

· 论著 ·

牡丹皮化学成分的 HPLC-QTOFMS 分析

赵文军¹, 林 阳¹, 李鹏飞², 刘 洋² (1. 沈阳军区联勤部药品仪器检验所, 辽宁 沈阳 110026; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

[摘要] 目的 通过高效液相-单重四级杆-飞行时间质谱(HPLC-QTOFMS)联用技术,对中药牡丹皮的主要化学成分进行有效的鉴定。方法 色谱分离采用 CAPCELL PAK C₁₈(3.0 mm × 100 mm, 3 μm) 流动相组成分别为 0.1% 甲酸水溶液和乙腈,梯度洗脱,流速为 0.5 ml/min;质谱定性采用飞行时间质谱,正负离子模式扫描。结果 在优化的液质联用条件下,通过单重四级杆-飞行时间质谱鉴定牡丹皮中 48 个成分。结论 通过 HPLC-QTOFMS 联用技术,为鉴定牡丹皮中的化学成分建立起了一种快速、高效的分析方法。

[关键词] 牡丹皮;超高效液相-单重四级杆-飞行时间质谱;化学成分

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2014)04-0261-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2014.04.006

Analysis of chemical constituents of Moutan cortex by HPLC-QTOFMS

ZHAO Wenjun¹, LIN Yang¹, LI Pengfei², LIU Yang² (1. Institute for Drug and Instrument Control Shenyang Military Region, Shenyang 110026, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the main chemical constituents of Moutan cortex by high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (HPLC-QTOFMS). **Methods** A CAPCELL PAK C₁₈ (3.0 mm × 100 mm, 3 μm) column was used to do chromatographic separation. 0.1% aqueous formic acid solution and acetonitrile were used as mobile phase composition. Gradient elution was used with a flow rate of 0.5 ml/min; QTOFMS was applied for qualitative analysis under positive and negative ion mode. **Results** 48 major constituents of Moutan cortex were identified by QTOFMS and structure-relevant fragment ions under the optimized condition. **Conclusion** A simple and reliable method with the usage of HPLC-QTOFMS was established to identify the main chemical constituents of Moutan cortex.

[Key words] Moutan cortex; HPLC-QTOFMS; chemical constituents

牡丹皮(Moutan cortex)为临床常用中药,系毛茛科芍药属植物牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andr)的干燥根皮,在我国主产于安徽、山东、四川、陕西等地^[1]。牡丹皮资源丰富,具有显著抗炎^[2]、抗糖尿病^[3]、保护缺血组织^[4]、抗肿瘤^[5]的等药理活性,因而具有良好的开发前景。

中外学者研究发现牡丹皮的主要化学成分为没食子酸、芍药苷衍生物、没食子酰糖苷等^[6-8]。对牡丹皮中化学成分分析已有文献报道^[9,10],以采用传统的植物化学的方法进行分离提取居多。液相色谱与飞行时间质谱联用(HPLC-QTOFMS)对于中药复杂体系中化学成分分析和鉴定非常有效。其灵敏度高,可以在短时间获得化合物的准确分子质量,通过比对已建立的已知化学成分数据库,能对被测成分进行快速分析鉴别。因此,相比于传统的中药分析手段,在线联用技术具有显著的优越性^[11]。本研究采用 HPLC-

QTOFMS 技术对牡丹皮中多成分进行了鉴别,该法操作简便、快速、准确,对阐明牡丹皮药效的物质基础、质量控制、开发现代中药新药等具有重要意义。

1 仪器与试剂

安捷伦-1200 液相色谱系统,包括在线脱气机、二元泵、高性能自动进样器、柱温箱;安捷伦-6530 高分辨四级杆-飞行时间质谱仪,配有标准电喷雾离子源(ESI) Masshunter 工作站和 Analyst Qualitative Analysis 质谱分析软件;KUDOS SK2200H 型超声器(上海科导超声仪器公司);METTLER AE240 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);DJ-04 型药材粉碎机(上海淀久公司);高速离心机(美国 Abbott 公司)。

HPLC 级乙腈(德国 Merck 公司);HPLC 级甲酸(美国 Tedia 公司);无水乙醇为分析纯(中国医药集团上海化学试剂公司);水为娃哈哈纯净水。丹皮酚、芍药苷和没食子酸对照品(纯度 > 98%,中国药品生物制品检定所)。牡丹皮药材(上海德康大药

房,产地安徽,批号:100622)。

2 方法

2.1 色谱及质谱条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱 SHISEIDO CAPCELL PAK C_{18} (3.0 × 100 mm, 3 μm); 流动相: 0.1% 甲酸水溶液(A相)-乙腈(B相) 梯度洗脱: 0~3 min, 5% B; 3~15 min, 5%~20% B; 15~25 min, 20%~27% B; 25~34 min, 27%~46% B; 34~40 min, 46%~95% B; 柱温: 25℃; 进样量: 2 μl; 流速: 0.5 ml/min; 进样前以流动相梯度初始条件平衡 10 min。

2.1.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI), 分别在正、负离子模式下检测: 采用三通分流阀, 柱后分流比为 1:1, 使大约 1/2 体积的液相洗脱液进入质谱检测。具体参数如下: 毛细管电压正离子模式 4 000 V, 负离子模式 3 500 V, 雾化气压力 35 psi, 干燥气流速 10 L/min, 干燥气温度 350℃, 碎片电压 150 V; 质量数扫描范围 m/z 100~1 200。每次测定样品之前, 采用混标调谐液(turning mixture) 校准质量轴, 以保证质量精度误差 < 5 ppm。

2.2 供试品溶液的制备 取牡丹皮药材适量, 粉碎后过 40 目筛, 称取牡丹皮药材 0.5 g, 置 100 ml 锥形瓶中, 加 80% 乙醇 50 ml, 超声处理 30 min(超声功率为 400 W, 频率 60 kHz), 冷却后补足失重。取 5 ml 醇提液, 10 800 r/min 离心 5 min, 取上清, 再用微孔滤膜过滤(0.45 μm) 过滤, 作为供试品溶液。在“2.1.1”项下色谱条件下进样分析。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸、芍药苷、丹皮酚对照品加甲醇溶解于适当量瓶中, 配成浓度分别为 36.01、42.23、43.12 μg/ml 的混合对照品溶液, 作为对照品储备液, 分别取各对照品混合液稀释混合后, 进样分析。

2.4 牡丹皮化学成分数据库的建立 检索美国国立生物技术信息中心(NCBI)的 PubMed 数据库、美国化学学会 SciFinder 数据库和清华大学的 CNKI 数据库, 将文献中有关牡丹皮的化合物数据进行全面收集整理, 利用安捷伦“formula_database_generator”软件建立了 75 个牡丹皮化学成分数据库, 包括没食子酸、芍药苷衍生物、没食子酰糖苷类等化学成分, 并对其化合物名称、结构、化学式、精确分子量信息进行系统整理。

3 结果与讨论

3.1 色谱和质谱条件优化 实验初始笔者分别考察了不同品牌、规格的色谱柱, 结果发现 CAPCELL PAK C_{18} 柱(3.0 mm × 100 mm, 3 μm) 分析时间更短

并且峰形更好, 适合牡丹皮不同化学成分的分离。乙腈-水体系的分离时间较甲醇-水短, 可以提高分离效率, 而乙腈-0.1% 甲酸水的体系能使化合物得到更好的分离效果。

实验中分别采用了正、负离子模式进行全扫描检测。在负离子模式下, 基质干扰较少, 且牡丹皮成分响应很高。而在正离子模式下, 少部分成分响应较差, 但能得到牡丹皮主要成分的碎片离子以有助于成分的鉴别。因此, 最终采用以负离子模式为主, 正离子为辅的检测策略。QTOFMS 参数优化项主要包括: 毛细管电压、干燥气流速和温度、雾化气压力及碎裂电压等。其中碎裂电压直接影响被分析物的母离子在源内碰撞诱导解离, 实验选择了 120~420 V 范围内的不同碎裂电压值, 通过调节碎片电压获得丰富的碎片离子信息, 帮助进行化合物鉴别和结构确证。

3.2 牡丹皮中主要化学成分的鉴别与结果解析 在优化的色谱质谱条件下, 牡丹皮提取液的 HPLC-QTOFMS 典型总离子流图见图 1。笔者对主要的 48 个色谱峰(表 1) 进行鉴别, 其中有 17 种单萜类成分、11 种没食子酰类成分(鞣质)、8 种酚酸类成分、7 种苯乙酮类成分、4 种黄酮类成分、1 种三萜类成分。化合物鉴别方法如下: 首先, 根据 TOFMS 上所得到的精确分子量信息, 典型的分子离子主要有 $[M+H]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 、 $[M-H]^-$ 和 $[M+HCOO]^-$ 等, 此外没食子酰类成分在负离子模式下还容易形成特征性的 $[M-2H]^{2-}$ 离子, 通过 MassHunter 软件在 5 ppm 的质量偏差范围内计算其可能的元素组成, 并将其与所建的数据库进行自动匹配, 对牡丹皮化学成分进行初步鉴别。随后采用动态调节碎裂电压的方式对其中 5 对同分异构体进行鉴别, 选择合适的分子离子峰或基峰进行碰撞诱导解离(CID), 通过二级质谱的裂解方式, 获得化合物结构相关的碎片离子, 根据离子的裂解情况并结合数据库中各化合物的化学结构, 区分各同分异构体。

3.2.1 同分异构体的鉴别区分 实验中发现牡丹皮提取液中含有大量的同分异构体, 其中大部分是单萜类和没食子酰类成分, 这与自建的牡丹皮已知化学成分数据库相符。以峰 9 和峰 15 为例, 二者精确分子质量同为 480.163 2, 负离子模式下, 其 m/z 为 525.160 8 ($[M+HCOO]^-$), 其元素组成为 $C_{23}H_{28}O_{11}$, 可能是芍药苷和芍药内酯苷。仅仅利用 TOF 所得的各化合物的准分子离子的精确质荷比无法对其区分, 根据两个化合物的对照品相对保留时间可鉴定峰 9 为芍药内酯苷, 峰 15 为芍药苷。芍药内酯苷可以直接脱去一个苯甲酸, 生成 m/z 357.119 1 ($[M-H-benzoic\ acid]^-$), 再脱掉一个葡萄糖

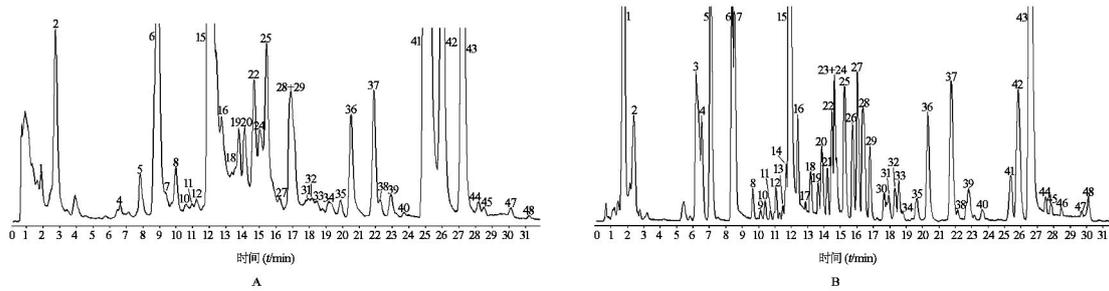


图1 牡丹皮样品正离子模式(A)与负离子模式(B)的HPLC-QTOF总离子流图

表1 牡丹皮提取物中主要化学成分的定性分析结果

| No. | Rt (min) | Compound | Formula | ESI-MS ⁺ (m/z) | | | | ESI-MS ⁻ (m/z) | | | |
|-----|----------|--|---|---------------------------|-------------|---------------|-------------|---------------------------|-------------|---------------|-------------|
| | | | | Main adduct | Adduct mass | Observed mass | Error (ppm) | Main adduct | Adduct mass | Observed mass | Error (ppm) |
| 1 | 1.758 | Gallic acid | C ₇ H ₆ O ₅ | [M + H] ⁺ | 171.029 3 | 171.028 6 | -4.09 | [M-H] ⁻ | 169.013 7 | 169.014 5 | 4.73 |
| 2 | 2.397 | Mudanoside B | C ₁₈ H ₂₄ O ₁₄ | [M + Na] ⁺ | 487.104 1 | 487.103 8 | -0.62 | [M-H] ⁻ | 463.108 8 | 463.108 3 | -1.08 |
| 3 | 6.003 | Paeoniflorin sulfonate | C ₂₃ H ₂₈ O ₁₃ S | | | | | [M-H] ⁻ | 543.117 3 | 543.118 4 | 2.03 |
| 4 | 6.219 | p-Hydroxybenzoic acid | C ₇ H ₆ O ₃ | [M + H] ⁺ | 139.039 5 | 139.039 8 | 2.16 | [M-H] ⁻ | 137.023 9 | 137.024 2 | 2.19 |
| 5 | 7.067 | Methyl gallate | C ₈ H ₈ O ₅ | [2M + H] ⁺ | 369.088 2 | 369.089 6 | 3.8 | [M-H] ⁻ | 183.029 3 | 183.0298 | 2.73 |
| 6 | 8.410 | (+)-Catechin | C ₁₅ H ₁₄ O ₆ | [M + H] ⁺ | 291.086 9 | 291.087 7 | 2.74 | [M-H] ⁻ | 289.071 2 | 289.072 0 | 2.77 |
| 7 | 8.522 | Oxypaeoniflorin | C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂ | [M + Na] ⁺ | 519.147 8 | 519.149 8 | 3.85 | [M-H] ⁻ | 495.150 3 | 495.1496 | -1.41 |
| 8 | 9.642 | Mudanpioside E | C ₂₄ H ₃₀ O ₁₃ | [M + Na] ⁺ | 549.158 4 | 549.156 4 | -3.64 | [M-H] ⁻ | 525.160 8 | 525.162 3 | 2.86 |
| 9 | 10.137 | Albiflorin | C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁ | | | | | [M-H] ⁻ | 479.155 4 | 479.154 8 | -1.25 |
| 10 | 10.393 | Paeonolide | C ₂₀ H ₂₈ O ₁₂ | [M + Na] ⁺ | 483.147 8 | 483.148 4 | 1.24 | [M + HCOO] ⁻ | 505.155 7 | 505.153 9 | -3.56 |
| 11 | 10.729 | Paeonoside | C ₁₅ H ₂₀ O ₈ | [M + Na] ⁺ | 351.1056 | 351.105 2 | -1.14 | [M + HCOO] ⁻ | 373.113 4 | 373.114 2 | 2.14 |
| 12 | 11.065 | Apiopaeonoside | C ₂₀ H ₂₈ O ₁₂ | [M + Na] ⁺ | 483.147 8 | 483.149 9 | 4.35 | [M + HCOO] ⁻ | 505.155 7 | 505.154 4 | -2.57 |
| 13 | 11.482 | Trigalloyl glucose | C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈ | | | | | [M-H] ⁻ | 635.088 5 | 635.090 1 | 2.52 |
| | | | | | | | | [M-2H] ²⁻ | 317.040 3 | 317.041 0 | 2.21 |
| 14 | 11.689 | Ethyl gallate | C ₉ H ₁₀ O ₅ | | | | | [M-H] ⁻ | 197.045 0 | 197.045 9 | 4.57 |
| | | | | | | | | [2M-H] ²⁻ | 395.097 8 | 395.096 4 | -3.54 |
| 15 | 11.896 | Paeoniflorin | C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁ | [M + Na] ⁺ | 503.152 9 | 503.152 5 | -0.79 | [M + HCOO] ⁻ | 525.160 8 | 525.160 3 | -0.95 |
| 16 | 12.376 | Galloyl oxy-paeoniflorin | C ₃₀ H ₃₂ O ₁₆ | [M + Na] ⁺ | 671.158 8 | 671.159 1 | 0.45 | [M-H] ⁻ | 647.161 2 | 647.162 7 | 2.32 |
| 17 | 12.872 | Isomer of trigalloyl glucose | C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈ | | | | | [M-H] ⁻ | 635.088 5 | 635.090 0 | 2.36 |
| | | | | | | | | [M-2H] ²⁻ | 317.040 3 | 317.041 6 | 4.10 |
| 18 | 13.160 | Galloyl methyl gallate | C ₁₅ H ₁₂ O ₉ | [M + Na] ⁺ | 359.037 9 | 359.039 1 | 3.34 | [M-H] ⁻ | 335.040 3 | 335.041 0 | 2.09 |
| 19 | 13.640 | Mudanpioside D | C ₂₄ H ₃₀ O ₁₂ | [M + Na] ⁺ | 533.163 5 | 533.163 4 | -0.19 | [M + HCOO] ⁻ | 555.171 4 | 555.171 0 | -0.72 |
| 20 | 13.847 | suffruticoside A/C | C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆ | [M + Na] ⁺ | 635.158 8 | 635.159 6 | 1.26 | [M-H] ⁻ | 611.161 2 | 611.160 2 | -1.64 |
| 21 | 14.199 | Tetragalloyl glucose | C ₃₄ H ₂₈ O ₂₂ | | | | | [M-H] ⁻ | 787.099 4 | 787.102 6 | 4.07 |
| | | | | | | | | [M-2H] ²⁻ | 393.045 8 | 393.045 1 | -1.78 |
| 22 | 14.487 | Suffruticoside B/D | C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆ | [M + Na] ⁺ | 635.158 8 | 635.159 8 | 1.57 | [M-H] ⁻ | 611.161 2 | 611.160 4 | -1.31 |
| 23 | 14.615 | Isomer of tetragalloyl glucose | C ₃₄ H ₂₈ O ₂₂ | | | | | [M-H] ⁻ | 787.099 4 | 787.100 3 | 1.14 |
| | | | | | | | | [M-2H] ²⁻ | 393.045 8 | 393.044 9 | -2.28 |
| 24 | 14.743 | Isomer of tetragalloyl glucose | C ₃₄ H ₂₈ O ₂₂ | [M + Na] ⁺ | 811.097 0 | 811.095 2 | -2.22 | [M-H] ⁻ | 787.099 4 | 787.098 1 | -1.65 |
| | | | | | | | | [M-2H] ²⁻ | 393.045 8 | 393.045 1 | -1.78 |
| 25 | 15.233 | Galloyl paeoniflorin | C ₃₀ H ₃₂ O ₁₅ | [M + Na] ⁺ | 655.163 9 | 655.163 6 | -0.46 | [M-H] ⁻ | 631.166 3 | 631.164 8 | -2.38 |
| 26 | 15.766 | Dihydroxymethyl-benzoyl tetragalloyl glucose | C ₄₁ H ₃₀ O ₂₆ | | | | | [M-H] ⁻ | 937.094 7 | 937.097 2 | 2.67 |
| | | | | | | | | [M-2H] ²⁻ | 468.043 5 | 468.044 2 | 1.49 |
| 27 | 16.038 | Isomer of galloyl methyl gallate | C ₁₅ H ₁₂ O ₉ | [M + Na] ⁺ | 359.037 9 | 359.038 1 | 0.56 | [M-H] ⁻ | 335.040 3 | 335.041 0 | 2.09 |
| 28 | 16.374 | 1,2,3,4,6-Penta-O-galloyl-β-D-glucose | C ₄₁ H ₃₂ O ₂₆ | [M + Na] ⁺ | 963.108 0 | 963.108 5 | 0.52 | [M-H] ⁻ | 939.1104 | 939.112 0 | 1.70 |
| | | | | | | | | [M-2H] ²⁻ | 469.051 3 | 469.052 6 | 2.77 |

续表 1

| No. | Rt (min) | Compound | Formula | ESI-MS ⁺ (m/z) | | | | ESI-MS ⁻ (m/z) | | | |
|-----|----------|---|---|---------------------------|-------------|---------------|-------------|---------------------------|-------------|---------------|-------------|
| | | | | Main adduct | Adduct mass | Observed mass | Error (ppm) | Main adduct | Adduct mass | Observed mass | Error (ppm) |
| 29 | 16.806 | Mudanpioside H | C ₃₀ H ₃₂ O ₁₄ | [M + Na] ⁺ | 639.169 0 | 639.169 9 | 1.41 | [M-H] ⁻ | 615.171 4 | 615.170 1 | -2.11 |
| 30 | 17.653 | Hexagalloyl glucose | C ₄₈ H ₃₆ O ₃₀ | [M + Na] ⁺ | 1115.118 9 | 1115.116 1 | -2.51 | [M-H] ⁻ | 1091.121 3 | 1091.125 9 | 4.22 |
| | | | | | | | | [M-2H] ²⁻ | 545.056 8 | 545.058 0 | 2.20 |
| 31 | 17.909 | Isomer of hexagalloyl glucose | C ₄₈ H ₃₆ O ₃₀ | [M + Na] ⁺ | 1115.118 9 | 1115.121 4 | 2.24 | [M-H] ⁻ | 1091.121 3 | 1091.125 6 | 3.94 |
| | | | | | | | | [M-2H] ²⁻ | 545.056 8 | 545.057 9 | 2.02 |
| 32 | 18.309 | Isomer of hexagalloyl glucose | C ₄₈ H ₃₆ O ₃₀ | [M + Na] ⁺ | 1115.118 9 | 1115.120 8 | 1.7 | [M-H] ⁻ | 1091.121 3 | 1091.119 8 | -1.37 |
| | | | | | | | | [M-2H] ²⁻ | 545.056 8 | 545.057 3 | 0.92 |
| 33 | 18.549 | Heptagalloyl glucose | C ₅₅ H ₄₀ O ₃₄ | [M + Na] ⁺ | 1267.129 9 | 1267.132 4 | 1.97 | [M-H] ⁻ | 1243.132 3 | 1243.130 5 | -1.45 |
| | | | | | | | | [M-2H] ²⁻ | 621.062 2 | 621.060 9 | -2.09 |
| 34 | 18.773 | 3β, 4β, 23-trihydroxy-24, 30-dinorolean-12, 20(29)-dien-28-oic acid | C ₂₈ H ₄₂ O ₅ | [M + Na] ⁺ | 481.293 | 481.290 2 | -1.66 | [M-H] ⁻ | 457.295 4 | 457.296 7 | 2.84 |
| 35 | 19.972 | Methyl vanillate | C ₉ H ₁₀ O ₄ | [M + H] ⁺ | 183.065 7 | 183.066 5 | 4.37 | [M-H] ⁻ | 181.050 1 | 181.050 4 | 1.66 |
| 36 | 20.324 | Benzoyl oxypaeoniflorin | C ₃₀ H ₃₂ O ₁₃ | [M + Na] ⁺ | 623.174 1 | 623.174 0 | -0.16 | [M-H] ⁻ | 599.176 5 | 599.174 8 | -2.84 |
| 37 | 21.763 | Mudanpioside C | C ₃₀ H ₃₂ O ₁₃ | [M + Na] ⁺ | 623.174 1 | 623.173 3 | -1.28 | [M-H] ⁻ | 599.176 5 | 599.176 2 | -0.5 |
| 38 | 22.163 | Mudanpioside J | C ₃₁ H ₃₄ O ₁₄ | [M + Na] ⁺ | 653.184 7 | 653.184 4 | -0.46 | [M-H] ⁻ | 629.187 1 | 629.187 8 | 1.11 |
| 39 | 22.723 | Quercetin | C ₁₅ H ₁₀ O ₇ | [M + H] ⁺ | 303.050 5 | 303.051 6 | 3.63 | [M-H] ⁻ | 301.034 9 | 301.036 3 | 4.65 |
| 40 | 23.618 | Mudanoside A | C ₁₄ H ₁₈ O ₉ | [M + H] ⁺ | 331.102 9 | 331.103 9 | 3.02 | [M-H] ⁻ | 329.087 3 | 329.086 1 | -3.65 |
| 41 | 25.346 | Paeonol | C ₉ H ₁₀ O ₃ | [M + H] ⁺ | 167.070 8 | 167.070 2 | -3.59 | [M-H] ⁻ | 165.055 2 | 165.056 0 | 4.85 |
| 42 | 25.841 | Paeoniflorigenone | C ₁₇ H ₁₈ O ₆ | [M + Na] ⁺ | 341.100 8 | 341.099 8 | -2.94 | [M+HCOO] ⁻ | 363.107 9 | 363.108 9 | 2.48 |
| 43 | 26.609 | Benzoyl paeoniflorin | C ₃₀ H ₃₂ O ₁₂ | [M + Na] ⁺ | 607.179 2 | 607.177 5 | -2.80 | [M+HCOO] ⁻ | 629.187 0 | 629.188 1 | 1.75 |
| 44 | 26.953 | Mudanpioside A | C ₃₁ H ₃₄ O ₁₃ | [M + Na] ⁺ | 637.189 7 | 637.189 6 | -0.16 | [M+HCOO] ⁻ | 659.197 5 | 659.198 6 | 1.67 |
| 45 | 27.856 | Kaempferol | C ₁₅ H ₁₀ O ₆ | [M + H] ⁺ | 287.055 5 | 287.054 3 | -4.18 | [M-H] ⁻ | 285.039 9 | 285.041 0 | 3.86 |
| 46 | 28.512 | isorhamnetin | C ₁₆ H ₁₂ O ₇ | | | | | [M-H] ⁻ | 315.050 5 | 315.051 7 | 3.80 |
| 47 | 29.679 | Paeonilactone B | C ₁₀ H ₁₂ O ₄ | [M + H] ⁺ | 197.081 4 | 197.081 6 | 1.01 | [M-H] ⁻ | 195.065 8 | 195.066 2 | 2.05 |
| 48 | 30.143 | Mudanpioside B | C ₃₁ H ₃₄ O ₁₄ | [M + Na] ⁺ | 653.184 7 | 653.184 2 | -0.76 | [M-H] ⁻ | 629.187 1 | 629.188 2 | 1.75 |

单体生成 m/z 195.066 0 [M-H-benzoic acid-glucose]⁻。芍药苷能特征性地脱去相对分子质量为 31 的 H-CH₂O, 得到 m/z 449.1934 [M-H-CH₂O]⁻, 并继续脱掉一个苯甲酸生成 m/z 327.1076 [M-H-CH₂O-benzoic acid]⁻, 再脱掉一个葡萄糖单体生成 m/z 165.0558 [M-H-CH₂O-benzoic acid-glucose]⁻。除此以外, 两个化合物苷配基上均连接有苯甲酸, 在碎片电压足够高的时候, 能产生 m/z 121 [benzoic acid-H]⁻。峰 10 和峰 12 峰 36 和峰 37 峰 38 和峰 48 采用相同策略进行同分异构体差别区分。

峰 13 和峰 17 所代表的化合物的精确分子质量同为 636.096 3, 在负离子模式下, 其质荷比分别为 m/z 635.088 5 [M-H]⁻, 其元素组成为 C₂₇H₂₃O₁₈, 与数据库中相对应的分子式为 C₂₇H₂₄O₁₈, 可能是三没食子酰葡萄糖及其同分异构体。峰 21, 23 和 24 所代表化合物的精确分子质量同为 788.107 2, 负离子模式下, 其质荷比分别为 m/z 787.099 4 [M-H]⁻, 其元素组成为 C₃₄H₂₇O₂₂, 与数据库中相对应的分子式为 C₃₄H₂₈O₂₂, 可能是四没食子酰葡萄糖及其同分异构体。峰 30, 31 和 32 所代表化合物的精确分子质量同为 1 092.129 1, 负离子模式下, 其质

荷比分别为 m/z 1 091.121 3 [M-H]⁻, 其元素组成为 C₄₈H₃₅O₃₀, 正离子模式下, 其质荷比分别为 m/z 1115.118 9 [M + Na]⁺, 其元素组成为 C₄₈H₃₆O₃₀ Na, 与数据库中相对应的分子式为 C₄₈H₃₆O₃₀, 可能是六没食子酰葡萄糖及其同分异构体。以六没食子酰葡萄糖为例, 说明其裂解情况。当碎片电压较低时, 能产生 m/z 1091.123 9 [M-H]⁻, 同时产生 m/z 545.054 8 [M-2H]²⁻。当碎片电压较高时, 产生一系列脱掉没食子酸或没食子酰基团的离子, 包括: m/z 939.110 3 [M-H-152]⁻, m/z 769.089 5 [M-H-152-170]⁻, 617.075 6 [M-H-152-170-152]⁻, 599.065 6 [M-H-152-170-152]⁻, 447.068 7 [M-H-152-170-152-152]⁻ 等。从以上观察得到, 化合物 30, 31 和 32 为六没食子酰葡萄糖及其同分异构体。较低和较高电压的质谱图如图 2 所示。

4 结论

本实验采用 HPLC-QTOFMS 技术, 结合数据库匹配和二级质谱分析, 实现了对牡丹皮中主要成分的快速定性分析, 共鉴定出 48 个主要成分, 对 5 组同分异构体化合物进行了明确化区分。该方法快

速、灵敏、准确度高,可作为牡丹皮质量控制的方法之一,同时为牡丹皮的药理学和临床药学研究提供

了化学物质基础信息。

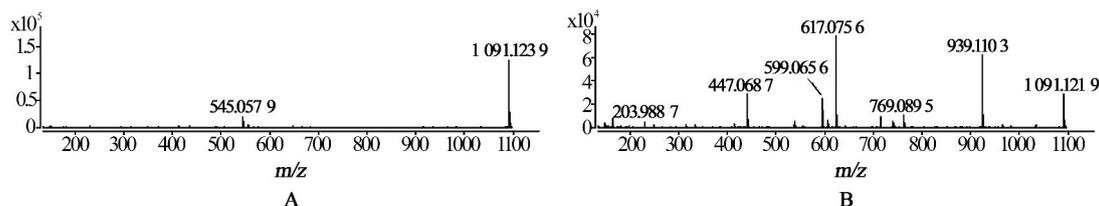


图2 较低(A)和较高(B)电压的质谱图

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2010: 160-161.
- [2] Liu KY, Hu S, Chan BC *et al.* Anti-inflammatory and anti-allergic activities of Pentaherb formula, Moutan Cortex (Danpi) and gallic acid[J]. *Molecules*, 2013, 18(3): 2483-2500.
- [3] Lau CH, Chan CM, Chan YW, *et al.* Pharmacological investigations of the anti-diabetic effect of Cortex Moutan and its active component paeonol[J]. *Phytomedicine*, 2007, 14(11): 778-784.
- [4] Li TJ, Qiu Y, Mao JQ, *et al.* Protective effects of Guizhi-Fuling-Capsules on rat brain ischemia/reperfusion injury[J]. *J Pharmacol Sci*, 2007, 105(1): 34-40.
- [5] Xing G, Zhang Z, Liu J, *et al.* Antitumor effect of extracts from moutan cortex on DLD-1 human colon cancer cells *in vitro* [J]. *Mol Med Rep*, 2010, 3(1): 57-61.
- [6] He Q, Hu XJ, Cheng YY. Analysis of "SHUANGDAN" granules by high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal* 2006, 41(2): 485-492.
- [7] 许舜军, 杨柳, 张勉等. 牡丹皮化学成分的液相色谱-飞行时间串联质谱分析[J]. *药学报*, 2006, 41(9): 852-856.
- [8] Xu SJ, Yang L, Zeng X, *et al.* Characterization of compounds in the Chinese herbal drug Mu-Dan-Pi by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20(22): 3275-3288.
- [9] He Q, Ge ZW, Song Y, *et al.* Quality evaluation of cortex moutan by high performance liquid chromatography coupled with diode array detector and electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2006, 54(9): 1271-1275.
- [10] Chen G, Zhang L, Zhu Y. Determination of glycosides and sugars in Moutan cortex by capillary electrophoresis with electrochemical detection [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 41(1): 129-134.
- [11] Liu Z, Zhu D, Lv L, *et al.* Metabolism profile of timosaponin B-II in urine after oral administration to rats by ultrahigh-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2012, 26(17): 1955-1964.
- [收稿日期] 2013-07-05 [修回日期] 2014-05-14
[本文编辑] 李睿旻
- (上接第245页)
- [22] Hu JL, Walter S. N-terminal specificity of PEGylation of human bone morphogenetic protein-2 at acidic pH [J]. *Int J Pharm*, 2011, 413(1-2): 140-146.
- [23] Stewart AJ, Blindauer CA, Berezenko S, *et al.* Role of Tyr84 in controlling the reactivity of Cys34 of human albumin [J]. *FEBS J*, 2005, 272(2): 353-362.
- [24] Octaaf JMB, Jan FAL, Marcel JEF, *et al.* The molecular mechanism of the neutral-to-base transition of human serum albumin [J]. *J Biol Chem*, 1989, 264(2): 953-959.
- [25] Kim SH, Jeong JH, Joe CO, *et al.* Folate receptor mediated intracellular protein delivery using PLL-PEG-FOL conjugate [J]. *J Contr Rel*, 2005, 103: 625-634.
- [26] 袁飞, 王树斌, 彭志平, 等. 表皮生长因子受体靶向纳米载体负载 c-erbB2 反义寡脱氧核苷酸对人乳腺癌 SK-BR3 细胞的摄取和滞留 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(16): 3084-3088.
- [27] Choi N, Kim SM, Hong KS, *et al.* The use of the fusion protein RGD-HSA-TIMP2 as a tumor targeting imaging [J]. *Biomaterials*, 2011, 32: 7151-7158.
- [28] Parikh T, Bommana MM, Squillante E. Efficacy of surface charge in targeting pegylated nanoparticles of sulphiride to the brain [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2010, 74: 442-450.
- [29] Zensi A, Begley D, Pontikis C, *et al.* Albumin nanoparticles targeted with Apo E enter the CNS by transcytosis and are delivered to neurons [J]. *J Contr Rel*, 2009, 137: 78-86.
- [30] Kreuter J, Hekmatara T, Dreis S, *et al.* Covalent attachment of apolipoprotein A-I and apolipoprotein B-100 to albumin nanoparticles enables drug transport into the brain [J]. *J Contr Rel*, 2007, 118: 54-58.
- [31] Ulbrich K, Hekmatara T, Herbert E, *et al.* Transferrin and transferrin-receptor-antibody modified nanoparticles enable drug delivery across the blood-brain barrier (BBB) [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 71: 251-256.
- [收稿日期] 2013-08-11 [修回日期] 2013-12-25
[本文编辑] 李睿旻