

虎杖一体化饮片与传统饮片的指纹图谱及体外抗氧化活性比较^Δ

简祈盼^{1*},朱映睿²,郑宇锴¹,成焕波¹,涂济源¹,王光忠^{1#}(1.湖北中医药大学药学院,武汉 430065;2.湖北省中西医结合医院药学部,武汉 430021)

中图分类号 R283.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)05-0569-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.05.10



摘要 目的 比较虎杖产地加工与炮制一体化(简称“一体化”)制备的饮片与传统饮片的指纹图谱及体外抗氧化活性差异。方法 根据一体化工艺和传统工艺分别制备10批虎杖一体化饮片和10批传统饮片。采用高效液相色谱法建立虎杖两种饮片的指纹图谱,并进行比较;检测虎杖两种饮片对1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基、ABTS自由基、超氧自由基、羟自由基的清除率以及对Fe³⁺的还原能力,比较这两种饮片的体外抗氧化活性。结果 虎杖两种饮片共有11个共有峰,其中一体化饮片共有17个共有峰,传统饮片共有13个共有峰;虎杖一体化饮片中6号峰(虎杖苷)和15号峰(大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷)的峰高明显高于传统饮片,传统饮片中13号峰(白藜芦醇)、17号峰(大黄素)和19号峰(大黄素甲醚)的峰高明显高于一体化饮片。体外抗氧化活性结果显示,虎杖一体化饮片和传统饮片对DPPH自由基、ABTS自由基、超氧自由基和羟基自由基均具有清除能力,对Fe³⁺也均具有还原能力。结论 虎杖一体化炮制工艺较传统炮制工艺可更好地保留虎杖的有效成分,且虎杖一体化饮片的体外抗氧化活性强于传统饮片。

关键词 虎杖;产地加工与炮制一体化;指纹图谱;抗氧化活性

Comparison of the fingerprints and *in vitro* antioxidant activity of decoction pieces of *Polygonum cuspidatum* by integrated processing and traditional processing

JIAN Qipan¹, ZHU Yingrui², ZHENG Yukun¹, CHENG Huanbo¹, TU Jiyuan¹, WANG Guangzhong¹ (1.School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 2. Dept. of Pharmacy, Hubei Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Wuhan 430021, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To compare the differences of the fingerprint and *in vitro* antioxidant activity between decoction pieces of *Polygonum cuspidatum* by integrated technology of habitat processing and processing (short for IPDP) and traditional processing decoction pieces (short for TPDP). **METHODS** Ten batches of IPDP and ten batches of TPDP were prepared by integrated technology and traditional technology, respectively. HPLC method was used to establish and compare the fingerprints of IPDP and TPDP. The scavenging rates of DPPH free radical, ABTS free radical, superoxide free radical and hydroxyl free radical and reducing activity of Fe³⁺ were detected for IPDP and TPDP. *In vitro* antioxidant activities were compared between IPDP and TPDP. **RESULTS** There were 11 common peaks in the fingerprints of IPDP and TPDP, among which 17 came from IPDP and 13 came from TPDP. The peak heights of peak 6 (polydatin) and peak 15 (emodin-8-O-β-D-glucoside) in IPDP were significantly higher than those in the TPDP, and the peak heights of peak 13 (resveratrol), peak 17 (emodin) and peak 19 (physcion) in the TPDP were significantly higher than those in the IPDP. The results of *in vitro* antioxidant test showed that IPDP and TPDP had a certain scavenging capacity on DPPH free radical, ABTS free radical, superoxide free radical and hydroxyl free radicals, and also had a certain reducing capacity on Fe³⁺. **CONCLUSIONS** The integrated processing technology of *P. cuspidatum* has a good retention effect on the glycosides in *P. cuspidatum*, and the *in vitro* antioxidant activity of IPDP is stronger than that of TPDP.

KEYWORDS *Polygonum cuspidatum*; integrated technology of habitat processing and processing; fingerprint; antioxidant activity

虎杖为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥根和根茎,归肝、胆、肺经,具有清热解毒、散瘀止痛、止咳化痰、利湿退黄的功效^[1],多用于治疗血症、湿热黄疸、淋症、闭经、跌打损伤、肺热咳嗽、毒蛇咬伤及外伤出血等^[2]。现代药理学研究表明,虎杖具有抗血栓、

调血脂、抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒以及抗肿瘤等药理活性^[3-8]。

虎杖在制成饮片时,需要经过药材采挖→净制→干燥(制成药材)→软化→切制→再干燥(制成饮片)的加工过程,这不仅耗时较长,而且在干燥和软化的过程中可能会造成有效成分损失和药材霉变。为了保证中药饮片质量,解决药用植物到中药饮片生产环节中的加工复杂、掺杂、掺假等问题,相关专家学者提出了药材产地加工与炮制一体化(简称“一体化”)的想法^[9-10]。本课题组前期调研发现,将虎杖进行一体化工艺处理能显著减

Δ 基金项目:国家重点研发计划项目(No.2017YFC1701003)

* 硕士研究生。研究方向:中药炮制工艺、质量控制及原理。

E-mail:1915717793@qq.com

通信作者:教授,硕士生导师,博士。研究方向:中药炮制。

E-mail:wgzong4067@sina.com

少加工时间,提高生产效率。但是,虎杖经一体化工艺处理后是否与传统工艺处理后的质量和药效存在差异,尚不明确。基于此,本研究拟采用高效液相色谱(HPLC)法建立虎杖一体化饮片与传统饮片的指纹图谱,并以抗氧化活性为药效指标进行比较,以期对虎杖饮片一体化生产工艺的可行性研究及其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有1260型HPLC仪(美国Agilent公司)、ES225SM-DR型十万分之一天平(上海精科天美科学仪器有限公司)、BS224型分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]、DTC-8J型超声波清洗机[鼎泰(湖北)生化科技设备制造有限公司]、DFY-800C型摇摆式高速粉碎机(温岭市林大机械有限公司)、Epoch型全波长酶标仪(美国BioTek公司)

1.2 主要药品与试剂

本课题组所采集的虎杖鲜药材,经湖北中医药大学药学院刘义梅教授鉴定为蓼科植物虎杖 *P. cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥根和根茎,然后在湖北省中药炮制工程技术研究中心中试车间按本课题组前期优选工艺条件,将每批新鲜虎杖(具体样品信息见表1)分别制成虎杖一体化饮片(编号Y1~Y10)和传统饮片(编号C1~C10)。虎杖苷对照品(批号H-012-171216)、白藜芦醇对照品(批号B-002-170426)、大黄素-8-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷对照品(批号D-018-171216)均购于成都瑞芬思生物科技有限公司,纯度均大于98.0%;大黄素对照品(批号T17A10F95418)、大黄素甲醚对照品(批号T26A8F34784)均购于上海源叶生物科技有限公司,纯度均大于98.0%;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH,批号C11362866)、1,10-菲罗啉(无水)(批号C11526129)均购于上海麦克林生化科技有限公司;焦性没食子酸(批号20171127)、过氧化氢、乙二胺四乙酸二钠、三氯乙酸、氯化铁、七水合硫酸亚铁、L(+)-抗坏血酸均购于国药集团化学试剂有限公司;总抗氧化能力比色法测试盒(ABTS化学法)(批号4571TBLLSB)购于武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;甲醇、乙腈为色谱纯,乙醇为分析纯,水为超纯水。

表1 虎杖新鲜药材的样品信息

编号	批号	产地	类型
S1	191104	湖北公安县松林村	野生
S2	191020	湖北房县彭家湾	野生
S3	191108	湖北公安县卷桥水库	野生
S4	191029	湖北房县宋家店村	栽培3年生
S5	191129	湖北房县宋家店村	栽培3年生
S6	191015	湖北房县草池堰村	栽培3年生
S7	201209	湖北房县彭家湾	栽培4年生
S8	181015	湖北房县木瓜村	栽培3年生
S9	181017	湖北房县顺发基地	栽培3年生
S10	191019	湖北房县彭家湾	栽培3年生

2 方法与结果

2.1 虎杖饮片的制备

根据课题组前期预实验,确定小档虎杖(直径 ≤ 2.5 cm)传统饮片的制备工艺为:将虎杖新鲜药材浸泡30 min后,于20℃下润制24 h,切制成厚片,然后在60℃下干燥4 h(使切片厚度约为3 cm),干燥期间翻动1次。大档虎杖(直径 > 2.5 cm)传统饮片的制备工艺为:将虎杖新鲜药材浸泡30 min后,于20℃下润制45 h,切制成厚片,然后在60℃下干燥4 h(使切片厚度约为4 cm),干燥期间翻动1次。虎杖一体化饮片的制备工艺为:将虎杖新鲜药材用18倍水(L/kg)洗涤3次后,干燥至含水量为35%~45%时进行切片,再于60℃下干燥7 h(药材摊铺厚度为3 cm),干燥期间中翻动1次。

2.2 虎杖一体化饮片与传统饮片的HPLC指纹图谱比较

2.2.1 供试品溶液的制备 参考文献[11]方法进行制备。取虎杖一体化饮片或传统饮片,粉碎,过三号筛,精密称定0.2 g,置于锥形瓶中,精密加入60%乙醇25 mL,称定质量,超声(功率250 W,频率40 kHz)提取30 min;冷却至室温后再次称定质量,并用60%乙醇补足缺失质量,摇匀,过滤,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别称取虎杖苷5 mg、大黄素3 mg、大黄素甲醚4 mg,精密称定,分别置于5 mL量瓶;分别取白藜芦醇4 mg、大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷4 mg,精密称定,分别置于10 mL量瓶;再以甲醇定容后制成各单一对照品溶液。精密吸取上述5种单一对照品溶液各1 mL于10 mL量瓶中,以甲醇定容后,即得到混合对照品溶液。

2.2.3 色谱条件 参考文献[12]的色谱条件,以Agilent Extend C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)为色谱柱,乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)为流动相(梯度洗脱:0~14 min, 10% A \rightarrow 20% A; 14~21 min, 20% A \rightarrow 29% A; 21~45 min, 29% A \rightarrow 35% A; 45~54 min, 35% A \rightarrow 70% A; 54~70 min, 70% A \rightarrow 84% A),检测波长为290 nm,柱温为40℃,进样量为10 μ L,流速为1.0 mL/min。

2.2.4 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液(编号Y1)10 μ L,按“2.2.3”项下色谱条件连续进样6次,选取15号峰为参照峰,记录其余共有峰的保留时间和峰面积。结果显示,19个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3.0%,表明仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 取同一份供试品溶液(编号Y1),于室温放置0、2、4、6、8、12 h后,按“2.2.3”项下色谱条件进样测定,选取15号峰为参照峰,记录其余共有峰的保留时间和峰面积。结果显示,19个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3.0%,表明供试品溶液在室温放置12 h内稳定。

2.2.6 重复性试验 取虎杖饮片粉末(编号Y1),按“2.2.1”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.2.3”项

下色谱条件进样测定,选取15号峰为参照峰,记录其余共有峰的保留时间和峰面积。结果显示,19个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3.0%,表明该方法重复性较好。

2.2.7 指纹图谱比较 取“2.2.1”项下虎杖一体化饮片供试品溶液和传统饮片供试品溶液适量,按“2.2.3”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。然后将两种虎杖饮片的HPLC图谱均导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004A版)软件中,采用中位数法,将时间窗宽度设置为0.1 min,分别建立10批虎杖一体化饮片的叠加指纹图谱、10批虎杖传统饮片的叠加指纹图谱以及这两种虎杖饮片的叠加指纹图谱(图1、图2、图3)。结果显示,两种虎杖饮片共有19个色谱峰,11个共有峰。10批虎杖一体化饮片共有17个共有峰,10批虎杖传统饮片共有13个共有峰,由此可见,虎杖两种饮片间存在一定差异,其中一体化工艺较传统工艺可更好地保留虎杖的成分。取“2.2.2”项下混合对照品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件进样分析,记录色谱图(图4)。将图3与图4进行对比,指出6号峰为虎杖苷,13号峰为白藜芦醇,15号峰为大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷,17号峰为大黄素,19号峰为大黄素甲醚。另外,结合虎杖一体化饮片和传统饮片的镜面对比图谱(图5)可知,虎杖一体化饮片中6号峰(虎杖苷)和15号峰(大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷)的峰高明显高于传统饮片,传统饮片中13号峰(白藜芦醇)、17号峰(大黄素)和19号峰(大黄素甲醚)的峰高明显高于一体化饮片。

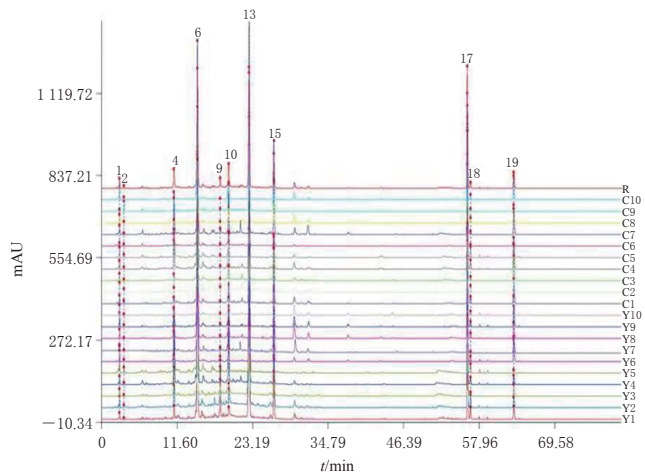
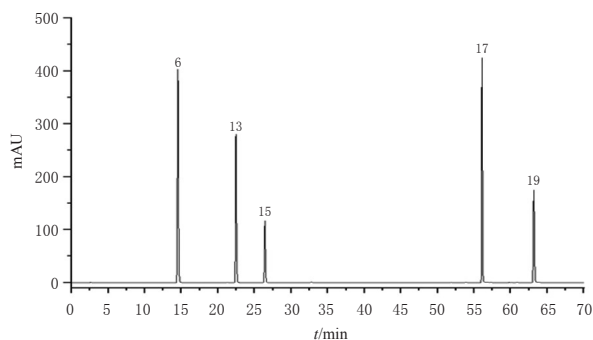


图3 20批虎杖饮片的叠加指纹图谱



6: 虎杖苷;13: 白藜芦醇;15: 大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷;17: 大黄素;19: 大黄素甲醚

图4 混合对照品溶液的HPLC图

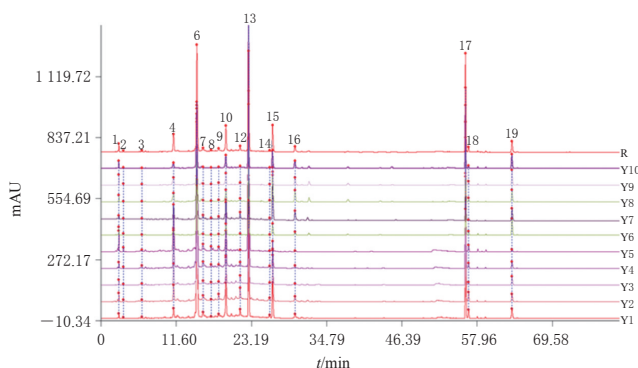


图1 10批虎杖一体化饮片的叠加指纹图谱

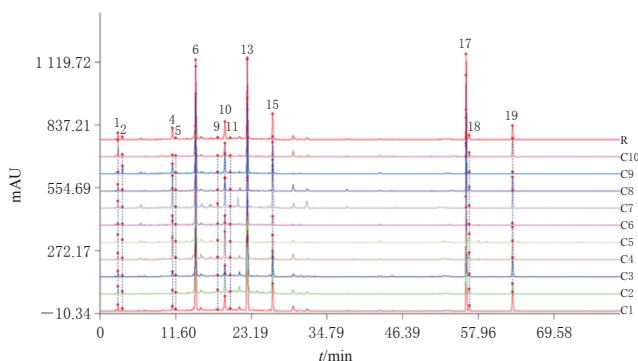
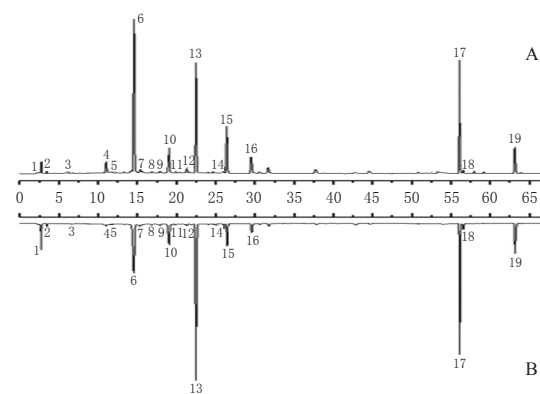


图2 10批虎杖传统饮片的叠加指纹图谱



A: 虎杖一体化饮片;B: 虎杖传统饮片

图5 虎杖一体化饮片和传统饮片的镜面对比图谱

2.2.8 相似度评价 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004A版)分别对10批虎杖一体化饮片、10批虎杖传统饮片的指纹图谱进行相似度分析。结果显示,10批虎杖一体化饮片的相似度为0.801~0.988,10批虎杖传统饮片的相似度除C7号样品(4年生虎杖)为0.699外,其余均大于0.850,说明年限不同的虎杖之间存在一定差异;20批虎杖一体化饮片和传统饮片的相似度均为0.800~0.993,说明虎杖一体化饮片和传统饮片的相似度较高,但存在一定差异。结果见表2~表4。

表2 10批虎杖一体化饮片的相似度评价结果

编号	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	R
Y1	1.000	0.994	0.913	0.870	0.683	0.920	0.933	0.976	0.983	0.950	0.977
Y2	0.994	1.000	0.932	0.884	0.705	0.927	0.932	0.972	0.981	0.956	0.978
Y3	0.913	0.932	1.000	0.944	0.846	0.956	0.759	0.852	0.922	0.945	0.933
Y4	0.870	0.884	0.944	1.000	0.950	0.970	0.698	0.821	0.896	0.955	0.942
Y5	0.683	0.705	0.846	0.950	1.000	0.891	0.457	0.619	0.733	0.848	0.801
Y6	0.920	0.927	0.956	0.970	0.891	1.000	0.775	0.886	0.954	0.990	0.970
Y7	0.933	0.932	0.759	0.698	0.457	0.775	1.000	0.971	0.919	0.839	0.888
Y8	0.976	0.972	0.852	0.821	0.619	0.886	0.971	1.000	0.982	0.932	0.961
Y9	0.983	0.981	0.922	0.896	0.733	0.954	0.919	0.982	1.000	0.978	0.988
Y10	0.950	0.956	0.945	0.955	0.848	0.990	0.839	0.932	0.978	1.000	0.987
R	0.977	0.978	0.933	0.942	0.801	0.970	0.888	0.961	0.988	0.987	1.000

表3 10批虎杖传统饮片的相似度评价结果

编号	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	R
C1	1.000	0.968	0.988	0.987	0.968	0.828	0.690	0.991	0.907	0.976	0.994
C2	0.968	1.000	0.927	0.974	0.910	0.923	0.808	0.978	0.959	0.919	0.976
C3	0.988	0.927	1.000	0.963	0.962	0.740	0.633	0.964	0.839	0.967	0.972
C4	0.987	0.974	0.963	1.000	0.976	0.878	0.721	0.989	0.943	0.967	0.996
C5	0.968	0.910	0.962	0.976	1.000	0.793	0.567	0.963	0.892	0.984	0.975
C6	0.828	0.923	0.740	0.878	0.793	1.000	0.800	0.873	0.975	0.786	0.869
C7	0.690	0.808	0.633	0.721	0.567	0.800	1.000	0.701	0.734	0.553	0.699
C8	0.991	0.978	0.964	0.989	0.963	0.873	0.701	1.000	0.942	0.977	0.995
C9	0.907	0.959	0.839	0.943	0.892	0.975	0.734	0.942	1.000	0.891	0.940
C10	0.976	0.919	0.967	0.967	0.984	0.786	0.553	0.977	0.891	1.000	0.979
R	0.994	0.976	0.972	0.996	0.975	0.869	0.699	0.995	0.940	0.979	1.000

表4 20批虎杖一体化饮片和传统饮片的相似度分析结果

一体化饮片	相似度	传统饮片	相似度
Y1	0.929	C1	0.978
Y2	0.938	C2	0.987
Y3	0.943	C3	0.938
Y4	0.976	C4	0.990
Y5	0.817	C5	0.953
Y6	0.992	C6	0.923
Y7	0.800	C7	0.831
Y8	0.901	C8	0.992
Y9	0.955	C9	0.972
Y10	0.993	C10	0.956

2.3 虎杖一体化饮片与传统饮片的抗氧化活性比较

2.3.1 样品溶液的制备 取虎杖一体化饮片粉末0.2 g,精密称定,放入锥形瓶中,精密加入60%乙醇25 mL,称质量;超声(功率250 W,频率40 kHz)提取30 min,冷却至室温后称定质量,用60%乙醇补足缺失质量,摇匀,过滤,即得样品母液;然后取样品母液稀释成质量浓度分别0.125、0.25、0.50、1.00、2.00、4.00 mg/mL的系列样品溶液(以生药量计算)。同法制备虎杖传统饮片和L(+)-抗坏血酸的系列浓度样品溶液,备用。

2.3.2 DPPH自由基清除率的测定 参考文献[13]方法,分别取虎杖一体化饮片、传统饮片以及L(+)-抗坏血酸的不同质量浓度样品溶液200 μL、甲醇400 μL、DPPH溶液400 μL加入1.5 mL EP管中,上下颠倒混匀10次,金属浴25℃条件下避光反应20 min。另设以磷酸盐缓冲液(pH7.4)代替药液的空白组,同法操作。取200 μL混合反应液置于96孔板中,采用酶标仪于515 nm处检测吸光度值。每个样品平行测定3次。按公式计算DPPH自由基清除率 $[DPPH \text{ 自由基清除率}=(1-A/A_0) \times 100\%$,其中A为实验组吸光度值,A₀为空白组吸光度值],再根据结果进行回归分析,计算半数抑制浓度(IC₅₀)。结果显示,虎杖一体化饮片、传统饮片以及L(+)-抗坏血酸对DPPH自由基清除作用的IC₅₀分别为0.42、0.61、0.15 mg/mL。结果见图6。

测吸光度值。每个样品平行测定3次。按公式计算DPPH自由基清除率 $[DPPH \text{ 自由基清除率}=(1-A/A_0) \times 100\%$,其中A为实验组吸光度值,A₀为空白组吸光度值],再根据结果进行回归分析,计算半数抑制浓度(IC₅₀)。结果显示,虎杖一体化饮片、传统饮片以及L(+)-抗坏血酸对DPPH自由基清除作用的IC₅₀分别为0.42、0.61、0.15 mg/mL。结果见图6。

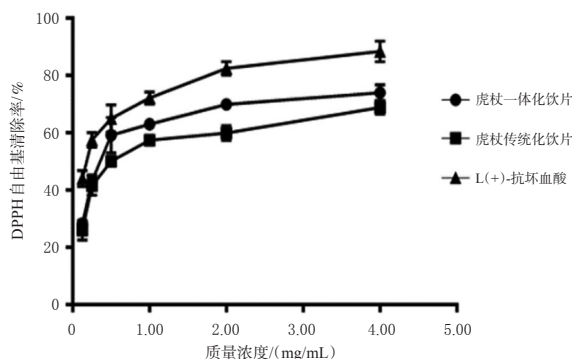


图6 虎杖一体化饮片和传统饮片对DPPH自由基的清除率

2.3.3 ABTS自由基清除率的测定 参考文献[14]方法,取虎杖一体化饮片、传统饮片以及L(+)-抗坏血酸的不同质量浓度样品溶液适量,使用总抗氧化能力比色法测试盒(ABTS化学法)检测其对ABTS自由基的清除能力。每个样品平行测定3次。按公式计算ABTS自由基清除率^[14],再根据结果进行回归分析,计算IC₅₀。结果显示,虎杖一体化饮片、传统饮片以及L(+)-抗坏血酸对ABTS自由基清除作用的IC₅₀分别为0.47、0.54、0.000 3 mg/mL。结果见图7。

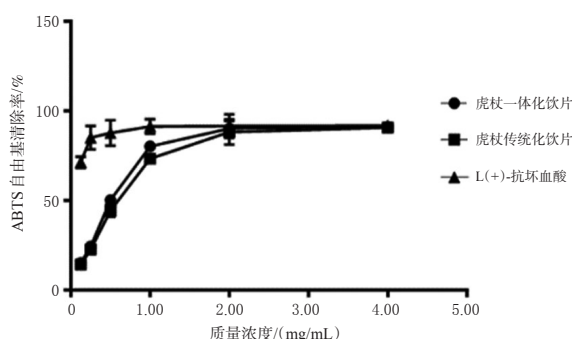


图7 虎杖一体化饮片和传统饮片对ABTS自由基的清除率

2.3.4 超氧自由基清除率的检测 参考文献[15]方法,取虎杖一体化饮片、传统饮片以及L(+)-抗坏血酸的不同质量浓度样品溶液12 μL、磷酸盐缓冲液(pH8.2)264 μL置于96孔板中,于25℃条件下孵育10 min;加入1.25 mmol/L邻苯三酚溶液24 μL,快速振荡摇匀,采用酶标仪于320 nm波长处每隔30 s测定1次吸光度值,连续5 min。另设以乙醇代替药液的空白组,同法操作。每个样品平行测定3次。按公式计算超氧自由基清除

率^[15],再根据结果进行回归分析,计算IC₅₀。结果显示,虎杖一体化饮片、传统饮片以及L(+)-抗坏血酸对超氧自由基清除作用的IC₅₀分别为0.99、1.52、0.35 mg/mL。结果见图8。

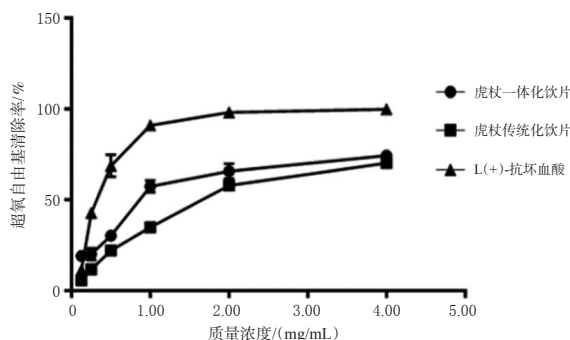


图8 虎杖一体化饮片和传统饮片对超氧自由基的清除率

2.3.5 Fe³⁺还原能力的检测 参考文献[16]方法,取虎杖一体化饮片、传统饮片以及L(+)-抗坏血酸的不同质量浓度样品溶液1 000 μL和1%铁氰化钾125 μL加入1.5 mL EP管中,置于50 ℃水浴条件下反应20 min后,再加入10%三氯乙酸溶液125 μL终止反应;以3 000 r/min离心2 min,取60 μL上清液加入96孔板中,加入0.1%氯化铁溶液90 μL,快速振荡摇匀,采用酶标仪于700 nm波长处检测吸光度值。另设置以磷酸盐缓冲液(pH6.6)代替药液的空白组,同法操作。每个样品平行测定3次。按公式计算其对Fe³⁺的还原能力[Fe³⁺还原能力=A₁-A₀,其中A₁为实验组吸光度值,A₀为空白组吸光度值;所得差值越大,表明样品的Fe³⁺还原能力越强]。结果显示,虎杖一体化饮片和传统饮片均对Fe³⁺具有一定的还原能力,且随着样品质量浓度升高,其对Fe³⁺的还原能力越强。结果见图9。

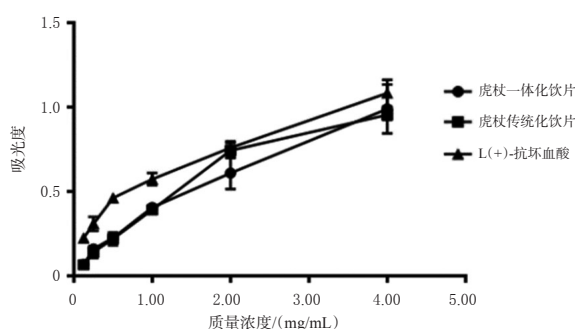


图9 虎杖一体化饮片和传统饮片对Fe³⁺的还原能力

2.3.6 羟自由基清除率的检测 参考文献[17-18]方法,将4.950 mL 1,10-菲罗啉溶液、4.95 mL FeSO₄溶液、4.95 mL 乙二胺四乙酸溶液和3.3 mL 磷酸盐缓冲液(pH7.4)混合,制成混合液。将混合液置于37 ℃条件下孵育15 min后,按137.5 μL/孔加入96孔板中,再向相应孔中分别加入37.5 μL虎杖一体化饮片、传统饮片以及L(+)-抗坏血酸的不同质量浓度样品溶液或水,再向相

应孔加入50 μL 1% H₂O₂溶液或水;轻轻摇晃,于37 ℃条件下孵育30 min后,采用酶标仪于536 nm波长处检测吸光度值,每个样品平行测定3次。按公式计算羟自由基清除率^[17],再根据结果进行回归分析,计算IC₅₀。结果显示,虎杖一体化饮片、传统饮片以及L(+)-抗坏血酸对羟自由基清除作用的IC₅₀分别为0.53、0.76、0.25 mg/mL。结果见图10。

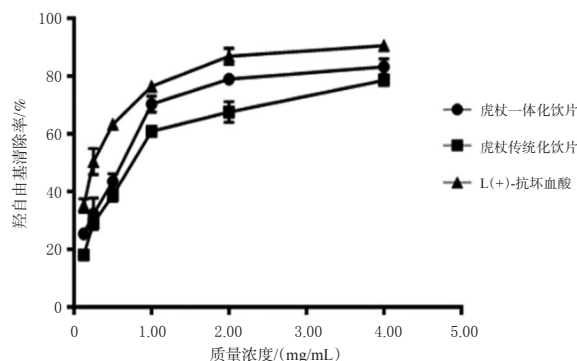


图10 虎杖一体化饮片和传统饮片对羟自由基的清除率

3 讨论

相关文献报道,在一定条件下,虎杖中虎杖苷与白藜芦醇会发生一定程度的转化^[19-22]。本文通过HPLC法建立了虎杖一体化饮片和传统饮片的指纹图谱,结果发现,虎杖传统饮片中13号峰(白藜芦醇)的峰高明显高于一体化饮片,由此可知,虎杖传统炮制工艺可使虎杖苷向白藜芦醇转化。笔者推测其原因可能是虎杖苷发生了水解,从而使白藜芦醇的含量升高,但具体的转化机制还有待进一步验证。

现代药理研究表明,虎杖中的虎杖苷^[23]、白藜芦醇^[24]等均具有良好的抗氧化活性,因此,本文选择抗氧化活性作为比较虎杖一体化饮片与传统饮片药效的评价指标。结果发现,虎杖一体化饮片和传统饮片对DPPH自由基、ABTS自由基、超氧自由基和羟自由基均具有一定的清除能力,对Fe³⁺也具有一定的还原能力,且虎杖一体化饮片的抗氧化活性强于虎杖传统饮片。

综上所述,一体化炮制工艺较传统炮制工艺可更好地保留虎杖的成分,且虎杖一体化饮片的体外抗氧化活性强于传统饮片。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:217-218.
- [2] 梁明辉.中药虎杖的研究进展[J].中国医药指南,2019,17(10):47,54.
- [3] 时圣明,潘明佳,王文倩,等.虎杖的化学成分及药理作用研究进展[J].药物评价研究,2016,39(2):317-321.
- [4] 狄红杰.复方虎杖方治疗非酒精性脂肪性肝病的疗效和机制研究[D].南京:南京中医药大学,2017.
- [5] BRALLEY E E, GREENSPAN P, HARGROVE J L, et al.

Topical anti-inflammatory activity of *Polygonum cuspidatum* extract in the TPA model of mouse ear inflammation[J]. *J Inflamm(Lond)*, 2008, 5: 1.

- [6] 刘慧文, 王国凯, 储宣宁, 等. 不同产地虎杖 HPLC 指纹图谱及 6 种成分含量测定[J]. *现代中药研究与实践*, 2018, 32(3): 13-17.
- [7] MITANI T, HARADA N, TANIMORI S, et al. Resveratrol inhibits hypoxia-inducible factor-1 α -mediated androgen receptor signaling and represses tumor progression in castration-resistant prostate cancer[J]. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2014, 60(4): 276-282.
- [8] POOJA T, KARUNAGARAN D. Emodin suppresses Wnt signaling in human colorectal cancer cells SW480 and SW620[J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 742: 55-64.
- [9] 杨俊杰, 李林, 季德, 等. 中药材产地加工与炮制一体化的历史沿革与现代研究探讨[J]. *中草药*, 2016, 47(15): 2751-2757.
- [10] 黄琪, 贾鹏晖, 吴德玲, 等. 知母产地加工与饮片炮制一体化工艺研究[J]. *中草药*, 2018, 49(20): 4760-4766.
- [11] 张清峰, 付莹娟, 陈继光, 等. 高效液相色谱法同时测定虎杖中五种活性成分[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(3): 216-219.
- [12] 孔德暄. 虎杖饮片加工工艺及其活性成分对痛风性关节炎的作用研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2020.
- [13] SIRIVIBULKOVIT K, NOUANTHAVONG S, SAMEENOI Y. Paper-based DPPH assay for antioxidant activity analysis[J]. *Anal Sci*, 2018, 34(7): 795-800.
- [14] 邱金东, 汤昆. DPPH 和 ABTS 法测定核桃仁的体外抗氧化活性[J]. *中成药*, 2008, 30(8): 1215-1216.
- [15] SUGAHARA S, UEDA Y, FUKUHARA K, et al. Antioxidant effects of herbal tea leaves from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on multiple free radical and reducing power assays, especially on different superoxide anion radical generation systems[J]. *J Food Sci*, 2015, 80(11): C2420-C2429.
- [16] BHARDWAJ A, KUMARI P, NAYAN V, et al. Estimation of antioxidant potential of indigenous Halari and French Poitu donkey milk by using the total antioxidant capacity and ferric reducing antioxidant power assay[J]. *Asian J Dairy Food Res*, 2019, 38(4): 307-310.
- [17] 孔子铭, 谢建锋, 李颖晨, 等. 藏药刀豆总黄酮超声提取的优化及其抗氧化活性[J]. *中成药*, 2016, 38(5): 1163-1167.
- [18] 刘宏, 夏慧敏, 李娜, 等. 响应面法优化荞麦芽黄酮的提取工艺及其抗氧化性和稳定性的研究[J]. *世界科学技术(中医药现代化)*, 2020, 22(8): 2870-2882.
- [19] WANG C Q, LIU X L, ZHANG M L, et al. Efficient enzyme-assisted extraction and conversion of polydatin to resveratrol from *Polygonum cuspidatum* using thermostable cellulase and immobilized β -glucosidase[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 445.
- [20] 冯薇, 胡小妍, 马明娜, 等. 产 β -葡萄糖苷酶细菌的筛选及转化白藜芦醇的研究[J]. *生物技术通报*, 2017, 33(11): 130-135.
- [21] 邓欣蓓, 庞立, 蒋立文, 等. 虎杖中高效转化白藜芦醇苷的内生真菌筛选和鉴定[J]. *食品科技*, 2020, 45(2): 11-16.
- [22] 王珊珊, 胡萍, 余少文. 响应面法优化虎杖苷转化为白藜芦醇的工艺条件[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(4): 6-10.
- [23] 苏丹, 张邦乐, 宦梦蕾, 等. 白藜芦醇与白藜芦醇苷抗氧化活性比较[J]. *中国药师*, 2010, 13(4): 471-473.
- [24] 杨兰泽, 王宜娟, 李三强, 等. 白藜芦醇的抗衰老作用[J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(3): 628-629.

(收稿日期: 2021-09-14 修回日期: 2021-12-31)

(编辑: 唐晓莲)

(上接第 568 页)

- [21] 陈克克, 强毅. 费菜不同部位脂溶性成分的 GC-MS 比较[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(20): 77-81.
- [22] 包黎明, 包晓华, 白迎春, 等. 基于 DPPH 法的 16 种蒙药材抗氧化活性比较研究[J]. *亚太传统医药*, 2017, 13(6): 9-11.
- [23] 张越华, 曾和平. 脂肪酸在生命过程中的作用研究进展[J]. *中国油脂*, 2006, 31(12): 11-16.
- [24] 陈银基, 鞠兴荣, 周光宏. 饱和脂肪酸分类与生理功能[J]. *中国油脂*, 2008, 33(3): 35-39.
- [25] 郜新莲, 刘艳芳, 张振凌. 中药菟丝子炮制前后脂肪油含量的比较[J]. *时珍国医国药*, 2012, 23(3): 694.
- [26] 彭伟, 黎江华, 刘玉杰, 等. 浙贝母花脂肪油成分和生物活性研究[J]. *中药与临床*, 2017, 8(3): 19-21, 68.
- [27] 孙瑞霞, 冯精兰, 李怡帆, 等. 气相色谱-质谱法测定怀地黄中的有机成分[J]. *药物分析杂志*, 2009, 29(12): 2154-2161.
- [28] 边宝林, 倪慕云, 王宏杰. 地黄及其炮制品石油醚提取物中酸性成分的分离、鉴定和比较[J]. *中国中药杂志*, 1991, 16(6): 339-341.
- [29] 严斐霞, 朱徐东, 王松, 等. 基于蛋白质组学探讨九蒸九晒地黄延缓去卵巢小鼠脑衰老的药效与机制[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(1): 141-150.
- [30] 沈华旦, 方江济, 郭鹏程, 等. 基于 HPLC-UV-DPPH 法的地黄和熟地黄药材抗氧化活性成分比较研究[J]. *中草药*, 2018, 49(3): 582-588.
- [31] 耿晓桐, 王丰青, 谢彩侠, 等. 基于 HPLC 指纹图谱技术的地黄块根抗氧化活性谱效关系研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(11): 1864-1872.

(收稿日期: 2021-11-09 修回日期: 2022-01-15)

(编辑: 林 静)