

枳实、枳壳、青皮和陈皮等药材中 辛弗林含量测定研究*

□赵宇 谢培山** 卢平华 王祥红

(珠海科曼中药研究有限公司 珠海 519085)

杨辉 (中南大学化学化工学院 长沙 410083)

摘要:西方食品增补剂禁用麻黄碱后化学结构与麻黄碱相似的辛弗林(synephrine)又备受关注。本文从含量测定的角度,建立了辛弗林含量测定方法。分析了枳实、枳壳、青皮和陈皮药材共95份样品中辛弗林的含量分布情况,并采用该方法考察了新会、长沙和自贡产地自采果皮在不同采收时间内辛弗林含量变化情况。测定结果表明,青皮和枳实药材中辛弗林含量最高,约为0.6%和0.45%,陈皮和枳壳中相对略少,为0.3%和0.1%;未成熟药材(青皮)辛弗林含量比成熟果皮为高。由此推算相应的用药剂量,从而为检测和使用枳实、枳壳、青皮和陈皮等药材提供参考和依据。

关键词:辛弗林 含量测定

美国食品药品监督管理局(FDA)在20世纪90年代颁发限制麻黄碱使用的相关规定,2004年6月,又发布禁止销售含有麻黄碱的食品增补剂(dietary complement)的禁令,辛弗林(synephrine)因其化学结构近似麻黄碱(图1),也受到波及。近来,美国、欧洲、澳洲等国家和地区开始对含辛弗林草药的使用提出警告,引起人们的注意。

辛弗林主要存在于芸香科柑橘属(Citrus)植物,常用中药陈皮、青皮、枳实和枳壳均为该属植物果皮或果实。尤其枳实,文献报道辛弗林含量较高,除中医的传统应用外,也有生产注射剂在临床应

用,用于抢救各种休克、心衰以及治疗胃及十二指肠溃疡等病症^[1]。枳实提取物是西方国家用于减肥的食品添加剂产品的原料。不论从其生理活性,还是不良反应,辛弗林的存在使上述柑橘类果实药材倍受关注。中国药典2005版一部以辛弗林作为考察枳实药材的指标性成分^[2],也有文献对枳实和枳壳中辛弗林含量测定的报道^[3-5],但很少涉及青皮和陈皮药材中辛弗林的含量测定。

本文建立了辛弗林在枳实、枳壳、青皮和陈皮药材中的含量测定方法,考察了该成分在枳实、枳壳、陈皮、青皮、化橘红、香橼、佛手和橘核中的含量分布情况,并对辛弗林在橘果实生长期内容量变化进行了跟踪检测。旨在为这些药物的安全使用以及

收稿日期:2006-01-04

修回日期:2006-03-23

* 国家中医药管理局资助项目(中医药科2001ZDX005)中药材质量研究,负责人:谢培山。

** 联系人:谢培山,本刊学术顾问,研究员,长期从事中药质量标准及色谱指纹图谱研究,Tel: ,E-mail:pxie163@163.com。

64 [World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica]

相关的药理研究提供依据。

一、材料与方法

1. 样品收集

本实验收集到枳实、枳壳、青皮、陈皮以及化橘红、香橼、佛手和橘核药材共 95 份,其中枳实药材 20 份(6 个为江西道地药材);枳壳药材 22 份(9 个为道地药材);陈皮药材 37 份;青皮药材 10 份;化橘红 3 份(2 个为化州道地药材);香橼药材 2 份;佛手药材和橘核药材各 1 份。

2. 试剂和仪器

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪(包括 1315A 全自动进样仪;G1315B DAD 二极管阵列检测器;恒温柱温箱);万分之一电子天平;超纯水发生器甲醇、乙腈试剂均为光谱纯,水为去离子蒸馏水;磷酸为分析纯;辛弗林对照品购自中国药品生物制品检定所。

3. 对照品制备

精密称定辛弗林对照品,加入磷酸水溶液($0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)溶解,制成每毫升含辛弗林约 0.1mg 的溶液即得。

4. 供试品制备

取样品粉末约 0.3g (过 2 号筛,干燥 3h),精密称定,加入 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸水溶液 40mL , 100°C 水浴加热回流提取 2h。放冷,滤入 50mL 容量瓶中,残渣及容器用提取溶剂适量洗涤,定容至刻度。精密量取本溶液 5mL ,通过预处理的 C18 小柱,收集洗脱液,继续用 5mL $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸溶液洗脱,收集洗脱液并定容至 10mL 即得。样品临用前过 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜即可进样分析。

5. 色谱分析条件

色谱柱:Hypersil BDS C18 柱($250\text{mm}\times 4.6\text{mm}$, $5\mu\text{m}$,大连依利特生产),流动相为乙腈-水-十二烷基磺酸钠(31:69:0.2)(用磷酸调节 PH 值至 2.0);流速 $1\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;柱温 35°C ;检测波长 225nm ;运行时间 25min 。

6. 测定法

分别取供试品溶液和对照品溶液各 $20\mu\text{L}$ 注入 HPLC 分析,记录流出曲线即得。

在实验过程中,曾与文献 2、3 提供的方法进行了对比,结果表明这些方法辛弗林提取率相对偏低。色谱条件是在对比文献的基础之上,参考了 2005 版药典未出版前网上发布的枳实提取物的含量测定色谱条件(后未列入 2005 版药典),略作修改而成。经实验方法学验证和系统适应性考察后,认为本实验采用方法较为合理,并能同时适用于陈皮、青皮、枳实和枳壳 4 味药材中辛弗林含量测定之用。

二、实验结果

1. 药材中辛弗林含量测定方法学验证

(1) 重现性。

取同一批号药材,按供试品方法制备供试品溶液 6 份,记录色谱流出信号。以辛弗林含量为考察对象,计算 6 份样品所得辛弗林含量, RSD 小于 1.0%。

(2) 精密度。

取同一份供试品溶液,连续进样 6 次,记录色谱流出信号。以辛弗林含量为考察对象,计算 6 次分析所得辛弗林含量, RSD 小于 0.5%。

(3) 回收率。

采用同一批药材,取药材粉末约 0.15g ,精密称定。精密加入相当于药材中辛弗林含量的对照品溶液(约相当于辛弗林浓度为 $0.1078\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液 5mL),再加入 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸水溶液 35mL ,按供试品制备方法制备样品共 6 份,所得回收率为 99.1%、99.8%、100.8%、99.0%、100.9% 和 102.7%, RSD 等于 1.4%。

(4) 线性。

精密取对照品溶液 1mL 、 2.5mL 和 5mL 和 10mL ,分别置于 25mL 容量瓶中,用 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸水溶液稀释至刻度得到 1、2、3 和 4 号标准溶液。另取 1 号标准溶液 5mL ,置于 20mL 容量瓶中,加 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

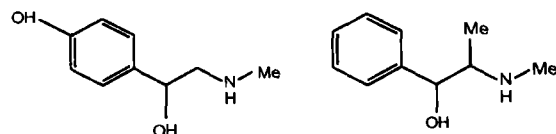


图 1 辛弗林(左)和麻黄碱(右)化学分子结构图

磷酸水溶液稀释至刻度,得 5 号标准溶液。取上述各标准溶液和未稀释对照品溶液各 20 μ L 进样分析,以样品峰面积对样品质量作图,得到校正曲线: $y=2503.4x-22.7$,相关系数 $r=0.9999$ 。

2. 药材中辛弗林含量测定结果

陈皮药材中辛弗林含量分布在 0.10%~0.75%之间,其中辛弗林含量在 0.1~0.4%之间的陈皮样品占总体样本的 80%以上。以辛弗林含量绘制陈皮样本正态概率图,所有样本基本分布在图示直线附近,表明样品辛弗林含量分布具有正态性,从而说明样品取样具有代表性,辛弗林含量在陈皮中分布具有规律性(图 2)。(以下青皮、枳实和枳壳样本经过正态概率统计分析,每类样本中辛弗林含量均具有规律性,不再一一列举)。以 25%和 75%百分位数计算,陈皮样品辛弗林含量主要分布区间为 0.2~0.4%。统计样本测定结果(按中位数计算,下同),陈皮药材中辛弗林含量平均为 0.32%。

青皮样品含有辛弗林的量比较高,大部分样品含量在 0.4%以上,最高含量超过 1%。以样本中位数计算,辛弗林含量为 0.58%。

枳壳药材中辛弗林含量均小于 0.2%,甚至有 1 份药材基本检测不到辛弗林(经过鉴定分析后发现该样品是柚幼果的混淆品),统计结果为 0.13%。

枳实药材中辛弗林含量比枳壳中高,大部分药材含量在 0.3~0.6%之间,统计结果表明枳实含辛弗林 0.45%。

香橼、橘核、化橘红以及佛手在收集到的样品中均未检出辛弗林。

3. 药材采收期对辛弗林含量的影响

以陈皮样品为例,考察了辛弗林在橘果皮生长期间的含量变化,辛弗林含量随药材的生长程度变化呈规律性变化,即果实越趋于成熟,辛弗林含量越低,一般在未成熟果皮中的含量较高(图 3)。

辛弗林在未成熟果皮中含量较高而成熟果皮中减少的现象应该与其在植物体内的代谢转化过程相关。据报道^[2],枳实等药材中还含有与辛弗林结构类似的 N-甲基胍等生物碱成分。这些成分之间是否存生源途径上的竞争或转换值得进一步研究。不同

产地的陈皮在不同采收期内辛弗林含量变化曲线有差异,以新产陈皮辛弗林含量最小,为 0.2%左右,长沙产陈皮辛弗林含量较高。这种差异可能主要是由地域和环境等外在因素的不同所致。

三、讨论

近年来,由于含辛弗林成分的柑橘属果实提取物在西方的滥用,其毒副作用开始被越来越多的医药界人士关注。意大利曾有学者通过动物实验测试了酸橙提取物(约含 6%的辛弗林),指出该提取物在较低剂量时就呈现出异常毒性,因而认为该物质对人的身体健康存在潜在威胁^[6]。而且,当辛弗林与其它中枢神经兴奋药如咖啡因等合用时,它们对心血管的作用加剧^[7]。因此研究柑橘属果实类常用中药陈

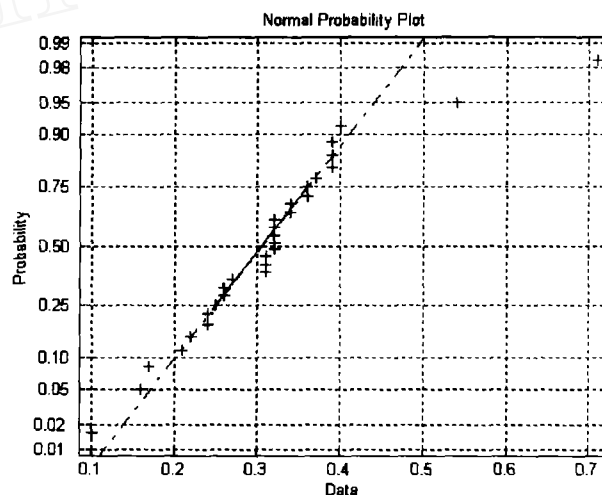


图 2 陈皮样品正态概率图

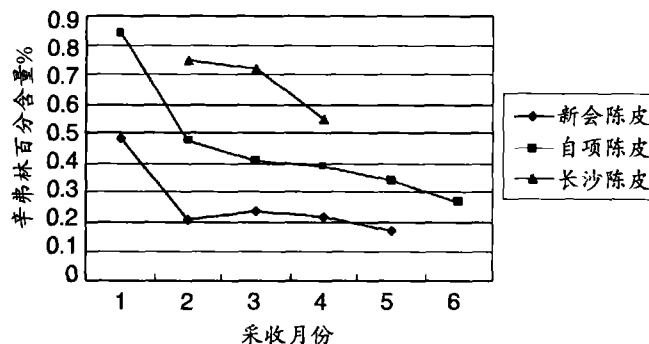


图 3 不同采收期陈皮药材中辛弗林含量变化

皮、青皮、枳实、枳壳的辛弗林含量,无论从合理使用还是从避免其毒副作用方面均有实际意义。这些关于辛弗林毒副作用的报道,似乎与我们长期以来中医一直使用枳实、枳壳来治疗疾病的原则背道而驰。实际上这恰好反映了中药现代化过程中传统中医药与西方医药学之间的冲突。中医强调整体、多用复方以求诸药多种成分之间的协调、互补或制约而得增效而减毒的效果。而西方医药则强调单一成分的疗效,而忽略天然药物多种成分之间的制衡。此外,西方过去以为天然药物安全而滥用,等到毒副作用出现,又惊呼这些草药“不安全”而加以封杀,对此,西方一些科研人员也有不同的声音^[8]。其实导致麻黄、枳实之类的药物出现毒副作用的始作俑者恰好是不熟悉、不接受中医传统经验,视之为“不科学”的西方医药对中药的滥用造成的。当然从另一方面看,由于现代医药学的深入研究,也阐明了过去长期以来中医药没有发现的问题,如辛弗林的毒副作用的发现就需要我们更多的研究与关注。

分析辛弗林在不同产地、采收期中药材含量变化规律后,可以比较辛弗林用药剂量与药材用药剂量之间的定量关系。譬如枳实、枳壳、青皮和陈皮在中医的用药剂量一般是每日3~10g,以辛弗林100%提取率计算,实际相当于辛弗林的每日摄入量约为13~45mg(枳实)、4~13mg(枳壳)、18~60mg(青皮)和9~30mg(陈皮)。当然这种比较只是一种简单的换算关系,实际情况下,还要受到药物剂型、给药途径等

因素的影响,更为重要的是辛弗林与柑橘属植物果皮中的二氢黄酮类成分复杂的相互作用机制尚须综合考察。在掌握辛弗林相关的药理作用后,应当综合这些因素,将含辛弗林的中药材及其提取物、制剂控制在合理用药范围,以确保用药安全、有效。

致谢:感谢中南大学化学化工学院中药现代化研究中心易伦朝博士提供部分药材样品。

参考文献

- 1 肖培根.新编中药志(第二卷).北京:化学工业出版社.2002,459~460.
- 2 中华人民共和国药典(一部).北京:化学工业出版社.2005,172.
- 3 曾宪仪,陈小红,肖鸣. HPLC法测定枳壳、枳实中的辛弗林和N-甲基胍的含量.中国中药杂志,1997,22(6):362~363.
- 4 彭维. 枳实和枳壳中保健有效成分含量测定.广西轻工业,1996,1:29~34.
- 5 肖鸣,吴永宗,朱良辉,等.不同产地枳壳中柚皮苷及辛弗林含量测定.中药材,2000,23(5):268~267.
- 6 Calapai G, Firenzuoli F, Saitta A, et al. Antiobesity and cardiovascular toxic effects of Citrus aurantium extracts in the rat: a preliminary report. Fitoterapia 1999;70:586~592.
- 7 Bucci L, Shugarman AE, Feliciano J, Wright J. Acute metabolic responses to synephrine-caffeine compared to ephedrine-caffeine. Proceedings of Conference on the Science and Policy of Performance-Enhancing Products. NIH Office of Dietary Supplements; Bethesda, Md; Jan. 8~9, 2002.
- 8 Mark Brumental, Bitter Orange Peel and Synephrine, WholeFoods. Part 1 and 2, March 2004 and March, 2005, American Botanical Council.

Determination of synephrine in Fructus aurantii immatus, Fructus aurantii, Pericarpium citri reticulatae viride and Pericarpium citri reticulatae

ZHAO Yu, XIE Pei-san, LU Ping-hua, WANG Xiang-hong, YANG Hui

(Chromap institute of herbal medicine research, Zhu Hai, Guangdong, 519085)

(Chemistry and engineering department, central south university, Chang Sha, Hunan, 410083)

The content of synephrine in herbal medicine and food supplement has been drawn more attention after the food supplements containing ephedrine was prohibited in West for its similar structure to ephedrine. In this paper, a method on determination of synephrine was established and 95 samples of the pericarp of Citrus spp. (aurantii immatus, Fructus aurantii, Pericarpium citri reticulatae viride and Pericarpium citri reticulatae) collected from different

(Continued on Page 106)

7. 需加强同国外学术团体或院校的交流, 选派一些具有真才实学的, 愿为针刀医学作奉献的专家参与国际交流, 推广针刀事业, 使针刀医学尽快被世界医学界认同。

8. 应加强针刀队伍自身素质和能力建设, 发扬学术民主, 提倡团结互助, 和谐友爱, 表彰先进, 改进不足, 使学科建设蒸蒸日上。

针刀医学已为中医现代化做了大量的工作, 事实上针刀医学本身就是中医现代化的产物, 为中医现代化的研究开辟了一条道路, 会起到实现中医现代化的示范作用。我认为要使我们中医在理论和技术方面达到现代化水平, 针刀医学已在很多方面做到了, 如果沿着针刀医学的基本思路开展更加广泛的中医理论和技术的研究, 实现中医现代化的理想

就已经不远了, 所以我们应该珍惜这一成果, 爱护这一成果, 支持这一成果。尽管针刀医学还有这样那样的不足, 但是, 它已经给我们提供了中医现代化的基本思路和框架。

要实现中医现代化, 就是要结合现代的自然科学成果, 包括西医的研究成果, 对中医的基本理论和诊疗技术进行创造性的研究, 使之达到现代科学技术水平, 针刀医学就是这样做的: 进行了一系列的创新性的工作, 提出了一系列原创性的理论, 这些原创性理论都是在中医基本理论指导下, 吸收现代自然科学成果获得的, 它将中医的基本理论和诊疗技术在一些方面现代化了。我们要加快中医现代化的步伐, 我认为首先要加强对针刀医学的有关内容的深入研究和对针刀医学的思维方法进行研究。

Acupotomology and Its Impacts on Modernization of Traditional Chinese Medicine

Shi Xuemin (Tianjin University of Traditional Chinese Medicine Tianjin 300193)

Objective: Acupotomology is so developed that it has become an integrated system on its own. By far the acupotomological therapy has found extensive applications, and produced noticeable economic and social benefits. Acupotomology practitioners should grasp the opportunities before them, and strive to address the existing problems, in an attempt to make it develop faster and better.

Keywords: acupotomy; acupotomology; modernization of traditional medicine.

(责任编辑: 张志华, 责任编审: 许有玲, 责任译审: 邹春申)

(Continued from Page 67)

location were analyzed. The results indicate that the content of synephrine in *Pericarpium citri reticulatae viride* is about 0.6%, in *Fructus aurantii immatus* is about 0.45% and *Fructus aurantii* and *Pericarpium citri reticulatae* are about 0.1% and 0.3%, respectively. Immature fruits contain higher content of synephrine than mature fruits. The intake dose of synephrine related to the daily dose of the corresponding crude drugs were calculated according to the testing results as the guidance of appropriate dosage under consideration of safety and efficient.

Keywords: synephrine, Determination of synephrine

(责任编辑: 周立东, 责任编审: 张志华, 责任译审: 凌仰之)