

沙苑子不同规格炮制品中沙苑子苷 A 的含量比较研究

康丽 邱仁杰 王秀丽

【摘要】 目的 建立沙苑子中沙苑子苷 A 的含量测定方法,考察沙苑子不同规格炮制品中沙苑子苷 A 的含量及其变化情况。**方法** 用盐水、黄酒、米醋三种辅料,按照烘、炒、蒸三种不同工艺,炮制出 9 种不同规格沙苑子炮制品,采用高效液相色谱(HPLC)法测定不同规格沙苑子中沙苑子苷 A 的含量。**结果** 沙苑子苷 A 在 $0.0209\ \mu\text{g} \sim 0.4180\ \mu\text{g}$ 范围内线性关系良好($r=0.999\ 9, n=5$);平均加样回收率为 97.91%,RSD 为 1.48%,准确度符合要求。沙苑子生品、盐水闷润炒干品、盐水闷润烘干品、盐水闷润蒸后烘干品、黄酒闷润炒干品、黄酒闷润烘干品、黄酒闷润蒸后烘干品、米醋闷润炒干品、米醋闷润烘干品、米醋闷润蒸后烘干品中沙苑子苷 A 含量分别为 0.98、0.89、0.85、1.16、0.88、0.90、1.09、0.85、0.87、1.18 mg/g。**结论** 建立的 HPLC 检测方法快速准确、重复性好、专属性强;盐水、黄酒或米醋三种辅料闷润炒干和闷润烘干可导致沙苑子中沙苑子苷 A 含量下降,而辅料闷润蒸后烘干则使得沙苑子苷 A 含量增加,尤以米醋闷润蒸后烘干品中沙苑子苷 A 含量最高。

【关键词】 沙苑子; 炮制品; 沙苑子苷 A; 高效液相色谱法; 含量测定

【中图分类号】 R284 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.06.009

Comparative study on the content of complanatuside A in different specifications of astragali complanati semen KANG Li, QIU Renjie, WANG Xiuli. Yulin Hospital of traditional Chinese medicine,

基金项目:陕西省中医管理局中医药科研课题(15-ZY041);国家中医药管理局全国中药特色技术传承人才培养项目

作者单位:719000 陕西省榆林市中医医院药学部(康丽);北京中医药大学中药学院(邱仁杰、王秀丽)

作者简介:康丽(1972-),女,本科,副主任,中药师。研究方向:中药鉴定。E-mail:1186825832@qq.com

通信作者:王秀丽(1978-),女,博士,副研究员。研究方向:中药复方及新药研发。E-mail:Lnwangxiuli@

163.com

Yulin 719000, China

Corresponding author: WANG Xiuli, E-mail: Lnwangxiuli@163.com

[Abstract] Objective To establish a method of content determination of complanatuside A in astragali complanati semen, and study the contents and changes of different specifications. **Methods** Saline water, rice-vinegar, rice-wine was used as excipients, according to the three different processes of baking, frying and steaming, the astragali complanati semen was made up of 9 kinds of products with different specifications, then the content of complanatuside A was determined by HPLC. **Results** Complanatuside A showed a good linearity relationship in the range of 0.0209 μg ~ 0.4180 μg ($r=0.999\ 9$, $n=5$). The average recovery was 97.91%, RSD was 1.48%, the accuracy met the requirements. The contents of complanatuside A in not-processed product, roasting product after saline water moistening, drying product after saline water moistening, roasting product after saline water moistening and steaming, roasting product after rice-wine moistening, drying product after rice-wine moistening, roasting product after rice-wine moistening and steaming product, roasting product after rice-vinegar moistening, drying product after rice-vinegar moistening and drying product after rice-vinegar moistening and steaming, the content of complanatuside A was 0.98, 0.89, 0.85, 1.16, 0.88, 0.90, 1.09, 0.85, 0.87, 1.18 mg/g respectively. **Conclusion** The established HPLC detection method is fast, accurate, repeatable and strong specificity; roasting or drying after moistening with saline water, rice-vinegar or rice-wine can reduce the content of complanatuside A in astragali complanati semen, however the drying after moistening and steaming with excipients can increase the content of complanatuside A, the content of drying product after rice-vinegar moistening and steaming is highest.

[Key words] astragali complanati semen; Processed products; Complanatuside A; HPLC; Content determination

沙苑子,别名潼蒺藜、沙苑蒺藜,为豆科植物扁茎黄芪 *Astragalus complanatus* R. Br. 的干燥成熟种子,秋末冬初果实成熟尚未开裂时采割植株,晒干,打下种子,除去杂质,晒干,主产于陕西,内蒙古、辽宁、河北、甘肃、吉林也有分布。本品始载于《神农本草经》,味甘、性温,归肝、肾经,具有温补肝肾、固精、缩尿、明目等功效,用于肾虚腰痛、遗精早泄、白浊带下、小便余沥、眩晕目昏等病症^[1]。现代药理研究表明,沙苑子对血液流变学、免疫功能、血压和脑血流量均有影响,同时还有解热、镇痛、镇静、耐寒、抗疲劳、抗炎和降脂保肝的作用^[2]。

沙苑子主要含有氨基酸、多肽、蛋白质、黄酮类、酚类、鞣质、甾醇和三萜类、生物碱及矿质元素等^[3]。有文献报道,包括沙苑子苷 A 在内的沙苑子总黄酮可降低血清胆固醇、甘油三酯,降低外周阻力使血压尤其是舒张压下降,降低 SGPT 并增加模型动物肝糖原等以保肝^[4-6],是沙苑子中主要的生物活性部位。2015 年版《中华人民共和国药典》(一部)以沙苑子苷作为沙苑子含量测定的指标成分,其中收载沙苑子炮制方法为净制法(即除去杂质,洗净,干燥)、盐炙法[取净沙苑子,照盐水

炙法(通则 0213)炒干)]^[1]。其中盐炙法是沙苑子最常用的炮制方法,具有悠久的历史,但是也有酒炙、醋炙等炮制方法被广泛应用却并未被药典收载。目前,沙苑子相关炮制研究屡有报道,有关沙苑子的沙苑子苷含量测定也多有研究成果出现,但这些相关炮制品研究大都停留在工艺优化阶段,且多以盐炙法为主,炮制前后指标成分的含量变化研究少有报道。

本实验分别用盐水、黄酒、米醋三种辅料,按照烘、炒、蒸三种不同工艺,得 9 种不同规格沙苑子炮制品,采用高效液相色谱(HPLC)法测定沙苑子苷 A 的含量,通过比较沙苑子炮制前后沙苑子苷 A 含量变化以及不同炮制规格中的沙苑子苷 A 含量的差异,为沙苑子的质量标准建立和进一步的炮制研究提供依据。

1 仪器与试药

岛津 LC-20A 高液相色谱仪,DAD 检测器,色谱柱:Kromasil C₁₈ 5 μm (4.6 mm×250 mm);试剂:乙腈为色谱纯;其他试剂均为分析纯;水为超纯水。FA1204B 分析天平(上海精密仪器仪表有限公司),101-1AB 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限

公司), KQ-300VDB 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);沙苑子购于北京同仁堂望京店,经北京中医药大学中药学院鉴定教研室王晶娟副教授鉴定为豆科植物扁茎黄芪 *Astragalus complanatus* R. Br. 的干燥成熟种子。对照品:沙苑子 A 对照品(批号:116183-66-5,供含量测定用,纯度 98.0%;上海诗丹德标准技术有限公司)。

2 方法与结果

2.1 炮制品制备

2.1.1 生品 取净沙苑子 50 g,粉碎,过 60 目筛,备用。

2.1.2 辅料闷润炒干品 取净沙苑子 50 g,加入 20 mL 盐水(含 2% 盐)、黄酒或米醋至密闭容器内,闷润 2 小时,置炒锅中,锅底温度 120 ~ 130 °C,炒制 60 秒,放凉,粉碎,过 60 目筛,备用。

2.1.3 辅料闷润烘干品 取净沙苑子 50 g,加入 20 mL 盐水(含 2% 盐)、黄酒或米醋至密闭容器内,闷润 2 小时,置于烘箱内,温度为 60 °C,烘干,4 小时后取出,放凉,粉碎,过 60 目筛,备用。

2.1.4 辅料闷润蒸后烘干品 取净沙苑子 50 g,加入 20 mL 盐水(含 2% 盐)、黄酒或米醋至密闭容器内,闷润 2 小时,取出,置于蒸锅中,圆气后蒸 60 分钟后取出,置于烘箱内,温度为 60 °C,烘干,4 小时后取出,放凉,粉碎,过 60 目筛,备用^[7]。

2.2 对照品溶液的制备

取沙苑子苷 A 对照品 0.01045 g,精密称定,置 10 mL 量瓶中,加 50% 乙醇至刻度,从中精密量取 1 mL 置于 50 mL 量瓶中配制每 1 mL 含沙苑子苷 A 0.0209 mg 的对照品溶液^[8]。

2.3 供试品制备

2.3.1 提取溶剂的选择 试验选用 30% 乙醇、60% 乙醇、甲醇,作为提取溶剂进行比较,取本品(沙苑子生品)0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入相应溶剂 25 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 500 W,频率 40 kHz)30 分钟,放冷,再称定重量,用相应试剂补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,作为供试品溶液。按上述色谱条件进行测定,结果 60% 乙醇提取效率较好,故选择 60% 乙醇作为测定提取溶剂。见表 1。

2.3.2 提取时间及提取方法的选择 以 60% 乙醇为溶剂,分别采用超声提取 30、60 分钟、回流提取 30 分钟、1 小时、2 小时。结果发现采用回流提取效

果较好,选用 60% 乙醇回流提取 1 小时即可提取完全。见表 2。

表 1 不同溶剂提取后测定结果

提取溶剂	沙苑子苷 A 含量(mg/g)
30% 乙醇	0.702
60% 乙醇	0.747
甲醇	0.502

表 2 不同提取方法及时间测定结果

提取方式	提取时间(min)	沙苑子苷 A 含量(mg/g)
超声提取	30	0.747
超声提取	60	0.756
回流提取	30	0.842
回流提取	60	0.981
回流提取	120	0.987

因此供试品制备方法为:取本品 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 60% 乙醇 25 mL,称定重量,加热回流 1 小时,放冷,再称定重量,用 60% 乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 色谱条件

色谱柱:Kromasil C₁₈ 5 μm(4.6 mm×250 mm);流动相:乙腈-0.1% 磷酸溶液(20:80);检测波长为 266 nm;流速 1.0 mL/min;柱温:25 °C。沙苑子苷 A 的保留时间在 22 分钟左右,且沙苑子苷 A 与相邻成分色谱峰的分离度都在 1.5 以上,理论板数按沙苑子苷 A 峰计算应不低于 4000。分别精密吸取沙苑子苷 A 对照品溶液与供试品溶液 20 μL 注入液相色谱仪,依上述色谱条件,测定,即得。对照品和供试品 HPLC 见图 1、2。

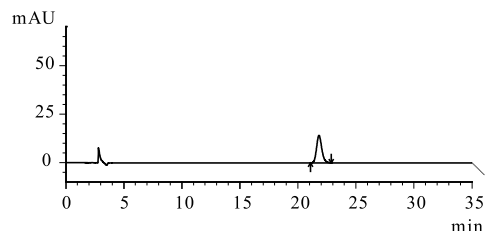


图 1 沙苑子苷 A 对照品 HPLC 图

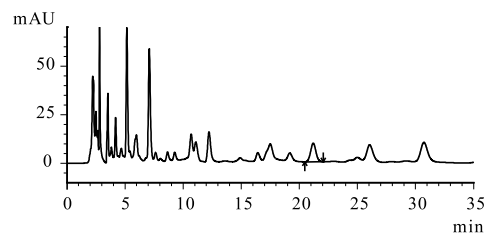


图 2 生沙苑子供试品 HPLC 图

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系考察 分别精密吸取沙苑子苷 A 对照品溶液(浓度:0.0209 mg/mL)1、5、10、15、20 μ L,注入高效液相色谱仪,按 2.4 项下色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,沙苑子苷 A 回归方程为: $Y=2.147 \times 10^6 X - 3.779 \times 10^3$,相关系数 $r=0.9999$ ($n=5$),结果表明沙苑子苷 A 在 0.0209 μ g ~ 0.4180 μ g 范围内呈良好的线性关系。

2.5.2 稳定性试验 精密吸取同一批供试品溶液(生沙苑子),分别于配制后 0、4、8、12、24 小时,按 2.4 项下色谱条件测定,结果沙苑子苷 A 的 RSD 为 1.64%,表明供试品溶液在配制后 24 小时内基本稳定。

2.5.3 重复性试验 取同一批沙苑子样品,按照 2.3 项下方法制备供试品溶液,平行制备 6 份进行测定,结果沙苑子苷 A 的 RSD 分别为 1.41%,表明方法重复性较好。

2.5.4 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批样品(生沙苑子)(沙苑子苷 A 含量 0.984 mg/g)0.25 g,精密加入对照品溶液(沙苑子苷 A 浓度为 0.010 45 mg/mL,纯度 98.0%)25 mL;按照 2.3 项下方法制备供试品溶液,各平行制备 6 份,依法测定,结果平均加样回收率为 97.91%,RSD 为 1.48%,表明本方法具有良好的准确度。

2.6 样品含量测定

取上述沙苑子生品及炮制品粉末各 0.5 g,精密称定,按照 2.3 项下方法制备供试品溶液,依据 2.4 项下色谱条件测定沙苑子苷 A 的含量,每个样品皆平行测定 3 次,以外标一点法计算含量,其平均值和 RSD,结果见表 3。

表 3 样品中沙苑子苷 A 含量测定结果($n=3$)

批号	样品	沙苑子苷 A 含量(mg/g)	RSD(%)
1	生品	0.98	1.23
2	盐水闷润炒干品	0.89	1.06
3	盐水闷润烘干品	0.85	1.33
4	盐水闷润蒸后烘干品	1.16	1.02
5	黄酒闷润炒干品	0.88	1.14
6	黄酒闷润烘干品	0.90	1.29
7	黄酒闷润蒸后烘干品	1.09	0.98
8	米醋闷润炒干品	0.85	1.45
9	米醋闷润烘干品	0.87	1.52
10	米醋闷润蒸后烘干品	1.18	1.18

3 讨论

研究表明,沙苑子总黄酮是沙苑子中主要的生物活性部位,而沙苑子苷 A 则是含量较高的黄酮类成分,且有研究发现,沙苑子苷 A 有较明显的抗血小板聚集作用,表明其为沙苑子活性成分之一,故选择黄酮类成分中含量较高的沙苑子苷 A 作为沙苑子的指标性成分进行含量测定。沙苑子炮制品色谱图与生沙苑子基本相同,在沙苑子苷 A 峰的前后均无新的干扰峰出现,不影响测定。

试验所用炮制品均由沙苑子原药材加工制成。测定比较后发现,辅料[盐水(含 2% 盐)、黄酒或米醋]闷润炒干品和辅料闷润烘干品中沙苑子苷 A 的含量较沙苑子生品有所下降,可能因为炒制过程中温度较高,沙苑子苷 A(熔点 278 $^{\circ}$ C)受到破坏。而辅料闷润蒸后烘干品中沙苑子苷 A 的含量较沙苑子生品有所增加,可能是因为在炮制加热过程中酶解沙苑子苷 A 的自生酶被破坏,即“杀酶保苷”原理。而此酶在何种条件下完全失效以保苷以及何种条件下此酶活性最强而使沙苑子苷 A 受到破坏,尚有待进一步的研究。本次试验成功建立沙苑子中沙苑子苷 A 的含量测定方法,该方法快速准确、重复性好、专属性强,可用于沙苑子的质量控制,并为其进一步的炮制研究奠定了基础。

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:化学工业出版社,2015:183-184.
- [2] 李昌勤. 沙苑子化学成分及药理作用研究进展[J]. 时珍国医国药,2000,11(11):1041-1042.
- [3] 刘奇梅. 沙苑子有效化学成分的提取分离及其药理活性的研究[D]. 广州:华南理工大学,2013.
- [4] 谢梅林,朱路佳,刘春宇,等. 沙苑子提取物调脂和保肝作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2003,9(6):27-29.
- [5] 薛冰,李景新,陈连璧. 沙苑子总黄酮对 SHR 的降压及血流动力学影响[J]. 中国中药杂志,2002,27(11):855-858.
- [6] 张建军,闫兴丽,张玉杰,等. HPLC 测定沙苑子中沙苑子苷 A 的含量[J]. 中国中药杂志,2005,30(8):600-602.
- [7] 孙建中,张怀,贾天柱,等. 沙苑子及其炮制品中沙苑子 A 和鼠李柠檬素的含量测定研究[J]. 中成药,2010,32(8):1368-1371.
- [8] 贺成,唐晓晶,陈玉武,等. 高效液相色谱法测定沙苑子及其炮制品中沙苑子苷的含量[J]. 中国中医药信息杂志,2010,17(3):49-51.

(收稿日期:2017-02-22)

(本文编辑:董历华)