

王迪, 何悦月, 李阳倩, 等. UPLC-CAD 法比较小麦麸皮与苦荞麸皮炒枳壳有效成分含量的变化[J]. 环境化学, 2022, 41(9): 3118-3120.  
WANG Di, HE Yueyue, LI Yangqian, et al. Changes of effective components content of wheat bran and Tartary buckwheat bran fried Aurantii Fructus by UPLC-CAD method[J]. Environmental Chemistry, 2022, 41 (9): 3118-3120.

## UPLC-CAD 法比较小麦麸皮与苦荞麸皮炒枳壳有效成分含量的变化\*

王迪<sup>1</sup> 何悦月<sup>1</sup> 李阳倩<sup>2\*\*</sup> 邓放<sup>1\*\*</sup>

(1. 成都中医药大学西南特色中药资源国家重点实验室, 成都, 611137; 2. 成都中医药大学资产与实验室管理处, 成都, 611137)

**摘要** 建立超高效液相色谱-电雾式检测器(UPLC-CAD)法比较枳壳药材生品、小麦麸皮及苦荞麸皮炒枳壳炮制品的药效指标成分含量差异. 根据2020年版《中国药典》(四部)炮制通则中相关炮制方法制备小麦麸皮与苦荞麸皮炒枳壳的炮制品, UPLC-CAD法测定其中辛弗林、柚皮苷、新橙皮苷、柠檬苦素和诺米林5种成分的含量. 结果表明, 枳壳中辛弗林含量在炮制前后无显著性差异( $P>0.05$ ); 柚皮苷和新橙皮苷两种黄酮苷类化合物的含量经过小麦麸皮炒后含量均有降低, 而苦荞麸皮炒后新橙皮苷含量有上升趋势; 两种炮制辅料对新橙皮苷含量存在显著性差异( $P<0.05$ ); 经过两种炮制方式炮制后, 柠檬苦素和诺米林的含量均有上升的趋势, 且柠檬苦素含量在经过苦荞麸皮炒后含量上升明显, 存在显著性差异( $P<0.05$ ). 本研究建立的UPLC-CAD法简便、快捷、可靠, 可为枳壳及其炮制品的质量评价提供参考.

**关键词** 枳壳, 超高效液相色谱-电雾式检测器, 小麦麸皮, 苦荞麸皮, 炮制, 含量差异.

## Changes of effective components content of wheat bran and Tartary buckwheat bran fried Aurantii Fructus by UPLC-CAD method

WANG Di<sup>1</sup> HE Yueyue<sup>1</sup> LI Yangqian<sup>2\*\*</sup> DENG Fang<sup>1\*\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Southwest Traditional Chinese Medicine Resources, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, 611137, China; 2. Department of Assets and Laboratory Management, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, 611137, China)

**Abstract** An ultra-high performance liquid chromatography-charged aerosol detector (UPLC-CAD) method was established to compare the content differences of medicinal efficacy index components in the raw products of Aurantii Fructus, wheat bran and tartary buckwheat bran fried products. According to the processing general rules of 《Chinese Pharmacopoeia》(4) in 2020 edition, the processed products of fried Aurantii Fructus with wheat bran and Tartary wheat bran were prepared. The contents of synephrine, naringin, neohesperidin, limonin and nomilin were determined by UPLC-CAD method. The results showed that synephrin content in fructus aurantii had no significant difference before and after processing ( $P>0.05$ ). The content of naringin and neohesperidin decreased after wheat bran frying, while the content of neohesperidin increased after Tartary buckwheat bran frying. There were significant differences in the content of neohesperidin between the two processing excipients ( $P<0.05$ ). After the two processing methods, the contents of limonin and nomelin increased, and the content of limonin increased significantly after Tartary buckwheat bran frying, with significant differences ( $P<0.05$ ). In this study, the UPLC-CAD method

\* 农业农村部杂粮加工重点实验室开放基金(2021CC003)资助.

\*\* 通信联系人 Corresponding author, E-mail: 635757642@qq.com; E-mail: dengf99@163.com

established was simple, fast and reliable, which could provide reference for the quality evaluation of *Aurantii Fructus* and its processed products.

**Keywords** *Aurantii Fructus*, Ultra high performance liquid chromatography-electric mist detector, wheat bran, Tartary buckwheat bran, processing, content difference.

枳壳为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* 及其栽培变种的干燥未成熟果实, 具有理气宽中、行滞消胀之功效<sup>[1]</sup>。目前, 对于枳壳的炮制方法主要有麸炒、炒黄、蜜制等, 其中加辅料炒主要以小麦麸炒为主<sup>[2]</sup>。故本研究以“辅料炒”为切入点, 创新枳壳炮制方式, 采用“味苦、性寒”的苦荞麦的麸皮作为固体辅料, 苦能泄降, 微寒能清<sup>[3]</sup>; 旨在增强枳壳“行滞消胀”之功效, 达协同增效之目的。

枳壳主要含黄酮苷类、生物碱类、柠檬苦素类以及挥发油类等成分<sup>[3]</sup>。2020 年版中国药典以柚皮苷和新橙皮苷作为定量指标来控制枳壳质量, 祝婧等<sup>[4]</sup>亦根据分子对接和网络药理学结果建立了与宽中除胀功效相关的潜在质量标志物, 其中包括了辛弗林、柠檬苦素等 16 个成分。故本研究选择辛弗林、柚皮苷、新橙皮苷、柠檬苦素和诺米林的 5 种成分含量作为质量评价指标, 对枳壳两种不同的炮制方式进行评价。

辛弗林、柠檬苦素和诺米林的 3 种化合物在电喷雾检测器中的响应较紫外检测器较优。综合考虑, 本研究采用 UPLC-CAD 法分析比较枳壳生品以及两种不同炮制品的 5 种药效指标成分的含量差异, 以期为创新枳壳饮片炮制工艺、阐释中药材炮制科学内涵提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试药

Thermo Ultimate 3000 高效液相色谱仪和 Corona Veo 电雾式检测器(赛默飞世尔科技有限公司); AR224CN 型十万分之一分析天平(奥豪斯仪器有限公司); JDUT-2 型超声波清洗机(成都雅源科技有限公司)。枳壳原药材, 已除去杂质及瓢核, 产地为四川, 购于四川麒麟药业有限公司, 经过成都中医药大学陈鸿平教授的鉴定, 为芸香科植物酸橙 *C. aurantium* 的干燥未成熟果实; 对照品辛弗林、柚皮苷、新橙皮苷、柠檬苦素和诺米林均购自成都曼思特生物科技有限公司, 批号分别为 MUST-2112716、MUST-22012104、MUST-22040707、MUST-22053003、MUST-21102501, 纯度均 $\geq 98\%$ ; 乙腈为色谱纯, 水为屈臣氏纯净水。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 枳壳炮制品的制备

随机抽取同一批次生品枳壳饮片 5 份, 每份 20 g, 粉碎后过 2 号筛, 样品编号记为 S1—S5。

参考《中国药典》2020 年版麸炒的炮制通则及麸炒枳壳饮片的炮制要求<sup>[3]</sup>, 随机抽取生品枳壳饮片 5 份, 每份 20 g。将炒锅加热, 撒入适量小麦麸皮即刻烟起, 随即投入其中 1 份生品枳壳饮片, 迅速翻炒, 炒至表面呈黄色或深黄色时, 取出, 筛去麸皮, 放凉。重复操作制备平行样品共 5 份, 粉碎后过 2 号筛, 样品编号记为 F1—F5。

随机抽取生品枳壳饮片 5 份, 每份 20 g。取米荞 1 号麸皮适量, 参照《中国药典》2020 年版麸炒枳壳饮片的炮制方法, 平行操作制备得到苦荞麸皮炒枳壳炮制品 5 份, 粉碎后过 2 号筛, 样品编号记为 K1—K5。

#### 1.2.2 供试品溶液制备

精密称取 S1—S5、F1—F5 和 K1—K5 样品各 0.5 g, 置于 10 mL 容量瓶中, 加入甲醇 7 mL, 超声处理(功率 500 W, 频率 40 kHz) 30 min, 冷却后, 定容至刻度, 摇匀, 过 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜, 取续滤液, 置于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱储存备用。

#### 1.2.3 对照品溶液制备

精密称取辛弗林、柚皮苷、新橙皮苷、柠檬苦素和诺米林对照品适量置于 10 mL 容量瓶中, 加入甲醇超声溶解并定容至刻度, 制成浓度分别为 200.4、194.0、239.6、228.8、244.8  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的混标溶液。逐级稀释得到一系列不同浓度的混合对照品溶液, 置于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱储存备用。

#### 1.2.4 色谱条件

采用 Accucore<sup>TM</sup>C<sub>18</sub> 色谱柱(3.0 mm $\times$ 100 mm, 2.6  $\mu\text{m}$ ), 柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ , 流动相为 A(0.1% 甲酸水)—B(乙腈), 0—2.5 min: 5%—5%B, 2.5—12 min: 5%—35%B, 12—21 min: 35%—75%B。流速为 0.3 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ , 进样量 10  $\mu\text{L}$ , 紫外检测波长为 283 nm, CAD 检测器(雾化温度: 50  $^{\circ}\text{C}$ , 采集频率: 10 Hz, 过滤常数: 5 s)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 专属性考察

精密吸取混合对照品溶液和各供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$  注入高效液相色谱仪, 按照 1.2.4 节色谱条件进行检测, 色谱图见图 1。辛弗林、柠檬苦素和诺米林的 3 种化合物在 CAD 中的响应均较 DAD 优; 同时, 由图 1B 可看出, 固体辅料小麦麸皮和苦荞麸皮的谱图与混合对照品谱图相比无干扰。

### 2.2 方法学考察

以浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y)绘制线性方程, 计算各待测成分的含量。结果表明各指标成分相关系数  $r$  均大于 0.9990, 呈良好线性关系。

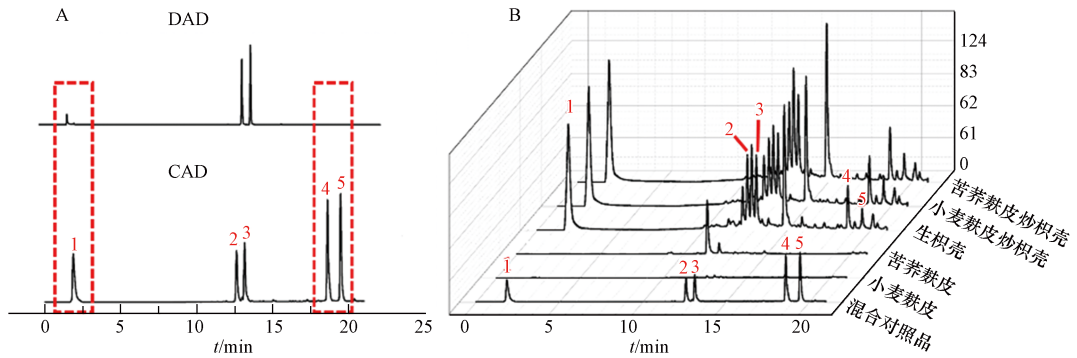


图1 供试样品及混合对照品 UPLC 谱图

A: 混合对照品在 DAD 和 CAD 检测器下的谱图对比; B: 混合对照品、小麦麸皮、苦荞麸皮、生枳壳、小麦麸皮炒枳壳以及苦荞麸皮炒枳壳的叠加谱图。注: 1—辛弗林; 2—柚皮苷; 3—新橙皮苷; 4—柠檬苦素; 5—诺米林

Fig.1 UPLC spectrum of the test sample and mixed reference substance

吸取“1.2.3”项下同一份混合对照品溶液, 重复进样 6 次, 根据标准曲线计算各待测组分的浓度 RSD 值在 0.86%—2.25%, 表明仪器精密度良好。

按照“1.2.2”节方法制备供试品溶液, 分别于 0、2、6、10、12、24 h 计算各待测成分的浓度的 RSD 值, 结果表明 RSD 值均小于 1.97%, 说明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

精密称取 S1 样品 0.3 g, 按照“1.2.2”节方法平行制备 6 份供试品溶液, 根据标准曲线计算各待测成分的浓度的 RSD 值, 结果表明 RSD 均小于 2.73%, 说明实验方法重复性良好。

精密称取已知含量的样品粉末 (S1) 约 0.10 g, 按“1.2.2”项下方法制备供试品溶液平行制备 6 份, 分别精密加入各对照品溶液适量 (使各对照品含量相当于样品中的含量), 根据标准曲线计算各待测成分含量, 计算加样回收率。结果表明 5 种待测成分平均回收率在 95.73%—106.31%, RSD 在 1.52%—3.01%, 表明该方法的回收率良好。

### 2.3 含量测定

5 种待测组分含量测定结果如图 2 所示, 结合  $t$  检验分析, 发现辛弗林含量在炮制前后基本一致, 无显著性差异 ( $P>0.05$ )。柚皮苷和新橙皮苷两种黄酮苷类化合物经过小麦麸皮炒后含量均有降低, 而苦荞麸皮炒后新橙皮苷含量有上升趋势; 此外, 经过两种炮制方式炮制后, 柠檬苦素和诺米林的含量均有上升的趋势, 其中柠檬苦素的含量在经过苦荞麸皮炒后含量上升明显, 存在显著性差异 ( $P<0.05$ )。

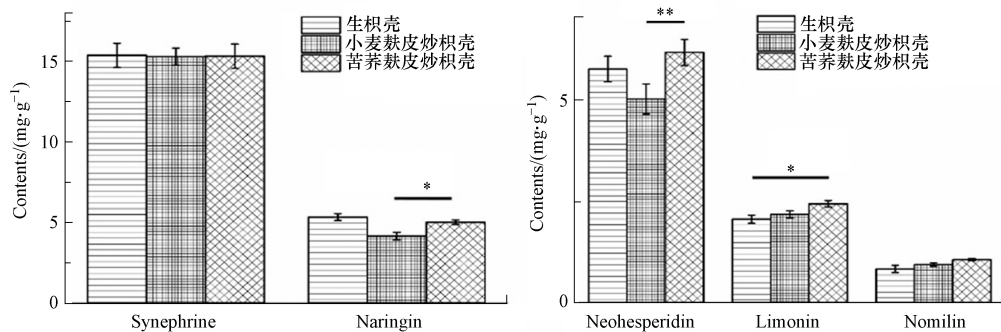


图2 生枳壳、小麦麸皮炒及苦荞麸皮炒枳壳样品中 5 个成分含量对比图

注: \*表示  $P<0.05$  存在显著性差异, \*\*表示  $P<0.01$  存在极显著性差异

Fig.2 Comparison of the contents of five components in the samples of raw Aurantii Fructus, stir fried Aurantii Fructus with wheat bran and fried Aurantii Fructus with tartary buckwheat bra;

### 3 结论

本研究在枳壳传统的炮制方法基础上创新了枳壳的炮制方式, 采用快速、准确、简便的 UPLC-CAD 法对枳壳生药材饮片、小麦麸皮炒与苦荞麸皮炒枳壳中 5 种药效指标成分含量进行了测定。结果表明, 两种不同的炮制方式相对比, 枳壳经过苦荞麸皮炒后有效成分含量上升更加显著。

### 参考文献 (References)

- [1] 祝婧, 叶喜德, 吴江峰, 等. 枳壳炮制历史沿革及炮制品现代研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019(20): 191-199.
- [2] 何嘉莹, 李定发, 黄敏烨, 等. 枳壳及麸炒枳壳对比研究 [J]. 中药材, 2020, 43(12): 2914-2919.
- [3] 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.
- [4] 祝婧, 黄艺, 袁恩, 等. “宽中除胀”功效关联的樟帮蜜麸枳壳饮片质量标志物(Q-marker)成分库预测分析 [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4713-4728.