

基于“质-量”双标的枳壳质量分析方法研究

罗曦¹, 包永睿^{1,2,3}, 李天娇^{1,2,3}, 王帅^{1,2,3}, 韩凌⁴, 韩晓妮⁴, 孟宪生^{1,2,3*}

1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600
2. 辽宁省中药多维分析专业技术创新中心, 辽宁 大连 116600
3. 辽宁省现代中药研究工程实验室, 辽宁 大连 116600
4. 华润三九医药股份有限公司, 广东 深圳 518110

摘要:目的 建立以对照药材为基准物质的定性和不依赖多种对照品定量的枳壳 *Aurantii Fructus* 药材“质-量”双标控制方法。方法 采用 HPLC 技术, 以对照药材为基准物质建立枳壳特征图谱, 通过 Q-TOF-MS 技术, 鉴定共有峰的化学成分, 以对照药材和供试药材特征峰的相似度, 明确药材真伪, 即“质”; 对内标成分“柚皮苷”进行准确定量, 以内标成分计, 计算不同批次供试品中各特征峰的相对含量, 取“平均数—标准差”作为特征峰化学成分相对于内标物质化学成分的相对含量下限, 依据特征峰相对含量下限明确枳壳药材优劣, 即“量”。结果 建立的特征图谱及含量测定方法符合方法学考察要求; 确定了 11 个共有色谱峰, 鉴定出了 7 个化学成分, 分别为圣草次苷、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、川陈皮素、橘皮素, 各枳壳供试药材与枳壳对照药材的相似度均大于 0.90; 规定了枳壳药材特征峰化学成分相对含量下限。结论 该方法不依赖多种对照品, 能清晰、快速地判断药材的真伪优劣, 为枳壳的质量控制方法提供参考。

关键词: 枳壳; 对照药材; 质量控制; 特征图谱; 圣草次苷; 芸香柚皮苷; 柚皮苷; 橙皮苷; 新橙皮苷; 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(2023)22-7293-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.22.003

Research on quality analysis method of *Aurantii Fructus* based on “quality-quantity” double standard

LUO Xi¹, BAO Yong-rui^{1,2,3}, LI Tian-jiao^{1,2,3}, WANG Shuai^{1,2,3}, HAN Ling⁴, HAN Xiao-ni⁴, MENG Xian-sheng^{1,2,3}

1. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China
2. Liaoning Multi-dimensional Analysis of Traditional Chinese Medicine Technical Innovation Center, Dalian 116600, China
3. Liaoning Modern Traditional Chinese Medicine Research and Engineering Laboratory, Dalian 116600, China
4. China Resources Sanjiu Medical & Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen 518110, China

Abstract: Objective To establish a “quality-quantity” double standard control method for Zhiqiao (*Aurantii Fructus*), which is qualitative based on the reference traditional Chinese medicinal materials (TCMM) as standard substances and quantitative without relying on multiple reference substances. **Methods** HPLC technology was used to establish the characteristic atlas of *Aurantii Fructus* based on the reference TCMM as standard substances. The chemical constituents of common peaks were identified by Q-TOF-MS technology, and the authenticity of *Aurantii Fructus* was determined by the similarity of characteristic peaks of the reference TCMM and the tested TCMM. The above statement is “quality”. The relative content of each characteristic peak in different batches of the tested TCMM was calculated by accurate quantitation of internal standard component naringin. The “average value—standard deviation” was taken as the lower limit of the relative content of characteristic peak chemical components relative to chemical composition of internal standard substance, and the quality of *Aurantii Fructus* was determined according to the lower limit of the relative content of characteristic peak. The above statement is “quantity”. **Results** The characteristic atlas and content determination method met the requirements of methodology investigation. A total of 11 common chromatographic peaks were determined, and seven chemical components were identified, which were eriocitrin, narinutin, naringin, hesperidin, neohesperidin, nobiletin, tangeretin. The similarity between the tested TCMM and reference TCMM was greater than 0.90. The lower limit of relative content of chemical components of *Aurantii Fructus* characteristic peak was defined. **Conclusion** The method can judge the authenticity of medicinal materials clearly and quickly without many reference substances, and provide reference for quality control of *Aurantii Fructus*.

收稿日期: 2023-05-06

基金项目: 辽宁省科技创新领军人才 (XLYC1902116); 气滞胃痛颗粒产品力提升研究

作者简介: 罗曦, 女, 博士研究生, 主要从事药物分析研究。E-mail: heyrocey@163.com

*通信作者: 孟宪生, 男, 博士生导师, 主要从事药效物质组学和作用机制整合研究。E-mail: mxsvvv@126.com

Key words: *Aurantii Fructus*; reference traditional Chinese medicinal materials; quality control; characteristic chromatogram; eriocitrin; narirutin; naringin; hesperidin; neohesperidin; nobiletin; tangeretin

枳壳为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥未成熟果实^[1], 主产于四川、江西和浙江, 在湖北、湖南和重庆等地也有分布^[2]。枳壳的基原植物在历史上变迁复杂, 曾有陈皮和枸橼等伪品作为枳壳入药^[3-4], 影响中药枳壳的临床合理使用。目前, 中药材(饮片)质量控制方法主要包括单指标含量测定法、多指标含量测定法和指纹图谱与含量测定结合法^[5-10], 以上方法具有灵敏度高、重复性好的优点, 能够为控制枳壳药材质量提供量化数据, 但存在着单一指标不能反映药材整体特征、多指标含量测定依赖于多种对照品且某些指标成分不能反映药效、指纹图谱只能模糊地评价药材相似性不能清晰地判断供试品真伪优劣的不足, 且中药复杂体系质量评控技术难度和高额成本给中药企业带来了巨大的压力, 因而对中药临床合理用药和临床疗效提升的指导和支持作用一直难以体现。

为弥补目前枳壳药材质量控制的不足, 本课题组提出了基于“质-量”双标的枳壳质量分析方法研究, 紧扣中药多成分、多功效和整合作用的质量内涵和特点, 以能够反映其药效的化学成分为指标; 采用 1 种内标物质对特征峰化学成分进行相对定量, 尽可能控制供试药材有效化学成分含量同时, 不需要大量购买对照品, 在满足中药化学成分“整体性”与“清晰性”的同时减轻了中药复杂体系质量评控成本。本方法以对照药材为基准物质构建特征图谱, 并以可代表枳壳药效的有限个代表性成分作为特征峰, 评价对照药材和供试药材特征峰的相似度, 可以用于判断枳壳的真伪; 选用保留时间稳定且价格低廉易获得的内标物质作为定量评价指标, 开展基于内标物质的特征峰化学成分相对定量研究, 通过内标物质化学成分准确定量, 计算供试药材特征峰化学成分的相对含量, 可用于判断枳壳的优劣。基于“质-量”双标的枳壳质量分析方法可有效解决枳壳有效成分同时快速测定和中药复杂体系质量评控成本高的问题。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent-1260II 高效液相色谱仪; Agilent 6550 Q-TOF-MS 质谱仪(美国安捷伦科技有限公司)。

1.2 材料

枳壳对照药材(批号 120981-201605, 中国食品药品检定研究所); 枳壳药材信息见表 1, 经辽宁中医药大学张慧教授鉴定为芸香科植物酸橙 *C. aurantium* L. 的干燥未成熟果实; 柚皮苷对照品(批号 110722-202116), 新橙皮苷对照品(批号 111857-201804), 橙皮苷对照品(批号 110721-202220), 川陈皮素对照品(批号 112055-202102), 橘皮素对照品(批号 112054-202102)均由中国食品药品检定研究所提供, 质量分数均 $\geq 98\%$; 芸香柚皮苷对照品(批号 WKQ-0028898), 圣草次苷对照品(批号 WKQ-0000513)均由四川省维克奇生物科技有限公司提供, 质量分数均 $\geq 98\%$; 乙腈(质谱级, 德国 Merck 公司); 水(纯净水, 杭州娃哈哈集团有限公司)。

表 1 枳壳来源及批号信息

Table 1 Origin and batch information of *Aurantii Fructus*

编号	产地	批号	采收时间	用药部位
S1	江西宜春	1909013	2019-09	未成熟果实
S2	江西吉安	20190901	2019-09	未成熟果实
S3	江西樟树	211014002	2021-09	未成熟果实
S4	浙江衢州	1910005	2019-10	未成熟果实
S5	浙江金华	202008016	2020-08	未成熟果实
S6	四川巴中	202109017	2021-09	未成熟果实
S7	湖南沅江	2107016	2021-07	未成熟果实
S8	山东大别山	220819004	2022-08	未成熟果实
S9	湖北孝感	1910012	2019-10	未成熟果实
S10	河北保定	210905012	2021-09	未成熟果实

2 方法与结果

2.1 基于枳壳对照药材的特征图谱建立

2.1.1 供试品溶液的制备 取枳壳对照药材粉末 0.50 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 称定重量, 加热回流 1 h, 放冷, 补足减失质量, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 作为参照物溶液; 取供试药材粉末(过 4 号筛) 0.50 g, 按上述方法制成供试品溶液;

2.1.2 对照品溶液的制备 取适量对照品芸香柚皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、橙皮苷、圣草次苷、川陈皮素、橘皮素对照品精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇, 摇匀, 作为混合对照品溶液。

2.1.3 色谱条件 色谱柱: Agilent EC-C₁₈ 色谱柱(100 mm \times 3.0 mm, 2.7 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水

(A) -乙腈 (B), 进行梯度洗脱: 0~10 min, 5%~15% B; 10~15 min, 15%~18% B; 15~25 min, 18%~50% B; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; DAD 检测器波长 330 nm; 进样量 5 μL。

2.1.4 特征图谱的建立 将参照物溶液和供试品溶液, 每份样品平行 2 次, 按色谱条件依次进样检测, 将 330 nm 波长下的图谱数据由分析检测仪器中导入中国药典委员会“中药指纹图谱相似度评价软件”(2012.130727 版本), 获得枳壳药材的 HPLC 特征图谱, 见图 1。以枳壳对照药材的图谱为参照图谱, 使用中位数进行自动匹配, 加以多点校正, 共标定 11 个共有峰, 共有峰面积占特征图谱的 75%以上, 其中 5 号峰稳定性、重复性、分离度好、位置居中, 故以其为参照峰 (S); 将共有模式与对照药材特征图谱进行比对, 见图 2。枳壳供试品色谱图中应呈现 11 个特征峰, 并应与对照药材色谱图中的 11 个特征峰保留时间相对应, 见表 2。

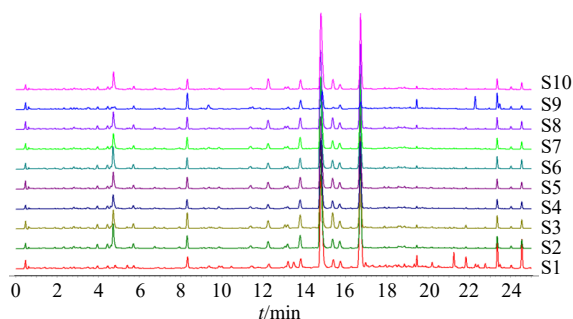


图 1 10 批枳壳供试药材的 HPLC 叠加图谱

Fig. 1 HPLC chromatogram overlay of ten batches of tested traditional Chinese medicinal materials of *Aurantii Fructus*

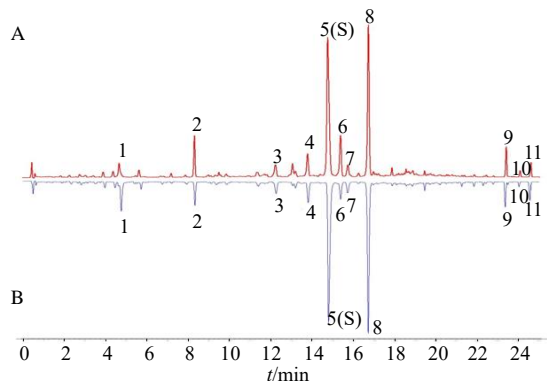


图 2 对照药材特征图谱 (A) 及供试药材共有模式 (B)

Fig. 2 Characteristic chromatogram of reference traditional Chinese medicinal materials (A) and common model of tested traditional Chinese medicinal materials (B)

表 2 特征峰保留时间及相对保留时间

Table 2 Characteristic peak retention time and relative retention time

峰号	t_R /min	相对保留时间
1	4.479 ± 0.030	0.321 1 ± 0.001 9
2	8.326 ± 0.008	0.563 0 ± 0.000 4
3	12.252 ± 0.012	0.828 5 ± 0.000 7
4	13.807 ± 0.010	0.933 7 ± 0.000 4
5 (S)	14.789 ± 0.010	—
6	15.381 ± 0.011	1.040 1 ± 0.000 6
7	15.723 ± 0.011	1.063 1 ± 0.000 7
8	16.715 ± 0.006	1.130 4 ± 0.000 4
9	23.357 ± 0.003	1.579 4 ± 0.001 0
10	24.026 ± 0.004	1.624 6 ± 0.001 1
11	24.546 ± 0.003	1.659 9 ± 0.001 1

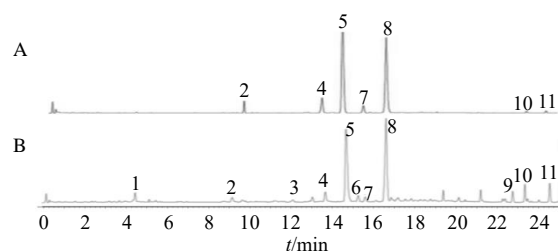
2.2 方法学考察

2.2.1 专属性试验 分别取混合对照品溶液、供试品溶液进行测定, 各主峰与杂质峰分离度良好, 专属性强, 见图 3。

2.2.2 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 5 μL, 按“2.1.3”项下色谱条件测定, 连续进样 6 次, 测定各色谱峰相对保留时间、相对峰面积, 计算 RSD。各色谱峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 值均小于 1.0%, 表明仪器精密度良好。

2.2.3 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 5 μL, 按“2.1.3”项下色谱条件, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样 6 次检测, 测定各色谱峰相对保留时间、相对峰面积, 计算 RSD。各色谱峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 值均小于 2.4%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.4 重复性试验 按供试品溶液制备方法制备 6



2-圣草次苷 4-芸香柚皮苷 5-柚皮苷 7-橙皮苷 8-新橙皮苷
10-川陈皮素 11-橘皮素
2-eriocitrin 4-narirutin 5-naringin 7-hesperidin 8-neohesperidin 10-nobiletin 11-tangeretin

图 3 混合对照品溶液 (A) 和枳壳供试品溶液 (B) 的色谱图
Fig. 3 Chromatographic diagram of mixed reference solution (A) and *Aurantii Fructus* solution (B)

份供试样品,按“2.1.2”项下色谱条件,分别进样检测,测定各色谱峰相对保留时间、相对峰面积,计算 RSD。各色谱峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 值均小于 1.9%,表明方法重复性良好。

2.3 相似度评价

采用中国药典委员会“中药指纹图谱相似度评价软件”(2012.130727 版本)进行数据处理,该软件利用夹角余弦法计算每个色谱图与对照药材图谱相比较的相似度。以枳壳对照药材和供试药材特征峰的相似度明确枳壳药材真伪,按中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算供试品与对照药材特征图谱的相似度应不得低于 0.90。枳壳供试药材与枳壳对照药材的相似度均大于 0.97,说明所收集的枳壳供试药材的特征峰化学成分基本一致,质量相对稳定。相似度计算结果见表 3。

表 3 供试药材相似度评价结果

Table 3 Evaluation of similarity for tested traditional Chinese medicinal materials

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.984	S6	0.998
S2	0.999	S7	0.999
S3	0.999	S8	1.000
S4	0.997	S9	0.976
S5	0.999	S10	0.999

2.4 特征峰化学分解析

在初步采用 Agilent-1260II 高效液相色谱仪利用相对保留时间与对照品比对的基础上,采用 Agilent 6550 Q-TOF-MS 质谱仪,进行质谱分析,运用 Agilent MassHunter Qualitative Analysis 软件,通过对照品比对的方法对正、负离子模式进行化学分解析,进一步明确特征峰的化学成分。

2.4.1 色谱分析条件

色谱柱: Agilent poroshell

120 SB-C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱: 0~5 min, 5%~15% B; 5~10 min, 15%~18% B; 10~20 min, 18%~50% B; 20~25 min, 50%~78% B; 体积流量 0.6 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 1 μL。

2.4.2 质谱分析条件 电喷雾离子源 (Dual AJS ESI), 正、负离子模式, 毛细管电压 (V_{cap}) 为 3500 V, 干燥气体体积流量 (drying gas flow) 为 11 L/min, 干燥气体温度 (drying gas temp) 为 150 °C, 雾化器压力 (neulizer pressure) 为 172.4 kPa, 鞘气温度 (sheath gas temp) 为 350 °C, 鞘气体积流量 (sheath gas flow) 为 10 L/min, 质量扫描范围 (mass range) 为 *m/z* 100~1000。

采用 auto MS/MS 模式, 利用对照品比对及数据库查询等方法对特征峰化学成分进行解析。正、负离子模式鉴定出了 11 个特征峰中的 7 个化学成分, 见图 4。其中, 2 号峰为圣草次苷、4 号峰为芸香柚皮苷、5 号峰为柚皮苷、7 号峰为橙皮苷、8 号峰为新橙皮苷、10 号峰为川陈皮素、11 号峰为橘皮素, 鉴定结果见表 4。

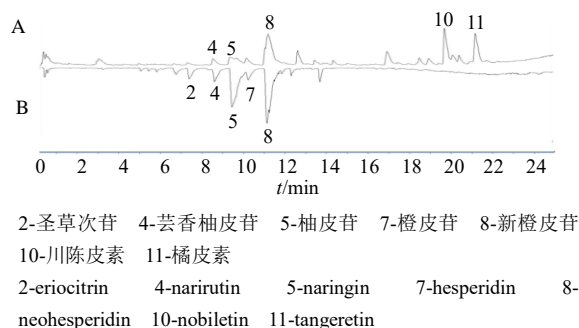


图 4 枳壳正 (A)、负 (B) 离子模式总离子流图

Fig. 4 Total ion flow chart of *Aurantii Fructus* in positive (A) and negative modes (B)

表 4 正、负离子模式特征峰化学分解析结果

Table 4 Analytical results of chemical composition of characteristic peaks of positive and negative ion modes

峰号	分子式	<i>t_R</i> /min	准分子离子峰	<i>m/z</i>		误差/(×10 ⁻⁶)	离子碎片 (<i>m/z</i>)	化合物名称
				实测值	理论值			
2	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	6.757	[M-H] ⁻	595.166 2	595.166 8	1.08	151.002 9, 135.044 5	圣草次苷 ^s
4	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	8.686	[M+Na] ⁺	603.165 5	603.168 4	4.85	331.097 7, 175.118 6	芸香柚皮苷 ^s
		8.626	[M-H] ⁻	579.174 0	579.171 9	0.05	455.838 5, 272.066 1	芸香柚皮苷 ^s
5	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	9.621	[M+Na] ⁺	603.166 9	603.168 4	2.53	331.097 9	柚皮苷 ^s
		9.498	[M-H] ⁻	579.174 0	579.171 9	0.05	459.117 2, 151.004 5	柚皮苷 ^s
7	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	10.426	[M-H] ⁻	609.184 2	609.182 5	-2.80	577.159 3, 302.076 1	橙皮苷 ^s
8	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	11.196	[M+Na] ⁺	633.177 4	633.179 0	2.51	331.098 0	新橙皮苷 ^s
		11.180	[M-H] ⁻	609.184 2	609.182 5	-2.80	301.076 1, 151.004 3	新橙皮苷 ^s
10	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	20.169	[M+Na] ⁺	425.122 8	425.120 7	-4.97	395.058 0, 233.060 1	川陈皮素 ^s
11	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	21.848	[M+Na] ⁺	395.110 3	395.110 1	-0.45	365.052 3, 233.058 6, 121.240 0	橘皮素 ^s

^s该化合物是由对照品进行指认

^sThis compound was identified using reference standards

2.5 基于内标物质的特征峰化学成分相对定量研究

2.5.1 线性关系试验 配制柚皮苷的 6 个质量浓度溶液,按色谱条件,分别进样检测,以质量为横坐标 (X),峰面积为纵坐标 (Y),绘制标准曲线并进行线性回归,得到线性回归方程 ($Y=1\ 626.0 X-4.437\ 9$)、相关系数 ($r=1.000\ 0$)和线性范围 ($0.166\ 6\sim 1.416\ 0\ \mu\text{g}$)。结果表明进样量范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5.2 精密度试验 同“2.2.2”项下方法,计算柚皮苷色谱峰相对峰面积 RSD 值均小于 1.60%,表明仪器精密度良好。

2.5.3 稳定性试验 同“2.2.3”项下方法,计算柚皮苷色谱峰相对峰面积 RSD 值均小于 2.71%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.4 重复性试验 同“2.2.4”项下方法,计算柚皮苷色谱峰相对峰面积 RSD 值均小于 2.30%,表明方法重复性良好。

2.5.5 加样回收率试验 精密称定枳壳药材粉末 6 份,分别精密加入柚皮苷对照品适量,按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件,分别进样检测,计算得到柚皮苷的平均加样回收率为 99.20%,RSD 为 1.18%。

2.5.6 耐用性试验 精密吸取同一供试品溶液,考察不同规格的色谱柱 (Agilent poroshell 120 SB-C₁₈、Agilent poroshell 120 EC-C₁₈)、不同的高效液相色谱仪 (Agilent-1260II 高效液相色谱仪、Agilent-1290 型高效液相色谱仪)、不同柱温 (25、30、35 ℃)及不同体积流量 (0.6、0.8、1.0 mL/min)对检测结果的影响。结果显示,指认出的 7 个化学成分的相对保留时间的 RSD 均小于 2.57%,相对峰面积的 RSD 均小于 1.93%,表明该方法的耐用性良好。

2.5.7 含量测定 根据《中国药典》2020 年版枳壳“含量测定”项下方法检测,10 批产地供试品中,除来自于湖北孝感 (S9) 的供试品以外,其余供试品均能符合药典规定 (含柚皮苷不得少于 4.0%,新橙皮苷不得少于 3.0%),统计计算时舍弃了 S9。5 号峰“柚皮苷”为《中国药典》2020 年版中枳壳“含量测定”项下的指标之一,该峰分离效果好、保留时间稳定居中、对照品价格低廉,故以其作为内标物质,开展基于内标物质的特征峰化学成分相对定量研究。取供试品药材,按“2.1.1”项下方法制备

供试品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件分析测定柚皮苷含量,每个供试品平行 2 份,结果见表 5。计算每个供试品中特征峰化学成分的相对含量,结果见表 6。

特征峰化学成分相对含量=特征峰峰面积×(柚皮苷含量/柚皮苷峰面积)

取“平均数-标准差”作为特征峰化学成分相对于内标物质化学成分的相对含量下限,供试药材根据此方法测得的特征峰相对含量不低于该含量下限^[11]。按以上方法计算湖北孝感枳壳 (S9) 各特征峰的相对含量,其中 8 号峰新橙皮苷特征峰相对含量为 1.294 1%,低于下限,说明建立的特征峰相对含量下限可以区分枳壳的优劣,能够解决劣质枳壳导致临床药效不佳的现象。

表 5 内标物质柚皮苷的准确定量结果 ($n=2$)

Table 5 Accurate quantitative results of naringin as an internal standard substance ($n=2$)

编号	柚皮苷/%	编号	柚皮苷/%
S1	2.535 6	S6	2.138 8
S2	2.362 6	S7	1.811 3
S3	2.236 1	S8	2.013 4
S4	1.764 7	S10	1.929 0
S5	1.819 9		

表 6 基于内标物质的特征峰相对定量结果

Table 6 Relative quantitative results of characteristic peaks based on internal standard substance

峰号	化学成分	峰面积	相对含量/%	相对含量下限/%
2	圣草次苷	253.543±41.141	0.184 9±0.030 0	0.154 9
4	芸香柚皮苷	313.219±47.931	0.228 4±0.034 9	0.193 5
5(S)	柚皮苷	2 835.550±369.238	—	—
7	橙皮苷	169.979±28.211	0.142 9±0.020 6	0.122 3
8	新橙皮苷	2 395.087±563.311	1.746 2±0.410 7	1.335 5
10	川陈皮素	49.857±7.279	0.036 4±0.005 3	0.031 1
11	橘皮素	206.464±145.102	0.117 2±0.014 7	0.102 5

3 讨论

中药化学成分复杂、品种来源宽泛,导致中药质量良莠不齐。完善中药质量控制标准,一直被认为是制约我国传统中医药现代化发展的重点、难点问题。目前,《中国药典》2020 年版中质量控制项对多成分指标进行测定的中药品种已有上百种,且有些对照品价格昂贵,加大了企业生产和民众的用药成本。枳壳的基原植物在历史上变迁复杂,入药植物亲缘十分相近,导致混伪品作为枳壳入药,容

易造成鉴别困难与临床用药混乱的现象,影响中药枳壳的临床合理使用。本研究创新研究思路,建立以价格低廉易获得的对照药材为基准物质的定性和不依赖多种对照品相对定量的枳壳药材“质-量”双标控制方法。通过构建枳壳对照药材及 10 个不同产地枳壳供试药材的特征图谱,以对照药材为基准物质,评价对照药材和供试药材特征峰的相似度,可以用于判断枳壳药材的真伪,即“质”;同时准确定量 1 种内标物质化学成分,计算枳壳药材其余各特征峰的相对含量,确定的各特征峰相对含量的下限能够区分枳壳药材优劣,即“量”。

本研究以信噪比大于 10、分离度大于 1.5 作为特征峰的选取依据,共确定了 11 个特征峰。特征峰化学成分的基本母核通过质谱技术指认为 2-苯基色原酮^[12],芸香柚皮苷具有抗氧化和的小肠推进作用;柚皮苷具有抗胃溃疡的生物活性;橙皮苷可促进胃肠动力;新橙皮苷具有胃肠激素调节作用;川陈皮素具有抗炎和调节胃肠动力等药理作用;橘皮素对结肠癌具有一定的治疗作用^[13-21]。上述化学成分均为枳壳发挥其“理气宽中、行滞消胀”功效和抗炎、抗氧化、抗癌药理作用的活性化学成分,能全面科学地反映枳壳的内在质量。根据本课题组前期药效实验结果,湖北孝感枳壳促进胃肠动力作用不明显,且湖北孝感枳壳供试品中 8 号特征峰新橙皮苷相对含量低于下限,有文献报道,新橙皮苷可显著促进斑马鱼肠道蠕动^[22],新橙皮苷能够影响胃肠激素分泌,从而促进脾虚模型大鼠的胃肠运动^[23],说明本方法建立的相对含量下限可以区分枳壳的优劣,能够解决劣质枳壳导致临床药效不佳的问题。

本实验所收集的市面所售不同产地供试品,旨在建立基于“质-量”双标的枳壳质量分析方法,所收集的枳壳供试药材与枳壳对照药材的相似度均大于 0.90^[24],说明所收集的枳壳供试药材的特征峰化学成分基本一致,但仅采用 10 批不同产地的药材规定特征峰相对含量下限,缺乏全面性,因此,需要更进一步大量收集不同产地、不同批次的药材,完善该套方法,以期有效判断药材的真伪优劣,形成一个科学、可控的中药质量控制体系,在满足药材多项质量控制项的同时减轻企业需大量购买对照品的经济压力,推动中医药事业可持续发展。

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: 257.
- [2] 胡蓉,李忠贵,肖草茂,等. 枳实、枳壳药材基原及道地产地的变迁 [J]. 中药材, 2019, 42(3): 686-689.
- [3] 赵佳琛,王艺涵,翁倩倩,等. 经典名方中枳实与枳壳的本草考证 [J]. 中国现代中药, 2020, 22(8): 1175-1184.
- [4] 赵维良,郭增喜,张文婷,等. 药材枳壳基原植物种类及地理分布研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(21): 4361-4364.
- [5] 周湘媛,陈万发,丁青,等. 基于 UPLC 指纹图谱和多成分定量评价不同产地升麻药材质量 [J]. 中草药, 2022, 53(17): 5497-5503.
- [6] 姬翔宇,张子雯,陈姿伊,等. 一测多评法同时测定雷公藤药材及制剂雷公藤多苷片中 7 个质控成分 [J]. 中草药, 2022, 53(17): 5338-5347.
- [7] 冯媛,郭龙,常雅晴,等. 基于指纹图谱和多成分含量测定的关黄柏及川黄柏差异性研究 [J]. 中草药, 2022, 53(16): 5179-5184.
- [8] 陆超颖,王佳丽,王洪兰,等. 不同基原枳实药材的质量差异评价研究 [J]. 中草药, 2022, 53(14): 4493-4503.
- [9] 罗家敏,高雯,李萍. 指纹图谱结合一测多评法的栀子质量控制方法研究 [J]. 中草药, 2022, 53(11): 3480-3486.
- [10] 任明军,胡云飞,朱永波,等. 基于色谱指纹图谱和含量测定相结合的青风藤质量控制方法研究 [J]. 中草药, 2022, 53(5): 1338-1344.
- [11] 王梦林,巴寅颖,武秋红,等. 基于有效基准特征图谱质量表征的中药荷叶质量评价研究 [J]. 环球中医药, 2022, 15(6): 940-948.
- [12] Liu X Y, Fan M L, Wang H Y, et al. Metabolic profile and underlying improved bio-activity of *Fructus Aurantii Immaturus* by human intestinal bacteria [J]. *Food Funct*, 2017, 8(6): 2193-2201.
- [13] 曹汝鸽,马建飞,周中凯. 芸香柚皮苷与 EGCG 协同抗氧化作用及其机理研究 [J]. 中国食品学报, 2018, 18(1): 42-48.
- [14] 谭舒舒,陈海芳,罗小泉,等. 枳壳中芸香柚皮苷和橙皮苷配伍对正常小鼠小肠推进作用的影响 [J]. 江西中医药大学学报, 2017, 29(4): 73-75.
- [15] 王淑英,王天祺,朱琳淼,等. 柚皮苷对小鼠阿司匹林性胃溃疡的保护作用 [J]. 河南科技大学学报: 医学版, 2017, 35(3): 172-174.
- [16] 谭人千,鞠静,凌江红. 橙皮苷促胃肠动力机制研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(11): 2458-2460.
- [17] 谭舒舒,陈海芳,宋玉鹏,等. 枳壳及其主要活性成分对脾虚模型大鼠血清胃泌素、血浆乙酰胆碱、胃动素、P 物质和血管活性肠肽的影响 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(5): 1037-1040.

- [18] 肖哲. 川陈皮素与阿魏酸通过抗炎与氧化应激及调控胃饥饿素发挥类似枳壳当归的抗抑郁促动力作用 [D]. 厦门: 厦门大学, 2017.
- [19] 熊永建. 川陈皮素诱导肠动力平衡和缓解炎性肠病研究 [D]. 大连: 大连医科大学, 2015.
- [20] 周黎明. 橘皮素通过 microRNA-21 增敏 5-FU 对结肠癌细胞生长抑制作用的分子机制研究 [A] // 中国药理学会第十三届全国化疗药理学术研讨会会议论文集 [C]. 沈阳: 中国药理学会, 2016: 77-78.
- [21] 周黎明. 橘皮素通过下调 microRNA-21 的表达体内外协同增敏 5-氟尿嘧啶对结肠癌的化疗效果 [A] // 第十二届全国化疗药理学术研讨会会议论文集 [C]. 成都: 中国药理学会, 2014: 83-89.
- [22] 曲中原, 李苏楠, 孙志伟, 等. 枳实化学成分与治疗功能性消化不良关联性分析及实验验证 [J]. 中草药, 2022, 53(20): 6521-6528.
- [23] 胡源祥, 陈海芳, 宋玉鹏, 等. 枳实及其主要活性成分促进脾虚模型大鼠胃肠运动的机制研究 [J]. 中国药房, 2017, 28(13): 1747-1750.
- [24] 张智, 龙华, 曾罗, 等. 不同产地杜仲雄花指纹图谱的建立及其化学模式识别研究 [J]. 中草药, 2022, 53(22): 7207-7213.

[责任编辑 时圣明]