

枳实饮片标准汤剂的质量控制

石佳¹, 荆文光², 邓哲², 焦梦姣¹, 章军¹, 刘德文¹, 刘安^{1*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;

2. 中国中药有限公司 中药研究院, 北京 102600)

[摘要] **目的:**建立枳实饮片标准汤剂的质量控制方法,为枳实配方颗粒及其他枳实相关产品的质量评价提供参考。**方法:**从市场上收集了不同品质的 16 批枳实饮片,其中包括 13 批酸橙枳实和 3 批甜橙枳实,按标准化煎煮工艺制备枳实饮片标准汤剂,以辛弗林转移率、标准汤剂的出膏率和 pH 等为综合评价指标,建立枳实饮片标准汤剂的质量控制体系。**结果:**13 批酸橙枳实饮片标准汤剂中辛弗林转移率处于 35.7%~92.7%,平均转移率 61.9%;3 批甜橙枳实饮片标准汤剂中辛弗林转移率处于 53.1%~84.4%,平均转移率 73.2%。13 批酸橙枳实饮片标准汤剂的出膏率处于 20.7%~43.8%,平均出膏率 28.4%;3 批甜橙枳实饮片标准汤剂的出膏率范围为 13.8%~17.6%,平均出膏率 15.4%。说明酸橙枳实饮片标准汤剂的出膏率高于甜橙枳实饮片标准汤剂的出膏率。13 批酸橙枳实饮片标准汤剂的 pH 4.48~5.32,平均 pH 4.99;3 批甜橙枳实饮片标准汤剂的 pH 4.77~5.38,平均 pH 5.06。与相应的对照指纹图谱相比,13 批酸橙枳实饮片标准汤剂的 HPLC 指纹图谱相似度均 >0.9,找到 6 个共有峰,其中 3 个指认为柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷;3 批甜橙枳实饮片标准汤剂的 HPLC 指纹图谱相似度均 >0.9,找到 2 个共有峰,其中 1 个指认为橙皮苷。酸橙枳实饮片标准汤剂图谱中的色谱峰数量明显多于甜橙枳实饮片标准汤剂。**结论:**建立的质量评价方法精密度、重复性、稳定性良好,适用于枳实相关产品的质量评价。酸橙和甜橙的枳实饮片标准汤剂应该作为 2 个品种,不同基原枳实饮片标准汤剂应该分别进行研究。以枳实为例,建议多基原的中药配方颗粒以“种名+中药饮片+配方颗粒”的形式命名。

[关键词] 枳实; 标准汤剂; 配方颗粒; 质量评价; 辛弗林; 出膏率; 药材基原

[中图分类号] R22;R24;R28;C37;R931 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)07-0153-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190102

[网络出版地址]

[网络出版时间]

Quality Control of Standard Decoction of *Aurantii Fructus Immaturus*

SHI Jia¹, JING Wen-guang², DENG Zhe², JIAO Meng-jiao¹, ZHANG Jun¹, LIU De-wen¹, LIU An^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Institute of Traditional Chinese Medicine (TCM), China National TCM Co. Ltd., Beijing 102600, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a quality control method of standard decoction of *Aurantii Fructus Immaturus* (AFI), and to provide reference for quality evaluation of AFI dispensing granules and other related products of AFI. **Method:** A total of 16 batches of AFI pieces with different quality were collected from the market, including 13 batches of *Citrus aurantium* and 3 batches of *C. sinensis*, and the standard decoction of AFI was prepared according to the standard decoction process. Transfer rate of synephrine, dry extract rate and others of the standard decoction were regarded as evaluation indicators and relative assessment are conducted. **Result:** Transfer rates of synephrine in 13 batches of standard decoction of AFI (*C. aurantium*) were ranged from 35.7% to 92.7% with the average value was 61.9%; dry extract rates were varied from 20.7% to 43.8% and the

[收稿日期] 20180612(024)

[基金项目] 中国中医科学院“十三五”重点领域研究专项(ZZ10-007)

[第一作者] 石佳,在读硕士,从事中药分析研究,E-mail:1358227419@qq.com

[通信作者] *刘安,研究员,从事中药化学研究,Tel:010-64014411-2938,E-mail:aliu@icmm.ac.cn

average value was 28.4% ; pH values were 4.48-5.32 with the average value was 4.99 ; the HPLC fingerprint similarities were >0.9 by comparing with the corresponding control fingerprint, 6 common peaks were found and 3 of them were identified as naringin, hesperidin and neohesperidin. Transfer rates of synephrine in 3 batches of standard decoction of AFI (*C. sinensis*) were changed from 53.1% to 84.4% , and the average value was 73.2% ; dry extract rates were shifted from 13.8% to 17.6% and the average value was 15.4% ; pH values were 4.77-5.38 with the average value was 5.06 ; the HPLC fingerprint similarities were >0.9 by comparing with the corresponding control fingerprint, 2 common peaks were found and one of them were identified as hesperidin.

Conclusion: From the HPLC fingerprint of standard decoction of AFI, we can easily understand that the number of peaks in *C. aurantium* is obviously more than that of *C. sinensis*. This method has good precision, reproducibility and stability, it is suitable for quality evaluation for related products of AFI. Simultaneously, the research provides a good reference for identifying sources of AFI.

[**Key words**] Aurantii Fructus Immaturus ; standard decoction ; dispensing granules ; quality evaluation ; synephrine ; dry extract rate ; source of Chinese herbs

枳实味苦、辛、酸,性微寒,归脾、胃经,具有破气消积、化痰散痞的功效,临床上用于治疗积滞内停、痞满胀痛、泻痢后重等证^[1-2],其主要含有黄酮类、生物碱类、挥发油类化合物^[3]。枳实中黄酮类化合物(主要为柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷等)具有改善胃肠道功能、抗癌、抗氧化、抗菌等活性^[4-6];以辛弗林为主的生物碱类成分具有强心、升压及促进脂质代谢的功效^[7-10],该成分也是 2015 年版《中国药典》规定含量测定的指标成分。

中药配方颗粒是由单味中药饮片经水提、浓缩、干燥、制粒而成,在中医临床配方后供患者冲服使用,是传统饮片的一种补充形式,服用方便且快捷。但中药配方颗粒失去了传统饮片的性状特征,使得鉴别成为难点;并且各企业已有内部标准,导致市场上同一配方颗粒的质量不一,监管难度加大。而标准汤剂作为配方颗粒的基准物质,对配方颗粒的质量控制起到了标准参照的作用。虽已有文献报道枳实配方颗粒的研究,但只是对辛弗林的含量测定或枳实配方颗粒的特征图谱进行研究,且样本量较小,并未对不同基原的枳实饮片标准汤剂的差异进行探讨,且缺乏全面的质量控制体系^[11-13]。基于以上问题,本实验从标准汤剂角度对收集的 16 批枳实饮片进行研究,以为枳实配方颗粒的质量评价提供参考。

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司,包括 DGC-20A 型在线脱气系统, SIL-20A 型自动进样系统, CTO-20A 型柱温箱, SPD-M20A 型二极管阵列检测), BS-210S 型电子天平和 BS224S-型 1/10 万电子分析天平(德国赛多利斯公司)。辛弗林对照

品(江西佰草源生物科技有限公司,批号 BCY-000798,纯度 $\geq 98\%$),柚皮苷、橙皮苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110722-200309, 0721-200010,纯度均 $\geq 98\%$),新橙皮苷对照品(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,批号 BCTG-0713,纯度 $\geq 98\%$),十二烷基磺酸钠(天津市光复精细化工研究所),磷酸二氢钾(国药集团化学试剂有限公司),水为娃哈哈纯净水,乙腈为色谱纯,其他试剂为分析纯。

从 6 家企业收集了 16 批不同质量的枳实饮片,包括不同规格、不同批号和不同生产日期,具体信息见表 1。16 批枳实饮片从外观片形上分为 3 类,一类为枳实片(即圆形薄片, ZS-03, ZS-05, ZS-06 和 ZS-13);一类为不规则的小丁(ZS-07 和 ZS-08);一类为枳实对瓣(即呈半圆球形,翻口似盆状),剩余的样品均为此种类型。经中国中医科学院中药研究所何希荣主管中药师及 DNA 条形码鉴定, ZS-03, ZS-06, ZS-13 为芸香科植物甜橙 *Citrus sinensis* 的干燥幼果;其余 13 批为酸橙 *C. aurantium* 的干燥幼果。

2 方法

2.1 枳实饮片的检测^[11]

2.1.1 色谱条件 Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m),流动相甲醇-磷酸二氢钾溶液(取磷酸二氢钾 0.6 g, 十二烷基磺酸钠 1.0 g, 冰乙酸 1 mL, 加水溶解并稀释至 1 L)(50:50),柱温 35 $^{\circ}$ C,流速 1 mL \cdot min⁻¹,检测波长 275 nm,进样量 15 μ L。理论板数按辛弗林峰计算不低于 2 000。

2.1.2 对照品溶液的制备 取辛弗林对照品适量,

表 1 枳实饮片的样品信息

Table 1 Sample information of Aurantii Fructus Immaturus decoction pieces

编号	规格	产地	厂家	生产批号	生产日期
ZS-01	一等	江西赣州	安国市昌达中药材饮片有限公司	1405001	2014-05-15
ZS-02	二等	江西赣州	安国市昌达中药材饮片有限公司	1405001	2014-05-15
ZS-03	三等	江西赣州	安国市昌达中药材饮片有限公司	1403001	2014-03-15
ZS-04	统	江西樟树	江西樟树天齐堂中药饮片有限公司	1608005	2016-08-11
ZS-05	薄片	江西	亳州市沪淮药业有限公司	1603170172	2016-03-17
ZS-06	统片	湖南	黄冈金贵中药产业发展有限公司	D60880306	2016-08-16
ZS-07	统	江西	北京康美制药有限公司	160660261	2016-06-02
ZS-08	统	江西	北京康美制药有限公司	151060541	2015-10-12
ZS-09	统	江西樟树	江西樟树天齐堂中药饮片有限公司	1608005	2016-08-11
ZS-10	统	江西樟树	江西樟树天齐堂中药饮片有限公司	1610006	2016-10-02
ZS-11	一等	江西赣州	安国市昌达中药材饮片有限公司	1404001	2014-04-05
ZS-12	二等	江西赣州	安国市昌达中药材饮片有限公司	1406001	2014-06-08
ZS-13	三等	江西赣州	安国市昌达中药材饮片有限公司	1408001	2014-08-12
ZS-14	-	江西新余	深圳津村药业有限公司	S160190501	2016-11-30
ZS-15	-	江西新干	深圳津村药业有限公司	S160170501	2016-11-30
ZS-16	-	江西樟树	深圳津村药业有限公司	S160180501	2016-11-30

精密称定,分别加水制成每 1 mL 含 47.04 μg 的溶液,即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(中粉,下同)约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,加热回流 1.5 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,通过聚酰胺柱(60~90 目,2.5 g,内径 1.5 cm,干法装柱,下同),用水 25 mL 洗脱,收集洗脱液并转移至 25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.4 指标成分的测定 分别精密吸取对照品溶液 10 μL 和供试品溶液 15 μL ,按 2.1.1 项下色谱条件测定。

2.1.5 水分测定 取本品粉末约 2.0 g,平铺于干燥至恒重的扁形称量瓶中,精密称定,开启瓶盖在 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 5 h,将瓶盖盖好,移至干燥器中,放冷 30 min,精密称定,再在 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 1 h,放冷,称重,至连续 2 次称重的差异不超过 5 mg 为止。根据减失的质量计算供试品中含水量。

2.2 枳实饮片标准汤剂的制备^[14-15] 取枳实饮片 100 g,加 7 倍量水浸泡 30 min,回流提取 60 min,趁热过滤,药渣再加 6 倍量水回流提取 40 min,趁热过滤,合并 2 次滤液,加水定容至 500 mL,摇匀,得生药质量浓度为 0.2 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的枳实饮片标准汤剂。

2.3 枳实饮片标准汤剂中辛弗林含量测定 色谱条件同 2.1.1 项。对照品溶液的制备同 2.1.2 项。

2.3.1 供试品溶液的制备 取枳实饮片标准汤剂,摇匀,精密量取 5 mL 至 25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,过滤,精密量取 10 mL,通过聚酰胺柱,用水 25 mL 洗脱,收集洗脱液并转移至 25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。平行 2 份。

2.3.2 线性关系考察 精密吸取辛弗林对照品溶液 1,2.5,5,7.5,10 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得辛弗林回归方程 $Y = 345\,584.6X - 627.4 (R^2 = 0.999\,9)$,线性范围 4.704~47.04 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.3.3 精密度试验 取同一枳实饮片标准汤剂(ZS-16)的供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样 6 次,计算供试品溶液中辛弗林峰面积的 RSD 0.7%,表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 平行制备 6 份枳实饮片标准汤剂(ZS-16)的供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算辛弗林的平均质量浓度 0.39 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,RSD 0.9%,表明该方法的重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取枳实饮片标准汤剂(ZS-16)的供试品溶液,分别于制备后 0,4,8,12,24 h 按

2.1.1 项下色谱条件测定, 计算辛弗林峰面积的 RSD 0.8%, 表明供试品溶液在制备后 24 h 内稳定。

2.3.6 加样回收试验 取已知指标成分含量的枳实饮片标准汤剂(ZS-16), 按 1:1 的比例添加辛弗林对照品, 按 **2.3.1** 项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按 **2.1.1** 项下色谱条件测定, 计算辛弗林的平均加样回收率 94.38%, RSD 1.5%, 表明该方法的准确度较好。

2.3.7 样品测定 精密吸取对照品溶液 10 μL 和供试品溶液 15 μL , 按 **2.1.1** 项下色谱条件测定 16 批枳实饮片标准汤剂中辛弗林的含量, 每批平行 2 份。

2.4 枳实饮片标准汤剂特征图谱的建立

2.4.1 色谱条件 采用 Hypersil BDS C_{18} 色谱柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B) 梯度洗脱 (0 ~ 25 min, 13% ~ 20% A; 25 ~ 40 min, 20% ~ 55% A), 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$, 流速 1 mL \cdot min⁻¹, 检测波长 283 nm, 进样量 5 μL 。

2.4.2 供试品溶液制备 精密量取枳实饮片标准汤剂 1 mL 至 25 mL 量瓶中, 加入适量 75% 甲醇, 超声 10 min, 冷却, 加 75% 甲醇定容, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.4.3 精密度试验 取同一批枳实饮片标准汤剂(ZS-16) 的供试品溶液, 按 **2.4.1** 项下条件连续进样 6 次, 以新橙皮苷(5 号峰) 为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 < 0.2%, < 4.3%, 表明仪器精密度良好。

2.4.4 重复性试验 平行制备 6 份枳实饮片标准汤剂(ZS-16) 的供试品溶液, 按 **2.4.1** 项下条件进样分析, 以新橙皮苷为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 < 0.1%, < 3.1%, 表明该方法的重复性较好。

2.4.5 稳定性试验 取同一枳实饮片标准汤剂(ZS-16) 的供试品溶液, 分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 **2.4.1** 项下条件进样测定, 以新橙皮苷为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 < 0.3%, < 2.7%, 表明枳实饮片标准汤剂的供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.6 样品检测与分析 分别取 16 批枳实饮片标准汤剂, 按 **2.4.2** 项下方法制备供试品溶液, 按 **2.4.1** 项下色谱条件测定, 记录 HPLC 图谱。将 16 批供试品溶液的色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A 版) 软件, 以 ZS-01 色谱图参照, 采用中位数法, 时间窗设定 0.1 min, 计算相似

度。

2.5 枳实饮片标准汤剂中辛弗林转移率、出膏率计算及 pH 测定^[16-18] 以辛弗林为指标成分, 按公式 转移率 = 枳实饮片标准汤剂中指标成分质量 / 饮片 中指标成分质量 \times 100% 计算转移率。取枳实饮片 标准汤剂适量, 摇匀, 精密吸取 10 mL 置已恒重的蒸 发皿中, 水浴蒸干, 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘 3 h, 取出, 置干燥器中 冷却 30 min, 称定质量, 除以对应的饮片质量, 得出 膏率, 每批平行 2 份。pH 用 pH 计测定。

3 结果与分析

3.1 枳实饮片的水分及辛弗林含量 16 批枳实饮 片中辛弗林质量分数处于 0.30% ~ 0.58%, 含水量 处于 6.5% ~ 9.3%, 均符合 2015 年版《中国药典》 规定的限量要求, 见表 2。对 16 批枳实饮片的 HPLC 色谱图进行分析, 发现枳实饮片具有 2 种典 型图谱, 见图 1, 甜橙枳实样品色谱图中色谱峰较 少, 辛弗林的色谱峰较为突出; 酸橙枳实样品的色 谱图中色谱峰较多。文献报道枳实基原植物酸橙和 甜橙经 50% 乙醇处理后的 HPLC 指纹图谱差异显 著^[19]。通过按 2015 年版《中国药典》所载方法测定 辛弗林含量的 HPLC 色谱图, 可以区分甜橙枳实和 酸橙枳实。

3.2 成分指认 将已配制好的柚皮苷对照品溶液、 橙皮苷对照品溶液、新橙皮苷对照品溶液、酸橙和 甜橙枳实饮片标准汤剂的供试品溶液, 分别按 **2.4.1** 项下色谱条件测定, 通过保留时间结合紫外光谱图 对供试品溶液各色谱峰进行指认, 见图 2。结果酸 橙枳实饮片标准汤剂中 6 个共有峰指认了 3 个, 依 次为柚皮苷(3 号峰), 橙皮苷(4 号峰) 和新橙皮 苷(5 号峰); 甜橙枳实饮片标准汤剂中 2 个共有峰 指认了 1 个, 即橙皮苷(4 号峰); 橙皮苷为二者的 共有成分, 且甜橙枳实饮片标准汤剂中几乎不含 柚皮苷和新橙皮苷。

3.3 不同基原枳实饮片标准汤剂的差异性

3.3.1 辛弗林含量的检测 按 **2.3** 项下方法对 枳实饮片标准汤剂中辛弗林含量进行测定, 结果 16 批 枳实饮片标准汤剂的辛弗林质量浓度处于 0.37 ~ 0.76 g \cdot L⁻¹。枳实饮片标准汤剂中辛弗林含量测定 的 2 种 HPLC 图谱分别与其饮片的含量测定图谱相 一致, 即 ZS-03, ZS-06 和 ZS-13 枳实饮片标准汤剂 的 HPLC 图谱与图 1(b) 一致, 其余 13 批相应标准汤 剂的 HPLC 图谱与图 1(c) 一致。

3.3.2 指纹图谱分析 按 **2.4** 项下方法得到 16 批 枳实饮片标准汤剂的指纹图谱及其相似度(以 ZS-

表 2 枳实饮片及其标准汤剂的评价指标测定

Table 2 Determination of evaluation indexes of Aurantii Fructus Immaturus decoction pieces and its standard decoction

样品	饮片				汤剂				辛弗林转移率 /%	
	含水量		辛弗林质量分数		辛弗林质量浓度		pH	出膏率		
	数值/%	RSD/%	数值/%	RSD/%	数值/g·L ⁻¹	RSD/%		数值/%		RSD/%
ZS-01	8.4	0.2	0.42	0.8	0.54	0.2	5.21	27.8	0.0	64.3
ZS-02	8.1	0.8	0.37	0.7	0.43	0.4	5.01	24.1	0.2	58.1
ZS-03	8.2	1.1	0.39	2.7	0.64	2.2	5.03	14.7	0.1	82.1
ZS-04	9.3	0.8	0.58	1.9	0.73	0.4	5.05	29.1	0.7	62.9
ZS-05	7.8	1.6	0.41	0.6	0.76	0.6	5.22	43.8	0.2	92.7
ZS-06	7.8	1.3	0.45	0.8	0.76	0.7	4.77	17.6	0.1	84.4
ZS-07	6.5	0.3	0.53	0.9	0.60	1.2	5.32	35.7	0.1	56.6
ZS-08	6.8	0.4	0.30	0.8	0.42	2.2	4.48	35.5	0.4	70.0
ZS-09	8.1	1.0	0.33	0.7	0.37	2.6	4.75	23.2	0.1	56.1
ZS-10	7.5	0.3	0.33	0.7	0.40	0.4	4.93	25.6	0.2	60.6
ZS-11	7.9	0.1	0.39	0.4	0.48	2.3	4.98	26.8	0.5	61.5
ZS-12	7.7	1.1	0.41	0.9	0.61	0.7	4.93	31.9	0.3	74.4
ZS-13	8.0	0.9	0.48	1.2	0.51	0.8	5.38	13.8	0.3	53.1
ZS-14	8.9	0.6	0.32	1.8	0.38	0.8	5.04	20.7	1.6	59.4
ZS-15	8.0	0.5	0.37	0.9	0.39	0.1	4.98	21.0	0.1	52.7
ZS-16	7.7	1.8	0.56	0.9	0.40	0.2	5.02	23.8	0.0	35.7

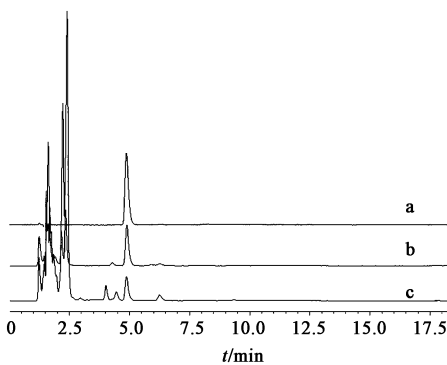
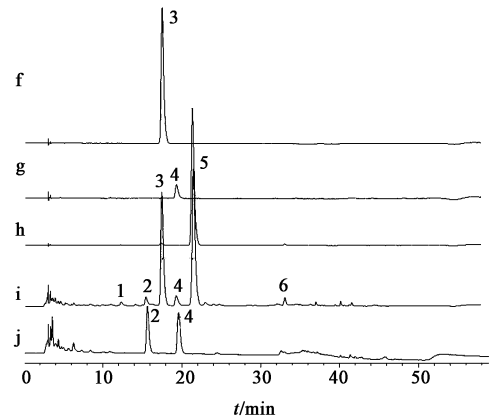


图 1 辛弗林对照品 (a), 甜橙枳实饮片 (b) 和酸橙枳实饮片 (c) 的 HPLC 色谱

Fig.1 HPLC chromatograms of synephrine reference substance (a), Aurantii Fructus Immaturus decoction pieces (*Citrus sinensis*, b) and Aurantii Fructus Immaturus decoction pieces (*C. aurantium*, c)

01 为参照), 结果发现 3 批甜橙枳实饮片标准汤剂相似度较低, 依次为 0.086, 0.264 和 0.085; 其余 13 批样品的相似度均 > 0.9。甜橙和酸橙枳实饮片标准汤剂代表性图谱见图 3, 与文献[20]的报道相一致。分别将来源于酸橙和甜橙的枳实饮片标准汤剂 HPLC 图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A 版) 软件进行相似度计算, 结果 13 批酸橙枳实饮片标准汤剂找到了 6 个共有峰, 其相似度



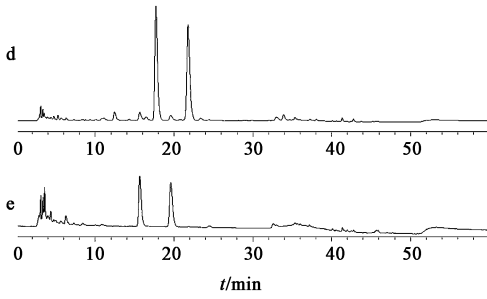
f, g, h. 对照品; i. 酸橙供试品; j. 甜橙供试品; 3. 柚皮苷; 4. 橙皮苷; 5. 新橙皮苷

图 2 不同基原枳实饮片标准汤剂的 HPLC 色谱

Fig.2 HPLC chromatograms of standard decoction of Aurantii Fructus Immaturus with different source

均 > 0.96 (以 13 批酸橙枳实饮片标准汤剂的对照指纹图谱为参照); 3 批甜橙枳实饮片标准汤剂找到了 2 个共有峰, 其相似度均 > 0.93 (以 3 批甜橙枳实饮片标准汤剂的对照指纹图谱为参照), 表明同一品种内枳实的质量具有较高的一致性, 图 4, 5。

3.4 辛弗林转移率、枳实饮片标准汤剂出膏率和 pH 见表 2。结果发现不同基原的枳实饮片在辛弗



d. 酸橙; e. 甜橙

图 3 不同基原枳实饮片标准汤剂的 HPLC 对照指纹谱
Fig. 3 HPLC reference fingerprint of standard decoction of Aurantii Fructus Immaturus with different source

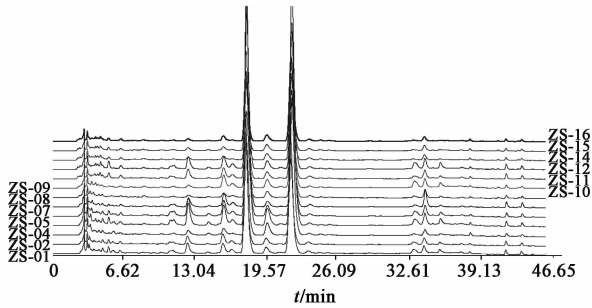


图 4 13 批酸橙枳实饮片标准汤剂的 HPLC 指纹谱
Fig. 4 HPLC fingerprint of standard decoction of Aurantii Fructus Immaturus from 13 batches of *C. aurantium*

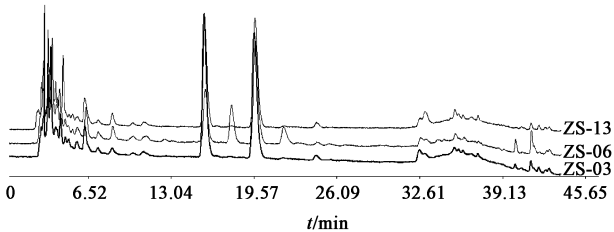


图 5 3 批甜橙枳实饮片标准汤剂的 HPLC 指纹谱
Fig. 5 HPLC fingerprint of standard decoction of Aurantii Fructus Immaturus from 3 batches of *C. sinensis*

林转移率、枳实饮片标准汤剂出膏率和 pH 上均存在着一定差异。13 批酸橙枳实饮片标准汤剂中辛弗林转移率处于 35.7% ~ 92.7%，平均转移率 61.9%；3 批甜橙枳实饮片标准汤剂中辛弗林转移率处于 53.1% ~ 84.4%，平均转移率 73.2%。13 批酸橙枳实饮片标准汤剂的出膏率处于 20.7% ~ 43.8%，平均出膏率 28.4%；3 批甜橙枳实饮片标准汤剂的出膏率范围为 13.8% ~ 17.6%，平均出膏率 15.4%。说明酸橙枳实饮片标准汤剂的出膏率高于甜橙枳实饮片标准汤剂的出膏率。13 批酸橙枳实饮片标准汤剂的 pH 4.48 ~ 5.32，平均 pH 4.99；3 批甜橙枳实饮片标准汤剂的 pH 4.77 ~ 5.38，平均

pH 5.06。说明 2 种基原的枳实饮片标准汤剂 pH 几乎一致。

4 讨论

4.1 枳实饮片标准汤剂工艺参数的确定 研究表明枳实中指标成分提取的最优工艺为加 12, 10, 10 倍量水回流提取 3 次, 每次 1 h^[21]。但此工艺提取次数较多、时间较长、加水量较大, 不适合作为标准化工工艺。参考文献[14]中果实类药材的煎煮工艺, 选择一煎 30 min 和二煎 20 min, 但发现难以煮透心, 因为其质地坚硬, 故适当延长了煎煮时间, 即一煎 60 min 和二煎 40 min。

4.2 枳实饮片标准汤剂含量测定中细节的探讨 在枳实饮片标准汤剂的含量测定中, 由于辛弗林是一类极性较大的生物碱, 本课题组前期对含测指标为生物碱类的中药饮片标准汤剂有过系统的研究^[22], 发现当指标成分为生物碱类时, 对于色谱柱和流动相系统的要求较高, 流动相系统考察时尤其需要注意 pH 的影响。枳实饮片中辛弗林含量测定的供试品溶液制备时要求过聚酰胺柱, 操作较为繁琐。为了尽量使供试品溶液制备简单、快速, 预试验中参照文献[23-25]中方法进行枳实饮片标准汤剂的研究, 结果均未得到很好的 HPLC 色谱图, 主要表现为图谱中前几分钟杂质峰较高、基线漂移严重, 影响了辛弗林的定量检测, 最终选择 Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱, 实现了辛弗林的良好分离。枳实饮片标准汤剂的供试品溶液制备中对上样量进行了考察, 即分别精密量取枳实饮片标准汤剂 2.5, 5, 8 mL 至 25 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 过滤, 精密量取 10 mL 上样, 结果发现对辛弗林的含量测定没有影响, 因此选择中间稀释倍数, 即精密量取枳实饮片标准汤剂 5 mL 至 25 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度。

4.3 不同基原枳实 HPLC 图谱差异及其相应标准汤剂出膏率的差异 枳实的基原是酸橙还是甜橙, 从外观性状上很难区分。但从化学成分角度却相对容易, 且相关研究较多^[19-20, 26], 大都聚焦于黄酮类化合物, 比较化学成分种类、成分含量和指纹图谱的差异。本研究发现从饮片含量测定上就可以区分酸橙和甜橙, 通过比较分析, 甜橙枳实饮片标准汤剂中化学成分种类少于酸橙枳实饮片标准汤剂, 且前者几乎不含有柚皮苷和新橙皮苷。通过标准化煎煮工艺, 酸橙枳实和甜橙枳实饮片标准汤剂的出膏率差异较大, 这种出膏率上的差异是否能作为酸橙枳实和甜橙枳实的鉴别指标仍值得进一步研究。

4.4 不同基原枳实饮片标准汤剂的研究意义 枳实是一味很好的下气药,其标准汤剂药理活性显著,特别在胃肠道方面的疗效,如治疗胃肠动力障碍^[27]、习惯性便秘^[28]等,但对于不同品种枳实饮片的标准汤剂是否会导致疗效的差异值得进一步研究。《中药配方颗粒管理办法(征求意见稿)》中明确提出“对栽培、养殖或野生采集的药用动植物,应准确鉴定到物种,包括亚种、变种或品种,不同种的中药材不可相互混用”,对来源于多基原的中药饮片,在明确基原的前提下,其配方颗粒的生产也必须来源于单一基原。本研究为枳实配方颗粒的质量评价提供了参考,能有效的区分品种,提供了辛弗林转移率、标准汤剂的出膏率、指纹图谱及 pH 等参数,可为含枳实的经典名方研发提供借鉴。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:247.

[2] 张艳丽,梁茂新. 枳实潜在功用的发掘和利用[J]. 中华中医药杂志,2016,31(7):2789-2792.

[3] 何英杰,刘东波,唐其,等. 酸橙类中药材枳实和枳壳化学成分研究进展[J]. 中药材,2017,40(6):1488-1494.

[4] 张霄潇,李振勇,马玉玲,等. 中药枳实的研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(2):185-190.

[5] 张红,孙明江,王凌. 枳实的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药材,2009,32(11):1787-1790.

[6] 邓敏芝,邓可众,陈虹,等. 不同采收期枳实促胃肠动力作用及其辛弗林含量的比较研究[J]. 中国民族民间医药,2016,25(17):14-17.

[7] 刘伟,袁洪燕,张群,等. 柑橘类生物碱辛弗林的研究进展[J]. 湖南农业科学,2016(9):101-106.

[8] 张文娟,陶缘,王亚军,等. 柑橘属中生物碱辛弗林生理活性的研究进展[J]. 食品工业科技,2013,34(22):331-334.

[9] 闫晗,丁之恩,董敏,等. 柑橘皮中辛弗林对营养型肥胖大鼠的减肥效果研究[J]. 食品与生物技术学报,2017,36(8):890-895.

[10] Roh K B, Kim I H, Kim Y S, et al. Synephrine inhibits eotaxin-1 expression via the STAT6 signaling pathway [J]. *Molecules*, 2014, 19(8):11883-11895.

[11] 张玲,刘振丽,宋志前,等. 枳实配方颗粒、相应饮片及汤剂 HPLC 图谱对比分析[J]. 中国中医信息杂志,2007,14(10):38-39.

[12] 刘振丽,宋志前,张玲,等. 枳实配方颗粒与水煎剂主要化学成分含量比较[J]. 中国药房,2007,18(6):438-440.

[13] 刘振丽,王跃生,宋志前,等. 枳实配方颗粒高效液相色谱特征图谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,

12(10):8-9.

[14] 陈士林,刘安,李琦,等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志,2016,41(8):1367-1375.

[15] 杨立伟,王海南,耿莲,等. 基于标准汤剂的中药整体质量控制模式探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(8):1-6.

[16] 曹静亚,李晓,宋梦娇,等. 连翘标准汤剂质量评价体系的建立[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(7):7-12.

[17] 李琦,章军,崔文金,等. 黄芩饮片标准汤剂的制备和质量标准评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):36-40.

[18] 徐姣,赵嵘,代云桃,等. 栀子标准汤剂的质量评价方法考察[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):30-35.

[19] 张振霞,郑玉忠,梁丽娟,等. 酸橙和甜橙 2 种枳实药材 HPLC 指纹图谱研究及柚皮苷和辛弗林含量分析[J]. 中国药房,2011,22(39):3711-3714.

[20] 曾洪莲,刘振丽,宋志前,等. 不同品种枳实 HPLC 指纹图谱及成分含量差异性研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(17):3272-3278.

[21] 廖茂梁,胡静,尚海花,等. 正交试验优选枳实中辛弗林提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(13):23-25.

[22] 崔文金,焦梦蛟,邓哲,等. 黄连饮片标准汤剂的制备及质量标准分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(19):40-45.

[23] LIU X M, GU Z X, GUO Y, et al. Rapid analysis of *Aurantii Fructus Immaturus* (Zhishi) using paper spray ionization mass spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 137:2014-212.

[24] LI P, ZENG S L, DUAN L, et al. Comparison of *Aurantii Fructus Immaturus* and *Aurantii Fructus* based on multiple chromatographic analysis and chemometrics methods[J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1469:96-107.

[25] LIU W Y, ZHOU C, YAN C M, et al. Characterization and simultaneous quantification of multiple constituents in *Aurantii Fructus Immature* extracts by HPLC-DAD-ESI-MS/MS[J]. *Chin J Nat Medicines*, 2012, 10(6):456-463.

[26] CHUANG C C, WEN W C, Sheu S J. Classification of *Aurantii Fructus* samples by multivariate analysis[J]. *J Sep Sci*, 2007, 30(12):1827-1832.

[27] 胡源祥,陈海芳,宋玉鹏,等. 枳实及其主要活性成分促进脾虚模型大鼠胃肠运动的机制研究[J]. 中国药房,2017,28(13):1747-1750.

[28] WANG S Y, LIU Y P, FAN Y H, et al. Mechanism of aqueous *fructus aurantii immaturus* extracts in neuroplexus of cathartic colons [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(31):9358-9366.

[责任编辑 全燕]