



景洪哥纳香中苯乙烯内酯的 UPLC-Q-TOF-MS 分析

姜苗苗¹, 芮雯¹, 符方方¹, 赵丽丽¹, 姚新生², 冯毅凡^{*}

(1 广东药学院 中心实验室, 广东 广州 510006

2. 暨南大学 中药及天然药物研究中心, 广东 广州 510632)

[摘要] 目的: 采用超高效液相色谱与串联四级杆飞行时间质谱联用技术 (UPLC-Q-TOF-MS) 建立快速鉴别景洪哥纳香中苯乙烯内酯类化合物的方法。方法: 应用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱, 以 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B) 为流动相梯度洗脱, 检测波长 254 nm, 电喷雾离子源, 正离子模式下采集数据。结果: 根据质谱信息推测了该植物氯仿提取物中 12 个苯乙烯内酯的结构。结论: 本方法分离度好、灵敏度高、快速高效地鉴定了植物中的苯乙烯内酯, 同时本文探讨了苯乙烯内酯类化合物的质谱裂解规律。

[关键词] 景洪哥纳香; 苯乙烯内酯; UPLC-Q-TOF-MS

景洪哥纳香 *Goniothalamus cheliensis* Hu 系蕃荔枝科 Annonaceae 哥纳香属植物, 全世界约 50 种, 分布于热带及亚热带地区^[1]。我国产 10 种, 分布于西南、华南、台湾等省区。在民间主要用于清热、杀虫、抗癌、抗疟等^[2]。该属植物主要含有苯乙烯内酯、番荔枝内酯和生物碱 3 类化学成分。现代药理研究表明文献, 苯乙烯内酯具有很强的抗肿瘤活性和细胞毒作用^[3]。本研究前期的活性筛选工作显示, 景洪哥纳香的氯仿提取物具有较强的抗肿瘤活性。为研究该提取物的抗肿瘤药效物质基础, 本文采用高灵敏度的 UPLC 技术对该提取物进行了快速分离, 根据 Q-TOF-MS 给出的一级、二级质谱信息, 结合文献报道, 鉴定其中的主要化学成分为苯乙烯内酯, 同时探讨了不同骨架类型苯乙烯内酯的质谱裂解规律, 建立一种基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的药效物质基础快速鉴别方法。

1 仪器与试剂

Waters ACQUITY UPLC-Q-TOF micro 超高效液质联用仪, 电喷雾 (ESI) 离子源, 二元高压泵, 在线脱气装置、自动进样器、柱温箱和 TUV 检测器。数据采集与处理软件 Masslynx 4.1。乙腈为色谱纯 (美国, Merck 公司), 甲酸为色谱纯 (美国, DMA 公

司), 蒸馏水为超纯水器所制 (德国, Sartorius 公司)。

药材由四川大学华西药学院张浩教授采自云南, 并鉴定为蕃荔枝科哥纳香属植物景洪哥纳香 *G. cheliensis* 的根, 药材标本保存于暨南大学中药及天然药物研究中心。

2 方法与结果

2.1 样品溶液的制备 取景洪哥纳香氯仿提取物适量, 精密称定, 加乙腈制成浓度为 1 g·L⁻¹ 的溶液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

2.2 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm)。流动相 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B); 洗脱梯度: 0~3 min 10% B; 3~4 min 10%~18% B; 4~6 min 18%~22% B; 6~7 min 22%~40% B; 7~8 min 40%~60% B; 8~9 min 60%~95% B; 9~11 min 95% B。进样量为 2 μL, 流速为 0.4 mL·min⁻¹, 检测波长 254 nm, 柱温 40 °C。

2.3 质谱条件 电喷雾离子 (ESI) 源; 源电压为 3 kV; 锥孔电压为 30 eV; 正离子检测; 鞘气 (N₂) 流速为 600 L·h⁻¹; 辅助气 (N₂) 流速为 60 L·h⁻¹; 碰撞气体为氦气; 毛细管温度为 110 °C; 离子扫描范围 *m/z* 100~1 200 MS² 碰撞能量为 20 eV。

3 结果

以 0.1% 甲酸水溶液-乙腈为流动相进行线性梯度洗脱, 254 nm 波长下的紫外色谱图和正离子模式检测所得的总离子流图在 11 min 内均得到了较好

[稿件编号] 20101025004

[通信作者] * 冯毅凡, 教授, 硕士生导师, Tel (020) 39352522, E-mail yffeng@139.com

[作者简介] 姜苗苗, 助理研究员, 博士, Tel (020) 39352522, E-mail miaomiaojiang@126.com

的分离效果和信噪比,见图 1。根据一级和二级质谱信息以及文献报道,本研究对景洪哥纳香 UPLC 分离出的 30 余个峰进行了分析,在正离子模式下的

BPI图中检测到 12 个苯乙烯内酯,准分子离子峰、二级质谱特征离子碎片信息以及鉴定出可能的化合物名称见表 1,化合物结构见图 2。

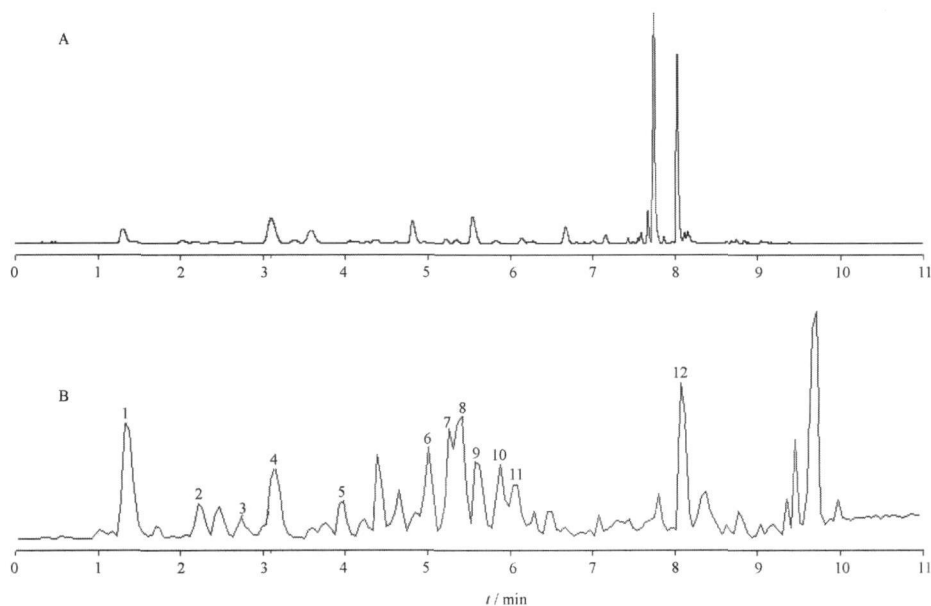


图 1 景洪哥纳香样品紫外波长检测的色谱图 (A) 和质谱总离子流图 (B)

表 1 苯乙烯内酯类化合物保留时间及碎片离子超高效液相色谱串联质谱分析

化合物	<i>t</i> min	选择离子 (<i>m/z</i>)	实测相对 分子质量	预测相对分子 质量理论值	预测 分子式	相对分子 质量误差	主要碎片离子 (<i>m/z</i>)	化合物
1	1.337	[M + H] ⁺	235.096 1	235.097 0	C ₁₃ H ₁₅ O ₄	3.8	199, 171, 157, 143, 131, 97, 91	goniodiol
		[M + H - H ₂ O] ⁺	217.085 6	217.086 5	C ₁₃ H ₁₃ O ₃	4.9		
		[2M + H] ⁺	469.184 5	469.186 2	C ₂₆ H ₂₉ O ₈	3.6		
2	2.268	[M + H] ⁺	235.096 3	235.097 0	C ₁₃ H ₁₅ O ₄	2.8	199, 171, 157, 143, 131, 97, 91	goniodiol stereoisomers
		[M + H - H ₂ O] ⁺	217.087 6	217.086 5	C ₁₃ H ₁₃ O ₃	5.7		
		[2M + H] ⁺	469.184 1	469.186 2	C ₂₆ H ₂₉ O ₈	4.5		
3	2.690	[M + H] ⁺	283.117 5	283.118 2	C ₁₄ H ₁₉ O ₆	2.5	265, 215, 205, 187, 145, 113	gonioheptolide A
		[2M + Na] ⁺	587.209 1	587.210 4	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₂ Na	2.2		
4	3.095	[M + H] ⁺	247.096 3	247.097 0	C ₁₄ H ₁₅ O ₄	2.8	215, 171, 157, 143, 131, 91	7 or 8-methoxy goniodiol
5	3.908	[M + H] ⁺	277.108 0	277.107 6	C ₁₅ H ₁₇ O ₅	1.4	217, 199, 171, 143, 131, 97, 91	7 or 8-acetylgoniodiol
		[M + Na] ⁺	299.088 7	299.089 5	C ₁₅ H ₁₆ O ₅ Na	2.6		
6	5.009	[M + H] ⁺	233.080 7	233.081 4	C ₁₃ H ₁₃ O ₄	3.0	197, 169, 141, 91	goniobutenolide A or B
7	5.217	[M + H] ⁺	297.133 2	297.133 8	C ₁₅ H ₂₁ O ₆	2.1	251, 215, 205, 187, 145, 113	gonioheptolide B
8	5.424	[M + H] ⁺	277.106 2	277.107 6	C ₁₅ H ₁₇ O ₅	5.0	217, 199, 171, 143, 131, 97, 91	7 or 8-acetylgoniodiol 1
		[2M + H] ⁺	553.205 9	553.207 4	C ₃₀ H ₃₃ O ₁₀	2.7		
9	5.608	[M + H] ⁺	265.107 1	265.107 6	C ₁₄ H ₁₇ O ₅	1.9	197, 169, 127, 113	4-methoxy goniofuprone
10	5.888	[M + H] ⁺	277.106 5	277.107 6	C ₁₅ H ₁₇ O ₅	3.9	217, 199, 171, 143, 131, 97, 91	7 or 8-acetylgoniodiol
		[2M + H] ⁺	553.209 8	553.207 4	C ₃₀ H ₃₃ O ₁₀	4.3		
11	6.095	[M + H] ⁺	451.174 2	451.175 7	C ₂₆ H ₂₇ O ₇	3.3	235, 217, 199, 171, 143, 97, 91	dgoniodiol
12	7.753	[M + H] ⁺	201.091 1	201.091 6	C ₁₃ H ₁₃ O ₂	2.5	183, 155, 91, 77	goniothalianin

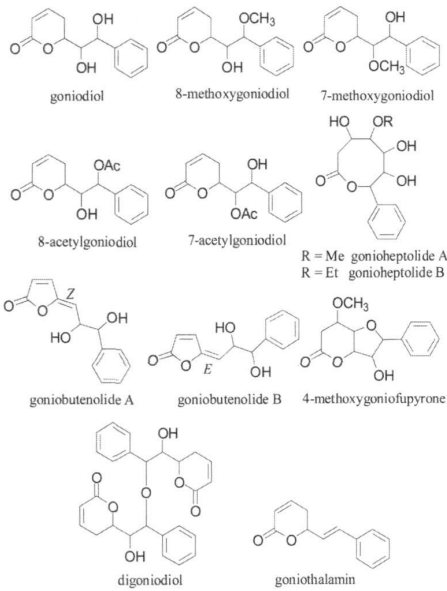


图 2 苯乙烯内酯 1~12 的推测结构

4 讨论

苯乙烯内酯类化合物在 ESIMS 正离子模式下形成准分子离子峰 $[M + H]^+$ 或离子加合物 $[M + Na]^+$, 当样品浓度较高时, 还易形成二聚体离子 $[2M + H]^+$; 可确定其相对分子质量, 根据一级质谱的准分子离子峰得到精确相对分子质量计算出其元素组成, 与相关化合物精确分子量比较确定其分子式。文献中通常报道了苯乙烯内酯类化合物在 EI 离子源下的质谱数据和裂解规律^[4], 本文首次系统研究了该类化合物在 ESI 离子源下的二级质谱裂解规律。苯乙烯内酯机构中通常含有 1~3 个羟基和 1 个内酯环结构片段, 因此失去 H_2O 是其最主要的裂解途径。准分子离子峰 $[M + H]^+$ 可能是由内酯环上的氧原子加氢得到, 也可能是由内酯环外的羰基氧原子上加氢得到^[1]。以化合物 1 为例其可能的裂解方式见图 3。

化合物 1 的 ESIMS 图谱上显示准分子离子峰 $[M + H]^+ m/z 235$ 加合离子峰 $[2M + H]^+ m/z 469$ 碎片离子峰 $[M + H - H_2O]^+ m/z 217$ 。其失水方式可能为 7-OH 与邻位 H 缩合失去水分子, 烯醇互变最后形成 8 位羰基; 也可能是内酯羰基形成的加氢离子与邻位 H 缩合后失去 1 分子水。MS² 图中显示了 $m/z 199$ 171 157 143 131 91 等离子碎片峰, 以及不饱和六元环内酯特征离子峰 $m/z 97$ 。根据上

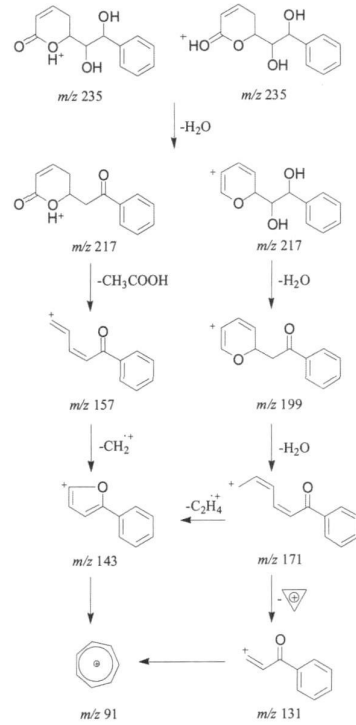


图 3 化合物 1 的 2 种可能裂解方式

述质谱信息推测化合物 1 可能为 gonioidiol 型苯乙烯内酯^[6]。化合物 2 准分子离子峰以及二级质谱碎裂信息与 1 基本一致, 由于苯乙烯内酯类化合物中存在多个手性碳, 因此化合物 2 可能为 gonioidiol 立体异构体。

化合物 4 ESIMS 图谱中准分子离子峰为 $[M + H]^+ m/z 247$, MS² 图谱中显示了 $[M + H - CH_3OH]^+ m/z 215$ 特征碎片离子, 其他碎片离子与化合物 1 2 类似, 因此推测 4 具有 gonioidiol 基本骨架, 且 7 位或 8 位羟基发生甲基化^[7]。而化合物 5 8 10 则具有相同的准分子离子峰 $[M + H]^+ m/z 277$, MS² 图谱中显示很强的 $[M + H - CH_3COOH]^+ m/z 217$ 特征碎片离子峰, 其他碎片离子信息与 1 2 相似, 推测化合物 5 8 10 具有 gonioidiol 基本骨架, 并且 7 位或 8 位羟基发生乙酰化^[8-9]。

化合物 3 在 ESIMS 图谱中准分子离子峰为 $[M + H]^+ m/z 283$ 加合离子峰 $[2M + Na]^+ m/z 587$, MS² 的特征碎片离子峰分别为 $[M + H - H_2O]^+ m/z 265$ $[M + H - 2H_2O - CH_3OH]^+ m/z 215$ $[M + H - H_2O - CH_3COOH]^+ m/z 205$ $[M + H - 2H_2O - CH_3OH - CO]^+ m/z 187$ $[M + H - 2H_2O - CH_3OH - CO -$

$C_3H_6]^+ m/z 145$ $[M+H-3H_2O-CH_3COOH-2CO]^+$
 $m/z 113$ 以上质谱信息提示该化合物为 gonioheptolide
 $A^{[10]}$ 。化合物 7 的准分子离子峰为 $[M+H]^+ m/z 297$
与化合物 3 相比相差 CH_2 , 提示二者均为苯乙烯庚内
酯类化合物。其 MS^2 特征碎片离子峰为 $[M+H-C_2H_5$
 $OH]^+ m/z 251$ 以及 $m/z 215, 187, 145, 113$ 因此可以推
测化合物 7 为 gonioheptolide $B^{[10]}$ 。

化合物 6 ESI-MS 图谱中显示准分子离子峰
 $[M+H]^+ m/z 233$, MS^2 特征碎片离子峰分别为
 $[M+H-2H_2O]^+ m/z 197$, $[M+H-2H_2O-CO]^+$
 $m/z 169$, $[M+H-2H_2O-2CO]^+ m/z 141$ 以及丰度
最强的卓鎊离子 $m/z 91$, 根据上述信息推测该化合
物为丁烯酸酯类, 由于 5, 6 位双键存在顺反异构现
象, 因此化合物 6 可能为 gonibutenolide A 或 gon
ibutenolide $B^{[11]}$ 。

化合物 9 在 ESIMS 图谱中准分子离子峰为
 $[M+H]^+ m/z 265$, MS^2 特征碎片离子峰分别为
 $[M+H-CH_3OH-2H_2O]^+ m/z 197$, $[M+H-CH_3$
 $OH-2H_2O-CO]^+ m/z 169$, $[M+H-CH_3OH-2H_2$
 $O-2CO-CH_2]^+ m/z 127$, $[M+H-CH_3OH-2H_2O$
 $-2CO-C_2H_4]^+ m/z 113$ 根据质谱裂解规律结合文
献报道推测该化合物为咪喃并吡喃型内酯 4-me
thoxygoniofupyrone^[12]。

化合物 11 ESI-MS 图谱中显示准分子离子峰
 $[M+H]^+ m/z 451$, 提示 11 为双二聚体类苯乙烯内
酯。 MS^2 特征碎片离子峰 $m/z 235$ 和 $m/z 217$, 其可
能的裂解片段如图 4 其他碎片离子峰 $m/z 199$,
171, 143, 91 与 gonidiol 二级质谱信息相同, 因此鉴
定该化合物为 digonidiol^[4]。

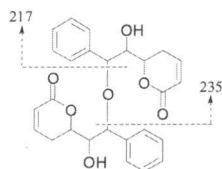


图 4 化合物 11 基本裂解片段

化合物 12 ESI-MS 图谱中显示准分子离子峰
 $[M+H]^+ m/z 201$, MS^2 特征碎片离子峰分别为

$[M+H-2H_2O]^+ m/z 183$ $[M+H-2H_2O-CO]^+ m/z$
155 根据质谱信息并结合文献报道推测该化合物为
gonithalamin^[13]。

[参考文献]

[1] 中国科学院编辑委员会. 中国植物志. 第 30 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1978: 64.

[2] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1991: 5.

[3] blaquez M A, Bemej A, Zafra Pob C, et al. Styrylactones from *Goniothalamus* species: a review [J]. *Phytochem Anal* 1999, 10: 1671.

[4] Lan Y H, Chang F R, Liaw C C, et al. Digonidiol, desoxygoniofupyrone A, and goniofupyrone A: three new styrylactones from *Goniothalamus amuyon* [J]. *Plant Med* 2005, 71 (1): 153.

[5] Wang H, Wu Y H, Zhao ZX. Fragmentation study of sinvastatin and lovastatin using electrospray ionization tandem mass [J]. *J Mass Spectrom*, 2001, 36(1): 58.

[6] Fang X P, Anderson JE, Chang C J et al. Two new styrylactones: 9-deoxygoniofupyrone and 7-epigoniofufurone from *Goniothalamus giganteus* [J]. *J Nat Prod* 1991, 54(4): 1034.

[7] Lan Y H, Chang F R, Yu JH, et al. Cytotoxic styrylpyrones from *Goniothalamus amuyon* [J]. *J Nat Prod* 2003, 66(4): 487.

[8] Wu Y C, Duh C Y, Chang F R, et al. Cytotoxic styrylpyrones of *Goniothalamus amuyon* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(8): 2851.

[9] Talapatra S K, Basu D, Deb T, et al. Structure and stereochemistry of four new 5, 6-dihydro-2-pyrone from *Goniothalamus sesquipedalis* and *Goniothalamus griffithii* [J]. *Indian J Chem*, 1985, 24B: 29.

[10] Fang X P, Anderson JE, Qiu X X, et al. Gonioheptolides A and B: novel eight-membered ring lactones from *Goniothalamus giganteus* (Annonaceae) [J]. *Tetrahedron*, 1993, 49(8): 1563.

[11] Fang X P, Anderson JE, Chang C J et al. Three new bioactive styrylactones from *Goniothalamus giganteus* (Annonaceae) [J]. *Tetrahedron* 1991, 47(47): 9751.

[12] Bemejo A, Leonce S, Cabedo Nuriá, et al. Semisyntheses and cytotoxicity of styrylactone derivatives [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62(8): 1106.

[13] Cao S G, Wu X H, Sim K Y, et al. Styrylactone derivatives and alkaloids from *Goniothalamus borneensis* (Annonaceae) [J]. *Tetrahedron* 1998, 54(10): 2143.



Analysis of styryllactones from *Goniothalamus cheliensis* by UPLC-Q-TOF-MS

JIANG Miaomiao¹, RUI Wen¹, FU Fangfang¹, ZHAO Lili¹, YAO Xingsheng², FENG Yifan^{*}

(1. Central Laboratory, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 China

2. Institute of Traditional Chinese Medicine & Natural Products, Jinan University, Guangzhou 510632 China)

[Abstract] Objective To analyze the styryllactone components in *Goniothalamus cheliensis* Hu (Annonaceae). **Method** UPLC-Q-TOF-MS was used to identify the main styryllactone components in *G. cheliensis*. The chromatographic separation was performed on ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column and eluted by acetonitrile and 0.1% acetic acid in water gradiently. The mass spectrometer equipped with electrospray ionization source was used as detector under the positive ion modes. **Result** Twelve styryllactones were identified based on their MS data and published literatures and the MS fragmentation regularity of the styryllactones was also proposed. **Conclusion** It is an accurate and effective method to obtain the structural information of styryllactones.

[Key words] *Goniothalamus cheliensis*; styryllactone; UPLC-Q-TOF-MS

doi 10.4268/cjmm.20111016

[责任编辑 丁广治]

《中国中药杂志》现状简介

国际检索和收录: SCIE 总被引频次达到 443(285 篇文献); 被美国《医学索引》(Medline/PubMed)收录, 在被 Medline 收录的中国期刊中排名第 4 位, 居我国药学和中医药学期刊首位; 被美国《化学文摘(网络版)》(CA, Chemical Abstracts Web), 在千刊表中排名第 232 位。同时, 还被荷兰爱思唯尔公司《斯高帕斯数据库》(Scopus), 美国《生物学文摘(预评)》(BAP, BIOSIS Previews), 俄罗斯《文摘杂志》(AJ Abstracts Journal VNIIT), 英国《国际农业与生物科学研究文摘》(CABI, Centre for Agriculture and Bioscience Abstracts), 美国《国际药学文摘》(IPA, International Pharmaceutical Abstracts), 美国《乌利希期刊指南》(Ulrich PD, Ulrich's Periodicals Directory), 《日本科学技术振兴机构中国文献数据库》[JSTChina Japan Science & Technology Agency(Chinese Bibliographic Database)], 《英国皇家化学学会系列文摘》(RSC, Royal Society of Chemistry), 英国《全球健康》(GH, Global Health), 荷兰《医学文摘》(EM, Excerpta Medica), 菲律宾《西太平洋地区医学索引》(WPRM, Western Pacific Region Index Medicus) 等 14 家权威性专业文摘或数据库收录。

国内收录: 为“中国科学引文数据库”、“中国学术期刊综合评价数据库”来源期刊, 中国自然科学核心期刊, 中国中文核心期刊, 中国科技核心期刊, 并被《中国学术期刊文摘》中、英文版收录。

据中国知网(CNKI)“中国科技期刊影响因子年报”公布:《中国中药杂志》目前总被引频次达到 17036, 影响因子 1.421, 基金论文比例 0.72, 下载量达到 39.69 万次, 国内外发行达到机构用户 3192 个, 分布在 15 个国家和地区, 个人读者分布在 23 个国家和地区。

据中国科学技术信息研究所最新发布的《中国科技期刊引证报告》(核心版)期刊检索统计结果表明:《中国中药杂志》总被引频次为 5544, 影响因子 0.707, 基金论文比 0.68, 全年发表文章达 800 余篇。期刊综合总排名从 2010 年的第 52 位跃居第 39 位, 在药理学类以及中医药学类期刊中位居第一, 全部指标保持多年持续上升, 在我国药理学以及中医药学等学科领域科技期刊中均名列前茅。