

UPLC-MS/MS 同时测定青钱柳中 6 种黄酮类成分

陈张金^{1,2}, 余华丽^{2*}, 毛菊华², 范蕾², 王伟影^{1,2} (1.浙江中医药大学, 杭州 310053; 2.丽水市质量检验检测研究院, 浙江 丽水 323000)

摘要: 目的 建立 UPLC-MS/MS 同时测定青钱柳中芦丁、金丝桃苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖醛酸苷、异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素 6 种黄酮类成分的分析方法。方法 超高效液相法采用色谱柱为 Agilent ZORBAX RRHD SB-C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液, 梯度洗脱, 流速为 0.3 mL·min⁻¹, 柱温 40 °C, 进样量为 1 μL; 质谱法采用三重四级杆质谱, 电喷雾离子源、负离子模式(ESI⁻), 通过多重反应监测同时对青钱柳中 6 种黄酮类成分进行定量分析。结果 测定青钱柳中 6 种黄酮类成分芦丁、金丝桃苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖醛酸苷、异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素的线性范围分别为 0.002~0.24 μg·mL⁻¹($R^2=0.999\ 4$), 0.049~4.91 μg·mL⁻¹($R^2=0.999\ 5$), 0.504~50.37 μg·mL⁻¹($R^2=0.999\ 4$), 0.051~5.12 μg·mL⁻¹($R^2=0.999\ 4$), 0.005~0.52 μg·mL⁻¹($R^2=0.999\ 8$), 0.052~5.17 μg·mL⁻¹($R^2=0.999\ 9$), 平均回收率分别为 96.1%, 98.4%, 98.5%, 97.3%, 96.7%, 96.5%, RSD 分别为 1.78%, 1.22%, 1.91%, 1.08%, 1.21%, 1.29%; 16 批青钱柳样品中 6 种黄酮的含量分别为 0.019 8~0.253 7, 0.923 5~15.568 0, 12.987 8~130.510 9, 0.122 9~12.101 1, 0.007 4~0.573 9, 0.387 7~12.456 7 mg·g⁻¹, 其中槲皮素-3-*O*-葡萄糖醛酸苷的含量最高, 约占总量的 78%。结论 所建立的分析方法简单、快速、灵敏度高、专属性好, 可应用于青钱柳中黄酮类成分的含量测定及质量控制。

关键词: 青钱柳; 异槲皮苷; 槲皮素-3-*O*-葡萄糖醛酸苷; 黄酮; 液质联用法

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2021)02-0201-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.02.013

引用本文: 陈张金, 余华丽, 毛菊华, 等. UPLC-MS/MS 同时测定青钱柳中 6 种黄酮类成分[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(2): 201-206.

Simultaneous Determination of Six Flavonoids in *Cyclocarya paliurus* by UPLC-MS/MS

CHEN Zhangjin^{1,2}, YU Huali^{2*}, MAO Juhua², FAN Lei², WANG Weiyong^{1,2} (1.Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2.Lishui Institute for Quality Inspection and Testing, Lishui 323000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop an UPLC-MS/MS method for simultaneously determination of six flavonoids(rutin, hyperoside, quercetin-3-*O*-glucuronide, isoquercitrin, quercitrin, quercetin) in *Cyclocarya paliurus*. **METHODS** The UPLC method was performed on an Agilent ZORBAX RRHD SB-C₁₈ column(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) with a gradient elution of acetonitrile and 0.1% formic acid in water at a flow rate of 0.3 mL·min⁻¹, the column temperature was 40 °C, and the injection volume was 1 μL; mass spectrometry used the triple quadrupole mass spectrometry, electrospray ionization source, negative mode(ESI⁻) and the multiple reaction monitoring mode was employed for the quantitative analysis of six flavonoids. **RESULTS** The linear ranges of rutin, hyperoside, quercetin-3-*O*-glucuronide, isoquercitrin, quercitrin and quercetin were 0.002–0.24 μg·mL⁻¹($R^2=0.999\ 4$), 0.049–4.91 μg·mL⁻¹($R^2=0.999\ 5$), 0.504–50.37 μg·mL⁻¹($R^2=0.999\ 4$), 0.051–5.12 μg·mL⁻¹($R^2=0.999\ 4$), 0.005–0.52 μg·mL⁻¹($R^2=0.999\ 8$), 0.052–5.17 μg·mL⁻¹($R^2=0.999\ 9$); the average recoveries were 96.1%, 98.4%, 98.5%, 97.3%, 96.7%, 96.5%, respectively. The RSDs were 1.78%, 1.22%, 1.91%, 1.08%, 1.21%, 1.29%, respectively. The content of six flavonoids in 16 batches were 0.019 8–0.253 7, 0.923 5–15.568 0, 12.987 8–130.510 9, 0.122 9–12.101 1, 0.007 4–0.573 9, 0.387 7–12.456 7 mg·g⁻¹, respectively, and the content of quercetin-3-*O*-glucuronide was the highest, which accounted for about 78% of the total amount. **CONCLUSION** The developed method is simple, rapid, sensitive and specific, which can be used for the determination of flavonoids and the quality control of *Cyclocarya paliurus*.

KEYWORDS: *Cyclocarya paliurus*; isoquercitrin; quercetin-3-*O*-glucuronide; flavonoids; UPLC-MS/MS

青钱柳 *Cyclocarya paliurus*(Batal.) Iljinsk.为胡桃科青钱柳属植物^[1], 因其果实像古代的铜钱又名摇钱树, 是国家重点保护的濒危植物之一, 为中国特有品种。青钱柳具有降血压、降血糖^[2]、

降血脂、抗氧化^[3]、抗衰老、增强机体免疫力等药理作用, 在民间采用其嫩叶制作保健茶已有悠久的历史。

青钱柳化学成分复杂多样, 主要活性成分为

基金项目: 丽水市科技计划项目(2017GYX47)

作者简介: 陈张金, 男, 助理工程师 Tel: (0578)2183956
Tel: (0578)2185211 E-mail: 516739410@qq.com

E-mail: jackson2010@126.com

*通信作者: 余华丽, 女, 副主任中医师

黄酮、三萜^[4]、甾体、多糖^[5]等,其中黄酮类化合物以黄酮醇及其苷类为主,苷元以槲皮素和山柰酚^[6]为主。黄酮类化合物结构类型复杂多样,具有较强的药理活性。目前,青钱柳黄酮类成分的含量测定主要采用高效液相(紫外)色谱法^[7-8]。由于黄酮类成分的母核相似,紫外吸收光谱极为相似,加上某些结构相似的黄酮类成分在液相色谱上的保留时间也较接近,故采用 HPLC 测定青钱柳中黄酮类成分存在化合物定位错误和含量测定结果错误的现象。

超高效液相色谱-质谱联用技术具有分析速度快、检测灵敏度高、抗干扰能力强等特点,能有效提高检测的准确性,为天然药的多组分快速分析提供有力的技术支持^[9]。本研究选取母核均为槲皮素的 6 种黄酮类活性成分:芦丁、金丝桃苷、槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷、异槲皮苷^[10]、槲皮苷、槲皮素,建立了 UPLC-MS/MS 分析方法。该方法简单、快速、专属性好、方法学准确,对研究青钱柳的活性成分具有重要意义,有助于青钱柳质量标准的建立,也为进一步探究青钱柳的药理作用和应用提供科学依据。

1 仪器与试剂

1290-6470 液质联用仪、1260-DAD 高效液相色谱仪(美国 Agilent); XS105DU 型电子天平(瑞士梅特勒公司); DL-360D 超声仪(上海之信仪器有限公司)。

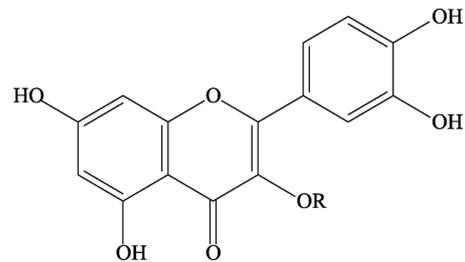
对照品芦丁(批号: 100080-200707; 含量: 92.5%)、金丝桃苷(批号: 111521-201507; 含量: 94.3%)、异槲皮苷(批号: 111809-201102; 含量: 95.6%)、槲皮苷(批号: 111538-200504; 含量: 96.5%)、槲皮素(批号: 100081-200707; 含量: 96.5%)均购自中国食品药品检定研究院; 槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷(成都瑞思生物科技有限公司, 批号: H-056-160929; 含量: 98.0%); 6 种黄酮类成分化学结构见图 1。乙腈为色谱纯(默克); 水为 Milli-Q 制超纯水, 其余试剂均为分析纯。

16 批样品均为 2018 年收集,经丽水市质量检验检测研究院李水福主任中药师鉴定,均为青钱柳,见表 1。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液制备 精密称取芦丁、金丝桃苷、槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷、异槲皮苷、槲皮



R=葡萄糖醛酸 槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷
R=半乳糖 金丝桃苷
R=葡萄糖 异槲皮苷
R=鼠李糖 槲皮苷
R=芸香糖 芦丁
R=H 槲皮素

图 1 6 种黄酮类成分的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of six flavonoids

表 1 青钱柳样品

Tab. 1 Source of *Cyclocarya paliurus*

序号	采集(产)地	批号	水分/%
1	浙江遂昌	201807	9.7
2	浙江遂昌	201809	11.4
3	江西修水	201607	8.9
4	江西修水	201609	6.5
5	浙江云和	201807	9.3
6	浙江云和	201809	9.1
7	浙江宁波	201804	10.6
8	浙江景宁	201807	9.2
9	湖南绥宁	201709	11.4
10	广西贵州	201709	11.1
11	湖南张家界	201807	10.3
12	湖南张家界	201804	8.6
13	贵州黔东南	201806	10.1
14	浙江武义	201807	8.4
15	浙江青田	201806	8.6
16	浙江青田	201809	9.6

注: 水分采用烘干法测定。

Note: Moisture is measured by drying method.

苷、槲皮素对照品适量,分别置 20 mL 量瓶中,加甲醇溶解至刻度,摇匀,作为 6 种对照品储备液。取上述 6 种对照品储备液适量,置同一 25 mL 量瓶中,制成含芦丁 $0.24 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、金丝桃苷 $4.91 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷 $50.37 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、异槲皮苷 $5.12 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、槲皮苷 $0.52 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、槲皮素 $5.17 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取青钱柳样品粗粉(过三号筛)约 0.2 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 50 mL,称定重量,冷浸 1 h,超声处理(功率 300 W,频率 40 kHz) 30 min,放冷,再称定重量,用 70% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密

量取续滤液 1 mL 置 20 mL 量瓶中, 摇匀, 过 0.22 μm 滤膜, 即得。

2.2 色谱条件

2.2.1 HPLC 色谱条件 色谱柱为 ZORBAX SB-C₁₈(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B), 梯度洗脱: 0~15 min, 15% \rightarrow 35%A; 15~50 min, 35% \rightarrow 85%A, 流速为 1.0 mL \cdot min⁻¹, 检测波长 360 nm, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 进样量为 10 μL 。色谱图见图 2。

2.2.2 UPLC 色谱条件 色谱柱为 Agilent ZORBAX RRHD SB-C₁₈ (2.1 mm \times 100 mm, 1.8 μm), 流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B), 梯度洗脱: 0~5 min, 10% \rightarrow 18%A; 5~12 min, 18% \rightarrow 50%A, 流速为 0.3 mL \cdot min⁻¹, 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$, 进样量为 1 μL 。

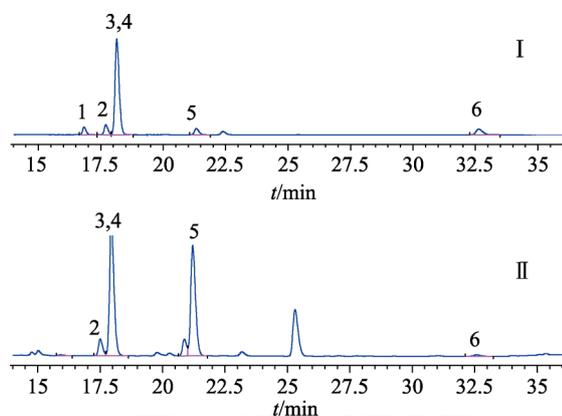


图 2 HPLC 色谱图

I-混合对照品; II-供试品; 1-芦丁; 2-金丝桃苷; 3-槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷; 4-异槲皮苷; 5-槲皮苷; 6-槲皮素。

Fig. 2 HPLC chromatogram

I-mixed reference substance; II-sample; 1-rutin; 2-hyperoside; 3-quercetin-3-O-glucuronide; 4-isoquercitrin; 5-quercitrin; 6-quercetin.

2.3 质谱条件

离子源为电喷雾电离源(ESI), 鞘气为 N₂, 鞘气温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 鞘气流速 11 L \cdot min⁻¹; 干燥气为

N₂, 温度 300 $^{\circ}\text{C}$, 流速 5 L \cdot min⁻¹; 负离子模式; 毛细管电压 3 500 V; 采取多重反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)进行定量分析。6 个化合物的质谱参数见表 2, MRM 图见图 3。

2.4 质谱线性关系考察

精密吸取混合对照品溶液各 1, 2, 2, 2, 4, 5 mL, 分别置 100, 100, 20, 10, 10, 5 mL 量瓶中, 制成系列标准曲线溶液, 按“2.2.2”和“2.3”项下 UPLC 色谱条件和质谱条件进行测定。以对照品溶液浓度(X, ng \cdot mL⁻¹)为横坐标, 以质谱响应(Y)为纵坐标进行线性回归, 6 个化合物的线性回归参数、检测限及定量限见表 3。

2.5 仪器精密度试验

取同一标准曲线溶液(含芦丁 2.4 ng \cdot mL⁻¹、金丝桃苷 49.1 ng \cdot mL⁻¹、槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷 503.7 ng \cdot mL⁻¹、异槲皮苷 51.2 ng \cdot mL⁻¹、槲皮苷 5.2 ng \cdot mL⁻¹、槲皮素 51.7 ng \cdot mL⁻¹), 按“2.2.2”和“2.3”项下 UPLC 色谱条件和质谱条件连续进样 6 次, 结果 6 个化合物质谱峰面积的 RSD 均 $<$ 2.0%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一青钱柳供试品溶液(5 号), 按“2.2.2”和“2.3”项下 UPLC 色谱条件和质谱条件, 分别在 0, 6, 10, 16, 20, 24 h 进样, 结果 6 个化合物质谱峰面积的 RSD 均 $<$ 2.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.7 重复性试验

取同一青钱柳供试品(5 号), 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液 6 份, 按“2.2.2”和“2.3”项下 UPLC 色谱条件和质谱条件进行测定, 结果说明 6 个化合物含量的 RSD 均 $<$ 2.0%, 表明方法的重复性良好。

表 2 化合物的质谱参数

Tab. 2 Mass spectrometry parameters of compounds

化合物	保留时间/min	毛细管出口电压/V	碰撞能/V	母离子 m/z	定量离子 m/z	定性离子 m/z
芦丁	6.122	220	36	609.1	300	271
金丝桃苷	6.302	165	28	463.1	300	271
槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷	6.477	140	20	477.1	301	151
异槲皮苷	6.520	155	50	463.1	271	301
槲皮苷	7.480	175	28	447.1	300	301
槲皮素	9.383	135	20	301	151	179

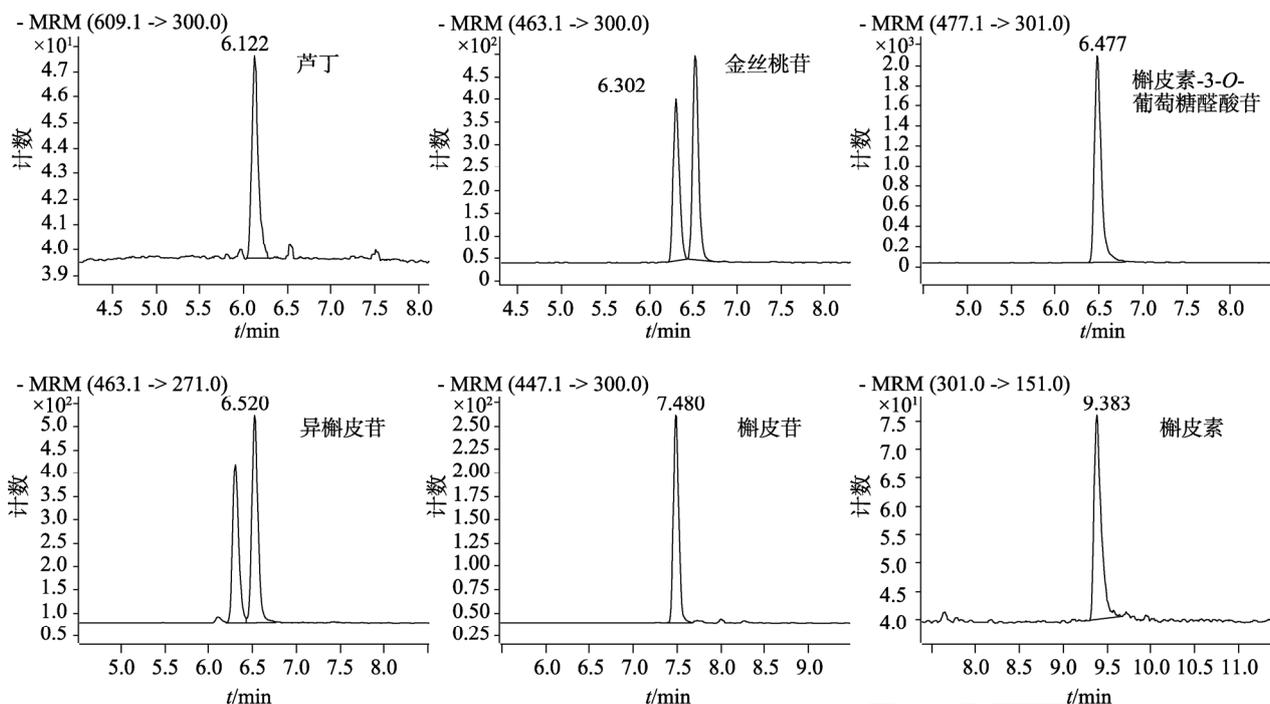


图3 供试品溶液中6种成分的MRM图
Fig. 3 MRM chromatogram of six components in the sample

2.8 加样回收率试验

精密称取同一青钱柳供试品(5号)6份,每份约0.1g,置具塞锥形瓶中,分别加入0.5mL混合对照品溶液(含芦丁 $4.76\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、金丝桃苷 $1.97\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷 $2.01\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、异槲皮苷 $1.03\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、槲皮苷 $0.51\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、槲皮素 $0.52\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$),按“2.1.2”项下制备供试品溶液,按“2.2.2”和“2.3”项下UPLC色谱条件和质谱条件进行测定,计算回收率及RSD,结果说明芦丁、金丝桃苷、槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷、异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素的平均回收率分别为96.1%,98.4%,98.5%,97.3%,96.7%,96.5%,RSD分别为1.78%,1.22%,1.91%,1.08%,1.21%,1.29%。

2.9 样品测定

按“2.1.2”项下制备供试品溶液16份,按“2.2.2”和“2.3”项下UPLC色谱条件和质谱条件进行测定,以干燥品计,样品中各成分的含量结果见表4。

3 讨论

在筛选青钱柳化学成分含量测定方法初期,参考易醒等^[11-12]文献中的液相色谱条件,采用HPLC(紫外)和液质联用(MRM)法分别测定了青钱柳中异槲皮苷的含量,发现这2种方法测得的异槲皮苷含量结果相差较大,液质联用法测得的结果远低于HPLC测得的结果。寻找这一现象的原因是笔者下一步工作的重点。采用液质联用(SCAN)法对青钱柳样品进行总离子图扫描,发现

表3 6个化合物的线性关系考察

Tab. 3 Linear relationship survey of 6 compounds

化合物	回归方程	相关系数	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	检测限/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	定量限/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$
芦丁	$Y=1.787X-5.769$	0.999 4	0.002~0.24	0.595	2.382
金丝桃苷	$Y=2.176X+4.709$	0.999 5	0.049~4.91	1.404	4.913
槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷	$Y=1.800X-346.223$	0.999 4	0.504~50.37	1.007	3.358
异槲皮苷	$Y=1.961X+93.825$	0.999 4	0.051~5.12	1.461	5.115
槲皮苷	$Y=15.255X+44.646$	0.999 8	0.005~0.52	1.308	5.230
槲皮素	$Y=0.252X+7.138$	0.999 9	0.052~5.17	1.477	5.170

表 4 16 批次样品含量测定结果(n=2)

Tab. 4 Determination of 16 batches of samples(n=2)

序号	芦丁	金丝桃苷	槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷	异槲皮苷	槲皮苷	槲皮素
1	0.029 9	6.031 6	47.698 8	7.870 2	0.415 7	4.166 7
2	0.037 0	15.568 0	53.747 4	12.101 1	0.479 0	3.529 4
3	0.026 2	1.331 4	31.061 0	0.980 2	0.194 0	2.195 8
4	0.019 8	9.867 6	52.043 7	7.161 0	0.492 4	5.145 8
5	0.031 5	9.230 3	70.182 0	5.026 1	0.532 8	0.568 3
6	0.026 9	8.552 5	40.105 2	11.765 1	0.238 1	0.638 0
7	0.041 3	4.297 1	77.497 1	2.201 6	0.010 3	1.492 5
8	0.021 0	2.552 0	46.121 6	10.618 6	0.226 9	1.810 1
9	0.141 0	4.434 6	34.637 1	5.732 2	0.321 0	12.456 7
10	0.030 9	3.023 5	34.058 0	1.805 8	0.275 0	4.430 2
11	0.036 4	12.010 7	56.009 3	10.757 6	0.500 4	2.222 5
12	0.059 5	0.923 5	12.987 8	0.122 9	0.008 7	5.928 5
13	0.144 6	2.456 9	52.129 1	5.949 6	0.063 1	9.273 2
14	0.253 7	6.397 9	130.510 9	2.244 0	0.007 4	4.019 8
15	0.029 5	1.714 6	60.603 6	1.006 6	0.217 1	0.387 7
16	0.027 6	4.700 1	67.248 4	2.605 9	0.573 9	0.550 3

在异槲皮苷保留时间处的质谱峰的分子量是 478, 而不是 464(异槲皮苷分子量), 最后确定分子量为 478 的化合物为槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷, 并且该处的色谱峰实质为槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷和异槲皮苷的混合色谱峰, 且槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷占比较大。课题组在上述液相条件基础上也进行了多方面的调整, 发现在 HPLC 色谱图中槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷和异槲皮苷的保留时间非常接近, 较难分离, 两者在色谱图上常表现为一个色谱峰, 结果见图 2。并且将二极管阵列检测器采集的槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷对照品和异槲皮苷对照品的紫外光谱图进行比对, 发现这 2 个对照品的紫外光谱图高度相似, 结果见图 4-I。由此认为用 HPLC(紫外)测得的异槲皮苷的含量实质为槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷和异槲皮苷的共同含量, 而液质联用(MRM)法仅测得了异槲皮苷的含量, 未测得槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷的含量, 这也解释了为何液质联用法测得的含量低于 HPLC 测得的含量。与槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷和异槲皮苷情况类似, 在供试品中的 5# 色谱峰也是一个混合色谱峰, 是由分子量为 462 的化合物与槲皮苷(分子量 468)混合的色谱图, 与前者不同的是, 这 2 个化合物的紫外光谱图并非高度相似, 但相似程度也较高, 均为黄酮类化合物, 结果见图 4-II。

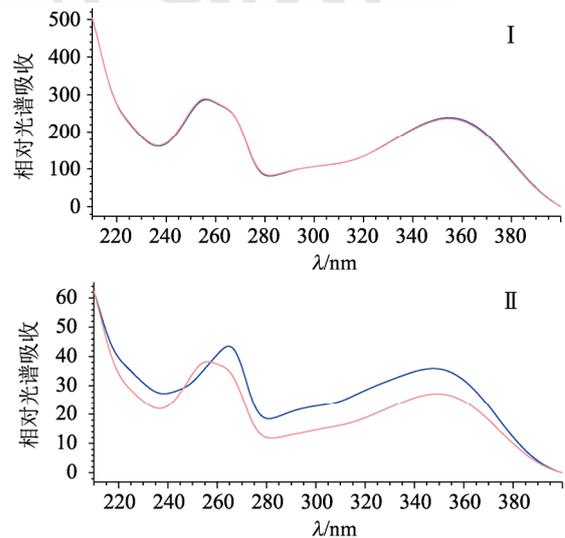


图 4 DAD 的 200~400 nm 紫外光谱对比图

I—槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷对照品与异槲皮苷对照品的紫外光谱图; II—样品中 5# 色谱峰与槲皮苷对照品的紫外光谱图。

Fig. 4 Comparison diagram of DAD UV spectrum from 200-400 nm

I—UV spectrum of quercetin-3-O-glucuronide and isoquercitrin; II—UV spectrum of peak 5# in sample and quercitrin.

综上所述, 如采用 HPLC(紫外)测定青钱柳中异槲皮苷含量, 在没有将槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷与异槲皮苷彻底分离的情况下, 该法极有可能导致定量错误^[13]。由于质谱法以化合物质荷比为依据进行响应, 即使液相保留时间相同, 质谱仪也能依据化合物的母离子与子离子的质荷比建立独立通道进行检测。相比 HPLC(紫外), 液质联用

法具有更强的专属性和更高的灵敏度。

本研究首次建立了UPLC-MS/MS分析方法^[14]测定了青钱柳中6种黄酮类成分的含量,16批青钱柳样品均检出6种黄酮类成分,结果显示槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷的含量最高,约占6种黄酮总量的77.93%,而异槲皮苷含量仅为槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷含量的十分之一,结果见图5。槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷含量在不同批次的青钱柳样品中差异明显,浙江武义采集的样品中含量最高,达130.5109 mg·g⁻¹。

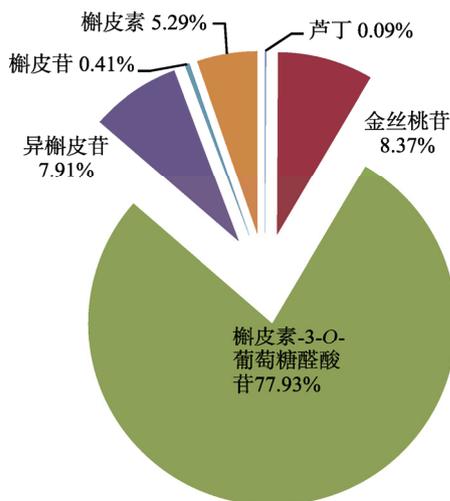


图5 6种黄酮成分比重图

Fig. 5 Distribution of the 6 flavonoids in the sample

本研究采用的UPLC-MS/MS法为青钱柳质量控制提供了一种快速、可靠的分析手段,也为青钱柳资源的开发利用提供了科学依据。

REFERENCES

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第7卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1978.
- [2] 邹荣灿. 青钱柳多糖提取工艺优化及其体外抗氧化、降血糖活性研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2018.
- [3] YUAN Z W, CHEN S J, LIN Z M, et al. Study on the optimization of extraction process of total flavonoids from

Cyclocarya paliurus and their in vitro and in vivo activity[J]. Her Med(医药导报), 2020, 39(4): 441-447.

- [4] SHU R G, LIU Y F, SHU J C, et al. Determination of triterpene in *Cyclocarya paliurus* Ilijinskaja by colorimetry[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2006, 23(5): 406-408.
 - [5] ZOU R C, WU S J, JIAO S Q, et al. Research progress of extraction, isolation, purification and bioactivities of polysaccharides from *Cyclocarya paliurus*[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(4): 603-608.
 - [6] LI H Y, ZHU H F, GENG Q X, et al. Determination of quercetin and kaempferol in *Cyclocarya paliurus* Iljin. by HPLC[J]. Pharm Clin Res(药学与临床研究), 2009, 17(4): 300-302.
 - [7] WANG R B, QIN Y D, CHEN Y, et al. Simultaneous determination of nine chemical markers of cyclocaryae folium by HPLC[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017, 29(11): 1905-1909.
 - [8] YANG W X, SHE C Q, FANG S Z, et al. Geographic variation of flavonoid compounds in *Cyclocarya paliurus* leaves[J]. J Zhejiang For Coll(浙江林学院学报), 2009, 26(4): 522-527.
 - [9] 王相, 范帅帅, 曹文利, 等. 基于液质联用技术的酸枣叶中9种成分含量的同时测定[J]. 中药材, 2018, 41(1): 144-146.
 - [10] OU X H, KUANG Y, WU X Q, et al. Chemical constituents from leaves of *Cyclocarya paliurus*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2017, 48(23): 4840-4844.
 - [11] YI X, XIE M Y, WANG Y X, et al. Determination of flavonoids in the leaves of *Cyclocarya paliurus* Ilijinsk by reversed-phase high-performance liquid chromatography[J]. J Nanchang Univ Nat Sci(南昌大学学报: 理科版), 2001, 25(2): 161-164.
 - [12] LI B, NIE Y, ZHU J F. Determination of seven flavonoids from *Lophatherum gracile* Brongn by macroporous resin and HPLC[J]. Pharm Today(今日药理学), 2019, 29(10): 684-686, 690.
 - [13] XIE M Y, WANG Y X, YI X, et al. A study on the structure and contents of flavonoids in the leaves of *Cyclocarya paliurus* Ilijinsk[J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2004, 32(8): 1053-1056.
 - [14] LI J, JIA Y B, QIU H Y, et al. Determination of eight antidepressants illegally added in tranquilizing traditional Chinese medicine and health food by UPLC-MS/MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(8): 956-960.
- 收稿日期: 2019-11-05
(本文责编: 曹粤锋)