

# 酸枣仁中斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 含量测定及其质量等级划分标准研究<sup>△</sup>

温子帅\*, 李新蕊, 木盼盼, 宋军娜, 张彦昭, 郑玉光, 严玉平, 马东来<sup>#</sup>(河北中医学院药学院, 石家庄 050200)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)20-2802-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.20.13

**摘要** 目的:建立同时测定酸枣仁中斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 含量的方法,并进行质量等级划分。方法:采用高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定含量。色谱柱为 Inertsil ODS-SP,流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为 1.0 mL/min,柱温为 30 ℃,漂移管温度为 90 ℃,载气流速为 2.9 L/min,进样体积为 20 μL。以药材样品厚度、宽度、长度、百粒质量为指标,考察其外观性状;采用 SPSS 22.0 软件分析样品中斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 含量及其外观性状与中药质量常数的相关性,并建立该药材的质量等级划分标准。结果:斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 的质量浓度线性范围分别为 1.03~6.18 μg/mL( $r=0.9997$ )、1.05~6.30 μg/mL( $r=0.9998$ );定量限分别为 0.171、0.174 μg/mL,检测限分别为 0.052、0.053 μg/mL;精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2%;加样回收率分别为 99.01%~102.97% (RSD=1.39%,  $n=6$ )、97.94%~101.03% (RSD=1.13%,  $n=6$ )。相关性分析结果显示,药材长度、宽度、百粒质量、斯皮诺素含量、酸枣仁皂苷 A 含量均与其中药质量常数呈正相关。质量等级划分结果显示,30 批样品中 S1~S4、S7~S12 为一等品;S5、S6、S13~S17、S20~S30 为二等品;S18、S19 为三等品。结论:所建含量测定方法操作简单,精密度、准确度、稳定性均较好,可用于同时测定酸枣仁中斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 的含量;所建酸枣仁质量等级划分标准可用于综合评价该药材质量。

**关键词** 酸枣仁;斯皮诺素;酸枣仁皂苷 A;高效液相色谱-蒸发光散射检测法;含量测定;中药质量常数;质量等级

## Contents of Determination Spinosin and Jujuboside A in the Seeds of *Ziziphus jujuba* and Its Quality Grading Standard

WEN Zishuai, LI Xinrui, MU Panpan, SONG Junna, ZHANG Yanzhao, ZHENG Yuguang, YAN Yuping, MA Donglai(College of Pharmacy, Hebei University of TCM, Shijiazhuang 050200, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of spinosin and jujuboside A in the seeds of *Ziziphus jujuba*, and to investigate its quality grading standard. METHODS: HPLC-ELSD method was adopted. The separation was carried out on Inertsil ODS-SP column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was 30 ℃, the temperature of drift tube was 90 ℃, the flow of carrier gas was 2.9 L/min and injection volume was 20 μL. The thickness, width, length and 100-grain quality of the medicinal materials were used as indicators to investigate the appearance traits. SPSS 22.0 software was used to analyze the correlation of the contents of spinosin and jujuboside A, its appearance traits with the quality constant of TCM, and establish a quality classification standard for the seeds of *Z. jujuba*. RESULTS: The linear range of spinosin and jujuboside A were 1.03-6.18 μg/mL ( $r=0.9997$ ), 1.05-6.30 μg/mL ( $r=0.9998$ ); the limits of quantitation were 0.171, 0.174 μg/mL, respectively; the limits of detection were 0.052, 0.053 μg/mL, respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower 2%. The recoveries were 99.01%-102.97% (RSD=1.39%,  $n=6$ ), 97.94%-101.03% (RSD=1.13%,  $n=6$ ), respectively. Correlation analysis results showed that the length, width, 100-grain quality spinosin content and jujuboside A content of the medicinal materials were positively correlated with the quality constant of TCM. The results of quality classification for 30 batches of medicinal materials showed that S1-S4 and S7-S12 were first-class products; S5, S6, S13-S17 and S20-S30 were second-class products; S18 and S19 were third-class products. CONCLUSIONS: Established content determination method is simple, precision, accurate and stable, and can be used for simultaneous determination of spinosin and jujuboside A in the seeds of *Z. jujuba*. Established quality grading standard of the seeds of *Z. jujuba* can be used to evaluate the quality.

**KEYWORDS** The seeds of *Ziziphus jujuba*; Spinosin, Jujuboside A; HPLC-ELSD; Content determination; Quality constant; Quality level

<sup>△</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81803762);国家中药标准化项目(No.ZYBZH-Y-ZY-45);河北省中医药管理局科研计划项目(No.2018105);河北省高等学校科学技术研究项目(No.QN2018065)

\* 硕士研究生。研究方向:中药资源与鉴定。E-mail:wenzishuai802@163.com

<sup>#</sup> 通信作者:副教授,硕士生导师,博士。研究方向:中药质量分析与控制。电话:0311-89926350。E-mail:mdl\_hebei@aliyun.com

酸枣仁为鼠李科植物酸枣 [*Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou] 的干燥成熟种子,始载于《神农本草经》,列为上品,其味甘、酸,性平,归肝、胆、心经,具有宁心安神、养心补肝、敛汗、生津的功效<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明,酸枣仁具有降血压、抗焦虑、抗心肌缺血、治疗神经衰弱等作用<sup>[2]</sup>,为中医临床常用药,主产于河北、山东、辽宁、陕西等地<sup>[3]</sup>。酸枣仁为临床治疗失眠

的常用药之一,其有效成分斯皮诺素和酸枣仁皂苷 A 是其发挥镇静、催眠作用的主要成分,目前现已上市的成药制剂有枣仁安神胶囊、复方酸枣仁软胶囊等,且在治疗失眠、抑郁等疾病方面已取得显著疗效<sup>[4-5]</sup>。随着人们生活节奏的加快,失眠发生率近年来有所增加,临床对酸枣仁的需求量也随之增加,故其质量的优劣备受关注,目前有部分产区出现了严重的“抢青”现象,导致酸枣仁不饱满、质量不合格<sup>[6]</sup>,因此其等级划分对于规范市场、方便企业选择优良品种具有重要意义。

中药材规格等级划分标准是规范市场流通药材质量的重要参考方法。虽然国家中医药管理局联合卫生部早在 1984 年就颁布了《76 种药材商品规格标准》,规定了酸枣仁的等级划分标准<sup>[7]</sup>,但该标准仅从酸枣仁的外观、颜色、霉变情况、虫蛀、色泽、饱满度、含杂率等方面进行区分,难以全面反映酸枣仁质量与等级的关系。有研究发现,中药质量常数可以有效地与中药材的外观性状、有效成分相结合,成为客观合理的等级划分依据<sup>[8-9]</sup>。基于此,本研究参考相关文献<sup>[1-10]</sup>,采用高效液相色谱-蒸发光散射检测(HPLC-ELSD)法同时测定酸枣仁中斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 的含量,通过分析中药质量常数与酸枣仁外观性状、有效成分含量的相关性,建立了酸枣仁的质量等级划分标准,旨在为其等级划分标准的完善提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1260 型 HPLC 仪,包括 G4260B 型蒸发光检测器、G7111A 型四元梯度泵、G7129A 型自动进样器、OpenLAB CDS 2.3 色谱工作站(美国 Agilent 公司);SQP 型万分之一电子天平、ME204E 型十万分之一电子天平(德国 Sartorius 公司);Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司)。

### 1.2 药品与试剂

斯皮诺素对照品(批号:Y25O9H73433,纯度:≥98%)、酸枣仁皂苷 A 对照品(批号:P13J9S65562,纯度:≥98%)均购自上海源叶生物科技有限公司;乙腈为色谱纯,甲醇、石油醚均为分析纯,水为超纯水。

### 1.3 药材

30 批酸枣仁药材样品,经河北中医学院药学院严玉平教授鉴定为鼠李科植物酸枣[Z. jujuba Mill. var. spinosa(Bunge) Hu ex H. F. Chou]的干燥成熟种子。药材来源见表 1。

## 2 方法与结果

### 2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Inertsil ODS-SP(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~5 min, 15% A→25% A; 5~20 min, 25% A→30% A; 20~25 min, 30% A→50% A; 25~35 min, 50% A→55% A);流速:1.0 mL/min;柱温:30 ℃;漂移管温度:90 ℃;载气流速:2.9 L/min;进样体积:20 μL。

表 1 药材来源

Tab 1 Source of samples

编号	产地	购买地	购买时间	市售等级
S1	河北赞皇	河北安国市场	2018年6-8月	一等
S2	河北赞皇	河北安国市场	2018年6-8月	一等
S3	河北赞皇	河北安国市场	2018年6-8月	一等
S4	河北赞皇	河北安国市场	2018年6-8月	一等
S5	山西运城	河北安国市场	2018年6-8月	一等
S6	山西运城	河北安国市场	2018年6-8月	一等
S7	山东临沂	河北安国市场	2018年6-8月	一等
S8	山东临沂	河北安国市场	2018年6-8月	一等
S9	辽宁朝阳	河北安国市场	2018年6-8月	一等
S10	河北邢台	安徽亳州市场	2018年6-8月	一等
S11	山东汶上	安徽亳州市场	2018年6-8月	一等
S12	河北内丘	安徽亳州市场	2018年6-8月	一等
S13	河北赞皇	河北安国市场	2018年6-8月	二等
S14	河北赞皇	安徽亳州市场	2018年6-8月	二等
S15	河北邢台	河北安国市场	2018年6-8月	二等
S16	河北邢台	河北安国市场	2018年6-8月	二等
S17	河北内丘	河北安国市场	2018年6-8月	二等
S18	山东汶上	安徽亳州市场	2018年6-8月	三等
S19	山东汶上	安徽亳州市场	2018年6-8月	三等
S20	河北邢台	河北安国市场	2018年6-8月	统货
S21	辽宁朝阳	河北安国市场	2018年6-8月	统货
S22	辽宁朝阳	河北安国市场	2018年6-8月	统货
S23	山西运城	河北安国市场	2018年6-8月	统货
S24	山西运城	河北安国市场	2018年6-8月	统货
S25	河南洛宁	成都荷花池市场	2018年6-8月	统货
S26	河南洛宁	成都荷花池市场	2018年6-8月	统货
S27	山东临沂	广西玉林市场	2018年6-8月	统货
S28	河北赞皇	安徽亳州市场	2018年6-8月	统货
S29	河北内丘	安徽亳州市场	2018年6-8月	统货
S30	山东汶上	安徽亳州市场	2018年6-8月	统货

2.1.2 混合对照品溶液的制备 分别精密称取斯皮诺素对照品 1.03 mg、酸枣仁皂苷 A 对照品 1.05 mg,置于同一 5 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,制成含斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A 质量浓度分别为 0.206、0.210 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取酸枣仁粉末(过四号筛)1.0 g,置于索氏提取器中,加石油醚适量,加热回流 4 h,滤过至干,得脱脂后的药材粉末。取上述药材粉末适量,加 70% 乙醇溶液 20 mL,加热回流 2 h,滤过并回收溶剂至干;残渣置于 5 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.1.4 空白对照溶液的制备 以甲醇为空白对照溶液。

2.1.5 系统适用性试验 分别精密吸取上述混合对照品溶液、供试品溶液、空白对照品溶液各 20 μL,按“2.1.1”项下色谱条件测定进样,记录色谱,详见图 1。由图 1 可知,空白对照溶液在混合对照品色谱峰相应位置处无色谱峰出现,空白对照无干扰。

2.1.6 线性关系考察 取“2.1.2”项下混合对照品溶液 5、10、15、20、25、30 μL,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度(x, μg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得斯皮诺素回

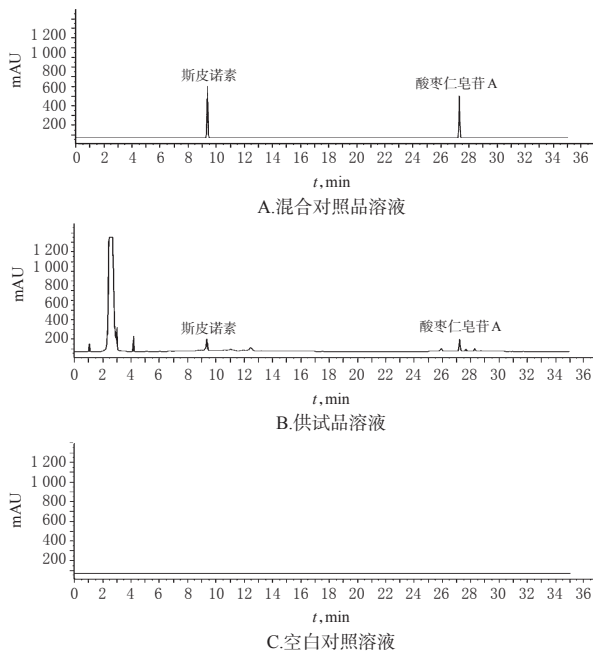


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

归方程为 $y=281.45x+172.19$  ( $r=0.9997$ ), 酸枣仁皂苷A 回归方程为 $y=449.12x-270.25$  ( $r=0.9998$ )。结果表明, 斯皮诺素、酸枣仁皂苷A 分别在 $1.03\sim 6.18$ 、 $1.05\sim 6.30\ \mu\text{g/mL}$  范围内线性关系良好。

2.1.7 定量限与检测限考察 取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量, 用乙腈倍比稀释, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 以信噪比为 $10:1$ 、 $3:1$  分别计算定量限、检测限。结果, 斯皮诺素、酸枣仁皂苷A 的定量限分别为 $0.171$ 、 $0.174\ \mu\text{g/mL}$ , 检测限分别为 $0.052$ 、 $0.053\ \mu\text{g/mL}$ 。

2.1.8 精密度试验 取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量, 按“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定6次, 记录峰面积。结果, 斯皮诺素、酸枣仁皂苷A 峰面积的RSD 分别为 $1.03\%$ 、 $1.25\%$  ( $n=6$ ), 表明仪器精密度良好。

2.1.9 稳定性试验 取“2.1.3”项下供试品溶液(编号: S1) 适量, 分别于室温下放置 $0$ 、 $2$ 、 $4$ 、 $8$ 、 $12$ 、 $24\ \text{h}$  时, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 斯皮诺素、酸枣仁皂苷A 峰面积的RSD 分别为 $1.51\%$ 、 $0.83\%$  ( $n=6$ ), 表明供试品溶液在室温下放置 $24\ \text{h}$  内稳定性良好。

2.1.10 重复性试验 精密称取药材粉末(编号: S1)  $1.0\ \text{g}$ , 共6份, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并按标准曲线法计算样品中斯皮诺素、酸枣仁皂苷A 的含量。结果, 斯皮诺素、酸枣仁皂苷A 的平均含量分别为 $0.098\%$ 、 $0.097\%$ , RSD 分别为 $1.07\%$ 、 $0.96\%$  ( $n=6$ ), 表明该方法重复性良好。

2.1.11 加样回收率试验 精密称取药材粉末(编号: S1)  $1.0\ \text{g}$ , 共6份, 加入一定量的混合对照品溶液, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1.1”项下色

谱条件进样测定, 记录峰面积并计算加样回收率, 结果见表2。

表2 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 2 Results of recovery tests ( $n=6$ )

待测成分	称样量,	样品含量,	加入量,	测得量,	加样回收率,	平均加样回收率,	RSD,
	g	mg	mg	mg	%	%	%
斯皮诺素	1.000 3	0.98	1.01	2.01	101.98	100.99	1.39
	1.000 5	0.96	1.01	1.98	100.99		
	1.000 4	0.97	1.01	2.01	102.97		
	1.000 2	0.98	1.01	1.98	99.01		
	1.000 0	0.99	1.01	2.00	100.00		
	1.000 2	0.97	1.01	1.99	100.99		
酸枣仁皂苷A	1.000 3	0.97	0.97	1.94	100.00	100.00	1.13
	1.000 2	0.98	0.97	1.95	100.00		
	1.000 4	0.98	0.97	1.96	101.03		
	1.000 5	0.97	0.97	1.92	97.94		
	1.000 3	0.96	0.97	1.93	100.00		
	1.000 2	0.97	0.97	1.95	101.03		

2.1.12 样品含量测定 精密称取各批药材样品, 每份 $1.0\ \text{g}$ , 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 平行操作3次, 记录峰面积并按标准曲线法计算样品含量, 结果见表3。

表3 样品含量测定结果( $n=3, \%$ )

Tab 3 Results of content determination of samples ( $n=3, \%$ )

编号	斯皮诺素	酸枣仁皂苷A	编号	斯皮诺素	酸枣仁皂苷A
S1	0.098	0.097	S16	0.081	0.071
S2	0.093	0.092	S17	0.080	0.070
S3	0.089	0.099	S18	0.063	0.061
S4	0.083	0.091	S19	0.055	0.053
S5	0.087	0.088	S20	0.081	0.072
S6	0.082	0.083	S21	0.083	0.075
S7	0.088	0.105	S22	0.085	0.078
S8	0.091	0.086	S23	0.082	0.081
S9	0.093	0.089	S24	0.083	0.082
S10	0.090	0.085	S25	0.081	0.072
S11	0.089	0.091	S26	0.076	0.078
S12	0.080	0.088	S27	0.088	0.074
S13	0.073	0.065	S28	0.081	0.075
S14	0.079	0.067	S29	0.085	0.083
S15	0.078	0.059	S30	0.079	0.081

## 2.2 外观性状

以药材样品厚度、宽度、长度、百粒质量(由于种子类中药材体积较小, 故测定100粒样品的质量, 以保证结果准确性)为指标, 考察酸枣仁的外观性状。分别从各批样品中随机抽取100粒酸枣仁, 采用游标卡尺分别测量厚度、宽度、长度, 平行操作3次, 取其平均值; 采用万分之一电子天平测定百粒质量, 平行操作3次, 取其平均值, 结果见表4。

## 2.3 酸枣仁质量常数

中药质量常数是集中药材形态参数和有效成分含量于一体的用于综合评价中药材等级的方法, 质量常数越大表示等级越高、质量越好<sup>[11]</sup>。本研究参考相关文献<sup>[11-13]</sup>建立了酸枣仁形状模型(见图2, 其中 $a$ 为长度,  $b$ 为宽

表4 样品外观指标测量结果(n=3)

Tab 4 Results of appearance indexes of samples (n=3)

编号	厚度,mm	宽度,mm	长度,mm	百粒质量,g
S1	2.94	5.73	7.43	4.78
S2	2.99	5.86	7.61	5.23
S3	2.94	5.63	7.45	4.96
S4	2.96	5.82	7.20	5.47
S5	3.15	5.70	7.41	5.22
S6	2.94	5.75	7.45	5.34
S7	2.88	5.99	7.26	5.17
S8	2.86	5.79	7.31	5.32
S9	2.86	5.85	7.25	5.37
S10	2.90	5.92	7.72	4.70
S11	2.62	5.76	7.44	5.74
S12	2.83	5.75	7.46	5.16
S13	2.91	5.21	6.46	3.87
S14	2.68	5.32	7.24	3.09
S15	2.69	5.07	6.49	4.27
S16	3.01	5.22	6.61	4.52
S17	2.77	5.11	6.11	4.38
S18	2.53	4.91	6.00	3.16
S19	2.40	4.56	5.78	3.21
S20	2.80	5.36	6.89	4.25
S21	2.74	5.10	6.48	4.49
S22	2.71	5.58	6.87	4.73
S23	2.91	5.53	6.66	4.75
S24	2.74	5.58	7.07	4.69
S25	2.84	5.27	6.95	4.80
S26	2.81	5.76	7.29	4.73
S27	2.83	5.35	6.88	4.56
S28	2.82	5.29	6.55	4.50
S29	2.62	5.16	6.40	4.89
S30	2.79	5.32	6.78	4.62

度,  $h$  为厚度, 下同) 及酸枣仁质量常数( $A$ )的计算公式:

$$A = \frac{4}{3} \frac{c\rho\pi ab}{h}$$

(式中,  $c$  为有效成分含量,  $\rho$  为酸枣仁密度)。由上述公式可知, 酸枣仁质量常数与其长度、宽度、有效成分含量有关, 即  $A \propto \frac{abc}{h}$ 。

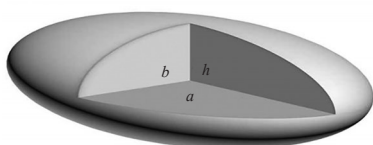


图2 酸枣仁形状模型图

Fig 2 Shape model graph of the seeds of *Z. jujuba*

为了更加全面客观地反映酸枣仁质量, 本研究根据2015年版《中国药典》(一部)<sup>[1]</sup>规定的成分含量限定值分别给予加权系数(斯皮诺素: 酸枣仁皂苷A=8:3), 分别计算酸枣仁的相对质量常数( $A_1$ )及百分质量常数( $A\%$ ), 即  $A_1 = \frac{A}{B}$  (式中,  $A$  为酸枣仁质量常数,  $B$  为加权系数),  $A\% = \frac{A_1}{A_{max}}$  (式中,  $A_{max}$  为样品中的最大质量常数), 结果见表5。

表5 样品质量常数测定结果

Tab 5 Results of quality constant of samples

编号	斯皮诺素质量常数	酸枣仁皂苷A质量常数	酸枣仁相对质量常数	酸枣仁百分质量常数	百分质量常数排序
S1	1.42	1.40	0.65	94.20	3
S2	1.39	1.37	0.63	91.30	4
S3	1.27	1.41	0.63	91.30	5
S4	1.18	1.29	0.58	84.06	10
S5	1.17	1.18	0.54	78.26	12
S6	1.19	1.21	0.55	79.71	11
S7	1.33	1.59	0.69	100.00	1
S8	1.35	1.27	0.59	85.51	9
S9	1.38	1.32	0.61	88.41	7
S10	1.42	1.34	0.62	89.86	6
S11	1.46	1.49	0.68	98.55	2
S12	1.21	1.33	0.60	86.96	8
S13	0.84	0.75	0.36	52.17	27
S14	1.14	0.96	0.46	66.67	19
S15	0.95	0.72	0.36	52.17	28
S16	0.93	0.81	0.39	56.52	25
S17	0.90	0.79	0.38	55.07	26
S18	0.73	0.71	0.33	47.83	29
S19	0.08	0.58	0.20	28.99	30
S20	1.07	0.95	0.45	65.22	21
S21	1.00	0.90	0.43	62.32	23
S22	1.20	1.10	0.52	75.36	15
S23	1.04	1.03	0.47	68.12	18
S24	1.20	1.18	0.54	78.26	13
S25	1.04	0.93	0.44	63.77	22
S26	1.14	1.17	0.53	76.81	14
S27	1.14	0.96	0.46	66.67	20
S28	1.00	0.92	0.43	62.32	24
S29	1.07	1.05	0.48	69.57	16
S30	1.02	1.05	0.48	69.57	17

## 2.4 相关性分析

2.4.1 酸枣仁有效成分质量常数与外观性状、含量的相关性 采用SPSS 22.0软件分别对酸枣仁斯皮诺素、酸枣仁皂苷A的质量常数与其外观性状、含量进行相关性分析, 结果见表6。

表6 酸枣仁有效成分质量常数与外观性状、含量的相关性

Tab 6 Related coefficient of quality constants of active components in the seeds of *Z. jujuba* with appearance traits and contents

指标	厚度	宽度	长度	百粒质量	含量
斯皮诺素质量常数	0.542**	0.888**	0.863**	0.730**	0.909**
酸枣仁皂苷A质量常数	0.450*	0.925**	0.870**	0.779**	0.954**

注: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

Note: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

由表6可知, 酸枣仁的厚度、宽度、长度、百粒质量、有效成分含量与其质量常数的相关性均有统计学意义( $P < 0.01$ )。各指标与有效成分质量常数相关性大小的顺序为有效成分含量 > 宽度 > 长度 > 百粒质量 > 厚度, 且均与其质量常数呈正相关(厚度的相关性不大可忽略), 即酸枣仁有效成分含量越高、宽度越宽、长度越长、

百粒质量越重,其有效成分的质量常数越大。

2.4.2 酸枣仁相对质量常数与外观性状、有效成分相对质量常数的相关性 采用SPSS 22.0软件对酸枣仁相对质量常数与其外观性状、有效成分相对质量常数的相关性进行分析,结果见表7。

表7 酸枣仁相对质量常数与外观性状、有效成分相对质量常数的相关系数

Tab 7 Related coefficient of relative quality constants of the seeds of *Z. jujuba* with appearance traits and relative quality constants of effective components

指标	厚度	宽度	长度	百粒质量	斯皮诺素相对质量常数	酸枣仁皂苷A相对质量常数
酸枣仁相对质量常数	0.496**	0.941**	0.894**	0.790**	0.825**	0.942**

注:\*\* $P < 0.01$

Note:\*\* $P < 0.01$

由表7可知,酸枣仁的厚度、宽度、长度、百粒质量、斯皮诺素相对质量常数、酸枣仁皂苷A相对质量常数与其相对质量常数的相关性均有统计学意义( $P < 0.01$ )。各指标与酸枣仁相对质量常数相关性大小的顺序为酸枣仁皂苷A相对质量常数>宽度>长度>斯皮诺素相对质量常数>百粒质量>厚度,且均与其相对质量常数呈正相关(厚度的相关性不大可忽略),即酸枣仁皂苷A相对质量常数越大、宽度越宽、长度越长、斯皮诺素相对质量常数越大、百粒质量越重,酸枣仁相对质量常数越大。

## 2.5 质量等级划分

将30批酸枣仁样品的百分质量常数( $A\%$ )进行排序(见表5),同时参考相关文献<sup>[11-13]</sup>建立酸枣仁的质量等级划分标准: $A\% \geq 80\%$ 为一等, $>50\% \sim <80\%$ 为二等, $\leq 50\%$ 为三等。结果,30批样品中S1~S4、S7~S12为一等品;S5、S6、S13~S17、S20~S30为二等品;S18、S19为三等品。各等级样品的典型外观特征见图3。

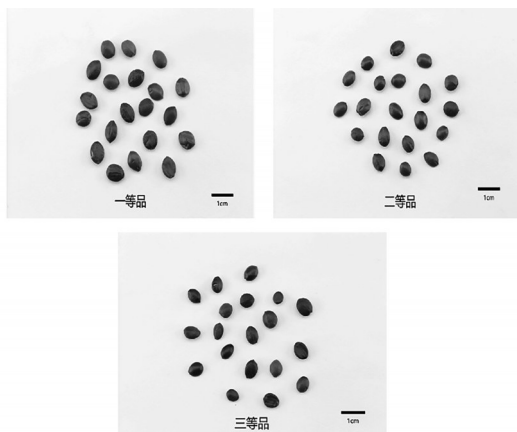


图3 酸枣仁样品典型外观特征图

Fig 3 Typical appearance traits of the seeds of *Z. jujuba*

## 3 讨论

《中国药典》<sup>[14-15]</sup>、《中华本草》<sup>[16]</sup>、《500味常用中药材的经验鉴别》<sup>[17]</sup>、《现代中药材商品通鉴》<sup>[18]</sup>、《中药大辞典》<sup>[19]</sup>、《金世元中药材传统鉴别经验》<sup>[20]</sup>等典籍均记载酸枣仁以粒大饱满,外皮色紫红、光滑油润,种仁色黄白者为佳,但均未结合其有效成分进行综合评价。同时,中药材等级的划分虽然与其质量息息相关,但有效成分含量也不足以全面评价中药材质量<sup>[12]</sup>。因此,本研究采用HPLC-ELSD法同时测定酸枣仁中斯皮诺素和酸枣仁皂苷A的含量,并通过建立中药质量常数与其外观性状、有效成分含量的相关性,来综合评价酸枣仁的质量。

中药质量常数已成功应用于多种类型中药饮片的质量标准研究,如牡丹皮<sup>[11]</sup>、柴胡<sup>[12]</sup>、黄柏<sup>[13]</sup>等,这些药材在建立形状模型时可视其为圆柱体或长方体。由于酸枣仁为种子类药材,外形似椭球体,故本研究参考上述文献,建立了酸枣仁的椭球体形状模型,通过中药质量常数将酸枣仁的外观性状与其有效成分含量相结合,可从数据上更加简明直观地反映药材质量的差异程度,还可在商品流通过程中有效避免通过主观因素(外观性状)或含量等单一因素对中药材质量进行判断。该方法也适用于其他椭球体种子类药材的等级划分及质量评价。

相关性分析结果显示,药材样品的长度、宽度及斯皮诺素含量、酸枣仁皂苷A含量均与其质量常数呈正相关;厚度相关性不大,其原因可能为种子类药材存在“抢青”现象,从而导致种子外观呈现饱满而内部子叶、胚乳等结构萎缩消失的情况,因此种子的厚度并不能代表其饱满度<sup>[21]</sup>。

等级划分结果显示,30批样品中S1~S4、S7~S12为一等品,S5、S6、S13~S17、S20~S30为二等品,S18、S19为三等品。该结果与市售商标等级存在差异,其原因可能为酸枣仁的产地不同,其划分标准不一,导致酸枣仁质量等级划分结果不同。

综上所述,本研究所建含量测定方法操作简单,精密度、准确度、稳定性均较好,可用于同时测定酸枣仁中斯皮诺素、酸枣仁皂苷A的含量;酸枣仁长度越长、宽度越宽、百粒质量越重、斯皮诺素和酸枣仁皂苷A含量越高,其质量越好。本研究所建酸枣仁质量等级划分标准可用于综合评价该药材质量。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:366-367.
- [2] 左军,王海鹏,柴剑波,等.酸枣仁抗抑郁作用现代药理研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2017,19(7):179-181.
- [3] 温子帅,严玉平,王乾,等.响应面法优选酸枣种子萌发条件及其显微结构研究[J].种子,2018,37(8):23-26,35.
- [4] 亓国锋,李刚刚,李子春.枣仁安神胶囊对冠心病伴焦虑抑郁患者疗效及血清5-HT、MPO水平的影响[J].中华中医药学刊,2018,36(3):681-684.

# 水石榴中总黄酮的提取工艺优化<sup>△</sup>

李金洲\*, 陈勇#, 陈子隽, 吕培群, 林玉港, 卢慧敏, 黄艳茹(广西中医药大学药学院, 南宁 530200)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)20-2807-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.20.14

**摘要** 目的:建立水石榴中总黄酮的含量测定方法,并优化其提取工艺。方法:以三氯化铝为显色剂,采用紫外-可见光分光光度法测定水石榴中总黄酮的含量。在单因素试验的基础上,以乙醇体积分数、料液比、提取时间、提取温度、提取次数为考察因素,以水石榴中总黄酮含量为指标,采用Plackett-Burman试验筛选对总黄酮含量有显著影响的因素,利用最陡爬坡试验确定最佳取值范围,再结合Box-Behnken响应面法优化总黄酮的提取工艺。结果:总黄酮的检测质量浓度线性范围为0.012~0.036 mg/mL( $r=0.9999$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于3%;加样回收率为92.98%~99.86%(RSD=2.71%, $n=6$ )。优化所得提取工艺为乙醇体积分数60%,料液比1:34(g/mL),提取次数3次,提取时间60 min,提取温度80℃;在此工艺条件下,水石榴中总黄酮的平均含量为2.71%(RSD=1.69%, $n=6$ ),与模型预测值(2.64%)的相对误差为2.65%。结论:所建含量测定方法稳定性、重复性均较好,可用于测定水石榴中总黄酮的含量;优化所得提取工艺稳定、可行。

**关键词** 水石榴;总黄酮;提取工艺;Plackett-Burman试验;Box-Behnken响应面法;紫外-可见光分光光度法;含量测定

## Optimization of the Extraction Technology of Total Flavonoids from *Combretum alfrdii*

LI Jinzhou, CHEN Yong, CHEN Zijun, LYU Peiqun, LIN Yugang, LU Huimin, HUANG Yanru (College of Pharmacy, Guangxi University of TCM, Nanning 530200, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for content determination of total flavonoids from *Combretum alfrdii*, and to optimize the extraction technology of total flavonoids from *C. alfrdii*. METHODS: Using aluminium trichloride as chromogenic agent, UV spectrum was adopted to determine the content of total flavonoids from *C. alfrdii*. Based on single factor test, ethanol

- [5] 殷之武,李娟阁.HPLC法测定复方酸枣仁软胶囊中阿魏酸和五味子甲素[J].中草药,2012,43(10):1961-1963.
- [6] 刘爱朋,马东来,郭利霄,等.酸枣仁价格波动与影响因素研究[J].农技服务,2017,34(8):12-13.
- [7] 国家中医药管理局,卫生部.76种中药材商品规格标准[S].1984.
- [8] 李鹏英,王海洋,李健,等.中药材商品规格等级的形成和演变[J].中国中药杂志,2016,41(5):764-768.
- [9] 石莉,赵焯清,欧阳臻,等.僵蚕药材商品规格等级标准研究[J].时珍国医国药,2018,29(12):3015-3018.
- [10] 刘爱朋,郑玉光,温子帅,等.基于层次分析法及多指标综合评价微波炮制对酸枣仁品质的影响[J].中药材,2018,41(1):84-88.
- [11] 夏成凯,胡云飞,陈思宇,等.基于中药质量常数的牡丹皮饮片等级划分[J].中成药,2018,40(3):647-653.
- [12] 曹雪,蔡广知,赵凌,等.基于复合质量常数的北柴胡饮片等级评价[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(18):36-41.
- [13] 邓哲,焦梦姣,章军,等.基于质量常数评价方法划分黄柏饮片等级研究[J].中国中药杂志,2017,42(17):3356-3361.
- [14] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].1963年版.北京:人民卫生出版社,1963:296.
- [15] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].1977年版.北京:人民卫生出版社,1977:630.
- [16] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草:第七册第十九卷[M].上海:上海科学技术出版社,1999:169-170.
- [17] 卢赣鹏.500味常用中药材的经验鉴别[M].北京:中国中医药出版社,1999:397.
- [18] 张贵君.现代中药材商品通鉴[M].北京:中国中医药出版社,2001:1826.
- [19] 金世元.金世元中药材传统鉴别经验[M].北京:中国中医药出版社,2010:254.
- [20] 南京中医药大学.中药大辞典[M].上海:上海科学技术出版社,2006:3577.
- [21] 武延生.抢青对酸枣生物量积累的变化研究[J].北方园艺,2013(6):31-32.

(收稿日期:2019-05-08 修回日期:2019-08-22)

(编辑:陈宏)

△ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81660701);广西壮族自治区食品药品监督管理局瑶药材质量评价与标准研究项目;广西高校重点实验室项目(No.桂教科研[2014]6号);广西“2011协同创新中心”项目(No.桂教科研[2013]20号);广西中药药效研究重点实验室系统性研究课题(No.17-259-20-A5);广西中医药大学大学生创新创业训练项目(No.201813643055)

\* 硕士研究生。研究方向:药物分析。E-mail:981530708@qq.com

# 通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:药物分析、中药制剂质量分析。E-mail:cy6381@163.com