

金银花、山银花动态挥发性成分的质量控制

李海英, 樊启猛, 贺玉婷, 贺鹏, 王敏存, 刘润南, 周镛,

钱学兵, 曾鲜萍, 肖美凤*, 贺福元*

(湖南中医药大学药学院, 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室,
中医药超分子机理与数理特征化实验室, 长沙 410208)

[摘要] 目的:运用分子连接性指数法与总量统计矩法控制中药质量,阐明金银花、山银花挥发性成分的稳定性与一致性。方法:提取不同产地金银花、山银花挥发油进行GC-MS测定,采用电子轰击离子源,离子源温度230℃,检测范围 m/z 35~650;结合美国国家标准与技术局(NIST)05和ChemicalBook数据库定性分析挥发性成分,采用峰面积归一化法进行定量分析并计算总量统计矩参数和挥发性成分的零阶、一阶、二阶、三阶分子连接性指数。结果:10批金银花、山银花各指纹图谱峰数目(RSD分别为28.5%,33.4%),总量零阶矩(RSD分别为55.5%,128.9%)和总量二阶矩(RSD分别为15.3%,21.5%)不稳定,表明挥发性成分种类与含量波动剧烈;但总量一阶矩(RSD分别为7.5%,8.8%)和零阶、一阶、二阶、三阶分子连接性指数较稳定(RSD分别在8.1%~10.3%,4.2%~5.5%),表明成分整体“印迹模板”相似。对各参数进行统计分析,发现金银花、山银花这2味药材挥发油的峰数、总量一阶矩及零阶、一阶、二阶、三阶分子连接性指数之间不具有显著性差异。结论:以超分子气析“印迹模板”理论为指导,采用分子连接性指数法和总量统计矩参数联合表征中药体外成分“印迹模板”,可宏观控制中药质量的稳定性与一致性。

[关键词] 超分子气析“印迹模板”理论;分子连接性指数;总量统计矩;稳定性;金银花;山银花;挥发油

[中图分类号] R22;R931;R28;C37;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)22-0148-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201047

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200204.1546.002.html>

[网络出版日期] 2020-2-4 16:00

Quality Control of Dynamic Volatile Components in *Lonicerae Japonicae* Flos and *Lonicerae* Flos

LI Hai-ying, FAN Qi-meng, HE Yu-ting, HE Peng, WANG Min-cun, LIU Run-nan, ZHOU Zhuo,

QIAN Xue-bing, ZENG Xian-ping, XIAO Mei-feng*, HE Fu-yuan*

(College of Pharmacy, Hunan Provincial Key Laboratory of Druggability and Preparation Modification for Chinese Materia Medica, Laboratory of Supramolecular Mechanism and Mathematic-physics

Characterization for Traditional Chinese Medicine,

Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** The molecular connectivity index method and total statistical moment method were used to control the quality of traditional Chinese medicine (TCM), and the stability and consistency of volatile components of *Lonicerae Japonicae* Flos and *Lonicerae* Flos were clarified. **Method:** Volatile oils in

[收稿日期] 20191130(017)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81703824);中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室开放基金项目(201705);湖南中医药大学研究生创新项目(2018CX51);湖南中医药大学大学生创新训练项目

[第一作者] 李海英,在读硕士,从事中药复方的生物有效性及其新制剂、新技术与新工艺研究,E-mail:1576970046@qq.com

[通信作者] *肖美凤,博士,副教授,从事中药以及复方物质基础、中药超分子与定量网络药理学研究,Tel:0731-88458232,E-mail:xiaomf.002@163.com;

*贺福元,博士,教授,从事中药药剂学、超分子研究,Tel:0731-88458230,E-mail:pharmsharking@tom.com

Lonicerae Japonicae Flos and Lonicerae Flos from different producing areas was extracted for GC-MS determination with electron bombardment ion source, ion source temperature of 230 °C, and detection range of m/z 35-650. Then National Institute of Standards and Technology (NIST) 05 and ChemicalBook database were used for qualitative analysis of these volatile components, the peak area normalization method was used for quantitative analysis, and the total statistical moment parameters and the zero-order, first-order, second-order, third-order molecular connectivity indexes of the components were calculated. **Result:** Number of peaks (RSD were 28.5%, 33.4%, respectively), total zero-order moments (RSD were 55.5%, 128.9%, respectively) and total second-order moments (RSD were 15.3%, 21.5%, respectively) of 10 batches of Lonicerae Japonicae Flos and Lonicerae Flos were unstable, indicating that the types and contents of volatile components fluctuated sharply, but the total first-order moments (RSD were 7.5%, 8.8%, respectively) and the zero-order, first-order, second-order and third-order molecular connectivity indexes (RSD ranged from 8.1% to 10.3% and 4.2% to 5.5%, respectively) were relatively stable, indicating that the overall "imprinting template" of the components was similar. Statistical analysis of each parameter found that there were no significant differences in the number of peaks, total first-order moments and zero-order, first-order, second-order, third-order molecular connectivity indexes between volatile oils from Lonicerae Japonicae Flos and Lonicerae Flos. **Conclusion:** Under the guidance of supramolecular gas evolution "imprinting template" theory, the molecular connectivity index method and total statistical moment parameters are used to jointly characterize the "imprinting template" of TCM components *in vitro*, which can control the stability and consistency of TCM quality.

[Key words] supramolecular gas evolution "imprinting template" theory; molecular connectivity index; total statistical moment; stability; Lonicerae Japonicae Flos; Lonicerae Flos; volatile oils

金银花为忍冬科植物忍冬的干燥花蕾或带初开的花,主产于山东、陕西、河南等地;山银花为忍冬科植物灰毡毛忍冬、红腺忍冬、华南忍冬和黄褐毛忍冬的干燥花蕾或带初开的花,主产于四川、湖南、广东等地^[1]。两者为同科异种植物的干燥花蕾,有效成分均包括有机酸类、黄酮类、三萜皂苷类、环烯醚萜类、挥发油以及微量元素等,然而二者在化学成分组成及含量上均存在一定差异。但是金银花与山银花的性味归经、功能主治、用法用量却完全相同,临床上两者不加区别,混用现象较为常见^[2-3]。自从2005年版《中国药典》将二者分列之后,南方山银花蒙受巨大损失,金银花、山银花之争愈演愈烈,其本质是金银花、山银花的异原异质同效之争,即不同的化学成分群表现出相同(似)药效作用位点的“印迹模板”气析作用规律^[4]。

根据中医药超分子“气析”理论,中药与人体均可看成是一个按一定的空间孔穴通道结构进行联接的由各种层次“印迹模板”组成的巨复超分子体。糖类、氨基酸、核苷酸、苷类、萜类、黄酮、生物碱等成分可看作这一超分子体系的“印迹模板”聚集体^[5]。超分子“印迹模板”即主体超分子(人体)与客体超分子(中药)发生相互作用时的空间空穴结构,就如 Fischer 的锁钥模型以及 Pauling 的抗体形成学

说,类似于药理学经典的受体-配体理论^[6]。例如,哌替啶、吗啡、美沙酮、喷他佐辛、芬太尼等均可与脑啡肽竞争性结合作用于大脑阿片受体,起到同样的中枢镇痛作用,然而这些镇痛药的结构与脑啡肽的结构相差较大^[7],这就说明产生同样的药理作用可以是不同的物质结构。中药为多成分体系,其疗效的发挥为多成分、多靶点、多途径协同作用的结果,因此,可将中药多成分群抽象成“印迹模板”,先宏观分析其超分子结构特征,再微观剖析其微观物质基础及作用机制,可用分子连接性指数与总量统计矩去表征金银花、山银花整体成分的同异^[8-9]。

分子连接性指数可对分子结构作出定量判断,通过分子结构将其与分子的物理、化学和生物学性质进行关联,建立一种定量的关系式,可用于表示成分整体“印迹模板”特征^[10]。已证实该指数与分子的多种理化性质和生物效应有关,如液体密度、沸点、有机物的水溶性、摩尔折射度、分子极化度、立体参数、分配系数及麻醉活性、酶抑制活性、抗菌活性、致幻活性、毒性等^[11-12]。有研究报道鱼腥草挥发性成分分子连接性指数与治疗作用有关,能表征有效成分与疗效的关系,分子连接性指数很有可能发展为质量标志物以控制中药质量^[13]。此外,还发现分子连接性指数与归肝经中药成分“印迹模板”

特征的关系,初步推断肝经的模板分子与黄酮苷类和萜类理化性质相近,从而提出黄酮苷类和萜类成分能与肝经的“印迹模板”较好匹配的假说^[14]。

总量统计矩由贺福元等^[15]率先提出,其参数包括总量零阶矩(“印迹模板”作用强度),总量一阶矩(“印迹模板”作用特征)和总量二阶矩(“印迹模板”特征的变异程度)。刘惠等^[6]通过比较金银花药渣、山银花药渣、菊花药渣吸附不同客体分子后 HPLC 指纹图谱总量一阶矩差值,证明金银花、山银花“印迹模板”相似。肖美凤等^[16]通过测定 11 批鱼腥草挥发油成分的种类与含量,发现无论各批次挥发性成分种类与含量怎样变化,其 GC-MS 指纹图谱总量一阶矩、总量二阶矩稳定,说明不同批次鱼腥草挥发油成分“印迹模板”特征具有一致性,中药指纹图谱总量统计矩(相似度)法适用于控制中药质量。

金银花、山银花的挥发油均具有抗炎抑菌的药理作用^[17-18],因此,本研究以中医药超分子“气析”理论为指导,运用分子连接性指数法与总量统计矩参数剖析金银花、山银花挥发性成分“印迹模板”的稳定性与一致性,为金银花、山银花“分合之争”奠定理论基础。

1 材料

GCMS-QP2010 型气质联用仪(日本岛津公司),EKUP-II-20T 型超纯水机(长沙市科临电子科技有限公司),CP-114 型电子天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司],98-1-B 型电子控温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司)。10 批金银花和 10 批山银花饮片的购买产地见表 1,经湖南中医药大学炮制教研室石继连教授鉴定,分别为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* 的干燥花蕾或带初开的花和忍冬科植物灰毡毛忍冬 *L. macranthoides* 的干燥花蕾或带初开的花;水为纯化水,试剂均为色谱纯。

2 方法

2.1 实验原理

2.1.1 分子连接性指数的计算 分子连接性指数的点价分为非原子点价和原子点价,故而分子连接性指数的计算也对原子点价和非原子点价进行了区分。非原子点价的计算公式为 $\delta_m = \sigma_m - H_m$,式中 σ_m 为非氢原子 m 的 σ 键的总数, H_m 为非氢原子 m 相连的氢原子个数。原子点价的计算公式为 $\delta_m^* = (Z_m^* - H_m) / (Z_m - Z_m^* - 1)$,式中 Z_m 为非氢原子 m 的核外电子总数, Z_m^* 为非氢原子 m 的最外层电子数, H_m 为非氢原子 m 相连的氢原子个数。非原子点价的分子连接性指数计算通式为 ${}^nX = \sum (\delta_1 \delta_2 \delta_3 \cdots \delta_n \delta_{n+1})^{-1/2}$,式

表 1 金银花、山银花样品的产地信息

Table 1 Origin information of 10 batches of *Lonicerae Japonicae* Flos and *Lonicerae Flos* samples

样品	编号	产地(备注)
金银花	J1	山东省邹城市
	J2	河北省巨鹿县巨鹿镇
	J3	河北省巨鹿县巨鹿镇
	J4	河南省新乡市封丘县(二茬花)
	J5	河南省商丘市
	J6	湖南省衡阳市祁东县
	J7	山东省邹城市张庄镇
	J8	山东省
	J9	山东省临沂市费县深丘镇
	J10	山东省平邑市
山银花	S1	安徽省亳州市
	S2	广西壮族自治区南宁市马山县
	S3	贵州遵义绥阳县小关乡银花村(湘蕾 1 号)
	S4	贵州遵义绥阳县小关乡银花村(蒸汽杀青加工)
	S5	贵州遵义绥阳县小关乡银花村(农家土法晒花)
	S6	贵州遵义绥阳县小关乡银花村(蒸汽加工)
	S7	湖南省邵阳市隆回县小沙江(茶花)
	S8	湖南省邵阳市隆回县小沙江(小米花)
	S9	河北省枣阳市七方镇箱庄村
	S10	重庆市秀山县

中 nX 为 n 阶非原子点价的分子连接性指数, δ_n 为编号为 n 的原子的非原子点价。原子点价的分子连接性指数计算通式为 ${}^nX^* = \sum (\delta_1^* \delta_2^* \delta_3^* \cdots \delta_n^* \delta_{n+1}^*)^{-1/2}$,式中 ${}^nX^*$ 为 n 阶原子点价的分子连接性指数, δ_n^* 为编号为 n 的原子的原子点价。

2.1.2 总量统计矩的计算 计算方法见参考文献^[15]。

2.2 金银花、山银花挥发油的收集与供试品溶液的制备 取 10 批金银花和 10 批山银花干品,准确称取 200.0 g,用剪刀剪碎成 2~3 cm 的小段,置于单口圆底烧瓶中,加 12 倍量水浸没药材,采用水蒸气蒸馏法提取 10 h,收集挥发油提取器上层油状液体,得金银花、山银花挥发油样品。取一定体积的挥发油样品,用乙酸乙酯稀释至挥发油体积分数达 5%,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,待测。

2.3 气相色谱条件

2.3.1 色谱条件 DB-5 石英毛细管柱(0.25 mm \times 60 m,0.25 μm)。升温程序为 80 $^\circ\text{C}$ 保持 1 min,以 5 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 220 $^\circ\text{C}$,保持 5 min,再以 0.2 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 280 $^\circ\text{C}$,保持 26 min,进样量 1 μL ,分流

比20:1。

2.3.2 质谱条件 采用电子轰击离子源(EI),离子源温度230℃,接口温度280℃,电子能量115 eV,溶剂延迟时间6 min,检测范围 m/z 35~650。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取山东省平邑市金银花,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.3项下条件连续进样6次,以植物醇为参比峰,计算共有指纹峰相对保留时间和相对峰面积的RSD分别为2.6%和4.3%,说明仪器精密度符合要求。

2.4.2 稳定性试验 取山东省平邑市金银花的供试品溶液适量,分别在制备后1,2,4,6,12 h按2.3项下条件测定,以植物醇为参比峰,计算共有指纹峰相对保留时间和相对峰面积的RSD分别为1.4%和4.2%,说明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

2.4.3 重复性考察 取山东省平邑市金银花适量,共5份,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.3项下条件测定,以植物醇为参比峰,计算共有指纹峰相对保留时间和相对峰面积的RSD分别为1.4%和4.9%,说明该方法重复性符合要求。

3 结果

3.1 金银花和山银花的GC-MS指纹图谱 各样品的GC-MS指纹图谱见图1,2。

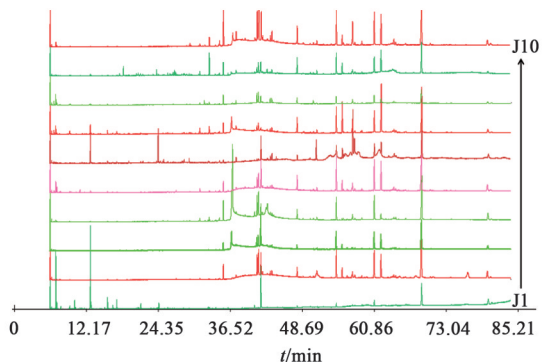


图1 10批金银花的GC-MS指纹谱

Fig. 1 GC-MS fingerprint of 10 batches of Lonicerae Japonicae Flos

3.2 金银花挥发油成分信息、总量统计矩参数及分子连接性指数 10批金银花挥发油共归属得到203个成分(匹配度>70%的色谱峰数目),共有成分5个,按相对质量分数从高到低排序分别为木蜡酸甲酯(9.77%),亚麻酸甲酯(9.37%),棕榈酸甲酯(5.64%),植物醇(5.06%),植酮(1.98%),总相对质量分数31.82%;非共有成分198个,总相对质量分数68.18%。根据指纹图谱色谱峰保留时间和峰面

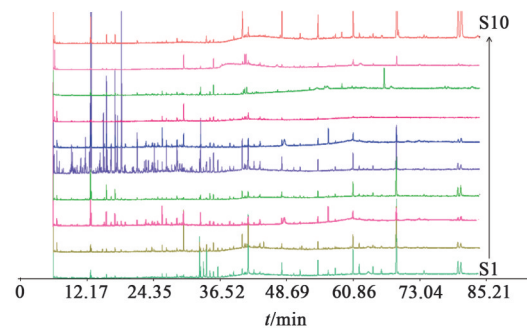


图2 10批山银花的GC-MS指纹谱

Fig. 2 GC-MS fingerprint of 10 batches of Lonicerae Flos

积计算总量统计矩^[6],根据成分拓扑结构用自编软件phpStudy 8.0计算零阶、一阶、二阶、三阶分子连接性指数,见表2。结果发现10批金银花挥发油的色谱峰数目处于18~67个(RSD 28.5%),总量零阶矩 $0.82 \times 10^7 \sim 9.83 \times 10^7$ (RSD 55.5%),总量一阶矩处于40.55~50.21 min (RSD 7.5%),总量二阶矩处于178.25~282.07 min² (RSD 15.3%),说明金银花挥发油成分种类与含量变化较大,成分“印迹模板”作用强度不同,但成分“印迹模板”作用特征相似。10批金银花挥发油的零阶、一阶、二阶、三阶分子连接性指数较为稳定(RSD 8.1%~10.3%),也同样说明不同产地金银花挥发油“印迹模板”稳定。

3.3 山银花挥发油成分信息、总量统计矩参数及分子连接性指数 10批山银花挥发油共归属得到了217个成分(匹配度>70%的色谱峰数目),共有成分3个,按相对质量分数从高到低排序分别为植物醇(5.23%), α -松油醇(1.94%),糠醛(1.13%),总相对质量分数8.30%;非共有成分为214个,总相对质量分数91.70%,见表3。

由表3可知,10批山银花挥发油的色谱峰数目处于24~73个(RSD 33.4%),总量零阶矩处于 $0.46 \times 10^7 \sim 13.99 \times 10^7$ (RSD 128.9%),总量一阶矩处于39.12~53.72 min (RSD 8.8%),总量二阶矩处于290.70~572.45 min² (RSD 21.5%),说明山银花挥发油成分种类与含量变化较大,“印迹模板”作用强度不同,但成分“印迹模板”作用特征相似。10批山银花挥发油的零阶、一阶、二阶、三阶分子连接性指数较稳定(RSD 4.2%~5.5%),也同样表明不同批次山银花挥发油“印迹模板”稳定。

3.4 挥发油成分信息、总量统计矩参数及分子连接性指数比较 对10批金银花和10批山银花挥发油共有成分信息及含量、出现频数进行分析,见表4。

表2 10批金银花挥发油的色谱峰数目、总量统计矩参数及分子连接性指数

Table 2 Number of peaks, total statistical moment parameters and molecular connectivity indexes of volatile components from 10 batches of *Lonicerae Japonicae Flos*

编号	峰数/个	总量零阶矩	总量一阶矩/min	总量二阶矩/min ²	⁰ χ	¹ χ	² χ	³ χ
J1	50	7.94×10 ⁷	50.21	178.25	15.03	7.46	6.83	4.56
J2	67	4.83×10 ⁷	48.11	229.83	12.94	8.22	5.66	3.74
J3	64	9.83×10 ⁷	47.36	181.88	13.17	8.39	5.76	3.72
J4	52	3.67×10 ⁷	45.97	185.98	14.13	9.12	6.21	4.04
J5	51	7.54×10 ⁷	41.66	198.83	12.56	7.92	5.50	3.53
J6	45	5.56×10 ⁷	48.60	218.81	11.67	7.10	5.28	3.43
J7	18	0.82×10 ⁷	44.07	242.89	13.20	8.19	5.90	3.75
J8	63	5.16×10 ⁷	47.69	226.38	12.24	7.58	5.39	3.49
J9	39	1.88×10 ⁷	40.55	282.07	11.31	7.06	4.92	3.18
J10	55	3.29×10 ⁷	41.32	248.67	11.85	7.52	5.36	3.52

注:⁰χ.零阶分子连接性指数;¹χ.一阶分子连接性指数;²χ.二阶分子连接性指数;³χ.三阶分子连接性指数(表3同)。

表3 10批山银花挥发油的色谱峰数目、总量统计矩参数及分子连接性指数

Table 3 Number of peaks, total statistical moment parameters and molecular connectivity indexes of volatile components from 10 batches of *Lonicerae Flos*

编号	峰数/个	总量零阶矩	总量一阶矩/min	总量二阶矩/min ²	⁰ χ	¹ χ	² χ	³ χ
S1	39	2.65×10 ⁷	53.72	321.15	12.49	7.79	5.63	3.63
S2	46	1.67×10 ⁷	46.84	365.84	13.01	7.90	5.80	3.59
S3	24	0.47×10 ⁷	47.37	361.04	11.67	7.09	5.05	3.11
S4	49	2.12×10 ⁷	43.07	418.81	12.92	8.06	5.83	3.75
S5	64	13.99×10 ⁷	46.32	307.85	12.29	7.57	5.44	3.44
S6	64	3.57×10 ⁷	39.12	337.24	12.30	7.46	5.55	3.48
S7	43	1.29×10 ⁷	50.57	572.45	11.60	7.07	5.34	3.33
S8	36	0.57×10 ⁷	43.02	374.52	11.96	7.36	5.37	3.39
S9	32	0.46×10 ⁷	48.20	357.72	11.94	7.36	5.23	3.28
S10	73	4.66×10 ⁷	46.58	290.70	11.65	7.17	5.23	3.30

表4 金银花和山银花挥发油的共有成分及其平均相对质量分数、出现频数

Table 4 Common constituents and their average relative contents, frequencies of volatile oils in *Lonicerae Japonicae Flos* and *Lonicerae Flos*

No.	成分	t _R /min	分子式	相对分子质量	平均相对质量分数/%		出现频数/次	
					金银花	山银花	金银花	山银花
1	糠醛 2-furaldehyde	6.67	C ₅ H ₄ O ₂	96.08	0.50	1.13	7	10
2	正己醇 1-hexanol	7.13	C ₆ H ₁₄ O	102.17	0.47	0.25	6	1
3	苯甲醛 benzaldehyde	9.34	C ₇ H ₆ O	106.12	0.40	0.42	3	5
4	顺-α,α-5-三甲基-5-乙烯基四氢呋喃-2-甲醇 cis-alpha, alpha,5-trimethyl-5-vinyltetrahydrofuran-2-methanol	12.23	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170.25	0.08	0.46	1	3
5	芳樟醇 linalool	12.81	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	1.67	2.53	6	9
6	二氢芳樟醇 3,7-dimethylocta-1,5,7-trien-3-ol	12.95	C ₁₀ H ₂₀ O	156.27	0.24	0.96	2	7
7	4-萜烯醇 terpene-4-ol	14.43	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.07	0.64	1	1
8	α-松油醇 α-terpineol	15.72	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.45	1.94	5	10
9	香叶醇 geraniol	16.61	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.21	1.75	4	9
10	1-癸醇 decyl alcohol	17.74	C ₁₀ H ₂₂ O	158.28	0.95	0.66	1	3

续表4

No.	成分	t_R /min	分子式	相对分子质量	平均相对质量分数/%		出现频数/次	
					金银花	山银花	金银花	山银花
11	甲基壬基甲酮 2-undecanone	18.41	C ₁₁ H ₂₂ O	170.29	2.89	0.57	1	2
12	1-十一醇 1-undecanol	20.64	C ₁₁ H ₂₄ O	172.31	0.83	0.27	1	2
13	1-十二醇 1-dodecanol	20.65	C ₁₂ H ₂₆ O	186.33	0.32	0.55	2	1
14	2-十二烷酮 2-dodecanone	21.28	C ₁₂ H ₂₄ O	184.32	0.94	0.62	1	2
15	大马士酮 β -damascenone	21.34	C ₁₃ H ₁₈ O	190.28	0.23	0.71	2	5
16	十二醛 dodecyl aldehyde	21.69	C ₁₂ H ₂₄ O	184.32	0.29	1.25	3	1
17	α -法呢烯 α -farnesene	24.42	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.20	0.72	2	3
18	月桂酸 lauric acid	25.65	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.32	0.23	0.16	2	1
19	橙花叔醇 nerolidol	25.92	C ₁₅ H ₂₆ O	222.37	0.37	2.09	7	3
20	(Z)-3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷三烯-3-醇 <i>cis</i> -nerolidol	25.93	C ₁₅ H ₂₆ O	222.37	0.35	0.54	3	4
21	石竹素 caryophyllene oxide	26.63	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	1.32	0.56	2	1
22	花生四烯酸乙酯 arachidonic acid ethyl ester	26.71	C ₂₂ H ₃₆ O ₂	332.52	0.13	1.33	3	3
23	十七烷酮 2-heptadecanone	29.14	C ₁₇ H ₃₄ O	254.45	0.78	2.97	7	5
24	十四醛三聚物 FEMA 2763	29.52	C ₁₄ H ₂₈ O	212.37	0.56	0.73	5	4
25	1-十八炔 1-octadecyne	29.53	C ₁₈ H ₃₄	250.46	0.18	4.29	3	4
26	十三醛 1-tridecanal	29.54	C ₁₃ H ₂₆ O	198.34	0.70	0.74	2	1
27	五甲基呋喃溴酸酯 methyl myristate	29.68	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242.40	0.39	0.24	4	4
28	金合欢醇 (<i>E,E</i>)-farnesol	29.85	C ₁₅ H ₂₆ O	222.37	1.03	17.95	2	2
29	里哪醇 farnesol	29.86	C ₁₅ H ₂₆ O	222.37	0.11	4.77	3	3
30	1-十三醇 1-tridecanol	31.12	C ₁₃ H ₂₈ O	200.36	1.01	0.30	3	1
31	1-十六(烷)醇 1-hexadecanol	31.14	C ₁₆ H ₃₄ O	242.44	0.66	1.99	4	4
32	苯甲酸苄酯 benzyl benzoate	31.34	C ₁₄ H ₁₂ O ₂	212.24	1.13	0.54	9	5
33	十八酸乙酯 ethyl stearate	31.43	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312.53	0.79	0.29	6	1
34	蒽 anthracene	32.30	C ₁₄ H ₁₀	178.23	0.44	0.24	2	1
35	癸酸甲酯 methyl decanoate	32.31	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186.29	0.11	0.27	1	1
36	植物醇 phytol	32.76	C ₂₀ H ₄₀ O	296.53	5.06	5.23	10	10
37	植酮 fitone	32.95	C ₁₈ H ₃₆ O	268.48	1.98	2.24	10	9
38	邻苯二甲酸二异丁酯 diisobutyl phthalate	33.90	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	0.50	0.21	1	1
39	1-十七烷醇 1-heptadecanol	34.00	C ₁₇ H ₃₆ O	256.47	0.49	2.64	4	3
40	1-十六烯 1-hexadecene	34.00	C ₁₆ H ₃₂	224.43	0.19	1.11	2	2
41	丙酸香茅酯 citronellyl propionate	34.06	C ₁₃ H ₂₄ O ₂	212.33	0.18	0.48	1	1
42	柳酸苄酯 benzyl salicylate	34.45	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228.24	0.23	0.67	5	3
43	亚麻酸甲酯 methyl linolenate	34.67	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292.46	9.37	7.09	10	7
44	香叶基芳樟醇 geranyl linalool	34.80	C ₂₀ H ₃₄ O	290.48	0.35	1.22	1	5
45	反亚油酸甲酯 linoleic acid methyl ester	34.89	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294.47	5.26	1.88	2	4
46	棕榈酸甲酯 methyl hexadecanoate	35.31	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.45	5.64	5.06	10	7
47	异植物醇 isophytol	36.11	C ₂₀ H ₄₀ O	296.53	0.31	0.75	8	8
48	棕榈酸 palmitic acid	36.63	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	8.67	19.25	4	1
49	邻苯二甲酸二丁酯 dibutyl phthalate	36.85	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	1.08	3.31	3	1
50	棕榈酸乙酯 palmitic acid ethyl ester	37.49	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.48	1.30	0.99	4	3
51	十八烷醛 stearaldehyde	38.49	C ₁₈ H ₃₆ O	268.48	0.52	0.53	7	3
52	反式-橙花叔醇 nerolidol	39.00	C ₁₅ H ₂₆ O	222.37	0.23	1.54	1	4

续表4

No.	成分	t_R /min	分子式	相对分子质量	平均相对质量分数/%		出现频数/次	
					金银花	山银花	金银花	山银花
53	角鲨烯 squalene	39.57	C ₃₀ H ₅₀	410.72	0.13	1.58	1	3
54	十八碳醇 1-octadecanol	40.58	C ₁₈ H ₃₈ O	270.49	0.14	1.72	1	1
55	1-二十醇 1-eicosanol	40.63	C ₂₀ H ₄₂ O	298.55	0.71	6.53	2	2
56	亚油酸甲酯 methyl linoleate	41.00	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294.47	6.82	5.02	7	3
57	硬脂酸甲酯 methyl stearate	41.94	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298.51	1.30	0.42	8	1
58	亚油酸 linoleic acid	42.55	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.45	1.90	0.85	4	1
59	芥酸 erucic acid	42.73	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	338.57	2.19	1.29	1	1
60	2-己基-1-癸醇 2-hexyl-1-decanol	42.74	C ₁₆ H ₃₄ O	242.44	0.54	1.28	1	1
61	丁位十二内酯 delta-dodecalactone	42.76	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	198.30	0.73	0.95	5	4
62	亚油酸乙酯 ethyl linoleate	43.26	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308.50	1.88	0.27	6	1
63	亚麻酸乙酯 linolenic acid ethyl ester	43.52	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306.48	1.74	1.56	8	1
64	亚麻酸 linolenic acid	43.54	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278.43	1.12	0.19	1	1
65	山萘酸乙酯 docosanoic acid ethyl ester	44.24	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	368.64	0.18	0.23	1	1
66	四十四烷 n-tetradetracontane	44.42	C ₄₄ H ₉₀	619.19	4.20	9.17	2	4
67	正十九烷 n-nonadecane	44.43	C ₁₉ H ₄₀	268.52	0.12	0.25	1	1
68	9-十八炔 9-octadecyne	47.65	C ₁₈ H ₃₄	250.46	0.08	0.30	1	1
69	正二十一烷 n-heneicosane	47.80	C ₂₁ H ₄₄	296.57	3.80	9.98	7	4
70	正三十四烷 n-tetratriacontane	47.82	C ₃₄ H ₇₀	478.92	0.24	3.07	2	5
71	正二十烷 n-eicosane	47.83	C ₂₀ H ₄₂	282.55	3.60	4.03	3	5
72	正十八烷 octadecane	51.17	C ₁₈ H ₃₈	254.49	0.79	1.57	1	2
73	正二十四烷 n-tetracosane	51.18	C ₂₄ H ₅₀	338.65	0.37	2.39	1	2
74	(Z)-氧代环十七碳-8-烯-2-酮 oxacycloheptadec-8-en-2-one	53.59	C ₁₆ H ₂₈ O ₂	252.39	0.16	2.55	1	8
75	二十八烷 n-octacosane	54.44	C ₂₈ H ₅₈	394.76	10.12	14.81	3	5
76	山萘酸甲酯 behenic acid methyl ester	55.42	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	354.61	3.93	0.35	9	3
77	3-壬烯-2-酮 3-nonen-2-one	55.66	C ₉ H ₁₆ O	140.22	0.75	0.39	4	1
78	邻苯二甲酸二正辛酯 dioctyl phthalate	56.28	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390.56	0.80	1.57	2	1
79	邻苯二甲酸二异辛酯 diisooctyl phthalate	56.29	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390.56	0.62	0.30	3	2
80	正三十六烷 n-hexatriacontane	57.58	C ₃₆ H ₇₄	506.97	0.95	2.05	1	1
81	木蜡酸甲酯 tetracosanoic acid methyl ester	61.99	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	382.66	9.77	2.11	10	5
82	正二十七烷 n-heptacosane	64.50	C ₂₇ H ₅₆	380.73	10.57	4.03	3	3
83	正二十九烷 n-nonacosane	64.51	C ₂₉ H ₆₀	408.79	7.73	1.69	6	1
84	1-二十二烯 1-docosene	80.54	C ₂₂ H ₄₄	308.59	0.80	6.65	1	2

对10批金银花、山银花各参数进行两独立样本均值 t 检验和非参数检验,结果峰数、总量零阶矩、总量一阶矩、总量二阶矩以及零阶、一阶、二阶、三阶分子连接性指数的均值差的绝对值分别为 3.40, 1.91×10^7 , 0.93, 151.37, 0.63, 0.37, 0.23, 0.27, 金银花、山银花上述参数之间的 P 分别为 0.619, 0.043, 0.590, 0, 0.131, 0.122, 0.231, 0.064(其中 $P < 0.05$ 表示差异具有显著性意义)。由表4可知,虽然10批金银花、山银花挥发油的共有成分数目仅占总数的

25%,共有成分的平均相对质量分数及出现频数也不一致,但金银花与山银花2味药材之间的峰数、总量一阶矩以及零阶、一阶、二阶、三阶分子连接性指数均不具有显著性差异,说明金银花、山银花成分体外“印迹模板”具有一致性。

4 讨论

金银花之间、山银花之间色谱峰数目与总量零阶矩、总量二阶矩不稳定(RSD较大),总量一阶矩和零阶、一阶、二阶、三阶分子连接性指数较稳定

(RSD相对较小),说明尽管色谱峰数目与成分含量波动剧烈,但不同产地同一基原的金银花、山银花药材之间“印迹模板”均稳定,质量较为稳定;金银花和山银花之间共有成分仅占成分总数的25%,且各批次共有成分含量及出现频数不一致,但峰数、总量一阶矩和零阶、一阶、二阶、三阶分子连接性指数不具显著性差异,表明不同基原的金银花与山银花体外成分“印迹模板”一致,可能有相同(似)的质量属性和药理作用。

综上所述,分子连接性指数运用于中药领域,可将有效成分群分子结构(超分子“印迹模板”)数学化,可作为一个新型的潜在质量标志物,宏观上、动态上、整体上实现中药质量的均一、稳定;运用于金银花、山银花,可实现这2味药材的“异原同效”之争。

因此,以超分子气析“印迹模板”理论作指导,首先分析金银花、山银花体内外成分“印迹模板”差异,再测定两者之间的印迹行为,最后再通过药理实验、谱动学、谱效学、谱效动力学实验验证,从而将物质基础-“印迹模板”-药效三者联系起来,建立成分结构与中药临床疗效之间的数学关系式,实现分子连接性指数预测与关联中药药效的目标。同时,分子连接性指数计算还存在一些不足,如未能反映顺反异构体、立体作用或非键效应的差异,特别是对于解释指数所包含的信息, δ 值的合理选择,计算公式的改进,结果的数学处理方法以及寻找更广泛的应用领域都有待进一步研究和改进。

[参考文献]

[1] 刘惠,杨姣,朱志飞,等.基于总量统计矩分析法的金银花、山银花HPLC指纹图谱评价[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(21):132-139.

[2] 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,2015:30-31,221.

[3] 杨倩茹,赵媛媛,郝江波,等.金银花与山银花化学成分及其差异的研究进展[J].中国中药杂志,2016,41(7):1204-1211.

[4] 贺福元,贺红,邓凯文,等.借超分子“印迹模板”的自主作用解开金(山)银花纷争[J].中国中药杂志,

2016,41(6):1152-1160.

[5] 贺福元,周逸群,邓凯文,等.超分子化学对中医药理论的特殊影响[J].中国中药杂志,2014,39(8):1534-1543.

[6] 刘惠,贺红,朱志飞,等.金银花与山银花体外印迹等效性的研究[J].中草药,2019,50(4):40-46.

[7] SIMANTOV R, SNYDER S H. Morphine-like peptides in mammalian brain: isolation, structure elucidation, and interactions with the opiate receptor[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1976, 73(7):2515-2519.

[8] 肖佳妹,杨岩,周晋,等.基于总量统计矩理论的中药质量标志物研究策略[J].中草药,2019,50(19):4589-4594.

[9] 樊启猛,贺鹏,李海英,等.经典名方物质基准研制的关键技术分析[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(15):202-209.

[10] 潘雪,樊启猛,余格,等.基于超分子“印迹模板”特性的中药质量标志物研究模式的思考[J].中草药,2019,50(19):4569-4575.

[11] 单俐经.分子连接性指数计算软件制作及应用[D].上海:华东理工大学,2011.

[12] 杨锋,王振东,周培疆,等.分子连接性指数的新定义[J].化学学报,2003,61(4):481-486.

[13] LIU W L, ZHANG X L, FAN S Q, et al. A novel concept of Q-markers: molecular connectivity index [J]. Phytomedicine, 2018, 45: 36-40.

[14] 范诗琪,李森,贺福元,等.基于分子连接性指数探归肝经中药成分“印迹模板”的特征[J].中国中药杂志,2017,42(2):390-395.

[15] 贺福元,周宏灏,邓凯文,等.指纹图谱的一种定性定量研究新方法:总量统计矩分析法[J].药学学报,2008,43(2):195-201.

[16] 肖美凤,张雨恬,杨岩涛,等.基于鱼腥草挥发性成分动态性的中药制剂“印迹模板”一致性分析[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(14):150-155.

[17] 苏香萍,龚大春,张亚雄,等.金银花二氧化碳超临界萃取物的体外抑菌作用研究[J].时珍国医国药,2009,20(4):832-834.

[18] 苏香萍,宋必卫,陈振华,等.CO₂超临界萃取金银花挥发油工艺及抗炎活性研究[J].天然产物研究与开发,2006,18(4):663-666.

[责任编辑 刘德文]