

不同炮制方法对槐角黄酮类成分量的影响

都盼盼, 石延榜, 张振凌*, 沈莎莎

河南中医学院, 河南 郑州 450003

摘要: 目的 比较槐角不同炮制品中黄酮类成分的量。方法 采用 HPLC 法, Zorbax Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温 30 °C; 流动相为甲醇-0.4%冰乙酸水溶液, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 256 nm。结果 染料木苷: 生品 (0.86%) > 蜜炙 (0.67%) > 炒炭 (0.48%); 芦丁: 生品 (3.0%) > 蜜炙 (2.2%) > 炒炭 (0.88%); 槐角苷: 生品 (8.08%) > 蜜炙 (5.73%) > 炒炭 (3.58%); 槲皮素: 生品 (0.04%) < 蜜炙 (0.05%) < 炒炭 (0.12%); 染料木素: 生品 (0.06%) < 蜜炙 (0.08%) < 炒炭 (0.21%); 山柰素: 生品 (0.01%) < 蜜炙 (0.02%) < 炒炭 (0.54%)。结论 槐角饮片中黄酮类成分炮制后染料木苷等黄酮苷成分的量降低, 苷元的量升高, 可能是饮片功效不同的原因。

关键词: 槐角; 蜜槐角; 槐角炭; 染料木苷; 芦丁; 槐角苷; 槲皮素; 染料木素; 山柰素

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)22-3271-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.22.010

Effects of different processing methods on content of flavonoids from *Sophorae Fructus*

DU Pan-pan, SHI Yan-bang, ZHANG Zhen-ling, SHEN Sha-sha

Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450003, China

Abstract: Objective To compare the content of flavonoids from *Sophorae Fructus* by different processing methods. **Methods** HPLC method with Zorbax Eclipse Plus C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used in the experiment; Methanol-0.4% acetic acid was used as mobile phase, with gradient elution; Column temperature was set as 30 °C; The flow rate was 1.0 mL/min and detection wavelength was 256 nm. **Results** Genistin: crude (0.86%) > stir-frying with honey (0.67%) > carbonizing by stir-frying (0.48%); Rutin: crude (3.0%) > stir-frying with honey (2.2%) > carbonizing by stir-frying (0.88%); Sophoricoside: crude (8.08%) > stir-frying with honey (5.73%) > carbonizing by stir-frying (3.58%); Quercetin: crude (0.04%) < stir-frying with honey (0.05%) < carbonizing by stir-frying (0.12%); Genistein: crude (0.06%) < stir-frying with honey (0.08%) < carbonizing by stir-frying (0.21%); Kaempferide: crude (0.01%) < stir-frying with honey (0.02%) < carbonizing by stir-frying (0.54%). **Conclusion** Among the flavonoids from *Sophorae Fructus* after processing, the content of flavonoid glycosides is reduced and the content of flavonoid aglycone is increased simultaneously, which may be related to the different functions of crude *Sophorae Fructus*, *Sophorae Fructus* stir-fried with honey, and *Sophorae Fructus* carbonized by stir-frying pieces.

Key words: *Sophorae Fructus*; *Sophorae Fructus* stir-fried with honey; *Sophorae Fructus* carbonized by stir-frying; genistin; rutin; sophoricoside; quercetin; genistein; kaempferide

槐角为常用中药, 是豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥成熟果实。槐角味苦, 性寒, 归肝、大肠经, 具有清热泻火、凉血止血的功能。槐角生品清热凉血力较强, 用于血热妄行出血证, 肝火目赤, 肝热头痛、眩晕, 阴疮湿痒; 亦用于肠热

便血和痔肿出血。蜜槐角苦寒之性减弱, 并有润肠作用, 用于便血、痔血, 尤其适于脾胃不健或兼有便秘的患者。槐角炭寒性大减, 并具有收涩之性, 长于收敛止血, 用于便血、痔血、崩漏等出血证^[1]。

槐角的主要有效成分是槲皮素、山柰酚、异鼠

收稿日期: 2014-05-04

基金项目: 中医药行业科研专项: 全国中药炮制技术规范研究——土炒、米炒、水飞 (201207004-8); 河南中医学院科研苗圃工程项目 (MP2013-18)

作者简介: 都盼盼 (1988—), 女, 硕士, 研究方向为中药生产及质量控制研究。Tel: 18736057896 E-mail: dupanpan345@163.com

*通信作者 张振凌 (1957—), 女, 硕士, 教授, 博士生导师, 从事中药饮片及新药研究。Tel: (0371)65680970 E-mail: zhangzli6758@163.com

李素及其苷类黄酮、染料木苷类黄酮^[2]和大量槐多糖。槐角主要药理作用有防癌抗癌及雌性激素样作用,对癌症、心血管疾病、骨质疏松和女性更年期综合征有很好的防治作用^[3]。

槐角炮制后总黄酮的量变化尚无研究。本研究采用 RP-HPLC 法测定槐角及其炮制品中染料木苷、芦丁、槐角苷、槲皮素、染料木素、山柰素 6 种成分的量,为槐角不同炮制品的质量控制提供可靠的依据。

1 仪器与材料

Waters 1525 高效液相色谱系统输液泵、Waters 2489UV 检测器,美国 Waters 公司;BS210S 型万分之一电子天平,北京 Sartorius 有限公司;8002 型温控水浴锅,北京永光明医疗仪器厂;FW—100 高速万能粉碎机,北京中兴伟业仪器有限公司;SZ—93 型自动双重纯水蒸馏器,上海亚荣生化仪器厂。

染料木苷、槐角苷、染料木素、芦丁、槲皮素和山柰素对照品,中国食品药品检定研究院,质量分数 100%、100%、100%、92.5%、97.3%、95.9%,供定量测定用,批号 111709-200501、111695-200501、111704-200501、100080-200707、100081-200406、110861-200808;槐角药材,2014 年 2 月采集于郑州市东明路,经河南中医学院董诚明教授鉴定为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥成熟果实。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

生槐角:除去杂质,粉碎过 50 目筛。

蜜槐角:取净槐角,取炼蜜适量加开水化开,喷淋于净槐角内,拌匀,稍润,用文火炒至外皮光亮,不粘手,取出,放凉。粉碎过 50 目筛。每 100 千克槐角用 5 kg 炼蜜。收率 102.8%。

槐角炭:取净槐角,置锅中,用武火炒至表面焦黑色、内呈黄褐色(但须存性),喷水灭火星,取出,放凉^[4]。粉碎过 50 目筛。收率 78.2%。

2.2 测定条件

分析柱为 Zorbax Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);柱温 30 ℃;流动相为甲醇-0.4%冰乙酸水溶液,梯度洗脱,0~15 min, 30%~35%甲醇;15~20 min, 35%~40%甲醇;20~30 min, 40%甲醇;30~35 min, 40%~55%甲醇;35~45 min, 55%甲醇;进样量 10 μL;体积流量 1.0 mL/min;检测波长 256 nm^[5-6]。

2.3 对照品溶液的制备

取染料木苷、芦丁、槐角苷、槲皮素、染料木素和山柰素对照品适量,加甲醇配制成 0.054 mg/mL 的染料木素对照品溶液,0.34 mg/mL 的芦丁对照品溶液,0.84 mg/mL 的槐角苷对照品溶液,0.033 mg/mL 的槲皮素对照品溶液,0.023 mg/mL 的染料木素对照品溶液,0.04 mg/mL 的山柰素对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

精密称定生槐角及其炮制品粉末(过 50 目筛) 0.5 g,置索氏提取器中,用甲醇 90 mL,连续提取 10 h,冷却后,用甲醇定容至 100 mL。用 0.22 μm 滤膜滤过,取续滤液,作为供试品测定液。

2.5 线性关系考察

精密量取 1.0 mL 染料木苷、芦丁、槐角苷、槲皮素、染料木素和山柰素对照品储备液,分别稀释至 2、5、10、20、50、100 mL 的量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。进样 10 μL,每个质量浓度重复 3 次,记录色谱图。以进样量(μg)为横坐标(X),峰面积积分值为纵坐标(Y),绘制标准曲线并进行回归分析,计算回归方程及线性范围,结果染料木苷 $Y=3\ 272\ 051.7 X+15\ 390.0$, $r=0.999\ 0$,线性范围 5.4~540.0 ng;芦丁 $Y=1\ 146\ 832.6 X-11\ 087.4$, $r=0.999\ 0$,线性范围 0.034~3.4 μg;槐角苷 $Y=3\ 774\ 044.0 X+5\ 269.0$, $r=0.999\ 7$,线性范围 0.084~8.4 μg;槲皮素 $Y=2\ 799\ 158.6 X+10\ 233.6$, $r=0.999\ 0$,线性范围 3.3~330.00 ng;染料木素 $Y=7\ 892\ 151.3 X+6\ 943.8$, $r=0.999\ 0$,线性范围 2.3~230.0 ng;山柰素 $Y=1\ 736\ 119.3 X-3\ 165.0$, $r=0.999\ 4$,线性范围 4.0~400.0 ng。

2.6 精密度试验

精密吸取同一蜜槐角供试品溶液 10 μL,连续进样 5 次,染料木苷、芦丁、槐角苷、槲皮素、染料木素、山柰素峰面积的积分值 RSD 值分别为 1.37%、1.77%、2.19%、2.95%、2.76%、2.94%。

2.7 重复性试验

取同一批蜜槐角样品,按供试品溶液的制备方法平行制备 5 份,精密吸取上述供试品溶液 10 μL,分别注入液相色谱仪,根据 5 次平行测定的结果计算 6 种黄酮类成分的质量分数的 RSD 值分别为 1.97%、1.87%、2.90%、2.13%、1.73%、2.34%。

2.8 稳定性试验

精密吸取同一蜜槐角供试品溶液 10 μL,每隔 4

h 进样 1 次, 测得在 24 h 内稳定性良好。6 组分峰面积积分值的 RSD 分别为 2.93%、2.14%、1.78%、2.51%、2.38%、2.61%。

2.9 加样回收率试验

取同一槐角蜜炙品粉末(过 3 号筛)约 0.25 g, 共 6 份, 精密称定, 分别置于索氏提取器中, 分别精密加入适量对照品, 其余照供试品溶液制备项下同法操作, 得各供试品溶液。分别精密吸取各加样

回收供试品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪测定其量。6 组分的平均回收率分别为 97.58%、97.15%、97.66%、97.41%、98.29%、99.10%, RSD 分别为 2.70%、1.03%、1.31%、2.01%、2.61%、2.96%。

2.10 样品测定

按供试品溶液的制备条件测定, 每次进样 10 μL, 测得峰面积积分值, 计算各成分质量分数(以干燥品计), 结果见图 1 和表 1。

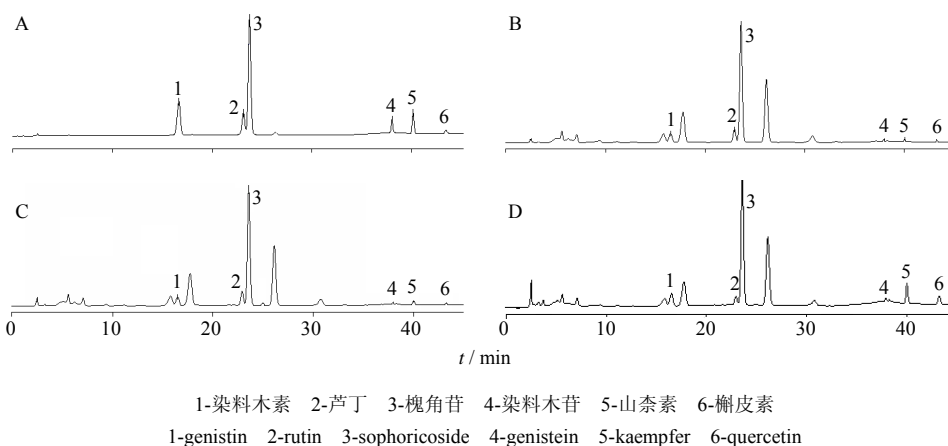


图 1 混合对照品 (A)、槐角生品 (B)、蜜槐角 (C) 和槐角炭 (D) HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A), crude *Sophorae Fructus* (B), *Sophorae Fructus* stir-fried with honey (C), and *Sophorae Fructus* carbonized by stir-frying chromatogr (D)

表 1 槐角不同炮制品黄酮类成分质量分数 (n = 2)

Table 1 Content of flavonoids from *Sophorae Fructus* by different processing methods (n = 2)

样品	质量分数 / (mg·g ⁻¹)					
	染料木苷	芦丁	槐角苷	槲皮素	染料木素	山柰素
生品	8.63	30.06	80.80	0.45	0.64	0.19
蜜炙	6.65	22.23	57.33	0.54	0.80	0.23
炒炭	4.80	8.75	35.79	1.24	2.07	5.45

从实验结果分析来看, 染料木苷、芦丁与槐角苷的量经炮制后均有所降低, 依次为生品 > 蜜炙 > 炒炭; 而槲皮素、染料木素与山柰素的量经炮制后含量呈上升趋势, 依次为生品 < 蜜炙 < 炒炭; 说明炮制对槐角饮片中 6 种有效成分的量有一定影响, 并且炮制温度越高, 加热时间越长, 影响愈明显。

3 讨论

槐角中芦丁、槐角苷与染料木苷等黄酮类成分是槐角的主要有效成分。槐角苷与染料木苷(染料木素 7-O-葡萄糖苷)是同分异构体, 其苷元均是染料木素, 芦丁的苷元为槲皮素; 山柰素是山柰酚-3,

7-双葡萄糖苷、山柰酚-3-鼠李糖-双葡萄糖苷的苷元^[7]。有研究证明槐角用武火加热, 当药材温度超过 215 °C 时, 芦丁会全部分解, 炒成的槐角灰中芦丁的量几乎为零^[8]。槐角制炭后槐角苷的量明显下降, 蜜制后其量略有下降^[9]。本研究同时测定槐角及其炮制品的 6 种成分, 首次证明炮制后黄酮苷染料木苷、槐角苷、芦丁降低的同时, 黄酮苷元染料木素、槲皮素、山柰素升高。

蜜炙槐角与生品比较, 染料木素、槲皮素、山柰素升高。槲皮素具有较好的祛痰、止咳作用, 并有一定的平喘作用^[10], 证明槐角蜜炙增强止咳平喘作用确有科学道理; 染料木素是一种大豆异黄酮类植物雌激素, 具有雌激素样作用、抗肿瘤、抗糖尿病、预防心血管系统疾病等多种药理药效^[11], 蜜炙后其量升高为进一步开发蜜炙槐角作为保健食品打下基础。槐角炒炭后山柰素的量明显升高, 山柰素的药理作用主要有抗氧化、抗炎、抗辐射、抗癌和预防心血管疾病等药理活性, 其是否与槐角炒炭凉血止血的作用相一致有待进一步研究。

研究结果对整体评价槐角及其不同炮制品提供

了依据, 蜜炙槐角和槐角炭饮片没有一个确切的稳定合理的炮制工艺和质量指标, 饮片质量难以保证, 致使临床用药质量及制剂生产均受到直接影响, 因此, 有必要进行其饮片炮制规范化研究, 以提高和保证饮片质量, 使临床用药安全有效得到保证。

参考文献

- [1] 叶定江, 张世臣, 吴皓. 中药炮制学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [2] 张博雅, 周丽, 王凤荣, 等. 加压溶剂法提取槐角总异黄酮的研究 [J]. 中草药, 2012, 43(6): 1108-1111.
- [3] 王景华, 唐于平, 楼凤昌. 槐角化学成分与药理作用 [J]. 国外医药: 植物药分册, 2002, 17(2): 58-60.
- [4] 河南省食品药品监督管理局. 河南省中药饮片炮制规范 [M]. 郑州: 河南人民出版社, 2005.
- [5] 边清泉, 杨振萍, 刘家琴, 等. HPLC 同时测定槐角丸中生药槐角的 4 中有效成分 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(19): 1513-1515.
- [6] 边清泉, 杨振萍. RP-HPLC 测定槐角丸中槲皮素和染料木素的含量 [J]. 中成药, 2005, 27(7): 766-769.
- [7] 韦华梅, 王剑波. 中药槐角的研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2010, 6(3): 115-119.
- [8] 徐兴鼎, 杨育民, 马新华, 等. 槐角及其炮制品的芦丁含量和浸出物的测定 [J]. 中药通报, 1988, 13(5): 21-22.
- [9] 房敏峰, 曲欢欢, 文颂华, 等. 槐角不同炮制品中槐角苷的含量测定 [J]. 中药材, 2007, 30(1): 24-25.
- [10] 崔山凤. 槲皮素的研究进展 [J]. 西北药学杂志, 2006, 21(6): 280-281.
- [11] 余立华, 刘康, 仲英. 染料木素的药理作用 [J]. 药学与临床研究, 2010, 18(3): 299-302.