

HPLC 指纹图谱技术结合灰色关联度法评价不同批次诃子质量

夏慧敏¹, 张慧文¹, 白云霞², 刘宏¹, 张玲玲¹, 王焕芸^{1*} (1.内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010110; 2.内蒙古科技大学包头医学院, 内蒙古 包头 014040)

摘要: 目的 测定 10 批次不同来源诃子药材的 HPLC 指纹图谱和 4 种指标成分, 结合灰色关联度分析法建立其质量评价方法。方法 采用 HPLC 测定 10 批次不同来源诃子药材的指纹图谱及主要成分没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京和诃子酸的含量。Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以 0.03%磷酸水-甲醇为流动相, 梯度洗脱, 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 测定波长 270 nm, 以“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版本)”建立指纹图谱。基于灰色关联度分析不同批次诃子各指标成分数据, 以各评价单元序列相对于参考序列的相关关联度作为测度, 对样品进行综合评价。结果 建立诃子样品的指纹图谱共标定 19 个共有峰, 指出其中 3 号峰为没食子酸, 8 号峰为没食子酸甲酯, 10 号峰为柯里拉京, 19 号峰为诃子酸; 没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京、诃子酸分别在 5.625~180, 2~68, 25~800, 5.718~183 μg 线性关系良好(r 分别为 1, 0.999 2, 0.999 2, 0.999 9, $n=6$), 精密性、重复性和稳定性均良好; 没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京、诃子酸的平均加样回收率分别为 97.92%, 98.24%, 100.35%, 101.82%, RSD 分别为 2.33%, 1.98%, 2.19%, 1.87%, 大部分批次的诃子药材样品相似度达到要求。结论 灰色关联度分析法结合 HPLC 指纹图谱和多指标成分定量的评价方法简单、全面, 可用于诃子的质量评价, 为资源开发利用及优质种源的筛选提供了参考依据。

关键词: 诃子; 指纹图谱; 质量评价; 灰色关联度

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2020)12-1448-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.12.008

引用本文: 夏慧敏, 张慧文, 白云霞, 等. HPLC 指纹图谱技术结合灰色关联度法评价不同批次诃子质量[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(12): 1448-1453.

Evaluation of the Quality of Different Batches of *Terminalia Chebula* Retz. Based on HPLC Fingerprint Technology and Grey Relational Analysis

XIA Huimin¹, ZHANG Huiwen¹, BAI Yunxia², LIU Hong¹, ZHANG Lingling¹, WANG Huanyun^{1*} (1.School of Pharmacy, Inner Mongolian Medical University, Huhhot 010110, China; 2.Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014040, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the HPLC fingerprint and determine four index components of 10 batches of *Terminalia chebula* Retz. from different origins, and establish a quality evaluation method by grey relational analysis. **METHODS** The fingerprints of 10 batches of *Terminalia chebula* Retz. from different origins and the components of gallic acid, methyl gallate, corilagin and chebulinic acid were determined by HPLC. Agilent Eclipse Plus C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm) was adopted with 0.03% phosphoric acid water-methanol as mobile phase, gradient elution. The flow rate was 1 mL·min⁻¹, column temperature was 30 °C, determination wavelength was 270 nm. The “Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System(2012 version)” established a HPLC fingerprint. Based on the grey relational degree, the data of each index component of different batches were analyzed, and the relational degree of each evaluation unit sequence with respect to the reference sequence as a measure, and the sample was comprehensively evaluated. **RESULTS** The fingerprints of the samples were established to determine 19 common peaks. The peak number 3 was gallic acid, the peak number 8 was methyl gallate, the peak number 10 was corilagin, the peak number 19 was chebulinic acid, and the gallic acid was linear at 5.625–180 μg($r=1$, $n=6$), methyl gallate had a good linear relationship between 2 μg and 68 μg($r=0.999 2$, $n=6$), corilagin had a good linear relationship at 25–800 μg($r=0.999 2$, $n=6$). The linear relationship of chebulinic acid at 5.718–183 μg($r=0.999 9$, $n=6$), which precision, repeatability and stability were good. The average recovery rate of gallic acid methyl gallate, corilagin, chebulinic acid were 97.92%, 98.24%, 100.35%, 101.82%, RSD were 2.23%, 1.98%, 2.19%, 1.87%, respectively. The similarity of most batches of *Terminalia chebula* Retz. met the requirements. **CONCLUSION** The grey relational analysis combined with fingerprint and multi-index component quantitative evaluation method is simple and comprehensive, and can be used for the quality evaluation of *Terminalia chebula* Retz., which provides a reference for resource development and utilization and screening of high-quality *Terminalia chebula* Retz..

KEYWORDS: *Terminalia chebula* Retz.; fingerprint; quality evaluation; grey relational analysis

基金项目: 内蒙古自然科学基金项目(2017BS0806)

作者简介: 夏慧敏, 女, 硕士生 Tel: 18447060105

E-mail: 2943929616@qq.com

*通信作者: 王焕芸, 女, 教授

Tel: 18647116320

E-mail: whuanyun999@163.com

诃子为君子科榄仁树属植物诃子(*Terminalia chebula* Retz.)或绒毛诃子(*Terminalia chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt.)的干燥成熟果实^[1],主产于马来西亚、印度、缅甸等国,中国云南、西藏、广东、广西等地均有分布。诃子药材主要含有三萜类、鞣质类、酚酸类、黄酮类等成分^[2],具有抗氧化、抗菌、抗肿瘤、强心、治疗冠心病、抗动脉粥样硬化、止泻、解痉等多种药理作用,在中医药、藏医药、蒙医药中均为常用,其使用频率几乎与汉医方剂中甘草相等。诃子在中医中运用广泛,能治疗多种疾病,具有涩肠止泻、敛肺止咳、降火利咽等功效;在藏药中,诃子有“药中之王”的美誉,临床上常用于治疗久泻久痢,便血脱肛,肺虚喘咳,久嗽不止,咽痛音哑等症^[3];在蒙医药中,具有抗炎镇痛、抗肿瘤、抗菌、抗病毒等多种活性^[4]。

目前,关于诃子质量评价方法的报道多采用薄层鉴别法、HPLC及红外光谱法等。本实验采用的灰色关联度分析法在一定程度上能排除人们的主观随意性,使过去凭经验和类比法等处理实际问题的传统做法转向数学化、科学化、人工智能化。作为灰色系统理论比较完善和成熟的一部分内容,通过该模型可以定量得出每种成分含量的相对多少^[5]。基于这样的计算和分析,得出的结论比较全面、客观、公正。指纹图谱的实质是药材中部分成分的“化学条码”,特性为整体性和模糊性,与药材有效性关联不大,故以药材质量评价为出发点,建立药材指纹图谱进行定性分析,测定主成分的含量并结合灰色关联度分析法,以此对药材进行综合质量评价^[6]。

本研究在建立10批次不同产地诃子HPLC指纹图谱的基础上,进一步对诃子中的4个主要成分没食子酸^[7]、没食子酸甲酯^[8]、柯里拉京^[9]和诃子酸^[10]进行了定量分析并应用了常用的相似度分析^[11],同时结合灰色关联度比较分析,运用此方式,以相对关联度为测度,对样品进行综合评价,以期诃子资源开发及优质种源筛选提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器与试剂

LC-2030C 3D 高效液相色谱仪(日本岛津制作所); KQ-250DE 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司); AL204 型十万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); KQ-250DE 型电热恒

温鼓风干燥箱(黄石市恒丰医疗器械有限公司)

没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110831-200302; HPLC \geq 99%); 诃子酸对照品(上海源叶科技有限公司,批号: B20495; 纯度 \geq 98%); 没食子酸甲酯(批号: M103947; 纯度 \geq 99%); 柯里拉京(批号: 23094-69-1; 纯度 \geq 98%)均购自北京中科质检生物有限公司; 甲醇(色谱纯,美国飞世尔科学世界公司)。

1.2 样品来源

诃子与绒毛诃子的干燥成熟果实形态相近,但略有不同,诃子比绒毛诃子略短,长1.5~2.5 cm,诃子表面黄绿色或黄棕色,绒毛诃子表面多紫黑或棕褐色。诃子有明显的纵棱及不规则的皱纹,基部收缩略成短尖,绒毛诃子纵棱线不明显,基部钝圆。10 批次药材采购来源见表 1,经内蒙古医科大学药学院生药教研室张慧文博士鉴定, S1~S8, S10 为诃子(*Terminalia chebula* Retz.)干燥成熟果实, S9 为绒毛诃子(*Terminalia chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt.)干燥果实。

表 1 10 批次诃子药材样品信息

Tab.1 Sample information of 10 batches of *Chebulae Fructus*

序号	批号	产地	厂家
S1	170801	广东	安国路路通中药饮片有限公司
S2	180106421	广东	康美药业股份有限公司
S3	160504671	广东	康美药业股份有限公司
S4	816070631	云南	河北百合中药饮片有限公司
S5	151002313	云南	河北济鑫堂药业有限公司
S6	20170501	云南	广西仙莱中药科技有限公司
S7	180501	云南	广东天诚中药饮片厂
S8	1809001	云南	内蒙古天利药业有限公司
S9	1710010115	云南	河北联康药业有限公司
S10	18042801	广西	河北益康强药业有限公司

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m); 流速为 1 mL \cdot min⁻¹; 进样量 10 μ L; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 检测波长 270 nm; 流动相为 0.03%磷酸水(A)-甲醇(B)。梯度洗脱: 0~8 min, 5% \rightarrow 10%B; 8~15 min, 10% \rightarrow 15%B; 15~35 min, 15% \rightarrow 22%B; 35~42 min, 22% \rightarrow 23%B; 42~45 min, 23%B; 45~50 min, 23% \rightarrow 24%B; 50~55 min, 24%B;

55~63 min, 24%→30%B; 63~78 min, 30%→41%B; 78~83 min, 41%→43%B; 83~88 min, 43%→45%B。按照色谱条件, 分别吸取混合对照品溶液、供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 确定没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京和诃子酸的保留时间分别约为 8.8, 23.7, 40.8, 79.9 min。

2.2 对照品溶液制备

分别取没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京及诃子酸对照品适量, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 制备成每 1 mL 含没食子酸 0.180 mg、没食子酸甲酯 0.068 mg、柯里拉京 0.800 mg、诃子酸 0.183 mg 的混合对照品溶液, 摇匀备用, 4 $^{\circ}$ C 避光保存。

2.3 供试品溶液制备

取诃子粉末适量, 研细(过 20 目筛), 取约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 色谱甲醇 25 mL, 称定质量, 超声(功率 100 W)处理 20 min, 放冷后补重, 滤过, 取续滤液, 用 0.45 μ m 滤膜滤过, 即得。

2.4 HPLC 指纹图谱的建立

2.4.1 仪器精密度考察 取 S5 药材 0.1 g, 精密称定, 按“2.3”项下的方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 结果表明, 共有峰

的保留时间和峰面积比值基本一致, RSD 均<3%, 符合指纹图谱的要求。

2.4.2 稳定性考察 取 S5 药材 0.1 g, 精密称定, 按“2.3”项下的方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 分别测定样品在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 的峰面积。结果表明, 共有峰的保留时间和峰面积比值基本一致, RSD 均<3%, 符合指纹图谱的要求。

2.4.3 重现性试验 取 S5 药材 0.1 g, 精密称定, 按“2.3”项下的方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 分别检测。结果表明, 共有峰的保留时间和峰面积比值基本一致, RSD 均<3%, 符合指纹图谱的要求。

2.4.4 指纹图谱的建立及相似度评价 分别取 10 批(S1~S10)药材 0.1 g, 精密称定, 按“2.3”项下的方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 分别检测。以《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版本)软件进行分析, 以 S1 号样品的图谱作为参考图谱, 采用多点校正全谱匹配生成指纹图谱共有模式。除 S9 样本, 其余各批样品与对照品图谱的相似度均>0.9。10 批诃子的指纹图谱及对照指纹图谱见图 1, 共标定 19 个共有峰, 10 批次诃子药材 19 个共有峰的峰面积见表 2。

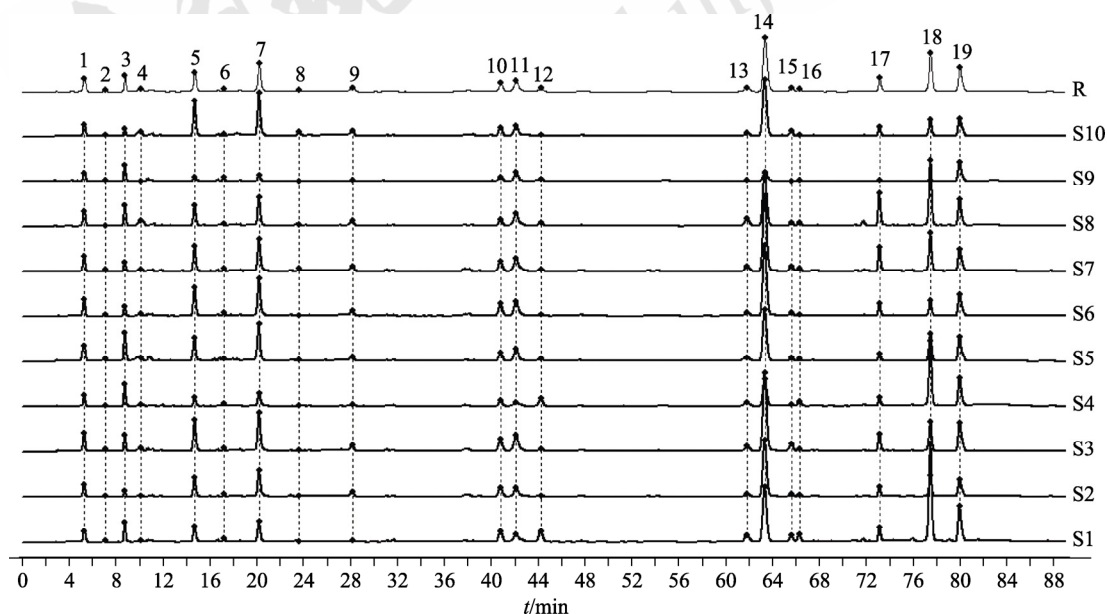


图 1 10 批次诃子药材的 HPLC 指纹图谱

3-没食子酸; 8-没食子酸甲酯; 10-柯里拉京; 19-诃子酸。

Fig. 1 HPLC fingerprint of 10 batches of Chebulae Fructus
3-gallic acid; 8-methyl gallate; 10-corilagin; 19-chebulinic acid.

表 2 10 批次诃子药材 19 个共有峰的峰面积

Tab. 2 Peak area of 19 common peaks of 10 batches of Chebulae Fructus

No.	保留时间/min	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	RSD/%
1	5.319	851856	892 793	1 361 484	684 256	1 370 290	1 232 899	1 063 432	1 186 391	660 215	894 722	26
2	7.124	60789	55 357	102 434	34 818	127 549	98 671	91 303	40 424	125 884	46 783	45
3	8.767	1 079 688	340 188	961 265	1 178 818	1 630 816	587 308	526 077	1 157 895	920 532	446 233	46
4	10.230	227 250	230 412	247 088	290 208	456 550	357 440	321 527	877 120	201 514	379 368	55
5	14.716	1 223 043	1 433 899	2 363 503	666 447	1 989 924	2 137 443	1 859 363	1 561 571	329 490	2 563 899	45
6	17.148	261 458	167 180	220 452	182 111	222 600	214 435	189 351	277 364	250 653	165 356	18
7	20.211	1 636 940	2 166 213	3 257 991	1 125 654	2 881 024	3 098 233	2 674 353	2 354 859	460 198	3 435 809	42
8	23.755	56 424	69 719	57 134	64 801	38 953	44 808	179 523	160 436	10 282	342 172	97
9	28.157	246 740	608 848	863 302	182 127	549 996	722 407	685 272	595 201	93 771	795 858	50
10	40.817	1 133 988	1 027 287	1 362 262	585 650	863 600	1 368 438	1 177 390	681 792	465 015	936 493	33
11	42.160	1 287 219	1 314 716	2 357 659	688 179	1 624 606	2 098 311	1 997 829	1 847 679	1 034 992	1 610 729	32
12	44.248	1 288 131	201 807	353 094	888 249	330 561	228 288	273 548	525 197	294 668	101 650	82
13	61.853	962 504	397 831	723 516	548 528	750 192	560 755	667 300	1 002 575	76 791	473 050	44
14	63.372	6 221 510	6 198 095	8 497 201	2 876 886	5 966 594	7 995 521	8 177 854	5 945 607	863 316	6 187 098	40
15	65.706	745 490	279 447	860 694	113 370	350 213	406 474	519 152	329 856	49 787	571 160	61
16	66.373	726 080	166 519	230 585	455 171	224 980	118 194	227 438	336 305	18 281	160 001	75
17	73.160	1 084 104	667 339	1 212 203	571 680	538 515	857 051	1 698 476	2 314 624	25 219	663 572	68
18	77.505	8 126 602	1 597 134	2 362 659	4 973 654	2 108 143	1 235 912	3 001 682	5 013 944	80 089	1 314 955	81
19	79.998	3 312 221	1 622 029	2 677 541	2 390 613	2 394 343	2 049 783	2 303 063	2 374 261	1 716 901	1 850 618	22

2.5 含量测定方法学考察

2.5.1 线性关系考察 精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液，用色谱甲醇稀释为 1, 4, 8, 16, 32 倍，摇匀，按“2.1”项下色谱条件进样，测定峰面积。以峰面积为 Y 轴，对照品浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)为 X 轴绘制标准曲线，没食子酸线性回归方程 $Y=32\ 117X-12\ 223$ ，线性相关系数 $r=1$ ；没食子酸甲酯线性回归方程 $Y=30\ 924X-1\ 527$ ，线性相关系数 $r=0.999\ 2$ ；柯里拉京线性回归方程 $Y=11\ 882X-191\ 354$ ， $r=0.999\ 2$ ；诃子酸线性回归方程 $Y=36\ 472X-75\ 930$ ，线性相关系数 $r=0.999\ 9$ 。此结果表明没食子酸在 5.625~180 μg ，没食子酸甲酯在 2~68 μg ，柯里拉京在 25~800 μg ，诃子酸 5.718~183 μg 范围内呈良好线性关系。

2.5.2 仪器精密度试验 取 S5 药材约 0.1 g，精密称定，按“2.3”项下的方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次，测得没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京和诃子酸的峰面积，RSD 分别为 1.21%，2.13%，1.67%，0.60%，结果表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性试验 取 S5 药材约 0.1 g，精密称定，按“2.3”项下的方法制备供试品溶液 6 份，按“2.1”项下色谱条件进样，测得没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京和诃子酸的峰面积，分别

计算含量，RSD 分别为 0.92%，2.22%，1.81%，1.82%，结果表明该方法重复性良好。

2.5.4 稳定性试验 取 S5 药材约 0.1 g，精密称定，按“2.3”项下的方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样，分别测定样品在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 的峰面积，测得没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京和诃子酸含量，RSD 分别为 0.54%，0.18%，0.98%，1.08%，结果表明供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

2.5.5 加样回收率 取已测定含量的 S5 药材 6 份，每份取约 0.1 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，分别按照样品与对照品比例为 1 : 0.5, 1 : 1 和 1 : 1.5 加入浓度分别为 1.244, 0.028, 1.728, 1.637 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京和诃子酸混合对照品溶液，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样，根据峰面积计算加样回收率，测定没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京和诃子酸的平均加样回收率分别为 97.92%，98.24%，100.35%，101.82%，RSD 分别为 2.32%，1.98%，2.19%，1.87%，证明方法回收率好。

2.6 4 种活性成分含量测定

取 10 批诃子药材粉末，按“2.3”项下的方法分别制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进

行测定, 建立诃子的指纹图谱及对照指纹图谱, 共标定 19 个共有峰, 与对照品比对可知, 3 号峰为没食子酸, 8 号峰为没食子酸甲酯, 10 号峰为柯里拉京, 19 号峰为诃子酸。采集 4 种活性成分色谱数据, 结合回归方程计算含量, 结果见表 3。

10 种不同批次诃子中的不同成分含量排序(前 5 位): 没食子酸 S5>S4>S8>S1>S3, 没食子酸甲酯 S10>S7>S8>S2>S4, 柯里拉京 S6>S3>S7>S1>S2, 诃子酸 S1>S3>S5>S4>S8。

表 3 10 批次诃子中没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京及诃子酸含量

Tab. 3 Components of gallic acid, methyl gallate, corilagin and chebulinic acid in 10 batches of Chebulae Fructus

mg·g ⁻¹				
序号	没食子酸	没食子酸甲酯	柯里拉京	诃子酸
S1	8.499 5	0.468 5	27.885 5	23.224 3
S2	2.743 2	0.576 0	25.640 5	11.638 8
S3	7.577 7	0.474 2	32.688 4	18.873 9
S4	9.272 2	0.536 2	16.348 3	16.907 1
S5	12.789 5	0.327 3	22.196 5	16.932 7
S6	4.666 8	0.374 6	32.818 4	14.570 8
S7	4.190 2	1.463 7	28.798 7	16.307 0
S8	9.108 2	1.309 4	18.371 2	16.795 0
S9	7.260 6	0.095 5	13.810 2	12.289 1
S10	3.568 6	2.778 6	23.730 2	13.205 7

2.7 灰色关联度分析

2.7.1 原始数据规格化处理 基于 19 个成分含量测定结果, 建立不同批次诃子质量灰色模式识别数据集, 由于其量纲不统一, 对原始数据进行规格化处理。设有 n 个样品, 每个样本有 m 项评价指标, 组成评价单元序列, 本实验按照式(1)对不同批次诃子数据进行规格化处理。

$$Y_{ik} = \frac{X_{ik}}{X_k} \quad (1)$$

式中, Y_{ik} 为规格化处理后的数据, X_{ik} 为原始

数据, X_k 为 n 个样品第 k 个指标的均值。

2.7.2 参考序列的选择 采用灰色关联度进行评价时, 需要考虑最优参考序列和最差参考序列。最优参考序列为 $\{X_{sk}\}(k=1, 2, 3, \dots, m)$, 是 n 个样品对应指标的最大值; 最差参考序列为 $\{X_{tk}\}(k=1, 2, 3, \dots, m)$, 是 n 个样品对应指标的最小值。

2.7.3 关联度计算 最优参考序列, 关联系数:

$$\zeta_{k(s)}^i = \frac{\Delta_{\min} + \rho\Delta_{\max}}{|Y_{ik} - Y_{sk}| + \rho\Delta_{\max}} \quad (2)$$

式中, $\Delta_{\min} = \min |Y_{ik} - Y_{sk}|$, $\Delta_{\max} = \max |Y_{ik} - Y_{sk}|$, 为各个成分对应的 Y_{ik} 的最大值, ρ 为分辨系数, 通常取值 0.5。

最差参考序列, 关联系数:

$$\zeta_{k(t)}^i = \frac{\Delta'_{\min} + \rho\Delta'_{\max}}{|Y_{ik} - Y_{tk}| + \rho\Delta'_{\max}} \quad (3)$$

式中, $\Delta'_{\min} = \min |Y_{ik} - Y_{tk}|$, $\Delta'_{\max} = \max |Y_{ik} - Y_{tk}|$, Y_{tk} 为各个成分对应的 Y_{ik} 的最小值, ρ 为分辨系数, 通常取值 0.5。

最优参考序列, 关联度:

$$r_{i(s)} = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m \zeta_{k(s)}^i \quad (4)$$

最差参考序列, 关联度:

$$r_{i(t)} = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m \zeta_{k(t)}^i \quad (5)$$

相关关联度:

$$r_i = \frac{r_{i(s)}}{r_{i(s)} + r_{i(t)}} \quad (6)$$

计算各样品的相对关联度, 并且按 r_i 大小排序, 排序结果见表 4~5。

表 4 10 批次诃子 19 个共有峰面积相对关联度排序结果

Tab. 4 Sorting results of relative correlation of 19 peak areas of 10 batches of Chebulae Fructus

项目	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
r_i	0.555 6	0.388 3	0.587 6	0.377 4	0.529 0	0.509 1	0.516 3	0.562 4	0.312 6	0.472 0
排序	3	8	1	9	4	6	5	2	10	7

表 5 没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京、诃子酸相对关联度排序结果

Tab. 5 Sorting results of relative correlation between gallic acid, methyl gallate, corilagin and chebulinic acid

项目	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
r_i	0.563 8	0.336 7	0.538 7	0.419 5	0.507 2	0.456 6	0.478 7	0.470 0	0.303 0	0.474 6
排序	1	9	2	8	3	7	4	6	10	5

2.7.4 结果分析 r 越大,表明评价单元序列与最优参考序列间的关联程度愈大,评价单元越佳,质量愈好。由灰色关联度分析法计算可以得出以下结论:通过诃子指纹图谱 19 个共有峰的灰色关联度分析,诃子的药用价值前 5 名是 $S3>S8>S1>S5>S6$;而通过主要成分的灰色关联度分析,诃子的药用价值前 5 名是 $S1>S3>S5>S7>S10$ 。

3 讨论

本实验样品来源范围集中在诃子道地产地—云南、广西、广东,不同产地诃子药材因地理条件及气候等差异,指纹图谱相似度也有差异。本研究通过灰色关联度分别分析 10 批次诃子的 HPLC 指纹图谱和主要成分的含量,结果表明 2 种灰色关联度结果能够相互印证,同时,4 种指标成分的排序结果与灰色关联度筛选结果也相互印证,但由于考察成分的数量不同,略有差异,其中 S1(广东)、S3(广东)、S5(云南)综合质量排序靠前,综合质量较好;比较 3 个批次的广东诃子与 6 个批次的云南诃子,广东产的诃子综合质量较好,不同产地药材中成分存在含量差异,与产地的环境因素、采收期、处理、储藏方式等有着密切的关系;比较 6 个批次云南产诃子,结果表明同一产地的诃子也存在差异,其内在品质优劣不同,原因可能是局部地区生态环境的差异,也可能是采收期的不同造成的;目前,诃子与绒毛诃子 2 种作物虽然作为同一种药物使用,但是从药材果实外表观察,其质地、性状大不相同^[12]。9 个不同批次的诃子与 S9 绒毛诃子比较,指纹图谱与灰色关联度分析结果均表明绒毛诃子在 10 批药材中综合质量最差,其没食子酸、没食子酸甲酯、柯里拉京及诃子酸含量排名均靠后,与文献研究结果一致^[13]。因此有必要采用灰色关联度分析法和 HPLC 指纹图谱法及主要成分评价药材。由于本研究中样本数量较少,在后续研究中还需增加采集地区与样品批次,进一步完善诃子资源鉴别研究,为药材质量鉴别研究提供研究参考。

灰色关联度分析法利用各指标相对最优值作为参考序列,为最终综合评价等级提供依据,采用灰色关联度对指纹图谱 19 个共有峰进行量化分析,能够直观、全面地综合评价诃子资源,

与指纹图谱模糊性的特点相互补充;灰色关联度分析法分析主要成分评价药材质量,可以仅对诃子药材中主要成分进行选择分析,具有对数据要求较低,样本量要求较少的优点,具有减少工作量、省时省力的优点。因此有必要采用灰色关联度分析法和 HPLC 指纹图谱法及主要成分评价药材。

REFERENCES

- [1] 王建业. 诃子成分的分离鉴定及两种分离方法的比较研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2017.
- [2] 毛鑫, 夏青, 孙雪飞, 等. 诃子的现代研究概况及应用前景分析[C]. 中华中医药学会中药化学分会第九届学术年会. 2014: 229-235.
- [3] 张媛媛, 曾慧婷, 袁源见, 等. 藏药诃子的化学成分与药理活性研究进展[J]. 中国药房, 2018, 29(14): 2002-2006.
- [4] 陈琨, 吴昊, 樊焯婷, 等. 蒙药诃子抗炎镇痛、抗肿瘤研究概述[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(39): 170.
- [5] CHEN J L, TAN M X, ZOU L S, et al. Simultaneous determination of multiple bioactive constituents in *Panacis Japonici Rhizoma* processed by different methods and grey relational analysis [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2018, 43(21): 4274-4282.
- [6] FENG Y, ZHEN Y Q, TIAN W, et al. Study on the quality of *Chuanxiong Rhizoma* based on UPLC fingerprint and stoichiometry [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2019, 36(23): 2903-2908.
- [7] ZHANG H L, CHEN K, PEI Y H, et al. Research on the chemical constituents of *Terminalia chebula* Retz. [J]. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), 2001, 18(6): 417-418.
- [8] DING G, LIU Y Z, SONG M P, et al. Polyphenols from *Terminalia chebula* [J]. *J China Pharm Univ*(中国药科大学学报), 2001, 32(3): 193-196.
- [9] LIN T C, NONAKA G I, NISHIOKA I, et al. Tannins and related compounds. CII. Structures of terchebulin, an ellagitannin having a novel tetraphenylcarboxylic acid (terchebulic acid) moiety, and biogenetically related tannins from *Terminalia chebula* Retz. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1990, 38(11): 3004-3008.
- [10] LEE H S, JUNG S H, YUN B S, et al. Isolation of chebulic acid from *Terminalia chebula* Retz. and its antioxidant effect in isolated rat hepatocytes [J]. *Arch Toxicol*, 2007, 81(3): 211-218.
- [11] ZHAN L L. Study on fingerprint and multi-components determination of Niu Huang Qinggan capsules by HPLC [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2020, 37(1): 45-49.
- [12] LIU S, ZHANG X F, MIAO X, et al. Study on compatibility proportion of Mongolian medicine "*Terminalia chebula* decomposing poison of *Aconitum kusnezoffii*" [J]. *China Pharm*(中国药房), 2019, 30(11): 1519-1524.
- [13] LI X D, GU X Z, XIAO B Y, et al. Quality evaluation and comparative study of *Terminalia chebula* Retz. and *T. chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*(中国实验方剂学杂志), 2010, 16(17): 48-52.

收稿日期: 2019-10-14

(本文责编: 沈倩)