

梔子化學成分之HPLC分析

溫彩玉 呂康祖 謝詠荃 劉宜祝 羅吉方

研究檢驗組

摘要

梔子(*Gardeniae Fructus*)為常用中藥之一,《神農本草經》列為中品,中華中藥典規範其基原為茜草科(*Rubiaceae*)植物梔子*Gardenia jasminoides* Eills的乾燥成熟果實。常誤用藥材為水梔子*Gardenia jasminoides* Eills var. *grandiflora* Nakai,雖為梔子之變種植物,但其外觀性狀、組織與成分含量仍有一定差異,應予區別。有鑑於此,本研究為了解市售梔子藥材之使用情形,搜集梔子對照藥材,由外觀性狀特徵及薄層層析法加以確認基原,再利用高效液相層析法,針對其指標成分geniposide進行定量。結果發現市售21件檢體均為梔子正用品,其geniposide含量為4.12-7.13%,符合中華中藥典規範geniposide含量不得低於2%之規範,而建立之高效液相層析方法,可不受其他成分干擾,對3種梔子之指標成分有良好的分離效果。

關鍵詞：梔子、鑑別、geniposide、HPLC

前言

梔子(*Gardeniae Fructus*)又名山梔子,為常用中藥之一,《神農本草經》將之列為中品藥,其基原為茜草科(*Rubiaceae*)植物梔子*Gardenia jasminoides* Eills的乾燥成熟果實⁽¹⁻¹⁵⁾。性寒味苦,有瀉火除煩、清熱利濕,涼血散瘀等功效⁽²⁻¹¹⁾,主治熱病心煩、熱淋尿澀、目赤、黃疸、尿血,外治扭傷腫痛等病症^(2-9,12)。使用歷史悠久,並廣泛的應用於加味逍遙散、黃連解毒湯、龍膽瀉肝湯、防風通聖散等眾多方劑。其主要成分為梔子苷(geniposide)、異梔子苷(gardenoside)及梔子苷酸(geniposidic acid)等,並含有少量的藏紅花素(crocin)、熊果酸(ursolic acid)等^(2-5,7,8,10-13),具有抗炎、鎮痛、利膽等藥理作用。

梔子的誤用品為大花梔子*G. jasminoides* var. *grandiflora*,又名水梔子、建梔,考證歷代典籍,發現時有誤用的情形出現^(2-6,10,13-15),至今大陸四川、湖北、江西、廣西等地區,仍普遍使用當

地自產之水梔子入藥,而台灣地區藥材多自大陸進口,宜應注意。水梔子為梔子的變種,有文獻指出兩者化學成份相近,可探討研究是否作為梔子藥材的代用品。有鑑於此,本研究收集梔子對照藥材,利用薄層層析法及高效液相層析,對此類藥材進行鑑別,並對其指標成分geniposide進行定量,以了解台灣此類藥材之品質與使用情形。

材料與方法

一、材料

(一)儀器與器具

1. 恆溫加熱槽(YIHDERN, Taiwan)
2. 薄層層析板(Silica gel 60 F₂₅₄, 20 x 20 cm, E. Merck, Germany)
3. 自動點樣器(Camag Automatic TLC Sampler 4, Switzerland)
4. TLC照像裝置(ANT Technology, Taiwan)附數位照相機(Canon G1, Japan)

5. 高效液相層析儀(Agilent 1100 series, USA)

(二)試藥

1. 一般化學藥品：甲醇(Mallinckrodt, USA)、乙酸乙酯(Tedia, USA)、磷酸(J.T. Baker, USA)均為分析級。4-甲氧基苯甲醛(Merck, Germany)、硫酸(Wako, Japan)均為試藥級。
2. 對照標準品：methyl paraben (Sigma, USA)、geniposide (Nacalai Tesque, Japan)、geniposidic acid (Nacalai Tesque, Japan)、gardenoside (Wako, Japan)。

(三)檢體

1. 蒐集對照藥材，並經鑑定確認其基原，作為本實驗比對鑑別之用。
2. 本計畫分別自本局標本室取得梔子檢體9件，市售檢體係向中藥廠價購梔子檢體21件，共計有30件梔子檢體。

二、方法

(一)外觀性狀檢查：

檢視檢體外觀形狀、大小及顏色。

(二)薄層層析法：

1. 檢液配製：

取檢體之生藥粉末各約1 g，加入甲醇20 mL，以50°C水浴振搖30 min，冷卻過濾供作檢液。

2. 層析條件：

(1)薄層層析板

“Merck” TLC plate, Silica gel 60 F₂₅₄,
20 x 20 cm

(2)展開溶媒

乙酸乙酯：甲醇(3：1，v/v)

(3)detector

a. U.V. 254 nm

b. 4-Methoxybenzaldehyde/sulfuric acid TS
呈色

(三)高效液相層析法

1. 方法一

(1)對照標準品溶液配製：

取50 mg methyl paraben以甲醇定容至50 mL，供作內部標準品儲備溶液(1000 µg/mL)。精確稱取geniposide對照標準品10 mg，以甲醇定容至10 mL，使成已知濃度為1000 µg/mL geniposide儲備溶液。分取對照標準品儲備溶液0.5、1、1.5、2、2.5及1 mL內部標準品儲備溶液，再以甲醇次第稀釋成含50、100、150、200、250 µg/mL geniposide對照標準品溶液，並使每一對照標準品溶液均含100 µg/mL內部標準品methyl paraben。分別取上述不同濃度之對照標準品溶液10 µL，注入高效液相層析儀分析，以對照標準品濃度為X軸，對照標準品與內部標準品之面積比值為Y軸，製作檢量線，並求出線性迴歸方程式($Y = mX + b$)及相關係數(r^2)。

(2)檢液配製：

取250 mg檢體粉末加入50 mL純水，以70°C水浴振搖30 min，趁熱抽氣過濾，再以5 mL純水洗滌2次，合併濾液、洗液，冷卻後再以純水定容至100 mL是為檢液儲備溶液。取1 mL內部標準品儲備溶液，以檢液儲備溶液定容至10 mL供作檢品溶液。

(3)層析條件：

層析管：cosmosil, 5C₁₈-AR-II, 4.6 mm ID X 250 mm,
移動相：水：甲醇 = 75：25 (內含0.01 M 磷酸)

柱溫：30°C

注入量：10 µL

流速：1.5 mL/min

檢測波長：UV 240 nm

2. 方法二

(1)對照標準品溶液配製：

精確稱取1 mg geniposidic acid、gardenoside及geniposide以甲醇定容至10 mL，供作

對照標準品溶液。

(2)檢液配製：

取250 mg檢體粉末加入50 mL純水，以70℃水浴振搖30 min，趁熱抽氣過濾，再以5 mL純水洗滌2次，合併濾液、洗液，冷卻後再以純水定容至100 mL供作檢品溶液。

(3)層析條件：

層析管：cosmosil, 5C₁₈-AR-II, 4.6 mm ID X 250 mm,

移動相：

Time (min)	A (%)	B (%)
Initial	100	0
10	85	15
15	75	25
25	75	25
30	100	0

A. 0.1% H₃PO₄

B. 甲醇

柱溫：30℃

注入量：10 μL

流速：1.5 mL/min.

檢測波長：UV 240 nm

結果與討論

利用外觀性狀特徵及TLC方法對檢體進行基原之確認，再以高效液相層析方法分析其化學成分。

一、外觀性狀(圖一至四)

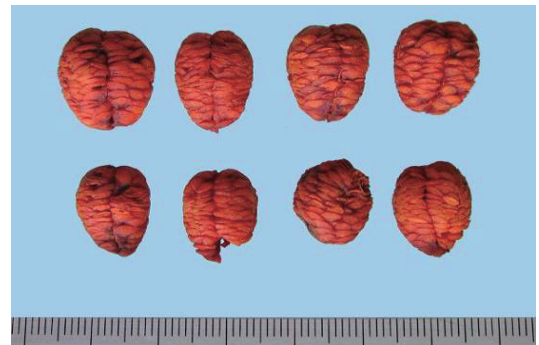
本品呈卵形至長橢圓形，長1-3.5 cm，直徑1-2 cm，表面紅棕色至暗紅色，略有光澤。果實具6條翅狀縱稜，稜與稜間有明顯縱脈紋，常分枝。果實頂端有宿存萼片，基部稍尖，有果柄殘留，果皮薄脆，種子多數，扁卵圓形，集成團，呈圓形至長橢圓形種子團，種子橘紅色或深紅色。市售品有果實、種子團及二者混合等型態。茲將鑑別特徵及結果整理為表一，結果顯示



圖一、梔子(檢體編號: GJ02)



圖二、水梔子(檢體編號: GJ03)



圖三、種子團(檢體編號: GJ10)



圖四、果實、種子團混合(檢體編號: GJ21)

28件為梔子，其中21件市售檢體均為梔子正品，2件鑑別為水梔子之檢體係為標本室檢體。

二、薄層層析法

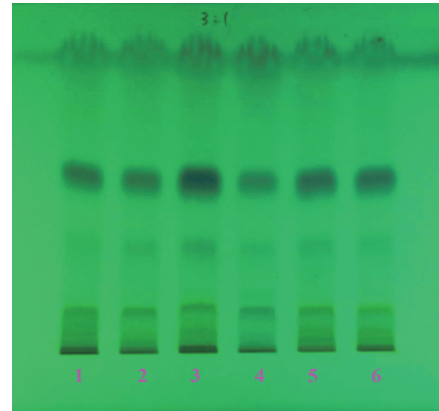
將檢體之檢液點注於層析板上，以乙酸乙酯：甲醇(3：1，v/v)混合液為展開溶媒，展開後風乾，先於U.V. 254 nm下檢視，市售梔子檢體與水梔子在 R_f 值0.56處有一斑點(圖五)。再以4-Methoxybenzaldehyde/sulfuric acid TS呈色後，於可見光下檢視，市售梔子檢體與水梔子在 R_f 值0.56處有一紫色斑點(圖六)。此條件係依中華中藥典規範之方法展開，梔子、水梔子的圖譜相近，但其它文獻中記載水梔子之geniposide含量高於梔子，或可解釋GJ03 (經外觀鑑定為水梔子)在 R_f 值0.56處斑點顏色較深。但與標本室所收藏之水梔子相較，此斑點顏色卻沒有明顯較深，尚待更多水梔子檢體來驗證。

三、高效液相層析法

(一)方法一結果探討

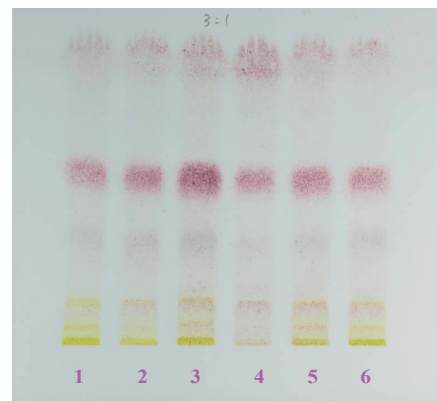
先以中華中藥典規範之方法，對梔子的指標成分geniposide做定量分析。對照標準品溶液與檢液注入HPLC分析後，對照標準品geniposide之滯留時間為8.6分鐘，內部標準品methyl paraben之滯留時間為25.4分鐘，與市售品檢液比對，在相同滯留時間的吸收波峰(圖七)，其UV圖譜亦相同，顯示在此分離條件下，未受到藥材中其他成分之干擾，有良好的分離效果。geniposide檢量線濃度範圍為50-250 $\mu\text{g/mL}$ ，其線性迴歸方程式為 $Y = 0.0042X + 0.0173$ ，相關係數 $R^2 = 0.9998$ ，將檢體分析結果代入檢量線，求得檢體中geniposide之含量，結果顯示27件檢體中geniposide含量範圍為3.12-7.13% (表一)。此方法可對geniposide做定量分析，但對其他指標成分geniposidic acid、gardenoside分離效果不佳，因此再進行其他HPLC條件之試驗。

(二)方法二結果探討



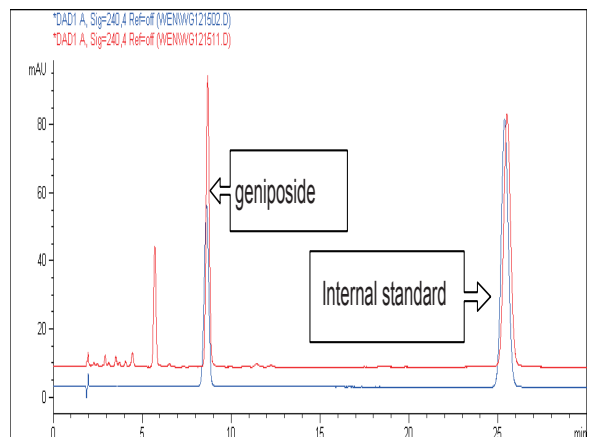
圖五、薄層層析圖譜

1. GJ01 2. GJ02 3. GJ03 4. 水梔子 5. GJ07 6. GJ08



圖六、薄層層析圖譜

1. GJ01 2. GJ02 3. GJ03 4. 水梔子 5. GJ07 6. GJ08



圖七、對照標準品geniposide、內標準品methyl paraben與檢體GJ09之HPLC圖譜

表一、梔子檢體外觀性狀鑑別結果

檢體編號*	規格	長度(cm)	縱稜	顏色	性狀鑑定結果	Geniposide (%)
GJ01	果實	1.5-3	較低	紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	3.5
GJ02	果實	1.5-2.5	較低	紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	3.1
GJ03	果實	3-4.5	較高	紅棕色	<i>G. jasminoides</i> var. <i>grandiflora</i>	7.0
GJ04	果實	2.5-3.5	較低	紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	—
GJ05	果實	3.5-4.5	較高	紅棕色	<i>G. jasminoides</i> var. <i>grandiflora</i>	—
GJ06	果實	3-3.5	較高	紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	—
GJ07	果實	2-3	較高	紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	4.4
GJ08	果實	2-2.5	較低	紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	4.2
GJ09	種子團	1.5-2	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	5.5
GJ10	種子團	1.5-2.5	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	6.4
GJ11	種子團	1.5-2	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	6.0
GJ12	種子團	0.8-1.5	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	7.1
GJ13	種子團	1-2	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	4.8
GJ14	種子團	1-2	—	紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	5.3
GJ15	果實	2-3	較低	紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	4.8
GJ16	種子團	1-2	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	5.1
GJ17	果實	2-3	較低	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	6.6
GJ18	種子團	1-2	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	4.8
GJ19	果實	1.5-2.5	較低	紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	5.0
GJ20	種子團	1-2	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	5.0
GJ21	混合	1-1.5	較低	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	5.0
GJ22	種子團	1-2	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	5.6
GJ23	種子團	1-2	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	6.0
GJ24	種子團	1-1.5	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	5.6
GJ25	果實	2-3	較高	紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	6.7
GJ26	種子團	1-2	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	6.9
GJ27	種子團	1-2	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	6.6
GJ28	種子團	1-2	—	鮮紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	4.1
GJ29	果實	2.5-3	較高	紅棕色	<i>G. jasminoides</i>	4.6
GJ30	果實	1.5-3	較低	暗紅色	<i>G. jasminoides</i>	—

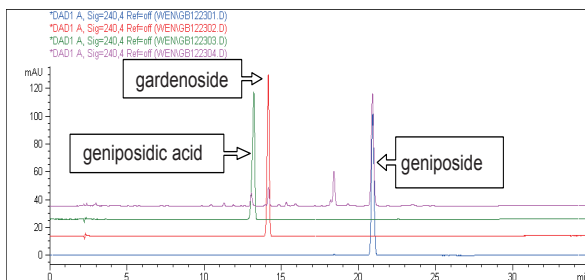
*檢體編號GJ01-GJ08及GJ30為標本室檢體，其餘為市售檢體

*檢體編號GJ04、GJ05、GJ06及GJ30因檢體量不足，無法進行HPLC分析

經多次測試，確認分析條件，依此條件將對照標準品溶液與檢液注入HPLC分析後，對於3種指標成分，得到良好分離效果。對照標準品geniposidic acid之滯留時間為12.9分鐘，gardenoside之滯留時間為13.9分鐘，geniposide之滯留時間為20.8分鐘，與檢液比對，在相同滯留時間的吸收波峰，其UV圖譜亦相同，顯示在此分離條件下，藥材檢體成分中3種指標成分，未受到藥材中其他成分之干擾，有良好的分離效果(圖八)，可用作梔子藥材檢測，或進一步作為製劑中梔子藥材成分鑑別之參考。

(三)綜合結果探討

所有30件檢體中，有14件為完整果實，15件為種子團，1件為果實的碎塊，增加從外觀性狀鑑別的難度，並且梔子及水梔子化學成分



圖八、對照標準品geniposidic acid、gardenoside、geniposide與檢體GJ08之HPLC圖譜

的薄層層析圖譜並無明顯差異，仍需配合其他鑑別方法加以區別。

對於檢體其指標成份geniposide之HPLC定量，均在中華中藥典所規範的2%以上，顯示檢體的品質合乎要求，但經與外觀性狀鑑別結果比較，geniposide含量與檢體之大小、顏色並無明顯關連，無法作為鑑別之依據。而高效液相層析法之方法二所建立之gardenoside等3種指標成分檢測方法，不易受藥材中其他成分干擾，未來可供作梔子藥材品質檢測之用。

此外，於文獻中記載水梔子之geniposide等多種成分含量均高於梔子，是否可以做為梔

子替代藥材，會不會引起毒性反應，後續有待探討。

結 論

本研究以外觀性狀鑑別、薄層層析法，再配合其他鑑別方法，可以完整區別梔子與其誤用品水梔子。以高效液相層析法分析梔子檢體指標成分geniposide之含量，均在中華中藥典所訂之2%以上，顯示市售藥材的品質均合於規範要求。於種子團所發現之未知成分訊息，可供作進一步藥效成分研究之用，而所建立高效液相層析法，未來可供作梔子藥材品質檢測之用，及行政機關之業務執行及藥廠品管之參考。

參考文獻

1. 行政院衛生署中華中藥集編修小組。2004。中華中藥典中藥集。pp.142-143。行政院衛生署，台北。
2. 樓之岑，秦波。1995。常用中藥材品種整理和質量研究(第五冊)。pp. 277-318。北京大學醫學出版社，北京。
3. 蕭培根。2002。新編中藥志第二卷。pp. 476-481。化學工業出版社，北京。
4. 中華人民共和國衛生部藥政管理局中國藥品生物製品檢定所編。1997。現代實用本草(中冊)。pp. 263-268。人民衛生出版社，北京。
5. 張貴君。1993。常用中藥鑑定大全。pp. 567-569。黑龍江科學技術出版社，哈爾濱。
6. 呂俠卿。2002。中藥鑑別大全。pp. 251-253。湖南科學技術出版社，湖南。
7. 葉定江，張世臣。1999。中藥炮制學。pp.605-608。人民衛生出版社，北京。
8. 丁安偉，黃耀洲。1998。名貴中藥譜。pp. 34-36。江蘇科學技術出版社，江蘇。
9. 國家藥典委員會。2010。中華人民共和國藥典。pp. 231-232。中國醫藥科技出版社，北京。
10. 閻文玫。1994。中藥材真偽鑑定。pp. 317-318。人民衛生出版社，北京。
11. 難波恒雄。1984。和漢藥百科圖鑑。pp. 187-

- 188。保育社，大阪。
12. 周新蓓，歐陽榮。2006。常用中藥飲片質量檢驗。pp. 473-475。湖南科學技術出版社，湖南。
13. 徐國鈞。1996。中國藥材學(下)。pp. 923-925。中國醫藥出版社，北京。
14. 中國藥品生物製品檢定所-廣東省藥品檢定所。1997。中國中藥材真偽鑑別圖典(3)。pp. 138-140。廣東科技出版社，廣東。
15. 行政院衛生署藥物食品鑑驗局。2006。易混淆及誤用藥材之鑑別(II)。pp. 598-605。行政院衛生署藥物食品檢驗局，台北。

Studies on Chemical Components of Gardeniae Fructus by HPLC

TSAI-YU WEN, KANG-TSU LU, YI-CHU LIU AND CHI-FANG LO

Division of Research and Analysis

ABSTRACT

The botanical origin of Gardeniae Fructus is fruit of *Gardenia jasminoides* Eills. According to literatures, *G. jasminoides* var. *grandiflora* is an alternative. Twenty-one samples were purchased from market and were distinguished from authentic material by morphology, and thin layer chromatographic analysis. In addition, the amount of geniposide was determined by high-performance liquid chromatography. The results showed that all samples were *G. jasminoides*. The amounts of geniposide in those samples ranged from 4.12 to 7.13%. According to Chinese pharmacopoeia Gardeniae Fructus shall contain not less than 2% of geniposide, as the result, all samples were qualified for the specification. Three marker compounds, geniposide, gardenoside and geniposidic acid of Gardeniae Fructus could also be separated by this HPLC method.

Key words: Gardeniae Fructus, *Gardenia jasminoides* Eills, geniposide, HPLC