

桂枝饮片标准汤剂质量标准研究

刘冲¹, 刘荫贞¹, 乐智勇², 车海燕², 林伟雄³, 梁生旺^{1*}

1. 广东药科大学 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点实验室, 广东高校中药质量工程技术研究中心, 广东 广州 510006
2. 康美(北京)药物研究院有限公司, 北京 102629
3. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006

摘要: **目的** 制备桂枝饮片标准汤剂, 并进行质量标准研究。 **方法** 依照标准汤剂的制备要求, 制备 15 批桂枝饮片标准汤剂, 以肉桂酸作为定量检测指标, 计算转移率与出膏率, 并建立其 HPLC 指纹图谱分析方法。 **结果** 通过对 15 批桂枝标准汤剂进行测定, 肉桂酸转移率为 56.93%~94.06%, 出膏率为 3.30%~9.40%; 并用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A)软件进行指纹图谱分析, 标定了 9 个共有峰, 确认 4 个, 分别为原儿茶酸(1 号峰)、香豆素(4 号峰)、肉桂酸(6 号峰)、桂皮醛(7 号峰)。对 15 批桂枝饮片标准汤剂分别进行了相似度评价, 其相似度均高于 0.95。 **结论** 建立了桂枝饮片标准汤剂指纹图谱, 该方法精密度、稳定性和重复性良好, 具有一定的鉴别意义, 可为桂枝配方颗粒的质量控制提供参考。 **关键词:** 桂枝; 标准汤剂; HPLC; 指纹图谱; 质量标准; 转移率; 出膏率; 原儿茶酸; 香豆素; 肉桂酸; 桂皮醛; 相似度

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)08-1577-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.08.015

Research on quality standard of *Cinnamomi Ramulus* standard decoction

LIU Chong¹, LIU Yin-zhen¹, LE Zhi-yong², CHE Hai-yan², LIN Wei-xiong³, LIANG Sheng-wang¹

1. Guangdong Pharmaceutical University; Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Evaluation, State Administration of Traditional Chinese Medicine; Research Center for Traditional Chinese Medicine Quality Engineering Technology for Guangdong Universities, Guangzhou 510006, China
2. Kangmei (Beijing) Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd., Beijing 102629, China
3. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To prepare *Cinnamomi Ramulus* standard decoction and to study the quality standard of *Cinnamomi Ramulus*.

Methods Fifteen batches of *Cinnamomi Ramulus* standard decoctions were prepared according to the standardization method. With cinnamonic acid as the detection index, the transfer rate and extraction rate were calculated and the HPLC fingerprint analysis method was established. **Results** According to the measurement of 15 batches of standard decoctions, the transfer rate ranged from 56.93% to 94.06% and extractum rate was at the range of 3.30%—9.40%. Besides, the Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of traditional Chinese medicine TCM (2012A) was used to analyze and compare the fingerprint, nine common peaks were determined and four were calibrated including protocatechuic acid (peak 1), coumarin (peak 4), cinnamic acid (peak 6), and cinnamaldehyde (peak 7). Moreover, the similarity was over 0.95. **Conclusion** This study established an HPLC fingerprint analysis method of *Cinnamomi Ramulus* standard decoction. The method displays good precision, stability, and repeatability in fingerprint analysis. Therefore, this study has some identified significance and can provide a reference for the quality control of *Cinnamomi Ramulus* dispensing granules.

Key words: *Cinnamomi Ramulus*; standard decoction; HPLC; fingerprint; quality standard; transfer rate; extractum rate; protocatechuic acid; coumarin; cinnamic acid; cinnamaldehyde; similarity

收稿日期: 2016-11-30

基金项目: 广东省战略性新兴产业区域集聚发展试点项目——中药经典配方颗粒重点试验平台及中药材全生命周期追溯信息服务平台建设项目(2014793)

作者简介: 刘冲(1992—)男, 在读硕士, 研究方向为中药质量控制。Tel: 18811312594 E-mail: 1404834042@qq.com

*通信作者 梁生旺(1954—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药质量控制。Tel: (020)39352172 E-mail: swliang371@163.com

桂枝为樟科樟属植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥嫩枝^[1], 始载于《神农本草经》, 为常用的解表药之一, 主产于广东、云南等地^[2]。其味辛、甘, 性温, 归心、肺、膀胱经, 具有发汗解肌、温通经脉、助阳化气、平冲降气之功效, 临床上用于治疗风寒感冒、脘腹冷痛、血寒经闭、关节痹痛等症^[3-4]。化学成分研究表明, 桂枝所含的化学成分主要为挥发油类, 其中含有的最主要成分为桂皮醛, 另外尚含有肉桂酸、香豆素、多聚体糖苷和鞣质类等^[5-8]。肉桂酸具有抗菌、抗癌、发汗等作用; 桂皮醛具有抗炎、解热镇痛、抗菌、抗肿瘤等多种药理作用^[8-10]。

中药饮片标准汤剂^[11]是指以中医药理论为指导, 选取道地药材或主产区药材, 经加工炮制合格饮片后, 再经标准化工艺制备而成的中药饮片水煎剂。中药饮片标准汤剂的制备遵循传统汤剂的煎煮原则, 整个流程具有标准化和规范化的特点, 能够保证工艺的统一, 进一步保障其质量的稳定和统一, 提高临床用药的准确性和剂量的一致性^[12-13]。根据国家药典委员会公布的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》要求, 中药配方颗粒的所有药学研究包括工艺参数确定、质量控制方法和指标选择、限度制定, 均须与标准汤剂进行对比, 以保证与标准汤剂质量一致性。

本研究遵循该文件中标准汤剂制备的方法, 选用道地产区的 15 批桂枝饮片制备标准汤剂, 以肉桂酸为指标成分, 测定其量, 确认了转移率和出膏率范围, 并进行指纹图谱研究, 为桂枝饮片标准汤剂质量标准的制定提供基础研究数据, 同时提高桂枝配方颗粒的质量控制水平。

1 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪四元梯度泵、在线脱气机、恒温箱、DAD 检测器、自动进样器、Chem Station 色谱工作站; Epsilon 2-10D 中试型冷冻干燥机, 德国 Christ 公司; KQ-500DE 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; XP6 型电子分析天平(精密度 0.001 mg)、XPE205 型电子分析天平(精密度 0.1 mg), Mettler Toledo; Arium 611DI 型超纯水仪, 德国 Sartorius 公司。

乙腈, 色谱纯, 批号 155803, 赛默飞世尔科技; 冰乙酸(批号 20160727)、乙醇(批号 20160708), 分析纯, 天津市福晨化学试剂厂; 天津福晨化学试剂; 超纯水, 自制。

对照品香豆素(批号 B21363-20 mg, 质量分数不低于 98%)、肉桂醇(批号 B21080-20 mg, 质量分数不低于 98%)均购自上海源叶生物科技有限公司; 对照品肉桂酸(批号 110786-200503, 质量分数为 100%)、桂皮醛(批号 110710-201619, 质量分数为 98.9%)均购自中国食品药品检定研究院; 15 批桂枝药材经广东药科大学中药学院刘基柱教授鉴定, 均为樟科樟属植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥嫩枝, 来源于广东省肇庆市不同生产基地, 不同时间采收, 均系人工种植, 产地加工(按《中国药典》2015 年版一部“桂枝”项下炮制方法)为饮片, 批号分别为 GKDX001、GKDX002、GKDX003、GKDX004、GKDX005、GKDX006、GKDX007、GKDX008、GKDX009、GKDX0010、GKDX0011、GKDX0012、GKDX0013、GKDX0014、GKDX0015; 桂枝饮片标准汤剂由康美(北京)药物研究院有限公司自制, 批号分别为 D00701、D00702、D00703、D00704、D00705、D00706、D00707、D00708、D00709、D00710、D00711、D00712、D00713、D00714、D00715, 分别编号为 S1~S15。

2 方法与结果

2.1 桂枝饮片的检测

按《中国药典》2015 年版一部“桂枝”饮片项下有关规定进行检测。15 批桂枝饮片的含水量 6.9%~11.0%, 总灰分 1.1%~2.5%, 浸出物 6.7%~15.8%, 桂皮醛 1.2%~2.2%, 均符合规定^[1]。

2.2 标准汤剂的制备^[14]

称取桂枝饮片 200 g, 加水煎煮 2 次。第 1 次加入 10 倍量饮用水, 浸泡 30 min, 煮沸后再煎煮 20 min, 用 350 目筛网趁热滤过, 滤液迅速放入冷水中搅拌降温; 药渣再加入 8 倍量饮用水, 煮沸后再煎煮 20 min, 用 350 目筛网趁热滤过, 滤液迅速放入冷水中搅拌降温; 合并 2 次滤液, 减压浓缩(≤ 50 °C, -0.09 MPa)至约 200 mL 流浸膏, 放入冰柜冷冻(-10 °C)过夜, 用冷冻干燥机干燥, 即得标准汤剂干燥粉末。

2.3 桂枝饮片和标准汤剂定量测定

标准汤剂是桂枝饮片经水煎煮提取加工制得的粉末, 主要成分为桂枝药材中水溶性物质。按《中国药典》2015 年版一部“桂枝”项下的定量测定方法测定 15 批桂枝饮片和桂枝标准汤剂中桂皮醛的量, 标准汤剂中桂皮醛的量大多低于 0.01%, 转移

率均低于 1%，且不稳定，这与文献报道^[15-17]的桂枝水煎液中桂皮醛的量极低相一致。故将桂皮醛作为质量控制指标不合理。而肉桂酸的量相对较高，其转移率也较稳定。因此建立桂枝饮片和标准汤剂中肉桂酸量的测定方法，并利用该方法检测样品，计算转移率。

2.3.1 桂枝饮片中肉桂酸定量测定方法

(1) 色谱条件：经过一系列的色谱条件选择与优化，最终采用 Agilent C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱；以乙腈-0.5%醋酸水溶液 (30:70) 为流动相；进样量 10 μL；检测波长为 285 nm；柱温 25 ℃；理论板数按肉桂酸峰计算不低于 3 000。

(2) 对照品溶液的制备：取肉桂酸对照品适量，精密称定，加甲醇制成含肉桂酸 15 μg/mL 的溶液，即得。

(3) 供试品溶液的制备：取本品粉末约 0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 25 mL 甲醇，密塞，称定质量，超声处理（功率 500 W，频率 40 kHz）30 min，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

(4) 线性关系考察：精密称取肉桂酸对照品适量，加甲醇使溶解，稀释，得一系列对照品溶液。各精密吸取 10 μL，注入液相色谱仪，按上述色谱条件测定。分别以肉桂酸峰面积为纵坐标 (Y)，肉桂酸进样量为横坐标 (X) 作图，得线性回归方程 $Y=7\ 425.3\ X-13.412$ ， $r=0.999\ 8$ ，线性范围为 7.54~301.60 ng。

(5) 方法学考察：取同一份供试品溶液（批号 GKDX001），按上述色谱条件重复测定 6 次，计算肉桂酸峰面积的 RSD 为 0.2%。

取同一份供试品溶液（批号 GKDX001），分别于第 0、2、4、8、12、24 小时测定，计算肉桂酸峰面积 RSD 为 0.6%，说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

取同一批样品（批号 GKDX001），平行制备 6 份供试品溶液，按上述色谱条件和测定法测定，计算肉桂酸的平均质量分数为 0.08%，RSD 为 1.1%，说明建立的方法重复性良好。

采用加样回收率法考察方法回收率。精密称取已知肉桂酸量的同批样品（批号 GKDX001）6 份，每份 0.25 g，分别加入肉桂酸对照品 0.3 mg。按“2.3.1 (3)”项下方法制备供试品溶液，在上述色谱条件下测定，结果肉桂酸的加样回收率在 90%~108%，平均加样回收率为 98.04%，RSD 为 2.0%，

说明该方法准确度良好，符合要求。

2.3.2 桂枝标准汤剂中肉桂酸定量测定方法

(1) 色谱条件：采用 Agilent C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱；以乙腈-0.5%醋酸水溶液 (30:70) 为流动相；进样量 10 μL；检测波长为 285 nm；柱温 25 ℃；理论板数按肉桂酸峰计算不低于 3 000。

(2) 对照品溶液的制备：取肉桂酸对照品适量，精密称定，加甲醇制成含肉桂酸 15 μg/mL 的溶液，即得。

(3) 供试品溶液的制备：取本品粉末约 0.05 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 50 mL 甲醇，密塞，称定质量，超声处理（功率 500 W，频率 40 kHz）30 min，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

(4) 线性关系考察：精密称取肉桂酸对照品适量，加甲醇使溶解，稀释，得一系列对照品溶液。精密吸取 10 μL，注入液相色谱仪，按上述色谱条件测定。以肉桂酸峰面积为纵坐标 (Y)，分别以肉桂酸进样量为横坐标 (X) 作图，得线性回归方程： $Y=7\ 385.0\ X-3.244\ 6$ ， $r=0.999\ 8$ ，线性范围为 13.2~659.0 ng。

(5) 方法学考察：取同一份供试品溶液（批号 D00701），按上述色谱条件重复测定 6 次，计算肉桂酸峰面积的 RSD 为 0.4%。

取同一份供试品溶液（批号 D00701），分别于第 0、2、4、8、12、24 小时测定，计算肉桂酸峰面积 RSD 为 0.4%，说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

取同一批样品（批号 D00701），平行制备 6 份供试品溶液，按上述色谱条件和测定法测定，计算肉桂酸的平均质量分数为 2.25%，RSD 为 0.3%，说明建立的方法重复性良好。

采用加样回收率法考察方法回收率。精密称取已知肉桂酸量的同批样品（批号 D00701）6 份，每份 0.025 g，分别加入肉桂酸对照品 0.6 mg。按“2.3.2 (3)”项下方法制备供试品溶液，在上述色谱条件下测定，结果肉桂酸的加样回收率在 92%~105%，平均加样回收率为 101.62%，RSD 为 2.0%，说明该方法准确度良好，符合要求。

2.3.3 桂枝饮片和标准汤剂样品测定 根据已建立的定量测定方法对 15 批桂枝饮片及其标准汤剂进行了肉桂酸定量检测，计算其转移率（转移率=标准汤剂中肉桂酸量/饮片中肉桂酸量）。15 批标准汤剂的出膏率及转移率结果见表 1。

表 1 标准汤剂测定结果

Table 1 Determination results of standard decoction

编号	饮片批号	标准汤剂批号	饮片中肉桂酸量/%	标准汤剂中肉桂酸量/%	出膏率/%	转移率/%
1	GKDX001	D00701	0.15	2.63	3.90	68.38
2	GKDX002	D00702	0.08	1.38	3.30	56.93
3	GKDX003	D00703	0.07	1.14	5.00	81.43
4	GKDX004	D00704	0.07	1.08	4.65	71.74
5	GKDX005	D00705	0.09	0.84	8.10	75.60
6	GKDX006	D00706	0.06	0.50	7.35	61.25
7	GKDX007	D00707	0.11	1.04	9.60	90.76
8	GKDX008	D00708	0.08	0.86	8.75	94.06
9	GKDX009	D00709	0.07	0.62	7.85	69.53
10	GKDX010	D00710	0.12	2.64	4.20	92.40
11	GKDX011	D00711	0.09	0.76	8.55	72.20
12	GKDX012	D00712	0.05	0.49	7.75	75.95
13	GKDX013	D00713	0.11	1.09	9.40	93.15
14	GKDX014	D00714	0.08	0.84	8.85	92.93
15	GKDX015	D00715	0.07	0.66	7.90	74.49
平均值			0.09	1.10	7.01	78.05
RSD/%			0.03	0.67	2.16	12.18

结果显示, 15 批标准汤剂的出膏率为 3.30%~9.60%, 平均值为 7.01%, RSD 为 2.16%; 肉桂酸的转移率为 56.93%~94.06%, 平均值为 78.05%, RSD 为 12.18%。

2.4 HPLC-DAD 指纹图谱分析

2.4.1 供试品溶液的制备 取本品粉末约 0.3 g, 置具塞锥形瓶中, 加入 25 mL 的 70%乙醇, 密塞, 超声处理(功率 500 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4.2 混合对照品溶液的制备 分别取原茶儿酸、香豆素、桂皮醛、肉桂酸对照品适量, 精密称定, 加 70%乙醇制成分别含原茶儿酸 40 μg/mL、香豆素 40 μg/mL、肉桂酸 200 μg/mL、桂皮醛 9 μg/mL 的混合对照品溶液, 即得。

2.4.3 色谱条件及系统适用性试验 色谱柱为 Waters symmetry C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.5%醋酸水溶液, 梯度洗脱: 0~10 min, 10%乙腈; 8~25 min, 10%~20%乙腈; 25~50 min, 20%~32%乙腈; 50~65 min, 32%~40%乙腈; 检测波长 310 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 ℃。精密吸取混合对照品溶液和供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 记录空白对照、

混合对照品和供试品的色谱图, 结果见图 1。

2.4.4 精密度考察 精密吸取同一供试品溶液(批号 D00701) 10 μL, 连续进样 6 次, 记录色谱图。

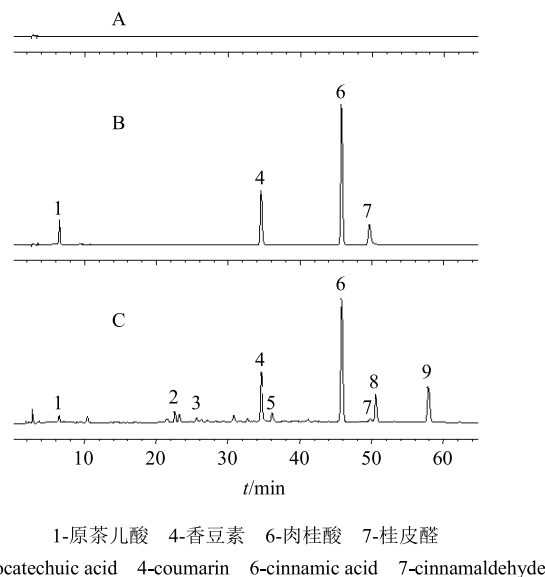


图 1 空白对照 (A)、混合对照品 (B)、桂枝标准汤剂供试品 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC of blank control (A), mixed reference substances (B), and *Cinnamomi Ramulus* standard decoction (C)

以肉桂酸色谱峰为参照峰 (S)，对各主要共有色谱峰相对保留时间及相对峰面积进行统计，并利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件 (2012A) 计算相似度。结果相对保留时间和相对峰面积 RSD 均小于 1%，表明仪器精密度良好，符合指纹图谱的要求。

2.4.5 稳定性考察 取同一供试品溶液 (批号 D00701) 按“2.4.3”项下色谱条件，分别在 0、2、4、8、12、24 h 时测定，记录色谱图，以肉桂酸色谱峰为参照峰，对各主要共有色谱峰相对保留时间及相对峰面积进行统计，并利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件 (2012A) 计算相似度。结果相对保留时间和相对峰面积 RSD 均小于 2%，供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.6 重复性考察 取平行制备的同一批标准汤剂

(批号 D00701) 干燥粉末样品 6 份，按“2.4.3”项下色谱条件测定，记录色谱图。以肉桂酸色谱峰为参照峰，对各主要共有色谱峰相对保留时间及相对峰面积进行统计，并利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件 (2012A) 计算相似度。结果相对保留时间 RSD 和相对峰面积 RSD 均小于 2%，该方法重复性良好。

2.4.7 样品检测与分析 分别取 15 批桂枝饮片，按“2.2”项下方法制备桂枝饮片标准汤剂干燥粉末，再按“2.4.1”项下方法制备得标准汤剂供试品溶液，按“2.4.3”项下色谱条件分别测定，记录 HPLC 图。将 15 批样品色谱图导入国家药典委员会颁布的中药指纹图谱相似度评价系统软件 (2012A) 中进行色谱峰匹配及相似度分析，采用平均数法生成共有模式对照图谱，发现共有 9 个共有峰，见图 2。

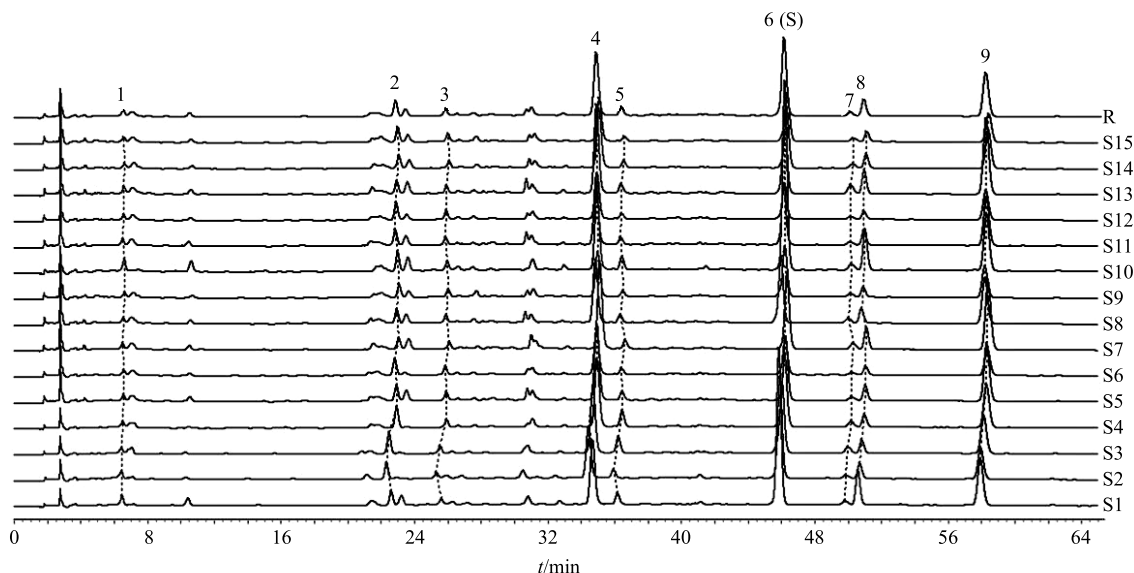


图 2 15 批标准汤剂 HPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (R)

Fig. 2 HPLC fingerprint of 15 batches of *Cinnamomi Ramulus* standard decoction and reference fingerprint (R)

S1~S15 指纹图谱与共有模式对照指纹图谱相似度分别为 0.954、0.968、0.994、0.996、0.980、0.983、0.980、0.996、0.999、0.956、0.985、0.976、0.980、0.997、0.998，均在 0.95 以上，符合指纹图谱相似度要求。选取肉桂酸色谱峰 (6 号峰) 作为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积见表 2、3。结果其相对保留时间 RSD 小于 1%，相对峰面积 RSD 为 18.74%~50.00%。

3 讨论

3.1 标准汤剂制备工艺合理性

本实验所采用的桂枝饮片标准汤剂制备工艺是

参照国家药典委员会公布的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求 (征求意见稿)》和卫生部、国家中医药管理局共同下发的《医疗机构中药煎药室管理规范》，选取合格的桂枝饮片，以水为提取溶剂，按照临床汤剂煎煮方法规范化煎煮，经固液分离，低温减压浓缩，冷冻干燥后制得样品。桂枝属于清热类药材，不宜久煎，故选择煎煮时间为 20 min。实验中采用趁热滤过方式进行固液分离，减少成分的损失；趁热滤过后，滤液放置冷水中迅速冷却，以抑制成分的热分解，同时采用低温减压浓缩、冷冻干燥方法保证标煎液质量的稳定，最大限

表 2 15 批样品特征峰相对保留时间

Table 2 Relative retention time of common peaks in 15 batches of sample

样品	相对保留时间								
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9
S1	0.141	0.493	0.559	0.756	0.789	1.000	1.087	1.103	1.264
S2	0.140	0.486	0.552	0.750	0.783	1.000	1.086	1.104	1.262
S3	0.140	0.488	0.555	0.754	0.787	1.000	1.086	1.104	1.263
S4	0.141	0.496	0.561	0.756	0.789	1.000	1.086	1.103	1.262
S5	0.142	0.496	0.560	0.755	0.788	1.000	1.086	1.103	1.261
S6	0.142	0.494	0.559	0.755	0.788	1.000	1.086	1.104	1.262
S7	0.140	0.498	0.563	0.758	0.791	1.000	1.086	1.103	1.260
S8	0.142	0.499	0.563	0.758	0.790	1.000	1.088	1.105	1.266
S9	0.144	0.499	0.563	0.757	0.790	1.000	1.085	1.102	1.259
S10	0.143	0.498	0.562	0.756	0.789	1.000	1.086	1.104	1.262
S11	0.141	0.495	0.561	0.756	0.788	1.000	1.086	1.104	1.263
S12	0.142	0.496	0.561	0.756	0.789	1.000	1.086	1.103	1.261
S13	0.143	0.497	0.561	0.756	0.788	1.000	1.086	1.103	1.262
S14	0.143	0.498	0.563	0.757	0.789	1.000	1.086	1.103	1.261
S15	0.142	0.496	0.561	0.757	0.789	1.000	1.086	1.103	1.261
平均值	0.142	0.495	0.560	0.756	0.788	1.000	1.086	1.104	1.262
RSD/%	0.80	0.74	0.58	0.25	0.23	0.00	0.06	0.08	0.13

表 3 15 批样品特征峰相对峰面积

Table 3 Relative peak area of common peaks in 15 batches of sample

样品	相对峰面积								
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9
S1	0.049	0.065	0.028	0.423	0.063	1.000	0.029	0.210	0.355
S2	0.071	0.113	0.044	0.507	0.073	1.000	0.034	0.136	0.359
S3	0.067	0.211	0.073	0.911	0.198	1.000	0.097	0.157	0.597
S4	0.061	0.197	0.068	0.883	0.184	1.000	0.088	0.149	0.640
S5	0.059	0.173	0.087	1.190	0.118	1.000	0.067	0.216	1.037
S6	0.088	0.314	0.163	1.159	0.122	1.000	0.077	0.197	0.807
S7	0.054	0.105	0.060	1.148	0.097	1.000	0.096	0.266	1.043
S8	0.054	0.146	0.086	0.954	0.103	1.000	0.086	0.211	0.798
S9	0.056	0.165	0.108	0.862	0.092	1.000	0.085	0.176	0.697
S10	0.041	0.074	0.035	0.433	0.060	1.000	0.040	0.204	0.354
S11	0.071	0.186	0.095	1.132	0.111	1.000	0.065	0.222	0.962
S12	0.085	0.329	0.176	1.262	0.124	1.000	0.086	0.200	0.942
S13	0.055	0.102	0.061	1.090	0.102	1.000	0.127	0.267	1.072
S14	0.047	0.139	0.074	0.961	0.095	1.000	0.081	0.215	0.757
S15	0.057	0.203	0.119	0.840	0.076	1.000	0.085	0.177	0.649
平均值	0.061	0.168	0.085	0.917	0.108	1.000	0.076	0.200	0.738
RSD/%	21.71	45.90	50.00	29.74	36.51	0.00	34.11	18.74	33.81

度上达到与传统汤剂一致的目的^[18]。

3.2 定量检测指标的确定及检测方法的建立

本实验测得 15 批桂枝标准汤剂中桂皮醛的量大多低于 0.01%，转移率均低于 1%，且不稳定。根据国家药典委员会公布的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求（征求意见稿）》上标准制定的要求，应避免选择微量成分作为定量检测指标，对于被测成分低于 0.01% 者，可增加有效组分的定量测定；陈士林等^[12]也提出中药标准汤剂可以选择某些提取率不高的成分作为指标成分，但其转移率需稳定且能够用来表征提取物的一致性；综合考虑以上因素，选择肉桂酸作为定量检测指标。

3.3 供试品制备方法 & 色谱条件的考察

本实验对提取溶剂（乙醇、70%乙醇、水）和提取方法（回流提取和超声提取）进行了考察，结果表明，在相同的色谱条件下，70%乙醇作为提取溶剂得到的色谱峰较多、峰面积较大，且分离度良好；回流和超声提取效果一致，因此采用操作简便的超声提取。

采用 DAD 检测器进行全波长扫描，选取 250、280、300、310 nm 作为检测波长进行比较，结果发现只有在波长为 310 nm 时，特征峰个数最多，且各峰峰形较好，故选定检测波长为 310 nm；以流动相乙腈-0.5%醋酸水溶液进行梯度洗脱。结果表明，65 min 后没有明显的特征峰，故梯度洗脱时间和记录色谱图的时间定为 65 min，最终确定其洗脱方式为“2.4.3”项方式；同时比较不同生产厂家（Waters、Agilent、Phenomenex）色谱柱的分离效果，根据特征峰的数量、分离度和各个特征峰的峰形，决定采用 Waters symmetry C₁₈（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱。

3.4 标准汤剂的应用

本实验制备了 15 批桂枝标准汤剂样品，得到了出膏率为 3.30%~9.60%；根据测定结果得到了转移率为 56.93%~94.06%。上述结果可以为桂枝配方颗粒质量标准提供参考依据，保证成品与标准汤剂质量一致性。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 冉先德. 中华药海（精华本）[M]. 北京：东方出版社，2010.
- [3] 林佳，徐丽珍，刘江云. 中药桂枝的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中成药，2006，28(2): 169-171.
- [4] 杭伟，张钦德，王晓，等. 高速逆流色谱结合制备液相色谱分离纯化桂枝中化学成分 [J]. 天然产物研究与开发，2014，26(11): 1807-1810.
- [5] 刘江云，杨学东，徐丽珍，等. 桂枝的化学成分研究 [J]. 中草药，2002，33(8): 681-683.
- [6] 杨琳，赵庆春，谭菁菁，等. 桂枝的化学成分研究 [J]. 实用药物与临床，2010，13(3): 183-185.
- [7] 王西宁. 中药桂枝化学成分分析与制备技术研究 [D]. 大连：大连工业大学，2013.
- [8] 许源，宿树兰，王团结，等. 桂枝的化学成分与药理活性研究进展 [J]. 中药材，2013，36(4): 674-678.
- [9] 梁璐. 桂枝的药理作用分析及其临床应用研究 [J]. 中国医药指南，2016，14(25): 190-191.
- [10] 刘蓉，何婷，曾南，等. 桂枝挥发油及桂皮醛抗流感病毒的机制研究 [J]. 中草药，2013，44(11): 1460-1464.
- [11] 孙宝莹，郭涛，李西文，等. 葛根饮片标准汤剂的研究 [J]. 世界中医药，2016，11(8): 1586-1589.
- [12] 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.
- [13] 温远珍. 基于标准汤剂指纹图谱评价的肝脂消颗粒剂药学研究 [D]. 广州：广州中医药大学，2011.
- [14] 中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求（征求意见稿）[S]. 2016.
- [15] 杨琳，陈聪琴，赵庆春. 桂枝高效液相色谱指纹图谱研究 [J]. 国际药学研究杂志，2013，40(6): 813-816.
- [16] 王淳，宋志前，夏磊，等. HPLC 法测定桂枝芍药知母汤中 5 种有效成分 [J]. 中草药，2014，45(21): 3105-3108.
- [17] 王福霞，敖书华，杨林，等. 桂枝汤中桂枝不同配伍对桂皮酸含量的影响 [J]. 中国药房，2010，21(27): 2522-2523.
- [18] 马红. 浅谈中药煎煮方法及注意事项 [J]. 内蒙古中医药，2014，33(9): 80-81.