

· 资源与鉴定 ·

基于UHPLC-TOF-MS技术建立金线莲的指纹图谱及金线莲苷的含量测定方法

张藏蔓¹, 卢敬光¹, 谢启师¹, 王丹², 詹华杏², 高进¹, 王静蓉¹, 姜志宏^{1*}

(1. 澳门科技大学 中药质量研究国家重点实验室, 澳门药物及健康应用研究院, 澳门 999078;
2. 上海本素医药科技有限公司, 上海 201612)

[摘要] 目的:建立野生、组织培养和种植等14批不同来源金线莲药材的超高效液相色谱-飞行时间质谱(UHPLC-TOF-MS)指纹图谱,建立金线莲苷的UHPLC-TOF-MS含量测定方法,为完善金线莲药材的质量标准提供实验依据。方法:依据高分辨质谱提供的精确相对分子质量鉴定化学成分,选择 $[M + HCOO]^-$ 作为专属离子对金线莲苷进行含量测定。采用SPSS 22.0软件对各批次药材中化学成分指纹图谱进行相似度考察和聚类分析,评价不同因素对金线莲药材质量的影响。结果:建立了金线莲药材UHPLC-TOF-MS指纹图谱并从中指出36个化学成分,包括金线莲苷类5个、黄酮类18个、核苷类5个、有机酸类6个、长寿花糖苷C和天麻苷各1个。指纹图谱相似度考察、聚类分析及金线莲苷含量测定结果表明对药材中化学成分种类及含量产生显著影响的因素为产地和栽培时间。金线莲苷质量分数处于4.85%~16.18%。结论:建立的金线莲化学成分指纹图谱及金线莲苷含量测定方法稳定可行,为金线莲药材的质量评价提供了切实可行的检测方法。

[关键词] 金线莲; 金线莲苷; 超高效液相色谱-飞行时间质谱; 指纹图谱; 聚类分析; 相似度

[中图分类号] R282.5;R917;R931.6;R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)01-0031-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018010031

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171011.1401.028.html>

[网络出版时间] 2017-10-11 14:01

Establishment of Fingerprint and Determination of Kinsenoside of Herba Anoetochili from Different Sources by UHPLC-TOF-MS

ZHANG Cang-man¹, LU Jing-guang¹, XIE Qi-shi¹, WANG Dan²,
ZHAN Hua-xing², GAO Jin¹, WANG Jing-rong¹, JIANG Zhi-hong^{1*}

(1. Macau Institute for Applied Research in Medicine and Health, State Key Laboratory of Quality Research in Chinese Medicines, Macau University of Science and Technology, Macau 999078, China;
2. Shanghai Ginposome PharmaTech Co. Ltd., Shanghai 201612, China)

[Abstract] **Objective:** To provide chemical evidence for the quality control of Herba Anoetochili through chemical profiling and quantitative analysis of 14 batches of herbs by UHPLC-TOF-MS technique. **Method:** Chemical constituents were profiled by UHPLC-TOF-MS fingerprint. Compounds in the fingerprint were assigned on the basis of accurate mass. The contents of kinsenoside was determined by using $[M + HCOO]^-$ ion. The obtained fingerprints of 14 batches of Herba Anoetochili were evaluated by similarity investigation and cluster analysis. **Result:** The UHPLC-TOF-MS fingerprint of Herba Anoetochili was established and thirty-six chemical constituents in the fingerprint were identified. The chemical profiling and quantitative analysis showed that the chemical components of Herba Anoetochili were significantly influenced by place of origin and cultivation time.

[收稿日期] 20170612(016)

[第一作者] 张藏蔓, 硕士, 助理研究员, 从事中药分析及代谢组学研究, Tel:17765711856, E-mail:cmzhang@must.edu.mo

[通信作者] *姜志宏, 博士, 教授, 从事天然药物化学、生物有机化学、代谢组学及中药质量标准研究, Tel:853-66501238, E-mail:zhjiang@must.edu.mo

The content range of kinsenoside was 4.85% -16.18%. **Conclusion:** The established fingerprint and determination of kinsenoside is feasible and stable, which is suitable for the quality control of Herba Anoectochili.

[**Key words**] Herba Anoectochili; kinsenoside; UHPLC-TOF-MS; fingerprint; cluster analysis; similarity

金线莲为兰科开唇兰属植物,全草入药,味甘,性平,具有清热凉血、除湿解毒的功效,素有“神药”、“金草”、“乌人参”、“药王”等美称^[1]。马志杰等^[2]指出花叶开唇兰、台湾金线莲和高雄金线莲 3 个种为民间常用药。现代研究表明金线莲中黄酮类、三萜类、甾体类、生物碱类、有机酸、多糖其糖苷类等成分^[3-15]在降血糖、抗肿瘤、保肝、降血压、改善骨质疏松等方面具有较好的生物活性^[16-20]。

金线莲对生态环境条件要求较严,适应性较差,因此,从 1980 年代开始,关于金线莲种苗繁育、人工栽培技术的研究陆续展开,并已快速发展^[21-22]。但其质量标准体系研究滞后,导致市场药用产品的质量参差不齐,临床药用资源受限,制约其健康及可持续发展。本实验拟建立不同来源金线莲药材的 UHPLC-TOF-MS 指纹图谱,并完善该药材主要化学成分金线莲苷的含量测定方法,通过对指纹图谱进行相似度考察、聚类分析及金线莲苷的含量测定 3 个方面评价不同因素对金线莲药材质量的影响,为该药材的质量控制及药用资源开发提供科学依据。

1 材料

1290 型超高性能液相色谱仪-6230 型飞行时间质谱仪(美国 Agilent 公司),AU220 型 1/1 万电子天平(日本岛津公司),AB265-S 型 1/10 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),Allegra X-15R 型离心机(美国 Beckman Coulter 公司)。金线莲苷对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号 J-006-160304,纯度 ≥96%),水为去离子水,乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯,其他试剂均为分析纯。14 批金线莲药材均由上海本素医药科技有限公司提供,经澳门科技大学中医药学院张志锋副教授鉴定,药材信息见表 1。药材粉碎,过 24 目筛,备用,取各药材粉末等量混匀,作为本研究的混合样品,即 QC 样品。

2 方法与结果

2.1 检测条件

2.1.1 色谱条件 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(3.0 mm × 150 mm, 2.7 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0~3 min, 2% B; 3~15 min, 2%~45% B; 15~20 min, 45%~95% B; 20~21 min, 95%~2% B),流速 0.3 mL·min⁻¹,柱温 25℃,进样量 10 μL。

表 1 14 批不同来源金线莲药材的信息

Table 1 Information of 14 batches of Herba Anoectochili from different sources

| 批号 | 来源 | 栽培方式 | 栽培时间 /月 | 部位 |
|----|---|------|---------|----|
| 1 | 福建明溪金线莲 <i>Anoectochilus roxburghii</i> | 组织培养 | 6 | 全草 |
| 2 | 福建明溪有机金线莲 <i>A. roxburghii</i> | 大棚种植 | 4 | 全草 |
| 3 | 福建明溪有机金线莲 <i>A. roxburghii</i> | 大棚种植 | 6 | 全草 |
| 4 | 福建明溪天然金线莲 <i>A. roxburghii</i> | 野外种植 | 4.5 | 全草 |
| 5 | 台湾金线莲 <i>A. formosanus</i> | 组织培养 | 6 | 全草 |
| 6 | 台湾金线莲 <i>A. formosanus</i> | 大棚种植 | 4.5 | 全草 |
| 7 | 福建明溪野生金线莲 <i>A. roxburghii</i> | 野生 | - | 全草 |
| 8 | 福建明溪野生金线莲 <i>A. roxburghii</i> | 野生 | - | 根 |
| 9 | 福建南靖金线莲 <i>A. roxburghii</i> 红霞 | 组织培养 | 4.5 | 全草 |
| 10 | 福建南靖金线莲 <i>A. roxburghii</i> 红霞 | 大棚种植 | 4 | 全草 |
| 11 | 福建明溪金线莲 <i>A. roxburghii</i> 七脉 | 野外种植 | 3 | 全草 |
| 12 | 广西野生金线莲 <i>A. roxburghii</i> | 野生 | - | 全草 |
| 13 | 广东野生金线莲 <i>A. roxburghii</i> | 野生 | - | 全草 |
| 14 | 福建明溪金线莲 <i>A. roxburghii</i> | - | - | 根 |

注:“-”表示未知。

2.1.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),负离子检测模式,扫描范围 m/z 100 ~ 1 700,采样速率 2 spectra·s⁻¹,干燥气(N₂)流速 10 L·min⁻¹,干燥气温度 325℃,毛细管电压 3.5 kV,喷雾器压力 0.28 MPa,采用 MassHunter Workstation 软件进行数据处理。

2.2 UHPLC-TOF-MS 指纹图谱分析

2.2.1 供试品溶液配制 精密称取 QC 样品及 14 批药材粉末各 20 mg,分别加入 70% 甲醇 10 mL,超声处理(功率 220 W,频率 50~60 kHz)2 次,每次 30 min,合并提取液并转移至 25 mL 量瓶中,加 70% 甲醇定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.2 指纹图谱相似度考察 以所有峰和共有峰峰面积为考察对象,不同来源样品指纹图谱与其生成的共有图谱之间进行比对,采用相关系数法、夹角余弦法和相似性比 3 种方法对 14 批次金线莲药材指纹图谱进行相似度评价^[23-24]。

2.2.3 指纹图谱聚类分析 以特征成分金线莲苷及其开环丁酸衍生物和黄酮类化合物为基础数据,采用 SPSS 22.0 软件对 14 批不同来源的金线莲药材进行系统聚类分析,运用离差平方和法,以平方欧

式距离系数对样品进行聚类。

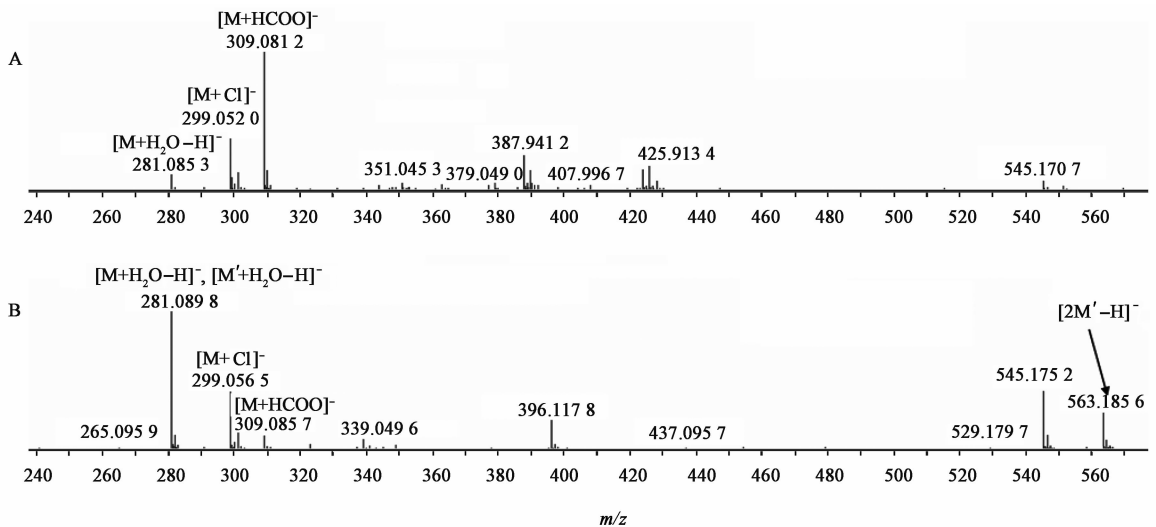
2.3 金线莲苷的含量测定

2.3.1 对照品溶液配制 精密称取金线莲苷对照品适量,用水配成 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 贮备液,加水稀释成质量浓度分别为 $0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的系列对照品溶液,经 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,取续滤液,备用。

2.3.2 供试品溶液配制 精密称取 14 批药材粉末各 20 mg,按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,加水稀释 100 倍,即得。

2.3.3 定量离子的选择 由于金线莲苷极性大,水溶性较大,很难与原植物中其开环衍生物(化合物 3)

分离,对金线莲苷的含量测定造成了干扰^[25-26],见图 1。结果发现在负离子模式下,金线莲苷准分子离子有 $[\text{M} + \text{H}_2\text{O} - \text{H}]^- m/z 281.086 3, [\text{M} + \text{Cl}]^- m/z 299.052 9$ 和 $[\text{M} + \text{HCOO}]^- m/z 309.081 5$ 。但对照品 MS 图谱和供试品 MS 图谱可观察到二者区别,对照品中 $m/z 281$ 离子丰度远小于 $m/z 309$,而供试品的一级 MS 图谱则显示 $m/z 281$ 丰度远大于 $m/z 309$;其次,在供试品一级质谱图中可以明显观察到化合物 3 的二聚体 $m/z 563.185 6$,而对照品中没有该离子峰。因此在金线莲苷定量分析中选择 $[\text{M} + \text{HCOO}]^- m/z 309.081 5$ 作为定量离子可有效避免开环产物的干扰。



A. 对照品;B. 供试品;M. 金线莲苷;M'. 化合物 3[3(R)-O-β-D-吡喃葡萄糖基-4-羟基丁酸]

图 1 金线莲药材的碎片离子

Fig. 1 Fragment ions of Herba Anoectochili sample

2.3.4 线性关系考察 取 2.3.1 项下金线莲苷系列对照品溶液,按 2.1 项下条件检测,提取系列质量浓度对照品溶液的离子 $[\text{M} + \text{HCOO}]^-$,以其峰面积积分值为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 510 178X - 13 781 (R^2 = 0.999 9)$,线性范围 $0.01 \sim 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3.5 定量限考察 根据线性关系考察中提取系列对照品溶液的 $[\text{M} + \text{HCOO}]^-$ 离子峰,以其信噪比 (S/N) 约等于 10 时估计其定量限 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,灵敏度较传统 HPLC^[26] 定量限 $0.762 5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 大大提高。

2.3.6 精密度假考察 取 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 金线莲苷对照品溶液适量,按 2.1 项下条件连续进样 6 次,计算对照品提取离子峰面积的 RSD 2.2%,表明仪器精密度假良好。

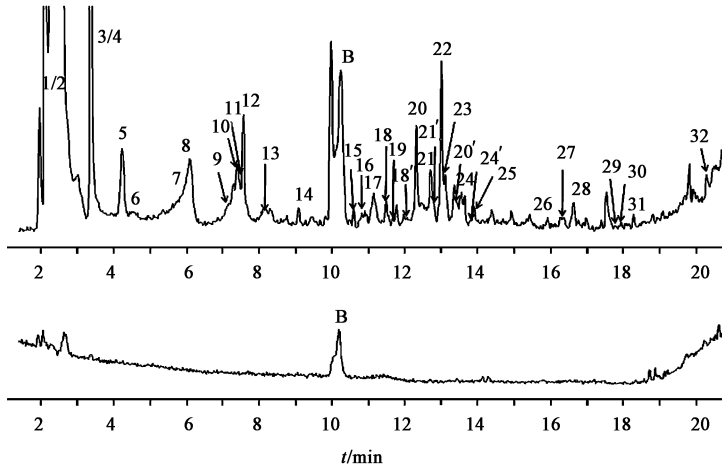
2.3.7 稳定性考察 取同一供试品溶液,按 2.1 项下条件分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 测定,记录金线莲苷的提取离子峰面积,计算其 RSD 2.7%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.8 重复性考察 取同一批药材(第 2 批,明溪有机金线莲,大棚种植 4 个月)粉末,按 2.3.2 项下方法制备 6 份供试品溶液,按 2.1 项下条件测定,通过外标法计算金线莲苷平均质量分数 8.75%,RSD 1.8%,表明该方法重复性良好。

2.3.9 加样回收率考察 取同一批药材(第 2 批,明溪有机金线莲)粉末约 20 mg,精密称定,共 6 份,每份精密加入金线莲苷对照品 2.1 mg,按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下条件测定,计算平均加样回收率 100.40%,RSD 3.6%,表明该方法准确可靠。

2.4 金线莲药材 UHPLC-TOF-MS 指纹图谱的建立 金线莲药材的指纹图谱见图2,并在此基础上构建了3D指纹图谱,见图3,结果发现金线莲中含量高的化学成分主要分布在1~8号,说明主要成分为水溶性成分,其中以金线莲苷(4号)含量最高。

依据精确相对分子质量从指纹图谱中指认了36个成分,见表2。主要为金线莲苷及其开环衍生物、黄酮类、酚酸类等化合物,其中化合物**5**(奎宁酸)和化合物**15**(异鼠李素-3-O-芸香糖-7-O-葡萄糖苷)为首次在金线莲中发现。



峰 B. 色谱柱残留峰

图2 金线莲 QC 样品及空白溶液在负离子模式下的总离子流

Fig. 2 Total ion chromatogram of QC sample of Herba Anoectochili and blank solution under negative ion mode

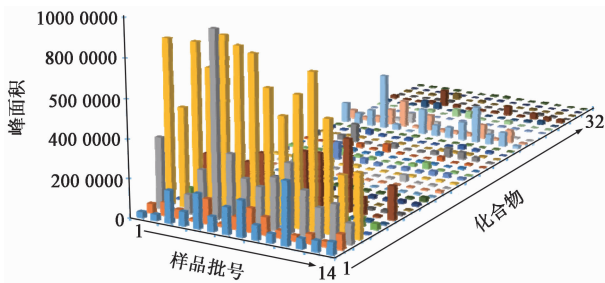


图3 14批金线莲药材的3D指纹谱

Fig. 3 3D fingerprint of 14 batches of Herba Anoectochili

2.5 相似度考察 不同来源样品相似度考察结果见表3,相关系数法和夹角余弦法所得相似度均 > 0.8,而相似性比结果中有4个批次的相似度均 < 0.8,说明这4个批次样品的化学成分色谱峰峰面积分布范围较大,相关系数法和夹角余弦法无法检测,而相似性比能灵敏检测出小峰的增减^[27],故采用相似性比的结果。第2批(明溪有机金线莲,大棚种植4个月),第5批药材(台湾金线莲,组织培养6个月),第13批(广东野生金线莲)和第14批(明溪金线莲根)的化学成分可能受品种、产地等因素的影响较大。

2.6 聚类分析 以金线莲苷及其开环丁酸衍生物和黄酮类化合物含量为基础,对14批不同来源的金线莲药材进行系统聚类分析,见图4。将14批不同

来源的金线莲药材分为4个类别,第9,12,8,10批药材为第I类;第1,6,3,7,11,4批为第II类;第13,14,2批为第III类;第5批为第IV类。由远至近的亲疏关系为IV > III > II ≈ I,所得结果基本与相似度考察结果一致,第2,5,13,14批与其他批次的药材偏离较远。

采用单因素分析这些化学成分与品种、栽培方式、栽培时间等因素的相关性。
①品种:同为组织培养6个月,第IV类中的5号台湾金线莲与第II类的1号明溪金线莲偏离最远;同为大棚种植,第III类中的2号明溪有机金线莲与第II类的6号台湾金线莲偏离也较远,表明品种对化学成分的影响最大。
②产地:第III类中的13号广东产地药材与第II类中的7号福建产地药材,第I类中的12号广西产地药材3个野生金线莲差异较大;同为大棚种植4个月,第III类中的2号明溪金线莲与第I类中的10号南溪金线莲差异也较大,表明产地对金线莲化学成分的影响仅次于品种。
③栽培时间:同为大棚种植的明溪有机金线莲,第III类中的2号种植4个月和第II类中的3号种植6个月差异较大;因栽培方式对化学成分没有影响,同为明溪产地金线莲,栽培时间4.5个月(4号)与栽培时间6个月(1号和3号)归属为第II类,无差异,栽培时间4.5个月(4号)与栽培时间4个月(2号)有差异;表明栽培时间达到

表 2 金线莲 QC 样品指纹图谱中各色谱峰的指认

Table 2 Identification of compounds in fingerprint of QC sample of Herba Anoectochili

| 峰号 | t_R /min | m/z 实测值 | m/z 理论值 | 分子式 | 化合物 | 得分 ^a /分 | δ /ppm | 参考文献 |
|-----|---------------|------------------------|--------------|---|---|--------------------|------------------|-----------|
| 1 | 2.39 | 341.109 8 ^b | 341.108 9 | C ₁₁ H ₂₀ O ₉ | 3(<i>R</i>)- <i>O</i> - β - <i>D</i> -吡喃葡萄糖基-4-羟基-丁酸甲酯 | 97.70 | 2.64 | [3,5] |
| 2 | 2.61 | 311.091 7 ^b | 311.092 5 | C ₁₇ H ₁₄ O ₃ | kinsenosone | 93.17 | -2.57 | [6] |
| 3 | 3.32 | 281.088 6 ^c | 281.087 8 | C ₁₀ H ₁₈ O ₉ | 3(<i>R</i>)- <i>O</i> - β - <i>D</i> -吡喃葡萄糖基-4-羟基丁酸 | 97.04 | 2.85 | [3,5] |
| 4 | 3.34 | 309.083 8 ^b | 309.082 7 | C ₁₀ H ₁₆ O ₈ | 金线莲苷 | 92.88 | 3.56 | [3,5,7] |
| 5 | 4.19 | 191.054 9 ^c | 191.056 1 | C ₇ H ₁₂ O ₆ | 奎宁酸 | 69.01 | -6.28 | - |
| 6 | 4.52 | 471.135 4 ^b | 471.135 5 | C ₁₆ H ₂₆ O ₁₃ | kinsendioside A | 90.24 | 0.02 | [7] |
| 7 | 5.32 | 243.063 1 ^c | 243.062 3 | C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆ | 假尿苷 | 78.32 | 3.29 | [8] |
| 8 | 6.04 | 265.094 2 ^c | 265.092 9 | C ₁₀ H ₁₈ O ₈ | 咖啡酸衍生物 | 94.35 | 4.90 | - |
| 9 | 7.09 | 134.048 2 ^c | 134.047 2 | C ₅ H ₅ N ₅ | 腺嘌呤 | 71.89 | 7.46 | [8] |
| 10 | 7.33 | 150.043 2 ^c | 150.042 1 | C ₅ H ₅ N ₅ O | 鸟嘌呤 | 76.36 | 7.33 | [8] |
| 11 | 7.35 | 282.085 4 ^c | 282.084 4 | C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅ | 鸟苷 | 96.18 | 3.54 | [8] |
| 12 | 7.60 | 331.103 3 ^b | 331.103 5 | C ₁₃ H ₁₈ O ₇ | 天麻苷 | 98.35 | -0.60 | [9] |
| 13 | 8.15 | 241.084 0 ^c | 241.083 0 | C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₅ | 胸苷 | 82.52 | 4.15 | [8] |
| 14 | 9.04 | 341.088 3 ^c | 341.087 8 | C ₁₅ H ₁₈ O ₉ | 咖啡酸-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷或咖啡酸-4- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷 | 90.75 | 1.47 | - |
| 15 | 10.53 | 785.213 3 ^c | 785.214 6 | C ₃₄ H ₄₂ O ₂₁ | 异鼠李素-3- <i>O</i> -芸香糖-7- <i>O</i> -葡萄糖苷 | 84.57 | -1.65 | - |
| 16 | 13.38 | 193.051 2 ^c | 193.050 6 | C ₁₀ H ₁₀ O ₄ | 阿魏酸 | 86.35 | 3.11 | [10] |
| 17 | 11.08 | 431.192 7 ^b | 431.192 3 | C ₁₉ H ₃₀ O ₈ | 长寿花糖苷 C | 96.33 | 0.93 | [11] |
| 18 | 11.43 | 625.140 5 ^c | 625.141 0 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇ | 槲皮素-3,7-二葡萄糖苷 | 97.95 | -0.08 | [12] |
| 18' | 12.73 | 625.141 0 ^c | 625.141 0 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇ | 槲皮素-3,7-二葡萄糖苷的异构体 | 92.95 | 0.00 | [12] |
| 19 | 11.62 | 639.156 5 ^c | 639.156 7 | C ₂₈ H ₃₂ O ₁₇ | 异鼠李素-3,7-二- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷 | 92.72 | -0.31 | [12] |
| 20 | 12.25 | 609.146 7 ^c | 609.146 1 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆ | 芦丁(或山柰酚-3,7-二- <i>O</i> -葡萄糖苷) | 99.21 | 0.98 | [13] |
| 20' | 13.36 | 609.146 5 ^c | 609.146 1 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆ | 芦丁(或山柰酚-3,7-二- <i>O</i> -葡萄糖苷)的异构体 | 91.54 | 0.66 | [13] |
| 21 | 12.71 | 463.089 4 ^c | 463.088 2 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ | 异槲皮苷(或槲皮素-3'- <i>O</i> -葡萄糖苷或槲皮素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷) | 95.10 | 2.59 | [10,14] |
| 21' | 13.73 | 463.087 9 ^c | 463.088 2 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ | 异槲皮苷(或槲皮素-3'- <i>O</i> -葡萄糖苷或槲皮素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷)的异构体 | 95.39 | -0.65 | [10,14] |
| 22 | 12.95 | 623.163 0 ^c | 623.161 8 | C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆ | 异鼠李素-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -芸香糖苷 | 97.69 | 1.92 | [15] |
| 23 | 13.05 | 163.041 0 ^c | 163.040 1 | C ₉ H ₈ O ₃ | 4-羟基桂皮酸 | 95.21 | 5.52 | [10] |
| 24 | 13.45 | 477.104 5 ^c | 477.103 8 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂ | 异鼠李素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷(或异鼠李素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷) | 97.92 | 1.26 | [15] |
| 24' | 13.71 | 477.104 4 ^c | 477.103 8 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂ | 异鼠李素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷(或异鼠李素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷)的异构体 | 89.31 | 1.47 | [15] |
| 25 | 13.59 | 447.094 0 ^c | 447.093 3 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁ | 山柰酚-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷 | 94.41 | 1.56 | [15] |
| 26 | 15.86 | 697.197 8 ^b | 697.198 5 | C ₃₀ H ₃₆ O ₁₆ | 5-羟基-3',4',7-三甲氧基黄酮-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -芸香糖苷 | 96.53 | -1.00 | [15] |
| 27 | 16.20 | 301.036 2 ^c | 301.035 4 | C ₁₅ H ₁₀ O ₇ | 槲皮素 | 96.63 | 2.66 | [10] |
| 28 | 16.56 | 381.119 9 ^c | 381.119 1 | C ₁₈ H ₂₂ O ₉ | 阿魏酰-奎宁酸甲酯 | 97.80 | 2.10 | - |
| 29 | 17.73 | 285.041 2 ^c | 285.040 5 | C ₁₅ H ₁₀ O ₆ | 山柰酚 | 94.10 | 2.46 | [10] |
| 30 | 17.88 | 315.051 8 ^c | 315.051 0 | C ₁₆ H ₁₂ O ₇ | 异鼠李素 | 95.89 | 2.54 | [6,10,14] |
| 31 | 18.21 | 329.068 1 ^c | 329.066 7 | C ₁₇ H ₁₄ O ₇ | 槲皮素-3,4'-二甲酯 | 92.25 | 4.25 | [6,10] |
| 32 | 20.26 | 343.082 1 ^c | 343.082 3 | C ₁₈ H ₁₆ O ₇ | 3',4',7-三甲氧基-3,5-二羟基黄酮 | 53.55 | -0.58 | [13] |

注: ^a表示 MassHunter 软件根据化合物精确质荷比、同位素间距和同位素丰度加权计算所得; ^b表示离子形式[M + HCOO]⁻; ^c表示离子形式[M - H]⁻。

- [J]. 亚热带植物科学, 2002, 31(增刊): 27-31.
- [3] DU X M, SUN N Y, Tamura T, et al. Higher yielding isolation of kinsenoside in *Anoectochilus* and its antihyperliposis effect [J]. Biol Pharm Bull, 2001, 24(1): 65-69.
- [4] 王晓雪. 福建金线莲粗提物多组分的快速质谱分析方法及 NMR/RRLC-MS 相关谱分析方法研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2011.
- [5] 王建栋, 王红珍, 张爱莲, 等. 金线莲苷研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(19): 1795-1798, 1802.
- [6] WANG S Y, KUO Y H, CHANG H N, et al. Profiling and characterization antioxidant activities in *Anoectochilus formosanus* hayata [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(7): 1859-1865.
- [7] LIU Q, HA W, LIU Z, et al. 3-Hydroxybutanolide derivatives and flavonoid glucosides from *Anoectochilus roxburghii* [J]. Phytochem Lett, 2014, 8(1): 109-115.
- [8] 黄可可. 金线莲活性成分分析和质量标准的研究 [D]. 福州: 福建医科大学, 2012.
- [9] Ito A, Kasai R, Yamasaki K, et al. Aliphatic and aromatic glucosides from *Anoectochilus koshunensis* [J]. Phytochemistry, 1993, 33(5): 1133-1137.
- [10] WANG X X, HE J M, WANG C L, et al. Simultaneous structural identification of natural products in fractions of crude extract of the rare endangered plant *Anoectochilus roxburghii* using ¹H-NMR/RRLC-MS parallel dynamic spectroscopy [J]. Int J Mol Sci, 2011, 12(4): 2556-2571.
- [11] DU X M, SUN N Y, Irino N, et al. Glycosidic constituents from *in vitro* *Anoectochilus formosanus* [J]. Chem Pharm Bull, 2000, 48(11): 1803-1804.
- [12] 吴丽丽, 梁燕, 许光辉. 金线莲化学成分、药理作用及临床应用研究概述 [J]. 海峡药学, 2014, 26(10): 34-37.
- [13] 杨秀伟, 韩美华, 靳彦平. 金线莲化学成分的研究 [J]. 中药材, 2007, 30(7): 797-800.
- [14] 何春年, 王春兰, 郭顺星, 等. 福建金线莲的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2005, 40(3): 581-582.
- [15] HE C N, WANG C L, GUO S X, et al. A novel flavonoid glucoside from *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl [J]. J Integr Plant Biol, 2006, 48(3): 359-363.
- [16] ZHANG J G, LIU Q, LIU Z L, et al. Antihyperglycemic activity of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharose in diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 164: 180-185.
- [17] 翁秀华, 王长连, 袁曦, 等. 金线莲对人前列腺癌 PC-3 细胞增殖能力的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(13): 1083-1087.
- [18] 黄立峰, 卢若艳, 苏志敏, 等. 金线莲提取物对 CCl₄ 所致小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. 解放军医学学报, 2007, 23(4): 278-281.
- [19] 李葆华, 陈以旺. 金线莲提取物 ARL 对肾血管性高血压大鼠血压、血管紧张素 II、一氧化氮和内皮素的影响 [J]. 中国分子心脏病学杂志, 2006, 6(3): 132-135.
- [20] Shih C C, WU Y W, LIN W C. Ameliorative effects of *Anoectochilus formosanus* extract on osteopenia in ovariectomized rats [J]. J Ethnopharmacol, 2001, 77(2/3): 233-238.
- [21] 范子南, 肖华山, 范晓红, 等. 金线莲的组织培养研究 [J]. 福建师范大学学报, 1997, 13(2): 85-90.
- [22] 陈裕, 林坤瑞, 管其宽, 等. 金线莲若干栽培技术研究 [J]. 亚热带植物通讯, 1994, 23(1): 46-51.
- [23] 陈祥胜, 容艳芬, 刘苗苗, 等. 苍术麸炒前后的专属性 HPLC 特征指纹图谱 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(19): 23-26.
- [24] 王玺, 王文宇, 张克荣, 等. 中药 HPLC 指纹图谱相似性研究的探讨 [J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(5): 360-366.
- [25] 万婷, 熊富良. HPLC-ELSD 法测定金线莲提取物中金线莲苷 [J]. 中成药, 2014, 36(7): 1485-1488.
- [26] 张锦文, 唐菲, 张小琼, 等. 高效液相色谱法测定金线莲中金线莲苷的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(4): 261-263.
- [27] 詹雪艳, 史新元, 段天璇, 等. 色谱指纹图谱相似度方法的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 248-251.

[责任编辑 刘德文]