

光合特性及耐铝性的影响[J]. 水土保持学报, 2015, 29 (24): 260-266.

[34] 薛忠财, 高辉远, 柳 洁. 野生大豆和栽培大豆光合机构对 NaCl 胁迫的不同响应[J]. 生态学报, 2011, 31 (11): 3101-3109.

[35] 杨淑萍, 危常州, 梁永超. 盐胁迫对不同基因型海岛棉光合作用及荧光特性的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 42(8): 1585-1593.

[36] 赵 澍, 廖里平, 张宏武, 等. 盐胁迫对酸枣幼苗光合生理特性的影响[J]. 干旱区资源与环境, 2018, 32 (5): 149-153.

辛夷、辛夷仁和辛夷外苞片中非挥发性成分比较

渠亚蓉¹, 胡 静¹, 周 琪¹, 张 敏², 章弘扬¹, 胡 坪^{1*}
(1. 华东理工大学化学与分子工程学院, 上海市功能性材料化学重点实验室, 上海 200237; 2. 华东理工大学药学院, 上海市新药设计重点实验室, 上海 200237)

摘要: **目的** 比较分析辛夷全花蕾、辛夷仁和辛夷外苞片中非挥发性成分的差异。**方法** 依照 2020 年版《中国药典》测定木兰脂素含量, 建立辛夷的 UHPLC 指纹图谱, 利用液质联用技术对色谱峰进行鉴定, 结合化学计量学对指纹图谱分析结果进行数据挖掘。**结果** 辛夷、辛夷仁和外苞片中木兰脂素的平均含量分别为 4.25%、10.30%、1.07%, 从指纹图谱中鉴定出 21 种化学成分, 结合主成分分析筛选出辛夷不同部位的 4 种差异性成分。**结论** 辛夷仁所含非挥发性成分种类与辛夷一致, 但有效成分的含量远高于辛夷全花蕾, 经典名方以辛夷仁入药具有科学性。
关键词: 辛夷; 辛夷仁; 非挥发性成分; UHPLC; 液质联用
中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)09-2576-05
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.09.058

辛夷, 为望春花 *Magnolia biondii* Pamp.、玉兰 *Magnolia denudata* Desr. 或武当玉兰 *Magnolia sprengeri* Pamp. 的干燥花蕾^[1], 其性温味辛, 归肺胃经, 可以散风寒、通鼻窍^[2]。从部位角度, 可将辛夷全花蕾可分为外苞片和辛夷仁两部分。明、清之前, 含有辛夷的古方中一般以辛夷仁入药, 如宋代《严氏济生方》^[3]所载“辛夷散”。至明、清时期, 诸多含辛夷仁的经典名方历经时代演变, 逐步以辛夷代替辛夷仁, 如《惠直堂经验方》^[4]中“辛夷散”。近年来, 古代经典名方的开发受到国家高度重视, 其中不乏含辛夷仁的方剂^[5-6], 而辛夷仁是否能用当前市场上流通的辛夷取代还值得商榷。

辛夷中的化学成分种类繁多, 可分为挥发油类、生物碱类、黄酮苷类和木脂素类等^[7]。其中挥发油和木脂素是辛夷的主要药效成分^[8-10]。本课题组前期已对辛夷、辛夷仁、辛夷苞片中的挥发性成分进行对比研究, 发现辛夷仁所含挥发性成分种类与辛夷一致, 但含量远高于辛夷^[11]。

本实验进一步对辛夷及辛夷仁的非挥发性成分展开研究, 建立辛夷非挥发性成分的超高效液相色谱指纹图谱, 利用 LC-MS 对其中的主要色谱峰进行鉴定, 结合主成分分

析和 PLS-DA 寻找辛夷不同部位的差异性成分, 旨在为经典名方中辛夷的合理使用提供科学依据。

1 材料

Waters Acquity 超高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); Agilent 1290 UHPLC-6530 QTOF-MS/MS 液质联用仪 [安捷伦科技 (中国) 有限公司]; EPED-E2-10TF 实验室超纯水机 (南京易普易达科技发展有限公司); CPA225D 型分析天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]。乙腈和甲酸均为色谱纯、磷酸为分析纯 (上海泰坦科技有限公司)。木兰脂素 (110882-201708, 中国食品药品检定研究院)。辛夷药材由神威药业集团有限公司提供, 并经河北省食品药品检验院孙宝惠主任中药师鉴定为望春花 *Magnolia biondii* Pamp. 干燥花蕾。

2 方法与结果

2.1 木兰脂素含量测定 对来自 3 个不同产地共 15 批的辛夷药材进行手工处理, 获得对应批次的辛夷仁和辛夷苞片, 测得辛夷仁在辛夷全花蕾中所占比例约为 30%~35%。木兰脂素的含量测定参照 2020 年版《中国药典》方法进行, 采用外标法进行定量分析, 木兰脂素的回归方程为 $Y=$

收稿日期: 2020-05-08

基金项目: 国家自然科学基金 (81973285)

作者简介: 渠亚蓉 (1995—), 女, 硕士生, 从事天然产物分离与分析研究。Tel: (021) 64252844, E-mail: yarongdd@163.com

* 通信作者: 胡 坪 (1970—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事天然产物分离与分析研究。Tel: (021) 64252844, E-mail: huping@ecust.edu

5 326.26X-19.162 ($r=0.999\ 9$), 结果见表 1。

表 1 15 批辛夷不同部位的木兰脂素含量 (% , $n=2$)

产地	批号	辛夷	辛夷仁	辛夷苞片
河南南阳	ny1	4.53	9.94	1.19
	ny2	4.68	9.75	0.99
	ny3	4.82	9.61	1.08
	ny4	4.58	10.20	1.13
	ny5	4.54	10.10	1.05
安徽岳西	yx1	4.02	9.23	0.87
	yx2	3.82	10.30	1.30
	yx3	3.65	10.20	1.32
	yx4	3.96	10.70	0.95
	yx5	3.89	10.90	0.93
河南鲁山	ls1	4.37	10.70	1.04
	ls2	4.24	10.70	1.03
	ls3	4.20	10.40	0.96
	ls4	4.11	10.80	1.24
	ls5	4.41	11.00	1.03
平均值	—	4.25	10.30	1.07
RSD/%	—	8.1	5.0	12.7

2.2 辛夷 UHPLC 指纹图谱建立

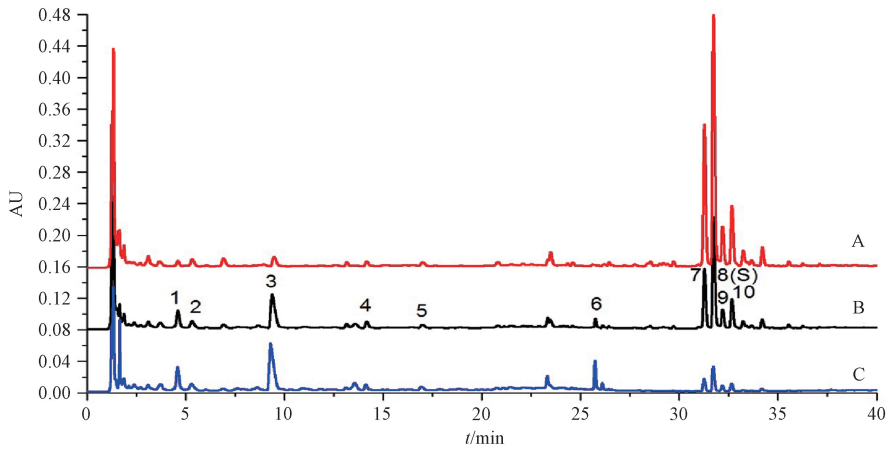
2.2.1 色谱条件 Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相乙腈 (A)-水 (含 0.1% 磷酸) (B), 梯度洗脱 (0 min, 10% A; 0~16 min, 10%~18% A; 16~30 min, 18%~55% A; 30~35 min, 55%~100% A;

35~40 min, 100% A); 检测波长 254 nm; 体积流量 0.2 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样量 1 μL。

2.2.2 溶液制备 取辛夷、辛夷仁、外苞片粗粉各约 1 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声 (500 W、40 kHz) 提取 50 min, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。取木兰脂素对照品适量, 精密称定, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇制备成质量浓度为 0.542 7 mg/mL 的参照峰溶液。

2.2.3 UHPLC 指纹图谱方法学验证 取同一份辛夷供试品溶液, 在“2.2.1”项条件下连续进样 6 次, 记录色谱图, 对仪器的精密度进行考察。取同一批号的辛夷, 平行制备 6 份供试品溶液, 记录所得色谱图, 对重复性进行考察。取同一份供试品溶液, 分别于 0、1、2、4、8、24 h 进样, 记录所得色谱图, 对稳定性进行考察。分别计算图 1 (B) 中 10 个特征峰 (1~10 号峰) 相对于参照峰木兰脂素 (S) 的相对保留时间和相对峰面积。结果表明, 精密度、重复性、稳定性试验中, 各特征峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%, 相对峰面积 RSD 均小于 5.0%, 方法验证结果符合指纹图谱分析的要求。

2.2.4 UHPLC 指纹图谱测定及相似度评价 取“2.2.2”项下供试品溶液, 在“2.2.1”项条件下进样, 色谱图见图 1。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版), 计算 15 批辛夷全花蕾、辛夷仁和外苞片 UHPLC 特征图谱与对照谱图的相似度, 结果见表 2。



注: A~C 分别为辛夷仁、辛夷、辛夷外苞片。

图 1 各样品 UHPLC 特征图谱

2.3 不同部位非挥发性成分的液质联用定性分析

2.3.1 分析条件 液相色谱条件同“2.2.1”项, 仅以水 (含 0.1% 甲酸) 代替水 (含 0.1% 磷酸) 作为流动相 B。采用正、负离子扫描模式; 质量扫描范围 m/z 50~1 500; 采集一级质谱数据; 雾化温度 350 ℃; 雾化气体积流量 10 L/min; 雾化气压 30 psi (1 psi=6.895 kPa); 毛细管电压正模式为 3 000 V, 负模式为 3 500 V; Skimmer 电压 65 V; 八极杆射

频电压 750 V; 毛细管出口电压 150 V。目标二级离子模式 (Targeted MS/MS) 的碰撞电压值依据目标离子碎裂的难易程度设定为 20、40 eV。

2.3.2 数据处理 取“2.2.2”项下供试品溶液, 在“2.3.1”项条件下进样, 不同模式下辛夷的总离子流图见图 2。采用 MassHunter Qualitative Analysis B. 06.00 软件进行数据处理, 通过一级质谱得到的精确分子量计算分子式,

表 2 15 批样品相似度

产地	批号	辛夷	辛夷仁	辛夷苞片
河南南阳	ny1	0.878	0.949	0.406
	ny2	0.935	0.960	0.418
	ny3	0.948	0.964	0.467
	ny4	0.794	0.931	0.373
	ny5	0.818	0.948	0.361
安徽岳西	yx1	0.959	0.967	0.508
	yx2	0.958	0.965	0.510
	yx3	0.949	0.966	0.529
	yx4	0.968	0.966	0.524
	yx5	0.945	0.966	0.519
河南鲁山	ls1	0.974	0.962	0.564
	ls2	0.969	0.962	0.561
	ls3	0.967	0.961	0.537
	ls4	0.970	0.964	0.550
	ls5	0.965	0.964	0.552

结合对二级质谱裂解规律的研究，参照文献 [12-18]，共鉴定出 21 种成分，见表 3~4，其中 6 种生物碱类，4 种苯乙醇苷类，3 种黄酮苷类，8 种木脂素类。结果表明，辛夷仁中的非挥发性成分以木脂素类为主，生物碱的含量很少；而辛夷外苞片中的木脂素类含量极低，但生物碱含量显著高于辛夷仁。

2.4 主成分分析 以“2.2.4”项下获得的 15 批辛夷不同部位的 UHPLC 指纹图谱中各色谱峰峰面积与试样质量的比（色谱峰保留时间>2 min，峰面积占比≥0.4%）为特征值，利用 SIMCA 13.0 软件得到的主成分分析图见图 3。为找出辛夷不同部位间的差异性特征成分，还进行了偏最小二乘法-判别分析（PLS-DA），依次提取 4 种主成分，分别生成载荷散点图和 VIP 值图，见图 4~5。

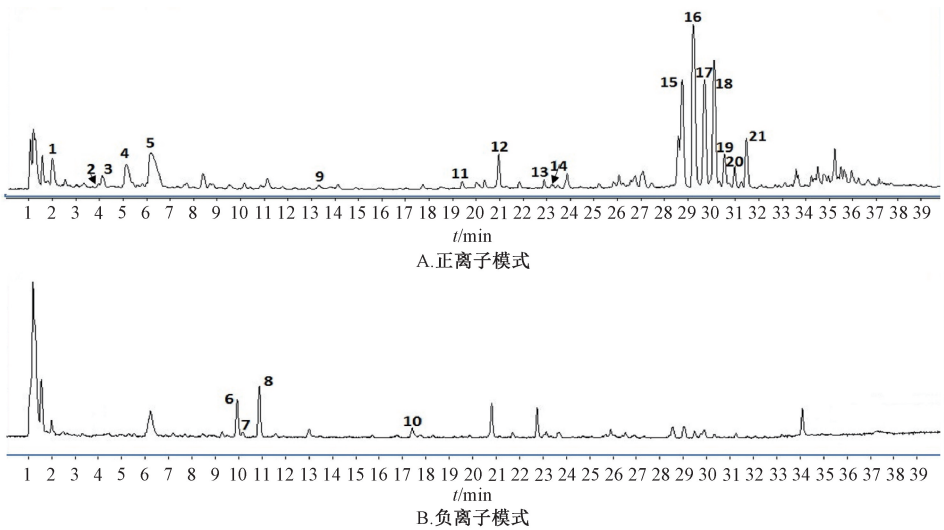


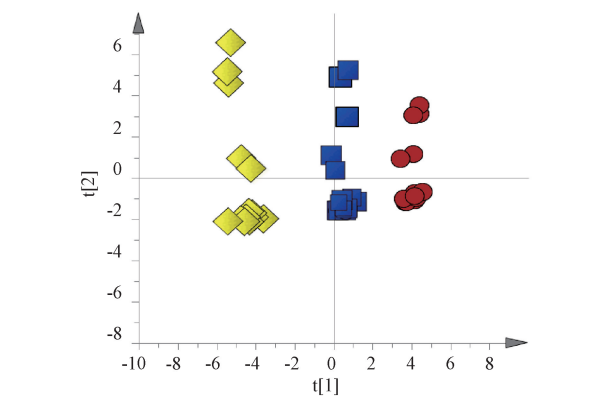
图 2 辛夷不同模式下总离子图

表 3 成分鉴定结果及二级质谱数据（正离子模式）

峰号	化合物	t_R/min	$[M]^+$ 或 $[M+H]^+$	MS/MS 的主要碎片	分子式
1	柳叶木兰碱	1.84	210.149 0	151.075 5, 119.049 3, 91.054 7	$C_{12}H_{20}NO_2^+$
2	armepavine 4'-O-glucopyranoside	3.96	476.221 2	314.175 0, 283.132 6, 252.114 6, 189.090 8	$C_{25}H_{33}NO_8$
3	木兰箭毒碱	4.06	314.175 2	269.117 2, 175.075 3, 107.049 3	$C_{19}H_{24}NO_3^+$
4	D-乌药碱	5.00	286.143 4	269.116 5, 237.090 4, 209.095 1, 175.074 6, 107.048 8	$C_{17}H_{19}NO_3$
5	木兰碱	6.03	342.170 1	297.112 2, 265.085 8, 237.090 8	$C_{20}H_{24}NO_4^+$
9	芸香苷	13.14	611.257 0	303.049 9	$C_{27}H_{30}O_{16}$
11	塔斯品碱	19.27	370.128 7	325.070 5, 310.046 1	$C_{20}H_{19}NO_6$
12	辛夷烯酮	20.82	387.180 2	351.157 7, 289.118 6, 281.101 2, 231.101 2, 201.090 1, 189.089 7, 151.074 5	$C_{22}H_{26}O_6$
13	银桦苷	22.75	595.145 7	287.054 4, 147.043 6, 119.049 1	$C_{30}H_{26}O_{13}$
14	望春花黄酮醇苷 I	23.16	595.145 7	287.054 5, 147.043 7, 119.048 6	$C_{30}H_{26}O_{13}$
15	松脂素二甲醚	28.61	387.179 2	351.158 3, 320.140 0, 298.119 1, 283.095 4, 201.089 8, 151.074 5	$C_{22}H_{26}O_6$
16	木兰脂素	29.09	417.196 3	399.179 7, 351.158 3, 350.150 0, 328.129 9, 261.111 2, 189.090 1, 151.074 6	$C_{23}H_{28}O_7$
17	里立脂素 B 二甲醚	29.57	447.208 2	411.179 7, 351.158 3, 358.140 9, 328.130 1, 279.122 5, 249.111 6, 219.101 4, 181.085 5	$C_{24}H_{30}O_8$
18	表木兰脂素	29.96	417.196 3	399.179 7, 381.169 3, 350.150 6, 328.130 1, 261.111 0, 219.100 8, 219.100 8, 203.105 7, 189.090 2, 181.085 2, 151.074 8	$C_{23}H_{28}O_7$
19	去甲基刚果草澄茄脂素	30.42	371.146 8	353.135 2, 335.127 3, 304.109 0, 282.087 4, 231.100 4, 201.089 7	$C_{21}H_{22}O_6$
20	刚果草澄茄脂素	30.85	401.158 7	383.147 6, 231.101 5, 219.101 4, 185.058 5, 173.059 4, 135.043 7	$C_{22}H_{24}O_7$
21	辛夷脂素	31.35	371.146 6	335.128 2, 283.095 0, 231.098 8, 201.089 8, 189.089 9, 173.059 0, 151.074 3, 135.043 1	$C_{21}H_{22}O_6$

表 4 成分鉴定结果及二级质谱数据（负离子模式）

峰号	化合物	t_R/min	$[M-H]^-$	MS/MS	分子式
6	yulanoside A	10.02	1 093.363 9	931.333 4, 785.282 1, 161.024 1	$C_{47}H_{66}O_{29}$
7	松果菊苷	10.26	785.248 6	623.221 7, 477.159 6, 161.023 4	$C_{35}H_{46}O_{20}$
8	2'-鼠李糖松果菊苷	10.98	931.308 8	769.278 6, 623.221 3, 461.169 0, 161.024 0	$C_{41}H_{56}O_{24}$
10	crassifolioside	17.60	769.257 2	607.226 6, 461.169 9, 315.110 4, 161.023 9	$C_{35}H_{46}O_{19}$



注：图中菱形为辛夷仁，方形为辛夷，圆形为辛夷苞片。

图 3 辛夷、辛夷仁和辛夷苞片主成分分析得分图

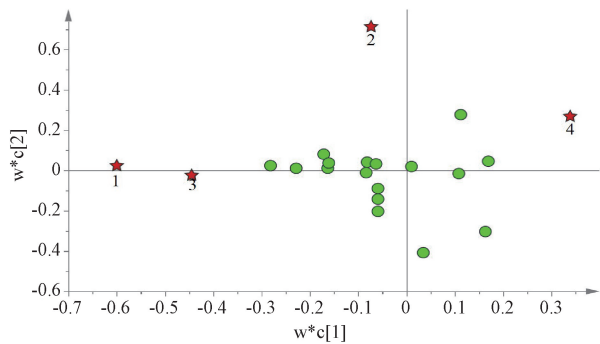


图 4 辛夷、辛夷仁和辛夷苞片 PLS-DA 载荷散点图

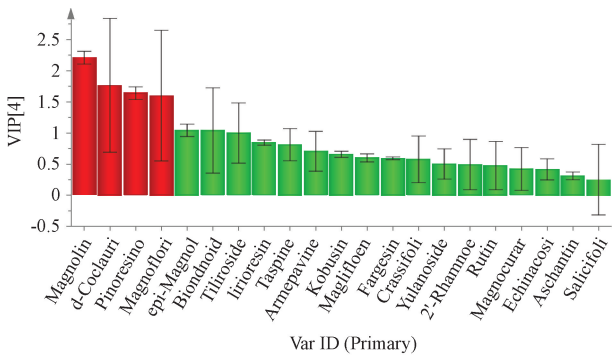


图 5 辛夷、辛夷仁和辛夷苞片 VIP 值图

3 讨论

3.1 不同部位中木兰脂素含量的比较 由表 1 可见，木兰脂素在辛夷仁中的平均含量为 10.30%，远高于其全花蕾和外苞片。可见辛夷仁部位是辛夷全花蕾中木兰脂素的主要来源部位。

3.2 不同部位指纹图谱的相似度分析 由表 2 可知，辛夷仁的指纹图谱相似度在 0.931~0.967 之间，与辛夷全花蕾

和外苞片相比较，说明这 15 批辛夷仁的质量较为一致。而外苞片的相似度偏低，在 0.361~0.564 之间，提示该部位与另 2 个药用部位的质量存在较大差异。

3.3 不同部位 UHPLC 指纹图谱的差异分析 由辛夷、辛夷仁和辛夷外苞片的 UHPLC 指纹图谱（图 1）可知，三者所含非挥发性成分的种类基本一致，但同一成分的含量在不同部位差异显著。2~10 min 的色谱峰在辛夷仁中峰高较低，在外苞片中的峰高较高，例如特征性较强的 3 号色谱峰木兰碱（图 2 中的 5 号峰）。而 30~40 min 的色谱峰在辛夷仁部位中的峰高要远远高于外苞片及全花蕾部位，例如对照峰木兰脂素，这与“2.1”项下木兰脂素含量测定结果具有一致性。

3.4 不同部位非挥发性成分的主成分分析 15 批辛夷不同部位的 PCA 得分图中，辛夷、辛夷仁和辛夷苞片的数据分布在 3 个相对独立的区域，提示这 3 种不同部位的非挥发性物质在成分含量上存在明显差异，证明辛夷仁药材有别于辛夷全花蕾。这与本课题组之前对辛夷不同部位挥发性成分的 PCA 分析结果^[11]相似。

在载荷散点图图 4 中，有 4 个成分与主要化合物团偏离最远，表明这 4 个成分在样本分类中的作用最大。本模型的 VIP 值如图 5 所示，该数值代表变量重要性投影值，VIP 值越高，代表该变量化合物对辛夷及其不同部位质量差异的贡献越大，因此 VIP 值最高（VIP>1.6）的 4 个非挥发性成分——木兰脂素、D-乌药碱、松脂素二甲醚和木兰碱即为辛夷仁和辛夷外苞片间的差异性成分。

有研究者指出，辛夷的入药成分主要为木兰脂素和松脂素二甲醚等木脂素类化合物^[18]。亦有动物实验研究显示，辛夷中的酚酸性生物碱如柳叶木兰碱、木兰箭毒碱等均存在箭毒样作用，且多会经肠道缓慢吸收，存在一定毒性^[12]。因此，从物质基础的角度考虑，去除富含酚酸性生物碱的外苞片，仅以木脂素类成分含量更高的辛夷仁入药，不仅可避免苞片茸毛的刺激，还能降低毒性风险，提高药效。经典名方中以辛夷仁入药有其合理性和科学性。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2020：189.

[2] 孙星衍. 神农本草经[M]. 北京：人民卫生出版社，1982.

[3] 严用和. 重订严氏济生方[M]. 北京：人民卫生出版社，1980.

[4] 陶承熹. 惠直堂经验方[M]. 北京：中医古籍出版社，1994.

[5] 陈实功. 外科正宗[M]. 北京：人民卫生出版社，1964.

[6] 武之望, 汪 淇, 张黎临, 等. 济阴纲目[M]. 北京: 人民军医出版社, 2009.

[7] Ye Q. Characterization of volatile constituents of *Magnolia denudata* Desr flowers by gas chromatography-mass spectrometry with headspace solid-phase microextraction[J]. *Asian J Chem*, 2013, 25(11): 6199.

[8] Kim J Y, Lim H J, Lee d Y, *et al.* *In vitro* anti-inflammatory activity of lignans isolated from *Magnolia fargesii* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 40(26): 937-940.

[9] Zeng Z, Xie R, Zhang T, *et al.* Analysis of volatile compositions of *Magnolia biondii* Pamp by steam distillation and headspace solid phase micro-extraction[J]. *J Oleo Sci*, 2011, 60(12): 591-596.

[10] Shen Y, Pang E C K, Xue C C L, *et al.* Inhibitions of mast cell-derived histamine release by different *Flos Magnoliae* species in rat peritoneal mast cells[J]. *Phytomedicine*, 2008, 15(10): 808-814.

[11] 胡 静, 付志博, 桑情妮, 等. 辛夷、辛夷仁和辛夷外苞片中挥发性成分的比较 [J]. 中草药, 2019, 50 (7): 1555- 1561.

[12] Kimura I, Kimura M, Yoshizaki M, *et al.* Neuromuscular blocking action of alkaloids from a Japanese crude drug “Shin-I” (*Flos Magnoliae*) in frog skeletal muscle[J]. *Planta Med*, 1983, 48(5): 43-47.

[13] 杨玉燕. 望春花蕾木脂素类化学成分和含量测定方法研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2012.

[14] Talapatra B, Mukhopadhyay P, Dutta L N. Alkaloids of *Magnolia campbelli* and *Magnolia mutabilis* [J]. *Phytochemistry*, 1975, 14(2): 589-590.

[15] Okumura W, Aoki D, Matsushita Y, *et al.* Distribution of salicifoline in freeze-fixed stems of *Magnolia kobus* as observed by cryo-TOF-SIMS[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5939.

[16] Talapatra B, Chaudhuri P K, Talapatra S K. (-) - Maglifloenone, a novel spirocyclohexadienone neolignan and other constituents from *Magnolia liliflora* [J]. *Phytochemistry*, 1982, 21(3): 747-750.

[17] Porter E A, Kite G C, Veitch N C, *et al.* Phenylethanoid glycosides in tepals of *Magnolia salicifolia* and their occurrence in flowers of Magnoliaceae [J]. *Phytochemistry*, 2015, 117: 185-193.

[18] 杨 光. 基于物质基础表征与新型化学模式识别方法的辛夷质量控制与药物动力学研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2017.

地骨皮 HPLC 特征图谱建立及灰分检测

李 婷^{1,2}, 王丹丹⁴, 赵林松², 高 崎⁴, 聂依文², 吴佩颖^{2,3*}, 张 彤^{1*}
(1. 上海中医药大学教学实验中心, 上海 201203; 2. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 3. 芸豆数字科技有限公司, 四川 成都 610031; 4. 上海上药杏灵科技药业股份有限公司, 上海 201703)

摘要: **目的** 建立地骨皮 HPLC 特征图谱及灰分检测。**方法** 地骨皮甲醇-0.15% 磷酸提取物的分析采用 platisil ODS 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.15% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 280 nm。灰分测定参照 2015 年版《中国药典》四部通则进行。**结果** 21 批样品指纹图谱中有 5 个共有峰, 特征峰聚类分析结果与相似度分析结果一致, 灰分均大于 2015 年版《中国药典》地骨皮项下总灰分标准 (11.0%)。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于地骨皮的质量控制。

关键词: 地骨皮; 地骨皮乙素; 特征图谱; 灰分; HPLC

中图分类号: R927.2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)09-2580-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2021.09.059

收稿日期: 2019-12-13

基金项目: 国家科技重大专项 (2019ZX09201004-002); 上海市科委科研计划项目 (18401930600); 中医药传承和科技创新项目 (ZYCC2019016); 上海市中医药事业发展三年行动计划 [ZY (2018-2020) -CCCX-2001-04]

作者简介: 李 婷 (1984—), 女, 硕士, 高级实验师, 从事中药新药及质量标准研究。Tel: (021) 51323018, E-mail: liting201304@163.com

*** 通信作者:** 吴佩颖 (1961—), 男, 博士, 教授, 从事中药现代化研究。Tel: (028) 87403342, E-mail: wupeiyang@yds.com.cn
张 彤 (1972—), 男, 博士, 教授, 从事中药现代化研究。Tel: (021) 51322318, E-mail: zhangtdmj@hotmail.com