·药学基础·

UPLC 同时测定 4 种酶定向炮制黄芪中的 6 种黄酮类成分含量

刘蓬蓬，史辑，张凡，单国顺，贾天柱*
（辽宁中医药大学 药学院，国家中医药管理局中药炮制原理解析重点实验室，
辽宁省中药炮制工程技术研究中心，辽宁 大连 116600）

［**摘要**］ **目的**：建立黄芪中 6 种黄酮类成分的含量测定方法，研究 4 种酶（复合酶、植物纤维素酶、蜗牛酶及 β-葡萄糖苷酶）定向炮制对黄芪中黄酮苷类成分及其苷元含量的影响。**方法**：采用 ACQUITY UPLC HSS T_3 色谱柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm），流动相 0.1% 甲酸水溶液-0.1% 甲酸乙腈溶液梯度洗脱，检测波长 260 nm，流速 0.3 mL·min^{-1}，柱温 30 ℃，进样量 2 μL。**结果**：6 种成分毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、黄芪紫檀烷苷、美迪紫檀素的分离度良好，在各自线性范围内线性关系良好（$R^2 \geq 0.998\ 5$），精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均 <5.0%；平均加样回收率 97.62% ~101.13%，RSD 1.4% ~2.7%。在 0.5 g·L^{-1}酶溶液水平，毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、黄芪紫檀烷苷、美迪紫檀素在复合酶制黄芪中的质量分数分别为 0.082 0，0.335 9，0.055 9，0.104 9，0.015 0，0.009 7 mg·g^{-1}，在纤维素酶制黄芪中的质量分数分别为 0.105 7，0.364 2，0.070 2，0.117 4，0.020 8，0.012 5 mg·g^{-1}，在蜗牛酶制黄芪中的质量分数分别为 0.031 4，0.510 0，0.043 5，0.210 9，0.013 0，0.013 0 mg·g^{-1}，在 β-葡萄糖苷酶制黄芪中的质量分数分别为 0.085 3，0.312 4，0.061 5，0.110 8，0.005 8，0.009 6 mg·g^{-1}。**结论**：黄芪经 4 种酶炮制后，除黄芪紫檀烷苷外，毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷的含量均降低，但这 3 种黄酮苷类成分所对应苷元的含量均显著增加。该方法操作简便、准确、重复性好，适用于黄芪中 6 种黄酮类成分的含量测定，可为黄芪的酶定向炮制研究提供参考。

［**关键词**］ 黄芪；超高效液相色谱法（UPLC）；黄酮类；含量测定；定向炮制；炮制转化；蜗牛酶
［**中图分类号**］ R22；R943.1；R28；TQ92；O657.7 ［**文献标识码**］ A ［**文章编号**］ 1005-9903(2020)10-0094-06
［**doi**］ 10.13422/j.cnki.syfjx.20200654
［**网络出版地址**］ http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191129.1101.004.html
［**网络出版时间**］ 2019-11-29 11:34

Simultaneous Determination of Six Flavonoids in Astragali Radix Directional Processed with Four Enzymes by UPLC

LIU Peng-peng, SHI Ji, ZHANG Fan, SHAN Guo-shun, JIA Tian-zhu*
(*Research Center of Processing Engineering of Traditional Chinese Medicine (TCM) in Liaoning Province, Key Laboratory of Processing Theory Analysis, National Administration of TCM, School of Pharmacy, Liaoning University of TCM, Dalian* 116600, *China*)

［**Abstract**］ **Objective**: To establish an UPLC method for the simultaneous determination of 6 flavonoids, and to research for the effect of Astragali Radix directional processed with four enzymes (complex enzyme, plant cellulase, snail enzyme, and β-glucosidase) on the contents of flavonoid glycosides and their aglycones in this herb. **Method**: Chromatographic separation was carried out on ACQUITY UPLC HSS T_3 column (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) with the mobile phase of 0.1 mol·L^{-1} formic acid solution-0.1 mol·L^{-1} formic acid acetonitrile solution for gradient elution. The detection wavelength was set at 260 nm, the flow rate was 0.3 mL·min^{-1}, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 2 μL. **Result**: Calycosin-glucoside, calycosin,

［**收稿日期**］ 20190912(015)
［**基金项目**］ 国家中医药管理局中药炮制技术传承基地建设项目(2015132)
［**第一作者**］ 刘蓬蓬，博士，讲师，从事中药炮制研究，Tel：0411-85890154，E-mail：liupengpeng0411@163.com
［**通信作者**］ *贾天柱，教授，从事中药炮制研究，Tel：0411-85890135，E-mail：tianzhujia0411@163.com

ononin, formononetin, 9, 10-dimethoxy-pterocarpan-3-*O*-β-*D*-glucoside and 3-hydroxy-9, 10-dimethoxy-pterocarpan showed good linear relationships within their own ranges ($R^2 \geqslant 0.998\ 5$), the relative standard deviations (RSDs) of precision, stability and repeatability were all < 5.0%, and the average recovery was 97.62%-101.13% with RSDs of 1.4%-2.7%. In 0.5 g·L^{-1} level of enzyme solution, the contents of calycosin-glucoside, calycosin, ononin, formononetin, 9, 10-dimethoxy-pterocarpan-3-*O*-β-*D*-glucoside and 3-hydroxy-9, 10-dimethoxy-pterocarpan in Astragali Radix processed with complex enzyme were 0.082 0, 0.335 9, 0.055 9, 0.104 9, 0.015 0, 0.009 7 mg·g^{-1}, the contents of them in Astragali Radix processed with plant cellulase were 0.105 7, 0.364 2, 0.070 2, 0.117 4, 0.020 8, 0.012 5 mg·g^{-1}, their contents in Astragali Radix processed with snail enzyme were 0.031 4, 0.510 0, 0.043 5, 0.210 9, 0.013 0, 0.013 0 mg·g^{-1}, and their contents in Astragali Radix processed with β-glucosidase were 0.085 3, 0.312 4, 0.061 5, 0.110 8, 0.005 8, 0.009 6 mg·g^{-1}, respectively. **Conclusion**: After the processing of Astragali Radix by four enzymes, in addition to 9, 10-dimethoxy-pterocarpan-3-*O*-β-*D*-glucoside, the contents of calycosin-glucoside and ononin are reduced, but the contents of their three corresponding aglycones are significantly increased. The established method is simple, accurate and reproducible, and is suitable for the simultaneous determination of 6 flavonoids in Astragali Radix, which can provide a reference for this herb directional processed with enzymes.

[**Key words**] Astragali Radix; ultra high performance liquid chromatography (UPLC); flavonoids; determination; directional processing; processing conversion; snail enzyme

黄芪药用历史悠久,首载于《五十二病方》,用于治疗疽病。现代研究发现,黄芪中主要含有黄芪皂苷Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ,Ⅳ等皂苷类成分和毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷等黄酮苷类,以及少量上述黄酮苷类成分对应的苷元和多糖类成分[1-2]。有研究发现,中药的苷类成分经口服进入肠道后,由肠道内的微生物代谢转化,脱掉糖基成为次级苷或苷元而发挥药效作用[3-4]。

本课题组前期对黄芪中黄酮苷类成分的体内转化吸收特征进行了研究,发现黄酮苷类成分主要以脱掉糖基生成对应的苷元成分而吸收入血,进入体循环。故本实验依据苷类成分的糖苷键易被特异性糖苷酶水解脱掉糖基这一规律,并结合文献查阅结果,采用复合酶、植物纤维素酶、蜗牛酶及β-葡萄糖苷酶 4 种酶作为辅料对黄芪药材进行定向炮制[5-11]。将上述黄酮苷类成分在体内的转化过程移至体外完成,使苷类成分定向转化为苷元,从而增加苷类成分体内的生物利用度,缩小个体差异。采用 UPLC 分析黄芪中黄酮苷类成分向对应苷元成分转化的情况,探索酶定向炮制黄芪的工艺条件,为中药炮制的创新与发展提供参考。

1 材料

ACQUITY Ⅰ-CLASS 型超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),AE240 型 1/10 万电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),FA1004B 型 1/1 万电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司),DF-100 型粉碎机(温岭市林大机械有限公司),YP5102 型电子天平(上海光正医疗仪器有限公司),Milli-Q 型纯水仪(美国 Millipore 公司)。

黄芪购自山西省五寨县黄芪中药材生产质量管理规范(GAP)种植基地,经辽宁中医药大学王冰教授鉴定为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* 的干燥根;毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、染料木苷、染料木素对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号分别为 MUST-16031205, MUST-16120911, MUST-16031111, MUST-16031005, MUST-16021802, MUST-16041412, 纯度均≥98%),2′-羟基-3′,4′-二甲氧基异黄烷-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷(黄芪异黄烷苷)和 7,2′-二羟基-3′,4′-二甲氧基异黄烷(黄芪异黄烷)对照品(成都普菲德生物技术有限公司,批号分别为 160217, 160816,纯度均≥98%),9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷(黄芪紫檀烷苷)对照品(上海普誉科贸有限公司,批号 16112732,纯度≥98%),3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷(美迪紫檀素)对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号 Y29D7H27839,纯度≥98%),复合酶、纤维素酶、蜗牛酶和β-葡萄糖苷酶(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为 20171001, 20160103, 724C035, 20170802),水为超纯水,甲酸、甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件[12-16] ACQUITY UPLC HSS T_3 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm), ACQUITY UPLC HSS T_3 保护柱(2.1 mm × 5 mm, 1.8 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 5 min, 18% ~ 26% B; 5 ~ 8 min, 26% ~ 32% B; 8 ~ 10 min, 32% ~ 36% B; 10 ~ 12 min, 36% ~ 40% B; 12 ~ 13 min, 40% ~ 48% B; 13 ~ 15 min, 48% ~ 70% B; 15 ~ 16 min, 70% ~ 100% B; 16 ~ 17 min, 100% B; 17 ~ 18 min, 100% ~ 18% B; 18 ~ 23 min, 18% B),检测波长 260 nm,流速 0.3 mL·min^{-1},柱温 30 ℃,进样量 2 μL。见图 1。

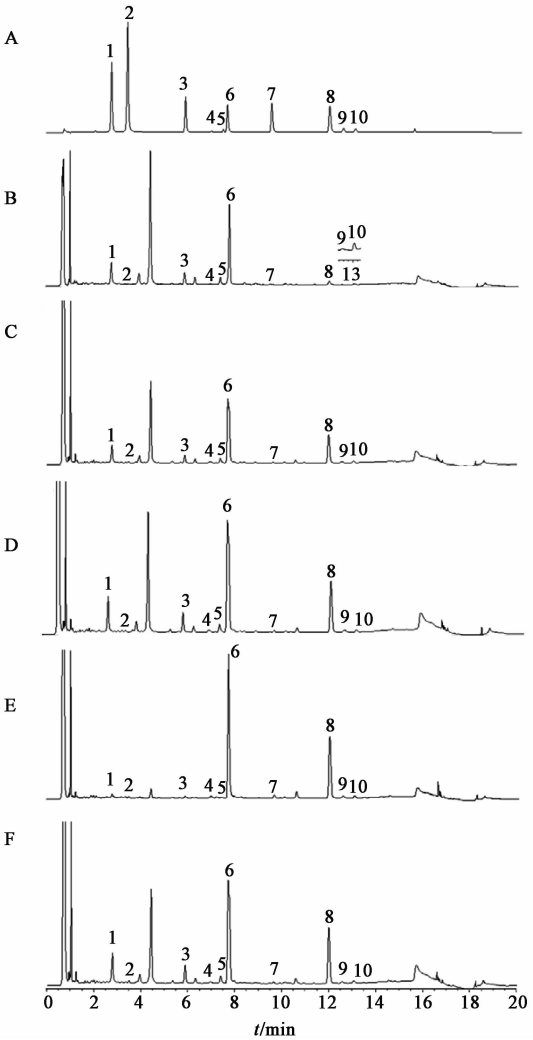
2.2 样品的制备 称取净制生黄芪 4 份,每份 20 g,分别加入 1.5 倍量的复合酶、纤维素酶、蜗牛酶和 β-葡萄糖苷酶水溶液进行拌匀、闷润,待药透汤尽后,低温烘干,粉碎,过 65 目筛,作为不同酶定向炮制黄芪的样品备用。另取净制生黄芪 20 g,粉碎,过 65 目筛,备用。

2.3 对照品储备液的制备 分别称取各对照品适量,精密称定,加甲醇制成毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、黄芪紫檀烷苷、美迪紫檀素、染料木苷、黄芪异黄烷苷、染料木素、黄芪异黄烷质量浓度分别为 281, 374, 326, 251, 149, 229, 286, 176, 261, 236 mg·L^{-1}的混合对照品储备液。

2.4 供试品溶液的制备[17-20] 取各黄芪炮制品粉末约 1 g,精密称定,置于 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,超声(功率 250 W,频率 40 kHz)处理 1 h,取出,放至室温,称定质量,加甲醇补足减失的质量,摇匀,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系考察 精密吸取 6 种对照品的混合溶液适量,加甲醇稀释后得系列质量浓度的混合对照品溶液,分别按 **2.1** 项下色谱条件测定,记录峰面积,以对照品的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、黄芪紫檀烷苷、美迪紫檀素的回归方程分别为 $Y = 1.079 \times 10^7 X + 12\ 555.162$ (R^2 = 1.000 0), $Y = 1.286 \times 10^7 X + 34\ 143.404$ (R^2 = 1.000 0), $Y = 1.263 \times 10^7 X - 11\ 683.046$ (R^2 = 1.000 0), $Y = 1.848 \times 10^7 X + 1\ 749.076$ (R^2 = 1.000 0), $Y = 3.855 \times 10^6 X + 2\ 056.407$ (R^2 = 0.998 5), $Y = 8.598 \times 10^6 X + 145.759$ (R^2 = 1.000 0),线性范围分别为 0.140 5 ~ 281, 2.3 ~ 374, 2 ~ 326, 1.6 ~ 251, 0.093 ~ 149, 0.072 ~ 229 mg·L^{-1}。



1. 毛蕊异黄酮苷;2. 染料木苷;3. 芒柄花苷;4. 黄芪紫檀烷苷;5. 黄芪异黄烷苷;6. 毛蕊异黄酮;7. 染料木素;8. 芒柄花素;9. 美迪紫檀素;10. 黄芪异黄烷;A. 混合对照品;B. 生品;C. 复合酶制品;D. 纤维素酶制品;E. 蜗牛酶制品;F. β-葡萄糖苷酶制品

图 1 黄芪生品和炮制品的 UPLC

Fig. 1 UPLC chromatograms of crude and processed products of Astragali Radix

2.5.2 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 2 μL,按 **2.1** 项下色谱条件重复进样 6 次,计算毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、黄芪紫檀烷苷、美迪紫檀素峰面积的 RSD 分别为 0.6%, 2.4%, 0.7%, 1.7%, 2.8%, 2.2%,表明仪器精密度良好。

2.5.3 稳定性试验 精密吸取同一生黄芪供试品溶液,分别在制备后 0, 2, 4, 6, 18, 24 h 按 **2.1** 项下色谱条件测定,计算毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、黄芪紫檀烷苷、美迪紫檀素峰

面积的 RSD 分别为 2.6%,1.7%,2.2%,1.2%,1.7%,1.7%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.4 重复性试验 精密称取同一批生黄芪样品 6 份,按 **2.4** 项下方法制备供试品溶液,按 **2.1** 项下条件测定,计算毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、黄芪紫檀烷苷、美迪紫檀素平均质量分数分别为 0.210 6,0.280 8,0.122 4,0.012 6,0.001 9,0.002 9 $mg \cdot g^{-1}$,RSD 分别为 2.5%,2.6%,1.9%,1.8%,2.4% 和 2.5%,表明该方法重复性良好。

2.5.5 加样回收试验 取同一批已知各指标成分含量的生黄芪样品 1.0 g,平行 6 份,精密称定,每份分别精密加入 35.1 $mg \cdot L^{-1}$ 毛蕊异黄酮苷对照品溶液 3.0 mL,46.8 $mg \cdot L^{-1}$ 毛蕊异黄酮对照品溶液 3.0 mL,40.8 $mg \cdot L^{-1}$ 芒柄花苷对照品溶液 1.5 mL,6.3 $mg \cdot L^{-1}$ 芒柄花素对照品溶液 1.0 mL,质量浓度为1.863 $mg \cdot L^{-1}$ 黄芪紫檀烷苷对照品溶液 0.5 mL,1.431 $mg \cdot L^{-1}$ 美迪紫檀素对照品溶液 1.0 mL,按 **2.4** 项下方法制备供试品溶液,按 **2.1** 项下色谱条件测定,计算毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、黄芪紫檀烷苷、美迪紫檀素的平均加样回收率分别为 97.62%,99.72%,101.04%,99.11%,99.84%,101.13%,RSD 分别为 1.4%,2.0%,2.1%,2.4%,2.7%,2.2%,表明该方法准确可靠。

2.6 样品测定 取各黄芪炮制品,按 **2.4** 项下方法制备供试品溶液,按 **2.1** 项下色谱条件测定,采用外标法计算各样品中上述 6 种主要成分的含量,比较每 1 mL 酶溶液中加酶量分别为 0.5 mg 和 1.0 mg两水平上的 4 种酶定向炮制转化黄芪效率,见表 1。

表 1 不同质量浓度酶溶液炮制黄芪后黄酮类成分的质量分数($n=3$)

Table 1 Contents of flavonoids in Astragali Radix processed with different concentration of enzyme solution($n=3$) $mg \cdot g^{-1}$

成分	生黄芪	复合酶制黄芪		纤维素酶制黄芪		蜗牛酶制黄芪		β-葡萄糖苷酶制黄芪	
		0.5 $g \cdot L^{-1}$ 酶溶液	1.0 $g \cdot L^{-1}$ 酶溶液	0.5 $g \cdot L^{-1}$ 酶溶液	1.0 $g \cdot L^{-1}$ 酶溶液	0.5 $g \cdot L^{-1}$ 酶溶液	1.0 $g \cdot L^{-1}$ 酶溶液	0.5 $g \cdot L^{-1}$ 酶溶液	1.0 $g \cdot L^{-1}$ 酶溶液
毛蕊异黄酮苷	0.207 5	0.082 0	0.066 9	0.105 7	0.103 9	0.031 4	0.039 5	0.085 3	0.094 1
毛蕊异黄酮	0.270 8	0.335 9	0.364 5	0.364 2	0.355 0	0.510 0	0.516 3	0.312 4	0.363 0
芒柄花苷	0.121 0	0.055 9	0.055 6	0.070 2	0.068 7	0.043 5	0.038 8	0.061 5	0.065 1
芒柄花素	0.013 7	0.104 9	0.104 7	0.117 4	0.113 6	0.210 9	0.212 8	0.110 8	0.113 1
黄芪紫檀烷苷	0.002 4	0.015 0	0.019 6	0.020 8	0.021 0	0.013 0	0.019 1	0.005 8	0.012 7
美迪紫檀素	0.002 5	0.009 7	0.012 5	0.012 5	0.013 5	0.013 0	0.015 3	0.009 6	0.010 5
总黄酮苷	0.330 9	0.152 9	0.142 1	0.196 7	0.193 6	0.087 9	0.097 4	0.152 6	0.171 9
总黄酮苷元	0.287 0	0.450 5	0.481 7	0.494 1	0.482 1	0.733 9	0.744 4	0.432 8	0.486 6

由表 1 可知,黄芪生品经 4 种酶炮制后,除黄芪紫檀烷苷外,毛蕊异黄酮苷和芒柄花苷的含量均降低;3 种黄酮苷所对应的苷元成分含量均显著增加。此外,蜗牛酶制黄芪中毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷以及 3 种黄酮苷类成分总量降低水平明显高于复合酶、纤维素酶和 β-葡萄糖苷酶制黄芪。蜗牛酶制黄芪中毛蕊异黄酮、芒柄花素、美迪紫檀素 3 种黄酮苷元含量升高的水平明显高于其他 3 种酶制黄芪。黄芪经 4 种酶炮制后黄芪紫檀烷苷的含量较生黄芪升高,这可能是由于在酶作用下增加其溶出的作用大于促进苷类成分向苷元的转化作用所引起的。黄芪经酶炮制后,总黄酮苷的含量显著降低,总黄酮苷元的含量显著升高,总黄酮的含量亦显著升高,表明黄芪经炮制后黄酮类成分既发生了量变又发生了质变。从上述 4 种酶两水平酶用量炮制黄芪的测定结果来看,蜗牛酶定向炮制转化黄芪中苷类成分为苷元的效率较高。

2.7 酶制黄芪的影响因素考察 在酶定向炮制黄芪过程中,还涉及水、烘制温度等对主要黄酮类成分含量影响较大的因素。故制备不添加酶的水制黄芪和仅用干燥温度(60 ℃)直接烘制的干烘黄芪,按 **2.4** 项下方法制备供试品溶液。此外,称取毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷的单体分别溶于水、复合酶、纤维素酶、蜗牛酶以及 β-葡萄糖苷酶溶液中,放置与酶制黄芪时达到药透汤尽所需的相同时间。按 **2.1** 项下色谱条件对上述样品进行测定,见表 2 和图 2。结果发现水和干燥温度对酶定向炮制黄芪中的黄酮苷类成分转化成苷元无明显影响。

在毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷单体的水溶液中,毛蕊异黄酮苷和芒柄花苷会发生少量的水解,并生成对应的苷元成分,而黄芪紫檀烷苷则未发生水解现象。上述 3 种黄酮苷类成分的单体在复合酶、纤维素酶、蜗牛酶以及 β-葡萄糖苷酶溶液中均完全转化成了对应的苷元成分。综合分析可知,主要是酶的作用促进了黄芪中黄酮苷类成分定向转化为对应苷元成分。

表 2　水和干燥温度对黄芪中 6 种主要黄酮类成分质量分数的影响($n=3$)

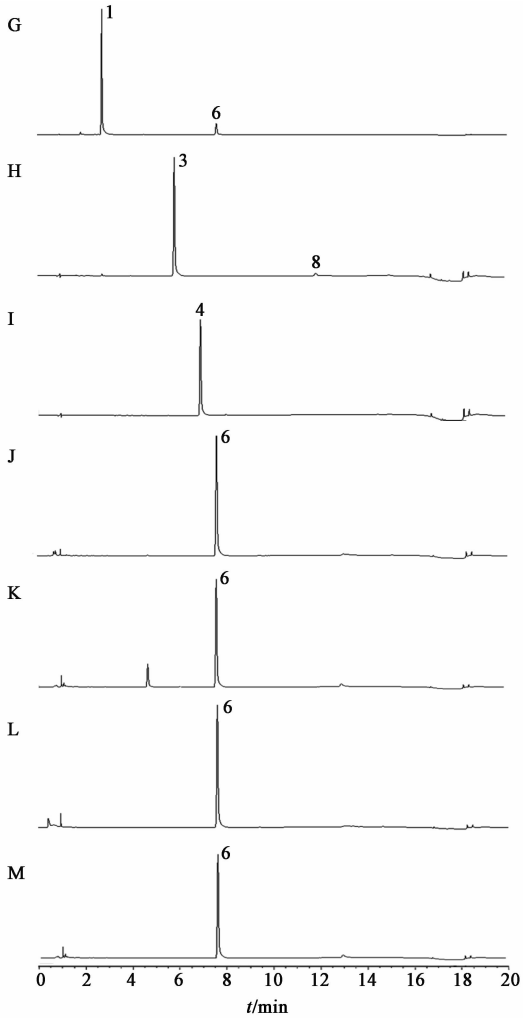
Table 2　Effect of water and temperature on contents of 6 main flavonoids in Astragali Radix($n=3$)　$mg \cdot g^{-1}$

成分	水制黄芪	生黄芪	干烘黄芪
毛蕊异黄酮苷	0.050 0	0.043 9	0.047 3
毛蕊异黄酮	0.262 9	0.260 5	0.251 2
芒柄花苷	0.0640	0.060 4	0.059 5
芒柄花素	0.025 3	0.021 5	0.018 0
黄芪紫檀烷苷	0.006 2	0.005 5	0.005 2
美迪紫檀素	0.004 3	0.003 9	0.003 7

3　讨论

本研究将黄芪中黄酮苷类成分需在体内转化为苷元成分而起效的这一转化过程在体外完成,发现复合酶、纤维素酶、蜗牛酶和 β-葡萄糖苷酶均可将黄芪中毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷等黄酮苷类成分定向转化为对应的苷元成分。在实验过程中还对染料木苷定向转化为染料木素、黄芪异黄烷苷定向转化为黄芪异黄烷的情况进行了检测分析,但由于变化差异较小,故未进行数据结果展示。在本文研究过程中,仅将酶作为辅料溶于水制成酶溶液加入到黄芪中,并在常温下浸泡黄芪至药透汤尽。这一炮制过程与需营造一个最适酶活反应体系的生物转化过程有所区别;同时,在酶制黄芪过程中,使用的是饮片而不是在生物转化过程中使用的单体成分,从而降低了成本。对于肠道菌群失衡人群,由于各种特异性糖苷酶的分泌受阻,所摄入的苷类成分不能被有效的分解与代谢,发挥应有的疗效;以及不同人群个体的肠道菌群对同一苷类成分的生物转化产物亦存在一定差异,为降低在疗效和生物利用度方面的个体差异性,采用定向炮制方法将黄芪中的黄酮苷类成分转化为对应的苷元成分,将产生更高、更好的临床疗效。后续本课题组将对生黄芪和酶制黄芪的体内外药效作用差异进行比较。

中药饮片中的化学成分是发挥药效作用的物质



1. 毛蕊异黄酮苷;3. 芒柄花苷;4. 黄芪紫檀烷苷;6. 毛蕊异黄酮;8. 芒柄花素;G. 毛蕊异黄酮苷水溶液;H. 芒柄花苷水溶液;I. 黄芪紫檀烷苷水溶液;J. 毛蕊异黄酮苷复合酶溶液;K. 毛蕊异黄酮苷纤维素酶溶液;L. 毛蕊异黄酮苷蜗牛酶溶液;M. 毛蕊异黄酮苷 β-葡萄糖苷酶溶液

图 2　黄芪中黄酮苷类成分水溶液和酶溶液的 UPLC

Fig. 2　UPLC chromatograms of aqueous solution and enzyme solution of flavonoid glycosides in Astragali Radix

基础。炮制的实质就是由化学成分转变导致药效变化的过程,本课题组称之为“炮制转化”[21]。在现代科技支撑下,依据炮制过程中化学成分变化的反应机制以及其生物活性特性,通过施加特定因素进行定向促进药材中的化学成分向具有增效作用、降低或消除毒副作用的有效成分转化的炮制研究,更具有现实意义。本课题组将上述依据药材中化学成分的性质,以希望得到高活性或低毒性成分为主要目的,而设计的化学炮制或生物炮制所发生的化学成分转化过程,称之为定向转化或定向炮制[21]。本研究依据黄芪中黄酮苷类成分的体内转化吸收特性,开展了黄芪定向炮制研究,这可以为中药炮制的

创新发展提供借鉴,为黄芪的大品种深度开发和产业化发展提供科学支撑。

[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,2015:302-303.

[2] 蔡金坊,代云桃,肖永庆,等. 系统评价蜜炙对黄芪药效物质基础的改变[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(8):47-52.

[3] HATTORI M,KIM G,MOTOIKE S,et al. Metabolism of sennosides by intestinal flora[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo),1982,30(4):1338-1346.

[4] EL-SEDAWY A I, HATTORI M, KOBASHI K, et al. Metabolism of gentiopicroside (gentiopicrin) by human intestinal bacteria[J]. Chem Pharm Bull(Tokyo),1989,37 (9):2435-2437.

[5] 彭静,马益华,陈彦,等. 固定化蜗牛酶同时生物转化淫羊藿中 4 种黄酮苷[J]. 中成药,2016,38(9):1984-1990.

[6] 周荧,魏建林,罗胜保,等. 固定化 β-葡萄糖苷酶在异黄酮生物转化中的应用[J]. 粮食科技与经济,2016,41(2):37-40,50.

[7] 高霞,刘聪燕,陈彦,等. 酶技术在中药黄酮类成分研究中的应用[J]. 中草药,2014,45(16):2412-2417.

[8] 杨云松,高鹏,代龙. 糖苷类化合物体外生物转化的研究进展[J]. 中国生化药物杂志,2012,33(6):927-930.

[9] 欧志敏,杨根生,冯海. β-葡萄糖苷酶水解牛蒡子苷制备牛蒡子苷元[J]. 药物生物技术,2009,16(5):443-446.

[10] 许平平,谭银春,鱼红闪,等. 酶转化法提高黄芪甲苷的得率[J]. 大连工业大学学报,2009,28(1):20-22.

[11] 刘欣,崔昱,杨凌. 糖苷酶与药物研发[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(2):223-228.

[12] 杜国军. 恒山黄芪道地药材质量标准研究[D]. 太原:山西大学,2013.

[13] 芮雯,冯毅凡,姜苗苗,等. 黄芪及其蜜炙品的 UPLC-Q-TOF-MS 分析[J]. 广东药学院学报,2012,28(1):47-50.

[14] 王平,梁逸曾. HPLC-DAD-MS 研究黄芪的化学成分[J]. 中草药,2011,42(2):226-229.

[15] 朱立俏,于绍华,张茜,等. 基于 HPLC-DAD 特征图谱分析莱菔子饮片酶解过程中化学成分的变化[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(4):140-145.

[16] 吴茵,白万军,魏欣. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术分析木蝴蝶中化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(2):196-200.

[17] 刘靖,陈虎彪,杜新刚,等. 不同种植方式下恒山黄芪的质量比较研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(5):570-573.

[18] 李翔,朱臻宇,柴逸峰,等. HPLC-MS 测定黄芪药材中 3 种成分的含量[J]. 药学学报,2006,41(8):793-796.

[19] 张曦,孙衍国,梁鑫淼,等. 中药黄芪中异黄酮苷类化合物的高效液相色谱-串联质谱分析[J]. 精细化工,2005,22(12):898-902.

[20] 林秀莲,宋粉云,潘玄玄,等. UPLC-Q-TOF-MS 分析补肾强身片中化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(19):61-67.

[21] 贾天柱. 中药炮制化学与化学炮制学的提出及研究思路[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2010,12(3):337-342.

[责任编辑 刘德文]