

· 药剂与炮制 ·

## 炮制对决明子主要成分煎出率的影响

寇真真<sup>1,2</sup>, 唐力英<sup>2\*</sup>, 周国洪<sup>2</sup>, 王婷<sup>2</sup>, 郭日新<sup>2</sup>, 王祝举<sup>2\*</sup>

(1. 河南中医药大学, 郑州 450046; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的:探讨炒制和捣碎对决明子水煎液中主要成分含量和煎出率的影响。方法:采用 HPLC 同时测定 3 个萘并吡喃酮苷(红镰霉素龙胆二糖苷、决明子苷、决明子苷 C)和 3 个蒽醌苷元(橙黄决明素、甲基钝叶素、钝叶素)的水煎出量和煎出率变化。色谱条件为流动相乙腈-四氢呋喃-1% 冰乙酸水溶液梯度洗脱,检测波长 278 nm。结果:炒制后,决明子的水溶性浸出物质量分数升高 1.7%;捣碎后,决明子生品、炒品的水溶性浸出物含量分别升高 13.3% 和 13.1%。生品炒制后不捣碎,苷类成分水煎液出量下降,而苷元类成分升高。生品捣碎后,苷类成分水煎出量较不捣碎生品降低,苷元类成分升高;炒品捣碎后,苷类成分水煎出量升高,苷元类成分变化不明显。炒后不打碎,所测成分中有 5 种成分的煎出率降低,1 种成分变化不大;打碎后,苷类成分的煎出率有所升高,而苷元类成分却大幅度降低。结论:炒制和捣碎对决明子有效成分的水煎出量和煎出率均有影响,尤以捣碎影响更大,而且在炒制和煎煮过程中,决明子中含有的糖苷酶类物质参与了促进其主要药效成分转化的过程。

**[关键词]** 决明子; 炮制工艺; 红镰霉素龙胆二糖苷; 决明子苷; 橙黄决明素; 钝叶素; 煎出率

**[中图分类号]** R283.4;R284.1;R943.1;S853.73+1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)24-0001-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016240001

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160906.0930.056.html>

**[网络出版时间]** 2016-09-06 9:30

## Influence of Processing on Decocting Rates of Active Components in Cassiae Semen

KOU Zhen-zhen<sup>1,2</sup>, TANG Li-ying<sup>2\*</sup>, ZHOU Guo-hong<sup>2</sup>, WANG Ting<sup>2</sup>,  
GUO Ri-xin<sup>2</sup>, WANG Zhu-ju<sup>2\*</sup>

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To discuss the influence of frying and pounding on contents and decocting rates of active components in Cassiae Semen. **Method:** HPLC was employed to simultaneously determine contents and decocting rates of three naphthopyrone glycosides (rubrofusarin gentiobioside, cassiaside and cassiaside C) and three anthraquinones (aurantio-obtusin, methyl-obtusifolin and obtusifolin) in Cassiae Semen before and after processing, acetonitrile-tetrahydrofuran-1% acetic acid for gradient elution was used as the mobile phase, detection wavelength was set at 278 nm. **Result:** The content of water soluble extract of Cassiae Semen increased 1.7% after frying, this index of raw products and fried products raised 13.3% and 13.1% after pounding, respectively. Contents of three naphthopyrone glycosides in decoction were dropped after frying, but three anthraquinones were increased. The above results were similar to raw products after pounding by comparing with raw products without pounding. After pounding, decocting rates of three naphthopyrone glycosides in fried products increased by comparing with fried products without pounding, but these of three anthraquinones did not change significantly. Decocting rates of five compounds were dropped and one compound had no obvious change in fried products without

**[收稿日期]** 20160323(013)

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81173552,81673602);北京市青年自然科学基金项目(7154228)

**[第一作者]** 寇真真,在读硕士,从事饮片化学成分及炮制原理研究,Tel:010-64087609,E-mail:1070543131@qq.com

**[通讯作者]** \*王祝举,硕士,研究员,从事饮片化学成分及炮制原理研究,Tel:010-64087609,E-mail:wangzhuju@sina.com;

\*唐力英,硕士,助理研究员,从事中药炮制学研究,Tel:010-64087609,E-mail:bjtangliyong@163.com

pounding; but three naphthopyrone glycosides went up and three anthraquinones dropped in fried products after pounding. **Conclusion:** Both of frying and pounding have a great impact on contents and decocting rates of active compounds in Cassiae Semen, especially the latter. And in frying and decocting process, glycosidic enzymes contained in Cassiae Semen are involved in promoting the transformation of these active ingredients in this herb.

[**Key words**] Cassiae Semen; processing technology; rubrofusarin gentiobioside; cassiaside; aurantio-obtusin; obtusifolin; decocting rates

决明子始载于《神农本草经》，列为上品<sup>[1-2]</sup>。有关种子类药材的炮制及用药方法，历来有“逢子必炒”、“逢子必捣”之说。历版《中国药典》也沿用了这种方法，决明子炮制采用清炒法，无论是生品还是炮制品，都要求用时捣碎<sup>[1]</sup>。目前，普遍认为“炒”和“捣”皆可增加有效成分的煎出率，而且也有学者做了相关子类中药溶出率的研究<sup>[3]</sup>，认为多数种子炒后确实能增加溶出率。但是中药的成分是复杂的，总溶出率增加，其有效成分在煎煮过程中溶出率是否增加仍难以确定。因此，考察药效成分的溶出率才是探讨这一问题的关键。

前期考察了“炒”对决明子主要药效成分的影响，显示炒后多数成分有所减少<sup>[4]</sup>。中药饮片的传统用法为水煎煮，为了考察炮制对决明子药效成分煎出率的影响及炮制后其主要成分的变化，本文建立 HPLC，在同一条件下测定炮制前后水煎液中 6 个主要化学成分（红镰霉素龙胆二糖苷，决明子苷，决明子苷 C，橙黄决明素，甲基钝叶素，钝叶素）的含量变化，考察炒制和捣碎 2 个因素对决明子药效成分煎出率的影响。这 6 个成分为决明子所特有，3 个为萘并吡喃酮苷，3 个为蒽醌苷元，这 2 类成分具有保肝<sup>[5-6]</sup>、泻下<sup>[7]</sup>和抗氧化<sup>[8]</sup>活性，与决明子的传统药效比较接近，其在决明子炮制前后水煎液中的含量变化趋势，对该药材炮制前后药理作用变化的研究及炮制机制的阐释具有参考意义。

## 1 材料

U-3000 型高效液相色谱仪（美国 Dionex 公司），AB135-S 型 1/10 万电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司），BSA124S-CW 型电子分析天平（德国 Sartorius 公司），Centrifuges ST-21 型高速冷冻离心机（美国 Sorvall 公司）。红镰霉素龙胆二糖苷、决明子苷、橙黄决明素、甲基钝叶素、钝叶素及决明子苷 C 对照品（实验室自制，结构经波谱鉴定，HPLC 测定纯度均 > 98%），水为娃哈哈纯净水，乙腈、甲醇均为色谱纯，冰乙酸为优级纯，其他试剂均为分析纯。决明子药材于 2011 年购自安徽亳州，经中国中医科学院王祝举研究员鉴定为豆科植物决明 *Cassia*

*obtusifolia* 或小决明 *C. tora* 的干燥成熟种子。

## 2 方法与结果

### 2.1 样品的制备

2.1.1 生品 取决明子生品，除去杂质。

2.1.2 生碎品 取决明子生品，捣碎，过 20 目筛。

2.1.3 炒品 取决明子生品，按《中国药典》2015 年版收载的清炒法（通则 0213）炒至微鼓起、有香气，相同条件下炮制 6 批。

2.1.4 炒碎品 取决明子炒品，捣碎，过 20 目筛。

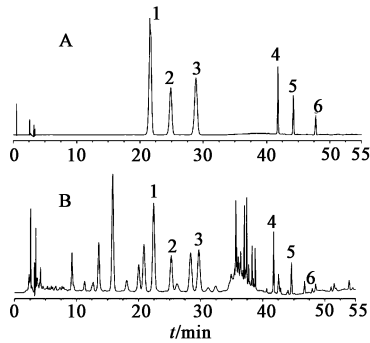
2.2 浸出物的含量测定<sup>[9]</sup> 按照《中国药典》2015 年版四部 2201 浸出物测定法测定。精密称定各样品 2.0 g ( $n = 6$ )，置 250 mL 圆底烧瓶中，加水 100 mL，密塞，称定质量，静置 1 h 后连接回流冷凝管，加热至沸腾，保持微沸 1 h，放冷后取下圆底烧瓶，密塞，称定质量，用水补足减失的质量，摇匀，抽滤，精密量取续滤液 25 mL，置已干燥至恒重的蒸发皿中，水浴蒸干，于 105 °C 干燥 3 h，置干燥器中冷却 30 min，迅速精密称定质量。以干燥品计算生品、生碎品、炒品和炒碎品中水溶性浸出物质量分数分别为 19.2%，32.5%，20.9%，34.0%，RSD 依次为 2.3%，2.6%，3.1%，1.3%。

### 2.3 萘并吡喃酮苷和蒽醌苷元的含量测定

2.3.1 色谱条件 Dionex Acclaim C<sub>18</sub> 色谱柱（4.6 mm × 250 mm, 5 μm），流动相乙腈（A）-四氢呋喃（B）-1% 冰乙酸水溶液（C）梯度洗脱（0 ~ 30 min, 16% ~ 18% A, 2% B; 30 ~ 35 min, 18% ~ 45% A, 2% B; 35 ~ 55 min, 45% ~ 70% A, 2% B），流速 1 mL·min<sup>-1</sup>，柱温 30 °C，检测波长 278 nm，进样量 10 μL，见图 1。

2.3.2 对照品溶液制备 分别精密称取红镰霉素龙胆二糖苷，决明子苷，决明子苷 C，橙黄决明素，甲基钝叶素，钝叶素 8.50, 2.90, 2.10, 0.84, 0.56, 0.60 mg，置于 100 mL 量瓶中，加甲醇溶解并定容，得混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密称取样品 2.0 g，置于 250 mL 圆底烧瓶中，加水 100 mL 和少许沸石，称定质量，回流提取 1 h，放至室温，称定质量，加水补足失重，抽滤，得决明子水煎液。取水煎液 5 mL



A. 对照品; B. 供试品; 1. 红镰霉素龙胆二糖苷; 2. 决明子苷; 3. 决明子苷 C; 4. 橙黄决明素; 5. 甲基钝叶素; 6. 钝叶素

图 1 决明子炮制前后水煎液的 HPLC

Fig. 1 HPLC of Cassiae Semen decoction before and after processing

置离心管中,加入甲醇 5 mL,混匀,于  $8\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 20 min,取上清液作为供试品溶液。

**2.3.4 线性关系考察** 将各对照品溶液依次稀释,得系列质量浓度对照品溶液,按 2.3.1 项下条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得红镰霉素龙胆二糖苷,决明子苷,决明子苷 C,橙黄决明素,甲基钝叶素,钝叶素回归方程分别为  $Y = 52.35X - 0.350 (r = 0.999\ 9)$ ,  $Y = 78.58X - 0.283 (r = 0.999\ 6)$ ,  $Y = 88.36X + 0.120 (r = 0.999\ 7)$ ,  $Y = 67.14X + 0.055 (r = 0.999\ 4)$ ,  $Y = 76.06X + 0.038 (r = 0.999\ 9)$ ,  $Y = 114.4X + 0.01 (r = 0.999\ 8)$ ,线性范围依次为  $0.042\ 5 \sim 0.850$ ,  $0.005\ 8 \sim 0.290$ ,  $0.002\ 1 \sim 0.210$ ,  $0.016\ 8 \sim 0.084$ ,  $0.005\ 6 \sim 0.056$ ,  $0.006\ 0 \sim 0.060\ \mu\text{g}$ 。

**2.3.5 精密度试验** 取决明子生品供试品溶液 1 份,按 2.3.1 项下色谱条件连续进样 6 次,结果红

镰霉素龙胆二糖苷,决明子苷,决明子苷 C,橙黄决明素,甲基钝叶素,钝叶素峰面积的 RSD 依次为 0.3%, 2.2%, 0.5%, 1.2%, 2.1% 和 4.0%。

**2.3.6 稳定性试验** 取决明子生品供试品溶液 1 份,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 时按 2.3.1 项下条件测定,计算红镰霉素龙胆二糖苷,决明子苷,决明子苷 C,橙黄决明素,甲基钝叶素,钝叶素峰面积的 RSD 分别为 0.4%, 0.7%, 0.5%, 1.3%, 2.4%, 4.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.3.7 重复性试验** 按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液 6 份,按 2.3.1 项下条件测定,结果红镰霉素龙胆二糖苷,决明子苷,决明子苷 C,橙黄决明素,甲基钝叶素,钝叶素含量的 RSD 分别为 1.8%, 3.1%, 2.2%, 2.2%, 3.0%, 4.0%。

**2.3.8 加样回收率试验** 称取 6 种对照品适量,加甲醇溶解并制成混合对照品溶液。取生决明子水煎液 1 份(已知各指标成分含量),分别移取 5 mL 置于 6 个离心管中,各加入上述混合对照品溶液 5 mL,混匀,按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.3.1 项下色谱条件测定,计算红镰霉素龙胆二糖苷,决明子苷,决明子苷 C,橙黄决明素,甲基钝叶素,钝叶素平均加样回收率分别为 103.2%, 104.1%, 101.0%, 103.7%, 104.1%, 104.0%, RSD 依次为 1.6%, 1.3%, 0.7%, 2.0%, 1.7%, 1.9%。

**2.4 样品测定** 称取决明子生品、生碎品、炒品、炒碎品,按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.3.1 项下色谱条件测定,计算水煎液中 6 种成分水煎出量,见表 1(为了计算方便,这里水煎出量特指该成分水煎出的质量与样品质量之比)。

表 1 不同决明子样品中各成分的水煎出量、质量分数和水煎出率

Table 1 Decocting amounts, contents and decocting rates of six ingredients in different sample of Cassiae Semen

成分	水煎出量				质量分数		煎出率			
	生品	炒品	生碎品	炒碎品	生品	炒品	生品	炒品	生碎品	炒碎品
红镰霉素龙胆二糖苷	0.184 0	0.117 0	0.070 1	0.176 0	0.512 0	0.316 0	35.9	37.1	13.7	55.8
决明子苷	0.054 8	0.019 3	0.051 2	0.032 5	0.151 0	0.064 1	36.2	30.1	33.9	50.7
决明子苷 C	0.057 6	0.008 5	0.017 4	0.013 4	0.235 0	0.070 6	24.6	12.0	7.4	19.0
橙黄决明素	0.028 0	0.031 4	0.066 3	0.031 4	0.032 4	0.051 0	86.5	61.5	204.6	61.5
甲基钝叶素	0.015 7	0.018 5	0.025 4	0.015 9	0.023 2	0.034 9	67.6	53.0	109.5	45.5
钝叶素	0.001 6	0.002 2	0.004 1	0.002 3	0.002 2	0.003 9	75.9	56.5	191.7	59.9

## 2.5 煎出率测定

**2.5.1 色谱条件<sup>[4]</sup>** 检测苷类成分的色谱条件为 Dionex Acclaim C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-四氢呋喃-1%冰乙酸水溶液(17:2:81),流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,检测波长 278 nm,进样量 10 μL;检测苷元类成分的色谱条件为 Agilent Zorbax TC-C<sub>18</sub> 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% A),流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,检测波长 278 nm,进样量 10 μL。

**2.5.2 供试品溶液的制备** 精密称取决明子生品与炮制品粉末(过四号筛)约 0.2 g,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,水浴加热回流 1 h,放冷,称定质量,用甲醇补足减失的质量,

摇匀,滤过,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,测定样品中苷类成分的含量。精密称取决明子生品及炮制品粉末(过四号筛)约 0.2 g,置 50 mL 具塞锥形瓶中,溶剂换成 75% 甲醇,其他条件同上,测定样品中苷元类成分的含量。按煎出率 = 水煎出量/药材中质量分数 × 100% 计算各成分煎出率,见表 1。

### 3 讨论

**3.1 炮制对水浸出物的影响** 决明子炒制后不捣碎,对水溶性浸出物含量影响不大,仅升高了 1.7%;但捣碎对其浸出物含量影响较大,决明子生品、炒品捣碎后的水溶性浸出物质量分数分别升高 13.3% 和 13.1%。

**3.2 炮制对主要成分水煎出量的影响** 决明子生品炒制之后不捣碎,水煎液中各成分的含量变化趋势不尽相同,见表 2。该趋势与决明子生品中苷和苷元质量分数的变化相同<sup>[4]</sup>。

表 2 决明子炒制或捣碎对指标成分水煎出量和水煎出率的影响  
Table 2 Effects of frying or pounding on contents and decocting rates of six ingredients in Cassiae Semen %

成分	炒后水煎出量变化率	捣碎生品水煎出量变化率	捣碎炒品水煎出量变化率	炒后水煎出率变化量	炒后捣碎品煎出率变化量
红镰霉素龙	-36.4	-61.9	50.4	1.2	42.1
胆二糖苷					
决明子苷	-64.8	-6.6	68.4	-6.1	16.8
决明子苷 C	-85.3	-69.8	58.2	-12.6	11.6
橙黄决明素	12.1	136.8	0	-25.0	-143.1
甲基钝叶素	17.8	61.8	-14.1	-14.6	-64.0
钝叶素	32.9	152.4	6.0	-19.4	-131.8

**3.3 捣碎对主要成分水煎出量的影响** 决明子生品捣碎后,水煎液中苷类成分含量较不捣碎生品降低;苷元类成分升高;但决明子炒品捣碎后,水煎液中苷类成分却升高,苷元类成分变化不明显,见表 2。生品和炒品捣碎后,苷类成分的变化趋势截然相反,导致这种现象的原因可能是决明子生品中含有糖苷酶。生品捣碎后,酶类暴露出来,与水接触,在煎煮升温过程中,苷在酶的作用下,快速水解,出现苷类成分含量下降、苷元类成分含量明显升高的结果;而炒制后,酶活性大幅度下降,苷类成分虽然也被水解,但水解程度甚微,加之捣碎煎煮,使得易溶于水的苷类成分更易煎出,难溶于水的苷元类成分含量升高不明显。为验证这种假设,在 37 °C 温浸样品(过 60 目筛)1 h,利用 HPLC 测定样品中苷类成分含量,发现不仅本文所测的 3 个苷类成分已经检测不出,而且在苷类成分出现区域内的色谱峰全部消失,说明决明子中确实含有可以使苷类成分水解

的酶类,在煎煮过程中,苷类成分发生了酶解反应,部分苷类成分转换为苷元。关于决明子中的糖苷酶及其作用机制均有待于深入研究确认。

**3.4 炮制对主要成分煎出率的影响** 决明子炒后不打碎,所测成分中有 5 种成分的煎出率降低,1 种成分变化不大,这与传统认为炒制可增加有效成分的煎出率并不一致,其原因有待于进一步证实。但打碎后,苷类成分的煎出率有所升高,而苷元类成分却大幅度降低,这主要是因为与生品的煎出率比较,生品在煎煮过程中,由于苷的酶解,3 个苷元橙黄决明素、甲基钝叶素、钝叶素的煎出率(生碎品)达 204.6%、109.5% 和 191.7%;而炒制后,由于酶解的程度很微弱,苷类成分保留的比较多,而苷元类成分增加得比较少,因此其相应的煎出量就较少,与生品相比较,溶出率大幅度降低。

综上所述,炒制和捣碎对决明子主要药效成分的煎出率均有影响,尤其是捣碎,影响更大,但这种影响可能只是物理方面的影响,而炒制可能更多是化学方面的影响。传统认为炒制可以增加有效成分的煎出率,但从决明子的情况来看,虽然炒制后总浸出物含量增加,但并非炒制后有效成分的煎出率均升高。每味中药所含的化学成分的属性不同,在炒制的过程中所表现出的个性各异,因此,对于炒制的本质,还应当从单味药的属性出发,具体问题具体分析,不能一概而论。

#### [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,2015:145.
- [2] 黄爽. 神农本草经[M]. 北京:中国古籍出版社,1982:41.
- [3] 吕文海. 从煎出效果看果实种子药炮制[J]. 中药材,1985(4):39-40.
- [4] 唐力英,徐义龙,周喜丹,等. 炮制对决明子中鞣并吡喃酮苷及蒽醌苷元类成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(18):69-72.
- [5] Wong S M, Wong M M, Seligmann O, et al. New antihepatotoxic naphthopyrone glycosides from the seeds of *Cassia tora* [J]. *Planta Med*,1989,55(3):276-280.
- [6] Wong S M, Wong M M, Seligmann O, et al. Anthraquinone glycosides from the seeds of *Cassia tora* [J]. *Phytochemistry*,1989,28(1):211-214.
- [7] Maity T K, Dinda S C. Purgative activity of *Cassia tora* leaf extract and isolated aloe-emodin [J]. *Indian J Pharma Sci*,2003,65(1):93-95.
- [8] Yen G C, Chen H W, Duh P D. Extraction and identification of an antioxidative component from *Jue Ming Zi (Cassia tora L.)* [J]. *J Agri Food Chem*,1998,46(3):820-824.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 四部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:202.

[责任编辑 刘德文]