

麸炒枳实的炮制工艺优化

林桂梅¹, 来有雪², 于晓黎¹, 贾天柱^{1*}

(1. 辽宁中医药大学药学院辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600;

2. 大连市第六人民医院药剂科, 辽宁 大连 116113)

[摘要] 目的: 研究麸炒枳实的最佳炮制工艺。方法: 以出膏率、辛弗林的含量及柚皮苷和橙皮苷的总含量为指标, 采用正交设计优选炮制工艺。结果: 优选出的枳实炮制工艺为, 取直径为 1.5 ~2.5 cm 枳实, 投麸量 100/10, 于 180℃, 炒制 1 min。结论: 麸炒枳实的炮制工艺切实可行。

[关键词] 枳实; 正交试验; 辛弗林; 柚皮苷; 橙皮苷; 炮制工艺

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)18-0021-05

Optimal Technique of Bran-processed Fructus Aurantii Immaturus

LIN Gui-mei¹, LAI You-xue², YU Xiao-li¹, JIA Tian-zhu^{1*}

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Liaoning Province Traditional Chinese

Medicine Engineering Research Center, Dalian 116600, China; 2. Sixth People's

Hospital of Dalian Pharmacy, Dalian 116113, China)

[Abstract] Objective: To optimize technique of bran-processed Fructus Aurantii Immaturus. **Method:** Orthogonal design $L_9(3)^4$ was used to select the best processing technical parameters by rate of the paste, synephrine, naringin and hesperidin in the processing products. **Result:** The optimal procedure was suggested as follows: Diameter of Fructus Aurantii Immaturus was 1.5-2.5 centimeters and one-tenth amount of bran by Fructus Aurantii Immaturus weight was added, frying for one minutes at 180 degrees Celsius. **Conclusion:** The process is feasible.

[Key words] Fructus Aurantii Immaturus; orthogonal test; synephrine; naringin; hesperidin; processing technology

枳实为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种或甜橙 *Citrus sinensis* Osbeck 的干燥幼果。在《神农本草经》中作为中品收载, 具有破气消积, 化痰散痞的功效^[1]。枳实主要有效成分为生物碱, 如辛弗林、N-甲基酪胺等; 黄酮类成分, 如橙皮苷、柚皮素和柚皮苷等。辛弗林能显著增强多种心肌收缩性和泵血功能的指标^[2]; 橙皮苷能降低毛细

血管的通透性, 即有维生素 P 样作用^[3], 还有消炎止痛作用^[4]; 柚皮素和柚皮苷有抗炎作用^[5]。枳实历代有多种炮制方法, 近代炮制方法主要有炒黄、炒炭、麸炒、蜜炙、砂烫等, 然而仅麸炒收载在《中国药典》2010 年版中^[6]。本试验以出膏率, 辛弗林的含量及柚皮苷和橙皮苷的总含量为指标, 采用正交设计, 探讨麸炒枳实的最佳炮制工艺。

1 材料

1.1 仪器 日本岛津 LC-20AT 液相色谱仪 (SPD-M20A 检测器, LC-20AB 泵, CTO-20A 柱温箱, SIL-20A 自动进样器, CBM-20A 数据转换模器); 岛津 LC-Solution 色谱数据工作站; METTLER AE240 型 1/10 万分析天平 (瑞士 METTLER); FA1004B 电子天平 (上海精密科学仪器有限公司); KQ-250DB 型数控超声波清洗

[收稿日期] 20100320(002)

[基金项目] 国家发改委行业专项(200807039)

[第一作者] 林桂梅, 博士, 从事中药炮制研究, Tel: 13478906006, E-mail: auroralin@sina.com

[通讯作者] * 贾天柱, 教授, 从事中药炮制研究, Tel: 0411-87586499, E-mail: jiatz@lnutcm.edu.cn

器(超声电功率 250 W, 频率 40 kHz)。

1.2 试药 枳实经本校中药鉴定教研室翟延君教授鉴定为芸香科植物酸橙 *C. aurantium* 的干燥幼果; 对照品辛弗林(批号 110727-200306), 柚皮苷(批号 110722-200309), 橙皮苷(批号 110722-200613) 均购自中国药品生物制品检定所; 甲醇、乙腈(均为色谱纯), 超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 辛弗林含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 取辛弗林对照品, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 得 $0.7020 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品贮备液, 精密吸取 5 mL 上述对照品贮备液, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。即得 $0.0702 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的辛弗林对照品溶

液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取麸炒枳实样品适量, 粉碎, 取中粉(能全部通过四号筛, 混有能通过五号筛不超过 60% 的粉末) 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 100 mL, 称定质量, 超声 30 min 后, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 50 mL 至蒸发皿中, 蒸干, 称干膏重。干膏加甲醇溶解, 转移至 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜, 备用。

2.1.3 测定条件 色谱柱 Diamonsil C_{18} (4.6 mm \times 200 mm, 5 μm); 流动相甲醇-磷酸水溶液(含 0.18% 磷酸, 0.22% 十二烷基硫酸钠) 58:42; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长 275 nm; 进样量 10 μL 。见图 1。

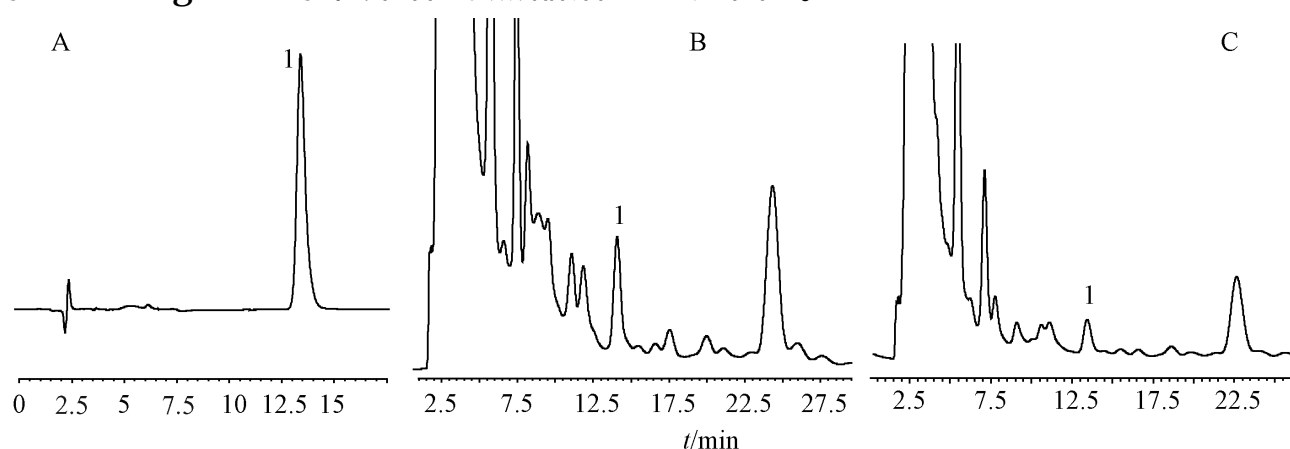


图 1 辛弗林含量测定 HPLC

A. 对照品; B. 麸炒品; C. 生品; 1. 辛弗林

2.1.4 方法学考察

2.1.4.1 线性范围考察 精密吸取浓度为 $0.0702 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的辛弗林对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL , 按 2.1.3 项下操作, 以辛弗林对照品进样量 (μg) 为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得辛弗林线性回归方程, $Y = 549880X - 10855$, $r = 0.9996$ 。表明辛弗林的进样量在 $0.0702 \sim 0.7020 \mu\text{g}$ 与峰面积呈良好的线性关系。

2.1.4.2 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 按 2.1.3 项下操作, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 测定供试品中辛弗林峰面积的 RSD 1.5%, 结果表明仪器精密度良好。

2.1.4.3 稳定性试验: 精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 分别于 0, 1, 2, 4, 8, 24 h 进样分析, 按 2.1.3 项下操作, 测定辛弗林含量, 测定色谱峰面积的 RSD 1.9%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.4.4 重复性试验 取同一样品 6 份, 按 2.1.2, 2.1.3 项下操作, 分别进样 10 μL , 测定各样品中辛弗林的平均含量为 0.366 2%, RSD 1.6%。

2.1.4.5 加样回收率试验 取已知含量枳实样品 6 份, 每份 0.5 g, 精密称定, 分别加入 $0.7020 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的辛弗林标准液 2 mL, 按照 2.1.2 项下操作, 配制成 6 份加样的供试品溶液, 在上述色谱条件进样分析, 计算回收率, 结果辛弗林的加样回收率为 99.09%, RSD 2.4%。结果见表 1。

2.2.1 对照品溶液的制备 取柚皮苷对照品, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 得 $1.490 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品贮备液, 精密吸取 1 mL 上述对照品贮备液, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。即得 $0.0298 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的柚皮苷对照品溶液。

取橙皮苷对照品, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 得 $1.720 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品贮备液, 精密吸取 1 mL 上述对照品贮备液, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。即得 $0.0344 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的橙皮苷对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密吸取 2.1.2 项下制得的溶液 0.5 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜, 备用。

表 1 辛弗林加样回收率

No.	样品量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.507 4	1.420 7	1.404	2.8221	99.81		
2	0.502 7	1.407 6	1.404	2.8453	102.40		
3	0.509 2	1.425 8	1.404	2.7833	96.69	99.09	2.4
4	0.507 8	1.421 8	1.404	2.7695	95.99		
5	0.506 1	1.417 1	1.404	2.8281	100.50		
6	0.505 2	1.414 6	1.404	2.8064	99.13		

2.2.3 测定条件 色谱柱 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 200 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水溶液(磷酸调 pH 3) 20.5 79.5; 柱温 35 ; 流速 0.6 mL·min⁻¹; 检测波长 283 nm; 进样量 10 μL。见图 2。

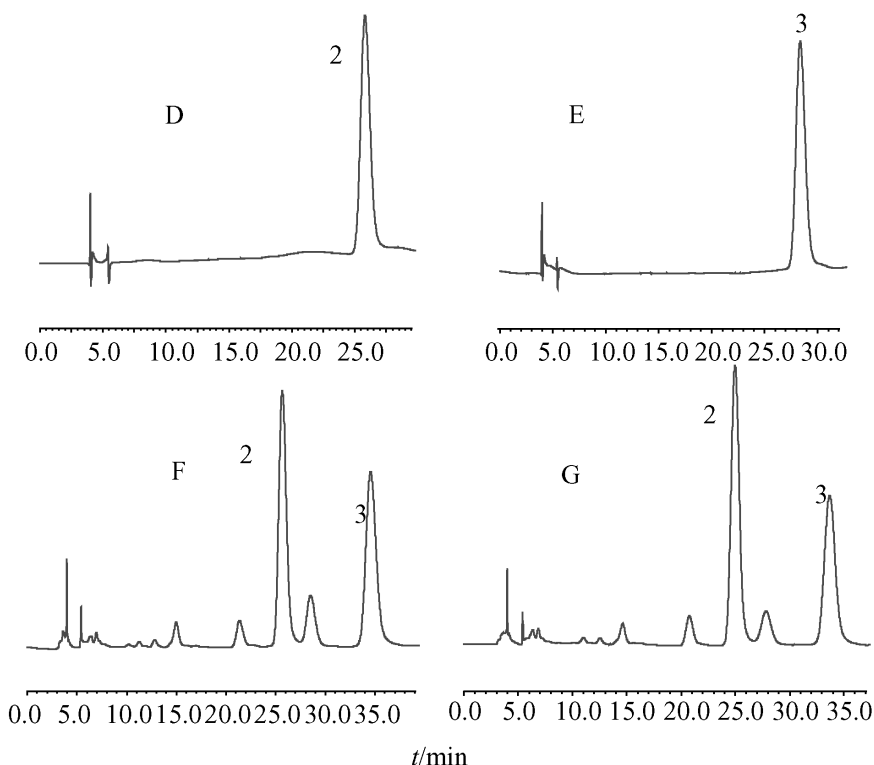


图 2 柚皮苷、橙皮苷含量测定 HPLC

D. 柚皮苷对照品; E. 橙皮苷对照品; F. 麸炒品;
G. 生品; 2. 柚皮苷; 3. 橙皮苷

2.2.4 方法学考察

2.2.4.1 线性范围 精密吸取浓度为 0.029 8 g·L⁻¹ 的柚皮苷对照品溶液 1, 5, 10, 15, 20, 25 μL, 按 2.1.3 项下操作, 以柚皮苷对照品进样量(μg) 为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得柚皮苷线性回归方程, $Y=3 \times 10^6 X+6 105.9$, $r=0.999 6$ 。表明柚皮苷的进样量在 0.029 8 ~0.745 0 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

精密吸取浓度为 0.034 4 g·L⁻¹ 的橙皮苷对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL, 按 2.1.3 项下操作, 以橙皮苷对照品进样量(μg) 为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得橙皮苷线性回归方程, $Y=3 \times 10^6 X-5 640.6$, $r=0.999 9$ 。表明橙皮苷的进样量在 0.034 4 ~0.344 0 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.4.2 精密度试验 精密吸取同一浓度供试品溶液, 按 2.2.3 项下操作, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 测定供试品中柚皮苷峰面积的 RSD 0.7%, 橙皮苷峰面积的 RSD 1.9%, 结果表明仪器精密度良好。

2.2.4.3 稳定性试验: 精密吸取同一供试品溶液 10 μL, 分别于 0, 1, 2, 4, 8, 24 h, 进样分析, 按 2.1.3 项下操作, 测定柚皮苷峰面积的 RSD 0.9%, 橙皮苷峰面积的 RSD 1.5%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.4.4 重复性试验 取同批样品 6 份, 按 2.2.2, 2.2.3 项下操作, 进样 10 μL 测定各样品中柚皮苷的质量分数 10.51%, RSD 1.2%; 橙皮苷的质量分数 1.96%, RSD 1.1%。

2.2.4.5 加样回收率试验 取已知含量的枳实样品 6 份, 每份 0.05 g 精密称定, 分别加入 2.121 g·L⁻¹ 的柚皮苷标准液 2 mL, 按照 2.1.2, 2.2.2 项下操作, 配制成 6 份加样的供试品溶液, 在上述色谱条件进样分析, 计算回收率, 结果柚皮苷的加样回收率为 98.81%, RSD 1.8%。结果见表 2。

取已知含量的枳实样品 6 份, 每份 0.3 g, 精密称定, 分别加入 1.520 g·L⁻¹ 的橙皮苷标准液 3 mL, 按照 2.1.2, 2.2.2 项下操作, 配制成 6 份加样的供

表 2 柚皮苷加样回收率测定

No.	样品量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.050 1	4.158 3	4.242	8.380 4	99.53		
2	0.053 0	4.399 0	4.242	8.564 2	98.19		
3	0.057 9	4.805 7	4.242	8.892 9	96.35	98.81	1.8
4	0.050 4	4.183 2	4.242	8.428 2	100.07		
5	0.053 1	4.407 3	4.242	8.547 9	97.61		
6	0.052 2	4.332 6	4.242	8.622 1	101.12		

试品溶液,在上述色谱条件进样分析,计算回收率,结果见表 3。

表 3 橙皮苷加样回收率测定

序号	样品量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.313 4	4.763 7	4.560	9.216 5	97.65		
2	0.303 8	4.617 8	4.560	9.319 6	103.11		
3	0.312 2	4.745 4	4.560	9.190 9	97.49	99.23	2.4
4	0.301 7	4.585 8	4.560	9.038 6	97.65		
5	0.303 5	4.613 2	4.560	9.235 2	101.36		
6	0.304 8	4.633 0	4.560	9.107 3	98.12		

3 麸炒枳实工艺优选

3.1 试验设计 根据预试验结果,选取炒制时间(A)、炒制温度(B)、麸用量(C),直径(D)4个因素,每个因素分别设3个水平,不考虑交互作用,选用 $L_9(3)^4$ 正交表安排实验,因素水平安排见表4,按**2.1**

表 4 麸炒枳实工艺因素水平

水平	A	B	C	D
	炒制时间 /s	炒制温度 /	麸用量 /g	直径 /cm
1	20	160	5	<1.5
2	40	180	10	1.5 ~2.5
3	60	200	15	>2.5

和**2.2**项下方法分别测定辛弗林、柚皮苷和橙皮苷的总量以及出膏率,按加权平均法计算其综合评分,其中辛弗林的含量、柚皮苷和橙皮苷的总量权重各占0.3,出膏率占0.4。

3.2 方法 按正交表安排进行试验,每号试验重复2次,于煤气炉上将铁锅加热至所需温度,均匀撒入定量麦麸,待烟起,随之投入净枳实,快速翻动,适时出锅。炒后枳实表面淡黄,麦麸呈黑色,筛去麦麸,放凉^[7]。取样测定,并计算考察指标的综合评分。正交试验测定数据和统计结果分别见表5,表6,方差分析结果见表7。

表 5 麸炒枳实工艺正交试验结果

No.	出膏率 /%		辛弗林 /%		柚皮苷 + 橙皮苷 /%		综合评分		合计
	试验 1	试验 2	试验 1	试验 2	试验 1	试验 2	Y_1	Y_2	Y
1	47.68	25.86	0.32	0.26	12.19	14.35	88.05	77.85	165.90
2	51.80	29.91	0.48	0.40	12.40	14.23	99.81	92.17	191.98
3	31.92	26.95	0.37	0.31	9.82	12.00	84.80	77.86	162.66
4	33.89	32.84	0.30	0.28	12.42	13.87	86.47	86.53	173.00
5	33.81	28.90	0.45	0.37	12.48	14.07	95.90	88.55	184.45
6	31.86	33.80	0.41	0.34	11.06	13.33	87.81	90.76	178.57
7	33.96	31.96	0.42	0.43	11.36	14.79	91.50	97.82	189.32
8	31.78	33.84	0.42	0.41	10.80	12.65	87.72	94.31	182.03
9	35.93	25.94	0.41	0.34	10.55	12.16	91.13	79.08	170.21

表 6 麸炒枳实炮制正交试验因素水平分析

No.	A	B	C	D	Y
1	1	1	1	1	165.90
2	1	2	2	2	191.98
3	1	3	3	3	162.66
4	2	1	2	3	173.00
5	2	2	3	1	184.45
6	2	3	1	2	178.57

续表 6

No.	A	B	C	D	Y
7	3	1	3	2	189.32
8	3	2	1	3	182.03
9	3	3	2	1	170.21
K_1	520.54	528.22	526.50	520.56	
K_2	536.02	558.46	535.19	559.87	
K_3	541.56	511.44	536.43	517.69	
R	21.02	47.02	9.93	42.18	

表 7 麸炒枳实炮制方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	79.13	2	4.05	
B	378.55	2	19.40	<0.05
C(误差)	19.52	2	1.00	
D	370.30	2	18.97	

注: $F_{0.05(2,2)} = 19.00$ 。

3.3 结果及分析 表 6 和表 7 结果显示: 以 R 值最小的 C 因素为误差项进行方差估算, 因素 B 对综合评分的结果有显著影响, 因素 A D 对结果无显著影响。极差分析认为各因素的主次顺序是 $B > D > A > C$ 。由于 C 因素 R 值最小, 且麸用量的统计量 K 值相差不大(536.43, 535.19), 为了节约辅料, 最佳的工艺条件定为 $A_3 B_2 C_2 D_2$ 。即取直径为 1.5 ~ 2.5 cm 的枳实, 100 g 枳实投麸量为 10 g, 于 180 °C, 炒制 1 min。

3.4 验证实验 为验证上述最佳工艺的科学性、稳定性和可重复性, 进行了 3 次验证实验, 进一步考察正交试验结果的准确性和可靠性, 结果见表 8。

表 8 麸炒枳实炮制验证试验

No.	出膏率 / %	辛弗林 / %	柚皮苷 + 橙皮苷 / %
1	32.83	0.41	12.47
2	32.96	0.42	12.55
3	32.81	0.41	12.51

4 讨论

4.1 色谱条件选择 辛弗林的流动相考察了甲醇或乙腈与十二烷基磺酸钠磷酸水溶液或十二烷基硫酸钠水溶液不同比例的配比。结果在甲醇-磷酸水溶液(含 0.18% 磷酸 0.22% 十二烷基硫酸钠)(58:42), 柱温 40 °C, 流速 1 mL·min⁻¹ 时, 水相溶液缓冲盐不易析出, 色谱峰分离效果好。另外, 辛弗林对照品溶液在紫外波长 225, 275 nm 下均有较大吸收, 但 225 nm 波长下基线不易平稳, 故选用 275 nm 为辛弗林的检测波长。对柚皮苷和橙皮苷的流动相考察了甲醇或乙腈与磷酸水溶液不同比例配比。结果在乙腈-水溶液(磷酸调 pH 3) 20.5:79.5; 柱温 35 °C; 流速 0.6 mL·min⁻¹, 检测波长 283 nm 下, 检测效果较好。

4.2 提取方法的考察 对回流提取、超声提取及索

氏提取 3 种方法进行了比较, 结果辛弗林质量分数的平均值分别为 0.43%, 0.47%, 0.46%, 柚皮苷和橙皮苷的总质量分数的平均值分别为 11.31%, 13.88%, 10.20%, 超声提取较前 2 种提取方法提取效率高, 并且超声提取的杂质较少, 各色谱峰之间的干扰较少, 故选用超声提取法。

4.3 单因素考察 对炮制时间, 炮制温度, 麸用量进行了单因素考察, 结果随着炮制时间的增加, 出膏率、辛弗林含量、柚皮苷和橙皮苷的总含量也随之增减, 而当炮制时间为 40, 60 s 时, 二者综合评分最优, 但 40, 60 s 之间差异不大; 随着炮制温度的增加, 出膏率、辛弗林含量、柚皮苷和橙皮苷的总含量也随之增减, 而当炮制温度为 180 °C 时, 二者综合评分最高; 随着加麸量的增加, 出膏率、辛弗林含量、柚皮苷和橙皮苷的总含量也随之增减, 而当加麸量为 100:15 时, 综合评分优于其他, 但 100:10, 100:15 之间差异不大。

通过试验确定工艺参数为炒 1 min, 在工业大生产中, 可以把炒制时间控制在 50 ~ 70 s, 便于操作和控制。

[参考文献]

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005: 172.
- [2] Snghd, Chander V, Choppa K. Protective effect of naringin, a bioflavonoid on glycerol-induced acute renal failure in rat kidney[J]. Toxicology, 2004(1): 143.
- [3] Kanno S, Shoujia, A SouK, et al. Effects of naringin on hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and apoptosis in p388 cells[J]. J Pharmacol Sci, 2003, 92: 166.
- [4] Williams cm, Couchmw, Thonoorm, et al. Isomeric octopamines: their occurrence and functions[J]. Pharm Pharmacol, 1987, 39: 153.
- [5] Galatiem, Monfortm T, Kirjavanen S, et al. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid[J]. Farmaco, 1994, 49: 709.
- [6] 王文凯, 刘红娜, 雷丹. 不同炮制方法对枳实中柚皮苷和新橙皮苷含量的影响[J]. 江西中医学院学报, 2007, 19(6): 50.
- [7] 贾天柱. 中药炮制学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2008: 128.

[责任编辑 仝燕]