

固相萃取结合 UHPLC-LTQ-Orbitrap MS 分析黄精发酵前后的化学成分

李洁¹, 王喻淇¹, 梅晓丹¹, 刘子菡¹, 宋帅², 马涛², 林峰^{1,2*}, 张加余^{3*}

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 102400

2. 江苏枋健生命科技发展有限公司, 北京 100176

3. 滨州医学院药学院, 山东 烟台 264003

摘要: 目的 应用固相萃取结合超高效液相色谱-线性离子阱-静电场轨道质谱 (UHPLC-LTQ-Orbitrap MS) 技术对黄精发酵前后的化学成分进行分析鉴定。方法 采用 Waters HSS T3 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 以 0.1% 甲酸水溶液和的乙腈为流动相梯度洗脱, 体积流量 0.3 mL/min, 在电喷雾正离子模式下进行检测, 四级杆飞行时间串联质谱法对各主要色谱峰进行归属。结果 根据所获得的精确相对分子质量, 同时结合色谱保留行为、质谱裂解规律、特征碎片离子、对照品比对以及相关文献报道, 共鉴定发酵前后黄精中的 69 个化学成分, 包括 57 个甾体皂苷类成分、5 个黄酮类成分、4 个三萜皂苷类成分、2 个生物碱类及 1 个有机酸类成分。其中, 从发酵前黄精提取液中鉴定了 62 个化学成分, 从发酵后黄精提取液中鉴定了 18 个化学成分。结论 发酵对黄精中的化学成分影响很大, 如成分异构化、原生苷种类以及含量减少、次生苷或苷元含量的增多等, 可为黄精的进一步开发利用提供科学依据。

关键词: 黄精; UHPLC-LTQ-Orbitrap MS; 发酵; 固相萃取法; 甾体皂苷类; 黄酮类; 三萜皂苷类

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)13-3029-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.13.006

Characterization of chemical constituents in aqueous extracts and fermentation broth from *Polygonati Rhizoma* by UHPLC-LTQ-Orbitrap MS combined with solid phase extraction

LI Jie¹, WANG Yu-qi¹, MEI Xiao-dan¹, LIU Zi-han¹, SONG Shuai², MA Tao², LIN Feng^{1,2}, ZHANG Jia-yu³

1. School of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102400, China

2. Jiangsu Lijian Life Science and Technology Development Co., Ltd., Beijing 100176, China

3. School of Pharmacy, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China

Abstract: Objective To analyze and identify the chemical constituents in aqueous extracts and fermentation broth from *Polygonatum sibiricum* by ultra performance liquid chromatography-linear ion trap-electrostatic field orbital mass spectrometry (UHPLC-LTQ-Orbitrap MS) combined with solid phase extraction. **Methods** The separation was performed on Waters HSS T3 (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) with acetonitrile and 0.1% formic acid solution as the mobile phase in gradient elution. The flow rate was 0.3 mL/min. The detection was carried out in electrospray positive ion mode, and the main peaks were assigned by quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Results** According to the obtained accurate molecular weight, combined with chromatographic retention behavior, mass spectrometry cleavage, characteristic fragment ions, reference comparison, and related literature reports, a total of 69 chemical components were identified in aqueous extracts and fermentation broth from *P. sibiricum*, including 57 steroidal saponins, five flavonoid components, four triterpenoid saponins, two alkaloids, and one organic acid component. Among them, 62 chemical components were identified from the aqueous extracts, and 18 chemical components were identified from the fermentation broth of *P. sibiricum*. **Conclusion** The results showed that fermentation has a great influence on the chemical components of *P. sibiricum*, including the isomerization of components, types and content reduction of primary glycosides and the concentration of

收稿日期: 2019-02-21

基金项目: 2018 年北京中医药大学杰出青年人才项目 (2018-JYB-XJQ008); 2017 年北京市科技新星与领军人才培养专项计划 (Z171100001117029)

作者简介: 李洁 (1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药分析。E-mail: lijie123xyd@163.com

*通信作者 张加余 (1981—), 硕士生导师, 教授, 主要从事中药质量控制及体内代谢研究。

Tel: (010)64287540 E-mail: zhangjiayu0615@163.com

林峰, 高级工程师, 主要从事中药发酵学领域的研究。Tel: (010)64287540 E-mail: linfeng_leo@163.com

components changed of secondary glycosides in different degrees, which provides the necessary scientific basis for the further development of *P. sibiricum*.

Key words: *Polygonati Rhizoma*; UHPLC-LTQ-Orbitrap MS; fermentation; solid phase extraction; steroidal saponins; flavonoids; triterpenoid saponins

黄精 *Polygonati Rhizoma* 是我国传统补益类中药,为百合科 (Liliaceae) 黄精属 *Polygonatum* Mill. 多年生草本植物根茎的总称。《中国药典》2015 年版规定黄精 *Polygonatum sibiricum* Red.、滇黄精 *P. kingianum*. Coll. et Hemsl. 或多花黄精 *P. cyrtoneura* Hua. 为黄精的基原品种^[1]。《神农本草经》记载:“黄精,味甘,平,无毒。主补中益气,除风湿,安五脏,久服轻身,延年不饥。补五劳七伤,助筋骨、耐寒暑、润心肺。”当前黄精集药用、食用和保健于一身,在抗衰老、调节免疫力、调血脂、改善记忆力、抗肿瘤和抗菌等方面表现出很高的药用价值^[2-3]。

在一定的湿度和温度条件下,药材或药材拌及辅料或药材提取物,利用酶和微生物的分解催化作用,把药物发泡、生衣的方法即为发酵炮制法^[4]。现代研究报道表明,黄精生品具有刺激感和麻味,而发酵后的黄精能去除其刺激感,提高适口性,有利于黄精功能性食品的研究开发^[5]。鉴于中药黄精发酵后的化学物质基础尚不明确,本实验基于固相萃取结合 UHPLC-LTQ-Orbitrap MS 技术阐明了黄精液态发酵前后主要化学成分的变化,以期为其进一步的开发利用提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Thermo Fisher DIONEX Ultimate 3000 高效液相色谱仪与 LTQ-Orbitrap XL 质谱:配有电喷雾离子源 (ESI) 和 Xcalibur 2.1 工作站 (美国 Thermo Scientific 公司); R200D 型电子分析天平 (十万分之一,德国 Sartorius 公司); Millipore Synergy UV 型超纯水机 (美国 Millipore 公司); KQ-250 DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。SPE Cartridges C₁₈ 固相萃取小柱 (500 mg/3 mL),购自 Sigma 公司。

1.2 试剂与材料

黄精药材购自亳州市华云中药饮片有限公司,经北京中医药大学张媛副教授鉴定为百合科黄精属植物滇黄精 *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl. 的干燥块茎。质谱级甲醇、乙腈和甲酸均购自美国 Fisher 公司,超纯水由 Millipore Synergy UV 型超纯

水机制备。腺苷 (批号 KM0529CA14) 和芦丁 (批号 Y01D8S49613) 购于上海源叶生物科技有限公司,薯蓣皂苷元 (批号 200001) 和菝葜皂苷元 (批号 110744-200306) 购于中国食品药品检定研究院,4 种对照品质量分数均不低于 98%。

2 方法

2.1 溶液配制

2.1.1 混合对照品溶液的制备 分别取上述 4 种对照品适量,精密称定,加入甲醇制成质量浓度约为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的储备液,用时稀释成质量浓度适宜的混合对照品溶液。

2.1.2 发酵前黄精提取液的制备 取黄精药材粉末 30 g,精密称定,加入 300 mL 水混合搅拌均匀后,加入一定量 NaHCO₃ 调节 pH 值至 5.8~6.0,然后加入 20 g 小麦低聚肽、80 g 白砂糖,定容至 1 000 mL。溶液在 90℃ 水浴条件下灭菌 30 min,即得。

2.1.3 发酵后黄精提取液的制备 取黄精药材 30 g,放入 300 mL 水浸泡 2~3 h 后破碎打浆。在混合液中添加 1 g 纤维素酶、3 g 果胶酶,在 50℃ 条件下,酶解 90 min。酶解结束后,添加适量的 NaHCO₃,调节 pH 值至 6.0 左右,添加 20 g 小麦低聚肽、80 g 白砂糖,定容至 1 000 mL。对定容后的物料灭菌、提取,90℃ 保持 30 min。待物料温度降至室温,接种前期优选的肠膜明串珠菌肠膜亚种发酵,培养温度 25℃,发酵 20 d。

2.1.4 供试品溶液的制备 取固相萃取柱,依次用 3 mL 的甲醇和 3 mL 的水活化固相萃取柱,然后分别加入发酵前、后黄精提取液 2 mL,最后用 3 mL 水和 3 mL 甲醇洗脱,收集甲醇洗脱液,室温条件下用 N₂ 吹干,残渣加入 200 μL 的初始流动相复溶,涡旋震荡 3 min 后离心 15 min (14 000 r/min),吸取上清液,即得。

2.2 实验条件

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Waters HSS T3 UPLC 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A) 和乙腈 (B); 柱温: 40℃; 梯度洗脱条件: 0~2 min, 2% B; 2~5 min, 2%~5% B; 5~35 min, 5%~25% B; 35~45 min, 25%~40% B;

45~46 min, 40%~90% B; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 2 μ L。

2.2.2 质谱条件 电喷雾离子源正离子模式; 毛细管电压 -35 V; 管透镜电压 110 V; 喷雾电压 3 kV; 毛细管温度 350 $^{\circ}$ C; 鞘气体积流量 9 L/min; 辅助气体体积流量 3 L/min; 激活能量单位 0.25 q; 激活时间 30 ms; 源内碰撞诱导裂解池碰撞能量 35%; 傅里叶高分辨扫描范围 m/z 50~1 500; 一级扫描分辨率 30 000; 二级质谱采用数据依赖性扫描方式进行数据获取。

2.2.3 质谱数据的处理 利用 Xcalibur 2.1 工作站进行数据处理, 采用分子式预测模块预测所有母离子的分子式, 相关参数设定为 C [0-60]、H [0-90]、O [0-30]、N [0-5]、环不饱和双键数 (RDB equivalent value) [0-15], 质量精度误差在 1×10^{-5} 以内。

3 结果与分析

采用固相萃取结合 UPLC-LTQ-Orbitrap MS 对黄精发酵前后的化学成分进行了分析鉴定。根据所获得的精确相对分子质量, 同时结合相应的色谱保留行为、质谱裂解规律、特征碎片离子、对照品比对及相关文献报道, 最终鉴定了 69 个化学成分, 其中 4 个化学成分可被准确鉴定, 结果见图 1 和表 1。

3.1 甾体皂苷类成分的鉴定

甾体皂苷类是黄精属植物的一类重要的特征性化学成分, 也是主要的活性成分, 具有降糖、去痰止咳、抗炎、抗肿瘤、抗真菌等作用^[6-7]。黄精甾体皂苷分为呋喃甾烷型皂苷 (如黄精皂苷 A) 和螺旋甾烷型皂苷 (如黄精皂苷 B) 2 类^[8]。甾体皂苷元的结构特征: 甾体皂苷元由 27 个碳原子组成, 共有 A、B、C、D、E、F 6 个环, E 环与 F 环以螺缩酮形式连接, 共同组成螺甾烷^[9]。本实验从黄精中共鉴定了 57 个甾体皂苷类成分, 其中发酵前 52 个和发酵后 11 个。

黄精中甾体皂苷类成分较多, 在质谱定性中多以连接糖基的种类与数量来进行鉴别^[10]。例如, 峰 14 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 787.413 09, 峰 15 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 787.410 46, 推断它们最可能的分子式为 $C_{39}H_{63}O_{16}$ 。在其 ESI-MS² 谱中, 峰 14 的 $[M+H]^+$ 离子产生碎片离子 625 $[M+H-Glc]^+$ 和 479 $[M+H-Glc-Fuc]^+$, 表明其在质谱中丢失 1 分子葡萄糖和岩藻糖, 由此可将峰 14 鉴定为 huangjinoside M。峰 15 的 $[M+H]^+$ 离子产生碎片离子 625 $[M+H-Glc]^+$ 和 461 $[M+H-2Glc]^+$, 表明其在质谱中逐步丢失 2 分子葡萄糖,

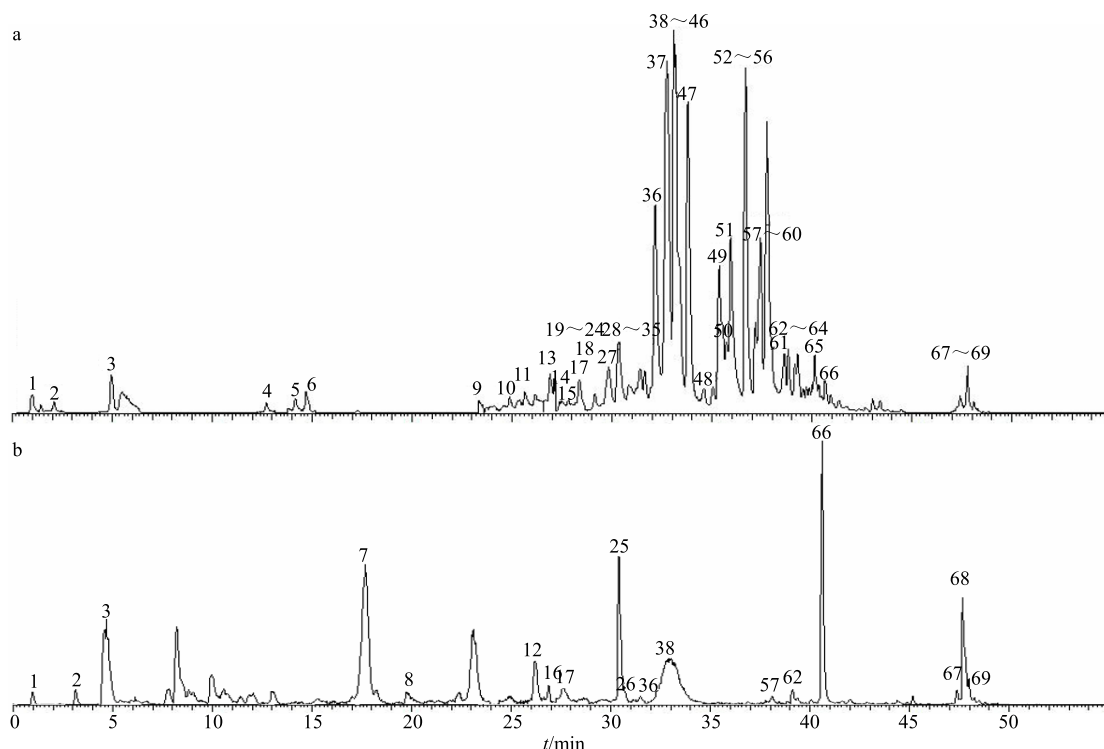


图 1 黄精发酵前 (a)、后 (b) 总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of water extract (a) and fermentation broth from *Polygonati Rhizoma* (b)

表 1 UHPLC-LTQ-Orbitrap MS 对黄精发酵前、后化学成分的鉴定分析

Table 1 Characterization of chemical constituents in aqueous extracts and fermentation broth from *Polygonati Rhizoma* by UHPLC-LTQ-Orbitrap MS

峰号	t_R/min	理论值 (m/z)	实际值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	裂解碎片	鉴定结果	Q	H
1	0.96	139.038 97	139.039 11	0.14	$\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_3$	111 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 121 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 96 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2]^+$	水杨酸	+	+
2*	3.26	268.104 03	268.104 83	0.80	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_4$	136 $[\text{M}+\text{H}-D\text{-Rib}]^+$, 250 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$	腺苷	+	+
3	4.99	166.086 25	166.086 75	0.50	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{NO}_2$	120 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 148 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 136 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{OH}]^+$	polygonatine A	+	+
4	12.70	303.086 31	303.087 71	1.40	$\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_6$	285 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 257 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 177 $[\text{M}+\text{H}-\text{B}]^+$	disporopsin	+	-
5	14.36	419.133 65	419.132 75	-0.90	$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_9$	401 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 257 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	新甘草苷	+	-
6	14.71	419.133 65	419.132 90	-0.75	$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_9$	317 $[\text{M}+\text{H}-102]^+$, 401 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 257 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	新异甘草苷	+	-
7	17.51	803.405 97	803.407 84	1.87	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{17}$	478 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Gal}]^+$, 460 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Glc}-\text{Gal}]^+$	huangjinoside or isomer	L	-
8	18.32	1 139.620 77	1 139.631 90	11.13	$\text{C}_{55}\text{H}_{95}\text{O}_{24}$	911 $[\text{M}+\text{H}-\text{Ara}]^+$, 825 $[\text{M}+\text{H}-\text{Ara}-\text{Glc}-\text{H}_2\text{O}]^+$	人参皂苷 Rc	-	+
9	23.34	803.405 97	803.409 85	3.88	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{17}$	478 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Gal}]^+$, 460 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Glc}-\text{Gal}]^+$	huangjinoside or isomer	L	+
10	24.87	769.400 49	769.403 99	3.50	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{15}$	607 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	huangjinoside or isomer	B	+
11*	25.26	611.160 66	611.162 90	2.24	$\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{O}_{16}$	303 $[\text{M}+\text{H}-\text{Rha}-\text{Glc}]^+$, 465 $[\text{M}+\text{H}-\text{Rha}]^+$, 449 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	芦丁	+	-
12	26.56	915.457 85	915.464 90	7.05	$\text{C}_{45}\text{H}_{71}\text{O}_{19}$	897 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 431 $[\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}-\text{Gal}]^+$	pratioside D ₁ or isomer	-	+
13	26.8	803.405 97	803.408 26	2.29	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{17}$	478 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Gal}]^+$, 460 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Glc}-\text{Gal}]^+$	huangjinoside or isomer	L	+
14	27.39	787.411 06	787.413 09	2.03	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{16}$	625 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, 479 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Fuc}]^+$	huangjinoside M	+	-
15	27.41	787.411 06	787.410 46	-0.60	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{16}$	461 $[\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}]^+$, 625 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	huangjinoside K	+	-
16	27.73	1 045.557 78	1 045.553 71	-4.07	$\text{C}_{52}\text{H}_{85}\text{O}_{21}$	577 $[\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}-\text{Ara}-\text{CH}_3]^+$, 1 027 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$	3 β ,30 β -二羟基- (3 $\rightarrow$ 1)-葡萄糖- (2 $\rightarrow$ 1)-葡萄糖- 齐墩果烷	-	+
17	28.19	287.055 01	287.056 03	1.02	$\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_6$	241 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 165 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{OH}-\text{CO}]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}-\text{COCH}]^+$	山柰酚	+	+
18	28.37	769.400 49	769.403 44	2.95	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{15}$	607 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	huangjinoside or isomer	B	+
19	29.1	771.416 14	771.419 80	3.66	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{15}$	609 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, 591 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{H}_2\text{O}]^+$	huangjinoside or isomer	J	+
20	29.12	771.416 14	771.419 25	3.11	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{15}$	429 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Fuc}-2\text{OH}]^+$, 591 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{H}_2\text{O}]^+$	huangjinoside or isomer	J	+
21	29.15	769.400 49	769.404 30	3.81	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{15}$	607 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	huangjinoside or isomer	B	+
22	29.17	771.416 14	771.419 31	3.17	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{15}$	428 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Gal}-\text{O}]^+$, 447 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Gal}]^+$	huangjinoside F	+	-
23	29.55	769.400 49	769.403 99	3.50	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{15}$	607 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	huangjinoside or isomer	B	+

续表 1

峰号	t_R/min	理论值 (m/z)	实际值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	裂解碎片	鉴定结果	Q	H
24	29.83	753.405 58	753.408 39	2.81	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{14}$	$735 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, $573 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Glc}]^+$	kingianoside A or isomer	+	-
25	30.06	753.405 58	753.409 12	3.54	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{14}$	$573 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Glc}]^+$	kingianoside A or isomer	-	+
26	30.08	755.421 23	755.415 47	-5.76	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{14}$	$593 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $413 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Fuc}-\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$	huangjinoside E or iosmer	-	+
27	30.11	753.514 73	753.514 16	-0.57	$\text{C}_{42}\text{H}_{73}\text{O}_{11}$	$735 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, $590 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	3 β -羟基-(3 $\rightarrow$ 1)-葡萄糖-(4 $\rightarrow$ 1)-葡萄糖-齐墩果烷	+	-
28	30.28	593.368 41	593.370 97	2.56	$\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{O}_9$	$429 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Fuc}]^+$, $285 [\text{RDA}-15]^+$	huangjinoside D or isomer	+	-
29	30.31	755.421 23	755.424 13	2.90	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{14}$	$593 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $413 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Fuc}-\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$	huangjinoside E or iosmer	+	-
30	30.96	915.457 85	915.462 95	5.10	$\text{C}_{45}\text{H}_{71}\text{O}_{19}$	$431 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}-\text{Gal}]^+$	pratioside D ₁ or isomer	+	-
31	31.32	593.368 41	593.370 97	2.56	$\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{O}_9$	$429 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Fuc}]^+$, $285 [\text{RDA}-15]^+$	huangjinoside D or isomer	+	-
32	31.4	917.474 05	917.477 91	3.86	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{O}_{19}$	$592 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}]^+$, $430 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}-\text{Fuc}-\text{O}]^+$	huangjinoside P or isomer	+	-
33	31.93	917.474 05	917.478 09	4.04	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{O}_{19}$	$592 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}]^+$, $430 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}-\text{Fuc}-\text{O}]^+$	huangjinoside P or isomer	+	-
34	32.12	753.405 58	753.408 02	2.44	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{14}$	$591 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	kingianoside A or isomer	+	-
35	32.2	755.421 23	755.422 36	1.13	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{14}$	$593 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $413 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Fuc}-\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$	huangjinoside E or iosmer	+	-
36	32.29	737.410 66	737.413 51	2.85	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{13}$	$575 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $397 [\text{M}+\text{H}-\text{O}-\text{Glc}-\text{Gal}]^+$	kingianoside B or isomer	+	+
37	32.57	901.479 14	901.480 35	1.21	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{O}_{18}$	$415 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}-\text{Gal}]^+$, $577 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}]^+$, $739 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	neosibiricoside D or isomer	+	-
38	32.65	958.513 18	958.508 48	-4.70	$\text{C}_{48}\text{H}_{78}\text{O}_{19}$	$941 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, $473 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}-\text{Rha}-\text{CH}_3]^+$	polygonoid C	-	+
39	32.68	753.405 58	753.408 57	2.99	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{14}$	$591 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	kingianoside A or isomer	+	-
40	32.71	915.457 85	915.462 28	4.43	$\text{C}_{45}\text{H}_{71}\text{O}_{19}$	$431 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}-\text{Gal}]^+$	pratioside D ₁ or isomer	+	-
41	32.79	755.421 23	755.423 89	2.66	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{14}$	$593 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $413 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Fuc}-\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$	huangjinoside E or iosmer	+	-
42	33.1	753.405 58	753.408 75	3.17	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{14}$	$735 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, $573 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Glc}]^+$	kingianoside A or isomer	+	-
43	33.02	869.452 37	869.455 99	3.62	$\text{C}_{44}\text{H}_{69}\text{O}_{17}$	$707 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $571 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{EF}]^+$	kingianoside K	+	-
44	33.23	755.421 23	755.423 58	2.35	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{14}$	$593 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $413 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Fuc}-\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$	huangjinoside E or iosmer	+	-
45	33.38	755.421 23	755.424 13	2.90	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{14}$	$593 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $413 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Fuc}-\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$	huangjinoside E or iosmer	+	-
46	33.79	593.368 41	593.370 12	1.71	$\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{O}_9$	$429 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Fuc}]^+$, $285 [\text{RDA}-15]^+$	huangjinoside D or isomer	+	-
47	33.81	755.421 23	755.423 34	2.11	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{14}$	$593 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $413 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Fuc}-\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$	huangjinoside E or iosmer	+	-

续表 1

峰号	t_R/min	理论值 (m/z)	实际值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	裂解碎片	鉴定结果	Q	H
48	35.03	579.352 76	579.354 37	1.61	$\text{C}_{32}\text{H}_{51}\text{O}_9$	$561 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, $419 [\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{Ara}]^+$, $447 [\text{M}+\text{H}-\text{Ara}]^+$	huangjinoside C or isomer	+	-
49	35.34	737.410 66	737.413 51	2.85	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{13}$	$575 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $397 [\text{M}+\text{H}-\text{O}-\text{Glc}-\text{Gal}]^+$	kingianoside B or isomer	+	-
50	35.74	885.483 67	885.486 08	2.41	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{O}_{17}$	$723 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $577 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Rha}]^+$, $415 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}-\text{Rha}]^+$	gracillin or isomer	+	-
51	35.95	885.483 67	885.487 61	3.94	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{O}_{17}$	$723 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $415 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}-\text{Rha}]^+$	gracillin or isomer	+	-
52	36.67	753.405 58	753.408 02	2.44	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{14}$	$591 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $573 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Glc}]^+$	kingianoside A or isomer	+	-
53	36.93	593.368 41	593.370 30	1.89	$\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{O}_9$	$429 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Fuc}]^+$, $285 [\text{RDA}-15]^+$	huangjinoside D or isomer	+	-
54	37.15	755.421 23	755.423 83	2.60	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{14}$	$593 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $413 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Fuc}-\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$	huangjinoside E or iosmer	+	-
55	37.31	753.405 58	753.409 30	3.72	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{14}$	$591 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $573 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Glc}]^+$	kingianoside A or isomer	+	-
56	37.4	755.421 23	755.423 95	2.72	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{14}$	$593 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $413 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Fuc}-\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$	huangjinoside E or iosmer	+	-
57	36.68	737.410 66	737.413 57	2.91	$\text{C}_{39}\text{H}_{61}\text{O}_{13}$	$575 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $429 [\text{M}+\text{H}-\text{Rha}-\text{Glc}]^+$, $286 [\text{M}+\text{H}-\text{Ara}-\text{Glc}-\text{EF}]^+$	ophiopogonin C1	+	+
58	37.83	577.337 11	577.339 23	2.12	$\text{C}_{32}\text{H}_{49}\text{O}_9$	$417 [\text{M}+\text{H}-\text{Ara}-\text{CO}]^+$, $286 [\text{M}+\text{H}-\text{EF}]^+$, $271 [\text{M}+\text{H}-\text{EF}-\text{CH}_3]^+$	huangjinoside A	+	-
59	38.46	593.368 41	593.370 36	1.95	$\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{O}_9$	$429 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Fuc}]^+$, $285 [\text{RDA}-15]^+$	huangjinoside D or isomer	+	-
60	38.62	579.352 76	579.354 61	1.85	$\text{C}_{32}\text{H}_{51}\text{O}_9$	$561 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, $419 [\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{Ara}]^+$, $447 [\text{M}+\text{H}-\text{Ara}]^+$	huangjinoside C or isomer	+	-
61	38.81	755.421 23	755.424 07	2.84	$\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{O}_{14}$	$593 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, $413 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Fuc}-\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$	huangjinoside E or iosmer	+	-
62	39.11	901.479 14	901.482 91	3.77	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{O}_{18}$	$415 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}-\text{Gal}]^+$, $577 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}]^+$	neosibiricoside D or isomer	+	+
63	39.13	593.368 41	593.370 24	1.83	$\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{O}_9$	$429 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Fuc}]^+$, $285 [\text{RDA}-15]^+$	huangjinoside D or isomer	+	-
64	39.17	593.368 41	593.370 30	1.89	$\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{O}_9$	$429 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{Fuc}]^+$, $285 [\text{RDA}-15]^+$	huangjinoside D or isomer	+	-
65	39.7	885.483 67	885.478 39	-5.28	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{O}_{17}$	$577 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Rha}]^+$	gracillin or isomer	+	-
66	40.11	885.483 67	885.487 61	3.94	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{O}_{17}$	$577 [\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{Rha}]^+$, $415 [\text{M}+\text{H}-2\text{Glc}-\text{Rha}]^+$	gracillin or isomer	+	+
67	47.08	429.299 94	429.300 96	1.02	$\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{O}_4$	$411 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, $393 [\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, $257 [\text{M}+\text{H}-\text{EF}]^+$	gentrogenin	+	+
68*	47.9	415.320 67	415.321 99	1.32	$\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{O}_3$	$397 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, $271 [\text{M}+\text{H}-\text{EF}]^+$, $253 [\text{M}+\text{H}-\text{EF}-\text{H}_2\text{O}]^+$	薯蓣皂苷元	+	+
69*	47.96	417.336 32	417.337 01	0.69	$\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{O}_3$	$399 [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, $271 [\text{M}+\text{H}-\text{EF}-\text{CH}_3]^+$	菝葜皂苷元	+	+

Q 表示发酵前, H 表示发酵后; *与对照品比对鉴定; +表示检出, -表示未检出; Gal-半乳糖, Xyl-木糖, Glc-葡萄糖, Ara-阿拉伯糖, Rha-鼠李糖, Fuc-岩藻糖; EF-甾体皂苷的 E、F 环, B-黄酮 B 环, D-Rib-D-核糖

Q means aqueous extracts, H means fermentation broth; *is compared with standard product identification; + means detection, - means not detected; Gal-galactose, Xyl-xylose, Glc-glucose, Ara-arabinose, Rha-rhamnose, Fuc-fucose; EF-E, F ring of steroidal saponin, B-B ring of flavonoid, D-Rib-D-ribose

由此可将峰 15 鉴定为 *huangjinoside K*^[11]。

天然甾体皂苷大多 C-23 无羟基取代,在质谱裂解过程中易产生丢失 CO 和 CH₃ 的碎片离子, C₃ 位的羟基则容易产生脱 H₂O 的碎片离子。以峰 57 为例解释黄精中甾体皂苷类的裂解规律。峰 57 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 737.413 57, 推断其最可能的分子式为 C₃₉H₆₁O₁₃。在其 ESI-MS² 谱中, 峰 57 容易丢失葡萄糖产生碎片离子 m/z 575 $[M+H-Glc]^+$, 后续脱掉阿拉伯糖形成碎片离子 m/z 429 $[M+H-Ara-Glc]^+$ 。C-3 位的羟基脱 H₂O 形成碎片离子 m/z 411 $[M+H-Ara-Glc-H_2O]^+$ 。脱掉糖基后, 甾体皂苷元的 EF 环螺缩酮部分容易开裂形成碎片离子。E 环开裂脱水生成碎片离子 m/z 393 $[M+H-Ara-Glc-2H_2O]^+$, 峰 57 产生特征离子 m/z 286 $[M+H-Ara-Glc-EF \text{ 环}]^+$ 和 m/z 271 $[M+H-EF \text{ 环}-CH_3]^+$, 参照文献报道^[10], 将峰 57 鉴定为 *ophiopogoninc*。

本实验从黄精中总共鉴定了 2 个甾体皂苷元类成分, 由于其极性较小, 导致色谱出峰时间较晚。在发酵前溶液和发酵后溶液二者均存在, 且经过发酵后含量增多。峰 68 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 415.321 99, 推断其最可能的分子式为 C₂₇H₄₃O₃。在其 ESI-MS² 谱中, $[M+H]^+$ 离子产生碎片离子 m/z 397 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 271 $[M+H-EF \text{ 环}]^+$ 和 253 $[M+H-EF \text{ 环}-H_2O]^+$ 等。结合对照品比对和参考文献报道^[9], 可将峰 68 准确鉴定为薯蓣皂苷元。峰 69 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 417.337 01, 推断其最可能的分子式为 C₂₇H₄₅O₃, 在其 ESI-MS² 谱中, 峰 69 离子产生碎片离子 m/z 399 $[M+H-H_2O]^+$ 和 m/z 271 $[M+H-EF \text{ 环}-CH_3]^+$ 。结合对照品比对, 可将其准确鉴定为菝葜皂苷元。

3.2 三萜皂苷类成分的鉴定

三萜皂苷类成分是黄精属中另一类重要成分。本实验从发酵前黄精提取液和黄精发酵液中共鉴定了 4 个三萜皂苷类成分。

峰 38 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 958.508 48, 推断其最可能的分子式为 C₄₈H₇₈O₁₉。在其 ESI-MS² 谱中, 峰 38 的 $[M+H]^+$ 离子产生 m/z 941 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 812 $[M+H-Rha]^+$ 和 m/z 473 $[M+H-2Glc-Rha-CH_3]^+$, 推测其发生脱水、脱糖基及甲基。因此, 将峰 38 鉴定为齐墩果烷型三萜皂苷类 *polygonoide C*^[12]。峰 8 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 1 139.631 96, 推断其最可能的分子式为

C₅₅H₉₅O₂₄, 在其 ESI-MS² 谱中, 峰 8 的离子丢失 1 分子水形成碎片离子 m/z 1 121 $[M+H-H_2O]^+$, 丢失糖基生成离子 m/z 911 $[M+H-Ara]^+$ 和 m/z 825 $[M+H-Ara-Glc-H_2O]^+$ 。由此将峰 8 鉴定为人参皂苷 R_C^[13]。峰 16 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 1 045.553 71, 推测其最可能的分子式为 C₅₂H₈₅O₂₁。在其 ESI-MS² 谱中, 生成碎片离子 m/z 577 $[M+H-2Glc-Ara-CH_3]^+$ 及 m/z 1 027 $[M+H-H_2O]^+$, 推测其分别丢失 2 分子葡萄糖、1 分子阿拉伯糖、1 分子甲基。由此可将峰 16 鉴定为 3 β ,30 β -二羟基-(3 $\rightarrow$ 1)-葡萄糖-(2 $\rightarrow$ 1)-葡萄糖-齐墩果烷。同理, 峰 27 的准分子离子峰为 $[M+H]^+$ 为 m/z 753.514 16, 推测其最可能的分子式为 C₄₂H₇₃O₁₁。在其 ESI-MS² 谱中, 碎片离子包含 m/z 735 $[M+H-H_2O]^+$ 和 m/z 590 $[M+H-Glc]^+$, 推测其分别丢失 1 分子水以及 1 分子葡萄糖。由此可将峰 27 鉴定为 3 β -羟基-(3 $\rightarrow$ 1)-葡萄糖-(4 $\rightarrow$ 1)-葡萄糖-齐墩果烷^[14]。

3.3 黄酮类成分的鉴定

本实验通过 UPLC-LTQ-Orbitrap MS 数据分析, 从发酵前黄精提取液和黄精发酵液中共鉴定了 5 个黄酮类化合物。

峰 4 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 303.087 71, 推断其最可能的分子式为 C₁₆H₁₅O₆。在其 ESI-MS² 谱中, 峰 4 准分子离子产生碎片离子 m/z 285 $[M+H-H_2O]^+$ 和 m/z 253 $[M+H-CO-H_2O]^+$ 等, 推测结构中含有羟基、羰基。由此推断峰 4 为高异黄酮类化合物 *disporopsin*^[15]。

峰 5 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 419.127 25, 推断其分子式为 C₂₁H₂₃O₉。峰 6 与其裂解规律相近, 相对分子质量与分子式相同, 推测为同分异构体。在 ESI-MS² 谱中, 二者均易脱水产生碎片离子 m/z 401 $[M+H-H_2O]^+$, 并丢失 1 分子葡萄糖生成黄酮基本母核碎片离子 m/z 257 $[M+H-Glc]^+$ 。两者色谱保留时间差别很小, 新甘草苷为二氢黄酮类, 极性大于查耳酮类的新异甘草苷^[16-17], 由此可将峰 5 鉴定为新甘草苷, 峰 6 为新异甘草苷。

峰 11 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 611.162 90, 推断其分子式为 C₂₇H₂₉O₁₆。参考文献报道^[18]可知, 芸香糖为 1 分子鼠李糖与 1 分子葡萄糖连接, 裂解过程中易直接丢失芸香糖残基。峰 11 经裂解后产生 m/z 303 $[M+H-Rha-Glu]^+$, 同时还产生碎片离子 m/z 465 $[M+H-Rha]^+$, 表明在裂解中分别丢失 1 分子芸香糖和 1 分子鼠李糖。由此将其鉴定为芦丁。

峰 17 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 287.056 03, 推断其最可能的分子式为 $C_{15}H_{11}O_6$ 。在其 ESI-MS² 谱中, 峰 17 产生碎片离子 m/z 241 $[M+H-H_2O-CO]^+$ 和 m/z 269 $[M+H-H_2O]^+$, 推测其结构中含有羟基和羰基。 m/z 165 $[M+H-C_6H_6O-CO]^+$ 的产生, 预示其结构中含有羰基和苯环的结构。结合 m/z 153 $[M+H-C_6H_6O-COCH]^+$ 是黄酮母核经过 RDA 重排 C 环开裂并丢失 B 环形成的碎片离子, 由此可将峰 17 鉴定为山柰酚^[19]。

3.4 生物碱类成分的鉴定

生物碱类在黄精属植物中含量较低。本实验从黄精提取液和黄精发酵液中均鉴定了 2 个生物碱类成分。

峰 2 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 268.104 83, 推断其最可能的分子式为 $C_{10}H_{14}N_5O_4$ 。在其 ESI-MS² 谱中, 产生碎片离子 m/z 136 $[M+H-C_5H_9O_4]^+$, 表明其结构式中含有核糖, 同时产生还产生碎片离子 m/z 250 $[M+H-H_2O]^+$ 。结合文献报道^[20]及对照品比对, 可将峰 2 准确鉴定为腺苷。

峰 3 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 166.086 75, 推断其最可能的分子式为 $C_9H_{12}NO_2$ 。在其 ESI-MS² 谱中, 产生碎片离子 m/z 120 $[M+H-CO-H_2O]^+$ 、 m/z 148 $[M+H-H_2O]^+$ 和 m/z 136 $[M+H-CH_2OH]^+$, 表明其在质谱中丢失中性分子 CO、H₂O 和 CH₃OH。参照文献报道^[21-23]可将峰 3 鉴定为 polygonatine A。

3.5 有机酸类成分的鉴定

本实验从发酵前黄精提取液和黄精发酵液中均鉴定了 1 个有机酸类成分。根据所获得的高分辨质谱数据, 峰 1 的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z 139.039 11, 推断其最可能的分子式为 $C_7H_7O_3$ 。在其 ESI-MS² 谱中, 峰 1 的离子产生 m/z 111 $[M+H-CO]^+$, 同时还产生 m/z 121 $[M+H-H_2O]^+$ 和 m/z 96 $[M+H-CO_2]^+$, 推测其在质谱中丢失 CO 和 H₂O, 且结构中含有羧基。由此可将峰 1 鉴定为水杨酸^[24]。

4 讨论

本实验应用 UHPLC-LTQ-Orbitrap 高分辨质谱技术对黄精发酵前后的甙体皂苷、黄酮、三萜皂苷、有机酸及生物碱类化学成分进行了分析检测。根据获得的精确相对分子质量, 结合色谱保留行为、质谱裂解规律、特征碎片离子、对照品比对以及相关文献报道, 共鉴定了 69 个化学成分, 包括 57 个甙体皂苷类成分、5 个黄酮类成分、4 个三萜皂苷类成

分、2 生物碱类及 1 个有机酸类成分。其中, 从黄精提取液中鉴定了 62 个化学成分, 从发酵后黄精提取液中鉴定了 18 个化学成分。

黄精发酵后甙体皂苷的种类及含量发生不同程度的变化, 具体表现在: 首先, 发酵后甙体皂苷类成分种类减少, 而部分成分的含量则增加。例如, 发酵前 gracillin、huangjinoside L 的同分异构体较多且含量低, 发酵后则转化为某单一构型且含量增加; 其次, 部分黄精甙体皂苷类成分发酵后含量发生明显下降甚至消失, 如 huangjinoside M 和 huangjinoside J 等; 最后, 发酵后甙体皂苷元的含量显著增加, 如薯蓣皂苷元在发酵前极其微量, 发酵后峰度明显增强, 推测由其他同母核甙体皂苷脱落糖基生成, 如滇黄精苷 A、滇黄精苷 B 等。中药材的化学成分复杂, 通常经过炮制后达到减毒增效的作用。发酵后的黄精药材不仅去除生品的麻味, 还可以缓和药性, 减少对咽喉的刺激感, 消除甚至降低黄精的不良反应, 有利于患者服用。本实验从化学成分的层面系统阐明了黄精发酵前后的变化, 对于临床用药的有效性和安全性提供科学依据, 并为黄精的进一步开发利用提供推动力。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 陈 晔, 孙晓生. 黄精的药理研究进展 [J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(3): 328-330.
- [3] 张 洁, 马百平, 杨 云, 等. 黄精属植物甙体皂苷类成分及药理活性研究进展 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(5): 330-332.
- [4] 刘亮镜, 潘 扬. 中药的发酵炮制初探 [J]. 现代中药研究与实践, 2009, 23(1): 2.
- [5] 杨婧娟, 张 希, 谭书宇, 等. 黄精发酵工艺的初步研究 [J]. 食品研究与开发, 2016, 37(17): 81-88.
- [6] 黄 莹. 黄精皂苷对 CUMS 抑郁模型大鼠行为学、血清中微量元素、5-羟色胺的影响 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2012.
- [7] Cai J, Liu M, Wang Z, et al. Apoptosis induced by dioscin in Hela cells [J]. Biol Pharm Bull, 2002, 25(2): 193-196.
- [8] 杨崇仁, 张 影, 王 东, 等. 黄精属植物甙体皂苷的分子进化及其化学分类学意义 [J]. 云南植物研究, 2007, 29(5): 591-600.
- [9] 匡海学. 中药化学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003.
- [10] 丛浦珠. 天然有机质谱学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003.

(下转第 3043 页)

- 药系统的优化及评价 [J]. 中草药, 2017, 48(19): 3970-3976.
- [11] Wang Y, Sun J, Zhang T. Enhanced oral bioavailability of tacrolimus in rats by self-microemulsifying drug delivery systems [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2011, 37(10): 1225-1230.
- [12] 王 益, 李婉蓉, 杨佳佳, 等. 氧化苦参碱磷脂复合物自乳化释药系统的研制 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4277-4283.
- [13] Balakumar K, Raghavan C V, Abdu S. Self nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of rosuvastatin calcium: Design, formulation, bioavailability and pharmacokinetic evaluation [J]. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2013, 112(2): 337-343.
- [14] Dash R N, Mohammed H, Humaira T. Design, optimization and evaluation of glipizide solid self-nanoemulsifying drug delivery for enhanced solubility and dissolution [J]. *Saudi Pharm J*, 2015, 23(5): 528-450.
- [15] Porter C J, Pouton C W, Cuine J F, et al. Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(6): 673-691.
- [16] Inugala S, Eedara B B, Sunkavalli S. Solid self-nanoemulsifying drug delivery system (S-SNEDDS) of darunavir for improved dissolution and oral bioavailability: *In vitro* and *in vivo* evaluation [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2015, 74(1): 1-10.
- [17] 孙明辉, 翟雪珍, 斯陆勤, 等. 西罗莫司自微乳化释药系统的制备及体内外评价 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(3): 193-198.
- [18] 张承盟, 李瑞明, 缪兴龙, 等. HPLC-ELSD 法测定芪柏颗粒中黄芪甲苷的含量 [J]. 天津药学, 2018, 30(2): 9-11.
- [19] Gursoy R N, Benita S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs [J]. *Biomed Pharmacother*, 2004, 58(3): 173-182.
- [20] Rahman M A, Hussain A, Hussain M S, et al. Role of excipients in successful development of self-emulsifying/microemulsifying drug delivery system (SEDDS/SMEDDS) [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2013, 39(1): 1-19.
- [21] 陈 吼. 依维莫司自微乳化释药系统的制备及质量评价 [J]. 医药导报, 2017, 36(5): 544-548.
- [22] 乌 兰, 何 伟, 赵锦花, 等. 一种全新合成的抗抑郁药物的自微乳化载药系统 (SMEDDS) 理化性质和体外释药行为研究 [J]. 药学研究, 2015, 34(4): 215-218.
- [23] 不同链长油相对葛根素微乳经淋巴转运吸收的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(15): 1426-1430.
- [24] 张 娜, 康虞玲, 刘智勤, 等. 自微乳化药物传递系统的应用与进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(11): 960-962.
-
- (上接第 3036 页)
- [11] 范书珍, 陈存武, 王 林. 多花黄精总皂苷的提取研究 [J]. 皖西学院学报, 2005, 21(5): 39-41.
- [12] Hu C Y, Xu D P, Wu Y M, et al. Triterpenoid saponins from the rhizome of *Polygonatum sibiricum* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 12(9): 801-808.
- [13] Yu H S, Ma B P, Kang L P, et al. Saponins from the processed rhizomes of *Polygonatum kingianum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2009, 57(9): 1011-1014.
- [14] 徐德平, 孙 婧, 齐 斌, 等. 黄精中三萜皂苷的提取分离与结构鉴定 [J]. 中草药, 2006, 37(10): 1470-1472.
- [15] 孙隆儒, 李 钺. 黄精化学成分的研究 (II) [J]. 中草药, 2001, 32(7): 586-588.
- [16] 张 永, 严安定, 高 建. 液质联用技术鉴定甘草提取物中的主要化学成分 [J]. 中成药, 2012, 34(6): 1111-1116.
- [17] 赵艳敏, 刘素香, 张晨曦, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术的甘草化学成分分析 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2061-2068.
- [18] 李自红, 魏 悦, 范 毅, 等. 芦丁的电喷雾离子阱质谱分析 [J]. 分析试验室, 2015, (2): 186-189.
- [19] 高 颖, 戚楚露, 张 磊, 等. 黄精新鲜药材的化学成分 [J]. 药学与临床研究, 2015, 23(4): 365-367.
- [20] Son K H, Do J C, Kang S S. Isolation of adenosine from the rhizomes of *Polygonatum sibiricum* [J]. *Arch Pharm Res*, 1991, 14(2): 193-194.
- [21] Sun L R, Li X, Wang S X. Two new alkaloids from the rhizome of *Polygonatum sibiricum* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2005, 7(2): 127-130.
- [22] Wang Y F, Lu C H, Lai G F, et al. A new indolizinone from *Polygonatum kingianum* [J]. *Planta Med*, 2003, 69(11): 1066-1068.
- [23] 陈 辉, 冯珊珊, 孙彦君, 等. 3 种药用黄精的化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(15): 2329-2338.
- [24] 王易芬, 穆天慧, 陈纪军, 等. 滇黄精化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(6): 524-527.