

玄参主要环烯醚萜苷热稳定性研究

龚友兰¹, 刘东亮¹, 邓长风², 龙奕文¹, 雷 洋¹, 陈 橙¹

(1. 湖南省中医药研究院, 湖南 长沙, 410006;

2. 中南大学湘雅二医院药学部, 湖南 长沙, 410008)

[摘要] 目的:研究玄参中各主要环烯醚萜苷在干燥过程和水浴加热过程中的稳定性。方法:将4等份玄参叶分别采用室温(20℃)干燥20d及40℃、60℃、80℃直接烘干,5等份玄参根冷浸液不同水浴温度(40℃、60℃、70℃、80℃、90℃)加热1h, HPLC法测定玄参中主要环烯醚萜苷桃叶珊瑚苷、哈帕苷、哈帕俄苷含量。结果:不同烘干温度下测得玄参叶中各环烯醚萜苷含量,以室温及40℃最低,60℃最高,但与80℃差异不明显;玄参根冷浸液不同水浴温度加热1h后,4种成分含量变化不显著。结论:玄参鲜药材干燥温度对其主要环烯醚萜苷含量影响很大,但提取过程中的温度对其影响不大。

[关键词] 玄参;环烯醚萜苷;热稳定性;实验研究

[中图分类号] R282.710.5 **[文献标识码]** A DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2019.12.046

Thermostability of the main iridoid glycosides in Radix Scrophulariae

GONG Youlan¹, LIU Dongliang¹, DENG Changfeng², LONG Yiwen¹, LEI Yang¹, CHEN Cheng¹

(1. Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China;

2. Department of Pharmacy, The Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the stability of the main iridoid glycosides in Radix Scrophulariae during drying and water-bath heating. Methods: Four equal portions of Radix Scrophulariae leaves were dried at room temperature (20℃) for 20 days, 40℃, 60℃, and 80℃, respectively, and five equal portions of cold extraction liquid of Radix Scrophulariae root were placed in water-bath with a temperature of 40℃, 60℃, 70℃, 80℃, and 90℃, respectively, for 1 hour. High-performance liquid chromatography was used to measure the content of the main iridoid glycosides in Radix Scrophulariae, i. e., aucubin, harpagide, and harpagoside. Results: Radix Scrophulariae leaves dried at room temperature and 40℃ had the lowest content of the iridoid glycosides, and those dried at 60℃ had the highest content, but with no significant difference from those dried at 80℃. There were no significant changes in the content of these four iridoid glycosides after the cold extraction liquid of Radix Scrophulariae root was placed in water-bath with different temperatures for 1 hour. Conclusion: Drying temperature for fresh Radix Scrophulariae has a great impact on the content of the main iridoid glycosides, while temperature during extraction has little influence.

[Key words] Radix Scrophulariae; iridoid glycoside; thermostability; experimental study

基金项目:湖南省自然科学基金项目(编号:14JJ7086)

第一作者:龚友兰,医学硕士,助理研究员,研究方向:中药新资源开发及中医药信息研究

- [7] 李东芳,樊江丽,王云启,等.胃复方干预治疗脾虚瘀毒型中晚期胃癌临床研究[J].中国中医药信息杂志,2015,22(3):20-24.
- [8] 樊江丽,李东芳,焦蕉,等.胃复方联合化疗对中晚期脾虚瘀毒型胃癌患者生活质量的影响[J].中医杂志,2015,56(2):120-123.
- [9] 王北婴,李仪奎.中药新药研制开发技术与方法[M].上海:上海科学技术出版社,2001:995.
- [10] 魏刚.标准汤剂论[J].中国中医药信息杂志,1998,5(4):6-8.
- [11] 崔明超,欧阳强,潘金火.鸦胆子油亚纳米乳注射液的急性毒性及长期毒性实验[J].中国药师,2014,1(2):305-307.
- [12] 陈晓军,李燕婧,谭建宁.复方龙胆胶囊急性毒性实验研究[J].中国药师,2014,17(8):1414-1415.
- [13] 史传道,张荣强,张志刚,等.抗疏健骨颗粒急性毒性实验研究[J].实用中医药杂志,2016,32(6):521-522.
- [14] 赵岩,妙志岩,邵玉钢,等.人参茸芝胶囊的急性毒性实验研究[J].食品安全质量检测学报,2015,25(2):614-618.
- [15] 胡亚,李东芳.胃复方含药血浆对胃癌SGC-7901细胞株增殖及PPAR γ 基因活性的影响[J].中国中西医结合消化杂志,2016,24(3):178-181.
- [16] 国家药品监督管理局.中药新药研究的技术要求[S].1999:16.
- [17] 谢秀琼.中药新制剂开发与应用[M].2版.北京:人民卫生出版社,1994:830. (收稿日期:2019-04-09)

环烯醚萜苷类成分广泛存在于自然界中,尤以玄参科、唇形科、龙胆科、茜草科植物中分布最广。玄参为玄参科常用中药,主要含有桃叶珊瑚苷、哈帕俄苷、哈帕苷,且玄参在加工处理过程中常常会变黑,被认为是环烯醚萜苷类成分的苷键水解断裂,所得苷元进一步氧化聚合所致。为认识玄参药材中环烯醚萜苷类成分与加热温度、加热方式之间的关系,笔者采用玄参鲜叶不同温度直接烘干及玄参干燥根冷浸液不同温度水浴加热,观察温度及加热方式对玄参环烯醚萜苷类成分含量的影响,为确立该药材加工工艺提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 日本岛津 2010AHT 型高效液相色谱仪系列(四元泵,自动进样器,双通道紫外检测器,LCsolution 色谱工作站);HS3120 超声仪(天津市恒奥科技发展有限公司);S21-6 型电热恒温水浴锅(北京长源实验设备厂);101A-2 型干燥箱(上海理光仪器厂);赛多利斯天平。

1.2 试剂与药品 对照品溶液:哈帕俄苷(供含量测定用,纯度≥98%,批号:111730-200804,中国药品生物制品检定所);桃叶珊瑚苷(供含量测定用,纯度≥98%,批号:111761-200801,中国药品生物制品检定所);哈帕苷(供含量测定用,纯度≥98%,批号:111729-200802,中国药品生物制品检定所);肉桂酸(分析纯,纯度≥99.5%,每瓶 50g,批号:F20080328,国药集团化学试剂有限公司)。试剂:甲醇、乙腈(色谱纯,美国天地),其他试剂均为分析纯。药材:玄参鲜叶(2008 年 7 月 6 日采于湖南娄底),不同温度干燥;玄参鲜根(2008 年 9 月 2 日采于湖南娄底),60℃干燥,打粗粉备用。

2 方 法

2.1 色谱条件 依利特 Hypersil-BDS 色谱柱(4.6mm×200mm,5μm),流动相 A 为乙腈,B 为 0.05% H₃PO₄ 水溶液,梯度洗脱(0~7min,98.4%B;7~11min,98.4%B~96%B;11~18min,96%B;18~29min,96%B~78.4%B;29~60min,78.4%B),流速为 0.8ml/min,检测波长 210nm、278nm,柱温 35℃。

2.2 玄参叶在受热干燥后 4 种成分的测定 玄参鲜叶采回后,分成 4 份,分别经室温(20℃)干燥 20d、40℃、60℃、80℃直接烘干。粉碎,过 30 目筛,分别取 0.6g,精密称定,置于 250ml 具塞锥形瓶中,精密加入 30%的甲醇溶液 50.00ml,称定重量,摇匀,浸泡 1h 后超声处理 30min,放冷,称定重量,用 30%的甲醇溶液补足重量,摇匀,微孔滤膜(0.45μm)过滤,取续滤液 5μl 进样分析,计算含量。

2.3 玄参 70% 乙醇冷浸液水浴加热后 4 种成分的测定 取玄参根粗粉 40g,加入 320ml 70%乙醇,室温(20℃)浸泡 72h,每隔 2h 用力振摇 1 次,过滤,滤液定容至 250ml。精密吸取此滤液 10ml 置具塞离心管中,称定重量,分别室温静置

1h,40℃、60℃、70℃、80℃、90℃水浴加热 1h 后,冷却至室温,称重,补足失重。精密吸取处理后的滤液 5ml 置于 50ml 量瓶中,0.05% H₃PO₄ 水溶液稀释至刻度,微孔滤膜(0.45μm)过滤,取续滤液 10μl 进样,记录峰面积。

3 结 果

3.1 玄参叶在受热干燥后 4 种成分的含量变化 不同烘干温度下测得玄参叶中各环烯醚萜苷含量,以室温干燥及 40℃最低,60℃最高,但与 80℃差异不明显。(见表 1、图 1)

表 1 不同烘干温度下玄参叶中 4 种成分含量的变化(%)

烘干温度(℃)	桃叶珊瑚苷	哈帕苷	哈帕俄苷	肉桂酸	总环烯醚萜苷	烘干时间(h)
20	0.93	0.72	0.53	0.0043	2.18	480
40	0.14	0.60	1.13	0.0808	1.95	24
60	3.16	0.80	1.59	0.0242	5.57	10
80	2.80	0.65	1.57	0.0248	5.04	5

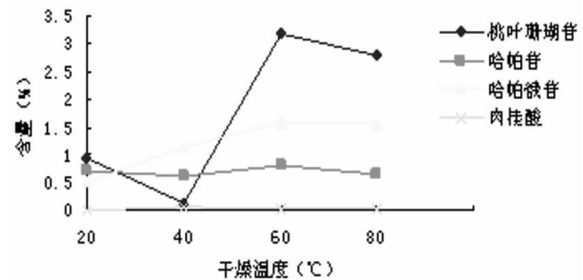


图 1 不同烘干温度对玄参鲜叶中 4 种成分的影响

3.2 玄参 70% 乙醇冷浸液水浴加热后 4 种成分的含量变化 玄参根冷浸液水浴加热 1h 后,4 种成分峰面积变化不明显。(见表 2、图 2)

表 2 不同水浴温度对玄参根 70% 乙醇冷浸液 4 种成分峰面积(mV)的影响

水浴温度(℃)	桃叶珊瑚苷	哈帕苷	哈帕俄苷	肉桂酸
20	225350	312987	479327	63989
40	229656	317614	483532	55591
60	228460	323925	494043	62072
70	233484	328131	500350	65723
80	237311	328552	504555	62072
90	235637	331497	505606	62985

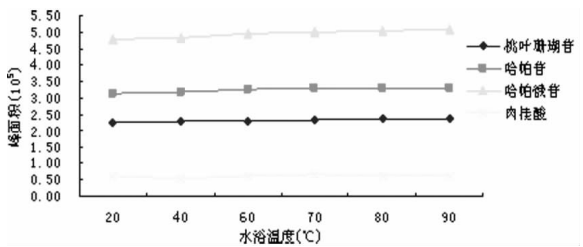


图 2 不同水浴温度对玄参根 70% 乙醇冷浸液 4 种成分峰面积的影响

4 讨 论

从上述结果中可知,玄参地上部分玄参叶是玄参活性成分环烯醚萜苷的重要来源,2008年7月6日采收的玄参鲜叶,60℃干燥,总环烯醚萜苷的含量可达5.57%,远高于玄参饮片中的总环烯醚萜苷含量0.324%~1.449%^[1]。为充分利用玄参资源和扩大用药部位,增加桃叶珊瑚苷、哈帕俄苷、哈帕俄苷等环烯醚萜苷的来源,寻找玄参新的药用价值,可以考虑对玄参叶化学成分和生物活性做进一步研究。

新鲜玄参叶中的环烯醚萜苷,室温阴干和40℃时,分解酶活性较大,在其作用下,桃叶珊瑚苷、哈帕俄苷不断的被分解,同时药材很快变黑。干燥温度达60℃、80℃,酶活性被破坏,酶促反应被抑制。在分解酶的作用下,40℃和60℃干燥药材中桃叶珊瑚苷含量相差22倍,室温阴干和60℃干燥药材中哈帕俄苷含量相差3倍。哈帕俄苷受酶影响相对较小,可能与其立体结构有关。但过高的温度,也会使一些成分被破坏。桃叶珊瑚苷在杜仲叶中亦如此,孙桂梅等^[2]报道,新鲜杜仲叶于沸水中浸泡5min,再于60℃烘干,桃叶珊瑚苷显著高于其他处理方式。

参考《中国药典》(2010版)^[3]规定玄参的炮制方法:去残留根茎及杂质,洗净润透,切薄片,干燥,或微泡,蒸透,稍凉,切薄片,干燥。玄参饮片桃叶珊瑚苷、哈帕俄苷含量均较低。说明传统方法炮制玄参(未杀酶)会大大降低活性成分环烯醚萜苷的含量,有待改进,建议新鲜玄参采收后立即60℃烘干或高温杀酶,避免活性成分的降解。

玄参干燥根冷浸提取液中,因酶已失活,因此不同温度水浴加热1h后,4种成分的变化不大,提示玄参在乙醇加热回流提取过程中90℃以下稳定性良好。李会伟等^[4]、王静哲等^[5]也仅针对玄参不同干燥方法对环烯醚萜苷成分变化

进行了研究。桃叶珊瑚苷具有保肝、利胆的活性,广泛存在于我国特有的名贵中药材杜仲皮和叶中,因此杜仲中桃叶珊瑚苷提取工艺研究较为深入,不同研究所得到的最佳提取温度也不一样,从50℃以下低温^[6]、65℃^[7]、70℃^[8]、80℃^[9]不等,这可能与所采用的提取原料,检测手段不一样有关。目前针对玄参鲜叶立即干燥与玄参根提取液水浴加热不同温度对玄参环烯醚萜苷含量的影响,暂未见文献报道。

参考文献

- [1] 龚友兰,向大雄,邓长风,等. HPLC-UV 双波长法同时测定玄参中5种主要成分的含量[J]. 中南药学,2008,16(6): 660-663.
- [2] 孙桂梅,孙文基. 杜仲在受热干燥中3种成分的含量变化[J]. 药物分析杂志,2006,26(12):1791-1793.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2010年版一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:108-109.
- [4] 李会伟,刘培,钱大玮,等. 不同干燥方法及其影响因子对玄参药材初加工过程品质形成的影响[J]. 中国中药杂志,2015,40(22):4417-4423.
- [5] 王静哲,刘震,马立满,等. 基于UPLC-Q-TOFMS分析加工炮制对玄参化学成分的影响[J]. 质谱学报,2016,37(1):1-9.
- [6] 杨小梅,尚平平,侯西凤,等. 桃叶珊瑚苷的稳定性初步考察[J]. 药物分析杂志,2003,23(3):167-169.
- [7] 陈小青,贺前锋,曹慧,等. 杜仲皮中桃叶珊瑚苷的提取及纯化[J]. 中南大学学报:自然科学版,2005,36(1):60-64.
- [8] 刘军海,裴爱勇. 杜仲叶中桃叶珊瑚苷提取工艺研究[J]. 中成药,2007,29(2):266-268.
- [9] 彭密军,周春山,钟世安,等. 杜仲中桃叶珊瑚苷的提取工艺研究[J]. 林业化学与工业,2003,23(3):65-68.

(收稿日期:2019-08-27)

和解退热法

发热证中有忽寒忽热,一天内可以数次发作,称为“寒热往来”。系外邪由表传里,界于半表半里的少阳经,故《伤寒论》称为“少阳病”,同时伴见胸胁痞满、心烦呕恶、口苦咽干、目眩耳聋等症。所谓和解,是和其里而解其表,和其里使不邪再内犯,解其表使邪仍从外出,含有安内攘外的意义,目的还在祛邪。所以小柴胡汤用柴胡、黄芩清热透邪,又用人参、甘草和中,佐以半夏、姜、枣止呕而和营卫。此法不仅可用于外感发热,内伤杂证出现不规则的寒热往来也能用来加减治疗。

和解退热法主要用于外感内伤错杂的证候,用调和的方法来解除外邪。比如藿香正气散治外感风寒,内伤湿食,呈现寒热、头痛、呕恶、胸膈满闷等症,用藿香疏散和中,兼治表里为主药,苏、芷、桔梗散寒利膈,帮助发表,朴、夏、陈、腹化湿行气,帮助疏里,再用苓、术、甘草补益正气。柴胡也是和解退热的代表药,柴胡为伞形科多年生草本植物,药用其根或全草。性味苦、辛,入肝、胆经。功能:和解退热、舒肝解郁、升举阳气,临床应用广泛,由于其味辛性平,能够升发疏散,枢转少阳之机,祛邪外出,故能和解退热。综上所述,凡是具有安内之力及攘外之能的,都属于和解的范围;至于调和肝脾、调和肠胃,虽亦不离和法,但作用不同。

《秦伯未临证经验集萃》(http://paper.cntcm.com.cn/html/content/2019-11/27/content_620330.htm)