

焦栀子炮制前后熊果酸含量变化

杨海玲¹, 覃葆^{1*}, 李琴², 黄华艳¹, 吴尤娇¹, 徐信¹, 詹祖勇¹

(1. 广西中医药大学药学院, 南宁 530001;

2. 广西玉林制药集团有限责任公司, 广西 玉林 537001)

[摘要] 目的: 考察焦栀子炮制前后熊果酸含量变化。方法: 采用 Inersil ODS-2 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(90:10), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 210 nm, 柱温 30 °C。结果: 焦栀子炮制前后熊果酸含量大小顺序为生品(中)(1.03 mg·g⁻¹) > 生品(小)(0.68 mg·g⁻¹) > 生品(大)(0.57 mg·g⁻¹) > 炒焦(0.12 mg·g⁻¹) > 炒焦(轻)(0.11 mg·g⁻¹) > 炒焦(重)(0.09 mg·g⁻¹)。结论: 加热温度与时间对栀子中熊果酸含量有一定影响, 炒焦后熊果酸含量降低。

[关键词] 栀子; 炒焦; 熊果酸; 高效液相色谱

[中图分类号] R283.3, R284.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1005-9903(2013)15-0043-03

[doi] 10.11653/syjf2013150043

Comparison of Ursolic Acid Content in Fructus Gardeniae Praeparatus before and after Processing

YANG Hai-ling¹, QIN Bao^{1*}, LI Qin², HUANG Hua-yan¹, WU You-jiao¹, XU Xin¹, ZHAN Zu-yong¹

(1. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;

2. Yulin Pharmaceutical Co. Ltd, Yulin 537001, China)

[Abstract] **Objective:** To compare ursolic acid content in Fructus Gardeniae Praeparatus before and after

[收稿日期] 20121218(015)

[基金项目] 国家科技特派员项目(2009GJE10028)

[第一作者] 杨海玲, 讲师, 硕士, 从事中药炮制教学与质量控制研究, Tel: 15977184822, E-mail: gxyanghl2005@126.com

[通讯作者] * 覃葆, 教授, 从事中药炮制与新药研究, Tel: 13481151916, E-mail: bbythemoon@yahoo.com.cn

3 讨论

芫花酯甲为亲脂性二萜原酸酯类化合物, 具有强烈的皮肤刺激性, 提取、精制过程中要特别小心避免皮肤直接接触或通过蒸汽吸入。硅胶柱色谱是一种有效的初步分离技术, 尤其适合于大规模制备。制备 TLC 操作十分简便, 掌握适当, 适合于制备纯度较高的数毫克至数克级别的纯品。通过进一步重结晶可制备出更高纯度的芫花酯甲。

[参考文献]

- [1] 鞠秀兰. 芫花及其主要有效成分芫花酯甲抗癌活性研究进展[J]. 科技创新导报, 2010, 7(15): 16.
- [2] 应百平, 王成瑞, 周炳南, 等. 芫花根有效成分的研究 I. 芫花酯甲的分离与结构[J]. 化学学报, 1977, 35(22): 105.

- [3] ZHAN Z J, FAN C Q, DING J, et al. Novel diterpenoids with potent inhibitory activity against endothelium cell HMEC and cytotoxic activities from a well-known TCM plant *Daphne genkwa* [J]. Bioorg Med Chem, 2005, 13(3): 645.
- [4] 李姚姚, 刘延泽. RP-HPLC 法测定芫花叶中 3 种黄酮苷的含量[J]. 中草药, 2004, 35(7): 822.
- [5] 邓仕任, 夏林波, 董倩, 等. 芫花药材的 HPLC 指纹图谱及 ESI-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24): 32.
- [6] ZHANG S, ZHANG F, LI X, et al. Evaluation of *Daphne genkwa* diterpenes; fingerprint and quantitative analysis by high performance liquid chromatography [J]. Phytochem Analysis, 2007, 18(2): 91.

[责任编辑 全燕]

being processed. **Method:** Chromatographic conditions were as follows: Inersil ODS-2 C_{18} column (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m), mobile phase of acetonitrile-water (90:10), flow rate of 1.0 mL \cdot min $^{-1}$, detection wavelength 210 nm, column temperature 30 $^{\circ}$ C. **Result:** The content of ursolic acid in different processed products of Fructus Gardeniae was in order of Gardeniae Fructus (middle, 1.03 mg \cdot g $^{-1}$) > Gardeniae Fructus (small, 0.68 mg \cdot g $^{-1}$) > Gardeniae Fructus (large, 0.57 mg \cdot g $^{-1}$) > Fructus Gardeniae Praeparatus (0.12 mg \cdot g $^{-1}$) > Fructus Gardeniae Praeparatus (light, 0.11 mg \cdot g $^{-1}$) > Fructus Gardeniae Praeparatus (heavy, 0.09 mg \cdot g $^{-1}$). **Conclusion:** Heating time and temperature may have some effect on the content of ursolic acid in Fructus Gardeniae.

[**Key words**] Fructus Gardeniae; praeparatus; ursolic acid; HPLC

栀子具有泻火除烦、清热利湿、凉血解毒的功效,用于热病心烦、湿热黄疸、目赤肿痛等症^[1]。其主要化学成分包括苷类、有机酸、挥发油类等^[2]。熊果酸是栀子中重要的有机酸类成分之一,也是栀子饮片降温、镇静的成分^[3],具有抗菌、抗炎、保肝、抗肿瘤和降血脂等药理作用^[4]。本实验采用 HPLC 检测栀子炒焦前后熊果酸的含量变化,为栀子规范化炮制及饮片质量标准制定提供依据。

1 材料

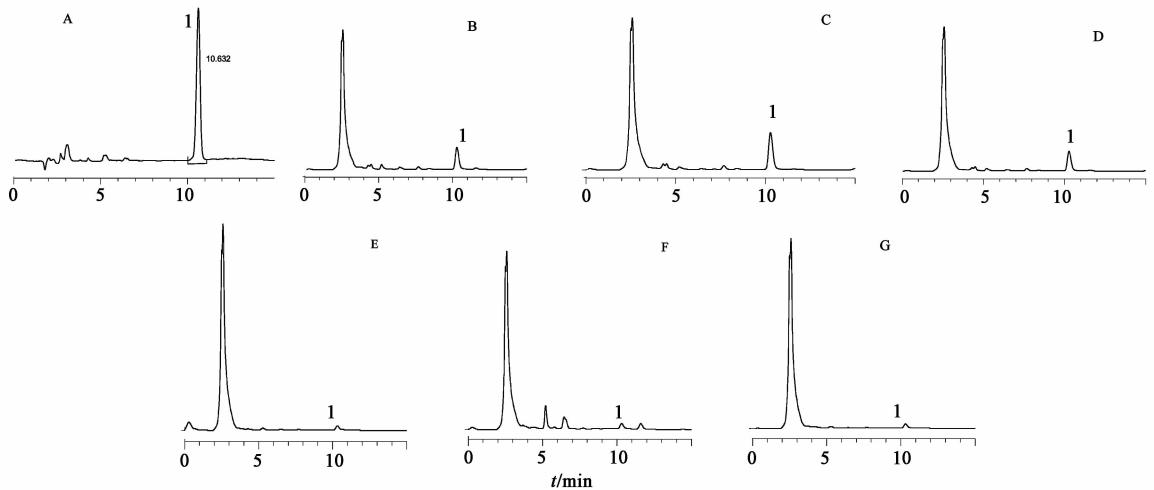
LC-1100AT 型高效液相色谱分析仪(美国安捷伦公司)。

栀子(购于玉林药材市场,经广西中医药大学韦松基教授鉴定为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实),熊果酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110742-200517),甲醇、乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

栀子饮片的炮制如下:①取栀子药材若干,捡取杂质霉败品,按大(直径 ≥ 13.4 mm)、中(11 mm \leq 直径 ≤ 13.4 mm)、小(直径 ≤ 11 mm)进行分档,即得生品(大)、生品(中)、生品(小)。②取栀子生品(中)置预热的电炒锅中,中火(1 500 W, 200 $^{\circ}$ C)加热 6 min,炒至焦黄色(偶见焦斑),即得炒焦(轻)品。③取栀子生品(中),置预热的电炒锅中,中火(1 500 W, 200 $^{\circ}$ C)加热 7 min,炒至焦黄色(带焦斑),即得炒焦品。④栀子生品(中),置预热的电炒锅中,中火(1 500 W, 200 $^{\circ}$ C)加热 9 min,炒至焦黄色(略带黑斑),即得炒焦(重)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 采用 Inersil ODS-2 C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m),流动相乙腈-水(90:10),流速 1.0 mL \cdot min $^{-1}$,检测波长 210 nm,柱温 30 $^{\circ}$ C。理论塔板数按熊果酸计算不低于 10 000,见图 1。



A. 对照品; B. 生品(小); C. 生品(中); D. 生品(大); E. 炒焦(轻); F. 炒焦; G. 炒焦(重); 1. 熊果酸

图 1 栀子各炮制品 HPLC

2.2 对照品溶液的制备 精密称取熊果酸对照品 0.12 mg 于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,即得。

2.3 供试品溶液的制备 分别精密称取各样品粉末(50 目)0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入无水乙醇 25 mL,充分振摇后超声处理 30 min,放冷,过滤,取滤液适量,离心冷藏备用。

2.4 线性关系的考察 分别精密吸取熊果酸对照品溶液 2,4,6,8,12,20 μL ,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y = 20\ 757X - 26.025$ ($r = 0.999\ 8$),表明熊果酸在 0.024 ~ 0.24 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取熊果酸对照品溶液 10 μL ,连续进样 6 次,结果峰面积的 RSD 2.44%,表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一份样品 5 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,测定,结果峰面积的 RSD 1.56%,表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 精密吸取炒焦(轻)供试品溶液 10 μL ,分别于制备后 0,2,4,6,8,12 h 进样,结果 RSD 2.91%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的炒焦(轻)粉末 6 份,每份约 0.25 g,精密称定,分别加入熊果酸对照品 0.028 mg,依 2.3 项下方法制备供试品溶液,测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 熊果酸加样回收率试验

称样量/g	测得值/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
0.250 5	0.055	97.43	98.91	1.36
0.249 8	0.056	100.55		
0.250 5	0.056	99.62		
0.250 1	0.055	97.11		
0.250 3	0.056	99.53		
0.249 9	0.056	99.23		

2.9 样品测定 称取生品(小)、生品(中)、生品

(大)、炒焦(轻)、炒焦、炒焦(重)适量,分别按 2.3 项下方法制备供试品溶液,各精密吸取 10 μL 进样,依法进行测定,结果熊果酸质量分数依次为 0.68, 1.03, 0.57, 0.11, 0.12, 0.09 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,说明栀子经过炒焦后熊果酸含量有所降低。

3 讨论

生栀子样品中熊果酸含量各不相同,可能与栀子生长环境、成熟程度、加工方法等因素有关。而炒焦样品中熊果酸含量略高于炒焦(轻),可能是炒焦品炒制时间相对较长,含水量较低所造成;炒焦(重)中含量最低,可能与熊果酸属于五环三萜类化合物,熔点较低、受热不稳定理化性质有关。

在查阅文献基础上^[5-6],对熊果酸的 HPLC 色谱条件进行了适当调整,流动相改为乙腈-水(90:10),柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,结果显示该条件下,熊果酸与其他成分达到良好的分离效果,而且减少了流动相中酸、三乙胺等溶剂的使用,保护了色谱柱。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] 李葆华. 栀子的研究概况[J]. 时珍国医国药,2004,15(6):370.
- [3] 陈红,陈卫琳,程再兴. 炒制对栀子不同饮片熊果酸的含量影响[J]. 辽宁中医药大学学报,2009,11(9):166.
- [4] 李开泉,陈武,熊筱娟,等. 乌索酸的化学、药理及临床应用进展[J]. 中成药,2002,24(9):709.
- [5] 李成网. 高效液相色谱法测定奥林胃肝胶囊中熊果酸和齐墩果酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(7):8.
- [6] 蒲清荣,唐灿,张彦燕,等. 高效液相色谱法测定乐山栀子熊果酸含量[J]. 时珍国医国药,2008,19(5):1052.

[责任编辑 全燕]