

诃子超微粉的工艺优化及其对黄嘌呤氧化酶活性的影响

张明超, 刘文彬, 金小宝*

(广东药科大学生命科学与生物制药学院, 广东省生物活性药物研究重点实验室, 广州 510006)

摘 要: 目的 优化诃子超微粉的制备工艺, 探究其对黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)活性的影响。**方法** 以 XOD 抑制率为评价指标, 在单因素实验考察球料比、冷冻时间、转速、球磨时间的基础上, 采用正交实验优化制备工艺, 并对制备的超微粉进行粉体学性质检测, 并评价其 XOD 抑制率。建立优化后的诃子超微粉的高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)指纹图谱, 并与原粉末进行对比, 并对粉体学性质进行检测。**结果** 采用球磨法制备了诃子超微粉, 诃子超微粉最优制备条件为: 球料比 5:1、冷冻时间 40 min、转速 400 r/min、球磨时间 1.0 h, 优化后的超微粉粒径为 22.42 μm , 5 mg/mL XOD 抑制率为 69.10%。优化后的诃子超微粉可显著改善普通粉的粉体学性质, 降低药粉粒径; 经 HPLC 分析, 两种诃子粉末指纹图谱主要成分基本一致, 超微粉碎工艺未破坏诃子成分。**结论** 优化后的诃子超微粉抗 XOD 活性更佳, 为诃子超微粉在高尿酸血症中的应用提供了基础。

关键词: 诃子; 超微粉; 优化; 制备工艺; 黄嘌呤氧化酶

Optimization of the process of superfine powder of *Terminalia chebula* Retz. and its effect on the activity of xanthine oxidase

ZHANG Ming-Chao, LIU Wen-Bin, JIN Xiao-Bao*

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Pharmaceutical Bioactive Substance, College of Life Sciences and Biopharmaceutics, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the preparation technology of superfine powder of *Terminalia chebula* Retz. and explore its effect on xanthine oxidase (XOD) activity. **Methods** Using XOD inhibition rate as the evaluation index and ball material ratio, freezing time, rotational speed and ball milling time as the influencing factors, orthogonal experiments were conducted to optimize the ultramicro pulverization process of *Terminalia chebula* Retz. The optimized ultramicro powder was tested for its powder ological properties to optimize its preparation process. The optimized high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint of *Terminalia chebula* Retz. superfine powder was established, compared with the original powder, and the powder properties were detected. **Results** The ultrafine powder of *Terminalia chebula* Retz. was prepared by ball milling. The optimum preparation conditions of the superfine powder were: Ball-to-material ratio of 5:1, freezing time of 40 min, rotational speed of 400 r/min, and

基金项目: 广东省公益研究与能力建设项目(2017A020211008)、广东省普通高校基础研究与应用基础项目(2018KZDXM041)

Fund: Supported by the Public Welfare Research and Capacity Building Project of Guangdong Province (2017A020211008), and the Basic Research and Application Project of Colleges and Universities in Guangdong Province (2018KZDXM041)

***通信作者:** 金小宝, 教授, 主要研究方向为生物活性药物。E-mail: jinxf2001@163.com

***Corresponding author:** JIN Xiao-Bao, Professor, College of Life Sciences and Biopharmaceutics, Guangdong Pharmaceutical University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Pharmaceutical Bioactive Substance, Guangzhou 510006, China. E-mail: jinxf2001@163.com

ball milling time of 1.0 h. The optimized superfine powder particle size was 22.42 μm , and the XOD inhibition rate was 69.10% at 5 mg/mL. The optimized *Terminalia chebula* Retz. superfine powder could remarkably improve the powder mechanical properties of common powder and reduce the particle size of the powder; HPLC analysis showed that the main components in the fingerprint chromatograms of the two kinds of *Terminalia chebula* Retz. powder were basically the same, and the components of *Terminalia chebula* Retz. were not damaged by the superfine grinding process. **Conclusion** The optimized superfine powder of *Terminalia chebula* Retz. has better anti XOD activity, which provides a basis for the application of *Terminalia chebula* Retz. superfine powder in hyperuricemia.

KEY WORDS: *Terminalia chebula* Retz.; superfine powder; optimization; preparation process; xanthine oxidase

0 引言

随着经济的快速发展,人民生活水平大幅提高,人们的饮食结构也在不断发生变化,高尿酸血症的发病率也逐年升高。高尿酸血症已成为继高血糖、高血压和高血脂之后的第四大健康风险因素,即人们常说的“第四高”。中国高尿酸血症的总体患病率为 13.3%,且发病年龄逐步年轻化^[1]。高尿酸血症是体内尿酸生成过多和(或)尿酸排泄障碍所致的代谢性疾病^[2]。尿酸是由黄嘌呤和次黄嘌呤在黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)催化下生成的^[3]。当体内尿酸升高,就会引发高尿酸血症,继而引发痛风^[4]。目前的降尿酸药物均有所不足,临床常用的促尿酸排泄药如苯溴马隆,可降尿酸,改善部分肾功能,但有肝毒性^[5-6]。抑制尿酸生成药如别嘌醇,有着高效抑制 XOD 的活性,但并不能起到肾保护作用,肾功能不全者禁用^[7]。因此,开辟新思路,打开新角度,寻求安全有效的降尿酸药,成为了目前亟需解决的问题。

诃子为使君子科植物诃子 *Terminalia chebula* Retz.或绒毛诃子 *T. chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt.的干燥成熟果实,属国家药食同源植物。诃子味苦、酸、涩,性平,归肺、大肠经,具有抗炎、抗氧化、护肾、镇痛的作用^[8]。近年来有研究发现诃子具有体外抗 XOD 的活性,如史坤等^[9]报道了诃子等几种天然产物对 XOD 的抑制作用,本课题组在前期研究中发现诃子水提取物可显著降低高尿酸血症大鼠的尿酸水平。中药超微粉是利用球磨机将 0.5~5.0 mm 的物料颗粒粉碎,制出微米级别的超微粉。中药超微粉工艺破坏了植物细胞壁,具有更高的溶解度、生物利用度和萃取率^[10],因此具备好吸收、高效摄入等^[11-12]优点,如三七超微粉应用于食品和药品的制备^[13];铁皮石斛超微粉被开发至药品的生产和加工中^[14]。超微粉口服吸收方便,适合于高尿酸血症患者长期服药。目前关于诃子超微粉工艺的研究鲜少,因此制备诃子超微粉有助于在高尿酸血症患者中推广使用。

本研究采用球磨法制备了诃子超微粉,并对其粉体学性质进行研究,同时以 XOD 的抑制活性为检测指

标,采用单因素实验和正交实验优化了诃子超微粉的制备工艺,高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)分析超微粉制备工艺对其主要成分的影响,利用诃子抗 XOD 活性,开发新产品,以期诃子超微粉开发为高尿酸药物提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

诃子购于广州清平市场,经广东药科大学马鸿雁副研究员鉴定为诃子。

XOD (50 U/mg protein)、没食子酸、芦丁标准品(纯度 98%)(上海源叶生物科技有限公司); XOD 试剂盒(南京建成生物工程研究所); 金龙鱼花生油(益海嘉里食品营销有限公司); 磷酸、甲醇(色谱纯,德国 Merck 公司); 磷酸缓冲液溶即用型干粉(BL601A,白鲨生物科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

XL-20B 中药粉碎机(广州市旭朗机械设备有限公司); YF2-2 高速连续式超微粉碎机(山东青州益康中药机械); XXM-4/XXM 行星式球磨机(无锡市鑫燕粉体机械有限公司); ELx800 全波长酶标仪(美国 Bio Tek 公司); DZKW-4 型恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司); RE-2000A 型旋蒸仪(上海亚荣生化仪器厂); Mastersizer 3000 激光衍射粒度分析仪(英国 Malvern 仪器有限公司); 2998 型 HPLC 仪(美国 Waters 公司); YMC-Pack ODS-A 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm , 上海圻明生物科技有限公司); J6MC 型高速离心机(美国 Beck-Man 公司); QUINTIX35-1CN 天平(精度 1.0 mg, 德国赛多利斯科学仪器有限公司); GHG 9030A 烘箱(上海一恒科学仪器有限公司); 0.22 μm 针头滤膜(美国 Millipore 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 诃子超微粉的制备

参考文献[15]方法,称取诃子果实 500 g 放入 60℃的烘箱中,干燥 10~12 h 后,中药粉碎机粉碎成粉末,过 20 目筛,得粗粉。称取 200 g 诃子粗粉,在高速连续式超微粉碎机对粗粉进行粉碎,粉碎后过 100 目筛^[16],并以之作为

制备超微粉的原粉末。按照球料比 15:1 ($m:m$, 下同), 球磨时间 3 h, 冷冻时间 20 min, 转速 500 r/min 的条件制备出诃子超微粉。

1.3.2 诃子超微粉的体外 XOD 抑制作用研究

诃子水提物的制备: 分别取诃子超微粉、优化后的诃子超微粉各 10 g, 置入圆底烧瓶中, 按料液比 1:10 加水, 二次蒸馏水 80℃回流提取, 熬制 30 min 后离心取上清, 剩余药粉回收置入烧瓶中再次加同等量水, 熬制 30 min 后离心取上清, 两次上清混合, 旋蒸后得到诃子水提物。

体外 XOD 抑制实验: 参考文献[17]方法, 平行操作 6 次, 以平均值作为最后结果。实验组 OD 值为 A, 标准组 OD 值为 B, 并根据公式(1)计算。参考文献[18] XOD 抑制率公式(1)。

$$\text{抑制率}/\%=(1-A/B)\times 100\%$$

(1)

1.3.3 诃子超微粉制备工艺的优化

(1)诃子超微粉制备工艺的单因素优化实验

球料比因素: 取 10 g 原粉末, 固定原粉末冷冻时间 20 min, 转速 500 r/min, 球磨时间 3.0 h, 分别制备球料比 5:1、10:1、15:1、20:1、25:1 的样品^[19]。

球磨时间因素: 取 10 g 原粉末, 固定球料比为 10:1, 冷冻时间 20 min, 转速 500 r/min, 分别制备球磨时间 0.5、1.0、2.0、3.0 和 4.0 h 的样品^[20]。

冷冻时间因素: 取 10 g 原粉末, 固定球料比为 10:1, 转速 500 r/min, 球磨时间 3.0 h, 分别制备冷冻时间 10、20、30、40、50 min 的样品^[21]。

转速因素: 取 10 g 原粉末, 固定球料比为 10:1, 冷冻时间 20 min, 球磨时间 3.0 h, 分别制备转速 200、300、400、500 和 600 r/min 的样品^[22]。

以体外 XOD 抑制率为指标, 分别考察球料比和冷冻时间、转速、球磨时间 4 个单因素对诃子超微粉的 XOD 抑制率的影响。

(2)诃子超微粉制备工艺的正交实验

在单因素实验的基础上, 基于球料比和球磨时间、冷冻时间、转速为主要影响因素, 结合各因素对 XOD 活性的抑制作用, 每个因素选取 3 个优化值进行正交设计, 四因素三水平表见表 1, 考察诃子超微粉制备的最佳工艺^[23]。 $L_9(3^4)$ 正交表见表 2。

表 1 四因素三水平表

Table 1 Table of four factors and three levels

水平	球料比	球磨时间/h	冷冻时间/min	转速/(r/min)
1	5:1	0.5	30	400
2	10:1	1.0	40	500
3	15:1	2.0	50	600

表 2 $L_9(3^4)$ 正交表

Table 2 $L_9(3^4)$ orthogonal test

水平	球料比	球磨时间/h	冷冻时间/min	转速/(r/min)
1	5:1	0.5	30	400
2	5:1	1.0	40	500
3	5:1	2.0	50	600
4	10:1	1.0	30	600
5	10:1	2.0	40	400
6	10:1	0.5	50	500
7	15:1	2.0	30	500
8	15:1	0.5	40	600
9	15:1	1.0	50	400

1.3.4 超微粉的粉体学性质研究

(1)粒径检测

取少量样品置于激光衍射粒度分析仪的进样器中, 测量粉体粒径分布, 每个样品测 3 次取平均值。其中 D_{10} (μm)、 D_{50} (μm)、 D_{90} (μm)分别指累积分布百分比达到 10%、50% 和 90%时所对应的粒径值, Span 为粒径的分布宽度^[24], 计算公式见式(2)。

$$\text{Span}=(D_{90}-D_{10})/D_{50}$$

(2)

(2)休止角

取一漏斗固定在实验台, 下方放置大于漏斗直径的圆形托盘, 保持漏斗下口与圆形托盘垂直。分别将样品粉末自漏斗上口倾倒下来, 粉体形成的圆锥体与水平面的夹角即为休止角^[25-26]。

(3)滑角

分别取适量样品粉末均匀铺在水平光滑的玻璃板上, 玻璃板倾斜至粉体自由滑落, 测定玻璃板与平面倾斜的夹角, 即为粉体的滑动角^[26]。

(4)堆积密度

取样品粉末 0.5 g (m)置于 10 mL 量筒中, 振荡至粉体面上方平整, 读取体积 V ^[26], 堆积密度计算公式见式(3)。

$$\text{堆积密度}/(\text{g/mL})=m/V$$

(3)

(5)持水性

取 0.5 g (m_1)粉末, 置于 10 mL 离心管中, 加 10 mL 纯化水, 混匀室温过夜, 12000 r/min 离心 10 min, 弃上清称重(m_2)^[27-28], 持水性计算公式见式(4)。

$$\text{持水性}=(m_2-m_1)/m_1$$

(4)

(6)持油性

取 0.5 g (m_3)粉末, 置于 10 mL 离心管中, 加 7 g 花生油, 混匀室温过夜, 12000 r/min 离心 10 min, 弃上清称重(m_4)^[27-28], 持油性计算公式见式(5)。

$$\text{持油性}=(7-m_4)/m_3$$

(5)

(7)水溶性

取 0.5 g (m_5) 粉末, 置于 10 mL 离心管中, 加 10 mL 纯化水, 混匀室温过夜, 12000 r/min 离心 10 min, 弃上清称重(m_6)^[27-28], 水溶性计算公式见式(6)。

$$\text{水溶性}/\% = m_6/m_5 \times 100\% \quad (6)$$

1.3.5 诃子超微粉 HPLC 指纹图谱分析

利用 HPLC 分别对诃子提取物中的芦丁和没食子酸两种化合物进行定性分析。首先称取适量芦丁和没食子酸标准样品, 用 70%乙醇配制成质量浓度为 1 mg/mL 的溶液; 按照 1.3.3 方法所得优化条件, 利用 1.3.2 方法制备出诃子优化后的超微粉的醇提物, 与原粉末经回流提取 30 min, 离心得上清, 过 0.22 μm 滤膜后, 得到待测样品溶液。色谱条件: YMC-Pack ODS-A 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 为 0.1%磷酸溶液, 流动相 B 为甲醇; 液相条件参照文献方法^[29]。

1.3.6 数据分析

利用 Prism Graphpad 6.0 进行 *T* 检验处理数据, $P < 0.05$ 表示有统计学差异, $P < 0.01$ 表示显著的统计学差异。每组 3 次平行, 结果以平均值 $\pm$ 标准偏差($\bar{X} \pm s$)表示; 使用 Prism Graphpad 6.0 和 Origin 2021 作图。

2 结果与分析

2.1 诃子超微粉制备工艺的正交优化

2.1.1 单因素实验结果

(1)球料比对诃子超微粉 XOD 抑制率的影响

随着球料比的增大, 诃子超微粉对 XOD 的抑制率逐步下降。球料比为 5:1 时, 诃子超微粉的 XOD 抑制率最大, 其抑制率达 65.7% $\pm$ 2.479%。当球料比增大为 25:1 时, 诃子超微粉的 XOD 抑制率为 49.7% $\pm$ 1.34%。这可能是因为增加球的质量, 球磨罐内空间减少, 反而减少了球料之间的摩擦力, 增大了球磨的无用功^[17]。

(2)球磨时间对诃子超微粉 XOD 抑制率的影响

随着球磨时间的延长, 诃子超微粉对 XOD 的抑制率先下降后升高, 球磨 0.5 h 获得的诃子超微粉对 XOD 抑制率达到最大, 为 62.23% $\pm$ 2.531%。当球磨时间达到 3.0 h, 其 XOD 抑制率为 49.10% $\pm$ 1.648%, 此时 XOD 抑制率最低。当球磨时间达 4.0 h 时, 其 XOD 抑制率为 53.10% $\pm$ 2.94%。这可能是因为球磨机研磨过程中会自主产热, 物料研磨越久其温度也随之升高, 长时间的球磨会使物料遇热变黏成团, 反而降低了药物活性^[30-31]。

(3)物料冷冻时间对诃子超微粉 XOD 抑制率的影响

随着冷冻时间延长, 诃子超微粉对 XOD 的抑制率先增大后降低, 物料冷冻时间为 40 min 时, 诃子超微粉的 XOD 抑制率最大, 其抑制率达 63.92% $\pm$ 1.805%。因为球磨机研磨过程中自主产热, 使得物料温度影响着药物的活性。随着冷冻物料时间 10 min 延长至 40 min 时, 诃子超微

粉对 XOD 的抑制率逐渐增大, 因为冷冻时间增加, 物料温度随球磨机升温而缓慢上升, 冷冻后的物料可以抵消球磨机的产热。但当冷冻时间为 50 min 时, 抑制率反而降低至 58.84% $\pm$ 3.61%, 这是因为冷冻时间过久, 物料破碎过快更易变黏聚团, 反而减低药物活性^[21]。

(4)转速对诃子超微粉 XOD 抑制率的影响

随转速增长, 诃子超微粉对 XOD 的抑制率有着先增大后降低的趋势。转速为 500 r/min 时, 诃子超微粉的 XOD 抑制率最大, 其抑制率达 63.10% $\pm$ 0.527%。行星式球磨机转速越快, 研磨的力度越大, 物料粒径越小, 粉体暴露出表面积越大, 对 XOD 抑制活性越大^[32-33]。但当转速达 600 r/min, XOD 抑制率为 59.71% $\pm$ 1.22%。此速度几乎接近球磨机转速最大上限, 球料因为惯性随罐体做回转运动, 减少了二者的摩擦力, 研磨效率降低, 药物活性降低^[34-35]。

2.1.2 正交实验

基于 XOD 活性抑制率, 极差的大小顺序为: 球料比>球磨时间>冷冻时间>转速。球料比与球磨时间为优化条件的主要因素, 冷冻时间与转速为次要影响因素。通过极差分析所得诃子超微粉的最佳制备条件为: 球料比 5:1, 球磨时间 1.0 h, 冷冻时间 40 min, 转速 400 r/min。正交实验结果见表 3。

2.2 验证实验结果

进一步验证正交实验结果显示, 5 mg/mL 浓度下, 优化后的超微粉 XOD 抑制率为 69.10% $\pm$ 2.87%, 高于原粉末的 60.76% $\pm$ 0.71% ($t=4.496$, $P < 0.01$) ($n=3$)。

2.3 超微粉的粉体学性质研究

由表 4 可知, 本研究以 XOD 抑制率为优化标准, 优化前的原粉末 D_{50} 粒径达到(48.51 $\pm$ 0.30) μm , 优化后的超微粉粒径 D_{50} 粒径为(22.42 $\pm$ 0.27) μm ($t=14.23$, $P < 0.01$)。优化后的粒径小于优化前原粉末, 确保了 XOD 抑制活性的最大化。粒径分布的宽度可用跨度(Span)来衡量。优化后超微粉 Span 最小, 说明粒度分布更为均匀^[36]。

休止角和滑角用来衡量粉体的流动性, 休止角、滑角越小, 说明流动性越好, 堆积密度大小代表是否有利于压片成型。由表 5 可知, 优化后超微粉休止角显著大于原粉末($t=6.365$, $P < 0.01$), 滑角显著大于原粉末($t=8.959$, $P < 0.01$), 说明粉体之间吸附力更好, 更容易凝聚^[30]。堆积密度显著低于原粉末($t=8.485$, $P < 0.01$), 说明随着粒径减小, 其堆积密度逐渐下降, 不适于压片成型。

由表 6 可知, 优化后的诃子超微粉持水性、水溶性显著减低($t=3.993$, $P < 0.01$; $t=3.993$, $P < 0.01$), 说明粉体与水接触的更充分, 水溶性能较好^[31]。优化后的诃子超微粉持油性高于原粉末, 说明与油接触吸附更强。

表 3 正交实验结果
Table 3 Results of orthogonal test

水平	球料比	球磨时间/h	冷冻时间/min	转速/(r/min)	XOD 抑制率/%
1	5:1	0.5	30	400	63.88
2	5:1	1.0	40	500	65.27
3	5:1	2.0	50	600	63.66
4	10:1	1.0	30	600	60.50
5	10:1	2.0	40	400	60.90
6	10:1	0.5	50	500	56.77
7	15:1	2.0	30	500	56.50
8	15:1	0.5	40	600	57.80
9	15:1	1.0	50	400	58.20
K ₁	192.81	178.45	180.88	182.98	
K ₂	78.17	183.97	183.97	178.54	
K ₃	172.50	181.06	178.63	181.96	
k ₁	64.27	59.48	60.29	60.99	
k ₂	59.39	61.32	61.32	59.51	
k ₃	57.50	60.35	59.54	60.65	
R	6.77	1.84	1.78	1.48	

表 4 原粉末、优化后超微粉的粒径结果($\bar{X} \pm s, n=3$)
Table 4 Results of particle size of original powder and optimized ultrafine powder ($\bar{X} \pm s, n=3$)

种类	D ₁₀ /μm	D ₅₀ /μm	D ₉₀ /μm	Span
原粉末	7.45±0.15	48.51±0.30	183.64±0.48	3.62±0.29
优化后超微粉	5.28±0.21**	22.42±0.27**	76.71±0.68**	3.18±0.15

注: 与原粉末比较, *P<0.05, **P<0.01, 下同。

表 5 原粉末和优化后超微粉休止角、滑角、堆积密度结果($\bar{X} \pm s, n=3$)
Table 5 Results of repose angle, slip angle and bulk density of original powder and optimized ultrafine powder ($\bar{X} \pm s, n=3$)

种类	休止角	滑角	堆积密度
原粉末	38.65±0.69	31.83±1.60	0.37±0.005
优化后超微粉	48.60±0.96**	40.66±1.73**	0.33±0.000**

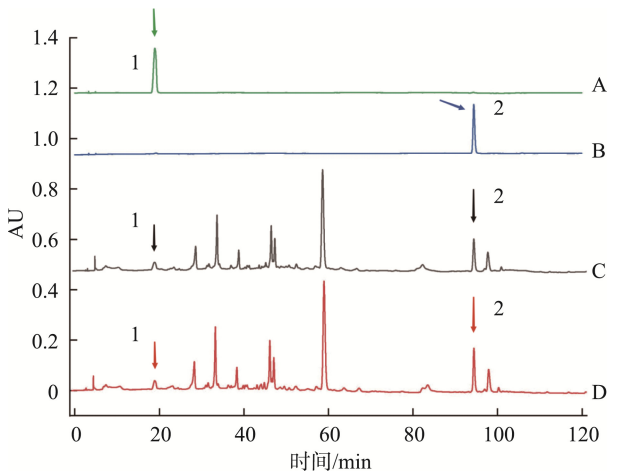
表 6 原粉末和优化后超微粉持水性、持油性、水溶性结果($\bar{X} \pm s, n=3$)
Table 6 Results of water binding capacity, oil holding capacity and water solubility of raw powder and optimized ultrafine powder ($\bar{X} \pm s, n=3$)

种类	持水性	持油性	水溶性
原粉末	1.33±0.24	5.30±0.20	2.33±0.24
优化后超微粉	1.06±0.10**	5.75±0.10	2.06±0.10**

2.4 HPLC 分析

诃子内主要成分为诃子酸、诃黎勒酸、鞣花酸等, 也含有芦丁和没食子酸^[37]。据文献报道^[38], 芦丁和没食子酸

具有抗 XOD 作用。因此本研究选取芦丁和没食子酸有 XOD 抑制作用的化合物作为标准品, 经标准品溶液和诃子原粉末、优化后超微粉溶液 HPLC 图对比。根据图 1 中 1、2 号峰型及保留时间可知, 诃子原粉末及优化后超微粉样品中均含有芦丁和没食子酸。HPLC 结果显示, 诃子原粉末及优化后超微粉指纹图谱中主要成分基本一致, 但优化后的诃子超微粉抗 XOD 活性更佳。这可能是由于优化后的诃子超微粉使芦丁和没食子酸两种成分的抗 XOD 作用释放的更多。



注: A: 没食子酸标准品色谱图; B: 芦丁标准品色谱图; C: 诃子原粉末醇提物标准指纹图谱; D: 诃子优化后超微粉醇提物标准指纹图谱。

图 1 诃子原粉末、优化后超微粉主要成分比较
Fig.1 Comparison of the main components between the original powder of Terminalia chebula Retz. and the optimized ultramicro powder

3 结 论

本研究基于 XOD 抑制活性, 围绕球料比、球磨时间、冷冻时间和转速 4 个因素对诃子超微粉的制备工艺进行了优化, 结果显示对制备工艺影响程度大小依次为: 球料比>球磨时间>冷冻时间>转速。在球料比 5:1, 球磨时间 1.0 h, 冷冻时间 40 min, 转速 400 r/min 条件下, 制备的诃子超微粉具有最佳的 XOD 抑制活性。值得注意的是优化前后两种粉末 HPLC 指纹图谱基本一致, 表明优化工艺仅增加了具有抗 XOD 活性的微量成分的含量, 而对主要成分无显著影响。本研究优化了诃子超微粉的制备工艺, 对 XOD 抑制活性得到了明显的增加, 这为诃子超微粉在高尿酸血症中的应用提供了基础。但本研究仍存在不足之处, 主要在于仅在体外验证诃子对 XOD 的作用, 没有进行更深一步的体内机制探究。在今后的研究中, 将通过动物实验结合体外细胞实验, 进一步探究诃子影响 XOD 的作用机制。

参考文献

- [1] 冯文文, 崔岱, 杨涛. 《中国高尿酸血症与痛风诊疗指南(2019)》要点解读[J]. 临床内科杂志, 2020, 37(7): 528–531.
FENG WW, CUI D, YANG T. Guidelines for the diagnosis and treatment of hyperuricemia and gout in China (2019) key point interpretation [J]. J Clin Inter Med, 2020, 37(7): 528–531.
- [2] GAROFALO C, DE ST, VITA C, et al. Hyperuricaemia and chronic kidney disease [J]. G Ital Nefrol, 2018. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29390240/>
- [3] SU HY, YANG C, LIANG D, et al. Research advances in the mechanisms of hyperuricemia-induced renal injury [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 5817348.
- [4] MEI YS, DONG BZ, GENG Z, et al. Excess uric acid induces gouty nephropathy through crystal formation: A review of recent insights [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13: 911968.
- [5] IMAI SG, NASUHARA Y, MOMO KJ, et al. Implementation status of liver function tests for monitoring benzobromarone-induced hepatotoxicity: An epidemiological survey using the Japanese claims database [J]. Biol Pharm Bull, 2021, 44: 1499–1505.
- [6] ROOS NJ, DUTHALER U, BOUITBIR J, et al. The uricosuric benzobromarone disturbs the mitochondrial redox homeostasis and activates the NRF2 signaling pathway in HepG2 cells [J]. Free Radic Biol Med, 2020, 152: 216–226.
- [7] 吴芑, 王亮, 李海涛, 等. 高尿酸血症模型的建立及降尿酸药物的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(7): 1283–1294.
WU P, WANG L, LI HT, et al. Progress in hyperuricemia model establishment and uric acid-lowering drugs [J]. Chin J Pathophysiol, 2021, 37(7): 1283–1294.
- [8] 赵鹿, 廖翠萍, 杨秀娟, 等. 诃子的研究进展及质量标志物的预测[J]. 中草药, 2020, 51(10): 2732–2744.
ZHAO L, LIAO CP, YANG XJ, et al. Research progress in *Terminalia chebula* and its predictive analysis on Q-marker [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(10): 2732–2744.
- [9] 史坤, 常伟, 尚小玉, 等. 几种天然产物对黄嘌呤氧化酶的抑制作用[J]. 中国食品学报, 2014, 14(7): 138–143.
SHI K, CHANG W, SHANG XY, et al. Inhibition of xanthine oxidase by several natural products [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2014, 14(7): 138–143.
- [10] HONG SJ, DAS PR, EUN JB, et al. Effects of superfine grinding using ball-milling on the physical properties, chemical composition, and antioxidant properties of *Quercus salicina* (Blume) leaf powders [J]. J Sci Food Agric, 2021, 101: 3123–3131.
- [11] KIM YE, RYU J, KIM JT, et al. Physicochemical and *in vitro* digestion characteristics of size-different red ginseng powders [J]. Food Sci Biotechnol, 2018, 27: 425–431.
- [12] 于翠平, 查越, 吴凡, 等. 超微粉碎技术对蛋白质理化及功能性影响的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(2): 360–365.
YU CP, ZHA Y, WU F, et al. Research progress on the effects of ultra-fine grinding on protein physicochemical and functional properties [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(2): 360–365.
- [13] WU ZG, AMEER K, JIANG GH, et al. Effects of superfine grinding on the physicochemical properties and antioxidant activities of Sanchi (*Panax notoginseng*) flower powders [J]. J Food Sci Technol, 2021, 58: 62–73.
- [14] ZHENG X, XIONG TX, ZHANG KE, et al. *Dendrobium officinale* benefit effect of ultrafine powder on DSS-Induced ulcerative colitis rats by improving colon mucosal barrier [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021: 9658638.
- [15] KIM YE, RYU J, KIM JT, et al. Physicochemical and *in vitro* digestion characteristics of size-different red ginseng powders [J]. Food Sci Biotechnol, 2018, 27: 425–431.
- [16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Volume II [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020.
- [17] MALIK N, DHIMAN P, KHATKAR A. In silico design and synthesis of targeted rutin derivatives as xanthine oxidase inhibitors [J]. BMC Chem, 2019, 13: 71.
- [18] NGUYEN MT, AWALE S, TEZUKA Y, et al. Xanthine oxidase inhibitory activity of vietnamese medicinal plants [J]. Biol Pharm Bull, 2004, 27: 1414–1421.
- [19] REAL C, GOTOR FJ. Effects of the speed ratio on the efficiency of planetary mills [J]. Heliyon, 2019, 5: e01227.
- [20] LV YZ, ZHANG LM, LI MG, et al. Physicochemical properties and digestibility of potato starch treated by ball milling with tea polyphenols [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 129: 207–213.
- [21] 梁慧, 倪兆成, 颜美秋, 等. 乳香超微粉的制备工艺及理化性质研究[J]. 中草药, 2017, 48(7): 1321–1326.
LIANG H, NI ZC, YAN MQ, et al. Preparation technology and physico-chemical characteristics of *Olibanum ultramicro* powders [J].

- Chin Tradit Herb Drugs, 2017, 48(7): 1321–1326.
- [22] 张胜来. 鱼香菜超微粉加工工艺[J]. 食品工业, 2019, 40(5): 71–74.
- ZHANG SL. Processing technology of superfine grinder of *Elshotzia cypriani* [J]. Food Ind, 2019, 40(5): 71–74.
- [23] 闫世芳, 鲍玉花, 肖明, 等. 黑枸杞玫瑰复合饮料的研制及其品质和抗氧化活性评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(9): 2972–2980.
- YAN SF, BAO YH, XIAO M, *et al.* Development of *Lycium ruthenicum* Murr. and *R. Setate*×*R. Rugosa* compound beverage and evaluation of its quality and antioxidant activity [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(9): 2972–2980.
- [24] 王芬, 徐冰, 张坤峰, 等. 基于粉体压缩行为的中药半浸膏粉“药辅合一”科学内涵研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(2): 274–284.
- WANG F, XU B, ZHANG KF, *et al.* Mechanism of “unification of drugs and excipients” for Chinese medicine semi-extract based on powder compression behavior analysis [J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(2): 274–284.
- [25] 张雪, 陈复生, 邹建, 等. 超微粉碎对小米、怀山药物化性质及功能成分影响的研究[J]. 食品科技, 2019, 44(6): 176–182.
- ZHANG X, CHEN FS, ZOU J, *et al.* Effects of ultrafine grinding on the chemical properties and functional components of millet and *Dioscorea* [J]. Food Sci Technol, 2019, 44(6): 176–182.
- [26] 朱爽, 宋莉莎, 张佰清, 等. 大麦超微粉的营养品质及物理特性分析[J]. 现代食品科技, 2022, 38(1): 289–295, 93.
- ZHU S, SONG LS, ZHANG BQ, *et al.* Analysis of nutritional quality and physical properties of barley ultrafine powder [J]. Mod Food Sci Technol, 2022, 38(1): 289–295, 93.
- [27] GAO WJ, CHEN F, ZHANG LF, *et al.* Effects of superfine grinding on *Asparagus pomace*. Part I: Changes on physicochemical and functional properties [J]. J Food Sci, 2020, 85: 1827–1833.
- [28] CHEN Y, ZHANG BC, SUN YH, *et al.* Physicochemical properties and adsorption of cholesterol by *Okra* (*Abelmoschus esculentus*) powder [J]. Food Funct, 2015, 6: 3728–3736.
- [29] 尹春梅, 韩世柳, 田成旺, 等. 诃子 HPLC 指纹图谱及模式识别研究[J]. 中草药, 2010, 41(9): 1467–1469.
- YIN CM, HAN SL, TIAN CW, *et al.* Study on HPLC fingerprint and pattern recognition of *Terminalia chebula* [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2010, 41(9): 1467–1469.
- [30] 赵文英, 郝豪奇, 肖薇, 等. 西洋参超微粉制备工艺及药效评价[J]. 食品工业, 2020, 41(11): 131–136.
- ZHAO WY, HAO HQ, XIAO W, *et al.* Preparation and evaluation of ultrafine powder of *Panax quinquefolium* L [J]. Food Ind, 2020, 41(11): 131–136.
- [31] FU X, LIU Q, XU E, *et al.* The effect of *Vaccinium bracteatum* Thunb. leaves addition on antioxidant capacity, physicochemical properties, and *in vitro* digestibility of rice extrudates [J]. J Food Sci, 2021, 86: 4730–4740.
- [32] 谢正川, 刘梦茹, 杨嵩. 单动力卧式行星球磨机的研制与球磨效率分析[J]. 粉末冶金工业, 2019, 29(5): 49–52.
- XIE ZC, LIU MR, YANG S. Development of single dynamic horizontal planetary ball mill and the analysis of milling efficiency [J]. Powder Metall Ind, 2019, 29(5): 49–52.
- [33] 唐璇, 雷雨, 童凯, 等. 抹茶超微粉球磨法生产工艺研究与品质分析[J]. 茶叶通讯, 2021, 48(2): 266–273, 292.
- TANG X, LEI Y, TONG K, *et al.* Study on the production technology and quality analysis of matcha ultrafine powder by ball milling [J]. J Tea Commun, 2021, 48(2): 266–273, 292.
- [34] EZE AA, SADIKUE R, KUPOLAT I, *et al.* Wet ball milling of niobium by using ethanol, determination of the crystallite size and microstructures [J]. Sci Rep, 2021, 11: 22422.
- [35] SUI H, RONG YZ, SONG J, *et al.* Mechanochemical destruction of DDTs with Fe-Zn bimetal in a high-energy planetary ball mill [J]. J Hazard Mater, 2018, 342: 201–209.
- [36] 张明, 熊永星, 孟晓峰, 等. 蒸汽爆破耦合超微粉碎技术对灵芝子实体粉体品质及理化特性的影响[J]. 食品科技, 2021, 46(12): 69–76.
- ZHANG M, XIONG YX, MENG XF, *et al.* Effect of steam explosion coupled ultrafine grinding technology on the powder quality and physical and chemical properties of *Ganoderma lucidum* fruit body [J]. Food Sci Technol, 2021, 46(12): 69–76.
- [37] NIGAM M, MIAHRA AP, ADHIKARI DA, *et al.* Fruits of *Terminalia chebula* Retz.: A review on traditional uses, bioactive chemical constituents and pharmacological activities [J]. Phytother Res, 2020, 34: 2518–2533.
- [38] 陈雨谔, 王莹莹, 杜若童, 等. 槲皮素、芦丁、没食子酸抑制黄嘌呤氧化酶的活性及动力学特性[J]. 现代食品科技, 2020, 36(12): 118–124.
- CHEN YC, WANG YY, DU RT, *et al.* Inhibitory effect of quercetin, rutin and gallic acid on xanthine oxidase and kinetic characteristics [J]. Mod Food Sci Technol, 2020, 36(12): 118–124.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



张明超, 硕士研究生, 主要研究方向为生物活性药物。

E-mail: zhangmingchao4567@163.com



金小宝, 教授, 主要研究方向为生物活性药物。

E-mail: jinx2001@163.com