

UPLC-QTRAP-MS/MS 法同时测定 苍耳类药材中酚酸、蒽醌及黄酮类成分

刘娟秀¹, 罗益远¹, 刘训红¹, 宋建平², 华愉教¹, 王胜男¹

(1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023; 2. 盐城卫生职业技术学院, 江苏 盐城 224006)

摘要:建立了超高效液相色谱-三重四极杆-线性离子阱质谱(UPLC-QTRAP-MS/MS)同时测定苍耳草、苍耳子药材中酚酸、蒽醌及黄酮类 18 种活性成分的方法。采用 Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm×5 μm),以甲醇-0.2%甲酸水溶液为流动相,梯度洗脱,柱温为 35 °C,选择电喷雾离子源(ESI),负离子多反应监测(MRM)扫描方式检测。结果表明:在一定的浓度范围内,18 种目标化合物的线性关系良好,线性相关系数均大于 0.999 4,精密度、重复性和稳定性的 RSD 值均小于 3%;加样回收率在 96.81%~102.78%之间,RSD 小于 3%。该方法简便准确、灵敏度高、重复性好,适用于苍耳类药材中多元活性成分的同时测定,可为苍耳类药材内在质量的综合评价和全面控制提供方法参考。

关键词:苍耳草;苍耳子;超高效液相色谱-三重四极杆-线性离子阱质谱(UPLC-QTRAP-MS/MS);酚酸;蒽醌;黄酮;同时测定

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:1004-2997(2016)06-0542-12

doi:10.7538/zpxb.youxian.2016.0026

Simultaneous Determination of Phenolic Acids, Anthraquinones and Flavonoids in *Xanthii Herba* and *Xanthii Fructus* by UPLC-QTRAP-MS/MS

LIU Juan-xiu¹, LUO Yi-yuan¹, LIU Xun-hong¹, SONG Jian-ping²,
HUA Yu-jiao¹, WANG Sheng-nan¹

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

2. Yancheng Health Vocational & Technical College, Yancheng 224006, China)

Abstract: A comprehensive analytical method based on UPLC-QTRAP-MS/MS was developed for the simultaneous determination of eighteen bioactive components including phenolic acids, anthraquinones and flavonoids in *Xanthii Herba* and *Xanthii Fructus*. Under the optimized chromatographic conditions, extracts of eighteen target components were obtained on an Agilent ZORBAX SB-C18 column (250 mm×4.6 mm×5 μm)

收稿日期:2015-12-01;修回日期:2015-03-13

基金项目:江苏高校优势学科建设工程资助项目(YSXK-2014);盐城市医学科技发展计划项目(YK2014051)资助

作者简介:刘娟秀(1990—),女(汉族),江苏人,硕士研究生,生药学专业。E-mail: liujx0516@163.com

通信作者:刘训红(1959—),男(汉族),江苏人,教授,从事中药鉴定与品质评价研究。E-mail: liuxunh1959@sohu.com

网络出版时间:2016-07-05;网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20160705.1357.024.html>

using methanol-0.2% formic acid as mobile phases for gradient elution. The flow rate was 1.0 mL/min and the column temperature was 35 °C. The target compounds were analyzed in the negative ion multiple reaction monitoring (MRM) mode. The results show that eighteen components have good linearity, the correlation coefficients of all the calibration curves are higher than 0.999 4. Relative standard deviations (RSDs) of precision, repeatability and stability are lower than 3%. The recoveries range from 96.81% to 102.78%, and the RSDs are less than 3%. The established method is accurate, sensitive, and has good repeatability. It is suitable for simultaneous determination of eighteen components in *Xanthii Herba* and *Xanthii Fructus*, which can provide a reliable and effective technique for the quality control of *Xanthii Herba* and *Xanthii Fructus*.

Key words: *Xanthii Herba*; *Xanthii Fructus*; UPLC-QTRAP-MS/MS; phenolic acids; anthraquinones; flavonoids; simultaneous determination

苍耳类药材苍耳草、苍耳子系菊科植物苍耳 *Xanthium sibiricum* Patr. 的地上部分和成熟带总苞的果实,为相同基源不同药用部位的药材^[1],分别记载于1989年版《江苏省中药材标准》和2015年版《中国药典》。苍耳草性微寒,具清风热、解毒之功效,主治鼻渊、风寒头痛、风湿痹痛、风疹、湿疹、疥癣等症,民间用药历史悠久^[2];苍耳子性温,具散风寒、通鼻窍、祛风湿之功效,为历代治疗鼻渊及头痛的要药^[3]。现代研究表明,苍耳类药材含多种酚酸、萜醌、黄酮类成分^[4-6],其中酚酸类成分具有抗炎、抗菌、抗血栓等作用^[7-8];萜醌类成分具有抗菌消炎、抗病毒、降血脂、提高免疫等作用^[9];黄酮类成分具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等作用^[10-11]。中药疗效的发挥是多种成分综合作用的结果,针对苍耳类药材多种活性成分的特点,建立多元活性成分同时测定的方法,对探讨多指标成分的综合评价体系具有实用性和有效性。

目前,关于苍耳类药材的质量评价主要集中在酚酸、萜醌及黄酮类成分的分析^[12-17],其分析方法多为高效液相色谱法(HPLC)^[12-22]或高效毛细管电泳法(HPCE)^[23],尚未见上述多元活性成分同时测定的报道。液相色谱-串联质谱(LC/MS)技术具有高灵敏度、高选择性和高准确性等特点,其检测限可低至pg级,适用于化合物的快速定性定量分析^[24]。

本实验拟采用超高效液相色谱-三重四极杆/线性离子阱质谱(UPLC-QTRAP-MS/MS)法同时测定苍耳草、苍耳子药材中酚酸、萜醌和黄酮类成分的含量,并对不同商品药材的测定

结果进行比较分析,考察其加工炮制前后目标成分的动态变化和同植株不同部位目标成分的积累差异,旨在苍耳类药材的安全性、有效性综合评价和内在质量的全面控制提供可靠的检测方法科学依据。

1 实验部分

1.1 仪器和材料

SIL-20A XR超快速液相色谱仪:日本岛津公司产品;API 5500四极杆-线性离子阱质谱仪:美国AB Sciex公司产品,配有Analyst Software 1.5.2数据采集处理工作站;ME36S型电子分析天平:德国赛多利斯公司产品;KQ-500E型超声波清洗器(功率500W,频率40kHz):昆山市超声仪器有限公司产品;DHG-9140A型电热恒温鼓风干燥箱:上海沪粤明科学仪器有限公司产品;H1650-W高速离心机:湖南湘仪实验室仪器开发有限公司产品。

绿原酸(批号:110753-200413)、阿魏酸(批号:110773-201012)、咖啡酸(批号:110885-200102)、芦荟大黄素(批号:110756-201007)、大黄素(批号:110756-200110)、大黄酚(批号:110796-201017)、槲皮素(批号:100081-200907)、芦丁(批号:0080-9705)、金丝桃苷(批号:111521-200303)、紫云英苷(批号:11092001);纯度均大于98%,购于中国食品药品检定研究院;新绿原酸(批号:12112712)、隐绿原酸(批号:12112605)、1,3-二咖啡酰奎宁酸(批号:12061112)、3,5-二咖啡酰奎宁酸(批号:12022803)、4,5-二咖啡酰奎宁酸(批号:

12022804);纯度均大于98%,购于成都普瑞法科技开发有限公司;原儿茶醛(批号:YECQ20140819)、原儿茶酸(批号:YECS20140411)、3,4-二咖啡酰奎宁酸(批号:YLYB2014041901);纯度均大于98%,购于南京春秋生物工程有限公司;实验用水为超纯水;甲醇、甲酸;均为色谱纯,德国默克公司产品;其余试剂均为分析纯。

苍耳类药材经南京中医药大学中药鉴定教研室刘训红教授鉴定,S1~S18为苍耳草,系菊

科植物苍耳 *Xanthium sibiricum* Patr. 的干燥地上部分;S19~S40为苍耳子,系菊科植物苍耳 *Xanthium sibiricum* Patr. 的干燥成熟带总苞的果实。其中,S26、S27分别为S23、S25根据2015年版《中国药典》(一部)炒苍耳子制法制得的对应炮制品;S18和S25为同一植株不同部位药材。S15~S25样品为实地采集,其余样品均为商品药材,留样凭证存放于南京中医药大学中药鉴定实验室,详细情况列于表1。

表1 苍耳类药材样品的基本情况

Table 1 Sample details of *Xanthii Herba* and *Xanthii Fructus*

编号	样品	加工	产地	批号	来源
S1	苍耳草	晒干	山东	20130809	安徽国鑫中药饮片有限公司
S2	苍耳草	晒干	安徽	20130914	安徽沪漕中药科技有限公司
S3	苍耳草	晒干	山东	20130914	安徽福春堂中药饮片有限公司
S4	苍耳草	晒干	安徽	20130828	安徽亳州三义堂药业有限公司
S5	苍耳草	晒干	河北	20130703	安徽济人药业有限公司
S6	苍耳草	晒干	江苏	—	泰州高港中药饮片有限公司
S7	苍耳草	晒干	江苏	20130718	苏州春晖堂药业有限公司
S8	苍耳草	晒干	山东	20130630	盐城市中医院
S9	苍耳草	晒干	江苏	20130825	亳州永刚饮片有限公司
S10	苍耳草	晒干	湖北	20130622	南京药业股份有限公司
S11	苍耳草	晒干	江苏	20130324	大华中药店
S12	苍耳草	晒干	安徽	120803	益丰大药房
S13	苍耳草	晒干	江苏	130912	江苏省中医院
S14	苍耳草	晒干	湖北	130803	安徽福春堂中药饮片有限公司
S15	苍耳草	晒干	江苏	20130718	扬州仪征
S16	苍耳草	晒干	安徽	20130630	安徽亳州
S17	苍耳草	晒干	山东	20130825	山东青岛
S18	苍耳草	晒干	江苏	20131015	南京中医药大学药苑
S19	苍耳子	晒干	河南	20131020	河南开封
S20	苍耳子	晒干	四川	20131103	四川成都
S21	苍耳子	晒干	湖北	20131028	湖北十堰
S22	苍耳子	晒干	山东	20130916	山东枣庄
S23	苍耳子	晒干	内蒙	20131107	内蒙赤峰
S24	苍耳子	晒干	内蒙	20131004	内蒙包头
S25	苍耳子	晒干	江苏	20131015	南京中医药大学药苑
S26	苍耳子	炒黄	内蒙	20131107	内蒙赤峰
S27	苍耳子	炒黄	江苏	20131015	南京中医药大学药苑
S28	苍耳子	炒黄	江苏	—	南通三越中药饮片有限公司
S29	苍耳子	炒黄	山东	—	安徽惠隆中药饮片有限公司
S30	苍耳子	炒黄	湖北	20130401	大华中药店
S31	苍耳子	炒黄	江苏	120513007	北京同仁堂南京分店
S32	苍耳子	炒黄	河南	130911	益丰大药房
S33	苍耳子	炒黄	江苏	130826	江苏省中医院
S34	苍耳子	炒黄	四川	—	成都荷花池中药材市场
S35	苍耳子	炒黄	重庆	—	成都荷花池中药材市场
S36	苍耳子	炒黄	内蒙	121201	亳州千草药业有限公司
S37	苍耳子	炒黄	湖北	130902	安徽福春堂中药饮片有限公司
S38	苍耳子	炒黄	湖北	130101	安徽天马中药饮片科技有限公司
S39	苍耳子	炒黄	山东	200007460	北京同仁堂亳州饮片有限责任公司
S40	苍耳子	炒黄	安徽	140101	江苏省中医院

1.2 实验条件

1.2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C18柱(250 mm×4.6 mm×5 μm);流动相:甲醇(A)-0.2%甲酸水溶液(B);梯度洗脱:0~10 min,20%~30%A,10~20 min,30%~35%A,20~30 min,35%~80%A,30~45 min,80%~100%A,45~48 min,100%~20%A;流速 1.0

mL/min;柱温 35 °C;进样量 5 μL。

1.2.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),多反应监测模式(MRM)检测,检测离子为负离子,离子化温度 550 °C,喷雾电压-4 500 V,雾化气流速 55 L/min,辅助气流速 55 L/min,气帘气流速 35 L/min。其他优化的质谱参数列于表 2。

表 2 18 种目标化合物的质谱参数

Table 2 MS/MS parameters of eighteen components

化合物	t_R /min	MRM 离子对 (m/z)	去簇电压/ V	碰撞电压/ eV	碰撞室射出电压/ eV
绿原酸 Chlorogenic acid	4.38	353.135>190.900	-35	-20	-13
新绿原酸 Neochlorogenic acid	5.66	352.994>191.000	-80	-26	-13
原儿茶醛 Protocatechuic aldehyde	6.27	136.888>118.900	-100	-8	-13
原儿茶酸 Protocatechuic acid	8.36	152.936>109.000	-35	-18	-11
隐绿原酸 4-Dicaffeoylquinic acid	9.79	352.989>173.000	-75	-22	-21
咖啡酸 Caffeic acid	10.24	178.613>134.610	-65	-24	-7
1,3-二咖啡酰奎宁酸 1,3-Dicaffeoylquinic acid	11.75	514.989>353.000	-95	-24	-23
阿魏酸 Ferulic acid	19.96	193.017>134.000	-45	-18	-15
3,4-二咖啡酰奎宁酸 3,4-Dicaffeoylquinic acid	23.99	514.994>353.000	-80	-26	-23
3,5-二咖啡酰奎宁酸 3,5-Dicaffeoylquinic acid	24.46	515.061>352.900	-85	-22	-23
金丝桃苷 Hyperoside	25.22	462.936>300.000	-155	-36	-25
芦丁 Rutin	25.51	608.945>299.900	-170	-48	-21
4,5-二咖啡酰奎宁酸 4,5-Dicaffeoylquinic acid	26.26	514.972>353.000	-75	-24	-39
紫云英苷 Astragaloside	27.20	446.995>283.900	-50	-36	-19
芦荟大黄素 Aloemodin	32.90	268.708>240.000	-200	-28	-17
大黄素 Emodin	36.85	268.900>225.000	-260	-34	-15
大黄酚 Chrysophanol	38.68	252.940>225.000	-185	-36	-19
槲皮素 Quercetin	45.22	301.098>255.100	-130	-10	-15

1.3 溶液制备

1.3.1 对照品溶液的制备 精密称取 1.62 mg 绿原酸、1.46 mg 新绿原酸、1.91 mg 原儿茶醛、0.97 mg 原儿茶酸、1.09 mg 隐绿原酸、1.20 mg 咖啡酸、1.18 mg 1,3-二咖啡酰奎宁酸、1.00 mg 阿魏酸、1.43 mg 3,4-二咖啡酰奎宁酸、1.08 mg 3,5-二咖啡酰奎宁酸、1.12 mg 4,5-二咖啡酰奎宁酸、2.70 mg 芦荟大黄素、2.97 mg 大黄素、2.07 mg 大黄酚、2.11 mg 芦丁、1.55 mg 槲皮素、1.78 mg 紫云英苷、1.50 mg 金丝桃苷对照品,分别置于 10 mL 容量瓶中,

加入甲醇溶解并稀释至刻度,得对照品储备液。取各对照品母液适量,加入甲醇配制含上述对照品的混合储备液,然后逐级稀释,得到一系列不同浓度的混合对照品溶液,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,待分析。

1.3.2 供试品溶液的制备 精密称取 1.0 g 样品粉末(过 3 号筛),置于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 40 mL 70%甲醇,称其质量后,于室温下超声(500 W,40 kHz)提取 30 min,取出放冷,以 70%甲醇补足质量损失,摇匀,提取液以 12 000 r/min 离心 10 min;取上清液,经 0.22 μm

微孔滤膜过滤,得供试品溶液。

1.4 分析方法

采用 Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱对色谱条件进行优化,确定最佳的分离条件。按照优化的条件进行 UPLC-QTRAP-MS/MS 分析,采用外标法计算各样品中 18 种目标成分的含量。

2 结果与讨论

2.1 色谱-质谱条件的优化

实验考察了甲醇-水溶液、乙腈-水溶液、甲醇-0.1%甲酸水溶液、甲醇-0.2%甲酸水溶液等溶剂作为流动相的洗脱效果。由于甲醇可电离出 $[H^+]$,较乙腈有更高的响应和较好的峰形,故选用甲醇作为流动相的有机相。在流动相中加入一定比例的甲酸可增强样品中待测物的保留,减少色谱峰拖尾,从而提高方法的分离效率和灵敏度。经优化,选择甲醇-0.2%甲酸水溶液作为流动相进行梯度洗脱。

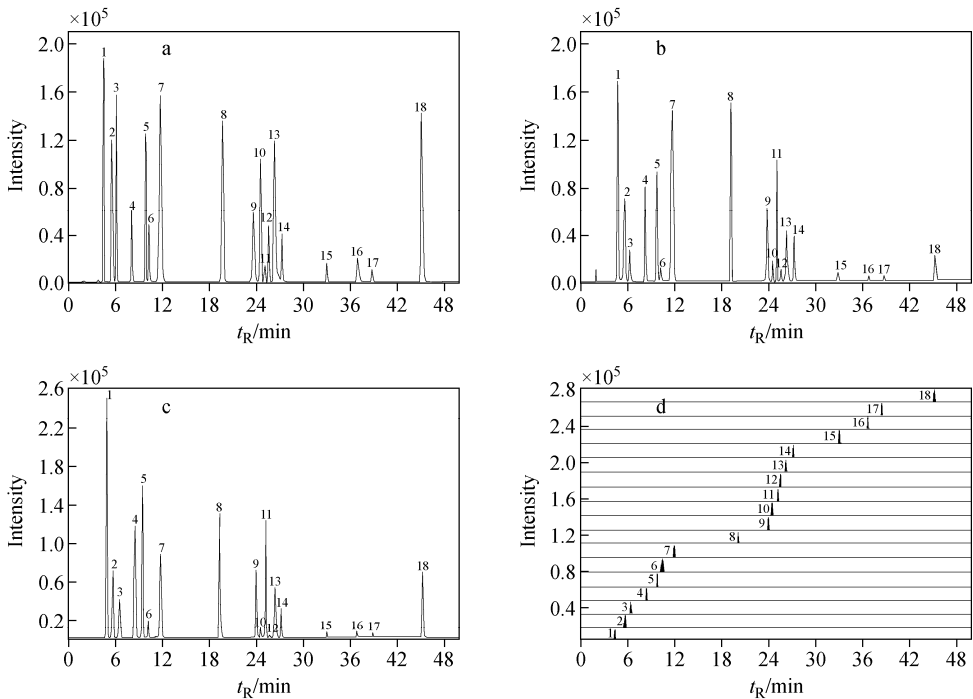
在质谱条件优化中,考察了正、负两种离子模式测定 18 种目标成分响应特点。结果显示,18 种目标成分在负离子模式下均有较强的响应,其提取离子流图及多反应监测质谱图示于图 1。但在正离子模式下,咖啡酸、大黄素、芦荟大黄素、大黄酚、金丝桃苷、槲皮素、芦丁、紫云英苷成分的离子响应值较弱。因此,本实验选用负离子模式进行分析。

2.2 供试品制备方法的优化

实验对提取溶剂(50%、70%、90%、100% 甲醇)、料液比(1:20、1:30、1:40、1:50)、提取时间(30、60、90、120 min)及提取方法(回流、超声处理)进行了考察。结果表明:采用 70% 甲醇作为溶剂可以提取出更多的待测物;以料液比 1:40,超声提取 30 min 具有较高的提取效率。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性方程、检测限和定量限 精密吸取 1.3.1 节中 100 μ L 混合对照品溶液,置于 10 mL



注:1. 绿原酸;2. 新绿原酸;3. 原儿茶醛;4. 原儿茶酸;5. 隐绿原酸;6. 咖啡酸;
7. 1,3-二咖啡酰奎宁酸;8. 阿魏酸;9. 3,4-二咖啡酰奎宁酸;10. 3,5-二咖啡酰奎宁酸;
11. 金丝桃苷;12. 芦丁;13. 4,5-二咖啡酰奎宁酸;14. 紫云英苷;15. 芦荟大黄素;
16. 大黄素;17. 大黄酚;18. 槲皮素

图 1 混合对照品(a)、苍耳草样品(b)、苍耳子样品(c)的提取离子流图及 18 种目标成分的多反应监测质谱图(d)

Fig. 1 EICs of mixture standards (a), *Xanthii Herba* sample (b), *Xanthii Fructus* sample (c) and the MRM chromatograms of eighteen components (d)

容量瓶中,依次逐级稀释,制成一系列浓度的混合对照品溶液,按1.2节条件进样分析。以对照品峰面积(y)对相应浓度(x)进行线性回归,得到线性方程、相关系数和线性范围;

以各化合物信噪比 $S/N=3$ 时对应的浓度为最低检测限(LOD),以各化合物信噪比 $S/N=10$ 时对应的浓度为最低定量限(LOQ),详细结果列于表3。

表3 18种目标化合物的线性方程、相关系数、线性范围、方法检测限和定量限

Table 3 Regression equations, correlation coefficients, linear ranges, the limits of detection (LOD) and the limits of quantification (LOQ) of 18 target compounds

化合物	线性方程	相关系数 r	线性范围/ (mg/L)	检测限/ ($\mu\text{g/L}$)	定量限/ ($\mu\text{g/L}$)
绿原酸	$y=6.03 \times 10^7 x - 2.37 \times 10^5$	0.9995	0.1025~12.96	2.15	6.09
新绿原酸	$y=2.94 \times 10^6 x + 3.75 \times 10^4$	0.9997	0.0913~11.68	2.23	7.07
原儿茶醛	$y=2.38 \times 10^4 x + 3.39 \times 10^{-11}$	0.9999	0.1194~15.28	9.83	14.41
原儿茶酸	$y=4.20 \times 10^4 x + 2.29 \times 10^{-11}$	0.9998	0.0606~7.760	5.02	10.84
隐绿原酸	$y=4.31 \times 10^6 x - 9.38 \times 10^{-9}$	0.9994	0.2725~17.44	2.88	4.37
咖啡酸	$y=1.95 \times 10^6 x + 1.93 \times 10^{-9}$	0.9999	0.1500~9.600	4.62	10.65
1,3-二咖啡酰奎宁酸	$y=5.45 \times 10^6 x - 3.16 \times 10^{-9}$	0.9997	0.0738~9.440	4.22	11.03
阿魏酸	$y=1.17 \times 10^6 x + 4.99 \times 10^4$	0.9996	0.1250~16.00	2.13	9.96
3,4-二咖啡酰奎宁酸	$y=2.20 \times 10^6 x - 1.64 \times 10^{-9}$	0.9999	0.0894~11.44	3.11	8.42
3,5-二咖啡酰奎宁酸	$y=6.86 \times 10^6 x - 4.31 \times 10^{-9}$	0.9998	0.0675~8.640	5.89	12.55
金丝桃苷	$y=7.76 \times 10^6 x - 3.74 \times 10^5$	0.9999	0.0938~12.00	3.24	8.20
芦丁	$y=5.88 \times 10^6 x - 4.78 \times 10^{-9}$	0.9997	0.1319~16.88	2.94	7.18
4,5-二咖啡酰奎宁酸	$y=4.06 \times 10^6 x - 6.51 \times 10^{-9}$	0.9995	0.0700~8.960	1.37	5.57
紫云英苷	$y=8.04 \times 10^6 x - 2.49 \times 10^5$	0.9997	0.1113~14.24	3.06	6.39
芦荟大黄素	$y=3.99 \times 10^7 x - 2.65 \times 10^6$	0.9997	0.1688~21.60	3.15	6.82
大黄素	$y=7.13 \times 10^6 x - 8.05 \times 10^{-9}$	0.9995	0.1856~23.76	4.33	7.10
大黄酚	$y=4.59 \times 10^5 x - 5.55 \times 10^{-10}$	0.9999	0.1294~16.56	4.56	8.48
槲皮素	$y=3.40 \times 10^6 x - 1.62 \times 10^5$	0.9998	0.1938~24.80	1.18	3.29

2.3.2 精密度、稳定性和重复性 取一定浓度的混合对照品溶液,在1d内连续进样6次,考察日内精密度;连续3d,每天连续进样2次,考察日间精密度。取苍耳草(S7)样品供试品溶液,分别在0、2、4、6、12、24h进样6次,测定18种目标成分峰面积的RSD,考察样品溶液中18种目标成分的稳定性。取约1.0g苍耳子(S37)样品,按2.2节方法平行制备6份供试品溶液,分别进样,测定峰面积,计算18种目标成分含量及其RSD,考察方法的重复性。结果表明,仪器的精密度良好,18种目标成分在24h内稳定,方法的重复性良好,详细结果列于表4。

2.3.3 加样回收率实验 取已知含量的0.5g苍耳子(S37)样品,精密称定6份,分别精密加

入一定量的上述对照品溶液,按2.2节方法制备供试品溶液,进样测定并计算18种目标成分的回收率,结果列于表5。

2.3.4 实际样品的测定 将供试品溶液注入液相色谱-质谱联用仪,按照1.2节条件测定,根据相应的线性关系计算供试样品中18种目标成分的含量,结果列于表6。

结果表明,苍耳类药材中18种目标成分的含量存在一定差异,其中以绿原酸、原儿茶酸含量较高,芦丁、芦荟大黄素、大黄素、大黄酚含量较低。苍耳草药材中,3,4-二咖啡酰奎宁酸、芦丁、原儿茶酸含量差异较大;而苍耳子药材中,隐绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸含量差异较大。苍耳子药材中,酚酸、蒽醌和黄酮的总量均比苍

表4 18种目标成分的精密度的、重复性和稳定性

Table 4 Precisions, repeatabilities and stabilities of eighteen components

化合物	精密度		重复性 RSD/%	稳定性 RSD/%
	日内精密度	日间精密度		
	RSD/%(n=6)	RSD/%(n=3)		
绿原酸	1.30	2.39	1.49	1.28
新绿原酸	0.86	1.18	2.04	1.20
原儿茶醛	1.32	1.16	2.32	1.10
原儿茶酸	1.51	1.83	1.53	2.94
隐绿原酸	1.87	2.50	2.82	1.56
1,3-二咖啡酰奎宁酸	1.37	1.74	1.27	1.38
阿魏酸	1.54	2.07	2.31	2.46
3,4-二咖啡酰奎宁酸	0.67	1.48	1.10	1.73
3,5-二咖啡酰奎宁酸	1.01	1.28	1.09	2.75
金丝桃苷	1.03	1.10	1.64	1.51
芦丁	1.94	2.21	1.67	1.49
4,5-二咖啡酰奎宁酸	2.28	2.87	1.06	1.48
紫云英苷	0.93	2.86	1.19	1.92
咖啡酸	1.42	1.85	1.67	1.90
芦荟大黄素	1.09	1.89	2.74	2.06
大黄素	2.42	2.69	2.30	1.13
大黄酚	1.21	1.59	2.26	1.05
槲皮素	1.24	1.32	1.26	1.66

表5 18种目标成分的加样回收率和相对标准偏差(n=6)

Table 5 Recoveries and relative standard deviations (RSDs) of eighteen components

化合物	已知量/ μg	加入量/ μg	实测量/ μg	平均回收率/%	RSD/%
绿原酸	144.21	149.24	303.05	102.05	0.68
新绿原酸	96.88	97.15	193.29	99.08	0.80
原儿茶醛	15.02	15.92	31.24	99.75	2.63
原儿茶酸	233.08	240.78	485.77	101.76	0.93
隐绿原酸	107.63	108.49	230.85	101.37	1.23
1,3-二咖啡酰奎宁酸	10.09	11.28	22.17	97.04	1.08
阿魏酸	56.93	57.30	115.90	102.04	0.82
3,4-二咖啡酰奎宁酸	22.95	24.48	46.72	96.81	0.96
3,5-二咖啡酰奎宁酸	4.90	4.74	9.91	98.68	1.47
金丝桃苷	19.73	19.92	38.98	97.62	2.03
芦丁	0.95	0.99	1.95	98.03	2.38
4,5-二咖啡酰奎宁酸	36.07	37.58	75.57	101.14	1.01
紫云英苷	1.25	1.24	2.54	102.12	1.04
咖啡酸	22.20	24.13	44.85	97.67	1.51
芦荟大黄素	1.32	1.36	2.65	98.07	2.04
大黄素	2.06	1.99	4.23	102.78	1.74
大黄酚	0.49	0.51	0.99	101.56	1.40
槲皮素	98.11	94.81	196.22	102.16	1.26

表 6 实际样品的测定结果 ($\mu\text{g/g}$, $n=3$, $X \pm \text{SD}$)
Table 6 Determination results of actual samples ($\mu\text{g/g}$, $n=3$, $X \pm \text{SD}$)

编号	绿原酸	新绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	阿魏酸	1,3-二咖啡酰奎宁酸	3,4-二咖啡酰奎宁酸	3,5-二咖啡酰奎宁酸	4,5-二咖啡酰奎宁酸	原儿茶醛	原儿茶酸	芦荭	大黄素	大萹酚	芦丁	槲皮素	紫云英	金丝桃苷
S1	91.35±0.61	120.77±0.45	19.54±0.24	390.81±0.68	49.12±0.55	41.49±0.23	20.27±0.13	17.68±0.17	42.65±0.19	47.82±0.37	133.45±0.29	2.74±0.09	4.79±0.04	1.38±0.03	2.50±0.04	35.81±0.32	2.55±0.09	18.23±0.13
S2	248.65±0.06	139.97±0.39	66.88±0.16	75.27±0.38	77.19±0.10	101.73±0.35	60.33±0.10	28.70±0.24	78.21±0.11	86.26±0.14	381.66±0.29	2.68±0.03	4.47±0.06	1.55±0.06	10.53±0.08	55.95±0.19	4.71±0.12	116.72±0.22
S3	104.40±0.57	134.19±0.51	37.75±0.32	159.08±0.37	133.19±0.16	55.36±0.14	21.33±0.20	29.17±0.16	53.58±0.15	58.78±0.16	140.79±0.21	2.64±0.03	2.95±0.10	4.46±0.06	9.55±0.07	67.49±0.35	4.69±0.05	24.23±0.58
S4	107.37±0.35	131.92±0.40	23.77±0.32	2.45±0.05	51.75±0.23	31.05±0.11	30.37±0.26	14.84±0.24	41.16±0.08	29.55±0.27	121.64±0.28	2.68±0.01	1.19±0.03	1.47±0.05	14.28±0.15	43.59±0.36	22.52±0.18	41.37±0.22
S5	91.72±0.35	138.98±0.34	27.34±0.20	280.59±0.34	136.60±0.23	43.96±0.24	21.58±0.054	21.94±0.20	66.76±0.07	65.63±0.28	170.35±0.26	2.67±0.04	1.79±0.05	0.92±0.06	11.24±0.06	41.84±0.28	4.42±0.13	33.85±0.27
S6	169.49±0.72	138.64±0.22	50.22±0.21	2.46±0.04	15.23±0.11	114.30±0.25	29.63±0.34	51.25±0.18	45.45±0.19	61.84±0.12	134.83±0.40	2.67±0.04	5.54±0.06	0.94±0.02	1.28±0.04	60.96±0.11	5.19±0.05	28.60±0.30
S7	82.63±0.58	138.01±0.32	18.80±0.15	44.54±0.51	6.84±0.10	22.91±0.21	16.69±0.16	34.88±0.24	51.57±0.16	25.26±0.14	155.14±0.09	2.74±0.08	0.90±0.08	0.85±0.03	0.44±0.04	54.47±0.19	3.56±0.06	52.20±0.20
S8	407.93±0.13	141.08±0.48	66.49±0.55	3.29±0.08	39.45±0.22	67.58±0.21	72.52±0.31	21.15±0.14	48.79±0.39	83.06±0.17	327.58±0.33	2.69±0.04	0.90±0.03	0.57±0.05	6.64±0.12	45.55±0.39	3.84±0.08	10.27±0.32
S9	87.02±0.17	151.46±0.61	19.23±0.11	39.37±0.14	35.13±0.11	82.62±0.38	22.68±0.41	28.61±0.13	22.35±0.24	39.76±0.06	90.25±0.13	2.75±0.07	1.90±0.02	1.08±0.03	1.16±0.06	61.69±0.19	2.22±0.06	8.45±0.26
S10	315.54±0.45	153.47±0.46	78.61±0.29	2.54±0.05	17.59±0.15	340.99±0.20	63.78±0.38	35.60±0.22	42.85±0.09	112.64±0.15	175.75±0.28	2.68±0.03	2.78±0.04	3.13±0.05	1.91±0.05	61.94±0.18	3.76±0.10	15.57±0.33
S11	185.60±0.39	155.28±0.32	30.21±0.19	14.09±0.13	50.03±0.22	102.03±0.26	82.96±0.17	17.54±0.26	69.26±0.27	30.88±0.19	310.91±0.30	2.72±0.08	2.83±0.03	4.90±0.04	4.73±0.12	44.31±0.19	12.65±0.29	32.95±0.20
S12	65.19±0.22	151.30±0.57	17.00±0.12	81.29±0.16	46.84±0.28	30.66±0.58	0.08±0.01	31.59±0.23	21.82±0.11	30.86±0.14	79.20±0.17	2.71±0.05	1.71±0.02	1.58±0.06	3.85±0.09	42.96±0.15	2.76±0.25	10.21±0.14
S13	26.81±0.24	160.67±0.51	9.69±0.15	117.52±0.30	7.09±0.12	12.61±0.30	5.25±0.15	21.95±0.07	9.43±0.08	18.55±0.48	29.77±0.31	2.73±0.06	1.45±0.04	1.32±0.06	48.67±0.15	40.87±0.49	1.83±0.12	5.75±0.10
S14	423.20±0.10	164.81±0.49	70.76±0.22	29.41±0.29	19.66±0.41	97.82±0.33	180.44±0.41	19.14±0.10	38.75±0.20	52.25±0.10	355.85±0.11	2.65±0.03	1.59±0.04	0.82±0.06	2.66±0.09	63.89±0.31	7.18±0.15	16.36±0.21
S15	941.11±0.74	168.09±0.17	182.14±0.19	17.69±0.38	274.91±0.25	175.97±0.43	328.17±0.23	33.54±0.19	80.43±0.08	74.30±0.24	779.74±0.54	2.68±0.04	1.43±0.02	2.62±0.05	0.37±0.05	53.84±0.42	50.39±0.24	379.54±0.54
S16	482.29±0.14	164.80±0.30	88.48±0.69	19.48±0.18	111.77±0.32	218.38±0.14	130.50±0.37	31.95±0.11	76.71±0.22	70.98±0.14	523.64±0.23	2.66±0.02	1.07±0.03	1.08±0.05	0.43±0.05	43.94±0.19	24.75±0.08	223.37±0.29
S17	339.03±0.50	164.78±0.26	58.57±0.53	28.40±0.22	220.34±0.44	273.77±0.32	55.90±0.60	25.85±0.11	77.16±0.05	59.75±0.12	467.03±0.20	2.65±0.04	0.86±0.05	0.83±0.03	0.75±0.03	52.70±0.13	30.87±0.27	186.97±0.55
S18	480.63±0.65	145.27±0.25	161.12±0.72	15.81±0.40	377.77±0.17	364.92±0.27	113.71±0.52	18.15±0.09	76.29±0.14	39.58±0.12	156.35±0.58	2.66±0.02	0.86±0.04	0.86±0.05	8.65±0.20	41.28±0.22	63.35±0.36	198.68±0.48
S19	734.16±0.67	170.14±0.38	504.80±0.46	61.24±0.29	367.82±0.29	143.94±0.22	166.50±0.54	16.42±0.17	63.54±0.34	64.77±0.18	671.05±0.49	2.67±0.03	2.84±0.08	1.45±0.05	0.38±0.04	147.95±0.08	12.57±0.06	196.73±0.44
S20	881.78±0.41	154.15±0.74	692.88±0.35	29.03±0.30	407.83±0.26	195.17±0.32	275.48±0.33	19.69±0.14	92.61±0.48	46.12±0.18	375.09±0.55	2.71±0.06	8.30±0.05	1.29±0.06	4.74±0.07	151.11±0.15	31.54±0.14	382.33±0.42
S21	910.99±0.37	155.62±0.63	695.89±0.38	37.80±0.36	1031.03±0.59	143.05±0.17	417.24±0.23	31.87±0.17	97.39±0.14	46.68±0.13	477.71±0.37	2.71±0.05	1.25±0.04	1.22±0.06	0.34±0.05	125.70±0.25	5.90±0.25	201.68±0.27

耳草药材高,虽然这2个同基源不同药用部位的药材中化学成分类型基本一致,但含量差异明显,这可能是其功效不同的原因之一^[25]。此外,苍耳子药材炮制前后,各化合物的含量发生变化,其中,生苍耳子(S23、S25)中酚酸、萜醌和黄酮的总量高于炒苍耳子(S26、S27);炒苍耳子中,新绿原酸、阿魏酸、原儿茶醛含量相对较高。就同一植株而言,阿魏酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、芦丁、紫云英苷在苍耳草(S18)中含量较高,其余化合物均以苍耳子(S25)含量较高。

3 结论

本研究建立了超高效液相色谱-三重四极杆-线性离子阱质谱法同时测定苍耳草、苍耳子药材中酚酸、萜醌和黄酮类18种活性成分的含量,并对不同商品药材、加工炮制前后及同植株不同部位中化合物的含量进行比较分析。结果发现,苍耳类药材中酚酸、萜醌及黄酮等18种成分的含量存在一定差异,其中苍耳子药材的酚酸、萜醌和黄酮的总量均比苍耳草药材高。苍耳草药材中,3,4-二咖啡酰奎宁酸、芦丁、原儿茶酸含量差异较大;苍耳子药材中,隐绿原酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸含量差异较大。苍耳子药材炮制前后,目标化合物含量发生变化,生苍耳子中酚酸、萜醌和黄酮的总量高于炒苍耳子。同植株不同部位药材中,苍耳草中阿魏酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、芦丁、紫云英苷含量较高,其余化合物均以苍耳子含量较高。该方法可为苍耳类药材内在质量的综合评价和全面控制提供可靠的检测方法。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 版(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:162.

[2] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2005:1 486-1 488.

[3] 苏新国,宓穗卿,王宁生,等. 苍耳子药用研究进展[J]. 中药新药与临床药理,2006,17(1):68-72.

SU Xinguo, MI Suiqing, WANG Ningsheng, et al. Review on the pharmaceutical study devel-

opment of *Fruccus Xanthii*[J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology, 2006,17(1): 68-72(in Chinese).

- [4] 阮贵华,李攻科. 苍耳子的化学成分及其分离分析研究进展[J]. 中成药,2008,30(3):421-426.
- RUAN Guihua, LI Gongke. Advances in studies on chemical composition, segregation and analysis research of *Fruccus Xanthii* [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2008, 30(3): 421-426(in Chinese).
- [5] 杨柳,吴金雄,许舜军,等. 苍耳子中酚酸类化合物的鉴别及绿原酸的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):85-88.
- YANG Liu, WU Jinxiong, XU Shunjun, et al. Characterization of phenolic acids and quantitative analysis of chlorogenic acid contained in *Fruccus Xanthii* [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2011, 17(19): 85-88(in Chinese).
- [6] 黄文华,余竟光,孙兰,等. 中药苍耳子化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(13):1 027-1 028.
- HUANG Wenhua, YU Jingguang, SUN Lan, et al. Study the chemical composition of traditional Chinese medicine *Fruccus Xanthii* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2005, 30(13): 1 027-1 028(in Chinese).
- [7] 韩婷,李慧梁,胡园,等. 苍耳子中酚酸类化合物及不同品种和居群苍耳子中总酚酸含量的测定[J]. 中国中西医结合学报,2006,4(2):194-198.
- HAN Ting, LI Huiliang, HU Yuan, et al. Phenolic acids in *Fruccus Xanthii* and determination of contents of total phenolic acids in different species and populations of *Xanthium* in China [J]. Journal of Chinese Integrative Medicine, 2006, 4(2): 194-198(in Chinese).
- [8] 宋琳琳,沙靖全,赵宏,等. 苍耳草中总酚酸的含量测定及其抗炎作用研究[J]. 时珍国医国药,2013,24(10):2 331-2 332.
- SONG Linlin, SHA Jingquan, ZHAO Hong, et al. Determination of TPA content of *Xanthium sibiricum* Patr in exWidder and anti-inflammatory effect [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2013, 24(10): 2 331-2 332(in Chinese).
- [9] 曹亮,周建军. 萜醌类化合物的研究进展[J]. 西

- 北药学杂志, 2009, 24(3): 237-238.
- CAO Liang, ZHOU Jianjun. Progress anthraquinone compounds[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2009, 24(3): 237-238(in Chinese).
- [10] 钟地长, 张淑凤, 陈振锋, 等. 天然产物黄酮类化合物的提取、纯化及其金属配合物的研究进展[J]. 化学世界, 2006, 47(9): 56-59.
- ZHONG Dichang, ZHANG Shufeng, CHEN Zhenfeng, et al. Research progress on the extraction and purification of natural flavonoids and their metal complexes[J]. Chemical World, 2006, 47(9): 56-59(in Chinese).
- [11] 王如阳, 刘晓芳, 刘满红, 等. 苍耳子提取液的抗氧化活性研究与总黄酮含量测定[J]. 云南中医中药杂志, 2008, 29(9): 42-43.
- WANG Ruyang, LIU Xiaofang, LIU Manhong, et al. Study on the antioxidant activity of the extract and determine the content of total flavonoids of *Fructus Xanthii*[J]. Yunnan Journal of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2008, 29(9): 42-43(in Chinese).
- [12] 全俊太, 徐圣秋, 李伟东, 等. 高效液相色谱法测定苍耳草中绿原酸的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(20): 1 739-1 740.
- TONG Juntai, XU Shengqiu, LI Weidong, et al. Determination of chlorogenic acid in *Xanthium herba* by HPLC[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2011, 31(20): 1 739-1 740(in Chinese).
- [13] 明乾良, 高翔, 张宏, 等. 用 HPLC 法测定不同地区三种苍耳子中绿原酸的含量[J]. 药学服务与研究, 2008, 8(4): 258-260.
- MING Qianliang, GAO Xiang, ZHANG Hong, et al. Determination of chlorogenic acid in three species of cocklebur fruits from different regions of China by HPLC method[J]. Pharmaceutical Care and Research, 2008, 8(4): 258-260(in Chinese).
- [14] 王虹, 何桂霞, 姚颖. 苍耳子中总蒽醌的含量测定[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(1): 89-90.
- WANG Hong, HE Guixia, YAO Ying. Determination of total anthraquinones in *Xanthii Fructus*[J]. Chinese Journal of Modern Drug Application, 2009, 3(1): 89-90(in Chinese).
- [15] 尹靖先, 邓晓鸿, 车晓彦, 等. 苍耳子的薄层层析鉴别研究[J]. 华西药学杂志, 2005, 20(1): 67-69.
- YIN Jingxian, DENG Xiaohong, CHE Xiaoyan, et al. Study on TLC identification of *Fructus Xanthii*[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2005, 20(1): 67-69(in Chinese).
- [16] 李贵花, 郑轩. 响应面法优化苍耳子总黄酮超声辅助提取工艺[J]. 西北民族大学学报: 自然科学版, 2015, 36(97): 53-58.
- LI Guihua, ZHENG Xuan. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Fructus Xanthii* by response surface methodology[J]. Journal of Northwest University for Nationalities: Natural Science, 2015, 36(97): 53-58(in Chinese).
- [17] 张成, 朱科谕, 张庞文, 等. 苍耳子、田基黄中黄酮类物质提取含量测定及对比研究[J]. 中国农学通报, 2014, 30(6): 306-313.
- ZHANG Cheng, ZHU Keyu, ZHANG Pangwen, et al. The study on determination content of flavonoids extracts from *Fructus Xanthii* and *Hypericum japonicum* Thumb[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(6): 306-313(in Chinese).
- [18] 田静, 夏玉凤, 房克慧. HPLC 法同时测定苍耳类药材中 8 种酚酸类成分的含量[J]. 中药材, 2013, 36(10): 1 623-1 626.
- TIAN Jing, XIA Yufeng, FANG Kehui. Simultaneous determination of 8 phenolic acids in *Xanthium sibiricum* medicines by HPLC[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2013, 36(10): 1 623-1 626(in Chinese).
- [19] 朵睿, 刘玉红, 王明奎, 等. HPLC 同时测定苍耳子中 6 个化学成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(1): 78-82.
- DUO Rui, LIU Yuhong, WANG Mingkui, et al. HPLC simultaneous determination of the content of 6 constituents in *Fructus Xanthii* [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2013, 33(1): 78-82(in Chinese).
- [20] 杨柳, 苏芝军, 许舜军, 等. UPLC 法同时测定苍耳子中 4 种酚酸类成分的含量[J]. 药学学报, 2010, 45(12): 1 537-1 540.
- YANG Liu, SU Zhijun, XU Shunjun, et al. Simultaneous determination of 4 phenolic acids in *Cangerzi* by ultra-performance liquid chromatography[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2010, 45

- (12): 1 537-1 540(in Chinese).
- [21] 秦泗涟,马利华,王振中,等. UPLC法同时测定炒苍耳子配方颗粒中5种酚酸类成分[J]. 中成药,2012,34(7):1 393-1 395.
- QIN Silian, MA Lihua, WANG Zhenzhong, et al. UPLC Determination fried cocklebur Granule 5 kinds of phenolic acids[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2012, 34 (7): 1 393-1 395(in Chinese).
- [22] 洪燕,韩燕全,夏伦祝,等. 超高效液相色谱法同时测定不同产地苍耳子9种酚酸类成分的含量[J]. 中国药学杂志,2013,48(13):1 109-1 112.
- HONG Yan, HAN Yanquan, XIA Lunzhu, et al. Simultaneous determination of nine phenolic acid components in *Xanthii Fructus* [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2013, 48(13): 1 109-1 112(in Chinese).
- [23] 刘娟秀,罗益远,刘训红,等. 毛细管电泳同时测定苍耳类药材中7种酚酸类成分的含量[J]. 中国药学杂志,2015,50(4):366-370.
- LIU Juanxiu, LUO Yiyuan, LIU Xunhong, et al. Simultaneous determination of seven phenolic acids from *Xanthii Herba* and *Xanthii Fructus* by HPCE[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2015, 50(4): 366-370(in Chinese).
- [24] 项赟,李立军,再帕尔·阿不力孜. 液相色谱-质谱联用方法在药用植物成分分析中的作用[J]. 药学学报,2002,37(5):389-395.
- XIANG Yun, LI Lijun, ZEPER Abliz. Application of LC-MS in the analysis of constituents of crude plant extracts[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2002, 37(5): 389-395(in Chinese).
- [25] 苏建,袁志芳,张兰桐,等. RP-HPLC法测定何首乌和夜交藤中二苯乙烯苷和蒽醌类成分[J]. 中草药,2007,38(2):278-281.
- SU Jian, YUAN Zhifang, ZHANG Lantong, et al. Determination of stilbeneglycoside and anthraquinone in *Polygonum multiflorum* Thunb by RP-HPLC[J]. Chinese Tradit Herbal Drugs, 2007, 38(2): 278-281(in Chinese).