·实验研究·

基于 UPLC 指纹图谱及多成分含量测定的 2 种肉苁蓉新型饮片比较研究

甄亚钦[1,2,3],支雅婧[1],王　梦[1,2,3],田　伟[1,2,3],麻景梅[1,2,3],牛丽颖[1,2,3]
(1 河北中医学院,石家庄 050091;2 河北省中药配方颗粒技术创新中心,石家庄 050091;
3 河北省中药材品质评价与标准化工程研究中心,石家庄 050091)

[摘要] **目的**:建立肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片的 UPLC 指纹图谱及多成分含量测定方法,为其质量评价提供依据。**方法**:采用 ACQUITY UPLC BEH C_{18}(100 mm×2.1 mm,1.7 μm)色谱柱,以乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相,梯度洗脱,流速 0.3 mL·min^{-1},检测波长 235 nm,柱温 35 ℃,进样量 1 μL。**结果**:建立了肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片的 UPLC 指纹图谱,确定了 10 个共有峰,指认了京尼平苷酸、咖啡酸、松果菊苷、毛蕊花糖苷、管花苷 A 和异毛蕊花糖苷 6 种成分,并对这 6 种成分进行了含量测定,各成分分离良好,且有较宽的线性范围和良好的线性关系,稳定性、重复性及回收率均符合要求。采用聚类分析和主成分分析方法可以对肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片进行区分和鉴别。**结论**:UPLC 指纹图谱结合多成分含量测定方法简便、准确,重复性良好,可快速鉴别肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片并评价其内在质量,为完善肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片的质量控制提供方法参考。

[关键词] 肉苁蓉;配方颗粒;破壁饮片;质量控制;化学计量学
[中图分类号] R917　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003－3734(2021)13－1227－09

Comparative study on Cistanches herba formula granules and ultrafine granular power based on UPLC fingerprints and multi-components content determination

ZHEN Ya-qin[1,2,3], ZHI Ya-jing[1], WANG Meng[1,2,3], TIAN Wei[1,2,3], MA Jing-mei[1,2,3], NIU Li-ying[1,2,3]
(1 *Hebei University of Chinese Medicine*, *Shijiazhuang* 050091, *China*; 2 *Hebei TCM Formula Granule Innovation Center*, *Shijiazhuang* 050091, *China*; 3 *Hebei TCM Quality Evaluation & Standardization Engineering Research Center*, *Shijiazhuang* 050091, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To establish the UPLC fingerprints and multi-components content determination method of Cistanches herba formula granules and ultrafine granular power, and to provide a basis for their quality evaluation. **Methods**: The separation was achieved by using a ACQUITY UPLC BEH C_{18} (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) column via gradient elution with the mobile phase consisting acetonitrile and 0.1% phosphoric acid water. The flow rate was 0.3 mL·min^{-1} and the detection wavelength was set at 235 nm; the column temperature was 35 ℃ and the injection volume was 1 μL. **Results**: The UPLC fingerprints of Cistanches herba formula granules and ultrafine granular power were established, in which 10 common peaks were determined, and 6 components of geniposidic

[基金项目] 河北省自然科学基金资助项目(H2019423050);河北省中医药管理局科研计划项目(2017016)
[作者简介] 甄亚钦,女,硕士研究生,实验师,研究方向:中药质量控制。联系电话:(0311)89926890,E-mail: zhenyaqin@126.com。
[通讯作者] 牛丽颖,女,教授,博士生导师,研究方向为中药分析及药效物质基础。联系电话:(0311)89926548,E-mail: niuliyingyy@163.com。

acid, caffeic acid, echinacoside, acteoside, tubuloside A, and isoacteoside were identified. The contents of these 6 components were determined. Using the developed method, the components were well separated, and had wide linear ranges with good linear relationships. The stability, repeatability and recovery rate met the requirements. Using cluster analysis and principal component analysis methods, Cistanches herba formula granules and ultrafine granular power can be distinguighed and identified. **Conclusion**: The UPLC fingerprints combined with multi-components content determination method are simple, accurate, and reproducible. It can quickly identify the formula granules and ultrafine granular power of Cistanches herba and evaluate their internal quality, providing a method reference for improving the quality control of formula granules and ultrafine granular power of Cistanches herba.

[**Key words**] Cistanches herba; formula granules; ultrafine granular power; quality control; chemometrics

随着社会的发展,人们的生活节奏不断加快,传统中药饮片由于煎煮费时,储存、携带、服用不便而限制了其应用。新型中药饮片应运而生,主要有中药配方颗粒、中药破壁饮片、中药泡袋剂、定量压制饮片等[1-2]。中药配方颗粒是现代中药饮片重要的形式之一,最早实现了技术转化并投入市场进行量化生产。配方颗粒是以符合炮制规范的优质饮片为原料,以水为溶媒经现代工艺提取、浓缩、干燥、制粒而成的单味中药颗粒剂[3]。中药配方颗粒具有服用量小,携带保存方便,卫生安全等优点,此外中药配方颗粒可以实现电子调配,因而受到广大患者和医护人员的青睐[4]。中药破壁饮片也称超微粉中药,是指采用超微粉碎技术将中药颗粒粉碎成微米级甚至纳米级微粉,当前主要指细胞级微粉碎,在此条件下,一般药材的细胞破壁率≥95%[5]。目前应用最为广泛的新型中药饮片就是中药配方颗粒和中药破壁饮片。

肉苁蓉为列当科植物肉苁蓉(*Cistanche deserticola* Y. C. Ma)或管花肉苁蓉[*Cistanche tubulosa*(Schenk) Wight]的干燥带鳞叶的肉质茎[6],主产于内蒙古、新疆等地,史载于《神农本草经》,是我国传统的名贵中药材,素有“沙漠人参”之美誉[7]。肉苁蓉性温,味甘、咸,归肾、大肠二经,具有补肾阳、益精血、润肠通便的功效,用于治疗肾阳不足、精血亏虚、阳痿不孕等症[6]。肉苁蓉主要含有苯乙醇苷类、环烯醚萜类及多糖等多种生物活性成分,现代药理研究表明,肉苁蓉除传统补肾壮阳、润肠通便作用外,还具有抗疲劳、抗衰老、抗肝损伤、增强机体免疫力、神经保护、防治脑缺血等药理作用[8-11],在中医临床及中药制剂生产中应用广泛。化学成分与药理作用之间密切相关,而《中华人民共和国药典》2020 年版肉苁蓉药材项下仅以松果菊苷和毛蕊花糖苷作为质量控制指标,难以全面评价肉苁蓉的质量。随着分离技术的不断提高和肉苁蓉药理作用的不断阐明,近年来,指纹图谱和多成分含量测定技术已逐步用于肉苁蓉药材的研究,不同产地、不同采收期、不同基源的肉苁蓉药材的比较也有较多学者进行了研究[12-18]。但是关于肉苁蓉配方颗粒和肉苁蓉破壁饮片的研究较少,而关于二者的比较研究尚未见报道。

本实验采用 UPLC 法对 14 批肉苁蓉配方颗粒和 11 批肉苁蓉破壁饮片进行指纹图谱研究及多成分含量同时测定,并进行相似度评价,根据含量测定结果,进一步结合聚类分析和主成分分析等化学计量学方法对肉苁蓉 2 种新型饮片进行区分和比较。通过以上研究,以期为肉苁蓉新型饮片的质量控制、鉴别和临床应用提供方法和数据支撑[19-20]。

材　　料

1　仪器

Waters 超高效液相色谱 ACQUITY H-Class 系统,包括四元溶剂管理器(QSM)、自动进样器(SMFTN)、二极管阵列检测器(PDA)、高温柱温箱(CHA)、ACQUITY UPLC BEH C_{18}色谱柱(100 mm × 2.1 mm,1.7 μm)、Empower 3 色谱工作站(美国沃特世公司);TB-215D 电子分析天平、BSA224S-CW 电子分析天平(北京赛多利斯);YR-8 型超微粉碎机(济南银润包装机械有限公司);KQ-250 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

2　试药和试剂

对照品京尼平苷酸、咖啡酸、松果菊苷、毛蕊

花糖苷(中国食品药品检定研究院,批号分别为111828-201604, 110885-200102, 111670-201706, 111530-201208,纯度分别为97.4%,100.0%,89.7%,92.5%);管花苷A、异毛蕊花糖苷(成都普菲德生物技术有限公司,批号分别为150629,15111802,纯度均≥98.0%);14批肉苁蓉配方颗粒(S1~S14,分别购自神威药业集团有限公司、石家庄以岭药业股份有限公司、江阴天江药业有限公司、华润三九医药股份有限公司、四川新绿色药业科技发展股份有限公司、广东一方制药有限公司、北京康仁堂药业有限公司);11批肉苁蓉破壁饮片(S15~S25,自制),药材基原为管花肉苁蓉,购自安国中药材市场,产地均为新疆,经鉴定为列当科植物管花肉苁蓉的干燥带鳞叶的肉质茎;乙腈、磷酸(Fisher化学试剂公司,色谱纯);水为超纯水;其他试剂均为分析纯。

方法与结果

1 色谱条件

色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C_{18}色谱柱(100 mm×2.1 mm,1.7 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸(B),梯度洗脱(0~10 min,5%~15% A;10~17 min,15% A;17~20 min,15%~25% A;20~21 min,25%~70% A;21~23 min,70% A;23~24 min,70%~5% A;24~30 min,5% A);流速:0.3 mL·min^{-1},柱温:35 ℃;检测波长:235 nm;进样体积:1 μL。

2 混合对照品溶液的制备

分别精密称取京尼平苷酸、咖啡酸、松果菊苷、毛蕊花糖苷、管花苷A和异毛蕊花糖苷对照品适量,加50%甲醇制成质量浓度分别为43.13,26.40,1 384.97,49.21,115.52和328.30 mg·L^{-1}的混合对照品溶液。

3 供试品溶液的制备

取肉苁蓉配方颗粒粉末、肉苁蓉破壁饮片粉末各约0.5 g,精密称定,置25 mL棕色量瓶中,精密加入50%甲醇25 mL,称定重量,浸泡30 min,超声处理(功率250 W,频率40 kHz)40 min,放冷,再称定重量,用50%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

4 肉苁蓉配方颗粒及破壁饮片指纹图谱研究

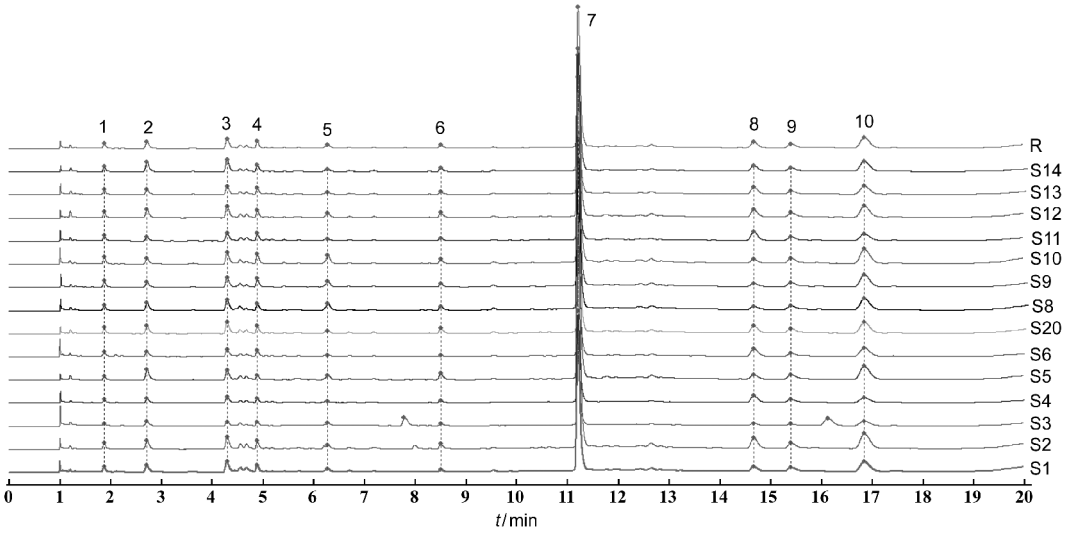
为了全面分析肉苁蓉配方颗粒及破壁饮片的化学成分,为其质量控制提供依据,本研究采用UPLC法对14批肉苁蓉配方颗粒及11批肉苁蓉破壁饮片进行分析,建立了其指纹图谱。

4.1 精密度试验 取肉苁蓉配方颗粒(神威药业,批号:19110811)粉末,按照"**3**"项下方法制备供试品溶液,按"**1**"项下色谱条件进样分析,连续进样6次,记录色谱图,以松果菊苷色谱峰(7号峰)为参照峰,计算指纹图谱中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积,结果各共有峰的相对保留时间的RSD≤0.48%,各共有峰的相对峰面积的RSD≤1.40%,表明仪器精密度良好。

4.2 稳定性试验 取肉苁蓉配方颗粒(神威药业,批号:19110811)粉末,按照"**3**"项下方法制备供试品溶液,按"**1**"项下色谱条件,分别于制备后0,2,5,10,15和24 h进样分析,记录色谱图,以松果菊苷色谱峰(7号峰)为参照峰,计算指纹图谱中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积,结果各共有峰的相对保留时间的RSD≤0.91%,各共有峰的相对峰面积的RSD≤2.03%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

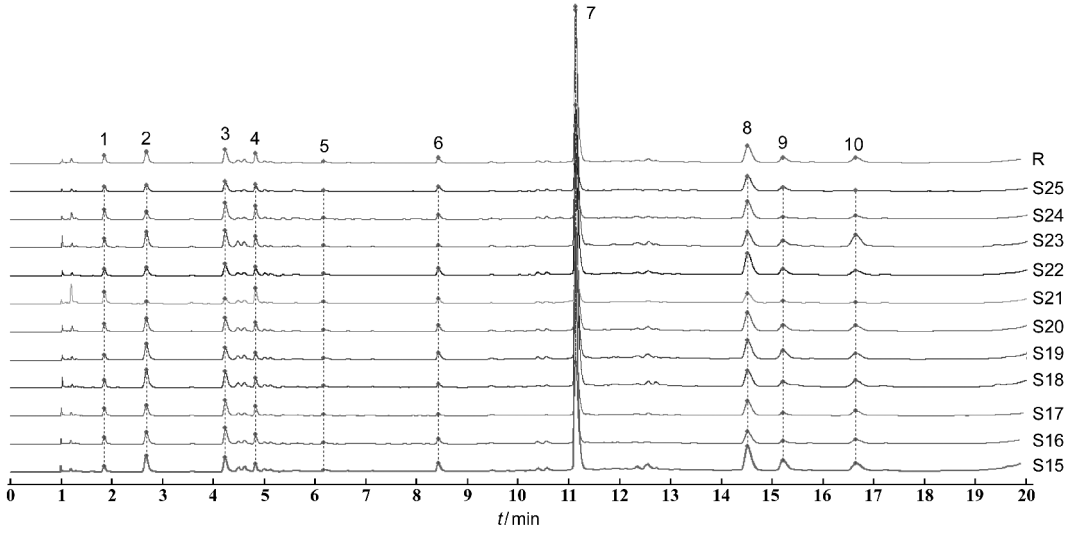
4.3 重复性试验 精密称取肉苁蓉配方颗粒(神威药业,批号:19110811)粉末6份,每份0.5 g,按"**3**"项下方法平行制备供试品溶液,按"**1**"项下色谱条件进样分析,记录色谱图,以松果菊苷色谱峰(7号峰)为参照峰,计算指纹图谱中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积,结果各共有峰的相对保留时间的RSD≤0.61%,各共有峰的相对峰面积的RSD≤2.96%,表明该方法的重复性良好。

4.4 肉苁蓉指纹图谱的建立及相似度评价 取14批肉苁蓉配方颗粒和11批肉苁蓉破壁饮片,分别按"**3**"项下方法制备供试品溶液,按"**1**"项下色谱条件依次进行测定,记录色谱图。将所得UPLC图谱分别导入国家药典委员会开发的"中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012年版)"软件,以S1样品图谱作为参照图谱,采用中位数法建立肉苁蓉配方颗粒(S1~S14)UPLC指纹图谱,经多点校正后,进行色谱峰的匹配,生成肉苁蓉配方颗粒对照指纹图谱;以S15样品图谱作为参照图谱,采用中位数法建立肉苁蓉破壁饮片(S15~S25)UPLC指纹图谱,经多点校正后,进行色谱峰的匹配,生成肉苁蓉破壁饮片对照指纹图谱[22-25]。肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片最终均确定了10个相同共有峰,通过与混合对照品溶液的色谱图比对,指认出6个成分,分别为京尼平苷酸(2号峰)、咖啡酸(5号峰)、松果菊苷(7号峰)、毛蕊花糖苷(8号峰)、管花苷A(9号峰)、异毛蕊花糖苷(10号峰),结果见图1和图2。



2:京尼平苷酸;5:咖啡酸;7:松果菊苷;8:毛蕊花糖苷;9:管花苷 A;10:异毛蕊花糖苷

图 1 14 批肉苁蓉配方颗粒 UPLC 叠加指纹图谱及对照指纹图谱



2:京尼平苷酸;5:咖啡酸;7:松果菊苷;8:毛蕊花糖苷;9:管花苷 A;10:异毛蕊花糖苷

图 2 11 批肉苁蓉破壁饮片 UPLC 叠加指纹图谱及对照指纹图谱

由于 7 号色谱峰(松果菊苷色谱峰)分离情况较好,峰面积最大,且保留时间居中,故以其为参照峰(S)。计算 14 批肉苁蓉配方颗粒和 11 批肉苁蓉破壁饮片的指纹图谱与对照图谱的相似度,结果见表 1。

表 1 14 批肉苁蓉配方颗粒与 11 批肉苁蓉破壁饮片指纹图谱相似度分析结果

肉苁蓉配方颗粒		肉苁蓉破壁饮片	
编号	相似度	编号	相似度
S1	0.999	S15	0.999
S2	1.000	S16	0.982
S3	0.999	S17	0.999
S4	0.996	S18	0.996
S5	0.999	S19	0.999
S6	0.999	S20	1.000
S7	1.000	S21	0.980
S8	0.999	S22	0.998
S9	0.999	S23	0.994
S10	0.999	S24	0.981
S11	0.995	S25	0.973
S12	1.000		
S13	0.999		
S14	0.998		

由表 1 可知,所有样品与对照图谱相似度均 > 0.9,表明肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片的质量较稳定。肉苁蓉配方颗粒与肉苁蓉破壁饮片对照图谱比对,相似度高达 0.980,结果见图 3,表明肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片所含化学成分相似,仅仅依靠指纹图谱难以区别 2 种肉苁蓉新型饮片。

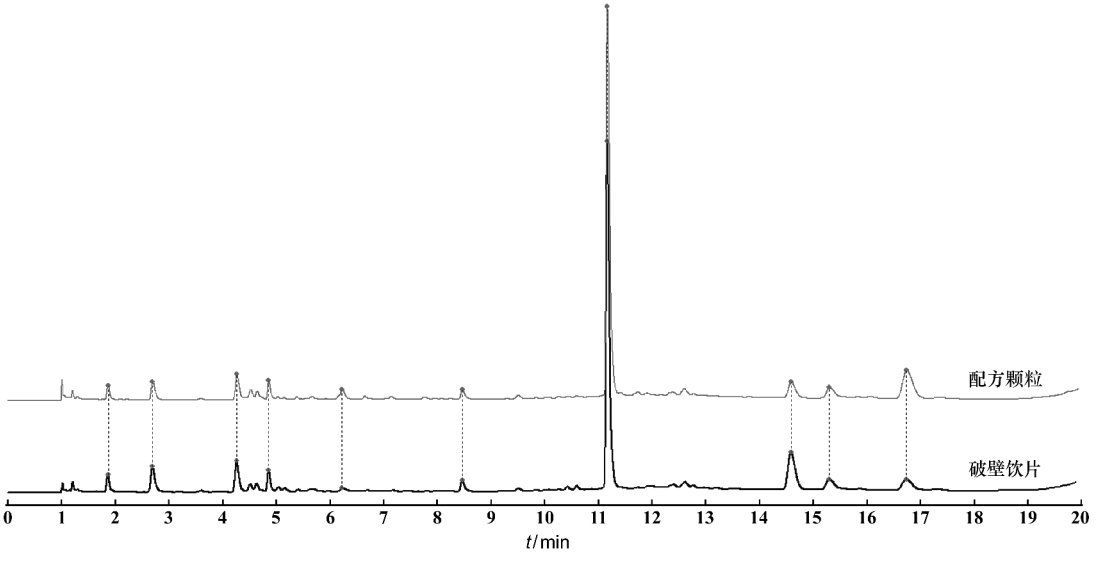


图 3 肉苁蓉配方颗粒与破壁饮片对照图谱比较

5 肉苁蓉配方颗粒及破壁饮片含量测定

单独依靠指纹图谱难以区分肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片,因此在指纹图谱的基础上进一步建立了肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片多成分含量测定方法,对指纹图谱中指认的 6 种成分(京尼平苷酸、咖啡酸、松果菊苷、毛蕊花糖苷、管花苷 A、异毛蕊花糖苷)进行了含量测定,并比较了肉苁蓉配方颗粒和肉苁蓉破壁饮片中 6 种成分的含量差异。

5.1 线性关系考察 将“**2**”项下混合对照品溶液用 50% 甲醇逐级稀释得到系列浓度的混合对照品溶液,分别精密吸取 1 μL,按“**1**”项下色谱条件测定。以对照品浓度为横坐标(X),以峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,计算得到各回归方程和线性范围(见表 2)。结果表明,京尼平苷酸、咖啡酸、松果菊苷、毛蕊花糖苷、管花苷 A、异毛蕊花糖苷 6 种成分在各自的范围内呈良好线性关系。

表 2 6 种指标成分的线性关系考察结果

成分	回归方程	r	线性范围/mg·L^{-1}
京尼平苷酸	Y = 4 119.2X − 2 663.8	0.999 9	2.16 ~ 43.13
咖啡酸	Y = 10 205.1X − 4 928.0	0.999 8	1.32 ~ 26.40
松果菊苷	Y = 2 812.9X − 65 896.8	1.000 0	69.25 ~ 1 384.97
毛蕊花糖苷	Y = 3 223.5X − 3 253.3	0.999 7	2.46 ~ 49.21
管花苷 A	Y = 2 249.9X − 4 800.5	0.999 8	5.78 ~ 115.52
异毛蕊花糖苷	Y = 3 066.4X − 18 543.5	1.000 0	16.42 ~ 328.30

5.2 精密度试验 精密吸取“**2**”项下混合对照品溶液 1 μL,连续进样 6 次,计算京尼平苷酸、咖啡酸、松果菊苷、毛蕊花糖苷、管花苷 A、异毛蕊花糖苷的峰面积 RSD 分别为 1.51%,0.92%,0.42%,0.92%,1.08% 和 1.20%,表明仪器精密度良好。

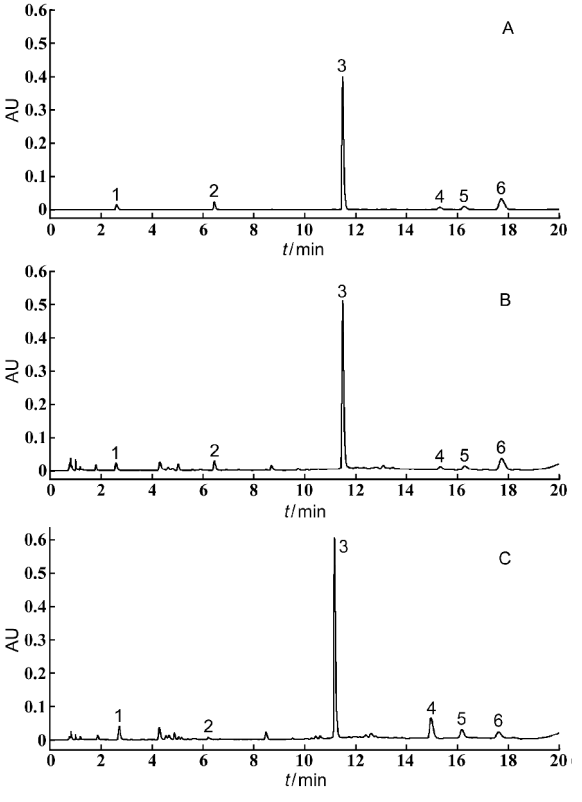
5.3 稳定性试验 取肉苁蓉配方颗粒(S1)供试品溶液,分别于制备后 0,2,5,10,15 和 24 h 进样 1 μL,测得京尼平苷酸、咖啡酸、松果菊苷、毛蕊花糖苷、管花苷 A、异毛蕊花糖苷的峰面积 RSD 分别为 1.54%,1.41%,0.74%,1.86%,1.91% 和 1.49%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

5.4 重复性试验 取同一批肉苁蓉配方颗粒样品(S1),分别取低(0.25 g)、中(0.50 g)、高(0.75 g)3 个样品量,每个样品量 3 份,按供试品溶液的制备方

法制备供试品溶液,按“**1**”项下色谱条件进样,分别测定京尼平苷酸、咖啡酸、松果菊苷、毛蕊花糖苷、管花苷 A、异毛蕊花糖苷的峰面积,计算其含量的 RSD 分别为 2.38%,2.61%,0.62%,2.16%,1.93% 和 1.88%,表明本方法重复性良好。

5.5 加样回收试验 取已知含量的肉苁蓉配方颗粒样品(S1)9 份,每份约 0.25 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,分别按各成分含量的 50%,100% 和 150% 精密加入京尼平苷酸、咖啡酸、松果菊苷、毛蕊花糖苷、管花苷 A、异毛蕊花糖苷的对照品适量,按“**3**”项下方法制备供试品溶液,按“**2.1**”项下色谱条件测定,计算加样回收率及 RSD。结果京尼平苷酸、咖啡酸、松果菊苷、毛蕊花糖苷、管花苷 A、异毛蕊花糖苷的加样回收率分别为 96.7%,95.8%,100.6%,102.1%,103.5% 和 99.7%,RSD 分别为 2.18%,2.53%,1.59%,2.15%,2.43% 和 1.90%,表明该方法的准确度良好。

5.6 样品含量测定 取不同厂家和不同批次的 14 批肉苁蓉配方颗粒和自制的 11 批肉苁蓉破壁饮片,分别按照“**3**”项下方法制备样品溶液,按“**1**”项下色谱条件进行测定,记录色谱图,计算各样品中京尼平苷酸、咖啡酸、松果菊苷、毛蕊花糖苷、管花苷 A、异毛蕊花糖苷的含量,结果见图 4 和表 3。



A:混合对照品;B:肉苁蓉配方颗粒供试品;C:肉苁蓉破壁饮片供试品;1:京尼平苷酸;2:咖啡酸;3:松果菊苷;4:毛蕊花糖苷;5:管花苷 A;6:异毛蕊花糖苷

图 4 UPLC 色谱图

表 3 肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片中 6 种成分含量测定结果及含量比值

样品编号	含量/mg·g^{-1}						毛蕊花糖苷/异毛蕊花糖苷
	京尼平苷酸	咖啡酸	松果菊苷	毛蕊花糖苷	管花苷 A	异毛蕊花糖苷	
S1	1.34	0.29	37.92	1.72	2.70	6.18	0.28
S2	1.66	0.43	54.20	4.28	3.13	9.30	0.46
S3	0.82	0.26	15.79	0.98	1.18	3.05	0.32
S4	0.80	0.14	22.65	3.03	2.37	3.33	0.91
S5	1.97	0.37	44.98	1.97	3.36	8.24	0.24
S6	0.92	0.13	31.53	3.02	1.87	5.84	0.52
S7	1.46	0.25	36.81	2.85	3.11	7.20	0.40
S8	1.39	0.59	37.03	1.28	2.22	7.41	0.17
S9	0.89	0.45	38.27	1.34	2.97	7.84	0.17
S10	1.07	0.69	46.78	1.64	3.54	9.02	0.18
S11	0.75	0.18	25.84	3.92	2.65	4.67	0.84
S12	1.59	0.38	39.89	2.91	2.50	6.98	0.42
S13	0.94	0.21	28.55	2.72	2.34	5.59	0.49
S14	1.78	0.23	30.44	2.38	2.49	6.83	0.35
S15	2.55	0.09	51.07	8.61	5.10	3.41	2.52
S16	1.88	0.06	20.24	4.01	1.15	2.39	1.68
S17	1.59	0.05	26.01	4.95	1.28	2.37	2.09
S18	2.86	0.05	50.23	5.73	2.05	3.42	1.68
S19	2.56	0.08	37.22	6.31	4.32	3.18	1.98
S20	2.05	0.07	33.86	6.35	2.70	2.97	2.14
S21	0.64	0.03	21.10	3.24	0.94	0.74	4.38

续表 3

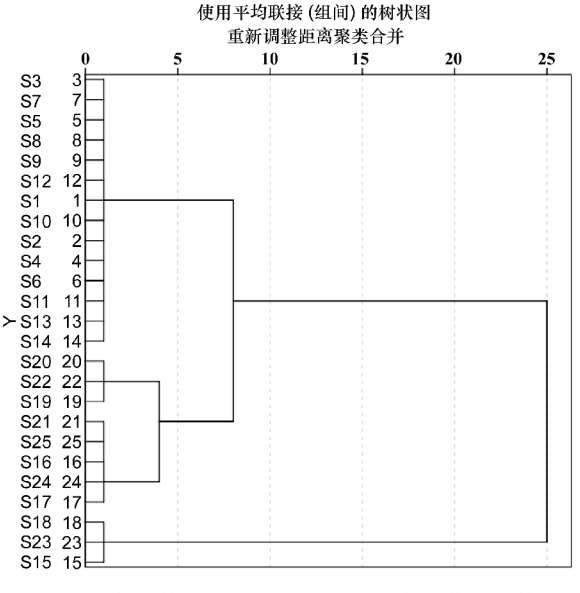
样品编号	含量/mg·g^{-1}						毛蕊花糖苷/异毛蕊花糖苷
	京尼平苷酸	咖啡酸	松果菊苷	毛蕊花糖苷	管花苷 A	异毛蕊花糖苷	
S22	1.16	0.06	35.10	7.55	2.55	2.20	3.43
S23	2.34	0.05	49.14	4.71	3.84	5.54	0.85
S24	1.05	0.06	21.77	5.97	0.93	1.75	3.41
S25	0.94	0.04	20.54	4.95	1.82	0.72	6.88

S1 ~ S14:肉苁蓉配方颗粒;S15 ~ S25:肉苁蓉破壁饮片

6 基于化学计量学方法的肉苁蓉配方颗粒和肉苁蓉破壁饮片的比较与区分

为了进一步区分肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片,分析和比较二者之间化学成分的差异,采用化学计量学方法,以测定的 6 种成分的含量为变量,对 14 批肉苁蓉配方颗粒和 11 批肉苁蓉破壁饮片进行分析[26]。由于不同厂家配方颗粒当量不同(如神威药业的肉苁蓉配方颗粒每袋装量为 2.5 g,相当于饮片 10 g;华润三九生产的肉苁蓉和酒苁蓉配方颗粒每袋装量为 2 g,相当于饮片 10 g;江阴天江药业生产的酒苁蓉配方颗粒每袋装 3 g,相当于饮片 10 g),为使不同厂家生产的配方颗粒与破壁饮片之间具有可比性,将配方颗粒折合成相当于 1 g 饮片的量进行分析。

6.1 聚类分析 聚类分析是一种常见的无监督模式识别方法,目前已广泛应用于中药鉴别、质量评价和品种分类等方面。将 14 批肉苁蓉配方颗粒和 11 批肉苁蓉破壁饮片的含量导入 SPSS 21.0 软件进行分析,采用组间连接法,选用平方欧氏距离为量度进行聚类分析,结果见图 5[19]。



S1 ~ S14:肉苁蓉配方颗粒;S15 ~ S25:肉苁蓉破壁饮片

图 5 肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片聚类分析

结果表明,14 批肉苁蓉配方颗粒可以聚为 1 类,肉苁蓉破壁饮片根据含量的高低可以聚为 3 类:S15,S18 和 S23 含量较高;S19,S20 和 S22 含量居中;S16,S17,S21,S24 和 S25 含量相对较低。

6.2 主成分分析(principal component analysis, PCA) PCA 是一种重要的多元统计分析方法,能很好地通过少数的潜在因素解释大量变量间的相关性,已经广泛应用于中药材的品质综合评价与分类[27]。因此,在聚类分析的基础上,进一步采用 PCA 对 14 批不同肉苁蓉配方颗粒和 11 批肉苁蓉破壁饮片进行比较区分,PCA 分析结果见图 6。由结果可知,提取特征值 >1 的 2 个主成分的累积贡献率 >89%,肉苁蓉配方颗粒与破壁饮片可被分为 2 类,2 种新型饮片可以很好地得到区分。综合聚类分析和主成分分析结果,基于含量测定数据,可以较好地将肉苁蓉 2 种新型饮片区分开来,所建立的分析方法可用于肉苁蓉配方颗粒与破壁饮片的区分鉴别与质量控制[19]。

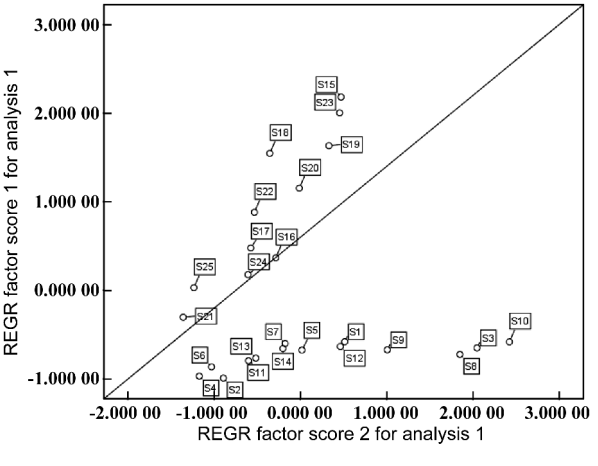


图 6 肉苁蓉配方颗粒与破壁饮片主成分分析

讨 论

本研究考察了乙腈-水、乙腈-2% 乙酸水溶液、乙腈-0.1% 磷酸水溶液 3 种流动相系统,结果乙腈-

0.1%磷酸水溶液系统分离效果比较好,在该条件下,各色谱峰分离良好;肉苁蓉中含有多种化学成分,主要包括苯乙醇苷类、环烯醚萜类、木质素类、多糖等,肉苁蓉的指纹图谱多数选择使用 330 nm 作为检测波长,在此波长处苯乙醇苷类化合物有较大吸收,但是环烯醚萜苷类的化合物在此波长处无吸收。本研究考察不同检测波长下的指纹图谱,在 235 nm 下苯乙醇苷类、环烯醚萜类的化合物均有较大的紫外吸收,在此波长下色谱峰数目较多且分离度良好,因此选择 235 nm 作为检测波长。

中药汤剂是我国医药史上应用最早、最广泛的剂型,主要由传统中药饮片经煎煮制备而成,但是存在煎煮、携带不便、缺乏质量监控等缺点,已不适于现代快节奏的生活方式。随着中药剂型现代化的发展,中药配方颗粒、中药破壁饮片等新型中药饮片应运而生。中药配方颗粒是以传统的中药饮片为原料,以水为溶媒利用现代化加工技术以及制药技术对有效成分进行提取、分离、浓缩、干燥、制粒、包装而成的颗粒剂。中药破壁饮片是将符合法定要求并具有细胞结构的中药饮片,经现代破壁粉碎技术加工至 D_{90} <45 μm 的粉体,加水或不同浓度的乙醇黏合成型,制成的 30 ~ 100 目粒度的干燥颗粒状饮片[28]。中药配方颗粒与破壁饮片均可以弥补汤剂煎煮费时、不易携带等缺点,同时中药配方颗粒的主要优点是很好地保留了传统汤剂中的主要成分,而中药破壁饮片的主要优点是避免了溶剂提取和高温等因素造成的化学成分损失,基本保留传统中药饮片的化学成分[29]。因此肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片虽然均以肉苁蓉为原料,但是由于制备工艺不同,造成其主要成分的含量也不相同。本研究结合指纹图谱、多成分含量测定和化学计量学的研究结果,表明 2 种肉苁蓉新型饮片存在一定差异。由于配方颗粒制备过程中以水为溶媒加热提取,因此配方颗粒的制备过程包含了复杂的物理化学变化。由含量测定结果可知,肉苁蓉配方颗粒与破壁饮片中毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷含量比例存在显著差异(P < 0.01),是由于煎煮过程中毛蕊花糖苷会部分转化为异毛蕊花糖苷。毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷含量比例可以作为肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片的重要依据。此外,虽然 2 种新型饮片中 6 种成分的绝对含量差异不明显,但由于 1 g 配方颗粒通常相当于 2 ~ 5 g 饮片,经折算后配方颗粒与破壁饮片的含量存在明显差异。

本研究首次采用 UPLC 法对肉苁蓉配方颗粒和破壁饮片进行指纹图谱研究及多成分含量同时测定,并结合聚类分析和主成分分析等化学计量学方法对肉苁蓉 2 种新型饮片进行区分和比较[30]。通过以上研究表明,配方颗粒的制备经过了提取浓缩等工艺而破壁饮片是通过粉碎提高了饮片有效成分的溶出,因此肉苁蓉配方颗粒与破壁饮片存在一定的差异。本实验提供的检测方法能较全面地反映肉苁蓉 2 种新型饮片的内在质量,为肉苁蓉新型饮片的质量控制、鉴别和临床应用提供研究方法和数据支撑[31-32]。

[参 考 文 献]

[1] 吴巧娜, 徐玉萍. 新型中药饮片的发展[J]. 河北医药, 2017, 39(9): 1407 - 1410.

[2] 张爱霞, 辛二旦, 边甜甜, 等. 新型中药饮片的发展与趋势[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(2): 474 - 476.

[3] 韩杰. 免煎中药配方颗粒与传统中药饮片的对比分析[J]. 中国继续医学教育, 2018, 10(28): 142 - 144.

[4] 甄亚钦, 田伟, 任艳青, 等. 野菊花饮片、标准煎液、配方颗粒 UPLC 特征图谱相关性研究[J]. 中国药师, 2018, 21(7): 1162 - 1166.

[5] 宋叶, 梅全喜, 胡莹, 等. 中药破壁饮片临床应用研究进展[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(1): 173 - 176.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2015 年版. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 193.

[7] 杨峻山. 沙漠人参: 肉苁蓉[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(12): 881.

[8] 路颖慧, 皮雯敏, 张悦, 等. 肉苁蓉和管花肉苁蓉的比较研究及市场现状分析[J]. 中国现代中药, 2019, 21(8): 999 - 1005.

[9] 宋青青. 中药肉苁蓉的化学成分组及抗血管性痴呆的体内药效物质研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.

[10] GUO YH, CAO LL, ZHAO QS, *et al*. Preliminary characterizations, antioxidant and hepatoprotective activity of polysaccharide from Cistanche deserticola[J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 93: 678 - 685.

[11] 毕萃萃, 刘银路, 魏芬芬, 等. 肉苁蓉的主要化学成分及生物活性研究进展[J]. 药物评价研究, 2019, 42(9): 1896 - 1900.

[12] 杨丽, 苏学秀, 张富娴, 等. 不同采收季节甘肃肉苁蓉指纹图谱的建立[J]. 中国药师, 2020, 23(8): 1636 - 1639.

[13] 朱乃亮, 徐荣, 吴海峰, 等. 荒漠肉苁蓉和管花肉苁蓉指纹图谱比较研究[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(13): 1116 - 1119.

[14] 刘友刚, 徐荣, 陈君, 等. 肉苁蓉属 4 种植物的高效液相色谱指纹图谱研究[C]//第六届肉苁蓉暨沙生药用植物学术研讨会论文集. 2011: 320 - 325.

[15] 吴涛, 张娟, 卿德刚, 等. 管花肉苁蓉 HPLC 指纹图谱研究[J]. 新疆农业科学, 2010, 47(3): 499 - 502.

[16] 朱旭江, 贺军权, 杜兴, 等. 兰州肉苁蓉 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2011, 22(47): 4477 - 4480.

[17] 杨国宁, 毕天琛, 仝桂平, 等. HPLC 法同时测定肉苁蓉饮片中 8 种成分的含量[J]. 中国药师, 2020, 23(7): 1442 - 1445.

[18] 高妍, 过立农, 马双成, 等. 基于 UPLC 特征图谱及主要成分含量的 3 种肉苁蓉比较研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44

(17): 3749 – 3757.
[19] 郭龙, 焦倩, 张丹, 等. 基于指纹图谱和多组分含量测定的艾叶药材质量控制研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(5): 977 – 984.
[20] 焦倩. 艾叶和野艾叶指纹图谱及多成分含量测定研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2018.
[21] 甄亚钦, 范帅帅,支雅婧, 等. 基于 UPLC 指纹图谱及多成分含量测定的肉苁蓉药材质量控制研究[J]. 中国中医药信息杂志,2021,28(3):81 – 86.
[22] 崔小敏, 陈志永, 刘满军, 等. 柔筋胶囊 HPLC 指纹图谱及指标性成分含量测定[J]. 中医药导报, 2020, 26(2): 16 – 19.
[23] 梁军, 刘彩凤, 刘冬涵, 等. 藏药白脉软膏多成分定量、指纹图谱结合多元统计分析的质量控制研究[J]. 中草药, 2020, 51(2): 356 – 363.
[24] 杨彬, 赵君, 刘芳, 等. 指纹图谱结合模式识别、一测多评的连翘质量评价[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(3): 292 – 298.
[25] 洪挺, 张昆艳, 许妍, 等. 清热解毒颗粒的 HPLC 指纹图谱建立及聚类分析[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(24): 3056 – 3060.
[26] 孙伟杰, 吕程, 杨重晖, 等. 基于指纹图谱和多指标定量测定的鹿茸饮片质量控制研究[J]. 中草药, 2019, 50(22): 5448 – 5454.
[27] 刘爱朋, 郭利霄, 薛紫鲸, 等. 基于指纹图谱和多组分含量测定的蒲公英药材质量控制研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(18): 3715 – 3721.
[28] 成金乐, 赖智填, 陈炜璇, 等. 中药破壁饮片: 传统中药饮片的传承和创新[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2016, 18(9): 1546 – 1552.
[29] 董鹏鹏, 梅全喜. 中药破壁饮片的质量控制与评价方法研究进展[J]. 中药材, 2015, 38(9): 1999 – 2002.
[30] 荆文光, 张权, 邓哲, 等. 指纹图谱、多成分定量与化学计量学相结合的厚朴药材质量评价[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5): 975 – 982.
[31] 杨贵雅, 常雅晴, 薛紫鲸, 等. 基于指纹图谱和多成分含量测定的穿山龙药材质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(20): 4949 – 4956.
[32] 姜梦华,孙娥,封亮,等. 中药产品生产全过程动态质量控制技术与发展[J]. 世界中医药,2020,15(15):2210 – 2215.

编辑:刘卓越/接受日期:2020 – 11 – 03