

基于正交试验及 AHP-综合评分法优选酒黄精炮制工艺及调节免疫作用研究

肖晓燕¹, 苏联麟¹, 陈鹏¹, 李晓满¹, 毛春芹^{1,2}, 郭志俊³, 胡雨⁴,
陆兔林^{1,2*}, 高波^{3*}

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏南京 210023; 2. 江苏省中医外用开发与应用工程研究中心, 江苏南京 210023; 3. 华润三九医药股份有限公司, 深圳龙华 518110;
4. 安徽华润金蟾药业股份有限公司, 安徽淮北 235000)

[摘要] 基于正交试验及 AHP-综合评分法优选酒黄精现代炮制工艺, 并对其调节免疫作用进行研究。以外观性状、浸出物、多糖含量为指标, 基于单因素考察结果建立正交试验, 研究炮制过程中润制时间、蒸制时间、干燥温度等关键因素对酒黄精质量的影响, 结合层次分析法 (analytic hierarchy process, AHP) 和综合评分法, 优选酒黄精最佳炮制工艺参数。通过腹腔注射环磷酰胺建立小鼠免疫抑制模型, 比较炮制前后、现代与传统炮制工艺下小鼠的体质量、免疫脏器指数及外周血中血白细胞 (white blood cell, WBC)、血红细胞 (red blood cell, RBC) 的变化情况, 并采用酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 测定血清中白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2) 和 γ -干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)。研究表明, 酒黄精最佳炮制工艺为: 药材中加入黄酒闷润 10 h, 隔水蒸制 20 h, 切厚片, 60 °C 干燥。此外, 经与传统蒸制酒黄精进行比较研究后认为, 该法所得酒黄精饮片与传统蒸制酒黄精均能够显著增强免疫作用, 且等效性良好。该研究优化所得的酒黄精炮制工艺稳定、可行; 按此工艺所制酒黄精有明显的增强免疫作用, 为其质量标准的制定和现代研究提供了依据。

[关键词] 酒黄精; 炮制工艺; 正交试验; AHP; 免疫调节

Optimization of processing technology of wine-processed Polygonati Rhizoma based on orthogonal test and AHP-comprehensive scoring method and comparison of immunomodulation functions of Polygonati Rhizoma processed with different methods

XIAO Xiao-yan¹, SU Lian-lin¹, CHEN Peng¹, LI Xiao-man¹, MAO Chun-qin^{1,2}, GUO Zhi-jun³,
HU Yu⁴, LU Tu-lin^{1,2*}, GAO Bo^{3*}

(1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Provincial Engineering Research Center of TCM External Medication Development and Application, Nanjing 210023, China;
3. China Resources Sanjiu Medical & Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen 518110, China;
4. Anhui Huarun Jinchan Pharmaceutical Co., Ltd., Huaibei 235000, China)

[Abstract] This study employed orthogonal design and AHP-comprehensive scoring method to optimize the processing technology of wine-processed Polygonati Rhizoma, and then explored the immunomodulation performance of the product. Orthogonal test was

[收稿日期] 2022-02-25

[基金项目] 国家公益性行业科研专项 (201507002-2)

[通信作者] * 陆兔林, 教授, 博士生导师, E-mail: ltl2021@njucm.edu.cn; * 高波, 正高级工程师, E-mail: gaobo14@999.com.cn

[作者简介] 肖晓燕, 硕士研究生, E-mail: 1374622147@qq.com

established based on single factor test results to study the effects of soaking time, steaming time, and drying temperature on the quality of wine-processed Polygonati Rhizoma. Further, the analytic hierarchy process (AHP) and comprehensive scoring method were employed to determine the optimum processing parameters. The immunosuppression model of mice was established by injecting cyclophosphamide intraperitoneally. The body weight, immune organ index, and white blood cell count (WBC) and red blood cell count (RBC) in peripheral blood were compared between the mice administrated with the non-processed Polygonati Rhizoma and the wine-processed Polygonati Rhizoma prepared with modern and traditional methods. Further, the levels of interleukin-2 (IL-2) and interferon-gamma (IFN- γ) in serum were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for comparison. The processing parameters were optimized as follows: soaking in Chinese rice wine for 10 h, steaming for 20 h, and drying thick slices at 60 °C. The wine-processed Polygonati Rhizoma prepared with both modern and traditional methods can significantly enhance the immune function, with similar performance. The optimized processing technology of wine-processed Polygonati Rhizoma is stable and feasible and the product prepared with this process has obvious immune-enhancing effect, which provides a basis for the quality standard formulation and the modern research of wine-processed Polygonati Rhizoma.

[Key words] wine-processed Polygonati Rhizoma; processing technology; orthogonal test; AHP; immunomodulation

DOI:10.19540/j.cnki.cjcm.20220420.302

黄精为百合科植物滇黄精 *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl.、黄精 *P. sibiricum* Red. 或多花黄精 *P. cyrtonema* Hua 的干燥根茎,具有补气养阴,健脾,润肺,益肾的功效^[1]。黄精作为传统补益中药,始载于陶弘景的《名医别录》^[2],列为上品,主要成分为多糖类、皂苷类、黄酮类、生物碱类^[3-6]等。其中,多糖类作为主要活性成分,在增强免疫、抗血糖血脂、抗骨质疏松^[7-9]等方面疗效显著。黄精生用戟人咽喉^[10],因此大多炮制后入药。本草典籍收录黄精的炮制方法有清蒸、九蒸九晒、酒制、蜜制、黑豆汁制等。目前《中国药典》2020年版及各省市炮制规范中尚未规定酒黄精的炮制工艺参数,且传统九蒸九晒法与药典中记载的现代炮制方法存在较大差异,2种方法炮制得到的酒黄精饮片品质尚存争议。如果通过控制酒黄精炮制过程中的关键影响因素,简化炮制工艺,并能够全面体现与传统九蒸九晒炮制品的等效作用,将避免传统反复“蒸-晒”的过程,节约大量时间与成本。

中药多指标合理的综合评价直接影响着炮制工艺参数的确定,各因素的权重系数的确定又是科学、合理地作出评价的基础,层次分析法(AHP)是一种主观结合客观的评价方式,其赋权是基于合理的主观判断,进一步用数学方法处理予以量化,并对权重进行一致性检验来判断矩阵的可接受性,实现了权重系数定性到定量的转化。AHP与综合评分法结合体现了各指标间的实际影响,经其确定各指标的权重增强了评价结果的合理性和科学性^[11-12]。为了进一步规范酒黄精的炮制工艺,保证其质量及临

床疗效,本研究中将《中国药典》2020年版作为标准进行酒黄精现代工艺研究,以外观性状、浸出物以及多糖含量为指标,采用单因素结合正交试验研究润制时间、蒸制时间、干燥温度等关键因素对酒黄精炮制工艺的影响,结合AHP和综合评分法,优选确定酒黄精最佳炮制工艺参数;并通过建立免疫抑制模型,对传统、现代炮制工艺酒黄精饮片增强免疫药效进行等效性评价及分析,由此建立符合规模化大生产酒黄精炮制工艺,为优质酒黄精饮片质量控制标准制定提供理论依据。

1 材料

1.1 样品与试剂

黄精(批号20210714,产地湖南,购自华润三九医药股份有限公司),经南京中医药大学药学院陈建伟教授鉴定为百合科植物多花黄精 *P. cyrtonema* 的干燥根茎;蒽酮(批号20191024,国药集团化学试剂有限公司);黄酒(酒精度 $\geq 10.0\%$,批号20210310,浙江古越龙山绍兴酒股份有限公司);浓硫酸(分析纯,批号20130508,上海凌峰化学试剂有限公司);D-无水葡萄糖(纯度 $\geq 98\%$,批号S08J6G1,上海源叶生物科技有限公司);香菇多糖片(批号2011060,湖北广仁药业有限公司);环磷酰胺(批号DC901302,DC Chemicals);ELISA试剂盒(批号20210428,北京四正柏生物科技有限公司)。

1.2 仪器

HL-250型高速多功能粉碎机(上海塞耐机械有限公司);FA1104N电子天平(上海菁海仪器有限公司);DHG-9140A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏

实验设备有限公司);TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);Bio-Tek 多功能酶标仪(赛默飞世尔科技公司);TGL-16GB 台式高速微量冷冻型低温离心机(赛默飞世尔科技公司)。

1.3 动物

BALB/c 小鼠 60 只,雄性,SPF 级,体质量 18~20 g,购自上海市计划生育科学研究所实验动物经营部,合格证号 20180006030913,动物严格按照南京中医药大学动物实验中心伦理委员会标准执行。实验环境:室温(22±2)℃,湿度 50%±10%,12 h 光照/12 h 黑暗的昼夜节律下自由饮食。

2 方法与结果

2.1 外观性状评分

中药外观性状是中药质量重要的评价指标。参照《中国药典》2020 年版酒黄精项下的性状描述,选择色泽、质地、口感 3 个指标为考察对象,酒黄精外观性状评价标准见表 1。

表 1 酒黄精外观性状的评分标准

Table 1 Evaluation standard of appearance characteristics of wine-processed Polygonati Rhizoma

等级	色泽(分)	质地(分)	口感(分)
1	棕褐色至黑色,有光泽(3)	较柔软(3)	甜,微有酒香气(3)
2	棕褐色至黑色,略有光泽(2)	较硬(2)	微甜,略有酒香气(2)
3	黑色,无光泽(1)	坚硬(1)	微苦,无酒香气(1)

2.2 浸出物及多糖含量测定

黄精多糖及浸出物是评价其质量的常用指标。

表 3 酒黄精各指标权重系数

Table 3 Weight coefficients of quality indexes of wine-processed Polygonati Rhizoma

指标	初始化权重(W_i)	归一化权重(W_i')	最大特征值(λ_{max})	一致性指标(CI)	一致性比率(CR)
外观	0.022	0.077	4.104	0.035	0.039
水溶性浸出物	2.000	0.238			
醇溶性浸出物	0.500	0.168			
多糖	45.000	0.517			

2.4 酒黄精炮制工艺研究

2.4.1 单因素考察 以《中国药典》2020 年版酒黄精项下酒蒸法(通则 0213)为参照,选取酒黄精炮制过程中的关键参数闷润时间、蒸制时间、干燥温度为考察因素,以外观性状、醇溶性浸出物及多糖为指标

参照《中国药典》2020 年版浸出物测定法(通则 2201)中的热浸法测定水溶性及醇溶性浸出物;按《中国药典》2020 年版酒黄精多糖含量测定方法进行测定,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,得到线性回归方程为 $Y=37.121X+0.0336$ ($R^2=0.9992$),表明葡萄糖质量浓度在 0.0033~0.0198 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 与吸光度线性关系良好。

2.3 AHP 确定各指标权重

AHP 可用于求出各因素的权重,基本思路为通过两两对比得到各个因素的权重系数^[13]。本研究采用 1~9 标度法对外观性状、水溶性浸出物、醇溶性浸出物及多糖进行两两比较评判重要性,各指标的判断优先矩阵见表 2。按照几何平均法计算各指标的权重系数,得到外观性状、醇溶性浸出物、水溶性浸出物、多糖的权重系数分别为 0.077、0.168、0.238、0.517。对各权重系数进行一致性检验,得一致性指标(consistency index, CI)=0.035,接着计算随机一致性比率(consistent ratio, CR)=0.039<0.1,说明指标层的判断矩阵和单排序结果的一致性可以接受,求得的权重系数合理有效,无逻辑混乱,结果见表 3。

表 2 工艺指标准则层判断矩阵

Table 2 Judgment matrix of the processing criteria layer

指标	外观	水溶性浸出物	醇溶性浸出物	多糖
外观	1	1/3	1/3	1/5
水溶性浸出物	3	1	2	1/3
醇溶性浸出物	3	1/2	1	1/3
多糖	5	3	3	1

通过单因素考察初步确定各影响因素的最优水平。

根据文献研究及各省市炮制规范,黄精润制程度为润透或黄酒吸尽,实验过程发现不能达到黄精润透的情况,因此以黄酒吸尽为度,观察其断面变化情况。黄精的蒸制程度为蒸透,表面棕褐色至黑色,

干燥后质较柔软。

取3组黄精,分别润制8、10、12 h,观察黄酒润制过程中断面的变化情况,结果见图1。结果表明,

润制8 h 黄酒刚好吸尽,润制10 h 断面润透程度有所增加,至12 h 断面程度无变化。因此,选择润制10 h 作为正交试验中润制时间的中心点。

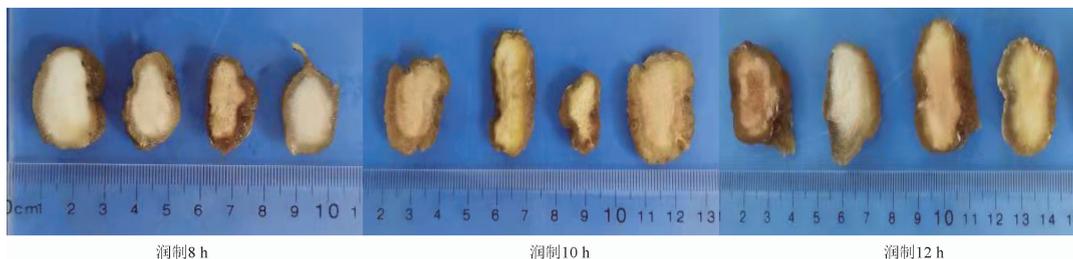


图1 不同润制时间断面情况

Fig. 1 Conditions of different soaking time periods

取8组黄精,固定润制时间,干燥温度,分别蒸4、8、12、16、20、24、28、32 h,观察颜色及口感变化,测定醇溶性浸出物及多糖含量,结果见表4。结果表明蒸制4、8 h 酒黄精表面为棕黄色,未达到《中国药典》

2020年版酒黄精项下性状标准,因此不纳入后续考察范围;浸出物的含量在蒸制20 h 时出现最高值,多糖含量逐渐降低,在16~24 h 较为稳定。综上,选择蒸制20 h 作为正交试验中蒸制时间的中心点。

表4 不同蒸制时间情况

Table 4 Conditions of different steaming time periods

蒸制时间/h	醇溶性浸出物/%	多糖/%	外观		
			表面颜色	质地	口感
4	-	-	黄	较脆	略有麻舌感
8	-	-	棕黄	较脆	微甜
12	86.31	5.43	棕褐	较柔软	微甜
16	86.98	4.24	棕褐	较柔软	微甜
20	88.46	4.26	黑褐	较柔软	微甜后略苦
24	86.14	4.26	黑褐	较柔软	微甜后略苦
28	84.44	4.04	黑	较柔软	略苦
32	81.94	3.87	黑	松软	略苦

取4组黄精,固定润制时间,蒸制时间,分别干燥50、60、70、80 °C,观察其质地,测定醇溶性浸出物及多糖含量,见表5。50 °C 干燥时间过长,因此不对该温度进行后续考察;浸出物在干燥温度为70 °C 时达到最高,多糖含量在60 °C 与70 °C 接近,其中70 °C 最高。因此,选择干燥70 °C 作为正交试验中干燥温度的中心点。

表5 不同干燥时间情况

Table 5 Conditions of different drying time periods

干燥温度 /°C	醇溶性浸出物/%	多糖 /%	质地
60	86.28	4.26	较柔软
70	87.16	4.34	较柔软
80	84.01	3.62	较硬

2.4.2 正交试验设计 通过对润制时间(A)、蒸制时间(B)、干燥温度(C)进行单因素考察,确定设计因素范围,采用 $L_9(3^4)$ 正交表设计试验。结合2.3项下层次分析法确定的权重,以外观性状、黄精多糖、醇浸出物、水浸出物隶属度综合评分为评价指标^[14]。正交试验结果见表6。

直观分析结果见表7,结果表明,以醇溶性浸出物、水溶性浸出物、多糖含量及综合评分为指标,最佳工艺为 $A_2B_2C_1$ 。方差分析结果见表8,结果表明,A、B、C 3个因素对4个指标无显著性影响,蒸制时间和干燥温度对综合评分有显著性影响($P < 0.05$),

表 6 酒黄精炮制工艺正交试验结果

Table 6 Orthogonal test results of processing technology of wine-processed Polygonati Rhizoma

No.	A	B	C	D	浸出物/%		多糖	外观性状			综合评分
	润制时间/h	蒸制时间/h	干燥温度/℃	空白	醇溶性	水溶性	/%	色泽	质地	口感	
1	8	16	60	1	86.32	87.90	4.65	2	3	2	80.82
2	8	20	70	2	84.75	85.82	4.70	3	2	3	75.85
3	8	24	80	3	83.28	85.19	4.07	2	1	2	11.59
4	10	16	70	2	88.16	88.49	4.48	2	1	2	70.52
5	10	20	80	3	86.33	86.24	4.51	3	3	2	66.97
6	10	24	60	1	85.01	85.32	4.53	2	3	3	61.68
7	12	16	80	3	84.72	85.05	4.43	2	1	3	48.12
8	12	20	60	1	88.51	89.50	4.49	3	3	3	82.76
9	12	24	70	2	81.79	82.59	4.36	3	3	1	27.76

各因素作用为蒸制时间>干燥温度>润制时间。 $A_2B_2C_1$,即润制时间 10 h,蒸制时间 20 h,干燥温度 60 ℃。
综合直观分析与方差分析,确定最佳工艺为

表 7 酒黄精炮制工艺正交试验直观分析

Table 7 Direct analysis of orthogonal test on processing technology of wine-processed Polygonati Rhizoma

考察指标		A	B	C	D
		润制时间/h	蒸制时间/h	干燥温度/℃	空白
外观性状	K_1	20.00	18.00	24.00	22.00
	K_2	21.00	25.00	20.00	22.00
	K_3	22.00	20.00	19.00	19.00
	R	2.00	7.00	5.00	3.00
醇溶性浸出物/%	K_1	254.36	259.20	259.83	254.44
	K_2	259.50	259.59	254.70	254.48
	K_3	255.02	250.08	254.34	259.95
	R	5.14	9.51	5.50	5.51
水溶性浸出物/%	K_1	258.91	261.45	262.72	256.73
	K_2	260.04	261.56	256.91	256.19
	K_3	257.15	253.09	256.47	263.18
	R	2.90	8.47	6.25	6.99
多糖/%	K_1	13.42	13.56	13.67	13.52
	K_2	13.52	13.69	13.53	13.66
	K_3	13.28	12.96	13.01	13.04
	R	0.24	0.73	0.66	0.62
综合评分	K_1	1.68	1.99	2.25	1.76
	K_2	1.99	2.26	1.74	1.86
	K_3	1.59	1.01	1.27	1.65
	R	0.41	1.25	0.99	0.21

注:指标隶属度=(指标值-指标最小值)/(指标最大值-指标最小值),综合评分=(外观隶属度×0.077+醇溶性浸出物隶属度×0.168+水溶性浸出物隶属度×0.238+多糖隶属度×0.517)×100。

2.5 最佳工艺验证

取黄精生品,每 100 kg 黄精加 20 kg 黄酒润制 10 h,隔水蒸制 20 h 后,切 2~4 mm 厚片,60 ℃ 烘干,以此工艺平行制备 3 份样品,3 个平行样的醇溶性浸出物分别为 88.20%、89.29%、88.53%,多糖质

量分数分别为 4.38%、4.50%、4.49%,RSD 均小于 3.0%,说明该工艺合理可行。

2.6 免疫药效评价研究

2.6.1 供试药物的制备 取黄精药材 100 g,除去多余的须根等杂质,加入 20 g 黄酒拌匀,密闭润制

表8 酒黄精炮制工艺正交试验方差分析

Table 8 Analysis of variance of orthogonal test on processing technology of wine-processed Polygonati Rhizoma

考察指标	方差来源	离差平方和	自由度	方差	F	显著性
外观性状	蒸制时间	8.67	2	4.33	6.50	-
	干燥温度	4.67	2	2.33	3.50	-
	误差	2.67	4	0.67		
醇溶性浸出物/%	蒸制时间	19.32	2	9.66	3.18	-
	误差	18.23	6	3.04		
水溶性浸出物/%	蒸制时间	15.72	2	7.86	2.92	-
	误差	16.14	6	2.69		
多糖/%	蒸制时间	0.10	2	0.051	2.53	-
	干燥温度	0.080	2	0.040	1.99	-
	误差	0.080	4	0.020		
综合评分	润制时间	0.030	2	0.015	4.15	-
	蒸制时间	0.29	2	0.14	39.93	*
	干燥温度	0.16	2	0.081	22.50	*
	误差	0.007 2	2	0.003 6		

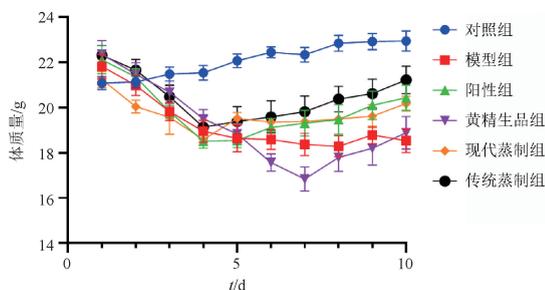
注: $F_{0.05}(2,6) = 5.14$; $F_{0.05}(2,4) = 6.94$, $F_{0.05}(2,2) = 19$; -. 不显著; *. 显著。

10 h, 隔水蒸制 4 h, 取出, 放入烘箱中 65 °C 烘至表皮微干, 重复以上步骤 9 次, 切厚片, 干燥, 即得传统蒸制酒黄精饮片^[15]。

取生黄精饮片, 加 10 倍量水浸泡 30 min 后煎煮提取 30 min, 纱布过滤, 滤渣加 6 倍量水煎煮提取 30 min, 纱布过滤, 合并 2 次提取液, 将其浓缩至生药浓度约为 600 g·L⁻¹, 制得生黄精饮片水煎液。同法制得现代蒸制与传统蒸制酒黄精饮片水煎液。

2.6.2 分组与给药 取 BALB/c 小鼠 60 只, 适应性喂养 1 周后, 随机分为对照组、模型组、阳性组、生品组、现代蒸制组、传统蒸制组, 每组 10 只, 除空白组外, 其余均采用 80 mg·kg⁻¹ 的环磷酰胺腹腔注射致小鼠免疫抑制模型^[16], 连续注射 3 d。造模完成后, 给药组小鼠每日按 6 g·kg⁻¹ 灌胃, 阳性组按 60 mg·kg⁻¹ 剂量以香菇多糖混悬液灌胃^[17], 空白组和模型组给予同体积生理盐水, 每日 1 次, 连续给药 7 d。

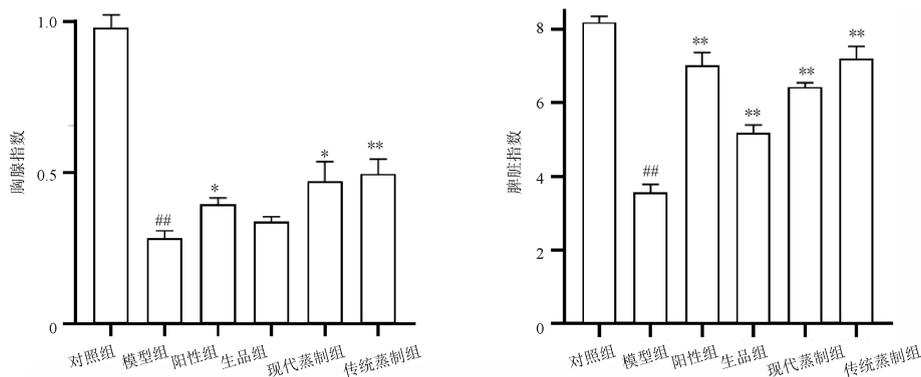
2.6.3 小鼠体质量及免疫脏器指数测定 从建立免疫抑制模型开始, 每天称量小鼠的体质量, 观察体质量变化情况。与对照组比较, 模型组小鼠的平均体质量下降 ($P < 0.01$), 提示模型建立成功; 与模型组比较, 黄精生品组小鼠平均体质量至第 7 天开始呈上升趋势, 无显著性差异; 现代蒸制与传统蒸制组小鼠的平均体质量显著上升 ($P < 0.01$); 现代蒸制与传统蒸制组体质量无显著性差异, 结果见图 2。

图2 小鼠体质量变化情况 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Fig. 2 Changes in body weight of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

摘取小鼠的胸腺和脾脏, 除尽血污后精准称重, 计算胸腺指数和脾脏指数, 脏器指数 = 脏器质量 (mg)/体质量 (g)。

与对照组比较, 模型组小鼠脾脏指数、胸腺指数显著降低 ($P < 0.01$), 表明造模成功。与模型组比较, 除黄精生品组外, 传统蒸制组胸腺指数升高极显著 ($P < 0.01$), 其余各给药组明显升高 ($P < 0.05$); 各给药组脾脏指数明显升高 ($P < 0.05$); 现代蒸制与传统蒸制组脏器免疫指数无显著性差异。结果表明黄精酒制后对免疫抑制模型小鼠脾脏及胸腺保护作用增强, 传统蒸制酒黄精的保护作用较好, 结果见图 3。

2.6.4 外周血红细胞、血白细胞计数 取眼眶血 20 μ L, 加入稀释液中吹打混匀, 并于 12 h 内用全血细胞分析仪完成白细胞 (WBC)、红细胞 (RBC) 计数。



与对照组比较[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型组相比^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ (图4同)。

图3 小鼠免疫脏器指数($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 3 Immune organ index of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

与对照组比较,模型组 WBC、RBC 均显著减少($P < 0.01$),与模型组比较,除生品组外,其余组均增高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与现代蒸制组比较,传统蒸制组 WBC 增高($P < 0.05$),RBC 显著增高($P < 0.01$),结果见表9。

2.6.5 ELISA 检测血清炎症因子水平 小鼠目内眦取血,3 500 $r \cdot \min^{-1}$ 低温离心 10 min,分离上层血清,取 50 μL 血清,按照 ELISA 试剂盒说明书分别测定血清 IL-2 和 IFN- γ 含量。

与对照组比较,模型组小鼠 IL-2、IFN- γ 表达水平显著降低($P < 0.01, 0.05$),与模型组比较,生品组 IL-2 表达水平无明显差异,其余组 IL-2、IFN- γ 表达水平明显增加($P < 0.05$);现代蒸制组与传统蒸制组相比,无显著性差异,结果见图4。

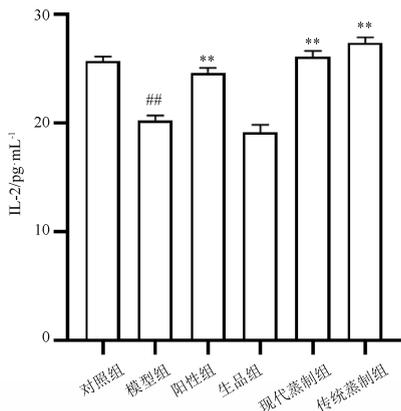


图4 血清炎症因子水平($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 4 Serum levels of inflammatory cytokines ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

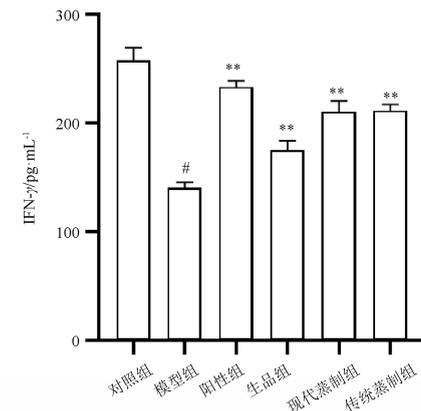


表9 小鼠外周血红细胞、白细胞计数($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 9 Red blood cell count (RBC) and white blood cell count (WBC) in peripheral blood of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	血白细胞数/ $\times 10^9$ 个/L	血红细胞数/ $\times 10^9$ 个/L
对照	7.85 \pm 0.18	9.60 \pm 0.29
模型	4.09 \pm 0.25 ²⁾	8.62 \pm 0.34 ²⁾
阳性	8.01 \pm 0.41 ⁴⁾	9.04 \pm 0.13 ⁴⁾
生品	6.62 \pm 0.30	8.26 \pm 0.44 ⁴⁾
现代蒸制	7.36 \pm 0.71 ¹⁾	9.20 \pm 0.57 ⁴⁾
传统蒸制	8.47 \pm 0.84 ^{3,5)}	10.24 \pm 0.25 ^{4,6)}

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组相比³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;传统与现代蒸制组比较⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

黄精为临床常用中药^[18],《中国药典》2020年

版刊载了酒黄精的炮制方法,但尚未明确相关工艺参数。因此,本研究以《中国药典》中的质量评价方法为指标,在单因素考察的基础上,采用正交试验并结合 AHP 和综合评分法对酒黄精炮制工艺进行优化。研究显示,最佳炮制工艺参数:加入黄酒闷润 10 h,隔水蒸 20 h,60 ℃干燥。

基于传统九蒸九晒与现代蒸制所得黄精饮片的品质比较未见系统研究,本实验以环磷酰胺为诱导剂建立免疫抑制小鼠模型,对黄精酒制前后以及现代与传统蒸制酒黄精的免疫调节作用进行比较分析。结果显示,黄精酒制后增强免疫作用显著,免疫抑制小鼠体质量、免疫脏器指数、WBC 及 RBC 数量、IL-2 和 IFN- γ 表达水平均增加;且通过现代与传统蒸制酒黄精比较,二者具有良好的等效性。现代蒸制酒黄精炮制工艺简单易控,为后续规模化生产提供了科学依据。

黄精中化学成分复杂,但目前炮制工艺研究指标仍集中在黄精多糖^[19]。黄精多糖被认为是黄精的主要药效成分,但炮制后总多糖含量下降,似乎与各研究中酒黄精炮制后补益作用增强的结果相悖,因此推测,黄精多糖含量下降是由于其炮制过程中改变了大分子多糖成分,水解成了易于煎出的低聚糖和单糖,可能更利于药效的发挥。因此后续研究可对黄精炮制前后多糖转化规律进行深入研究。同时,在免疫药理学实验中发现,给药生黄精组的小鼠状态不佳,甚至死亡,表明黄精生品有一定毒副作用,经酒制后毒副作用消除,是何种成分或者物质导致毒副作用仍有待研究。

综上,本研究确定了现代蒸制酒黄精的最佳炮制工艺,并论证了酒黄精显著增强小鼠免疫的作用,为深入研究酒黄精增强免疫的作用机制奠定了理论基础。同时,本研究将进一步探索黄精酒制前后以及现代与传统蒸制酒黄精的药效物质变化,深入挖掘其量效关系和作用机制,为拓宽现代蒸制酒黄精的合理应用提供重要依据。

[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,2020:319.
 [2] 陶弘景. 名医别录[M]. 尚志钧辑校. 北京:人民卫生出版社,1986:23.

[3] CHEN Z B, LIU J J, KONG X, et al. Characterization and immunological activities of polysaccharides from *Polygonatum sibiricum* [J]. Biol Pharm Bull, 2020, 43(6):959.
 [4] ZHAO X, PATIL S, QIAN A R, et al. Bioactive compounds of polygonatum sibiricum-therapeutic effect and biological activity[J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2022, 22(1):26.
 [5] 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.
 [6] 周扬华, 李晖, 李东宾, 等. 基于指纹图谱和多成分定量分析的多花黄精质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(21):5614.
 [7] SHU G, XU D, ZHAO J, et al. Protective effect of *Polygonatum sibiricum* polysaccharide on cyclophosphamide-induced immunosuppression in chickens[J]. Res Vet Sci, 2021, 135:96.
 [8] LIU B, TANG Y, SONG Z, et al. *Polygonatum sibiricum* F. Delarochae polysaccharide ameliorates HFD induced mouse obesity via regulation of lipid metabolism and inflammatory response[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(1):501.
 [9] ZHAO J, MA L, NI Z, et al. *In vitro* facilitating role of polygonatum sibiricum polysaccharide in osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells from patients with multiple myeloma[J]. Biotechnol Lett, 2021, 23.
 [10] 孟洗. 食疗本草[M]. 北京:人民卫生出版社,1984:2.
 [11] 祝宇, 余世荣, 张晓燕, 等. 层次分析联合 Box-Behnken 响应面法优选复方肉苁蓉合剂提取工艺[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(23):2852.
 [12] 欧则民, 王锦玉, 张冰冰, 等. 基于 AHP-CRITIC 优选茯苓舒痉颗粒的提取工艺[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(13):3481.
 [13] 温柔, 李潮, 严丽萍, 等. 基于多指标评价优选草珊瑚炮制工艺[J]. 中草药, 2019, 50(12):2868.
 [14] 冯果, 吴增光, 刘文, 等. 基于综合评分法的不同产地加工方法对天花粉药材质量的影响[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(3):601.
 [15] 李蒙恩, 马彦江, 姚超, 等. 基于九蒸九制黄精中 5-HMF 和多糖含量分析的黄精炮制品质量评价模型的建立[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(8):1897.
 [16] 李丹, 王文千, 李明亮, 等. 蜂王浆对免疫功能低下小鼠免疫功能的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(1):139.
 [17] 唐娅秋, 朱亚男, 王美菊, 等. 姬菇多糖对免疫低下型小鼠肝脏和肾脏抗氧化作用的影响[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2019, 42(4):85.
 [18] 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.
 [19] 刘露梅, 王能, 陈丹, 等. 基于黄精降血糖功效的酒黄精炮制工艺优选[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(8):1915.

[责任编辑 孔晶晶]