

蒲公英酚类特征成分含量测定及其特征图谱 质量表征关联分析

陈梦杰¹, 孔静¹, 张元元¹, 贺晶¹, 孙仁弟², 黄广伟², 路东波¹, 武秋红¹,
王梦林³, 李文霞¹, 李思潼¹, 范圆圆¹, 冯鑫¹, 黄玉娟¹, 姜艳艳¹, 石任兵^{1*}

(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,
北京市教委中药质量控制技术工程中心, 北京 102488;
2. 上海绿谷生命园医药有限公司, 上海 201700; 3. 首都医科大学 中医药学院, 北京 100069)

[摘要] 目的: 建立蒲公英酚类特征成分的含量测定方法及其酚类特征图谱质量表征关联分析方法, 应用关联分析评价模式, 以有效、精准地评价蒲公英饮片质量。方法: 采用 HPLC 对 15 批蒲公英饮片中的酚类特征成分(原儿茶酸、单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、对香豆酸、异绿原酸 A 和菊苣酸、木犀草素、木犀草苷)进行含量测定。建立蒲公英酚类特征图谱, 基于特征图谱中特征峰的梳理及所属化学类型对 15 批蒲公英饮片进行质的表征; 基于特征图谱中特征成分原儿茶酸, 单咖啡酰酒石酸, 绿原酸, 咖啡酸, 对香豆酸, 异绿原酸 A, 菊苣酸, 木犀草苷, 木犀草素及酚酸类(以咖啡酸表征), 黄酮类(以木犀草素表征)的含量和峰面积分别对 15 批蒲公英饮片进行量的表征, 并基于基准饮片对 15 批蒲公英饮片质与量的表征结果进行关联性分析。结果: 各特征成分均具有良好的线性关系, 方法学考察符合定量要求。以样品 S1 为基准饮片, 在蒲公英酚类特征图谱中共含有 14 个特征峰, 其中酚酸类成分特征峰 10 个, 黄酮类成分特征峰 4 个, 15 批饮片色谱图中均含有此 14 个特征峰。采用质量表征关联分析与评价模式, 得出特征成分含量总体较高的样品为 S3, S14, S4, S6, S9 和 S12; 与基准饮片关联度较高的样品为 S10, S6, S12, S7 和 S2; 综合评价得优良度居前的样品为 S6, S12, S3, S10 和 S1。结论: 所建立的蒲公英酚类特征成分含量测定方法简便、准确, 构建的蒲公英酚类特征图谱质量表征关联分析模式可用于分析蒲公英饮片的质量与应用有效性, 可有效精准地评价蒲公英的质量。

[关键词] 蒲公英; 酚类; 特征图谱; 质量评价; 关联分析; 咖啡酸; 黄酮类

[中图分类号] R22; R282; R283; R284; R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)16-0012-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181403

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180425.1859.018.html>

[网络出版时间] 2018-04-26 17:03

Quantitative Determination of Phenolic Characteristic Components in Taraxaci Herba and Its Correlation Analysis of Quality Characterization of Specific Chromatogram

CHEN Meng-jie¹, KONG Jing¹, ZHANG Yuan-yuan¹, HE Jing¹, SUN Ren-di²,
HUANG Guang-wei², LU Dong-bo¹, WU Qiu-hong¹, WANG Meng-lin³,
LI Wen-xia¹, LI Si-tong¹, FAN Yuan-yuan¹, FENG Xin¹, HUANG Yu-juan¹,
JIANG Yan-yan¹, SHI Ren-bing^{1*}

(1. Key Unit of Exploring Effective Substances of Classical and Famous Formulas, State Administration of Traditional Chinese Medicine (TCM), Quality Control Technology and Engineering Center of Chinese Medicine, Beijing Municipal Commission of Education, School of Chinese Materia Medica,

[收稿日期] 20180109(007)

[基金项目] 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAI29B06);北京中医药大学重点学科开放课题(2013-2DXKKF-23)

[第一作者] 陈梦杰,在读硕士,从事中药(复方)有效物质基础研究与药物创新研究, E-mail: chenmj117@163.com

[通信作者] * 石任兵, 博士, 教授, 从事中药(复方)有效物质基础研究与药物创新研究, E-mail: shirb@126.com

Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China;

2. Shanghai Green Valley Life Park Pharmaceutical Co. Ltd., Shanghai 201700, China;

3. School of TCM, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

[Abstract] Objective: To establish the method of quantitative determination for phenolic characteristic components in Taraxaci Herba, and establish the correlation analysis of quality characterization of its phenolic characteristic spectrum. Evaluation mode of correlation analysis was used to evaluate the quality of Taraxaci Herba pieces effectively and accurately. **Method:** HPLC was used to determine the contents of characteristic components in 15 batches of Taraxaci Herba pieces, including protocatechuic acid, monoacyl tartaric acid, chlorogenic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, isochlorogenic acid A, cichoric acid, galuteolin and luteolin. The phenolic characteristic spectrum of Taraxaci Herba pieces was established. The quality of 15 batches of Taraxaci Herba pieces were characterized based on the number and chemical type of peaks in characteristic spectrum. The quantity of 15 batches of Taraxaci Herba pieces was represented based on the content and peaks area of characteristic components [protocatechuic acid, monoacyl tartaric acid, chlorogenic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, isochlorogenic acid A, cichoric acid, galuteolin, luteolin, phenolic acids (characterized by caffeic acid) and flavonoids (characterized by luteolin)] in characteristic spectrum. Correlation analysis of quality and quantity of Taraxaci Herba pieces was then performed based on reference pieces. **Result:** The characteristic components of Taraxaci Herba pieces had a good linear relationship and the methodological investigation were in accordance with the quantitative requirements. As the reference substance, characteristic spectrum of batch 1 contained 14 characteristic peaks (10 peaks of phenolic acids and 4 peaks of flavonoids), which all appeared on the chromatograms of 15 batches of Taraxaci Herba pieces. Taking the evaluation mode of quality characterization and correlation analysis, S3, S14, S4, S6, S9, S12 pieces contained higher effective characteristic components, while S10, S6, S12, S7, S2 pieces had higher relevance with the reference piece. Consolidated quality characterization and correlation analysis, the quality of S6, S12, S3, S10, S1 were excellent. **Conclusion:** The established HPLC for determining the contents of characteristic components of Taraxaci Herba is simple and accurate. The mode for the quality characterization and correlation analysis of phenolic characteristic spectrum can be used to analyze the quality and application effectiveness of Taraxaci Herba pieces, and it can effectively and accurately evaluate the quality of this pieces.

[Key words] Taraxaci Herba; phenols; characteristic spectrum; quality evaluation; correlation analysis; caffeic acid; flavonoids

蒲公英为清热解毒的传统药味,可药食兼用,具有抗炎抑菌、通乳、健脾、降血糖、调血脂、抗肿瘤等药理作用,常用于慢性咽喉炎、上呼吸道感染、乳腺炎、尿路感染等临床常见疾病。目前,市场上还有较多以蒲公英为原料的咖啡、糖果、糕点、饮料等系列保健食品销售^[1-4]。前期基于抗炎药效对蒲公英饮片进行药物体系研究时发现,蒲公英中的酚类成分(具体为酚酸类成分和黄酮类成分)在抗炎方面发挥着重要作用。蒲公英黄酮类和酚酸类成分有明确的抗氧化、抗菌等作用,此外,其黄酮类成分还具有心肌保护作用^[5-7]。

2015 年版《中国药典》中仅采用测定咖啡酸的含量来对蒲公英进行质量控制,但基于单个酚酸类

化合物不足以反映该饮片酚类物质的质量特征。目前,已有文献建立了蒲公英的 HPLC 指纹图谱^[8],测定了蒲公英中单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、菊苣酸 4 个酚酸类成分的含量^[9],测定了蒲公英中木犀草素的含量^[10],测定了蒲公英中绿原酸、咖啡酸、木犀草苷、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 共 5 个活性成分的含量^[11]。但尚未见文献检测蒲公英中酚酸类成分原儿茶酸、对香豆酸的含量,也未见文献同时测定了蒲公英中 7 种酚酸类成分和 2 种黄酮类成分的含量。本实验基于特征图谱关注蒲公英特征峰的化学成分类型及其关联性,测定特征成分原儿茶酸、单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、对香豆酸、菊苣酸、异绿原酸 A 和木犀草素、木犀草苷的含量,并以咖

啡酸、木犀草素为参照分别表征未知酚酸类和未知黄酮类成分的含量;同时,关注特征成分及各类型成分的组成比例,与具有确切药效的基准饮片进行关联分析,完善蒲公英的药物属性特性表征^[12],以有效准确地评价蒲公英饮片的质量,为该药材的有效应用提供实验依据。

1 材料

e2695 型高效液相色谱仪(美国沃特世公司,含 Empower Pro 软件系统和 2998 型光电二极管阵列检测器),BT124S 型 1/1 万电子分析天平和 BT25S 型 1/10 万电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。15 批蒲公英饮片(编号 S1 ~ S15,其中 S13 ~ S15 的产地分别为湖南、安徽、甘肃,其他样品的产地均为河北)分别购自北京市各药店,经北京中医药大学刘春生教授鉴定为菊科植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* 的干燥全草,饮片标本现存于北京中医药大学中药学院中药化学系;原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A 和木犀草素、单咖啡酰酒石酸、菊苣酸对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 YJ0623YB14, R05F6F1, YM0325YA14, H31D5X1, 20140111, P30J7F16909, P24N7F25624, 纯度均 $\geq 98\%$),木犀草苷对照品(上海顺勃生物工程技术有限公司,批号 20110526, 纯度 $\geq 98\%$),对香豆酸对照品(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 J1528110, 纯度 $\geq 99\%$),水为娃哈哈纯净水,乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

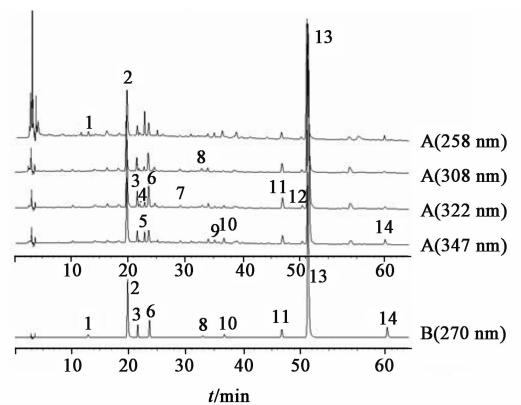
2.1 蒲公英特征图谱及特征成分含量测定方法的建立

2.1.1 混合对照品溶液的制备 精密称取各对照品适量,加 70% 甲醇制得原儿茶酸、单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、对香豆酸、木犀草苷、异绿原酸 A 和菊苣酸、木犀草素质量浓度分别为 0.369, 72.0, 9.8, 7.9, 1.1, 5.0, 7.7, 150.4, 13.9 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取蒲公英饮片粉末(过二号筛)约 0.5 g,精密称定,置于 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 25 mL,称定质量,超声处理(250 W, 40 kHz)1 h,放冷,称定质量,用 70% 甲醇补足失重,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 色谱条件与系统适应性 XBridge Shield RP18 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm),流动相乙

腈(A)-0.2% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 14 min, 5% ~ 12% A; 14 ~ 19 min, 12% ~ 16% A; 19 ~ 25 min, 16% ~ 17.5% A; 25 ~ 28 min, 17.5% ~ 20% A; 28 ~ 32 min, 20% A; 32 ~ 40 min, 20% ~ 22% A; 40 ~ 48 min, 22% ~ 27% A; 48 ~ 54 min, 27% ~ 29% A; 54 ~ 70 min, 29% ~ 40% A),流速 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温设置 30 $^{\circ}\text{C}$,检测波长分别设定为 258 nm(原儿茶酸),308 nm(对香豆酸),322 nm(单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A 和菊苣酸),347 nm(木犀草素、木犀草苷),进样量 20 μL 。见图 1,说明 14 个特征峰的分离度良好。



A. 供试品;B. 混合对照品;1. 原儿茶酸;2. 单咖啡酰酒石酸;3. 绿原酸;4,7,12. 未知酚酸类;5,9. 未知黄酮类;6. 咖啡酸;8. 对香豆酸;10. 木犀草苷;11. 异绿原酸 A;13. 菊苣酸;14. 木犀草素(图 2 同)

图 1 蒲公英样品在不同检测波长下的 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of *Taraxaci Herba* samples at different detection wavelengths

2.1.4 特征图谱的方法学考察 分别精密吸取同一供试品溶液,按 2.1.3 项下色谱条件连续进样 6 次,以咖啡酸为参照,计算单峰面积 $> 2\%$ 总峰面积的特色谱峰与参照峰的相对峰面积和相对保留时间(下同),结果相对峰面积的 RSD 均 $< 2.4\%$,相对保留时间的 RSD 均 $< 1.7\%$,说明仪器精密度良好。分别精密吸取同一供试品溶液 20 μL ,室温放置,于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 分别进样测定,以咖啡酸为参照,结果各色谱峰相对峰面积的 RSD 均 $< 2.9\%$,相对保留时间的 RSD 均 $< 2.3\%$,说明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。取同一蒲公英饮片,按 2.1.2 项下方法平行制备供试品溶液 6 份,分别进样测定,以咖啡酸为参照,结果各色谱峰相对峰面积的 RSD 均 $< 2.1\%$,相对保留时间的 RSD 均 $< 1.5\%$,说明该方法重复性良好。

2.1.5 特征成分含量测定的方法学考察 取混合对照品溶液适量,分别进样 1, 3, 6, 10, 15, 20, 30,

40 μL , 测定特征成分峰面积, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 计算回归方程及相关系数, 见表 1。分别精密吸取同一供试品溶液, 按 2.1.3 项下色谱条件连续进样 6 次, 计算原儿茶酸、单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、对香豆酸、木犀草苷、异绿原酸 A、菊苣酸、木犀草素峰面积的 RSD 均 $< 2.7\%$ 。分别精密吸取同一供试品溶液 20 μL , 室温放置, 于制备后的 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 计算各指标成分峰面积的 RSD 均 $< 3.0\%$, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。取同一蒲公英饮片, 按 2.1.2 项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 进样分析, 结果原儿茶酸、单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、对香豆酸、木犀草苷、异绿原酸 A 和菊苣酸、木犀草素的平均质量分数分别为 0.002 1%, 0.355 6%, 0.050 3%, 0.041 2%, 0.005 5%, 0.025%, 0.037%, 0.657 2%, 0.050 3%, RSD 均 $< 2.8\%$ 。取已知指标成分含量的同批蒲公英饮片粉末 6 份, 精密称定, 分别精密加入对照品适量, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 进样分析, 计算原儿茶酸、单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、对香豆酸、木犀草苷、异绿原酸 A 和菊苣酸、木犀草素的平均加样回收率分别为 100.59%, 101.02%, 101.18%, 99.97%, 100.16%, 100.71%, 101.66%, 101.33%, 101.46%, RSD 分别为 2.5%, 2.3%, 2.2%, 1.9%, 1.8%, 2.7%, 2.0%, 2.3%, 2.5%, 说明该方法准确可靠。

表 1 蒲公英中 9 个指标成分的回归方程、相关系数和线性范围
Table 1 Regression equations, correlation coefficients and linear ranges of nine phenolic components in Taraxaci Herba

成分	回归方程	r	线性范围/ μg
原儿茶酸	$Y = 4\,416\,269.39X - 1\,679.18$	0.999 6	0.000 37 ~ 0.014 8
单咖啡酰酒石酸	$Y = 2\,298\,558.62X - 69\,309.71$	0.999 8	0.072 0 ~ 2.880 0
绿原酸	$Y = 2\,869\,639.28X - 13\,221.58$	0.999 5	0.009 8 ~ 0.390 7
咖啡酸	$Y = 5\,366\,389.56X - 14\,125.20$	0.999 9	0.007 9 ~ 0.316 5
对香豆酸	$Y = 7\,407\,881.39X - 4\,355.64$	0.999 9	0.001 1 ~ 0.042 1
木犀草苷	$Y = 2\,711\,953.36X - 5\,470.21$	0.999 9	0.005 0 ~ 0.199 5
异绿原酸 A	$Y = 3\,475\,765.37X - 12\,127.68$	0.999 9	0.007 7 ~ 0.309 7
菊苣酸	$Y = 3\,922\,198.39X - 191\,643.61$	1.000 0	0.150 4 ~ 6.017 8
木犀草素	$Y = 3\,961\,976.23X - 47\,780.63$	0.999 8	0.013 9 ~ 0.554 1

2.2 基于特征成分的质的表征及其关联性分析

2.2.1 基于特征成分的质的表征

取不同产地和批号的蒲公英饮片共 15 批, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 每批平行 2 份, 按 2.1.3 项下色谱条件

测定, 得各批饮片特征图谱, 其中共含有特征峰 14 个, 包括 10 个酚酸类特征峰和 4 个黄酮类特征峰, 15 批饮片色谱图中均含有此 14 个特征峰, 见图 2。

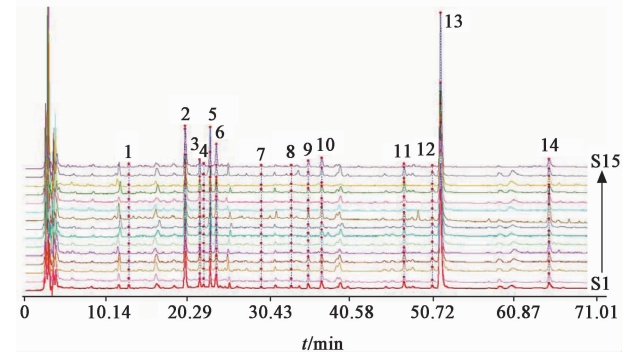


图 2 15 批蒲公英饮片的 HPLC 特征谱
Fig. 2 HPLC characteristic spectra of 15 batches of Taraxaci Herba pieces

2.2.2 基于特征成分的质的表征关联分析

对特征色谱图中的各特征成分进行相关性分析, 选择咖啡酸为基准峰, 将其保留时间设定为 1, 计算特征峰 1 ~ 14 的相对保留时间分别为 0.543, 0.838, 0.914, 0.930, 0.968, 1.000, 1.233, 1.392, 1.472, 1.543, 1.973, 2.123, 2.165, 2.731。

2.3 基于特征成分量的表征及其关联性分析

2.3.1 基于特征成分含量的量的表征

取 15 批不同批号的蒲公英饮片, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 每批平行 2 份, 按 2.1.3 项下色谱条件测定, 得各批饮片特征图谱。计算各批饮片中 9 个指标成分的含量; 同时, 加和未知酚酸类和未知黄酮类特征成分色谱峰峰面积, 分别以咖啡酸、木犀草素为参照进行表征, 得到酚酸类和黄酮类类型成分的含量, 见表 2。

2.3.2 基于特征成分峰面积的量的表征

取 15 批不同批号的蒲公英饮片, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 每批平行 2 份, 按 2.1.3 项下色谱条件测定, 得各批饮片特征图谱。测定各批饮片中 9 个指标成分的峰面积; 加和酚酸类各特征成分色谱峰峰面积以表征酚酸类类型成分峰面积, 加和黄酮类特征成分色谱峰峰面积以表征黄酮类类型成分峰面积, 见表 3。

2.3.3 基于特征成分含量相对比值的量的表征

以蒲公英药物体系中咖啡酸的含量为基准, 表征 15 批饮片各特征成分含量及类型含量与本批次基准饮片咖啡酸含量的相对比值, 见表 4。

2.3.4 基于特征成分峰面积相对比值的量的表征

以蒲公英药物体系中咖啡酸的峰面积为基准, 表

表 2 基于特征成分质量分数的 15 批蒲公英饮片量的表征

Table 2 Quantity representation of 15 batches of Taraxaci Herba pieces based on contents of characteristic components

样品	原儿茶酸	单咖啡酰 酒石酸	绿原酸	咖啡酸	对香豆酸	异绿原酸 A	菊苣酸	酚酸类	木犀草苷	木犀草素	黄酮类
S1	0.003	0.283	0.039	0.035	0.004	0.034	0.587	1.000	0.014	0.012	0.047
S2	0.002	0.304	0.034	0.033	0.006	0.024	0.655	1.072	0.017	0.018	0.056
S3	0.001	0.339	0.072	0.037	0.004	0.049	0.899	1.426	0.018	0.018	0.065
S4	0.002	0.321	0.060	0.032	0.003	0.049	0.768	1.260	0.015	0.018	0.060
S5	0.002	0.230	0.036	0.042	0.004	0.033	0.497	0.860	0.008	0.021	0.044
S6	0.002	0.306	0.050	0.038	0.004	0.046	0.717	1.182	0.016	0.019	0.058
S7	0.002	0.284	0.053	0.031	0.004	0.034	0.660	1.088	0.014	0.011	0.047
S8	0.001	0.244	0.045	0.025	0.004	0.036	0.596	0.971	0.012	0.017	0.049
S9	0.002	0.359	0.050	0.041	0.006	0.032	0.592	1.101	0.025	0.051	0.101
S10	0.003	0.222	0.030	0.033	0.004	0.032	0.383	0.722	0.007	0.013	0.036
S11	0.002	0.264	0.037	0.044	0.004	0.033	0.449	0.848	0.010	0.018	0.046
S12	0.001	0.297	0.053	0.036	0.004	0.053	0.650	1.116	0.014	0.015	0.051
S13	0.001	0.180	0.039	0.022	0.004	0.041	0.496	0.795	0.006	0.020	0.035
S14	0.001	0.344	0.067	0.025	0.004	0.046	0.909	1.417	0.017	0.015	0.061
S15	0.003	0.316	0.032	0.060	0.004	0.018	0.266	0.715	0.017	0.017	0.050

表 3 基于特征成分峰面积的 15 批蒲公英饮片量的表征

Table 3 Quantity representation of 15 batches of Taraxaci Herba pieces based on peak area of characteristic components

样品	原儿茶酸	单咖啡酰 酒石酸	绿原酸	咖啡酸	对香豆酸	异绿原酸 A	菊苣酸	酚酸类	木犀草苷	木犀草素	黄酮类
S1	55 670	2 530 605	437 160	738107	128795	455 261	9 018 905	13 674 541	146 694	147 517	580 116
S2	31 595	2 729 211	371 597	686 398	159 026	319 795	10 081 683	14 710 262	182 348	245 037	701 513
S3	21 596	3 047 198	808 558	782 614	123 139	673 158	13 907 009	19 875 197	185 781	235 686	839 996
S4	26 530	2 885 563	675 417	673 837	85 699	666 776	11 864 262	17 392 898	152 064	230 475	778 430
S5	33 207	2 044 497	400 037	896 036	116 649	452 797	7 606 919	11 886 646	80 089	290 895	555 864
S6	27 101	2 742 322	565 270	791 688	111 187	621 618	11 072 314	16 352 194	166 263	245 697	734 634
S7	26 639	2 541 588	593 921	656 394	100 684	465 037	10 172 722	14 967 462	150 616	130 095	568 867
S8	23 417	2 177 166	504 403	513 241	116 079	485 286	9 171 263	13 412 557	130 110	222 176	620 326
S9	34 315	3 235 240	561 410	869 928	159 998	427 303	9 109 404	14 785 580	266 503	754 101	1 368 111
S10	58 568	1 968 836	336 776	703 365	116 245	437 542	5 827 247	9 722 796	72 086	163 967	430 323
S11	37 095	2 360 493	413 150	939 085	106 399	441 180	6 859 615	11 446 303	107 137	243 015	571 710
S12	21 412	2 666 119	592 488	752 783	124 597	722 020	10 008 462	15 341 160	142 809	197 539	634 486
S13	23 178	1 588 328	437 489	453 423	99 711	551 052	7 585 102	10 993 140	63 912	262 231	417 725
S14	20 453	3 101 854	751 767	524 284	101 626	623 525	14 096 094	19 669 820	175 600	182 994	786 739
S15	48 836	2 839 307	351 313	1 280 527	120 500	234 280	3 978 532	9 197 567	181 068	222 168	610 443

征 15 批饮片各特征成分峰面积及类型峰面积与本批次基准饮片咖啡酸峰面积的相对比值,见表 5。

2.3.5 基于基准饮片相对比值的量的表征关联分

析 基于表 2,3 中特征成分和类型成分含量与峰面积,以蒲公英饮片 S1 为基准,计算其他批饮片各特征成分及类型成分与基准饮片对应成分的含量、峰

表 4 基于特征成分含量相对比值的 15 批蒲公英饮片量的表征

Table 4 Quantity representation of 15 batches of Taraxaci Herba pieces based on relative ratio of content of characteristic components

样品	原儿茶酸	单咖啡酰酒石酸	绿原酸	对香豆酸	异绿原酸 A	菊苣酸	酚酸类	木犀草苷	木犀草素	黄酮类
S1	0.093	8.069	1.120	0.128	0.959	16.753	28.553	0.400	0.352	1.353
S2	0.058	9.327	1.027	0.169	0.732	20.065	32.870	0.531	0.566	1.719
S3	0.035	9.132	1.929	0.116	1.328	24.211	38.412	0.475	0.482	1.750
S4	0.050	10.028	1.872	0.095	1.524	23.977	39.313	0.453	0.548	1.874
S5	0.047	5.422	0.849	0.096	0.789	11.723	20.311	0.186	0.504	1.036
S6	0.043	8.146	1.343	0.104	1.214	19.125	31.515	0.422	0.493	1.538
S7	0.051	9.091	1.693	0.113	1.099	21.149	34.830	0.461	0.359	1.499
S8	0.058	9.945	1.836	0.165	1.456	24.291	39.578	0.509	0.693	2.013
S9	0.049	8.727	1.216	0.135	0.767	14.395	26.744	0.609	1.229	2.443
S10	0.102	6.632	0.912	0.122	0.968	11.478	21.615	0.214	0.400	1.071
S11	0.049	5.951	0.836	0.084	0.734	10.121	19.095	0.234	0.413	1.030
S12	0.037	8.327	1.477	0.122	1.478	18.198	31.248	0.383	0.433	1.420
S13	0.065	8.277	1.803	0.161	1.860	22.757	36.498	0.294	0.898	1.595
S14	0.050	13.751	2.657	0.143	1.823	36.308	56.594	0.665	0.581	2.443
S15	0.047	5.245	0.527	0.070	0.294	4.407	11.867	0.285	0.282	0.834

表 5 基于特征成分峰面积相对比值的 15 批蒲公英饮片量的表征

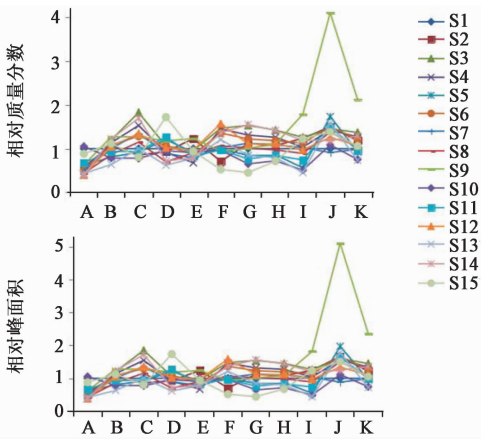
Table 5 Quantity representation of 15 batches of Taraxaci Herba pieces based on relative ratio of peak area of characteristic components

样品	原儿茶酸	单咖啡酰酒石酸	绿原酸	对香豆酸	异绿原酸 A	菊苣酸	酚酸类	木犀草苷	木犀草素	黄酮类
S1	0.075	3.429	0.592	0.174	0.617	12.219	18.527	0.199	0.200	0.786
S2	0.046	3.976	0.541	0.232	0.466	14.688	21.431	0.266	0.357	1.022
S3	0.028	3.894	1.033	0.157	0.860	17.770	25.396	0.237	0.301	1.073
S4	0.039	4.282	1.002	0.127	0.990	17.607	25.812	0.226	0.342	1.155
S5	0.037	2.282	0.446	0.130	0.505	8.490	13.266	0.089	0.325	0.620
S6	0.034	3.464	0.714	0.140	0.785	13.986	20.655	0.210	0.310	0.928
S7	0.041	3.872	0.905	0.153	0.708	15.498	22.803	0.229	0.198	0.867
S8	0.046	4.242	0.983	0.226	0.946	17.869	26.133	0.254	0.433	1.209
S9	0.039	3.719	0.645	0.184	0.491	10.471	16.996	0.306	0.867	1.573
S10	0.083	2.799	0.479	0.165	0.622	8.285	13.823	0.102	0.233	0.612
S11	0.040	2.514	0.440	0.113	0.470	7.305	12.189	0.114	0.259	0.609
S12	0.028	3.542	0.787	0.166	0.959	13.295	20.379	0.190	0.262	0.843
S13	0.051	3.503	0.965	0.220	1.215	16.729	24.245	0.141	0.578	0.921
S14	0.039	5.916	1.434	0.194	1.189	26.886	37.517	0.335	0.349	1.501
S15	0.038	2.217	0.274	0.094	0.183	3.107	7.183	0.141	0.173	0.477

面积的相对比值,见图 3。

2.3.6 蒲公英量的表征关联分析 由表 2,3 及图 3 可知,15 批蒲公英饮片中各特征成分的含量相差较大。原儿茶酸含量最大相差约 2.72 倍,峰面积最大相差约 2.86 倍,含量及峰面积排序均为 S10 >

S1 > S15 > S11 > S9 > S5 > S2 > S6 > S7 > S4 > S8 > S13 > S3 > S12 > S14; 单咖啡酰酒石酸含量最大相差约 1.99 倍,峰面积最大相差约 2.04 倍,含量及峰面积排序均为 S9 > S14 > S3 > S4 > S15 > S6 > S2 > S12 > S7 > S1 > S11 > S8 > S5 > S10 > S13; 绿原酸含



A. 原儿茶酸; B. 单咖啡酰酒石酸; C. 绿原酸; D. 咖啡酸; E. 对香豆酸; F. 异绿原酸 A; G. 菊苣酸; H. 酚酸类; I. 木犀草苷; J. 木犀草素; K. 黄酮类

图 3 15 批蒲公英饮片各特征成分的相对质量分数和相对峰面积
Fig. 3 Relative contents and relative peak areas of characteristic ingredients in 15 batches of Taraxaci Herba pieces

量最大相差约 2.35 倍,峰面积最大相差约 2.40 倍,含量及峰面积排序均为 S3 > S14 > S4 > S7 > S12 > S6 > S9 > S8 > S13 > S1 > S11 > S5 > S2 > S15 > S10; 咖啡酸含量最大相差约 2.77 倍,峰面积最大相差约 2.82 倍,含量及峰面积排序均为 S15 > S11 > S5 > S9 > S6 > S3 > S12 > S1 > S10 > S2 > S4 > S7 > S14 > S8 > S13; 对香豆酸含量最大相差约 1.82 倍,峰面积最大相差约 1.87 倍,含量及峰面积排序均为 S9 > S2 > S1 > S12 > S3 > S15 > S5 > S10 > S8 > S6 > S11 > S14 > S7 > S13 > S4; 异绿原酸 A 含量最大相差约 2.98 倍,峰面积最大相差约 3.08 倍,含量及峰面积排序均为 S11 > S3 > S13 > S1 > S4 > S15 > S6 > S7 > S14 > S8 > S9 > S5 > S2 > S12 > S10; 菊苣酸含量最大相差约 3.42 倍,峰面积最大相差约 3.54 倍,含量及峰面积排序均为 S14 > S3 > S4 > S6 > S7 > S2 > S12 > S8 > S9 > S1 > S5 > S13 > S11 > S10 > S15; 酚酸类含量最大相差约 1.99 倍,峰面积最大相差约 2.16 倍,含量排序为 S3 > S14 > S4 > S6 > S12 > S9 > S7 > S2 > S1 > S8 > S5 > S11 > S13 > S10 > S15,峰面积排序为 S3 > S14 > S4 > S6 > S12 > S7 > S9 > S2 > S1 > S8 > S5 > S11 > S13 > S10 > S15; 木犀草苷含量最大相差约 3.92 倍,峰面积最大相差约 4.17 倍,含量及峰面积排序均为 S9 > S3 > S2 > S15 > S14 > S6 > S4 > S7 > S1 > S12 > S8 > S11 > S5 > S10 > S13; 木犀草素含量最大相差约 4.51 倍,峰面积最大相差约 5.80 倍,含量及峰面积排序均为 S9 > S5 > S13 > S6 > S2 > S11 > S3 > S4 > S15 > S8 > S12 > S14 >

S10 > S1 > S7; 黄酮类含量最大相差约 2.89 倍,峰面积最大相差约 3.28 倍,含量排序为 S9 > S3 > S14 > S4 > S6 > S2 > S12 > S15 > S8 > S1 > S7 > S11 > S5 > S10 > S13,峰面积排序为 S9 > S3 > S14 > S4 > S6 > S2 > S12 > S8 > S15 > S1 > S11 > S7 > S5 > S10 > S13。

结果发现基于酚酸类特征成分及其类型成分的含量、峰面积进行考量,样品 S3, S14, S4, S6, S12, S9, S7 中较高;基于黄酮类特征成分及其类型成分的含量、峰面积进行考量,样品 S9, S3, S14, S4, S6, S2, S12 较高;综合酚酸类和黄酮类特征成分及其类型成分含量、峰面积进行考量,样品 S3, S14, S4, S6, S9, S12 较高。样品 S10 中主要特征成分含量、峰面积与基准饮片接近。

由表 4, 5 可知,以样品 S1 作为基准,计算 15 批蒲公英饮片中特征成分和类型成分含量相对比值、峰面积相对比值与基准饮片的相对比值的比值并关联分析,其他样品与基准饮片相对比值的比值的差值的绝对值之和即为非关联系数;非关联系数与特征成分数目的比值,即为非关联度,进而得到关联度,用来反映饮片质量直接的关联性,见表 6, 7。结果发现样品 S10, S6, S12, S7, S2 与基准饮片质量表征关联度最高。

2.3.7 蒲公英的质量表征关联分析 以咖啡酸含量为基准,得蒲公英基准饮片中酚类成分的质量关系式为原儿茶酸-单咖啡酸酒石酸-绿原酸-咖啡酸-对香豆酸-异绿原酸 A-菊苣酸-酚酸类-木犀草苷-木犀草素-黄酮类(0.093 : 8.069 : 1.120 : 1.000 : 0.128 : 0.959 : 16.753 : 28.553 : 0.400 : 0.352 : 1.353),当蒲公英饮片中所含的酚类种类与基准饮片相同,且其比例与基准饮片中比例越接近,代表其与基准饮片的关联度越高。综合分析,样品 S10 与基准饮片的质量关联性最高。

3 讨论

预试验对蒲公英的提取方式、提取溶剂、提取倍数、提取时间及提取次数等实验条件进行了优选,结果表明加 50 倍量 70% 甲醇超声提取 1 h 即可将特征成分提取完全^[13]。经光电二极管阵列检测器对 9 种特征成分进行全波长扫描,为兼顾各特征成分最大吸收波长及特征图谱质的全面性,故检测波长分别设定为 258 nm(原儿茶酸),308 nm(对香豆酸),322 nm(单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A 和菊苣酸),347 nm(木犀草素、木犀草苷)。

表 6 15 批蒲公英饮片中指标成分含量的关联度表征

Table 6 Correlation characterization of contents of index components in 15 batches of Taraxaci Herba pieces

样品	原儿茶酸	单咖啡酰酒石酸	绿原酸	对香豆酸	异绿原酸 A	菊苣酸	酚酸类	木犀草苷	木犀草素	黄酮类	非关联系数	非关联度 /%	关联度 /%
S1	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0	0	100.00
S2	0.623	1.156	0.917	1.318	0.763	1.198	1.151	1.325	1.610	1.271	2.73	24.78	75.22
S3	0.383	1.132	1.723	0.904	1.384	1.445	1.345	1.187	1.370	1.293	3.59	32.66	67.34
S4	0.538	1.243	1.672	0.740	1.588	1.431	1.377	1.132	1.558	1.386	4.11	37.36	62.64
S5	0.503	0.672	0.758	0.751	0.822	0.700	0.711	0.465	1.433	0.766	3.29	29.86	70.14
S6	0.468	1.010	1.199	0.810	1.266	1.142	1.104	1.054	1.403	1.137	2.03	18.49	81.51
S7	0.554	1.127	1.512	0.885	1.145	1.262	1.220	1.151	1.022	1.108	2.11	19.16	80.84
S8	0.624	1.232	1.639	1.290	1.518	1.450	1.386	1.271	1.972	1.488	4.62	42.03	57.97
S9	0.534	1.082	1.086	1.050	0.800	0.859	0.937	1.521	3.494	1.806	4.91	44.62	55.38
S10	1.101	0.822	0.815	0.950	1.009	0.685	0.757	0.534	1.137	0.791	1.89	17.21	82.79
S11	0.534	0.738	0.747	0.656	0.765	0.604	0.669	0.584	1.175	0.761	3.12	28.34	71.66
S12	0.395	1.032	1.319	0.950	1.541	1.086	1.094	0.956	1.232	1.050	2.05	18.67	81.33
S13	0.697	1.026	1.610	1.257	1.939	1.358	1.278	0.734	2.554	1.179	4.77	43.37	56.63
S14	0.539	1.704	2.373	1.112	1.900	2.167	1.982	1.663	1.651	1.806	7.82	71.08	28.92
S15	0.512	0.650	0.470	0.545	0.306	0.263	0.416	0.712	0.803	0.617	4.71	42.78	57.22

注:咖啡酸的相对质量分数均为 1。

表 7 15 批蒲公英饮片中指标成分峰面积的关联度表征

Table 7 Correlation characterization of peak areas of index components in 15 batches of Taraxaci Herba pieces

样品	原儿茶酸	单咖啡酰酒石酸	绿原酸	对香豆酸	异绿原酸 A	菊苣酸	酚酸类	木犀草苷	木犀草素	黄酮类	非关联系数	非关联度 /%	关联度 /%
S1	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0	0	100.00
S2	0.610	1.160	0.914	1.328	0.755	1.202	1.157	1.337	1.786	1.300	2.99	27.18	72.82
S3	0.366	1.136	1.744	0.902	1.395	1.454	1.371	1.194	1.507	1.366	3.90	35.45	64.55
S4	0.522	1.249	1.692	0.729	1.604	1.441	1.393	1.135	1.711	1.470	4.45	40.42	59.58
S5	0.491	0.666	0.754	0.746	0.819	0.695	0.716	0.450	1.624	0.789	3.50	31.80	68.20
S6	0.454	1.010	1.206	0.805	1.273	1.145	1.115	1.057	1.553	1.181	2.28	20.73	79.27
S7	0.538	1.129	1.528	0.879	1.149	1.268	1.231	1.155	0.992	1.103	2.15	19.58	80.42
S8	0.605	1.237	1.659	1.296	1.533	1.462	1.411	1.276	2.166	1.538	4.97	45.21	54.79
S9	0.523	1.085	1.090	1.054	0.796	0.857	0.917	1.541	4.337	2.001	6.01	54.68	45.32
S10	1.104	0.816	0.808	0.947	1.009	0.678	0.746	0.516	1.166	0.778	1.99	18.08	81.92
S11	0.524	0.733	0.743	0.649	0.762	0.598	0.658	0.574	1.295	0.775	3.28	29.82	70.18
S12	0.377	1.033	1.329	0.949	1.555	1.088	1.100	0.955	1.313	1.072	2.21	20.09	79.91
S13	0.678	1.022	1.629	1.260	1.970	1.369	1.309	0.709	2.894	1.172	5.24	47.62	52.38
S14	0.517	1.726	2.421	1.111	1.928	2.200	2.025	1.685	1.746	1.909	8.23	74.86	25.14
S15	0.506	0.647	0.463	0.539	0.297	0.254	0.388	0.711	0.868	0.607	4.72	42.91	57.09

注:咖啡酸的相对峰面积均为 1。

本研究收集了 15 批蒲公英饮片,结果发现来自不同产地的饮片质量差异性较大,而来自河北的 12 批饮片质量差异亦较大,笔者认为除产地造成的质

量差异外,还可能包括采收时间、蒲公英多种来源、加工方式等因素,由于实验采集样品数量只有 15 批,不能得出有效的统计结论,具体是何因素对蒲公

英饮片优良度影响较大还有待进一步研究确认。但在蒲公英饮片质量不一的现状下,应同时关注多种特征成分的类型、含量及组成比例,以全面客观评价蒲公英饮片的质量,从而完善其质量标准。

本研究在自然药理学观相关理论的指导下^[14],发现了蒲公英有效物质基础及其特征成分,建立了HPLC同时测定蒲公英中9种特征成分的含量测定方法及其酚类特征图谱质量表征关联分析方法,并对15批蒲公英饮片进行了饮片质量优良度评价。经分析可知,样品S3,S14,S4,S6,S9和S12特征成分含量总体较高;样品S10,S6,S12,S7和S2与基准饮片关联性最高;综合评价发现,样品S6,S12,S3,S10和S1优良度居前。所建立的蒲公英酚类特征成分含量测定方法简便、准确,构建的蒲公英酚类特征图谱质量表征关联分析模式关注了蒲公英饮片整体关联性与应用有效性,为蒲公英的质量评价与筛选及其药物质量的精准预期提供了依据。

[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,2015:352-353.

[2] 谢沈阳,杨晓源,丁章贵,等. 蒲公英的化学成份及其药理作用[J]. 天然产物研究与开发,2012,24(S1):141-151.

[3] 屠国昌. 蒲公英化学成分、药理作用和临床应用[J]. 海峡药学,2012,24(5):33-35.

[4] 林文艳. 蒲公英化学成分研究及板蓝根 HPLC 指纹图谱研究[D]. 杭州:浙江大学,2005.

[5] 杨岚,李华峰,刁海鹏,等. 蒲公英花中总酚酸和总黄酮含量测定及其抗氧化性能研究[J]. 食品科学,2011,32(17):160-163.

[6] 侯京玲,周霄楠,赵兴华,等. 几种蒲公英成分的提取及体外抑菌效果试验[J]. 中国兽医杂志,2016,52(12):53-55.

[7] 李建红. 蒲公英总黄酮对病毒性心肌炎小鼠心肌细胞凋亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):215-218.

[8] 朱丹,赵鑫,徐俏,等. 东北地区11种蒲公英 RP-HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(7):899-902.

[9] 刘燕,兰瑞容,兑靖冬,等. HPLC 法同时测定蒲公英中单咖啡酰酒石酸、绿原酸、咖啡酸、菊苣酸的含量[J]. 中国药师,2017,20(9):1677-1679.

[10] 姜宁,宋新波,李彦,等. HPLC 测定蒲公英中木犀草素的含量[J]. 天津药学,2008,20(6):1-3.

[11] 施亚琴,朱粉霞,丁淑敏,等. 超高效液相色谱法同时测定蒲公英中5种活性成分的含量[J]. 中国医院药学杂志,2013,33(9):677-680.

[12] 张璐,李焕娟,朱乃亮,等. 基于药物体系质量评价模式的石菖蒲质量表征关联分析研究[J]. 环球中医药,2015,8(3):274-280.

[13] 段红波,宦臣臣,梁引库,等. 蒲公英叶脂溶性成分的 GC-MS 分析及其活性探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(1):60-66.

[14] 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.

[责任编辑 刘德文]