



# 八角科植物果皮化学成分的 LC-MS 图谱特征及其在分类和药材鉴别上的意义

胡岩, 段天璇, 曹枫, 于继平, 黄建梅\*

(北京中医药大学 中药学院, 北京 100102)

**[摘要]** **目的:**研究八角科植物果皮化学成分的特点以及部分倍半萜内酯类成分在八角科植物中的分布情况,一方面为进一步开发八角科植物资源奠定基础,另一方面探讨其在八角科植物分类以及八角茴香类药材真伪鉴别上的意义。**方法:**采用 LC-MS 法分别测定了八角科植物的 17 种 22 个果皮样品的总离子流图和质谱图,应用 SAS 软件对得到的数据进行聚类统计处理。**结果:**根据样品所含成分的相似性可将 17 种八角科植物按化学成分特征分为 5 类。同时初步确定 pseudoanisatin, 6-deoxypseudoanisatin, pseudomajucin 3 种倍半萜内酯类化合物在 17 种果皮样品中的分布情况。**结论:**LC-MS 法得到的色谱图能够很好地表征八角科植物果皮的化学成分特点;根据 LC-MS 图谱得到的化学分类结果与传统的植物分类结果吻合度不高;八角茴香药材和其他八角科植物果实的 LC-MS 图谱有较大的差别,可以根据图谱进行原药材或药材粉末的鉴别。

**[关键词]** 八角科;化学成分;倍半萜内酯;LC-MS;分类;鉴别

八角科为单属科,全世界共有 34 种,其中有 31 种分布于亚洲东部和东南部,中国为其分布中心。八角科大多数植物以根、根皮、树皮、叶和果实入药,八角茴香是唯一被药典收录的八角科果实类药材,其他种类的果实多为民间用药,而且其中的一些种类据记载有一定的毒性<sup>[1]</sup>。为了用药安全及明确活性成分,到目前为止,文献已对 13 种植物果实的化学成分进行研究<sup>[2-12]</sup>,结果表明八角科植物果皮中主要含有骨架奇特的 *seco-prezizaane* 类和 *anialactone* 类倍半萜内酯类成分、苯丙烷类、黄酮类、有机酸、二萜及三萜类成分以及一些挥发性的成分,其中,倍半萜内酯类成分是八角科植物的特征成分,且在大部分果实中的含量较大。现代研究还表明八角科植物果皮的倍半萜内酯类具有一定的生物活性,比如倍半萜内酯类成分 *isodunnianin*<sup>[13]</sup>, *merrilactone A*<sup>[14]</sup> 具有促进神经细胞突起生长的活性。因此,八角科植物中的倍半萜内酯类的资源分布状况值得关注。

本课题主要以倍半萜内酯类成分为研究对象,采用 LC-MS 法,一方面研究该类成分在八角科植物中的分布特点,另一方面明确一些倍半萜内酯类成

分的分布情况。并在上述研究的基础上,从植物化学分类的角度对八角科植物进行分类学评价,同时,探讨 LC-MS 图谱在药材鉴别上的应用。

## 1 材料

HP-1100 系列液相色谱-质谱联用仪 (Agilent Trap XCT/Plus 型,多级离子阱质谱仪,高压二元梯度系统,DAD 型检测器,自动进样器,柱温箱);0.45  $\mu\text{m}$  滤膜;乙腈 (fisher 色谱纯),娃哈哈纯净水。pseudoanisatin, 6-deoxypseudoanisatin, pseudomajucin 3 种对照品均为自制。八角科植物果实样品为来自八角科 17 种植物的 22 个品种,见表 1,样品经本校中药学院生药系杨春澍教授鉴定。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱质谱条件

Agilent ZOBAX-SB-CN 色谱柱 (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ;乙腈-水梯度洗脱,梯度设置见表 2;质谱检测条件:ESI 离子源,雾化气 ( $\text{N}_2$ ) 压力 40 Psi,干燥气 ( $\text{N}_2$ ) 流速 10.00  $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ ,干燥气温度 350  $^{\circ}\text{C}$ ,离子扫描范围 100 ~ 500,正离子方式检测。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 供试品溶液的制备** 八角科植物果皮样品经过粉碎,干燥,过 40 目筛后,分别精密称取 2 g 八角粉末,加入 45 mL 乙酸乙酯,连续回流提取 6 h,回收

[稿件编号] 20090919001

[基金项目] 霍英东教育基金会青年教师基金 (101034)

[通信作者] \* 黄建梅,教授, Tel: (010) 84738619



表 1 八角科植物果实样品来源

No.	植物名	拉丁名	产地
1	大花八角	<i>Illicium macranthum</i>	云南新现
2	大花八角	<i>I. macranthum</i>	云南屏边
3	闽皖八角	<i>I. minwanense</i>	安徽休宁
4	日本莽草	<i>I. anisatum</i>	日本长崎
5	滇南八角	<i>I. modestum</i>	云南文山新街
6	野八角	<i>I. simonsii</i>	贵州水城
7	华中八角	<i>I. fargesii</i>	云南楚雄
8	厚叶八角	<i>I. pachyphyllum</i>	广西龙胜
9	红花八角	<i>I. dunnianum</i>	贵州黔西金坡
10	匙叶八角	<i>I. spathulatum</i>	广西金秀
11	厚皮香八角	<i>I. ternstroemioides</i>	海南昌江
12	八角茴香(市售)	<i>I. verum</i>	北京
13	八角茴香(鹰嘴白花八角栽培品)	<i>I. verum</i>	广西梧州
14	八角茴香(红花柔枝八角栽培品)	<i>I. verum</i>	广西梧州
15	八角茴香	<i>I. verum</i>	广西桂林
16	小花八角	<i>I. micranthum</i>	四川黄柱水乡
17	假地枫皮	<i>I. jiadifengpi</i>	广西桂林猫儿山
18	小花八角	<i>I. micranthum</i>	云南屏边新现
19	大八角	<i>I. majus</i>	广西金州才湾
20	百山祖八角	<i>I. jiadifengpi</i> var. <i>baishanense</i>	浙江庆元
21	喜马拉雅八角	<i>I. wardii</i>	云南屏边大围山
22	滇缅八角	<i>I. merrillianum</i>	云南文山新街

注: 1~4,6,7,17,20,21 为八角组植物;5,8~16,18,19 为八角茴香组植物。

表 2 乙腈-水梯度洗脱程序

t/min	Water/%	CAN/%	流速/mL·min <sup>-1</sup>
00.00	98.00	02.00	1.00
05.00	85.00	15.00	1.00
05.50	85.00	15.00	0.50
24.00	84.00	16.00	0.50
25.00	80.00	20.00	1.00
54.00	59.00	41.00	1.00
70.00	30.00	70.00	0.50

乙酸乙酯,得到乙酸乙酯提取物,将乙酸乙酯提取物用少量甲醇溶解后过 6 g 中性氧化铝色谱柱,70 mL 甲醇洗脱,收集洗脱液,回收甲醇定容至 5 mL,备用。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 称取 pseudoanisatin, 6-deoxypseudoanisatin, pseudomajucin 各 5 mg, 甲醇定容至 5 mL, 作为对照品溶液, 备用。

### 2.3 重复性试验

取日本莽草果皮样品粉末, 分别制备 5 份供试品溶液, 进样测定其总离子流图中各个色谱峰的保留时间及峰高值, 二者 RSD 均小于 3%。

### 2.4 样品测定

供试品溶液经过 0.45 μm 滤膜过滤后进样 5

μL, 记录其总离子流图及各个时间点对应的色谱图, 部分样品的总离子流图见图 1。

### 2.5 数据处理

**2.5.1 总离子流图的相似性分析** 以 22 个样品的总离子流图中离子流强度大于 5 万的 66 个色谱峰为指标, 指标取值为 1 和 0, 分别代表对应的色谱峰的有或无, 对上述不同产地, 不同品种的八角科植物的果实样品采用 SAS 软件的 Q 型聚类分析, 得到如图 2 所示结果。

**2.5.2 倍半萜内酯的分布情况** 对照品 pseudoanisatin, 6-deoxypseudoanisatin 和 pseudomajucin 的总离子流图显示它们的保留时间分别是 15.8, 20.4, 14.3 min, 从不同八角科植物果实的总离子流图中查找相应保留时间的色谱峰, 并将其质谱图与对照品的质谱图进行比较, 基本可以确定 3 种倍半萜内酯类成分在八角科植物中的分布情况。结果表明: 滇缅八角、滇南八角、大花八角、闽皖八角、野八角、日本莽草含有 pseudoanisatin; 闽皖八角、大花八角、滇南八角、日本莽草含有 6-deoxypseudoanisatin; 滇缅八角、假地枫皮、小花八角、大八角、百山祖八角、喜马拉雅八角含有 pseudomajucin。

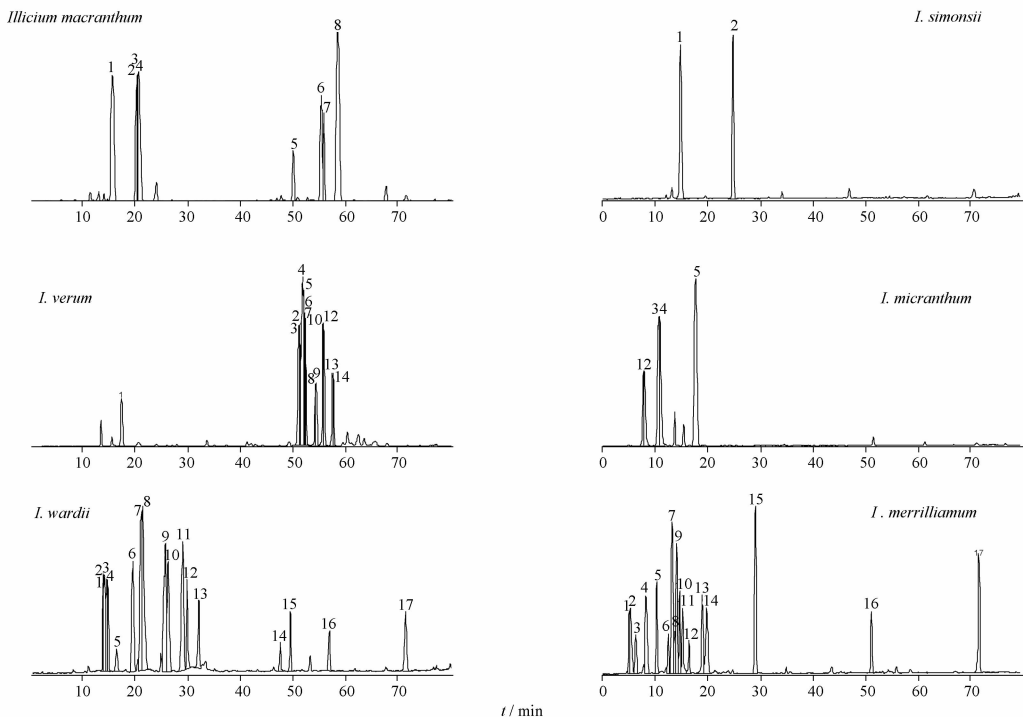


图 1 6 种八角科植物果实样品的总离子流图

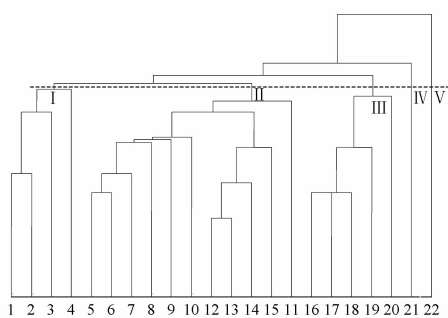


图 2 八角科植物果实样品化学成分的聚类分析图

### 3 讨论

#### 3.1 方法学讨论

提取方案的确立是以提取样品中的倍半萜内酯类为目标。由于倍半萜内酯类成分易溶于乙酸乙酯、甲醇。甲醇提取物中杂质较多,故选用乙酸乙酯。过中性氧化铝柱除去黄酮类和有机酸类成分。但本提取方案无法除去苯丙烷类、二萜及三萜类成分。

LC 中选用氰基柱做为分离柱。倍半萜内酯类成分的极性较大,在 C-18 柱上的保留时间很短,为

了使各成分有合适的保留时间,提高成分间的分离度,选用极性相对较大的氰基柱,改善分离情况。

#### 3.2 分类学讨论

传统分类学认为,八角科为单属科,仅有八角属 1 属,属下分成 2 个组,分别是八角组和八角茴香组<sup>[1]</sup>。在本实验中,根据植物化学分类学原理,结合聚类分析图,取阈值 0.906 2,可以将八角科植物分成 I ~ V 组,见图 2。尽管 I 组均为八角组植物,II 组中大部分为八角茴香组植物,但仍有少数八角组和八角茴香组植物在两个化学分组中散在,不能分开。尽管化学分类和传统分类不完全吻合,但化学数据为进一步的分类研究提供参考。

从聚类分析图还可以看出:①来源于同种植物的果实均在聚类图上聚到一起,例如采自不同产地的大花八角果实样品 1 号和 2 号;市售和来源于不同栽培品种的八角茴香样品 12 ~ 15 号。采集自不同产地的小花八角样品 16 号和 18 号。②部分亲缘关系较近的种类在图上也聚到一起,比如野八角(6 号)和华中八角(7 号)。说明 LC-MS 的谱图特征适用于八角科植物种水平上的分类。



### 3.3 药材鉴别讨论

市售、采集的不同栽培品种的八角茴香 LC-MS 图谱的相似性比较高,聚类分析图上明显聚为一类,并且八角茴香总离子流图中的色谱峰主要集中在 50~60 min,与其他八角科植物的 LC-MS 图谱区别明显,在鉴定八角茴香类药材真伪,以及鉴定八角茴香中否掺杂其他种类的八角果实方面,样品的 LC-MS 图谱有实际的应用价值。

#### [参考文献]

[1] 杨春澍,孙建宁,黄建宁. 细辛属和八角属中药研究与应用 [M]. 北京:人民卫生出版社,2006:249,379.

[2] Kouno I, Mori K, Okamoto S, et al. Structure of anisylactone A and B; Novel type of sesquiterpene lactones from the pericarps of *Illicium anisatum*[J]. Chem Pharm Bull, 1990, 38: 3060.

[3] Huang J M, Wang J L, Yang C S. Sesquiterpene lactones from the pericarp of *Illicium dunnianum*[J]. Phytochemistry, 1997, 46: 777.

[4] Schmidt T J, Muller E, Fronczek F R. New allo-cedrane type sesquiterpene hemiketals and further sesquiterpene lactones from *Illicium floridanum*[J]. J Nat Prod, 2001, 64: 411.

[5] Wang X Q, Guo Y J, Yang C S. Chemical constituents from *Illicium henryi* var. *multisepallum*[J]. Chin Tradition Herb Drug, 1999, 30: 573.

[6] Yokoyama R, Huang J M, Yang C S, et al. New seco-prez-

izaane-type sesquiterpenes, jiadifenin with neurotrophic activity and 1,2-dehydronomajucin from *Illicium jiadifengpi*[J]. J Nat Prod, 2002, 65(4): 527.

[7] Kouno I, Hashimoto M, Enjoji S, et al. Isolation of neoanisatin derivatives from the pericarps of *Illicium majus* with other constituents [J]. Chem Pharm Bull, 1991, 39: 1773.

[8] Huang J M, Yang C S, Zhao R, et al. Seven novel seco-prezizaane-type sesquiterpenes from the pericarps of *Illicium merrillianum*[J]. Chem Pharm Bull, 2004, 52(1):104.

[9] Li H L, Wang G L. Chemical constituents from *Illicium micranthum*[J]. Nat Prod Res Develop, 1994, 6: 18.

[10] Yokoyama R, Huang J M, Hosoda A, et al. seco-Prezizaane-type sesquiterpenes and an abietane-type diterpene from *Illicium minwanense*[J]. J Nat Prod, 2003, 66(6): 799.

[11] Yang C S, Wang J L, Zhang Z L, et al. Toxic compounds from *Illicium simonsii*[J]. Acta Pharmaceutica Sin, 1991, 26: 128.

[12] Nakamura T, Okuyama E, Yamazaki M. Neurotropic compounds from star anise [J]. Chem Pharm Bull, 1996, 44: 1908.

[13] Fukuyama Y, Shida N, Kodama M. Isodunnianin: A new sesquiterpene enhancing neurite outgrowth in primary culture of fetal rat cerebral hemisphere from *Illicium tashiroi*[J]. Planta Med, 1993, 59: 181.

[14] Huang J M, Yokoyama R, Yang C S, et al. Merrilactone A, a novel neurotrophic sesquiterpene dilactone from *Illicium merrillianum*[J]. Tetra Lett, 2000, 41: 6111.

## Evaluation of LC-MS chromatograms of pericarps from *Illicium* species

HU Yan, DUAN Tianxuan, CAO Feng, YU Jiping, HUANG Jianmei\*

(School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the chemical characteristics of pericarps from *Illicium* species for developing a taxonomic and identification method for *Illicium* species. **Method:** Twenty two samples from 17 *Illicium* species were detected with HPLC-MS. The chromatographic data were analyzed by cluster analysis using SAS software. **Result:** According to the similarity of chemical constituents of 22 samples. *Illicium* can be divided into five chemical sections. At the same time, the distribution of pseudoanisatin, 6-deoxypseudoanisatin, pseudomajucin was evaluated in 22 samples. **Conclusion:** The chemical constituents of pericarp of *Illicium* species can be characterized well by LC-MS chromatograms. LC-MS chromatograms can be used to identify the Chinese star anise. The results provided a certain basis to classify the *Illicium* species.

[Key words] Illiciaceae; chemical constituents; sesquiterpene lactones; LC-MS; taxonomy; identification

doi: 10.4268/cjcm20101415

[责任编辑 王亚君]