

[药材资源]

金属离子对西红花苷稳定性的影响

李寅庆^{1,2}, 许风磊^{1,2}, 宗梁^{1,2}, 高雯², 巴晓雨², 侯金才^{1,2}

[1. 京津冀联创药物研究(北京)有限公司, 北京 100025; 2. 神威药业集团有限公司, 河北石家庄 051430]

摘要: 目的 考察金属离子对西红花苷稳定性的影响。方法 采用 HPLC 法测定在 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 作用下, 西红花苷-I 和西红花苷-II 在 24 h 内的浓度变化, 以及不同温度、浓度 Fe^{3+} 和 Na^+ 对西红花苷-I 和西红花苷-II 降解的影响。结果 Fe^{3+} 和 Fe^{2+} 对西红花苷-I 和西红花苷-II 降解有较强的促进作用, 而 Na^+ 和 K^+ 则有明显的抑制作用。不同温度下 Fe^{3+} 均能显著促进西红花苷-I 和西红花苷-II 的降解。随着 Fe^{3+} 浓度的升高, 西红花苷-I 和西红花苷-II 降解速率加快。 Na^+ 在温度为 4~20 °C, 浓度为 0.001~0.01 mol/L 时减缓西红花苷-I 和西红花苷-II 降解的作用最强。结论 西红花苷类化合物对部分金属离子较为敏感, 西红花苷类成分在工业生产以及用药过程中应注意金属离子对稳定性的影响。

关键词: 西红花苷-I; 西红花苷-II; 稳定性; 金属离子

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)01-0124-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.027

Effects of metal ions on the stability of crocins

LI Yin-qing^{1,2}, XU Feng-lei^{1,2}, ZONG Liang^{1,2}, GAO Wen², BA Xiao-yu², HOU Jin-cai^{1,2}

[1. Jing-Jin-Ji Joint Innovation Pharmaceutical (Beijing) Co., Ltd., Beijing 100025, China; 2. Shineway Pharmaceutical Group Ltd., Shijiazhuang 051430, China]

ABSTRACT: AIM To investigate the effects of metal ions on the stability of crocins. **METHODS** The concentration of crocin-I and crocin-II were determined by HPLC under the concentration changes of the crocins within 24 h influenced by Fe^{3+} , Fe^{2+} , Al^{3+} , Cu^{2+} , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} , respectively. Then the effects of Fe^{3+} and Na^+ on the degradation rate of crocins at different temperatures and concentrations were investigated. **RESULTS** Fe^{3+} and Fe^{2+} strongly promoted the degradation of crocin-I and crocin-II, while Na^+ and K^+ significantly inhibited the degradation of crocins. Fe^{3+} could significantly advance the degradation of crocin-I and crocin-II at different temperatures. With increasing the concentration of Fe^{3+} , the degradation rates of crocin-I and crocin-II increased. Na^+ had the strongest inhibitory effect on the degradation of crocin-I and crocin-II, when the concentration of Na^+ was 0.001-0.01 mol/L, and the temperature was 4-20 °C. **CONCLUSION** Crocins are sensitive to some metal ions. The influence of metal ions on the stability of crocins should be paid attention to in the production and drug application.

KEY WORDS: crocin-I; crocin-II; stability; metal ions

西红花苷是自然界中唯一存在的一类水溶性类胡萝卜素^[1], 主要为西红花苷-I 和西红花苷-II, 是传统中药材栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 和西红

花 *Crocus sativus* L. 中主要的药效成分之一^[2-3]。药理学研究表明, 西红花苷具有抗肿瘤作用, 能够显著抑制癌细胞增殖, 促进癌细胞凋亡^[4]; 可以提

收稿日期: 2018-12-21

基金项目: 国家科技重大专项(民口)-重大新药创制(2018ZX09731-002, 2018ZX09737-009); 河北省重点研发计划—健康医疗与生物医药专项(18272507D)

作者简介: 李寅庆(1986—), 男, 博士, 研究方向为天然药物化学与新药开发。Tel: (0316) 3311059, E-mail: liyqh@126.com

高认知能力, 增强神经元活性, 抗氧化应激, 抑制淀粉样蛋白低聚物的聚集、缠结, 从而具有治疗帕金森病、阿尔兹海默症、血管性老年痴呆等神经退行性疾病的作用^[5-7]; 能从抗血小板聚集与凋亡、抗氧化应激、抗心血管细胞凋亡等方面作用于心血管疾病, 以达到治疗循环系统疾病的目的^[8-10]; 另外西红花苷还具有保肝^[11]、降糖^[12]等作用, 因此其具有广泛的开发潜力。西红花苷类成分苷元均为西红花酸, 两端连接不同糖配基, 结构(图1)上含有7个共轭双键, 易降解, 已有研究表明其稳定性受光照、pH及温度的影响较大^[13-14]。

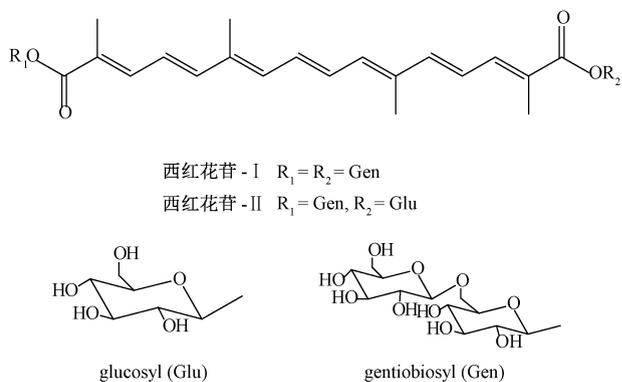


图1 西红花苷结构
Fig. 1 Structures of crocins

类胡萝卜素是植物中广泛存在一类活性成分, 金属离子对该类成分的降解有一定的促进作用^[15-16]。在西红花或栀子提取、富集过程中, 中药不锈钢提取设备、管道和提取用的自来水均能带来一定量金属离子与西红花苷类成分相接触, 含有西红花苷的中成药亦可能与含金属离子的药物同时服用。目前尚无关于金属离子对西红花苷稳定性影响的报道, 因此课题组对西红花提取物中该成分在金属离子溶液中的稳定性进行研究, 以期对相关中药材提取工艺的开发及中成药的合理应用提供参考。

1 材料

安捷伦 1200 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); 分析天平 (十万分之一, 瑞士梅特勒-托利多公司)。西红花提取物 (实验室自制); 西红花苷-I 对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 111588-201704); 西红花苷-II 对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 111589-201304)。氯化钠、三氯化铁、氯化亚铁、硫酸铜、硫酸镁、氯化钙、三氯化铝、氯化钾均为分析纯 (上海西陇化工有限公司); 甲醇为色谱纯 (美国 Fisher 公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 参考 2015 年版《中国药典》^[17]。Gemini C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇-水 (45 : 55); 体积流量 1 mL/min; 检测波长 440 nm; 进样量 10 μL。

2.2 线性关系考察 分别精密称定西红花苷-I、西红花苷-II 对照品 17.41、9.22 mg 于 50 mL 量瓶中, 加 50% 乙醇溶解, 定容, 得混合对照品溶液, 精密吸取 1、2、4、6、8 mL 于 10 mL 量瓶中, 加 50% 乙醇定容至刻度, 分别取原溶液与稀释液, 过滤, 注入色谱仪。以西红花苷质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 得西红花苷-I 方程为 $Y=45\ 052X-28.867$ ($r>0.999\ 9$), 在 0.032~0.322 mg/mL 范围内线性关系良好; 西红花苷-II 方程为 $Y=58\ 287X-40.491$ ($r>0.999\ 9$), 在 0.017~0.170 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.3 精密度试验 将西红花苷对照品混合溶液在“2.1”项色谱条件下重复进样 6 次, 记录峰面积, 测得西红花苷-I RSD 为 0.12%, 西红花苷-II RSD 为 0.4%, 表明仪器精密度良好。

2.4 西红花苷降解反应动力学分析 西红花苷的降解可以看作一级反应^[3], 其反应速率方程可以表达为 $\ln C_t = \ln C_0 - kt$ 。

其中 C_t 为 t 时刻西红花苷浓度, C_0 为初始西红花苷浓度, t 为放置时间, k 为反应速率常数。

西红花苷的降解半衰期 ($t_{1/2}$) 可以用公式 $t_{1/2} = \ln 2/k$ 计算。

2.5 不同金属离子类型对西红花苷稳定性的影响 取西红花提取物适量, 精密称定, 加纯化水制成每 1 mL 含 1.5 mg 提取物的溶液。取 9 份, 分别以 0.001 mol/L 添加量加入 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} , 另外 1 份为空白对照, 20 °C 避光放置, 于 0、3、6、9、12、15、18、21、24 h 分别取适量溶液, 滤过, 注入色谱仪, 测定溶液中西红花苷-I 和西红花苷-II 浓度, 并计算两者在不同金属离子溶液中的降解动力学方程、半衰期 $t_{1/2}$, 结果见表 1。

表 1 显示, 在 0.001 mol/L 的浓度时 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 对西红花苷-I 和西红花苷-II 的降解都有一定的促进作用, 其中 Fe^{3+} 最强; Al^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 对西红花苷-I 和西红花苷-II 的降解均有一定的抑制作用, 其中 Na^+ 最强。

2.6 不同温度下 Fe^{3+} 和 Na^+ 对西红花苷稳定性的影响 取西红花提取物适量, 精密称定, 加纯化水

表1 不同金属离子对西红花苷稳定的影响

Tab.1 Effects of different metal ions on the stability of crocins

金属离子	化合物	回归方程	R ²	t _{1/2} /h
空白	西红花苷-I	Y=-0.034 7X-0.642 1	0.964 5	19.97
	西红花苷-II	Y=-0.030 0X-1.845 9	0.974 9	23.10
Fe ³⁺	西红花苷-I	Y=-0.151 0X-0.837 2	0.995 9	4.59
	西红花苷-II	Y=-0.134 0X-2.006 7	0.993 4	5.17
Fe ²⁺	西红花苷-I	Y=-0.057 7X-0.735 8	0.998 3	12.01
	西红花苷-II	Y=-0.051 8X-1.888 1	0.997 2	13.38
Na ⁺	西红花苷-I	Y=-0.016 3X-0.666 5	0.990 9	42.51
	西红花苷-II	Y=-0.015 3X-1.845 7	0.994 8	45.29
Mg ²⁺	西红花苷-I	Y=-0.036 0X-0.647 5	0.969 7	19.25
	西红花苷-II	Y=-0.032 7X-1.827 9	0.967 4	21.19
Ca ²⁺	西红花苷-I	Y=-0.024 5X-0.665 4	0.965 5	28.28
	西红花苷-II	Y=-0.021 8X-1.844 7	0.965 3	31.79
K ⁺	西红花苷-I	Y=-0.019 5X-0.658 8	0.934 7	35.54
	西红花苷-II	Y=-0.017 7X-1.836 4	0.933 6	39.15
Al ³⁺	西红花苷-I	Y=-0.026 5X-0.698 2	0.985 5	26.15
	西红花苷-II	Y=-0.024 1X-1.880 0	0.976 8	28.76
Cu ²⁺	西红花苷-I	Y=-0.026 1X-0.772 7	0.996 6	26.55
	西红花苷-II	Y=-0.023 2X-1.944 6	0.996 5	29.87

注: X为时间/h, Y为lnC₁。下同。

制成每1 mL含1.5 mg提取物的溶液共3份, 其中1份为空白对照, 其余2份分别以0.001 mol/L的添加量加入Fe³⁺和Na⁺, 3份溶液再各分为5份, 分别置于4、20、40、60、80℃水浴中避光放置, 于0、3、6、9、12、15、18、21、24 h分别取适量溶液, 滤过, 注入色谱仪, 测定西红花苷-I和西红花苷-II浓度, 并计算两者在不同金属离子溶液中的降解动力学方程、半衰期t_{1/2}, 结果见表2~4。

表2 温度对西红花苷稳定性的影响

Tab.2 Effects of temperature on the stability of crocins

温度/℃	化合物	动力学方程	R ²	t _{1/2} /h
4	西红花苷-I	Y=-0.021 4X-0.702 7	0.983 8	32.38
	西红花苷-II	Y=-0.018 2X-1.884 9	0.994 6	38.08
20	西红花苷-I	Y=-0.034 7X-0.642 1	0.964 5	19.97
	西红花苷-II	Y=-0.030 0X-1.845 9	0.974 9	23.10
40	西红花苷-I	Y=-0.301 9X-0.379 4	0.935 5	2.30
	西红花苷-II	Y=-0.215 2X-1.771 4	0.960 0	3.22
60	西红花苷-I	Y=-0.318 0X-0.656 1	0.992 3	2.18
	西红花苷-II	Y=-0.281 5X-1.895 2	0.997 2	2.46
80	西红花苷-I	Y=-0.657 0X-0.649 4	0.994 7	1.05
	西红花苷-II	-	-	-

注: 当温度为80℃西红花苷-II在3 h内完全降解。

表2~3显示, 在0.001 mol/L的浓度时, Fe³⁺在不同温度下均对西红花苷-I和西红花苷-II的降解有强烈的促进作用, 尤其在温度≥40℃时西红花苷-I和西红花苷-II在Fe³⁺的催化下迅速降解完全。表2、4显示, 20℃时Na⁺对西红花苷-I和西红花苷-II的降解均有明显抑制作用, 尤其

表3 不同温度下Fe³⁺对西红花苷稳定性的影响

Tab.3 Effects of Fe³⁺ on the stability of crocins at different temperatures

温度/℃	化合物	动力学方程	R ²	t _{1/2} /h
4	西红花苷-I	Y=-0.039 8X-0.911 5	0.986 0	17.41
	西红花苷-II	Y=-0.032 2X-2.073 0	0.977 7	21.52
20	西红花苷-I	Y=-0.151 0X-0.837 2	0.995 9	4.59
	西红花苷-II	Y=-0.134 0X-2.006 7	0.993 4	5.17
40	西红花苷-I	Y=-0.557 9X-0.766 9	0.994 7	1.24
	西红花苷-II	-	-	-

注: 当温度≥60℃, 西红花苷-I在3 h内即完全降解; 温度≥40℃, 西红花苷-II在3 h内即完全降解。

表4 不同温度下Na⁺对西红花苷稳定性的影响

Tab.4 Effects of Na⁺ on the stability of crocins at different temperatures

温度/℃	化合物	动力学方程	R ²	t _{1/2} /h
4	西红花苷-I	Y=-0.015 8X-0.721 5	0.980 7	43.86
	西红花苷-II	Y=-0.014 0X-1.884 7	0.978 6	49.50
20	西红花苷-I	Y=-0.016 3X-0.666 5	0.990 9	42.52
	西红花苷-II	Y=-0.015 3X-1.845 7	0.994 8	45.29
40	西红花苷-I	Y=-0.276 0X-0.484 7	0.960 0	2.51
	西红花苷-II	Y=-0.221 2X-1.785 2	0.970 7	3.13
60	西红花苷-I	Y=-0.407 3X-0.547 5	0.988 4	1.70
	西红花苷-II	Y=-0.334 8X-1.876 9	0.997 5	2.07
80	西红花苷-I	Y=-0.570 2X-0.696 5	0.997 2	1.22
	西红花苷-II	-	-	-

注: 当温度为80℃西红花苷-II在3 h内完全降解。

是20℃时抑制作用最明显, 但当温度≥40℃时, 抑制作用减弱或消失。

2.7 不同浓度下Fe³⁺对西红花苷稳定性的影响

取西红花提取物适量, 精密称定, 加纯化水制成每1 mL含1.5 mg提取物的溶液共8份。取4份, 分别以0.000 1、0.001、0.01、0.1 mol/L添加量加入Fe³⁺, 另外4份分别以0.000 1、0.001、0.01、0.1 mol/L添加量加入Na⁺, 置于20℃水浴中避光放置, 于0、3、6、9、12、24 h分别取适量溶液, 滤过, 注入色谱仪, 测定溶液中西红花苷-I和西红花苷-II浓度, 计算两者在不同金属离子溶液中的降解动力学方程、半衰期(t_{1/2}), 结果见表5~6。

表5显示, 20℃时, Fe³⁺在0.000 1 mol/L的浓度下对西红花苷-I和西红花苷-II的降解即有较强促进作用, Fe³⁺浓度越高作用越强; Fe³⁺浓度为0.1 mol/L时, 第0 h西红花苷-I和西红花苷-II即完全降解。表6显示, Na⁺在浓度为0.001~0.01 mol/L时对西红花苷-I和西红花苷-II降解的抑制作用最强; 当Na⁺浓度为0.1 mol/L时, 对西

红花苷-II降解有一定的促进作用。

表5 不同浓度 Fe³⁺对西红花苷稳定性的影响

Tab.5 Effects of different concentrations of Fe³⁺ on the stability of crocins

Fe ³⁺ / (mol·L ⁻¹)	化合物	动力学方程	R ²	t _{1/2} /h
0.000 1	西红花苷-I	Y=-0.108 3X-0.551 9	0.970 5	6.40
	西红花苷-II	Y=-0.098 1X-1.726 0	0.958 0	7.06
0.001	西红花苷-I	Y=-0.151 0X-0.837 2	0.995 9	4.59
	西红花苷-II	Y=-0.134 0X-2.006 7	0.993 4	5.17

注:当 Fe³⁺浓度 ≥ 0.01 mol/L 时,西红花苷-I 和 西红花苷-II 在 3 h 内完全降解。

表6 不同浓度 Na⁺对西红花苷稳定性的影响

Tab.6 Effects of different concentrations of Na⁺ on the stability of crocins

Na ⁺ / (mol·L ⁻¹)	化合物	动力学方程	R ²	t _{1/2} /h
0.0001	西红花苷-I	Y=-0.031 8X-0.648 6	0.959 1	21.79
	西红花苷-II	Y=-0.026 7X-1.841 2	0.952 8	25.96
0.001	西红花苷-I	Y=-0.016 3X-0.666 5	0.990 9	42.52
	西红花苷-II	Y=-0.015 3X-1.845 7	0.994 8	45.29
0.01	西红花苷-I	Y=-0.017 1X-0.701 5	0.991 3	40.53
	西红花苷-II	Y=-0.014 3X-1.881 2	0.993 9	48.46
0.1	西红花苷-I	Y=-0.021 3X-0.704 6	0.987 9	32.54
	西红花苷-II	Y=-0.052 1X-1.839 6	0.989 6	13.30

3 讨论

Fe³⁺和 Fe²⁺对西红花苷类成分降解具有较强的促进作用,极低浓度下 Fe³⁺即可加快西红花苷降解速率。黄翔峰等^[18]认为金属离子与抗生素络合能使电子在分子内传递,使抗生素在温和条件下就可以高效氧化降解;另一方面,Fe³⁺与抗生素络合还可以大大加快抗生素的光降解反应速率。西红花苷含多个共轭双键,能与过渡态金属离子形成络合物,Fe³⁺和 Fe²⁺对其降解的促进作用可能与络合反应有关。因此,在生产过程中含有西红花苷的水溶液应尽量避免与铁制容器、管道相接触。

在高浓度 Fe³⁺作用下,西红花苷可瞬间全部降解,且在 40 °C 时低浓度 Fe³⁺亦可使西红花苷快速降解。因此,在服用含有西红花苷类化合物的中成药时,应避免与含铁药物(如治疗贫血的铁剂)同服。

作为碱金属盐的钠盐和钾盐可显著降低西红花苷的降解速率,这种作用可能与改变反应体系电解质强度有关,具体机制还有待进一步研究。

参考文献:

[1] 朱安运,夏 婧,李小波,等. 栀子与西红花中西红花苷纯化、分析及构效关系研究进展[J]. 药物分析杂志, 2018,

38(5): 735-747.

[2] Chen Y, Zhang H, Li Y X, et al. Crocin and geniposide profiles and radical scavenging activity of gardenia fruits (*Gardenia jasminoides* Ellis) from different cultivars and at the various stages of maturation[J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(4): 269-273.

[3] 李顺旭,杨大坚,李荣东,等. 高效液相色谱梯度洗脱法测定不同中国产西红花药材中西红花苷 I、II 的含量[J]. 中南药学, 2010, 8(12): 886-889.

[4] Bakshi H A, Sam S, Feroz A, et al. Crocin from Kashmiri saffron (*Crocus sativus*) induces *in vitro* and *in vivo* xenograft growth inhibition of Dalton's lymphoma (DLA) in mice[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2009, 10(5): 887-890.

[5] Zheng Y Q, Liu J X, Wang J N, et al. Effects of crocin on reperfusion-induced oxidative/nitrative injury to cerebral microvessels after global cerebral ischemia[J]. *Brain Res*, 2007, 1138: 86-94.

[6] Sebastin S M, Hemshekhar M, Thushara R M, et al. Vipera russelli venom-induced oxidative stress and hematological alterations: amelioration by crocin a dietary colorant [J]. *Cell Biochem Funct*, 2013, 31(1): 41-50.

[7] 张业昊,丛伟红,刘建勋. 西红花苷的药理作用研究进展[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(2): 124-127.

[8] 绪广林,钱之玉. 西红花苷对血管内皮细胞的保护作用研究[J]. 中草药, 2002, 33(5): 439-442.

[9] Thushara R M, Hemshekhar M, Santhosh M S, et al. Crocin a dietary additive protects platelets from oxidative stress-induced apoptosis and inhibits platelet aggregation [J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 373(1-2): 73-83.

[10] 刘 娟,钱之玉. 西红花苷对氧化应激诱导血管内皮细胞凋亡的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2005, 10(6): 627-632.

[11] 肖小华,徐丽瑛,周艳艳,等. 栀子苷和西红花苷 I 对 ANIT 致小鼠肝损伤的保肝作用研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(7): 1600-1601.

[12] 黎砚书,徐丽瑛,周艳艳,等. 栀子黄色素类单体对糖尿病小鼠降血糖作用[J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(5): 387-389.

[13] 付小梅,吴志瑰,裴建国,等. 栀子药材中西红花苷-1 的化学稳定性研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(3): 525-527.

[14] 蔡仕宁,陈 阳. 不同结构西红花苷稳定性的研究[J]. 食品科技, 2012, 37(8): 212-215.

[15] 孙明奇,胡建中,潘思轶. 柑橘皮类胡萝卜素提取物稳定性研究[J]. 食品科学, 2007, 28(10): 46-49.

[16] 邵金华,黄光文,朱智勇,等. 柚皮中类胡萝卜素的提取及其稳定性的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(2): 281-285.

[17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 130.

[18] 黄翔峰,熊永娇,彭开铭,等. 金属离子络合对抗生素去除特性的影响研究进展[J]. 环境化学, 2016, 35(1): 133-140.