

炮制对决明子中六种游离蒽醌含量的影响

戈大春 沈多荣 王卓君

(江苏省苏州市吴中人民医院药剂科, 苏州, 215128)

摘要 目的:比较炮制对决明子中主要活性成分游离蒽醌含量的影响。方法:采用高效液相色谱法检测决明子中 6 种游离蒽醌类成分的含量,分别为橙黄决明素,大黄酸,决明蒽醌,大黄素,大黄酚,大黄素甲醚,并比较其炮制前后的含量变化。结果:炮制后 6 种游离蒽醌变化情况为,橙黄决明素和大黄酸的含量变化没有显著性差异,决明蒽醌的含量升高了 25%,大黄素的含量升高了 21%,大黄酚的含量降低了 15%,大黄素甲醚的含量降低了 21%。结论:炮制对决明子中主要活性成分游离蒽醌类成分的含量会产生不同的影响,有些游离蒽醌含量保持不变,有些游离蒽醌含量会有显著升高,有些游离蒽醌含量会明显降低。

关键词 决明子;炮制;游离蒽醌;含量变化

Effects of Processing on the Content of Six Free Anthraquinones in Semen Cassiae

Ge Dachun, Shen Duorong, Wang Zhuojun

(Pharmaceutical Preparation Department, Suzhou Wuzhong People's Hospital, Suzhou 215128, China)

Abstract Objective: To compare the effects of processing on free anthraquinones which were the main active ingredient in Semen Cassiae. **Methods:** The content of six free anthraquinones in Semen Cassiae was determined by the high-performance liquid chromatographic method and compares the content changes before and after processing. The six free anthraquinones were aurantio-obtusin, rhein, obtusifolin, emodin, chrysophanol and physcion. **Results** There was no significant difference in the content changes of aurantio-obtusin and rhein, and the content of obtusifolin was increased by 25%. The content of emodin was increased by 21%, and the content of chrysophanol was decreased by 15%. The content of physcion was decreased by 21% after processing. **Conclusion:** Processing has different effects on the content of free anthraquinones. Some free anthraquinones contents remained unchanged while some increased significantly, and some decreased significantly.

Key Words Semen Cassiae; Processing; Free anthraquinones; Change in content

中图分类号:R283;R284 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.07.050

决明子为豆科一年生草本植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *Cassia tora* L. 的干燥成熟种子^[1]。决明子在临床上为常用中药,具有清肝明目、润肠通便的功效^[2-3]。决明子又称“还瞳子”,含有多种维生素和丰富的氨基酸、脂肪、碳水化合物等,临床实验证明,喝决明子茶可以清肝明目、防止视力模糊、降血压、降血脂、减少胆固醇等,对于防治冠心病、高血压都有较好的疗效^[4]。决明子在临床上应用有生决明子和炒决明子之分,其中生决明子长于清肝热,润肠燥,具有清热明目,润肠通便的功效,用于目赤肿痛,大便秘结;炒决明子则寒泻之性缓和,有平肝养肾的功效,可用于头痛、头晕、青盲内障等^[5-6]。因此,经过炮制之后的决明子其性质发生了较为明显的改变,这与其中相关化学成分的改变有关,因此,研究炮制前后决明子中有效成分的含量变化可对揭示决明子炮制之后药性为何改变提供一定

的科学依据。

决明子中的蒽醌类成分是决明子中一大类代表性药效成分,具有泻下和抗氧化等活性。为了探索决明子炮制过程中相关药效物质基础的变化规律,我们选择了蒽醌类(橙黄决明素,大黄酸,决明蒽醌,大黄素,大黄酚,大黄素甲醚)成分作为指标,采用高效液相色谱法,比较炮制前后蒽醌类共 6 个指标性成分含量变化,为研究炮制对决明子药效的改变提供一定的参考和借鉴。

1 仪器与试药

1.1 仪器 日本岛津 LC-20AT 型高效液相色谱仪(DAD 检测器,四元梯度泵,柱恒温箱,在线脱气机),BSA822-CW 型十万分之一电子天平(德国赛多利斯公司)。

1.2 试药 橙黄决明素,大黄酸,决明蒽醌,大黄素,大黄酚,大黄素甲醚对照品均由本实验室自制,

结构经 UV、NMR、MS、IR 鉴定,用高效液相色谱法(HPLC)测定纯度均>98.0%(峰面积归一化法),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)。

1.3 分析样品 决明子药材于2017年购自安徽亳州药材市场,经专家鉴定为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 的成熟种子,产于河北、安徽。

决明子饮片由本实验室自行制备,炮制方法按照《中华人民共和国药典》2015 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 方法与结果

2.1 色谱条件 Thermo Synchronis 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(0~60 min,35%~75% A),流速 1 mL/min,柱温 30 ℃,检测波长 254 nm,进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取橙黄决明素、大黄酸、决明蒽醌、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚适量,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 1213.0,627.0,542.0,68.9,49.14,83.6 μg/mL 的各对照品贮备液。精密吸取各对照品贮备液适量,配制质量浓度为 101.08,52.25,25.81,9.19,10.92,6.97 μg/mL 的混合对照品贮备液。

2.3 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。

2.4 专属性试验 精密量取“2.2”项下混合对照品溶液和供试品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,在该色谱条件下,各待测成分间、待测成分与杂质峰间均能达到基线分离,分离度>1.5,其他成分对待测成分的测定无干扰,理论塔板数以橙黄决明素峰计>6 000。见图 1。

2.5 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 0.50、1.00、2.00、4.00、6.00、8.00 mL,分别置 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,得到系列浓度的 6 种成分混合对照品溶液。进样 10 μL,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,进行线性回归分析。见表 1。

2.6 精密度试验 吸取对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件,连续重复进样 6 次,每次 10 μL,测定 6 种化合物的峰面积并计算 RSD 值。记录橙黄决明素、大黄酸、决明蒽醌、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的峰面积,RSD 分别为 0.15%,0.12%,0.13%,0.16%,0.18%,0.11%(n=6),表明仪器精密度良好。

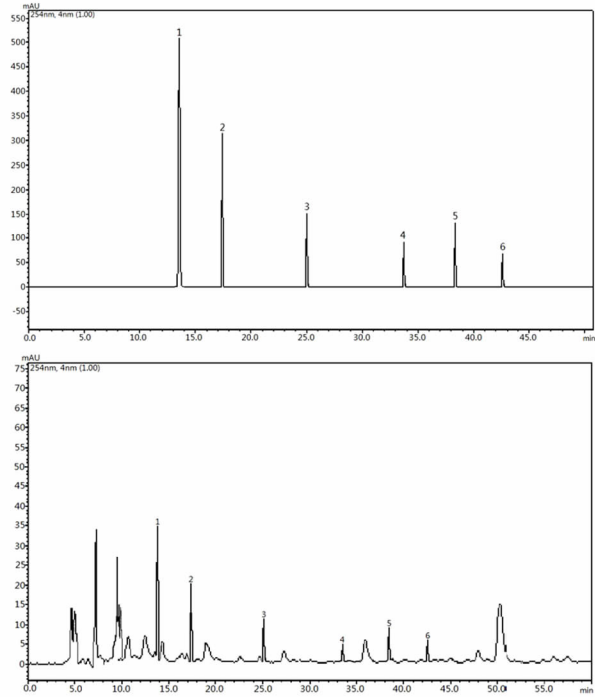


图 1 6 种成分高效液相色谱图

注:1. 橙黄决明素;2. 大黄酸;3. 决明蒽醌;4. 大黄素;5. 大黄酚;6. 大黄素甲醚

表 1 线性关系考察结果(n=6)

化合物	线性方程	R ²	线性范围(μg/mL)
橙黄决明素	Y=14 238X-4 386	0.999 6	4.421~101.08
大黄酸	Y=28 761X-6 842	0.999 5	3.118~52.25
决明蒽醌	Y=43 821X-3 781	0.999 4	0.892~25.81
大黄素	Y=36 702X-2 783	0.999 2	0.098~9.19
大黄酚	Y=49 821X-5 213	0.999 7	0.114~10.92
大黄素甲醚	Y=32 412X-2 398	0.999 6	0.078~6.97

表 2 决明子 6 种游离蒽醌的稳定性实验

化合物	RE(%)				
	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h
橙黄决明素	-1.8	1.1	-0.4	1.1	1.2
大黄酸	0.6	-1.1	0.5	0.4	1.6
决明蒽醌	-1.1	-0.8	0.8	0.6	1.1
大黄素	0.6	-0.4	1.3	0.3	1.2
大黄酚	0.8	0.9	-1.2	0.6	0.8
大黄素甲醚	-0.9	1.2	-1.3	0.6	1.1

2.7 重复性试验 称取同一批决明子样品 500 mg,共 6 份,按“2.2”项下供试品溶液制备方法操作,按

表 3 决明子生品与炮制品 6 种蒽醌苷元的含量比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)

样品	橙黄决明素	大黄酸	决明蒽醌	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
生品	0.0522 ± 0.005	0.0382 ± 0.008	0.0156 ± 0.002	0.0078 ± 0.0004	0.0124 ± 0.002	0.0086 ± 0.0003
炮制品	0.0513 ± 0.006	0.0376 ± 0.007	0.0195 ± 0.001	0.0094 ± 0.0003	0.0105 ± 0.001	0.0068 ± 0.0002
含量变化	—	—	25% (+)	21% (+)	15% (-)	21% (-)

“2.1”项下色谱条件测定,外标法计算浓度,计算 *RSD* 值。结果橙黄决明素、大黄酸、决明蒽醌、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的 *RSD* 分别为 2.1% , 2.5% , 2.4% , 2.3% , 2.2% , 2.5% (*n* = 6) ,表明重复性良好。

2.8 稳定性试验 按“2.2”项下方法操作制备决明子供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下,分别在 0 , 2,4,8,12,24 h 测定。外标法计算 6 种化合物不同时间点浓度并与 0 h 比较,计算 *RE* 值。结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。见表 2。

2.9 回收率试验 称取已知含量的决明子样品 6 份,每份约 500 mg,分别加入精密量取的 1213.0 μg/mL 的橙黄决明素 0.70 mL、627.0 μg/mL 的大黄酸 0.6 mL、542.0 μg/mL 的决明蒽醌 0.3 mL、68.9 μg/mL 的大黄素 0.4 mL、49.14 μg/mL 的大黄酚 0.5 mL、83.6 μg/mL 的大黄素甲醚 0.3 mL,按“2.2”项下供试品溶液制备方法操作,并按“2.1”项下色谱条件测定,以各化合物浓度计算回收率。化合物 1、2、3、4、5、6 的平均回收率在 98.3% ~ 99.2% 之间, *RSD* < 2.0% 。

2.10 样品测定结果 取购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,按照上述“2.1”“2.2”项下成分含量测定方法,测定其中的橙黄决明素、大黄酸、决明蒽醌、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚含量,对生品和炮制品含量进行比较。见表 3。

3 讨论

决明子采用高效液相色谱法测定蒽醌准确、灵敏、高效^[7-8]。本研究表明决明子生品与炮制品比较,其中游离蒽醌橙黄决明素、大黄酸的含量未见明显变化,说明在炮制过程种,这 2 种游离蒽醌成分的稳定性较好。而决明蒽醌、大黄素的含量在生品基础上经过炮制之后,含量明显增加,有可能是生品决明子其中所含的蒽醌苷类在炮制过程中分解产生了游离蒽醌苷元所造成的。大黄酚、大黄素甲醚的含量在炮制后明显下降,说明这 2 种游离蒽醌在决明子中的稳定性较差,在炮制过程种,部分成分被破坏损失,从而造成含量减少。

对于橙黄决明素、大黄酸的含量未发生明显变

化的情况,也有可能是这 2 种游离蒽醌苷元含量处在一种动态平衡之中,即使在炮制过程中,这种动态平衡也没有被打破。而另外 2 种含量变化情况的游离蒽醌,其含量动态平衡在炮制过程中,因为加热而被破坏。其中含量减少的原因可能是生成苷元的速率由于炮制受热而低于苷元分解的速率,而含量增加的原因也可能是生成苷元的速率由于炮制受热高于了苷元分解的速率。

不同炮制方法对决明子活性成分游离蒽醌含量影响的研究较多^[9-12],其结果多比较不同炮制方法对蒽醌类成分含量的影响。对采用清炒法炮制对 6 种游离蒽醌含量的影响研究未见报道。对于决明子中这类蒽醌苷元由于炮制而导致的含量变化不同的研究结果,我们也正在对其变化的本质原因进行寻找,从而更好地指导中药炮制过程,使其更加科学化,能够在一定程度上更好地确保中药品质,提升中药质量。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:135-136.

[2] 赵艺萌,吴丽,张烁,等. 决明子的安全性评价与风险控制措施的探讨[J]. 中国中药杂志,2017,42(21):4074-4078.

[3] 骆宜,刘斌. HPLC 法测定决明子中 3 个萘并吡喃酮类成分的含量[J]. 中华中医药杂志,2016,31(9):3774-3777.

[4] 陈建真,陈建明,吕圭源,等. 菊明提取物中蒽醌类活性成分的质量标准研究[J]. 中国药房,2014,25(31):2937-2939.

[5] 韩燕全,陈芮,潘凌宇,等. 中药“生熟异用”机理研究进展[J]. 中医药临床杂志,2017,29(8):1187-1192.

[6] 王祥,余炜,万毅. 决明子的炮制提取工艺及食品开发[J]. 中医药临床杂志,2016,28(4):590-593.

[7] 王淑红,杨春娟,刘璐,等. HPLC 测定决明子中 6 种游离蒽醌含量[J]. 哈尔滨医科大学学报,2015,49(1):22-26.

[8] 刘斌,巩鸿霞,肖学风,等. 决明子化学成分及药理作用研究进展[J]. 药物评价研究,2010,33(4):312-315.

[9] 赖日明. 不同炮制方法对决明子中蒽醌类成分含量的影响[J]. 中国民族民间医药,2015,24(20):5-8.

[10] 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]. 军事医学,2010,34(4):389-390,393.

[11] 赖日明. 不同炮制方法对决明子中蒽醌类成分含量的影响[J]. 中国民族民间医药,2015,24(20):5-5,8.

[12] 方艳夕,毛斌斌,时维静,等. 炮制方法对决明子中蒽醌和多糖含量的影响[J]. 宜春学院学报,2012,34(4):102-105.