

HPLC 指纹图谱和化学模式识别结合多成分定量的土（赤石脂）炒陈皮炮制前后化学成分差异研究

辛力¹, 黄玉珍¹, 龚文慧¹, 郑郁清¹, 商杰¹, 赵蓓蓓¹, 严世豪¹, 乐颖娜¹, 金姝含¹, 薛艳华², 张金莲^{1*}

1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004

2. 建昌帮药业有限公司, 江西 抚州 344100

摘要: 目的 建立陈皮土（赤石脂）炒前后的 HPLC 指纹图谱及多成分定量测定方法, 结合化学计量学进行比较, 分析其特征指标成分, 为陈皮及土（赤石脂）炒陈皮的质量控制和综合利用提供科学依据。方法 采用菲罗门 Superlu C₁₈ 色谱柱, 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 283 nm; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL; HPLC 法建立陈皮和土（赤石脂）炒陈皮的指纹图谱, 运用相似度分析、主成分分析 (principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 等化学模式识别技术, 筛选出土（赤石脂）炒陈皮炮制前后特征指标成分并进行定量分析。结果 建立了陈皮和土（赤石脂）炒陈皮的 HPLC 指纹图谱, 共提取出 16 个共有峰, 通过与对照品对比, 指认了 6 种成分, 分别为辛弗林 (1 号峰)、芸香柚皮苷 (10 号峰)、橙皮苷 (12 号峰)、橙皮内酯 (14 号峰)、川陈皮素 (15 号峰)、橘皮素 (16 号峰); 通过 PCA 和 OPLS-DA 可明显将陈皮和土（赤石脂）炒陈皮分为 2 类, 综合筛选了辛弗林、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素 5 种特征指标成分, 炮制后辛弗林含量升高明显 ($P < 0.01$); 芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素含量稍有降低。结论 确定了辛弗林、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素 5 种特征指标成分作为评价陈皮及土（赤石脂）炒陈皮质量差异的潜在标志性成分, 建立的陈皮及土（赤石脂）炒陈皮 HPLC 指纹图谱及多成分定量测定方法稳定、可靠, 可为陈皮及土（赤石脂）炒陈皮的质量控制、综合利用和临床应用提供参考。

关键词: 陈皮; 土炒; 赤石脂; 指纹图谱; 辛弗林; 橙皮苷; 芸香柚皮苷; 川陈皮素; 橘皮素
中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)01-0089-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.01.010

HPLC fingerprint and chemical pattern recognition combined with multi-component quantitative study of chemical composition difference before and after processing of fried soil-stir-baked *Citri Reticulatae Pericarpium* with *Halloysitum Rubrum*

XIN Li¹, HUANG Yuzhen¹, GONG Wenhui¹, ZHENG Yuqing¹, SHANG Jie¹, ZHAO Beibei¹, YAN Shihao¹, LE Yingna¹, JIN Shuhan¹, XUE Yanhua², ZHANG Jinlian¹

1. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Jianchangbang Pharmaceutical Co., Ltd., Fuzhou 344100, China

Abstract: Objective To establish HPLC fingerprint and multi-component content determination method of Chenpi (*Citri Reticulatae Pericarpium*, CRP) before and after soil-stir-baked with Chishizhi (*Halloysitum Rubrum*, HR), and to analyze its characteristic index components combined with chemometrics, so as to provide scientific basis for quality control and comprehensive utilization of CRP

收稿日期: 2024-08-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82060724); 建昌帮特色饮片陈皮 (蒸) 等 9 味炮制规范和质量标准研究 (横 20220362); 江西省中医药药委会 2021 年第二批标准化项目 (2021B01); 江西省中医药药委会 2021 年第二批标准化项目 (2023A19); 大学生创新创业训练计划项目 (202310412027); 大学生创新创业训练计划项目 (S202310412061)

作者简介: 辛力 (2000—), 男, 江西宜春人, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制。E-mail: xl200106@163.com

***通信作者:** 张金莲 (1969—), 女, 江西宜春人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事中药学及中药炮制教学研究。

Tel: (0791)87118995 E-mail: jxjzjl@163.com

and canned products. **Methods** The chromatography was performed on Superlu C₁₈ column with acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution as mobile phase and gradient elution. Volume flow rate 1.0 mL/min; The detection wavelength was 283 nm. Column temperature 30 °C; The sample size was 10 μL. The fingerprints of CRP and fried soil-stir-baked CRP with HR were established by HPLC. Similarity analysis, principal component analysis (PCA), orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) and other chemical pattern recognition techniques were used to screen the characteristic components of CRP before and after processing, and quantitative analysis was carried out. **Results** The fingerprints of CRP and fried soil-stir-baked CRP with HR were established, 16 common peaks were extracted, and six components were identified by comparing with the control products, namely, syneferine (peak 1), naringin (peak 10), hesperidin (peak 12), hesperidin (peak 14), nobiletin (peak 15) and tangeretin (peak 16). CRP and fried soil-stir-baked CRP with HR could be divided into two categories by PCA and OPLS-DA. Five characteristic components, synephrine, naringin, hesperidin, nobiletin and tangeretin, were screened. After processing, the contents of ariephrin and synephrin increased, and the content of synephrin increased significantly ($P < 0.01$). The contents of hesperidin, nobiletin and tangeretin decreased slightly. **Conclusion** Five characteristic components, syneferin, naringin, nobiletin, tangeretin, were identified as potential landmark components to evaluate the quality difference between CRP and fried soil-stir-baked CRP with HR. The established HPLC fingerprint and multi-component content determination method of CRP and fried soil-stir-baked CRP with HR were stable and reliable, and could provide reference for quality control, comprehensive utilization and clinical application of CRP and its prepared products.

Key words: *Citri Reticulatae Pericarpium*; fried soil-stir-baked; *Halloysitum Rubrum*; fingerprints; synephrine; hesperidin; naringin; nobiletin; tangeretin

陈皮为芸香科柑橘属植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮, 归肺、脾经, 具有理气健脾、燥湿化痰的功效, 主产于湖北、湖南、四川等地^[1]。最早以橘柚之名载于《神农本草经》, 属上品^[2]。经现代研究表明, 陈皮具有抑菌、抗炎、抗氧化、促消化、抗肿瘤、祛痰等多种药理作用, 主要含有挥发油、黄酮类、生物碱等化学成分^[3]。陈皮的炮制历史悠久, 早在清代《外科证治全生集》一书中便记载了土炒陈皮, 曰:“陈皮, 土炒黄皮起疱为粉”。土炒陈皮是中医临床上常用的临方特色炮制品, 《建昌帮中药炮制全书》中记载土炒陈皮能增强理气健脾的功效, 在治疗脾胃疾病时多以土炒炮制陈皮, 《本草纲目》用土炒陈皮入药治反胃吐, 缓肝理脾汤等方中以土炒陈皮入药^[4-6]。

在长期的实践中, 历代医家逐渐得出了土炒炮制以灶心土为主要炮制辅料的认识。土炒陈皮在《山东省中药饮片炮制规范》《河南省中药饮片炮制规范》等中药饮片炮制规范中均沿用灶心土为炮制辅料, 但现今灶心土来源有限, 难以获得, 产地差异较大, 成分复杂, 容易受热不均匀而使炮制时药材烫焦, 导致饮片质量难以保障, 极大地阻碍了土炒陈皮等土炒饮片的发展。因此, 与灶心土较为相似的赤石脂逐渐受到关注。赤石脂为天然产的一种红色多水高岭土, 主要含硅酸铝、氧化铝、氧化硅等, 不仅是常用的矿物药, 也是目前研究较多的代替灶心土的炮制辅料^[7]。陈修园论及黄土汤, 云:“愚每用此方, 以赤石脂一斤代黄土如神”, 在《重

庆市中药饮片炮制规范及标准》中收载有以赤石脂作为辅料炮制白术^[8-9]。可见, 在古籍及炮制规范中均有以赤石脂为土炒辅料的炮制方法, 故本研究采用赤石脂为辅料进行炮制, 以探讨土(赤石脂)炒陈皮炮制前后质量差异。

中药指纹图谱所含化学成分信息量大、特征性强, 因其在中药质量整体评价中的有效性, 已在国际和国内得到广泛的认可^[10]。化学模式识别将中药的复杂成分转变为对数据的解析, 更有利于从整体上对中药质量进行评价与控制, 在中药质量标志物筛选过程中, 扮演着至关重要的角色^[11]。中药成分复杂, 有效成分较多, 发挥药效往往是由多种活性组分协同作用的结果, 随着对中药研究的不断深入, 质量评价方法已从单一成分质量控制方法转变为多指标成分质量控制方法。目前, 《中国药典》2020年版陈皮项下仅对橙皮苷单一指标进行含量测定, 对陈皮及其炮制品的质量评价与质量控制有一定的局限, 通过应用中药指纹图谱结合模式识别技术既能有效鉴别土(赤石脂)炒陈皮炮制前后的质量, 又能筛选出特征指标性成分。因此, 本实验通过建立陈皮及土(赤石脂)炒陈皮的 HPLC 指纹图谱, 结合主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)等化学模式识别方法, 筛选二者差异性的特征指标成分并进行含量测定, 以阐明土(赤石脂)炒陈皮健脾药效增强的科学内涵, 并为建立陈皮及土(赤

石脂) 炒陈皮质量评价体系提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 Infinity II 型液相色谱系统, 美国安捷伦科技有限公司; KS-500E 型超声波清洗器, 南昌恒益科学仪器有限公司; AE240 型十万分之一电子天平, 美国 Mettler 公司; OHAUS 型万分之一分析天平, 奥豪斯国际贸易(上海)有限公司。

1.2 试剂

对照品橘皮素(批号 wkq22041509)、辛弗林(批号 wkq16071502)、橙皮苷(批号 wp23120702)、芸香柚皮苷(批号 wkq15122005), 质量分数均 ≥ 98.0%, 均购自四川省维克奇生物科技有限公司; 对照品川陈皮素(批号 chb210107)、橙皮内酯(批号 chb201110), 质量分数均 ≥ 98.0%, 均购自成都克洛玛生物科技有限公司; 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

1.3 材料

药材陈皮和赤石脂均购于江西省建昌帮药业有限公司, 经江西中医药大学中药资源教研室邓可众教授鉴定, 分别为芸香科柑橘属植物橘 *C. reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮和硅酸盐类矿物多水高岭石族多水高岭石, 主含四水硅酸铝 $Al_4(Si_4O_{10})(OH)_8 \cdot 4H_2O$; 样品信息见表 1 和图 1。药材陈皮经洗净切丝后经干燥得到陈皮丝饮片。

2 方法与结果

2.1 土(赤石脂)炒陈皮的制备

取赤石脂置锅内, 用中火炒至灵活状态时, 倒入陈皮丝, 炒至表面呈焦黄色, 取出, 筛去辅料, 放凉, 即得土炒陈皮。100 kg 陈皮丝用赤石脂细粉 50 kg。

2.2 指纹图谱研究

2.2.1 供试品溶液的制备 取陈皮及土(赤石脂)炒陈皮粗粉 0.4 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率 300 W、频率 40 kHz) 45 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, 即得供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取橙皮苷、芸香柚皮苷、川陈皮素、橘皮素、辛弗林、橙皮内酯对照品适量, 配置成母液后, 分别精密量取各对照品母液适量混合, 配制成含橙皮苷、芸香柚皮苷、川陈皮素、橘皮素、辛弗林、橙皮内酯分别为 1 600.0、

表 1 15 批陈皮样品和 15 批土(赤石脂)炒陈皮样品信息

Table 1 Information of 15 batches of *Citri Reticulatae Pericarpium* samples and 15 batches of fried soil-stir-baked *Citri Reticulatae Pericarpium* with *Halloysitum Rubrum* samples

陈皮	批号	土(赤石脂) 炒陈皮	批号	产地
S1	Y126-211001	T1	22101101M	湖北恩施
S2	Y126-211002	T2	22101102M	湖北恩施
S3	Y126-211003	T3	22101103M	湖北恩施
S4	Y126-211004	T4	22101104M	湖北恩施
S5	Y126-211005	T5	22101105M	湖北恩施
S6	Y126-211006	T6	22101106M	湖北宜昌
S7	Y126-211007	T7	22101107M	湖北宜昌
S8	Y126-211008	T8	22101108M	湖北宜昌
S9	Y126-211009	T9	22101109M	湖北宜昌
S10	Y126-211010	T10	22101110M	湖南邵阳
S11	Y126-211011	T11	22101111M	湖南邵阳
S12	Y126-211012	T12	22101112M	湖南邵阳
S13	Y126-211013	T13	22101113M	四川遂宁
S14	Y126-211014	T14	22101114M	四川遂宁
S15	Y126-211015	T15	22101115M	四川遂宁



陈皮(S1) 土(赤石脂)炒陈皮(T1)

图 1 陈皮、土(赤石脂)炒陈皮饮片外观

Fig. 1 Appearance of CRP and soil stir-fried *Citri Reticulatae Pericarpium* with *Halloysitum Rubrum*

260.0、78.0、82.4、442.0、20.9 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.2.3 色谱条件 色谱柱为菲罗门 Superlu C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液, 梯度洗脱: 0~6 min, 5%~15%乙腈; 6~16 min, 15%~16%乙腈; 16~26 min, 16%~32%乙腈; 26~38 min, 32%~52%乙腈; 38~50 min, 52%~58%乙腈; 50~55 min, 58%~80%乙腈; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10.0 μL ; 检测波长 283 nm。

2.2.4 精密度试验 取陈皮样品(S1), 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件重复进样 6 次, 选 12 号色谱峰(橙皮苷)为参照峰, 测得各共有峰相对保留时间的 RSD 均 <

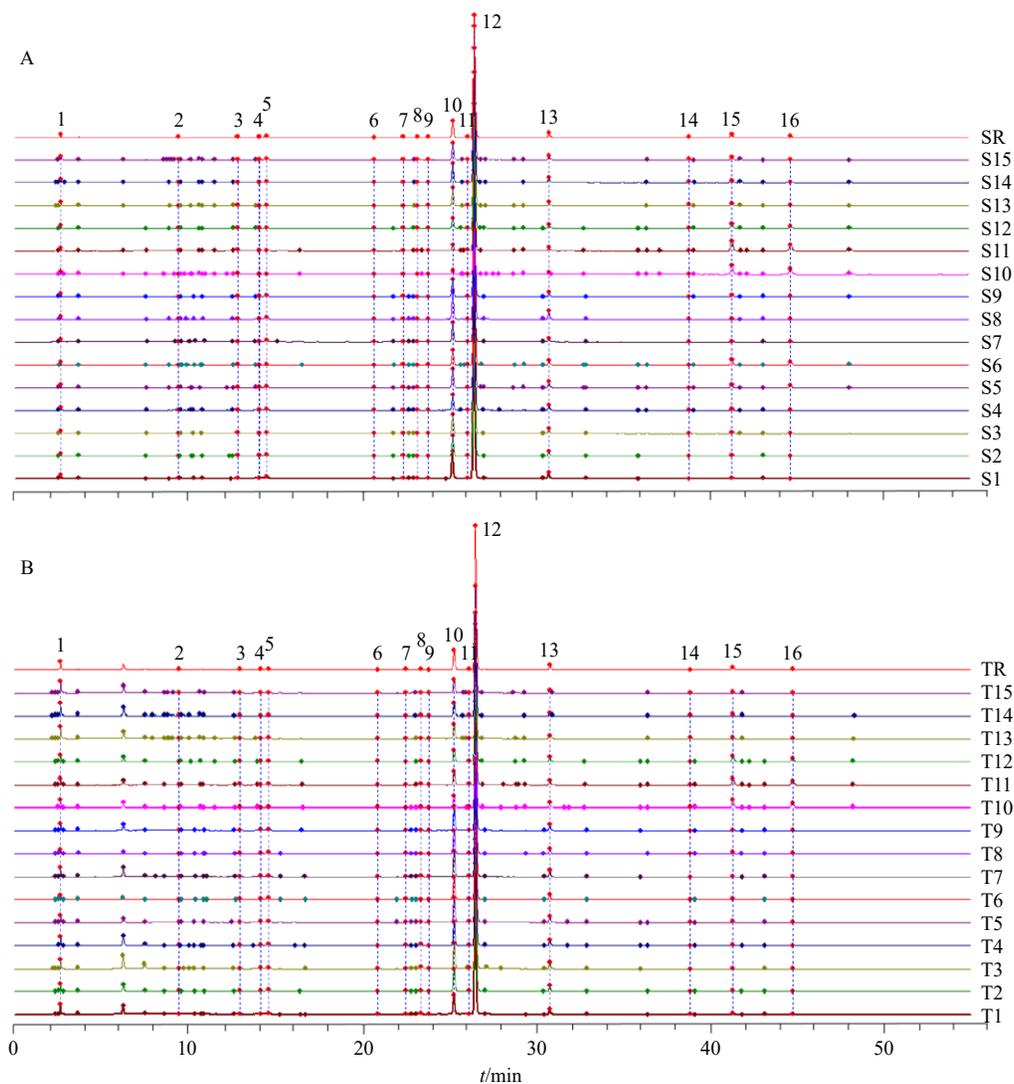
0.10%，相对峰面积的 RSD 均<1.40%，结果表明该仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 取陈皮样品 (S1)，按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液，分别在制备后 0、2、4、8、12、24 h，按“2.2.3”项下色谱条件测定，以 12 号色谱峰 (橙皮苷) 为参照峰，结果显示各共有峰相对保留时间的 RSD 均<0.54%，相对峰面积的 RSD 均<2.73%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.6 重复性试验 取陈皮样品 (S1)，按“2.2.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按“2.2.3”项下色谱条件进样测定，以 12 号色谱峰 (橙皮苷) 为参照峰，结果显示，各共有峰相对保留时间的 RSD

均<0.07%，相对峰面积的 RSD 均<1.43%，表明该方法重复性良好。

2.2.7 指纹图谱的建立和相似度分析 将 15 批陈皮样品及 15 批土 (赤石脂) 炒陈皮样品，按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.2.3”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。将 15 批陈皮样品 (S1~S15) 及 15 批土 (赤石脂) 炒陈皮样品 (T1~T15) 的指纹图谱数据分别导入国家药典委员会《中药色谱指纹图谱相似度软件评价系统 (2012 版)》，分别以样品 S6、T6 为参照图谱，采用中位数法，时间窗宽度为 0.1 min，通过多点校正进行峰匹配，生成陈皮样品、土 (赤石脂) 炒陈皮样品的指纹图谱叠加图及其对照指纹图谱 (SR、TR)，结果见图 2。结



1-辛弗林; 10-芸香柚皮苷; 12-橙皮苷; 14-橙皮内酯; 15-川陈皮素; 16-橘皮素; 图 3 同。

1-synephrine; 10-narirutin; 12-hesperidin; 14-meranzin; 15-nobiletin; 16-hesperidin; same as figure 3.

图 2 陈皮 (A) 及土 (赤石脂) 炒陈皮 (B) 的 HPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (SR, TR)

Fig. 2 HPLC fingerprints of *Citri Reticulatae Pericarpium* (A) and soil stir-fried *Citri Reticulatae Pericarpium* with *Halloysitum Rubrum* (B) and their control fingerprints (SR, TR)

果 30 批样品共得到 16 个共有峰, 经过与混合对照品溶液的色谱图 (图 3) 比对, 确定共有峰 1、10、12、14~16 分别为辛弗林、芸香柚皮苷、橙皮苷、橙皮内酯、川陈皮素、橘皮素。15 批陈皮样品 (S1~S15) 及 15 批土 (赤石脂) 炒陈皮样品 (T1~T15) 指纹图谱与其对照指纹图谱 (SR、TR) 的相似度分别为 0.998、0.999、0.999、1.000、1.000、0.999、0.989、0.999、1.000、0.958、0.989、0.998、1.000、1.000、1.000 及 1.000、1.000、1.000、1.000、1.000、0.999、1.000、1.000、1.000、0.996、0.998、0.997、0.999、0.999、0.999, 结果表明同一炮制品质量稳定, 为多成分定量结合化学模式识别提供基础。

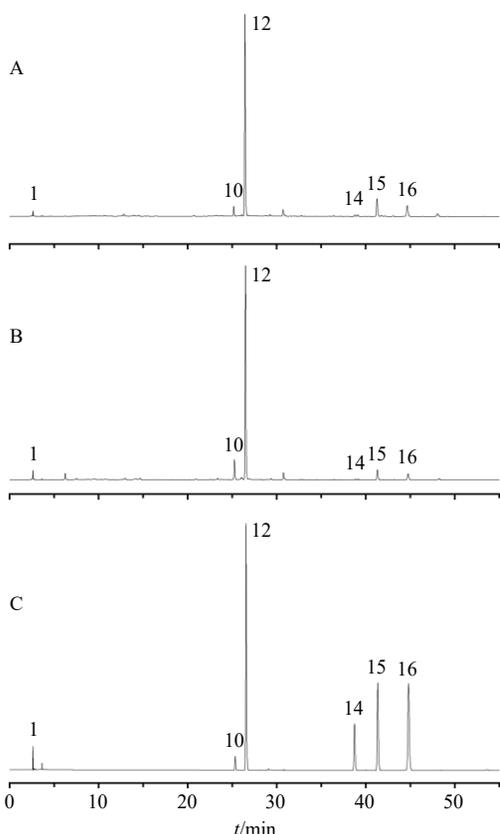


图 3 陈皮 (S6, A)、土 (赤石脂) 炒陈皮 (T6, B) 和混合对照品 (C) 溶液的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC of *Citri Reticulatae Pericarpium* (S6, A), soil stir-fried *Citri Reticulatae Pericarpium* with *Halloysitum Rubrum* (T6, B) and mixed reference substances solution (C)

2.3 PCA

以 15 批陈皮样品及 15 批土 (赤石脂) 炒陈皮样品指纹图谱中 16 个共有峰的峰面积为变量, 导入 SPSS 20.0 进行因子分析, 结果显示 KMO [Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) 检验是一种常用的方法, 用于评估数据是否适合进行 PCA, KMO 值 ≥ 0.6 时, 认

为可以适合进行因子分析] 值为 0.612, 大于 0.6, 巴特利球形检验统计量为 0.000, 表明各变量相关性好。由表 2 可知, 以特征值 > 1 为提取标准, 得到 5 个主成分, 其累积方差贡献率为 86.144%, 可以代表指纹图谱中 16 个共有峰的大部分信息, 碎石图见图 4。因子载荷矩阵见表 3, 结果表明共有峰 3~5、7、10 (芸香柚皮苷)、13、14 (橙皮内酯)、15 (川陈皮素)、16 (橘皮素) 对主成分 1 影响大, 共有峰 13、1 (辛弗林)、3、9 对主成分 2 影响大, 共有峰 6、11、8 对主成分 3 影响大, 共有峰 4、14 对主成分 4 影响大, 共有峰 2 对主成分 5 影响大。

表 2 特征值及方差贡献率

Table 2 Characteristic values and variance contribution rate

主成分因子	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	5.523	34.513	34.517
2	3.280	20.500	55.017
3	2.271	14.194	69.211
4	1.605	10.029	79.239
5	1.105	6.904	86.144

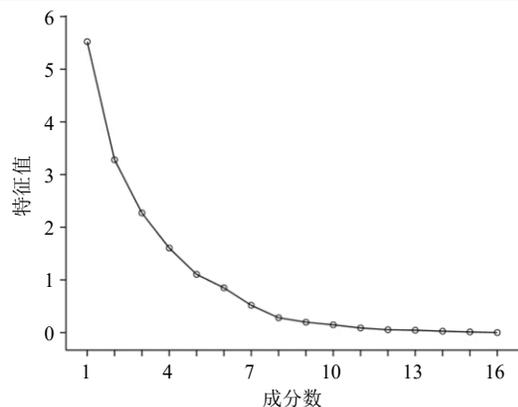


图 4 碎石图

Fig. 4 Lithotripsy diagram

采用 SIMCA 14.1 软件进行分析, 得到 PCA 得分 3D 图 (图 5), 所有样品均在 95% 置信区间内, 陈皮与土 (赤石脂) 炒陈皮各自聚为 1 类, 结果表明陈皮在土炒后化学成分发生了明显变化。载荷图 (图 6) 显示, 峰 1 (辛弗林)、10 (芸香柚皮苷) 距离载荷图原点距离较远, 是影响整体样品质量的特征成分。

2.4 OPLS-DA

为了更好地分析陈皮与土 (赤石脂) 炒陈皮样品之间的差异, 采用 SMICA 14.1 软件对 15 批陈皮样品及 15 批土 (赤石脂) 炒陈皮饮片样品的 16 个共有峰进行有监督的 OPLS-DA, 散点得分图见图 7。

表3 因子载荷矩阵
Table 3 Factor load matrix

共有峰	载荷				
	1	2	3	4	5
1	0.030	-0.813	0.330	0.041	0.251
2	0.181	0.431	0.179	-0.384	0.653
3	-0.607	0.636	0.076	-0.358	-0.141
4	0.609	0.155	0.112	-0.713	-0.011
5	0.871	0.377	-0.150	-0.024	0.098
6	-0.079	0.163	0.836	0.324	0.215
7	0.850	0.322	-0.055	0.235	-0.035
8	0.219	-0.473	0.710	-0.221	0.227
9	-0.396	0.720	-0.322	0.146	0.279
10	0.930	0.280	-0.082	0.150	0.041
11	0.165	0.147	0.620	0.254	-0.486
12	0.163	0.496	0.315	0.123	-0.047
13	0.682	0.546	0.310	0.274	-0.024
14	-0.588	0.043	-0.142	0.612	0.396
15	-0.836	0.402	0.263	-0.108	-0.052
16	-0.793	0.428	0.323	-0.151	-0.092

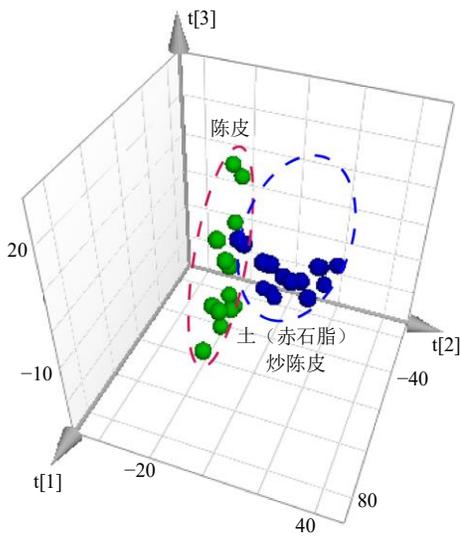


图5 PCA得分3D图

Fig. 5 3D map of PCA scores

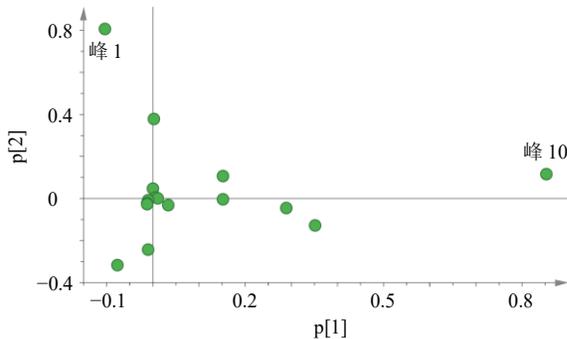


图6 主成分载荷图

Fig. 6 Principal component load diagram

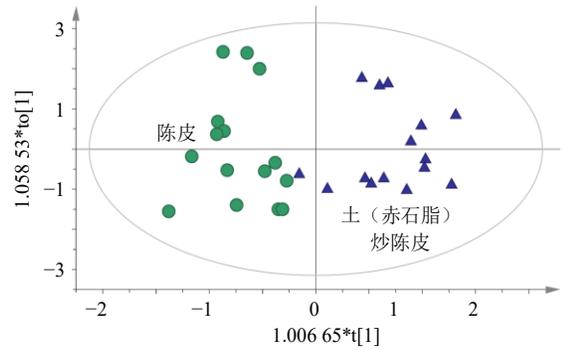


图7 15批陈皮样品及15批土(赤石脂)炒陈皮样品的OPLS-DA图

Fig. 7 OPLS-DA diagram of 15 batches of *Citri Reticulatae Pericarpium* samples and 15 batches of fried soil-stir-baked *Citri Reticulatae Pericarpium* with *Halloysitum Rubrum*

结果显示, 陈皮与土(赤石脂)炒陈皮各自聚为1类, 与PCA结果一致。200次置换检验显示, 该模型不存在过拟合(图8)。

变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)值是筛选差异性成分的重要指标, VIP值越高, 对组间差异的影响越大^[12]。以VIP > 1筛选出差异成分, 由VIP得分图(图9)可知, 贡献值较大的差异成分有5个, 依次为8、1、9、15、16号峰, 其中1号峰为辛弗林, 15号峰为川陈皮素, 16号峰为橘皮素, 这些成分是陈皮与土(赤石脂)炒陈皮产生差异的主要标志性成分。

2.5 多成分含量测定

PCA结果表明, 陈皮及土(赤石脂)炒陈皮指纹图谱中峰1(辛弗林)、10(芸香柚皮苷)是影响陈皮及土(赤石脂)炒陈皮质量的特征化学成分。OPLS-DA结果显示, 有5个成分VIP > 1, 分别为峰1(辛弗林)、15(川陈皮素)、16(橘皮素)3个

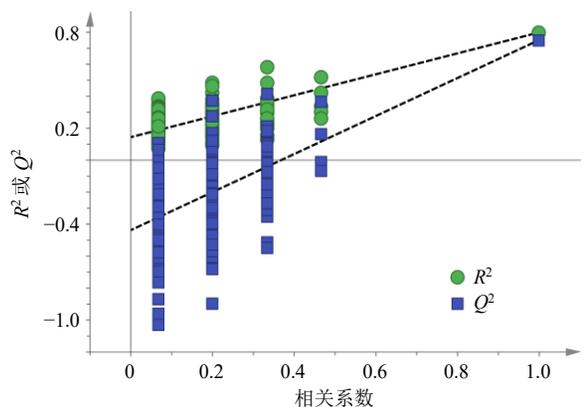


图8 OPLS-DA模型200次置换检验验证

Fig. 8 Verification of OPLS-DA model by 200 permutation tests

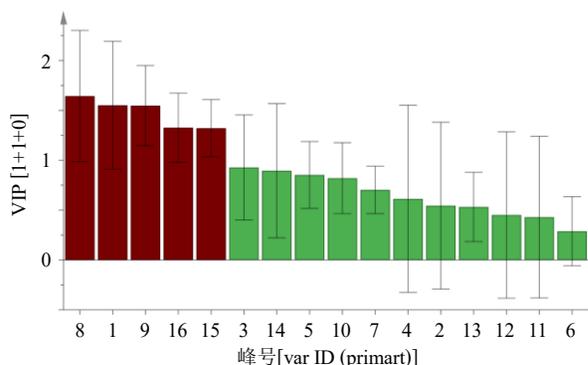


图9 陈皮及土(赤石脂)炒陈皮共有峰的VIP图

Fig. 9 VIP chart of common peak of *Citri Reticulatae Pericarpium* and soil stir-fried *Citri Reticulatae Pericarpium* with *Halloysitum Rubrum*

成分, 以及峰8、9(未知成分)。结合《中国药典》2020年版中陈皮指标成分及主要成分橙皮苷, 为反映陈皮及土(赤石脂)炒陈皮的整体质量及差异性特征, 故本研究选取辛弗林、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素作为指标性成分进行定量测定。

2.5.1 供试品溶液的制备 同“2.2.1”项。

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称取橙皮苷、芸香柚皮苷、川陈皮素、橘皮素、辛弗林对照品适量, 分别配制成含橙皮苷 1 386.0 $\mu\text{g/mL}$ 、芸香柚皮苷 212.0 $\mu\text{g/mL}$ 、川陈皮素 78.0 $\mu\text{g/mL}$ 、橘皮素 824.0 $\mu\text{g/mL}$ 、辛弗林 876.0 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.5.3 色谱条件 同“2.2.3”项。色谱图见图3。

2.5.4 线性关系考察 精密吸取各对照品储备液适量, 橙皮苷、芸香柚皮苷、辛弗林均按1、2、3、4、10、20倍, 川陈皮素按1、2、4、8、12、24倍, 橘皮素按1、2、4、8、16、64倍, 稀释成不同质量浓度的对照品溶液, 按“2.2.3”项下色谱条件测定芸香柚皮苷、橙皮苷、辛弗林、川陈皮素、橘皮素的峰面积。以对照品质量浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 计算线性回归方程、相关系数(r)和线性范围, 结果分别为辛弗林 $Y=1\ 249.5 X-13.699$, $r=0.999\ 0$, 线性范围 43.8~876.0 $\mu\text{g/mL}$; 芸香柚皮苷 $Y=16\ 113.0 X+24.582$, $r=0.999\ 0$, 线性范围 5.2~104.0 $\mu\text{g/mL}$; 橙皮苷 $Y=15\ 072.0 X+344.490$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 69.3~1 386.0 $\mu\text{g/mL}$; 川陈皮素 $Y=19\ 814.0 X-23.788$, $r=0.999\ 2$, 线性范围 3.2~78.0 $\mu\text{g/mL}$; 橘皮素 $Y=24\ 912.0 X+2.165$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 1.2~82.4 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.5.5 精密度试验 取“2.5.2”项下各对照品溶液

制成混合对照品溶液, 按“2.2.3”项下色谱条件重复进样6次, 测得辛弗林、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素峰面积的RSD分别为1.06%、0.73%、0.76%、0.97%、0.86%, 结果表明该仪器精密度良好。

2.5.6 稳定性试验 取S1样品, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 分别于配制后0、2、4、6、12、24 h进样测定, 按“2.2.3”项下色谱条件重复进样6次, 测得辛弗林、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素峰面积的RSD分别为1.68%、0.72%、0.53%、0.86%、1.71%, 结果表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.5.7 重复性试验 取S1样品共6份, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.3”项下色谱条件分别进样测定, 测得辛弗林、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素质量分数的RSD分别为0.60%、0.14%、0.09%、0.31%、1.06%, 结果表明该方法的重复性良好。

2.5.8 加样回收率试验 取已测定的S1号陈皮样品粉末6份, 各0.200 g, 精密称定, 精密加入辛弗林、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素对照品储备液适量, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.3”项下色谱条件进行测定, 芸香柚皮苷、橙皮苷、辛弗林、川陈皮素、橘皮素的平均加样回收率分别为100.95%、100.45%、99.95%、99.59%、100.17%, RSD分别为1.26%、1.52%、0.63%、2.02%、1.63%。

2.5.9 样品含量测定 取15批陈皮样品(S1~S15)及15批土(赤石脂)炒陈皮样品(T1~T15), 根据“2.2.1”项下方法制备陈皮与土炒陈皮供试品溶液, 按“2.2.3”项下色谱条件进样测定, 测得辛弗林、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素的含量, 结果见表4。由结果可知, 炮制后, 辛弗林含量显著升高($P<0.01$); 芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素含量稍有降低。

3 讨论

土炒炮制中药饮片是一种传统炮制工艺, 对于中药土炒炮制工艺的研究尚不全面, 且研究结果差别较大, 包括土炒陈皮等大多土炒饮片缺乏具体的炮制工艺参数, 饮片质量参差不齐, 难以实现准确、有效的质量评价及质量控制。本课题组在前期以橙皮苷等指标成分对土炒陈皮的炮制工艺进行了优化, 并以此建立了质量标准, 已入选最新版《江西省中

表4 陈皮及土(赤石脂)炒陈皮含量测定结果

Table 4 Results of content determination of *Citri Reticulatae Pericarpium* and soil stir-fried *Citri Reticulatae Pericarpium* with *Halloysitum Rubrum*

样品	质量分数/%					样品	质量分数/%				
	辛弗林	芸香柚皮苷	橙皮苷	川陈皮素	橘皮素		辛弗林	芸香柚皮苷	橙皮苷	川陈皮素	橘皮素
S1	0.910	1.218	5.217	0.045	0.017	T1	2.296	0.693	4.477	0.056	0.024
S2	0.728	0.935	4.621	0.041	0.015	T2	1.694	0.815	4.569	0.049	0.020
S3	0.753	0.790	4.091	0.055	0.024	T3	1.988	0.912	4.940	0.042	0.018
S4	0.780	0.664	4.629	0.068	0.026	T4	1.909	0.845	4.834	0.055	0.026
S5	0.981	0.806	5.102	0.127	0.088	T5	1.432	0.880	4.780	0.057	0.026
S6	0.914	0.651	5.327	0.233	0.146	T6	0.978	0.818	4.200	0.044	0.019
S7	0.765	0.836	2.379	0.039	0.015	T7	1.785	0.886	4.982	0.039	0.016
S8	0.767	1.233	5.866	0.050	0.019	T8	0.901	0.807	4.569	0.060	0.030
S9	0.785	0.748	4.581	0.070	0.029	T9	1.511	0.856	4.779	0.047	0.022
S10	0.798	0.147	1.458	0.332	0.199	T10	1.496	0.406	4.278	0.252	0.157
S11	0.831	0.236	4.037	0.404	0.244	T11	1.325	0.462	4.185	0.227	0.137
S12	0.863	0.438	4.531	0.188	0.094	T12	1.432	0.424	4.421	0.216	0.131
S13	1.039	0.746	4.817	0.117	0.041	T13	2.591	0.501	3.382	0.062	0.022
S14	1.016	0.828	4.906	0.081	0.026	T14	2.687	0.421	3.029	0.061	0.022
S15	0.959	0.753	4.847	0.113	0.040	T15	2.515	0.455	3.150	0.047	0.015
均值	0.859±	0.735±	4.427±	0.131±	0.068±	均值	1.769±	0.679±	4.305±	0.088±	0.046±
	0.103	0.298	1.131	0.112	0.073		0.559**	0.205	0.633	0.075	0.050

与陈皮样品比较: ** $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs CRP samples.

药饮片炮制规范》，为本研究提供了良好的基础。

目前,已有较多研究表明,陈皮有效成分主要包括橙皮苷、川陈皮素、芸香柚皮苷、橘皮素、辛弗林、橙皮内酯等^[13-16]。橙皮苷、川陈皮素、辛弗林、橘皮素可升高脾虚模型大鼠血浆乙酰胆碱、胃动素水平并降低血浆血管活性肠肽水平,促进肠胃运动^[17];芸香柚皮苷具有促进小肠推进作用^[18];橙皮内酯具有促肠动力作用^[19]。中医认为脾主运化,脾胃功能正常,可维持机体胃肠消化功能正常运作,若脾胃运行失司,肠失转化,使气滞于内,上下不通,进而导致胃肠疾病;脾虚证则由于脾脏虚弱,脾不能升清,则胃失降浊,运化机能减退,进而影响机体胃肠消化功能,胃肠动力低下,可见胃肠功能失常与脾虚气滞密切相关^[20-21]。

通过PCA和OPLS-DA,本研究发现陈皮与土炒陈皮各自聚为1类,在化学成分上存在显著差异,通过进一步分析,筛选得到辛弗林、芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、橘皮素5个特征指标成分。炮制后辛弗林含量升高明显($P < 0.05$),这提示经赤石脂炮制后,陈皮理气健脾药效作用增强。通过查阅文献发现^[22-23],枳实主要活性物质辛弗林经清炒

和麸炒后含量有所增加,制陈皮炮制后辛弗林含量增加,与本实验变化趋势一致,这可能是由于其炮制过程均需加热进而影响内在成分的转化相关,本课题组后续将利用模拟炮制等技术开展进一步研究以阐明赤石脂土炒炮制机制。

灶心土又名伏龙肝,是经过多年用柴草熏烧而形成的,是土炒炮制中药饮片最传统、最公认的辅料,且一直沿用至今。由于人们生活方式的改变,灶心土的来源减少,已成为稀缺资源,无法满足巨大的市场需求。为此,越来越多的学者对赤石脂等灶心土的代替辅料进行研究。陈永达^[24]表示赤石脂在性状、性味、功效、作用等方面可以代替伏龙肝和陈壁土。沈建涛^[25]采用直接测定比较的方法初步分析了不同土样pH值、吸蓝量、黏土矿物,发现炒过后赤石脂碱性强于灶心土;赤石脂对亚甲蓝有明显吸附作用,灶心土锻后才会出现吸蓝量;土样锻过后都产生了赤铁矿,黏土矿物的种类也发生了变化。赤石脂的较高pH值、吸蓝量,会中和胃酸,可能会起到保护胃肠道和肠道毒素吸附作用。

目前,对于以赤石脂为土炒辅料的研究仍然较少,且集中在理化特性及成分组成等方面,并未进

行药理学研究, 缺乏药效变化的直接证据, 本课题组后续将开展赤石脂土炒陈皮健脾药效研究以明确土炒陈皮的药效, 进一步构建土炒陈皮的成分-药效关系。

综上, 本研究建立了陈皮及土炒陈皮的 HPLC 指纹图谱及多成分含量测定方法, 并结合化学模式识别分析, 对炮制前后的化学成分变化进行了深入探讨, 不仅为土炒陈皮潜在的药效变化提供了化学层面的依据, 同时也为构建陈皮及土炒陈皮的质量评价体系, 促进土炒陈皮等特色土炒饮片的发展提供新的思路。

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: 199-200.
- [2] 黄芳, 周熙, 罗辉泰, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 及化学模式识别方法对陈皮的化学成分快速鉴别及产地判别研究 [J]. 中草药, 2022, 53(20): 6361-6368.
- [3] 徐健, 曾万祥, 王晓东, 等. 陈皮的化学成分与药理学作用研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2022, 41(10): 72-76.
- [4] 清·王维德. 外科证治全生集 [M]. 影印本. 北京: 人民卫生出版社, 1956: 26.
- [5] 明·李时珍. 本草纲目 [M]. 福州: 二十一世纪出版社, 2014: 178.
- [6] 上官贤. 建昌帮中药炮制全书 [M]. 南昌: 江西教育出版社, 2013: 236-237.
- [7] 翁晓芳, 顾漫. 中药赤石脂“涩”性味源流考 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(9): 4452-4456.
- [8] 清·陈修园注. 林庆祥校注. 金匱要略浅注 [M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1988: 174.
- [9] 重庆市食品药品监督管理局. 重庆市中药饮片炮制规范及标准 [M]. 重庆: 重庆市食品药品监督管理局, 2006: 15-16.
- [10] 赵娣, 马超, 李琪, 等. 合苞橐吾指纹图谱的建立及含量测定 [J]. 中药材, 2024, 47(4): 922-926.
- [11] 王淑, 张翠翠, 郭凤丹, 等. 基于 UPLC 多指标含量测定和指纹图谱的不同种质金银花药材质量评价研究 [J]. 中草药, 2024, 55(3): 947-955.
- [12] 郑郁清, 郭静英, 康爱圆, 等. 基于色度-化学成分关联的蜜糠炒白芍质量控制研究 [J]. 中草药, 2023, 54(2): 534-543.
- [13] 于亚娟, 朱旭江, 周轲, 等. 陈皮配方颗粒中橙皮苷和柚皮芸香苷的测定及其质量标志物的分析 [J]. 华西药学杂志, 2024, 39(4): 430-436.
- [14] 李志豪, 王小嘉, 赵寒, 等. 平胃散药理作用及临床应用研究进展 [J/OL]. 中医学报, (2024-07-30) [2024-09-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1411.R.20240729.1557.048.html>.
- [15] 万婷, 杨元丰, 况弯弯, 等. 基于指纹图谱和多指标成分含量测定的陈皮、青皮质量评价 [J]. 中国处方药, 2024, 22(6): 26-31.
- [16] 杨晓东, 曹斯琼, 何广铭, 等. 常用芸香科柑桔属药材特征图谱鉴别研究 [J]. 中草药, 2022, 53(12): 3793-3800.
- [17] 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.
- [18] 罗曦, 包永睿, 李天娇, 等. 基于“质-量”双标的枳壳质量分析方法研究 [J]. 中草药, 2023, 54(22): 7293-7299.
- [19] Xie Y, Huang X, Hu S Y, *et al.* Meranzin hydrate exhibits anti-depressive and prokinetic-like effects through regulation of the shared $\alpha 2$ -adrenoceptor in the brain-gut axis of rats in the forced swimming test [J]. *Neuropharmacology*, 2013, 67: 318-325.
- [20] 李冰, 张淑玲, 范会织. 健脾益气方对脾虚小鼠胃肠动力、血清淀粉酶、GAS 及血浆 MTL 的影响 [J]. 临床医学研究与实践, 2024, 9(8): 1-4.
- [21] 曹萍, 欧阳红莲, 张军, 等. 耳穴压豆联合神阙穴热敷对老年胃肠功能障碍患者恢复的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(13): 3119-3122.
- [22] 余远盼, 林桂梅, 李医名. 枳实-白芍不同配伍比例及枳实生品与炮制品换用的枳实芍药散化学成分研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(6): 135-140.
- [23] 徐小飞, 陈康, 汪金玉. 广陈皮和青皮炮制前后辛弗林含量比较研究 [J]. 河南中医, 2011, 31(7): 807-808.
- [24] 陈永达. 土炒辅料——赤石脂 [J]. 浙江中医学院学报, 1998(2): 50.
- [25] 沈建涛. 中药土炒炮制技术规范研究 [D]. 郑州: 河南中医学院, 2014.

[责任编辑 郑礼胜]