

- [2] 陈艳, 邓虹珠, 周毅, 等. 细梗胡枝子化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(9): 1024-1026
- [3] 谭莉, 张秀凤, 刘扬, 等. 细梗胡枝子全草中 5 种黄酮化合物的结构解析 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 189-191.
- [4] 夏新中, 周思祥, 屠鹏飞. 细梗胡枝子化学成分研究( I ) [J]. 中草药, 2009, 40(9): 1374-1376
- [5] 惠婷婷, 薛咏梅, 张秋玲, 等. 夜交藤的化学成分研究 [J]. 中药材, 2008, 31(8): 1163-1165
- [6] 董学, 王国荣, 姚庆强. 三棱的化学成分 [J]. 药学学报, 2008, 43(1): 63-66.
- [7] 柳建军, 刘锡葵. 黄连食用部位化学成分的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 186-189
- [8] 冯照, 姜东, 单宇, 等. 小麦麸皮的化学成分 [J]. 中草药, 2009, 40(1): 27-29
- [9] 屠鹏飞, 吴卫中, 郑俊华. 太白米的酚酸类成分研究 [J]. 药学学报, 1999, 34(1): 39-42
- [10] 徐润生, 袁珂, 殷明文, 等. 羽芒菊化学成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1015-1018

## HPLC-MS<sup>3</sup> 法分析准噶尔大戟叶有效部位的化学成分

石心红, 徐德然\*

(中国药科大学 中药制剂教研室, 江苏 南京 210038)

**摘要:**目的 研究新疆产准噶尔大戟 *Euphorbia soongarica* 叶有效部位的化学成分。方法 70% 乙醇提取后用大孔树脂纯化得有效部位, 运用 HPLC-MS<sup>n</sup> 联用技术推断化合物结构。结果 得到了样品紫外色谱图、基本色谱峰图及相应色谱峰的电喷雾-质谱(ESI-MS)的一至三级质谱图; 通过对图谱进行解析, 鉴别出 12 个化合物。结论 HPLC-MS<sup>3</sup> 法能快速、简便和准确的分析准噶尔大戟叶中的黄酮苷类与鞣花酸衍生物类成分。

**关键词:** 准噶尔大戟; 黄酮类化合物; 鞣花酸类化合物; HPLC-MS<sup>3</sup>

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)09-1435-03

准噶尔大戟 *Euphorbia soongarica* Boiss. 为大戟科大戟属植物, 大戟科以其种类多、生长环境复杂、变异性大而闻名于世, 作为传统医药在国内外均有悠久的历史, 具有散结、逐水、止痛、杀虫等功能, 尤其在治疗肿瘤方面有较广泛的应用。准噶尔大戟为多年生草本植物, 有逐水、消肿、散瘀等作用, 在新疆和甘肃等地被人们作为逐水药和泻药使用<sup>[1]</sup>。

液相色谱与多级质谱联用技术, 是将高效的色谱分离技术与高灵敏的质谱检测技术合二为一, 即用质谱作为检测器, 对用 HPLC 系统分离获得的物质进行定性检测, 测得其相对分子质量, 并经过碰撞诱导(collision-induced, CID)过程, 得到碎片离子(或称产物离子)<sup>[2]</sup>。离子阱质谱重复此过程实现多级质谱, 利用 MS<sup>n</sup> 提供的特征碎片离子(characteristic fragment ion, CFI), 获得结构信息。本实验在系统研究准噶尔大戟化学成分的基础上, 对其叶有效部位进行了 HPLC-MS<sup>3</sup> 分析。通过相对分子质量和多级裂解质谱图并结合已分得的标准品质谱图, 共鉴定出 12 个化合物, 其中有 7 个化合物为黄酮类化合物, 另外 5 个化合物为鞣花酸衍生物。

### 1 仪器、试剂和材料

美国 Agilent 公司液相色谱-离子阱质谱联用仪(Agilent 1100 Series LC/MSD Trap); 美国 Agilent 公司化学工作站 A0901, 质谱处理软件 LC-TRAP 4.2。

甲醇为色谱纯(美国 TEDIA 公司); 分析用水为 Milli-Q 超纯水蒸馏器产出; 其余试剂均为分析纯。

准噶尔大戟叶采自新疆伊犁, 经新疆农学院杨昌友教授鉴定为准噶尔大戟 *Euphorbia soongarica* Boiss.。

### 2 方法

2.1 样品的制备: 取干燥的准噶尔大戟叶粗粉, 乙醇回流提取, 减压回收乙醇, 浓缩得浸膏。浸膏溶解后离心, 取上清液上大孔树脂, 用水-乙醇系统梯度洗脱。收集 70% 乙醇洗脱液, 回收乙醇得浸膏, 经真空干燥后粉碎成细粉。取样品粉末适量, 用甲醇溶解配成 2.0 mg/mL 的样品溶液, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后进样分析。

2.2 液相色谱条件: Agilent 1100 型高效液相色谱仪, 色谱柱: 岛津 CLC-ODS(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 检测器: DAD 检测器; 检测波长: 280 nm; 柱温: 35 °C。流动相: 二元梯度溶剂系统, 溶剂 A 为水, 溶剂 B 为甲醇, 梯度洗脱 0 min, 20% B; 18 min,

\* 收稿日期: 2010-02-26

基金项目: 中国药科大学青年科技基金资助(B0605)

\* 通讯作者 徐德然 T el: (025) 85391050 E mail: drxur nj@163.com

44% B; 25 min, 46% B; 55 min, 90% B; 60 min 100% B。体积流量: 在高效液相色谱仪中为 1 mL/min, 进入质谱仪后经分流变为 0.4 mL/min; 进样方式: 自动进样 10  $\mu$ L。

2.3 质谱条件: Agilent 电喷雾离子阱多级质谱仪, 离子源: ESI; 检出模式: 负离子; 雾化气压力:  $2.76 \times 10^4$  Pa; 干燥气 ( $N_2$ ); 体积流量: 9.0 L/min; 干燥气温度: 350  $^{\circ}$ C; 毛细管电压: 3 kV。

Smart parameter setting (SPS) Target 为  $m/z$  600, trap drive level 为 70%。

Ion Charge Control (ICC) Target 为 15 000, 最大累计时间为 300 ms, 扫描范围为 50~1 200  $m/z$ 。

2.4 数据处理系统: 美国 Agilent 公司化学工作站。

### 3 结果与讨论

3.1 紫外色谱图和基本色谱峰图: 在 280 nm 下对样品进行检测, 得到样品的紫外色谱图 (图 1)。通过对样品进行全扫描, 从而获得了样品的基本色谱峰图 (图 2)。基本色谱峰图与紫外色谱图基本对应。

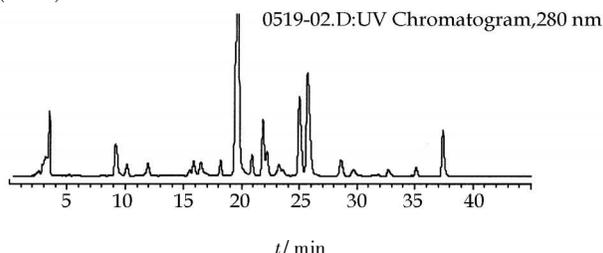


图 1 准噶尔大戟叶的紫外色谱图

Fig 1 UV Chromatogram of *E. soongarica* leaves

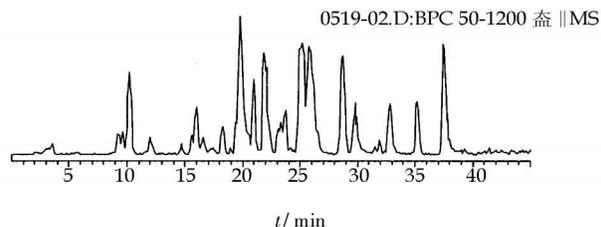


图 2 准噶尔大戟叶的基本色谱峰图

Fig 2 Basic peak chromatogram of *E. soongarica* leaves

#### 3.2 准噶尔大戟叶电喷雾质谱及其解析

化合物 1: 19.0~20.2 min 时一级质谱给出准分子离子峰  $m/z$ : 615.2  $[M-1]^-$ ; 二级质谱 463.1  $[(M-1)-152]^-$  为失去 1 个没食子酰基的碎片离子峰; 三级质谱 300.9  $[(M-1)-152-162]^-$  为失去 1 个没食子酰基和 1 个葡萄糖的碎片离子峰。与已分得的 2''-没食子酰基异槲皮苷的质谱图相同, 由此推断该化合物为 2''-没食子酰基异槲皮苷 (quercetin 3-O-(2''-O-galloyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside)。

化合物 2: 20.6~21.3 min 时一级质谱给出准

分子离子峰  $m/z$ : 491.1  $[M-1]^-$ ; 二级质谱 328.0  $[(M-1)-163]^-$  为失去 1 个葡萄糖的碎片离子峰; 三级质谱 312.9  $[(M-1)-163-15]^-$  为失去 1 个葡萄糖和 1 个甲基的碎片离子峰。与已分得的 3,3'-二甲基鞣花酸 4-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷的质谱图相同, 由此推断该化合物为 3,3'-二甲基鞣花酸 4-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (3,3'-di-O-methylellagic acid 4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside)。

化合物 3: 21.5~22.1 min 时一级质谱给出准分子离子峰  $m/z$ : 463.1  $[M-1]^-$ ; 二级质谱 300.9  $[(M-1)-162]^-$  为失去 1 个葡萄糖的碎片离子峰。与已分得的异槲皮苷的质谱图相同, 由此推断该化合物为异槲皮苷 (isoquercitrin)。

化合物 4: 22.1~22.6 min 时一级质谱给出准分子离子峰  $m/z$ : 609.2  $[M-1]^-$ ; 二级质谱 463.1  $[(M-1)-146]^-$  为失去 1 个鼠李糖的碎片离子峰; 三级质谱 301.0  $[(M-1)-146-162]^-$  为失去 1 个鼠李糖和 1 个葡萄糖的碎片离子峰。与已分得的芦丁的质谱图相同, 由此推断该化合物为芦丁 (rutin)。

化合物 5: 22.9~23.2 min 时一级质谱中给出准分子离子峰  $m/z$ : 433.1  $[M-1]^-$ ; 二级质谱 300.9  $[(M-1)-132]^-$  为失去 1 个木糖的碎片离子峰。与已分得的鞣花酸 3-O- $\beta$ -D-木糖苷的质谱图相同, 由此推断该化合物为鞣花酸 3-O- $\beta$ -D-木糖苷 (ellagic acid 3-O- $\beta$ -D-xylopyranoside)。

化合物 6: 23.2~23.4 min 时一级质谱给出准分子离子峰  $m/z$ : 300.9  $[M-1]^-$ ; 二级质谱 256.9  $[(M-1)-44]^-$  为失去 1 个  $CO_2$  的碎片离子峰。与已分得的鞣花酸的质谱图相同, 由此推断该化合物为鞣花酸 (ellagic acid)。

化合物 7: 23.6~23.9 min 时一级质谱给出准分子离子峰  $m/z$ : 433.1  $[M-1]^-$ ; 二级质谱 301.0  $[(M-1)-132]^-$  为失去 1 个木糖的碎片离子峰。与已分得的槲皮素 3-O- $\beta$ -D-木糖苷的质谱图相同, 由此推断该化合物为槲皮素-3-O- $\beta$ -D-木糖苷 (quercetin 3-O- $\beta$ -D-xylopyranoside)。

化合物 8: 24.6~25.4 min 时一级质谱给出准分子离子峰  $m/z$ : 470.1  $[M-Cl]^-$  和  $m/z$ : 433.1  $[M-1]^-$ ; 二级质谱 433.1  $[M-1]^-$  为失去 1 个氯化氢的碎片离子峰; 三级质谱 300.9  $[(M-1)-132]^-$  为失去 1 个阿拉伯糖的碎片离子峰。与已分得的槲皮素 3-O- $\alpha$ -D-阿拉伯糖苷的质谱图相同, HPLC 出峰时间与槲皮素-3-O- $\alpha$ -D-阿拉伯糖苷对照品一致, 由此推断该化合物为槲皮素-3-O- $\alpha$ -D-阿

拉伯糖苷(queretir-3-O- $\alpha$ -D-arabinofuranoside)。

化合物 9: 25.6~26.5 min 时一级质谱给出准分子离子峰  $m/z$ : 483.1 [M + Cl]<sup>-</sup> 和  $m/z$ : 447.0 [M - 1]<sup>-</sup>; 二级质谱 447.0 [(M + Cl) - 36]<sup>-</sup> 为失去 1 个氯化氢的碎片离子峰; 三级质谱 301.0 [(M + Cl) - 36 - 146]<sup>-</sup> 为失去 1 个鼠李糖的碎片离子峰。与已分得的槲皮苷的质谱图相同, 由此推断该化合物为槲皮苷(queritrin)。

化合物 10: 28.2~29.2 min 时一级质谱给出准分子离子峰  $m/z$ : 461.1 [M - 1]<sup>-</sup>; 二级质谱 327.9 [(M - 1) - 133]<sup>-</sup> 为失去 1 个木糖的碎片离子峰; 三级质谱 312.9 [(M - 1) - 133 - 15]<sup>-</sup> 为失去 1 个木糖和 1 个甲基的碎片离子峰。与已分得的 3,3'-二甲基鞣花酸-4-O- $\beta$ -D-木糖苷的质谱图相同, 由此推断该化合物为 3,3'-二甲基鞣花酸-4-O- $\beta$ -D-木糖苷(3,3'-di-O-methylellagic acid-4-O- $\beta$ -D-xylopyranoside)。

化合物 11: 31.3~31.6 min 时一级质谱给出准分子离子峰  $m/z$ : 467.0 [M + Cl]<sup>-</sup>; 二级质谱 431.1 [(M + Cl) - 36]<sup>-</sup> 为失去 1 个氯化氢的碎片离子; 三级质谱 284.9 [(M + Cl) - 36 - 146]<sup>-</sup> 为失去 1 个氯化氢和 1 个鼠李糖的碎片离子峰。与已分得的山柰酚-3-O- $\beta$ -D-鼠李糖苷的质谱图相同, 由此推断该化合物为山柰酚-3-O- $\beta$ -D-鼠李糖苷(kaempferol-3-O- $\beta$ -D-rhamnoside)。

化合物 12: 34.9~35.5 min 时一级质谱给出准分子离子峰  $m/z$ : 329.0 [M - 1]<sup>-</sup>; 二级质谱 313.9

[(M - 1) - 15]<sup>-</sup> 为失去 1 个甲基的碎片离子峰; 三级质谱 298.9 [(M - 1) - 15 - 15]<sup>-</sup> 为失去 2 个甲基的碎片离子峰。与已分得的 3,3'-二甲基鞣花酸的质谱图相同, 由此推断该化合物为 3,3'-二甲基鞣花酸(3,3'-di-O-methylellagic acid)。

3.3 讨论: 质谱检测器灵敏度远远高于 UV 与 TLC, 特别是对于紫外吸收较弱的物质, 可检测到较明显的信号, 结合多级质谱 MS<sup>n</sup> 提供的特征碎片离子信息, 有利于中草药等复杂样品中微量成分的检测<sup>[3]</sup>。离子阱质谱(ion trap mass spectrometry, ITMS) 属于多级质谱, 不仅可以给出化合物的相对分子质量, 还可以根据其多级质谱(multiple stage MS, MS<sup>n</sup>) 的碎片信息来进一步推导化合物的结构。离子阱亦属于时间串联质谱, 偏重于定性, 有助于对未知结构化合物的解析<sup>[4]</sup>。同时质谱作为一种痕量检测器, 可以通过液质联用的方法对特定化合物的可能存在进行药材种类上的广泛筛选, 以此为基础进行进一步的柱分离, 此法较薄层板点准确、灵敏度高, 降低柱分离的费用, 将反复柱色谱变为有效柱色谱。

参考文献:

- [1] 马金双, 程用谦. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] 郭跃伟. 液相色谱/光谱(紫外、质谱及核磁共振)联用技术在中草药有效成分研究中的应用 [J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(5): 456-461.
- [3] 赵维民, 杨一鸣, 秦国伟, 等. 热喷雾液质联用技术在药用植物化学研究中的应用 [J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(3): 82-87.
- [4] 张尊建, 王源园, 李茜, 等. 密花石斛的 HPLC/UV/MS 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2004, 35(4): 393-395.

## 猫须草超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物的 GC/MS 分析及其抑菌作用

赵雪梅<sup>1</sup>, 谭昌恒<sup>2</sup>, 张显忠<sup>3</sup>, 费洪荣<sup>1</sup>, 王桂玲<sup>1\*</sup>

(1 泰山医学院药学院, 山东 泰安 271016; 2 中国科学院上海药物研究所 新药研究国家重点实验室, 上海 201203; 3 泰山医学院 生物科学系, 山东 泰安 271016)

**摘要:**目的 对猫须草超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法制备的提取物进行化学成分分析及体外抑菌作用研究。方法 利用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取猫须草中化学成分, 利用 GC/MS 法分离并分析其化学成分, 采用面积归一化法定量; 采用 Kirby Baue 纸片扩散法观察提取物对各种细菌的抑制效果。结果 CO<sub>2</sub> 超临界萃取法的萃取率为 0.8%, 鉴定出 19 种成分, 以萜烯类化合物为主要成分, 其数量占总量的 67.17%。醇类化合物次之, 数量占总量的 26.10%。不同浓度的猫须草超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物对各种细菌生长都有一定的抑制作用, 并随提取物浓度的降低, 抑菌效果明显减弱; 其中, 猫须草超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物对肺炎链球菌的抑制效果最明显, 其次对金黄色葡萄球菌、福氏 II 型杆菌的抑菌效果也比较明显。结论 猫须草超临界 CO<sub>2</sub> 萃取物中的化合物均为首次分离鉴定, 其在体外有一定的抑菌作用。

\* 收稿日期: 2010-02-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30600780); 山东省医药卫生计划面上项目(2007HW027)

作者简介: 赵雪梅(1970-), 女, 山东省寿光市人, 教授, 硕士生导师, 长期从事天然药物化学的教学、科研工作。

Tel: (0538) 6229751 E-mail: zhaoxuem1@sina.com