

- 代谢组学研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(4): 559-567.
- [8] 王凤龙, 刘员, 张来宾, 等. 当归抗炎镇痛作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(15): 197-209.
- [9] 侯小涛, 郝二伟, 秦健峰, 等. 肉桂的化学成分、药理作用及质量标志物 (Q-marker) 的预测分析 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 20-34.
- [10] 肖红妮, 刘志杰. “三棱-莪术”组分配伍介导 PI3K-AKT 通路治疗大鼠子宫肌瘤的研究 [J]. 世界中医药, 2019, 14(9): 2267-2271.
- [11] 程杰, 曹秀莲, 曹文利, 等. 三棱莪术配方颗粒配伍对子宫内膜异位模型大鼠的改善作用及机制初探 [J]. 中药药理与临床, 2018, 34(4): 134-138.
- [12] 赵玉华, 李俊莹, 王春苗, 等. 大黄酸衍生物 4B 诱导内质网应激触发顺铂耐药卵巢癌细胞凋亡的活性研究 [J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(3): 431-437.
- [13] 李葆林, 麻景梅, 田宇柔, 等. 甘草中新发现化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(8): 2438-2448.
- [14] 吴玲芳, 王子墨, 赫柯芊, 等. 赤芍的化学成分和药理作用研究概况 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(18): 198-206.
- [15] 张晓娟, 张燕丽, 左冬冬. 川芎的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2020, 37(6): 128-133.

黄精、多花黄精、滇黄精的多糖组分及其抗炎、抗氧化作用比较

陶梦婷¹, 李丽霞^{2*}, 王怀莹¹, 彭雁敏¹, 黄雪媛¹, 赵宇哲¹

(1. 四川农业大学动物医学院, 四川成都 611130; 2. 四川农业大学天然药物研究中心, 四川成都 611130)

摘要: 目的 比较黄精、多花黄精、滇黄精多糖组分及其体内外抗氧化、抗炎活性。方法 采用水提醇沉法提取, 琼脂凝胶层析柱分离纯化, 得到不同多糖组分, 比较得率及分子量。采用 RT-qPCR 法检测不同纯化多糖对猪小肠上皮细胞 IPEC-J2 的细胞活性, IL-6、SOD1 mRNA 表达的影响; 采用 ELISA 检测不同多糖灌胃给药后对小鼠急性肺损伤模型的肺泡灌洗液 TNF-α、MDA 水平。结果 在相同提取方法下, 黄精得率最高, 为 3.70%, 其多糖水平为 65.83%。黄精粗多糖以中性多糖 (PSP-NP) 为主, 占比 70.50%; 多花黄精粗多糖以酸性多糖 (PCP-AP) 为主, 占比 64.67%; 滇黄精粗多糖中中性多糖 (PKP-NP) 和酸性多糖 (PKP-AP) 水平差别不大, 分别占比 41.75%、58.25%。各纯化多糖均能增强细胞活性, PSP-NP、PSP-AP 能升高 SOD1 mRNA 表达 ($P<0.01$), PCP-AP、PKP-AP 能降低 IL-6 mRNA 表达 ($P<0.01$)。3 种黄精粗多糖都能降低肺泡灌洗液 TNF-α、MDA 水平 ($P<0.05$), 其中黄精多糖效果最为显著。结论 黄精、多花黄精、滇黄精多糖含量、组分、分子量以及抗氧化抗炎活性不同, 其中黄精多糖得率最高, 抗氧化抗炎作用最佳。

关键词: 黄精; 多花黄精; 滇黄精; 多糖组分; 抗氧化; 抗炎; 急性肺损伤

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1367-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.059

黄精为百合科黄精属植物黄精的干燥根茎, 是中国传统药食同源的大宗药材, 2020 年版《中国药典》收录的黄精基源植物有黄精 *Polygonatum sibiricum* Red.、多花黄精 *Polygonatum cyrtoneura* Hua 和滇黄精 *Polygonatum kingianum* Collett et Hemsl.。黄精性平、味甘, 入脾、肺、肾经, 具有补脾益肺、滋阴润燥的功效^[1]。2020 年版《中国药典》记载的 3 个黄精基源分布各有不同, 黄精主产于河北、河南、北京、内蒙古、陕西等省区; 多花黄精主产于安徽、贵州、四川、湖南、浙江等省; 滇黄精主产于贵州、云南、广西等省区^[2]。除了 2020 年版《中国药典》规定的品种外, 我国还有百合科黄精属植物 31 种。现代研究证实, 黄精含有多糖、甾体皂苷、三萜、生物碱等化学成分^[3], 其中多糖是主要的活性部位之一。药理研究表明, 黄精具有抗衰老、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、免疫调节、抑菌、调节

收稿日期: 2022-01-13

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (82004041); 国家现代农业产业技术体系四川兽药创新团队计划项目 (CARS-SVDIP); 四川省科技厅重点研发项目 (2019YFS0188)

作者简介: 陶梦婷 (1997—), 女, 硕士生, 研究方向为药学。Tel: 18314569732, E-mail: tao18314569732@163.com

*** 通信作者:** 李丽霞 (1980—), 女, 博士, 讲师, 研究方向为中药品种、品质和资源开发。Tel: 13880803395, E-mail: liliax905@163.com

肠道菌群等活性^[4-5]。

目前对于黄精多糖的研究报道较多，不同品种的黄精多糖在组成、结构和活性等均存在差异，这些差异可能来自于品种和产地，也可能来自不同的实验方法^[6]，未见对黄精、多花黄精、滇黄精多糖的平行比较研究。本实验采用相同方法对3个品种的黄精多糖进行提取、分离、纯化，比较其含量和组分差异，并通过体外和体内药理实验，平行比较不同黄精多糖及组分的活性差异，以为不同品种黄精的品质评价提供依据，为寻找黄精活性多糖组分奠定基础。

1 材料

1.1 动物 50只雌性SPF级昆明小鼠，6周龄，体质量(20±2)g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，实验动物生产许可证号北京百善SCXK(京)2016-0006，四川农业大学实验动物使用许可证号SYXK(川)2019-0187。适应性喂养1周。

1.2 细胞 猪小肠上皮细胞(IPEC-J2)由四川农业大学动物医学院实验动物疾病模型实验室黄超副教授馈赠。

1.3 试剂与药物 黄精采自河南洛阳嵩县白云山黄精种植基地，滇黄精采自云南省红河哈尼族彝族自治州弥勒市弥勒山滇黄精种植基地，多花黄精采自四川省雅安市荥经县龙苍沟多花黄精种植基地，经李丽霞老师鉴定为正品。以上药材均在地上部分近枯萎时采收根茎，洗净后切片，蒸制60 min后50℃烘干。考马斯亮蓝G250、牛血清蛋白均购自北京索莱宝科技有限公司；qRT-PCR试剂盒、反转录试剂盒均购自美国Thermo Fisher Scientific公司；DMEM培养基、胎牛血清均购自美国Gibco公司；TNF-α试剂盒、MDA试剂盒、CCK8试剂盒均购自南京建成生物工程研究所；DEAE-琼脂糖、琼脂糖凝胶6FF均购自辉瑞达(北京)生物科技发展有限公司；福林酚试剂购自上海康朗生物科技有限公司；没食子酸购自上海西亚化工工贸有限公司；LPS购自美国Sigma公司；TRIzol试剂购自日本TaKaRa公司；DEPC水购自北京博迈德基因技术有限公司。苯酚、无水乙醇、氢氧化钠、硝酸银、氯仿、异丙醇均购自成都市科龙化工试剂厂。

1.4 仪器 冰箱(常州国华电器有限公司)；旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)；电热套(上海精宏实验设备有限公司)；电热鼓风干燥箱、SC-3614型低速离心机(深圳中佳集团有限公司)；中压层析柱(50 mm×40 cm)、凝胶层析柱(25 mm×100 cm)、BSZ-160F型电脑自动部分收集器(上海精科实业有限公司)；Varioskanflash酶标仪、LyoQuest-5型冷冻干燥机、超低温冰箱、高速离心机(美国Thermo Fisher Scientific公司)；JA2003B型电子天平(上海越平科学仪器有限公司)；涡旋振荡器(金坛区白塔新宝仪器厂)；PB303-S型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司)；PCR仪、荧光定量PCR仪(美国Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 粗多糖的提取、分离 取黄精、多花黄精、滇黄精粉

末200 g，95%、50%乙醇除杂，残渣再加入蒸馏水提取2次，滤液浓缩，Sevage法除蛋白^[7] [氯仿-戊醇(4:1)]后冷冻干燥，得粗多糖，精密称定质量，计算得率。采用苯酚-硫酸法^[8]测定多糖含量，没食子酸法^[9]测定多酚含量，考马斯亮蓝G-250法^[10]测定蛋白含量。DEAE琼脂糖凝胶柱分离纯化后绘制洗脱曲线，收集不同组分多糖，冷冻干燥，精密称定质量，计算中性、酸性多糖得率。

2.2 多糖组分纯化和相对分子量测定 以琼脂糖凝胶6FF为填料装柱，取分子量为10、70、500、1 000、2 000 kDa的多糖标准品各5 mg，凝胶柱洗脱，收集洗脱液，测定多糖含量^[11]。以5个标准品分子量的对数为横坐标(X)，5个水平曲线峰值对应的体积为纵坐标(Y)进行回归。将前期分离的多糖上凝胶柱层析纯化，收取洗脱液，采用苯酚-硫酸比色法^[8]测定洗脱液中多糖含量，绘制曲线。取样品多糖含量峰值对应的体积，计算分子量，再根据其差异合并洗脱液，浓缩并冷冻干燥，计算得率。

2.3 细胞活性检测 将IPEC-J2细胞接种在含10%胎牛血清的DMEM培养基中，在37℃、5%CO₂培养箱中进行培养。待细胞密度合适时，将其接种至96孔细胞培养板中(每孔5×10⁴个细胞)，分别加入5、10 mmol/L黄精、多花黄精、滇黄精粗多糖处理12 h，按照相关试剂盒说明书操作，采用CCK-8试剂盒检测细胞活性。

2.4 RT-qPCR法检测IPEC-J2细胞白介素6(IL-6)、超氧化物歧化酶(SOD1)mRNA表达 将“2.3”项下细胞接种到96孔板中(每孔含1×10⁶个细胞)，参考文献[12-13]报道，分别加入5、10 μg/mL黄精、多花黄精、滇黄精粗多糖处理12 h后收集细胞，按照试剂盒说明书提取总RNA，并将其逆转录成cDNA，配置10 μL体系，包括2×TBGreenIIImix 5 μL、前引物0.5 μL、后引物0.5 μL、cDNA模板1 μL，无菌双蒸水3 μL。随后进行PCR扩增，引物由北京六合华大基因科技有限公司合成，序列见表1，扩增条件为95℃预变性3 min；95℃变性10 s，60℃退火30 s，共40个循环；溶解曲线为65℃5 s，0.5℃/min至95℃。PCR反应扩增完成后的溶解曲线用于分析PCR扩增产物单一性。以GAPDH为内参，2^{-ΔΔCT}法计算目的基因相对表达。

表1 引物序列

基因	序列	产物长度/bp
GAPDH	正向5'-TGGAAGGACTCATGACCACA-3' 反向5'-AGGGGTCTACATGGCACTG-3'	628
IL-6	正向5'-GGAAATCGTGGAAATGAG-3' 反向5'-GCTTAGGCATAACGCCT-3'	473
SOD1	正向5'-GCAGGGCACCATCTACTTCG-3' 反向5'-CTGCACTGGTACAGCCTTGT-3'	137

2.5 不同黄精多糖对小鼠急性肺损伤的影响

2.5.1 分组及给药 50只小鼠随机分为空白组、模型组、黄精多糖组、多花黄精多糖组、滇黄精多糖组，每组10只，黄精多糖组、多花黄精多糖组、滇黄精多糖组小鼠灌

胃给予相应多糖 200 mg/kg，每天 1 次，连续 15 d，空白组、模型组小鼠灌胃给予等体积生理盐水。除空白组外，其余各组小鼠于末次灌胃给药 1 h 后滴鼻给予 4 mg/kg LPS，空白组小鼠滴鼻给予等体积 PBS，禁食不禁水 12 h 后取样^[14]。

2.5.2 ELISA 法检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、丙二醛 (MDA) 水平 LPS 给药 12 h 后，小鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 (0.04 mL/10 g) 麻醉，开胸腔及颈部，暴露肺组织及气管，结扎左肺后用 0.5 mL PBS 缓冲液于气管处插管注入，反复抽吸 3 次，得肺泡灌洗液^[15]，取上清，按照 ELISA 试剂盒说明书检测 TNF- α 、MDA 水平。

2.6 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理，数据

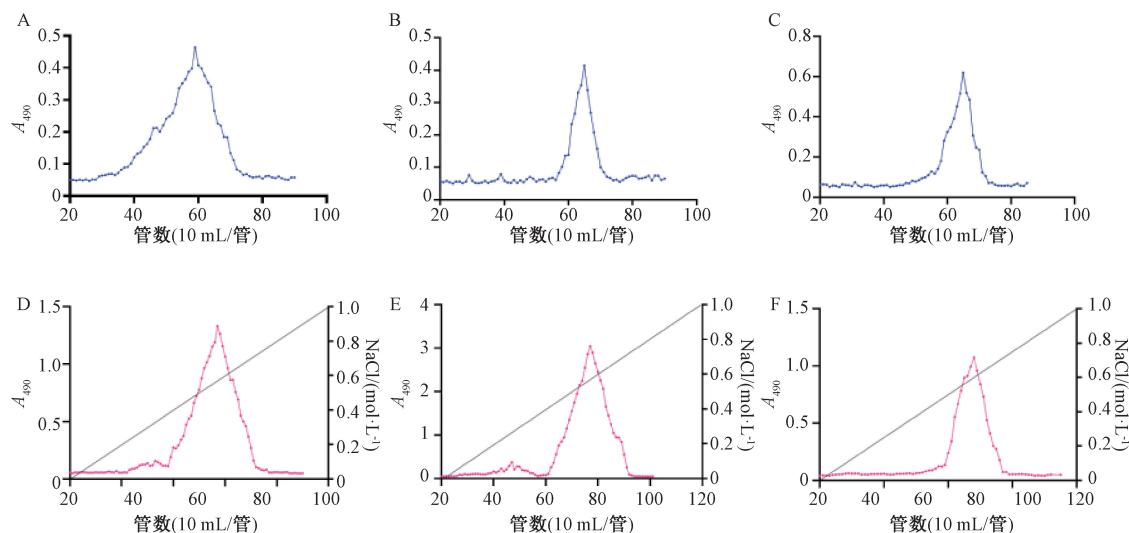
以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 粗多糖的得率及组分比较 经提取纯化后，多糖得率及组分比较见表 2，可知黄精粗多糖得率最高，多花黄精粗多糖与黄精粗多糖相当，滇黄精粗多糖的得率最低；多花黄精粗多糖中多糖含量最高，滇黄精粗多糖中最低；3 种粗多糖均含有多酚，而且都不含蛋白质。DEAE 纯化柱洗脱曲线见图 1，纯化后分别收集到中性、酸性多糖，其中黄精多糖组分以中性多糖为主，多花黄精多糖以酸性多糖为主，滇黄精则两者相当。

表 2 黄精、多花黄精、滇黄精粗多糖提取得率、分离和组分测定结果 (%)

药材	粗多糖得率	RSD	多糖含量	RSD	多酚含量	RSD	蛋白含量	中性多糖比值	酸性多糖比值
黄精	3.70	1.2	65.83	1.1	20.24	1.3	—	70.50	29.50
多花黄精	3.08	1.7	74.02	1.0	24.83	1.7	—	35.33	64.67
滇黄精	1.03	1.7	37.47	1.1	25.47	1.8	—	41.75	58.25



注：A~C 分别为黄精、多花黄精、滇黄精中性多糖，D~F 分别为黄精、多花黄精、滇黄精酸性多糖。

图 1 黄精、多花黄精、滇黄精中性多糖及酸性多糖 DEAE 凝胶柱洗脱曲线

3.2 多糖相对分子量测定结果 中性多糖及酸性多糖经 6FF 琼脂凝胶层析柱纯化后，纯化多糖相对分子量见表 3。由此可知，“3.1”项下分离的 6 个多糖组分分别纯化得到 1 种产物，中性多糖相对分子量均小于对应的酸性多糖，洗脱曲线见图 2。

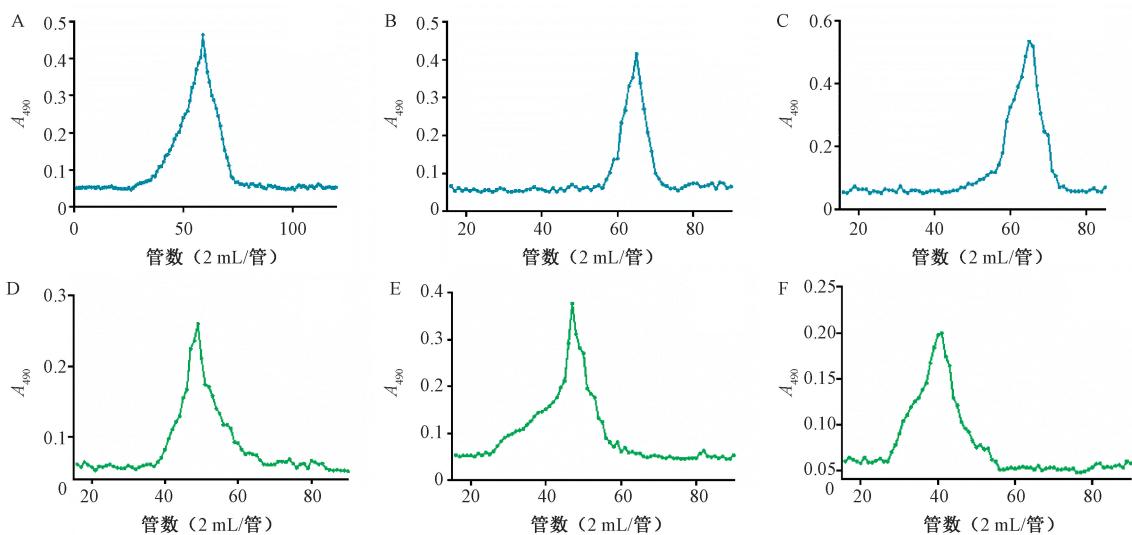
表 3 纯化多糖相对分子量测定结果

药材	中性多糖	相对分子量/		相对分子量/
		kDa	酸性多糖	
黄精	PSP-NP	43	PSP-AP	114
多花黄精	PCP-NP	8	PCP-AP	157
滇黄精	PKP-NP	12	PKP-AP	419

3.3 多糖对 IPEC-J2 细胞的活性及体外抗氧化、抗炎作用的影响 因滇黄精酸性多糖 PKP-NP 和多花黄精中性多糖

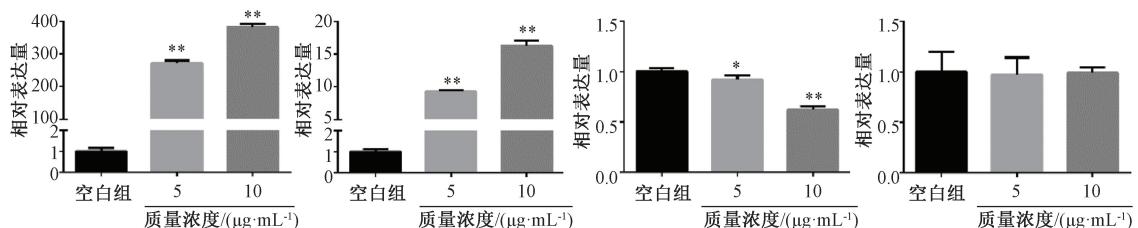
PCP-NP 组分纯化后得率太低，未开展后续实验。其余 4 个组分中对 IPEC-J2 细胞的活性最强的多糖为黄精中性多糖 PSP-NP。与空白组比较，黄精中性多糖 PSP-NP 和黄精酸性多糖 PSP-AP 各剂量组 IPEC-J2 细胞 SOD1 mRNA 表达升高 ($P < 0.01$)，并呈剂量依赖性，PSP-NP 作用优于 PSP-AP，见图 3。与空白组比较，PCP-AP、PKP-AP 均降低了细胞中 IL-6 mRNA 表达 ($P < 0.01$)，以后者效果更明显，见图 4。

3.4 黄精、多花黄精、滇黄精多糖对急性肺损伤小鼠肺泡灌洗液 MDA、TNF- α 水平的影响 与空白组比较，模型组急性肺损伤小鼠 MDA、TNF- α 水平升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，黄精多糖组、多花黄精多糖组、滇黄精多糖组小鼠肺泡灌洗液 MDA、TNF- α 水平降低 ($P < 0.05$, $P <$



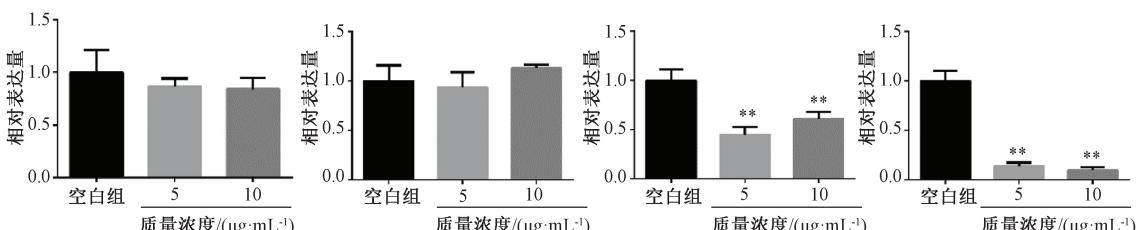
注: A~C 分别为黄精、多花黄精、滇黄精中性多糖, D~F 分别为黄精、多花黄精、滇黄精酸性多糖。

图2 黄精、多花黄精、滇黄精多糖6FF凝胶柱洗脱曲线



注: 与空白组比较, * P<0.05, ** P<0.01。

图3 黄精、多花黄精、滇黄精纯化多糖对 IPEC-J2 细胞 SOD1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=10)



注: 与空白组比较, ** P<0.01。

图4 黄精、多花黄精、滇黄精纯化多糖对 IPEC-J2 细胞 IL-6 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

0.01), 以黄精多糖组效果更明显, 见表4。

表4 黄精、多花黄精、滇黄精多糖对急性肺损伤小鼠肺泡灌洗液 MDA、TNF- α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	MDA/(ng·mL⁻¹)	TNF- α /(ng·mL⁻¹)
空白组	31.08±8.55	82.53±3.37
模型组	76.58±6.03 *	111.42±2.36 *
黄精多糖组	34.79±2.45 *	96.21±3.43 *
滇黄精多糖组	66.77±2.98 *	103.50±5.38 **
多花黄精多糖组	75.75±3.33 *	109.54±7.11

注: 与空白组比较, * P<0.05, ** P<0.01。

4 讨论

黄精在我国已有悠久的入药历史, 2020年版《中国药典》收载黄精 *Polygonatum sibiricum* Red、多花黄精

Polygonatum cyrtonema Hua 和滇黄精 *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl. 为药用品种, 并采用黄精总多糖含量对黄精药材进行质量控制^[1]。研究表明, 品种、产地、提取、分离和纯化方法不同, 多糖结构和活性也会存在差异, 多糖的活性和其组分构成密切相关。研究发现, 来自不同产地和不同品种的人参多糖结构不同, 其降血糖活性也有很大差异^[16-17]。本实验采用相同的提取、分离、纯化方法对黄精、多花黄精、滇黄精多糖进行平行对比研究, 发现不同品种黄精多糖含量、组成及分子量均存在差异, 其中黄精与多花黄精多糖含量高于滇黄精, 黄精多糖以中性多糖为主, 多花黄精以酸性多糖为主, 滇黄精则中性多糖与酸性多糖含量相当。中性多糖的分子量均小于对应的酸性多糖。这个结果为黄精活性多糖的筛选提供依据。

基于多糖为大分子物质，不能直接吸收进入血液，故本实验选用猪小肠上皮细胞来比较不同纯化多糖的抗氧化和抗炎活性体外比较研究。SOD1作为机体氧自由基动态平衡的关键酶，其在体内水平的高低是机体抗氧化作用能力的重要体现^[18]，研究表明，当归多糖^[19]、茯苓多糖^[20]、枸杞多糖^[21]、黄芪多糖^[22]等一百多种多糖均被证实具有抗氧化活性^[23-24]。IL-6参与机体的炎症反应，在机体免疫平衡中尤为重要，常作为抗炎活性的筛选指标之一^[25]。实验结果表明，不同纯化多糖组分活性各有不同，其中黄精中分离的纯化多糖 PSP-NP、PSP-AP 均具有较好的抗氧化活性且呈剂量依赖性，以 PSP-NP 最佳；而 PCP-AP 和 PKP-AP 能降低细胞中 IL-6 mRNA 表达，且 PKP-AP 最佳。提示黄精中性多糖 PSP-NP 和酸性多糖 PSP-AP 均具有较好的抗氧化活性，而多花黄精酸性多糖 PCP-AP 和滇黄精酸性多糖 PKP-AP 有较好的抗炎活性。

黄精药用历史悠久，归脾、肺、肾经^[26]，中医临床用其治疗肺部疾病取得显著效果。已有研究表明黄精可用于治疗肺结核^[27]、哮喘^[28]等。基于体外实验结果，本实验选用急性肺损伤模型，平行比较不同黄精多糖对肺损伤的预防和保护作用。大量研究表明，急性肺损伤本质是在大量炎症细胞和炎症因子的作用下肺内过度失控的瀑布式炎性级联反应^[29]。通过 LPS 滴鼻诱导急性肺损伤，会导致肺部相关炎性细胞激活释放白细胞介素 (IL)-1β、TNF-α 等一系列炎症因子，诱发炎症反应^[30]。其中 TNF-α 是在机体免疫反应、炎症反应、组织重构、细胞增殖和凋亡过程中均发挥着重要的作用。丙二醛 (MDA) 是脂质过氧化反应的重要产物，是评价组织氧化损伤的重要指标，其水平反映组织中过氧化损伤程度与抗氧化能力的高低^[31]。结果表明，黄精多糖相比于其他两种多糖，降低肺泡灌洗液 TNF-α、MDA 水平，且作用最佳，这与体内实验的结果一致，提示黄精多糖抗炎与抗氧化活性最佳。

5 结论

黄精、多花黄精、滇黄精多糖的得率、组分、分子量和药理活性存在差异。综合多糖得率、纯度，体内外抗氧化和抗炎活性结果，黄精多糖得率最高，抗炎抗氧化作用最强，具有进一步研究开发的价值。

参考文献：

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 306-307.
- [2] 海梅荣. 黄精种类、分布及生长特性 [J]. 致富天地, 2016 (7): 44-45.
- [3] 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.
- [4] 周忠光, 宫铭海, 王晓慧, 等. 黄精多糖药理作用及机制研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(12): 1-4.
- [5] 王 艳, 董 鹏, 金晨钟, 等. 黄精多糖组成及其抗氧化活性分析 [J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38 (5): 2191-2199.
- [6] 张梓原, 徐 伟, 王 鑫, 等. 黄精多糖的提取工艺对比研究 [J]. 包装工程, 2020, 41(9): 51-58.
- [7] Long X Y, Yan Q, Cai L J, et al. Box-Behnken design-based optimization for deproteinization of crude polysaccharides in *Lycium barbarum* berry residue using the Sevag method [J]. *Heliyon*, 2020, 6(5): e03888.
- [8] Kondo M, Mulianda R, Matamura M, et al. Validation of a phenol: ulfuric acid method in a microplate format for the quantification of soluble sugars in ruminant feeds [J]. *Anim Sci J*, 2021, 92(1): e13530.
- [9] 刘丽娟, 赵 亚, 吴亚运, 等. 和肤止痒方的 UPLC 指纹图谱建立及 8 种成分的含量测定 [J]. 中国药房, 2021, 32 (16): 1982-1987.
- [10] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248-254.
- [11] 陈光静. 方竹笋的加工废笋渣中多糖的分离纯化和结构解析及其生物活性研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2019.
- [12] Zou Y F, Zhang Y Y, Fu Y P, et al. A polysaccharide isolated from *Codonopsis pilosula* with immunomodulation effects both *in vitro* and *in vivo* [J]. *Molecules*, 2019, 24 (20): 3632.
- [13] Fu Y P, Feng B, Zhu Z K, et al. The polysaccharides from *Codonopsis pilosula* modulates the immunity and intestinal microbiota of cyclophosphamide-treated immunosuppressed mice [J]. *Molecules*, 2018, 23(7): 1801.
- [14] 范凤颖, 骆 姗, 赵 莉. 龙眼核多酚对 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺组织的保护作用及机制 [J]. 西南国防医药, 2021, 31(6): 497-500.
- [15] 邓 多, 谭会玲, 上官云兰, 等. 云南松松塔对 LPS 诱导急性肺损伤大鼠炎症和氧化应激的影响 [J]. 中成药, 2021, 43(7): 1721-1726.
- [16] 南敏伦, 赵昱玮, 吕 娜, 等. 人参多糖的化学结构及其降血糖活性研究进展 [J]. 中国药房, 2014, 25 (47): 4506-4508.
- [17] 李珊瑚, 金银萍, 姚春林, 等. 人参多糖的结构与活性研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(24): 4709-4715.
- [18] Banks C J, Andersen J L. Mechanisms of SOD1 regulation by post-translational modifications [J]. *Redox Biol*, 2019, 26: 101270.
- [19] 武 锋, 程木子, 安士恩, 等. 当归多糖对 D-半乳糖致衰老模型小鼠的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37 (12): 1577-1580.
- [20] 郭毓菲, 张诗泉, 王汉迪, 等. 超声波法提取水溶性茯苓多糖工艺优化及其抗氧化活性探究 [J]. 中国酿造, 2018, 37(12): 160-164.
- [21] 章燕铃, 孙 彤, 王红权, 等. 黄芪多糖免疫功能机理及其在水产养殖中的应用进展 [J]. 饲料研究, 2021, 44 (15): 127-130.
- [22] 张 炜, 孟祥红, 孙艳春, 等. 黄芪多糖的提取及其在动物生产中的应用进展 [J]. 饲料研究, 2021, 44 (17):

- 126-129.
- [23] 原丽容, 叶艺璐. 黄精多糖体外抗氧化作用研究 [J]. 海峡药学, 2020, 32(2): 18-21.
- [24] Zeng P J, Li J, Chen Y L, et al. The structures and biological functions of polysaccharides from traditional Chinese herbs [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2019, 163: 423-444.
- [25] Xing Z, Gauldie J, Cox G, et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses [J]. *J Clin Invest*, 1998, 101(2): 311-320.
- [26] 金磊, 杨柏灿. 养肺, 健脾, 补肾“三合一”的黄精 [J]. 家庭用药, 2008(3): 40.
- [27] 赵英华. 黄精汤及制剂治疗肺结核和耐药性肺结核的疗效观察 [J]. 健康大视野, 2018(7): 120-121.
- [28] 严生兵, 方安阳. 黄精多糖对哮喘患者血清总 IgE、IL-4、INF- γ 及肺功能的影响 [J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(11): 1985-1986.
- [29] Wu Y X, Zeng S, Wan B B, et al. Sophoricoside attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by activating the AMPK/Nrf2 signaling axis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 90: 107187.
- [30] Abou Saleh L, Boyd A, Aragon I V, et al. Ablation of PDE4B protects from *Pseudomonas aeruginosa*-induced acute lung injury in mice by ameliorating the cytostorm and associated hypothermia [J]. *FASEB J*, 2021, 35(9): e21797.
- [31] 陈超, 吴立英, 冯劲松. 清胃泻火方联合西帕依固龈液对菌斑性牙龈炎牙周状况及唾液 SOD, MDA, IL-6 水平的影响 [J]. 四川中医, 2021, 39(5): 162-165.

白虎汤单煎、合煎化学成分差异研究

肖观林¹, 钟惠娴², 陈伟韬¹, 邱锦燕², 杨敏娟², 毕晓黎^{1*}

(1. 广东省中医药工程技术研究院, 广东省中医药研究开发重点实验室, 广东广州 510095; 2. 广州中医药大学第五临床医学院, 广东广州 510405)

摘要: 目的 考察白虎汤单煎、合煎化学成分差异。方法 该药物冻干粉的超高效液相色谱-四极杆-飞行时间高分辨质谱 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 分析采用 Waters UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相乙腈 (含 0.1% 甲酸)-水 (含 0.1% 甲酸), 梯度洗脱; 体积流量 0.25 mL/min; 柱温 40 °C; 电喷雾离子源; 负离子模式。建立化学成分数据库, 采用主成分分析、正交偏最小二乘判别分析鉴定差异性成分。结果 合煎、单煎化学成分组成相同, 但含量存在差异, 新芒果苷、芒果苷、甘草苷、薤白苷 J、异甘草苷、知母皂苷 B II、甘草皂苷 A3、22-乙酰氨基-甘草皂苷、甘草皂苷 G2、羟基甘草酸、甘草酸异构体是差异性成分。结论 该方法可用于评价白虎汤传统汤剂、配方颗粒汤剂的化学一致性, 为其临床合理应用提供参考依据。

关键词: 白虎汤; 化学成分; 单煎; 合煎; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间高分辨质谱 (UPLC-Q-TOF-MS/MS); 主成分分析; 正交偏最小二乘判别分析

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1372-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.060

白虎汤最早记载于《伤寒论》, 由石膏、知母、甘草、粳米 4 味药材组成, 功效清热泻火、除烦生津, 是治疗阳明热证的经典方剂, 具有治疗败血症、感冒发热的功效, 在抗炎、镇痛等方面均有作用^[1-2]。中药传统汤剂在我国是应用最早、最广泛的剂型, 可根据病症加减来更好地发挥效果。中药配方颗粒是单味中药材经提取、浓缩等现代制药技术制成的制剂, 在临床可配制汤剂^[3-4], 但关于其疗效的争论不断, 焦点是所含化学成分可能与传统汤剂的不同, 在煎煮组合方剂的过程中可能存在相互作用, 这也是两者

等效性的重要问题^[5-6]。

课题组前期已建立白虎汤含量测定、制剂工艺、指纹图谱方法, 并采用 ICP-MS 法测定单煎、合煎样品中金属离子含量^[7-9], 但目前尚无关于该方传统汤剂、配方颗粒汤剂化学成分的比较。因此, 本研究采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间高分辨质谱 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 法快速评价白虎汤单煎、合煎的化学一致性, 结合主成分分析、正交偏最小二乘判别分析比较两者在化学成分方面的差异, 以期为其他传统汤剂改革及配方颗粒的科学合理应用提供

收稿日期: 2022-05-27

基金项目: 广东省中医药局科研项目 (20215001); 2021 年省属科研机构稳定性支持项目 (粤财科教〔2021〕113 号)

作者简介: 肖观林 (1994—), 男, 硕士, 助理研究员, 从事中药质量评价研究。Tel: (020) 83482098, E-mail: 164669079@qq.com

* 通信作者: 毕晓黎 (1979—), 女, 博士, 主任中药师, 博士生导师, 从事中药质量评价研究, Tel: (020) 83482098, E-mail: 13770635223@163.com