)计算半数溶血值(50% hemolytic complement, HC_{50})。用 HC_{50} 代表小鼠体内血清溶血素含量。

HC_{50} = (样品光密度值/半数溶血管的光密度值)×稀释倍数 (8)

1.4 数据处理

对相关实验结果进行处理，每组数据以平均值±标准偏差描述，运用 SPSS 21.0 软件对数据进行方差齐性和正态分布检验，满足上述条件后，采用单因素方差分析比较多组之间的差异性，用 Origin 2019 软件作图，P<0.05 和 P<0.01 均代表差异显著。

2 结果与分析

2.1 复方黄精膏提取工艺优化

2.1.1 线性关系考察结果

以质量浓度为横坐标(X, mg/mL 或 μg/mL)，吸光度或峰面积为纵坐标(Y)，绘制标准曲线，得出线性回归方程，粗多糖的回归方程为 Y_1=0.01X_1–0.0115，决定系数 r^2=0.9992，线性范围为 10~60 μg/mL；总皂苷的回归方程为 Y_2=5.9375X_2–0.034，决定系数 r^2=0.9989，线性范围以 mg/mL 计；虫草素的回归方程为 Y_3=32.609X_3–9.0328，决定系数 r^2=9998，线性范围为 20~100 μg/mL。

2.1.2 单因素实验考察结果

(1)饮片浸泡时间考察结果

饮片浸泡可使药物成分能顺利溶解后析出到药液中，减少煎制的时间，增加药效。由图 1(A)可知，随着浸泡时间的延长，饮片吸水率在不断增加，在浸泡时间 120~150 min 时饮片吸水量已达饱和(吸水率为 121.2%~122.9%)，经单因素方差分析，不同浸泡时间点的吸水率差异具有统计学意义(P<0.05)。浸泡初期饮片内部存在大量自由空间和孔隙，因此吸水速率较快，饮片内部的孔隙逐渐被水分填充，当继续延长浸泡时间，饮片的吸水量也不会显著增加，即吸水量已达饱和。为节省时间成本，故将饮片浸泡时间定为 120 min。

(2)料液比考察结果

由图 1(B)可知，综合评分在料液比为 1:14 (g:mL)时最高，经单因素方差分析，不同料液比的综合评分差异具有统计学意义(P<0.05)。当料液比较小时，溶剂相对较少，饮片中的活性成分不能充分溶解出来，当料液比进一步增大到 1:14 (g:mL)时，饮片与溶剂的比例达到平衡状态，活性成分提取效果最好，综合评分达最大值。当料液比继续增大时，饮片中的活性成分可能已经达到溶解的饱和状态，额外的溶剂并不能有效提升提取效果，反而可能导致有效成分的稀释，降低综合评分。综上所述，在本研究条件下，最佳料液比为 1:14 (g:mL)。

(3)提取时间考察结果

由图 1(C)可知，综合评分随着提取时间的延长呈上升趋势，经单因素方差分析，不同提取时间下的综合评分差异具有统计学意义(P<0.05)。当提取时间为 150 min 时，综合评分最高，这可能是由于饮片内的活性成分的溶解度随时间延长而提高，或是由于随提取时间的延长，溶剂能够进一步渗入饮片的内部，促进活性成分的溶解。随时间的进一步延长，评分增长的幅度逐渐减少。为减少时间成本，最佳提取时间定为 120 min。

(4)提取次数考察结果

由图 1(D)可知，提取 2 次时的综合评分最高，经单因素方差分析，不同提取次数下的综合评分差异具有统计学意义(P<0.05)。综合评分呈现先升高后降低的趋势，可能是因为尽管第 1 次已经提取了一部分活性成分，饮片中仍存在一些未完全溶解的活性成分，第 2 次提取进一步提取出了这些成分，而第 3 次提取时，大部分活性成分已被前两次提取获取，而过多次数的提取可能导致某些活性成分结构变化，降低了综合评分。综上所述，在本研究条件下，最佳提取次数为 2 次。

(5)提取温度考察结果

由图 1(E)可知，在 60~100 ℃范围内，综合评分随温度的升高而升高，且趋势显著，经单因素方差分析，不同提取温度下的综合评分差异具有统计学意义(P<0.05)。分析原因可能是温度提高了饮片活性成分的溶解度，随着温度升高，分子运动速度加快，这有利于活性成分从饮片中向溶剂中扩散，较高的温度也有可能会破坏饮片的细胞壁和细胞膜，使更多的活性成分暴露出来。综上所述，在本研究条件下，最佳提取温度为 100 ℃。

2.1.3 Box-Behnken 响应面实验结果

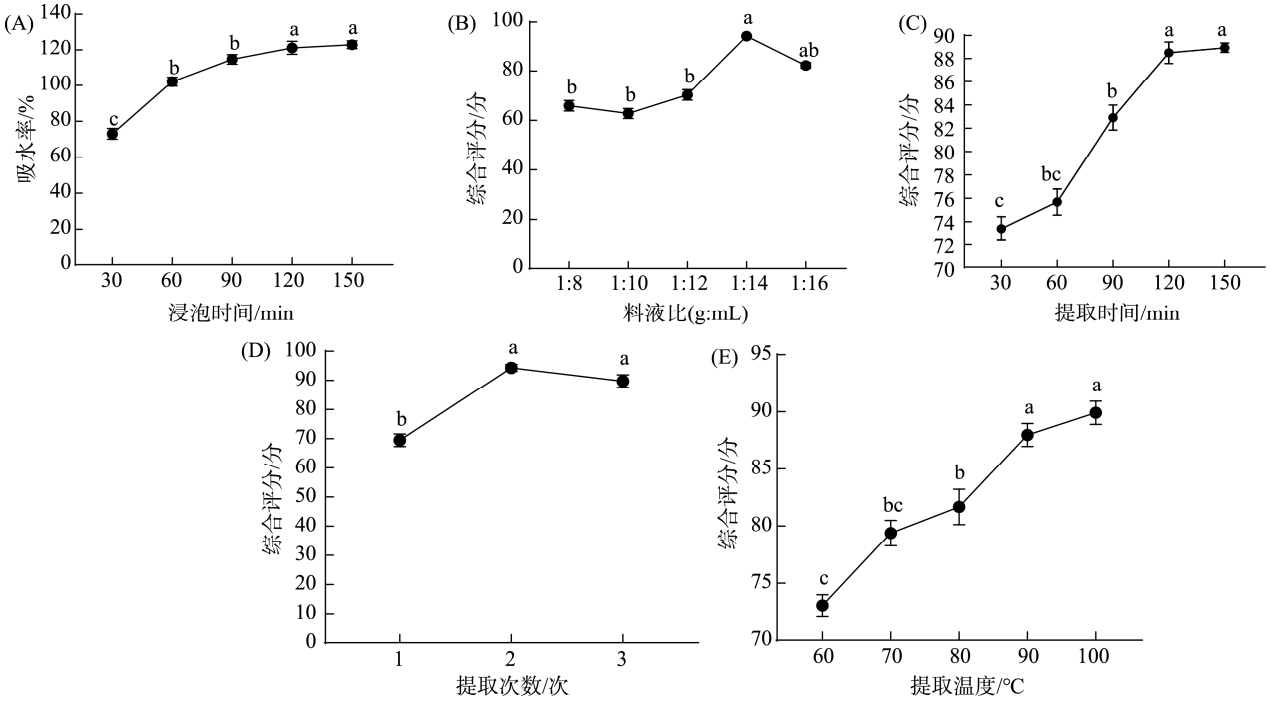
按照–1、0、1 的水平设置料液比(A)、提取时间(B)、提取温度(C)、提取次数(D)，得到 Box-Behnken 响应面因素水平表(表 1)，以粗多糖、总皂苷、虫草素含量以及干膏率作为评价指标进行 29 次平行实验，实验设计与结果见表 2。

2.1.4 指标权重的确定结果

本研究在指标成分重要性的选择上，主要基于各药的功能主治以及药理作用强弱。根据各成分对复方黄精膏药效的贴合度确定优先顺序为：粗多糖含量>总皂苷含量>虫草素含量>出膏率，并由此确定权重系数。

(1) AHP 法权重系数

根据评分结果，4 项指标粗多糖、总皂苷、虫草素、干膏率经层次分析后得到的权重系数分别为 0.4673、0.2772、0.1601、0.0954(表 3)，最大特征根(λ)为 4.0310，一致性比例因子(consistency ratio, CR)=0.0116<0.10，即指标优先比较判断矩阵具有满意的一致性，权重系数有效。



注: 不同小写字母表示有显著性差异(P<0.05)。

图 1　单因素实验结果图

Fig.1　Graph of the results of the single-factor experiment

表 2　Box-Behnken 响应面法设计与结果

Table 2　Design and results for Box-Behnken response surface method

序号	*A*	*B*	*C*	*D*	干膏率/%	粗多糖含量/(mg/g)	虫草素含量/(mg/g)	总皂苷含量/(mg/g)
1	0	–1	1	0	55.68	53.83	0.16	2.38
2	0	0	0	0	53.90	51.46	0.26	2.14
3	–1	0	–1	0	50.80	45.18	0.21	1.68
4	0	–1	–1	0	46.98	37.26	0.18	2.22
5	0	0	–1	1	54.68	40.22	0.19	1.82
6	0	0	0	0	58.66	57.57	0.23	2.36
7	0	1	–1	0	50.08	41.40	0.17	2.09
8	0	0	–1	–1	47.54	36.26	0.21	2.11
9	0	1	1	0	52.51	48.89	0.22	1.67
10	–1	0	1	0	53.55	48.58	0.13	2.15
11	0	0	0	0	54.03	55.82	0.23	2.48
12	0	0	0	0	59.62	54.41	0.20	2.91
13	1	0	0	–1	46.84	27.65	0.16	1.84
14	0	–1	0	–1	47.98	29.99	0.21	1.76
15	0	–1	0	1	50.55	36.56	0.22	2.42
16	0	0	0	0	43.78	58.21	0.19	2.90
17	0	1	0	–1	45.83	36.42	0.20	1.56
18	0	0	1	1	55.26	53.95	0.23	2.43
19	–1	0	0	1	51.67	34.50	0.17	2.52
20	1	0	–1	0	48.96	29.30	0.16	1.93
21	1	–1	0	0	47.92	39.34	0.18	2.05

表 2(续)

序号	*A*	*B*	*C*	*D*	干膏率/%	粗多糖含量/(mg/g)	虫草素含量/(mg/g)	总皂苷含量/(mg/g)
22	–1	–1	0	0	49.74	38.07	0.14	2.22
23	0	0	1	–1	43.52	35.03	0.23	1.77
24	1	1	0	0	57.75	41.93	0.14	2.01
25	0	1	0	1	57.82	61.19	0.15	2.58
26	–1	0	0	–1	49.40	35.30	0.23	1.80
27	1	0	0	1	53.28	46.35	0.19	2.15
28	–1	1	0	0	55.86	41.03	0.21	2.14
29	1	0	1	0	42.78	39.84	0.24	2.21

表 3 AHP 法指标成对比较的判断优先矩阵

Table 3 Judgment priority matrix for pairwise comparison of AHP indicators

权重指标	粗多糖	总皂苷	虫草素	干膏率	权重系数
粗多糖	1	2	3	4	0.4673
总皂苷	1/2	1	2	3	0.2772
虫草素	1/3	1/2	1	2	0.1601
干膏率	1/4	1/3	1/2	1	0.0954

(2) CRITIC 法权重系数

将响应面实验结果中的数据进行无量纲化处理，并输入 SPSS 21.0 软件中，得到 4×4 相关系数矩阵，见表 4。利用公式(4)、(9)~(11)计算指标间的标准差(σ_j)、相关系数(r_{ij})、冲突性(R_j)初始权重系数(C_j)、归一化权重系数($\omega_{j\mathrm{CRITIC}}$)，得到干膏率、粗多糖、虫草素、总皂苷的权重系数分别为 0.2501、0.1939、0.3324、0.2236(表 5)。

$$R_j=\sum_{i=1}^{n}\left(1-r_{ij}\right) \tag{9}$$

$$C_j=\sigma_j\sum_{i=1}^{n}\left(1-r_{ij}\right) \tag{10}$$

$$\omega_{j\mathrm{CRITIC}}=C_i/\sum_{j}^{n}C_j \tag{11}$$

表 4 CRITIC 相关系数矩阵

Table 4 Correlation coefficient matrices for CRITIC

指标	干膏率	粗多糖含量	虫草素含量	总皂苷含量
干膏率	1.0000	0.5804	–0.1190	0.3406
粗多糖含量	0.5804	1.0000	0.1268	0.6100
虫草素含量	–0.1190	0.1268	1.0000	–0.0784
总皂苷含量	0.3406	0.6100	–0.0784	1.0000

表 5 CRITIC 法各指标数值

Table 5 Index values of CRITIC method

评价指标	干膏率	粗多糖	虫草素	总皂苷
σ_j	0.2767	0.2801	0.2632	0.2555
R_j	2.1980	1.6827	3.0705	2.1277
C_j	0.6081	0.4713	0.8080	0.5436
$\omega_{\mathrm{CRITIC}j}$	0.2501	0.1939	0.3324	0.2236

(3) AHP-CRITIC 混合加权法权重系数

根据公式(5)计算出干膏率、粗多糖、虫草素、总皂苷的权重系数分别为 0.1039、0.3945、0.2317、0.2699。

(4)响应面实验结果分析

将 AHP-CRITIC 混合加权法得出的权重系数代入综合评分公式=干膏率/最大干膏率×ω 干膏率 + 粗多糖含量/最大粗多糖含量×ω 粗多糖含量 + 虫草素含量/最大虫草素含量×ω 虫草素含量 + 总皂苷含量/最大总皂苷含量×ω 总皂苷含量中，即得响应面实验结果的综合评分。用 Design Expert 13 软件对综合评分进行响应面分析，得到关于综合评分的二次多元回归拟合方程如下：Y=88.61–1.67A+1.52B+3.91C+6.26D–2.03AB+3.85AC+4.41AD–1.49BC+3.02BD+5.24CD–11.80A^2–7.77B^2–6.92C^2–8.73D^2。由方差分析表 6 可知，本模型的 P<0.0001，显著性极强，失拟项 P 为 0.1766>0.05，不显著，说明未知因素对模型的干扰

表 6 方差分析

Table 6 Analysis of varianceis

来源	平方和	自由度	均方	*F*	*P*	显著性
模型	2415.94	14	172.57	24.49	<0.0001	***
A	33.60	1	33.60	4.77	0.0465	*
B	27.63	1	27.63	3.92	0.0677	ns
C	183.54	1	183.54	26.04	0.0002	**
D	470.25	1	470.25	66.73	<0.0001	***
AB	16.44	1	16.44	2.33	0.1489	ns
AC	59.37	1	59.37	8.42	0.0116	*
AD	77.97	1	77.97	11.06	0.0050	**
BC	8.94	1	8.94	1.27	0.2790	ns
BD	36.48	1	36.48	5.18	0.0391	*
CD	110.04	1	110.04	15.62	0.0014	**
A^2	902.90	1	902.90	128.13	<0.0001	***
B^2	391.80	1	391.80	55.60	<0.0001	***
C^2	310.79	1	310.79	44.10	<0.0001	***
D^2	493.86	1	493.86	70.08	<0.0001	***
残差	98.66	14	7.05			
失拟项	85.87	10	8.59	2.69	0.1766	ns
误差	12.78	4	3.20			
总和	2514.60	28				

注：*表示差异显著(P<0.05)；**表示差异极显著(P<0.01)；***表示差异强极显著(P<0.001)；ns 无显著性差异(P>0.05)。

较小，方程的拟合程度好。回归方程的决定系数 R^2=0.9608，校正系数 R^2_{adj}=0.9215，表明该模型预测准确，可用于数据分析。其中因素 *A*、*C*、*D* 对综合评分的影响均为显著(P<0.05、P<0.01 和 P<0.001)，*B* 不显著(P>0.05)；交互项 *AC*、*BD*、*AD*、*CD* 对综合评分的影响显著(P<0.05 和 P<0.01)，*AB*、*BC* 不显著(P>0.05)；二次项 A^2、B^2、C^2、D^2 对综合评分的影响极其显著(P<0.001)。通过对 *F* 大小的比较，可得出料液比、提取时间、提取温度、提取次数这 4 个因素对综合评分的影响程度，各因素的 *F* 分别为 4.77、3.92、26.04 以及 66.73。因此，各因素对复方黄精膏提取工艺的综合评分的影响依次是提取次数>提取温度>料液比>提取时间。

响应面分析结果见图 2。观察等高线图的形状和响应面曲线的陡峭程度，等高线的形状越椭圆，三维曲面变化越陡峭，说明两因素之间的交互作用越强，对综合评分的影响越显著[17]。由图 2 可知，料液比与提取次数、提取温度

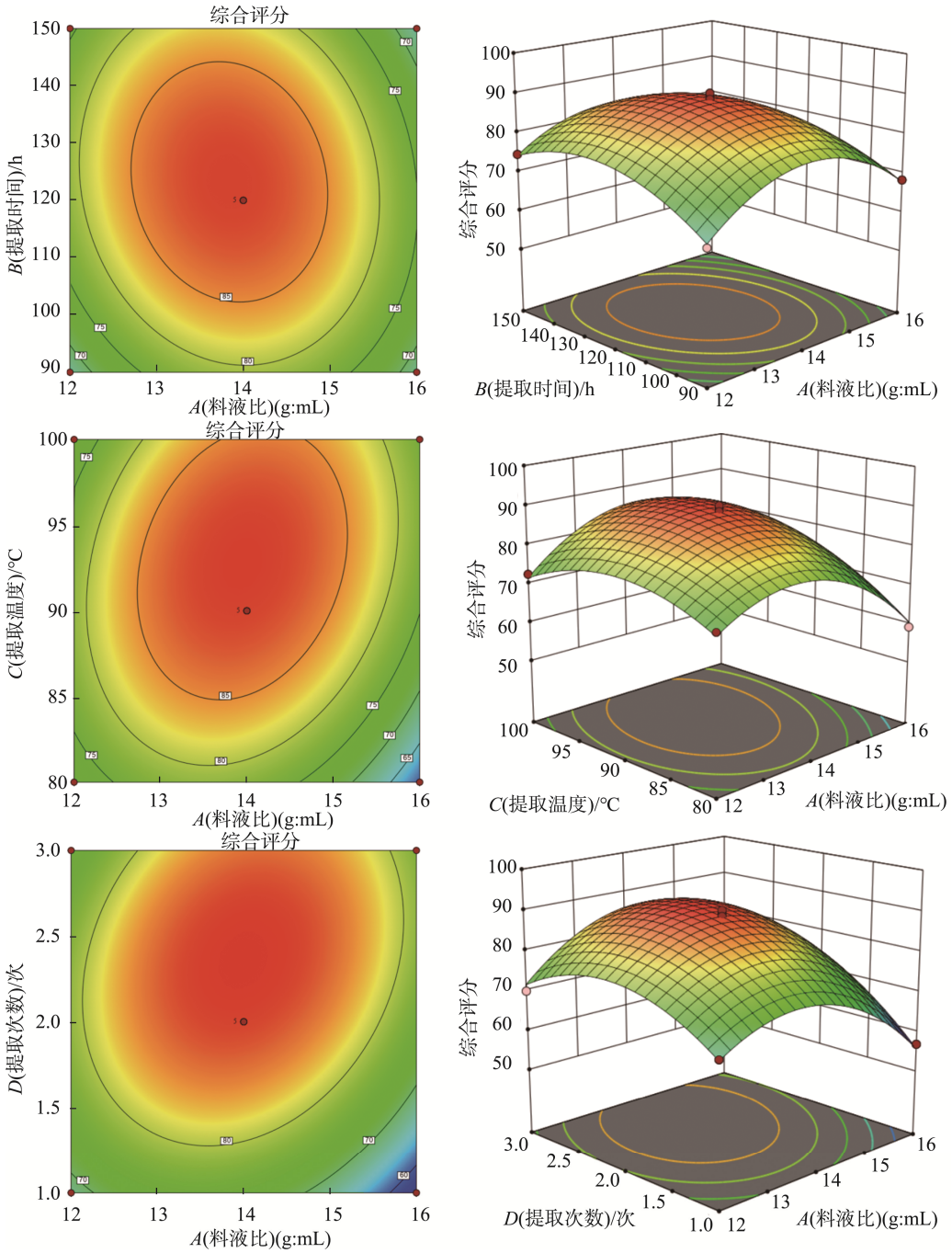


图 2　响应面分析结果图

Fig.2　Graphs of response surface analysis result

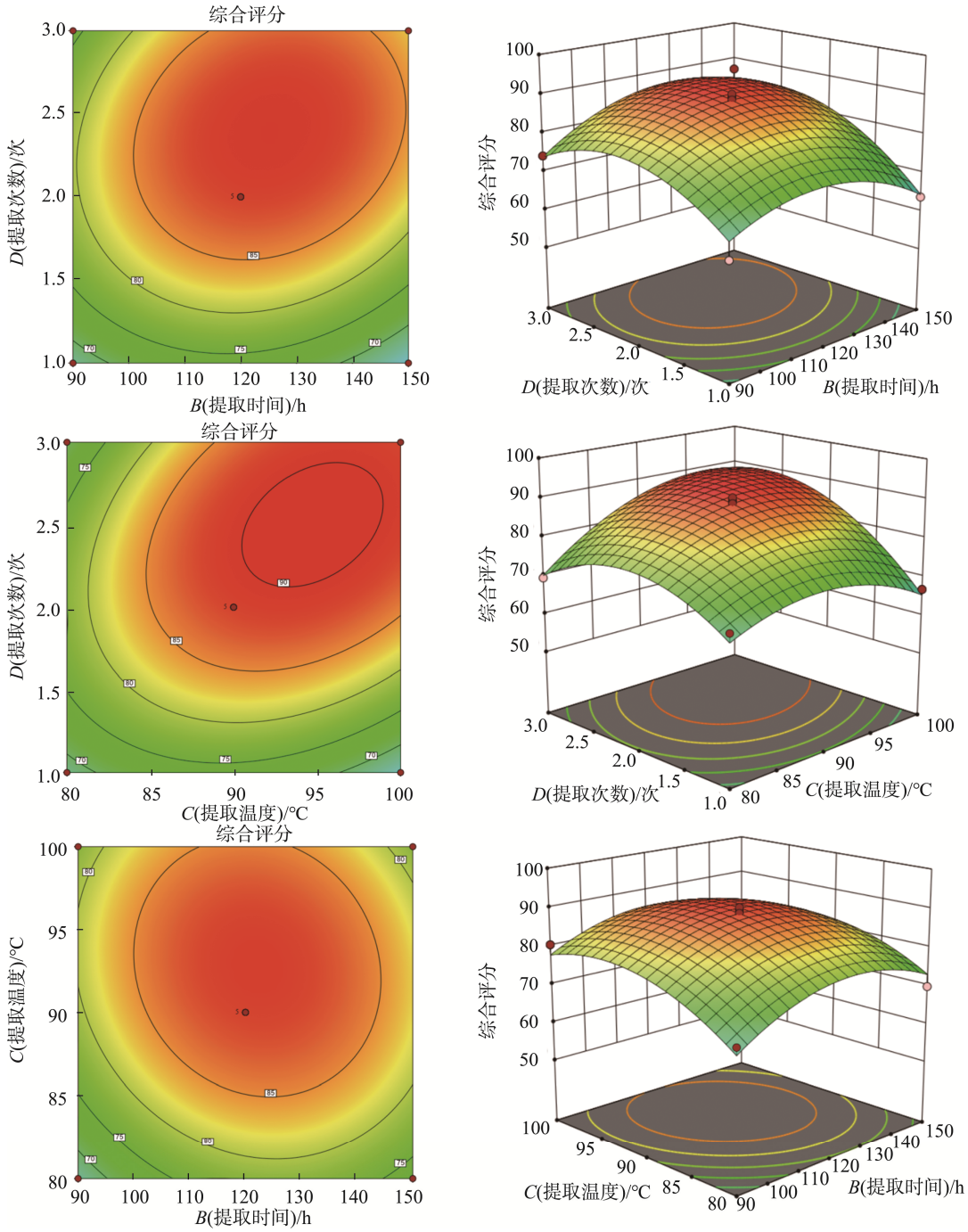


图 2(续) 响应面分析结果图

Fig.2 Graphs of response surface analysis result

与提取次数两两之间的交互作用很强，对综合评分的影响达到了极显著的水平。料液比与提取温度、提取时间与提取次数两两之间的交互作用较强，对综合评分的影响达到了较为显著的水平。料液比与提取时间、提取时间与提取温度两两之间的交互作用不强，对综合评分的影响不显著。该结果与方差分析的结果一致。

(5)响应面方案优化及验证

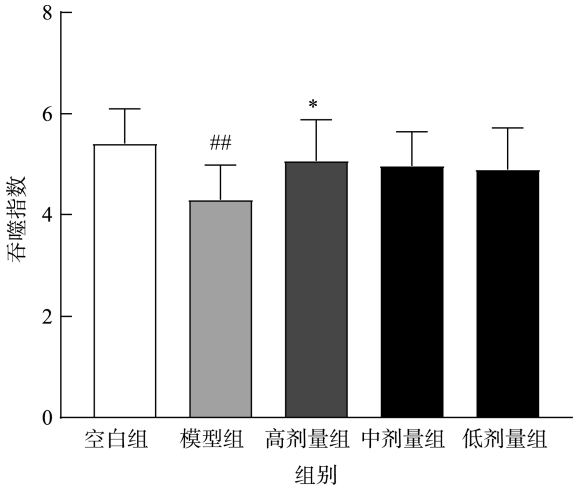
利用 Design-Expert 13 进行数据分析，得到最优提取工艺参数为：料液比为 1:13.807 (g:mL)、提取时间为 117.416 min、提取温度为 94.337 ℃、提取次数为 2.647 次，综合评分值为 90.170。考虑到实际生产的可行性，将复方黄精膏功效成分提取工艺条件调整为：料液比 1:14 (g:mL)，提取时间 117 min，提取温度 94 ℃，提取次数 3 次。响应面优化后的提取次数为 3 次，与单因素考察中的提取次数 2 次存在差异，可能是因为当其他因素未达到最优水平时，提取次数增加可能无法显著提升综合评分，甚至因杂质溶

出增多而拉低综合评分, 因此, 单因素实验中的最佳提取次数 2 次是在其他因素设定下的局部最优解, 而非全局最优解。根据上述条件, 进行 3 次平行验证实验, 得到综合评分的平均值为 89.671, 与预测值接近。说明该模型预测准确, 此工艺合理可行。

2.2　动物实验结果

2.2.1　复方黄精膏对小鼠碳廓清能力的影响

由图 3 可知, 与空白组相比, 模型组的吞噬指数明显更低(P<0.01)。3 个剂量组的吞噬指数相较于模型组均有上升的趋势, 其中高剂量组的吞噬指数上升较为显著(P<0.05), 而低、中剂量组的吞噬指数虽保持升高的状态, 但并无显著差异(P>0.05)。碳廓清实验常用于研究小鼠在饮食紊乱或病理状态下的肝、脾重量变化, 以此来评价小鼠脏器生理状态和健康状况[18]。通过测定间隔时间内血液中碳颗粒被清除的速率, 根据相关公式计算吞噬指数, 吞噬指数越高, 表明单核-巨噬细胞的免疫活性越强[19]。本研究结果表明, 小鼠注射环磷酰胺后, 模型组吞噬指数下降迅速。这说明体内单核-巨噬细胞受到损伤, 细胞吞噬能力减弱[20], 而复方黄精膏剂量组能减轻这种损害, 对增强免疫力有一定效果。



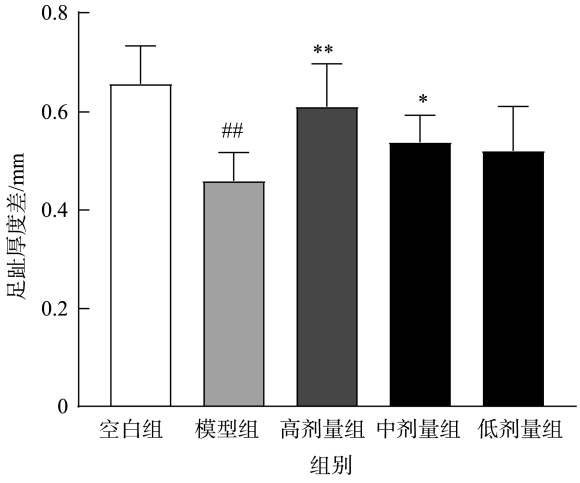
注: 与模型组相比, *表示差异显著(P<0.05); 与空白组相比, ##表示差异极显著(P<0.01), 下同。

图 3　不同剂量对小鼠碳廓清能力的影响(n=10)

Fig.3　Effects of different dosage groups on carbon clearance ability in mice (n=10)

2.2.2　复方黄精膏对小鼠迟发型变态反应的影响

由图 4 可知, 经 30 d 给药喂养后, 模型组小鼠的足跖厚度差值明显低于空白组(P<0.01), 说明模型组小鼠发生了迟发变态反应, 免疫抑制动物模型建立成功。相比于模型组, 复方黄精膏各剂量组的足跖厚度差值均有所上升, 其中的高剂量组差异极显著(P<0.01), 中剂量组差异显著(P<0.05), 低剂量组差异并不明显(P>0.05)。迟发型变态反应是已免疫的机体在再次接受相同抗原物质后产生的异常免疫反应[21], 往往会产生过强的免疫应答, 体内的 T 淋巴细胞会释放各种细胞因子, 破坏靶细胞, 造成局部肿胀[22]。小鼠腹腔注射绵羊红细胞悬液能刺激体内形成致敏淋巴细胞[23], 当以相同抗原再次进行免疫攻击时, 会导致局部出现以细胞坏死为特征的炎性反应, 表现为局部肿胀, 肿胀程度越高, 机体免疫能力越强[24]。可通过小鼠的足跖肿胀程度表现来评价细胞免疫功能的作用[25]。迟发型变态反应结果表明, 模型组小鼠较空白组足跖肿胀程度更低, 而复方黄精膏高、中剂量组会明显促进足跖肿胀程度, 对免疫抑制模型小鼠细胞免疫功能有一定增强作用。



注: 与模型组相比, **表示差异极显著(P<0.01), 下同。

图 4　迟发型变态反应实验结果

Fig.4　Results of delayed type hypersensitivity test

2.2.3　复方黄精膏对小鼠血清溶血素生成的影响

由图 5 可知, 与空白组相比较, 模型组 HC_{50} 明显较低(P<0.01), 复方黄精膏剂量组的 HC_{50} 随给药浓度的增加而升高, 高剂量组极显著地升高 HC_{50} (P<0.01), 中剂量组显著升高 HC_{50} (P<0.05), 低剂量组虽能升高 HC_{50}, 但无统计

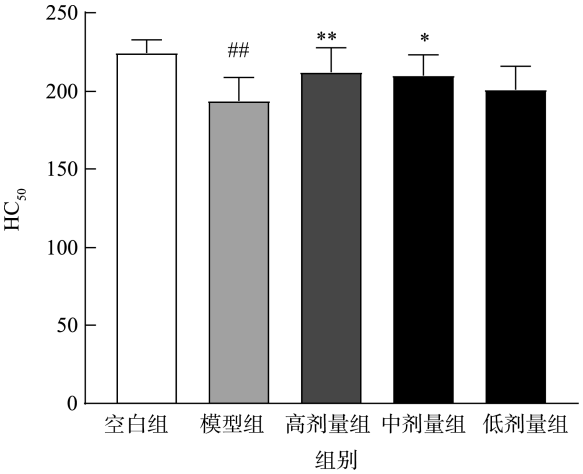


图 5　血清血溶素实验结果

Fig.5　Results of the serum hemolysin test

学意义(P>0.05)。血清溶血素会刺激体内细胞产生抗体，从而消除抗原[26]。血清溶血素含量水平是判定体液免疫功能强弱的重要指标之一[27]，其含量的高低能够反映出体液免疫的强弱[28]。在机体受到外来刺激因子的干扰时，会激活 B 细胞产生相应的抗体溶血素[29]，在补体的作用下，两者反应会发生溶血现象，血液中的蛋白质被释放出来，此时对血红蛋白的含量进行测定，即可判断出小鼠血清中溶血素的含量[30]。本研究结果表明，复方黄精膏能有效增加小鼠体内血清溶血素的含量，提高免疫抑制条件下抗体的含量，增强机体体液免疫防御能力。

3 结 论

本研究以复方黄精膏为研究对象，系统优化其提取工艺，并考察其对小鼠免疫功能的增强作用。在工艺优化方面，采用 AHP-CRITIC 混合加权结合 Box-Behnken 设计-响应面法优化复方黄精膏的最佳提取工艺为料液比 1:14 (g:mL)、提取时间 117 min、提取温度 94 ℃、提取次数 3 次。相比于传统的水煎煮法[31]，该工艺的提取率更高，能耗更低，可显著提高粗多糖、总皂苷、虫草素等关键功效成分的溶出率，干膏得率更高且成分保留更完整，避免了高温长时间煎煮导致的有效成分破坏，工艺更稳定，可控性更强，具有良好的工业放大潜力，有助于提高复方黄精膏实际生产量，同时也为其成品质量控制研究奠定了基础。动物实验结果表明，最优提取工艺下制备的复方黄精膏可以增强免疫抑制小鼠迟发型变态反应能力，提高单核-巨噬细胞吞噬能力，提高血清溶血素的含量水平。进一步分析提示，其免疫增强作用具有明确的物质基础和靶向性：粗多糖主要介导巨噬细胞活化与固有免疫增强，虫草素调节 T 淋巴细胞增殖与细胞免疫应答，总皂苷可提升抗体水平，增强体液免疫，三者协同实现多靶点的免疫调节效应，较单一成分作用更全面，更能体现复方整体功效。综上，本研究不仅建立了高效、稳定的复方黄精膏提取工艺，且通过动物实验验证了其免疫增强作用，揭示出其具有开发为增强免疫力保健食品的潜力，后续可进一步开展体内外机制研究，深入解析各功效成分对免疫细胞分化、细胞因子分泌及关键信号通路的调控机制，为其精准应用提供更充分的理论支撑。

参考文献

[1] WUBBEN R, EFSTATHIOU C, STEVENSON NJ. The interplay between the immune system and viruses [J]. Vitamins and Hormones, 2021, 117: 1–15.

[2] 王茵, 沈岚, 汪晓凌, 等. 药食同源补益气血中药的保健功能及机制概述[J]. 食品与药品, 2021, 23(5): 470–472.
WANG Y, SHEN L, WANG XL, *et al*. Overview of the health functions and mechanisms of traditional Chinese medicine for Nourishing Qi and blood through the same origin of medicine and food [J]. Food and Drug, 2021, 23(5): 470–472.

[3] 杜莹, 邸晴, 赵相轩. 人参化学成分与药理作用研究进展[J]. 药学前沿, 2025, 29(9): 1576–1592.
DU Y, DI Q, ZHAO XX. Research progress on chemical components and pharmacological effects of ginseng [J]. Frontiers of Pharmacy, 2025, 29(9): 1576–1592.

[4] 龚四丽, 管彦辉, 杨国琴, 等. 滇黄精黄芪速溶茶提取工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(21): 284–293.
GONG SL, GUAN YH, YANG GQ, *et al*. Optimization of extraction technology and analysis of antioxidant activity of *Polygonatum kingianum* and *Astragalus membranaceus* instant tea [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(21): 284–293.

[5] 王雨心, 李金洋, 胡婷婷. 枸杞子化学成分和药理作用研究进展[J]. 广州化工, 2024, 52(24): 1–4.
WANG YX, LI JY, HU TT. Research progress on the chemical components and pharmacological effects of *Lycium barbarum* L. berries [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2024, 52(24): 1–4.

[6] 任思竹, 宋蕊, 尹啸天, 等. 蛹虫草活性成分及药用功效研究进展[J]. 安徽农业科学, 2025, 53(13): 7–11.
REN SZ, SONG R, YIN XT, *et al*. Research progress on active components and medicinal effects of *Cordyceps militaris* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2025, 53(13): 7–11.

[7] 萨翼, 陈广耀, 王进博, 等. 已批准增强免疫力功能的中药类保健食品现状及监管建议[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5): 885–890.
SA Y, CHEN GY, WANG JB, *et al*. The current status and regulatory recommendations of traditional Chinese medicine health foods that have been approved to enhance immune function [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2019, 44(5): 885–890.

[8] 兰韬, 吴琦, 赵琳, 等. 保健食品功效成分、功能声称及其检测标准现状研究[J].食品工业科技, 2021, 42(1): 387–396.
LAN T, WU Q, ZHAO L, *et al*. Research on the current status of functional Ingredients, functional claims, and testing standards of health food [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(1): 387–396.

[9] 王迎香, 唐子惟, 彭腾, 等. 苯酚-硫酸法测定酒蒸多花黄精多糖的含量优化[J]. 食品工业科技, 2021, 42(18): 309–310.
WANG YX, TANG ZW, PENG T, *et al*. Optimization of phenol sulfuric acid method for determination of polysaccharides in distilled *Polygonatum sibiricum* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(18): 309–310.

[10] 戴万生, 毕露露, 邱斌, 等. 黄精总皂苷的提取和含量测定方法研究[J]. 云南中医中药杂志, 2023, 44(2): 74–76.
DAI WS, BI LL, QIU B, *et al*. Research on the extraction and content determination method of total saponins in *Polygonatum sibiricum* [J]. Yunnan Journal of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2023, 44(2): 74–76.

[11] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
National Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia (volume 1) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.

[12] 田明鑫, 倪昌荣, 周洪亮, 等. 昆葵保肾颗粒提取工艺优化[J]. 中成药, 2023, 45(12): 4067.
TIAN MX, NI CR, ZHOU HL, *et al*. Optimization of extraction process for Kunkui Baoshen granules [J]. Chinese Traditional Patent Medicine,

2023, 45(12): 4067.

[13] 彭志苹, 张景艳, 郭志延, 等. 蛹虫草培养残基中虫草素的水热回流提取及含量测定[J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49(9): 3333–3342.
PENG ZP, ZHANG JY, GUO ZY, *et al*. Hydrothermal reflux extraction and content determination of cordycepin from *Cordyceps militaris* culture residue [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2022, 49(9): 3333–3342.

[14] 刘莹昕, 刘飒, 王威尧. 层次分析法的权重计算及其应用[J]. 沈阳大学学报(自然科学版), 2014, 26(5): 372–375.
LIU YX, LIU S, WANG WY. Weight calculation and application of analytic hierarchy process [J]. Journal of Shenyang University (Natural Science), 2014, 26(5): 372–375.

[15] 赵亚丽, 张斯琪, 鲁文茜, 等. 基于多指标权重分析和正交设计法优选如意金黄散复方提取工艺[J]. 中国新药杂志, 2021, 30(15): 1428–1434.
ZHAO YL, ZHANG SQ, LU WQ, *et al.* Optimization of extraction process for Ruyi Jinhuang powder compound based on multi index weight analysis and orthogonal design method [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2021, 30(15): 1428–1434.

[16] 郭丽, 于晓涛, 董敬远, 等. 基于 AHP-CRITIC 混合加权法和 Box-Behnken 设计-响应面法优化半夏桃红颗粒成型工艺[J]. 食品与药品, 2025, 27(4): 311–316.
GUO L, YU XT, DONG JY, *et al*. Optimization of the forming process of semen trichosanthis and peach red granules based on the AHP-CRITIC hybrid weighting method and box-behnken design-response surface methodology [J]. Food and Drug, 2025, 27(4): 311–316.

[17] 王丹华, 汤邝杰, 曾雷, 等. 响应面法优化提取五指毛桃总香豆素及其抗氧化活性研究[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2023, 36(4): 49–50.
WANG DH, TANG KJ, ZENG L, *et al*. Optimization of total coumarin extraction and antioxidant activity in five fingered peach using response surface methodology [J]. Journal of Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2023, 36(4): 49–50.

[18] 陈远兴, 申茜, 王骥, 等. 红芪口服液增强免疫力的药理作用研究[J]. 天津中医药, 2022, 39(4): 501.
CHEN YX, SHEN Q, WANG J, *et al*. Pharmacological study on enhancing immunity with Hongqi oral liquid [J]. Tianjin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2022, 39(4): 501.

[19] 黄茂林, 林伟明, 林晓玲, 等. 辣木叶提取物的制备工艺优化及其对免疫抑制小鼠免疫功能调节的研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(13): 2697–2704.
HUANG ML, LIN WM, LIN XL, *et al*. Optimization of preparation process of moringa leaf extract and its effect on immune function regulation in immunosuppressed mice [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2018, 43(13): 2697–2704.

[20] 张凤丽, 黄文琪, 赵立娜. 菌草灵芝醇提物对免疫损伤小鼠的改善作用[J]. 中国食品学报, 2025, 25(1): 151–159.
ZHANG FL, HUANG WQ, ZHAO LN. The improvement effect of alcohol extract of *Ganoderma lucidum* grown on mushroom grass on immunosuppressed mice [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2025, 25(1): 151–159.

[21] 曹隆檬, 金虎, 林梅瑟. 活性氧响应性纳米粒对小鼠氧化应激和炎症因子表达的影响[J]. 江苏医药, 2024, 50(4): 325–329.
CAO LM, JIN H, LIN MS. The effect of reactive oxygen species-responsive nanoparticles on oxidative stress and inflammatory factor expression in mice [J]. Jiangsu Medical Journal, 2024, 50(4): 325–329.

[22] 冯学轩, 王弋, 严家荣, 等. 天然蛋白与酵母 β-葡聚糖组合物增强免疫力功能研究[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(16): 1941–1942.
FENG XX, WANG Y, YAN JR, *et al*. Study on the enhancement of immune function by the combination of natural protein and yeast β-glucan [J]. Chinese Journal of Immunology, 2021, 37(16): 1941–1942.

[23] 周洁心, 敬璞, 舒邦金, 等. 人参养生酒对小鼠免疫功能调节作用的研究[J]. 食品与发酵科技, 2024, 60(1): 93–98.
ZHOU JX, JING P, SHU BJ, *et al*. Study on the regulatory effect of Ginseng health wine on the immune function of mice [J]. Food and Fermentation Science & Technology, 2024, 60(1): 93–98.

[24] 刘柘君, 刘振权, 孙文燕. 复方益生菌粉提高小鼠免疫力的实验研究[J]. 食品与药品, 2023, 25(5): 458–460.
LIU TJ, LIU ZQ, SUN WY. Experimental study on the improvement of mouse immunity by compound probiotic powder [J]. Food and Drug, 2023, 25(5): 458–460.

[25] 邓颖, 金璨, 段志豪, 等. 资木瓜总苷对 RA 模型小鼠的骨保护作用及机制[J]. 中国药房, 2023, 34(9): 1042–1047.
DENG Y, JIN C, DUAN ZH, *et al*. The bone protective effect and mechanism of total saponins from wood papaya on RA model mice [J]. Chinese Pharmacy, 2023, 34(9): 1042–1047.

[26] 刘艳杰, 刘立, 王晶. 浓缩归脾丸对苯中毒小鼠 T 细胞亚群、血清溶血素、粒-巨噬细胞集落刺激因子的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(12): 5256–5259.
LIU YJ, LIU L, WANG J. The effect of concentrated Guipi pill on T cell subsets, serum hemolysin, and granulocyte macrophage colony-stimulating factor in benzene poisoned mice [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2016, 31(12): 5256–5259.

[27] 王祺, 白长川, 于雪峰, 等. 抗感方对实验小鼠免疫调节及抗 H1N1 流感病毒作用探究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2025, 27(7): 10–15.
WANG Q, BAI CC, YU XF, *et al*. Study on the immune regulation and anti-H1N1 influenza virus effects of anti-influenza formula in experimental mice [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2025, 27(7): 10–15.

[28] 马微微, 李玫玟, 马青, 等. 乳双歧杆菌 XLTG11 对小鼠免疫功能的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(31): 104–105.
MA WW, LI WW, MA Q, *et al*. The effect of Bifidobacterium lactis XLTG11 on immune function in mice [J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(31): 104–105.

[29] 何凤琴, 田贞, 闫冰洁, 等. 东亚钳蝎高粱酒对小鼠抗体和免疫细胞活性的影响[J]. 西安文理学院学报(自然科学版), 2023, 26(2): 57–62.
HE FQ, TIAN Z, YAN BJ, *et al*. The effects of scorpion (*Buthus martensii* Karsch) brandy on antibody and immune cell activity in mice [J]. Journal of Xi'an University (Natural Science Edition), 2023, 26(2): 57–62.

[30] TIMMONS GA, O'SIORAIN JR, KENNEDY OD, *et al*. Innate rhythms: Clocks at the center of monocyte and macrophage function [J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11(1): 1743.

[31] 侯婷婷, 耿春叶, 杨迎, 等. 复方黄精口服液的制备工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(2): 353–256.
HOU TT, GENG CY, YANG Y, *et al*. Study on preparation technology of compound polygonati oral liquid [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2023, 34(2): 353–356.

(责任编辑: 安香玉　韩晓红)