

# 续断饮片标准汤中川续断皂苷VI转移率的研究<sup>Δ</sup>

李军山<sup>1,2\*</sup>, 常云凤<sup>1</sup>, 马浩<sup>1</sup>, 牛丽颖<sup>2,3</sup>, 李振江<sup>1</sup>(1.神威药业集团有限公司, 石家庄 051430; 2.河北省中药配方颗粒工程技术研究中心, 石家庄 050091; 3.河北中医学院药学院, 石家庄 050091)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)20-2782-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.20.10

**摘要** 目的:研究续断饮片标准汤中川续断皂苷VI的转移率。方法:采用高效液相色谱法测定续断饮片及其标准汤中川续断皂苷VI的含量,色谱柱为SinoChrom ODS-AP,流动相为乙腈-水(30:70, V/V),流速为1.0 mL/min,检测波长为212 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μL。根据成分含量测定结果计算从饮片到标准汤转变过程中川续断皂苷VI的转移率。结果:川续断皂苷VI检测进样量线性范围为0.484~4.84 μg( $r=0.999\ 9$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于2%;定量限、检测限分别为0.3、0.1 μg;饮片和标准汤中的加样回收率分别为95.13%~100.22%(RSD=1.78%,  $n=6$ )、97.07%~100.08%(RSD=0.98%,  $n=6$ );耐用性试验的RSD均小于1%。续断饮片标准汤中川续断皂苷VI的转移率为26.3%~49.5%。结论:该方法操作简便、准确,精密性、稳定性、重复性、耐用性好,可用于续断饮片标准汤中川续断皂苷VI转移率的测定。

**关键词** 续断; 饮片; 标准汤; 高效液相色谱法; 川续断皂苷VI; 转移率

## Study of Transfer Rate of Standard Decoction of *Dipsacus asper* Decoction Pieces

LI Junshan<sup>1,2</sup>, CHANG Yunfeng<sup>1</sup>, MA Hao<sup>1</sup>, NIU Liying<sup>2,3</sup>, LI Zhenjiang<sup>1</sup>(1. Shineway Pharmaceutical Group, Co., Ltd., Shijiazhuang 051430, China; 2. Hebei Center for TCM Formula Granule Engineering Technology Research, Shijiazhuang 050091, China; 3. College of Pharmacy, Hebei University of TCM, Shijiazhuang 050091, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study transfer rate of asperosaponin VI in standard decoction of *Dipsacus asper* decoction pieces. METHODS: The content of asperosaponin VI in *Dipsacus asper* decoction pieces and its standard decoction was determined by HPLC. The determination was performed on SinoChrom ODS-AP with mobile phase consisted of acetonitrile-water (30:70, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 212 nm, and column temperature was 30 ℃. The sample size was 10 μL. By the ingredients content obtained, the transfer rate of asperosaponin VI was calculated during decoction piece to standard decoction. RESULTS: The linear range of asperosaponin VI was 0.484-4.84 μg ( $r=0.999\ 9$ ). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. The limits of quantification and detection were 0.3 and 0.1 μg, respectively. The average recoveries in *D. asper* decoction pieces and standard decoction were 95.13% -100.22% (RSD=1.78%,  $n=6$ ), 97.07% -100.08% (RSD=0.98%,  $n=6$ ). RSD of durability test was lower than 1%. The transfer rate of asperosaponin VI in standard decoction of *D. asper* decoction pieces ranged 26.3%-49.5%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, precise, stable, reproducible and durable, and can be used for transfer rate of asperosaponin VI in standard decoction of *D. asper* decoction pieces.

**KEYWORDS** *Dipsacus asper*; Decoction pieces; Standard decoction; HPLC; Asperosaponin VI; Transfer rate

续断为川续断科植物川续断(*Dipsacus asper* Wall. ex Henry)的干燥根,收载于2015年版《中国药典》(一部)<sup>[1]</sup>,在《神农本草经》中被列为上品,主产于四川、云南等地,其性苦、辛,微温<sup>[2]</sup>。续断的主要成分是三萜皂苷类成分,其中含量最高的为川续断皂苷VI;此外还有茶茱萸苷、熊果酸等环烯醚萜类成分以及龙胆碱、喜树碱等生物碱类成分<sup>[3]</sup>。研究显示,川续断皂苷VI对非酒精性脂肪肝模型小鼠具有明显的降脂作用<sup>[4]</sup>。

中药配方颗粒(即本文中“标准汤”)是由单味中药饮片煎煮后经提取浓缩制成的供中医临床配方使用的颗粒,是近几年市场需求增长迅速的产品,但存在着标准不统一等问题,给临床用药带来诸多不稳定因素<sup>[5]</sup>。本研

究参照《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》,收集15批不同产地的续断药材饮片,制备成标准汤,并测定川续断皂苷VI的含量,以此计算从饮片到标准汤转变过程中川续断皂苷VI的转移率,从而为续断饮片标准汤的质量控制提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-15C型高效液相色谱(HPLC)仪,包括SPD-15C紫外-可见检测器等(日本Shimadzu公司);Shunliu-12N型冷冻干燥机(南京顺流仪器有限公司);2XZ-4型旋片式真空泵(临海市谭氏真空设备有限公司);AE 240型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);KH-3200 E型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司)。

### 1.2 试剂

川续断皂苷VI对照品(中国食品药品检定研究院,

<sup>Δ</sup> 基金项目:河北省科技计划项目(No.16272510、17272505D)

\* 高级工程师。研究方向:药物工艺及质量标准。E-mail: swljs@sina.com

批号:111685-201506,纯度:90.2%);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

### 1.3 药材

笔者收集得到不同产地的15批续断药材饮片(详见表1),并经河北省药品检验研究院孙宝慧教授鉴定为真品。

表1 续断药材饮片来源

Tab 1 Source of *D. asper* decoction pieces

批号	产地	基源
1609031	四川康定	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1609032	四川康定	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1609033	云南凉山	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1609034	云南大理	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1610111	云南大理	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1610112	四川达州	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1610114	云南大理	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1610115	云南大理	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1610116	云南蔚山	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1610117	云南保山	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1610118	云南丽江	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1610119	云南六库	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1705291	四川西昌	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1705292	四川西昌	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry
1705293	四川西昌	<i>D. asper</i> Wall.ex Henry

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:SinoChrom ODS-AP(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(30:70, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:212 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μL。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取川续断皂苷VI对照品适量,精密称定,加70%甲醇溶液制成川续断皂苷VI质量浓度为242 μg/mL的对照品溶液。

2.2.2 饮片供试品溶液 精密称取饮片样品细粉0.5 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇溶液25 mL,密塞,称定质量,超声(功率:100 W,频率:40 kHz)处理10 min,放冷,再次称定质量,用70%甲醇溶液补足缺失的质量,摇匀,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 标准汤供试品溶液 称取饮片样品100 g,加水煎煮2次。第一次加水900 mL,浸泡30 min,沸后煎煮60 min;第二次加水700 mL,沸后煎煮40 min。合并两次煎液,经300目筛网趁热滤过,取续滤液,真空浓缩(温度<65 ℃,真空度≥0.09 MPa),冷冻干燥后精密称取0.5 g,按“2.2.3”项下方法制备标准汤供试品溶液<sup>[6-7]</sup>。

2.2.4 阴性对照溶液 以70%甲醇溶液作为阴性对照溶液。

### 2.3 系统适用性试验

取上述对照品溶液、饮片和标准汤供试品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图1。结果,理论板数按川续断皂苷VI峰计均不低于3 000;基线分离良好,分离度均大于1.5。

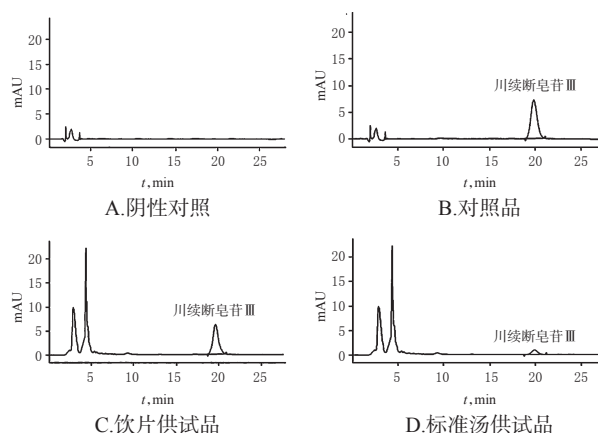


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

### 2.4 专属性试验

取上述对照品溶液、阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图1。结果,阴性对照在与川续断皂苷VI对照品相同保留时间处无干扰峰,表明本方法专属性良好。

### 2.5 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下对照品溶液2、6、12、16、20 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以川续断皂苷VI进样量(x, μg)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $y = 2.3383 \times 10^5 x + 5.2004 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ )。结果表明,川续断皂苷VI检测进样量线性范围为0.484~4.84 μg。

### 2.6 定量限与检测限考察

分别精密量取“2.2.1”项下对照品溶液适量,倍比稀释,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,以信噪比10:1、3:1分别计算定量限、检测限。结果,川续断皂苷VI定量限、检测限分别为0.3、0.1 μg。

### 2.7 仪器精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,川续断皂苷VI峰面积的RSD为0.61% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.8 中间精密度试验

由2名分析员分别在不同日期精密称取饮片样品(批号:1609032)细粉适量,分别按“2.2.2”“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,各6份,再按“2.1”项下色谱条件在不同仪器上进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表2、表3。

### 2.9 稳定性试验

分别取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:1609032)、“2.2.3”项下供试品溶液(批号:1609032)适量,于室温下放置0、2、4、6、8、12、18 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,饮片、标准汤供试品溶液中川续断皂苷VI峰面积的RSD分别为0.74%、0.60% ( $n = 7$ ),表明两种供试品溶液在室温下放置18 h内均基本稳定。

### 2.10 重复性试验

表2 中间精密度试验结果(饮片, n=12)

Tab 2 Result of intermediate precision tests (decoction pieces, n=12)

仪器	编号	川续断皂苷VI 含量, %	含量平均值, %	RSD, %
岛津LC-15C型HPLC仪	A1	6.12	6.20	1.00
	A2	6.11		
	A3	6.21		
	A4	6.19		
	A5	6.15		
	A6	6.14		
安捷伦1260型HPLC仪	A1	6.23	6.20	1.00
	A2	6.22		
	A3	6.20		
	A4	6.31		
	A5	6.28		
	A6	6.24		

精密称取饮片样品(批号:1609032)细粉适量,分别按“2.2.2”“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,各6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,饮片、标准汤供试品溶液中川续断皂苷VI含量平均值分别为6.20%、6.75%,RSD分别为1.56%、1.15%(n=6),表明本方法重复性良好。

表3 中间精密度试验结果(标准汤, n=12)

Tab 3 Result of intermediate precision tests (standard decoction, n=12)

仪器	编号	川续断皂苷VI 含量, %	含量平均值, %	RSD, %
岛津LC-15C型HPLC仪	A1	6.74	6.73	0.49
	A2	6.69		
	A3	6.71		
	A4	6.76		
	A5	6.75		
	A6	6.74		
安捷伦1260型HPLC仪	A1	6.73	6.73	0.49
	A2	6.72		
	A3	6.69		
	A4	6.78		
	A5	6.77		
	A6	6.68		

### 2.11 加样回收率试验

取已知含量饮片样品(批号:1609032)细粉适量,共12份,分别加入一定质量浓度的川续断皂苷VI对照品溶液适量,按“2.2.2”“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,各6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表4。

表4 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 4 Results of recovery tests (n=6)

待测供试品	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
饮片	0.521	3.178 1	3.145 5	6.269 3	98.27	97.62	1.78
	0.545	3.324 5	3.145 5	6.350 7	96.25		
	0.547	3.336 7	3.145 5	6.430 5	98.36		
	0.511	3.117 1	3.145 5	6.172 5	97.11		
	0.529	3.226 9	3.145 5	6.379 3	100.22		
	0.531	3.239 1	3.145 5	6.231 4	95.13		
标准汤	0.596	1.203 4	1.161 4	2.344 2	98.23	98.49	0.98
	0.598	1.215 7	1.161 4	2.360 1	98.53		
	0.501	1.234 1	1.161 4	2.376 8	98.39		
	0.599	1.221 9	1.161 4	2.367 2	98.62		
	0.598	1.215 7	1.161 4	2.378 0	100.08		
	0.500	1.228 0	1.161 4	2.355 3	97.07		

### 2.12 耐用性试验

2.12.1 色谱柱考察 精密称取饮片样品(批号:1610111)细粉适量,分别按“2.2.2”“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件[色谱柱分别设置为SinoChrom ODS-AP(150 mm×4.6 mm, 5 μm)、Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Kromasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm)]进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表5。结果表明,色谱柱发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,耐用性良好。

2.12.2 流动相考察 精密称取饮片样品(批号:1610111)细粉适量,分别按“2.2.2”“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件(流动相乙腈与水体积比分别设置为25:75、30:70、35:65)进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表5。结果表明,流动相发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,耐用性良好。

2.12.3 流速考察 精密称取饮片样品(批号:1610111)细粉适量,分别按“2.2.2”“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件(流速分别设置为0.8、1.0、1.2 mL/min)进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表5。结果表明,流速发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,耐用性良好。

2.12.4 柱温考察 精密称取饮片样品(批号:1610111)细粉适量,分别按“2.2.2”“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件(柱温分别设置为25、30、35℃)进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表5。结果表明,柱温发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,耐用性良好。

### 2.13 样品含量测定及转移率计算

取15批饮片样品细粉各适量,分别按“2.2.2”“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,平行测定3次,记录峰面积计算样品含量,并计算

表5 耐用性试验结果

Tab 5 Results of durability tests

色谱条件	设置	饮片川续断皂苷VI			标准汤川续断皂苷VI		
		含量, %	平均值, %	RSD, %	含量, %	平均值, %	RSD, %
色谱柱	SinoChrom ODS-AP	4.52	4.53	0.46	4.08	4.08	0.51
	Diamonsil C <sub>18</sub>	4.56			4.06		
	Kromasil C <sub>18</sub>	4.53			4.09		
流动相	乙腈-水(25:75, V/V)	4.51	4.56	0.96	4.02	4.06	0.89
	乙腈-水(30:70, V/V)	4.58			4.07		
	乙腈-水(35:65, V/V)	4.59			4.09		
流速	0.8 mL/min	4.48	4.52	0.89	4.09	4.05	0.87
	1.0 mL/min	4.56			4.06		
	1.2 mL/min	4.53			4.11		
柱温	25 °C	4.51	4.54	0.55	4.01	4.03	0.52
	30 °C	4.56			4.04		
	35 °C	4.54			4.05		

从饮片到标准汤转变过程中川续断皂苷VI的转移率(出膏率=膏体质量/饮片质量×100%;转移率=标准汤中川续断皂苷VI含量×出膏率/饮片川续断皂苷VI含量×100%),结果见表6。

表6 样品含量测定及转移率计算结果(n=3, %)

Tab 6 Results of content determination and transfer rate of samples(n=3, %)

批号	饮片川续断皂苷VI含量, %	标准汤川续断皂苷VI含量, %	出膏率, %	川续断皂苷VI转移率, %
1609031	4.00	3.61	33.1	29.9
1609032	6.10	6.75	34.8	38.5
1609033	5.60	6.42	34.2	39.2
1609034	6.30	6.02	38.6	36.9
1610111	4.50	4.08	29.1	26.3
1610112	7.50	6.64	39.1	34.6
1610114	5.60	6.36	38.5	43.8
1610115	5.60	5.81	35.0	36.3
1610116	6.20	6.39	35.6	36.6
1610117	5.30	6.03	35.5	40.4
1610118	7.10	5.78	37.4	30.4
1610119	6.70	5.79	38.1	32.9
1705291	5.50	7.71	30.0	42.1
1705292	5.50	8.07	33.8	49.5
1705293	5.40	8.44	30.7	48.0

### 3 讨论

川续断皂苷VI作为续断药材饮片的主要成分,是评价续断药材饮片质量的重要指标;续断饮片标准汤是续断药材饮片经提取、浓缩、干燥制成,因此,川续断皂苷VI同样是续断饮片标准汤的指标成分。本研究结果显示,以饮片到标准汤转变过程中川续断皂苷VI转移率为26.3%~49.5%,均值为37.7%。若以川续断皂苷VI转移率均值的70%~140%<sup>[8-9]</sup>作为限定范围(26.4%~52.8%)进行评判,本次15批续断饮片标准汤中川续断皂苷VI的转移率均符合要求。

预试验中,笔者先后采用冷冻干燥、60 °C真空干燥和100 °C干燥3种方式干燥标准汤,结果显示,冷冻干燥和60 °C真空干燥后膏粉含量变化不大;而100 °C干燥所得膏粉含量显著下降。考虑到试验操作的简便性,故选

择冷冻干燥。笔者又先后考察了第一次煎煮加水量为7、9、11倍,第二次煎煮加水量为6、7、8倍时川续断皂苷VI的转移率,结果显示,适度增加水量,标准汤中川续断皂苷VI的转移率呈增长趋势。最终确定正式试验第一次煎煮加水量为9倍,第二次煎煮加水量为7倍。笔者还先后考察了第一次煎煮30、40、50、60 min,第二次煎煮20、30、40、50 min时川续断皂苷VI的转移率,结果显示,适度延长煎煮时间,标准汤中川续断皂苷VI的转移率呈增长趋势。最终确定正式试验第一次煎煮60 min,第二次煎煮40 min。

综上所述,本方法操作简便、准确,精密性、稳定性、重复性、耐用性好,可用于续断饮片标准汤中川续断皂苷VI转移率的测定。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:329-330.
- [2] 徐国钧,何宏贤,徐璐珊,等. 中国药材学[M]. 北京:中国医药科技出版社, 1999:428-429.
- [3] 高秀芝,马鲁豫,金艳霞,等. 川续断化学成分及药理作用研究进展[J]. 亚太传统医药, 2010,6(7):142-146.
- [4] 李广润,宫丽丽,吕亚丽,等. 川续断皂苷VI对非酒精性脂肪肝小鼠的降脂作用研究[J]. 时珍国医国药, 2014,25(8):1800-1802.
- [5] 仇法新,高福君. 中药配方颗粒的发展现状及应用前景[J]. 中国药房, 2007,18(3):163-165.
- [6] 孙宝莹,郭涛,李西文,等. 葛根饮片标准汤剂的研究[J]. 世界中医药, 2016,11(8):1586-1589.
- [7] 徐姣,赵嵘,代云桃,等. 栀子标准汤剂的质量评价方法考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017,23(7):1-6.
- [8] 陈士林,刘安,朱广伟,等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志, 2016,41(8):1367-1375.
- [9] 朱广伟,李西文,陈士林. 白芍饮片标准汤剂质量标准研究[J]. 世界中医药, 2016,11(5):753-757.

(收稿日期:2018-01-03 修回日期:2018-03-16)

(编辑:张 静)