

重庆后山梔子和国内其他产区梔子 主要药效成分含量对比

陈绍成¹, 石燕红², 杨娜², 王瑞^{2*}

(1. 重庆教育学院生物与化学工程系, 重庆 400067; 2. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203)

[摘要] 目的: 采用超高效液相色谱法测定与比较重庆后山梔子和国内其他产区梔子中梔子苷和西红柿苷-1 的含量。方法: 采用 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 流动相甲醇-0.2% 磷酸水溶液, 梯度洗脱, 检测波长 238, 440 nm, 流速 0.3 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C。结果: 梔子苷在 0.008 1 ~ 1.300 g·L⁻¹ 内呈良好线性 ($r=0.999\ 9$), 平均回收率 99.6 % (RSD 1.24 %); 西红柿苷-1 在 0.008 7 ~ 1.392 g·L⁻¹ 呈良好线性 ($r=0.999\ 9$); 平均回收率 101.0 % (RSD 1.9%)。结论: 该方法简便可靠, 可为重庆后山梔子的品质评价与进一步开发利用提供科学的参考依据。

[关键词] 重庆后山梔子, 梔子苷, 西红柿苷-1, 超高效液相色谱法, 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0131-04

Comparison of Main Effective Constituent Content of *Gardenia jasminoides* in Chongqing Hou-shan and Other Domestic Areas

CHEN Shao-cheng¹, SHI Yan-hong², YANG Na², WANG Rui^{2*}

(1. Chongqing Education Institute Biology and Chemistry Engineering, Chongqing 400067, China;
2. Shanghai University of Traditional Chinese Medicines, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To determine and compare the main effective constituent (geniposide and crocin-1) content of *Gardenia jasminoides* in Chongqing Hou-shan and other domestic by ultra-performance liquid chromatography (UPLC). **Method:** The samples were separated at 30 °C on a Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) column eluted with methanol and water containing 0.2% phosphate acid as mobile

[收稿日期] 20120328(002)

[基金项目] 重庆市科技攻关项目(CSTC2011AC5173)

[第一作者] 陈绍成, 副教授, 从事天然药物的开发及质量标准的研究, Tel: 13908261395, E-mail: csc1966109@sohu.com

[通讯作者] *王瑞, 副教授, 从事中药活性成分与质量标准研究, Tel: 021-5132 2181, E-mail: wr@shutcm.edu.cn

- [9] 丁智慧, 陈家铃, 丁靖垠. 杜衡的化学成分[J]. 化学研究与应用, 1999, 11(5): 513.
- [10] 吴贻谷. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 1034.
- [11] 董贺, 张太平, 李俊, 等. 山楂中谷甾醇抑制肿瘤细胞的研究[J]. 中国生化药物杂志, 2009, 30(4): 270.
- [12] 李晓菲, 宋文东, 纪丽丽, 等. 薯蓣块茎脂肪酸和挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 129.
- [13] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草·第 2 册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 567.
- [14] 杜泽乡. 走马胎及其两种混伪品饮片的鉴别[J]. 中药材, 1995, 18(4): 183.
- [15] 杨竹, 黄敬辉, 王乃利, 等. 走马胎中新的岩白菜素衍生物的提取分离及体外抗氧化活性测定[J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(1): 30.
- [16] 沈诗军, 周定刚, 黎德兵. 走马胎提取液体内抗血栓作用研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(9): 2224.
- [17] 李群芳, 娄方明, 段兴丽, 等. 气相色谱-质谱联用法测定走马胎挥发油成分[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(11): 2883.

[责任编辑 顾雪竹]

phases in a linear gradient mode. Flow rate was set at $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ and the detection wavelength were set at 238 nm and 440 nm. **Result:** The calibration curve of geniposide was linear within the range from 0.008 1 to 1.300 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r=0.999\ 9$) and the average recovery was 99.6% (RSD 1.24%). The calibration curve of crocin-1 was linear within the range from 0.008 7 to 1.392 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r=0.999\ 9$) and the average recovery was 101.0% (RSD 1.9%). **Conclusion:** The developed method was proved to be simple, reliable and useful by analysis of the samples from different areas, and the experimental result could provide scientific reference for quality evaluation and offer basis for further exploitation and utilization of *G. jasminoides* in Hou-Shan area, Chongqing Province.

[**Key words**] Chongqing Hou-Shan area; *Gardenia jasminoides*; geniposide; crocin-1; UPLC; quantitative

梔子为茜草科植物梔子的干燥成熟果实,具有泻火除烦、清热利尿、凉血解毒的功效,用于热病心烦、黄疸尿赤、血淋涩痛、血热出衄、目赤肿痛、火毒疮伤、外治扭挫伤痛。焦梔子为梔子的加工炮制品,具有凉血止血的功效,用于血热吐血、衄血、尿血、崩漏^[1]。

梔子中主要含有环烯醚萜类和西红花苷类成分^[2-6],具有保肝利胆、抗炎、镇痛、降血脂、抗病毒和抗肿瘤等药理作用。目前梔子的质量控制是以环烯醚萜类成分梔子苷含量的高低进行评价^[1]。此外,西红花苷亦可作为其质量控制的指标成分之一^[7-9]。

重庆市万州区后山镇是四川和重庆地区市售梔子的主要产地,但该地梔子成熟果实大多明显大于现行 2010 年版《中国药典》梔子“性状”项下规定的长 1.5~3.5 cm 和直径 1.0~1.5 cm。因性状不符合药典规定,重庆后山梔子的市场销售前景不佳,对当地药农造成了较大的影响,使得栽培面积大幅度减少。为了加快推进重庆地区中药特色经济,保护梔子种质资源,有必要对该地区梔子的质量做进一步研究。近年来,已有学者通过对比研究梔子及其他中药在不同产地、不同生长环境和不同采收时期等因素下主要药效活性成分,力求寻找出共性与差异性,从而甄选优质中药,为其合理开发与利用奠定良好的基础^[9-12]。

本研究将 2 批重庆后山梔子成熟果实分为大、中、小 3 种级别^[13],并收集其他地区市售梔子和焦梔子各 4 批,采用可变波长超高效液相色谱法,测定其主要药效成分梔子苷和西红花苷-1 的含量,对比分析重庆后山梔子和国内其他产地梔子及梔子炮制品中二者含量差异,为重庆后山梔子的品质评价和种质资源保护提供依据。

1 仪器与试剂

Waters Introduces ACQUITY UPLC H-Class System(包括四元泵、自动进样器、柱温箱、检测器、工作站),乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司);KQ-

250DB AE200 电子分析天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司),数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。乙腈、磷酸(色谱纯,Merck 公司),水为 Milli Q 超纯水(Millipore,美国 Bedford 公司);甲醇、乙醇等其他分析纯试剂均购自国药集团化学试剂有限公司,梔子对照药材(中国药品生物制品检定所,批号 120986-201007)。梔子苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110749),西红花苷-1 对照品(上海中药标准化研究中心,经 HPLC 检测,面积归一化法计算,纯度 >98%)。

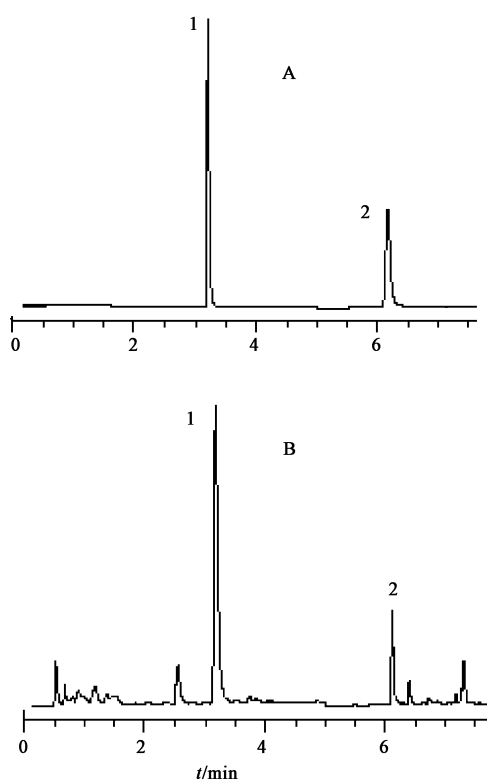
收集市售梔子、焦梔子各 4 批;采集重庆后山梔子样品 2 批,按照果实的大小划分为大、中、小 3 个级别,共计 6 批。其中大果实长度 $\geq 4.5 \text{ cm}$,直径 $\geq 1.5 \text{ cm}$;中果实长度 3.0~4.5 cm,直径 1.2~1.5 cm;小果实长度 <3.0 cm,直径 $\leq 1.2 \text{ cm}$ 。样品由重庆教育学院陈绍成副教授和上海中医药大学石燕红收集,经上海中医药大学药教研室宋龙博士鉴定为茜草科植物梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实,标本保存在上海中医药大学。样品粉碎,过三号筛,抽真空保存。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 50 mm, 1.7 μm),流动相乙腈(A)-0.2% 磷酸水溶液梯度洗脱,0~4 min(8%~20% A),4~8 min(20%~60% A),检测波长 238 nm(0~5 min),440 nm(5~8 min),流速 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,进样量 2 μL 。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取梔子苷和西红花苷-1 对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 各含 40 μg 和 20 μg 的混合对照品溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取梔子样品粉末约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 20 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用 70% 甲醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。



A. 对照品; B. 样品; 1. 栀子苷; 2. 西红花苷-1

图1 栀子 UPLC

2.4 线性关系考察 分别取栀子苷和西红花苷-1对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成含栀子苷为 $1.300 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,含西红花苷-1为 $1.392 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品贮备溶液。分别精密吸取不同体积的对照品储备溶液,制成不同质量浓度的系列溶液,按上述色谱条件测定,进样 $2 \mu\text{L}$,分别以对照品的浓度(X)为横座标,峰面积积分值(Y)为纵座标,得栀子苷回归方程为 $Y = 1.0 \times 10^7 X + 790.5$ ($r = 0.9999$),线性范围 $0.0081 \sim 1.300 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;西红花苷-1回归方程为 $Y = 4.0 \times 10^7 X - 3884.8$, $r = 0.9999$,线性范围 $0.0087 \sim 1.392 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.5 精密度试验 取同一供试品溶液,在上述色谱条件下连续进样6次,测得栀子苷和西红花苷-1的色谱峰面积的RSD分别为0.35%,0.71%,表明精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批号栀子样品粉末约0.5 g共6份,精密称定,按供试品溶液制备项下操作,在上述色谱条件下进样测定,测得栀子苷和西红花苷-1平均含量分别为 $29.31, 1.23 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD分别为1.44%,0.75%。

2.7 稳定性试验 取同一栀子样品粉末约0.5 g,精密称定,按供试品溶液制备项下操作,在上述色谱条件下,分别于0,2,4,12,24,48,72 h进样分析,测

得栀子苷和西红花苷-1色谱峰面积的RSD分别为0.57%,0.86%,表明样品溶液在72 h内稳定。

2.8 加样回收试验 取已知含量的栀子粉末约0.25 g共9份,精密称定,分别按已知含量的50%、100%、150%3个水平加入栀子苷、西红花苷-1的对照品,按供试品溶液制备项下操作,在上述色谱条件下进样测定并计算加样回收率,结果见表1。

表1 栀子苷和西红花苷-1加样回收率试验

指标成分	样品 含有量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
栀子苷	7.986 4	4.0140	11.948 1	98.7	99.6	1.24
	8.033 5	4.014 0	12.009 9	99.1		
	8.002 1	4.014 0	12.005 6	99.7		
	8.049 3	8.028 0	16.002 3	99.1		
	7.986 4	8.028 0	15.899 2	98.6		
	8.002 1	8.028 0	15.877 9	98.1		
	7.970 6	12.042 0	20.137 9	101.0		
	7.923 5	12.042 0	20.126 2	101.3		
	7.986 4	12.042 0	20.164 9	101.1		
西红花苷-1	0.316 2	0.172 0	0.489 4	100.7	101.0	1.92
	0.317 0	0.172 0	0.483 2	96.7		
	0.316 7	0.172 0	0.491 2	101.5		
	0.316 6	0.301 0	0.623 2	101.9		
	0.317 2	0.301 0	0.622 1	101.3		
	0.317 0	0.301 0	0.621 6	101.2		
	0.316 3	0.430 0	0.744 9	99.7		
	0.316 2	0.430 0	0.762 3	103.7		
	0.316 6	0.430 0	0.754 9	101.9		

2.9 样品测定 分别取栀子样品粉末约0.5 g,精密称定,按供试品溶液制备项下操作,制成供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 $2 \mu\text{L}$ 进样分析,计算栀子苷和西红花苷-1的含量,结果见表2。

3 结论

在供试品溶液制备方法上,对提取溶剂(正己烷、乙醇、甲醇)、提取方法(冷浸、超声振荡、直接回流)、提取时间(15,30,45,60 min)和提取溶剂量(10,20,30,40倍)进行考察,最终确定提取方法为0.5 g样品粉末20 mL70%甲醇超声提取30 min。

市售栀子与焦栀子的含量测定结果表明:栀子苷的含量分别在 $32.375 \sim 45.467, 23.423 \sim 30.300 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;西红花苷-1的含量分别在 $2.644 \sim 4.927$,

表 2 梔子中梔子苷和西红柿花苷-1 的含量

样品	产地	批号	含量 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	
			梔子苷	西红柿花苷-1
梔子对照药材	中国药品生物制品检定所	120986-201007	40.682	4.980
梔子	浙江	100225	45.467	4.927
梔子	安徽	101216	38.613	4.898
梔子	四川	101025	32.375	2.644
梔子	浙江	110215	39.132	4.234
梔子(大)	重庆后山	20110324-1	29.312	1.227
梔子(中)	重庆后山	20110324-2	31.925	1.456
梔子(小)	重庆后山	20110324-3	31.181	1.115
梔子(大)	重庆后山	20110505-1	35.204	3.975
梔子(中)	重庆后山	20110505-2	39.413	3.823
梔子(小)	重庆后山	20110505-3	33.836	3.058
焦梔子	浙江	100624	30.300	1.128
焦梔子	安徽	101122	27.220	1.959
焦梔子	四川	101128	24.423	0.060
焦梔子	浙江	101229	28.330	0.577

$0.006 \sim 1.959 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 炮制后焦梔子中梔子苷和西红柿花苷-1 的含量低于梔子生品。

重庆后山梔子含量测定结果表明:大、中、小 3 个级别^[13]样品中梔子苷的含量在 29.312 ~ 39.413 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,均高于现行 2010 年版《中国药典》规定标准^[1];西红柿花苷-1 的含量在 1.115 ~ 3.975 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$;采用 SPSS 多样本均数比较的方差分析,其结果表明:重庆后山 3 个级别样品中梔子苷和西红柿花苷-1 的含量无显著性差异,且与市售梔子无显著性差异。因此,初步认为重庆市后山地区独特的生态环境适宜梔子的生长,当地药商凭借梔子成熟果实的大小来评价其质量的优劣是不准确和不合理的。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:231.
- [2] 陈雁,张现涛,张雷红,等. 梔子化学成分及药理作用研究进展[J]. 海峡医药,2011,22(12):1.
- [3] 陈红,肖永庆,李丽,等. 梔子化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(11): 1042.
- [4] 付小梅,俞桂新,王峥涛,等. 梔子的化学成分[J]. 中国天然药物, 2008, 11(6): 419.
- [5] 张海燕,邹伟魁,杨军宣,等. 梔子对心脑血管系统的作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 294.
- [6] 杨军宣,张海燕,赵成城,等. 梔子环烯醚萜苷治疗缺血损伤的作用机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 277.
- [7] 何兵,田吉,李春红,等. 泸州纳溪 GAP 基地梔子中 4 种主要活性成分的含量测定[J]. 中成药, 2009, 31(12):1884.
- [8] 胡开治,肖波,李品明,等. 重庆卵圆形梔子的梔子苷含量测定与分析[J]. 西南大学:自然科学版, 2010, 32(2):86.
- [9] 张留记,刘钦松,屠万倩,等. RP-HPLC 法同时测定不同产地梔子中梔子苷、西红柿花苷-I 和西红柿花苷-II 的含量[J]. 中国药房, 2011,22(7):630.
- [10] 陈随清,崔璨,裴莉昕,等. 不同产地和来源冬凌草药材的质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17):122.
- [11] 邱建国,张汝学,贾正平,等. HPLC 测定不同产地生地黄中地黄寡糖和梓醇的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(17):110.
- [12] 窦妍,翟延君,佟苗苗,等. HPLC 测定不同采收期苕草中苕草素、异苕草素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2):62.
- [13] 曹岚,梁芳,戴泽霞. 江西新干产梔子种质资源研究初报[J]. 时珍国医国药, 2008,19(4):794.

[责任编辑 顾雪竹]