

橘红胎饮片标准汤剂质量评价研究

张晓营¹, 文廷芳¹, 张雅洁^{1,2}, 方家祺¹, 麦宝愉¹, 肖凤霞¹(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 广东莱恩医药研究院有限公司, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 建立橘红胎饮片标准汤剂的质量评价体系, 并对其质量综合评价。**方法** 制备橘红胎饮片标准汤剂, 以出膏率、柚皮苷和野漆树苷转移率及高效液相(HPLC)指纹图谱相似度为评价指标, 建立其质量评价体系; 并采用灰色关联法对指纹图谱中标定成分进行关联分析, 评价 16 批橘红胎饮片标准汤剂的质量。**结果** 16 批橘红胎饮片中柚皮苷含量为 3.34%~29.27%, 野漆树苷含量为 0.26%~2.82%。橘红胎标准汤剂的出膏率范围为 43.36%~51.52%; 柚皮苷和野漆树苷的转移率范围为 33.62%~144.86%和 1.30%~96.00%; 指纹图谱确定共有峰 19 个, 其中 4 个峰指认为柚皮苷(8 号)、新橙皮苷(11 号)、野漆树苷(12 号)、柚皮素(15 号); 16 批标准汤剂指纹图谱相似度均在 0.98 以上。指纹图谱中 4 个标定成分的灰色关联度范围为 0.096~0.606, 加权关联度范围为 0.091~0.984。**结论** 该研究建立的标准汤剂质量评价体系中各指标范围均合理可靠, 运用指纹图谱中标定成分的灰色关联分析能够实现 16 批橘红胎饮片标准汤剂的质量综合评价。

关键词: 橘红胎; 标准汤剂; 指纹图谱; 灰色关联度; 质量评价

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)03-0406-08

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.03.015

Study on the Quality Evaluation of *Juhongtai* Standard Decoction

ZHANG Xiaoying¹, WEN Tingfang¹, ZHANG Yajie^{1,2}, FANG Jiaqi¹, MAI Baoyu¹, XIAO Fengxia¹(1. School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Guangdong Lewin Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd. Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish the evaluation system and accomplish the comprehensive evaluation of the quality of *Juhongtai* standard decoction. **Methods** The standard decoction of *Juhongtai* was prepared. The extract rates and transfer rates of naringin and rhoifolin were measured and calculated. The high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint was also established and the similarities of the fingerprints of 16 batches of decoctions were calculated. These parameters were selected as evaluation indicators of the quality evaluation system. Moreover, the identified components in the fingerprint were correlated using grey correlation statistics to evaluate the quality of the standard decoctions of 16 batches of *Juhongtai*. **Results** The contents of naringin and rhoifolin in 16 samples were 3.34%–29.27% and 0.26%–2.82%, respectively. The transfer rates were 43.36%–51.52%, while extract rates of naringin and rhoifolin were 33.62%–144.86% and 1.30%–96.00%, respectively. According to the Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of traditional Chinese medicine (TCM), there were 19 common peaks in all chromatograms in which 4 peaks were identified as naringin(8), neohesperidin(11), rhoifolin(12) and naringenin(15), respectively. The similarities of 16 samples were all greater than 0.98. In addition, the grey correlation grade of the 4 identified components in 16 samples was 0.096–0.606, and the weighted grey correlation grade was 0.091–0.984. **Conclusion** This study established a reasonable and reliable quality evaluation system for

收稿日期: 2020-08-24

作者简介: 张晓营, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药资源开发与新药研究。Email: 1395634923@qq.com。通信作者: 肖凤霞, 女, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 中药资源开发与新药研究。Email: xfx92@gzucm.edu.cn。

基金项目: 国家中医药管理局中药标准化项目(ZYBZH-Y-GD-13); 广州中医药大学薪火计划项目(A1-AFD018181Z4259); 以农产品为单元的广东省现代农业产业技术体系创新团队建设项目(南药产业, 2019KJ148); 广东省岭南中药材保护资金人才培养项目(粤中医办函[2019]32号、144号); 渔港建设和渔业产业发展专项(海洋渔业科技推广方向-科技攻关与研发项目, 粤财农[2017]17号)。

standard decoction of *Juhongtai*. Besides, the quality of the standard decoction of *Juhongtai* can be comprehensively evaluated by the grey correlation analysis of the identified components of the fingerprint.

Keywords: *Juhongtai*; standard decoction; fingerprint; grey correlation analysis; quality evaluation

化橘红来源于芸香科植物化州柚(*Citrus grandis* ‘Tomentosa’)和柚[*Citrus grandis* (L.) Osbeck]的干燥未成熟外层果皮^[1],为“十大广药”之一,橘红胎是化州柚的干燥未成熟果实,在《广东省中药炮制规范》等^[2-4]均有收录。化橘红被誉为“治咳保肺”奇药,临床应用广泛,研究^[5]发现橘红胎与化橘红具有相同的药效,并且两者的总黄酮类成分相似,主要成分为柚皮苷和野漆树苷^[6-7],因此具有较大的临床应用价值。近年来在国内外市场,橘红胎已成为主流药材商品规格^[8]。但由于橘红胎的质量评价单一,仅测定单一成分柚皮苷的含量,不能全面地反映药材整体的内在质量^[9],从而导致市面上的橘红胎药材质量参差不齐,严重影响了其临床应用。“标准汤剂”是遵循中医药理论,按照临床汤剂煎煮方法进行规范化煎煮得到的单味中药饮片水煎剂^[10],其不仅可以作为评价配方颗粒质量的标准参照物,而且对于保障汤剂临床用药的准确性和一致性具有重要意义^[11-12]。基于此,本实验选用广东化州的 16 批橘红胎制备饮片标准汤剂,建立高效液相(HPLC)指纹图谱评价体系,并对指纹图谱中标定成分进行灰色关联分析,以评价标准汤剂的质量,以期为橘红胎饮片标准汤剂的质量评价及临床应用提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器与设备 Waters E2695 型高效液相色谱仪, Waters 2998 PAD 检测器, 美国 Waters 公司; MILLI-Q 型超纯水仪, 德国默克密理博有限公司; XS225A 型电子分析天平, 瑞士 Precisa 有限公司, 精度 0.000 1 g; BP211D 型电子分析天平, 德国 Sartorius 公司, 精度 0.000 01 g; KQ-500DE 型数控超声波清洗器(功率 500 W, 频率 40 kHz), 昆山市超声仪器有限公司; 数显恒温水浴锅, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; DQ-103 台式方形中药切片器(功率 350 W, 频率 50 kHz), 温岭市林大机械有限公司。

1.2 试剂与材料 柚皮苷(批号: 110722-201815)、新橙皮苷(批号: 111857-201703)、野漆树苷(批号: 111919-201804)、芹菜素(批号: 111901-201603)对照品, 中国食品药品检定研究院; 柚皮素对照品(批

号: 141011, 纯度 $\geq 98\%$), 四川省维克奇生物科技有限公司。甲醇, 德国默克公司, 色谱纯; 冰乙酸, 纯度 $\geq 99.8\%$, 色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

16 批橘红胎样品由种植基地、药材市场收集或企业提供, 经广州中医药大学肖凤霞教授鉴定均来源于化州柚 *Citrus grandis* ‘Tomentosa’ 的干燥未成熟果实, 样品信息见表 1。

表 1 橘红胎样品信息

Table 1 Sample information of *Juhongtai*

编号	基源	产地	采集时间/年	编号	基源	产地	采集时间/年
S1	化州柚	化州	2017	S9	化州柚	化州	2018
S2	化州柚	化州	2017	S10	化州柚	化州	2016
S3	化州柚	化州	2017	S11	化州柚	化州	2016
S4	化州柚	化州	2017	S12	化州柚	化州	2017
S5	化州柚	化州	2018	S13	化州柚	化州	2016
S6	化州柚	化州	2018	S14	化州柚	化州	2016
S7	化州柚	化州	2018	S15	化州柚	化州	2018
S8	化州柚	化州	2018	S16	化州柚	化州	2018

2 方法与结果

2.1 饮片的制备 取表 1 中的橘红胎样品, 除去杂质, 洗净, 于切片机中切制成 2~3 mm 的薄片, 即得。

2.2 橘红胎饮片标准汤剂的制备 称量饮片 20 g, 一煎加 16 倍量水, 浸泡 30 min, 武火煮沸, 文火保持微沸 30 min, 用 100 目筛网滤过; 二煎加 14 倍量水, 武火煮沸, 文火保持微沸 20 min, 用 100 目筛网滤过, 合并两次滤液, 浓缩至 0.2 g·mL⁻¹(生药量), 即得。

2.3 饮片和标准汤剂中柚皮苷和野漆树苷含量测定

2.3.1 色谱条件 Pntulips[®] RSZG-C₁₈ Plus 色谱柱(4.6×250 nm, 5 μm), 流动相: A 为甲醇, B 为冰醋酸-水(4:61); 梯度洗脱(0~35 min, 25%→55%A)。流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 283 nm; 柱温: 35 °C; 进样量: 10 μL; 理论塔板数按柚皮苷计算不低于 3 000。

2.3.2 供试品溶液制备

2.3.2.1 饮片 参考本课题组前期建立的方法^[13]进行制备。取样品粉末(过 3 号筛)约 0.5 g, 精密称定, 置

于 100 mL 具塞锥形瓶中；加入石油醚 50 mL，超声处理(功率 500 W，频率 40 kHz)30 min，冷却，滤过，弃去石油醚溶液，挥干药渣；加入甲醇溶液 50 mL，称质量，超声提取 45 min，放冷；滴加甲醇溶液补足损失的质量，摇匀，静置，滤过，取续滤液过 0.22 μm 微孔滤膜，即得。

2.3.2.2 标准汤剂 取“2.2”项下标准汤剂溶液 1 mL 于 25 mL 容量瓶中，加 50% 甲醇溶解，定容，摇匀，过滤，取续滤液过 0.22 μm 微孔滤膜，即得。

2.3.3 对照品溶液制备

2.3.3.1 含量测定对照品溶液制备 分别取柚皮苷、野漆树苷对照品适量，精密称定，加甲醇制成 1 mg·mL⁻¹ 的溶液，即得。

2.3.3.2 标准汤剂对照品溶液制备 分别取柚皮苷、新橙皮苷、野漆树苷、芹菜素、柚皮素对照品适量，精密称定，加甲醇制成 1 mg·mL⁻¹ 的单一对照品溶液。分别取上述 5 种对照品溶液适量，配制成柚皮苷、新橙皮苷、野漆树苷、芹菜素、柚皮素均为 0.2 mg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3.4 样品测定 按“2.3.1”项下色谱条件对 16 批

橘红胎饮片和标准汤剂进行测定，供试品和对照品色谱图见图 1，测定结果见表 2。结果显示，以干燥品计，饮片中柚皮苷的含量范围为 3.34%~29.27%，均值为 11.33%，野漆树苷的含量范围为 0.26%~2.82%，均值为 0.85%；标准汤剂中柚皮苷的含量范围为 3.29%~10.57%，均值为 6.49%，野漆树苷的含量范围为 0.01%~0.67%，均值为 0.30%。

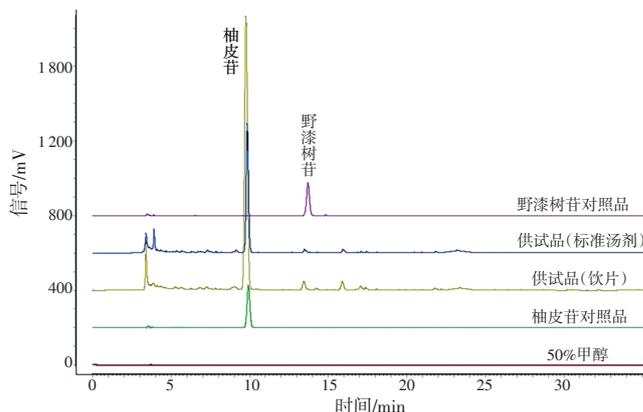


图 1 橘红胎高效液相(HPLC)色谱图
Figure 1 HPLC chromatogram of content determination

表 2 橘红胎标准汤剂评价特征参数

Table 2 The physicochemical parameters of the standard decoction of *Juhongtai*

编号	饮片中柚皮苷/%		标准汤剂中柚皮苷/%		饮片中野漆树苷/%		标准汤剂中野漆树苷/%		出膏率/%		转移率%	
	含量	RSD	含量	RSD	含量	RSD	含量	RSD	平均值	RSD	柚皮苷	野漆树苷
S1	10.58	0.01	5.66	1.05	0.65	0.31	0.01	1.54	51.47	0.30	53.51	1.30
S2	9.62	0.20	6.57	0.15	0.55	0.04	0.03	0.69	51.43	0.28	68.34	5.06
S3	8.16	0.31	7.54	0.06	0.56	0.45	0.12	2.00	51.52	0.35	92.41	20.79
S4	6.35	0.24	5.01	0.27	0.68	0.06	0.49	1.73	47.75	2.15	78.85	71.39
S5	7.83	0.79	7.61	0.10	0.51	0.80	0.07	0.07	48.47	0.09	97.09	14.51
S6	10.89	0.18	4.98	0.37	0.52	1.38	0.19	2.00	43.53	3.10	45.72	36.10
S7	19.07	0.39	6.54	0.17	1.82	1.15	0.55	0.22	43.36	3.56	34.32	30.51
S8	19.48	0.15	7.62	0.24	1.87	0.81	0.67	0.32	45.68	3.24	39.12	35.49
S9	29.27	0.54	9.84	0.10	2.82	1.84	0.57	0.08	49.98	3.46	33.62	20.36
S10	18.85	0.97	10.57	0.51	1.02	0.47	0.36	0.90	50.22	0.22	56.08	34.87
S11	11.26	0.42	4.59	0.27	0.49	0.53	0.35	0.52	47.75	0.33	40.78	70.49
S12	10.53	0.73	6.09	0.13	0.50	0.00	0.26	0.29	47.77	1.03	57.80	51.46
S13	6.59	0.20	7.09	1.66	0.55	0.36	0.29	0.73	50.30	0.21	107.61	53.53
S14	5.62	0.05	6.00	0.07	0.55	0.69	0.44	0.38	45.24	0.53	106.78	80.81
S15	3.82	0.29	3.29	0.53	0.26	1.01	0.20	0.53	48.83	1.76	86.08	76.38
S16	3.34	0.28	4.84	0.13	0.27	0.64	0.25	0.53	49.20	0.63	144.86	96.00
均值	11.33	0.36	6.49	0.36	0.85	0.66	0.30	0.78	48.28	1.33	57.29	43.69

2.3.5 方法学考察

2.3.5.1 线性关系 将“2.3.3.1”项下的对照品溶液分别稀释为系列浓度梯度，即柚皮苷(0.005、0.05、0.1、0.15、0.2、0.25 mg·mL⁻¹)、野漆树苷(0.001、

0.002、0.004、0.008、0.015、0.030 mg·mL⁻¹)；按“2.3.1”项下色谱条件进样，分别记录对应浓度下柚皮苷的保留时间(*t_R*)和峰面积，以质量浓度(mg·mL⁻¹)为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，得

柚皮苷回归方程为 $Y=19\ 548\ 034.52X-18\ 248.93$, $r=0.999$, 线性范围 $0.005\sim 0.25\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; 野漆树苷回归方程为 $Y=11\ 687\ 529.16X+2\ 520.178\ 645$, $r=0.997$, 线性范围 $0.001\sim 0.03\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.3.5.2 精密度考察 取同一份标准汤剂供试品溶液(S5), 按“2.3.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算得柚皮苷的保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.13% 和 0.06%, 表明仪器精密度良好。

2.3.5.3 稳定性考察 取同一份标准汤剂供试品溶液(S5), 分别于制备后 0、2、4、15、17、24 h 测定, 计算得柚皮苷的保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.14% 和 0.39%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.5.4 重复性考察 按“2.2”项下方法平行制备橘红胎饮片标准汤剂(S5)6 份, 按“2.3.2.2”项下方法制备供试品溶液及按“2.3.1”项下色谱条件测定, 计算得柚皮苷的保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.16% 和 1.01%, 表明方法重复性良好。

2.4 标准汤剂 HPLC 指纹图谱分析

2.4.1 色谱条件 Pntulips® RSZG-C₁₈ Plus 色谱柱 (4.6×250 nm, 5 μm), 流动相: A 为甲醇, B 为冰醋酸-水(4:61); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 315 nm; 柱温: 35 ℃; 进样量: 10 μL; 洗脱程序见表 3。理论塔板数按柚皮苷计算不低于 3 000。

2.4.2 方法学考察

2.4.2.1 精密度考察 取同一份标准汤剂供试品溶液(S5), 按“2.4.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算得柚皮苷和野漆树苷峰面积的 RSD 分别为 0.18% 和 0.92%, 表明仪器精密度良好。

2.4.2.2 稳定性考察 取同一份标准汤剂供试品溶液(S5), 分别于制备后 0、2、4、15、17、24 h, 按“2.4.1”项下色谱条件测定, 计算得柚皮苷和野漆树

表 3 梯度洗脱程序

Table 3 Gradient elution program for HPLC fingerprint

时间/min	A(甲醇)/%	B[冰醋酸-水(4:61)]/%
0~8	0→10	100→90
8~12	10→12	90→88
12~15	12→13	88→87
15~25	13→35	87→75
25~60	25→55	75→45
60~65	55→62	45→38
65~68	62→70	38→30
68~70	70→100	30→0

苷的峰面积的 RSD 分别为 0.07% 和 0.79%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.2.3 重复性考察 按“2.2”项下方法平行制备橘红胎饮片标准汤剂(S5)6 份, 按“2.3.2.2”项下方法制备供试品溶液及“2.4.1”项下色谱条件测定, 计算得柚皮苷和野漆树苷保留时间 RSD 均小于 2%, 峰面积 RSD 均小于 5%, 表明方法重复性良好。

2.4.3 HPLC 指纹图谱采集及分析 取 16 批橘红胎所制饮片, 按“2.2”和“2.3.2.2”项下方法制备标准汤剂及供试品溶液, 按“2.4.1”项下色谱条件测定, 记录 16 批橘红胎饮片标准汤剂色谱图。将 16 批样品标准汤剂的色谱图导入国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件”(2012 年版)中, 以 S4 为参照图谱, 采用平均数法对共有峰进行多点校正和自动匹配, 生成 16 批样品的指纹图谱, 结果见图 2; 共有峰匹配结果显示共有峰 19 个, 其中对柚皮苷(8 号)、新橙皮苷(11 号)、野漆树苷(12 号)、柚皮素(15 号)4 个峰进行指认, 共有模式及标定结果见图 3。

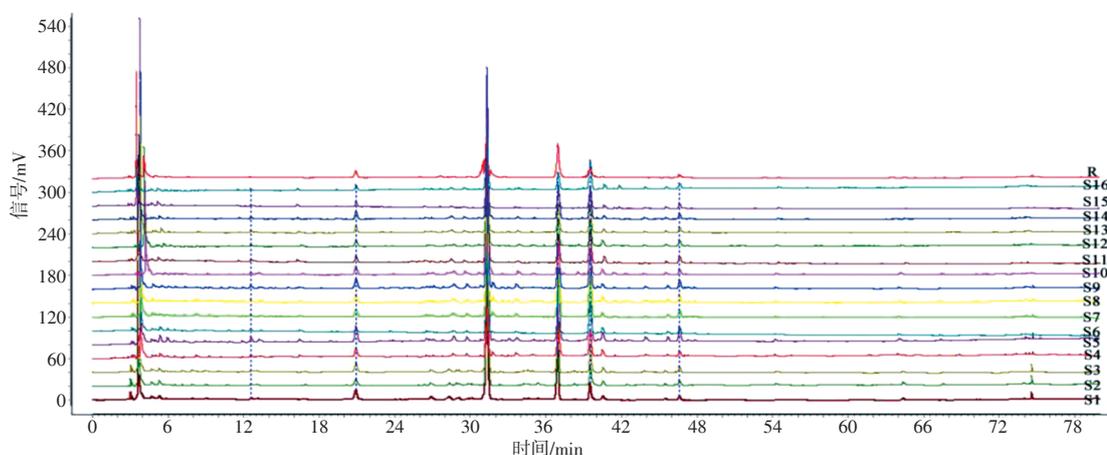
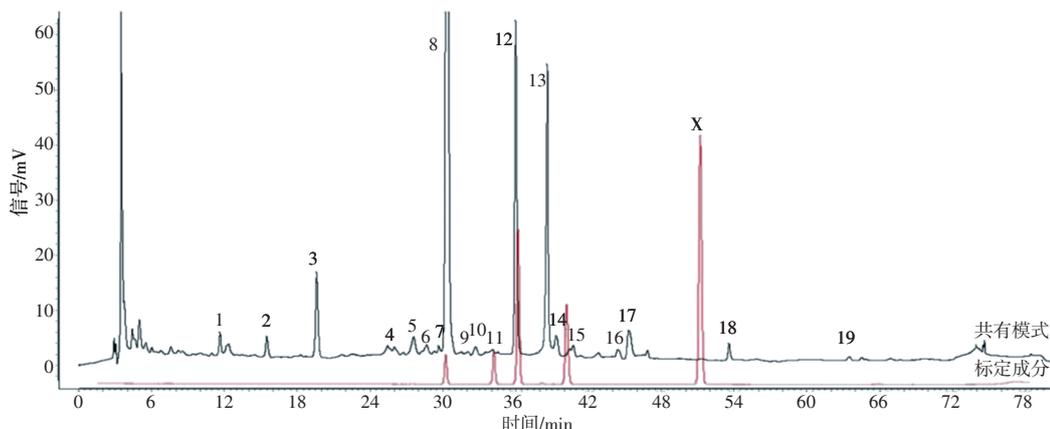


图 2 16 批橘红胎饮片标准汤剂 HPLC 指纹图谱

Figure 2 Fingerprint chromatograms of 16 batches of the standard decoction of Juhongtai



注：8. 柚皮苷；11. 新橙皮苷；12. 野漆树苷；15. 柚皮素；X. 芹菜素

图3 橘红胎饮片标准汤剂特征峰标定

Figure 3 Calibration of characteristic peaks in the standard decoction of *Juhongtai*

16批橘红胎饮片标准汤剂HPLC指纹图谱相似度均大于0.98，表明各批次橘红胎饮片标准汤剂的一致性较好，相似度结果见表4。选取柚皮苷色谱峰(8号)作为参照峰，相对保留时间的RSD小于3%，而相对峰面积的RSD值较大，说明所建立的方法对不同批次的橘红胎饮片标准汤剂能够得到基本一致的图谱，但不同批次间主要化学成分含量存在差异，结果见表5、表6。

2.5 指纹图谱中4个标定成分灰色关联度分析 结合橘红胎饮片标准汤剂指纹图谱结果，以指纹图谱中

4个标定成分柚皮苷、新橙皮苷、野漆树苷、柚皮素的峰面积为指标，对16批橘红胎饮片标准汤剂的质量进行灰色关联分析。

2.5.1 参考序列的选择 本研究选取16批样品中的4个标定成分的峰面积最大值组成参考序列(S_0)。

2.5.2 两级最大差和两级最小差 以 S_0 为基准，根据公式 $\Delta_i(k) = |S_{0k} - S_{ik}|$ ，计算S1~S16与 S_0 间的绝对差值 $[\Delta_i(k)](i=1, 2, 3, \dots, 16; k=1, 2, 3, 4)$ ，并从中得到两级最大差 $[\max_i \max_k \Delta_i(k)]$ 和两级最小差 $[\min_i \min_k \Delta_i(k)]$ 。

表4 16批橘红胎饮片标准汤剂HPLC指纹图谱相似度评价结果

Table 4 Similarity of HPLC fingerprints of the standard decoction of *Juhongtai*

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	对照图谱
S1	1.000	0.976	0.995	0.984	0.981	0.947	0.983	0.991	0.986	0.970	0.973	0.978	0.978	0.986	0.959	0.949	0.986
S2	0.976	1.000	0.986	0.952	0.997	0.971	0.965	0.971	0.992	0.999	0.997	0.997	0.969	0.977	0.965	0.967	0.992
S3	0.995	0.986	1.000	0.990	0.994	0.975	0.993	0.997	0.998	0.980	0.988	0.992	0.993	0.997	0.983	0.977	0.998
S4	0.984	0.952	0.990	1.000	0.971	0.964	0.997	0.997	0.982	0.942	0.962	0.967	0.994	0.994	0.982	0.971	0.983
S5	0.981	0.997	0.994	0.971	1.000	0.985	0.982	0.985	0.999	0.994	0.999	1.000	0.985	0.990	0.983	0.983	0.998
S6	0.947	0.971	0.975	0.964	0.985	1.000	0.979	0.973	0.986	0.966	0.986	0.986	0.987	0.984	0.996	0.999	0.986
S7	0.983	0.965	0.993	0.997	0.982	0.979	1.000	0.998	0.990	0.955	0.975	0.979	0.999	0.998	0.991	0.984	0.991
S8	0.991	0.971	0.997	0.997	0.985	0.973	0.998	1.000	0.992	0.963	0.977	0.982	0.996	0.998	0.984	0.976	0.993
S9	0.986	0.992	0.998	0.982	0.999	0.986	0.990	0.992	1.000	0.987	0.996	0.998	0.992	0.996	0.988	0.985	1.000
S10	0.970	0.999	0.980	0.942	0.994	0.966	0.955	0.963	0.987	1.000	0.995	0.995	0.960	0.970	0.958	0.961	0.987
S11	0.973	0.997	0.988	0.962	0.999	0.986	0.975	0.977	0.996	0.995	1.000	1.000	0.980	0.985	0.981	0.983	0.996
S12	0.978	0.997	0.992	0.967	1.000	0.986	0.979	0.982	0.998	0.995	1.000	1.000	0.983	0.988	0.982	0.983	0.997
S13	0.978	0.969	0.993	0.994	0.985	0.987	0.999	0.996	0.992	0.960	0.980	0.983	1.000	0.999	0.996	0.990	0.993
S14	0.986	0.977	0.997	0.994	0.990	0.984	0.998	0.998	0.996	0.970	0.985	0.988	0.999	1.000	0.993	0.987	0.997
S15	0.959	0.965	0.983	0.982	0.983	0.996	0.991	0.984	0.988	0.958	0.981	0.982	0.996	0.993	1.000	0.998	0.988
S16	0.949	0.967	0.977	0.971	0.983	0.999	0.984	0.976	0.985	0.961	0.983	0.983	0.990	0.987	0.998	1.000	0.986
对照图谱	0.986	0.992	0.998	0.983	0.998	0.986	0.991	0.993	1.000	0.987	0.996	0.997	0.993	0.997	0.988	0.986	1.000

表 5 16 批橘红胎饮片标准汤剂共有峰 HPLC 指纹图谱相对保留时间

Table 5 The relative retention time of common peaks in HPLC fingerprints of 16 batches of *Juhongtai* standard decoction

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	RSD/%
峰 1	0.391	0.392	0.393	0.380	0.384	0.380	0.379	0.381	0.381	0.401	0.373	0.405	0.386	0.395	0.380	0.380	2.341
峰 2	0.520	0.521	0.521	0.506	0.511	0.507	0.505	0.506	0.506	0.527	0.497	0.530	0.541	0.549	0.502	0.508	2.856
峰 3	0.639	0.639	0.639	0.649	0.657	0.651	0.648	0.649	0.649	0.653	0.651	0.663	0.685	0.671	0.656	0.631	2.034
峰 4	0.846	0.829	0.846	0.840	0.842	0.840	0.839	0.841	0.840	0.845	0.864	0.848	0.855	0.860	0.865	0.866	1.298
峰 5	0.896	0.897	0.896	0.911	0.914	0.911	0.911	0.912	0.911	0.913	0.922	0.916	0.918	0.919	0.899	0.924	0.984
峰 6	0.924	0.917	0.917	0.947	0.948	0.947	0.947	0.948	0.947	0.944	0.951	0.946	0.947	0.949	0.923	0.952	1.342
峰 7	0.960	0.950	0.960	0.984	0.986	0.984	0.984	0.985	0.984	0.980	0.984	0.980	0.982	0.983	0.952	0.984	1.298
峰 8	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
峰 9	1.018	1.032	1.018	1.017	1.044	1.017	1.017	1.017	1.017	1.041	1.038	1.084	1.068	1.013	1.053	1.070	2.206
峰 10	1.032	1.088	1.033	1.079	1.082	1.080	1.080	1.081	1.080	1.083	1.054	1.122	1.091	1.076	1.069	1.077	2.005
峰 11	1.097	1.121	1.097	1.126	1.129	1.128	1.123	1.127	1.124	1.124	1.077	1.149	1.126	1.118	1.068	1.114	1.873
峰 12	1.168	1.168	1.168	1.192	1.194	1.192	1.193	1.193	1.193	1.187	1.172	1.184	1.179	1.175	1.170	1.169	0.933
峰 13	1.278	1.279	1.278	1.268	1.269	1.268	1.268	1.269	1.269	1.242	1.226	1.240	1.234	1.229	1.223	1.222	1.751
峰 14	1.314	1.315	1.314	1.300	1.302	1.300	1.300	1.302	1.301	1.275	1.240	1.269	1.256	1.246	1.236	1.235	2.353
峰 15	1.427	1.381	1.427	1.412	1.414	1.412	1.412	1.414	1.414	1.383	1.334	1.376	1.361	1.377	1.329	1.329	2.485
峰 16	1.484	1.484	1.483	1.468	1.471	1.469	1.470	1.472	1.471	1.472	1.419	1.463	1.445	1.428	1.412	1.411	1.771
峰 17	1.522	1.522	1.522	1.498	1.501	1.499	1.500	1.502	1.501	1.508	1.449	1.498	1.478	1.460	1.442	1.442	1.847
峰 18	1.770	1.770	1.770	1.760	1.761	1.760	1.760	1.764	1.762	1.758	1.677	1.746	1.716	1.692	1.668	1.666	2.253
峰 19	2.095	2.094	2.094	2.097	2.097	2.094	2.095	2.101	2.097	2.082	1.970	2.061	2.023	1.991	1.958	1.956	2.730

表 6 16 批橘红胎饮片标准汤剂共有峰 HPLC 指纹图谱相对峰面积

Table 6 The relative peak areas of common peaks in HPLC fingerprints of 16 batches of *Juhongtai* standard decoction

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	RSD/%
峰 1	0.006	0.014	0.014	0.022	0.017	0.024	0.013	0.015	0.013	0.011	0.009	0.014	0.015	0.014	0.026	0.012	35.21
峰 2	0.004	0.009	0.006	0.017	0.008	0.019	0.008	0.008	0.008	0.007	0.014	0.010	0.023	0.009	0.036	0.024	66.54
峰 3	0.097	0.058	0.086	0.131	0.065	0.048	0.082	0.078	0.069	0.054	0.048	0.061	0.098	0.088	0.091	0.077	28.50
峰 4	0.035	0.002	0.024	0.015	0.009	0.012	0.010	0.010	0.016	0.007	0.023	0.007	0.015	0.006	0.020	0.017	58.17
峰 5	0.049	0.015	0.037	0.053	0.026	0.019	0.052	0.055	0.062	0.036	0.031	0.022	0.037	0.051	0.008	0.027	44.61
峰 6	0.018	0.014	0.013	0.031	0.018	0.013	0.025	0.030	0.024	0.025	0.015	0.015	0.022	0.029	0.018	0.026	29.54
峰 7	0.011	0.012	0.008	0.009	0.007	0.002	0.007	0.013	0.009	0.009	0.010	0.007	0.005	0.018	0.010	0.002	45.50
峰 8	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
峰 9	0.003	0.002	0.002	0.043	0.003	0.008	0.032	0.034	0.037	0.002	0.001	0.020	0.005	0.009	0.003	0.012	107.79
峰 10	0.003	0.005	0.003	0.042	0.014	0.021	0.033	0.031	0.030	0.024	0.002	0.007	0.020	0.021	0.008	0.017	70.48
峰 11	0.010	0.013	0.014	0.012	0.003	0.000	0.006	0.004	0.008	0.004	0.014	0.003	0.009	0.010	0.000	0.008	63.42
峰 12	0.456	0.213	0.386	0.529	0.261	0.232	0.456	0.310	0.461	0.182	0.218	0.241	0.398	0.396	0.327	0.264	32.49
峰 13	0.157	0.169	0.246	0.362	0.242	0.433	0.370	0.266	0.304	0.012	0.011	0.007	0.008	0.011	0.016	0.012	94.50
峰 14	0.030	0.031	0.040	0.084	0.031	0.084	0.038	0.027	0.054	0.151	0.249	0.245	0.381	0.334	0.450	0.460	95.65
峰 15	0.004	0.002	0.010	0.018	0.016	0.014	0.009	0.009	0.010	0.006	0.052	0.007	0.015	0.021	0.052	0.066	99.74
峰 16	0.011	0.011	0.012	0.017	0.014	0.026	0.023	0.015	0.017	0.010	0.012	0.013	0.021	0.016	0.024	0.026	32.29
峰 17	0.031	0.038	0.050	0.061	0.054	0.090	0.073	0.057	0.055	0.029	0.051	0.053	0.083	0.056	0.087	0.073	31.27
峰 18	0.003	0.008	0.006	0.010	0.008	0.008	0.008	0.005	0.005	0.004	0.006	0.007	0.010	0.006	0.008	0.010	32.16
峰 19	0.016	0.020	0.008	0.012	0.007	0.015	0.010	0.009	0.013	0.008	0.007	0.005	0.006	0.004	0.008	0.011	43.74

2.5.3 关联系数与关联度的计算 关联系数 $[S_{0i}(k)]$ 反映各指标与 S_0 各成分峰面积值的接近程度, 关联系数越大表明样品与 S_0 越接近, 计算公式为:

$$S_{0i}(k) = \frac{\min_i \min_k \Delta_i(k) + \rho \max_i \max_k \Delta_i(k)}{\Delta_i(k) + \rho \max_i \max_k \Delta_i(k)}$$

公式中 ρ 为分辨系数 ($0 < \rho < 1$), 为减小最大差和最小差之间造成的数据差距, ρ 取 0.1 进行计算得到 S1~S16 号样品与 S_0 的关联系数, 并依据公式 $R_i = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n S_{0i}(k)$ ($n=4$) 计算各样品的灰色关联度 (R_i)。灰色关联度越大, 样品质量与 S_0 越接近。

2.5.4 加权关联度的计算 依据各成分对标准汤剂质量的贡献, 以各成分峰面积占 4 个成分总峰面积比值的均值为权重 $[a(k)]$, 各指标的权重: 柚皮苷 0.74、新橙皮苷 0.01、野漆树苷 0.24、柚皮素 0.01, 按公式 $r_i = \sum_{k=1}^n S_{0i}(k)a(k)$ ($n=4$) 计算加权灰色关联度 (r_i), r_i 越大, 样品与 S_0 越接近。关联度排序后的结果见表 7。

表 7 16 批橘红胎饮片标准汤剂的灰色关联度和加权灰色关联度排序结果

Table 7 Sorting results of grey correlation grades and weighted grey correlation grades of 16 batches of *Juhongtai* standard decoction

质量排序	编号	R_i	编号	r_i
1	S5	0.606	S5	0.984
2	S11	0.561	S10	0.155
3	S2	0.275	S1	0.149
4	S3	0.233	S8	0.146
5	S1	0.165	S11	0.144
6	S9	0.145	S9	0.139
7	S10	0.135	S3	0.135
8	S8	0.134	S2	0.132
9	S16	0.129	S7	0.123
10	S14	0.128	S12	0.116
11	S4	0.126	S14	0.113
12	S7	0.124	S4	0.110
13	S13	0.112	S13	0.102
14	S12	0.108	S6	0.098
15	S15	0.101	S16	0.097
16	S6	0.096	S15	0.091

结果显示, 16 批橘红胎饮片标准汤剂灰色关联度范围为 0.096~0.606, 加权关联度范围为 0.091~0.984。16 批橘红胎饮片标准汤剂中 4 个标定成分的含量差异较大。加权灰色关联度得到的标准汤剂质

量排序与灰色关联度对比略有不同, 但 16 批样品中均以 S5 样品对应标准汤剂的质量最佳。

2.6 橘红胎饮片标准汤剂评价特征参数的测定

2.6.1 出膏率 出膏率 (%) = [干膏量 (g) × 汤剂体积 (mL)] / [量取的汤剂体积 (mL) × 药材量 (g)] × 100%。精密量取 “2.2” 项下标准汤剂 10 mL 至已干燥至恒质量的蒸发皿中, 100 °C 水浴蒸干, 105 °C 干燥 3 h, 取出, 转移至干燥器, 放凉 30 min, 称定质量, 计算出膏率。16 批饮片标准汤剂的出膏率为 43.36%~51.52%, 均值为 48.28%。

2.6.2 转移率 转移率 = 标准汤剂中某成分含量 / 饮片中相应成分含量 × 100%。计算 16 批饮片标准汤剂中指标成分柚皮苷和野漆树苷的转移率, 结果见表 2。16 批饮片标准汤剂中柚皮苷的转移率为 33.62%~144.86%, 均值为 71.44%; 野漆树苷的转移率为 1.30%~96.00%, 均值为 43.69%。依照国家药监局 2019 年 11 月发布的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求 (征求意见稿)》中标准汤剂表征参数, 按照均值的 70%~130% 计算, 橘红胎饮片标准汤剂的出膏率允许范围为 33.80%~62.76%; 柚皮苷含量和转移率允许范围分别为 4.54%~8.44% 和 50.00%~92.87%。野漆树苷含量和转移率允许范围分别为 0.21%~0.39% 和 30.58%~56.80%。

3 讨论

本研究通过指纹图谱结合灰色关联分析法对橘红胎饮片标准汤剂进行质量评价研究, 建立了以出膏率、柚皮苷和野漆树苷转移率、指纹图谱相似度等为指标的标准汤剂质量评价体系, 其中指纹图谱共得到 19 个共有峰, 并指认出柚皮苷、新橙皮苷、野漆树苷、柚皮素 4 个峰, 且对 16 批橘红胎饮片标准汤剂进行了质量排序, 发现 16 批橘红胎饮片标准汤剂中 S5 样品质量最佳。

橘红胎的主要有效成分以黄酮类为主^[5-7], 标准汤剂供试品与混合对照品指纹图谱标定结果显示, 供试品溶液中含有柚皮苷、新橙皮苷、野漆树苷、柚皮素 4 个成分, 芹菜素在样品中未被检出。本研究与化橘红饮片标准汤剂研究^[13]相比, 选用了道地产区的橘红胎, 并新增野漆树苷转移率为评价体系指标, 指纹图谱更增加了共有峰 11 个, 丰富了化橘红标准汤剂的质量评价体系和内涵。灰色关联分析是一种多指标数学分析模型, 可依据关联系数及各评

价指标权重,对中药的多指标成分进行量化度量,实现中药质量的综合评价;中药标准汤剂成分复杂,依此方法进行质量评价具有一定的优势^[14-15]。灰色关联度旨在反映指纹图谱中 4 个黄酮类成分整体对标准汤剂质量的评价;而加权关联度则是依据各个成分的权重,直观说明单个成分对标准汤剂的质量贡献,其中 4 个成分中柚皮苷和野漆树占总权重 98%,故加权灰色关联度更侧重于柚皮苷和野漆树苷对标准汤剂质量的影响。橘红胎目前已成为化州柚的主流加工规格,本研究仅对橘红胎饮片标准汤剂进行了质量评价,但标准汤剂的化学成分与药理药效间的关系仍需进一步探讨。本研究结合灰色关联分析法,综合评价了 4 个黄酮类成分对标准汤剂质量的影响,能够基于原始指标数据更细致、具体地给出各批次样品的质量排名,实现了橘红胎饮片标准汤剂的多指标综合评价,可为标准汤剂、中药配方颗粒的质量评价和橘红胎的研究提供依据。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:化学工业出版社, 2020: 76-77.
- [2] 广东省出版集团, 广东省中药炮制规范:一册[S]. 广东:广东科技出版社, 1984: 173.
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草:四部[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999: 905.
- [4] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 2版. 上海:上海科学技术出版社, 2006: 3745-3746.
- [5] 张秋玲, 伍柏坚, 黄晓丹, 等. 化州柚入药部位的探讨[J]. 中国现代中药, 2016, 18(5): 583-587.
- [6] 李泮霖, 彭维, 吴灏, 等. 化橘红药典标准的修改建议及其等级标准的建立[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2019, 58(6): 1-13.
- [7] 苏薇薇, 李泮霖, 王永刚, 等. 橘红珠药材的特征图谱快速鉴别方法: ZL 201610383958[P]. 2016-11-09.
- [8] 陈国军, 刘玉丹. 茂名市南药产业发展现状及发展建议[J]. 现代农业科技, 2018, 47(7): 112-113.
- [9] 陈小红, 陈康, 潘超美, 等. 化橘红药材商品规格等级标准分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(11): 23-28.
- [10] 陈士林, 刘安, 李琦, 等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1367-1375.
- [11] 张水寒, 梁雪娟, 刘浩, 等. 中药标准煎液科学问题的探讨[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(17): 3275-3281.
- [12] 徐莉, 钟丽红. 中药配方颗粒的发展现状及存在问题分析[J]. 抗感染药学, 2018, 15(7): 1116-1118.
- [13] 陈浩, 何小女. 化橘红饮片标准汤剂的质量研究[J]. 江西中医药大学学报, 2017, 29(6): 86-88, 95.
- [14] 张瑶, 高慧, 王新杰, 等. 熵权赋权法的灰色系统理论在当归饮片质量评价中的应用研究[J/OL]. 中国中药杂志, 2020, 45(21): 5200-5208.
- [15] 李力, 潘倩雯, 刘宏. 灰色关联度分析法在中药谱效学研究中的应用[J]. 中国药房, 2018, 29(11): 1581-1584.

(编辑: 梁进权)