

炮制对决明子中萘并吡喃酮苷及蒽醌苷元类成分含量的影响

唐力英, 徐义龙, 周喜丹, 周国洪, 寇真真, 王婷, 王祝举*
(中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:比较炮制对决明子中主要活性成分萘并吡喃酮苷和蒽醌苷元类成分的影响。方法:采用高效液相色谱法检测决明子中3个萘并吡喃酮苷和3个蒽醌苷元的含量,并比较其炮制前后的含量变化。结果:炮制后决明子中3种萘并吡喃酮苷类成分含量均有明显下降,其中红镰霉素龙胆二糖苷下降约21%,决明子苷下降约60%,决明子苷C下降约87%;3种蒽醌苷元变化情况为,橙黄决明素和甲基钝叶决明素的含量变化没有显著性差异,钝叶素的含量升高48%。结论:炮制对决明子主要活性成分萘并吡喃酮苷和蒽醌苷元类的含量均会产生显著影响,其中炮制后萘并吡喃酮苷类成分整体下降,蒽醌苷元类成分有部分含量升高。

[关键词] 决明子; 炮制; 萘并吡喃酮苷; 蒽醌苷元; 含量变化

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)18-0069-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015180069

Effect of Processing on Naphthopyrone Glycosides and Anthraquinone Aglycone in Semen Cassiae

TANG Li-ying, XU Yi-long, ZHOU Xi-dan, ZHOU Guo-hong, KOU Zhen-zhen, WANG Ting, WANG Zhu-ju*
(Institute of Chinese Materia Medica, Chinese Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the effect of processing on naphthopyrone glycosides and anthraquinone aglycones in Semen Cassiae. **Method:** The high-performance liquid chromatographic method was used to determine the content of three naphthopyrone glycosides and three anthraquinone aglycones in Semen Cassiae and compare the changes in the content before and after processing. **Result:** The content of three naphthopyrone glycosides significantly decreased after processing. Specifically, rubrofusaringentiobioside dropped about 21%, cassiaside decreased by 60%, cassiaside C decreased by 87%. As for the changes in the content of the three anthraquinones, there was no significant difference between aurantio-obtusin and chryso-obtusin, but obtusifolin increased by 48%. **Conclusion:** Processing has a significant effect on the content of naphthopyrone glycosides and anthraquinone aglycones in Semen Cassiae. Specifically, naphthopyrone glycosides in Semen Cassiae decreased integrally, whole anthraquinone aglycones increased partially after processing.

[Key words] Semen Cassiae; processing; naphthopyrone; anthraquinone; change in content

决明子具有清热明目,润肠通便的功效^[1]。决明子入药有生用和炒制2种方法。生品长于清肝热,润肠燥,常用于目赤肿痛,大便秘结;炒品寒泻之性减弱,有平肝养肾之功,主要用于头痛、头晕,青盲内障。炒制使决明子的传统功效发生了改变,由“长于清肝热”,变为“平肝养肾”。目前虽然有较多关于决明子多成分含量测定的方法研究报道,但主要是测定不同产地来源的药材或饮片^[2-6],并没有

针对炮制前后决明子具体成分的变化进行比较。已有决明子炮制研究大部分是采用分光光度法对总蒽醌或游离蒽醌进行总体比较^[7-11],或是炮制前后液相色谱图的简单比对^[12-13],仅有1篇报道决明子炒制前后两类(5个)成分的含量比较^[14]。前期我们课题组对决明子的化学成分和含量测定方法进行了初步研究^[15-22],发现萘并吡喃酮苷类成分在决明子中含量较高且专属性强,有报道^[23-24]该类成分具有

[收稿日期] 20141203(012)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81173552)

[第一作者] 唐力英,硕士,助理研究员,从事饮片化学成分及炮制原理研究,Tel:010-64033301, E-mail:bjtly@sohu.com

[通讯作者] *王祝举,研究员,硕士生导师,从事饮片化学成分及炮制原理研究,Tel:010-64033301, E-mail:wangzhuju@sina.com

保肝活性。而蒽醌类成分也是决明子中另一大类代表性药效成分,具有泻下^[25]和抗氧化^[26]等活性。为了探索决明子炮制过程中药效物质基础的变化规律,我们选择了萘并吡喃酮苷类(红镰霉素龙胆二糖苷、决明子苷、决明子苷 C)和蒽醌苷元类(橙黄决明素、甲基钝叶决明素、钝叶素)成分作为指标,采用高效液相色谱法,比较炮制前后这两类共 6 个指标性成分含量变化,探索决明子炮制前后药效成分的变化趋势和规律。

1 仪器与试药

U-3000 型高效液相色谱仪(DAD 检测器,自动进样器,四元梯度泵,柱恒温箱,在线脱气机,Chameleon 化学工作站 Dionex),XSE 105 DU 型 1/10 万电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo)。

红镰霉素龙胆二糖苷、决明子苷、决明子苷 C、橙黄决明素、甲基钝叶决明素和钝叶素对照品均由本实验室自制,结构经波谱鉴定,用 HPLC 法测定纯度均 >98%,乙腈(HPLC 级, Fisher 公司),甲醇(色谱纯, Fisher 公司),水为重蒸水,其余试剂为分析纯(北京化学试剂厂)。决明子药材于 2011 年购自安徽亳州药材市场,由王祝举研究员鉴定为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* 的成熟种子,产地河北、安徽。

决明子饮片由本实验室自行制备,炮制方法按照《中国药典》2010 年版一部中决明子饮片项下规定操作,取净决明子,照清炒法(附录 II D)文火炒至微有香气,取出,放凉,备用。

2 决明子中萘并吡喃酮苷含量测定方法

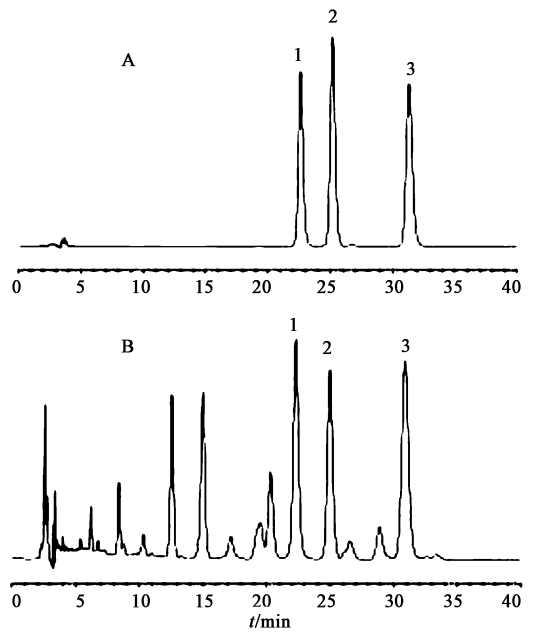
2.1 色谱条件 Dionex Acclaim C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-四氢呋喃-1% 冰乙酸(17:2:81),流速 1 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,检测波长 278 nm。见图 1。

2.2 供试品溶液的制备 取决明子生品与炮制品粉末(过四号筛)约 0.2 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,置水浴上加热回流 1 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过即得,备用。

决明子中 3 种萘并吡喃酮苷类含量测定方法学考察参考本课题组已发表的研究论文^[15]。

3 决明子中蒽醌苷元含量测定方法

3.1 色谱条件 Agilent ZORBAX TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-1% 冰乙酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 20 min, 45% ~ 70%

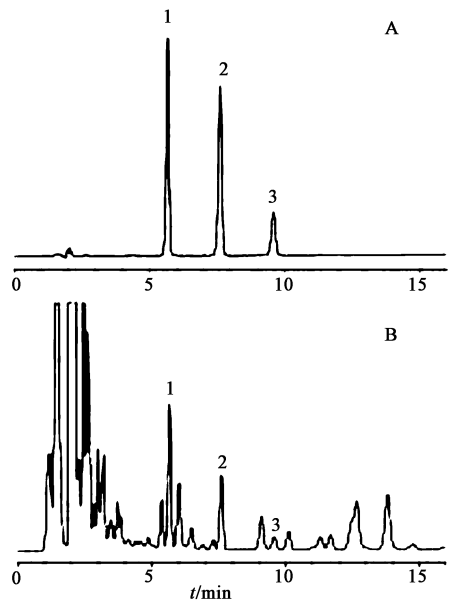


1. 红镰霉素龙胆二糖苷;2. 决明子苷;3. 决明子苷 C

图 1 决明子中萘并吡喃酮苷类 HPLC

Fig.1 HPLC chromatograms of Semen Cassiae

A),流速 1 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,检测波长 278 nm,进样量 10 μL。见图 2。



1. 橙黄决明素;2. 甲基钝叶决明素;3. 钝叶素

图 2 决明子中蒽醌苷元类 HPLC

Fig.2 HPLC chromatograms of Semen Cassiae

3.2 对照品溶液的制备 精密称取橙黄决明素、甲基钝叶决明素、钝叶素适量,置 100 mL 量瓶中,加 75% 甲醇溶解,定容至刻度,配置成质量浓度分别为 0.008 4,0.007 0,0.001 5 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

3.3 供试品溶液的制备 取决明子生品及炮制品

粉末(过四号筛)约 0.2 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 75% 甲醇 25 mL,称定质量,置水浴上加热回流 1 h,放冷,再称定质量,用 75% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过即得,备用。

3.4 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12 μL 进样,测定峰面积,记录数据。分别以进样量为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,得橙黄决明素的回归方程为 $Y = 61.811X + 0.05$ ($r = 0.9998$),在 0.0168 ~ 0.1008 μg 呈良好的线性关系;甲基钝叶决明素的回归方程为 $Y = 70.924X + 0.046$ ($r = 0.9998$),在 0.014 ~ 0.084 μg 呈良好的线性关系;钝叶素的回归方程为 $Y = 99.517X + 0.0181$ ($r = 0.9998$),在 0.003 ~ 0.018 μg 呈良好的线性关系。

3.5 精密度试验 吸取对照品溶液,按 3.1 项下色谱条件,连续重复进样 6 次,每次 10 μL,记录橙黄决明素、甲基钝叶决明素、钝叶素的峰面积,RSD 分别为 0.05%, 0.2%, 0.2%,表明仪器精密度良好。

3.6 重复性试验 称取同一批决明子样品 200 mg,共 6 份,按 3.3 项下供试品溶液制备方法操作,在上述色谱条件下测定,结果橙黄决明素、甲基钝叶决明素、钝叶素的平均百分含量分别为 0.069%, 0.0387%, 0.0055%, RSD 分别为 2.1%, 2.5%, 2.4%,表明重复性良好。

3.7 稳定性试验 按 3.3 项下方法操作制备决明子供试品溶液,在 3.1 项色谱条件下,分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 测定。橙黄决明素、甲基钝叶决明素、钝叶素峰面积的 RSD 分别为 0.08%, 0.1%, 0.3%。结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

3.8 加样回收率试验 称取已知含量的决明子样品 6 份,每份约 100 mg,分别加入橙黄决明素、甲基

钝叶决明素、钝叶素对照品适量,按供试品溶液制备方法操作,并按上述色谱条件测定,结果见表 1。

表 1 决明子中 3 种成分的加样回收率试验

Table 1 Recovery of three anthraquinone compounds

成分	样品中量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
橙黄决明素	69.069	26	95.86	103.1	102.6	0.7
	69.552	26	95.98	101.6		
	69.552	26	96.39	103.2		
	69.138	26	95.90	102.9		
	69.552	26	96.30	102.9		
	69.621	26	96.08	101.7		
甲基钝叶决明素	38.038	26	64.94	103.4	100.7	2.3
	38.304	26	63.87	98.3		
	38.304	26	64.22	99.7		
	38.076	26	65.03	103.7		
	38.304	26	64.39	100.3		
	38.342	26	64.09	99.0		
钝叶素	5.005	6.5	11.62	101.8	101.6	1.1
	5.040	6.5	11.51	99.5		
	5.040	6.5	11.67	102.0		
	5.010	6.5	11.61	101.5		
	5.040	6.5	11.70	102.4		
	5.045	6.5	11.72	102.6		

4 含量测定

取自安徽亳州药材市场的决明子生品 6 份和相应的炮制品 6 份,按照决明子萘并吡喃酮苷类、蒽醌苷元成分含量测定方法,测定其中的红镰霉素龙胆二糖苷、决明子苷、决明子苷 C 和橙黄决明素、甲基钝叶决明素、钝叶素含量,结果见表 2。对生品和炮制品含量进行比较,并做了 t 检验。

表 2 决明子生品与炮制品 3 种萘并吡喃酮苷及 3 种蒽醌苷元的含量($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Contents of 6 targets in raw and processed Semen Cassiae samples ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

样品	红镰霉素龙胆二糖苷	决明子苷	决明子苷 C	橙黄决明素	甲基钝叶决明素	钝叶素
生品	0.278 ± 0.007	0.102 ± 0.007	0.148 ± 0.004	0.069 ± 0.004	0.037 ± 0.003	0.005 ± 0.0003
炮制品	0.223 ± 0.060 ¹⁾	0.038 ± 0.016 ²⁾	0.023 ± 0.014 ²⁾	0.064 ± 0.007	0.042 ± 0.003	0.007 ± 0.001 ²⁾

注: t 检验结果¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

5 小结与讨论

炮制品中的 3 种萘并吡喃酮苷类成分含量比生品明显降低,说明炒制对决明子中苷类成分影响较大,受热过程可能使苷类成分发生了降解。其中,红镰霉素龙胆二糖苷下降约 21%,决明子苷下降约

60%,决明子苷 C 下降约 87%,且均具有显著性差异。同时,炒制对 3 种萘并吡喃酮苷的影响程度有所不同,对红镰霉素龙胆二糖苷的影响稍小,而对决明子苷和决明子苷 C 的影响较大,均降低超过一半,甚至更多。因此,炒制对决明子苷类成分的含量

有显著影响,有主要成分整体下降的趋势,但每个成分之间也有一定的差异性。

经炮制后3种蒽醌苷元类成分含量与生品比较,钝叶素的含量升高48%,具有显著性差异,而橙黄决明素和甲基钝叶决明素的含量变化没有出现显著性差异。蒽醌苷元含量的升高可能是由于在炒制过程中,苷的降解产生了苷元,且炒制对各成分的影响程度不同。

由于决明子中萘并吡喃酮苷类成分含量较高,而蒽醌苷元类成分含量则相对非常低,最大含量差距能达到几十倍,并且两类成分的极性也相差较大,在同一个色谱条件下检测,并不能取得良好的分析效果,因此,我们选择将决明子的这两大类成分分别采用两个适合的色谱条件进行检测。

通过对决明子炮制前后萘并吡喃酮苷和蒽醌苷元类6种特征性药效成分含量变化的比较,可以看出炒制对决明子内在化学成分的影响是十分显著的,但这仅仅是对决明子炮制机制研究的一个初步探索,后续我们还会在此基础上做进一步的追踪研究。

[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:中国医药科技出版社, 2010:135.

[2] Xu L J, Chan C, Lau C C, et al. Simultaneous determination of eight anthraquinones in Semen Cassiae by HPLC-DAD[J]. *Phytochem Anal*, 2012, 23(2), 110-116.

[3] 张杰,张振秋,米宝丽,等. HPLC测定不同来源决明子饮片中9个成分的含量药物分析杂志[J]. *药物分析杂志*, 2013, 33(10):1665-1671.

[4] 王青,张伟东,宋小妹,等. HPLC法同时测定不同产地决明子中12种蒽醌类成分的含量[J]. *解放军药学学报*, 2012, 28(6):502-505.

[5] 梁朔,张振秋,米宝丽,等. HPLC法同时测定决明子中6种蒽醌类成分[J]. *中成药*, 2013, 35(3):584-588.

[6] 袁晓,高俊飞,舒楚金,等. 不同产地决明子中9种蒽醌类成分的测定[J]. *中草药*, 2012, 43(9):1773-1775.

[7] 蒋亚莉,舒志明,王建. 不同炮制方法对决明子中蒽醌含量的影响[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2013, 11(9):389-393.

[8] 丁淑敏,宋国强,曹引梅. 比较生、炒决明子中有效成分的含量[J]. *天津化工*, 2007, 21(2):53-54.

[9] 励娜,杨荣平,张小梅,等. 决明子不同清炒品中蒽醌类成分的含量测定[J]. *海峡药学*, 2007, 19(8):42-43.

[10] 王舒,赵明会,徐艺立. 决明子炮制方法的研究[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2013, 11(9):145-146.

[11] 刘训红,储益. 决明子炮制前后蒽醌含量的变化[J]. *基层中药杂志*, 2000, 14(6):32-33.

[12] 赵红岩. 决明子炮制前后化学成分变化研究[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(10):2516-2518.

[13] 刘建平,王少云. 决明子炮制前后色谱图的变化[J]. *中药材*, 2009, 32(9):1364-1366.

[14] 李桂柳,肖永庆,张村,等. 决明子炒制前后2类成分的含量比较研究[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(11):1364-1367.

[15] 徐义龙,唐力英,周喜丹,等. HPLC测定决明子中3种萘并吡喃酮苷含量[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(5):54-56.

[16] 苏慧娟,王祝举,唐力英. HPLC同时测定决明子中4种主要成分的含量[J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(10):1327-1329.

[17] Tang L Y, Wang Z J, Huang L Q. A new anthraquinone glycoside from seeds of *Cassia obtusifolia* [J]. *Chin Chem Lett*, 2008, 19(9):1083-1085.

[18] Wang Z J, Tang L Y, Wu Q P, et al. Two New glycosides from the genus of *Cassia* [J]. *Chin Chem Lett*, 2007, 18(10):1218-1220.

[19] 唐力英,王祝举,邬秋萍,等. HPLC法测定决明子中红镰霉素龙胆二糖苷的含量[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(4):366-368.

[20] 唐力英,王祝举,赫炎,等. 决明子中游离蒽醌类化合物研究[J]. *中药材*, 2009, 32(5):717-719.

[21] 唐力英,王祝举,赫炎,等. 决明子中苷类化学成分研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2009, 15(7):35-37.

[22] Xu Y L, Tang L Y, Wang Z J, et al. Five new anthraquinones from the seed of *Cassia obtusifolia* [J]. *Archives of Pharmacal Research* (published online DOI 10.1007/s12272-014-0462-x).

[23] Wong S M, Wong M, Seligmann O, et al. New antihepatotoxic naphthopyrone glycosides from the seeds of *Cassia tora* [J]. *Planta Med*, 1989, 55(3):276-280.

[24] Wong S M, Wong M, Seligmann O, et al. Anthraquinone glycosides from the seeds of *Cassia tora* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(1):211-213.

[25] Maity, T K, Dinda S C D. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*[J]. 2003, 65(1):93-95.

[26] Grow-ChinYen, Horn-wen Chen, Pin-der DUN. Extraction and Identification of an antioxidative component from *Cassia tora* Linn [J]. *J Agri Food Chem*, 1998, 46(3):820-824.

[责任编辑 顾雪竹]