

微波干燥对鲜地黄中地黄苷 A, D 和益母草苷含量的影响

吴若男, 张振凌*, 刘艳, 于文娜
(河南中医药大学, 郑州 450003)

[摘要] **目的:**比较不同微波干燥方法对鲜地黄中地黄苷 A, D 和益母草苷含量的影响,为地黄产地加工与炮制一体化工艺研究提供参考。**方法:**采用 HPLC 测定地黄苷 A, D 和益母草苷含量, Aichrombond-AQ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(5:95), 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 30 ℃, 检测波长 203 nm, 进样量 10 μL。以冷冻干燥法为参考, 考察微波干燥对鲜地黄中指标成分含量的影响。**结果:**地黄苷 A 以 5 kW 微波切 3~4 mm 片时含量为最高(0.249 mg·g⁻¹), 地黄苷 D 及益母草苷以 3 kW 微波切 1~2 mm 片时含量为最高, 分别为 3.461, 6.857 mg·g⁻¹。**结论:**微波干燥对益母草苷的含量影响最大, 对地黄苷 D 的影响最小; 以微波干燥方法来制备鲜地黄饮片具有一定的可行性, 对该药材产地加工与炮制一体化有一定参考意义。

[关键词] 鲜地黄; 微波干燥; 高效液相色谱法; 地黄苷 A; 地黄苷 D; 益母草苷

[中图分类号] R283.6; R284.1; R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)08-0028-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016080028

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160311.1037.010.html>

[网络出版时间] 2016-03-11 10:37

Effect of Microwave Drying Methods on Contents of Rehmaionoside A, Rehmaionoside D and Leonuride in Fresh Rehmanniae Radix

WU Ruo-nan, ZHANG Zhen-ling*, LIU Yan, YU Wen-na

(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450003, China)

[Abstract] **Objective:** To measure effect exerted by differing microwave drying methods on rehmaionoside A, rehmaionoside D and leonuride in fresh Rehmanniae Radix. **Method:** Contents of rehmaionoside A, rehmaionoside D and leonuride were determined by HPLC, Aichrombond-AQ C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), a mobile phase of acetonitrile-water (5:95) was used, flow rate was 1 mL·min⁻¹, column temperature was set at 30 ℃, a UV detector was applied with wavelength of 203 nm. Taken freeze drying as a reference, influence of microwave drying on contents of index components in fresh Rehmanniae Radix was investigated. **Result:** Contents of rehmaionoside A was the highest, which was reached by 5 kW microwave to cut fresh Rehmanniae Radix into slices with thickness of 3-4 mm (0.249 mg·g⁻¹); maximum contents of rehmaionoside D and leonuride were 3.461, 6.857 mg·g⁻¹, respectively, which were reached by 3 kW microwave to cut fresh Rehmanniae Radix into slices with thickness of 1-2 mm. **Conclusion:** Microwave drying method has the biggest effect on the content of leonuride and the smallest effect on contents of rehmaionoside D. Adopting microwave drying method in process of preparing fresh Rehmanniae Radix slices is plausible, which provides technology of concocted processing integration of Radix Rehmanniae with some room for thinking.

[Key words] fresh Rehmanniae Radix; microwave drying; HPLC; rehmaionoside A; rehmaionoside D; leonuride

[收稿日期] 20150810(015)

[基金项目] 国家中医药行业科研专项(201507002)

[第一作者] 吴若男, 在读硕士, 从事中药饮片及新药研究, Tel:18530839112, E-mail:453672546@qq.com

[通讯作者] *张振凌, 教授, 博士生导师, 从事中药饮片及新药研究, Tel:0371-65680970, E-mail:zhangz6758@163.com

地黄为常用中药材,是传统的四大怀药之一^[1],始载于《神农本草经》^[2],列为上品,通常以 3 种规格(鲜地黄、生地黄和熟地黄)入药。虽然地黄的应用由来已久,但鲜地黄的应用因其难以保存、容易腐坏等原因一直无法得到长久的应用。药理研究表明鲜地黄在消炎抗菌、止血及免疫作用等方面优于干地黄。但鲜地黄富含汁液,极易腐烂,不便储运,临床难以广泛应用,故非常有必要采用现代技术制备鲜地黄的保鲜加工品^[3]。李军等^[4]曾用薯类保鲜剂处理后再进行贮藏,为鲜地黄的保鲜贮藏提供了一种简便易行的方法,近年来一些新的技术如冷冻、微波等方法用于鲜地黄的保鲜也越来越多。本实验运用微波干燥技术^[5-6]对鲜地黄进行干燥,并以一批冷冻干燥鲜地黄饮片为参考,考察微波干燥对鲜地黄中地黄苷 A、D 和益母草苷含量的影响,以分析微波干燥手段制备鲜地黄饮片方法的可行性。

1 材料

FW-200 型高速万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司),e2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),HWZ 型微波干燥机(天水华圆制药设备科技有限责任公司),ZD-F/2 型真空冷冻干燥机(南京载智自动化设备有限公司)。鲜地黄药材购自河南省温县宛西地黄种植基地,经河南中医药大学药学科董诚明教授鉴定为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* 的新鲜块根;地黄苷 A 和地黄苷 D 对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 Z17A6S1, Y19J6F1),益母草苷对照品(四川维克奇生物科技有限公司,批号 140213),乙腈为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 鲜地黄饮片的制备 取地黄新鲜块根 1.4 kg,平均分为 7 份,制备 1 批冷冻干燥饮片,并以不同的微波干燥功率、不同的切片厚度制备 6 批微波干燥鲜地黄饮片,样品干燥程度均以水分不超过 10% 为度。具体方法见表 1。

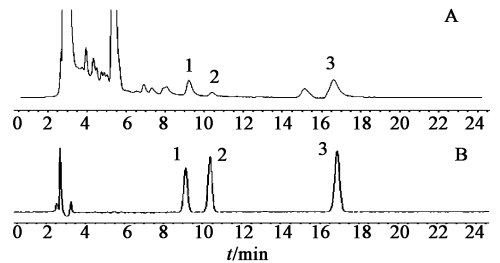
2.2 色谱条件 Aichrombond-AQ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(5:95),流速 1 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,检测波长 203 nm,进样量 10 μL。见图 1。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取地黄苷 A、D 和益母草苷对照品 6.03, 7.51, 7.92 mg, 分别置于 5 mL 量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,各取 1 mL 依次定容至 50, 10, 10 mL 量瓶中,得质量浓度分

表 1 鲜地黄饮片的制备条件

Table 1 Preparation conditions of fresh *Rehmanniae Radix* decoction pieces

| No. | 功率/kW | 切片厚度/mm | 干燥方式 |
|-----|-------|---------|------|
| 1 | 3 | 1~2 | 微波 |
| 2 | 3 | 3~4 | 微波 |
| 3 | 4 | 1~2 | 微波 |
| 4 | 4 | 3~4 | 微波 |
| 5 | 5 | 1~2 | 微波 |
| 6 | 5 | 3~4 | 微波 |
| 7 | - | - | 冷冻 |



A. 供试品; B. 对照品; 1. 地黄苷 D; 2. 地黄苷 A; 3. 益母草苷

图 1 鲜地黄 HPLC

Fig. 1 HPLC of fresh *Rehmanniae Radix*

别为 24.12, 150.20, 158.40 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备 取鲜地黄饮片,磨成粗粉,取粉末约 1.0 g,精密称定,置于 250 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 60% 甲醇水溶液 100 mL,轻轻振荡使鲜地黄粉末与溶剂充分接触并混匀,称定质量,超声提取(40 kHz, 500 W)40 min,取出冷却至室温,称定质量,加 60% 甲醇补足失重,过滤,弃去初滤液,精密量取续滤液 10 mL 置于蒸发皿中,50 °C 水浴浓缩至近干,加流动相溶解并稀释至 10 mL 量瓶中,即得。置于冰箱中冷藏备用,临用前用 0.22 μm 微孔滤膜过滤。

2.5 线性关系考察 分别精密吸取地黄苷 A、D 及益母草苷对照品溶液 1, 2, 5, 10, 15, 20 μL, 按 2.2 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得线性回归方程分别为 $Y = 1.2 \times 10^6 X - 12\ 056$ ($R^2 = 1.000$), $Y = 5.2 \times 10^5 X - 34\ 750$ ($R^2 = 0.999\ 9$), $Y = 4.1 \times 10^5 X - 31\ 177$ ($R^2 = 1.000$), 线性范围依次为 0.024 ~ 0.48, 0.15 ~ 3.00, 0.158 ~ 3.160 μg。

2.6 精密度试验 取微波-1 供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件连续进样 6 次,计算地黄苷 A、D 和益母草苷峰面积积分值的 RSD 分别为 0.8%, 0.2%, 1.5%。说明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验 取微波-1 供试品溶液,分别在 0,2,4,8,16,24 h 按 2.2 项下色谱条件进样,结果地黄苷 A,D 和益母草苷峰面积积分值的 RSD 分别为 2.8%,2.3%,2.7%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.8 重复性试验 取微波-1 鲜地黄样品,按 2.4 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件测定,结果地黄苷 A,D 和益母草苷峰面积积分

值的 RSD 分别为 1.6%,0.9%,2.7%。说明该方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验 取微波-1 鲜地黄 6 份,每份约 1.0 g,分别精密加入地黄苷 A(0.218 g·L⁻¹),地黄苷 D(3.496 g·L⁻¹)及益母草苷对照品溶液(6.853 g·L⁻¹)各 1 mL,按 2.4 项下方法制备供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件测定,结果见表 2,说明回收率良好,该方法准确可靠。

表 2 鲜地黄中地黄苷 A,D 和益母草苷的加样回收率试验

Table 2 Recovery tests of rehmaionoside A, rehmaionoside D and leonuride in fresh *Rehmanniae Radix*

| 成分 | 称样量/g | 样品中量/mg | 加入量/mg | 测得量/mg | 回收率/% | 平均值/% | RSD/% |
|-------|---------|---------|--------|--------|--------|-------|-------|
| 地黄苷 A | 1.000 4 | 0.219 | 0.218 | 0.427 | 95.41 | 96.71 | 1.2 |
| | 1.000 5 | 0.222 | 0.218 | 0.431 | 95.87 | | |
| | 1.000 3 | 0.220 | 0.218 | 0.430 | 96.33 | | |
| | 1.000 2 | 0.217 | 0.218 | 0.428 | 96.79 | | |
| | 1.000 3 | 0.213 | 0.218 | 0.428 | 98.62 | | |
| | 1.000 4 | 0.221 | 0.218 | 0.433 | 97.25 | | |
| 地黄苷 D | 1.000 4 | 3.475 | 3.469 | 6.934 | 99.71 | 99.11 | 0.8 |
| | 1.000 5 | 3.484 | 3.469 | 6.923 | 99.14 | | |
| | 1.000 3 | 3.473 | 3.469 | 6.882 | 98.27 | | |
| | 1.000 2 | 3.470 | 3.469 | 6.895 | 98.73 | | |
| | 1.000 3 | 3.479 | 3.469 | 6.897 | 98.53 | | |
| | 1.000 4 | 3.470 | 3.469 | 6.949 | 100.29 | | |
| 益母草苷 | 1.000 4 | 6.856 | 6.853 | 13.698 | 99.84 | 99.23 | 0.9 |
| | 1.000 5 | 6.863 | 6.853 | 13.701 | 99.78 | | |
| | 1.000 3 | 6.860 | 6.853 | 13.691 | 99.68 | | |
| | 1.000 2 | 6.853 | 6.853 | 13.583 | 98.21 | | |
| | 1.000 3 | 6.855 | 6.853 | 13.575 | 98.06 | | |
| | 1.000 4 | 6.860 | 6.853 | 13.699 | 99.80 | | |

2.10 样品测定 按 2.4 项下方法制备同一批次不同微波干燥方法及鲜地黄的供试品溶液,每个样品测定 3 次,取峰面积的平均值,根据水分测定结果换算为干燥品中地黄苷 A,D 和益母草苷的含量,见表 3。结果显示地黄苷 A 的含量以微波-6 号样品为最高,地黄苷 D 和益母草苷的含量均以微波-1 号样品为最高。微波干燥对各成分含量的影响顺序为益母草苷 > 地黄苷 A > 地黄苷 D,即地黄苷 D 在微波干燥条件下含量比较稳定。

3 讨论

现代科学研究证明地黄主要化学成分为糖类、环烯醚萜苷类、倍半萜类和苯乙醇苷类,具有降血糖、神经保护等生物活性^[7],地黄苷等环烯醚萜苷类成分研究较多,具有较好的免疫活性,对骨髓造血

表 3 地黄样品中地黄苷 A,D 和益母草苷的含量测定 (n=3)

Table 3 Contents of rehmaionoside A, rehmaionoside D and leonuride in *Rehmanniae Radix* (n=3) mg·g⁻¹

| 样品 | 地黄苷 A | 地黄苷 D | 益母草苷 |
|--------|-------|-------|-------|
| 微-1 号 | 0.228 | 3.461 | 6.857 |
| 微-2 号 | 0.193 | 3.190 | 6.584 |
| 微-3 号 | 0.246 | 3.359 | 5.982 |
| 微-4 号 | 0.196 | 3.266 | 4.758 |
| 微-5 号 | 0.225 | 3.445 | 4.937 |
| 微-6 号 | 0.249 | 3.408 | 5.888 |
| 冷冻-7 号 | 0.153 | 3.334 | 5.328 |

功能和外周血细胞增殖具有促进作用,增强免疫功能^[8]。为尽可能地减小原药材之间的差异,本

文所用的鲜地黄饮片均为同一批次的鲜地黄自制所得。因鲜地黄不宜保存,故用低温冷冻干燥的鲜地黄饮片为参考来分析不同方法微波干燥鲜地黄饮片地黄苷 A、D 和益母草苷含量的变化,结果发现微波干燥对鲜地黄中环烯醚萜苷类成分的影响较小,对探索微波干燥制备鲜地黄饮片有一定积极意义。冷冻干燥鲜地黄饮片地黄苷 A 与益母草苷含量相较微波干燥均略低,考虑微波干燥比冷冻干燥更能保证鲜地黄样品地黄苷类成分的含量。

本文运用 HPLC 同时测定地黄苷 A、D 和益母草苷的含量,在参考文献[9-10]的基础上,对流动相比例进行了调整,最终确立采用乙腈-水(5:95);在供试品溶液的制备方法上,比较了水和不同体积分数甲醇(20%、40%、60%、80%、100%)等溶剂,提取方法考察了回流法和超声法,最终选择 60% 甲醇超声提取 40 min。本文采用单一对照品溶液的色谱峰比对共同测定的色谱峰位置后,采用混合对照品溶液进行整体对照,方法学考察时则未采用混合对照品溶液,可能会对 3 种指标成分含量的共同测定造成了一定误差,但由于本文旨在比较微波干燥对 3 种成分的影响,在之后制定标准时,有效成分的确定上仍需单独测定。

微波干燥作为一种新的干燥技术被应用到中药材的干燥过程中,大大提高了中药材干燥的效率、缩短周期、可控制性更强,对于解决中药材干燥问题具有非常大的促进作用^[11]。微波真空干燥技术有其独特的开发应用前景,可解决许多行业的干燥难题,也有利于新产品的研制开发。通过本文研究发现,采用微波干燥法制备鲜地黄饮片时地黄苷 D 含量较稳定,地黄苷 D 及益母草苷的含量均在 3 kW 微波时含量最高,微波干燥时使用的功率不同相比

切片厚度对地黄中有效成分的含量变化有较大影响,该方法可为控制鲜地黄饮片指标性成分的含量提供依据,对鲜地黄产地加工和炮制一体化有一定的参考意义。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:115-117.
- [2] 黄奭. 神农本草经[M]. 北京:中国古籍出版社,1982:35.
- [3] 贾秀梅,张振凌,吴瑞环. 鲜地黄及保鲜加工品对血热出血模型大鼠凉血止血药效比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(6):127-132.
- [4] 李军,王正益,张振凌. 鲜地黄保鲜贮藏新法[J]. 中药材,1994,17(3):49.
- [5] 常虹,李远志,刘清化,等. 微波真空干燥技术及其在农产品加工中的应用[J]. 农业工程技术,2007(7):52-54.
- [6] 祝圣远,王国恒. 微波干燥原理及其应用[J]. 工业炉,2003,25(3):42-45.
- [7] 刘彦飞,梁东,罗恒,等. 地黄的化学成分研究[J]. 中草药,2014,45(1):16-22.
- [8] 于震,王军,李更生. 地黄苷 A 对环磷酰胺致小鼠白细胞减少症的影响[J]. 中草药,2001,32(11):1002-1004.
- [9] 刘炯,张杰,张华锋,等. HPLC 测定不同品种怀地黄地黄苷 A、D 的含量[J]. 药物分析杂志,2014,34(2):335-339.
- [10] 李更生,刘明,王慧森,等. 地黄药材炮制过程中环烯醚萜苷类成分动态变化的研究[J]. 中国中医药科技,2008,15(6):440-442.
- [11] 熊耀坤,李斐,刘志勇,等. 中药材干燥研究现状及基础理论探讨[J]. 江西中医药,2015,46(2):56-60.

[责任编辑 刘德文]