

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)17-0057-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.17.014



化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒相关性研究*

黄凯伟^{1,2,△}, 任应宗^{1,2,△}, 张辉^{1,2}, 谭沛^{1,2}, 张丽君^{1,2}, 郑晓英^{1,2}, 赵伟志^{1,2}

(1. 华润三九医药股份有限公司, 广东 深圳 518110; 2. 华润三九现代中药制药有限公司, 广东 惠州 516000)

摘要:目的 探讨化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒的相关性和差异性,为生产过程中的质量控制提供参考。方法 建立化橘红(柚)饮片、标准汤剂、配方颗粒的超高效液相色谱(UPLC)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,确定共有峰。采用皮尔逊相关性分析、聚类分析(CA)、主成分分析(PCA)及正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)对15批化橘红(柚)饮片、标准汤剂、配方颗粒的UPLC指纹图谱进行分析。以变量重要性投影值(VIP)大于1为标准筛选差异性成分。结果 3类样品的UPLC指纹图谱均分别确定9个共有峰,其中指认4个成分,即维采宁-2(峰4)、柚皮苷(峰5)、野漆树苷(峰6)、橙皮内酯水合物(峰7);化橘红(柚)饮片、标准汤剂、配方颗粒对照指纹图谱之间的相似度均大于0.900。皮尔逊相关性分析结果显示,饮片与标准汤剂的2个共有峰(峰3、峰7)均呈显著正相关($P < 0.05$),与峰9呈显著负相关($P < 0.05$);标准汤剂与配方颗粒的9个共有峰均呈显著正相关($P < 0.05$)。CA结果显示,化橘红(柚)标准汤剂与配方颗粒之间无明显差异,可聚为一类。PCA结果显示,化橘红(柚)标准汤剂与配方颗粒的各化学成分绝对量接近;OPLS-DA结果显示,45批样品分为3类,并筛选出3个VIP值大于1的差异性成分,分别为柚皮苷(峰5)、野漆树苷(峰6)和橙皮内酯水合物(峰7)。结论 化橘红(柚)饮片、标准汤剂与配方颗粒的化学成分基本一致,三者质量具有良好的正相关性。所建立的方法简便易操作,可用于实际生产中化橘红(柚)的质量控制。

关键词:化橘红(柚);饮片;标准汤剂;配方颗粒;超高效液相色谱指纹图谱;化学模式分析;相关性

Correlation Among Citri Grandis Exocarpium Decoction Slices, Standard Decoction and Dispensing Granules

HUANG Kaiwei^{1,2}, REN Yingzong^{1,2}, ZHANG Hui^{1,2}, TAN Pei^{1,2}, ZHANG Lijun^{1,2}, ZHENG Xiaoying^{1,2}, ZHAO Weizhi^{1,2}

(1. Huarun Sanjiu Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen, Guangdong, China 518110; 2. Hunrun Sanjiu Modern Traditional Chinese Medicine Pharmaceutical Co., Ltd., Huizhou, Guangdong, China 516000)

Abstract: Objective To investigate the correlation and differences among Citri Grandis Exocarpium decoction slices, standard decoction and dispensing granules, and to provide a reference for quality control in the production process. **Methods** The ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) fingerprints of Citri Grandis Exocarpium decoction slices, standard decoction and dispensing granules were established, and the Similarity Evaluation System of Traditional Chinese Medicine Chromatography Fingerprint (Version 2012) was used for the similarity evaluation to determine common peaks. Pearson correlation analysis, cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were used to analyze the UPLC fingerprints of 15 batches of Citri Grandis Exocarpium decoction slices, standard decoction and dispensing granules. The variable importance projection (VIP) value > 1 was taken as the standard to screen differential components. **Results** The UPLC fingerprints of the three types of samples identified nine common peaks, of which four components were identified, namely vicenin-2 (peak 4), naringin (peak 5), rhoifolin (peak 6), and meranzin hydrate (peak 7). The similarities between the reference fingerprints and Citri Grandis Exocarpium decoction slices, standard decoction and dispensing granules were higher than 0.900. Pearson correlation analysis results showed that the two common peaks (peak 3 and peak 7) of the decoction slices and the standard decoction showed a significant positive correlation ($P < 0.05$), while those showed a significant negative correlation with peak 9 ($P < 0.05$). Nine common peaks of the standard decoction and dispensing granules showed a significant positive correlation ($P < 0.05$). CA results showed that there was no significant difference between the standard decoction and dispensing granules of Citri Grandis Exocarpium, which could be clustered into one group. PCA results showed that the absolute amounts of various chemical components in the standard decoction and dispensing granules of Citri Grandis Exocarpium were close. OPLS-DA results showed that 45 batches of samples were divided into three categories, and three different components with VIP value of > 1 were screened, namely naringin (peak 5), rhoifolin (peak 6), and meranzin hydrate (peak 7). **Conclusion** The chemical components of Citri Grandis Exocarpium decoction slices, standard decoction and dispensing granules are basically consistent, and their qualities had a good positive correlation. The established method is simple

*基金项目:广东省深圳市科技计划项目[JSGG20191129093418578]。

第一作者:黄凯伟,男,硕士研究生,主管中药师,研究方向为中药配方颗粒工艺与质量标准,(电子信箱)huangkaiwei3@999.com.cn。

△通信作者:任应宗,男,硕士研究生,研究方向为中药配方颗粒工艺与质量标准,(电子信箱)renyingzong@999.com.cn。

and easy to operate, which can be used for the quality control of Citri Grandis Exocarpium in actual production.

Key words: Citri Grandis Exocarpium; decoction pieces; standard decoction; dispensing granules; UPLC fingerprints; chemical pattern analysis; correlation

化橘红(柚)来源于芸香科植物柚 *Citrus grandis* (L.) Osbeck 未成熟或近成熟的干燥外层果皮, 具有散寒、燥湿、利气、消痰的功效, 用于治疗风寒咳嗽、喉痒痰多、食积伤酒、呕恶痞闷等^[1], 主要含有黄酮类、香豆素类、挥发油、多糖等成分^[2]。现代药理学研究表明, 化橘红具有抗炎、抗氧化、免疫调节、防治糖尿病患者心肌功能损伤等作用, 具有较好的临床应用价值^[3]。中药配方颗粒是在中医药理论指导下由单味中药饮片经水提取、固液分离、浓缩、干燥、制剂而制得的颗粒, 按照中医临床处方调配, 供患者冲服的制剂^[4]。国家药典委员会2021年发布的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》(以下简称《要求》)提出, 中药配方颗粒标准研究中应对药材、饮片、标准汤剂、中间体提取物和成品配方颗粒的特征图谱或指纹图谱进行相关性研究^[5-7], 以保证其颗粒的质量符合传统汤剂的要求。目前, 有关化橘红(柚)药材的化学成分测定和特征图谱研究较多, 且方法多集中于超高效液相(UPLC)法^[8-10], 尚无对化橘红(柚)及其制剂产品特征图谱相关性研究的报道。为此, 本研究中建立了化橘红(柚)饮片、标准汤剂、配方颗粒的UPLC指纹图谱, 对其相关性进行评价, 探讨化橘红(柚)配方颗粒制备过程中化学成分间的差异, 确保颗粒剂与汤剂质量的一致性, 旨在为化橘红(柚)配方颗粒的质量控制提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters H-Class 型超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Agilent Q-TOF 6545 LC/MS 型高分辨串联质谱(美国 Agilent 公司); XSE205 型分析天平(精度为万分之一), ME36S 型分析天平(精度为百万分之一), 均购于瑞士 Mettler Toledo 公司; SK5200H 型数控超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司, 功率为 800 W, 频率为 40 kHz)。

1.2 试剂

柚皮苷对照品(批号为 110722-201815, 含量为 91.7%), 野漆树苷对照品(批号为 111919-201804, 含量为 95.5%), 化橘红(柚)对照药材(批号为 121165-201804), 均购于中国食品药品检定研究院; 维采宁-2 对照品(佛山奥羽生物科技有限公司, 批号为 AY230001-202208, 含量为 98.0%); 橙皮内酯水合物对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号为 ST58400205, 含量为 95.0%); 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯; 15 批化橘红(柚)药材经安徽中医药大学刘守金教授鉴定均为正品, 药材饮片样品信息见表 1。

表 1 15 批药材、饮片、标准汤剂、配方颗粒样品信息

Tab. 1 Information of 15 batches of Citri Grandis Exocarpium and its decoction slices, standard decoction and dispensing granules

药材编号	饮片编号	标准汤剂编号	配方颗粒编号	产地
YC1	YP1	BT1	PFKL1	福建省
YC2	YP2	BT2	PFKL2	广东省
YC3	YP3	BT3	PFKL3	广东省
YC4	YP4	BT4	PFKL4	广西省
YC5	YP5	BT5	PFKL5	广西省
YC6	YP6	BT6	PFKL6	广西省
YC7	YP7	BT7	PFKL7	福建省
YC8	YP8	BT8	PFKL8	广东省
YC9	YP9	BT9	PFKL9	福建省
YC10	YP10	BT10	PFKL10	江西省
YC11	YP11	BT11	PFKL11	江西省
YC12	YP12	BT12	PFKL12	江西省
YC13	YP13	BT13	PFKL13	浙江省
YC14	YP14	BT14	PFKL14	浙江省
YC15	YP15	BT15	PFKL15	浙江省

2 方法与结果

2.1 试验条件

2.1.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: CORTECSUPLC® T3 柱(100 mm × 2.1 mm, 16 μm); 流动相: 甲醇(A) - 2% 乙酸溶液(B), 梯度洗脱(程序见表 2); 流速: 0.2 mL/min; 柱温: 35 °C; 检测波长: 315 nm。理论板数按柚皮苷峰计应不低于 5 000。

表 2 流动相梯度洗脱程序(%)

Tab. 2 Gradient elution procedure of mobile phase (%)

时间	流动相 A	流动相 B	时间	流动相 A	流动相 B
0~6 min	5 → 32	95 → 68	11~16 min	35 → 60	65 → 40
6~8 min	32 → 34	68 → 66	16~22 min	60 → 100	40 → 0
8~11 min	34 → 35	66 → 65			

2.1.2 质谱条件

离子源: 电喷雾离子(ESI); 扫描方式: 正负离子模式; 扫描范围: 全质量扫描, 质荷比(m/z) 50~1 700; 鞘气温度: 350 °C; 干燥气温度: 320 °C; 干燥气流速: 8 L/min; 雾化气压力: 35 psi; 鞘气流速: 11 L/min; 毛细管电压: 4 000 V; 喷嘴电压: 1 000 V; 解电压: 175 V; 锥孔电压: 60 V; 碰撞能量(CE): 40 eV。

2.2 样品制备

15 批化橘红(柚)饮片(编号为 YP1-YP15)严格按照 2020 年版《中国药典(一部)》化橘红(柚)项下饮片炮制规定进行炮制^[1]。15 批化橘红(柚)饮片标准汤剂

(编号为BT1 - BT15)严格按《医疗机构中药煎药室管理规范》^[11]、《要求》^[6]中煎药方法进行制备,取化橘红(柚)饮片,提取制得标准汤剂,根据《要求》进行低温减压浓缩,冷冻干燥,得化橘红(柚)饮片标准汤剂冻干粉。15批化橘红(柚)配方颗粒(编号为PFKL1 - PPKL15)由水提取,加麦芽糊精辅料,经浓缩、干燥、制粒等步骤得到。

2.3 溶液制备

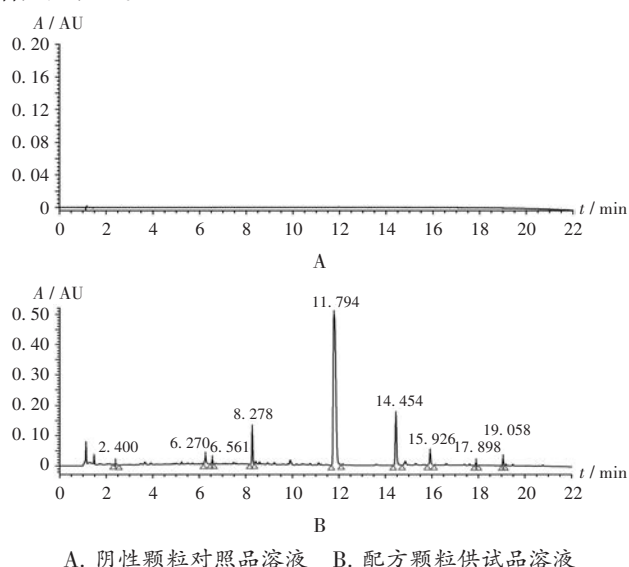
取柚皮苷对照品和野漆树苷对照品各适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含0.6 mg、25 μg的混合对照品溶液。

取饮片样品粉末(过4号筛)0.8 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加水50 mL,加热回流45 min,放冷,摇匀,滤过,蒸干,加50%甲醇50 mL,密塞,超声处理(功率为300 W,频率为40 kHz)30 min,放冷,摇匀,滤过,取续滤液,即得饮片供试品溶液。取标准汤剂和配方颗粒样品各0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加50%甲醇50 mL,密塞,超声处理(功率为300 W,频率为40 kHz)30 min,放冷,摇匀,滤过,取续滤液,即得标准汤剂和配方颗粒供试品溶液。

取麦芽糊精辅料,按配方颗粒制备方法制备阴性颗粒样品;取样品0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加50%甲醇50 mL,密塞,超声处理(功率为300 W,频率为40 kHz)30 min,放冷,摇匀,滤过,取续滤液,即得阴性颗粒对照品溶液。

2.4 方法学考察

专属性试验:精密吸取2.3项下配方颗粒供试品溶液、阴性颗粒对照品溶液各1 μL,按2.1项下试验条件进样测定,记录色谱图。结果表明,阴性样品无干扰。色谱图见图1。



A. 阴性颗粒对照品溶液 B. 配方颗粒供试品溶液

图1 超高效液相色谱图

A. Reference solution of negative granules B. Test solution of dispensing granules

Fig. 1 UPLC chromatograms

精密度试验:取配方颗粒样品(批号为PFKL3),按2.3项下方法制备配方颗粒供试品溶液,按2.1项下试验条件连续进样测定6次,以5号峰柚皮苷为参照峰,计算得各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的RSD均小于2%(n=6),表明仪器精密度良好。

中间精密度试验:取精密度试验项下配方颗粒供试品溶液2份,分别由2名检验员在不同时间用同一台设备,按2.1项下试验条件进样测定,以5号峰柚皮苷为参照峰,计算得各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%,表明方法中间精密度良好。

稳定性试验:取精密度试验项下配方颗粒供试品溶液,分别于室温下放置0, 2, 4, 8, 12, 18, 24, 36, 48 h时按2.1项下试验条件进样测定,以5号峰柚皮苷为参照峰,计算得各共有峰的相对保留时间的RSD均小于2%(n=9),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

重复性试验:取配方颗粒样品(编号为PFKL3)6份,依法制备配方颗粒供试品溶液,按2.1项下试验条件进样测定,以5号峰柚皮苷为参照峰,计算得各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%(n=6),表明方法重复性良好。

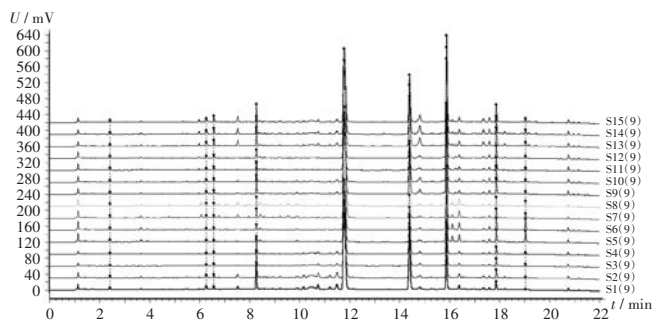
2.5 UPLC 指纹图谱建立与相似度评价

指纹图谱建立:分别取15批化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒,按2.3项下方法分别制备供试品溶液,按2.1项下试验条件进样测定,记录色谱图。采用国家药典委员会颁布的中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)对色谱图进行匹配,确定化橘红(柚)饮片、标准汤剂、配方颗粒均有9个共有峰(图2至图3)。根据样品多级质谱信息,结合天然产物高分辨质谱数据库及相关文献,对9个目标峰进行鉴定,明确了峰2至峰9的相对分子质量、分子式和化学成分(表3),并通过与对照品图谱比对,确定了4号峰、5号峰、6号峰、7号峰的保留时间分别与维采宁-2、柚皮苷、野漆树苷、橙皮内酯水合物的保留时间相对应。

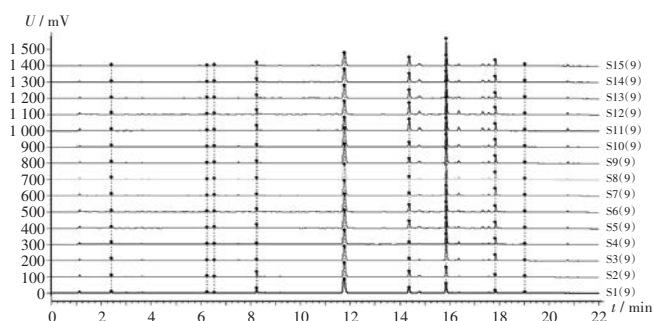
相似度评价:分别将15批化橘红(柚)饮片、标准汤剂、配方颗粒UPLC指纹图谱导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版),分别计算各批次化橘红(柚)饮片、标准汤剂、配方颗粒UPLC指纹图谱与其对照图谱的相似度,结果见表4。可见,15批化橘红(柚)饮片、标准汤剂、配方颗粒UPLC指纹图谱与其相应对照指纹图谱的相似度均大于0.900,表明不同批次化橘红(柚)饮片、标准汤剂、配方颗粒的质量较稳定。

2.6 化学模式识别研究

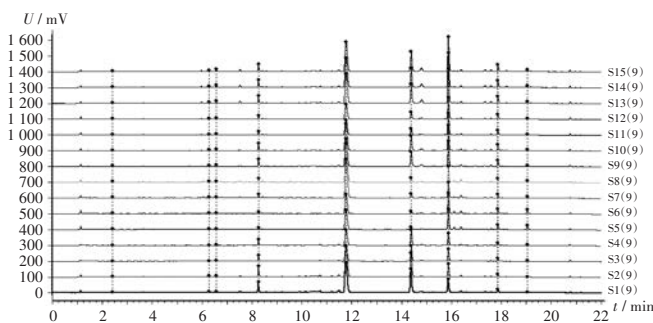
共有峰相关性分析:特征选择通过衡量特征与类别的相关性,剔除不相关特征和冗余特征,有助于提高分类准确率。采用SPSS 26.0统计学软件,以15批化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒共45个样品各共有



A



B



C

A. 化橘红(柚)饮片 B. 化橘红(柚)标准汤剂 C. 化橘红(柚)配方颗粒

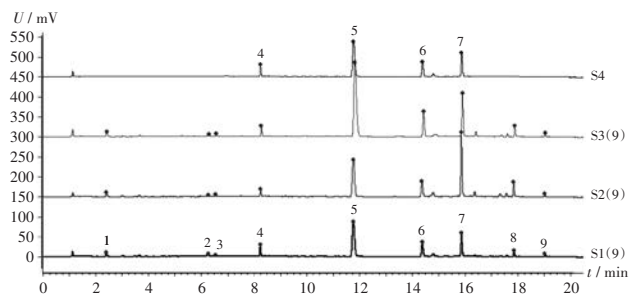
图2 超高效液相色谱叠加指纹图谱

A. Citri Grandis Exocarpium decoction pieces B. Citri Grandis Exocarpium standard decoction C. Citri Grandis Exocarpium dispensing granules

Fig. 2 UPLC overlay fingerprints

峰的峰面积占比,即各共有峰峰面积占共有峰总面积的比例为变量进行皮尔逊相关性分析。结果见表5。可见,化橘红(柚)饮片与标准汤剂比较,峰3、峰7、峰9具有显著相关性($P < 0.05$),其他共有峰相关性不显著;化橘红(柚)标准汤剂与配方颗粒比较,9个峰均具有极显著正相关性($P < 0.01$)。

聚类分析:采用SPSS 26.0统计学软件,以15批化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒45个样品共有峰峰面积为变量进行聚类分析,结果见图4。可见,当距离为25时,45个样品可聚为两大类。其中,编号为YP1、YP2、YP7、YP8、YP9、YP10、YP13、YP14、YP15的样品聚为一类;化橘红(柚)标准汤剂与配方颗粒之间无明显差异,可聚为一类。



4. 维采宁-2 5. 柚皮苷 6. 野漆树苷 7. 橙皮内酯水合物
S1. 化橘红(柚)饮片 S2. 化橘红(柚)标准汤剂 S3. 化橘红(柚)配方颗粒 S4. 混合对照品溶液

图3 超高效液相色谱对照指纹图谱

4. Vicenin-2 5. Naringin 6. Rhoifolin 7. Merancin hydrate
S1. Citri Grandis Exocarpium decoction pieces S2. Citri Grandis Exocarpium standard decoction S3. Citri Grandis Exocarpium dispensing granules S4. Mixed reference solution

Fig. 3 UPLC reference fingerprints

表3 共有峰化学成分鉴定结果

Tab. 3 Identification results of chemical components of common peaks

峰号	相对分子质量	分子式	化学成分
1	780.25	$C_{29}H_{48}O_{24}$	
2	426.20	$C_{20}H_{30}N_2O_8$	2-丙烯酰胺, N-[4-(β-D-葡萄糖吡喃-2-基氨基)丁基]-3-(3-羟基-4-甲氧基苯基)-, (2E)-(ACI)
3	470.14	$C_{21}H_{26}O_{12}$	伞形花内酯-7-O-α-L-鼠李糖-(1→6)-β-D-葡萄糖苷
4	594.16	$C_{27}H_{30}O_{15}$	维采宁-2
5	580.18	$C_{27}H_{32}O_{14}$	柚皮苷
6	578.16	$C_{27}H_{30}O_{14}$	野漆树苷
7	278.12	$C_{15}H_{18}O_5$	橙皮内酯水合物
8	260.10	$C_{15}H_{16}O_4$	异橙皮内酯
9	354.15	$C_{21}H_{22}O_5$	环氧佛手柑素

主成分分析:采用SPSS 26.0统计学软件,对15批化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒共45个样品各共有峰峰面积的标准化值(Z_i)进行主成分分析,主成分结果以特征值 > 1 为标准提取得到3个主成分,计算得特征值与方差贡献率(表6)、主成分因子载荷矩阵(表7)。可见,前3个主成分因子累计方差贡献率为82.863%,说明这3个主成分能预测化橘红(柚)指纹图谱特征峰指标的主要信息。主成分1的特征值为3.823,方差贡献率为42.478%,载荷较高的峰有峰1、峰2、峰4(维采宁-2)、峰5(柚皮苷)、峰6(野漆树苷),表明这5个峰主要反映主成分1的信息;主成分2的特征值为2.439,方差贡献率为27.101%,载荷较高的峰有峰3、峰7(橙皮内酯水合物)、峰8,表明这3个峰主要反映主成分2的信息;主成分3的特征值为1.196,方差贡献率为13.284%,载荷较高的峰有峰9,表明该峰主要反映主成分3的信息。

表4 15批饮片、标准汤剂和配方颗粒指纹图谱相似度评价结果

Tab. 4 The fingerprint similarity results of 15 batches of decoction pieces, standard decoction and dispensing granules

药材编号	饮片	标准汤剂	配方颗粒
YC1	0.970	0.973	0.991
YC2	0.969	0.973	0.990
YC3	0.968	0.991	0.980
YC4	0.967	0.991	0.972
YC5	0.971	0.995	0.969
YC6	0.971	0.995	0.959
YC7	0.953	0.990	0.944
YC8	0.953	0.990	0.943
YC9	0.999	0.995	0.954
YC10	0.999	0.995	0.973
YC11	0.967	0.973	0.982
YC12	0.968	0.973	0.983
YC13	0.990	0.992	0.980
YC14	0.990	0.992	0.980
YC15	0.990	0.992	0.980

表5 15批饮片、标准汤剂、配方颗粒指纹图谱共有峰的相关性分析结果

Tab. 5 Correlation analysis results of common peaks of decoction pieces, standard decoction and dispensing granules

峰号	饮片与标准汤剂	饮片与配方颗粒	标准汤剂与配方颗粒
峰1	-0.227	-0.151	0.972**
峰2	0.065	0.142	0.731**
峰3	0.606 [*]	0.615 [*]	0.865**
峰4(维采宁-2)	0.150	0.358	0.660**
峰5(柚皮苷)	0.489	0.284	0.731**
峰6(野漆树苷)	0.563	0.973	0.719**
峰7(橙皮内酯水合物)	0.546 [*]	0.388	0.698**
峰8	0.077	0.310	0.663**
峰9	-0.864**	-0.807**	0.850**

注: * $P < 0.05$ 为两者之间存在显著相关性, ** $P < 0.01$ 为两者之间存在极显著相关性。

Note: * $P < 0.05$ indicates a significant correlation between the two, and ** $P < 0.01$ indicates a highly significant correlation between the two.

正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA):以15批化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒共45个样品各共有峰峰面积为变量,采用OPLS-DA模式识别方法进行样品特征图谱差异性分析,获得组间成分差异贡献率较大的共有峰。采用SIMCA 14.1软件进行OPLS-DA模型拟合,结果45个样品分为3类。以变量重要性投影值(VIP)大于1.0为标准筛选差异特征峰,分别为峰5(柚皮苷)、峰6(野漆树苷)和峰7(橙皮内酯水合物),说

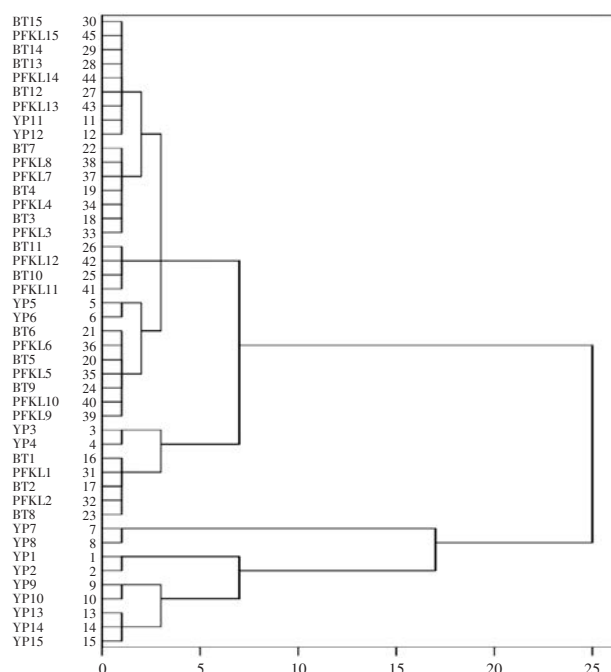


图4 15批饮片、标准汤剂和配方颗粒特征图谱层次聚类分析图

Fig. 4 Dendrogram of hierarchical cluster analysis for 15 batches of decoction pieces, standard decoction and dispensing granules

表6 15批饮片、标准汤剂和配方颗粒主成分分析特征值与方差贡献率

Tab. 6 Characteristic value and variance contribution rate of 15 batches of decoction pieces, standard decoction and dispensing granules

成分	特征值	方差贡献率(%)	累计方差贡献率(%)
1	3.823	42.478	42.478
2	2.439	27.101	69.579
3	1.196	13.284	82.863
4	0.708	7.861	90.724
5	0.487	5.410	96.134
6	0.279	3.101	99.235
7	0.044	0.487	99.722
8	0.019	0.215	99.937
9	0.006	0.063	100.000

表7 15批饮片、标准汤剂和配方颗粒主成分因子载荷矩阵

Tab. 7 Factors loading matrix of 15 batches of decoction pieces, standard decoction and dispensing granules

峰号	主成分1	主成分2	主成分3
峰1	-0.731	0.232	-0.372
峰2	0.766	0.053	0.018
峰3	0.663	0.693	0.044
峰4(维采宁-2)	0.932	-0.076	-0.191
峰5(柚皮苷)	0.676	0.032	0.381
峰6(野漆树苷)	0.891	0.163	-0.216
峰7(橙皮内酯水合物)	-0.172	0.977	0.006
峰8	-0.250	0.952	-0.026
峰9	-0.229	0.090	0.909

明这3个共有峰对应成分是影响饮片、标准汤剂和配方颗粒质量的差异性成分。详见图5和图6。

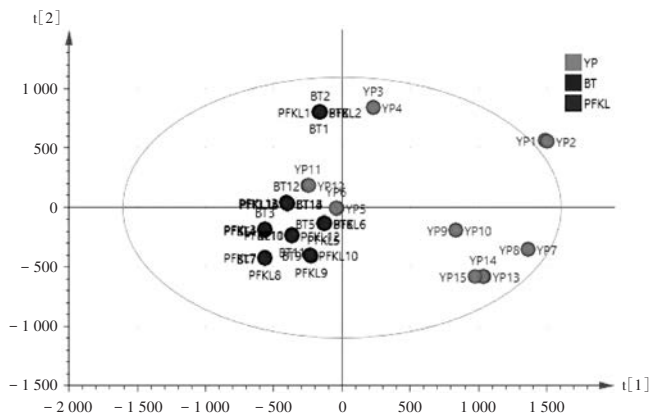


图5 OPLS-DA分析的Score得分图

Fig. 5 The Score plot of OPLS-DA analysis

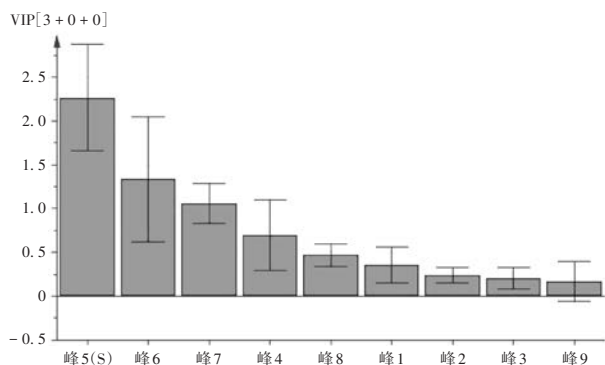


图6 OPLS-DA模型中各共有特征峰的VIP值

Fig. 6 VIP values of common characteristic peaks in OPLS-DA model

3 讨论

按照《要求》,中药配方颗粒应对药材、饮片、标准汤剂、中间体提取物和成品配方颗粒的特征图谱或指纹图谱相关性进行研究。中药指纹图谱是一种综合、全面的评价技术,可全面反映中药化橘红(柚)所含化学成分的种类与质量水平。故本研究中通过建立化橘红(柚)饮片、标准汤剂、配方颗粒的UPLC指纹图谱,对三者的相关性进行评价。共确定9个共有峰,并指认了其中4个共有峰,即峰4为维采宁-2、峰5为柚皮苷、峰6为野漆树苷、峰7为橙皮内酯水合物。相似度评价结果显示,15批化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒均与相应的对照指纹图谱的相似度较高(>0.900),表明不同批次的化橘红(柚)整体的化学成分具有较好的一致性。化学模式识别研究结果显示,不同批次化橘红(柚)饮片较分散,主要由产地不同、特征成分的含量积累不同造成的;不同批次标准汤剂、配方颗粒之间较紧密,表明配方颗粒生产制备过程中,各特征峰均能稳定性传递,没有发生明显降解或增加,制得的配方颗粒的质量与传统标准汤剂基本一致。饮片与标准汤剂、配方颗

粒之间的差异较大,可能是由于供试品制备方法差异导致了各特征峰的化学成分含量的差异。但从特征峰的个数上分析,表明饮片与标准汤剂、配方颗粒在化学成分的一致性。

OPLS-DA将45个样品分为3类,并筛选出3个VIP大于1的差异性成分,分别为峰5(柚皮苷)、峰6(野漆树苷)和峰7(橙皮内酯水合物)。因此,计划下一步从这3个特征性成分出发,进一步评价化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒含量的相关性。

综上所述,本研究中建立的方法专属性强、重复性好,可用于化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒的指纹图谱分析。化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒相关性较好,可有效控制化橘红(柚)配方颗粒生产制备过程中从原料到成品阶段的质量。

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: 76.
- [2] 王艳慧. 化橘红的研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2017, 19(6): 1076-1082.
- [3] 刘群娣, 谢春燕, 闫李丽, 等. 化橘红化学成分的UPLC-DAD-MS/MS分析[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2011, 13(5): 864-867.
- [4] 张清波, 笔雪艳, 曲范娜. 中药配方颗粒质量控制概况与思考[J]. 中国食品药品监管, 2022(3): 42-46.
- [5] 颜继忠, 斯海庆, 刘传鑫. 基于特征图谱分析百合饮片、汤剂、中间体、颗粒相关性[J]. 浙江工业大学学报, 2020, 48(3): 295-299.
- [6] 国家药品监督管理局. 中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求[A/OL]. (2021-02-15)[2022-12-12]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20210210145453181.html>.
- [7] 姚瑶, 赵淑淑, 姚俊霞, 等. 郁金配方颗粒UPLC指纹图谱及指标成分含量测定研究[J]. 中国药业, 2021, 30(10): 57-60.
- [8] 肖维强, 张超洪, 黄炳雄, 等. 化橘红HPLC指纹图谱的建立[J]. 食品科学, 2010, 31(22): 318-321.
- [9] 陈志霞, 林励, 孙冬梅. 化橘红黄酮类成分的UPLC指纹图谱研究[J]. 中草药, 2003, 34(7): 657-661.
- [10] YU X, LIU Q, XIE Z, et al. Chromatographic Fingerprint Analysis of Exocarpium Citri Grandis by High-Performance Liquid Chromatography Coupled with Diode-Array Detector[J]. Food Analytical Methods, 2015, 8(7): 1868-1875.
- [11] 卫生部, 国家中医药管理局. 卫生部 国家中医药管理局关于印发医疗机构中药煎药室管理规范的通知[A/OL]. (2009-03-16)[2022-12-12]. <http://www.natcm.gov.cn/yizhengsi/gongzuodongtai/2018-03-25/6577.html>.

(收稿日期: 2022-11-19; 修回日期: 2023-04-17)