

梔子花根的生药学鉴定

李江, 林兴, 黄忠仕, 张士军, 黄仁彬*

(广西医科大学药理学教研室, 广西南宁 530021)

梔子花根为茜草科梔子属植物梔子 *Gardenia jasm inoides* Ellis 的根, 其原植物的果实作为药材梔子早已广泛应用, 并被《中华人民共和国药典》(一部) 收载, 而其根在我国华南地区, 尤其是广西、广东、福建民间应用十分普遍, 有清热、凉血、解毒的功能, 民间主要用于黄疸性肝炎、肾炎水肿、感冒高热、出血吐血等病症的治疗, 其药材正名梔子花根来源于《福建民间草药》的记载^[1], 民间别名黄枝根、山枝根、三枝根等。目前国内外对其研究较少, 仅知其成分主要含环烯醚萜类、齐墩果酸醋酸酯、甘露醇、豆甾醇等。本实验首次从药材性状、组织和粉末的显微特征、紫外光谱、薄层色谱和高效液相色谱等方面对其进行了生药学研究, 为建立其质量标准提供科学依据。

1 材料

原植物由笔者采于南宁市近郊, 并经广西中医药大学研究所中药研究室赖茂祥主任鉴定为梔子 *Gardenia jasm inoides* Ellis。

XSP-18B 双目生物显微镜(南京江南), DMR+ Q 550 病理图像分析仪(德国莱卡), Waters 高效液相色谱系统(Waters 1525 并联泵, waters2487 双波长紫外检测器, waters Breeze 色谱工作站), TU-1800SPC 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器公司), 薄层色谱用硅胶 G(化学纯, 青岛海洋化工厂), 齐墩果酸片(西南制药一厂, 20 mg×40 片, 批号: 021003), 齐墩果酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 0709-9803), 齐墩果酸醋酸酯对照品为自制, 乙腈(天津四友公司, 色谱纯), 其余试剂均为分析纯。

2 药材性状

根呈长圆柱形, 粗壮, 主根直径 1~5 cm, 长可达 1 m 以上; 侧根常在近地面处轮状聚生或依次向下分生, 与主根常难以区分, 侧根上又生纤维根; 茎枝贴地面处常生有不定根。根表面灰黄色至棕黄色,

粗糙不平, 布满突起、沟纹、裂隙及栓皮脱落痕迹; 栓皮易剥脱, 剥脱处光滑, 黄白色。质坚脆, 易折断, 断面纤维性, 木部宽广, 无髓。气香甜, 味淡。

3 显微特征

3.1 根(直径 0.7 cm)横切面: 木栓层由数列至十数列木栓细胞紧密排列而成, 细胞呈长方形, 长 18~30 μm , 直径 7~11 μm 。栓内层较宽, 由类椭圆或纺锤形的薄壁细胞组成, 长 20~30 μm , 直径 7~10 μm , 有细胞间隙, 常为 3~5 条石细胞环带所分隔。每条石细胞环带由数列圆形或类方形的石细胞聚集堆砌而成, 石细胞直径 10~50 μm , 壁增厚, 胞腔狭小, 为最明显的显微特征, 有些药材样品石细胞几乎完全充满栓内层, 看不到薄壁细胞。栓内层薄壁细胞中偶可见草酸钙方晶存在。韧皮部较窄。形成层明显, 呈波状环带。木质部宽广, 导管较大, 直径 15~60 μm , 紧密排列, 类年轮状纹样; 横切面上排列呈辐射状。中央初生木质部为四原型。横切面组织见图 1。

3.2 粉末及解离组织: 粉末的显微观察主要可见木纤维和导管; 而用硝酸钾分别对周皮和木质部解离后的解离组织进行显微观察, 木质部解离组织可见木纤维和导管, 周皮的解离组织可见石细胞、木栓细胞和栓内层薄壁细胞。导管多为具缘纹孔或网纹导管, 导管分子长 80~240 μm , 直径 30~50 μm 。木纤维众多, 长 450~550 μm , 直径 8~12 μm , 两端尖, 条状, 壁木质化增厚, 胞腔狭窄。石细胞类圆形, 类方形, 长方形或类三角形, 纺锤形。栓内层薄壁细胞类圆形, 细胞间隙明显, 细胞壁被苏丹 III 染成红色, 可能存在木栓化或角质化。粉末及解离组织见图 2。

4 薄层色谱鉴别

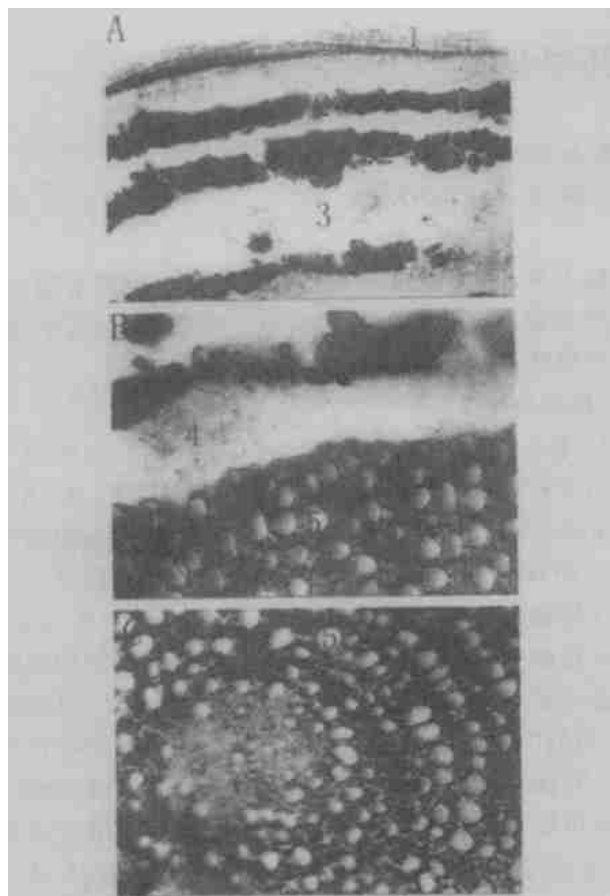
根据文献^[2]报道, 梔子花根含齐墩果酸醋酸酯。笔者以齐墩果酸为原料, 用吡啶-乙酸酐法进行乙酰化, 制备出了齐墩果酸醋酸酯。并以齐墩果酸醋酸酯为对照品, 建立了梔子花根中齐墩果酸醋酸酯的

* 收稿日期: 2004-03-16

基金项目: 本课题为广西科学研究与技术开发项目(桂科攻 03220204-51)

作者简介: 李江(1970—)男, 四川金堂人, 1993年毕业于桂林医学院药学院药学专业, 2004年获得广西医科大学药理学专业硕士学位, 现任桂林医学院附属医院药剂科副主任, 主管药师。研究方向为中药新药的研制开发。 Tel: (0773) 2882506

* 通讯作者 Tel: (0771) 5358272, 5358014 E-mail: huangrenbin518@sohu.com



1-木栓层 2-石细胞环带 3-栓内层 4-韧皮部
5-次生木质部及导管 6-初生木质部
1-phelloderm 2-circular belt of sclereids 3-phelloderm
4-phloem 5-secondary xylem and vessels 6-primary xylem

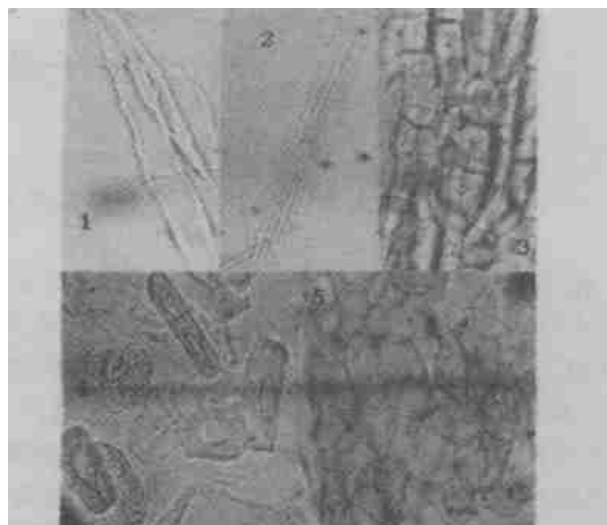
图 1 栀子花根横切面

Fig 1 Photomicrograph of transverse section
of *G. jasm. inoides* root

薄层鉴别方法

4.1 齐墩果酸醋酸酯对照品的制备: 将齐墩果酸片 20 片研碎, 无水乙醇 400 mL 回流提取 1 h, 滤过, 回收乙醇, 提取物经薄层色谱验证与齐墩果酸对照品 R_f 相同, 经 UV 光谱扫描与齐墩果酸对照品光谱图相同, 同样在 207 nm 处有最大吸收峰。将提取物置具塞锥形瓶 110 °C 干燥 30 min, 加入醋酸酐和吡啶各 10 mL, 密塞, 放置过夜。加入纯化水约 200 mL, 随即析出大量白色沉淀, 滤过, 再用水洗涤沉淀数次, 除去过量的吡啶和醋酸酐。沉淀用氯仿溶解, 滤过, 干燥, 即得。经 UV 光谱扫描, 产物在 207 和 254 nm 有两个吸收峰, 经薄层色谱验证与齐墩果酸不在同一位置上。

4.2 供试品的制备: 称取本品的干燥粗粉 30 g, 加入无水乙醇 150 mL, 回流提取 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 用氯仿 50 mL 和水 100 mL 分数次交替转移至分液



1-木质部导管 2-木纤维 3-木栓层细胞(正面)
4-石细胞 5-栓内层薄壁细胞

1-vessels of secondary xylem 2-xylem fiber
3-phelloderm cell 4-sclereids 5-parenchymal cell

图 2 栀子花根粉末及解离组织照片

Fig 2 Photomicrograph of powder and dissociated tissue
of *G. jasm. inoides* root

漏斗内, 加入饱和氯化钠溶液 20 mL, 振荡萃取, 分取氯仿层。同法再用蒸馏水萃取洗涤 2 次, 每次 100 mL。分取氯仿层, 回收氯仿, 残渣用甲醇 10 mL 溶解, 制成供试品。

4.3 齐墩果酸醋酸酯薄层色谱鉴别: 取齐墩果酸和齐墩果酸醋酸酯对照品分别加甲醇制成 1 mg 的溶液作为对照溶液, 与薄层色谱鉴别用供试品一起点于同一硅胶 G 薄层板上(自制)。以丙酮-氯仿-环己烷-冰醋酸(5:15:30:1)为展开剂, 展距 15 cm, 取出吹干, 喷以 10% 硫酸乙醇液于 110 °C 烘干约 15 min, 结果供试品在与齐墩果酸醋酸酯对照品相应的色谱位置上, 显相同的紫红色斑点(a 点); 但在与齐墩果酸对照品相应的位置上, 斑点呈棕褐色, 而齐墩果酸对照品斑点为紫红色(b 点)。薄层色谱图见图 3。

5 高效液相色谱鉴别

色谱条件: 色谱柱 Symmetry C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-乙腈-水-冰醋酸 (72:13:15:0.4), 检测波长: 210 nm; 灵敏度: 0.01 AUFS; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 35 °C。

供试品进样 20 μL 测定色谱图, 同时以齐墩果酸和齐墩果酸醋酸酯对照品的甲醇溶液进样作对照色谱图。齐墩果酸和齐墩果酸醋酸酯的保留时间分别为 11.10 和 22.83 min。HPLC 色谱图见图 4。

6 紫外光谱鉴别

从薄层色谱鉴别用供试品中取 1 mL, 用甲醇稀释

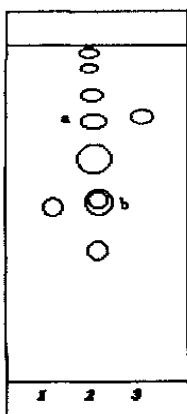
定容于 25 mL 量瓶,制成紫外光谱鉴别用供试品,在 190~800 nm 之间进行光谱扫描,供试品在 221 和 277 nm 处有两个吸收峰(图 5)。

7 讨论

梔子花根的原植物为本植物,根组织特征中次生结构非常发达,在横切面上次生木质部占了绝大部分比例,木质部导管的排列类似年轮状;周皮厚且十分坚硬,与其栓内层宽阔的石细胞环带有很大关系,这些特征十分明显,可作为显微鉴别该药材的依据。

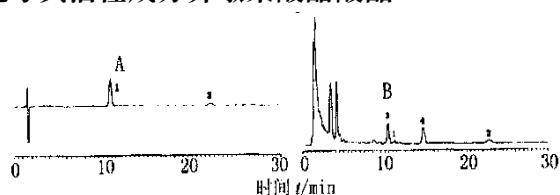
齐墩果酸乙酰化生成齐墩果酸醋酸酯的反应为脱水缩合反应,应该尽量控制在无水条件下操作,反应过程应在密闭容器内进行,吡啶和醋酸酐应采用新后封的试剂或重新蒸馏干燥后使用,齐墩果酸的 3-OH 的乙酰化反应较容易,反应条件温和,放置过夜即可反应完全。

该药材民间习用于治疗肝炎,根据目前研究资料判断,其作用可能与其活性成分齐墩果酸醋酸酯



1-齐墩果酸(Rf=0.57) 2-供试品
3-齐墩果酸醋酸酯(Rf=0.80)
1-oleanolic acid
2-product for experiment
3-acetic ester of oleanolic acid

图 3 梔子花根薄层色谱图
Fig 3 TLC chromatogram of *G. jasm in oids* root



A-对照品 B-供试品

A-reference substances B-product for experiment

1-齐墩果酸(R_t=11.10 min) 2-齐墩果酸醋酸酯(R_t=22.83 min) 3-未知物峰(R_t=10.30 min) 4-未知物峰(R_t=14.57 min)
1-oleanolic acid 2-acetic ester of oleanolic acid 3-unknown substances 4-unknown substances 5-unknown substances

图 4 梔子花根高效液相色谱图

Fig 4 HPLC chromatogram of *G. jasm in oids* root

有关,故在考虑以成分作为鉴定依据时选择了以齐墩果酸醋酸酯为研究指标,但却同时检出了齐墩果酸,这在以前的文献中未见报道。

以硅胶 G 为固定相,丙酮-氯仿-环己烷-冰醋酸

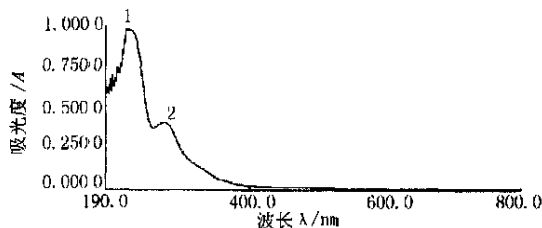


图 5 梔子花根紫外光谱图

Fig 5 Ultraviolet spectrum of *G. jasm in oids* root

为展开剂,齐墩果酸醋酸酯为对照进行薄层色谱展开,重现性好,斑点明显,分离度较好,可以作为梔子花根质量控制中薄层鉴别的条件采用。笔者亦考察了丙酮、氯仿与环己烷的各种配比,以 5:15:30 比例分离效果最佳。薄层色谱法尽管存在与齐墩果酸对照品相对应的斑点,但颜色不同,判断该斑点应为混合成分形成的斑点,无法用于确证齐墩果酸的存在,但在 HPLC 法中得到了初步确证。

在建立 HPLC 鉴别方法的过程中,笔者起初研究了甲醇和水组成的流动相的各种配比,如甲醇-水(80:15)、甲醇-水(80:20)和甲醇-水(90:10)等,在齐墩果酸保留时间处均有一个明显的色谱峰,但在建立某制剂的齐墩果酸含量测定方法时发现,许多薄层鉴别明显没有检出齐墩果酸的药材(如半枝莲、天胡荽、六月青等),在以甲醇-水为流动相测定 HPLC 色谱图时,在齐墩果酸出峰的保留时间处也有一个明显的色谱峰,证明此流动相条件下齐墩果酸峰存在干扰,可能为混合峰,于是通过在流动相中加入乙腈来调整选择因子,通过空白实验验证了此流动相条件下齐墩果酸出峰处于干扰峰不再存在。冰醋酸为离子抑制剂,可明显改善峰形,认为 0.4% 冰醋酸比较合适,不仅可以显著改善峰形,且流动相的 pH 值在 3.6 左右,符合 C₁₈ 柱对流动相 pH 值的要求,梔子花根的 HPLC 色谱图中不仅显示有保留时间分别为 11.10 和 22.83 min 的齐墩果酸和齐墩果酸醋酸酯的两个最主要的供鉴别用的色谱峰,还同时存在有保留时间分别为 10.30 和 14.53 min 的两个明显的未知物的色谱峰,可供辅助鉴别用。

References

- [1] Editorial Office of Collection of Words of Traditional Chinese Medicine. *Collection of Words of Traditional Chinese Medicine* (中药辞海) [M]. Vol II. Beijing: People's Medical Publishing House, 1993.
- [2] Wang X F, Chen J Y, Zhang G L. Research on components of stem and root of *Gardenia jasm in oids* E [J]. *China J Chin M ater Med* (中国中药杂志), 1986, 11(10): 44-45.