

沙苑子盐炙工艺优选及其炮制前后抗炎作用研究

刘梦桐^{1,2}, 王亚楠¹, 宋永兴¹, 张 静³, 段绪红^{1,2*}, 李旻辉^{4,5*}

1. 河北中医药大学药学院, 河北 石家庄 050200

2. 河北省中药炮制技术创新中心, 河北 石家庄 050200

3. 河北化工医药职业技术学院, 河北 石家庄 050026

4. 内蒙古自治区中医医院, 内蒙古 呼和浩特 010020

5. 内蒙古自治区中蒙医药研究院, 内蒙古 呼和浩特 010020

摘要: **目的** 优选盐沙苑子 *Astragali Complanati Semen* 最佳炮制工艺, 并对其炮制前后抗炎作用进行研究。 **方法** 在单因素实验基础上, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计, 结合熵权-优劣解距离法 (逼近理想解排序法, technique for order preference by similarity to ideal solution, TOPSIS), 以 7 个黄酮类成分 (山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷、紫云英苷、沙苑子苷 B、沙苑子苷、杨梅素、山柰酚和山柰素) 的含量作为评价指标, 得到沙苑子最佳盐炙工艺并进行验证; 建立以 2,4,6-三硝基苯磺酸 (2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS) 诱导的斑马鱼肠炎模型, 对沙苑子盐炙前后抗炎作用进行比较。 **结果** 优选得出的沙苑子最佳盐炙工艺为每 30 克沙苑子, 加 2% 食盐水 4 mL, 闷润 8 h, 于 100 °C 炒 15 min; 药效实验结果表明, 沙苑子盐炙后对斑马鱼肠炎模型肠道组织紊乱的改善及降低肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6 和 IL-8 释放量等方面略优于生品。 **结论** 熵权-TOPSIS 法优选得到的盐沙苑子炮制工艺稳定、可行。与模型组相比, 盐沙苑子水提物展现出显著的抗炎活性, 可为阐明盐沙苑子的炮制增效机制提供参考。

关键词: 沙苑子; 盐炙; 正交试验; 熵权 TOPSIS; 工艺优选; 斑马鱼; 抗炎; 山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷; 紫云英苷; 沙苑子苷 B; 沙苑子苷; 杨梅素; 山柰酚; 山柰素

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)09-3121-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.09.010

Optimal selection of salt processing technology for *Astragali Complanati Semen* and its anti-inflammatory effect before and after processing

LIU Mengtong^{1,2}, WANG Yanan¹, SONG Yongxing¹, ZHANG Jing³, DUAN Xuhong^{1,2}, LI Minghui^{4,5}

1. College of Pharmacy, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China

2. Hebei Traditional Chinese Medicine Processing Technology Innovation Center, Shijiazhuang 050200, China

3. Hebei Chemical and Pharmaceutical Vocational and Technical College, Shijiazhuang 050026, China

4. Inner Mongolia Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hohhot 010020, China

5. Inner Mongolia Traditional Chinese & Mongolian Medical Research Institute, Hohhot 010020, China

Abstract: Objective To optimize the best processing technology for salt-processed Shayuanzi (*Astragali Complanati Semen*, ACS) and investigate its anti-inflammatory effects before and after processing. **Methods** Based on single-factor experiments, a $L_9(3^4)$ orthogonal experimental design combined with the technique for order preference by similarity to ideal solution (TOPSIS) method was employed. The content changes of seven flavonoid components (leucoside, astragaloside, complanatoside B, complanatoside, myricetin, kaempferol, and kaempferide) were used as evaluation indicators, the optimal salt-stir-frying process was obtained and verified. Additionally, a 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS)-induced zebrafish enteritis model was established to compare the anti-

收稿日期: 2024-11-18

基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目 (2024096); 河北中医学院优秀创新团队项目 (YXTD2023007); 河北省“三三三人才工程”资助项目 (C2024061); 中药炮制技术传承基地建设项目 (内卫办中(蒙)管理字[2022] 278 号)

作者简介: 刘梦桐 (2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制与资源。Tel: (0311)89926309 E-mail: 1492837993@qq.com

***通信作者:** 段绪红, 男, 硕士生导师, 博士, 研究方向为中药炮制及饮片质量控制。Tel: (0311)89926309 E-mail: duanxuhong@126.com

李旻辉, 男, 博士生导师, 博士, 研究方向为中药资源学。E-mail: li_minhui@aliyun.com

inflammatory effects of ACS before and after salt processing. **Results** The optimal salt-stir-frying process for ACS was determined as follows: for every 30 g of ACS, 4 mL of 2% salt water was added, followed by an 8-hour soak and stir-frying at 100 °C for 15 min. The pharmacodynamic experimental results showed that the salt-processed ACS was slightly better than the ACS in improving intestinal tissue disorders in the zebrafish enteritis model and reducing the release of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6 and IL-8. **Conclusion** The processing technology of salt-processed ACS optimized by the entropy weight TOPSIS method is stable and feasible. The aqueous extract of salt-processed ACS exhibits stronger anti-inflammatory effects than the raw material, providing a reference for elucidating the processing-enhanced mechanism of salt-processed ACS.

Key words: *Astragali Complanati Semen*; salt-roasting; orthogonal experiment; entropy weight-TOPSIS method; process optimization; zebrafish; anti-inflammatory; leucoside; astragalin; complanatoside B; complanatoside; myricetin; kaempferol; kaempferide

沙苑子 *Astragali Complanati Semen* (ACS) 为豆科黄芪属植物扁茎黄芪 *Astragalus complanatus* R. Br. 的干燥成熟种子。具有补肾助阳、固精缩尿、养肝明目等功效，临床用于肾虚腰痛、遗精早泄、遗尿尿频、白浊带下、眩晕、目暗昏花等病症^[1]。现代研究表明，黄酮类成分是沙苑子主要活性成分之一^[2]，如沙苑子苷是《中国药典》2020 年版沙苑子质量标准的指标成分，具有保肝调脂、抗炎、抗氧化等药理作用^[3-5]；山柰酚具有抗肿瘤、改善酒精性脂肪肝、抑制雌性小鼠子宫内膜异位等作用^[6-8]；紫云英苷具有抗氧化、抗炎、保护神经系统等活性^[9-10]。

沙苑子最初以“同州白蒺藜”之名，附载于《本草图经》“蒺藜子”项下，以成熟种子入药，历代主流本草均有记载^[11]。炮制历史沿革可知，沙苑子盐炙，可引药下行，增强其补肾固精的作用。该法始于清代，《本草害利》中记载“盐水炒”^[12]，《类证治裁》和《验方新编》中均记载“淡盐水炒”^[13-14]，但古籍资料并未明确盐炙的具体参数。目前文献研究大多采用某一黄酮类成分或总黄酮含量变化作为沙苑子药材或饮片质量的评价指标^[15-17]，缺乏客观、系统的评价体系。因此，本研究在单因素实验结果基础上，采用正交试验设计，以山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷、紫云英苷、沙苑子苷 B、沙苑子苷、杨梅素、山柰酚和山柰素 7 种成分含量变化作为评价指标，结合熵权-优劣解距离法(逼近理想解排序法，technique for order preference by similarity to ideal solution, TOPSIS)优选沙苑子盐炙工艺参数，以期全面科学地反映盐炙前后的成分变化差异。

炎症反应与诸多疾病的发生发展关系密切。沙苑子颗粒临床广泛应用于白浊带下、小便余沥等炎症性疾病的治疗，其总黄酮及所含的部分黄酮类成分具有良好的抗炎活性^[18-19,26]。中药炮制理论认为“入盐走肾”，盐炙后可达到增效的作用，但目前沙苑子盐炙前后抗炎等作用及机制尚不明确，有待进一步

深入研究。斑马鱼因其实验成本低，造模速度快且稳定，同时因其基因与人类基因高度同源，越来越多的学者选择应用斑马鱼模型开展急性炎症的作用机制和药物活性评价^[20]。本研究通过肛门注入 2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)建立斑马鱼溃疡性结肠炎模型，使用 HE 染色观察斑马鱼结肠组织病理改变，通过试剂盒检测斑马鱼结肠组织中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、IL-8 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的释放量，探讨沙苑子盐炙前后抗炎作用的变化，为拓展盐沙苑子的临床应用提供理论支撑。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-20AD 型高效液相色谱仪，日本岛津公司；YP2002 型十万分之一电子天平，上海津平科学仪器有限公司；RS-FE1406 型粉碎机，合肥荣事达电子电器集团有限公司；5418 型离心机，埃彭多夫股份有限公司；JP-060S 型超声波清洗机，深圳市洁盟清洗设备有限公司；Milli-Q 型超纯水机，密理博公司；5 型电脑版炒货机，常州市金坛迈斯机械有限公司；HS-3345 型全自动切片机，金华市华速科技有限公司；B-510LD4 OPTIKA 型正置显微镜，北京博为高科生物科技有限公司。

1.2 药材

沙苑子饮片，产地陕西省渭南市，批号 220301，购自河北翰捷药业有限公司，经河北中医药大学药学院中药鉴定学教研室侯芳洁副教授鉴定，为豆科黄芪属植物扁茎黄芪 *A. complanatus* R. Br. 的干燥成熟种子。

1.3 试药

深井盐，批号 20221020L，中盐河北盐业专营有限公司；对照品山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷(批号 PS011556)、紫云英苷(批号 PS011380)、沙苑子苷

B (批号 PS013121)、沙苑子苷 (批号 PS013121)、杨梅素 (批号 PS001011)、山柰酚 (批号 PS12689)、山柰素 (批号 PS020312), 质量分数均 >98.0%, 均购买自成都普思生物科技股份有限公司; Bouin's 固定液, 批号 LA0976, 福州飞净生物科技有限公司; 3-乙氧酰基苯胺甲磺酸盐, 批号 J2114551, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 ELISA 试剂盒, 批号分别为 YJ32069、YJ32143、YJ32141、YJ32140, 上海源桔生物科技有限公司; TNBS, 批号 SLCK4178, 美国 Sigma-Aldrich 公司; 水为自制超纯水, 由 Mili-Q 超纯水仪制备; 乙腈, 色谱纯, 赛默飞世尔科技有限公司; 乙醇, 分析纯, 天津市大茂化学试剂厂。

1.4 动物

3~5 月龄野生型 AB 品系斑马鱼, 购自南京一树梨花生物科技有限公司。斑马鱼适应性饲养 1 周, 养殖密度为 15 条/10 L 水, 黑暗/光照为 10 h/14 h 交替进行, 水温 (28.0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$, pH 值为 7.0~7.4, 溶解氧为 5.0~7.0 mg/L, 水质硬度为 20.0 mg/L。每天定时定量喂食活体丰年虾 2 次, 并通入曝气管, 24 h 不间断充氧。

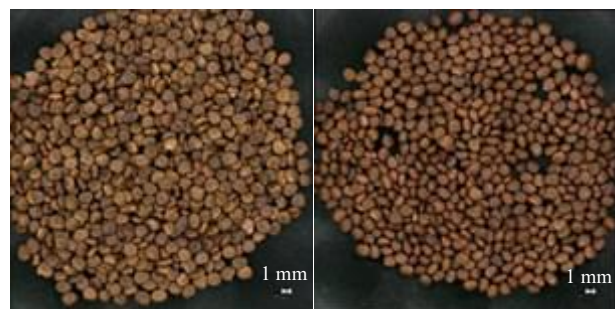
2 方法与结果

2.1 盐沙苑子的制备

取沙苑子饮片, 加适量 2% 盐水拌匀, 闷润一定时间后, 置炒药机中炒至表面鼓起, 呈深褐绿色或深灰褐色时, 取出, 晾干, 气微, 味微咸, 嚼之有豆腥味, 即得盐沙苑子制品。沙苑子盐炙前、后饮片外观图 1。取沙苑子和盐沙苑子, 除杂, 用粉碎机粉碎, 过 40 目筛, 备用。

2.2 样品中 7 种指标成分的定量测定

2.2.1 混合对照品溶液的制备 分别精密称取山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷、紫云英苷、沙苑子苷 B、沙



沙苑子饮片 盐沙苑子饮片

图 1 沙苑子盐炙前后饮片外观

Fig. 1 Appearance of decoction pieces of ACS before and after salt-roasting

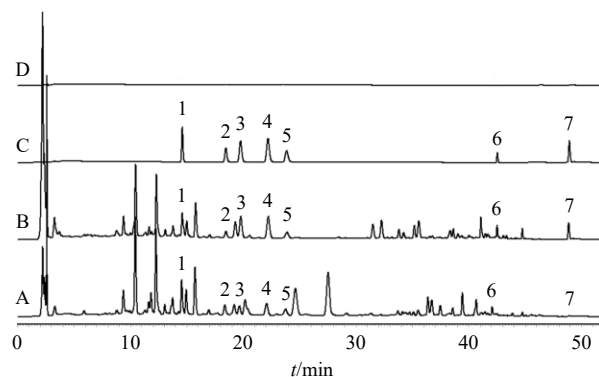
苑子苷、杨梅素、山柰酚和山柰素对照品适量, 置 5 mL 棕色量瓶中, 加 60% 乙醇溶解并定容至刻度, 分别制成质量浓度分别为 48.00、15.60、52.80、62.40、24.00、18.00、24.00 mg/L 的混合对照品溶液, 冷藏, 备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 取沙苑子样品、不同炮制工艺的盐沙苑子样品粉末各 0.15 g, 精密称定, 加 60% 乙醇 5 mL, 置具塞锥形瓶中, 称定质量, 室温超声 1 h, 再次称定质量, 用 60% 乙醇溶液补足减失的质量, 以 13 000 r/min 离心 (离心半径 3 cm) 5 min, 取上清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得供试品溶液。其中每批样品平行制备 3 份。

2.2.3 色谱条件 色谱柱为 Eclipse Plus C₁₈ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱程序: 0~10 min, 10%~20% 乙腈; 10~22 min, 20% 乙腈; 22~36 min, 20%~30% 乙腈; 36~42 min, 30%~50% 乙腈; 42~52 min, 50% 乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL ; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 226 nm。

2.2.4 专属性考察 分别精密吸取空白溶剂 (60% 乙醇)、混合对照品溶液及生、盐沙苑子供试品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样测定, 结果见图 2。供试品溶液色谱在与混合对照品溶液色谱相应的保留时间处有相同的色谱峰, 且空白溶剂无干扰, 表明该方法专属性良好。

2.2.5 线性关系考察 分别精密吸取“2.2.1”项下



1-山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷; 2-紫云英苷; 3-沙苑子苷 B; 4-沙苑子苷; 5-杨梅素; 6-山柰酚; 7-山柰素。

1-leucoside; 2-astragalin; 3-complanatoside B; 4-complanatoside; 5-myricetin; 6-kaempferol; 7-kaempferide.

图 2 沙苑子供试品溶液 (A)、盐沙苑子供试品溶液 (B)、混合对照品溶液 (C)、空白溶剂 (D) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of ACS raw product test solution (A), ACS salt-roasted product test solution (B), mixed control solution (C) and blank solvent (D)

不同体积混合对照品溶液,置 5 mL 棕色量瓶中,用 60%乙醇稀释制成系列质量浓度的对照品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件进样检测,记录各指标成分的峰面积。将所得峰面积(Y)与各成分质量浓度(X)分别进行线性回归分析,得回归方程分别为山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷 $Y=23\,500.0X-2\,213.7$, $r=0.999\,9$, 线性范围 4.00~24.00 $\mu\text{g/mL}$; 紫云英苷 $Y=31\,162.00X-624.13$, $r=0.999\,9$, 线性范围 1.30~7.80 $\mu\text{g/mL}$; 沙苑子苷 B $Y=20\,275.0X-1\,322.5$, $r=0.999\,9$, 线性范围 4.40~26.40 $\mu\text{g/mL}$; 沙苑子苷 $Y=22\,559.0X-37\,134.0$, $r=0.999\,1$, 线性范围 5.20~31.20 $\mu\text{g/mL}$; 杨梅素 $Y=24\,606.0X-8\,554.9$, $r=0.999\,7$, 线性范围 2.00~12.00 $\mu\text{g/mL}$; 山柰酚 $Y=38\,084.0X-9\,451.0$, $r=0.999\,6$, 线性范围 1.50~9.00 $\mu\text{g/mL}$; 山柰素 $Y=22\,575.0X-10\,146.0$, $r=0.999\,2$, 线性范围 2.00~12.00 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.2.6 精密度试验 精密吸取“2.2.1”项下同一质量浓度的混合对照品溶液,按照“2.2.3”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录各成分的峰面积,并计算其峰面积的 RSD。结果显示山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷、紫云英苷、沙苑子苷 B、沙苑子苷、杨梅素、山柰酚和山柰素峰面积的 RSD 分别为 0.94%、1.36%、0.23%、0.13%、0.73%、1.16%、1.00%,结果表明该仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 精密吸取生沙苑子供试品溶液,分别于制备后放置 0、2、4、6、8、12、24 h,按照“2.2.3”项下色谱条件进行测定,记录各成分的峰面积,并计算其 RSD 值。结果显示山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷、紫云英苷、沙苑子苷 B、沙苑子苷、杨梅素、山柰酚和山柰素的 RSD 分别为 1.15%、2.03%、1.16%、0.98%、2.11%、1.38%、1.41%,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.8 重复性试验 取生沙苑子样品,按照“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,再按照“2.2.3”项下色谱条件进行测定,记录各成分的峰面积,并计算其质量分数的 RSD,结果显示山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷、紫云英苷、沙苑子苷 B、沙苑子苷、杨梅素、山柰酚和山柰素质量分数的 RSD 分别为 2.13%、0.97%、0.89%、1.71%、1.21%、1.57%、2.21%,表明该方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 精密称取已测知各指标成分含量的生沙苑子样品 6 份,每份约 0.075 g,分别精密加入“2.2.1”项下混合对照品溶液 40 μL ,按

照“2.2.2”项下方法制备得到供试品溶液,再按照“2.2.3”项下色谱条件进行测定,计算各成分的加样回收率及其 RSD 值,结果山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷、紫云英苷、沙苑子苷 B、沙苑子苷、杨梅素、山柰酚和山柰素的平均加样回收率分别为 97.9%、99.8%、96.7%、98.4%、97.4%、101.5%、98.3%,RSD 分别为 1.26%、1.88%、0.82%、1.15%、1.44%、0.99%、1.71%,结果表明该实验加样回收率良好。

2.3 盐炙沙苑子的炮制工艺优化

2.3.1 工艺评价指标综合评分的确定 熵权法是一种综合考虑整体信息,根据测量值提供的变异程度来确定权重的方法,数据变异程度越大,所占权重越大^[21]。首先,确定以山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷、紫云英苷、沙苑子苷 B、沙苑子苷、杨梅素、山柰酚和山柰素的质量分数为实验指标,建立原始数据矩阵;然后根据公式 $Y_{ij}=(X_{ij}-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min})$, 式中, X_{ij} 为指标测定值, $X_{\min}$ 为指标测定值最小值, $X_{\max}$ 为指标测定值最大值,对原始数据进行标准化处理,得到标准化数据矩阵,消除不同指标量纲的影响;最后,将标准化数据输入 SPSSAU 软件,选择熵权法,点击“开始分析”,进行权重计算,得到各成分权重系数 (W_j): 山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷 10.07%、紫云英苷 16.50%、沙苑子苷 B 9.06%、沙苑子苷 9.80%、杨梅素 25.99%、山柰酚 8.83%、山柰素 19.75%;将各指标质量分数按照权重相加得分即为综合评分 (Z_i),综合评分计算公式为 $Z_i=100\times\sum_{j=1}^n W_j Y_{ij}$, 综合评分越高越好。

2.3.2 加盐水量考察 取生沙苑子饮片 5 份,每份 30 g,分别加入 0、2、4、6、8 mL 2%食盐水,闷润 8 h 后,投入炒药机,于 110 $^{\circ}\text{C}$,炒制 15 min,取出,放凉后粉碎,过 40 目筛。按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按照“2.2.3”项下色谱条件进行含量测定,按照“2.3.1”项下方法计算综合评分,结果见表 1。综合评分随着加盐水量的增加,先升高后下降,在加盐水量为 4 mL 时综合评分最高。故选择加盐水量 2、4、6 mL 用于后续沙苑子盐炙工艺考察。

2.3.3 闷润时间考察 取生沙苑子饮片 5 份,每份 30 g,加入 4 mL 2%食盐水,分别闷润 0、4、8、12、16 h,投入炒药机,于 110 $^{\circ}\text{C}$,炒制 15 min,取出,放凉后粉碎,过 40 目筛。按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按照“2.2.3”项下色谱条件进行含量测定,按照“2.3.1”项下方法计算综合评分,结

果见表 2。综合评分在闷润时间为 8 h 时最高，但与闷润时间 4、12 h 相比差距不明显。故选择闷润时间为 8 h 用于后续沙苑子盐炙工艺考察。

2.3.4 炒制温度考察 取生沙苑子饮片 5 份，每份为 30 g，加入 4 mL 2% 食盐水，闷润 8 h，投入炒药机，分别于 90、100、110、120、130 ℃，炒制 15 min，取出，放凉后粉碎，过 40 目筛。按照“2.2.2”

项下方法制备供试品溶液，按照“2.2.3”项下色谱条件进行含量测定，按照“2.3.1”项下方法计算综合评分，结果见表 3。综合评分随着炒制温度的增加，先升高后下降，在炒制温度为 100 ℃ 时综合评分最高。故选择炒制温度 90、100、110 ℃ 用于后续沙苑子盐炙工艺考察。

2.3.5 炒制时间考察 取生沙苑子饮片 5 份，每份

表 1 加盐水量考察
Table 1 Investigation of saltwater addition

加盐水量/mL	质量分数/(μg·g ⁻¹)							综合评分
	山柰酚-3-O-桑布双糖苷	紫云英苷	沙苑子苷 B	沙苑子苷 A	杨梅素	山柰酚	山柰素	
0	459.3	166.2	645.6	728.7	277.8	132.1	324.1	36.96
2	577.1	167.2	755.0	812.0	235.3	127.6	322.1	47.45
4	425.6	160.0	649.5	770.0	319.1	141.0	362.1	61.02
6	566.5	183.3	684.1	700.0	280.2	73.5	303.4	42.98
8	563.6	166.6	723.1	762.7	245.7	97.6	315.8	36.32

表 2 闷润时间考察
Table 2 Investigation of sealing time

闷润时间/h	质量分数/(μg·g ⁻¹)							综合评分
	山柰酚-3-O-桑布双糖苷	紫云英苷	沙苑子苷 B	沙苑子苷 A	杨梅素	山柰酚	山柰素	
0	585.2	179.5	730.6	772.2	254.9	109.1	300.7	55.64
4	584.0	134.1	695.5	721.1	267.1	151.4	387.3	61.00
8	543.2	170.1	647.3	737.5	263.6	188.1	382.3	61.84
12	594.5	174.8	666.7	765.9	253.3	220.1	332.6	61.38
16	550.1	165.7	691.6	772.4	244.4	180.4	393.7	52.88

表 3 炒制温度考察
Table 3 Investigation of frying temperature

炒制温度/℃	质量分数/(μg·g ⁻¹)							综合评分
	山柰酚-3-O-桑布双糖苷	紫云英苷	沙苑子苷 B	沙苑子苷 A	杨梅素	山柰酚	山柰素	
90	530.6	143.9	614.1	618.5	248.7	195.4	125.5	34.92
100	582.8	220.9	755.0	873.0	320.4	127.6	322.1	75.83
110	583.7	177.3	676.9	801.5	325.6	165.2	385.2	64.74
120	314.9	194.0	491.3	874.5	11.6	362.5	913.7	50.14
130	306.6	161.9	468.1	654.2	11.6	278.6	783.3	27.38

30 g，加入 4 mL 2% 食盐水，闷润 8 h，投入炒药机，于 110 ℃，分别炒制 5、10、15、20、25 min，取出，放凉后粉碎，过 40 目筛。按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，按照“2.2.3”项下色谱条件进行含量测定，按照“2.3.1”项下方法计算综合评分，结果见表 4。综合评分随着炒制时间的增加，先升高后下降；虽然在炒制时间为 15 min 时综合评分最高，但炒制 10 min 时综合评分仅有 16.36，且由外观性状评价可知，其明显炮制不及；故选择炒制时间 15、20、25 min 用于后续沙苑子盐炙工艺考察。

2.3.6 正交试验优化沙苑子盐炙工艺 以炒制温度(A)、炒制时间(B)和加盐水量(C)为因素，以 7 个黄酮类成分(山柰酚-3-O-桑布双糖苷、紫云英苷、沙苑子苷 B、沙苑子苷 A、杨梅素、山柰酚和山柰素)质量分数的综合评分作为评价指标，采用 L₉(3⁴)正交设计实验对盐沙苑子的炮制工艺参数进行优化，并进行方差分析。工艺优化的因素与水平设计方案见表 5，正交试验方案与综合评分结果见表 5，方差分析结果见表 6。结果显示，各因素对综合评分的影响由大到小依次为 B>A>C，且各考察因素对实验

表 4 炒制时间考察
Table 4 Investigation of frying time

炒制时 间/min	质量分数/(μg·g ⁻¹)							综合 评分
	山柰酚-3-O-桑布双糖苷	紫云英苷	沙苑子苷 B	沙苑子苷 A	杨梅素	山柰酚	山柰素	
5	487.1	136.9	680.2	681.0	229.4	72.2	350.6	14.81
10	541.9	145.4	626.6	664.0	245.8	103.1	315.7	16.36
15	658.7	184.2	761.4	792.5	284.0	134.2	348.3	82.79
20	629.7	191.8	694.7	812.7	258.1	170.7	384.0	81.48
25	624.6	171.7	707.7	758.4	263.2	155.5	338.3	60.33

表 5 沙苑子盐炙工艺的正交试验设计与结果
Table 5 Orthogonal experimental design and results for salt-processing technique of ACS

试验号	A/ ℃	B/ min	C/ mL	D (空白)	质量分数/(μg·g ⁻¹)							综合 评分
					山柰酚-3-O-桑布双糖苷	紫云英苷	沙苑子苷 B	沙苑子苷 A	杨梅素	山柰酚	山柰素	
S1	90 (1)	15 (1)	2 (1)	(1)	606.8	173.6	695.2	870.4	270.2	112.6	211.7	66.51
S2	90 (1)	20 (2)	4 (2)	(2)	572.1	166.1	684.6	822.9	244.4	96.0	190.8	41.57
S3	90 (1)	25 (3)	6 (3)	(3)	585.1	167.8	704.5	837.1	239.6	101.2	192.0	44.77
S4	100 (2)	15 (1)	4 (2)	(3)	591.3	225.5	752.5	885.3	323.7	92.3	200.2	85.37
S5	100 (2)	20 (2)	6 (3)	(1)	551.9	167.3	618.0	716.0	226.8	62.5	177.5	17.30
S6	100 (2)	25 (3)	2 (1)	(2)	575.1	169.8	712.0	844.1	227.8	87.5	176.9	34.01
S7	110 (3)	15 (1)	6 (3)	(2)	563.2	160.5	675.7	836.5	281.0	116.4	225.0	65.66
S8	110 (3)	20 (2)	2 (1)	(3)	505.7	142.0	572.7	681.0	237.0	43.1	202.3	14.20
S9	110 (3)	25 (3)	4 (2)	(1)	524.3	148.2	656.3	800.9	222.3	89.0	183.2	21.16
K ₁	152.85	217.54	114.72	104.97								
K ₂	136.68	73.07	148.10	141.24								
K ₃	101.02	99.94	127.73	144.34								
R	51.83	144.47	33.38	39.37								

表 6 方差分析
Table 6 Variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	F 值	显著性
A	468.828 2	2	1.467 6	无
B	3 935.926 4	2	12.320 6	无
C	188.713 5	2	0.590 7	无
D (误差)	319.457 8	2		

结果均无显著性影响。根据综合评分直观分析，确定的最佳盐炙工艺为 A₁B₁C₂，即每 30 克沙苑子加盐水 4 mL，闷润 8 h，于 90 ℃炒制 15 min。综合“2.3.4”项炒制温度考察结果及外观性状评价来看，90 ℃炒制 15 min 的盐沙苑子未能达到炮制要求。故仅根据正交试验直观分析无法获得满意的沙苑子炮制工艺参数。

2.3.7 熵权-TOPSIS 法模型计算结果和聚类分析

TOPSIS 法基于样品与正理想解距离 (D^+) 和负理想解距离 (D^-) 的综合，适用于多指标综合评价，发展迅速，被广泛地应用于多种药材质量评价^[21]。

以山柰酚-3-O-桑布双糖苷、紫云英苷、沙苑子苷 B、沙苑子苷、杨梅素、山柰酚和山柰素的质量分数为指标，建立初始化矩阵 (7×9)；根据“2.3.1”项标准化公式，进行标准化，建立标准化矩阵；将标准化矩阵导入 SPSS AU 网站，选择熵权 TOPSIS 模型，点击“开始分析”，对盐炙工艺结果进行排序，进行综合评分排序。所得沙苑子最佳盐炙工艺为每 30 克沙苑子加盐水 4 mL，闷润 8 h，于 100 ℃炒制 15 min，与方差分析结果一致，结果见表 7。

2.3.8 层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)

实验进一步采用 SPSS 23.0 软件对 9 批盐炙沙苑子正交组进行 HCA。以“2.3.7”项下建立的标准化矩阵为变量。采用组间连接、平方欧氏距离法进行 HCA。结果如图 3 所示，样品聚为 2 大类，熵权-TOPSIS 法模型综合评分前 3 位的 S1、S7、S4 可聚为一类，其余正交试验组聚为另一类，与熵权-TOPSIS 法模型分析结果基本一致，说明所建立的熵权-TOPSIS 法模型可靠，可以用于盐沙苑子炮制

表 7 熵权-TOPSIS 法评价计算结果
Table 7 Evaluating calculation results by entropy weight-TOPSIS evaluation calculations

编号	D^+	D^-	相对接近度 (C)	排序结果
S1	0.017	0.036	0.673	2
S2	0.026	0.026	0.506	6
S3	0.025	0.030	0.539	4
S4	0.004	0.047	0.916	1
S5	0.040	0.010	0.201	8
S6	0.028	0.030	0.517	5
S7	0.019	0.031	0.618	3
S8	0.046	0.005	0.098	9
S9	0.035	0.020	0.367	7

工艺参数的优选。

2.4 最佳盐炙工艺验证

在确定沙苑子最佳盐炙工艺后进行 3 组验证试验，结果见表 8。3 次验证试验的平均综合评分为 85.89，RSD 为 0.32%，表明所建立的模型具有良好的稳定性和一致性，优选的盐炙工艺稳定可行。

表 8 沙苑子盐炙工艺验证及与炮制前样品对比
Table 8 Verification of salt-processing technique of ACS and comparison with samples before processing

试验号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)							综合评分
	山柰酚-3-O-桑布双糖苷	紫云英苷	沙苑子苷 B	沙苑子苷 A	杨梅素	山柰酚	山柰素	
1	551.3	213.2	704.5	816.3	322.5	93.2	252.5	85.98
2	552.3	232.1	707.2	762.2	382.5	86.7	165.3	85.58
3	564.5	246.3	666.3	833.5	332.6	72.5	232.4	86.10
生品	623.2	215.5	668.2	452.8	384.2	26.7	122.5	

提取 1 h，合并提取液。减压浓缩至一定体积，再 70 ℃鼓风干燥 24 h，得干浸膏，研磨，过 65 目筛。分别称取 5 g 沙苑子、盐沙苑子浸膏粉，再加入 50 mL 水煮沸后，文火煎煮 10 min，收集滤液，放置冰箱 8 ℃中冷藏，备用。

2.5.2 给药质量浓度的确定 随机挑选 50 尾斑马鱼，每组 10 尾，分为 5 组，设沙苑子生药量 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/mL 共 5 个质量浓度组，每组加水定容至 300 mL，喂养 48 h 后，观察斑马鱼的死亡情况。结果表明，0.5、1.0、2.0、4.0 mg/mL 的沙苑子煎剂组斑马鱼无死亡，8.0 mg/mL 沙苑子煎剂组斑马鱼死亡 5 尾，死亡率为 50%。故确定 4.0 mg/mL 的沙苑子煎剂作为给药质量浓度。

2.5.3 分组、造模及给药 将野生型 AB 品系斑马鱼 40 尾随机分为对照组、模型组、沙苑子组、盐沙苑子组，每组 10 尾，试验前禁食 24 h。除对照组

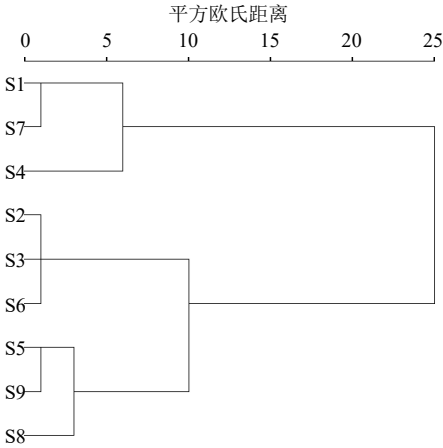


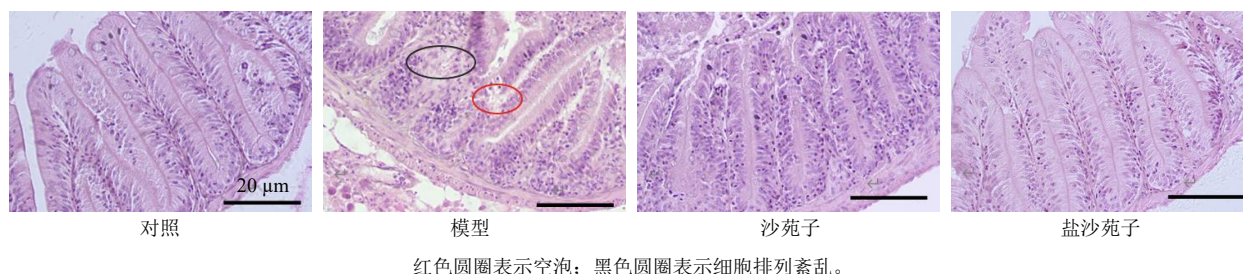
图 3 盐沙苑子炮制工艺优化的 HCA
Fig. 3 HCA for optimisation of salted ACS processing technique

2.5 沙苑子盐炙前后水提物的抗炎活性研究

2.5.1 药物的制备 分别称取沙苑子和按“2.4”项下最佳工艺制备得到的盐沙苑子各 100 g，采用加热回流方式提取 2 次，第 1 次加入 1 200 mL 水回流提取 1.5 h，倒出提取液，第 2 次加入 800 mL 水回流

外，其余 3 组斑马鱼均注射 160 mmol/L 的 TNBS 溶液，8 h 后，每组随机选择 1 条，采集肠道组织并染色，置显微镜下观察，斑马鱼肠道结构紊乱，细胞排列不规则，空泡明显，提示造模成功。实验组的养殖箱水中分别加入 4.0 mg/mL 生、盐沙苑子药液，药浴 24 h。模型组转移至普通养殖水中饲养，对照组不做处理。实验结束后，分别采集不同处理组的斑马鱼肠道组织进行后续实验。

2.5.4 结肠的病理学观察 将剥离得到的 4 组斑马鱼肠道，采用 Bouin's 固定液固定 24 h，再分别用无水乙醇及 95%、85%、75%乙醇逐级脱水，石蜡包埋切片，烘片，使用苏木素-伊红 (HE) 染色，中性树胶封片后，显微镜下观察肠道组织结构。结果如图 4 所示，对照组肠道细胞之间排列紧密，上皮细胞排列均匀，未见明显病理变化；模型组空泡明显，细胞排列稀疏紊乱，可见明显的病理改变；沙



red circle colour indicates vacuoles; black circle colour indicates disturbed cell arrangement.

图 4 生、盐沙苑子对斑马鱼肠炎模型的影响

Fig. 4 Effects of raw and salt-roasting ACS on zebrafish enteritis model

苑子给药组和盐沙苑子给药组对斑马鱼肠炎均具有较好的改善效果，斑马鱼肠道组织结构完整，但和生沙苑子组相比，盐沙苑子组肠道组织紊乱改善更明显，排列更加紧密，表明其抗炎作用更好。

2.5.5 结肠组织匀浆中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 的检测 分别取各组斑马鱼结肠组织，按质量体积比 1 : 9 加入 0.9% NaCl 溶液，研磨，离心，取上清液，按 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 试剂盒说明进行检测，结果见表 9。与对照组比较，模型组中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 的释放量均显著性升高

($P < 0.001$)，说明造模成功；与模型组比较，沙苑子组和盐沙苑子组的促炎症因子释放量均显著降低，具有统计学意义 ($P < 0.05$ 、 0.001)；和生沙苑子组相比，盐沙苑子组对炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 释放的绝对量更低一些，但无统计学意义；表明沙苑子盐炙后，对炎症因子的释放抑制作用略好于生品，表明其抗炎作用稍微有所增强。

3 讨论

中药所含化学成分复杂，不同炮制条件会导致所含化学成分种类及含量产生不同变化，故炮制品

表 9 沙苑子盐炙前后对斑马鱼体内炎症因子释放量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 9 Effects of ACS on release of inflammatory factors in zebrafish before and after salt roasting ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/(mg·mL ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IL-1 β /(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	IL-8/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	49.94 $\pm$ 0.83	8.40 $\pm$ 0.48	9.07 $\pm$ 0.05	12.73 $\pm$ 0.50
模型	—	208.28 $\pm$ 7.73 ^{###}	26.21 $\pm$ 1.34 ^{###}	33.36 $\pm$ 2.81 ^{###}	36.14 $\pm$ 0.72 ^{###}
沙苑子	4	110.53 $\pm$ 2.30 ^{***}	15.88 $\pm$ 0.72 [*]	19.69 $\pm$ 1.49 ^{***}	22.52 $\pm$ 0.40 [*]
盐沙苑子	4	102.11 $\pm$ 2.31 ^{***}	15.06 $\pm$ 0.41 [*]	17.62 $\pm$ 1.20 ^{***}	20.82 $\pm$ 0.34 [*]

与对照组比较：^{###} $P < 0.001$ ；与模型组比较：^{*} $P < 0.05$ ^{***} $P < 0.001$ 。

^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group.

质量优劣与所含指标成分种类及含量高低关系密切。本实验对盐沙苑子质量评价指标成分的选取，既包含了《中国药典》2020 年版中规定的成分，沙苑子苷；也涵盖了沙苑子中有显著药理活性的黄酮类成分，如山柰酚和山柰素等，能客观、全面地表征炮制工艺参数对饮片质量的影响。

熵权-TOPSIS 法模型是有限方案多目标决策分析的一种方法，该方法对样本无特殊要求，分析简便，采用该模型可用熵权替代经验加权，有效地规避了主观偏好性，将主观思维严谨化。因此，本实验引入该模型对正交试验组盐沙苑子样品的 7 种黄酮类成分含量的归一化值进行加权，再采用正交试验设计，筛选得到了沙苑子盐炙的最佳炮制工艺，即每 30 克沙苑子加水 4 mL，闷润 8 h 后，再于

100 °C 炒制 15 min。

3 批验证实验结果的 RSD 为 0.28%，表明工艺稳定可行。但由于本实验所采用的炒药机容量有限（容量 2 L），炮制的样品量有限，下一步应考虑放大样品量，进一步验证该盐炙工艺的可行性。

在种子类中药的炮制过程中，其自身含有的酶类物质以及炮制时的高温可能是影响化学成分变化的关键因素^[22]。从沙苑子盐炙前后化学成分变化看，沙苑子苷和沙苑子苷 B 等黄酮苷类成分含量在盐炙后增加较明显，而山柰酚-3-*O*-桑布双糖苷和紫云英苷含量略微增加。

但已有文献结果表明，盐炙能使沙苑子中部分黄酮苷含量降低，同时升高部分黄酮苷元含量，但炒制温度为 160 °C^[23]，其原因可能是加热破坏了药

物自身所含分解酶,起到“杀酶保苷”作用,而炒制加热温度较低时,尚未使黄酮苷类成分的苷键产生断裂;再者炮制后,盐炙品种皮破裂,易于有效成分溶出,导致含量有所增加。

山柰酚和山柰素等苷元的含量亦有所增加,与同母核苷类成分的苷键断裂有关,保留时间 24.5 min 及 27.5 min 的色谱峰在盐炙后近乎消失,可能转化成别的成分,具体的成分转化机制有待明确,后续将采用 HPLC-MS/MS 技术表征炮制前后变化明显的色谱峰,进一步探讨其炮制机制。

通常情况下,药物的疗效和药效成分的含量呈现正相关关系^[24],因此,药材经过炮制过后,其含量水平发生显著提升的成分(包括新产生的成分)往往是解释炮制品疗效的关键。本实验中,杨梅素的含量在盐炙后增加了近 10 倍,同时该成分有抗炎相关的药理活性报道^[25],因此,该成分的含量增加是否为其炮制增效的原因之一,值得进一步深入研究。

盐炙作为一种常用中药炮制方法,通常有引药下行,增强疗效、滋阴降火及缓和辛燥的作用。而“滋阴缓燥”往往与炎症反应的降低密切相关。已有文献报道沙苑子总黄酮具有良好的抗炎活性^[26]。斑马鱼作为新兴药理学实验动物,兼顾成本低、造模快等优点。

本实验采用斑马鱼急性结肠炎模型对沙苑子盐炙前后抗炎作用进行比较,对结肠组织进行病理学观察及部分炎症因子释放的测定,与模型组相比,生沙苑子及盐沙苑子均可改善斑马鱼溃疡性结肠炎模型的组织紊乱,使细胞排列更加紧密,降低 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 的释放量,但盐沙苑子组的释放绝对量更低,表明沙苑子盐炙后,其抗炎作用略有增强,可为临床合理选用沙苑子或盐沙苑子提供一定的参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 191.

[2] 李婷,张旗,汪国友,等.沙苑子总黄酮基于 RANK/RANKL/OPG 信号轴抑制 MG-63 骨肉瘤细胞生长并促使其凋亡的机制研究 [J]. 中国中医急症, 2023, 32(8): 1336-1341.

[3] 刘双巧,李丽,邵紫萱,等.沙苑子苷 A 对脂肪变性 L02 细胞 HNF4 α 调控的 TG 转运通路的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2022, 45(10): 1044-1051.

[4] Ren C X, Bao X W, Lu X Z, et al. Complanatoside A targeting NOX4 blocks renal fibrosis in diabetic mice by suppressing NLRP3 inflammasome activation and autophagy [J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154310.

[5] Tan L, Zheng Z Y, Huang L, et al. Flavonol glycoside complanatoside A requires FOXO/DAF-16, NRF2/SKN-1, and HSF-1 to improve stress resistances and extend the life span of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 931886.

[6] Wang R, Deng Z Y, Zhu Z M, et al. Kaempferol promotes non-small cell lung cancer cell autophagy via restricting Met pathway [J]. *Phytomedicine*, 2023, 121: 155090.

[7] Periferakis A, Periferakis K, Badarau I A, et al. Kaempferol: Antimicrobial properties, sources, clinical, and traditional applications [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23): 15054.

[8] Periferakis A, Periferakis A T, Troumpata L, et al. Kaempferol: A review of current evidence of its antiviral potential [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(22): 16299.

[9] Chen X Y, Cheng C, Zuo X Z, et al. Astragaloside A alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by improving antioxidant and anti-inflammatory activities and inhibiting apoptosis pathway in rats [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1): 120.

[10] 梁勇,陈伟.紫云英苷对肺癌 A549 细胞增殖、迁移、凋亡和氧化应激的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(7): 999-1003.

[11] 张婷婷,柯创,秦路平,等.沙苑子本草考证 [J]. 中草药, 2020, 51(16): 4348-4354.

[12] 清·凌奂.本草害利 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 1982: 21.

[13] 清·林珮琴撰,李德新整理.类证治裁 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 408.

[14] 清·鲍相璈纂辑.清·梅启相增辑.苏礼.验方新编-下册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 570.

[15] 孙越鹏,王梦雪,宋丹,等.基于一测多评多组分定量质控联合主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析及熵权逼近理想解排序法的盐沙苑子饮片综合质量评价 [J]. 中草药, 2023, 54(24): 8077-8085.

[16] 孙建中,祁东利,赵佳丽,等.正交试验法优选盐炙沙苑子炮制工艺 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(10): 195-196.

[17] 马存德,陈衍斌,韩翠,等.盐炙沙苑子工业化炮制工艺研究 [J]. 陕西中医, 2010, 31(11): 1528-1530.

[18] 高源,季伟,肖丹,等.基于网络药理学预测沙苑子的抗炎作用机制 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2019, 57(9): 59-68.

[19] Ng Y F, Tang P C, Sham T T, et al. Semen Astragaloside A

- Complanati*: An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 155(1): 39-53.
- [20] 赵竟成, 李治建, 霍仕霞, 等. 基于斑马鱼模型的补骨脂不同炮制品水提物急性毒性及肝毒性差异比较 [J]. 中草药, 2024, 55(1): 101-113.
- [21] 张圣苗, 杨华俊, 谢姣, 等. 一测多评、化学模式识别及加权 TOPSIS 模型相结合的润燥止痒胶囊质量差异性评价 [J]. 中草药, 2024, 55(14): 4711-4721.
- [22] 郭日新, 于现阔, 张晓, 等. 决明子炮制过程化学研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(15): 3145-3149.
- [23] 于现阔, 许梦莹, 罗寒燕, 等. 炮制对沙苑子中黄酮类成分含量的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(3): 1508-1511.
- [24] Zhao Z Z, Liang Z T, Chan K, *et al*. A unique issue in the standardization of Chinese materia medica: Processing [J]. *Planta Med*, 2010, 76(17): 1975-1986.
- [25] 王璐, 周云英. 杨梅素抗感染、抗炎及抗氧化活性研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(3): 778-784.
- [26] 樊华. 补肾中药沙苑子总黄酮对斑马鱼及 RAW_{264.7} 巨噬细胞模型抗炎作用机制的研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2019.

[责任编辑 郑礼胜]