

川楝子水提化学成分的 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 分析

李振华^{1,2}, 徐金娣¹, 鞠建明^{1*}, 朱亚楠^{1,2}, 王璐璐¹

1. 江苏省中医药研究院 中药分析与代谢组研究室, 江苏 南京 210028

2. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046

摘要: 目的 通过 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 技术定性分析川楝子水提取物中的主要化学成分。方法 采用 ACQUITY HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 并以乙腈-0.1%甲酸溶液为流动相进行梯度洗脱, 体积流量为 0.4 mL/min, 质谱使用 ESI 离子源, 正负离子模式扫描采集数据。结果 通过正负离子质谱信息及元素组成分析, 并结合相关文献和对照品数据对照, 鉴定出了川楝子水提取物中的 15 个化合物, 分别为香草酸、丁香酸、对羟基苯甲酸、芦丁、meliatoosenin E、川楝素、 $\Delta^{5,6}$ -异川楝素、异川楝素、meliatoosenin N、meliatoosenin P、1-deacetylnimbinin B、meliatoosenin R、1-O-tigloyl-1-O-debenzoylohinol, meliatoosenin R 及 nimbinin B。结论 利用 UPLC 的高效分离能力和 MS 的高灵敏度检测优势, 建立了一种基于 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 的定性分析方法, 为控制川楝子药材饮片的质量、稳定其临床疗效及阐释其作用机制提供了科学依据。

关键词: 川楝子; UPLC-ESI-Q-TOF-MS; 川楝素; 香草酸; 丁香酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)04-0496-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.04.007

Chemical constituents from water extract of *Toosendan Fructus* by UPLC-ESI-Q-TOF-MS

LI Zhen-hua^{1,2}, XU Jin-di¹, JU Jian-ming¹, ZHU Ya-nan^{1,2}, WANG Lu-lu¹

1. Department of Analysis on Chinese Materia Medica and Metabolomics, Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine and Jiangsu Branch of China Academy of Chinese Medical Sciences, Nanjing 210028, China

2. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

Abstract: Objective To analyze and identify the chemical constituents from the water extract of *Toosendan Fructus* by UPLC-ESI-Q-TOF-MS. The analysis was performed on an ACQUITY HSS T3 reverse phase column (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile and 0.1% formic acid was used for gradient elution, the flow rate was 0.4 mL/min. **Methods** Quadrupole-time of flight-mass spectrometry was applied for the qualitative analysis under positive and negative ion modes and ESI ion source was used for mass spectra. **Results** The results indicated that fifteen compounds from the water extract of *Toosendan Fructus* had been identified by direct comparison in both positive and negative ion mass data, the element compositions analysis, and the data of the literature. They are vanillic acid, lilac acid, *p*-hydroxybenzoic acid, rutin, meliatoosenin E, toosendanin, $\Delta^{5,6}$ -isotoosendanin, isotoosendanin, meliatoosenin N, meliatoosenin P, 1-deacetylnimbinin B, meliatoosenin R, 1-O-tigloyl-1-O-debenzoylohinol, meliatoosenin R, and nimbinin B. **Conclusion** The efficient separation ability of UPLC and high sensitive detection of MS are used in this study, which will provide the evidences for evaluating the quality of *Toosendan Fructus* herbs, stabilizing the curative effect in clinic, and explaining the mechanism.

Key words: *Toosendan Fructus*; UPLC-ESI-Q-TOF-MS; toosendanin; vanillic acid; lilac acid

川楝子为楝科 (Meliaceae) 植物川楝 *Melia toosendan* Sieb. et Zucc. 的干燥果实 (又名金铃子等), 冬季果实成熟时采收, 为传统理气、驱虫药, 主产于四川、贵州、湖南、湖北等地, 入药以四川产为道地药材, 所以称川楝子。《本草纲目》记载该

药性味苦寒, 有小毒, 并有酸味; 入肝、胃、小肠经。《中国药典》2010 年版记载其功能主治为疏肝泄热、行气止痛、杀虫, 用于肝郁化火、胸胁、脘腹胀痛、疝气疼痛、虫积腹痛; 收录有川楝子和炒川楝子 2 个炮制品^[1]。川楝子中含有多种化学成分,

收稿日期: 2014-09-03

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81102467); 天然药物活性组分与药效国家重点实验室开放课题 (SKLNMKF201208-1)

作者简介: 李振华, 男, 硕士研究生, 研究方向为现代中药制剂工艺与质量控制。Tel: 18252066785 E-mail: kimi06@163.com

*通信作者 鞠建明, 博士, 研究员, 主要从事现代中药制剂工艺与质量控制研究。Tel: (025)85639640 E-mail: jjm405@sina.com

包括三萜类、挥发油、黄酮类、脂肪酸、酚酸类和多糖等,而三萜类为其主要的活性成分并已被大量用于机体毒理及药理研究^[2-3]。

目前对于川楝子的化学成分分析研究中多采用甲醇、醋酸乙酯、乙醇等有机溶剂作为提取溶剂,而临床用药中是以水煎为主,因此为了更为真实反应其发挥临床疗效的化学成分群的组成,对川楝子水提后化学成分的分析就显得尤为重要。现在针对川楝子的化学成分研究仍以色谱分离为主,并通过波谱分析手段鉴定其结构^[4],而液相色谱质谱联用技术已广泛应用于药动学、药效物质基础、中药化学成分分析、代谢组学等研究领域^[5-6]。为进一步明确川楝子临床上发挥抗炎、抗肿瘤等药理作用的有效成分,本实验运用 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 技术对川楝子水提取物进行了分析,鉴定出了川楝子水提取物中的 15 个化合物,为进一步阐释其药效物质基础提供了依据。

1 仪器与试剂

Waters SYNAPT G2-S Q-TOF 质谱仪(美国 Waters 公司); Waters ACQUITY UPLCTM 液相色谱仪(配有在线脱气机、柱温箱、高性能自动进样器和二极管阵列检测器); Empower 3.0 工作站(美国 Waters 公司); MassLynxV4.1 分析软件; Milli-Q 型纯水器(美国 Millipore 公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); AT201 型百万分之一电子天平(瑞士 Mettler 公司); 乙腈、甲醇(色谱纯,德国 Merck 公司); 甲酸(色谱纯,美国 Sigma 公司)。

川楝素对照品(自制,经面积归一化法计算质量分数大于 98%); 芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 10008-200306,质量分数为 91.70%); 川楝子生品(批号 20120901,产地四川),经江苏省中医药研究院钱士辉研究员鉴定为楝科植物川楝 *Melia toosendan* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果实。

2 方法

2.1 液相检测条件

ACQUITY HSS T3 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸(B); 梯度洗脱 0~1 min, 2% A; 1~10 min, 2%~95% A; 10~11 min, 95% A; 11~12 min, 95%~2% A; 12~13 min, 2% A; 柱温 35 °C; 体积流量 0.4 mL/min; 进样量 10 μL。

2.2 质谱检测条件

电喷雾离子源(ESI),正、负离子模式,多反

应监测(MRM);碰撞电压(collision, CE)为 20~40 V;毛细管电压(capillary voltage)2 500 V;锥孔电压(sampling cone)40 V;去溶剂温度(TEM)为 450 °C;使用高纯 N₂ 作为辅助喷雾电离与去溶剂气体,去溶剂气体流量为 800 L/h;锥孔气流(cone gas flow)为 50 L/h; TOF MASSES (DA): Min=100.000 0, Max=1 200.000。

2.3 样品溶液的制备

称取 2.0 g 川楝子生品粉末(约 40 目),加入 100 mL 水,煎煮 3 次,每次 1.0 h;滤过,合并滤液,合并后水提液体积为 240 mL;精密吸取上述提取液(未浓缩)10.00 mL 蒸干、冷却,加甲醇超声溶解转移至 5 mL 量瓶中,定容至刻度,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.4 对照品溶液的制备

取川楝素、芦丁对照品适量,精密称定,加甲醇超声溶解、定容,制成质量浓度分别为 6.28 和 6.00 μg/mL 的对照品溶液,于 4 °C 冰箱中避光保存,备用。

3 结果

3.1 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 成分鉴定

用 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 对川楝子水提化学成分进行定性分析,(-) ESI-MS 和(+) ESI-MS 的质谱总离子流图(TIC)见图 1。

3.2 川楝子水提物的化学成分鉴定

通过 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 检测得到川楝子水提物中各化学成分的保留时间、质谱信息,并结合提取离子流图及与对照品、相关文献数据对比进行化学成分确认,结果见表 1。

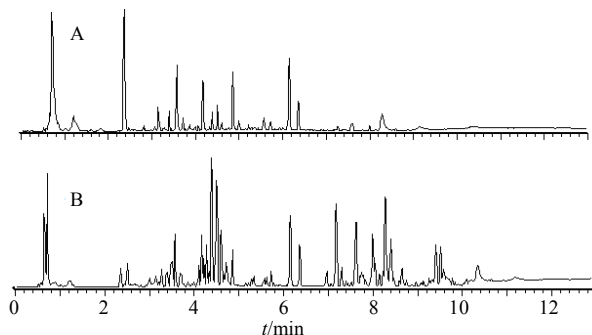


图 1 川楝子水提取物负离子(A)和正离子(B)模式的总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram in negative (A) and positive (B) ion modes for water extract of *Toosendan Fructus*

表 1 川楝子水提物化学成分分析

Table 1 Analysis on chemical constituents from water extract of *Toosendan Fructus*

峰号	t_R/min	负离子模式		正离子模式		特征碎片	分子式	化合物	碎片离子归属
		实测相对 分子质量	理论相对 分子质量	实测相对 分子质量	理论相对 分子质量				
1	2.84	167.033 7	167.035 0	—	—	(-) 152, 123, 108	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$	香草酸	152 $[(\text{M}-\text{H})-\text{CH}_3]^-$; 108 $[(\text{M}-\text{H})-\text{CH}_3-\text{COO}]^-$
2	2.99	197.044 9	197.045 5	—	—	(-) 182, 179, 164, 161	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$	丁香酸	197 $[\text{M}-\text{H}]^-$; 182 $[(\text{M}-\text{H})-\text{CH}_3]^-$; 179 $[(\text{M}-\text{H})-\text{H}_2\text{O}]^-$; 164 $[(\text{M}-\text{H})-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}]^-$; 161 $[(\text{M}-\text{H})-2\text{H}_2\text{O}]^-$
3	3.50	137.022 9	137.024 4	—	—	(-) 137, 120	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$	对羟基苯甲酸	137 $[\text{M}-\text{H}]^-$; 120 $[(\text{M}-\text{H})-\text{OH}]^-$
4	4.06	609.146 5	609.146 1	—	—	(-) 609, 300, 271	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	芦丁	609 $[\text{M}-\text{H}]^-$; 300 $[(\text{M}-\text{H})-\text{Rha}-\text{Glc}]^-$
5	5.41	—	—	553.207 0	553.205 0	(+) 553, 539	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{10}$	meliatoosenin E	553 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 539 $[(\text{M}+\text{Na})-\text{CH}_2]^+$
6	5.71	—	—	515.230 2	515.227 6	(+) 515, 497	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_9$	$\Delta^{5,6}$ -异川楝素	515 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 497 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$
7	6.15	573.233 6	573.234 1	597.233 2	597.231 2	(-) 573, 531, 489, (+) 597	$\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_{11}$	川楝素或异川楝素	573 $[\text{M}-\text{H}]^-$; 531 $[(\text{M}-\text{H})-\text{OH}-\text{CH}_3]^-$
8	6.36	573.234 9	573.233 6	597.233 9	597.231 2	(-) 531, 453, (+) 597	$\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_{11}$	川楝素或异川楝素	573 $[\text{M}-\text{H}]^-$; 531 $[(\text{M}-\text{H})-\text{OH}-\text{CH}_3]^-$
9	7.06	—	—	663.316 1	663.314 5	(+) 663, 605, 563	$\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{O}_{10}$	meliatoosenin N	663 $[\text{M}+\text{Na}]^+$
10	7.62	—	—	547.269 0	547.267 2	(+) 547, 525, 505	$\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{O}_7$	meliatoosenin P	547 $[\text{M}+\text{Na}]^+$
11	8.00	—	—	607.290 8	607.288 3	(+) 589, 577, 549, 507	$\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{O}_9$	1-deacetylnimbolin B	607 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 589 $[(\text{M}+\text{Na})-\text{H}_2\text{O}]^+$
12	8.04	—	—	605.273 7	605.272 7	(+) 605, 575	$\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{O}_9$	meliatoosenin R	605 $[\text{M}+\text{Na}]^+$
13	8.28	—	—	589.280 1	589.277 7	(+) 589, 567, 529, 489	$\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{O}_8$	1-O-tigloyl-1-O-debenzoylchinal	589 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 567 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 529 $[(\text{M}+\text{Na})-\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}]^+$
14	8.53	—	—	591.295 0	591.293 4	(+) 591, 497	$\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{O}_8$	meliatoosenin K	591 $[\text{M}+\text{Na}]^+$
15	9.95	—	—	649.452 1	649.452 7	(+) 649, 620, 605, 562	$\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{O}_{10}$	nimbolin B	649 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 605 $[(\text{M}+\text{Na})-\text{CO}_2]^+$

3.3 根据质谱裂解特征鉴定的成分

3.3.1 香草酸 t_R 为 2.84 min 负离子模式下准分子离子峰为 m/z 167 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 脱去甲基后形成特征碎片 m/z 152 $[(\text{M}-\text{H})-\text{CH}_3]^-$, 再脱去羧基形成 m/z 108 $[(\text{M}-\text{H})-\text{CH}_3-\text{COO}]^-$ 等碎片离子峰, 见图 2。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$, 相对分子质量理论值为 167.035 0, 实测值为 167.033 7, 据文献报道^[7]川楝子中存在香草酸, 其相对分子质量 168, 据此推测该化合物可能为香草酸。

3.3.2 丁香酸 t_R 为 2.99 min 负离子模式下准分子离子峰为 m/z 197 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 脱去甲基后形成特征碎片 m/z 182 $[(\text{M}-\text{H})-\text{CH}_3]^-$, 再脱去 1 分子 H_2O 形成

m/z 164 $[(\text{M}-\text{H})-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}]^-$; 或者脱去 1 分子 H_2O 形成 m/z 179 $[(\text{M}-\text{H})-\text{H}_2\text{O}]^-$, 脱去 2 分子 H_2O 形成 m/z 161 $[(\text{M}-\text{H})-2\text{H}_2\text{O}]^-$ 等碎片离子峰, 见图 3。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$, 相对分子质量理论值为 197.045 5, 实测值为 197.044 9, 据文献报道^[8]川楝子中存在丁香酸, 其相对分子质量 198, 据此推测该化合物为丁香酸。

3.3.3 对羟基苯甲酸 t_R 为 3.50 min 负离子模式下准分子离子峰为 m/z 137 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 脱去羟基后形成 m/z 120 $[(\text{M}-\text{H})-\text{OH}]^-$ 等碎片离子峰, 见图 4。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$, 相对分子质量理论值为 137.024 4, 实测值为 137.022 9,

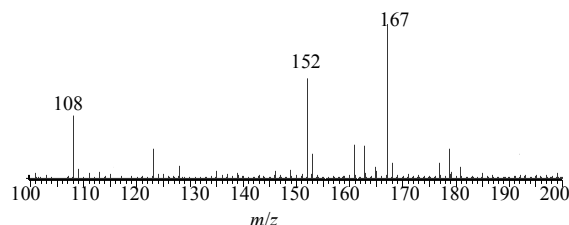


图 2 t_R 2.84 min 的 MS^2 图 (ESI-)
Fig. 2 MS^2 spectra (ESI-) of t_R at 2.84 min

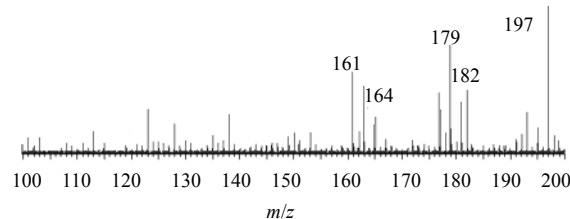


图 3 t_R 2.99 min 的 MS^2 图 (ESI-)
Fig. 3 MS^2 spectra (ESI-) of t_R at 2.99 min

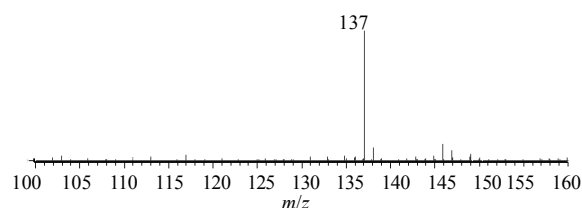


图4 t_R 3.50 min 的 MS^2 图 (ESI^-)

Fig. 4 MS^2 spectra (ESI^-) of t_R at 3.50 min

据文献报道^[8]川楝子中存在对羟基苯甲酸, 其相对分子质量 138, 据此推测该化合物可能为对羟基苯甲酸。

3.3.4 芦丁 t_R 为 4.06 min 负离子模式下准分子离子峰为 m/z 609 $[M-H]^-$, 脱去-Rha-Glc 后形成 m/z 300 $[M-H-Rha-Glc]^-$ 等碎片离子峰, 见图 5。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{27}H_{30}O_{16}$, 相对分子质量理论值为 609.146 1, 实测值为 609.146 5, 据文献报道^[8]川楝子中存在芦丁, 其相对分子质量 610, 据此推测该化合物可能为芦丁。

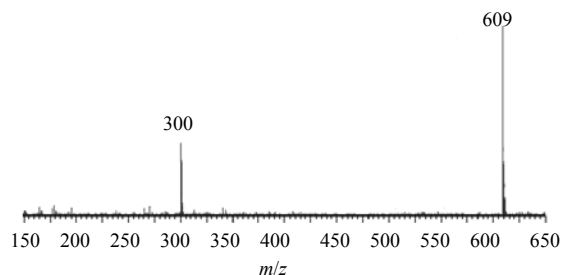


图5 t_R 4.06 min 的 MS^2 图 (ESI^-)

Fig. 5 MS^2 spectra (ESI^-) of t_R at 4.06 min

3.3.5 Meliatoosenin E t_R 为 5.41 min 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 553 $[M+Na]^+$, 脱去 1 个亚甲基后形成 m/z 539 $[M+Na-CH_2]^+$ 等碎片离子峰, 见图 6。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{28}H_{34}O_{10}$, 相对分子质量理论值为 553.205 0, 实测值为 553.207 0, 据文献报道^[9]川楝子中存在 meliatoosenin E, 其相对分子质量 530, 据此推测该化合物可能为 meliatoosenin E。

3.3.6 $\Delta^{5,6}$ -异川楝素 t_R 为 5.71 min 正离子模式下准

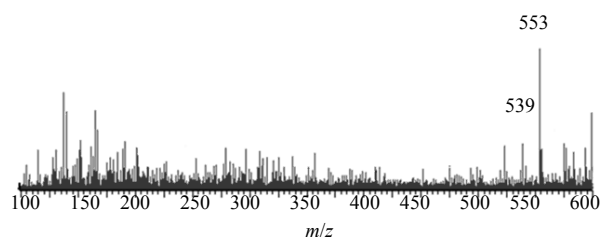


图6 t_R 5.41 min 的 MS^2 图 (ESI^+)

Fig. 6 MS^2 spectra (ESI^+) of t_R at 5.41 min

分子离子峰为 m/z 515 $[M+H]^+$, 脱去 1 分子 H_2O 后形成 m/z 497 $[M+H-H_2O]^+$ 等碎片离子峰, 见图 7。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{28}H_{34}O_9$, 相对分子质量理论值为 515.227 6, 实测值为 515.230 2, 据文献报道^[10]川楝子中存在 $\Delta^{5,6}$ -异川楝素, 相对分子质量为 514, 据此推测该化合物可能为 $\Delta^{5,6}$ -异川楝素。

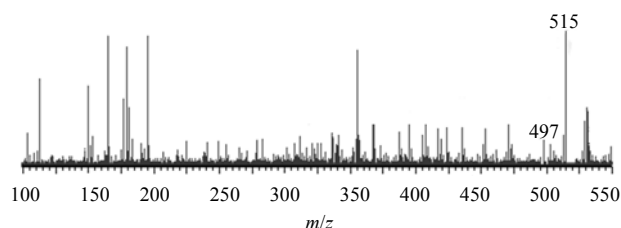


图7 t_R 5.71 min 的 MS^2 图 (ESI^+)

Fig. 7 MS^2 spectra (ESI^+) of t_R at 5.71 min

3.3.7 川楝素与异川楝素 t_R 为 6.15 和 6.36 min 负离子模式下得到准分子离子峰为 m/z 573 $[M-H]^-$, 而再脱去 $-OH-CH_3$ 得到 m/z 531 $[M-H-OH-CH_3]^-$ 等碎片离子峰, 见图 8; 而在正离子模式下得到准分子离子峰为 m/z 597 $[M+Na]^+$ 。据文献报道川楝子中存在川楝素, 相对分子质量为 574, 且存在互变异构体异川楝素^[10]。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{30}H_{38}O_{11}$, 相对分子质量理论值为 573.234 1, 实测值为 573.233 6, 并与对照品中的 2 个色谱峰保留时间和质谱图相一致, 据此推测这 2 个化合物可能为川楝素和异川楝素。

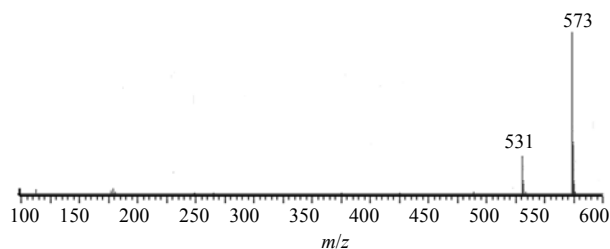
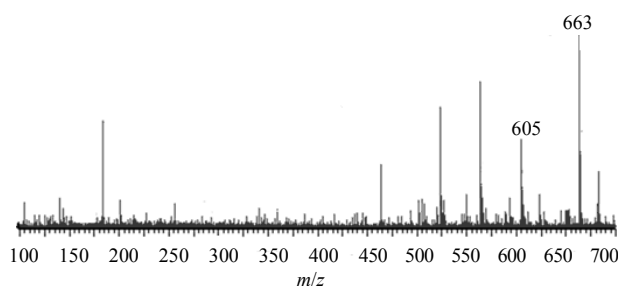


图8 t_R 6.15 min 和 6.36 min 的 MS^2 图 (ESI^-)

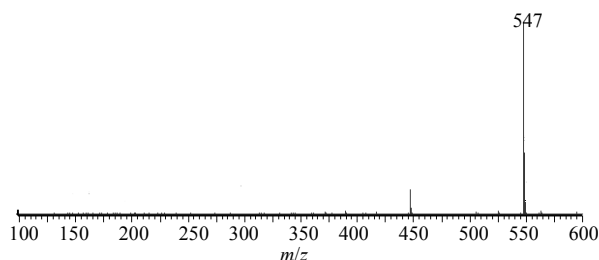
Fig. 8 MS^2 spectra (ESI^-) of t_R at 6.16 and 6.36 min

3.3.8 Meliatoosenin N t_R 为 7.06 min 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 663 $[M+Na]^+$, 再脱去 $-COCH_3$ 和 CH_3 后形成 m/z 605 $[M+Na-C_2H_3O-CH_3]^+$ 等碎片离子峰, 见图 9; 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{36}H_{48}O_{10}$, 相对分子质量理论值为 663.314 5, 实测值为 663.316 1, 据文献报道^[11]川楝子中存在 meliatoosenin N, 其相对分子质量为 640, 据此推测该化合物可能为 meliatoosenin N。

3.3.9 Meliatoosenin P t_R 为 7.62 min 正离子模式下

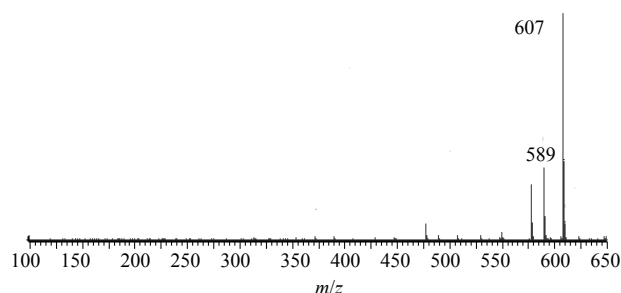
图9 t_R 7.06 min 的 MS² 图 (ESI⁺)Fig. 9 MS² spectra (ESI⁺) of t_R at 7.06 min

准分子离子峰为 m/z 547 $[M+Na]^+$, 见图 10; 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{31}H_{40}O_7$, 相对分子质量理论值为 547.267 2, 实测值为 547.269 0, 据文献报道^[11]川楝子中存在 meliatoosenin P, 其相对分子质量 524, 据此推测该化合物可能为 meliatoosenin P。

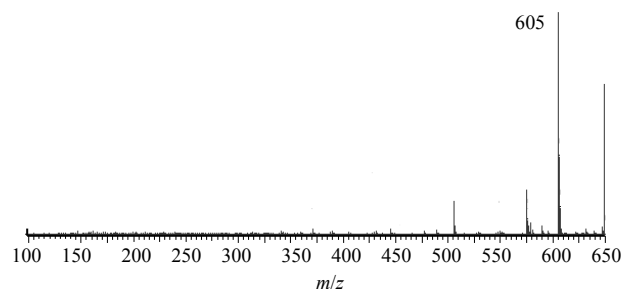
图10 t_R 7.62 min 的 MS² 图 (ESI⁺)Fig. 10 MS² spectra (ESI⁺) of t_R at 7.62 min

3.3.10 1-Deacetylnimbolin B t_R 为 8.00 min 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 607 $[M+Na]^+$, 再脱去 1 分子后形成 H_2O 后形成 m/z 589 $[M+Na-H_2O]^+$ 等碎片离子峰, 见图 11; 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{33}H_{44}O_9$, 相对分子质量理论值为 607.288 3, 实测值为 607.290 8, 据文献报道^[11]川楝子中存在着 1-deacetylnimbolin B, 其相对分子质量为 584, 据此推测该化合物可能为 1-deacetylnimbolin B。

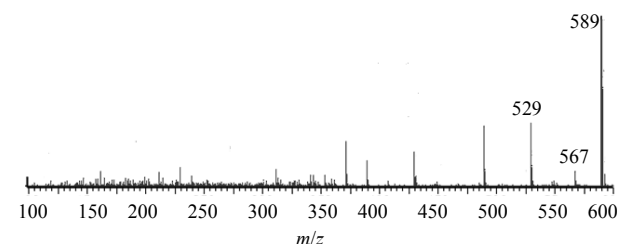
3.3.11 Meliatoosenin R t_R 为 8.04 min 正离子模式下

图11 t_R 8.00 min 的 MS² 图 (ESI⁺)Fig. 11 MS² spectra (ESI⁺) of t_R at 8.00 min

准分子离子峰为 m/z 605 $[M+Na]^+$, 见图 12; 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{33}H_{42}O_9$, 相对分子质量理论值为 605.272 7, 实测值为 605.273 7, 据文献报道^[11]川楝子中存在 meliatoosenin R 其相对分子质量为 582, 据此推测该化合物可能为 meliatoosenin R。

图12 t_R 8.04 min 的 MS² 图 (ESI⁺)Fig. 12 MS² spectra (ESI⁺) of t_R at 8.04 min

3.3.12 1-*O*-Tigloyl-1-*O*-debenzoylohchinal t_R 为 8.28 min 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 589 $[M+Na]^+$, 并存在 m/z 567 $[M+H]^+$, 再脱去 1 分子 C_3H_7OH 后形成 m/z 529 $[M+Na-C_3H_7OH]^+$ 等碎片离子峰, 见图 13; 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{33}H_{42}O_8$, 相对分子质量理论值为 589.277 7, 实测值为 589.280 0; 据文献报道^[12]川楝子中存在着化合物 1-*O*-tigloyl-1-*O*-debenzoylohchinal, 其相对分子质量为 566, 据此推测该化合物可能为柠檬苦素类化合物 1-*O*-tigloyl-1-*O*-debenzoylohchinal。

图13 t_R 8.28 min 的 MS² 图 (ESI⁺)Fig. 13 MS² spectra (ESI⁺) of t_R at 8.28 min

3.3.13 Meliatoosenin K t_R 为 8.53 min 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 591 $[M+Na]^+$, 见图 14; 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{33}H_{44}O_8$, 相对分子质量理论值为 591.293 4, 实测值为 591.295 0, 据文献报道^[13]川楝子中存在 meliatoosenin K, 其相对分子质量为 568, 据此推测该化合物可能为 meliatoosenin K。

3.3.14 nimbolin B t_R 为 9.95 min 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 649 $[M+Na]^+$, 再脱去 1 分子 CO_2 后形成 m/z 605 $[M+Na-CO_2]^+$ 等碎片离子峰,

见图 15; 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{35}H_{46}O_{10}$, 相对分子质量理论值为 649.452 7, 实测值为 649.452 1, 据文献报道^[13]川楝子中存在 nimbolin B, 其相对分子质量为 626, 据此推测该化合物可能为 nimbolin B。

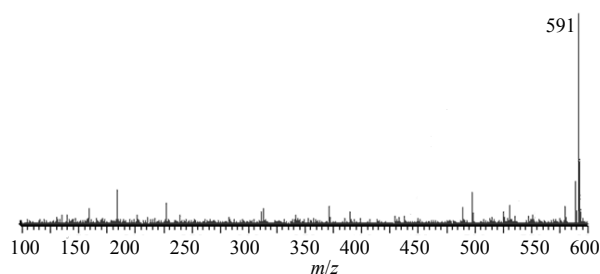


图 14 t_R 8.53 min 的 MS^2 图 (ESI^+)

Fig. 14 MS^2 spectra (ESI^+) of t_R at 8.53 min

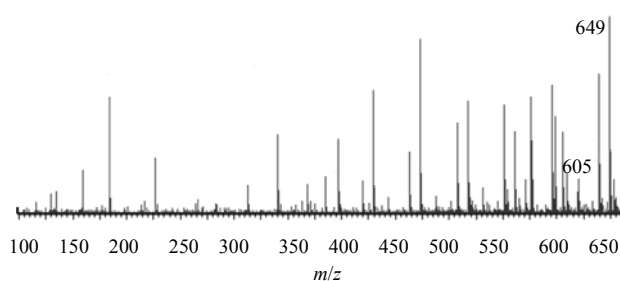


图 15 t_R 9.95 min 的 MS^2 图 (ESI^+)

Fig. 15 MS^2 spectra (ESI^+) of t_R at 9.95 min

4 讨论

本实验运用 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 联用的技术, 通过获得色谱峰的准分子离子峰, 对川楝子水提物进行了化学成分定性分析, 并找出其水提物中可能含有的化学成分。实验中, 将在正负离子模式检测到的化学成分, 根据各个色谱峰在质谱中的精确相对分子质量、碎片信息、质谱裂解规律和色谱保留规律, 并结合标准品的质谱信息和参考文献, 最后确定了 15 个化合物。这 15 个化合物分别为香草酸、丁香酸、对羟基苯甲酸、芦丁、meliatoosenin E、川楝素、 $\Delta^{5,6}$ -异川楝素、异川楝素、meliatoosenin N、meliatoosenin P、1-deacetylnimbolin B、meliatoosenin R、1-O-tigloyl-1-O-debenzoylohchinal、meliatoosenin R 及 nimbolin B。

实验中分别考察了甲醇超声和水煎煮回流 2 种提取方式, 结果表明, 甲醇超声提取物鉴定出的化合物与文献报道的基本一致^[14]; 而水提取物鉴定出结构的 15 个化合物中 8 个为柠檬苦素类化合物, 均首次从水提物中得到。除此之外, 还含 3 个有机酸

(香草酸、丁香酸、对羟基苯甲酸), 1 个黄酮类化合物 (芦丁), 3 个楝烷型三萜 (川楝素、 $\Delta^{5,6}$ -异川楝素、异川楝素)。从川楝子总离子流图可以看出, 色谱峰主要集中在正离子模式下, 并且还有一些响应较好的色谱峰, 其质谱信息未能在已有数据库中找到, 表明川楝子中还有未知成分需要进一步的研究。

本实验利用 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 联用技术对川楝子水提后的化学成分予以分析, 为控制川楝子药材饮片质量、稳定其临床疗效及阐释其作用机制提供了科学依据; 并且提示该方法也同样可用于中药复方的多成分分析, 进而为中药复方的物质基础研究提供一种简单快捷、有效可靠的分析方法。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 齐双岩, 金若敏, 梅彩霞, 等. 川楝子对大鼠肝细胞色素 P450 诱导作用的研究 [J]. 中药药理与临床, 2011, 27(3): 62-64.
- [3] 时 等, 刘妍如, 杨建云, 等. 中药川楝子的最新研究进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2012, 17(3): 357-360.
- [4] 周 英, 王慧娟, 郭东贵, 等. 川楝子化学成分的研究 (I) [J]. 中草药, 2010, 41(9): 1421-1423.
- [5] 朱黎霞, 张英丰. 血液微透析法结合液质联用的丹参水煎液清醒动物多次给药药动学研究 [J]. 中草药, 2014, 45(15): 2206-2209.
- [6] 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.
- [7] 陈 敏, 胡 芳, 李 丰, 等. 川楝子化学成分研究 (III) [J]. 中药材, 2011, 34(12): 1879-1881.
- [8] 谢 帆, 张 勉, 张朝凤, 等. 川楝子的化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(14): 1066-1069.
- [9] Zhang Y, Tang C P, Ke C Q, et al. Limonoids from the fruits of *Melia toosendan* [J]. *Phytochemistry*, 2012, 73(1): 106-115.
- [10] 陈 琳, 穆淑珍, 晏 晨, 等. 川楝子中的化学成分研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(18): 90-95.
- [11] Su S, Shen L Q, Zhang Y, et al. Characterization of tautomeric limonoids from the fruits of *Melia toosendan* [J]. *Phytochem Lett*, 2013, 6(3): 418-425.
- [12] Xie F, Zhang M, Zhang C F, et al. Anti-inflammatory and analgesic activities of ethanolic extract and two limonoids from *Melia toosendan* fruit [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 117(3): 463-472.
- [13] Dong S H, Zhang C R, He X F, et al. Mesedanins A-J, limonoids from the leaves and twigs of *Melia toosendan* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(3): 1344-1353.
- [14] 聂 映, 李志裕, 姚卫峰. 基于液相色谱飞行时间质谱的炒川楝子化学成分分析 [J]. 安徽医药, 2013, 17(6): 943-945.