

基于灰色关联度的旋覆花黄酮类有机成分与无机成分分析

王焱, 李天娇, 孟宪生*, 包永睿, 王帅
(辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600)

[摘要] 目的: 在建立不同产地旋覆花黄酮类有机成分指纹谱和无机成分轮廓谱的基础上, 探讨有机成分与无机成分的相关性, 为全面控制旋覆花药材的质量提供前期基础。方法: 采用高效液相色谱法(HPLC)建立有机成分指纹谱, 采用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)建立无机元素轮廓谱, 并通过灰色关联度法探讨两者的相关性。结果: 从有机成分指纹图谱中获得18个共有指纹峰; 从无机元素轮廓谱中获得13种共有特征元素; 灰色相关分析结果显示1号色谱峰与K、Ca相关性最强, 2号, 17号色谱峰与Na、Mg、Mn相关性最强, 4号, 13号色谱峰与Zn相关性最强, 5号色谱峰与Fe相关性最强, 9号, 11号色谱峰与Al相关性最强, 相关系数均>0.9690。结论: 该研究在控制旋覆花黄酮类有机成分和无机元素含量基础上进行关联分析, 二者存在较强相关性, 说明控制有机成分含量的同时也可以部分反应无机元素含量高低, 为建立一种全面的质量控制方法及系统评价旋覆花药材质量提供实验参考。

[关键词] 旋覆花黄酮; 灰色关联; 有机成分; 无机元素

[中图分类号] R284.1; R282.6; R931.6; R2-03 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)07-0069-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180613

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171226.1446.032.html>

[网络出版时间] 2017-12-27 15:05

Quality Control of Organic and Inorganic Compounds of Flavonoids from Inulae Herba Based on Grey Relational Analysis

WANG Yan, LI Tian-jiao, MENG Xian-sheng*, BAO Yong-ru, WANG Shuai

(School of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the correlation between organic components and inorganic components by establishing fingerprints of organic components and profiles of inorganic components of flavonoids from Inulae Herba of different origins, and provide a preliminary basis for comprehensive quality control of Inulae Herba. **Method:** High performance liquid chromatography (HPLC) was used to set up fingerprints of organic compounds, and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was employed to set up profiles of inorganic elements. Then grey relational analysis was applied to discuss their relationship. **Result:** We obtained 18 common fingerprint peaks from the fingerprints of organic compounds and 13 common characteristic elements from the profiles of inorganic components. The results of grey relational analysis showed that No. 1 peak had the strongest correlation with K and Ca; No. 2 and No. 17 peaks had the strongest correlation with Na, Mg and Mn; No. 4 and No. 13 peaks had the strongest correlation with Zn; No. 5 had the strongest correlation with Fe; and No. 9 and No. 11 peaks had the strongest correlation with Al; with correlation coefficients all greater than 0.9690. **Conclusion:** The correlation analysis was carried out on the basis of controlling the content of organic and inorganic elements, and there was a strong correlation between these two, indicating that the control of organic

[收稿日期] 20170810(007)

[基金项目] “辽宁特聘教授”项目(辽教发[2014]187号)

[第一作者] 王焱, 硕士, 从事药物分析工作, E-mail: wy916780383@163.com

[通信作者] *孟宪生, 博士, 教授, 从事中药组分配伍、代谢组学及药品质量分析工作, Tel: 0411-85890185, E-mail: mxsvvv@126.com

components can also partially react the contents of inorganic elements. All of these could provide a reference for the establishment of a comprehensive quality control method and systemic evaluation of Inulae Herba.

[Key words] flavonoids of Inulae Herba; gray correlation; organic components; inorganic elements

旋覆花为菊科植物旋覆花或欧亚旋覆花的干燥头状花序,常用于风寒咳嗽,痰饮蓄结,胸膈痞闷等^[1]。通过文献调研并结合实验室前期成果,目前对旋覆花药材的研究多集中在化学成分及药效活性方面,其富含萜类和黄酮类等活性化合物^[2-3],质量控制研究也集中在黄酮类及萜类成分,并且这些成分有明显的细胞毒性和抗炎、抗肿瘤活性^[4-5]。2015年版《中国药典》中规定旋覆花定性定量方法只有对照药材的薄层鉴别,主要是对萜类等小极性成分的控制,并未规定含量测定的内容,不能有效控制旋覆花药材的质量。因此,本实验在前期旋覆花黄酮类组分提取工艺研究明确的基础上,建立不同产地旋覆花黄酮类成分指纹图谱,从整体反应旋覆花黄酮的组成成分,为补充2015年版《中国药典》中旋覆花药材的定性定量方法提供借鉴。无机元素作为植物组织成分的一部分,其种类及含量均影响中药的药性及功效^[6-7],且素有“诸花皆升,旋覆独降”的说法,可能与旋覆花中无机元素的组成有关,通过查阅文献发现,关于旋覆花无机元素的报道所见甚少,而黄酮类成分易与无机元素形成配位化合物存在于植物体内,二者相互作用,相互影响,进而构建旋覆花黄酮类成分中无机元素轮廓图谱并对无机元素含量进行控制,为旋覆花药材的全面质量控制研究提供实验参考。

1 材料

Agilent 1290 型快速高效液相色谱仪, Agilent 7500a 型电感耦合等离子体质谱仪(美国 Agilent 公司); Sartorius CP225D 型电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司)。

10 个不同产地旋覆花样品购于不同地区的药材市场,经辽宁中医药大学许亮教授鉴定为菊科植物旋覆花 *Inula japonica* 的干燥头状花序,其样品来源为 S1 安徽, S2 湖北, S3 辽宁, S4 吉林, S5 陕西, S6 河南, S7 四川, S8 山东, S9 河北, S10 山西。对照品 1,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸购于成都普菲德生物技术有限公司(批号 17022202, 纯度 > 98%)。多元素混合对照溶液(Fe, K, Ca, Na, Mg 质量浓度均为 1 000 mg·L⁻¹, Ag, Al, As, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Th, Tl, V, U, Zn 质量浓度均为 10 mg·L⁻¹, 批号 21-165VYY2); 内标液(Bi, Ge, Li, Sc, Y, In, Tb 质量浓

度为 10 mg·L⁻¹, 批号 12-117YPY2); 调谐液(Li, Ge, Y, Tl, Co 质量浓度为 10 μg·L⁻¹, 批号 23-18GSX2), 均购自美国安捷伦科技公司。

2 方法与结果

2.1 旋覆花有机成分指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件 采用 Agilent poroshell EC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 2.7 μm), 以 0.02% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)为流动相, 梯度洗脱(0 ~ 5 min, 10% B; 5 ~ 12 min, 10% ~ 14% B; 12 ~ 15 min, 14% ~ 15% B; 15 ~ 30 min, 15% ~ 20% B; 30 ~ 45 min, 20% ~ 30% B; 45 ~ 55 min, 30% ~ 50% B; 55 ~ 60 min, 50% ~ 95% B), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 进样量 2.5 μL, 检测波长 330 nm。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取 10 个不同产地旋覆花药材粉末约 20 g, 参照本实验室工艺进行提取^[8], 制备旋覆花黄酮类组分。取该组分粉末(过 100 目筛)约 100 mg, 精密称定, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理(功率 200 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失质量, 摇匀, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.1.3 对照品溶液的制备 精密称取对照品 1,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 12.34 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加入色谱甲醇使溶解并定容至刻度, 摇匀, 制成质量浓度为 0.494 g·L⁻¹ 的 1,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸对照品溶液。

2.1.4 方法学考察 取 2.1.2 项下制备的供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件注入液相色谱仪。以 11 号 1,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积 RSD, 对照品图谱见图 1。经方法学考察, 样品的精密度试验计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.0% ~ 0.1% 和 0.1% ~ 2.0%, 精密度良好; 稳定性试验 RSD 分别为 0.0% ~ 0.5% 和 0.4% ~ 2.3%, 供试品溶液在 24 h 内稳定; 重复性试验 RSD 分别为 0.0% ~ 0.5% 和 0.3% ~ 2.8%, 方法重复性较好。

2.1.5 供试品指纹图谱测定 取 2.1.2 项下制备的各供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件注入液相色谱仪进行测定, 记录峰面积。将 10 批旋覆花黄酮类有机成分指纹图谱数据导入由国家药典委员会颁

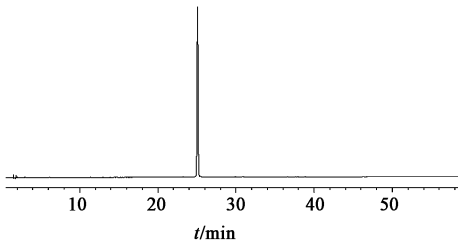


图 1 1,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸对照品 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatogram of reference substance 1, 5-*O*-dicaffeoylquinic acid

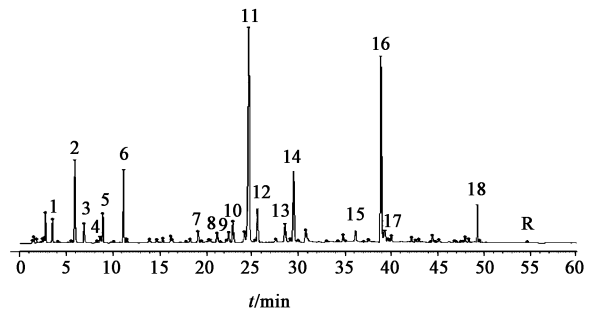


图 2 不同产地旋覆花黄酮类有机成分 HPLC 标准对照谱

Fig. 2 HPLC standard fingerprint of flavonoids from *Inulae Flos* with different origin

布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版本)分析处理,根据保留时间和峰面积进行色谱峰匹配,以各图谱峰面积的中位数生成标准对照图谱,见图 2,共有色谱峰相对保留时间及相对峰面积统计结果分别见表 1,2,相似度结果见表 3。

2.2 旋覆花中无机成分的含量测定

2.2.1 仪器的工作参数 RF 功率 1.38 kW,等离子体流速为 15.0 L·min⁻¹,载气流量 1.16 L·min⁻¹,采样深度 8.5 mm,采样锥孔径 Nickel 1.0 mm,截取

表 1 不同产地旋覆花黄酮类成分 HPLC 共有色谱峰相对保留时间

Table 1 Relative retention time of HPLC common peaks of flavonoids from *Inulae Flos* with different origin

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	13	14	15	16	17
S1	0.156	0.242	0.284	0.353	0.364	0.455	0.780	0.861	0.912	0.931	1.039	1.160	1.195	1.459	1.573	1.589
S2	0.155	0.241	0.283	0.351	0.363	0.454	0.780	0.861	0.912	0.931	1.038	1.158	1.195	1.460	1.574	1.589
S3	0.155	0.240	0.281	0.349	0.361	0.452	0.778	0.861	0.913	0.931	1.039	1.159	1.197	1.465	1.579	1.594
S4	0.156	0.241	0.282	0.351	0.362	0.454	0.779	0.861	0.913	0.931	1.039	1.159	1.196	1.463	1.576	1.593
S5	0.156	0.241	0.283	0.351	0.363	0.454	0.779	0.865	0.913	0.931	1.039	1.159	1.196	1.463	1.578	1.590
S6	0.155	0.239	0.279	0.348	0.360	0.451	0.778	0.861	0.915	0.932	1.038	1.158	1.198	1.470	1.583	1.599
S7	0.156	0.242	0.284	0.353	0.364	0.455	0.780	0.862	0.912	0.932	1.039	1.159	1.195	1.458	1.573	1.589
S8	0.156	0.241	0.283	0.352	0.363	0.454	0.780	0.862	0.912	0.931	1.039	1.159	1.195	1.459	1.573	1.589
S9	0.155	0.238	0.278	0.359	0.374	0.450	0.778	0.861	0.915	0.931	1.039	1.158	1.198	1.473	1.586	1.601
S10	0.156	0.241	0.283	0.352	0.363	0.454	0.780	0.862	0.913	0.932	1.039	1.159	1.195	1.461	1.575	1.591

注:11 号峰均为 1.000。表 2 同。

表 2 不同产地旋覆花黄酮类成分 HPLC 共有色谱峰相对峰面积

Table 2 Relative peak areas of HPLC common peaks of flavonoids from *Inulae Flos* with different origin

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	13	14	15	16	17
S1	0.137	0.244	0.072	0.050	0.104	0.261	0.108	0.141	0.134	0.114	0.195	0.091	0.362	0.201	0.840	0.186
S2	0.342	0.270	0.104	0.095	0.127	0.512	0.203	0.206	0.149	0.127	0.200	0.154	0.478	0.166	0.941	0.302
S3	0.171	0.357	0.102	0.063	0.087	0.319	0.243	0.244	0.154	0.104	0.127	0.084	0.248	0.070	0.927	0.398
S4	0.116	0.218	0.066	0.052	0.117	0.206	0.112	0.134	0.112	0.114	0.215	0.112	0.434	0.211	0.979	0.225
S5	0.280	0.282	0.084	0.060	0.111	0.456	0.434	0.109	0.158	0.070	0.171	0.087	0.177	0.004	0.681	0.088
S6	0.103	0.266	0.066	0.060	0.100	0.257	0.107	0.117	0.154	0.127	0.184	0.066	0.355	0.198	0.638	0.173
S7	0.126	0.258	0.082	0.038	0.130	0.223	0.102	0.116	0.150	0.142	0.186	0.089	0.373	0.238	0.592	0.176
S8	0.213	0.316	0.082	0.073	0.113	0.316	0.225	0.234	0.122	0.114	0.184	0.137	0.332	0.064	1.109	0.380
S9	0.105	0.300	0.071	0.103	0.016	0.292	0.110	0.139	0.164	0.119	0.184	0.092	0.371	0.194	0.635	0.161
S10	0.121	0.285	0.077	0.064	0.124	0.247	0.106	0.145	0.099	0.090	0.230	0.121	0.393	0.218	0.877	0.179

表 3 不同产地旋覆花黄酮类成分指纹图谱相似度评价

Table 3 Evaluation of fingerprints similarity of flavonoids from Inulae Flos with different origin

No.	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	R
S1	1.000	0.985	0.980	0.998	0.955	0.993	0.992	0.993	0.992	0.999	0.998
S2	0.985	1.000	0.983	0.976	0.970	0.982	0.981	0.985	0.982	0.982	0.989
S3	0.980	0.983	1.000	0.968	0.982	0.988	0.987	0.980	0.987	0.977	0.990
S4	0.998	0.976	0.968	1.000	0.940	0.985	0.985	0.991	0.983	0.998	0.992
S5	0.955	0.970	0.982	0.940	1.000	0.968	0.965	0.955	0.968	0.952	0.970
S6	0.993	0.982	0.988	0.985	0.968	1.000	0.999	0.980	1.000	0.992	0.997
S7	0.992	0.981	0.987	0.985	0.965	0.999	1.000	0.978	0.998	0.992	0.997
S8	0.993	0.985	0.980	0.991	0.955	0.980	0.978	1.000	0.978	0.991	0.991
S9	0.992	0.982	0.987	0.983	0.968	1.000	0.998	0.978	1.000	0.991	0.997
S10	0.999	0.982	0.977	0.998	0.952	0.992	0.992	0.991	0.991	1.000	0.997
R	0.998	0.989	0.990	0.992	0.970	0.997	0.997	0.991	0.997	0.997	1.000

锥孔径 0.4 mm,雾化室温度 2 ℃,分析时间 3 s,重复 3 次。见表 4。

表 4 旋覆花微波消解条件

Table 4 Conditions of microwave digestion

步骤	温度/℃	升温时间/min	保持时间/min
1	130	5	10
2	180	5	30
3	80	10	5

2.2.2 供试品溶液制备 取 2.1.2 项下制备的旋覆花黄酮组分粉末约 25 mg,精密称定,置于聚四氟乙烯消解罐中,精密加入浓硝酸 5 mL,置微波消解仪内,按表 4 条件进行消解。消解完毕后取出并冷却至常温,将消解液转移至 100 mL 量瓶中,用超纯

水多次洗涤消解罐和盖子,洗液合并于量瓶中,加水定容,摇匀,即得。空白对照同法处理,每批样品平行处理 3 份。

2.2.3 方法学考察 多元素混合对照溶液及内标工作液的配制:精密吸取 0, 100, 200, 300, 500, 1 000 μL 多元素混合对照溶液,超纯水定容至 100 mL 的量瓶中,配制得到多元素混合对照溶液;精密吸取 5 mL 内标液,超纯水定容至 50 mL 量瓶中,配制得到内标工作液。标准曲线的建立:在优化的实验条件下,仪器采集标准溶液后,以对照品质量浓度为横坐标(X),对照品峰强度为纵坐标(Y)自动绘制标准曲线,得各元素回归方程,相关系数在 0.999 3 ~ 0.999 8,符合 2015 年版《中国药典》规定,结果见表 5。

表 5 旋覆花黄酮组分中待测元素回归方程、相关系数检测限及定量限

Table 5 Regression equation, correlation coefficient, limit of detection and limit of quantitation of determined elements

元素	回归方程	相关系数	线性范围/μg·L ⁻¹	检测限/μg·L ⁻¹	定量限/μg·L ⁻¹
Na	$Y = 8.200 \times 10^3 X + 1.731 \times 10^6$	0.999 5	0 ~ 1 × 10 ⁴	0.003	0.010
Mg	$Y = 5.256 \times 10^3 X + 2.491 \times 10^5$	0.999 8	0 ~ 1 × 10 ⁴	0.004	0.013
Al	$Y = 7.113 \times 10^2 X + 6.447 \times 10^3$	0.999 3	0 ~ 1 × 10 ²	0.004	0.013
K	$Y = 7.377 \times 10^3 X + 1.655 \times 10^6$	0.999 3	0 ~ 1 × 10 ⁴	0.001	0.003
Ca	$Y = 1.405 \times 10^1 X + 1.965 \times 10^3$	0.999 3	0 ~ 1 × 10 ⁴	0.002	0.007
V	$Y = 9.620 \times 10^2 X + 3.350 \times 10^3$	0.999 7	0 ~ 1 × 10 ²	0.001	0.003
Cr	$Y = 9.549 \times 10^1 X + 5.708 \times 10^2$	0.999 7	0 ~ 1 × 10 ²	0.002	0.007
Mn	$Y = 1.019 \times 10^3 X + 5.694 \times 10^3$	0.999 5	0 ~ 1 × 10 ²	0.005	0.017
Fe	$Y = 8.559 \times 10^3 X + 1.999 \times 10^6$	0.999 3	0 ~ 1 × 10 ⁴	0.003	0.010
Cu	$Y = 4.960 \times 10^2 X + 3.263 \times 10^3$	0.999 6	0 ~ 1 × 10 ²	0.002	0.007
Zn	$Y = 1.211 \times 10^2 X + 1.209 \times 10^3$	0.999 4	0 ~ 1 × 10 ²	0.005	0.017
Ba	$Y = 1.567 \times 10^2 X + 7.578 \times 10^2$	0.999 5	0 ~ 1 × 10 ²	0.003	0.010
Pb	$Y = 6.865 \times 10^2 X + 4.628 \times 10^3$	0.999 8	0 ~ 1 × 10 ²	0.001	0.003

检测限与定量限:连续测定 7 份空白样品溶液,计算得到各元素检测限与定量限,结果整理见表 5。

精密度、重复性和加样回收率试验:根据测定结果,计算得到各元素的精密度 RSD 介于 1.0% ~

3.7% ; 重复性 RSD 介于 0.9% ~ 3.8% ; 平均加样回收率为 94.0% ~ 102.3% , RSD 介于 1.2% ~ 4.1% 。

2.2.4 供试品溶液的含量测定 取 2.2.2 项下制备的供试品溶液上机测定, 通过半定量分析筛选 75 种无机元素, 建立旋覆花黄酮类成分无机元素轮廓谱。对其中 Na, Mg, Ca, Cu, Fe 等 13 种特征差异元

素进行全定量分析测定, 包括 4 种常量元素, 8 种微量元素和 1 种有害元素, 测定结果见表 6。结果发现旋覆花黄酮类组分中含有丰富的 Na, Mg, K, Ca, Fe 等无机元素。按原子序数顺序绘制含量分布曲线(其中 K, Na 含量缩小 100 倍; Ca, Mg, Al, Cr 缩小 10 倍; Zn, Pb, V 扩大 10 倍), 见图 3。

表 6 旋覆花中特征差异元素含量

Table 6 Content of characteristic difference elements of Inulae Flos flavanoids $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$

No.	Na	Mg	Al	K	Ca	V	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Ba	Pb
S1	1 849.70	4 351.97	460.60	64 334.13	2 273.24	0.77	61.81	32.65	557.14	11.00	16.05	4.20	0.23
S2	1 514.80	3 380.08	135.96	63 120.13	1 390.88	0.41	2.26	20.36	119.08	14.66	16.07	6.31	0.51
S3	1 071.00	3 762.08	154.36	57 700.13	2 066.88	0.27	22.42	14.88	127.28	12.84	12.73	4.32	0.22
S4	1 856.80	4 066.08	556.56	60 120.13	2 988.88	0.46	89.98	36.06	477.68	17.40	15.83	14.31	0.44
S5	1 768.80	3 578.08	762.16	65 480.13	2 252.88	0.73	121.18	74.66	758.88	12.68	19.49	7.68	0.39
S6	1 460.20	3 420.08	473.96	59 520.13	1 972.88	0.80	58.74	28.40	414.88	16.04	15.69	21.17	0.43
S7	2 254.80	5 450.08	637.36	58 380.13	2 962.88	0.86	94.24	53.32	792.88	25.92	26.65	6.47	0.32
S8	2 614.80	4 454.08	286.76	63 060.13	2 334.88	0.55	30.44	19.60	225.48	11.21	16.77	13.95	0.54
S9	1 576.20	3 574.08	458.16	60 060.13	2 228.88	0.97	66.08	32.36	473.28	15.46	16.47	11.08	0.41
S10	1 804.80	4 694.08	660.16	68 880.13	2 848.88	0.61	103.98	41.18	682.08	15.35	15.45	5.81	0.38

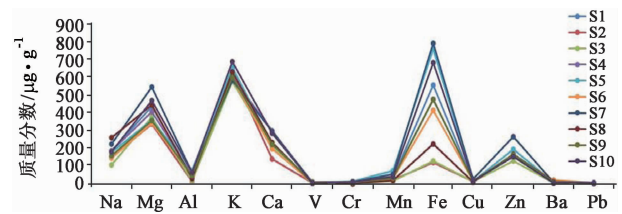


图 3 旋覆花黄酮类组分中无机元素含量分布
Fig. 3 Distribution of inorganic elements of flavonoids of Inulae Flos

表 7 旋覆花黄酮类有机成分与无机成分灰度关联分析

Table 7 Correlation analysis of organic components and inorganic components of flavonoids of Inulae Flos

峰号	Na	Mg	Al	K	Ca	Mn	Fe	Zn
1	0.963 7	0.955 4	0.860 1	0.993 3	0.969 1	0.945 9	-	0.902 9
2	0.995 5	0.986 7	0.884 8	0.961 6	0.938 9	0.976 6	-	0.930 6
3	0.951 2	0.959 3	0.930 3	0.912 8	0.892 5	0.969 1	-	0.981 5
4	0.935 5	0.943 4	0.945 8	0.898 5	0.878 9	0.952 9	0.807 0	0.998 8
5	-	-	0.832 2	-	-	-	0.982 4	-
6	0.976 4	0.967 9	0.869 9	0.980 2	0.956 6	0.958 1	-	0.914 0
8	0.926 8	0.934 5	0.954 9	0.890 5	0.871 3	0.943 8	0.813 3	0.991 2
9	0.891 3	0.898 5	0.996 1	0.858 1	0.840 5	0.906 9	0.841 6	0.950 4
11	0.897 3	0.904 6	0.988 6	0.863 6	0.845 7	0.913 2	0.836 5	0.957 3
13	0.930 4	0.938 2	0.951 1	0.893 8	0.874 4	0.947 5	0.810 7	0.995 3
16	0.861 6	0.868 2	0.965 7	0.830 9	0.814 6	0.876 0	0.869 7	0.916 2
17	0.985 7	0.994 5	0.899 7	0.944 4	0.922 5	0.995 0	-	0.947 3
18	-	-	0.856 6	-	-	-	0.982 8	0.818 7

注:“-”表示关联系数小于 0.80, 数值未列出。

由上表可知, 1 号色谱峰与 K, Ca 相关性最强, 2 号, 17 号色谱峰与 Na, Mg, Mn 相关性最强, 4 号, 13 号色谱峰与 Zn 相关性最强, 5 号色谱峰与 Fe 相关

2.3 灰色关联度分析 采用灰色关联度分析软件 (Grey Modeling_V3.0), 将上述 13 种关键指标元素与指纹图谱中 18 个指纹峰进行灰色关联分析。以无机元素含量设为参考数列(即母序列), 有机成分含量设为比较数列(即子序列), 利用取对数方法对数据进行无量纲化处理, 计算得到各组关联系数, 取关联系数大于 0.80 的元素, 整理结果见表 7。

性最强, 9 号, 11 号色谱峰与 Al 相关性最强。从结构角度分析, 旋覆花黄酮类有机化合物均含有邻二酚羟基的苯环, 能与金属离子络合形成配位化合物,

其中有些成分还具有 1 个 5 号位的酚羟基。本实验结果推测旋覆花黄酮类有机成分很可能在邻二酚羟基及 5 位羟基的位置与金属元素 Mg, Ca, Cu, Zn 等形成配合物存在于药材中,并以此形式发挥药效作用;较强相关性说明二者亲和性好,有机化合物在络合时具有金属离子选择性。

3 讨论

旋覆花黄酮类有机成分是其药效作用的主要物质基础之一,本研究建立该类成分指纹谱,表达了综合的、可量化的药材组成成分的整体信息。无机元素是维持人体正常生理功能必不可少的成分,如 K, Na 能维持人体的水平衡、渗透压和酸碱平衡, Ca 是人体骨头和牙齿的主要成分并具有帮助血液凝结的作用, Fe 能参与体内氧的运输, Mg 能激活体内多种酶,维持核酸结构稳定等。通过构建无机成分轮廓谱及共有特征元素含量测定,并结合有机成分指纹谱,有助于更全面地控制旋覆花药材的药效物质含量从而全面提高药材质量。

本实验制备的旋覆花有效组分主要为具有酚类结构的酚酸和黄酮类成分,是旋覆花中含量最多的一类活性成分。此类成分在结构上具有很好的超离域度和大 π 键共轭体系,与 Cu, Zn, Fe, Al 等金属元素有强配位能力^[9],且中药往往是通过有机成分与无机成分协同作用而发挥药效^[10]。本研究从有机和无机角度出发,对不同产地旋覆花黄酮类有机成分和无机成分进行质量控制,为建立一种全面的质量控制方法及综合评价药材质量提供参考。

现代研究多集中于活性有机成分的提纯,存在药效作用反而减弱的现象,原因可能与金属元素的丢失有关。根据文献报道,黄芩苷铜和铝配合物抗肿瘤活性均强于黄芩苷^[11];槲皮素与铜形成配合物,其清除自由基活性增强^[12];二氢杨梅素-锌配合物表现出比配体更强的清除自由基的能力和抑菌能力^[13]。无机元素是中药有效成分的核心组分,通过灰色关联分析发现旋覆花黄酮类有机成分和无机成分存在较强的相关性,由此猜测旋覆花中药效物质很可能是有机成分与无机元素组成的配位化合物,关联结果可以为天然药物的合成及结构设计提供参考,进而探讨药物的研究方向。

综合本实验结果,完成了对旋覆花黄酮类有机成分指纹谱和无机成分轮廓谱的构建,并进行初步的质量控制,为建立全面的质量控制方法提供参考。通过有机和无机两方面的关联分析发现,部分有机

成分与无机元素相关性较强,在质量控制研究中可以互为补充,同时为二者协同起效的物质基础研究提供可能,为旋覆花中的药效单体成分及其配位无机元素络合而成新药物的发现奠定前期基础。

[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,2015:325-326.
- [2] 朱虹,唐生安,秦楠,等. 旋覆花中化学成分及其活性研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(1):83-88.
- [3] 黄一凡,王帅,孟宪生,等. 旋覆花中倍半萜内酯类成分提取工艺的优化及体外抗肿瘤药效研究[J]. 药学研究,2015,34(2):69-71.
- [4] HU Z, QIN J, ZHANG H, et al. Japonicone A antagonizes the activity of TNF- α by directly targeting this cytokine and selectively disrupting its interaction with TNF receptor-1 [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84 (11): 1482-1491.
- [5] WANG G W, QIN J J, CHEN X R, et al. *Inula* sesquiterpenoids: structural diversity, cytotoxicity and anti-tumor activity [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2014, 23(3):317-345.
- [6] 刘威,王振中,胡军华,等. 不同产地牡丹皮中微量元素与多指标成分灰色关联度评价及相关性分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(1):34-41.
- [7] 姚佳,尹海波,赵容,等. 基于连作障碍条件下穿山龙无机元素吸收规律及总皂苷含量分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(24):61-64.
- [8] 黄一凡,王帅,孟宪生,等. 基于 HepG2 体外细胞培养的旋覆花抗肿瘤有效组分的提取工艺[J]. 中成药,2016,38(2):450-453.
- [9] 钱俊臻,王伯初,谭君,等. 黄酮类化合物的金属配合物及其药理作用[J]. 中国药理学通报,2012,28(8):1058-1062.
- [10] 常馨,包永睿,孟宪生,等. ICP-MS 法分析不同批次气滞胃痛颗粒中无机元素的差异[J]. 中成药,2016,38(4):950-954.
- [11] 刘衍季,何小燕,刘晓华,等. 黄芩苷铜和铝配合物的合成及其生物活性研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(9):1296-1302.
- [12] 谭君,王伯初,祝连彩,等. 槲皮素铜(II)配合物清除自由基活性的研究[J]. 时珍国医国药,2007,18(4):800-801.
- [13] 曾金华. 二氢杨梅素-锌(II)配合物的制备及其生物活性的研究[D]. 广州:广东工业大学,2014.

[责任编辑 顾雪竹]