

· 化学与分析 ·

狗脊毛甲醇提取物 UPLC/Q-TOF-MS 分析

徐钢, 孙娜, 赵敏杰, 林桂梅, 高慧, 贾天柱*

(辽宁中医药大学药学院, 国家中医药管理局中药炮制重点研究室,
辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600)

[摘要] **目的:**探索狗脊毛化学成分组成及其外用止血的物质基础。**方法:**采用超声、索氏、回流3种方式对狗脊毛进行甲醇提取,通过UPLC/Q-TOF-MS对各提取物进行定性分析,流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~5 min, 5%~55% A; 5~7 min, 55%~85% A; 7~15 min, 85%~100% A; 15~20 min, 100% A),检测波长254 nm, m/z 扫描范围100~1 000,脱溶剂气温度350 °C,脱溶剂气体积流量9 L·min⁻¹,喷雾器压力2.4×10⁵ Pa,毛细管电压4 000 V。**结果:**3种方式共检出化合物50个,给出了其中38个化合物的推荐分子式和名称。编号32~39共8个化合物为一类三酰基甘油类同系物。**结论:**狗脊毛中化合物包括植物油类(三酰基甘油)、有机酸类、有机酸酯类、生物碱类、黄酮类、多酚类、糖苷类等,相对分子质量集中于200~800,三酰基甘油可能为主要药效成分。

[关键词] 狗脊毛; 甲醇提取物; 三酰基甘油; 超高效液相-四级杆-飞行时间串联质谱; 定性分析

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0046-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014070046

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000009.html>

[网络出版时间] 2014-01-20 16:06

Analysis of Chemical Composition in Methanol Extract of Yellow Hairs from Rhizome of Cibotii Rhizoma by UPLC/Q-TOF-MS

XU Gang, SUN Na, ZHAO Min-jie, LIN Gui-mei, GAO Hui, JIA Tian-zhu*

(School of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Chinese Materia Medica Processing, State Administration of Traditional Chinese Medicine of the People's Republic of China, Liaoning Engineering Research Center of Chinese Materia Medica Processing, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To explore chemical composition in yellow hairs of rhizome of Cibotii Rhizoma and its material basis for topical hemostatic effect. **Method:** Chemical composition in yellow hairs of rhizome of Cibotii Rhizoma was extracted by ultrasound, Soxhlet's extractor and reflux methanol extraction technologies, each extract was determined by UPLC/Q-TOF-MS for qualitative analysis, mobile phase of acetonitrile (A) -water (B) gradient elution (0-5 min, 5% -55% A; 5-7 min, 55% -85% A; 7-15 min, 85% -100% A; 15-20 min, 100% A), detection wavelength was 254 nm, scanning range of m/z from 100 to 1 000, desolvation gas temperature at 350 °C, volume flow of desolvation gas was 9 L·min⁻¹, spray pressure was 2.4×10⁵ Pa, capillary voltage was 4 000 V. **Result:** A total of 50 compounds were checked out by these three methods, 38 compounds out of them were recommended for molecular formula and name. Eight compounds of Number 32-39 should be a series of triacylglycerols homologues. **Conclusion:** Relative molecular weight was concentrated within 200-800, including vegetable oils (triacylglycerols), organic acids, organic acid esters, alkaloids, flavonoids, polyphenols,

[收稿日期] 20130719(007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30973938)

[第一作者] 徐钢,在读硕士,从事中药炮制工艺与原理研究,Tel:0411-87586116,E-mail:526423695@163.com

[通讯作者] *贾天柱,硕士,教授,博士生导师,从事中药炮制原理研究,Tel:0411-87586499,E-mail:jiazh@126.com

glycosides and so on, triacylglycerols of which may be the main ingredient in yellow hairs of rhizome of *Cibotii Rhizoma*.

[Key words] yellow hairs of rhizome of *Cibotii Rhizoma*; methanol extract; triacylglycerols; UPLC/Q-TOF-MS; qualitative analysis

狗脊始载于《神农本草经》,列为草部中品,具有祛风湿、补肝肾、强腰膝的功效,常用于治疗风湿痹痛、腰膝酸软、下肢无力等症^[1]。历代本草记载狗脊净制方法主要为去毛,以防伤肺^[2]并便于制剂和服用。据报道狗脊毛对外伤性出血具有明显止血效果,作用较明胶海绵迅速,且能被组织逐渐吸收消化^[3],但因其松泡,且无化学研究基础,使之应用受限。前期红外光谱检测发现狗脊毛与狗脊比较,相关系数仅约 0.7,二者差异较大。不仅峰形不同,且相同位移处的峰,其峰强比亦有较大差别^[4],提示狗脊毛的成分更为复杂。本实验通过超声、索氏、回流 3 种方式对狗脊毛进行甲醇提取,采用 UPLC/Q-TOF-MS 对提取物进行定性分析,探索狗脊毛化学成分组成及外用止血的物质基础。

1 材料

1290 型 UPLC-6520/Q-TOF-MS 液质联用仪(美国安捷伦公司),FW-100 微型高速万能试样粉碎机(北京市永光明医疗仪器厂),ZDHW 型调温电热套(北京市永光明医疗仪器厂),FA2204B 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司)。10 混批生品狗脊饮片购自安徽省亳州市安东药业,经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定为蚌壳蕨科植物金毛狗脊 *Cibotium barometz* (L.) J. Sm. 的干燥根茎;乙腈为色谱纯,甲醇为色谱纯或分析纯,水为纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 净制 取 10 批量生狗脊饮片,用小刀刮取其茸毛,收集该狗脊毛备用。

2.2 粉碎 取狗脊毛进行粉碎,由于狗脊毛质地极为轻薄,故无法进行过筛处理,小心收集狗脊毛粉末备用。

2.3 样品的制备^[5]

2.3.1 超声提取 取狗脊毛粉末 1.00 g,置于 250 mL 圆底烧瓶中,加入甲醇 100 mL,超声处理 1 h,静置放冷,滤过,浓缩,记为样品 A 备用。

2.3.2 索氏提取 取狗脊毛粉末 1.00 g,置于 250 mL 索氏提取器中,加入甲醇 100 mL,索氏提取 8 h,静置放冷,滤过,浓缩,记为样品 B 备用。

2.3.3 回流提取 取狗脊毛粉末 1.00 g,置于

250 mL 圆底烧瓶中,加入甲醇 100 mL,加热回流 1 h,静置放冷,滤过,浓缩,记为样品 C 备用。

2.4 UPLC/Q-TOF-MS 检测

2.4.1 色谱条件 Zorbax Eclipse plus C₁₈ 色谱柱(3.0 mm × 150 mm 1.8 μm, P. N. 959759-302),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~5 min,5%~55% A;5~7 min,55%~85% A;7~15 min,85%~100% A;15~20 min,100% A),进样量 1 μL,检测波长 254 nm,柱温 50 °C,流速 0.5 mL·min⁻¹。

2.4.2 质谱条件 采用 ESI 离子源,正离子检测,*m/z* 扫描范围 100~1 000,脱溶剂气温度 350 °C,脱溶剂气体积流量 9 L·min⁻¹,喷雾器压力 2.4 × 10⁵ Pa,毛细管电压 4 000 V。

2.5 精密度试验 精密吸取样品 A 溶液 1 μL,按 2.4 项下方法连续进样 6 次,结果各主要色谱峰保留时间的 RSD 均 < 0.3%,峰面积的 RSD 均 < 3.0%,表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 称取狗脊毛粉末 1.00 g,共 18 份,按 2.3 项下方法制备各样品 6 份,精密吸取样品 A,B,C 溶液各 1 μL,按 2.4 项下方法检测,结果各主要色谱峰保留时间的 RSD 均 < 0.3%,峰面积的 RSD 均 < 3.0%,表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 精密吸取样品 A,B,C 溶液各 1 μL,分别于 0,1,2,4,12,24 h 按 2.4 项下方法检测,结果各主要色谱峰保留时间的 RSD 均 < 0.3%,峰面积的 RSD 均 < 3.0%,表明样品溶液在 24 h 内较稳定。

2.8 样品测定 精密吸取样品 A,B,C 溶液各 1 μL,按 2.4 项下色谱条件测定,试验结果均采用仪器自带工作站进行分析解谱,给出精确相对分子质量,根据最新 MassBank^[6-7] 在线液质数据库进行归属,结果 3 种方式提取液中共检出化合物 50 个,给出了其中 38 个化合物的推荐分子式和名称,见表 1~4。其中编号 32~39 共 8 个化合物的保留时间、相对分子质量均呈现规律变化,见图 1,结果显示各提取色谱图均呈现单一峰,保留时间差值在 0.113~0.210,相对分子质量差值 44.025 2 ± 0.000 5,编号 34,35,37 归属为三酰基甘油类化合物,综合分析推测这些化合物为一类三酰基甘油类同系物。

表 1 狗脊毛甲醇超声提取物分析

No.	t_R/min	选择离子	测定值/ $m \cdot z^{-1}$	理论值/ $m \cdot z^{-1}$	偏差/ppm	分子式	化合物
1	1.218	$[M+H]^+$	267.978	268.074	-357.0	$C_{16}H_{12}O_4$	芒柄花黄素
2	1.461	$[M]^+$	363.062	363.067	12.9	$C_{14}H_{13}F_4N_3O_2S$	氟噻草胺
3	1.881	$[M]^+$	322.144	322.241	-302.3	$C_{22}H_{30}N_2$	安搏律定
4	2.026	$[M+H]^+$	369.164	369.158	17.1	$C_{21}H_{23}NO_5$	别隐品碱
5	2.511	$[M+H]^+$	327.133	327.147	-42.2	$C_{19}H_{21}NO_4$	波尔丁
6	3.415	$[M+H]^+$	162.035	162.053	-107.4	$C_6H_{10}O_5$	苹果酸酯
7	3.770	$[M+H]^+$	515.199	515.292	-180.3	$C_{26}H_{45}NO_7S$	牛磺胆酸
8	4.355	-	678.501	-	-	-	-
9	4.465	$[M]^+$	792.584	792.721	-172.9	$C_{50}H_{96}O_6$	三酰基甘油
10	4.610	-	904.665	-	-	-	-
11	6.322	$[M]^+$	200.197	200.195	4.5	$C_{12}H_{24}O_2$	月桂酸
12	7.775	$[M]^+$	228.227	228.163	284.0	$C_{15}H_2ON_2$	吲达品
13	8.389	$[M]^+$	304.307	304.194	372.5	$C_{21}H_{24}N_2$	奎核氮卓
14	9.245	$[M]^+$	332.340	332.158	548.2	$C_{14}H_{24}N_2O_7$	奇放线菌素
15	10.763	$[M]^+$	360.359	360.355	1.4	$C_{21}H_{28}O_5$	可的松
16	12.346	$[M]^+$	784.567	784.461	134.6	$C_{41}H_{68}O_{14}$	黄芪苷 IV
17	14.284	$[M+H]^+$	390.278	390.278	0.5	$C_{23}H_{34}O_5$	异羟基洋地黄毒苷元

表 2 狗脊毛甲醇索式提取物分析

No.	t_R/min	选择离子	测定值/ $m \cdot z^{-1}$	理论值/ $m \cdot z^{-1}$	偏差/ppm	分子式	化合物
18	1.246	$[M]^+$	268.977	269.118	-524.3	$C_{14}H_{20}ClNO_2$	乙草胺
19	1.941	$[M+H]^+$	206.081	206.058	112.6	$C_{11}H_{10}O_4$	二甲基秦皮乙素
5	2.764	$[M+H]^+$	327.132	327.147	-46.8	$C_{19}H_{21}NO_4$	波尔丁
20	3.103	$[M]^+$	325.084	325.078	18.5	$C_{18}H_{13}ClFN_3$	咪达唑仑
21	3.362	$[M]^+$	283.169	283.133	124.0	$C_{15}H_{22}ClNO_2$	甲氧毒草安
22	3.556	$[M+H]^+$	343.221	343.215	18.1	$C_{21}H_{29}NO_5$	羟基布托啡诺
23	3.701	$[M+H]^+$	387.247	387.151	248.0	$C_{21}H_{23}ClFN_3O$	氟胺安定
24	3.846	$[M+H]^+$	431.274	-	-	-	-
25	3.975	$[M+H]^+$	475.299	475.196	215.3	$C_{24}H_{33}N_3O_3S_2$	安乐嗉
26	4.089	-	519.323	-	-	-	-
27	4.185	$[M+H]^+$	563.348	563.259	158.0	$C_{26}H_{45}NO_8S_2$	牛磺胆酸硫酸酯
28	4.282	$[M]^+$	608.373	608.273	163.4	$C_{33}H_{40}N_2O_9$	利血平
29	7.141	$[M]^+$	272.252	272.235	63.2	$C_{16}H_{32}O_3$	16-OH-十六碳酸
12	7.545	$[M]^+$	228.227	228.163	281.4	$C_{15}H_{20}N_2$	吲达品
30	7.803	$[M]^+$	228.227	228.227	1.8	$C_{14}H_{12}O_3$	白藜芦醇
31	8.449	$[M+H]^+$	303.306	303.256	164.5	$C_{20}H_{33}NO$	葑丙吗啉
32	16.669	-	967.684	-	-	-	-
33	16.782	-	922.659	-	-	-	-
34	16.895	$[M+H]^+$	878.633	878.736	-117.2	$C_{57}H_{98}O_6$	三酰基甘油
35	17.024	$[M+H]^+$	834.608	834.768	-190.8	$C_{53}H_{102}O_6$	三酰基甘油
36	17.170	-	790.583	-	-	-	-
37	17.315	$[M+H]^+$	746.558	746.642	-113.2	$C_{47}H_{86}O_6$	三酰基甘油
38	17.477	-	702.532	-	-	-	-
39	17.687	-	658.507	-	-	-	-

表 3 狗脊毛甲醇回流提取物分析

No.	t_R /min	选择离子	测定值/ $m \cdot z^{-1}$	理论值/ $m \cdot z^{-1}$	偏差/ppm	分子式	化合物
18	1.232	$[M]^+$	268.977	269.118	-524.3	$C_{14}H_{20}ClNO_2$	乙草胺
40	1.894	$[M]^+$	322.143	322.105	117.7	$C_{16}H_{18}O_7$	8- β -羟基氧络孢霉菌素
4	2.056	$[M+H]^+$	369.163	369.158	14.9	$C_{21}H_{23}NO_5$	别隐品碱
41	2.557	$[M+H]^+$	119.078	119.058	166.3	$C_4H_9NO_3$	同丝氨酸
42	2.670	$[M+H]^+$	327.133	327.147	-44.3	$C_{19}H_{21}NO_4$	6-乙酰吗啡
20	3.025	$[M]^+$	325.085	325.078	21.8	$C_{18}H_{13}ClFN_3$	咪达唑仑
43	3.606	-	531.193	-	-	-	-
7	3.945	$[M+H]^+$	515.198	515.292	-180.3	$C_{26}H_{45}NO_7S$	牛磺胆酸
9	4.575	$[M]^+$	792.582	792.721	-175.1	$C_{50}H_{96}O_6$	三酰基甘油
44	4.737	$[M+H]^+$	464.109	464.096	29.3	$C_{21}H_{20}O_{12}$	樱草苷
11	6.320	$[M]^+$	200.196	200.195	4.5	$C_{12}H_{24}O_2$	月桂酸
45	7.757	$[M+H]^+$	505.207	505.225	-34.4	$C_{25}H_{35}N_3O_6S$	安泼那韦
13	8.419	$[M]^+$	304.308	304.191	383.0	$C_{21}H_{24}N_2$	奎核氮卓
46	8.823	-	497.370	-	-	-	-
47	9.905	$[M+H]^+$	331.338	331.133	619.7	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	环丙沙星
48	10.782	$[M+H]^+$	359.358	359.165	537.4	$C_{19}H_{22}FN_3O_3$	恩氟沙星
16	12.327	$[M]^+$	784.566	784.461	134.2	$C_{41}H_{68}O_{14}$	黄芪苷 IV
17	14.298	$[M+H]^+$	390.277	390.241	92.5	$C_{23}H_{34}O_5$	异羟基洋地黄毒苷元
49	15.912	$[M]^+$	513.402	513.259	278.6	$C_{26}H_{35}N_5O_6$	脑啡肽
50	17.204	-	763.502	-	-	-	-

表 4 狗脊毛 3 种甲醇提取物中共有化合物分析

No.	t_R /min	分子式	化合物	超声	索氏	回流
1	1.2	$C_{14}H_{20}ClNO_2$	乙草胺	-	√	√
2	2.0	$C_{21}H_{23}NO_5$	别隐品碱	√	-	√
3	2.6	$C_{19}H_{21}NO_4$	波尔丁	√	√	-
4	3.1	$C_{18}H_{13}ClFN_3$	咪达唑仑	-	√	√
5	3.8	$C_{26}H_{45}NO_7S$	牛磺胆酸	√	-	√
6	4.5	$C_{50}H_{96}O_6$	三酰基甘油	√	-	√
7	6.3	$C_{12}H_{24}O_2$	月桂酸	√	-	√
8	7.6	$C_{15}H_{20}N_2$	吲达品	√	√	-
9	8.4	$C_{21}H_{24}N_2$	奎核氮卓	√	-	√
10	12.3	$C_{41}H_{68}O_{14}$	黄芪苷 IV	√	-	√
11	14.2	$C_{23}H_{34}O_5$	异羟基洋地黄毒苷元	√	-	√

注：“-”表示未检测到，“√”表示检测到。

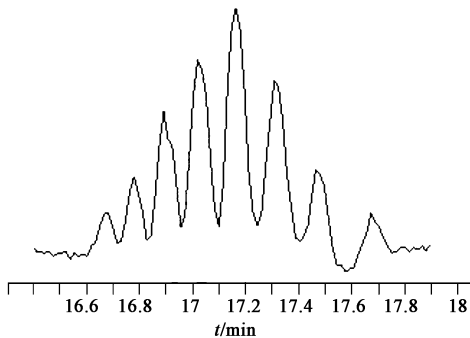


图 1 狗脊毛提取物中化合物 32~39 (从左至右)的 UPLC

3 讨论

UPLC/Q-TOF-MS 分析定性能力很强,具有高分离度、高速度、高灵敏度、精确相对分子质量等特点^[8-10],尤其适用于中药多组分、复杂成分的分离和定性鉴别。索氏提取法常用于粗脂肪含量的测定,脂肪广泛存在于植物种子和果实中,而植物茸毛中报道较少。三酰基甘油类化合物属于植物油脂类,对人的皮肤具有较好渗透性,易于被人体吸收,本文索氏提取物中检出较多,这些化合物相对分子质量不同,推测为不同有机酸与甘油形成的混合甘油酯,

香樟不同部位脂溶性成分的 GC-MS 分析

徐晶^{1,2}, 张在龙^{1*}, 王兵², 俞骏岚³, 刘海利³, 郭跃伟³

(1. 中国石油大学理学院, 山东青岛 266580; 2. 潍坊生物医药创新创业服务中心, 山东潍坊 261205;
3. 中国科学院上海药物研究所新药研究国家重点实验室, 上海 201203)

[摘要] 目的: 分析比较香樟树枝、树叶、树皮中脂溶性成分。方法: 将香樟树枝、树叶、树皮3个不同部位分别用甲醇渗漉提取后再用石油醚萃取, 采用GC-MS法分析和鉴定其脂溶性成分, 并用峰面积归一化法计算各成分相对百分含量。结果: 从香樟树枝中共分离鉴定出10种化学成分, 主要为植醇(49.64%)、 α -松油醇(7.86%)、橙花叔醇(7.50%); 从香樟树叶中共分离鉴定出13种化学成分, 主要为植醇(62.37%)、橙花叔醇(10.98%); 从香樟树皮中共分离鉴定出19种化学成分, 主要为 α -松油醇(13.45%)、植醇(8.10%)、棕榈酸(7.75%)、丁香酚(6.82%)、(Z,Z,Z)-9,12,15-十八三烯酸甲酯(5.90%)、棕榈酸甲酯(5.41%)。结论: 为进一步探讨香樟不同部位的药理作用及合理开发利用该植物资源提供一定的科学依据。

[关键词] 香樟; 石油醚; 脂溶性成分; 气相色谱质谱联用

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0050-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014070050

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000025.html>

[网络出版时间] 2014-01-21 9:29

GC-MS Analysis of Liposoluble Content from Branch, Leaf and Bark of *Cinnamomum camphora*

XU Jing^{1,2}, ZHANG Zai-long^{1*}, WANG Bing², YU Jun-lan³, LIU Hai-li³, GUO Yue-wei³

[收稿日期] 20131011(015)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(21021063, 81273430, 31070310); 重点实验室(SIMM1203ZZ-03)

[通讯作者] * 张在龙, 教授, 博士生导师, 从事化学研究, Tel: 15153217311, E-mail: zzlyrs@upc.edu.cn

可能是狗脊毛中主要成分。另外, 抗生素类化合物亦检出较多, 其对体外伤口有一定治疗作用。由表4可知, 超声与回流提取方法中共有化合物检出较多, 提示二者提取效能较为相近; 而索式提取法在3种方法中检出的化合物最多, 说明该方法提取效率高。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 208.
- [2] 徐钢, 鞠成国, 于海涛, 等. 中药狗脊炮制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 238.
- [3] 王本祥. 现代中药药理与临床[M]. 天津: 天津科技翻译出版公司, 2004: 955.
- [4] 李军. 中药狗脊炮制原理研究[D]. 大连: 辽宁中医药大学药学院, 2001.
- [5] 李洁玉, 沈力, 周浓, 等. 回流提取川楝子中川楝素工艺的优化[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(8): 4518.
- [6] 蓬莱尚幸, 二瓶義人, 西岡孝明. 質量分析スペクトルデータベースMassBankにおけるSOAP APIサービ

スの開発[J]. J Comput Aided Chem, 2011(12): 11.

- [7] Hisayuki H, Masanori A, Shigehiko K, et al. MassBank: a public repository for sharing mass spectral data for life sciences[J]. J Mass Spectrom, 2010, 45(7): 703.
- [8] Wu H X, Yang C Y, Wang Z H, et al. Metabolism profile of quinocetone in swine by ultra-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 2012, 37(2): 141.
- [9] Aznar M, Rodriguez-Lafuente A, Alfaro P, et al. UPLC-Q-TOF-MS analysis of non-volatile migrants from new active packaging materials[J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 404(6/7): 1945.
- [10] Wong M C Y, Warren T K L, Wong J S Y, et al. An approach towards method development for untargeted urinary metabolite profiling in metabolomic research using UPLC/QToF MS[J]. J Chromatogr B, 2008, 871(2): 341.

[责任编辑 全燕]