

栀子炮制前后 7 种成分的比较研究

邵 坚, 罗光明*, 朱继孝, 张忠立, 张 兰, 董艳凯, 魏春华

江西中医药大学, 江西 南昌 330004

摘 要: 目的 比较栀子 *Gardenia jasminoides* 全果、果仁、果皮中 7 种成分炮制前后的变化。方法 利用 HPLC/DAD 对栀子全果、果仁、果皮生品及其炮制品中京尼平苷酸、去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、绿原酸、西红花苷 I 和西红花苷 II 进行定量分析。结果 栀子果皮中绿原酸和去乙酰车叶草酸甲酯的量较高, 栀子果仁中京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、西红花苷 I 和西红花苷 II 的量较高。栀子经过炮制后除京尼平苷酸的量升高外, 京尼平龙胆二糖苷的量变化不大, 去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷、绿原酸、西红花苷 I 和西红花苷 II 的量有所下降。结论 栀子果仁、果皮中去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、绿原酸、西红花苷 I 和西红花苷 II 的量分布存在差异; 炮制可降低栀子中大多数有效成分的量, 升高栀子中京尼平苷酸的量。

关键词: 栀子全果; 栀子果仁; 栀子果皮; 炮制; 京尼平苷酸; 去乙酰车叶草酸甲酯; 京尼平龙胆二糖苷; 栀子苷; 绿原酸; 西红花苷 I; 西红花苷 II

中图分类号: R283.1; R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)11-1629-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.11.012

Comparison on seven kind of ingredients in *Gardeniae Fructus* before and after processing

SHAO Jian, LUO Guang-ming, ZHU Ji-xiao, ZHANG Zhong-li, ZHANG Lan, DONG Yan-kai, WEI Chun-hua
Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective To compare the changes of seven kinds of compounds in the fruits, seeds, and peels of *Gardeniae Fructus*. **Methods** Quantitative analysis of geniposidic acid, deacetyl asperulosidic acid methyl ester, genipin-1-gentiobioside, geniposide, chlorogenic acid, crocin I, and crocin II in the fruits, seeds, and peels of *Gardeniae Fructus* with rocessed and no processed, were firstly carried out by HPLC/DAD. **Results** The conents of deacetyl asperulosidic acid methyl ester and chlorogenic acid were higher in the peels of *Gardeniae Fructus*. The conents of genipin-1-gentiobioside, geniposide, crocin I, and crocin II were higher in the seeds of *Gardeniae Fructus*. Geniposidic acid content was increased in turn, the content of deacetyl asperulosidic acid methyl ester, geniposide, chlorogenic acid, crocin I, and crocin II were reduced in turn and genipin-1-gentiobioside contents were not changed from crude, stir-fired, and stir-baked products. **Conclusion** The contents of eacetyl asperulosidic acid methyl ester, genipin-1-gentiobioside, geniposide, chlorogenic acid, crocin I, and crocin II between the seeds and peels of *Gardeniae Fructus* exist differences. The main ingredients of *Gardeniae Fructus* are decreased after processing except the increasing of geniposidic acid.

Key words: fruits of *Gardeniae Fructus*; peels of *Gardeniae Fructus*; seeds of *Gardeniae Fructus*; processing products; geniposidic acid; deacetyl asperulosidic acid methyl ester; genipin-1-gentiobioside; geniposide; chlorogenic acid; crocin I; crocin II

栀子 *Gardeniae Fructus* 为茜草科 (Rubiaceae) 植物栀子 *Gardenia jasminoides* Eills 的干燥成熟果实,《中国药典》2010 年版收载的有生栀子、炒栀子和焦栀子^[1]。栀子是临床常用中药,有泻火除烦、

清热利尿、凉血解毒之功效,现代药理研究表明栀子具有抗炎、镇静、镇痛、保肝利胆、抗凝血等作用。已知的主要有效成分为有机酸、环烯醚萜苷和色素。其中有有机酸以绿原酸等为代表,环烯醚萜苷

收稿日期: 2015-01-18

基金项目: 国家科技部“十二五”科技支撑计划课题 (2011BAI04B01); 国家中医药管理局行业科研专项: 栀子药材优良品种选育方法及种植质量控制技术研究 (201507002-1-02)

作者简介: 邵 坚 (1988—), 男, 江西景德镇人, 硕士研究生, 主要从事中药及天然药物的药效物质基础研究。E-mail: shaojian1988@126.com

*通信作者 罗光明 E-mail: jzlgm88@163.com

以栀子苷、京尼平龙胆二糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平苷酸等为代表,色素以西红花苷 I 和西红花苷 II 等为代表。但其味苦,性大寒,易损伤脾胃,自古以来即很重视对其的炮制处理^[2]。栀子常见炮制法为药典法^[1]、章帮法^[3]和建昌帮法^[4],各种炮制法仅从栀子果实选用部位就存在差异,药典法是对全果炮制、章帮法是弃皮留仁炮制,建昌帮法中还有对栀子果皮单独炮制。虽已有报道关于栀子果皮、果仁成分差异和栀子炮制研究^[5],但选用的指标成分较少,也缺乏系统性。

通过对 22 批栀子类药材中 10 种主要有效成分研究,发现虽然不同产地批次栀子有效成分的量存在差异,但栀子中栀子苷、京尼平龙胆二糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、西红花苷 I、西红花苷 II 等的量稳定^[6];京尼平苷酸是栀子中环烯醚萜类代表成分之一,绿原酸是栀子有机酸中最具有代表性成分之一,具有显著的抗炎活性。为了更好地阐明栀子果仁、果皮分开药用的物质基础和栀子炮制的机制,也为制定栀子炮制规范提供依据,本实验利用 HPLC-DAD 对栀子全果、果仁、果皮及各自炮制品中绿原酸、栀子苷、京尼平龙胆二糖苷、去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平苷酸、西红花苷 I、西红花苷 II 7 种成分的量进行测定比较分析。

1 仪器与材料

Agilent1260,美国 Agilent 公司,包括 G1311C 四元梯度泵、G1329B 自动进样器、G1316A 柱温箱、G4212B 二极管阵列检测器;BP224S 型万分之一电子天平,Sartorius 公司;KQ-300E 超声波清洗器,昆山超声仪器有限公司;永历 111B 中药粉碎机;CCFG-160 型电炒锅,广东湛江家用电器工业公司。

京尼平苷酸(批号 111828-201102,质量分数 96.0%)、栀子苷(批号 110749-201316,质量分数 97.5%)、去乙酰车叶草酸甲酯(批号 111786-200801,质量分数 99.9%)、绿原酸(批号 110753-201314,质量分数 96.6%)、西红花苷 I(批号 111588-201202,质量分数 91.1%)、西红花苷 II(批号 111589-201304,质量分数 92.4%),以上对照品均购自中国食品药品检定研究院;京尼平龙胆双糖苷(HPLC 测定质量分数>98%,批号 ZM0501BA14),购自上海源叶生物科技有限公司;进口色谱纯乙腈(ACS);甲醇、磷酸为分析纯;水为娃哈哈纯净水。

栀子生品由汇仁集团提供,批号为 20140601,经江西中医药大学药学院葛菲教授鉴定为栀子

Gardenia jasminoides Ellis 的干燥成熟果实。栀子各种炮制品(栀子全果炒黄、炒焦,栀子果仁炒黄、炒焦,栀子果皮炒黄、炒焦)由同一批生栀子炮制 8 批,在江西中医药大学药学院钟凌云教授指导下完成炮制。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取栀子各种生品及其炮制品粉末约 0.20 g(过 4 号筛),精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 25 mL,称定质量,超声处理 40 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,即得。

2.2 对照品溶液的制备

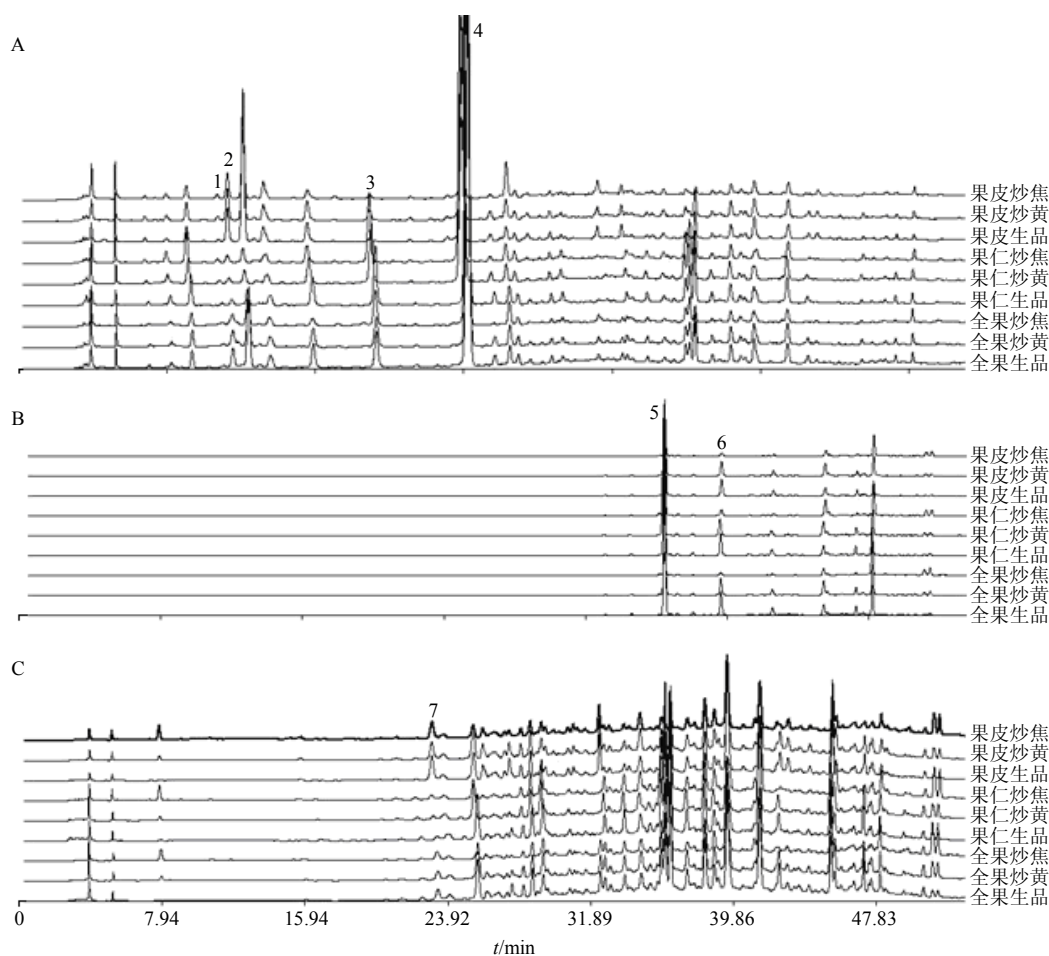
分别精密称取京尼平苷酸、去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、绿原酸、西红花苷 I、西红花苷 II 对照品适量,加 50% 甲醇溶解制成质量浓度分别 43.00、25.63、154.56、1 249.00、27.60、145.50、51.90 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液,取适量混合对照品溶液分别稀释 2、4、8、16、32 倍,待用。

2.3 色谱条件^[7]

色谱柱为 Venusil MPC₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);流动相为 0.1% 磷酸水溶液-乙腈,梯度洗脱:0~18 min, 8%~15% 乙腈;18~25 min, 15%~23% 乙腈;25~40 min, 23%~35% 乙腈;40~55 min, 35%~65% 乙腈;柱温 20 $^{\circ}\text{C}$;体积流量 0.8 mL/min;检测波长为 240、330、440 nm;进样量为 10 μL 。色谱见图 1。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 将“2.2”项中稀释不同倍数的混合对照品溶液,按“2.3”项下的色谱条件进行测定,进样量 10 μL 。以峰面积积分值为纵坐标(Y),进样质量浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,进行线性回归,得回归方程分别为京尼平苷酸: $Y=16\ 936.4\ X+0.55$, $r=0.999\ 91$,线性范围 1.34~43.00 $\mu\text{g/mL}$;去乙酰车叶草酸甲酯: $Y=15\ 464.7\ X-1.18$, $r=0.999\ 99$,线性范围 0.80~25.63 $\mu\text{g/mL}$;京尼平龙胆二糖苷: $Y=87\ 772.2\ X+15.1$, $r=0.999\ 90$,线性范围 4.83~154.56 $\mu\text{g/mL}$;栀子苷: $Y=13\ 032.6\ X+57.0$, $r=0.999\ 92$,线性范围 39.03~1 249.00 $\mu\text{g/mL}$;绿原酸: $Y=24\ 543.2\ X+17.8$, $r=0.999\ 14$,线性范围 0.86~27.60 $\mu\text{g/mL}$;西红花苷 I: $Y=53\ 426.4\ X+71.0$, $r=0.999\ 51$,线性范围



1-京尼平苷酸 2-去乙酰车叶草酸甲酯 3-京尼平龙胆二糖苷 4-栀子苷 5-西红花苷 I 6-西红花苷 II 7-绿原酸
1-geniposidic acid 2-deacetyl asperulosidic acid methyl ester 3-genipin-1-β-D-gentiobioside 4-gardenoside 5-crocin-I 6-crocin-II 7-chlorogenic acid

图 1 栀子生品及其不同炮制品在检测波长 240 nm (A)、440 nm (B) 和 330 nm (C) 下的 HPLC-DAD 色谱图

Fig. 1 HPLC-DAD chromatograms of *Gardeniae Fructus* by different processing methods at detection wavelength of 240 (A), 440 (B), and 330 (C) nm

4.55~145.50 μg/mL; 西红花苷 II: $Y=31\,275.0X-1.4$, $r=0.999\,93$, 线性范围 1.62~51.90 μg/mL; 结果表明各成分在相应的范围内, 进样质量浓度与峰面积线性关系良好。

2.4.2 精密度试验 取“2.2”项中混合对照品 2 倍稀释液, 按“2.3”项下的色谱条件, 连续进样 6 次, 每次 10 μL, 测定得各峰面积的 RSD 分别为 0.47%、0.83%、0.15%、0.12%、0.54%、0.26%、0.32%, 符合规定, 说明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取栀子生品 (汇仁集团, 批号 20140601) 粉末约 0.2 g, 精密称定 6 份, 按“2.1”项中制备供试品溶液, 以“2.3”项下的色谱条件分别进行测定, 测得样品中京尼平苷酸、去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、绿原酸、西红花苷 I、西红花苷 II 的平均质量分数的 RSD 分

别为 1.73%、1.39%、1.40%、0.81%、1.10%、1.18%、1.38%, 表明该方法重复性良好。

2.4.4 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液, 按“2.3”项下的色谱条件分别在 0、2、4、6、8、12、24 h 进样测定, 测得样品中京尼平苷酸、去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、绿原酸、西红花苷 I、西红花苷 II 平均质量分数的 RSD 分别为 0.55%、0.22%、0.42%、0.15%、0.99%、0.20%、0.64%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.5 加样回收率试验 取栀子生品粉末约 0.2 g, 精密称定, 共 6 份, 分别加入一定量的京尼平苷酸、去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、绿原酸、西红花苷 I、西红花苷 II 对照品, 按“2.1”项中方法制备供试品溶液, 以“2.3”项下的色谱条件分别进行测定, 计算加样回收率, 结果京尼平苷

酸、去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、绿原酸、西红花苷 I、西红花苷 II 的平均回收率分别为 98.38%、99.05%、97.95%、98.78%、97.16%、98.20%、98.35%，RSD 分别为 1.82%、0.31%、0.20%、0.82%、0.99%、1.01%、0.74%。

2.5 样品测定

取栀子全果、果皮、果仁及其炒黄和炒焦品 9 种样品粉末各 0.20 g，每种饮片 8 批次，按“2.1”项方法制备供试品溶液，以“2.3”项色谱条件测定各种供试品溶液峰面积，按回归方程计算各成分质量分数，结果见表 1。

对栀子果仁、果皮、全果生品中的 7 种成分测定结果比较分析，发现各组分质量分数相差较大。其中去乙酰车叶草酸甲酯、绿原酸的量在栀子果皮

中远高于栀子果仁 ($P < 0.01$)，而栀子苷、京尼平龙胆二糖苷的量在栀子果仁中远高于栀子果皮 ($P < 0.01$)，西红花苷 I、西红花苷 II 的量在栀子果仁中明显高于栀子果皮 ($P < 0.05$)。分别对栀子全果及其炮制品，栀子果仁及其炮制品，栀子果皮及其炮制品 7 种成分质量分数进行比较分析，发现栀子各生品经炮制后，7 种成分质量分数变化趋势基本一致，表现在京尼平苷酸质量分数升高，去乙酰车叶草酸甲酯、绿原酸、栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 质量分数下降，而京尼平龙胆二糖苷质量分数变化没有显著性差异。其中栀子苷在果仁、果皮生品炒黄后质量分数稍有下降，炒焦后质量分数下降明显 ($P < 0.05$)；西红花苷 I 和西红花苷 II 在栀子各生品炮制后质量分数急剧下降。

表 1 样品测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Determination of content in sample ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)						
	京尼平苷酸	去乙酰车叶草酸甲酯	京尼平龙胆二糖苷	绿原酸	栀子苷	西红花苷 I	西红花苷 II
全果生品	0.198±0.006	2.251±0.041	4.113±0.042	1.304±0.023	50.991±0.918	15.163±0.285	2.146±0.038
全果炒黄	0.261±0.009	1.945±0.039	4.173±0.046	1.123±0.027	51.263±1.021	11.032±0.231	1.674±0.037
全果炒焦	0.503±0.012	1.613±0.035	4.122±0.051	1.031±0.025	47.384±1.112	1.734±0.037	0.203±0.005
果仁生品	0.191±0.007	0.761±0.018	7.154±0.141	0.605±0.010	86.572±1.635	16.381±0.316	2.272±0.032
果仁炒黄	0.255±0.010	0.624±0.017	7.111±0.150	0.483±0.011	86.425±1.589	13.975±0.294	1.775±0.035
果仁炒焦	0.292±0.011	0.492±0.011	7.192±0.148	0.201±0.008	81.523±1.037	5.542±0.135	0.632±0.014
果皮生品	0.225±0.005	3.215±0.063**	0.333±0.006**	2.563±0.049**	17.621±0.324**	9.560±0.182	1.803±0.042*
果皮炒黄	0.324±0.008	2.823±0.059	0.324±0.007	2.302±0.051	17.385±0.319	8.840±0.206	1.521±0.034
果皮炒焦	0.363±0.009	2.421±0.060	0.331±0.007	1.834±0.042	16.493±0.278	2.070±0.073	0.385±0.009

与栀子果仁生品比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs peels of *Gardeniae Fructus*

3 讨论

栀子中京尼平苷酸、去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆二糖苷、栀子苷为环稀醚萜类化合物，结构相似，最大吸收波长均为 240 nm，梯度洗脱有较好分离度；绿原酸最大吸收波长为 330 nm；西红花苷 I、西红花苷 II 的最大吸收波长均为 440 nm，分离效果良好。通过方法学考察，本色谱条件可以准确检测栀子中 7 种成分的量。

实验结果表明，栀子炮制过程中不同化合物对热稳定性存在差异，强弱的顺序依次为京尼平龙胆二糖苷、栀子苷、去乙酰车叶草酸甲酯、绿原酸、西红花苷 I、西红花苷 II。京尼平苷酸质量分数升

高，说明炮制可能促使栀子中其他化合物生成京尼平苷酸。

樟帮法炮制栀子需去皮留仁，从本实验中可以找到其内在的依据。鉴于果仁、果皮中栀子苷、西红花苷 I、京尼平龙胆二糖苷质量分数的差异，可以认为栀子果仁在很多药效方面要比等量的栀子果皮的效果好。建昌帮法炮制栀子以果皮、果仁分用为特点，虽然栀子中很多有效成分的分布果仁中远高于果皮，但果皮中绿原酸、去乙酰车叶草酸甲酯质量分数远高于果仁，分别为果仁中的 4.2、4.3 倍。同时说明栀子果皮、果仁内在成分各有其特点，也可以认为在某些药效方面栀子果皮比果仁效果好。

《本草备要》中也有“内热用仁，表热用皮”的论述^[8]，表明栀子果皮、果仁的使用具有针对性，与栀子建昌帮法炮制相一致。药典法炮制栀子是以栀子全果入药或炮制。由实验结果可知，尽管栀子果皮、果仁中的各种成分虽然质量分数存在差异，但其有效成分种类极具相似性，说明了栀子药典法炮制的合理性。不同的炮制方法有其各自的特点，这也与一味药常有数种功效有关。为了更好地开发利用栀子，从资源保护角度，建议提倡药典法炮制栀子，且栀子樟帮法炮制与建昌帮法炮制并行发展。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 张学兰, 程合丽, 李慧芬. 栀子炮制的历史沿革研究 [J]. 中成药, 2005(11): 1281-1283.
- [3] 龚千锋. 樟树中药炮制全书 [M]. 南昌: 江西科学技术出版社, 1990.
- [4] 彭红, 付建武, 黄丽芸. 建昌帮法焦栀子炮制工艺研究 [J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(5): 940-941.
- [5] 杜伟锋, 梁小娟, 吴晶宇, 等. 栀子炮制前后绿原酸、栀子苷和西红花苷 I 的比较 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 2008-2010.
- [6] 付小梅, 彭水梅, 刘婧, 等. HPLC 法同时测定栀子类药材中 10 个主要有效成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2014, 34(4): 615-621.
- [7] 苗琦, 罗光明, 罗扬婧, 等. 栀子多波长 HPLC 指纹图谱及化学模式识别研究 [J]. 中草药, 2014, 45(21): 3159-3164.
- [8] 汪昂. 本草备要 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1993.