

## 中药蝴蝶果 UPLC 指纹图谱及含量测定\*

江洁怡<sup>1</sup>, 杨敏娟<sup>2</sup>, 汤瑞茵<sup>2</sup>, 李国卫<sup>3</sup>, 肖观林<sup>1</sup>, 张靖年<sup>1\*\*</sup>, 胥爱丽<sup>1</sup>

(1. 广东省中医药工程技术研究院 广东省中医药研究开发重点实验室, 广州 510095;

2. 广州中医药大学第五临床医学院, 广州 510095; 3. 广东一方制药有限公司, 佛山 528244)

**摘要 目的:**建立中药蝴蝶果超高效液相色谱(UPLC)指纹图谱及没食子酸、原儿茶酸、对羟基肉桂酸、杨梅苷、槲皮苷 5 个成分的定量分析方法, 为中药蝴蝶果质量控制提供依据。**方法:**采用 Waters CORTECS UPLC T3 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 1.6 μm), 以乙腈-0.1% 磷酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 柱温 30 ℃, 流速 0.20 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 300 nm, 进样量为 1 μL; 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”生成对照指纹图谱并进行相似度分析, 结合聚类分析、TOPSIS 多元统计分析法进行评价。**结果:**建立了中药蝴蝶果 UPLC 指纹图谱, 共标示了 14 个共有峰, 指认了其中没食子酸、原儿茶酸、对羟基肉桂酸、杨梅苷、槲皮苷 5 个成分, 并建立了该 5 个成分的定量分析方法。10 批次中药蝴蝶果的指纹图谱相似度均在 0.9 以上, 其中来源于江西的样品 S9 聚为 I 类, 质量最佳; 来源于广西和广东的样品聚为 II 类, 质量次之; 来源于江西的样品 S1、S4、S6 聚为 III 类, 质量最差。10 批样品中上述 5 个成分的含量分别为 0.236~0.356、0.118~0.398、0.108~0.141、0.146~0.222、0.046~0.104 mg·g<sup>-1</sup>。**结论:**所建立的蝴蝶果指纹图谱及含量测定分析方法精密度高, 稳定性好, 可用于中药蝴蝶果的质量控制及评价。

**关键词:** 中药蝴蝶果; 指纹图谱; 多成分含量测定; 聚类分析; TOPSIS 多元统计分析

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2024)02-0233-09

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024.02.05

Study on UPLC fingerprint and simultaneous determination of 5 components in *Frucius Aceris Fabri*\*JIANG Jie-yi<sup>1</sup>, YANG Min-juan<sup>2</sup>, TANG Rui-yin<sup>2</sup>, LI Guo-wei<sup>3</sup>,  
XIAO Guan-lin<sup>1</sup>, ZHANG Jing-nian<sup>1\*\*</sup>, XU Ai-li<sup>1</sup>

(1. Guangdong Province Engineering and Technology Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development in Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China; 2. The Fifth Clinical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China; 3. Guangdong Yi Fang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, China)

**Abstract Objective:** To establish a method of UPLC fingerprint and quantitative analysis of gallic acid, protocatechuic acid, *p*-hydroxycinnamic acid, myricitrin and quercitrin for *Frucius Aceris Fabri*, and to provide a reference for the quality control of *Frucius Aceris Fabri*. **Methods:** The determination was performed on a Waters CORTECS UPLC T3 column (150 mm×2.1 mm, 1.6 μm), with mobile phase consisting of acetonitrile-0.1% phosphoric acid by gradually elution at a flow rate of 0.20 mL·min<sup>-1</sup>. The column temperature was 30 ℃,

\* 2021 年省属科研机构稳定性支持项目(粤财科教[2021]113号)

\*\* 通信作者 Tel:(020)83482098; E-mail: zjn9110@163.com

第一作者 Tel:(020)83482098; E-mail: papertcm@163.com

and detection wavelength was set at 300 nm. The quality of 10 batches of *Frucius Aceris Fabri* was evaluated by similarity analysis, CA and TOPSIS analysis of fingerprints. **Results:** The UPLC fingerprint of *Frucius Aceris Fabri* was established, and 14 peaks were selected as the characteristic fingerprint peaks. Five chemical components were identified, which were gallic acid, protocatechuic acid, *p*-hydroxycinnamic acid, myricitrin and quercitrin. And a quantitative method for the determination of the 5 chemical components was established. Good similarities were found in the established fingerprint through similarity analysis. CA and TOPSIS analysis showed that 10 batches of *Frucius Aceris Fabri* samples could be clustered into 3 groups. The sample S9 from Jiangxi was classified as class I with best quality. The samples from Guangxi and Guangdong were classified as Class II with medium quality. The samples S1, S4 and S6 from Jiangxi were classified as III with worst quality. The linear relationship of the 5 chemical components was good, and the *r* values were all above 0.999. The contents of the 5 chemical components in 10 batches of samples were  $0.236 - 0.356 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,  $0.118 - 0.398 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,  $0.108 - 0.141 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,  $0.146 - 0.222 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  and  $0.046 - 0.104 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , respectively. **Conclusion:** The established UPLC fingerprint and quantitative analysis methods of *Frucius Aceris Fabri* are precise and stable, which can be used for evaluating and controlling the quality of *Frucius Aceris Fabri*.

**Keywords:** *Frucius Aceris Fabri*; fingerprint; multi-component determination; cluster analysis; TOPSIS multivariate statistical analysis

中药蝴蝶果又名红蝴蝶,为槭树科植物罗浮槭 *Acer fabri* Hance 及桂林槭 *A. kweilinense* Fang et Fang f. 的果实,味甘、微苦,性凉,具有清热解毒的功效,主要用于治疗声音嘶哑、咽喉炎、扁桃体炎、肝炎、肺结核等症<sup>[1-2]</sup>。蝴蝶果广泛分布于我国江西、湖北、湖南、广东、广西、贵州、海南、四川等地,资源丰富,具有很好的开发应用前景。研究表明,槭树科植物富含黄酮、单宁、苯丙素、萜、甾、生物碱及二芳基庚烷衍生物等类化学成分,具有降低胆固醇、预防脑血管疾病、减少冠心病、高血压和延缓神经衰老等多种药效活性<sup>[3-5]</sup>,然而现阶段针对罗浮槭及桂林槭的研究较少,主要集中在其作为观赏植物的引种、栽培等方面<sup>[6-7]</sup>,其作为中药材的药理、化学成分研究却鲜有报道;质量标准方面,也仅见《广西中药材标准》(1990年版)对其性状鉴别作了相关规定<sup>[8]</sup>,缺乏必要的质控指标及方法,严重限制了其进一步开发利用。

中药指纹图谱可整体、全面地反映中药的化学成分信息,特别是超高效液相色谱法(UPLC)指纹图谱,具有整体性好,特征性强,分析效率高等优点,被广泛应用于中药材、饮片及其复方制剂的质量控制中<sup>[9-12]</sup>。本研究拟建立蝴蝶果 UPLC 指纹图谱,同时测定其中没食子酸、原儿茶酸、对羟基肉桂酸、杨梅苷、槲皮苷 5 个成分的含量,为蝴蝶果的质量控制提供科学依据,为其进一步的开发利用提供研究基础。

## 1 仪器与试药

Waters ACQUITY H-Class 色谱仪(Agilent 公司),XS205DU 十万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多公司),Milli-Q Advantage 型 A10 自动型纯水机(Millipore 公司),KQ-700DE 型数控超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司)。

对照品没食子酸[批号(下同)110831-201906,含量(下同)91.5%]、原儿茶酸(110809-201906,97.7%)、杨梅苷(111860-201703,95.2%)、槲皮苷(111538-202007,93.5%)均购自中国食品药品检定研究院,对羟基肉桂酸(21101401,99.94%)购自成都普菲德生物科技有限公司;10批蝴蝶果药材由广东一方制药有限公司提供,经广东省中医药工程技术研究院刘法锦教授鉴定为槭树科植物罗浮槭 *Acer fabri* Hance 及桂林槭 *Acer kweilinense* Fang et Fang f. 的果实,产地信息见表 1。

乙腈、磷酸等液相用试剂为色谱纯(Merck 公司),甲醇等其余试剂均为分析纯(广州化学试剂厂),水为超纯水(Advantage A10 超纯水系统)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

Waters CORTECS UPLC T3 色谱柱(150 mm × 2.1 mm, 1.6 μm),以乙腈(A)-0.1%磷酸(B)为流动相,梯度洗脱(0~5 min, 5%A→10%A; 5~7 min,

表 1 蝴蝶果药材样品信息

Tab. 1 Samples information of Frucius Aceris Fabri

样品编号 (sample No.)	批号 (batch No.)	产地 (habitat)	样品编号 (sample No.)	批号 (batch No.)	产地 (habitat)
S1	2103217	江西(Jiangxi)	S6	2104022	江西(Jiangxi)
S2	2103218	广西(Guangxi)	S7	2104201	广东(Guangdong)
S3	2103219	广东(Guangdong)	S8	2104202	广东(Guangdong)
S4	2103202	江西(Jiangxi)	S9	2105055	江西(Jiangxi)
S5	2103220	广西(Guangxi)	S10	2105057	广西(Guangxi)

10% %A→15% A; 7 ~ 15 min, 15% %A→20% A; 15 ~ 25 min, 20% %A→25% A), 流速 0.20 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 300 nm, 进样量 1 μL, 柱温 30 °C。

## 2.2 供试品溶液的制备

取蝴蝶果药材粉末约 1.0 g, 精密称量, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇水溶液 15 mL, 称量, 加热回流 1 h, 取出, 放冷, 再次称量, 用 70% 甲醇水溶液补足减失的量, 摇匀, 过 0.22 μm 的微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

## 2.3 对照品溶液的制备

分别取没食子酸、原儿茶酸、对羟基肉桂酸、杨梅苷、槲皮苷的对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度分别为 330.113、348.984、410.154、165.088、660.110 μg · mL<sup>-1</sup> 的对照品储备液。取上述各对照品储备液适量, 制成系列浓度的混合对照品溶液。

## 2.4 指纹图谱的建立及相似度评价

**2.4.1 精密度试验** 取同一蝴蝶果药材供试品溶液(S3), 按“2.1”项色谱条件, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 以 3 号峰(原儿茶酸)为参照, 计算得到各共有峰的相对保留时间(relative retention time, RRT)及相对峰面积(relative common peak area, RPA)的 RSD 均 < 3.0%, 表明所用仪器精密度良好。

**2.4.2 重复性试验** 分别取同一批次蝴蝶果药材(S3), 照“2.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项色谱条件进样并记录色谱图, 以 3 号峰(原儿茶酸)为参照, 计算得到各共有峰的 RRT 及 RPA 的 RSD 均 < 3.0%, 表明所建立方法重复性良好。

**2.4.3 稳定性试验** 取同一蝴蝶果药材供试品溶液(S3), 按“2.1”项色谱条件, 分别在 0、2、4、8、16、24 h 进样, 记录色谱图, 以 3 号峰(原儿茶酸)为参照, 计算得到各共有峰的 RRT 及 RPA 的 RSD

均 < 3.0%, 表明供试品溶液 24 h 内稳定性良好。

**2.4.4 指纹图谱的建立** 取 10 批蝴蝶果药材, 照“2.2”项方法分别制备供试品溶液, 精密吸取各供试品溶液及混合对照品溶液 1 μL, 按“2.1”项色谱条件依次进样测定, 记录色谱图, 将数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”, 以 S1 号样品色谱图为参照图谱, 采用中位数法, 时间窗宽度为 0.1 min, 全谱自动匹配, 生成对照指纹图谱, 10 批样品叠加图谱见图 1。根据匹配数据, 共标定 14 个共有峰, 通过与对照品保留时间及紫外全波长扫描图比对, 指认了其中 5 个共有峰, 分别为没食子酸(峰 1)、原儿茶酸(峰 3)、对羟基肉桂酸(峰 7)、杨梅苷(峰 11)、槲皮苷(峰 14), 见图 2。以 3 号峰原儿茶酸为参照(S), 计算其他各共有峰的 RRT 和 RPA, 结果见表 2、3。

**2.4.5 相似度评价** 将 10 批样品数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”, 计算 10 批蝴蝶果药材供试品指纹图谱与所生成对照指纹图谱的相似度分别为 0.988、0.959、0.996、0.979、0.996、0.989、0.974、0.978、0.988、0.993, 均 > 0.9, 不同产地间蝴蝶果药材化学成分基本一致、质量稳定。

**2.4.6 聚类分析** 聚类分析亦称为群分析, 其能把相似的对象通过静态分类的方法分成不同的组别或者更多的子集, 是研究样品或指标分类问题的多元统计方法。以各批样品的 14 个共有峰的相对峰面积为原始数据, 经归一化处理后, 导入 SPSS 26.0 软件, 采用组间联接聚类法, 选取平方 Euclidean 距离作为度量标准进行聚类分析。结果表明, 当类间距 > 10 时, 10 批蝴蝶果药材可聚为 3 类, S1、S4、S6 聚为一类, 均来源于江西; S9 聚为一类, 来源于江西; 其余批次聚为一类, 来源于广西和广东, 见图 3。

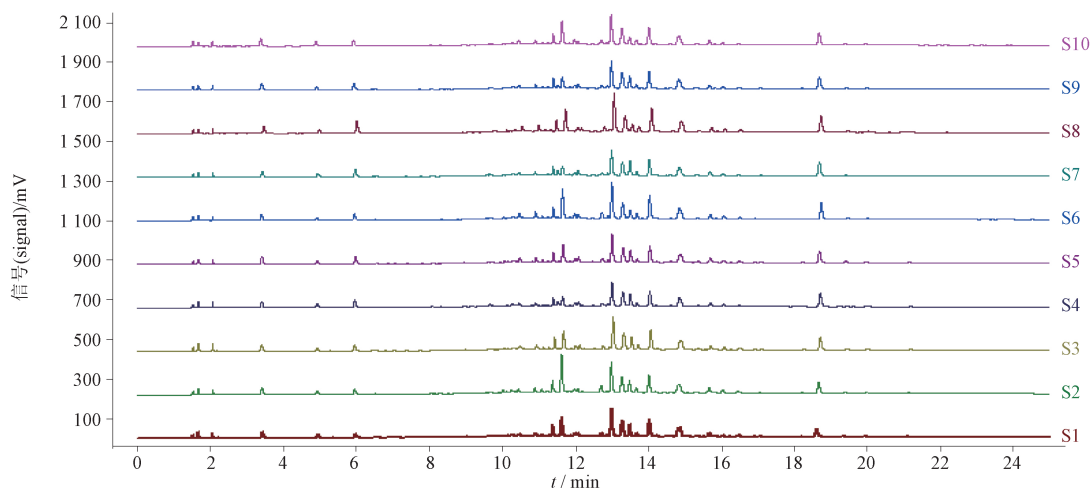
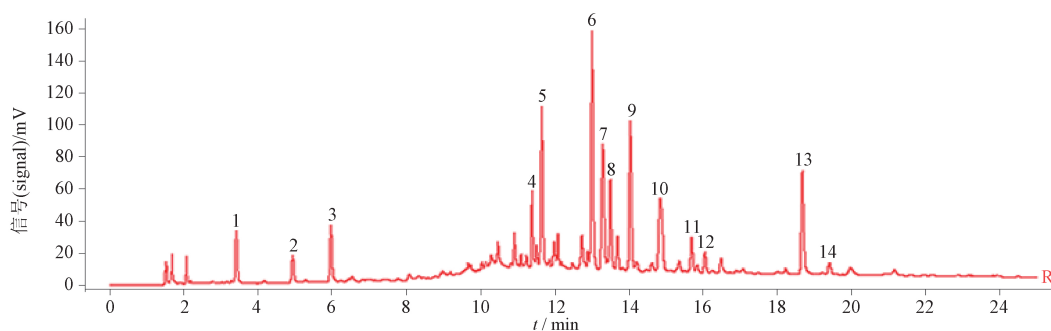


图 1 10 批蝴蝶果药材 UPLC 色谱叠加图

Fig. 1 Overlay UPLC chromatograms of 10 batches of Frucus Aceris Fabri



1. 没食子酸(gallic acid) 3. 原儿茶酸(protocatechuic acid) 7. 对羟基肉桂酸(*p*-hydroxycinnamic acid) 11. 杨梅苷(myricitrin) 14. 槲皮苷(quercitrin)

图 2 蝴蝶果药材 UPLC 指纹图谱共有模式图

Fig. 2 Common pattern of UPLC fingerprints of Frucus Aceris Fabri

表 2 10 批蝴蝶果药材共有峰的 RRT

Tab. 2 RRT of 10 batches of Frucus Aceris Fabri

共有峰号 (common peak No.)	RRT										RSD/ %
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	
1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.58	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.29
2	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.13
3	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00
4	1.91	1.91	1.92	1.91	1.91	1.92	1.93	1.91	1.91	1.92	0.37
5	1.96	1.95	1.96	1.95	1.95	1.96	1.97	1.95	1.95	1.96	0.35
6	2.18	2.18	2.19	2.18	2.17	2.19	2.20	2.18	2.18	2.19	0.35
7	2.23	2.23	2.24	2.23	2.22	2.24	2.25	2.22	2.23	2.24	0.35
8	2.27	2.26	2.27	2.26	2.25	2.28	2.28	2.26	2.27	2.28	0.37
9	2.36	2.35	2.36	2.35	2.34	2.37	2.37	2.35	2.36	2.36	0.36
10	2.49	2.49	2.50	2.49	2.48	2.50	2.51	2.49	2.50	2.50	0.33
11	2.64	2.63	2.64	2.63	2.62	2.64	2.65	2.62	2.63	2.64	0.39
12	2.70	2.69	2.70	2.69	2.68	2.71	2.71	2.68	2.69	2.70	0.40
13	3.14	3.13	3.15	3.13	3.11	3.15	3.16	3.11	3.14	3.15	0.49
14	3.27	3.25	3.27	3.25	3.24	3.28	3.28	3.24	3.26	3.27	0.49

表 3 10 批蝴蝶果药材共有峰的 RPA  
Tab. 3 RPA of 10 batches of *Frucius Aceris Fabri*

共有峰号 (common peak No.)	RPA									
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
1	0.740	0.961	0.877	0.675	0.519	0.908	1.272	1.492	1.238	1.043
2	0.498	0.412	0.368	0.452	0.294	0.412	0.738	0.852	0.578	0.590
3	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
4	0.673	0.741	0.979	0.652	0.571	0.890	1.019	1.699	1.426	1.219
5	1.033	1.863	3.820	1.009	1.583	1.431	3.374	3.965	6.096	2.699
6	2.688	3.019	4.649	2.768	2.699	3.373	4.271	5.822	4.872	4.786
7	2.030	1.978	2.608	1.921	1.410	2.607	2.891	4.547	3.200	3.249
8	1.359	1.246	1.082	1.559	0.520	1.473	1.029	2.412	1.920	1.786
9	1.971	1.979	3.397	1.971	1.855	2.363	2.770	4.024	3.119	3.231
10	1.756	1.790	2.696	1.699	1.405	2.238	2.462	4.254	2.848	3.040
11	0.494	0.551	0.698	0.506	0.435	0.503	0.842	0.985	0.941	0.693
12	0.294	0.302	0.515	0.301	0.278	0.320	0.455	0.565	0.594	0.518
13	2.032	1.730	2.850	2.104	1.564	2.043	2.405	2.314	2.252	2.505
14	0.136	0.280	0.247	0.143	0.160	0.184	0.344	0.415	0.380	0.259

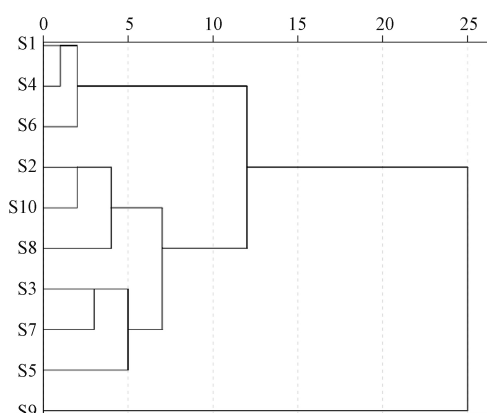


图 3 10 批蝴蝶果药材聚类分析树状图  
Fig. 3 Cluster analysis tree of 10 batches of *Frucius Aceris Fabri*

**2.4.7 TOPSIS 分析** TOPSIS 法是常用的样品优劣综合评价方法,能充分利用原始数据的信息,精确地反映各评价目标之间的差距。其原理是通过归一化后的数据规范化矩阵,找出多个目标中的最优目标(理想解)和最劣目标(反理想解),分别计算各评价目标与理想解、反理想解的距离,获得各目标与理想解的贴近度并进行排序,以此作为评价目标优劣的依据。以各批样品的 14 个共有峰的 RPA 为原始数据,导入在线 SPSS 分析软件,对数据进行归一化处理后,运行 TOPSIS 分析,比较不同批次蝴蝶果药材的质量差异。结果表明, S9 的质量最佳, S1、S4、S6 的质量最差,见表 4。

表 4 10 批蝴蝶果药材 TOPSIS 评价计算结果  
Tab. 4 TOPSIS evaluation results of 10 batches of *Frucius Aceris Fabri*

样品序号 (sample No.)	正理想解距离 D + (perfect ideal solution distance D +)	负理想解距离 D - (negative ideal solution distance D -)	相对接近度 C (relative proximity C)	排序结果 (sort result)
S1	0.145	0.085	0.369	9
S2	0.113	0.075	0.399	6
S3	0.094	0.106	0.53	2
S4	0.147	0.091	0.383	8
S5	0.117	0.088	0.428	4
S6	0.135	0.074	0.355	10
S7	0.101	0.089	0.468	3
S8	0.116	0.083	0.417	5
S9	0.093	0.143	0.607	1
S10	0.115	0.073	0.388	7

## 2.5 多成分含量测定

**2.5.1 线性关系考察** 精密吸取没食子酸、原儿茶酸、对羟基肉桂酸、杨梅苷、槲皮苷的对照品储备液适量,加甲醇稀释得不同浓度梯度的系列混合对照品溶

液,精密吸取上述溶液各 1  $\mu\text{L}$ ,按“2.1”项色谱条件测定,记录各色谱峰峰面积,以峰面积( $Y$ )为纵坐标,对照品溶液浓度( $X$ )为横坐标进行回归,得到线性回归方程,各成分在相应的含量范围内线性关系良好,见表 5。

表 5 5 个成分线性关系结果

Tab. 5 Results of the linear relationship of 5 components

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	$r$	线性范围 (linear range)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	LOQ/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	LOD/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
没食子酸(gallic acid)	$Y = 6.42 \times 10^3 X + 9.00 \times 10^3$	0.999 9	6.602 ~ 66.023	0.132	0.039 6
原儿茶酸(protocatechuic acid)	$Y = 8.74 \times 10^3 X + 1.42 \times 10^3$	0.999 8	6.980 ~ 69.797	0.140	0.041 9
对羟基肉桂酸( $p$ -hydroxycinnamic acid)	$Y = 3.40 \times 10^4 X + 4.55 \times 10^4$	0.999 8	6.152 ~ 61.523	0.123	0.036 9
杨梅苷(myricitrin)	$Y = 6.26 \times 10^3 X + 6.01 \times 10^3$	0.999 7	4.127 ~ 41.272	0.083	0.024 8
槲皮苷(quercitrin)	$Y = 6.64 \times 10^3 X + 3.91 \times 10^3$	0.999 8	2.640 ~ 26.404	0.053	0.015 8

**2.5.2 精密度试验** 取同一蝴蝶果药材供试品溶液(S3),按“2.1”项色谱条件,连续测定 6 次,记录各成分峰面积,计算得到没食子酸、原儿茶酸、对羟基肉桂酸、杨梅苷、槲皮苷峰面积的 RSD 分别为 0.73%、0.64%、0.60%、0.68%、0.48%,表明所用仪器精密度良好。

**2.5.3 稳定性试验** 取同一蝴蝶果药材供试品溶液(S3),按“2.1”项色谱条件,分别在 0、2、4、8、16、24 h 进样,记录各成分峰面积,计算得到没食子酸、原儿茶酸、对羟基肉桂酸、杨梅苷、槲皮苷峰面积的 RSD 分别为 1.1%、0.82%、1.6%、0.89%、1.2%,表明供试品溶液 24 h 内稳定性良好。

**2.5.4 重复性试验** 分别取同一批次蝴蝶果药材(S3),照“2.2”项的方法平行制备 6 份供试品溶液,并按“2.1”项色谱条件测定,记录各成分峰面积并计算含量,计算得到没食子酸、原儿茶酸、对羟基肉桂酸、杨梅苷、槲皮苷的平均含量分别为 0.246、0.222、0.134、0.205、0.064  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 分别为 1.9%、1.1%、2.7%、1.7%、1.5%,表明该方法重复性较好。

**2.5.5 加样回收试验** 取已知含量的蝴蝶果药材样品(S3),分别精密加入各对照品适量,照“2.2”项方法平行制备 6 份供试溶液,并按“2.1”项色谱条件测定,记录各成分峰面积并计算含量,计算得到没食子酸、原儿茶酸、对羟基肉桂酸、杨梅苷、槲皮苷的平均加样回收率分别为 93.9%、99.3%、94.0%、100.0%、98.8%, RSD 分别为 1.6%、1.1%、1.5%、1.6%、2.5%,符合 2020 年版《中国药典》规定。

**2.5.6 样品含量测定** 分别取 10 批蝴蝶果药材,照“2.2”项方法制备供试品溶液,每批次平行处理 2 份,按“2.1”项色谱条件测定,记录各成分峰面积并计算含量,结果(图 4、表 6)表明,10 批蝴蝶果药材中没食子酸、原儿茶酸、对羟基肉桂酸、杨梅苷、槲皮苷的平均含量分别为 0.290、0.216、0.127、0.184、0.076。

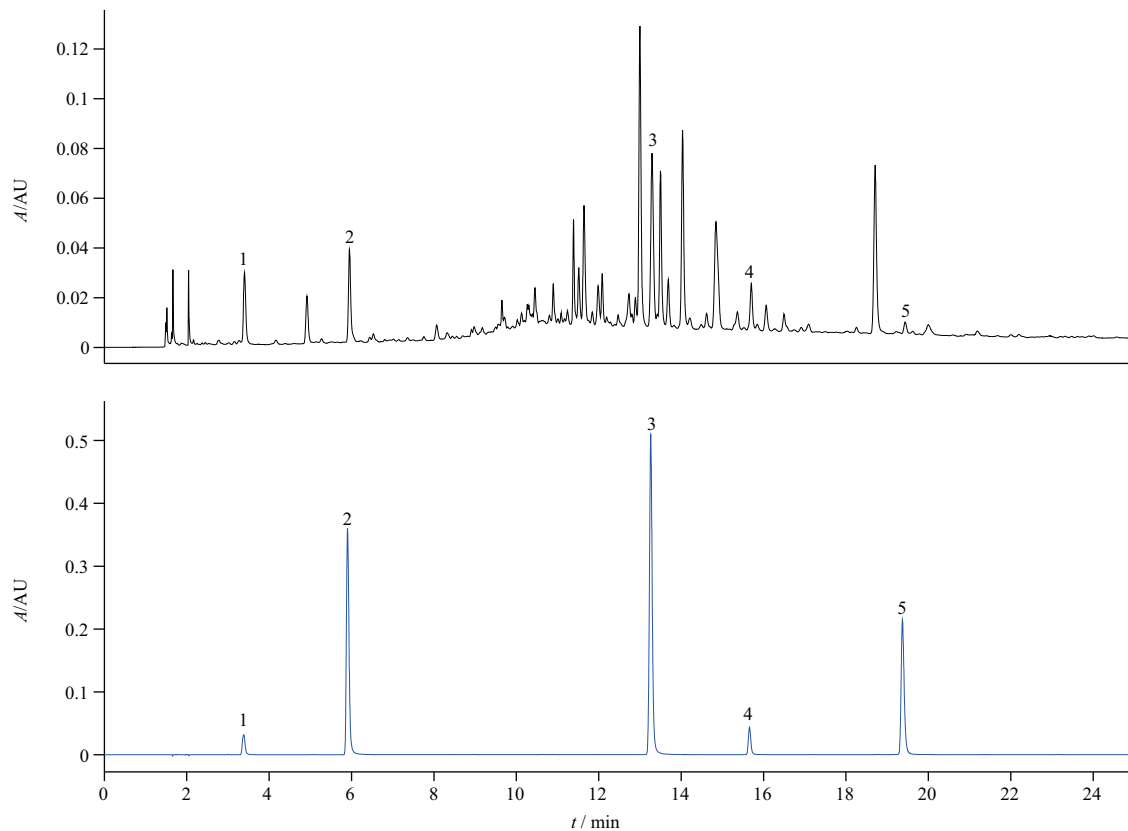
## 3 讨论

### 3.1 方法的优化

为了更全面、充分地展现蝴蝶果药材中所含化学成分,采用紫外 210 ~ 400 nm 全波长扫描对检测波长进行筛选,结果显示在 300 nm 各色谱峰数目、丰度、分离度均为最优,故选择 300 nm 为检测波长,并先后考察了不同色谱柱(Waters CORTECS UPLC T3、Waters ACQUITY UPLC BEH Shield RP  $C_{18}$ 、Waters ACQUITY UPLC BEH  $C_{18}$ )、流动相体系(乙腈-水、乙腈-0.1% 甲酸水溶液、乙腈-0.1% 磷酸水溶液)、柱温(25、30、35  $^{\circ}\text{C}$ )以及流速(0.17、0.20、0.23  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ )对分离效果的影响,最终确定了“2.1”项色谱条件;考察了不同提取溶剂(50% 甲醇水、70% 甲醇水、纯甲醇)、提取方式(超声、加热回流)、提取时间(0.5、1、2 h)对提取效果的影响,最终确定了“2.2”项供试品处理方法。

### 3.2 指纹图谱多元统计结果评价

本研究建立了蝴蝶果药材的指纹图谱,对 10 批不同产地样品进行测定,并采用相似度评价、CA、TOPSIS 等多元统计分析法对其进行分析评价。



1. 没食子酸 (gallic acid) 2. 原儿茶酸 (protocatechuic acid) 3. 对羟基肉桂酸 (*p*-hydroxycinnamic acid) 4. 杨梅苷 (myricitrin) 5. 槲皮苷 (quercitrin)

图4 蝴蝶果药材5个成分含量测定色谱图

Fig. 4 Chromatograms of content determination of 5 components in Frucius Aceris Fabri

表6 10批蝴蝶果药材5个成分含量测定结果 (*n* = 2)

Tab. 6 Results of content determination of 5 components in Frucius Aceris Fabri

样品序号 (sample No.)	含量 (content) / (mg · g <sup>-1</sup> )				
	没食子酸 (gallic acid)	原儿茶酸 (protocatechuic acid)	对羟基肉桂酸 ( <i>p</i> -hydroxycinnamic acid)	杨梅苷 (myricitrin)	槲皮苷 (quercitrin)
S1	0.251	0.231	0.111	0.159	0.046
S2	0.356	0.250	0.116	0.193	0.104
S3	0.268	0.205	0.131	0.187	0.078
S4	0.236	0.239	0.108	0.169	0.049
S5	0.288	0.398	0.128	0.212	0.091
S6	0.286	0.209	0.134	0.146	0.058
S7	0.351	0.182	0.132	0.204	0.096
S8	0.281	0.118	0.141	0.175	0.079
S9	0.302	0.159	0.128	0.222	0.088
S10	0.275	0.172	0.141	0.173	0.070
平均值 (average)	0.290	0.216	0.127	0.184	0.076
RSD/%	13.3	34.9	9.2	13.0	26.2

相似度评价结果显示各批次样品的相似度均在 0.9 以上,表明蝴蝶果药材总体质量较好、较稳定。CA 分析能较好在将不同产地的蝴蝶果药材进行分类,其中广西和广东的蝴蝶果样品聚为一类,可能与两广地区地理位置比邻且气候特点相近有关系;而来源于江西的样品则分为两类,结合 TOPSIS 分析法得到的不同批次蝴蝶果药材的质量优劣排序结果, S9 的质量最佳,广西和广东的样品次之, S1、S4、S6 的质量最差,由此可知,江西样品分为两类,与个别样品的质量差异有关,这可能与样品的采收季节等因素有关。由于本研究只代表性地选取了 3 个产地 10 批样品进行分析,且样品存在个体差异,统计结果仅为蝴蝶果样品的质量评价提供参考,尚未能充分地反映我国蝴蝶果药材的整体情况,而后续将继续收集更多批次药材,采集更多数据,丰富统计结果。

### 3.3 含量测定结果评价及质控指标的选择

课题组前期对蝴蝶果药材中化学成分进行了初步摸索,发现其主要含有黄酮、多酚、萜类等化学成分。本研究建立了蝴蝶果药材的 UPLC 指纹图谱,经与对照品比对,指认了其中 5 个共有峰分别为没食子酸(峰 1)、原儿茶酸(峰 3)、对羟基肉桂酸(峰 7)、杨梅苷(峰 11)、槲皮苷(峰 14),其中没食子酸、原儿茶酸和对羟基肉桂酸是自然界广泛存在的天然多酚类化合物,均具有抗炎、抗氧化、自由基清除、抗菌、抗肿瘤等活性<sup>[13-20]</sup>;杨梅苷、槲皮苷为多酚羟基黄酮苷类化合物,均具有抗氧化、改善心血管功能、护肝、抗炎、降脂等药理作用<sup>[21-24]</sup>。本研究在指纹图谱研究的基础上同步建立了蝴蝶果药材中没食子酸、原儿茶酸、对羟基肉桂酸、杨梅苷、槲皮苷等 5 种成分的含量测定方法,并对 10 批蝴蝶果药材进行测定,结果 10 批样品中没食子酸、原儿茶酸、对羟基肉桂酸、杨梅苷、槲皮苷平均含量分别为 0.290、0.216、0.127、0.184、0.076 mg·g<sup>-1</sup>。若对各成分的含量以平均含量的 70% 设限,10 批样品中,存在 1 批样品(S8)原儿茶酸含量低于标准,2 批样品(S1、S4)槲皮苷含量低于标准,其余含量均在限度内。另外对 10 批样品的含测数据分析可发现,蝴蝶果药材中槲皮苷的含量较低,大多在万分之一以下,为了保证含量测定的准确性及质量控制的合理性,建议质量标准中可不对其进行控制。

### 参考文献

- [1] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[M]. 第三版. 北京:人民卫生出版社,2014  
Compilation Group of National Compilation of Chinese Herbal Medicine. National Compilation of Chinese Herbal Medicine [M]. 3rd Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2014
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1998:100  
Editorial board of Chinese Materia Medica, National Administration of Traditional Chinese Medicine. Chinese Materia Medica [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1998: 100
- [3] 周荣汉. 药用植物化学分类学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1988:87  
ZHOU YH. Chemical Taxonomy of Medicinal Plants [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1988: 87
- [4] 唐雯, 王建军, 徐家星, 等. 槭树科药用植物的化学成分研究进展[J]. 北方园艺, 2012, (18): 194  
TANG W, WANG JJ, XU JX, et al. Advances of chemical composition of medicinal plants in *Aceraceae* [J]. *Nor Horticult*, 2012, (18): 194
- [5] 佟倩, 林乐静, 王达, 等. 我国槭树科研究进展与对策[J]. 林业科技通讯, 2021(7): 10  
TONG Q, LIN LJ, WANG D, et al. Research progress and countermeasures of aceraceae in China [J]. *For Sci Technol*, 2021 (7): 10
- [6] 何才生, 刘海石, 周志远, 等. 南岭植物园槭属树种资源的引种保存[J]. 绿色科技, 2022, 24(7): 73  
HE CS, LIU HS, ZHOU ZY, et al. Introduction and preservation of *Acer species* resources in Nanling Botanical Garden [J]. *J Green Sci Technol*, 2022, 24(7): 73
- [7] 王宁, 丁志鹏, 王红梅. 槭属植物观赏性状及在园林绿化中的应用[J]. 现代农业科技, 2021(14): 152  
WANG N, DING ZP, WANG HM. Study on ornamental characters of *Acer* plants and its application in landscaping [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2021(14): 152
- [8] 广西中药材标准[S]. 1990:93  
Guangxi Standard of Chinese Medicinal Materials [S]. 1990: 93
- [9] 张青, 罗秋月, 李静, 等. UPLC 在中药及其复方分析中的应用和研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(3): 226  
ZHANG Q, LUO QY, LI J, et al. Application and research progress of UPLC in analysis of traditional Chinese medicine and its compound [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2019, 25(3): 226
- [10] 巨珊珊, 李耀磊, 林志健, 等. 中药质量控制模式的现状分析与思考[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(18): 269  
JU SS, LI YL, LIN ZJ. Present situation analysis and thinking on quality control mode of Chinese materia medica [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2022, 28(18): 269
- [11] 李梓茵, 李钰洁, 付志博, 等. 木通 UPLC 指纹图谱及多指标成分含量测定[J]. 中成药, 2022, 44(12): 3909

- LI ZH, LI YJ, FU ZB, *et al.* Determination of UPLC fingerprints and multi-index components contents of *Akebia quinata* [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2022, 44(12): 3909
- [12] 林爽, 王杰, 高珊珊, 等. 基于化学计量学结合 UPLC 评价白术药材质量[J]. *现代中药研究与实践*, 2022, 36(5): 54
- LIN S, WANG J, GAO SS, *et al.* Quality assessment on *Atractylodes macrocephalae* rhizoma based on chemometrics combined UPLC [J]. *Chin Med J Res Prac*, 2022, 36(5): 54
- [13] 白海娜. 没食子酸对酵母细胞氧化损伤保护作用研究[J]. *食品安全导刊*, 2022(35): 54
- BAI HN. Protective effect of gallic acid on oxidative damage of yeast cells [J]. *Chin Food Saf Mag*, 2022(35): 54
- [14] 吴昊, 努兰·拜都拉, 刘琳玉, 等. 没食子酸对人食管癌 TE-1 细胞的体外抑制作用及其机制[J]. *中国药房*, 2022, 33(12): 1448
- WU H, BAYDOLLA N, LIU LY, *et al.* Inhibitory effects of gallic acid on human esophageal cancer TE-1 cells *in vitro* and its mechanism [J]. *Chin Pharm*, 2022, 33(12): 1448
- [15] 张钊. 没食子酸对脂多糖诱导的小鼠 J774A. 1 巨噬细胞炎症反应的抑制作用[D]. 延吉: 延边大学, 2022
- ZHANG Z. Inhibitory Effect of Gallic Acid on PLS-induced Inflammatory Response in Mouse J774A. 1 Macrophages [D]. Yanji: Yanbian University, 2022
- [16] 程菲儿, 刘惠卿, 张文静. 原花青素和原儿茶酸的协同抗氧化作用[J]. *现代食品*, 2022, 28(15): 168
- CHENG FE, LIU HQ, ZHANG WJ. Synergistic antioxidant effect of proanthocyanidins and protocatechuic acid [J]. *Mod Food*, 2022, 28(15): 168
- [17] 李佳. 原儿茶酸改善高脂诱导肝脏炎症及作用机制研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2021
- LI J. Effect of Protocatechuic Acid on Liver Inflammation Induced by High Fat and Its Mechanism [D]. Xianyang: Northwest A&F University, 2021
- [18] 李宝龙, 杨大为, 刘阳, 等. 原儿茶酸对人胶质瘤细胞株 U251MG 增殖、凋亡的影响及其机制[J]. *中华实验外科杂志*, 2021, 38(3): 472
- LI BL, YANG DW, LIU Y, *et al.* Effect of protocatechuic acid on the proliferation and apoptosis of human glioma cell line U251MG and the mechanism [J]. *Chin J Exp Surg*, 2021, 38(3): 472
- [19] 徐李亮, 施罗欣洁, 李若赛, 等. 羟基肉桂酸类化合物及其衍生物在阿尔茨海默病治疗中的研究进展[J]. *海峡药学*, 2022, 34(8): 78
- XU LL, SHI LXJ, LI RS, *et al.* Progress of hydroxycinnamic acids and their derivatives in Alzheimer's disease [J]. *Strait Pharm J*, 2022, 34(8): 78
- [20] 苏慧乾. 羟基肉桂酸类及氨基膦酸类有机锡配合物的合成、结构及性质研究[D]. 聊城: 聊城大学, 2021
- SU HQ. Synthesis, Structure Characterization and Properties of Organotin Complexes Derived from Hydroxycinnamic Acid and Aminophosphonic Acid [D]. Liaocheng: Liaocheng University, 2021
- [21] 罗伟伟. 杨梅苷对心肌炎的保护作用及对 TLR4/mTOR 通路影响的探讨[D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2022
- LUO WW. Exploring the Protective Effect of Myricetin on Myocarditis and Its Influence on TLR4/mTOR Pathway [D]. Hangzhou: Zhejiang Chinese Medical University, 2022
- [22] 黄梦珍. 杨梅苷降脂与抗炎功能的评估及其分子机理研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2021
- HUANG MZ. The Lipid-lowering and Anti-inflammation Effects and the Potential Molecular Mechanism of Myricitrin [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2021
- [23] 李薇娜, 江思德, 谭郎敏. 槲皮苷通过激活 Akt 信号通路发挥对缺氧诱导 PC12 细胞神经损伤的保护作用[J]. *药物生物技术*, 2020, 27(4): 300
- LI WN, JIANG SD, TAN LM. Quercetin protects PC12 cells from hypoxia-induced damage by activating Akt signaling pathway [J]. *Pharm Biotechnol*, 2020, 27(4): 300
- [24] 吕莹, 郝尧坤, 张照兰. 槲皮苷通过 Nrf2/HO-1 通路抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导人肝细胞 L-02 凋亡和损伤[J]. *中南药学*, 2021, 19(1): 44
- LÜ Y, HAO YK, ZHANG ZL. Quercetin inhibits H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis and injury of human hepatocytes L-02 via the Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Cent S Pharm*, 2021, 19(1): 44

(本文于 2023 年 1 月 12 日收到)