

多指标综合评价巴中产栀子的品质

唐灿^{1*}, 王子雯¹, 孙嘉婧¹, 王刚¹, 李希²

(1. 泸州医学院药学院, 四川 泸州 646000; 2. 四川省中医药科学院中医研究所, 成都 610031)

[摘要] 目的:探索巴中产栀子的品质。方法:应用高效液相色谱仪和蒸发光散射检测器对栀子主要有效成分栀子苷、西红花苷 I、熊果酸进行含量测定,采用 *t* 检验和 *Z* 总分综合评价巴中产栀子的质量。结果:*t* 检验结果表明,巴中产栀子中栀子苷含量显著高于湖北栀子($P<0.05$),极显著高于江西或江津产栀子($P<0.001$);巴中产栀子中西红花苷 I 含量极显著高于湖北、江西或江津产栀子($P<0.001$);巴中产栀子中熊果酸含量极显著高于湖北、江西或江津产栀子($P<0.001$)。以主要有效成分栀子苷质量分数 X_1 、西红花苷 I 质量分数 X_2 、熊果酸质量分数 X_3 与综合评价 *Z* 总分建立三元线性回归方程: $Z = -11.2136 + 0.02182X_1 + 0.5602X_2 + 17.3316X_3$ ($R = 0.9999$);*Z* 总分综合评价结果表明,巴中产栀子 *Z* 总分遥遥领先于湖北、江西或江津产栀子。结论:巴中产栀子的品质优异,值得政府和社会各界的广泛关注。

[关键词] 巴中产栀子; 品质; 主要有效成分; 多指标综合评价

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)24-0115-05

Multi-index Comprehensive Evaluation on Quality of Gardeniae Fructus from Bazhong

TANG Can^{1*}, WANG Zi-wen¹, SUN Jia-jing¹, WANG Gang¹, LI Xi²

(1. Pharmacy School of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China;
2. Research Institute of Traditional Chinese Medicine (TCM), Sichuan Science Academy of TCM, Chengdu 610031, China)

[Abstract] Objective: To explore quality of Gardeniae Fructus from Bazhong. Method: HPLC and ELSD were used to determine the content of geniposide, crocin I, and ursolic acid. Using *t*-test and *Z*-score comprehensive evaluation on quality of Gardeniae Fructus from Bazhong. Result: Results of *t*-test showed that the content of Geniposide in Gardeniae Fructus from Bazhong is significantly higher than in Gardeniae Fructus from Hubei ($P<0.05$), outstandingly higher than in Gardeniae Fructus from Jiangxi or Jiangjin ($P<0.001$); the content of crocin I and ursolic acid in Gardeniae Fructus from Bazhong was remarkably higher than in Gardeniae Fructus from Hubei or Jiangxi or Jiangjin ($P<0.001$); we established multiple linear regression equation between *Z*-score and ratios of geniposide, crocin I, ursolic acid, geniposide X_1 , crocin I X_2 and ursolic acid X_3 , respectively. the multiple linear regression equation was $Z = -11.2136 + 0.02182X_1 + 0.5602X_2 + 17.3316X_3$ ($R^2 = 0.9999$). Results of *Z*-score comprehensive evaluation showed that *Z*-score of Gardeniae Fructus from

[收稿日期] 20120306(005)
[基金项目] 四川省 2010 年科技支撑计划项目(2010SZ0049);四川省 2011 年科技支撑计划项目(2011SZ0048);四川省教育厅重点科研项目(2005A071)
[通讯作者] *唐灿,教授,硕士,从事中药制备工艺与质量标准研究,Tel:18982455783,E-mail:Tang9670625@163.com

[参考文献]

[1] 江苏省新医学院. 中药大辞典. 下册[M]. 上海:上海科技出版社,1986:2594

[2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 3 卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:1623.

[3] Rukachaisirikul, Thitima, Intaraudom Jukkamong, Chawanasak, Suppachai, et al. Phenylpropanoids from *Cinnamomum parthenoxylon* [J]. Nat Sci Technol Development Agency, 2000, 26(3): 159.

[责任编辑 顾雪竹]

Bazhong is far ahead of Gardeniae Fructus from Hubei or Jiangxi or Jiangjin. **Conclusion:** Quality of Gardeniae Fructus from Bazhong is very good; Gardeniae Fructus from Bazhong is well worth focusing by government and society.

[**Key words**] Gardeniae Fructus from Bazhong; quality; main active ingredients; multi-index comprehensive evaluation

梔子为茜草科植物梔子的干燥成熟果实^[1],主产于四川、湖北、江西、重庆、浙江、湖南、福建等省,具有泻火除烦、清热、凉血解毒之功效,用于热病心烦、黄疸尿赤、血淋涩痛、血热吐衄、目赤肿痛、火毒疮疡等证。现代药理研究证实,梔子具有保肝、利胆、解热、抗炎、抗病原微生物、抗肿瘤、镇静等作用^[2]。本课题组曾经对巴中产梔子熊果酸含量的测定有过报道^[3],也对江西产梔子熊果酸含量随采收期变化的研究做过相关报道^[4],但是上述报道中仅对熊果酸单一有效成分进行评价,导致结论难免以偏概全。本文针对上述研究方法的缺陷,充分考虑到梔子主要有效成分梔子苷、西红花苷 I、熊果酸等,采用多指标综合评价产地对梔子主要有效成分梔子苷、西红花苷 I、熊果酸等含量的影响,从而较全面揭示巴中产梔子的品质。

1 材料

1.1 仪器 戴安 UltiMate™ 3000 高效液相色谱仪(含四元梯度泵、自动进样器)(戴安中国有限公司),Agilent1100 高效液相色谱仪(含四元梯度泵),Alltech 800 蒸发光散射检测器,SSI 高效液相色谱仪,FA1104W 型电子天平,Kromasil C₁₈ 键合硅胶柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),Dionex C₁₈ 键合硅胶柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),XDB C₁₈(4.6 mm×150 mm,5 μm)。

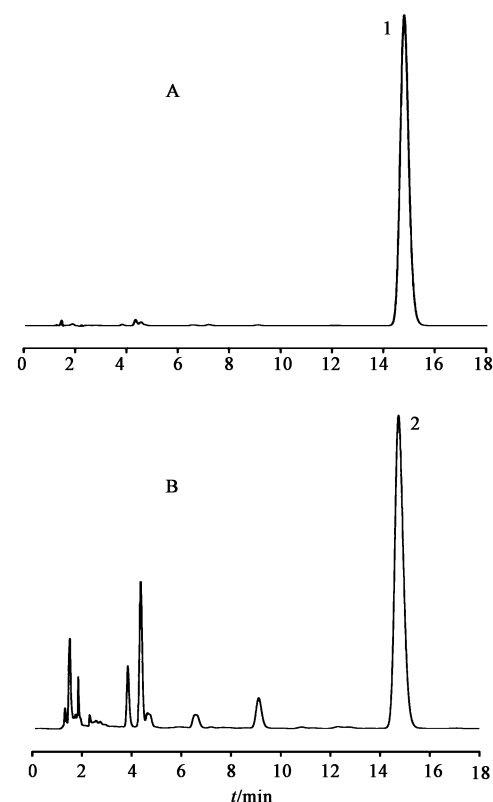
1.2 药品与试剂 梔子苷化学对照品(批号 110742-200516,约 20 mg,供含量测定用,中国药品生物制品检定所);西红花苷 I 化学对照品(批号 111588-200501,约 20 mg,供含量测定用,中国药品生物制品检定所);熊果酸化学对照品(110742-200516,约 20 mg,供含量测定用,中国药品生物制品检定所);甲醇、乙腈(色谱纯);甲醇、乙酸乙酯、无水乙醇(分析纯);蒸馏水(泸州医学院附属医院药剂科);巴中产梔子成熟果实采自巴中市巴州区平梁乡青包山村四川省梔子产业科技示范园区,该园区由两部分组成:30 年生梔子由巴中市百顺中药饮片有限公司负责,于 1978 年就开始种植、经营;3 年生梔子由巴中市欣兴农业科技发展有限公司负责种植、经营;湖北产梔子采自湖北省枣阳市新市镇、

江西产梔子采自江西省抚州市金溪县黄梔子 GAP 种植基地、江津产梔子采自重庆市江津区贾嗣镇红阳村。经课题组蒲清荣副主任中药师鉴定均为茜草科植物梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

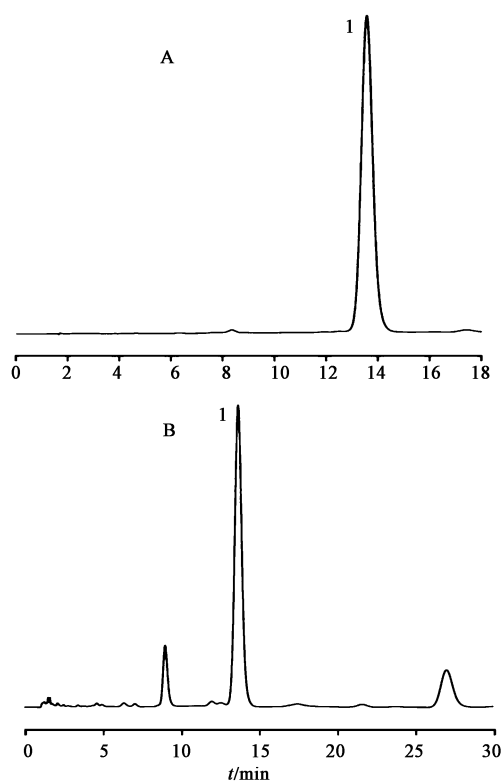
2.1.1 梔子苷色谱条件 Kromasil C₁₈ 键合硅胶柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-水(10:90),流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 238 nm,柱温 25℃。色谱图见图 1。



A. 对照品; B. 样品; 1. 梔子苷

图 1 样品中梔子苷 HPLC

2.1.2 西红花苷 I 色谱条件 Dionex C₁₈ 键合硅胶柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相甲醇-水(45:55),流速 1 mL·min⁻¹,检测波长:440 nm,柱温 25℃。色谱图见图 2。



A. 对照品; B. 样品; 1. 西红花苷 I

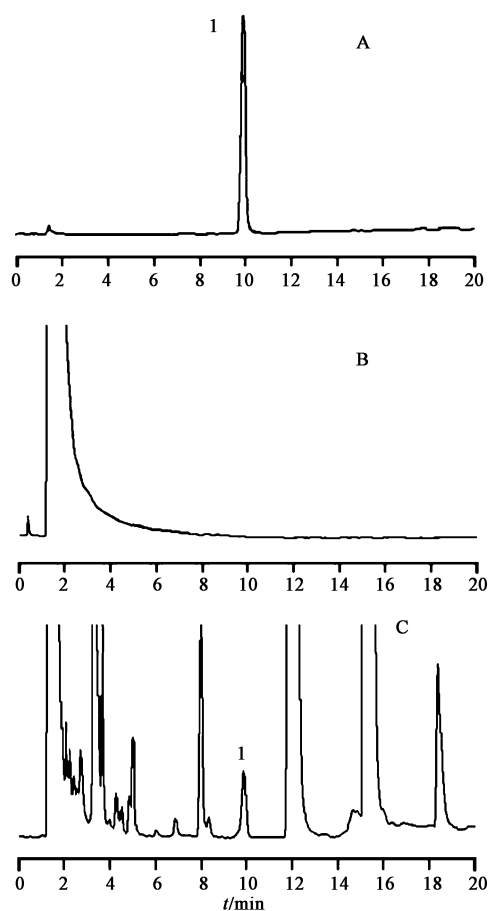
图2 样品中西红花苷 I HPLC

2.1.3 熊果酸色谱条件 XDB C_{18} 色谱柱 (4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m), 流动相乙腈-水 (81:19), 柱温 30 $^{\circ}$ C, 漂移管温度 60 $^{\circ}$ C, 流速 1 mL $\cdot$ min $^{-1}$, 色谱图见图 3。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取梔子苷对照品 5.3 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 用 80% 甲醇溶解定容至刻度, 即得 1.06 g $\cdot$ L $^{-1}$ 梔子苷对照品溶液; 精密称取西红花苷 I 对照品 4.20 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 用 80% 甲醇溶解定容至刻度, 即得 0.168 g $\cdot$ L $^{-1}$ 西红花苷 I 对照品溶液; 精密称取熊果酸对照品 0.61 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解定容至刻度, 即得 0.012 g $\cdot$ L $^{-1}$ 熊果酸对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取梔子粉末 (过 20 目) 约 5.00 g, 精密称定, 置于 100 mL 锥形瓶中, 用移液管精密加入 80% 甲醇 40 mL, 浸泡 0.5 h 称定质量, 超声 2 h, 放凉, 补足减失的质量, 过滤后即得供试品溶液^[5-6]。

2.4 线性关系考察 配制浓度为 1.06 g $\cdot$ L $^{-1}$ 的梔子苷对照品溶液, 分别进样 1, 2, 3, 5, 7.5, 10, 12.5, 15 μ L, 以梔子苷进样量 (X) 对峰面积 (Y) 进行线性拟合, 得梔子苷回归方程 $Y = 16.95X - 0.3649$ ($r = 0.9998$), 在 1.06 ~ 15.90 μ g 线性关系良好; 配制 0.168 g $\cdot$ L $^{-1}$ 的西红花苷 I 对照品溶液, 分别进样 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 16 μ L, 以西红花苷 I 进样量 X



A. 对照品; B. 空白对照; C. 样品; 1. 熊果酸

图3 样品中熊果酸 HPLC

对峰面积 Y 进行线性拟合, 得西红花苷 I 回归方程 $Y = 0.9724 + 91.402X$ ($r = 0.9998$), 在 0.084 ~ 0.672 μ g 线性关系良好; 配制 0.012 g $\cdot$ L $^{-1}$ 的熊果酸对照品溶液, 分别进样 2, 5, 10, 15, 20 μ L, 以进样量的自然对数 ($\ln X$) 对峰面积的自然对数 ($\ln Y$) 进行线性拟合, 得熊果酸的回归方程 $\ln Y = 10.7470 + 1.8123 \ln X$ ($r = 0.9999$), 在 0.244 ~ 2.440 μ g 线性关系良好^[7-8]。

2.5 精密度试验 精密吸取梔子苷对照品、供试品溶液各 2 μ L, 在上述色谱条件下分别连续进样 6 次, 测定峰面积, 结果 RSD 分别为 1.721%, 0.4765%; 精密吸取西红花苷 I 对照品溶液、供试品溶液各 1 μ L, 在上述色谱条件下分别连续进样 6 次, 测定峰面积, 结果 RSD 分别为 0.6103%, 1.125%; 精密吸取熊果酸对照品溶液 10 μ L, 在上述色谱条件下连续进样 5 次, 测定峰面积, 结果 RSD 2.180%。精密度试验符合要求。

2.6 重复性试验 取巴中产梔子 [30 年生 (成熟期红果)] 干燥粉末 (过 20 目) 约 5 g, 精密称定, 共 6

份,按 2.3 项下操作,按上述色谱条件测定,样品中
栀子苷、西红花苷 I、熊果酸质量分数分别为
103.170 9 mg·g⁻¹ (RSD 0.841 6%) ,14.408 3 mg·
g⁻¹ (RSD 2.808 1%) ,0.554 3 mg·g⁻¹ (RSD 0.829
9%) ,表明本方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取同一栀子样品,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,于 0.5,2,4,8,16,24 h 每一时间点分别吸取供试品溶液 2,1,10 μL,在相应的色谱条件下进样测定。结果栀子苷、西红花苷 I、熊果酸峰面积的 RSD 分别为 1.90% ,1.90% ,1.80% ,表明供试品溶液在 24 h 内测定结果稳定。

2.8 加样回收率试验 取已测栀子苷含量 (103.17 mg·g⁻¹) 的巴中产栀子样品[30 年生(成熟期红果)]粉末 9 份,每份约 0.025 g,平均分成 3 组,分别精密添加含栀子苷 1.02 g·L⁻¹ 的对照品溶液 2.0,2.5,3.0 mL;取已测西红花苷 I 含量 (14.41 mg·g⁻¹) 的巴中产栀子样品[同上]粉末 9 份,每份约 0.132 g,平均分成 3 组,分别精密添加含西红花苷 I 1.04 g·L⁻¹ 的对照品溶液 1.5,1.8,2.1 mL;取已测熊果酸含量 (0.55 mg·g⁻¹) 巴中产栀子样品[同上]粉末 9 份,每份约 2.50 g,平均分成 3 组,分别精密添加含熊果酸 1.06 g·L⁻¹ 的对照品溶液 1.1,1.4,1.7 mL,按 2.3 项下操作,配制成高、中、低 3 个质量浓度的加样供试品溶液,在上述色谱条件下分别进样 10 μL,分析并计算回收率。结果见表 1。

表 1 3 处成分加样回收率试验

成分	已知量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	RSD /%	平均回收率 /%
栀子苷	2.58	2.04	4.58	98.04	2.77	98.98
	2.58	2.55	5.10	99.34	0.28	
	2.58	3.06	5.63	99.56	0.69	
西红花苷	1.90	1.56	3.47	104.64	0.91	100.24
	1.90	1.87	3.76	99.29	1.89	
	1.90	2.18	4.01	96.79	0.53	
熊果酸	1.38	1.06	2.40	96.54	1.33	99.45
	1.38	1.48	2.85	99.10	2.38	
	1.38	1.80	3.17	99.45	0.78	

2.9 样品含量测定 按上述方法对各产地栀子测定栀子苷、西红花苷 I、熊果酸含量,进样量分别为 2,1,10 μL,测定峰面积。以回归方程分别计算栀子苷、西红花苷 I、熊果酸含量并进行 t 检验、Z-分

综合评价。结果见表 2。

2.10 t 检验评价巴中产栀子主要有效成份含量 t 检验结果表明:巴中产栀子中栀子苷含量显著高于湖北栀子 (P<0.05) ,极显著高于江西或江津产栀子 (P<0.001) ;巴中产栀子中西红花苷 I 含量极显著高于湖北、江西或江津产栀子 (P<0.001) ;巴中产栀子中熊果酸含量极显著高于湖北、江西或江津产栀子 (P<0.001) 。

2.11 Z-分法综合评价巴中产栀子主要有效成份含量 由于栀子苷、西红花苷 I、熊果酸为栀子主要有效成分,因此栀子苷质量分数、西红花苷 I 质量分数、熊果酸质量分数均为“高优”指标^[9]。本研究采用 Z-分 (Z-score) 综合评价法将多项指标归一化处理,Z 分值 (Z-score) 的计算公式如下:

$$Z_i = (X_i - \bar{x}_i) / S_i$$

$$X_i$$
 为指标值, $\bar{x}_i$ 为指标的平均值, S_i 为指标的标准差

$$\Sigma Z_{i高优} = \Sigma Z_{i高优} - \Sigma Z_{i低优} \text{ (低优} = 0\text{)}$$

$$\Sigma Z_{i高优} = Z_{栀子苷} + Z_{西红花苷 I} + Z_{熊果酸}$$

以栀子苷、西红花苷 I、熊果酸 3 种主要有效成份的质量分数与综合评价 Z 总分建立三元线性回归方程:设栀子苷质量分数为 X_1 ,西红花苷 I 质量分数为 X_2 ,熊果酸质量分数为 X_3 ,得到回归方程式:
$$Z = -11.213\ 6 + 0.021\ 82X_1 + 0.560\ 2X_2 + 17.331\ 6X_3 \text{ (} R = 0.999\ 9\text{)}。$$

巴中产栀子 Z 总分遥遥领先于湖北、江西或江津产栀子。

3 讨论

课题组采集多批四川巴中、浙江平阳、江西抚州、湖北枣阳、重庆江津、四川纳溪大渡、四川乐山、四川青川、四川宜宾、云南、贵州、湖南、陕西及河南等地的栀子,初步发现无论是有效成分栀子苷、熊果酸,还是总有机酸含量,巴中产栀子均位居前茅,并发现湖北枣阳、江西抚州、重庆江津栀子质量较好。重点采集四川巴中、湖北枣阳、江西抚州、重庆江津产栀子多批次,尤其连续两年均在巴中市巴州区平梁乡青包山村——四川省栀子产业科技示范园区采集巴中产栀子(每年 3 批次以上),以主要有效成分栀子苷、西红花苷 I、熊果酸质量分数为指标,采用 t 检验和 Z 总分综合评价各地栀子的品质(上述四产地栀子中栀子苷含量均远远高于《中国药典》2010 年版一部栀子项下 ≥18 mg·g⁻¹ 的规定)。试验证明四川巴中产栀子品质优异,质量稳定。课题组现信心百倍地为培植一个品质优异的川产道地药材-巴中产栀子而努力奋斗。

表 2 *t* 检验、*Z* 总分评价巴中产梔子主要有效成分含量($\bar{x} \pm s$)

批次编号	梔子苷/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	西红花苷 I/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	熊果酸/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	<i>Z</i> 总分	样本数
巴中 S1	103.329 0 $\pm$ 0.160 3	15.034 7 $\pm$ 0.230 0	0.556 0 $\pm$ 0.002 121	9.099 8	<i>n</i> = 3
巴中 S2	101.120 5 $\pm$ 2.354 8	14.408 3 $\pm$ 0.404 6	0.550 6 $\pm$ 0.000 565 5	8.607 2	<i>n</i> = 3
巴中 S3	105.704 8 $\pm$ 2.013 2	16.298 3 $\pm$ 0.035 50	0.565 5 $\pm$ 0.001 369	10.024	<i>n</i> = 3
湖北 S1	99.415 8 $\pm$ 0.127 0	8.293 4 $\pm$ 0.023 26	0.386 0 $\pm$ 0.010 25	2.368 7	<i>n</i> = 3
湖北 S2	100.200 3 $\pm$ 0.213 4	8.010 3 $\pm$ 0.131 2	0.399 6 $\pm$ 0.010 18	3.022 8	<i>n</i> = 3
湖北 S3	97.300 4 $\pm$ 0.290 3	7.527 8 $\pm$ 0.072 27	0.427 2 $\pm$ 0.011 81	1.816 6	<i>n</i> = 3
江津 S1	64.385 0 $\pm$ 0.830 0	6.171 3 $\pm$ 0.084 71	0.357 2 $\pm$ 0.009 263	-0.599 20	<i>n</i> = 3
江津 S2	67.962 7 $\pm$ 0.942 8	8.038 7 $\pm$ 0.046 82	0.425 6 $\pm$ 0.006 819	2.149 0	<i>n</i> = 3
江津 S3	65.909 1 $\pm$ 0.729 0	7.174 9 $\pm$ 0.073 26	0.331 9 $\pm$ 0.009 476	0.434 8	<i>n</i> = 4
江西 S1	71.372 4 $\pm$ 1.052 0	5.207 6 $\pm$ 0.113 1	0.483 3 $\pm$ 0.001 120	1.244 4	<i>n</i> = 4
江西 S2	65.609 2 $\pm$ 0.649 8	4.669 5 $\pm$ 0.097 33	0.450 6 $\pm$ 0.002 867	0.061 880	<i>n</i> = 3
江西 S3	68.502 6 $\pm$ 0.395 9	4.342 9 $\pm$ 0.086 64	0.427 6 $\pm$ 0.008 498	0.706 60	<i>n</i> = 3

要真正建立一个品质优异的川产道地药材——巴中产梔子,除了要检测主要有效成分梔子苷、西红花苷 I、熊果酸等含量外,还要建立巴中产梔子的指纹图谱,并通过主要药理学指标将巴中产梔子与湖北枣阳、江西抚州、重庆江津产梔子的药理效应横向比较,以明确巴中产梔子的药理效应强弱。正在进行该项目指纹图谱、药理学研究。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:231.
[2] 徐国均. 中草药彩色图谱[M]. 福州:福建科学技术出版社,1989:440.
[3] 唐灿,张彦燕,李云鹏,等. 高效液相色谱法测定巴中梔子熊果酸含量[J]. 四川中医,2008,26(4):44.

[4] 唐灿,李云鹏,张彦燕,等. 不同采收期对江西梔子熊果酸含量的影响[J]. 时珍国医国药,2008,19(8):1927.
[5] 陈红,唐灿,黄锐. 优选梔子提取工艺[J]. 泸州医学院学报,2011,34(1):36.
[6] 黄锐,唐灿,姚健,等. 梔子果实干燥工艺优选研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7):37.
[7] 李云鹏,唐灿,张彦燕,等. 高效液相色谱法测定湖北梔子熊果酸含量[J]. 中国医院药学杂志,2008,28(8):674.
[8] 赵永席,马国营,梁恒. RP-HPLC-ELSD 测定山茱萸中齐墩果酸与熊果酸的含量[J]. 中成药,2005,27(11):1314.
[9] 孙嘉婧,唐灿,王子雯. 多指标综合考察巴中产梔子提取工艺[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(4):255.

[责任编辑 顾雪竹]