

一测多评法测定布渣叶总黄酮部位中 8 种黄酮苷成分

刘昌乐¹, 林爽², 何卓儒¹, 黄奕辉¹, 李坤平^{1*}

1. 广东药科大学药学院, 广东 广州 510006

2. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006

摘要: 目的 建立一测多评法(QAMS)同时测定布渣叶总黄酮部位中多种化学成分的方法,用于其质量控制。方法 采用 QAMS,以牡荆苷对照品为参照,计算芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷、芹菜素-6-C-葡萄糖-8-C-阿拉伯糖苷、芹菜素-6-C-木糖-8-C-葡萄糖苷、异牡荆苷、紫云英苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷的相对保留时间和相对校正因子;利用该相对校正因子计算其他 7 种黄酮苷的量。结果 8 种黄酮苷的相对保留时间和相对校正因子有较好的重复性,以牡荆苷为参照,相对校正因子分别为 1.01、0.60、0.76、2.02、1.05、1.14 和 2.42。10 批布渣叶总黄酮部位中 8 种黄酮苷量的 QAMS 计算值与外标法测定值无显著差异。结论 以牡荆苷为参照,采用 QAMS 能同时测定布渣叶总黄酮部位中 8 种黄酮苷的量,该方法简单、可靠,为其量效关系研究和制剂开发提供了参考。

关键词: 布渣叶;一测多评法;高效液相色谱法;牡荆苷;芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷;芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷;芹菜素-6-C-葡萄糖-8-C-阿拉伯糖苷;芹菜素-6-C-木糖-8-C-葡萄糖苷;异牡荆苷;紫云英苷;异鼠李素-3-O-芸香糖苷;相对校正因子
中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)09-1872-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.09.027

Simultaneous determination of eight flavone glycosides in total flavonoids fraction of *Microcos paniculata* using quantitative analysis of multi-components by single marker method

LIU Chang-le¹, LIN Shuang², HE Zhuo-ru¹, HUANG Yi-hui¹, LI Kun-ping¹

1. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, 510006 China

2. School of Chinese Traditional Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, 510006 China

Abstract: Objective To establish a method for simultaneous determination of eight flavone glycosides in total flavonoids fraction of *Microcos paniculata*. **Methods** A new method, quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS), was established using vitexin as reference substance. The corresponding relative correction factors of apigenin-6,8-di-C-β-D-glucopyranoside, apigenin-6-C-α-L-arabino-pyranosyl-8-C-β-D-glucopyranoside, apigenin-6-C-β-D-glucopyranosyl-8-C-α-L-arabinopyranoside, apigenin-6-C-β-D-xylopyranosyl-8-C-β-D-glucopyranoside, isovitexin, kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside, and isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside compared with vitexin were calculated. Then, the contents of eight flavonoid glycosides were determined. **Results** The relative retention time and relative correction factors of the eight flavone glycosides were repeatedly and the relative correction factors of the other seven flavonoid glycosides were 1.01, 0.60, 0.76, 2.02, 1.05, 1.14, and 2.42, respectively. There were no significant differences in the results between ESM and QAMS method for 10 batches of extract. **Conclusion** The established QAMS method for simultaneous determination of eight flavone glycosides is simple and robust, and can be used for related research and quality control of the total flavonoids fraction of *M. paniculata*.

Key words: *Microcos paniculata* L.; QAMS; HPLC; vitexin; apigenin-6,8-di-C-β-D-glucopyranoside; apigenin-6-C-α-L-arabino-pyranosyl-8-C-β-D-glucopyranoside; apigenin-6-C-β-D-glucopyranosyl-8-C-α-L-arabinopyranoside; apigenin-6-C-β-D-xylopyranosyl-8-C-β-D-glucopyranoside; isovitexin; kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside; isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside; relative correction factors

布渣叶为椴树科植物破布叶 *Microcos paniculata* L. 的干燥叶, 收录于《中国药典》2015 年版和卫

生部新资源食品目录, 在中医临床和凉茶饮料行业应用广泛^[1-2]。布渣叶主要含有黄酮、皂苷和生物碱

收稿日期: 2016-11-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31300273); 广东省科技计划项目(2015A030302082)

作者简介: 刘昌乐(1990—), 男, 硕士, 研究方向为天然药物制剂。E-mail: lclpharmacy@163.com

*通信作者 李坤平(1978—), 男, 博士, 副教授, 从事中药制药和药用植物次生代谢方面的教学与研究工作。

Tel: (020)39352118 E-mail: lkpchina@hotmail.com

类成分^[3-5], 其总黄酮部位 (MpTFF) 具有抗氧化、抗炎、调血脂、保护心肌损伤等生理活性^[6-8]。但现有的 MpTFF 质量控制方法在药效学评价和制剂开发中存在明显的不足, 为了完善 MpTFF 的质量控制方法, 本实验采用基于 HPLC 的一测多评法 (quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS)^[9], 以牡荆苷对照品为参照, 同时测定了 MpTFF 中 8 种黄酮苷的量, 并采用外标法 (external standard method, ESM) 验证了其可靠性和准确性。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Acquity UPLC 超高效液相色谱 (Waters 公司); Xevo Q TOFTM 四极杆飞行时间质谱及 MassLynx 4.1 数据处理系统 (Waters 公司); 岛津双泵 LC-20AT 高效液相色谱仪, 包括二元泵、自动进样器、柱温箱和紫外检测器 (岛津公司); DL-360A 型超声波清洗器 (上海之信有限公司); DFT-250 型高速粉碎机 (温岭林大机械有限公司); TG16-W 型台式离心机 (湖南湘仪有限公司); CP225D 型电子天平 (Sartorius 公司)。

1.2 材料与试剂

布渣叶药材购自广西玉林中药材市场 (产地广西, 批号 151110~151114) 和广州市南北行中药饮片有限公司 (产地海南, 批号 151115~151119), 经广东药科大学药学教研室张宏意博士鉴定为椴树科破布叶属植物破布叶 *Microcos paniculata* Linn. 的干燥叶, 粉碎, 过筛, 备用。

对照品牡荆苷 (批号 111687-200602)、表儿茶素 (批号 110878-200102) 购自中国食品药品检定研究院; 异牡荆苷 (批号 MUST-12072501)、紫云英苷 (批号 MUST-15062011) 购自成都曼斯特生物科技有限公司; 芹菜素-6-C-木糖-8-C-葡萄糖苷 (批号 CFS201501) 购自 Chemfaces 公司; 异鼠李素-3-O-芸香糖苷为课题组自制^[10]。芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷、芹菜素-6-C-葡萄糖-8-C-阿拉伯糖苷由广东药科大学中药开发研究所袁旭江博士提供^[11]。所有对照品质量分数均大于 98%。甲醇 (色谱纯, Merck 公司), 磷酸 (分析纯, 广州试剂厂), 水 (蒸馏水, 屈臣氏)。

2 方法与结果

2.1 布渣叶 MpTFF 的制备^[1,5]

取布渣叶药材粉末 10.0 g, 精密称定, 置具塞

锥形瓶中, 加入 70%乙醇溶液 150 mL, 室温浸渍 2 h 后, 300 W、40 kHz 超声提取 70 min; 滤过, 取 100 mL 提取液减压浓缩至约 30 mL 后 3 000 r/min 室温离心 20 min, 吸取上清液定容至 50 mL, 取 25.0 g AB-8 型大孔树脂 (预处理) 静态吸附过夜, 分别用 10%、70%、100% 甲醇溶液洗脱, 收集 70% 甲醇洗脱液, 减压浓缩并定容至 30 mL, 即得 MpTFF 供试品溶液。取其中 10 mL 减压浓缩, 60 °C 真空干燥, 称定质量, 计算 MpTFF 质量。

2.2 MpTFF 中 8 种黄酮苷的 UPLC-Q-TOF-MS 定性分析^[12]

2.2.1 色谱条件 Acquity UPLCTM BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱; 流动相为甲醇 (A) - 0.05% 甲酸水溶液 (B), 体积流量为 0.2 mL/min, 依下列程序梯度洗脱: 0~7.6 min, 85%~60% B; 7.6~10.0 min, 60% B; 10~12 min, 60%~30% B; 12~15 min, 30%~20% B; 15~20 min, 20%~100% B, 20~21 min, 100%~85% B; 21~25 min, 85% B; 自动进样, 进样量 2 μL, 检测波长 276 nm, 柱温 35 °C。

2.2.2 质谱条件 电喷雾离子源 (ESI), 毛细管电压为 3.1 kV, 锥孔电压为 15 V, 锥孔气流量 25 L/h; 离子源温度为 150 °C, 离子能 1.0 eV, 诱导解离能 5 eV; 锥孔气流量 50 L/h, 脱溶剂气流量 900 L/h, 脱溶剂气温度为 450 °C, 碰撞气 Ar; 负离子模式检测; 扫描范围为 m/z 50~1 000; MS/MS 碰撞解离能 20~30 eV。Lockmass: 亮氨酸脑啡肽 ($[M-H]^-$ m/z 554.2615), Lockspray 体积流量 5 μL/min, 电压 1.2 kV, 裂解能 21.0 eV。

利用“2.2.1”和“2.2.2”项下条件, 对 MpTFF 进行定性分析。综合比对 MpTFF 供试品溶液与“2.3.1”项下对照品溶液的色谱行为, Masslynx 4.1 软件提取相应化合物的精确相对分子质量、MS 和 MS^E 的裂解模式, DAD 检测器记录 190~400 nm 紫外光谱, 并结合文献数据, 对 8 种黄酮苷进行确认。

2.3 HPLC 法测定 MpTFF 中 8 种黄酮苷量

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取表儿茶素、异鼠李素-3-O-芸香糖苷、紫云英苷、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷、芹菜素-6-C-葡萄糖-8-C-阿拉伯糖苷、牡荆苷、芹菜素-6-C-木糖-8-C-葡萄糖苷和异牡荆苷对照品各适量, 用甲醇配制成含有表儿茶素 6.75 μg/mL、异鼠李素-3-O-芸香糖苷 8.06 μg/mL、紫云英苷 7.06 μg/mL、芹菜

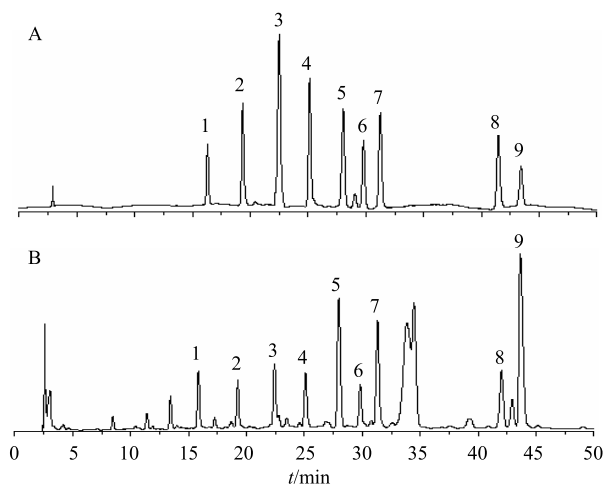
素-6,8-二-C-葡萄糖苷 6.25 $\mu\text{g/mL}$ 、芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷 7.50 $\mu\text{g/mL}$ 、芹菜素-6-C-葡萄糖-8-C-阿拉伯糖苷 6.56 $\mu\text{g/mL}$ 、牡荆苷 7.31 $\mu\text{g/mL}$ 、芹菜素-6-C-木糖-8-C-葡萄糖苷 9.47 $\mu\text{g/mL}$ 和异牡荆苷 7.38 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 精密吸取“2.1”项下 MpTFF 样品溶液 10 μL ，甲醇稀释至 500 μL ，高速离心 (12 000 r/min, 5 min)，取上清液即得。

2.3.3 色谱条件 色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)；流动相为甲醇 (A)-0.2% 磷酸水 (B)，体积流量为 1 mL/min。梯度洗脱：0~12 min, 82%~70% B；12~45 min, 70%~55% B；45~50 min, 55%~20% B。自动进样，进样量为 10 μL ，检测波长为 276 nm，柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.3.4 专属性考察 精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液各 10 μL ，按“2.3.3”项下色谱条件进样，结果见图 1。

结果显示，在上述条件下，8 种黄酮苷分离效果较好，尽管 MpTFF 供试品中芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷 (峰 3) 分离效果稍差，但通过手



1-表儿茶素 2-芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷 3-芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷 4-芹菜素-6-C-葡萄糖-8-C-阿拉伯糖苷 5-牡荆苷 6-芹菜素-6-C-木糖-8-C-葡萄糖苷 7-异牡荆苷 8-紫云英苷 9-异鼠李素-3-O-芸香糖苷

1-(-)-epicatechin 2-apigenin-6,8-di-C- β -D-glucopyranoside 3-apigenin-6-C- α -L-arabinopyranosyl-8-C- β -D-glucopyranoside 4-apigenin-6-C- β -D-glucopyranosyl-8-C- α -L-arabinopyranoside 5-vitexin 6-apigenin-6-C- β -D-xylopyranosyl-8-C- β -D-glucopyranoside 7-isovitexin 8-kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside 9-isorhamnetin-3-O- β -D-rutinoside

图 1 混合对照品 (A) 和 MpTFF 供试品 (B) 的 HPLC
Fig. 1 HPLC of mixed standard substances (A) and MpTFF sample (B)

动积分处理，亦能进行定量分析。

2.3.5 线性关系考察 分别精密吸取系列质量浓度的混合对照品 10 μL ，按“2.3.3”项下的色谱条件进样。以混合对照品质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y)，进行线性回归，芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖、芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷、芹菜素-6-C-葡萄糖-8-C-阿拉伯糖苷、牡荆苷、芹菜素-6-C-木糖-8-C-葡萄糖苷、异牡荆苷、紫云英苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷的回归方程分别为 $Y_1=2.3\times 10^7 X_1-2\ 460.4$, $r=0.999\ 7$; $Y_2=3.8\times 10^7 X_2-2\ 356$, $r=0.999\ 9$; $Y_3=3.0\times 10^7 X_3-2\ 997.5$, $r=0.999\ 9$; $Y_4=2.3\times 10^7 X_4+962.3$, $r=0.999\ 9$; $Y_5=1.1\times 10^7 X_5+1\ 314.7$, $r=0.999\ 6$; $Y_6=2.2\times 10^7 X_6-2\ 281.3$, $r=0.999\ 8$; $Y_7=2.0\times 10^7 X_7-932.94$, $r=0.999\ 8$; $Y_8=9.4\times 10^6 X_8-298.12$, $r=0.999\ 9$ 。结果表明 8 种黄酮苷分别在 0.13~15.63、0.15~18.75、1.31~16.41、1.46~18.28、1.89~23.67、1.48~17.66、1.41~17.66、1.61~20.16 $\mu\text{g/mL}$ 内呈现良好的线性关系。

2.3.6 精密度试验 取混合对照品溶液连续进样 6 次，测定芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷、芹菜素-6-C-葡萄糖-8-C-阿拉伯糖苷、牡荆苷、芹菜素-6-C-木糖-8-C-葡萄糖苷、异牡荆苷、紫云英苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷峰面积的 RSD 分别为 0.96%、1.57%、1.96%、1.82%、1.67%、0.95%、0.48%、1.22%、1.45%。结果表明仪器精密度良好。

2.3.7 稳定性试验 取同一供试品溶液 (151110)，分别于制备后 0、4、8、12、24 h 进样测定。测得芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷、芹菜素-6-C-葡萄糖-8-C-阿拉伯糖苷、牡荆苷、芹菜素-6-C-木糖-8-C-葡萄糖苷、异牡荆苷、紫云英苷和异鼠李素-3-O-芸香糖苷峰面积的 RSD 分别为 1.99%、1.67%、1.64%、1.29%、0.35%、1.91%、1.98%、1.98%。表明上述处理的供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.8 重复性试验 取同一批次 (批号 150211R502) 的布渣叶粉末 6 份，按“2.1”和“2.3.2”项下的制备方法制备供试品溶液，分别进样测定。测得 8 种黄酮苷平均峰面积的 RSD 分别为 1.70%、1.79%、1.71%、1.67%、1.58%、1.71%、1.89%、1.77%，表明本实验重复性良好。

2.3.9 加样回收率试验 精密吸取适量已测定的 MpTFF 溶液 6 份，加入适量供回收率实验用的混合

对照品溶液 (含有异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷 11.72 μg/mL、紫云英苷 1.83 μg/mL、芹菜素-6,8-二-*C*-葡萄糖苷 1.85 μg/mL、芹菜素-6-*C*-阿拉伯糖-8-*C*-葡萄糖苷 0.87 μg/mL、芹菜素-6-*C*-葡萄糖-8-*C*-阿拉伯糖苷 0.66 μg/mL、牡荆苷 5.16 μg/mL、芹菜素-6-*C*-木糖-8-*C*-葡萄糖苷 1.34 μg/mL 和异牡荆苷 9.42 μg/mL 的甲醇溶液), 进样测定, 计算回收率。结果 8 种黄酮苷的平均回收率分别为 101.87%、96.60%、102.88%、103.29%、100.31%、98.36%、96.45%、96.84%; RSD 分别为 1.02%、0.92%、1.38%、1.42%、2.48%、1.70%、1.36%、0.78%。表明本方法的准确度良好。

2.3.10 相对校正因子的确定 以牡荆苷为参照, 按公式, 分别计算其他 7 种黄酮苷的 f 值^[9-12], 结果见表 1。

$$f_{si} = f_s / f_i = (A_s / C_s) / (A_i / C_i)$$

$$C_i = f_{si} \times C_s \times (A_i / A_s)$$

A_s 为内参照物峰面积, C_s 为参照物质量浓度, A_i 为某待测成分对照品峰面积, C_i 为某待测成分质量浓度

调整“2.3.3”项下色谱条件中柱温箱温度、进样量及不同体积流量, 考察不同柱温 (30、35、40 °C)、不同进样量 (10、15、20、25 μL)、不同体积流量 (0.9、1.0、1.1 mL/min) 和不同色

谱柱 (Kromasial C₁₈、Phenomenex C₁₈ 和月旭科技 C₁₈) 对相对校正因子的影响, 结果见表 1, 相应的 RSD < 5%, 说明此方法耐受性较好。最后, 基于最佳的色谱条件得到的芹菜素-6,8-二-*C*-葡萄糖苷、芹菜素-6-*C*-阿拉伯糖-8-*C*-葡萄糖苷、芹菜素-6-*C*-葡萄糖-8-*C*-阿拉伯糖苷、异牡荆苷、紫云英苷和异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷的相对校正因子分别为 1.01、0.60、0.76、2.02、1.05、1.14 和 2.42, 相应的 RSD 分别为 1.72%、1.36%、1.65%、1.68%、1.35%、1.53% 和 0.75%, RSD 均小于 2%, 说明此方法计算得到的相对校正因子较可靠。

2.3.11 色谱峰的定位 在一定的色谱条件下, 通过相对保留时间可以对待测化合物进行指认。实验过程中, 以牡荆苷为参照, 其他 7 种黄酮苷的相对保留时间计算结果见表 2。各待测组分相对保留时间的变化较小, 可以用来进行色谱峰的定位。

2.3.12 QAMS 与外标法 (ESM) 测定结果比较 按照“2.3.2”项下方法制备 10 批供试品溶液, 按“2.3.3”项下色谱条件采用 ESM 和 QAMS 测定, 对其中 8 种黄酮苷的测定结果见表 3。由表 3 可知, QAMS 与 ESM 测定值基本一致 (偏差 < 1%), 表明 QAMS 结果可靠。

表 1 以牡荆苷对照品为参照的相对校正因子

Table 1 RCF based on vitexin reference substance

考察因素		f_4/f_1	f_4/f_2	f_4/f_3	f_4/f_5	f_4/f_6	f_4/f_7	f_4/f_8
进样量/μL	10	1.00	0.61	0.78	2.02	1.06	1.15	2.44
	15	1.03	0.60	0.76	2.01	1.06	1.14	2.40
	20	1.00	0.59	0.76	1.99	1.05	1.11	2.43
	25	0.99	0.60	0.75	2.07	1.03	1.14	2.41
	RSD/%	1.72	1.36	1.65	1.68	1.35	1.53	0.75
柱温/°C	30	0.95	0.59	0.72	1.92	1.04	1.13	2.32
	35	1.00	0.61	0.78	2.02	1.06	1.15	2.44
	40	1.04	0.60	0.77	1.99	1.05	1.12	2.30
	RSD/%	4.52	1.67	4.25	2.60	0.95	1.35	3.22
	体积流量/(mL·min ⁻¹)	0.9	0.99	0.59	0.76	1.93	1.05	1.11
1.0		1.00	0.61	0.78	2.02	1.06	1.15	2.44
1.1		0.97	0.59	0.77	2.09	1.04	1.13	2.36
RSD/%		1.55	1.94	1.30	3.98	0.95	1.77	2.22
色谱柱 (C ₁₈)		色谱柱 1	1.00	0.61	0.78	2.02	1.06	1.15
	色谱柱 2	0.98	0.60	0.75	1.97	1.04	1.14	2.42
	色谱柱 3	1.04	0.63	0.82	2.10	1.10	1.17	2.53
	RSD/%	3.07	2.54	4.54	3.03	2.88	1.35	2.62

1-芹菜素-6,8-二-*C*-葡萄糖苷 2-芹菜素-6-*C*-阿拉伯糖-8-*C*-葡萄糖苷 3-芹菜素-6-*C*-葡萄糖-8-*C*-阿拉伯糖苷 4-牡荆苷 5-芹菜素-6-*C*-木糖-8-*C*-葡萄糖苷 6-异牡荆苷 7-紫云英苷 8-异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷, 表 2、3 同

1-apigenin-6,8-di-*C*-β-*D*-glucopyranoside 2-apigenin-6-*C*-α-*L*-arabinopyranosyl-8-*C*-β-*D*-glucopyranoside 3-apigenin-6-*C*-β-*D*-glucopyranosyl-8-*C*-α-*L*-arabinopyranoside 4-vitexin 5-apigenin-6-*C*-β-*D*-xylopyranosyl-8-*C*-β-*D*-glucopyranoside 6-isovitexin 7-kaempferol-3-*O*-β-*D*-glucopyranoside 8-isorhamnetin-3-*O*-β-*D*-rutinoside, same as below

表 2 色谱峰的定位

Table 2 Peak identification by relative retention time

考察因素		相对保留时间						
		t_1/t_4	t_2/t_4	t_3/t_4	t_5/t_4	t_6/t_4	t_7/t_4	t_8/t_4
进样量/ μL	5	0.69	0.84	0.88	1.07	1.12	1.49	1.56
	10	0.69	0.84	0.88	1.07	1.12	1.49	1.56
	15	0.69	0.84	0.88	1.07	1.12	1.49	1.56
	20	0.69	0.84	0.88	1.07	1.12	1.49	1.56
	RSD/%	0.07	0.04	0.03	0.04	0.02	0.07	0.08
体积流量/ $(\text{mL}\cdot\text{min}^{-1})$	0.9	0.70	0.85	0.89	1.08	1.13	1.50	1.56
	1.0	0.69	0.84	0.88	1.07	1.12	1.49	1.56
	1.1	0.69	0.84	0.88	1.07	1.12	1.51	1.59
	RSD/%	0.92	0.66	0.56	0.35	0.52	0.62	0.95
柱温/ $^{\circ}\text{C}$	30	0.69	0.84	0.88	1.07	1.12	1.49	1.56
	35	0.69	0.84	0.88	1.07	1.12	1.49	1.56
	40	0.69	0.84	0.88	1.06	1.12	1.49	1.57
	RSD/%	0.37	0.15	0.32	0.57	0.04	0.11	0.35
	色谱柱	色谱柱 1	0.69	0.84	0.88	1.07	1.12	1.49
色谱柱 2		0.70	0.82	0.87	1.07	1.13	1.48	1.57
色谱柱 3		0.68	0.84	0.88	1.07	1.11	1.45	1.52
RSD/%		1.31	1.19	0.84	0.39	0.65	1.33	1.69

表 3 QAMS 与 ESM 测得的布渣叶总黄酮部位中 8 种黄酮苷的量

Table 3 Contents of eight flavone glycosides determined by QAMS and ESM

批号	牡荆苷($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		芹菜素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		芹菜素-6-C-葡萄糖-8-C-阿拉伯糖苷($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		芹菜素-6-C-木糖-8-C-葡萄糖苷($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		异牡荆苷($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		紫云英苷($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		异鼠李素-3-O-芸香糖苷($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		总黄酮($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	
		QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM
151110	1.36	0.59	0.58	0.44	0.44	0.48	0.50	0.46	0.47	2.00	2.03	0.40	0.40	2.12	2.15	7.85	7.93
151111	1.87	0.55	0.54	0.41	0.42	0.36	0.37	0.20	0.20	3.09	3.15	0.54	0.55	3.36	3.40	10.38	10.50
151112	1.73	0.55	0.54	0.53	0.54	0.61	0.63	0.65	0.65	2.77	2.82	0.59	0.60	3.00	3.04	10.43	10.55
151113	1.68	0.75	0.73	0.45	0.46	0.59	0.60	0.54	0.54	2.47	2.53	0.47	0.48	2.64	2.67	9.59	9.69
151114	2.18	0.87	0.86	0.62	0.63	0.76	0.78	0.83	0.83	3.34	3.40	0.67	0.69	3.83	3.88	13.10	13.25
151115	2.31	0.96	0.95	0.68	0.69	0.79	0.81	0.89	0.89	3.50	3.57	0.70	0.70	3.89	3.93	13.72	13.85
151116	2.36	0.94	0.93	0.68	0.70	0.75	0.77	0.86	0.86	3.65	3.72	0.70	0.70	3.92	3.98	13.86	14.02
151117	2.47	0.91	0.90	0.64	0.65	0.28	0.29	1.91	1.91	3.64	3.71	0.63	0.64	3.92	3.98	14.40	14.55
151118	2.32	0.96	0.94	0.65	0.66	0.80	0.82	1.14	1.14	3.69	3.75	0.74	0.75	4.14	4.20	14.44	14.58
151119	2.33	0.98	0.96	0.66	0.67	0.80	0.82	1.15	1.15	3.71	3.78	0.73	0.74	4.14	4.19	14.50	14.64

3 讨论

本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术, 结合相应的对照品, 以精确相对分子质量、紫外图谱、相对保留时间以及 MS 和 MS^E 质谱裂解规律等对 MpTFF 的 8 种黄酮苷进行了确认, 采用 ESM 和 QAMS 测定的量分别为 7.93~14.64 mg/g 和 7.85~14.5mg/g。此外, 本实验用表儿茶素作为标志物对 8 个黄酮苷成分进行明确指认, 从图 1-B 可以看出, 该部位中还可能存在一些因缺乏对照品或分离度较差而未能定量的黄酮苷类成分。

与此同时, 本实验也未对其中的异鼠李素、芹菜素、山柰酚、槲皮素等黄酮苷元类成分进行定量分析。并且, 以芦丁为对照品, 采用比色法测定 MpTFF 的总黄酮量达到了 85%以上^[2-3]。

对 MpTFF 8 种黄酮苷量的分析而言, 本实验建立的 HPLC 分析方法具有良好的耐受性, 体积流量、柱温、进样量和色谱柱品牌对相对校正因子影响较小。通过对 10 批次的 MpTFF 供试品中 8 种黄酮苷量的分析发现, 采用 ESM 和 QAMS 测定的结果高度一致, 说明采用 QAMS 来进行 MpTFF 中黄酮苷

类的质量控制与评价是可行的,为其量效关系研究和制剂开发奠定了基础。

QAMS 是近年发展起来的多指标质量控制模式,在缺乏对照品的情况下,该方法对中药整体质量控制起到了较好的补充作用。QAMS 在生物碱^[13]、皂苷^[14]、酚酸^[9,15]、黄酮^[16]、三萜酸^[17]成分等分析方面均有报道,对于丹参中丹参酮类、黄连中黄连碱类的定量测定更是收载于《中国药典》2015 年版。但总体上采用 QAMS 控制中药材、饮片以及制剂品种的质量较少。作为一种高效、低成本的整体质量评价方法, QAMS 已经展现出了其优势,今后必将在中药研究与开发中发挥更大的作用。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 汤欢, 师玉华, 屠鹏飞, 等. 凉茶药材布渣叶及其混伪品的 DNA 条形码鉴定 [J]. 中国药学杂志, 2015, 50(17): 1479-1484.
- [3] 杨茵, 李硕果, 叶文才, 等. 布渣叶的化学成分研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(11): 2790-2792.
- [4] 李坤平, 陈艳芬, 岳春华, 等. 布渣叶保护急性心肌缺血损伤有效部位化学成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(23): 3373-3376.
- [5] Still P C, Yi B, González-Cestari T F, et al. Alkaloids from *Microcos paniculata* with cytotoxic and nicotinic receptor antagonistic activities [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(2): 243-249.
- [6] 陈艳芬, 杨超燕, 李坤平, 等. 布渣叶总黄酮对大鼠急性心肌缺血的保护作用及其机制 [J]. 中草药, 2013, 44(8): 1003-1007.
- [7] Chen Y G, Li P, Li P, et al. α -Glucosidase inhibitory effect and simultaneous quantification of three major flavonoid glycosides in *Microctis folium* [J]. *Molecules*, 2013, 18(4): 4221-4232.
- [8] 曾巧煌, 陈玉兴, 曾晓会, 等. 布渣叶总黄酮分散片对不同高血脂症模型调血脂作用研究 [J]. 江西中医药, 2016, 47(1): 63-65.
- [9] Li D W, Zhu M, Shao Y. et al. Determination and quality evaluation of green tea extracts through qualitative and quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) [J]. *Food Chem*, 2016, 197(Part B): 1112-1120.
- [10] 李坤平, 曾玉冰, 高崇凯, 等. 从布渣叶中制备异鼠李素-3-O- β -D-芸香糖苷的研究 [J]. 广东药学院学报, 2011, 27(1): 31-33.
- [11] 袁旭江, 李春阳, 张平. 一测多评法测定鸡骨草叶中 3 种黄酮碳苷含量 [J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(4): 493-497.
- [12] 李坤平, 高崇凯, 李卫民. 牡荆苷和异鼠李素-3-O- β -D-芸香糖苷的电喷雾飞行时间质谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(2): 180-184.
- [13] 卿大双, 罗维早, 孙建彬, 等. 一测多评法测定黄连及其炮制品中 6 种生物碱 [J]. 中草药, 2016, 47(2): 324-329.
- [14] 靳瑞婷, 杨素德, 付娟, 等. 一测多评法测定茛白平肺颗粒中 8 种皂苷类成分 [J]. 中草药, 2015, 46(24): 3682-3686.
- [15] 王俊俊, 张俐, 郭青, 等. 一测多评法测定 8 个银翘解毒系列制剂中的 7 种酚酸类成分的含量 [J]. 药学报, 2015, 50(4): 480-485.
- [16] 张敏, 吴运莉, 印酬, 等. “一测多评”法测定淡豆豉药材中 4 种黄酮类成分 [J]. 中国药学杂志, 2014, 49(19): 1740-1743.
- [17] 蔡雪萍, 李振华, 华俊磊, 等. 一测多评法测定枇杷叶有效部位中 6 种三萜酸成分的量 [J]. 中草药, 2013, 44(21): 3057-3062.