

复方江鱼颗粒处方药材提取工艺优化及体外抗肺癌作用研究

李丹, 苑盈盈, 顾永卫, 唐晓萌, 贺梦媛, 刘继勇

Optimization of the extraction process of Compound Jiangyu Granules prescription crude drugs and in vitro evaluation of anti-lung cancer activity

LI Dan, YUAN Yingying, GU Yongwei, TANG Xiaomeng, HE Mengyuan, LIU Jiyong

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202603037>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

新型二氢卟吩化合物的光动力性能及其抗肺癌作用研究

Photodynamic performance and anti-lung cancer effect of novel chlorin compounds

药学实践与服务. 2026, 44(1): 39-45 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202304011

某院肺癌治疗药物临床使用情况分析

Analysis of clinical use of drugs for lung cancer treatment in a hospital

药学实践与服务. 2026, 44(3): 152-159 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202312076

血通胶囊提取工艺优化及质量控制研究

Extraction process optimization and quality control of Xuetong capsules

药学实践与服务. 2025, 43(2): 82-86, 91 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202409003

对萆猴桃苷E提取分离纯化工艺的研究

Study on the extraction, separation and purification process of Actinoside E

药学实践与服务. 2026, 44(3): 137-143 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202407001

去线性泛素化酶体外生物活性评价体系的构建

Establishment of *in vitro* biological activity evaluation system for OTULIN

药学实践与服务. 2026, 44(5): 259-263 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202601035

应用HPLC指纹图谱结合化学计量学对姜桂颗粒质量的评价研究

Quality evaluation of Jianggui granules by HPLC fingerprint combined with chemometrics

药学实践与服务. 2025, 43(10): 509-513 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202312040



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

复方江鱼颗粒处方药材提取工艺优化及体外抗肺癌作用研究

李丹^{1#}, 苑盈盈^{2#}, 顾永卫¹, 唐晓萌¹, 贺梦媛¹, 刘继勇^{1,2} (1. 复旦大学附属肿瘤医院药剂科, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032; 2. 上海中医药大学 中药学院, 上海 201203)

[摘要] 目的 优化医院制剂复方江鱼颗粒处方药材的提取工艺, 并评价其体外抗肺癌作用。方法 建立测定复方江鱼颗粒处方药材中槲皮素、熊果酸和大黄素甲醚含量的高效液相色谱法, 以三种指标性成分含量及浸膏得率为评价指标, 对提取工艺进行优化, 并考察提取物对小鼠肺癌 LLC 细胞增殖和凋亡的影响。结果 最优提取工艺为: 以药材质量 12 倍量 (v/g) 的水, 在 70°C 条件下提取 3 次, 每次 1 h。在该条件下, 所得浸膏中指标性成分提取量及浸膏得率较高, 槲皮素的含量为 41.89±0.26 μg/g, 熊果酸的含量为 61.62±1.75 μg/g, 大黄素甲醚的含量为 3.07±0.08 μg/g, 浸膏得率为 27.08±0.69%, 工艺稳定可行。体外实验结果显示, 提取物干浸膏溶液可显著抑制 LLC 细胞增殖, 其 IC₅₀ 为 65.10 mg/ml (以生药量计), 并可促进 LLC 细胞凋亡, 凋亡率达 (53.11±2.00)%。结论 优化后的复方江鱼颗粒处方药材提取工艺稳定可行, 可为其质量控制和进一步开发利用提供实验依据; 提取物干浸膏溶液对 LLC 细胞具有显著体外抗肺癌活性。

[关键词] 复方江鱼颗粒; 定量分析; 提取工艺; 体外评价; 肺癌

[文章编号] 2097-2024(2026)00-0001-07 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202603037

Optimization of the extraction process of Compound Jiangyu Granules prescription crude drugs and in vitro evaluation of anti-lung cancer activity

LI Dan^{1#}, YUAN Yingying^{2#}, GU Yongwei¹, TANG Xiaomeng¹, HE Mengyuan¹, LIU Jiyong^{1,2} (1. Department of Pharmacy, Fudan University Shanghai Cancer Center, Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective** To optimize the extraction process of the prescription crude drugs of the hospital preparation Compound Jiangyu Granules and to evaluate its in vitro anti-lung cancer activity. **Methods** A high-performance liquid chromatography (HPLC) method was established to determine the contents of quercetin, ursolic acid, and physcion in the prescription crude drugs of Compound Jiangyu Granules. The extraction process was optimized using the contents of these three marker components and the extract yield as evaluation indices. In addition, the effects of the extract on the proliferation and apoptosis of mouse lung cancer LLC cells were investigated. **Results** The optimal extraction process was as follows: extraction with 12-fold volume of water relative to the crude drug weight at 70°C, performed three times, for 1 h each time. Under these conditions, the extraction amounts of the marker components and the extract yield were relatively high. The contents of quercetin, ursolic acid, and physcion were 41.89±0.26 μg/g, 61.62±1.75 μg/g, and 3.07±0.08 μg/g, respectively, and the extract yield was 27.08±0.69%. The process was stable and reproducible. In vitro experimental results showed that the extract significantly inhibited the proliferation of LLC cells, with an IC₅₀ value of 65.10 mg/ml (calculated based on crude drug amount), and promoted LLC cell apoptosis, with the apoptosis rate of 53.11±2.00%. **Conclusion** The optimized extraction process for the prescription crude drugs of Compound Jiangyu Granules is stable and reproducible, providing an experimental basis for quality control and further development. The extract solution exhibits significant in vitro anti-lung cancer activity against LLC cells.

[Key words] Compound Jiangyu Granules; quantitative analysis; extraction process; in vitro evaluation; lung cancer

[基金项目] 上海市科委生物医药领域科技支撑项目 (23S21900200); 上海青年药学人才能力提升项目 (SPAQNRC2025A04); 上海市 2024 年度“科技创新行动计划”生物医药创新发展项目 (24S11901500); 吴阶平医学基金会临床科研专项 (320.6750.2022-20-28)

[作者简介] 李丹, 博士, 主管药师, 研究方向: 中药药物分析, Email: danli14@fudan.edu.cn; 苑盈盈, 硕士研究生, 研究方向: 中药药剂学, Email: 18812728825@163.com

[通信作者] 刘继勇, 博士, 主任药师, 教授, 研究方向: 药物新型给药系统, Email: liujiyong@fudan.edu.cn

#共同第一作者

复方江鱼颗粒为复旦大学附属肿瘤医院用于肺癌治疗的院内制剂(沪药制备字 Z20190060000),该方针对肺癌患者正气亏虚、脾虚生湿、痰瘀互结的病机特点,遵循“扶正祛邪”治则,以清热解毒、化痰除湿、活血散结为主要治法,并兼顾健脾和胃,以改善患者整体状态。方中由望江南、鱼腥草、白花蛇舌草、太子参、黄芪、白术、白茯苓、六神曲和陈皮等九味中药组成。

现代药理研究表明,方中多味中药具有抗肿瘤、抗炎及免疫调节等活性。望江南含蒽醌类、黄酮类、甾醇类、木脂素类及多糖等成分,具有抗炎、抗氧化及抗肿瘤等作用^[1];鱼腥草含挥发油、黄酮类及生物碱等成分,具有抗炎、抗菌、免疫调节及抗肿瘤作用^[2];白花蛇舌草具有较广泛的抗肿瘤活性,其作用机制可能与抑制肿瘤细胞增殖、调控肿瘤微环境及增强机体免疫功能有关^[3]。太子参、黄芪、白术及白茯苓所含多糖、皂苷、黄酮、内酯及三萜类等成分,则在免疫调节、抗炎和改善机体状态方面具有一定作用^[4-7]。六神曲和陈皮常用于健脾和胃、促进消化,可在一定程度上改善患者食欲及胃肠功能^[8-9]。综上,复方江鱼颗粒可能具有抗肿瘤、抗炎及整体状态调节等作用。

然而,作为传统医院制剂,复方江鱼颗粒在应用过程中仍存在一定改进空间,如给药剂量较大、质量标准尚待完善等问题。目前其质量控制指标相对有限,提取工艺亦有进一步优化空间,这在一定程度上影响了制剂质量稳定性及后续开发应用。因此,本研究拟建立复方江鱼颗粒处方药材中代表性成分槲皮素、熊果酸和大黄素甲醚的含量测定方法,以这三种指标性成分的含量及浸膏得率为评价指标,对提取工艺进行优化,并进一步考察其提取物对小鼠肺癌 LLC 细胞增殖和凋亡的影响,以期为复方江鱼颗粒的质量控制、工艺优化及药效学研究提供实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 实验仪器

E2695-2998PDA 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Milli-Q 纯水仪(德国 Merck Millipore 公司); MF 十万分之一电子天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司); Z216MK 高速温控离心机(德国 HERMLE 公司); A 11 研磨粉碎机(德国 IKA 公司); AdVantage 冷冻干燥机(美国 VirTis 公司); SB-2000 旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司);

DHG-9203A 台式鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); SpectraMax M5 酶标仪(美国 Molecular Devices 公司); FACSCalibur 流式细胞仪(美国 BD 公司); Eclipse C1 荧光显微镜(日本 Nikon 公司)。

1.2 药品与试剂

鱼腥草(批号: 231208, 产地: 四川)、望江南(批号: 240401, 产地: 江苏)、太子参(批号: 20230719, 产地: 贵州)、白花蛇舌草(批号: 20240303, 产地: 河南)、黄芪(批号: 20240219, 产地: 内蒙古)、白术(麸炒)(批号: 20240531-1, 产地: 安徽)、陈皮(批号: 20240406-1, 产地: 湖南)、白茯苓(批号: SY240102, 产地: 云南)、六神曲(炭)(批号: 240403, 产地: 河南)均由复旦大学附属肿瘤医院提供,上述药材经上海中医药大学杨骏教授鉴定;槲皮素(批号: O29HB199514)、熊果酸(批号: C15O11Q126879)、大黄素甲醚(批号: M08IB214534)均购自上海源叶生物科技有限公司; DMEM 培养基(Gibco 公司); CCK-8 试剂盒(碧云天生物技术有限公司);多聚甲醛、结晶紫(Sigma-Aldrich 公司); Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司); 甲醇(质谱级, 99.9%, 默克); 甲酸[色谱级, $\geq 98\%$, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; 实验用水为 Milli-Q 纯水仪制备的去离子水。

1.3 细胞

Lewis 小鼠肺癌细胞(LLC)购自中国科学院上海细胞库。

2 方法与结果

2.1 含量测定方法学考察

2.1.1 对照品储备液的配制

分别精密称取槲皮素、熊果酸和大黄素甲醚对照品 10 mg 于 10 ml 量瓶中,用甲醇溶解定容,制备浓度均为 1 mg/ml 的槲皮素、熊果酸、大黄素甲醚对照品储备液,备用。

2.1.2 供试品溶液的配制

称取药材鱼腥草 10 g、望江南 5 g、太子参 4 g、白花蛇舌草 3 g、黄芪 3 g、白术(麸炒)3 g、陈皮 3 g、白茯苓 3 g、六神曲(炭)3 g,置于 1000 ml 圆底烧瓶中,取 12 倍量纯化水浸泡 30 min,微沸状态下煎煮 2 次,药液合并过滤,4℃ 静置过夜,再次过滤,滤液减压浓缩得到浸膏,再经冷冻干燥处理,即得复方江鱼颗粒提取物干浸膏,干浸膏粉碎,过 100 目筛备用。精密称取制备的干浸膏 800 mg 置于 10 ml 量瓶中,甲醇溶解并定容,得到 80 mg/ml 的供试品溶液。

2.1.3 色谱条件

色谱柱: Eclipse Plus C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 为含 0.1% 甲酸的甲醇, 流动相 B 为 0.1% 甲酸水溶液; 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 25℃; 检测波长分别为 210 nm(槲皮素和熊果酸) 和 226 nm(大黄素甲醚); 进样量: 20 μl。洗脱梯度: 0~10 min, 30%~70% A; 10~15 min, 70%~95% A; 15~23 min, 95% A; 23~25 min, 95%~30% A。

2.1.4 专属性考察

分别精密量取 40 μl、400 μl、20 μl 槲皮素、熊果酸、大黄素甲醚对照品储备液混合, 用甲醇稀释至 1 ml, 配制成最终浓度分别为槲皮素 40 μg/ml、熊果酸 400 μg/ml、大黄素甲醚 20 μg/ml 的混合对照品溶液, 与供试品溶液和空白甲醇溶液进样分析。检测波长为 210 nm 条件下的色谱图如图 1 所示, 检测波长为 226 nm 条件下的色谱图如图 2 所示。结果显示, 混合对照品和供试品中槲皮素、熊果酸和大黄素甲醚色谱峰的保留时间分别在 11.80 min、21.65 min 和 19.79 min, 空白甲醇溶液对测定结果无影响, 表明专属性良好。

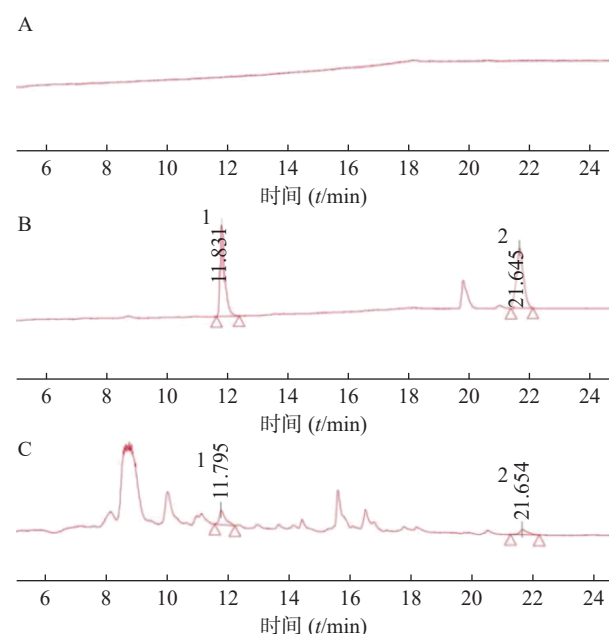


图 1 检测波长为 210 nm 的液相色谱图

A. 空白甲醇溶液的液相色谱图; B. 混合对照品溶液的液相色谱图; C. 供试品溶液的液相色谱图; 1. 槲皮素; 2. 熊果酸

2.1.5 线性关系考察

精密量取对照品储备液, 用甲醇稀释, 配制成槲皮素浓度为 1、2、5、10、20、40、80 μg/ml, 熊果酸浓度为 10、20、50、100、200、400、800 μg/ml, 大黄素甲醚浓度为 0.5、1、2.5、5、10、20、40 μg/ml 的混合对照品溶液进样分析, 并以药物浓度(X)为横

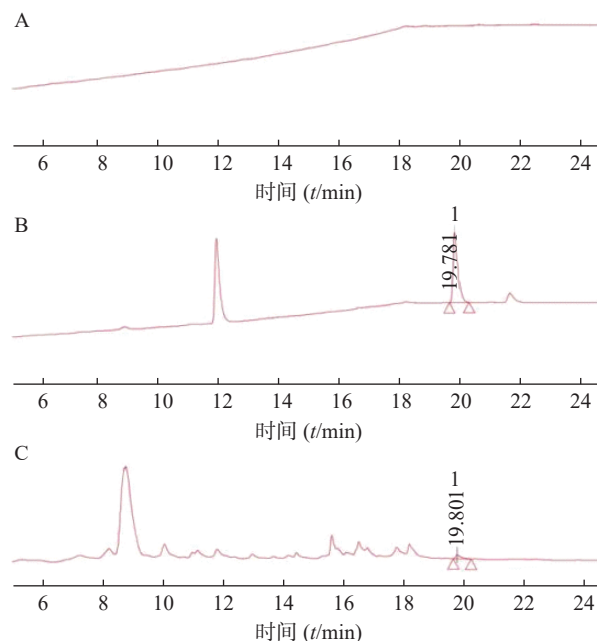


图 2 检测波长为 226 nm 的液相色谱图

A. 空白甲醇溶液的液相色谱图; B. 混合对照品溶液的液相色谱图; C. 供试品溶液的液相色谱图; 1. 大黄素甲醚

坐标, 峰面积积分值(Y)为纵坐标, 进行线性回归。经计算, 槲皮素的线性方程为 $Y=91320 X+8557$ ($r=0.9997$), 熊果酸的线性方程为 $Y=8938 X+50858$ ($r=0.9996$), 大黄素甲醚的线性方程为 $Y=101431 X-2476$ ($r=0.9999$)。结果显示槲皮素在 1~80 μg/ml 浓度范围内, 熊果酸在 10~800 μg/ml 浓度范围内, 大黄素甲醚在 0.5~40 μg/ml 浓度范围内, 药物浓度和吸收峰面积的线性关系良好。

2.1.6 精密性考察

取高、中、低 3 个浓度的混合对照品溶液, 考察仪器精密性。槲皮素浓度分别为 80、10、1 μg/ml, 熊果酸浓度分别为 800、100、10 μg/ml 和大黄素甲醚浓度分别为 40、5、0.5 μg/ml, 一天内对各溶液测定 6 次, 连续测定 3 天, 并记录峰面积。高中低浓度的槲皮素、熊果酸、大黄素甲醚的日内、日间精密性 RSD 值均小于 3%, 表明仪器精密性良好。

2.1.7 重复性考察

按照供试品溶液制备方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件分别进样分析, 记录峰面积。结果显示, 槲皮素吸收峰面积的 RSD 值为 2.73%, 熊果酸吸收峰面积的 RSD 值为 2.79%, 大黄素甲醚吸收峰面积的 RSD 值为 1.90%, 结果表明该方法的重复性良好。

2.1.8 稳定性考察

取同一批供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件, 分别测定该溶液于室温下放置 0、2、4、6、8、

12、24 h 后的色谱峰面积。结果显示, 24 h 内, 槲皮素吸收峰面积的 RSD 值为 2.87%, 熊果酸吸收峰面积的 RSD 值为 2.63%, 大黄素甲醚吸收峰面积的 RSD 值为 2.19%, 表明配制的供试品溶液在 24 h 内保持稳定。

2.1.9 加样回收率考察

精密量取上述配制的供试品溶液 1 ml 置于 2 ml 量瓶中, 并分别加入槲皮素对照品储备液 5.04、10.08、15.12 μl , 熊果酸对照品储备液 8.34、16.68、25.02 μl 和稀释 10 倍的大黄素甲醚对照品储备液 3.92、7.84、11.76 μl , 溶解过滤后, 按“2.1.3”项下色谱条件进样分析, 考察采用该色谱条件检测槲皮素、熊果酸和大黄素甲醚的加样回收率。结果表明该测定方法准确性好, 可用于样品中槲皮素、熊果酸和大黄素甲醚的含量测定(见表 1)。

表 1 加样回收率测定结果表 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

成分	样品含量(μg)	加入量(μg)	$\bar{x} \pm s$	RSD(%)
槲皮素	10.08	5.04	95.67 \pm 0.46	0.48
	10.08	10.08	96.03 \pm 0.15	0.16
	10.08	15.12	100.96 \pm 1.52	1.50
熊果酸	16.68	8.34	98.20 \pm 1.05	1.07
	16.68	16.68	97.40 \pm 1.10	1.13
	16.68	25.02	101.09 \pm 0.66	0.65
大黄素甲醚	0.784	0.392	96.67 \pm 0.77	0.79
	0.784	0.784	97.44 \pm 0.87	0.89
	0.784	1.176	98.47 \pm 0.21	0.22

2.2 复方江鱼颗粒处方药材的提取工艺优化

首先采用单因素试验初步考察溶媒用量、提取时间和提取温度对提取效果的影响, 在此基础上结合正交试验和综合评分法进一步优化复方江鱼颗粒处方药材的提取工艺。

2.2.1 溶媒用量考察

平行称取复方江鱼颗粒处方药材 5 份, 每份

37 g(药材配比同“2.1.2”项), 分别加入 6、8、10、12、14 倍量(v/g)的水, 在 70 $^{\circ}\text{C}$ 条件下提取 2 次, 每次 1.5 h。依据所得槲皮素、大黄素甲醚和熊果酸的含量和浸膏得率, 参考相关文献方法并结合本研究实际, 采用综合评分法计算综合评分^[10]。综合评分 = (槲皮素含量/最高槲皮素含量) \times 30% + (大黄素甲醚含量/最高大黄素甲醚含量) \times 30% + (熊果酸含量/最高熊果酸含量) \times 30% + (浸膏得率/最高浸膏得率) \times 10%。由实验结果可知(表 2), 溶媒用量为 12 倍时, 综合评分最高, 故确定其为较优溶媒用量。

2.2.2 提取时间考察

平行称取复方江鱼颗粒处方药材 5 份(药材组成同“2.1.2”项), 加入其质量 12 倍量的水, 70 $^{\circ}\text{C}$ 提取 2 次, 待温度恒定后开始计时, 每次 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h。按“2.2.1”项下方法计算综合评分。结果显示, 提取时间为 1.5 h 时, 综合评分最高(见表 3), 故确定其为较优提取时间。

2.2.3 提取温度考察

平行称取复方江鱼颗粒处方药材 5 份(药材组成同“2.1.2”项), 加入其质量 12 倍量的水, 分别在 50、60、70、80、90 $^{\circ}\text{C}$ 提取 2 次, 待温度恒定后开始计时, 每次 1.5 h。按“2.2.1”项下方法计算综合评分。结果显示, 提取温度为 70 $^{\circ}\text{C}$ 时, 综合评分最高(见表 4), 故确定其为较优提取温度。

2.2.4 正交实验考察

以复方江鱼颗粒处方药材提取浸膏中槲皮素、熊果酸、大黄素甲醚的含量及浸膏得率作为指标, 采用 L₉(3⁴) 正交试验设计表, 考察溶媒用量(10、12、14 倍)、提取时间(1、1.5、2 h)、提取温度(60、70、80 $^{\circ}\text{C}$)、提取次数(1、2、3 次)等因素, 优选出最佳的提取工艺。

表 2 溶媒用量的单因素实验结果表 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

溶媒用量(倍)		6	8	10	12	14
有效成分含量($\mu\text{g}/\text{g}$)	槲皮素	14.27 \pm 0.29	17.13 \pm 0.43	25.23 \pm 0.26	36.14 \pm 0.12	33.57 \pm 0.41
	熊果酸	12.29 \pm 0.26	20.14 \pm 0.61	42.43 \pm 1.25	52.97 \pm 1.40	54.98 \pm 0.18
	大黄素甲醚	1.19 \pm 0.01	1.23 \pm 0.02	1.73 \pm 0.04	2.98 \pm 0.09	2.89 \pm 0.05
浸膏得率(%)		16.69 \pm 0.62	18.73 \pm 0.24	18.43 \pm 0.15	21.07 \pm 0.61	20.18 \pm 0.44
综合得分		0.38	0.47	0.70	0.99	0.97

表 3 提取时间的单因素实验结果表 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

提取时间(h)		0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
有效成分含量($\mu\text{g}/\text{g}$)	槲皮素	20.54 \pm 0.15	33.92 \pm 0.81	37.14 \pm 0.26	28.99 \pm 0.26	17.20 \pm 0.10
	熊果酸	21.30 \pm 0.59	43.36 \pm 0.72	54.09 \pm 0.71	38.06 \pm 0.43	17.74 \pm 0.38
	大黄素甲醚	1.32 \pm 0.03	2.52 \pm 0.07	2.91 \pm 0.08	2.12 \pm 0.07	1.44 \pm 0.04
浸膏得率(%)		13.48 \pm 0.38	18.98 \pm 0.33	20.40 \pm 0.47	14.07 \pm 0.48	12.77 \pm 0.39
综合得分		0.49	0.87	1.00	0.73	0.45

表4 提取温度的单因素实验结果表 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

提取温度(°C)		50	60	70	80	90
有效成分含量($\mu\text{g/g}$)	槲皮素	15.03±0.24	24.81±0.06	36.40±0.42	16.28±0.07	11.19±0.07
	熊果酸	19.69±0.54	34.05±0.37	52.88±0.41	27.53±0.48	14.73±0.06
	大黄素甲醚	1.34±0.05	1.51±0.04	2.96±0.06	1.73±0.03	1.18±0.01
浸膏得率(%)	12.99±0.39	15.88±0.25	20.25±0.37	16.88±0.35	14.32±0.33	
综合得分	0.44	0.63	1.00	0.55	0.37	

依据所得槲皮素、熊果酸、大黄素甲醚的含量和浸膏得率,综合评分计算方法同“2.2.1”项。表5结果显示,各因素对综合评分的影响依次是提取次数(D)>提取温度(C)>溶媒用量(A)>提取时间(B)。由于因素B的偏差平方和最小,说明其对结果影响较小,故将其并作误差项,对其余因素进行方差分析。表6结果显示,各考察因素对综合评分

无显著影响($P > 0.05$)。因提取次数在该结果中影响较大,因此不选择减少提取次数以压缩整体工艺内容。并且考虑到实际应用与温度所致药材中的成分溶解速率差异,该实验中所述提取时间均为水煎液温度恒定后开始计时,确定最优提取工艺是 $A_2B_1C_2D_3$,即采用药材质量12倍量的水,在70°C提取3次,达到提取温度后煎煮1h。

表5 正交试验直观分析表

试验号	因素A	因素B	因素C	因素D	槲皮素含量($\mu\text{g/g}$)	熊果酸含量($\mu\text{g/g}$)	大黄素甲醚含量($\mu\text{g/g}$)	浸膏得率(%)	综合评分
1	1	1	1	1	12.76	17.95	1.10	14.58	0.34
2	1	2	2	2	27.41	40.49	2.05	18.93	0.67
3	1	3	3	3	15.53	31.70	1.59	24.46	0.51
4	2	1	2	3	40.65	61.75	3.10	27.80	1.00
5	2	2	3	1	11.38	32.19	1.40	14.87	0.43
6	2	3	1	2	20.79	28.05	1.41	17.48	0.49
7	3	1	3	2	16.88	25.53	1.03	21.12	0.42
8	3	2	1	3	32.87	45.82	3.00	22.34	0.84
9	3	3	2	1	21.91	38.91	1.94	21.57	0.62
均值1	0.507	0.587	0.557	0.463					
均值2	0.64	0.647	0.763	0.527					
均值3	0.627	0.54	0.453	0.783					
极差	0.133	0.107	0.31	0.32					

表6 方差分析表

因素	离差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
A	0.03	2	1.88	19.00	$P > 0.05$
C	0.15	2	8.77	19.00	$P > 0.05$
D	0.17	2	10.12	19.00	$P > 0.05$
B(误差)	0.02	2			

2.2.5 验证实验

按照水提正交实验结果制备3批样品,以指标性成分含量及浸膏得率为考察指标,对优选工艺进行验证。取处方药材共37g,加入12倍量水(v/g),70°C条件下,提取3次,每次1h,得提取液,药液合并过滤,4°C静置过夜,再次过滤,滤液减压浓缩得到稠浸膏,再经冷冻干燥处理,即得复方江鱼颗粒提取物干浸膏,计算浸膏得率及成分含量。结果显示,三批样品中槲皮素的含量为 $41.89 \pm 0.26 \mu\text{g/g}$,熊果酸的含量为 $61.62 \pm 1.75 \mu\text{g/g}$,大黄素甲醚的含量为 $3.07 \pm 0.08 \mu\text{g/g}$,浸膏得率为 $27.08 \pm 0.69\%$ 。该结果表明,3批样品中各指标性成分含量及浸膏得率差异较小,说明优选的提取工艺稳定可行。

2.3 体外抗肺癌作用评价

2.3.1 细胞增殖

将LLC细胞以 1×10^4 个/孔的密度接种于96孔板中,将复方江鱼颗粒处方药材的提取物干浸膏用DMEM溶解,配制成浓度为140、120、100、80、60、40、20、10 mg/ml的药物溶液(生药量浓度)。实验同时设置空白孔、对照孔和给药孔,每组设6个复孔。空白孔不接种细胞,仅加入DMEM培养基;对照孔接种细胞并加入等体积DMEM培养基;给药孔接种细胞并加入不同浓度药物溶液。待细胞贴壁后,分别与上述溶液共孵育24h。再于每孔中加入CCK-8溶液10 μl ,避光孵育0.5h,用酶标仪测定各孔在450 nm处的吸光度(OD),计算细胞存活率和药物的半数抑制浓度(IC_{50}),细胞存活率(%)=(给药孔OD值-空白孔OD值)/(对照孔OD值-空白孔OD值) $\times 100\%$ ^[11]。结果表明(图3),复方江鱼颗粒处方药材提取物对LLC细胞的 IC_{50} 为65.10 mg/ml。随着药物浓度升高,LLC细

胞存活率逐渐下降,提示其可呈浓度依赖性抑制 LLC 细胞增殖。

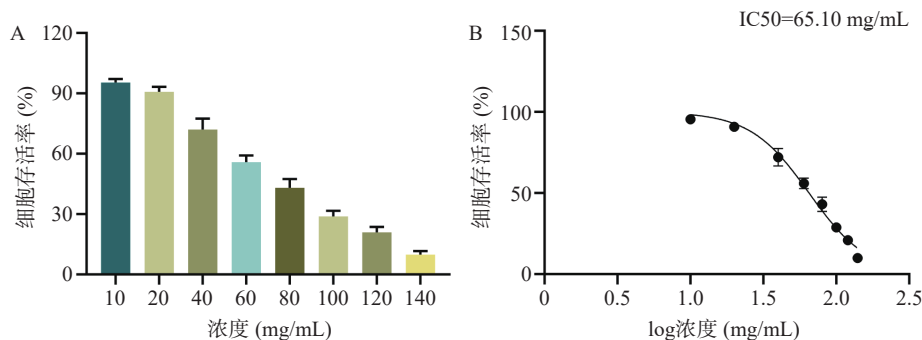


图3 不同浓度复方江鱼颗粒处方药材提取物对 LLC 细胞增殖的影响
A. LLC 细胞存活率; B. 药物浓度对数值与 LLC 细胞存活率的拟合曲线

2.3.2 细胞凋亡

将 LLC 细胞以 8×10^5 个/孔的密度接种于 6 孔板,置于培养箱中培养 24 h。吸去上清, PBS 洗涤,分别加入 DMEM(对照组)和复方江鱼颗粒处方药材提取物干浸膏溶液(60 mg/ml,以生药量计)处理 24 h。用不含 EDTA 的 0.25% 胰酶消化细胞,离心后收集细胞沉淀,用预冷的 PBS 重悬,再次离心,加入 100 μ l 1 \times Binding Buffer 重悬细胞。各处理组

细胞依次加入 5 μ l Annexin V-FITC 和 10 μ l PI 染色液,振荡混匀,室温下避光染色 10 min。再加入 300 μ l 1 \times Binding Buffer 混匀,用流式细胞仪检测各组细胞的凋亡情况,并计算细胞凋亡率^[12]。结果与细胞毒性实验趋势相似(图 4),与对照组相比,复方江鱼颗粒处方药材提取物处理后 LLC 细胞凋亡率显著升高,由 $(2.31 \pm 0.75)\%$ 升至 $(53.11 \pm 2.00)\%$ ($P < 0.001$),表明其可显著诱导 LLC 细胞凋亡。

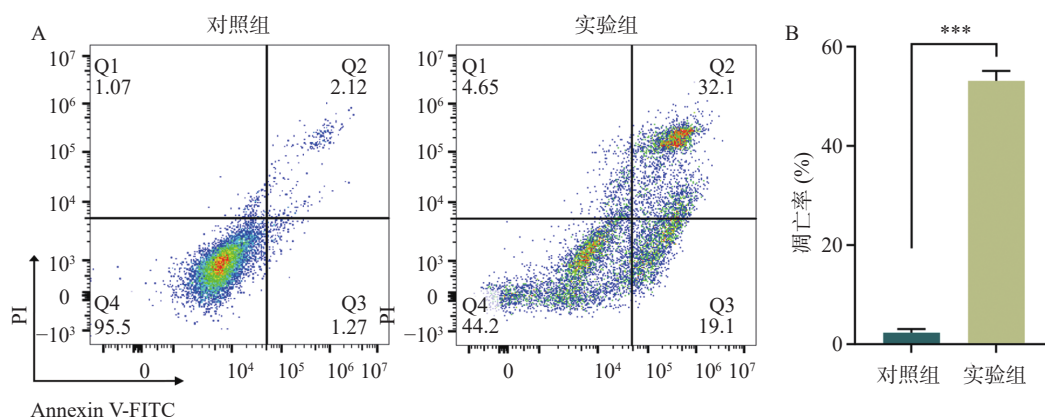


图4 复方江鱼颗粒处方药材提取物对 LLC 细胞凋亡的影响
A. LLC 细胞的流式细胞术凋亡分析; B. LLC 细胞的凋亡率。*** $P < 0.001$

3 讨论

复方江鱼颗粒原质量标准主要采用薄层色谱法进行定性鉴别,缺乏定量质量控制指标,难以全面反映制剂的内在质量。本研究建立了复方江鱼颗粒处方药材中槲皮素、熊果酸和大黄素甲醚的高效液相色谱含量测定方法,为完善该院内制剂的质量控制标准提供了实验依据。所选成分来源于方中主要药味,不仅因其在方中主要药味中含量较高且易于检测,更因其与该复方抗肺癌药效存在潜在关联。现代药理研究表明,鱼腥草的主要成分之一是天然类黄酮化合物槲皮素,研究表明,槲皮素可

上调 LC3-II/I 和 β clin-1 的蛋白表达,通过 SIRT1/AMPK 信号通路激活肺癌 A549 和 H1299 细胞的凋亡及自噬^[13-14]。熊果酸又名乌索酸,是白花蛇舌草中一种具有抗氧化活性的五环三萜类化合物,可通过 EGFR/JAK2/STAT3 通路抑制 MMP2 和 PD-L1 表达,抑制肺癌细胞的迁移和增殖,促进细胞凋亡^[15]。大黄素甲醚是一种蒽醌类化合物,是望江南的主要成分之一,有抗癌、抗菌、抗病毒等多种作用,可通过提升 ROS 水平、减少脂生成等,抑制肺癌 A549、H1299 等细胞增殖,诱导细胞凋亡^[16-17]。因此,以这三种成分作为工艺优化的评价指标,不仅能反映提取工艺对多类活性成分的提取效率,也

初步桥接了工艺优化与药效活性之间的内在联系。后续研究可进一步采用谱效关系分析,明确各成分对整体抗肺癌活性的贡献度,以建立更具专属性的质量控制体系。

复方江鱼颗粒在临床中应用多年。为保证其提取工艺的连续性和应用可行性,本研究保留原有水提工艺,并在此前工艺基础上结合单因素试验和正交试验,对溶媒用量、提取时间、提取温度和提取次数等因素进行了系统考察。考虑到该方原处方服用量较大,除指标性成分含量外,本研究同时将干浸膏得率纳入评价指标,并采用综合评分法对提取工艺进行优化,以兼顾活性成分提取效率和实际制剂应用需求^[18]。结果表明,优选得到的提取工艺稳定可行,具有较好的重复性和可操作性。与原制剂制备工艺相比,本研究优化的提取新工艺的主要活性成分提取率和浸膏得率都有一定提升。这一优化结果可在保证相同有效物质摄入量的前提下,减少患者每日服用剂量,这不仅有助于降低生产成本,更直接回应了临床上患者反映的“服药量大”的问题,对改善患者长期用药的依从性具有积极意义。

此外,本研究初步考察了复方江鱼颗粒处方药材提取物对小鼠肺癌 LLC 细胞增殖和凋亡的影响。结果显示,该提取物可显著抑制 LLC 细胞增殖,并促进细胞凋亡,提示其具有显著的体外抗肺癌活性。结合文献报道,槲皮素、熊果酸和大黄素甲醚等成分均具有抑制肺癌细胞增殖、促进细胞凋亡的作用,因此该提取物的抗肿瘤效应可能并非来源于单一成分,而是方中黄酮类、三萜类、蒽醌类及多糖类等多种活性成分协同作用的结果。本研究目前仅完成了初步体外活性评价,其具体作用机制尚需结合凋亡相关蛋白检测及体内实验进一步阐明。

【参考文献】

- [1] 弓迎宾,李亚婷,李石飞. 望江南中黄酮成分提取、结构鉴定及抗氧化活性分析[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2025, 48(5): 1009-1016.
- [2] WU Z, DENG X Y, HU Q C, et al. *Houttuynia cordata* thunb: an ethnopharmacological review[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 714694.
- [3] 叶松山,刘云鹤,李文涛,等. 基于网络药理学和生物信息学模式预测白花蛇舌草抗非小细胞肺癌关键靶点和分子机制[J]. *肿瘤药学*, 2021, 11(1): 58-65,112.
- [4] LI H, WANG S Y, YANG Z S, et al. Advances in *Pseudostellaria heterophylla* research: current status and future directions[J]. *Molecules*, 2025, 30(17): 3656.
- [5] LI M, NG C Y J, CHEN H Y, et al. Polysaccharides from *Atractylodes macrocephala*: a review of mechanistic and therapeutic insights into intestinal disorders[J]. *Nutrients*, 2025, 17(23): 3722.
- [6] LEI J H, GONG D H, DUAN L T, et al. A multidimensional perspective on *Poria cocos*, an ancient fungal traditional Chinese medicine[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 348: 119869.
- [7] 陈大勇,张凤先,侯丹阳,等. 黄芪化学成分及药理作用研究进展[J]. *人参研究*, 2025, 37(5): 92-96.
- [8] XU X X, HE H, JIA S, et al. Recent advances in Citri Reticulatae Pericarpium polysaccharides: Extraction, structure, bioactivity, and applications: a review[J]. *Int J Biol Macromol*, 2026, 337: 149543.
- [9] 梁雪娟,陈玲珑,冯小龙,等. 基于网络药理学研究六神曲对脾虚便秘小鼠胃肠激素及肠道菌群的影响[J]. *中国新药杂志*, 2025, 34(19): 2076-2086.
- [10] 杨园,罗舒,宋怡,等. 中药提取及澄清工艺优化指标选择的研究进展[J]. *四川农业科技*, 2024(4): 78-82.
- [11] CHEN Y T, HUANG X L, HU R N, et al. Inhalable biomimetic polyunsaturated fatty acid-based nanoreactors for peroxynitrite-augmented ferroptosis potentiate radiotherapy in lung cancer[J]. *J Nanobiotechnol*, 2025, 23(1): 338.
- [12] HE C X, LU Y J, WANG T, et al. Xiaoji decoction induces apoptosis in lung cancer cells and M1 Macrophage polarization via the JAK1/STAT3/PD-L1 pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 352: 120240.
- [13] WEI P P, LUO Q, HOU Y, et al. *Houttuynia Cordata* Thunb.: a comprehensive review of traditional applications, phytochemistry, pharmacology and safety[J]. *Phytomedicine*, 2024, 123: 155195.
- [14] GUO H J, DING H, TANG X, et al. Quercetin induces proapoptotic autophagy via SIRT1/AMPK signaling pathway in human lung cancer cell lines A549 and H1299 *in vitro*[J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12(9): 1415-1422.
- [15] SANDHU S S, ROUZ S K, KUMAR S, et al. Ursolic acid: a pentacyclic triterpenoid that exhibits anticancer therapeutic potential by modulating multiple oncogenic targets[J]. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 2023, 39(2): 729-759.
- [16] 朱伊婧,李佳蓉,闫翠香,等. 望江南的活性成分、功能特性及开发利用[J]. *特种经济动植物*, 2023, 26(7): 98-104.
- [17] XUNLI, LIU Y J, CHU S F, et al. Physcion and physcion 8-O- β -glucopyranoside: a review of their pharmacology, toxicities and pharmacokinetics[J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 310: 108722.
- [18] 郁建超,马超,王萌萌,等. 复方羊蛇颗粒处方药材提取工艺的优化研究[J]. *药学实践与服务*, 2023, 41(4): 240-244.

【收稿日期】 2026-03-23 【修回日期】 2026-06-11

【本文编辑】 陈盛新