

• 制剂与质量 •

泽泻炮制过程中 23-乙酰泽泻醇 B 的转化

郑云枫, 朱玉岚, 彭国平

(南京中医药大学中医药研究院, 江苏 南京 210029)

摘要:目的 分析泽泻中三萜类成分在炮制加工过程中的变化。方法 采用超临界流体色谱分离技术(SFC)及 HPLC 测定方法,对泽泻加工炮制前后的三萜类成分的变化进行研究。结果 在泽泻药材加工成生泽泻饮片的烘干(70℃)过程中,有少量 23-乙酰泽泻醇 B 转化成了 24-乙酰泽泻醇 A 和泽泻醇 B;而在泽泻盐制(190~200℃)及麸制(160~170℃)过程中,23-乙酰泽泻醇 B 则大量转化为 24-乙酰泽泻醇 A 和泽泻醇 B,两者又进一步转化成了泽泻醇 A。结论 在高温炮制过程中,泽泻药材中三萜类主成分 23-乙酰泽泻醇 B 出现两条转变途径,一条是氧环开裂并重排生成 24-乙酰泽泻醇 A,进一步脱乙酰基转化成泽泻醇 A;另一条是先脱乙酰基生成泽泻醇 B,继而氧环开裂转化成泽泻醇 A。

关键词:泽泻;三萜类成分;24-乙酰泽泻醇 A;泽泻醇 B;23-乙酰泽泻醇 B;泽泻醇 A;炮制

中图分类号:R284.2; R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)10-1479-04

Transformation of alisol B 23-acetate in processing of *Alisma orientalis*

ZHENG Yun-feng, ZHU Yu-lan, PENG Guo-ping

(Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Abstract: **Objective** To study the transformation mechanism of triterpenes in processing of *Alisma orientalis*. **Methods** The triterpene transformations of *A. orientalis* pre and post-processing were comparatively analyzed by techniques of HPLC and Packed Column Supercritical Fluid Chromatography (SFC). **Results** In baked processing (70℃) of *A. orientalis*, little alisol B 23-acetate was transformed into alisol A 24-acetate and alisol B. However, more alisol B 23-acetate was transformed into alisol A 24-acetate and alisol B, then both of them were further transformed into alisol A in processing under high temperature (160–200℃). **Conclusion** Transformation of alisol B 23-acetate has two routes when *A. orientalis* is processed under high temperature: For one, alisol B 23-acetate is rearranged into alisol A 24-acetate which could be deacetylated into alisol A; for the other, it is deacetylated into alisol B first, then transformed into alisol A.

Key words: *Alisma orientalis* (Sam.) Juzep. triterpenes; alisol A 24-acetate; alisol B; alisol B 23-acetate; alisol A; processing

泽泻为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientalis* (Sam.) Juzep. 的干燥块茎。其性寒,味甘、淡,归肾、膀胱经,具有利水渗湿、泄热之功效。临床常用的炮制品有生泽泻和盐泽泻。《得配本草》中提到其炮制作用为“健脾生用,滋阴利水盐水炒”等。现代研究表明,泽泻的化学成分主要以萜类成分为主,而萜类成分中又以三萜类成分为其主要成分,还含有倍半萜和二萜类等成分^[1]。本实验主要对泽泻中三萜类成分炮制前后的变化进行了研究,观察在炮制后三萜类原有组分有无改变,是否有新组分产生或原有组分的消失,特别是主成分 23-乙酰泽泻醇 B 的变

化,从而为阐明泽泻炮制提供一定的化学研究基础。

1 材料与仪器

泽泻购自福建建瓯,经南京中医药大学吴启南教授鉴定为泽泻科植物泽泻 *A. orientalis* (Sam.) Juzep. 的干燥块茎。取泽泻药材,采用“伏润法”闷润至透心,切制,于 70℃烘干,即得生泽泻饮片。取净生泽泻饮片,用 2.5% 的食盐水拌匀,闷润至盐水吸尽,在 190~200℃温度下炒制至微黄色,即得盐泽泻饮片。取净生泽泻饮片,加 10% 的麸皮一起撒入热锅内,在 160~170℃温度下不断翻动,炒制至药物呈黄色时取出,筛去麸皮,晾凉,即得麸泽泻饮片。

收稿日期:2006-03-24

基金项目:“十五”国家攻关项目(2001BA701A55-38)

作者简介:郑云枫(1979—),男,江苏省溧阳市人,中药学硕士,主要从事中药化学成分研究与开发研究工作。

Tel: (025) 86798186 E-mail: zyunfeng88@yahoo.com.cn

石油醚、醋酸乙酯、甲醇及乙腈均为色谱纯(Tedia Company),水为亚沸蒸馏水。

23-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A 对照品均由南京中医药大学植物药深加工中心彭国平教授提供,质量分数大于 98%。

Agilent 1100 高效液相色谱仪,Alltech 426 型中压制备仪,MuMing 制备色谱柱(300 mm×40 mm);填料柱超临界流体色谱仪 Berger SFC™ MiniGram,色谱柱 Pyridine 60A (250 mm×10.0 mm, 5 μm)。Bruker ACF-300 型核磁共振仪(¹H-NMR: 300 MHz, ¹³C-NMR: 75 MHz, TMS 作内标)。

2 方法与结果

2.1 炮制特征成分的分离与鉴定:对泽泻炮制品在炮制前后化学成分的 HPLC 初步分析发现(检测波长 208 nm),23-乙酰泽泻醇 B 和 24-乙酰泽泻醇 A 的量发生了较大的改变,此外,生泽泻饮片出现了成分 I,盐泽泻和麸泽泻饮片出现了成分 I 和 II 的炮制特征成分变化,因此对以上特征成分进行了分离和结构鉴定。

盐泽泻 5 kg,粉碎成 20 目的粗粉,CO₂ 超临界提取,回收,得油状提取物 120 g。提取物上硅胶中压柱色谱分离,先以石油醚-EtOAc (100:5)洗脱 5 000 mL,再以 500 mL 为 1 个流份,每 4 个流份 EtOAc 增加 5%进行梯度洗脱,各流份进行 HPLC 检测,对含炮制特征峰的流份合并,分别为流份 15~17 (含特征峰 I),流份 25~28 (含特征峰 II),回收溶剂。

分别将两个粗分离的组份以少量乙腈溶解,在压力 1×10⁷ Pa、温度 37℃、体积流量 8.0 mL/min 和 20%甲醇夹带剂比例的条件下,分别进行超临界流体色谱(SFC)制备,得化合物 I 约 50 mg,化合物 II 约 400 mg。

根据化合物 I、II 的氢谱,初步判断 I、II 属泽泻醇类化合物。经文献检索,化合物 I 的氢谱、碳谱数据与文献报道泽泻醇 B 一致^[2],确定 I 为泽泻醇 B;化合物 II 的氢谱、碳谱数据与文献报道泽泻醇 A 一致^[2],确定化合物 II 为泽泻醇 A。

2.2 三萜类成分的 HPLC 法测定^[3]

2.2.1 色谱条件:色谱柱:中国科学院大连化学物理研究所 Kromasil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(73:27);检测波长:208 nm。

2.2.2 对照品溶液的制备:称取 23-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 B 和泽泻醇 A 对照品各适量,精密称定,乙腈溶解制成 20、20、5、20 μg/mL

的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备:取药材或炮制品粉末(过 5 号筛)约 0.5 g,精密称定,置于 100 mL 具塞三角瓶中,精密加入乙腈 25 mL,称定质量,超声处理 30 min,补足减失的质量,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 线性关系的考察:取 23-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A 和泽泻醇 A 对照品各约 8 mg,泽泻醇 B 约 2 mg,精密称定,置于 10 mL 棕色量瓶中,用乙腈溶解并稀释至刻度,准确吸取此溶液 1 mL 配制含 23-乙酰泽泻醇 B (84.8 μg/mL)、24-乙酰泽泻醇 A (80.8 μg/mL)、泽泻醇 B (21.5 μg/mL) 和泽泻醇 A (82.6 μg/mL) 的对照品贮备液。采用逐级稀释法再分别配成系列对照品溶液,分别吸取上述溶液 10 μL,注入液相色谱仪,测定。以峰面积对进样量回归处理,得回归方程(表 1)。

表 1 泽泻三萜成分的回归方程

Table 1 Regressive equation of triterpenes in *A. orientalis*

对照品	回归方程	r	线性范围/μg
23-乙酰泽泻醇 B	$Y=974.75 X-2.193 7$	0.999 9	0.8~0.05
24-乙酰泽泻醇 A	$Y=798.67 X+0.643 8$	0.999 8	0.8~0.05
泽泻醇 B	$Y=1 131.90 X-1.104 2$	0.999 7	0.2~0.01
泽泻醇 A	$Y=868.45 X-0.504 2$	0.999 8	0.8~0.05

2.2.5 精密度试验:精密吸取含 24-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 B 和泽泻醇 A 的混合对照品溶液,连续重复进样 6 次,每次 10 μL,按上述条件测得峰面积,结果其 RSD 分别为 1.4%、0.9%、1.2%、0.7%。

2.2.6 重现性试验:取同一批盐泽泻饮片,按上述条件制备供试品溶液共 6 份,分别测定峰面积,结果 23-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 B 和泽泻醇 A 的 RSD 分别为 1.1%、1.7%、1.9%、1.2%。

2.2.7 加样回收率的试验:精密称取盐泽泻药材 6 份,每份 0.25 g,分别加入 23-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 B 和泽泻醇 A 对照品适量,按供试品溶液的制备方法进行处理,依法测定,计算加样回收率。结果平均回收率分别为 100.8%、99.4%、98.7%、99.3%。

2.3 测定结果比较:对 3 批次的原药材及各炮制品进行测定。结果表明,泽泻药材中主要含 23-乙酰泽泻醇 B 和少量 24-乙酰泽泻醇 A,不含泽泻醇 A 和泽泻醇 B。在生泽泻饮片中,23-乙酰泽泻醇 B 的量有所下降,24-乙酰泽泻醇 A 的量增加,并出现了少量的泽泻醇 B;盐泽泻与麸泽泻饮片测定结果相似,两者中 23-乙酰泽泻醇 B 的量明显下降,大约下降

至药材的 25%~40%，而 24-乙酰泽泻醇 A 和新出现的炮制特征成分泽泻醇 A 的量显著提高，同时伴有少量泽泻醇 B 出现，测定结果见表 2，图谱见图 1。

表 2 泽泻不同炮制品中三萜类成分的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2 Transformation of triterpenes in different processed *A. orientalis* ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

样品	23-乙酰泽泻醇 B/%	24-乙酰泽泻醇 A/%	泽泻醇 B/%	泽泻醇 A/%
泽泻药材	0.091±0.008	0.013±0.004	未检测到	未检测到
生泽泻饮片	0.077±0.009	0.020±0.004	0.002±0.000	未检测到
盐泽泻饮片	0.029±0.005	0.032±0.010	0.006±0.003	0.042±0.005
麸泽泻饮片	0.033±0.003	0.024±0.005	0.003±0.001	0.041±0.003

2.4 三萜类成分的可能转化过程: 泽泻原药材中三萜类成分主要为 23-乙酰泽泻醇 B 和少量 24-乙酰泽泻醇 A。在生泽泻饮片的炮制过程中, 由于烘干的温度(70℃)较低, 仅有少量的 23-乙酰泽泻醇 B 转化为 24-乙酰泽泻醇 A 及泽泻醇 B。而在盐制(190~200℃)及麸制(160~170℃)过程中, 炮制温度的升高, 使得原药材中 23-乙酰泽泻醇 B 出现了两条转变途径(图 2); 一是环氧环开裂重排生成 24-乙酰泽泻醇 A, 进一步脱乙酰基转变成泽泻醇 A; 另一条是先脱去乙酰基生成泽泻醇 B, 继而环氧环开裂转变成泽泻醇 A。值得注意的是, 由于结构中氧环开裂比脱乙酰基更为容易, 因此在盐泽泻及麸泽泻饮片中, 23-乙酰泽泻醇 B 的量与泽泻药材中相比大幅降低, 24-乙酰泽泻醇 A 和泽泻醇 A 的量则显著提高, 但泽泻醇 B 的量增加却不明显。

3 讨论

笔者在药理实验中发现, 泽泻药材的水煎及醇提液均具有一定的保肝作用, 但醇提组效果要比水煎组好; 而在各炮制品的保肝实验中, 盐泽泻作用最突出, 且盐泽泻的水煎组就表现出很好的疗效, 这可能与泽泻中含有的极性较小的泽泻醇类有效成分经炮制后增强了其水溶性有关, 说明了临床上将泽泻

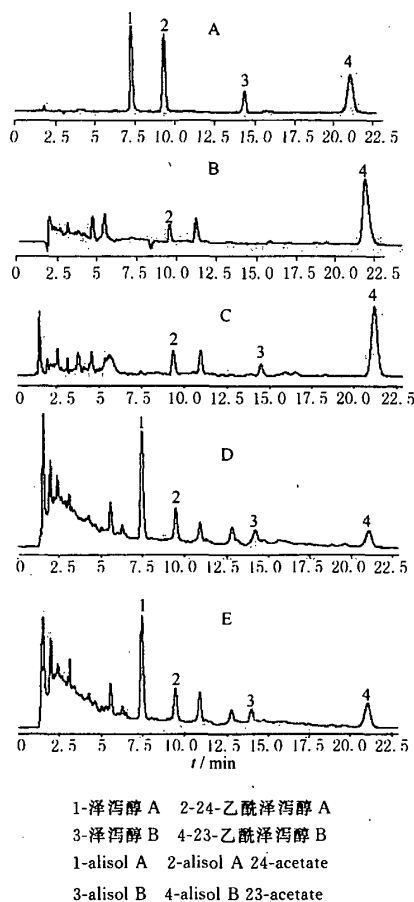


图 1 混合对照品(A)、泽泻药材(B)、生泽泻饮片(C)、盐泽泻饮片(D)和麸泽泻饮片(E)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substance (A), raw *A. orientalis* (B), simple processed *A. orientalis* (C), salt processed *A. orientalis* (D), and bran processed *A. orientalis* (E)

炮制后入汤药用于“利水渗湿”具有一定的科学性。从本实验化学成分的研究结果可以看出, 各主要三

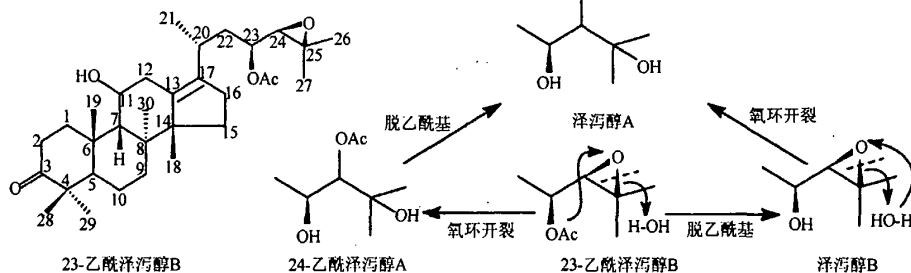


图 2 泽泻中三萜类成分在炮制中的可能转化途径

Fig. 2 Transformation pathway of triterpenes in *A. orientalis* by various processing methods

萜类成分极性有一定差异:泽泻醇 A>24-乙酰泽泻醇 A>泽泻醇 B>23-乙酰泽泻醇 B,这也符合极性大的成分水煎煮提取率高的相似相溶原理;另一方面各炮制品中 23-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A 的水煎煮提取率比相应的泽泻药材的提取率高^[4],说明泽泻经过炮制以后还能明显提高活性成分 23-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A 的煎出率。

中药经过炮制处理后,基于炮制前后化学成分的变化,药性和临床疗效会发生很大的变化,因而在制定药材各炮制品质量标准时也应有所区别,特别是炮制品的定量测定标准。本实验结果提示,为了更好地控制泽泻各炮制品的质量,对生泽泻饮片应建立 23-乙酰泽泻醇 B 的定量测定方法,而盐泽泻饮

片则需对 23-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A 和泽泻醇 A 的定量分别进行控制。

References:

- [1] Zhu Y L, Peng G P. Progress in the study on chemical constituents of *Alisma orientalis* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物与开发), 2006, 18 (2): 348-351.
- [2] Murata T, Imai Y, Hirata T, et al. Biological-active trieterpenes of *Alismatis Rhizoma* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1970, 18: 1347-1369.
- [3] Wen H M, Peng G P, Chi Y M. Quality standard study of *Rhizoma Alismatis* I—Determination of 2 alisols in *Alisma Rhizomes* by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1998, 18 (6): 375-377.
- [4] Zhu Y L, Zheng Y F, Peng G P. Effect of single and mixed decoction on the percentage of extractives of composition of raw and processed products of *Alisma orientalis* [J]. *Fujian J Tradit Chin Med* (福建中医药), 2006, 37 (1): 39-40.

决明子中总蒽醌苷元的大孔吸附树脂纯化工艺的研究

张晓路^{1,2}, 宋元英³, 孟祥颖^{2*}, 薄华本², 乌 垠^{1,2}, 鲍永利^{1,2}, 李玉新^{1*}

(1. 国家教育部农业与医药基因工程研究中心, 吉林 长春 130024; 2. 东北师范大学遗传与细胞研究所, 吉林 长春 130024; 3. 长春市人民医院, 吉林 长春 130051)

摘要:目的 探索决明子总蒽醌苷元的大孔吸附树脂纯化工艺。方法 以决明子总蒽醌苷元质量分数和收率为主要考察指标, 比较了乙醚和氯仿对蒽醌苷元提取的专属性, 考察了大孔吸附树脂 S-8、AB-8、X-5、NKA-12、D4020、D-101 对决明子总蒽醌苷元的吸附和解吸附特性以及纯化能力。结果 决明子药粉采用氯仿浸提, 上 S-8 型大孔树脂柱, 水洗至中性, 乙醇-5% NaOH (4:1) 洗脱, 醇碱洗脱液浓缩、酸化处理得到质量分数为 42.62% 的蒽醌苷元。结论 建立了一种蒽醌苷元的纯化工艺, 为决明子中蒽醌苷元类成分的工业化生产提供依据。

关键词:决明子; 蒽醌苷元; 大孔吸附树脂

中图分类号:R284.2; R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)10-1482-05

Purification technology of anthraquinone aglycone from *Cassia obtusifolia* seeds by macroporous adsorption resin

ZHANG Xiao-lu^{1,2}, SONG Yuan-ying³, MENG Xiang-ying², BO Hua-ben²,
WU Yin^{1,2}, BAO Yong-li^{1,2}, LI Yu-xin¹

(1. Research Center of Agriculture and Medicine Gene Engineering of Ministry of Education, Changchun 130024, China; 2. Institute of Genetics and Cytology, Northeast Normal University, Changchun 130024, China; 3. People's Hospital of Changchun, Changchun 130051, China)

Abstract: Objective To study the purification technology of anthraquinone aglycone from *Cassia obtusifolia* seeds by macroporous adsorption resin. **Methods** Taking the content and the extraction rate of anthraquinone aglycone as the main standard index, the efficiency to extract anthraquinone aglycone with ether and chloroform was compared, and the adsorption and desorption characters as well as the purification capacities of six types of macroporous adsorption resins, such as S-8, AB-8, X-5, NKA-12, D4020, and D101, used to treat anthraquinone aglycone were investigated preliminarily. **Results** Anthraquinone aglycone with the content of 42.62% was got from *C. obtusifolia* by extracting with chloroform, purified

收稿日期: 2005-06-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30472169); 国家中医药管理局资助项目(04-05ZP21); 吉林省中医药管理局资助项目(2004-114); 吉林省科技厅重大项目(20020502); 吉林省科技攻关项目(20030905)

作者简介: 张晓路(1980—), 女, 辽宁省沈阳市人, 在读硕士, 从事中药研发工作。E-mail: christine839@sohu.com

* 通讯作者 孟祥颖 Tel: (0431) 5099502 Fax: (0431) 5681838 E-mail: MengXY377@nenu.edu.cn
李玉新 E-mail: nenucc@sina.com