

超高效液相色谱串联质谱法同时测定乌药叶中 6个黄酮类成分的含量

张煜炯, 杨颖欣, 刘京骅, 孙崇鲁*

浙江药科职业大学, 宁波 315100

摘要:采用超高效液相色谱-串联质谱技术(UPLC-MS/MS)同时测定乌药叶中山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖苷、槲皮素、槲皮素-3-O- β -D-木糖苷、槲皮素-3-O- α -L-阿拉伯呋喃糖苷、山柰酚-3-O-(2"-反式-对-香豆酰基)- α -L-鼠李糖苷、山柰酚-3-O-(2",4"-二-反式-对-香豆酰基)- α -L-鼠李糖苷6个黄酮类化合物含量。采用Kinete XB-C₁₈色谱柱(2.1 mm \times 50 mm, 1.7 μ m), 流动相为乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B), 梯度洗脱0~0.5 min, 10% A; 0.5~2 min, 10% \rightarrow 30% A; 2~6 min, 30% \rightarrow 70% A; 6~7 min, 70% \rightarrow 90% A; 7~8 min, 90% A; 8~9 min, 90% \rightarrow 10% A; 9~10 min, 10% A, 流速为0.2 mL/min, 进样量1.0 μ L, 柱温30 $^{\circ}$ C, 采用电喷雾离子源(ESI), 多反应监测(MRM), 负离子扫描模式检测, 结合熵权-TOPSIS法对10个产地的乌药叶进行分析评价。各化合物在一定浓度范围内线性良好, 相关系数均大于0.999, 加样回收率在98.15%~102.84%, RSD在0.60%~2.43%之间, 经熵权-TOPSIS法分析评价, 浙江天台产地乌药叶相对质量较好。该方法快速、灵敏度高、准确可靠, 可为乌药叶中主要黄酮类化合物的定量分析及内在质量综合评价提供依据。

关键词:乌药叶; UPLC-MS/MS; 化学成分; 含量测定; 熵权-TOPSIS法

中图分类号: Q94

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)5-0798-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.5.008

Simultaneous determination of six flavonoids in *Lindera aggregata* leaf by UPLC-MS/MS

ZHANG Yu-jiong, YANG Ying-xin, LIU Jing-hua, SUN Chong-lu*

Zhejiang Pharmaceutical University, Ningbo 315100, China

Abstract: Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was used for the simultaneous determination of kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside, quercetin, quercetin-3-O- β -D-xylopyranoside, quercetin-3-O- α -L-arabinofuranoside, kaempferol-3-O-(2"-E-p-coumaroyl)- α -L-rhamnoside and kaempferol-3-O-(2",4"-di-E-p-coumaroyl)- α -L-rhamnoside of 6 flavonoids in *Lindera aggregata* leaf. Kinete XB-C₁₈ column (2.1 mm \times 50 mm, 1.7 μ m) was used. The mobile phase was acetonitrile (A)-0.1% formic acid aqueous solution (B) in gradient elution mode (0-0.5 min, 10% A; 0.5-2 min, 10% \rightarrow 30% A; 2-6 min, 30% \rightarrow 70% A; 6-7 min, 70% \rightarrow 90% A; 7-8 min, 90% A; 8-9 min, 90% \rightarrow 10% A; 9-10 min, 10% A) with the flow rate of 0.2 mL/min. The injection volume was 1.0 μ L and the column temperature was 30 $^{\circ}$ C. Electrospray ionization source (ESI) and multiple reaction monitoring (MRM) were used combined with negative scanning switch. The linear relationship between the concentration and peak areas of the ten composition were all linear ($r > 0.999$). The average recoveries were between 98.15% -102.84%, RSD were between 0.60% -2.43%. The entropy weight TOPSIS method was used to analyze and evaluate the relative quality of the *L. aggregata* leaf from Tiantai, Zhejiang. This method is rapid, sensitive, accurate and reliable, and can provide a basis for quantitative analysis and comprehensive evaluation of the internal quality of the main flavonoids in the *L. aggregata* leaf.

Key words: *Lindera aggregata* leaf; UPLC-MS/MS; chemical composition; content determination; entropy weight-TOPSIS method

收稿日期: 2022-10-10 接受日期: 2023-04-19

基金项目: 浙江省药品监督管理局科技计划(2022009); 宁波市“科技创新2025”重大专项(2019B10008)

* 通信作者 Tel: 86-015958298818; E-mail: scl267@163.com

乌药(*Lindera aggregata* (Sims) Kosterm),系樟科山胡椒属植物,具有抗炎镇痛、抗氧化、抗肿瘤等功效^[1],主产于我国东南沿海省份,其中以浙江省天台县较为著名,故称之为天台乌药,2018年已被遴选为浙江新“浙八味”之一^[2]。现代药理学研究表明乌药还对中枢神经系统和心血管系统有调节免疫等功效^[3],因此其市场前景广阔。但乌药的入药部位生长缓慢,往往需8~10年才能达到品质药材炮制的要求,在生长周期中,其茎叶部分却往往被丢弃,资源利用率较低,而在浙江民间一带,乌药叶常用来治疗急性蜂窝组织炎、风湿性关节炎等炎症,也常作入茶饮,用于降脂、护肝等保健功效,已有研究表明,乌药叶提取物具有一定的降脂作用^[4],课题组对乌药叶提取物进行了药效相关性研究,发现其对抗高血脂和骨质疏松症具有一定的作用机制^[5,6]。同时,前期也对乌药叶进行了系统的化学成分分离和提取,从乌药叶的乙醇提取物中首次分离得到6个黄酮类化合物^[7],分别鉴定为:山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖苷(1)、槲皮素(2)、槲皮素-3-O- β -D-木糖苷(3)、槲皮素-3-O- α -L-阿拉伯呋喃糖苷(4)、山柰酚-3-O-(2''-反式-对-香豆酰基)- α -L-鼠李糖苷

(5)、山柰酚-3-O-(2'',4''-二-反式-对-香豆酰基)- α -L-鼠李糖苷(6),化学结构见图1。

目前,对乌药叶的质量评价已有相关研究报道,Yi等^[8]采用HPLC法测定湖南不同产地乌药叶4种黄酮类成分的含量,Sun等^[9]采用紫外分光光度法测定乌药叶提取物中总黄酮含量,并考察了提取总黄酮的相关因素,以此优选出最佳提取工艺,同时,Sun等^[10]采用HPLC法测定不同产地乌药叶中4种倍半萜内酯的含量,但以上都为传统检测方法,在含量测定的高效性和准确性上有所欠缺,随着质谱技术的进步,具备高效率、高特异性和高灵敏度等特点的超高效液相色谱-串联质谱技术(ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)已成为检测中药材质量的重要分析方法^[11-13]。因此,本研究将采用UPLC-MS/MS技术对不同产地乌药叶的6个主要黄酮类化合物进行定量研究,并结合熵权-逼近理想解排序法(technique for order preference by similarity to ideal solution, TOPSIS)进行分析评价^[14-17],以此为乌药叶的内在质量控制提供科学依据。

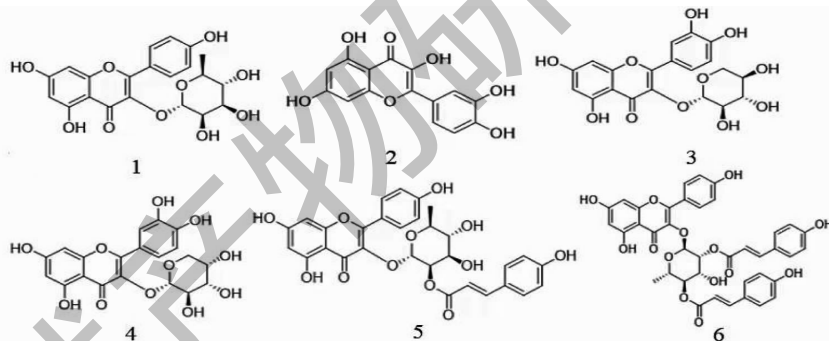


图1 6个黄酮化合物的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of six flavonoids

1 仪器与材料

1.1 仪器

QTRAP 4500 串联四极杆质谱系统(AB Sciex公司);LC-20AD 高效液相色谱仪(日本岛津公司);KQ-800KDB 型高功率数控超声仪(昆山市超声仪器有限公司);Secura225D-1CN 电子分析天平(德国赛多利斯公司);Sorvall ST16R 型高速冷冻离心机(德国 Thermo 公司);DHG-9070A 型电热鼓风干燥箱(宁波江南仪器厂)。

1.2 材料

流动相所用甲醇、乙腈为色谱纯(德国 Merck

公司);甲酸(色谱纯,美国 Fisher 公司),水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。对照品山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖苷、槲皮素、槲皮素-3-O- β -D-木糖苷、槲皮素-3-O- α -L-阿拉伯呋喃糖苷、山柰酚-3-O-(2''-反式-对-香豆酰基)- α -L-鼠李糖苷、山柰酚-3-O-(2'',4''-二-反式-对-香豆酰基)- α -L-鼠李糖苷均自制,经ESI-MS、¹H NMR 和¹³C NMR 确认,HPLC 测定化合物纯度,归一化法计算纯度 >98%。

乌药叶采自全国10个不同产地,详见表1,每个采样点采集2份样品,经宁波中医药研究院彭昕教授鉴定为樟科植物乌药(*Lindera aggregata* (Sims)

Kosterm)的叶。所得药材洗净,均置于40℃烘箱72 h,粉碎后过80目筛细粉备用。以上凭证标本S1~S6存于浙江药科职业大学生物技术研究所。

表1 不同产地乌药叶样品信息

Table 1 Information on samples of aerial parts of *Lindera aggregata* leaf from different habitats

样品编号 No.	采收地 Produce area	纬度 Latitude	经度 Longitude	采集时间 Collecting time
S1	安徽绩溪	N30°06'	E118°58'	2021.09
S2	云南曲靖	N25°60'	E103°82'	2021.03
S3	安徽休宁	N29°79'	E118°18'	2021.02
S4	广西桂林	N25°31'	E110°30'	2021.05
S5	浙江桐庐	N29°79'	E119°69'	2022.01
S6	福建宁德	N26°66'	E119°53'	2021.12
S7	浙江天台	N29°14'	E121°03'	2021.10
S8	浙江武义	N28°89'	E119°81'	2021.10
S9	湖南永州	N26°46'	E111°59'	2022.03
S10	江西鹰潭	N28°24'	E117°04'	2021.03

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

精密称定乌药叶样品粉末0.1000 g,置于50 mL具塞锥形瓶中,加入70%甲醇50 mL,精密称定,于超声波细胞破碎仪中超声处理(功率:600 W)60 min,取出,放冷,再次称定重量,用70%甲醇补足缺失的重量,静置冷却,保存于4℃。测定时精密移取10 mL,置于100 mL量瓶中,用70%甲醇定容至刻度,摇匀,12 000 r/min离心15 min,取上清液用0.22 μm疏水PTFE滤头进行过滤,即得供试品溶液。

2.2 对照品溶液的制备

取各对照品约10.0 mg,精密称定,分别置于10 mL量瓶中,加入甲醇至刻度,摇匀,得各对照品贮备液。分别精密量取各对照品贮备液0.5 mL于10 mL量瓶中,加入甲醇至刻度,制备成质量浓度各为50 μg/mL的混合对照品溶液,以0.22 μm微孔滤膜滤过,于冰箱中保存,备用。

2.3 色谱-质谱条件

液相色谱条件:色谱柱为飞诺美 Kinete XB-C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm);流动相为乙腈溶液(A) - 0.1%甲酸水溶液(B),梯度洗脱0~0.5 min,10% A;0.5~2 min,10%→30% A;2~6 min,30%→70% A;6~7 min,70%→90% A;7~8 min,90% A;8~9 min,90%→10% A;9~10 min,10% A;体积流速:0.2 mL/min;柱温:30℃;进样量:1.0 μL。

质谱条件:电喷雾电离离子源(ESI),负离子扫描模式检测,喷雾电压为4.5 kV;雾化温度为450℃;气帘气为35 psi;辅助气为40 psi。质谱扫描采用MRM扫描模式。去簇电压(declustering potential, DP)参数和碰撞电压(collision energy, CE)质谱参数优化通过蠕动针泵注射的方法调谐各标准化合物,各化合物检测参数见表2。6个黄酮类化合物的总离子色谱图和ESI质谱图见图2、3。

表2 待测成分质谱优化参数

Table 2 Optimized MS parameters of targeted compounds

化合物 Compound	定量离子对 Quantitative ion pair	定性离子对 Qualitative ion pair	去簇电压 Declustering potential(V)	碰撞电压 Collision energy(V)
1	431.0→284.4	431.0→251.6	-104	-35
2	300.8→150.6	300.8→177.9	-106	-30
3	432.8→299.4	432.8→270.2	-110	-39
4	432.8→299.7	432.8→270.0	-120	-37
5	577.0→284.6	577.0→251.6	-126	-31
6	722.9→284.4	722.9→251.6	-180	-46

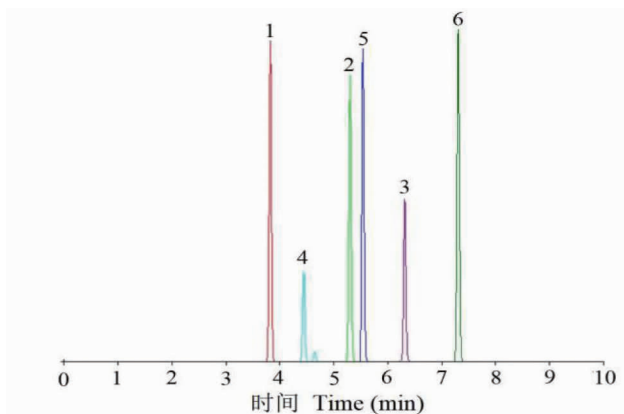


图2 乌药叶提取液总离子色谱图

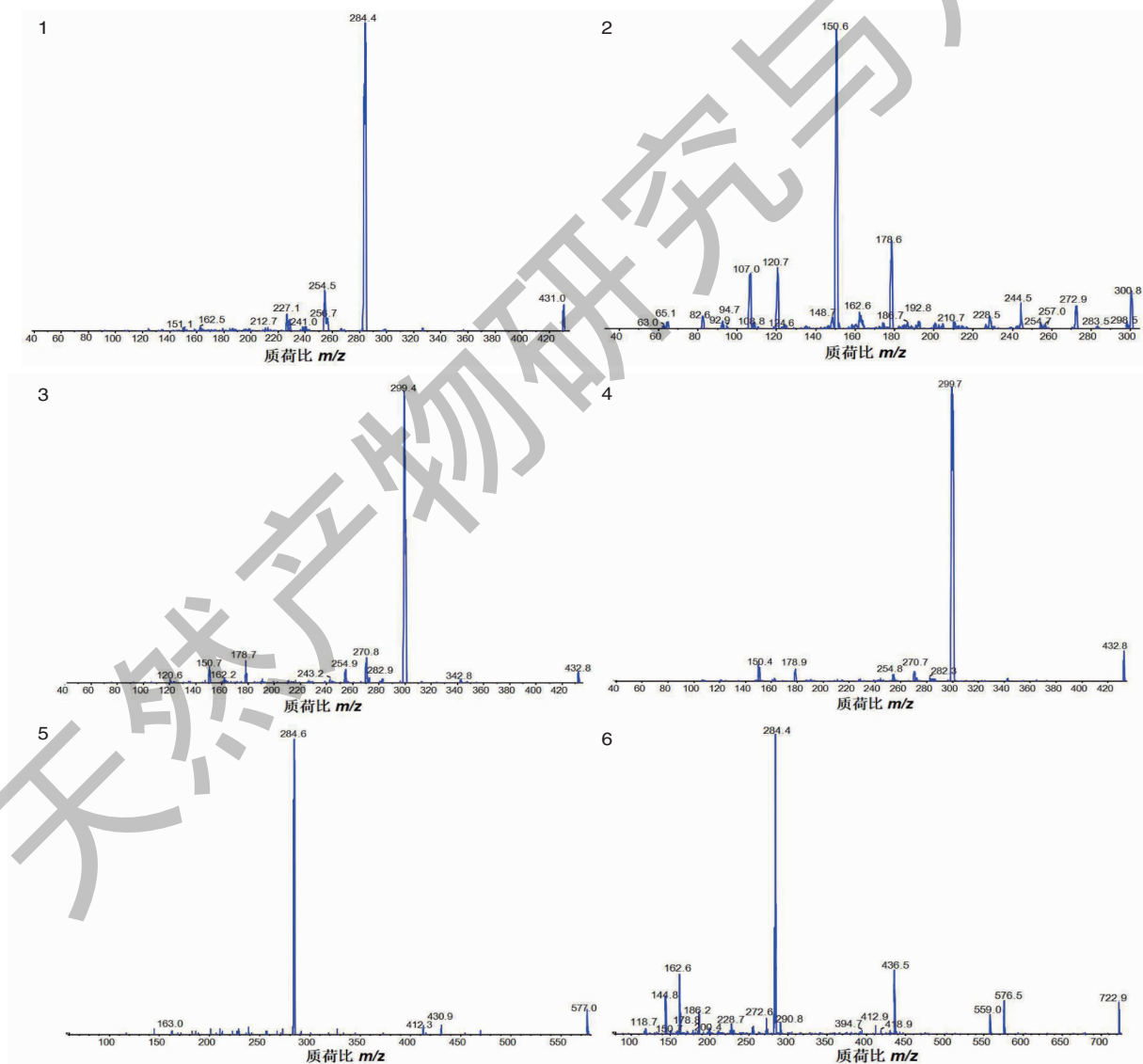
Fig. 2 Total ion chromatogram of the extract of *L. aggregata* leaf

图3 6个黄酮类化合物的负离子ESI质谱图

Fig. 3 Negative ion ESI mass spectra of six flavonoids compounds

2.4 标准曲线的制备

精密量取混合对照品储备液(50 μg/mL)适量,用甲醇稀释,得系列标准溶液浓度,依次为50.0、100.0、200.0、500.0、1 000.0、2 000.0 μg/L,以

0.22 μm 微孔滤膜滤过,在“2.3”项色谱质谱条件下进样分析,以对照品的质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),建立线性回归方程、相关系数和线性范围,结果见表3。

表3 回归方程、相关系数、检出限及定量限

Table 3 The regression equation, correlation coefficient, LOD and LOQ

化合物 Compound	标准曲线 Standard curve equation	线性范围 Linear range (ng/mL)	相关系数 Correlation coefficient(R)	检出限 LOD(ng/mL)	定量限 LOQ(ng/mL)
1	$Y = 1\,782.39X + 4.84 \times 10^5$	50.0 ~ 2 000.0	0.999 6	0.5	1.5
2	$Y = 600.10X - 5.44 \times 10^4$	50.0 ~ 2 000.0	0.999 0	0.5	1.5
3	$Y = 411.17X + 6.94 \times 10^4$	50.0 ~ 2 000.0	0.999 4	0.7	2.1
4	$Y = 2\,586.68X + 6.70 \times 10^5$	50.0 ~ 2 000.0	0.999 7	0.6	1.8
5	$Y = 19.53X + 1.78 \times 10^3$	50.0 ~ 2 000.0	0.999 2	0.8	2.4
6	$Y = 13.37X + 2.16 \times 10^3$	50.0 ~ 2 000.0	0.999 1	0.7	2.1

2.5 方法学考察

2.5.1 检出限和定量限的测定

采用信噪比法评估检出限和定量限。以各化合物的3倍信噪比($S/N = 3$)记为检出限(LOD),10倍信噪比($S/N = 10$)记为定量限(LOQ),最终得到各对照品的检出限和定量限,结果见表3。表明该方法具有较高的灵敏度。

2.5.2 精密度实验

分别取不同浓度的混合对照品溶液(50、200.0、1 000 μg/L)连续测定6次,测得各目标化合物峰面积的RSD范围为2.14% ~ 3.28%,表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性实验

取同一批乌药叶样品粉末6份,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,依法测定,计算6个化合物的

含量,其RSD范围均在1.24% ~ 3.77%,表明方法重复性良好。

2.5.4 稳定性实验

取同一供试品溶液,分别在配制后0、2、4、6、12、24 h依法测定。根据各化合物的峰面积计算RSD值范围均在1.81% ~ 4.06%,说明样品溶液在24 h内稳定。

2.5.5 回收率实验

精密称取同一批次已知含量的乌药叶样品6份,约0.1 g,精密加入三个不同浓度的10种对照品溶液(20、100.0、1 000 μg/L),按“2.1”项下方法制备供试品溶液,根据标准曲线测定含量,计算各个化合物回收率范围在98.15% ~ 102.84%,其RSD范围均在0.60% ~ 2.43%(见表4),表明方法回收率良好。

表4 6种黄酮类化合物的加样回收率试验结果($n=6$)

Table 4 The result of recovery tests for six flavonoid compounds ($n=6$)

化合物 Compound	称样量 Sample weight(g)	原有量 Original amount(mg)	加入量 Added amount(mg)	测得量 Found amount (mg)	回收率 Recovery rate(%)	平均回收率 Average recovery(%)	RSD (%)
1	0.101 8	0.195 4	0.197 8	0.399 6	103.26	102.84	1.95
	0.101 5	0.194 9	0.197 8	0.401 9	104.66		
	0.101 8	0.195 5	0.197 8	0.395 2	100.95		
	0.103 7	0.199 2	0.197 8	0.403 4	103.26		
	0.101 7	0.195 3	0.197 8	0.402 9	104.97		
	0.102 5	0.196 8	0.197 8	0.394 5	99.93		
2	0.101 3	0.468 9	0.465 2	0.934 4	100.07	99.79	0.99
	0.099 1	0.458 8	0.465 2	0.925 7	100.37		

续表4(Continued Tab.4)

化合物 Compound	称样量 Sample weight(g)	原有量 Original amount(mg)	加入量 Added amount(mg)	测得量 Found amount (mg)	回收率 Recovery rate(%)	平均回收率 Average recovery(%)	RSD (%)
2	0.100 5	0.465 2	0.465 2	0.930 1	99.94		
	0.099 4	0.460 2	0.465 2	0.924 6	99.81		
	0.101 5	0.469 9	0.465 2	0.925 3	97.88		
	0.098 8	0.457 3	0.465 2	0.925 7	100.69		
3	0.100 4	0.328 2	0.320 2	0.633 4	95.30	98.15	1.92
	0.099 8	0.326 2	0.320 2	0.634 5	96.25		
	0.102 1	0.333 9	0.320 2	0.653 4	99.78		
	0.099 4	0.325 0	0.320 2	0.642 7	99.23		
	0.100 6	0.329 0	0.320 2	0.645 4	98.81		
	0.100 2	0.327 5	0.320 2	0.646 2	99.52		
4	0.099 0	0.342 4	0.340 3	0.674 6	97.61	99.20	1.79
	0.101 5	0.351 1	0.340 3	0.684 8	98.05		
	0.101 0	0.349 5	0.340 3	0.683 5	98.14		
	0.102 2	0.353 5	0.340 3	0.691 5	99.33		
	0.100 4	0.347 3	0.340 3	0.686 2	99.59		
	0.100 7	0.348 3	0.340 3	0.697 0	102.47		
5	0.100 2	0.181 4	0.180 2	0.367 8	103.45	101.46	2.43
	0.100 6	0.182 0	0.180 2	0.359 7	98.61		
	0.101 7	0.184 0	0.180 2	0.366 7	101.37		
	0.101 3	0.183 4	0.180 2	0.370 2	103.68		
	0.101 5	0.183 7	0.180 2	0.369 9	103.32		
	0.100 9	0.182 7	0.180 2	0.359 9	98.33		
6	0.100 3	0.199 6	0.201 2	0.398 8	99.02	99.33	0.60
	0.101 4	0.201 7	0.201 2	0.401 7	99.40		
	0.101 0	0.201 0	0.201 2	0.402 6	100.20		
	0.100 3	0.199 7	0.201 2	0.398 2	98.66		
	0.102 1	0.203 1	0.201 2	0.402 1	98.89		
	0.102 2	0.203 4	0.201 2	0.404 3	99.83		

2.6 样品含量测定

精密称量不同产地的乌药叶粉末按“2.1”项制

供试品溶液,依“2.3”项的 UPLC-MS/MS 条件进行测定,10个产地的乌药叶6个化合物的含量见表5。

表5 不同产地乌药叶中6个主成分的含量

Table 5 Content of six main components in *L. aggregata* leaf from different habitats (mg/g)

样品编号 No.	1	2	3	4	5	6	总量 Total
S1	1.58	1.68	1.71	2.04	2.52	1.42	10.94
S2	1.56	1.47	1.41	1.61	2.04	1.28	9.37
S3	1.78	2.28	2.36	2.66	1.85	2.15	13.08
S4	1.51	1.75	1.64	1.78	0.72	0.88	8.28

续表 5 (Continued Tab. 5)

样品编号 No.	1	2	3	4	5	6	总量 Total
S5	1.69	1.74	1.25	1.41	1.26	1.12	8.46
S6	2.40	3.22	3.02	3.22	1.40	1.58	14.84
S7	2.53	5.57	4.67	4.98	2.44	1.79	21.98
S8	1.92	4.63	3.27	3.46	1.81	1.99	17.09
S9	1.65	3.31	3.63	3.73	1.65	0.65	14.64
S10	1.09	1.42	1.64	1.77	1.33	0.54	7.79

2.7 熵权-TOPSIS 法分析

为全面评价各产地乌药叶的内在质量优劣,借助熵权-TOPSIS 法对 10 个不同产地乌药叶的黄酮

类化合物进行质量评价,依次建立各样品的初始决策矩阵、决策矩阵的标准化处理,计算得到 6 个黄酮化合物的评价指标熵值和权重,结果见表 6。

表 6 6 个化合物的熵值和权重

Table 6 Entropy and weight of six compounds

化合物 Compound	熵值 Entropy	差异系数 Coefficient of difference	权重 Entropy weighting
1	0.917 8	0.082 2	0.099 5
2	0.773 7	0.226 3	0.273 9
3	0.829 7	0.170 3	0.206 2
4	0.836 6	0.163 4	0.197 8
5	0.925 4	0.074 6	0.090 3
6	0.890 7	0.109 3	0.132 3

根据表 6 所得的熵值和权重,再权重乘以规范化矩阵,得到上述 6 个黄酮化合物的正理想解分别为: 0.057 2、0.191 2、0.137 4、0.133 8、0.046 2 和 0.070 5,负理想解均为 0。最后计算 10 个不同产地

乌药叶与正理想解的欧氏距离、与负理想解的欧氏距离及综合评价指数 C_i 值大小。综合评价指数 C_i 越大,表明该产地的评价质量越好,结果见表 7。

表 7 10 个产地 TOPSIS 法评价结果

Table 7 TOPSIS evaluation results of ten producing areas

样品编号 Sample No.	到正理想解的距离 Distance to positive ideal solution	到负理想解的距离 Distance to negative ideal solution	综合评价指数 Comprehensive evaluation index	综合排序 Comprehensive sorting
S1	0.246 6	0.071 0	0.223 5	6
S2	0.268 1	0.051 5	0.161 0	7
S3	0.200 8	0.111 0	0.356 0	5
S4	0.258 9	0.034 1	0.116 7	9
S5	0.268 5	0.040 3	0.130 5	8
S6	0.148 1	0.147 0	0.498 2	4
S7	0.015 9	0.285 6	0.947 3	1
S8	0.096 2	0.200 6	0.675 9	2
S9	0.144 3	0.159 3	0.524 7	3
S10	0.273 9	0.026 0	0.086 5	10

3 讨论

3.1 提取条件的选择

本研究采用 UPLC-MS/MS 法在 10 min 内同时测定乌药叶中山柰酚-3-*O*- α -*L*-鼠李糖苷(1)、槲皮素(2)、槲皮素-3-*O*- β -*D*-木糖苷(3)、槲皮素-3-*O*- α -*L*-阿拉伯呋喃糖苷(4)、山柰酚-3-*O*-(2"-反式-对-香豆酰基)- α -*L*-鼠李糖苷(5)、山柰酚-3-*O*-(2",4"-二-反式-对-香豆酰基)- α -*L*-鼠李糖苷(6) 6 个指标化合物的含量,提取过程中所选择的甲醇浓度分别为 30%、50%、70%,结合图谱分析,选择 70% 甲醇提取效果最好。同时也对加热回流和超声提取两种方法进行了比较,根据含量结果,所得到的提取率相当,从时间、耗材成本考虑,因此采用超声提取。

3.2 色谱-质谱条件

本研究考察了三种流动相体系:乙腈-水、乙腈-0.1% 甲酸水和乙腈-0.1% 甲酸铵水,以 6 个黄酮化合物的峰面积和峰形作为考察指标来确定合适的流动相体系。结果发现当选择乙腈-水作为流动相时,山柰酚-3-*O*-(2"-反式-对-香豆酰基)- α -*L*-鼠李糖苷和山柰酚-3-*O*-(2",4"-二-反式-对-香豆酰基)- α -*L*-鼠李糖苷两个化合物存在拖尾现象;当选择乙腈-0.1% 甲酸铵水作为流动相时,槲皮素-3-*O*- α -*L*-阿拉伯呋喃糖苷稍有拖尾;而选择以乙腈-0.1% 甲酸水作为流动相时,6 个化合物峰形均较为对称。因此,选择乙腈-0.1% 甲酸水作为流动相体系。

在质谱条件的选择,研究选用正负两种离子模式测定 6 种目标化合物的含量,为使目标化合物具有较好的稳定性、较高的响应值和更好的峰形,经多次反复试验考察发现,采用负离子扫描模式检测下,6 种黄酮化合物在检测条件下能更稳定,峰形及响应值更佳。同时在色谱-质谱条件考察时,图 2 提取离子流图中黄酮化合物 2 和 5 在保留时间上基本一致,这与传统的 HPLC 分析技术相比,基于质荷比分析的色谱-串联质谱技术不依赖于峰与峰之间的分离度,且信号采集时间短,灵敏度高,因此本研究采用 UPLC-MS/MS 分析技术同时测定乌药叶中 6 种黄酮化合物更有优势。

3.3 结果分析

本研究采集了全国 10 个乌药产区的药材样品,采用 UPLC-MS/MS 技术同时测定了乌药叶 6 个指标化学成分的含量,用熵权-TOPSIS 法对 10 个产地的 6 个化合物进行综合分析评价,综合排序为:浙江天台 > 浙江金华 > 湖南长沙 > 福建宁德 > 云南昆明

> 浙江桐庐 > 广西桂林 > 江西鹰潭,结果显示浙江天台产区的乌药叶综合质量较高,跟传统认为的浙江天台为乌药道地药材产区这一说法有一定关联,同时也印证了《本草纲目》记载:乌药,以天台者为胜;《中药大辞典》记载:乌药以浙江产量最大,以浙江天台所产品质最佳,故称“天台乌药”或“台乌药”。同时,评价结果也反映出不同产地乌药叶中 6 个主要黄酮类成分含量差异很大,同一省份不同城市的乌药叶也有较大差异,这可能与不同种植基地其乌药引种来源以及不同的生态环境有一定的关联。

目前,乌药叶被批准为新资源食品,因此其产品的开发将不断被挖掘,而本研究建立了一种操作简便,精密度、稳定性、重复性好,同时测定乌药叶中 6 个黄酮类化合物含量的方法,可用于乌药叶中主要黄酮类化合物的定量分析及内在质量综合评价,所采用的熵权-TOPSIS 法也为评价其他药用价值中药材的质量提供理论依据。

参考文献

- 1 Liu HF, Huang JB, Huang MC, et al. Study on anti-hyperlipidemia effect of *Linderae Radix* via regulating reverse cholesterol transport [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2021, 46: 1795-1802.
- 2 Luo YY, Wang J, Chen HJ, et al. Determination and primary risk evaluation of 31 inorganic elements in *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm. from different habitat and medication part [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2022, 42: 424-432.
- 3 Xing MY, Tian CM, Xia DZ. Review on chemical constituents and pharmacological effects of *Lindera aggregata* Kosterm [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017, 29: 2147-2151.
- 4 Chen JG, Luo HX, Liu DY, et al. The effect of leaves of *Lindera aggregata* on the regulation of blood lipids and histomorphology in hyperlipidemia rats [J]. *J Toxicol* (毒理学杂志), 2020, 34: 305-310.
- 5 Wang FR, Rong PZ, Wang J, et al. Anti-osteoporosis effects and regulatory mechanism of *Lindera aggregata* based on network pharmacology and experimental validation [J]. *Food Funct*, 2022, 13: 6419-6432.
- 6 Wang FR, Wang J, Cai HD, et al. Network pharmacology combined with metabolomics to investigate the anti-hyperlipidemia mechanism of a novel combination [J]. *J Funct Foods*, 2021, 87: 104848.

- 7 Sun CL, Yu SL, Li SM, et al. Chemical constituents from the leaves of *Lindera aggregata* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2022, 44: 464-469.
- 8 Yi L, Wang RY, Gao YF, et al. Study on the content determination and pattern recognition of four flavonoids in Wuyaoye (*Linderae Folium*) from different habitats in Hunan [J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharm* (中医药导报), 2021, 27: 31-35.
- 9 Sun Y, Huang JJ, Ye Kang, et al. Effect of *Lindera aggregata* extract on lipid-lowering and hepatic LKB1-AMPK pathway in hyperlipidemic rat model [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药理学), 2020, 37: 821-825.
- 10 Sun CL, Zhang LX, Yu SL, et al. HPLC method for simultaneous quantitative determination of four sesquiterpene lactones in the leaves of *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm [J]. *Chin J Ethn Ethn* (中国民族民间医药), 2022, 31: 58-62.
- 11 Zhou W, Shan JJ, Meng MX. A two-step UPLC-Q-ToF/MS with mass defect filtering method for rapid identification of analogues from known components of different chemical structure types in *Fructus Gardeniae*-*Fructus Forsythiae* herb pair extract and in rat's blood [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1563: 99-123.
- 12 Kim MK, Park SC, Park G, et al. Analytical quality by design methodology for botanical raw material analysis: a case study of flavonoids in *Genkwa Flos* [J]. *Sci Rep*, 2021, 11: 11936.
- 13 Duan H, Wang GC, Khan GJ, et al. Identification and characterization of potential antioxidant components in *Isodon amethystoides* (Benth.) Hara tea leaves by UPLC-LTQ-Orbitrap-MS [J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 148: 111961.
- 14 Feng ZG, Zhao Q, Zhu QJ, et al. Quality evaluation of *Polygonati Rhizoma* from different producing areas in Anhui province by entropy weight and grey correlation degree analysis method [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2021, 52: 3689-3695.
- 15 Zhen ZJ, Yu XT, Deng CC, et al. Study on the differences in different of *Gossampim Flos* based on chemical pattern recognition and entropy TOPSIS method [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2022, 34: 1557-1564.
- 16 Ma LZ, Ji DS, Ju K, et al. Comprehensive quality evaluation of salt-processed *Plantaginis Semen* based on multi-index components combined with EW-TOPSIS method [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2022, 34: 1361-1373.
- 17 Zhang YJ, Luo YY, Chen HJ, et al. TOPSIS method and grey correlation analysis based on entropy to evaluate the quality of the aerial part of *Tetrastigma hemsleyanum* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2022, 45: 1904-1908.