

UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速鉴别北豆根中的生物碱类成分

李晓庄¹, 赵慧玲¹, 黄文平^{2,3}, 冯育林^{1,2}, 李志峰^{1,2}, 王琦^{1,2*}, 杨世林^{1,2}

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006;
3. 江西科技师范大学, 南昌 330013)

[摘要] 目的:利用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对北豆根中的生物碱化学成分进行分析和鉴定。方法:采用 Welch C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm),以 0.1% 氨水溶液(A)-乙腈(B)为流动相进行梯度洗脱,流速 0.3 mL·min⁻¹,柱温 40 °C,进样体积 2 μL。质谱采用电喷雾(ESI)离子源,在正离子模式下采集数据,质量数扫描范围 *m/z* 50 ~ 1 250,使用质谱分析软件中的目标化合物筛查法,通过保留时间、精确相对分子质量和二级质谱裂解碎片鉴定监测到的化学成分。**结果:**在优化的 LC-MS 条件下,结合 Scifinder 数据库、对照品和相关文献鉴定了 37 个生物碱类化合物,包括双苄基异喹啉类、阿朴啡及氧化异阿朴啡类、单苄基异喹啉类等。**结论:**基于 HPLC-ESI-Q-TOF 技术,通过高效液相色谱分离,质谱测定相对分子质量、裂解数据、文献分析检索,能快速、准确、较全面地鉴定北豆根中的生物碱类化学成分,为北豆根化学成分的进一步提取分离和药效物质基础的研究提供科学依据。

[关键词] 北豆根; 超高压液相色谱串联飞行时间质谱; 生物碱类

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)15-0097-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017150097

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170427.1406.072.html>

[网络出版时间] 2017-04-27 14:06

Rapid Identification of Alkaloids in Menisperm Rhizoma by UPLC-Q-TOF-MS/MS

LI Xiao-zhuang¹, ZHAO Hui-ling¹, HUANG Wen-ping^{2,3}, FENG Yu-lin^{1,2},

LI Zhi-feng^{1,2}, WANG Qi^{1,2*}, YANG Shi-lin^{1,2}

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China;

2. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine,
Jiangxi University of TCM, Nanchang 330006, China;

3. The Pharmacy College of Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze and identify the alkaloids chemical constituents from the Menisperm Rhizoma by UPLC-Q-TOF-MS/MS. **Method:** Welch C₁₈ reverse phase column (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) was adopted, with 0.1% ammonia solution (A) -acetonitrile (B) as the mobile phase for gradient elution. The flow rate was 0.3 mL·min⁻¹; column temperature was 40 °C; and the injection volume was 2 μL. ESI ion source was used as mass spectra, and the data were collected in the positive mode. The mass scanning range was between *m/z* 50-1 250. By using the target compound screening method in the mass spectrometry analysis software, the chemical components were identified according to retention time, accurate relative molecular mass and second mass spectrum fragmentation. **Result:** Under the optimized LC-MS condition, 37 alkaloids compounds were identified based on the database of Scifinder, control substances and related references, including bis-benzyl isoquinoline compounds,

[收稿日期] 20170204(004)

[基金项目] 江西省杰出青年资助计划项目(20162BCB23003);江西中医药大学校级课题项目(2010BS2039, Y057 博士启动基金)

[第一作者] 李晓庄,在读硕士,从事中药活性成分及质量标准研究, Tel:18770032311, E-mail:910493462@qq.com

[通讯作者] *王琦,主任药师,从事药物研究相关信息及药事管理研究, Tel:0791-87119632, E-mail:wangqilizhifeng@126.com

apomorphine and isooxyphe oxide compounds, and monobenzylisoquinolines, et al. **Conclusion:** Based on UPLC-Q-TOF-MS/MS technology, relative molecular mass and fragmentation data determined by high performance liquid chromatography, as well as literature analysis, could rapidly and accurately identify the chemical components of Menisperm Rhizoma. This study could provide powerful evidences for further studying the pharmacodynamics material basis of Menisperm Rhizoma.

[**Key words**] Menisperm Rhizoma; UPLC-Q-TOF-MS/MS; alkaloids

北豆根系防己科植物蝙蝠葛 *Menispermum dauricum* 的干燥根茎。始载于《中国药植志》,原名蝙蝠葛根。主产于东北、华北、陕西等地。北豆根具有清热解毒、祛风止痛、理气化湿之功效。传统用于治疗咽喉肿痛、肠炎痢疾、风湿痹痛等^[1]。国内外对北豆根的化学成分研究表明,北豆根中含有近 20 多种生物碱,总生物碱质量分数约为 1.7% ~ 2.5%^[2]。生物碱类成分是北豆根药效的物质基础,其中已有临床研究证明了蝙蝠葛碱具有抗心律失常作用,蝙蝠葛酚性碱对急性心肌缺血具有明显的保护作用,蝙蝠葛碱还具有降低心肌耗氧量、抗动脉粥样硬化,还能有效降低肥厚心肌纤维化程度,提高心肌抗氧化能力等作用^[3-6]。蝙蝠葛苏林碱可阻止 Ca^{2+} 跨膜入胞浆而防止细胞浆 Ca^{2+} 增高,起抗触发活动作用^[7]。因此,有必要对北豆根中的生物碱成分进行深入地研究。UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术作为一种新型的分析技术可以提供良好的分离效果,具有高分辨、高灵敏的定性能力和强大的结构表征能力,已广泛运用到中药药效物质基础、中药化学成分分析等研究领域中^[8]。目前应用液质联用对北豆根化学成分的研究报道很少,本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术,获取化合物离子荷质比、保留时间以及其二级质谱信息,通过与相关文献报道信息进行匹配鉴定了北豆根中 37 个生物碱类化合物,为进一步研究北豆根的化学成分及阐释其药效物质基础提供依据。

1 材料

Triple TOF 5600⁺ 型超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱[美国 AB Scie 公司,配有电喷雾离子源(ESI),Analyst 1.6 色谱工作站,Peakview 等质谱分析软件],LC-30A 型超高效液相色谱仪(日本岛津公司,包含在线真空脱气机,自动进样器,柱温箱,高压二元梯度泵和二极阵列检测器),Welch C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), BT25S 型 1/10 万分析天平(德国赛多利斯公司),KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司),甲酸

(色谱纯,美国 Tedia 公司),Milli-Q 纯化水系统(美国 Millipore 公司),其余试剂为分析纯。对照品蝙蝠葛碱(批号 B-032-150728,纯度 98.5%),蝙蝠葛诺林碱(批号 B-031-150727,纯度 98.5%)均购自上海奈启生物科技有限公司。

北豆根于 2015 年 11 月购自江西南昌,经南昌市食品药品检验所副主任药师吴蓓鉴定为防己科植物蝙蝠葛 *Menispermum dauricum* 的干燥根茎。标本存于中药固体制剂制造技术国家工程研究中心。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备 取北豆根药材适量,粉碎,过三号筛,称取北豆根药材粉末约 2 g,加甲醇 50 mL,加热回流提取 60 min,滤过,于 4 °C 冰箱中避光保存备用,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,待分析。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取蝙蝠葛碱、蝙蝠葛诺林碱对照品适量,加甲醇超声溶解,定容至 100 mL,制成质量浓度约为 20 ng·L⁻¹ 的对照品溶液于 4 °C 冰箱中避光保存备用,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,待分析。

2.3 质谱条件 离子源为电喷雾离子化源(ESI),正离子模式扫描,质量数扫描范围 m/z 50 ~ 1 250,喷雾电压 +4 500 V,雾化气温度 550 °C,气帘气 172.36 kPa,雾化气和辅助气 344.74 kPa,去簇电压(DP)120 V;采用 TOF-MS-IDA-MS/MS 方法采集数据,TOF/MS 一级预扫描和触发的二级扫描 TOF/MS/MS 离子累积时间分别为 200,100 ms,碰撞能量(CE) +45 eV,碰撞能量叠加(CES)为(45 ± 10) eV,触发二级的方法为 IDA,多重质量亏损(MMDF)和动态背景扣除(DBS)为触发二级的条件,满足该条件的优先进行二级扫描。

2.4 液相条件 UPLC Welch C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm),流动相以 0.1% 氨水溶液(A)-乙腈(B)进行梯度洗脱(0 ~ 3 min, 5% ~ 10% B; 3 ~ 15 min, 10% ~ 40% B; 15 ~ 30 min, 40% ~ 55% B; 30 ~ 40 min, 55% ~ 60% B; 40 ~ 45 min, 60% ~ 95% B; 45 ~ 47 min, 95% B; 47 ~ 50 min, 95% ~ 5% B),流速 0.3 mL·min⁻¹,进样体积 2 μL。

2.5 质谱分析 利用 Analyst TF1.6 软件对北豆根的甲醇提取物进行分析,通过蝙蝠葛属植物的 Scifinder 数据库和相关文献检索,结合 Peakview 软件中 XIC Manager 功能对目标化合物进行了鉴定和确证。利用 Peakview 软件中 Formula finder 功能,结合相关化合物的一级质谱和二级质谱,以及同位素分布和化合物裂解规律,进行化合物的分析与鉴别。(+) ESI-MS 的质谱总离子流图见图 1,已鉴定的各化学成分保留时间、质谱信息以及相关文献数据见表 1。与对照品的质谱信息匹配和利用 Peakview 软件中 XIC Manager 功能对目标化合物进行查找和确定,并通过 Formula finder 软件、相关数据库、同位

素分布以及目标化合物的元素组成和裂解途径分析,鉴定了 37 个化合物。

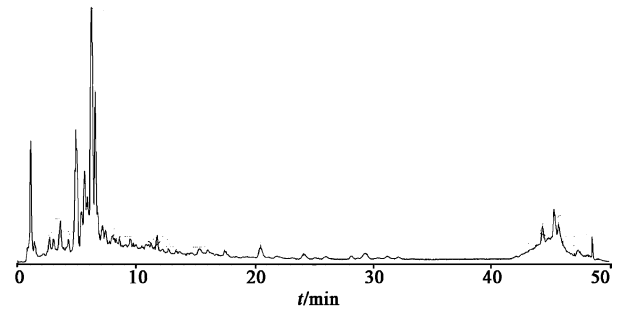


图 1 北豆根 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的正离子总离子流
Fig. 1 UPLC-Q-TOF-MS/MS total ion flow chart of stems and leaves in Menispermis Rhizoma

表 1 北豆根提取物的化学成分鉴定

Table 1 Identification of chemical constituents from Menispermis Rhizoma

No.	t_R/min	实测值	理论值	分子式	化合物	二级碎片 m/z	δ
1	1.86	315.177 3	315.178 2	$C_{19}H_{24}NO_3$	lotusine	315.14, 300.12, 269.14, 237.11, 175.07, 107.05, 58.06	-3
2	2.57	272.128 1	272.127 6	$C_{16}H_{17}NO_3$	去甲基衡州乌药碱	255.10, 237.09, 209.10, 165.07, 143.05, 107.05	-2.2
3	3.06	330.169 9	330.169 4	$C_{19}H_{23}NO_4$	网脉番荔枝碱	330.17, 193.11, 137.06, 107.05, 178.08, 150.09, 177.07, 149.06	-1.9
4	3.14	316.190 7	316.189 5	$C_{19}H_{25}NO_3$	pseudolaudanine	316.14, 165.07, 151.08, 121.07, 137.06, 94.04	-3.9
5	3.17	314.138 7	314.138 2	$C_{18}H_{19}NO_4$	pessoine	314.14, 299.11, 298.17, 283.08, 178.09, 135.07, 163.06	-1.6
6	3.79	342.169 9	342.169 2	$C_{20}H_{23}NO_4$	紫堇单酚碱	342.17, 327.15, 311.13, 299.13, 297.11, 282.08, 191.08, 151.05	-2.4
7	4.24	286.143 8	286.143 5	$C_{17}H_{19}NO_3$	乌药碱	286.14, 269.11, 179.08, 164.06, 163.06, 136.05, 135.06, 107.04, 91.05	-1
8	4.28	298.143 8	298.143 4	$C_{18}H_{19}NO_3$	土藤碱	298.1, 269.11, 282.08, 252.10, 254.09, 239.07, 211.07	-1.4
9	4.31	300.159 4	300.159 0	$C_{18}H_{21}NO_3$	N-甲基乌药碱	300.15, 285.09, 269.11, 257.10, 193.06, 107.04, 178.07	-1.4
10	4.86	326.138 7	326.137 9	$C_{19}H_{19}NO_4$	华紫堇碱	326.13, 311.11, 310.10, 283.11, 282.11, 254.11, 178.06	-2.4
11	4.90	342.169 9	342.169 3	$C_{20}H_{23}NO_4$	romneine	342.16, 327.14, 311.12, 299.12, 191.08, 151.05	-2.1
12	4.91	683.332 7	683.330 1	$C_{40}H_{46}N_2O_8$	N-去甲基白蓬草替林	683.33, 356.18, 342.16, 296.19, 236.08	-3.8
13	5.08	328.154 3	328.153 1	$C_{19}H_{21}NO_4$	斯替复里啶	328.15, 313.12, 312.12, 298.10, 297.09, 178.08, 163.06, 151.07	-3.8
14	5.34	314.175 1	314.174 4	$C_{19}H_{23}NO_3$	杏黄罂粟碱	314.14, 283.15, 189.11, 107.04	-2.1
15	5.61	342.169 9	342.169 2	$C_{20}H_{23}NO_4$	异紫堇定碱	342.16, 327.14, 297.11, 282.08, 254.09	-2.4
16	5.76	597.295 9	597.297 0	$C_{36}H_{40}N_2O_6$	蝙蝠葛新可林碱、蝙蝠葛可林碱	597.29, 566.26, 554.25, 405.19, 192.10, 177.07	1.1
17	5.79	310.143 8	310.143 8	$C_{19}H_{19}NO_3$	千金藤碱	310.14, 295.12, 294.11, 266.11, 279.09, 251.09	0.2
18	5.85	625.327 2	625.326 1	$C_{38}H_{44}N_2O_6$	蝙蝠葛碱	625.32, 582.28, 419.20, 206.11, 192.10	-3.1
19	5.97	639.342 9	639.340 7	$C_{39}H_{46}N_2O_6$	O-methylclausine	639.34, 608.29, 596.29, 206.11	-3.4
20	6.17	611.311 6	611.309 5	$C_{37}H_{42}N_2O_6$	蝙蝠葛芬林碱、蝙蝠葛新诺林碱	611.30, 580.26, 568.26, 419.20, 266.12, 206.11, 192.10, 177.07	-3.4

续表 1

No.	t_R/min	实测值	理论值	分子式	化合物	二级碎片 m/z	δ
21	6.34	609.295 9	609.293 1	$C_{37}H_{40}N_2O_6$	华东唐松草碱	609.29, 417.19, 416.18, 403.17, 402.16, 206.11, 192.10	-4.7
22	6.71	611.311 6	611.309 2	$C_{37}H_{42}N_2O_6$	蝙蝠葛诺林碱	611.30, 594.28, 580.26, 568.26, 206.11, 192.10	-0.9
23	6.76	623.311 6	623.309 4	$C_{38}H_{42}N_2O_6$	粉防己碱	623.30, 417.19, 416.18, 402.16, 371.18, 370.17, 206.11	-3.4
24	7.04	324.123 0	324.122 7	$C_{19}H_{17}NO_4$	二氢蝙蝠葛啡碱	324.12, 309.09, 294.07, 266.08, 238.08, 210.09	-0.9
25	8.01	208.096 8	208.095 9	$C_{11}H_{13}NO_3$	白蓬叶灵	208.09, 193.07, 165.07, 165.08, 150.06, 149.05, 122.03	-4.6
26	9.75	222.112 5	222.111 7	$C_{12}H_{15}NO_3$	<i>N</i> -methylcorydaldine	222.10, 207.08, 206.08, 192.06, 179.09, 164.58, 136.04, 150.06	-3.7
27	9.84	611.275 2	611.273 1	$C_{36}H_{38}N_2O_7$	2-去甲可替小白蓬草碱	611.27, 580.23, 568.23, 206.08, 192.10	-3.4
28	10.71	625.290 8	625.288 4	$C_{37}H_{40}N_2O_7$	5-羟基小白蓬草碱	625.28, 582.24, 227.10, 206.11, 192.10	-3.9
29	10.95	639.306 5	639.302 8	$C_{38}H_{42}N_2O_7$	唐松草西宁	639.30, 236.09, 192.10, 177.07	-5.8
30	14.71	306.076 1	306.075 7	$C_{18}H_{11}NO_4$	蝙蝠葛定碱	306.07, 291.05, 290.04, 263.05, 235.06	-1.3
31	16.30	354.133 6	354.132 6	$C_{20}H_{19}NO_5$	2,3-dihydrodauriporphine	354.13, 339.11, 311.12, 296.09, 268.09	-2.8
32	17.46	322.107 4	322.106 8	$C_{19}H_{15}NO_4$	蝙蝠葛啡碱	322.10, 306.07, 294.11, 293.10, 278.08, 250.08, 235.06, 207.06	-1.8
33	19.5	336.086 7	336.086 2	$C_{19}H_{13}NO_5$	氧化南天竹啡碱	336.08, 321.06, 290.08, 278.08, 250.04, 222.05, 262.08	-1.4
34	20.46	308.091 7	308.091 1	$C_{18}H_{13}NO_4$	去甲基蝙蝠葛啡碱	308.09, 290.08, 293.06, 292.05, 265.07, 264.06, 236.06, 235.06	-2
35	21.79	292.096 8	292.096 5	$C_{18}H_{13}NO_3$	蝙蝠葛辛碱	292.09, 277.07, 249.07, 248.07, 221.08, 220.07, 178.06, 219.06	-1
36	24.14	352.118 0	352.117 5	$C_{20}H_{17}NO_5$	蝙蝠葛宁碱	352.11, 322.07, 320.05, 308.09, 294.07, 290.08, 266.07	-1.2
37	29.39	338.102 3	338.102 6	$C_{19}H_{15}NO_5$	蝙蝠葛啡诺林碱	338.10, 323.07, 322.07, 294.07, 266.08, 293.06, 265.07, 292.06, 249.07	0.8

2.6 生物碱类化合物的鉴定 生物碱类成分是北豆根药材中的一类主要成分。本实验通过 UPLC-Q-TOF-MS/MS 数据分析,结合文献对比共识别了 37 种生物碱类化合物,其中双苄基异喹啉类 11 个、阿朴啡及氧化异阿朴啡类 12 个、单苄基异喹啉类 8 个、原小檗碱类 4 个、简单异喹啉 2 个。

2.6.1 双苄基异喹啉类化合物 蝙蝠葛碱是北豆根中主要生物碱。XIC Manager 软件中发现 $C_{38}H_{44}N_2O_6$ 在正离子模式下,与蝙蝠葛碱对照品碎片离子一致,鉴定样品中化合物 **18** 为蝙蝠葛碱,分子离子峰 m/z 625.32 $[M+H]^+$, 另外有 m/z 582.28, 419.20, 206.11, 192.10 碎片, 分别对应 $[M+H-OCH_3]^+$, $[M+H-C_{11}H_{14}NO_2]^+$, $[C_{11}H_{14}NO_2]^+$, $[C_{11}H_{14}NO_2^+-CH_2]$ 。

化合物 **20,22** 的分子离子峰 m/z 611.31 $[M+H]^+$, 通过分析确定这 2 个化合物的相对分子质量

均为 610.31, 且具有相类似的裂解规律,说明二者可能为同分异构体结构,都具有 m/z 580.26, 206.11, 192.10 碎片, 分别对应 $[M+H-OCH_3]^+$, $[C_{11}H_{14}NO_2]^+$, $[C_{12}H_{16}NO_2]^+$, 化合物 **22** 同时具有 m/z 594.28 碎片离子, 通过相关文献^[9]、化合物裂解途径和 Scifinder 数据库确定化合物 **22** 为蝙蝠葛诺林碱; 化合物 **20** 同时具有 m/z 419.20, 266.13, 177.07, 判断其是蝙蝠葛苏林碱或蝙蝠葛新诺林碱。由蝙蝠葛碱和蝙蝠葛诺林碱的裂解途径可知, $[M+H-C_{11}H_{14}NO_2]^+$, $[C_{11}H_{14}NO_2]^+$, $[M+H-C_{12}H_{16}NO_2]^+$, $[C_{12}H_{16}NO_2]^+$ 是双苄基异喹啉类化合物, 质谱见图 2, 因此鉴定化合物 **12,16,19,21,23,27,28,29** 为双苄基异喹啉类化合物; 其中化合物 **16** 为蝙蝠葛新可林碱或蝙蝠葛可林碱。

2.6.2 阿朴啡及氧化异阿朴啡类化合物 **35** 通过一级质谱 m/z 292.09 $[M+H]^+$ 分析确定化合物的

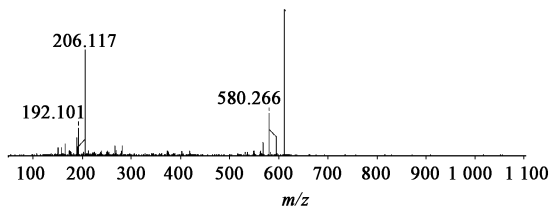


图 2 蝙蝠葛诺林碱的正离子质谱及其可能的裂解途径

Fig. 2 MS² spectra and fragmentation pathway of daurininolone

相对分子质量为 291.09。在化合物 35 的质谱图中可以观察到碎片离子 m/z 277.07, 249.07, 248.07, 221.08, 220.07, 219.06, 178.06; 分别对应 $[M + H - CH_3]^+$, $[M + H - CH_3 - CO]^+$, $[M + H - CH_3 - CO - H]^+$, $[249.07 - CO]^+$, $[248.07 - CO]^+$, $[249.07 - CH_2O]^+$, $[221.08 - CH_3 - CO]^+$; 通过相关文献[10]确定化合物 35 为蝙蝠葛辛碱; 质谱图见图 3。化合物 36 通过一级质谱 m/z 352.11 $[M + H]^+$ 分析确定化合物的相对分子质量为 351.11。在化合物 36 的质谱图中可以观察到碎片离子 m/z 322.07, 308.09, 294.07, 265.07 分别对应 $[M + H - CH_3O]^+$, $[M + H - CH_3 - CO]^+$, $[308.09 - CH_3]^+$, $[294.07 - CO - H]^+$, 其裂解规律与蝙蝠葛辛碱相似; 通过相关文献[9]确定化合物 36 为蝙蝠葛宁碱。

由蝙蝠葛辛碱及蝙蝠宁碱的裂解途径可知, 丢失甲基, 然后脱去 1 个或多个羧基是阿朴啡及氧化异阿朴啡类化合物的主要裂解途径, 因此推断化合物 8, 15, 17, 24, 30, 31, 32, 33, 34, 37 为阿朴啡及氧化异阿朴啡类化合物。

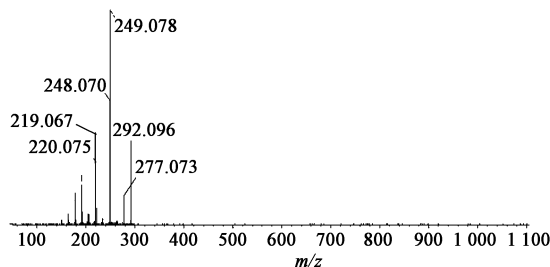


图 3 蝙蝠葛辛碱的正离子质谱及其可能的裂解途径

Fig. 3 MS² spectra and fragmentation pathway of dauricine

2.6.3 单苄基异喹啉类化合物 单苄基异喹啉类是以 1-benzylisoquinoline 为母核的衍生生物碱。化合物 2 通过一级质谱 m/z 272.1281 $[M + H]^+$ 分析确定化合物的相对分子质量为 271.13。在化合物 2 的质谱图中可以观察到碎片离子 m/z 255.10, 237.08, 209.09, 165.06, 107.04; 分别对应 $[M + H - NH_3]^+$, $[255.10 - H_2O]^+$, $[237.08 - CO]^+$, $[M +$

$H - C_7H_7O]^+$, $[C_7H_7O]^+$; 通过相关文献[11]确定化合物 2 为去甲基衡州乌药碱; 化合物 7 通过一级质谱 m/z 286.14 $[M + H]^+$ 分析确定化合物的相对分子质量为 285.14。在化合物 7 的质谱图中可以观察到碎片离子 m/z 269.11, 237.09, 209.09, 179.08, 107.04; 分别对应 $[M + H - NH_3]^+$, $[269.11 - CH_3OH]^+$, $[237.08 - CO]^+$, $[M + H - C_7H_7O]^+$, $[C_7H_7O]^+$; 通过相关文献[10]确定化合物 7 为乌药碱。质谱图见图 4。

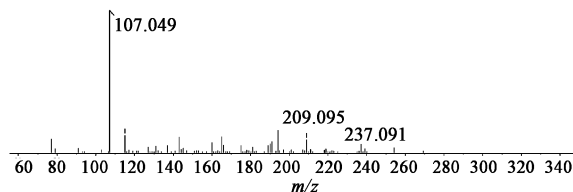


图 4 乌药碱的正离子质谱及其可能的裂解途径

Fig. 4 MS² spectra and fragmentation pathway of coclaurine

由去甲基衡州乌药碱及乌药碱的裂解途径可知, α 裂解失 NH_3 碎片, 进一步失去 H_2O 或 CH_3OH ; 失去苄基以及失去苄基得到的碎为主要裂解途径。因此推断化合物 1, 3, 4, 9, 14 为单苄基异喹啉类化合物。

2.6.4 原小檗碱类化合物 紫堇单酚碱、光千金藤定碱、齐兰西夫林和 pessoine 等为原小檗碱类生物碱。化合物 5 通过一级质谱 m/z 314.13 $[M + H]^+$ 分析确定化合物的相对分子质量为 313.13。在化合物 5 的质谱图中可以观察到碎片离子 m/z 298.10, 163.06; 分别对应 $[M - CH_3]^+$, $[178.08 - CH_3]^+$ 。通过相关文献[12]确定化合物 5 为 pessoine, 质谱图见图 5; 通过化合物 5 裂解规律, 再结合 Peakview 中的裂解碎片, 推断化合物 6, 10, 13 号和化合物 5 号是一类化合物。

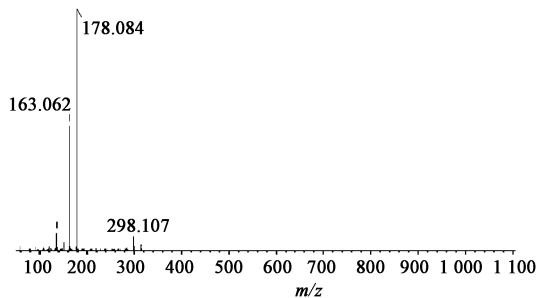


图 5 Pessoine 的正离子质谱及其可能的裂解途径

Fig. 5 MS² spectra and fragmentation pathway of pessoine

2.6.5 简单异喹啉类化合物 化合物 25, 26 的碎片离子显示为简单异喹啉生物碱特征。该类生物碱

常由于逆狄尔斯-阿德尔(RDA)裂解失去 $\text{CH}_2 = \text{N}-\text{R}$ 基团,当 R 是甲基时,得到的离子 M-43,另外常常 M-1, M-29 离子亦存在。根据裂解碎片离子 m/z 193.07, 165.08, 150.06, 149.05, 122.03 初步鉴定化合物 **25** 为 thalifoline; m/z 207.08, 206.08, 192.06, 179.09, 164.58, 136.04 初步鉴定化合物 **26** 为 *N*-methylcorydaldine。

3 讨论

3.1 LC-MS 条件的优化 考察了 Shim-Pack XR C_{18} , Welch C_{18} 和 Waters C_{18} 柱 3 种色谱柱,通过色谱峰以及分离度方面的考察,发现在 Welch C_{18} 色谱柱条件下,化合物的峰形和分离度更好,这有利于质谱的定性分析。药材的处理本实验采用了无水乙醇,甲醇,80%乙醇,考察发现甲醇作溶剂时提取效果更好。流动相考察了甲醇-水、甲醇-0.1%氨水、乙腈-水、乙腈-0.1%氨水,流动相中加入少量的碱,能有效的改善峰形及离子化效果。甲醇和乙腈的比较研究发现,用乙腈-0.1%氨水各个峰之间分离度较好,且大部分的峰集中在总离子流图的中间部位,因此选用乙腈-0.1%氨水作为流动相。

3.2 样品中化合物的分析 据有关文献[13-15]报道,北豆根中尚含有大量的挥发性化合物北豆根中还含有挥发性成分、多糖、醌类、强心苷类、内酯、皂苷、鞣质、蛋白质及树脂等化学成分,但本研究旨在研究北豆根中的生物碱类成分,对于其他类成分有待进一步研究确证。同时从样品总离子流图中也发现,有一些响应较好的色谱峰未能在已有数据库中找到,证明北豆根中还有一些未知成分,有待进一步研究开发。

本实验建立北豆根的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速分析方法,基于化合物的精确相对分子量、相关数据库和参考文献,鉴定了北豆根中 37 个化合物。为控制北豆根药材的质量、稳定其临床疗效及阐释其作用机制提供了科学依据;并且提示该方法也同样可用于其他中药及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] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:99.

[2] 朱孝芹,韩铁刚. 北豆根的研究进展[J]. 承德医学院学报,2007,24(4):418-420.

[3] 苏云明,苏慧,盛波,等. 蝙蝠葛酚性碱对实验性心肌缺血血流动力学的影响[J]. 中国药师,2004,7(2):83-85.

[4] 韩华,于晓瑾,董培良,等. 蝙蝠葛酚性碱对“血瘀”模型大鼠全血粘度及脑缺血大鼠脑血流量的影响[J]. 中医药学报,2007,35(3):12-13.

[5] 徐兵勇,富志军. 北豆根的研究概况[J]. 海峡药学,2008,20(11):1-4.

[6] 陈勇,陈怀侠. 北豆根生物碱电喷雾质谱电离规律及其特征图谱研究[J]. 分析化学,2006,34(5):675-678.

[7] 王镇辛,朱接全,曾繁典,等. 蝙蝠葛苏林碱对心肌细胞浆 Ca^{2+} 活度的影响[J]. 中国药理学报,1996,17(3):248-251.

[8] 张定堃,韩雪,李瑞煜,等. HPLC-Q-TOF-MS 分析不同产地泥附子化学成分的差异[J]. 中国中药杂志,2016,41(3):463-469.

[9] 陈勇,陈怀侠. 北豆根生物碱电喷雾质谱电离规律及其特征图谱研究[J]. 分析化学,2006,34(5):675-678.

[10] WEI J, ZHEN J, ZHI C, et al. Rapid determination of eight oxoisoaporphine alkaloids in Rhizoma Menispermum by the optimal homogenate extraction followed by UHPLC-MS/MS[J]. Anal Bioanal Chem, 2015, 407(18):5535-5540.

[11] 单锋,袁媛,康利平,等. 基于 UHPLC-ESI/Q-TOF-MS/MS 技术分析荷梗中的化学成分[J]. 中国中药杂志,2015,40(16):3233-3238.

[12] 卿志星,程辟,曾建国. 博落回中生物碱质谱裂解规律研究进展[J]. 中草药,2013,44(20):2929-2939.

[13] 郭志峰,马瑞欣,郭婷婷. 山豆根和北豆根挥发性成分的对比如分析[J]. 分析实验室,2008,27(6):93-96.

[14] ZHANG Z J, ZHANG X Q, YE W C, et al. A new 1,4-phenanthraquinone from *Memispermum dauricum* [J]. Nat Prod Res, 2004, 18(4):301-304.

[15] CAO Y, CHU Q, YE J. Chromatographic and electrophoretic methods for pharmaceutically active compounds in *Rhododendrom dauricum* [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2004, 812(1/2):231-240.

[责任编辑 顾雪竹]