

女儿茶化学成分研究

王 乐, 范书生, 王秀环, 闫 昕, 许 啸, 李 晓, 王小萍, 李 想, 孙思琪, 折改梅*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘 要: 目的 研究鼠李科鼠李属植物崖枣树 *Rhamnus heterophylla* 枝叶(女儿茶)的化学成分。方法 综合运用硅胶柱色谱、MCI 柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱等多种色谱分离技术进行分离和纯化,根据化合物的理化性质、核磁共振(NMR)数据进行结构鉴定。并采用 HPLC-DAD-ESI-MS/MS 技术,负离子模式全扫描,对其化学成分进行快速识别。结果 从女儿茶 70%乙醇回流提取物中分离得到 10 个化合物,分别鉴定为顺式-大黄素二蒽酮(1)、反式-大黄素二蒽酮(2)、大黄素-8-*O*- α -L-鼠李糖苷(3)、6-羟基芦荟大黄素(4)、大黄素(5)、大黄酚(6)、大黄素甲醚(7)、山柰酚(8)、木犀草素(9)、槲皮素(10)。除化合物 5、8 外,其余化合物均首次从女儿茶中分离得到,其中化合物 3 为首次从鼠李属植物中分离得到。通过分析获得的质谱数据及质谱裂解规律、参考文献,从女儿茶中初步识别出 28 个化学成分,包括 3 个羟基苯甲酸类、8 个蒽醌类、17 个黄酮类成分。结论 对女儿茶乙醇提取物化学成分的分析,为其药效物质基础研究及合理开发利用该植物资源提供参考。

关键词: 女儿茶; 大黄素-8-*O*- α -L-鼠李糖苷; 黄酮; 羟基苯甲酸; HPLC-DAD-ESI-MS/MS

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2019)21-5217-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.21.013

Chemical constituents from *Rhamnus heterophylla*

WANG Le, FAN Shu-sheng, WANG Xiu-huan, YAN Xin, XU Xiao, LI Xiao, WANG Xiao-ping, LI Xiang, SUN Si-qi, SHE Gai-mei

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: **Objective** To investigate the chemical constituents from *Rhamnus heterophylla*. **Methods** Multiple chromatographic separation techniques including silica gel, Sephadex LH-20 gel and MCI gel were employed to isolate and purify the compounds. Their structures were identified by means of the nuclear magnetic resonance (NMR) and physicochemical properties. The chemical compositions were quickly analyzed by HPLC-DAD-ESI-MS/MS and scanned in negative ions. **Results** These compounds were isolated and determined as *cis*-aloeemodin bianthrone (1), *trans*-aloeemodin bianthrone (2), emodin-8-*O*-rhamnoside (3), citreorosein (4), emodin (5), chrysophanol (6), physcion (7), kaempferol (8), luteolin (9), and quercetin (10). In addition to compounds 5, 8, the other compounds are isolated from *R. heterophylla* for the first time, and the compound 3 is isolated from the genus *Rhamnus* for the first time. 28 Compounds were speculated via comparing MS data (detected mass and MS² fragment ions) and coupled with related literature, including three hydroxybenzoic acids, eight anthraquinones and 17 flavonoids. **Conclusion** The analysis of chemical constituents from *R. heterophylla* could provide the references for the study on pharmacodynamic material basis and reasonable application and development.

Key words: *Rhamnus heterophylla* Oliv.; emodin-8-*O*-rhamnoside; flavonoids; hydroxybenzoic acids; HPLC-DAD-ESI-MS/MS

女儿茶为鼠李科鼠李属崖枣树 *Rhamnus heterophylla* Oliv. 的干燥枝叶,主要分布在贵州、云南、陕西、四川、湖北、甘肃等地的丘陵、多岩石、低山地带。其嫩叶可代茶饮,具有清热凉血、止血作用,用于治疗月经不调和痢疾等疾病。目前

关于女儿茶化学成分相关研究报道较少,仅有大黄素、异鼠李苷 A、山柰酚及多糖 NLC-A 的报道^[1-2]。本课题组前期进行了女儿茶 HPLC 指纹图谱及清除自由基活性的谱效关系研究,指认了指纹图谱中 11 个共有峰中的 6 个峰,分别为原儿茶酸、木犀草苷、

收稿日期: 2019-05-01

作者简介: 王 乐,在读硕士。Tel: 15801691308 E-mail: wangle17@126.com

*通信作者 折改梅,博士生导师,研究员。Tel: 13718122649 E-mail: shegaimei@126.com

山柰酚、大黄素、大黄素-8-*O*- α -*L*-鼠李糖苷、槲皮素,其中前 5 种成分与清除自由基活性的关联度较大。采用 DPPH 自由基清除法研究了女儿茶乙醇提取物的醋酸乙酯部位、三氯甲烷部位、正丁醇部位、石油醚部位的抗氧化活性,结果显示醋酸乙酯部位的抗氧化活性最强^[3]。为进一步探索女儿茶的化学成分及合理开发利用该植物资源,本实验对女儿茶乙醇提取物的醋酸乙酯部位的化学成分进行研究,从中分离得到 10 个化合物,分别鉴定为顺式-大黄素二蒽酮(*cis*-aloeemodin bianthrone, **1**)、反式-大黄素二蒽酮(*trans*-aloeemodin bianthrone, **2**)、大黄素-8-*O*- α -*L*-鼠李糖苷(emodin-8-*O*- α -*L*-rhamnoside, **3**)、6-羟基芦荟大黄素(citreorosein, **4**)、大黄素(emodin, **5**)、大黄酚(chrysophanol, **6**)、大黄素甲醚(physcion, **7**)、山柰酚(kaempferol, **8**)、木犀草素(luteolin, **9**)、槲皮素(quercetin, **10**)。除化合物 **5**、**8** 外,其余化合物均为首次从女儿茶中分离得到,其中化合物 **3** 为首次从鼠李属植物中分离得到。本实验分离得到的化合物可归为 2 类:蒽醌类和黄酮类,结合指纹图谱中指认的共有峰,提示女儿茶中主要存在蒽醌类、黄酮类成分,基于该思路,进一步通过 HPLC-DAD-ESI-MS/MS 技术快速分析女儿茶乙醇提取物的化学组成,推断出 28 个化学成分,包括 3 个羟基苯甲酸类、8 个蒽醌类、17 个黄酮类成分。

1 仪器与材料

Bruker AV-III-500 型超导高分辨核磁共振谱仪(德国 Bruker 公司);Agilent Q-TOF 6520 系列质谱仪(美国 Agilent 公司);RE-52A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);Sartorius BT 25S 型十万分之一电子分析天平(北京塞多利斯仪器有限公司);薄层硅胶板 G、H(青岛海洋化工厂);MCI-gel CHP-20P(日本三菱化学公司);Sephadex LH-20(瑞典 Pharmacia 公司);ODS(日本三菱化学公司);柱色谱用硅胶(100~200、200~300 目,青岛海洋化工厂)。所用试剂均为分析纯或色谱纯。

女儿茶于 2015 年购于四川平武境,经北京中医药大学中药资源系孙志蓉教授鉴定为鼠李科鼠李属植物崖枣树 *Rhamnus heterophylla* Oliv. 的干燥枝叶。

2 方法

2.1 提取与分离

女儿茶 15 kg,粉碎,于 70 °C 下用 10 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次,每次 1 h,滤过,滤液经真空浓

缩干燥得浸膏 1.8 kg。取该浸膏 0.8 kg,用水分散后,再用醋酸乙酯萃取,得到醋酸乙酯部位 100 g。醋酸乙酯提取物用硅胶拌样后,经硅胶柱色谱,氯仿-甲醇-水(8:2:0.2)洗脱,薄层色谱检测合并为 5 个组分(Fr-1~5)。Fr-1(35 g)进行硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇(50:1、30:1、20:1、10:1、5:1、2:1)梯度洗脱,得到 6 个组分(Fr-1-1~1-6)。Fr-1-1 反复进行硅胶柱色谱分离,用氯仿-甲醇(100:1、80:1、60:1、40:1、20:1、10:1)梯度洗脱,得到化合物 **6**(30 mg)、**7**(10 mg)、**5**(13 mg)。Fr-1-2 进行硅胶柱色谱分离,石油醚-醋酸乙酯(80:1、60:1、40:1、30:1)、氯仿-甲醇(60:1、40:1、20:1、10:1)梯度洗脱,得化合物 **1**(5 mg)、**2**(10 mg)、**4**(9 mg)、**8**(21 mg)。Fr-1-3 进行硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇(60:1、40:1、20:1、7:1、5:1)梯度洗脱,再经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱,甲醇洗脱,得到化合物 **3**(13 mg)。Fr-1-4 经反复硅胶柱色谱,氯仿-甲醇(80:1、60:1、40:1、20:1)梯度洗脱,得到化合物 **9**(7 mg)。Fr-2 经 MCI 柱色谱分离,用 20%、40%、60%、80%、100% 甲醇梯度洗脱,再经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱,甲醇洗脱,得到化合物 **10**(13 mg)。

2.2 HPLC-DAD-ESI-MS/MS 分析条件

2.2.1 供试品溶液的制备 取女儿茶样品,粉碎,取 1.5 g,精密称定,加入 70% 乙醇 50 mL,回流提取 1.5 h,滤过,滤液用微孔滤膜(0.22 μ m)滤过,取续滤液即得。

2.2.2 色谱条件 Thermo Hypersil Gold C₁₈(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱;流动相为 0.2% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱:0~20 min, 95%~80% B;20~25 min, 80% B;25~35 min, 80%~70% B;35~55 min, 70%~45% B;55~70 min, 45%~20% B。体积流量 1 mL/min;柱温 25 °C;检测波长 270 nm,进样量 30 μ L。

2.2.3 质谱条件 ESI 离子源,负离子模式全扫描,扫描质量范围 *m/z* 100~1 000,干燥气体积流量 12 L/min,干燥气温度 320 °C,雾化气压力 207 kPa,毛细管电压 3 500 V,碰撞能 30 eV。

3 结果与分析

女儿茶乙醇提取物的醋酸乙酯部位通过硅胶柱色谱、MCI 柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离技术分离得到 10 个化合物,经分析化合物的理化性质、核磁共振波谱数据、参考相关文献,鉴定得

到7个蒽醌类、3个黄酮类成分。据此推测女儿茶醇提取物中化合物的类型,进一步通过HPLC-DAD-ESI-MS/MS技术对其醇提物的化学成分进行快速识别。

3.1 结构鉴定

化合物**1**: 白色粉末(醋酸乙酯), 分子式 $C_{30}H_{22}O_8$ 。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.90 (2H, s, 1, 1'-OH), 11.82 (2H, s, 8, 8'-OH), 10.79 (2H, s, 6, 6'-OH), 6.71 (2H, s, H-7, 7'), 6.26 (2H, d, J = 1.8 Hz, H-4, 4'), 6.07 (2H, s, H-2, 2'), 4.53 (2H, d, J = 3.7 Hz, H-10, 10'), 2.26 (6H, s, 3, 3'-CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 189.9 (C-9, 9'), 164.8 (C-1, 1'), 161.2 (C-8, 8'), 146.7 (C-6, 6'), 143.7 (C-4a, 4a'), 141.1 (C-10a, 10a'), 121.7 (C-5, 5'), 116.6 (C-7, 7'), 114.3 (C-8a, 8a'), 110.0 (C-2, 2'), 109.7 (C-9a, 9a'), 102.1 (C-4, 4'), 55.6 (C-10, 10'), 21.9 (3, 3'-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[4], 鉴定化合物**1**为顺式-大黄素二蒽酮。

化合物**2**: 白色粉末(醋酸乙酯), 分子式 $C_{30}H_{22}O_8$ 。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.97 (2H, s, 1, 1'-OH), 11.73 (2H, s, 8, 8'-OH), 10.87 (2H, s, 6, 6'-OH), 6.67 (2H, s, H-7, 7'), 6.26 (4H, d, J = 1.3 Hz, H-4, 4', 5, 5'), 6.08 (2H, s, H-2, 2'), 4.53 (2H, s, H-10, 10'), 2.21 (6H, s, 3, 3'-CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 189.9 (C-9, 9'), 164.8 (C-1, 1'), 164.1 (C-3, 3'), 161.2 (C-8, 8'), 146.7 (C-6, 6'), 143.7 (C-4a, 4a'), 141.1 (C-10a, 10a'), 121.7 (C-5, 5'), 116.6 (C-7, 7'), 114.3 (C-8a, 8a'), 110.0 (C-2, 2'), 109.7 (C-9a, 9a'), 102.1 (C-4, 4'), 55.6 (C-10, 10'), 21.9 (3, 3'-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[5], 鉴定化合物**2**为反式-大黄素二蒽酮。

化合物**3**: 橙色结晶(醋酸乙酯), 分子式 $C_{21}H_{15}O_5$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.07 (1H, s, 1-OH), 11.93 (1H, s, 6-OH), 7.52 (1H, s, H-4), 7.28 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-5), 7.20 (1H, s, H-2), 6.94 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-7), 3.80~5.16 (5H, m, H-1'~5'), 2.43 (3H, s, 3-CH₃), 1.12 (3H, s, 6'-CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 190.1 (C-9), 181.1 (C-10), 163.8 (C-3), 162.6 (C-1), 161.5 (C-8), 148.6 (C-6), 135.0 (C-4a), 132.8 (C-10a), 124.2 (C-2), 120.6 (C-4), 113.5 (C-8a), 110.8 (C-9a), 109.2 (C-5), 108.5 (C-7), 98.4 (C-1'), 71.6 (C-4'), 70.2 (C-3'), 70.2 (C-2'), 69.7 (C-5'), 21.6 (3-CH₃), 17.9 (6'-CH₃)。以上数据与

文献报道一致^[6], 鉴定化合物**3**为大黄素-8-*O*-鼠李糖苷。

化合物**4**: 橙色结晶(醋酸乙酯), 分子式 $C_{15}H_{10}O_6$ 。 1H -NMR (600 MHz, MeOH) δ : 7.77 (1H, s, H-5), 7.29 (1H, s, H-7), 7.23 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-4), 6.59 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-2), 4.70 (2H, s, 3-CH₂OH); ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOH) δ : 190.6 (C-9), 181.8 (C-10), 166.1 (C-6), 165.3 (C-8), 162.3 (C-1), 151.8 (C-3), 135.6 (C-10a), 133.6 (C-4a), 120.8 (C-4), 117.1 (C-2), 114.5 (C-9a), 109.1 (C-5), 108.9 (C-8a), 107.7 (C-7), 62.7 (3-CH₂OH)。以上数据与文献报道一致^[7], 鉴定化合物**4**为6-羟基芦荟大黄素。

化合物**5**: 橙色结晶(醋酸乙酯), 分子式 $C_{15}H_{10}O_5$ 。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.09 (1H, s, 1-OH), 12.05 (1H, s, 8-OH), 11.28 (H, s, 6-OH), 7.49 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-4), 7.17 (1H, brs, H-2), 7.11 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-5), 6.59 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-7), 2.41 (3H, s, 3-CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 189.7 (C-9), 181.4 (C-10), 165.6 (C-3), 164.5 (C-1), 161.5 (C-8), 148.3 (C-6), 135.1 (C-4a), 132.8 (C-10a), 124.2 (C-7), 120.5 (C-5), 113.4 (C-8a), 108.9 (C-9a), 108.8 (C-4), 107.9 (C-2), 21.5 (3-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[8], 鉴定化合物**5**为大黄素。

化合物**6**: 橙色结晶(醋酸乙酯), 分子式 $C_{15}H_{10}O_4$ 。紫外灯下显示呈澄色荧光, 易溶于甲醇, 分别用正己烷-醋酸乙酯(3:1)、石油醚-醋酸乙酯(3:1)、氯仿-甲醇(40:1)进行纯度检查和定性鉴别, 浓硫酸显色后, 均为1个浅黄色的斑点, 与大黄酚对照品比对, 确定化合物**6**为大黄酚。

化合物**7**: 橙红色结晶(醋酸乙酯), 分子式 $C_{16}H_{12}O_5$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.20 (1H, s, 1-OH), 11.99 (1H, s, 8-OH), 7.56 (1H, s, H-4), 7.23 (1H, s, H-2), 7.22 (1H, d, J = 2.5 Hz, H-5), 6.91 (1H, d, J = 2.5 Hz, H-7), 3.95 (3H, s, 6-OCH₃), 2.45 (3H, s, 3-CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 189.9 (C-9), 181.1 (C-10), 166.0 (C-8), 164.3 (C-1), 161.4 (C-6), 148.4 (C-3), 134.8 (C-10a), 132.8 (C-4a), 124.1 (C-4), 120.5 (C-2), 113.4 (C-9a), 109.8 (C-8a), 107.5 (C-5), 106.5 (C-7), 56.3 (6-OCH₃), 21.5 (3-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[9], 鉴定化合物**7**为大黄素甲醚。

化合物**8**: 黄色粉末(甲醇), 分子式 $C_{15}H_{10}O_6$ 。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.48 (1H, s, 5-OH), 10.75 (1H, s, 7-OH), 10.11 (1H, s, 4'-OH), 9.40 (1H, s, 3-OH), 8.04 (1H, d, $J = 8.75$ Hz, H-2', 6'), 6.93 (1H, d, $J = 8.77$ Hz, H-3', 5'), 6.43 (1H, s, H-8), 6.19 (1H, s, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 175.9 (C-4), 164.0 (C-7), 160.7 (C-5), 159.2 (C-4'), 156.2 (C-9), 146.8 (C-2), 135.7 (C-3), 129.5 (C-2', 6'), 121.7 (C-1'), 115.4 (C-3', 5'), 103.1 (C-10), 98.2 (C-6), 93.5 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[10], 鉴定化合物 **8** 为山柰酚。

化合物 **9**: 黄色粉末 (甲醇), 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.98 (1H, s, 5-OH), 10.83 (1H, s, 7-OH), 9.93 (1H, s, 4'-OH), 9.43 (1H, s, 3'-OH), 7.42 (1H, dd, $J = 2.2, 8.3$ Hz, H-6'), 7.39 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5'), 6.67 (1H, s, H-3), 6.44 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 181.7 (C-4), 164.1 (C-7), 163.9 (C-2), 161.5 (C-9), 157.3 (C-5), 149.7 (C-4'), 145.7 (C-3'), 121.5 (C-1'), 119.0 (C-6'), 116.0 (C-5'), 113.4 (C-2'), 103.7 (C-10), 102.9 (C-3), 98.8 (C-6), 93.8 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[11], 鉴定化合物 **9** 为木犀草素。

化合物 **10**: 黄色粉末 (甲醇), 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_7$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.50 (1H, s, 5-OH), 10.78 (1H, s, 7-OH), 9.59 (1H, s, 3-OH), 9.37 (1H, s, 3'-OH), 9.30 (1H, s, 4'-OH), 7.68 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 7.54 (1H, dd, $J = 2.2, 8.5$ Hz, H-6'), 6.89 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.41 (1H, d, $J = 2.03$ Hz, H-8), 6.19 (1H, $J = 2.0$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 175.8 (C-4), 163.9 (C-7), 160.7 (C-5), 156.1 (C-9), 147.7 (C-4'), 146.8 (C-2), 145.0 (C-3'), 135.7 (C-3), 121.9 (C-1'), 120.0 (C-6'), 115.6 (C-5'), 115.0 (C-2'), 103.0 (C-10), 98.2 (C-6), 93.3 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[10], 鉴定化合物 **10** 为槲皮素。

从女儿茶乙醇提取物的醋酸乙酯部位中共分离鉴定出 10 个化合物, 包括 7 个蒽醌类、3 个黄酮类成分。据此推测女儿茶乙醇提取物中主要含有黄酮和蒽醌类成分。通过液相色谱-质谱联用技术进一步分析其化学成分。

3.2 HPLC-DAD-ESI-MS/MS 分析

利用液相色谱-质谱联用技术, 通过解析获得的

数据信息 (保留时间、一级精确质荷比、二级碎片等), 并根据质谱裂解规律及参考文献初步推断出女儿茶乙醇提取物中含有 28 个化合物, 分别为 3 个羟基苯甲酸类、8 个蒽醌类、17 个黄酮类成分。其总离子流图见图 1。

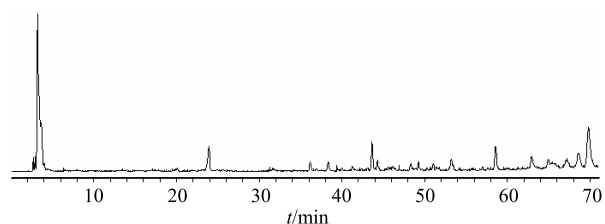


图 1 女儿茶 HPLC-ESI-MS/MS 总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of HPLC-ESI-MS/MS by negative ions mode for *R. heterophylla*

对女儿茶中的羟基苯甲酸类、黄酮类、蒽醌类成分进行结构解析。其中, 羟基苯甲酸类化合物, 其侧链取代基易以 O、 H_2O 、CO 等中性小分子片段的形式离去。以峰 2 为例, 其准分子离子峰 m/z 169.013 6 ($[\text{M}-\text{H}]^-$), 碎片离子 m/z 152.440 4 表明母离子失去 OH, 该离子进一步裂解失去 1 分子 CO, 生成碎片离子 m/z 124.709 0。通过和文献比对, 推测峰 2 为没食子酸^[12-13]。女儿茶中蒽醌类化合物易失去母核基团中的 CO, 其糖苷类化合物一般先失去糖基, 继而进行苷元的共轭反应。以峰 25 为例, 其准分子离子峰 m/z 269.144 6 ($[\text{M}-\text{H}]^-$), 子离子 m/z 241.049 3、22.056 3 表明母离子分别失去了 1 分子 CO、 CO_2 。通过和文献比对, 推测峰 25 为大黄素^[14-15]。女儿茶中黄酮类化合物的裂解方式主要是 C 环 RDA 裂解, 其苷类化合物容易优先失去糖基部分。以峰 11 为例, 其准分子离子峰 m/z 463.082 4 ($[\text{M}-\text{H}]^-$), 子离子 m/z 301.026 9 表明失去糖基 ($[\text{M}-\text{H}-162]^-$), 该离子的 C 环发生 RDA 裂解, 进一步碎裂生成碎片离子 m/z 150.990 0。通过和文献比对, 推测峰 11 为槲皮素-3/7-O-半乳糖苷^[16-18]。解析出的所有化合物结果见表 1。

4 讨论

本实验考察了液相色谱、质谱条件, 包括流动相组成 (甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.2%甲酸水)、流动相比比例、柱温、碰撞能量等条件, 以获得较多的液相色谱、质谱信息。

本研究通过多种色谱分离技术对女儿茶乙醇提取物抗氧化活性部位——醋酸乙酯部位的化学成分进行分离鉴定, 共鉴定出 10 个化合物的结构, 包括

表 1 HPLC-ESI-MS/MS 对女儿茶中化学成分的分析
Table 1 Analysis on chemical constituents from *R. heterophylla* by HPLC-ESI-MS/MS

峰号	t_R /min	名称	分子式	相对分子质量 (m/z)	预测相对分子质量 (m/z)	差值 ($\times 10^{-6}$)	$[M-H]^-$ (m/z)	碎片离子 (m/z)
1	9.865	原儿茶酸	$C_7H_6O_4$	154.026 4	154.026 6	-1.22	153.018 9	109.028 8
2	9.908	没食子酸	$C_7H_6O_5$	170.021 2	170.021 5	-2.13	169.013 6	152.440 4, 124.709 0
3	14.024	水杨酸	$C_7H_6O_3$	138.031 5	138.031 7	-1.71	137.022 5	93.034 7, 65.039 9
4	22.173	槲皮素-3- <i>O</i> -鼠李糖基- <i>O</i> -鼠李糖基- <i>O</i> -半乳糖苷	$C_{33}H_{40}O_{20}$	756.212 2	756.211 3	1.17	755.184 5	301.019 6, 137.089 0, 152.191 8
5	22.555	槲皮素-3- <i>O</i> -鼠李糖基- <i>O</i> -半乳糖苷	$C_{27}H_{30}O_{16}$	610.153 5	610.153 4	0.17	609.130 0	301.019 6, 137.089 0, 152.191 8
6	23.913	山柰酚-3/4'- <i>O</i> -鼠李糖基- <i>O</i> -鼠李糖基- <i>O</i> -半乳糖苷	$C_{33}H_{40}O_{19}$	740.218 3	740.216 4	2.56	739.187 6	285.039 8, 152.025 0, 121.022 5
7	24.380	山柰酚-3- <i>O</i> -鼠李糖基- <i>O</i> -葡萄糖/半乳糖苷	$C_{27}H_{30}O_{15}$	594.458 9	594.458 5	0.69	593.135 5	285.044 8, 229.856 8, 241.464 7, 121.181 4
8	24.974	鼠李素-3- <i>O</i> -鼠李糖基- <i>O</i> -鼠李糖基- <i>O</i> -半乳糖苷	$C_{34}H_{42}O_{20}$	770.227 0	770.226 9	0.11	769.213 6	315.050 8, 300.024 5, 166.223 1
9	27.011	木犀草苷	$C_{21}H_{20}O_{11}$	448.101 1	448.100 6	1.16	447.098 6	285.037 7, 153.050 0, 123.307 4
10	28.921	3, 3', 5, 5', 7-五羟基-4'-甲氧基黄酮	$C_{16}H_{12}O_8$	332.053 4	332.053 2	0.62	331.035 6	152.301 2, 166.024 2, 314.761 3
11	32.549	槲皮素-3/7- <i>O</i> -半乳糖苷	$C_{21}H_{20}O_{12}$	464.096 5	464.095 5	2.29	463.082 4	301.026 9, 150.990 0, 137.087 0
12	36.178	鼠李柠檬素-3/4'- <i>O</i> -鼠李糖基- <i>O</i> -鼠李糖基- <i>O</i> -半乳糖苷	$C_{34}H_{42}O_{19}$	754.234 9	754.232 0	3.77	753.227 9	299.057 1, 284.034 8, 165.022 3
13	36.900	鼠李素-3- <i>O</i> -鼠李糖基- <i>O</i> -鼠李糖基- <i>O</i> -半乳糖苷	$C_{35}H_{44}O_{20}$	784.244 5	784.242 6	2.42	783.235 6	329.067 8, 314.037 9, 301.060 3, 165.625 8
14	38.343	槲皮素	$C_{15}H_{10}O_7$	302.043 3	302.042 7	2.24	301.037 5	137.032 8, 153.265 1
15	39.998	大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	$C_{21}H_{20}O_{10}$	432.105 4	432.105 6	-0.60	431.103 8	269.044 0, 240.025 7, 225.066 7
16	43.648	山柰酚	$C_{15}H_{10}O_6$	286.048 4	286.047 7	2.46	285.043 8	153.018 1, 121.026 5
17	44.327	6-羟基芦荟大黄素	$C_{15}H_{10}O_6$	286.048 4	286.047 7	2.46	285.043 8	268.039 3, 257.044 1, 241.049 8
18	46.195	二氢槲皮素	$C_{15}H_{12}O_7$	304.058 6	304.058 3	1.09	303.054 1	123.030 7, 152.010 4, 165.019 4
19	46.407	3, 3', 5, 5', 7-五羟基-4'-甲氧基黄酮醇	$C_{16}H_{14}O_8$	334.068 9	334.069 2	0.85	333.065 5	151.997 9, 169.184 7, 318.499 2
20	48.317	3- <i>O</i> -甲基槲皮素	$C_{16}H_{12}O_7$	316.086 0	316.058 3	0.91	315.054 3	300.026 7, 165.020 3, 121.030 0, 151.002 7
21	51.033	大黄素-6- <i>O</i> -鼠李糖苷	$C_{21}H_{20}O_9$	416.111 1	416.110 7	0.87	415.103 2	269.044 4, 240.039 6, 225.052 2
22	53.198	鼠李柠檬素	$C_{16}H_{12}O_6$	300.063 6	300.063 4	0.68	299.053 4	166.017 7, 121.029 0, 284.032 4
23	53.410	鼠李素	$C_{17}H_{14}O_7$	330.074 0	330.074 0	0.28	329.063 9	314.043 0, 271.025 0, 299.000 0, 165.017 3
24	56.084	大黄素-3- <i>O</i> -2/3'- <i>O</i> -乙酰基鼠李糖苷	$C_{23}H_{22}O_{10}$	458.121 2	458.121 3	-0.19	457.107 8	269.041 9, 240.120 8, 225.052 1
25	58.546	大黄素	$C_{15}H_{10}O_5$	270.053 3	270.052 8	1.72	269.045 9	241.049 3, 225.056 3
26	63.257	大黄素-3- <i>O</i> -双乙酰基鼠李糖苷	$C_{25}H_{24}O_{11}$	500.130 9	500.131 9	-1.83	499.129 0	269.144 6, 225.055 5, 240.045 1
27, 28	62.917、64.912	顺式/反式大黄素二蒽酮	$C_{30}H_{22}O_8$	510.131 7	510.131 5	0.41	509.124 5	491.107 1, 254.057 6, 226.059 0, 210.076 2

7 个蒽醌类、3 个黄酮类化合物。进而通过液相色谱-质谱联用技术, 对女儿茶乙醇提取物的化学组成进行快速识别, 共识别出 28 个化合物, 包括 3 个羟基

苯甲酸类、8 个蒽醌类、17 个黄酮类成分。为女儿茶药效物质基础研究奠定基础, 并为合理开发利用该植物资源提供参考。

参考文献

- [1] 刘鸿鸣, 吴慧章, 周瑞匡. 女儿茶化学成分研究 (摘要) [J]. 重庆医药, 1984, 13(3): 48.
- [2] 焦佩玉, 方积年. 女儿茶多糖 NLC-A 的分离纯化及化学结构 [J]. 药学报, 1989, 24(5): 353-356.
- [3] 王 乐, 何 婷, 常艳丽, 等. 女儿茶 HPLC 指纹图谱及清除自由基活性谱效关系 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(23): 93-99.
- [4] Farag M A, Porzel A, Mahrous E A, *et al.* Integrated comparative metabolite profiling via MS and NMR techniques for Senna drug quality control analysis [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407(7): 1937-1949.
- [5] Mai L P, Gueritte F, Dumontet V, *et al.* Cytotoxicity of rhamnosylanthraquinones and rhamnosylanthrones from *Rhamnus nepalensis* [J]. *J Nat Prods*, 2001, 64(9): 1162-1168.
- [6] Rao J U M, Hanumaiah T, Rao B K, *et al.* Emodin glycosides from *Ventilago calyculata* [J]. *J Nat Prods*, 1986, 49(2): 343-345.
- [7] 秦春梅, 梁恒兴. 中药羊蹄的化学成分研究 [J]. 中国现代药物化学应用, 2013, 7(1): 1-2.
- [8] 敏 德, 徐丽萍, 张治针. 天山大黄的化学成分研究 (I) [J]. 中国中药杂志, 1998, 23(7): 32-34.
- [9] 宗金锐. 鲜大黄的化学成分研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2008.
- [10] 郑 莹, 李绪文, 桂明玉, 等. 三七茎叶黄酮类成分 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41(3): 176-178.
- [11] 徐 燕, 梁敬钰. 苦苣菜的化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(5): 411-413.
- [12] 马尚智, 秦惠玉, 龙 飞, 等. 没食子多酚类化合物的鉴定及其在 UPLC-MS/MS 中的裂解规律研究 [J]. 中草药, 2017, 48(22): 4632-4638.
- [13] Revathy B, Dilshad P, Rajarathnam S. Characterization of free, esterified and bound phenolics in custard apple (*Annona squamosa* L.) fruit pulp by UPLC-ESI-MS/MS [J]. *Food Res Inter*, 2016, 82: 121-127.
- [14] 董红娇, 陈晓虎, 曾 锐. UPLC-Q-Exactive 四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用快速分析民族药小大黄的化学成分 [J]. 中草药, 2016, 47(14): 2428-2435.
- [15] 马小红, 沈少林, 韩凤梅, 等. 大黄蒽醌类化合物电喷雾质谱研究 [J]. 湖北大学学报: 自然科学版, 2006, 28(4): 403-406.
- [16] 李 想. 黄酮醇类化合物 ESI-ITMSn 质谱裂解规律的量子化学研究 [D]. 佳木斯: 佳木斯大学, 2015.
- [17] Pitura K, Arntfield S D. Characteristics of flavonol glycosides in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed coats [J]. *Food Chem*, 2018, 272: 26-32.
- [18] 尹智慧, 孙长海, 方洪壮. 槲皮素与桑色素 ESI-MS 裂解行为的比较分析 [J]. 分析测试学报, 2017, 36(2): 205-211.