

生、炒决明子及其煎剂中部分活性成分的比较

中国中医研究院中药研究所(北京 100700) 张启伟* 阴健 张俊**

摘要 采用高效液相色谱法对生、炒决明子及其煎剂中游离大黄酚、结合大黄酚及保肝成分进行了比较。与生品比较,炒决明子游离大黄酚含量升高,结合大黄酚含量下降,而煎剂中结果则相反。炒决明子保肝类成分含量下降,但煎剂中含量反而略高。对上述实验结果进行了分析。本文为决明子炮制研究提供了方法和数据。

关键词 决明子 炮制 大黄酚 保肝成分 高效液相色谱法

决明子是一味常用中药,功能为清热明目,润肠通便。除用生品外,还用炒制品。决明子含有多种蒽醌类成分和萘并吡喃酮类成分^[1]。一般认为结合型蒽醌是决明子通便作用的有效成分。有报道决明子中某些蒽醌甙和萘并- γ -吡喃酮甙具有对抗四氯化碳和半乳糖胺对原代培养小鼠肝细胞的毒害作用^[2,3]。已报道的决明子蒽醌类成分测定方法主要是比色法^[4~6]。但在我们的工作中发现,由于干扰物的存在,用混和碱显色不为粉红色,而主要呈棕色。因此我们分别建立了用高效液相色谱法测定大黄酚及分离保肝成分的方法,并比较了炒制前后药材及煎剂中两类成分的变化,为深入研究决明子的炮制提供了方法和数据。

1 药材、试药和仪器

1.1 药材的来源及炮制:决明子购于北京市药材公司,经本所谢宗万研究员鉴定为 *Cassia tora* L. 的成熟种子。按中国药典 1990 年版一部决明子炮制项下制备净决明子及炒决明子。

1.2 试药:大黄酚(化学对照,中国药品生物制品检定所);液相色谱所用甲醇为优级纯,纯水为蒸馏水经 MILLIPORE Milli-Q I 处理所得,其它试剂均为分析纯。

1.3 仪器:岛津 LC-3A 液相色谱仪, GRE-3A 梯度程序仪, SPD-1 紫外可见分光检测器, C-E1B 数据处理机, SIL-1A 进样品, CTO-2A 柱温箱。

2 方法与结果

2.1 大黄酚液相色谱分离条件:色谱柱 Zorbax ODS(7 μ m)250mm \times 4mm id,柱温:40 $^{\circ}$ C,流动相 A:0.1%高氯酸水溶液,流动相 B:0.1%高氯酸甲醇溶液,由梯度程序仪控制配比为 A-B(20:80),流速:1ml/min;检测波长:254nm,灵敏度:0.08AUFS。

在上述层析条件下,大黄酚能得到很好的分离,可用于定量分析。大黄酚及样品的色谱图见图 1。

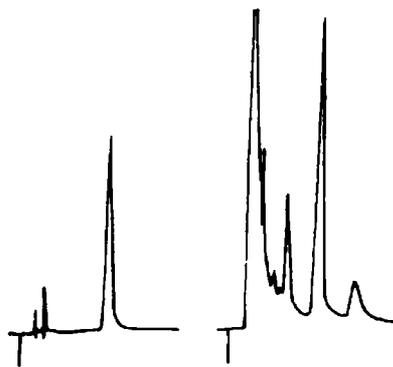


图 1 大黄酚对照品及样品色谱图

* Address: Zhang Qiwei, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing

** 贵州省遵义市贵州长寿长乐集团公司药物研究所

2.2 保肝类成分的分离条件:色谱柱:同前,柱温:40℃;流动相 A:纯水,流动相 B:甲醇,由梯度程序仪控制配比为 A-B(65:35),流速:1ml/min,检测波长:250nm,灵敏度:0.08AUFS。

在此条件下决明子提取物中保肝类成分的分离图谱见图 2。

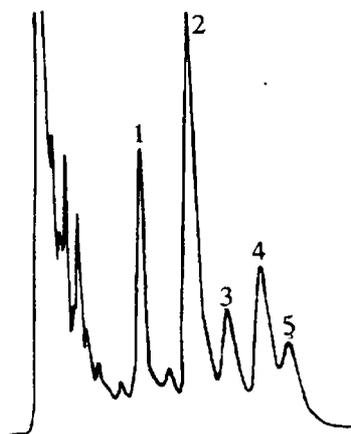


图 2 决明子中保肝成分色谱图

2.3 样品溶液的制备

2.3.1 药材中游离大黄酚和总大黄酚的提取按文献^[4]方法。

2.3.2 水煎液的制备及其中游离大黄酚和总大黄酚的提取:称取决明子 30g,捣碎,加蒸馏水 300ml,煮沸,保持微沸 30min,尼龙纱网滤过,药渣再加蒸馏水 150ml,煎煮 30min,滤过。2 次滤液合并,测定体积。

取相当于 20g 药材的水煎液以氯仿多次萃取其中的游离蒽醌,合并氯仿萃取液。

另取相当于 2.5g 药材的水煎液,加入等量的 5mol/L 硫酸,直火缓缓回流 2h,放至室温,加氯仿 30ml 回流 30min。分出氯仿层,用蒸馏水洗涤 2 次。

上述游离大黄酚和总大黄酚氯仿提取液回收氯仿至干,准确加入氯仿-甲醇(1:1)溶液 10ml 溶解,滤过,供液相色谱分析用。

2.3.3 药材中保肝成分的提取:将提取了游离大黄酚的药渣挥尽氯仿,准确加入 90% 甲醇溶液 50ml,称重,水浴回流 2h,放冷,补足

回流损失的溶剂至原重,混匀,滤过,即得。

2.3.4 煎剂中保肝成分供试液的制备:取水煎液滤过,供液相色谱分析用。

2.4 结果与分析

2.4.1 大黄酚标准曲线的制备:精密称取大黄酚对照品,加氯仿-甲醇(1:1)溶液配制成每 1ml 含 0.0882mg 的标准溶液。分别进样 1、2、4、6、8、10 μ l,每个体积进样 3 次。以进样量(μ g)为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,回归方程为 $Y=276458X-3334$, $r=0.9998$ 。

2.4.2 生、炒决明子中游离及总大黄酚含量测定:将上述供测定大黄酚的样品溶液进样 2~10 μ l,取 2 次测定的平均值,结合大黄酚含量为总大黄酚含量减去游离大黄酚含量求得,结果见表 1。生品中游离大黄酚含量很低,总大黄酚含量较高;而炒品中游离大黄酚大大增高,约为生品的 7 倍,但炒品中结合大黄酚含量有所下降。生品与炒品大黄酚总量基本一致,因此很可能在炒制时因受热等因素影响,蒽醌甙的甙键断裂,使大黄酚甙的含量下降,而游离大黄酚含量升高。

2.4.3 生、炒决明子水煎液中游离及结合大黄酚的测定:结果见表 1,生品水煎液中游离大黄酚含量比药材中含量还高,重复 3 次,虽每次测定值差异略大,但上述结果不变。炒品却不存在这样的结果,推测可能是由于种子中酶的作用使蒽醌甙发生水解。炒品水煎液中结合大黄酚含量比生品的略高。

表 1 生、炒决明子及其水煎液中游离和结合大黄酚含量

		大黄酚含量(%)	
		游离	结合
生品	药材	0.00216	0.2516
	煎液	0.00650	0.1084
炒品	药材	0.01460	0.2411
	煎液	0.00104	0.1269

2.4.4 生、炒决明子保肝成分的比较:结果见表 2。

生品中保肝成分含量最高,炒制后各峰峰高均有所下降,但下降率并不一致。说明炒

表 2 生、炒决明子及其水煎液中保肝成分的峰高

峰号	保肝成分的峰高					
	1	2	3	4	5	
生品	药材	4747	4010	989	842	822
	煎液	952	980	-	216	-
炒品	药材	1983	3015	1020	584	344
	煎液	879	1578	363	473	-

制使保肝类成分含量下降,且各成分对热的稳定性亦不同。煎液中炒品大部分保肝成分煎出量比生品高,这与水煎液中结合大黄酚的结果一致。可能由于炒后质地酥脆或质地酥脆易捣碎而使煎出量增加。

3 讨论

3.1 蒽醌类提取、水解参考了文献^[1],未对方法学做进一步考察。

3.2 文献^[3]报道了决明子中保肝成分的分离条件,以乙腈-水系统梯度洗脱分离。我们改用甲醇-水系统等强洗脱分离这组成分。由于没有对照品,无法对各个峰进行定性,只好用峰高来反映保肝成分的存在及量的变化。

3.3 在萃取水煎液中游离蒽醌时,发生乳化。我们在实验中分出乳化层,用热回流方法破乳化,最终分出氯仿层。

3.4 关于酶解的探索,为了证实酶解的推测,我们设计了冷水下药煎及沸水下药煎的

一组试验。经测定煎液中游离大黄酚含量发现:冷水下药其含量为 0.0076%,与以前测定结果基本一致;而沸水下药其含量为 0.0026%,比冷水下药低 2 倍。说明关于酶解的推测是有一定合理性的。炒品由于在炒制过程中酶的破坏,所以不存在此种现象。

3.5 决明子炒制后蒽醌甙类成分下降,可解释通便作用的减弱。这已得到药理实验结果的证明。虽炒品水煎液中保肝成分略多,但药理实验结果表明其保肝作用比生品弱。所以炒制是否使这类成分发生质的变化有待深入研究。

3.6 决明子在炒制过程中,由于受热等因素影响,化学成分及药理作用均有所变化。因此有必要对影响炒制的诸因素进行考察,以便确定最佳炒制工艺。

参 考 文 献

- 1 阴 健,等编. 中药现代研究与临床应用(1). 北京:学苑出版社,1994. 316
- 2 Wong SM, et al. Phytochemistry, 1989, 28(1): 211
- 3 Wong SM, et al. Planta Medica, 1989, 55(3): 276
- 4 王慕邹,等. 药学报, 1963, 10(12): 720
- 5 Koshioka M, et al. Chem Pharm Bull, 1978, 26(5): 134
- 6 裴妙荣,等. 中国中药杂志, 1990, 15(8): 29

(1995-0-17 收稿)

Comparison of Contents of Some Active Components Between Crude and Processed Seeds of Sickle Senna (*Cassia tora*) and Their Decoctions by HPLC

Zhang Qiwei, Yin Jian, Zhang Jun

The contents of chrysophanol, free or combined, and the peak heights of the antihepatotoxic components in the crude and processed seeds of *Cassia tora* L. and in their decoctions were compared by HPLC. The content of free chrysophanol in processed seeds increased, and the combined chrysophanol and the antihepatotoxic components decreased. But those present in the decoction were just vice versa. The methods described can be used for further studies in the processing of *C. tora*.

请 订 阅 《 中 国 男 科 学 》

本书 16 开平装,书号黔新登(09)02 号,已由贵州科技出版社出版,是我国现今汇通中西医,中西结合的第一部专著,由著名男科专家安崇辰任主编,男性病专家马永江教授主审。全书汇集了国内外中、西医有关男性生殖、生理、病理最新理论,介绍了有关男科疾病的最新诊断,检查及治疗手段,同时汇集了国内从事中医男科的名家在继承、整理、发掘、弘扬祖国医学实践中总结出的经验和用之有效的验方、秘方、单方。定价 19.80 元,邮挂费 1.20 元,共 21.00 元。读者对象,医药院校教师、学生、临床医学工作者及自学者,需要者请将数量、书款及地址寄《中草药》编辑部。地址:天津南开区鞍山西道 308 号,邮编 300193