

# 原创中药红珠胶囊基于 RRLC-ESI-MS/MS 技术的化学成分分析\*

彭 维<sup>1</sup>, 吴万征<sup>2</sup>, 邹 威<sup>1</sup>, 朱芳绘<sup>1</sup>, 王永刚<sup>1</sup>, 王建壮<sup>3</sup>, 郭 静<sup>4</sup>

(1. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275;

2. 广东医学院附属医院, 广东 湛江 524001;

3. 广东药学院, 广东 广州 510006; 4. 广东环球制药有限公司, 广东 佛山 528303)

**摘 要:** 采用快速液相-三重串联四极杆质谱(RRLC-ESI-MS/MS)技术, 在电喷雾质谱正模式和负模式下, 对红珠胶囊内容物进行分析鉴定。通过质谱中分子离子峰和碎片离子峰的精确相对分子质量匹配, 保留时间, 紫外光谱对比, 与对照品比对并结合参考文献鉴定, 确证和指认了红珠胶囊中的新北美圣草苷、樱桃苷、柚皮苷、忍冬苷、野漆树苷、橙皮内酯水合物、7-(2"- $\alpha$ -鼠李糖基-6"- (3'''-羟基-3'''-甲基戊二酰)- $\beta$ -D-葡萄糖基)柚皮素、异橙皮内酯、柚皮素 9 个化学成分。研究揭示了红珠胶囊的化学物质基础, 为控制该药质量提供了依据。

**关键词:** 红珠胶囊; 化学成分; RRLC-ESI-MS/MS

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579(2014)04-0119-04

## Chemical Component Analysis of Hongzhu Capsule, a New Original Chinese Medicine, by RRLC-ESI-MS/MS

PENG Wei<sup>1</sup>, WU Wanzheng<sup>2</sup>, ZOU Wei<sup>1</sup>, ZHU Fanghui<sup>1</sup>, WANG Yonggang<sup>1</sup>,  
WANG Jianzhuang<sup>3</sup>, GUO Jing<sup>4</sup>

(1. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524001, China;

3. Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou 510006, China;

4. Guangdong Medi-World Pharmaceutical Co. Ltd., Foshan 528303, China)

**Abstract:** RRLC-ESI-MS/MS technique was applied to identify the components of Hongzhu Capsule. ESI-MS/MS analysis was then conducted under both positive and negative modes, matching molecular ion peak, fragment ion peak, retention time and DAD. Nine chemical components, including Neoeriocitrin, Prunin, Naringin, Lonicerin, Rhoifolin, Meranzin hydrate, Meliditin, Isomeranzin, Naringenin were identified. The findings provided the basis for the quality control and pharmacodynamic constituents of Hongzhu capsule.

**Key words:** Hongzhu capsule; chemical component; RRLC-ESI-MS/MS.

红珠胶囊是中山大学研制的中药五类新药, 具有止咳、化痰的作用, 其内容物为化橘红有效部位。笔者采用 RRLC-ESI-MS/MS 技术, 首次鉴定了该药中的 9 个成分, 阐明了其化学物质基础, 现

报道如下。

### 1 仪器与试药

Agilent 1200SL RRLC-6410QQQ 液相-质谱联

\* 收稿日期: 2013-11-12

基金项目: 广东省重大科技专项资助项目(2012A080204019)

作者简介: 彭维(1971年生), 女; 研究方向: 药物分析; 通讯作者: 郭静; E-mail: wisemouse1@126.com

用仪 (美国安捷伦公司); BP211D 电子分析天平 (瑞士沙多利斯公司); KQ-250DE 数控超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司)。

柚皮苷 (供含量测定用, 中国药品生物制品检定所, 批号 110722-200309); 新北美圣草苷 (Sigma-Aldrich 公司, 批号: 1326322, 纯度 98.6%); 野漆树苷 (Sigma-Aldrich 公司, 批号: 023H0743, 纯度 99.0%); 橙皮内酯水合物 (云南西力生物技术有限公司提供, 批号: 5875-49-0-BBP00486, 纯度 > 95%); 樱桃苷 (加拿大 ChromaDex 公司, 纯度 > 98%); 7-(2"- $\alpha$ -鼠李糖基-6"- (3'''-羟基-3'''-甲基戊二酰)- $\beta$ -D-葡萄糖基) 柚皮素 (自制, 经 UV、IR、MS、NMR 谱确证); 柚皮素 (Sigma 公司, 货号: N5893-1g, 批号: 035K1316, 纯度 97.5%)。红珠胶囊由中山大学广州现代中药质量研究开发中心研制, 委托广东环球制药有限公司生产 (批号 20120501)。

甲醇 (色谱纯, 霍尼韦尔贸易 (上海) 有限公司), 甲酸 (色谱纯, 美国 Sigma 公司), 水为超纯水。

## 2 方法

### 2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 分别取新北美圣草苷、樱桃苷、柚皮苷、野漆树苷、橙皮内酯水合物、7-(2"- $\alpha$ -鼠李糖基-6"- (3'''-羟基-3'''-甲基戊二酰)- $\beta$ -D-葡萄糖基) 柚皮素、柚皮素对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含新北美圣草苷、樱桃苷、柚皮苷、野漆树苷、橙皮内酯水合物、7-(2"- $\alpha$ -鼠李糖基-6"- (3'''-羟基-3'''-甲基戊二酰)- $\beta$ -D-葡萄糖基) 柚皮素、柚皮素各 0.1 mg 的混合对照品贮备液, 4 °C 冷藏备用。使用时将贮备液稀释 100 倍作为对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取装量差异项下的胶囊内容物, 研细, 取 0.1 g, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇约 70 mL, 超声处理 (功率 360 W, 频率 35 kHz) 30 min, 放冷至室温, 用  $\varphi$  = 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀。取上述溶液, 适当稀释, 经 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

### 2.2 RRLC-ESI-MS/MS 分析

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> (3.5  $\mu$ m, 150 mm  $\times$  3.0 mm); 柱温 30 °C; 流动相为甲醇-甲酸溶液 (pH = 3.0), 0 ~ 50 min; 甲醇 ( $\varphi$ ): 30%  $\rightarrow$  60%, 甲酸溶液 ( $\varphi$ ):

70%  $\rightarrow$  40%; 流速 0.3 mL/min; 进样量: 5  $\mu$ L。

2.2.2 质谱条件 电喷雾电离源: ESI, 正、负离子模式检测, 干燥氮气温度 350 °C, 流量 12.0 L/min, 雾化气压力 40 psi, 毛细管电压 4 000 V, 扫描质量范围  $m/z$  100 ~ 1 500。

## 3 结果

样品在 RRLC-MS/MS 正模式和负模式下进行分析, 结果见图 1、表 1。

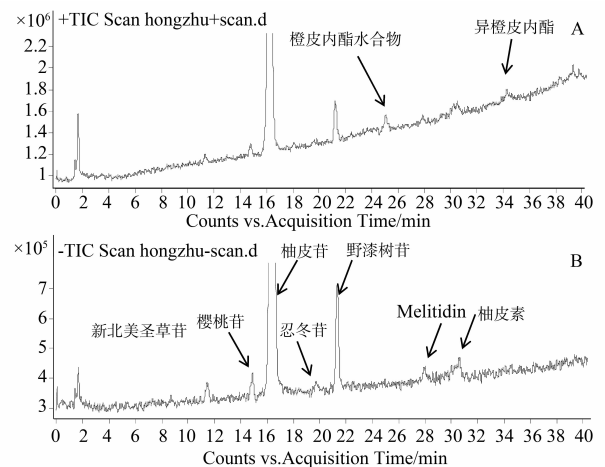


图 1 红珠胶囊正模式 (A) 和负模式 (B) 的总离子流图

Fig. 1 Total Ion current of positive mode (A) and negative mode (B) of Hongzhu Capsule

通过紫外光谱特征、质谱中分子离子峰和碎片离子峰的精确相对分子质量匹配、保留时间对比、结合文献查阅等信息, 以及与对照品比较, 确证和指认了红珠胶囊中 9 个成分, 具体如下。

### 3.1 新北美圣草苷 (Neoeriocitrin)

检测到  $[M+H]^+$  准分子离子峰为  $m/z$  597.5, 对其进行子离子扫描 (PI), 得到  $m/z$  289.1, 为糖苷键断裂产生。  $[M-H]^-$  准分子离子峰为  $m/z$  595.0, 对其进行子离子扫描 (PI), 得到  $m/z$  459.3 为 C 环进行 RDA 裂解, 然后丢失一个羰基产生;  $m/z$  287.0 为糖苷键断裂产生;  $m/z$  150.8 为糖苷键断裂后 C 环进行 RDA 裂解再丢失一个羰基所产生的。在液质联用中, 与对照品的相对保留时间、分子离子峰和碎片离子峰的精确相对分子质量、质谱断裂行为一致, 经与文献 [1-2] 比对, 确证该化合物为新北美圣草苷, 分子式为 C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>O<sub>15</sub>。

### 3.2 樱桃苷 (Prunin)

检测到  $[M+H]^+$  准分子离子峰为  $m/z$  435.4。  $[M-H]^-$  准分子离子峰为  $m/z$  433.0, 对其进行子

表 1 红珠胶囊化学成分分析 (正模式和负模式)

Table 1 Chemical Constituent Analysis in Hongzhu Capsule (positive and negative modes)

保留时间/min	化学成分 (分子式)	相对分子 质量	准分子 离子峰( $m/z$ )	主要碎片离子 ( $m/z$ )
11.31	新北美圣草苷 ( $C_{27}H_{32}O_{15}$ )	596	$597.5[M+H]^+$	$451.0[M+H-Rha]^+$
			$595.0[M-H]^-$	$289.1[M+H-Rha-Glc]^+$
				$459.3[M-H-C_6H_4O_2-CO]^-$
				$287.0[M-H-Rha-Glc]^-$
				$150.8[M-H-Rha-Glc-C_6H_4O_2-CO]^-$
14.83	樱桃苷( $C_{21}H_{22}O_{10}$ )	434	$435.4[M+H]^+$	$271.0[M-H-Glc]^-$
			$433.0[M-H]^-$	$150.7[M-H-Glc-C_6H_5O-CO]^-$
16.19	柚皮苷( $C_{27}H_{32}O_{14}$ )	580	$581.3[M+H]^+$	$459.0[M-H-C_6H_5O-CO]^-$
			$579.0[M-H]^-$	$271.1[M-H-Rha-Glc]^-$
19.72	忍冬苷( $C_{27}H_{30}O_{15}$ )	594	$595.0[M+H]^+$	$284.8[M-H-Rha-Glc]^-$
			$593.0[M-H]^-$	$151.0[M-H-Rha-Glc-C_6H_5O-CO]^-$
21.15	野漆树苷( $C_{27}H_{30}O_{14}$ )	578	$579.0[M+H]^+$	$269.1[M-H-Rha-Glc]^-$
			$577.1[M-H]^-$	
25.11	橙皮内酯水合物 ( $C_{15}H_{18}O_5$ )	278	$278.9[M+H]^+$	$261.2[M+H-H_2O]^+$
				$243.2[M+H-2H_2O]^+$
				$189.1[M+H-H_2O-CH-COH(CH_3)_2]^+$
				$131.0[M+H-H_2O-CH-COH(CH_3)_2-CH_2O-CO]^+$
27.95	Melitidin( $C_{33}H_{40}O_{18}$ )	723	$722.7[M-H]^-$	$620.8[M-H-OC_3H_5COOH]^-$
				$578.9[M-H-OC_3H_5COOH-CH_2CO]^-$
				$270.9[M-H-OC_3H_5COOH-CH_2CO-Rha-Glc]^-$
29.99	柚皮素( $C_{15}H_{12}O_5$ )	272	$273.2[M+H]^+$	$150.9[M-H-C_6H_5O-CO]^-$
			$271.0[M-H]^-$	$106.9[M-H-C_6H_5O-CO-CO_2]^-$
34.37	异橙皮内酯 ( $C_{15}H_{16}O_4$ )	260	$261.0[M+H]^+$	$243.1[M+H-H_2O]^+$
				$189.0[M+H-CH-COH(CH_3)_2]^+$
				$131.2[M+H-CH-COH(CH_3)_2-CH_2O-CO]^+$

注: 7-(2"- $\alpha$ -鼠李糖基-6"- (3'''-羟基-3'''-甲基戊二酰)- $\beta$ -D-葡萄糖基) 柚皮素 (Melitidin)

离子扫描 (PI), 得到  $m/z$  271.0 及  $m/z$  150.7。其中  $m/z$  271.0 为糖苷键断裂产生,  $m/z$  150.7 为糖苷键断裂后 C 环进行 RDA 裂解, 然后丢失一个 H 所得。在液质联用中, 与对照品的保留时间、分子离子峰和碎片离子峰的精确相对分子质量、质谱断裂行为一致, 经文献 [2-3] 比对, 确证该化合物为樱桃苷, 分子式为  $C_{21}H_{22}O_{10}$ 。

### 3.3 柚皮苷 (Naringin)

检测到  $[M+H]^+$  准分子离子峰为  $m/z$  581.3。 $[M-H]^-$  准分子离子峰为  $m/z$  579.0, 对其进行子离子扫描 (PI), 得到  $m/z$  459.0 为 C 环进行 RDA 裂解丢失苯酚基和一个羰基产生;  $m/z$  271.1 为柚皮苷配基-7-O-葡萄糖苷的糖苷键断裂产生。在液质联用中, 与对照品的保留时间、分子离子峰和

碎片离子峰的精确相对分子质量、质谱断裂行为一致, 经文献 [1-3] 比对, 确证该化合物为柚皮苷, 分子式为  $C_{27}H_{32}O_{14}$ 。

### 3.4 忍冬苷 (Lonicerin)

检测到  $[M+H]^+$  准分子离子峰为  $m/z$  595.0。 $[M-H]^-$  准分子离子峰为  $m/z$  593.0, 对其进行子离子扫描 (PI), 得到  $m/z$  284.8 为忍冬苷的糖苷键断裂产生的;  $m/z$  151.0 为糖苷键断裂后 C 环进行 RDA 裂解所产生的。在液质联用中, 根据分子离子峰和碎片离子峰的精确相对分子质量、质谱断裂行为与文献 [4] 比对, 指认该化合物为忍冬苷, 分子式为  $C_{27}H_{30}O_{15}$ 。

### 3.5 野漆树苷 (Rhoifolin)

检测到  $[M+H]^+$  准分子离子峰为  $m/z$  579.0。

$[M-H]^-$  准分子离子峰为  $m/z$  577.1, 对其进行子离子扫描 (PI), 得到  $m/z$  269.1 为野漆树苷的糖苷键断裂产生。在液质联用中, 与对照品的保留时间、分子离子峰和碎片离子峰的精确相对分子质量、质谱断裂行为一致, 经文献 [1-3] 比对, 确证该化合物为野漆树苷, 分子式为  $C_{27}H_{30}O_{14}$ 。

### 3.6 橙皮内酯水合物 (Meranzin hydrate)

检测到  $[M+H]^+$  准分子离子峰为  $m/z$  278.9, 对其进行子离子扫描 (PI), 得到  $m/z$  261.0,  $m/z$  243.2,  $m/z$  189.1 及  $m/z$  131.0。 $m/z$  261.0 为橙皮内酯, 支链断裂形成苯骈呋喃离子  $m/z$  189.1, 丢失一个甲氧基和一个羰基产生  $m/z$  131.0。在液质联用中, 与对照品的保留时间、分子离子峰和碎片离子峰的精确相对分子质量、质谱断裂行为一致, 经文献 [3, 5-6] 比对, 确证该化合物为橙皮内酯水合物, 分子式为  $C_{15}H_{18}O_5$ 。

### 3.7 7-(2''- $\alpha$ -鼠李糖基-6''-(3'''-羟基-3'''-甲基戊二酰)- $\beta$ -D-葡萄糖基)柚皮素 (Melitidin)

检测到  $[M+H]^+$  准分子离子峰为  $m/z$  724.2。 $[M-H]^-$  准分子离子峰为  $m/z$  722.7, 对其进行子离子扫描 (PI), 得到  $m/z$  620.8、 $m/z$  578.9 及  $m/z$  270.9, 其中  $m/z$  620.8 为酯键断裂产生, 再丢失一个乙酰基产生  $m/z$  578.9, Melitidin 的酯键、糖苷键断裂形成柚皮素  $m/z$  270.9。在液质联用中, 与 Melitidin 的保留时间、分子离子峰和碎片离子峰的精确相对分子质量、质谱断裂行为一致, 经文献 [1] 比对, 确证该化合物为 Melitidin, 分子式为  $C_{33}H_{40}O_{18}$ 。

### 3.8 柚皮素 (Naringenin)

检测到  $[M+H]^+$  准分子离子峰为  $m/z$  273.2。 $[M-H]^-$  准分子离子峰为  $m/z$  271.0, 对其进行子离子扫描 (PI), 得  $m/z$  150.9 及  $m/z$  106.9。其中  $m/z$  150.9 为 C 环进行 RDA 裂解丢失苯酚基和一个羰基产生,  $m/z$  106.9 为 A 环断裂、C 环 RDA 裂解产生。在液质联用中, 与对照品的保留时间、分子离子峰和碎片离子峰的精确相对分子质量、质谱断裂行为一致, 经文献 [1, 3] 比对, 确证该化合物为柚皮素, 分子式为  $C_{15}H_{12}O_5$ 。

### 3.9 异橙皮内酯 (Isomeranzin)

检测到  $[M+H]^+$  准分子离子峰为  $m/z$  261.0,

对其进行子离子扫描 (PI), 得到  $m/z$  243.1,  $m/z$  189.0 及  $m/z$  131.2。支链断裂形成苯骈呋喃离子  $m/z$  189.0, 丢失一个甲氧基和一个羰基产生香豆素类化合物的特征离子  $m/z$  131.2。在液质联用中, 根据保留时间、分子离子峰和碎片离子峰的精确相对分子质量、质谱断裂行为, 经文献 [3, 5-6] 比对, 指认该化合物为异橙皮内酯, 分子式为  $C_{15}H_{16}O_4$ 。

## 4 讨论

经过 RRLC-MS/MS 分析, 确证和指认了红珠胶囊中 7 个黄酮类成分 (新北美圣草苷、樱桃苷、柚皮苷、忍冬苷、野漆树苷、Melitidin、柚皮素) 和 2 个香豆素类成分 (橙皮内酯水合物、异橙皮内酯)。本研究揭示了红珠胶囊的化学物质基础, 有利于监控该药的质量<sup>[7]</sup>。

### 参考文献:

- [1] ZHANG M X, DUAN C Q, ZANG Y Y, et al. The flavonoid composition of flavedo and juice from the pumelo cultivar (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) and the grapefruit cultivar (*Citrus paradisi*) from China [J]. Food Chemistry, 2011, 129: 1530-1536.
- [2] GALL L G, DUPONT S M, MELLON A, et al. Characterization and content of flavonoid glycosides in genetically modified tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2003, 51: 2438-2446.
- [3] 刘群娣, 谢春燕, 闫李丽, 等. 化橘红化学成分的 HPLC-DAD-MS/MS 分析 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2011, 13(5): 864-867.
- [4] 刘芳, 舒积成, 潘景行, 等. 忍冬苷的合成及其对雷公藤甲素诱导肝损伤的保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 72-75.
- [5] 牛艳, 王磊, 黄晓君, 等. 化橘红香豆素类的化学成分 [J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2012, 18(5): 501-505.
- [6] 古淑仪, 宋晓虹, 苏薇薇. 化州柚中香豆素成分的研究 [J]. 中草药, 2005, 36(3): 341-343.
- [7] 彭维, 苏薇薇, 古淑仪, 等. 原创中药红珠胶囊的质量标准研究 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2013, 52(6): 110-113.