

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2023.12.019

## 炮制对多花黄精水提物抗氧化活性的影响

张 莉, 刘 健, 李强明

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

**摘 要:**多花黄精(*Polygonatum cyrtonema* Hua)为百合科(Liliaceae)黄精属(*Polygonatum* Mill.)植物,是一种常见的“药食同源”植物,可经黄酒“九蒸九制”炮制。文章首先将炮制前后的多花黄精粉未经热水浸提获得炮制前后的水提物,经醇沉,取上清液再经离心、浓缩、干燥得到脂溶性部位,取醇沉物经除蛋白、透析、干燥以得到多糖部位,发现 2 个部位提取率存在明显差异;然后体外评价水提物的抗氧化活性,发现“九蒸九制”后水提物总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)和 DPPH 自由基清除能力均得到显著性提高;通过测定 T-AOC 和 DPPH 自由基清除能力等指标,发现炮制后水提物脂溶性部位和多糖部位体外抗氧化活性均显著高于炮制前。该文对了解多花黄精的药效学基础、临床应用和开发有效药物具有一定的意义。

**关键词:**多花黄精水提物;炮制;脂溶性部位;多糖部位;体外抗氧化活性

中图分类号:R283.1

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2023)12-1711-06

### Effect of processing on antioxidant activity of aqueous extract of *Polygonatum cyrtonema* Hua

ZHANG Li, LIU Jian, LI Qiangming

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

**Abstract:** *Polygonatum cyrtonema* Hua, a common medicinal and edible homologous plant, belongs to the genus *Polygonatum* Mill. (Liliaceae), which can be processed by nine steaming and nine processing with rice wine. In this paper, firstly, the aqueous extracts of crude and wine-processed *P. cyrtonema* Hua were obtained by hot water extraction. After that, the aqueous extracts were precipitated by alcohol, and the supernatants were centrifuged, concentrated and dried to obtain the liposoluble part. The alcohol precipitates were then deproteinized, dialysed and dried to obtain the polysaccharide part. And significant difference was found in extraction rate between the two parts. Then the antioxidant activity of the aqueous extracts was evaluated *in vitro*, the total antioxidant capacity(T-AOC) and free radical scavenging ability of DPPH of the aqueous extract were significantly increased after nine steaming and nine processing. By measuring the indexes of T-AOC and DPPH, it was found that the antioxidant activity of the liposoluble and polysaccharide parts of wine-processed *P. cyrtonema* Hua aqueous extract was significantly higher than that of crude *P. cyrtonema* Hua aqueous extract. This paper is of significance to understand the pharmacodynamic basis and clinical application of *P. cyrtonema* Hua.

**Key words:** aqueous extract of *Polygonatum cyrtonema* Hua; processing; liposoluble part; polysaccharide part; antioxidant activity *in vitro*

黄精(*Polygonati Rhizome*)是我国传统常用的一味中药,属于百合科草本植物,黄精(*Polygonat-*

*um sibiricum* Red.)、多花黄精(*Polygonatum cyrtonema* Hua)和滇黄精(*Polygonatum kingianum*

收稿日期:2021-06-25;修回日期:2021-07-21

基金项目:国家自然科学基金资助项目(32070757)

作者简介:张 莉(1995—),女,安徽亳州人,合肥工业大学硕士生;

刘 健(1970—),男,安徽合肥人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师,通信作者,E-mail:liujian509@hfut.edu.cn.

Coll. et Hemsl.) 的根茎作为药材入药收载于《中国药典》<sup>[1]</sup>。我国有关黄精的古籍繁多,如《明义别录》《本草纲目》及《和平圣仁方》等,其最开始出现在《名医别录》,后来历代医药典籍都将其记录其中。黄精性平、味甘,入脾、肾、肺经,可融药用、食用和观赏为一体,可作为补肾益精、宽中益气、滋阴润燥、生津补脾的良药,是一类极具经济价值和发展前景的植物<sup>[2]</sup>。

多花黄精隶属黄精属(*Polygonatum* Mill.),因其常呈长短不等的结节块状相连,直径一般多为 0.8 ~ 1.5 cm<sup>[3]</sup>,所以根据根茎形状又将其称为“姜型黄精”,在中国历史上质量属上乘,具有强大的传奇药效。其产地多为安徽、广西和贵州等地,产于九华山的多花黄精药材质量属于上乘,具有很高的滋补功效和营养价值,因此又称“九华黄精”<sup>[4]</sup>。多花黄精属于黄精中品质较高的精品,一般都将其添加入保健品中方便居民日常的膳食补充,其作为中药和营养食品已有 2 000 多年的历史,深受人们的认可和喜爱。因此,它被认为可以补充能量、增加食欲、改善性功能并增强免疫力。

植物合成了许多具有复杂化学结构的天然有机化合物,这些植物衍生的化合物在其生态功能中起着至关重要的作用<sup>[5]</sup>。较多植物化合物除了在植物中的生理功能外,还具有较强的抗氧化、抗菌和除草特性,而且许多种生物活性化合物已被分离、纯化,并广泛应用于食品、制药、农业等行业<sup>[5-8]</sup>。因此,开发有效的药用植物及其天然生物活性分子已成为开发天然资源潜在附加价值的必要手段。近些年来,随着对黄精化学成分研究的深入开展,已有的研究表明黄精属植物中主要包含了多糖类<sup>[9]</sup>、皂苷类<sup>[10]</sup>、黄酮类<sup>[11]</sup>、生物碱类<sup>[12-13]</sup>、醌类<sup>[12,14]</sup>、木脂素<sup>[12]</sup>、氨基酸<sup>[15]</sup> 类化合物、一些微量元素<sup>[15-16]</sup> 以及一些其他物质,如挥发性物质等<sup>[16]</sup>,其中多糖、黄酮类和甾体皂苷类化合物发挥着主要的药理活性,并通过一系列的功能活性的研究发现,其主要具有抗氧化、延缓衰老、改善免疫活性、调节血糖水平和降血脂等药理活性。

药材加工是我国医药工业的传统组成部分,在我国医疗保健体系中占有重要地位,黄精在食品和临床应用前必须经过加工,以确保其安全性和有效性。生药材在经炮制处理后,毒副作用降低甚至消除以及药效得到改善和增强。孟诜在《食疗本草》一书有“蒸之,若生则刺人咽喉,曝使干,不尔朽坏”<sup>[17]</sup> 的记载,因此生黄精不利于人体食用,需经过炮制工艺处理。

在分子生物学中,退化过程的发生与过量自由基的存在相关,从而促进对身体有害的氧化过程。植物中具有抗氧化剂特性的高含量化合物(黄酮、酚类、花色素衍生物、不饱和脂肪酸、维生素、酶和辅助因子等)能够捕获自由基,激发人们将其用于预防和治疗性植物疗法的兴趣。多花黄精作为传统中草药,常以熬汤、茶饮等膳食补充的形式添加到居民的日常饮食中,已有足够的证据表明其具有抗氧化性以及抗自由基活性,从而达到延缓机体衰老的作用。而关于“九蒸九制”炮制工艺对其水提物体外抗氧化活性提升或抑制的研究较少,因此本文研究了炮制对多花黄精水提物体外抗氧化活性的影响。

## 1 实验材料和方法

### 1.1 材料与设备

实验所用试剂材料如下:多花黄精生药材以及经“九蒸九制”后的制黄精均为同批同年份,采摘后经不同处理工艺获得,产自安徽省九华山(经合肥工业大学食品与生物工程学院罗建平教授鉴定为百合科植物多花黄精,以下实验部分简称为生黄精和制黄精),由安徽润元生物科技有限公司提供,多花黄精炮制前后性状如图 1 所示。



(a) 生多花黄精



(b) 制多花黄精

图 1 多花黄精炮制前后性状

三氯甲烷(AR)、乙醇(AR)、正丁醇(AR)、甲醇(AR)均购于国药集团化学试剂有限公司;总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)测试盒、DPPH 自由基测试盒均购于南京建成生物工程研究所。

实验设备和分析仪器如下:RV 3 V 旋转蒸发仪(德国艾卡公司)、HH-S 恒温水浴锅(上海博

迅)、SHD-III 循环水式真空泵(汗诺金牌生产商)、KX-11A/B/C 电动粉碎机(科翔仪器)、FC/K3 酶标仪(BIOBASE)、04802-xx 单位置磁力搅拌器(北京中科科尔仪器)、FD-1A-50 真空冷冻干燥机(川一仪器)、Centrifuge 5418 R 离心机(eppendorf)、烘箱(上海一恒科学仪器公司)、TU-1901 紫外可见分光光度计(北京谱析仪器)、3500Da 透析袋(上海绿鸟科技)。

## 1.2 “九蒸九制”炮制工艺

工艺流程如下:

1) 浸泡清洗干黄精,将结节处的泥沙清洗干净。

2) 大火蒸制 4 h,趁热拌入约 3 kg 黄酒,于陶罐焖制 12 h,再摊开暴晒 1 d,中间需反复翻动,夜露一晚。

3) 第 2 次清早大火蒸 4 h,摊晒 1 d,夜露一晚。

4) 第 3、5、7、9 次蒸晒方法与第 1 次相同,每次均加黄酒 3 kg 处理。

5) 第 4、6、8 次蒸晒方法同第 2 次,无黄酒处理。

6) 注意前面 4 次每次蒸 4 h,蒸第 5 次开始每次蒸 2 h 即可。

7) 九制结束,晒干即可,颜色变黑亮,口感软糯香甜,滋补力强。

## 1.3 多花黄精炮制前后药材前处理

将购入的新鲜生黄精和制黄精清洗干净,切片后放入烘箱 60 °C 烘干至恒重,经粉碎,过 40 目筛后,精密称取此样品 5 g,按料液比 1:5,95% 的乙醇 20 mL 脱脂 60 min,去除色素、小分子糖和其他小分子化合物等,过滤后于 60 °C 干燥,即得预处理的生、制多花黄精粉末。

## 1.4 水提物的制备

将得到的预处理后的生、制多花黄精粉末于 85 °C 搅拌浸提 2 h,料液比 1:20,过滤取上清液,重复 3 次。将收集的水提液于 60 °C 旋蒸浓缩至较小体积,经 10 000 r/min 离心 10 min,冷冻干燥后获得生多花黄精水提物(CP)、制多花黄精水提物(WP)。

## 1.5 脂溶性部位和多糖部位的制备

水提物经蒸馏水复溶,加入 4 倍体积的无水乙醇进行 24 h 的水提醇沉处理后,获得上清液和醇沉物。取上清液经 10 000 r/min 离心 10 min、60 °C 旋转蒸发浓缩至较小体积后,于 60 °C 干燥,即获得生多花黄精水提物中脂溶性部位(CPL)、制多花黄精水提物中脂溶性部位(WPL)。

选择醇沉物,蒸馏水溶解,10 000 r/min 离心 10 min,Sevag 试剂去除游离蛋白,重复多次直至去除尽溶液中蛋白质,旋转蒸发浓缩至较小体积,于分子截流量为 3 500 Da 的透析袋透析 48 h,最后收集透析袋内液体冷冻干燥 48 h 后,即得生多花黄精水提物水溶性多糖部位(CPP)、制多花黄精水提物水溶性多糖部位(WPP)。

## 1.6 多糖部位的紫外光谱分析

准确称取纯化的多糖部位 CPP 和 WPP 各 1 mg,加蒸馏水溶解制备成为 1 mg/mL 的溶液,UV 检测在波长为 190 ~ 800 nm 范围内进行扫描分析。

## 1.7 水提物 T-AOC 的测定

ABTS 自由基清除方法可以在很宽的 pH 值范围内进行评估,这对于研究 pH 值对食品成分的抗氧化机理作用非常有用。此外,ABTS 自由基可溶于水 and 有机溶剂,从而能够确定亲脂性和亲水性化合物的抗氧化能力。

对于诸如类胡萝卜素、生育酚等亲脂性化合物,使用均质溶液来评估脂溶性抗氧化剂对脂质的程度和保护能力。

取 1.4 节、1.5 节制备的样品,参考 T-AOC 试剂盒说明书进行检测,建立标准曲线,根据标准曲线计算总抗氧化能力  $T_{EAC}$ 。

其中待测样本如有颜色,需为每个样本设自身对照孔(10  $\mu$ L + 180  $\mu$ L PBS),测定吸光度值即为每个样本测定孔的吸光度值减去自身对照孔的吸光度值。

## 1.8 水提物 DPPH 自由基清除能力的测定

DPPH 测试通常用于评估植物提取物的体外抗氧化活性,DPPH 是一种  $\pi$  自由基,以单体和溶液形式存在。初步的结构数据表明,其独特的低反应活性主要受分子周围部分对胍基结构有效筛选的影响,而较少受扩展共轭作用的影响<sup>[18]</sup>。

已证实,尽管对硝基的除去仅具有很小的影响,但是负责保护邻硝基的基团的除去导致反应活性显著增加。而且 2 个苯基都是扭曲的,对偶联稳定性有不利的影响。

取 1.4 节、1.5 节制备的样品,参考 DPPH 自由基清除能力试剂盒说明书进行检测,建立标准曲线,DPPH 自由基清除能力计算公式:

$$\text{DPPH 自由基清除率} = [1 - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) / A_{\text{空白}}] \times 100\%$$

其中: $A_{\text{测定}}$  为待测样品的吸光度; $A_{\text{对照}}$  为样品自

身对照组的吸光度;  $A_{\text{空白}}$  为仅加 DPPH 的乙醇溶液的吸光度。

## 2 实验结果与讨论

### 2.1 水提物提取率的测定

新购入的新鲜生黄精和制黄精在经过清洗、切片后放入烘箱 60 °C 烘干至恒重, 经计算可得此批

生、制多花黄精含水量分别为 24.6%、31.1%, 制黄精的含水量略高于生黄精。在经过优选较佳的热热水浸提提取工艺: 于 85 °C 搅拌浸提 2 h, 料液比 1 : 20, 重复 3 次。

计算可得生、制黄精水提物得率分别为 73.58%、74.61%, 结果见表 1 所列, 两者之间无明显差异。

表 1 各部位提取率及相对标准偏差 ( $n = 3$ )

样品	提取率			相对标准偏差		
	水提物	脂溶性部位	多糖部位	水提物	脂溶性部位	多糖部位
生黄精	73.58	17.87	16.29	1.18	1.38	1.34
制黄精	74.61	40.87	8.58	1.78	1.63	1.93

### 2.2 脂溶性部位和多糖部位提取率的测定

从表 1 可以看出, 生、制黄精水提物蒸馏水复溶, 经水提醇沉取上清液后, 获得 CPL 和 WPL, 计算得生、制黄精脂溶性部位提取率分别为 17.87%、40.87%。结果表明炮制后多花黄精水提物脂溶性部位提取率显著提高, 两者之间的差异性显著。

将得到的醇沉物经蒸馏水溶解, 去除游离蛋白, 透析和冷冻干燥后即得 CPP 和 WPP。经 UV 检测, CPP 和 WPP 中蛋白质和核酸等成分已被除尽。计算生、制黄精水提物中多糖部位提取率分别为 16.29%、8.58%。结果表明炮制后多花黄精的多糖质量显著降低。

### 2.3 T-AOC(ABTS 法) 标准曲线

取 1.4 节、1.5 节制备的样品, 参考 T-AOC 测试盒说明书进行检测 (ABTS 法), 建立标准曲线如图 2 所示, 根据图 2 计算总抗氧化能力  $T_{\text{EAC}}$ , 即

$$T_{\text{EAC}} = -1.1697A_{\text{测定}} + 1.1181.$$

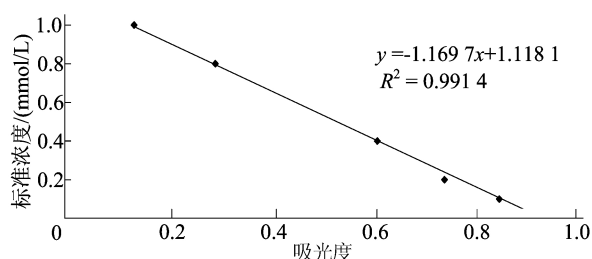


图 2 总抗氧化能力 (ABTS 法) 标准曲线

### 2.4 水提物总抗氧化能力分析

按照 1.7 节的实验操作测定待测样品的吸光度, 并计算  $T_{\text{EAC}}$ , 炮制对多花黄精水提物 T-AOC 的影响如图 3 所示。从图 3 可以看出, 生、制多花黄精水提物的 T-AOC 具有显著性差异, 在最佳质量浓度

0.5 ~ 10.0 mg/mL 范围内, 生、制黄精水提物的 T-AOC 在均呈梯度依赖性增加的同时, 前者的 T-AOC 相对较弱。在经过“九蒸九制”的炮制工艺后, 在质量浓度为 10.0 mg/mL 的制黄精水提物的 T-AOC 为生黄精水提物的 4 倍多 ( $P < 0.0001$ )。结果表明在炮制后, 多花黄精的 T-AOC 得到显著性提高, 也论证了制黄精的抗氧化和抗衰老的药理活性, 具有临床意义。

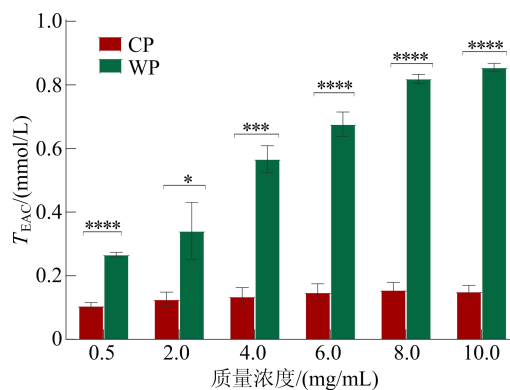


图 3 炮制对多花黄精水提物 T-AOC 的影响

### 2.5 不同部位总抗氧化能力分析

为了研究炮制对 CP、WP 中脂溶性部位和多糖部位 T-AOC 的影响, 以及发挥主要的作用部位, 分别对脂溶性部位和多糖部位的 T-AOC 进行了研究。炮制对多花黄精水提物中脂溶性部位和多糖部位 T-AOC 的影响如图 4 所示。

从图 4 可以看出, 质量浓度在 2 ~ 12 mg/mL 范围内脂溶性部位和水溶性多糖部位的 T-AOC 在炮制后均得到显著性提高 ( $P < 0.0001$ ), 从而表明在炮制后两部位的 T-AOC 均得到提高, 因此可以猜测多花黄精在炮制后更适合人体食用, 为机体提供更好的抗氧化和抗衰老的作用, 后续可

进一步得到验证。

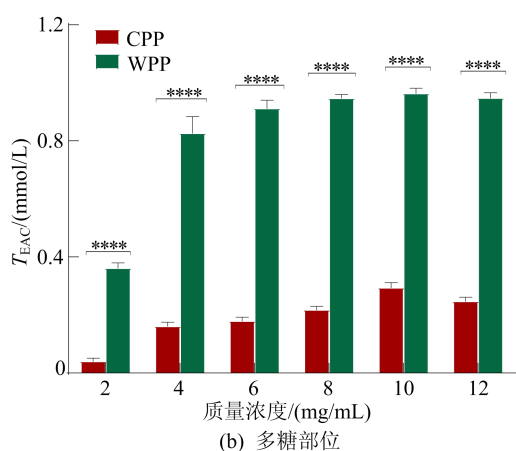
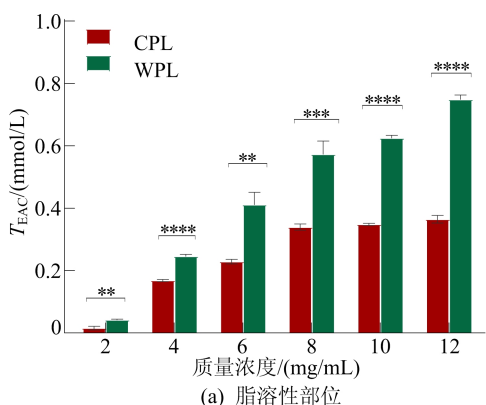


图 4 炮制对多花黄精水提取物中不同部位 T-AOC 的影响

### 2.6 DPPH 自由基清除率标准曲线

取 1.4 节、1.5 节制备的样品,参考 DPPH 自由基清除能力试剂盒说明书进行检测,建立标准曲线如图 5 所示。

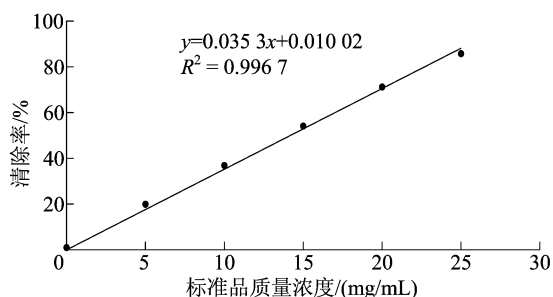


图 5 DPPH 自由基清除率标准曲线

### 2.7 水提取物 DPPH 自由基清除能力分析

按照 1.8 节的实验操作测定待测样本的 OD 值,并计算 DPPH 自由基清除率,炮制对多花黄精水提取物 DPPH 自由基清除能力的影响如图 6 所示。

从图 6 可以看出:CP、WP 的 DPPH 自由基清

除能力具有显著性差异,质量浓度在 2 ~ 8 mg/mL 浓度范围内,CP、WP 的 DPPH 自由基清除能力均呈梯度依赖性增加;在经过“九蒸九制”的炮制工艺后,质量浓度为 8 mg/mL 的制黄精水提取物的 DPPH 自由基清除能力为生黄精水提取物的近 5 倍( $P < 0.000 1$ ),而在质量浓度达到 10 mg/mL 时,水提取物的 DPPH 自由基清除率两者均呈下降趋势。结果表明在炮制之后,多花黄精水提取物的 DPPH 自由基清除能力得到显著性提高,而过高的质量浓度反而会降低多花黄精水提取物的清除能力,从而论证了黄精的摄入量需符合中国膳食饮食推荐摄入量。

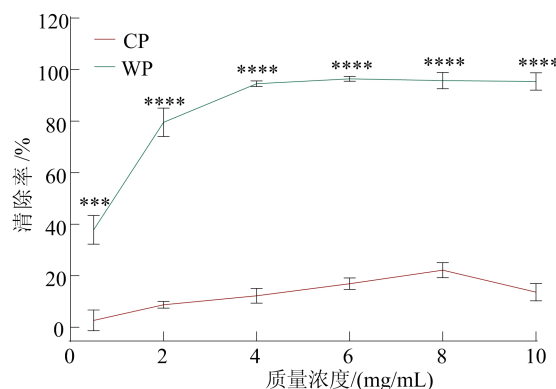
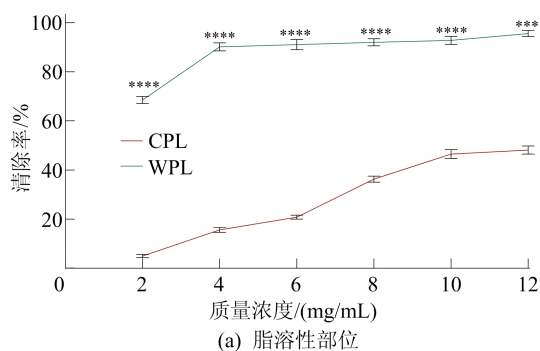


图 6 炮制对多花黄精水提取物 DPPH 自由基清除能力的影响

### 2.8 不同部位 DPPH 自由基清除能力分析

本文分别对水提取物中脂溶性部位和多糖部位的 DPPH 自由基清除能力进行测定,炮制对多花黄精水提取物中脂溶性部位和多糖部位 DPPH 自由基清除能力的影响如图 7 所示。从图 7 可以看出,质量浓度在 2 ~ 12 mg/mL 范围内脂溶性部位和质量浓度在 0.25 ~ 2.50 mg/mL 范围内水溶性多糖部位的 DPPH 自由基清除能力在炮制后均显著性提高( $P < 0.000 1$ ),从而表明在炮制后两部位的 DPPH 自由基清除能力均得到提高,从而可推测多花黄精炮制后可显著提升其体外抗氧化能力。



(a) 脂溶性部位

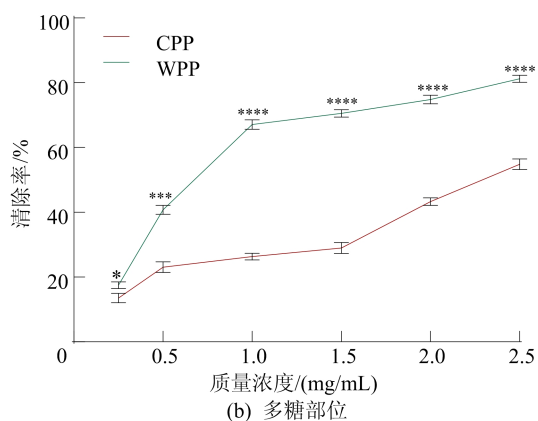


图 7 炮制对不同部位 DPPH 自由基清除能力的影响

### 3 结 论

本文主要对生、制多花黄精水提取物以及其中脂溶性部位和水溶性多糖部位分别进行制备,并比较了炮制对各部位提取率的影响。发现炮制对多花黄精水提取物提取率无明显影响,但脂溶性部位的提取率升高,多糖部位降低,存在显著差异。体外评价了炮制对水提取物抗氧化能力的影响,结果表明炮制后水提取物的 T-AOC 和 DPPH 自由基清除能力均得到显著提高。

为了进一步体外评价炮制对水提取物中脂溶性部位和水溶性多糖部位抗氧化活性的影响及其各自的作用。通过 T-AOC 和 DPPH 自由基清除能力测定发现,炮制后多花黄精水提取物中脂溶性部位和水溶性多糖部位的 T-AOC 和 DPPH 自由基清除能力均得到显著性提高。

随着现代社会中国居民疾病水平增加,尤其表现为免疫力下降、过早衰老、癌症发作和其他亚健康现象,因此保持健康并减缓衰老成为人们的需求。无论是通过合成药物还是使用药用植物,在医学治疗传统中都起着重要作用。以上实验体外评价了炮制对水提取物抗氧化活性的影响,结果表明,水提取物的体外抗氧化能力在“九蒸九制”的炮制工艺处理后得到显著提高,而脂溶性部位和水溶性多糖部位均提供了各自的作用,基于这一理论基础,进一步的体内评价可在今后展开。

黄精作为“药食同源”植物,受到广大消费者的关注和喜爱,而中国的黄精种类繁多,品质上乘,为其得到更好的开发和利用提供了强大的支

持。此外,还需要进行更深入的研究,以厘清黄精植物的药理学基础、作用机理、毒性和药代动力学,以指导其临床应用和开发有效药物。

### [参 考 文 献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 288.
- [2] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草精选本[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 2069-2076.
- [3] 雷公. 雷公炮制论[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989: 15-17.
- [4] 乐观, 吴平平, 陈龙胜. 九华黄精高产栽培技术研究进展[J]. 安徽科技, 2013(11): 24.
- [5] OSBOUM A E LANZOTTI V. Plant-derived natural products 1st ed. synthesis, function, and application[M]. 1st ed. [S. l. : s. n. ], 2009.
- [6] MIERZIAK J, KOSTYN K, KULMA A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment[J]. Molecules, 2014(19): 16240-16265.
- [7] UPADHYAY R K. Plant natural products: their pharmaceutical potential against disease and drug resistant microbial pathogens[J]. Journal of Pharmacy Research, 2011(4): 1179-1185.
- [8] TAKSHAK S. Bioactive compounds in medicinal plants: a condensed review[J]. SEJ Pharm Nat Med, 2018(1): 1-35.
- [9] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 902-910.
- [10] 王易芬, 穆天慧. 滇黄精化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(6): 524-526.
- [11] 孙隆儒, 李铄. 黄精化学成分的研究[J]. 中草药, 2001, 32(7): 586-588.
- [12] 孙隆儒, 王素贤, 李铄. 中药黄精中的新生物碱[J]. 中国药物化学杂志, 1997, 7(2): 129-130.
- [13] 陈兴荣, 王成军, 立星. 滇黄精的化学成分及药理进展[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(9): 560-561.
- [14] 王曙东, 宋炳生, 金亚丽. 黄精根茎及须根中微量元素及氨基酸的分析[J]. 中成药, 2001, 23(5): 369-370.
- [15] 蔡友林, 樊亚鸣. 黄精中氨基酸和微量元素的测定[J]. 贵阳医学院学报, 1991, 16(4): 376-377.
- [16] 张瑞宇. 中药黄精的研究和开发利用途径[J]. 渝州大学学报(自然科学版), 2002, 19(4): 5-8.
- [17] 孟诜, 张鼎. 食疗本草[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1984.
- [18] WILLIAMS D E. Crystal structure of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical[J]. J Am Chem Soc, 1967, 88(17): 4280-4287.

(责任编辑 张 镛)