

## 地榆成分在D101型大孔树脂和聚酰胺树脂上保留行为的LCMS-IT-TOF分析

吕苗凯<sup>1,2,3</sup>, 霍志鹏<sup>2,3,4</sup>, 刘元雪<sup>2,3</sup>, 田玉婷<sup>1,2,3</sup>, 王玉<sup>2,3,5</sup>, 吴春勇<sup>1\*</sup>, 何毅<sup>2,3\*</sup>

(1. 中国药科大学药学院, 南京 210009;

2. 天士力控股集团有限公司研究院现代中药开发中心, 天津 300410;

3. 天士力医药集团股份有限公司创新中药关键技术国家重点实验室, 天津 300410;

4. 天津中医药大学中药学院, 天津 301617; 5. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072)

**[摘要]** 目的: 基于柱色谱技术和液相色谱-离子阱-飞行时间质谱(LCMS-IT-TOF)技术展开地榆的物质基础研究, 分析地榆水提液中不同成分在D101型大孔树脂和聚酰胺树脂上的分布规律。方法: 通过D101型大孔树脂和聚酰胺树脂分离地榆水提液, 使用LCMS-IT-TOF检测, 使用ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), 流动相水-乙腈梯度洗脱, 流速0.3 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温30 °C, 采用电喷雾离子源(ESI), 正、负离子模式采集数据, 质谱扫描范围 $m/z$  100~1 200, 根据精确相对分子质量及质谱碎片等信息并结合文献研究, 鉴定地榆水提液的上样流出液和洗脱液中化学成分。提取各样品中质谱峰强度数据, 绘制成分在各流分中分布热图, 直观比较各成分的洗脱规律。结果: D101型大孔树脂和聚酰胺树脂的富集和分离作用明显, 鞣质类成分主要集中于大孔树脂上样流出液及其水洗脱液中, 三萜类成分主要分布在大孔树脂90%乙醇洗脱液中。在地榆水提液的流出液和洗脱液中, 共鉴定出63个化合物, 其中6-*O*-galloylnorbergerin, 3-*O*-galloylnorbergerin, 2, 6-乙酰氧基-5, 7-二羟基-8-甲氧基色原酮, 鞣花酸-4-吡喃阿拉伯糖苷或其异构体, 2-甲基-3-乙酰氧基-苯并呋喃-5, 6-*O*-硫酸酯6个成分在地榆中为首次发现。结论: 该方法能够快速准确地鉴定地榆水提液经过柱色谱分离后的成分分布, 为探索地榆药效成分及其作用机制提供了实验依据。

**[关键词]** 地榆; 水提液; 大孔树脂; 液相色谱-离子阱-飞行时间质谱(LCMS-IT-TOF); 化学成分; 分布规律; 聚酰胺树脂

[中图分类号] R22; R914; R28; C37; O657 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2020)14-0152-12

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200847

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191230.1816.002.html>

[网络出版日期] 2019-12-31 13:40

### LCMS-IT-TOF Analysis of Retention Behavior of Sanguisorbae Radix Components on D101 Macroporous Resin and Polyamide Resin

LYU Miao-kai<sup>1,2,3</sup>, HUO Zhi-peng<sup>2,3,4</sup>, LIU Yuan-xue<sup>2,3</sup>, TIAN Yu-ting<sup>1,2,3</sup>, WANG Yu<sup>2,3,5</sup>,  
WU Chun-yong<sup>1\*</sup>, HE Yi<sup>2,3\*</sup>

(1. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China;

2. Development Center of Modern Chinese Medicine, Research Institute of Tasy Holding Group

Co. Ltd., Tianjin 300410, China; 3. State Key Laboratory of Critical Technology in Innovative Chinese

Medicine, Tasy Pharmaceutical Group Co. Ltd., Tianjin 300410, China; 4. School of

Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China;

5. School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

[收稿日期] 20191030(008)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09301005)

[第一作者] 吕苗凯, 在读硕士, 从事药物分析研究, E-mail: 592602447@qq.com

[通信作者] \* 吴春勇, 副教授, 从事药物分析研究, Tel: 025-83271269, E-mail: cywu@cpiu.edu.cn;

\* 何毅, 博士, 从事中药新药开发与研究工作, Tel: 022-86343860, E-mail: heyi@tasly.com

**[Abstract]** **Objective:** To study on the material basis of Sanguisorbae Radix by column chromatography and liquid chromatography-ion trap-time-of-flight mass spectrometry (LCMS-IT-TOF), and analyze the distribution of different components in Sanguisorbae Radix water extract on D101 macroporous resin and polyamide resin. **Method:** Sanguisorbae Radix water extract was separated by D101 macroporous resin and polyamide resin, and LCMS-IT-TOF was used for detection, chromatography separation was achieved on an ACQUITY UPLC HSS T3 column (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) with the mobile phase consisted of water (A) and acetonitrile (B) for gradient elution (0-10 min, 5%-20%B; 10-18 min, 20%-35%B; 18-23 min, 35%-50%B; 23-28 min, 50%-90%B; 28-30 min, 90%B; 30-33 min, 90%-5%B; 33-35 min, 5%B), the flow rate was 0.3 mL·min<sup>-1</sup>, the column temperature was 30 °C. Data acquisition was carried out in electrospray ionization (ESI) under the positive and negative ion modes, the scanning range was *m/z* 100-1 200. According to mass spectrometry data such as accurate molecular mass and fragment information, combined with literature, different chemical components in loading effluents and ethanol eluents of Sanguisorbae Radix water extract were identified. A heat map of the distribution of components in each fraction was drawn by extracting mass spectrum peak intensity data of each sample. The elution rules of various components were compared visually. **Result:** The enrichment and separation of D101 macroporous resin and polyamide resin were obvious. Tannins in Sanguisorbae Radix water extract was mainly concentrated in loading effluent of macroporous resin and its water eluent, triterpenoids were mainly distributed in the 90% ethanol eluent of macroporous resin. In the above effluents and eluents, a total of 63 compounds (including isomers) were identified. Among them, 6 compounds, ellagic acid-4-pyranoarabinoside or its isomer, 6-*O*-galloylnorbergerin, 3-*O*-galloylnorbergerin, (6-acetyloxy-5, 7-dihydroxy-8-methoxy-4-oxochromen-2-yl) acetate, ethyl 2-methyl-5, 6-bis (sulfooxy) benzofuran-3- carboxylate were first discovered in Sanguisorbae Radix. **Conclusion:** The method can quickly and accurately identify the distribution of components in aqueous extract of Sanguisorbae Radix after column chromatography, providing experimental basis for exploring the pharmacodynamic components and mechanism of Sanguisorbae Radix.

**[Key words]** Sanguisorbae Radix; aqueous extract; macroporous resin; liquid chromatography-ion trap-time-of-flight mass spectrometry (LCMS-IT-TOF); chemical composition; distribution rules; polyamide resin

地榆无毒,归肝、大肠经,具有凉血止血、清热解毒、培清养阴、消肿敛疮等功效<sup>[1]</sup>,其主要活性成分为鞣质类和三萜类<sup>[2]</sup>。据文献报道,地榆中的鞣质有治疗烧烫伤<sup>[3]</sup>、止血<sup>[4]</sup>、抗菌<sup>[5]</sup>、防止肾间质纤维化<sup>[6]</sup>和抗肿瘤<sup>[7]</sup>等作用,三萜类成分则具有抗炎<sup>[2]</sup>、抗肿瘤<sup>[8]</sup>和免疫调节<sup>[9]</sup>等作用。地榆临床应用广泛,但成分复杂,对地榆成分的分离鉴定和结构表征对于揭示其药效物质基础十分重要,并可为其临床合理用药提供依据。

液质联用技术常用于鉴别中药中化学成分<sup>[10]</sup>。LC和IT-TOF-MS技术相结合可在有限的HPLC洗脱时间内获得丰富的定性信息,兼具离子阱的MS<sup>n</sup>能力和TOF的出色分辨率与质量准确度,适用于复杂中药成分的综合分析。许维桐等<sup>[11]</sup>通过LCMS-IT-TOF直接分析地榆水提液中的化学成分,然而,仅靠单根色谱柱的分离不足以完全分离所有成分,

仍有多个色谱峰重叠。WANG等<sup>[12]</sup>采用了离线二维色谱的分离方法,即通过AB-8型大孔树脂和LC-MS结合分析栀子的化学成分,更好地富集和分离了栀子中成分。本文借鉴这一思路,通过D101型大孔树脂和聚酰胺树脂初步分离地榆水提液,利用LCMS-IT-TOF分析柱色谱各段的流分,解析各段流分的成分组成及其相对强度。结合文献、数据库检索和MS/MS裂解规律分析,共鉴定了63个化合物,其中6个化合物在地榆中首次发现。同时,本文还分析了地榆水提液中不同成分在大孔树脂和聚酰胺柱上的分布规律,以期地为地榆药效成分的分析及其化学成分的纯化提供参考。

## 1 材料

Prominence型超快速高效液相色谱离子阱飞行时间质谱联用仪(包括LC-20AD型二元泵,SLI-20AC型自动进样器,CTO-20A型柱温箱,SPD-

M20A型二极管阵列检测器,日本岛津公司),Milli-Q系列超纯水系统(美国Millipore公司),ST16R型高速冷冻离心机(美国Thermo Fisher Scientific公司)。地榆饮片由天津天士力现代中药资源有限公司提供,批号1609021,经天士力研究院霍志鹏中级工程师鉴定为蔷薇科植物地榆 *Sanguisorba officinalis* 的干燥根;D101型大孔树脂(天津海光化工有限公司,批号160302),聚酰胺树脂(浙江台州市路桥四甲生化塑料厂,30~60目,批号050408),水为二纯水,甲酸为色谱纯,乙腈为质谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 样品的制备** 取生地榆饮片2.0 kg,分别加8,6倍量水回流提取2次,每次1 h,滤过,合并滤液,得0.071 g·mL<sup>-1</sup>地榆水提液。称取D101型大孔树脂1.5 kg,加95%乙醇浸泡过夜,弃去悬浮物,水洗至无醇味,湿法装柱。湿法上样地榆水提液,收集上样流出液,并加1 BV(1 BV=2.5 L)水洗,收集水洗脱液,将两者合并备用(记为a)。之后依次加20%乙醇(第1,2 BV分别记为b<sub>1</sub>,b<sub>2</sub>),40%乙醇(第1,2 BV记为c<sub>1</sub>,c<sub>2</sub>)和90%乙醇(第1,2 BV分别记为d<sub>1</sub>,d<sub>2</sub>)2 BV洗脱,分段收集洗脱液。另取聚酰胺吸附树脂1.0 kg,用95%乙醇浸泡过夜,弃去悬浮物,水洗至无醇味,湿法装柱。湿法上样溶液a,收集聚酰胺树脂上样流出液(记为e),之后依次加10%乙醇(第1,2 BV分别记为f<sub>1</sub>,f<sub>2</sub>),40%乙醇(第1,2 BV分别记为g<sub>1</sub>,g<sub>2</sub>)和90%乙醇(第1,2 BV分别记为h<sub>1</sub>,h<sub>2</sub>)2 BV洗脱,得不同体积分数乙醇的聚酰胺树脂洗脱液。

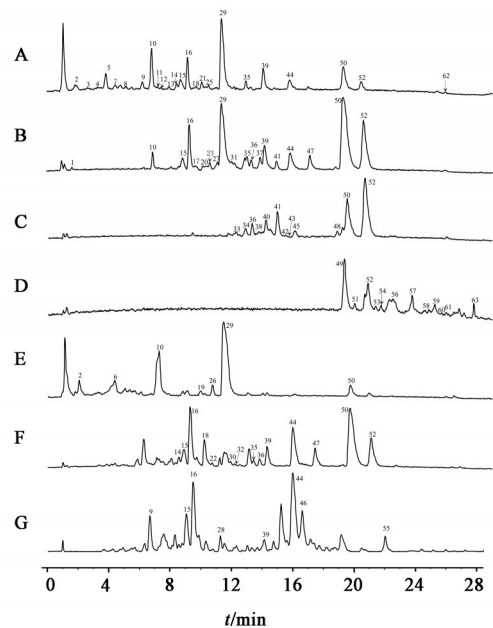
精密吸取溶液a~d各1 mL,分别置于10 mL量瓶中,加50%甲醇定容至刻度,摇匀,离心处理(转速12 000 r·min<sup>-1</sup>,时间10 min,下同),经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,得相应供试品溶液。精密吸取溶液e~h各5 mL,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,取上清液,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,得对应供试品溶液。

**2.2 色谱条件** ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm),流动相水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~10 min, 5%~20%B; 10~18 min, 20%~35%B; 18~23 min, 35%~50%B; 23~28 min, 50%~90%B; 28~30 min, 90%B; 30~33 min, 90%~5%B; 33~35 min, 5%B),柱温选择30 °C,流速设定0.3 mL·min<sup>-1</sup>,进样量5 μL。

**2.3 质谱条件** 采用电喷雾离子源(ESI),正、负

离子模式分别扫描,正离子模式下喷雾电压设定4.5 kV,负离子模式下喷雾电压-3.5 kV。一级、二级离子扫描范围均为m/z 100~1 200,采用三氟乙酸钠作为校正液,校正偏差<2 ppm。雾化气为氮气,流速1.5 mL·min<sup>-1</sup>。碰撞诱导解离(CID)能量50%。曲型脱溶剂管(CDL)温度200 °C。离子累积时间30 ms。检测器电压1.60 kV。

**2.4 成分鉴定** 部分供试品溶液的总离子流图见图1。结果发现不同总离子流图之间差异明显,表明D101型大孔树脂和聚酰胺树脂具有良好的富集和分离效果。



A. 溶液 a(ESI<sup>-</sup>); B. 溶液 b<sub>2</sub>(ESI<sup>-</sup>); C. 溶液 c<sub>2</sub>(ESI<sup>-</sup>); D. 溶液 d<sub>2</sub>(ESI<sup>-</sup>); E. 溶液 e(ESI<sup>-</sup>); F. 溶液 g<sub>1</sub>(ESI<sup>-</sup>); G. 溶液 g<sub>2</sub>(ESI<sup>+</sup>)

图1 地榆水提液上样流出液和洗脱液的部分总离子流

Fig. 1 Partial total ion current diagrams of loading effluents and eluents of *Sanguisorbae Radix* aqueous extract

根据精确相对分子质量、二级质谱碎片和在线数据库等,从各流分的质谱数据中共鉴定出63个化学成分,包括45个鞣质类成分,11个三萜类成分和7个单萜类成分,见表1<sup>[11,13-27]</sup>。通过与前期直接分析地榆样品比较,结果鉴定出了12个前期未检测到的成分,包括3-氧代-12,19(20)-二烯-28-乌苏酸,羽扇烷-15α,19β-二羟基-3,11-二酮-12-烯-28-酸,香茅醇-1-O-α-L-吡喃阿拉伯糖基-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷,3-氧代-12-烯-28-乌苏酸或其异构体,3,11-二酮-19α-羟基-乌苏-12-烯-28-酸和6个地榆中首次发现的化合物6-O-galloylnorbergerin,3-O-galloylnorbergerin,2,6-乙酰氧基-5,7-二羟基-8-甲

氧基色原酮,鞣花酸-4-吡喃阿拉伯糖苷或其异构体,2-甲基-3-乙酰氧基-苯并呋喃-5,6-O-硫酸酯。

表1 地榆水提液上样流出液和洗脱液中的化合物分析

Table 1 Identification of components in loading effluents and eluents of Sanguisorbae Radix aqueous extract

化合物	$t_R$ /min	化合物	分子式	$m/z$ [M-H] <sup>-</sup> 或[M+HCOO] <sup>-</sup>			负离子 MS <sup>2</sup>	$m/z$ [M+H] <sup>+</sup> 或[M+Na] <sup>+</sup>			正离子 MS <sup>2</sup>
				实测值	理论值	$\delta$ /ppm		实测值	理论值	$\delta$ /ppm	
1	1.62	一没食子酸糖苷 <sup>[13]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	331.066 2	331.067 1	-2.7	169 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	355.062 7	355.063 6	-2.5	-
2	1.97	一没食子酸糖苷 <sup>[13]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	331.066 2	331.067 1	-2.7	169 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	355.062 7	355.063 6	-2.5	-
3	2.63	一没食子酸糖苷 <sup>[13]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	331.066 2	331.067 1	-2.7	169 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	355.062 7	355.063 6	-2.5	-
4	3.31	一没食子酸糖苷 <sup>[13]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	331.066 2	331.067 1	-2.7	169 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	355.062 7	355.063 6	-2.5	-
5	3.86	一没食子酸糖苷 <sup>[13]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	331.066 2	331.067 1	-2.7	169 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	355.062 7	355.063 6	-2.5	-
6	4.14	没食子酸 <sup>[14]</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	169.014 9	169.014 2	4.1	339 [2M-H] <sup>-</sup>	171.028 5	171.028 8	-1.8	-
7	4.48	一没食子酸糖苷 <sup>[13]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	331.066 2	331.067 1	-2.7	169 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	355.062 7	355.063 6	-2.5	-
8	5.57	一没食子酰基-甲基葡萄糖苷 <sup>[15]</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	345.081 8	345.082 7	-2.6	169 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	369.079 5	369.079 2	0.8	315 [M+H-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 171 [M+H-C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>
9	6.63	没食子儿茶素 <sup>[16]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	305.066 0	305.066 7	-2.3	611 [2M-H] <sup>-</sup>	307.079 7	307.081 2	-4.9	-
10	6.93	一没食子酰基-甲基葡萄糖苷 <sup>[15]</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	345.081 8	345.082 7	-2.6	169 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	369.079 5	369.079 2	0.8	315 [M+H-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 171 [M+H-C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>
11	7.21	表儿茶素-(4→8)-没食子儿茶素 <sup>[11]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	593.129 1	593.130 1	-1.7	565 [M-H-CO] <sup>-</sup>	595.142 1	595.144 6	-4.2	551 [M+H-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
12	7.45	sanguin H4或其异构体 <sup>[17]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>18</sub>	633.072 0	633.073 3	-2.1	301 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	-	-	-	-
13	7.96	sanguin H4或其异构体 <sup>[17]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>18</sub>	633.072 0	633.073 3	-2.1	301 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	-	-	-	-
14	8.47	表没食子儿茶素 <sup>[16]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	305.066 0	305.066 7	-2.3	611 [2M-H] <sup>-</sup>	307.079 7	307.081 2	-4.9	-
15	9.01	原花青素 B <sub>3</sub> <sup>[18]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	577.134 3	577.135 2	-1.6	425 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup> , 407 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	579.152 4	579.149 7	4.7	427 [M+H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , 409 [M+H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>
16	9.41	儿茶素 <sup>[13]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	289.070 4	289.071 8	-4.8	579 [2M-H] <sup>-</sup> , 271 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 245 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	291.085 4	291.086 3	-3.1	273 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 165 [M+H-H <sub>2</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 147 [M+H-2H <sub>2</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
17	9.51	三没食子酰葡萄糖苷 <sup>[13]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>24</sub> O <sub>18</sub>	635.091 3	635.089 0	3.6	483 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup> , 335 [M-H-C <sub>14</sub> H <sub>4</sub> O <sub>8</sub> ] <sup>-</sup> , 289 [M-H-C <sub>14</sub> H <sub>4</sub> O <sub>8</sub> -CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	-	-	-	-
18	9.72	短叶苏木酚酸或其异构体 <sup>[19]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> O <sub>8</sub>	291.013 5	291.014 6	-3.8	247 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 203 [M-H-2CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	293.030 1	293.029 2	3.1	273 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 165 [M+H-H <sub>2</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
19	9.96	sanguin H4或其异构体 <sup>[17]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>18</sub>	633.072 0	633.073 3	-2.1	301 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	-	-	-	-
20	10.01	三没食子酰葡萄糖苷 <sup>[13]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>24</sub> O <sub>18</sub>	635.091 3	635.089 0	3.6	483 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup> , 335 [M-H-C <sub>14</sub> H <sub>4</sub> O <sub>8</sub> ] <sup>-</sup> , 289 [M-H-C <sub>14</sub> H <sub>4</sub> O <sub>8</sub> -CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	-	-	-	-
21	10.22	二没食子酰基-D-甲基吡喃葡萄糖苷 <sup>[15]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>14</sub>	497.093 0	497.093 7	-1.4	345 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>	-	-	-	-

续表1

化合物	$t_R$ /min	化合物	分子式	$m/z$ [M-H] <sup>-</sup> 或[M+HCOO] <sup>-</sup>			负离子 MS <sup>2</sup>	$m/z$ [M+H] <sup>+</sup> 或[M+Na] <sup>+</sup>			正离子 MS <sup>2</sup>
				实测值	理论值	$\delta$ /ppm		实测值	理论值	$\delta$ /ppm	
22	10.39	6-O-galloylnorberberin <sup>1)</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>13</sub>	465.063 2	465.067 5	5.0	-	467.080 9	467.082 0	-2.4	315 [M+H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
23	10.43	原花青素 C <sub>2</sub>	C <sub>45</sub> H <sub>38</sub> O <sub>18</sub>	-	-	-	-	867.213 6	867.213 1	0.6	-
24	10.49	短叶苏木酚酸或其异构体 <sup>19)</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> O <sub>8</sub>	291.013 5	291.014 6	-3.8	247 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 203 [M-H-2CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	293.030 1	293.029 2	3.1	273 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 165 [M+H-H <sub>2</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
25	10.56	2,6-乙酰氧基-5,7-二羟基-8-甲氧基色原酮 <sup>1)</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>9</sub>	323.042 2	323.040 9	4.0	-	325.056 7	325.055 4	4.0	293 [M+H-OH-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>
26	10.64	二没食子酰基-D-甲基吡喃葡萄糖苷 <sup>15)</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>14</sub>	497.093 0	497.093 7	-1.4	345 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>	-	-	-	-
27	10.92	表儿茶素 <sup>13)</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	289.070 4	289.071 8	-4.8	271 [M-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 245 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	291.085 4	291.086 3	-3.1	273 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 165 [M+H-H <sub>2</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 147 [M+H-2H <sub>2</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
28	11.05	没食子酰鞣花酸 <sup>11)</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>10</sub> O <sub>13</sub>	469.003 4	469.004 9	-3.2	301 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	471.020 1	471.019 4	1.5	-
29	11.39	甲氧基没食子酸甲酯-5-O-硫酸酯 <sup>11)</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> SO <sub>8</sub>	277.001 2	277.002 4	-4.3	197 [M-H-SO <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	279.017 2	279.016 9	1.1	199 [M+H-SO <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>
30	11.62	三没食子酰葡萄糖苷 <sup>13)</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>24</sub> O <sub>18</sub>	635.091 3	635.089 0	3.6	483 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup> , 335 [M-H-C <sub>14</sub> H <sub>4</sub> O <sub>8</sub> ] <sup>-</sup> , 289 [M-H-C <sub>14</sub> H <sub>4</sub> O <sub>8</sub> -CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	-	-	-	-
31	11.69	3-O-galloylnorberberin <sup>1)</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>13</sub>	465.063 2	465.067 5	5.0	-	467.080 9	467.082 0	-2.4	315 [M+H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
32	11.84	非瑟酮醇-(4 $\beta$ -8)-儿茶素 <sup>20)</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>11</sub>	561.138 9	561.140 2	-2.3	289 [M-H-C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	563.152 1	563.154 8	-4.8	-
33	12.03	3-O-没食子酰基-原花青素 B <sub>3</sub> <sup>18)</sup>	C <sub>37</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	729.146 9	729.146 1	1.1	577 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup> , 407 [M-H-2C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	731.161 9	731.160 7	1.6	-
34	12.59	非瑟酮醇-(4 $\alpha$ -8)-儿茶素 <sup>20)</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>11</sub>	561.138 9	561.140 2	-2.3	289 [M-H-C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	563.152 1	563.154 8	-4.8	-
35	12.99	鞣花酸-4-吡喃阿拉伯糖苷或其异构体 <sup>1)</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> O <sub>12</sub>	433.040 5	433.041 3	-1.9	419 [M-H-CH <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	435.056 7	435.055 8	2.1	303 [M+H-C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
36	13.28	鞣花酸-4-吡喃阿拉伯糖苷或其异构体 <sup>1)</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> O <sub>12</sub>	433.040 5	433.041 3	-1.9	419 [M-H-CH <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	435.056 7	435.055 8	2.1	303 [M+H-C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
37	13.61	儿茶素没食子酸酯 <sup>18)</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	441.083 4	441.082 7	1.6	289 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>	-	-	-	-
38	13.64	3,4-O-二甲基苯甲酸甲酯-5-O-硫酸酯 <sup>11)</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>8</sub> S	291.019 6	291.018 0	5.5	212 [M-H-SO <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 196 [M-H-SO <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	-	-	-	-
39	14.05	鞣花酸 <sup>13)</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub>	300.998 1	300.999 0	-3.0	283 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	303.014 6	303.013 6	3.3	-
40	14.17	儿茶素没食子酸酯 <sup>18)</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	441.083 4	441.082 7	1.6	289 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>	-	-	-	-

续表1

化合物	$t_R$ /min	化合物	分子式	$m/z$ [M-H] <sup>-</sup> 或[M+HCOO] <sup>-</sup>			负离子 MS <sup>2</sup>	$m/z$ [M+H] <sup>+</sup> 或[M+Na] <sup>+</sup>			正离子 MS <sup>2</sup>
				实测值	理论值	$\delta$ /ppm		实测值	理论值	$\delta$ /ppm	
41	14.65	儿茶素没食子酸酯 <sup>[18]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	441.083 4	441.082 7	1.6	289 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>	-	-	-	-
42	14.99	二没食子酰葡萄糖苷或其异构体 <sup>[13]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>14</sub>	483.077 2	483.078 0	-1.7	271 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>5</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	-	-	-	-
43	15.63	二没食子酰葡萄糖苷或其异构体 <sup>[13]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>14</sub>	483.077 2	483.078 0	-1.7	271 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>5</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	-	-	-	-
44	15.78	二没食子酰葡萄糖苷或其异构体 <sup>[13]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>14</sub>	483.077 2	483.078 0	-1.7	271 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>5</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	-	-	-	-
45	15.95	2-甲基-3-乙酰氧基-苯并咪唑-5,6-O-硫酸酯 <sup>1)</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> O <sub>11</sub> S <sub>2</sub>	394.973 4	394.974 8	-3.5	315 [M-H-SO <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 300 [M-H-SO <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	396.987 4	396.989 4	-5.0	-
46	16.45	3-氧代-12,19(20)-二烯-28-乌苏酸 <sup>[21]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>3</sub>	-	-	-	-	453.336 4	453.336 3	0.2	-
47	17.33	3,3'-O-二甲基鞣花酸-硫酸酯 <sup>[22]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>11</sub> S	408.989 0	408.987 1	4.7	329 [M-H-SO <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 314 [M-H-SO <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 299 [M-H-SO <sub>3</sub> -2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	411.002 5	411.001 7	2.0	331 [M+H-SO <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 316 [M+H-SO <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 301 [M+H-SO <sub>3</sub> -2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>
48	18.60	3,4'-O-二甲基鞣花酸-4-O-β-D-木糖苷 <sup>[22]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	461.073 6	461.072 6	2.2	329 [M-H-C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>	463.088 1	463.087 1	2.2	-
49	19.02	香叶醇-1-O-α-L-吡喃阿拉伯糖基-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷 <sup>[23]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>36</sub> O <sub>10</sub>	493.227 6	493.229 1	-3.0	-	471.218 7	471.220 1	-3.0	-
50	19.34	3,4'-O-二甲基鞣花酸-4-O-硫酸酯 <sup>[14]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>11</sub> S	408.989 0	408.987 1	4.7	329 [M-H-SO <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 314 [M-H-SO <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 299 [M-H-SO <sub>3</sub> -2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	411.002 5	411.001 7	2.0	331 [M+H-SO <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 316 [M+H-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 301 [M+H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>
51	19.71	香茅醇-1-O-α-L-吡喃阿拉伯糖基-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷 <sup>[23]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> O <sub>10</sub>	495.243 1	495.244 7	-3.2	-	473.237 8	473.235 7	4.4	-
52	20.92	3,3',4'-O-三甲基鞣花酸-4-O-硫酸酯 <sup>[24]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>11</sub> S	423.000 8	423.002 8	-4.7	343 [M-H-SO <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 328 [M-H-SO <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 313 [M-H-SO <sub>3</sub> -2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	425.018 3	425.017 3	2.4	-
53	20.94	2α,3,19-三羟基乌苏-12-烯-28-酸-β-D-吡喃葡萄糖基酯或其异构体 <sup>[25]</sup>	C <sub>36</sub> H <sub>58</sub> O <sub>10</sub>	695.400 7	695.401 2	-0.7	649 [M-H-2CH <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 487 [M-H-2CH <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	-	-	-	-
54	21.27	2α,3,19-三羟基乌苏-12-烯-28-酸-β-D-吡喃葡萄糖基酯或其异构体 <sup>[25]</sup>	C <sub>36</sub> H <sub>58</sub> O <sub>10</sub>	695.400 7	695.401 2	-0.7	649 [M-H-2CH <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 487 [M-H-2CH <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup>	-	-	-	-
55	21.96	3-氧代-12-烯-28-乌苏酸或其异构体 <sup>[21]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	453.337 3	453.337 4	-0.2	-	455.350 0	455.352 0	-4.4	437 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 409 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 391 [M+H-2H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>

续表1

化合物	$t_R$ /min	化合物	分子式	$m/z$ [M-H] <sup>-</sup> 或[M+HCOO] <sup>-</sup>			负离子 MS <sup>2</sup>	$m/z$ [M+H] <sup>+</sup> 或[M+Na] <sup>+</sup>			正离子 MS <sup>2</sup>
				实测值	理论值	$\delta$ /ppm		实测值	理论值	$\delta$ /ppm	
56	22.00	地榆皂苷 I <sup>[26]</sup>	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>13</sub>	811.449 8	811.448 5	1.6	603 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> -CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 585 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> -CO-2H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	-	-	-	-
57	23.25	3,3',4'-O-三甲基鞣花酸 <sup>[24]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>8</sub>	343.044 3	343.045 9	-4.7	328 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 313 [M-H-2CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	345.060 4	345.060 5	-0.3	-
58	24.17	羽扇烷-15 $\alpha$ ,19 $\beta$ -二羟基-3,11-二酮-12-烯-28-酸 <sup>[27]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>6</sub>	499.306 6	499.306 5	0.2	-	-	-	-	-
59	24.64	地榆皂苷 III <sup>[22]</sup>	C <sub>36</sub> H <sub>58</sub> O <sub>9</sub>	679.407 4	679.406 3	1.6	633 [M-H] <sup>-</sup> , 471 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup> , 453 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	-	-	-	-
60	25.14	坡模醇酸 <sup>[26]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	471.348 5	471.348 0	1.1	-	473.360 2	473.362 5	-4.9	455 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 437 [M+H-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>
61	25.27	3-氧代-12-烯-28-乌苏酸或其异构体 <sup>[21]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	453.337 3	453.337 4	-0.2	-	455.350 0	455.352 0	-4.4	437 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 409 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , 391 [M+H-2H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>
62	26.01	地榆皂苷 II <sup>[26]</sup>	C <sub>35</sub> H <sub>56</sub> O <sub>8</sub>	603.388 3	603.390 2	-3.2	585 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	-	-	-	-
63	27.21	3,11-二酮-19 $\alpha$ -羟基-乌苏-12-烯-28-酸 <sup>[26]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>5</sub>	483.310 1	483.311 6	-3.1	421 [M-H-H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	485.324 3	485.326 2	-3.9	439 [M+H-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 331 [M+H-C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>

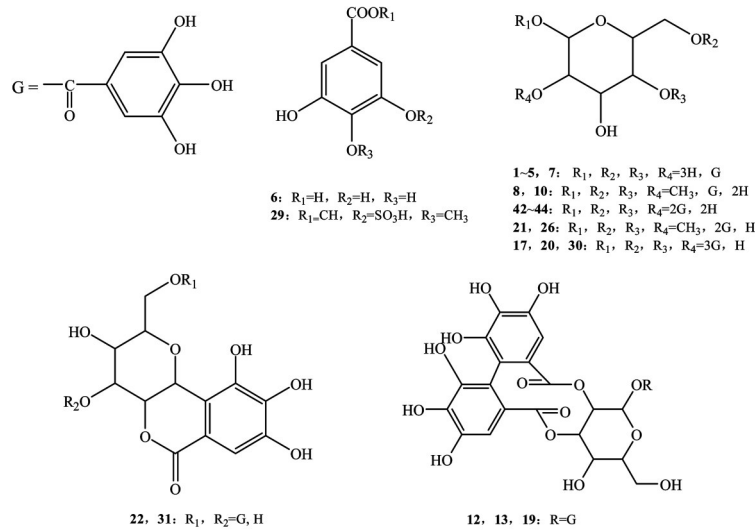
注: <sup>1)</sup>表示该化合物在地榆中首次发现。

**2.4.1 鞣质类化合物** 地榆中含有大量鞣质类化合物。鞣质的结构复杂,且常以同分异构体的混合物形式存在。地榆中的鞣质可以分为没食子酸类、鞣花酸类和儿茶素类等。没食子酸及其衍生物是地榆鞣质的主要成分,共检测到23个,其结构式见图2。经D101型大孔树脂和聚酰胺树脂富集分离后,出现2个地榆水提液直接液相分离未获得的化合物**22**和**31**,二者在地榆中首次发现,且互为同分异构体。在负离子模式下,化合物**22**和**31**在一级质谱中准分子离子峰均为465.063 2 [M-H]<sup>-</sup>;正离子模式下,两者准分子离子峰均为 $m/z$  467.080 9 [M+H]<sup>+</sup>,丢失一分子没食子酰基后产生的碎片离子 $m/z$  315 [M+H-C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>,结合二级碎片信息,鉴定化合物**22**和**31**分别为6-O-galloylnorbergerin和3-O-galloylnorbergerin。

鞣花酸类化合物结构式见图3,共检测到9个,其中化合物**35**和**36**为地榆中首次发现的痕量成分。两者在正、负离子模式下均有响应。在负离子模式下准分子离子峰均为 $m/z$  433.040 5 [M-H]<sup>-</sup>,

碎片离子 $m/z$  419 [M-H-CH<sub>2</sub>]<sup>-</sup>,在正离子模式下准分子离子均为 $m/z$  435.056 7 [M+H]<sup>+</sup>,丢失一分子吡喃阿拉伯糖后产生鞣花酸的碎片离子 $m/z$  303 [M+H-C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>,根据二级碎片信息,推断为鞣花酸-4-吡喃阿拉伯糖苷或其异构体。参考本课题组前期研究<sup>[11]</sup>,共鉴定出13个儿茶素类化合物(含同分异构体),包括没食子儿茶素(**9**),表儿茶素-(4→8)-没食子儿茶素(**11**),表没食子儿茶素(**14**),原花青素B<sub>3</sub>(**15**),儿茶素(**16**),原花青素C<sub>2</sub>(**23**),表儿茶素(**27**),儿茶素没食子酸酯(**37, 40, 41**),非瑟酮醇-(4 $\beta$ -8)-儿茶素(**32**),3-O-没食子酰基-原花青素B<sub>3</sub>(**33**)和非瑟酮醇-(4 $\alpha$ -8)-儿茶素(**34**)。

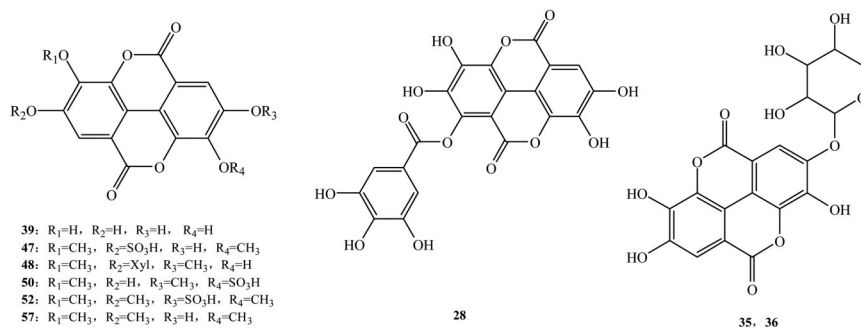
**2.4.2 三萜类化合物** 地榆中三萜类成分主要为乌苏酸衍生物及地榆皂苷,共鉴定出11个三萜类成分,其结构式见图4。其中,相较于地榆水提液直接解析,化合物**46, 55, 58, 61**和**63**为新解得的地榆三萜类成分。化合物**55**和**61**的准分子离子峰为 $m/z$  455.350 0 [M+H]<sup>+</sup>,结合碎片离子 $m/z$  437 [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, $m/z$  409 [M+H-H<sub>2</sub>O-CO]<sup>+</sup>和 $m/z$  391 [M+H-



G. 没食子酰基

图2 地榆中没食子酸鞣质类化合物的结构式

Fig. 2 Structural formulae of gallic acid tannin compounds in Sanguisorbae Radix



Xyl. 木糖苷

图3 地榆中鞣花酸类化合物的结构式

Fig. 3 Structural formulae of ellagic acids in Sanguisorbae Radix

$2H_2O-CO]^+$ 鉴定二者为3-氧代-12-烯-28-乌苏酸或其异构体<sup>[21]</sup>。化合物46的准分子离子峰为  $m/z$  453.3364  $[M+H]^+$ ,结合碎片离子信息推断为3-氧代-12,19(20)-二烯-28-乌苏酸<sup>[21]</sup>。化合物58仅在负离子模式下响应,准分子离子为  $m/z$  499.3066  $[M-H]^-$ ,结合文献<sup>[27]</sup>推断为羽扇烷-15 $\alpha$ ,19 $\beta$ -二羟基-3,11-二酮-12-烯-28-酸。化合物63在正、负离子模式下均有响应,准分子离子为  $m/z$  485.3243  $[M+H]^+$ 和  $m/z$  483.3101  $[M-H]^-$ ,根据文献<sup>[26]</sup>数据和二级碎片信息推断为3,11-二酮-19 $\alpha$ -羟基-乌苏-12-烯-28-酸。

**2.4.3 其他** 地榆中其他化合物结构见图5,共检测到7个。化合物25和45在正、负离子模式下均有响应,是地榆中首次发现的化合物。化合物25在正离子模式下的准分子离子峰为  $m/z$  325.0567  $[M+H]^+$ ,结合碎片离子  $m/z$  293  $[M+H-OH-CH_3]^+$ 推断

为2,6-乙酰氧基-5,7-二羟基-8-甲氧基色原酮。化合物45的准分子离子峰为  $m/z$  396.9874  $[M+H]^+$ ,  $m/z$  394.9734  $[M-H]^-$ ,丢失一分子硫酸基后产生碎片离子  $m/z$  315  $[M-H-SO_3]^-$ ,再脱去一分子甲基后产生碎片离子  $m/z$  300  $[M-H-SO_3-CH_3]^-$ ,根据二级碎片信息推断为2-甲基-3-乙酰氧基-苯并呋喃-5,6-O-硫酸酯。化合物51和化合物49的结构相似,属于单萜类,前者正、负离子模式下的准分子离子分别为  $m/z$  473.2378  $[M+Na]^+$ 和  $m/z$  495.2431  $[M+HCOO]^-$ ,结合文献<sup>[23]</sup>推断为香茅醇-1-O- $\alpha$ -L-吡喃阿拉伯糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷。

**2.5 成分分布** 根据地榆中各个成分在不同上样流出液和洗脱液中的峰强度,将每种成分的最大峰强度设定为1,分别归一化处理大孔树脂和聚酰胺树脂各流分中地榆成分的峰强度,得地榆成分峰强度的归一化热图,见图6。根据峰强度高,用黑色

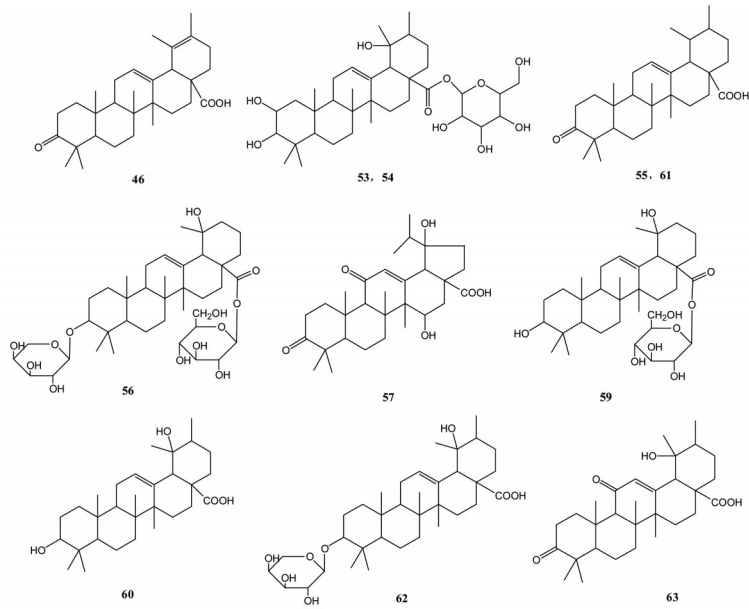


图4 地榆中三萜类化合物的结构式

Fig. 4 Structural formulae of triterpenoids in *Sanguisorbae Radix*

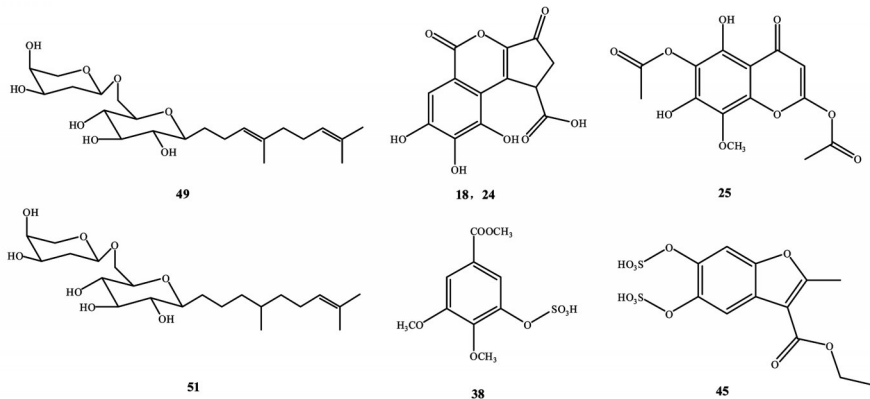


图5 地榆中其他化合物的结构式

Fig. 5 Structural formulae of other compounds in *Sanguisorbae Radix*

表示峰强度为0的化合物,由绿到红,颜色越深代表这一成分在该流分中的含量越高,从中可以更加直观地探讨地榆成分在D101型大孔树脂和聚酰胺树脂上的保留行为。由图6可知,采用柱色谱结合LCMS-IT-TOF分析地榆中化学成分的效果显著,D101型大孔树脂和聚酰胺树脂起到了良好的富集和分离作用,地榆水提液中各类成分富集于流出液和乙醇洗脱液中,其中鞣质主要集中于大孔树脂上样流出液及其水洗脱液(溶液a),三萜类成分主要分布于大孔树脂90%乙醇洗脱液(溶液 $d_1$ 和 $d_2$ )。

**2.5.1 鞣质类** 地榆水提液中鞣质成分众多,鞣质又可细分成没食子酸类、鞣花酸类、儿茶素类等,其在不同流出液和洗脱液中含量也有所不同,但总体上随着乙醇体积分数的升高,洗脱液中所含化合

物逐渐减少,90%乙醇洗脱液(溶液 $d_1$ 和 $d_2$ )中仅含有少量极性较小的鞣花酸-硫酸酯。一没食子酸糖苷和一没食子酰基-甲基葡萄糖苷含有1个糖,极性较大,不易被D101型大孔吸附树脂和聚酰胺吸附树脂吸附,仅在上样流出液及水洗脱液(溶液a和e)中检测到;检测到儿茶素类化合物在大孔树脂20%乙醇洗脱液(溶液 $b_1$ 和 $b_2$ )中居多;而鞣花酸类化合物普遍存在于各流出液和洗脱液中。因此,如果要分离总鞣质,任一流出液或洗脱液都不能涵盖所有鞣质成分,可直接从地榆饮片中进行提取分离<sup>[28]</sup>。

原花青素是地榆中的重要活性成分,具有抗菌和抗肿瘤等药理活性<sup>[29]</sup>,可通过分离纯化进一步研究其药理作用。由图6可知,可选取溶液 $b_2$ 分离地榆鞣质中的原花青素,即采用乙酸乙酯溶剂萃取后

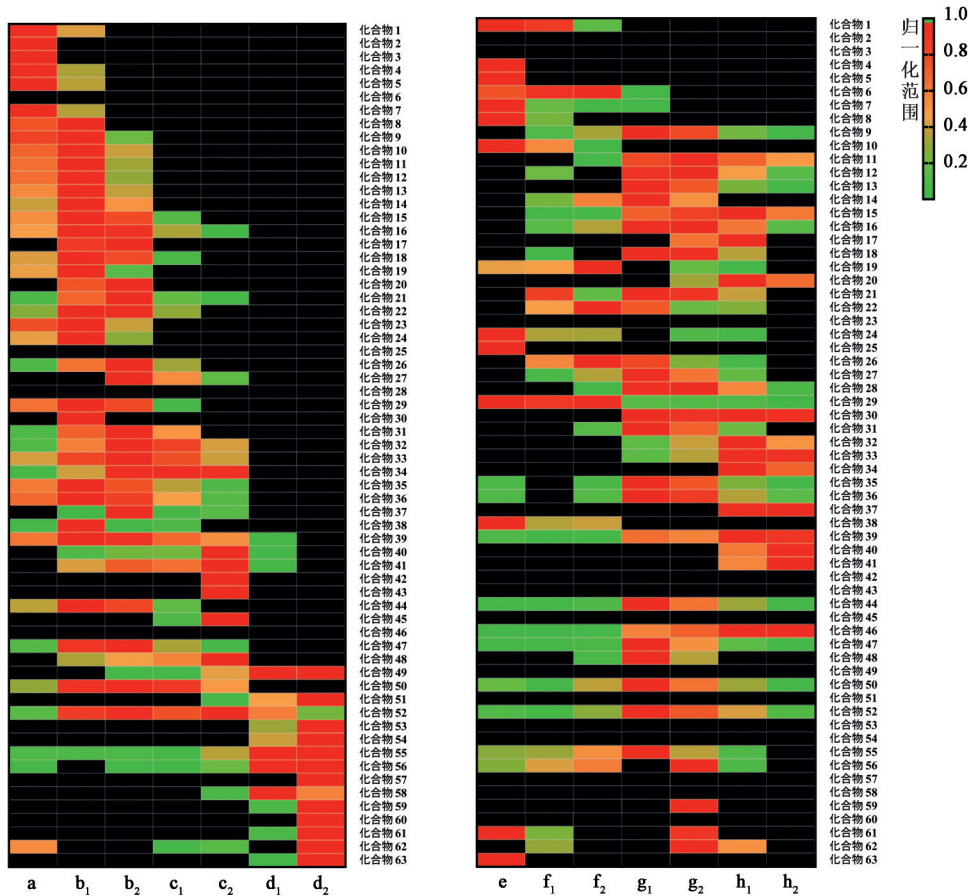


图6 地榆各成分在不同流出液和乙醇洗脱液中峰强度的归一化热分析

Fig. 6 Normalized heat map of peak intensities of components from Sanguisorbae Radix aqueous extract in different loading effluents and ethanol eluents

通过三氯甲烷或者石油醚沉淀<sup>[30]</sup>。地榆鞣质中的硫酸酯类成分水溶性较好,具有类药性,可进一步分离研究,比如3,3',4'-O-三甲基鞣花酸-4-O-硫酸酯可直接取适量溶液c<sub>2</sub>通过制备液相的方法进行分离。

**2.5.2 三萜类** 三萜类成分极性较小,根据相似相溶原理,易被高有机相洗脱。由图6可知,该类成分主要集中在大孔树脂90%乙醇洗脱液中。地榆三萜类成分中地榆皂苷I和地榆皂苷II有一定的药理活性<sup>[31]</sup>,而地榆皂苷II目前已有售卖,大孔树脂90%乙醇洗脱液中地榆皂苷I的峰强度最高,可选该洗脱液调至合适的pH后减压浓缩至干获得<sup>[32]</sup>。

### 3 讨论

综上所述,地榆水提液中各活性成分均可在D101型大孔树脂和聚酰胺树脂富集和分离的基础上,选取含量较高的上样流出液或洗脱液,通过萃取、色谱、制备液相等方法进行分离制备,分离出活

性单体后,可进一步开展针对性的药效学研究,为地榆更安全可靠地应用于临床提供依据。

目前,地榆丰富的药理活性与潜在的临床价值获得了学者们的广泛关注,目前已有许多针对地榆成分的研究,但报道中多通过单一的分析方法,如LC-MS质谱解析,核磁共振分析等。而单一的分析方法常常不足以检测复杂样品的所有成分。本研究采用了二维色谱的分离方法,通过D101型大孔树脂和聚酰胺树脂柱色谱分离纯化样品并配合使用LCMS-IT-TOF,可更全面地鉴定、表征地榆的化学成分。通过使用D101型大孔树脂和聚酰胺树脂的预分离富集痕量成分并改善峰强度。根据精准分子质量及碎片信息等质谱数据,结合文献和数据库,共鉴定出63个化合物(含同分异构体),包括45个鞣质类成分,11个三萜类成分和7个单萜烯醇苷,其中2,6-乙酰氧基-5,7-二羟基-8-甲氧基色原酮,6-O-galloylnorbergerin,3-O-galloylnorbergerin,鞣花酸-4-吡喃阿拉伯糖苷或其异构体,2-甲基-3-乙

酰氧基-苯并呋喃-5,6-*O*-硫酸酯6个化合物在地榆中首次发现。该方法富集化作用明显,可显著提高微量组分的峰强度,能够快速准确地表征地榆水提液经过柱色谱后的成分分布,为探明地榆化学成分在D101型大孔树脂和聚酰胺树脂上的保留行为、研究地榆的药理学和临床药学提供了更加丰富的化学物质基础信息,并可为地榆分离纯化工艺的选择提供指导,但本研究并未分离活性单体展开药效活性的研究,地榆药效成分及其作用机制的明确还需要进一步的挖掘。这种二维色谱的分离方法也适用于其他中药材的富集、分离和成分解析,可为中药复杂组物质基础研究提供新思路。

[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,2015:126-127.

[2] 代良敏,熊永爱,范奎,等. 地榆化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(20):189-195.

[3] 王宝树,蒋永丰,林凤珠,等. 复方地榆酊治疗烧烫伤368例[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(6):241-243.

[4] 俞浩,毛斌斌,刘汉珍. 炒炭对地榆中鞣质量及止血效果的影响[J]. 中成药,2014,36(6):1317-1320.

[5] 周本宏,松长青,姜姍,等. 地榆鞣质提取物的抗菌活性及对金黄色葡萄球菌的抑菌机制研究[J]. 中国药师,2016,19(3):464-469.

[6] 易慧兰,周本宏,涂杰,等. 地榆鞣质提取物对TGF- $\beta_1$ 诱导人肾小管上皮细胞增殖的影响[J]. 中国药师,2015,18(10):1668-1670.

[7] 贾亮亮,奚炜,金桂兰. 地榆升白片对环磷酰胺致小鼠骨髓抑制的拮抗作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(18):251-254.

[8] 王振龙,何霞,成明,等. 地榆皂苷II抑制肿瘤细胞增殖和诱导其凋亡的作用[J]. 华西药学杂志,2017,32(5):485-488.

[9] 余茜. 地榆及其提取物免疫调节功能和机制研究[D]. 开封:河南大学,2015.

[10] YAMINI Y, REZAEI M, KHANCHI A, et al. Dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating organic drop followed by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry as a fast technique for the simultaneous determination of heavy metals[J]. J Chromatogr A, 2016,1217(16):2358-2364.

[11] 许维桐,霍志鹏,雷磊,等. HPLC-IT-TOF/MS分析地榆水煎液的化学成分群[J]. 中草药,2018,49(6):

1277-1288.

[12] WANG L, LIU S, ZHANG X J, et al. A strategy for identification and structural characterization of compounds from *Gardenia jasminoides* by integrating macroporous resin column chromatography and liquid chromatography-tandem mass spectrometry combined with ion-mobility spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2016,1452:47-57.

[13] 刘海英. 地榆多酚的组分分析及功能研究[D]. 西安:陕西师范大学,2009.

[14] 张帆. 地榆总提取物的串联质谱分析[C]//中国质谱学会有机质谱专业委员会. 中国有机质谱学第十三届全国学术大会论文集:2005年卷. 珠海:《分析测试学报》编辑部,2005:92-93.

[15] TANAKA T, NONAKA G, NISHIOKA I. Tannins and related compounds. XVI. Isolation and characterization of six methyl glucoside gallates and a gallic acid glucoside gallate from *Sanguisorba officinalis* L. [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1984,32(1):117-121.

[16] 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,2016,27(12):1651-1654.

[17] NONAKA G I, TANAKA T, NISHIOKA I. Tannins and related compounds. Part 3. A new phenolic acid, sanguisorbic acid dilactone, and three new ellagitannins, sanguins H-1, H-2, and H-3, from *Sanguisorba officinalis*[J]. J Chem Soc Perk T1,1982, doi:10.1039/p19820001067.

[18] TANAKA T, NONAKA G I, NISHIOKA I. 7-*O*-Galloyl-(+)-catechin and 3-*O*-galloylprocyanidin B-3 from *Sanguisorba officinalis* [J]. Phytochemistry, 1983,22(11):2575-2578.

[19] FISCHER U A, CARLE R, KAMMERER D R. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MS<sup>n</sup>[J]. Food Chem, 2011,127(2):807-821.

[20] ZHANG S, LIU X, ZHANG Z L, et al. Isolation and identification of the phenolic compounds from the roots of *Sanguisorba officinalis* L. and their antioxidant activities[J]. Molecules, 2012,17(12):13917-13922.

[21] 王寒,原忠. 地榆中三萜类成分的研究[J]. 中国药物化学杂志,2009,19(1):52-54,62.

[22] 张帆. 两种乌头及地榆的化学成分研究[D]. 成都:中国科学院成都有机化学研究所,2005.

[23] 张子龙. 地榆中单萜苷类成分的研究[D]. 长春:吉

- 林大学, 2013.
- [24] 秦国伟, 陈梅玉, 徐任生. 地榆化学成分的研究[J]. 中草药, 1991, 22(11): 483-485, 527.
- [25] 杨桂燕, 熊永爱, 何宜航, 等. 地榆中化学成分及其促M-NFS-60细胞增殖活性的研究[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(6): 2123-2128.
- [26] CHENG D L, CAO X P. Pomolic acid derivatives from the root of *Sanguisorba officinalis* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(4): 1317-1320.
- [27] XU Y X, XIANG Z B, JIN Y S, et al. Two new triterpenoids from the roots of *Actinidia chinensis* [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(7): 920-924.
- [28] 周本宏, 松长青, 姜姗, 等. 地榆鞣质提取物的抗菌活性及对金黄色葡萄球菌的抑菌机制研究[J]. 中国药师, 2016, 19(3): 464-469.
- [29] 丁辉煌. 地榆中原花青素的提取、分离及其体外抗氧化活性研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2008.
- [30] KOUPAIABYAZANI M R, MCCALLUM J, MUIR A D, et al. Developmental changes in the composition of proanthocyanidins from leaves of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) as determined by HPLC analysis [J]. *J Agric Food Chem*, 1993, 41(7): 613-621.
- [31] 周梦颖, 黄小方, 王玉玮, 等. UPLC-MS/MS分析地榆皂苷II在大鼠体内的药代动力学[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(21): 86-90.
- [32] 熊永爱, 邹娅, 张德华, 等. 地榆皂苷I基于自噬升高白细胞作用研究[J]. 中草药, 2018, 49(14): 3350-3356.

[责任编辑 刘德文]