

基于HPLC指纹图谱结合化学计量学评价 不同产地佛手药材质量

郑振兴¹, 胡瀚文², 曾利¹, 杨欢¹, 樊瑜歆¹, 郭大乐¹, 邓放^{1*}

(1. 成都中医药大学药学院, 西南特色中药资源国家重点实验室,
中药材标准化教育部重点实验室, 成都 611137; 2. 岳池县中医医院, 四川 广安 638300)

[摘要] 目的:建立佛手的高效液相色谱法(HPLC)指纹图谱,结合化学计量学方法寻找表征不同产地佛手质量差异的标志物。方法:采用 Thermo Hypersil GOLD C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相 0.05% 磷酸水溶液-乙腈梯度洗脱,检测波长 254 nm,对 31 批佛手样品进行分析,建立指纹图谱,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)进行相似度评价,确认共有峰,通过对照品比对对共有峰进行指认,并结合化学计量学方法对不同产地佛手质量及其控制方法进行分析,同时随机收集佛手、枳实、枳壳、青皮和陈皮 5 种芸香科植物的饮片各 3 批进行分析,对建立的佛手指纹图谱的有效性和可靠性进行评价。结果:建立了佛手样品的 HPLC 指纹图谱,共标定了 22 个共有峰,通过对照品比对指认了其中 7 个共有峰(6,7-二甲氧基香豆素、香叶木苷、橙皮苷、白当归素、佛手柑内酯、氧化前胡素和 5,7-二甲氧基香豆素);除 2 批样品外,其他 29 批佛手样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度均>0.9;聚类分析和主成分分析将 31 批佛手基本分为三类,与 3 个不同产地分类一致;正交偏最小二乘法-判别分析筛选得到 8 个差异标志物,经对照品指认了其中 4 个差异性成分,分别为 5,7-二甲氧基香豆素、佛手柑内酯、香叶木苷和 6,7-二甲氧基香豆素;以佛手对照指纹图谱为参照图谱,对 5 种芸香科植物的饮片的图谱进行相似度评价,佛手的相似度在 0.892~0.977,其余 4 种饮片的相似度均在 0.215~0.517。结论:该研究建立的指纹图谱方法合理、有效、准确,结合化学计量学分析方法,表征信息更加全面,可为佛手的质量控制与品质评价提供科学依据和参考。

[关键词] 佛手; 高效液相色谱法(HPLC)指纹图谱; 化学计量学; 聚类分析; 主成分分析(PCA); 正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA); 质量评价

[中图分类号] R22;R28;R931;O657.7 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2021)21-0174-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211551

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210421.1438.003.html>

[网络出版日期] 2021-04-21 15:41

Quality Evaluation of Citri Sarcodactylis Fructus from Different Origins Based on HPLC Fingerprint and Chemometrics

ZHENG Zhen-xing¹, HU Han-wen², ZENG Li¹, YANG Huan¹, FAN Yu-xin¹, GUO Da-le¹, DENG Fang^{1*}

(1. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM),
State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources,
Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education,
Chengdu 611137, China; 2. Yuechi Hospital of TCM, Guang'an 638300, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint of Citri Sarcodactylis Fructus, and to search for makers to characterize the quality difference of Citri Sarcodactylis Fructus from different origins coupled with chemometrics. **Method:** The analysis was performed on a Thermo Hypersil GOLD C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile-0.05%

[收稿日期] 20210218(011)

[基金项目] 四川省科技厅重点研发项目(2018SZ0069)

[第一作者] 郑振兴,在读硕士,从事药物有效成分分析研究,E-mail:2766450841@qq.com

[通信作者] * 邓放,博士,副教授,从事中药药效物质基础与质量标准研究,E-mail:dengf99@163.com

phosphoric acid solution for gradient elution, and the detection wavelength was set at 254 nm. A total of 31 batches of samples were analyzed to establish the HPLC fingerprint of Citri Sarcodactylis Fructus. Similarity evaluation was performed by Traditional Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System (2012 edition) to confirm the common peaks, which were identified by comparison of reference substances. On the basis, chemometrics methods were used to analyze and evaluate the quality of Citri Sarcodactylis Fructus from different origins. At the same time, 3 batches of 5 species of decoction pieces from the genus *Citrus* in the family Rutaceae, including Citri Sarcodactylis Fructus, Aurantii Fructus Immaturus, Aurantii Fructus, Citri Reticulatae Pericarpium Viride and Citri Reticulatae Pericarpium, were randomly collected for evaluating the effectiveness and reliability of the established HPLC fingerprint of Citri Sarcodactylis Fructus. **Result:** HPLC fingerprint of Citri Sarcodactylis Fructus was established and 22 common peaks were identified. And seven common peaks among them were identified as 6, 7-dimethoxycoumarin, diosmin, hesperidin, byakangelicin, 5, 7-dimethoxycoumarin, bergapten and oxypeucedanin. Except for 2 batches of samples, the similarities of fingerprints between other 29 batches of samples were >0.9. The 31 batches of Citri Sarcodactylis Fructus were basically divided into 3 groups by cluster analysis and principal component analysis, which were consistent with the classification of three different producing areas. Eight differential markers were screened by orthogonal partial least squares discriminant analysis and four of them (5, 7-dimethoxycoumarin, bergapten, 6, 7-dimethoxycoumarin and diosmin) were identified by reference substances. Similarity evaluation of 5 species of decoction pieces from genus *Citrus* in the family Rutaceae was carried out by taking the reference fingerprint of Citri Sarcodactylis Fructus as reference chromatogram, similarity of Citri Sarcodactylis Fructus decoction pieces was 0.892-0.977, and the similarities of the other 4 kinds of decoction pieces were 0.215-0.517. **Conclusion:** The established fingerprint method is reasonable, effective and accurate for quality control of Citri Sarcodactylis Fructus, the characterization information is more comprehensive combined with chemometrics.

[Keywords] Citri Sarcodactylis Fructus; high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint; chemometrics; cluster analysis; principal component analysis (PCA); orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA); quality evaluation

佛手具有疏肝理气、和胃止痛、燥湿化痰的功效,常用于治疗肝胃气滞、胸胁胀痛、胃脘痞满、食少呕吐、咳嗽痰多等^[1]。佛手在我国栽培广泛,应用历史悠久,不仅可作药用,还可食用,是众多药品、保健品、食品的原料来源^[2]。现代研究表明,佛手中主要含有黄酮类(如橙皮苷、香叶木苷等),香豆素类(如5,7-二甲氧基香豆素、佛手柑内酯和6,7-二甲氧基香豆素等)和挥发油(如柠檬烯、松油烯等)等化学成分^[3-7],具有止咳祛痰平喘^[8-10]、抑菌^[11-12]、抗炎^[13-14]、抗氧化^[15-18]、抗抑郁^[19-20]、降血脂^[21-22]和体外肿瘤抑制^[23-26]等活性。

佛手在我国南方多地均有栽培,根据产地的不同,佛手可分为川佛手、广佛手、金佛手及建佛手^[27]。由于佛手产地众多,其质量存在差异,难以对佛手的整体质量进行全面控制与准确评价,必须研究、开发和利用新的技术与方法以控制佛手药材的质量。中药指纹图谱技术是一种对复杂系统进行检测的方法,具有稳定性、系统性的特点,可通过

多种分析手段尽可能全面地获得中药成分群的特征信息,反映中药所含化学成分的种类和数量,从而对中药质量进行评价与控制^[28-29]。化学计量学分析现已被广泛应用于中药的研究,通过对色谱法获得的复杂中药化学数据进行特征提取,可以更全面地反映药材性质,从而对药材进行鉴别和分类^[30]。近年来,不少研究人员利用中药指纹图谱技术结合多种色谱技术和化学计量学分析方法开发和研究控制佛手质量的新方法,以期提高佛手的质量控制水平^[31-35]。现有对佛手指纹图谱的研究大多集中于建立指纹图谱并采用聚类分析和主成分分析(PCA)实现对不同产地佛手的分类方面,但共有峰的指认较少,且尚未有对不同产地佛手差异性标志物的探讨与分析。基于此,本实验以31批不同产地佛手为研究对象,建立佛手的高效液相色谱法(HPLC)指纹图谱,通过相似度评价并结合化学计量学分析的方法比较不同产地佛手的质量,对不同产地佛手质量差异性化学成分进行筛选,并采用该方法对包括

佛手在内的5种芸香科药用植物药材(佛手、枳实、枳壳、青皮和陈皮)进行分析,以评价该指纹图谱方法的有效性,为优选佛手质量控制指标、完善佛手的质量评价体系提供参考。

1 材料

UltiMate 3000型高效液相色谱仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司,配置LPG-3400 SDN型泵,WPS-3000SL型进样器,TCC-3000SD型柱温箱和Chromleon 7色谱工作站],BS124S型1/1万电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],DV215CD型1/10万电子分析天平(美国Ohaus公司)。

6,7-二甲氧基香豆素、香叶木苷、橙皮苷、佛手柑内酯和5,7-二甲氧基香豆素对照品(英国Purechemland公司,批号分别为PCL-#-Dm279, PCL-#-Di130, PCL-#-H633, PCL-#-Dn023, PCL-#-Bp100,纯度均>98%),白当归素和氧化前胡素对照品(成都德思特生物技术有限公司,批号分别为DST190719-062, DST191110-184,纯度均≥98%),水为怡宝纯净水,乙腈、磷酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。佛手药材共有31批,川佛手17批,广佛手8批,金佛手6批,经成都中医药大学药学院龙飞副教授鉴定为芸香科植物佛手*Citrus medica* var. *sarcodactylis*的干燥果实,样品信息见表1。

表1 31批佛手样品信息及其指纹图谱相似度

Table 1 Information and fingerprint similarities of 31 batches of Citri Sarcodactylis Fructus

编号	产地	类型	批号或采集时间	相似度	编号	产地	类型	批号或采集时间	相似度
C1	四川	饮片	1709058	0.982	C17	四川	药材	2019-10-28	0.941
C2	四川	药材	2018-05-01	0.949	G1	广东	饮片	1804116	0.978
C3	四川	药材	2018-06-01	0.987	G2	广东	饮片	1806034	0.961
C4	四川	饮片	180601B25-01A50	0.966	G3	广东	饮片	20190301	0.963
C5	四川	饮片	180801A50	0.990	G4	广东	饮片	20190401	0.751
C6	四川	饮片	1808089	0.968	G5	广东	饮片	20190401	0.800
C7	四川	药材	2018-09-16	0.974	G6	广东	饮片	190404931	0.947
C8	四川	药材	2018-09-17	0.978	G7	广东	饮片	190800901	0.967
C9	四川	饮片	190102A50	0.964	G8	广东	饮片	20191001	0.953
C10	四川	饮片	1901076	0.957	J1	浙江	饮片	20180718	0.945
C11	四川	饮片	1905100	0.949	J2	浙江	饮片	2019-10-01	0.964
C12	四川	药材	2019-06-01	0.962	J3	浙江	饮片	2019-10-02	0.913
C13	四川	药材	2019-08-23	0.981	J4	浙江	饮片	2020-01-03	0.953
C14	四川	药材	2019-08-24	0.969	J5	浙江	饮片	2020-01-04	0.937
C15	四川	饮片	190903A50	0.969	J6	浙江	饮片	2020-01-06	0.927
C16	四川	药材	2019-10-12	0.935					

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Thermo Hypersil GOLD C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相0.05%磷酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~15 min, 5%~14%B; 15~27 min, 14%~17%B; 27~40 min, 17%~28%B; 40~65 min, 28%~85%B),流速1 mL·min⁻¹,柱温30 °C,进样量10 μL,检测波长254 nm。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密称取各对照品适量,加甲醇配制成含6,7-二甲氧基香豆素,香叶木苷,橙皮苷,白当归素,5,7-二甲氧基香豆素,佛手柑内酯,氧化前胡素的质量浓度分别为8.9, 6.7,

8.17, 10.6, 8.55, 9.25, 9.65 mg·L⁻¹的混合对照品溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液 取佛手样品粉末(过二号筛)约1 g,精密称定,置于50 mL锥形瓶中,精密加入70%甲醇25 mL,称定质量,超声(40 kHz, 150 W)处理30 min,放冷,再称定质量,用70%甲醇补足减失的质量,摇匀,过0.22 μm微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取样品C1粉末适量,精密称定,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下条件连续进样6次,记录色谱图。选择17号峰(5,7-二甲氧基香豆素)为参照峰,计算各共有峰相对保留

时间和相对峰面积的相对标准偏差(RSD)分别为<0.2%, <4.1%, 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)计算相似度均>0.99, 表明仪器精密良好。

2.3.2 稳定性试验 取样品 C1 粉末适量, 精密称定, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 分别于制备后 0, 3, 6, 9, 13, 24 h 按 2.1 项下色谱条件测定, 记录色谱图。以 17 号峰(5, 7-二甲氧基香豆素)为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为<1.3%, <5.2%, 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)计算相似度均为 1.00, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.3 重复性试验 取样品 C1 粉末适量, 精密称定 6 份, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定, 记录色谱图。以 17 号峰(5, 7-二甲氧基香豆素)为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为<0.2%, <7.7%, 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)计算相似度均>0.99, 表明该方法的重复性良好。

2.4 佛手指纹图谱的建立和共有峰的指认

2.4.1 指纹图谱的建立 取 31 批佛手样品, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样分析, 记录色谱图。原始数据经 Chromeleon 7 软件统一积分后, 以 cdf 文件形式导出, 导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)。选择样品 C1 的图谱作为参照图谱, 采用中位数法, 时间窗宽度设为 0.1 min, 经多点校正和 Mark 峰匹配后, 生成 31 批佛手的 HPLC 叠加图谱和对照指纹图谱, 共标定了 22 个共有峰, 见图 1, 2。

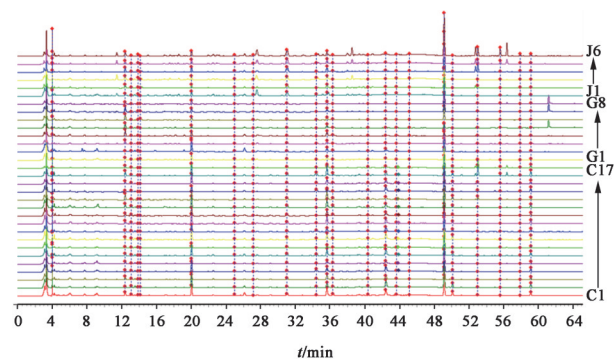


图1 31批佛手的HPLC指纹谱
Fig. 1 HPLC fingerprints of 31 batches of Citri Sarcodactylis Fructus

2.4.2 共有峰的指认 结合本课题组前期对佛手中化学成分的分析结果^[36], 通过与对照品色谱峰的保留时间、紫外吸收光谱信息比对, 共指认了 7 个共

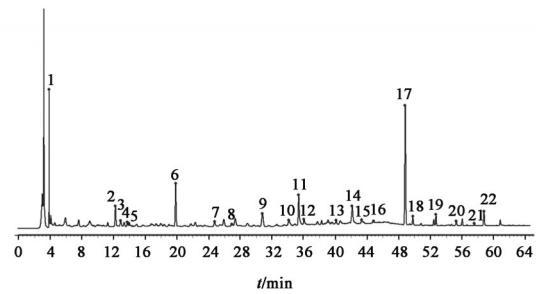
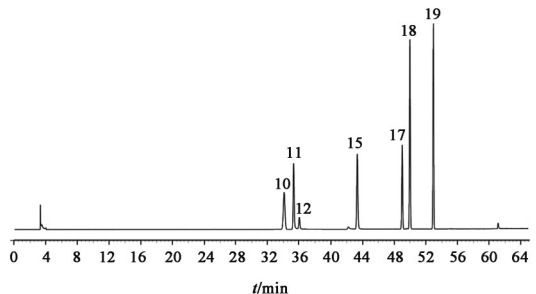


图2 佛手的HPLC对照指纹谱
Fig. 2 Reference fingerprint of Citri Sarcodactylis Fructus by HPLC

有峰。选择峰面积较大、峰形良好且分离度较好的 17 号峰为参照峰, 7 个经对照品指认的共有峰按先后顺序及相对保留时间排序依次为 6, 7-二甲氧基香豆素(10 号峰, 0.698 min), 香叶木苜(11 号峰, 0.725 min), 橙皮苜(12 号峰, 0.739 min), 白当归素(15 号峰, 0.888 min), 5, 7-二甲氧基香豆素(17 号峰, 1.000 min), 佛手柑内酯(18 号峰, 1.020 min), 氧化前胡素(19 号峰, 1.079 min)。混合对照品的 HPLC 图谱见图 3。



10. 6, 7-二甲氧基香豆素; 11. 香叶木苜; 12. 橙皮苜; 15. 白当归素; 17. 5, 7-二甲氧基香豆素; 18. 佛手柑内酯; 19. 氧化前胡素
图3 混合对照品的HPLC

Fig. 3 HPLC chromatogram of mixed reference substances

2.5 相似度评价 以所有样品的 HPLC 对照指纹图谱为参照, 计算 31 批佛手样品指纹图谱与其的相似度, 见表 1。结果显示, 川佛手相似度处于 0.935~0.990, 广佛手相似度处于 0.751~0.978, 金佛手相似度处于 0.913~0.964; 除 2 批广佛手(样品 G4 和 G5)相似度较低外, 其余各批样品的相似度均>0.9, 说明不同产地佛手整体质量较为稳定。

2.6 聚类分析 将 31 批佛手指纹图谱的 22 个共有峰的峰面积组成 22×31 阶矩阵, 导入 SPSS 20.0 软件中进行聚类分析。以共有峰峰面积作为变量, 采用 Ward 聚类方法, 平方欧氏距离作为度量标准, Z 得分进行数据标准化, 得到聚类分析树状图, 见图 4。结果发现度量距离为 20 时, 31 批佛手样品被分为 3 个

类群,川佛手样品基本聚为一类,广佛手与金佛手大致聚为一类,G4和G5这两批广佛手单独聚为一类,这与相似度结果相一致。广佛手和金佛手聚为一类的原因可能是因为二者产地较川佛手更接近,从而化学成分含量更相似。但在度量距离为5时,广佛手与金佛手样品分为两类。个别样品如G2,C7,C13,C17与其对应产地样品在树状图上的距离较远,显示其与同产地其他样品差异较大。

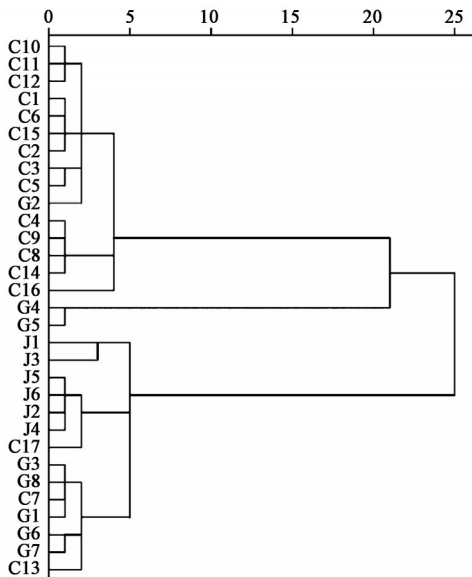


图4 31批佛手样品的聚类分析树状
Fig. 4 Dendrogram of cluster analysis of 31 batches of Citri Sarcodactylis Fructus

2.7 PCA 将31批佛手指纹图谱的22个共有峰的峰面积组成22×31阶矩阵导入SIMCA 14.1软件,建立PCA模型,采用等方差法(UV法)进行缩放,提取4个主成分,得到模型解释率参数 R^2X 为0.79,预测能力参数 Q^2 为0.427,表明提取的主成分可以解释79.0%的原始变量,模型预测能力为42.7%。31批佛手样品的PCA得分图见图5,虽然模型的预测能力稍低,但结果显示大部分样品能基本分为三类,与聚类分析结果较为一致,说明不同产地佛手化学成分的含量存在一定的差异。

2.8 正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)为进一步寻找导致不同产地佛手间差异的标志物,对31批样品采用OPLS-DA模型进行分析。将共有峰峰面积导入SIMCA 14.1,利用Pareto算法进行特征缩放,得OPLS-DA模型,模型解释率参数 R^2X 和 R^2Y 分别为0.767,0.82,预测能力参数 Q^2 为0.694,均>0.5,说明该模型稳定可靠。结果发现31批佛手被分为三类,与PCA结果相比,各组佛手样品进一步

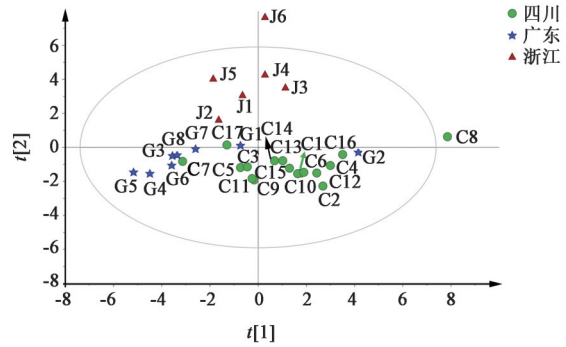


图5 31批佛手样品的PCA得分
Fig. 5 PCA score plots of 31 batches of Citri Sarcodactylis Fructus

聚集,见图6。采用置换检验($n=200$)对模型进行验证,检验参数 $R^2=(0, 0.25)$, $Q^2=(0, -0.479)$,见图7,左端随机排列产生的 R^2 和 Q^2 均小于右端的原始值,说明所建OPLS-DA模型拟合良好。变量投影重要性(VIP)值是筛选差异性化合物的重要指标,VIP值越高,说明其对组间差异的影响越大。以VIP值>1为阈值,筛选出8个共有峰,见图8,按VIP值大小排序依次为14号峰,9号峰,17号峰(5,7-二甲氧基香豆素),22号峰,6号峰,18号峰(佛手柑内酯),10号峰(6,7-二甲氧基香豆素)和11号峰(香叶木苷),这些共有峰是引起川佛手、广佛手和金佛手之间差异的主要变量。

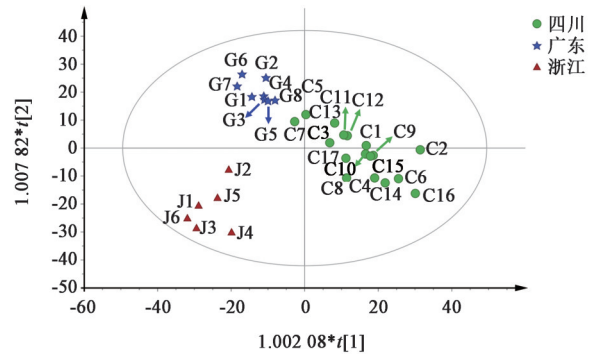


图6 佛手样品的OPLS-DA得分
Fig. 6 OPLS-DA score plots of Citri Sarcodactylis Fructus

2.9 佛手指纹图谱的有效性评价 分别在3个药房随机购买了佛手(编号FS1~FS3),枳实(编号ZS1~ZS3),枳壳(编号ZQ1~ZQ3),青皮(编号QP1~QP3)和陈皮(编号CP1~CP3)饮片各3批,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样分析,记录色谱图,见图9。将所得结果导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版),以31批佛手的HPLC对照指纹图谱为参照图谱,计算上述15批饮片色谱图的相似度,结果分别为0.977,

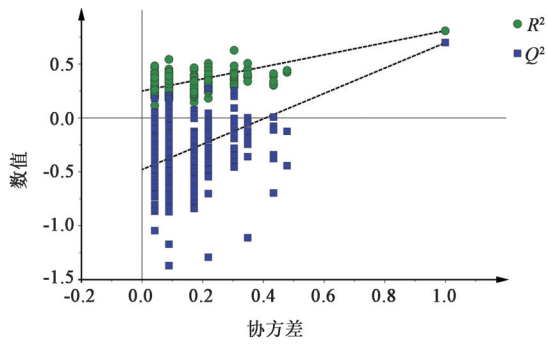


图7 佛手样品 OPLS-DA 模型的置换检验

Fig. 7 OPLS-DA permutation test of Citri Sarcodactylis Fructus

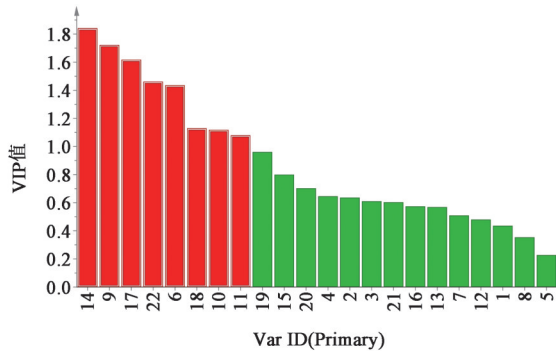


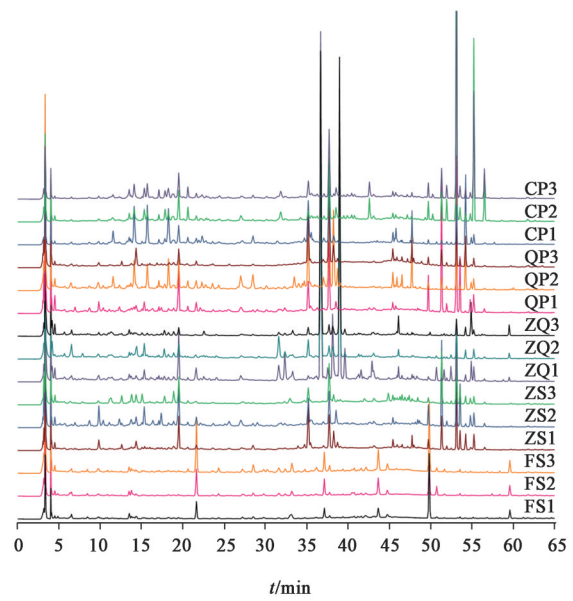
图8 31批佛手样品22个共有峰的VIP值

Fig. 8 VIP values of 22 common peaks in fingerprint of 31 batches of Citri Sarcodactylis Fructus

0.892, 0.910, 0.387, 0.509, 0.326, 0.517, 0.404, 0.382, 0.427, 0.222, 0.240, 0.215, 0.348, 0.275。3批佛手饮片中有2批的相似度 >0.9 , 1批相似度为0.892, 其余4种饮片的相似度处于0.215~0.517, 说明建立的指纹图谱用于鉴别佛手药材的真伪优劣是可行的。

3 讨论

在指纹图谱研究中,笔者指认了其中7个共有峰,在前人已有的研究基础上进一步丰富了不同产地佛手的共有性成分,增加了不同产地佛手的差异性成分分析;同时,通过OPLS-DA筛选出了8个差异性成分,其中5,7-二甲氧基香豆素、佛手柑内酯、香叶木苷和6,7-二甲氧基香豆素4个成分经对照品比对后确认,可作为评价不同产地佛手的质量标志物,但对其他共有峰的指认尚需进一步研究确认。2020年版《中华人民共和国药典》(一部)“佛手”含量测定项下仅以橙皮苷为指标成分,规定其质量分数不得少于0.030%,测定指标较为单一。建议后续可考虑增加其他共有性和差异性成分作为测试指标,以利于更加科学地评价佛手的质量。结合本文研究结果发现,除橙皮苷之外,6,7-二甲氧基香豆素、香叶木苷、白当归素、佛手柑内酯、氧化前胡素



FS1~FS3. 佛手; ZS1~ZS3. 枳实; ZQ1~ZQ3. 枳壳; QP1~QP3. 青皮; CP1~CP3. 陈皮

图9 15批饮片的HPLC

Fig. 9 HPLC chromatograms of 15 batches of decoction pieces

和5,7-二甲氧基香豆素6个共有成分的色谱峰响应均较好,后续可考虑适当增加成分作为检测指标。

在色谱条件考察时,笔者对甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.05%磷酸、乙腈-0.2%冰乙酸4个流动相体系进行了考察,最终确定以乙腈-0.05%磷酸水溶液作为流动相,该条件下系统基线平稳、色谱峰分离较好;采用二极管阵列检测器(DAD)对样品进行了全波长扫描,确定检测波长选择254 nm,该条件下色谱信息较为丰富,整体峰形较好。本研究以31批不同产地佛手为研究对象,建立了佛手的HPLC指纹图谱,结果发现样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度大多 >0.9 ,说明该方法准确性较好。同时,采用该方法对随机采购的佛手及其他4种来源于同科同属植物的饮片(枳实、枳壳、青皮和陈皮)各3批进行分析,计算相似度,结果3批佛手样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度在0.892~0.977,其余4种饮片的相似度在0.215~0.517,说明该方法专属性良好。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[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,2020:185-186.
[2] 岳玲,程轩轩,唐晓敏,等. 佛手的传统应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(4):206-211.
[3] 钟艳梅,冯毅凡,郭姣. 基于UPLC-Q-TOF-MS的广佛手化学成分快速鉴定研究[J]. 天然产物研究与开

- 发,2014,26(12):1965-1970,2040.
- [4] 崔红花,高幼衡,梁盛林,等. 川佛手化学成分研究(I)[J]. 中草药,2007,38(9):1304-1306.
- [5] 崔红花,高幼衡,蔡鸿飞,等. 川佛手化学成分研究(II)[J]. 中药新药与临床药理,2009,20(4):344-347.
- [6] 秦枫. 川佛手化学成分的研究[D]. 成都:西南交通大学,2008.
- [7] 尹锋,楼凤昌. 佛手化学成分的研究[J]. 中国药学杂志,2004,39(1):20-21.
- [8] 尹洪萍,林国华,俞利平,等. 佛手乙酸乙酯提取液镇咳祛痰作用的实验研究[J]. 杭州师范学院学报:医学版,2007,27(6):377-379.
- [9] 施长春,王建英,朱婉萍,等. 佛手挥发油对支气管哮喘小鼠外周血、肺泡灌洗液及肺组织中嗜酸性粒细胞的影响[J]. 中草药,2009,40(1):99-101.
- [10] 南李,周晓媚,方国英,等. 金佛手醇提液对哮喘小鼠肺组织中嗜酸性粒细胞和肥大细胞的影响[J]. 中国药师,2019,22(10):1787-1790.
- [11] WANG E M, LI Y Q, MAGUY B L, et al. Separation and enrichment of phenolics improved the antibiofilm and antibacterial activity of the fractions from *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* in vitro and in tofu[J]. Food Chem, 2019, 294: 533-538.
- [12] LI Z H, CAI M, LIU Y S, et al. Antibacterial activity and mechanisms of essential oil from *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*[J]. Molecules, 2019, 24(8): 1577.
- [13] KIM K N, KO Y J, YANG H M, et al. Anti-inflammatory effect of essential oil and its constituents from fingered citron (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*) through blocking JNK, ERK and NF- κ B signaling pathways in LPS-activated RAW 264. 7 cells [J]. Food Chem Toxicol, 2013, 57: 126-131.
- [14] 欧明娥,唐铁鑫,吴伟斌. 广佛手对脂多糖诱导的人肺上皮细胞炎症细胞因子调控的影响[J]. 中医学报,2018,46(5):38-41.
- [15] WU Z, LI H, YANG Y, et al. Variation in the components and antioxidant activity of *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* essential oils at different stages of maturity[J]. Ind Crop Prod, 2013, 46: 311-316.
- [16] 黄小梅,邓祥. 川佛手黄酮类物质的分离纯化和抗氧化活性研究[J]. 化学研究, 2017, 28(6): 730-733, 739.
- [17] 邓祥,黄小梅,吴狄. 川佛手中多酚提取工艺优化及抗氧化研究[J]. 广州化工,2014,42(16):50-53.
- [18] 邹胜. 佛手多糖的分离纯化及抗氧化活性研究[D]. 重庆:重庆大学,2015.
- [19] 芦红,吴月霞,杨丽嘉,等. 川佛手提取物对小鼠的抗抑郁作用[J]. 郑州大学学报:医学版,2011,46(2): 220-222.
- [20] 高洪元,田青. 佛手挥发油的抗抑郁作用机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):231-234.
- [21] 邓德城,贝伟剑. 佛手提取物调控CYP7A1蛋白表达的研究[J]. 广东药学院学报,2016,32(2):205-209.
- [22] 龚正,龚亮,吕培勇,等. 佛手黄酮对高脂血症兔血脂及动脉粥样硬化相关危险因子水平的影响[J]. 微循环学杂志,2016,26(1):14-17.
- [23] 邵邻相,高海涛,成文召,等. 佛手挥发油对小鼠体内B16黑色素瘤生长的影响[J]. 浙江师范大学学报:自然科学版,2012,35(2):184-188.
- [24] 邵邻相,吕学维,邓刚,等. 佛手挥发油对B16细胞增殖及其酪氨酸酶活性的影响[J]. 浙江师范大学学报:自然科学版,2011,34(2):202-206.
- [25] 麻艳芳,邵邻相,张均平,等. 佛手挥发油对MDA-MB-435人乳腺癌细胞体外增殖的影响[J]. 中国药理学杂志,2010,45(22):1737-1741.
- [26] 陈佳,邵邻相,麻艳芳,等. 佛手叶挥发油诱导HeLa细胞凋亡与坏死[J]. 浙江师范大学学报:自然科学版,2016,39(2):215-218.
- [27] 彭成. 中华道地药材:上册[M]. 北京:中国中医药出版社,2012:1260.
- [28] 罗国安,梁琼麟,王义明. 中药指纹图谱——质量评价、质量控制与新药研发[M]. 北京:化学工业出版社,2009:12.
- [29] 郭慧清,李娅琦,王梓轩,等. 不同商品规格羌活药材的HPLC指纹图谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(7): 184-188.
- [30] 杨园珍,王雅琪,胡恋琪,等. 不同产地葛根与粉葛的HPLC指纹图谱及其多成分化学模式识别分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(4):162-166.
- [31] 吴春蓉,黎珊珊,肖雪,等. 不同产地佛手指纹图谱及模式识别研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2017, 19(5): 820-824.
- [32] 张璐,田静,尹萌,等. 基于数学模型分析不同产地佛手的化学成分差异性[J]. 药物分析杂志,2019,39(1):122-126.
- [33] 刘盼,雷素娟,唐鹏,等. 不同产地佛手GC指纹图谱及4种成分测定[J]. 中成药,2018,40(11):2491-2496.
- [34] 黄兰平,靳丽萍,谢佳妮,等. 佛手的¹H-NMR指纹图谱研究[J]. 食品工业科技,2017,38(11):291-294.
- [35] 李倩,邵艳华,章润菁,等. 广佛手药材的高效薄层色谱指纹图谱研究[J]. 华西药学杂志,2016,31(2): 185-187.
- [36] 胡瀚文,赵永艳,杨天龙,等. 基于UPLC-Q-Orbitrap HRMS的川佛手化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(7):148-155.

[责任编辑 刘德文]