

# UPLC-Q-TOF-MS法分析防风中香豆素类化学成分<sup>Δ</sup>

任晓蕾\*, 霍金海, 孙国东, 魏文峰, 王伟明<sup>#</sup>(黑龙江省中医药科学院中药研究所, 哈尔滨 150036)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)03-0349-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.03.14

**摘要** 目的:分析防风中香豆素类化学成分,为全面解析防风药材的药效物质基础提供参考。方法:采用超高效液相色谱仪联用四级杆串联飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)法。色谱条件:色谱柱为ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>,流动相为0.1%甲酸水-0.1%甲酸乙腈(梯度洗脱),流速为0.3 mL/min,柱温为35 ℃,进样量为3 μL;质谱条件:采用电喷雾离子源(ESI)在正、负离子模式下进行检测,离子喷雾电压ESI<sup>+</sup>/ESI<sup>-</sup>为5 500 V/-4 500 V,去簇电压为80~-80 V,辅助加热气压力为55.00 psi,雾化气压力为-55 psi,气帘气压力为-35.00 psi,去溶剂温度为550 ℃,碰撞活化扫描能量为15 eV;碰撞电压为35 psi。通过与相关文献数据及标准品图谱对照,并结合UPLC-Q-TOF-MS提供的化合物准确相对分子质量进行成分分析及鉴定。结果:在ESI<sup>+</sup>模式下共解析出了135个化学成分,在ESI<sup>-</sup>模式下共解析出了105个化学成分。并鉴定出了在ESI<sup>+</sup>模式下的异欧芹素乙、伞形花内酯、东莨菪素、花椒毒素、补骨脂素、Ostenol、秦皮啶、异欧前胡素、5-羟基-8-甲氧基补骨脂素、珊瑚菜素、紫花前胡素等11个香豆素类化学成分。结论:该方法准确、快速,可用于防风中香豆素类化学成分的分析。

**关键词** 防风;化学成分;超高效液相色谱仪联用四级杆串联飞行时间质谱仪;香豆素

## Analysis of Chemical Components as Coumarin in *Saposhnikovia divaricata* by UPLC-Q-TOF-MS

REN Xiaolei, HUO Jinhai, SUN Guodong, WEI Wenfeng, WANG Weiming (Institute of Chinese Materia Medica, Heilongjiang Academy of TCM, Harbin 150036, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To analyze chemical components as coumarin in *Saposhnikovia divaricata*, and to provide reference for comprehensive analysis of pharmacodynamic material base in *S. divaricata*. METHODS: UPLC-Q-TOF-MS method was adopted. Chromatographic condition: the determination was performed on ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of 0.1% formic acid water-0.1% formic acid acetonitrile (gradient elution) at the flow rate of 0.3 mL/min. The column temperature was 35 ℃, and sample size was 3 μL. MS condition: ESI, in positive and negative ion mode, ESI<sup>+</sup>/ESI<sup>-</sup> 5 500 V/-4 500 V, declustering potential of 80~-80 V, auxiliary heating gas pressure of 55.00 psi, atomizing gas pressure of -55 psi, curtain gas pressure of -35.00 psi, desolvent temperature of 550 ℃, collision activation scanning energy of 15 eV, collision voltage of 35 psi. Component analysis was performed by comparing with the related literature data and the standard chromatogram control combined with accurate relative molecular mass of compounds provided by UPLC-Q-TOF-MS. RESULTS: Totally 135 chemical components were analyzed in ESI<sup>+</sup> mode, and the 105 chemical components were analyzed in ESI<sup>-</sup> mode. 11 chemical components as coumarin were identified in ESI<sup>+</sup> mode, such as isoimperatorin, umbelliferone, scopolamine, xanthotoxin, psoralen, Ostenol, fraxidin, isoimperatorin, 5-hydroxyl-8-methoxypsoralen, phellopterin, decursin. CONCLUSIONS: The method is accurate and rapid, and can be used for the analysis of chemical components as coumarin in *S. divaricata*.

**KEYWORDS** *Saposhnikovia divaricata*; Chemical components; UPLC-Q-TOF-MS; Coumarin

防风为伞形科植物防风[*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk.]未抽花茎植株的干燥根<sup>[1]</sup>,始载于《神农本草经》,列为上品<sup>[2]</sup>,现主产于黑龙江、内蒙古、辽宁、吉林、河北等省区,其中以黑龙江杜尔伯特(泰康)为中心的草原地区所产的“小蒿子防风”品质最为优良<sup>[3]</sup>。现代研究表明,防风药材主要含有色原酮、挥发油、香豆

素、多糖及有机酸等多种化学成分,具有抗炎、解热、镇痛、抗凝血及抗肿瘤等活性<sup>[4-7]</sup>。目前,针对防风的化学成分研究多见于早年的植化分离<sup>[8-10]</sup>,质量评定多见于2015年版《中国药典》(一部)防风项下2种色原酮成分的含量测定<sup>[1,11-14]</sup>,不但检测手段单一,且所建立方法不能全面反映防风药材的成分。随着对其药理作用的深入开展,防风化学成分的快速全面鉴定成为亟待解决的问题。本课题组前期已采用超高效液相色谱仪联用四级杆串联飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)法对防风中最主要的化学成分——色原酮类成分进行了详细解析<sup>[6]</sup>。香豆素类成分为其另一生物活性主要相关联的有效成分,具有镇痛、镇静、抗肿瘤等药理作用<sup>[7]</sup>,故本研究继续

Δ 基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(No.81371045);黑龙江省应用技术与开发计划重大项目(No.GA16C101);现代农业产业技术体系建设专项资金资助(No.CARS-21)

\* 副研究员,硕士。研究方向:中药制剂分析。电话:0451-55665478。E-mail:paopao-009@163.com

# 通信作者:研究员,博士。研究方向:中药新药研发。电话:0451-55665478。E-mail:zyjy@163.com

采用UPLC-Q-TOF-MS法对防风药材中次主要成分——香豆素类成分进行鉴定,以便进一步阐明防风的药物质基础。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Triple-TOF™ 5600 质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); ACQUITY 液相色谱仪(美国 Waters 公司);BSAZ24S-CW 电子天平、BP211D 电子天平(德国 Sartorius 公司); ATC2-5-U 超纯水机(美国 Aquapro 国际有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

防风药材于2017年5月采自黑龙江省杜尔伯特县,经黑龙江省中医药科学院王伟明研究员鉴定为伞形科植物防风的根;补骨脂素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110739-201617,纯度:≥98%);东莨菪素对照品(批号:D-020-171123,纯度:≥98%)、紫花前胡素对照品(批号:Z-071-171216,纯度:≥98%)均购于成都彼斯特生物科技有限公司;甲醇、甲酸为色谱醇,水为自制超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 检测条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相为0.1%甲酸水(A)-0.1%甲酸乙腈(B),梯度洗脱(0~10 min, 95%→50% A; 10~13 min, 50%→30% A; 13~15 min, 30% A; 15~20 min, 30%→0% A; 20~20.1 min, 0%→95% A; 20.1~25 min, 95% A);柱温为35℃;流速为0.3 mL/min;进样量为3 μL。

2.1.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),采用信息关联(IDA)模式进行正、负离子扫描,离子喷雾电压ESI<sup>+</sup>/ESI<sup>-</sup>为5 500 V/-4 500 V;去簇电压为80~-80 V;辅助加热气压力为55.00 psi;雾化气压力为氮气;气帘气压力为-35.00 psi;去溶剂温度为550℃;扫描范围为100~1 500 Da;碰撞活化扫描能量为15 eV;碰撞电压为35 psi。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 样品溶液 精密称定防风药材粗粉1 g,置于具塞锥形瓶中,加入甲醇25 mL,称定质量;加热回流1 h,放至室温,再次称定质量,并用甲醇补足缺失的质量,取续滤液过0.22 μm 微孔滤膜,即得。

2.2.2 对照品溶液 精密称定东莨菪素、补骨脂素、紫花前胡素对照品适量,置于量瓶中,加入甲醇溶解,分别制备成质量浓度为20 μg/mL的对照品溶液,即得。

### 2.3 防风中香豆素类化学成分分析

取“2.2”项下样品溶液及对照品溶液,按“2.1”项下条件进行分析,记录图谱。结果,在ESI<sup>+</sup>、ESI<sup>-</sup>检测模式下各成分均可较好地分离,在ESI<sup>+</sup>模式下共解析出了

135个化学成分,成分响应值高,ESI<sup>-</sup>模式共解析出了105个化学成分且响应值较低,故本研究在ESI<sup>+</sup>模式下通过UPLC-ESI-MS检测得防风药材中各成分的保留时间(*t<sub>R</sub>*)和质谱信息,结合离子流图及相关文献数据对比,共确定了11个香豆素类化学成分。总离子流图见图1,11个香豆素类化学成分的鉴定结果见表1。

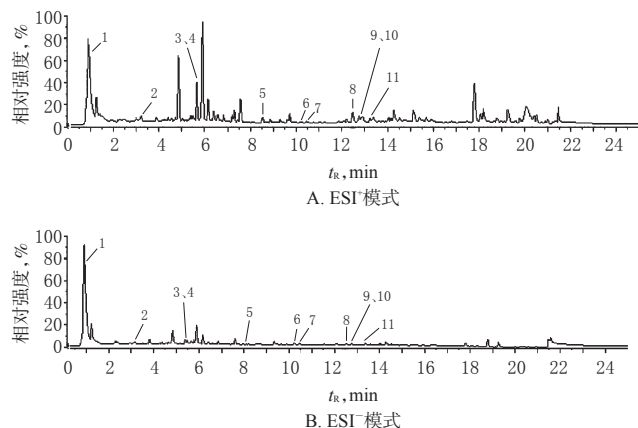


图1 2种检测模式下的总离子流图

Tab 1 TIC under 2 detection modes

### 2.4 化合物的裂解特征分析

2.4.1 异欧芹素乙 峰1的*t<sub>R</sub>*为0.9 min,ESI<sup>+</sup>模式下准分子离子峰为质荷比(*m/z*)=295[M+H]<sup>+</sup>,分别脱去一分子、两分子、三分子水形成特征碎片 *m/z*=277[M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、*m/z*=259[M+H-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、*m/z*=241[M+H-3H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>;准分子离子峰脱去三分子CO形成特征碎片 *m/z*=211[M+H-3CO]<sup>+</sup>。根据元素组成分析,该化合物的分子式为C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>,相对分子质量理论值为295.093 46、实测值为295.096 49,误差为3.49 ppm。据文献报道<sup>[7]</sup>,防风中含有异欧芹素乙,其相对分子质量为295,因此判断该化合物可能为异欧芹素乙,峰1的MS/MS图见图2。

2.4.2 伞形花内酯 峰2的*t<sub>R</sub>*为3.6 min,ESI<sup>+</sup>模式下准分子离子峰为*m/z*=163[M+H]<sup>+</sup>,脱去一分子CO形成特征碎片 *m/z*=135[M+H-CO]<sup>+</sup>,再脱去一分子水形成特征碎片 *m/z*=117[M+H-CO-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>,再脱去一分子CO形成特征碎片 *m/z*=89[M+H-2CO-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>;准分子离子峰脱去一分子甲基和一分子CO形成特征碎片 *m/z*=120[M+H-CO-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>,再脱去一分子甲基形成碎片离子 *m/z*=105[M+H-CO-2CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>;准分子离子峰脱去一分子甲基和两分子CO形成特征碎片 *m/z*=92[M+H-2CO-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>。根据元素组成分析,该化合物分子式为C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>,相对分子质量理论值为163.038 42、实测值为163.038 97,误差为3.37 ppm。据文献报道<sup>[15]</sup>,防风中含有伞形花内酯,其相对分子质量为163,因此判断该化合物为伞形花内酯,峰2的MS/MS图见图3。

2.4.3 东莨菪素 峰3的*t<sub>R</sub>*为5.4 min,ESI<sup>+</sup>模式下准分子离子峰为*m/z*=193[M+H]<sup>+</sup>,脱去一分子甲基形成特征

表1 防风药材中化学成分的UPLC-Q-TOF-MS鉴定结果

Tab 1 Identification result of chemical components in *S. divaricata* by UPLC-Q-TOF-MS

峰号	$t_R, \text{min}$	理论相对分子量	实测相对分子量	误差, ppm	分子式	碎片离子, $m/z$	化合物名称
1	0.9	295.093 46	295.094 49	3.49	$C_{18}H_{26}O_4$	$295[M+H]^+$ , $277[M+H-H_2O]^+$ , $259[M+H-2H_2O]^+$ , $241[M+H-3H_2O]^+$ , $211[M+H-3CO]^+$	异欧芹素乙
2	3.6	163.038 42	163.038 97	3.37	$C_8H_8O_3$	$163[M+H]^+$ , $135[M+H-CO]^+$ , $120[M+H-CO-CH_3]^+$ , $117[M+H-CO-H_2O]^+$ , $89[M+H-2CO-H_2O]^+$ , $92[M+H-CO-CH_2-CO]^+$ , $105[M+H-CO-2CH_3]^+$	伞形花内酯
3	5.4	193.049 01	193.049 54	2.75	$C_{10}H_{16}O_4$	$193[M+H]^+$ , $178[M+H-CH_3]^+$ , $161[M+H-CH_3-OH]^+$ , $133[M+H-CH_3-OH-CO]^+$ , $165[M+H-CO]^+$ , $137[M+H-2CO]^+$ , $149[M+H-CO_2]^+$ , $150[M+H-CH_3-CO]^+$ , $122[M+H-CH_3-2CO]^+$ , $105[M+H-CH_3-2CO-OH]^+$	东莨菪素
4	5.4	217.048 90	217.049 54	2.95	$C_{12}H_{18}O_4$	$217[M+H]^+$ , $202[M+H-CH_3]^+$ , $189[M+H-CO-CH_3]^+$ , $161[M+H-2CO-CH_3]^+$ , $174[M+H-CH_3-CO]^+$ , $146[M+H-CH_3-2CO]^+$	花椒毒素
5	8.5	187.038 05	187.038 97	4.92	$C_{10}H_{16}O_3$	$187[M+H]^+$ , $143[M+H-CO_2]^+$ , $115[M+H-CO-CO]^+$ , $159[M+H-CO]^+$ , $131[M+H-2CO]^+$ , $103[M+H-3CO]^+$ , $77[M+H-3CO-C_2H_2]^+$	补骨脂素
6	10.2	231.101 21	231.101 57	1.56	$C_{14}H_{20}O_3$	$231[M+H]^+$ , $189[M+H-C_2H_5]^+$ , $175[M+H-C_2H_5]^+$ , $147[M+H-C_2H_5-CO]^+$ , $119[M+H-C_2H_5-2CO]^+$ , $91[M+H-C_2H_5-3CO]^+$	Ostenol
7	10.4	223.062 66	223.062 01	-2.91	$C_{11}H_{18}O_3$	$223[M+H]^+$ , $208[M+H-CH_3]^+$ , $193[M+H-2CH_3]^+$ , $165[M+H-2CH_3-CO]^+$ , $137[M+H-2CH_3-2CO]^+$	秦皮啶
8	12.5	271.096 61	271.096 49	-0.44	$C_{18}H_{26}O_4$	$271[M+H]^+$ , $215[M+H-2CO]^+$ , $203[M+H-C_2H_5]^+$ , $185[M+H-C_2H_5-H_2O]^+$ , $175[M+H-C_2H_5-CO]^+$ , $147[M+H-C_2H_5-2CO]^+$ , $157[M+H-C_2H_5-CO-H_2O]^+$	异欧前胡素
9	12.9	233.044 41	233.044 45	0.17	$C_{12}H_{18}O_5$	$233[M+H]^+$ , $218[M+H-CH_3]^+$ , $190[M+H-CH_3-CO]^+$ , $162[M+H-CH_3-2CO]^+$ , $134[M+H-CH_3-3CO]^+$ , $174[M+H-CH_3-CO_2]^+$ , $116[M+H-CH_3-3CO-H_2O]^+$ , $106[M+H-CH_3-4CO]^+$	5-羟基-8-甲氧基补骨脂素
10	12.9	301.107 34	301.107 05	-0.96	$C_{15}H_{22}O_4$	$301[M+H]^+$ , $245[M+H-2CO]^+$ , $233[M+H-C_2H_5]^+$ , $230[M+H-2CO-CH_3]^+$ , $218[M+H-C_2H_5-CH_3]^+$ , $202[M+H-3CO-CH_3]^+$ , $190[M+H-C_2H_5-CH_3-CO]^+$ , $162[M+H-C_2H_5-CH_3-2CO]^+$ , $134[M+H-C_2H_5-CH_3-3CO]^+$	珊瑚菜素
11	13.2	329.138 35	329.138 35	0	$C_{18}H_{26}O_5$	$329[M+H]^+$ , $247[M+H-C_2H_5O]^+$ , $229[M+H-C_2H_5O-H_2O]^+$ , $214[M+H-C_2H_5O-H_2O-CH_3]^+$ , $185[M+H-C_2H_5O-H_2O-CO]^+$	紫花前胡素

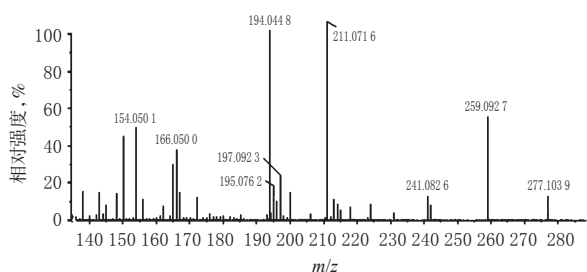


图2 峰1的MS/MS图

Fig 2 MS/MS spectra of peak 1

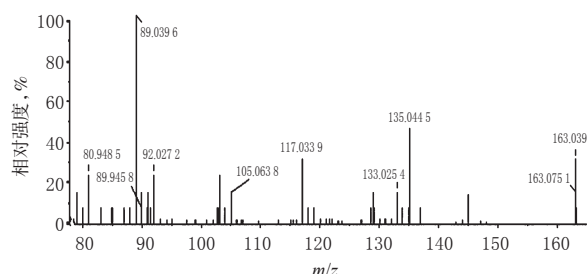
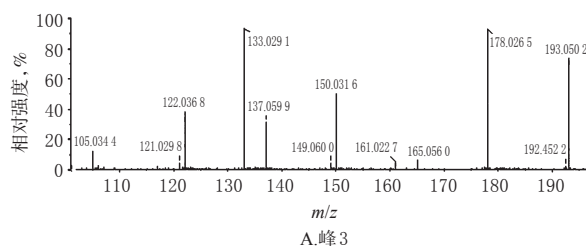


图3 峰2的MS/MS图

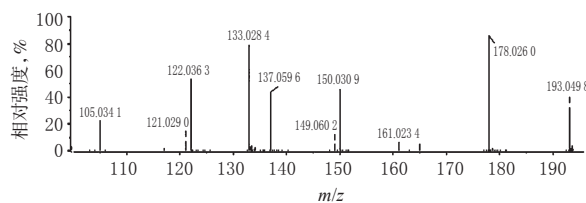
Fig 3 MS/MS spectra of peak 2

碎片  $m/z=178[M+H-CH_3]^+$ ,再脱去一分子羟基形成特征碎片  $m/z=161[M+H-CH_3-OH]^+$ ,再脱去一分子CO形成特征碎片  $m/z=133[M+H-CH_3-OH-CO]^+$ ;准分子离子峰脱去一分子  $CO_2$ 形成特征碎片  $m/z=149[M+H-CO_2]^+$ ;准分子离子峰直接脱去一分子甲基和一分子CO形成特征碎片  $m/z=150[M+H-CH_3-CO]^+$ ,再脱去一分子CO形成特征碎片  $m/z=165[M+H-CO]^+$ ,再脱去一分子CO形成特征碎片  $m/z=137[M+H-2CO]^+$ ,再脱去一分子甲基形成特征碎片  $m/z=122[M+H-2CO-CH_3]^+$ ,再脱去一分子羟基形成特征碎片  $m/z=105[M+H-2CO-CH_3-OH]^+$ 。根据元素组成分析,该化合物分子式为  $C_{10}H_{16}O_4$ ,相对分子质量理论值为193.049 01、实测值为193.049 54,误差为

2.75 ppm。据文献报道<sup>[16-17]</sup>,防风中含有东莨菪素,其相对分子质量为193。且在相同MS条件下峰3与东莨菪素对照品的裂解规律一致,因此判断该化合物为东莨菪素。峰3和东莨菪素对照品的MS/MS图见图4。



A.峰3



B.东莨菪素对照品

图4 峰3和东莨菪素对照品的MS/MS图

Fig 4 MS/MS spectra of peak 3 and scopolamine control

2.4.4 花椒毒素 峰4的  $t_R$ 为5.4 min,ESI<sup>+</sup>模式下准分子离子峰为  $m/z=217[M+H]^+$ ,脱去一分子甲基形成特征碎片  $m/z=202[M+H-CH_3]^+$ ,再脱去一分子CO形成特征碎片  $m/z=174[M+H-CO-CH_3]^+$ ;准分子离子峰分别脱去一分子、两分子CO形成特征碎片  $m/z=189[M+H-CO]^+$ 、 $m/z=161[M+H-2CO]^+$ ,再脱去一分子甲基形成特征碎片  $m/z=146[M+H-2CO-CH_3]^+$ 。根据元素组成分析,该化合物的分子式为  $C_{12}H_{18}O_4$ ,相对分子质量理论值为217.048 9、实测值为217.049 54,误差为2.95 ppm。据文献报道<sup>[16]</sup>,防风中含有花椒毒素,其相对分子质量为217,因此判断该化合物为花椒毒素,峰4的MS/MS图见图5。

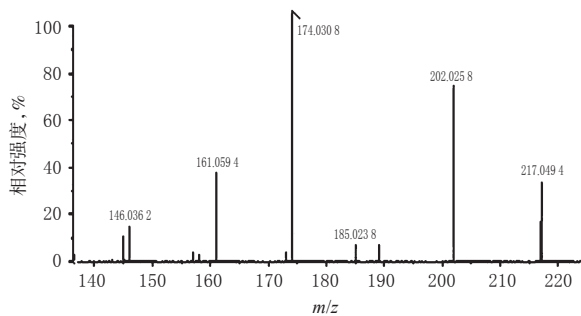
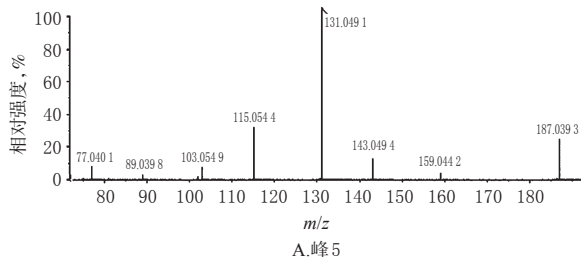


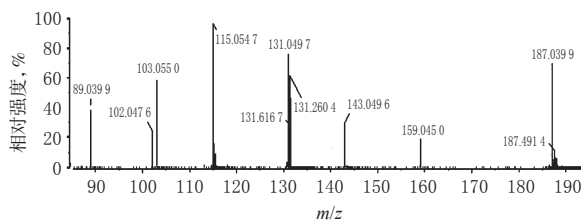
图5 峰4的MS/MS图

Fig 5 MS/MS spectra of peak 4

2.4.5 补骨脂素 峰5的 $t_R$ 为8.5 min, ESI<sup>+</sup>模式下准分子离子峰为 $m/z=187[M+H]^+$ , 脱去一分子 $CO_2$ 形成特征碎片 $m/z=143[M+H-CO_2]^+$ , 再脱去一分子 $CO$ 形成特征碎片 $m/z=115[M+H-CO_2-CO]^+$ ; 准分子离子峰分别脱去一分子、两分子、三分子 $CO$ 形成特征碎片 $m/z=159[M+H-CO]^+$ 、 $m/z=131[M+H-2CO]^+$ 、 $m/z=103[M+H-3CO]^+$ , 再脱去一分子 $C_2H_2$ 形成碎片离子 $m/z=77[M+H-3CO-C_2H_2]^+$ 。根据元素组成分析和相关文献报道<sup>[7]</sup>, 推断该化合物分子式为 $C_{11}H_6O_3$ , 相对分子质量理论值为187.038 05、实测值为187.038 97, 误差为4.92 ppm。且峰5的裂解规律与补骨脂素对照品相似, 可以确定该化合物为补骨脂素, 峰5和补骨脂素对照品的MS/MS图见图6。



A. 峰5



B. 补骨脂素对照品

图6 峰5和补骨脂素对照品的MS/MS图

Fig 6 MS/MS spectra of peak 5 and psoralen control

2.4.6 Ostenol 峰6的 $t_R$ 为10.2 min, ESI<sup>+</sup>模式下准分子离子峰为 $m/z=231[M+H]^+$ , 脱去一分子 $C_3H_6$ 形成特征碎片 $m/z=189[M+H-C_3H_6]^+$ ; 准分子离子峰脱去一分子 $C_4H_8$ 形成特征碎片 $m/z=175[M+H-C_4H_8]^+$ , 再分别脱去一分子、两分子、三分子 $CO$ 形成特征碎片 $m/z=147[M+H-C_4H_8-CO]^+$ 、 $m/z=119[M+H-C_4H_8-2CO]^+$ 、 $m/z=91[M+H-C_4H_8-3CO]^+$ 。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{14}H_{14}O_3$ ; 相对分子质量理论值为231.101 21、实测值为

231.101 57, 误差为1.56 ppm。据文献报道<sup>[13]</sup>, 防风中含有Ostenol, 其相对分子质量为231, 因此判断该化合物可能为Ostenol, 峰6的MS/MS图见图7。

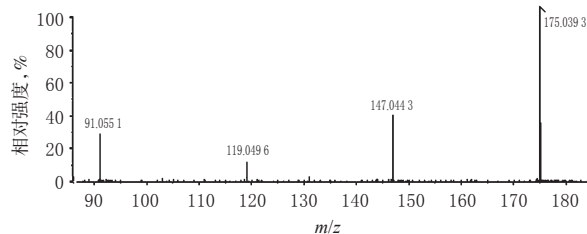


图7 峰6的MS/MS图

Fig 7 MS/MS spectra of peak 6

2.4.7 秦皮啶 峰7的 $t_R$ 为10.4 min, ESI<sup>+</sup>模式下准分子离子峰为 $m/z=223[M+H]^+$ , 相继脱去一分子、两分子甲基分别形成特征碎片 $m/z=208[M+H-CH_3]^+$ 、 $m/z=193[M+H-2CH_3]^+$ , 再脱去一分子 $CO$ 形成特征碎片 $m/z=165[M+H-2CH_3-CO]^+$ , 再脱去一分子 $CO$ 形成特征碎片 $m/z=137[M+H-2CH_3-2CO]^+$ 。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{11}H_{10}O_5$ ; 相对分子质量理论值为223.062 66、实测值为223.060 1, 误差为-2.91 ppm。据文献报道<sup>[7,17]</sup>, 防风中含有秦皮啶, 其相对分子质量为223, 因此判断该化合物可能为秦皮啶, 峰7的MS/MS图见图8。

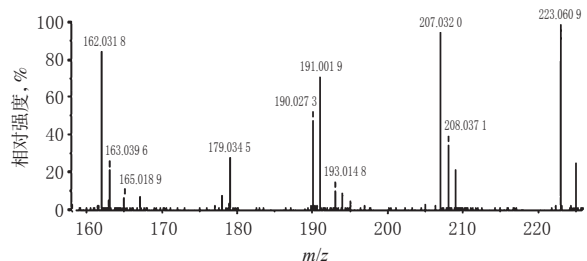


图8 峰7的MS/MS图

Fig 8 MS/MS spectra of peak 7

2.4.8 异欧前胡素 峰8的 $t_R$ 为12.5 min, ESI<sup>+</sup>模式下准分子离子峰为 $m/z=271[M+H]^+$ , 脱掉两分子 $CO$ 获得 $m/z=215[M+H-CO]^+$ 离子; 准分子离子峰脱去一分子 $C_5H_8$ 形成特征碎片 $m/z=203[M+H-C_5H_8]^+$ , 再脱去一分子 $H_2O$ 形成特征碎片 $m/z=185[M+H-C_5H_8-H_2O]^+$ , 再脱去一分子 $CO$ 形成特征碎片 $m/z=157[M+H-C_5H_8-H_2O-CO]^+$ ; 准分子离子峰脱去一分子 $C_5H_8$ 和一分子 $CO$ 形成特征碎片 $m/z=175[M+H-C_5H_8-CO]^+$ , 再脱去一分子 $CO$ 形成特征碎片 $m/z=147[M+H-C_5H_8-2CO]^+$ 。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{16}H_{14}O_4$ ; 相对分子质量理论值为271.096 61、实测值为271.096 49, 误差为-0.44 ppm。据文献报道<sup>[18]</sup>, 防风中含有异欧前胡素, 其相对分子质量为271, 因此推测该化合物可能为异欧前胡素, 峰8的MS/MS图见图9。

2.4.9 5-羟基-8-甲氧基补骨脂素 峰9的 $t_R$ 为12.9 min, ESI<sup>+</sup>模式下准分子离子峰为 $m/z=233[M+H]^+$ , 脱去一分

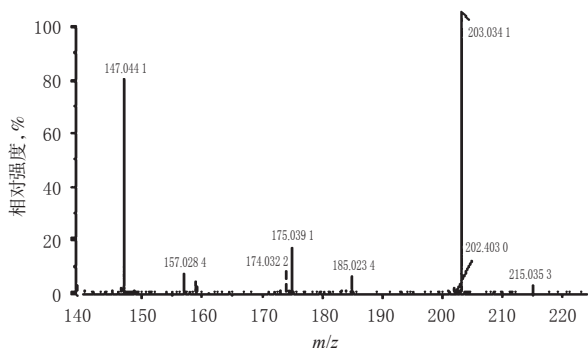


图9 峰8的MS/MS图

Fig 9 MS/MS spectra of peak 8

子甲基形成特征碎片  $m/z=218[M+H-CH_3]^+$ , 连续再脱掉一分子、两分子、三分子CO分别形成特征碎片  $m/z=190[M+H-CH_3-CO]^+$ 、 $m/z=162[M+H-CH_3-2CO]^+$ 、 $m/z=134[M+H-CH_3-3CO]^+$ , 再脱去一分子H<sub>2</sub>O形成碎片  $m/z=116[M+H-CH_3-3CO-H_2O]^+$ ; 准分子离子峰直接脱去一分子甲基和一分子CO<sub>2</sub>形成特征碎片  $m/z=174[M+H-CH_3-CO_2]^+$ ; 准分子离子峰脱去一分子甲基和四分子CO形成特征碎片  $m/z=106[M+H-CH_3-4CO]^+$ 。根据元素组成分析, 该化合物分子式为C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>O<sub>5</sub>; 相对分子质量理论值为233.044 41、实测值为233.044 45, 误差为-0.17 ppm。据文献报道<sup>[5]</sup>, 防风中含有5-羟基-8-甲氧基补骨脂素, 其相对分子质量为233, 因此推断该化合物可能为5-羟基-8-甲氧基补骨脂素, 峰9的MS/MS图见图10。

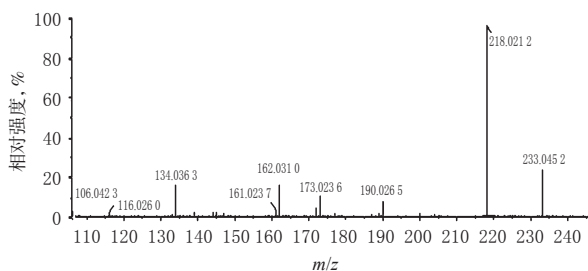


图10 峰9的MS/MS图

Fig 10 MS/MS spectra of peak 9

2.4.10 珊瑚菜素 峰10的  $t_R$  为12.9 min, ESI<sup>+</sup>模式下准分子离子峰为  $m/z=301[M+H]^+$ , 脱掉两分子CO获得  $m/z=245[M+H-2CO]^+$  碎片; 准分子离子峰脱去一分子甲基和两分子CO形成特征碎片  $m/z=230[M+H-2CO-CH_3]^+$ , 再脱去一分子CO形成特征碎片  $m/z=202[M+H-3CO-CH_3]^+$ ; 准分子离子峰脱去一分子C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>形成特征碎片  $m/z=233[M+H-C_5H_8]^+$ , 再脱去一分子甲基形成特征碎片  $m/z=218[M+H-C_5H_8-CH_3]^+$ , 再相继脱去一分子、两分子、三分子CO形成特征  $m/z=190[M+H-C_5H_8-CO-CH_3]^+$ 、 $m/z=162[M+H-C_5H_8-2CO-CH_3]^+$ 、 $m/z=134[M+H-C_5H_8-3CO-CH_3]^+$ 。根据元素组成分析, 该化合物分子式为C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>; 相对分子质量理论值为301.107 34、实测值为301.107 05, 误差为-0.96 ppm。据文献报道<sup>[19]</sup>, 防

风中含有珊瑚菜素, 其相对分子质量为301, 因此推断该化合物可能为珊瑚菜素, 峰10的MS/MS图见图11。

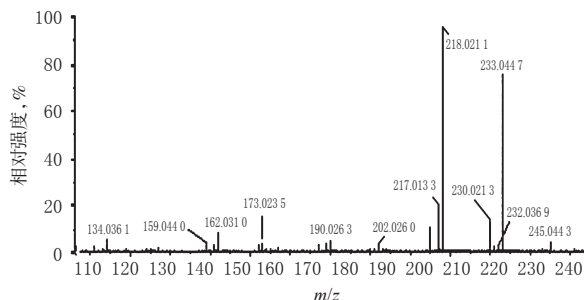
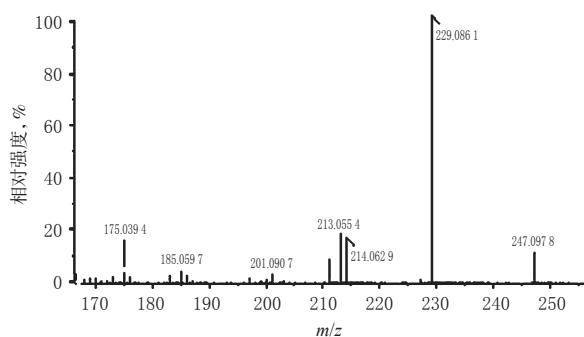


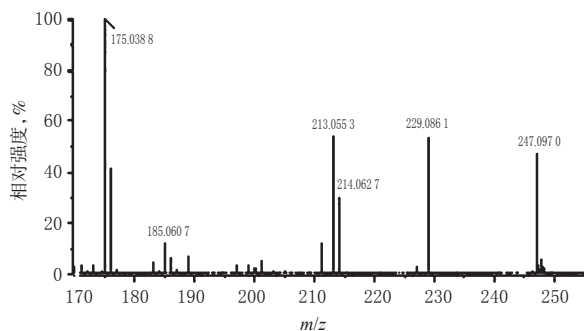
图11 峰10的MS/MS图

Fig 11 MS/MS spectra of peak 10

2.4.11 紫花前胡素 峰11的  $t_R$  为13.2min, ESI<sup>+</sup>模式下准分子离子峰为  $m/z=329[M+H]^+$ , 脱去一分子C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>O形成特征碎片  $m/z=247[M+H-C_5H_6O]^+$ , 再脱去一分子水形成碎片离子  $m/z=229[M+H-C_5H_6O-H_2O]^+$ , 再脱去一分子甲基或一分子CO<sub>2</sub>分别形成  $m/z=214[M+H-C_5H_6O-H_2O-CH_3]^+$ 、 $m/z=185[M+H-C_5H_6O-H_2O-CO_2]^+$  的特征碎片。根据元素组成分析, 该化合物的分子式为C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>; 相对分子质量理论值为329.138 35、实测值为329.138 35, 误差为0。根据文献报道<sup>[20]</sup>, 防风中含有紫花前胡素, 其相对分子质量为329, 且在相同MS条件下峰11与紫花前胡素对照品的裂解规律一致, 因此判断该化合物为紫花前胡素, 峰11和紫花前胡素对照品的MS/MS图见图12。



A. 峰11



B. 紫花前胡素对照品

图12 峰11和紫花前胡素对照品的MS/MS图

Fig 12 MS/MS spectra of peak 11 and decursin control

### 3 讨论

本研究采用UPLC-Q-TOF-MS法对防风药材香豆素类成分进行了全面分析,该方法具有高分离度、高分辨率、高质量精度和高灵敏度等特点<sup>[21]</sup>。通过非目标筛选并解析11个成分,理论相对分子质量与实测相对分子质量误差均小于5 ppm。香豆素是继色原酮后防风药材中另一主要药效物质基础,其中的异欧芹素乙对小鼠腹腔巨噬细胞体外释放肿瘤坏死因子具有显著的抑制作用<sup>[22]</sup>;伞形花内酯、东莨菪素能明显抑制组胺及蛋清诱发的大鼠足肿胀,其作用可持续4 h以上,均显示出较强的抗炎活性<sup>[23]</sup>;补骨脂素、5-羟基-8-甲氧基补骨脂素对乳腺癌及前列腺癌细胞具有抗肿瘤作用,二者通过抑制线粒体脂质过氧化来保护线粒体功能,均具有良好的抗氧化作用<sup>[24]</sup>;异欧前胡素具有显著的镇痛作用,能明显抑制热板所致的小鼠疼痛<sup>[25]</sup>;紫花前胡素对脂多糖损伤的人急性单核细胞白血病细胞THP-1具有保护作用,能够降低炎症细胞因子如肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )和单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)的分泌,对相关炎症疾病具有保护作用<sup>[26]</sup>。

本研究作为防风药材质量标志物的前期研究,明确了防风香豆素成分裂解规律,后期本课题组将继续对防风药材的体内入血成分进行分析,并结合该结果进一步确定防风药材的质量标志物,为防风的全面质量评价奠定基础,并为阐明防风道地性成因打下基础。

### 参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:149.

[2] 赵博,杨鑫宝,杨秀伟,等.防风化学成分的研究[J].中国中药杂志,2010,35(12):1569-1572.

[3] 赵常英.中药防风栽培品与野生品药材性状显微组织差异对比[J].中医临床研究,2017,9(25):19-20.

[4] 黄彧,吴桐,刘春明,等.防风中色原酮类化学成分的分离及鉴定[J].时珍国医国药,2018,29(7):1558-1561.

[5] 李阳,王旭,李壮壮,等.防风化学成分分离鉴定[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(15):60-64.

[6] 刘亚娟,任晓蕾,霍金海,等.防风色原酮类化学成分的UPLC-Q-TOF/MS分析[J].中国中医药科技,2018,25(3):355-361.

[7] 刘双利,姜程曦,赵岩,等.防风化学成分及其药理作用研究进展[J].中草药,2017,48(10):2146-2152.

[8] 杨景明,姜华,王紫玮,等.防风多糖的提取分离与含量测定方法研究[J].吉林中医药,2016,36(5):513-516.

[9] 王紫玮,杨景明,姜华,等.多糖对抽茎防风药效及其药动学的影响[J].中成药,2015,37(11):2392-2397.

[10] 王鹏军.两种不同来源的中药材:防风的鉴别[J].北方药学,2016,13(8):12-13.

[11] 王文祎,徐佳,刘杰,等.不同生长方式防风色原酮物质含量测定及差异性分析[J].世界中医药,2015,10(9):1410-1412,1415.

[12] 项瑞.高效液相色谱法测定防风中色原酮的含量[J].首都医药,2014,21(18):75-77.

[13] 杨景明,姜华,孟祥才.中药防风质量评价的现状与思考[J].中药材,2016,39(7):1678-1681.

[14] 吴拾保,邓渝,袁铭铭,等.玉屏风口服液1个异黄酮类及3个色原酮类成分的含量测定[J].药物分析杂志,2016,36(12):2221-2225.

[15] 宗亚丽,林玉萍,丁琼娥,等.竹叶防风地上部分的化学成分研究[J].中药材,2007,30(1):42-44.

[16] 刘双利.防风类药材的质量评价研究[D].长春:吉林农业大学,2007.

[17] 曾丽君.防风质量标准研究及其资源开发[D].沈阳:沈阳药科大学,2008.

[18] RYOSUKE M, ALEXANDRE O, LEXANDRE. Molecular evolution of parsnip (*Pastinaca sativa*) membrane-bound prenyltransferases for linear and/or angular furanocoumarin biosynthesis[J]. *NPH*, 2016, 211(1):332-344.

[19] 姜超.防风中有效成分的提取及对实验性肝损伤保护作用的研究[D].长春:吉林农业大学,2013.

[20] 阎玉凝,丁书风,郭彦文.防风地区习惯用药的研究 I:川防风、竹节防风的生药与化学成分[J].西北药学杂志,1988,3(1):31-34.

[21] 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.

[22] 嵇扬,曾国钱,芮耀诚.欧芹素乙和异欧芹素乙对小鼠腹腔巨噬细胞体外释放肿瘤坏死因子的抑制作用[J].第二军医大学学报,1994,15(6):511-513.

[23] 李斌,陈钰妍,李顺祥.飞蛾藤属植物化学成分和药理作用研究进展[J].科技导报,2013,31(11):74-79.

[24] 鲁亚奇,张晓,王金金,等.补骨脂化学成分及药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(20):132-141.

[25] 王梦月,贾敏如,马逾英,等.白芷中四种线型呋喃香豆素类成分药理作用研究[J].天然产物研究与开发,2010,22(3):485-489.

[26] 李莉,杜纪坤,邹丽宜,等.朝鲜当归源紫花前胡素对LPS损伤THP-1细胞的研究[J].广州化工,2015,43(16):88-90.

(收稿日期:2018-07-27 修回日期:2018-11-28)

(编辑:林 静)