

常用芸香科柑桔属药材特征图谱鉴别研究

杨晓东, 曹斯琼, 何广铭, 周湘媛, 吴辉强, 邓 韬, 李国卫*

广东一方制药有限公司 广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 广东 佛山 528244

摘要:目的 建立同时适用于芸香科柑桔属药材鉴别的 HPLC 特征图谱, 为同属药材的鉴定及质量评价提供科学依据。方法 采用 Waters Xselect HSS T3 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 以乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱; 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长为 284 nm, 采用相似度软件、SPSS 软件和 SIMCA-P 12.0 软件对数据进行分析。结果 特征图谱研究结果显示, 橙皮苷为 6 种药材的共有成分, 特征成分为芸香柚皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、水合橙皮内酯、川陈皮素和橘皮素; 药材种内相似度均很高, 种间相似度较低, 种间存在明显差异; 通过聚类分析和主成分分析能将橘、橙、柚 3 大类药材各聚为一类, 并能区分橙不同成熟期的果实; 通过偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 能区分不同成熟期橘的果实和果皮。结论 建立的 HPLC 特征图谱较全面地反映了常用芸香科药材的化学成分, 分析方法专属性强, 准确可靠, 为柑桔属药材及其饮片鉴定、质量评价提供参考。

关键词: 芸香科; 柑桔属; 特征图谱; 相似度评价; 聚类分析; 主成分分析; 偏最小二乘法-判别分析; 芸香柚皮苷; 柚皮苷; 新橙皮苷; 水合橙皮内酯; 川陈皮素; 橘皮素

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)12-3793-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.12.026

Identification of characteristics spectrum of six common Rutaceae and *Citrus*

YANG Xiao-dong, CAO Si-qiong, HE Guang-ming, ZHOU Xiang-yuan, WU Hui-qiang, DENG Tao, LI Guo-wei
Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule, Guangdong Yi Fang Pharmaceutical Co.,Ltd., Foshan 528244, China

Abstract: Objective To establish an HPLC characteristics spectrum suitable for the identification of *Citrus* in Rutaceae, and to provide scientific basis for the identification and quality evaluation of the same genus of *Citrus*. **Methods** The chromatographic column was Waters Xselect HSS T3 chromatographic column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), and acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution was used as the mobile phase with the gradient elution, the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 30 °C, the detection wavelength was 284 nm. The similarity software, SPSS software and SIMCA-P 12.0 software were used to analyze the data. **Results** The main common components peaks of six medicinal materials were able to be found, was hesperidin. The characteristic components were narirutin, naringin, neohesperidin, meranzin hydrate, nobiletin, tangeretin; The similarity among six kinds of medicinal materials was very high, and the similarity among species was very low, and there were obvious differences among species; Through cluster and principal component analysis three kinds of medicinal materials tangerine, orange and pomelo can be grouped into one group, and orange with different maturity can be distinguished. Orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) was used to distinguish the fruit and peel of orange at different maturity stages. **Conclusion** The established HPLC characteristic spectrum established comprehensively reflects the chemical constituents of common Rutaceae medicinal materials. The analysis method is exclusive, accurate and reliable. It can provide reference for the identification and quality evaluation of *Citrus* medicinal materials and their decoction pieces.

Key words: *Rutaceae*; *Citrus*; characteristics spectrum; similarity evaluation; cluster analysis; principal component analysis; orthogonal partial least square discriminant analysis; narirutin; naringin; neohesperidin; meranzin hydrate; nobiletin; tangeretin

枳实、枳壳、个青皮、四花青皮、陈皮、化橘红 药。枳实 (酸橙)、枳壳为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种不同成熟度的果实^[1], 个青

收稿日期: 2021-11-09

基金项目: 广东省省级科技计划项目 (2018B030323004); 佛山市核心攻关项目 (1920001000378)

作者简介: 杨晓东 (1994—), 男, 从事中药配方颗粒及质量标准研究。Tel: 15574934785 E-mail: 1248212386@qq.com

*通信作者: 李国卫 (1989—), 男, 主任药师, 从事中药质量评价研究。Tel: 15017592618 E-mail: 452048107@qq.com

皮、四花青皮、陈皮为芸香科植物橘 *C. reticulata* Blanco 及其栽培变种的不同成熟度的果实或果皮^[1], 化橘红(柚)为芸香科植物柚 *C. grandis* (L.) Osbeck 的未成熟或近成熟的干燥外层果皮^[1]。因其属于同科同属药材, 具有理气健脾、化痰等相似功效^[2], 且化学成分也以橙皮苷、新橙皮苷和柚皮苷等黄酮类成分为主^[3], 有较高的相似性, 在价格波动较大的情况下, 常有掺杂或替代使用的情况出现。《中国药典》2020年版中6种药材均有各自成分的相关检测方法, 包括薄层鉴别和含量测定, 但从提取方法到色谱条件各种药材的测定方法均有差异, 当鉴定一个未知样品时, 如药材粉末或配方颗粒, 需要反复实验, 鉴定过程繁琐复杂。虽然6种药材均有指纹图谱等相关文献报道^[4-7], 但未在相同的条件下对其指纹图谱进行对比研究, 鉴别过程同样复杂繁琐。因此, 本实验将对上述6种药材进行特征图谱研究, 通过特征图谱和相似度的比较, 达到既可以鉴别药材品种, 又可以区分不同成熟度药材的目的。

化学计量学方法已被广泛应用于中药材鉴别和中药材产地分析, 他基于数学、化学、统计学及计算机科学的方法及原理, 设计并优化实验、处理并分析检测数据信息, 从而获取复杂分析体系中隐含的信息^[8]。普遍应用的有主成分分析、聚类分析及偏最小二乘判别分析(orthogonal partialLeast squares discriminant analysis, OPLS-DA)等。聚类分析是按样品品质特性的相似性使其成对逐渐聚合在一起, 相似性较高的样品优先聚合在一起, 从而完成聚类分析的过程^[9]。通过聚类分析将6种药材按相似性进行聚类, 达到区分橘、柚、橙3大类药材的目的, 并通过主成分分析进行佐证。通过OPLS-DA法进一步区分橘不同成熟度的果实或果皮。通过上述几种方法对常用柑桔属药材进行分类和质量评价, 为柑桔属药材的

鉴定与质量控制提供参考。

1 仪器与材料

Waters ARC 型高效液相色谱仪(美国沃特世公司); Waters Xselect HSS T3 型(250 mm×4.6 mm, 5 μm); ME204E 型万分之一分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); XP26 型百万分之一分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); KQ500D 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Milli-Q Direct 型超纯水系统(美国默克股公司)。甲醇为分析纯, 磷酸、乙腈为色谱纯, 水为超纯水。

对照品新橙皮苷(批号 111857-201804, 质量分数为 99.40%)、柚皮苷(批号 110722-201714, 质量分数为 93.40%)、橙皮苷(批号 110721-201818, 质量分数为 96.20%)均由中国食品药品检定研究院提供; 对照品川陈皮素(批号 18070602, 质量分数为 98%)、橘皮素(批号 18031501, 质量分数为 98%)均由成都普菲德生物技术有限公司提供; 芸香柚皮苷(批号 wkq19041908, 质量分数 98.0%)、水合橙皮内酯(批号 wkq20031904, 质量分数为 98.0%)均由四川省维克奇生物科技有限公司提供。实验所用药材经广东一方制药有限公司魏梅主任中药师鉴定, ZS1~ZS15 号样品芸香科植物酸橙 *C. aurantium* L. 及其栽培变种的干燥幼果、ZQ1~ZQ15 号样品为芸香科植物酸橙 *C. aurantium* L. 及其栽培变种的干燥未成熟果实、GQ1~ZQ13 号样品为芸香科植物橘 *C. reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥幼果、SH1~SH14 号样品为芸香科植物橘 *C. reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥未成熟果实的果皮、CP1~CP14 号样品为芸香科植物橘 *C. reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮、HJ1~HJ13 号样品为芸香科植物化州柚 *C. sgrandis* 'Tomentosa' 的未成熟或近成熟的干燥外层果皮, 见表 1。

表 1 84 批样品信息

Table 1 84 batches of sample information

编号	来源	编号	来源	编号	来源	编号	来源	编号	来源
GQ1	湖北宜昌	SH2	江西宜春	CP2	山东临沂	ZS2	江西吉安	ZQ1	江西吉安
GQ2	浙江衢州	SH3	江西吉安	CP3	山东临沂	ZS3	江西宜春	ZQ2	江西吉安
GQ3	浙江衢州	SH4	江西吉安	CP4	江西宜春	ZS4	湖南益阳	ZQ3	湖南益阳
GQ4	湖北宜昌	SH5	浙江衢州	CP5	四川双流	ZS5	湖南益阳	ZQ4	江西宜春
GQ5	浙江金华	SH6	浙江衢州	CP6	四川双流	ZS6	江西九江	ZQ5	江西宜春
GQ6	湖南沅江	SH7	浙江常山	CP7	浙江衢州	ZS7	江西九江	ZQ6	湖南益阳
GQ7	浙江常山	SH8	江西新干	CP8	湖南沅江	ZS8	江西九江	ZQ7	江西九江
GQ8	浙江开化	SH9	江西宜春	CP9	广东江门	ZS9	湖南益阳	ZQ8	江西九江
GQ9	江西宜春	SH10	江西宜春	CP10	广东江门	ZS10	湖南益阳	ZQ9	江西九江
GQ10	浙江漳州	SH11	江西吉安	CP11	广东江门	ZS11	湖南益阳	ZQ10	江西宜春
GQ11	江西宜春	SH12	江西吉安	CP12	山东临沂	ZS12	江西宜春	ZQ11	重庆江津
GQ12	湖南沅江	SH13	湖南沅江	CP13	浙江衢州	ZS13	江西宜春	ZQ12	江西宜春
GQ13	江西宜春	SH14	湖南沅江	CP14	湖南沅江	ZS14	湖南益阳	ZQ13	江西宜春
SH1	江西宜春	CP1	山东临沂	ZS1	江西吉安	ZS15	江西宜春	ZQ14	湖南益阳
								HJ15	江西宜春
								HJ1	江西宜春
								HJ2	江西宜春
								HJ3	江西宜春
								HJ4	江西宜春
								HJ5	江西宜春
								HJ6	江西宜春
								HJ7	江西宜春
								HJ8	江西宜春
								HJ9	江西宜春
								HJ10	江西宜春
								HJ11	江西宜春
								HJ12	江西宜春
								HJ13	江西宜春

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Waters Xselect HSS T3 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 乙腈为流动相 A, 0.1%磷酸溶液为流动相 B, 洗脱程序为 0~30 min, 15%~30% A; 30~50 min, 30%~60% A; 50~55 min, 60%~85% A; 55~60 min, 85% A; 体积流量为 1.0 mL/min; 进样量为 10 μL; 检测波长为 284 nm。

2.2 对照品溶液的制备

精密称定芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、水合橙皮内酯、川陈皮素、橘皮素对照品适量, 加甲醇制成 62.700、57.675、51.275、56.012、1.034、57.771、55.174 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取样品细粉约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70%甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 称定质量, 补充质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 特征图谱方法学研究

2.4.1 精密度试验 分别取同一份个青皮 (批号 GQ1) 和枳实 (批号 ZS1) 供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次。计算各自共有色谱峰的保留时间与峰面积 RSD, 结果均小于 2%, 表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 分别取同一份个青皮 (批号 GQ1) 和枳实 (批号 ZS1) 供试品溶液, 于 0、2、4、

6、8、12 h 6 个时间点按“2.1”项色谱条件进样测定。计算各自共有色谱峰的保留时间与峰面积 RSD, 结果均小于 2%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.4.3 重复性试验 分别取个青皮 (批号 GQ1)、枳实 (批号 ZS1) 平行制备 6 份供试品溶液, 进样测定。以橙皮苷为参照峰, 计算共有峰的相对保留时间及相对峰面积, 结果各色谱峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 均小于 3%, 表明此方法重复性良好。

2.5 特征图谱分析及评价

2.5.1 特征图谱的建立及共有峰归属 取 15 批枳实、15 批枳壳、13 批个青皮、14 批四花青皮、14 批陈皮、13 批化橘红药材样品, 各约 0.5 g, 精密称定, 分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 将色谱信息导入中药色谱指纹图谱相似度软件进行分析: 枳实确定 11 个共有峰, 枳壳确定 10 共有峰, 个青皮共确定 11 个共有峰, 四花青皮确定 10 个共有峰, 陈皮确定 9 个共有峰, 化橘红确定 6 个共有峰, 6 种药材特征图谱共有峰见图 1。6 种药材的共有峰中 4 号峰 (橙皮苷) 分离度较好, 响应较高, 为药材中抗炎、抗氧化、抗菌、保护心血管系统的主要成分之一^[10-11], 故以 4 号峰 (橙皮苷) 为参照峰 (S 峰)。经与对照品色谱峰保留时间相对和 DAD 光谱分析。共指出 7 个特征峰, 分别为 2 号峰芸香柚皮苷、3 号峰柚皮苷、4 号峰橙皮苷、5 号峰新橙皮苷、6 号峰水合橙皮内酯、14 号峰川陈皮素、15 号峰橘皮素 (图 2)。

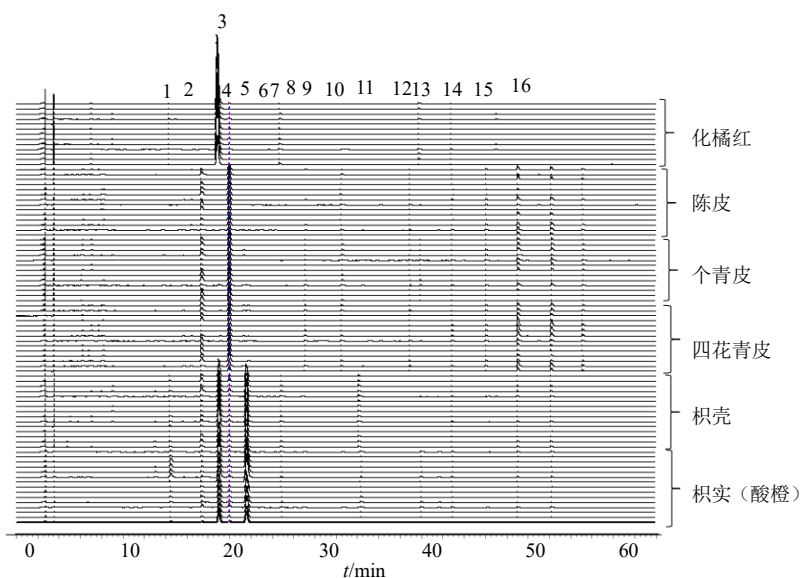
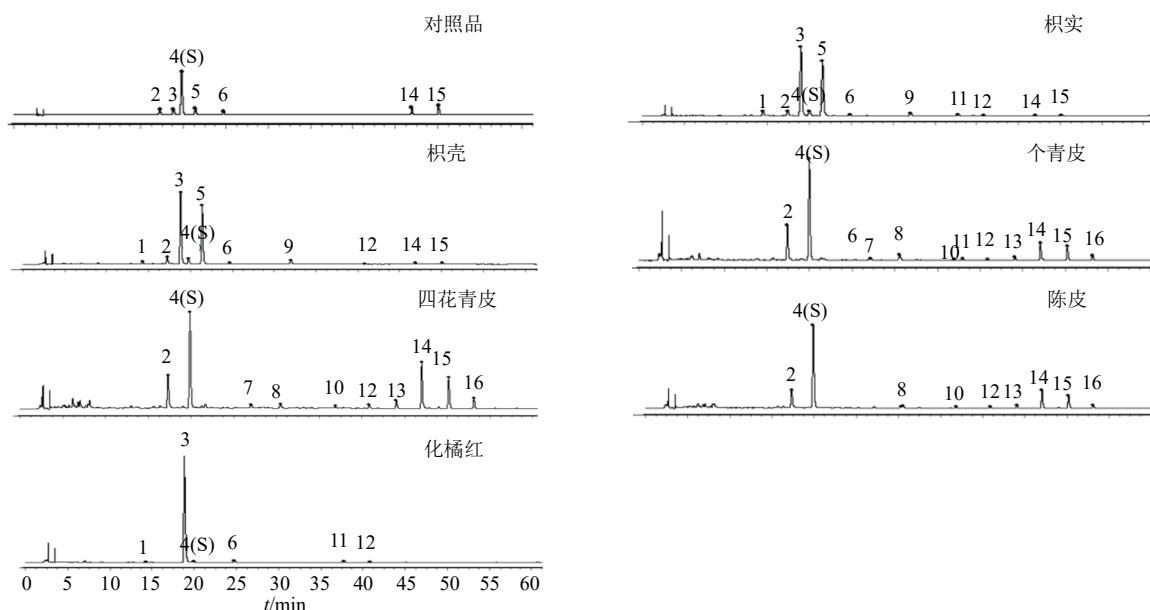


图 1 6 种药材 HPLC 特征图谱共有峰

Fig. 1 Common peaks in HPLC characteristic chromatograms of six medicinal materials



2-芸香柚皮苷 3-柚皮苷 4(S)-橙皮苷 5-新橙皮苷 6-水合橙皮内酯 14-川陈皮素 15-橘皮素
2-isonaringenin 3-naringin 4(S)-hesperidin 5-neohesperidin 6-meranzin hydrate 14-nobiletin 15-tangeretin

图2 6种药材样品共有峰对照品归属

Fig. 2 Ascription of common peak reference substances in six kinds of medicinal materials samples

枳实药材中主要成分为新橙皮苷，其次为柚皮苷^[12]；枳壳中则是柚皮苷含量占主导地位^[13]；个青皮、四花青皮、陈皮中黄酮类成分主要为橙皮苷^[14]；化橘红药材中柚皮苷的含量占绝对主导地位。由特征图谱可知橙比橘多1、3（柚皮苷）、5（新橙皮苷）、6（水合橙皮内酯）和9号峰，橙比橘少7、8、10、13和16号峰；枳实比枳壳多11号峰；陈皮比个青皮少7、11号峰，四花青皮比个青皮少11号峰；化橘红的色谱峰最少。通过特征图谱色谱峰数量能明显区分上述6种药材。

“相似度评价系统”分别对 ZS1~ZS15、ZQ1~ZQ15、GQ1~GQ13、SH1~SH14、CP1~CP14、HJ1~HJ13 共84批药材样品 HPLC 特征图谱进行数据分析，

峰4（橙皮苷）为参照峰，采用平均数，时间窗口为0.2，自动匹配，分别以枳实、枳壳、个青皮、四花青皮、陈皮、化橘红共有模式作为对照特征图谱，计算相似度系数，15批枳实药材的相似度均在0.935以上，15批枳壳药材的相似度均在0.926以上，13批个青皮药材的相似度均在0.959以上，14批四花青皮药材相似度均在0.864以上，14批陈皮药材的相似度均在0.937以上，13批化橘红药材的相似度均在0.999以上（表2），结果表明，同一品种间的相似度较大。以枳实、枳壳、个青皮、四花青皮、陈皮、化橘红的对照特征图谱2组之间分别进行相似度比较（表3）。由结果可知，6种芸香科药材对

表2 6种不同品种药材样品相似度评价结果

Table 2 Similarity evaluation results of six kinds of medicinal materials

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
GQ1	0.977	SH2	0.949	CP2	0.956	ZS2	0.998	ZQ1	0.988	ZQ15	0.994
GQ2	0.975	SH3	0.957	CP3	0.969	ZS3	0.991	ZQ2	0.984	HJ1	1.000
GQ3	0.993	SH4	0.971	CP4	0.982	ZS4	0.986	ZQ3	0.997	HJ2	0.999
GQ4	0.983	SH5	0.936	CP5	0.958	ZS5	0.988	ZQ4	0.977	HJ3	1.000
GQ5	0.971	SH6	0.984	CP6	0.968	ZS6	0.935	ZQ5	0.997	HJ4	1.000
GQ6	0.969	SH7	0.964	CP7	0.966	ZS7	0.998	ZQ6	0.996	HJ5	1.000
GQ7	0.976	SH8	0.984	CP8	0.959	ZS8	0.936	ZQ7	0.996	HJ6	1.000
GQ8	0.959	SH9	0.913	CP9	0.959	ZS9	0.969	ZQ8	0.998	HJ7	1.000
GQ9	0.965	SH10	0.864	CP10	0.988	ZS10	0.981	ZQ9	0.998	HJ8	1.000
GQ10	0.991	SH11	0.97	CP11	0.98	ZS11	0.997	ZQ10	0.989	HJ9	1.000
GQ11	0.979	SH12	0.993	CP12	0.975	ZS12	0.977	ZQ11	0.997	HJ10	1.000
GQ12	0.997	SH13	0.983	CP13	0.981	ZS13	0.964	ZQ12	0.985	HJ11	1.000
GQ13	0.996	SH14	0.97	CP14	0.976	ZS14	0.987	ZQ13	0.999	HJ12	1.000
SH1	0.941	CP1	0.953	ZS1	0.989	ZS15	0.994	ZQ14	0.926	HJ13	1.000

表 3 6种不同品种药材对照特征图谱相似度评价结果

Table 3 Similarity evaluation results of characteristic chromatograms of six different varieties of medicinal materials

药材	相似系数					
	枳实	枳壳	个青皮	四花青皮	陈皮	化橘红
枳实	1.000	0.770	0.122	0.126	0.115	0.988
枳壳	0.770	1.000	0.076	0.081	0.068	0.764
个青皮	0.122	0.076	1.000	0.990	0.972	0.008
四花青皮	0.126	0.081	0.990	1.000	0.944	0.008
陈皮	0.115	0.068	0.972	0.944	1.000	0.008
化橘红	0.988	0.764	0.008	0.008	0.008	1.000

照特征图谱两组之间的相似度范围为 0.008~0.990, 表明 6 种药材间特征图谱差异性较大。

2.5.2 聚类分析 运用 SPSS 20.0 软件对 84 批药材 16 个共有峰的相对峰面积为数据进行聚类分析, 采用组间平均数联结法, 以夹角余弦作为样品相似度

的距离公式, 结果见图 3, 当判断距离为 20 时, 结果显示 84 批药材被分为 3 类。I 类包括 GQ1~GQ13、SH1~SH14、CP1~CP14, II 类包括 ZS1~ZS15、ZQ1~ZQ15, III 类包括 HJ1~HJ13, 即橘不同成熟期的果实 (个青皮、四花青皮、陈皮) 归为一类,

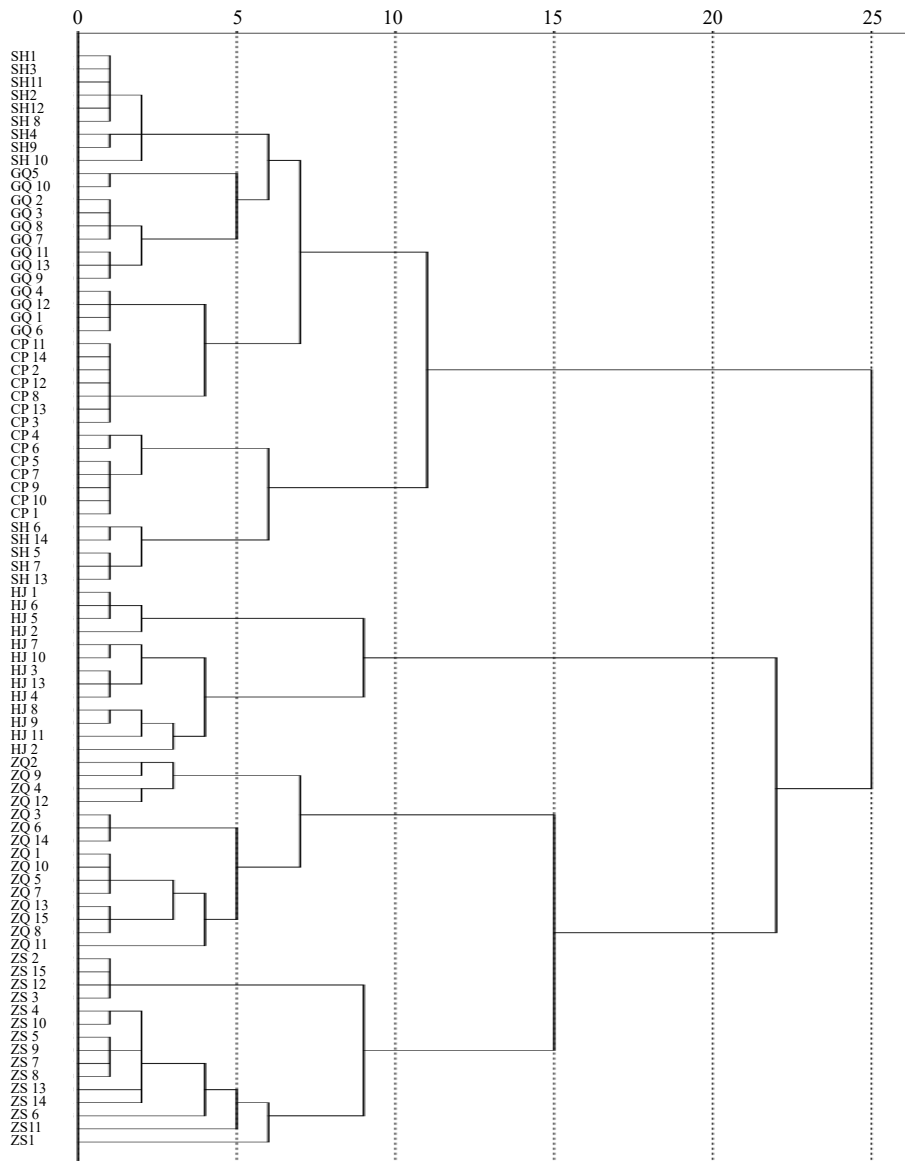


图 3 聚类分析结果

Fig. 3 Result of cluster analysis

橙（酸橙）不同成熟期的果实（枳实、枳壳）归为一类，柚的果实（化橘红）归为另外一类；当判断距离为 10 时，ZS1~ZS15 聚为一类，ZQ1~ZQ15 聚为一类，HJ1~HJ13 聚为另一类，即能将枳实、枳壳、化橘红各单独的聚为一类，个青皮、四花青皮、陈皮无法通过聚类分析进行划分。

2.5.3 主成分分析 以 84 批样品 16 个共有峰的相对峰面积为数据，用 SPSS 20.0 软件对其进行主成分分析，得出相关矩阵的特征值和方差，见表 4，碎石图见图 4。结果显示前 4 个主成分的累积方差贡献率达 87.347%，故选择成分 1、2、3 和 4 作为第 1、2、3 和 4 主成分，可代表柑桔属枳实、枳壳、个青皮、四花青皮、陈皮和化橘红 6 种药材特征图谱共有峰的大部分信息。由碎石图可知其特征值的变化情况，特征曲线有明显拐点，说明前 4 个主成分代表了 6 种芸香科柑桔属药材间的异同。初始因子载荷矩阵（表 5），由结果可知，第 1 主成分主要体现色谱峰 7、13、14、15（橘皮素）和 16 的信息，第 2 主成分主要体现色谱峰 9 的信息，第 3 主成分主要反映了峰 3（柚皮苷）、11 和 12 的信息，第 4 主成分主要反映了峰 1 和峰 5（新橙皮苷）的信息，故 4 个主成分可表示特征图谱的主要信息。计算各样品之间的主成分得分（表 6），不同的品种之间主成分得分差异较大，如枳实的主成分 4 得分最高；枳壳的主成分 2 得分最高；个青皮、四花青皮、陈皮的主成分 1 得分较高；化橘红的主成分 3 得分最高。不同品种的主成分得分存在较大差异。

表 4 主成分特征值及方差

主成分	合计	方差贡献率/%	累积贡献率/%
1	5.802	38.681	38.681
2	3.198	21.319	60.000
3	2.398	15.985	75.985
4	1.704	11.363	87.347
5	0.484	3.225	90.573
6	0.411	2.743	93.316
7	0.298	1.988	95.304
8	0.213	1.420	96.725
9	0.194	1.293	98.018
10	0.102	0.679	98.697
11	0.075	0.500	99.197
12	0.052	0.349	99.545
13	0.039	0.263	99.808
14	0.021	0.141	99.949
15	0.008	0.051	100.000

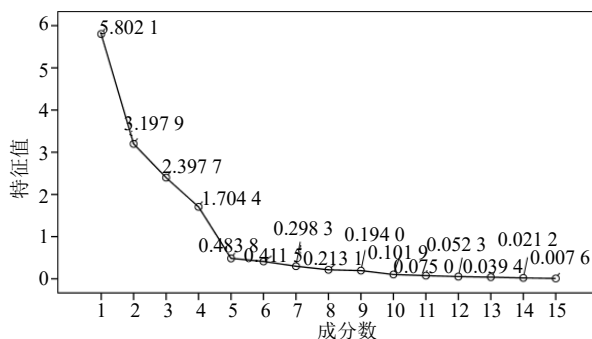


图 4 碎石图

Fig. 4 Stone map

2.5.4 OPLS-DA 以个青皮、四花青皮、陈皮特征图谱的 10 个色谱峰相对峰面积为变量对 3 种药材进行 OPLS-DA 分析。所建立的模型， $R^2_X(\text{cum}) = 0.909$ ， $R^2_Y(\text{cum}) = 0.817$ ， $Q^2(\text{cum}) = 0.783$ ，均大于 0.5，说明该模型稳定可靠，由图 5 可知，该模型可将不同成熟期橘的果实个青皮、四花青皮、陈皮样品分为 3 类，并从 10 个变量的 VIP 值图（图 6）可知，以 $VIP > 1.0$ 为显著影响，共找到 5 个差异标志物，其影响显著性排序为峰 11 > 峰 10 > 峰 7 > 峰 8 > 峰 12，提示这几个化学成分对于区分不同成熟期橘的果实个青皮、四花青皮、陈皮贡献率较大。通过聚类分析能将橙、橘、柚 3 大类药材单独的聚为一类。能较好的区分不同成熟期橙的果实，但无法区分不同成熟期橘的果实，个青皮、四花青皮、陈皮每一类都存在着相互混淆的情况；其原因

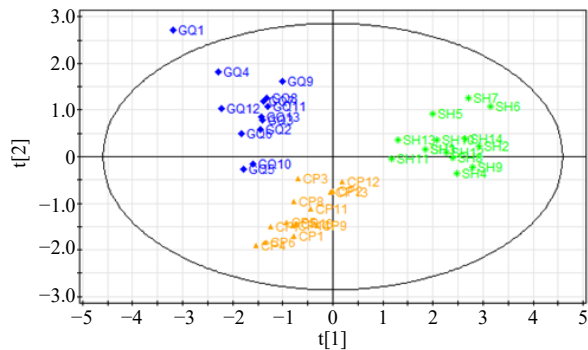
表 5 主要因子载荷矩阵

Table 5 Main factor loading matrix

峰号	载荷			
	1	2	3	4
1	-0.135	0.101	0.212	0.890
2	-0.166	0.735	-0.357	0.151
3	-0.180	-0.038	0.953	-0.054
5	-0.134	-0.035	-0.107	0.952
6	-0.071	0.864	0.202	-0.148
7	0.830	-0.236	-0.078	-0.131
8	0.103	-0.533	-0.452	-0.468
9	-0.065	0.943	-0.089	0.102
10	0.613	-0.451	-0.298	-0.343
11	-0.184	-0.134	0.921	0.011
12	-0.131	0.104	0.920	0.229
13	0.886	-0.306	-0.128	-0.185
14	0.946	0.210	-0.154	0.006
15	0.817	0.501	-0.171	0.058
16	0.924	-0.278	-0.102	-0.161

表 6 主成分得分、综合得分
Table 6 Principal component score, sorting meter of comprehensive score

编号	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4	编号	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4
ZS1	-0.378	0.084	-0.352	1.724	ZQ1	-0.109	1.955	0.173	-0.135
ZS2	-0.167	-0.585	-0.067	3.514	ZQ2	-0.736	0.762	-0.557	-0.223
ZS3	-0.309	-0.459	-0.160	2.851	ZQ3	0.349	2.340	-0.206	0.033
ZS4	-0.389	0.328	-0.359	1.083	ZQ4	-0.506	1.236	-0.184	-0.265
ZS5	-0.503	-0.042	-0.342	1.063	ZQ5	-0.200	1.855	0.082	-0.302
ZS6	-0.820	0.014	-0.518	0.254	ZQ6	0.677	2.843	-0.253	0.205
ZS7	-0.586	0.102	-0.373	0.724	ZQ7	-0.445	1.402	-0.162	-0.240
ZS8	-0.706	-0.118	-0.372	0.711	ZQ8	0.151	2.294	0.010	-0.306
ZS9	-0.482	-0.036	-0.282	1.042	ZQ9	-0.907	0.443	-0.450	-0.278
ZS10	-0.281	0.208	-0.283	1.742	ZQ10	-0.183	1.808	0.018	-0.128
ZS11	-0.280	1.017	-0.670	1.183	ZQ11	-0.391	2.075	0.275	-0.744
ZS12	-0.021	-0.554	-0.101	4.398	ZQ12	-0.652	1.320	-0.523	-0.357
ZS13	-0.678	0.106	-0.509	1.014	ZQ13	0.026	2.707	-0.001	-0.627
ZS14	-0.501	0.362	-0.431	0.573	ZQ14	0.319	2.594	-0.354	0.176
ZS15	-0.056	-0.678	0.019	3.954	ZQ15	0.358	3.138	0.103	-0.596
GQ1	-1.012	-0.614	-0.764	-0.686	SH1	0.207	-0.661	-0.573	-0.599
GQ2	0.629	-0.554	-0.366	-0.418	SH2	0.481	-0.700	-0.554	-0.610
GQ3	0.769	-0.514	-0.347	-0.393	SH3	0.207	-0.661	-0.573	-0.599
GQ4	-1.036	-0.625	-0.816	-0.726	SH4	-0.136	-0.759	-0.709	-0.720
GQ5	-0.531	-0.632	-0.514	-0.514	SH5	2.974	-0.370	0.155	-0.018
GQ6	-1.009	-0.578	-0.735	-0.639	SH6	4.445	-0.084	0.481	0.253
GQ7	0.598	-0.621	-0.435	-0.489	SH7	3.343	-0.393	0.194	-0.006
GQ8	0.601	-0.587	-0.410	-0.469	SH8	0.849	-0.636	-0.367	-0.465
GQ9	0.069	-0.725	-0.671	-0.702	SH9	0.148	-0.763	-0.641	-0.687
GQ10	-0.369	-0.637	-0.475	-0.490	SH10	0.821	-0.598	-0.473	-0.498
GQ11	0.116	-0.655	-0.557	-0.584	SH11	0.235	-0.659	-0.496	-0.538
GQ12	-1.047	-0.629	-0.777	-0.696	SH12	0.571	-0.660	-0.460	-0.536
GQ13	0.258	-0.657	-0.505	-0.557	SH13	1.914	-0.495	-0.058	-0.191
CP1	0.593	-0.441	-0.247	-0.293	SH14	3.374	-0.288	0.255	0.053
CP2	-0.858	-0.724	-0.771	-0.726	HJ1	-0.806	-0.464	0.534	-0.270
CP3	-0.961	-0.712	-0.789	-0.733	HJ2	-0.775	-0.486	0.685	-0.186
CP4	0.445	-0.340	-0.165	-0.186	HJ3	-0.556	-0.361	1.909	-0.177
CP5	0.603	-0.352	-0.247	-0.267	HJ4	-0.582	-0.421	1.846	-0.152
CP6	0.573	-0.342	-0.154	-0.182	HJ5	-0.864	-0.455	0.171	-0.305
CP7	0.387	-0.447	-0.295	-0.326	HJ6	-0.825	-0.420	0.339	-0.248
CP8	-0.884	-0.736	-0.719	-0.695	HJ7	-0.476	-0.140	2.676	-0.432
CP9	0.940	-0.399	-0.184	-0.248	HJ8	-0.464	-0.521	2.886	-0.244
CP10	0.902	-0.347	-0.195	-0.235	HJ9	-0.576	-0.514	1.937	-0.106
CP11	-0.849	-0.684	-0.698	-0.655	HJ10	-0.390	0.081	3.012	-0.385
CP12	-0.872	-0.719	-0.805	-0.749	HJ11	-0.649	-0.580	1.757	-0.256
CP13	-0.600	-0.720	-0.708	-0.695	HJ12	-0.169	-0.348	5.039	-0.333
CP14	-0.814	-0.692	-0.631	-0.613	HJ13	-0.534	-0.478	1.838	0.179



GQ-个青皮 CP-陈皮 SH-四花青皮
GQ-*Fructus Citri Immaturus* CP-*Pericarpium Citri Reticulatae*
SH-*Tangerine Peel*

图 5 个青皮、四花青皮和陈皮的 OPLS-DA 分析 Scores 图
Fig. 5 Scores diagram of OPLS-DA analysis of *Fructus citri immaturus*, *Pericarpium Citri Reticulatae* and *Tangerine peel*

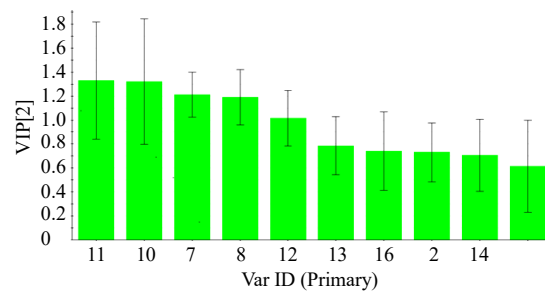


图 6 10 个色谱峰的 OPLS-DA 分析 VIP 图

Fig. 6 VIP values of 10 chromatographic peaks by OPLS-DA analysis

可能为芸香科橘采摘期较难控制，如个青皮 GQ4、GQ12、GQ1、GQ6 被聚类到陈皮类，推测上述 4 批个青皮可能为接近成熟或成熟橘脱落的果实，通

过观察上述4批个青皮的药材性状时发现其果实较大,果皮颜色偏浅黄色,进一步验证了上述推测。四花青皮 SH6、SH14、SH7、SH13 和陈皮 CP4、CP6、CP5、CP7、CP10、CP1 被聚为一类,原因可能为这10批样品的成熟度接近,或因为橘的栽培变种较多,这10批样品属于某个变种的果实。由主成分分析可知,不同品种之间的主成分得分存在差异,如枳实的主成分4得分最高,而峰1和峰5(新橙皮苷)对主成分4的贡献率最大,由此推断峰1和峰5(新橙皮苷)是影响枳实与其他芸香科药材区分的主要因素。同理推测峰9是影响枳壳与其他芸香科药材区分的主要因素;峰7、13、14(川陈皮素)、15(橘皮素)、16是影响橘(个青皮、四花青皮、陈皮)与其他芸香科药材区分的主要因素;峰3(柚皮苷)、11、12是影响化橘红与其他芸香科药材区分的主要因素。通过 OPLS-DA 单独分析不同成熟期橘的果实时,能将个青皮、四花青皮和陈皮明显的区分出来。综上所述,不同芸香科药材间存在一定的差异。

3 讨论

黄酮类成分作为芸香科柑桔属药材中的活性成分,枳实中主要成分为新橙皮苷,枳壳中柚皮苷的含量最高,化橘红药材中柚皮苷的含量占绝对主导地位,青皮与陈皮药材中橙皮苷的含量都为最高。不同柑桔属药材中黄酮类成分含量及种类均有显著性差异,且随着成熟度的增加,黄酮类成分的总量呈下降趋势^[15-16]。临床药效表明陈皮的理气作用弱于青皮,枳壳的理气作用弱于枳实。其原因可能与黄酮类成分的含量下降有关。

本研究建立的 HPLC 特征图谱方法较全面地反映了芸香科柑桔属药材的化学成分,分析方法简便、准确可靠,利用聚类分析和 OPLS-DA 可以准确的区分上述芸香科柑桔属6种药材,为芸香科药材资源的进一步研究提供了依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 12.

- [2] 许茹. 柑橘属几种常用理气药的本草学研究 [D]. 福建: 福建农林大学, 2013.
- [3] 邵红霞, 代云桃, 秦雪梅, 等. 陈皮青皮和枳壳中黄酮类成分的指纹图谱研究进展 [J]. 山西医药杂志, 2007(10): 898-900.
- [4] 高喜梅, 王晓凤, 周冰倩, 等. HPLC 多波长条件下陈皮指纹图谱及“一测多评”法的建立 [J]. 中药材, 2019(11): 2598-2602.
- [5] 李锦, 赵晓莉. 青皮饮片 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(12): 82-84.
- [6] 高喜梅, 池玉梅, 张雯, 等. 指纹图谱结合一测多评法评价酸橙枳实质量的研究 [J]. 中草药, 2020, 51(9): 2548-2556.
- [7] 罗小泉, 李姗姗, 陈海芳, 等. 江西道地药材枳壳 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国新药杂志, 2018, 27(24): 2949-2953.
- [8] 晏祥文, 钟一平, 吕世懂, 等. 基于挥发性组分结合化学计量学方法的铁观音乌龙茶和软枝乌龙茶模式识别分析 [J]. 食品研究与开发, 2019, 40(20): 155-163.
- [9] 魏泉增, 臧蓓蕾, 肖付刚. 不同蜜源蜂蜜挥发性成分差异分析 [J]. 食品研究与开发, 2020, 41(15): 143-149.
- [10] 盛钊君, 葛思媛, 张焜, 等. 新会柑胎仔与青皮、陈皮的黄酮含量分析与比较 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(20): 135-139.
- [11] 吕小梨, 林彦朝, 陈红英. 青皮配方颗粒质量标准研究 [J]. 中国药业, 2019, 28(24): 40-42.
- [12] 贾富霞, 王秀娟, 罗容. 酸橙枳实 HPLC 指纹图谱方法研究及6种黄酮类药效组分的含量测定 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(12): 2917-2920.
- [13] 陈欢, 高萌, 罗小泉, 等. 不同产地枳壳药材中12种有效成分的主成分分析和判别分析 [J]. 中草药, 2019, 50(14): 3433-3437.
- [14] 梁冰丽, 宋景政, 黄雄梅, 等. 青皮饮片标准煎液质量评价研究 [J]. 中药与临床, 2019, 10(Z2): 4-7.
- [15] 史锐, 吴品昌. 芸香科柑桔属黄酮类成分质量研究 [J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(6): 1390-1391.
- [16] 许姗姗, 许浚, 张笑敏, 等. 常用中药陈皮、枳实和枳壳的研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 35-44.

[责任编辑 时圣明]