

超滤膜技术用于脉络宁注射液废弃物中多糖分离及其活性筛选研究

刘双双^{1,2,3}, 刘丽芳^{1*}, 朱华旭^{2*}, 肖秋萍², 郭立玮², 段金廛², 潘永兰², 汤卫国³, 张瑞梅³

1. 中国药科大学 天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 江苏 南京 210009

2. 南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023

3. 金陵药业股份有限公司南京金陵制药厂研究所, 江苏 南京 210009

摘要: **目的** 采用超滤膜技术对脉络宁注射液废弃物进行资源化研究。**方法** 脉络宁注射液大生产废弃醇沉物中富含石斛多糖、牛膝多糖和金银花多糖, 通过免疫活性筛选自废弃物中分离出富含多糖的有效部位。采用不同孔径超滤膜将废弃醇沉物分离所得粗多糖分为相对分子质量 $<3\times 10^3$ 、 $3\times 10^3\sim 1\times 10^4$ 、 $1\times 10^4\sim 3\times 10^4$ 、 $3\times 10^4\sim 1\times 10^5$ 、 $1\times 10^5\sim 3\times 10^5$ 、 $>3\times 10^5$ 共6个部位, 分别命名为MFP1、MFP2、MFP3、MFP4、MFP5、MFP6; 利用苯酚-硫酸比色法和考马斯亮蓝G-250染色法测定MFP1~MFP6中多糖和蛋白质的量; ELSD-HPLC法检测MFP1~MFP6中多糖组分; 通过小鼠脾淋巴细胞增殖、转化和小鼠单核巨噬细胞RAW264.7释放NO实验对MFP1~MFP6进行免疫活性筛选。**结果** MFP1~MFP6多糖定量测定结果发现MFP4多糖的量最高且免疫活性最优, 多糖的量和得率分别为76.80%和10.81%; MFP5免疫活性次之, 其量和得率分别为73.23%和14.73%; **结论** MFP4和MFP5是免疫活性较优的部位, 具开发利用价值。超滤膜技术可用于脉络宁注射液废弃物中多糖资源化利用, 该工艺过程简便易行, 成本低廉, 在循环经济利用中具有独特优势。

关键词: 脉络宁注射液; 废弃物资源化; 超滤膜技术; 多糖; 活性筛选

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)13-2288-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.13.014

Separation of polysaccharides from industrialization waste in Mailuoning Injection by ultrafiltration membrane technology and screening for active indicators

LIU Shuang-shuang^{1,2,3}, LIU Li-fang¹, ZHU Hua-xu², XIAO Qiu-ping², GUO Li-wei², DUAN Jin-ao², PAN Yong-lan², TANG Wei-guo³, ZHANG Rui-mei³

1. The State Key Laboratory of Active Ingredients and Efficacy in Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

3. Nanjing Jinling Pharmaceutical Institute, Jinling Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210009, China

Abstract: Objective In this study, ultrafiltration membrane process is employed first to separate the polysaccharides from industrialization waste in Mailuoning Injection and to promote the resources utilization of the waste. **Methods** The waste ethanol sediments in the production of Mailuoning Injection mainly include dendrobium polysaccharides, *Achyranthes bidentata* polysaccharides (ABPS), and honeysuckle polysaccharides, and the active components of polysaccharide with high content were selected through the immune activity. Six different relative molecular weight cut-off membranes ($<3\times 10^3$, $3\times 10^3\sim 1\times 10^4$, $1\times 10^4\sim 3\times 10^4$, $3\times 10^4\sim 1\times 10^5$, $1\times 10^5\sim 3\times 10^5$, $>3\times 10^5$) made of polyether sulfone (PES) were used. Six fractions were obtained and named as MFP1, MFP2, MFP3, MFP4, MFP5, and MFP6. Meanwhile, polysaccharides and protein content were determined by phenol-sulfuric acid colorimetry

收稿日期: 2016-03-13

基金项目: 江苏省科技厅产学研联合创新资金——前瞻性研究项目 (BY2012036); 江苏省六大人才高峰项目 (2014-YY-014); 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心分离平台建设项目 (ZDXM-1-6, ZDXM-1-8); 江苏省高校优势学科建设工程资助项目; 南京中医药大学校级创新团队资助; 江苏省重点研发计划-社会发展面上项目 (BE2016754)

作者简介: 刘双双 (1990—), 女, 在读硕士, 研究方向为现代中药分析。Tel: 13260882127 E-mail: shuang_tcp@163.com

***通信作者** 刘丽芳 (1969—), 女, 博士生导师, 研究方向为现代中药分析及中药新药研究。Tel: (025)86185136 E-mail: liulifang69@126.com
朱华旭 (1972—), 女, 研究员, 研究方向为中药制药过程分离技术研究。Tel: (025)85811070 E-mail: huaxu72@126.com

and Coomassie brilliant blue G-250 staining method; Polysaccharides species was analyzed by ELSD-HPLC; Immunocompetence of different fractions were investigated *in vitro*, including mouse spleen lymphocytes proliferation, transformation, and production of nitric oxide after acting on the macrophage RAW264.7. **Results** The results showed MFP4 (3×10^4 — 1×10^5) have the highest content and immunocompetent, MFP5 (1×10^5 — 3×10^5) immunocompetent followed, compared to others, purity, and recovery of MFP4 are 76.80% and 10.81%, purity and recovery of MFP5 are 73.23% and 14.73%, respectively. **Conclusion** The findings reveal MFP4 and MFP5 serves as our object of exploitation in the future; Moreover, separation of polysaccharides from “Mailuoning Injection” by the membrane is feasible with high recovery and low cost in the realization of circular economy.

Key words: Mailuoning Injection; resource utilization; ultrafiltration membrane technology; polysaccharides; activity screening

脉络宁注射液由金陵药业股份有限公司南京金陵制药厂生产, 由牛膝、玄参、石斛、金银花 4 味药材经水提、醇沉、醋酸乙酯精制等工艺处理后而得。为国家级中药保护品种, 是防治血栓性闭塞性血管病的中药复方注射液, 为国家基本药物目录所保留的 8 个中药注射液品种之一, 已成为全国中医院急诊必备药品。该注射液生产过程产生的废弃物主要有: 水提取后 4 味药的混合药渣、乙醇沉淀物、醋酸乙酯萃取后剩余物及制药过程产生的大量废水。中药资源产业化过程中废弃的植物根系、地上茎叶、药渣、深加工过程废弃物等不仅造成严重的资源浪费, 而且会造成严重的环境污染问题。针对这一社会问题, 探索中药废弃物的资源化利用策略与模式势在必行^[1]。根据中药废弃物的来源与组成特征, 其利用策略主要有: 传统非药用部位多途径利用、中药材与中药饮片加工过程废弃物回收利用和中药资源深加工过程废弃物回收利用^[2-3]。在本实验室前期研究中发现, 乙醇沉淀物富含多糖、蛋白质等大分子物质, 据文献报道, 牛膝、金银花和石斛多糖均有免疫活性, 故本研究以大生产中所产生的乙醇沉淀废弃物为研究对象, 对其进行活性跟踪分离, 以期对其实现资源化利用^[4-7]。

水提醇沉是中药制药生产的通用技术, 由此而生成的半固体物料因含有大量糖类等大分子物质, 稠厚、黏度大, 极难干燥, 不但限制了其再利用, 还成为中药行业污染环境, 浪费资源的共有技术难题。采用超滤膜分离多糖, 与传统的多糖分离方法(如乙醇分级沉淀和凝胶渗透色谱法)相比, 不仅分离过程简单, 省时高效, 节能, 无相变, 能避免生物活性成分损失^[8]; 同时能够提高多糖纯度, 富集有效部位。另外, 在清洗使用得当时可以长期连续使用并保持较恒定的产量和分离效果, 在相当低的压力差下仍具有高流通率。膜科学技术因具有节约、清洁、安全等优势可作为中药废弃物资源化的重要选择之一^[9-10]。本研究将膜技术与制药过程废弃物

资源化开发有机结合, 对于提升中药产业竞争力, 促进中药产业的性能优化与升级, 推进中药资源可持续发展具有重要意义。

1 仪器与材料

Waters 2695 高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; Waters 2424 ELSD 检测器, Waters 2998 PDA 检测器; Allegra64R Centrifuge 高速冷冻离心机, 美国贝克曼库尔特有限公司; Libro AEL-40SM 十万分之一电子分析天平, 日本岛津公司; EnSpire 酶标仪, 美国 PerkinElmer 公司; 切向流过滤系统, 美国 GE 公司; 超滤膜, 美国 GE 公司; 材质 PES, 截留相对分子质量 (M_w) 为 3×10^3 、 1×10^4 、 3×10^4 、 1×10^5 、 3×10^5 , 滤膜有效面积为 0.1 m^2 。

脉络宁注射液乙醇沉淀物来源于金陵药业股份有限公司南京金陵制药厂。98%浓硫酸, 批号 81007, 上海凌峰化学试剂有限公司; 5%苯酚, 广州金华大化学试剂有限公司, 批号 20150119; 无水葡萄糖对照品, 批号 7B8L-257Z, 中国食品药品检定研究院; RPMI 1640 培养液, 批号 G40307, 上海源培生物科技有限公司; DMEM 培养液, 批号 K40308, 上海源培生物科技有限公司; 红细胞裂解液, Biosharp 公司, 批号 65098010; 双抗(批号 H20210)、胰酶(批号 B40301)、胎牛血清(批号 JC30131), Sigma 公司; CCK-8 试剂盒, Vazyme 公司, 批号 A311-02; BCA 蛋白质浓度测定试剂盒(批号 P0012)、NO 测定试剂盒(批号 S0021), 上海碧云天生物技术有限公司; 氯仿、无水乙醇、正丁醇(分析纯); 水为超纯水。雄性昆明种小鼠, SPF 级, 体质量 (20 ± 2) g, 由上海杰思捷动物有限公司提供, 合格证号 SCXK2015-0006。RAW 264.7 细胞株, 由中国科学院细胞库提供。

2 方法与结果

2.1 脉络宁注射液乙醇沉淀物粗多糖的超滤膜分离

2.1.1 预处理 取一定量冻干的脉络宁注射液乙醇沉淀物, 加蒸馏水溶解稀释制备成质量浓度为 20

mg/mL 的溶液, 5 000 r/min 离心 10 min, 取上清液即得富含多糖的溶液 (以下简称为 MFP)。

2.1.2 不同 M_w 区段 MFP 样品的制备 按参考文献的方法^[11-12], 在 25 °C, 入口压力 0.3 MPa, 出口压力 0.1 MPa 下, 分别用截留 M_w 3×10^5 、 1×10^5 、 3×10^4 、 1×10^4 、 3×10^3 的超滤膜将 MFP 分离为不同 M_w 区段多糖, 共得 MFP1 ($M_w < 3 \times 10^3$)、MFP2 (M_w $3 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$)、MFP3 (M_w $1 \times 10^4 \sim 3 \times 10^4$)、MFP4 (M_w $3 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$)、MFP5 (M_w $1 \times 10^5 \sim 3 \times 10^5$)、MFP6 ($M_w > 3 \times 10^5$) 6 个部位。各部位分别浓缩, 冷冻干燥, 称定质量, 计算得率(ω)。

$$\omega = W_0 / W$$

W_0 为各 M_w 段多糖的质量, W 为超滤前多糖的质量

2.2 多糖的定量测定

采用苯酚-硫酸法^[13]测定不同 M_w 区段 MFP 样品中多糖的量, 各分离部位 MFP1~MFP6 中的多糖测定结果见表 1。

2.3 蛋白质的定量测定

采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[14]测定不同 M_w 区段 MFP 样品的蛋白质的量, 各分离部位 MFP1~MFP6 中蛋白质测定结果见表 1。由表 1 的研究结果可知, MFP3、MFP4、MFP5 3 部分多糖得率较高, 其多糖的量也较其他部分较高, 说明脉络宁复方多糖的 M_w 多分布在 $1 \times 10^4 \sim 3 \times 10^5$ 。

表 1 各分离部位的成分测定结果

Table 1 Composition results of different separation parts of MFP

部位	M_w	$\omega/\%$	多糖/ $\%$	蛋白质/ $\%$
MFP1	$< 3 \times 10^3$	2.14	54.39	0.98
MFP2	$3 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$	6.74	71.08	1.31
MFP3	$1 \times 10^4 \sim 3 \times 10^4$	14.06	74.81	2.33
MFP4	$3 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$	10.81	76.80	5.97
MFP5	$1 \times 10^5 \sim 3 \times 10^5$	14.73	73.23	3.33
MFP6	$> 3 \times 10^5$	6.74	52.55	8.26

2.4 HPLC 法检测多糖组分

2.4.1 色谱条件^[15] 色谱柱是 Tsk-gel G4000 PWXL0 (300 mm $\times$ 7.8 mm) 柱 (Column No. A00026); 柱温 30 °C; 流动相为 100%超纯水; 等度洗脱; 体积流量 0.5 mL/min; 进样量 20 μ L; 漂移管温度 60 °C; 载气为氮气; 气体压力为 275.80 kPa (40 psi); 增益: 10; 色谱图见图 1。

2.4.2 供试品的制备 精密称定 10 mg 样品, 溶于

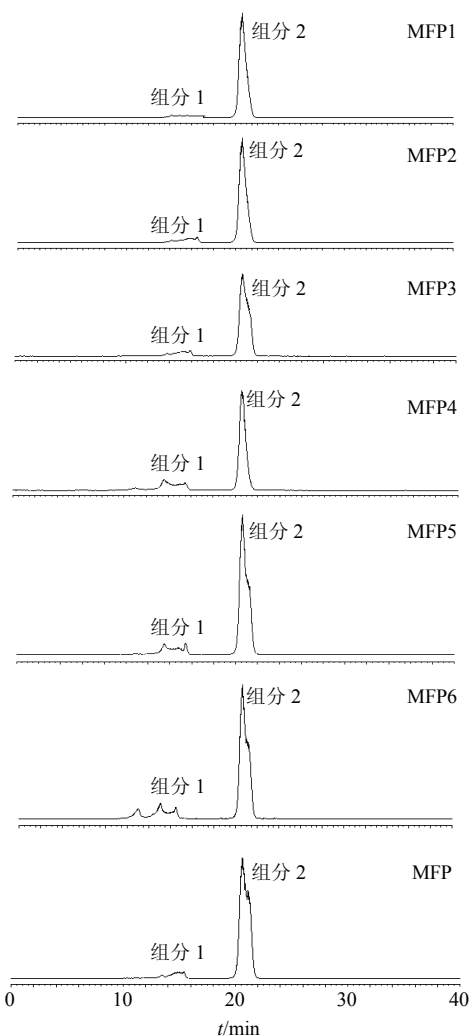


图 1 MFP 及其各分离部位 MFP1~MFP6 多糖的 HPLC-ELSD 图

Fig. 1 HPLC-ELSD chromatogram of MFP and MFP1—MFP6

2 mL 纯水中, 充分溶解, 过 0.45 μ m 滤膜, 即得。

2.4.3 样品测定 分别将 MFP 及其各分离部位 MFP1~MFP6 按“2.4.2”项下条件处理, 按“2.4.1”项色谱条件进样分析, MFP 及 MFP1~MFP6 的多糖 HPLC 图见图 1。由图 1 的研究结果可知, MFP 主要包括组分 1、2, 组分 1 M_w 高于组分 2。经超滤膜分离后, MFP1~MFP4 组分 2 为对称峰, 经 PDA 检测无紫外吸收, MFP、MFP6 和 MFP5 的组分 2 为非对称单峰, 经 PDA 检测发现有蛋白质存在。结果表明截留 M_w 大于 1×10^5 的超滤膜基本能去除蛋白。MFP 组分 1 包含多种高 M_w 多糖, MFP1、MFP2、MFP3 组分 1 基本无吸收, 说明高 M_w 多糖的量很低, MFP4、MFP5 和 MFP6 组分 1 中多糖逐渐分开, MFP6 组分 1 能明显看到有 3 种高 M_w 多

糖的分离,说明对小分子杂质去除率较好。可见超滤膜不仅能实现蛋白质等杂质的去除,也能实现高 M_w 多糖的分离和富集。

2.5 各分离部位的体外免疫活性筛选

2.5.1 小鼠脾淋巴细胞的制备 取 6 周龄左右小鼠脱白处死,75%乙醇浸泡 2~3 min,无菌条件下取脾脏,用 PBS 缓冲液冲洗 1~2 次,将脾脏研磨后过 200 目筛网,收集滤液,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,加入红细胞裂解液,静置 15 min,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,分别用 PBS 和 RPMI 1640 培养基各洗 1 次,弃上清,加入含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 完全培养液悬浮细胞,得到细胞悬液,培养 4 h 后收集非贴壁细胞^[16-17]。取纯化后的细胞悬液,台盼蓝染色法检测细胞活力大于 95%,并调整细胞浓度为 1×10^6 个/mL。

2.5.2 体外刺激小鼠脾淋巴细胞增殖实验 将 1×10^6 个/mL 淋巴细胞悬液加入 96 孔细胞培养板对照孔和样品孔中,每孔 100 μ L,置 37 $^{\circ}$ C、含 5% CO_2 培养箱中连续培养 24 h 后,于空白对照孔、阳性对照孔和样品孔中分别加入 RPMI 1640 培养基、LPS (终质量浓度 5 μ g/mL) 和设有不同质量浓度梯度的 MFP、MFP1、MFP2、MFP3、MFP4、MFP5、MFP6 (终质量浓度分别为 62.5、125.0、250.0、500.0 μ g/mL),每组设 3 个复孔。连续培养 48 h 后,加入 CCK-8 溶液,培养 2 h 后,酶联免疫检测仪于 450 nm 下测吸光度 A_{450} 值,计算各组相对增殖率 (SI)^[18]。

$$SI = A_{\text{样品}} / A_{\text{空白对照}}$$

2.5.3 刀豆蛋白 A (ConA) 诱导的小鼠脾淋巴细胞体外转化实验 将 1×10^6 个/mL 淋巴细胞悬液加入 96 孔细胞培养板对照孔和实验孔中,每孔 100 μ L,置 37 $^{\circ}$ C、含 5% CO_2 培养箱中连续培养 24 h 后,于对照孔和实验孔均加入诱导剂 ConA 10 μ L (终质量浓度 5 μ g/mL)^[19],并分别加入 RPMI 1640 培养基和设有不同质量浓度梯度的 MFP、MFP1、MFP2、MFP3、MFP4、MFP5、MFP6 (终质量浓度分别为 62.5、125.0、250.0、500.0 μ g/mL),每组设 3 个复孔。连续培养 48 h 后,按“2.5.2”项所述方法测定各细胞培养孔 A_{450} 值,并计算各组的 SI 值。

2.5.4 统计学分析 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, t 检验采用 SPSS 19 统计软件完成。

2.5.5 不同多糖部位对小鼠脾淋巴细胞增殖、转化的影响 为考察不同质量浓度的不同 M_w MFP 免疫

活性,以促进小鼠脾淋巴细胞的增殖作为考察分析的根据,考察其免疫促进功能,MFP1~MFP6 对小鼠脾淋巴细胞增殖结果见图 2。ConA 是小鼠脾淋巴 T 细胞分裂原,多糖与其协同作用能刺激小鼠脾淋巴细胞转化^[20],MFP1~MFP6 对 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化结果见图 3。由图 2、3 的研究结果可知,MFP、MFP4、MFP5 和 MFP6 能显著促进小鼠脾淋巴细胞的增殖和转化 ($P < 0.05$ 、0.01),高质量浓度的 MFP1 和 MFP2 反而有抑制作用。表明

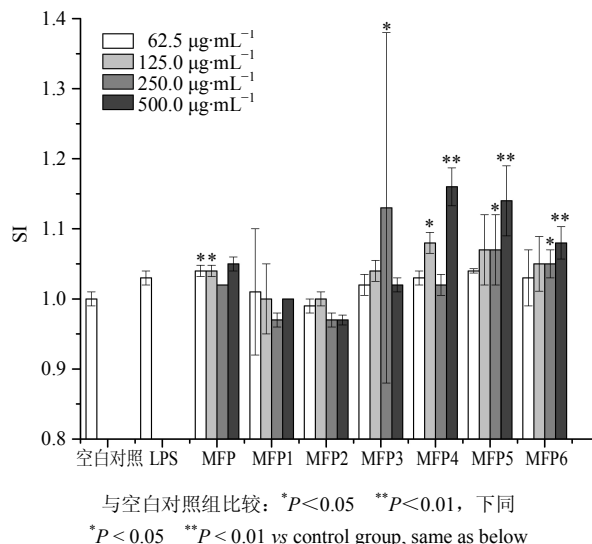


图 2 不同质量浓度 MFP 及 MFP1~MFP6 对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 2 Effects of different concentrations of MFP and MFP1~MFP6 on proliferation of mouse spleen lymphocytes ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

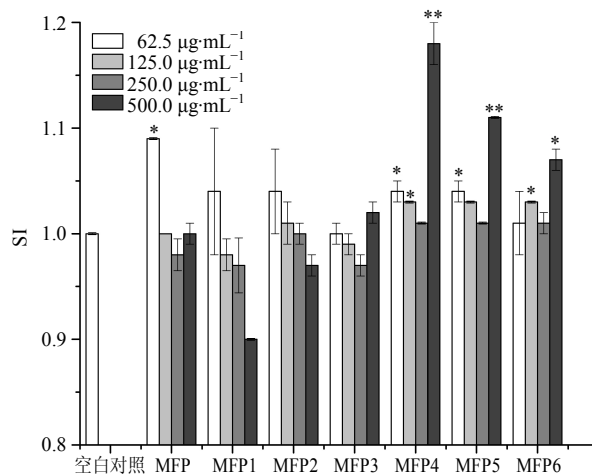


图 3 不同质量浓度 MFP 及 MFP1~MFP6 对 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 3 Effects of different concentrations of MFP and MFP1~MFP6 on transformation of mouse spleen lymphocytes ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

促进小鼠脾淋巴细胞增殖部位主要分布在 $M_w > 3 \times 10^4$ 区段, 其中, $M_w 3 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 区段多糖促进作用最为显著, $M_w 1 \times 10^5 \sim 3 \times 10^5$ 区段多糖次之。

2.5.6 不同多糖部位对小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7 释放 NO 能力的影响 将巨噬细胞 RAW 264.7 以 5×10^5 个/mL 的浓度接种到 96 孔培养板中, 每孔 100 μ L, 置 37 $^{\circ}$ C、含 5% CO_2 培养箱中连续培养 24 h 后更换细胞培养液。于空白对照孔、阳性对照孔和实验孔中分别加入 DMEM 完全培养基、LPS 对照药 (终质量浓度 5 $\mu\text{g/mL}$) 和设有不同质量浓度梯度的 MFP、MFP1、MFP2、MFP3、MFP4、MFP5、MFP6 (终质量浓度均分别为 31.25、62.5、125.0、250.0、500.0 $\mu\text{g/mL}$), 每组设 3 个复孔。作用巨噬细胞 RAW 264.7 24 h 后收集各孔中的细胞培养上清^[21], 按照 NO 测定试剂盒操作步骤测定 NO 的生成量。NO 作为一种多功能的内源性生物信息分子, 其在免疫系统的多种生理过程中均发挥着重要作用, 是巨噬细胞发生免疫激活反应的重要因子^[22]。不同 M_w 区段 MFP 体外刺激巨噬细胞 NO 生成的实验结果见图 4。由图 4 可知, 与空白对照组相比, MFP 和 MFP4 能显著促进巨噬细胞 RAW 264.7 释放 NO ($P < 0.05, 0.01$), 高质量浓度的 MFP1 对 NO 的释放具抑制作用, 说明促进小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 释放 NO 部位主要分布在 $M_w 3 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 区段。

综上所述, 采用不同孔径超滤膜对醇沉废弃物中多糖进行分离, 分离所得 6 个部位多糖的量和种

类不同, 采用 3 种典型的免疫活性评价指标对 MFP1~MFP6 的免疫活性进行初步评价^[23-24]。其中, MFP1 ($M_w < 3 \times 10^3$) 多糖的量较少, 可能主要为单糖、低聚糖及色素富集的部位, 未检测到免疫活性。MFP2 ($M_w 3 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$) 和 MFP3 ($M_w 1 \times 10^4 \sim 3 \times 10^4$) 虽富含多糖, 但免疫活性较弱, 不作为后续多糖资源化的主要部位。MFP4 ($M_w 3 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$) 和 MFP5 ($M_w 1 \times 10^5 \sim 3 \times 10^5$) 得率较高, 与 MFP 相比免疫活性提高, 故作为后续多糖资源化考察的主要部位。MFP6 ($M_w > 3 \times 10^5$) 为大 M_w 多糖和蛋白质富集的部位, 也具免疫活性。

3 讨论

推行清洁生产、实现减废减毒是废弃物资源化的必然选择。膜科学技术符合建设资源节约型和环境友好型社会, 以及循环经济的发展思路。目前膜技术研究已逐渐深入, 在工业上已成熟应用于废水处理、气体处理、化工产品生产、发酵工业等, 基于筛分效应的超滤和微滤可在 M_w 范围对物质进行切割, 是国际公认的最有发展前途的, 也是我国中药制药工业亟需推广的高新技术。

牛膝、玄参、石斛、金银花均为临床常用中药, 根据中国药材市场网报道, 4 味中药的供应日趋紧张, 价格逐年上扬。本实验研究对象 MFP 是 4 味药材经水提醇沉之后的混合多糖, 本实验室前期研究发现 MFP 能提高雏鸡的免疫能力, 但无显著性, 超滤法分离 MFP 旨在找到活性最优部位, 而 MFP4 和 MFP5 的体外免疫活性均优于 MFP。本实验室后期会对 $M_w 1 \times 10^5 \sim 3 \times 10^5$ 区段多糖深入考察其免疫活性, 并对其主要多糖成分进行分离与鉴定, 欲将其开发为一种免疫调节剂, 作为禽类动物的饲料添加剂, 显著提高禽类动物的免疫能力。故本研究结果不仅为 MFP 的再利用找到途径, 还可为中药资源产业化过程中醇沉物利用提供示范。

目前, 中药废弃物的综合利用技术尚处于初级阶段, 研究领域具有明显局限性, 围绕农业种植业、养殖业方向的居多, 其次是建筑业, 在其他领域的利用研究较少, 特别是中药资源深加工过程废弃物资源化在医学上的研究更是凤毛麟角。本研究及其后续研究将围绕国家中药保护品种——脉络宁注射液的废弃物资源化, 以中医药学、民族医药学与资源学理论为指导, 通过利用生物学价值发现技术如药效评价、保健功能评价、兽药活性评价、农药效应评价等, 发现大生产过程产生的非药用部位、加

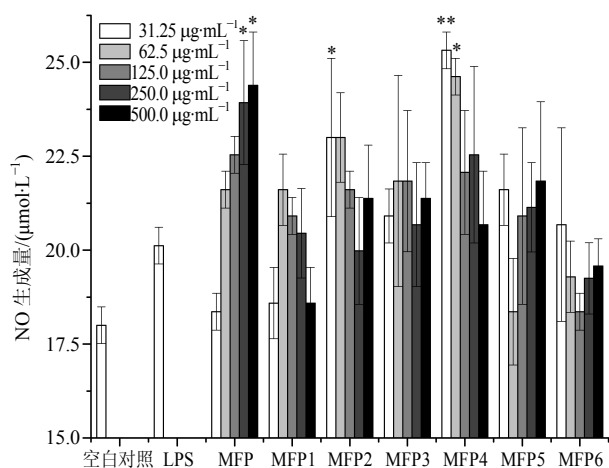


图 4 不同质量浓度 MFP 及 MFP1~MFP6 对小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 释放 NO 能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Production of nitric oxide after different concentrations of MFP and MFP1—MFP6 acting on macrophage RAW264.7 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

工过程形成的废弃物,以及中药材深加工产业过程中形成的废弃部分可利用价值,基于现代分离技术,实现废弃物的多途径、多层次综合利用,探索成本可控的中药废弃物资源化循环利用经济模式,提升资源利用效率。促进中药资源产业化过程中由传统工艺向生态工艺转化,实现中药资源产业的可持续发展^[25-26]。

参考文献

- [1] 沈飞,宿树兰,江曙,等.丹红注射液生产过程中丹参固体废弃物的资源性成分分析及其转化机制研究[J].中草药,2015,46(16):2471-2476.
- [2] 段金廛,吴启南,宿树兰.2012—2013年我国中药及天然药物资源研究进展与学科建设[J].中国现代中药,2014,41(9):693-703.
- [3] 陶小芳,沈飞,宿树兰,等.生脉注射液生产过程五味子药渣中资源性物质的分析与循环利用途径探讨[J].中草药,2015,46(18):2712-2719.
- [4] 段金廛,严辉,钱大玮,等.一种具有抗菌活性的当归地上部分有效部位及其制备方法和其应用:中国,200910246420.7[P].2011-05-18.
- [5] Xia L J, Liu X F, Guo H Y, et al. Partial characterization and immunomodulatory activity of polysaccharides from the stem of *Dendrobium officinale* (Tiepishihu) in vitro [J]. *J Funct Foods*, 2012, 4(1): 294-301.
- [6] 殷洪梅,吕新勇,萧伟.金银花多糖的制备工艺优化及免疫活性研究[J].中国中药杂志,2010,4(35):453-455.
- [7] 王剑,付田,蒲蔷,等.川牛膝多糖的体内免疫活性研究[J].中药药理与临床,2008,23(6):31-33.
- [8] 段金廛.中药废弃物的资源化利用[M].北京:中国中医药出版社,2014.
- [9] 朱华旭,段金廛,郭立玮,等.基于膜科学技术的中药废弃物资源化原理及其应用实践[J].中国中药杂志,2014,39(9):34-38.
- [10] 伍利华,黄英,刘婷,等.陶瓷膜分离技术应用于中药口服液的研究进展[J].药物评价研究,2014,37(2):184-187.
- [11] 焦光联,杨艳,何葆华.超滤提取黄芪多糖的工艺研究[J].化学与生物工程,2010,27(8):58-61.
- [12] Sun H J, Qi D, Xu J Y, et al. Fractionation of polysaccharides from rapeseed by ultrafiltration: Effect of molecular pore size and operation conditions on the membrane performance [J]. *Sep Purif Technol*, 2011, 80(3): 670-676.
- [13] 殷红梅,尚强,萧伟.金银花多糖脱蛋白质方法的研究[J].中草药,2010,41(1):584-586.
- [14] 李艳辉,鲁巍巍,官艳丽,等.玉竹多糖脱蛋白方法的比较研究[J].时珍国医国药,2011,22(9):2127-2128.
- [15] Xie J H, Shen M Y, Nie S P, et al. Separation of water-soluble polysaccharides from *Cyclocarya paliurus* by ultrafiltration process [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 101(1): 479-483.
- [16] Ren Z, He C H, Fan Y H, et al. Immune-enhancing activity of polysaccharides from *Cyrtomium macrophyllum* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 70: 590-595.
- [17] 陈璋辉,陈云龙,吴涛,等.细茎石斛多糖 DMP4a-1 的结构特性及免疫活性研究[J].中国药理学杂志,2005,40(23):1781-1784.
- [18] Liu J, Chen X, Yue C J, et al. Effect of selenylation modification on immune-enhancing activity of *Atractylodes macrocephala* polysaccharide [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 1435-1440.
- [19] Zhang W X, Song D, Xu D, et al. Characterization of polysaccharides with antioxidant and immunological activities from *Rhizoma Acori Tatarinowii* [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 133: 154-162.
- [20] Cui H Y, Wang C L, Wang Y Y, et al. The polysaccharide isolated from *Pleurotus nebrodensis* (PN-S) shows immune-stimulating activity in RAW264.7 macrophages [J]. *CJNM*, 2015, 13(5): 355-360.
- [21] Sun W J, Meng K, Qi C H, et al. Immune-enhancing activity of polysaccharides isolated from *Atractylodis macrocephalae* Koidz [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 126: 91-96.
- [22] Banskota A H, Stefanova R, Sperker S, et al. Five new galactolipids from the freshwater microalga *Porphyridium aerugineum* and their nitric oxide inhibitory activity [J]. *J Appl Phycol*, 2012, 25(4): 951-960.
- [23] Li C, Huang Q, Fu X, et al. Characterization, antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from *Prunella vulgaris* Linn [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 75: 298-305.
- [24] Chen Y G, Shen Z J, Chen X P. Evaluation of free radicals scavenging and immunity-modulatory activities of *Purslane* polysaccharides [J]. *Int J Biol Macromol*, 2009, 45(5): 448-452.
- [25] Jian H X, Ming Y S, Shao P N, et al. Separation of water-soluble polysaccharides from *Cyclocarya paliurus* by ultrafiltration process [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 101: 479-483.
- [26] 赵振坤,王淑玲,丁刘涛,等.中药药渣再利用研究进展[J].杭州师范大学学报:自然科学版,2012,11(1):38-42.