

分析测试新成果 (251 ~ 259)

固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定六神曲中 4 种烷基间苯二酚

李 运^{1,2}, 刘晓玲³, 许晓辉¹, 王 苗³, 李红玉²

(1. 兰州市食品药品检验检测研究院/甘肃省种植中药材外源性污染物监测工程研究中心, 兰州 730050;
2. 兰州大学药学院, 兰州 730000; 3. 甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000)

摘要: 建立固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)同时测定六神曲中 5-十五烷基间苯二酚(AR-15)、5-十七烷基间苯二酚(AR-17)、5-十九烷基间苯二酚(AR-19)和 5-二十一烷基间苯二酚(AR-21)4 种烷基间苯二酚含量。分析采用 Brownless Spp C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.7 μm), 流动相: A 相为 5 mmol/L 乙酸铵溶液, B 相为甲酸: 乙腈溶液(体积比为 1:1000), 采用梯度洗脱方式, 体积流速为 0.5 mL/min。柱温为 35 °C, 使用电喷雾离子源, 负离子扫描, 多反应监测模式。结合主成分分析与正交偏最小二乘法判别分析, 寻找影响六神曲炮制前后质量的主要化学成分。结果表明, 4 种成分在各自范围内线性关系良好($r>0.9926$), 平均加样回收率在 99.36%~101.36% 之间, 相对标准偏差(RSD)为 0.85%~2.10%。通过化学模式识别分析发现造成主要差异的质量差异物是 AR-21。方法简便可行, 稳定可靠, 可用于炮制不同六神曲的质量控制。

关键词: 六神曲; 烷基间苯二酚; 固相萃取; 超高效液相色谱-串联质谱法

中图分类号: O657.6

文献标志码: B

文章编号: 1006-3757(2024)04-0251-09

DOI: 10.16495/j.1006-3757.2024.04.006

Determination of 4 Alkylresorcinols in Massa Medicata Fermentata by Solid Phase Extraction-Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

LI Yun^{1,2}, LIU Xiaoling³, XU Xiaohui¹, WANG Miao³, LI Hongyu²

(1. Lanzhou Institute for Food and Drug Control /Gansu Engineering Research Center for Monitoring Exogenous Harmful Residues in Traditional Chinese Medicines, Lanzhou 730050, China; 2. Pharmacy College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 3. Pharmacy College of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

Abstract: A method of solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) has been established for the simultaneous determination of 4 alkylresorcinols in Massa Medicata Fermentata, including 5-pentadecyl resorcinol (AR-15), 5-heptadecylresorcinol (AR-17), 5-nonadecylresorcinol (AR-19)

收稿日期: 2024-04-28; 修订日期: 2024-06-05.

基金项目: 甘肃省药品科研项目(2022GSMPA0037), 陇原青年创新创业人才项目(2023LQGR49), 兰州市青年科技人才创新项目(2023-QN-144) [Drug Research Program of Gansu Medical Products Administration (2022GSMPA0037), Innovation and Entrepreneurship Talent Program of Longyuan Youth (2023LQGR49), Youth Science and Technology Talent Innovation Program of Lanzhou (2023-QN-144)]

作者简介: 李运(1985-), 男, 高级工程师, 从事中药质量控制研究, Tel: 0931-5180326, E-mail: lyun04@163.com

通信作者: 李红玉(1964-), 男, 教授, 从事生物制药研究, Tel: 0931-8915630, E-mail: lihy@lzu.edu.cn.

and 5-heneicosylresorcinol (AR-21). The analysis was performed on a Brownless Spp C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 2.7 μm) with the mobile phase of 5 mmol/L ammonium acetate solution in phase A and formic acid:acetonitrile solution (volume ratio of 1:1 000) in phase B at a flow rate of 0.5 mL/min with gradient elution. The column temperature was 35 °C, and the electron spray ionization source was adopted in negative ion scanning with multiple reaction monitoring mode. Combined with principal component analysis and orthogonal partial least square-discriminant analysis, the main chemical components affecting the quality of Massa Medicata Fermentata before and after processing were found. The results showed that 4 components had good linear relationships in their respective ranges ($r > 0.992\ 6$), the average spiked recoveries ranged from 99.36% to 101.36%, and the relative standard deviations (RSD) were 0.85%~2.10%. The mass difference substance was AR-21 that caused the main difference through chemical pattern recognition analysis. The method is simple, feasible, stable and reliable, and can be used for the quality control of different products of Massa Medicata Fermentata.

Key words: Massa Medicata Fermentata; alkylresorcinol; solid phase extraction; UPLC-MS/MS

烷基间苯二酚(alkylresorcinols, ARs)是一类存在于植物、藻类以及某些细菌、真菌微生物体内的双亲性酚类脂化合物^[1-2]. 在人们日常膳食中,小麦、黑麦、大麦等谷物中 ARs 含量较为丰富,尤其是在谷物的麸皮角质层中,且以多种同系物形式存在^[3],作为全麦食品的一种重要生物标记物. ARs 是一类重要的生物活性化合物,具有抗氧化、抗菌、抗肿瘤等多种药理作用^[4-6],对于增强人体免疫力、调节体内平衡具有重要作用^[7].

六神曲是由辣蓼、青蒿、苍耳草的水提取液与苦杏仁、赤小豆、面粉、麦麸混合后经自然发酵而成的曲类中药,具有消食化积、健脾健胃的作用^[8-9],在医药、食品等领域具有广泛的应用价值. 其炮制工艺是确保药效和质量的关键因素之一^[10]. 近年来,研究者分析了谷物对人体健康的积极影响,发现 ARs 可通过多种机制干扰癌细胞的生长和分裂,进而预防癌症的发生^[4]. 除此之外,ARs 尚能降低低密度脂蛋白的生成,具有预防心血管疾病及糖尿病的功效^[5],而六神曲中的 ARs 类物质主要来源于发酵用处方原料麦麸,对六神曲的药效发挥起着重要作用. 因此,利用固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)技术建立六神曲中主要 ARs 类成分的测定方法,可为监控六神曲制备原料麦麸的投料情况,探究不同炮制因素对 ARs 含量的影响规律,为进一步优化六神曲的炮制工艺水平、提高药效评估以及质量控制提供理论依据.

1 试验部分

1.1 材料与试剂

5-十五烷基间苯二酚(AR-15, 批号: 0524-RC-

0061), 纯度 ≥99.3%, 来源于 Sigma-Aldrich 公司. 5-十七烷基间苯二酚(AR-17, 批号: B30695), 纯度 ≥98%; 5-十九烷基间苯二酚(AR-19, 批号: 57981), 纯度 ≥95%; 5-二十一烷基间苯二酚(AR-21, 批号: B32973), 纯度 ≥90%, 以上均购自上海源叶生物科技有限公司. 甲醇、乙腈、甲酸(色谱纯, 德国默克公司), 乙酸乙酯和无水乙醇(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司), 超纯水(实验室自制), 醋酸铵(色谱纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司).

本次收集样品来源于六神曲主流生产厂家、药材市场、药店等地, 包括六神曲生品、麸炒六神曲及焦神曲, 共 32 批, 样品信息如表 1 所列.

1.2 仪器与设备

XSE205DU 型电子天平(梅特勒-托利多公司), G6460A 型三重四极杆质谱仪(美国安捷伦公司), 高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司), Milli-Q IQ 7 000 型纯水制备系统(默克公司), SB-800DT 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); 固相萃取柱(填料: C₁₈, 规格: 250 mg/3 mL, 天津希波氏科技有限公司).

1.3 试验方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱: Brownless Spp C₁₈(2.1 mm×100 mm, 2.7 μm); 柱温: 35 °C; 流动相: A 相为 5 mmol/L 的醋酸铵溶液, B 相为甲酸: 乙腈溶液(体积比为 1:1 000); 流速: 0.5 mL/min; 进样量: 3 μL. 洗脱梯度: 0~2 min, 10%~12% A, 90%~88% B; 2~4 min, 12%~2% A, 88%~98% B; 4~7 min, 2% A, 98% B; 7~9 min, 2%~10% A, 98%~90% B; 9~10 min, 10% A, 90% B.

表 1 六神曲样品基本信息

Table 1 Basic informations of Massa Medicata Fermentata

编号	收集地	类型	批号	编号	收集地	类型	批号
SL-1	安徽省亳州市	生品	20210426	JL-3	北京市通州区	炒焦	2104067
SL-2	安徽省亳州市	生品	未标明	JL-4 ^a	四川省成都市	炒焦	19100242
SL-3	安徽省亳州市	生品	未标明	JL-5 ^a	四川省成都市	炒焦	202007119
SL-4	北京市通州区	生品	1909043	JL-6 ^a	四川省成都市	炒焦	202103035
SL-5	北京市大兴区	生品	未标明	JL-7 ^b	浙江省杭州市	炒焦	201008
SL-6 ^a	四川省成都市	生品	202101244	JL-8 ^b	浙江省杭州市	炒焦	200808
SL-7 ^a	四川省成都市	生品	202102014	JL-9 ^b	浙江省杭州市	炒焦	210602
SL-8 ^a	四川省成都市	生品	202103021	JL-10	安徽省亳州市	炒焦	201101
SL-9	四川省简阳市	生品	210306	QL-1 ^a	四川省成都市	麸炒	202103099
SL-10	四川省简阳市	生品	201006	QL-2 ^a	四川省成都市	麸炒	202112126
SL-11 ^b	浙江省杭州市	生品	210531	QL-3 ^a	四川省成都市	麸炒	202007147
SL-12 ^b	浙江省杭州市	生品	201003	QL-4	北京市大兴区	麸炒	未标明
SL-13 ^b	浙江省杭州市	生品	210604	QL-5	安徽省亳州市	麸炒	20210504
SL-14	安徽省六安	生品	20210505	QL-6	安徽省亳州市	麸炒	20210502
JL-1	陕西省宝鸡市	炒焦	210222	QL-7	安徽省亳州市	麸炒	20210504
JL-2	北京市大兴区	炒焦	未标明	QL-8	北京市通州区	麸炒	2103066

注: *a*表示同一厂家按《卫生部药品标准·中药成方制剂》所收录的六神曲制法生产; *b*表示同一厂家按《浙江省中药炮制规范》所收录的六神曲制法生产

1.3.2 质谱条件

采用电喷雾离子源; 离子极性为负离子; 雾化气为 N₂; 干燥气流速为 8.0 L/min; 喷雾电压为 500 V; 气流温度为 325 ℃; 毛细管电压为 3 500 V; 鞘气流速为 11.0 L/min; 鞘气温度为 340 ℃; 检测模式为多反应监测模式(MRM), 其他质谱条件如表 2 所列.

1.3.3 样品前处理

供试品溶液的制备: 精密称取六神曲样品(编号: SL-6)0.25 g 于具塞锥形瓶中, 加入乙酸乙酯 50 mL, 称定质量, 超声提取(功率: 300 W, 频率: 40 kHz) 10 min 后, 冷却至室温并补足减失的质量, 离心 5 min(10 000 r/min)后转移上清液于茄形瓶中, 在 45 ℃ 下减压浓缩至干, 乙酸乙酯复溶, 转移、定容

表 2 4 种烷基间苯二酚同系物的保留时间、监测离子及质谱采集参数

Table 2 Retention times, monitoring ions and mass spectrometric parameters of 4 ARs

ARs	保留时间/min	母离子/(<i>m/z</i>)	子离子/(<i>m/z</i>)	碎裂电压/V	碰撞能量/eV
AR-15	1.731	319.2	277.1*, 121.8, 81.2	100	30, 40, 30
AR-17	3.009	347.3	305.3*, 122.1, 81.0	100	30, 40, 40
AR-19	4.633	375.4	333.3*, 81.1	50	30, 40
AR-21	5.998	403.3	361.2*, 81.3	50	40, 40

注: *为定量离子对

至 10 mL 容量瓶中。

向 C₁₈ 固相萃取柱中加入 5 mL 甲醇和 5 mL 超纯水进行活化处理,取上述样品提取液 1 mL,装载于固相萃取柱中,用 5 mL 甲醇:水溶液(体积比 1:20)进行淋洗,再用 5 mL 无水乙醇溶液洗脱,洗脱液转移至茄形瓶中,在 45 ℃ 下减压浓缩至干,用乙腈定容至 5 mL,过 0.22 μm 微孔滤膜后,得到供试品溶液,待上机分析。

对照品溶液的制备:分别精密称取 AR-15、AR-17、AR-19 和 AR-21 对照品适量,用甲醇溶解并定容,得到质量浓度分别为 0.997 0、0.407 6、0.998 0、

0.439 2 mg/mL 的单一对照品溶液。吸取各单一对照品溶液适量于 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释并定容,得到 AR-15、AR-17、AR-19 和 AR-21 质量浓度分别为 0.997 0、0.815 2、0.988 0、0.878 4 μg/mL 的混合对照品溶液,于 4 ℃ 冰箱中保存。

2 结果与讨论

2.1 专属性考察

分别取混合对照品溶液、供试品溶液(编号:SL-6)适量,按 1.3 项下色谱质谱条件进样分析。结果各成分峰形良好,互不干扰,专属性良好(图 1)。

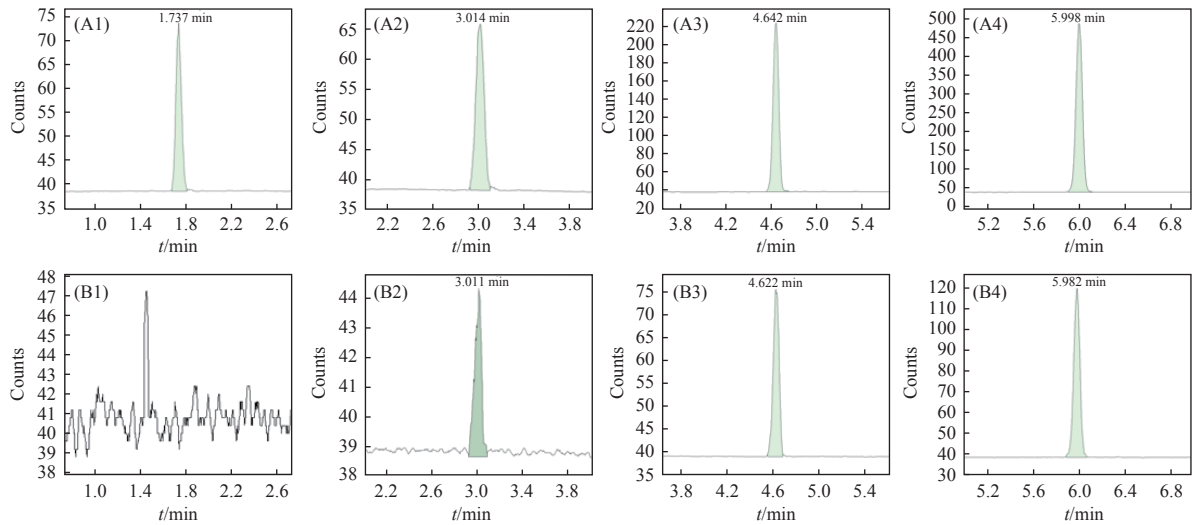


图 1 (A)混合对照品溶液和(B)六神曲供试品溶液的提取定量离子色谱图
1-AR-15, 2-AR-17, 3-AR-19, 4-AR-21

Fig. 1 Quantitative ion chromatograms of (A) mixed reference solutions and (B) test solutions of
Massa Medicata Fermentata

2.2 线性关系、检测限及定量限

取各对照品溶液适量,按 1.3 项下色谱及质谱条件进行测定。以峰面积为纵坐标 y,对照品质量浓度(ng/mL)为横坐标 x,绘制标准曲线,结果如表 3 所列,各成分的线性关系良好。再将各对照品溶液逐步稀释后进样分析,以信噪比为 3 和 10 时浓度

作为各被测 ARs 成分的检出限(LOD)和定量限(LOQ),得到线性回归方程如表 3 所列。

2.3 精密度试验

按 1.3.1、1.3.2 项下条件,将同一混合对照品溶液连续进样 6 次,记录各成分的峰面积。测得 AR-15、AR-17、AR-19、AR-21 峰面积的相对标准偏差

表 3 4 种烷基间苯二酚成分的线性关系、检出限、定量限

Table 3 Linear relationships, LODs, LOQs of 4 ARs

ARs	回归方程	相关系数 r	线性范围/(ng/mL)	检出限/(μg/g)	定量限/(μg/g)
AR-15	$y=0.290\ 2x-0.585\ 7$	0.995 2	4.99 ~ 398.80	1.30	4.29
AR-17	$y=0.423\ 1x-2.251\ 8$	0.992 6	4.08 ~ 326.08	2.04	6.73
AR-19	$y=0.805\ 1x-10.772\ 7$	0.995 4	9.98 ~ 798.40	3.10	10.23
AR-21	$y=1.006\ 9x-21.555\ 8$	0.999 4	21.96 ~ 1 756.80	3.40	11.22

(RSD)值分别为 2.07%、1.37%、1.86%、1.09%, 表明仪器精密度良好.

2.4 重复性试验

取六神曲样品(编号: SL-6), 按 1.3.3 项下方法, 制备 6 份供试品溶液, 按 1.3.1、1.3.2 项下条件测定. 测得六神曲中 AR-17、AR-19、AR-21 含量的 RSD 值分别为 1.62%、2.48%、1.22%, 表明该方法的重复性良好.

2.5 稳定性试验

取同一供试品溶液(编号: SL-6), 分别于 0、2、4、8、12 和 24 h, 按 1.3.1、1.3.2 项下条件测定, 测得 AR-17、AR-19、AR-21 含量的 RSD 值分别为 2.47%、1.68%、1.35%, 表明 24 h 内供试品溶液稳定性良好.

2.6 加样回收率试验

精密称取含量已知的六神曲样品(编号: SL-6)各 0.125 g, 共 6 份, 按 1 : 1 分别向每份样品中精密加入混合对照品溶液, 按 1.3 项下方法制备供试品溶液并进样测定, 分别计算各成分的加样回收率及 RSD, 结果如表 4 所列. 结果表明 4 种成分平均加样回收率在 99.36% ~ 101.36% 之间, 其 RSD 值为 0.85% ~ 2.10%, 说明该试验方法可行.

2.7 含量测定

分别取 32 批次六神曲粉末适量, 按 1.3.3 项下方法制备供试品溶液, 按 1.3.1、1.3.2 项下条件测定, 计算样品中 AR-15、AR-17、AR-19 和 AR-21 的含量, 结果如表 5 所列, 各样本中均未检出 AR-15, 除部分样本中未检出 ARs 类成分外, 六神曲生品中 AR-17、AR-19 和 AR-21 的质量分数分别为 1.99 ~ 6.22、7.76 ~ 34.99、4.93 ~ 64.14 $\mu\text{g/g}$, 炒焦品中 AR-17、AR-19 和 AR-21 的质量分数分别为 1.61 ~ 4.33、3.19 ~ 24.28、5.15 ~ 55.45 $\mu\text{g/g}$, 麸炒品中 AR-17、AR-19 和 AR-21 的质量分数分别为 1.34 ~ 6.06、3.20 ~ 28.98、5.76 ~ 58.34 $\mu\text{g/g}$.

2.8 不同制法样品中 ARs 的含量变化

为减少因六神曲发酵环境差异等产生的影响, 选取制法确切、炮制可靠的样本进行分析. 结果显示, 四川省成都市同一企业按《卫生部药品标准·中药成方制剂》^[11]所刊载的六神曲制法生产的六神曲生品(SL-6 ~ SL-8)中, 均未检出 AR-15, AR-17、AR-19 和 AR-21 的质量分数分别为(4.61 $\pm$ 1.64) $\mu\text{g/g}$ 、

表 4 加样回收率试验结果

Table 4 Experimental results of recovery rate

ARs	原有 质量/ μg	加入 质量/ μg	测得 质量/ μg	加样 回收率/%	平均 值/%	RSD/%
AR-15	—	0.400	0.412	103.00	101.17	2.10
			0.399	99.75		
			0.407	101.75		
			0.415	103.75		
			0.403	100.75		
AR-17	0.802	0.813	0.392	98.00	100.63	0.85
			1.631	101.97		
			1.609	99.28		
			1.598	97.97		
			1.634	102.34		
AR-19	4.374	4.391	1.628	101.55	99.36	1.65
			1.621	100.68		
			8.581	95.82		
			8.666	97.74		
			8.918	103.49		
AR-21	8.018	8.037	8.810	101.02	101.36	1.24
			8.642	97.19		
			8.542	94.92		
			16.438	104.76		
			16.078	100.28		

(28.49 $\pm$ 9.41) $\mu\text{g/g}$ 和 (53.91 $\pm$ 14.54) $\mu\text{g/g}$, AR-17 与 AR-21 的质量分数比为 0.08 $\pm$ 0.01. 经麸炒(QL-1 ~ QL-3)、炒焦(JL-4 ~ JL-6)后, AR-17、AR-19 和 AR-21 的含量呈下降趋势. 浙江省杭州市同一企业按《浙江省中药炮制规范》^[12]所刊载的六神曲制法生产的六神曲生品(SL-11 ~ SL-13)中, 均未检出 AR-15, AR-17、AR-19 和 AR-21 的质量分数分别为 (3.57 $\pm$ 0.18) $\mu\text{g/g}$ 、(15.44 $\pm$ 1.00) $\mu\text{g/g}$ 和 (31.56 $\pm$ 4.88) $\mu\text{g/g}$, AR-17 与 AR-21 的质量分数比为 0.12 $\pm$ 0.02. 经炒焦(JL-7 ~ JL-9)后, AR-17、AR-19 和 AR-21 的含量显著下降, 如图 2 所示.

表 5 4 种烷基间苯二酚成分的含量结果

Table 5 Content results of 4 ARs

/($\mu\text{g/g}$, $n=3$)

编号	AR-15	AR-17	AR-19	AR-21	编号	AR-15	AR-17	AR-19	AR-21
SL-1		2.07	12.91	28.94	JL-3		—	3.19	6.15
SL-2		2.13	9.44	18.78	JL-4		4.18	15.15	34.83
SL-3		1.99	7.76	15.78	JL-5		3.93	21.04	39.33
SL-4		—	—	4.93	JL-6		4.33	24.28	55.45
SL-5		—	—	—	JL-7		2.04	7.11	15.03
SL-6		6.22	34.99	64.14	JL-8		1.61	5.51	10.50
SL-7		4.66	32.77	60.32	JL-9		2.23	5.93	11.22
SL-8	—	2.94	17.70	37.26	JL-10	—	3.17	16.09	30.08
SL-9		5.48	29.75	57.60	QL-1		5.99	28.98	51.74
SL-10		5.32	31.16	63.32	QL-2		6.06	28.47	58.34
SL-11		3.38	15.84	33.54	QL-3		3.97	16.87	35.55
SL-12		3.59	14.30	26.00	QL-4		2.42	11.01	25.15
SL-13		3.74	16.17	35.15	QL-5		2.66	13.35	30.01
SL-14		3.00	8.24	18.99	QL-6		3.70	18.65	38.66
JL-1		3.79	16.28	34.28	QL-7		1.36	5.20	9.47
JL-2		—	—	5.15	QL-8		1.34	3.20	5.76

注：“—”代表未测出

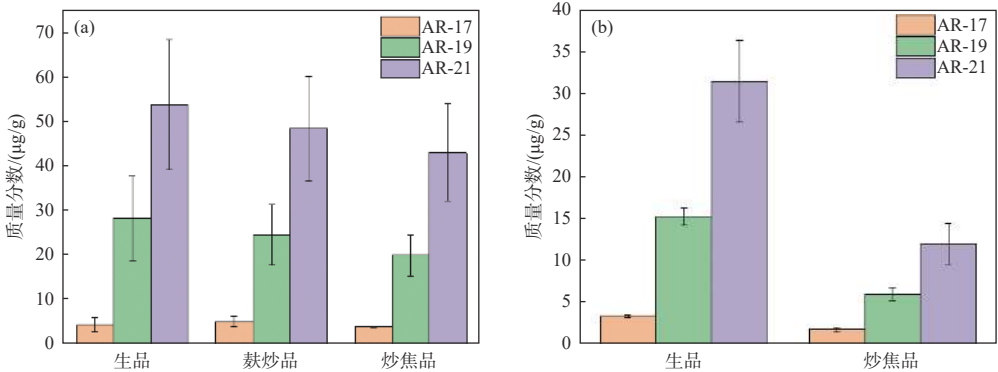


图 2 不同制法、不同炮制品中 ARs 的含量变化
(a) 四川省生产的六神曲, (b) 浙江省生产的六神曲

Fig. 2 Content changes of ARs in different preparation methods and different processing products

2.9 化学计量学分析

2.9.1 主成分分析

以 12 批来自四川省成都市和浙江省杭州市的六神曲生品、炒焦品所测 ARs 的含量为变量,运用 SIMCA 14.1 软件得到主成分分析 (principal component analysis, PCA)得分图(见图 3),结果显示,该分析图能够将两个厂家不同制法的样本进行区分。由表 6 可知,以特征值>1 为标准,筛选得到

1 个主成分,其方差贡献率为 95.964%,说明筛选得到的主成分极具代表性,能够表征不同制法导致的产品差异。

2.9.2 正交偏最小二乘法判别分析

为了更清晰地揭示不同批次六神曲样品之间的差异,采用有监督模式的正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least square-discriminate analysis, OPLS-DA)识别,并筛选出对六神曲影响差

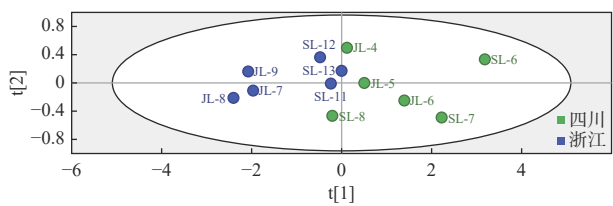


图 3 PCA 分析结果图
Fig. 3 PCA analysis results

异贡献率较大的成分. 将 12 批六神曲样品的 ARs 含量为变量导入 SIMCA 14.1 软件, 进行 OPLS-DA 建模分析, 通过自动拟合建立模型, 得到 OPLS-DA 得分图(如图 4 所示). 进一步计算得到各成分的变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)值, VIP 值越高, 表明对组间差异的贡献越大. 通过对 VIP 值进行分析, 得到差异性标志物的 VIP 图(见图 4), 以 VIP 值>1 为阈值, 筛选出 1 个变量, AR-21 在不同制法及不同炮制品的六神曲中起到了重要作用, 是其成分差异的主要标志物.

表 6 主成分特征值及方差贡献率
Table 6 Principal component eigenvalues and variance contribution rates

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	2.879	95.964	95.964
2	0.102	3.391	99.354
3	0.019	0.646	100

2.10 结果分析

在供试品提取时, 曾考察了乙酸乙酯的提取体积(10、20、30、40、50、60、100 mL). 对固相萃取工艺进行了优化, 选择以甲醇为淋洗溶剂, 考察了不同淋洗比例(5%、10%、15%、20%、25%), 并对洗脱溶剂(正己烷、乙腈、甲醇、无水乙醇、乙酸乙酯)、洗脱体积(2、4、5、8、10 mL)进行了考察, 综合试验结果, 确定以 50 mL 乙酸乙酯为提取溶剂, 5 mL 5% 甲醇淋洗除杂, 5 mL 无水乙醇洗脱时, ARs 类物质的回收率高, 整体试验效果最佳.

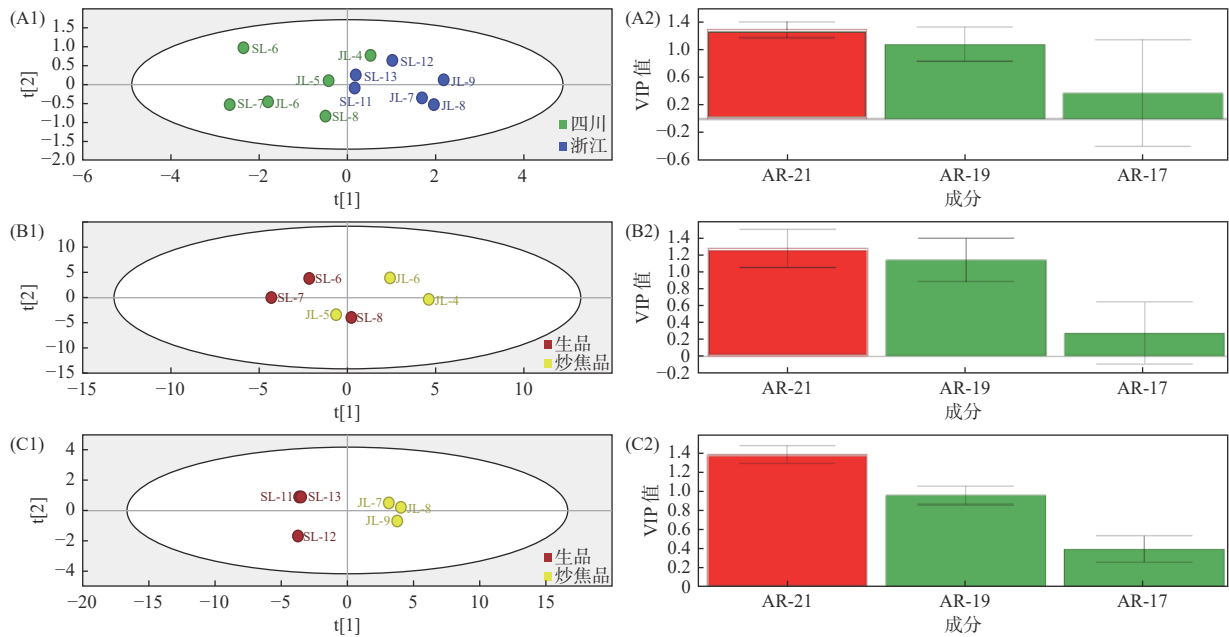


图 4 OPLS-DA 得分图及其 VIP 值

(A1) (A2) 四川省与浙江省生产的六神曲, (B1) (B2) 四川省生产的六神曲, (C1) (C2) 浙江省生产的六神曲

Fig. 4 OPLS-DA score charts and its VIP values

由整体试验样本中 ARs 的测定结果可知, 在市售六神曲中均未检出 AR-15, 其中主要含有 AR-21 和 AR-19, 但各样本中 ARs 含量的一致性较差. 其中有 1 批次样本中未检出 ARs, 提示该厂家产品存在未按规定投料发酵的情况. 全国流通的六神曲,

按《卫生部药品标准·中药成方制剂》^[11] 记载制法生产, 实行批准文号管理, 然而受现行标准滞后等的影响, 未按标准规定生产加工、炮制, 导致产品质量差异大. 遴选同一厂家, 制法清晰、炮制规范的六神曲样本进行分析, 其中 ARs 的含量呈现较好的一致

性. 对于六神曲不同制法、不同炮制品中 AR-21 的含量最高, 其次为 AR-19, 且 AR-17 与 AR-21 的含量比值接近 0.1, 这与中国不同品种小麦样品中 ARs 总含量值较接近, 其中 AR-21 含量最高, 其次是 AR-19 占总量的 34.5%, AR-17 与 AR-21 含量的比值约为 0.1^[13], 与报道相一致, 表明六神曲中的 ARs 主要来源于其制备处方中的麦麸投料. 麦麸的质量和处理方式会对 ARs 含量产生影响^[14]. 对于不同炮制品中, ARs 的含量呈现: 生品>麸炒品>炒焦品. 基于主成分及正交偏最小二乘法判别分析, 结果表明利用化学模式识别可对不同制法的六神曲进行区分, 并确定 AR-21 是导致质量差异的关键物质, AR-17 与 AR-21 含量的比值, 可作为潜在质量控制指标, 对规范处方投料、优化生产工艺、提升现行质量标准及保障临床用药安全具有较好的现实意义.

3 结论

本研究建立了 UPLC-MS/MS 测定六神曲中 ARs 类成分的分析方法. 测定结果表明, 市售六神曲中 ARs 类成分的含量存在较大差异, 间接反映出其制备过程投料及发酵情况, 可将 AR-21 的含量及 AR-17 与 AR-21 含量的比值作为潜在质量标志物, 用于六神曲的质量控制及标准提升, 以进一步提升发酵类中药的产品质量.

参考文献:

- [1] 周厚德, 刘玉环, 李瑞贞, 等. 全麦中烷基间苯二酚的研究概述 [J]. *食品科学*, 2008, 29(8): 680-684. [ZHOU Houde, LIU Yuhuan, LI Ruizhen, et al. Summarization of study on alkylresorcinols in wheat and rye brans[J]. *Food Science*, 2008, 29(8): 680-684.]
- [2] El-Shabasy R M, Farag M A. Dissecting dietary alkylresorcinols: a compile of their distribution, biosynthesis, extraction and functional properties[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2024, 44(4): 581-617.
- [3] 邹燕羽, 方勇, 李彭, 等. 全麦粉和小麦粉中烷基间苯二酚同系物组成的对比分析 [J]. *中国农业科学*, 2020, 53(10): 2055-2065. [ZOU Yanyu, FANG Yong, LI Peng, et al. Comparative analysis of alkylresorcinols homologue composition in whole wheat flour and refined wheat flour[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53(10): 2055-2065.]
- [4] 范湾, 王健, 白金山, 等. 膳食烷基间苯二酚在癌症预防中的研究进展 [J]. *中国癌症防治杂志*, 2023, 15(3): 349-353. [FAN Wan, WANG Jian, BAI Jinshan, et al. Research progress of dietary alkylresorcinols in cancer prevention[J]. *Chinese Journal of Oncology Prevention and Treatment*, 2023, 15(3): 349-353.]
- [5] 杨新童, 李亭, 李书国. 麦源烷基间苯二酚的提取及其功能特性研究进展 [J]. *粮食与油脂*, 2022, 35(2): 6-9, 24. [YANG Xintong, LI Ting, LI Shuguo. Research progress on extraction and functional properties of alkylresorcinol from wheat[J]. *Cereals & Oils*, 2022, 35(2): 6-9, 24.]
- [6] Kruk J, Aboul-Enein B, Bernstein J, et al. Dietary alkylresorcinols and cancer prevention: a systematic review[J]. *European Food Research and Technology*, 2017, 243(10): 1693-1710.
- [7] 邹燕羽, 樊凤娇, 方勇, 等. 烷基间苯二酚分析技术及其生理活性研究进展 [J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(18): 272-278. [ZOU Yanyu, FAN Fengjiao, FANG Yong, et al. Research advances in the analytical techniques and biological activities of alkylresorcinols[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(18): 272-278.]
- [8] 刘立伟, 谭焱飞, 李强, 等. 神曲的嬗变历史及现代研究方向探讨 [J]. *中药材*, 2023, 46(1): 235-241. [LIU Liwei, TAN Yifei, LI Qiang, et al. Discussion on the evolution history and modern research direction of divine comedy[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2023, 46(1): 235-241.]
- [9] 张红玲. 六神曲消食化积药效及物质基础研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2019. [ZHANG Hongling. Study on the efficacy and material basis of Liushenqu Digestion[D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2019.]
- [10] 于大猛. 六神曲中药物组成与炮制方法探讨 [J]. *中药材*, 2020, 43(8): 2027-2030. [YU Dameng. Discussion on drug composition and processing method of Liushenqu[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2020, 43(8): 2027-2030.]
- [11] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂: 第19册 [M]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 1994: 36. [Pharmacopoeia Committee of the Ministry of Health of the People's Republic of China. Ministry of Health of the People's Republic of China drug standards·Traditional Chinese medicine preparation: book 19 [M]. Beijing:

- Ministry of Health of the People's Republic of China, 1994: 36.]
- [12] 浙江省食品药品监督管理局. 浙江省中药炮制规范 [M]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015, 429-430. [Zhejiang Food and Drug Administration. Traditional Chinese medicine processing standards of Zhejiang Province[M]. 2015 edition. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015, 429-430.]
- [13] 汪丽萍, 谭斌, 刘明, 等. 中国小麦烷基间苯二酚含量组成特性及其加工储藏稳定性研究 [C]//第十四届国际谷物科技与面包大会暨国际油料与油脂发展论坛, 2012:261-262. [WANG Liping, TAN Bin, LIU Ming, et al. Study on content and composition characteristics and processing and storage stability of alkylresorcinol of wheat from china [C]// Book of abstracts of 14th ICC cereal and bread congress and forum on fats and oils, 2012:261-262.]
- [14] Bellato S, Ciccoritti R, Del Frate V, et al. Influence of genotype and environment on the content of 5-n alkylresorcinols, total phenols and on the antiradical activity of whole durum wheat grains[J]. [Journal of Cereal Science](#), 2013, 57(2): 162-169.

本刊变更主办单位的申明

根据《国家新闻出版署关于〈分析测试技术与仪器〉期刊变更主办单位的批复》(国新出审〔2024〕1247号),《分析测试技术与仪器》期刊(国内统一连续出版物号:CN62-1123/O6)主办单位由中国科学院兰州化学物理研究所、原中国科学院计划财务局、原中国科学院兰州分院分析测试中心变更为中国科学院兰州化学物理研究所.其他登记事项不变.

《分析测试技术与仪器》编辑部会将上述变更信息尽快更新到期刊网站和其他合作网站.从2025年第31卷第1期开始,《分析测试技术与仪器》纸质期刊的主办单位将适时更新.

特此公告.

《分析测试技术与仪器》编辑部
2024年7月25日