

基于 UFLC-Q-TOF/MS 技术的八月札化学成分研究

范姣姣¹, 文红梅^{1*}, 单晨啸¹, 周红光², 陈海彬², 吴勉华²

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 采用快速液相与四极杆飞行时间串联质谱(UFLC-Q-TOF/MS)联用技术分析鉴定八月札 *Akebiae Fructus* 的化学成分。**方法** 采用 Acquity UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 以 0.1%甲酸-乙腈和 0.1%甲酸-水为流动相进行快速梯度洗脱, 体积流量 0.3 mL/min, 柱温 40 °C, 进样量 1 μL。质谱定性采用电喷雾离子源(ESI)的飞行时间质谱, 负离子模式下采集数据, 全扫描的质量扫描范围 m/z 100~1 500。**结果** 依据质谱裂解规律, 从八月札的甲醇提取物中共鉴定出 25 个三萜类成分, 并对另外 9 个未知成分进行了结构推测。**结论** UFLC-Q-TOF/MS 方法能够快速、准确、全面地鉴定八月札中的多种成分, 为八月札的进一步提取分离和药理作用机制研究提供依据。

关键词: 八月札; UFLC-Q-TOF/MS; 三萜类; 常春藤皂苷元; 齐墩果烷皂苷元

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)23-3282-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.23.006

Chemical constituents in *Akebiae Fructus* based on UFLC-Q-TOF/MS

FAN Jiao-jiao¹, WEN Hong-mei¹, SHAN Chen-xiao¹, ZHOU Hong-guang², CHEN Hai-bin², WU Mian-hua²

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. First Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: **Objective** To identify the chemical constituents in *Akebiae Fructus* by UFLC-Q-TOF/MS method. **Methods** The separation was performed on an Acquity UPLC BEH C₁₈ Column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), with a mobile phase using 0.1% formic acid-acetonitrile and water containing 0.1% formic acid (B) for gradient elution. The flow rate was 0.3 mL/min, the temperature of column was 40 °C with injection volume of 1 μL. TOF/MS and electrospray ion (ESI) source were applied for the qualitative analysis under the negative ion mode, and the full mass scan range was m/z 100—1 500. **Results** According to MS principle, twenty-five triterpenoids were identified from the methanol extract of *Akebiae Fructus* and the chemical structures of other nine unknown compounds were deduced. **Conclusion** UFLC-Q-TOF/MS method could identify the main chemical constituents in *Akebiae Fructus* rapidly and accurately, which lays a foundation for the quality control of *Akebiae Fructus*.

Key words: *Akebiae Fructus*; UFLC-Q-TOF/MS; triterpenoids; hederagenin; oleanane sapogenin

八月札 *Akebiae Fructus* 为木通科木通属植物木通 *Akebia quinata* (Thunb.) Decne.、三叶木通 *A. trifoliata* (Thunb.) Koidz.、白木通 *A. trifoliata* (Thunb.) Koidz. var. *australis* (Diels) Rhed. 的成熟果实, 分布于我国南部、长江流域和西北地区。具有疏肝和胃、活血止痛、软坚散结、利小便的功效, 主要用于治疗肝胃气滞, 脘腹、胁肋胀痛, 饮食不消, 经闭经痛, 下痢便泄, 恶性肿瘤等^[1], 是临床治疗癌

症的常用配伍药。其化学成分主要为三萜及其皂苷类成分, 苷元主要有(去甲)常春藤皂苷元、(去甲)齐墩果烷皂苷元、(去甲)阿榄江仁酸皂苷元 6 种, 以常春藤皂苷元为主。有研究表明八月札中所含的皂苷类对小鼠肉瘤 S₁₈₀, 具有一定的抑制作用^[2]。近年来, 大量研究表明含有五环三萜母核的皂苷具有重要的生物活性和药理作用^[3-4]。由于中药的治疗效果是多成分的协同作用, 因此, 有必要建立一种快速、

收稿日期: 2013-09-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81102563); 高校博士学科点专项基金(20113237110001); 江苏高校优势学科建设工程资助项目江苏省中医优势学科开放课题(YS2012ZYX309)

作者简介: 范姣姣, 硕士研究生, 从事中药化学研究。Tel: 18251952059 E-mail: jiao.wa.1988@163.com

***通信作者** 文红梅, 教授, 博士生导师, 从事中药分析研究。Tel: (025)85811839 E-mail: njwenhm@126.com

准确的方法鉴定中药的多种成分,为阐明药物的药理作用物质基础提供依据。由于三萜皂苷是一类复杂的大分子化合物,结构相似,分离较困难。快速液相色谱/四极杆串联飞行时间质谱(UFLC-Q-TOF/MS)联用技术,集快速有效的分离能力和高分辨、高质量精度的定性能力为一体,已成为中药复杂化学成分研究的有效手段之一。本研究对八月札的化学成分进行UFLC-Q-TOF/MS分析,在线获取样品中各化合物离子的精确质荷比,对比自建化学成分数据库,结合保留时间、相关文献及二级质谱的信息,对八月札的主要化学成分进行快速分析和鉴定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

岛津LC-20型快速液相色谱仪,包括在线脱气机、二元泵、高性能自动进样器和二极管阵列检测器;高分辨质谱系统:Triple TOFTM 5600,配有电喷雾离子源(ESI)、Analyst 1.6色谱工作站和Peak View等质谱分析软件(AB SCIEX公司)。Buchi旋转蒸发器,超声波清洗器(KQ-500B,昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

八月札药材购于安徽丰原铜陵中药饮片有限公司,产地安徽,经南京中医药大学中药鉴定教研室陈建伟教授鉴定为木通科植物木通 *Akebia quinata* (Thunb.) Decne 的成熟果实,批号120706。常春藤皂苷元购于中国药品生物制品鉴定所(批号111733-201205)。甲醇、乙腈、甲酸均为质谱纯,均购自美国默克公司,实验用水为高纯水。

2 方法

2.1 供试品的制备

称取八月札药材1.0 g,加入甲醇20 mL,超声提取(50 kHz, 300 W) 40 min,滤过,残渣加甲醇20 mL,再超声提取40 min,滤过,合并滤液,减压浓缩,定容至10 mL,即得。进样前过0.22 μm微孔滤膜滤过。

2.2 色谱条件

色谱柱:Waters AcquityTM UPLC BEH C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相:0.1%甲酸水(A)-0.1%甲酸乙腈(B);梯度洗脱:0~4 min, 10%~20% B; 4~7 min, 20%~30% B; 7~10 min, 30%~40% B; 10~15 min, 40%~60% B; 15~20 min, 60%~90% B; 20~22 min, 90%~10% B;

平衡1 min,柱温40℃;体积流量0.3 mL/min;进样量1 μL。

2.3 质谱条件

电喷雾离子源(ESI),采用动态背景扣除(DBS)和触发信息关联采集模式(IDA)的方法。负离子模式下采集,雾化器电压:379 kPa、辅助加热器电压:414 kPa、气帘气:276 kPa、辅助加热器温度:500℃,喷雾电压(IS):-4 500 V,去簇电压(DP):-70 V,一级碰撞电压(CE):10 V;二级碰撞电压(CE):-45 V;质量扫描范围 m/z 100~1 500。

2.4 数据采集与分析

首先采用Peak View软件中XIC Manager功能对目标化合物进行筛查和确证,然后利用Formula finder软件,根据测得的化合物的相对分子质量、同位素分布以及化学逻辑来测定化合物的元素组成,再结合特征碎片,进行未知化合物的分析与鉴定。

3 结果与分析

3.1 色谱质谱条件的优化

通过比较甲醇-水,乙腈-水,发现乙腈-水为流动相可以使八月札中各成分得到较好的分离,加入0.1%的甲酸以增强离子化效率,改善峰形。最终以0.1%甲酸乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱。由于三萜类化合物其分子中的羧基很容易形成稳定的氧负离子,所以在负离子模式检测所得总离子流图有较好的信噪比。八月札中的苷元多为五环三萜类,很难被打碎,所以最终选择的质谱参数为去簇电压(DP)、离子束聚焦电压(EP)、一级/二级质谱碰撞能量(CE)、碰撞池出口电压(CXP)分别为-70、-10、-10/-45、-14 V。

3.2 八月札的液质联用分析

用UFLC-Q-TOF/MS方法对八月札甲醇提取液进行定性分析,其负离子模式下的总离子流图见图1。可以看出色谱分离效果较好。总离子流图上出现46个色谱峰,其一级和二级质谱数据见表1和2^[5-11]。通过八月札化学成分的MS和MS/MS数据,可以获得八月札中三萜皂苷的主要裂解规律,其负离子模式大多数成分都出现[M-H]⁻和[M+HCOO]⁻的分子离子峰,裂解方式为连续掉C-3和C-28的糖单位。在ESI负离子检测模式下,八月札中各种特征苷元碎片离子为 m/z 471.35 常春藤皂苷元、 m/z 455.32 去甲常春藤皂苷元、 m/z 455.35 齐墩果烷皂苷元、 m/z 439.32 去甲齐墩果烷皂苷元、 m/z 487.35 阿榄江仁酸皂苷元、 m/z 471.31 去甲阿榄江

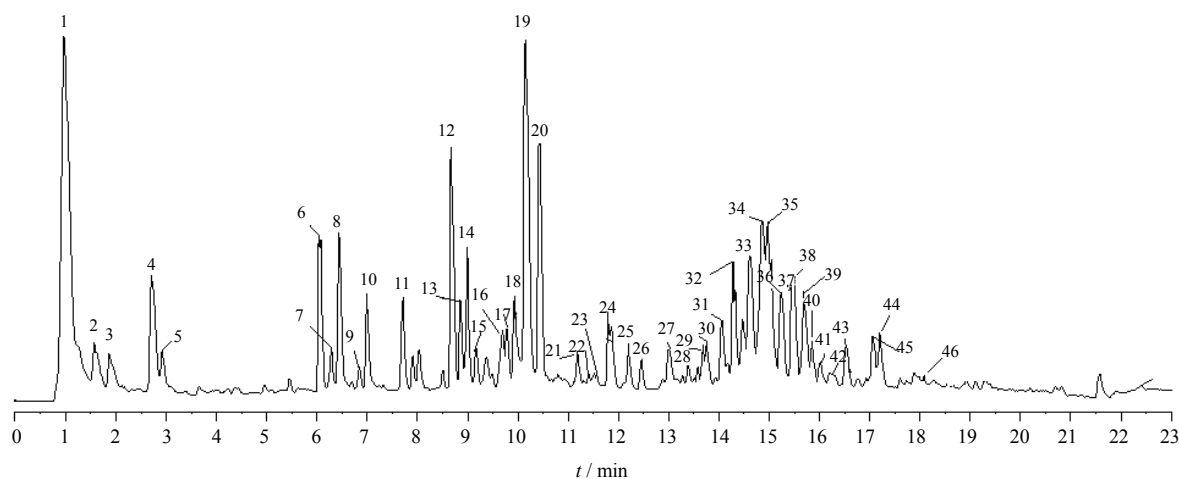


图1 八月札化学成分的UFLC-Q-TOF/MS总离子流图

Fig. 1 UFLC-Q-TOF/MS total ion chromatogram of chemical constituents in *Akebiae Fructus*

表1 八月札化学成分的UFLC-Q-TOF/MS的质谱分析结果(负离子模式)

Table 1 UFLC-Q-TOF/MS analysis results for chemical constituents in *Akebiae Fructus* (negative ion mode)

峰号	<i>t</i> /min	名称	[M-H] ⁻		[M+HCOO] ⁻		分子式
			测得值	实际值	测得值	实际值	
1	0.98	—	679.228 4	—	—	—	—
2	1.59	—	383.097 3	—	—	—	—
3	1.89	—	353.087 7	353.087 8	—	—	C ₁₆ H ₁₈ O ₉
4	2.73	—	707.180 6	—	—	—	—
5	2.93	—	353.087 6	353.087 8	—	—	C ₁₆ H ₁₈ O ₉
6	6.06	—	477.138 5	—	—	—	—
7	6.28	—	515.117 8	515.119 5	—	—	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂
8	6.45	—	515.117 8	515.119 5	—	—	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂
9	6.84	—	461.144 1	—	—	—	—
10	7.00	—	515.117 8	515.119 5	—	—	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂
11 ^a	7.71	—	1 073.517 4	1 073.514 6	1 119.518 6	1 119.521 8	C ₅₂ H ₈₂ O ₂₃
12	8.68	saponins PJ-1	1 089.546 5	1 089.548 7	1 135.551 5	1 135.553 1	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₃
13	8.85	saponins G	1 381.663 0	1 381.664 5	1 427.668 3	1 427.668 9	C ₆₅ H ₁₀₆ O ₃₁
14	8.99	saponins F	1 089.544 8	1 089.548 7	1 135.550 4	1 135.553 1	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₃
15	9.36	saponins PH	941.473 2	941.475 2	987.479 5	987.478 2	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₉
16	9.69	未知	779.427 7	779.422 3	825.425 1	825.426 7	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₄
17	9.79	saponins PK	1 219.608 3	1 219.611 7	1 265.613 5	1 265.616 1	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₆
18	9.93	未知	765.431 0	765.443 1	811.446 3	811.446 5	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₃
19	10.15	saponins E	1 059.535 6	1 059.538 2	1 105.540 2	1 105.540 9	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₂
20	10.43	saponins D	927.494 1	927.495 9	973.499 1	973.500 3	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₈
21	11.19	saponins PJ-2	1 073.551 5	1 073.553 8	1 119.556 5	1 119.558 3	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₂
22	11.33	saponins PJ3	1 203.616 0	1 203.616 8	1 249.619 8	1 249.621 2	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₅
23 ^a	11.69	—	1 057.557 6	1 057.558 9	1 103.562 7	1 103.563 2	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₁
24	11.81	yuzhizioside IV	1 043.541 5	1 043.543 2	1 089.546 5	1 089.547 6	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₁
25	12.21	saponins C	765.431 0	765.443 1	811.446 3	811.446 5	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₃
26	12.46	arjunlic acid	487.341 2	487.342 9	533.345 9	533.347 3	C ₃₀ H ₄₈ O ₅
27	13.02	norarjunlic	471.310 5	471.311 6	517.315 7	517.316 0	C ₂₉ H ₄₄ O ₅
28	13.39	trifoside B	865.457 0	865.459 1	911.462 8	911.463 5	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₆

续表 1

峰号	t/min	名称	[M-H] ⁻		[M+HCOO] ⁻		分子式
			测得值	实际值	测得值	实际值	
29 ^a	13.68	—	733.413 9	733.416 8	779.419 7	779.420 1	C ₄₀ H ₆₂ O ₁₂
30	13.74	quinoside C	719.397 4	719.401 2	765.403 9	765.405 6	C ₃₉ H ₆₀ O ₁₂
31 ^a	14.09	—	911.498 5	911.501 0	957.503 7	957.505 4	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇
32	14.30	pulsatilla saponin D	911.498 5	911.501 0	957.503 7	957.505 4	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇
33	14.62	saponins Po	881.488 5	881.490 4	927.493 1	927.494 8	C ₄₆ H ₇₄ O ₁₆
34	14.87	saponins B	735.435 7	735.432 5	781.434 9	781.436 9	C ₄₀ H ₆₄ O ₁₂
35	15.00	saponins Pd	749.453 0	749.448 2	795.451 2	795.422 5	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₂
36 ^a	15.25	—	849.470 7	849.464 2	895.467 3	895.469 6	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₅
37	15.32	trifoside C	881.429 3	881.454 0	—	—	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₇
38	15.48	saponins A	603.387 5	603.390 2	649.392 8	649.393 3	C ₃₅ H ₅₆ O ₈
39 ^a	15.71	—	717.419 2	717.421 9	763.424 7	763.424 9	C ₄₀ H ₆₂ O ₁₁
40	15.86	quinoside D	703.420 9	703.406 3	749.409 4	749.410 7	C ₃₉ H ₆₀ O ₁₁
41	16.02	akeboside ste	895.503 8	895.506 1	941.508 3	941.510 4	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₆
42	16.27	saponins PE	749.451 8	749.447 0	795.451 2	795.452 5	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₂
43 ^a	16.54	—	865.493 3	865.495 5	911.499 4	911.499 9	C ₄₆ H ₇₄ O ₁₅
44	17.08	saponins PB	733.450 6	733.453 2	779.456 3	779.457 6	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₁
45 ^a	17.21	—	719.435 1	719.437 6	765.440 8	765.442 0	C ₄₀ H ₆₄ O ₁₁
46 ^a	18.22	—	633.398 5	633.400 8	679.406 1	679.405 2	C ₃₆ H ₅₈ O ₉

^a 代表新化合物, 下表同

^a stands for new compounds, same as following tables

表 2 八月札化学成分 MS/MS 分析结果 (负离子模式)

Table 2 MS/MS analysis results for chemical constituents in *Akebiae Fructus* (negative ion mode)

峰号	碎片信息	精确相对分子质量	分子式
1	679.228 4	—	
2	383.078 8, 337.088 9, 315.108 7, 153.054 1, 135.044 7		
3	353.089 6, 191.056 3, 179.034 9, 135.045 3	—	C ₁₆ H ₁₈ O ₉
4	707.180 6, 353.088 1, 191.056 4	—	
5	353.089 1, 191.056 3, 179.035 1	—	C ₁₆ H ₁₈ O ₉
6	477.141 1, 315.107 3, 161.024 6, 133.029	—	
7	515.121 3, 353.088 3, 335.077 1, 173.045 1	—	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂
8	515.120 1, 353.088 1, 191.056 3, 179.034 8	—	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂
9	461.147 3, 179.034 9, 161.024 9, 133.030 1		
10	515.119 8, 353.087 7, 173.045 3	—	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂
11 ^a	1 119.503 4 [M+COOH] ⁻ , 1 073.529 9 [M-H] ⁻ , 601.199 2, 471.311 4 [M-Glc-Glc-Rha-Ara] ⁻	1 074.524 7	C ₅₂ H ₈₂ O ₂₃
12	1 135.563 [M+COOH] ⁻ , 1 089.556 9 [M-H] ⁻ , 601.199 2, 487.342 5 [M-Glc-Glc-Rha-Xyl] ⁻	1 090.556 0	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₃
13	1 381.663	1 382.671 8	C ₆₅ H ₁₀₆ O ₃₁
14	1 135.682 6 [M+HCOO] ⁻ , 1 089.557 6 [M-H] ⁻ , 765.455 53 [M-H-Glc-Glc] ⁻ , 603.394 9 [M-H-Glc-Glc-Glc] ⁻ , 471.354 5 [M-H-Glc-Glc-Glc-Ara] ⁻	1 090.556 0	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₃
15	987.491 1 [M+HCOO] ⁻ , 941.484 4 [M-H] ⁻ , 471.312 0 [M-H-Glc-Glc-Rha] ⁻	942.482 4	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₉
16	779.427 7 [M+HCOO] ⁻ , 735.438 9 [M-H] ⁻ , 633.369 3, 615.356 8, 571.368 1	780.429 6	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₄
17	1 219.626 7 [M-H] ⁻ , 749.453 1 [M-Glc-Glc-Rha] ⁻ , 603.391 [M-Glc-Glc-Rha-Rha] ⁻	1 220.619 0	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₆

续表 2

峰号	碎片信息	精确相对分子质量	分子式
18	765.448 5, 601.377 2, 487.345 2, 439.322	766.450 3	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₃
19	1 059.545 2 [M-H] ⁻ , 897.492 3 [M-H-Glc] ⁻ , 735.434 0 [M-H-Glc-Glc] ⁻ , 603.390 1 [M-H-Glc-Glc-Xyl] ⁻ , 471.347 1 [M-H-Glc-Glc-Xyl-Ara] ⁻	1 060.545 4	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₂
20	973.508 8 [M+HCOO] ⁻ , 927.502 1 [M-H] ⁻ , 603.391 4 [M-H-Glc-Glc] ⁻	928.503 2	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₈
21	1 073.566 4 [M-H] ⁻ , 749.453 4 [M-H-Glc-Glc] ⁻ , 603.392 7 [M-H-Glc-Glc-Rha] ⁻ , 471.349 4 [M-H-Glc-Glc-Rha-Ara] ⁻	1 074.561 1	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₂
22	1 203.636 8 [M-H] ⁻ , 733.460 9 [M-H-Glc-Glc-Rha] ⁻	1 204.624 1	C ₅₉ H ₈₆ O ₂₅
23 ^a	1 057.573 5 [M-H] ⁻ , 733.460 9 [M-H-Glc-Glc] ⁻ , 601.201 5 [M-H-Glc-Glc-Ara] ⁻ , 455.358 3 [M-H-Glc-Glc-Ara-Rha] ⁻	1 058.566 2	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₁
24	1 089.559 2 [M+HCOO] ⁻ , 1 043.553 6 [M-H] ⁻ , 719.441 8 [M-H-Glc-Glc] ⁻ , 587.397 7 [M-H-Glc-Glc-Ara] ⁻ , 455.353 7 [M-H-Glc-Glc-Ara-Xyl] ⁻	1 044.550 5	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₁
25	811.451 5 [M+HCOO] ⁻ , 765.45 [M-H] ⁻ , 603.392 [M-H-Glc] ⁻ , 471.349 1 [M-H-Glc-Ara] ⁻	766.450 3	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₃
26	487.341 2	488.350 2	C ₃₀ H ₄₈ O ₅
27	471.310 5	472.318 9	C ₂₉ H ₄₄ O ₅
28	911.476 1 [M+HCOO] ⁻ , 865.467 1 [M-H] ⁻ , 719.497 1 [M-H-Rha] ⁻ , 587.363 4 [M-H-Rha-Ara] ⁻ , 455.318 4 [M-H-Rha-Ara-Xyl] ⁻	866.466 4	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₆
29 ^a	779.428 6 [M+HCOO] ⁻ , 733.420 5 [M-H] ⁻ , 587.361 8 [M-H-Rha] ⁻ , 455.317 3 [M-H-Rha-Ara] ⁻	734.424 1	C ₄₀ H ₆₂ O ₁₂
30	765.412 4 [M+HCOO] ⁻ , 719.406 4 [M-H] ⁻ , 587.361 1 [M-H-Ara] ⁻ , 455.317 5 [M-H-Ara-Xyl] ⁻	720.408 5	C ₃₉ H ₆₀ O ₁₂
31	911.508 6 [M-H] ⁻ , 749.453 3 [M-H-Glc] ⁻ , 603.393 3 [M-H-Glc-Rha] ⁻ , 471.349 0 [M-H-Glc-Rha-132] ⁻	912.508 3	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇
32	911.509 8 [M-H] ⁻ , 749.454 1 [M-H-Glc] ⁻ , 603.392 8 [M-H-Glc-Rha] ⁻ , 471.348 9 [M-H-Glc-Rha-Ara] ⁻	912.508 3	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇
33	927.502 3 [M+HCOO] ⁻ , 881.495 8 [M-H] ⁻ , 749.451 1 [M-H-Ara] ⁻ , 735.435 9 [M-H-Rha] ⁻ , 603.392 6 [M-H-Rha-Ara] ⁻ , 471.348 8 [M-H-Rha-Xyl-Ara] ⁻	882.497 7	C ₄₆ H ₇₄ O ₁₆
34	781.440 3 [M+HCOO] ⁻ , 735.435 7 [M-H] ⁻ , 603.390 5 [M-H-Ara] ⁻ , 471.347 4 [M-H-Ara-Xyl] ⁻	736.439 8	C ₄₀ H ₆₄ O ₁₂
35	795.451 2 [M+HCOO] ⁻ , 749.453 [M-H] ⁻ , 603.391 5 [M-H-Rha] ⁻ , 471.348 5 [M-H-Rha-Ara] ⁻	750.455 4	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₂
36 ^a	895.468 6 [M+HCOO] ⁻ , 849.470 7 [M-H] ⁻ , 717.425 1 [M-H-Ara] ⁻ , 571.365 4 [M-H-Rha-Ara] ⁻ , 439.321 6 [M-H-Rha-Ara-Xyl] ⁻	850.471 5	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₅
37	927.506 8 [M+HCOO] ⁻ , 881.499 8 [M-H] ⁻ , 719.442 3 [M-H-Glc] ⁻ , 587.397 5 [M-H-Ara-Glc] ⁻ , 455.309 1 [M-H-Ara-Glc-Xyl] ⁻	882.461 3	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₇
38	603.392 6 [M-H] ⁻ , 471.341 4 [M-H-Ara] ⁻	604.397 5	C ₃₅ H ₅₆ O ₈
39 ^a	717.425 9 [M-H] ⁻ , 571.365 7 [M-H-Rha] ⁻ , 439.321 4 [M-H-Rha-Ara] ⁻	718.429 2	C ₄₀ H ₆₂ O ₁₁
40	703.410 1 [M-H] ⁻ , 571.365 4 [M-H-Ara] ⁻ , 439.321 9 [M-H-Ara-Xyl] ⁻	704.413 6	C ₃₉ H ₆₀ O ₁₁
41	895.514 7 [M-H] ⁻ , 733.459 8 [M-H-Glc] ⁻ , 587.398 7 [M-H-Glc-Rha] ⁻ , 455.354 1 [M-H-Glc-Rha-Ara] ⁻	896.513 3	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₆
42	749.451 8 [M-H] ⁻ , 587.398 3 [M-H-Glc] ⁻ , 455.353 9 [M-H-Glc-Ara] ⁻	750.455 4	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₂
43 ^a	911.509 2 [M+HCOO] ⁻ , 865.503 [M-H] ⁻ , 733.458 2 [M-H-Ara] ⁻ , 719.442 8 [M-H-Rha] ⁻ , 587.398 1 [M-H-Rha-Ara] ⁻ , 455.353 6 [M-H-Rha-Ara-Xyl] ⁻	866.502 8	C ₄₆ H ₇₄ O ₁₅
44	733.455 9 [M-H] ⁻ , 587.397 3 [M-H-Rha] ⁻ , 455.352 7 [M-H-Rha-Ara] ⁻	734.460 5	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₁
45 ^a	719.439 8 [M-H] ⁻ , 587.396 4 [M-H-Ara] ⁻ , 455.352 8 [M-H-Ara-Xyl] ⁻	720.444 9	C ₄₀ H ₆₄ O ₁₁
46 ^a	679.375 1 [M+HCOO] ⁻ , 633.361 8 [M-H] ⁻ , 471.353 [M-H-Glc] ⁻	634.408 1	C ₃₆ H ₅₈ O ₉

仁酸皂苷元, 这些可以为皂苷类型鉴定提供参考。

以峰 19 为例, 在保留时间为 10.15 min 时的一级质谱图中 (图 2-A), 观测到 m/z 1 105 $[M+HCOO]^-$ 和 m/z 1 059 $[M-H]^-$ 、781、575 的碎片离子峰, 推测 m/z 1 105 $[M+HCOO]^-$ 为其准分子离子峰。利用 Formula finder 软件计算精确质量数的元素组成为 $C_{52}H_{84}O_{22}$, 误差小于百万分之 3, 二级质谱图 (图 2-B) 中出现 m/z 1 059.545 2 $[M-H]^-$, m/z 897.492 3 $[M-H-Glc]^-$ 、 m/z 735.434 0 $[M-H-Glc-Glc]^-$ 、 m/z 603.390 1 $[M-H-Glc-Glc-Xyl]^-$ 、 m/z 471.347 1 $[M-H-Glc-Glc-Xyl-Ara]^-$ 的碎片离子, 其苷元为常春藤皂苷元, 推测该化合物为 saponins E。

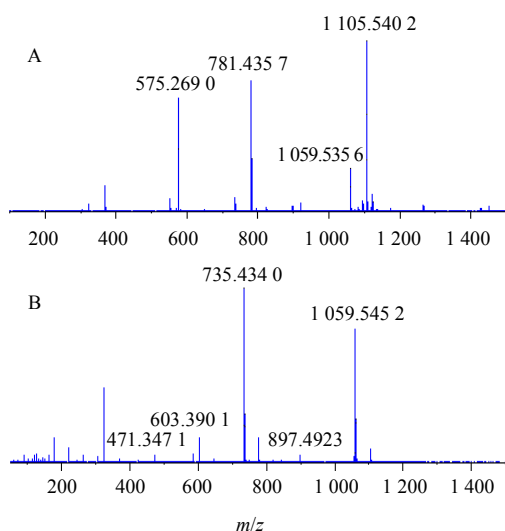


图 2 19 号峰的一级 (A) 和二级 (B) 质谱图

Fig. 2 First- (A) and second-order (B) MS spectra of peak 19

有些化合物有相同的准分子离子峰和相似的碎片离子如表 2 中化合物 11 和 21, 通过其二级碎片离子 (图 3) 可以初步推测这两个化合物的苷元分别为 m/z 471.311 4 阿榄江仁酸皂苷元和 m/z 471.349 4 常春藤皂苷元, 两者互为同分异构体。通过与自建数据库比较共鉴定了 25 个化学成分, 所有的误差都在百万分之 3 以内。与前期的研究相比, 本研究检测到了八月札中更多的化学成分^[12-14], 这些化学成分及药理作用有待进一步研究。

4 结论

本实验建立了八月札的 UFLC-Q-TOF/MS 分析方法, 此方法可使八月札中复杂的化学成分得到快速的分离, 适合多种成分的筛选鉴定, 运用 UFLC-Q-TOF/MS 的数据库匹配技术和相关文献, 鉴定出

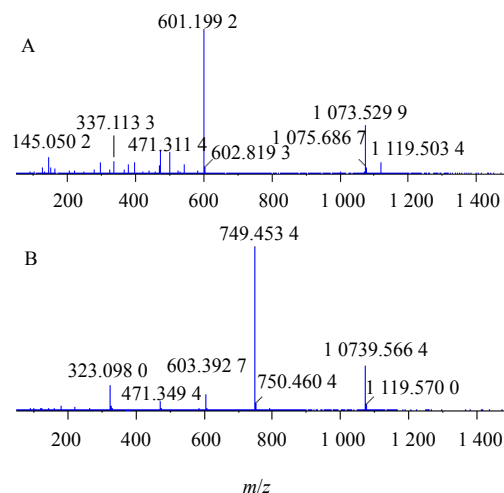


图 3 化合物 11 (A) 和 21 (B) 的二级质谱图

Fig. 3 MS/MS spectra of compounds 11 (A) and 21 (B)

八月札中 25 个化学成分, 依据苷元的精确相对分子质量数以及脱糖碎片, 对其中 9 个未知成分进行了结构推测, 分别为: norarjunlic-3-*O*-Ara-28-*O*-Glc-Glc-Rha (11)、oleanolic-3-*O*-Ara-28-*O*-Glc-Glc-Rha (23)、norhederagenin-3-*O*-Ara-Rha (29)、hederagenin-3-*O*-Glc-Rha-Xyl (31)、noroleanolic-3-*O*-Ara-Rha-Xyl (36)、noroleanolic-3-*O*-Ara-Rha (39)、oleanolic-Ara-Rha-Xyl (43)、oleanolic-Ara-Xyl (45)、hederagenin-3/28-*O*-Glc (46), 还有 2 个未知化合物未推出。其中化合物 11 与 21、31 与 32、18 与 25、35 与 42、28 与 43、29 与 44 互为同分异构体, 本研究为八月札的进一步提取分离和药理作用机制研究提供依据。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局. 中华本草 (第八卷) [M]. 上海: 科学技术出版社, 1999.
- [2] 宋立人, 洪 恂, 丁渚亮, 等. 现代中药学大词典 (II) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001.
- [3] 马红梅, 张伯礼. 不同科属木通比较 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(6): 412.
- [4] Lee H Y, Chung H Y, Kim K H, et al. Induction of differentiation in the cultured F9 teratocarcinoma stem cells by triterpene acids [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1994, 120(9): 516-523.
- [5] 马双成, 陈德昌, 赵淑杰. 预知子化学成分研究 [J]. 中草药, 1994, 25(4): 171-174.
- [6] 陈昌祥, 王微微, 倪 伟, 等. 金银花花蕾中的新三萜皂苷 [J]. 云南植物研究, 2000, 22(2): 201-208.
- [7] 马双成, 陈德昌, 赵淑杰. 中药八月札 (白木通) 果皮

- 的化学成分研究 [J]. 中草药, 1993, 24(11): 563-566.
- [8] 马双成, 陈德昌, 赵淑杰. 预知子皂苷 IV 的结构 [J]. 药学学报, 1994, 29(4): 285-289.
- [9] Ryuichi H, Toshio K. Pericarp saponins of *Akebia quinata* Dence. I. Glycoside of hederagenin and oleanolic acid [J]. *Chem Pharm Bull*, 1976, 24(5): 1014-1021.
- [10] Ryuichi H, Toshio K. Pericarp saponins of *Akebia quinata* Dence. II. Arjunolic and norarjunolic acids and their glycoside [J]. *Chem Pharm Bull*, 1976, 24(6): 1314.
- [11] Yoshihiro K, Hideji I, Mititi H. Constituents of Clematics and Akebi species. III. Structure of akebosides isolated from the stem of *Akebia quinata* Dence [J]. *Chem Pharm Bull*, 1974, 22(10): 2294.
- [12] 何仰清, 高黎明, 魏小梅, 等. 八月札化学成分的研究 [J]. 西北师范大学学报: 自然科学版, 2004, 40(3): 38.
- [13] 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.
- [14] 孟月华, 黄何松, 余黄鹏, 等. 液质联用技术鉴定预知子提取物中的主要化学成分 [J]. 中草药, 2013, 44(12): 1562-1567.