

基于偏最小二乘法关联分析栀子不同炮制品化学成分与肝肾毒性

李会芳*, 刘静婷, 郎霞, 路晓娟

山西中医药大学 中药与食品工程学院, 山西 晋中 030619

摘要: 目的 基于偏最小二乘回归法(PLS)研究栀子不同炮制品化学成分与肝肾毒性的关联度。方法 采用超高效液相色谱法测定生栀子、炒栀子、姜栀子、焦栀子、栀子炭不同炮制品中栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷酸、去乙酰车叶草酸甲酯、西红花苷I和西红花苷II 6种化学成分的含量, 栀子不同炮制品水提液(7.5 g/kg)连续3 d大鼠ig给药, 测定各组大鼠血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)、血清肌酐(CREA)、尿素氮(BUN)的含量, 使用Origin 9.1软件中的PLS算法分析栀子不同炮制品化学成分与肝肾毒性的关联度。结果 栀子炮制后栀子苷、西红花苷I和西红花苷II的含量不同程度的降低, 京尼平龙胆双糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯和栀子苷酸含量在部分炮制品中升高; 栀子及炮制品对正常大鼠可造成不同程度的肝、肾损伤(生栀子>炒栀子>姜栀子>焦栀子>栀子炭); PLS分析表明6种主要化学成分中栀子苷与西红花苷I的变量重要性值均超过0.8。结论 栀子苷与西红花苷I可能是栀子肝肾毒性的物质基础, 通过炮制降低栀子肝肾毒性的作用可能与炮制后栀子苷与西红花苷I含量降低有关。

关键词: 栀子; 栀子苷; 西红花苷I; 肝肾毒性; 偏最小二乘法分析

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)09-1890-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.09.011

Partial least squares analysis of chemical constituents and hepatorenal toxicity in different processed products of *Gardenia jasminoides*

LI Huifang, LIU Jingting, LANG Xia, LU Xiaojuan

College of Traditional Chinese Medicine and Food Engineering, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China

Abstract: Objective To explore the relationship between the chemical constituents and liver and kidney toxicity of different processed *Gardenia jasminoides* products based on partial least square regression. **Methods** The contents of chemical constituents in 5 processed products of *Gardenia jasminoides* were determined by ultra performance liquid chromatography, water extracts of different processed *Gardenia jasminoides* products (7.5 g/kg) were administered by gavage to rats for three consecutive days, and the contents of ALT, AST, TBIL, CREA, and BUN in serum were determined at the last day, the correlation between chemical constituents and liver and kidney toxicity of different processed *Gardenia jasminoides* products were analyzed using the PLS algorithm in the Origin 9.1 software. **Results** The contents of geniposide, crocetin I and crocetin II decreased to varying degrees after processed, but the contents of genipin-1- β -D-gentiobioside, geniposidic acid, deacetyl asperulosidic acid methyl ester were higher than those in raw *Gardenia jasminoides*. Five kinds of processed *Gardenia jasminoides* products caused different liver and kidney damage on normal rats (raw *Gardenia jasminoides* > fried *Gardenia jasminoides* > ginger *Gardenia jasminoides* > scorched *Gardenia jasminoides* > *Gardenia jasminoides* charcoal). PLS analysis showed the variable importance values of geniposide and crocetin I among the six main chemical components exceed 0.8. **Conclusion** Geniposide and crocetin I may be the material basis of *Gardenia jasminoides* which caused liver and kidney toxicity. The effect of reducing liver and kidney toxicity caused by processing may be related to the decrease of the contents geniposide and crocetin I.

Key words: *Gardenia jasminoides* Ellis.; geniposide; crocetin I; hepatorenal toxicity; partial least square

收稿日期: 2021-01-19

基金项目: 国家自然科学基金(81903913)

*通信作者: 李会芳, 副教授, 主要从事中药药理及毒理学研究。Tel: (0351)3179903 E-mail: sunshine_613@163.com

栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis. 的干燥成熟果实,具有泻火除烦、清热利尿、凉血解毒等功效^[1]。现代药理研究表明,栀子具有保肝利胆、降血糖、促进胰腺分泌、胃功能保护、降压、调脂、神经保护、抗炎、抗氧化、抗疲劳、抗血栓等药理活性^[2],其内服治热病心烦、黄疸赤尿、血淋涩痛、目赤肿痛、火毒疮疡,外用可治扭挫伤痛,临床应用广泛。但近年来出现有关栀子肝毒性、肾毒性的报道^[3],栀子的安全性问题值得深入探讨。《中国药典》2015年版收录的含栀子的中成药中栀子的入药形式有栀子、炒栀子、姜炙栀子、焦栀子、栀子炭等,栀子炮制后能否降低肝肾毒性以及其炮制减毒的具体机制目前还未系统阐明。本研究拟采用偏小二乘法分析栀子不同炮制品种化学成分与肝肾毒性指标间的相关性,以明确栀子炮制减毒的客观真实性及部分作用机制,同时为栀子的临床安全用药提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

Waters ACQUITY UPLC H-CLASS 超高效液相色谱仪,美国沃特斯公司;AB-135S 电子天平(十万分之一),METTLER 梅特勒公司;Chemray 800 全自动生化分析仪,深圳雷杜生命科学股份有限公司。

1.2 药材与主要试剂

栀子(产地:江西,批号 190201)购自山西维康堂中药饮片有限公司,经山西中医药大学裴香萍副教授鉴定为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis. 的干燥成熟果实;栀子苷对照品(质量分数 $\geq 98\%$,北京索莱宝科技有限公司,批号:1203A024);京尼平龙胆双糖苷对照品(质量分数 $>98\%$,上海融禾医药科技有限公司,批号:180730);栀子苷酸对照品(质量分数 $>99\%$,上海融禾医药科技有限公司,批号:190120);去乙酰车叶草酸甲酯对照品(质量分数 $\geq 94.3\%$,中国食品药品检定研究院,批号:111786-201602);西红花苷 I 对照品(质量分数 $>98\%$,上海融禾医药科技有限公司,批号:180905);西红花苷 II 对照品(质量分数 $>98\%$,上海融禾医药科技有限公司,批号:180623);甲醇、乙腈、磷酸均为色谱纯;丙氨酸氨基转移酶(ALT)测定试剂盒(批号:20191009)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)测定试剂盒(批号:20190909)、总胆红素(TBIL)测定试剂盒(批号:2019006)、血清肌酐(CREA)测定试剂盒(批号:20191022)、尿素氮(BUN)测定试剂盒(批号:20190924)均购自深圳雷杜生命科学股份有限

公司。

1.3 实验动物

SPF 级健康 SD 大鼠,雌雄各半,体质量 180~220 g,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(沪)2018-0006,质量合格证号 20180006003154。大鼠在普通环境下饲养,常规适应饲养 7 d 后进行实验,自由摄食饮水。

2 方法与结果

2.1 栀子不同炮制品的制备

每批称取生栀子(SZ1)样品约 300 g,炒栀子、焦栀子依据《中国药典》2015年版、姜栀子依据《全国中药炮制规范》1988年版^[4]、栀子炭依据《湖南地方炮制规范》2010年版^[5]分别进行炮制加工,得到炒栀子(CZ1~CZ3)、焦栀子(JZ1~JZ3)、姜栀子(JGZ1~JGZ3)、栀子炭(TZ1~TZ3)各 3 批。

2.2 栀子不同炮制品 6 种成分含量测定方法的建立

环烯醚萜类和二萜类是栀子重要的 2 类有效成分群,本实验主要采用超高效液相色谱法对栀子不同炮制品中的栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷酸、去乙酰车叶草酸甲酯、西红花苷 I 和西红花苷 II 这 6 种化学成分进行定量分析研究。

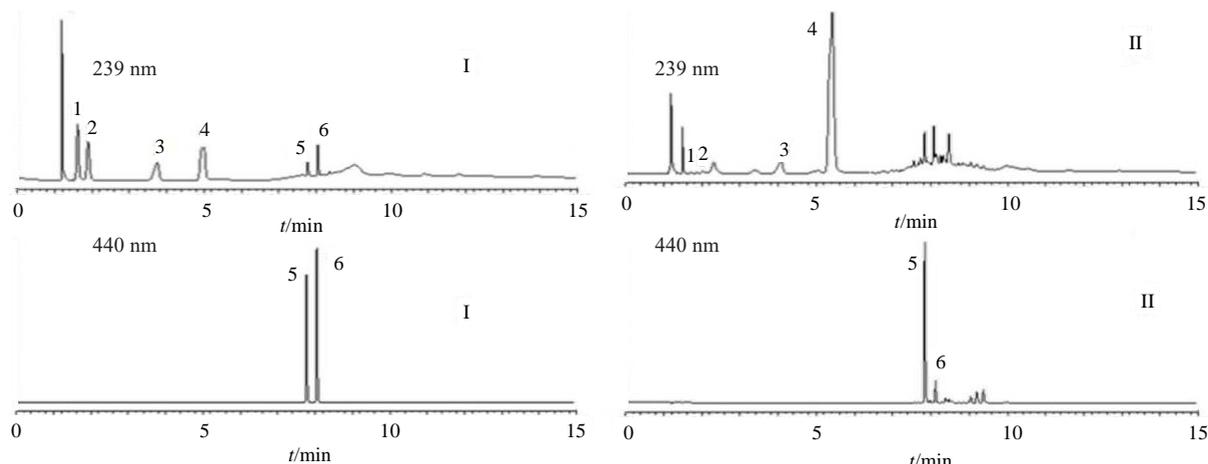
2.2.1 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相为乙腈(A)和 0.2% 磷酸-水(B),按表 1 中的条件进行梯度洗脱;检测波长为 239、440 nm;体积流量为 0.2 mL/min;柱温为 30 °C;进样量为 2 μL。混合对照品和样品的 UPLC 色谱图见图 1。

2.2.2 供试品溶液的制备 取样品干燥粉碎后粉末(过四号筛)约 0.1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,超声处理 30 min,

表 1 梯度洗脱条件

Table 1 Gradient elution conditions

t/min	A/%	B/%
0	10	90
2	15	85
4	15	85
5	30	70
6	40	60
7	42	58
12	42	58
13	15	85
14	10	90
15	10	90



1-栀子苷酸;2-去乙酰车叶草酸甲酯;3-京尼平龙胆双糖苷;4-栀子苷;5-西红花苷I;6-西红花苷II;I-混合对照品;II-生栀子样品
1-geniposidic acid;2-deacetyl asperulosidic acid methyl ester;3-genipin-1-β-D-gentiobioside;4-gardenoside;5-crocetin-I;6-crocetin-II;

I-mixed reference standard solution; II-sample solution

图1 混合对照品与生栀子样品 UPLC 色谱图

Fig. 1 UPLC chromatograms of mixed reference substance and raw gardenia samples

放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 10 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得。

2.2.3 对照品溶液的制备 分别精密称取对照品栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷酸、去乙酰车叶草酸甲酯、西红花苷 I 和西红花苷 II 适量,置于 6 个量瓶中,精密加入甲醇 25 mL 溶解,摇匀,分别配制成质量浓度为 0.128、0.152、0.148、0.120、0.120、0.128 mg/mL 的对照品母液。精密量取上述 6 种成分的对照品母液 3.0、2.0、0.5、1.5、2.0、1.0 mL,置于 10 mL 量瓶中,制成含上述 6 种成分的混合对照品溶液,相应的质量浓度分别为 38.4、30.4、7.4、18.0、24.0、12.8 μg/mL。精密量取上述混合对照品溶液 1 mL,置于 2 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得对照品溶液,其中栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷酸、去乙酰车叶草酸甲酯、西红花苷 I 和西红花苷 II 的质量浓度分别为 19.2、15.2、3.7、9.0、12.0、6.4 μg/mL。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液 0.2、0.4、0.8、1.0、1.6、2.0 mL,甲醇定容至 2 mL 量瓶中,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得。按“2.2.1”项下色谱条件测定,分别注入超高效液相色谱仪中,以峰面积(Y)为纵坐标,进样浓度(X)为横坐标,绘制标准曲线,计算得栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷酸、西红花苷 I 和西红花苷 II 的回归方程:栀子苷 $Y=148\ 07 X+7\ 172.1$, $r=0.999\ 6$,线性范围为 3.84~38.4 μg/mL;京尼平龙胆双糖苷 $Y=6\ 847.5 X-1\ 010.2$, $r=0.999\ 3$,线性范围

为 3.04~30.4 μg/mL;去乙酰车叶草酸甲酯 $Y=10\ 550 X+656.08$, $r=0.999\ 1$,线性范围为 1.8~18 μg/mL;栀子苷酸 $Y=9\ 499 X+47.417$, $r=0.999\ 2$,线性范围为 0.74~7.4 μg/mL;西红花苷 I $Y=51\ 259 X-4\ 549.1$, $r=0.999\ 1$,线性范围为 2.4~24.0 μg/mL;西红花苷 II $Y=59\ 915 X-3\ 064.4$, $r=0.999\ 2$,线性范围为 1.28~12.8 μg/mL,表明 6 种化学成分在其线性范围内线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 精密称取生栀子样品 1 份,按“2.2.2”项下方法制备,连续进样 6 次,记录峰面积值,计算得栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷酸、西红花苷 I 和西红花苷 II 峰面积的 RSD 为 0.70%、1.57%、2.94%、2.32%、1.08%、0.54%,结果表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 精密称取生栀子样品 6 份,按“2.2.2”项下方法制备,各进样 1 次,记录峰面积值,计算 6 份样品中栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷酸、西红花苷 I 和西红花苷 II 含量的 RSD 为 1.79%、2.84%、2.38%、2.60%、2.59%、2.13%,结果表明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 精密称取生栀子样品 1 份,按“2.2.2”项下方法制备,分别于 0、2、4、8、12、16 h 进样检测,分别记录峰面积值,计算栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷酸、西红花苷 I 和西红花苷 II 峰面积的 RSD 为 0.95%、1.44%、2.68%、2.94%、1.00%、0.68%,结果表明样品中的 6 种化学成分在 16 h 内稳定性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取 0.05 g 各成分含

量已知的生栀子样品6份,分别按样品各成分原有量的100%水平加入栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷酸、西红花苷I和西红花苷II的对照品溶液,制备成供试品后进样,记录峰面积值,计算栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷酸、西红花苷I和西红花苷II的平均加样回收率为100.61%、101.26%、100.65%、101.35%、99.95%、101.02%,相应的RSD为1.05%、2.18%、1.39%、1.25%、1.24%、1.76%。

2.2.9 样品含量测定 精密称取生栀子(SZ1)、炒栀子(CZ1~CZ3)、焦栀子(JZ1~JZ3)、栀子炭(TZ1~TZ3)、姜栀子(JGZ1~JGZ3)样品粉末每份0.1 g,每个品种取2份,按“2.2.2”项下方法制备,进样检测,记录峰面积值,计算样品中栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷酸、西红花苷I和西红花苷II的含量,结果见表2。研究表明随着炮制时间的延长和炮制剧烈程度的加深,栀子炮制后栀子苷、西红花苷I和西红花苷II的含量不同程度地降低,但是姜栀子中的京尼平龙胆双糖苷,炒栀子、姜栀子和焦栀子中的去乙酰车叶草酸甲酯以及焦栀子和栀子炭中的栀子苷酸的含量均较生栀子升高。

2.3 栀子不同炮制品的肝肾毒性对比研究

2.3.1 动物分组 将168只SD大鼠随机分成14个组:对照组(生理盐水)、生栀子组、炒栀子1~3组、姜栀子1~3组、焦栀子1~3组、栀子炭1~3组。

2.3.2 栀子不同炮制品水提液的制备 各组分别

称取相应药材146.25 g,碾碎,加8倍量水浸泡药材1 h,第1次煎煮提取30 min,趁热滤过药液。药渣加6倍量水,第2次煎煮提取20 min,趁热滤过,合并2次滤液,浓缩药液至质量浓度为0.75 g/mL,4 °C储存备用。

2.3.3 给药及大鼠一般情况和肝肾功能指标检测 对照组大鼠ig给予10 mL/kg生理盐水,其他各给药组大鼠每天按7.5 g/kg的剂量(相当于药典规定最大量10 g的7.5倍)ig给药,给药体积为10 mL/kg,连续给药3 d。每天给药前测量大鼠体质量,记录体质量数据,观察大鼠的一般体征,皮毛蓝染情况和记录死亡数。

大鼠取血前禁食不禁水12 h,第3天给药2 h后,ip 10%水合氯醛3.0 mL/kg麻醉大鼠,腹主动脉取血,血液常温静置存放1 h后,3 000 r/min常温离心10 min,分取血清于-80 °C冰箱保存。采用全自动生化仪测定ALT、AST、TBIL、BUN、CREA。

实验过程中观察到大鼠给药24 h后,各给药组出现不同程度体质量减少,身体栀子蓝染现象,其中生栀子组最为严重。第2天给药24 h后,出现大鼠死亡的情况,生栀子组死亡3只,炒栀子1组死亡2只,炒栀子2组死亡2只,炒栀子3组死亡2只,焦栀子1组死亡2只,焦栀子2组死亡2只,焦栀子3组死亡2只,栀子炭1组死亡1只,栀子炭2和栀子炭3组无死亡,姜栀子1组死亡2只,姜栀子2组死亡2只,姜栀子3组死亡2只;死亡大鼠可观察到死亡前眼球发黑,精神萎靡,行动缓慢的状态,解剖后

表2 栀子5种炮制品中6种化学成分的含量测定结果

Table 2 Results of content determination of six constituents in five kinds processed *Gardenia jasminoides*

样品	质量分数/(mg·kg ⁻¹)					
	栀子苷	京尼平龙胆双糖苷	去乙酰车叶草酸甲酯	栀子苷酸	西红花苷I	西红花苷II
SZ1	42.773 4	7.980 9	0.721 6	0.460 1	9.941 9	1.356 8
JGZ1	38.184 1	8.331 1	1.064 7	0.423 3	6.791 3	1.109 6
JGZ2	35.733 9	8.315 6	1.018 9	0.380 9	6.461 1	0.977 1
JGZ3	35.845 2	9.101 4	1.045 2	0.427 8	5.170 3	0.776 8
CZ1	35.495 8	6.892 7	1.021 8	0.440 0	4.600 1	0.578 7
CZ2	37.928 8	7.634 7	1.179 9	0.484 1	5.298 7	0.751 5
CZ3	37.206 5	7.213 0	1.017 7	0.441 1	5.008 4	0.707 7
JZ1	38.251 8	8.570 2	0.752 0	0.651 6	3.566 7	0.521 1
JZ2	33.755 7	7.454 6	1.112 8	0.635 3	1.757 8	0.220 6
JZ3	27.962 8	7.022 3	0.509 2	0.779 2	0.762 8	0.104 1
TZ1	18.707 8	4.894 4	0	0.730 2	0.940 4	0.134 1
TZ2	11.067 2	2.637 3	0	0.652 2	0.323 4	0.065 1
TZ3	12.061 9	3.447 7	0	0.551 4	0.216 4	0.050 8

可见肝脏颜色较深,均匀分散的斑点样改变。

各组血液生化检测结果见表3,与对照组比较,生栀子组 ALT、AST、TBIL、CREA、BUN 均显著性升高($P < 0.01$);与生栀子组比较,其他各炮制品组的 ALT、AST 均显著性降低($P < 0.05、0.01$),姜栀子组、焦栀子组和栀子炭组的 TBIL 均显著降低($P < 0.01$),焦栀子组和栀子炭组的 CREA、BUN 指标均显著性降低($P < 0.01$),且姜栀子组的 BUN 指标明

显降低($P < 0.05$),表明 7.5 g/kg 剂量下生栀子、炒栀子、姜栀子、焦栀子和栀子炭对正常大鼠造成了不同程度的肝肾损伤,顺序为生栀子 > 炒栀子 > 姜栀子 > 焦栀子 > 栀子炭,其中生栀子组肝肾损伤最严重,栀子炭组肝肾损伤较轻。

2.3.4 统计学分析 实验数据用 SPSS 22.0 统计软件进行单因素方差分析,组间比较采用 LSD 多重比较,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析。

表3 栀子5种炮制品不同批次样品对正常大鼠肝肾功能的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of different batches samples made from five kinds processed *Gardenia jasminoides* on liver and kidney function of normal rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	TBIL/(μmol·L ⁻¹)	CREA/(μmol·L ⁻¹)	BUN/(mg·dL ⁻¹)
对照	12	55.93±10.76	123.16±22.09	5.01±0.60	31.24±3.03	18.99±1.41
SZ1	9	236.54±27.00**	303.93±50.43**	71.71±40.59**	126.51±21.09**	62.37±19.63**
CZ1	10	195.82±37.86**	265.36±45.08**	54.56±23.81**	102.69±52.58*	57.62±20.15**
CZ2	10	197.61±42.75**	253.62±37.83**	50.82±23.47**	102.95±32.97**	56.19±23.47**
CZ3	10	198.00±21.76**#	238.46±29.21**#	45.83±13.88**	104.84±21.91**	47.71±20.43*
JGZ1	10	198.76±31.09**	206.51±35.29***	45.87±12.20**	93.68±49.38*	42.30±13.83**
JGZ2	10	194.27±34.90**	203.72±33.98***	38.76±8.30**	89.94±33.26**	42.14±14.37**
JGZ3	10	193.00±30.29**#	204.70±17.95***	37.00±14.47***	88.59±45.95*	40.76±14.28**
JZ1	10	153.32±23.59***	184.13±37.03**#	44.84±26.23**	52.92±15.12***	36.18±5.95***
JZ2	10	156.82±43.71***	178.81±22.27***	32.12±18.78***	40.23±11.89**	26.27±10.28**
JZ3	10	142.99±17.24***	176.53±25.41**#	26.97±9.26***	41.52±11.46**	24.97±5.24***
TZ1	11	79.77±13.05**#	155.81±51.63**#	28.77±9.47***	35.55±0.95**	27.99±8.54**#
TZ2	12	61.34±22.89**#	151.04±32.25**#	15.16±4.19***	33.81±4.74**#	22.41±4.29**#
TZ3	12	73.82±19.05**#	148.75±36.36**#	19.00±5.93***	32.42±4.44**#	24.44±8.68**#

与对照组比较:* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$;与生栀子组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs *Gardenia jasminoides* raw product

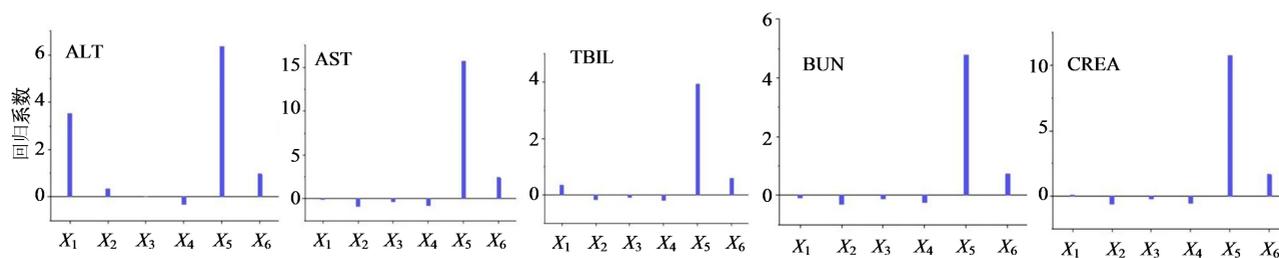
2.4 栀子炮制前后的肝肾毒性指标与化学成分含量的偏最小二乘法分析

使用 Origin 9.1 软件进行偏最小二乘法分析。生栀子(SZ1)、姜栀子(JGZ1~JGZ3)、炒栀子(CZ1~CZ3)、焦栀子(JZ1~JZ3)、栀子炭(TZ1~TZ3)样品依次标记为数字1~13。设定13个栀子炮制品6种化学成分的含量为自变量(X),栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷酸、西红花苷I和西红花苷II依次为 $X_1、X_2、X_3、X_4、X_5、X_6$;5个肝肾功能(ALT、AST、TBIL、BUN、CREA)指标值为因变量(Y),其中1~10为训练集,11~13为验证集。按照 Origin 9.1 软件流程操作进行偏最小二乘法回归计算,得到 PLS 变量系数图、重要性图,对模型结果进行分析。

2.4.1 各指标的偏最小二乘法回归分析 偏最小

二乘法回归分析中得到的 ALT、AST、TBIL、BUN 和 CREA 系数图是自变量 X 分别对 5 个肝肾功能(ALT、AST、TBIL、BUN 和 CREA)指标 Y 建立回归方程,回归系数见图2。回归系数反映了自变量 X 对肝肾毒性的贡献大小,回归系数越大表示贡献率越大。回归系数为正值,代表化学成分与肝肾毒性呈正相关,回归系数为负值,代表二者呈负相关。

2.4.2 变量重要性分析 由图3可知,栀子及栀子炮制品中栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷酸、西红花苷I和西红花苷II这6种化学成分对肝肾毒性的贡献率大小,VIP值的顺序为栀子苷 > 西红花苷I > 京尼平龙胆双糖苷 > 西红花苷II > 去乙酰车叶草酸甲酯 > 栀子苷酸,且栀子苷和西红花苷I的VIP值均大于0.8,说明栀子苷对肝肾毒性具有显著的重要作用,其次是西红花



X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆分别为栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷酸、西红花苷I和西红花苷II
X₁, X₂, X₃, X₄, X₅ and X₆ were jasminoside, gentioside, methyl deacetyl choxalate, jasminoic acid, crocin I and crocin II, respectively

图2 栀子不同炮制品中6种化学成分对肝肾功能指标贡献率的系数图

Fig. 2 Coefficient graph of contribution rate of six chemical components in different processed gardenia products to liver and kidney function indexes

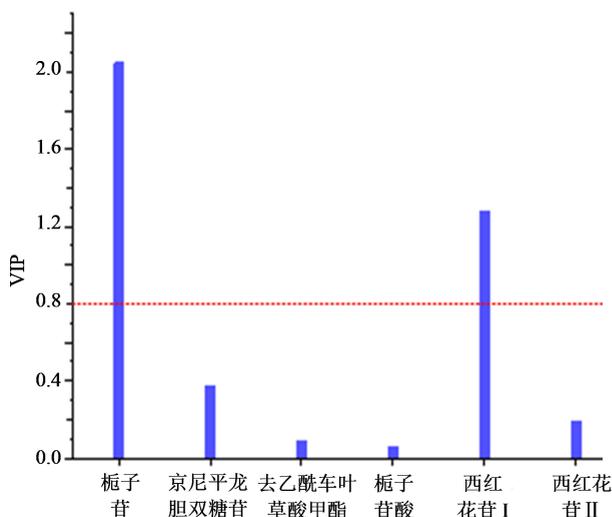


图3 6种化学成分对栀子不同炮制品肝肾毒性的变量重要性
Fig. 3 VIP of variable importance of six chemical components on liver and kidney toxicity of different processed gardenia products

苷I。

3 讨论

本研究结果表明栀子炮制前后各化学成分的含量、总量和组成发生了较大的变化,此与炮制时间和炮制条件的强烈程度有关。随着炮制时间的延长和炮制剧烈程度的加深,栀子炮制后栀子苷、西红花苷I和西红花苷II的含量不同程度的降低,但是姜栀子中的京尼平龙胆双糖苷,炒栀子、姜栀子和焦栀子中的去乙酰车叶草酸甲酯以及焦栀子和栀子炭中的栀子苷酸的含量均较生栀子含量升高,与文献报道栀子炮制前后的变化规律基本一致^[6-7]。

本实验采用7.5 g/kg剂量(折合人临床用药量75 g)连续ig给药3 d,观察不同炮制品对正常大鼠的肝肾毒性,结果表明生栀子、姜栀子、炒栀子、焦栀子、栀子炭对正常大鼠造成不同程度的肝、肾损伤(生栀子>炒栀子>姜栀子>焦栀子>栀子炭),

栀子炮制之后肝肾毒性不同程度的减轻,说明炮制对栀子有减毒作用。

本实验采用偏最小二乘回归分析方法,建立栀子中6种化学成分的含量(栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷酸、西红花苷I、西红花苷II)和5个肝肾功能(ALT、AST、TBIL、BUN、CREA)指标值PLS分析模型。通过对PLS变量重要性图、系数图的分析,发现栀子中6种主要化学成分中栀子苷与西红花苷I的变量重要性值均超过0.8。栀子苷对肝肾毒性指标的贡献最显著,其次为西红花苷I。栀子苷与西红花苷I可能是栀子肝肾毒性的物质基础,栀子炮制后减轻肝肾毒性的作用可能与炮制后栀子苷与西红花苷含量降低有关。推测这两种化学成分之间可能相互关联对肝肾毒性起到协同作用。现在大多学者对于栀子肝肾毒性物质基础的研究都主要围绕栀子苷进行^[8-10],对西红花苷I的研究尚属空白,对于西红花苷I及其与栀子苷的协同作用导致肝肾毒性的具体作用机制还需进行深入研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2015. Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2015.
- [2] 史永平,孔浩天,李昊楠,等. 栀子的化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测分析[J]. 中草药, 2019, 50(2): 281-289. Shi Y P, Kong H T, Li H N, et al. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of Gardenia jasminoides and predictive analysis on quality marker (Q-marker) [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(2): 281-289.

- [3] 王荣慧, 吴虹, 王梦蝶, 等. 栀子苷保肝利胆和肝毒性双重作用的研究进展 [J]. 安徽中医药大学学报, 2020, 39(3): 88-91.
Wang R H, Wu H, Wang M D, et al. Research progress on the dual effects of geniposide in protecting liver and choleretics and hepatotoxicity [J]. J Anhui Univ Tradit Chin Med, 2020, 39(3): 88-91.
- [4] 卫生部药政管理局. 全国中药炮制规范 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988.
Pharmaceutical Administration of the Ministry of health. National standard for processing traditional Chinese medicine [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 1988.
- [5] 湖南省食品药品监督管理局. 湖南省中药饮片炮制规范(2010年版) [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2010.
Hunan Provincial Food and drug administration. Hunan provincial standard for the processing of decoction pieces of traditional Chinese medicine (2010 Edition) [M]. Changsha: Hunan Science and Technology Press, 2010.
- [6] 江国杰. 中药栀子不同炮制方法的含量变化与抗炎效果的影响 [J]. 北方药学, 2015, 12(12): 106-107.
Jiang G J. The content change of the traditional Chinese medicine *Gardenia jasminoides* Ellis in different processing methods and the influence of its anti-inflammatory effect [J]. J North Pharm, 2015, 12(12): 106-107.
- [7] 邵坚, 罗光明, 朱继孝, 等. 栀子炮制前后7种成分的比较研究 [J]. 中草药, 2015, 46(11): 1629-1633.
Shao J, Luo G M, Zhu J X, et al. Comparison on seven kind of ingredients in *Gardeniae Fructus* before and after processing [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2015, 46(11): 1629-1633.
- [8] 胡燕珍, 李德凤, 张毅, 等. 基于基因组学策略的京尼平苷肝毒性标志基因研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(19): 4234-4240
Hu Y Z, Li D F, Zhang Y, et al. Marker genes of geniposide-induced hepatotoxicity based on genomic strategy [J]. China J Chin Mater Med, 2019, 44(19): 4234-4240.
- [9] 程生辉, 赵子凤, 李会芳. 栀子苷单次给药肾毒性在正常大鼠和黄疸大鼠体内的量毒关系对比研究 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(5): 1096-1098.
Cheng S H, Zhai Z F, Li H F. Comparative study on dose-effect relationship about nephrotoxicity of geniposide in normal and jaundice rats [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2018, 36(5): 1096-1098.
- [10] 冯筱懿, 田婧卓, 易艳, 等. 栀子苷对大鼠的肾脏毒性作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(10): 118-121.
Feng X Y, Tian J Z, Yi Y, et al. Nephrotoxicity effect of gardenoside in rats [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2016, 22(10): 118-121.

[责任编辑 兰新新]