

# 广陈皮 HPLC 指纹图谱的建立及在药材鉴定中的应用研究

黄月纯, 魏 刚

(广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

**摘要:** 目的 建立陈皮的 HPLC 指纹图谱分析色谱条件, 并应用于市场陈皮的鉴定。方法 采用 Zorbax Esclipse XDB C<sub>18</sub> 色谱柱; 流动相为甲醇-2% 醋酸溶液, 梯度洗脱; 检测波长为 283 nm; 柱温为 25 °C; 体积流量为 1.0 mL/min。以广东新会产广陈皮(茶枝柑)指纹图谱为基础建立共有模式。结果 陈皮共标示出 7 个共有峰, 以广陈皮共有模式为对照, 13 批广陈皮相似度达 0.996~ 1.000, 而 13 批市场陈皮的相似度为 0.964~ 0.989。结论 方法准确可靠, 重现性好, 以广陈皮共有模式可鉴定市场陈皮是否为广陈皮, 为广陈皮质量控制与鉴定提供了参考。

**关键词:** 广陈皮; 陈皮; 指纹图谱; HPLC

**中图分类号:** R 282.7

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0253-2670(2008)02-0275-03

陈皮为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮, 陈皮药材分为“广陈皮”(茶枝柑)、“陈皮”<sup>[1]</sup>。陈皮主要含挥发油<sup>[2,3]</sup>及以橙皮苷为主的黄酮类成分等, 陈皮及含陈皮复方制剂一般以橙皮苷作为质控指标<sup>[1]</sup>, 《中国药典》2005 年版一部通过外观性状对广陈皮与陈皮进行比较鉴别。广东是陈皮主产区, 陈皮来源主要有茶枝柑、行柑、甜柑、蕉柑、八月橘等<sup>[2]</sup>, 产量大, 销全国, 并供出口, 其中广陈皮(茶枝柑)是陈皮道地药材, 质量最优, 价格也最昂贵, 而四川、福建、浙江、江西等地的大红袍、温州蜜柑、福橘等, 多自产自销。因此本研究采用 HPLC 法拟建立广陈皮甲醇提取物的特征指纹图谱, 为广陈皮药材的质量控制积累数据, 并探讨广陈皮 HPLC 指纹图谱共有模式在市场陈皮中的鉴别应用。

## 1 仪器与试剂

Agilent HP 1100 高效液相色谱仪, 光二极管阵列检测器。甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。13 批广东新会产正品广陈皮原药材分别购自广州市药材公司等多家药材公司, 经广州中医药大学鉴定教研室鉴定系广陈皮(茶枝柑) *C. reticulata* ‘Chachi’; 13 批其他市场陈皮商品购于广东多家药材公司及药店, 系芸香科植物橘 *C. reticulata* Blanco 及其栽培变种, 饮片多为多个柑橘类成熟果皮的混合统货, 来源见表 1。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Zorbax Esclipse XDB C<sub>18</sub>

表 1 陈皮来源

Table 1 Sources of Pericarpium Citri Reticulatae

编号	供货单位	产地
A 1	广州市药材公司	广东新会
A 2	广州市药材公司	广东新会
A 3	广州市药材公司	广东新会
A 4	广州市药材公司	广东新会
A 5	广州市药材公司	广东新会
A 6	广东省药材公司	广东新会
A 7	广东省药材公司	广东新会
A 8	广州清平药材市场	广东新会
A 9	广州清平药材市场	广东新会
A 10	广州清平药材市场	广东新会
A 11	广州清平药材市场	广东新会
A 12	广州杏林药业公司	广东新会
A 13	广州杏林药业公司	广东新会
B 1	广东杏林药业公司	广东潮州
B 2	广州市药材公司	广东广州
B 3	广州致信中药饮片厂	广东
B 4	广东康美中药饮片厂	广东
B 5	增城市中药饮片厂	广东
B 6	花都东升中药饮片厂	广东
B 7	广东康美中药饮片厂	广东
B 8	广州药店 1	广东
B 9	广州药店 2	广东
B 10	广州药店 3	广东
B 11	广州药店 4	广东
B 12	广州药店 5	广东
B 13	广州药店 6	广东

(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-2% 醋酸, 梯度洗脱; 0~ 20 min 甲醇由 20% 变为 40%, 20~ 35 min, 甲醇由 40% 变为 70%, 35~ 55 min 甲醇由 70% 变为 100%, 55~ 60 min 甲醇为 100%, 60~ 65 min 甲醇由 100% 变为 20%; 检测波长: 283 nm; 柱

收稿日期: 2007-05-15

基金项目: 广东省科技计划项目(2005B33001038)

作者简介: 黄月纯(1968-), 女, 广东省人, 副主任中医师, 硕士, 1991 年毕业于广州中医药大学中药专业, 现在广州中医药大学第一附属医院工作, 主要从事中药质量标准及指纹图谱研究, 现承担广东省科技厅课题 2 项, 主要参与广东省科技厅课题 4 项, 在核心期刊发表论著 20 余篇。 Tel: (020) 36591724 E-mail: huangyuechun@163.com

温: 25 ; 体积流量: 1.0 mL /m in.

2.2 供试品溶液的制备: 取陈皮粉末 0.5 g, 精密称定, 精密加入甲醇 25 mL, 称质量, 超声处理 45 m in, 取出, 用甲醇补足减失的质量, 滤过, 取续滤液, 即得。

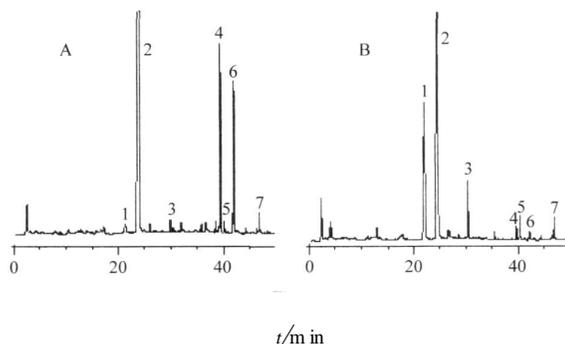
### 2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验: 取供试品溶液 10  $\mu$ L, 连续进样 6 次。结果表明: 7 个共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 2%, 相对峰面积的 RSD 均小于 3%。

2.3.2 稳定性试验: 取供试品溶液 10  $\mu$ L, 分别在 0、4、8、12、24、48 h 进样 6 次。结果表明, 7 个共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 2%, 相对峰面积的 RSD 均小于 3%, 提示 48 h 内供试品溶液稳定性较好。

2.3.3 重现性试验: 取同一批样品粉末 6 份, 平行操作, 制备供试品溶液, 进样测定, 结果表明 7 个共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 2%, 相对峰面积的 RSD 均小于 3%。

2.4 样品检测: 取供试品溶液 10  $\mu$ L, 依法检测, 结果 26 批样品共标出 7 个共有峰, 广陈皮共有模式和样品 B5 的 HPLC 指纹图谱见图 1。



A-广陈皮共有模式 B-市场陈皮样品(B5)  
A mutual pattern of *Citrus Reticulata* 'Chachi'  
B-*Pericarpium Citri Reticulatae* (B5)

图 1 陈皮的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC Fingerprint of *Pericarpium Citri Reticulatae*

### 2.5 指纹图谱的建立及分析

2.5.1 共有峰的确定: 26 批陈皮甲醇提取物 HPLC 色谱均主要有 7 个共有峰。13 批广陈皮共有峰面积分别为 (1.26  $\pm$  0.22)%, (60.06  $\pm$  2.84)%, (0.77  $\pm$  0.12)%, (10.82  $\pm$  0.80)%, (0.75  $\pm$  0.12)%, (9.04  $\pm$  0.58)%, (1.62  $\pm$  0.55)%, 总共有峰面积在 80.8% ~ 86.9%, 且各共有峰相对量较稳定, 具有指纹图谱特征性, 可初步拟定为广陈皮甲醇提取物指标成分群。13 批其他陈皮共有峰面积分别为 (9.95  $\pm$  2.63)%, (71.01  $\pm$  6.01)%, (2.52  $\pm$  0.32)%, (2.62  $\pm$  3.75)%, (0.92  $\pm$  0.44)%,

(1.36  $\pm$  1.33)%, (1.07  $\pm$  0.39)%, 总共有峰面积在 80.3% ~ 93.3%, 各共有峰相对量差异性较大, 但同样具有指纹图谱特征性, 亦可初步作为陈皮甲醇提取物指标成分群。经对照品对照, 2 号峰为橙皮苷峰, 均为第一大峰。

2.5.2 指纹峰相似度分析: 采用国家药典委员会中药指纹图谱相似度软件 2004A 版计算均值相似度。以 13 批广陈皮测定结果拟定广陈皮 HPLC 指纹图谱的共有模式, 并以此共有模式为对照计算各批陈皮的相似度, 结果见表 2。表明广陈皮相似度高达 0.996 ~ 1.000, 其他陈皮样品相似度为 0.964 ~ 0.989, 均小于 0.990, 与广陈皮相比具特征性差异, 提示广陈皮 HPLC 指纹图谱共有模式鉴定商品陈皮是否为广陈皮, 方法可行。

表 2 26 种样品指纹图谱相似度计算结果

Table 2 Similarity of HPLC fingerprint for 26 samples

编号	相似度	编号	相似度
A 1	0.999	B 1	0.989
A 2	0.999	B 2	0.984
A 3	0.996	B 3	0.966
A 4	0.999	B 4	0.965
A 5	0.998	B 5	0.967
A 6	1.000	B 6	0.964
A 7	0.998	B 7	0.964
A 8	0.998	B 8	0.985
A 9	0.998	B 9	0.971
A 10	0.996	B 10	0.965
A 11	0.999	B 11	0.983
A 12	0.999	B 12	0.969
A 13	0.999	B 13	0.965

### 3 讨论

用甲醇-水、甲醇-2% 醋酸、乙腈-水、乙腈-2% 醋酸的梯度洗脱作为流动相, 结果差异性不大, 水相用酸水比水效果稍佳, 最后确定甲醇-2% 醋酸梯度洗脱作为流动相。用不同的检测波长检测及用光二极管阵列检测器分析, 橙皮苷峰在 283 nm 波长处有最大吸收, 在 283 nm 波长处指纹峰较多, 响应值均较大, 而且基线较平稳, 故选择 283 nm 作为指纹图谱检测波长。

供试品溶液的制备采用不同体积分数甲醇溶液作为提取溶媒, 结果甲醇提取效果最好。比较不同的提取方法, 结果超声处理方法简便, 提取完全; 比较不同的超声处理时间, 超声处理 45 m in 可提取完全, 故确定超声处理 45 m in。由于橙皮苷的溶解性较差, 当供试品溶液浓度增加到一定程度时, 橙皮苷的相对量减少, 造成测定结果的不准确; 而当供试品溶液质量浓度太低, 一些小峰不能检测出来, 影响指

纹图谱的意义。通过制备不同质量浓度的供试品溶液进行分析比较,结果供试品溶液小于 3% 生药量范围内,各共有峰的相对量较稳定,故确定供试品溶液的质量浓度为 2% 生药量。

按拟定的方法,测定了 26 批广东产陈皮的甲醇提取物,共标出 7 个共有峰,总共有峰峰面积的量在 80% 以上,可初步拟订为陈皮的甲醇提取物成分指标成分群,同时表明广东多个来源的陈皮均具有相类似的主要成分。13 批广陈皮均以 2、4、6 号峰为三强峰,7 个共有峰峰面积的相对量均较稳定,相似度高达 0.996~ 1.000,是广陈皮的最大的指纹图谱特

征。而 13 批其他品种陈皮,各批次共有峰的相对量差异较大,以 1、2、3 号峰所占比例相对增加,4、6 号所占比例相对减少为主要特征;以广陈皮共有模式为对照,相似度为 0.964~ 0.989,均小于 0.990,提示广陈皮 HPLC 指纹图谱共有模式鉴定商品陈皮是否为广陈皮,方法可行。

#### 参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 王玫馨,黄爱东,郑毅,等. 广陈皮化学成分的比较(I 挥发油的成分研究)[J]. 中药材, 1991, 14(3): 33-36.
- [3] 严寒静,房志坚,黄宁. 中药陈皮挥发油的成分分析[J]. 广东药学, 2001, 11(1): 17-18.

## 近红外光谱鉴别高丽参的研究

王钢力,田金改,聂黎行,梁锡猛\*,林瑞超

(中国药品生物制品检定所,北京 100050)

**摘要:**目的 应用近红外光谱(NIRS)技术鉴别红参和高丽参。方法 收集中国红参、韩国高丽参及朝鲜高丽参的样品,采用近红外积分球漫反射法测定光谱图,用判别分析法对其进行定性鉴别。结果 近红外光谱法可正确鉴别中国红参和高丽参。结论 该方法快速、准确,可运用于高丽参药材的鉴别。

**关键词:**红参;高丽参;近红外光谱(NIRS);判别分析

中图分类号:R282.7 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2008)02-0277-04

红参是传统名贵药材,现市场上常见为中国红参、高丽参(朝鲜红参和韩国红参),历史上还有进口日本红参,但近年来未见进口。中国红参、高丽参均为同种植物,无本质区别,给产品检验工作带来一定的困难。韩国的高丽参由于其种植规范,加工技术独特,近年来深得消费者的喜爱,成为冬令滋补的佳品。由于价格昂贵,已有中国的企业邀请韩国的专业技术人员来到中国,采用中国人参为原料,按高丽参的加工工艺生产合资品牌的产品,如别直参、新开河参、东风灵参等。此外国内不少人纷纷效仿韩国的加工技术,采用国产人参蒸制,喷以人参露及香精,压制成将军肩,做成黄糙皮,其外表与高丽参近似,传统的人工经验鉴别方法不能适应现代检测工作的需要。

在以往的工作中,笔者也曾采用薄层色谱法、高效液相-蒸发光散射、高效液相-质谱联用、气相色谱等方法进行红参和高丽参的鉴别研究,但均未能成功。虽有报道采用 HPLC 指纹图谱的方法对红参质量进行评价<sup>[1]</sup>,结果虽然也能区分开中国红参和高

丽参,但该方法需要一系列的样品前处理过程,而且对于实验样本扩大后,该方法的适应性也未做进一步研究。近红外光谱技术就是一种近期发展起来的新型分析技术。近红外光谱(NIRS)其波长范围为 0.75~ 2.5  $\mu\text{m}$  (波数范围为 13 330~ 4 000  $\text{cm}^{-1}$ ),该谱区主要是含氢基团(C—H, N—H, O—H)的倍频与合频的吸收,虽然信息量比紫外-可见光谱大,但是吸收强度弱,谱带宽,重叠严重,解析较难等,随着计算机和化学计量学的发展,该谱区得以广泛的运用。NIRS 吸收弱的特点也给分析带来了方便,即样品不需要稀释等预处理,可直接进行分析;而漫反射技术可直接测定固体样品,无须破坏样品及制样,操作简便,快速,是一种理想的质量控制和质量保证的方法<sup>[2]</sup>。本实验采集到 200 多份高丽参和红参样品的近红外光谱图,通过对它们的近红外图谱比较研究,以期能为准确鉴别高丽参和中国红参提供可供借鉴的科学依据。

### 1 材料与方法