华西药学杂志
W C J·P S 2017,32(4):436~438

HPLC 同时测定栀子中的 4 种成分

王先敏[1,2],曹馨元[2,3],毛 婷[2,3],李茂星[1,2,3],杨云裳[1*]
(1. 兰州理工大学石油化工学院,甘肃 兰州 730050;2. 兰州军区兰州总医院药剂科 全军高原环境损伤防治重点实验室,甘肃 兰州 730050;3. 兰州大学药学院,甘肃 兰州 730000)

摘要: **目的** 采用 HPLC 法同时测定栀子类药材中绿原酸、栀子苷、西红花苷Ⅰ和西红花苷Ⅱ的含量。**方法** 采用 Waters C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),以甲醇-0.2%磷酸溶液为流动相,梯度洗脱,流速 1 mL·min^{-1},绿原酸、栀子苷的检测波长分别为 325、238 nm,西红花苷Ⅰ和西红花苷Ⅱ的检测波长为 441 nm。**结果** 绿原酸、栀子苷、西红花苷Ⅰ和西红花苷Ⅱ的线性范围分别为 0.01~10.0、0.25~25.0、0.15~15.0、0.075~7.50 μg·mL^{-1},平均回收率分别为 101.57%、101.04%、100.66%、99.58%。**结论** 所用方法分离效果好,操作简便,可为栀子类药材的质量控制提供方法。

关键词: 栀子;高效液相色谱法;绿原酸;栀子苷;西红花苷Ⅰ;西红花苷Ⅱ;同时测定;质量控制
中图分类号: R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1006-0103(2017)04-0436-03
DOI: 10.13375/j.cnki.wcjps.2017.04.031

Simultaneous determination of four kinds of components in *Gardenia jasminoides* by HPLC

WANG Xianmin[1,2],CAO Xinyuan[2,3],MAO Ting[2,3],LI Maoxing[1,2,3],YANG Yunshang[1*]
(1. *College of Petrochemical Engineering*,*Lanzhou University of Technology*,*Lanzhou*,*Gansu*,730050 *P. R. China*;2. *Department of Pharmacy*,*Lanzhou General Hospital of PLA & Key Laboratory of the Prevention and Cure for the Plateau Environment Damage*,*PLA*,*Lanzhou*,*Gansu*,730050 *P. R. China*;3. *Pharmacy College*,*Lanzhou University*,*Lanzhou*,*Gansu*,730000 *P. R. China*)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish an HPLC method for the simultaneous determination of chlorogenic acid,geniposide,crocin Ⅰ and crocin Ⅱ in *Gardenia jasminoides*. **METHODS** The separation was performed on a Waters C_{18} column(250 mm×4.6 mm,5 μm) with gradient elution using methanol and 0.2% phosphoric acid. The flow rate was 1 mL·min^{-1},and the detection wavelength was 325 nm for chlorogenic acid,238 nm for geniposide,and 441 nm for crocin-Ⅰ and crocin-Ⅱ. **RESULTS** The linearty ranges of chlorogenic acid,geniposide,crocin Ⅰ and crocin Ⅱ were 0.01-10,0.25-25,0.15-15 and 0.075-7.5 μg·mL^{-1},respectively. The average recoveries of chlorogenic acid,geniposide,crocin Ⅰ and crocin Ⅱ were 101.57%,101.04%,100.66% and 99.58%,respectively. **CONCLUSION** The method is simple and practicable with high efficiency. It can be used for the quality control of *G. jasminoides*.

Key words: *Gardenia jaminoides*;HPLC;Chlorogenic acid;Geniposide;Crocin Ⅰ;Crocin Ⅱ;Simultaneous determination;Quality control
CLC number: R917 **Document code:** A **Article ID:** 1006-0103(2017)04-0436-03

栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis的干燥成熟果实,其性寒、味苦、无毒,入心、肝、肺、三焦经,具有泻火除烦、清热利尿、凉血解毒之功效[1]。栀子属植物富含环烯醚萜苷、黄酮、二萜、三萜、有机酸酯及色素类成分[2]。以栀子苷为代表的环烯醚萜苷类化合物具有保肝、利胆、镇痛、抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗氧化、降血糖、降血脂等药理活性[3]。绿原酸具有清热解毒、降血脂等功效。西红花苷类成分为栀子黄色素的主要成分,是一种天然的类胡萝卜素色素,具有抗氧化、抗动脉粥样硬化及调节血脂的作用,具有较高的经济价值[4]。栀子黄色素溶液透明清亮,对光、热、金属离子等均具有较好的稳定性,广泛应用于食品、医药和化妆品领域中[5]。但西红花苷与栀子苷、绿原酸共存时,食品通过栀子黄色素染色后易发生色变、褪色等现象,降低了其应用价值[6]。栀子类药材的含量测定多采用 HPLC 法[7-8],现采用 HPLC 法同时测定栀子中绿原酸、栀子苷、西红花苷Ⅰ和西红花苷Ⅱ的含量,可为栀子黄色素的质量评价提供参考。

1 实验部分

1.1 仪器与试药

1525 型高效液相色谱仪(美国 Waters);HP-8453 紫外-可见分光光度计(美国惠普)。绿原酸

作者简介:王先敏,女,正攻读化学工程专业的硕士学位。Email:wangxm2014@aliyun.com
* 通信作者(Correspondent author),Email:limaox2005@aliyun.com

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

（批号：201314）、栀子苷（批号：200714）、西红花苷Ⅰ（批号：200501）和西红花苷Ⅱ（批号：201103）对照品（中国药品生物制品检定所）；不同来源的 7 批栀子药材，经甘肃中医药大学杨锡仓主任中药师鉴定为茜草科栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实；甲醇为色谱纯；水为注射用水；其余试剂为分析纯。

1.2　方法与结果

1.2.1　色谱条件　采用紫外－可见分光光度仪对绿原酸、栀子苷、西红花苷－Ⅰ和西红花苷－Ⅱ对照品溶液进行扫描（190～600 nm），根据 UV 特征图谱分别确定 325、238 nm 为绿原酸和栀子苷的检测波长，441 nm 为西红花苷Ⅰ与西红花苷Ⅱ的检测波长。采用 Waters C_{18} 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为甲醇（A）－0.2% 磷酸溶液（B），梯度洗脱（0～20 min、25% A，20～22 min、25%～55% A，22～36 min、55% A，36～46 min、55%～25% A），流速 1 mL·min^{-1}，柱温 25 ℃，进样量 10 μL。在上述色谱条件下，混合对照品和供试品溶液的 HPLC 图见图 1。

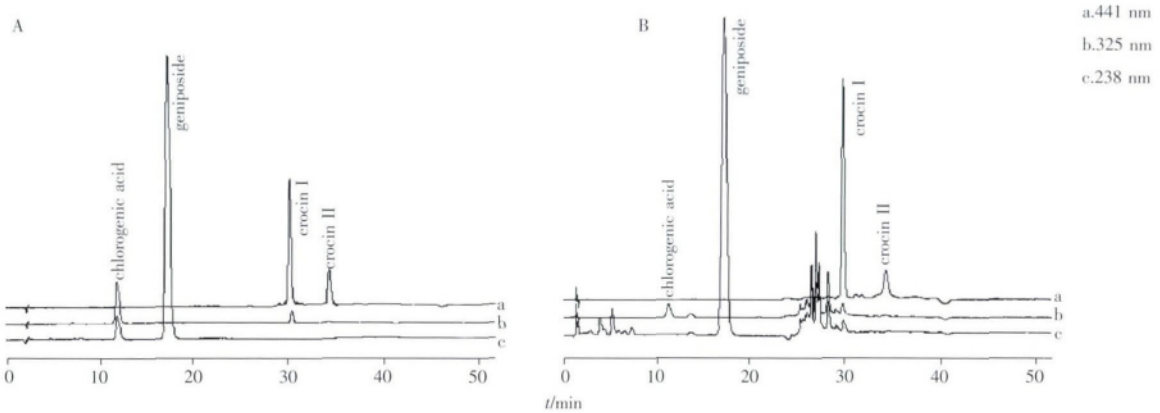

图 1　混合对照品（A）和供试品（B）溶液的 HPLC 图

Figure 1　HPLC chromatograms of the mixed control solution (A) and sample solution (B)

1.2.2　溶液的制备　精密称取绿原酸、栀子苷、西红花苷Ⅰ和西红花苷Ⅱ对照品各 5 mg，分别置不同的 10 mL 量瓶中，用 10% 甲醇溶解并定容，得各对照品贮备液。分别取上述对照品母液适量，置同一 10 mL 量瓶中，用 10% 甲醇定容，制成混合对照品溶液。取 7 批药材适量，粉碎（过 4 号筛），取粉末约 0.1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 25 mL 甲醇，称定重量，超声处理（功率 350 W、频率 59 kHz）20 min，冷却，再称定重量，加甲醇补足减失的质量，摇匀，过滤，取续滤液 10 mL 置 25 mL 量瓶中，加甲醇稀释并定容，作为供试品溶液。

1.2.3　线性关系的考察　取混合对照品溶液，分别进样 5、10、20、30、40、50 μL，记录色谱图。以峰面积为纵坐标、浓度为横坐标绘制标准曲线，得绿原酸、栀子苷、西红花苷Ⅰ和西红花苷Ⅱ的回归方程、相关系数与线性范围（表 1）。

表 1　4 种成分的回归方程、相关系数、线性范围及平均回收率

Table 1　Regression equations, correlations, linear ranges and average recoveries of four kinds of compounds

Compounds	t_R/min	Regression equations	r^2	Linear ranges/μg·mL^{-1}	Average recoveries/%
Chlorogenic acid	12.502	$Y=4.00\times10^6X-1.6\times10^3$	0.9997	0.01－10	101.57
Geniposide	18.286	$Y=1.68\times10^6X-8.48\times10^4$	0.9998	0.25－25	101.04
Crocin－Ⅰ	30.576	$Y=4.06\times10^6X-2.15\times10^4$	0.9994	0.15－15	100.66
Crocin－Ⅱ	35.177	$Y=2.07\times10^6X-4.9\times10^3$	0.9996	0.075－7.5	99.58

1.2.4　精密度、稳定性与重复性试验　取混合对照品溶液，按“1.2.1”项色谱条件连续进样 6 次，记录色谱图。计算得绿原酸、栀子苷、西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ峰面积的 *RSD* 分别为 0.80%、0.69%、0.84%、0.78%（$n=6$），表明仪器精密度良好。取供试品溶液，分别于室温下放置 0、2、4、6、12、24 h 后进样，记录色谱图。计算得绿原酸、栀子苷、西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ峰面积的 *RSD* 分别为 1.31%、1.73%、1.42%、1.29%（$n=6$），表明供试品溶液在 24 h 内稳定。取栀子药材粉末，按“1.2.2”项方法平行制备 3 份供试品溶液，按“1.2.1”项下色谱条件重复测定 3 次，记录色谱图。计算得绿原酸、栀子苷、西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ峰面积的 *RSD* 分别为 1.54%、1.62%、1.37%、1.48%（$n=9$），表明该方法的重复性良好。

1.2.5　样品的含量测定　取 7 批栀子药材，各 6

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

份，按“1.2.2”项方法制备供试品溶液，并按“1.2.1”项色谱条件进样分析，记录色谱图。计算供试品中绿原酸、栀子苷、西红花苷Ⅰ和西红花苷Ⅱ的含量（表2）。

表2 不同栀子样品中4种成分的含量（$mg \cdot g^{-1}$，$n=6$）

Table 2 Content determination of four kinds of compounds in *G. jaminoides* from different samples（$mg \cdot g^{-1}$，$n=6$）

No.	Chlorogenic acid	Geniposide	Crocin Ⅰ	Crocin Ⅱ
1	0.21±0.032	56.58±0.012	13.58±0.029	2.26±0.025
2	0.38±0.023	61.22±0.031	8.09±0.037	1.98±0.027
3	0.34±0.034	41.14±0.021	13.63±0.039	3.65±0.034
4	0.21±0.029	60.47±0.014	12.01±0.041	3.50±0.015
5	0.26±0.017	49.18±0.024	9.73±0.033	2.18±0.024
6	0.32±0.025	41.50±0.035	0.91±0.027	0.21±0.029
7	0.29±0.033	90.35±0.033	8.10±0.017	1.01±0.031

2 讨论

文中采用多波长HPLC法同时测定栀子中绿原酸、栀子苷、西红花苷Ⅰ和西红花苷Ⅱ等主要活性成分的含量。实验结果表明：栀子样品中这4种成分的含量差异较大，其中，栀子苷的含量最高。西红花苷类为栀子黄色素的主要成分，具有一定的营养价值和较好的药理活性。当栀子黄色素用于食品着色时，易发生绿变，主要是栀子苷在蛋白酶和β-葡萄糖苷酶的作用下易发生反应，生成绿色或蓝色的化合物，从而引起着色食品绿变，绿原酸同样存在易氧化而引起食品着色后颜色变暗的现象[4]。当前国际标准中，一般要求栀子黄色素的色价（E）>600，同时，栀子黄色素中栀子苷、绿原酸和西红花苷的最大吸光度比值（$OD_1=A_{238}/A_{440}$，$OD_2=A_{330}/A_{440}$）均小于0.4[15]。因此，仅以栀子苷的含量或西红花苷类的含量作为标准并不能全面评价栀子黄色素的质量。文中方法可同时测定栀子中这4种成分的含量，方法简便、准确，能更全面地评价栀子黄色素类产品的质量。

参考文献：

[1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 北京：中国医药科技出版社，2015：376.

[2] 崔红，张丽云，李勇. 栀子化学成分和药理作用的研究进展[J]. 医学信息，2011，24(4)：1679-1680.

[3] 彭晓俊，李忠贵. HPLC测定栀子炮制品中栀子苷的含量[J]. 华西药学杂志，2005，20(6)：548-549.

[4] 赵璨，张浩，陈阳，等. 栀子黄色素不同标准的合理性探讨[J]. 华西药学杂志，2012，27(5)：554-556.

[5] 叶杭菊. 栀子黄色素的绿变原因及防止法[J]. 食品科学，1988(4)：16-18.

[6] Chen Y，Zhao C，Zhang H. Relationship investigation between OD values，colour value and crocins andgeniposide contents in gardenia yellow[J]. Food Sci Technol，2010，35(5)：262-265，270.

[7] 贾琳，张浩，陈雏. HPLC同时测定栀子药材中栀子苷和西红花苷-Ⅰ的含量[J]. 华西药学杂志，2005，20(3)：223-225.

[8] 任淑娟，孙辉，丁野，等. 栀子药材的HPLC指纹图谱研究[J]. 华西药学杂志，2012，27(3)：309-311.

收稿日期：2015-10-20

《合成化学》征订启事

《合成化学》是由中国科学院成都有机化学有限公司和四川省化学化工学会联合主办的学术性期刊。于1993年创刊，国内外公开发行，是国内唯一以合成理论、方法及应用为报道重点的学术性刊物。本刊主要报道基本有机合成、高分子合成、生化合成及无机合成等方面的基础研究和应用研究的研究论文、快递论文、研究简报、制药技术以及合成化学领域各学科的综合评述。《合成化学》先后于2008年和2011年入选“中文核心期刊”，现为中国科技核心期刊和CSCD来源期刊。

《合成化学》为月刊，大16开，每月20出版，国内连续出版物号：CN 51-1427/O6，国际连续出版物号：ISSN 1005-1511，国内邮发代号：62-196，全国各地邮局订阅，国外发行代号：MO4469，中国国际图书贸易集团有限公司订购。每期订价12元/本，全年144元。

欢迎到全国各地邮局订阅，错过订阅的读者，可与《合成化学》编辑部联系补订，联系方式：Website：http://hchxcioc.com，Tel：028-85255007，Email：hchx@cioc.ac.cn。

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net