

基于 UPLC 指纹图谱及 2 种化学成分含量测定的月季花质量分析

何民友*, 段志文, 杨 洁, 李振雨, 官永河, 魏 梅, 孙冬梅, 陈向东

广东一方制药有限公司 广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 佛山 528244

摘要:建立月季花(*Rosae Chinensis Flos*, RCF) UPLC 指纹图谱及月季花金丝桃苷、异槲皮苷的含量测定方法, 对不同产地月季花质量进行评价, 并应用于同科属植物玫瑰花的研究。运用 UPLC 建立月季花指纹图谱方法, 匹配共有峰, 并对各共有峰进行归属分析, 采用 SPSS 20.0、SIMCA 14.1 软件对数据进行聚类分析和主成分分析; 同法测定月季花中金丝桃苷和异槲皮苷的总含量及玫瑰花(*Rosae Rugosae Flos*, RRF) 的指纹图谱。建立的月季花药材 UPLC 指纹图谱共标定 30 个共有峰, 通过对照品比对, 指认了 10 个成分; 聚类分析结果显示, 当聚类距离为 10 时, 可将 15 批月季花分为 5 类, 主成分分析结果与聚类分析结果基本一致; 含量测定结果显示 15 批月季花药材的金丝桃苷与异槲皮苷总含量范围为 3.88~8.67 mg/g, 不同产地月季花药材金丝桃苷与异槲皮苷总含量具有一定差异; 所建立的指纹图谱方法同样适用于同科属植物玫瑰花的质量控制研究。建立的月季花指纹图谱及含量测定分析方法可行, 可为月季花后续研究提供参考。

关键词:月季花; 指纹图谱; 金丝桃苷; 异槲皮苷; 超高效液相色谱

中图分类号: R282.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2022)9-1455-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2022.9.001

Quality analysis of *Rosae Chinensis Flos* based on UPLC fingerprint and content determination of two chemical components

HE Min-you*, DUAN Zhi-wen, YANG Jie, LI Zhen-yu,
GUAN Yong-he, WEI Mei, SUN Dong-mei, CHEN Xiang-dong

Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule,
Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, China

Abstract: The UPLC fingerprint of *Rosae Chinensis Flos* (RCF) and the determination methods of hyperoside and isoquercitrin in RCF were established to evaluate the quality of roses from different habitats and applied to the comparative study of *Rose Rugosae Flos* (RRF) from the same family. UPLC was used to establish the fingerprint of RCF, and the common peaks were matched, and the attribution of each common peak was analyzed. SPSS 20.0 and SIMCA 14.1 software were used for cluster analysis and principal component analysis of the data. The total contents of hyperoside and isoquercitrin in roses and the fingerprints of RRF were determined by the same method. The UPLC fingerprint of RCF was established to calibrate 30 common peaks, and 10 components were identified by comparison with reference substances; Cluster analysis showed that when the clustering distance was 10, 15 batches of RCF could be divided into five categories, and the results of PCA and cluster analysis were basically the same; Content determination showed that the total content of hyperoside and isoquercitrin in 15 batches of RCF were 3.88-8.67 mg/g, indicating that there were some differences in the total content of hyperoside and isoquercitrin in different habitats; The established fingerprint method is also suitable for the quality control of RRF in the same family. The established fingerprint and content determination method of RCF were feasible and could provide reference for the follow-up study of RCF.

Key words: *Rosae Chinensis Flos*; fingerprint; hyperoside; isoquercitrin; UPLC

收稿日期: 2022-02-28

接受日期: 2022-06-22

基金项目: 国家工业和信息化部消费品工业司-2019 年产业技术
基础公共服务平台项目(2019-00902-1-2)

* 通信作者 E-mail: miyouyou@163.com

月季花为蔷薇科植物月季 *Rosa chinensis* Jacq. 的干燥花, 又名月月红、胜雪、瘦客、斗雪红、四季花、月贵花、艳雪花等, 素有花中皇后之称^[1,2]。

月季花始载于《本草纲目》，其味甘、性温，归肝经，具活血调经、疏肝解郁之功效，可用于治疗月经不调、痛经、闭经；瘀血肿痛、烫伤、跌打损伤、脓肿及癩病等^[3,4]。全国均有种植，主产于云南、湖北、四川和甘肃，全年可采收^[5]。月季花化学成分丰富多样，包含黄酮类、鞣质、酚酸类、挥发油、色素类和糖苷类化合物^[6-8]。

近年来，有关月季花的研究取得一定进展，Wu等^[9]基于UPLC-Q-ToF-MS技术，对玫瑰花和月季花非挥发性化学组分的差异进行研究，结果显示玫瑰花共检出43种化合物，月季花共检出25种化合物，但其中检出的月季花成分主要为酚苷、单宁、磷脂，检出的黄酮类成分仅有山奈酚葡萄糖苷。据文献报道，黄酮类为月季花的主要活性成分，Shang-guan等^[10]以不同采收时间的月季花为研究对象，测定不同采收期月季花总黄酮含量，并以其清除DPH、羟基自由基的能力来评价抗氧化活性，探究其总黄酮含量与抗氧化活性的相关性，但未对不同产地的月季花总黄酮进行研究。目前对月季花的研究较多，但关于月季花质量标准的研究鲜有报道。现代药理研究发现，金丝桃苷和异槲皮苷具有抗氧化应激和细胞凋亡、抗急性肝损伤、抗炎、抗抑郁、血管保护等作用^[11-13]，与月季花中疏肝解郁的功效相吻合，说明金丝桃苷和异槲皮苷为月季花的主要活性成分之一。《中国药典》2020年版月季花含量测定项下仅采用等度洗脱方式对金丝桃苷和异槲皮苷的总量进行限定，此色谱条件下仅体现金丝桃苷和异槲皮苷的信息，但不能全面反映月季花的质量，其他特征性成分如黄酮类、酚酸类成分的信息无法较全面地反映。指纹图谱能较为全面地反映中药所含化学成分，现已成为中药质量全面控制的一种重要手段^[14]。基于此，本实验建立月季花的UPLC指纹图谱方法，并在指纹图谱的条件下同时测定其黄酮类成分金丝桃苷和异槲皮苷的总量，以达到仅通过指纹图谱的手段定性和定量控制月季花的目的，并结合聚类分析和主成分分析对不同产地月季花进行评价，为月季花质量控制研究奠定基础。此外，该方法同样适用于同科属植物玫瑰花的质量标准，并能应用于月季花与玫瑰花的鉴别研究。

1 材料和方法

1.1 仪器

Waters H-Class型超高效液相色谱仪(美国沃特世公司);XP 26型百万分之一天平、ME204E型万

分之一天平(瑞士METTLER TOLEDO公司);Agilent SB C₁₈(2.1 mm × 150 mm, 1.8 μm)色谱柱;HWS-28型电热恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司);KQ 500 DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Milli-Q-Direct型超纯水系统(默克股份有限公司)。

1.2 试药

月季花药材来源于全国4个产地，经广东一方制药有限公司质量中心鉴定为月季 *Rosa chinensis* Jacq. 的干燥花，玫瑰花药材来源于全国3个产地，经广东一方制药有限公司质量中心鉴定为玫瑰 *Rosa rugosa* Thunb. 的干燥花，具体信息见表1。没食子酸对照品(含量为90.80%，批号110831-201906)、鞣花酸对照品(含量为88.80%，批号111959-201903)、金丝桃苷对照品(含量为95.10%，批号111521-201708)、异槲皮苷对照品(含量为97.20%，批号111809-201804)、槲皮苷对照品(含量为97.20%，批号111538-201606)、黄芩苷对照品(含量为93.30%，批号110725-201318)、槲皮素对照品(含量为99.1%，批号100081-201610)均购自中国食品药品检定研究院；篇蓄苷对照品(含量为99.18%，批号18062206)购自成都普菲德生物科技有限公司；紫云英苷对照品(含量≥98%，批号wkq17032404)购自四川省维克奇生物科技有限公司；阿福豆苷对照品(含量≥98%，批号ST11030105MG)购自上海诗丹德标准技术服务有限公司。磷酸、乙腈为色谱级、水为超纯水，其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以Agilent SB C₁₈(2.1 mm × 150 mm, 1.8 μm)为色谱柱；以乙腈为流动相A，0.2%磷酸为流动相B进行梯度洗脱，0~1 min, 3% A；1~2 min, 3% → 10% A；2~8 min, 10% → 11% A；8~11 min, 11% → 15% A；11~14 min, 15% A；14~16 min, 15% → 19% A；16~19 min, 19% A；19~25 min, 19% → 40% A。流速为0.40 mL/min；柱温为35℃；检测波长为254 nm；进样体积为2 μL。

2.2 对照品溶液的制备

2.2.1 指纹图谱对照品溶液的制备

取没食子酸、鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、黄芩苷、槲皮素、篇蓄苷、紫云英苷、阿福豆苷对照品适量，精密称定，加50%甲醇制成每1 mL分别

表 1 样品来源信息

Table 1 The information of sample source

月季花药材编号 Number of RCF	月季花采样地 Sampling site of RCF	玫瑰花药材编号 Number of RRF	玫瑰花采样地 Sampling site of RRF
S1 ~ S3	河北省安国市 Anguo City, Hebei Province	R1	山东省济南市 Jinan City, Shandong Province
S4 ~ S6	河南省周口市 Zhoukou City, Henan Province	R2 ~ R4	甘肃省兰州市 Lanzhou City, Gansu Province
S7 ~ S11	山东省菏泽市 Heze City, Shandong Province	R5 ~ R8	山东省平阴县 Pingyin County, Shandong Province
S12 ~ S14	山东省临沂市 Linyi City, Shandong Province	R9 ~ R12	山东省定陶县黄店镇 Huangdian Town, Dingtao County, Shandong Province
S15	云南省大理州 Dali Prefecture, Yunnan Province	R13	浙江省关兴区 Guanxing District, Zhejiang Province
		R14	浙江省安吉区 Anji District, Zhejiang Province
		R15	浙江省长兴县 Changxing County, Zhejiang Province

含没食子酸、鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷、黄芩苷、槲皮素、蒺藜苷、紫云英苷、阿福豆苷 30.908、51.451、21.398、20.004、10.128、5.337、10.207、10.156、5.390、5.037 μg 的混合对照品溶液。

2.2.2 含量测定对照品溶液的制备

精密称取金丝桃苷和异槲皮苷对照品适量,加 50% 甲醇制成每 1 mL 含金丝桃苷 210.551 μg 、异槲皮苷 211.021 μg 的混合对照品贮备液。

2.3 供试品溶液的制备

取月季花药材粉末(过四号筛)适量,取约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 mL,超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz)30 min,放冷,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 指纹图谱研究

2.4.1 精密度试验

取同一供试品溶液(S1),按“2.1”项色谱条件下重复进样 6 次,以金丝桃苷为参照峰,计算 30 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD 均小于 5%。表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验

取同一供试品溶液(S1),按“2.1”项下色谱条件分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样分析。以金丝桃苷为参照峰,计算 30 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD 均小于 5%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.3 重复性试验

取月季花药材粉末(S1)6 份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定。以金丝桃苷为参照峰,计算 30 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD 均小于 5%。表明该方法重复性良好。

2.4.4 UPLC 指纹图谱的建立及相似度评价

将 15 批月季花药材样品(S1 ~ S15),按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件依次进样测定,得到月季花指纹图谱。将 15 批月季花药材指纹图谱的 cdf 文件导出并采用“中药材色谱指纹图谱相似度评价软件”(2012 版)进行指纹图谱分析,共确定 30 个共有峰,结果见图 1,并产生对照指纹图谱(见图 2)。15 批月季花药材色谱图与对照指纹图谱进行相似度评价,S1 ~ S15 相似度均大于 0.95,结果见表 2。

2.4.5 UPLC 指纹图谱共有峰的指认与归属

取月季花药材粉末(S1),按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项色谱条件下进样分析,通过保留时间和 UV 紫外图谱对比分析,指认 10 个色谱峰,其中 1 号峰为没食子酸,13 号峰为鞣花酸,14 号峰为金丝桃苷,15 号峰为异槲皮苷,18 号峰为蒺藜苷,19 号峰为紫云英苷,20 号峰为槲皮苷,24 号峰为阿福豆苷,25 号峰为黄芩苷,26 号峰为槲皮素,各对照品及月季花药材样品的 UPLC 色谱图见图 3。

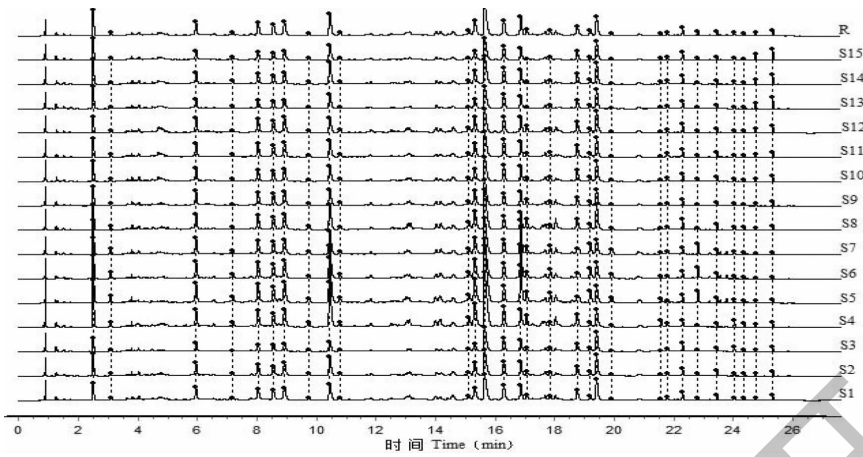


图1 15批月季花药材UPLC指纹图谱叠加图

Fig. 1 Superposition plot of UPLC fingerprints of 15 batches of RCF

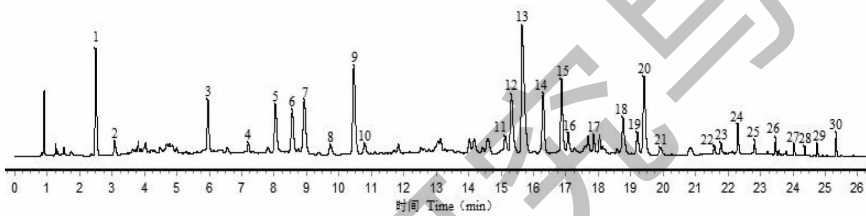


图2 15批月季花药材UPLC指纹对照图谱

Fig. 2 UPLC fingerprints of 15 batches of RCF

表2 月季花样品指纹图谱相似度评价

Table 2 Similarity evaluation of fingerprints of RCF

No.	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
S1	1.000	0.972	0.951	0.982	0.961	0.947	0.938	0.954	0.933	0.932	0.901	0.941	0.963	0.941	0.926
S2	0.972	1.000	0.985	0.965	0.959	0.955	0.985	0.986	0.975	0.973	0.963	0.971	0.983	0.971	0.975
S3	0.951	0.985	1.000	0.949	0.963	0.960	0.990	0.991	0.989	0.991	0.986	0.970	0.978	0.970	0.960
S4	0.982	0.965	0.949	1.000	0.989	0.981	0.930	0.944	0.926	0.925	0.896	0.929	0.949	0.929	0.915
S5	0.961	0.959	0.963	0.989	1.000	0.996	0.945	0.958	0.948	0.947	0.924	0.944	0.959	0.944	0.919
S6	0.947	0.955	0.960	0.981	0.996	1.000	0.947	0.955	0.951	0.948	0.926	0.945	0.954	0.945	0.929
S7	0.938	0.985	0.990	0.930	0.945	0.947	1.000	0.996	0.996	0.996	0.992	0.986	0.988	0.986	0.985
S8	0.954	0.986	0.991	0.944	0.958	0.955	0.996	1.000	0.996	0.994	0.985	0.991	0.996	0.991	0.978
S9	0.933	0.975	0.989	0.926	0.948	0.951	0.996	0.996	1.000	0.998	0.992	0.989	0.988	0.989	0.978
S10	0.932	0.973	0.991	0.925	0.947	0.948	0.996	0.994	0.998	1.000	0.993	0.983	0.985	0.983	0.973
S11	0.901	0.963	0.986	0.896	0.924	0.926	0.992	0.985	0.992	0.993	1.000	0.970	0.970	0.970	0.964
S12	0.941	0.971	0.970	0.929	0.944	0.945	0.986	0.991	0.989	0.983	0.970	1.000	0.995	1.000	0.982
S13	0.963	0.983	0.978	0.949	0.959	0.954	0.988	0.996	0.988	0.985	0.970	0.995	1.000	0.995	0.975
S14	0.941	0.971	0.970	0.929	0.944	0.945	0.986	0.991	0.989	0.983	0.970	1.000	0.995	1.000	0.982
S15	0.926	0.975	0.960	0.915	0.919	0.929	0.985	0.978	0.978	0.973	0.964	0.982	0.975	0.982	1.000
对照 Reference	0.973	0.992	0.990	0.973	0.980	0.977	0.989	0.994	0.987	0.986	0.970	0.985	0.993	0.985	0.973

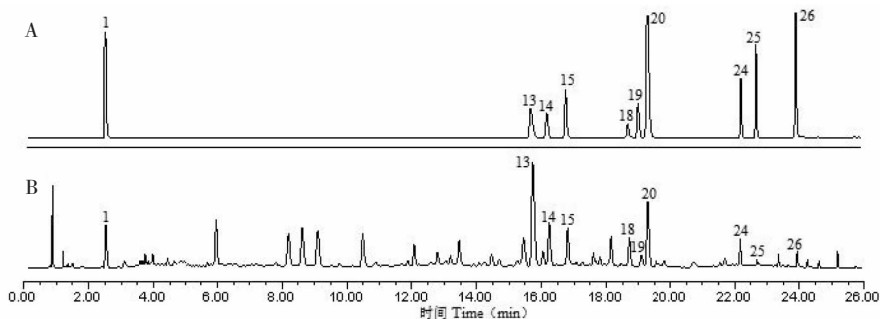


图 3 混合对照品 (A)、月季花药材样品 (B) 的 UPLC 图谱

Fig. 1 UPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and sample of RCF (B)

注:1:没食子酸;13:鞣花酸;14:金丝桃苷;15:异槲皮苷;18:蒽薹苷;19:紫云英苷;20:槲皮苷;24:阿福豆苷;25:黄芩苷;26:槲皮素。Note: 1: Gallic acid; 13: Ellagic acid; 14: Hyperoside; 15: Isoquercitrin; 18: Avicularin; 19: Astragaln; 20: Quercitrin; 24: Afzelin; 25: Baicalin; 26: Quercetin.

2.4.6 月季花样品聚类分析

采用 SPSS 20.0 软件对 15 批月季花样品进行系统聚类(见图 4)。结果表明,当聚类距离为 10, 聚类分析将月季花样品分为 5 类, I 类包括 S3、S7、S8、S9、S10、S11、S12、S13、S14; 即山东省样品与 1 批

河北安国市样品聚为一类; II 类包括 S4、S5、S6, 即河南省周口市样品聚为一类; III 类包括 S1; IV 类包括 S2; V 类包括 S15。从聚类分析结果可知,不同产地月季花具有一定差异,同一产地月季花质量大体相近。

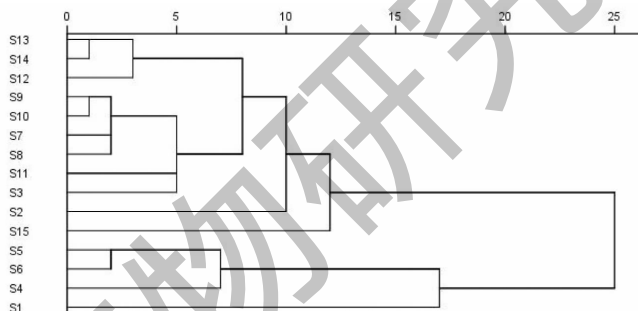


图 4 聚类分析结果

Fig. 4 Result of cluster analysis

2.4.7 月季花样品主成分分析

将 15 批月季花药材样品各共有峰的峰面积进行 PCA 分析,模型提取的 2 个主成分累积方差贡献

率 R^2X 达到 0.754 (显著大于 0.5), 表明该模型拟合程度和稳定性较好,能反映各产地月季花指纹图谱的主要信息(见图 5)。经 PCA-X 模型分析分别

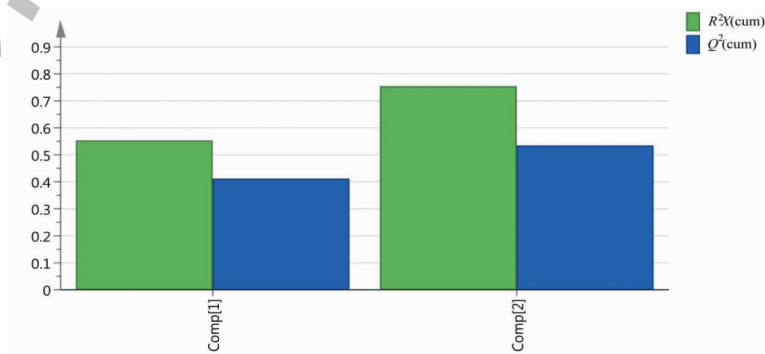


图 5 前 2 个主成分对方差的贡献度

Fig. 5 Contribution for variation by first two principal components

生成得分图和载荷图(见图6、7)。PCA分析可进一步体现月季花化学成分差异的整体特征,密切聚在一起批次表明其化学成分相近。从得分散点图可知,PCA-X模型中所有数据点均在95%置信区间内,聚类良好,区分明显,说明不同产地的月季花样品在化学成分及含量上存在一定差异,同一产地的

样品相似度高,具有趋势性。PCA-X载荷散点图中的每一个点代表1个共有峰,载荷所代表的点垂直投影到X轴,离原点的距离越远则权重值越大,对样品质量的影响就越大。由PCA-X载荷散点图可知,影响力较大的色谱峰为1号(没食子酸)、2号、3号、12号、13号(鞣花酸)。

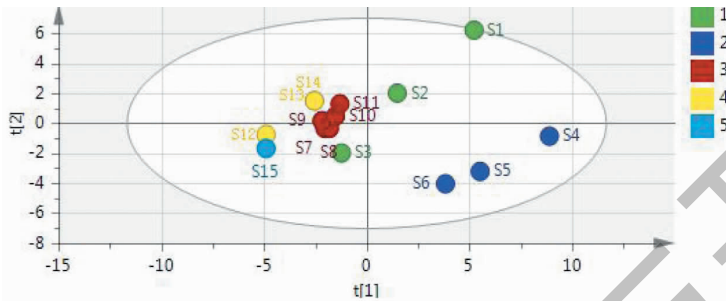


图6 PCA-X得分散点图

Fig.6 PCA-X score plot

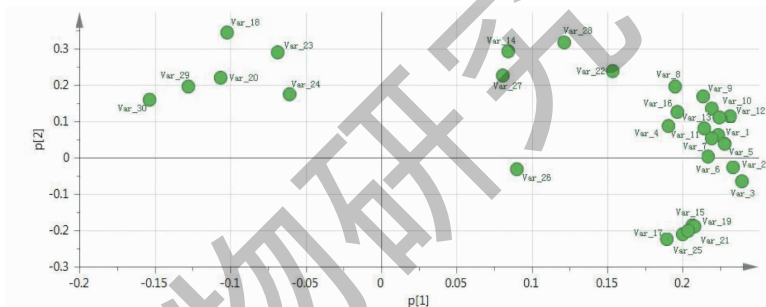


图7 PCA-X载荷散点图

Fig.7 PCA-X loading plot

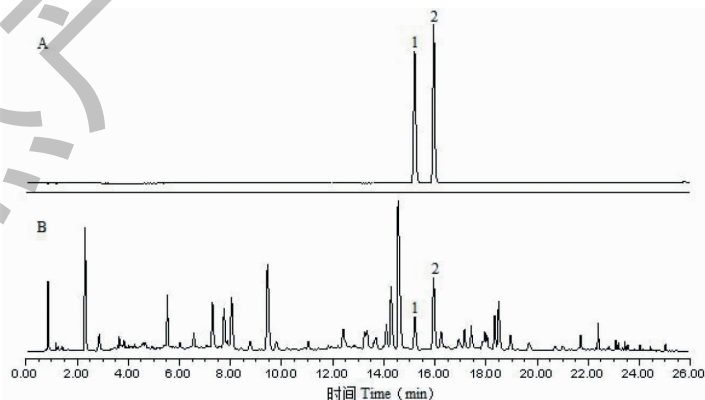


图8 对照品(A)、月季花药材样品(B)的UPLC色谱图

Fig.8 UPLC chromatograms of mixed reference substances(A) and sample of RCF(B)

注:1:金丝桃苷;2:异槲皮苷。Note:1:Hyperoside;2:Isoquercitrin.

2.5 2个黄酮醇苷类化学成分含量测定

2.5.1 系统适应性考察

取月季花药材(S1),按“2.3”项下方法制备供

试品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定月季花药材中金丝桃苷和异槲皮苷的含量,色谱图见图8。

2.5.2 线性关系考察

分别精密吸取金丝桃苷和异槲皮苷对照品贮备液 0.2、0.5、1.0、2.0、4.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,同对照品贮备液分别按照“2.1”项下色谱条件一次进样 2 μ L,记录峰面积。以峰面积为纵坐标(Y),浓度为横坐标(X),进行线性回归,得回归方程分别为金丝桃苷 $Y = 12\ 054.258X + 1\ 191.667$, $r = 1.000$,表明在 4.211 ~ 84.224 μ g/mL 范围内金丝桃苷浓度与峰面积线性关系良好;异槲皮苷线性回归方程及相关系数为 $Y = 13\ 173.139X + 1\ 149.773$, $r = 1.000$,表明在 4.220 ~ 84.408 μ g/mL 范围内异槲皮苷浓度与峰面积线性关系良好。

2.5.3 精密度的试验

精密吸取金丝桃苷和异槲皮苷混合对照品溶液 2 μ L,按照“2.1”项下色谱条件重复进样 6 次,记录峰面积,计算得到金丝桃苷峰面积的 RSD 为 0.15%,异槲皮苷峰面积的 RSD 为 0.21%,表明仪器精密度良好。

2.5.4 稳定性试验

取月季花药材粉末(S1),按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件,分别于 0、2、4、8、12、18、24 h 进样测定,记录峰面积,计算得到金丝桃苷峰面积的 RSD 为 1.01%,异槲皮苷峰面积的 RSD 为 0.87%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良

好。

2.5.5 重复性试验

取月季花药材粉末(S1)约 1.0 g,精密称定,平行 6 份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样,记录峰面积,计算得到金丝桃苷含量的 RSD 值为 1.35%;异槲皮苷含量的 RSD 值为 0.98%,表明该方法重复性良好。

2.5.6 加样回收率试验

取月季花药材粉末(S1)约 0.5 g,精密称定,平行 9 份,分为 3 组,分别按照 1:0.5、1:1、1:1.5 加入金丝桃苷和异槲皮苷对照品,照“2.3”项下方法,制备供试品溶液。每份精密吸取 2 μ L,按“2.1”项下色谱条件测定,记录峰面积,并计算金丝桃苷和异槲皮苷的加样回收率。结果显示,金丝桃苷的平均回收率为 98.02%,RSD 为 2.11%;异槲皮苷的平均回收率为 96.48%,RSD 为 1.56%。表明回收率良好。

2.5.7 样品测定

按“2.3”项下方法制备 15 批月季花供试品溶液(平行 3 份),按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品中金丝桃苷和异槲皮苷的含量,结果见表 3。从 15 批月季花样品测定数据可知,金丝桃苷含量的 SD 值为 0.17,说明该成分在不同产地不同批次间差异不大;15 批月季花样品中异槲皮苷含量的 SD 值为 1.79,说明该成分在不同产地间差异较大。

表 3 月季花药材中 金丝桃苷和异槲皮苷含量测定结果 ($n = 3$)

Table 3 Result of content determination of hyperoside and isoquercitrin of RCF ($n = 3$)

月季花药材批号 Sample of RCF	金丝桃苷 Hyperoside content (mg/g)	异槲皮苷 Isoquercitrin content (mg/g)	总量 Total content (mg/g)
S1	2.47	2.94	5.41
S2	2.15	3.00	5.15
S3	1.88	2.50	4.38
S4	2.00	6.61	8.61
S5	2.01	6.46	8.47
S6	2.07	6.60	8.67
S7	2.35	2.50	4.85
S8	2.34	2.47	4.81
S9	2.10	2.01	4.11
S10	2.12	1.98	4.10
S11	2.18	2.12	4.30
S12	2.24	2.14	4.38
S13	2.24	2.18	4.42
S14	1.97	1.91	3.88
S15	1.91	2.01	3.92
均值 Mean	2.14	3.16	5.30
标准差 SD (%)	0.17	1.79	1.75

2.6 与玫瑰花药材指纹图谱对比研究

2.6.1 玫瑰花药材共有峰的确定

取 15 批玫瑰花药材样品 (R1 ~ R15), 按“2.3”项下制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 得到玫瑰花指纹图谱。将 15 批玫瑰花药材指

纹图谱的 cdf 文件导出并采用“中药材色谱指纹图谱相似度评价软件”(2012 版) 进行指纹图谱分析, 共确定 22 个共有峰, 结果见图 9, 并产生对照指纹图谱(见图 10)。15 批玫瑰花药材与对照指纹图谱进行相似度评价, R1 ~ R15 相似度均大于 0.95。

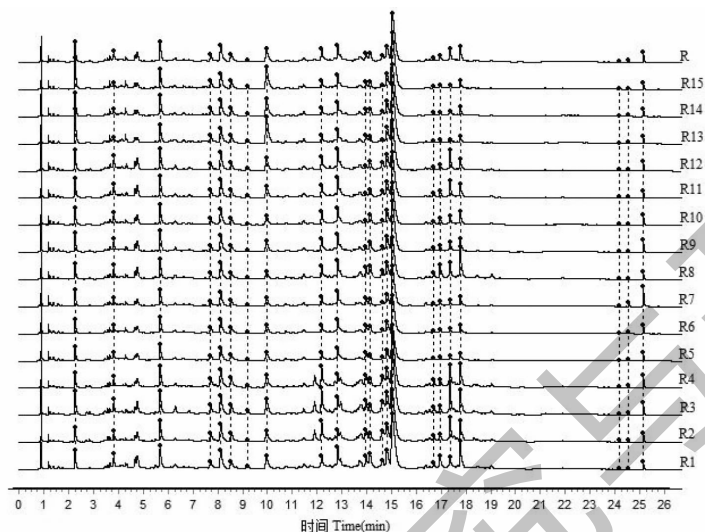


图 9 15 批玫瑰花药材 UPLC 指纹图谱叠加图

Fig. 9 Superposition plot of UPLC fingerprints of 15 batches of RRF

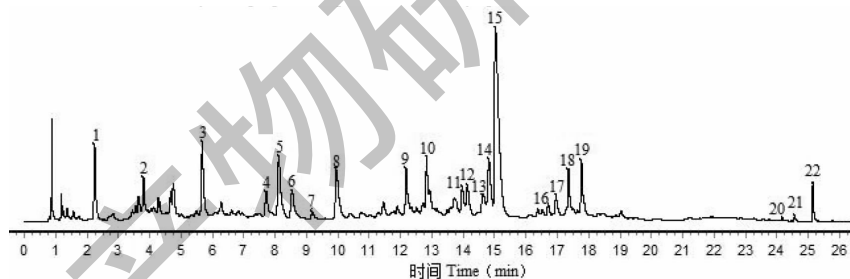


图 10 15 批玫瑰花药材 UPLC 对照指纹图谱

Fig. 10 UPLC reference fingerprint of 15 batches of RRF

2.6.2 月季花与玫瑰花的 UPLC 指纹图谱比较

分别将 15 批月季花药材指纹图谱和 15 批玫瑰花药材指纹图谱采用“中药材色谱指纹图谱相似度评价软件”(2012 版) 分析, 得到指纹图谱, 并对月季花指纹图谱和玫瑰花指纹图谱进行对比(见图 11); 由对比图可知, 月季花和玫瑰花在指纹图谱上差异明显, 其中峰 1、4、6 ~ 10、16 ~ 18、21、23、35 ~ 37 共 15 个色谱峰为共有成分, 另外峰 25 ~ 峰 34 为月季花的专属成分, 而峰 12 ~ 峰 15、峰 24 为玫瑰花的专属成分, 表明该色谱条件可用于月季花和玫瑰花的鉴别分析。

3 讨论与结论

3.1 供试品制备方法与色谱条件确定

本实验对提取溶剂、提取方式、提取时间及料液比进行考察, 以色谱法信息最大化, 提取效率最佳, 方法稳定作为指标, 最终确定以 50% 甲醇作为提取溶剂, 超声处理 30 min, 料液比选择 1.0 g: 50 mL 作为样品的制备方法。在色谱条件方面, 考察了不同色谱柱、流动相体系、柱温、流速及检测波长。经比较发现, 选择色谱柱为 Agilent SB C₁₈, 流动相为乙腈-0.2% 磷酸, 色谱柱温度为 35 °C, 流速为 0.4 mL/min, 色谱峰的峰型与分离度较好; 将供试品溶

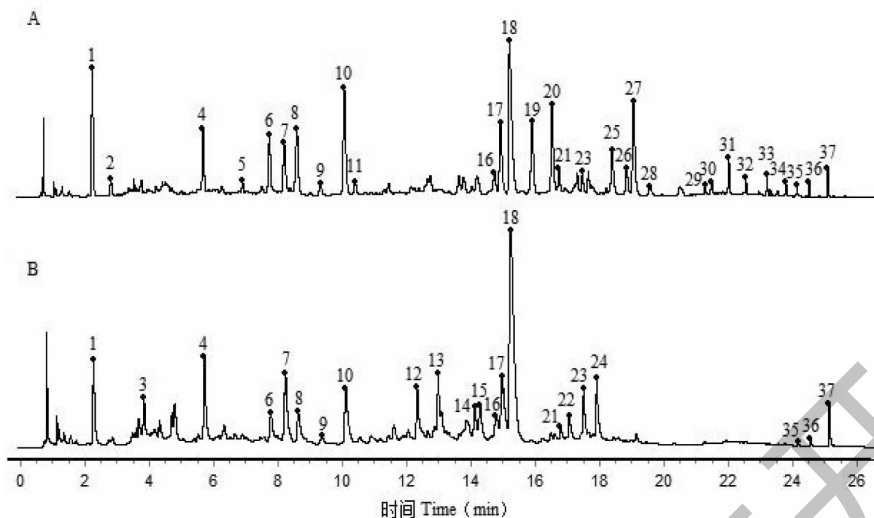


图 11 月季花药材(A)和玫瑰花药材(B)UPLC 指纹图谱比较

Fig. 11 Comparison of UPLC chromatograms between RCF(A) and RRF(B)

液于 190 ~ 400 nm 下进行紫外可见光处全波长扫描,结果显示 254 nm 下指纹图谱的各共有峰响应值高且峰型佳,且金丝桃苷和异槲皮苷在 254 nm 处有最大吸收,故选择 254 nm 为检测波长。

3.2 指纹图谱及含量测定结果分析

本研究采用“中药材色谱指纹图谱相似度评价软件”(2012 版)对 15 批月季花药材的指纹图谱进行相似度分析,共检出 30 个共有峰,且 15 批样品的指纹图谱相似度均大于 0.95,表明不同批次的月季花化学成分具有一致性。通过对照品比对共指认 10 个特征峰,其中 8 个为黄酮类成分。运用聚类分析和主成分分析对不同产地的月季花指纹图谱进行分析,当聚类距离为 10,不同批次的月季花可分为 5 类,表明不同产地的月季花具有一定差异性。通过 PCA 分析表明不同产地的月季花质量有一定差异。通过对金丝桃苷和异槲皮苷进行含量测定,15 批月季花金丝桃苷和异槲皮苷总含量为 3.88 ~ 8.67 mg/g,15 批药材总含量均高于药典规定值 0.38%,表明 15 批月季花均为合格药材,其中河南省周口市的金丝桃苷和异槲皮苷总含量最高。

所建立的指纹图谱方法能应用于玫瑰花的质量评价,对 15 批玫瑰花药材的指纹图谱采用“中药色谱指纹图谱相似度评价软件”(2012 版)进行指纹图谱分析,共确定 22 个共有峰,15 批玫瑰花药材指纹图谱的相似度均大于 0.95。月季花和玫瑰花同为蔷薇科植物,二者在性状、显微和理化特征方面能区

分开来^[15-17],但通过指纹图谱鉴别未见报道,本研究通过建立的 UPLC 指纹图谱可用于月季花与玫瑰花的鉴别,从指纹图谱对比可知,二者具有 15 个共有成分,其中月季花具有 10 个专属成分,玫瑰花具有 5 个专成分。

本研究在建立月季花 UPLC 指纹图谱的基础上,指认多个黄酮类成分,并采用化学模式识别法对其评价;建立金丝桃苷和异槲皮苷含量测定方法,为月季花的质量控制提供依据。该方法简便、准确,可为月季花的后续研究提供参考。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I(中华人民共和国药典:第一部)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 75.
- 2 Wen ZL. Cultivation and Medicinal Use of Flowers(花卉栽培与药用)[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2003, 324-328.
- 3 Editorial Board of Chinese Materia Medica of State Administration of Traditional Chinese Medicine. Chinese Materia Medica(中华本草)[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1996: 788.
- 4 Zhao Q, Liu F, Li QJ, et al. Chemical constituents from flowers of *Rosa chinensis*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2012, 43: 1484-1488.
- 5 Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of

- Sciences. Flora of China(中国植物志)[M]. Beijing: Beijing Science and Technology Press, 1985:3611.
- 6 Zhang P. ESI-MS Analysis of some flavonoid glycosides from *Rosa chinensis*[J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm(中国民族民间医药), 2018, 27(24):23-28.
 - 7 Tao J, Chen J, Yan MJ, et al. Research progress on active components of Chinese rose[J]. Mod Chem Res(当代化工研究), 2020(8):134-135.
 - 8 Cheng BL, Miao MS. Modern research and analysis of Flos Rosae Chinensis[J]. China J Chin Med(中医学报), 2014, 29:711-712.
 - 9 Wu JJ, Cao KH, Zhao YF. Study of the differences of non-volatile chemical constituents of rose and Chinese rose by UPLC-QTOF-MS[J]. China Food Add(中国食品添加剂), 2020, 31(12):91-98.
 - 10 Shanguan KY, Huang XX, Song Y, et al. Effect of different harvesting times on total flavonoids content and antioxidant activity in Rosae Chinensis Flos[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2020, 41(23):236-239.
 - 11 Zhang T, Li N, Song XF, et al. Study on the anti-hepatoma mechanism of hypericin based on network pharmacology and molecular docking[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2022, 28(15):183-191.
 - 12 Cao MM, Che LL, Zhu LW. Research progress on the pharmacological action and mechanism of hyperoside[J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med(辽宁中医药大学学报), 2022, 24(6):150-155.
 - 13 Zhang Y. Protective effect and mechanism of *Apocynum venetum* leaves flavonoids and isoquercitrin on pirarubicin-induced cardiac injury[D]. Changchun: Jilin University(吉林大学), 2021.
 - 14 Huang MM, Wang Q, Li XQ, et al. Comparative study on differences of Gardeniae Fructus and its stir-baked prepared slices based on whole and partial fingerprint and multivariate statistical analysis[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51:2460-2466.
 - 15 Han X. Difference between medicinal rose and rose[J]. J Benef Read Drug Inf Med Adv(开卷有益-求医问药), 2021(5):24.
 - 16 Zeng XY, Liu YJ, Yu YF, et al. Characters identification and GC-MS analysis of Rosae Rugosae Flos and Rosae Chinensis Flos[J]. J Hunan Univ Chin Med(湖南中医药大学学报), 2015, 35(6):21-23.
 - 17 Tu WT. Identification of Flos Rosae Rugosae and Flos Rosae Chinensis[J]. J Zhejiang Univ Tradit Chin Med(浙江中医药大学学报), 2008, 32:815-816.