DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.03.028

夜交藤多糖提取工艺优化、结构表征及抗氧化活性研究

韩其茂[1],庞子鑫[2],陈璐[1],张诗嘉[2],张洪财[2]
(1.黑龙江中医药大学附属第一医院,黑龙江 哈尔滨 150040;2.黑龙江中医药大学,黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:目的 优化水提醇沉法提取夜交藤多糖工艺条件。方法 利用水提醇沉法提取夜交藤多糖,进行三因素实验。在此基础上,设计响应面实验(Box-Benhnken Design,BBD),进行数据拟合,优化其水提醇沉工艺。并对其多糖进行结构初步表征,抗氧化活性测定。结果 夜交藤多糖水浸醇提的最佳提取条件:料液比1∶22.11(g/mL),回流时间129 min 36 s,次数为3次。5次提取率的平均值为4.324%,与系统预测值4.313%相近。经PMP衍生后HPLC分析,结果表明,夜交藤多糖主要是由Man、Rha、Glc、Gal组成,其摩尔比为29.87∶3.36∶51.25∶39.98。红外光谱可见多糖3420、1600、1000 cm^{-1}特征峰。多糖(Y-TD)对DPPH、ABTS自由基的清除率分别为78.2%和85.4%。结论 Box-Behnken响应面设计优化水提醇沉提取工艺稳定可靠,可用于提取具有抗氧化活性的夜交藤多糖。

关键词:夜交藤;多糖;设计响应面实验(BBD);结构表征;抗氧化
中图分类号:R284.2 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)03-0154-08

Optimization of Extraction Process, Structural Characterization and Antioxidant Activity of Polysaccharides from Yejiaoteng (Tuber Fleeceflower Stem)

HAN Qimao[1], PANG Zixin[2], CHEN Lu[1], ZHANG Shijia[2], ZHANG Hongcai[2]
(1. The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, Heilongjiang, China;
2. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, Heilongjiang, China)

Abstract: *Objective* To optimize the process conditions for extracting polysaccharides from Yejiaoteng (Tuber Fleeceflower Stem) using water extraction and alcohol precipitation method. *Method* Water extraction and alcohol precipitation were used to extract polysaccharides from Yejiaoteng (Tuber Fleeceflower Stem), and a three-factor experiment was conducted. On this basis, a Box Benhnken (BBD) response surface experiment was designed, integrating the experimental results and fitting the data. A fitting model was established for the degree of influence between factors and response values, and its water extraction and alcohol precipitation process were optimized. And it preliminarily characterized the structure of its polysaccharides and determined their antioxidant activity. *Result* The optimal extraction conditions for water extraction and alcohol extraction of polysaccharides from Yejiaoteng (Tuber Fleeceflower Stem) were a solid-liquid ratio of 1∶22.11 (g/mL), reflux time of 129 min 36 s, 3 times. The average extraction rate of 5 times was 4.324%, which was close to the system's predicted value of 4.313%. After PMP derivatization and HPLC analysis, the results showed that the polysaccharides of Yejiaoteng (Tuber Fleeceflower Stem) were mainly composed of Man, Rha, Glc and Gal, with a molar ratio of 29.87∶3.36∶51.25∶39.98. The infrared spectrum showed characteristic peaks of polysaccharides at 3420, 1600, 1000 cm^{-1}. The clearance rates of polysaccharides (Y-TD) on DPPH and ABTS free radicals were 78.2% and 85.4%, respectively. *Conclusion* Box-Behnken response surface design optimization of water extraction and alcohol precipitation extraction process is stable and reliable, and can be used to extract polysaccharides from Yejiaoteng (Tuber Fleeceflower Stem) with antioxidant activity.

Keywords: Yejiaoteng (Tuber Fleeceflower Stem); polysaccharide; Box-Behnken designed (BBD) surface response methodology; structural characterization; antioxidant

夜交藤被《中华人民共和国药典》记为首乌藤,为蓼科植物何首乌 *Fallopia multiflora* (Thunb.) Harald.的干燥藤茎,其性甘、味平,归心、肝经,具有疏散风邪、活血通络之功效[1]。用于治疗失眠,痹证、脑卒中、高血压病、皮肤疾病、腹泻型肠易激综合征、乳腺疾病等[2-7]。现代药理学证明,其具有抗阿尔茨海默病、抗菌抗炎、抗焦虑、降血脂、降血糖、抗氧化、影响失眠大鼠额叶皮层神经元线粒体结构和功能等[8-12]作用。其主要化学成分包括:蒽醌类、黄酮类、二苯乙烯苷类等[13];其中大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷被证实是夜交藤中改善睡眠的活性成分之一[14]。

基金项目:国家自然科学基金项目(81803711);黑龙江省自然科学基金项目(PL2024H210);黑龙江省中医药科研项目(ZHY2023-166);黑龙江中医药大学科研基金项目(2019MS08)
作者简介:韩其茂(1984-),男,黑龙江哈尔滨人,主治医师,博士,研究方向:中药治疗干燥综合征、类风湿关节炎的药效物质基础。
通讯作者:张洪财(1983-),男,黑龙江绥芬河人,副研究员,硕士研究生导师,博士,研究方向:中药化学成分提取工艺优化及活性。E-mail:zhanghongcai-237@163.com。

目前,植物多糖提取主要有溶剂提取法、酸提法、碱提法、酶解法、超声法、微波法超临界流体萃取法等方法[15]。设计响应面实验(BBD)设计于1960年由Box和Bebnken提出[16],Box-Behnken响应曲面分析法广泛应用于环境保护、制剂优化、食品、成分提取等领域[17-22]。本研究以夜交藤为原料,采用适合工业化生产的水提法提取夜交藤多糖,以夜交藤多糖产率做对比,各因素选出产率较高的3个水平,设计Box-Benhnken响应面实验,建立因素与响应值之间的影响程度的拟合模型,优化夜交藤多糖水提醇沉工艺,以期提高得率,进行结构初步表征及活性评价,为其多糖开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

夜交藤中药材:黑龙江中医药大学附属第一医院提供,黑龙江中医药大学药学院生药教研室孙慧峰教授鉴定为廖科植物何首乌 *Fallopia multiflora* (Thunb.) Harald. 的干燥藤茎;苯酚:分析纯,天津基准化学试剂有限公司;无水乙醇:分析纯,天津市北辰方正试剂厂;其余有机溶剂均为国产分析纯。

DZTW型调温电热套(北京市永光明医疗仪器有限公司);DZF-6020MBE型鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);UV-1800型紫外-可见分光光度计(岛津企业管理有限公司);DK-98-I型超级恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);BSA124S电子分析天平(上海科晓科学仪器有限公司);Specac 2T迷你压片机(Specac公司);2695-2998高效液相色谱仪(美国沃特斯)。

1.2 实验方法

1.2.1 *标准曲线的建立* 采用"苯酚-浓硫酸法"进行测定[23-26]。葡萄糖标准溶液的配制,精确称取105 ℃干燥至恒重的葡萄糖20 mg,置于500 mL容量瓶中,加双蒸水溶解定容,摇匀,即制得浓度为0.04 mg/mL的葡萄糖标准品溶液。标准曲线的制备,分别先依次精密吸取该标准溶液0.2、0.4、0.8、1.0、1.2、1.8 mL,加蒸馏水补充至2.0 mL,加6%苯酚试液1.0 mL,摇匀,均匀滴加浓硫酸5.0 mL,摇匀,静置10 min,在沸水浴中加热15 min,取出,冷却至室温。另以蒸馏水2.0 mL做空白对照,标准曲线以葡萄糖含量(mg/mL)为横坐标,以吸光度值(Abs)为纵坐标。

1.2.2 *夜交藤多糖提取工艺流程* 多糖的提取工艺如下,将干燥后的药材使用粉碎机打碎,取夜交藤粗粉末10.00 g置于圆底烧瓶中,加入适应比例的蒸馏水,使用恒温电热套加热回流。合并提取液,抽滤,滤液浓缩至20 mL,加入4倍量的乙醇(95%),充分搅拌,室温下静置12 h,抽滤,收集沉淀物,60 ℃于鼓风干燥箱烘干,粉碎研磨,得粗多糖粉末。

1.2.3 *含量测定* 多糖含量的测定和计算,精密称取干燥恒重夜交藤粗多糖粉末100 mg(W_1),置于干燥的100 mL(V)容量瓶中,补充蒸馏水至刻度线,溶解后获得1 mg/mL的供试品溶液,稀释合适倍数(D),苯酚-浓硫酸法处理后于490 nm处测定其吸光度,吸光度对应标准曲线可得供试品溶液浓度(c,mg/mL),夜交藤药材重量(W,g),粗多糖质量(m,g),计算夜交藤多糖得率(Y)。

$$Y(\%) = \frac{c \times V \times D \times m/W_1}{W} \times 100\%$$

式中:Y夜交藤多糖得率,%;c表示吸光度对应标准曲线可得供试品溶液浓度,mg/mL;D表示溶液稀释倍数;V表示供试品溶液体积,mL;m表示药材取样量,mg;W_1表示夜交藤粗多糖粉末,mg;W表示夜交藤药材重量,g。

1.2.4 *方法学考察* (1)精密度实验:取0.2 mL葡萄糖标准品溶液,试管反应后,490 nm下连续测定6次。

(2)稳定性试验:将制备的夜交藤多糖供试品溶液稀释50倍后精密量取2 mL,按照1.2.1项下操作,同一时间内分别测定其吸光度。

(3)重复性试验:6份夜交藤多糖供试品溶液,取2 mL按照1.2.1项下操作分别测定其吸光度。

(4)加样回收实验:精密称取6份夜交藤多糖加入指定量葡萄糖标准品,加蒸馏水定容稀释,取2 mL,按照1.2.1项下操作测得吸光度,获得多糖浓度,计算回收率。

测得量(mg) = c × V × D。

式中c:多糖浓度,mg·mL^{-1};V:待测溶液总体积,mL;D:稀释倍数。

1.2.5 *单因素实验* (1)关于料液比(g/mL),固定回流时间120 min,固定两次回流次数,分别在每克药材的提取溶剂量为10、15、20、25、30 mL水平下试验。

(2)关于回流时间(min),固定每克药材的提取溶剂量为20 mL,固定两次回流次数,分别在60、90、120、150、180 min水平下试验。

(3)关于回流次数,固定每克药材的提取溶剂量为20 mL,确定回流时间为150 min,分别回流1次、2次、3次、4次。

1.2.6 *Box-Benhnken试验* 根据单因素实验的结果,响应因子:料液比(A)、回流时间(B)、回流次数(C),响应值Y(%):夜交藤多糖得率。采用响应面法用Design-Expert 13软件设计3因素3水平Box-Behnken响应面试验,求最佳参数组合。

1.2.7 *验证实验* 优化提取软件计算给出的条件,按上述操作,做5次多糖提取,分别获得其多糖得率,计算5次多糖得率的平均值、误差和相对标准偏差,与预测的夜交藤多糖得率作比较。

1.2.8 *多糖单糖组成分析* 准确称取精制纯化多糖片段样品10 mg,加入2 mol/L三氟乙酸溶液2 mL,充入N2封管,于120 ℃水浴条件下水解180 min,得水解样品溶液,加入甲醇,减压蒸干,重复3次,直至三氟乙酸被完全除去。加蒸馏水2 mL溶解,并精密移取多糖的水解样品溶液1.4 mL,依次加入700 μL PMP甲醇溶液和同体积0.3 mol/L NaOH溶液,70 ℃水浴加热反应40 min,取出,待样品冷却至室温,加入700 μL、0.3 mol/L盐酸中和,用等体积乙酸异戊酯溶剂混匀,分液漏斗萃取3次,弃去上清,用等体积的氯仿萃取1次,弃氯仿萃取层,上层水溶液过0.45 μm水系滤膜,待HPLC分析。

分别准确称取Man、Rha、Gal UA、Glc、Gal、Ara等单糖对照品11种,分别配制成1 mmol/L的标准单糖水溶液。另精确称取11种单糖对照品配制成1 mmol/L的混合标准单糖水溶液。分别精密提取标准单糖对照品和混合单糖对照品各1.4 mL,按照样品的单糖衍生化操作进行,进行HPLC分析。

HPLC色谱条件为:高效液相色谱仪;DIKMA C_{18}色谱柱;流动相A:0.1 mol/min磷酸盐缓冲液,流动相B:乙腈;Time/min:0~45,A∶B=84∶16;流速为1.0 mL/min,检测波长:254 nm,柱温35 ℃,进样量10 μL。

1.2.9 *多糖红外光谱分析* 取精制纯化多糖片段样品各10 mg,分别与2 g的溴化钾按1∶200的比例研磨混合,压片,扫描

范围 4000 ~ 500 cm^{-1}。

1.2.10 多糖的抗氧化活性研究 参考文献[18]发病方法并加以改善,采用 DPPH 清除活性测定法和 ABTS 自由基清除活性测定法评价多糖的抗氧化活性。

DPPH 自由基清除率测定法。在试管中分别加入不同浓度(0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mg/mL)的夜交藤多糖溶液 2 mL 以及 0.2 mmol/L DPPH 溶液 2 mL, 25 ℃水浴 反应 30 min, 517 nm 处测定样品吸光度。$ABTS^+$ 自由基清除率测定方法。在试管中分别加入不同浓度(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL)的夜交藤多糖溶液 2 mL 以及 10 mmol/L $ABTS^+$ 溶液 2 mL,室温下避光放置 6 min,734 nm 处测定样品吸光度。计算清除率平均值。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的建立

得到回归方程:y = 66.620 9x + 0.022 5,r^2 = 0.999 3。吻合程度高,浓度在 0.001 ~ 0.009 mg/mL 的范围内,试验数据在拟合方程范围内

2.2 方法学考察

2.2.1 精密度试验 结果见表 1,RSD = 0.31% 表明岛津 uv - 1800 仪器实验精密度良好。

表 1 葡萄糖标准品精密度试验

编号	1	2	3	4	5	6	RSD/(%)
吸光度值	0.132	0.132	0.132	0.133	0.132	0.132	0.31

2.2.2 稳定性试验 结果见表 2,RSD = 0.40% 表明样品在 9 h 内具有良好的稳定性。

表 2 供试品溶液稳定性试验

测定时间/(h)	1	2	3	4	5	6	RSD/(%)
吸光度值	0.620	0.622	0.622	0.624	0.619	0.617	0.40

2.2.3 重复性试验 见表 3,RSD = 1.77% 表明该方法重复性好。

表 3 供试品溶液重复性试验

编号	1	2	3	4	5	6	RSD/(%)
吸光度值	0.282	0.284	0.291	0.281	0.288	0.277	1.77

2.2.4 加样回收实验 计算结果见表 4,平均回收率 = 100.52%,RSD = 1.95%,说明该方法回收率良好,可用于夜交藤多糖的含量测定。

表 4 多糖的加样回收试验

序号	样品量/(mg)	加入量/(mg)	测得量/(mg)	回收率/(%)	平均回收率/%	RSD/(%)
1	10	2	11.97	98.31	100.52	1.95
2	10	2	11.99	102.06		
3	10	4	14.02	99.82		
4	10	4	14.07	103.57		
5	10	6	15.92	99.07		
6	10	6	16.01	100.32		

2.3 单因素实验考察结果

(1)关于料液比,由图 1 可见,料液比优化结果显示 1∶25 产率高于其他组合,是最佳比例。每克药材的溶剂用量从 10 mL 增加到 20 mL 时,多糖得率呈显著增加趋势,可能是因为提取溶剂量增加,夜交藤药材粗粉与水充分接触,多糖溶解度增加,多糖易溶出。而在料液比达到 1∶30(g/mL)后,夜交藤多糖得率开始呈下降趋势。

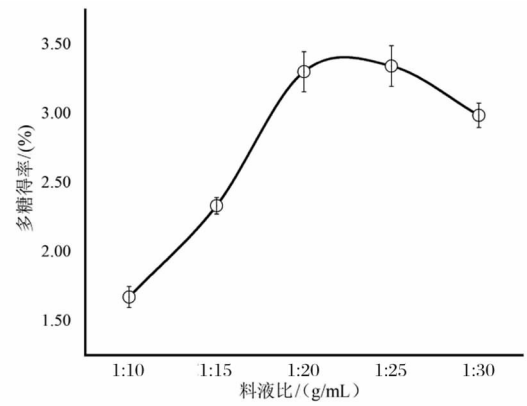


图 1 不同料液比对多糖提取率的影响

(2)关于回流时间,由图 2 可见,回流时间优化结果显示 120 min 夜交藤多糖得率最佳。提取时间 60 ~ 120 min 内,夜交藤多糖得率随回流时间的增加而增加;在 120 min 后,得率开始下降,当提取时间超过 150 min 时多糖得率变化趋势平缓。

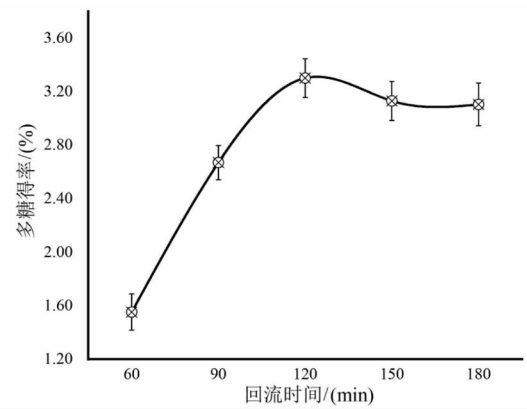


图 2 回流时间对多糖提取率的影响

(3)关于回流次数,由图 3 可见,回流次数优化结果显示回流 3 次最优。夜交藤多糖的提取率随回流次数的增加而增加。在第 2 次回流后,其提取率增加趋势减慢,在第 4 次时提取率呈平缓趋势,考虑到节能环保高效等多方面因素,Box - Behnken 响应面试验设计中关于回流次数可选择 1 次、2 次、3 次。

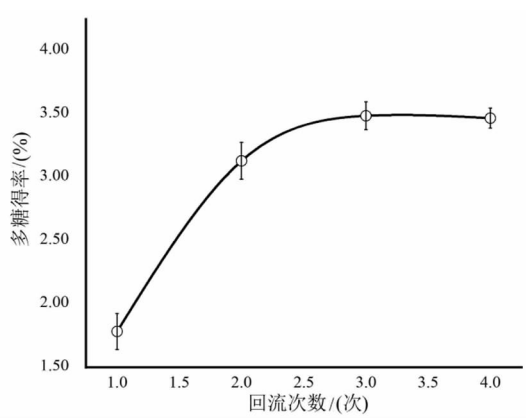


图 3 回流次数对多糖提取率的影响

2.4 Box - Benhnken 试验优化提取工艺

2.4.1 Box - Benhnken 试验结果 以料液比(A)、回流时间

(B)、回流次数(C)3 个单因素实验的结果和各评估选取的 3 个水平。在 Design – Expert 13 软件中选中 Response Surface 项下的 Box – Behnken 做 3 因素 3 水平 Box – Behnken 响应面试验设计。见表 5。

表 5 Box – Behnken 试验因素与水平

水平	料液比/(g/mL)	回流时间/(min)	回流次数
–1	1∶20	90	1
0	1∶25	120	2
1	1∶30	150	3

将设计分析生成的 17 次响应面试验,获得的相应夜交藤多糖得率。见表 6。

表 6 响应面试验结果

序号	料液比/(g/mL)(A)	回流时间/(min)(B)	回流次数(C)	多糖得率/(%)(Y)
1	25	150	3	4.02
2	25	120	2	3.89
3	25	120	2	3.77
4	25	120	2	4.27
5	25	120	2	3.80
6	20	150	2	3.63
7	30	90	2	1.96
8	30	150	2	3.43
9	30	120	1	1.89
10	25	120	2	4.19
11	25	150	1	2.27
12	20	120	3	3.95
13	30	120	3	3.35
14	25	90	3	2.33
15	20	120	1	2.05
16	25	90	1	1.64
17	20	90	2	2.24

2.4.2 *数据分析和回归拟合* 在 Design – Expert 13 输入响应面实验结果,软件可生成模型方差分析、关于 3 个单因素试验分别做 A、B、C 因素和夜交藤多糖得率(Y)的评价指标的模型方程。由表 7 可知,$F = 29.415\,6$,$P < 0.000\,1$;$F = 0.953\,1$,$P = 0.495\,5 > 0.05$,模型显著失拟项不显著说明误差小,模型可作分析,可预测,该方法可优化多糖提取工艺。

表 7 模型方差分析

方差来源	平方和	df	均值	F 值	P 值	
模型 Model	13.795 6	9	1.532 8	29.415 6	<0.000 1	显著 Significance
料液比 A – Material liquid ratio	0.190 0	1	0.190 0	3.688 4	0.096 3	
回流时间 B – Reflux time	3.354 1	1	3.354 1	64.364 8	<0.000 1	
回流次数 C – Reflux frequency	4.205 0	1	4.205 0	80.694 7	<0.000 1	
AB	0.001 6	1	0.001 6	0.030 7	0.865 9	
AC	0.048 4	1	0.048 4	0.928 8	0.367 3	
BC	0.280 9	1	0.280 9	5.390 5	0.053 3	
A2	0.898 7	1	0.898 7	17.246 4	0.004 3	
B2	2.104 6	1	2.104 6	40.388 2	0.000 4	
C2	2.134 5	1	2.134 5	40.961 4	0.000 4	
残差	0.364 8	7	0.052 1			
失拟项	0.152 1	3	0.050 7	0.953 1	0.495 5	不显著 Not significant
纯误差	0.212 7	4	0.053 2			
总差	14.160 4	16				

本实验中用实际因素表示的方程可以用来预测每个因素在给定水平下的反应。夜交藤多糖得率与 3 个实际因素之间相关模型方程为:

$$Y = -23.571\,00 + 0.921\,000A + 0.189\,117B + 3.063\,00C + 0.000\,133AB - 0.022\,000AC + 0.008\,833BC - 0.018\,480A2 - 0.000\,786B2 - 0.712\,000C2$$

注:Y = 夜交藤多糖得率%,A = 料液比,B = 回流时间,C = 回流次数。

2.4.3 *两因素交互作用分析* 以 Design – Expert 13 软件输出的关联模型方程在 OriginPro 2021 中优化,以矩阵中行列数设置范围及标签的 XY 映射取对应 A、B,A、C,B、C 分别做 x、y。设置值时,剩下因素取中位数做已知数,以 x、y 和已知数分别代入关联模型方程,录入等号后内容,得到 3 个 MBOOK,即可做 AB、AC、BC 对 Y 的等高线图及 3D 响应面图。

(1)A 与 B 对 Y 的交互作用,其等高线图和 3D 响应面图见插页XLK图 4,回流次数为两次,回流时间为 90 ~ 150 min,每克药材的提取溶剂量为 20 ~ 30 mL,在 C = 2 次,B = 120 ~ 150 min,A = 1∶21 ~ 1∶28(g/mL)的条件下,可以获得最大的夜交藤多糖得率,高于 3.94%;等高线图呈椭圆形,即 A、B 有交互作用;响应面曲线向 B 轴弯曲,说明两者间回流时间更能影响夜交藤多糖得率。

(2)A 与 C 对 Y 的交互作用,其等高线图和 3D 响应面图见插页XLK图 5,回流时间为 120 min,回流次数为 1 ~ 3 次,每克药材的提取溶剂量为 20 ~ 30 mL,在 B = 120 min,C = 2 ~ 3 次,A = 1∶21 ~ 1∶28(g/mL)的条件下,可以获得最大的夜交藤多糖得率,高于 4.03%。等高线呈椭圆形,表明 A、C 有一定的交互作用;响应面曲线呈弧形,说明回流次数对夜交藤多糖得率的影响较大。

(3)B 与 C 对 Y 的交互作用,其等高线图和 3D 响应面图见插页XLK图 6,每克药材的提取溶剂量为 25 mL,回流次数为 1 ~ 3 次,回流时间为 90 ~ 150 min,在 A = 1∶25(g/mL),B = 120 ~ 150 min,C = 2 ~ 3 次的条件下,可以获得最大的夜交藤多糖得率,高于 4.31%。等高线呈椭圆,表明 B、C 有显著交互作用,B 与 C 对夜交藤多糖得率的影响比 AB、AC 显著;响应面曲线随 C 轴次数增长的方向弯曲,说明回流次数比时间对夜交藤多糖得率的影响。

获得响应面最佳参数组合,夜交藤多糖提取工艺各因素最佳水平参数通过 Design – Expert 13 软件每次计算可得到一种最优参数组合,综合交互作用和省时节能环保等考虑,选择了料液比值较大,耗时相对居中的组合:料液比 1∶22.105 2(g/mL)、回流时间 129.604 min、回流次数为 2.692 7 次,此条件下预测的夜交藤多糖得率 = 4.313%。

2.4.4 *验证实验* 考虑现实实验条件优化提取条件取:A:1∶22.11(g/mL)、B:129 min 36 s、C:3 次,做 5 次试验所得分别为 4.286%, 4.427%, 4.228%, 4.348%, 4.333%。AVG = 4.324 4%,与预测的夜交藤多糖得率 4.313% 之间的误差为 0.264%,RSD = 1.71%,结果相近,说明将 Box – Behnken 响应面设计应用于水提醇沉夜交藤多糖工艺的优化是可行的。

2.5 多糖的单糖组成分析

多糖经 2 mol · L^{-1} 三氟乙酸溶液水解成单糖,经 PMP 衍生后,分别用乙酸异戊酯、氯仿萃取,样品直接进入 HPLC 进行分析,与混合单糖对照品 PMP 衍生后的保留时间进行对比,结果见图 7,结果表明,多糖主要是由 Man, Rha, Glc, Gal 组成,其

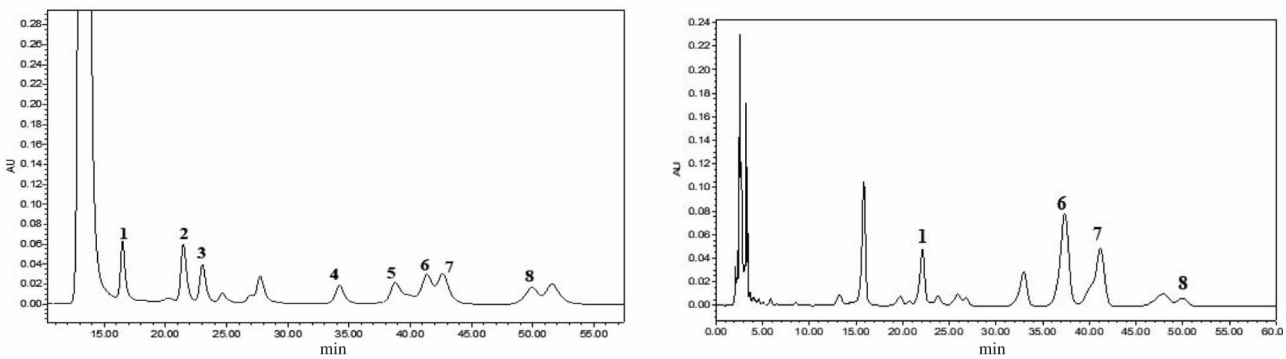


图 7 混合标准单糖(图 a,其中:1 - Man,2 - Rib,3 - Rha,4 - Gal UA,5 - Fuc,6 - Glc,7 - Gal,8 - Xyl)和多糖(图 b)酸水解后 HPLC 图

摩尔比为 29.87∶3.36∶51.25∶39.98。

2.6 多糖红外光谱分析

红外光谱见图 8,如图所示均可见多糖的特征峰,在 3420 cm^{-1}左右的吸收峰主要是多糖的 O - H 振动吸收峰;2930 cm^{-1}左右的峰为 C - H 的伸缩振动峰,多糖的特征吸收峰在该区域;1600 cm^{-1}左右是 C = O 的伸缩振动吸收峰;1000 cm^{-1}处的吸收峰表明含有 C - O - C 结构,表明可能结构中含有吡喃环。

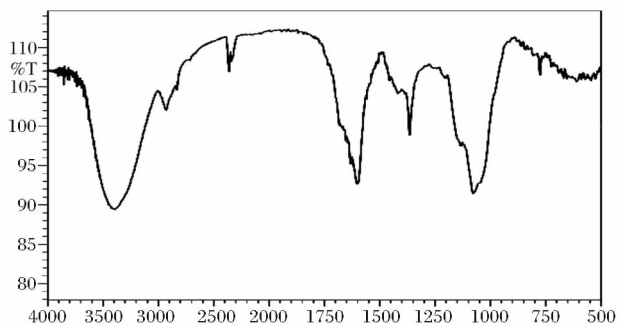


图 8 红外吸收光谱

2.7 抗氧化活性测定实验[27-31]

浓度的变化对 ABTS、DPPH 自由基清除率的影响较大。当浓度为 1.6 mg/mL 时,多糖(Y - TD)对 DPPH 自由基的清除率为 79.1%;当浓度大于 1.6 mg/mL 时,对 DPPH 自由基的清除率变化平缓,清除能力达到最高极限。当浓度为 0.8 mg/mL 时,多糖(Y - TD)对 ABTS 自由基的清除率为 86.3%;当浓度大于 0.8 mg/mL 时,对 ABTS 自由基的清除率变化平缓,清除能力达到最高极限。多糖对 ABTS、DPPH 自由基有一定的清除作用,表现出较强的抗氧化能力。见插页 L 图 9。

3 讨论与结论

夜交藤多糖提取工艺的研究较少,多为正交设计。本文在单因素实验的基础上,采用了 Box - Behnken 响应面法以优化工艺参数以有效提高夜交藤多糖提取得率。获得了优化提取条件为 A:1∶22.11(g/mL)、B:129 min 36 s、C:3 次,5 次验证实验获得的多糖得率 AVG = 4.324 4%,RSD = 1.71%,与预测的夜交藤多糖得率结果相近,Box - Behnken 响应面法能适用于夜交藤多糖水提醇沉工艺参数优化。经 PMP 衍生后 HPLC 分析,结果表明,夜交藤多糖主要是由 Man、Rha、Glc、Gal 组成,其摩尔比为 29.87∶3.36∶51.25∶39.98。红外光谱可见多糖 3420、1600、1000 cm^{-1}特征峰。多糖对 ABTS、DPPH 自由基有一定的清除作用,表现出较强的抗氧化能力。本研究可为夜交藤多糖结构和活性提供基础,为其开发利用提供一定的理论依据。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:277.
[2] 乔春梅,瞿迁,方铁根,等. 基于数据挖掘《中华医典》清代治疗不寐的用药规律研究[J]. 现代医学,2023,51(2):196 - 201.
[3] 严静,潘以丰,陈升捷, 等. 从风药论治腹泻型肠易激综合征经验[J]. 中国中西医结合消化杂志,2023,31(2):142 - 145.
[4] 张董晓,付娜,黄巧, 等. 赵炳南“四藤”组合组方思路在乳腺疾病中的应用与发展[J]. 中医杂志,2021,62(4):4.
[5] 郑玉娇,张培,林家冉, 等. 首乌藤的临床应用及其用量[J]. 长春中医药大学学报,2020,36(2):3.
[6] 佟一鑫,柏强. 基于网络药理学和分子对接技术探究夜交藤治疗失眠的作用机制[J]. 中医临床研究,2021,13(26):1 - 5.
[7] 谭铖,罗洪斌,黄胜. 首乌藤治疗阿尔茨海默病的网络药理学研究[J]. 中南民族大学学报(自然科学版),2021,40(6):605 - 613.
[8] 孙洲亮,文莉. 夜交藤不同提取物对抗焦虑作用的比较[J]. 中国医院药学杂志,2008,28(2):164 - 165.
[9] 许晓伍,陈群,郝木峰 等. 夜交藤提取物对失眠大鼠额叶皮层神经元线粒体结构和功能的影响[J]. 广州中医药大学学报,2013,30(6):872 - 875.
[10] 单明东. 夜交藤多酚高效提取及其体外抗氧化活性初步分析[D]. 镇江:江苏大学,2021.
[11] 陶丽宇,高月求,韦靖,等. 首乌藤相关药理作用及临床运用的研究进展[J]. 时珍国医国药,2018,29(10): 2486 - 2488.
[12] 李明超,付亚轩,张新宇,等. 夜交藤化学成分及其药理活性研究进展[J]. 云南中医中药杂志,2018,39(3): 81 - 84.
[13] 李金花,农石生,黄锁义. 分光光度法测定夜交藤中多糖[J]. 理化检验. 化学分册,2012,48(9):2.
[14] 汲广全,杨娟,杨小生. 夜交藤改善睡眠活性成分研究[J]. 中成药,2011,33(3):514 - 516.
[15] 陶遵威,郑夺,邸明磊 等. 植物多糖的研究进展[J]. 药物评价研究,2010,33(2):149 - 152.
[16] BOX G E P,BEHNKEN D W. Some new three level designs for the study of quantitative variables[J]. Technometrics,1960,2(4):455 - 475.
[17] RAIS S,ISLAM A,AHMAD I,et al. Preparation of a new magnetic ion - imprinted polymer and optimization using Box - Behnken design for selective removal and determination of Cu(Ⅱ) in food and wastewater samples[J]. Food Chem,2021,334: 127563.

DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.03.029

香砂六君子汤加减对慢性萎缩性胃炎癌前病变的干预及对胃黏膜相关因子水平的影响

陈马兰,郭莲,黄雄涛,章雄英
(浙江中医药大学附属金华中医院,浙江 金华 321000)

摘要:目的 探讨香砂六君子汤加减对慢性萎缩性胃炎癌前病变的干预研究及对胃黏膜相关因子水平的影响。方法 选取2021年5月—2024年4月浙江中医药大学附属金华中医院就诊中的100例脾胃虚弱型慢性萎缩性胃炎患者,用随机数字表法分为对照组和联合组,各50例。两组患者入院后嘱清淡饮食,忌辛辣刺激食物,并注意休息。对照组患者予叶酸联合胃复春片治疗,联合组在上述基础上予香砂六君子汤加减治疗,以4周为1个疗程,连用3个疗程。治疗结束后,比较两组患者中医证候积分、临床总有效率、胃镜病理积分及治疗过程中的不良反应,及对胃黏膜相关因子一氧化氮(NitricOxide,NO)、P选择素(Recombinant P-Selectin,SELP)、白细胞内皮细胞黏附分子-1(leukocyte endothelial cell adhesion molecule-1,LECAM-1)、内皮素-1(Endothelin-1,ET-1)变化情况。结果 (1)中医症状积分:治疗后两组各个症状积分均低于治疗前($P<0.05$),且联合组对于改善胃痛、嗳气、纳呆、大便稀溏、气短懒言、疲倦乏力6项中医症状积分优于对照组($P<0.05$)。两组对于胃脘胀满改善差异无统计学意义($P>0.05$)。(2)临床疗效:联合组临床总有效率为94.00%,与对照组(72.00%)比较显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。(3)胃镜病理积分:治疗后两组患者的胃镜病理积分较治疗前均有降低($P<0.05$),且联合组各项胃镜病理积分与对照组比较均降低($P<0.05$)。(4)治疗后,两组患者NO、SELP、LECAM-1、ET-1较治疗前降低($P<0.05$);且联合组较对照组降低更为显著,差异有统计学意义($P<0.05$)。(5)不良反应:联合组治疗期间不良反应发生率为8.00%,低于对照组(14.00%),但差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 香砂六君子汤加减对于脾胃虚弱型慢性萎缩性胃炎患者有一定治疗效果,可提高总有效率,改善患者病理状况,抑制NO、SELP、LECAM-1、ET-1的分泌,调节患者胃黏膜炎性微环境,起到保护胃黏膜的作用。

关键词:香砂六君子汤;慢性萎缩性胃炎;癌前病变;胃黏膜相关因子
中图分类号:R259.733.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-7717(2026)03-0159-06

基金项目:国家中医药管理局全国中药特色技术传承项目(2023-96号);浙江省自然科学基金项目(LR20H260001)
作者简介:陈马兰(1985-),女,浙江诸暨人,副主任中药师,学士,研究方向:中医药学。

[18] WANG H J,HONG W,LI X Y,et al. Optimization of nanostructured lipid carriers of fenofibrate using aBox-behnken design for oral bioavailability enhancement[J]. Curr Drug Deliv,2022,19(7):773-787.
[19] ZHANG Z,GUO S C,CHEN C D,et al. Optimization of extraction and bioactivity detection of celery leaf flavonoids using BP neural network combined with genetic algorithm and response[J]. Prep Biochem Biotechnol,2022,52(6):648-656.
[20] JOJO G M,KUPPUSAMY G,DE A,et al. Formulation and optimization of intranasal nanolipid carriers of pioglitazone for the repurposing in Alzheimer's disease using Box-Behnken design[J]. Drug Dev Ind Pharm,2019,45(7):1061-1072.
[21] 王文娉,王韫格,张洪财 等. Box-Behnken响应面法优化赤芍多糖的提取工艺[J]. 化学工程师,2023,37(4):88-92.
[22] 江丽洁,温乐乐,石佳艺,等. 常山胡柚果皮精油提取工艺模型筛选优化、化学成分及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2024,36(7):1101-1111.
[23] 赵小亮,牟翩,张晶,等. 苦参多糖的提取工艺优化及体外抗氧化、降血脂活性分析[J]. 食品工业科技,2024,45(13):212-220.
[24] 刘永玲,刘向炼,陶欣,等. 八月瓜果皮多糖提取工艺优化及其体外抗氧化、降糖活性分析[J]. 食品工业科技,2024,45(19):17-24.
[25] 胡建燃,李平,王俊瑶. 熟地黄多糖的提取及其体外抗氧化活性研究[J]. 中华中医药学刊,2021,39(12):37-41.
[26] 黎江华,李涛,黄永亮,等. 熟三七多糖的结构分析及抗氧化活性研究[J]. 中华中医药学刊,2018,36(6):1380-1383.
[27] TERFASSI S,DAUVERGNE X,CÉRANTOLA S,et al. First report on phytochemical investigation,antioxidant and antidiabetic activities of *Helianthemum getulum*[J]. Nat Prod Res,2022,36(11):2806-2813.
[28] WONGWAD E,JADSADAJERM S,MUNGMAI L,et al. Antioxidant,cytotoxic,anti-glycation,and anti-tyrosinase compounds from the leaves of *Uvaria siamensis*[J]. Chem Biodivers,2024,21(4):e202400319.
[29] ONG E S,OH C L Y,TAN J C W,et al. Pressurized hot water extraction of okra seeds reveals antioxidant,antidiabetic and vasoprotective activities[J]. Plants,2021,10(8):1645.
[30] LOU H Y,LIU H F,WANG H,et al. Diverse flavonoids from the roots of *Indigofera stachyodes*[J]. Chem Biodivers,2022,19(10):e202200676.
[31] FATMAWATI S,AUWALIYAH F,YULIANA,et al. Antioxidant and α-glucosidase inhibitory activities of compound isolated from Stachytarpheta jamaicensis (L) Vahl. leaves[J]. Sci Rep,2023,13:18597.

夜交藤多糖提取工艺优化、结构表征及抗氧化活性研究

（正文见 154－159 页）

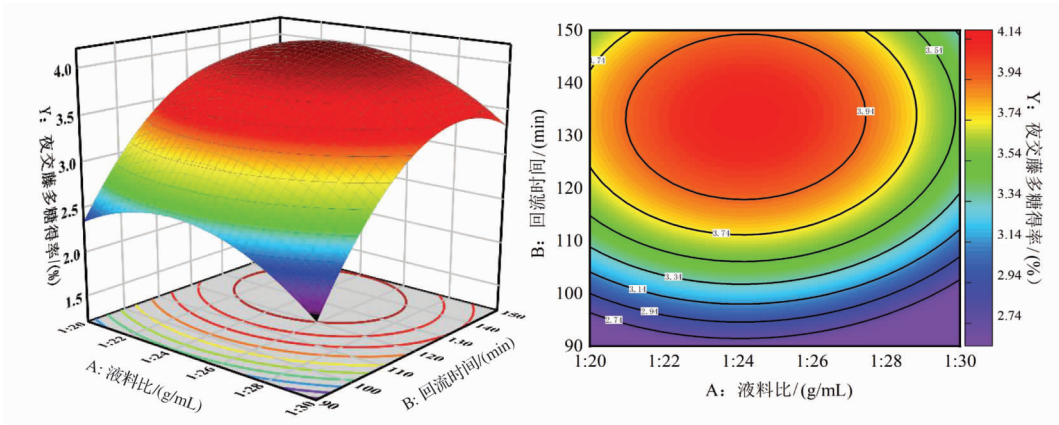


图 4　料液比（A）与回流时间（B）交互作用对多糖得率（Y）的影响

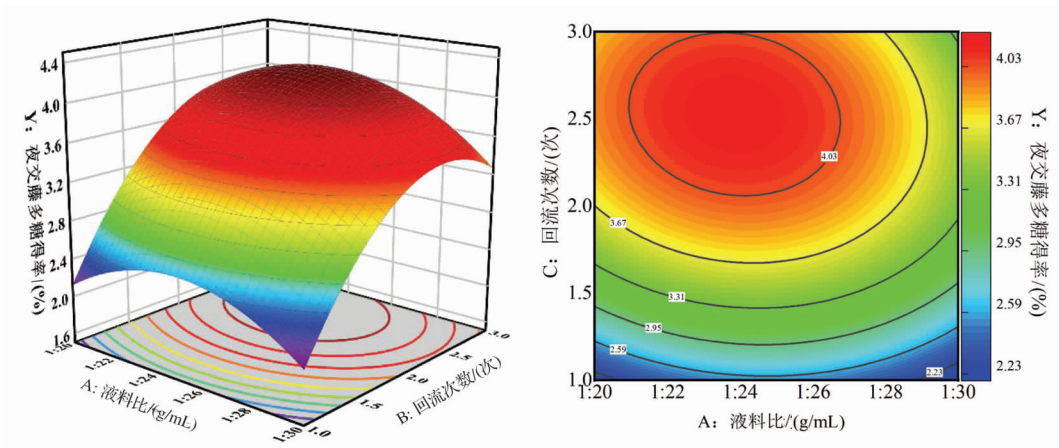


图 5　料液比（A）与回流次数（C）交互作用对多糖得率（Y）的影响

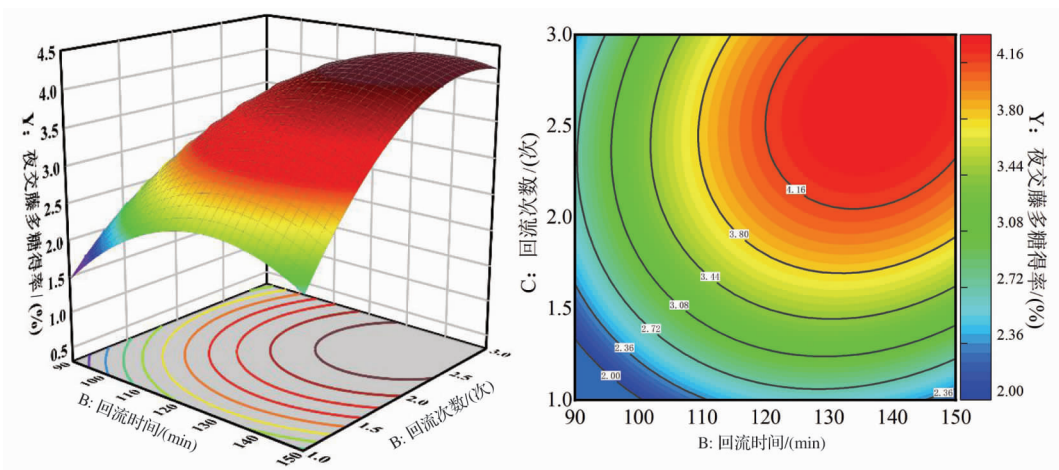


图 6　回流时间（B）与回流次数（C）交互作用对多糖得率（Y）的影响

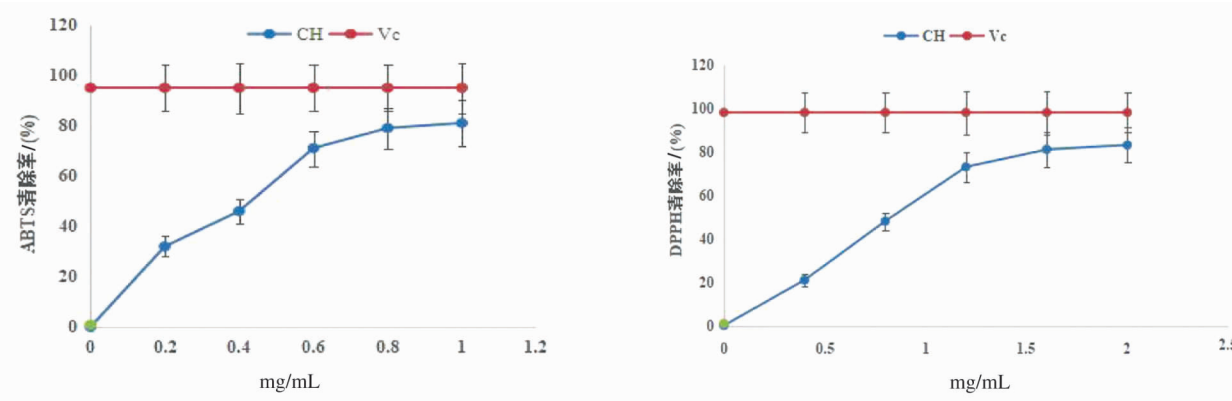


图 9　多糖对 ABTS、DPPH 清除能力

香砂六君子汤加减对慢性萎缩性胃炎癌前病变的干预及对胃黏膜相关因子水平的影响

（正文见 159 – 163 页）

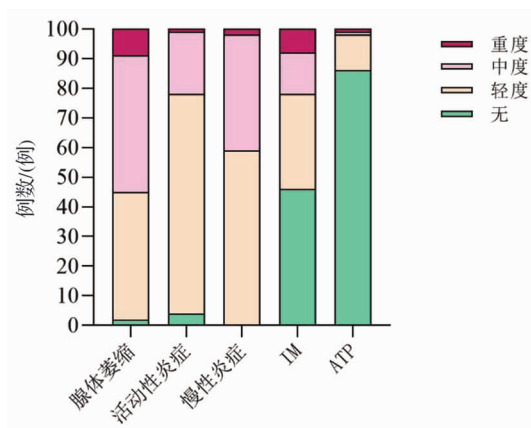


图 1　胃镜病理活检指标分布特征柱状堆积图