

金莲花化学成分 HPLC-MS 表征分析与鉴定

黄睿¹, 张贵君^{1*}, 潘艳丽², 崔湖荣³, 赵越⁴

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102

2. 中国中医科学院, 北京 100700

3. 韩国庆熙大学, 韩国 首尔 130-701

4. 广东药学院中药学院, 广东 广州 510006

摘要: 目的 探讨金莲花 *Trollius chinensis* 成分的化学表征, 为完善其质量标准和鉴定特征提供科学依据。方法 采取 HPLC-MS 分析法。Hypersil ODS2 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈-0.6%磷酸水, 梯度洗脱, 体积流量为 1.2 mL/min, 检测波长为 345 nm, 离子源为 ESI(-)。结果 中药金莲花化学组分的保留时间、分子离子峰 (m/z) 和碎片信息表征明显, 重要化学成分为荭草苷 (m/z 446.7 [M-H]⁻)、牡荆苷 (m/z 430.8 [M-H]⁻) 和荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷 (m/z 608.9 [M-H]⁻) 等。结论 金莲花化学成分的 HPLC-MS 表征可以作为其鉴定特征。

关键词: 金莲花; HPLC-MS; 荭草苷; 牡荆苷; 荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)04-0670-03

Analysis and identification on characterization of chemical components in *Trollii Flos* by HPLC-MS

HUANG Rui¹, ZHANG Gui-jun¹, PAN Yan-li², CUI Hu-rong³, ZHAO Yue⁴

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China

2. China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

3. Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

4. School of Traditional Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Key words: *Trollii Flos*; HPLC-MS; orientin; vitexin; orientin-2''-O-β-L-galactopyranosylide

金莲花 *Trollius chinensis* Bunge (*Trollii Flos*) 是常用中药^[1], 《中国药典》中有金莲花润喉片、金莲清热颗粒等制剂。药理实验证明金莲花有抑菌和抗病毒活性, 临床上主要用于治疗呼吸道炎症。其化学成分主要有黄酮、有机酸、生物碱和挥发油类化合物等, 药效组分主要为荭草苷、牡荆苷和荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷等^[2-4]。采用高效液相色谱-质谱联用 (HPLC-MS) 技术, 通过高效液相的高分离能力分离样品中的化学成分, 再利用质谱进行结构鉴定, 可有效地表征其鉴定特征。采用 HPLC-MS 表征鉴定金莲花, 具有实用性和专属性强等明显特征。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪, G1315B DAD 检测器, G1312A 二元泵, G1313A 自动进样器 (美国安捷伦公司); Quattro Micro API 三重四极杆液相色谱

质谱联用仪 (美国 Waters 公司); 荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷对照品 (本实验室自提, 归一化法测定质量分数大于 98.0%), 荭草苷对照品 (购于 Alchimica, 批号 A5310-0010, 质量分数 ≥ 99.0%), 牡荆苷对照品 (批号 111687-200501)、金丝桃苷对照品 (批号 111521-200303) 购于中国药品生物制品检定所; 乙腈 (Fisher 色谱纯), 屈臣氏纯净水, 其余所用试剂均为分析纯。

金莲花样品经北京中医药大学张贵君教授采集并鉴定为金莲花 *Trollius chinensis* Bunge。样品来自 6 个地区, 分别为 JLH-1 (内蒙古阿尔山五岔沟野生品)、JLH-2 (内蒙古阿尔山 3 号沟野生品)、JLH-3 (河北承德围场野生品)、JLH-4 (黑龙江加格达奇野生品)、JLH-5 (内蒙古阿尔山五岔沟一等天野生品)、JLH-6 (宁夏栽培品)。

收稿日期: 2011-12-08

基金项目: 广东省教育部产学研结合项目 (2007B090400085)

作者简介: 黄睿 (1973—), 女, 博士生, 研究方向为中药鉴定方法学研究。E-mail: namier@sina.com

*通讯作者 张贵君 Tel: (010)84738624 E-mail: guijunzhang@163.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件

液相色谱柱 Hypersil ODS2 (250 mm×4.6 mm, 5 μm, 英国 Hypersil), 柱温为 25 °C, 以乙腈-0.6% 磷酸水 (12:88→30:70) 为流动相, 梯度洗脱时间为 70 min, 体积流量为 1.2 mL/min, 检测波长为 345 nm, 进样量 20 μL。

2.2 质谱条件

电喷雾离子化源 (ESI), 以负离子模式检测 (ESI⁻), 毛细管电压 2.5 kV, 锥孔电压 30 V, 萃取锥孔电压 3 V, 离子源温度 80 °C, 脱溶剂温度 200 °C, 雾化气体积流量 93 L/h, 脱溶剂气体积流量 526 L/h, 离子扫描范围 m/z 100~600。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取各对照品适量, 用甲醇分别制成含荭草素-2''-*O*-β-*L*-半乳糖苷 40 μg/mL、荭草苷 74 μg/mL、牡荆苷 40 μg/mL 和金丝桃苷 80 μg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 金莲花样品粉碎, 分别精密称取 50 mg 置锥形瓶中, 精密加入 60% 甲醇 5 mL, 称定质量, 超声提取 (功率 200 W, 频率 30 kHz) 60 min, 取出, 放冷, 再称定质量, 加甲醇补足损失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得。

2.4 样品测定

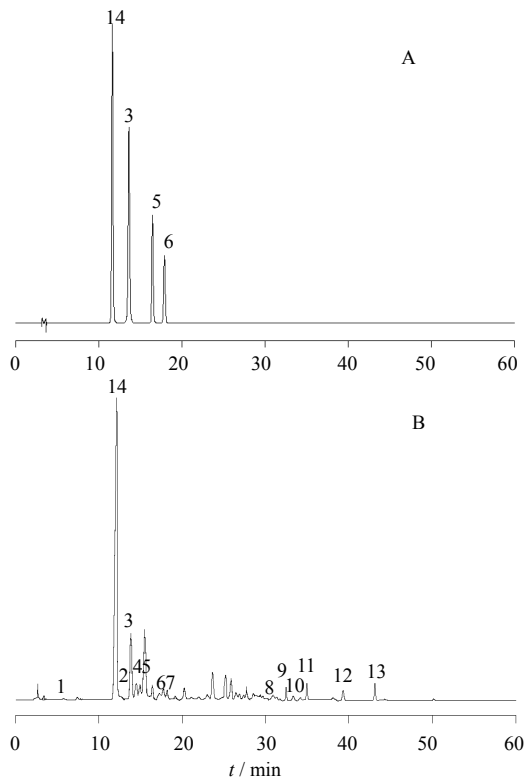
记录供试品溶液和对照品溶液的高效液相色谱图、质谱总离子流色谱图及各离子的质量色谱图。

2.5 结果

根据 ESI-MS 所测定的 $[M-H]^-$ 值和碎片信息, 结合文献, 鉴定出了金莲花药材中的 14 个化学成分。本研究同时做了荭草苷、牡荆苷和荭草素-2''-*O*-β-*L*-半乳糖苷和金丝桃苷对照品的 HPLC-MS 研究, 6 个产地的药材 HPLC 图谱中与该 4 种对照品保留时间相同的色谱峰在 MS 谱图中显示相似的离子碎片, 因此可以断定药材中含有上述 4 种黄酮类化合物。本实验选取图谱有代表性的内蒙古阿尔山 3 号沟野生品样品进行分析。对照品与金莲花药材的 HPLC 图谱见图 1, 质谱总离子流图 (TIC) 见图 2。

化合物 1: TIC 图 5.947 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 254.7 $[M-H]^-$, 510.7 $[2M]^-$, 结合文献推断可能为棕榈酸^[5], 分子式为 $C_{16}H_{32}O_2$, 相对分子质量 256.4。

化合物 2: TIC 图 12.777 min, 质量色谱图中分



14-荭草素-2''-*O*-β-*L*-半乳糖苷 3-荭草苷 5-牡荆苷 6-金丝桃苷
14-orientin-2''-*O*-β-*L*-galactoside 3-orientin 5-vitexin 6-hyperoside

图 1 对照品 (A) 与金莲花药材 (B) 的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A) and crude *Trollii Flos* (B)

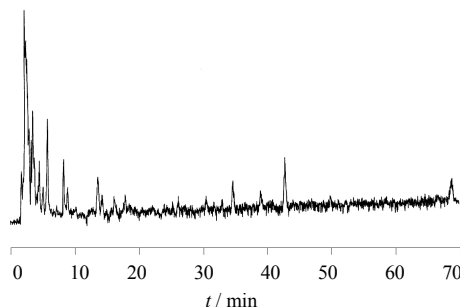


图 2 金莲花药材质谱总离子流图

Fig. 2 TIC of *Trollii Flos*

子离子峰 m/z : 578.6 $[M-H]^-$, 559.2 $[M-H_2O]^-$, 结合文献推断可能为荭草苷-2''-*O*-β-*D*-吡喃木糖苷^[6], 分子式为 $C_{26}H_{28}O_{15}$, 相对分子质量 580。

化合物 3: TIC 图 13.791 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 446.7 $[M-H]^-$, 结合文献和荭草苷对照品推断为荭草苷^[7], 分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$, 相对分子质量 448.38。

化合物 4: TIC 图 14.405 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 594.6 $[M-H]^-$, 结合文献推断可能为

2''-O-(3''', 4'''-二甲氧基苯甲酰) 牡荆苷^[8], 分子式为 $C_{30}H_{28}O_{13}$, 相对分子质量 596。

化合物 5: TIC 图 16.299 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 430.8 $[M-H]^-$, 结合文献和牡荆苷对照品推断为牡荆苷^[5], 分子式为 $C_{21}H_{20}O_{10}$, 相对分子质量 432.38。

化合物 6: TIC 图 18.086 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 462.8 $[M-H]^-$, 结合文献和金丝桃苷对照品推断为金丝桃苷^[9], 分子式为 $C_{21}H_{20}O_{12}$, 相对分子质量 464.38。

化合物 7: TIC 图 18.941 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 445.0 $[M-H]^-$, 结合文献推断可能为异当药苷^[8,10], 分子式为 $C_{22}H_{22}O_{10}$, 相对分子质量 446。

化合物 8: TIC 图 30.729 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 531.3 $[M-H]^-$, 498.6 $[M-H_2O-CH_3]^-$, 473.7 $[M-C_4H_9]^-$, 结合文献推断可能为 2''-O-(2'''-甲基丁酰基) 荭草苷^[8], 分子式为 $C_{26}H_{28}O_{12}$, 相对分子质量 532。

化合物 9: TIC 图 32.409 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 590.5 $[M-H]^-$, 结合文献推断可能为刺槐素-7-O-新橙皮糖苷^[11], 分子式为 $C_{28}H_{32}O_{14}$, 相对分子质量 592。

化合物 10: TIC 图 33.292 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 595.1 $[M-H]^-$, 577.5 $[M-H_2O]^-$, 564.6 $[M-CH_2OH]^-$, 结合文献推断可能为槲皮素-3-O-桑布双糖苷或是槲皮素-3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖(1'''-2'')- β -D-葡萄糖苷, 二者为同分异构体^[12], 分子式为 $C_{26}H_{28}O_{16}$, 相对分子质量 596。

化合物 11: TIC 图 34.970 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 514.9 $[M-H]^-$, 结合文献推断可能为 2''-O-(2'''-甲基丁酰基) 牡荆苷^[8], 分子式为 $C_{26}H_{28}O_{11}$, 相对分子质量 516。

化合物 12: TIC 图 39.291 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 545.0 $[M-H]^-$, 结合文献推断可能为 7-甲氧基-2''-O-(2'''-甲基丁酰基) 荭草苷^[13], 分子式为 $C_{27}H_{30}O_{12}$, 相对分子质量 546。

化合物 13: TIC 图 43.132 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 529.0 $[M-H]^-$, 结合文献推断可能为 2''-O-(2'''-甲基丁酰基) 异当药黄素或 3''-O-(2'''-甲基丁酰基) 异当药黄素^[8], 分子式为 $C_{27}H_{30}O_{11}$, 相对分子质量 530。

化合物 14: TIC 图 11.927 min, 质量色谱图中分子离子峰 m/z : 608.9 $[M-H]^-$, 结合文献和荭草素-

2''-O- β -L-半乳糖苷对照品推断为荭草素-2''-O- β -L-半乳糖苷^[8], 分子式为 $C_{27}H_{30}O_{16}$, 相对分子质量 610。

3 讨论

本研究检测了 6 批不同产地的金莲花药材, HPLC 图谱和 MS 图谱显示各批药材在峰的数目和保留时间上基本相同, 只是峰强度有所差异, 这可能与药材产地不同地理环境或药材的贮藏年限有关, 随着贮藏期的延长, 有些成分的质量分数会发生变化。

本研究建立了金莲花药材的 HPLC-MS 表征分析方法, 可有效反映其化学成分特征, 为金莲花药材的鉴别分析和质量标准的建立提供依据。

参考文献

- [1] 卫生部药品标准: 蒙药分册 [S]. 1998.
- [2] 杨晶凡, 张贵君, 张春晖, 等. 金莲花不同煎煮方法水提取液中 4 种药效组分含量和比例的测定 [J]. 中国现代中药, 2009, 4(11): 32-34, 42.
- [3] 杨晶凡, 张春晖, 韩茹, 等. 不同储存期金莲花中 4 种药效组分的测定 [J]. 中国现代中药, 2009, 11(1): 16-18.
- [4] 杨晶凡. 中药金莲花药效组分及质量评价研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2009.
- [5] 康少文, 于永芳, 王沛. 金莲花化学成分的研究 [J]. 承德医学院学报, 1984, 1: 1-4.
- [6] 刘丽娟, 王秀坤, 匡海学. 长瓣金莲花茎叶化学成分的研究 [J]. 药学报, 1992, 27(11): 837-840.
- [7] Sanchez-Rabaneda F, Jauregui O, Casals I, et al. Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*) [J]. *J Mass Spectrom*, 2003, 38(1): 35-42.
- [8] 邹建华. 天葵及短瓣金莲花的化学成分研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 中国医学科学院, 2004.
- [9] Sun J P, Liang F, Bin Y, et al. Screening non-colored phenolics in red wines using liquid chromatography/ultraviolet and mass spectrometry/mass spectrometry libraries [J]. *Molecules*, 2007, 12(3): 679-693.
- [10] Greca M D, Ferrara M, Fiorentino A, et al. Antialgal compounds from *Zantedeschia aethiopica* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(5): 1299-1304.
- [11] Khafagy S M, Sabri N N, El-Salam N A, et al. Isolation of sesamin-like compound and acacetin 7-O-neohe-speridoside from *Otanthus maritimus* [J]. *Planta Med*, 1979, 35(2): 186-187.
- [12] Mabry T J, Markham K P, Thomas M B. *The Systematic Identification of Flavonoids* [M]. New York: Springer-Verlag, 1970.
- [13] Wu X A, Zhao Y M, Yu N J. Flavone c-glycosides from *Trollius ledebouri* reichb [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2006, 8(6): 541-544.