技术与方法 文章编号:0253-3626(2010)07-1054-03

# 不同炮制方法对续断中总皂苷和川续断皂苷Ⅵ含量的影响

张 丹[1],曹纬国[1],陶燕铎[2]

(1.重庆医科大学中医药学院中药综合教研室,重庆 401331;2.中国科学院西北高原生物研究所藏药中心,西宁 810000)

【摘 要】目的:研究续断生品及不同炮制品中总皂苷与川续断皂苷Ⅵ的含量变化,探讨不同炮制方法对续断中总皂苷和川续断皂苷Ⅵ含量的影响。方法:采用分光光度法测定续断生品及炮制品中总皂苷的含量;采用高效液相色谱法测定川续断皂苷Ⅵ的含量。结果:与续断生品相比较,各炮制品的总皂苷含量略有增加;但炮制后川续断皂苷Ⅵ的含量增加显著。结论:不同炮制方法均能影响续断中川续断皂苷Ⅵ的含量变化,证明了传统炮制方法的合理性。

【关键词】炮制方法;总皂苷;川续断皂苷Ⅵ;分光光度法;高效液相色谱法

【中国图书分类法分类号】R943.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-12-07

# Influence of different processes on content of total saponins and asperosaponin Ⅵ in Dipsacus asperoids

*ZHANG Dan, et al*

(*Department of TCM integration, TCM College, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: In order to discuss the influence of processed methods to the contents of total saponins and asperosaponin Ⅵ in Dipsacus asperoids, the content alternation of total saponins and asperosaponin Ⅵ in crude and processed Dipsacus asperoids was investigated. *Methods*: The content of total saponins was determined by spectrophotometry using vanillin-acetic acid-perchloric acid as the chromogenic reagent. The content of asperosaponin Ⅵ in crude and processed Dipsacus asperoids was determined by HPLC. ***Results***: Contracted to the crude Dipsacus asperoids, the content of total saponins in the processed is higher. The content of asperosaponin Ⅵ in the processed Dipsacus asperoids is higher than that in the crude significantly. *Conclusion*: Different processed mothods affected the content alternation of asperosaponin Ⅵ in Dipsacus asperoids. The processing of Dipsacus asperoids is reasonable.

【Key words】Spectrophotometry; HPLC; Processed; Asperosaponin Ⅵ; Total saponins

续断为川续断科植物川续断(Dipsacus asperoids C.Y.cheng et. T.M.Ai)的干燥根[1],又名川断,具有补肝肾、强筋骨、续折伤、止崩漏、安胎等功效,主要用于胎漏、胎动不安、滑胎、腰膝酸软、跌打损伤和骨折等症。续断为常用中药,临床上多使用炮制品,《中国药典》2005 版和《全国中药炮制规范》均收载了酒续断和盐续断两种炮制品。现代研究表明,续断主要药效物质基础为皂苷类成分,目前尚未见关于炮制对续断总皂苷含量影响的研究报道,本研究以续断总皂苷和川续断皂苷Ⅵ为评价指标,探讨续断炮制过程中续断总皂苷和川续断皂苷Ⅵ的变化规律,为续断饮片质量控制和炮制机理的研究提供参考。

作者介绍:张 丹(1979- ),女,讲师,硕士,研究方向:药用植物资源研究。

通讯作者:曹纬国,男,讲师,E-mail:cwgzd2001@sohu.com。

基金项目:十一·五国家科技支撑计划(编号:2007BA145B00);重庆医科大学校级科研课题(编号:XBYB2008088)。

## 1 材 料

### 1.1 试剂

齐墩果酸(批号:110709-200505,中国药品生物制品检定所),川续断皂苷Ⅵ对照品(批号:111685-200401,中国药品生物制品检定所),甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其余所用试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器

LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津公司);CLASS-VP 色谱工作站(日本岛津公司);龙尼柯 UV-2102PC 紫外可见分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司);Millipore 溶剂过滤系统 (美国密理博公司);METTLER TOLEDO AG204 万分之一电子分析天平(瑞士梅特勒公司)。

### 1.3 药材样品

实验样品采自重庆武隆,经本校中药教研室王刚副教授

鉴定为川续断。

## 2 方法和结果

2.1 不同炮制品的制备[1,2]

续断炮制方法参考《中国药典》2005 版一部“炮制通则”与《全国中药炮制规范》。续断生品：取续断药材，除去杂质，洗净，润透，切斜片，干燥。酒炙续断：取续断片用黄酒拌匀，吸尽余酒，闷润至透，用文火炒干至微带黑色，晾凉，每 10 kg 续断用黄酒 1 kg。盐炙续断：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 总皂苷的含量测定[3-5]

2.2.1 齐墩果酸对照品溶液的制备[6] 精密称取减压干燥至恒重的齐墩果酸对照品 15.80 mg，置于 100 ml 容量瓶中，加甲醇溶解并定容至刻度，摇匀即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取续断细粉 0.5 g，精密称取，置索氏提取器中，加石油醚 150 ml，加热回流至提取液无色，弃去石油醚提取液。待石油醚挥干后，将药材粉末至烘箱中 60℃干燥 1 h，然后转移至具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50 ml，密塞，称定重量，浸泡 30 min 后，超声提取 60 min，放冷再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 测定波长的选择 取齐墩果酸对照品溶液和供试品溶液各 0.5 ml，分别置于 10 ml 具塞比色管中，60℃水浴挥干溶剂后，精密加入 0.2 ml 5%香草醛 - 冰醋酸溶液和 0.8 ml 高氯酸，摇匀，60℃恒温水浴加热 20 min，取出立即置冰水浴中冷却 15 min，加入 5 ml 冰醋酸，摇匀，在 200 ~ 600 nm 波长范围内扫描。结果齐墩果酸对照品和续断样品溶液均在 550 nm 处有最大吸收，故选 550 nm 为测定波长。

2.2.4 标准曲线的制备 精密量取齐墩果酸对照品溶液 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 ml，分别置于 10 ml 具塞比色管中，60℃水浴挥干溶剂后，精密加入 0.2 ml 5%香草醛 - 冰醋酸溶液和 0.8 ml 高氯酸，摇匀，60℃恒温水浴加热 20 min，取出立即置冰水浴中冷却 15 min，加入 5 ml 冰醋酸，摇匀，以第 1 管做空白对照，分别测定吸收度。以吸收度值 A 为纵坐标，以对照品浓度 C 为横坐标，求得回归方程：A=43.054 C+0.136 7，$r$=0.999 7，线性范围为 0.001 58 ~ 0.012 64 mg/ml。

2.2.5 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 6 份，分别置于 10 ml 具塞比色管中，依“2.2.4”项下方法显色后，于 550 nm 处测定吸收度，计算吸收度的 RSD 为 1.77%。

2.2.6 重现性试验 取同一批续断药材细粉 6 份，每份 0.5 g，分别按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，分别精密吸取供试品溶液 0.5 ml 置于 10 ml 具塞比色管中，依“2.2.4”项下方法显色后，于 550 nm 处测定吸收度，计算吸收度的 RSD为 2.19%。

2.2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 6 份，各 0.5 ml 置于 10 ml 具塞比色管中，依“2.2.4”项下方法显色后，分别于 0、30、60、90、120、150 min 测定吸收度，结果吸收度的 RSD 为 2.35%，表明续断供试品溶液在 150 min 内稳定。

2.2.8 加样回收率试验 取已知总皂苷含量的续断药材细粉 6 份，每份 0.1 g，分别加入齐墩果酸对照品适量，按照“2.2.2”项下供试品溶液制备方法制备，依“2.2.4”项下显色方法显色后，于 550 nm 处测定吸收度，计算加样回收率，结果见表 1。

2.2.9 样品总皂苷含量测定 精密吸取供试品溶液 0.5 ml 置于 10 ml 具塞比色管中，依“2.2.4”项下方法显色后，于 550 nm 处测定吸收度，并计算样品中总皂苷的含量，结果见表 3。

2.3 川续断皂苷Ⅵ的含量测定[6]

2.3.1 高效液相色谱条件 色谱柱为 hypersil $C_{18}$ 柱（5 μm，

表 1 总皂苷的加样回收率测定结果（$n$=6）

| 取样量(g) | 供试品含有量(mg) | 对照品加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) | 平均回收率(%) | RSD(%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.100 8 | 17.874 | 8.3 | 25.901 | 96.71 | 98.12 | 1.63 |
| 0.101 3 | 17.963 | 8.3 | 26.197 | 99.21 | | |
| 0.098 7 | 17.501 | 8.3 | 25.821 | 100.24 | | |
| 0.099 5 | 17.643 | 8.3 | 25.729 | 97.42 | | |
| 0.099 3 | 17.608 | 8.3 | 25.824 | 98.99 | | |
| 0.098 1 | 17.395 | 8.3 | 25.376 | 96.16 | | |

表 2 川续断皂苷Ⅵ的加样回收率测定结果（$n$=6）

| 取样量(g) | 供试品含有量(mg) | 对照品加入量(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 | | |

250 mm × 4.6 mm)；流动相为甲醇 - 水(45:55)；检测波长为 212 nm；流速为 1.0 ml/min；柱温室温；进样量为 20 μl，理论塔板数按川续断皂苷Ⅵ计不低于 4 000，在此条件下各组分得到良好分离，HPLC 液相色谱图见图 1。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取川续断皂苷Ⅵ12.72 mg，置 50 ml 容量瓶中，加 80%乙醇溶解并定容，摇匀，即得对照品储备溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 将各炮制品取适量粉碎成细粉，精密称取各炮制品样品，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，称定重量，浸泡 30 min 后，超声 60 min，放冷再称定重量，用 80%乙醇补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 10 ml 即得。

2.3.4 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 容量瓶中，加 80%乙醇制成系列标准溶液，按“2.3.1”项下方法测定。以色谱峰面积 A 为纵坐标，标准品浓度 C 为横坐标进行线性回归，结果表明川续断皂苷Ⅵ在进样量范围(0.025 4 ~ 0.254 4 mg/ml)内线性关系良好，求得回归方程为 A=7 395 740C-10 423，$r$=0.999 9。

2.3.5 精密度试验 在上述色谱条件下，精密吸取川续断皂苷Ⅵ对照品溶液 20μl，重复进样 6 次，测得峰面积的 RSD 为 1.31%，表明精密度良好。

2.3.6 重现性试验 在上述色谱条件下，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，依照样品测定方法测定，并计算峰面积的 RSD 为 1.84%。

2.3.7 稳定性实验 在上述色谱条件下，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 20 μl，测定峰面积，计算 RSD 为 2.06%，表明样品溶液在 10 h 内稳定。

2.3.8 加样回收率试验 取已知川续断皂苷Ⅵ含量的续断药材细粉 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“2.3.3”项下样品溶液制备方法制备，并在上述色谱条件下测定，计算平均加样回收率，结果见表 2。

2.3.9 样品测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μl，按上述色谱条件进样分析，以外标法计算样品中川续断皂苷Ⅵ的含量，结果见表 3。

## 3 讨 论

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，酚酸类化合物，黄酮类化合物等多种成分，已知皂苷类成分为其主要有效成分。目前针对续断药材的研究多采用单一皂苷成分川续断皂苷Ⅵ的含量作为评

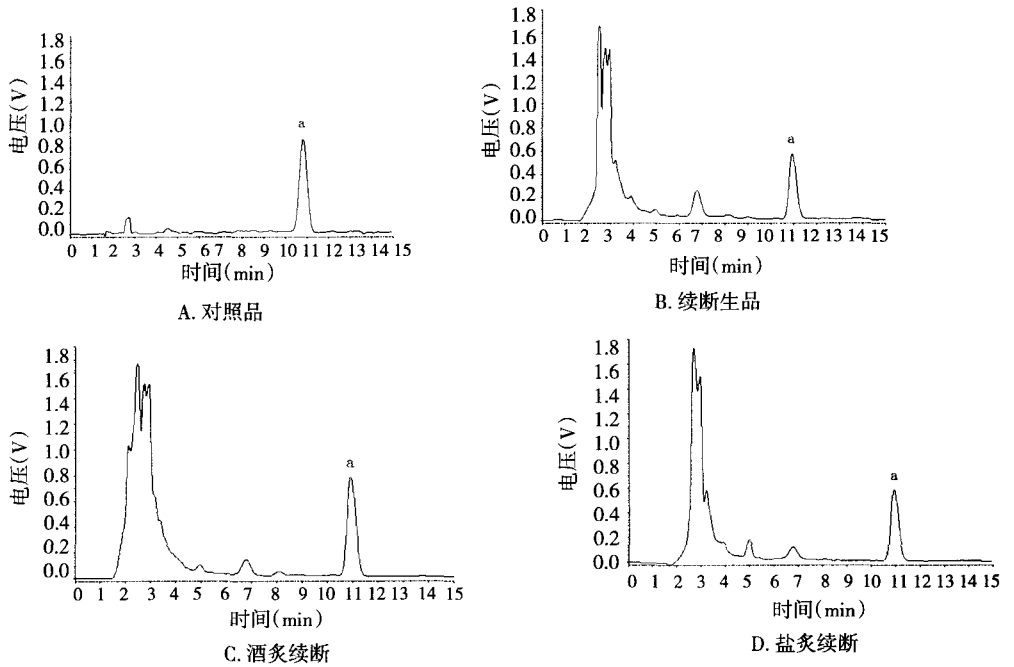



**图 1 样品高效液相色谱图**

**表 3 样品测定结果($\bar{x} \pm s$, $n$=5)**

| 样品 | 总皂苷(mg/g) | 川续断皂苷Ⅵ(mg/g) |
|---|---|---|
| 续断生品 | 177.32 ± 1.26 | 31.24 ± 0.68 |
| 酒炙续断 | 181.49 ± 0.81* | 34.69 ± 0.75* |
| 盐炙续断 | 179.36 ± 0.91* | 32.47 ± 0.59* |

与续断生品比较 *$P$<0.05

技术与方法 文章编号:0253-3626(2010)07-1057-03

# 乳化炸药爆炸残留物液相色谱/质谱分析

任 磊[1],万立华[1],李隆广[1],袁 佩[2]

(1. 重庆医科大学基础医学院法医学教研室;2. 重庆医科大学生命科学院药物工程研究中心 重庆 400016)

【摘 要】目的:运用液相色谱/质谱法对乳化炸药爆炸残留物中失水山梨醇单油酸酯(SP-80)进行检测。方法:样本用正己烷溶解、超声清洗后过滤,将得到的滤液用旋转蒸发仪蒸干,甲醇溶解后离心。色谱条件:色谱柱 Phenomenex Luna C18 3 μm,100×2.0 mm(ID);预柱 Luna C18 3 μm,(10×2.0 mm)(ID);流动相体积比为 1:200 乙酸水溶液:异丙醇 =10:90 溶液;流速:0.20 ml/min;柱温:35℃。质谱参数:干燥氮气温度 200℃;雾化器流量 1.5 L/min,检测电压 1.40 kV。结果:SP-80 在 0.2~1 mg/ml 范围内峰面积和浓度呈良好的线性关系,相关系数 $r$ 为 0.997 8,最低检出限为 1 μg/ml。3 种提取物检测未见明显差异。2 类乳化炸药中均检出 SP-80。结论:该方法操作简便、样品用量少、灵敏度高,线性范围广。在法医微量物证检验中可用于乳化炸药的推断。

【关键词】乳化炸药;爆炸残留物;液相色谱/质谱;法医学

【中国图书分类法分类号】R89 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-04-06

## Analysis of emulsion explosives residues by LC/MS

*REN Lei, et al*

(*Department of Forensic Medicine, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To use liquid chromatography/mass spectrometry to detect single-oleic acid sorbitan ester (SP-80) of emulsion explosives residues. *Methods*: Samples were collected after the ultrasonic cleaning solution with hexane, then filtered, and the filtrate were dried up with the rotary evaporator, dissolved in methanol, and then centrifuged. Chromatographic conditions were as follows: column phenomenex luna of C18 3 μm (100×2.0 mm)(ID), pre-column Luna of C18 3 μm (10×2.0 mm)(ID), mobile phase volume ratio of 1:200 aqueous solution of acetic acid, isopropyl alcohol of 10:90; flow rate of 0.20 ml/min, and column temperature of 35℃. MS parameter included drying nitrogen gas temperature of 200℃,

作者介绍:任 磊(1984- ),男,硕士,
研究方向:法医微量物证。

通讯作者:万立华,男,教授,E-mail:ccwxy621@mail.cqums.edu.cn。

价指标,有一定的局限性,而续断药材中已知皂苷类成分 24 种,若要全面分析,难度较大。本实验采用总皂苷和川续断皂苷Ⅵ作为评价指标,能较好的反映续断饮片的品质,为续断炮制机理的研究奠定基础。

续断为中医临床常用中药,历代使用的续断炮制方法主要有清炒、酒炙和盐炙法,《中国药典》2005 版和《全国中药炮制规范》均只收载了酒续断和盐续断。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;酒炙后可增强其续筋骨、调血脉的功效;盐炙则可增强入肾补之功,从而达到炮制增效的目的。实验结果表明,不同炮制方法均能提高续断总皂苷和川续断皂苷Ⅵ的含量,相比盐炙续断,酒炙续断中总皂苷和川续断皂苷Ⅵ的含量增加更明显,说明续断经炮制后能明显增加有效成分的含量,证明了续断传统炮制方法的合理性。

另外与续断生品的液相图谱图相比较发现,酒炙续断和盐炙续断色谱图中保留时间为 6.7 min 的色谱峰面积明显减少,而盐炙续断色谱图保留时间为 4.9 min 色谱峰面积明显增加,说明不同炮制方法引起了续断多种化学成分含量的变化,关于其炮制前后药效物质基础的变化有待深入研究。

## 参 考 文 献

[1] 中华人民共和国药典委员会.中国药典(第一部)[S]. 2005 版. 北京:化学工业出版社,2005. 231.

[2] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 全国中药炮制规范[S]. 北京:人民卫生出版社,1988. 101-102.

[3] 唐青涛,邱海燕,廖伟玲,等.紫外分光法测定无患子果皮中总皂苷的含量[J].天然产物研究与开发,2008,20(B05):84-86.

[4] 薛小娟,陈晓青,李 钰.紫外分光光度法测定知母中总皂苷的含量[J].药物分析杂志,2006,26(11):1659-1662.

[5] 周欣欣.市售制剂中罗汉果总皂苷的含量测定[J].中成药,2007,29(1):152-153.

[6] 董玉琼,何晓红,钟国跃,等.正交法优选川续断的提取工艺[J].中国中药杂志,2007,32(11):1107-1109.

(责任编辑:关蕴良)