

· 化学与分析 ·

HPLC 测定栀子不同炮制品中栀子苷、 绿原酸和西红花苷-I 含量

孙娜¹, 徐钢¹, 赵远¹, 刘蓬蓬¹, 徐姗¹, 张凡^{1,2,3}, 贾天柱^{1,2,3*}

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600;

2. 辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600;

3. 国家中医药管理局中药炮制重点实验室, 辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的: 比较栀子不同炮制品水提取部位中栀子苷、绿原酸和西红花苷-I 含量的差异, 探索其炮制原理。方法: 按 2010 年版《中国药典》标准炮制工艺制备生栀子、炒栀子和焦栀子, 加水回流提取制备供试品溶液, 采用 HPLC-DAD 检测栀子苷、绿原酸和西红花苷-I 含量, 检测波长分别为 240, 330, 440 nm, 流动相甲醇-乙腈(9:1, A)-0.3% 甲酸水溶液(B) 梯度洗脱(0~15 min, 10%~30% A; 15~20 min, 30% A; 20~60 min, 30%~65% A; 60~65 min, 65% A; 65~75 min, 65%~10% A), 流速 0.8 mL·min⁻¹。结果: 生栀子、炒栀子和焦栀子中栀子苷、绿原酸和西红花苷-I 质量分数均依次降低, 栀子苷分别为 2.84%, 2.33%, 1.57%, 绿原酸依次为 0.13%, 0.09%, 0.04%, 西红花苷-I 分别为 0.18%, 0.16%, 0.11%。结论: 栀子不同炮制品水提部分主要药效成分—栀子苷、绿原酸和西红花苷-I 的含量存在差异, 推测这与其炮制后缓和苦寒之性、增强凉血止血功效相关。

[关键词] 栀子; 炮制品; 栀子苷; 绿原酸; 西红花苷-I

[中图分类号] R283.6; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)19-0050-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014190050

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140819.0922.008.html>

[网络出版时间] 2014-08-19 9:22

Determination on Contents of Geniposide, Chlorogenic Acid and Crocin-I from Different Processed Products of Gardeniae Fructus by HPLC

SUN Na¹, XU Gang¹, ZHAO Yuan¹, LIU Peng-peng¹, XU Shan¹, ZHANG Fan^{1,2,3}, JIA Tian-zhu^{1,2,3*}

(1. School of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Dalian 116600, China;

2. Chinese Materia Medica Processing Engineering Center of Liaoning Province, Dalian 116600, China;

3. Key Laboratory of Chinese Materia Medica Processing, State Administration of TCM
of the People's Republic of China, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To compare content differences of geniposide, chlorogenic acid and crocin-I from water extracts of different processed products of Gardeniae Fructus for exploring its processing principle. **Method:** Crude, stir-fired and stir-baked products of Gardeniae Fructus was prepared by standard processing technology in the 2010 edition of 'Chinese Pharmacopoeia', then extracted by heat reflux water-extraction, HPLC-DAD was employed to determine contents of geniposide, chlorogenic acid and crocin-I with detection wavelength of 240, 330, 440 nm, respectively; mobile phase of methanol-acetonitrile (9:1, A) and 0.3%

[收稿日期] 20140224(001)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201107007)

[第一作者] 孙娜, 在读硕士, 从事中药炮制工艺与原理研究, Tel: 15141174852, E-mail: 15141174852@163.com

[通讯作者] * 贾天柱, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制原理研究, Tel: 0411-85890135, E-mail: jiatzh@126.com

formic acid aqueous solution (B) for gradient elution (0-15 min, 10% -30% A; 15-20 min, 30% A; 20-60 min, 30% -65% A; 60-65 min, 65% A; 65-75 min, 65% -10% A) and flow rate of 0.8 mL·min⁻¹. **Result:** Contents of three ingredients from the crude, stir-fired and stir-baked products were reduced in turn; geniposide content were 2.84%, 2.33%, 1.57%; chlorogenic acid content were 0.13%, 0.09%, 0.04%; crocin-I content were 0.18%, 0.16%, 0.11%, respectively. **Conclusion:** Contents of main medicinal ingredients in water extracts of different processed products exist differences, speculating that it may be processing principle of easing properties of bitter-cold, enhancing cold-blood and hemostatic effect after processing.

[**Key words**] Gardeniae Fructus; processed products; geniposide; chlorogenic acid; crocin-I

2010年版《中国药典》记载的栀子炮制品包括生栀子、炒栀子和焦栀子,生栀子常用于温病高热、湿热黄疸等证,炒栀子和焦栀子多用于凉血止血^[1]。关于不同栀子炮制品的研究常将饮片直接粉碎后测定栀子苷含量,指标单一且缺乏其水提部分化学成分差异的比较。曹进等^[2]研究表明栀子水提部分中化学成分的稳定是控制该药材及其炮制品整体质量的关键,主要包括环烯醚萜苷、有机酸和西红花素3类有效成分。本实验拟建立一种以栀子苷、绿原酸、西红花苷-I作为含量测定指标的HPLC-DAD快速检测方法,用于比较不同栀子炮制品水溶性药效成分的差异,并结合相关文献以探析其炮制原理,为栀子的生熟异用^[3-4]提供实验依据。

1 材料

LC-20A型高效液相色谱仪(日本岛津公司),AE240型1/10万电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),FA1004B型电子天平(上海精密科学仪器有限公司)。

栀子药材购自安徽国鑫中药饮片有限公司,经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的成熟果实;取大小均等的原药材,除去杂质,碾碎,得生栀子;取生栀子用文火(140±10)℃加热8 min,炒至表面深黄色,即得炒栀子,炮制品收得率89.8%;取生栀子用中火(170±10)℃加热5 min,炒至表面焦褐色,即得焦栀子,炮制品收得率82.5%。西红花苷-I对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-12073006),栀子苷对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号 120805),绿原酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110753-200212),水为娃哈哈纯净水,乙腈、甲醇为色谱级,其他试剂均为分析纯。

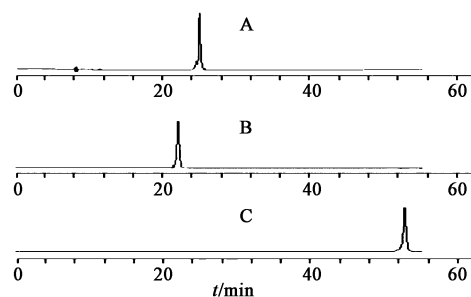
2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 分别精密称定栀子苷、绿原酸、西红花苷-I对照品9.50,8.20,12.60 mg,依

次置于50,1 000,500 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.2 供试品溶液的制备^[2] 将栀子样品粉碎,过65目筛,称取5.00 g,加水50 mL浸泡12 h,加热回流2次,每次1 h,合并滤液,加入95%乙醇使含醇量约60%,冷藏24 h后抽滤,滤液减压蒸馏回收乙醇,得澄清栀子提取液,置于约60℃水浴挥干,得棕红色浸膏,称定质量,取该浸膏0.02 g置25 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.3 色谱条件 Diamonsil™ C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-乙腈(9:1,A)-0.3%甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~15 min,10%~30%A;15~20 min,30%A;20~60 min,30%~65%A;60~65 min,65%A;65~75 min,65%~10%A),流速0.8 mL·min⁻¹,柱温35℃,进样量20 μL,栀子苷、绿原酸、西红花苷-I检测波长分别为240,330,440 nm。见图1,2。

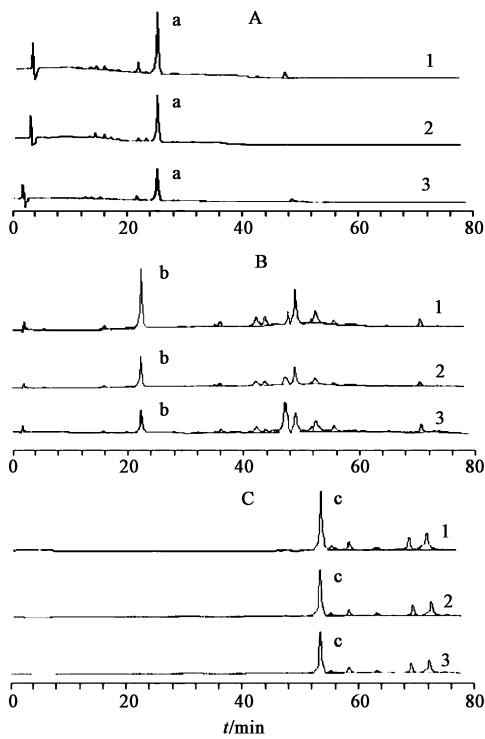


A. 栀子苷(240 nm);B. 绿原酸(330 nm);C. 西红花苷-I(440 nm)

图1 栀子中有效成分对照品 HPLC

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密吸取2.1项下各对照品溶液2,6,8,12,16,20 μL,按2.3项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得栀子苷、绿原酸及西红花苷-I的回归方程分别为 $Y = 1.677 \times 10^6 X + 84\ 063$ ($r = 0.999\ 6$), $Y = 2.639 \times 10^6 X + 5\ 473$ ($r = 0.999\ 7$), $Y = 5.467 \times 10^6 X +$



a. 栀子苷; b. 绿原酸; c. 西红花苷-I; 1. 生品; 2. 炒品; 3. 焦品
图 2 栀子不同炮制品中栀子苷(A, 240 nm)、绿原酸(B, 330 nm)及西红花苷-I(C, 440 nm) HPLC

32 524 ($r = 0.9997$), 线性范围依次为 0.380 0 ~ 3.800, 0.016 4 ~ 0.164, 0.050 4 ~ 0.504 μg 。

2.4.2 精密性、稳定性、重复性试验 精密吸取栀子苷对照品溶液 10 μL , 按 2.3 项下色谱条件重复进样 6 次, 计算峰面积 RSD 1.30%, 说明仪器精密性良好。取按 2.2 项下栀子生品、炒品、焦品的供试品溶液, 室温自然放置, 分别在 0, 3, 6, 9, 12, 24 h 按 2.3 项下色谱条件测定, 计算峰面积 RSD 分别为 1.08%, 1.00%, 1.04%, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定。精密称取栀子生品 6 份, 每份 2 g, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3 项下色谱条件测定, 计算峰面积 RSD 1.40%, 说明该方法重复性良好。

2.4.3 加样回收率试验 精密称定栀子生品粉末 0.50 g, 共 6 份, 分别精密加入栀子苷对照品 14.2 mg; 另精密称定栀子生品粉末 2.50 g, 共 6 份, 各精密加入绿原酸、西红花苷-I 对照品 3.25, 4.58 mg, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3 项下色谱条件测定, 计算加样回收率分别为 102.7%, 101.2%, 100.5%, RSD 均 < 3%, 说明该方法符合相关规定。

2.4.4 样品测定 取 5 批不同批号的栀子药材制成生栀子、炒栀子和焦栀子, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3 项下色谱条件测定, 记录栀子苷、

绿原酸、西红花苷-I 峰面积, 计算各成分含量, 结果见表 1。

表 1 不同批次栀子炮制品中 3 种指标成分的含量测定 ($n = 5$)

批次	样品	栀子苷/%	绿原酸/%	西红花苷-I/%
1	生品	2.77	0.14	0.18
	炒品	2.18	0.09	0.16
	焦品	1.48	0.04	0.11
2	生品	2.94	0.13	0.17
	炒品	2.34	0.09	0.15
	焦品	1.62	0.04	0.09
3	生品	2.81	0.13	0.18
	炒品	2.22	0.09	0.16
	焦品	1.53	0.03	0.11
4	生品	2.88	0.12	0.20
	炒品	2.51	0.08	0.17
	焦品	1.69	0.03	0.11
5	生品	2.82	0.14	0.19
	炒品	2.38	0.09	0.16
	焦品	1.54	0.05	0.12

3 讨论

西红花苷是一种水溶性胡萝卜素类化合物西红花酸与不同糖结合而成的系列酯苷, 西红花苷-I 是栀子中该苷类化合物的主成分, 含量较高而稳定, 约 75%, 故选择西红花苷-I 为指标成分^[5]。西红花苷具有抗炎、镇痛、降压等作用, 炮制后西红花苷含量降低, 西红花酸含量有所升高, 故栀子炮制品的抗炎、镇痛、降压作用减弱, 提示此方面临床需求应选择生品。

栀子炮制后水溶性成分降低, 原因可能是小火炒制栀子时促进了 β -葡萄糖苷酶水解栀子苷的苷键^[6], 导致栀子苷含量降低; 焦栀子加热时间长且温度高, 可能破坏了栀子苷结构, 导致栀子苷含量剧减。绿原酸为一种苯丙素类化合物, 分子结构中有酯键、不饱和双键及多元酚, 邻二酚羟基在加热过程中易氧化分解, 说明加热程度的不同会引起 3 种炮制品中绿原酸含量差异明显^[7]。西红花素在加热中可转化为西红花酸^[8], 故 3 种炮制品中西红花素含量依次下降。

传统炮制理论认为栀子炮制后寒性降低, 而本文结果显示栀子炮制后水溶性成分含量降低, 从物质守恒真理角度推测水溶性成分为其寒性物质基础。栀子苷、绿原酸均具有一定解热作用^[9-10], 栀子苷、绿原酸、西红花苷-I 均具有抗炎作用^[9-12], 而炎

泰国大风子挥发性成分 GC-MS 分析

陆宽¹, 黎明², 李凤², 崔伟¹, 王巧荣³, 刘建华^{4*}

(1. 贵州省生物技术研究开发基地, 贵阳 550002; 2. 贵州省科晖制药厂, 贵州 清镇 551400;
3. 贵州大学, 贵阳 550025; 4. 贵州省中科院天然产物化学重点实验室, 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 分析泰国大风子的挥发性成分, 为泰国大风子的开发利用提供实验依据。方法: 利用水蒸气蒸馏法提取泰国大风子挥发油, 采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术对挥发油进行分析, HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane 弹性石英毛细管柱(0.25 $\mu\text{m} \times 250 \mu\text{m} \times 30 \text{m}$), 进样量 1 μL , 气化室温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 柱温 50 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min, 然后以 4 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 230 $^{\circ}\text{C}$, 保持 20 min, 柱前压 15.08 psi, 载气流量 2.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 载气为高纯度氦气(99.999%), 分流比 40:1。结果: 共分离出 63 个化学成分, 对其中 49 个化学成分进行了鉴别, 占挥发油总量的 93.48%。其主要成分为 1,8-桉树油(17.28%), 茴香烯(9.28%), 异硫氰酸丙酯(7.76%), 双环[7.1.0]癸烷(4.73%), 丹皮酚(3.25%)。结论: 本文采用气相色谱-质谱联用法对泰国大风子的挥发性成分进行研究, 为该植物的深度开发提供参考。

[关键词] 泰国大风子; 水蒸气蒸馏; 气相色谱-质谱联用; 挥发油

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)19-0053-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014190053

[收稿日期] 20140121(008)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划)(2012CB722601)

[第一作者] 陆宽, 硕士, 助理研究员, 从事食品科学研究, Tel:13511920014, E-mail:wukong4608@163.com

[通讯作者] *刘建华, 本科, 研究员, 从事中药新药研究, Tel:0851-5792246, E-mail:khliujh@163.com

症反应往往伴随着发热症状, 这些均可理解为三者具有一定“寒性”作用提供参考, 故可将梔子中水溶性成分看作其炮制过程中“缓寒性”变化的物质基础。炒梔子和焦梔子可缓和苦寒之性, 产生了新的功效, 临床上多用于凉血止血, 这可能与炮制后鞣质和西红花酸含量增加^[13], 梔子苷、绿原酸和西红花苷类化合物含量降低相关。由试验结果结合相关文献研究^[6-13]可知, 梔子炮制原理可归结为“减苷酯, 缓寒性, 增鞣质, 强止血”。

[参考文献]

[1] 贾天柱. 中药炮制学[M]. 2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2013: 98.
[2] 曹进, 徐燕, 张永知, 等. 梔子药材的指纹图谱整体性分析[J]. 分析化学, 2004, 32(7): 875.
[3] 贾天柱. 中药生熟浅析[J]. 中成药, 1987(4): 17.
[4] 贾天柱. 再论中药生熟的变化与作用[J]. 2006, 28(7): 984.
[5] 刘璇, 钱之玉, 付健. 西红花苷-I 的高效液相色谱测定[J]. 中国医科大学学报, 1996, 27(12): 734.

[6] Yang Y S, Zhang T, Yu S C, et al. Transformation of geniposide into genipin by immobilized β -glucosidase in a two-phase aqueous-organic system [J]. Molecules, 2011, 16(5): 4295.
[7] 刘军海, 裘爱泳. 绿原酸及其提取纯化和应用前景[J]. 粮食与油脂, 2003(9): 44.
[8] Hong Y J, Yang K S. Anti-inflammatory activities of crocetin derivatives from processed *Gardenia jasminoides* [J]. Arch Pharm Res, 2013, 36(8): 933.
[9] 那莎, 郭国田, 王宗殿, 等. 梔子及其有效成分药理研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(1): 90.
[10] 乌兰, 张泽生. 金银花中绿原酸的提取及检测[J]. 食品科学, 2005, 26(6): 130.
[11] 史卉妍, 何鑫, 欧阳冬生, 等. 京尼平苷及其衍生物的药效学研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(1): 4.
[12] 孙创斌, 刘艳霞, 刘国清, 等. 西红花苷的药理研究进展[J]. 西南国防医药, 2011, 21(8): 914.
[13] 李慧芬, 张学兰. 炒制温度和时间对梔子中梔子苷、绿原酸和鞣质含量的影响[J]. 食品与药品, 2007, 9(5): 7.

[责任编辑 刘德文]