

关于2010年版《中国药典》栀子药材含量 测定指标选择的商榷

付小梅^{1*}, 吴建华¹, 刘婧¹, 吴志瑰¹, 裴建国¹, 罗光明¹, 孙艳朝¹, 伍国芳¹, 王峥涛^{2,3}

(1. 江西中医药大学药学院, 南昌 330004;

2. 上海中医药大学中药研究所, 中药标准化教育部重点实验室, 上海 201203;

3. 中国药科大学中药学院, 南京 210009)

[摘要] 目的:完善栀子药材的HPLC质量控制指标。方法:采用Agilent Zorbax SB-C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.2%磷酸溶液(B)梯度洗脱(0~15 min, 6%~16% A; 15~22 min, 16%~21% A; 22~34 min, 21%~24% A; 34~50 min, 24%~42% A),京尼平苷、西红花苷-1的检测波长分别为238, 440 nm。结果:不同产地栀子中京尼平苷质量分数23.025~53.693 mg·g⁻¹,均符合2010年版《中国药典》≥1.8%的规定;其中2批栀子的外观颜色为灰棕色、棕黄色,西红花苷-1的含量极低,分别为1.963, 3.434 mg·g⁻¹,应为不合格药材。结论:仅以京尼平苷作为栀子药材的质量控制指标不够合理,建议增加西红花苷-1的含量测定,为新版《中国药典》的修订提供参考。

[关键词] 栀子; 京尼平苷; 西红花苷-1; 外观颜色

[中图分类号] R282.71; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0094-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240094

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141106.1354.002.html>

[网络出版时间] 2014-11-06 13:54

Discussion on Quality Marker of Gardeniae Fructus in 2010 Edition of “Chinese Pharmacopoeia”

FU Xiao-mei^{1*}, WU Jian-hua¹, LIU Jing¹, WU Zhi-gui¹, PEI Jian-guo¹,
LUO Guang-ming¹, SUN Yan-chao¹, WU Guo-fang¹, WANG Zheng-tao^{2,3}

(1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China;

2. Key Laboratory of Standardization of Chinese Medicines, Ministry of Education, Institute of Chinese Medicine, Shanghai University of TCM, Shanghai 201203, China;

3. School of TCM, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective:** To improve HPLC for quality control of Gardeniae Fructus. **Method:** HPLC system consisted of a Agilent Zorbax SB-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) and mobile phase of acetonitrile (A) -0.2% phosphoric acid (B) with gradient elution (0-15 min, 6%-16% A; 15-22 min, 16%-21% A; 22-34 min, 21%-24% A; 34-50 min, 24%-42% A), monitoring wavelength was set at 238, 440 nm for geniposide and crocin-1, respectively. **Result:** The content of geniposide in Gardeniae Fructus collected from different areas ranged from 23.025-53.693 mg·g⁻¹, this result conformed to requirements (no less than 1.8%) in 2010 edition of “Chinese Pharmacopoeia”; but the content of crocin-1 in two samples (1.963, 3.434 mg·g⁻¹) were lower than others, color of these two samples were gray-brown and brown-yellow, them should be substandard medicine.

[收稿日期] 20140513(021)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81360620);江西省卫生厅中医药科研项目(2012A023, 2013A049);大学生创新创业教育计划项目(201310412012)

[通讯作者] *付小梅, 博士, 副教授, 从事中药品质评价研究, Tel:0791-87118997, E-mail: smilefxm@163.com

Conclusion: The content of geniposide as only standard for quality control of *Gardeniae Fructus* is not rational, the content of crocin-1 should be also taken into consideration. This paper may be useful for editing the new edition of 'Chinese Pharmacopoeia'.

[Key words] *Gardeniae Fructus*; geniposide; crocin-1; appearance color

栀子始载于《神农本草经》^[1],是《中国药典》各版收载的品种,具有泻火除烦、清热利尿、凉血解毒等功效^[2]。目前已从栀子中分离得到环烯醚萜成分50余个,质量分数4.46%~7.48%,其中京尼平苷占2.30%~5.37%;分离得到西红花苷类成分10余个(质量分数0.26%~1.31%),其中西红花苷-1占0.20%~1.10%。现代药理研究表明京尼平苷具有利胆、抗氧化、防治动脉粥样硬化及血栓等作用,西红花苷-1具有抗氧化、抗癌、防治动脉粥样硬化等作用,说明二者均为栀子中最主要的有效成分^[3-9]。

谢英明^[10]研究发现西红花苷类成分的生成始于栀子果实第8周,10周后含量急剧增加,持续到果实完全成熟,故从西红花苷类成分含量考虑,采摘红熟的果实为宜,提示“色红”即为栀子中西红花苷类成分的外观性状指示。在道地产区樟树,一般在霜降后栀子果实变红时才进行采收,所产的栀子果皮薄,色红,饱满,品质优良而被称为小红栀,“色红”是江西道地药材栀子的重要特征,说明西红花苷类成分为栀子品质优良的重要指标。各版《中国药典》均仅以京尼平苷成分作为栀子质量控制的指标成分,不能完全反映栀子的品质优劣,建议增加西红花苷-1的含量测定。本实验采用HPLC建立了同时测定18批栀子中京尼平苷和西红花苷-1含量的测定方法,该方法操作简单、灵敏、科学,为新版《中国药典》的修订提供参考。

1 材料

1100系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),BP211D型电子天平(德国赛多利斯集团),Milli-Q型超纯水仪(美国密理博公司)。京尼平苷、西红花苷-1对照品(自制,经HPLC测定纯度均>98%),乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。18批栀子药材经江西中医药大学范崔生教授鉴定为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实,具体信息见表1,将样品60℃烘干后,粉碎,过40目筛,备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-0.2%

表1 不同产地18批栀子药材的信息及含量测定($\bar{x} \pm s, n=3$)
/mg·g⁻¹

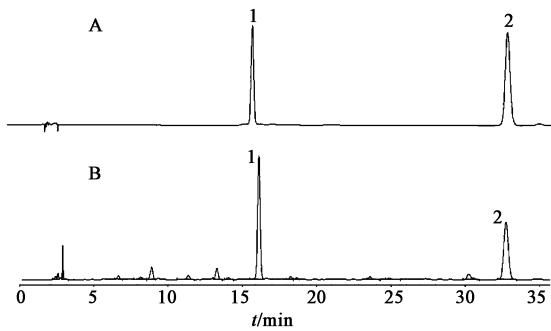
No.	来源	批号	京尼平苷	西红花苷-1
Z01	上海华宇药业	20070521	28.357 ± 0.291	1.963 ± 0.061
Z02	北京	20071120	39.708 ± 0.436	10.633 ± 0.257
Z03	江西樟树	20061222	53.693 ± 0.608	5.063 ± 0.091
Z04	江西樟树	20071230	45.436 ± 0.513	5.158 ± 0.132
Z05	山西	20071202	33.791 ± 0.619	8.850 ± 0.029
Z06	杭州惠远	20071221	45.296 ± 0.648	10.247 ± 0.109
Z07	湖南长沙	20071214	28.324 ± 0.903	7.111 ± 0.374
Z08	江西临川	20071204	38.871 ± 0.239	9.247 ± 0.035
Z09	南京先声药业	20071203	23.025 ± 0.213	6.392 ± 0.104
Z10	湖北武汉	20071121	34.755 ± 0.008	7.418 ± 0.004
Z11	河南信阳	20071201	40.728 ± 0.359	3.434 ± 0.005
Z12	广西横县	20071129	38.906 ± 0.014	7.495 ± 0.062
Z13	南昌湾里	20071201	32.858 ± 0.205	8.967 ± 0.222
Z14	广东广州	20071207	46.873 ± 0.781	4.792 ± 0.036
Z15	福建浦田	20071120	34.949 ± 1.721	7.108 ± 0.185
Z16	山东	20071201	42.763 ± 0.517	6.753 ± 0.044
Z17	上海养和堂药店	20071206	40.015 ± 0.842	6.313 ± 0.491
Z18	安徽亳州	20071209	46.149 ± 0.127	4.541 ± 0.459

磷酸溶液(B)梯度洗脱(0~15 min,6%~16% A;15~22 min,16%~21% A;22~34 min,21%~24% A;34~50 min,24%~42% A),流速1.0 mL·min⁻¹,进样量5 μL,柱温30℃,DAD检测器采集范围195~700 nm,京尼平苷、西红花苷-1的检测波长分别为238,440 nm,见图1。

2.2 供试品溶液的制备 精密称取栀子药材粉末(过40目筛)0.40 g,置100 mL离心管中,精密加入70%乙醇25 mL,称重,超声(25℃)30 min,放冷,用70%乙醇补足减失的质量,于3 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液,即得。

2.3 对照品溶液的制备 分别精密称取京尼平苷、西红花苷-1对照品9.740,4.880 mg,置同一10 mL量瓶中,加适量70%乙醇超声使溶解并稀释至刻度,即得。

2.4 线性关系考察 精密吸取2.3项下对照品溶



A. 对照品; B. 供试品; 1. 京尼平苷酸; 2. 西红花苷-1

图 1 栀子 HPLC

液适量,分别制成含京尼平苷 9.74, 19.48, 38.96, 97.40, 974 mg·L⁻¹, 相应含西红花苷-1 4.88, 9.76, 19.52, 48.80, 488 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液。按 2.1 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得京尼平苷和西红花苷-1 的回归方程分别为 $Y = 14.026X + 1.3303$ ($r = 0.9999$), $Y = 50.245X - 20.261$ ($r = 0.9999$), 线性范围分别为 9.74 ~ 974, 4.88 ~ 488 mg·L⁻¹。同时以仪器的信噪比 S/N 测定最低检测限 (LOD) 和最低定量限 (LOQ), 当 S/N = 3 时,京尼平苷、西红花苷-1 的 LOD 分别为 0.02, 0.07 mg·L⁻¹, 当 S/N = 10 时,二者的 LOQ 分别为 0.07, 0.23 mg·L⁻¹。

2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 5 μL,按 2.1 项下色谱条件连续进样 5 次,计算京尼平苷和西红花苷-1 峰面积的 RSD 分别为 0.1%, 0.04%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一份样品,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,分别于 0, 1, 3, 5, 12, 24 h 按 2.1 项下色谱条件测定,计算京尼平苷和西红花苷-1 峰面积的 RSD 分别为 0.7%, 0.3%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批次样品 5 份,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,计算京尼平苷和西红花苷-1 峰面积的 RSD 分别为 1.3%, 1.7%, 表明该方法重复性良好。

2.8 回收率试验 精密称取 Z06 号样品粉末 0.20 g, 共 9 份,分别按 50%, 100%, 150% 精密加入京尼平苷、西红花苷-1 对照品适量,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,计算回收率,结果见表 2,表明该方法准确可靠。

2.9 样品测定 精密称取药材粉末各 0.40 g,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,见表 1。结果表明 18 批栀子的京尼平苷质

表 2 栀子中指标成分含量测定的加样回收率试验

成分	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%
京尼平苷	2.307	1.02	3.280	95.39	98.63
	2.314	1.16	3.459	98.71	
	2.300	1.07	3.317	95.05	
	2.330	2.46	4.830	101.63	
	2.328	2.33	4.602	97.60	
	2.309	2.23	4.473	97.04	
	2.367	3.58	6.057	103.07	
	2.383	3.40	5.786	100.09	
	2.383	3.40	5.752	99.09	
	西红花苷-1	0.642	0.40	1.055	103.25
0.644		0.40	1.055	102.75	
0.640		0.40	1.029	97.25	
0.648		0.80	1.460	101.50	
0.648		0.80	1.434	98.25	
0.643		0.80	1.449	100.75	
0.659		0.97	1.609	97.94	
0.663		0.96	1.577	95.21	
0.663		0.93	1.577	98.28	

注:RSD 均为 2.7%。

量分数 2.30% ~ 5.37%, 均达到了 2010 年版《中国药典》的规定 ($\geq 1.8\%$); 但各批药材中西红花苷-1 的含量差异极大 (0.20% ~ 1.02%)。

3 讨论

京尼平苷和西红花苷-1 均为栀子中主要有效成分,两者均为极性成分,故采用 70% 乙醇进行提取。京尼平苷和西红花苷-1 在线紫外光谱图显示二者的最大吸收波长分别为 238, 440 nm; 检测波长差异非常大,分别属于紫外区和可见区,一般无法同时在一张色谱图上表征。本文利用 HPLC 的可变波长功能将两类成分在一张色谱图上同时进行表征,该测定方法简单、合理、有效,可作为栀子药材的质量控制方法。

栀子 Z02, Z06 的外观颜色为棕红色,这 2 批药材中西红花苷-1 含量最高,分别为 1.06% 和 1.02%; 但 Z01, Z11 栀子的外观颜色分别为灰棕色、棕黄色,西红花苷-1 含量极低,分别为 1.963, 3.434 mg·g⁻¹。表明栀子中西红花苷类成分与其表面颜色成正相关,西红花苷类成分越高,栀子表面颜色越红。

肖永庆等^[11-12]测定了不同栀子饮片中京尼平苷、西红花苷-1的含量,结果表明焦栀子中京尼平苷质量分数2.62%~3.50%,仍符合2010年版《中国药典》不得少于1.8%的规定,但西红花苷-1质量分数0.00%~0.19%,这与焦栀子的表面颜色为焦褐色或焦黑色是相符的。因此各版《中国药典》仅以京尼平苷作为栀子药材质量控制的指标,根本不能区分生栀子与焦栀子,且不能反映栀子的表面颜色和品质优劣。

前期研究发现西红花苷-1对温度、自然光、紫外光及pH均比较敏感,尤其温度的影响最大,在低温40℃条件下,半衰期仅7.34h,西红花苷-1的颜色由红色较快变为淡黄色,甚至褪色^[13]。推测这也是《中国药典》规定西红花药材(主要含西红花苷-1)必须低温密闭贮藏的原因。因此栀子中西红花苷-1在加工、炮制、运输、贮藏等方面极可能因其化学性质不稳定而致使含量变化差异极大。

综上考虑,仅以京尼平苷作为栀子药材的质量控制指标不够合理,建议增加西红花苷-1的含量测定,以确保栀子药材的质量及疗效。根据表1的样品测定结果,建议栀子中京尼平苷的含量标准与2010年版《中国药典》一致($\geq 1.8\%$),西红花苷-1含量暂定 $\geq 0.36\%$ 。

[参考文献]

- [1] 孙星衍,孙冯翼.神农本草经.卷二[M].北京:人民卫生出版社,1982:79.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北

京:中国医药科技出版社,2010:231.

- [3] 付小梅,彭水梅,刘婧,等. HPLC法同时测定栀子类药材中10个主要有效成分的含量[J]. 药物分析杂志,2014,34(4):54.
- [4] 徐燕,曹进,王义明,等. 多波长高效液相色谱法同时测定栀子中的三类成分[J]. 药学学报,2003,38(7):543.
- [5] 刘瑛. RP-HPLC法测定栀子中西红花苷-1和西红花总苷含量[J]. 中国民族民间医药,2007(6):337.
- [6] Shinji S, Takashi O, Lounggratana P, et al. Crocin suppresses tumor necrosis factor- α -induced cell death of neuronally differentiated PC-12 cells[J]. Life Sci,2001,69(24):2887.
- [7] 彭婕,钱之玉,刘同征,等. 京尼平苷和西红花酸保肝利胆作用的比较[J]. 中国新药杂志,2003,12(2):205.
- [8] 吴虹,魏伟,宋礼华. 栀子总苷的抗炎镇痛作用研究[J]. 中国中医药信息杂志,2006,13(7):31.
- [9] 林蔚,潘竞镛,吕俊华,等. 栀子抑制小鼠S₁(180)和肝癌及促进小鼠肝癌细胞凋亡作用[J]. 中国医疗前沿,2007,2(8):4.
- [10] 谢英明. 山栀果实的发育及其成分含量的变化[J]. 中药材,1982(4):47.
- [11] 张村,肖永庆,李丽,等. 栀子不同饮片环烯醚萜苷类成分比较研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(10):1138.
- [12] 张村,肖永庆,李丽,等. 不同栀子饮片二萜色素类成分比较研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(21):2470.
- [13] 付小梅,王峥涛. 西红花苷-1的稳定性研究[J]. 食品科学,2012,33(5):71.

[责任编辑 刘德文]