

# 基于光谱法的陈皮饮片标准汤剂指纹图谱分析

刘涛<sup>1</sup>, 张宇雪<sup>1</sup>, 张佳<sup>1</sup>, 谢梦蝶<sup>1</sup>, 潘春晖<sup>2</sup>, 杨慧<sup>1</sup>, 邓燕君<sup>1</sup>, 蒋天宇<sup>1</sup>, 徐玉玲<sup>1\*</sup>

(1. 成都大学 药学与生物工程学院, 成都 610106;

2. 四川德成动物保健品有限公司, 四川 德阳 618100)

**[摘要]** 目的:建立陈皮饮片标准汤剂的指纹图谱并对其进行质量评价。方法:制备15批陈皮饮片标准汤剂,采用HPLC测定陈皮饮片标准汤剂中橙皮苷的含量;采用紫外光谱法(UV)和红外光谱法(IR)建立陈皮饮片标准汤剂的指纹图谱;利用相关系数法和双指标序列分析法对不同批次陈皮饮片标准汤剂的光谱图进行比对。结果:15批陈皮饮片标准汤剂中橙皮苷的质量分数0.82%~2.60%,出膏率实测值32.02%~46.11%;与紫外和红外对照指纹图谱相比,各批次陈皮饮片标准汤剂指纹图谱的相似度分别为>0.897和>0.942,双指标分析法结果显示各批次陈皮饮片标准汤剂的共有峰率均>62.50%,变异峰率均<46.67%。结论:该研究建立的质量评价方法可用于陈皮饮片标准汤剂的系统性评价,可为陈皮配方颗粒等相关制剂的质量标准制定提供参考。

**[关键词]** 陈皮;标准汤剂;红外指纹图谱;紫外指纹图谱;双指标序列分析法;橙皮苷;出膏率

**[中图分类号]** R22;O657.7;R28;C37;O433 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)06-0136-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20182407

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180928.1451.002.html>

**[网络出版时间]** 2018-09-29 9:40

## Analysis of Fingerprint of Standard Decoction of Citri Reticulatae Pericarpium Based on Spectroscopic Method

LIU Tao<sup>1</sup>, ZHANG Yu-xue<sup>1</sup>, ZHANG Jia<sup>1</sup>, XIE Meng-die<sup>1</sup>, PAN Chun-hui<sup>2</sup>, YANG Hui<sup>1</sup>, DENG Yan-jun<sup>1</sup>,  
JIANG Tian-yu<sup>1</sup>, XU Yu-ling<sup>1\*</sup>

(1. College of Pharmacy and Biological Engineering, Chengdu University, Chengdu 610106, China;

2. Sichuan Decheng Animal Health Products Co. Ltd., Deyang 618100, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the fingerprint of standard decoction of Citri Reticulatae Pericarpium and evaluate its quality. **Method:** According to the preparation conditions of the standard decoction, 15 batches of standard decoction of Citri Reticulatae Pericarpium were prepared. HPLC was employed to determine the content of hesperidin in this standard decoction. Ultraviolet spectroscopy (UV) and infrared spectroscopy (IR) were used to establish the fingerprint of standard decoction of Citri Reticulatae Pericarpium. The correlation coefficient method and double index sequence analysis method were used to compare and analyze the spectra of different batches of this standard decoction. **Result:** The content of hesperidin in 15 batches of this standard decoction were 0.82% - 2.60%, and the measured value of dry extract rate was 32.02% - 46.11%. Compared with ultraviolet and infrared control fingerprint, the fingerprint similarities of the standard decoction of each batch were >0.897 and >0.942, respectively. The double index analysis results showed that the common peak ratio was more than 62.50%, variation peak ratio was less than 46.67%. **Conclusion:** The quality evaluation method established in this study

**[收稿日期]** 20180510(020)

**[基金项目]** 四川省科技厅2018年科技项目(2018ZR0107,2018TJPT0049)

**[第一作者]** 刘涛,博士,研究员级高级工程师,从事中成药新药开发及再评价工作,Tel:028-61302236,E-mail:liutao0578@sina.com

**[通信作者]** \*徐玉玲,硕士,副教授,从事中成药开发及再评价研究,Tel:02861302236,E-mail:xuyuling@cdu.edu.cn

can be used for systematic evaluation of standard decoction of Citri Reticulatae Pericarpium, and it can provide theoretical reference for the formulation of quality standard of Citri Reticulatae Pericarpium dispensing granules and other related preparations.

[Key words] Citri Reticulatae Pericarpium; standard decoction; infrared fingerprint; ultraviolet fingerprint; double index sequence analysis method; hesperidin; dry extract rate

陈皮主要产于四川、浙江、福建、江西、湖南等地,主要含有挥发油及黄酮类化学成分<sup>[1-2]</sup>,如柠檬烯和 7-松油烯、橙皮苷等,此外还含有 K, Na, Ca 等多种微量元素。陈皮气香,味辛、苦,具有理气健脾、燥湿化痰的功效<sup>[3-5]</sup>,临床多用于脘腹胀满、食少吐泻、咳嗽痰多<sup>[2]</sup>。现代药理学研究表明,陈皮还具有调节消化系统<sup>[6]</sup>、降脂<sup>[7]</sup>、抗血栓和血小板聚集<sup>[8]</sup>、抗肿瘤<sup>[9]</sup>等作用。

中药饮片标准汤剂是指在中医药理论指导下,选取道地药材或主产区药材,将其加工炮制成合格饮片后经标准化工艺制备而成的中药饮片水煎剂<sup>[10-14]</sup>。随着国际传统药物给药方式的发展,中药配方颗粒研制和生产迎来发展的机遇。但中药配方颗粒一般采用测定指标成分含量对其进行质量控制,这种方式还不能确保成品质量。为此,国家药典委员会出台了《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》(下文简称《中药配方颗粒技术要求》),规定中药配方颗粒的所有制备工艺及质量标准研究均须以其饮片标准汤剂为标准<sup>[15]</sup>,以保证其生产工艺和质量控制的稳定性和一致性。因此,中药饮片标准汤剂的研究对配方颗粒的开发及质量控制有重要意义。前期采用 HPLC 指纹图谱对陈皮饮片标准汤剂进行质量控制,但由于 HPLC 指纹图谱对产品品质的可控性也存在一定的缺陷,且中药配方颗粒的要求与标准汤剂属性相似,因此,从多角度建立标准汤剂的质量标准就显得尤为必要。本实验在已建立的 HPLC 指纹图谱的基础上,选用 15 批陈皮饮片制成标准汤剂,以橙皮苷为指标成分,测定其含量,确定橙皮苷转移率和出膏率范围,并建立陈皮饮片标准汤剂紫外及红外指纹图谱,为多角度控制陈皮饮片的质量提供实验依据。

## 1 材料

iChrom W5100 型高效液相色谱仪(大连依利特分析仪器有限公司),TU-1810 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),Spectrum Two 型傅里叶变换红外光谱仪(美国 PerkinElmer 公司),FA2004 型 1/1 万电子分析天平(上海良平仪器仪表有限公司),SQP 型 1/10 万电子分析天平

[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

橙皮苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110721-200512,纯度  $\geq 98\%$ ),水为怡宝纯净水,甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。15 批陈皮饮片产于四川、江西、广东、安徽等道地产区,经成都大学刘涛教授鉴定为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* 及其栽培变种的干燥成熟果皮,经检测,其水分、灰分及含量测定等均符合 2015 年版《中国药典》(一部)的相关规定,具体信息见表 1。

## 2 方法与结果

### 2.1 橙皮苷的含量测定

2.1.1 色谱条件 Global Chromatography C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相水-冰乙酸-甲醇(61:4:35),柱温 25 °C,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 283 nm,进样量 10 μL。理论板数按橙皮苷计算不低于 2 000。

2.1.2 对照品溶液的制备 取橙皮苷对照品适量,精密称定,加甲醇配制成 109.4 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品粗粉约 1.0 g,精密称定,置于索氏提取器中,加石油醚(60 ~ 90 °C) 80 mL,加热回流 2 ~ 3 h,弃去石油醚,药渣挥干,加入甲醇 80 mL,加热回流至提取液呈无色,放冷,滤过,滤液置于 100 mL 量瓶中,用少量甲醇分数次洗涤容器,洗液滤入同一量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.4 样品测定 取各供试品溶液适量,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算橙皮苷的含量。结果发现所收集的样品均符合 2015 年版《中国药典》(一部)中对陈皮饮片指标成分橙皮苷的限量要求,见表 1。

### 2.2 陈皮饮片标准汤剂的制备及其指标测定

2.2.1 陈皮饮片标准汤剂的制备 称取陈皮饮片 100 g,加 10 倍量水浸泡 30 min,回流提取 20 min,滤过;药渣加 8 倍量水回流提取 15 min,滤过;合并滤液,减压浓缩(温度 50 °C,压力 -98.5 kPa)至 100 mL,浓缩液预冻 24 h,冷冻干燥(温度 -66 °C,真空度 7.70 Pa)至粉末状(过三号筛,下同),即得<sup>[16]</sup>。

表 1 陈皮饮片的相关信息及其标准汤剂的检测

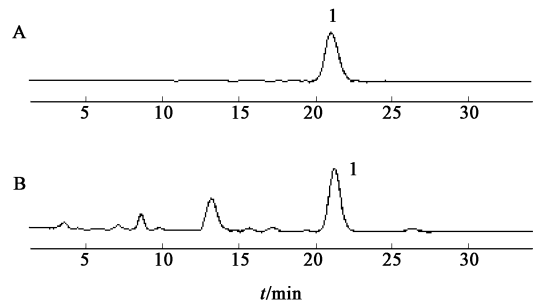
Table 1 Information of Citri Reticulatae Pericarpium decocting pieces and detection of their standard decoction

编号	批号	产地	来源	出膏率		橙皮苷质量分数	
				实测值	理论值	饮片	标准汤剂
S1	160401	四川	成都荷花池药业有限责任公司	32.21	34.15	3.73	2.60
S2	20170513	四川	四川生乐制药有限公司	36.49	42.90	3.40	1.84
S3	20170110	四川	四川省天府神龙中药饮片有限公司	34.92	36.60	2.54	0.88
S4	20160601	广西	广西仙莱中药科技有限公司	32.56	34.93	5.45	1.19
S5	2017040101	四川	四川利民中药饮片有限责任公司	36.94	38.72	3.58	1.00
S6	170101	四川	四川省天府神龙中药饮片有限公司	43.14	45.37	2.60	1.27
S7	20170404	四川	四川省龙发药业有限公司	38.88	40.12	5.33	1.05
S8	161001	四川	四川康贝大药房	44.71	43.47	3.26	1.37
S9	170201	四川	康美药业股份有限公司	37.07	47.57	5.96	0.82
S10	20170129	广东	广东天诚中药饮片有限公司	46.11	38.32	3.14	1.51
S11	20171029	安徽	亳州市众义堂中药材销售有限公司	41.30	44.60	2.89	1.96
S12	20170915	四川	四川利民中药饮片有限责任公司	41.86	40.16	2.97	1.28
S13	201708119	江西	樟树市庆仁中药饮片有限公司	39.25	41.54	3.25	0.92
S14	20171030	四川	四川御鼎堂中药饮片有限公司	32.07	36.42	3.61	1.43
S15	20171110	广西	广西仙莱中药科技有限公司	32.02	39.77	4.12	1.67

注:出膏率理论值 =  $(m_1 \times V) / (50 \times M) \times 100\%$ , 出膏率实测值 =  $m_2 / M \times 100\%$ ; 式中  $m_1$  为 50 mL 提取液的固含物质量,  $m_2$  为冷冻干燥后陈皮饮片标准汤剂浸膏粉末的质量,  $V$  为提取液的总体积,  $M$  为称取的陈皮饮片的质量。

**2.2.2 出膏率的测定** 精密移取陈皮饮片标准汤剂提取液 50 mL, 置蒸发皿中水浴蒸干, 在 105 °C 烘箱中干燥至质量差异 < 0.3 mg, 置干燥器中冷却 30 min, 精密称定, 计算出膏率理论值; 陈皮饮片标准汤剂经浓缩和冷冻干燥后称定质量, 计算出膏率实测值, 结果见表 1。

**2.2.3 橙皮苷的含量测定** 取陈皮饮片标准汤剂浸膏粉末约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入水 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声(功率 100 W, 频率 40 kHz)处理 45 min, 称定质量, 用水补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 得陈皮饮片标准汤剂的供试品溶液。取该供试品溶液和 2.1.2 项下对照品溶液适量, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 结果发现供试品溶液中待测指标成分橙皮苷的分离度良好, 见图 1。取陈皮饮片标准汤剂浸膏粉末(批号 160401)适量, 按上述方法制备供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 经方法学考察, 发现精密度试验、重复性试验和 12 h 稳定性试验的橙皮苷保留时间的 RSD 均 < 2.0%, 峰面积的 RSD 均 < 3.0%。按上述制备的供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 测得 15 批陈皮饮片标准汤剂中橙皮苷的含量见表 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 橙皮苷

图 1 陈皮饮片标准汤剂的 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of standard decoction of Citri Reticulatae Pericarpium

**2.3 陈皮饮片标准汤剂的红外特征图谱的建立与分析**<sup>[16-17]</sup>

**2.3.1 供试品的制备** 取陈皮饮片标准汤剂浸膏粉末约 0.25 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 50 μL 于玛瑙研钵中, 挥干溶剂, 与干燥的 KBr 粉末 0.2 g 混合研磨均匀, 于 15 MPa 真空环境中压片 1 min, 制得透明薄膜片, 即得。

**2.3.2 光谱扫描条件** 将 2.3.1 项下的透明薄膜片放入傅里叶变换红外光谱仪中扫描测定, 扫描范围 4 000 ~ 450 cm<sup>-1</sup>, 扫描时扣除 H<sub>2</sub>O 和 CO<sub>2</sub> 的

干扰。

**2.3.3 精密度、重复性、稳定性考察** 取陈皮饮片标准汤剂浸膏粉末(批号 160401),按 2.3.1 项下方法制备供试品,按 2.3.2 项下条件测定,取所得图谱中吸收强度最强的 10 个对应波数作为特征峰波数。经方法学考察,测得精密度、重复性、稳定性考察项下各特征峰波数值的 RSD 均 < 1.5%,表明该方法精密度、重复性及 5 h 内的稳定性均良好。

**2.3.4 红外指纹图谱的测定** 将 10 批(S1 ~ S10)陈皮饮片标准汤剂按 2.3.1 项下方法制成透明薄膜片,按 2.3.2 项下条件测定,红外指纹图谱重叠图见图 2。

**2.3.5 红外指纹图谱的双指标序列分析<sup>[16]</sup>** 共有峰定义为在相互比较的 2 个红外指纹图谱中都出现的一组吸收峰,且组内吸收峰的最大波数差显著小

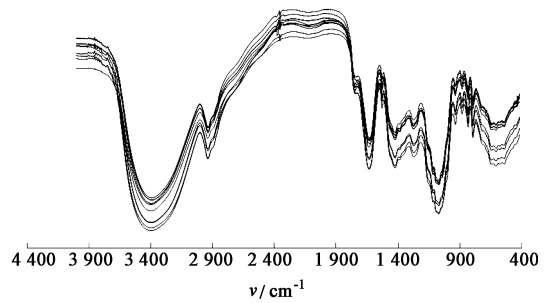


图 2 10 批陈皮饮片标准汤剂的红外光谱叠加

Fig. 2 IR spectra of 10 batches of standard decoction of Citri Reticulatae Pericarpium

于其与相邻组间的平均波数差,反之则为变异峰<sup>[16]</sup>。陈皮饮片标准汤剂红外指纹图谱波数及共有峰、变异峰见表 2。

表 2 陈皮饮片标准汤剂的红外指纹图谱波数及共有峰、变异峰

Table 2 Wave numbers, common peaks and variation peaks of IR fingerprint of standard decoction of Citri Reticulatae Pericarpium

编号	红外指纹图谱吸收峰的 $\nu/\text{cm}^{-1}$												
S1	3 386.34	2 928.52								1 733.48	1 615.77		
S2	3 391.96	2 929.70	2 344.97							2 109.79	1 732.30	1 616.91	
S3	3 385.01	2 928.73								1 736.36	1 615.21		
S4	3 391.88	2 929.99	2 345.28							2 119.27	1 617.78		
S5	3 391.89	2 931.20								2 109.77	1 622.81		
S6	3 757.83	3 392.18	2 930.25							2 345.06	2 118.53	1 615.05	
S7	3 757.40	3 391.92	2 930.80	2 369.87	2 344.74					2 110.23	1 622.94		
S8	3 391.72	2 931.07	2 353.32							2 344.85	2 110.89	1 622.81	
S9	3 392.08	2 931.14								2 343.93	1 625.82		
S10	3 391.95	2 930.12								2 343.96	2 109.82	1 736.03	1 617.47
S11	3 400.18	2 929.01	2 354.29	2 343.87	2 367.67					2 118.35	1 616.05		
S12	3 858.14	3 391.66	2 931.36							2 344.27	2 111.34	1 621.36	
S13	3 391.54	2 930.83								2 344.17	2 107.44	1 626.61	
S14	3 391.79	2 931.63								2 344.72	2 118.04	1 626.29	
S15	3 391.65	2 932.10								2 344.22	2 111.98	1 623.30	

编号	红外指纹图谱吸收峰的 $\nu/\text{cm}^{-1}$														
S1	1 516.39	1 409.39	1 260.72	1 102.06	1 053.73	920.20	867.53	817.58	778.58						
S2	1 515.66	1 412.30	1 259.39	1 101.45	1 053.71	920.52	866.17	817.91	778.67	671.18					
S3	1 516.87	1 409.31	1 260.03	1 101.88	1 053.66	919.97	867.63	817.92	778.44						
S4	1 516.09	1 411.81	1 259.31	1 101.40	1 054.26	921.25	867.09	817.93	778.85	669.33					
S5	1 516.29	1 411.73	1 258.89	1 101.45	1 055.12	920.66	866.36	817.69	778.52						
S6	1 517.39	1 408.63	1 260.67								1 053.38	921.16	866.61	817.15	778.57
S7	1 516.17	1 411.59	1 258.62	1 101.11	1 054.45	921.64	866.97	817.36	778.21						
S8	1 516.37	1 411.83	1 257.51	1 101.31	1 054.57	921.07	866.37	817.72	778.26						

续表 2

编号	红外指纹图谱吸收峰的 $\nu/\text{cm}^{-1}$								
S9	1 516.46	1 410.51	1 260.16	1 102.04	1 055.49	921.92	866.55	818.05	778.89
S10	1 517.65	1 411.53	1 258.42	1 101.28	1 054.50	920.91	866.52	817.66	778.37
S11	1 516.43	1 411.55	1 260.00	1 101.62	1 054.90	921.42	865.90	817.65	778.23
S12	1 516.09	1 411.80	1 258.07	1 101.80	1 055.01	920.76	866.42	817.81	778.27
S13	1 516.29	1 410.97	1 258.06	1 101.05	1 055.42	920.93	866.31	817.69	778.37
S14	1 516.35	1 411.80	1 257.88	1 101.46	1 055.35	921.04	866.42	817.76	778.53
S15	1 516.46	1 411.93	1 259.92	1 101.45	1 056.16	921.25	866.38	817.83	778.73

编号	红外指纹图谱吸收峰的 $\nu/\text{cm}^{-1}$								
S1	630.88	590.91		534.10					
S2	632.24	587.54			519.54				
S3	630.24	590.52		533.90					
S4	603.33	590.81			523.70	435.34	427.65	413.38	405.89
S5		589.35			521.93				
S6	630.25	589.37							
S7		588.47			522.92				
S8		590.97			522.18				
S9		594.63							
S10		588.22			521.64				
S11		589.00							
S12	630.31	588.74	557.72		520.28				
S13		589.39			522.16				
S14	629.87	590.95			520.50				
S15	629.85	590.64			521.29				

双指标序列分析法的前提是建立指纹图谱中的共性鉴别指标以及变异鉴别指标,即指纹图谱的共有峰率( $P$ )和变异峰率( $P_v$ )<sup>[16]</sup>,其表达方法可简化为公式  $N_a = N_g + n_a$ ,  $N_b = N_g + n_b$ ,  $P = N_g/N_d \times 100\%$ ,  $P_{va} = n_a/N_g \times 100\%$ ,  $P_{vb} = n_b/N_g \times 100\%$ 。式中  $N_a$  为指纹图谱 a 的总峰数,  $N_b$  为指纹图谱 b 的总峰数,  $n_a$  为 IR 指纹图谱 a 的变异峰数,  $n_b$  为 IR 指纹图谱 b 的变异峰数,  $N_g$  为共有峰数,  $N_d$  为独立峰数,  $P_{va}$  为指纹图谱 a 的变异峰率,  $P_{vb}$  为指纹图谱 b 的变异峰率。以每个陈皮饮片标准汤剂样品为参考,分别计算其他陈皮饮片标准汤剂样品的 IR 指纹图谱的  $P$  和  $P_v$ 。结果发现  $P$  处于 62.50% ~ 100.0%,  $P_v$  处于 0 ~ 46.67%。对 15 批陈皮饮片标准汤剂样品 IR 指纹图谱进行双指标序列分析,并对双指标序列结果进行近似关系组、近似关系对及分析。

A 组为 S5 : S2 [ 89.47 ( 11.76, 0 ) ], S3S8S10S14 [ 88.89 ( 6.25, 6.25 ) ]; S1 : S9 [ 82.35 ( 21.43, 0 ) ];

S6 : S12 [ 90.00 ( 5.56, 5.56 ) ], S14 [ 89.47 ( 11.76, 0 ) ]。B 组为 S4 : S10S11 [ 62.50 ( 46.67, 13.33 ) ], S5 [ 69.57 ( 37.5, 6.25 ) ], S13 [ 65.22 ( 46.67, 6.67 ) ]; S10 : S11 [ 70.00 ( 21.43, 21.43 ) ], S15 [ 88.89 ( 6.25, 6.25 ) ]; S6 : S11S14 [ 77.78 ( 7.14, 21.43 ) ]。C 组为 S4 : S15 [ 69.57 ( 37.50, 6.25 ) ]。序列 S1 : S9 [ 82.35 ( 21.43, 0 ) ] 表示以 S1 为标准计算 S9 红外指纹图谱的  $P$  和  $P_v$ , 此序列片断表示 S1 与 S9 的  $P = 82.35\%$ , 其中 S1 的  $P_v = 21.43\%$ , S9 的  $P_v = 0$ 。序列 S6 : S11S14 [ 77.78 ( 7.14, 21.43 ) ] 表示以 S6 为标准计算时, S11 和 S14 与其具有相同的  $P(77.78\%)$ , S6 的  $P_v = 7.14\%$ , S11 和 S14 的  $P_v$  均为 21.43%。

在 A 组中,来自四川的陈皮饮片 S2, S3, S8, S14 与 S5 之间, S1 与 S9 之间, S6 与 S12, S14 之间均有很高的  $P$  和很低的  $P_v$ , 因为来源于相同的产地, 且其购买地相同, 生产批号上的时间较接近其生长的环境气候较近似, 说明每批之间关系较近, 性质相

近,相似程度高。在 B 组中,S4 与 S10,S11,S5,S13 之间,S10 与 S11,S15 之间,S6 与 S11,S14 之间有较高的  $P$  和较高的  $P_v$ ,因为各个批次的陈皮饮片大多来自不同的产区,且不同产区的气候条件不同,导致其与各批次之间的差异较大, $P_v$  较高,相似性较差。在 C 组中,S4 和 S15 的陈皮饮片都来自于广西,但在不同地区购买其储存环境可能存在较大差异,这造成 S4 与其他批次样品的  $P$  较低, $P_v$  较高。综上所述,产地和购买地相同或相近的几批次饮片之间  $P$  较高, $P_v$  较低,其相似度较高;而产地和储存条件相差较大的饮片之间  $P_v$  相对较高,相似度较低。

**2.3.6 红外指纹图谱相似度分析<sup>[17]</sup>** 选取 10 批陈皮饮片标准汤剂,以其透光率的平均值作为对照红外指纹图谱的透光率,制得对照红外图谱,即陈皮饮片标准汤剂的红外指纹图谱共有模式,见图 3。利用 SPSS 19.0 软件中 Kendall's tau-b 将 10 个批次(S1 ~ S10)的陈皮饮片标准汤剂样品红外图谱与对照红外指纹图谱进行相似度分析,结果相似度分别为 0.971,0.973,0.973,0.982,0.978,0.954,0.973,0.963,0.942,0.981。取另 5 批(S11 ~ S15)陈皮饮片标准汤剂,测得红外图谱相似度均 >0.942。

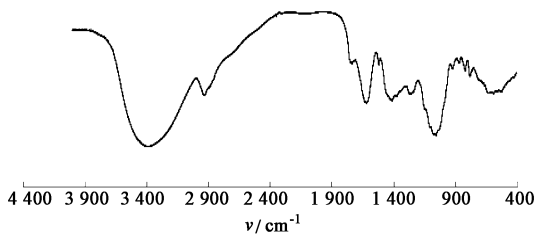


图 3 10 批陈皮饮片标准汤剂红外光谱的共有模式  
Fig.3 Common pattern of IR spectra of 10 batches of standard decoction of Citri Reticulatae Pericarpium

## 2.4 陈皮饮片标准汤剂的紫外特征图谱建立与分析<sup>[18-20]</sup>

**2.4.1 供试品溶液的制备** 取陈皮饮片标准汤剂浸膏粉末约 0.25 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,滤过。精密移取续滤液 2.5 mL 于 100 mL 量瓶中,加水定容至刻度,摇匀,即得。

**2.4.2 光谱扫描条件** 以水为空白对照调整基线,扣除基底影响。光谱带宽 2.0 nm,扫描范围 200 ~ 800 nm,扫描速度 200 nm·min<sup>-1</sup>,狭缝宽 1.5 nm,信息采集间隔 1.0 nm。

**2.4.3 方法学考察** 取同一批次(批号 160401)陈皮饮片标准汤剂,按 2.4.1 项下方法制备供试品溶液,按 2.4.2 项下条件进行测定,经方法学考察,测

得其精密度考察项下紫外图谱在 321,281,308,258 nm 处吸光度  $A$  的 RSD 均 <0.8%,测得其重复性、稳定性考察项下紫外图谱在 321,281,308,258 nm 处  $A$  的 RSD 均 <2.0%,表明该方法精密度、重复性及 5 h 内的稳定性均良好。

**2.4.4 陈皮饮片标准汤剂紫外光谱采集** 取 10 批(S1 ~ S10)陈皮饮片标准汤剂样品,按 2.4.1 项下方法制备供试品溶液,按 2.4.2 项下条件测定,其紫外光谱叠加如图 4。

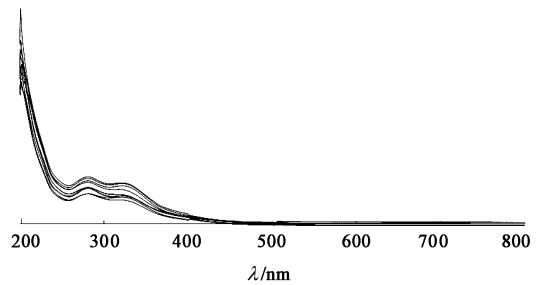


图 4 10 批陈皮饮片标准汤剂的紫外光谱叠加  
Fig.4 UV spectra of 10 batches of standard decoction of Citri Reticulatae Pericarpium

**2.4.5 对照紫外指纹图谱的建立** 取 10 批(S1 ~ S10)陈皮饮片标准汤剂样品,按 2.4.1 项下方法制备供试品溶液,按 2.4.2 项下条件测定,以其各波长的  $A$  平均值作为对照指纹图谱的  $A$ ,得其对照紫外图谱见图 5。

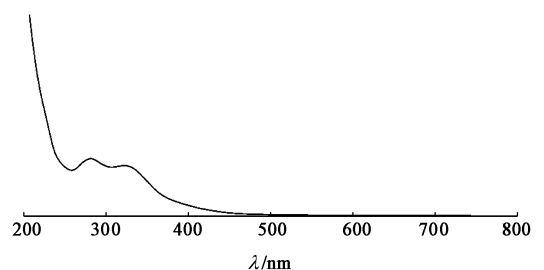


图 5 陈皮饮片标准汤剂的对照紫外指纹谱  
Fig.5 Standard UV fingerprint of standard decoction of Citri Reticulatae Pericarpium

**2.4.6 限度要求** 利用 SPSS 19.0 软件中 Kendall's tau-b 对 10 批(S1 ~ S10)陈皮饮片标准汤剂的紫外指纹图谱与对照紫外指纹图谱进行相似度分析,结果依次为 1.000,0.979,0.976,0.984,0.976,0.897,0.983,0.976,0.984,0.976。取 10 批(S1 ~ S10)陈皮饮片标准汤剂,按 2.4.1 项下方法制备供试品溶液,按 2.4.2 项下条件测定,结果见表 3。

取另外 5 批(S11 ~ S15)陈皮饮片标准汤剂进行验证试验,按 2.4.1 项下方法制备供试品溶液,按

表 3 10 批陈皮饮片标准汤剂在不同波长下的紫外图谱吸光度  
Table 3 Absorbance values of UV spectra of 10 batches of standard decoction of Citri Reticulatae Pericarpium under different wavelength

编号	308 nm	321 nm	281 nm	258 nm
S1	0.486	0.502	0.570	0.454
S2	0.429	0.428	0.520	0.430
S3	0.371	0.365	0.456	0.375
S4	0.343	0.349	0.447	0.347
S5	0.301	0.300	0.375	0.301
S6	0.502	0.514	0.591	0.479
S7	0.462	0.477	0.542	0.429
S8	0.372	0.366	0.456	0.376
S9	0.320	0.330	0.374	0.284
S10	0.338	0.351	0.444	0.338

2.4.2 项下条件扫描,所得紫外图谱的 A 与对照指纹图谱经 SPSS 19.0 软件中 Kendall's tau-b 计算相似度,见表 4。结果显示以上 5 批陈皮饮片标准汤剂样品的紫外指纹图谱相似度和 A 均符合限度要求。

表 4 5 批陈皮饮片标准汤剂紫外指纹图谱的相似度及吸光度分析  
Table 4 Absorbance values and similarities of UV fingerprint of 5 batches of standard decoction of Citri Reticulatae Pericarpium

编号	相似度	A			
		308 nm	321 nm	281 nm	258 nm
S11	0.973	0.398	0.405	0.440	0.351
S12	0.983	0.335	0.327	0.436	0.354
S13	0.984	0.345	0.351	0.443	0.345
S14	0.954	0.336	0.357	0.453	0.300
S15	0.979	0.387	0.395	0.503	0.392

### 3 讨论

本实验收集了 5 个产地的 15 批陈皮饮片,测得其橙皮苷质量分数处于 2.54% ~ 5.96%,说明收集的陈皮饮片存在个体差异且具有一定的代表性。本研究参考《中药配方颗粒技术要求》中相关要求建立的陈皮饮片标准汤剂制备方法,与传统汤剂制备方式相符,经验证发现该工艺稳定可行。同时测定了陈皮饮片标准汤剂中橙皮苷的含量来表征质量,但仅用橙皮苷作为陈皮的指标性成分并不能反映标准汤剂制备工艺的科学性,有待后期进一步研究。本实验中选取陈皮饮片标准汤剂经冷冻干燥后的浸膏粉末作为供试品,与直接取用标准汤剂或其浓缩

液相比,浸膏粉末具有储存方便、使用方便、符合研究需求等优点,但在贮藏过程中需注意在避光、低温、干燥等条件下贮藏,以防止在储存过程中浸膏粉末变质。

目前,通行的质量标准多从化学成分的定性与定量角度建立控制项,本研究在已建立的 HPLC 指纹图谱基础上,以橙皮苷转移率、出膏率范围、紫外及红外指纹图谱等多角度建立陈皮饮片标准汤剂的质量标准,可为该饮片的配方颗粒与标准汤剂质量一致性评价提供更多的参考。目前,在中药及其制剂研究中广泛使用的指纹图谱主要包括紫外光谱法<sup>[21]</sup>、红外光谱法<sup>[22]</sup>、液相色谱法<sup>[23]</sup>、气相色谱法<sup>[24]</sup>等,其中紫外光谱可反映化学组分的化学键信息,红外光谱可反映化学成分所含官能团的叠加情况,具有操作简便、精密度高、稳定性好等优点。本研究将陈皮饮片标准汤剂(S1 ~ S10)的紫外指纹图谱与建立的对照指纹图谱进行对比分析,结果表明与对照指纹图谱的相似度均在 0.897 ~ 1.000。由此确定陈皮饮片标准汤剂的紫外指纹图谱与对照指纹图谱的相似度应不低于 0.897。

本研究将陈皮饮片标准汤剂(S1 ~ S10)的红外指纹图谱与建立的对照指纹图谱进行对比,结果表明 10 批陈皮饮片标准汤剂的红外图谱与对照指纹图谱的相似度在 0.942 ~ 0.981,且该标准汤剂红外图谱与对照指纹图谱间的相似度应不低于 0.942。红外指纹图谱反映的峰信息多、样本量大,单一的数据处理方法具有较大局限性,故本研究引入了 P 和 P<sub>v</sub> 双指标序列分析法<sup>[25]</sup>,此方法与相关系数法相比,具有精确度高、量化度高<sup>[26]</sup>、综合分析能力强等优点,可以对 2 个或 2 个以上的样本进行区别,是适用于分析大样本之间关系的数理统计分析方法。双指标序列分析结果显示,产地和购买地相同或相近的几批药材之间 P 较高, P<sub>v</sub> 较低,其相似度较高;而产地和储存条件相差较大的药材之间 P<sub>v</sub> 相对较高,相似度较低;说明陈皮饮片标准汤剂质量与饮片的来源有关。综上所述,紫外和红外指纹图谱可用于整体上控制陈皮饮片标准汤剂的质量<sup>[27]</sup>,改变了以单一化学成分的定性及定量控制产品质量模式,提升了陈皮饮片标准汤剂的质量标准,改善了该标准汤剂的质量可控性。

#### [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,2015:191.

- [2] 刘文燊,王玫馨,黄爱东,等. 广陈皮化学成分的比较研究——I. 挥发油的成分研究[J]. 中药材,1991,14(3):33-36.
- [3] 中国科学院华南植物研究所. 广东植物志. 第2卷[M]. 广州:广东科技出版社,1991.
- [4] 郑小吉,詹晓如,王小平. 陈皮道地性研究近况[J]. 江西中医药,2008,39(7):71-72.
- [5] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第四册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:887.
- [6] 李庆耀,梁生林. 陈皮的药用研究进展[J]. 中成药,2008,30(2):246-248.
- [7] 李洪京. 陈皮的药理分析及临床应用研究[J]. 医学信息,2015,28(6):100-101.
- [8] 官福兰,王汝俊,王建华. 陈皮及橙皮甙对小鼠胃排空、小肠推进功能的影响[J]. 中药药理与临床,2002,18(3):7-9.
- [9] 周贤梅,赵阳,何翠翠,等. 陈皮挥发油对大鼠肺纤维化的干预作用[J]. 中西医结合学报,2012,10(2):200-209.
- [10] 冀艳花,高晗,常云凤,等. 白鲜皮饮片-标准汤剂-配方颗粒的 HPLC 指纹图谱相关性分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(18):81-87.
- [11] 杨立伟,王海南,耿莲,等. 基于标准汤剂的中药整体质量控制模式探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(8):1-6.
- [12] 曹静亚,李晓,宋梦娇,等. 连翘标准汤剂质量评价体系的建立[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(7):7-12.
- [13] 张鹏,鄢兰,李西文,等. 人参饮片标准汤剂的评价及应用探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):2-11.
- [14] 董青,赵嵘,代云桃,等. 红花标准汤剂的质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):12-17.
- [15] 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.
- [16] 陈蓉,陈广云,沈蓓,等. 基于共有峰率和变异峰率双指标序列分析法的芡实红外指纹图谱研究[J]. 中国药房,2012,23(23):2141-2146.
- [17] 李建蕊,陈建波,周群,等. 中药三七不同部位和组织的红外光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析,2014,34(3):634-637.
- [18] 丁青龙,李莹. 紫外分光光度法测定复方苦参素胶囊中绞股蓝总皂苷含量及稳定性研究[J]. 药学与临床研究,2004,12(5):25-26.
- [19] 刘涛,伍利华,黄英,等. 基于光谱法的清脑复神液指纹图谱研究[J]. 中国测试,2016,42(2):63-66.
- [20] 李智敏,王元忠,王瀚墨,等. 不同产地茯苓皮紫外指纹图谱的分析与鉴别[J]. 云南大学学报:自然科学版,2015,37(6):902-908.
- [21] 王元忠,钟贵,张霁,等. 紫外指纹图谱结合化学计量学对不同产地中药三七的鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析,2016,36(6):1789-1793.
- [22] 盛瑜,李梓潼,刘玲,等. 龟甲药材的红外指纹图谱鉴别研究[J]. 时珍国医国药,2017,28(5):1127-1129.
- [23] 康凯,张静娇,赵月然,等. 贞芪扶正颗粒(无糖型) HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药物评价,2017,34(1):25-29.
- [24] 何风艳,何轶,胡晓茹,等. 跌打活血散气相色谱指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(2):53-56.
- [25] 邹华彬,袁久荣,杜爱琴,等. 甘草水提物红外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析法[J]. 中成药,2014,26(10):779-783.
- [26] 王燕,王斌,徐银峰,等. 基于聚类分析法和双指标分析法的淡菜红外指纹图谱比较研究[J]. 中国食品学报,2013,13(1):178-182.
- [27] 孙国祥,杨婷婷,车磊. UV-IR 光谱指纹定量法鉴定六味地黄丸质量[J]. 中南药学,2012,8(10):766-771.

[责任编辑 刘德文]