

10 批栀子中环烯醚萜苷类成分含量测定

裴彩云, 蔡艳, 宋剑, 贾继明, 李正杰(河北以岭医药研究院, 石家庄 050035)

摘要: 目的 测定不同产地的 10 批栀子药材中栀子苷、京尼平龙胆二糖苷及总环烯醚萜苷含量。方法 采用 HPLC 测定栀子苷、京尼平龙胆二糖苷含量; 采用紫外分光光度法测定总环烯醚萜苷含量。结果 江西产栀子中环烯醚萜苷类成分含量高。结论 不同产地栀子药材中环烯醚萜苷类成分含量有所差别。

关键词: 栀子; 栀子苷; 京尼平龙胆二糖苷; 总环烯醚萜苷; 含量测定

中图分类号: R918.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)13-1343-03

Determination of Iridoid Glycoside in *Gardenia Jasminoides* from 10 Batches

PEI Caiyun, CAI Yan, SONG Jian, JIA Jiming, LI Zhengjie(Hebei Yiling Medicine Institute, Shijiazhuang 050035, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the content of jasmninoidin, genipin gentiobioside and total iridoid glycoside in 10 batches of *Gardenia jasminoides* from different areas. **METHODS** The content of jasmninoidin and genipin gentiobioside were determined by HPLC, while total iridoid glycoside by UV. **RESULTS** The content of iridoid glycoside in *Gardenia jasminoides* from Jiangxi province performed much higher. **CONCLUSION** There is difference of the content of iridoid glycosides in *Gardenia jasminoides* from different areas.

KEY WORDS: *Gardenia jasminoides*; jasmninoidin; genipin gentiobioside; total iridoid glycoside; content determination

栀子是茜草科植物山栀 *Gardenia jasminoides* Ellis 的果实, 性苦寒, 无毒, 入心、肝、肺、胃经, 能清热泻火凉血, 临床用于急性黄疸型肝炎、止血、扭挫伤等疾病^[1]。现代研究发现, 栀子属植物中含有许多的化学成分, 如黄酮类(栀子素类)、环烯醚萜类(栀子苷类)、三萜类(栀子花酸类)、有机酸酯类(绿原酸、藏红花酸类)、挥发油等^[2-3]。其中环烯醚萜类成分为栀子的主要有效成分。文献报道环烯醚萜类成分对消化系统、心血管系统、抗肿瘤、抗菌消炎等作用明显^[4]。

本实验采用 HPLC 和紫外分光光度法分别测定不同产地共 10 批栀子药材中栀子苷、京尼平龙胆二糖苷及总环烯醚萜苷含量, 以期为栀子药材的质量评价提供参考。

1 仪器、试剂与材料

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪, 紫外检测器; Sartorius BS110S 分析天平; Millipore A10 型超纯水机; SHIMADZU UV-2550 分光光度仪。

甲醇为 Fisher 色谱纯; 其余试剂、试药均为分析纯。

栀子苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110749-200512, 供含量测定用); 京尼平龙胆二糖苷(实验室自制, 经面积归一化法测定, 含量 98%以上);

栀子药材采自湖北、江西、浙江等地, 由河北以岭医药研究院中药标本室田青存主任药师鉴定为茜草科植物山栀 *Gardenia jasminoides* Ellis 的果实, 留样药材存于河北以岭医药研究院中药标本室。

2 方法与结果

2.1 栀子苷及京尼平龙胆二糖苷含量测定

2.1.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(10:90); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温 30 °C; 检测波长 236 nm。理论板数以栀子苷计不少于 2 500。对照品及供试品色谱图见图 1。

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2005CB523301)

作者简介: 裴彩云, 女, 硕士, 工程师 Tel: (0311)85901304

E-mail: peicaiyun@126.com

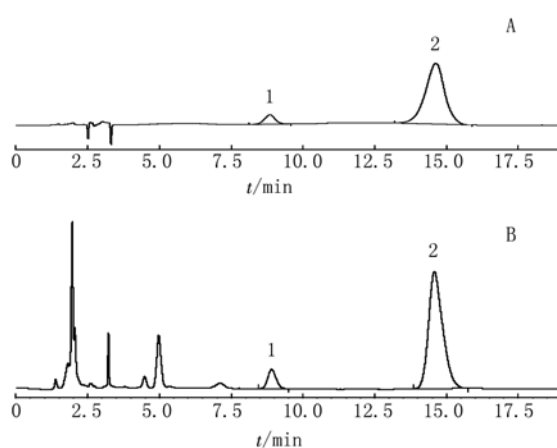


图1 高效液相色谱图

A-对照品; B-梔子药材; 1-梔子苷; 2-京尼平龙胆二糖苷

Fig 1 HPLC chromatogram

A-reference substance; B-sample; 1-jasminoidin; 2-genipin gentiobioside

2.1.2 检测波长确定 以水为空白, 在 200~400 nm 内对梔子苷对照品溶液进行光谱扫描, 结果梔子苷和京尼平龙胆二糖苷在 236 nm 处均有最大吸收。因此选择 236 nm 为检测波长。

2.1.3 对照品溶液制备 精密称取 14.48 mg 梔子苷对照品及 3.08 mg 京尼平龙胆二糖苷, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 制成梔子苷及京尼平龙胆二糖苷浓度分别为 $0.2896 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 及 $0.0616 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。精密吸取混合对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度。制成不同浓度对照品溶液。

2.1.4 线性关系考察 精密吸取上述系列对照品溶液 10 μL , 注入色谱仪, 记录梔子苷及龙胆二糖苷峰面积。以梔子苷进样量(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 绘制标准曲线, 求得回归方程为 $Y=1170.4X+7.3208$, $r=0.9999$, 梔子苷在 0.5792~2.896 μg 内呈良好的线性关系。以京尼平龙胆二糖苷进样量(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=568.25X-1.997$, $r=0.9999$, 京尼平龙胆二糖在 0.1232~0.6160 μg 内呈良好的线性关系。

2.1.5 供试品溶液制备 称取梔子药材粉末(过 4 号筛)0.1 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入 25 mL 水, 称定重量, 加热回流提取 20 min, 放冷, 称重, 加水补足减失的重量。用 0.45 μm 微孔滤膜过滤即得。

2.1.6 稳定性实验 分别制备对照品及供试品溶液, 每隔一定时间进样, 测定梔子苷和京尼平龙

胆二糖苷峰面积, 考察对照品和供试品溶液的稳定性, 结果表明, 对照品和供试品溶液在 24 h 内梔子苷和京尼平龙胆二糖苷峰面积基本稳定, RSD 值分别为 1.21% 和 2.25%。

2.1.7 重复性实验 取同一批样品(江西 GAP 基地), 设高、中、低 3 个浓度, 每个浓度平行 3 份, 按“2.1.5”项下方法分别制备供试品溶液, 测得梔子苷平均含量为 $68.00 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 1.03%, 京尼平龙胆二糖苷平均含量为 $9.30 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 2.58%。

2.1.8 回收率实验 采用加样回收实验, 取同一批样品(江西 GAP 基地, 其中梔子苷含量为 $68.00 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 京尼平龙胆二糖苷含量为 $9.30 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), 设高、中、低 3 个浓度, 分别加入混合对照品溶液(梔子苷及京尼平龙胆二糖苷浓度分别为 $3.4102 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 及 $0.4616 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)0.5, 1.0, 1.5 mL。按“2.1.5”项下方法制备供试品溶液并测定, 计算回收率。得梔子苷和京尼平龙胆二糖苷平均回收率为分别为 100.35%, 99.04%, RSD 分别为 2.20%, 2.68%。

2.1.9 样品含量测定 精密吸取混合对照品溶液及供试品溶液各 10 μL , 注入色谱仪测定, 平行进样 2 次, 取峰面积平均值, 根据回归方程计算含量, 结果见表 1。

2.2 总环烯醚萜苷含量测定

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取梔子苷对照品 7.92 mg, 置 200 mL 量瓶中, 加水溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.2 检测波长确定 以水为空白, 在 200~400 nm 内分别对梔子苷对照品溶液及供试品溶液(取“2.1.5”项下供试品溶液稀释为含生药 0.2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)进行光谱扫描, 结果梔子苷和梔子水提取液在 $(236 \pm 1) \text{ nm}$ 处均有最大吸收。因此选择 236 nm 为检测波长。

2.2.3 标准曲线绘制 精密吸取梔子苷对照品溶液 8, 6, 5, 4, 2 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 用 40%乙醇定容至刻度, 摇匀, 以 40%乙醇为空白, 于 236 nm 处测定吸光度, 以浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程为: $A=0.02651C+0.01982$, $r=0.9994$, 梔子苷在 7.92~31.68 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内呈良好的线性关系。

2.2.4 供试品溶液制备 称取梔子药材粉末(过四号筛)0.1 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入 25

mL 水, 加热回流提取 20 min, 放冷, 滤过, 滤液转移至已处理好的 HPD-300 大孔吸附树脂柱上(柱内径 1.5 cm, 高 10 cm), 先用水 100 mL 洗脱至无色, 弃去水洗液, 再用 40%乙醇 100 mL 洗脱, 收集洗脱液至 100 mL 量瓶中, 用 40%乙醇定容至刻度, 摇匀, 精密量取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 40%乙醇稀释至刻度, 制成浓度为含生药 0.1 mg·mL⁻¹ 溶液, 即得。

2.2.5 重复性实验 取同一批栀子药材粉末, 按“2.2.4”项下方法处理, 制备为高、中、低 3 个浓度, 每个浓度分别制备 3 份供试品溶液, 以水为空白, 于 236 nm 处测定供试品溶液吸光度, 代入回归方程, 计算环烯醚萜苷含量。结果 3 个浓度水平的 RSD 平均为 1.68%。

2.2.6 稳定性试验 取栀子药材粉末 0.1 g, 精密称定, 按照“2.2.4”项下的方法制备供试品溶液。分别在 10, 20, 30, 60, 120, 180 min 测定其吸光度, 结果在 180 min 内吸光度基本保持不变, RSD 为 0.83%。

2.2.7 加样回收率试验 采用加样回收试验, 取同一批栀子药材粉末(江西 GAP 基地产, 含量为 130.98 mg·g⁻¹), 设高、中、低 3 个浓度, 分别加入对照品溶液(1.818 mg·mL⁻¹)0.5, 1.0, 1.5 mL。按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液并测定, 计算回收率。高、中、低 3 个不同浓度平均回收率为 99.06%, RSD 为 0.97%。

2.2.8 样品中总环烯醚萜苷含量测定 取不同产地栀子药材粉末, 按“2.2.4”项下方法制备, 测定 236 nm 处吸收度, 根据“2.2.3”项下回归方程计算供试品中环烯醚萜苷含量。结果见表 1。

3 讨论

3.1 提取方法和溶剂的选择

分别比较了甲醇超声提取、50%甲醇超声提取、水超声提取、甲醇回流提取、50%甲醇回流提取、水回流, 结果表明水回流提取效果较好。又对提取时间及水用量进行考察, 结果提取时间为 20 min, 溶剂用量为 25 mL 时提取效果较好。

3.2 栀子产地的选择

栀子分布于中南部地区, 喜温暖阴湿处、不

表 1 10 批栀子中环烯醚萜苷类成分含量测定

Tab 1 Determination content of iridoid glycoside in Gardenia from 10 areas

编号	产地	栀子苷含量/%	京尼平龙胆二糖苷含量/%	总环烯醚萜苷含量/%
1	江西(GAP 基地)	6.80	0.93	13.98
2	江西泽丰(家种)	6.68	1.05	13.17
3	江西丰城(家种)	5.99	0.86	14.93
4	江西樟树(野生)	5.46	1.42	13.32
5	江西丰城(野生)	5.27	0.67	13.30
6	江西樟树 2(家种)	4.61	0.79	13.07
7	湖南石门(野生)	4.46	0.47	10.77
8	浙江金华(野生)	3.91	0.44	12.30
9	江西樟树 1(家种)	3.68	0.51	10.46
10	湖北咸宁(野生)	3.65	0.91	10.19

耐寒, 是我国南方庭院常见的观赏植物, 其果实入药, 种植较多, 湖南的衡阳、衡东、涟源、邵东、湘潭、醴陵等; 江西的宜春、丰城、萍乡、吉水、吉安、新余等; 四川的宜宾、高县、荣县等; 湖北的咸宁、通山、通城、枝江等均有分布, 目前, 江西栽培面积最大, 为主要产区。由试验结果可知, 江西产栀子中环烯醚萜苷含量偏高, 其中以江西 GAP 基地产栀子的栀子苷含量最高, 因此实施 GAP 基地种植栀子能够保证栀子质量。

参考文献

- [1] WANG G L, ZHAO S J, CHEN D C, et al. A study on chemical composition of *Gardenia sootepensis* Hutch. quantitative determination of iridoid compounds by RP-HPLC [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 1999, 24(10): 616-618.
- [2] YIN J, GUO L G. *Modern Research and Clinical Application of Traditional Chinese Medicine*(中药现代研究及临床应用) [M]. Beijing: Academy Press, 1993: 471.
- [3] ZHU Q, YU Q, ZHOU D Y. Study of separation and purification for geniposide and gardenia yellow from gardenia simultaneously with macroporous absorption resin [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2009, 26(10): 823-826.
- [4] YU W P, FU C S, ZHONG Y L, et al. Research survey of iridoid glycoside in *Gardenia* [J]. *Shandong J Tradit Chin Med*(山东中医杂志), 2007, 26(8): 579-581.

收稿日期: 2010-12-06