

UPLC-ESI-MS 法同时测定苗药红禾麻中 11 个成分的含量^{*}

吴耽, 唐娟, 李莹, 李靖, 陈思颖, 巩仔鹏, 李勇军, 王爱民, 李维维, 王永林, 兰燕宇^{**}

(贵州医科大学 贵州省药物制剂重点实验室, 民族药与中药开发应用教育部工程研究中心 药学院, 贵阳 550004)

摘要 目的: 建立超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-ESI-MS)法同时测定苗药红禾麻中没食子儿茶素、新绿原酸、表没食子儿茶素、儿茶素、绿原酸、隐绿原酸、表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷 11 个成分的含量。方法: 采用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 以 0.1% 甲酸水溶液-0.1% 甲酸乙腈溶液为流动相, 梯度洗脱, 流速 0.25 mL·min⁻¹, 柱温 45 ℃, 采用电喷雾离子源(ESI), 选择离子监测(SIM)模式检测。结果: 没食子儿茶素、新绿原酸、表没食子儿茶素、儿茶素、绿原酸、隐绿原酸、表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷的质量浓度分别在 0.051~3.256、0.050~3.200、0.056~3.594、0.050~3.206、0.109~6.975、0.053~3.394、0.012~3.087、0.012~50.800、0.026~3.363、0.065~26.550、0.013~3.328 mg·L⁻¹ 范围内与峰面积呈良好线性关系, R² 均大于 0.999 0, 平均加样回收率在 94%~103% 范围内。13 批样品中没食子儿茶素、新绿原酸、表没食子儿茶素、儿茶素、绿原酸、隐绿原酸、表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷的含量测定结果分别为 2.00~27.45、2.41~20.76、1.63~27.57、1.75~20.80、16.35~115.81、4.28~20.04、0.48~17.41、102.90~935.53、9.44~42.92、10.02~246.09、2.51~47.37 μg·g⁻¹。结论: 所建立的红禾麻 LC-ESI-MS 含量测定方法快速灵敏, 准确可靠, 可用于红禾麻质量控制。

关键词: 红禾麻; 芦丁; 槲皮苷; 山柰酚-3-O-芸香糖苷; 绿原酸; 儿茶素; 液相色谱-质谱联用; 多组分含量测定

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2019)08-1425-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.08.12

Simultaneous determination of 11 constituents in *Laportea bulbifera* of Miao medicine by UPLC-ESI-MS^{*}

WU Dan, TANG Juan, LI Ying, LI Jing, CHEN Si-ying, GONG Zi-peng,
LI Yong-jun, WANG Ai-min, LI Wei-wei, WANG Yong-lin, LAN Yan-yu^{**}

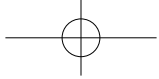
(Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM (Ministry of Education), School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

Abstract Objective: To establish an UPLC-ESI-MS method for simultaneous determination of gallicocatechin, neochlorogenic acid, epigallocatechin, catechin, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, epicatechin, rutin,

^{*} 国家自然科学基金项目(81560693); 贵州省科技厅科技创新人才团队建设项目(黔科合平台人才[2016]5613); 贵州省高层次创新型人才培养计划项目(黔科合平台人才[2016]5677); 贵阳市科研创新团队项目(筑科合同[2017]30-29号)

^{**} 通信作者 Tel: (0851) 86908468; E-mail: yanyu626@126.com

第一作者 Tel: (0851) 6908899; E-mail: 695434494@qq.com



isoquercitrin, kaempferol-3-*O*-rutinoside and quercitrin in *Laportea bulbifera* of Miao medicine by UPLC-ESI-MS. **Methods:** The chromatographic separation was performed on a ACQUITY UPLC BEH C_{18} (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μ m) with a mobile phase consisting of 0.1% formic acid acetonitrile-0.1% formic acid at the flow rate of 0.25 mL $\cdot$ min⁻¹. The column temperature was 45 $^{\circ}$ C. Electrospray ionization source (ESI) was used combined with selected ion monitoring (SIM) mode mass spectral acquisition. **Results:** The linear ranges for gallic acid, neochlorogenic acid, epigallocatechin, catechin, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, epicatechin, rutin, isoquercitrin, kaempferol-3-*O*-rutinoside and quercitrin were 0.051-3.256, 0.050-3.200, 0.056-3.594, 0.050-3.206, 0.109-6.975, 0.053-3.394, 0.012-3.087, 0.012-50.800, 0.026-3.363, 0.065-26.550 and 0.013-3.328 mg $\cdot$ L⁻¹ showed good respectively ($r^2 > 0.999$), whose average recoveries were 94%-103%. The contents of gallic acid, neochlorogenic acid, epigallocatechin, catechin, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, epicatechin, rutin, isoquercitrin, kaempferol-3-*O*-rutinoside and quercitrin in 13 batches of *Laportea bulbifera* of Miao medicine were 2.00-27.45, 2.41-20.76, 1.63-27.57, 1.75-20.80, 16.35-115.81, 4.28-20.04, 0.48-17.41, 102.90-935.53, 9.44-42.92, 10.02-246.09 and 2.51-47.37 μ g $\cdot$ g⁻¹, respectively. **Conclusion:** The established UPLC-ESI-MS method for determining the content of *Laportea bulbifera* of Miao medicine is quick, sensitive, accurate and reliable, it can be used for the quality control of *Laportea bulbifera* of Miao medicine.

Keywords: *Laportea bulbifera*; rutin; quercitrin; kaempferol-3-*O*-rutinoside; chlorogenic acid; catechin; LC-ESI-MS; multi-component determination

苗药红禾麻为荨麻科艾麻属植物珠芽艾麻 *Laportea bulbifera* (Sieb. et Zucc.) Wedd. 的新鲜或干燥全草, 又名野绿麻, 是贵州苗药常用药材^[1]。具有祛风除湿, 活血化瘀的功效。用于治疗风湿麻木, 跌扑损伤, 骨折等症状^[1-7]。该药材收载于《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003年版)中, 该标准中仅对其性状、性味、功能主治、用法用量及储藏条件进行了描述, 而对其成分的含量测定鲜见报道, 为完善其质量标准, 本研究在基于课题组前期化学成分研究的基础上^[8], 结合超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-ESI-MS)技术的高灵敏度、高通量、专属性好及检测周期短的特点^[9-15], 建立同时测定苗药红禾麻中没食子儿茶素、新绿原酸、表没食子儿茶素、儿茶素、绿原酸、隐绿原酸、表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷及槲皮苷 11 个成分的含量检测分析方法, 以期对红禾麻的质量控制及资源利用提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

ACQUITY UPLC 型超高效液相色谱-TQ Detector 型质谱联用仪(Waters 公司), Allegra 64R 型低温高速离心机(Beckman Coulter 公司), ZH-2 型涡旋混合

器(天津药典标准仪器厂), AE240 型十万分之一电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司), XYN-15LP 型氮吹仪氮气发生器(上海析友分析仪器有限公司), FL-UP-YZ-20 型超纯水仪(苏州飞鹿环保科技有限公司), KQ-250E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 材料

对照品没食子儿茶素、表没食子儿茶素、儿茶素、表儿茶素(均为实验室自制, 含量 $\geq 98\%$), 新绿原酸(江西佰草源生物科技有限公司, 批号 BCY-0921, 含量 $\geq 98\%$), 绿原酸(江西佰草源生物科技有限公司, 批号 BCY-0414, 含量 $\geq 98\%$), 隐绿原酸(江西佰草源生物科技有限公司, 批号 BCY-0920, 含量 $\geq 98\%$), 芦丁、异槲皮苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮苷(中国食品药品检定研究院, 批号 100080-201610、112007-201602、111809-201403、111538-201606, 含量均 $\geq 98\%$)。甲醇、乙腈、甲酸均为色谱纯, 购自 Merck 公司, 水为超纯水, 其余试剂为分析纯。

实验用红禾麻药材采收贵州省, 经贵阳中医学院生药学教研室孙庆文副教授鉴定为荨麻科植物珠芽艾麻 *Laportea bulbifera* (Sieb. et Zucc.) Wedd. 的干燥全草。样品信息见表 1。

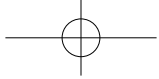


表 1 样品信息表

Tab. 1 Sample information table

序号 (No.)	样品 ID (sample ID)	采购日期 (purchase date)	产地 (origin)	序号 (No.)	样品 ID (sample ID)	采购日期 (purchase date)	产地 (origin)
S1	DL-1	201707	贵阳党武 (Dangwu Town, Guiyang City)	S8	LL-1	201707	黔南龙里 (Longli Town, Qiannan City)
S2	DL-2	201708	贵阳党武 (Dangwu Town, Guiyang City)	S9	LL-2	201708	黔南龙里 (Longli Town, Qiannan City)
S3	DW-1	201708	贵阳党武 (Dangwu Town, Guiyang City)	S10	LL-3	201708	黔南龙里 (Longli Town, Qiannan City)
S4	DW-2	201708	都匀(Duyun City)	S11	ZJ-1	201707	毕节织金 (Zhijin County, Bijie City)
S5	DW-3	201708	都匀(Duyun City)	S12	ZJ-2	201707	毕节织金 (Zhijin County, Bijie City)
S6	DY-1	201708	贵阳都拉 (Dula Town, Guiyang City)	S13	ZJ-3	201708	毕节织金 (Zhijin County, Bijie City)
S7	DY-2	201709	贵阳都拉 (Dula Town, Guiyang City)				

2 方法与结果

2.1 混合对照品储备液的制备

分别精密称取对照品没食子儿茶素、新绿原酸、表没食子儿茶素、儿茶素、绿原酸、隐绿原酸、表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷适量,加甲醇溶解并定容至 10 mL 量瓶中,制成每 1 mL 含没食子儿茶素 0.521 mg,新绿原酸 1.024 mg,表没食子儿茶素 0.575 mg,绿原酸 1.114 mg,隐绿原酸 1.086 mg,儿茶素 1.026 mg,表儿茶素 0.494 mg,芦丁 0.508 mg,异槲皮苷 0.538 mg,山柰酚-3-O-芸香糖苷 0.531 mg,槲皮苷 0.710 mg 的单一对照品储备液。分别精密量取上述各单一对照品溶液适量,加甲醇水(50:50)制成每 1 mL 中含没食子儿茶素 3.25 μg 、新绿原酸 3.200 μg 、表没食子儿茶素 3.594 μg 、儿茶素 3.206 μg 、绿原酸 6.975 μg 、隐绿原酸 3.394 μg 、表儿茶素 3.088 μg 、芦丁 50.8 μg 、异槲皮苷 3.360 μg 、山柰酚-3-O-芸香糖苷 26.55 μg 、槲皮苷 3.32 μg 的混合对照品储备液,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,备用。

2.2 供试品溶液制备

精密称取红禾麻粗粉(过 2 号筛)约 1.0 g,首先用 17 倍量的 70% 乙醇水回流提取 2 h,过滤,其次用 14 倍量的 70% 乙醇水回流提取 1.5 h,过滤,最后用 14 倍量的 70% 乙醇水回流提取 1.5 h,过滤。合并 3 次提取液,加热浓缩至无乙醇味并稀释至含生药量

1 g $\cdot$ mL⁻¹,水饱和正丁醇按等体积(1:1)萃取 3 次,合并正丁醇液,回收正丁醇,在 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴挥干,得到红禾麻正丁醇萃取的固体物,用甲醇超声(270 W, 40 kHz)溶解并定容至 10 mL,12 000 r $\cdot$ min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,进样前用 50% 甲醇水稀释 1 倍进样。

2.3 色谱条件

采用色谱柱 Waters BEH C₁₈(2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.7 μm),保护柱 Waters Van Guard BEH C₁₈(2.1 mm $\times$ 5 mm, 1.7 μm),流动相为 0.1% 甲酸乙腈(A)-0.1% 甲酸水(B),梯度洗脱(0~0.5 min, 5%A; 0.5~4 min, 5%A $\rightarrow$ 10%A; 4~7 min, 10%A $\rightarrow$ 40%A; 7~7.5 min, 40%A $\rightarrow$ 95%A; 7.5~8 min, 95%A; 8~8.5 min, 95%A $\rightarrow$ 5%A; 8.5~10 min, 5%A),流速 0.25 mL $\cdot$ min⁻¹,柱温 45 $^{\circ}\text{C}$,进样体积为 3 μL 。

2.4 质谱条件

采用电喷雾电离源(ESI),毛细管电离电压 3 kV,离子源温度 120 $^{\circ}\text{C}$,去溶剂气温度 350 $^{\circ}\text{C}$,喷雾气与反吹气(N₂)流速 550 L $\cdot$ h⁻¹,扫描方式选择离子监测(SIM),质谱数据采集及处理软件为 MassLynx 4.1 工作站,11 个成分用于定量分析的监测离子见表 2。

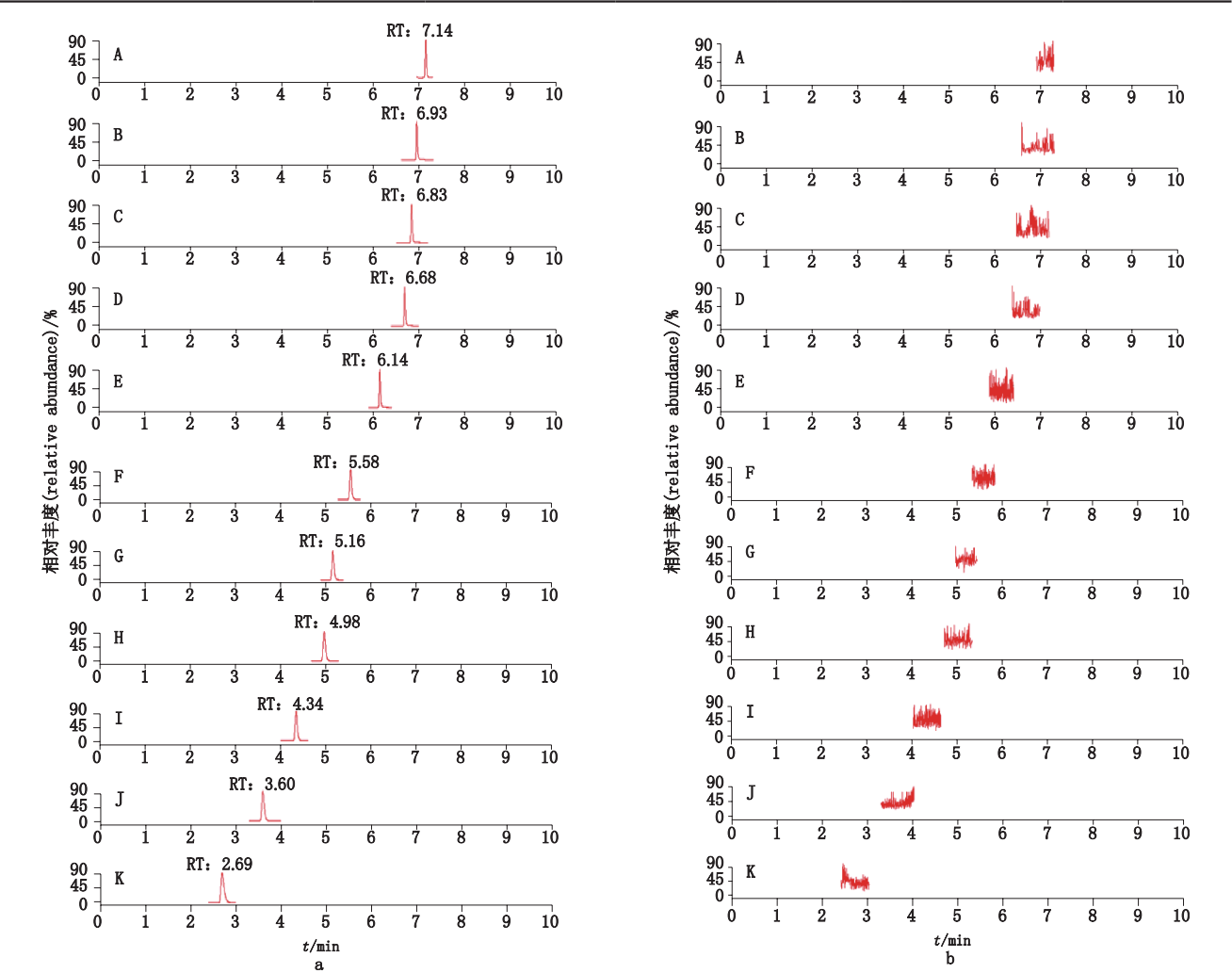
2.5 方法学考察

2.5.1 专属性 取混合对照品溶液及 50% 甲醇水空白溶剂按照“2.3”“2.4”项下的液质联用条件进样分析,结果提取离子流图见图 1。结果表明专属性良好。

表 2 待测成分的质谱参数

Tab.2 Parent ion and parameters of selected ion recording (SIM) mode of analytes

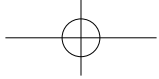
成分 (component)	分子式 (formula)	保留时间 (retention time)/min	电喷雾电离源 (polarity)	<i>m/z</i>	驻留时间 (dwell time)/s	锥孔电压 (cone voltage)/V
没食子儿茶素 (gallicocatechin)	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	2.69	ESI ⁻	305.0	0.12	35
新绿原酸 (neochlorogenic acid)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	3.60	ESI ⁻	353.3	0.11	25
表没食子儿茶素 (epigallocatechin)	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	4.34	ESI ⁻	305.0	0.1	35
儿茶素 (catechin)	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	4.98	ESI ⁻	289.0	0.1	35
绿原酸 (chlorogenic acid)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	5.16	ESI ⁻	353.1	0.08	35
隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	5.58	ESI ⁻	353.2	0.1	35
表儿茶素 (epicatechin)	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	6.14	ESI ⁻	289.0	0.08	35
芦丁 (rutin)	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	6.68	ESI ⁻	609.1	0.06	50
异槲皮苷 (isoquercitrin)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	6.83	ESI ⁻	463.0	0.06	45
山柰酚 -3- <i>O</i> - 芸香糖苷 (kaempferol-3- <i>O</i> -rutinoside)	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	6.93	ESI ⁻	593.0	0.06	50
槲皮苷 (gallicocatechin)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	7.14	ESI ⁺	449.2	0.06	20



A. 槲皮苷 (gallicocatechin) B. 山柰酚 -3-*O*- 芸香糖苷 (kaempferol-3-*O*-rutinoside) C. 异槲皮苷 (isoquercitrin) D. 芦丁 (rutin) E. 表儿茶素 (epicatechin) F. 隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid) G. 绿原酸 (chlorogenic acid) H. 儿茶素 (catechin) I. 表没食子儿茶素 (epigallocatechin) J. 新绿原酸 (neochlorogenic acid) K. 没食子儿茶素 (gallicocatechin)

图 1 混合对照品 (a) 及空白溶剂 (b) 中 11 个成分提取离子流图

Fig. 1 Extracted ion chromatograms of 11 compounds in mix-reference substances (a) and blank solvent (b)



2.5.2 线性关系及定量下限 取“2.1 项下”混合对照品储备液适量,加 50% 甲醇水稀释成 6 个浓度的系列混合对照品溶液,按照“2.3”“2.4”项下的液质联用方法进样分析。以各待测成分质量浓度(X)为横坐标,以

检测成分峰面积(Y)为纵坐标,得回归方程及相关系数,结果表明 11 个成分在相应的范围内线性关系良好。配制混合对照品溶液,成比例稀释,进样分析,按待测成分信噪比 $S/N=10$ 计算定量下限,结果见表 4。

表 4 回归曲线方程及定量限

Tab. 4 Linearity and quantitation Limits

成分 (component)	线性方程 (regression equation)	R^2	线性范围 (linear range)/(mg·L ⁻¹)	定量下限 (quantitation limit) (mg·L ⁻¹)
没食子儿茶素(gallocatechin)	$Y=812.9X-61.60$	0.999 2	0.051~3.256	0.204
新绿原酸(neochlorogenic acid)	$Y=556.2X-26.70$	0.999 3	0.050 00~3.200	0.200
表没食子儿茶素(epigallocatechin)	$Y=672.4X-39.50$	0.999 4	0.056 00~3.594	0.223
儿茶素(catechin)	$Y=892.7X-37.80$	0.999 1	0.050 00~3.206	0.100
绿原酸(chlorogenic acid)	$Y=391.6X-38.10$	0.999 5	0.109 0~6.975	0.218
隐绿原酸(cryptochlorogenic acid)	$Y=723.0X-37.50$	0.999 8	0.053 00~3.394	0.106
表儿茶素(epicatechin)	$Y=1\,550.8X-29.90$	0.999 8	0.012 00~3.088	0.096 0
芦丁(rutin)	$Y=727.8X+278.8$	0.999 1	0.012 00~50.800	0.045 0
异槲皮苷(isoquercitrin)	$Y=2\,768.8X-87.90$	0.999 7	0.026 00~3.363	0.053 0
山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷(kaempferol-3- <i>O</i> -rutoside)	$Y=1\,243.5X+84.80$	0.999 6	0.065 00~26.550	0.052 0
槲皮苷(gallocatechin)	$Y=5\,545.6X-176.5$	0.999 7	0.013 00~3.328	0.098 0

2.5.3 精密度 取混合对照品溶液,连续进样 6 次,测得没食子儿茶素、新绿原酸、表没食子儿茶素、儿茶素、绿原酸、隐绿原酸、表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮苷峰面积的 RSD 分别为 1.2%、1.7%、1.8%、1.6%、1.1%、1.8%、1.8%、1.4%、1.5%、1.8%、2.1%,结果表明精密度良好。

2.5.4 重复性

按照“2.2”项下方法制备同一批样品(DL-1)的供试品溶液 6 份,按照按照“2.3”“2.4”项下的液质联用条件进样分析,测得各成分峰面积,结果没食子儿茶素、新绿原酸、表没食子儿茶素、儿茶素、绿原酸、隐绿原酸、表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮苷的平均含量分别为 29.85、22.66、28.07、18.74、14.11、14.52、17.49、640.25、17.50、262.68、48.19 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 分别为 2.5%、3.3%、1.4%、1.1%、2.2%、2.3%、1.0%、2.0%、2.4%、2.4%、1.8%,结果表明重复性良好。

2.5.5 稳定性

取“2.2”项下同一份供试品溶液,分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样检测,结果没食子儿茶素、新绿原酸、表没食子儿茶素、儿茶素、绿原酸、隐绿

原酸、表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮苷峰面积的 RSD 分别为 1.7%、2.0%、2.6%、2.4%、3.2%、2.5%、3.2%、2.8%、1.7%、2.4%、2.7%,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.6 加样回收率

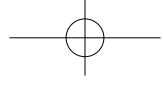
精密称取已知含量的红禾麻药材粉末(批号 DL-1)6 份,每份 0.5 g,根据已知药材含量比例 1:1,精密加入“2.1”项下制备的混合对照品储备液,照“2.2”项下方法制备供试溶液,进样检测分析。结果没食子儿茶素、新绿原酸、表没食子儿茶素、儿茶素、绿原酸、隐绿原酸、表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮苷的平均加样回收率分别为 98.3%、97.3%、95.3%、98.1%、96.5%、94.2%、103.1%、99.6%、95.8%、101.2%、98.7%, RSD 分别为 1.9%、1.8%、2.1%、2.0%、2.2%、2.5%、1.8%、2.0%、2.5%、1.6%、2.2%。

2.6 样品测定

分别取 13 批红禾麻药材,按照“2.2”项下方法制备供试品溶液,进样检测。通过计算回归方程计算含量,结果见表 5。

表 5 样品测定结果 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, $n=3$)
Tab. 5 Results of sample analysis

批号 (batch No.)	槲皮苷 (quercitrin)	山柰酚-3-O-芸香糖苷 (kaempferol-3-O-rutinoside)	异槲皮苷 (isoquercitrin)	芦丁 (rutin)	表儿茶素 (rutin)	隐绿原酸 (epicatechin)	绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	儿茶素 (catechin)	表没食子儿茶素 (epigallocatechin)	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	没食子儿茶素 (gallocatechin)
DL-1	47.37	239.94	16.68	610.24	17.41	13.48	16.35	18.09	27.57	20.76	25.64
DL-2	33.65	144.63	15.79	400.43	14.94	11.31	35.70	20.55	24.83	13.91	27.30
DW-1	39.94	91.59	28.15	930.25	15.83	11.93	83.29	14.76	18.35	12.36	15.41
DW-2	19.49	90.01	30.61	827.96	11.03	9.96	93.00	18.91	21.63	6.28	15.33
DW-3	17.82	28.25	10.61	335.30	1.09	4.65	32.22	12.56	13.97	4.49	11.51
DY-1	6.57	246.09	36.84	820.81	0.95	20.04	37.55	3.92	9.99	19.85	21.36
DY-2	41.09	188.28	34.73	858.76	6.31	16.13	94.35	2.99	6.37	14.88	11.19
LL-1	2.51	79.45	27.29	654.68	17.34	6.27	99.80	6.95	7.80	2.69	7.46
LL-2	4.47	183.09	42.92	935.53	9.27	14.86	115.81	20.80	25.76	12.82	27.45
LL-3	14.05	52.33	19.99	454.88	1.33	5.61	69.14	10.74	12.72	2.93	9.26
ZJ-1	11.98	10.02	10.22	102.90	0.48	5.64	41.81	3.40	3.97	3.16	6.17
ZJ-2	25.59	20.52	9.44	158.85	0.57	4.28	28.49	1.94	1.63	2.41	2.00
ZJ-3	13.41	68.38	12.15	295.81	0.39	6.14	25.95	1.75	3.83	6.18	6.74



3 讨论

3.1 红禾麻药材的性状特点

苗药红禾麻为荨麻科艾麻属珠芽艾麻的全草, 收载于 2003 年版《贵州中药材、民族药材质量标准》中, 民间广泛用于治疗风湿痹痛、肢体麻木、跌打损伤、骨折疼痛等疾病, 疗效显著。但据市场调查红禾麻与其相同种属根叶十分相似, 容易混淆, 因此查阅文献, 总结红禾麻药材具有几个特征: (1) 根略呈纺锤状或细长圆锥状, 多弯曲, 表面棕褐色或灰棕色, 具纵皱纹。质硬而脆, 易折断 粉性强, 可见纤维, 淡红褐色, 茎平滑或具短毛及少数螫毛。(2) 叶狭卵形或卵形, 先端渐尖, 基部宽楔形或圆形, 边缘具钝锯齿、圆齿或尖齿, 两面疏生短毛和螫毛, 常以脉上较密, 具柄。(3) 叶腋常生 1~4 个珠芽。

3.2 提取条件的选择

根据文献报道及在实验室前期对红禾麻抗炎镇痛动物模型研究的基础上, 本实验考察了不同溶剂(甲醇、50% 甲醇水溶液、乙醇、95% 乙醇水溶液、70% 乙醇水溶液、50% 乙醇水溶液)加热回流提取和水煎煮的提取方式, 结果用 70% 乙醇水溶液作为提取溶剂时回流提取时成分较多; 萃取溶剂考察了石油醚、乙酸乙酯和正丁醇 3 种, 结果用正丁醇萃取部位中被测成分峰形好且提取成分较丰富, 因此, 实验确定苗药红禾麻提取路线为 70% 乙醇水溶液回流提取, 提取液挥至无醇后用正丁醇萃取。

3.3 检测方法的选择

实验过程中尝试了多反应监测(MRM)法测定, 结果各成分响应较低, 尤其是含量较低的成分比如说儿茶素类和绿原酸类, 无法实现定量分析。然而通过选择离子监测(SIM)模式对母离子的 $[M+H]^+$ 和 $[M-H]^-$ 进行准分子离子扫描时, 发现准分子离子峰的强度明显高于 MRM 模式下扫描的碎片离子峰的强度, 因此实验选选 SIM 扫描方式用于定量红禾麻药材中指认的 11 个成分。红禾麻药材中有儿茶素与表儿茶素、没食子儿茶素与表没食子儿茶素及新绿原酸、绿原酸及隐绿原酸 3 对同分异构体, 用常规液相色谱方法分离几个成分耗时长, 分离较难, 而采用 LC-ESI-MS 法具有耗时短, 选择性高, 灵敏度高, 专属性好的特点, 可用于准确定量苗药红禾麻中各成分的含量。

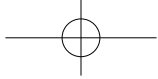
3.4 小结

本实验建立了 LC-ESI-MS 分析方法同时测定红

禾麻药材中没食子儿茶素、新绿原酸、表没食子儿茶素、儿茶素、绿原酸、隐绿原酸、表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、山柰酚-3-O- 芸香糖苷、槲皮苷 11 个成分的含量, 该方法简单、快捷, 灵敏度高, 专属性好, 可为红禾麻药材的质量控制提供参考依据。该方法较普通液相色谱而言, 具有准确可靠, 灵敏度高, 专属性好和定量下限更低的优点, 使用液质联用分析技术对药材成分含量分析更有效。

参考文献

- [1] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 贵阳: 贵州科学技术出版社, 2003: 187
Drug Administration of Guizhou Province. Quality Standard of Chinese Herbal Medicine and National Medicine in Guizhou[S]. Guiyang: Guizhou Science and Technology Publishing House, 2003: 187
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草·苗药卷[M]. 贵阳: 贵州科学技术出版社, 2005: 283
Editorial Committee of China National Materia Medica Administration. Chinese Materia Medica·Miao Medicine Roll[M]. Guiyang: Guizhou Science and Technology Publishing House, 2005: 283
- [3] 孙庆文, 徐文芬, 齐维娜, 等. 苗药红禾麻与易混品艾麻的生药鉴别研究[J]. 中药材, 2015, 38(9): 1862
SUN QW, XU WF, QI WN, et al. To study the crude drug identification of *Laportea bulbifera* of Miao medicine and easy-mixed *Laportea cuspidate*[J]. J Chin Med Mater, 2015, 38(9): 1862
- [4] 汪石丽. 红禾麻抗炎镇痛物质基础及质量控制研究[D]. 贵阳: 贵阳医学院, 2015
WANG SL. Material Basis for the Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of *Laportea bulbifera* and its Quality Control[D]. Guiyang: Guiyang Medical College, 2015
- [5] 汪石丽, 李勇军, 廖尚高, 等. HPLC 同时测定黔产红禾麻中 4 种儿茶素类成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(21): 91
WANG SL, LI YJ, LIAO SG, et al. Simultaneous determination of four catechins in *Laportea bulbifera* by HPLC[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2014, 20(21): 91
- [6] 苏志强, 赵增宇, 谢胜男, 等. 红活麻提取物镇痛抗炎和免疫抑制活性研究[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(4): 559
SUN ZQ, ZHAO ZY, XIE SN, et al. Effect of analgesia, anti-inflammation and immunosuppression of acetic ether extract of Chinese medicine Honghuoma[J]. Chin Pharmacol Bull, 2009, 25(4): 559
- [7] 马琳, 梁冰, 朱珠, 等. 民族药珠芽艾麻醇提物镇痛药理作用的研究[J]. 贵阳中医学院学报, 2012, 34(1): 24
MA L, LIANG B, ZHU Z, et al. To research the analgesia pharmacological action of the ethanolic extract of national medicine



- Laportea bulbifera* [J]. *J Guiyang Coll Tradit Chin Med*, 2012, 34 (1): 24
- [8] 唐娟, 吴耽, 陈思颖, 等. 基于 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 的红禾麻提取物化学成分分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, (10): 1
TANG J, WU D, CHEN SY, *et al.* Identification of chemical compositions in *Laportea bulbifera* by UPLC-ESI-Q-TOF-MS [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2018, 24 (10): 1
- [9] 孙大赢, 赵文法, 李广华, 等. LC-MS/MS 法同时测定参芍胶囊中人参皂苷和芍药苷的含量 [J]. *药物分析杂志*, 2018, 38 (1): 186
SUN DY, ZHAO WF, LI GH, *et al.* Simultaneous determination of ginsenosides and paeoniflorin in Shenshao capsules by LC-MS/MS [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2018, 38 (1): 186
- [10] 唐蕾, 王琳玲, 徐新元. 液相色谱-质谱联用同时测定芪胶升白胶囊中黄芪甲苷、淫羊藿苷、阿魏酸的含量 [J]. *药物分析杂志*, 2016, 36 (12): 2199
TANG L, WANG LL, XU XY. Simultaneous determination of the contents of astragaloside IV, icariin and ferulic acid in Shenbai capsules by LC-MS [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2016, 36 (12): 2199
- [11] 宋凡, 宋晓妮, 王磊, 等. 酒石酸伐尼克兰中 6 个类苯胺基因毒性杂质的 LC-MS 法测定 [J]. *药物分析杂志*, 2018, 38 (1): 130
SONG F, SONG XN, WANG L, *et al.* Determination of six aniline-like genotoxic impurities in varenicline tartrate by LC-MS [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2018, 38 (1): 130
- [12] 梁琨, 孙辉, 安歆, 等. LC-MS/MS 法同时测定护心口服液中 11 种成分 [J]. *中成药*, 2018, 40 (1): 105
LIANG K, SUN H, AN R, *et al.* Simultaneous determination of eleven constituents in Huxin oral liquid by LC-MS/MS [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2018, 40 (1): 105
- [13] 潘立卫, 罗泽萍, 范明燕. HPLC 法同时测定华山矾中 8 种成分的含量 [J]. *中药材*, 2017, 40 (6): 1377
PAN LW, LUO ZP, FAN MY. Simultaneous determination of eight constituents in *Symplocos chinensis* by HPLC [J]. *J Chin Med Mater*, 2017, 40 (6): 1377
- [14] 胡莹, 吴啟南, 郑啸, 等. LC-MS/MS 法同时测定金樱子中 7 种主要成分的含量 [J]. *中药材*, 2016, 39 (12): 2798
HU Y, WU QN, ZHEN X, *et al.* Simultaneous determination of seven constituents in *Rosa laevigata* Michx. by LC-MS/MS [J]. *J Chin Med Mater*, 2016, 39 (12): 2798
- [15] 杨才琼, 吴海军, 张潇文, 等. LC-MS 测定黑豆中异黄酮和花色苷的含量 [J]. *天然产物研究与开发*, 2018, 30 (5): 817
YANG CQ, WU HJ, ZHANG XW, *et al.* Determination of isoflavone and anthocyanin in black soybean seed (*Glycine max*) by LC-MS [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2018, 30 (5): 817

(本文于 2018 年 8 月 21 日收到)