细柱五加叶多糖提取分离纯化及保湿性能研究

刘喜舞[1]，郑礼胜[2]，谢 霞[3]，戴 玲[4]，刘向前[3*]

1. 武警湖南省总队医院 药剂科，湖南 长沙 410006
2. 天津药物研究院，天津 300193
3. 湖南中医药大学药学院，湖南 长沙 410208
4. 长沙博海生物科技有限公司，湖南 长沙 410205

摘 要：目的 优化细柱五加 *Acanthopanax gracilistylus*（AGS）叶（AGSL）多糖（AGSL-P）闪式提取工艺，然后将其进行分离纯化，并对其吸湿和保湿性能进行研究。**方法** 运用球面对称设计试验，优化 AGSL-P 闪式提取工艺；采用醇沉、Sevage 法除蛋白、脱色、透析、琼脂糖凝胶色谱、葡聚糖凝胶分离等方法对 AGSL-P 进行分离纯化，通过化学实验及红外光谱、核磁共振等方法对其结构进行初步鉴定；对 AGSL-P、AGSL-P-1 和 AGSL-P-2 的吸湿和保湿性能进行了初步研究，并与常用保湿剂（聚乙二醇 400 等）在相对湿度 43%和 75%条件下进行对比。**结果** AGSL-P 闪式提取最佳工艺为固液比为 1∶14.5，提取温度为 71 ℃，提取时间为 257 s，在此条件下，AGSL-P 提取率为 1.62%；AGSL-P 精制产物 AGSL-P-1-1 为均一多糖，经过红外光谱和核磁共振检测结果推测，AGSL-P-1-1 的构型为 α 构型，可能含有葡萄糖、鼠李糖和半乳糖。吸湿和保湿性能研究结果表明，AGSL-P-1 和 AGSL-P-2 的吸湿能力优于常用保湿剂聚乙二醇 400，而 AGSL-P-2 保湿能力与聚乙二醇 400 相当。**结论** 建立了稳定、简便的 AGSL-P 闪式提取工艺方法；AGSL-P-1-1 均一多糖为首次从 AGSL 中分离得到；AGSL-P-2 可能是一种优良的天然保湿剂。

关键词：细柱五加叶；多糖；闪式提取法；分离纯化；保湿性；吸湿性

中图分类号：R284.2 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2015)08 - 1167 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.08.013

Extraction, isolation, and purification of polysaccharides from leaves of *Acanthopanax gracilistylus* and property of their moisture retention

LIU Xi-wu[1], ZHENG Li-sheng[2], XIE Xia[3], DAI Ling[4], LIU Xiang-qian[3]

1. Department of Pharmacy, Hospital of Hunan Armed Police Corps, Changsha 410006, China
2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China
3. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China
4. Changsha Broad-Ocean Bio-Science and Technique Co., Ltd., Changsha 410205, China

Abstract: Objective Polysaccharides from the leaves of *Acanthopanax gracilistylus* (AGSL) were extracted with smashing tissue extraction (STE), isolated and purified, and the properties of their moisture retention and moisture absorption were studied. **Methods** Extraction process for AGSL polysaccharides (AGSL-P) was optimized by using the spherical symmetrical design test, and then isolated and purified through alcohol precipitation, Sevage method, bleaching, dialysis, DEAE-Sepharose Fast Flow column, and Sephadex G-75 column, and the structure was identified by chemical experiment, IR, and NMR. The properties of the moisture retention and moisture absorption of AGSL-P, AGSL-P-1, and AGSL-P-2 were studied and compared with common humectants (polyethylene glycol 400 etc.) in relative humidity 43% and 75%. **Results** The optimal STE conditions for AGSL-P were as follows: material-liquid ratio was 1∶14.5, the extraction temperature was 71 ℃, and the extraction time was 257 s. With the best extraction conditions, the yield of AGSL-P was 1.62%. AGSL-P-1-1 was homogeneous polysaccharide with α-configuration, and it may contain glucose, rhamnose, and galactose. The results showed the absorbent capacity of AGSL-P-1 and AGSL-P-2 was superior to the common

收稿日期：2015-01-22

基金项目：湖南省自然科学基金重点项目（11JJ2042）；湖南中医药大学药物分析学“十二五”校级重点学科建设项目

作者简介：刘喜舞（1965—），副主任药师，主要从事药物制剂和临床药学研究。E-mail: lxw88899@163.com

***通信作者** 刘向前，教授，博士研究生导师。E-mail: lxq0001cn@163.com

humectants, polyethylene glycol 400, and moisturizing ability of AGSL-P-2 was amount to polyethylene glycol 400. **Conclusion** A steady and convenient extraction technology for AGSL-P has been established using STE method, AGSL-P-1-1 homogeneous polysaccharide is isolated from the leaves of AGSL has been established using STE method, AGSL-P-1-1 is isolated from the leaves of AGSL for the first time, and AGSL-P-2 is an excellent moisturizer.

Key words: *Acanthopanax gracilistylus* W. W. Smith; polysaccharides; smashing tissue extraction; isolation and purification; moisture retention; moisture absorption

细柱五加 *Acanthopanax gracilistylus* W. W. Smith（AGS）为五加科（Araliaceae）五加属 *Acanthopanax* (Deche. Et Planch) Miq. 植物，具有祛风除湿、补益肝肾、强筋壮骨、利水消肿的功效[1]。现代药理学研究表明五加属植物 AGS 和刺五加的根皮多糖、红毛五加的茎皮多糖均具有抗癌作用，无梗五加果多糖具有抗疲劳作用等[2-9]。本研究团队通过对细柱五加叶多糖（AGSL-P）的体外活性实验，显示 AGSL-P 具有促进细胞增殖，促进 NO 的释放，对激活细胞免疫具有一定的作用。所以对 AGSL 中的多糖进行提取工艺的研究以及进一步分离纯化是很有必要的。

天然植物多糖分离纯化的方法有很多种，如色谱法、超滤法、电泳法等。相比其他方法，柱色谱法操作简便，分离效果好，重复性高，分离条件缓和，应用广泛[9-10]。本实验首先采用球面对称设计法对 AGSL 中多糖的闪式提取工艺进行优化，然后采用醇沉、Sevag 法除蛋白、脱色、透析方法等进行初步纯化，采用琼脂糖凝胶色谱、葡聚糖凝胶分离等方法对 AGSL 粗多糖进一步分离纯化，并对其结构进行初步鉴定。天然植物多糖相对分子质量大，结构复杂，吸水性能好，已经成为了化妆护肤品中最重要的营养保湿材料。因此，本实验也对 AGSL-P 及其纯化产物 AGSL-P-1、AGSL-P-2 进行了保湿及吸湿性能的研究，为合理开发利用 AGS 资源提供依据。

1 仪器与材料

UV-1750 紫外可见分光光度计，日本岛津公司；JHBE-20A 型闪式提取器，北京金鼎科技有限公司；AUW220D 分析天平，日本岛津公司；高速冷冻离心机，德国 Beckman 公司；MD7044 透析袋，上海源叶生物科技有限公司；AS 3120A 型超声波清洗仪，天津奥特赛恩斯仪器有限公司；予华 HH-S 型水浴锅，巩义市英峪予华仪器厂；DZ-1BC 型真空干燥箱，上海精密实验设备有限公司；SHZ-D（III）型循环水式真空泵，巩义市予华仪器有限公司。

细柱五加叶（AGSL），2012 年 8 月采自于湖南省长沙市近郊，经湖南中医药大学药学院刘向前教授鉴定为细柱五加 *Acanthopanax gracilistylus* W. W. Smith 叶，自然干燥后，粉碎成粗粉（过 40 目筛）备用。标本（标本号为 120815-Y）保存于湖南省重点实验室中药新药研究与开发实验室。

葡萄糖对照品，中国药品生物制品检定所，AR 级，批号 150623-200901，质量分数≥98%；AGSL-P，本实验室自制，由闪式提取法制得；芦丁，本实验室自制，质量分数≥98%；苯酚、浓硫酸、三氯甲烷、正丁醇、乙醇、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、聚乙二醇 400、甘油、1,3-丁二醇、水溶性淀粉、可溶性蛋白等试剂均为国产分析纯；蒸馏水自制。DEAE-Sepharose Fast Flow（45～165 μm）购自 GE 公司；Sephadex G-75 购自瑞典 Pharmacia 公司。

2 方法与结果

2.1 多糖提取率测定

2.1.1 对照品溶液的配制 葡萄糖对照品放置于 105 ℃恒温干燥箱中，烘干到恒定质量，精密称取 125.1 mg，加蒸馏水配成 100 mL 溶液，即为 1.251 mg/mL 的葡萄糖对照品溶液，备用。

2.1.2 AGSL-P 样品的制备 精密称取适量 AGSL 粗粉（过 40 目筛），加入蒸馏水，一定条件下闪式提取 2 次，离心，得上清液，浓缩成浸膏。浸膏加水溶解，离心，取上清液加乙醇至乙醇体积分数为 80%，静置于冰箱 24 h，离心分离。离心得到的醇沉物加水复溶，加入等体积的 Sevage 试剂（氯仿-正丁醇 3∶1）除蛋白。向除完蛋白后水溶液中加入 3% H_2O_2 溶液脱色，然后装入透析袋流水透析除去小分子物质。向透析液中加乙醇至乙醇体积分数为 80%，得到醇沉物，用无水乙醇洗涤，放置在真空干燥箱中干燥，得到 AGSL-P 粉末。

2.1.3 标准曲线的绘制 从葡萄糖对照品溶液中取 1.00、2.00、3.00、4.00、5.00、6.00 mL 分别置于 100 mL 量瓶中，分别定容至刻度，摇匀。上述溶液分别取 2.00 mL，置于具塞试管中，加入 1.00 mL 5%苯酚溶液，再快速加入 5.00 mL 浓硫酸。室温静置 5 min，40 ℃水浴中加热 30 min，取出，冰水浴至室温。于葡

葡萄糖最大吸收波长 490 nm 处测吸光度（A）值，蒸馏水作空白。以 A 值为纵坐标，质量浓度（C）为横坐标，得到回归方程 A＝12.762 C＋0.006 8，R^2＝0.999 4；线性范围 12.5～75.1 μg/mL。

2.1.4 AGSL-P 提取率测定 根据回归方程计算多糖溶液中葡萄糖的质量浓度。再按如下公式计算 AGSL-P 提取率。

$$\text{AGSL-P 提取率}=CDM/(WM_0)$$

C 为溶液中葡萄糖的质量浓度（mg/mL），D 为稀释倍数，W 为称取的多糖质量（mg），M 为每 1 份药材所提取到的粗多糖粉末质量（g），M_0 为药材质量（g）

2.2 AGSL-P 提取工艺

2.2.1 最佳溶剂的选择 取 AGSL 50.0 g，采用闪式提取法，分别用不同体积分数的乙醇（0、10%、20%、30%、40%）在室温的条件下（固液比 1∶12、提取 3 次、转速 3 000 r/min、提取时间为 3 min），按“2.1.2”项所述提取 AGSL-P。所得 AGSL-P 按“2.1.4”中方法测定提取率。实验结果表明，随着乙醇体积分数的增加，AGSL-P 的提取率逐步下降，同时纯度随之提高。乙醇体积分数提高，水溶性多糖溶出减少，导致提取率下降。与此同时，乙醇体积分数提高，水溶性杂质溶出也减少，AGSL-P 的纯度随乙醇体积分数的加大而提高。用水提取 AGSL-P 提取率高，用乙醇提取虽然 AGSL-P 的纯度提高，但是提取率低，且成本高。综合考虑，选择水为本实验的提取溶剂。

2.2.2 球面对称设计试验 根据球面对称设计原理，结合单因素试验结果，以实验考察因素的个数为空间维数，选取对 AGSL-P 提取率影响较大的 3 个因素：固液比（X_1）、提取温度（X_2）、提取时间（X_3）为考察因素，以 AGSL-P 提取率（Y）为考察指标，设计球面对称试验。由于提取次数只能是整数，球面对称设计方法无法将提取次数作为考察因素，参考单因素考察实验中最佳提取次数 3 次作为球面对称实验提取次数。

取 AGSL 药材粗粉（过 40 目筛）50.0 g，精密称定，按球面对称试验设计方法和“2.1.2”项操作步骤制备 AGSL-P。因素水平见表 1，球面对称试验设计见表 1。

应用 DPS 9.5 软件拟合回归方程，将求得的系数代入以考察指标 AGSL-P 提取率（Y）与 X_1、X_2、X_3 之间的二项关系式中，方程为 Y＝－24.627 5＋1.528 8 X_1＋0.179 5 X_2＋0.077 2 X_3－0.045 7 X_1^2－0.001 0 X_2^2－0.000 2 X_3^2－0.007 4 X_1X_2＋0.000 8 X_1X_3＋0.000 2 X_2X_3；R＝0.948 8，R^2＝0.900 3，F＝5.017 9，P＝0.045 2，$S_{余}$＝0.166 0，Durbin-Watson 统计量 d＝1.796 2。显然，$F^*(9, 5)$＝4.77（$^*P$＜0.05），试验拟合方程的 F＞F^*，1＜d＜2，且接近 2，说明

表 1 球面对称设计试验 (n＝3)

Table 1 Spherical symmetric design test (n＝3)

试验号	X_1	X_2/℃	X_3/s	提取率/%	拟合值/%	拟合误差/%
1	1∶12.8 (−1)	56 (−1)	205 (−1)	1.02	1.13	−0.10
2	1∶12.8 (−1)	56 (−1)	275 (1)	1.19	1.39	−0.10
3	1∶12.8 (−1)	74 (1)	205 (−1)	1.13	1.03	0.12
4	1∶12.8 (−1)	74 (1)	275 (1)	1.54	1.61	−0.03
5	1∶15.2 (1)	56 (−1)	205 (−1)	0.80	0.82	−0.01
6	1∶15.2 (1)	56 (−1)	275 (1)	1.17	1.35	−0.16
7	1∶15.2 (1)	74 (1)	205 (−1)	0.76	0.84	−0.06
8	1∶15.2 (1)	74 (1)	275 (1)	1.34	1.30	0.06
9	1∶12 ($-\sqrt{3}$)	65 (0)	240 (0)	1.43	1.42	0.03
10	1∶16 ($\sqrt{3}$)	65 (0)	240 (0)	1.54	1.43	0.15
11	1∶14 (0)	50 ($-\sqrt{3}$)	240 (0)	1.57	1.51	0.17
12	1∶14 (0)	80 ($\sqrt{3}$)	240 (0)	1.32	1.49	−0.13
13	1∶14 (0)	65 (0)	180 ($-\sqrt{3}$)	0.60	0.65	0.00
14	1∶14 (0)	65 (0)	300 ($\sqrt{3}$)	1.32	1.26	0.10
15	1∶14 (0)	65 (0)	240 (0)	1.59	1.61	−0.05

拟合方程基本没有自相关关系，因此拟合回归方程是成立的。从表 1 数据可知，试验值与拟合值接近，球面对设计模型对评价指标的拟合较为成功。

当固液比（1∶12）≤X_1≤（1∶16），提取温度 50 ℃≤X_2≤80 ℃，提取时间 180 s≤X_3≤300 s 时，根据上述拟合回归方程计算出优化条件：固液比为 1∶14.5，提取温度为 71 ℃，提取时间为 257 s。理论上在此优化条件下，AGSL-P 提取率为 1.62%。

2.2.3 验证及提取方法对比试验　为了验证球面对称设计试验优化结果的准确性，取 AGSL 药材粗粉（过 40 目筛）50.0 g，精密称定，按 AGSL 最佳闪式提取工艺进行 3 次验证试验，同时采用回流提取法和超声提取法提取 AGSL-P 进行对比试验。回流提取固液比为 1∶14，提取温度为 90 ℃，提取 3 次，每次 120 min。超声提取固液比为 1∶14，提取温度为 60 ℃，提取 3 次，每次 90 min。其余操作同“2.1.2”项。结果（表 2）显示，闪式提取法、回流提取法、超声提取法 AGSL-P 提取率分别为 1.65%、0.86%、1.06%。其中，闪式提取法提取 AGSL-P 提取率与理论拟合值相比相对误差为 1.82%，可认为理论值与试验值近似相等。闪式提取 257 s（4.28 min）明显比回流提取 120 min、超声提取 90 min 的 AGSL-P 提取率分别高 92%、56%，且重复性良好。

表 2　验证试验结果

Table 2　Results of validation test

提取方法	提取率/%				
	1	2	3	平均值	RSD/%
闪式提取	1.65	1.61	1.69	1.65	1.62
回流提取	0.86	0.88	0.83	0.86	1.94
超声提取	1.01	1.06	1.10	1.06	2.83

2.3　AGSL-P 的分离纯化

称取 AGSL-P 1 g 溶于 20 mL 磷酸盐（PBS）缓冲溶液中，离心，取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜，把滤液加到 DEAE-Sepharose Fast Flow 柱上，分别用 200 mL PBS 缓冲液、蒸馏水及 0.1、0.3、0.5 mol/L NaCl 溶液和 0.5 mol/L NaOH 洗脱，体积流量为 1 mL/min，分段收集，每管 10 mL，用苯酚-硫酸法跟踪检测 AGSL-P 的量。按洗脱峰分段收集洗脱液（图 1），透析后，真空干燥得到 AGSL-P-1（46.33%）、AGSL-P-2（9.67%）、AGSL-P-3（13.83%）、AGSL-P-4（11.75%），其中，AGSL-P-1 洗脱产率最高，选定 AGSL-P-1 进行下一步研究。

取 AGSL-P-1 粉末（463.3 mg）上 Sephadex G-75 柱，分别用 PBS 缓冲液、蒸馏水及 0.1、0.3、0.5 mol/L NaCl 溶液和 0.5 mol/L NaOH 洗脱，体积流量为 1 mL/min，分段收集，每管 10 mL，用苯酚-硫酸法跟踪检测。收集单一对称峰（图 2），透析后，真空干燥得到 AGSL-P-1-1（313 mg）。

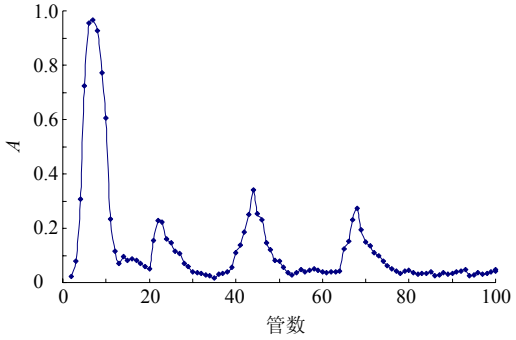

图 1　AGSL-P DEAE-Sepharose Fast Flow 柱色谱洗脱曲线

Fig. 1　Chromatogram on DEAE-Sepharose Fast Flow column for AGSL-P

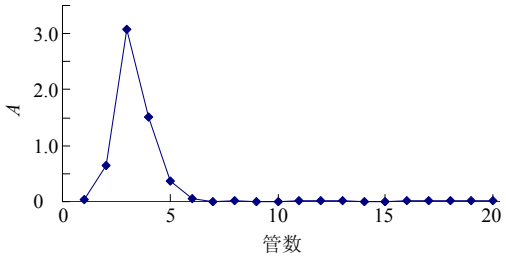

图 2　AGSL-P-1 Sephadex G-75 柱色谱洗脱曲线

Fig. 2　Chromatogram on Sephadex G-75 column for AGSL-P-1

2.4　AGSL-P 结构初步研究

2.4.1 化学性质研究　取 AGSL-P-1-1，配制成 2 mg/mL 的溶液后，以蒸馏水作空白对照，分别以可溶性淀粉、芦丁、可溶性蛋白溶液作为阳性对照，进行碘-碘化钾、三氯化铁、双缩脲反应，结果显示，碘-碘化钾溶液、三氯化铁的水溶液、双缩脲试剂分别与 AGSL-P-1-1 反应，结果均为阴性，说明 AGSL-P-1-1 中不含淀粉、稀醇结构、酚类成分，不含或含极少量的蛋白质和多肽成分。

2.4.2 纯度测定　AGSL-P-1-1 经 Sephadex G-75 柱色谱后，得到单一对称的洗脱峰（图 3），说明 AGSL-P-1-1 是在一定相对分子质量范围的均一多糖。

2.4.3 红外光谱（IR）检测　取 AGSL-P-1-1 样品 2 mg，加入 200 mg 经干燥的 KBr 晶体，研磨混合后压片，采用傅里叶变换红外光谱仪在 4 000～400 cm^{-1} 扫描。结果见图 4，AGSL-P-1-1 的 IR 图谱具

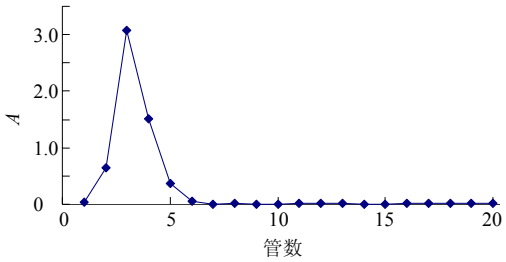

图 3 AGSL-P-1-1 经 Sephadex G-75 柱色谱洗脱曲线

Fig. 3 Chromatogram on Sephadex G-75 column for AGSL-P-1-1

有多糖类物质的特征吸收峰：3 430.96、2 971.03、2 914.95、2 850.47、1 459.61、1 386.92 cm^{-1}。尤其在 1 386.92 cm^{-1} 处是单峰，说明 CH_3 是孤立的。1 637.71 cm^{-1} 处的吸收峰是-CHO 中 C=O 的伸缩振动所导致；1 420.56 cm^{-1} 处的吸收峰是 C-H 的弯曲振动所致，其和 C-H 的伸缩振动构成了糖环的特征吸收；1 033.98 cm^{-1} 处的强吸收应该是糖环 C-O-C 结构中 C-O 键的伸缩振动，也是葡萄糖的特征吸收，且在 1 010～1 100 cm^{-1} 处有 2 个吸收峰，说明多糖应该为 α 构型；966.36 cm^{-1} 处为=C-H 超平面弯曲振动峰；873.83 cm^{-1} 处可能为吡喃糖骨架伸缩振动吸收峰；603.21 cm^{-1} 处为吡喃糖骨架对称伸缩振动吸收峰，563.76 cm^{-1} 处为由糖环内酯 C-O-C 的 α 位置取代基产生的谱带。

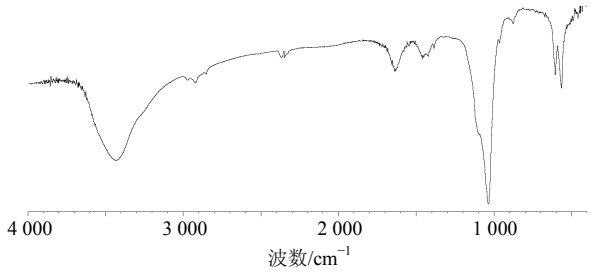

图 4 AGSL-P-1-1 的 IR 谱图

Fig. 4 IR spectrum of AGSL-P-1-1

2.4.4 核磁共振检测 称取 AGSL-P-1-1 30 mg，溶于 D_2O 中，配制成质量分数为 4.0%的溶液，在常温下，进行 ^{1}H-NMR 测定。图 5 为 AGSL-P-1-1 的 ^{1}H-NMR 谱图，δ 4.50～5.40 是异头氢的区域，共有 4 处信号峰，其中 δ 4.68 处信号峰为溶剂信号，信号较强，有可能与其他的异头氢信号峰重叠。δ 5.02 处信号峰可能是 α-*D*-半乳糖的异头氢信号，δ 5.18 处信号峰可能是 α-*D*-鼠李糖的异头氢信号，δ 5.37 处信号峰可能是 α-*D*-葡萄糖异头氢信号，异头氢信号峰出现在 δ 5.00 以上，说明多糖为 α 构型，与 IR 图谱检测结果一致。作为多糖氢谱的特征，大部分质子共振峰出现在 δ 3.66～4.15 内，重叠严重，无法辨认。δ 3.28 处可能是甲氧基的信号峰。δ 1.25 和 δ 1.26 处为鼠李糖上甲基的质子共振吸收峰。结合 IR 的结果，多糖中可能含有葡萄糖、鼠李糖和半乳糖。

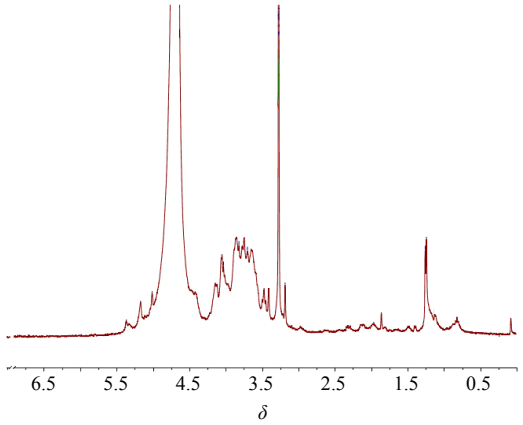

图 5 AGSL-P-1-1 的 ^{1}H-NMR 谱图

Fig. 5 ^{1}H-NMR spectrum of AGSL-P-1-1

2.5 吸湿性和保湿性实验

2.5.1 AGSL-P 与保湿剂的吸湿性能比较[11-12] 配制质量分数分别为 1%的 AGSL-P 溶液、AGSL-P-1 溶液、AGSL-P-2 溶液、聚乙二醇 400 溶液、1,3-丁二醇溶液和 5%甘油溶液，各 10 mL。把上述样品放置在模拟环境相对湿度为 43%和 75%的干燥器中，20 ℃恒温，密封。吸湿 12 h 后称定质量，计算吸湿率，连续吸湿 48 h。吸湿率＝$(W_1-W_0)/W_0$，W_0 和 W_1 为样品吸湿前、后的质量。

从图 6 可以看出，在相对湿度为 43%环境下，吸湿率大小为 AGSL-P-2＞AGSL-P-1＞1,3-丁二醇＞5%甘油＞聚乙二醇 400＞AGSL-P。AGSL-P-2 的吸湿率随着时间的增加而增大，48 h 时仍未达到饱和，直到 168 h 后达到最大吸湿率 69%。AGSL-P-1 的吸湿率在吸湿 12 h 时基本达到饱和。而 AGSL 多糖和其他 3 种保湿剂的吸湿率相差不大，随时间增长而缓慢增加，48 h 时基本达到最大吸湿率。

由图 6 可以看出，在相对湿度为 75%环境下，24 h 时吸湿率大小为 AGSL-P-2＞AGSL-P-1＞1,3-丁二醇＞5%甘油＞聚乙二醇 400＞AGSL-P；但在 48 h 时吸湿率大小为 AGSL-P-2＞5%甘油＞AGSL-P-1＞聚乙二醇 400＞AGSL-P＞1,3-丁二醇。AGSL-P-2 在 24 h 时达到最大吸湿率，超过 24 h 吸湿率会随着时间的增加而减小。AGSL-P-1 的吸湿

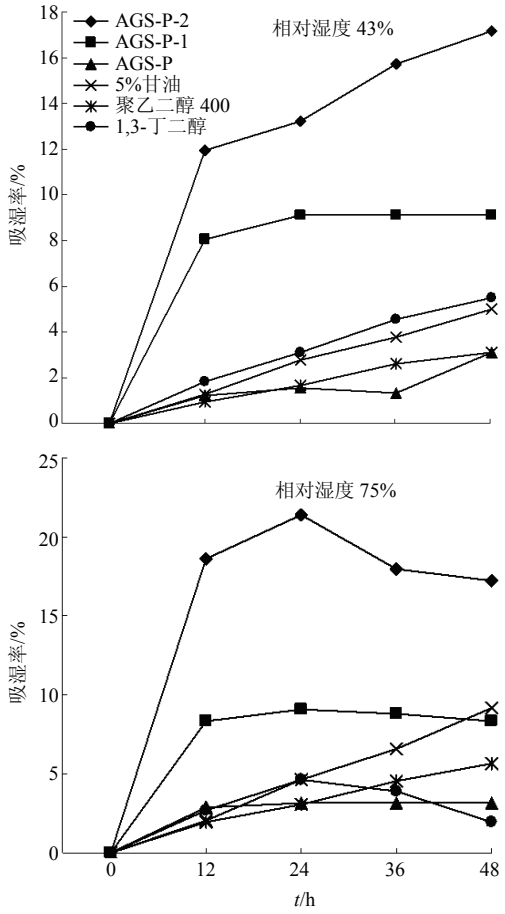

图 6　各样品吸湿率随时间变化

Fig. 6　Changes of moisture absorption rate for each sample with time changing

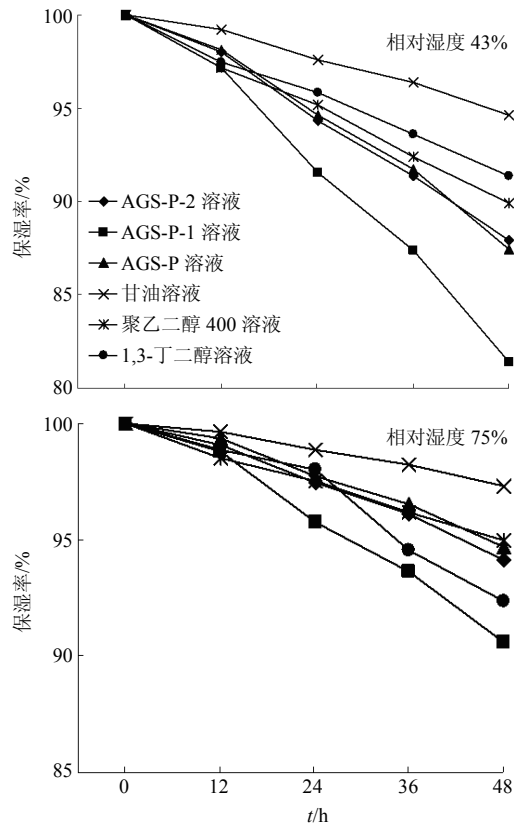

图 7　各样品保湿率随时间变化

Fig. 7　Changes of moisture retention rate for each sample with time changing

率在吸湿 12 h 时基本达到饱和，24 h 时达到最大吸湿率，超过 24 h 吸湿率稍有下降。5%甘油和聚乙二醇 400 的吸湿率随时间增长而缓缓增大。1,3-丁二醇吸湿率在 24 h 时达到最大吸湿率，超过 24 h，吸湿率略有下降，与在 12 h 时达到饱和的 AGSL-P 吸湿率相当。

无论在相对湿度 43%环境中还是在 75%环境中，AGSL-P-2 的吸湿率都高于 AGSL-P-1、AGSL-P 及其他 3 种保湿剂。

2.5.2　AGSL-P 与保湿剂的保湿性能比较　操作同“2.5.1”项，把配制好的样品溶液分别放置在模拟环境相对湿度分别为 43%和 75%的干燥器中，20 ℃恒温，密封。12 h 后称定质量，计算保湿率，连续放置 48 h。保湿率＝H_1/H_0，H_0、H_1 为放置前后溶液中水分的质量。

从图 7 可以看出，在相对湿度为 43%环境中，在 12 h 时保湿率大小为 5%甘油＞AGSL-P-2＞AGSL-P＞1,3-丁二醇＞AGSL-P-1＞聚乙二醇 400。超过 12 h 后 5%甘油、1,3-丁二醇、聚乙二醇 400 的保湿率随时间延长而缓慢降低，AGSL-P-2、AGSL-P-1、AGSL-P 随时间延长而快速下降。48 h 时保湿率大小为 5%甘油＞1,3-丁二醇＞聚乙二醇 400＞AGSL-P-2＞AGSL-P＞AGSL-P-1。AGSL-P-2 和 AGSL-P 保湿率相当。

从图 7 可知，在相对湿度为 75%环境中，在 24 h 时保湿率大小为 5%甘油＞1,3-丁二醇＞AGSL-P＞聚乙二醇 400＞AGSL-P-2＞AGSL-P-1。在 48 h 时保湿率大小为 5%甘油＞聚乙二醇 400＞AGSL-P＞AGSL-P-2＞1,3-丁二醇＞AGSL-P-1。各样品保湿率随着时间的延长而降低，5%甘油保湿率随时间增长而稍有下降。AGSL-P-2 和 AGSL-P、聚乙二醇 400 保湿率相当，比 5%甘油略多下降一些。AGSL-P-1 在 12 h 后保湿率快速下降至最低。1,3-丁二醇在 24 h 后保湿率快速下降，保湿率从仅次于 5%甘油到仅高于 AGSL-P-1。

综合来看，AGSL-P-2 不管在相对湿度为 43%还是 75%的环境中，保湿率都不是最高的，但是与常用保湿剂聚乙二醇 400 相比保湿率相当，说明

AGSL-P-2 保湿效果良好。

3 讨论

通过球面对称设计优化和验证性试验确定了最佳闪式提取工艺为料液比 1∶14.5，提取温度 71 ℃，提取时间 257 s，在此条件下 AGSL-P 的提取率为 1.67%；另外，通过与传统提取方法比较，表明闪式提取法不仅节约时间和能源，而且在 AGSL-P 提取率上也优于回流提取法和超声提取法。闪式提取的原理是高速机械剪切力和超速动态分子渗滤作用[13]，在一定的温度和溶剂条件下，将药材破碎成微粒，使待提成分迅速达到微粒组织的内外平衡，具有快速高效、操作方便、节能降耗等优点。

用 Sevage 法除蛋白质、过氧化氢溶液脱色、自来水和蒸馏水依次透析，除去大部分的非糖物质，然后采用 DEAE-Sepharose Fast Flow 柱色谱和葡聚糖凝胶 G-75 柱色谱进行纯化，首次从 AGSL 中分离得到均一单糖 AGSL-P-1-1，经过 IR 和核磁共振检测结果推测，AGSL-P 的单糖构型为 α 构型，可能含有葡萄糖、鼠李糖和半乳糖。

通过对 AGSL-P、AGSL-P-1 和 AGSL-P-2 保湿和吸湿性能进行初步研究，并以其与常用保湿剂（聚乙二醇 400、1,3-丁二醇和 5%甘油）在相对湿度为 43%和 75%条件下进行对比，表明 AGSL-P-1 和 AGSL-P-2 的吸湿能力优于常用保湿剂，AGSL-P-2 保湿能力与常用保湿剂聚乙二醇 400 相当，也是一种优良的保湿剂，可对其进行进一步的开发研究。

参考文献

[1] 刘向前, 陆昌洙, 张承烨. 细柱五加皮化学成分的研究 [J]. 中草药, 2004, 35(3): 250-252.

[2] 涂正伟, 周渭渭, 单 淇, 等. 刺五加的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 213-216.

[3] 王金鹏, 陈寒青, 邓 力, 等. 刺五加多糖提取过程中不同脱蛋白方法的比较研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(1): 155-158.

[4] 王松柏. 防风多糖的分离纯化及结构分析 [D]. 太原: 山西大学, 2006.

[5] 孟繁磊. 虎眼万年青和刺五加多糖的分离纯化、结构解析及活性研究 [D]. 长春: 长春师范学院, 2011.

[6] 刘 霞, 丁常泽, 申湘忠. 五加皮多糖提取工艺的优化及其性能分析 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(6): 3294-3297.

[7] 孟庆艳, 刘 圆, 彭镰心. 正交试验法筛选藏药红毛五加多糖的提取分离工艺 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2007, 29(1): 122-125.

[8] 王晶晶, 冯 颖, 孟宪军. 无梗五加多糖 ASP-A 的分离纯化及清除自由基研究 [J]. 食品科技, 2006, 31(6): 34-37.

[9] 陈 永, 李 强, 谭晓晶, 等. 红毛五加多糖的基本性质研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(6): 507-510.

[10] Valiyev K F, Kraiko A N. Cylindrically and sphericallysymmetrical rapid intense compression of an ideal perfect gas with adiabatic exponents from 1.001 to 3 [J]. *J Appl Math Mech*, 2011, 75(2): 218-226.

[11] Gar Y K, Guixin C, Zhijun L. Purification of a water extract of Chinese Sweet Tea (*Rubus suavissimus* S. Lee) by alcohol precipitation [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(11): 5000-5006.

[12] 马 莉, 唐健元, 李祖伦, 等. 板蓝根多糖分离纯化及其性质的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(8): 1143-1146.

[13] 祝士惠, 孙培冬, 李海洋. 画眉草多糖提取及其保湿性能研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(1): 83-86.

[14] Shi S M, Liu Y Z, Tai W, *et al*. Smashing tissue extraction and HPLC determination of active saponins from different parts of *Panax notoginseng* [J]. *Chin Herb Med*, 2012, 4(4): 341-345.