

LC-QQQ/MS 结合色差技术优选炒蒺藜饮片的炮制工艺

孙晓晨¹, 王丽丽², 王书月¹, 王帅¹, 刘坤琳¹, 张超^{1*} (1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 2. 山东宏济堂制药集团股份有限公司, 济南 250103)

摘要: 目的 建立一种蒺藜甾体皂苷含量测定和外观颜色均匀性检测方法来优化炒蒺藜炮制工艺。方法 以 LC-QQQ/MS 测定蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 的总含量作为化学指标, 采用色彩色差仪测定炒蒺藜饮片总色值 E^*ab , 以 30 次随机抽取样品 E^*ab 值的 RSD 值作为外观颜色均匀性指标。在此基础上, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法, 以炒制温度、炒制时间和炒药机转速为考察因素, 优选炒蒺藜饮片的炮制工艺。结果 蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 均具有良好的线性关系 ($r>0.999$), 检测限分别为 1.28, 10.44 ng·mL⁻¹, 定量限分别为 5.40, 27.81 ng·mL⁻¹, 精密度、24 h 稳定性、重复性试验的 RSD 均 < 3.0%, 平均加样回收率分别为 96.66% 和 97.10%。色差技术可为炒蒺藜外观颜色均匀性提供客观化的数值。炒蒺藜最佳炮制工艺为 200 °C 以 60 r·min⁻¹ 转速炒制 15 min。结论 LC-QQQ/MS 结合色差技术所优选的蒺藜炒制工艺稳定可行, 可为其他中药炮制工艺优化提供参考。

关键词: 蒺藜; LC-QQQ/MS; 色差技术; 炒制工艺; 蒺藜呋甾皂苷 B; 蒺藜皂苷 K

中图分类号: R283.3 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)16-2063-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.16.003

引用本文: 孙晓晨, 王丽丽, 王书月, 等. LC-QQQ/MS 结合色差技术优选炒蒺藜饮片的炮制工艺[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(16): 2063-2068.

Optimization of Processing Technology for Stir-fried Tribuli Fructus Pieces by LC-QQQ/MS Combined with Chromatic Aberration Technology

SUN Xiaochen¹, WANG Lili², WANG Shuyue¹, WANG Shuai¹, LIU Kunlin¹, ZHANG Chao^{1*} (1. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. Shandong Hongjitang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Jinan 250103, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determining the content of steroidal saponins of Tribuli Fructus and the uniformity of appearance color to optimize the processing technology of stir-fried Tribuli Fructus. **METHODS** Using LC-QQQ/MS method to determine the total content of terrestroside B and terrestrosin K as chemical indicators. Using colorimeter determination to determine the E^*ab value of stir-fried Tribuli Fructus, and the 30 random samples' RSDs of the E^*ab value were taken as the indicator of the appearance color uniformity. On this basis, the processing technology of stir-fried Tribuli Fructus was optimized by $L_9(3^4)$ orthogonal test with the frying temperature, frying time and speed of the frying machine as the inspection factors. **RESULTS** Both of terrestroside B and terrestrosin K showed good linear relationships ($r>0.999$). LODs were 1.28 ng·mL⁻¹ and 10.44 ng·mL⁻¹, LOQs were 5.40 ng·mL⁻¹ and 27.81 ng·mL⁻¹. Precision, stability in 24 h and reproducibility of this method were satisfactory and RSDs were all < 3.0%. The average recoveries were 96.66% and 97.10%, respectively. Chromatic aberration technology could provide objective value for the appearance color uniformity of stir-fried Tribuli Fructus. The optimum processing technology of stir-fried Tribuli Fructus was stir-fried at 60 r·min⁻¹ at 200 °C for 15 min. **CONCLUSION** The optimized processing technology of stir-fried Tribuli Fructus by LC-QQQ/MS combined with chromatic aberration technology is stable and feasible, which can provide reference for the optimization of processing technology of other Chinese medicine.

KEYWORDS: Tribuli Fructus; LC-QQQ/MS; chromatic aberration technology; frying process; terrestroside B; terrestrosin K

蒺藜为蒺藜科植物蒺藜 *Tribulus terrestris* L. 的干燥成熟果实, 味辛、苦, 微温, 有小毒, 归肝经, 具有平肝解郁、活血祛风、明目、止痒的

作用, 炒制后长于平肝潜阳, 疏肝解郁^[1]。蒺藜中主要活性成分为甾体皂苷, 具有治疗高血压、心血管疾和性功能减退的作用^[2-5]。有文献报道^[6]

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(81603298); 国家中医药管理局全国中医药创新骨干人才培养项目(国中医药人教函[2019]128号); 山东省中医药科技发展计划项目(2019-0028); 山东省重点研发计划项目(2019GSF108171)

作者简介: 孙晓晨, 女, 硕士生 E-mail: 1483897411@qq.com *通信作者: 张超, 男, 博士, 教授, 硕导 E-mail: tougaotcm@163.com

以蒺藜中总甾体皂苷为指标优选蒺藜炒制工艺,发现炒制后总皂苷含量增加;但另有文献报道^[7]蒺藜炒制后总皂苷含量显著降低。这说明以总皂苷为成分指标优选蒺藜炒制工艺的可靠性还值得商榷。笔者所在课题组在蒺藜炮制原理研究中发现^[8-9],随着炒制时间的延长,蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 的含量均呈先升高后降低趋势,且在火候最佳时含量最高,提示这 2 种成分可作为优选蒺藜炒制工艺的化学指标。

生蒺藜果去刺后外观性状仍有纵棱和隆起^[10],在炒制时容易受热不均匀,因此以炒蒺藜的外观颜色均匀度为指标评价蒺藜炮制程度的均匀性尤为重要,拟借助色差技术量化炒蒺藜外观颜色均匀性,使主观性较强的外观颜色均匀性评价客观化,为其他中药炮制程度均匀性评价提供参考。本研究采用 LC-QQQ/MS 结合色差技术,以炒制温度、炒制时间和炒药机转速为考察因素,以甾体皂苷类成分蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 的总含量作为化学指标,以炒蒺藜饮片总色值 E^*ab 值的 RSD 值作为外观颜色均匀性指标,对蒺藜炒制工艺进行正交优选,筛选出蒺藜的最佳炒制工艺参数,以期对炒蒺藜饮片质量控制及产业化生产提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1290 型高效液相色谱仪、Agilent 6470 型三重四极杆质谱仪,配标准电喷雾离子源,Masshunter 色谱工作站均来自美国 Agilent 公司;十万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);MK-30 炒药机(江阴市祝塘明科机械厂);BJ-150 型高速多功能粉碎机(德清拜杰电器有限公司);WF30-16 mm 色彩色差仪(深圳市威福光电科技有限公司);KQ-250E 型医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药材与试剂

蒺藜呋甾皂苷 B(批号:111961-201301)、蒺藜皂苷 K(批号:112023-201601)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈(色谱纯, JT-Baker 公司);屈臣氏饮用水(广州屈臣氏食品饮料有限公司);其他试剂均为分析纯。蒺藜饮片购自亳州市沪谯药业有限公司,经山东中医药大学中药鉴定教研室张芳教授鉴定为蒺藜科植物蒺藜 *Tribulus terrestris* L. 的干燥成熟果实。

2 方法与结果

2.1 蒺藜呋甾皂苷 B 与蒺藜皂苷 K 含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 取蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 对照品适量,精密称定,制成浓度分别为 640, 1 305 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液。临用时分别取蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 对照品储备液适量,加 70% 乙腈制成浓度分别为 6.4, 26.1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取样品粉末(使通过 3 号筛)1.0 g,精密称定,置具塞三角瓶中,分别加入 70% 乙醇 20 mL,超声提取 2 次,每次 30 min,过滤,合并滤液定容至 50 mL 量瓶中,使通过 0.22 μm 微孔滤膜,即得。

2.1.3 色谱条件 Halo C_{18} 色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 2.7 μm);流动相:0.05% 甲酸乙腈溶液(A)-0.05% 甲酸水溶液(B)(乙腈和水相中分别加入适量甲酸钠,使其浓度为 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),梯度洗脱,0~0.5 min(15% $\rightarrow$ 20%A), 0.5~2 min(20% $\rightarrow$ 35%A), 2~4 min(35% $\rightarrow$ 50%A), 4~6 min(50% $\rightarrow$ 90%A), 6~7 min(90% $\rightarrow$ 100%A), 7~20 min(100%A);流速:0.3 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;进样量:5 μL ;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.1.4 质谱条件 采用 ESI 源,正离子扫描,采用多反应监测模式(MRM);毛细管电压 4 000 V;雾化器气压力 30 psi,干燥器流速 10 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$;干燥器温度 325 $^{\circ}\text{C}$ 。MRM 参数见表 1,色谱图见图 1。

表 1 蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 的 MRM 参数

Tab. 1 MRM parameters of terrestroside B and terrestrosin K

化合物	母离子/ m/z	子离子/ m/z	裂解电压/V	碰撞能量/V
蒺藜呋甾皂苷 B	1 335.8	1 203.7	350	102
蒺藜皂苷 K	1 101.7	939.5	350	100

2.1.5 线性关系考察 将蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 混合对照品溶液依次稀释 2, 4, 8, 16 倍,共 5 个浓度,取各个浓度的混合对照品溶液按“2.1.3”和“2.1.4”项下的色谱条件与质谱条件进样分析,以对照品浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,所得回归方程和线性范围见表 2。分别以信噪比(S/N)为 3 和 10 时所对应的浓度作为检测限和定量限,结果见表 2。

2.1.6 精密度考察 取同一份供试品溶液连续测定 6 次,连续测定 3 d。蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 日内精密度 RSD 值分别为 2.34%, 2.16%, 日间精密度 RSD 值分别为 2.55%, 2.68%,表明仪器精密度良好。

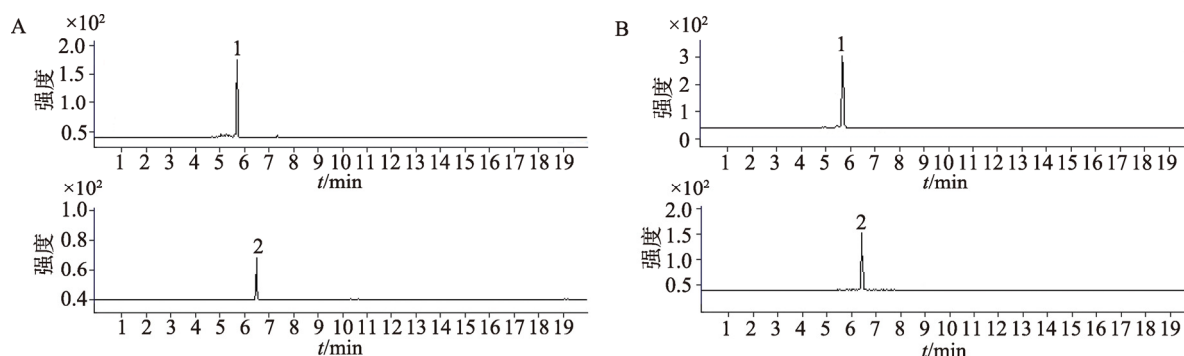


图1 蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 的 MRM 色谱图

A-混合对照品溶液; B-蒺藜供试品溶液; 1-蒺藜皂苷 K; 2-蒺藜呋甾皂苷 B。

Fig. 1 MRM chromatograms of terrestroside B and terrestrosin K of Tribuli Fructus

A-mixture standard solution; B-sample solution of Tribuli Fructus; 1-terrestrosin K; 2-terrestroside B.

表2 蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 的回归方程、相关系数、线性范围、LODs 和 LOQs

Tab. 2 Regression equation, correlation coefficients, linear range, LODs, and LOQs of terrestroside B and terrestrosin K of Tribuli Fructus

化合物	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	检测限/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	定量限/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$
蒺藜呋甾皂苷 B	$Y=106.4X+20.917$	0.999 7	0.40~6.40	1.28	5.40
蒺藜皂苷 K	$Y=91.234X+78.083$	0.999 4	1.63~26.10	10.44	27.81

2.1.7 稳定性试验 取炒蒺藜的供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 测定。结果蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 峰面积的 RSD 值分别为 2.61%, 2.72%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性较好。

2.1.8 重复性试验 取同一样品粉末 1.0 g, 精密称定, 共 6 份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液测定, 蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 含量的 RSD 值分别为 2.61%, 2.39%, 表明该方法重复性良好。

2.1.9 回收率试验 精密称定已知含量的样品粉末(蒺藜呋甾皂苷 B $152.29 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 蒺藜皂苷 K $647.48 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 0.5 g, 共 6 份, 加入适量的蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 对照品, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液测定, 计算回收率。结果蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 的平均回收率分别为 96.66%, 97.10%, RSD 值分别为 2.53%, 2.56%, 见表 3。表明该方法回收率符合含量测定要求。

2.2 炒蒺藜外观颜色均匀性测定

取炒蒺藜饮片适量, 随机重复抽取 30 次样品, 每 1 次抽取的样品采用色彩色差仪平行测定 5 次。测定条件为光源 D₆₅, 标准观察角 10°, 照明口径 16 mm, 台间差 $\Delta E < 0.2$, 重复精度 $\Delta E < 0.05$ 。对仪器进行黑白板校正以后, 以色度空间参数 L^* (明度值)、 a^* (红绿分量值)、 b^* (黄蓝分量值) 进行色泽量化, 总色值 $E^*_{ab} = (L^{*2} + a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ 。计算 30 次随机

表3 蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 的回收率试验结果 (n=6)

Tab. 3 Results of recovery test for terrestroside B and terrestrosin K of Tribuli Fructus (n=6)

化学指标	取样量/g	样品量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
蒺藜呋甾皂苷 B	0.501 1	76.31	76.80	150.61	97.56	96.66	2.53
	0.504 7	76.86	76.80	153.13	100.14		
	0.516 3	78.63	76.80	151.46	95.63		
	0.503 3	76.65	76.80	153.39	100.76		
	0.522 1	79.51	76.80	152.02	95.21		
	0.517 4	78.79	76.80	151.53	95.51		
蒺藜皂苷 K	0.501 1	324.45	326.25	634.73	95.87	97.10	2.56
	0.504 7	326.78	326.25	644.08	98.04		
	0.516 3	334.29	326.25	646.77	96.55		
	0.503 3	325.88	326.25	636.28	95.91		
	0.522 1	338.05	326.25	669.81	102.51		
	0.517 4	335.01	326.25	653.53	98.42		

抽取样品 E^*_{ab} 值的 RSD 值, 以 RSD 值表示炒蒺藜的外观颜色均匀度, RSD 值越小, 表明炒蒺藜的炮制程度越一致, 即炒蒺藜的外观颜色越均匀。根据文献报道^[11], 可设定 RSD 值 $< 2\%$ 为均匀, $2\% \sim 5\%$ 为比较均匀, $> 5\%$ 为不均匀。

2.3 蒺藜炒制工艺的优选

2.3.1 正交试验设计 根据预试验结果, 确定炒药机炮制蒺藜时的炒制温度、炒制时间和炒药机转速为考察因素, 根据传统炮制要求文火加热, 确定炒制温度的 3 个水平依次为 160, 180, 200 °C, 考察因素及水平见表 4。

表 4 蒺藜炒制工艺优选的正交试验因素水平表

Tab. 4 Orthogonal experiments factors levels table for optimizing the processing technology of stir-fried Tribuli Fructus

水平	因 素		
	A 炒制温度/℃	B 炒制时间/min	C 炒药机转速/r·min ⁻¹
1	160	8	40
2	180	15	60
3	200	22	80

2.3.2 测定方法及结果 取净蒺藜饮片 100 g, 共 27 份(每一试验重复 3 次), 置预热炒药机中, 分别按正交试验表 L₉(3⁴)组合预设的温度和转速, 炒制相应的时间, 出锅, 摊晾, 筛去灰屑。按“2.1”项下方法测定蒺藜呋甙皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 的含量, 取每份样品测定, 以二者总含量为化学指标, 按“2.2”项下方法检测炒蒺藜的外观颜色均匀性, 即 $E^* ab$ RSD 值, 并对结果进行正交和方差分析, 见表 5~6。

由表 5 可知, 以化学指标总含量进行直观分析, 最佳炒制条件为 A₃B₃C₁。表 6 方差分析结果表明, 炒制温度(A)对化学指标总含量有显著影响 ($P<0.05$), 炒制时间(B)和炒药机转速(C)对化学指标总含量没有显著影响。各因素对化学指标总含量影响大小依次为 A(炒制温度)>B(炒制时间)>C(炒药机转速)。正交试验中试验 8 和 9 蒺藜

呋甙皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 的总含量分别为 $(1\ 100.23\pm20.86)\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $(1\ 113.79\pm22.00)\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 经 SPSS 25.0 统计软件对试验 8 和 9 的蒺藜呋甙皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 总含量进行独立样本 t 检验, 未发现显著性差异。试验 8 为炒药机转速 $40\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时, 于 $200\ ^\circ\text{C}$ 炒制 15 min; 试验 9 为炒药机转速 $60\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时, 于 $200\ ^\circ\text{C}$ 炒制 22 min。鉴于炒药机转速对蒺藜呋甙皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 的总含量影响很小, 所以实验 8 和实验 9 的炒制条件的差异主要表现为炒制时间的不同, 而炒制时间未对实验 8 和实验 9 的结果产生显著性影响, 故确定炒药机转速为中等转速 $60\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 蒺藜炒制的时间为 15 min。因此, 结合化学指标总含量直观分析和方差分析确定出蒺藜炒制最佳工艺为 A₃B₂C₂, 即 $200\ ^\circ\text{C}$ 的炒制温度以 $60\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速, 炒制 15 min 出锅。

由表 5 可知, 以饮片外观颜色均匀性进行直观分析, 最佳炒制条件为 A₃B₃C₃, 即 $200\ ^\circ\text{C}$ 的炒制温度以 $80\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速, 炒制 22 min 出锅。表 6 方差分析结果表明, 仅炒制温度 A 对饮片外观颜色均匀性有显著性影响 ($P<0.05$), 炒制时间 B 和炒药机转速 C 对饮片外观颜色均匀性均无显著性影响。各因素对炒蒺藜的饮片外观颜色均匀性影响大小依次为 A(炒制温度)>C(炒药机转速)>B(炒制时间)。

表 5 正交试验表及结果

Tab. 5 Table and results of orthogonal experiments

实验号	A 炒制温度/ ℃	B 炒制时间/ min	C 炒药机转速/ r·min ⁻¹	D 空白	蒺藜呋甙皂苷 B 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	蒺藜皂苷 K 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	总含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$E^* ab$ RSD/ %
1	1	1	1	1	97.56±2.15	434.12±5.24	531.68±5.55	11.59
2	1	2	2	2	101.84±3.45	510.93±9.47	612.77±9.11	10.05
3	1	3	3	3	115.17±3.39	518.89±16.63	634.06±15.86	8.27
4	2	1	2	3	152.29±3.56	647.48±15.35	799.77±18.91	5.30
5	2	2	3	1	224.15±5.20	765.26±17.12	989.41±21.10	5.26
6	2	3	1	2	221.77±6.93	896.12±20.87	1 117.89±15.60	5.37
7	3	1	3	2	201.30±5.41	802.24±15.94	1 003.54±21.25	3.58
8	3	2	1	3	242.23±6.71	858.00±27.00	1 100.23±20.86	4.54
9	3	3	2	1	242.71±7.07	871.08±22.84	1 113.79±22.00	4.25
K ₁	592.84	778.33	916.60	878.29	化学指标总含量			
K ₂	969.02	900.80	842.11	911.40				
K ₃	1 072.52	955.24	875.67	844.69				
R	479.68	176.92	74.49	66.71				
K ₁ '	9.97	6.82	7.17	7.03	外观颜色均匀性			
K ₂ '	5.31	6.62	6.53	6.33				
K ₃ '	4.12	5.96	5.70	6.04				
R'	5.85	0.86	1.46	1.00				

表 6 方差分析结果

Tab. 6 Results of analysis of variance

指标	方差来源	偏差平方和	自由度	F 比	P 值
化学指标 总含量	A	382 324.07	2	57.27	<0.05
	B	49 263.30	2	7.38	
	C	8 350.30	2	1.25	
	误差	6 676.13	2	1.00	
外观颜色 均匀性	A	57.31	2	41.23	<0.05
	B	1.21	2	0.87	
	C	3.23	2	2.32	
	误差	2.78	4	1.00	

注: 化学指标总含量, $F_{0.05}(2,2)=19.00$; 外观颜色均匀性, $F_{0.05}(2,4)=6.94$ 。
Note: Total content of chemical indicators, $F_{0.05}(2,2)=19.00$; appearance color uniformity, $F_{0.05}(2,4)=6.94$.

鉴于炒制时间和炒药机转速均对饮片外观颜色均匀性无显著影响($P<0.05$), 故结合以化学指标总含量优选的工艺条件最终确定蒺藜炒制最佳工艺为 $A_3B_2C_2$, 即将净选后的蒺藜饮片置预热炒药机中, 按 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的炒制温度以 $60\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速, 炒制 15 min , 出锅, 摊晾, 筛去灰屑。

2.3.3 验证试验 基于炒制温度对化学指标及饮片外观颜色均匀性具有显著性影响, 在验证试验中进一步升高炒制温度进行考察, 结果见表 7。

表 7 验证试验结果($n=3$)

Tab. 7 Results of verification experiments($n=3$)

试验条件	蒺藜呋甾皂苷 B 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	蒺藜皂苷 K 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	总含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$E^{*}ab$ RSD/ %
$200\text{ }^{\circ}\text{C}$, $60\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 炒制 15 min	251.70 ± 6.24	923.58 ± 19.35	$1\ 175.28\pm22.93$	4.13
$210\text{ }^{\circ}\text{C}$, $60\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 炒制 15 min	189.78 ± 4.05	804.25 ± 15.92	994.04 ± 19.22	5.27
$220\text{ }^{\circ}\text{C}$, $60\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 炒制 15 min	157.53 ± 3.86	694.75 ± 14.60	852.28 ± 11.72	6.13

结果表明, 在炒药机转速 $60\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 炒制 15 min 的情况下, 升高炒制温度, 化学指标总含量呈降低趋势; 炒蒺藜饮片外观颜色均匀性的 RSD 值呈升高趋势, 由 $<5\%$ 变为 $>5\%$, 即蒺藜炒制程度由较均匀变为不均匀。化学指标和外观颜色均匀性指标变化趋势的拐点均为 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, 说明 LC-QQQ/MS 结合色差技术所优选的蒺藜炒制工艺稳定可行。

3 讨论

因蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 两者没有紫外吸收, 采用 HPLC-ELSD 检测其含量^[8], 该方法灵敏度不高, 在供试品溶液处理时需要大孔树脂

对两皂苷进行富集, 处理方法繁琐, 本研究采用了灵敏度高、样品处理简单的 LC-QQQ/MS 检测蒺藜呋甾皂苷 B 和蒺藜皂苷 K 的含量。当炒蒺藜的炮制火候较过时或炮制温度太高时, 蒺藜呋甾皂苷 B 与蒺藜皂苷 K 含量则会下降, 这在工艺优选的验证试验中得到了证实: 当炮制温度 $>200\text{ }^{\circ}\text{C}$, 两甾体皂苷的含量降低。

生蒺藜去刺后的分果瓣外观性状特点决定了其在炒制时易受热不均匀, 其炒制的外观颜色均匀性是其临床用药质量均一性的保证, 如何评价炒蒺藜外观颜色的均匀性在蒺藜炒制工艺的优选中尤为重要。有研究^[12]表明烟叶表面颜色的均匀度可作为影响烟叶质量外观的主要因素之一, 本研究参考了文献^[11], 即针对需分析的烟叶样品, 选取 5 片烟叶, 在每片烟叶中选取相同位置的 6 个测量点, 测量烟叶 L^* 、 a^* 、 b^* 值共 30 次。计算烟叶颜色 L^* 、 a^* 、 b^* 3 个特征参数的平均值和 RSD 值, 利用建立的颜色均匀度比对关系表实现烟叶颜色均匀度判别。 $E^{*}ab$ 值是由 L^* 、 a^* 、 b^* 计算而得的总色值, 研究选取了 $E^{*}ab$ 的 RSD 值作为炒蒺藜饮片外观颜色均匀性判别标准纳入到正交优选试验中, 优选炒蒺藜炮制工艺参数。依据烤烟叶颜色均匀度判别标准, RSD 值于 $2\%\sim5\%$ 为比较均匀, $>5\%$ 为不均匀^[11]。正交试验中试验 7~9 总色值的 RSD 值均 $<5\%$ 。由此可见, 在 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以 $40\sim80\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速炒制 $8\sim22\text{ min}$ 的条件下, 炒蒺藜饮片外观颜色均匀性皆能够达到比较均匀的判别标准。

中药饮片炮制程度的一致性是影响其质量均一性的重要因素, 是中医临床疗效一致性的保证。目前, 中药饮片炮制程度的外观颜色均匀性评价多依靠外观性状的判断, 主观性较强, 亟需构建客观化的中药炮制品外观颜色均匀性评价标准。建议在中药饮片生产工艺参数的优化中, 在中药饮片半成品、成品的质量检测中, 借鉴烤烟叶颜色均匀度判别标准用于中药饮片颜色均匀度评价, 以更好地保证中药饮片质量。

REFERENCES

- [1] 吴皓, 李飞. 中药炮制学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2016.
- [2] KOSTOVA I, DINCHEV D. Saponins in *Tribulus terrestris*—chemistry and bioactivity[J]. Phytochem Rev, 2005, 4(2/3): 111-137.

- [3] SHAHID M, RIAZ M, TALPUR M M A, et al. Phytopharmacology of *Tribulus terrestris*[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2016, 30(3): 785-788.
- [4] GUAN L X, LI M Q, YI X, et al. Effect of gross saponins from *Tribulus terrestris* on the proliferation of vascular smooth muscle cells[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2008, 25(1): 7-10.
- [5] ZHU W Y, DU Y J, MENG H, et al. A review of traditional pharmacological uses, phytochemistry, and pharmacological activities of *Tribulus terrestris*[J]. Chem Cent J, 2017, 11(1): 60.
- [6] 王鹏, 黄伟, 彭宇生. 蒺藜炮制工艺研究[J]. 内蒙古中医药, 2007, 26(8): 15-16.
- [7] LI R H, FENG L, MA X Y, et al. Effect of processing on *Tribulus terrestris* saponins content[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2015, 37(7): 1526-1529.
- [8] YUAN R, WANG L L, ZHANG L F, et al. Changes and mechanisms of terrestroside B and terrestrosin K in stir-frying Tribuli Fructus[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2019, 44(15): 3297-3304.
- [9] ZHANG C, WANG S Y, GUO F, et al. Analysis of variations in the contents of steroidal saponins in Fructus Tribuli during stir-frying treatment[J]. Biomed Chromatogr, 2020, 34(4): e4794.
- [10] 中国药典. 一部[S]. 2020: 367.
- [11] LIANG T B, WANG J W, ZHANG Y L, et al. Tobacco leaf surface color uniformity judging method of flue-cured tobacco: CN102749140A[P]. 2012-10-24.
- [12] ZHANG G, WANG K W, ZHU L S, et al. Analyses of flue-cured tobacco appearance quality factors in Hunan[J]. Chin Agric Sci Bull(中国农学通报), 2007, 23(2): 114-116.

收稿日期: 2021-10-14

(本文责编: 李艳芳)

中国现代应用药学
http://www.chinjmap.com