

基于 UPLC-QTOF 技术的虎杖、 葡萄藤来源白藜芦醇识别方法研究

李洁¹, 熊兴耀¹, 曾静¹, 张莹^{2*}, 曾建国^{1*}

¹湖南农业大学国家重点实验室培育基地湖南省作物种质创新与资源利用重点实验室, 长沙 410128;

²湖南省出入境检验检疫局技术中心 长沙 410004

摘要: 本文采用 UPLC-Q/TOF 技术建立虎杖、葡萄藤来源白藜芦醇的综合识别方法。建立以 Xunion C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 2.8 μm) 色谱柱为分析柱, 乙腈-水为流动相, 柱温 25 °C, 流速 0.2 mL/min, 检测波长 287 nm 的 UPLC-UV-Q/TOF 液质联用方法, 对 8 批虎杖来源的白藜芦醇及 8 批葡萄藤来源的白藜芦醇指纹图谱进行比较研究。获得白藜芦醇含量为 5% 的虎杖、葡萄藤提取物 UPLC-UV 指纹图谱, 虎杖样品共有峰 13 个, 葡萄藤样品共有峰 21 个, 经质谱分析, 推断出 11 个化学成分信息, 其中四个通过对照品对照确认, 找到 4 个具有差异性的标识化合物和 3 个特征指纹段, 并对其识别方法进行了验证。本方法鉴别葡萄藤和虎杖来源白藜芦醇精确度高, 稳定性好, 可以为白藜芦醇的原料来源鉴别及质量评价提供一定的科学依据。

关键词: 白藜芦醇; 指纹图谱; UPLC; Q/TOF

中图分类号: G31

文献标识码: A

Identification of Resveratrol from *Polygonum cuspidatum* and Grape Vine Using UPLC-Q/TOF MS

LI Jie¹, XIONG Xing-yao¹, ZENG Jing¹, ZHANG Ying^{2*}, ZENG Jian-guo^{1*}

¹Hunan Provincial Key Laboratory of Crop Germplasm Innovation and Utilization Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

²Inspection and Quarantine Technology Center of Hunan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Changsha 410004, China

Abstract: A comprehensive identification method for distinguishing *Polygonum cuspidatum* and grape vine source resveratrol was established based on UPLC-Q/TOF MS technology. The UPLC analysis of the resveratrol extracts from *P. cuspidatum* and grape vine were performed on Xunion C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 2.8 μm) using acetonitrile-water as mobile phases with the flow rate of 0.2 mL/min and detected at 287 nm in room temperature. Fingerprints of the resveratrol extracts were established based on eight resveratrol samples of *P. cuspidatum* source and grape vine source. Results showed that there were 13 common peaks on UPLC-UV-fingerprint for *P. cuspidatum* extract and 21 common peaks for grape vine extract. In addition, 11 peaks were identified according to MS information, and 4 of them were further confirmed by reference substance. In the present study, the 4 identified peaks and 3 characteristic fingerprint sections were found to be able to effectively distinguish the resveratrol extract from *P. cuspidatum* and grape vine source. It was believed that the identification method was of high precision and good stability. It provided some valuable insights into the identification and quality evaluation of resveratrol source.

Key words: Resveratrol; finger print; UPLC; Q/TOF

白藜芦醇(Resveratrol, RES)是植物体内产生的天然二苯乙烯类多酚物质, 是一种含有芪类结构的非黄酮类多酚化合物。白藜芦醇具有抗肿瘤抗癌^[1]、抗细菌和真菌^[2]、抗氧化及自由基^[3]、防治心

血管疾病^[4]、保肝护肝^[5]及免疫调节作用^[6]。它所具有得特殊医疗保健功能, 对人体健康有着显著作用。目前市场上销售的白藜芦醇主要来源于虎杖和葡萄。中药虎杖原药材本身含有少量白藜芦醇, 但含有高达 3% 左右的虎杖苷, 通过生物醇解的方法可得到高含量的白藜芦醇, 所以虎杖是工业生产白藜芦醇极为重要的原材料, 虎杖并非药食同源植物, 在国外如日本, 从虎杖中提取的白藜芦醇在食品行

业中使用具有一定的法律瓶颈。葡萄中有少量白藜芦醇,作为食材从葡萄中提取的白藜芦醇自然受到健康食品制造商的青睐。现今对不同来源白藜芦醇真实属性的识别研究相对较少,国内仅刘岱琳等^[7]对葡萄来源的白藜芦醇提取物进行了研究,利用 HPLC 建立葡萄来源白藜芦醇提取物的分析图谱,对其主要色谱峰进行识别,并建立白藜芦醇及其主要色谱峰的含量测定方法,同时对易混淆的虎杖来源白藜芦醇提取物进行大黄素检测,结果表明葡萄来源的白藜芦醇提取物中含有其特有成分 ϵ -viniferin,与白藜芦醇成一定比例存在于提取物中,且葡萄来源的白藜芦醇提取物中不应检出大黄素。在国际市场上,以葡萄为原料,白藜芦醇为标示成分的提取物价格远高于中药虎杖来源的提取物,因此,受市场利益驱使,目前存在用虎杖来源白藜芦醇或合成白藜芦醇假冒昂贵的葡萄白藜芦醇应用到保健品、食品等领域中的现象。

本文利用高灵敏、高分辨的 UPLC-UV-Q/TOF 技术,建立并对比了虎杖及葡萄来源的白藜芦醇指纹图谱,并同时对其共有色谱峰、可能的标示化合物和特征指纹段进行了研究,为白藜芦醇的原料来源鉴别及质量评价提供了一定的科学依据。

1 材料与仪器

1.1 实验原料

同一产地不同时期 5% 的虎杖(湖北宜昌)来源白藜芦醇提取物(8 批)和葡萄藤(湖南永安)来源白藜芦醇提取物(8 批)均由湖南美可达生物资源有限公司提供。实验室自制掺假 5% 葡萄白藜芦醇样品(CJ1)由虎杖 RES 掺入葡萄提取物所得,5% 掺假葡萄白藜芦醇样品(CJ2)为市场购买的掺假样品。

1.2 实验试剂

甲醇(安徽时联)、乙腈(美国默克)均为色谱纯;所用水为超纯水(美国 Millipore);对照品白藜芦醇、虎杖苷、山奈酚、大黄素购自中国药品生物制品检定所(供含量测定用)。

1.3 实验仪器

Agilent 1290 超高效液相色谱-G6530 系列四级杆-飞行时间质谱联用仪(UPLC-UV-Q/TOF,美国安捷伦);电子分析天平(上海 Mettler-Toledo 仪器有限公司);KQ5200DE 型数控超声装置(昆山市超声仪器有限公司)。

2 实验方法

2.1 混合对照品溶液制备

分别精密称取对照品白藜芦醇、虎杖苷、大黄素 10 mg,用色谱甲醇溶解制成储备液,各储备液用色谱甲醇稀释配置成浓度均为 0.05 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.2 供试液溶液制备

虎杖、葡萄藤来源白藜芦醇提取物各称取 50 mg,置于 100 mL 棕色容量瓶中,色谱甲醇溶解,定容。25 °C 超声 30 min 中,静置冷却,以 0.22 μ m 微孔有机滤膜滤过,滤液作为供试品溶液备用。

2.3 色谱分析条件

色谱柱:XUnion C18(4.6 mm \times 150 mm, 2.8 μ m)(华谱新创科技有限公司);流动相:乙腈(B)-水(A);梯度洗脱程序:0~30 min,10%~50%B;30~40 min,50%~95%B;40~42 min,95%~10%B,42~50 min,10%B;流速:0.2 mL/min;柱温:30 °C;进样量:5 μ L;检测波长 287 nm。

2.4 质谱检测条件

扫描方式:负离子模式;离子源:ESI;鞘气温度:400 °C;鞘气流速:12 L/min;干燥气流速:6 L/min;雾化气:55 psig;毛细管电压:3000 V;裂解电压:135 V;锥孔电压:65 V;每 0.2 s 采集 1 次图谱。质量扫描范围:100~1700 m/z。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度

取葡萄藤 RES 提取物样品 1 号(PT1),按照 2.2 项下方法制备供试品溶液,连续进样 6 次,记录色谱图。结果表明各主要色谱峰的相对保留时间 RSD 值小于 0.08%,相对峰面积的 RSD 值均小于 2.50%,符合特征图谱要求,表明仪器的精密度良好。

2.5.2 重复性

取虎杖 RES 提取物样品 1 号(HZ1)6 份,按照 2.2 项下方法制备供试品溶液,分别进行检测,记录色谱图。色谱图中各主要色谱峰的相对保留时间 RSD 值小于 0.06%,相对峰面积的 RSD 值均小于 3.70%,符合特征图谱要求,表明方法的重复性良好。

2.5.3 稳定性

取同 PT1 号样品,按照 2.2 项下方法制备供试品溶液,分别在 0、1、2、4、6、12、18、24 h 进行检测,

记录色谱图。计算得各主要色谱峰的相对保留时间 RSD 值小于 0.19%, 相对峰面积的 RSD 值均小于 1.71%, 符合特征图谱要求, 表明供试样品溶液在 24h 内稳定。

2.5.4 最低检测限

在选定的色谱及质谱条件下, 当 $S/N = 3$ 时对虎杖和葡萄提取物样品中的大黄素的最低检测限进行计算, 结果表明大黄素的最低检测限为 0.569 ng/mL。

3 结果与讨论

3.1 UPLC-Q/TOF 条件优化

本文考察了 0.1% 甲酸水与乙腈、水与乙腈组成的流动相对虎杖和葡萄藤来源的 5% 的白藜芦醇提取物分离效果的影响。结果表明, 水对色谱峰分离效果的影响比 0.1% 甲酸水大, 分离效果较 0.1% 甲酸水佳。故此本文选择了乙腈-水作为系统流动相。

其次, 本文考察了 254、287、303、320 nm 不同吸收波长下的色谱图。结果表明在吸收波长为 287 nm 处各组分具有较好的紫外吸收, 信息最为丰富, 基线平稳。因此选择 287 nm 为虎杖白藜芦醇及葡萄藤白藜芦醇指纹图谱的检测波长。

按照 2.3、2.4 项中 UPLC-Q/TOF 的分析条件, 对供试样品溶液进行正、负离子扫描, 所得正、负总离子流图结果显示, 正负离子条件下均可得到良好的响应, 正离子模式下, 白藜芦醇响应较差, 故本文采用负离子模式进行分析。

3.2 5% 的虎杖、葡萄藤来源白藜芦醇 UPLC-UV 特征指纹图谱的建立

将同一产地不同时期 8 批 5% 的虎杖来源白藜芦醇和 8 批 5% 的葡萄藤来源白藜芦醇样品的供试液进行分析, 记录色谱图。将各样品的色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(国家药典委员会 2004A 版), 分别选定 HZ1、PT1 号样品色谱图作为参照图谱, 设定时间漂移值为 0.1, 采用中位数法谱峰自动匹配, 各样品图谱与参照图谱比较及相互比较, 可得到虎杖样品相似度结果在 0.967 ~ 1 范围之间(UPLC-UV 特征图谱如图 1 所示), 葡萄样品相似度结果在 0.916 ~ 1 范围之间(UPLC-UV 特征图谱如图 2 所示)。

如图 1, 以 A4 号峰(白藜芦醇)为参照峰, 标出虎杖来源的白藜芦醇 UPLC-UV 色谱图中的 13 个共有峰, 共有峰的峰面积之和大于 90%。如图 2, 以

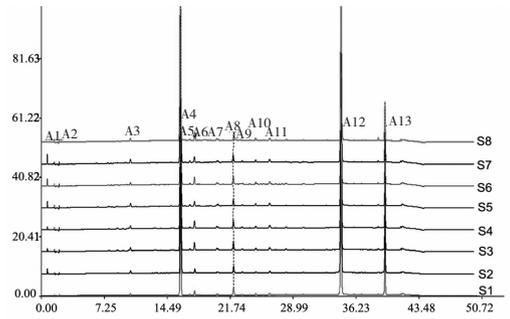


图 1 8 批虎杖白藜芦醇 UPLC-UV 指纹图谱

Fig. 1 UPLC-UV fingerprints of *P. cuspidatum* RES

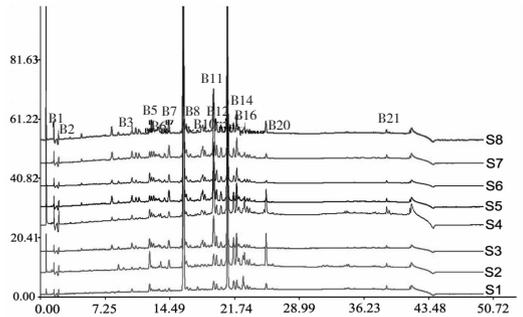


图 2 8 批葡萄藤白藜芦醇 UPLC-UV 指纹图谱

Fig. 2 UPLC-UV fingerprint of grape vine RES

B8 号峰(白藜芦醇)为参照峰, 标出葡萄藤来源的白藜芦醇 UPLC-UV 色谱图中的 21 个共有峰, 共有峰的峰面积之和大于 90%。

3.3 特征图谱中化学成分的推断

经 UPLC-QTOF 分析, 从上述虎杖、葡萄藤白藜芦醇指纹图谱各共有峰中共获得其中 11 个化学成分的信息, 见表 1。

表 1 中所示的 11 个化合物质谱信息根据标准品对照或精确分子量推断, 以虎杖苷与 ϵ -葡萄糖素为例, 分析过程如下:

3.3.1 虎杖苷(A3)

保留时间 10.260 min 的峰在 ESI 模式下得到精确分子量 m/z 390.1315 的离子峰。据文献报道^[8], 虎杖中存在的虎杖苷化合物元素组成为 $C_{11}H_{10}O_4$, 相对分子质量理论值为 206.0579, 实测值为 206.0585, 误差为 1.3 ppm, 同时, 采用虎杖苷对照品对照确认, 保留时间在 10.260 min 与对照品保留时间吻合, 故推断此化合物为虎杖苷。

3.3.2 ϵ -葡萄糖素(B13)

保留时间 20.953 min 的峰在 ESI 模式下得到精确分子量 m/z 454.1422 的离子峰。据文献报

道^[9],葡萄中存在的 ϵ -葡萄素化合物元素组成为 $C_{28}H_{22}O_6$,相对分子质量理论值为 454. 1416,与 B13 的实测数据误差为 1. 3 ppm,据此推断该化合物为 ϵ -葡萄素。

表 1 虎杖、葡萄藤白藜芦醇样品中化学成分的质谱数据

Table 1 Identification of compounds in *P. cuspidatum* and grape vine samples using UPLC-Q/TOF

序号 No.	峰号 Peak No.	t_R /min	理论 m/z Theoretical m/z	实测 m/z Measured m/z	误差/ 10^{-6} ppm Error	元素组成 Elemental composition	化合物 Compound	鉴定依据 Evidence
1	A3	10. 26	390. 1315	390. 1320	1. 3	$C_{20}H_{22}O_8$	虎杖苷 (Polydatin)	对照品确认 (standard confirm)
2	A4/B8	16. 02	228. 0786	228. 0792	2. 6	$C_{14}H_{12}O_3$	白藜芦醇 (Resveratrol)	对照品确认 (standard confirm)
3	A5	17. 087	206. 0579	206. 0585	1. 9	$C_{11}H_{10}O_4$	3-甲基-5-羟基-7 甲氧基-色酮 (3-methyl-5-hydroxy- 7-methoxy chromone)	推测 ^[8] (MS suppose)
4	A6	17. 627	432. 1056	432. 1062	1. 3	$C_{21}H_{20}O_{10}$	大黄素-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷 (Emodin-8- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside)	推测 ^[8] (MS suppose)
5	A7	20. 2	446. 1213	446. 1218	1. 1	$C_{22}H_{22}O_{10}$	大黄素甲醚-1- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷 (Physcion-1- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside)	推测 ^[8] (MS suppose)
6	A8	22. 093	286. 0477	286. 0483	2. 1	$C_{15}H_{10}O_6$	山奈酚 (Kaempferol)	对照品确认 (standard confirm)
7	A12	34. 827	270. 0528	270. 0534	2. 2	$C_{15}H_{10}O_5$	大黄素 (Emodin)	对照品确认 (standard confirm)
8	B10	18. 427	470. 1336	470. 1371	7. 4	$C_{28}H_{22}O_7$	葡萄素 A (Ampelopsin A)	推测 ^[9] (MS suppose)
9	B11	19. 4	906. 2676	906. 2682	0. 6	$C_{56}H_{42}O_{12}$	葡萄素 H (Ampelopsin H)	推测 ^[9] (MS suppose)
10	B13	21. 368	454. 1416	454. 1422	1. 3	$C_{28}H_{22}O_6$	ϵ -葡萄素 ϵ -Vinerin	推测 ^[9] (MS suppose)
11	B17	23. 253	678. 1890	678. 1895	0. 7	$C_{42}H_{30}O_9$	α -葡萄素 α -Vinerin	推测 ^[9] (MS suppose)

3. 4 标示化合物及特征指纹段的指认

3. 4. 1 特征指纹段的确认

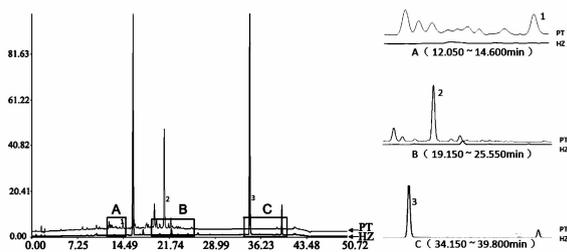


图 3 虎杖及葡萄藤来源白藜芦醇样品中特征指纹段

Fig. 3 Characteristic fingerprint sections of RES from *P. cuspidatum* and grape vine

注: PT 即葡萄藤来源白藜芦醇样品, HZ 即虎杖来源白藜芦醇样品

Note: PT represented RES sample of grape vine, HZ represented RES sample of *P. cuspidatum*

通过寻找标示化合物的方法可以用于区分不同来源的白藜芦醇,在虎杖及葡萄藤指纹图谱中的化合物成分大多不能确定的情况下,亦可采用寻找特征指纹段的方法用以区分虎杖及葡萄来源的白藜芦醇。由虎杖样品及葡萄藤样品的对比图谱可知(图

3 左),两者指纹图谱间存在三个具有显著性差异的特征指纹段(图 3 右 A、B、C)。

在 A 时间段内(12. 050 ~ 14. 600 min),由葡萄藤来源白藜芦醇图谱中可识别出 9 个峰,包含 4 个指纹图谱共有峰即 B4 ~ B7。而虎杖来源白藜芦醇指纹图谱在此时间段内未显示明显峰形,表明不含其它化合物。相比之下,此段中葡萄藤来源白藜芦醇图谱信息更加丰富,因此可将该段作为葡萄白藜芦醇样品特有的指纹段。

B 时间段内(19. 150 ~ 25. 550 min),在葡萄藤来源白藜芦醇图谱中可识别出 11 个峰,包含其指纹图谱中 10 个共有峰即 B11 ~ B20,标识 2 号峰为 ϵ -葡萄素。而虎杖来源白藜芦醇图谱在此段仅包含 4 个峰,即 A7 ~ A10,且与葡萄藤来源白藜芦醇此段时间内所处峰比较后未发现共有化合物。与虎杖相比,葡萄藤来源白藜芦醇图谱在该时间段所处各峰相应值相对较高,尤其是 2 号峰 ϵ -葡萄素含量尤为显著,故此将 B 段划为葡萄白藜芦醇样品特有的指纹段。

虎杖来源白藜芦醇图谱在 C 时间段(34. 150 ~ 39. 800 min)共包含 2 个峰,即虎杖来源白藜芦醇指

纹图谱中的2个共有峰A12和A13,标示3号峰为大黄素。相对而言,葡萄藤来源白藜芦醇在该时间段谱图较简单,不含杂峰。因此将该时间段作为虎杖白藜芦醇样品的特征指纹段。

综上所述,A(12.050~14.600 min)、B(19.150~25.550 min)为葡萄藤白藜芦醇样品特有的指纹段,C(34.150~39.800 min)为虎杖白藜芦醇样品的特征指纹段。可将此三个特征指纹段用来作为区分虎杖及葡萄来源白藜芦醇的标志。

3.4.2 标示化合物的确认

通过采集虎杖及葡萄藤来源白藜芦醇提取物的总离子流图(TIC),根据精确分子量对总离子流图进行离子提取(EIC),由图4可知,通过对大黄素甲醚-1-*O*- β -D-葡萄糖苷及大黄素的精确分子量提取时,虎杖来源的白藜芦醇提取物中在保留时间为20.200 min处34.827 min处有相应峰,且大黄素峰高较高,而葡萄藤来源白藜芦醇提取物中在20.200 min处没有色谱峰,在34.827 min处也不见色谱峰;对 ϵ -葡萄糖素及 α -葡萄糖素进行EIC提取时,

葡萄藤来源白藜芦醇提取物在保留时间为21.368 min及23.253 min处有相应峰,而虎杖来源白藜芦醇提取物在相应的保留时间内没有相应峰的出现。因此,根据质谱推断所得到的11个化合物信息,对比虎杖样品指纹图谱与葡萄藤样品指纹图谱,通过UPLC-QTOF分析软件分子式查找验证,初步得到两者间具有明显差异性的4个特征化合物,它们分别是虎杖中的大黄素甲醚-1-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素和葡萄中的 ϵ -葡萄糖素和 α -葡萄糖素。质谱推断的11种化合物中,葡萄藤来源白藜芦醇中不能检测到大黄素甲醚-1-*O*- β -D-葡萄糖苷及大黄素的存在,而虎杖来源白藜芦醇不能检测到 ϵ -葡萄糖素和 α -葡萄糖素2种化合物。其中大黄素与 ϵ -葡萄糖素两种化合物各自分别在虎杖来源与葡萄藤来源的白藜芦醇样品中的相对含量较高。故此,可以以大黄素与 ϵ -葡萄糖素两种化合物为主,并结合大黄素甲醚-1-*O*- β -D-葡萄糖苷和 α -葡萄糖素作为4种特征化合物来区分虎杖和葡萄不同来源白藜芦醇。

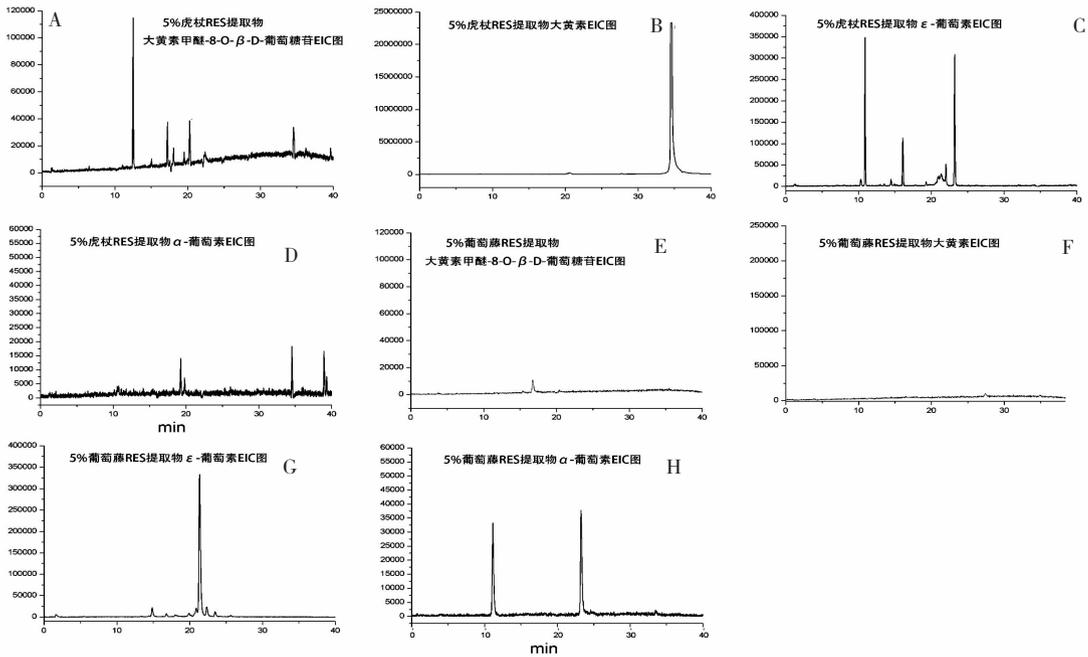


图4 虎杖(A-D)及葡萄藤(E-H)来源白藜芦醇 EIC 图

Fig. 4 The EICs of RES from *P. cuspidatum* (A-D) and grape vine (E-H)

3.5 例证

3.5.1 葡萄提取物样品与掺假葡萄提取物样品中白藜芦醇与 ϵ -葡萄糖素比值

实验室自制的5%掺假葡萄藤提取物(CJ1)与某公司提供的5%葡萄藤掺假提取物(CJ2)经上述2.2方法制备,按照2.3、2.4方法进行数据采集,对

比八批葡萄提取物样品(PT1-PT8)和两批掺假葡萄提取物样品(CJ1、CJ2)中白藜芦醇与 ϵ -葡萄糖素比值如下:

由表2中可知,PT1至PT8中白藜芦醇与 ϵ -葡萄糖素的峰面积比值在1~6之间,据我们的经验,一般天然葡萄藤提取物中白藜芦醇与 ϵ -葡萄糖素的峰

表 2 各葡萄提取物样品与掺假葡萄藤提取物样品中白藜芦醇与 ϵ -葡萄素比值

Table 2 The ratio of RES/ ϵ -viniferin from different grape vine extract

样品 Sample	RES 峰面积 Peak area of RES	ϵ -葡萄素峰面积 Peak of ϵ -viniferin	RES/ ϵ 葡萄素比值 Ratio of RES/ ϵ -viniferin
PT1	25617410	5149683	5.0
PT2	20997427	8944764	2.3
PT3	4885732	932397	5.2
PT4	6924619	4911564	1.4
PT5	2979502	860248	3.5
PT6	4022890	760718	5.3
PT7	3168446	1028613	3.1
PT8	2612806	735776	3.6
CJ1	95105445	4726974	20.1
CJ2	23410804	58535	399.9

面积比值大约在 1:1 ~ 1:10 之间,而实验室自制掺假样品 CJ1 与某公司提供掺假样品 CJ2 中白藜芦醇与 ϵ -葡萄素峰面积的比值分别达到 1:20 与 1:400,不符合一般规律。

3.5.2 真实葡萄藤提取物与掺假葡萄提取物图谱

通过采集真实葡萄藤提取物与掺假白藜芦醇样品的 TIC 及 UV 图谱进行观察对比,其结果具有明显差异性。无论从总离子流图或紫外上均可知,葡萄藤来源 RES 中含有较高量的 ϵ -葡萄素,未能检测到大黄素的存在;而样品 CJ1 中紫外图上显示所含 ϵ -葡萄素含量较低,在 34.8 min (大黄素保留时间)处 TIC 图上有较高相应的色谱峰,且提取离子时可明显检测到大黄素的存在,这与实验室自制样品 CJ1 由虎杖 RES 掺入低含量葡萄藤提取物中相符,且其白藜芦醇与 ϵ -葡萄素的峰面积比率明显不符合一般规律,因而也从侧面证实了上述实验结论的可靠性。而样品 CJ2 中紫外图谱上无 ϵ -葡萄素峰,总离子流图上也观测不到 ϵ -葡萄素色谱峰,推测该样品应该不是葡萄来源或用葡萄粗提物添加的白藜芦醇,由于样品 CJ2 也未检测到大黄素的存在,故此推测其可能添加了合成白藜芦醇。

4 结论

本实验采用超高效液相串联飞行时间质谱法对虎杖及葡萄藤来源的白藜芦醇提取物样品识别方法进行研究,建立了虎杖及葡萄藤来源白藜芦醇的指纹图谱,其方法稳定可靠,准确可行。推测了虎杖及

葡萄藤来源白藜芦醇样品中 10 个化合物,找到了可以区分虎杖、葡萄藤来源白藜芦醇的 4 个标识化合物即大黄素甲醚-1- O - β -D-葡萄糖苷、大黄素、 ϵ -葡萄素和 α -葡萄素,其中大黄素与 ϵ -葡萄素为标示化合物。同时,经过反复对比虎杖与葡萄来源白藜芦醇指纹图谱并验证,找到可以区分不同来源白藜芦醇的三段特征指纹段,即为图 4 中所示 A(12.050 ~ 14.600 min)、B(19.150 ~ 25.550 min)、C(34.150 ~ 39.800 min)三段指纹谱,为白藜芦醇的原料来源及质量的鉴别提供了科学依据,也为其他药材的质量控制提供一定的借鉴。

参考文献

- 1 Wu SL, Sun ZJ. Effect of resveratrol and in combination with 5-FU on murine liver cancer. *World J Gastroenterol*, 2004, 20:3048-3052.
- 2 Schreiber E, Stocher P, Stenzel K. Disease resistance results from phytoalexin expression in a novel plant. *Nature*, 1993, 361:153-156.
- 3 Ndiaye M, Philippe C, Mukhtar H, et al. The grape antioxidant resveratrol for skin disorders: promise, prospects, and challenges. *Arch Biochem Biophys*, 2011, 508:164-170.
- 4 Huang XL(黄秀兰), Zhou QL(周秋兰). Progress in research on cardioprotective effects of resveratrol. *J Central Univ Nation(Nat Sci Ed)*(中央民族大学学报), 2008, 17(3):74-75.
- 5 Huang Y(黄英), Li XL(李雪兰), Jiang FR(蒋凤荣). Study on the mechansim of resveratrol on rats with non-alcoholic fatty liver. *J Nanjing TCM Univ*(南京中医药大学学报), 2011, 27(4):366-368.
- 6 Falchetti R, Fuggetta MP, Lanzilli G, et al. Effects of resveratrol on human immune cell function. *Life Sci*, 2001, 70(1):81-96.
- 7 Liu DL(刘岱琳), Sun HG(孙华庚), Li HY(李赫宇), et al. The method research of identify sources of grapes Resveratrol. Nanjing: The 2nd Natural Medicine Research and Development Forum(第二届中国天然药物研究与发展论坛). 2008.
- 8 Li Q(李强). Studies on the chemical constituents of *Polygonum cuspidatum*. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine(北京中医药大学), Pos-Doc. 2001.
- 9 Huang KS(黄开胜). The anti-inflammatory naturally occurring oligostilbenes from the roots of *Vitis amurensis* and the Lianas of *Gnetum hainanense* and mimic synthesis of active oligostilbenes. Beijing: Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College(中国协和医科大学研究生院). PhD. 2000.