

## 正交试验优选盐炙续断炮制工艺

张丹<sup>1</sup>, 颜学伟<sup>1</sup>, 王刚<sup>1</sup>, 许秋霞<sup>1</sup>, 曹伟国<sup>1,2,3\*</sup>, 聂娟<sup>1</sup>, 谢智深<sup>1</sup>

(1. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 401331; 2. 重庆医科大学中医药研究室, 重庆 400016;  
3. 重庆医科大学中医药实验教学中心, 重庆 401331)

**[摘要]** 目的: 研究盐炙工艺对川续断皂苷 VI 含量的影响, 优选盐炙续断炮制工艺。方法: 以 HPLC 测定川续断皂苷 VI 含量为评价指标, 采用正交试验法筛选盐炙续断炮制工艺参数。结果: 优选的盐炙续断炮制工艺为每 500 g 续断药材用 10 g 盐浸润 45 min, 150 °C 炒制 8 min。结论: 优选的盐炙续断炮制工艺可明显提高续断有效成分的溶出率, 且工艺稳定、质量可控, 为续断炮制规范的研究提供参考。

**[关键词]** 盐炙续断; 川续断皂苷 VI; 高效液相色谱法; 正交试验

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0027-03

## Optimization of Processing Technology of Salt Fried *Dipsacus asperoids* by Orthogonal Experiment

ZHANG Dan<sup>1</sup>, YAN Xue-wei<sup>1</sup>, WANG Gang<sup>1</sup>, XU Qiu-xia<sup>1</sup>, CAO Wei-guo<sup>1,2,3\*</sup>, NIE Juan<sup>1</sup>, XIE Zhi-shen<sup>1</sup>

(1. Traditional Chinese Medicine (TCM) College, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 401331, China; 2. Lab of TCM, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China; 3. TCM Experimental Teaching Center, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 401331, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize processing technology of salt fried *Dipsacus asperoids*, study on effect of salt fried technology on the content of asperosaponin VI. **Method:** Orthogonal experiment was used to select processing technology parameters of salt fried *D. asperoids* with asperosaponin VI as evaluation index. **Result:** Optimal processing technology was: *D. asperoids* 500 g was soaked with 10 g salt for 45 min, roasted 8 min at 150 °C. **Conclusion:** Optimized processing technology of salt fried *D. asperoids* could significantly enhance dissolution rate of effective constituent, this process was stable and quality was easy to be controlled, this research could refer to processing standards of *D. asperoids*.

**[Key words]** salt fried *Dipsacus asperoids*; asperosaponin VI; HPLC; orthogonal experiment

续断又名川断, 广泛分布于重庆、四川、湖北、湖南、云南、贵州等地, 具有补肝肾、强筋骨、续折伤、止崩漏等功效, 主要用于肝肾不足、腰膝酸软、风湿痹痛、跌打损伤、筋伤骨折、崩漏和胎漏等症<sup>[1]</sup>。临床

上续断多使用炮制品, 现行有酒炙、盐炙、清炒和米麸炒等炮制品, 2010 年版《中国药典》和《全国中药炮制规范》均收录了酒续断和盐续断 2 种饮片。目前酒炙续断研究较为深入, 而盐炙续断的研究较少, 本课题组前期研究发现盐炙能提高续断总皂苷和川续断皂苷 VI 的溶出率<sup>[2]</sup>, 故设计正交试验, 以川续断皂苷 VI 为评价指标优选盐炙续断炮制工艺, 为续断饮片炮制规范和炮制机制的研究提供参考。

### 1 材料

LC-2010A 型高效液相色谱仪 (CLASS-VP 色谱工作站, 日本岛津), 溶剂过滤系统 (美国 Millipore), TOLEDO AG204 型 1/万电子分析天平

**[收稿日期]** 20111031(017)

**[基金项目]** 重庆市卫生局科研项目 (2010-1-146); 重庆市渝中区科技创新项目 (20100208)

**[第一作者]** 张丹, 硕士, 讲师, 从事药用植物资源开发与利用, Tel: 13452905093, E-mail: danzhang2001@sina.com

**[通讯作者]** \* 曹伟国, 硕士, 副教授, 从事中药与天然药物研究与开发, Tel: 13389679838, E-mail: cwgzd2001@sohu.com

(瑞士 METIER), MT4 型红外测温仪(美国 Raytek)。

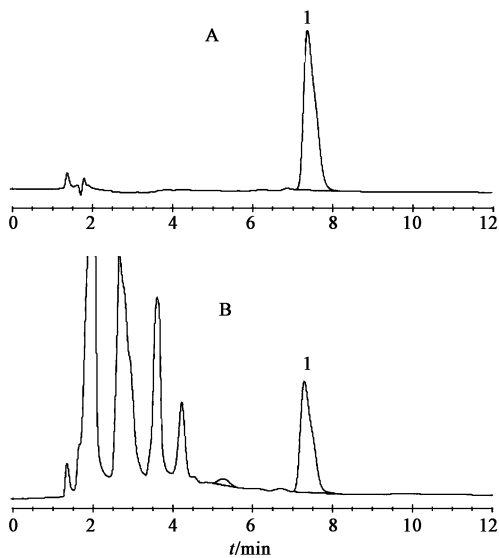
川续断皂苷 VI 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111685-200401),乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

续断样品采自重庆武隆,样品经本校中药教研室王刚副教授鉴定为川续断 *Dipsacus asperoids* C. Y. cheng et. T. M. Ai 的干燥根。

## 2 方法和结果

### 2.1 川续断皂苷 VI 含量测定

**2.1.1 色谱条件**<sup>[3-4]</sup> Inertsil ODS-SP 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(35:65),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 212 nm,柱温室温,进样量 20 μL,理论塔板数按川续断皂苷 VI 计不低于 4 000,在此条件下样品组分得到较好分离,色谱图见图 1。



A. 对照品; B. 样品; 1. 川续断皂苷 VI

图 1 续断 HPLC

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取续断皂苷 VI 12.72 mg,置 50 mL 量瓶中,加 80% 乙醇溶解并定容,摇匀,即得。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 取续断炮制品适量,粉碎成细粉,精密称定,每份约 0.5 g,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 80% 乙醇 50 mL,密塞,称定质量,浸泡 30 min,超声提取 40 min,放冷再称定质量,用 80% 乙醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.1.4 线性关系考察** 分别精密量取川续断皂苷 VI 对照品溶液 1,2,4,6,8,10 mL,置 10 mL 量瓶中,加 80% 乙醇定容至刻度,制成系列不同质量浓度的对照品溶液,按 2.1.1 项下方法测定。以色谱峰面

积(A)为纵坐标,对照品质量浓度(C)为横坐标计算线性关系,结果表明川续断皂苷 VI 在 0.025 4 ~ 0.254 4 g · L<sup>-1</sup> 线性关系良好,回归方程  $A = 7\,395\,740C - 104\,23$  ( $r = 0.999\,9$ )。

**2.1.5 精密度试验** 精密吸取川续断皂苷 VI 对照品溶液 20 μL 进样,重复 6 次,按 2.1.1 项下方法测定,得峰面积 RSD 1.31%,表明精密度良好。

**2.1.6 重复性试验** 对同一批续断药材按供试品溶液的制备方法平行制备 6 份,分别进样 20 μL,按 2.1.1 项下方法测定,计算测得峰面积 RSD 1.84%。

**2.1.7 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液 6 份,在室温下于 0,2,4,6,8,10 h 进样,进样量为 20 μL,按 2.1.1 项下方法测定,计算 RSD 2.06%,表明样品溶液在 10 h 内稳定。

**2.1.8 加样回收率试验** 取已知川续断皂苷 VI 含量的续断药材 6 份,每份约 0.2 g,精密称定,分别加入川续断皂苷 VI 对照品适量,按照 2.1.3 项下方法制备样品溶液,按 2.1.1 项下方法测定,计算平均加样回收率,结果见表 1。

表 1 川续断皂苷 VI 加样回收率

取样量 /g	含有量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.201 1	6.282	6.1	12.369	99.78	98.87	1.28
0.199 8	6.242	6.1	12.270	98.82		
0.199 3	6.226	6.1	12.128	96.75		
0.200 7	6.270	6.1	12.394	100.40		
0.198 8	6.211	6.1	12.256	99.11		
0.199 5	6.232	6.1	12.233	98.37		

**2.1.9 样品的含量测定** 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μL,按 2.1.1 项下方法进样分析,外标法计算样品中川续断皂苷 VI 的含量。

## 2.2 炮制工艺研究

**2.2.1 正交试验设计** 根据预试验结果,确定了闷润时间、盐用量、炒制温度和炒制时间 4 个主要因素和各因素的 3 个水平进行试验(表 2)。

表 2 续断盐炙工艺正交试验因素水平

水平	A 闷润时间 /min	B 盐用量 /%	C 炒制温度 /℃	D 炒制时间 /min
1	30	1	120	6
2	45	2	150	8
3	60	3	180	10

**2.2.2 炮制样品的制备** 川续断炮制方法参考《中国药典》2010 年版一部“炮制通则”与《全国中

药炮制规范》。采集道地药材川续断,每组取续断药材 300 g,除去杂质,洗净,切斜片,干燥后,按照相应试验设计,取续断片用盐水拌匀,闷润,置锅内,炒干,取出放凉,50 ℃干燥,粉碎过 20 目筛备用。以川续断皂苷 VI 为评价指标,筛选盐炙续断的最佳炮制工艺,川续断皂苷 VI 含量测定按 2.1.1 项下方法。试验安排及结果见表 3,方差分析见表 4。

表 3 续断盐炙工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	皂苷 VI/%
1	1	1	1	1	2.43
2	1	2	2	2	2.98
3	1	3	3	3	1.04
4	2	1	2	3	2.83
5	2	2	3	1	1.31
6	2	3	1	2	2.47
7	3	1	3	2	1.20
8	3	2	1	3	2.61
9	3	3	2	1	1.85
$K_1$	6.45	6.459	7.509	5.589	
$K_2$	6.609	6.9	7.659	6.651	
$K_3$	5.661	5.361	3.549	6.48	
R	0.316	0.513	1.370	0.354	

表 4 续断盐炙工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A(误差)	0.172	2	1.012	1.00	
B	0.419	2	2.465	2.44	<0.05
C	3.622	2	21.306	21.05	
D	0.216	2	1.271	1.26	

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

由结果可知,各因素的主次顺序为  $C > B > D > A$ ,以 R 值最小的 A 因素为误差项进行的方差分析表明 C 因素 3 水平间有显著性差异,B,D 因素作用不显著。最终确定盐炙续断的较优工艺为  $C_1B_2D_2A_2$ ,即 2% 盐用量,浸润 45 min,150 ℃炒制 8 min。

**2.2.3 工艺验证试验** 取续断药材 400 g,以优选出的工艺进行炮制加工,平行试验 6 组,含量测定按

2.1.1 项下方法测定,结果川续断皂苷 VI 的平均质量分数 3.15%,RSD 2.73%,说明该工艺稳定可行。

### 3 讨论

中药炮制理论认为续断炒制可缓和其辛散之性,而补力较强,盐炙则可增强入肾补之功,从而达到炮制增效的目的。本试验结果表明,按照较优的续断盐炙条件炮制,有效成分川续断皂苷 VI 的质量分数可达 3.15%,与续断生品相比略高<sup>[7]</sup>。本实验通过正交法优选出续断的盐炙工艺,该工艺稳定可行,为盐炙续断的深入研究及炮制机理的探讨奠定了基础。

续断主要含有三萜及其皂苷类化合物、环烯醚萜苷类化合物、生物碱类化合物等多种成分,已知皂苷类成分为其主要有效成分。药效学试验表明川续断皂苷 VI 具有增加骨密度的作用,与中医临床应用续断“补肝肾,强筋骨,续折断”的主治相吻合<sup>[8]</sup>。2010 年版《中国药典》也采用川续断皂苷 VI 作为续断药材的质量评价标准,因此本实验采用川续断皂苷 VI 作为正交试验的评价指标。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:309.
- [2] 张丹,曹纬国.不同炮制方法对续断中川续断总皂苷和川续断皂苷 VI 含量的影响[J].重庆医科大学学报,2010,35(7):1054.
- [3] 卫莹芳,刘永,谢达温,等.不同产地续断的质量比较[J].华西药学杂志,2010,25(2):173.
- [4] 许腊英,陈华曦,杨庆,等.药炙续断最佳炮制工艺的研究[J].中国医院药学杂志,2008,28(17):1475.
- [5] 许冬瑾,伍小妹,黄云,等.鲜巴戟天盐制工艺[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(12):50.
- [6] 许冬瑾,刘再强,陈华师.盐制山茱萸炮制工艺研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(13):46.
- [7] 曹纬国,张丹,王刚.重庆产区不同居群续断中总皂苷与川续断皂苷 VI 的含量分析[J].时珍国医国药,2011,22(2):332.
- [8] 李天庆.中药炮制对制剂药化成分的影响[J].亚太传统医药,2009,5(23):55.

[责任编辑 全燕]