

一测多评法同时测定花椒和竹叶花椒中 4 个黄酮成分

唐飞飞, 丁昊玥, 方丹纯, 陈芳, 张静妍, 吴晓青, 谭睿*

(西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031)

摘要 目的: 建立一测多评(QAMS)法同时测定花椒和竹叶花椒中芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷的含量, 比较黄酮成分含量差异。方法: 花椒甲醇提取液分析, 采用 Agilent Eclipse Plus C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈(A) - 0.1% 甲酸水(B), 梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 35 °C, 检测波长 360 nm, 进样量 10 μL。以金丝桃苷为内标, 计算其他 3 个成分的相对校正因子, 测定花椒和竹叶花椒中 4 个黄酮成分的含量。结果: 4 个成分在各自范围内线性关系良好($r \geq 0.9999$), 在花椒和竹叶花椒中的平均加样回收率($n=6$)分别为 99.3%~105.1% 和 91.9%~99.8%。花椒和竹叶花椒中 4 个黄酮成分含量的相对平均偏差分别在 0.05%~3.37% 和 0.02%~3.28%, QAMS 法所得结果与外标法(ESM)接近。结论: 该方法准确可靠, 花椒中黄酮总量显著高于竹叶花椒, 可为全面评价花椒和竹叶花椒的质量研究提供参考。

关键词: 一测多评; 花椒; 竹叶花椒; 黄酮成分; 金丝桃苷; 芦丁; 异槲皮苷; 槲皮苷; 含量差异

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)08 - 1320 - 11

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024 - 0023

Simultaneous determination of 4 flavonoids in Zanthoxyli Pericarpium and Pericarpium Zanthoxyli Armati by QAMS

TANG Fei - fei, DING Hao - yue, FANG Dan - chun, CHEN Fang,
ZHANG Jing - yan, WU Xiao - qing, TAN Rui*

(School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

Abstract Objective: To establish the quantitative analysis of multi - components by single marker(QAMS) method to simultaneously determine the contents of rutin, hyperoside, isoquercetin and quercetin in Zanthoxyli Pericarpium and Pericarpium Zanthoxyli Armati, and compare the differences in flavonoids contents. **Methods:** Methanol extract of Zanthoxyli Pericarpium was analyzed on an Agilent Eclipse Plus C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) chromatographic column. The mobile phase was acetonitrile(A) - 0.1% formic acid(B) in a gradient elution. The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. The column temperature was 35 °C, and the detection wavelength was 360 nm. The injection volume was 10 μL. Using hyperoside as the internal standard substance, the relative correction factors for the other 3 components were calculate and the flavonoids contents in Zanthoxyli Pericarpium and Pericarpium Zanthoxyli Armati were determined. **Results:** The 4 components had good linear relationship within their respective ranges ($r \geq 0.9999$). The average recovery rates of Zanthoxyli Pericarpium were 99.3% - 105.1% ($n=6$),

* 通信作者 Tel: 13882082158; E - mail: tanrui@swjtu.edu.cn

第一作者 Tel: 17590398939; E - mail: t751663839@163.com

while thoes of Pericarpium Zanthoxyli Armati were 91.9%–99.8% ($n = 6$). The relative average deviations of content of Zanthoxyli Pericarpium were 0.05%–3.37%, and the relative average deviations of content of Pericarpium Zanthoxyli Armati were 0.02%–3.28%. The results obtained by QAMS method were close to those obtained by the external standard method(ESM). **Conclusion:** This method of QAMS method is accurate and reliable. The total amount of flavonoids in Pericarpium Zanthoxyli Armati is significantly higher than that in Zanthoxyli Pericarpium. Which provides reference for the comprehensive evaluation of the quality research of Zanthoxyli Pericarpium and Pericarpium Zanthoxyli Armati.

Keywords: quantitative analysis of multi – components by single marker; Zanthoxyli Pericarpium; Pericarpium Zanthoxyli Armati; flavonoids; hyperoside; rutin; isoquercetin; quercetin; content difference

花椒为芸香科植物青椒 *Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc. 或花椒 *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. 的干燥成熟果皮,竹叶花椒为芸香科植物竹叶花椒 *Zanthoxylum armatum* DC. 的干燥成熟果皮。花椒味“辛”、性“温”,用于温中止痛,杀虫止痒^[1],竹叶花椒亦具此功效^[2]。花椒和竹叶花椒作为药食同源的传统中药,均含有挥发油、酰胺类、黄酮类、香豆素类等成分^[2-7]。

花椒 *Z. bungeanum* Maxim. 在我国具有两千多年的使用历史,早在秦汉时期就作为一种芳香防腐剂垫填内棺^[8];《中华人民共和国药典》的另一基原青椒 *Z. schinifolium* Sieb. et Zucc. 与花椒的外观性状、化学成分、药理活性差异都较为明显,故不考虑纳入研究;竹叶花椒 *Z. armatum* DC. 最早记载于《本草图经》^[9],历代本草关于功效描述与花椒基本一致,且外观性状、活性成分、药理作用都与花椒相似^[10]。目前,市场上花椒和竹叶花椒不管是药用还是食用都远超于青椒,因此围绕花椒和竹叶花椒研究更有意义。黄酮类化合物是存在于植物药中的次生代谢物^[11],花椒和竹叶花椒均具有良好的抗氧化活性^[12-14],同时还具有抑菌^[15]、抗炎镇痛^[16]、抗抑郁^[17]、保护心脑血管^[18]等药理作用,这些都与黄酮成分相关。花椒和竹叶花椒的主要黄酮类成分具有相似性,均含有金丝桃苷、芦丁、槲皮苷等。目前的研究多集中于花椒和竹叶花椒中总黄酮含量^[19-20],或黄酮类成分的 HPLC 含量测定^[21-22],较少有采用一测多评(QAMS)法测定花椒和竹叶花椒黄酮成分含量的报道。QAMS 法作为广泛应用于中药材质量控制的分析方法,可以实现单一对照品同时对多个物质成分含量测定^[23]。本文共收集 35 批次花椒和 26 批次竹叶

花椒,拟用 QAMS 法对花椒和竹叶花椒中的 4 个主要黄酮类成分进行含量测定,并与外标法(ESM)进行比较,评价该方法的有效性和准确性,深入挖掘含量测定结果,讨论花椒和竹叶花椒黄酮成分含量差异性,以期对花椒和竹叶花椒的质量研究提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260 Infinity II 型高效液相色谱仪(Agilent 公司),Waters e2695 – 2998 型高效液相色谱仪(Waters 公司),十万分之一电子分析天平(梅特勒 – 托利多仪器有限公司),BS – 110S 电子分析天平(赛多利斯电子天平有限公司),KQ5200DE 型超声波清洁剂(昆山市超声仪器有限公司),纯水机(四川优普超纯科技有限公司)。

1.2 试剂与材料

对照品:芦丁(批号 wkq20030203,纯度 $\geq 98\%$)、槲皮苷(批号 wkq23011612,纯度 $\geq 98\%$),购自四川省维克奇生物科技有限公司;金丝桃苷(批号 18070402,纯度 $\geq 98\%$),购自成都普菲德生物科技有限公司;异槲皮苷(批号 AFCK2052,纯度 $\geq 98\%$),购自成都埃法生物科技有限公司。乙腈为色谱纯(Fisher,批号 20231031),甲酸为分析纯(天津市津东天正精细化学试剂厂,批号 20230719)。

35 批次花椒样品分别收集自四川、陕西、甘肃、山东、河北、山西等地,编号为 HS1 ~ HS35;26 批次竹叶花椒样品分别收集自四川、贵州、重庆、云南、河南、河北等地,编号为 ZS1 ~ ZS26。经西南交通大学生命科学与工程学院宋良科副教授鉴定,分别为花椒 *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. 和竹叶花椒 *Zanthoxylum armatum* DC.。批次信息见表 1。

表1 样品批次信息

Tab. 1 Batch information of samples

| 花椒(Zanthoxyli Pericarpium) | | | 竹叶花椒(Pericarpium Zanthoxyli Armati) | | |
|----------------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 编号 (sample No.) | 采集地 (collection places) | 采收时间 (collection time) | 编号 (sample No.) | 采集地 (collection places) | 采收时间 (collection time) |
| HS1 | 四川茂县(Maoxian, Sichuan) | 2023. 08 | ZS1 | 四川雅安(Yaan, Sichuan) | 2023. 08 |
| HS2 | 四川汉源(Hanyuan, Sichuan) | 2023. 08 | ZS2 | 四川汉源(Hanyuan, Sichuan) | 2023. 08 |
| HS3 | 四川汉源(Hanyuan, Sichuan) | 2023. 08 | ZS3 | 四川自贡(Zigong, Sichuan) | 2023. 08 |
| HS4 | 陕西渭南(Weinan, Shaanxi) | 2023. 08 | ZS4 | 四川金阳(Jinyang, Sichuan) | 2023. 08 |
| HS5 | 陕西渭南(Weinan, Shaanxi) | 2023. 08 | ZS5 | 四川金阳(Jinyang, Sichuan) | 2023. 08 |
| HS6 | 陕西西安(Xi'an, Shaanxi) | 2023. 08 | ZS6 | 贵州德阳(Deyang, Guizhou) | 2023. 08 |
| HS7 | 甘肃定西(Dingxi, Gansu) | 2023. 08 | ZS7 | 贵州三都(Sandu, Guizhou) | 2023. 08 |
| HS8 | 甘肃临夏(Linxia, Gansu) | 2023. 08 | ZS8 | 重庆江津(Jiangjin, Chongqing) | 2023. 08 |
| HS9 | 甘肃天水(Tianshui, Gansu) | 2023. 08 | ZS9 | 重庆开州(Kaizhou, Chongqing) | 2023. 08 |
| HS10 | 甘肃天水(Tianshui, Gansu) | 2023. 08 | ZS10 | 重庆开州(Kaizhou, Chongqing) | 2023. 08 |
| HS11 | 山东沂蒙(Yimeng, Shandong) | 2023. 08 | ZS11 | 重庆江津(Jiangjin, Chongqing) | 2023. 08 |
| HS12 | 山东枣庄(Zaozhuang, Shandong) | 2023. 08 | ZS12 | 重庆江津(Jiangjin, Chongqing) | 2023. 08 |
| HS13 | 山东枣庄(Zaozhuang, Shandong) | 2023. 08 | ZS13 | 云南昭通(Zhaotong, Yunnan) | 2023. 08 |
| HS14 | 河北涉县(Shexian, Hebei) | 2023. 08 | ZS14 | 云南昭通(Zhaotong, Yunnan) | 2023. 08 |
| HS15 | 河北涞水(Laishui, Hebei) | 2023. 08 | ZS15 | 云南楚雄(Chuxiong, Yunnan) | 2023. 08 |
| HS16 | 河北涉县(Shexian, Hebei) | 2023. 08 | ZS16 | 云南昭通(Zhaotong, Yunnan) | 2023. 08 |
| HS17 | 云南楚雄(Chuxiong, Yunnan) | 2023. 08 | ZS17 | 云南楚雄(Chuxiong, Yunnan) | 2023. 08 |
| HS18 | 云南丽江(Lijiang, Yunnan) | 2023. 08 | ZS18 | 河北保定(Baoding, Hebei) | 2023. 08 |
| HS19 | 山西运城(Yuncheng, Shanxi) | 2023. 08 | ZS19 | 河南商丘(Shangqiu, Henan) | 2023. 08 |
| HS20 | 山西芮城(Ruicheng, Shanxi) | 2023. 08 | ZS20 | 河北保定(Baoding, Hebei) | 2023. 08 |
| HS21 | 山西临汾(Linfen, Shanxi) | 2023. 08 | ZS21 | 河南商丘(Shangqiu, Henan) | 2023. 08 |
| HS22 | 山西临汾(Linfen, Shanxi) | 2023. 08 | ZS22 | 云南昭通(Zhaotong, Yunnan) | 2023. 08 |
| HS23 | 山西运城(Yuncheng, Shanxi) | 2023. 08 | ZS23 | 云南楚雄(Chuxiong, Yunnan) | 2023. 08 |
| HS24 | 四川茂县(Maoxian, Sichuan) | 2023. 08 | ZS24 | 四川金阳(Jinyang, Sichuan) | 2023. 08 |
| HS25 | 四川盐源(Yanyuan, Sichuan) | 2023. 08 | ZS25 | 四川汉源(Hanyuan, Sichuan) | 2023. 08 |
| HS26 | 四川汉源(Hanyuan, Sichuan) | 2023. 08 | ZS26 | 云南楚雄(Chuxiong, Yunnan) | 2023. 08 |
| HS27 | 陕西韩城(Hancheng, Shaanxi) | 2023. 08 | | | |
| HS28 | 陕西韩城(Hancheng, Shaanxi) | 2023. 08 | | | |
| HS29 | 陕西韩城(Hancheng, Shaanxi) | 2023. 08 | | | |
| HS30 | 四川汉源(Hanyuan, Sichuan) | 2023. 08 | | | |
| HS31 | 四川茂县(Maoxian, Sichuan) | 2023. 08 | | | |
| HS32 | 四川汉源(Hanyuan, Sichuan) | 2023. 08 | | | |
| HS33 | 陕西西安(Xi'an, Shaanxi) | 2023. 08 | | | |
| HS34 | 陕西西安(Xi'an, Shaanxi) | 2023. 08 | | | |
| HS35 | 陕西韩城(Hancheng, Shaanxi) | 2023. 08 | | | |

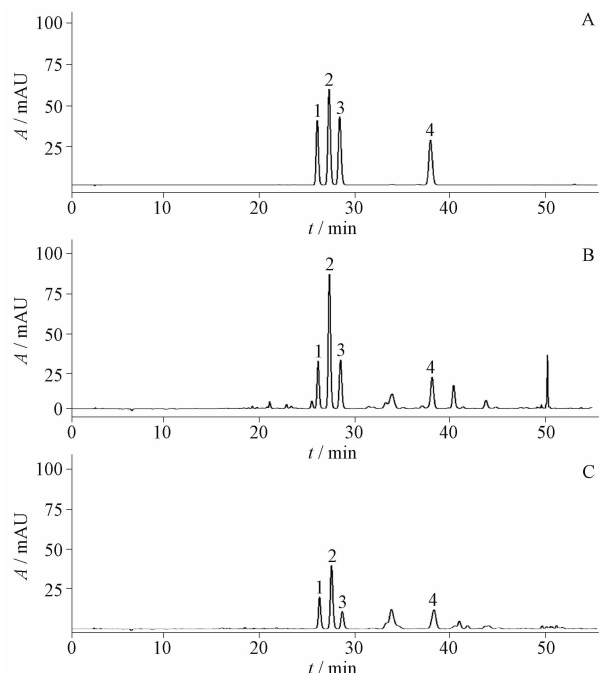
2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Agilent Eclipse Plus C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈(A) - 0.1% 甲酸水(B) 为流动相, 梯度洗脱(0 ~ 10 min, 10% A; 10 ~ 15 min, 10% A →

15% A; 15 ~ 17 min, 15% A → 17% A; 17 ~ 32 min, 17% A; 32 ~ 37 min, 17% A → 20% A; 37 ~ 44 min, 20% A; 44 ~ 46 min, 20% A → 30% A; 46 ~ 51 min, 30% A; 51 ~ 55 min, 36% A → 100% A), 体积流量 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 35 °C, 检测波长 360 nm, 进样量 10 μL。在当前色谱条

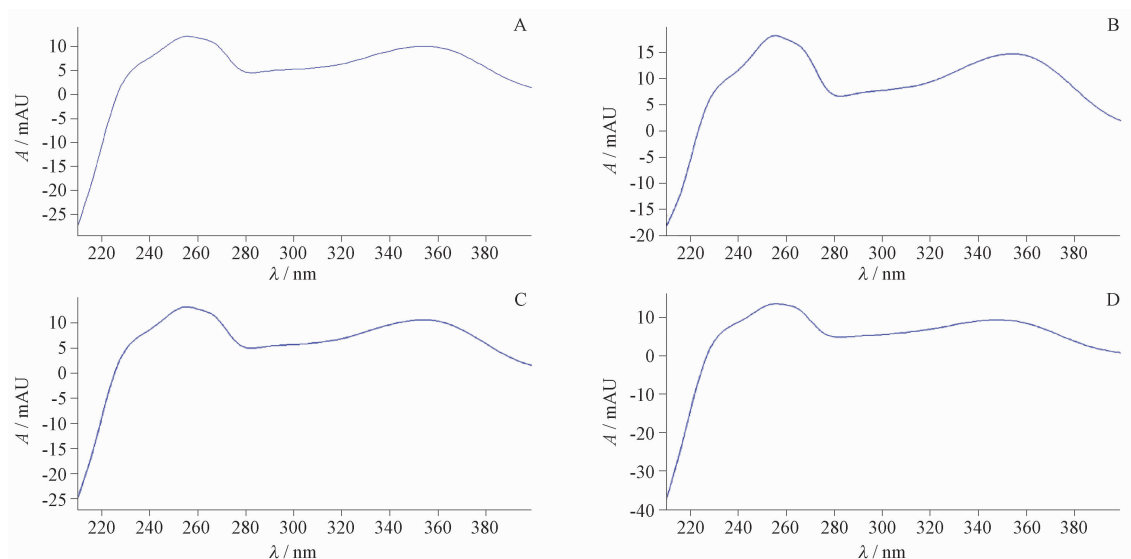
件下,各成分峰与相邻峰的分度均 >1.5。对照品及样品的色谱图见图 1,对照品吸收光谱图见图 2。



1. 芦丁(rutin) 2. 金丝桃苷(hyperoside) 3. 异槲皮苷(isoquercetin)
4. 槲皮苷(queracetin)
A. 混合对照品(mixed reference substances) B. 花椒供试品(sample of Zanthoxyli Pericarpium) C. 竹叶花椒供试品(sample of Pericarpium Zanthoxyli Armati)

图 1 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms



A. 芦丁(rutin) B. 金丝桃苷(hyperoside) C. 异槲皮苷(isoquercetin) D. 槲皮苷(queracetin)

图 2 对照品紫外吸收光谱图

Fig. 2 UV absorption spectra of reference substances

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷的对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为 223.5、250.5、200.0、229.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的单一成分对照品储备液;各精密吸取 0.3、0.4、0.5 mL,置于 25 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得(浓度 1:芦丁 26.82 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、金丝桃苷 30.06 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、异槲皮苷 24.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、槲皮苷 27.54 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;浓度 2:芦丁 35.76 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、金丝桃苷 40.08 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、异槲皮苷 32.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、槲皮苷 36.72 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;浓度 3:芦丁 44.70 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、金丝桃苷 50.10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、异槲皮苷 40.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、槲皮苷 45.90 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。

2.2.2 供试品溶液 称取花椒和竹叶花椒粉末(过 2 号筛)约 1.0 g,精密称定,分别置具塞锥形瓶,精密加入甲醇 30 mL,称量,超声(功率 200 W,频率 40 kHz)辅助提取 30 min,放冷,再称量,用甲醇补足减失的量,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.3 方法学试验

2.3.1 线性关系考察 精密吸取“2.2.1”项下的对照品储备液 0.1、1.0、2.0、5.0、8.0 mL,分别置于 20 mL 量瓶中,加甲醇稀释并定容至刻度,得到不同浓度梯度的混合对照品溶液(相当于 0.5%、5%、10%、25%、40% 对照品储备液浓度),按“2.1”项

色谱条件进样分析,以各成分浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归拟合,见表2。结果表明,花椒和竹叶花椒中的4个黄酮类成分质量浓度在相应的范围内线性关系良好。

表2 4个黄酮成分线性关系

Tab. 2 Linear relationship of 4 flavonoids

| 成分 (component) | 回归方程 (regression equation) | <i>r</i> | 线性范围 (linear range)/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) |
|--------------------|----------------------------------|----------|---|
| 芦丁(rutin) | $Y=5.8551X-7.1698$ | 1.000 | 11.175~894 |
| 金丝桃苷(hyperoside) | $Y=7.7689X-10.607$ | 1.000 | 12.525~1002 |
| 异槲皮苷(isoquercetin) | $Y=9.0405X+39.842$ | 0.9999 | 10~800 |
| 槲皮苷(querletin) | $Y=6.7157X-13.823$ | 0.9999 | 11.475~918 |

2.3.2 精密度试验 精密吸取“2.2.1”项下的混合对照品溶液,按“2.1”项色谱条件连续进样6次,记录峰面积并计算其RSD,芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷峰面积的RSD分别为1.0%、0.87%、1.2%、1.6%,均<2.0%,表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性考察 取HS1和ZS1样品粉末,按“2.2.2”项方法分别制备6份花椒和竹叶花椒的供试品溶液,按“2.1”项色谱条件进样分析,记录峰面

积并计算其含量RSD。花椒中芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷的平均含量分别为1.953、4.354、2.403、1.791 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD分别为1.2%、1.9%、1.7%、1.3%;竹叶花椒中芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷的平均含量分别为0.994、1.177、0.383、0.921 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD分别为0.98%、0.78%、1.6%、1.3%,RSD均小于2.0%,表明该方法重复性良好。

2.3.4 稳定性考察 取HS1和ZS1样品粉末,按“2.2.2”项下方法分别制备花椒和竹叶花椒的供试品溶液,按“2.1”项色谱条件,分别于制备溶液后0、2、4、8、12、24 h进样分析,记录峰面积,结果花椒中芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷峰面积的RSD分别为0.97%、1.1%、1.9%、2.0%,竹叶花椒中芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷峰面积的RSD分别为0.99%、0.82%、1.6%、0.91%,RSD均小于2.0%,表明该方法稳定性良好。

2.3.5 加样回收率考察 取已知含量的HS1和ZS1样品粉末约0.5 g,各6份,精密称定,分别置于锥形瓶中,再精密加入适量的对照品,按“2.2.2”项下方法分别制备花椒和竹叶花椒的供试溶液,按“2.1”项色谱条件进样分析,计算加样回收率,结果见表3、4,花椒和竹叶花椒各成分加样回收率RSD符合要求,表明该方法准确性良好。

表3 花椒加样回收率考察结果($n=6$)

Tab. 3 Results of recovery rates of Zanthoxyli Pericarpium

| 成分 (component) | 称样量 (weight)/mg | 样品含量 (content)/mg | 加标量 (added)/mg | 测得量 (detected)/mg | 回收率 (recovery)/% | 平均回收率 (average recovery)/% | RSD/ % |
|------------------------|--------------------|----------------------|-------------------|----------------------|---------------------|-------------------------------|-----------|
| 芦丁 (rutin) | 0.5272 | 1.0296 | 1.03 | 2.0868 | 102.6 | 99.3 | 2.2 |
| | 0.5365 | 1.0478 | 1.03 | 2.0548 | 97.8 | | |
| | 0.5297 | 1.0345 | 1.03 | 2.0356 | 97.2 | | |
| | 0.5333 | 1.0415 | 1.03 | 2.0531 | 98.2 | | |
| | 0.5338 | 1.0425 | 1.03 | 2.0588 | 98.7 | | |
| | 0.5199 | 1.0154 | 1.03 | 2.0597 | 101.4 | | |
| 金丝桃苷 (hyperoside) | 0.5272 | 2.2954 | 2.30 | 4.7509 | 106.8 | 105.1 | 1.8 |
| | 0.5365 | 2.3359 | 2.30 | 4.7230 | 103.8 | | |
| | 0.5297 | 2.3063 | 2.30 | 4.6711 | 102.8 | | |
| | 0.5333 | 2.3220 | 2.30 | 4.7278 | 104.6 | | |
| | 0.5338 | 2.3242 | 2.30 | 4.7339 | 104.8 | | |
| | 0.5199 | 2.2636 | 2.30 | 4.7461 | 107.9 | | |
| 异槲皮苷 (isoquercetin) | 0.5272 | 1.2669 | 2.50 | 3.8017 | 101.4 | 100.2 | 0.91 |
| | 0.5365 | 1.2892 | 2.50 | 3.7852 | 99.8 | | |
| | 0.5297 | 1.2729 | 2.50 | 3.7749 | 100.1 | | |
| | 0.5333 | 1.2815 | 2.50 | 3.7964 | 100.6 | | |

表 3(续)

| 成分 (component) | 称样量 (weight)/mg | 样品含量 (content)/mg | 加标量 (added)/mg | 测得量 (detected)/mg | 回收率 (recovery)/% | 平均回收率 (average recovery)/% | RSD/ % |
|--------------------|--------------------|----------------------|-------------------|----------------------|---------------------|-------------------------------|-----------|
| 槲皮苷 (quercetin) | 0.533 8 | 1.282 7 | 2.50 | 3.750 5 | 98.7 | 99.9 | 1.6 |
| | 0.519 9 | 1.249 3 | 2.50 | 3.765 6 | 100.7 | | |
| | 0.527 2 | 0.944 2 | 0.95 | 1.879 5 | 98.5 | | |
| | 0.536 5 | 0.960 9 | 0.95 | 1.904 5 | 99.3 | | |
| | 0.529 7 | 0.948 7 | 0.95 | 1.886 2 | 98.7 | | |
| | 0.533 3 | 0.955 1 | 0.95 | 1.902 4 | 99.7 | | |
| | 0.533 8 | 0.956 0 | 0.95 | 1.906 0 | 100.0 | | |
| | 0.519 9 | 0.931 1 | 0.95 | 1.909 1 | 103.0 | | |

表 4 竹叶花椒加样回收率考察结果 (n=6)

Tab. 4 Results of recovery rates of Pericarpium Zanthoxyli Armati

| 成分 (component) | 称样量 (weight)/mg | 样品含量 (content)/mg | 加标量 (added)/mg | 测得量 (detected)/mg | 回收率 (recovery)/% | 平均回收率 (average recovery)/% | RSD/ % |
|------------------------|--------------------|----------------------|-------------------|----------------------|---------------------|-------------------------------|-----------|
| 芦丁 (rutin) | 0.501 2 | 0.498 2 | 0.51 | 0.975 2 | 93.5 | 91.9 | 2.1 |
| | 0.502 2 | 0.499 2 | 0.51 | 0.975 2 | 93.3 | | |
| | 0.505 6 | 0.502 6 | 0.51 | 0.968 5 | 91.4 | | |
| | 0.500 9 | 0.497 9 | 0.51 | 0.975 6 | 93.7 | | |
| | 0.506 3 | 0.503 3 | 0.51 | 0.955 6 | 88.7 | | |
| | 0.507 8 | 0.504 8 | 0.51 | 0.968 9 | 91.0 | | |
| 金丝桃苷 (hyperoside) | 0.501 2 | 0.589 9 | 0.61 | 1.202 6 | 100.4 | 98.2 | 2.2 |
| | 0.502 2 | 0.591 1 | 0.61 | 1.189 6 | 98.1 | | |
| | 0.505 6 | 0.595 1 | 0.61 | 1.181 2 | 96.1 | | |
| | 0.500 9 | 0.589 6 | 0.61 | 1.191 5 | 98.7 | | |
| | 0.506 3 | 0.595 9 | 0.61 | 1.210 5 | 100.8 | | |
| | 0.507 8 | 0.597 7 | 0.61 | 1.179 6 | 95.4 | | |
| 异槲皮苷 (isoquercetin) | 0.501 2 | 0.192 0 | 0.20 | 0.388 7 | 98.4 | 99.8 | 2.1 |
| | 0.502 2 | 0.192 3 | 0.20 | 0.393 6 | 100.7 | | |
| | 0.505 6 | 0.193 6 | 0.20 | 0.395 6 | 101.0 | | |
| | 0.500 9 | 0.191 8 | 0.20 | 0.390 2 | 99.2 | | |
| | 0.506 3 | 0.193 9 | 0.20 | 0.387 7 | 96.9 | | |
| | 0.507 8 | 0.194 5 | 0.20 | 0.400 1 | 102.8 | | |
| 槲皮苷 (quercetin) | 0.501 2 | 0.461 6 | 0.45 | 0.922 1 | 102.3 | 99.6 | 1.6 |
| | 0.502 2 | 0.462 5 | 0.45 | 0.911 2 | 99.7 | | |
| | 0.505 6 | 0.465 7 | 0.45 | 0.909 8 | 98.7 | | |
| | 0.500 9 | 0.461 3 | 0.45 | 0.908 9 | 99.5 | | |
| | 0.506 3 | 0.466 3 | 0.45 | 0.915 8 | 99.9 | | |
| | 0.507 8 | 0.467 7 | 0.45 | 0.906 5 | 97.5 | | |

2.4 相对校正因子的测定

2.4.1 相对校正因子的测定结果 精密吸取“2.2.1”项 3 个不同浓度的混合对照品溶液,按“2.1”项色谱条件进样 2、5、10、15、20 μL,记录各成分峰面积,以金丝桃苷为内标物,按照公式

$f = \frac{f_k}{f_m} = \frac{w_k \times A_m}{w_m \times A_k}$ (f_{km} 为相对校正因子, w_k 为内标物浓度, A_m 为组分峰面积, w_m 为组分浓度, A_k 为内标物峰面积) 分别计算芦丁、异槲皮苷、槲皮苷的相对校正因子。结果见表 5。

表 5 相对校正因子计算结果

Tab. 5 The results of relative correction factor

| 进样量 (injection volume)/ μL | 相对校正因子(relative correction factor) | | | | | | | | |
|--|------------------------------------|---------|---------|--------------------|---------|---------|-----------------|---------|---------|
| | 芦丁(rutin) | | | 异槲皮苷(isoquercetin) | | | 槲皮苷(querceetin) | | |
| 2 | 0.752 9 | 0.748 6 | 0.753 2 | 0.873 9 | 0.880 1 | 0.874 1 | 0.844 3 | 0.840 2 | 0.845 2 |
| 5 | 0.749 9 | 0.755 4 | 0.750 0 | 0.874 3 | 0.876 2 | 0.868 4 | 0.840 4 | 0.841 2 | 0.850 0 |
| 10 | 0.746 0 | 0.752 3 | 0.754 6 | 0.875 0 | 0.876 9 | 0.873 9 | 0.840 2 | 0.843 8 | 0.845 3 |
| 15 | 0.745 9 | 0.752 5 | 0.755 2 | 0.875 2 | 0.873 9 | 0.876 9 | 0.847 3 | 0.847 1 | 0.848 6 |
| 20 | 0.758 3 | 0.757 8 | 0.750 1 | 0.863 0 | 0.854 3 | 0.868 9 | 0.867 7 | 0.856 9 | 0.848 0 |
| 平均值(mean) | 0.750 6 | 0.753 3 | 0.752 6 | 0.872 3 | 0.872 3 | 0.872 4 | 0.848 0 | 0.845 8 | 0.847 4 |
| RSD/% | 0.70 | 0.46 | 0.34 | 0.60 | 1.2 | 0.42 | 1.3 | 0.79 | 0.25 |

2.4.2 不同色谱柱对相对校正因子的影响 取“2.2.1”项下的浓度 3 混合对照品溶液,按“2.1”项色谱条件进样分析,分别考察 TC C_{18} 、Eclipse Plus C_{18} 、ZORBAX SB - C_{18} 等 10 种规格均为 250 mm \times 4.6 mm, 5 μm 的色谱柱对相对校正因子的影响。结果见表 6。各成分采用不同色谱柱的相对校正因子的 RSD 均 $< 2.0\%$, 表明不同色谱柱对相对校正因子的适用性较好。

表 6 不同色谱柱对相对校正因子的影响

Tab. 6 Effects of different columns on the determination of relative correction factor

| 色谱柱 (column) | 相对校正因子 (relative correction factor) | | |
|-------------------------------|--|------------------------|---------------------|
| | 芦丁 (rutin) | 异槲皮苷 (isoquercetin) | 槲皮苷 (querceetin) |
| TC C_{18} | 0.755 0 | 0.872 5 | 0.847 2 |
| Eclipse Plus C_{18} | 0.752 7 | 0.876 9 | 0.848 5 |
| ZORBAX SB - C_{18} | 0.753 7 | 0.872 9 | 0.846 9 |
| ZORBAX Eclipse XDB - C_{18} | 0.754 1 | 0.849 9 | 0.871 2 |
| InertSustain C_{18} | 0.749 8 | 0.851 0 | 0.878 9 |
| Ultimate XB - C_{18} | 0.761 7 | 0.866 2 | 0.879 9 |
| Diamonsil C_{18} | 0.755 6 | 0.871 3 | 0.869 1 |
| SunFire C_{18} | 0.771 0 | 0.850 1 | 0.869 8 |
| Waters Xbridge C_{18} | 0.761 9 | 0.849 7 | 0.868 6 |
| Extend C_{18} | 0.760 4 | 0.845 8 | 0.861 1 |
| 均值(mean) | 0.757 6 | 0.852 7 | 0.872 1 |
| RSD/% | 1.0 | 0.64 | |

2.4.3 不同仪器对相对校正因子的影响 取“2.2.1”项下的浓度 3 混合对照品溶液,按“2.1”项色谱条件进样分析,分别考察 Agilent 1260 和 Waters

e2695 2 种高效液相色谱仪对相对校正因子的影响。结果见表 7,表明不同高效液相色谱仪对相对校正因子的影响较小,重现性较好。

表 7 高效液相色谱仪对相对校正因子的影响

Tab. 7 Effects of different instruments on the determination of relative correction factor

| 仪器 (instrument) | 色谱柱 (column) | 相对校正因子 (relative correction factor) | | |
|--------------------|----------------------------|--|------------------------|---------------------|
| | | 芦丁 (rutin) | 异槲皮苷 (isoquercetin) | 槲皮苷 (querceetin) |
| Agilent 1260 | TC - C_{18} | 0.753 5 | 0.871 7 | 0.847 4 |
| | Eclipse Plus C_{18} | 0.756 5 | 0.867 8 | 0.843 8 |
| | ZORBAX C_{18} | 0.759 0 | 0.869 7 | 0.848 7 |
| Waters e2695 | Waters Xbridge C_{18} | 0.739 6 | 0.861 2 | 0.831 8 |
| | Extend C_{18} | 0.745 6 | 0.862 3 | 0.832 1 |
| | phenomenex Gemini C_{18} | 0.731 2 | 0.848 9 | 0.829 9 |
| | 均值(mean) | 0.747 6 | 0.863 6 | 0.839 0 |
| | RSD/% | 1.4 | 0.96 | 1.0 |

2.4.4 不同柱温对相对校正因子的影响 取“2.2.1”项下的浓度 3 混合对照品溶液,按“2.1”项色谱条件进样分析,考察柱温分别为 25、30、35 $^{\circ}\text{C}$ 时对相对校正因子的影响,结果显示,各成分相对校正因子的 RSD 均 $< 2.0\%$, 表明在不同柱温下相对校正因子的适用性较好。结果见表 8。

2.4.5 不同流速对相对校正因子的影响 取“2.2.1”项下的浓度 3 混合对照品溶液,按“2.1”项色谱条件进样分析,考察流速分别为 0.8、1.0、1.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 对相对校正因子的影响,结果显示,各成分相对校正因子的 RSD 均 $< 2.0\%$, 表明在不同流速下相对校正因子的适用性较好。结果见表 9。

表 8 不同柱温对相对校正因子的影响

Tab. 8 Effects of different column temperatures on the determination of relative correction factor

| 柱温 (column temperature)/ °C | 相对校正因子(relative correction factor) | | |
|--------------------------------|------------------------------------|------------------------|--------------------|
| | 芦丁 (rutin) | 异槲皮苷 (isoquercetin) | 槲皮苷 (quercetin) |
| 25 | 0.751 7 | 0.873 2 | 0.850 8 |
| 30 | 0.752 5 | 0.874 5 | 0.847 8 |
| 35 | 0.753 6 | 0.878 9 | 0.844 5 |
| 均值(mean) | 0.752 6 | 0.875 5 | 0.849 1 |
| RSD/% | 0.13 | 0.34 | 0.37 |

表 9 不同流速对相对校正因子的影响

Tab. 9 Effects of different flow rates on the determination of relative correction factor

| 流速 (flow rate)/ (mL · min ⁻¹) | 相对校正因子(relative correction factor) | | |
|---|------------------------------------|------------------------|--------------------|
| | 芦丁 (rutin) | 异槲皮苷 (isoquercetin) | 槲皮苷 (quercetin) |
| 0.8 | 0.750 0 | 0.876 9 | 0.852 4 |
| 1.0 | 0.753 1 | 0.872 3 | 0.849 8 |
| 1.2 | 0.750 8 | 0.871 4 | 0.845 4 |
| 平均值(mean) | 0.751 3 | 0.873 5 | 0.849 2 |
| RSD/% | 0.21 | 0.34 | 0.42 |

2.5 色谱峰的定位

取“2.2.1”项下的浓度 3 混合对照品溶液,按“2.1”项色谱条件进样分析,以金丝桃苷为内标物,已知金丝桃苷的保留时间,计算芦丁、异槲皮苷、槲皮苷 3 个待测成分的相对保留时间,对待测成分进行峰定位。各成分保留时间范围:芦丁 25.908 ~ 33.605 min、金丝桃苷 27.173 ~ 35.138 min、异槲皮苷 28.289 ~ 37.011 min、槲皮苷 37.869 ~ 45.563 min。结果见表 10,表明使用不同液相色谱仪和不同色谱柱重现性较好,花椒和竹叶花椒中 3 个待测黄酮成分的相对保留时间稳定性较好。

2.6 样品含量测定

取 35 批花椒和 26 批竹叶花椒,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项色谱条件进样分析,记录色谱图信息。分别采用 ESM 和 QAMS 法测定 4 个黄酮成分的含量,结果花椒和竹叶花椒中 4 个黄酮成分含量的相对平均偏差分别在 0.05% ~ 3.37% 和 0.02% ~ 3.28%,表明 2 种测定结果无显著差异,建立的 QAMS 法准确、可靠,可用于花椒和竹叶花椒黄酮成分含量测定。

表 10 不同高效液相色谱仪及色谱柱对相对保留时间的影响

Tab. 10 Relative retention time obtained by different instrument and chromatographic columns

| 仪器 (instrument) | 色谱柱 (column) | 相对保留时间 (relative retention time) | | |
|--------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|------------------------|--------------------|
| | | 芦丁 (rutin) | 异槲皮苷 (isoquercetin) | 槲皮苷 (quercetin) |
| Agilent 1260 | TC-C ₁₈ | 0.956 4 | 1.053 3 | 1.296 7 |
| | Ellipse Plus C ₁₈ | 0.949 2 | 1.036 9 | 1.391 0 |
| | ZORBAX C ₁₈ | 0.953 4 | 1.041 1 | 1.393 6 |
| Waters e2695 | Waters Xbridge C ₁₈ | 0.957 8 | 1.045 9 | 1.392 1 |
| | Extend C ₁₈ | 0.949 7 | 1.039 6 | 1.389 6 |
| | phenomenex Gemini C ₁₈ | 0.950 4 | 1.050 1 | 1.395 7 |
| | 均值(mean) | 0.952 8 | 1.044 5 | 1.376 4 |
| | RSD/% | 0.35 | 0.56 | 2.6 |

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

以甲醇为空白,将混合对照品溶液在 190 ~ 400 nm 范围内进行紫外全波长扫描并记录紫外光谱图,发现金丝桃苷、芦丁、异槲皮苷和槲皮苷在 360 nm 处均有最大吸收,且色谱峰峰形较好,分离度较高,基线较为平稳,因此选择 360 nm 为 4 个黄酮成分的检测波长。本实验流动相条件同时考察了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1% 磷酸水、甲醇-0.1% 磷酸水、甲醇-0.1% 甲酸水、乙腈-0.1% 甲酸水,最终发现乙腈-0.1% 甲酸水梯度洗脱效果最好,确定以乙腈-0.1% 甲酸水进行梯度洗脱,流速 1.0 mL · min⁻¹,柱温 35 °C,梯度洗脱时间为 55 min。

3.2 供试品溶液的制备考察

考察了超声和回流 2 种提取方式,发现黄酮含量提取差异不大,考虑超声提取方式较为便捷,因此选择超声辅助提取作为样品提取方式。实验还考察了甲醇、乙醇、20% 甲醇、40% 甲醇、60% 甲醇、80% 甲醇作为溶剂进行提取,发现甲醇提取时 4 个黄酮成分含量较高。考察了超声时长为 20、30、40、50、60 min 对黄酮含量的影响,发现超声时长为 30、40、50、60 min 时黄酮含量差别不大,将成分提取效率高、方法稳定性较好作为指标,最终以色谱图信息作为结果,确定供试品溶液制备方法。因此,选择甲醇为提取溶剂,超声辅助提取时间 30 min,此时各成分出峰情况较好,可作为供试品溶液制备方法。

3.3 QAMS 法分析

金丝桃苷属于黄酮醇苷类化合物,性质稳定,在花椒和竹叶花椒中峰面积最高,因此选择金丝桃苷为内标物符合 QAMS 法技术指南要求^[24]。建立金丝桃苷与芦丁、异槲皮苷和槲皮苷 3 个黄酮成分的相对校正因子,通过比较不同高效液相色谱仪、不同色谱柱和色谱条件变化对相对校正因子的影响,以及在同一色谱条件下待测成分与内标物相对保留时间的影响。结果表明,各相对校正因子均具有良好的重复性,待测成分与内标物相对保留时间较为稳定。ESM 和 QAMS 法测定结果表明二者无显著差异,方法准确、可靠,实现了花椒和竹叶花椒中 4 个主要黄酮成分低成本的含量测定,同时 QAMS 法可用于花椒和竹叶花椒药材的质量评价。

3.4 样品结果分析

实验采用同一采收期的花椒和竹叶花椒,更有利于分析黄酮成分含量。比较花椒和竹叶花椒的黄酮成分总量,由图 3 可知,花椒黄酮成分总量显著高于竹叶花椒。若将黄酮成分作为质量评价指标之一,花椒质量整体上优于竹叶花椒。比较不同产地花椒黄酮成分,陕西、甘肃、山西等地金丝桃苷含量较高;芦丁在黄酮成分中含量最低,含量差异达 11

倍,总体含量值以甘肃最高,山东最低;异槲皮苷含量各产地整体分布均匀;槲皮苷含量以 HS25(四川盐源)、HS26(四川汉源)最低,与其他产地含量差异明显,可能与贮藏时间有关。由此可见,甘肃、陕西的花椒黄酮成分含量较高,若以黄酮成分作为评价标准之一,主产区甘肃和陕西花椒总体质量较好。竹叶花椒黄酮成分含量差异远低于花椒,同样以芦丁含量差异大,最高值 ZS25(四川汉源)和最低值 ZS12(重庆江津)差异值达 2.6 倍,低于花椒;金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷含量整体分布良好;总体上竹叶花椒以主产区云南昭通黄酮成分含量最高,整体质量水平较为均一。以上结果表明不同产地的花椒和竹叶花椒黄酮成分含量差异较大,黄酮成分含量一定程度上能够评价出花椒和竹叶花椒的质量。将含量数据导入 SIMCA - P14.0 软件进行分析,建立偏最小二乘判别分析(OPLS - DA)模型,结合变量重要性投影(VIP)法,以 VIP 贡献值大于 1 为条件进行筛选,结果金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷 VIP 值均 > 1,表明金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷可能是花椒和竹叶花椒之间主要的黄酮类含量差异性成分(图 4 ~ 6),这对花椒和竹叶花椒的质量比较研究具有借鉴意义。

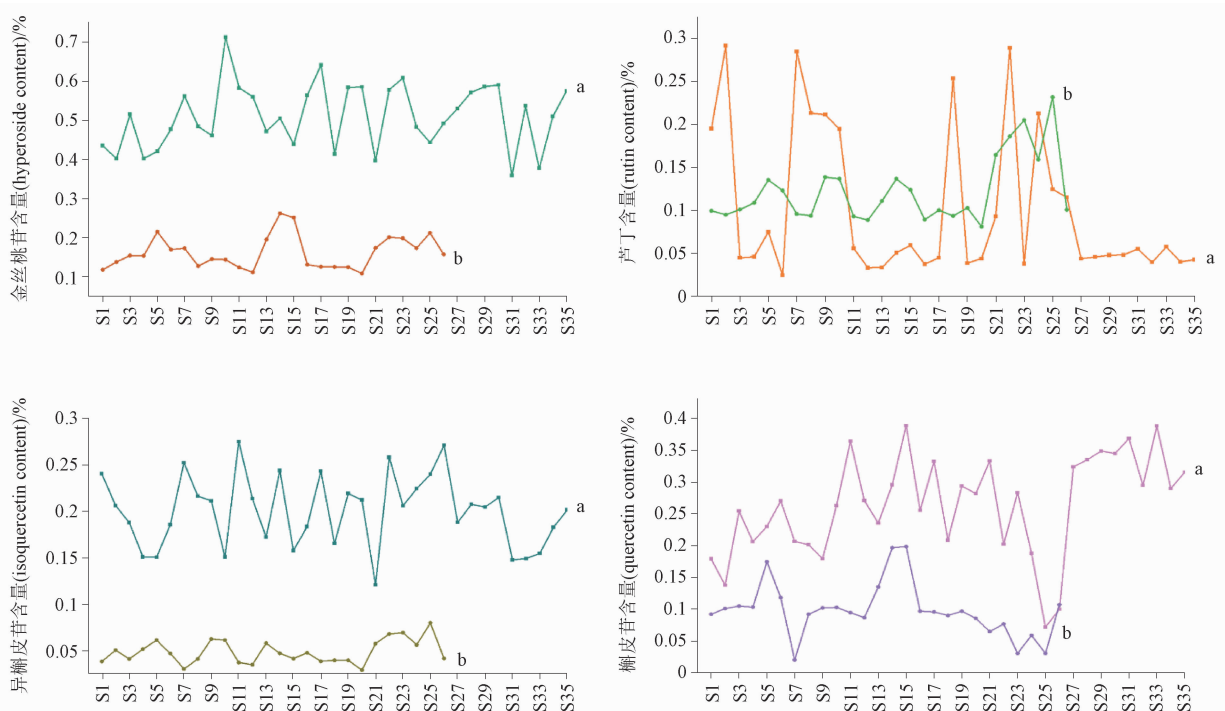


图 3 花椒(a)和竹叶花椒(b)4个黄酮成分含量折线图

Fig. 3 Line chart of 4 flavonoids in *Zanthoxyli Pericarpium* (a) and *Pericarpium Zanthoxyli Armati* (b)

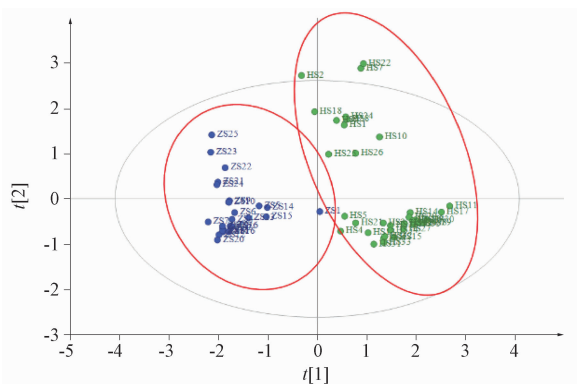


图 4 OPLS-DA 得分图

Fig. 4 OPLS-DA score

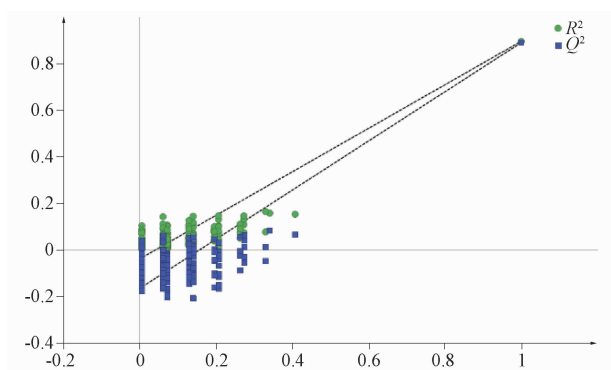


图 5 OPLS-DA 模型置换检验

Fig. 5 Permutation test of OPLS-DA

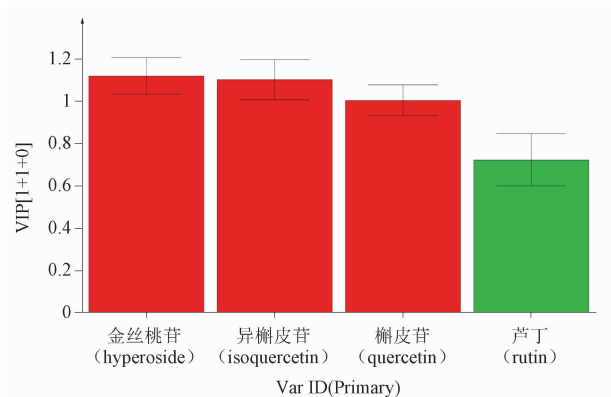


图 6 4 个黄酮类成分的 VIP

Fig. 6 VIP values of 4 flavonoids components

3.5 小结

花椒和竹叶花椒由于外观性状和物质基础相似,具有同等研究价值,黄酮类成分作为花椒和竹叶花椒抗氧化等活性作用的关键成分具有重要研究意义。本研究建立花椒和竹叶花椒黄酮类成分 QAMS 分析方法,实现了对花椒和竹叶花椒中芦丁、金丝桃

苷、异槲皮苷、槲皮苷 4 个主要黄酮成分的含量测定,该方法准确,具有良好的可信度。含量测定结果发现,花椒和竹叶花椒 4 个黄酮成分含量差异较大,深入挖掘数据信息发现,金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷可能是花椒和竹叶花椒之间主要的黄酮类含量差异性成分,该结果有助于为花椒和竹叶花椒质量比较研究提供参考,为更加全面评价花椒和竹叶花椒药材及饮片质量提供参考依据。花椒和竹叶花椒成分复杂,含有挥发油、酰胺、生物碱等多种化学成分^[3,25],本文只研究黄酮类成分,其他成分尚未涉及,下一步会结合气相色谱-质谱(GC-MS)联用和液相色谱-质谱(LC-MS)联用分析花椒和竹叶花椒挥发性成分以及其他化学成分,全面分析 2 种基原花椒成分,为 2 种基原花椒质量控制研究奠定基础。

参考文献

[1] 中华人民共和国药典 2020 年版,一部[S]. 2020: 166
ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 166

[2] 陈茜. 竹叶花椒质量标准研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2019
CHEN Q. Study on Quality Standard of *Z. bungeanum* DC. [D]. Sichuan: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2019

[3] 席少阳, 郭延秀, 马晓辉, 等. 花椒化学成分及药理作用的研究进展[J]. 华西药学杂志, 2021, 36(6): 717
XI SY, GUO YX, MA XH, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Zanthoxylum*[J]. West China J Pharm Sci, 2021, 36(6): 717

[4] 孟宪华, 尚贤毅, 杨军丽. 青花椒中酚类化学成分及其抗氧化活性[J]. 中草药, 2020, 51(8): 2095
MENG XH, SHANG XY, YANG JL. Phenolic chemical constituents of *Zanthoxylum schinifolium* pericarps and their anti-oxidative effects[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(8): 2095

[5] 叶倩女, 石晓峰, 杨军丽. 花椒属植物中酰胺类成分的结构与功能研究进展[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(9): 2406
YE QN, SHI XF, YANG JL. Research advance on structure and function of amides in *Zanthoxylum* plants[J]. China J Chin Mater Med, 2023, 48(9): 2406

[6] 周婷, 蒲彪, 姜欢笑. 花椒麻味物质的研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(10): 385
ZHOU T, PU B, JIANG HX. Research progress in the numb-taste components of *Zanthoxylum* [J]. Sci Technol Food Ind, 2014, 35(10): 385

[7] HUGHES SD, KETHEESAN N, HALEAGRAHARA N. The therapeutic potential of plant flavonoids on rheumatoid arthritis[J]. Crit Rev Food Sci, 2017, 57(17): 3601

- [8] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 第 43 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 44
Editorial Committee of the Flora of China. Chinese Academy of Sciences. Flora of China. Vol 43 [M]. Beijing: Science Press, 1997: 44
- [9] 苏颂, 尚志钧. 本草图经 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1994: 122
SU S, SHANG ZJ. Bencao Tujing [M]. Hefei: Anhui Science and Technology Press, 1992: 122
- [10] 祝磊. 花椒药材品种及其软胶囊制剂研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2019
ZHU L. Study on the Varieties of Huajiao and Its Soft Capsule Preparations [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2019
- [11] ZENG X, XI Y, JIANG W. Protective roles of flavonoids and flavonoid-rich plant extracts against urolithiasis; a review [J]. Crit Rev Food Sci, 2019, 59(13): 2125
- [12] 罗雅杰, 曹瑜, 何强, 等. 三种花椒抗氧化活性对比研究 [J]. 中国调味品, 2016, 41(2): 26
LUO YJ, CAO Y, HE Q, et al. Research on antioxidant activity of three kinds of *Zanthoxylum bungeanum* [J]. China Cond, 2016, 41(2): 26
- [13] 何鑫柱, 李潮俊, 周孟焦, 等. 竹叶花椒黄酮类物质抗氧化活性及其谱效关系 [J]. 农产品加工, 2023(12): 54
HE XZ, LI CJ, ZHOU MJ, et al. Spectrum-effect relationship of antioxidant activity of flavonoids from *Zanthoxylum armatum* DC. [J]. Farm Prod Process, 2023(12): 54
- [14] 王和涛, 刘罗罗. 花椒黄酮提取工艺优化及其抗氧化活性的研究 [J]. 山东农业科学, 2022, 54(6): 118
WANG HT, LIU LL. Optimization of extraction process and antioxidant activity of flavonoids from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. [J]. Shandong Agric Sci, 2022, 54(6): 118
- [15] 董小华, 申光辉, 王佳, 等. 低温对不同相对分子质量花椒籽蛋白酶解物的抑菌活性影响 [J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(6): 639
DONG XH, SHEN GH, WANG J, et al. Effect of low temperature on antibacterial activity of different molecular weight of hydrolysate from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. seed [J]. J Food Sci Biotechnol, 2018, 37(6): 639
- [16] ZHAO R, ZHANG M, WANG D, et al. Network pharmacology and molecular docking approaches to investigating the mechanism of action of *Zanthoxylum bungeanum* in the treatment of oxidative stress-induced diseases [J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2021, 24(10): 1754
- [17] 陈文静, 杨婷, 黄红, 等. 花椒渣总黄酮的含量测定及其抗抑郁作用研究 [J]. 中药与临床, 2022, 13(3): 73
CHEN WJ, YANG T, HUANG H, et al. Content determination of total flavonoids in *Zanthoxylum Pericarpium* residue and study on their anti-depressant effects [J]. Pharm Clin Chin Mater Med, 2022, 13(3): 73
- [18] WANG Y, ZHONG L, LIU X, et al. ZYZ-772 prevents cardiomyocyte injury by suppressing Nox4-derived ROS production and apoptosis [J]. Molecules, 2017, 22(2): 331
- [19] 吴亮亮, 石雪萍, 张卫明. 花椒总黄酮测定方法研究 [J]. 食品工业科技, 2010, 31(10): 372
WU LL, SHI XP, ZHANG WM. Study on the determination method of total flavonoids content in *Zanthoxylum* by spectrophotometry [J]. Sci Technol Food Ind, 2010, 31(10): 372
- [20] 周孟焦, 何鑫柱, 李朝俊, 等. 竹叶花椒黄酮粗提液纯化工艺及抗氧化性研究 [J]. 食品工业, 2023, 44(4): 36
ZHOU MJ, HE XZ, LI CJ, et al. Study on purification and antioxidant activity of crude extract of flavonoids from *Zanthoxylum armatum* DC. [J]. Food Ind, 2023, 44(4): 36
- [21] 杨悦, 冯靖雯, 陈鸿平, 等. 竹叶花椒黄酮类成分含量及抗氧化活性相关性分析 [J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(11): 1809
YANG Y, FENG JW, CHEN HP, et al. Correlation analysis of flavonoids content and antioxidant activity of *Zanthoxylum armatum* DC. [J]. Nat Prod Res Dev, 2021, 33(11): 1809
- [22] 吴亮亮, 石雪萍, 张卫明. 反相高效液相色谱法测定花椒的 3 个黄酮苷元的含量 [J]. 理化检验-化学分册, 2010, 46(12): 1441
WU LL, SHI XP, ZHANG WM. RP-HPLC determination of 3 flavonoid aglycones of *Zanthoxylum bungeanum* [J]. Phys Test Chem Anal: Part B Chem Anal, 2010, 46(12): 1441
- [23] 高楚倩, 李康, 张琳玉, 等. 基于一测多评法的茯苓皮药材质量控制研究 [J]. 中药材, 2023, 46(9): 2240
GAO CQ, LI K, ZHANG LY, et al. Study on quality control of Poria peel based on one test and multiple evaluation method [J]. J Chin Med Mater, 2023, 46(9): 2240
- [24] 孟俊华, 刘媛, 占慧慧, 等. 基于特征图谱结合化学计量学和一测多评法的薤白质量评价 [J]. 中草药, 2023, 54(21): 7176
MENG JH, LIU Y, ZHAN HH, et al. Quality evaluation of *Allii Macrostemonis Bulbus* based on fingerprint HPLC spectrum combined with chemometrics and quantitative analysis of multi-components with a single-marker [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(21): 7176
- [25] 陈蕾, 张锋伦, 孙达锋, 等. 青花椒生物活性及作用机制研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2016, 35(4): 43
CHEN L, ZHANG FL, SUN DF, et al. Research progress of biological activity and mechanism in *Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc. [J]. Chin Wild Plant Resour, 2016, 35(4): 43

(本文于 2024 年 1 月 12 日收到)