·研究报告·

血红铆钉菇多糖对 RAW264.7 巨噬细胞免疫调节作用研究

豆甲泰[1,2], 刘友昊[3], 梁启超[1], 吴宜艳[1]（1. 牡丹江医学院药学系, 黑龙江 牡丹江 157011; 2. 陆军第 78 集团军医院, 牡丹江 157011; 3. 牡丹江医学院红旗医院, 牡丹江 157011）

［摘要］ **目的**　研究血红铆钉菇多糖对 RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞的免疫调节作用。**方法**　将小鼠的巨噬细胞进行复苏培养, 制备细胞悬液, 设置空白对照组以及不同质量浓度的血红铆钉菇多糖(CRPS25-Ⅱ)组(1、20、40、80 和 160 μg/ml)。采用 MTT 法测定血红铆钉多糖对小鼠巨噬细胞 RAW264.7 的细胞毒性; 采用 RT-PCR 法检测血红铆钉菇多糖对小鼠巨噬细胞 RAW264.7 分泌免疫调节因子 IL-6 和 TNF-α 的影响; 采用 Western-blot 法检测血红铆钉菇多糖对小鼠巨噬细胞 RAW264.7 的 NF-κB 信号通路中 p-P65 蛋白表达的影响。**结果**　实验证明血红铆钉菇多糖在 1 ~ 160 μg/ml 的范围内没有明显的细胞毒性, CRPS25-Ⅱ质量浓度在 1 ~ 160 μg/ml 可提高细胞因子的分泌量, 从而促进细胞因子 IL-6 和 TNF-α 的 mRNA 表达; CRPS25-Ⅱ可促进 p-P65 蛋白的磷酸化, 激活 NF-κB 信号通路从而促进细胞的免疫调节作用, 1 ~ 160 μg/ml 浓度范围内均可促进 p-P65 蛋白的增加, 1 ~ 40 μg/ml 呈上升趋势, 40 ~ 160 μg/ml 促进作用逐渐减弱。**结论**　血红铆钉菇多糖对小鼠巨噬细胞无毒性, 且可以促进炎症因子 IL-6 和 TNF-α 的分泌以及激活 NF-κB 信号通路, 从而起到免疫调节作用。

［关键词］ 血红铆钉菇多糖; 巨噬细胞; 免疫调节
［中图分类号］ R967　［文献标志码］ A　［文章编号］ 1006-0111(2021)05-0449-05
［DOI］ 10.12206/j.issn.1006-0111.202102005

Immunoregulatory effect of polysaccharides derived from *chroogomphus rutilus* on macrophage cell line RAW264.7

DOU Jiatai[1,2], LIU Youhao[3], LIANG Qichao[1], WU Yiyan[1]（1. School of pharmacy, Mudanjiang Medical College, Mudanjiang 157011, China; 2. The 78th Group Army Hospital of the PLA, Mudanjiang 157011, China; 3. Hongqi Hospital of Mudanjiang Medical College, Mudanjiang 157011, China）

［**Abstract**］ **Objective**　To study the immunomodulatory effect of polysaccharides (CRPS25-Ⅱ) derived from *Chroogomphus rutilus* on mouse mononuclear macrophages, RAW264.7 cells. **Methods**　RAW264.7 cells were resuspended and cultured, cell suspension was prepared. The blank control group and CRPS25-Ⅱ groups with different mass concentrations (1, 20, 40, 80 and 160 μg/ml) were set up. MTT assay was used to determine the cytotoxicity of CRPS25-Ⅱ on RAW264.7 cells. RT-PCR was used to detect the effects of CRPS25-Ⅱ on the secretion of immune regulatory factors IL-6 and TNF-α from RAW264.7 cells. Western blot was used to detect the effects of CRPS25-Ⅱ on the expression of p-P65 protein in NF-κB pathway of RAW264.7 cells. **Results**　The results showed that CRPS25-Ⅱ (1—160 μg/ml) had no obvious cytotoxicity. CRPS25-Ⅱ (1—160 μg/ml) increased the secretion of cytokines, and thus promoted the mRNA expression of IL-6 and TNF-α. CRPS25-Ⅱ increased the phosphorylation of p-P65 protein and activated the NF-κB signaling pathway, and thus promoted the immune regulation of cells. CRPS25-Ⅱ (1—160 μg/ml) could increase the p-P65 protein, and the promoting effects of CRPS25-Ⅱ showed an upward trend in the concentration range of 1—40 μg/ml and gradually weakened in the concentration range of 40—160 μg/ml. **Conclusion**　Polysaccharides derived from *chroogomphus rutilus* had no cytotoxicity to mouse macrophages, and could promote the secretion of inflammatory factors IL-6 and TNF-α and activate the NF-κB signaling pathway, thus playing an immunomodulatory role.

［**Key words**］ CRPS25-Ⅱ; RAW264.7 cells; immune regulation

血红铆钉菇 [*Chroogomphus rutilus* (*Schaeff.*) O.K. Mill.], 属担子菌亚门伞菌目铆钉菇科铆钉菇属[1]。菌体铆钉状且菌肉为酒红色, 故名血红铆钉菇。分布于中国北方及西南多省, 以及日本、欧洲及北美多国, 主要生于松林中地上的杂草丛林之间, 是一种与油松、樟子松、马尾松、赤松共生的外生菌根真菌, 群生、散生或单生, 营养价值极高, 深受人们喜爱[2]。研究表明, 血红铆钉菇富含蛋白

［作者简介］ 豆甲泰, 硕士生, 主管药师, 研究方向: 免疫药理学, Email: doujiatai@126.com
［通信作者］ 吴宜艳, 硕士生导师, 教授, 研究方向: 免疫药理学, Email: wyy6582222@163.com

质、多糖、黄酮、香豆素及甾醇[3-8]等多种活性物质，具有极高的食用和药用价值。随着人民生活水平的提高和科学技术的不断进步，糖化学及其活性研究正在经历着飞速的发展，越来越多的动物多糖、植物多糖、真菌多糖被开发利用。多糖作为食用菌重要的活性成分，具有抗肿瘤、抗氧化、抗疲劳、免疫调节、神经保护、降血糖、降血脂[9-13]等诸多药理作用。目前，各类真菌多糖的免疫调节作用研究已广泛开展[14-23]。然而，迄今关于血红铆钉菇多糖开发的研究较少，对其免疫调节作用的研究报道亦少，本文探讨血红铆钉菇多糖对小鼠巨噬细胞 RAW264.7 的细胞毒性、免疫调节因子释放、NF-κB 信号通路激活等一系列的免疫调节作用，以期为血红铆钉菇进一步的开发利用提供依据。

1　材料与仪器

1.1　实验材料

1.1.1　细胞株

RAW264.7 细胞购自中国科学院上海细胞库，储藏于牡丹江医学院医药研究中心−80 ℃ 冰箱中，经复苏后，置于含 10% FBS 的 DMEM 培养基中培养。

1.1.2　血红铆钉菇多糖

血红铆钉菇经 25% 乙醇沉淀后，通过 DEAE-52 纤维柱洗脱出多糖组分 CRPS25-Ⅱ，实验室自制。

1.2　主要仪器

κZ-II 匀浆仪（Servicebio）；κZ-II 酶标仪（Rayto）；D3024R 台式高速冷冻型微量离心机、D1008E 台式高速冷冻离心机（DRAGONLAB）；Stepone plus 荧光定量 PCR 仪（ABI）；SW-CJ-1FD 超净工作台（苏净安泰）；NanoDrop2000 超微量分光光度计（Thermo）；G0203-150G 化学发光仪（CLINX）；FBZ2001-up-p 标准试剂型纯水仪（青岛富勒姆科技有限公司）。

1.3　试剂及耗材

RNA 提取液 (批号：G3013)、引物、RIPA 裂解液 (批号：G2002)、PMSF(100mM，批号：G2008)、磷酸化蛋白酶抑制剂 (批号：G2007)、β-肌动蛋白 (批号：GB12001)、GAPDH(批号：GB12002)、Histone H3(批号：GB11026)、HRP 标记山羊抗兔 (批号：GB23303)、HRP 标记驴抗山羊 (批号：GB23404)、HRP 标记山羊抗小鼠 (批号：GB23301)、HRP 标记山羊抗大鼠 (批号：GB23302)、转移缓冲液 (批号：G2017)、电泳缓冲液 (批号：G2018)、TBS 缓冲液 (批号：G0001-2L) 均购自 Servicebio 公司；三氯甲烷、异丙醇、无水乙醇 (国药集团化学试剂有限公司)。

2　方法与结果

2.1　MTT 法检测血红铆钉菇多糖对淋巴细胞存活率的影响

收集对数期 RAW264.7 细胞，制成单细胞悬液，RAW264.7 细胞以 1×10^6 个细胞/孔接种于 96 孔板中，随后，置于恒温培养箱（37 ℃，5% CO_2）中培养 24 h（边缘孔用无菌 PBS 填充），培养完成后去除原有培养基，加入浓度梯度分别为 25、50、100、200、400 μg/ml 的血红铆钉菇多糖溶液（各设置 6 个复孔）于恒温箱中培养 12 h。弃去孔内原有培养液，每孔加入配制好的 MTT 溶液 20 μl，连续培养 4 h 后，弃去原有 MTT 溶液。每孔加入 150 μl DMSO，于恒温箱中孵育 10 min 后，用锡纸包裹避光，操作轻盈防震，使结晶物充分溶解。孵育完成后，置于 490 nm 处测定吸光度（*A*）值。计算细胞增殖活力：细胞增殖活力=[(试验组 OD 均值－对照组 OD 均值)/ 对照组 OD 均值]×100%。实验表明血红铆钉菇多糖 CRPS25-Ⅱ在 25 ~ 400 μg/ml 的范围内无明显的细胞毒性，见图 1。

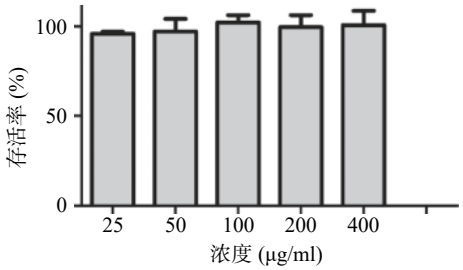


图 1　血红铆钉菇多糖对巨噬细胞毒性的影响

2.2　RT-PCR 方法测定血红铆钉菇多糖对 IL-6 和 TNF-α 的 mRNA 表达水平的影响

2.2.1　总 RNA 抽提

收集对数期 RAW264.7 细胞，制成单细胞悬液，随后以每孔 1×10^6 个细胞接种于六孔培养板中，加入 1 ml 的 DMEM 完全培养基，并于恒温培养箱（37 ℃，5% CO_2）中培养 24 h。设置不同浓度梯度的血色铆钉菇多糖溶液 1、20、40、80、160 μg/ml 及空白对照组，于恒温培养箱中孵育 12 h。弃去原培养基，PBS 清洗 2 次，加入 1 ml 的 Trizol 试剂（冰上操作）。12 000 r/min 离心 10 min 取上清。加入 250 μl 三氯甲烷，颠倒离心管 15 s，充分混匀，静置 3 min。4 ℃ 下 12 000 r/min 离心 10 min。将上清转移到一新的离心管中，加入 0.8 倍体积的异丙醇，颠倒混匀。−20 ℃ 放置 15 min，4 ℃ 下 12 000 r/min 离心 10 min，管底的白色沉淀即为 RNA。吸除液体，加入 75% 乙醇 1.5 ml 洗涤沉淀。4 ℃ 下 12 000 r/min

离心 5 min。将液体吸除干净，将离心管置于超净台上吹 3 min。加入 15 μl 无 RNA 酶的水溶解 RNA。55 ℃ 孵育 5 min。使用 Nanodrop 2000 检测 RNA 浓度及纯度：仪器空白调零后取 2.5 μl 待测 RNA 溶液于检测基座上，放下样品臂，开始吸光值检测。将浓度过高的 RNA 进行适当比例的稀释，使其终浓度为 100 ~ 500 ng/μl。

2.2.2　反转录

取一 PCR 管，加入含 10 μl RNA 的溶液。加入 0.5 μl Oligo (dT)18 底物和 0.5 μl 随机六聚体引物。用无核糖核酸酶的去离子水补足至 15 μl。于 PCR 仪上 65 ℃ 保温 5 min，迅速置冰上冷却。依次加入 4 μl×5 反应缓冲液，1 μl RT 酶混合物，用移液器抽吸混匀。于 PCR 仪上 42 ℃ 保温 60 min，结束后 70 ℃ 保温 5 min 灭活反转录酶。

2.2.3　定量 PCR

①取 0.2 ml PCR 管，配制如下反应体系，每个反转录产物配制 3 管：2×荧光定量 PCR 试剂 10 μl；2.5 μmol/L 基因引物 2 μl；反转录产物 2 μl；双蒸水 6 μl。

②PCR 扩增：预变性 95 ℃，10 min；循环（40 次）95 ℃，15 s→60 ℃，60 s；熔解曲线 60 ℃→95 ℃，每 15 s 升温 0.3 ℃

2.2.4　数据处理

使用 SPSS 25.0 统计软件进行单因素方差分析和 t 检验，P<0.05 为差异有统计学意义。结果表明，血红铆钉菇多糖 CRPS25-Ⅱ在 1 ~ 160 μg/ml 范围内对细胞炎症因子 IL-6 和 TNF-α 的 mRNA 表达均有促进作用，其中在 40 μg/ml 时达到峰值，80 ~ 160 μg/ml 呈逐渐减弱的趋势，见图 2。

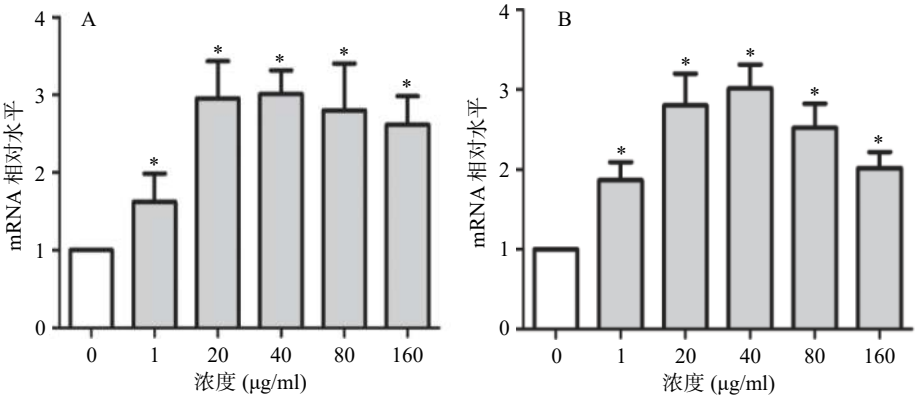


图 2　血红铆钉菇多糖对 RAW264.7 细胞炎症因子 IL-6 和 TNF-α mRNA 表达的影响

A.IL-6; B.TNF-a; *P<0.05, 与空白组比较

2.3　Western-blot 法检测血红铆钉菇多糖对 p-P65 蛋白表达量（β-肌动蛋白作内参）的影响

2.3.1　细胞总蛋白提取

收集对数期 RAW264.7 细胞，制成单细胞悬液，随后以每孔 1×10^6 个细胞接种于六孔培养板中，加入 1 ml 的 DMEM 完全培养基，并于恒温培养箱（37 ℃，5% CO_2）中培养 24 h。设置不同浓度梯度的血色铆钉菇多糖溶液 1、20、40、80、160 μg/ml 及空白对照组，于恒温培养箱中孵育 12 h，用 PBS 冲洗细胞 2 ~ 3 次，最后一次清洗完成，倒掉 PBS，用移液器尽量吸干残留液体；加入适当体积的 RIPA 裂解液（使用前数分钟内加入蛋白酶抑制剂）于培养板/培养瓶内 3 ~ 5 min。期间反复晃动培养板/瓶，使试剂与细胞充分接触；用细胞刮刀将细胞刮下，转移到 1.5 ml 离心管中；冰上裂解 30 min，期间用移液器反复吹打，确保细胞完全裂解。12 000 r/min，4 ℃，离心 10 min，收集上清，即为总蛋白溶液.

2.3.2　蛋白变性

将蛋白溶液按照 4∶1 的比例加入 5×还原型蛋白上样缓冲液，沸水浴变性 15 min，置于−20 ℃ 冰箱保存备用。

2.3.3　SDS-PAGE 电泳转膜

清洗玻璃板；制胶与上样，放入制胶器，插入斜插板将玻璃板固定，检查底部是否对齐，避免漏胶；将分离胶灌到适当的高度，将纯水缓慢均匀加入到分离胶上层，直至加满。大约 30 min 后待分离胶凝固即可倒去分离胶上层水并用吸水纸将剩余水吸干；配制 5% 的浓缩胶，加入四甲基乙二胺后立即混合均匀，灌胶，开始电泳；电泳至溴酚蓝里最底部大约 1 cm 即可终止电泳，进行转膜。将转印完的膜放入装有 TBST 的孵育槽中，快速涮洗一次，然后加上脱脂牛奶，放置脱色摇床上，室温下封闭 30 min；按照抗体说明书，进行一抗稀释，配制好

后，倒掉孵育槽中的封闭液，加入配制好的一抗，4 ℃ 孵育摇床过夜；回收一抗，用 TBST 快速涮洗膜 3 次，然后加入 TBST，放置脱色摇床上快速洗脱，每次 5 min，洗 3 次；将二抗用 TBST 按照 1∶5 000 的比例进行稀释，然后加入孵育槽中，放置摇床上慢摇，室温下孵育 30 min；用 TBST 快速涮洗膜 3 次，然后再加入 TBST，放置脱色摇床上快速洗脱，每次 5 min，洗 3 次。

2.3.4　化学发光

在暗室中将 ECL A 液和 ECL B 液两种试剂在离心管中等体积混合，在曝光匣上贴双层 PE 手套或者其他透明薄膜，将聚偏二氟乙烯膜的蛋白面朝上放在曝光匣两层薄膜之间，加入混合好的 ECL 溶液充分反应，1 ~ 2 min 后，去尽残液，盖上层薄膜开始压胶片。压完的胶片用显影、定影试剂进行显影和定影。

2.3.5　图像分析和数据处理

胶片扫描存档，PhotoShop 整理去色，Alpha 软件处理系统分析目标带的光密度值，使用 SPSS 25.0 统计软件进行单因素方差分析和 t 检验，$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。结果表明，血红铆钉菇多糖 CRPS25-Ⅱ在 1 ~ 160 μg/ml 范围内对细胞 p-P65 蛋白的表达有促进作用，其中在 40 μg/ml 时达到峰值，80 ~ 160 μg/ml 呈逐渐减弱的趋势，见图 3。

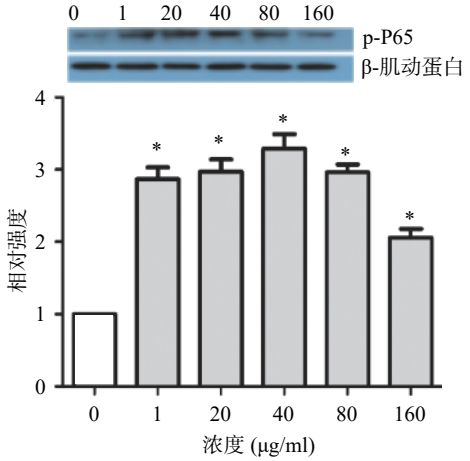


图 3　血红铆钉菇多糖对 RAW264.7 细胞 p-P65 蛋白表达量的影响

*$P<0.05$，与空白组比较

3　讨论

本文对血红铆钉菇多糖进行了研究，在实验室通过水提醇沉的方法制备出血红铆钉菇多糖，通过 DEAE 纤维素-52 柱层析精制得到 CRPS25-Ⅱ，而后将 CRPS25-Ⅱ溶液按 1 ~ 800 μg/ml 浓度分别加入细胞悬液中，按照 6、12、24 h 进行培养，考察多糖浓度和孵育时间对巨噬细胞 RAW264.7 的影响，最终发现 1 ~ 400 μg/ml 浓度范围孵育 12 h 细胞生长状态良好，适于实验研究。

人体的免疫系统调控着机体健康的平衡与稳定，巨噬细胞是人体天然免疫防线的重要一员，参与机体的非特异性防卫（先天性免疫）和特异性防卫（细胞免疫）。巨噬细胞可以呈递抗原、分泌细胞因子等生物活性物质，从而调控机体微环境，达到抗炎、抗肿瘤的作用，细胞因子通过调节细胞分化、生长和凋亡控制整个机体的动态平衡。

本实验是以小鼠腹腔巨噬细胞为靶细胞，研究 CRPS25-Ⅱ体外的免疫调节活性，探讨 CRPS25-Ⅱ在体内发挥免疫调节活性的作用机制。通过 MTT 法检测了 CRPS25-Ⅱ对巨噬细胞 RAW264.7 的细胞毒性，数据表明多糖浓度在 25 ~ 400 μg/ml 范围内 CRPS25-Ⅱ不具有细胞毒性，说明该药物应用于临床的安全性较高，具备深入研究的意义。通过 RT-PCR 法证实 CRPS25-Ⅱ可显著促进腹腔巨噬细胞释放 IL-6 和 TNF-α 等细胞因子，通过增强细胞因子的活性，达到抗炎、抗肿瘤的目的。研究表明多糖浓度在 1 ~ 160 μg/ml 的范围内，CRPS25-Ⅱ对 IL-6 和 TNF-α 释放具有显著促进作用，其中 1 ~ 40 μg/ml 浓度范围呈上升趋势，40 ~ 160 μg/ml 范围内随着 CRPS25-Ⅱ的浓度的增加对 IL-6 和 TNF-α 释放的促进作用逐渐减弱。Western blot 试验显示，CRPS25-Ⅱ作用于 RAW264.7 细胞 12 h 后，1 ~ 160 μg/ml 浓度范围内血红铆钉菇多糖均可显著诱导 RAW264.7 细胞中 p-P65 蛋白的表达，从而激活 NF-κB 信号通路，达到免疫调节的作用。其中 1 ~ 40 μg/ml 浓度范围对 p-P65 蛋白分泌的促进作用呈上升趋势，40 ~ 160 μg/ml 范围内随着 CRPS25-Ⅱ的浓度的增加 p-P65 蛋白的促进作用逐渐减弱。

综上所述，血红铆钉菇多糖具有显著的免疫调节活性，作为一种新型的免疫调节剂，具有较为广阔的开发前景，后续工作可进行更加系统深入的研究。

【参考文献】

[1]　戴玉成. 中国药用真菌图志[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2013

[2]　栾庆书. 血红铆钉菇研究现状及开发利用[J]. 食用菌, 2002, 24(2): 2-3.

[3]　岳峥嵘, 赵博, 张国财, 等. 血红铆钉菇多糖超声微波联合提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2020,

41(22): 165-171.
[4] 李贞卓, 包海鹰. 血红铆钉菇化学成分和药理活性研究概述[J]. 菌物研究, 2015, 13(3): 181-186.
[5] 王贺, 宋文刚, 任婷, 等. 血红铆钉菇多糖分离纯化及抗氧化活性研究[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2019, 20(1): 64-67.
[6] 张海悦, 杨雪, 李震, 等. 血红铆钉菇黄酮体外抗氧化活性的研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(19): 109-113.
[7] MARTÍN M P, SIQUIER J L, SALOM J C, et al. Barcoding sequences clearly separate *Chroogomphus* mediterraneus (Gomphidiaceae, Boletales) from *C. rutilus*, and allied species[J]. Mycoscience, 2016, 57(6): 384-392.
[8] LUO J, ZHOU W, CAO S, et al. Chemical constituents of *Chroogomphus rutilus* (schaeff.) o. k. mill[J]. Biochem Syst Ecol, 2015, 61: 203-207.
[9] SONG S, YANG H, SU C P, et al. Ultrasonic-microwave assisted synthesis of stable reduced graphene oxide modified melamine foam with superhydrophobicity and high oil adsorption capacities[J]. Chem Eng J, 2016, 306: 504-511.
[10] 李志锐, 韩淑琴. 超声-微波协同萃取玛卡多糖工艺研究[J]. 农产品加工, 2017(3): 22-23, 27.
[11] GAO C J, WANG Z Y, SU T T, et al. Optimisation of exopolysaccharide production by *Gomphidius rutilus* and its antioxidant activities in vitro[J]. Carbohydr Polym, 2012, 87(3): 2299-2305.
[12] 唐超, 王清吉, 葛蔚, 等. 血红铆钉菇多糖对小鼠S_{180}肉瘤的抑制作用[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(6): 2966-2967.
[13] WANG C, ZHANG J, WANG F, et al. Extraction of crude polysaccharides from *Gomphidius rutilus* and their antioxidant activities in vitro[J]. Carbohydr Polym, 2013, 94(1): 479-486.
[14] 李燕华, 李仲昆, 李丛元, 夏洪颖. 车前草粗多糖对人巨噬细胞免疫功能的调节作用及其机制研究[J/OL]. 中药材, 2020(11): 2795-2798.
[15] 王晶, 史琪, 随晶晶, 等. 鳞柄小奥德蘑多糖对巨噬细胞免疫功能的调节作用[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(5): 845-850, 892.
[16] 孙林浩, 程安怡, 黄小红, 等. 黄芪多糖对大黄鱼头肾巨噬细胞的免疫调节作用[J]. 应用海洋学学报, 2020, 39(1): 27-34.
[17] 刘肖肖, 汪雯翰, 冯婷, 等. 金针菇子实体多糖FVPB1对小鼠T细胞和巨噬细胞的免疫调节作用[J]. 食用菌学报, 2019, 26(4): 123-130.
[18] 季瑞雪, 鹿保鑫, 王新茹, 等. 野生亚侧耳多糖的提取和对巨噬细胞RAW264.7的免疫调节作用研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(4): 271-276.
[19] 木尼萨·迪力夏提. 阿里红多糖对$RAW_{264.7}$巨噬细胞免疫调节作用机制的初步研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2019.
[20] 热西代姆·阿卜力孜, 李敏, 胡君萍. 锁阳多糖对巨噬细胞$RAW_{264.7}$的免疫调节作用的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(21): 5694-5698.
[21] 张丽娟, 王珍, 廖尚高. 太子参多糖对RAW 264.7巨噬细胞免疫调节作用的初步研究[J]. 中国野生植物资源, 2018, 37(4): 14-17.
[22] 吴静, 胡居吾, 熊伟, 等. 樟树果实多糖对巨噬细胞$RAW_{264.7}$的免疫调节作用[J]. 现代食品科技, 2018, 34(9): 12-18, 309.
[23] 热孜亚木·吾甫尔, 李月红, 海力茜·陶尔大洪. 恰麻古多糖对巨噬细胞$RAW_{264.7}$体外免疫调节作用初探[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(1): 15-20.

［收稿日期］ 2021-02-01　［修回日期］ 2021-08-22
［本文编辑］ 陈盛新

(上接第 448 页)

3　讨论

3.1　测定波长的选择

取对照品溶液依法操作, 在 200 ~ 400 nm 的波长范围内扫描, 结果在 256.6 nm 处有最大吸收, 因此选择 256 nm 作为测定波长 (图 2)。

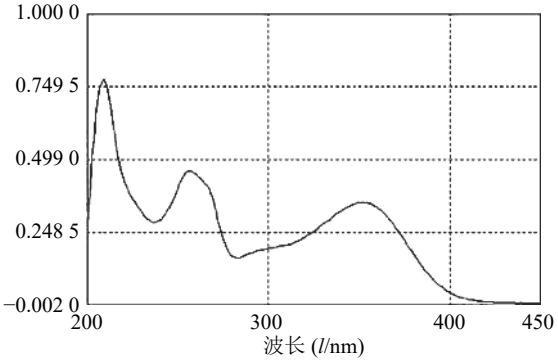


图 2　槲皮苷对照品紫外扫描图

3.2　溶剂的选择

槲皮苷易溶于甲醇、乙醇, 用甲醇作溶剂的峰形比用乙醇作溶剂的峰形好, 因此选择用甲醇作为溶剂。

【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: 化学工业出版社, 2005.
[2] 邱晓静, 苏文镜. HPLC法测定红茴香注射液中芦丁的含量[J]. 海峡药学, 2008, 20(3): 70-71.
[3] 王姿媛, 胡惠兰. HPLC法测定哥王药材中的槲皮苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7): 127-129.
[4] 常明泉, 潘涛. HPLC法测定氯定庆溶液中苯甲酸钠的含量[J]. 海峡药学, 2017, 29(3): 60-62.
[5] 董丹华, 刘玉军. HPLC法测定圣愈汤冻干粉中4个指标成分的含量[J]. 中国药房, 2020, 31(5): 576-580.

［收稿日期］ 2021-03-19　［修回日期］ 2021-06-30
［本文编辑］ 李春德