

## 基于灰色关联度法评价半枝莲药材等级规格内涵

路丽<sup>1</sup>, 张洪坤<sup>1,2\*</sup>, 黄玉瑶<sup>1</sup>, 郭长达<sup>1</sup>, 高贯彪<sup>1</sup>, 郝建新<sup>3</sup> (1. 亳州市沪谯药业有限公司, 安徽亳州 236800; 2. 四川豪运药业股份有限公司, 四川广元 628017; 3. 广州市和一医疗科技有限公司, 广东广州 510970)

**摘要** [目的]研究不同产地不同等级半枝莲药材中有效成分的质量情况,首次结合灰色关联度法综合评价半枝莲药材等级规格内涵。[方法]采用高效液相色谱法测定不同产地不同等级半枝莲药材样品中野黄芩苷含量,紫外-可见分光光度法测定总黄酮含量,同时以水溶性浸出物、醇溶性浸出物、叶占比作为评价指标,采用相关性分析等级与有效成分的关联性,并结合灰色关联度法综合评价半枝莲药材等级规格内涵。[结果]叶占比、水溶性和醇溶性浸出物、野黄芩苷、总黄酮与等级均呈不同程度的正相关( $P < 0.05$ ),而总灰分与等级呈显著负相关( $P < 0.01$ ),进而说明等级越高质量越好。一等半枝莲的相对关联度除了安徽 A-1 的为 0.366,其余为 0.417~0.710,统货的相对关联度除了基地 A-2 和湖南 A-2 的相对关联度在 0.400 以上,其余为 0.300~0.386,总体显示一等半枝莲的排名基本靠前。同产地的一等半枝莲的相对关联度均高于统货,整体显示一等半枝莲药材质量优于统货,表明等级越高的内在质量越好。[结论]首次建立了评价半枝莲药材等级规格质量的模型,诠释了半枝莲等级越高内在质量越好的内涵,为半枝莲药材等级内涵的评价提供一种新的评价方法。

**关键词** 半枝莲;灰色关联度法;等级规格;相对关联度;野黄芩苷;总黄酮;叶占比

中图分类号 R 282.5 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2023)11-0132-06

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2023.11.033

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



### Evaluation of the Connotation of Grades and Specifications of *Scutellaria barbata* Based on the Grey Relational Degree Method

LU Li<sup>1</sup>, ZHANG Hong-kun<sup>1,2</sup>, HUANG Yu-yao<sup>1</sup> et al (1. Bozhou Huqiao Pharmaceutical Co., Ltd., Bozhou, Anhui 236800; 2. Sichuan Haoyun Pharmaceutical Co., Ltd., Guangyuan, Sichuan 628017)

**Abstract** [Objective] To study the quality of effective components in *Scutellaria barbata* from different producing areas and different grades, and to comprehensively evaluate the connotation of grade specification of *Scutellaria barbata* in combination with the grey correlation method for the first time. [Method] The scutellarin content in *Scutellaria barbata* samples of different grades from different producing areas was determined by high performance liquid chromatography, and the content of total flavonoids was determined by UV-vis spectrophotometry. At the same time, the content of water-soluble extract, alcohol soluble extract and leaf proportion were used as evaluation indicators, the correlation between grades and active ingredients was analyzed by correlation, and the connotation of grades and specifications of *Scutellaria barbata* was comprehensively evaluated in combination with the grey correlation method. [Result] Leaf proportion, water-soluble and alcohol-soluble extracts, scutellarin and total flavonoids were positively correlated with grade ( $P < 0.05$ ), while total ash was significantly negatively correlated with grade ( $P < 0.01$ ), further indicating that the higher the level, the better the quality. The relative correlation degree of first-class *Scutellaria barbata* was 0.417~0.710 except for Anhui A-1, which was 0.366. The relative correlation degree of unified goods was 0.300~0.386 except that the relative correlation degree of base A-2 and Hunan A-2 was above 0.40. The relative correlation degree of the first-class *Scutellaria barbata* of the same origin was higher than that of the standard products, and the overall quality of the first-class *Scutellaria barbata* was better than that of the standard products, indicating that the higher the level, the better the internal quality. [Conclusion] For the first time, a model for evaluating the grade specification quality of *Scutellaria barbata* was established, which explained the connotation that the higher the grade of *Scutellaria barbata* was, the better the quality was, and provided a new method for the evaluation of the grade connotation of *Scutellaria barbata*.

**Key words** *Scutellaria barbata*; Grey correlation degree method; Grade specification; Relative correlation degree; Scutellarin; Total flavonoids; Leaf proportion

半枝莲为唇形科植物半枝莲(*Scutellaria barbata* D. Don)的干燥全草<sup>[1]</sup>,夏季、秋季茎叶茂盛时采挖,味辛、苦、寒,归肺、肝、肾经,具有清热解毒、化瘀利尿的功能。近代药理学研究表明半枝莲具有抗肿瘤、抗病原、抑菌、解热、保肝等活性,临床用于治疗各种癌症、肝炎、疔疮肿毒、咽喉肿痛、跌扑伤痛、水肿、黄疸、毒蛇咬伤等病,疗效确切<sup>[2-6]</sup>。

半枝莲的商品规格等级历来研究较少,市面上也无等级划分标准,仅有部分文献记载。其中半枝莲的规格质量要求是:统货,足干,常缠结成团,茎细,方柱形,暗紫色或棕色;叶片皱缩,暗绿或灰绿色;气微,味微苦;无杂质,无泥沙,无枯死草,无霉坏<sup>[7]</sup>。半枝莲商品均为统货,不分等级。但以身

干、茎叶色绿、根黄、洗净泥沙杂质、味苦者为佳<sup>[8]</sup>;据康美中药网显示,半枝莲商品以头茬、二茬和统货 3 个规格进行销售;据中药材天地网显示,半枝莲药材以头茬全草和二茬全草 2 个规格进行销售。该研究首次对半枝莲的等级进行划分并对不同产地不同等级样品的内在质量进行研究,首次结合灰色关联度法综合评价半枝莲药材等级规格内涵,为半枝莲药材等级规格内涵的评价提供一种新的评价方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 仪器。**MS603S 型电子天平( $d = 1$  mg, Mettler Toledo);XS204 型电子天平( $d = 0.1$  mg, Mettler Toledo);MX5 型电子天平( $d = 1$   $\mu$ g, Mettler Toledo);高速多功能粉碎机(RHP-100 型,浙江永康市荣浩工贸有限公司);电子万用炉(DL-1,北京市永光明医疗仪器有限公司);程控式箱式电炉(SXL-1208,上海精宏实验设备有限公司);HWS28/HWS26 型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司);电热套

**基金项目** 安徽省科技重大专项(18030801119);国家中医药管理局中药标准化项目(ZYBZH-Y-AH-03)。

**作者简介** 路丽(1990—),女,安徽滁州人,主管中药师,硕士,从事中药研发及其质量评价研究。\*通信作者,副主任中药师,硕士,从事中药研发与炮制及中药新型制剂研究。

**收稿日期** 2022-07-12

(500 mL, 海宁市新华医疗器械厂); DHG-9245A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); Agilent-1200 型高效液相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司]; TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

**1.1.2 试药。** 甲醇(AR, 170212-2, 西陇科学股份有限公司); 乙醇(AR, 151024-2, 西陇科学股份有限公司); 石油醚(60~90 °C, AR, 20160801-2, 广州化学试剂厂); 醋酸(AR, 20150601-2, 广州化学试剂厂); 甲醇(色谱纯, Merck); 磷酸(色谱纯, 阿拉丁); 野黄芩苷(110842-201508, 中国食品药品检定研究院, 含量以 91.3% 计)。

**1.1.3 样品。** 收集亳州市沪谯药业有限公司的安徽省寿县半枝莲种植基地的半枝莲药材以及其他不同产地的半枝莲药材样品 50 批, 均经亳州市沪谯药业有限公司张洪坤副主任中药师鉴定为唇形科植物半枝莲(*Scutellaria barbata* D. Don)的干燥地上部分。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 叶占比的测定。** 此次研究收集不同产地半枝莲药材共 50 批样品, 将不同产地每批半枝莲分别按不同药用部位进行人工挑选, 记录各批次不同等级规格半枝莲药材中叶占比数据。

**1.2.2 总灰分含量测定。** 按《中国药典》2020 年版一部半枝莲检查项下总灰分测定方法<sup>[1]</sup>(通则 2302)测定半枝莲不同等级规格样品的总灰分含量。

**1.2.3 浸出物含量测定。** 分别对半枝莲不同等级规格样品进行测定其水溶性浸出物和醇溶性浸出物的含量。水溶性浸出物含量按照《中国药典》2020 年版四部通则 2201 项下水溶性浸出物测定法的热浸法测定。醇溶性浸出物含量按照《中国药典》2020 年版四部通则 2201 项下醇溶性浸出物测定法的热浸法测定, 用稀乙醇作溶剂。

**1.2.4 总黄酮含量测定。** 按《中国药典》2020 年版一部半枝

莲【含量测定】项下总黄酮的测定法测定半枝莲不同等级规格样品的总黄酮含量。

**1.2.5 野黄芩苷含量测定。** 按《中国药典》2020 年版一部半枝莲【含量测定】项下野黄芩苷的测定法测定半枝莲不同等级规格样品的野黄芩苷含量。

(1) 色谱条件与系统适用性试验。色谱柱为 YMC HydroSphere C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以甲醇-水-醋酸(35:61:4)为流动相; 检测波长为 335 nm。理论板数按野黄芩苷峰计算应不低于 1 500。

(2) 对照品溶液的制备。取野黄芩苷对照品适量, 精密称定, 加流动相制成每 1 mL 含 80 μg 的溶液, 即得。

(3) 供试品溶液的制备。取本品粉末(过三号筛)约 1 g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加石油醚(60~90 °C)提取至无色, 弃去醚液, 药渣挥去石油醚, 加甲醇继续提取至无色, 转移至 100 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 精密量取 25 mL, 蒸干, 残渣用 20% 甲醇溶解, 转移至 25 mL 容量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

(4) 含量测定。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

## 2 结果与分析

**2.1 半枝莲药材不同等级样品的各指标测定** 不同产地样品主要依据茎表面颜色和叶占比分为一等和统货, 其中茎表面棕绿色少有暗紫色, 叶多者为一等; 茎表面暗紫色或棕绿色, 叶不限者为统货。半枝莲不同等级样品的叶占比、总灰分、水溶性浸出物、醇溶性浸出物、总黄酮、野黄芩苷各项指标测定结果见表 1。由表 1 可知, 一等半枝莲药材在叶占比、水溶性浸出物和醇溶性浸出物含量、野黄芩苷和总黄酮含量的平均值均高于统货规格, 一等的总灰分含量均值低于统货, 整体表现出一等半枝莲药材质量优于统货。

表 1 半枝莲药材不同等级样品的各指标测定结果

Table 1 Measurement results of various indicators of different grades of samples of *Scutellaria barbata*

单位: %

样品 Sample	等级 Grade	叶占比 Leaf proportion	总灰分 Total ash	水溶性浸出物 Water-soluble extract	醇溶性浸出物 Alcohol soluble extract	野黄芩苷 Scutellarin	总黄酮 Total flavonoids
基地 A-1 Base A-1	一等	23.3	6.0	28.3	28.1	0.95	3.75
基地 B-1 Base B-1	一等	22.3	6.2	26.2	27.8	1.11	3.57
基地 C-1 Base C-1	一等	25.7	6.1	28.8	29.0	1.03	3.78
基地 D-1 Base D-1	一等	25.8	6.1	27.9	29.3	1.13	3.81
基地 E-1 Base E-1	一等	26.2	6.3	27.9	29.2	0.99	3.63
安徽 A-1 Anhui A-1	一等	17.2	6.4	20.1	20.8	0.51	1.95
安徽 B-1 Anhui B-1	一等	22.2	8.0	29.6	19.8	0.49	1.90
贵州 A-1 Guizhou A-1	一等	25.6	7.8	22.2	22.1	0.47	1.98
贵州 B-1 Guizhou B-1	一等	19.2	8.0	22.8	22.3	0.50	1.88
贵州 C-1 Guizhou C-1	一等	22.9	8.1	22.7	23.6	0.42	1.86
湖北 A-1 Hubei A-1	一等	19.5	6.2	25.8	27.1	0.52	2.23
湖北 B-1 Hubei B-1	一等	18.3	6.3	27.1	28.3	0.54	2.28
湖北 C-1 Hubei C-1	一等	17.2	6.3	26.3	27.2	0.51	2.30
四川 A-1 Sichuan A-1	一等	19.7	6.0	23.5	26.2	0.55	2.32

接下表

续表 1

样品 Sample	等级 Grade	叶占比 Leaf proportion	总灰分 Total ash	水溶性浸出物 Water-soluble extract	醇溶性浸出物 Alcohol soluble extract	野黄芩苷 Scutellarin	总黄酮 Total flavonoids
四川 B-1 Sichuan B-1	一等	22.7	6.1	24.6	25.6	0.43	2.21
四川 C-1 Sichuan C-1	一等	16.2	6.2	24.9	25.8	0.52	2.26
山东 A-1 Shandong A-1	一等	23.1	6.6	22.4	23.5	0.42	1.87
山东 B-1 Shandong B-1	一等	18.4	6.4	22.7	24.2	0.51	1.85
山东 C-1 Shandong C-1	一等	23.7	6.5	22.2	23.9	0.52	1.88
湖南 A-1 Hunan A-1	一等	22.7	6.3	28.5	31.0	0.48	2.79
湖南 B-1 Hunan B-1	一等	23.8	6.1	30.4	32.1	0.42	2.84
湖南 C-1 Hunan C-1	一等	24.6	6.1	28.8	31.3	0.46	2.92
河南 A-1 Henan A-1	一等	17.5	6.2	21.8	23.3	0.48	2.26
河南 B-1 Henan B-1	一等	18.7	6.1	19.2	21.3	0.42	2.30
河南 C-1 Henan C-1	一等	19.8	6.4	24.6	26.6	0.63	2.84
平均值 Mean		21.5	6.5	25.2	26.0	0.60	2.53
基地 A-2 Base A-2	统货	20.0	6.6	26.0	26.3	0.93	3.20
基地 B-2 Base B-2	统货	19.4	6.6	26.3	26.8	0.97	3.14
基地 C-2 Base C-2	统货	26.5	6.6	26.2	26.5	1.01	3.30
基地 D-2 Base D-2	统货	19.5	6.5	25.7	26.6	0.98	3.33
基地 E-2 Base E-2	统货	24.4	6.6	25.6	26.1	1.00	3.22
安徽 A-2 Anhui A-2	统货	19.6	6.7	18.6	19.2	0.37	1.76
安徽 B-2 Anhui B-2	统货	20.0	8.5	17.9	18.3	0.38	1.73
贵州 A-2 Guizhou A-2	统货	22.3	8.0	20.2	20.6	0.30	1.67
贵州 B-2 Guizhou B-2	统货	21.9	8.1	20.4	20.9	0.34	1.58
贵州 C-2 Guizhou C-2	统货	26.8	8.3	19.8	20.6	0.29	1.57
湖北 A-2 Hubei A-2	统货	13.4	6.5	22.2	24.6	0.35	1.93
湖北 B-2 Hubei B-2	统货	14.1	6.6	22.6	24.6	0.36	1.93
湖北 C-2 Hubei C-2	统货	13.9	6.7	23.4	24.7	0.35	1.92
四川 A-2 Sichuan A-2	统货	17.2	6.5	20.9	23.0	0.44	2.02
四川 B-2 Sichuan B-2	统货	18.1	6.6	21.2	23.1	0.41	1.98
四川 C-2 Sichuan C-2	统货	15.4	6.5	21.4	22.9	0.41	1.95
山东 A-2 Shandong A-2	统货	19.8	7.0	19.7	21.7	0.37	1.46
山东 B-2 Shandong B-2	统货	20.9	6.8	20.4	21.9	0.35	1.45
山东 C-2 Shandong C-2	统货	18.6	7.0	19.6	21.7	0.35	1.45
湖南 A-2 Hunan A-2	统货	17.6	6.7	26.8	29.8	0.30	2.44
湖南 B-2 Hunan B-2	统货	19.2	6.5	27.2	29.9	0.29	2.52
湖南 C-2 Hunan C-2	统货	21.4	6.6	26.9	29.7	0.32	2.51
河南 A-2 Henan A-2	统货	12.6	6.7	19.9	21.1	0.35	1.81
河南 B-2 Henan B-2	统货	16.2	6.5	17.4	19.0	0.30	1.82
河南 C-2 Henan C-2	统货	11.3	6.9	21.8	24.5	0.60	2.44
平均值 Mean		18.8	6.9	22.3	23.8	0.48	2.17

**2.2 半枝莲药材不同等级样品各指标测定结果的正态分布及相关性分析** 将 50 批半枝莲样品的叶占比、总灰分、水溶性浸出物、醇溶性浸出物、总黄酮、野黄芩苷各项指标测定结果输入 IBM SPSS Statistics 22 软件,利用正态分布曲线图进行辅助分析,并对各项指标与等级之间进行相关性分析,其中符合正态分布的指标采用 Pearson 相关分析,不符合正态分布的指标采用 Spearman 相关分析。各项指标的正态分布曲线图见图 1,相关性分析结果见表 2。

从各指标正态分布曲线图(图 1)和相关性分析结果(表 2)可以看出,叶占比、水溶性浸出物和醇溶性浸出物数据符合正态分布,采用 Pearson 相关性分析相应指标与等级之间

的关联性;总灰分、野黄芩苷和总黄酮数据不符合正态分布,采用 Spearman 相关性分析相应指标与等级之间的关联性。

各项指标与半枝莲药材等级的相关性分析结果(表 2)显示,叶占比、水溶性浸出物、醇溶性浸出物、野黄芩苷和总黄酮与等级均呈不同程度的正相关,表明等级越高相关指标含量也越高,其中野黄芩苷和水溶性浸出物与等级呈中等程度的正相关,相关系数分别为 0.506 和 0.422,叶占比、醇溶性浸出物和总黄酮与等级呈弱的正相关,相关系数分别为 0.353、0.316、0.301。而总灰分与等级呈中等程度的负相关,相关系数为-0.595,即等级越高总灰分含量越低。

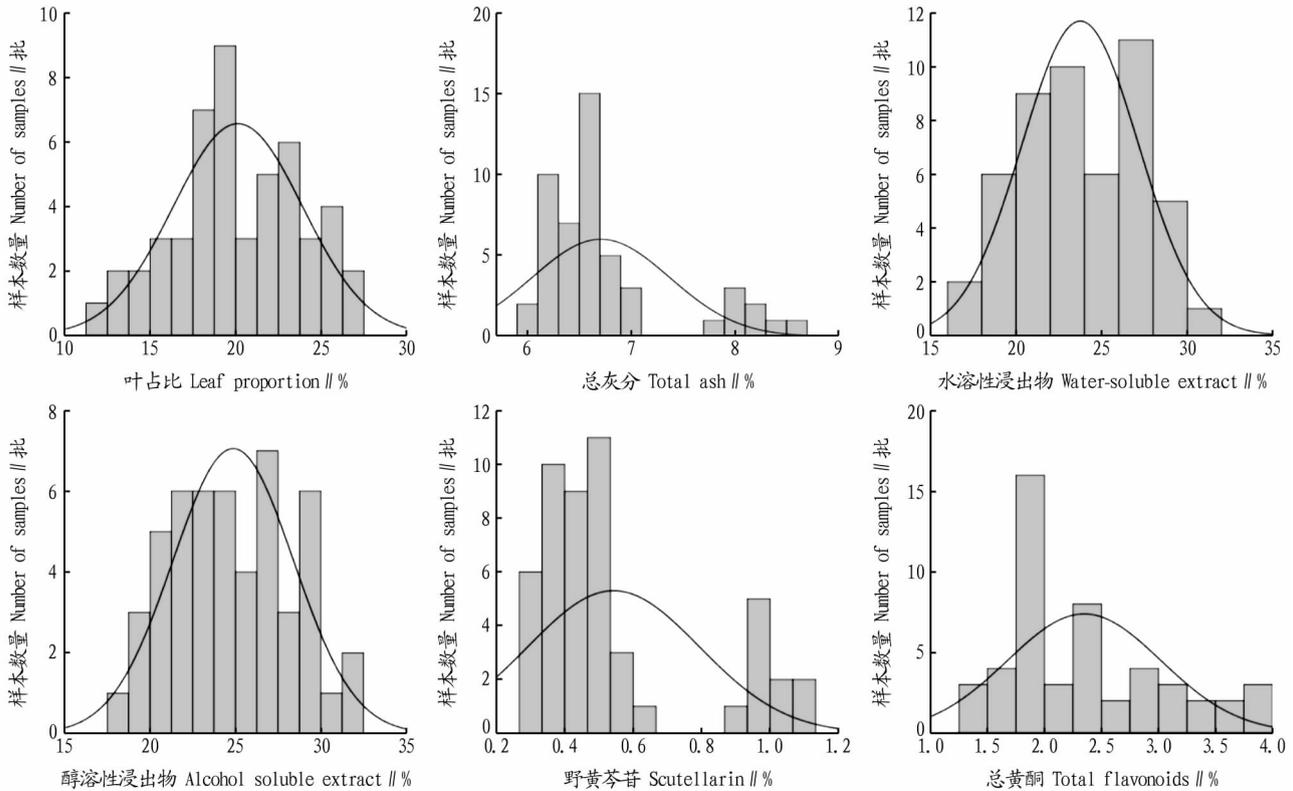


图1 各指标正态分布曲线

Fig.1 Normal distribution curve of each index

表2 正态分布和相关性分析结果

Table 2 Normal distribution and correlation analysis results

指标 Index	有效样本 数量 Number of valid samples	偏斜度 Skewness	偏斜度 标准误差 Deviation standard error	峰度 Kurtosis	峰度 标准误差 Kurtosis standard error	偏度 Z-score Skewness Z-score	峰度 Z-score Kurtosis Z-score	是否符合 正态分布 Whether it conforms to normal distribution	Pearson 相关系数 Pearson correlation coefficient	Spearman 相关系数 Spearman correlation coefficient	显著性 (双尾) Signi- ficance (double tailed)
叶占比 Leaf proportion	50	-0.208	0.337	-0.418	0.662	-0.617	-0.631	是	0.353	—	0.012
总灰分 Total ash	50	1.449	0.337	1.041	0.662	4.305	1.572	否	—	-0.595	0.000
水溶性浸出物 Water-soluble extract	50	0.075	0.337	-1.078	0.662	0.221	-1.628	是	0.422	—	0.002
醇溶性浸出物 Alcohol soluble extract	50	0.137	0.337	-0.858	0.662	0.407	-1.296	是	0.316	—	0.025
野黄芩苷 Scutellarin	50	1.227	0.337	0.109	0.662	3.644	0.165	否	—	0.506	0.000
总黄酮 Total flavonoids	50	0.802	0.337	-0.435	0.662	2.381	-0.657	否	—	0.301	0.034

## 2.3 灰色关联度分析

**2.3.1 样品数据集建立。**该研究以半枝莲的5种测定指标(叶占比、水溶性浸出物、醇溶性浸出物、野黄芩苷和总黄酮),每个产地各选择一批一等和统货样品建立半枝莲等级规格质量的灰色模式识别数据集,数据集样品包括每个产地的A-1和A-2样品,共16批。

**2.3.2 原始数据规格化处理。**设有 $n$ 个研究样品,每个样品有 $m$ 项评价指标,则组成评价单元序列,记为 $\{X_{ik}\}$ ( $i=1, 2, \dots, n; k=1, 2, \dots, m$ ;该研究中 $n=16, m=5$ )。由于评价指标之间存在测度单位不统一的问题,需对其进行变换处理<sup>[9-10]</sup>。以均值化变换最为常用,见公式(1),结果见表3。

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

式中, $Y_{ik}$ 为规格化处理数据, $X_{ik}$ 为原始数据, $X_k$ 为第 $n$ 个药材样品的第 $k$ 个指标的均值。

**2.3.3 关联度计算。**用灰色关联度作为评价测度时,应选择参考序列,一般应确定最优参考序列和最差参考序列。将最优参考序列的各项指标对应 $n$ 个样品各指标的最大值,记为 $\{X_{ik}^* = \max(1 \leq i \leq n) \{X_{ik}\}$ ,最差参考序列的各项指标对应 $n$ 个样品各指标的最小值,记为 $\{X_{ik}^- = \min(1 \leq i \leq n) \{X_{ik}\}$ 。分别按公式(2)和公式(3)计算相对于最优参考序列和最差参考序列的关联系数,按公式(4)和公式(5)计算各评价单元相对于最优(差)参考序列的关联度,结果见表4~5。

最优参考序列的关联系数:

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

式中,  $\Delta'_{\min} = \min |Y_{ik} - Y_{tk}|$ ;  $\Delta'_{\max} = \max |Y_{ik} - Y_{tk}|$ ;  $i = 1, 2, \dots, n$ ;  $k = 1, 2, \dots, m$ ;  $\rho$  为分辨系数, 一般取值 0.5。

式中,  $\Delta_{\min} = \min |Y_{ik} - Y_{sk}|$ ;  $\Delta_{\max} = \max |Y_{ik} - Y_{sk}|$ ;  $i = 1, 2, \dots, n$ ;  $k = 1, 2, \dots, m$ 。

最差参考序列的关联系数:

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

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

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

表 3 原始数据规格化处理

Table 3 Normalization processing of original data

样品 Sample	叶占比 Leaf proportion	水溶性浸出物 Water-soluble extract	醇溶性浸出物 Alcohol soluble extract	野黄芩苷 Scutellarin	总黄酮 Total flavonoids
基地 A-1 Base A-1	1.198	1.234	1.158	1.951	1.693
安徽 A-1 Anhui A-1	0.885	0.877	0.857	1.047	0.880
贵州 A-1 Guizhou A-1	1.317	0.968	0.910	0.965	0.894
湖北 A-1 Hubei A-1	1.003	1.125	1.116	1.068	1.007
四川 A-1 Sichuan A-1	1.013	1.025	1.079	1.130	1.047
山东 A-1 Shandong A-1	1.188	0.977	0.968	0.863	0.844
湖南 A-1 Hunan A-1	1.167	1.243	1.277	0.986	1.260
河南 A-1 Henan A-1	0.900	0.951	0.960	0.986	1.020
基地 A-2 Base A-2	1.029	1.134	1.083	1.910	1.445
安徽 A-2 Anhui A-2	1.008	0.811	0.791	0.760	0.795
贵州 A-2 Guizhou A-2	1.147	0.881	0.849	0.616	0.754
湖北 A-2 Hubei A-2	0.689	0.968	1.013	0.719	0.871
四川 A-2 Sichuan A-2	0.885	0.911	0.947	0.904	0.912
山东 A-2 Shandong A-2	1.018	0.859	0.894	0.760	0.659
湖南 A-2 Hunan A-2	0.905	1.169	1.228	0.616	1.102
河南 A-2 Henan A-2	0.648	0.868	0.869	0.719	0.817
最优参考序列 Optimal reference sequence	1.317	1.243	1.277	1.951	1.693
最差参考序列 Worst reference sequence	0.648	0.811	0.791	0.616	0.659

表 4 评价单元序列相对于最优参考序列的关联系数与关联度

Table 4 Correlation coefficient and degree of evaluation unit sequence relative to the optimal reference sequence

样品 Sample	关联系数 Correlation coefficient					关联度 Correlation degree
	叶占比 Leaf proportion	水溶性浸出物 Water-soluble extract	醇溶性浸出物 Alcohol soluble extract	野黄芩苷 Scutellarin	总黄酮 Total flavonoids	
基地 A-1 Base A-1	0.739	0.961	0.670	1.000	1.000	0.874
安徽 A-1 Anhui A-1	0.436	0.371	0.366	0.425	0.389	0.397
贵州 A-1 Guizhou A-1	1.000	0.440	0.399	0.404	0.393	0.527
湖北 A-1 Hubei A-1	0.516	0.647	0.602	0.430	0.430	0.525
四川 A-1 Sichuan A-1	0.524	0.497	0.551	0.448	0.445	0.493
山东 A-1 Shandong A-1	0.722	0.448	0.440	0.380	0.379	0.474
湖南 A-1 Hunan A-1	0.691	1.000	1.000	0.409	0.544	0.729
河南 A-1 Henan A-1	0.445	0.425	0.434	0.409	0.435	0.429
基地 A-2 Base A-2	0.537	0.664	0.557	0.942	0.676	0.675
安徽 A-2 Anhui A-2	0.520	0.333	0.333	0.359	0.365	0.382
贵州 A-2 Guizhou A-2	0.663	0.374	0.362	0.333	0.355	0.417
湖北 A-2 Hubei A-2	0.348	0.440	0.480	0.351	0.386	0.401
四川 A-2 Sichuan A-2	0.436	0.394	0.424	0.389	0.398	0.409
山东 A-2 Shandong A-2	0.528	0.360	0.388	0.359	0.333	0.394
湖南 A-2 Hunan A-2	0.448	0.744	0.831	0.333	0.466	0.565
河南 A-2 Henan A-2	0.333	0.365	0.373	0.351	0.371	0.359

表 5 评价单元序列相对于最差参考序列的关联系数与关联度

Table 5 Correlation coefficient and degree of evaluation unit sequence relative to the worst reference sequence

样品 Sample	关联系数 Correlation coefficient					关联度 Correlation degree
	叶占比 Leaf proportion	水溶性浸出物 Water-soluble extract	醇溶性浸出物 Alcohol soluble extract	野黄芩苷 Scutellarin	总黄酮 Total flavonoids	
基地 A-1 Base A-1	0.378	0.338	0.399	0.333	0.333	0.356
安徽 A-1 Anhui A-1	0.586	0.767	0.787	0.607	0.700	0.689
贵州 A-1 Guizhou A-1	0.333	0.579	0.670	0.657	0.688	0.585
湖北 A-1 Hubei A-1	0.485	0.407	0.428	0.596	0.598	0.503
四川 A-1 Sichuan A-1	0.478	0.503	0.457	0.565	0.571	0.515
山东 A-1 Shandong A-1	0.382	0.566	0.578	0.730	0.736	0.599
湖南 A-1 Hunan A-1	0.392	0.333	0.333	0.644	0.463	0.433
河南 A-1 Henan A-1	0.570	0.607	0.590	0.644	0.589	0.600
基地 A-2 Base A-2	0.468	0.401	0.454	0.340	0.397	0.412
安徽 A-2 Anhui A-2	0.481	1.000	1.000	0.823	0.792	0.819
贵州 A-2 Guizhou A-2	0.401	0.756	0.808	1.000	0.845	0.762
湖北 A-2 Hubei A-2	0.890	0.579	0.522	0.867	0.709	0.713
四川 A-2 Sichuan A-2	0.586	0.683	0.608	0.699	0.672	0.649
山东 A-2 Shandong A-2	0.474	0.818	0.702	0.823	1.000	0.764
湖南 A-2 Hunan A-2	0.565	0.376	0.358	1.000	0.539	0.568
河南 A-2 Henan A-2	1.000	0.792	0.756	0.867	0.766	0.836

**2.3.4 定义并计算相对关联度。**按公式(6)计算各样品的相对关联度  $r_i$ ,并按  $r_i$  大小排序,结果见表 6。最佳评价单元是相对于最优参考序列的关联度  $r_{i(s)}$  最大,而相对于最差参考序列的关联度  $r_{i(t)}$  最小,因此定义评价单元序列同时相对于最优参考序列和最差参考序列的相对关联  $r_i$ ,根据相对关联度  $r_i$  的大小对评价单元序列进行排序,最终得到优劣评价结果<sup>[11]</sup>。

$$r_i = \frac{r_{i(s)}}{r_{i(s)} + r_{i(t)}} \quad (i=1,2,\dots,n) \quad (6)$$

表 6 半枝莲不同产地不同等级样品相对关联度排序

Table 6 Ranking of relative correlation degree of samples from different origins and grades of *Scutellaria barbata*

样品 Sample	等级 Grade	相对关联度 Relative correlation degree	排名 Ranking
基地 A-1 Base A-1	一等	0.710	1
安徽 A-1 Anhui A-1	一等	0.366	11
贵州 A-1 Guizhou A-1	一等	0.474	7
湖北 A-1 Hubei A-1	一等	0.511	4
四川 A-1 Sichuan A-1	一等	0.489	6
山东 A-1 Shandong A-1	一等	0.442	8
湖南 A-1 Hunan A-1	一等	0.627	2
河南 A-1 Henan A-1	一等	0.417	9
基地 A-2 Base A-2	统货	0.621	3
安徽 A-2 Anhui A-2	统货	0.318	15
贵州 A-2 Guizhou A-2	统货	0.354	13
湖北 A-2 Hubei A-2	统货	0.360	12
四川 A-2 Sichuan A-2	统货	0.386	10
山东 A-2 Shandong A-2	统货	0.340	14
湖南 A-2 Hunan A-2	统货	0.499	5
河南 A-2 Henan A-2	统货	0.300	16

排序结果可作为半枝莲药材质量优劣评价的依据。从表 6 可以看出,一等半枝莲的相对关联度除了安徽 A-1 的为 0.366,其余为 0.417~0.710,统货的相对关联度除了基地 A-2 和湖南 A-2 的相对关联度在 0.400 以上,其余为 0.300~0.386,总体显示一等半枝莲的排名基本靠前。此外,同产地的一等的相对关联度均高于统货,整体显示一等半枝莲药材质量优于统货,表明等级越高的内在质量越好。

### 3 结论与讨论

该研究首次进行半枝莲药材的等级规格质量研究,采用相关性分析等级与内在质量的关联性,得出叶占比、水溶性浸出物、醇溶性浸出物、野黄芩苷和总黄酮与等级均呈一定程度的正相关,即等级越高有效成分含量也越高;而总灰分与等级呈负相关,即等级越高总灰分越低,进而也说明等级越高质量越好。并首次结合灰色关联度法综合评价半枝莲药材等级规格内涵,多角度多方面客观评价了不同等级半枝莲药材内在质量,综合评价显示半枝莲药材一等的质量优于统货。

结合课题组前期对半枝莲不同药用部位的研究显示叶子的主要指标成分含量明显高于其他药用部位,其次是全草用药<sup>[12]</sup>,所以为了控制半枝莲药材质量优质,建议对半枝莲选货药材的叶占比进行限度规定,从而保障半枝莲药材的更优质。该研究结果很好地诠释了半枝莲药材等级越高内在质量越好的内涵,为半枝莲药材的等级规格制定提供了参考。

灰色系统作为对模糊系统研究的有效手段已被广泛应用,近些年也被应用于对中药材质量和商品规格质量的评价<sup>[13-17]</sup>。灰色系统是既包含已知信息又包含未知信息的系统;同时灰色关联度模型对数据容量和概率分布没有严格要求,它只要求较少的原始数据,便可充分利用这些已知数据,

相对关联度  $r_i$  越大,表明半枝莲药材的质量评价越高, $r_i$

(下转第 143 页)

于洪佳等<sup>[27]</sup> 研究报道青霉菌和曲霉属具有抗菌、抗癌、抗肿瘤、抗氧化、杀虫、免疫调节等功效。曲霉属和青霉属都有生物碱类、聚酮类、萜类、肽类、固醇类和脑苷脂类等化合物<sup>[28]</sup>。从枝孢霉属的次级代谢产物中分离出甾醇、倍半萜类、生物碱类、二酮哌嗪、芳香酸等化合物<sup>[29]</sup>。篮状菌属的次级代谢产物有萜类、生物碱类、聚酮类、聚酯类、醌类和甾体类,具有抗菌、抗病毒、抗真菌、抗肿瘤活性、生物防治和产生酶活等作用,在食品、环境、农业和医药等方面发挥了重要作用<sup>[30]</sup>。毛壳属真菌代谢产物的主要类型为细胞松弛素类和唑啉酮两大类,包含细胞松弛素、唑啉酮类、二酮哌嗪类、色原酮、萹醌等结构类型,表现出抗微生物、抗氧化、免疫抑制等生物活性,具有抗菌、抗肿瘤、抗病毒等作用<sup>[31]</sup>。

综上所述,该研究对西藏地区不同种杜鹃属植物的不同组织内生真菌进行分离鉴定,发现种间真菌多样性差异不明显,同种植物不同部位内生真菌差异不明显,说明 4 种内生真菌组成相似,且优势属都有曲霉属、白僵菌属和青霉属。该研究结果为下一步内生真菌代谢产物研究提供基础。

## 参考文献

- [1] 中国科学院青藏高原综合考察队. 西藏植物志:第 3 卷[M]. 北京:科学出版社,1983:552-562.
- [2] 伍志辉. 羊蹄躅根(丸)治疗类风湿性关节炎一例探讨[J]. 中国药业,1996,5(9):42-43.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010 年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:210.
- [4] 陈冀胜,郑硕. 中国有毒植物[M]. 北京:科学出版社,1987:216-239.
- [5] STONE J K, BACON C W, WHITE J F, Jr. An overview of endophytic microbes: Endophytism defined[M]//BACON C W, WHITE J. Microbial endophytes. Boca Raton: CRC Press, 2000:3-29.
- [6] SMITH S E, READ D J. Mycorrhizal symbiosis[M]. San Diego: Academic Press, 2008:419-457.
- [7] 郭顺星. 药用植物内生真菌研究现状和发展趋势[J]. 菌物学报, 2018, 37(1):1-13.
- [8] 宁祚,李艳玲,李媛,等. 桃儿七茎叶组织内生真菌多样性[J]. 生态学报, 2017, 37(15):5157-5166.
- [9] 谭小明,周雅琴,陈娟,等. 药用植物内生真菌多样性研究进展[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(18):1563-1580.
- [10] UPSON R, READ D J, NEWSHAM K K. Nitrogen form influences the response of *Deschampsia antarctica* to dark septate root endophytes[J]. Mycorrhiza, 2009, 20(1):1-11.
- [11] 程茂高,乔卿梅,魏志华,等. 中药材仓储害虫及其绿色防控技术研究

进展[J]. 中药材, 2016, 39(8):1917-1921.

- [12] FRANTZESKAKIS L, DI PIETRO A, REP M, et al. Rapid evolution in plant-microbe interactions—a molecular genomics perspective[J]. New Phytol, 2020, 225(3):1134-1142.
- [13] PHILIPPOT L, RAAIJMAKERS J M, LEMANCEAU P, et al. Going back to the roots: The microbial ecology of the rhizosphere[J]. Nat Rev Microbiol, 2013, 11(11):789-799.
- [14] VANDENKOORNHUYSE P, QUAISER A, DUHAMEL M, et al. The importance of the microbiome of the plant holobiont[J]. New Phytol, 2015, 206(4):1196-1206.
- [15] STROBEL G, STIERLE A, STIERLE D, et al. *Taxomyces andreanae*, a proposed new taxon for a bulbiferous hyphomycete associated with Pacific yew (*Taxus brevifolia*) [J]. Mycotaxon (USA), 1993, 47(71):71-80.
- [16] 郭顺星. 药用植物内生真菌生物学[M]. 北京:科学出版社, 2016.
- [17] 张弘弛. 两种药用植物内生真菌次级代谢产物及其生物活性的研究[D]. 西安:陕西科技大学, 2012.
- [18] PIELOU E C. Ecological diversity[M]. New York: John Wiley and Sons Inc., 1975:1-165.
- [19] HATA K, FUTAI K. Endophytic fungi associated with healthypine needles and needles in fested by the pine needle gall midge, *Thecodiplosis japonensis* [J]. Can J Bot, 1995, 73(3):384-390.
- [20] YUAN Z L, ZHANG C L, LIN F C, et al. Identity, diversity, and molecular phylogeny of the endophytic mycobiota in the roots of rare wild rice (*Oryza granulata*) from a nature reserve in Yunnan, China[J]. Appl Environ Microbiol, 2010, 76(5):1642-1652.
- [21] 罗鑫,于存. 贵州马尾松内生真菌多样性[J]. 菌物学报, 2021, 40(3):531-546.
- [22] 顾美英,张志东,唐光木,等. 黑果枸杞不同组织内生真菌群落组成及生态功能分析[J]. 菌物学报, 2022, 41(8):1254-1267.
- [23] BOYLE C, GÖTZ M, DAMMANN-TUGEND U, et al. Endophyte-host interactions III. Local vs. systemic colonization[J]. Symbiosis, 2001, 31(4):259-281.
- [24] 李雪玲. 亮毛杜鹃根际真菌与内生真菌的多样性研究[J]. 楚雄师范学院学报, 2004, 19(3):87-90, 132.
- [25] 熊丹,欧静,李林盼,等. 黔中地区马尾松林下杜鹃根部内生真菌群落组成及其生态功能[J]. 生态学报, 2020, 40(4):1228-1239.
- [26] 龙毅. 三种杜鹃属植物菌根真菌的研究[D]. 贵州:贵州大学, 2008.
- [27] 于洪佳,薛雅馨,洪葵,等. 一株红树林曲霉属 *Aspergillus* sp. WHUF0343 的次级代谢产物研究[J]. 微生物学报, 2022, 62(7):2658-2670.
- [28] 闫慧娇. 两株黄檀内生真菌次级代谢产物研究[D]. 青岛:中国科学院研究生院(海洋研究所), 2010.
- [29] 常俊男,田晓清,樊成奇,等. 两株南极枝孢霉属真菌 *Cladosporium* sp. NJF4 和 NJF6 的次级代谢产物研究[J]. 极地研究, 2020, 32(1):60-67.
- [30] 陈仲巍,林凤娇,陈彬彬,等. 篮状菌属微生物次级代谢产物研究进展[J]. 生物资源, 2022, 44(4):362-369.
- [31] 徐国波,张青艳,周孟. 毛壳属真菌的次级代谢产物及其生物活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(3):515-525.

(上接第 137 页)

去寻找体系中的规律性<sup>[11]</sup>。基于灰色系统以上特点,该研究以相对关联度为测度,建立评价半枝莲药材等级规格质量的模型,为半枝莲药材等级规格内涵的评价提供一种新的评价方法。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2020 年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2020:122.
- [2] 黄雅娜,张铃,林炜. 半枝莲对人结肠癌细胞 SW620 增殖和凋亡的影响[J]. 福建中医药, 2020, 51(2):33-35, 91.
- [3] 田新宇,范翠梅,渠田田,等. 半枝莲总黄酮中 7 种成分的含量测定及抗肿瘤活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1):53-59.
- [4] 王彩虹,尹宁,王柯静,等. 基于 AMPK 通路研究半枝莲多糖对宫颈瘤移植瘤小鼠肿瘤组织血管生成的作用机制[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(2):74-78.
- [5] 郭姗姗,时宇静,高英杰,等. 半枝莲总黄酮抗副流感病毒的作用机制[J]. 药学报, 2009, 44(12):1348-1352.
- [6] 冯德富,李小沙. 复方半枝莲汤联合阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎疗效观察[J]. 实用中医内科杂志, 2010, 24(2):72-73, 76.

- [7] 农训学. 半枝莲采收加工[N]. 民族医药报, 2006-12-22(003).
- [8] 武孔云. 中药材种养关键技术丛书[M]. 南京:江苏科学技术出版社, 2001:295.
- [9] 张洪坤,王其丰,郭长达,等. 不同加工方法牡丹皮中 7 种指标性成分的含量测定及质量评价[J]. 中国药房, 2018, 29(22):3063-3068.
- [10] 张洪坤,路丽,黄玉瑶,等. 牡丹皮不同采收期质量综合评价研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(2):240-247.
- [11] 李少泓,夏鹏飞,马肖,等. 基于灰色关联分析方法评价当归药材质量[J]. 中药材, 2012, 35(11):1742-1746.
- [12] 张洪坤,路丽,黄玉瑶,等. 关于半枝莲质量标准中不同部位占比的研究[J]. 安徽医药, 2022, 26(3):458-462.
- [13] 李硕,李成义,李敏,等. 基于灰色关联分析方法评价商品甘草药材质量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(1):89-94.
- [14] 龚雨虹,罗光明,张凤波,等. 基于灰色关联度法评价栀子药材质量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(13):74-79.
- [15] 李莉,常欣,陈志禹. 基于熵权法和灰色关联度法的川贝母质量评价研究[J]. 中药材, 2021, 44(2):387-393.
- [16] 邹佳莉,王康宇,何文媛,等. 基于熵权法和灰色关联度分析对当归道地产区划分研究[J]. 中药材, 2022, 45(5):1173-1178.
- [17] 林钦贤,梁伟龙,王斌,等. 基于灰色关联分析法评价广藿香药材质量[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(2):213-218, 263.