

UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 法 快速分析鬼箭羽中的化学成分

姬瑞芳, 全庆华, 郭晓宇, 张伽妹, 王政霖, 宋勇丽, 田婧璆,
孙倩倩, 谭 鹏, 韩 静, 刘永刚

(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

摘要: 利用 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 技术结合文献报道的鬼箭羽已知化学成分及其裂解规律快速鉴定鬼箭羽药材中的化学成分。利用文献中鬼箭羽化学成分的分子式、相对分子质量、碎片离子等信息建立鬼箭羽快速识别数据库, 依据化合物的精确分子质量、色谱保留时间、特征碎片离子等信息对已知成分进行验证; 对于鬼箭羽中未知成分, 通过总结同类化合物的质谱裂解规律, 并查阅相关文献确定其相对分子质量、特征碎片离子、色谱保留时间等信息, 并进行结构表征。实验共鉴定得到 65 种成分, 包括 36 种黄酮类、4 种酚酸类、7 种三萜类、12 种脂肪族和 6 种其他类成分, 其中, 有 28 种化合物是首次在鬼箭羽中发现。该方法可以快速、全面地分析鬼箭羽药材中的化学成分, 可为鬼箭羽药材的质量控制研究奠定基础。

关键词: 鬼箭羽; UPLC-LTQ-Orbitrap-MS; 黄酮类; 化学成分; 裂解途径

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2018)05-0540-12

doi: 10.7538/zpxb.2018.0046

Identification of Chemical Constituents of *Euonymus alatus* by UPLC-LTQ-Orbitrap-MS

Ji Rui-fang, QUAN Qing-hua, GUO Xiao-yu, ZHANG Jia-mei, WANG Zheng-lin,
SONG Yong-li, TIAN Jing-yun, SUN Qian-qian, TAN Peng, HAN Jing, LIU Yong-gang
(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract: Liquid chromatography-mass spectrometry has many advantages, such as high separating efficiency, good sensitivity and strong specificity, which is widely used for rapid separation and identification of chemical components in traditional Chinese medicines. *Euonymus alatus* is a Chinese medicinal herb, which has been used for thousands of years in China and the medicinal part is the branch wings of *Euonymus*. It is often used to treat diabetes, and it is commonly used as a traditional Chinese medicine for the treatment of malaria, gynecological diseases in recent years. As a traditional Chinese medi-

收稿日期: 2018-05-03; 修回日期: 2018-06-05

基金项目: 十病十药研发——普通型手足口病中药栓剂研发项目 (Z161100001816020) 资助

作者简介: 姬瑞芳 (1993—), 女 (汉族), 河北人, 硕士研究生, 中药化学专业。E-mail: jirf0527@163.com

通信作者: 刘永刚 (1981—), 男 (汉族), 北京人, 副研究员, 从事中药化学研究。E-mail: liuyg0228@163.com

韩 静 (1977—), 女 (汉族), 河北人, 副研究员, 从事中药药理研究。E-mail: hanjing8585@163.com

cine for the treatment of diabetes, the active ingredients of *Euonymus alatus* are not clear. The chemical composition of *Euonymus alatus* can be obtained by extraction and separation, but this method has some limitations, such as trace chemical components are not easy to obtain, the time required is longer, the consumption of raw materials is more, etc. A method for combining UPLC-LTQ-Orbitrap-MS with known chemical composition databases of *Euonymus alatus* and summarizing the mass spectrometry cleavage rules of various compounds was established to identify multiple chemical components in *Euonymus alatus*. Firstly, according to the literature, a database of known compounds of *Euonymus alatus* was established, including names of compounds, relative molecular masses, fragment ions, molecular formulas, etc. Then, the law of mass spectrometry cleavage of different types of compounds was summarized, including flavonoids, phenolic acids, triterpenes, aliphatics, etc. Finally, the accuracy of the relative molecular mass, fragment ions, retention behaviors were compared with the database and the law of cracking was analyzed, so as to the structure of the compound was determined. A total of 65 components were identified, including 36 flavonoids, 4 phenolic acids, 7 triterpenes, 12 aliphatics, and 6 other components. 29 compounds were found for the first time in *Euonymus alatus*. This method is rapid and comprehensive for analysis of the chemical constituents of complicated herbal extracts.

Key words: *Euonymus alatus*; UPLC-LTQ-Orbitrap-MS; flavonoids; chemical component; fragmentation pathway

鬼箭羽(*Euonymus alatus*)^[1-2]为卫矛科 *Celastraceae* 卫矛属植物卫矛,为具翅状物的枝条或翅状附属物,史载于《神农本草经》,其性寒、味苦、辛,归肝、脾经。药理研究表明^[3],鬼箭羽具有降血糖、调血脂及延缓动脉粥样硬化等作用,可治疗糖尿病^[4]、高脂血症、慢性肾病等多种内科病症,单用或组方应用均有很好的疗效。通过提取、分离技术得到鬼箭羽中含有的化合物类型包括^[5-8]:糖、强心苷、有机酸、五环三萜、黄酮、黄酮苷、三萜、酚酸、脂肪族、生物碱等。据文献^[9]报道,黄酮类成分具有很强的活性氧自由基清除功能,是鬼箭羽药材的主要活性成分之一。

中药材的化学成分复杂,应用传统的提取、分离、纯化技术从中药材中获得单体化学成分的方法繁琐、费时、费力,且很难分离得到含量较低或结构相似的化学成分。液相色谱-质谱(LC-MS)联用技术^[10-11]与传统方法相比,具有分离快速、鉴定准确、适用于检测未知化合物等优点。目前,对鬼箭羽中化学成分的研究仅限于传统的分离手段和半制备色谱法等,未见 LC-MS 法检测鬼箭羽化学成分的报道。

本研究拟利用 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 技术对鬼箭羽中多种组分进行快速识别,通过查阅文献,总结各类化合物的裂解规律,建立各类化合物的识别方法,为鬼箭羽化学成分的研究提供参考。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

Accele 600 Pump 高效液相色谱仪和 LTQ-Orbitrap XL 线性离子阱-串联静电轨道场质谱仪;配有电喷雾离子源和 Xcalibur 2.1 工作站,美国 Thermo Fisher 公司产品;KQ5200DE 型数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司产品;BT125D 十万分之一型电子天平:德国 Satorious 公司产品。

1.2 主要材料与试剂

鬼箭羽药材:北京三和药业有限公司产品,鬼箭羽具翅状物的枝条,产自河北,经北京中医药大学刘勇教授鉴定为鬼箭羽。

甲醇:分析纯,北京化工厂产品;乙腈、甲酸:质谱纯,美国 Thermo Fisher 公司产品;实验用水:娃哈哈纯净水。

1.3 实验条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱: Waters Acquity UPLC BEH C18 柱 (2.1 mm × 50 mm × 1.7 μm); 流速 1.0 mL/min; 进样量 10 μL; 检测波长 254 nm; 干燥气 (N₂) 流速 10 L/min; 柱温 25 °C; 流动相: A 为乙腈, B 为 0.1% 甲酸水溶液; 梯度洗脱程序: 0~18 min (5%~21% A), 18~35 min (21%~34% A), 35~42 min (34%~38% A), 42~52 min (38%~65% A), 52~70 min (65%~95% A)。

1.3.2 质谱条件 ESI 离子源; 负离子检测模式; 质量扫描范围 m/z 50~2 000; 离子源温度 350 °C; 电离源电压 4 kV; 管透镜电压 110 V; 雾化压力 275.86 kPa; 毛细管电压 3 000 V; 鞘气和辅助气均为高纯氮气 (纯度 > 99.99%), 鞘气流速 40 L/h, 辅助气流速 20 L/h。

1.4 供试样品的制备

精密称取约 1 g 鬼箭羽药材粉末于 50 mL 锥形瓶中, 用 25 mL 甲醇溶液溶解, 超声 1 h, 过滤, 共提取 3 次, 将得到的滤液减压浓缩至 25 mL, 取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得供试品。

2 结果与讨论

2.1 鬼箭羽甲醇提取物的 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 分析

在负离子模式下, 供试品的总离子流图示

于图 1。由图可得化合物的精确分子质量以及二级质谱碎片离子信息, 结合相关文献报道, 共鉴定得到 65 种成分, 包括 36 种黄酮类、4 种酚酸类、7 种三萜类、12 种脂肪族和 6 种其他类成分, 其中, 有 28 种化合物为首次在鬼箭羽中发现。65 种化合物的详情列于表 1。

2.2 鬼箭羽中酚酸及其酯类成分的 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 分析

从鬼箭羽中共鉴定得到 4 种酚酸类成分、1 种酚酸酯类成分。酚酸类成分极性较大, 保留时间较短, 容易丢失羧基; 酚酸酯类成分容易失去酯基。以化合物 8 为例, 在负离子模式下, 准分子离子峰为 m/z 167.03 [M-H]⁻, 其二级质谱图示于图 2。碎片离子 m/z 122.94、151.89 和 107.7 分别为其母离子丢失羧基、甲基和同时丢失羧基与甲基所得, 结合文献[12], 可推断化合物 8 为香草酸, 其可能的裂解途径示于图 3。

化合物 11 和 12 具有相同的准分子离子峰 m/z 192.99 [M-H]⁻, 其分子式均为 C₁₀H₁₀O₄, 可能互为同分异构体。化合物 11 的碎片离子中存在 m/z 148.95 [M-H-COOH]⁻, 表明取代基中存在羧基, 据此判断为阿魏酸。化合物 12 的碎片离子不存在 m/z 148.95 [M-H-COOH]⁻, 但存在 m/z 133.92 [M-H-CO₂-CH₃]⁻, 推断其为咖啡酸甲酯。

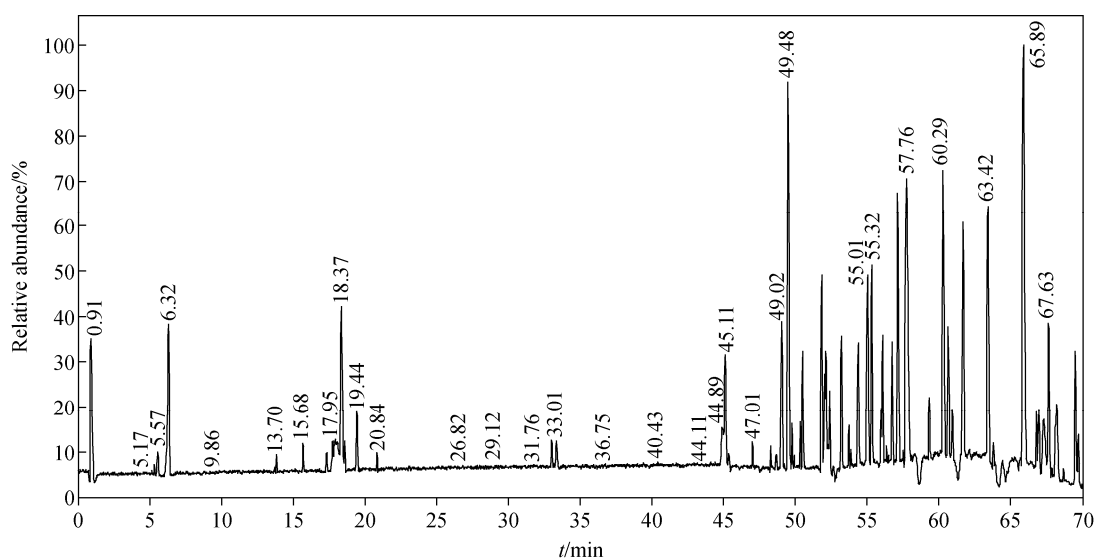


图 1 鬼箭羽的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of *Euonymus alatus*

表 1 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 技术鉴定鬼箭羽甲醇提取物中的主要化学成分

Table 1 Major chemical compounds in the methanol extract
from *Euonymus alatus* identified by UPLC-LTQ-Orbitrap-MS

序号 No.	保留时间 t_R/min	准分子离子 Molecular ions (m/z)	碎片离子 Fragment ions (m/z)	分子式 Molecular formulas	鉴定结果 Results
1*	1.26	503.16	431.11[M-H-C ₂ O ₃] ⁻ , 341.14[M-H-C ₅ H ₆ O ₆] ⁻	C ₂₃ H ₂₀ O ₁₃	异牡荆素草酸酯
2	1.31	341.03	179.02[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₆] ⁻	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₂	蔗糖 ^[12]
3	1.68	169.01	125.01[M-H-CO ₂] ⁻	C ₇ H ₆ O ₅	没食子酸 ^[12]
4*	3.83	577.12	559.15[M-H-H ₂ O] ⁻	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	原矢车菊素 B
5*	6.17	137.02	108.94[M-H-CO] ⁻	C ₇ H ₆ O ₃	原儿茶醛 ^[12]
6	6.19	179.00	135.01[M-H-CO ₂] ⁻	C ₉ H ₈ O ₄	咖啡酸 ^[12]
7	6.20	137.02	92.86[M-H-CO ₂] ⁻	C ₇ H ₆ O ₃	对羟基苯甲酸
8	6.55	167.03	151.86[M-H-CH ₃] ⁻ , 122.74[M-H-CO ₂] ⁻	C ₈ H ₈ O ₄	香草酸 ^[12]
9	7.13	289.07	245.10[M-H-CO ₂] ⁻	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	儿茶素
10*	7.14	561.14	543.20[M-H-H ₂ O] ⁻	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₁	原矢车菊素 B 衍生物
11	8.06	192.99	148.95[M-H-CO ₂] ⁻	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	阿魏酸 ^[12]
12	8.43	192.99	133.92[M-H-CO ₂ -CH ₃] ⁻	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	咖啡酸甲酯
13*	9.24	289.07	245.08[M-H-CO ₂] ⁻	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	表儿茶素
14	10.79	609.41	301.38[M-H-C ₁₂ H ₂₀ O ₉] ⁻ , 273.12[M-H-C ₁₂ H ₂₀ O ₉ -CO] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	芦丁 ^[13]
15*	11.13	609.14	463.09[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ , 301.23[M-H-C ₆ H ₁₁ O ₄ -C ₆ H ₁₁ O ₅] ⁻	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	槲皮素-3- <i>O</i> - β -D-葡萄糖 (1,2)- α -L-鼠李素苷
16	11.15	609.14	301.00[M-H-C ₆ H ₁₁ O ₄ -C ₆ H ₁₁ O ₅] ⁻	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	橙皮苷
17	11.68	579.13	433.10[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	柚皮苷
18	12.34	575.12	557.45[M-H-H ₂ O] ⁻ , 449.12[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻	C ₃₀ H ₂₄ O ₁₂	氢双儿茶精 A
19	12.66	595.13	301.07[M-H-C ₆ H ₁₀ H ₅ -C ₅ H ₈ H ₄] ⁻	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	槲皮素-3-半乳糖-木糖苷
20	12.72	593.13	285[M-H-C ₁₂ H ₂₀ O ₉] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	山奈酚-3- <i>O</i> - β -D-芸香糖苷
21*	13.16	593.13	447.20[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ , 285.13[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	山奈酚-3- <i>O</i> - β -D-葡萄糖基 (1,2)- α -L-鼠李糖
22*	13.57	593.13	447.21[M-H-C ₉ H ₅ O ₂] ⁻ , 285.11[M-H-C ₉ H ₅ O ₂ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	银锻苷
23*	13.66	623.16	477.18[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ , 315.09[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	异鼠李素-3- <i>O</i> - β -D-葡萄 (1,2)- α -L-鼠李糖苷
24*	13.92	463.09	301.08[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	槲皮素-3- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷
25*	14.31	623.16	315.08[M-H-C ₁₂ H ₂₀ O ₉] ⁻	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	异鼠李素-3- <i>O</i> - β -D-芸香糖
26	14.25	463.09	301.00[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻	C ₁₅ H ₉ O ₇	金丝桃苷 ^[12]
27*	14.65	463.09	300.04[M-H-C ₆ H ₁₁ O ₅] ⁻ , 301.00[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	异槲皮苷 ^[12]

续表 1

序号 No.	保留时间 t_R/min	准分子离子 Molecular ions (m/z)	碎片离子 Fragment ions (m/z)	分子式 Molecular formulas	鉴定结果 Results
28	15.38	577.12	431.18[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ , 285.06[M-H-2C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	山奈苷
29	15.71	431.10	285.12[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₅	山奈酚-7- <i>O</i> - α -L-鼠李糖苷 ^[14]
30*	16.67	287.05	259.04[M-H-CO] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	圣草酚
31	16.69	287.08	259.13[M-H-CO] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	香橙素
32*	16.87	447.09	285.08[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	紫云英苷 ^[12]
33	16.88	447.09	327.09[M-H-C ₄ H ₈ O ₄] ⁻ , 285.08[M-H-C ₄ H ₈ O ₄ -CO] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	山奈酚-7- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷
34*	16.89	447.09	299.97[M-H-C ₆ H ₁₁ O ₄] ⁻ , 301.08[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	槲皮苷 ^[12]
35*	17.65	316.95	150.88[M-H-C ₈ H ₆ O ₄] ⁻ , 178.87[M-H-C ₇ H ₆ O ₃] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	杨梅素 ^[12]
36*	18.06	315.01	300.02[M-H-CH ₃] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	异鼠李素 ^[12]
37*	19.53	259.02	241.75[M-H-OH] ⁻	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	6-甲氧基-7-羟基-8-异戊烯基香豆素
38	22.82	301.00	150.81[M-H-C ₈ H ₆ O ₃] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	槲皮素 ^[12]
39	22.42	206.99	191.45[M-H-O] ⁻ , 178.74[M-C ₂ H ₄] ⁻	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	咖啡酸乙酯
40*	23.43	298.98	284.18[M-H-CH ₃] ⁻	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	香叶木素 ^[14]
41	26.28	271.02	150.87[M-H-C ₆ H ₆ O] ⁻ , 177.22[M-H-C ₈ H ₈ O] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O	柚皮素 ^[12]
42	26.95	269.04	224.90[M-H-CO ₂] ⁻ , 149.09[M-H-C ₇ H ₄ O ₂] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	芹菜素 ^[12]
43	27.74	285.04	257.15[M-H-CO] ⁻ , 184.89[M-H-C ₄ H ₄ O ₃] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	山奈酚
44*	28.44	237.11	209.03[M-H-CO] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₃	2-羟基-3-甲基蒽醌
45*	30.09	327.22	273.23[M-H-3H ₂ O] ⁻ , 229.03[M-H-3H ₂ O-COOH] ⁻	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	三羟基十八碳二烯酸 ^[16]
46*	34.04	285.04	257.03[M-H-CO] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	木犀草素 ^[15]
47*	34.37	329.23	314.48[M-H-CH ₃] ⁻ , 311.44[M-H-H ₂ O] ⁻	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	5,7,4'-三羟基-6,3-二甲氧基黄酮
48*	37.52	329.23	311.26[M-H-H ₂ O] ⁻ , 293.25[M-H-2H ₂ O] ⁻	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	9,12,13-三羟基-10-十八碳酸 ^[16]
49*	38.28	329.23	311.46[M-H-H ₂ O] ⁻	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	5,7,4'-三羟基-6,3-二甲氧基黄酮异构体
50*	41.89	329.23	311.46[M-H-H ₂ O] ⁻ , 293.11[M-H-2H ₂ O] ⁻	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	9,10,11-三羟基-12-十八碳烯酸 ^[16]
51	48.77	453.26	425.26[M-C ₂ H ₄] ⁻ , 407.32[M-C ₂ H ₄ -H ₂ O] ⁻	C ₃₀ H ₆₂ O ₂	1,30-三十烷二醇
52*	50.30	285.04	267.10[M-H-H ₂ O] ⁻ , 223.22[M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻	C ₁₇ H ₃₄ O ₃	α -羟基棕榈酸甲酯

续表 1

序号 No.	保留时间 t_R/min	准分子离子 Molecular ions (m/z)	碎片离子 Fragment ions (m/z)	分子式 Molecular formulas	鉴定结果 Results
53	51.99	469.26	425.41[M-H-COO] ⁻	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	11-羧基-β-乳香酸
54	53.20	469.08	425.38[M-H-COO] ⁻	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	脱氢山楂酸
55	53.57	469.08	425.38 [M-COOH] ⁻ , 407.47[M-COOH-H ₂ O] ⁻	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	11-羧基-乳香酸
56*	55.10	395.02	351.01[M-COOH] ⁻	C ₂₆ H ₅₂ O ₂	2-丁基二十二烷酸
57	55.69	423.29	379.25[M-H-COO] ⁻	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	羽扇豆酮 ^[18]
58	56.70	427.31	409.43[M-H ₂ O] ⁻	C ₃₀ H ₅₂ O	表木栓醇
59	56.79	409.16	365.28[M-C ₂ H ₄ -OH] ⁻	C ₂₈ H ₅₈ O	正二十八烷醇
60	56.83	409.16	353.04[M-C ₄ H ₈] ⁻	C ₃₀ H ₅₀	角鲨烯
61	59.64	367.21	323.31[M-H-COO] ⁻	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	正二十四烷酸
62	61.63	351.29	307.29[M-C ₃ H ₇] ⁻	C ₂₅ H ₅₂	正二十五烷
63	67.30	112.99	68.70[M-C ₃ H ₇] ⁻	C ₈ H ₁₈	正辛烷
64	68.58	511.34	466.97[M-H-COO] ⁻	C ₃₂ H ₄₈ O ₅	11-羧基-β-乙酰乳香酸
65	69.63	425.36	407.41[M-H ₂ O] ⁻ , 364.31[M-H ₂ O-C ₃ H ₇] ⁻	C ₃₀ H ₅₀ O	木栓酮

注: * 为首次在鬼箭羽中发现的化合物

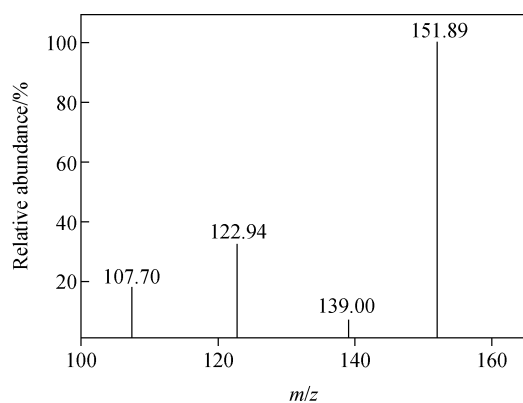


图2 负离子模式下,化合物8的二级质谱图

Fig. 2 MS² spectrum of compound 8
at negative ion mode

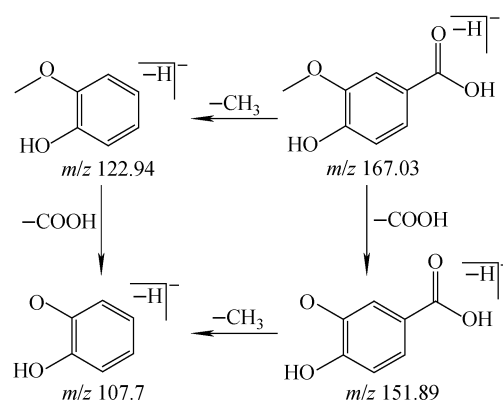


图3 负离子模式下,香草酸可能的质谱裂解途径

Fig. 3 Fragmentation pathway
of vanillic acid at negative ion mode

2.3 鬼箭羽中黄酮类成分的 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 分析

黄酮类化合物容易丢失 C 环中的羰基和氧原子等,还容易发生不同部位的反迪尔斯-阿德尔(RDA)裂解,生成碎片离子 m/z 151。黄酮苷类化合物则先丢失糖基,形成相应的苷元

后再进一步裂解。根据黄酮类化合物的裂解规律以及查阅相关文献^[12-15],在鬼箭羽中最终鉴定得到 36 种黄酮类成分。由于不同类型的黄酮类化合物在 C 环产生 RDA 裂解的位置不同,因此分情况讨论。

正黄酮类化合物在 C 环的 1,3 键或 1,4

键断裂产生 RDA 裂解。在负离子模式下,峰 42 的准分子离子峰为 m/z 150.90 $[M-H]^-$, 其二级质谱图示于图 4a, C 环发生 1,3 键断裂, 生成碎片离子 m/z 150.90、116.91, 形成 $[A^{1,3}]$ 和 $[B^{1,3}]$ 碎片离子。母离子 m/z 269.04 分别失去 H_2O 、 C_2H_2O 、 CO_2 产生碎片离子 m/z

251.07、226.92、225.03。A 环丢失 C_3O_2 后经氢重排得到的离子结构不稳定, 故发生 C 环开环后, 丢失 C_2H_2O 形成稳定共轭结构的离子 m/z 158.76, 根据文献[19]推断其为芹菜素, 属于正黄酮类化合物, 其可能的裂解途径示于图 5。

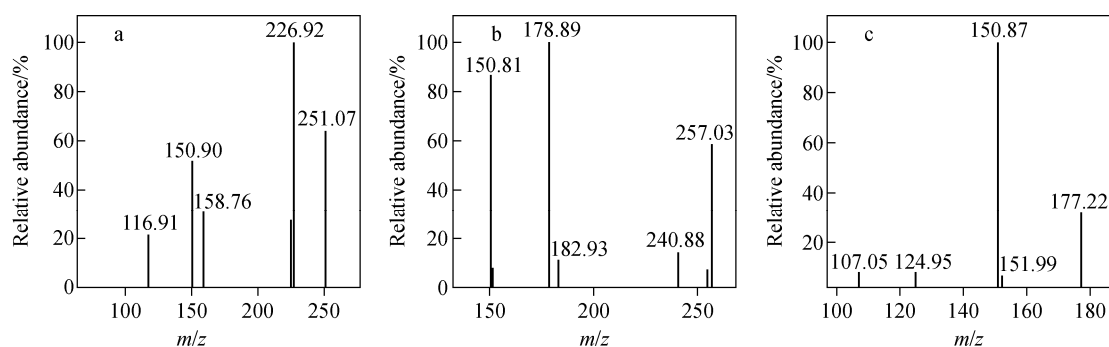


图 4 负离子模式下, 鬼箭羽中峰 42(a), 峰 38(b), 峰 41(c) 的二级质谱图

Fig. 4 MS² spectra of peak 42 (a), peak 38 (b) and peak 41 (c) at negative ion mode

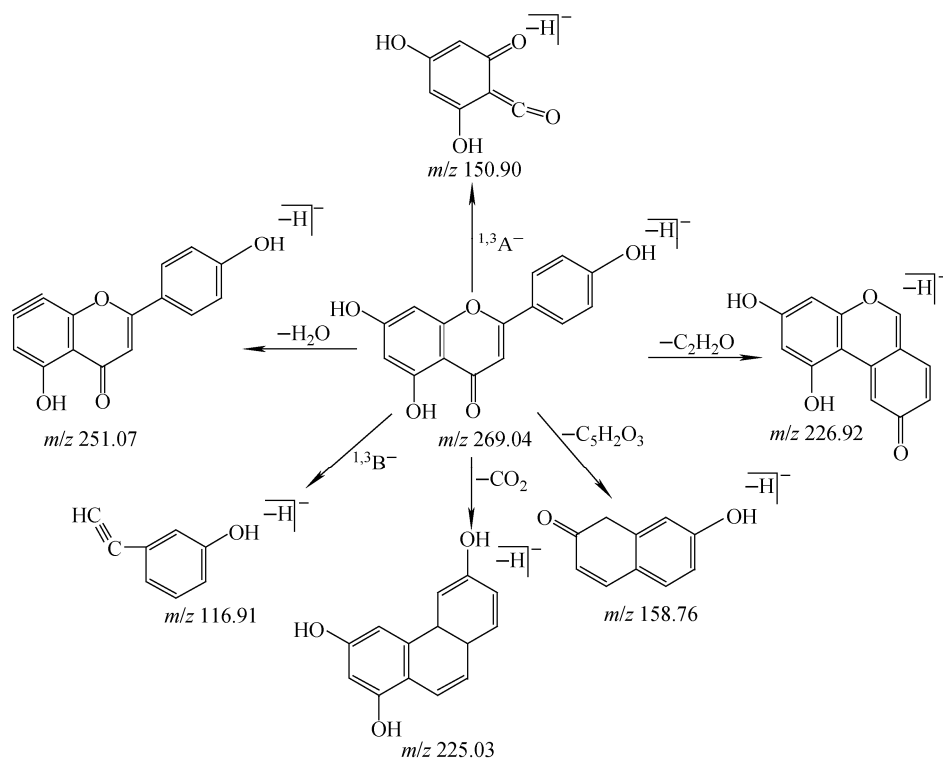


图 5 负离子模式下, 芹菜素可能的质谱裂解途径

Fig. 5 Fragmentation pathway of apigenin at negative ion mode

黄酮醇类化合物在 C 环的 1,2 键或 1,3 键断裂产生 RDA 裂解。在负离子模式下, 峰 38 的准分子离子峰为 m/z 301.00 $[M-H]^-$, 其

二级质谱图示于图 4b, 准分子离子失去 CO_2 产生碎片离子 m/z 257.18; 碎片离子 m/z 178.97、150.90 是其 C 环分别发生 1,2 和

1,3 键断裂,形成 $[A^{1,2}]$ 和 $[A^{1,3}]$ 的碎片离子。根据文献[12]推断其为槲皮素,属于黄酮醇类化合物,可能的裂解途径示于图 6。

二氢黄酮类化合物在 C 环的 1,3 键和 0,4 键断裂产生 RDA 裂解。在负离子模式下,峰 41 的准分子离子峰为 m/z 271.11 $[M-H]^-$,

二级质谱图示于图 4c,其母离子的 C 环分别发生 1,3 和 0,4 键断裂,形成碎片离子 $[A^{1,3}]$ 、 $[A^{0,4}]$ 和 $[B^{0,4}]$,分别为 m/z 150.87、107.05 和 177.22。根据文献[20]推断其为柚皮素,属于二氢黄酮类化合物,可能的裂解途径示于图 7。

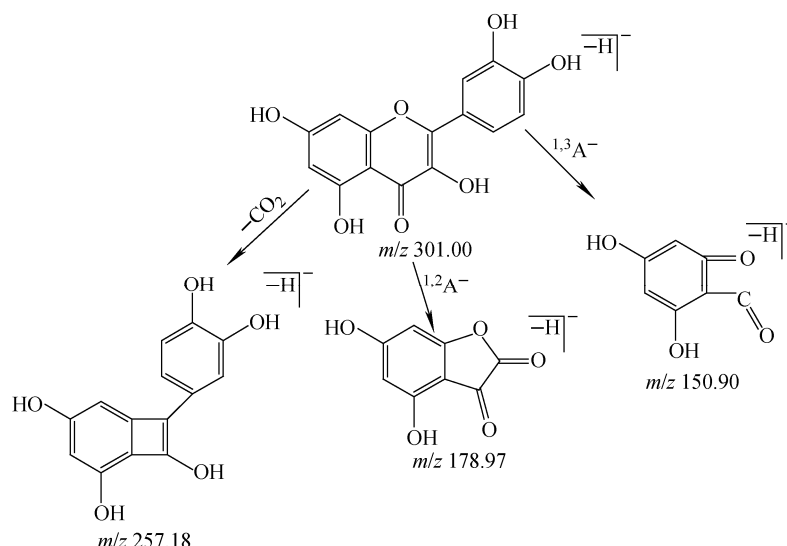


图 6 负离子模式下,槲皮素可能的质谱裂解途径

Fig. 6 Fragmentation pathway of quercetin at negative ion mode

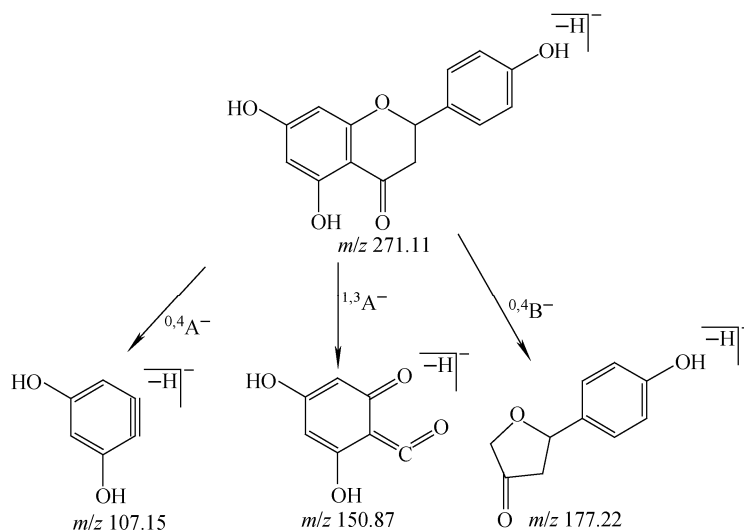


图 7 负离子模式下,柚皮素可能的质谱裂解途径

Fig. 7 Fragmentation pathway of naringenin at negative ion mode

2.4 鬼箭羽中长链脂肪族成分的 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 分析

从鬼箭羽中共鉴定得到 12 种长链脂肪族

类化合物,其质谱图一般由一系列的峰簇组成,且峰簇之间相差 14 u。

以脂肪族化合物长链脂肪酸为例,长链脂

肪族一元羧酸类化合物容易丢失羧基、羟基和水分子,具有 γ 氢的化合物容易发生麦氏重排生成信号较强的特征离子 m/z ($60+14n$),各峰簇之间相差14 u。在负离子模式下,化合物56的准分子离子峰为 m/z 395.07 $[M-H]^-$,二级质谱图示于图8,其发生麦氏重排生成碎片离子 m/z 340.11;母离子失去羧基生成碎片离子 m/z 351.02;质谱图中还出现了一系列峰簇组,且峰簇组之间相差14 u,分别为 m/z 380.10、366.23、352.12。根据文献[16],推断该化合物为2-丁基二十二烷酸,其可能的裂解途径示于图9。

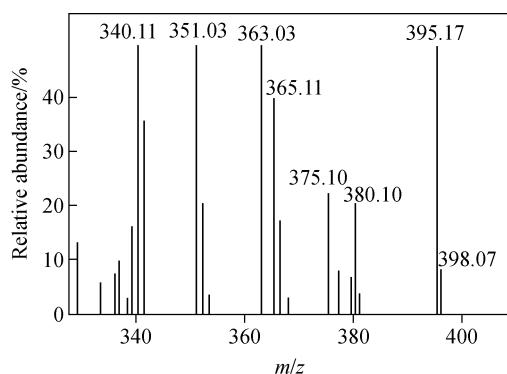


图8 负离子模式下,峰56的二级质谱图

Fig. 8 MS² spectrum of peak 56 at negative ion mode

峰59、60具有相同的准分子离子峰 m/z 409.16 $[M-H]^-$,其分子式可能为 $C_{28}H_{38}O$ 或 $C_{30}H_{50}$ 。峰59的碎片离子有 m/z 365.28 $[M-C_2H_4-OH]^-$,表明存在羟基取代基,据此判断其为正二十八烷醇。峰60中的碎片离子不存在 m/z 365.28 $[M-C_2H_4-OH]^-$,但存在 m/z 353.04 $[M-C_4H_8]^-$,推断其为角鲨烯。

2.5 鬼箭羽中三萜类成分的UPLC-LTQ-Orbitrap-MS分析

从鬼箭羽中共鉴定得到7种三萜类化合物,不同母核的三萜类化合物有不同的裂解特征。以峰55为例,在负离子模式下,准分子离子峰为 m/z 469.08 $[M-H]^-$,二级质谱图示于图10。母离子先后失去 $COOH$ 、 H_2O 生成碎片离子 m/z 407.47,再重排失去 C_2H_6 生成碎片离子 m/z 377.32;或先失去 $COOH$ 生成碎片离子 m/z 425.38,再重排失去 C_2H_6 生成碎片离子 m/z 395.41,根据文献[21],推断该

化合物为11-羧基乳香酸,其可能的裂解途径示于图11。

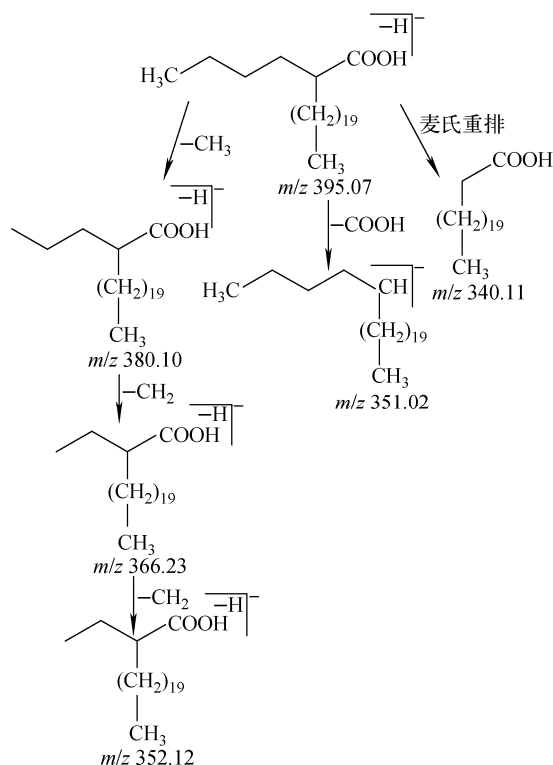


图9 负离子模式下,2-丁基二十二烷酸的质谱裂解途径

Fig. 9 Fragmentation pathway of 2-butyl behenate at negative ion mode

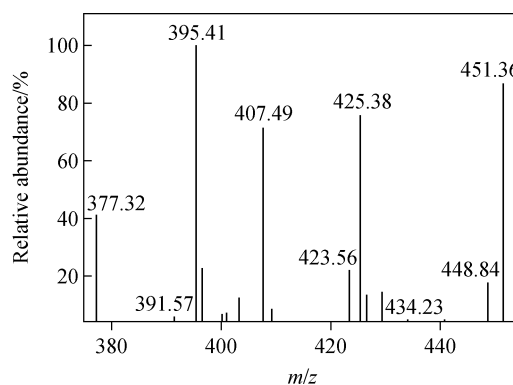


图10 负离子模式下,峰55的二级质谱图

Fig. 10 MS² spectrum of peak 55 at negative ion mode

2.6 鬼箭羽中其他成分的UPLC-LTQ-Orbitrap-MS分析

对于一些含量较低的化合物,采用与相关文献^[12,16]比对的方法进行解析。以峰2为例,在负离子模式下,其准分子离子峰为 m/z 341.03

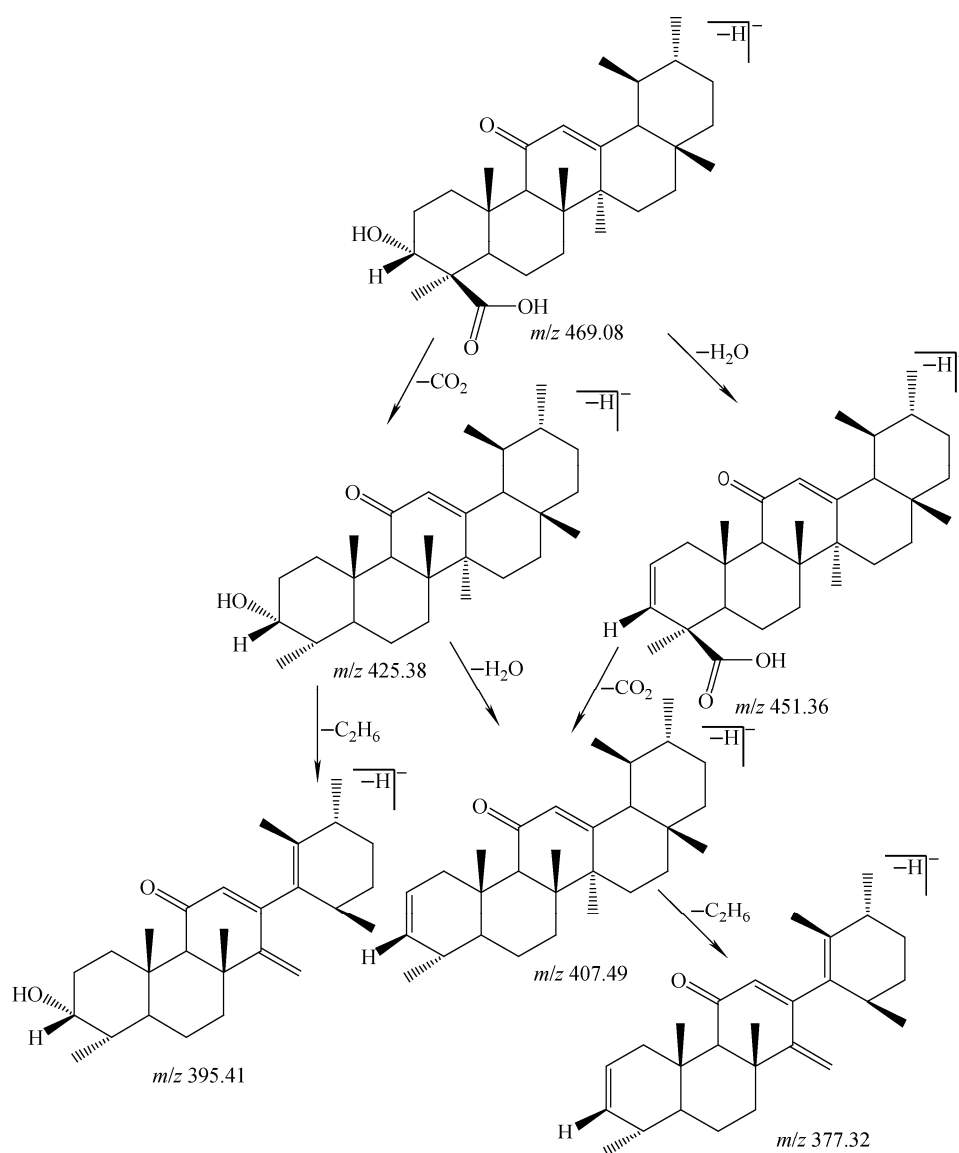


图 11 负离子模式下,11-羰基乳香酸可能的质谱裂解途径

Fig. 11 Fragmentation pathway of 11-carbonyl boswellic acid at negative ion mode

$[M-H]^-$, 特征峰为 m/z 179.02 $[M-H-C_6H_{10}O_6]^-$, 将其保留时间、相对分子质量以及特征峰与文献[12]中蔗糖的质谱信息进行对比, 可推断峰 2 为蔗糖。

3 结论

本实验采用 LC-MS 技术分析鬼箭羽的甲醇提取物, 利用 Xcalibur 2.1 软件对质谱信息进行解析, 共分析得到 65 种不同类型的化合物, 其中 28 种为首次在鬼箭羽中发现。通过总结鬼箭羽中不同类型化合物的裂解方式, 建立了已知化学成分数据库, 可为研究鬼箭羽的化

学成分提供基础数据。

参考文献:

- [1] 孙瑞茜, 彭静, 郭健, 等. 鬼箭羽的现代药理作用研究成果[J]. 环球中医药, 2015, 2(8): 245-249. SUN Ruiqian, PENG Jing, GUO Jian, et al. Modern research on pharmacological action of *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb[J]. Global Traditional Chinese Medicine, 2015, 2(8): 245-249(in Chinese).
- [2] 迟蕾, 孙雅姝, 卢广英, 等. 鬼箭羽的化学成分及药理研究进展[C]. 中华中医药学会中药化学分会第八届学术年会, 2014.

- [3] 张丽芬,赵进喜. 中药鬼箭羽研究近况[J]. 中国中药杂志,2005,30(24): 1 895-1 898.
ZHANG Lifan, ZHAO Jinxi. The recent research situation of *Euonymus alatus* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2005, 30 (24): 1 895-1 898(in Chinese).
- [4] 陈志远,王兴. 中药鬼箭羽降血糖研究进展[J]. 成都医学院学报. 2012,7(3):65-70.
CHEN Zhiyuan, WANG Xing. Progress in *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb hypoglycemic research[J]. Journal of Chengdu Medical College, 2012, 7(3): 65-70(in Chinese).
- [5] 陈科,潘德济,徐光漪. 鬼箭羽中的黄烷成分[J]. 中草药,1986,17(3):1-3.
CHEN Ke, PAN Deji, XU Guangyi. Flavanoids in *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 1986, 17(3): 1-3 (in Chinese).
- [6] SUSUMU K, MICHIO T, KAZUTOSHI M, et al. Cytotoxic cardenolides from woods of *Euonymus alata* [J]. Chem Pharm Bull, 1996, 44 (3): 615-617.
- [7] 陈科,陈慧友,潘德济. 卫予科植物鬼箭羽中的三萜成分[J]. 中草药,1983,14(9):385-386.
CHEN Ke, CHEN Yiyu, PAN Deji. Triterpenoids in *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 1983, 14 (9): 385-386(in Chinese).
- [8] 方振峰,李占林,王宇. 鬼箭羽的化学成分研究[J]. 中草药,2008,12(5):810-812.
FANG Zhenfeng, LI Zhanlin, WANG Yu. Chemical constituents from wing twigs of *Euonymus alatus* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2008, 12(5): 810-812(in Chinese).
- [9] 刘成伦,唐德容. 黄酮类化合物抗氧化性质的研究进展[J]. 食品研究与开发,2006,27(5):158-160,168.
LIU Chenglun, TANG Derong. Research progress on antioxidant properties of flavonoids[J]. Food Research and Development, 2006, 27(5): 158-160, 168(in Chinese).
- [10] LIU M H, TONG X, WANG J X, et al. Rapid separation and identification of multiple constituents in traditional Chinese medicine formula shenqi fuzheng injection by ultra-fast liquid chromatography combined with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2013, 74(4): 141-155.
- [11] ZHU Z, ZHANG H, ZHAO L, et al. Rapid separation and identification of phenolic and diterpenoid constituents from *Radix Salvia miltiorrhizae* by high-performance liquid chromatography diode-array detection, electrospray ionization quadrupole ion trap mass spectrometry[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2007, 21 (12): 1 855-1 865.
- [12] 汪丹,蔡甜,吴志军,等. HPLC-ESI-Q-TOF MS法分析金钱草颗粒的化学成分[J]. 中国药房, 2016,12(23):1 651-1 654.
WANG Dan, CAI Tian, WU Zhijun, et al. Analysis of the chemical compositions in Jinqiancao granule by HPLC-ESI-Q-TOF MS[J]. China Pharmacy, 2016, 12(23): 1 651-1 654 (in Chinese).
- [13] 李自红,魏悦,范毅,等. 芦丁的电喷雾离子阱质谱分析[J]. 分析试验室,2015,2(12):186-189.
LI Zihong, WEI Yue, FAN Yi, et al. Analysis of rutin electrospray ion trap mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2015, 2(12): 186-189(in Chinese).
- [14] 于金英,王云红,刘国强,等. HPLC-ESI-MS/MS分析鉴定蕲莫中黄酮类成分[J]. 中成药,2015, 37(3):556-561.
YU Jinying, WANG Yunhong, LIU Guoqiang, et al. Identification of flavonoids from *Thlaspi arvense* L. by HPLC-ESI-MS/MS[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2015, 37(3): 556-561(in Chinese).
- [15] 朱继孝,文乐,魏春华,等. 无尾果黄酮类化学成分 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 分析[J]. 中医药通报,2017,4(9):59-63.
ZHU Jixiao, WEN Le, WEI Chunhua, et al. Analysis of flavonoids in *coluria longifolia maxim* by UPLC-Q-TOF MS [J]. Traditional Chinese Medicine Journal, 2017, 4 (9): 59-63 (in Chinese).
- [16] 张小平,蒋可志,吕惠卿,等. HPLC-Q-TPF MS 鉴定条叶榕根茎乙酸乙酯提取物中的主要化学成分[J]. 质谱学报,2015,36(4):310-320.
ZHANG Xiaoping, JIANG Kezhi, LV Huiqing, et al. Identification and characterization of major chemical compounds in the ethyl acetate extract from *ficus pandurata hance* aerial roots by HPLC-Q-TOF MS [J]. Journal of Chinese Mass Spec-

- trometry Society, 2015, 36(4): 310-320(in Chinese).
- [17] 刘赟,周欣,龚小见,等. 鬼箭羽药材的薄层色谱鉴别[J]. 贵州师范大学报, 2009, 27(3): 113-115.
- LIU Zhui, ZHOU Xin, GONG Xiaojian, et al. Thin-layer chromatography identification of *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb. [J]. Journal of Guizhou Normal University, 2009, 27(3): 113-115(in Chinese).
- [18] 陈云华,龚慕辛,卢旭然,等. 鬼箭羽的降糖有效部位的化学成分研究[J]. 中国实验方剂学志, 2010, 16(7): 42-43.
- CHEN Yunhua, GONG Muxin, LU Xuran, et al. Study on the constituents from *Euonymus alatus* in hypoglycemic effective extracts [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2010, 16(7): 42-43(in Chinese).
- [19] 丁健桦,王兴祥,张慧,等. 芹菜素的电喷雾萃取电离串联质谱[J]. 高等学校化学学报, 2011, 8(32): 1 714-1 719.
- DING Jianhua, WANG Xingxiang, ZHANG Hui, et al. Extrative electrospray ionization tandem mass spectrometry of apigenin[J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2011, 8(32): 1 714-1 719(in Chinese).
- [20] 冯阳,陈玉梅,辛华. 金樱子黄酮类成分的 UPLC-Q-TOF-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(12): 71-76.
- FENG Yang, CHEN Yumei, XIN Hua. Analysis of flavonoids in *rosae laevigatae fructus* by UPLC-Q-TOF MS[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2017, 23(12): 71-76(in Chinese).
- [21] 郭依俐,唐铁鑫,杨得坡,等. 粗叶悬钩子叶中多酚类与三萜类化合物的研究[J]. 植物科学学报, 2013, 31(2): 191-197.
- GUO Yili, TANG Tiexin, YANG Depo, et al. Polyphenols and triterpenoids in *rubus aleaefolius* poir. leaves[J]. Plant Science Journal, 2013, 31(2): 191-197(in Chinese).