

HPLC 指纹图谱结合一测多评法控制马齿苋药材质量^Δ

王佳佳^{1*}, 李希^{1,2#}, 冯建安², 楼冠华², 陈诗韵², 黄嫣², 皮雪莲², 刘畅², 李颖²(1. 成都中医药大学药学院, 成都 611137; 2. 四川省中医药科学院中医研究所, 成都 610031)

中图分类号 R917;R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2023)09-1081-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2023.09.11



摘要 目的 建立马齿苋药材的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,同时建立一测多评法测定该药材中咖啡酸、阿魏酸、染料木苷、槲皮素的含量,为该药材的质量控制提供参考依据。**方法** 色谱柱为Eclipse XDB-C₁₈,流动相为甲醇-0.2%磷酸溶液(梯度洗脱),柱温为25℃,流速为1.0 mL/min,检测波长为360 nm,进样量为10 μL,以上述色谱条件建立马齿苋药材的HPLC指纹图谱;对15批药材样品进行聚类分析和主成分分析;以咖啡酸作为内标物,使用一测多评法计算其他3种成分的相对校正因子,再根据相对校正因子计算成分含量,并与外标法结果进行比较。**结果** 15批马齿苋药材样品的HPLC指纹图谱中有17个共有峰被标定,4种成分(咖啡酸、阿魏酸、染料木苷、槲皮素)被指认;15批样品的相似度均大于0.890。聚类分析结果显示,样品S1~S10聚为一类,S11~S15聚为一类;主成分分析结果显示,前2个主成分的累计贡献率为92.502%,分类结果与聚类分析结果一致。咖啡酸、阿魏酸、染料木苷和槲皮素检测质量浓度的线性范围分别为0.003 1~0.157 1、0.003 6~0.181 7、0.008 5~0.425 6、0.000 4~0.021 8 mg/mL ($R^2 \geq 0.999 7$);精密度、重复性、稳定性(24 h)、加样回收率试验结果均符合《中国药典》要求。一测多评法计算得到阿魏酸、染料木苷、槲皮素的平均相对校正因子分别为1.534、5.302、0.174,该方法与外标法所测的成分含量无显著差异。**结论** 所建立的HPLC指纹图谱结合一测多评的方法,可用于马齿苋药材中多指标成分的质量控制。产地对马齿苋药材质量有一定影响,四川所产马齿苋药材质量略优于安徽和河北所产药材。

关键词 马齿苋;质量控制;高效液相色谱法;指纹图谱;一测多评法;咖啡酸;阿魏酸;染料木苷;槲皮素

Quality control of *Portulaca oleracea* by HPLC fingerprint combined with quantitative analysis of multi-components by single-marker

WANG Jiajia¹, LI Xi^{1,2}, FENG Jian'an², LOU Guanhua², CHEN Shiyun², HUANG Yan², PI Xuelian², LIU Chang², LI Ying²(1. School of Pharmacy, Chengdu University of Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. Institute of Traditional Chinese Medicine, Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610031, China)

ABSTRACT OBJECTIVE To establish HPLC fingerprint of *Portulaca oleracea*, establish quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method for the content determination of caffeic acid, ferulic acid, genistin and quercetin, and provide reference for quality control of the medicine. **METHODS** The determination was performed on Eclipse XDB-C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-0.2% phosphoric acid solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was 25 °C, and detection wavelength was set at 360 nm. The sample size was 10 μL. HPLC fingerprint of *P. oleracea* was established according to the above chromatographic conditions. Cluster analysis (CA) and principal component analysis (PCA) were performed for 15 batches of specimens. Using caffeic acid as internal standard, relative correction factors of other three components were calculated by QAMS, and then the component content was calculated on the basis of relative correction factors, which was compared with the external standard method. **RESULTS** HPLC fingerprints of 15 batches of *P. oleracea* were calibrated with a total of 17 common peaks, and 4 components (caffeic acid, ferulic acid, genistin, quercetin) were identified; the similarities of 15 batches of samples were greater than 0.890. The results of CA showed that S1-S10 were clustered into one category, and S11-S15 were clustered into one category. The results of PCA revealed that the accumulative contribution rate of the two main components was 92.502%, and the classification results were basically consistent with CA. The linear range of caffeic acid, ferulic acid, genistin and quercetin were 0.003 1-0.157 1, 0.003 6-0.181 7, 0.008 5-0.425 6, 0.000 4-0.021 8 mg/mL ($R^2 \geq 0.999 7$); the results of precision, repeatability, stability (24 h) and recovery tests all complied with the requirements of

Chinese Pharmacopoeia. The relative correction factors of ferulic acid, genistin and quercetin calculated by QAMS were 1.534, 5.302 and 0.174; there was no significant difference in the contents of components measured between this method and the external standard method. **CONCLUSIONS** The established HPLC fingerprint combined with QAMS can be

^Δ 基金项目 四川省中医药管理局科学技术研究专项课题(No. 2021MS032)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向:中药新制剂、新剂型、新技术应用。E-mail:1598470388@qq.com

通信作者 研究员,主任中药师,硕士生导师,硕士。研究方向:中药新制剂、新剂型、新技术应用。E-mail:1836820767@qq.com

used for the quality control of multiple index components in *P. oleracea*. The origin has a certain influence on the quality of *P. oleracea*, and the quality of *P. oleracea* produced in Sichuan is better than that produced in Anhui and Hebei.

KEYWORDS *Portulaca oleracea*; quality control; high-performance liquid chromatography; fingerprint; quantitative analysis of multi-components by single-marker; caffeic acid; ferulic acid; genistin; quercetin

马齿苋是马齿苋科马齿苋属植物马齿苋 *Portulaca oleracea* L. 的干燥地上部分^[1], 别名酸苋、长命菜、马齿龙芽等。其作为一种药食两用的植物, 受到了人们的广泛喜爱。研究发现, 马齿苋具有抗炎、抗氧化、降血糖及治疗糖尿病并发症等多种作用^[2-4], 其活性成分包括有机酸类(主要为咖啡酸、阿魏酸等)和黄酮类(主要为染料木苷、槲皮素等)化合物^[5]。其中, 咖啡酸是马齿苋单体化合物中抗氧化活性最强的一种成分^[6]; 阿魏酸在抗炎、抗氧化方面均有较好的活性^[7]; 染料木苷能改善胰岛素抵抗, 维持血糖稳定^[8]; 槲皮素作为黄酮类化合物的代表性成分, 具有抗炎、抗感染及免疫调节的功效, 在以往被作为指标性成分来研究马齿苋药材^[9]。2020年版《中国药典》(一部)马齿苋药材项下尚未收录含量测定方面的内容。虽然目前针对马齿苋的化学成分研究已有不少报道, 但是这些分析方法需要的对照品较多、成本较高, 不利于该药材多指标控制方法的建立与推广^[10]。而一测多评法使用单一的对照品就可以同时把多个成分的含量测定出来, 具有节约时间、简化实验步骤、降低成本等优点。基于上述原因, 本研究建立了指纹图谱结合一测多评的方法, 同时测定了马齿苋药材中咖啡酸、阿魏酸、染料木苷和槲皮素的含量, 并对15批马齿苋药材进行了聚类分析(cluster analysis, CA)和主成分分析(principal component analysis, PCA), 旨在为该药材的质量控制及相关研究提供参考依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究的主要仪器有 e2695 型高效液相色谱(high-performance liquid chromatography, HPLC)仪(美国 Waters 公司), Agilent 1260 Infinity、Agilent 1260 Infinity II 型 HPLC 仪(美国 Agilent 公司), KQ-300DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), XMTD-4000 型电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司), 1810a 型摩尔基因型超纯水器(重庆摩尔水处理设备有限公司)。

1.2 主要药材与试剂

咖啡酸对照品(批号 110885-201703, 质量分数 99.7%)、阿魏酸对照品(批号 110773-201915, 质量分数 99.4%)、染料木苷对照品(批号 111709-201702, 质量分数 99.9%)、槲皮素对照品(批号 100081-201610, 质量分数 99.1%)均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇、磷酸为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 纯化水为实验室自制。

15批马齿苋药材样品(表1)分别产自四川、安徽、河北, 经四川省中医药科学院中医研究所谢守德主任中药师鉴定均为马齿苋科马齿苋属植物马齿苋 *P. oleracea* L. 的干燥地上部分。

表1 15批马齿苋药材样品的产地信息

编号	产地	来源	批号
S1	四川	四川省中药饮片有限责任公司	210514
S2	四川	四川省中药饮片有限责任公司	210526
S3	四川	四川省中药饮片有限责任公司	210601
S4	四川	四川省中药饮片有限责任公司	210617
S5	四川	四川省中药饮片有限责任公司	210701
S6	安徽	安徽惠丰国药有限公司	210707
S7	安徽	安徽惠丰国药有限公司	210608
S8	安徽	安徽惠丰国药有限公司	210725
S9	安徽	安徽惠丰国药有限公司	220501
S10	安徽	安徽惠丰国药有限公司	220518
S11	河北	安徽菌启健康科技有限公司	210908
S12	河北	安徽菌启健康科技有限公司	211003
S13	河北	安徽菌启健康科技有限公司	211107
S14	河北	安徽菌启健康科技有限公司	220920
S15	河北	安徽菌启健康科技有限公司	220928

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取咖啡酸、阿魏酸、染料木苷、槲皮素对照品各适量, 分别加入甲醇制成质量浓度依次为 0.785 6、0.908 5、0.851 1、0.218 2 mg/mL 的单一对照品溶液。精密吸取上述4种单一对照品溶液各适量至 10 mL 容量瓶中, 以甲醇稀释并定容, 混匀, 制成咖啡酸、阿魏酸、染料木苷、槲皮素质量浓度分别为 0.157 1、0.181 7、0.425 6、0.021 8 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 将马齿苋药材样品粉碎, 过四号筛, 取 20 g, 精密称定, 加入 8 倍量的水, 煎煮 3 次, 每次 30 min, 合并煎煮液, 浓缩至 100 mL。精确量取 50 mL 浓缩液, 用乙酸乙酯提取 3 次, 每次 50 mL, 合并乙酸乙酯液, 水浴蒸干, 加甲醇溶解并定容至 5 mL 容量瓶中, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇(A)-0.2% 磷酸溶液(B), 梯度洗脱(0~30 min, 10% A \rightarrow 26% A; 30~60 min, 26% A \rightarrow 31% A; 60~75 min, 31% A \rightarrow 47% A; 75~103 min, 47% A \rightarrow 49% A; 103~105 min, 49% A \rightarrow 10% A); 柱温为 25 $^{\circ}$ C; 流速为 1.0 mL/min; 检测波长为 360 nm; 进样量为 10 μ L。

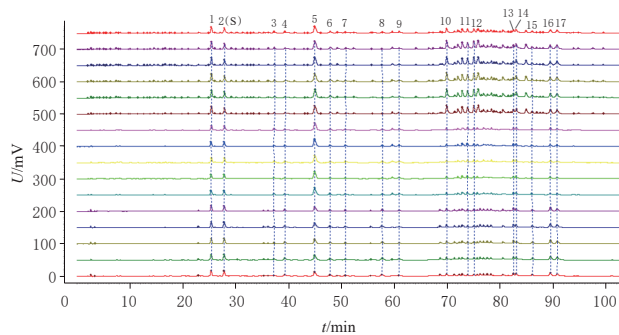
2.3 指纹图谱的建立

2.3.1 精密度试验 吸取“2.1.2”项下供试品溶液(编号S1)适量,按“2.2”项下色谱条件连续进样6次,每次10 μL。以2号峰为参照峰,计算得各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%,表明该方法精密度良好。

2.3.2 重复性试验 称取马齿苋药材样品粉末(编号S1)适量,共6份,分别按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,每次10 μL。以2号峰为参照峰,计算得各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%,表明该方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 取同一份供试品溶液(编号S1),分别在室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.2”项下色谱条件进样测定,每次10 μL。以2号峰为参照峰,计算得各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%,表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.3.4 共有峰的标定、指认及相似度评价 取15批马齿苋药材样品,分别按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样分析,记录色谱图,并将15份色谱图以CDF格式导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》软件中。将编号S1样品的HPLC图设为参照图谱,设置时间窗宽度为0.1 min,利用中位数法生成对照图谱,总共标定出17个共有峰(图1);再通过与混合对照品溶液的色谱图进行比对,指出其中的4个共有峰(图2),其中2号峰为咖啡酸(参照峰),5号峰为阿魏酸,8号峰为染料木苷,15号峰为槲皮素。将对照图谱与15批药材样品的HPLC图进行相似度分析,结果显示,15批药材样品的相似度均大于0.890,表明不同产地马齿苋药材中化学成分的种类差异较小。

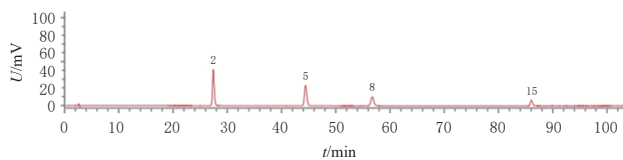


R: 对照图谱

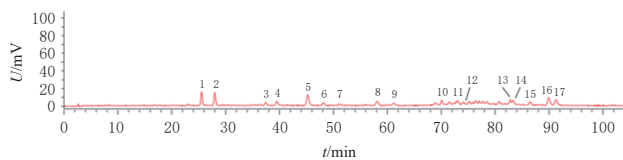
图1 15批马齿苋药材样品的HPLC指纹图谱和对照图谱

2.4 HPLC含量测定法的建立

2.4.1 线性关系考察 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液,用甲醇稀释制成不同质量浓度梯度的混合对照品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,每次10 μL,记录峰面积。以峰面积为纵坐标(Y)、对照品的质量浓度为横坐标(X)绘制标准曲线,得到咖啡酸等4种成分的线性回归方程,见表2。



A. 混合对照品溶液



B. 供试品溶液

2: 咖啡酸;5: 阿魏酸;8: 染料木苷;15: 槲皮素

图2 混合对照品和马齿苋药材样品的HPLC图

表2 咖啡酸等4种成分的线性关系考察结果

成分	回归方程	R ²	线性范围/(mg/mL)
咖啡酸	$Y=7\ 501\ 218.520\ 9X+8\ 912.215\ 5$	0.9999	0.0031~0.1571
阿魏酸	$Y=4\ 909\ 960.294\ 8X+5\ 068.604\ 7$	0.9999	0.0036~0.1817
染料木苷	$Y=1\ 384\ 380.520\ 0X+1\ 138.226\ 9$	0.9997	0.0085~0.4256
槲皮素	$Y=42\ 918\ 347.617\ 7X+6\ 163.489\ 3$	0.9999	0.0004~0.0218

2.4.2 精密度试验 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液,按“2.2”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,咖啡酸、阿魏酸、染料木苷、槲皮素峰面积的RSD分别为1.58%、1.67%、1.36%、1.20%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 精密称取同一批马齿苋药材样品粉末(编号S1)6份,每份20 g,分别按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并采用外标法计算各成分的含量。结果显示,咖啡酸、阿魏酸、染料木苷、槲皮素的平均含量分别为0.0223、0.0378、0.0439、0.0009 mg/g, RSD分别为1.93%、2.39%、2.46%、2.92%(n=6),说明该方法重复性良好。

2.4.4 稳定性试验 取同一供试品溶液(编号S1),分别在室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,咖啡酸、阿魏酸、染料木苷、槲皮素峰面积的RSD分别为1.92%、2.08%、2.02%、1.66%(n=6),表明供试品溶液在室温下放置24 h内的稳定性良好。

2.4.5 加样回收率试验 称取已知成分含量的马齿苋药材样品粉末(编号S1)9份,每份10 g,精密称定,分别按低、中、高质量浓度加入单一对照品溶液,每个质量浓度3份,按“2.1.2”项下方法制成供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率。结果显示,咖啡酸、阿魏酸、染料木苷、槲皮素的平均加样回收率分别为102.34%、101.18%、100.98%、101.80%,RSD分别为1.63%、1.91%、2.53%、2.15%(n=3),表明该方法准确度良好。

2.5 一测多评法的建立

2.5.1 相对校正因子的计算 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液,分别按“2.2”项下色谱条件进样1、3、5、10、15、20 μL,记录峰面积。以咖啡酸为内标物,按文献

[11]方法计算阿魏酸、染料木苷、槲皮素的相对校正因子,平行3次,计算平均值,结果见表3。

表3 各成分相对校正因子及相对保留时间($n=3$)

进样量/ μL	相对校正因子			相对保留时间		
	阿魏酸	染料木苷	槲皮素	阿魏酸	染料木苷	槲皮素
1	1.494	5.049	0.168	0.619	0.487	0.323
3	1.601	5.287	0.177	0.615	0.483	0.321
5	1.545	5.397	0.179	0.615	0.483	0.321
10	1.531	5.481	0.175	0.615	0.482	0.321
15	1.520	5.279	0.172	0.615	0.481	0.320
20	1.515	5.319	0.170	0.615	0.481	0.320
平均值	1.534	5.302	0.174	0.616	0.483	0.321
RSD/%	2.400	2.748	2.432	0.265	0.461	0.341

2.5.2 色谱峰的定位 采用相对保留时间法对待测成分进行色谱峰定位。取“2.1.1”项下混合对照品溶液,按“2.2”项下色谱条件分别进样1、3、5、10、15、20 μL ,记录峰面积。以咖啡酸为内标物,计算阿魏酸、染料木苷、槲皮素的相对保留时间[相对保留时间= $t_{\text{Ri}}/t_{\text{Rs}}$ (式中, t_{Ri} 为待测成分的保留时间, t_{Rs} 为内标物的保留时间)],平行3次,计算平均值,结果见表3。

2.5.3 各因素对相对校正因子和相对保留时间的影响 按“2.2”项下色谱条件和上述方法,测定不同流速(0.9、1.0、1.1 mL/min)、柱温(25、30、35 $^{\circ}\text{C}$)、HPLC仪(Waters e2695、Agilent 1260 Infinity、Agilent 1260 Infinity II)、色谱柱(Eclipse XDB-C₁₈、ZORBAX SB-C₁₈、Eclipse Plus C₁₈)对各成分相对校正因子和相对保留时间的影响。结果显示,RSD均小于5%,表明各因素对相对校正因子和相对保留时间均无明显影响。

2.6 样品含量测定

取15批药材样品,分别按“2.1.2”项下方法制成供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,分别采用外标法和一测多评法计算阿魏酸等4种成分的含量并进行比较,计算相对误差(RE)^[12],平行3次,计算平均值。结果显示,2种方法计算结果的RE均在 $\pm 1\%$ 范

围内,表明2种方法所得结果无明显差异,结果见表4。

2.7 15批马齿苋药材样品的CA

以15批马齿苋药材样品17个共有峰的峰面积为变量,导入SPSS 26.0软件,以平方欧氏距离作为测度,利用组间连接法对样品进行CA,结果见图3。由图3可知,当平方欧氏距离为10时,15批马齿苋药材样品可被聚为2类:S1~S10为一类,S11~S15为一类。

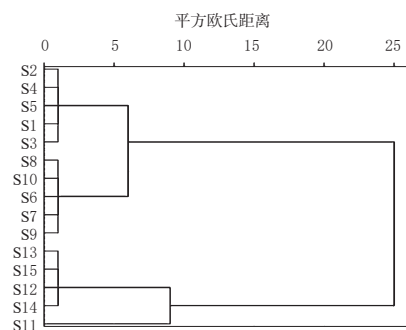


图3 15批马齿苋药材样品的CA树状图

2.8 15批马齿苋药材样品的PCA

将15批马齿苋药材样品的共有峰峰面积导入SPSS 26.0软件并进行标准化处理,以特征值和累计方差贡献率作为依据对数据进行PCA,结果见表5。以特征值 >1 筛选指标,得到2个主成分因子,其累计方差贡献率为92.502%,表明这2个主成分可以反映15批马齿苋药材样品中的大部分成分信息。此外,旋转后的因子载荷矩阵能反映各成分对主成分的影响,其绝对值越大,则对主成分的影响越大^[13]。结果显示,峰1、2(咖啡酸)、6、10~15(槲皮素)、16~17在主成分1上有较高载荷(以载荷绝对值 >0.8 计,下同);峰3~5(阿魏酸)、8(染料木苷)、9在主成分2上有较高载荷。由PCA得分图(图4)可知,15批马齿苋药材样品中S1~S10相聚较近,S11~S15相聚较近,所得结果与CA结果一致,表明不同产地马齿苋的质量有差异。

表4 15批马齿苋药材样品中阿魏酸等4种成分的含量测定结果($n=3$)

编号	咖啡酸(外标法)/ ($\mu\text{g/g}$)		阿魏酸		染料木苷		槲皮素		总含量(外标法)/($\mu\text{g/g}$)		
	外标法/ ($\mu\text{g/g}$)	一测多评法/ ($\mu\text{g/g}$)	RE/%	外标法/ ($\mu\text{g/g}$)	一测多评法/ ($\mu\text{g/g}$)	RE/%	外标法/ ($\mu\text{g/g}$)	一测多评法/ ($\mu\text{g/g}$)		RE/%	
S1	26.892	45.185	45.258	0.162	41.987	42.193	0.491	0.964	0.969	0.519	115.028
S2	22.988	39.015	39.065	0.128	44.781	44.788	0.016	0.926	0.932	0.648	107.710
S3	26.880	34.882	34.999	0.335	48.143	48.190	0.098	0.959	0.964	0.521	110.864
S4	26.550	35.785	35.931	0.408	46.256	46.659	0.871	0.935	0.931	-0.428	109.526
S5	20.998	36.725	36.739	0.038	49.148	49.321	0.352	0.969	0.976	0.722	107.840
S6	19.303	67.271	67.426	0.230	22.221	22.230	0.041	0.636	0.638	0.314	109.431
S7	17.757	69.318	69.539	0.319	22.591	22.601	0.044	0.618	0.619	0.162	110.284
S8	19.304	66.391	66.518	0.191	21.852	22.001	0.682	0.611	0.612	0.164	108.158
S9	17.733	69.281	69.500	0.316	21.547	21.653	0.492	0.600	0.602	0.333	109.161
S10	16.961	68.863	68.875	0.017	21.209	21.203	-0.028	0.627	0.628	0.159	107.660
S11	25.512	76.100	76.538	0.576	5.446	5.470	0.441	1.305	1.316	0.843	108.363
S12	24.001	74.813	74.814	0.001	5.690	5.690	0	1.419	1.426	0.493	105.923
S13	23.729	73.749	73.759	0.014	5.756	5.785	0.504	1.294	1.295	0.077	104.528
S14	25.820	74.679	74.714	0.047	5.423	5.448	0.461	1.286	1.294	0.622	107.208
S15	25.121	74.526	74.913	0.519	5.899	5.904	0.085	1.395	1.396	0.072	106.941

表5 主成分的特征值及方差贡献率

主成分	初始			旋转后		
	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	11.124	65.435	65.435	10.203	60.016	60.016
2	4.601	27.068	92.502	5.523	32.486	92.502

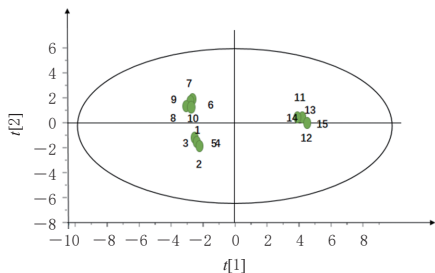


图4 15批马齿苋药材样品的PCA得分图

3 讨论

3.1 色谱条件与提取方法的考察

本研究考察了254、280、320、360 nm波长下各成分的出峰情况,结果发现,在360 nm波长处,咖啡酸等4种成分的峰面积较大、分离度较好,故最终选择360 nm为检测波长。同时,本研究比较了采用不同流动相(乙腈-水、甲醇-水、乙腈-0.2%磷酸溶液、甲醇-0.2%磷酸溶液)所得的色谱图,结果发现,当以甲醇-0.2%磷酸溶液为流动相洗脱时,各成分的色谱峰峰形和分离度均较好,故最终选择甲醇-0.2%磷酸溶液作为流动相。本研究还考察了不同提取方式(加热回流、超声)、不同提取溶剂(乙醇、80%乙醇、甲醇、80%甲醇、水)对样品的提取效果,考虑到中药以水为提取溶剂的应用范围最广,同时马齿苋水煎液也是人们在日常生活中较为常用的剂型^[14],故最终确定提取方法为以水为提取溶剂加热提取。此外,笔者在前期实验中发现,样品煎煮后如果直接进样,则杂质较多,导致色谱峰峰形较差、分离度不好,因此考虑对样品进行二步处理;经查阅文献,发现马齿苋水提取物中乙酸乙酯相的抗氧化活性略高于正丁醇相和石油醚相^[15],故确定样品二步提取的溶剂为乙酸乙酯。

3.2 指纹图谱及化学计量学结果分析

从本研究结果可知,15批马齿苋药材样品的指纹图谱中有17个共有峰被标定,其中4个峰被指认(2号峰为咖啡酸,5号峰为阿魏酸,8号峰为染料木苷,15号峰为槲皮素);所有批次样品的相似度均大于0.890,表明15批马齿苋药材样品的化学成分种类差异较小。CA结果表明,四川和安徽的样品聚为一类,河北的样品聚为一类;PCA结果与CA结果基本一致,说明产地对马齿苋药材质量有一定的影响。

3.3 含量测定方法分析

以往对马齿苋的定量研究,只是集中于某一种类型的成分,而本研究建立的马齿苋指纹图谱结合一测多评的方法,可以同时测定该药材中的有机酸类和黄酮类成分,能够更全面地评价该药材的质量。本研究结果表明,针对马齿苋药材中的咖啡酸等4种成分,采用外标法

与一测多评法测定的含量无显著差异,而一测多评法相较于外标法来说,更简便,更节约时间和实验成本,故在今后的研究中可以考虑使用该方法对马齿苋药材中的多指标成分进行含量测定。通过比较咖啡酸等4种成分的总含量,可知四川所产马齿苋药材质量略好一些。

综上所述,本研究所建立的HPLC指纹图谱结合一测多评的方法,可用于马齿苋药材中多指标成分的质量控制,为该药材的质量评价提供参考依据。四川所产马齿苋药材质量略优于安徽和河北所产药材。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版. 北京:中国医药科技出版社,2020:51.
- [2] 赵二劳,王桂林,杨宇,等. 马齿苋黄酮提取及其生物活性研究进展[J]. 中国野生植物资源,2022,41(1):52-56.
- [3] 刘维,邓家侵,刘俊峰. 陈达灿教授治疗皮炎湿疹类皮肤病用药特色探析[J]. 中国中西医结合皮肤性病学期杂志,2022,21(4):364-367.
- [4] 侯金丽,王萍,张彦琼,等. 基于数据挖掘和整合药理学的马齿苋治疗糖尿病的处方发现及分子机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(24):1-10.
- [5] 李海涛,葛翎,段国梅,等. 马齿苋的化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国野生植物资源,2020,39(6):43-47.
- [6] 陈莉萍,何宇新,王雪,等. 不同产地鲜马齿苋HPLC指纹图谱比较研究[J]. 时珍国医国药,2020,31(4):878-880.
- [7] 吴波,张伶俐,陈醒,等. 阿魏酸调控心肌肥厚的作用机制[J]. 亚太传统医药,2022,18(8):180-185.
- [8] 侯金佐,赵蕊,刘玉鹏,等. 马齿苋黄酮类化合物的提取及活性研究综述[J]. 安徽农学通报,2019,25(1):30-33.
- [9] 王鑫,吴巧敏,汤雨潇,等. 基于数据挖掘的马齿苋治疗非酒精性脂肪肝机制研究[J]. 中华全科医学,2021,19(6):950-953.
- [10] 梁艳妮,李若岚,唐志书,等. 响应曲面法优化马齿苋中总生物碱的提取工艺[J]. 中国现代中药,2019,21(3):342-346,364.
- [11] 祝坤赞,周成美,任鑫,等. 一测多评法同时测定蟾皮中7种蟾毒内酯[J]. 中成药,2022,44(7):2197-2201.
- [12] 陈欢,马玲,苏晓娟,等. 枸杞子中4种类胡萝卜素成分含量测定一测多评法的建立[J]. 中国药房,2022,33(8):957-961.
- [13] 王韵旨,郭丽,吴作敏,等. 基于指纹图谱及化学模式识别的归芪通脉合剂质量评价[J]. 中国药房,2022,33(20):2503-2507.
- [14] 陈卜涛,张特利,高晗,等. 马齿苋标准汤剂特征图谱研究[J]. 海峡药学,2022,34(7):26-30.
- [15] 朱庆书,耿逸婉,肖薇,等. 加压提取马齿苋抗氧化成分工艺优化[J]. 青岛科技大学学报(自然科学版),2021,42(4):27-33.

(收稿日期:2022-10-22 修回日期:2023-04-13)

(编辑:胡晓霖)