

表 3 杜仲提取溶剂选择实验结果

试验序号 提取次数	1		2		3		4	
	1	2	1	2	1	2	1	2
松脂醇二葡萄糖苷提 取率(%)	65.8	31.6	46.9	24.4	64.8	16.5	39.3	15.9
总提取率(%)	97.4		71.3		81.3		55.2	

2.2 杜仲提取工艺正交设计试验结果 由松脂醇二葡萄糖苷提取率结果可知,3 个因素对松脂醇二葡萄糖苷提取率影响的大小为:提取次数>提取时间>加水倍数,主要影响因素为提取次数,且方差分析有显著性差异;而第 3 次的提取率小于 10%,考虑到成本等因素,最终选择提取 2 次;直观分析结果表明,加 8 倍量水提取率最高,但与加 6 倍量水、10 倍量水提取率相差不大,考虑到生产成本,最终选择加 6 倍量水。结果还表明,提取 2 h 的提取率最高,故最终确定提取时间为 2 h;最终确定的最佳提取工艺为 6 倍水,提取 2 次,2 h/次。见表 4。

表 4 杜仲提取工艺正交设计试验结果

序号	提取次数	加水倍数	提取时间	空白列	松脂醇二葡萄糖苷提取率/%
1	1	1	1	1	45.8
2	1	2	2	2	58.8
3	1	3	3	3	54.8
4	2	1	2	3	77.8
5	2	2	3	1	91.0
6	2	3	1	2	75.5
7	3	1	3	2	98.9
8	3	2	1	3	79.5
9	3	3	2	1	90.4
直观分析					
1	53.133	74.167	66.933	75.733	
2	81.433	76.433	75.667	77.733	
3	89.600	73.567	81.567	70.700	
方差分析	偏差平方和	自由度	F	F 临界值	P
提取次数	2197.402	2	27.885	19	<0.05
加水倍数	13.716	2	0.174	9	
提取时间	325.216	2	4.127	9	

注:F 0.01 (2, 2)=99.0; F 0.05 (2, 2)=19.0; F 0.10 (2, 2)=9.0。

3 讨论

松脂醇二葡萄糖苷是杜仲的主要活性成分,全杜仲胶囊以松脂醇二葡萄糖苷作为质量控制的指标性成分^[1],因此本研究以松脂醇二葡萄糖苷作为指标性成分对提取工艺进行评价是可行的。杜仲提取溶剂选择实验结果显示,用水作为提取溶剂比用乙醇溶液提取效果更好。杜仲中的木脂素类成分在乙醇中的溶解性较在水中好,根据相似相溶的原理,用乙醇溶液进行提取,提取率应更高,但本研究结果显示水提的效果更好,这可能与杜仲中含有大量的杜仲胶成分有关。

相关文献报道中,多以超声提取、微波提取为主,提取溶剂多采用不同浓度的乙醇来提取^[3-6]。而本研究基于全杜仲胶囊现有的提取工艺,结合大生产工艺的实际要求,经过溶剂选择实验和正交试验,最终确定杜仲的最佳提取工艺为“加 6 倍水,提取 2 次,2 h/次”,这为全杜仲胶囊的生产工艺优化提供了试验参考依据。

参考文献

- [1]国家药典委员会.中国药典 2015 年版:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015.165,862
- [2]吴卫华.杜仲抗高血压有效部位的制备及降压效应研究[D].广州:中南大学,2007
- [3]潘亚磊,郭玲丽,谢培,等.杜仲松脂醇二葡萄糖苷的提取工艺优化[J].化学与生物工程,2016,33(2):42-45
- [4]吕强.杜仲总木脂素及松脂醇二葡萄糖苷的提取纯化研究[D].吉首:吉首大学,2013
- [5]郑雪,刘泽纬,丁来欣,等.杜仲叶中松脂醇二葡萄糖苷的提取分离及含量测定[J].食品科学,2012,33(6):166-170
- [6]孙曦晓.从杜仲皮中制备松脂醇二葡萄糖苷及多糖工艺的研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2014.8-14

(收稿日期:2017-06-21)

中药红芪药材的鉴定及有效成分多糖的提取工艺

李峥嵘

(河南省驻马店市中医院药剂科 驻马店 463000)

摘要:目的:探讨中药红芪药材的鉴定方法及红芪有效成分多糖的提炼工艺。方法:通过红芪的外形、切片及粉末显微等三种方式鉴定红芪的特征,比较水提醇沉法与碱浸提法提取多糖含量与得率。结果:(1)红芪外表呈红褐色,皮质坚韧,纹理清晰,味微甜,咀嚼无豆腥气味;(2)水提醇沉法最佳提取工艺条件为:温度 80℃,固液比例 1:12,反复沉淀提取两次,1 h/次;(3)水提醇沉法提取的红芪多糖含量与得率明显高于 0.3 mol/L、0.5 mol/L 碱浸提法(P<0.05)。结论:通过外形、切片及粉末显微观察可掌握红芪特点,红芪水提醇沉法提取红芪多糖有效性高于碱浸提法,在今后的提取工艺中,可注重对综合性多指标提取工艺的深入研究。

关键词:红芪;多糖;鉴定;提取

中图分类号:R284.2

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2017.08.103

红芪为豆科植物多序岩黄芪的干燥根,是常见的中药材。味甘,性微温,归肺、脾经,具有补气升阳、固表止汗、利水消肿、排毒敛疮之功效,《神农本草经》中有红芪药用的相关记载^[1]。红芪含有多糖、

生物碱、黄酮、氨基酸等物质,且多糖为红芪中最主要的活性成分,是一种杂多糖,具有抗氧化、抗癌、提高机体免疫力等作用^[2]。本研究对红芪的鉴定与红芪多糖的提取工艺进行探讨,对扩展中药材价值

提供一定的参考依据。现报道如下:

1 材料

1.1 实验材料 产自甘肃武山的红芪。

1.2 实验器材 水合氯醛,甘油乙醇,无水乙醇,0.3 mol/L、0.5 mol/L 碱溶液,冰醋酸,pH 试纸,电子显微镜,苯酚,离心机,天平,旋转蒸发仪。

2 方法

2.1 红芪鉴定方法 通过药材的外形、组织切片及粉末显微等方式进行鉴定。(1)观察红芪外观颜色、分支形态、纹路及气味、味道,判断是否为红芪,必要时可掰断药材判断粉性。(2)组织切片鉴定方法:首先,将红芪放入烧杯中煮沸 30 min 左右,沥干切片,切片厚度为 0.3~0.5 mm;其次,在红芪切片上滴加 2~4 滴水合氯醛,继续加热至切片边缘呈现小泡;随后添加甘油乙醇,待镜下能清楚观察红芪切面的变化即可。(3)组织粉末化鉴定:将红芪研磨成细粉,在显微镜下滴加一滴清水搅拌后添加 2~4 滴水合氯醛,观察红芪细胞结构。

2.2 红芪多糖提取工艺 (1)红芪多糖水提醇沉法:粉碎红芪后置入烧杯,加入 95%乙醇并充分搅拌后水浴锅加热,1 h 后抽滤,晾干药渣并过筛,将过渣提取物浓缩加乙醇沉淀,沉淀物经两次溶解后加乙醇真空沉淀干燥,最后提取多糖。采用单因素与正交实验计算红芪中多糖含量与得率。(2)红芪多糖碱浸提法:将红芪药材粉碎后用 95%乙醇脱脂,晾晒过筛,加入 0.3 mol/L、0.5 mol/L 碱溶液(固液比 1:12),经水浴锅加热至 80 °C 后浸提 2 次,1 h 后抽滤,将提取液用冰醋酸浓缩后加入 70%乙醇溶液中,经溶解沉淀后,二次洗涤沉淀,真空沉淀干燥后,采用紫外线分光光度计算红芪多糖含量。

3 结果

3.1 药材性状鉴别结果 红芪外表呈红褐色,皮质坚韧,纹理清晰,味微甜,咀嚼无豆腥气味;红芪形状呈长条圆柱形,分支少,上粗下细,断面具有纤维性和粉质性。

3.2 药材组织显微结果 (1)显微镜下片状红芪木栓层左右细胞整齐排列,细胞呈长方形或纺锤形;切面形成层细胞成环排列,细胞较扁平;木质层导管细胞呈圆形或椭圆;木薄层细胞以圆形或多角形紧密排列;木射线细胞呈长方形;韧皮薄壁及射线细胞单个排列,呈圆形或椭圆。(2)经显微镜下红芪粉末化可见,红芪纤维多数长 120 μm ,细胞壁较厚且观察到不规则裂隙纹路,导管分子长度在 70~200 μm ,均同向并列排列。此外,可见以单粒状大小不一的淀粉粒分散开来,直径在 1~15 μm ,呈卵圆形或椭圆。

3.3 红芪多糖提取工艺结果 采用水提醇沉法提取的多糖,以单因素与正交实验及苯酚-硫酸法测定出红芪多糖的含量与得率。发现水提醇沉法工艺提取的最优条件为:温度 80 °C,固液比例 1:12,反复沉淀提取 2 次,1 h/次,乙醇沉淀浓度 70%左右。此条件下提取的红芪多糖含量高达 64.5%,得率可达 3.84%。采用碱浸提法提取多糖结果显示,碱溶液浓度越大,多糖含量越高,0.5 mol/L 碱溶液提取红芪多糖含量可达 46.3%,得率为 2.1%。0.3 mol/L 碱溶液提取下的多糖含量为 45.1%,得率为 1.2%。可知碱浸提法提取的多糖含量与得率均低于水提醇沉法($P<0.05$)。

4 讨论

中医药材作为我国几千年来的传世瑰宝,在现代医学不断发展的今天,运用现代科学技术将中药材从生物学、分子学角度阐述药理作用,有利于中医在国际医学领域的竞争力与接受度。早在《金匱要略》中有关红芪的记载为:主治气虚风湿,关节浮肿等症^[1]。红芪能有效改善由心脾气虚引起的气短、眩晕、浮肿等症状。特别是对于气虚体弱的女性,长期服用具有排毒养颜、补气抗衰的功效。随着红芪药用价值的不断提高,红芪的栽培与多糖提取逐渐受到重视。通过中药药材常见鉴定方式,观察红芪外观形态和显微下切片及粉末形态可知红芪具有味甘、性微温、外观呈红褐色、纹理清晰、皮质坚韧等特征。与《药典》中关于红芪的特征性状基本一致^[4-5]。

多糖是红芪中最主要的活性物质。在红芪多糖药物相关研究中提到,多糖具有抗氧化、调节免疫功能,改善心脑血管疾病的辅助作用^[6]。多糖的提取方法诸多,常见的有水提法、酸碱提法、酶解生物法。不同提取方式的优势体现在不同种类的多糖提取中。水提醇沉法是提取多糖的传统方法,通过水浴浸提,反复过滤沉淀,加入 95%乙醇后沉淀析出多糖,经真空干燥后可粗提取。该研究中水提醇沉法提取多糖含量 64.5%与 0.3 mol/L、0.5 mol/L 碱浸提法提取多糖含量 45.1%、46.3%比较,水提醇沉法提取的红芪多糖含量更高,且水提醇沉法操作简单、准确性高、重复性好。碱浸提法中碱性溶液通过破坏细胞壁,溶解细胞膜释放多糖达到提取目的。但碱浸提法是在多糖酶法基础上提取多糖的方式,酶解温度、时间、酶添加量都会对提取效果造成影响,加酶量与提取效果呈现曲线关系。张玲等^[7-8]研究提到,当加酶量在 0.4%时多糖提取量最大。随着酶量的增加,酶与红芪中纤维素分子接触更大,溶出的多糖不断增加,使得底物减少,在多余酶无法产生反应下,多糖

的得率有所降低。此外,多糖中糖苷键被过多的酶分解,含量随之下降。

综上所述,采用水提醇沉法提取红芪多糖比碱浸提法提取效果更好,多糖得率更高($P<0.05$)。随着酶提法的不断完善以及其他提取工艺的挖掘,红芪多糖可望有更为高效的提取工艺。

参考文献

[1]袁毅君,王廷璞,李蕊,等.甘肃地道药材红芪的质量控制研究进展[J].天水师范学院学报,2010,30(5):43-46

[2]柳小亚,李继平,陈心悦,等.HPLC 同时测定红芪中 8 个活性成分的含量及聚类分析[J].药学学报,2016,51(5):786-791

[3]强正泽,李成义,王明伟,等.不同月份红芪微量元素特征研究[J].中国中医药信息杂志,2016,23(9):90-95

[4]叶迎,包强,王瑞海,等.甘肃黄芪和红芪中总皂苷含量测定对比研究[J].环球中医药,2016,9(10):1197-1203

[5]李成义,王燕,强正泽,等.红芪与黄芪中两个异黄酮类成分含量的比较研究[J].中国现代中药,2014,16(7):534-537

[6]牛江涛,曹瑞,张泽国,等.红芪多糖的提取分离及药理作用研究进展[J].中国药房,2017,28(1):130-133

[7]张玲,李朋玲,华永丽,等.黄芪和红芪的红外光谱法结合化学计量学方法鉴别[J].时珍国医国药,2015,26(7):1657-1659

[8]张平,黄聪琳,张明童,等.红芪药材性状及鉴别研究[J].中国中医药信息杂志,2015,22(11):82-85

(收稿日期: 2017-07-01)

(上接第 154 页)料用($\bar{x} \pm s$)表示,用 t 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血压变化对比 干预前两组血压对比,差异无统计学意义 ($P>0.05$); 干预后观察组 SBP、DBP 低于对照组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组血压变化对比(mm Hg, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	SBP		DBP	
		干预前	干预后	干预前	干预后
观察组	47	147.42± 7.21	124.57± 5.14	93.49± 3.21	81.62± 4.17
对照组	47	146.25± 7.16	131.68± 6.05	94.04± 3.25	85.76± 4.51
t		0.789	6.140	0.825	4.621
P		0.432	0.000	0.411	0.000

2.2 两组 SDS、SAS 评分对比 干预前两组 SDS、SAS 评分对比,差异无统计学意义 ($P>0.05$); 干预后观察组 SDS、SAS 评分均低于对照组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组 SDS、SAS 评分对比(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	SDS		SAS	
		干预前	干预后	干预前	干预后
观察组	47	54.26± 5.57	5.92± 2.37	59.14± 5.87	6.31± 2.42
对照组	47	53.48± 5.53	13.85± 2.64	58.95± 5.82	14.82± 2.69
t		0.681	15.324	0.158	16.124
P		0.497	0.000	0.875	0.000

3 讨论

UGH 主要由门静脉高压、全身性疾病、上胃肠道疾病等引起,起病迅速,短时间出血量超过全身血量 30%可产生休克,若无及时有效的治疗,可能出现死亡。UGH 治疗中常采用胃镜技术,能快速准确地找到出血点,有利于提高存活率^[3]。但胃镜会侵入患者体内,易产生恶心、咳嗽、呼吸困难等不良反应,可引起患者血压变化,导致患者情绪波动,影响治疗进程。因此,应给予胃镜下治疗 UGH 患者高质量护理干预,保持患者生理及心理正常。

常规护理干预基本能满足 UGH 患者围手术期用药、病情监测等需要,但护理质量一般,程序化服务严重,不利于护患关系改善,严重降低患者治疗依从性。顾云珍等^[4]研究发现,对消化性溃疡所致 UGH 患者实施优质护理服务,可提高患者生活质量,改善护患关系。优质护理干预以 UGH 患者为中心,加强基础护理,落实责任制护理,密切监测患者血压,根据血压变化予以针对治疗,有利于提高抢救成功率,减少并发症。优质护理干预在满足 UGH 患者治疗需要的同时,保持患者生活环境舒适,对患者不良情绪进行引导,有利于创建良好护患关系,保护患者心理健康,促使患者积极配合治疗。熊红等^[5]研究指出,予以内镜下套扎联合硬化剂注射治疗食管胃底静脉曲张出血患者优质护理干预,可提高手术成功率,稳定患者心率。

本研究结果显示,干预后观察组 SBP、DBP 低于对照组,SDS、SAS 评分低于对照组 ($P<0.05$),但两组血压均在正常范围内,差异无意义,提示给予胃镜下治疗 UGH 患者优质护理干预,可改善患者情绪,有利于保持患者血压正常。综上所述,给予胃镜下治疗 UGH 患者优质护理干预,可改善患者情绪,有利于保持患者血压正常,对患者生理及心理均具有积极影响。

参考文献

[1]王敏,潘辅全,段珊,等.老年上消化道出血发病病因及其影响因素[J].中国老年学杂志,2016,36(17):4353-4354

[2]葛均波,徐永健.内科学[M].第 8 版.北京:人民卫生出版社,2013:453-454

[3]孙斌,张霞,唐华.急诊胃镜下治疗急性上消化道出血的临床疗效[J].解放军预防医学杂志,2016,34(4):631

[4]顾云珍,张海英.优质护理服务在消化性溃疡所致上消化道出血患者中的应用[J].实用临床医药杂志,2015,19(18):28-30

[5]熊红,贺学强,刘月凤,等.优质护理在内镜下套扎联合硬化剂注射治疗食管胃底静脉曲张出血的应用体会[J].现代消化及介入诊疗,2015,20(2):169-171

(收稿日期: 2017-05-05)