

基于糖类成分探究黄精炆制前后差异

詹慧慧¹, 姚方程², 易斌², 魏惠珍^{1,3}, 陈西勇², 吕尚¹, 陈华师², 金浩鑫³, 饶毅^{1,3*}

1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004

2. 建昌帮药业有限公司, 江西 抚州 344700

3. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006

摘要: 目的 基于黄精炆制前后糖类成分变化差异探讨黄精炆制后“减毒增效”的作用机制。方法 采用UV(紫外分光光度)法,测定黄精炆制前后的总多糖含量;采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法测定黄精炆制前后游离糖含量;采用高效凝胶渗透色谱-示差折光检测器(HPGPC-RI)法分析黄精炆制前后的多糖相对分子质量;采用高效液相色谱-紫外检测器(HPLC-PDA)法对黄精多糖的单糖组成进行测定分析。结果 黄精炆制后,总多糖含量下降约60%;游离糖中蔗糖含量降低35%,果糖含量升高22倍,葡萄糖含量升高4.4倍;炆制后相对分子质量2个峰均降低1~5倍;黄精炆制前后多糖均由甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖组成,生黄精单糖组成物质的量比为甘露糖-鼠李糖-葡萄糖-半乳糖-阿拉伯糖(10:6:25:7:1);炆制后物质的量比为7:5:1.7:14:1。结论 炆法炮制对黄精糖类成分影响较大,炆制后多糖发生水解及结构发生改变,从而使黄精麻舌感消失,药效增强。

关键词: 炆黄精; 黄精多糖; 多糖含量; 游离糖; 相对分子质量; 单糖组成

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)09-2687-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.09.011

Exploring the differences of *Polygonati Rhizoma* before and after stewing based on carbohydrate components

ZHAN Hui-hui¹, YAO Fang-cheng², YI Bin², WEI Hui-zhen^{1,3}, CHEN Xi-yong², LYU Shang¹, CHEN Hua-shi², JIN Hao-xin³, RAO Yi^{1,3}

1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Jianchangbang Pharmaceutical Limited Company, Fuzhou 344700, China

3. National Engineering Research Center for Manufacturing Technology of Traditional Chinese Medicine Solid Preparation, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective Based on the differences in the changes of carbohydrate components before and after the stewed of *Huangjing* (*Polygonati Rhizoma*), the mechanism of “detoxification and efficiency enhancement” after the stewed of *Polygonati Rhizoma* was discussed. **Methods** The UV method was used to determine the total polysaccharide content before and after the stewed of *Polygonati Rhizoma*; The free sugar content before and after the stewed of *Polygonati Rhizoma* was determined by HPLC-ELSD; The relative molecular mass of polysaccharides before and after the stewed of *Polygonati Rhizoma* was analyzed by the HPGPC-RI method; The monosaccharide composition of *Polygonati Rhizoma* polysaccharides was determined and analyzed by HPLC-PDA. **Results** After stewing, the content of total polysaccharides decreased by about 60%; The content of sucrose in free sugar decreased by 35%, the content of fructose increased by 22 times, and the content of glucose increased by 4.4 times; the two peaks of relative molecular mass decreased by 1-5 times after steaming polysaccharide before and after the stewed of *Polygonati Rhizoma* was composed of mannose, rhamnose, glucose, galactose, arabinose, and the molar ratio of the monosaccharide of *Polygonati Rhizoma* was mannose-rhamnose-glucose-galactose-arabinose (10:6:25:7:1); The molar ratio after stewing was 7:5:1.7:14:1. **Conclusion** The stewed method has a great influence on the carbohydrate components of *Polygonati Rhizoma*, and the polysaccharide will be hydrolyzed and the structure

收稿日期: 2021-11-18

基金项目: 江西省中管局科技项目(2020B0385)

作者简介: 詹慧慧(1996—),女,硕士研究生,从事药物质量控制研究。Tel: 16679095248 E-mail: 1376017584@qq.com

*通信作者: 饶毅,博士生导师,教授,从事中药质量控制研究。Tel: 13807041192 E-mail: raoyi99@126.com

will be changed after stewed so that the numbness of *Polygonati Rhizoma* on the tongue disappears and the medicinal effect is enhanced.

Key words: stewed *Polygonati Rhizoma*; *Polygonati Rhizoma* polysaccharides; polysaccharide content; free sugars; relative molecular weight; monosaccharide composition

黄精为百合科滇黄精 *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl.、黄精 *P. sibiricum* Red、多花黄精 *P. cyrtoneura* Hua 的干燥根茎，是我国常用大宗药材之一，具有补气养阴、健脾、润肺、益肾等功效^[1]，其药效显著，应用范围广泛^[2]。目前已有黄精颗粒、黄精饮料^[3-4]等多种剂型上市。现代药理研究表明，黄精具有抗衰老、保护心肌细胞、抗疲劳、抗肿瘤、提高免疫力、调血糖、调血脂等药理作用，其药效的物质基础通常为多糖类成分^[5-8]。《中国药典》2020 年版^[1]亦是以太多糖作为黄精的质量评价指标。

孟诜等^[9]在《食疗本草》一书对黄精有“蒸之若生，则刺人咽喉”的记载，可知黄精生用对喉舌具有一定刺激性，接触过生黄精或其汁液的皮肤会产生瘙痒的感觉，久闻其生味，有刺目之感。故现代临床用药多为制黄精。药典中黄精炮制方法为酒制，九蒸九晒^[10]也是黄精传统炮制方法之一。此外，中药炮制四大帮之一的建昌帮独创的炆法炮制黄精传承十二道古法炮制工艺，颇具特色。江南药界至今还流传着“药不过樟树不灵，药不过建昌不行”的谚语。炆黄精与酒黄精、九蒸九晒黄精虽在本质上均为生黄精反复蒸煮而成，但炆黄精在工具、时间及辅料都有其独特之处，故无论在化学成分还是药理方面黄精炮制后均存在差异。吴丰鹏等^[11]测定了黄精九蒸九晒前后的总多糖含量及单糖组成结果表明黄精九蒸九晒后总多糖含量降低，单糖组成物质的量比发生较大改变；万晓莹等^[12]测定黄精酒制前后的相对分子质量及免疫活性表明炮制后相对分子质量差异较大且免疫活性增强；冯婧等^[13]通过比较不同炮制方法黄精的多糖得率和体外抗氧化实验结果表明黄精炮制后抗氧化活性增强；林雨等^[14]也通过黄精九蒸九晒后化学成分变化差异结果，表明九蒸九晒黄精后化学成分显著变化；杨华杰等^[15]研究发现炆黄精相较于酒黄精、九蒸九晒黄精具有更强的抗疲劳及抗氧化作用。

炆即“煨”，出自《集韵》^[16]，即没有火焰的微火慢煮。所谓炆法是指将净药材以水浸透后，装入陶制炆药坛内，加入清水及辅料，置糠火中用文火慢慢煨煮至熟的制法，属水火共制法。炆制后的黄精黑色如漆，气味香醇，补益效果极佳。目前炆黄

精的研究尚停留在采用 GC-MS 法、HPLC 法测定炆黄精的非糖类化学成分^[17-18]或单糖和寡糖类成分^[19]的研究，尚未有对于炆黄精多糖成分的研究。故本实验以炆黄精为研究对象，采用 UV 法测定黄精炆制前后总多糖的含量、HPLC 法测定黄精炆制前后游离糖的含量；HPGPC 法分析炆制前后相对分子质量变化以及柱前衍生化（PMP-HPLC）方法对单糖组成进行研究。基于黄精炆制前后糖类成分变化探讨炆制后黄精“减毒增效”机制，以期为炆黄精药效研究提供物质基础数据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

CS101-2E 电热鼓风干燥箱，重庆万达仪器有限公司；HH-S6 恒温水浴锅，巩义市予华仪器有限责任公司；MS205DU AB104-N 十万分之一天平，瑞士 Mettler-Toledo 公司；Milli-Q 超纯水仪，美国 Millipore 公司；CTL550 台式低速大容量离心机，湖南湘立科学仪器有限公司；UV-2550 紫外-可见分光光度计、Shimadzu LC-20AT 高效液相色谱仪-紫外检测器、LC-20AD 高效凝胶色谱仪-示差折光检测器，日本岛津公司；Waters 2695-Alltech ELSD 2000-高效液相色谱仪-蒸发光散射检测器，美国 Waters 公司。

1.2 材料

1.2.1 对照品 鼠李糖（质量分数 99.9%，批号 111683-201502）、葡萄糖（质量分数 99.9%，批号 110833-201707）、木糖（质量分数 99.9%，批号 111508-201605）、甘露糖（质量分数 99.4%，批号 140651-201504）、半乳糖（质量分数 99.5%，批号 190090-201501）、阿拉伯糖（99.5%，批号 111506-200202）、果糖（质量分数 99.7%，批号 BCY-000366）、蔗糖（质量分数 99.7%，批号 GBW10067）、右旋糖酐相对分子质量（ M_p ，技术峰位相对分子质量，多糖相对分子质量的表述方式之一）标准（套）[对照品右旋糖酐 D3 M_p 9750、右旋糖酐 D4 M_p 13 050、右旋糖酐 D5 M_p 36 800、右旋糖酐 D6 M_p 64 650、右旋糖酐 D7 M_p 135 350、右旋糖酐 D2000 M_p 2 000 000，批号 140637-201203] 均由中国食品药品检定研究院提供。

1.2.2 试剂 乙腈, 色谱纯, 美国 Anaqua 安可化学; 盐酸、硫酸、甲醇、无水乙醇、石油醚、乙醚、丙酮、三氯甲烷、正丁醇, 分析纯, 上海品究化工有限公司; 氯化钠、硫酸钠、氢氧化钠等其他试剂, 西陇科学股份有限公司; 麻姑酒, 批号 F006-210701, 酒精度 15.5%, 江西郑记麻姑酒业有限公司, 检验结果符合黄酒《GB/T13662-2018》出厂项目要求。

1.3 样品信息

本研究所用黄精药材均由江西省建昌帮药业有限公司提供, 经由江西中医药大学付小梅教授鉴定为黄精属百合科黄精 *P. sibiricum* Red、滇黄精 *P. kingianum* Coll. et Hemsl.、多花黄精 *P. cyrtoneura* Hua 的干燥根茎。炆黄精饮片是参照《江西省中药饮片炮制规范》及《建昌帮炮制规范》项下炆黄精炮制方法制得, 黄精药材编号为 M1~M20, 炆黄精编号为 S1~S20。饮片基本信息见表 1。

表 1 黄精、炆黄精样品信息

Table 1 Sample information of *Polygonati Rhizoma* and stewed *Polygonati Rhizoma*

基原	生黄精			炆黄精	
	编号	产地	生长年限/年	编号	来源
黄精	M1	河南南阳西峡米坪	7	S1	M1 炆制成品
	M2	河南南阳西峡西坪		S2	M2 炆制成品
	M3	河南南阳西峡双龙镇		S3	M3 炆制成品
	M4	湖北十堰李家坡		S4	M4 炆制成品
	M5	湖北十堰郭家湾		S5	M5 炆制成品
	M6	湖北十堰大羊圈		S6	M6 炆制成品
	M7	湖北十堰西沟		S7	M7 炆制成品
	M8	湖北十堰陈家湾		S8	M8 炆制成品
	M9	湖北十堰庙湾		S9	M9 炆制成品
	M10	湖南双凤乡		S10	M10 炆制成品
	M11	湖南油洋乡		S11	M11 炆制成品
	M12	湖南罗子山		S12	M12 炆制成品
	M13	湖南安化		S13	M13 炆制成品
	M14	湖北十堰曹家湾		S14	M14 炆制成品
	M15	河南南阳西峡石界河		S15	M15 炆制成品
	M16	湖南高桥乡		S16	M16 炆制成品
滇黄精	M17	云南	5	S17	M17 炆制成品
	M18	贵州		S18	M18 炆制成品
多花黄精	M19	浙江	5	S19	M19 炆制成品
	M20	江西		S20	M20 炆制成品

2 方法与结果

2.1 炆法炮制工艺

取原药, 去除杂质, 洗净, 用清水漂约 1 d, 取出, 沥干水, 放入炆药罐内, 每罐装药 2/3 (黄精 10 kg, 加水 10 L, 麻姑酒 2 kg), 加入温水, 上盖, 移至围灶内, 堆放干糠, 点燃后炆 1 d, 至药熟汁尽, 取出, 干燥; 用麻姑酒喷洒均匀, 闷润, 待吸尽后, 蒸 6 h, 焖 1 夜, 至转黑色时, 取出, 干燥至半干, 切斜厚片, 干燥。

2.2 黄精、炆黄精总多糖含量与游离糖含量测定

2.2.1 黄精炆制前后总多糖含量测定

(1) 葡萄糖标准曲线的绘制: 精密称取无水葡萄糖对照品适量置 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释定容至刻度, 摇匀, 制得无水葡萄糖溶液质量浓度为 0.33 mg/mL。精密量取上述对照品溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL, 分别置 10 mL 具塞刻度试管中, 各加水至 2.0 mL, 摇匀。在冰水浴中缓缓滴加 0.2% 蒽酮-硫酸溶液至刻度, 混匀, 放冷后置水浴中保温 10 min, 取出, 立即置冰水浴中冷却 10 min, 取出, 以相应试剂为空白。照紫外-可见分光光度法, 在 582 nm 波长处测定吸光度 (A) 值。以葡萄糖质量浓度为横坐标 (X), A 值为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得回归方程 $Y=35.912 X+0.0508$, $R^2=0.9978$, 结果表明葡萄糖在 33~198 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

(2) 黄精总多糖含量测定: 取 60 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒定质量的本品细粉约 0.25 g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 加 80% 乙醇 150 mL, 置水浴中加热回流 1 h, 趁热滤过, 残渣用 80% 热乙醇洗涤 3 次, 每次 10 mL, 将残渣及滤纸置烧瓶中, 加水 150 mL, 置沸水浴中加热回流 1 h, 趁热滤过, 残渣及烧瓶用热水洗涤 4 次, 每次 10 mL, 合并滤液与洗液, 放冷, 转移至 250 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀。精密量取 1.0 mL, 置 10 mL 具塞干燥试管中, 加水至 2.0 mL, 摇匀, 在冰水浴中缓缓滴加 0.2% 蒽酮-硫酸溶液至刻度, 混匀, 放冷后置水浴中保温 10 min, 取出, 在 582 nm 波长处测定 A 值。从标准曲线上读出供试品溶液中含无水葡萄糖的质量, 计算, 即得。取 (M12、M18、M19) 3 批生黄精药材及对应的炆黄精饮片 (S12、S18、S19), 按上述方法制备供试品溶液, 测定, 将测得 A 值带入标准曲线, 计算多糖含量, 即得。多糖含量测定结果见表 2。

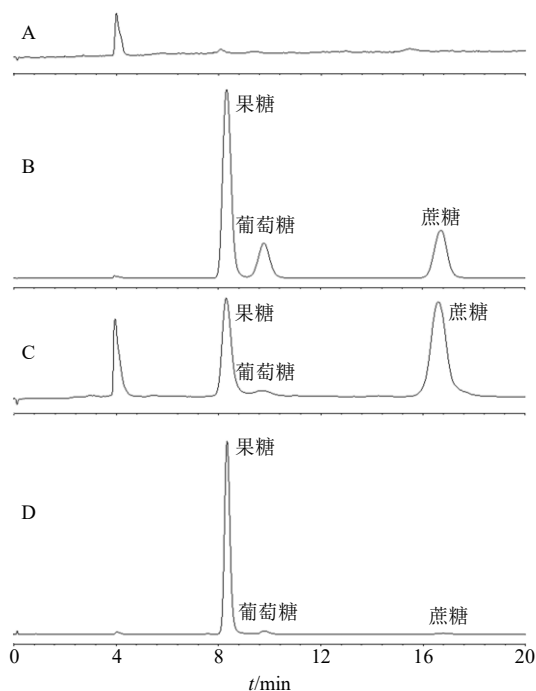
2.2.2 黄精及炆黄精游离糖含量测定

(1) 对照品溶液的制备: 分别精密称取减压干燥至恒定质量的果糖、葡萄糖、蔗糖对照品适量, 置于同一 10 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释定容至刻度, 摇匀。制得果糖质量浓度为 1.107 mg/mL、葡萄糖质量浓度为 0.518 mg/mL、蔗糖质量浓度为 0.712 mg/mL 的混合对照品溶液。

(2) 供试品溶液的制备: 精密称取本品细粉 0.20 g, 加 50 mL 超纯水, 密塞, 称定质量, 加热回流 30 min 后, 放冷, 再称定质量, 用超纯水补足减失的质量, 摇匀, 过 0.22 μm 水相微孔滤膜, 即得供试品溶液。

(3) 色谱条件: 仪器为 Waters2695-Alltech ELSD 2000-高效液相色谱仪-蒸发光散射检测器; 色谱柱为 Sepax HP-Amino (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水(85:15); 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量 1.0 mL/min; 漂移管温度 80 $^{\circ}\text{C}$; 载气体积流量 2.0 mL/min。

(4) 样品测定: 取 M12、M18、M19 3 批生黄精药材及对应的炆黄精饮片(S12、S18、S19), 按上述方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 色谱图见图 1, 计算结果见表 2。



A-空白溶剂 B-混合对照品 C-生黄精药材 D-炆黄精饮片
A-blank solvent B-mixed reference substances C-raw *Polygonati Rhizoma* D- stewed *Polygonati Rhizoma*

图 1 黄精炆制前后游离糖 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC of free sugars before and after stewed of *Polygonati Rhizoma*

表 2 黄精炆制前后多糖及游离糖含量测定结果 ($n=2$)

Table 2 Results of polysaccharide contents and free sugar contents before and after stewed of *Polygonati Rhizoma* ($n=2$)

基原	规格	编号	质量分数/%			
			总多糖	蔗糖	果糖	葡萄糖
黄精	生黄精	M12	10.50	2.43	1.61	0.67
	炆黄精	S12	4.09	1.45	25.95	2.59
滇黄精	生黄精	M18	11.60	3.19	1.09	0.58
	炆黄精	S18	4.69	2.14	30.99	2.22
多花黄精	生黄精	M19	12.17	3.04	3.06	0.82
	炆黄精	S19	4.86	1.96	38.71	4.36

2.3 黄精及炆黄精 M_p 测定

2.3.1 对照品溶液的制备 称取已知 M_p 的右旋糖酐 M_p 标准(套) D3、D4、D5、D6、D7、D2000 系列对照品适量, 用 0.05 mol/L 硫酸钠水溶液(流动相)溶解制成 10 mg/mL 的对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 分别精密称取黄精药材、炆黄精饮片粗粉 50 g, 置圆底烧瓶中, 加石油醚(沸点 60~90 $^{\circ}\text{C}$) 150 mL, 66 $^{\circ}\text{C}$ 回流提取 4 h 脱脂。样品挥干溶剂后加 150 mL 乙醚浸提过夜, 进一步脱脂。挥干溶剂加入 150 mL 80%乙醇 84 $^{\circ}\text{C}$ 回流 4 h。样品倒去上层液, 置于烘箱 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒定质量, 得脱脂黄精。

取上述脱脂黄精, 加 400 mL 超纯水, 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 2 h, 取上层液。再加超纯水 300 mL, 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 2 h。合并 2 次上层液, 浓缩至 100 mL, 加入适量 80%乙醇, 沉淀过夜。取醇沉后的上层液, 浓缩, 加适量 80%乙醇, 沉淀过夜, 重复 2 次。将 3 次沉淀物, 用丙酮清洗, 置于烘箱中 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒定质量, 得黄精粗多糖。

取上述制备黄精粗多糖, 分别加适量超纯水复溶, 按 4:1 比例加入 Sevage[三氯甲烷-正丁醇(4:1)] 试剂, 充分震荡, 4000 r/min 离心(离心半径为 10 cm) 20 min, 弃去下层变性蛋白沉淀, 取上清液, 重复 2 次以上操作, 干燥, 得脱蛋白的多糖。加入少许适量的活性炭颗粒与沸石, 于电热套上加热至微沸, 保持微沸约 1 h, 除去色素, 得精多糖。

精密称定上述制备的精多糖适量, 以 0.05 mol/L 硫酸钠水溶液溶解并稀释摇匀, 得 2.5 mg/mL 的供试品溶液。

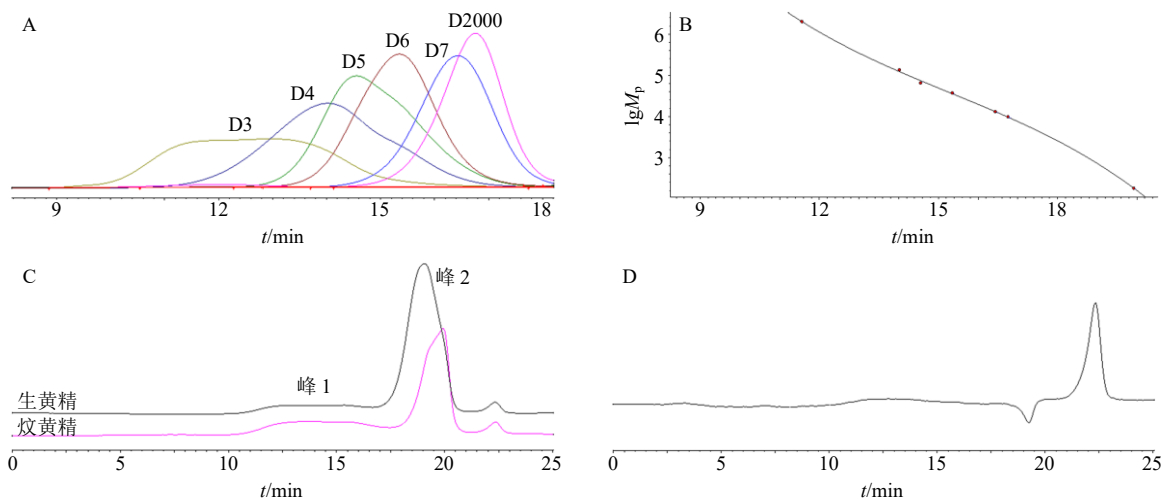
2.3.3 色谱条件 仪器为 LC-20AD-高效液相色谱仪-示差折光检测器, Lab Solutions 含 GPC 软件; 色谱柱为 Shodex Ashipak GF-7M HQ (300 mm \times 7.6

mm, 9 μ m); 流动相为 0.05 mol/L 硫酸钠水溶液; 体积流量 0.5 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}$ C; 进样量 10 μ L; 示差折光检测器池温 40 $^{\circ}$ C。

2.3.4 样品测定 取 M12、M18、M19 3 批生黄精药材及对应的炆黄精饮片 (S12、S18、S19), 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3.3”项下色谱条件测定, 色谱图见图 2, 计算结果见表 3。

通过对黄精及炆黄精中总多糖、游离糖含量、多糖相对分子质量大小测定, 炆制前后变化见表 4,

炆制后黄精中总多糖及蔗糖的含量因水解作用降低, 作为水解产物的果糖和葡萄糖含量随之增大; 另外, 多糖无甜味, 但果糖和葡萄糖为目前市场公认的甜味剂, 此研究结果与黄精炆制后甜味增加一致。此外, 水解作用会破坏糖苷键, 将多糖水解为相对分子质量较小的结构单位单糖, 本研究结果中作为水解产物的果糖和葡萄糖的含量增加, 从侧面印证了黄精多糖在炆法炮制过程中, 多糖发生了较为剧烈的水解。



A-标准品图谱 B-标准曲线 C-生黄精与炆黄精 M_p 测定图谱 D-空白溶剂 M_p 测定图谱
A-standard map B-standard curve C-chromatogram of M_p determination of raw *Polygonati Rhizoma* and stewed *Polygonati Rhizoma* D-blank solvent M_p determination atlas

图 2 黄精多糖炆制前后 M_p 测定图谱

Fig. 2 HPGPC of M_p of *Polygonati Rhizoma* polysaccharides before and after stewed

表 3 黄精炆制前后多糖 M_p 及其分布 ($n = 2$)

Table 3 Molecular weight and distribution of *Polygonati Rhizoma* polysaccharides before and after stewed ($n = 2$)

基原	规格	编号	重均相对分子质量 (M_w) / 10^4		数均相对分子质量 (M_n) / 10^4		分布系数 (M_w/M_n)	
			峰 1	峰 2	峰 1	峰 2	峰 1	峰 2
黄精	生黄精	M12	90.935	4.093	60.005	3.669	1.52	1.12
	炆黄精	S12	21.642	1.464	4.922	1.262	4.39	1.56
滇黄精	生黄精	M18	102.609	4.987	56.727	4.361	1.81	1.14
	炆黄精	S18	37.419	6.052	5.012	1.783	1.09	1.21
多花黄精	生黄精	M19	151.984	9.280	22.890	6.190	6.39	1.49
	炆黄精	S19	27.434	1.808	14.186	0.969	1.93	1.86

表 4 黄精炆制前后总多糖、游离糖含量及相对分子质量变化

Table 4 Changes in total polysaccharide content, free sugar content and molecular weight before and after stewed of *Polygonati Rhizoma*

样品	质量分数/%				M_p	
	总多糖	蔗糖	果糖	葡萄糖	峰 1	峰 2
生黄精	11.42 \pm 0.85	2.89 \pm 0.40	1.92 \pm 1.39	0.69 \pm 0.12	1 151.76 \pm 324.00	61.20 \pm 27.73
炆黄精	4.55 \pm 0.40	1.85 \pm 0.36	31.88 \pm 6.43	3.06 \pm 1.14	288.32 \pm 79.81	31.08 \pm 25.55

2.4 黄精及炆黄精单糖组成分析

2.4.1 对照品溶液制备 取减压干燥至恒定质量的甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖适量,置于同一 10 mL 量瓶中,加水稀释并定容至刻度,制得含有甘露糖 105.8 $\mu\text{g/mL}$ 、鼠李糖 105.5 $\mu\text{g/mL}$ 、葡萄糖 102.4 $\mu\text{g/mL}$ 、阿拉伯糖 107.4 $\mu\text{g/mL}$ 、半乳糖 104.9 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.4.2 供试品溶液制备 精密称取本品 0.30 g,置索氏提取器中,加 80%乙醇适量,加热回流提取 4 h,弃去液体,药渣挥干乙醇,滤纸筒拆开置于烧杯中,加水 100 mL,回流 1 h,混匀,离心,吸取上清液 1.0 mL,置西林瓶中,加 3.0 mol/L 盐酸溶液 0.5 mL,封口,混匀,110 $^{\circ}\text{C}$ 水解 3 h,放冷,用 3.0 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至中性。吸取 400 μL ,加 0.5 mol/L 1-苯基-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)甲醇溶液与 0.3 mol/L 氢氧化钠溶液各 400 μL ,混匀,70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴反应 100 min。再加 0.3 mol/L 盐酸溶液 500 μL ,混匀,用三氯甲烷洗涤 3 次,每次 5 mL,弃去三氯甲烷液,水层离心,即得。

2.4.3 色谱条件 仪器为 Shimadzu LC-20AT 高效液相色谱仪-紫外检测器;色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.02 mol/L 乙酸铵水溶液(20:80);检测波长 250 nm;体积流量 1.0 mL/min;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.4.4 精密度试验 取 1 个批次生黄精药材(M19)与炆黄精饮片(S19),按最终确定“2.4.2”项下方法制样,按“2.4.3”项下色谱条件连续分析 6 次,计算甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖及阿拉伯糖 5 个峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.26%、0.44%、0.24%、0.22%、0.18%和 0.92%、2.86%、1.19%、0.57%、2.23%,均低于 3%,说明仪器精密度良好。

2.4.5 稳定性试验 取 1 个批次生黄精药材(M19)与炆黄精饮片(S19),按最终确定“2.4.2”项下方法制样,于 0、2、4、8、12、24 h 按“2.4.3”项下色谱条件分析,计算甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖及阿拉伯糖 5 个峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.21%、0.25%、0.24%、0.24%、0.25%和 1.46%、2.49%、1.39%、0.94%、2.24%,样品溶液稳定。

2.4.6 重复性试验 取 1 个批次生黄精药材(M19)与炆黄精饮片(S19),按最终确定“2.4.2”项下方法平行制样 6 份,按“2.4.3”项下色谱条件进行分

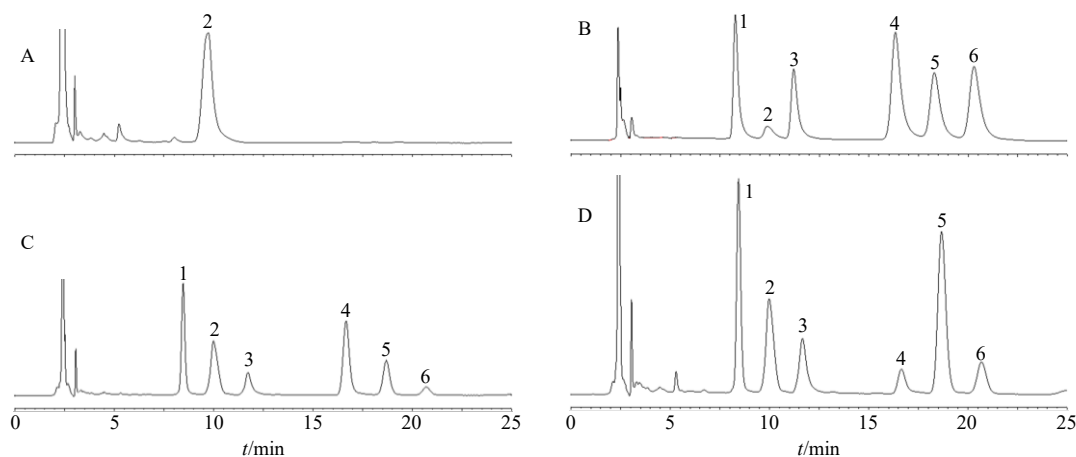
析,计算甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖及阿拉伯糖 5 个峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.48%、0.75%、0.66%、0.72%、0.70%和 1.77%、1.54%、2.38%、1.09%、1.58%,结果表明该方法重复性好。

2.4.7 加样回收率试验 精密称取 1 个批次生黄精药材(M19)与炆黄精饮片(S19) 0.15 g,9 份,置索氏提取器中,加 80%乙醇适量,加热回流提取 4 h,弃去液体,药渣挥干乙醇,滤纸筒拆开置于烧杯中,分别按照各单糖含量的 80%、100%、120%加入 5 种单糖对照品,加水 100 mL,回流 1 h,混匀,离心,吸取上清液 1.0 mL,置西林瓶中,加 3.0 mol/L 盐酸溶液 0.5 mL,封口,混匀,110 $^{\circ}\text{C}$ 水解 3 h,放冷,用 3.0 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至中性。吸取 400 μL ,加 0.5 mol/L PMP 甲醇溶液与 0.3 mol/L 氢氧化钠溶液各 400 μL ,混匀,70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴反应 100 min。再加 0.3 mol/L 盐酸溶液 500 μL ,混匀,用三氯甲烷洗涤 3 次,每次 5 mL,弃去三氯甲烷液,水层离心,即得供试品溶液。按“2.4.3”项下色谱条件分析。计算甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖及阿拉伯糖 5 个峰的平均加样回收率分别为 95.68%、97.48%、99.14%、97.57%、99.60%,RSD 分别为 2.42%、2.56%、2.18%、2.67%、2.55%,表明该方法准确度好。

2.4.8 样品测定 取上述 20 批生黄精药材及对应的炆黄精饮片,按上述供试品溶液制备方法制备供试品溶液,按上述色谱条件,注入高效液相色谱仪测定,色谱图见图 3,测定结果见表 5。

2.5 黄精及炆黄精单糖组成聚类分析

利用 Hplot 可视化平台,对黄精及炆黄精单糖组成进行聚类分析,结果如图 4 所示,可以明显看出,生黄精药材与炆黄精饮片明显分为 2 大类(A 类生黄精;B 类炆黄精),随着热图中颜色的增加,表明单糖物质的量比的值越大,说明黄精炆制前后存在明显差异。生黄精药材中葡萄糖物质的量比占比最高,炆制后半乳糖物质的量比占比最高,可能是高温加热使得糖发生了异构化反应所致^[20],但具体反应机制还需进一步研究。如表 6 所示,炆制前后黄精甘露糖、鼠李糖以及阿拉伯糖平均物质的量比变化无显著性差异,而黄精炆制前后葡萄糖的物质的量比显著降低,半乳糖物质的量比明显升高,说明炆法炮制对于多糖的单糖组成发生了改变,进一步影响多糖的生物活性。



A-空白图谱 B-5个单糖混合对照品图谱 C-生黄精 D-炙黄精 1-甘露糖 2-PMP 试剂峰 3-鼠李糖 4-葡萄糖 5-半乳糖 6-阿拉伯糖
A-blank map B-spectrum of 5 monosaccharide mixed label referencesubstances C-raw *Polygonati Rhizoma* D-stewed *Polygonati Rhizoma* 1-mannose 2-PMP reagent peak 3-rhamnose 4-glucose 5-galactose 6-arabinose

图3 黄精单糖组成色谱图

Fig. 3 Chromatogram of monosaccharide composition of *Polygonati Rhizoma*

表5 黄精炙制前后单糖组成物质的量比 (n = 2)

Table 5 Substance ratio of monosaccharides *Polygonati Rhizoma* before and after stewed (n = 2)

样品	单糖组成及物质的量比					样品	单糖组成及物质的量比				
	甘露糖	鼠李糖	葡萄糖	半乳糖	阿拉伯糖		甘露糖	鼠李糖	葡萄糖	半乳糖	阿拉伯糖
M1	0.209 6	0.118 7	0.500 4	0.151 8	0.019 5	S1	0.253 4	0.162 4	0.058 2	0.493 0	0.033 1
M2	0.277 6	0.122 3	0.397 5	0.178 3	0.024 3	S2	0.279 4	0.152 1	0.061 0	0.470 3	0.037 1
M3	0.204 8	0.095 1	0.522 0	0.157 3	0.020 7	S3	0.341 3	0.130 4	0.065 2	0.431 6	0.031 4
M4	0.213 6	0.090 7	0.527 8	0.148 1	0.019 9	S4	0.321 2	0.145 2	0.064 0	0.435 3	0.034 2
M5	0.258 3	0.096 8	0.464 9	0.160 0	0.020 0	S5	0.281 8	0.131 9	0.071 0	0.478 1	0.037 2
M6	0.267 1	0.067 4	0.550 1	0.100 8	0.014 5	S6	0.279 8	0.123 3	0.080 3	0.474 3	0.042 4
M7	0.291 6	0.265 7	0.245 4	0.147 8	0.049 5	S7	0.351 7	0.239 0	0.056 7	0.318 3	0.034 3
M8	0.311 8	0.112 5	0.454 6	0.106 4	0.014 7	S8	0.338 8	0.150 4	0.077 1	0.393 9	0.039 8
M9	0.282 2	0.093 3	0.441 2	0.157 7	0.025 6	S9	0.366 5	0.136 9	0.064 3	0.397 2	0.035 2
M10	0.417 7	0.130 4	0.437 5	0.283 6	0.030 9	S10	0.288 7	0.163 3	0.054 4	0.457 1	0.036 4
M11	0.463 7	0.169 7	0.450 3	0.195 2	0.021 1	S11	0.350 6	0.170 9	0.058 7	0.384 8	0.034 9
M12	0.333 2	0.112 9	0.410 5	0.128 1	0.015 2	S12	0.339 1	0.157 2	0.054 3	0.416 3	0.033 1
M13	0.334 0	0.078 0	0.429 8	0.141 5	0.016 7	S13	0.259 7	0.098 6	0.036 6	0.383 6	0.021 5
M14	0.274 0	0.104 3	0.478 9	0.127 8	0.014 9	S14	0.319 6	0.157 2	0.080 7	0.405 6	0.036 8
M15	0.215 4	0.119 5	0.442 3	0.190 9	0.031 8	S15	0.279 2	0.164 8	0.062 5	0.454 5	0.039 0
M16	0.241 7	0.231 4	0.409 6	0.093 6	0.023 8	S16	0.328 0	0.146 0	0.107 1	0.381 4	0.037 5
M17	0.039 0	0.095 3	0.711 5	0.140 5	0.013 6	S17	0.088 9	0.196 3	0.049 4	0.641 6	0.023 9
M18	0.021 2	0.346 2	0.554 4	0.146 0	0.032 3	S18	0.076 7	0.249 9	0.040 5	0.594 0	0.038 8
M19	0.032 9	0.145 8	0.574 9	0.234 4	0.012 0	S19	0.016 0	0.173 5	0.274 5	0.504 8	0.031 3
M20	0.050 0	0.189 3	0.494 4	0.240 0	0.026 2	S20	0.064 0	0.252 9	0.064 2	0.573 0	0.045 9

3 讨论

3.1 黄精炙制“麻舌感”消除机制分析

关于黄精生用产生“麻舌感”的描述，历代医

籍均有记载^[21-22]。有文献表明^[23]黄精产生麻舌感的主要成分为黏液质，是一类由黄精多糖与某类蛋白质形成的复合物（凝聚素）。据民间临床应用反馈，

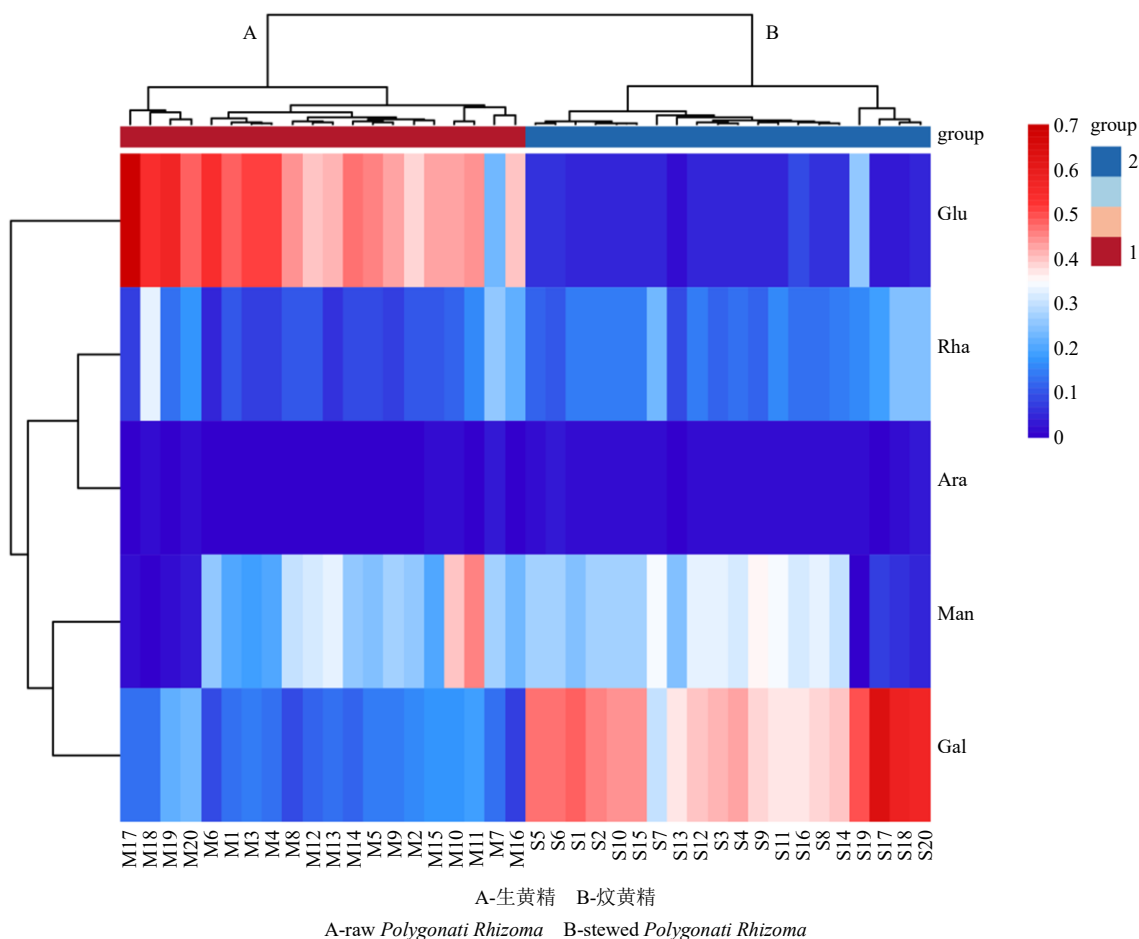


图 4 黄精炆制前后单糖组成差异性分析热图

Fig. 4 Heat map of differences in monosaccharide composition *Polygonati Rhizoma* before and after stewed

表 6 黄精炆制前后单糖组成平均物质的量比比较

Table 6 Comparison of the average substance ratio of monosaccharide composition before and after stewed of *Polygonati Rhizoma*

规格	平均物质的量比				
	甘露糖	鼠李糖	葡萄糖	半乳糖	阿拉伯糖
生黄精	0.236 9±0.122 0	0.139 3±0.070 2	0.474 9±0.091 1	0.161 5±0.048 0	0.022 4±0.008 9
炆黄精	0.261 2±0.108 2	0.165 1±0.041 0	0.074 0±0.049 6	0.454 4±0.079 2	0.035 2±0.005 6

炆黄精口感、色泽俱佳，无麻舌刺激之感。通过对黄精炆制前后总多糖含量测定结果表明，炆黄精总多糖含量明显低于生黄精，推测是在炆制过程中，黏液质成分被破坏，从而麻舌感减轻。此外本实验对黄精及炆黄精游离糖含量进行了测定，发现黄精炆制后游离糖含量显著升高，游离糖尤其是果糖具有较高甜度，可以起到改善口感，调和诸味的作用，在一定程度上也降低了药材对喉舌的刺激性。

3.2 黄精炆制后增效机制分析

有关药理药效实验表明^[24-28]，黄精炮制后确实可增强其补益之效。黄精多糖^[7]具有抗氧化、抗疲

劳、提高免疫力等作用，是黄精的主要活性成分。有研究报道^[29]多糖药效的发挥与其相对分子质量有关，相对分子质量过大或过小均无法被人体有效利用，通常是中等相对分子质量多糖药效最佳^[11]。现阶段常有学者以物理法、降解法、和衍生化法等手段^[29]人为地降低多糖相对分子质量。本研究中采用 HPGPC 法对黄精炆制前后多糖相对分子质量分布进行测定，结果表明生黄精多糖相对分子质量 M_w 主要分布在 40 930~92 800，与万晓莹等^[12]测定黄精酒制前后的相对分子质量结果存在差异，推测可能是由于品种不同。黄精炆制后多糖相对分子质量

M_w 主要分布在 9300~18 080, 呈显著下降趋势, 说明黄精中大相对分子质量多糖经炮制后发生了水解, 服用后人体吸收率提高, 推测此为黄精炮制后“滋阴润肺, 补肾壮阳”之效增强的机制之一。

《神农本草经》^[30]曾云:“(黄精)多年不老, 白发更黑, 齿落更生”;《名医别录》^[31]也指出黄精“补中益气, 久服轻身, 延年不饥”。作为药食同源的中草药, 黄精可有效延缓衰老, 历来有“仙人余粮”的美誉。

本实验采用 HPLC-PDA 结合衍生化方法进行黄精多糖炮制前后的单糖组成, 测定结果表明生黄精多糖的单糖组成平均物质的量比为甘露糖-鼠李糖-葡萄糖-半乳糖-阿拉伯糖 (10:6:25:7:1); 炮制后黄精多糖的单糖组成平均物质的量比为 7:5:1.7:14:1。吴丰鹏等^[11]测定了黄精九蒸九制前后的总多糖含量及单糖组成, 同时测定了体外抗氧化活性发现炮制后多糖含量较生品降低了 72% (炮黄精降低 60%), 半乳糖物质的量比同样显著提高, 且抗氧化活性增强, 说明黄精炮制或九蒸九制化学成分变化趋势相似, 但炮黄精可更大程度保留多糖成分; 炮制后黄精多糖葡萄糖物质的量比降低, 半乳糖物质的量比升高, 因此, 可推测黄精炮制可使抗氧化 (抗衰老) 作用增强。

3.3 小结与展望

炮黄精作为建昌帮主打 5 大炮药之一, 其历史悠久, 疗效显著, 老少皆宜。对炮黄精的开发利用不仅具有极大的市场价值, 也有利于传统中医药文化的传承与发扬。因此本研究以炮黄精为研究对象, 系统分析了炮制前后多糖含量、相对分子质量及单糖组成, 对黄精炮制药效变化机制进行初步探讨, 可为后续找寻炮黄精药效物质基础, 完善相应质量标准等提供思路。多糖为具有复杂空间构型的大分子化合物^[32], 本实验仅通过上述研究内容尚不足以阐明黄精多糖的结构与药效关系, 还需要进一步对多糖糖苷键类型、分子链及空间构象等进行更深入的探究, 从而为炮黄精及其相关衍生产品的深度开发奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 319.
[2] 程喜乐, 曲寿河, 纪宏媛, 等. 黄精性味归经及功效应用的古今演变 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(5): 2704-2708.

[3] 孙修成, 王哲靖, 毛丹丹, 等. 复合黄精饮料的配方及工艺优化 [J]. 食品工业, 2021, 42(1): 103-108.
[4] 李惠. 速溶黄精茶加工工艺研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2012.
[5] 陈宇, 周芸湄, 李丹, 等. 黄精的现代药理作用研究进展 [J]. 中药材, 2021, 43(1): 240-244.
[6] 任洪民, 邓亚玲, 张金莲, 等. 药用黄精炮制的历史沿革、化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(17): 4163-4182.
[7] 赵文莉, 赵晔, Tseng Y. 黄精药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4439-4445.
[8] 党艳妮, 黄壮壮, 苏英英, 等. 基于网络药理学的黄精抗肿瘤成分筛选研究 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(3): 468-472.
[9] 孟洗, 张鼎. 食疗本草 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1984: 10.
[10] 秦宇雯, 张丽萍, 赵祺, 等. 九蒸九晒黄精炮制工艺的研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(21): 5631-5637.
[11] 吴丰鹏, 李芹英, 吴彦超, 等. 九蒸九制对黄精多糖结构功能的影响 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(2): 42-46.
[12] 万晓莹, 刘振丽, 宋志前, 等. 黄精炮制前后多糖的相对分子质量分布和免疫活性比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(15): 83-90.
[13] 冯婧, 胡娟娟, 何先元, 等. 不同炮制方法对渝产黄精体外抗氧化作用的影响 [J]. 中国药业, 2020, 29(19): 25-30.
[14] 林雨, 余亮, 魏馨瑶, 唐美玲, 等. 黄精炮制前后的化学成分变化及其减毒增效研究 [J]. 中药材, 2021, 43(6): 1353-1359.
[15] 杨华杰, 龚千锋, 于欢, 等. 黄精不同炮制品抗疲劳及抗氧化作用比较研究 [J]. 江西中医药, 2018, 49(2): 64-67.
[16] 宋·丁度, 宋·李昉等. 宋·太平御览 [M]. 第 2 版. 北京: 中华书局, 2005: 46.
[17] 殷海霞, 郭秋萍, 平欲晖, 等. HPLC 法同时测定黄精中 5-羟甲基麦芽酚、5-羟甲基糠醛和黄精碱 A 的含量 [J]. 中国药师, 2018, 21(9): 1683-1686.
[18] 吴毅, 李娟娟, 郭磊, 等. 基于 GC-MS 和 UPLC-Q-TOF-MS 的炮黄精的化学成分识别 [A] // 中国药学会第二届药物检测质量管理学术研讨会资料汇编 [C]. 北京: 中国药学会, 2015: 293-299.
[19] 张艳雪, 周巧, 张学兰, 等. 黄精炮制前后寡糖与单糖成分含量变化与转化机制研究 [J]. 中药材, 2020, 43(2): 318-322.
[20] 王雷. 半乳糖激酶和半乳糖异构酶的生物化学研究 [D]. 济南: 山东大学, 2010.
[21] 李中立. 本草原始 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 3.

- [22] 清·汪绂. 医林纂要 [M]. 江凌, 孙尧其, 应晓燕, 等注. 北京: 中国中医药出版社, 2005: 156.
- [23] 马兴民. 新编中药炮制法 [M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1988: 310.
- [24] 张莹, 钟凌云. 黄精炮制前后对小鼠免疫功能的影响 [J]. 江苏中医药, 2010, 42(10): 78-79.
- [25] 李迪民, 符波, 施杰, 等. 黄精炮制前后黄精多糖药理作用的研究 [J]. 新疆医学院学报, 1997, 20(3): 18-20.
- [26] 陈靓雯, 柯晓燕. 古法炮制多花黄精提取物抗疲劳作用研究及其机制探讨 [J]. 科学技术创新, 2019(4): 3-4.
- [27] Wang Y J, Liu N, Xue X, *et al.* Purification, structural characterization and *in vivo* immunoregulatory activity of a novel polysaccharide from *Polygonatum sibiricum* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 160: 688-694.
- [28] 王淳, 宋志前, 宁张弛, 等. 黄精炮制二氯甲烷组分 Maillard 反应产物及抗氧化活性研究 [J]. 中草药, 2019, 50(3): 604-610.
- [29] 廖振胜, 张娜, 杨宇成, 等. 多糖溶解性改善方法研究进展 [J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(24): 292-299.
- [30] 梁·陶弘景原撰 郭秀梅, 王少丽主编. 本草经集注 (影印本) [M]. 北京: 学苑出版社, 2013: 255.
- [31] 梁·陶弘景撰 尚志钧辑校 尚元胜, 尚元藕, 黄自冲整理. 名医别录 (辑校本) [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2013: 19.
- [32] 谭西, 周欣, 陈华国. 植物多糖构效关系研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(21): 4104-4109.

[责任编辑 郑礼胜]