

龙胆掩味前后指纹图谱变化

李学林¹, 仇继玺², 刘瑞新^{1*}, 张杏芬², 李慧玲², 施钧瀚¹

(1. 河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000; 2. 河南中医学院, 郑州 450008)

[摘要] **目的:**建立龙胆药材掩味前后的指纹图谱,比较其掩味前后的变化,总结苦味抑制剂对龙胆的掩味规律。**方法:**采用三氯蔗糖(SL)、单磷酸腺苷(AMP)、阿魏酸钠(SF)3种苦味抑制剂单独或联合应用对龙胆水煎液掩味,并用高效液相色谱法采集掩味前后各样品液的指纹图谱。**结果:**各平行色谱峰相对保留时间没有显著差异,最大差异仅为2.2%;含AMP组的指纹图谱个别峰的相对峰面积差异较大,最高达93.7%,但龙胆苦苷相对峰面积差异均在4.8%以下,而不含AMP组的指纹图谱中仅1和11号峰变化较大,最大变化达19.0%,16.4%,其他各峰相对峰面积差异均在10%以下。**结论:**SL、SF对龙胆的成分没有太大的影响,不会影响到龙胆的药物疗效,而AMP对龙胆部分成分有不同程度的影响,但是否影响到龙胆的药效有待进一步的研究。

[关键词] 龙胆; 掩味; 指纹图谱; 苦味抑制剂; 高效液相色谱法; 龙胆苦苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0104-03

[doi] 10.11653/syjf2013170104

Changes of Fingerprints of Radix Gentianae before and after Taste Masking

LI Xue-lin¹, QIU Ji-xi², LIU Rui-xin^{1*}, ZHANG Xing-fen², LI Hui-ling², SHI Jun-han¹

(1. First Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China;
2. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the HPLC fingerprint of Radix Gentianae before and after taste masking, compare the changes and summary the taste masking regular pattern. **Method:** Sucralose (SL), adenosine monophosphate (AMP) and sodium ferulate (SF) alone or in combination to masking the taste of Radix Gentianae were used, and the fingerprints of every sample were collected before and after taste masking use HPLC. **Result:** In the relative retention time there was no significant difference between every parallel peak, the maximum difference was just 2.2%; In the relative peak area, some peaks were quite different which contain AMP, the highest one reached to 93.7%, but the relative peak area of gentiopicroside was just under 4.8%, only 1 and 11 peaks in the fingerprints without AMP group had larger changes, the maximum changes reached to 21.4% and 16.4%, the relative peak area of each peak difference was in 10%. **Conclusion:** Sucralose and sodium ferulate have no impact on the elements and efficacy of Radix Gentianae; AMP has some impact on some elements of Radix Gentianae, but there is needed to do some further research whether AMP will impact the efficacy of Radix Gentianae.

[Key words] Radix Gentianae; taste masking; fingerprint; bitterness suppressants; HPLC; gentiopicroside

中药汤剂给人的第一感觉往往是“苦”,难以下咽,然而大部分临床常用中药都有或重或轻的苦味。

中药的苦已经成为制约其使用的一个瓶颈。数年来针对中药汤剂掩味的研究已屡见报道^[1-2],而采用

[收稿日期] 20130116(009)

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81001646)

[第一作者] 李学林,硕士生导师,主任药师,从事中药应用形式研究,Tel:0371-66245142,E-mail:lixuelin450000@163.com

[通讯作者] *刘瑞新,博士,副主任药师,从事中药制剂及分析研究,Tel:0371-66233639,E-mail:liuruixin7@yahoo.com.cn

苦味抑制剂^[3]进行掩味是此方面研究的一个重要的方向。本课题组前期曾以苦味中药为载体,对现有的部分苦味抑制剂进行了基于口尝和电子舌方法的掩味效果评价,发现其中三氯蔗糖(SL)、单磷酸腺苷(AMP)、阿魏酸钠(SF)具有较好的掩味效果,而且另有文献报道三氯蔗糖^[4]、单磷酸腺苷^[5]、阿魏酸钠^[6]有很好的矫味或掩味作用。本文从物质成分角度,以临床常用中药龙胆为苦味药物研究载体,对其进行掩味前后指纹图谱变化的研究,以期揭示这3种苦味抑制剂对龙胆水煎液成分的影响,为中药汤剂的掩味规律研究奠定基础。

1 材料

1.1 仪器 LC-10AT型高效液相色谱仪(附SPD-M10A紫外检测器、CLASS-VP色谱工作站,日本岛津公司),CP225D型电子分析天平(德国Sartorius公司),HK250型科导台式超声波清洗器(上海汉克科学仪器有限公司)。

1.2 试剂 乙腈为色谱纯(美国迪马公司),超纯水(MilliporeQ,18.2 M Ω ·cm)乙酸、甲醇等试剂均为国产分析纯。

1.3 试药 龙胆苦苷对照品(批号110770-201013,中国药品生物制品检定所),单磷酸腺苷(AMP,批号BCBF7727V, Sigma),阿魏酸钠(批号AN0120622,上海波以尔化工有限公司),三氯蔗糖(批号B1229018,北京庄盟国际生物科技有限公司);龙胆药材购于河南中一医药有限责任公司,由河南中医学院第一附属医院药学部陈天朝主任药师鉴定为龙胆科植物坚龙胆 *Gentiana scabra* Bunge 的干燥根和根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Eclipse XDB C₁₈色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μ m),流动相乙腈-0.4%乙酸水溶液(0~25 min, 体积比8:92; 25~70 min, 体积比60:40),流速1.0 mL·min⁻¹,检测波长254 nm,柱温30 $^{\circ}$ C,进样量10 μ L。

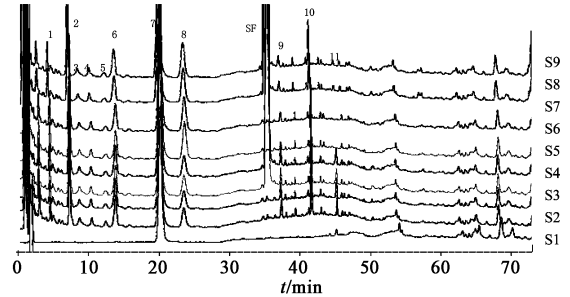
2.2 掩味前后龙胆指纹图谱的采集 对照品溶液的制备:以龙胆苦苷作为参照物。取龙胆苦苷对照品适量,精密称定,用甲醇稀释,制成每1 mL含0.2 mg的溶液,即得。

样品液的制备:取药典规定的龙胆常用量3~6 g的平均值4.5 g,加水煎煮,离心,过滤,定容到400 mL,即得龙胆的样品液,备用。

供试品溶液的制备:取5 mL龙胆样品液,用甲醇稀释到10 mL,过滤,即得供试品溶液,另平行制

备7份供试品溶液,分别精密称取AMP 0.01 g、阿魏酸钠0.01 g、三氯蔗糖0.001 5 g单独或两两复配及三者合用加入到平行制备的7份供试品溶液中,使溶解,摇匀,即得掩味后的供试品溶液。8份供试品溶液分别经0.45 μ m微孔滤膜过滤,取续滤液备用。

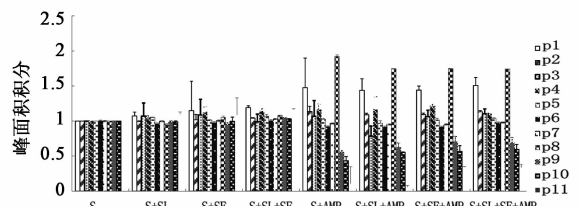
指纹图谱的采集:分别取对照品溶液和供试品溶液各10 μ L,进样,采集指纹图谱,所有组分在73 min内检测完毕。结果如图1所示。



S1. 龙胆苦苷对照品; S2. 龙胆水煎液;
S3. 龙胆水煎液 + SL; S4. 龙胆水煎液 + SF;
S5. 龙胆水煎液 + SF + SL; S6. 龙胆水煎液 + AMP;
S7. 龙胆水煎液 + AMP + SL; S8. 龙胆水煎液 + AMP + SF;
S9. 龙胆水煎液 + AMP + SF + SL

图1 S1~S9样品的HPLC指纹图谱叠加

2.3 共有峰相对峰面积柱状图 S2~S9中各峰的相对峰面积积分值变化进行比较,做各峰柱状图, p1~p11分别表示1~11号峰,以龙胆样品的11个峰的相对峰面积值为1个单位,掩味后的各峰的变化如图2所示,误差线表示两组平行数据的标准偏差($n=2$)。



p1~p11. 1~11号; p7. 龙胆苦苷

图2 S2~S9各样品的色谱峰对比($\bar{x} \pm s, n=2$)

3 讨论

3.1 苦味抑制剂的选择 AMP属于一种天然苦味抑制剂,通过附着在苦味受体细胞上,抑制G偶联蛋白transducin的激活,降低味觉神经传导水平,最终的行为反应揭示苦味知觉大大降低^[7];阿魏酸钠属于阿魏酸的钠盐,能在不影响苦味食品其他滋味的同时,有效消除苦味,在食品和药品中有较大的应用价值^[3];而三氯蔗糖属于一种新型高甜度非营养

型甜味剂,对酸味和咸味有淡化效果,对涩味、苦味、酒味等味道有掩盖效果,对辛辣、奶香等有增效作用,可广泛应用于食品^[8]。再加上前期口尝和电子舌试验结果的分析,最终选择这 3 种掩味剂来进行研究。

3.2 参比峰与共有峰的确定 龙胆苦苷是龙胆药材的特征性成分,并且是主要的有效成分。根据样品色谱图与对照品色谱图做比较分析可知样品中 7 号峰即为龙胆苦苷的峰,在指纹图谱中与其他峰都能有效的分离开,所以选龙胆苦苷的峰作为参比峰,而样品中 1~11 号峰确立为龙胆药材的共有峰。

3.3 测定波长的选择 龙胆所含的主要活性成分为环烯醚萜苷类化合物,包括龙胆苦苷、獐牙菜苦苷及獐牙菜苷等^[9]。龙胆苦苷的 2 个紫外最大吸收波长分别为 272,242 nm^[10]。但另有文献报道^[11]龙胆药材指纹图谱采用 254 nm 波长检测,色谱基线比较稳定,峰的数目较多,而且峰的分度度比较好,所以选择 254 nm 为检测波长。

3.4 图表分析 采用相同的积分方法,结果各组图谱的峰型略有不同。相对保留时间方面各色谱峰没有显著差异,最大差异仅为 2.2%。相对峰面积方面,根据柱状图分析可知,S3,S4,S5 与 S2 相比,各共有峰相对峰面积略有变化,仅 1,11 号峰变化较大,最大变化分别为 19.0%,16.4%,其他峰变化均在 10% 以下,其中 7 号峰龙胆苦苷峰的变化仅为 0.5%。而 S4,S5 比 S2 多出一个明显的峰,根据单独采集的阿魏酸钠指纹图谱的信息可知此峰即为阿魏酸钠在此波长范围内的特征峰。S6,S7,S8,S9 与 S2 相比,样品共有峰 1,8 号峰相对峰面积有所增加,最大分别增加了 50.8%,92.2%,而 9,10,11 号峰相对峰面积明显的减小,最大分别减小了 44.7%,56.5%,93.7%,分析原因可能是受 AMP 化学性质的影响;7 号龙胆苦苷峰的相对峰面积变化仅为 4.8%。

由各图谱比较结果分析可知,AMP、阿魏酸钠、

三氯蔗糖这 3 种苦味抑制剂不管是单独使用抑或联合应用,对龙胆的主要成分龙胆苦苷都没有太大的影响。虽然 AMP 对龙胆药材的某些成分有一定的影响,但是究竟龙胆药材的药效及安全性有没有发生较大改变,尚待更进一步的研究;而其他两种苦味抑制剂掩味后药物的性质比较稳定,作为成分类似于龙胆的中药汤剂的掩味剂来使用是安全可靠的。

[参考文献]

- [1] 邓晓彬. 苦味形成机理与中药苦味掩味技术的研究概况[J]. 中医药导报, 2008,14(5):119.
- [2] 施钧瀚,张杏芬,仇继玺,等. β -环表对几种苦味中药的掩味作用考察[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(12):1.
- [3] 李学林,仇继玺,刘瑞新,等. 苦味抑制剂的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(21):335.
- [4] 王优杰,冯怡,章波. 模糊数学在中药口服液矫味中的应用[J]. 中国中药杂志,2009,34(2):152.
- [5] Harmik Sohi, Yasmin Sultana, Roop K Khar. Taste masking technologies in oral pharmaceuticals: recent developments and approaches [J]. Drug Develop Ind Pharm,2004,30(5):429.
- [6] 王伟江,郑建仙. 天然苦味抑制剂的研究与应用[J]. 中国调味品,2006(2):13.
- [7] Margolskee R F. Inhibitors of the bitter tasteresponse [P]. United States: 6540978,2003.
- [8] 冯波,朱鹤云,关皎,等. 龙胆中环烯醚萜苷的大孔吸附树脂纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):20.
- [9] 谢明勇,胡晓波,王远兴. 食品化学[M]. 北京:化学工业出版社,2011.
- [10] 刘瑞新. HPLC 同时测定龙胆泻肝丸中龙胆苦苷和栀子苷的含量[J]. 中成药,2007,29(8):1170.
- [11] 江蔚新,钦浩,何文顺. 龙胆药材的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中草药,2008,39(10):1563.

[责任编辑 邹晓翠]