

不同年份新会陈皮的HPLC指纹图谱研究

王晴晴, 王俊青, 冯晓敏, 徐紫怡, 宁雅琴, 邵玉田, 周海斌*

滁州学院材料与化学工程学院, 安徽 滁州

收稿日期: 2022年11月9日; 录用日期: 2022年11月18日; 发布日期: 2023年2月27日

摘要

目的: 建立不同年份陈皮的HPLC指纹图谱, 以比较不同年份陈皮的主成分含量差异。方法: 采用HPLC法, Betasil C18 (4.6 mm × 150 mm, 10 μL)色谱柱, 流动相为乙腈(B)-0.1%甲酸溶液(C)梯度洗脱, 柱温: 30°C, 流速1.0 mL/min, 检测波长: 300 nm, 进样量: 10 μL, 建立储存年限为5年、10年、15年、30年陈皮的HPLC指纹图谱, 以中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)进行评价。同时, 测定陈皮中橙皮素、芸香柚皮苷、桔红素、川陈皮素、橙皮苷5种黄酮类成分含量。结论: 在5年、10年、15年、30年陈皮中, 橙皮苷、橙皮素含量随储存年限的增加呈现上升的趋势, 而桔红素、芸香柚皮苷、川陈皮素含量随年限增加呈下降趋势。建立的不同年份陈皮的HPLC指纹图谱操作简单、具有良好的可靠性与重复性, 可为不同年份陈皮药材的质量控制提供参考。

关键词

黄酮类, 陈皮, 不同年份, 指纹图谱

Study on the HPLC Fingerprint Chromatogram of Xinhui Tangerine Peel in Different Years

Qingqing Wang, Junqing Wang, Xiaomin Feng, Ziyi Xu, Yaqin Ning, Yutian Shao, Haipin Zhou*

School of Materials and Chemical Engineering, Chuzhou University, Chuzhou Anhui

Received: Nov. 9th, 2022; accepted: Nov. 18th, 2022; published: Feb. 27th, 2023

Abstract

Objective: To establish HPLC fingerprint chromatogram of Tangerine peel in different years, and

*通讯作者。

文章引用: 王晴晴, 王俊青, 冯晓敏, 徐紫怡, 宁雅琴, 邵玉田, 周海斌. 不同年份新会陈皮的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 药物化学, 2023, 11(1): 13-17. DOI: 10.12677/hjmce.2023.111003

compare the content differences of principal components in tangerine peel in different years. **Methods:** HPLC was performed on Betasil C18 (4.6 mm × 150 mm, 10 μL) column with gradient elution of acetonitrile (B)-0.1% formic acid (C) as mobile phase. The column temperature was 30°C, the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 300 nm, and the injection volume: HPLC fingerprint chromatograms of tangerine peel with a storage life of 5 years, 10 years, 15 years and 30 years were established and evaluated by TCM fingerprint chromatogram similarity evaluation system (2012 edition). At the same time, the contents of 5 flavonoids in tangerine peel were determined, including hesperidin, brassica naringin, orangin, tangerine and hesperidin. **Conclusion:** The contents of hesperidin and hesperidin in tangerine peel of 5, 10, 15 and 30 years showed an increasing trend with the increase of storage years, while the contents of orangin, naringin and tangerine peel showed a decreasing trend with the increase of storage years. The established HPLC fingerprint chromatogram of tangerine peel in different years is simple, reliable and reproducible, which can provide a reference for the quality control of tangerine peel of different years.

Keywords

Flavonoids, Tangerine Peel, Different Years, Fingerprint Chromatogram

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

陈皮,原名橘皮,异名贵老、红皮、黄橘皮,是芸香科、柑橘亚科、柑橘属植物橘 *Citrus Reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮。陈皮始载于《神农本草经》,曰“主胸中痰热,逆气,利水谷,久服去臭,下气”,医书记载其具有理气健脾、降逆止呕、调中开胃、燥湿化痰之功效[1]。陈皮临床应用于胸腹胀满、脾虚饮食减少、消化不良以及恶心呕吐等症[2]。陈皮所含成分复杂,主要包括挥发油类、黄酮类、生物碱类、柠檬苦素类和微量元素等,具有抗氧化、抗炎、镇咳、降低胆固醇、升压、抗休克及强心等药理作用[3][4]。自古以来,新会陈皮为地道药材,如明朝时期的李时珍也在《本草纲目》中记载道:陈皮“今天下以广中(即新会)来者为胜”。因此,本文选用新会陈皮,旨在通过不同年份新会陈皮的 HPLC 指纹图谱的建立[5],以为陈皮的药材鉴别、质量评价以及质控标准制定提供依据。

2. 仪器与材料

2.1. 仪器

高效液相色谱仪(Thermo Ultimate 3000);超声波清洗器(KQ3200B);十万分之一电子分析天平(EX125DZH);循环水真空泵(SHZ-D (III))。

2.2. 材料

对照品:川陈皮素(批号 DSTDC003701)、芸香柚皮苷(批号 DST211102-098)、橙皮苷(批号 DSTDC003801)、橙皮素(批号 DSTDC005401)、橘皮素(批号 DSTDJ00040),均购于成都德思特生物技术有限公司,化学结构式如图 1;样品:新会陈皮由广东省新会中华果皮店购入。样品的陈化时间分别为 5 年、10 年、15 年、30 年;试剂:甲醇为色谱纯、水为重蒸水,其它试剂均为分析纯。

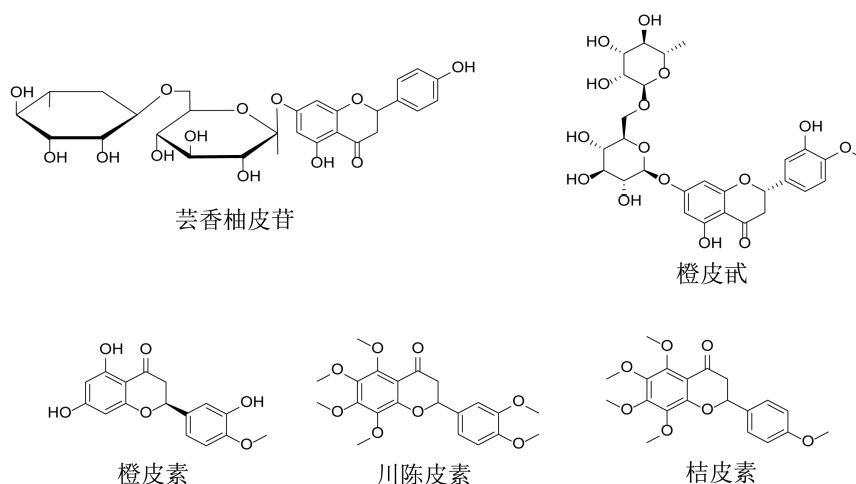


Figure 1. Chemical structure formula of 5 controls
图 1. 5 个对照品的化学结构式

3. 方法与结果

3.1. 色谱条件

色谱柱: Betasil C18 (4.6 mm × 150 mm, 10 μL) 色谱柱; 柱温: 30℃, 流速 1.0 mL/min, 检测波长: 300 nm, 进样量: 10 μL, 流动相为 10% 乙腈(A)-0.1% 甲酸溶液(B) 梯度洗脱, 如表 1 所示。

Table 1. Gradient elution condition settings

表 1. 梯度洗脱条件设置

时间(min)	10% 乙腈(A%)	0.1% 甲酸(B%)
0~7	10	90
7~35	22	78
35~42	28	72
42~67	58	42
67~70	10	90

3.2. 对照品溶液的制备

精密称定 0.00137 g 橙皮素、0.00671 g 芸香柚皮苷、0.00230 g 桔皮素、0.00136 g 川陈皮素、0.00920 g 橙皮苷标准品粉末于 25 mL 容量瓶中, 加甲醇超声溶解后定容, 制成混合对照品溶液。

3.3. 供试品溶液的制备

取 5 年、10 年、15 年、30 年陈皮, 打粉过 50 目筛, 精密称定陈皮粉末约 1 g, 置具塞锥形瓶中, 精密量取纯甲醇 25 mL, 超声提取(功率 300 W, 频率 40 kHz) 45 min 后放冷, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 高速离心 10 min, 15000 r/min, 离心后取上清液, 即得供试品溶液。

3.4. 陈皮指纹图谱的建立

取 5 年、10 年、15 年、30 年陈皮样品粉末, 按 “3.3” 项下的方法制备供试品溶液, 并将对照品溶液与供试品溶液按照 “3.1” 项下的色谱条件分别进样, 进行分析测定。采用 “中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件 2012 版” (国家药典委员会), 以陈皮 5 年供试品色谱图作为参照图谱, 生成 4 批陈皮样品的

叠加图谱。共确定 13 个共有峰, 见图 2。通过与混合对照品比对, 指认了 5 个成分, 分别为芸香柚皮苷、橙皮苷、橙皮素、川陈皮素、桔红素, 见图 3。对其进行相似度评价, 结果得相似度分别是 0.938、0.925、0.917、0.962, 相似度均大于 0.900, 表明各年份陈皮的 HPLC 指纹图谱相似度较高。

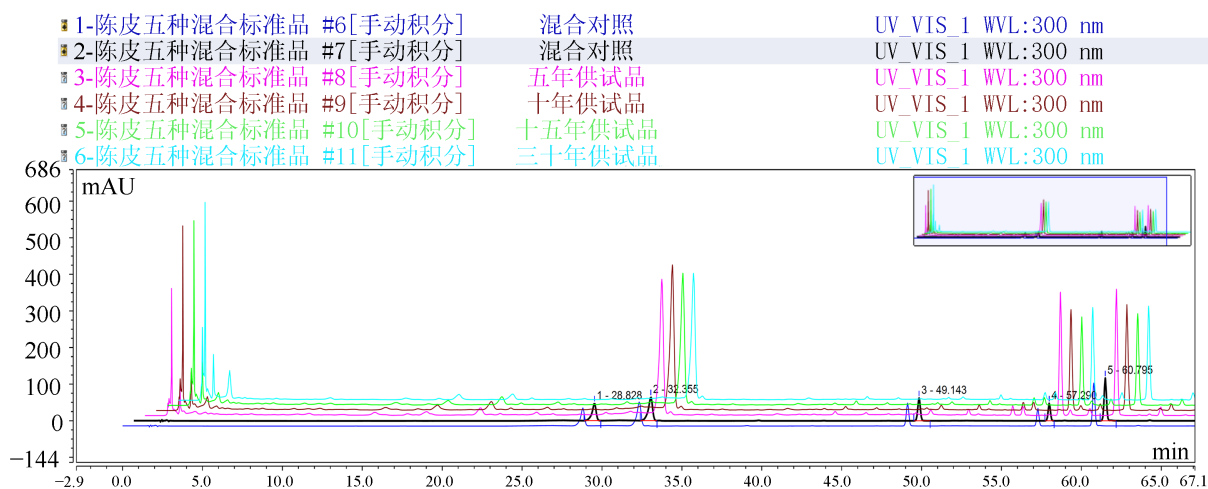
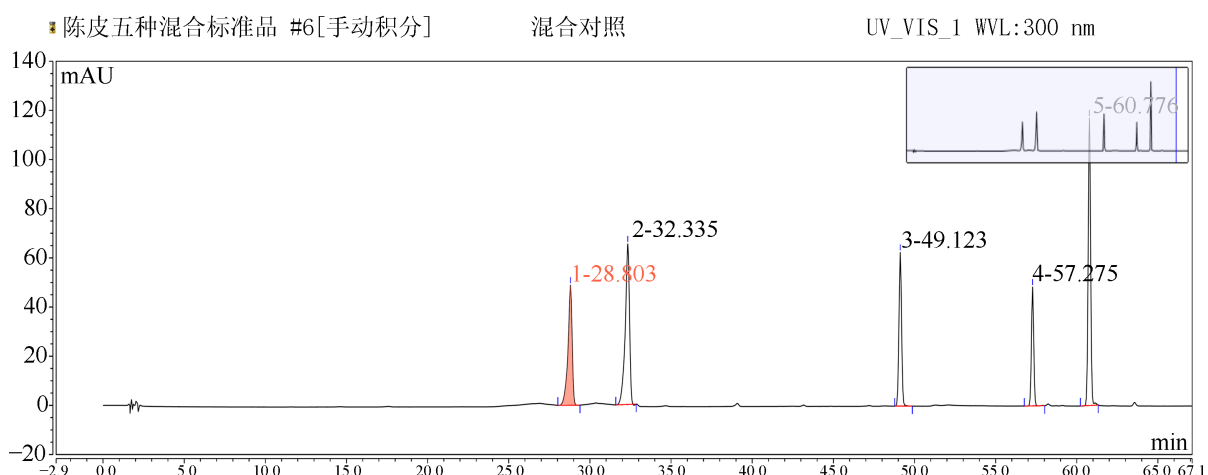


Figure 2. HPLC fingerprint chromatogram of tangerine peel in different storage years

图 2. 不同贮存年份陈皮 HPLC 指纹图谱



注: 从左往后, 1 号峰为芸香柚皮苷, 2 号峰为橙皮苷, 3 号峰为橙皮素, 4 号峰为川陈皮素, 5 号峰为桔红素。

Figure 3. HPLC chromatogram of mixed control

图 3. 混合对照品的 HPLC 色谱图

3.5. 指纹图谱的方法学考察

3.5.1. 精密度实验

取 5 年的陈皮供试品溶液, 按照“3.1”项下的色谱条件进行分析, 重复进样 6 次, 以橙皮苷峰为参照峰, 计算特征峰的相对保留时间及相对峰面积, 得相对保留时间 RSD 均小于或等于 0.55%, 相对峰面积 RSD 均小于 3.00%。结果显示仪器精密度良好。

3.5.2. 稳定性实验

取同一个供试品溶液(5 年), 分别于 0、6、12、24、48、72 小时进行进样测定, 按照“3.1”项下的色谱条件进行分析, 记录色谱图, 以橙皮苷峰为参照峰, 计算特征峰的相对保留时间及相对峰面积。相

对保留时间 RSD 均小于或等于 1.00%，相对峰面积 RSD 均小于 3.00%，表明供试品溶液在 72 h 内稳定性良好。

3.5.3. 重复性实验

取 5 年的陈皮样品粉末 6 份，精密称定，制备供试品溶液，按照“3.1”项下的色谱条件进行分析，记录色谱图，以橙皮苷峰为参照峰，计算特征峰的相对保留时间及相对峰面积，相对保留时间 RSD 均小于或等于 1.00%，相对峰面积 RSD 均小于 3.00%，结果显示方法重复性良好。

4. 讨论与结论

本文结果显示，随着年份的增加，新会陈皮中 5 种主要活性黄酮成分含量有一定的变化。开始时，黄酮类成分含量随贮藏的年限而增加，之后出现了一定的反复，这可能与药材质量难以统一有关。不过从整个趋势来看，新会陈皮中黄酮类成分有一定的下降趋势。研究者认为，黄酮类物质含量减少的原因比较复杂，既可能与药材存储过程中相关酶的活性变化有关，还有可能与药材所含挥发性成分的散失有关，另外，有诸多资料文献表明，植物本身的内生菌可产生并促进药材活性成分的累积。总体而言，古人所说的陈皮“陈久者良”这一说法，是有一定道理的。

不同年份的新会陈皮甲醇提取物的 HPLC 指纹图谱相似度很高，经过标准品的鉴定和指认，甲醇提取物中共有峰多为黄酮类化合物，含量有所波动，但是随着年份的增长，变化较小，可为新会陈皮年份的鉴别作为一定的参考。

基金项目

滁州学院开放实验项目(kfsy2105)；安徽省大学生创新创业训练计划项目(2022CXXL098)。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 199.
- [2] 薛芳, 许占明. 中国药物大全(中药卷) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 29.
- [3] 余祥英, 陈晓纯, 李玉婷, 等. 不同产地和不同贮藏年限陈皮的化学成分研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(12): 3809-3817.
- [4] 周洁, 黄海龙, 余虹, 等. 不同年份陈皮指纹图谱及黄酮类成分的含量测定[J]. 药品评价, 2021, 18(9): 519-523.
- [5] 罗美霞. 不同品种来源陈皮“活性”指纹图谱的构建与分析[D]: [硕士学位论文]. 广州: 广州医科大学, 2018.