

液质联用技术鉴定预知子提取物中的主要化学成分

孟月华^{1,2}, 黄何松^{1,2}, 余黄鹏², 何明珍¹, 孙勇兵^{1,2}, 冯育林^{1,2*}, 杨世林^{1,2}

1. 江西中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006

2. 江西中医学院, 江西 南昌 330006

摘要: 目的 建立分析鉴定预知子提取物中的主要化学成分的方法。方法 采用 LC-ESI-MS 负离子检测模式对预知子中的皂苷类成分进行分析, 对其进行多级质谱裂解分析。以对照品及文献数据为对照, 通过对各成分的 MS² 和 MS³ 谱图的解析对各成分进行指认。结果 预知子中的 17 个皂苷类成分获得了良好的分离和鉴定。结论 本方法准确快速, 适合预知子中主要化学成分的鉴定, 可用于预知子原药材的质量控制。

关键词: 液质联用技术; 预知子提取物; 皂苷类; 常春藤皂苷元; 齐墩果酸; 阿江榄仁酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)12-1562-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.12.008

Identification of main chemical constituents in extracts of *Akebiae Fructus* by HPLC-ESI-MS

MENG Yue-hua^{1,2}, HUANG He-song^{1,2}, YU Huang-peng², HE Ming-zhen¹, SUN Yong-bing^{1,2},
FENG Yu-lin^{1,2}, YANG Shi-lin^{1,2}

1. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To establish an HPLC-ESI-MS method for quickly identifying the chemical constituents in the extracts of *Akebiae Fructus*. **Methods** The main saponin components in the extracts of *Akebiae Fructus* were detected with the HPLC-ESI-MS in negative ion mode. These components were further analyzed by MS² and MS³ spectra, and by comparing with the corresponding reference substances and literature data. **Results** Seventeen saponins in the extracts of *Akebiae Fructus* were well separated in one run. **Conclusion** The new method is accurate and rapid. It could be used to identify the main chemical constituents in the extracts of *Akebiae Fructus* and be suitable for the quality control of *Akebiae Fructus*.

Key words: HPLC-ESI-MS; extracts of *Akebiae Fructus*; saponins; hederagenin; oleanic acid; arjunolic acid

预知子为木通科植物木通 *Akebia quinata* (Thunb.) Decne.、三叶木通 *A. trifoliata* (Thunb.) Koidz. 或白木通 *A. tridoliata* (Thunb.) Koidz. var. *australis* (Diels.) Rehd. 的干燥近成熟果实, 味苦, 性寒, 具有舒肝理气、活血止痛、散结、利尿的功效, 用于治疗脘肋胀痛、痛经经闭、痰核痞块、小便不利^[1]。现代药理表明, 预知子具有利尿、抗菌、消炎^[2]和抗肿瘤^[3]等作用。文献报道预知子中的主要化学成分为皂苷类化合物^[4-9], 目前预知子化学成分研究以传统的化学分离报道居多^[4-10], 或者采用高

效液相色谱法对预知子中多种成分的量进行研究^[11]。有文献报道, 不同品种来源的预知子质量存在较大差异^[12]。本实验以安徽产预知子为研究对象, 采用高效液相色谱-电喷雾质谱 (HPLC-ESI-MS) 联用技术, 快速简捷地鉴定了预知子提取物中的 17 个皂苷类成分和 2 个未知化合物, 为预知子的药效物质基础和作用机制研究奠定了基础。

1 仪器与材料

Finnigan LCQ Fleet 离子阱液相色谱-质谱联用仪(美国 Thermo-Finnigan 公司, 包括 Finnigan Spectra

收稿日期: 2012-12-17

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2012ZX09103201-008); 江西省科技支撑计划项目 (20111BBG70005-2); 江西省自然科学基金 (20122BAB205032, 20114BAB215046)

作者简介: 孟月华 (1984—), 女, 河北保定人, 硕士研究生, 主要从事中药化学成分研究。E-mail: yuehua091905@163.com

*通信作者 冯育林 Tel: (0791)87119632 E-mail: fengyulin2003@hotmail.com

System P4000 泵; Xcalibre 210 数据处理系统); Millipore-Simplicity 超纯水处理系统。甲醇、乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司), 甲酸铵(美国 Fisher 公司); 水为自制超纯水。saponin X、saponin B、saponin P_D、saponin A 等对照品为本实验室自制, 经 HPLC-UV 法测得质量分数均大于 98%。

预知子于 2011 年 9 月采自安徽大别山, 经江西中医学院刘庆华教授鉴定为木通科植物三叶木通 *Akebia trifoliata* (Thunb.) Koidz. 的干燥近成熟果实。

2 实验方法

2.1 色谱与质谱条件

2.1.1 液相色谱条件 色谱柱为 TSK-GEL ODS-80Ts QA C₁₈ (150 mm×2 mm, 5 μm); 流动相为乙腈(A)-5 mmol/L 甲酸氨溶液(B), 梯度洗脱: 0~25 min, 0~10% A; 25~35 min, 10%~30% A; 35~60 min, 30%~50% A; 体积流量 0.2 mL/min; 柱温为室温; 进样量 10 μL。

2.1.2 质谱条件 ESI 源, 负离子检测模式。扫描范围 m/z : 100~1 500。离子阱条件为喷雾电压 3.2 kV; 壳气(N₂): 25 L/min; 辅助气(He): 3 L/min; 离子传输管温度 320 °C; 离子传输管电压-8 V; 套管镜头电压-125 V。

2.2 样品的制备

2.2.1 预知子提取物的制备 准确称取预知子粉末(过 1 号筛) 25 g, 以 8 倍量的 70%乙醇提取 2 次, 每次 1.5 h; 合并 2 次提取液, 减压浓缩, 浓缩至 50 mL, 浓缩液 4 500 r/min 离心 10 min, 取离心后的沉淀, 干燥, 得预知子提取物; 精密称取 0.1 g 预知子提取物, 甲醇溶解并定容至 100 mL, 作为供试品溶液。进样前过 0.22 μm 微孔滤膜。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取 saponin P_K、saponin D、saponin X、saponin B、saponin P_D、saponin A 对照品 0.002 0、0.002 1、0.002 0、0.002 1、0.002 1、0.002 2 g, 用初始比例的流动相定容至 25 mL, 并超声溶解, 配制质量浓度为 0.08 mg/mL 的混合对照品溶液。进样前过 0.22 μm 微孔滤膜。

2.3 样品的 LC-MS 分析

取“2.2”项下的供试品及对照品溶液, 按照上述液相和质谱条件分别进行 LC-MS 分析, 得到各样品的总离子流色谱图(TIC), 见图 1。与空白对照溶液相比, 预知子提取物供试品溶液的 TIC 谱图中出现了 17 个明显的色谱峰, 按照出峰的先后顺序将其标示为 1~17。在 TIC 中, 谱峰 13 给出 m/z 735

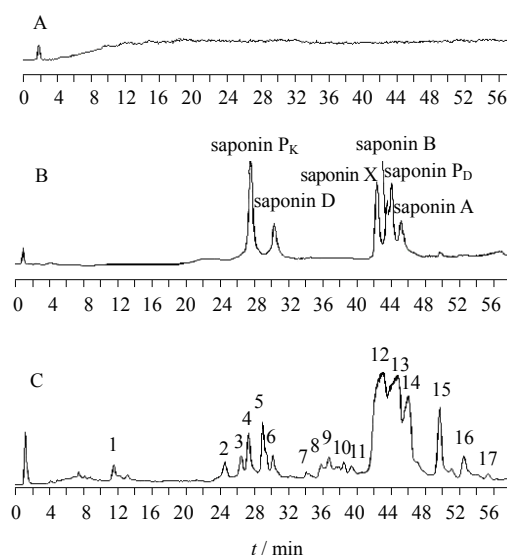


图 1 空白(A)、对照品混合物(B)和预知子提取物(C)在负离子模式下的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion current chromatograms of blank (A), mixed reference substances (B), and extracts of *Akebiae Fructus* (C) under negative ion mode

和 749 的 $[M-H]^-$ 准分子离子峰, 谱峰 12 给出 m/z 911 和 1 009 的 $[M-H]^-$ 准分子离子峰谱峰, 1~11 和 14~17 依次给出 m/z 1 089、1 381、1 219、1 073、1 059、927、1 219、1 089、911、911、749、603、749、765 和 733 的 $[M-H]^-$ 准分子离子峰。初步推断预知子提取物中 17 个主要单体成分及 2 个未知的化合物。

3 实验结果

通过 LC-MS 分析给出准分子离子峰, 得到化合物相应的相对分子质量信息。ESI-MSⁿ 能够得到化合物的多级裂解质谱, 为化合物的结构解析提供丰富的信息。三萜皂苷类成分的多级质谱裂解规律表明, 在碰撞能的作用下, 三萜皂苷主要发生糖苷键的断裂, 质谱给出失去一个或多个糖的次级苷和苷元的碎片离子。预知子提取物中的皂苷类成分依据其母核的不同, 裂解形成的皂苷元主要为常春藤皂苷元及少量齐墩果酸、阿江榄仁酸等, 在 ESI(负离子)检测模式下给出常春藤皂苷元 m/z 471、齐墩果酸 m/z 455、阿江榄仁酸 m/z 487 特征苷元碎片离子, 这些离子可以作为皂苷类型鉴定的有利证据。图 2 分别给出了以常春藤皂苷元为母核的皂苷(如 saponin X)、以齐墩果酸为母核的皂苷(如 saponin P_E)和以阿江榄仁酸为母核的皂苷(如 saponin PJ-1)的 MS² 谱。

采用 LC-MS 技术, 可以获得每一个色谱峰所

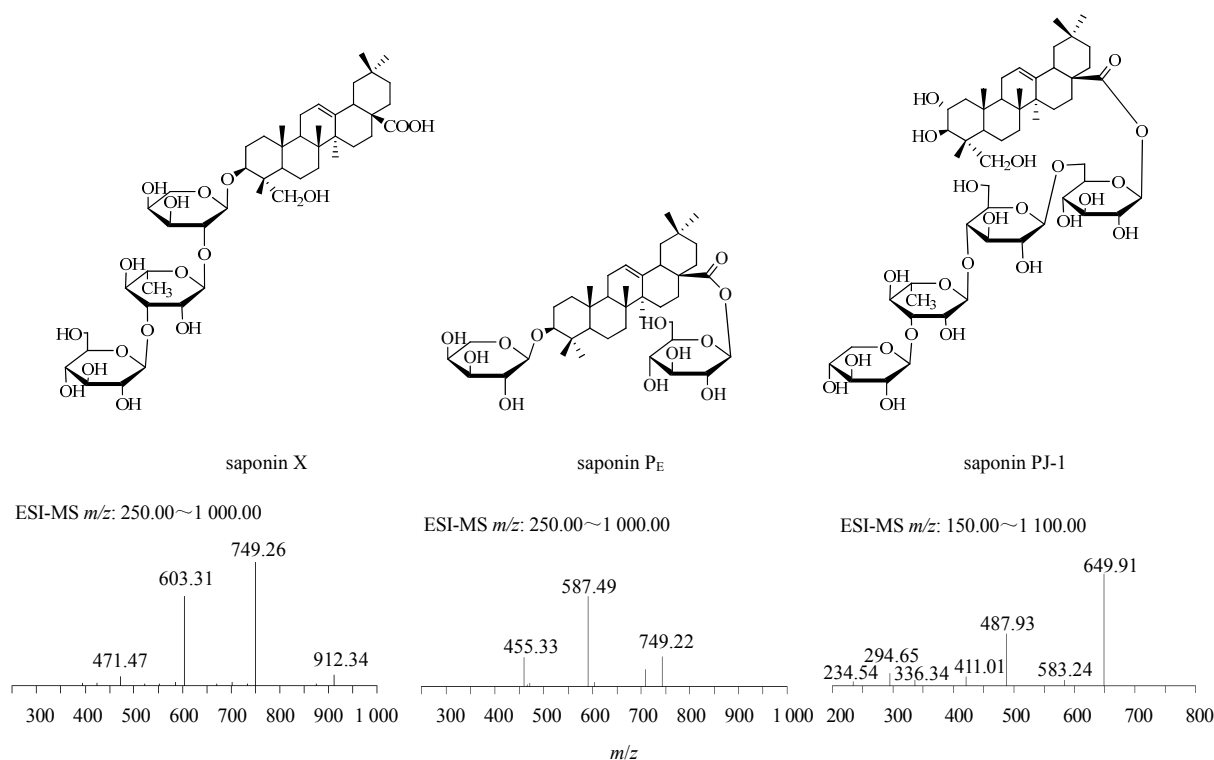


图2 以常春藤皂苷元(A)、齐墩果酸(B)和阿江榄仁酸(C)为母核的皂苷负离子质谱

Fig. 2 Negative ion MS spectra of saponins with hederagenin (A), oleanolic acid (B), and arjunolic acid (C) as mother nucleus

对应化合物在正负离子模式下的质谱信息,进而获知该化合物的相对分子质量信息,通过与参考文献报道的预知子中化合物的相对分子质量比对结合部分对照品及质谱裂解规律分析,推测各主要色谱峰的化合物归属。为了确定各化合物的结构,对各准分子离子进行了 MS^2 ,甚至 MS^3 裂解分析,表1列出了各化合物 MS^2 碎片离子。

保留时间为11.50 min和35.76 min的峰1和8,在负离子模式下,均给出 m/z 1 089 $[M-H]^-$ 离子峰,确定其相对分子质量为1 090。对 m/z 1 089 $[M-H]^-$ 准分子离子峰进行 MS 裂解分析,峰1的 MS^2 给出 m/z 957, 811, 649, 487的碎片离子,分别对应 $[M-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Xyl/Ara-H_2O)-(Rha-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Xyl/Ara-H_2O)-(Rha-H_2O)-(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Xyl/Ara-H_2O)-(Rha-H_2O)-2(Glc-H_2O)-H]^-$;经与文献数据^[13]比较,推测峰1可能为saponin PJ-1;峰8质谱给出 m/z 927, 765, 603, 471的碎片离子,分别对应 $[M-(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-2(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-3(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-3(Glc-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 。经与文献报道比较^[13],推测该化合物为saponin F。

保留时间为24.54 min的峰2,在负离子模式下,

给出 m/z 1 381 $[M-H]^-$ 离子峰,确定其相对分子质量为1 382;对 m/z 1 381 $[M-H]^-$ 准分子离子峰进行 MS 裂解分析,质谱给出 m/z 1 219, 1 073, 911, 749, 603, 471的碎片离子,分别对应 $[M-(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-2(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-2(Glc-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-2(Glc-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-(Glc-H_2O)-H]^-$ 。在 MS 中,1 219, 1 073信号非常弱,而911丰度却极强,可以判断C-28位失去糖链,其他3个糖连在C-3位上。经与文献报道比较^[14],推测该化合物为saponin G。

保留时间为26.41 min和34.10 min的峰3和7,在负离子模式下,均给出 m/z 1 219 $[M-H]^-$ 离子峰,确定其相对分子质量为1 220;对 m/z 1 219 $[M-H]^-$ 准分子离子峰进行 MS 裂解分析,峰3的 MS^2 给出 m/z 749, 603, 471的碎片离子,分别对应 $[M-(Rha-H_2O)-2(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Rha-H_2O)-2(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Rha-H_2O)-2(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 。

表1 17个化合物在ESI负离子检测模式中的MS光谱数据

Table 1 MS spectra data of 17 compounds in ESI negative ion mode

编号	t_R / min	苷元类型	化合物	$[M-H]^-$ (m/z)	MS^2 (m/z)
1	11.50	III	saponin PJ-1	1 089	957, 811, 649, 487
2	24.54	I	saponin G	1 381	1 219, 1 073, 911, 749, 603, 471
3	26.41	I	saponin P _K	1 219	749, 603, 471
4	27.32	I	saponin PJ-2	1 073	927, 765, 603, 471
5	28.96	I	saponin E	1 059	897, 927, 735, 603, 471
6	30.16	I	saponin D	927	765, 603, 471
7	34.10	II	ciwujianoside A ₁	1 219	1073, 911, 749, 587, 455
8	35.76	I	saponin F	1 089	927, 765, 603, 471
9	36.71	I	pulsatilla saponin D	911	749, 765, 603, 633, 471
10	38.44	I	pulsatilla saponin D 异构体	911	765, 749, 603, 471
11	39.37	I	saponin P _D 异构体	749	705, 603, 471
12	44.60	I	saponin X	911	735, 603, 471
		未知	未知	1 009	911, 749, 603
13	42.12	I	saponin B	735	603, 471
		I	saponin P _D	749	603, 471
14	43.20	I	saponin A	603	471
15	49.66	II	saponin P _E	749	587, 455
16	52.49	I	saponin C	765	603, 471
17	57.91	未知	未知	733	571

I-常春藤皂苷元; II-齐墩果酸; III-阿江榄仁酸

I-hederagenin; II-oleanic acid; III-arjunolic acid

$H]^-$ 。经与 saponin P_K 对照品质谱图(图 1-B)及 LC 保留时间(图 1-C)比较,确定该化合物为 saponin P_K。峰 7 质谱给出 m/z 1 073, 911, 749, 587, 455 的碎片离子,分别对应 $[M-(Rha-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Rha-H_2O)-(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Rha-H_2O)-2(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Rha-H_2O)-3(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Rha-H_2O)-3(Glc-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 。在 MS 中,911 丰度极强,可以判断 C-28 位失去糖链,其他 2 个糖连在 C-3 位上。经与文献报道比较^[15],推测化合物为 ciwujianoside A₁。

保留时间为 27.32 min 的峰 4,在负离子模式下,通过 m/z 1 073 $[M-H]^-$ 离子峰确定其相对分子质量为 1 074;对 m/z 1 073 $[M-H]^-$ 准分子离子峰进行 MS² 裂解析,质谱给出 m/z 927, 765, 603, 471 的碎片离子,分别对应 $[M-(Rha-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Rha-H_2O)-(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Rha-H_2O)-2(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Rha-H_2O)-2(Glc-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 。经文献报道比较^[13],推测该化合物可能为 saponin PJ-2。

保留时间为 28.96 min 的峰 5,在负离子模式下,通过 m/z 1 059 $[M-H]^-$ 离子峰确定其相对分子质量

为 1 060;对 m/z 1 059 $[M-H]^-$ 准分子离子峰进行 MS 裂解分析,质谱给出 m/z 897, 927, 735, 603, 471 的碎片离子,分别对应 $[M-(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-2(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Glc-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-2(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-2(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$;表明未出现逐个失去单糖的碎片离子峰,说明该化合物为双糖链苷。经与文献报道比较^[16],推测该化合物为 saponin E。

保留时间为 30.16 min 的峰 6,在正负离子模式下,通过 m/z 951 $[M+Na]^+$, 927 $[M-H]^-$ 离子峰确定其相对分子质量为 928;对 m/z 927 $[M-H]^-$ 准分子离子峰进行 MS 裂解分析,质谱给出 m/z 765, 603, 471 的碎片离子; m/z 765 为母离子失去 1 个脱水的葡萄糖基得到的碎片离子 $[M-(Glc-H_2O)-H]^-$, m/z 603 为 m/z 927 为母离子失去 2 个脱水的葡萄糖基后得到的碎片离子 $[M-2(Glc-H_2O)-H]^-$ 。 m/z 471 为 m/z 927 母离子失去 2 个脱水的葡萄糖基后再失去 1 个脱水木糖或阿拉伯糖的得到的碎片离子 $[M-2(Glc-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 经与 saponin D 对照品质谱图(图 1-B)及 LC 保留时间(图 1-C)比

较, 确定该化合物为 saponin D。

保留时间为 36.71 min 和 38.44 min 的峰 9 和 10, 在负离子模式下, 均给出 m/z 911 $[M-H]^-$ 离子峰, 确定相对分子质量为 912; 对 m/z 911 $[M-H]^-$ 进行 MS 裂解分析, 谱峰 9 的 ESI-MSⁿ 给出一系列失去糖的碎片离子 749 $[M-H-(Glc-H_2O)]^-$ 、765 $[M-H-(Rha-H_2O)]^-$ 、603 $[M-H-(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)]^-$ 、633 $[M-H-(Rha-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)]^-$ 、471 $[M-H-(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)]^-$ 。质谱数据表明该化合物同时失去 1 分子葡萄糖和 1 分子鼠李糖, 而不是依次失去单糖, 说明糖不是直链连接而是支链连接; 根据碎片信息可知 2 个糖均连在阿拉伯糖或木糖上。经与文献报道比较^[17], 推测其可能为 pulsatilla saponin D。峰 10 质谱给出 m/z 765 $[M-(Rha-H_2O)-H]^-$ 、749 $[M-(Glc-H_2O)-H]^-$ 、603 $[M-(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-H]^-$ 、471 $[M-(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 的碎片离子。液质数据显示碎片峰 749 丰度极强, 表明葡萄糖连接在 C-28 位, 其他糖连接在 C-3 位。经与文献报道比较^[14], 确定该化合物为 pulsatilla saponin D 的同分异构体, 结构有待进一步确认。

保留时间为 39.37 min 和 49.66 min 的峰 11 和 15, 在负离子模式下, 均给出 m/z 749 $[M-H]^-$ 离子峰, 确定其相对分子质量为 750; 对 m/z 749 $[M-H]^-$ 准分子离子峰进行 MS 裂解分析, 谱峰 11 质谱给出 m/z 705、603、471 的碎片离子, 分别对应 $[M-CO_2-H]^-$ 、 $[M-(Rha-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Rha-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 。综合上述分析, 推测糖均连在 C-3 位, 为 saponin P_D 的同分异构体, 结构有待进一步确认。峰 15 质谱给出 m/z 587、455 的碎片离子, 分别对应 $[M-(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Glc-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$; 其中 m/z 587 的信号极强, 推测葡萄糖连在 C-28 位, 木糖或阿拉伯糖连在 C-3 位。经与文献报道对比^[17], 推测化合物可能为 saponin P_E。

保留时间为 44.60 min 的峰 12, 在负离子模式下, 给出 $[M-H]^-$ 为 m/z 1 009 和 911 的准分子离子峰, 表明谱峰 12 可能包含 2 个化合物。对 m/z 911 $[M-H]^-$ 准分子离子峰进行 MS 裂解分析, 质谱给出 m/z 749、603、471 的碎片离子, 分别对应 $[M-(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Glc-H_2O)-(Rha-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-$

$H]^-$ 。采用 saponin X 对照品对照, 质谱数据及保留时间与该化合物一致, 鉴定谱峰 12 为 saponin X。

保留时间为 43.12 min 的峰 13, 在负离子模式下, 给出 $[M-H]^-$ 为 m/z 735 和 749 的准分子离子峰, 表明谱峰 13 可能包含 2 个化合物。通过 m/z 735、749 $[M-H]^-$ 离子峰确定其相对分子质量为 736、750, 分别对应 $[M-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-2(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 。采用 saponin B 对照品对照, 质谱数据及保留时间与该化合物一致, 鉴定 m/z 735 为 saponin B。对 m/z 749 $[M-H]^-$ 准分子离子峰进行 MS 裂解分析, 质谱给出 m/z 603、471 的碎片离子, 分别对应 $[M-(Rha-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Rha-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 。采用 saponin P_D 对照品对照, 质谱数据及保留时间与该化合物一致, 鉴定 m/z 749 为 saponin P_D。

保留时间为 43.20 min 的峰 14, 在负离子模式下, 通过 m/z 603 $[M-H]^-$ 离子峰确定相对分子质量为 604; 对 m/z 603 $[M-H]^-$ 准分子离子峰进行 MS 裂解分析, 质谱给出 m/z 471 的碎片离子, 即 $[M-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$; 采用 saponin A 对照品对照, 质谱数据及保留时间与该化合物一致, 鉴定谱峰 14 为 saponin A。

保留时间为 52.49 min 的峰 16, 在负离子模式下, 通过 m/z 765 $[M-H]^-$ 离子峰确定其相对分子质量为 766; 对 m/z 765 $[M-H]^-$ 准分子离子峰进行 MS 裂解分析, 质谱给出 m/z 603、471 的碎片离子, 分别对应 $[M-(Glc-H_2O)-H]^-$ 、 $[M-(Glc-H_2O)-(Xyl/Ara-H_2O)-H]^-$ 。经与文献数据对比^[13], 推测化合物可能为 saponin C。

同时谱峰 12, 负离子模式下同时给出 $[M-H]^-$ 为 m/z 1 009 准分子离子峰, 其相对分子质量为 1 010; 对 m/z 1 009 准分子离子峰进行 MS 裂解分析, 给出 911、749、603, 由于响应低, 未能给出苷元碎片, 无法推测结构; 保留时间为 57.91 min 的谱峰 17, 在负离子模式下, 通过 m/z 733 $[M-H]^-$ 离子峰, 确定其相对分子质量为 734; 对 m/z 733 $[M-H]^-$ 准分子离子峰进行 MS 裂解分析, 质谱给出 m/z 571 的碎片离子; m/z 571 为母离子失去 1 个脱水的葡萄糖基得到的碎片离子 $[M-(Glc-H_2O)-H]^-$, 质谱未能给出苷元的信息, 其结构有待进一步证明。

分析预知子的 HPLC-ESI-MS 数据可以发现三萜皂苷的质谱规律: 在正负离子模式下, 三萜皂苷

成分都出现了 $[M-H]^-$ 峰, 个别有 $[M+Na]^+$ 峰; 在糖的断裂顺序上, C-28 位上的连的糖更易断裂, C-3 位上连的糖更难断裂; 根据糖断裂的顺序, 可以判断糖与糖之间的连接顺序; 在糖的空间连接位置上, 糖基同时断裂, 说明糖基为支链连接, 先后断裂, 则为糖基直接与苷元相连。

4 讨论

本实验首次采用 LC-MSⁿ 联用技术分析预知子中主要的皂苷类成分。通过预知子提取物的总离子流谱图比较, 发现了预知子提取物中的 17 个主要的皂苷类成分和 2 个未知结构的化合物。本实验发现的这 17 个皂苷类成分为预知子提取物的主要组成成分。

本研究建立了预知子药材中主要皂苷类成分的快速、准确的 LC-MSⁿ 分析方法, 该方法能够同时实现预知子药材多组分的良好分离并提供各峰的组成和结构信息, 在预知子药材药效物质基础研究及其作用机制研究方面具有非常广阔的应用前景。首次阐明了预知子提取物中的主要皂苷类成分的结构, 为预知子的药效物质基础研究提供了科学依据。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 蒋 丹. 预知子化学成分及其生物活性研究 [D]. 长春: 东北师范大学, 2006.
- [3] 钱伯文. 抗癌中药的临床效用 [M]. 上海: 上海翻译出版公司, 1987.
- [4] 马双成, 陈德昌, 赵淑杰. 预知子皂苷 IV 的结构 [J]. 药学报, 1994, 29(4): 285-289.
- [5] 马双成, 陈德昌, 赵淑杰. 预知子化学成分研究 I [J]. 中草药, 1994, 25(4): 171-174.
- [6] 马双成, 陈德昌, 赵淑杰. 预知子化学成分研究 IV [J]. 中草药, 1995, 26(3): 122-124.
- [7] 马双成, 陈德昌, 赵淑杰. 预知子的化学成分研究 (III) [J]. 天然产物研究与发, 1996, 10(3): 49-51.
- [8] 马双成, 陈德昌, 赵淑杰. 中药八月扎 (白木通) 果皮的化学成分研究 [J]. 中草药, 1993, 24(11): 563-566.
- [9] 王家明, 王智民, 高慧敏, 等. 预知子化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(2): 98-100.
- [10] Mimaki Y, Kuroda M, Yokosuka A, *et al.* Triterpenes and triterpene saponins from the stem of *Akebia trifoliata* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(8): 960-965.
- [11] 宋永贵, 张武岗, 刘岩庭, 等. 一测多评法同时测定预知子中 4 种三萜皂苷 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1418-1421.
- [12] 王家明. 中药预知子化学成分与质量评价的研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2006.
- [13] Madl T, Sterk H, Mittelbach M. Tandem mass spectrometric analysis of a complex triterpene saponin mixture of *Chenopodium quinoa* [J]. *Am Soc Mass Spectrom*, 2006, 17: 795-806.
- [14] Liu S Y, Cui M, Liu Z Q, *et al.* Structural analysis of saponins from medicinal herbs using electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Am Soc Mass Spectrom*, 2004, 15: 133-141.
- [15] Shao C J, Ka R J, Xu J D, *et al.* Saponins from leaves of *Acanthopanax senticosus* HARMS., Ciwujia II. Structures of ciwujianosides A₁, A₂, A₃, A₄ and D₃ [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37(1): 42-45.
- [16] Ichikawa M, Ohta S, Komoto N, *et al.* Rapid identification of triterpenoid saponins in the roots of *Codonopsis lanceolata* by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Nat Med*, 2008, 62: 423-429.
- [17] Mao Q, Yang J, Cui X M, *et al.* Target separation of a new anti-tumor saponin and metabolic profiling of leaves of *Panax notoginseng* by liquid chromatography with electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 59: 67-77.