

趁鲜切制和传统切制金荞麦饮片糖类组分比较研究

陈芳^{1,2,3}, 倪丽^{1,2,3}, 缪兴龙³, 周桂荣³, 何毅^{3*}, 李松林^{1,2*}

1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210028

2. 江苏省中医药研究院和中国中医科学院江苏分院, 江苏 南京 210028

3. 天士力医药集团股份有限公司 创新中药关键技术国家重点实验室, 天津 300410

摘要: **目的** 比较趁鲜切制和传统切制方法对金荞麦 *Fagopyri Dibotryis Rhizoma* 饮片糖类组分的影响, 基于糖组分探究适宜的金荞麦饮片切制方法。**方法** 采用多维色谱技术表征 2 种饮片中多糖含量、相对分子质量分布、单糖组成及物质的量比以及寡糖和游离单糖的含量, 结合统计分析, 比较 2 种饮片的糖组分特征。**结果** 与传统切制法相比, 趁鲜切制饮片中多糖、寡糖含量较高; 2 种饮片中多糖的相对分子质量分布范围相似, 但传统方法切制饮片在 $4.456 \times 10^6 \sim 8.095 \times 10^6$ 区域占比较高; 2 种饮片多糖都主要由 *D*-甘露糖、*D*-半乳糖醛酸、*D*-葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖组成, 但传统方法切制饮片的 *D*-葡萄糖物质的量比较高, *D*-甘露糖、半乳糖和阿拉伯糖物质的量比较低。**结论** 趁鲜切制能更好地保留多糖和寡糖组分, 且操作方法相对简便, 可以考虑作为金荞麦饮片的候选切制方法。

关键词: 金荞麦; 糖类组分; 趁鲜切制; 传统切制; *D*-甘露糖; *D*-半乳糖醛酸; *D*-葡萄糖; 半乳糖; 阿拉伯糖

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)09-2776-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.09.010

Comparison on saccharides profiles between fresh and traditional cutting pieces of *Fagopyri Dibotryis Rhizoma*

CHEN Fang^{1,2,3}, NI Li^{1,2,3}, MIAO Xing-long³, ZHOU Gui-rong³, HE Yi³, LI Song-lin^{1,2}

1. Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

2. Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine and Jiangsu Branch of China Academy of Chinese Medical Sciences, Nanjing 210028, China

3. State Key Laboratory of Critical Technology in Innovative Chinese Medicine, Tasly Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300410, China

Abstract: Objective To compare the effects of fresh cutting and traditional cutting methods on saccharides profiles of *Fagopyri Dibotryis Rhizoma* (FDR), and to explore the suitable cutting method of FDR pieces based on the saccharides profiles. **Methods** Using multi-dimensional chromatography to qualitatively and quantitatively determine the saccharides (polysaccharides, oligosaccharides and free monosaccharides), together with statistical analysis, the saccharides profiles of FDR pieces prepared by two cutting methods were compared. **Results** Compared with traditional cutting pieces, the content of polysaccharides and oligosaccharides were higher in fresh cutting pieces. The molecular weight of polysaccharides was similar among two kinds of pieces, but the proportion of $4.456 \times 10^6 \sim 8.095 \times 10^6$ was higher in traditional cutting pieces. The polysaccharides of the two kinds of pieces were all mainly composed of *D*-mannose, *D*-galacturonic acid, *D*-glucose, galactose and arabinose, but the molar ratio of *D*-glucose was higher, whereas that of *D*-mannose, galactose and arabinose were lower in the traditional cutting pieces. **Conclusion** Fresh cutting method can retain polysaccharides and oligosaccharides better, regarding its operation procedure is relatively simple, it could be considered as a candidate cutting method of FDR pieces.

收稿日期: 2022-10-27

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09301005)

作者简介: 陈芳(1998—), 女, 硕士研究生, 从事中药化学与分析研究。Tel: 15955950835 E-mail: cfang1210@163.com

*通信作者: 何毅, 博士, 从事中药新药开发与研究工作。Tel: (022)86343860 E-mail: heyi@tasly.com

李松林, 研究员, 从事中药药效物质基础和质量控制研究工作。Tel: (025)85639640 E-mail: songlinli64@126.com

Key words: *Fagopyri Dibotryis Rhizoma*; saccharides; fresh cutting; traditional cutting; *D*-mannose; *D*-galacturonic acid; *D*-glucose; galactose; arabinose

金荞麦 *Fagopyri Dibotryis Rhizoma* (FDR) 来源于蓼科荞麦属植物金荞麦 *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara 的干燥根茎, 具有清热解毒、排脓祛瘀的功效。金荞麦主要含有黄酮、萜类等小分子组分和多糖等糖类组分^[1-2], 具有抗炎、抗肿瘤、抗糖尿病以及神经保护等活性^[3-6], 其中金荞麦多糖具有抗氧化、提高机体免疫力等作用, 是贡献其功效的活性组分之一^[7-8]。金荞麦属于根茎类药材, 质地坚硬, 其饮片传统切制方法通常包括“除杂、洗净、润透、切厚片、干燥”等操作, 过程繁琐、耗时较长, 效率不高。另外, 药材在二次洗润过程中也可能导致包括多糖在内的水溶性组分的丢失, 对饮片质量造成潜在影响。近年来提出的趁鲜切制方法, 能够减少操作步骤, 可节省时间和加工成本, 提高生产效率, 已经在多个根和根茎类中药饮片的炮制中加以研究和应用^[9-11]。因此, 开展趁鲜切制和传统切制金荞麦饮片整体质量比较研究, 对趁鲜切制金荞麦饮片产业化具有重要意义。

《中国药典》2020年版采用表儿茶素作为评价金荞麦质量的质控指标^[12], 但中药多成分、多靶点作用特点已成共识, 单一表儿茶素指标难以评价金荞麦整体质量。越来越多的研究表明, 中药多糖和寡糖是潜在的益生元, 可通过与肠道菌群相互作用, 调节肠道菌群结构和功能, 或影响共存小分子组分肠内代谢和吸收, 整合发挥治疗作用^[13-16], 故金荞麦糖类组分和非糖小分子组分都是金荞麦潜在的药效组分。

近年来整合植物代谢组学和糖组学策略, 可兼顾非糖小分子组分和糖类组分, 可以评价富含非糖小分子组分和糖类组分中药(如根和根茎类药材等)的整体质量^[17]。本实验尝试应用该策略, 系统比较了趁鲜切制与传统切制金荞麦饮片的整体质量, 本实验首先报道对糖类组分的比较研究。采用紫外-分光光度法(UV-Vis)测定金荞麦总多糖含量, 高效凝胶色谱-蒸发光散射检测法(HPGPC-ELSD)表征多糖相对分子质量分布, 高效液相色谱-二极管阵列检测法[HPLC(C₁₈)-PDA]测定多糖的单糖组成及物质的量比以及游离单糖含量, 高效液相色谱-蒸发光散射检测法[HPLC(NH₂)-ELSD]测定寡糖和D-果糖含量, 结合统计分析, 比较趁鲜切制与传

统切制金荞麦饮片中糖类组分定性定量结果, 基于糖类组分探讨金荞麦饮片趁鲜切制方法的可行性。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters e2695-2489 型高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; Alltech 2000ES 型蒸发光散射检测器, 美国奥泰公司; Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; ST16R 型冷冻离心机, 美国赛默飞世尔公司; 日立 U-3900 型紫外分光光度计, 日本日立公司; XSR 105DU 型电子天平, 瑞士梅特勒-托利公司; Milli-Q 型超纯水系统, 美国密理博公司; KQ-500DV 型超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 药品与试剂

右旋糖酐对照品(D1~D8 峰值相对分子质量分别为 2700、5250、9750、13 050、36 800、64 650、135 350、300 600), 批号依次为 140638-201203、140639-201203、140640-201203、140641-201203、140642-201203、140643-201203、140644-201203、140645-201203, 购自中国食品药品检定研究院; 对照品 *D*-葡萄糖(批号 110833-201908)、蔗糖(批号 111507-201704)、*D*-果糖(批号 100231-202008)、*D*-甘露糖(批号 140651-201504)、半乳糖(批号 100226-201506)、*D*-半乳糖醛酸(批号 111646-201702)均购自中国食品药品检定研究院; 对照品阿拉伯糖, 批号 wkq22010506, 质量分数≥98%, 购自四川省维克奇生物科技有限公司; 乙腈为色谱纯, 其余试剂为分析纯, 实验用水为 Milli-Q 型超纯水系统制备的超纯水。

1.3 药材

金荞麦鲜药材自采于四川省宜宾市筠连县乐义乡金荞麦种植基地, 为 2 年生药材, 采收时间在 12 月份, 共采收不同田间 6 批样品(1~6), 经天津天士力集团研究院周桂荣高级工程师鉴定, 为蓼科荞麦属植物金荞麦 *F. dibotrys* (D. Don) Hara 的根茎。将金荞麦药材按不同切制方式处理后粉碎成粗粉(过 2 号筛), 备用。金荞麦商品饮片(S24、S32、S33), S24 由河北藺氏盛泰药业有限公司提供, S32 由亳州普润药业有限公司提供, S33 由河北藺氏盛泰药业有限公司提供。将商品饮片粉碎成粗粉(过

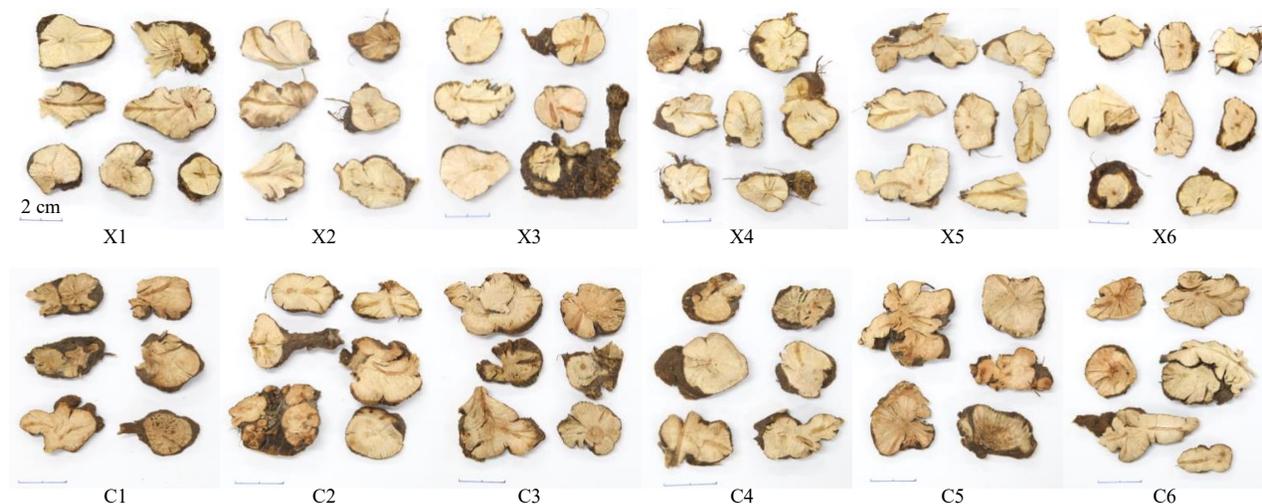
2号筛)用于方法学考察样品。

2 方法与结果

2.1 金荞麦样品处理

将自采的6批新鲜药材除去茎和须根,洗净,一部分趁鲜切制成4 mm左右厚片,晒干至饮片水分低于10%,得到趁鲜切制饮片1~6(X1~X6);另一部分直接晒干,得干药材(水分低于15%),将干药材用湿润的棉花包裹放入自封袋中,置于阴凉

处浸润24 h,润透后切制成4 mm左右厚片,晒干至饮片水分低于10%,得到传统切制饮片1~6(C1~C6)。金荞麦趁鲜切制饮片与传统切制饮片都呈不规则厚片状,有放射状纹理,外表皮深棕褐色;趁鲜切制饮片切面淡黄白色,传统切制饮片切面淡黄棕色;2种切制方法切制过程中均有部分碎片和裂片;金荞麦趁鲜切制饮片与传统切制饮片照片见图1。



X1~X6-趁鲜切制饮片 C1~C6-传统切制饮片
X1—X6-fresh cutting pieces C1—C6-traditional cutting pieces

图1 金荞麦趁鲜切制饮片与传统切制饮片图片

Fig. 1 Photographs from fresh cutting and traditional cutting pieces of FDR

2.2 金荞麦中多糖含量测定

2.2.1 金荞麦醇沉上清液与粗多糖的制备 取金荞麦粗粉20 g,加水400 mL,80 °C回流提取2 h,滤过,滤液浓缩至60 mL,加入无水乙醇至乙醇体积分数达80%,放入4 °C冰箱醇沉过夜,4900 r/min离心10 min,离心半径9.8 cm,保存上清液,沉淀用80%乙醇洗涤2次,离心,合并上清液,备用;将沉淀60 °C真空干燥并记录质量,得金荞麦粗多糖。金荞麦趁鲜切制饮片(X1~X6)粉末制得粗多糖质量分数依次为23.52、38.48、25.95、48.56、30.33、48.39 mg/g;金荞麦传统切制饮片(C1~C6)粉末制得粗多糖质量分数依次为16.91、23.04、26.03、34.12、19.57、30.61 mg/g。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取D-葡萄糖17.23 mg,加水溶解,定容至100 mL量瓶,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取7 mg金荞麦粗多糖,加水溶解,定容至50 mL量瓶,得金荞麦粗多糖水溶液。精密吸取金荞麦粗多糖水溶液1 mL,置于10 mL具塞刻度试管中,在冰水浴中加入

0.2%蒽酮-硫酸溶液4 mL,混匀,放冷后置沸水浴中保温10 min,取出,流水冷却^[18]。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取D-葡萄糖对照品溶液0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL,分别置于10 mL具塞刻度试管中,加水至1 mL,按“2.2.3”项下方法,自“在冰水浴中加入0.2%蒽酮-硫酸溶液4 mL”起制备后,在592 nm波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标(Y),D-葡萄糖质量浓度为横坐标(X),进行线性回归,得回归方程 $Y=7.5355X-0.0071$, $r=0.9992$,线性范围1.723~10.338 mg/mL。

2.2.5 精密度考察 取金荞麦粗多糖(S24)按“2.2.3”项下条件制备后连续测定6次,测得吸光度RSD为0.30%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性考察 取金荞麦粗多糖(S24)按“2.2.3”项下条件制备,于制备后0、20、40、60、80、100 min测定,测得吸光度RSD为0.18%,表明供试品溶液在100 min内稳定性良好。

2.2.7 重复性考察 精密称取金荞麦粗多糖(S24)6份,按“2.2.3”项下条件制备后测定,计算金荞麦

多糖质量分数 RSD 为 4.15% , 表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率考察 取已测定多糖含量的金荞麦粗多糖 (S24) 6 份, 分别加入与样品中多糖含量相当的 D-葡萄糖对照品, 按“2.2.3”项下方法制备后测定, 计算得 D-葡萄糖的平均加样回收率为 94.40%, RSD 为 5.78%。

2.2.9 样品测定 取金荞麦粗多糖, 按“2.2.3”项下方法制备后, 测定吸光度, 每份样品共测定 2 次, 按干燥品计算金荞麦中多糖含量, 结果见表 1。可见, 趁鲜切制饮片中多糖质量分数在 12.15~25.57 mg/g, 平均质量分数 18.58 mg/g; 传统切制饮片中多糖质量分数在 8.28~15.70 mg/g, 平均质量分数 11.69 mg/g; 趁鲜切制饮片中多糖平均质量分数是传统切制饮片的 1.6 倍, *t* 检验结果表明, 趁鲜切制处理的金荞麦饮片中多糖质量分数显著性高于传统切制处理的金荞麦饮片 ($P < 0.01$)。

表 1 2 种方法切制的金荞麦饮片中多糖含量 ($\bar{x} \pm s, n = 2$)
Table 1 Polysaccharides content of FDR pieces by two cutting methods ($\bar{x} \pm s, n = 2$)

样品	多糖/ (mg·g ⁻¹)	平均值/ (mg·g ⁻¹)	样品	多糖/ (mg·g ⁻¹)	平均值/ (mg·g ⁻¹)
X1	12.15 ± 0.01	18.58 ± 5.65	C1	8.28 ± 0.02**	11.69 ± 3.17**
X2	19.80 ± 0.03		C2	8.39 ± 0.00**	
X3	14.61 ± 0.09		C3	10.29 ± 0.02**	
X4	25.57 ± 0.02		C4	15.54 ± 0.02**	
X5	13.95 ± 0.01		C5	11.92 ± 0.03**	
X6	25.41 ± 0.01		C6	15.70 ± 0.00**	

与趁鲜切制同批次比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs fresh cutting in the same batches

2.3 金荞麦中多糖相对分子质量分布测定

2.3.1 HPGPC-ELSD 条件 仪器为 Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 配 Alltech 2000ES 蒸发光散射检测器; 色谱柱为 TSK gel G4000 PW_{XL} 柱 (300 mm × 7.8 mm, 10 μm); 流动相为水; 体积流量 0.7 mL/min; 柱温 35 °C; ELSD 漂移管温度 115 °C, 气体体积流量 3.2 L/min; 进样体积 10 μL。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取右旋糖酐对照品 D1~D8 适量, 分别加水配制成质量浓度约 2 mg/mL 的单一对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 称取金荞麦粗多糖约 15 mg, 精密称定, 加入 3 mL 水超声 30 min 溶解, 静置后取上清液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.3.4 线性关系考察 将 D1~D8 对照品溶液按“2.3.1”下条件进样测定, 色谱图见图 2。以保留时间为横坐标 (*X*), 相对分子质量对数值为纵坐标 (*Y*) 进行线性回归, 得回归方程 $Y = -0.4320X + 9.5866$, $r = 0.9974$, 线性范围 2700~300 600。

2.3.5 样品测定 将供试品溶液按“2.3.1”项下条件进样分析, 测定其峰值相对分子质量分布范围, 结果见图 2。2 种饮片的多糖峰值相对分子质量分布范围基本一致, 均在 1270~8.095 × 10⁶。对 12 批样品进行分析发现, 主要有 4 个峰, 按图 2 所示将其分为 4 个部分 (P1~P4), 并对各部分进行积分, 记录 P1~P4 的相对峰面积与样品总相对峰面积比值, 得到趁鲜切制饮片 4 个部分 P1~P4 的平均占比分别为 0.89%、91.76%、0.37%、6.97%; 传统切制饮片 4 个部分 P1~P4 的平均占比分别为 3.09%、91.58%、0.39%、4.93%; 与趁鲜切制饮片相比, 传统切制饮片 P1 部分 (4.456 × 10⁶~8.095 × 10⁶) 占比较高, P4 部分 (1270) 占比较低, P2 和 P3 整体变化不明显。

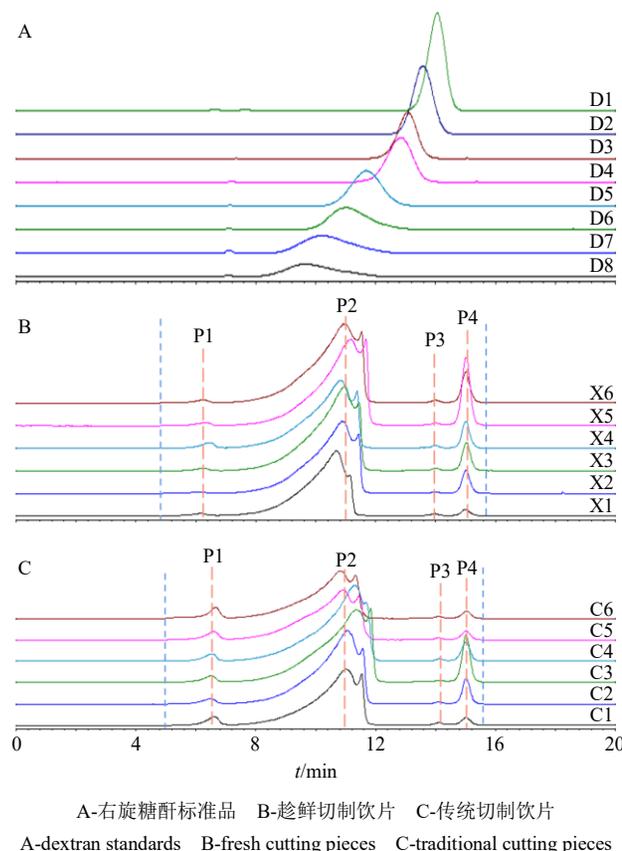


图 2 右旋糖酐标准品及 2 种方法切制的金荞麦饮片中多糖相对分子质量分布 HPLC 图
A-dextran standards B-fresh cutting pieces C-traditional cutting pieces

Fig. 2 HPLC of molecular weight of dextran standards and polysaccharides of FDR pieces by two cutting methods

2.4 金荞麦中多糖的单糖组成测定

2.4.1 HPLC (C₁₈)-PDA 条件 参考课题组前期建立的方法并进行优化^[9]。仪器为 Waters e2695-2489 型高效液相色谱仪；色谱柱为 Omni Gene LLC Hubble C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为乙腈-0.1 mol/L 醋酸铵水溶液，梯度洗脱：0~6 min, 16%~19%乙腈；6~30 min, 19%乙腈；30~33 min, 19%~28%乙腈；33~36 min, 28%~16%乙腈；36~40 min, 16%乙腈；柱温 35 °C；检测波长 245 nm；体积流量 1.0 mL/min；进样体积 10 μL。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取 *D*-甘露糖、*D*-半乳糖醛酸、*D*-葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖对照品适量，加水溶解，配制成质量浓度分别为 443、426、2054、455、470 μg/mL 的混合对照品溶液。

取混合对照品溶液 0.5 mL，与同体积浓氨水和 0.5 mol/L 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮 (1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone, PMP) 甲醇溶液混合，于 70 °C 水浴中反应 30 min，冷却后取 0.5 mL 冰醋酸中和溶液，后加入 2.5 mL 二氯甲烷去除剩余 PMP，12 000 r/min 离心 5 min，离心半径 9.8 cm，重复 3 次去除有机相，取 0.5 mL 上清液，加水 1 mL 稀释，过 0.22 μm 微孔滤膜，即得。

2.4.3 供试品溶液的制备 取 5 mg 金荞麦粗多糖，用 0.5 mL 水溶解，加入 4 mL 4 mol/L 三氟乙酸，于 110 °C 水解 4 h，冷却后，55 °C 旋转蒸发至干燥，加 1 mL 甲醇溶解，旋干除去剩余三氟乙酸，重复 3 次。加 1 mL 水溶解干燥产物，取上清液 0.5 mL，按“2.4.2”项下方法，自“与同体积氨水和 0.5 mol/L PMP 甲醇溶液混合”起制备，即得。

2.4.4 线性关系考察 单糖对照品溶液稀释到不同质量浓度，按照“2.4.1”项下方法进样分析，以分析物的质量浓度为横坐标 (*X*)，对应峰面积为纵坐标 (*Y*) 绘制标准曲线，进行线性回归，得回归方程分别为 *D*-甘露糖 $Y=18\,487X-82\,045$, $r=0.999\,8$, 线性范围 3.69~443.00 μg/mL；*D*-半乳糖醛酸 $Y=16\,789X-36\,865$, $r=0.999\,7$, 线性范围 3.55~426.00 μg/mL；*D*-葡萄糖 $Y=8\,808X-205\,480$, $r=0.999\,6$, 线性范围 17.10~2\,050.00 μg/mL；半乳糖 $Y=15\,666X-41\,641$, $r=0.999\,9$, 线性范围 3.79~455.00 μg/mL；阿拉伯糖 $Y=10\,047X-47\,377$, $r=0.999\,8$, 线性范围 3.92~470.00 μg/mL。

2.4.5 精密度考察 取对照品溶液，按“2.4.1”项下方法连续进 6 针，测得 *D*-甘露糖、*D*-半乳糖醛酸、

D-葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖对照品峰面积的 RSD 依次为 0.35%、0.48%、0.21%、0.08%、0.18%，表明仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性考察 取金荞麦粗多糖 (S33) 按“2.4.3”项下方法制备，分别在制备后 4、8、12、16、20、24 h 按照“2.4.1”项下方法进样分析，测得 *D*-甘露糖、*D*-半乳糖醛酸、*D*-葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖峰面积的 RSD 依次为 0.69%、4.65%、0.51%、0.63%、0.81%，说明供试品溶液在 24 h 内较为稳定。

2.4.7 重复性考察 精密称取金荞麦粗多糖 (S33) 6 份，按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液，按照“2.4.1”项下方法进样分析，测得 *D*-甘露糖、*D*-半乳糖醛酸、*D*-葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖质量分数的 RSD 依次为 2.62%、3.28%、2.19%、2.94%、3.32%，说明该方法重复性良好。

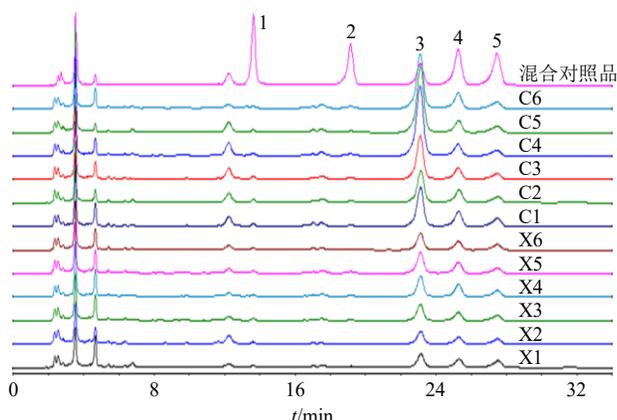
2.4.8 加样回收率考察 取已测定各单糖含量的金荞麦粗多糖 (S33) 6 份，分别加入与样品中各单糖含量相当的单糖对照品，按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液，按照“2.4.1”项下方法进样分析，计算得 *D*-甘露糖、*D*-半乳糖醛酸、*D*-葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖平均加样回收率分别为 100.87%、100.47%、100.44%、102.00%、105.06%，RSD 分别为 1.07%、1.72%、1.22%、1.48%、2.47%。

2.4.9 样品测定 取金荞麦粗多糖，按“2.4.3”项下方法制备后，按“2.4.1”项下方法进样分析，每份样品测定 3 次，分析各样品多糖的单糖组成及物质的量比，色谱图见图 3。实验结果表明，6 批趁鲜切制饮片中有 5 批 (X1、X3、X4、X5、X6) 检测到 5 种单糖，分别为 *D*-甘露糖、*D*-半乳糖醛酸、*D*-葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖，另 1 批 (X2) 未检测到 *D*-半乳糖醛酸，但 6 批传统切制饮片均检测到这 5 种单糖。将 5 种单糖物质的量比总和定为 100%，计算各单糖物质的量占比。

对趁鲜切制饮片和传统切制饮片的单糖物质的量占比进行 *t* 检验，发现传统切制饮片中 *D*-葡萄糖物质的量占比显著性高于趁鲜切制饮片，而 *D*-甘露糖、半乳糖和阿拉伯糖物质的量占比显著性低于趁鲜切制饮片，说明不同切制方法影响了多糖的单糖组成及其物质的量比。结果见表 2。

2.5 金荞麦中寡糖和 *D*-果糖含量测定

2.5.1 HPLC (NH₂)-ELSD 条件 仪器为 Agilent 1200 型高效液相色谱仪，配 Alltech 2000ES 蒸发光



X1—X6-趁鲜切制饮片 C1—C6-传统切制饮片 1-D-甘露糖
2-D-半乳糖醛酸 3-D-葡萄糖 4-半乳糖 5-阿拉伯糖
X1—X6-fresh cutting pieces C1—C6-traditional cutting pieces 1-
D-mannose 2-D-galacturonic acid 3-D-glucose 4-galactose 5-
arabinose

图3 金荞麦饮片中多糖的单糖组成 HPLC 图

Fig. 3 HPLC chromatograms of monosaccharides composition in FDR polysaccharides

表2 金荞麦饮片中多糖的单糖物质的量占比 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Percentage molar ratio of monosaccharides in polysaccharides of FDR pieces ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	物质的量占比/%				
	D-甘露糖	D-半乳糖醛酸	D-葡萄糖	半乳糖	阿拉伯糖
趁鲜切制饮片	1.86 ± 0.32	1.10 ± 0.61	61.03 ± 2.95	19.76 ± 1.19	17.11 ± 2.62
传统切制饮片	1.12 ± 0.38**	1.16 ± 0.38	71.01 ± 6.12**	11.28 ± 3.32**	8.51 ± 2.38**

与趁鲜切制饮片比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs fresh cutting pieces

线性范围 66.40~796.00 $\mu\text{g/mL}$; 蔗糖 $Y = 45\,933X - 3\,047\,488, r = 0.9970$, 线性范围 32.40~1\,034.00 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.5.5 仪器精密度考察 取对照品溶液按“2.5.1”项下方法连续进 6 针, 测得 D-果糖、蔗糖峰面积 RSD 分别为 0.49%、0.98%, 表明仪器精密度良好。

2.5.6 稳定性考察 取金荞麦醇沉上清液 (S32) 按“2.5.3”项下方法制备, 分别在制备后 4、8、12、16、20、24 h 按照“2.5.1”项下方法进样分析, 测得 D-果糖、蔗糖峰面积 RSD 分别为 0.62%、0.80%, 说明供试品溶液在 24 h 内较为稳定。

2.5.7 重复性考察 取金荞麦醇沉上清液 (S32) 6 份, 按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.5.1”项下方法进样分析, 测得 D-果糖、蔗糖质量分数 RSD 分别为 3.47%、1.98%, 说明该方法重复性良好。

2.5.8 加样回收率考察 取已知 D-果糖、蔗糖含量的金荞麦醇沉上清液 (S32) 6 份, 分别加入与样品中各组分含量相当的 D-果糖、蔗糖对照品, 按照

散射检测器; 色谱柱为 Alltima Amino 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 流动相为乙腈-水 (82 : 18), 等度洗脱; 体积流量 0.8 mL/min; 进样量 10 μL ; ELSD 漂移管温度 100 $^{\circ}\text{C}$; 气体流量 2.2 L/min。

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称取 D-果糖 10.62 mg、蔗糖 10.07 mg, 用 70%乙腈溶解并定容至 25 mL 量瓶中, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得混合对照品溶液。

2.5.3 供试品溶液的制备 取“2.2.1”项下金荞麦醇沉上清液 2 mL, 55 $^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发至干燥, 加入 4 mL 70%乙腈溶解干燥产物, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

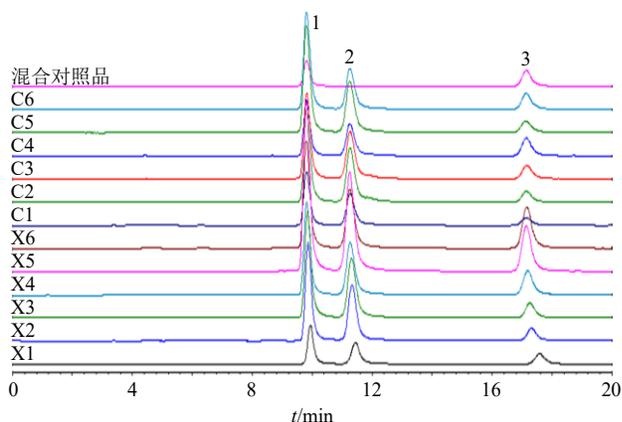
2.5.4 线性关系考察 将对照品溶液稀释到不同质量浓度, 按照“2.5.1”项下方法进样分析, 以分析物的质量浓度为横坐标 (X), 对应峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程分别为 D-果糖 $Y = 42\,786X - 2\,844\,429, r = 0.9954$,

“2.5.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.5.1”项下方法进样分析, 测得 D-果糖、蔗糖平均加样回收率分别为 104.86%、101.89%, RSD 分别为 2.06%、2.32%。

2.5.9 样品测定 取“2.2.1”项制备的金荞麦醇沉上清液按“2.5.3”项下方法制备后, 按“2.5.1”项下方法进样分析, 每份样品测 3 次, 色谱图见图 4。在醇沉上清液中, 游离寡糖只检测到了蔗糖, 由于 D-果糖为酮糖, 难以发生 PMP 衍生化反应, 故与寡糖一同检测。趁鲜切制饮片中蔗糖质量分数在 6.60~22.69 mg/g, 平均质量分数 13.85 mg/g; 传统切制饮片中蔗糖质量分数在 5.32~11.44 mg/g, 平均质量分数 8.15 mg/g; 趁鲜切制饮片中蔗糖平均质量分数是传统切制饮片的 1.7 倍, t 检验结果表明, 不同切制方法制得金荞麦饮片中蔗糖质量分数有显著性差异。结果见表 3。

2.6 金荞麦中游离单糖含量测定

2.6.1 供试品溶液的制备 取“2.2.1”项下制备的



X1~X6-趁鲜切制饮片 C1~C6-传统切制饮片 1-D-果糖 2-D-葡萄糖 3-蔗糖
X1~X6-fresh cutting pieces C1~C6-traditional cutting pieces 1-D-fructose 2-D-glucose 3-sucrose

图4 金荞麦饮片中D-果糖和寡糖的HPLC图

Fig. 4 HPLC chromatograms of D-fructose and oligosaccharides in FDR pieces

表3 金荞麦饮片中蔗糖含量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Content of sucrose in FDR pieces ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	蔗糖/ (mg·g ⁻¹)	平均值/ (mg·g ⁻¹)	样品	蔗糖/ (mg·g ⁻¹)	平均值/ (mg·g ⁻¹)
X1	8.68±0.19	13.85±6.17	C1	6.03±0.07**	8.15±2.22**
X2	6.60±0.03		C2	5.32±0.13**	
X3	9.69±0.15		C3	8.10±0.35**	
X4	15.44±0.27		C4	11.44±0.19**	
X5	22.70±0.05		C5	7.78±0.11**	
X6	20.02±0.33		C6	10.22±0.13**	

与趁鲜切制同批次比较: **P<0.01

**P<0.01 vs fresh cutting in the same batches

金荞麦醇沉上清液 4 mL, 55 °C 旋转蒸发至干燥, 加 1 mL 水溶解干燥产物, 取 0.5 mL 溶液按“2.4.2”项下方法, 自“与同体积氨水和 0.5 mol/L PMP 甲醇溶液混合”起制备, 即得。

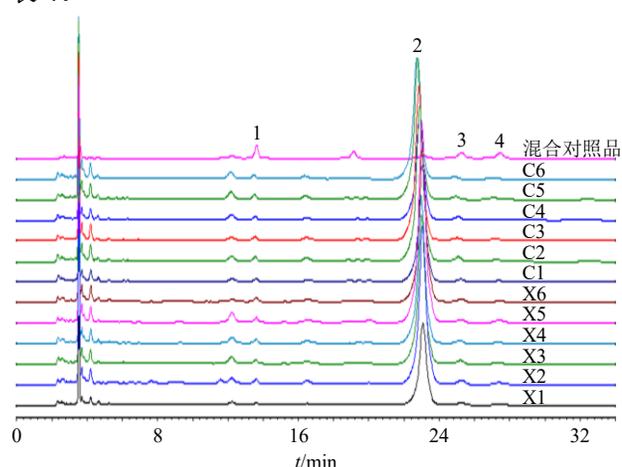
2.6.2 样品测定 取“2.2.1”项下制备的金荞麦醇沉上清液, 按“2.6.1”项下方法制备后, 按“2.4.1”项下方法进样分析, 每份样品测 3 次, 该条件下测得金荞麦醇沉上清中游离单糖主要有 D-甘露糖、半

表4 金荞麦饮片中5种游离单糖含量及游离单糖总含量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Content of five free monosaccharides and their total amount in FDR pieces ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	D-甘露糖	D-葡萄糖	半乳糖	阿拉伯糖	D-果糖	游离总糖
趁鲜切制饮片	0.26±0.05	41.42±6.85	0.38±0.05	0.21±0.08	39.11±12.63	81.39±19.37
传统切制饮片	0.28±0.04	40.69±4.70	0.37±0.04	0.24±0.05	34.87±8.21	76.45±10.78

乳糖、D-葡萄糖和阿拉伯糖, 色谱图见图 5。结合“2.5”项下结果可知, 金荞麦醇沉上清中含有游离 D-果糖、D-甘露糖、半乳糖、D-葡萄糖和阿拉伯糖, 对趁鲜切制饮片和传统切制饮片中的 5 种游离单糖及游离总糖平均质量分数进行统计, 发现阿拉伯糖质量分数最低, D-甘露糖、半乳糖次之, D-果糖和 D-葡萄糖质量分数较高, 趁鲜切制饮片中游离总单糖平均质量分数为 81.39 mg/g, 传统切制饮片中游离总单糖平均质量分数 76.45 mg/g; t 检验结果表明, 2 种切制方法制得金荞麦饮片中的各游离单糖和游离总糖质量分数均无显著性差异。具体结果见表 4。



X1~X6-趁鲜切制饮片 C1~C6-传统切制饮片 1-D-甘露糖 2-D-葡萄糖 3-半乳糖 4-阿拉伯糖
X1~X6-fresh cutting pieces C1~C6-traditional cutting pieces 1-D-mannose 2-D-glucose 3-galactose 4-arabinose

图5 金荞麦中游离单糖的HPLC图

Fig. 5 HPLC chromatograms of free monosaccharides in FDR pieces

2.7 相关性分析

对金荞麦多糖、寡糖、各游离单糖含量进行 Pearson 相关分析, 结果见表 5。通常情况下认为相关系数在 0~0.2 为极弱相关或无相关, 在 0.2~0.4 为弱相关, 在 0.4~0.6 为中等程度相关, 在 0.6~0.8 为强相关, 在 0.8~1.0 为极强相关^[20]。

在趁鲜切制饮片的相关性分析中, 多糖与寡糖

表 5 金荞麦饮片中多糖、寡糖、单糖含量 Pearson 相关系数

Table 5 Pearson correlation coefficient of polysaccharides, oligosaccharides and monosaccharides content in FDR

样品	组分	Pearson 相关系数							
		多糖	蔗糖	D-果糖	D-甘露糖	D-葡萄糖	半乳糖	阿拉伯糖	游离总糖
趁鲜切制饮片	多糖	1.000	0.273	-0.052	0.206	0.041	-0.103	-0.042	-0.019
	蔗糖	0.273	1.000	0.611	0.631	0.417	-0.726	0.445	0.566
传统切制饮片	多糖	1.000	0.957**	0.187	-0.098	-0.565	-0.754	-0.299	-0.101
	蔗糖	0.957**	1.000	0.004	-0.126	-0.472	-0.671	-0.327	-0.201

与趁鲜切制饮片相应组分比较: **P<0.01

**P < 0.01 vs corresponding components of fresh cutting pieces

存在较弱的正相关;多糖与游离 D-甘露糖存在较弱的正相关;寡糖与半乳糖存在强的负相关关系,与游离 D-果糖、D-甘露糖、D-葡萄糖、阿拉伯糖和游离总糖存在不同强度的正相关关系。在传统切制饮片的相关性分析中,多糖与寡糖存在极强正相关;多糖与游离 D-葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖都存在不同强度的负相关关系;寡糖与游离 D-葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖和游离总糖都存在不同程度的负相关关系。

3 讨论

通过比较趁鲜切制和传统切制方法对金荞麦多糖含量、相对分子量分布、单糖组成和物质的量比以及游离单糖和寡糖含量的影响发现,相比于传统切制方法,趁鲜切制饮片中多糖、寡糖含量较高;在多糖相对分子量分布测定时发现,传统切制方式使多糖 P1 区域(4.456×10⁶~8.095×10⁶)相对峰面积占比较高,提示在此过程中多糖有从高相对分子量向低相对分子量转化的趋势;在多糖的单糖组成分析中发现,传统切制过程使多糖的单糖物质的量比发生变化,提示多糖结构在此过程发生了改变;2 种方法切制饮片相比,传统切制饮片的多糖与游离单糖、寡糖与游离总糖之间具有更强的负相关,说明在传统切制工艺中,多糖和寡糖更容易降解成游离单糖。

总之,传统切制方式多了“二次浸润”的过程,增加了金荞麦多糖、寡糖和游离单糖之间的转化,多糖从高相对分子量向低相对分子量转化时产生寡糖或游离单糖,多糖含量降低的同时也导致了多糖结构的改变,而寡糖目前只测到了蔗糖,也可能降解为游离单糖,导致其含量降低。

金荞麦传统常用于治疗肺痈吐脓、肺热喘咳,对呼吸和肠道系统疾病都具有良好的效果^[21-24]。现代药理研究发现,中药多糖组分能够通过调节肠道

菌群影响人体肺、肠功能^[25-26],提示多糖可能是金荞麦发挥药效的物质基础之一。因此,金荞麦饮片在炮制加工过程中多糖和寡糖的保留至关重要。本研究首次从金荞麦糖组分的角度考察不同切制方法对饮片质量的影响,发现趁鲜切制在保留多糖和寡糖组分上占有优势,且操作简便,可考虑将其作为金荞麦饮片炮制的优选切制方法之一。当然,除了糖类组分,非糖小分子组分也是金荞麦重要的物质基础,后续将继续报道不同切制方法对非糖小分子组分的影响,并整合 2 大类组分综合评价不同切制方法饮片的整体质量。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhang L L, He Y, Sheng F Y, et al. Towards a better understanding of *Fagopyrum dibotrys*: a systematic review [J]. *Chin Med*, 2021, 16(1): 89.
- [2] Jing R, Li H Q, Hu C L, et al. Phytochemical and pharmacological profiles of three *Fagopyrum* buckwheats [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(4): 589.
- [3] 谭娅,甘麦邻,范源,等.金荞麦对脂多糖诱导小鼠小肠炎症的保护作用 [J]. *中国畜牧兽医*, 2020, 47(2): 597-604.
- [4] 李红丽,文丹丹,周美亮,等.金荞麦抑瘤活性成份提取及作用机制研究进展 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2019, 24(7): 833-840.
- [5] Li X, Liu J L, Chang Q X, et al. Antioxidant and antidiabetic activity of proanthocyanidins from *Fagopyrum dibotrys* [J]. *Molecules*, 2021, 26(9): 2417.
- [6] Liang C, Yuan J P, Ding T, et al. Neuroprotective effect of *Fagopyrum dibotrys* extract against alzheimer's disease [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 3294586.
- [7] 谷仿丽,黄仁术,刘玉曼.金荞麦多糖对环磷酰胺致免疫低下小鼠免疫功能的影响 [J]. *中药材*, 2015, 38(2): 370-372.

- [8] 谷仿丽, 黄仁术, 孙红玉, 等. 金荞麦多糖的超声提取及抗氧化作用研究 [J]. 皖西学院学报, 2014, 30(5): 91-94.
- [9] 吴潍. 产地初加工方法对中药材质量的影响 [J]. 中医药管理杂志, 2020, 28(1): 90-94.
- [10] 于迪, 杨欣欣, 王莹, 等. 防风趁鲜切制的含水率及不同干燥方式对饮片质量的影响 [J]. 中草药, 2022, 53(9): 2678-2686.
- [11] 晏宇杭, 卢丽洁, 周永峰, 等. 川白芷产地趁鲜切制与传统切制方法对其质量的影响 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4176-4184.
- [12] 中国药典. [S]. 一部. 2020: 228.
- [13] Xu J, Chen H B, Li S L. Understanding the molecular mechanisms of the interplay between herbal medicines and gut microbiota [J]. *Med Res Rev*, 2017, 37(5): 1140-1185.
- [14] Zhou S S, Auyeung K K, Yip K M, *et al.* Stronger anti-obesity effect of white ginseng over red ginseng and the potential mechanisms involving chemically structural/compositional specificity to gut microbiota [J]. *Phytomedicine*, 2020, 74: 152761.
- [15] Wu C Y, Zhou J, Long F, *et al.* Similar hypoglycemic effects of glucomannan and its enzyme degraded products from *Amorphophallus albus* on type 2 diabetes mellitus in mice and potential mechanisms [J]. *Food Funct*, 2020, 11(11): 9740-9751.
- [16] Zou Y T, Zhou J, Wu C Y, *et al.* Protective effects of *Poria cocos* and its components against cisplatin-induced intestinal injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 269: 113722.
- [17] Zhou L, Xu J D, Zhou S S, *et al.* Integrating targeted glycomics and untargeted metabolomics to investigate the processing chemistry of herbal medicines, a case study on *Rehmanniae Radix* [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1472: 74-87.
- [18] 李艳艳, 郑萍. 蒽酮-硫酸比色法测定松花粉中粗多糖的含量 [J]. 云南师范大学学报: 自然科学版, 2017, 37(4): 58-63.
- [19] 孟璐, 曾婷, 樊燕婷, 等. 基于糖类组分的南沙参质量评价研究 [J]. 中药材, 2022(5): 1196-1202.
- [20] 张建勇, 高冉, 胡骏, 等. 灰色关联度和 Pearson 相关系数的应用比较 [J]. 赤峰学院学报: 自然科学版, 2014, 30(21): 1-2.
- [21] 严晶, 袁嘉嘉, 刘丽娜, 等. 金荞麦药理作用及临床应用研究进展 [J]. 山东中医杂志, 2017, 36(7): 621-624.
- [22] 谭娅, 甘麦邻, 范源, 等. 金荞麦对脂多糖诱导小鼠小肠炎症的保护作用 [J]. 中国畜牧兽医, 2020, 47(2): 597-604.
- [23] 耿琦, 刘斌, 赵鹏程, 等. 基于网络药理学和体外实验研究金荞麦治疗急性肺损伤的分子机制 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(18): 4816-4823.
- [24] Ge F, Zhu S L, Liu L N, *et al.* Anti-inflammatory effects of *Fagopyrum cymosum* administered as a potential drug for ulcerative colitis [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(5): 4745-4754.
- [25] Zhou R R, He D, Xie J, *et al.* The synergistic effects of polysaccharides and ginsenosides from American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) ameliorating cyclophosphamide-induced intestinal immune disorders and gut barrier dysfunctions based on microbiome-metabolomics analysis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 665901.
- [26] Budden K F, Gellatly S L, Wood D L, *et al.* Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2017, 15(1): 55-63.

[责任编辑 郑礼胜]