

青叶胆化学成分的 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 分析

王鑫¹, 陈雪晴², 尤蓉蓉², 鞠建明², 徐金娣², 范君婷^{3*}, 周洪雷^{1*}

1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250300

2. 江苏省中医药研究院, 江苏 南京 210028

3. 南京医科大学药学院, 江苏 南京 211166

摘要:目的 运用超高效液相色谱-电喷雾四级杆飞行时间质谱(UPLC-ESI-Q-TOF-MS)技术对中药青叶胆 *Swertia mileensis* 的主要化学成分进行定性分析。方法 采用 ACQUITY HSS T3 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 用 0.1% 甲酸乙腈-0.1% 甲酸水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, 正负离子模式下采集数据, 运用 Masslynx 4.1 软件并结合 SciFinder 数据库、獐牙菜属相关文献以及对照品信息进行数据分析。结果 从青叶胆中鉴定出化学成分 28 个, 包括 7 个环烯醚萜类、14 个吡喃酮类、3 个黄酮类、2 个三萜类以及 2 个酚类。其中断马钱子苷半缩醛内酯、8-*O*-β-*D*-吡喃木糖(1→6)-β-*D*-吡喃葡萄糖-1,7-二羟基-3-甲氧基吡喃酮、3-氧去甲双吡喃酮苷和 sweriyunnanlactone A 为首次从该植物中发现。结论 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 技术能够快速准确地鉴定青叶胆中的化学成分, 为其质量控制和药效物质基础研究提供一种新的研究策略。

关键词: 青叶胆; UPLC-ESI-Q-TOF-MS; 环烯醚萜类; 吡喃酮类; 黄酮类; 三萜类; 断马钱子苷半缩醛内酯; 8-*O*-β-*D*-吡喃木糖(1→6)-β-*D*-吡喃葡萄糖-1,7-二羟基-3-甲氧基吡喃酮; 3-氧去甲双吡喃酮苷; sweriyunnanlactone A

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)03-0453-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.03.007

Analysis on chemical constituents from *Swertia mileensis* by UPLC-ESI-Q-TOF-MSWANG Xin¹, CHEN Xue-qing², YOU Rong-rong², JU Jian-ming², XU Jin-di², FAN Jun-ting³, ZHOU Hong-lei¹

1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250300, China

2. Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

3. School of Pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

Abstract: Objective To analyze and identify the chemical constituents from *Swertia mileensis* by UPLC-ESI-Q-TOF-MS. **Methods** The analysis was performed on an Acquity HSS T3 reverse phase column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm). The mobile phase consisted of 0.1% formic acid acetonitrile and 0.1% formic acid, and was used for gradient elution, with the flow rate of 0.4 mL/min. Mass spectrometry was applied for the qualitative analysis under positive and negative ion modes and ESI ion source. Data was analyzed by Masslynx 4.1 software, SciFinder database, literatures, and standards. **Results** Twenty-eight compounds, including 7 iridoids, 14 xanthenes, 3 flavonoids, 2 triterpenes, and 2 phenols were identified from *S. mileensis*. Among them, vogeloside, 8-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→6)-β-*D*-glucopyranosyl-1,7-dihydroxy-3-ethoxyxanthone, 3-*O*-demethylswertipunicoside, and sweriyunnanlactone A were reported from this species for the first time. **Conclusion** Using UPLC-ESI-Q-TOF-MS method the main chemical constituents from *S. mileensis* can be rapidly and accurately identified, which provides a new strategy for its quality control as well as a reference for clarifying the material basis of its efficacy.

Key words: *Swertia mileensis* T. N. Ho et W. L. Shi; UPLC-ESI-Q-TOF-MS; iridoid; xanthone; flavonoids; triterpenes; vogeloside; 8-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→6)-β-*D*-glucopyranosyl-1,7-dihydroxy-3-ethoxyxanthone; 3-*O*-demethylswertipunicoside; sweriyunnanlactone A

青叶胆为龙胆科(Gentianaceae)獐牙菜属 *Swertia* L. 植物青叶胆 *Swertia mileensis* T. N. Ho et

W. L. Shi 的干燥全草, 其味苦、甘, 性寒; 有清肝利胆、清热利湿的功效。现代研究表明青叶胆中主

收稿日期: 2016-07-12

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(31500278); 江苏省高校自然科学研究面上项目(13KJB360002); 山东省高校中医药抗病毒协同创新课题(XTCX2014C01-03)

作者简介: 王鑫(1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药及复方有效成分研究及其质量控制。E-mail: wo0318snb@163.com

*通信作者 范君婷(1983—), 女, 讲师, 研究方向为天然药物活性成分及其作用机制研究。Tel: (025)86868480 E-mail: juntingfan@njmu.edu.cn
周洪雷(1967—), 男, 教授, 研究方向为中药及天然药物有效成分及质量控制研究。E-mail: zhouhongleitcm@163.com

要含有环烯醚萜类、吡啶酮类、黄酮类、三萜类等成分,有保肝、解痉、镇痛、抗病毒等作用。《中国药典》2015年版收录青叶胆全草及其制剂青叶胆片和黄疸肝炎丸作为抗肝炎药物使用^[1]。

青叶胆化学成分众多,保肝活性显著,既是中药饮片的配方药,又是制药企业生产多种制剂的原料药,市场对青叶胆的需求量越来越大,需要寻求一种能够快速全面鉴定青叶胆中主要化学成分的方法,控制青叶胆药材质量,使其更好地发挥药效。目前,青叶胆的分离以常规色谱技术为主,而质量控制方法仅有 HPLC 法^[2-4]及毛细管电泳法^[5],未见质谱分析方法的相关报道。超高效液相色谱-电喷雾四级杆飞行时间质谱(UPLC-ESI-Q-TOF-MS)技术是近几年发展起来的具有高分离度、高灵敏度、高精度的分离技术,是快速高效鉴定天然药物中复杂庞大化合物体系的有力手段^[6-7]。本研究首次采用 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 技术对中药青叶胆的化学成分进行分析,鉴定出 28 个化合物,其中断马钱子苷半缩醛内酯、8-*O*- β -D-吡喃木糖 (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖-1,7-二羟基-3-甲氧基吡啶酮、3-氧去甲双吡啶酮苷和 sweriyunnanlactone A 为首次从该植物中发现。为其质量控制和药效物质基础研究提供一种快速、有效的方法。

1 仪器与试剂

Waters ACQUITY UPLCTM 液相色谱仪、Waters SYNAPT G2-S Q-TOF 质谱仪(美国 Waters 公司); ACQUITY HSS T3 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m); Masslynx4.1 工作站(美国 Waters 公司); AT201 型百万分之一电子天平(瑞士 METTLER 公司); KS-180AL 型数控超声波清洗器(深圳市洁康洗净电器有限公司); 乙腈、甲醇(色谱纯,德国 Merck 公司); 甲酸(色谱纯,美国 Sigma 公司); 芒果苷(批号 11607-201304,中国食品药品检定研究院); 龙胆苦苷(批号 130408,成都普菲德生物技术有限公司); 齐墩果酸(批号 11601-201302,中国食品药品检定研究院)。

青叶胆(批号 121712,购自中国食品药品检定研究院)经南京医科大学陈立娜副研究员鉴定为龙胆科植物青叶胆 *Swertia mileensis* T. N. Ho et W. L. Shi 的干燥全草。

2 方法

2.1 检测条件

2.1.1 色谱条件 ACQUITY HSS T3 色谱柱(100

mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m); 体积流量 0.4 mL/min; 进样量 5 μ L; 柱温 35 $^{\circ}$ C; 流动相为 0.1%甲酸乙腈溶液(A)-0.1%甲酸水溶液(B); 梯度洗脱: 0~1 min, 5% A; 1~10 min, 5% A~95% A; 10~12 min, 95% A; 12~13 min, 95% A~5% A; 13~15 min, 5% A。

2.1.2 质谱条件 离子源温度为 120 $^{\circ}$ C; 毛细管电压 2 500 V; 锥孔电压 40 V; 低能量碰撞电压 CE 为 6 V, 高能量碰撞电压为 30~60 V; 电喷雾离子源(ESI), 正、负离子模式; 去溶剂温度(TEM)为 250 $^{\circ}$ C; 高纯 N₂ 作为辅助喷雾电离与去溶剂气体, 去溶剂气体积流量为 500 L/h; 锥孔气流为 50 L/h; 扫描范围 *m/z* 50~1 500, 检测时间 15 min。

2.2 供试品溶液的制备

将青叶胆药材粉碎过 40 目筛, 称取 2.000 3 g, 精密称定。加 10 倍量 70% (体积分数) 甲醇加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压回收甲醇至无醇味, -80 $^{\circ}$ C 冷冻干燥成粉末。加 10 mL 甲醇超声溶解转移至 10 mL 量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 过 0.22 μ m 微孔滤膜, 备用。

2.3 对照品溶液的制备

取芒果苷、龙胆苦苷、齐墩果酸对照品适量, 精密称定, 加甲醇超声溶解、定容, 制成浓度为 5.00 μ g/mL 的对照品溶液, 于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中避光保存, 备用。

3 结果

3.1 青叶胆醇提物的化学成分分析

通过 UPLC-Q-TOF-MS 对青叶胆的化学成分进行定性分析, 得到 (-) ESI-MS 和 (+) ESI-MS 的质谱总离子流图, 见图 1。

通过 SciFinder 数据库对该属化合物进行检索, 得到青叶胆中潜在的化学成分数据库, 结合 Masslynx4.1 工作站给出的精确相对分子质量和质谱碎片, 以及对照品, 分析得到青叶胆中 28 个成分(表 1 和图 2), 其中包括 7 个环烯醚萜类(峰 1、2、5、6、13、16、22)、14 个吡啶酮类(峰 3、8、9、11、12、17、18、19、20、21、23、24、25、27)、3 个黄酮类(峰 4、10、14)、2 个三萜类(峰 26、28)以及 2 个酚类(峰 7、15)。其中有断马钱子苷半缩醛内酯、8-*O*- β -D-吡喃木糖 (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖-1,7-二羟基-3-甲氧基吡啶酮、3-氧去甲双吡啶酮苷和 sweriyunnanlactone A 为首次从该植物中发现。

3.2 环烯醚萜类成分鉴定

峰 1 (*t_R* 为 2.82 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 *m/z* 375.127 6 [M-H]⁻, 再脱去 1 分子葡萄

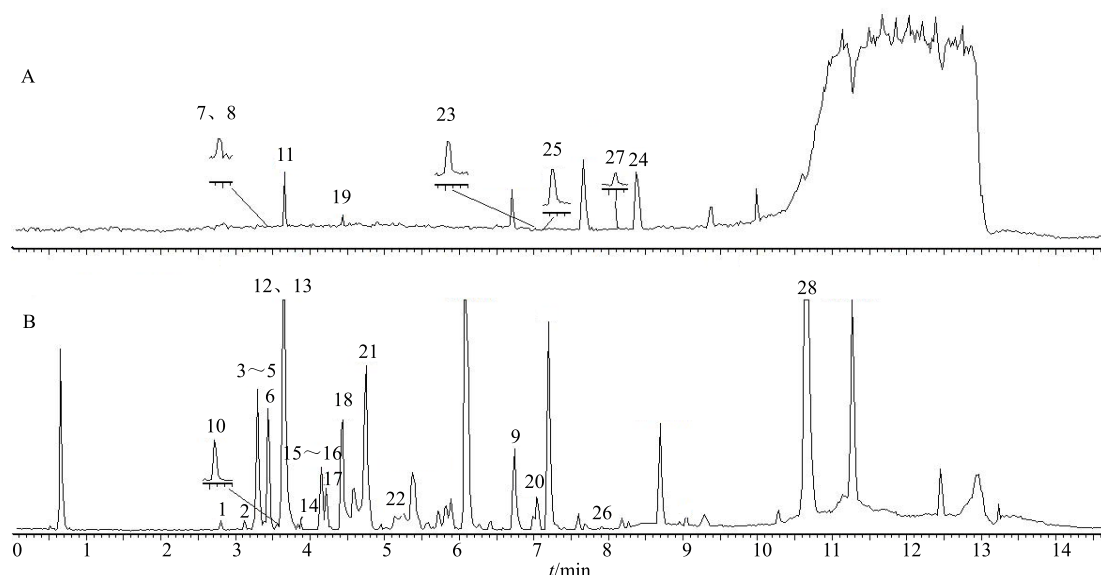


图 1 青叶胆正离子 (A) 和负离子 (B) 模式的总离子流图

Fig. 1 Total ion current with positive (A) and negative (B) ion mode of *S. mileensis*

表 1 青叶胆中化学成分的 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 鉴定结果

Table 1 Identification of chemical constituents from *S. mileensis* by UPLC-ESI-Q-TOF-MS

峰号	离子模式	t_R /min	相对分子质量		特征碎片	分子式	化合物	误差 ($\times 10^{-6}$)
			实测值	理论值				
1	—	2.82	375.127 6	375.129 1	213	$C_{16}H_{24}O_{10}$	马钱苷酸	-4.0
2	—	3.16	373.113 0	373.113 5	409, 419	$C_{16}H_{22}O_{10}$	獐牙菜苦苷	-1.3
3	—	3.30	421.077 4	421.077 1	843, 403	$C_{19}H_{18}O_{11}$	芒果苷	0.7
4	—	3.30	331.043 9	331.045 4	331, 249	$C_{15}H_{10}O_6$	山柰酚	-2.7
5	—	3.36	401.107 1	401.108 4	401, 301	$C_{16}H_{20}O_9$	龙胆苦苷	-3.2
6	—	3.46	403.123 3	403.124 0	403, 393	$C_{16}H_{22}O_9$	獐牙菜苷	-1.7
7	+	3.46	247.059 8	247.060 6	229	$C_{13}H_{10}O_5$	鸢尾酚酮	-4.0
8	+	3.46	229.049 3	229.050 1	251	$C_{13}H_8O_4$	吡酮 (2 个羟基)	-3.5
9	—	6.84	227.035 2	227.034 4	273	$C_{13}H_8O_4$	吡酮 (2 个羟基)	3.5
10	—	3.58	447.092 0	447.092 7	357	$C_{21}H_{20}O_{11}$	异荛素	-1.6
11	+	3.66	261.039 1	261.039 9	—	$C_{13}H_8O_6$	去甲基维菊叶龙胆酮	-3.1
12	—	3.66	421.076 5	421.077 1	843, 259	$C_{19}H_{18}O_{11}$	异芒果苷	-1.4
13*	—	3.72	433.134 0	433.134 6	433	$C_{17}H_{24}O_{10}$	断马钱子苷半缩醛内酯	1.6
14	—	3.88	431.096 2	431.097 8	341	$C_{21}H_{20}O_{10}$	异荛素	-3.7
15	—	4.02	167.034 1	167.034 4	—	$C_8H_8O_4$	香草酸	-1.8
16	—	4.15	477.140 3	477.139 7	523, 955	$C_{23}H_{26}O_{11}$	decentapicrin	1.3
17*	—	4.24	567.133 9	567.135 0	552	$C_{25}H_{28}O_{15}$	8- <i>O</i> - β -D-吡喃木糖 (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖-1,7-二羟基-3-甲氧基吡酮	3.0
18	—	4.44	435.091 7	435.092 7	871	$C_{20}H_{20}O_{11}$	当药醇苷	-2.8
19	+	4.46	275.055 3	275.055 6	224	$C_{14}H_{10}O_6$	吡酮 (3 个羟基, 1 个甲氧基)	-1.1
20	—	7.06	273.039 9	273.038 6	258	$C_{14}H_{10}O_6$	吡酮 (3 个羟基, 1 个甲氧基)	-4.8
21*	—	4.75	679.095 3	679.093 5	661, 517	$C_{32}H_{24}O_{17}$	3-氧去甲双吡酮苷	-1.9
22*	—	5.15	551.190 9	551.191 7	551	$C_{29}H_{30}O_8$	sweriyunnanlactone A	-1.5
23	+	7.04	289.070 4	289.071 2	271	$C_{15}H_{12}O_6$	吡酮 (2 个羟基, 2 个甲氧基)	-4.2
24	+	8.49	289.070 4	289.071 2	271	$C_{15}H_{12}O_6$	吡酮 (2 个羟基, 2 个甲氧基)	-4.2
25	+	7.16	303.086 7	303.086 9	273	$C_{16}H_{14}O_6$	吡酮 (1 个羟基, 3 个甲氧基)	-2.0
26	—	7.93	471.347 7	471.347 4	417	$C_{30}H_{48}O_4$	山楂酸	2.8
27	+	8.11	333.097 1	333.097 4	—	$C_{17}H_{16}O_7$	吡酮 (1 个羟基, 4 个甲氧基)	-0.1
28	—	10.64	455.352 1	455.352 5	501	$C_{30}H_{48}O_3$	齐墩果酸	0.2

*表示首次从青叶胆中发现

*compositions reported for the first time from *S. mileensis*

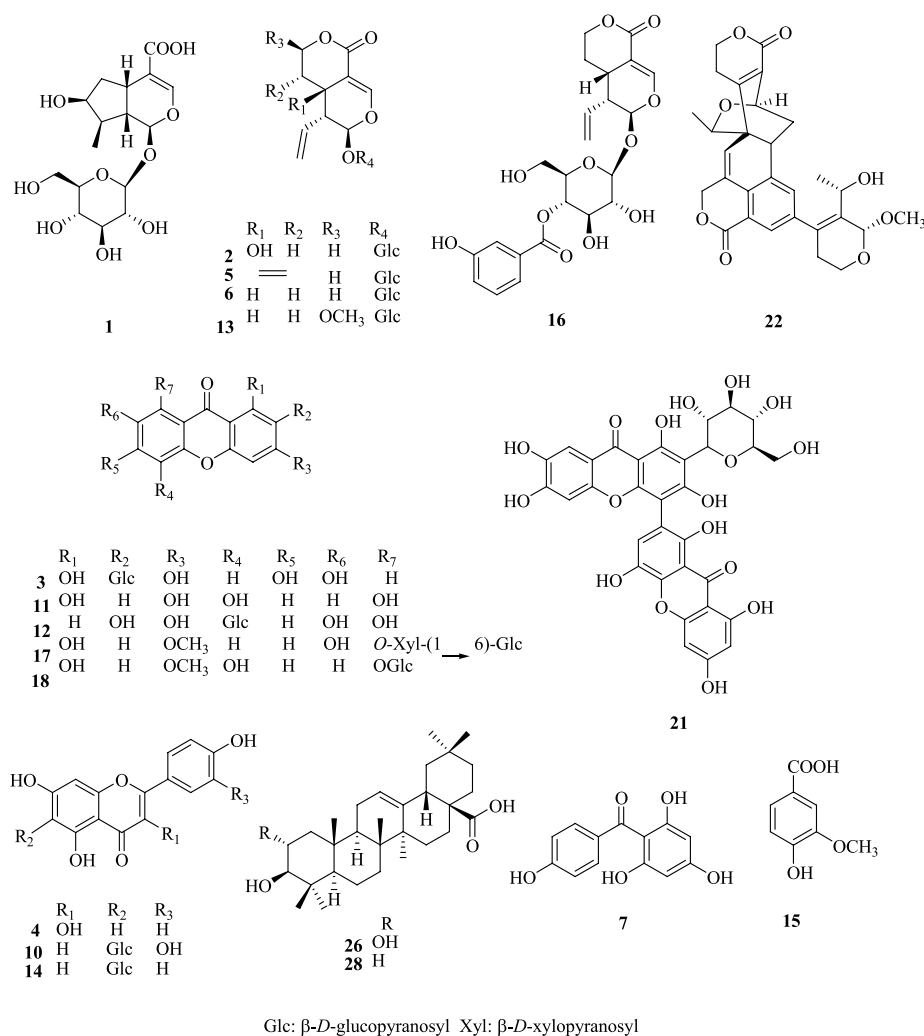


图 2 UPLC-Q-TOF-MS 技术鉴定出的青叶胆中部分化合物的结构

Fig. 2 Chemical structures of constituents from *S. mileensis* identified by UPLC-Q-TOF-MS

糖形成 m/z 213 $[M-H-Glc]^-$ 等碎片离子峰。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{16}H_{24}O_{10}$, 根据文献报道^[8], 推测峰 1 为马钱苷酸。

峰 2 (t_R 为 3.16 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 373.113 0 $[M-H]^-$, 加合离子峰为 m/z 419 $[M+HCOO]^-$ 和 m/z 409 $[M+Cl]^-$ 。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{16}H_{22}O_{10}$, 根据文献报道^[8-9], 推测峰 2 为獐牙菜苦苷。

峰 5 (3.36 min) 在负离子模式下加合离子峰 m/z 401.107 1 $[M+HCOO]^-$, 失去 3 分子 H_2O 形成 m/z 301 $[M-H-3H_2O]^-$ 等碎片离子峰。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{16}H_{20}O_9$, 根据文献报道^[8-9] 并且结合对照品, 推测峰 5 为龙胆苦苷。

峰 6 (t_R 为 3.46 min) 在负离子模式下的准分子离子峰为 m/z 357 $[M-H]^-$, 加合离子峰为 m/z 403.123 3 $[M+HCOO]^-$ 和 m/z 393 $[M+Cl]^-$ 。根据

元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{16}H_{22}O_9$, 根据文献报道^[8], 推测峰 6 为獐牙菜苷。

峰 13 (t_R 为 3.72 min) 在负离子模式下加合离子峰为 m/z 433.134 0 $[M+HCOO]^-$ 。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{17}H_{24}O_{10}$, 根据文献报道^[10], 推测峰 13 为断马钱子苷半缩醛内酯。

峰 16 (t_R 为 4.15 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 477.140 3 $[M-H]^-$, 加合离子峰 m/z 523 $[M+HCOO]^-$, 二聚体 m/z 955 $[2M-H]^-$, 见图 3。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{23}H_{26}O_{11}$, 根据文献报道^[11], 推测峰 16 为 decentapicrin。

峰 22 (t_R 为 5.15 min) 在负离子模式下加合离子峰为 m/z 551.190 9 $[M+HCOO]^-$ 。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{29}H_{30}O_8$, 根据文献报道^[12], 推测峰 22 为 sweriyunnanlactone A。

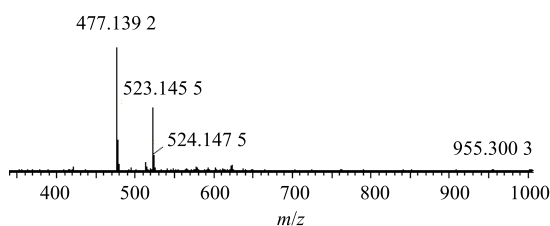


图 3 峰 16 的 MS² 图 (ESI⁻)
Fig. 3 MS² map (ESI⁻) of peak 16

3.3 吡酮类化合物鉴定

峰 3 (t_R 为 3.30 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 421.077 4 $[M-H]^-$, 脱去 1 分子 H_2O 形成 m/z 403 $[M-H-H_2O]^-$, 二聚体 m/z 843 $[2M-H]^-$ 等特征碎片。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{19}H_{18}O_{11}$, 根据文献报道^[13] 并且结合对照品, 推测峰 3 为芒果苷。

峰 8 (t_R 为 3.46 min) 在正离子模式下准分子离子峰为 m/z 229.049 3 $[M+H]^+$, 加合离子峰 m/z 251 $[M+Na]^+$ 。峰 9 (t_R 为 6.84 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 227.035 2 $[M-H]^-$, 加合离子峰 m/z 273 $[M+HCOO]^-$ 。根据元素组成分析, 峰 8 和峰 9 分子式均为 $C_{13}H_8O_4$, 根据文献报道^[14], 推测为含有 2 个羟基的吡酮, 可能是 1,3-二羟基吡酮及其同分异构体。

峰 11 (t_R 为 3.66 min) 在正离子模式下准分子离子峰为 m/z 261.039 1 $[M+H]^+$ 。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{13}H_8O_6$, 根据文献报道^[15], 推测峰 11 为去甲基维菊叶龙胆酮。

峰 12 (t_R 为 3.66 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 421.076 5 $[M-H]^-$, 脱去 1 分子葡萄糖得到 m/z 259 $[M-H-Glc]^-$, 二聚体 m/z 843 $[2M-H]^-$ 等碎片离子峰。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{19}H_{18}O_{11}$, 根据文献报道^[13], 推测峰 12 为异芒果苷。

峰 17 (t_R 为 4.24 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 567.133 9 $[M-H]^-$, 脱掉甲基得到 m/z 552 $[M-H-CH_3]^-$ 等碎片离子峰。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{25}H_{28}O_{15}$, 根据文献报道^[16], 推测峰 17 为 8- O -(β - D -吡喃木糖 (1 $\rightarrow$ 6)- β - D -吡喃葡萄糖)-1,7-二羟基-3-甲氧基吡酮。

峰 18 (t_R 为 4.44 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 435.091 7 $[M-H]^-$, 二聚体 m/z 871 $[2M-H]^-$ 等碎片离子峰。根据元素组成分析, 该化

合物分子式为 $C_{20}H_{20}O_{11}$, 根据文献报道^[17], 推测峰 18 为当药醇苷。

峰 19 (t_R 为 4.46 min) 在正离子模式下准分子离子峰为 m/z 275.055 3 $[M+H]^+$, 脱去 2 分子 H_2O 和 1 分子甲基, 得到 m/z 224 $[M+H-2H_2O-CH_3]^+$ 等碎片离子峰。峰 20 (t_R 为 7.06 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 273.038 6 $[M-H]^-$, 脱掉甲基得到 m/z 258 $[M-H-CH_3]^-$ 等碎片离子峰。根据元素组成分析, 峰 19 和峰 20 的分子式均为 $C_{14}H_{10}O_6$, 根据文献报道^[18], 推测为结构中被 3 个羟基和 1 个甲氧基取代的吡酮。可能是 1,3,8-三羟基-7-甲氧基吡酮或 1,7,8-三羟基-3-甲氧基吡酮或 1,5,8-三羟基-3-甲氧基吡酮或维菊叶龙胆酮。

峰 21 (t_R 为 4.75 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 679.095 3 $[M-H]^-$, 脱去 1 分子 H_2O 形成 m/z 661 $[M-H-H_2O]^-$, 脱去 1 分子葡萄糖得到 m/z 517 $[M-H-Glc]^-$ 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 $C_{32}H_{24}O_{17}$, 根据文献报道^[19], 推测峰 21 为 3-氧去甲双吡酮苷。

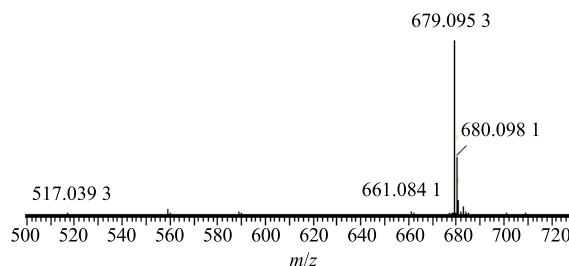


图 4 峰 21 的 MS² 图 (ESI⁻)
Fig. 4 MS² map of peak 21 (ESI⁻)

峰 23 (t_R 为 7.04 min) 在正离子模式下准分子离子峰为 m/z 289.070 4 $[M+H]^+$, 再脱去 1 分子 H_2O 形成 m/z 271 $[M+H-H_2O]^+$ 等碎片离子峰。峰 24 (t_R 为 8.49 min) 在正离子模式下有同样的准分子离子峰以及碎片离子峰。根据元素组成分析, 峰 23 和峰 24 的分子式均为 $C_{15}H_{12}O_6$, 根据文献报道^[20], 推测为结构中被 2 个羟基和 2 个甲氧基取代的吡酮。可能是 1,8-二羟基-3,7-甲氧基吡酮或 1,8-二羟基-3,5-甲氧基吡酮或 1,7-二羟基-3,8-甲氧基吡酮或 1,7-二羟基-3,4-甲氧基吡酮或 1,5-二羟基-2,3-甲氧基吡酮。

峰 25 (t_R 为 7.16 min) 在正离子模式下准分子离子峰为 m/z 303.086 7 $[M+H]^+$, 再脱去 2 个甲基形成 m/z 273 $[M+H-2CH_3]^+$ 等碎片离子峰。根据元素组成分析, 分子式为 $C_{16}H_{14}O_6$, 根据文献报道^[21], 推测峰 25 为结构中被 1 个羟基和 3 个甲氧基取代的

吡酮。可能是 1-羟基-3,7,8-三甲氧基吡酮或 1-羟基-3,5,6-三甲氧基吡酮或 1-羟基-2,3,5-三甲氧基吡酮或 1-羟基-2,3,8-三甲氧基吡酮。

峰 27 (t_R 为 8.11 min) 在正离子模式下准分子离子峰为 m/z 333.097 1 $[M+H]^+$ 。根据元素组成分析, 分子式为 $C_{17}H_{16}O_7$, 根据文献报道^[18], 推测峰 27 为结构中被 1 个羟基和 4 个甲氧基取代的吡酮。可能是 1-羟基-2,3,5,7-四甲氧基吡酮或 1-羟基-2,3,4,6-四甲氧基吡酮或 1-羟基-2,3,4,7-四甲氧基吡酮或 1-羟基-2,3,6,8-四甲氧基吡酮。

3.4 黄酮类化合物的鉴定

峰 4 (t_R 为 3.30 min) 在负离子模式下加合离子峰 m/z 331.043 9 $[M+HCOO]^-$, 脱去 2 分子 H_2O 形成 m/z 249 $[M-H-2H_2O]^-$ 等碎片离子峰。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{15}H_{10}O_6$, 根据文献报道^[22], 推测峰 4 为山柰酚。

峰 10 (t_R 为 3.58 min) 在负离子模式下, 准分子离子峰为 m/z 447.092 0 $[M-H]^-$, 脱去 5 分子 H_2O 得到 m/z 357 $[M-H-5H_2O]^-$ 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 $C_{21}H_{20}O_{11}$, 根据文献报道^[23], 推测峰 10 为异荛素。

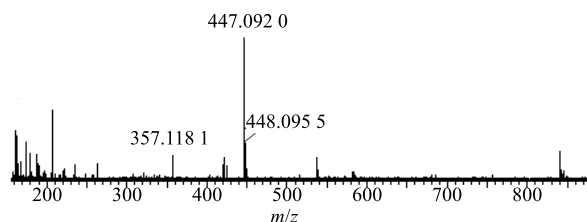


图 5 峰 10 的 MS² 图 (ESI⁻)

Fig. 5 MS² map of peak 10 (ESI⁻)

峰 14 (t_R 为 3.88 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 431.096 2 $[M-H]^-$, 脱去 5 分子 H_2O 形成 m/z 341 $[M-H-5H_2O]^-$ 等碎片离子峰。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{21}H_{20}O_{10}$, 根据文献报道^[5], 推测峰 14 为异牡荛素。

3.5 三萜类化合物鉴定

峰 26 (t_R 为 7.93 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 471.347 7 $[M-H]^-$, 再脱去 3 分子 H_2O 形成 m/z 417 $[M-H-3H_2O]^-$ 等碎片离子峰。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{30}H_{48}O_4$, 根据文献报道^[18], 推测峰 26 为山楂酸。

峰 28 (t_R 为 10.64 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 455.352 1 $[M-H]^-$, 加合离子峰 m/z 501 $[M+HCOO]^-$, 见图 6。根据元素组成分析并且

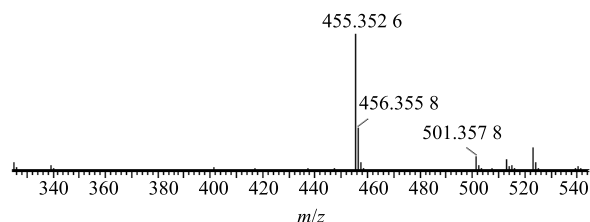


图 6 峰 28 的 MS² 图 (ESI⁻)

Fig. 6 MS² map of peak 28 (ESI⁻)

结合对照品, 该化合物分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$, 根据文献报道^[18], 推测峰 28 为齐墩果酸。

3.6 酚类化合物鉴定

峰 7 (t_R 为 3.46 min) 在正离子模式下准分子离子峰为 m/z 247.059 8 $[M+H]^+$, 失去 1 分子 H_2O 形成 m/z 229 $[M+H-H_2O]^+$ 等碎片。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{13}H_{10}O_5$, 根据文献报道^[24], 推测峰 7 为鸢尾酚酮。

峰 15 (t_R 为 4.02 min) 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 167.034 1 $[M-H]^-$ 。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_8H_8O_4$, 根据文献报道^[25], 推测峰 15 为香草酸。

4 讨论

本实验采用 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 技术对青叶胆进行化学成分定性分析, 从总离子图看出, 青叶胆在正负离子模式下都有较好的响应。根据质谱给出的精确相对分子质量 (误差 $< 5 \times 10^{-6}$)、质谱碎片, 结合獐牙菜属相关文献, 鉴定出 28 个化合物, 主要为环烯醚萜类和吡酮类。同时在总离子流图中有许多强峰, 例如在负离子模式下 m/z 693.110 2 (5.37 min)、 m/z 259.021 7 (6.09 min)、 m/z 295.225 8 (8.69 min)、 m/z 355.155 9 (11.26 min) 以及在正离子模式下 m/z 225.196 4 (6.70 min)、 m/z 304.299 7 (7.66 min) 等, 推测出的化合物未见相关文献报道, 证明青叶胆中还有一些未知化合物, 并且是青叶胆的主要成分, 对化合物的分离和药效物质基础研究有指导意义。

本研究表明 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 技术能够快速准确地鉴定分析青叶胆的化学成分, 为控制青叶胆药材质量, 保证用药安全, 进一步阐明其药效基础提供了科学的依据, 同时可以指导青叶胆化合物的分离工作。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.

- [2] 徐 敏, 张振秋. 青叶胆高效液相色谱特征图谱研究及指标性成分的含量测定 [J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(20): 1751-1755.
- [3] 李耀利, 尚明英, 耿长安, 等. 云南产青叶胆及其习用品药材中5种成分的HPLC含量测定 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(9): 394-400.
- [4] 徐 敏, 张振秋. RP-HPLC法测定不同产地青叶胆中齐墩果酸的含量 [J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(1): 110-111.
- [5] 肖 琳, 李 静, 孙文基. 毛细管电泳法测定青叶胆中獐牙菜苦苷和异牡荆素的含量 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(12): 2040-2043.
- [6] 任晓蕾, 霍金海, 孙国东, 等. 短瓣金莲花化学成分的上PLC-Q-TOF-MS 分析 [J]. 中草药, 2015, 46(23): 3475-3481.
- [7] 李振华, 徐金娣, 鞠建明, 等. 川楝子水提化学成分的上PLC-ESI-Q-TOF-MS 分析 [J]. 中草药, 2015, 46(4): 496-501.
- [8] 李干鹏, 曾思为, 黄飞燕, 等. 西南獐牙菜的化学成分研究 (I) [J]. 云南民族大学学报: 自然科学版, 2011, 20(5): 350-352.
- [9] 肖 琳, 贾 娜, 何 姣, 等. 青叶胆药材及饮片中獐牙菜苦苷和龙胆苦苷的含量测定 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(5): 876-879.
- [10] 李海波, 于 洋, 王振中, 等. 热毒宁注射液化学成分研究 (II) [J]. 中草药, 2015, 46(11): 1597-1602.
- [11] 王洪玲, 耿长安, 张雪梅, 等. 大籽獐牙菜化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 33(23): 3161-3164.
- [12] Geng C A, Chen X L, Huang X Y, *et al.* Sweriyunnanlactone A, one unusual secoiridoid trimer from *Swertia yunnanensis* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2015, 56(17): 2163-2166.
- [13] 宋泽璧, 吴 莹, 高 慧. HPLC 法测定盐炙前后知母中新芒果苷、芒果苷和异芒果苷 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(2): 145-148.
- [14] Cao T W, Geng C A, Jing F Q, *et al.* Chemical constituents of *Swertia yunnanensis* and their anti-hepatitis B virus activity [J]. *Fitoterapia*, 2013, 89: 175-182.
- [15] 谭桂山, 徐平声, 田华咏, 等. 川东獐牙菜化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2000, 35(7): 11-13.
- [16] 孙洪发, 胡伯林, 丁经业, 等. 川西獐牙菜甙类成分 [J]. 植物学报: 英文版, 1991, 33(1): 31-37.
- [17] Pant N, Jain D C, Bhakuni R S. Some chemical constituents of *Swertia chirata* [J]. *Indian J Chem*, 2002, 41(9): 1980-1986.
- [18] 李旭山, 江志勇, 王福生, 等. 青叶胆化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(23): 2790-2793.
- [19] Biao Q Y, Luo C N, Cao L, *et al.* Two bisxanthone L-glycosides from *Swertia calycina* Franch. [J]. *J Chin Pharm Sci*, 1999, 8(3): 175-176.
- [20] 何仁远, 冯树基, 聂瑞麟. 青叶胆吡啶酮成分的分离和鉴定 [J]. 云南植物研究, 1982, 4(1): 68-76.
- [21] 郭爱华, 李 军, 付宏征, 等. 青叶胆吡啶酮类化合物的成分研究 [J]. 中草药, 2003, 34(2): 15-17.
- [22] 曾 琦. 三种药用植物的化学成分研究及活性筛选 [D]. 上海: 上海交通大学, 2012.
- [23] 冯广卫, 李翠兵, 廖尚高, 等. 荛草素和异荛草素、牡荆素和异牡荆素 2 对碳苷化合物的快速检测与鉴定 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(7): 1263-1268.
- [24] 杨 阳, 陈洁君, 王 辉, 等. 膜苞鸢尾和蓝花喜盐鸢尾的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(11): 1371-1375.
- [25] 蔡 乐, 王 曙, 李 涛, 等. 印度獐牙菜的化学成分研究 [J]. 华西药学杂志, 2006, 21(2): 111-113.