

毛冬青中三萜皂苷的 ESI-MS 质谱特征

杨运云¹, 陈建新², 吴庆晖¹, 郭鹏然¹

(1. 中国广州分析测试中心, 广东省化学危害应急检测技术重点实验室, 广东 广州 510070;

2. 华南农业大学兽医学院, 广东省兽药研制与安全评价重点实验室, 广东 广州 510642)

ESI-MS Characteristic of Triterpene and Saponin in Radix Ilicis Pubescentis

YANG Yun-yun¹, CHEN Jian-xin², WU Qing-hui¹, GUO Peng-ran¹

(1. Guangdong Key Laboratory of Chemical Emergency Test, China National Analytical Center, Guangzhou 510070, China;

2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Veterinary Pharmaceutics Development and Safety Evaluation,
College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Triterpene and saponin in Radix ilicis pubescentis were identified by HPLC-MS. The sample was extracted with methanol, and analyzed by HPLC-IT-MS and HPLC-TOF-MS to obtain the positive-ion and negative-ion MS¹ and MS² spectra together with extract molecular weights. Eight triterpenoid saponins were identified, and two of them were confirmed by reference substances. The ESI-MS characteristic of triterpene and saponin in Radix ilicis pubescentis was summarized, and the proposed fragmentation mechanism based on ilexgenin A was illustrated.

Key words: Radix ilicis pubescentis; triterpene and saponin; HPLC-MS

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2009) 增刊-0076-03

毛冬青(Radix ilicis pubescentis)为冬青科(Aquifoliaceae)冬青属植物毛冬青(*Ilex pubescens* Hook. et Am.)的干燥根, 主要用于治疗循环系统疾病, 有扩张血管及抗菌消炎的功效。毛冬青的主要化学成分有三萜皂苷、黄酮、木脂素和酚酸等, 已报道^[1-3]的三萜皂苷由 ilexgenin A, ilexsaponin A₁, ilexsaponin B、B₁、B₂、B₃、B₄, ilexsaponin C 和 ilexoside O 等。HPLC-MS 检测三萜皂苷类物质的灵敏度很高, 并能在线提供每个谱峰的相对分子质量和结构信息, 在不需要对照品的情况下, 可以快速鉴定出毛冬青中的三萜皂苷活性成分。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 1100 HPLC-MS Trap XCT 高效液相色谱-离子阱质谱联用仪; Agilent 1200 HPLC-MS TOF 高效液相色谱-飞行时间质谱联用仪; Agilent Zorbax Eclipse XDB C₁₈ 高效液相色谱柱 (250 m×4.6 mm×5 μm)。毛冬青药材 (产地广东), 乙腈 (色谱纯), 甲醇 (分析纯), 水为高纯水。

1.2 样品处理

1.2.1 样品提取 称取 10.0 g 干燥粉碎的毛冬青样品于 150 mL 圆底烧瓶, 加入 100 mL V(甲醇): V(水)=7:3 萃取剂, 加热回流萃取 2 h, 浓缩定容至 50 mL。取 1.0 mL 过 0.45 μm 滤膜, 待 HPLC-MS 分析。

1.2.2 样品分析 采用 HPLC-MS Trap XCT 和 HPLC-MS TOF 分析萃取液, Zorbax Eclipse XDB C₁₈ 色谱柱; 流动相 A 为水 (含 0.1% 甲酸), B 为乙腈, 从 0~5 min, 95% A, 5% B, 5~15 min, B 相从 5% 升至 20%, 15~30 min, B 相从 20% 升至 30%, 30~40 min, 70% A, 30% B, 40~60 min, B 相从 30% 升至 50%, 60~70 min, B 相从 50% 升至 65%, 70~80 min, 5% A, 95% B; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 进样量 25 μL。ESI 离子源, 正、负离子两种检测模式; 雾化 N₂ 压力 275.8 kPa, 干燥 N₂ 流速 9 L·min⁻¹, 干燥 N₂ 温度 350 °C; 离子源前分流模式, 30% 柱后流出液分流至 ESI 源; 毛细管电压 3 500 V; 扫描质量范围 *m/z* 50~1 500。离子阱质谱 (IT-MS) 分析时, 阱深对应稳定区中心离子 *m/z* 800; Auto MS² 模式, 自动寻找丰度最高的 3 个离子进行二级质谱。飞行时间质谱 (TOF-MS) 分析时, 参比离子 *m/z* 121.050 9、922.009 8; 分辨率 11 500 (922.009 8)。

2 结果与讨论

2.1 HPLC-MS 分析结果

三萜皂苷化合物 ESI-MS 正、负离子模式下的离子化效果均很理想, 分析萃取液 HPLC-MS 色谱图中每个谱峰对应的 IT-MS¹、IT-MS² 和 TOF-MS 信息, 并与已报道的毛冬青中分离鉴定的三萜皂苷进行比较, 鉴定出 ilexgenin A、ilexsaponin A₁、ilexsaponin B、ilexsaponin B₁、ilexsaponin B₂、ilexsaponin B₃、ilexsaponin B₄、ilexsaponin C 和 ilexoside O 共 10 种三萜皂苷, 其中 ilexgenin A 和 ilexsaponin A₁ 通过对照品确证。

2.2 三萜皂苷化合物 ESI-MS 特征质谱规律

文献报道毛冬青中所含的三萜皂苷多以 ilexolic acid、ilexgenin A、ilexgenin B 和 ilexgenin C 为苷元, 化学结构式示于图 1。其 ESI-MS¹ 除了可以检测到 *m/z* [M+Na]⁺、[M+NH₄]⁺、[M-H]⁻、[M+Cl]⁻、[M+HCOO]⁻ 特征峰以外, 正离子 ESI-MS¹ 还有非常明显的特征碎片峰: ilexolic acid 苷元 *m/z* 437; ilexgenin A 苷元 *m/z* 503、485、467、457、439、421, 裂解规律示于图 2; ilexgenin B 苷元 *m/z* 455、437; ilexgenin C 苷元 *m/z* 471、453、435, ESI-MS² 均可检测到失去 1 个或多个糖苷的特征碎片峰, 通常情况下, -162 为失去 1 个葡萄糖或半乳糖苷, -146 为失去 1 个鼠李糖苷, -132 为失去 1 个木糖或阿拉伯糖苷。这些规律可用于快速推测毛冬青中可能含有的其他三萜皂苷, 为新的三萜皂苷化合物鉴定提供理论依据。

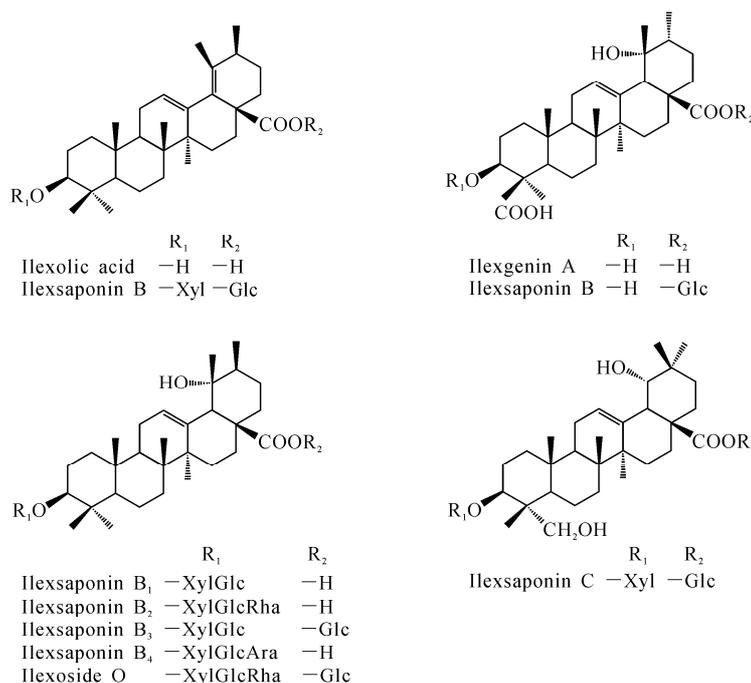


图 1 毛冬青中已经鉴定的三萜皂苷化学结构式

Fig. 1 Chemical structures of triterpene and saponins identified in radix ilicis pubescentis

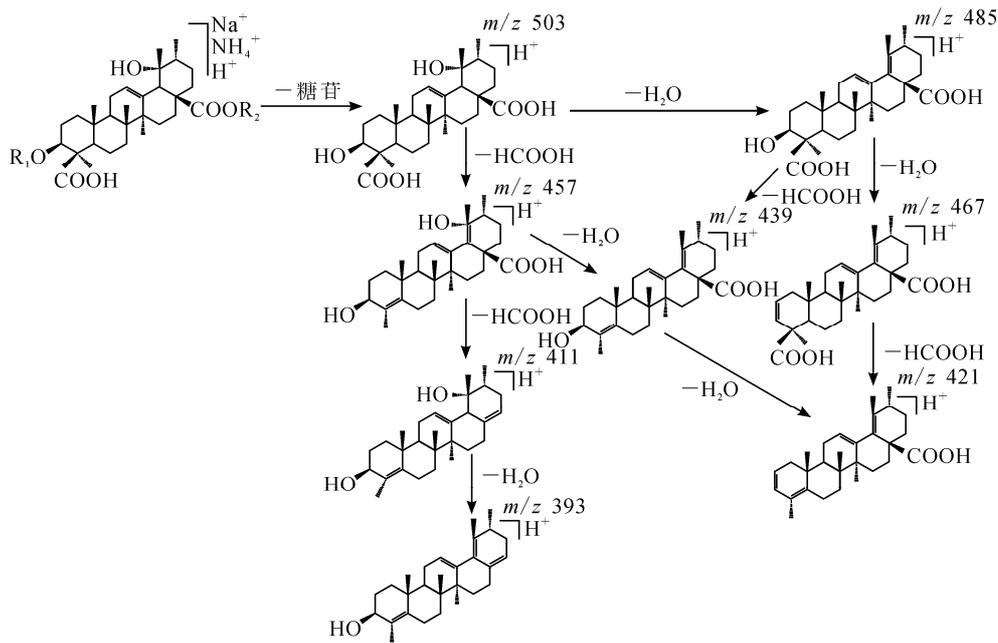


图2 以 ilexgenin A 为苷元的三萜皂苷化合物 ESI-MS 裂解规律

Fig. 2 Proposed fragmentation mechanism of triterpene and saponins based on ilexgenin A by ESI-MS

参考文献:

- [1] KAZUYUKI H, MIYOKO I, YOKO M, et al. A triterpene and saponin from roots of of *Ilex pubescens*[J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(7): 2 023-2 027.
- [2] KAZUYUKI H, MIYOKO I, YOKO M, et al. New triterpene saponins from *Ilex pubescens*[J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(2): 524-529.
- [3] FENG F, ZHU M X, XIE N, et al. Two new triterpenoid saponins from the root of *Ilex pubescens*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2008, 10(1): 71-75.

(上接第 68 页)

3 结论

本研究利用电喷雾质谱技术对白芍生品及炮制品的化学成分进行了系统研究, 结果发现白芍经炮制后主要化学成分与炮制前相同, 只是各成分含量随炮制方法的不同而略有变化, 为进一步阐明中药材炮制入药的科学内涵提供了实验依据。

参考文献:

- [1] 王 巧, 刘荣霞, 郭洪祝, 等. 加工炮制对白芍化学成分的影响[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(17): 1 418-1 421.
- [2] 王 勇, 宋凤瑞, 金东明, 等. 复方中药四逆汤中乌头碱类二萜生物碱的电喷雾串联质谱研究[J]. *高等学校化学学报*, 2004, 25(1): 85-89.
- [3] 于 湛, 闫存玉, 宋凤瑞, 等. 七-2,6-二-*O*-甲基- β -环糊精对薄荷醇对映受体手性识别的电喷雾质谱研究[J]. *分析化学*, 2006, 34(5): 671-674.
- [4] 中华人民共和国药典委员会. *中华人民共和国药典: 一部*[J]. 北京: 化学工业出版社, 2005.