

LC-MS联用法在蓼科中药材中的应用进展^Δ

吴丹*, 杨继章#, 张辰辰(河北医科大学第一医院, 石家庄 050031)

中图分类号 R282.71;R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)23-2179-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.23.26

摘要 目的:为蓼科植物的开发研究提供参考。方法:采用文献综述法,描述LC-MS联用法在具有代表性的蓼科中药材大黄、何首乌、虎杖等中的应用进展。结果:采用GC-MS联用法,目前仅对5种蓼科中药材进行了化学成分鉴定,并对其中3种进行了化学成分的含量测定及药动学研究。结论:LC-MS联用法在蓼科中药材的化学成分鉴定分析、主要成分的含量测定以及药动学方面显示出独特的优势,具有广阔的应用前景。

关键词 中药材;蓼科;化学成分;含量;药动学;液相色谱-质谱联用法

蓼科(Polygonaceae)植物作为药用大科,分布广泛,种类繁多,仅我国就有15属200余种,其中属中药材的有120种。该科重要的中药材有大黄、何首乌、虎杖,此外还有红蓼蒿藜、蓼蓝、羊蹄、巴天酸模、野芥麦等。该科中药材中多含蒽醌类、黄酮类、鞣质及芪类化合物^[1]。基于近年来液相色谱-质谱(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)联用法以其高分离效能、高灵敏度及高选择性,被愈来愈多地应用于药物研究领域。本文就LC-MS联用法在蓼科中药材化学成分、含量测定以及药动学方面的应用作一综述,旨为该科中药材的开发研究提供参考。

1 LC-MS联用法在蓼科中药材化学成分中的应用

大黄是蓼科植物大黄的干燥根及根茎,主要用于泻下攻积,清热泻火,凉血解毒,逐瘀通经,利湿退黄。其主要的活性成分为蒽醌类化合物,包括大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚、芦荟大黄素等。Lin CC等^[2]采用高效液相-紫外-质谱(HPLC-UV-MS)联用法检测评估了大黄提取物中19种组分(蒽醌类、蒽酮类、芪类、没食子酰苷类以及没食子酸)。徐文等^[3]采用液相色谱-二极管阵列-离子阱质谱(HPLC-DAD-MS)联用法鉴定出中药大黄中的14个化学成分,分别为:大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、大黄酸、芦荟大黄素、没食子酸、大黄素-8-O-葡萄糖苷、大黄酚-8-O-葡萄糖苷、大黄素-8-O-(6-O-丙二酰)-葡萄糖苷、大黄酸-1-O-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-O-葡萄糖苷、白黎芦醇、虎杖苷及决明酮-8-O-葡萄糖苷。张依倩等^[4]以道地产区的大黄药材为研究样本,建立了20批来自四川、青海、甘肃地区的大黄药材的高效液相指纹图谱,从中确立了15个共有峰。并通过HPLC-DAD-MS联用法对其中30个特征峰进行归属分类,将其分为没食子酸及其糖苷类、鞣质类、二苯乙烯苷类、苯丁酮类、蒽醌苷类、番泻苷类和游离蒽醌类7类成分。Ye M等^[5]采用高效液相-电喷雾质谱(HPLC-ESI-MS)联用法比较不同种类的大黄的成分,发现药用大黄中存在的酚类化合

物与掌叶大黄和唐古特大黄有所不同,番泻苷类和大黄酸仅能在药用大黄中检测到,而番泻苷类中起主要泻下作用的番泻苷A的异构体却能在掌叶大黄和唐古特大黄中检测到。除此之外,药用大黄中存在的蒽醌糖苷类化合物主要为大黄酸-8-O-葡萄糖苷和大黄酚-1-O-葡萄糖苷,而其他两种大黄中存在的蒽醌糖苷类化合物主要为大黄酸-1-O-葡萄糖苷和大黄酚-8-O-葡萄糖苷。除此之外,药用大黄中存在的蒽醌糖苷类化合物主要为大黄酸-1-O-葡萄糖苷和大黄酚-8-O-葡萄糖苷。许风国等^[6]分析中药经典方剂大承气汤及其君药大黄水提液化学成分间的相关性,从大承气汤中发现源于其君药大黄的有75个成分,经与标准品比对可确定其中9个成分,利用提取离子流法并结合质谱裂解规律,可初步推测其中22个成分的结构,主要为鞣质类、芪类、番泻苷类和蒽醌类成分,这些成分组合代表了大黄的药效物质基础。

何首乌为蓼科植物何首乌的干燥块根,可解毒,消痈,截疟,润肠通便。经炮制后的制首乌具有补肝肾、益精血、乌须发、强筋骨等功效,补益作用更加突出。孙晋苓等^[7]在对何首乌中糖苷类化合物的研究中采用液相色谱-离子阱质谱联用法分离出12种主要成分,鉴定出9种糖苷的化学结构,并首次鉴定出顺式-2,3,5,4'-四羟基二苯乙炔-2-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、决明酮-8-O-(6'-O-乙酰基)-β-D-吡喃葡萄糖苷和大黄素甲醚-8-O-(6'-O-乙酰基)-β-D-吡喃葡萄糖苷。

虎杖是蓼科植物虎杖的干燥根及根茎,主要用于利湿退黄,清热解毒,散瘀止痛,止咳化痰。其化学成分主要为游离蒽醌及苷类成分。于澎等^[8]用复合酶法提取虎杖得到提取物,采用HPLC-ESI-MS联用法,并结合紫外光谱和核磁共振法检测了其中17个化学成分,分别为芦丁、大黄酚、6-OH-大黄素、大黄素、金丝桃苷、异槲皮素、三叶豆苷、紫云英苷、何首乌乙素、大黄酚、大黄素-8-葡萄糖苷、新芒果苷、芒果苷、槲皮素、山奈酚、13-II8双芹菜苷元和芹菜素。其中,新芒果苷和芒果苷均是首次在虎杖中发现,显示出了LC-MS联用法的高分离效能和高灵敏度。

葶苈草是蓼科植物红蓼的全草,用于风湿痹痛,脚气水肿,痈肿恶疮,疟疾。黄勇等^[9]采用超高效液相色谱-电喷雾质谱(UPLC-PDA-ESI/MS)联用法分析葶苈草中的化学成分,共得到14个色谱峰,鉴定出1个酚酸类成分(原儿茶酸)和11个黄酮类成分(儿茶素、异葶苈草素、葶苈草素、花旗松素、牡荆素、异牡荆

^Δ基金项目:河北省中医药管理局科研计划课题资助项目(No. 2013007)

* 硕士研究生。研究方向:药剂学。电话:0311-85917352, E-mail:1066912424@qq.com

通信作者:主任药师,教授,硕士研究生导师。研究方向:药物新剂型、药物稳定性。电话:0311-85917352。E-mail:yjzh1957@163.com

素、木犀草苷、槲皮苷、山柰酚-3-*O*-葡萄糖苷、山柰酚-3-*O*-鼠李糖苷、槲皮素)。Liao SG等^[10]从红蓼中提取出黄酮类浓缩物,给予h9c2细胞,对细胞提取物进行UPLC-PDA-ESI/MS分析,从细胞提取物中筛选出40种化合物,确定了包括10个黄酮C-苷类化合物和6个黄酮O-苷类化合物在内的23种潜在活性酚类物质。其中3个是新化合物,另外9个化合物是第一次在这种植物中被确定。

荞麦为蓼科植物荞麦的种子,用于绞肠痧,肠胃积滞,泄泻痢疾,脓肿疮丹,水火烫伤,咳嗽气逆。Ren Q等^[11]采用高效液相色谱-光电二极管阵列检测/线性离子阱串联质谱-傅里叶变换-离子回旋共振检测的方法,鉴定出苦荞中36个化合物,并确定了其中11个化合物的结构。第一次从苦荞麦中分离出了1,3,6,6'-四阿魏蔗糖、3,6-二-对-香豆素-1,6-二阿魏蔗糖、1,6,6'-三阿魏-3-对-香豆素蔗糖、*N*-反式-阿魏酰酪胺和槲皮素-3-*O*-[β -*D*-二甲苯氧基-(1 \rightarrow 2)- α -*L*-鼠李糖苷],其中1,3,6,6'-四阿魏酸苷是一种新的苯丙醇苷,被命名为taroside。Watanabe M^[12]研究发现,荞麦芽苗中主要花青素化合物为花青素3-*O*-芸香糖苷(C3R)。在下胚轴处,C3R和芦丁较丰富,而黄酮类化合物则在子叶中含量较高。研究还发现,荞麦芽苗提取物中芦丁、异荜草素、荜草素对超氧阴离子自由基清除活动起主要作用。相比之下,C3R的作用却大大低于黄酮类化合物。Koyama M等^[13]调查发现,荞麦芽苗经乳酸发酵能够产生新的高度有效的降血压肽,用HPLC-MS/MS联用法以及Edman降解确定了其中6个(DVWY、FDART、FQ、VAE、VVG和WTFR),同时还能够增加 γ -氨基丁酸和酪氨酸的活性。

2 LC-MS联用法在蓼科中药材含量测定中的应用

在临床上,为减轻中药大黄的副作用和提高疗效,常将其进行炮制。孙慧等^[14]采用反相HPLC-DAD-MS联用法,对大黄炮制前后主要成分含量变化进行比较发现,经炮制后,大黄中大分子鞣质含量减小,多糖含量增加;生大黄与熟大黄的化学成分的种类和含量最为接近;而无论何种炮制方式,只有大黄素甲醚含量相对稳定,其余成分含量均有所下降,以番泻苷A为代表的二蒽酮类含量下降尤为显著。

王玉等^[15]采用HPLC-MS联用法对首乌丸中5种蒽醌类物质水解前、后的含量进行测定。结果显示,大黄酸、芦荟大黄素、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚分别在0.18~56.6、0.016~10.03、0.024~14.94、0.18~11.33、0.011~6.85 ng范围内线性良好,水解前平均回收率分别为108.5%、98.67%、100.2%、99.73%、105.4%;水解后平均回收率分别为99.67%、99.21%、98.94%、98.32%、96.10%。Zhang F等^[16]采用HPLC-UV-MS联用法分析何首乌中的大黄素、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷和2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(TSG)。结果表明,游离型和结合型蒽醌以及TSG含量受炮制时间和炮制方法的影响,炮制时间越长,含量越低。调查还发现,何首乌根中含有大量TSG,生首乌中TSG含量高于制首乌中TSG含量;何首乌中大黄素含量相对较高,最高含量可达1.8 mg/g。Liang ZT等^[17]使用荧光显微和HPLC-MS联用法分析何首

乌块根组织的化学成分。结果表明,块根的不同组织所显示荧光特性不同,制首乌与生首乌所显示的荧光特性也不相同。HPLC-MS联用法分析结果显示,蒽醌类化合物主要分布在皮层,而TSG在何首乌块根的所有组织中均有分布,且它的相对含量高低为木栓层>皮层>异型维管束木质部>中央维管束木质部。从结果推断,横断面皮层发达、维管束较少的何首乌质量相对较好。

Yi T等^[18]用HPLC-ESI-MS联用法鉴定了虎杖中包括二苯乙烯、二苯乙烯苷、蒽醌和蒽醌苷在内的9种成分,并用HPLC-PAD联用法对其中7种成分进行了定量分析,最终选定白藜芦醇、白藜芦醇苷、大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷和大黄素作为虎杖质量评估参考指标。白藜芦醇是中药虎杖的活性成分之一。曾里等^[19]用超声波辅助提取虎杖中的白藜芦醇,用HPLC-MS分析提取物并比较其化学成分。分析结果显示,占空比对提取物的含量有一定影响:占空比为1:1,超声时间为10 min,白藜芦醇提取物的质谱图杂质峰比占空比为1:2,超声时间为15 min的提取物杂质峰多且高,而且在 m/z 为242、225.5、211、207的杂质峰均表现一定的丰度。

3 LC-MS联用法在蓼科中药材成分药动学中的应用

祝晨葆等^[20]以大黄酸为指标,将大鼠灌胃给予掌叶大黄提取物后,采用HPLC-MS联用法测定血浆中大黄酸的含量变化。数据显示,大黄酸在体内的分布时间为6 h,给药后0.5 h达到峰值,并在给药后0.25~1.5 h内维持较高的血药浓度。

大鼠单剂灌胃20 mg/kg虎杖提取物,白藜芦醇以及代谢物白藜芦醇葡萄糖苷酸和白藜芦醇单硫酸酯主要分布在胃、十二指肠、肝、肾。绝大部分白藜芦醇在24 h内代谢排出体外,仅有0.59%和0.027%的剂量以原形从尿和胆汁排出^[21]。

黄勇等^[22]采用UPLC-MS/MS联用法对大鼠血浆中荜草素、牡荆素和槲皮苷3种黄酮成分的检测结果显示,这3种成分在大鼠体内的分布和消除半衰期很短,在体内平均滞留时间在21 min以内,血药浓度在大鼠体内都呈现特征性的三室动力学特征。大鼠静脉注射荜草提取物后,荜草素、牡荆素、木犀草苷和槲皮苷4种成分在体内分布迅速,清除较快,体内无蓄积,并且在心、肝、脾、肺、肾脏等9种组织器官中均有分布,在脑中分布最少。荜草素、牡荆素和槲皮苷主要分布在肾脏中,而木犀草苷对肺和肝表现出较强的亲和力^[23]。

4 结语

LC-MS联用法是一项20世纪90年代发展起来的集快速、准确、专属性强为一体的综合分析方法,高效液相色谱的高分离效能与质谱的高灵敏度、高选择性相结合,使之在中药材研究中具有不可替代的地位,现已成为一种常规的应用法。该法主要应用于中药材化学成分的鉴定分析、有效成分含量测定、药物代谢研究、中成药和保健品中非法添加化学药物成分的鉴定分析以及药物残留分析等方面。该法与气相色谱-质谱联用法相比较,气相色谱-质谱联用法只适用于分析一些小分子、易挥发、热稳定、能气化的化合物,而LC-MS联用法的应用

范围相对广泛,对于不挥发性、极性、热不稳定性以及大分子量化合物(包括蛋白、多肽、多聚物等)同样适用。但是,LC-MS联用法尚未达到像气相色谱-质谱联用法那样有商品化的可对比查询谱库,只能自己建库或自己解析谱图。

综上所述,在蓼科中药材的研究过程中,LC-MS联用法主要是用于化学成分的鉴定分析、含量测定以及药动学研究,特别是文中提到的采用LC-MS联用法首次从何首乌中鉴定出3个、从虎杖中鉴定出2个、从苈草中鉴定出9个、从荞麦中鉴定出5个化学成分,并且从苈草中发现了3种新的酚类物质,从荞麦中发现了1种新的苯丙醇苷,充分显示出了该联用法的先进性、优越性和科学性。蓼科植物作为药用大科,目前仅大黄、何首乌、虎杖、苈草以及荞麦有关于LC-MS联用法方面的研究,并且荞麦更多的是作为食用研究,其他大多有较好民间药用背景的蓼科植物尚无相关资料,而随着药用植物化学成分研究的不断深入以及LC-MS联用法的进一步普及,相信蓼科中药材中会有更多的化学成分被发现,LC-MS联用法在蓼科植物的应用会更加广泛,蓼科在中药材中的作用会更加凸显。

参考文献

[1] 巩忠福,杨国林,严作廷,等.蓼属植物的化学成分与药理学活性研究进展[J].中草药,2003,33(1):82.

[2] Lin CC, Wu CI, Lin TC, *et al.* Determination of 19 rhu-barb constituents by high-performance liquid chromatography-ultraviolet-mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2006, 29(17):2584.

[3] 徐文,潘智然.HPLC-DAD-MS/MS法快速分析大黄中酚类成分[J].临床医学工程,2012,19(4):530.

[4] 张依倩,王玉,黄芝娟,等.基于HPLC-DAD-MS的道地产区大黄药材质量评价研究[J].药物评价研究,2011,34(3):179.

[5] Ye M, Han J, Chen HB, *et al.* Analysis of phenolic compounds in Rhubarbs using liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2007, 18(1):82.

[6] 许凤国,刘颖,宋瑞,等.LC-MS/MS法研究大承气汤与其君药大黄物质基础间的相关性[J].中国药科大学学报,2008,39(2):136.

[7] 孙晋苓,黄晓兰,吴惠勤,等.液相色谱/离子阱质谱法研究何首乌中糖苷类化合物[J].天然产物研究与开发,2009,21:806.

[8] 于澎,张虹.HPLC-ESI-MS法同时测定虎杖提取物中的17种成分[J].沈阳药科大学学报,2011,28(12):963.

[9] 黄勇,郑林,何峰,等.UPLC-PDA-ESI/MS分析苈草中化学成分[J].中国中医药杂志,2011,36(1):57.

[10] Liao SG, Li YT, Zhang LJ, *et al.* UPLC-PDA-ESI-MS/

MS Analysis of Compounds Extracted by Cardiac h9c2 Cell from Polygonum orientale[J]. *Phytochem Anal*, 2013, 24(1):25.

[11] Ren Q, Wu CS, Ren Y, *et al.* Characterization and identification of the chemical constituents from tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn) by high performance liquid chromatography/photodiode array detector/linear ion trap FTICR hybrid mass spectrometry[J]. *Food Chem*, 2013, 136(3/4):1377.

[12] Watanabe M. An anthocyanin compound in buckwheat sprouts and its contribution to antioxidant capacity[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2007, 71(2):579.

[13] Koyama M, Naramoto K, Nakajima T. Purification and identification of antihypertensive peptides from fermented buckwheat sprouts[J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(12):3013.

[14] 孙慧,朱超,章弘扬,等.大黄及其炮制品的液质联用分析及物质基础比较[J].中成药,2009,31(3):420.

[15] 王玉,李静,张莉,等.HPLC-MS法测定首乌丸中五种蒽醌类成分的含量[J].中国生化药物杂志,2012,33(1):30.

[16] Zhang F, Chen WS, Sun LN. LC-VWD-MS determination of three anthraquinones and one stilbene in the quality control of crude and prepared roots of polygonum multiflorum thunb[J]. *Chromatographia*, 2008, 67(11/12):869.

[17] Liang ZT, Shi YX, Chen HB, *et al.* Histochemical analysis of the root tuber of Polygonum multiflorum Thunb[J]. *Microscopy Research and Technique*, 2011, 74(6):4885.

[18] Yi T, Zhang H, Cai ZW. Analysis of Rhizoma Polygoni Cuspidati by HPLC and HPLC-ESI/MS[J]. *Phytochemical Analysis*, 2007, 18(5):387.

[19] 曾里,连春霞,夏之宁.超声提取虎杖白藜芦醇及其液质联用分析[J].重庆大学学报,2002,25(7):53.

[20] 祝晨葆,郑志华,陈知良,等.HPLC/MS法测定大黄酸在大鼠的血药浓度[J].中药材,2002,25(9):646.

[21] Wang D, Xu Y, Liu W. Tissue distribution and excretion of resveratrol in rat after oral administration of Polygonum cuspidatum extract (PCE) [J]. *Phytomedicine*, 2008, 15(10):859.

[22] 黄勇,何峰,张治蓉,等.HPLC-MS-MS同时检测大鼠血浆中苈草素、牡荆素和槲皮苷[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(1):80.

[23] 黄勇,张治蓉,郑林,等.超高效液相色谱-串联质谱法研究苈草提取物中4个黄酮类成分的大鼠组织分布[J].药物分析杂志,2012,32(12):2126.

(收稿日期:2014-03-07 修回日期:2014-04-14)

《中国药房》杂志——《文摘杂志》(AJ) 收录期刊, 欢迎投稿、订阅