

畜药算盘子闪式提取物的色谱-质谱联用分析

黄 灿¹, 杨天鸣^{1*}, 贺建云¹, 付友珍¹, 赵玉清¹, 鄢连和², 雷后兴²

(1. 中南民族大学药学院, 湖北 武汉 430074; 2 浙江省丽水市畲族医药研究所, 浙江 丽水 332300)

摘要:目的 通过色谱-质谱联用分析手段鉴定畜药算盘子的主要化学成分。方法 采用闪式提取器对畜药算盘子化学组分进行快速、高效提取, 利用气质联用仪分离分析提取物中的挥发性组分, 应用液相色谱/四极杆-飞行时间质谱联用技术获取粗分离部分中难挥发、高沸点、极性组分的相对分子质量和化学式等信息。结果 通过GC-MS分离鉴定了算盘子挥发性组分中的35个化合物。利用LC/Q-TOF对算盘子硅胶柱色谱分离的部分组分进行分析, 获得了6个化合物的精确相对分子质量及其化学式。结论 色谱-质谱联用技术是分离分析中药复杂未知成分的强有力工具, 通过分析初步确定畜药算盘子闪式提取物的主要成分为有机酸, 其次为酚、醛类等物质。

关键词:算盘子; 闪式提取; GC-MS; LC/Q-TOFMS

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)06-0872-03

大戟科算盘子属植物算盘子 *Glochidion puberum* (L.) Hutch. 属小灌木, 又名算盘珠、野南瓜、天雷不打石等^[1]。算盘子是畲族常用的一种药用植物, 用于治疗感冒发热、咳嗽、痢疾、急性胃肠炎、消化不良、肝炎、风湿性关节炎、跌打损伤以及妇科、皮肤科、口腔科等疾病^[2]。算盘子化学成分研究报道很少, 最近张桢等^[3]从算盘子乙醇提取物的醋酸乙酯和正丁醇部位分离得到了没食子酸、 β -谷甾醇等9个化合物。闪式提取法是一种新式的快速提取方法, 尤其是对于天然产物中易挥发性和热不稳定性成分提取效率高。它采用常温下的组织高速破碎法提取天然产物中的化学成分, 具备提取快速、完全、节省溶剂等优点^[4]。气质联用和液质联用技术是进行天然药物研究的有力工具。LG-MS可以直接分析难挥发的、极性大的、热不稳定的和大分子的化合物, 应用范围远大于GC-MS^[5]。算盘子化学成分分析是研究其药理活性的基础, 本实验采用闪式提取法结合GC-MS和LG-MS技术对算盘子乙醇提取物的化学成分进行了研究。

1 仪器与材料

JHBE-50S 闪式提取器(河南金鼎科技发展有限公司); DZF-6021 真空干燥箱(上海一恒科技仪器有限公司); 6890-5973N 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司); 6520 Q-TOF LC/MS(美国 Agilent 公司)。算盘子采自浙江省景宁畲族自治县, 由浙江省丽水市畲族医药研究所鄢连和副主任药师鉴定为大戟科算盘子属植物算盘子 *G. pube-*

rum (L.) Hutch.。

2 实验方法

2.1 闪式提取: 算盘子药材经真空干燥、剪碎(保证药材碎片直径小于闪式提取器刀头内径)。称取40g处理好的算盘子药材, 加入75%乙醇200 mL, 采用间歇式提取方式, 功率电压均为120 V, 每次提取时间1 min, 共5次。提取液静置1 h后, 抽滤得澄清滤液。备用。

2.2 待测液制备: 用200 mL三氯甲烷分两次对滤液进行萃取, 取有机相2 mL作为GC-MS的待测液。剩余有机相在80℃时挥干溶剂得棕黄色膏状物, 用少量甲醇溶解后湿法上柱。用硅胶柱分离, 收集氯仿-甲醇(1:1)的洗脱组分。常温挥干溶剂, 加20 mL甲醇溶解、离心, 上清液过0.2 μ m有机滤膜得LG-MS待测液。

2.3 GC-MS分析条件: 色谱柱为HP-5MS(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m)石英毛细管柱; 载气为高纯He; 柱温: 起始温度70℃, 以8℃/min升温至280℃后保持5 min; 气化室温度250℃; 柱前压: 52.50 kPa; 载气流量: 110 mL/min; 进样量5 μ L。质谱条件: 电离方式EI, 电子能量70 eV, 离子源温度230℃, 扫描范围10~550 U。

2.4 LG-MS分析条件: 色谱柱为ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈柱(150 mm $\times$ 2.1 mm, 5 μ m); 柱温: 30℃, 流动相A为0.1%的甲酸水溶液, 流动相B为乙腈。采用梯度洗脱: 0~20 min B 20%~40%, 平衡柱子10 min。进样量: 3 μ L。质谱条件: Q-TOF-MS记录总离

* 收稿日期: 2008-12-16

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划“民族医药发展关键技术示范研究”项目资助(2007BA148B08)

* 通讯作者 杨天鸣 E-mail: tm28y@yahoo.com.cn

子流色谱图。离子扫描方式 ESI(+); 质量扫描范围: 50~ 800 m/z ; 毛细管电压: 4 000 V, 传输/碎裂电压: 70 V/160 V; 干燥气体(N_2) 流速: 10 L/min; 干燥气体压力: 207×10^3 Pa; 干燥气体温度: 325 $^{\circ}C$; 质谱图采集速率: 1.04 spectra/s; 记录时间: 20 min。

3 结果

3.1 GG-MS 分析结果: 采用气相色谱-质谱联用仪

对算盘子的闪式提取物中的挥发性成分进行分析, 得总离子流图, 共有 100 多个色谱峰。采用计算机 NIST 标准数据库的自动检索和人工依据有机质谱裂解规律核对相结合的方式鉴定出 35 个组分, 这些化合物的质谱图与标准图的碎片峰有着高相似度, 结果可靠。采用面积归一化法计算出各组分的质量分数。鉴定出的化合物信息见表 1。

表 1 算盘子闪式提取物的化学组成及质量分数

Table 1 Chemical components and relative contents in extract from *G. puberum* by blitzkrieg

序号	t_R /min	化合物名称	质量分数/%	序号	t_R /min	化合物名称	质量分数/%	序号	t_R /min	化合物名称	质量分数/%
1	4.583	苯乙酮	0.632	13	9.086	丁香酚	0.236	25	14.853	十四烷酸	0.407
2	4.830	2-苯-2-丙醇	0.155	14	9.747	香草醛	0.426	26	17.173	3-甲基-2-己烯	0.212
3	4.904	2-乙酰基-2-甲基环戊烯	0.091	15	10.429	丹皮酚	0.304	27	17.420	n -十六酸	5.835
4	5.913	苯甲酸	1.904	16	10.676	4-丙基愈创木酚	0.902	28	19.424	亚麻油酸	0.515
5	6.251	<i>L</i> -4-松油烯醇	0.245	17	11.668	3,3-二甲基-4,4-二(1,2,4-三唑)	0.902	29	19.500	(6 <i>Z</i>)-6-十八碳烯酸	12.453
6	6.447	萜烯醇	0.316	18	12.130	异香夹兰醛酸	0.365	30	19.735	硬脂酸	2.061
7	6.737	双胍甘露醇	0.487	19	12.837	3,4,5-三甲氧基苯酚	0.399	31	19.960	甲基纤维素	0.324
8	6.804	二氢香豆酮	0.222	20	13.429	顺-萘烷-9-羧酸	0.290	32	21.285	4-丁氧基-2,4-二甲基-2-戊烯	0.109
9	7.139	2-香豆冉酮	0.326	21	13.600	丁香醛	1.522	33	23.557	2-十八碳烯醛	0.292
10	7.985	叔-丁氧基苯	0.015	22	14.047	(4-乙酰基)-二苯甲烷	0.357	34	25.631	2,2,7-三甲基-3,5-辛二酮	0.423
11	8.411	4-乙酰基-3-甲氧基苏合香烯	0.24	23	14.159	甲氧基丁香酚	1.136	35	29.250	豆甾烷-3,5-二烯	1.420
12	8.979	2,6,6-三甲基-1,4-环己二酮	0.157	24	14.648	4-[(1 <i>E</i>)-3-羟基-1-丙烯基]-2-对甲氧酚	3.424				

3.2 LC/Q-TOF 分析结果: 利用 LC/Q-TOF 对算盘子的硅胶柱粗分离的部分成分进行分析, 获得对应成分的精确相对分子质量信息。采用的 ESI 离子源为软电离技术, 获得的是化合物的分子离子峰。在优化的色谱条件下, 分离效果好, 获得的质谱图也非常简洁, 干扰小。总离子流图见图 1。从该谱图可以看出色谱峰在 t_R 为 2 min 以后的分离度很好, 基本达到基线分离, 2 min 以前的峰重叠严重。选取分离度较好的 $t_R = 1.8$ min 及其以后的色谱峰按保留时间依次进行标记为 1~ 9。并提取这 9 个色谱峰的质谱图, 扣除背景后进行图谱分析。采用 Agilent MassHunter Workstation/Qualitative Analysis 进行质量误差、不饱和度、分子式计算等一系列定性分析, 得到化合物质谱信息见表 2。

4 讨论

采用闪式提取器提取, 通过 GG-MS 分离鉴定了算盘子挥发性组分中的 35 个化合物。主要包括 (6*Z*)-6-十八碳烯酸 (12.453%)、 n -十六酸 (5.835%) 和对甲氧酚 (3.424%) 等。已鉴定的组分以有机酸为主, 其次是酚类和醛类化合物, 同时包含一些烯醇和酮类化合物。利用 LC/Q-TOF 对算盘子硅胶粗分离的部分组分进行分离分析, 借助电喷雾飞行质谱获得了 6 个化合物的精确相对分子质

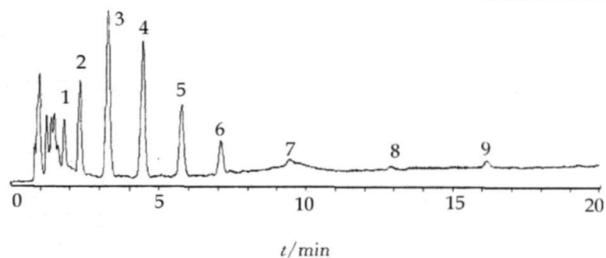


图 1 算盘子硅胶柱色谱粗分离组分的 LC/Q-TOF 总离子流图

Fig 1 LC/Q-TOF Total ion current chromatogram of extract from *G. puberum* by silica gel column chromatography

量, 在此基础上计算出其化学式 ($C_{25}H_{40}N_8$ 、 $C_{35}H_{55}N_3O_3$ 、 $C_{40}H_{70}O_8$ 、 $C_{14}H_{29}NO$ 、 $C_{10}H_{16}O$ 、 $C_{15}H_{14}N_4O_3$) 和不饱和度, 这对进一步鉴定这 6 个化合物的结构十分重要。通过液质联用分析结果 (表 2) 可以看出样品中 3 个组分在分离分析过程中生成了含钠化合物 ($C_{25}H_{39}N_8Na$ 、 $C_{40}H_{69}NaO_8$ 、 $C_{35}H_{54}N_3NaO_3$), 怀疑可能是一些有机酸或醇、酚类, 这与气质联用分析确定所分析组分主要为有机酸的结论有一定的吻合。本实验充分发挥闪式提取器快速、常温条件下对样品组分破坏性小、提取效率高等特点, 综合利用液质和气质联用仪对景宁畲药算盘子的化学组分进行了初步研究, 为进一步研

表 2 算盘子硅胶柱色谱粗分离组分 LC/Q-TOF 分析结果
Table 2 Result of LC/Q-TOF analysis for extract from *G. puberum* by silica gel column chromatography

序号	m/z	离子	分子式	Mass	Calc Mass	Difference	DBE
1	227 176 72	[M+ 2H] ⁺ 2	C ₂₅ H ₄₀ N ₈	452 338 88	452 337 59	- 2 84	10
	453 345 6	[M+ H] ⁺	C ₂₅ H ₄₀ N ₈	452 338 32	452 337 59	- 1 61	10
	475 328 1	[M+ H] ⁺	C ₂₅ H ₃₉ N ₈ Na	474 320 81	474 319 54	- 2 69	10
2	283 719 27	[M+ 2H] ⁺ 2	C ₃₅ H ₅₅ N ₃ O ₃	565 423 99	565 424 34	0 62	10
	566 430 46	[M+ H] ⁺	C ₃₅ H ₅₅ N ₃ O ₃	565 423 18	565 424 34	2 06	10
	588 413 03	[M+ H] ⁺	C ₃₅ H ₅₄ N ₃ NaO ₃	587 405 75	587 404 07	- 1 85	9
3	340 261 14	[M+ 2H] ⁺ 2	C ₄₀ H ₇₀ O ₈	678 507 72	678 507 07	- 0 96	6
	679 514 65	[M+ H] ⁺	C ₄₀ H ₇₀ O ₈	678 507 37	678 507 07	- 0 45	6
	701 496 93	[M+ H] ⁺	C ₄₀ H ₆₉ NaO ₈	700 489 65	700 489 01	- 0 91	6
4	396 803 08	[M+ 2H] ⁺ 2	—	—	—	—	—
	792 600 01	[M+ H] ⁺	—	—	—	—	—
5	453 344 94	[M+ 2H] ⁺ 2	—	—	—	—	—
	464 336 95	[M+ 2H] ⁺ 2	—	—	—	—	—
6	228 233 21	[M+ H] ⁺	C ₁₄ H ₂₉ NO	227 225 93	227 224 91	- 4 47	1
	509 889 25	[M+ 2H] ⁺ 2	—	—	—	—	—
7	228 233 5	[M+ H] ⁺	C ₁₄ H ₂₉ NO	227 226 23	227 224 91	- 5 77	1
	185 117 71	[M+ H] ⁺	C ₁₀ H ₁₆ O	184 110 43	184 109 94	- 2 63	3
	299 113 93	[M+ H] ⁺	C ₁₅ H ₁₄ N ₄ O ₃	298 106 65	298 106 59	- 0 22	11

究畚药算盘子的活性成分和其相关药理作用提供了一定的物质依据。

参考文献:

[1] 雷后兴,李水福.中国畚族医药学[M].北京:中国中医药出版社,2007.

[2] 丁水平,丁水生,李涵志.算盘子对溃疡性结肠炎大鼠细胞因子的影响[J].医药导报,2002,21(2):76-77.

[3] 张 桢,刘光明,任艳丽,等.算盘子的化学成分研究[J].天然产物研究与开发,2008,20:447-449.

[4] 吴冬梅.闪式提取器在中药研究中的应用[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(7):34-37.

[5] 葛惠清,刘昌孝.微量分析用液质联用(LC-MSⁿ)系统——日立 M 8000 LG-3QDMS 简介[J].中草药,2000,31(8):15.

线叶蓟的化学成分研究

刘学杰,仲 英*,王 姣

(山东省医学科学院药物所,山东 济南 250062)

摘 要:目的 研究线叶蓟化学成分。方法 采用色谱技术进行分离、纯化,通过波谱解析结合理化性质鉴定化合物结构。结果 从线叶蓟中共分离得到 9 个化合物,分别为正十七醇(Ⅰ)、豆甾醇葡萄糖(Ⅱ)、β-谷甾醇(Ⅲ)、豆甾醇苷(Ⅳ)、乙基-β-D-吡喃果糖苷(Ⅴ)、胡萝卜苷(Ⅵ)、槲皮素(Ⅶ)、正丁基-β-D-吡喃果糖苷(Ⅷ)、KCl(Ⅸ)。结论 化合物Ⅰ~Ⅸ均为首次从该植物中分离得到。

关键词:线叶蓟;化学成分;结构鉴定
中图分类号:R284 1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)06-0874-03

线叶蓟 *Cirsium lineare* (Thunb.) Sch.-Bip. 又名山红花、野红花,为菊科蓟属多年生草本植物,主要生长在向阳丘陵、低山坡疏林下、郊野路边、水沟边等,主要分布在浙江、山东、云南等地,日本、韩国等国也有分布。该药材具有活血散瘀、消肿解毒之功效,主要用于治疗痛经、闭经、月经不调、不孕等病症,亦有用来治疗毒蛇咬伤者,在民间有着广泛的

应用基础,已被收录在《浙江民间常用草药》^[1]中。目前尚未发现有关线叶蓟化学成分系统研究的报道,本实验从线叶蓟的石油醚、二氯甲烷、丙酮、甲醇部位分离得到了 9 个化合物,运用波谱解析,结合理化性质,查阅相关文献并与对照品对照,分别鉴定为正十七醇(1-heptadecanol,Ⅰ)、豆甾醇(stigmasterol,Ⅱ)、β-谷甾醇(β-sitosterol,Ⅲ)、豆甾醇葡萄糖苷

* 收稿日期:2008-08-06
作者简介:刘学杰(1982-),男,山东蓬莱人,在读硕士研究生,从事天然药物化学研究。
Tel: (0531) 82629232 E-mail: liuxuejie111@163.com
* 通讯作者 仲 英 Tel: (0531) 82629232 Fax: (0531) 82629232