

基于药物体系的生地黄的质量评价研究

卢广英¹ 赵丽敏¹ 许舒娅¹ 张璐¹ 彭平¹ 李钢¹ 唐雪阳¹ 石任兵^{1,2}

(1 北京中医药大学中药学院, 国家中医药管理局中药经典名方有效物质发现重点实验室, 北京, 100102;

2 北京市教委中药质量控制技术工程中心, 北京, 100029)

摘要 目的: 基于药物体系的发现, 并运用药物体系质量评价模式全面表征生地黄质量并关联分析, 评价生地黄质量。方法: 采用 HPLC 法首次同时测定 15 批生地黄饮片中梓醇、毛蕊花糖苷 2 种环烯醚萜苷及酚类的主要有效指标性成分的含量, 首次采用香草醛-高氯酸显色法测定生地黄中总环烯醚萜含量, 三氯化铁-铁氰化钾显色法测定生地黄中酚类含量, 并使用非关联系数、非关联度、关联度等相关概念表征各批号生地黄饮片与基准饮片质量关联性。结果: 批号 2、8、14、5、4 关键有效指标性成分和总环烯醚萜、总酚含量总体高于基准批号 13, 批号 14、5 关键有效指标性成分和总环烯醚萜、总酚含量与基准批号 13 接近。其中批号 14、4、15、6、8 与基准批号 13 关联性最高, 综合评价得出批号 14、5、4、8 质量优良度居前, 其次为批号 2、15、6。结论: 基于药物体系质量评价模式, 通过将有效指标性成分含量、组成大类总含量与具有确切药效的基准饮片的关联度结合分析, 可综合精准评价生地黄饮片质量优劣, 为生地黄饮片筛选、药物原料质量控制及应用提供了依据, 同时为中药质量评价提供了方法学及其应用借鉴。

关键词 生地黄; 质量评价; 关联分析; 梓醇; 毛蕊花糖苷; 总酚; 总环烯醚萜

Evaluation of Quality of Dihuang (*Rehmanniae glutinosa*) Based on the Drug System

Lu Guangying, Zhao Limin, Xu Shuya, Zhang Lu, Peng Ping, Li Gang, Tang Xueyang, Shi Renbing

(1 School of Chinese Pharmacy of Beijing University of Chinese Medicine, Key Unit of Exploring Effective Substances of Classical and Famous Formulas of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China; 2 Quality Control Technology and Engineering Center of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: To evaluate quality of Di Huang (*Rehmanniae glutinosa*) based on the drug system and by applying quality evaluation model of the drug system, establishing quality representation and conducting correlation analysis. **Methods:** The study applied HPLC method for simultaneous determination of effective iridoid glycoside (catalpol) and phenolic acids (acteoside) in 15 batches of Di Huang (*Rehmanniae glutinosa*). The content of iridoids in Di Huang (*Rehmanniae glutinosa*) was measured by using vanillin-perchloric acid colorimetric method and the total phenolic content was measured by applying ferric chloride-potassium ferricyanide colorimetric method. The relevance of each batch's quality and the benchmark piece was characterized by the concepts of non-connection coefficient, non-relational grade, and relational grade. **Results:** The results showed that the total content of effective index components and overall component in No. 2, No. 8, No. 14, No. 5, No. 4 were higher than No. 13, the benchmark batch, and No. 14, No. 5 were close to No. 13. The correlation degree of quality representation of No. 14, No. 4, No. 15, No. 6 and No. 8 were high. Consolidated quality characterization and correlation analysis, the quality of No. 14, No. 5, No. 4 and No. 8 were excellent and No. 2, No. 15, No. 6 followed. **Conclusion:** Based on the quality evaluation model of the drug system, the quality of Di Huang (*Rehmanniae glutinosa*) can be evaluated accurately by analyzing effective index components contents and the relational grade with the benchmark patch piece which has exact efficacy. It may provide a basis for screening Di Huang (*Rehmanniae glutinosa*) piece, controlling drug material quality and the application; and also provide a methodological reference for quality evaluation of traditional Chinese medicine.

Key Words Di Huang (*Rehmanniae glutinosa*); Quality evaluation; Correlation analysis; Catalpol; Acteoside; Total iridoid; Total phenolic

中图分类号: R284.1 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2015.05.034

中药地黄为玄参科植物地黄 (*Rehmannia Glutinososa* Libosch) 的新鲜或干燥块根, 生地黄主要具有清

热凉血, 养阴生津等作用, 用于热入营血, 温毒发斑, 吐血衄血, 热病伤阴, 舌绛烦渴, 津伤便秘, 阴虚发

基金项目: 十二五国家科技支撑计划项目 (编号: 2012BAI29B06); 北京中医药大学创新团队资助项目 (编号: 2011-CXTD-12); 北京中医药大学重点学科开放课题 (编号: 2013-2DXKKF-23)

作者简介: 卢广英 (1990—), 女, 山东泰安人, 在读硕士生, E-mail: luguangying0616@163.com

通信作者: 石任兵 (1957—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药 (复方) 有效物质基础研究与药物创新, E-mail: shirb@126.com

热,骨蒸劳热,内热消渴^[1]。目前,2010年版《中华人民共和国药典》中仅以梓醇、毛蕊花糖苷作为指标性成分进行生地黄药材及饮片的质量控制,但未见有关生地黄中环烯醚萜类和酚类质量控制的研究报道。作者在运用本课题组建立的药代动力学-药效动力学关联方法(PK-PD-DI)研究苦参汤(苦参汤为孙思邈《千金方》中名方,由“苦参三两、黄芩二两、生地黄八两”组成)抗菌药物体系时,发现生地黄中环烯醚萜苷及酚类为其药物体系基本组成部分。中药化学成分的有效性与其质量性有关,即与中药化学成分的类型以及存在的量、组成比例等有关^[2-4]。

本文运用课题组建立的基于药物体系的中药质量评价模式^[5-13],对生地黄进行质量评价与控制。首次以基于药物体系的环烯醚萜类(梓醇)与酚类(毛蕊花糖苷),建立同时测定其多主要有效指标性成分含量的HPLC方法,并首次运用可见分光光度法测定其总环烯醚萜、总酚的含量,并与有确切药效的基准饮片进行关联度分析比较与质量综合考量,以确定与评价其饮片质量优良度,为生地黄的有效应用提供科学依据,亦为有关药物的质量保障提供支撑。

1 材料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 仪器 Waters e2695 高效液相色谱仪,Empower Pro 软件系统,2998PDA 检测器; Sartorius-BT25S 型 1/100000 电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司);Sartorius BT 124S 型 1/10000 电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司);HH-S 型电热恒温水浴锅(北京长风仪器仪表公司);TU-1810 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.1.2 受试药物 梓醇(批号:130109,纯度≥98%)、毛蕊花糖苷(批号:131014,纯度≥98%)均购自成都普菲德生物技术有限公司;乙腈(色谱级,Fisher Scientific 公司);甲醇(AR,北京化工厂);磷酸(AR,北京化学试剂公司);娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司);其余试剂均为分析纯。

1.1.3 饮片 15批生地黄饮片:批号1~5购自北京金象大药房,批号6~15购自北京同仁堂药材有限责任公司,经北京中医药大学刘春生教授鉴定为玄参科植物地黄(*Rehmannia Glutinosa Libosch*)的块根,有关饮片标本存放于北京中医药大学中药学院中药化学系。

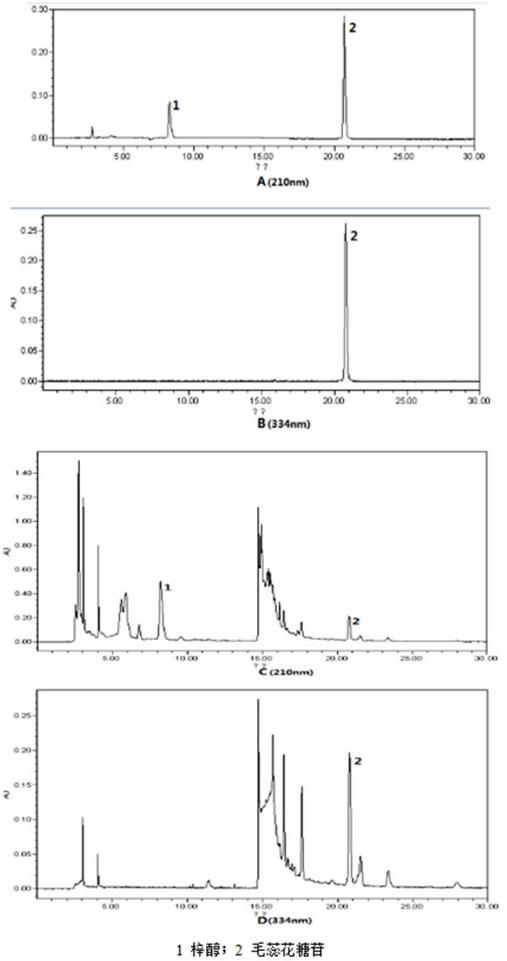


图1 生地黄对照品(A、B)及供试品(C、D)的HPLC色谱图

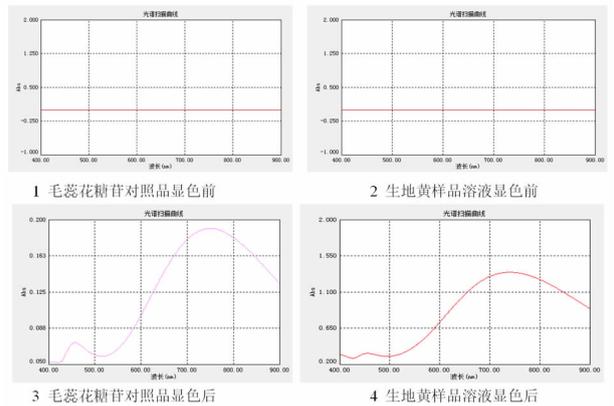


图2 总酚显色前后紫外图谱

1.2 方法

1.2.1 有效指标性成分色谱条件 Thermo Hypersil GOLD(C₁₈)液相色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.1%磷酸水(B), 梯度洗脱(0~10 min, 0.5% A, 10~12 min, 0.5%~18% A, 12~30 min 18% A); 检测波长 0~15 min 210 nm, 15~30 min 334 nm; 柱温 30 ℃; 流速 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。

上述色谱条件下, 生地黄对照品及供试品的 HPLC 谱图见图 1, 2 种有效指标性成分在各自的检测波长下与其他色谱峰分离度良好。

1.2.2 总酚显色条件

1.2.2.1 最大吸收波长的确定 分别精密吸取毛蕊花糖苷对照品溶液和生地黄样品溶液, 每份 1 mL, 分别置于 25 mL 棕色容量瓶中, 加 70% 甲醇至 5 mL, 随行空白。分别加入 0.3% 十二烷基硫酸钠溶液 2.0 mL 及 0.6% 三氯化铁-0.9% 铁氰化钾(1:1) 混合溶液 1.6 mL, 暗处放置 5 min, 用 0.1 mol/L 盐酸加至 25 mL 刻度线, 摇匀后暗处静置 60 min, 在 400~900 nm 范围内扫描测定吸收光谱。实验结果表明, 溶液在 762 nm 处吸收最强, 最终确定 762 nm 为检测波长(毛蕊花糖苷对照品溶液和生地黄样品溶液显色前后的吸收光谱见图 2)。

1.2.2.2 显色剂用量的考察 在其他实验条件固定的情况下, 改变 0.6% 三氯化铁-0.9% 铁氰化钾(1:1) 混合液的加入量, 配制系列测定溶液, 分别在 762 nm 波长下测定吸光度值。实验结果表明, 当 0.6% 三氯化铁-0.9% 铁氰化钾用量为 1.6 mL 时, 在考察用量范围内, 再增加显色剂用量样品吸光度值不变, 显色完全。故显色剂的最佳用量为 1.6 mL。

1.2.2.3 十二烷基硫酸钠用量考察 在其他实验条件固定的情况下, 改变 0.3% 十二烷基硫酸钠溶液的加入量, 配制系列测定溶液, 分别在 762 nm 波长下测定吸光度值。实验结果表明, 0.3% 十二烷基硫酸钠用量为 1.8 mL 时, 在考察用量范围内, 再增加十二烷基硫酸钠用量样品吸光度值稳定, 已经足够稳定该溶液。表面活性剂加入量过大则使样品吸光度值下降, 且其发泡特性在定容时影响刻度线观察。故十二烷基硫酸钠最佳用量为 2.0 mL。

1.2.2.4 显色时间考察 在其他实验条件固定的情况下, 改变显色时间, 配制系列测定溶液, 分别在 762 nm 波长下测定吸光度值。实验结果表明, 当显色时间为 5 min 时, 样品显色完全, 故最佳显色时间为 5 min。

1.2.2.5 显色稳定性考察 精密移取供试品溶液 1 mL 1 份, 置于 100 mL 棕色量瓶中, 加 70% 甲醇至 20 mL, 每份随行空白。加入 0.3% 十二烷基硫酸钠溶液 8 mL, 摇匀, 加入 0.6% 三氯化铁-0.9% 铁氰化钾(1:1) 混合溶液 6.4 mL, 暗处放置 5 min, 用 0.1 mol/L 盐酸定容至 100 mL 刻度线, 摇匀后暗处静置, 放置不同时间取出摇匀, 每隔 10 min 在 762 nm

波长下测定吸光度值。实验结果表明, 避光环境中样品在 60 min 显色达到稳定, 且稳定时间达 40 min。最终确定样品用 0.1 mol/L 盐酸定容后暗处放置 60 min, 进行测定且需在 40 min 内完成测定。

1.2.2.6 三氯化铁-铁氰化钾显色条件总结 精密吸取一定量的样品溶液, 置于 25 mL 棕色容量瓶中, 加 70% 甲醇至 5 mL, 随行空白。分别加入 0.3% 十二烷基硫酸钠溶液 2.0 mL 及 0.6% 三氯化铁-0.9% 铁氰化钾(1:1) 混合溶液 1.6 mL, 暗处放置 5 min, 用 0.1 mol/L 盐酸加至 25 mL 刻度线, 摇匀后暗处静置 60 min, 于 762 nm 处测定吸光度值。

1.2.3 总环烯醚萜显色条件

1.2.3.1 最大吸收波长的确定 分别精密吸取梓醇对照品溶液和生地黄样品溶液, 每份 0.5 mL, 蒸干, 分别置于西林瓶中, 沸水浴蒸干后, 冷却至室温, 各加 0.5% 香草醛溶液(显色剂) 0.2 mL, 随行做空白对照, 然后加高氯酸 0.8 mL, 摇匀, 于 60 °C 水浴加热 15 min, 取出置冷水中冷却, 加冰醋酸 5 mL, 摇匀, 静置 30 min, 于 400~900 nm 范围内扫描测定吸收光谱。实验结果表明, 溶液在 414 nm 处吸收最强, 最终确定 414 nm 为检测波长(梓醇对照品溶液和生地黄样品溶液显色前后的吸收光谱见图 3)。

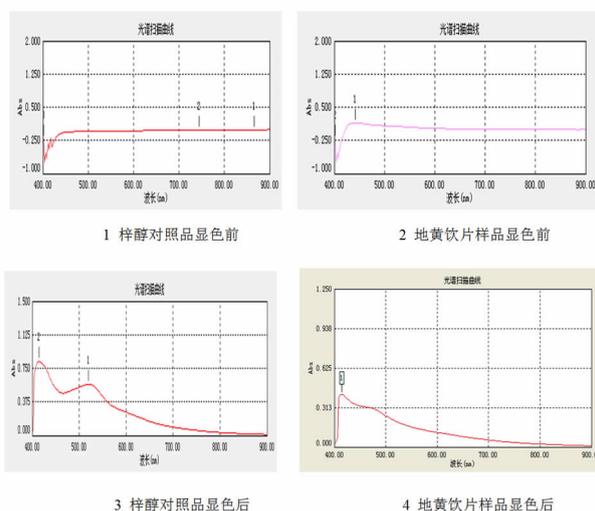


图3 总环烯醚萜显色前后紫外图谱

1.2.3.2 显色剂用量考察 在其他实验条件固定的情况下, 改变 5% 香草醛-冰醋酸溶液(显色剂) 的加入量, 配制系列测定溶液, 分别在 414 nm 波长下测定吸光度值。实验结果表明, 当 5% 香草醛-冰醋酸用量为 0.2 mL 时, 样品可以完全显色, 故显色剂的最佳用量为 0.2 mL。

1.2.3.3 高氯酸用量考察 在其他实验条件固定的情况下, 改变高氯酸的加入量, 配制系列测定溶

液,分别在 414 nm 波长下测定吸光度值。实验结果表明,当高氯酸用量为 0.8 mL 时,样品可以完全显色,故高氯酸的最佳用量为 0.8 mL。

1.2.3.4 水浴加热温度考察 在其他实验条件固定的情况下,改变水浴加热温度,配制系列测定溶液,分别在 414 nm 波长下测定吸光度值。实验结果表明,随着水浴温度的升高,样品的吸光度值增加,但水浴温度达到或超过 70 °C 以上时,随行的空白对照液的颜色会发生变色,故水浴加热最佳温度为 60 °C。

1.2.3.5 水浴加热时间考察 在其他实验条件固定的情况下,改变水浴加热时间,配制系列测定溶液,分别在 414 nm 波长下测定吸光度值。实验结果表明,当水浴时间为 20 min 时,样品可以完全显色,故水浴最佳时间为 20 min。

1.2.3.6 显色稳定性考察 精密移取供试品溶液 1 mL 1 份,分别置于西林瓶中,沸水浴蒸干后,冷却至室温,随行做空白对照,各加 5% 香草醛-冰醋酸溶液(显色剂)0.2 mL,然后加高氯酸 0.8 mL,摇匀,分别于 60 °C 水浴加热 20 min,取出置冷水中冷却,加冰醋酸 5 mL,摇匀,在 414 nm 下每隔 5 min 测定一次吸光度值,共进行 90 min。实验结果表明,放置时间为 0~40 min 时,吸光度的 RSD 为 0.88,40~75 min 时,吸光度的 RSD 为 0.25,故该方法稳定性良好,但认为在样品显色后 40~75 min 时间内测定,稳定性更好。

1.2.3.7 香草醛-高氯酸显色条件结论 精密吸取样品供试液适量,置于西林瓶中,沸水浴蒸干后,冷却至室温,各加 5% 香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL,然后加高氯酸 0.8 mL,摇匀,于 60 °C 水浴加热 20 min,随行做空白对照,取出置冷水中冷却,加冰醋酸 5 mL,摇匀,静置 40 min,在 414 nm 下测定吸光度值。

1.2.4 对照品溶液的制备 分别称取梓醇、毛蕊花糖苷对照品适量,精密称定,加入去离子水制成每 1 mL 含有梓醇 0.144 8 mg、毛蕊花糖苷 0.085 6 mg 的对照品混合溶液。精密称取梓醇对照品适量,加入去离子水制成每 1 mL 含有梓醇 0.506 mg 的对照品溶液。精密称取毛蕊花糖苷对照品适量,加入去离

子水制成每 1 mL 含有毛蕊花糖苷 0.08 mg 的对照品溶液。

1.2.5 供试品溶液的制备 取生地黄饮片切成约 5 mm 的小块,经 80 °C 减压干燥 24 h 后,磨成粗粉,取约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 40 mL,称定重量,加热回流提取 2 h,放冷,再称定重量,用 70% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,浓缩至近干,残渣用流动相溶解,转移至 10 mL 量瓶中,并用流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

1.2.6 线性关系考察

1.2.6.1 有效指标性成分线性关系 将“1.2.4”项下对照品混合溶液分别进样 2 μ L、5 μ L、10 μ L、15 μ L、20 μ L、25 μ L、30 μ L、35 μ L、40 μ L。以进样量(μ g)为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,计算回归方程及相关系数,结果见表 1。

1.2.6.2 总环烯醚萜和总酚线性关系 精密吸取“1.2.4”项下梓醇对照品溶液 0.1 mL、0.2 mL、0.3 mL、0.4 mL、0.5 mL、0.6 mL、0.7 mL、0.8 mL,分别置于西林瓶中,沸水浴蒸干后,冷却至室温,各加 5% 香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL,然后加高氯酸 0.8 mL,摇匀,于 60 °C 水浴加热 20 min,随行做空白对照,取出置冷水中冷却,加冰醋酸 5 mL,摇匀,静置 40 min,在 414 nm 下测定吸光度值。精密吸取“1.2.4”项下毛蕊花糖苷对照品溶液 0.1 mL、0.2 mL、0.3 mL、0.4 mL、0.5 mL、0.6 mL、0.7 mL、0.8 mL,分别置于 25 mL 棕色容量瓶中,加 70% 甲醇至 5 mL,分别加入 0.3% 十二烷基硫酸钠溶液 2.0 mL 及 0.6% 三氯化铁-0.9% 铁氰化钾(1:1)混合溶液 1.6 mL,暗处放置 5 min,用 0.1 mol/L 盐酸加至 25 mL 刻度线,摇匀后暗处静置 60 min,于 762 nm 处测定吸光度值。以对照品浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标绘制标准曲线,计算回归方程及相关系数,结果见表 2。

1.2.7 精密度试验 取“1.2.5”项下同一供试品溶液,连续进样 6 次,测得梓醇、毛蕊花糖苷的峰面积的 RSD 分别为 1.42%、0.71%,说明精密度良好。取“1.2.5”项下同一供试品溶液,用香草醛-高氯酸

表 1 2 种成分的回归方程、相关系数和线性范围(n=9)

成分 Component	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	线性范围 Linear range/ μ g
梓醇	$Y = 249364X - 6379.9$	0.9997	0.4344 ~ 4.3440
毛蕊花糖苷	$Y = 1329193.0444X - 26650.0833$	0.9995	0.2568 ~ 2.5680

表2 总环烯醚萜和总酚的回归方程、相关系数和线性范围(n=8)

成分 Component	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	线性范围 Linear range/mg/mL
总环烯醚萜	$Y = 19.1163X - 0.0001$	0.9996	0.0084 ~ 0.0675
总酚	$Y = 293.22X + 0.0178$	0.9995	0.00032 ~ 0.00256

法显色后,在414 nm波长下连续测定6次,测得总环烯醚萜的吸光度的RSD为0.28%,说明精密度高。取“1.2.5”项下同一供试品溶液,用三氯化铁-铁氰化钾法显色后,在762 nm波长下连续测定6次,测得总酚的吸光度的RSD为0.65%,说明精密度高。

1.2.8 重复性试验 取同一批生地黄饮片,按“1.2.5”项下方法平行制备供试品溶液6份,进样分析,测定梓醇、毛蕊花糖苷的平均含量分别为2.6617%、0.2678%,RSD分别为2.45%、2.06%,说明重复性良好。取同一批生地黄饮片,按“1.2.5”项下方法平行制备供试品溶液6份,用香草醛-高氯酸法显色后,在414 nm波长下测定吸光度值,根据标准曲线计算含量,总环烯醚萜的平均含量为11.2260%,RSD为1.79%,说明重复性良好。取同一批生地黄饮片,按“1.2.5”项下方法平行制备供试品溶液6份,用三氯化铁-铁氰化钾法显色后,在762 nm波长下测定吸光度值,根据标准曲线计算含量,总酚的平均含量为1.07%,RSD为2.03%,说明重复性良好。

1.2.9 稳定性试验 取“1.2.5”项下同一供试品溶液,于室温下放置,分别于0 h,1 h,2 h,4 h,8 h,12 h,24 h进样,测得梓醇、毛蕊花糖苷的峰面积的RSD分别为2.21%、0.75%,表明供试品溶液在24 h内稳定。取“1.2.5”项下同一供试品溶液,于室温下放置,分别于制备后0 h,1 h,2 h,4 h,6 h,8 h用香草醛-高氯酸法显色后,在414 nm波长下测定吸光度值,总环烯醚萜的吸光度的RSD为0.42%,说明供试品溶液在8 h内稳定。取“1.2.5”项下同一供试品溶液,于室温下放置,分别于制备后0 h,1 h,2 h,4 h,6 h,8 h用三氯化铁-铁氰化钾法显色后,在762 nm波长下测定吸光度值,总酚的吸光度的RSD为0.73%,说明供试品溶液在8 h内稳定。

1.2.10 加样回收率试验 称取同一批生地黄粉末约1 g共6份,精密加入对照品适量,按“1.2.5”项下方法制备供试品溶液,进样,测得梓醇、毛蕊花糖苷的平均加样回收率分别为100.02%、100.23%,RSD分别为2.68%、2.20%,表明加样回收率良好,

说明本方法准确、可靠。称取同一批生地黄粉末约1 g共6份,精密加入对照品适量,按“1.2.5”项下方法制备供试品溶液,用香草醛-高氯酸法显色后,在414 nm波长下测定吸光度值,总环烯醚萜的平均回收率为103.07%,RSD为1.16%。表明加样回收率良好,说明本方法准确、可靠。称取同一批生地黄粉末约1 g共6份,精密加入对照品适量,按“1.2.5”项下方法制备供试品溶液,用三氯化铁-铁氰化钾法显色后,在762 nm波长下测定吸光度值,总酚的平均回收率为97.54%,RSD为2.57%。表明加样回收率良好,说明本方法准确、可靠。

2 结果

2.1 基于关键有效指标性成分和总环烯醚萜、总酚含量的质量表征 取15批生地黄饮片,按“1.2.5”项下方法制备供试品溶液,每批平行制备2份,进样,同时测定梓醇、毛蕊花糖苷的含量,并测定其总环烯醚萜、总酚的含量,从而将15批生地黄饮片中关键有效指标性成分和总环烯醚萜、总酚含量予以表征,结果见表3。

表3 基于梓醇、毛蕊花糖苷及总环烯醚萜、总酚含量的15批生地黄饮片质量表征(% ,n=2)

批号	产地	梓醇	总环烯醚萜	毛蕊花糖苷	总酚
1	河南	1.6615	14.5649	0.1597	0.9592
2	河南	10.5235	20.1073	0.5332	1.2086
3	河南	10.3905	17.8841	0.5268	0.8094
4	河南	2.3106	14.6565	0.2642	1.0568
5	河南	3.3838	16.4994	0.2813	1.1321
6	河南	3.6107	12.6151	0.2735	0.9468
7	河南	1.1197	15.8414	0.7177	1.1690
8	河南	4.8745	13.2582	0.5689	1.2999
9	河南	1.2301	9.1254	0.0988	0.9676
10	河南	6.6355	11.9268	0.2615	1.2527
11	河南	3.9843	13.0247	0.1677	1.0321
12	河南	1.6251	16.0283	0.2134	0.9951
13	河南	2.6545	11.2259	0.2970	1.0607
14	河南	3.4861	17.1488	0.4671	1.5134
15	河南	1.6307	17.4631	0.4275	1.4301

2.2 基于关键有效指标性成分和总环烯醚萜、总酚含量相对比值的质量表征 以药物体系中关键有效指标性成分毛蕊花糖苷的含量为基准,将15批生地黄饮片梓醇及总环烯醚萜、总酚含量与毛蕊花糖

苷含量的相对比值予以表征,结果见表4、图4。

2.3 生地黄饮片质量表征关联分析

2.3.1 基于有效指标性成分和总成分含量的质量表征关联分析 基于“2.1”项下表3进行15批生地黄饮片质量表征关联分析得图4。

表4 梓醇及总环烯醚萜、总酚含量与毛蕊花糖苷含量的相对比值的15批生地黄饮片质量表征

批号	产地	梓醇	总环烯醚萜	毛蕊花糖苷	总酚
1	河南	10.4030	91.1928	1	6.0057
2	河南	19.7362	37.7101	1	2.2667
3	河南	19.7220	33.9456	1	1.5363
4	河南	8.7474	55.4850	1	4.0006
5	河南	12.0287	58.6513	1	4.0242
6	河南	13.2011	46.1227	1	3.4618
7	河南	1.5601	22.0714	1	1.6287
8	河南	8.5686	23.3057	1	2.2850
9	河南	12.4508	92.3651	1	9.7942
10	河南	25.3737	45.6071	1	4.7902
11	河南	23.7543	77.6532	1	6.1533
12	河南	7.6161	75.1182	1	4.6635
13	河南	8.9371	37.7952	1	3.5712
14	河南	7.4627	36.7112	1	3.2398
15	河南	3.8148	40.8529	1	3.3457

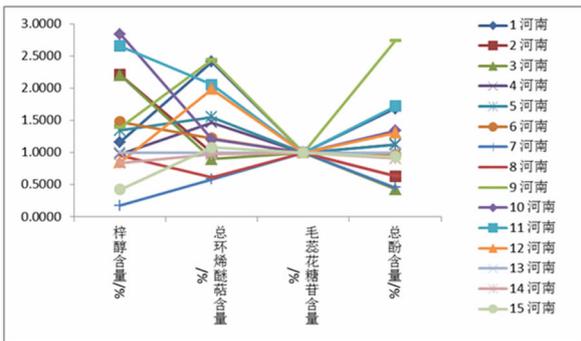


图4 15批生地黄饮片样品中梓醇、毛蕊花糖苷及总环烯醚萜、总酚含量与基准饮片样品13对应成分含量相对比值

如表3、图3所示,15批生地黄饮片中有有效指标性成分梓醇、毛蕊花糖苷和总环烯醚萜、总酚含量相差较大。梓醇含量最大相差约9.40倍,排序为批号2>批号3>批号10>批号8>批号11>批号6>批号14>批号5>批号13>批号4>批号1>批号15>批号12>批号9>批号7;总环烯醚萜含量最大相差约2.20倍,排序为批号2>批号3>批号15>批号14>批号5>批号12>批号7>批号4>批号1>批号8>批号11>批号6>批号10>批号13>批号9;毛蕊花糖苷含量最大相差约7.26倍,排序为批号7>批号8>批号2>批号3>批号14>批号15>批号13>批号5>批号6>批号4>批号10>批号12>批号11>批号1>批号9;总酚含量最大

相差约1.87倍,排序为批号14>批号15>批号8>批号10>批号2>批号7>批号5>批号13>批号4>批号11>批号12>批号9>批号1>批号6>批号3。

可见,在15批生地黄饮片中关键有效指标性成分和总环烯醚萜、总酚含量差异性:梓醇(9.40倍)>毛蕊花糖苷(7.26倍)>总环烯醚萜(2.20倍)>总酚(1.87倍);而基于梓醇、总环烯醚萜、毛蕊花糖苷、总酚进行考量,批号2、8、14、5、4关键有效指标性成分和总环烯醚萜、总酚总体含量较高。

2.3.2 基于与基准饮片有效指标性成分和总成分含量相对比值的比值质量表征的关联分析 将“2.2”项下表4以批号13为基准,将15个生地黄饮片中有效指标性成分含量相对比值与基准饮片批号13的相对比值的比值进行关联分析得表5、图5。

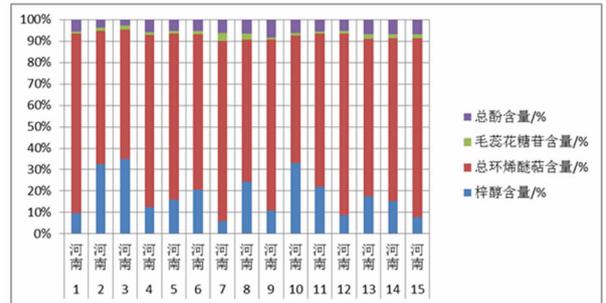


图5 15批生地黄饮片样品中梓醇、毛蕊花糖苷及总环烯醚萜、总酚含量与基准饮片样品13对应成分含量相对比值的比值

表5 15个生地黄饮片样品关联度表征

批号	产地	梓醇	总环烯醚萜	毛蕊花糖苷	总酚	非关联系数	非关联度/%	关联度/%
1	河南	1.1640	2.4128	1	1.6817	2.26	56.46	43.54
2	河南	2.2083	0.9977	1	0.6347	1.58	39.40	60.60
3	河南	2.2068	0.8981	1	0.4302	1.88	46.96	53.04
4	河南	0.9788	1.4680	1	1.1202	0.61	15.24	84.76
5	河南	1.3459	1.5518	1	1.1269	1.02	25.62	74.38
6	河南	1.4771	1.2203	1	0.9694	0.73	18.20	81.80
7	河南	0.1746	0.5840	1	0.4561	1.79	44.64	55.36
8	河南	0.9588	0.6166	1	0.6398	0.78	19.62	80.38
9	河南	1.3932	2.4438	1	2.7425	3.58	89.49	10.51
10	河南	2.8391	1.2067	1	1.3413	2.39	59.68	40.32
11	河南	2.6579	2.0546	1	1.7230	3.44	85.89	14.11
12	河南	0.8522	1.9875	1	1.3059	1.44	36.03	63.97
13	河南	1	1	1	1	0.00	0.00	100.00
14	河南	0.8350	0.9713	1	0.9072	0.29	7.16	92.84
15	河南	0.4268	1.0809	1	0.9368	0.72	17.93	82.07

图5中不同颜色的矩形条代表各饮片中有有效指标性成分含量相对比值与批号13对应成分含量相对比值的比值,矩形条大小与批号13中相同颜色的矩形条大小越相近,代表该饮片有效指标性成分含量比值与批号13越接近,即质量表征关联密切。可以看出,批号14、5与13质量表征关联密切。以批

号13为基准,其他样品与其相对比值的比值差值的绝对值之和,即非关联系数;非关联系数与有效指标性成分的数目的比值,即非关联度,进而得到关联度,以反映饮片质量之间的关联性,得表5。

由表5可知,关联度由高到低排序为批号13(0/100%) > 批号14(0.29/92.84%) > 批号4(0.61/84.76%) > 批号15(0.72/82.07%) > 批号6(0.73/81.80%) > 批号8(0.78/80.38%) > 批号5(1.02/74.38%) > 批号12(1.44/63.97%) > 批号2(1.58/60.60%) > 批号7(1.79/55.36%) > 批号3(1.88/53.04%) > 批号1(2.26/43.54%) > 批号10(2.39/40.32%) > 批号11(3.44/14.11%) > 批号9(3.58/10.51%),可得批号14、4、15、6、8与批号13关联性较高,而批号11、9相差甚远。

3 讨论

本文基于药物体系质量评价模式,对生地黄进行质量表征及关联分析研究,确定出批号2、8、14、5、4有效指标性成分和总环烯醚萜、总酚含量总体高于基准批号13,批号14、5关键有效指标性成分和总环烯醚萜、总酚含量与基准批号13接近。其中批号14、4、15、6、8与基准批号13关联性最高,综合评价得出批号14、5、4、8质量优良度居前,其次为批号2、15、6。

中药饮片质量与其所含有效化学成分类型及存在的量、组成比例等有关。本文在自然药理学观相关理论的指导下,基于药物体系组成成分的发现,运用有关中药质量评价模式,对15个生地黄饮片样品质量进行表征,并以具有确切药效的批号13为基准,进行质量关联度分析比较,综合精准评价出生地黄饮片质量的优良度。即综合考量了生地黄应用有效

性及质量关联性,从而为生地黄资源筛选及其药物的原料质量控制及应用提供了依据,亦为中药药材及其饮片的质量评价提供了研究借鉴。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 115-117.
- [2] 石任兵, 王永炎, 姜艳艳, 等. 论中药化学发展近况[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(3): 153-159.
- [3] 石任兵, 王永炎. 自然药理学观的相关性思考[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(4): 221-225.
- [4] 李更生, 于震, 王慧森. 地黄化学成分与药理研究进展[J]. 国外医学中医中药分册, 2004, 26(2): 74-78.
- [5] 安琪. 基于药物体系的紫苏方药物制备工艺与质量表征关联分析研究[D]. 北京: 首都医科大学, 2014.
- [6] 安琪, 唐雪阳, 卢广英, 等. 紫苏方药物制备物的质量表征及其关联分析[J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(6): 414-419.
- [7] 刘斌. 苦参汤化学成分研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2005.
- [8] 梅莹莹, 许舒娅, 左胜, 等. 基于药物体系的连翘饮药物制备物质量表征分析研究[J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(5): 337-343.
- [9] 左胜, 孙雅姝, 迟蕾, 等. 基于药物体系的藁本质量评价研究[J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(7): 481-485.
- [10] 梅莹莹. 基于药物体系的连翘饮药物制备工艺与质量表征关联分析研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [11] 迟蕾, 孙雅姝, 杨书娟, 等. 芍药方药物制备物的质量表征及其关联分析[J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38(3): 195-200.
- [12] 温静, 唐雪阳, 李焕娟, 等. 基于药物体系质量评价模式的丹参质量表征关联分析研究[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(4): 843-846.
- [13] 李焕娟, 张璐, 彭平, 等. 基于药物体系质量评价模式的远志质量表征关联分析研究[J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(12): 834-840.

(2014-12-24 收稿 责任编辑: 张文婷)

(上接第764页)

- [11] 张文强. 低分子量脂质体透明质酸脂质体的制备及体外经皮渗透研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2009.
- [12] 任静, 邓盛齐, 蒋学华, 等. 吸收促进剂对绿原酸的跨膜转运影响[J]. 药科学, 2014, 49(2): 252-255.
- [13] 王丽峰, 张思培, 王阳. 不同促渗剂对秦皮甲素乳膏透皮吸收的影响[J]. 天津医科大学学报, 2014, 20(4): 320-322.
- [14] 徐定平. 不同促渗剂对苗药秤钩风的透皮吸收特性研究[J]. 华西医学, 2014, 29(7): 1316-1318.
- [15] 陆洋, 杜守颖, 姚宗玲, 等. 天然冰片、合成冰片对栀子提取物黏膜促渗作用研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(10): 2017-

2020.

- [16] 姜纪武, 刘嘉, 王晴, 等. 基质与促进剂对黄芩苷软膏经皮渗透的影响[J]. 中华实用医药杂志, 2008, 8(2): 34-37.
- [17] 管咏梅, 丁莹, 张霄潇, 等. 雷公藤凝胶与软膏中雷公藤内酯的经皮透过性比较研究[J]. 中国药师, 2008, 11(4): 373-375.
- [18] 渠莉, 胡茗, 李景云. 复方黄芩凝胶剂的研制及临床观察[J]. 天津医科大学学报, 2005, 11(4): 614-617.
- [19] 王敏, 赵婷, 龚慕辛, 等. 双黄乳膏不同皮肤体外扩散的实验研究[J]. 世界中医药, 2013, 8(10): 1219-1221.

(2014-04-26 收稿 责任编辑: 徐颖)