

# 高良姜叶中的化学成分

谭银丰, 李海龙, 李友宾, 李永辉, 赖伟勇, 王勇, 陈峰\*, 康胜利  
(海南医学院 海南省药用植物研究与开发重点实验室, 药学院, 海口 571101)

**[摘要]** **目的:**研究高良姜叶中的化学成分。**方法:**高良姜叶经低温烘干粉碎,粉末样品中加入甲醇(1:50),超声提取3次,合并提取液。样品经适当稀释后,注入液相色谱-质谱联用仪(LC-MS/MS),在电喷雾离子源正离子模式下(ESI<sup>+</sup>),采用多反应监测模式(MRM)对可能的化合物进行针对性分析。**结果:**在高良姜叶的甲醇提取液中共鉴定出分属于两类成分的16个化合物,其中黄酮类物质白杨素、乔松素、杨芽黄素、芹菜素、高良姜素、高良姜素-3-O-甲醚、金合欢素、山柰酚、山柰素、槲皮素、异鼠李素、芦丁。二芳基庚烷类成分包括益智酮甲、益智醇、六氢姜黄素和hannokinol。**结论:**本研究利用液相色谱-质谱联用技术确定了高良姜叶中的16种化学成分,尚有多种二芳基庚烷类成分需要分离鉴定。

**[关键词]** 高良姜叶; 化学成分; 黄酮; 二芳基庚烷类; 液相色谱-质谱联用

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)03-0037-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015030037

**Identification of Chemical Constituents Occurring in Leaves of *Alpinia officinarum*** TAN Yin-feng, LI Hai-long, LI You-bin, LI Yong-hui, LAI Wei-yong, WANG Yong, CHEN Feng\*, KANG Sheng-li (School of Pharmacy Hainan Provincial Key Laboratory of Research and Development of Tropical Herbs, Hainan Medical University, Haikou 571101, China)

**[Abstract]** **Objective:** The current study aimed to identify the chemical constituents occurring in the leaves of *Alpinia officinarum*. **Method:** The collected leaves of *A. officinarum* were dried in an electric thermostatic drying oven at 40°C overnight. The freshly dried leaves were smashed using a universal high-speed smashing machine and then sieved manually by an 80 mesh. The resulting fine powders and residue were mixed evenly. An aliquot (0.6 g) was weighed precisely and macerated with 30 mL of methanol and then ultrasonicated three times for 30 min each. For each ultrasonication extraction, the resulting extract solutions were centrifuged at 8 000 rpm for 10 min. One micro liter of supernatant was sampled and the remaining was discarded. The residue was extracted with methanol for 2 more times. The sampled methanol extracts (3 mL) were combined and centrifuged at 13 000 rpm for 10 min to obtain the supernatant fractions that were frozen at -40 °C until analysis. The extract solution was appropriately diluted with methanol before analysis. Finally, a 10 μL aliquot was injected into the LC-MS/MS system, which was operated in the positive ion ESI mode with selected reaction monitoring for all the potential analytes. **Result:** Sixteen chemicals, including flavonoids and diarylheptanoids, were identified using LC-MS/MS with selected reaction monitoring mode (MRM). Twelve flavonoids were chrysin, pinocembrin, tectochrysin, apigenin, galangin, 3-methylgalangin, acacetin, kaempferol, kaempferide, quercetin, isorhamnetin and rutin, respectively. Four diarylheptanoids included yakuchinone A, oxyphyllacinol, hexahydrocurcumin and hannokinol. **Conclusion:** Sixteen chemicals were identified using LC-MS/MS and some unknown diarylheptanoids need to be identified in the future.

**[Key words]** *Alpinia officinarum* leaf; chemical constituent; flavonoid; diarylheptanoid; LC-MS/MS

**[收稿日期]** 20140317(002)

**[基金项目]** 海南省重大科技专项(ZDX2013008-3);2011年海南省自然科学基金项目(812189);海南医学院青年培育基金项目(HY2012-013);海南省高等学校教育教学改革项目(HNKY2014-50)

**[第一作者]** 谭银丰, 硕士, 副研究员, 从事中药药理学研究, Tel:0898-66895337, E-mail:112552819@qq.com

**[通讯作者]** \*陈峰, 博士, 副研究员, 从事中药分析及药物代谢动力学研究, Tel:0898-66895337, E-mail:cy.chen508@gmail.com

高良姜主要产于广东、广西、海南<sup>[1]</sup>,具有温胃止呕、散寒止痛之功,用于脘腹冷痛,胃寒呕吐,噎气吞酸<sup>[2]</sup>。根茎中化学成分研究较多<sup>[3-7]</sup>,主要含有挥发油、二苯庚烷类、黄酮类、萜类、苯丙素类和甾醇类。高良姜叶中的化学成分研究鲜有报道。本文对高良姜叶中的化学成分进行了初步研究,以期合理开发利用高良姜这一药用植物资源提供参考。

## 1 材料

杨芽黄素、伊砂黄素、白杨素、山柰素和芹菜素-4',7-二甲氧醚对照品由本课题组从益智中分离制备,通过UV, NMR, MS对结构进行鉴定,通过HPLC-DAD-MS对纯度进行测定<sup>[8]</sup>。益智酮甲、益智酮乙和益智醇购自凯方医药科技(上海)有限公司;六氢姜黄素(批号BBP02527), Hannokinol(批号BBP03119)购自西力生物科技有限公司;芹菜素(批号20130226)购自上海源叶生物科技有限公司;乔松素(批号MUST-13032007)购自上海乐坦生物科技有限公司;金合欢素(批号ZL201308AQ)购于南京泽朗医药科技有限公司;高良姜素(批号111699-200602)、木犀草素(批号111520-200504)、山柰酚(批号110861-200606)、槲皮素(批号100081-200406)、异鼠李素(批号110860-200407)、芦丁(批号10080-200306)购自中国食品药品检定研究院。以上对照品的纯度均在98%以上。其他化学试剂(分析级或以上级别)购自海南诣高仪器有限公司。

## 2 方法和结果

**2.1 色谱条件**<sup>[9]</sup> 使用Phenomenex Kinetex XB-C<sub>18</sub>色谱柱(2.10 mm × 50 mm, 2.6 μm)进行样品的分离分析,温度控制在40℃。流动相0.1%甲酸水(A)-0.1%甲酸甲醇(B)梯度洗脱(0~1 min, 2% B; 1~1.01 min, 2%~35% B; 1.01~4 min, 35% B; 4~15 min, 35%~90% B; 15~15.01 min, 90%~2% B, 15.01~20 min, 0% B),流速0.3 mL·min<sup>-1</sup>,柱温40℃。

**2.2 质谱条件** 电喷雾离子源正离子模式(+),喷雾电压5 500 V, GS1 55 psi, GS2 55 psi, 帘气25 psi, 喷雾温度550℃, CAD为4。多反应检测扫描(MRM)模式对黄酮、二芳基庚烷类进行扫描,每个离子对的扫描时间为20 ms。

**2.3 Q1全扫描** 对高良姜叶甲醇提取液进行ESI<sup>+</sup>和ESI<sup>-</sup>全扫描,扫描范围在m/z 200~700。结果发现,在ESI<sup>+</sup>模式下,总离子流强度比ESI<sup>-</sup>模式下较强。根据已报道的文献来看<sup>[10]</sup>,二芳基庚烷类成分益智酮甲、益智酮乙的离子强度信号强度也是

ESI<sup>+</sup>较强。因此,选择ESI<sup>+</sup>进行MRM扫描分析。

**2.4 MRM扫描模式** 根据高良姜根茎以及益智化学成分的研究结果,我们获得了23个化合物的对照品物质,分别归属于倍半萜类、黄酮类、二芳基庚烷类。对上述23个化合物进行质谱参数的优化,并建立液相色谱-质谱联用的分析方法。初步的研究发现,在高良姜叶的甲醇提取样品溶液中未发现诺卡酮、木犀草素、伊砂黄素、芹菜素-4',7-二甲氧醚、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷和益智酮乙。可被检测的化合物的质谱相关信息见表1。

**2.5 高良姜叶中的二芳基庚烷类成分和黄酮类成分** 如图1所示,在高良姜叶的甲醇提取液中可以检测到hannokinol(保留时间 $t_R$  10.45 min)、六氢姜黄素( $t_R$  7.39 min)、益智酮甲( $t_R$  12.22 min)、益智醇( $t_R$  12.47 min)。但未检测到益智酮乙(对照品的 $t_R$  12.64 min),在其MRM检测通道上出现 $t_R$  9.82 min(主), 9.96 min和12.14 min的物质峰,有可能是其同分异构体,具体结构有待进一步确定。类似的,在益智酮甲的检测通道上,除了益智酮甲的色谱峰(主)外,还有 $t_R$  9.94, 10.17 min的色谱峰,其响应约为益智酮甲的75%。其他色谱峰11.65, 16.44 min以及11.38, 16.27 min响应较弱。在益智醇的检测通道上,响应最强的为 $t_R$  11.62 min的色谱峰,益智醇本身的信号强度较弱,其他色谱峰9.93, 10.16 min也可被稳定检测。上述未知色谱峰的结构有待进一步的分离分析。

如图2所示,在高良姜叶的甲醇提取液中可以分离鉴定出12种黄酮类物质。高良姜素( $t_R$  10.94 min), 芹菜素( $t_R$  8.92 min)。二者虽为同分异构体,高良姜素为3,5,7-三羟基黄酮,芹菜素为5,7,4'-三羟基黄酮,后者具有更长的共轭结构,极性也较大,较早被洗脱出来。乔松素、白杨素和杨芽黄素的 $t_R$ 分别为10.06, 10.64 min和12.50 min。高良姜素的7-OH甲基化后形成伊砂黄素( $t_R$  12.87 min), 芹菜素的4'-OH甲基化后形成金合欢素( $t_R$  10.94 min), 高良姜素-3-甲醚(推测 $t_R$  11.27 min)。伊砂黄素、金合欢素和高良姜素-3-甲醚为同分异构体,3个化合物完全分离,但在高良姜提取液中未检测到伊砂黄素。提取液中的山柰素的 $t_R$  11.09 min,但此检测通道上还出现 $t_R$  9.31 min和11.47 min的色谱峰,结构未知。山柰素为山柰酚4'-OH取代之4'-OCH<sub>3</sub>,在山柰酚结构上尚有3-OH, 5-OH和7-OH,因此未知峰可能是不同取代未知的同分异构体。提取液中的山柰酚(3,5,7,4'-四羟基黄酮醇)的 $t_R$

表 1 电喷雾离子源 (ESI) 正离子 (+) 模式下, 化合物的质谱参数信息

Table 1 Mass spectrum parameters for the analytes in ESI (+) mode

化合物名	分子式	相对分子质量	母离子	子离子	多反应离子监测	去簇电压 /V	碰撞能量 /V	入口电压 /V	碰撞室出口电压/V
高良姜素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	270.1	271.2	153.0, 105.1, 141.0	270.1→153.0	112	43.8	10	8.7
高良姜素-3-O-甲醚	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	284.1	285.1	242.0, 270.0, 133.0	284.1→242.0	116	46.5	10	13.6
白杨素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	254.1	255.1	153.0, 103.0, 129.0	255.1→152.9	110	42.0	10	10.0
乔松素	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	256.1	257.1	153.0, 131.0, 173.0	257.1→153.0	86.0	30.5	10	8.2
芹菜素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	270.1	271.1	153.0, 119.0, 145.0	270.1→153.0	114	42.8	9.5	8.0
金合欢素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	284.1	285.1	242.0, 270.0, 133.0	284.1→242.0	116	46.5	10	13.6
杨芽黄素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	268.2	269.1	226.0, 254.0, 166.9	269.1→226.0	106	43.5	10	11.0
山柰酚	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	286.2	287.2	153.0, 121.0, 165.1	287.2→153.0	108	45.0	10	8.0
山柰素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	300.2	301.1	286.0, 258.0, 152.9	301.1→286.0	110	37.0	10	18.0
槲皮素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	302.1	303.1	153.0, 229.1, 137.0	303.1→153.0	114	47.0	10	8.5
异鼠李素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	316.1	317.2	302.1, 152.9, 229.0	317.2→302.1	104	35.2	10	17.7
芦丁	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	610.2	611.2	303.0, 465.1, 449.0	611.2→303.0	77.9	18.3	10.6	6.8
益智酮甲	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	312.4	313.2	136.9, 295.1	313.2→136.9	69.0	13.0	10	8.0
益智醇	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	314.4	315.3	297.1, 137.0, 173.0	315.3→297.1	37.0	8.0	10	11.0
六氢姜黄素	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>	374.2	375.2	357.2, 177.2, 163.0	375.2→357.2	79.7	9.0	10	8.5
hannokinol	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	316.2	318.3	256.3, 300.3, 212.0	318.3→256.3	101	31.5	11	16.5

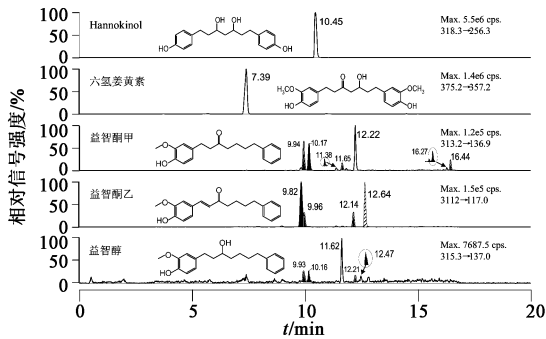


图 1 高良姜叶中的二芳基庚烷类成分的选择性 MRM 图谱

Fig.1 MRM chromatogram of diarylheptanoids from the leaves of *Alpinia officinarum*

8.63 min, 木犀草素(3,5,3',4'-四羟基黄酮)为其同分异构体,对照品的  $t_R$  为 7.88 min,并未出现在叶的甲醇提取液中。异鼠李素、槲皮素和芦丁的  $t_R$  为 9.04,7.31 min 和 4.55 min。但是,在这 3 个化合物的检测通道上,尚有多个未知色谱峰,需要进一步分离分析。因为槲皮素在 ESI<sup>-</sup> 模式下有更好的响应,图 2 中采用的该模式下的 MRM 图谱。芹菜素-7,4'-二甲醚对照品的  $t_R$  为 12.77 min,但高良姜叶甲醇提取物样品在此通道上出现  $t_R$  为 11.47 min 的色谱峰,其结构需要进一步鉴定。

### 3 结论

高良姜作为常用中药,化学研究较为深入。从资源利用的角度来说,高良姜叶的化学成分和药理

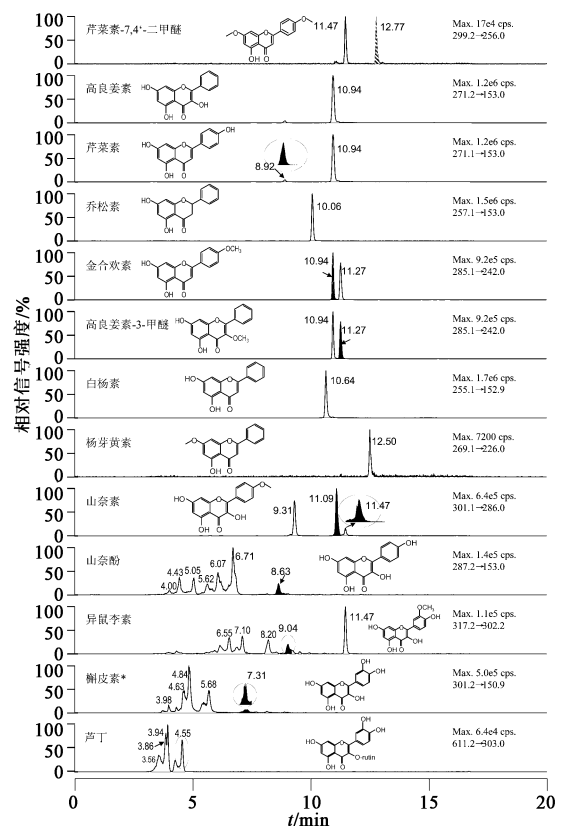


图 2 高良姜叶中的黄酮类成分的选择性 MRM 图谱

Fig.2 MRM chromatogram of flavonoids from the leaves of *Alpinia officinarum*

活性值得探讨。本文的研究基于对高良姜化学成分

的整理分析,利用液相色谱-质谱联用技术中MRM监测模式的高选择性和高灵敏性,对高良姜叶的甲醇提取物中可能的化学成分进行了定性分析,从中确定了源于两类成分的16种化合物。同时,我们也发现了二芳基庚烷类成分以及黄酮类成分的同分异构体,本文未能对其结构进行确定。本文仅利用新技术对高良姜叶中的化学成分进行了初步的探索,更深入的研究值得研究人员关注。

[参考文献]

[1] 国家中医药管理局. 中华本草. 8卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:599-608.  
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:270-271.  
[3] 祝永仙,李尚秀,赵升逵等. 高良姜的化学成分研究[J]. 云南民族大学学报:自然科学版,2013,22(4):239-241.  
[4] 赵玲,杨博,梁敬钰. 高良姜根茎的化学成分及抗口腔菌活性测定[J]. 武汉工业学院学报,2012,31(3):6-9.

[5] 黄慧珍,杨丹. 高良姜的化学成分及其药理活性研究进展[J]. 广东化工,2009,36(1):77-80.  
[6] 周改莲,辛宁,黄陆良. 高良姜的化学成分研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(6):1376-1378.  
[7] 卜宪章,肖桂武,古练权等. 高良姜化学成分研究[J]. 中药材,2000,23(2):84-87.  
[8] Qing Z J, Yong W, Hui L Y, et al. Two new natural products from the fruits of *Alpinia oxyphylla* with inhibitory effects on nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated RAW264.7 macrophage cells[J]. Arch Pharm Res 2012, 35(12):2143-2146.  
[9] Chen F, Li H L, Li Y H, et al. Quantitative analysis of the major constituents in Chinese medicinal preparation SuoQuan formulae by ultra fast high performance liquid chromatography/quadrupole tandem mass spectrometry[J]. Chem Cent J, 2013, 7(1):131-140.  
[10] Chen F, Li H L, Tan Y F, et al. Validated method to measure yakuchinone A in plasma by LC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study in rats[J]. Chem Cent J, 2014, 8(1):2-10.

[责任编辑 顾雪竹]

---

## 《中国实验方剂学杂志》郑重声明

本刊最近发现有一些诈骗类网站使用类似本刊网站的域名,冒用本刊名义,骗取高额审稿费及版面费。

现本刊郑重声明:本刊不会以任何名义收取任何审稿费,http://www.syfjxzz.com 为本刊唯一域名。

对于假冒本刊名义、侵犯本刊权利的不法行为,本刊将通过法律程序进行维权。

中国实验方剂学杂志社  
2015-01-22