

不同炮制方法对续断饮片中川续断皂苷 VI, X 含量的影响

樊媛洁¹, 翟永松², 王满元^{2*}

(1. 首都医科大学医学实验与测试中心, 北京 100069; 2. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069)

[摘要] 目的: 探讨不同炮制方法对续断中川续断皂苷 VI, X 含量的影响。方法: 采用 HPLC 同时测定续断中川续断皂苷 VI, X 含量, 考察不同炮制方法对川续断皂苷 VI, X 含量的影响。结果: 与续断生品相比, 炮制后川续断皂苷 VI 含量增加, 川续断皂苷 X 含量减少。结论: 不同炮制方法均能影响续断中皂苷类成分含量, 证明了传统炮制方法的合理性。

[关键词] 续断; 炮制方法; 川续断皂苷 VI; 川续断皂苷 X; 高效液相色谱法

[中图分类号] R283.3; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0022-03

[doi] 10.11653/syjf2013170022

Effects of Different Processing Methods on Contents of Asperosaponin VI and Asperosaponin X in Dipsaci Radix

FAN Yuan-jie¹, ZHAI Yong-song², WANG Man-yuan^{2*}

(1. Medical Experiment and Test Center, Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

[Abstract] **Objective:** To explore influence of different processing methods to the contents of asperosaponin VI and asperosaponin X in Dipsaci Radix. **Method:** The contents of asperosaponin VI and asperosaponin X in Dipsaci Radix were determined by HPLC, effects of different processing methods on the contents of asperosaponin VI and asperosaponin X were investigated. **Result:** Compared with the crude samples, the content of asperosaponin VI increased and the content of asperosaponin X decreased in processed samples.

[收稿日期] 20130121(013)

[基金项目] 北京市属高等学校高层次人才引进与培养计划项目(CIT&TCD201304184)

[第一作者] 樊媛洁, 硕士, 实验师, 从事现代药理学平台分析测试研究, Tel: 010-83950030, E-mail: qybzc@sohu.com

[通讯作者] * 王满元, 博士, 副教授, 从事中药活性成分及炮制原理研究, Tel: 010-83911635, E-mail: wangmyjun@yahoo.com.cn

- [3] 欧阳旭, 王跃生, 章军, 等. 各种实验设计方法在元胡止痛分散片处方优化中的应用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(10): 43.
- [4] 吴伟, 崔光华, 陆彬. 实验设计中多指标的优化: 星点设计和总评“归一值”的应用[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(8): 530.
- [5] Srikanth C H, Subal Debnath, Shireesh K R, et al. Formulation and evaluation of lactic acid bacillus and zinc sulphate fast dispersible tablets [J]. JDDT, 2012, 2(1): 34.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 85.
- [7] 韩丽梅, 王卓, 邓莫杰, 等. 用透光率评价分散片混悬性的方法[J]. 药物分析杂志, 1996, 6(6): 396.
- [8] 魏莉, 林洁, 曾佳, 等. 星点设计-效应面法优化小儿麻甘口腔崩解片的制备工艺[J]. 中成药, 2010, 32(7): 1120.
- [9] 马晓莉, 邢建国, 王新春, 等. 星点设计-效应面法优化天山雪莲传递体制备处方[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 5.
- [10] 王新春, 侯世祥, 李文, 等. 均匀实验设计联用星点实验设计优化白藜芦醇固体脂质纳米粒的制备处方[J]. 中成药, 2007, 29(8): 1139.
- [11] 苏伟, 翁佳燕, 李瑞霞, 等. 沙棘果中黄酮糖苷和黄酮配基的测定[J]. 国际沙棘研究与开发, 2007, 5(1): 33.

[责任编辑 仝燕]

Conclusion: Different processing methods could affect saponins content in *Dipsaci Radix*, it demonstrated that traditional processing methods for *Dipsaci Radix* was reasonable.

[Key words] *Dipsaci Radix*; processing methods; asperosaponin VI; asperosaponin X; HPLC

续断性味苦、辛,微温,归肝、肾二经,具有补肝肾、强筋骨、续折伤、止崩漏的功效。生品以补肝肾、通血脉为主;酒续断多用于风湿痹痛、跌打损伤、筋骨骨折;盐续断多用于腰膝酸软^[1-2]。川续断皂苷VI具有促进骨髓间充质干细胞增殖及向成骨细胞分化的作用,能促进骨伤愈合、抗骨质疏松^[3],与传统“补肝肾、强筋骨”的功能较为吻合。续断的相关研究多以川续断皂苷VI为含量测定指标^[4-5]。2010年版《中国药典》中续断片、酒续断和盐续断的川续断皂苷VI含量标准无差异,均规定其 $\geq 1.5\%$ 。张丹等^[6]发现续断经不同方法炮制后川续断皂苷VI含量显著增加;郭岚等^[7]则认为酒制明显降低了续断中川续断皂苷VI含量。马新飞等^[8]研究提示酒制后川续断皂苷VI含量升高与降低的情况均存在,盐制后川续断皂苷VI含量升高,酒制与盐制后川续断皂苷VI含量变化均不太显著。续断饮片主要药效物质基础为皂苷类成分,但运用总皂苷含量来评价其质量优劣的方法准确度与专属性不太理想。由于续断皂苷多为常春藤皂苷元类型,炮制过程可能伴随苷类的水解反应发生,故本实验拟建立同时测定续断饮片中川续断皂苷VI, X含量的方法,探讨续断炮制过程中川续断皂苷VI, X含量的变化规律,为续断饮片的质量控制和炮制机制研究提供参考。

1 材料

LC-20A Prominence 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),CP224C 型电子分析天平(美国奥豪斯公司)。川续断皂苷VI对照品(中国食品药品检定研究院,批号 111685-201003),川续断皂苷X对照品(中国中医科学院中药研究所谭洪根研究员提供,纯度 $> 98\%$),续断(购自河北省安国市百草药材行,产地四川,经首都医科大学中医药学院刘长利副教授鉴定为川续断科植物川续断 *Dipsacus asper* Wall. ex Henry 的干燥根),乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 不同炮制品的制备 参考《中国药典》2010年版一部“炮制通则”。

2.1.1 续断片 取原药材,除去杂质,洗净,润透,切厚片,干燥。

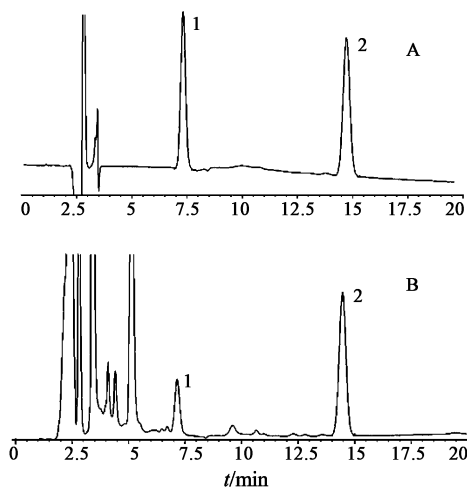
2.1.2 酒续断 取续断片,用适量黄酒拌匀,稍闷

润,待酒被吸尽后,用文火炒干至微带黑色,晾凉,每10 kg 续断用黄酒 1 kg。

2.1.3 盐续断 取续断片,用盐水拌匀,闷润至透,置锅内,用文火炒干,取出放凉,每10 kg 续断用食盐 0.2 kg。

2.2 川续断皂苷VI, X的含量测定

2.2.1 色谱条件 Agilent Extend-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.05%磷酸水溶液(30:70),检测波长 212 nm,柱温 25 °C,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 10 μL,见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 川续断皂苷 X; 2. 川续断皂苷 VI

图 1 续断饮片 HPLC

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取川续断皂苷VI对照品 5.94 mg,置于 5 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。精密称取川续断皂苷X对照品 5.28 mg,置于 5 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液制备 精密称取续断饮片粉末约 0.5 g,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇溶液 25 mL,密塞,称定质量,超声处理(100 W, 40 kHz)30 min,放至室温,用甲醇补足失重,混匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,精密量取续滤液 5 mL 置于 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 线性关系考察 取上述川续断皂苷VI, X对照品溶液,用甲醇稀释成川续断皂苷VI质量浓度分别为 1 188, 891, 594, 297, 148.5, 74.25 mg·L⁻¹,川续断皂苷X分别为 1 056, 792, 528, 264, 132, 66 mg·

L⁻¹,按上述色谱条件测定,以峰面积积分值为纵坐标,对照品进样量为横坐标,得回归方程 $Y_{\text{川续断皂苷 VI}} = 169.6X - 0.1375 (r = 0.9999)$, $Y_{\text{川续断皂苷 X}} = 91.57X - 0.0367 (r = 0.9997)$,表明川续断皂苷 VI, X 分别在 0.7425 ~ 11.88, 0.66 ~ 10.56 μg 呈良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 取同一供试品溶液,连续进样 6 次,结果川续断皂苷 VI, X 峰面积的 RSD 分别为 1.1%, 1.7%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取新制备的供试品溶液分别放置 0, 2, 4, 8, 12 h 后进样分析,记录峰面积,结果川续断皂苷 VI, X 峰面积的 RSD 分别为 1.3%, 0.8%,表明供试品溶液于室温下放置 12 h 稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 取同一续断饮片粉末 6 份,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,测定,结果川续断皂苷 VI, X 含量的 RSD 分别为 1.2%, 1.7%,表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取 6 份已知含量的样品粉末约 0.25 g,分别精密加入川续断皂苷 VI 对照品溶液 4 mL(4.921 mg)和川续断皂苷 X 对照品溶液 4 mL(2.132 mg),按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,测定,计算川续断皂苷 VI, X 含量,结果见表 1,表明该方法准确率高。

2.2.9 样品测定 分别称取适量不同炮制品粉末,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,计算续断片、酒续断、盐续断中川续断皂苷 VI 提取量分别为 (23.32 ± 1.16), (25.07 ± 0.82), (24.39 ± 0.91) mg·g⁻¹,川续断皂苷 X 则分别为 (11.24 ± 0.78), (10.02 ± 0.69), (10.18 ± 0.75) mg·g⁻¹,与续断片相比,炮制品中 2 种成分的含量具有显著差异。

3 讨论

续断酒炙后可增强通血脉、续筋骨、止崩漏的功效;盐续断引药下行,专于肾经,强入肾之功,补肝肾、强腰膝作用增强;续断通过酒炙与盐炙达到了炮制增效目的。试验结果表明,不同炮制方法均能提高川续断皂苷 VI 含量,相比盐续断,酒续断中川续断皂苷 VI 含量增加更明显。川续断皂苷 VI 和 X 的结构差异在于糖部分,一定条件下川续断皂苷 X 可水解为川续断皂苷 VI,研究发现不同炮制品的皂苷类成分发生了变化,含量存在一定差异。炮制品较生品而言,含糖较多的川续断皂苷 X 含量有所下降,含糖较少的川续断皂苷 VI 含量有所上升。川续断皂苷 VI

表 1 续断饮片 中川续断皂苷 VI, X 加样回收率试验

对照品	样品量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
川续断皂苷 VI	5.752	10.8649	103.9	101.3	2.1
	5.771	10.8003	102.2		
	5.794	10.8430	102.6		
	5.766	10.5989	98.21		
	5.787	10.6932	99.70		
	5.791	10.7563	100.9		
川续断皂苷 X	2.751	4.9576	103.5	100.9	1.9
	2.760	4.8771	99.3		
	2.771	4.9271	101.1		
	2.758	4.9433	102.5		
	2.768	4.8616	98.2		
	2.770	4.9146	100.6		

含量测定结果与张丹等^[5]研究结果较为一致。同时提示炮制过程中伴随的皂苷类成分变化与不同炮制作用紧密相关,单一应用川续断皂苷 VI 含量作为续断饮片质量控制的方法值得商榷。

续断饮片中已知皂苷类成分已超过 20 种,若要全面分析,难度较大,因此只建立了 HPLC 同时测定川续断皂苷 VI, X 含量的方法。该方法是在 2010 年版《中国药典》川续断皂苷 VI 含量测定方法的基础上优化而成,可为续断饮片的质量控制提供参考。

[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,2010:309.
- [2] 王家葵,王一涛. 续断的本草考证[J]. 中药材,1991,14(5):44.
- [3] 武密山,赵素芝,任立中,等. 川续断皂苷 VI 诱导大鼠骨髓间充质干细胞向成骨细胞方向分化的研究[J]. 中国药理学通报,2012,28(2):222.
- [4] 袁玲艳,赵永慧,赵嘉琳,等. 续断通络胶囊质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):96.
- [5] 谭洪根,林生,张启伟,等. 高效液相色谱法测定续断药材中川续断皂苷 VI 的含量[J]. 中国中药杂志,2006,31(9):726.
- [6] 张丹,颜学伟,王刚,等. 正交实验优选盐炙续断炮制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):27.
- [7] 郭岚,许腊英,陈智国,等. 酒制对续断中川续断皂苷 VI 含量的影响[J]. 湖北中医杂志,2010,32(11):64.
- [8] 马新飞,陆兔林,毛春芹,等. HPLC 法测定不同续断炮制品中川续断皂苷 VI[J]. 中草药,2007,38(5):707.

[责任编辑 全燕]