

· 药剂与炮制 ·

## 栀子樟帮法炮制前后的化学成分变化

刘婧, 付小梅\*, 吴建华, 黄潇, 关志宇, 裴建国, 刘德鸿

(江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

**[摘要]** 目的:通过指纹图谱研究栀子经樟帮法炮制前后的化学成分变化,比较其中 5 种主要活性成分(京尼平苷,京尼平-1- $\beta$ -D-龙胆双糖苷,西红花苷-I,西红花苷-II,西红花苷-III)的含量差异。**方法:**采用 Hypersil ODS C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m),流动相乙腈-0.2% 磷酸水溶液梯度洗脱,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 5  $\mu$ L,柱温 30  $^{\circ}$ C, DAD 检测器采集范围 195 ~ 700 nm,检测波长 238 nm 和 440 nm。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 A 版)进行指纹图谱比较。**结果:**与生栀子相比,栀子炮制品中 5 种指标成分的含量均有不同程度的变化,且产生 1 个新的色谱峰。**结论:**栀子樟帮法炮制前后化学成分的改变很有可能是导致药效和药性发生改变的物质基础。

**[关键词]** 栀子; 樟帮炮制品; 高效液相色谱法; 化学成分

**[中图分类号]** R283.3; R943.1; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)02-0001-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016020001

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20151210.1434.004.html>

**[网络出版时间]** 2015-12-10 14:34

### Comparison of Chemical Composition Change in Gardeniae Fructus Before and After Being Processed with Zhangband Method

LIU Jing, FU Xiao-mei\*, WU Jian-hua, HUANG Xiao, GUAN Zhi-yu, PEI Jian-guo, LIU De-hong  
(School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare chemical composition change in Gardeniae Fructus before and after being processed by fingerprint, and compare content difference of five constituents (geniposide, genipin-1- $\beta$ -D-gentiobioside, crocin-I, crocin-II, crocin-III) in Gardeniae Fructus. **Method:** HPLC separation of five constituents was performed on Hypersil ODS C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m) with mobile phase of acetonitrile-water (containing 0.2% phosphoric acid) for gradient elution, a flow-rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, injection volume of 5  $\mu$ L, column temperature at 30  $^{\circ}$ C and detection wavelenghtes of 238, 440 nm. Chromatograms of 30 batches of samples were compared by software of *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine* (version 2004A). **Result:** Compared with raw products of Gardeniae Fructus, five constituents in processed products were all changed in varying degrees, and one new chromatographic peak were found after processed. **Conclusion:** Before and after being processed, Chemical composition change in Gardeniae Fructus may be major elements to affect its efficacy and drug properties.

**[Key words]** Gardeniae Fructus; processed products with Zhangband; HPLC; chemical composition

**[收稿日期]** 20150526(005)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81360620);大学生创新创业教育计划项目(201310412012);江西省卫生厅中医药科研项目(2013A049,2015A040,2015A051);江西省研究生创新专项(YC2014-S291);江西省学位与研究生教育教学改革项目(JXYJG-2012-080);江西中医药大学科研基金项目(2012ZR028,2012ZR057,ZX1012,2013jzdxk046)

**[第一作者]** 刘婧,硕士,讲师,从事中药有效成分研究,Tel:0791-87118645,E-mail:liujing860828@163.com

**[通讯作者]** \*付小梅,博士,副教授,从事中药品质评价研究,Tel:0791-87118983,E-mail:smilefxm@163.com

梔子为常用清热药之一,具有泻火除烦、清热利尿、凉血解毒的功能。梔子炮制品众多,常用的炮制品主要有炒梔子、焦梔子、梔子炭等。樟帮炮制法<sup>[1]</sup>作为中国十三大药帮和主要流派之一,在中药炮制进程中具有重要地位,目前江西省内梔子炮制品多采用樟帮法炮制。樟帮炮制法从炮制工具到工艺方面都具有独特特点,而“去皮壳取梔仁”是作为梔子樟帮法炮制的重要特点。目前多数文献是以研究樟帮梔子炮制工艺及其饮片为主<sup>[2-4]</sup>,经樟帮法炮制后化学成分的变化却无相关研究,但这些化学成分的改变很有可能是梔子炮制品药效和药性发生变化的物质基础。本实验通过指纹图谱比较梔子樟帮法炮制前后的化学成分变化,以梔子中 5 个主要活性成分为研究对象,从化学成分角度研究梔子樟帮炮制原理,为探索樟帮法梔子炮制品的质量控制提供依据。

## 1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),BS224S 型电子天平(德国赛多利斯公司),5418 型离心机(美国 Eppendorf 公司)。京尼平-1- $\beta$ -D-龙胆双糖苷、京尼平苷和西红花苷-I,西红花苷-II,西红花苷-III 对照品均为自制,经<sup>1</sup>H-NMR,<sup>13</sup>C-NMR,MS 鉴定结构,经 HPLC 按面积归一化法测定纯度均 >98%;甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。从梔子的道地产区江西及主产区四川、福建等地收购和采集了 10 批梔子果实,经江西中医药大学范崔生教授鉴定为茜草科植物梔子 *Gardenia jasminoides* 的干燥成熟果实;每个产地的样品由江中药业股份有限公司按照《樟树中药炮制全书》分别炮制制成焦梔子、梔子炭。

## 2 方法和结果

**2.1 色谱条件** 依利特 C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m),流动相乙腈(A)-0.2% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 10 min, 6% A; 10 ~ 18 min, 6% ~ 12% A; 18 ~ 22 min, 12% ~ 16% A; 22 ~ 28 min, 16% ~ 20% A; 28 ~ 40 min, 20% A; 40 ~ 60 min, 20% ~ 36% A; 60 ~ 65 min, 36% ~ 55% A),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 5  $\mu$ L,柱温 30  $^{\circ}$ C, DAD 检测器采集范围 195 ~ 700 nm,检测波长 238 nm 和 440 nm。

**2.2 供试品溶液的制备** 将生梔子及其炮制品分别粉碎,过 40 目筛,精密称取各粉末 0.1 g,置于 100 mL 锥形瓶中,加入 50% 甲醇 20 mL,称定质量,25  $^{\circ}$ C 超声 30 min,放冷,用 50% 甲醇补足缺失的质量,于 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min,取上清液,即得。

**2.3 混合对照品溶液的制备** 精密称量对照品京尼平-1- $\beta$ -D-龙胆双糖苷,京尼平苷,西红花苷-I,西红花苷-II,西红花苷-III 适量,置于同一量瓶中,加甲醇稀释,得质量浓度分别为 0.134, 0.810, 0.026 4, 0.020, 0.024 g·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

## 2.4 方法学考察

**2.4.1 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,分别在 238, 440 nm 以京尼平苷峰和西红花苷-II 为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 分别 <0.9% 和 <2.0%,表明仪器精密度良好。

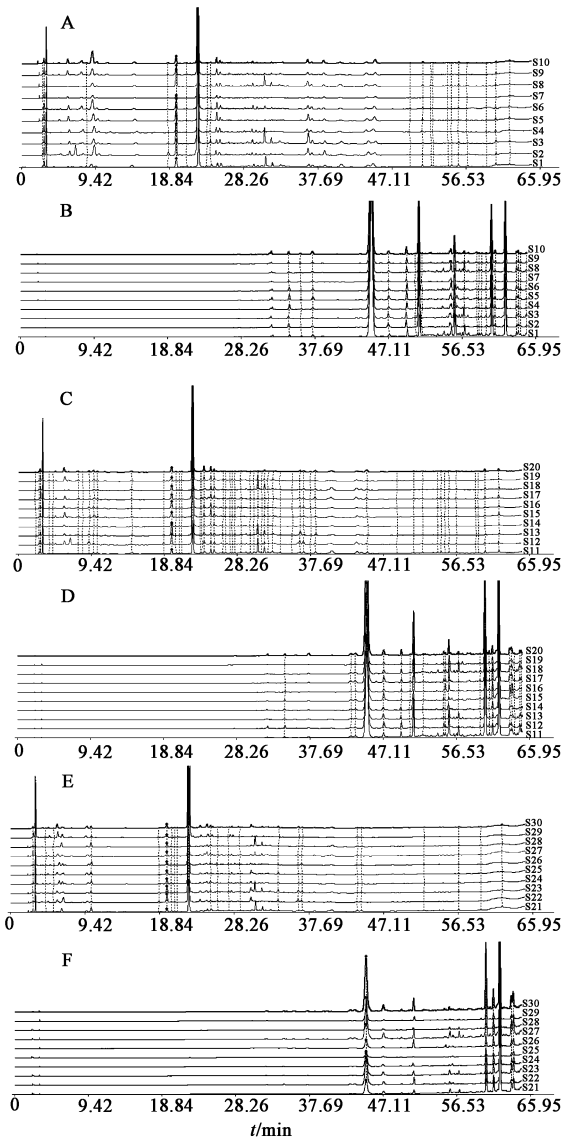
**2.4.2 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液,分别在 0, 4, 8, 12, 24, 36 h 按 2.1 项下色谱条件测定,结果各共有峰相对保留时间的 RSD <0.5%,相对峰面积的 RSD <4.0%,说明供试品溶液在 36 h 内稳定性良好。

**2.4.3 重复性试验** 按照 2.2 项下方法平行制备供试品溶液 6 份,依 2.1 项下色谱条件测定,结果各共有峰相对保留时间的 RSD <2.0%,相对峰面积的 RSD <4.0%,说明该方法重复性好。

## 2.5 樟帮梔子炮制品指纹图谱的测定

**2.5.1 指纹图谱建立及参照峰的选择** 精密称取不同产地生梔子及其樟帮法炮制品各 0.1 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,记录不同产地生梔子及其樟帮法炮制品的色谱图,将其导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 A 版),采用多点校正后进行自动匹配,得生梔子及其樟帮法炮制品的指纹图谱,见图 1。结果显示京尼平-1- $\beta$ -D-龙胆双糖苷和西红花苷-I 分别在 238, 440 nm 下峰面积较大,分离较好,出峰时间稳定,故选择京尼平-1- $\beta$ -D-龙胆双糖苷作为 238 nm 下指纹图谱的参照峰,而西红花苷-I 作为 440 nm 下指纹图谱的参照峰,二者的峰号分别为 7 和 22。

**2.5.2 指纹图谱比较** 为了消除产地对梔子成分的影响,以 10 批生梔子的共有峰作为参照(共 28 个共有峰),比较樟帮法炮制前后化学成分变化。结果显示生梔子及其炮制品共有峰 11 个,分别为峰 1, 5, 7, 8, 16, 17, 22, 23, 25, 27, 28, 见图 2。与生品相比,焦梔子和梔子炭的部分色谱峰消失,焦梔子消失的色谱峰峰号为 2, 3, 4, 21;梔子炭消失的色谱峰峰号为 2, 3, 4, 6, 12, 13, 15, 21, 23, 24。与生品相比,随着温度的升高,焦梔子和梔子炭中共有峰的峰面积均呈现下降趋势。但这 2 种炮制品都产生了 1 个新色谱峰 29,这很可能是某些成分在炮制过程中



A. 生栀子 (238 nm); B. 生栀子 (440 nm); C. 焦栀子 (238 nm); D. 焦栀子 (440 nm); E. 栀子炭 (238 nm); F. 栀子炭 (440 nm)

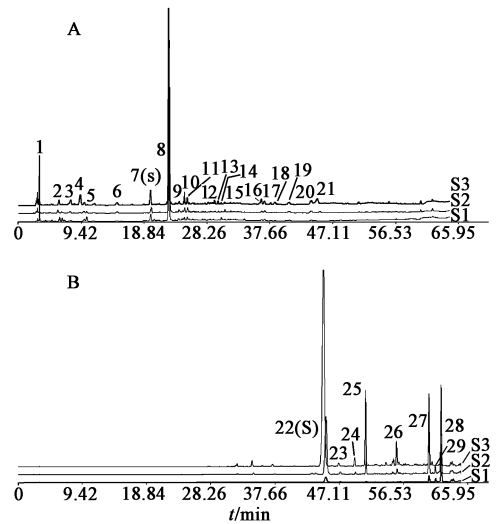
图 1 樟帮法栀子炮制前后的指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of *Gardeniae Fructus* before and after being processed by Zhangbang method

发生转化而产生。

## 2.6 指标性成分含量测定的方法学考察

**2.6.1 线性关系考察** 分别精密吸取混合对照品溶液 0.500, 0.625, 0.833, 1.250, 2.500, 5.000 mL 至 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 按 2.1 项下条件测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷, 京尼平苷, 西红花苷-I, 西红花苷-II, 西红花苷-III 回归方程分别为  $Y = 3\,234.5X - 0.388$  ( $R^2 = 0.999\,8$ ),  $Y = 6\,846.5X - 2.868$  ( $R^2 = 0.999\,8$ ),  $Y = 30\,561X - 0.120$  ( $R^2 = 0.999\,8$ ),  $Y = 28\,136X - 0.875$  ( $R^2 = 0.999\,9$ ),  $Y =$



A. 波长 238 nm; B. 波长 440 nm; S1. 栀子炭, S2. 焦栀子, S3. 生栀子  
图 2 同一产地栀子不同炮制品的 HPLC-DAD

Fig. 2 Chromatograms of different processed products of *Gardeniae Fructus* from the same origin

$29\,135X - 1.474$  ( $R^2 = 0.999\,9$ ), 线性范围依次为 0.013 4 ~ 0.134, 0.081 ~ 0.810, 0.002 64 ~ 0.026 4, 0.002 ~ 0.02, 0.002 4 ~ 0.024  $g \cdot L^{-1}$ 。

**2.6.2 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液, 按照 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 得京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷, 京尼平苷, 西红花苷-I, 西红花苷-II, 西红花苷-III 峰面积的 RSD 分别为 0.9%, 0.2%, 0.2%, 0.3%, 0.1%, 表明仪器精密性能良好。

**2.6.3 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液, 分别在 0, 1, 3, 5, 12, 24 h 按 2.1 项下色谱条件测定, 得各成分峰面积的 RSD 均 < 2.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.6.4 重复性试验** 按 2.2 项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 依 2.1 项下色谱条件测定, 计算京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷, 京尼平苷, 西红花苷-I, 西红花苷-II 和西红花苷-III 的平均质量浓度分别为 15.09, 134.39, 10.31, 4.97, 7.02  $mg \cdot L^{-1}$ , RSD 均 < 3.0%, 表明该方法重复性良好。

**2.6.5 回收率试验** 精密称定 9 份栀子样品粉末各 0.1 g, 分别按 80%, 100%, 120% 精密加入上述 5 个对照品适量。按 2.2 项下方法平行制备供试品溶液, 依 2.1 项下色谱条件测定, 计算京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷, 京尼平苷, 西红花苷-I, 西红花苷-II 和西红花苷-III 的平均加样回收率分别为 98.16%, 97.80%, 100.33%, 101.39%, 99.71%, RSD 分别为 2.2%, 1.1%, 1.9%, 2.0%, 1.8%, 表明该方法准确度较高。

**2.7 样品的含量测定** 精密称取不同产地生栀子及其炮制品各 1.0 g,按 2.2 项下方法平行制备供试品溶液,依 2.1 项下色谱条件测定各指标性成分的含量,见表 1 和图 3。结果显示与生栀子相比较,栀子炮制品中 5 种成分的含量均有不同程度的变化。京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷和西红花苷-I 在各样品

中的含量呈现下降趋势,即生栀子 > 焦栀子 > 栀子炭,从生栀子到焦栀子二者含量呈现急剧下降;但西红花苷-II和京尼平苷的含量变化却不大一样,部分样品含量变化是生栀子 > 焦栀子 > 栀子炭,部分样品含量变化为焦栀子 > 生栀子 > 栀子炭;而西红花苷-III 在大部分样品中含量以焦栀子为最高。

表 1 不同产地生栀子、焦栀子、栀子炭中活性成分的含量测定

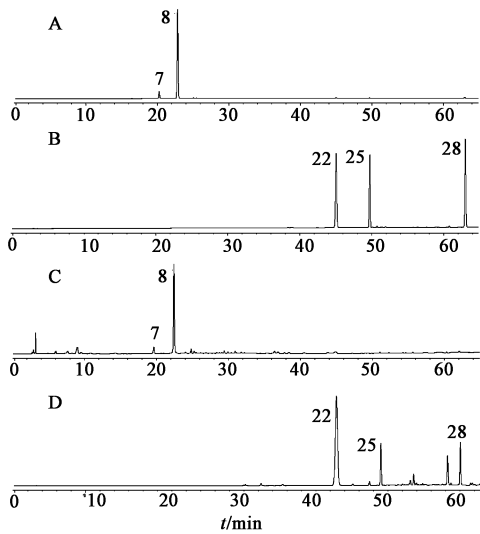
Table 1 Contents of five constituents in raw and processed products of Gardeniae Fructus from different areas mg·g<sup>-1</sup>

编码	来源	样品	京尼平-1-β-D- 龙胆双糖苷	京尼平苷	西红花苷-I	西红花苷-II	西红花苷-III
S1	浙江省丽水市景宁县澄照乡三石村	生栀子	5.671	12.244	6.678	1.043	1.168
S11		焦栀子	2.372	8.000	2.900	1.404	1.950
S21		栀子炭	1.492	6.716	0.206	0.127	0.822
S2	江西省九江市湖口县武山镇何家埂	生栀子	9.822	46.373	6.577	1.365	0.976
S12		焦栀子	5.995	38.849	3.670	1.269	1.170
S22		栀子炭	4.665	31.456	0.389	0.220	0.519
S3	广西省崇左市扶绥县东罗镇	生栀子	17.360	64.557	6.601	1.526	1.336
S13		焦栀子	6.815	49.264	1.933	0.971	1.184
S23		栀子炭	3.576	50.150	0.258	0.158	0.645
S4	江西省吉安市新干县界埠镇南排镇	生栀子	5.658	33.940	8.256	1.234	1.129
S14		焦栀子	2.967	26.784	2.056	0.990	1.391
S24		栀子炭	2.673	25.495	0.201	0.115	0.605
S5	四川省内江市资中县	生栀子	9.291	42.732	10.908	1.645	1.932
S15		焦栀子	3.346	45.928	1.817	1.031	3.124
S25		栀子炭	2.374	26.731	0.061	0.036	0.195
S6	江西省宜春市临江镇黄土岗村	生栀子	7.049	36.862	8.022	1.240	1.604
S16		焦栀子	4.166	25.322	1.757	0.920	1.750
S26		栀子炭	2.120	23.864	0.119	0.074	0.565
S7	浙江省杭州市临安县於潜镇建新村/龙池里	生栀子	5.084	32.753	4.153	0.586	0.786
S17		焦栀子	2.911	34.228	3.198	1.660	2.921
S27		栀子炭	2.269	27.244	0.592	0.343	1.336
S8	福建宁德分水关	生栀子	11.122	9.258	5.549	1.000	0.896
S18		焦栀子	2.421	8.078	2.942	1.428	1.969
S28		栀子炭	1.747	3.090	0.082	0.051	0.513
S9	四川省达州市达县	生栀子	6.753	53.648	6.417	1.272	1.202
S19		焦栀子	2.112	57.783	1.661	0.862	1.290
S29		栀子炭	1.459	49.966	0.147	0.108	0.378
S10	重庆市南川县三泉镇	生栀子	4.912	44.940	10.111	1.125	1.409
S20		焦栀子	2.878	47.107	5.171	1.908	2.087
S30		栀子炭	2.298	41.644	0.781	0.437	1.405

### 3 讨论

本文共选用了 10 批不同产地的栀子,采用樟帮

法对 10 批样品进行炮制,分别炮制成 10 批焦栀子及栀子炭,目的是为了减少产地对成分的影响。经



A. 混合对照品 (238 nm); B. 混合对照品 (440 nm); C. 供试品 (238 nm); D. 供试品 (440 nm); 7. 京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷; 8. 京尼平苷; 22. 西红花苷-I; 25. 西红花苷-II; 28. 西红花苷-III

图 3 生栀子 HPLC

Fig. 3 HPLC of raw product of Gardeniae Fructus

前期研究发现<sup>[5]</sup> 栀子中含有 2 类主要成分, 分别为环烯醚萜类和西红花苷类成分, 故采用 2 个波长进行检测, 分别为 238, 440 nm, 以期对樟帮法栀子炮制品进行全面分析。

栀子经樟帮法炮制后, 部分焦栀子中京尼平苷含量大于生品, 这可能是由于京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷在炮制过程中脱糖转变成京尼平苷所导致, 见图 4。西红花苷类成分变化的趋势则很有可能由于西红花苷-I, 西红花苷-II 在炮制过程中脱糖而转化。因为西红花苷-I, 西红花苷-II, 西红花苷-III 的苷元都是西红花酸, 其区别主要为所连的糖链不同, 据文献报道<sup>[6]</sup>, 西红花苷-I 极不稳定, 尤其受温度的影响最大, 在 60 °C 条件下, 半衰期仅 2.58 h。而在炮制过程中温度均 > 150 °C, 因此在生栀子至焦栀子的炮制过程中, 西红花苷-I 很可能先转化为西红花苷-II, 再转化成为西红花苷-III, 从而导致焦栀子中的西红花苷-III 呈现上升趋势; 但在生栀子到栀子炭的炮制过程中, 由于长时间的高温处理, 很大程度地破坏了西红花苷-I 的结构, 故栀子炭中西红花苷-I 的含量远远低于生栀子。

栀子经樟帮法炮制后, 其化学成分发生了较大的改变。大部分色谱峰消失, 并且随着炮制火候的加大, 其化学成分消失的越多, 原因很可能是加热破坏其中的化学成分或者使其中某些成分发生了转变, 而化学成分的改变正和炮制火候的控制有着密

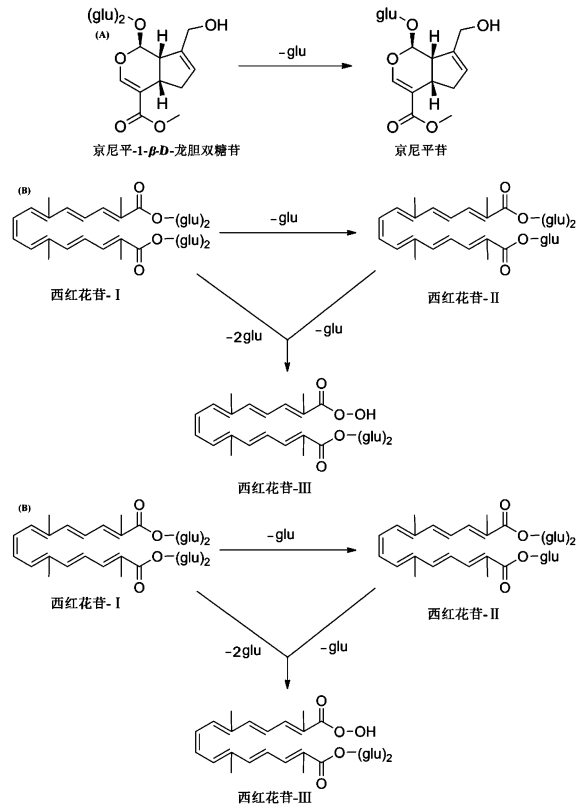


图 4 栀子中各成分的转化

Fig. 4 Conversion of five constituents in raw and processed products of Gardeniae Fructus

切关系, 为后续研究栀子樟帮法炮制原理及质量控制提供参考。而焦栀子和栀子炭中共同产生的一个新色谱峰还有待于进一步研究证实。

[参考文献]

[1] 龚千锋. 樟树中药炮制全书[M]. 南昌: 江西科学技术出版社, 1990: 240.  
[2] 周强, 彭红, 罗光明, 等. 樟帮栀子饮片 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(4): 54-57.  
[3] 孙栋梁, 倪小兰, 何行真, 等. 栀子不同炮制品的比较研究[J]. 江西中医学院学报, 2004, 16(4): 38-40.  
[4] 欧阳栋. 栀子炮制工艺研究[J]. 抗感染药学, 2001, 11(3): 14.  
[5] 侯志飞, 于文国, 王刚, 等. 在线紫外光谱对栀子及其炮制品 HPLC 指纹图谱的定性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 98-101.  
[6] 付小梅, 王峰涛. 西红花苷-I 的稳定性研究[J]. 食品科学, 2012, 33(5): 71-73.

[责任编辑 刘德文]