

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.03.011

基于大生产考察烫制对骨碎补中柚皮苷含量的影响*

马杰^{1,2}, 丁野^{1,2}, 罗艳^{1,2}, 李瑞莲^{1,2}, 王湘波^{1,2,Δ}

(1. 湖南省药品检验研究院, 湖南长沙 410001; 2. 湖南省药品质量评价工程技术中心, 湖南长沙 410001)
摘要:目的 考察烫制对骨碎补中柚皮苷含量的影响及其影响因素。方法 建立烫骨碎补中柚皮苷含量的高效液相色谱法。实地参与中药饮片生产企业烫骨碎补的砂烫炮制过程, 考察不同温度、炮制时长对柚皮苷含量的影响, 并测定不同企业的多批次骨碎补药材及相对应的烫骨碎补饮片中柚皮苷的含量。结果 柚皮苷进样量线性范围为 3.561 2~2 226 ng($r=0.999 9$), 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 3.0%, 平均加样回收率为 99.58%, RSD 为 1.31% ($n=9$)。随着炮制时间的延长, 柚皮苷含量逐渐降低, 且受烫制温度影响。收集的 10 批次烫骨碎补与烫制前相比, 柚皮苷含量 4 批次明显升高, 2 批次明显降低, 4 批次未见明显变化。结论 建立含量测定的方法简便、准确, 可用于测定烫骨碎补柚皮苷的含量。烫制时温度、时长及原料规格均一性是影响柚皮苷含量的关键因素。

关键词:大生产; 骨碎补; 砂烫法; 柚皮苷; 影响因素; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)03-0038-04

Influence of Stir-Baked with Sand Methods on Naringin Content in *Rhizoma Drynariae* Based on Mass Production

MA Jie^{1,2}, DING Ye^{1,2}, LUO Yan^{1,2}, LI Ruilian^{1,2}, WANG Xiangbo^{1,2}

(1. Hunan Institute for Drug Control, Changsha, Hunan, China 410001; 2. Hunan Engineering & Technology Research Center for Pharmaceutical Quality Evaluation, Changsha, Hunan, China 410001)

Abstract: Objective To investigate the influence of stir-baked with sand methods on naringin content in *Rhizoma Drynariae* and its influencing factors. **Methods** The determination method of naringin content in *Rhizoma Drynariae* preparations stir-baked with sand was established by high performance liquid chromatography (HPLC). We participated in the processing of *Rhizoma Drynariae* in Chinese herbal decoction pieces enterprises, investigated the influences of different temperatures and processing time on the naringin content, and determined the content of naringin in many batches of *Rhizoma Drynariae* and their processed sample products from different enterprises. **Results** The linear range of naringin was 3.561 2~2 226 ng ($r=0.999 9$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all less than 3.0%. The average recovery of adding samples was 99.58%, RSD was 1.31% ($n=9$). The content of naringin decreased gradually with the increase of processing time, and the temperature of stir-bake also affected the content. Among the 10 batches of *Rhizoma Drynariae* after stir-bake with sand, the content of naringin in 4 batches were obviously decreased, 2 batches were significant increased, and 4 batches had no changes. **Conclusion** The content determination method is simple and accurate, which can be used to determine the content of naringin in *Rhizoma Drynariae* preparations stir-baked with sand. The temperature, time and homogeneity of raw material specifications during stir-bake with sand are the key influencing factors for the naringin content.

Key words: mass production; *Rhizoma Drynariae*; stir-baked with sand method; naringin; influencing factors; content determination

烫骨碎补是骨碎补的炮制品,由水龙骨科植物槲蕨 *Drynaria fortunei*(Kunze) J. Sm. 的干燥根茎经净制或切制后照烫法用砂烫至鼓起,再撞去毛而得。其功效为疗伤止痛、补肾强骨,筋骨折伤、肾虚腰痛、筋骨痿软、耳鸣耳聋、牙齿松动;外用消风祛斑,用于跌扑闪挫,外治斑秃、白癜风^[1]。现代药理学研究表明,骨碎补功效作用的有效物质基础主要为总黄酮^[2-3]。经砂烫后,骨碎补质地酥脆,有利于有效成分的提取^[4]。柚皮苷作为骨碎补中总黄酮的代表性成分,文献对其含量受烫制的影响程度报道不一,如有研究认为炮制后其柚皮苷含量变化不大^[5],但也有研究表明砂烫后柚皮苷含量降低^[6]。以上研究对骨碎补的炮制均在实验室中完成,但目前市售烫骨碎补饮片由中药饮片生产企业生产,在炮制过程中

设备、规模及工艺参数均与实验室存在差异。为全面、客观地考察烫制对骨碎补中柚皮苷含量变化的影响,本研究中开展了 2 个方面的研究:一是与中药饮片生产企业合作,实地参与骨碎补的砂烫炮制,考察不同温度、炮制时长对柚皮苷含量的影响;二是收集不同中药饮片生产企业的多批次骨碎补药材及相对应的烫骨碎补饮片产品中柚皮苷的数据。现报道如下。

1 仪器与试药

仪器: Waters e2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Mettler AE-200 型电子天平(万分之一), Mettler CP-225D 型电子天平(十万分之一),德国梅特勒公司; DK-98-II 型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司); CY-700 型滚筒式燃油炒药机(杭州市

*基金项目:《中国药典》药品标准提高课题[420]。

第一作者:马杰,男,硕士研究生,主管药师,研究方向为中药材及饮片的质量检验,(电子信箱)majie172@qq.com。

Δ通信作者:王湘波,男,大学本科,副主任药师,研究方向为中药质量分析与监管,(电子信箱)674979878@qq.com。

富阳方正制药设备厂);CTDC900型电磁炒药机。

试剂:柚皮苷对照品(含量测定用,批号为110722-201714,纯度为93.4%)由中国食品药品检定研究院提供;甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。

样品:从不同饮片生产企业收集10批骨碎补药材(序号为Y1~Y10)和其对应生产的批烫骨碎补饮片,以及现场炮制骨碎补药材2批(序号为Y11~Y12),所有样品均经湖南省药品检验研究院主任药师丁野鉴定为水龙骨科植物槲蕨的干燥根 *Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm.。样品信息详见表1。

表1 骨碎补药材样品及对应烫骨碎补信息表

药材序号	批号	产地	烫骨碎补序号	批号	生产企业
Y1	160801	贵州六盘水	T1	171101	A
Y2	180201	广西梧州	T2	180301	B
Y3	180202	广西梧州	T3	180302	
Y4	180203	广西梧州	T4	180303	
Y5	Y003170101	贵州施秉	T5	20171104	C
Y6	Y003161115	湖南怀化	T6	20170203	
Y7	Y003161117	广西柳州	T7	20170507	
Y8	骨碎补1	广西来宾	T8	180601	D
Y9	骨碎补2	云南楚雄	T9	180602	
Y10	骨碎补3	广西玉林	T10	180603	
Y11	20190201	湖北宜昌			E
Y12	20190301	湖南永州			F

2 方法与结果

2.1 样品炮制

在炒药筒内加入河砂(粒径5~8mm)及少量植物油,加热并开启滚筒,待温度升至设定值后,取骨碎补药材适量加至滚筒中翻炒,并随时观察骨碎补形态,当全部骨碎补炒至鼓起后,出料,筛去河砂后摊凉,再撞去毛,即得。电磁炒药机设置加热温度为280℃,约6min可炒好;燃油炒药机设置加热温度为300℃,约2min可炒好。

为考察烫制时长的影响,电磁式加热炒药机于加料后的1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12min时分别取部分样品待测;燃油式加热炒药机于加料后的0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0,3.5,4.0,4.5,5.0,5.5,6.0,7.0min时分别取部分样品待测。

为考察烫制温度的影响,取同一批骨碎补药材(批号为20190202,产地为贵州施秉),分别在电磁式加热炒药机设置加热温度为140,200,240,280,320,360℃下砂烫,以炒至全部鼓起为准,出料,筛去河砂后摊凉,再撞去毛,即得。

2.2 溶液制备

供试品溶液^[7-9]:取本品粗粉约0.25g,精密称定,置锥形瓶中,加甲醇30mL,加热回流3h,放冷,滤过,滤液置50mL容量瓶中,用少量甲醇分数次洗涤容器,

洗液滤入同一容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

对照品溶液:称取柚皮苷对照品23.83mg,精密称定,置50mL容量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品贮备液(445.1444μg/mL)。精密吸取对照品贮备液,加甲醇依次稀释成质量浓度为89.0288,17.8057,3.5611,0.7122μg/mL的对照品溶液。

2.3 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Capcell Pak C₁₈柱(250mm×4.6mm,5μm);流动相:甲醇-2%冰醋酸水溶液(35:65);流速:1.0mL/min;检测波长:283nm;柱温:30℃。理论板数按柚皮苷计不低于3000。

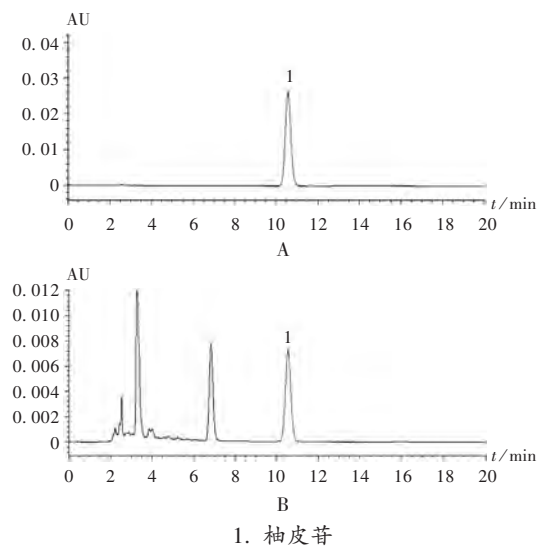


图1 高效液相色谱图

2.4 方法学考察

线性关系考察:吸取质量浓度为445.1444,89.0288,17.8057,3.5611,0.7122μg/mL的对照品溶液5μL或10μL,注入液相色谱仪,测定,以进样量(X,ng)为横坐标,峰面积积分为纵坐标(Y)绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 1862.3X + 7156.3$, $r = 0.9999$ 。结果表明,柚皮苷进样量在3.5612~2226ng范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取同一烫骨碎补(批号为180603)供试品溶液,连续进样6次,每次5μL,记录色谱峰面积。结果的RSD为0.59%(n=6),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取同一烫骨碎补(批号为180603)供试品溶液,分别于配制后的0,3,6,12,24h时精密吸取5μL,注入液相色谱仪,记录色谱峰面积。结果的RSD为0.61%(n=5),表明供试品溶液在配制后24h内稳定。

重复性试验:取同一烫骨碎补样品(批号为180603),依法平行制备6份供试品溶液,测定含量。结果为7.91mg/g,RSD为0.78%(n=6),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已测定含量的同一烫骨碎补(批号

为 180603, 含柚皮苷 7.913 mg/g) 供试品约 0.125 g 共 9 份, 精密称定, 置锥形瓶中, 按 80%, 100%, 120% 的水平精密加入质量浓度为 476.6 $\mu\text{g/mL}$ 的柚皮苷对照品溶液适量, 依法制备供试品溶液, 测定并计算。结果见表 2。

表 2 柚皮苷加样回收试验结果 ($n=9$)

取样量	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
0.123 5	0.977 3	0.890 3	1.878 4	101.21		
0.120 4	0.952 7	0.890 3	1.829 4	98.47		
0.124 5	0.985 2	0.890 3	1.888 0	101.40		
0.120 1	0.950 4	1.112 9	2.059 1	99.62		
0.127 2	1.006 5	1.112 9	2.106 1	98.80	99.58	1.31
0.125 2	0.990 7	1.112 9	2.102 9	99.94		
0.126 4	1.000 2	1.335 4	2.311 5	98.20		
0.122 6	0.970 1	1.335 4	2.278 3	97.96		
0.123 2	0.974 9	1.335 4	2.318 5	100.61		

2.5 样品含量测定

取各批样品粉碎, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按拟订色谱条件, 测定柚皮苷峰面积积分值, 按外标法计算柚皮苷的百分含量(按干燥品计)。结果见表 3、表 4 和图 2。

表 3 烫骨碎补与骨碎补药材柚皮苷含量变化(%)

编号	药材		烫骨碎补		变化率
	序号	含量	序号	含量	
1	Y1	0.68	T1	0.49	72.06
2	Y2	0.52	T2	0.69	132.69
3	Y3	0.62	T3	0.83	133.87
4	Y4	0.51	T4	0.77	150.98
5	Y5	0.68	T5	0.71	104.41
6	Y6	0.71	T6	0.70	98.59
7	Y7	0.75	T7	0.79	105.33
8	Y8	0.69	T8	0.14	20.29
9	Y9	0.39	T9	0.55	141.03
10	Y10	0.79	T10	0.83	105.06

表 4 烫制温度对柚皮苷含量的影响

设置温度(°C)		砂子温度(°C)		需炒制时长(min)		含量(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B
生品	生品					0.57	0.83
140	140	93	73	无法炒鼓起	无法炒鼓起	0.57	0.83
200	180	125	98	9.5	无法炒鼓起	0.51	0.83
240	220	159	128	10	5	0.54	0.76
280*	260	203	161	6	4	0.41	0.70
320	300*	241	200	3	2	0.48	0.66
360	340	283	238	1	<1	0.41	0.35

注: * 为生产企业选定的炮制温度; A 为电磁式炒药机, B 为燃油式炒药机。

3 讨论

电磁式炒药机和燃油式炒药机的加热方式不同, 电磁

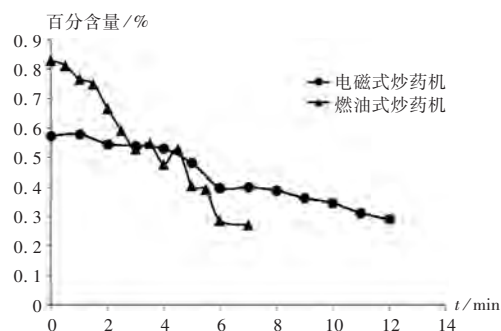


图 2 烫制时长对柚皮苷含量的影响

式更易把握加热速率和控制加热时间, 不会在很短时间内将样品炒焦。但二者对柚皮苷含量的影响相似, 随着炮制时间的增加, 柚皮苷的含量逐渐降低。使用电磁式炒药机烫制, 6 min 即可炒至全鼓起, 柚皮苷含量降至炒前的 69.6%, 12 min 后样品被炒焦, 柚皮苷含量逐渐降至最低。使用燃油式炒药机烫制, 2 min 即可炒至全鼓起, 柚皮苷含量降至炒前的 80.4%, 7 min 便将样品炒焦, 柚皮苷含量逐渐降至最低。

不同烫制温度对烫制后骨碎补的含量影响结果表明, 不同烫制温度对柚皮苷含量水平的影响程度不同, 电磁炒药机设置为 240 °C、燃油炒药机设置为 220 °C 可使柚皮苷损失最少, 2 家生产企业设置的加热温度和时间并未让柚皮苷含量得到最大程度的保留。

扣除水分的影响, 以干燥品计, 收集的 10 批次烫骨碎补与烫制前相比, 柚皮苷含量明显升高的有 4 批, 明显降低的有 2 批, 未见明显变化的有 4 批, 变化率范围从 20.29% ~ 151.98%, 不同批次间的含量变化情况迥异, 与本试验中考察的柚皮苷含量均降低的结果不吻合。一方面不同生产企业烫骨碎补柚皮苷的变化率差异较大, 可能由于中药饮片生产企业之间不同的砂烫工艺参数对柚皮苷的含量造成了不同程度的影响; 另一方面, 部分生产企业的柚皮苷含量变化趋势也存在较大差异, 表明在生产企业烫制时工艺参数不稳定。因此, 有必要继续扩大生产企业、炮制方法等考察范围, 以更加全面、准确、客观地评价柚皮苷的含量变化规律。

在烫制骨碎补时, 使用的是现代化的加热设备, 烫制温度可设定为固定数值, 而烫制时长即烫制终点仍需操作人员凭经验时刻观察骨碎补的鼓起情况来判断。在实际考察中发现, 骨碎补药材的规格均一性对烫制时长有较大影响: 药材大小、粗细越接近, 所有骨碎补药材均烫至鼓起的时间越相当, 烫制时长就相对较固定; 药材大小、粗细差异较大, 则在烫制时, 细小和粗大的鼓起时间差异较大, 造成当粗大的烫至鼓起时, 细小的已错过了最佳出料时间, 从而降低了柚皮苷的含量。因此, 建议在生产烫骨碎补时, 使用大小、粗细等规格较接近或经均匀切割后的骨碎补药材作为原料。