

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)20-0057-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.20.012



鸡内金药材及其伪品鉴别并质量研究*

邱韵静, 童培珍, 吴妙梨, 邓立萍, 杨 丽, 陈向东, 李国卫[△]

(广东一方制药有限公司·广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 广东 佛山 528244)

摘要:目的 建立鉴别鸡内金药材及其伪品的方法,并研究药材质量。方法 采用超高效液相色谱(UPLC)法,色谱柱为 Agilent Zorbax SB C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm),流动相为乙腈-水(4:1, V/V)-0.1% 磷酸水溶液(梯度洗脱),流速为 0.3 mL/min,检测波长为 260 nm,柱温为 30 ℃,进样量为 2 μL。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)绘制 29 批样品(正品 18 批,伪品 11 批)色谱图,确定共有峰并指认。采用 SIMCA-P 14.0 软件进行聚类分析,采用偏最小二乘法分析(PLS-DA)及主成分分析(PCA)法进行主成分分析与聚类。采用 UPLC 法测定指认出的成分含量,并比对鸡饲料主要成分与鸡内金药材的特征图谱,分析黄酮类成分来源。结果 18 批鸡内金药材特征图谱有 9 个共有峰,指认出其中 4 个黄酮类成分,包括染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素、染料木素;聚类分析、PLS-DA 法及 PCA 法均可将鸡内金药材及其伪品分别归类。鸡饲料主要成分与鸡内金药材图谱出现相同共有(特征)峰。结论 所建立的方法可有效鉴别鸡内金药材及其伪品,初步推断鸡内金药材中黄酮类成分是因长期食用鸡饲料富集所得。

关键词: 鸡内金; 偏最小二乘法分析; 聚类分析; 主成分分析; 含量测定; 特征图谱

Identification of Galli Gigerii Endothelium Corneum and Its Adulterants and Quality Study of the Medicinal Material

QIU Yunjing, TONG Peizhen, WU Miaoli, DENG Liping, YANG Li, CHEN Xiangdong, LI Guowei

(Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd. · Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule, Foshan, Guangdong, China 528244)

Abstract: Objective To establish a method for identifying the Galli Gigerii Endothelium Corneum and its adulterants, and to study the quality of the medicinal material. **Methods** The ultra-high-performance liquid chromatography (UPLC) method was adopted; the chromatographic column was the Agilent Zorbax SB C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), the mobile phase was acetonitrile-water (4:1, V/V)-0.1% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 0.3 mL/min, the detection wavelength was 260 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 2 μL. The similarity evaluation system for chromatographic fingerprint of traditional Chinese medicine (version 2012) was used to plot the chromatogram of 29 batches of samples (18 certified products and 11 adulterants), the common peaks were marked and identified. The SIMCA-P 14.0 software was used for cluster analysis, the partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) and principal component analysis (PCA) were used for principal component analysis and clustering. The UPLC method was used to determine the contents of identified components, and the characteristic chromatogram of the main components of *Gallus gallus domesticus* feed was compared with that of Galli Gigerii Endothelium Corneum to analyze the sources of flavonoids. **Results** There were nine common peaks in the characteristic chromatogram of 18 batches of Galli Gigerii Endothelium Corneum, and four flavonoids were identified, including genistin, daidzein, glycitein and genistein. Galli Gigerii Endothelium Corneum and its adulterants can be distinguished by the cluster analysis, PLS-DA method and PCA method. There were common (characteristic) peaks in the chromatograms of main components of *Gallus gallus domesticus* feed and Galli Gigerii Endothelium Corneum. **Conclusion** The established method can

*基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金[2020B1515120033]。

第一作者: 邱韵静, 女, 大学本科, 药师, 研究方向为中药配方颗粒质量控制及标准, (电子信箱)365485924@qq.com。

[△]通信作者: 李国卫, 男, 硕士, 副主任中药师, 研究方向为中药配方颗粒质量控制及标准, (电子信箱)452048107@qq.com。

- 中的应用进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2022, 38(12): 1143-1150.
- [24] 李 媛. I 型、II 型寻常型银屑病临床分析和 ERβ 在其皮损中的表达及意义[D]. 苏州: 苏州大学, 2011.
- [25] 李金花, 曾 锐, 瞿 燕, 等. UPLC-Q-TOF-MS^E 技术结合 UNIFI 数据库快速定性分析黄牡丹化学成分[J]. 中草药, 2017, 48(8): 1529-1536.
- [26] 李壮壮. 和血止痒方药效学评价、化学成分分析及质量控制研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2021.
- [27] XU X, LUO A, LU X, et al. p-Hydroxybenzoic acid alleviates inflammatory responses and intestinal mucosal damage in DSS-induced colitis by activating ERβ signaling [J]. Journal of Functional Foods, 2021, 87: 104835.
- [28] 洪 庆, 徐曼丽, 汤 建. 车叶草苷的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2018, 37(4): 43-45.
- [29] 许聪聪, 林 鹭, 梁惠芬, 等. HPLC 用于蛇莓中对羟基桂皮酸的含量测定[J]. 中国医药导报, 2019, 16(22): 33-37.

(收稿日期: 2023-10-18; 修回日期: 2024-05-27)

effectively identify the Galli Gigerii Endothelium Corneum and its adulterants. It is preliminary inferred that the flavonoids in the Galli Gigerii Endothelium Corneum are induced by long-term enrichment of *Gallus gallus domesticus* feed.

Key words: Galli Gigerii Endothelium Corneum; partial least squares – discriminant analysis; cluster analysis; principal component analysis; content determination; characteristic chromatogram

鸡内金药材为雉科动物家鸡 *Gallus gallus domesticus* Brisson 的干燥砂囊内壁,味甘,性平,归脾、胃、小肠、膀胱经,有健胃消食、涩精止遗、通淋化石的功效^[1]。临床主要用于消积滞,敛疮疡,治疗消渴、遗尿等病症^[2]。鸡内金的主要成分为蛋白质、氨基酸、核苷、多糖等^[3],有研究发现,其含有黄酮类成分与少量胆酸类成分^[4]。黄酮类化合物可调节人体肠道菌群,对健康产生积极影响;异黄酮苷元及其代谢物可通过调整肠道中部分关键微生物种类来发挥益生作用^[5]。然而现阶段对鸡内金药材的研究较多集中于氨基酸^[6-8]、核苷类成分^[9-10]、多糖的含量测定^[11-12],缺乏对黄酮类成分的综合报道。另外,鸡内金药材的市场情况较混乱,其常见的伪品有鹅内金、鸭内金、鸽内金,现有研究采用特异性聚合酶链式反应(PCR)法或聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)法^[13-14]鉴别,但存在样品制备复杂、实验耗时长等问题,因此,建立一种用时短、准确性高、重复性好的质量控制方法具有重要意义。为此,本研究中进行了相关检测与分析。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters H-class 型超高效液相色谱(UPLC)仪(美国 Waters 公司);HWS28 型恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司);Milli-Q Direct 超纯水系统(默克股份有限公司)。

1.2 试药

大豆苷元对照品(批号为 111502-202003,含量 99.3%),染料木苷对照品(批号为 111709-201702,含量 99.9%),染料木素对照品(批号为 111704-201703,含量 99.5%),均购自中国药品食品检定研究院;黄豆黄素对照品(批号为 ST03980120,含量 98.0%),购自上海诗丹德标准技术服务有限公司;磷酸、乙腈均为色谱纯,乙酸乙酯、甲醇均为分析纯,水为超纯水。29 批药材样品,包含 18 批鸡内金(J)及其常见伪品[4 批鹅内金(E)、5 批鸭内金(Y)、2 批鸽内金(G)],均经公司孙冬梅主任药师鉴定为正品或伪品。另收集鸡饲料主要成分,包括麦麸(MF)、菜籽饼(CZB)各 2 批,豆粕(DP)、玉米(YM)、红鱼粉(HYF)各 1 批。详见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Zorbax SB C₁₈柱(100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm);流动相:乙腈-水(A,4:1,V/V)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~13 min 时 14%A → 16%A,

表 1 样品信息表

Tab. 1 Information of samples

编号	产地	编号	产地	编号	产地	编号	产地
J1	山东临沂	J10	山东聊城	E1	广东佛山	G1	广东佛山
J2	山东临沂	J11	山东聊城	E2	广东佛山	G2	广东佛山
J3	山东临沂	J12	山东聊城	E3	广东佛山	DP	河北石家庄
J4	浙江金华	J13	辽宁鞍山	E4	广东佛山	YM	广东佛山
J5	浙江金华	J14	辽宁鞍山	Y1	广东佛山	MF1	广东佛山
J6	浙江金华	J15	辽宁鞍山	Y2	广东佛山	MF2	湖北武汉
J7	山东菏泽	J16	山西晋中	Y3	广东佛山	CZB1	湖北武汉
J8	山东菏泽	J17	山西吕梁	Y4	广东佛山	CZB2	湖北武汉
J9	山东菏泽	J18	山西吕梁	Y5	广东佛山	HYF	广东佛山

13~18 min 时 16%A → 23%A, 18~29 min 时 23%A → 27%A, 29~33 min 时 27%A → 37%A, 33~37 min 时 37%A → 60%A, 37~50 min 时 60%A → 90%A);流速:0.3 mL/min;检测波长:260 nm;柱温:30℃;进样量:2 μL。

2.2 溶液制备

取染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素、染料木素对照品各适量,精密称定,加甲醇溶解并制成质量浓度分别为 15.43, 5.44, 5.27, 23.02 μg/mL 的混合对照品溶液。取药材样品粉末(过 3 号筛)2 g,置锥形瓶中,加入甲醇 50 mL,称定质量,加热回流 30 min,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,蒸干,残渣加水溶解并定容至 10 mL,用乙酸乙酯振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至 5 mL,即得供试品溶液。

2.3 方法学考察

精密度试验:取鸡内金药材样品(J1),按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次,以染料木苷峰(峰 6)为参照峰,计算各特征峰的相对保留时间和相对峰面积。结果的 RSD 分别为 0.03%~0.56% 和 0.27%~0.38%(n=6),表明方法精密度良好。

稳定性试验:取鸡内金药材供试品溶液(J1),分别于室温放置 0,2,6,10,14,18,24 h 时按 2.1 项下色谱条件进样测定,以染料木苷峰为参照峰,计算各特征峰的相对保留时间和相对峰面积。结果的 RSD 分别为 0.01%~0.22% 和 0.01%~0.92%,表明供试品溶液室温放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验:取鸡内金药材样品(J1),按 2.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,以染料木苷峰为参照峰,记录各特征峰的相对

保留时间和相对峰面积。结果的 RSD 分别为 $0.04\% \sim 0.10\%$ 和 $0.12\% \sim 0.71\%$ ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

2.4 特征图谱的建立

取 29 批样品(J, Y, E, G), 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 将所得色谱数据导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)软件, 分别以 J1、E1、Y1、G1 的 UPLC 图谱为参照图谱, 采用平均数法, 分别生成鸡内金药材及其伪品的 UPLC 叠加特征图谱(R1 - R4, 见图 1)及鸡内金药材高效液相色谱对照特征图谱(见图 2), 共确定 9 个共有峰, 与混合对照品图谱(图 3)对比, 指出峰 6 相应的成分为染料木苷、峰 7 为大豆苷元、峰 8 为黄豆黄素、峰 9 为染料木素。

峰 6(染料木苷)对照品易得, 且响应与分离度较好、保留时间适中, 故作为参照峰(S)。由图 1 所示, 鸡内金、

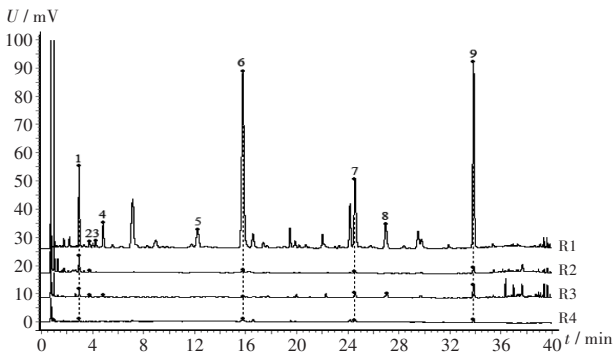


图 1 29 批样品超高效液相色谱叠加特征图谱

Fig. 1 UPLC superimposed characteristic chromatogram of 29 batches of samples

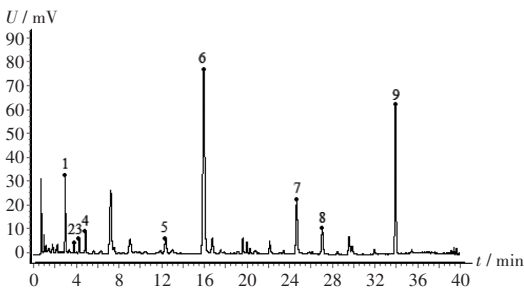
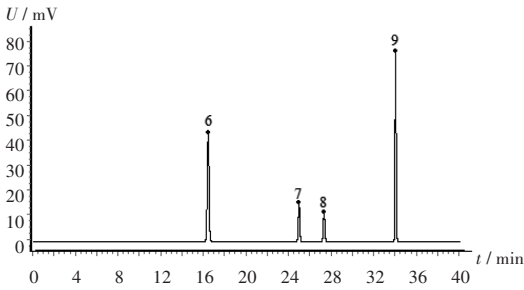


图 2 鸡内金药材超高效液相色谱对照特征图谱

Fig. 2 UPLC reference characteristic chromatogram of Galli Gigerii



6. 染料木苷 7. 大豆苷元 8. 黄豆黄素 9. 染料木素

图 3 混合对照品的超高效液相色谱图

6. Genistin 7. Daidzein 8. Glycitein 9. Genistein

Fig. 3 UPLC chromatogram of mixed reference standard

鹅内金、鸭内金、鸽内金分别有 9, 5, 7, 4 个特征峰。计算各特征峰相对峰面积的 RSD 为 $44.38\% \sim 256.02\%$ 。结果见表 2。

2.5 聚类分析

将 29 批样品中 9 个特征峰的峰面积导入 SIMCA 14.1 软件进行聚类分析, 当分类距离为 40 时, 29 批样品可聚为 2 类, 其中 J1 - J18 为一类, 均为鸡内金药材; 其余样品为一类, 均为鸡内金药材伪品(见图 4)。可见, 聚类分析结果可实现鸡内金药材及其伪品的鉴别, 且

表 2 鸡内金药材及其伪品的超高效液相色谱相对峰面积

Endothelium Corneum and its adulterants									
编号	1	2	3	4	5	6(s)	7	8	9
J1	0.089	0.007	0.011	0.075	0.071	1.000	0.149	0.052	0.307
J2	0.110	0.007	0.006	0.057	0.079	1.000	0.251	0.052	0.450
J3	0.208	0.019	0.026	0.118	0.107	1.000	0.213	0.079	0.509
J4	0.243	0.019	0.026	0.101	0.117	1.000	0.237	0.104	0.549
J5	0.171	0.027	0.038	0.059	0.079	1.000	0.240	0.127	0.511
J6	0.119	0.010	0.016	0.051	0.073	1.000	0.172	0.060	0.358
J7	0.203	0.020	0.027	0.052	0.067	1.000	0.204	0.076	0.396
J8	0.255	0.023	0.039	0.155	0.165	1.000	0.313	0.138	0.754
J9	0.353	0.022	0.026	0.235	0.249	1.000	0.322	0.109	0.663
J10	0.336	0.017	0.024	0.103	0.203	1.000	0.320	0.112	0.580
J11	0.101	0.007	0.008	0.063	0.071	1.000	0.181	0.042	0.328
J12	0.237	0.017	0.018	0.032	0.118	1.000	0.513	0.221	1.147
J13	0.197	0.017	0.015	0.012	0.095	1.000	0.539	0.223	1.146
J14	0.193	0.027	0.016	0.087	0.134	1.000	0.514	0.215	1.127
J15	0.281	0.021	0.020	0.081	0.188	1.000	0.619	0.316	1.099
J16	0.244	0.022	0.036	0.094	0.104	1.000	0.296	0.138	0.770
J17	0.186	0.023	0.015	0.016	0.143	1.000	0.606	0.234	1.256
J18	0.253	0.018	0.017	0.010	0.075	1.000	0.694	0.358	1.425
E1	3.532	0.809	/	/	/	1.000	2.301	/	5.263
E2	0.506	0.116	/	/	/	1.000	0.250	/	0.595
E3	3.842	0.910	/	/	/	1.000	1.681	/	3.377
E4	1.115	0.245	/	/	/	1.000	0.719	/	1.428
Y1	5.489	1.504	/	1.444	/	1.000	10.048	6.954	23.274
Y2	4.931	0.979	/	1.335	/	1.000	7.142	4.344	18.632
Y3	4.333	1.374	/	0.740	/	1.000	9.334	6.254	25.974
Y4	4.715	3.619	/	1.635	/	1.000	7.560	22.793	15.798
Y5	1.857	0.140	/	0.605	/	1.000	0.832	1.610	7.070
G1	0.462	/	/	/	/	1.000	0.783	/	1.177
G2	0.367	/	/	/	/	1.000	1.794	/	2.037
$\bar{X}$	1.20	0.35	0.01	0.25	0.07	1.00	1.68	1.54	4.07
$RSD(\%)$	146.18	211.89	45.69	158.93	44.38	0.00	170.25	256.02	176.37

注: / 表示未检出。表 5、表 6 同。

Note: / indicates that the peak is not detected (for Tab. 2, Tab. 5 - 6).



图 4 聚类分析结果

Fig. 4 Results of cluster analysis

结果与特征图谱一致。

2.6 偏最小二乘法分析(PLS-DA)

同法导入数据进行分析^[15]。共得到 2 个主成分(累计贡献率见图 5),各主成分因子载荷图见图 6,模型的 R^2X 为 0.782, R^2Y 为 0.943, Q^2 为 0.918, 均大于 0.5, 说明该模型的预测能力较好。通过 20 折置换检验(见图 7), 得到 R^2 拟合 Y 轴的截距为 -0.001 32, 小于 0.3, 说明该模型拟合较好, Q^2 拟合 Y 轴的截距为 -0.295, 小于

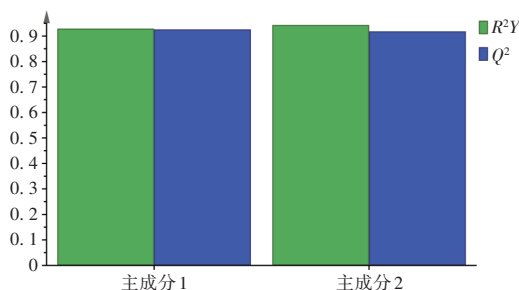


图 5 2 个主成分累计贡献率

Fig. 5 Cumulative contribution rate of two principal components

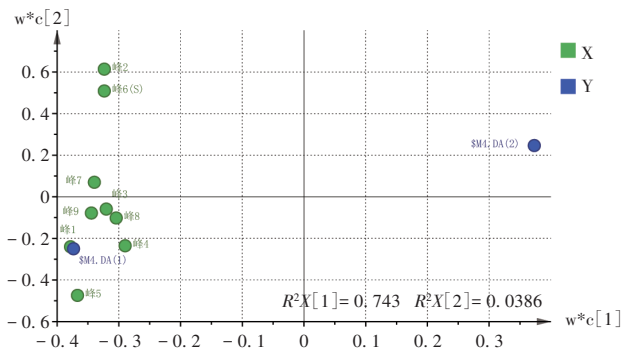


图 6 因子载荷图

Fig. 6 Loading plot of factors

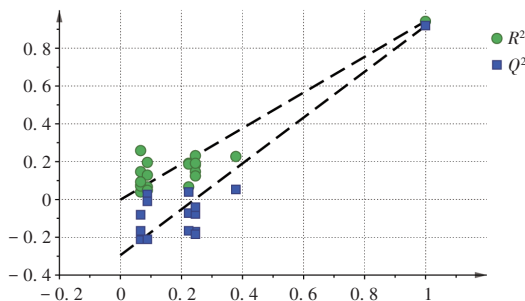


图 7 置换验证图

Fig. 7 Permutation verification plot

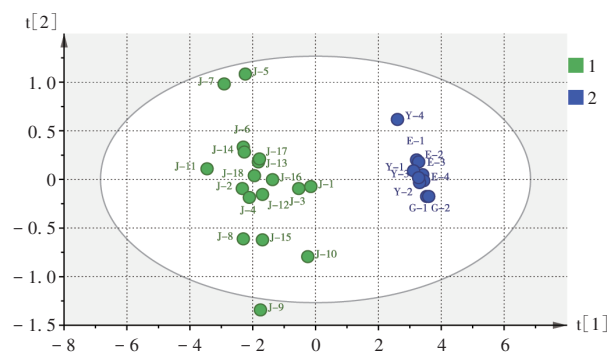


图 8 PLS-DA 得分图

Fig. 8 PLS-DA scoring plot

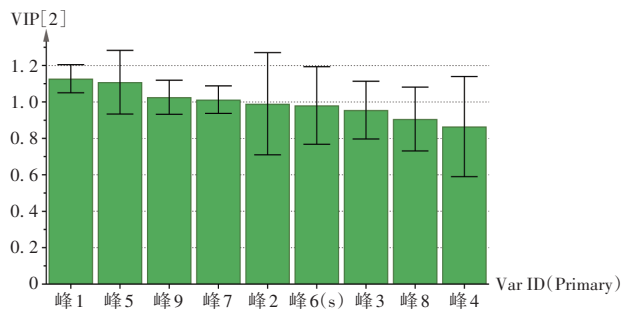


图 9 PLS-DA VIP 值图

Fig. 9 VIP value plot of PLS-DA

0.05, 说明该模型未过度拟合。依据 29 批样品的 PLS-DA 得分图(见图 8), 可分别聚为 2 类, 且与聚类分析结果一致。模型的变量重要投影(VIP)值见图 9, 得对差异性研究有较大影响($VIP > 1$)的 4 个化合物, 影响从大到小依次为峰 1、峰 5、峰 9、峰 7。

2.7 主成分分析

同法导入数据, 进行主成分分析(PCA), 共得到 4 个主成分(见图 10), 其累计 R^2X 为 0.976, 说明模型的拟合能力较好, Q^2 为 0.895, 说明模型的预测能力较好。得到 29 批样品的 PCA 得分图(见图 11), 可分别聚为 2 类, 且结果与聚类分析和特征图谱分析结果一致。

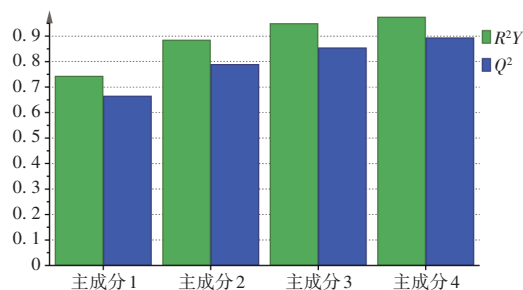


图 10 4 个主成分累计贡献率

Fig. 10 Cumulative contribution rate of four principal components

2.8 含量测定

2.8.1 方法学考察

线性关系考察: 分别取染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素、染料木素对照品 6.180 mg、2.190 mg、2.149 mg、4.661 mg, 精密称定, 分别置 100 mL 容量瓶中, 加甲醇定容,

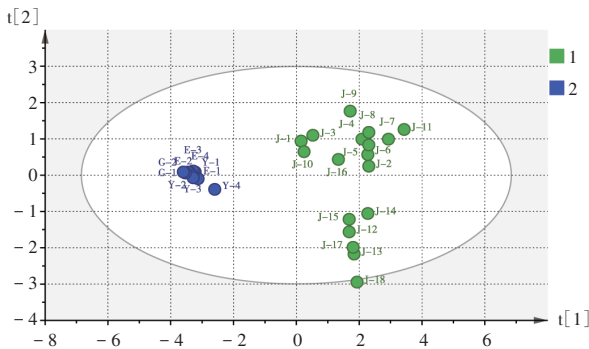


图 11 PCA 得分图

Fig. 11 PCA scoring plot

制成质量浓度分别为 61.74, 21.78, 21.09, 46.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的单一对照品贮备液。分别精密量取 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 7 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 制成系列质量浓度的混合对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以峰面积(Y)为纵坐标、待测成分质量浓度(X , $\mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标进行线性回归。结果见表 3。

表 3 线性考察结果

Tab. 3 Results of the linear relation test

待测成分	回归方程	线性范围 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	r
染料木苷	$Y_1 = 37516.28 X_1 + 14.68$	1.23 ~ 61.74	1.000 0
大豆苷元	$Y_2 = 39883.57 X_2 + 20.54$	0.44 ~ 21.78	1.000 0
黄豆黄素	$Y_3 = 28863.90 X_3 + 8.31$	0.42 ~ 21.09	1.000 0
染料木素	$Y_4 = 45236.43 X_4 + 43.06$	0.92 ~ 46.04	1.000 0

精密度、稳定性、重复性试验: 同 2.3 项下操作, 但仅记录指认出的 4 个黄酮类成分的峰面积。结果的 RSD 均小于 3.0%, 符合限度要求, 表明方法精密度良好, 供试品溶液室温放置 24 h 内基本稳定, 方法重复性良好。

加样回收试验: 取已知含量鸡内金药材样品(J1) 1.0 g, 分别加入一定量对照品溶液, 按 2.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 计算 4 个成分的加样回收率。结果染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素、染料木素平均回收率分别为 100.03%, 92.06%, 96.45%, 101.06%, RSD 分别为 2.93%, 2.64%, 2.69%, 2.81% ($n = 6$)。

2.8.2 样品含量测定

取 29 批样品各适量, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算样品含量。结果见表 4。结果 4 个成分在 18 批鸡内金药材样品中均有检出; 鸡内金药材样品中染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素、染料木素平均含量分别为 60.63, 17.88, 9.79, 32.75 $\mu\text{g}/\text{g}$; 伪品中仅鸭内金中检出大豆苷元、黄豆黄素、染料木素, 平均含量分别为 1.23, 2.01, 2.68 $\mu\text{g}/\text{g}$, 染料木苷在伪品中含量均未达定量限。

表 4 含量测定结果 (mg/g , $n = 2$)

Tab. 4 Results of content determination of four components
(mg/g , $n = 2$)

编号	染料木苷	大豆苷元	黄豆黄素	染料木素	编号	染料木苷	大豆苷元	黄豆黄素	染料木素
J1	70.71	9.92	4.74	18.02	J16	45.34	12.62	8.13	28.93
J2	102.87	24.29	7.00	38.41	J17	45.75	26.08	13.92	47.67
J3	44.56	8.91	4.56	18.79	J18	43.98	28.71	20.44	51.97
J4	58.68	13.07	7.91	26.71	E1	*	*	/	*
J5	60.60	13.68	10.02	25.66	E2	*	*	/	*
J6	99.21	16.09	7.80	29.49	E3	*	*	/	*
J7	81.20	15.58	8.04	26.66	E4	*	*	/	*
J8	47.17	13.89	8.46	29.51	Y1	*	1.64	1.57	3.34
J9	38.18	11.55	5.40	20.99	Y2	*	1.06	0.89	2.45
J10	33.50	10.07	4.86	16.13	Y3	*	1.15	1.07	2.82
J11	134.24	22.85	7.28	36.52	Y4	*	1.38	5.74	2.54
J12	47.16	22.75	13.55	44.85	Y5	*	0.93	0.81	2.26
J13	52.38	26.55	15.18	49.78	G1	*	*	/	*
J14	48.28	23.34	13.50	45.11	G2	*	*	/	*
J15	37.60	21.91	15.47	34.28					

注: * 为低于定量限, / 为未检出。表 5 同。

Note: * indicates that the content is below the limit of quantification, and / indicates that the component is not detected (for Tab 4 - 5).

2.9 鸡内金药材中黄酮类成分来源研究

对鸡内金药材中异黄酮类特征图谱进一步研究, 推测该类成分主要来源于其食物, 故对其特征峰的来源进行探讨。分别取表 1 中的 7 批鸡饲料主要成分样品, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱(见图 12)。用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)分析其特征图谱。以编号为 DP 的图谱为参照, 采用平均数法, 得鸡饲料对照特征图谱(R5), 记录各色谱峰峰面积(见表 5)。R5 与鸡内金(J1)色谱图叠加并对比, 得图 13。可见, 鸡饲料色谱图含鸡内金药材中的 9 个特征峰, 初步推断鸡内金药材中黄酮类成分是因长期食用鸡饲料富集所得。

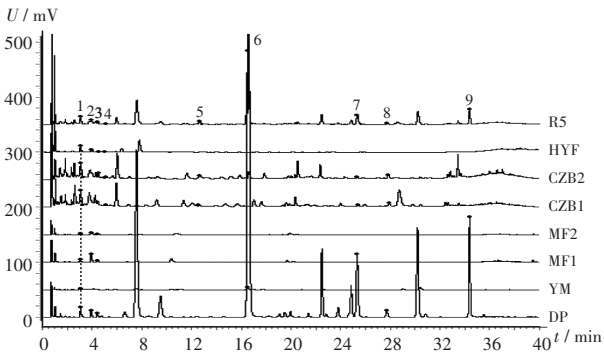


图 12 鸡饲料特征图谱

Fig. 12 Characteristic chromatogram of *Gallus gallus domesticus* feed

表 5 鸡饲料特征图谱峰面积

Tab. 5 Peak area of characteristic chromatogram of *Gallus gallus domesticus* feed

编号	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7	峰8	峰9
DP	94 219	75 900	48 608	/	/	10 404 160	1 209 483	141 218	1 328 389
YM	16 697	/	/	/	/	47 136	/	/	/
MF1	25 175	91 700	16 590	/	/	/	/	/	/
MF2	9 677	23 652	6 970	/	/	/	/	/	/
CZB1	187 577	/	17 897	18 525	27 555		18 277	56 906	/
CZB2	211 737	/	46 394	9 875	79 311	102 832	19 927	70 420	/
HYF	59 444	27 437	3 553	4 109	/	/	/	/	/

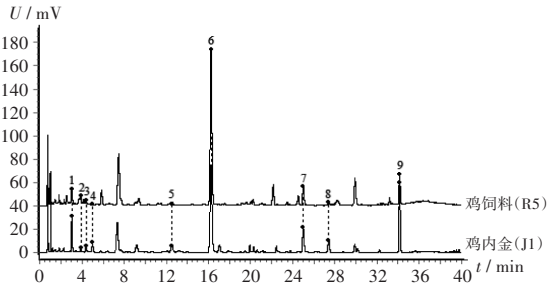


图 13 鸡饲料与鸡内金对照特征图谱

Fig. 13 Reference characteristic chromatogram of *Gallus gallus domesticus* feed and *Galli Gigerii* Endothelium Corneum

3 讨论

2020 年版《中国药典》中鸡内金药材质量控制相关指标过于简单,尚无药材及其伪品的差异化表征。黄酮类成分可调节人体肠道菌群,从而达到促消化的作用,该类成分可能是鸡内金发挥促进胃肠蠕动、促进消化系统分泌的活性成分之一。本研究中通过建立鸡内金药材特征图谱及对比,发现其含有染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素、染料木素 4 种黄酮类成分。并对药材及其伪品(鸭内金、鹅内金、鸽内金)中上述 4 个黄酮类成分进行了定量测定,结果显示,鸡内金及其伪品之间的含量差异较大,其中鹅内金与鸽内金中均未能检出黄豆黄素,其余成分因含量过低(未达定量限),无法准确计算其含量。可见,鸡内金药材中黄酮类成分的含量可用于区药材金及其伪品;PLS-DA 分析结果也显示,染料木素和大豆苷元成分的含量对于区分两者有较大作用。也说明本研究中所选特征峰对于阐明鸡内金药材发挥药理活性的功效物质和区分药材及其混伪品有重要意义。

常见的鸡饲料组成主要为玉米、麦麸、豆粕、菜籽饼、鱼粉,其中鱼粉主要为红鱼粉等。通过测定鸡饲料的特征图谱,发现所有的饲料组成原料均出现峰 1;麦麸、豆粕、红鱼粉出现峰 2;除玉米外,其余成分均出现峰 3;峰 4 主要见于菜籽饼和红鱼粉;峰 5 见于菜籽饼;峰 6 见于玉米、豆粕及菜籽饼;峰 7、峰 8 见于豆粕及菜

籽饼;峰 9 见于豆粕。其中豆粕和菜籽饼中异黄酮类成分较丰富。根据相关文献报道^[15],豆粕富含异黄酮类成分,为异黄酮提取主要原材料,而菜籽饼中也有异黄酮类化学成分。而鸡内金药材中糖苷酶水解大豆异黄酮、染料木素、大豆素、黄豆黄素正是大豆异黄酮的 3 种苷元异构体^[16]。

综上所述,本研究中建立了鸡内金药材及其伪品的 UPLC 特征图谱,并同时测定了 4 种黄酮类成分含量,可为两者的鉴别和质量控制提供依据。

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,2020:202.

[2] 王楠,顾笑妍,吴怡,等. 鸡内金的临床应用及药理作用研究概况[J]. 江苏中医药,2021,53(1):77-81.

[3] 王会,金平,梁新合,等. 鸡内金化学成分和药理作用研究[J]. 吉林中医药,2018,38(9):1071-1073.

[4] LI SS, ZHENG M, ZHANG ZT, et al. *Galli gigeriae* endothelium corneum: its intestinal barrier protective activity in vitro and chemical composition[J]. Chinese Medicine, 2021, 16(1):22.

[5] 赵佳伟,袁杰彬,安明哲,等. 黄酮类化合物对肠道微生物的影响及其机制研究进展[J]. 酿酒科技,2021(4):89-95.

[6] 李传俊,楚胜. 鸡内金不同辅料炮制品的酶活性和氨基酸的含量测定[J]. 中国现代医生,2009,47(15):74-75.

[7] 梁琨,张丹,史辑,等. 柱前衍生化 RP-HPLC 测定鸡内金中 16 种氨基酸的含量[J]. 中国中药杂志,2014,39(8):1463-1467.

[8] 周广涛,汪冰,栾永福,等. 醋鸡内金质量标准提升研究[J]. 海峡药学,2022,34(10):13-17.

[9] 樊佳,刘晓谦,孟辰笑凝,等. 基于 HPLC 指纹图谱与核苷类成分含量测定的鸡内金质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2023,48(1):114-125.

[10] 刘天祚,张思琦,张志强,等. 醋鸡内金配方颗粒的特征图谱建立及指标成分含量测定[J]. 中国民族民间医药, 2023,32(3):23-27.

[11] 王楠,干仲元,宋雨庆,等. 鸡内金炮制前后多糖含量及组成比较[J]. 中成药,2021,43(6):1543-1547.

[12] 王楠. 鸡内金炮制前后药效作用及多糖组分含量比较研究[D]. 上海:上海中医药大学,2020.

[13] 蒲婧哲,张亚中,朱夜琳,等. 基于物种特异性 PCR 方法的鸡内金真伪鉴别[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(17):142-147.

[14] 张晓薇. 鸡内金及其伪品的电泳图谱鉴定[J]. 山西中医学院学报,2018,19(3):33-35.

[15] 於将林. 油菜饼中异黄酮化合物的提取分离测定研究[D]. 重庆:西南大学,2007.

[16] 王美玲,康少华,卢春明. 鸡内金糖苷酶水解大豆异黄酮的研究[J]. 大豆科学,2010,29(6):1081-1083.

(收稿日期:2023-11-16;修回日期:2024-05-27)