

采用UPLC-Q-TOF-MS技术鉴定连翘中45种化学成分^Δ

周明月*, 霍金海, 孙国东, 王伟明[#](黑龙江省中医药科学院中药研究所, 哈尔滨 150036)

中图分类号 R282;R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)22-3067-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.22.09

摘要 目的:对连翘药材的化学成分进行结构鉴定。方法:利用超高效液相色谱联用四极杆串联飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术对连翘的化学成分进行分析。采用ACQUITY UPLC BEH C₁₈色谱柱,流动相为0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈溶液(B),梯度洗脱,流速为0.3 mL/min,柱温为30℃,进样量为5 μL;采用电喷雾正、负离子模式检测,离子源温度为550℃,雾化气体为N₂,雾化气、辅助气压力均为379.2 kPa,气帘气压力为241.3 kPa,去簇电压为80 V/-80 V,碰撞能量为35 eV/-35 eV,质量扫描范围为80~1 500 Da。利用Peakview 2.0软件通过所测得成分的一级质谱进行目标性筛查,并计算各成分的高分辨精确分子量,对比对照品图谱以及相关文献,或计算二级质谱中碎片离子的元素组成及分析其裂解途径,推断化合物结构。结果与结论:共鉴定出连翘中的45个化合物,包括7个苯乙醇苷类成分、5个木脂素类成分、5个萜类成分、12个黄酮类成分、7个有机酸类成分、2个酚类成分、2个醌类成分、2个苷类成分和3个其他成分;其中有19个化合物为首次在连翘中得以鉴定。本研究可为连翘药效物质基础的深入研究及其成分的快速定性、定量分析提供基础。

关键词 连翘;化学成分;鉴定;超高效液相色谱;四极杆串联飞行时间质谱;苯乙醇苷类;木脂素类

Identification of 45 Kinds of Chemical Components of *Forsythia suspensa* by UPLC-Q-TOF-MS

ZHOU Mingyue, HUO Jinhai, SUN Guodong, WANG Weiming (Institute of Chinese Materia Medica, Heilongjiang Academy of TCM, Harbin 150036, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To identify chemical components of *Forsythia suspense*. METHODS: UPLC-Q-TOF-MS technology was used for the chemical components analysis of *F. suspense*. The determination was performed on ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column with mobile phase consisted of 0.1% formic acid aqueous solution (A)- 0.1% formic acid acetonitrile solution (B) with

- target estrogen receptors ER- α and ER- β by QSAR approaches[J]. *Curr Drug Targets*, 2017, 18(5):576-591.
- [13] KUMAR A, BEAN LA, RANI A. Contribution of estrogen receptor subtypes, ER- α , ER- β , and GPER1 in rapid estradiol-mediated enhancement of hippocampal synaptic transmission in mice[J]. *Hippocampus*, 2015, 25(12):1556-1566.
- [14] KUMAR R, YADAV A, PAKRASI PL. Expression of ER- α and ER- β during peri-implantation period in uterus is essential for implantation and decidualization in golden hamster[J]. *Life Sci*, 2017. DOI:10.1016/j.lfs.2016.12.002.
- [15] BERNARDINO RL, ALVES MG, SILVA J, et al. Expression of estrogen receptors alpha (ER- α), beta (ER- β), and G protein-coupled receptor 30 (GPR30) in testicular tissue of men with klinefelter syndrome[J]. *Horm Metab Res*, 2016, 48(6):413-415.
- [16] THONGON N, BOONMUEN N, SUKSEN K, et al. Selective estrogen receptor modulator (SERM)-like activities of diarylheptanoid, a phytoestrogen from curcuma comosa, in breast cancer cells, pre-osteoblast cells, and rat uterine tissues[J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(17):3490-3496.
- [17] KASTRATI I, CANESTRARI E, FRASOR J. PHLDA1 expression is controlled by an estrogen receptor-NF κ B-miR-181 regulatory loop and is essential for formation of ER+ mammospheres[J]. *Oncogene*, 2015, 34(18):2309-2316.
- [18] LEVIN ER. Membrane estrogen receptors signal to determine transcription factor function[J]. *Steroids*, 2018. DOI:10.1016/j.steroids.2017.10.014.
- [19] MANDUSIĆ V, NIKOLIĆ-VUKOSAVLJEVIĆ D, TANIĆ N, et al. Expression of estrogen receptor β wt isoform (ER-beta1) and ERbetaDelta5 splice variant mRNAs in sporadic breast cancer[J]. *J Cancer Res Clin*, 2007, 133(8):571-579.
- [20] MORAIS-SANTOS M, NUNES ARYANE EB, OLIVEIRA AG, et al. Changes in estrogen receptor ER β (ESR2) expression without changes in the estradiol levels in the prostate of aging rats[J]. *PLoS One*, 2015. DOI:10.1371/journal.pone.0131901.

^Δ 基金项目:国家中药材产业技术体系任务(No.CARS-21);黑龙江省科研机构创新能力提升专项计划(No.YC13D001)

* 硕士研究生。研究方向:中药药效物质基础及质量评价。电话:0451-55653086-6902。E-mail:1138338821@qq.com

[#] 通信作者:研究员,博士生导师,博士。研究方向:中药新药研发。电话:0451-55665478。E-mail:zyyjy@163.com

(收稿日期:2019-02-21 修回日期:2019-07-28)

(编辑:张元媛)

gradient elution, at the flow rate of 0.3 mL/min; the column temperature was set at 30 °C; the sample size was 5 μL. Positive and negative ions were detected by electrospray ionization. The temperature of the ion source was 550 °C; the atomizing gas was N₂; the atomizing gas and the auxiliary pressure were 379.2 kPa; the air curtain pressure was 241.3 kPa; the decluster voltage was 80 V/−80 V; the collision energy was 35 eV/−35 eV; the mass scanning range was 80-1 500 Da. Peakview 2.0 software was used to screen the target components by the first-order mass spectrometry, and calculate the high-resolution and accurate molecular weight of each component, compare with the reference spectrum and related literature, or calculate the elemental composition of fragment ions in the second-order mass spectrometry, analyze their decomposition pathways, then infer the structure of compounds. RESULTS & CONCLUSIONS: 45 kinds of compounds were identified from *F. suspense*, which included 7 phenylethanol glycosides, 5 lignans, 5 terpenes, 12 flavonoids, 7 organic acids, 2 phenols, 2 quinones, 2 glycosides and 3 other components. There were 19 compounds identified for the first time in *F. suspense*. The study provides a reference for the in-depth study of the pharmacodynamic substance basis of *F. suspense* and the rapid qualitative and quantitative analysis of the components.

KEYWORDS *Forsythia suspense*; Chemical components; Identification; UPLC; Q-TOF-MS; Phenylethanol glycosides; Lignans

连翘为木犀科连翘属植物连翘[*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl]的干燥果实,气微香,味苦,性微寒,归肺、心、小肠经,具有清热解毒、消肿散结、疏散风热等功效,有“疮家圣药”之称。连翘在临床上常用于治疗痈疽、瘰疬、乳痈、丹毒、风热感冒、温病初起、温热入营、高热烦渴等症^[1]。现代药理研究显示,连翘具有抗炎、抗病毒、解热镇痛、止呕、保肝等作用,具有重要的开发价值^[2]。然而,目前研究者对连翘化学成分的研究多集中于单个成分的提取分离与结构鉴定^[3-5],检测手段单一,在线分离与系统分析的报道较少,且所建立方法不能全面反映连翘药材的组成,这限制了对其药效物质基础的全面认识及多成分的快速定性定量分析,不利于该药材资源的深入开发与利用。随着对连翘药理作用研究的深入,其化学成分的全面快速鉴定成为亟待解决的问题。

液质联用(LC-MS)技术是当代最重要的分离鉴定分析方法之一,兼具LC技术高分离效能和MS技术高灵敏度、高选择性为一体的优点。中药材及中药复方中化学成分种类繁多、结构复杂,LC-MS已成为快速分析鉴定其化学成分最常用的有力工具^[6-10]。近年来,超高效液相色谱联用四极杆串联飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术已广泛用于中药成分的在线分析与药效物质的基础研究中^[11-13]。本课题组前期采用UPLC-Q-TOF-MS技术对连翘中最主要的化学成分——苯乙醇苷类成分(具有抗菌、抗炎、抗肿瘤等多种生物活性,被认为是连翘中的主要活性成分^[14])进行了详细解析。基于此,本研究将采用此技术进一步对连翘中的化学成分进行鉴定,以便阐明其药效物质基础。

1 材料

1.1 仪器

Acquity UPLC型UPLC仪(美国Waters公司);AB Sciex Triple-TOF™ 5600型MS仪(美国Sciex公司);KQ-300DB型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);BSA224S-CW型电子天平、BP211D型电子天平(德国Sartorius公司)。

1.2 药品与试剂

连翘酯苷A、连翘苷、绿原酸对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号分别为L-012-171216、L010-170301、L-007-160504,纯度均≥98%);芦丁对照品(国家食品药品检定研究院,批号:100080-200707,纯度:≥98%);甲醇(分析纯,西陇科学股份有限公司);乙腈(色谱纯,德国Merck公司);甲酸(色谱纯,美国Fisher公司);蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司)。

1.3 药材

连翘药材(青翘,采收时间为2018年6月,批号:180601)购于北京同仁堂(亳州)饮片有限责任公司,经黑龙江省中医药科学院霍金海副研究员鉴定为木犀科连翘属植物连翘[*F. suspensa* (Thunb.) Vahl]的果实。药材粉碎后过三号筛,备用。

2 方法

2.1 LC条件

色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相:0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈溶液(B),梯度洗脱(0~3 min, 5% B→25% B; 3~13 min, 25% B→80% B; 13~23 min, 80% B→100% B; 23~23.1 min, 100% B→5% B; 23.1~25 min, 5% B);流速:0.3 mL/min;柱温:30 °C;进样量:5 μL。

2.2 MS条件

离子源:电喷雾离子源(ESI);离子化模式:电喷雾正、负离子模式;离子喷雾电压(ESI⁺/ESI⁻):5 500 V/−4 500 V;离子源温度:550 °C,去簇电压:80 V/−80 V;碰撞能量:35 eV/−35 eV,碰撞活化扫描能量:15 eV;雾化气体:N₂;雾化气、辅助气压力:379.2 kPa;气帘气压力:241.3 kPa;质量扫描范围:80~1 500 Da。对响应值超过100 cps的8个最高峰进行二级质谱扫描,子离子质量扫描范围为50~1 500 Da,开启动态背景扣除(DBS)。采用Analyst TF 1.6软件进行数据采集,采用PeakView 2.0软件进行数据处理。

2.3 供试品溶液的制备

取连翘细粉约1.0 g,精密称定,置于150 mL具塞锥

形瓶中,精密加入甲醇25 mL,密塞,称定质量,超声(功率:300 W,频率:100 kHz)处理30 min;放冷后,再次称定质量,用甲醇补足损失质量,摇匀;溶液以0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 对照品溶液的制备

取连翘酯苷A、连翘苷、绿原酸、芦丁对照品适量,精密称定,分别置于10 mL量瓶中,以甲醇溶解并定容,分别制成质量浓度均为20 μg/mL的对照品溶液,即得。

2.5 UPLC-MS分析

取“2.3”“2.4”项下对照品溶液和供试品溶液,按“2.1”“2.2”项下LC与MS条件进样测定,记录色谱图,用于后续成分筛查与结构鉴定。

2.6 连翘化学成分解析

2.6.1 成分筛查 通过查阅国内外文献,将连翘属化学成分信息进行汇总,包括中文或英文名称、分子式、结构式、相对分子质量、成分类型、化学物质登录号(CAS号)、所属植物药用部位、结构鉴定信息(包括质谱、氢谱、碳谱等),建立一个包含连翘属157种化合物的一级质谱数据库。选择Peakview 2.0软件中的“MasterView”工具,设置“Mass Error”值 $<5 \times 10^{-6}$ (权重为30%)、“Isotope”差异值 $<10\%$ (权重为40%)、“Formula Finder Score”值 $>70\%$ (权重为40%),通过所测得的成分的一级质谱进行目标性筛查。

2.6.2 结构鉴定 利用Peakview 2.0软件中的“Formula Findexer”工具计算各成分的高分辨精确分子质量,快速推测各色谱峰对应化合物的分子式,并与已有对照品的

保留时间及二级质谱数据对比,推断成分结构;对于一些无法获得对照品的化合物,先依据二级质谱的碎片离子信息计算出其元素组成,再推测其裂解方式,进一步推断出化合物结构。

3 结果

3.1 UPLC-Q-TOF/MS分析结果

在正、负离子模式下,供试品溶液分离效果及离子化效率良好,总离子流图见图1(对照品图谱略)。

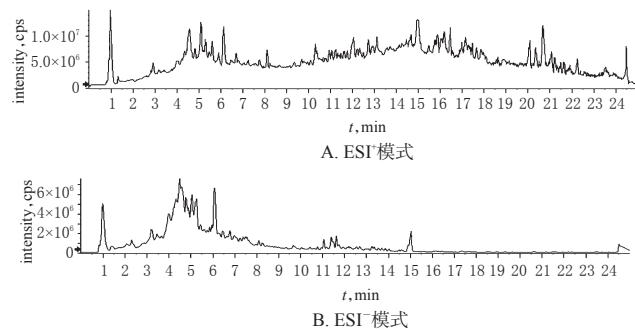


图1 两种检测模式下的总离子流图

Fig 1 Total ion chromatograms of 2 detection modes

3.2 化合物结构鉴定结果

经与对照品图谱及相关文献数据对照,并结合UPLC-MS所测得化合物的高分辨相对分子量结果进行成分分析,共鉴定出连翘药材中的45个化合物,包括7个苯乙醇苷类成分、5个木脂素类成分、5个萜类成分、12个黄酮类成分、7个有机酸类成分、2个酚类成分、2个醌类成分、2个苷类成分和3个其他成分,详见表1。

表1 连翘中化合物结构鉴定结果

Tab 1 Structure identification results of chemical components in *F. suspense*

编号	保留时间, min	提取离子	分子量测定值	分子量理论值	误差, $\times 10^{-5}$	分子式	质荷比(m/z)及碎片离子	鉴定结果	类型
1	2.3	[M+H] ⁺	321.153 2	321.154 39	-3.7	C ₁₄ H ₂₀ O ₈	321[M+H] ⁺ ; 150[M+H-2CO-C ₆ H ₁₀ -H ₂ O] ⁺ ; 141[M+H-C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 123[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -H ₂ O] ⁺ ; 105[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -2H ₂ O] ⁺	Rengyoside B [*]	苷类
2	2.4	[M+H] ⁺	139.074 7	139.075 36	-4.8	C ₈ H ₁₀ O ₂	139[M+H] ⁺ ; 121[M+H-H ₂ O] ⁺ ; 111[M+H-CO] ⁺ ; 103[M+H-2H ₂ O] ⁺	对羟基苯乙醇	酚类
3	2.4	[M+H] ⁺	157.085 2	157.085 92	-4.6	C ₈ H ₁₂ O ₃	157[M+H] ⁺ ; 121[M+H-2H ₂ O] ⁺ ; 109[M+H-H ₂ O-OCH ₃] ⁺ ; 97[M+H-H ₂ O-CO-CH ₃] ⁺	Clerodindin C [*]	其他
4	2.7	[M+H] ⁺	317.122 6	317.123 09	-1.5	C ₁₄ H ₂₀ O ₈	317[M+H] ⁺ ; 299[M+H-H ₂ O] ⁺ ; 281[M+H-2H ₂ O] ⁺ ; 263[M+H-3H ₂ O] ⁺ ; 227[M+H-5H ₂ O] ⁺ ; 217[M+H-CO-4H ₂ O] ⁺ ; 203[M+H-CO-4H ₂ O-CH ₃] ⁺ ; 161[M+H-2CO-4H ₂ O-2CH ₃] ⁺	4-[2-(β-D-吡喃葡萄糖基氧基)乙基]-4-羟基-2,5-环己二烯-1 [*]	苷类
5	2.8	[M+H] ⁺	155.069 7	155.070 27	-3.5	C ₈ H ₁₀ O ₃	155[M+H] ⁺ ; 109[M+H-CO-H ₂ O] ⁺ ; 96[M+H-CH-CO-H ₂ O] ⁺ ; 95[M+H-CH ₂ -CO-H ₂ O] ⁺ ; 91[M+H-CO-2H ₂ O] ⁺	哈里瑞酮 [*]	其他
6	3.4	[M+H] ⁺	301.128 0	301.128 18	-0.5	C ₁₄ H ₂₀ O ₇	301[M+H] ⁺ ; 283[M+H-H ₂ O] ⁺ ; 247[M+H-3H ₂ O] ⁺ ; 189[M+H-3H ₂ O-CH ₂ OH-CH-CH ₃] ⁺ ; 165[M+H-3H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 161[M+H-3H ₂ O-CH ₂ OH-CH-CH ₂ -CO] ⁺ ; 115[M+H-3H ₂ O-CH ₂ OH-CH-CH ₂ -CO-CH ₂ O] ⁺	红景天苷 [*]	苯乙醇苷类
7	3.6	[M+H] ⁺	355.102 0	355.102 36	-1.0	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	355[M+H] ⁺ ; 163[M+H-C ₇ H ₁₀ O] ⁺ ; 145[M+H-C ₇ H ₁₀ O ₆ -H ₂ O] ⁺ ; 117[M+H-C ₇ H ₁₀ O ₆ -CO-H ₂ O] ⁺	绿原酸	有机酸类
8	3.9	[M+H] ⁺	521.201 1	521.201 74	-1.3	C ₂₄ H ₃₂ O ₁₁	521[M+H] ⁺ ; 163[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -C ₁₀ H ₁₆ O] ⁺ ; 161[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -C ₁₀ H ₁₆ O] ⁺ ; 137[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -C ₁₀ H ₁₆ O ₃ -2CH ₃] ⁺ ; 109[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -C ₁₀ H ₁₆ O ₃ -2CH ₃ -CO] ⁺	(3,4)-3-[(4-(β-D-吡喃葡萄糖基氧基)-3-甲氧基苯基)甲基] [*]	苯乙醇苷类
9	4.5	[M+H] ⁺	303.050 2	303.049 93	0.7	C ₁₅ H ₁₈ O ₇	303[M+H] ⁺ ; 285[M+H-H ₂ O] ⁺ ; 257[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ ; 247[M+H-2CO] ⁺ ; 229[M+H-2CO-H ₂ O] ⁺ ; 201[M+H-3CO-H ₂ O] ⁺ ; 165[M+H-C ₇ H ₁₀ O] ⁺ ; 153[M+H-C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 137[M+H-C ₆ H ₁₀ O] ⁺	槲皮素	黄酮类
10	4.5	[M+H] ⁺	611.161 5	611.160 66	-5.7	C ₂₇ H ₃₈ O ₁₆	611[M+H] ⁺ ; 465[M+H-C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 303[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 257[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -C ₆ H ₁₀ O ₆ -CO-H ₂ O] ⁺ ; 129[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -C ₆ H ₁₀ O ₆ -C ₆ H ₁₀ O] ⁺	芦丁	黄酮类
11	4.5	[M+H] ⁺	181.049 4	181.049 54	-0.7	C ₈ H ₈ O ₄	181[M+H] ⁺ ; 163[M+H-H ₂ O] ⁺ ; 145[M+H-2H ₂ O] ⁺ ; 135[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ ; 117[M+H-2H ₂ O-CO] ⁺	咖啡酸	有机酸类
12	4.5	[M+H] ⁺	465.102 5	465.102 75	-0.6	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₂	465[M+H] ⁺ ; 303[M+H-C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 285[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -H ₂ O] ⁺ ; 257[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -H ₂ O-CO] ⁺ ; 229[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -H ₂ O-2CO] ⁺	异槲皮苷	黄酮类

续表 1
Continued tab 1

编号	保留时间, min	提取离子	分子量测定值	分子量理论值	误差, $\times 10^{-6}$	分子式	质荷比(m/z)及碎片离子	鉴定结果	类型
13	4.6	[M+H] ⁺	479.153 7	479.154 79	-2.3	C ₂₃ H ₃₀ O ₁₁	479[M+H] ⁺ ; 325[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 263[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁺ ; 245[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -H ₂ O] ⁺ ; 163[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 145[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -2H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 117[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₆ -2H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O-CO] ⁺	木通苯乙醇B	苯乙醇苷类
14	4.8	[M+H] ⁺	287.054 7	287.055 01	-0.9	C ₁₆ H ₁₆ O ₆	287[M+H] ⁺ ; 241[M+H-CO-H ₂ O] ⁺ ; 213[M+H-2CO-H ₂ O] ⁺ ; 185[M+H-3CO-H ₂ O] ⁺ ; 171[M+H-3CO-H ₂ O-CH ₃] ⁺ ; 165[M+H-CO-H ₂ O-C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 157[M+H-4CO-H ₂ O] ⁺ ; 121[M+H-3CO-H ₂ O-C ₆ H ₁₁] ⁺	山柰酚	黄酮类
15	4.8	[M+H] ⁺	449.107 3	449.107 88	-1.2	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₁	449[M+H] ⁺ ; 287[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 213[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO-2CH ₂ -H ₂ O] ⁺ ; 153[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -2CO-3CH ₂ -2H ₂ O] ⁺	槲皮苷*	黄酮类
16	5.2	[M+H] ⁺	463.123 2	463.123 52	-0.5	C ₂₂ H ₃₂ O ₁₁	463[M+H] ⁺ ; 355[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 337[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 309[M+H-CO-C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 295[M+H-CO-C ₆ H ₁₀ O-CH ₃] ⁺ ; 205[M+H-CO-C ₆ H ₁₀ O-CH ₂ -C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 187[M+H-CO-C ₆ H ₁₀ O-CH ₂ -C ₆ H ₁₀ O-H ₂ O] ⁺ ; 169[M+H-CO-C ₆ H ₁₀ O-CH ₂ -C ₆ H ₁₀ O-2H ₂ O] ⁺ ; 151[M+H-CO-C ₆ H ₁₀ O-CH ₂ -C ₆ H ₁₀ O-3H ₂ O] ⁺ ; 133[M+H-CO-C ₆ H ₁₀ O-CH ₂ -C ₆ H ₁₀ O-4H ₂ O] ⁺ ; 119[M+H-CO-C ₆ H ₁₀ O-CH ₂ -C ₆ H ₁₀ O-4H ₂ O-CH ₃] ⁺	鸮尾苷*	黄酮类
17	6.2	[M+H] ⁺	373.163 1	373.164 57	-4.1	C ₂₁ H ₃₀ O ₆	373[M+H] ⁺ ; 355[M+H-H ₂ O] ⁺ ; 325[M+H-H ₂ O-OCH ₃] ⁺ ; 284[M+H-H ₂ O-CO-C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 269[M+H-H ₂ O-CO-C ₆ H ₁₁ -CH ₃] ⁺ ; 241[M+H-H ₂ O-2CO-C ₆ H ₁₁ -CH ₃] ⁺ ; 151[M+H-H ₂ O-2CO-C ₆ H ₁₀ O-CH ₃] ⁺ ; 137[M+H-H ₂ O-2CO-C ₆ H ₁₀ O-CH ₃ -CH ₃] ⁺	连翘脂素	木脂素类
18	7.2	[M+H] ⁺	359.147 1	359.148 92	-5.1	C ₂₀ H ₂₈ O ₆	359[M+H] ⁺ ; 341[M+H-H ₂ O] ⁺ ; 311[M+H-H ₂ O-OCH ₃] ⁺ ; 205[M+H-H ₂ O-2OCH ₂ -C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 151[M+H-H ₂ O-OCH ₂ -C ₆ H ₁₁ -C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 137[M+H-H ₂ O-OCH ₂ -C ₆ H ₁₁ -C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 122[M+H-H ₂ O-OCH ₂ -C ₆ H ₁₁ -C ₆ H ₁₀ O-CH ₃] ⁺	松脂醇*	木脂素类
19	12.0	[M+H] ⁺	455.350 6	455.351 97	-3.0	C ₂₆ H ₄₀ O ₈	455[M+H] ⁺ ; 437[M+H-H ₂ O] ⁺ ; 409[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ ; 351[M+H-2CH ₂ -2CO-H ₂ O] ⁺ ; 329[M+H-C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 313[M+H-H ₂ O-CO-C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 287[M+H-C ₆ H ₁₁ -CO-3CH ₂] ⁺ ; 261[M+H-C ₆ H ₁₁ -CO-3CH ₂ -2CH ₃] ⁺ ; 215[M+H-C ₆ H ₁₁ -CO-4CH ₂ -CH-COOH] ⁺ ; 189[M+H-C ₆ H ₁₁ -CO-4CH ₂ -3CH-COOH] ⁺ ; 133[M+H-C ₆ H ₁₁ -CO-8CH ₂ -3CH-COOH] ⁺	路路通酸*	萜类
20	13.5	[M+H] ⁺	473.360 4	473.362 54	-4.6	C ₂₆ H ₄₀ O ₈	473[M+H] ⁺ ; 437[M+H-2H ₂ O] ⁺ ; 427[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ ; 357[M+H-H ₂ O-CO-C ₆ H ₁₀] ⁺ ; 255[M+H-H ₂ O-CO-C ₆ H ₁₀ -C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 207[M+H-H ₂ O-CO-C ₆ H ₁₀ -C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 189[M+H-2H ₂ O-CO-C ₆ H ₁₀ -C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 119[M+H-2H ₂ O-CO-2C ₆ H ₁₀ -C ₆ H ₁₀ O] ⁺	科罗素酸*	萜类
21	15.0	[M+H] ⁺	457.365 2	457.367 62	-5.3	C ₂₆ H ₄₀ O ₈	457[M+H] ⁺ ; 411[M+H-CO-H ₂ O] ⁺ ; 393[M+H-CO-2H ₂ O] ⁺ ; 315[M+H-CO-H ₂ O-C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 297[M+H-2H ₂ O-CO-C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 231[M+H-CO-2H ₂ O-C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 203[M+H-CO-2H ₂ O-C ₆ H ₁₁ -2CH ₃] ⁺ ; 189[M+H-CO-2H ₂ O-C ₆ H ₁₁ -3CH ₃] ⁺ ; 163[M+H-CO-2H ₂ O-C ₆ H ₁₁ -3CH ₂ -2CH ₃] ⁺ ; 121[M+H-CO-2H ₂ O-C ₆ H ₁₁ -6CH ₂ -2CH ₃] ⁺	熊果酸	萜类
22	16.0	[M+H] ⁺	443.386 3	443.388 36	-4.7	C ₂₆ H ₄₀ O ₈	443[M+H] ⁺ ; 425[M+H-H ₂ O] ⁺ ; 413[M+H-OCH ₃] ⁺ ; 329[M+H-H ₂ O-C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 261[M+H-H ₂ O-C ₆ H ₁₁ -C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 235[M+H-H ₂ O-C ₆ H ₁₁ -C ₆ H ₁₀] ⁺ ; 189[M+H-2H ₂ O-2C ₆ H ₁₁ -2CH ₃] ⁺ ; 163[M+H-2H ₂ O-2C ₆ H ₁₁ -4CH ₃] ⁺ ; 135[M+H-2H ₂ O-2C ₆ H ₁₁ -4CH-2CH ₃] ⁺ ; 107[M+H-2H ₂ O-2C ₆ H ₁₁ -4CH-4CH ₃] ⁺	Myrpicadiol*	萜类
23	18.4	[M+H] ⁺	551.407 4	551.409 49	-3.9	C ₂₈ H ₃₈ O ₄	551[M+H] ⁺ ; 533[M+H-H ₂ O] ⁺ ; 429[M+H-H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O ₂] ⁺ ; 411[M+H-2H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O ₂] ⁺ ; 345[M+H-2H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O ₂ -C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 267[M+H-2H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O ₂ -C ₆ H ₈ -C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 223[M+H-2H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O ₂ -C ₆ H ₈ -C ₆ H ₁₁ -C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 197[M+H-2H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O ₂ -C ₆ H ₈ -C ₆ H ₁₁ -C ₆ H ₈ -2CH ₃] ⁺ ; 145[M+H-2H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O ₂ -C ₆ H ₈ -C ₆ H ₈ -C ₆ H ₁₁ -6CH ₃] ⁺ ; 119[M+H-2H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O ₂ -C ₆ H ₈ -C ₆ H ₈ -C ₆ H ₈ -8CH ₃] ⁺	加贯叶金丝桃素*	醌类
24	19.7	[M+H] ⁺	165.090 4	165.091 01	-4.0	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	165[M+H] ⁺ ; 137[M+H-CO] ⁺ ; 135[M+H-OCH ₃] ⁺ ; 122[M+H-CO-CH ₃] ⁺ ; 107[M+H-CO-2CH ₃] ⁺ ; 105[M+H-2OCH ₃] ⁺ ; 91[M+H-2OCH ₂ -CH ₃] ⁺	丁香油酚*	醌类
25	20.7	[M+H] ⁺	469.398 9	469.404 01	-10.9	C ₂₅ H ₃₂ O ₂	469[M+H] ⁺ ; 409[M+H-CO-H ₂ O-CH ₃] ⁺ ; 299[M+H-CO-H ₂ O-C ₆ H ₁₁] ⁺ ; 217[M+H-CO-H ₂ O-C ₆ H ₁₁ -C ₆ H ₁₀] ⁺ ; 189[M+H-2CO-H ₂ O-C ₆ H ₁₁ -C ₆ H ₁₀] ⁺	β -香树脂醇乙酸酯	萜类
26	1.0	[M-H] ⁻	191.055 9	191.056 11	-1.4	C ₈ H ₁₂ O ₆	191[M-H] ⁻ ; 127[M-H-CHO] ⁺ ; 109[M-H-H ₂ O-CHO] ⁺	奎宁酸*	有机酸类
27	1.0	[M-H] ⁻	537.085 5	537.082 69	5.1	C ₂₈ H ₃₈ O ₁₀	537[M-H] ⁻ ; 237[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 219[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -H ₂ O] ⁺ ; 195[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 177[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -H ₂ O] ⁺ ; 129[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -2H ₂ O-CHO] ⁺	穗花杉双黄酮*	黄酮类
28	2.7	[M-H] ⁻	167.035 0	167.034 98	0.3	C ₈ H ₁₀ O ₄	167[M-H] ⁻ ; 123[M-H-CO ₂] ⁺ ; 108[M-H-CH ₂ -COOH] ⁺ ; 105[M-H-2H ₂ O-2CH ₃] ⁺	香草酸	有机酸类
29	3.5	[M-H] ⁻	537.197 9	537.197 82	0.3	C ₂₈ H ₃₈ O ₁₂	537[M-H] ⁻ ; 375[M-H-4H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O] ⁺ ; 345[M-H-4H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O-CO] ⁺ ; 327[M-H-5H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O-CO] ⁺ ; 297[M-H-5H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O-2CO] ⁺ ; 282[M-H-5H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O-2CO-CH ₃] ⁺	(+)-8'-hydroxyaricresinol-4'-O- β -D-glucopyranoside	苯乙醇苷类
30	3.6	[M-H] ⁻	137.023 9	137.024 42	-3.6	C ₈ H ₁₀ O ₃	137[M-H] ⁻ ; 119[M-H-H ₂ O] ⁺ ; 109[M-H-CO] ⁺	原儿茶醛	酚类
31	3.7	[M-H] ⁻	163.040 1	163.040 11	-0.1	C ₈ H ₁₀ O ₃	163[M-H] ⁻ ; 117[M-H-CO-H ₂ O] ⁺	4-羟基肉桂酸*	有机酸类
32	3.9	[M-H] ⁻	151.039 9	151.040 07	-0.9	C ₈ H ₁₀ O ₃	151[M-H] ⁻ ; 109[M-H-CH ₂ -CO] ⁺ ; 106[M-H-COOH] ⁺ ; 105[M-H-H ₂ O-CO] ⁺ ; 93[M-H-COOH-CH ₃] ⁺	对羟基苯乙酸	有机酸类
33	4.4	[M-H] ⁻	609.182 4	609.182 49	-0.1	C ₂₈ H ₃₈ O ₁₅	609[M-H] ⁻ ; 447[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 429[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -H ₂ O] ⁺ ; 301[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁺ ; 271[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -CH ₂ O] ⁺ ; 179[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -CH ₂ O-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 161[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -CH ₂ O-C ₆ H ₁₀ O ₃ -H ₂ O] ⁺	橙皮苷	黄酮类
34	4.4	[M-H] ⁻	755.243 1	755.240 40	3.6	C ₂₈ H ₃₈ O ₁₉	755[M-H] ⁻ ; 623[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 593[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 161[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺	连翘酯苷B	苯乙醇苷类
35	4.6	[M-H] ⁻	623.205 0	623.204 87	0.2	C ₂₈ H ₃₈ O ₁₅	623[M-H] ⁻ ; 461[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 443[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -H ₂ O] ⁺ ; 179[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁺ ; 161[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -2H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁺	连翘酯苷A	苯乙醇苷类
36	4.6	[M-H] ⁻	463.088 1	463.088 20	-0.3	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₂	463[M-H] ⁻ ; 301[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 300[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ ; 271[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -CO-H] ⁺ ; 255[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -CO-H ₂ O] ⁺	金丝桃苷	黄酮类

续表 1
Continued tab 1

编号	保留时间, min	提取离子	分子量测定值	分子量理论值	误差, $\times 10^{-6}$	分子式	质荷比(m/z)及碎片离子	鉴定结果	类型
37	4.9	[M-H] ⁻	193.050 6	193.050 63	0.0	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193[M-H] ⁻ ; 178[M-H-CH ₃] ⁻ ; 134[M-CH ₂ -COOH] ⁻ ; 133[M-H-CH ₃ -COOH] ⁻ ; 121[M-H-2CH ₂ -CO ₂] ⁻ ; 106[M-H-2CH ₂ -CO ₂ -CH ₃] ⁻	阿魏酸	有机酸类
38	6.1	[M-H] ⁻	371.149 5	371.150 01	-1.3	C ₂₁ H ₃₀ O ₆	371[M-H] ⁻ ; 356[M-H-CH ₃] ⁻ ; 151[M-H-3H ₂ O-C ₆ H ₁₀] ⁻ ; 136[M-H-CH ₃ -3H ₂ O-C ₆ H ₁₀] ⁻ ; 121[M-H-2CH ₂ -3H ₂ O-C ₆ H ₁₀] ⁻	牛蒡子苷元	木脂素类
39	6.3	[M-H] ⁻	361.165 4	361.165 66	-0.8	C ₂₀ H ₂₆ O ₆	361[M-H] ⁻ ; 343[M-H-H ₂ O] ⁻ ; 299[M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ ; 245[M-H-H ₂ O-COOH-C ₆ H ₅] ⁻ ; 229[M-H-H ₂ O-COOH-C ₆ H ₅] ⁻ ; 215[M-H-H ₂ O-COOH-C ₆ H ₅ -CH ₃] ⁻ ; 121[M-H-H ₂ O-COOH-C ₆ H ₅ -CH ₂ -C ₆ H ₁₀] ⁻ ; 107[M-H-H ₂ O-COOH-C ₆ H ₅ -CH ₂ -C ₆ H ₁₀ -CH ₃] ⁻	开环异落叶松树脂脂*	木脂素类
40	6.8	[M-H] ⁻	269.045 0	269.045 55	-2.0	C ₁₃ H ₁₀ O ₃	269[M-H] ⁻ ; 241[M-H-CO] ⁻ ; 224[M-H-COOH] ⁻ ; 195[M-H-2CO-H ₂ O] ⁻ ; 133[M-H-2CO-H ₂ O-C ₆ H ₁₀ O] ⁻	黄芩素	黄酮类
41	3.3	[M+Na] ⁺	485.162 1	485.162 95	-1.8	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₂	485[M+Na] ⁺ ; 339[M+Na-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺	连翘酯苷 E	苯乙醇苷类
42	4.6	[M+Na] ⁺	307.056 5	307.057 69	-3.9	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	307[M+Na] ⁺ ; 163[M+Na-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ ; 145[M+Na-C ₆ H ₁₀ O ₅ -H ₂ O] ⁺ ; 117[M+Na-C ₆ H ₁₀ O ₅ -H ₂ O-CO] ⁺	汉黄芩素	黄酮类
43	5.2	[M+Na] ⁺	483.089 3	483.089 78	-1.0	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁	483[M+Na] ⁺ ; 339[M+Na-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ ; 321[M+Na-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺	汉黄芩苷*	黄酮类
44	6.1	[M+Na] ⁺	557.194 5	557.199 33	-8.6	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₁	557[M+Na] ⁺ ; 395[M+Na-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ ; 379[M+Na-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ ; 309[M+Na-C ₁₄ H ₁₆ O ₄] ⁺ ; 201[M+Na-C ₁₄ H ₁₆ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ ; 185[M+Na-C ₁₄ H ₁₆ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺	连翘苷	木脂素类
45	6.7	[M+Na] ⁺	369.130 9	369.130 86	0.2	C ₁₃ H ₁₂ O ₄	369[M+Na] ⁺ ; 351[M+Na-H ₂ O] ⁺ ; 337[M+Na-H ₂ O-CH ₂] ⁺ ; 291[M+Na-H ₂ O-CH ₂ -OCH ₂ -CH ₃] ⁺	Cedrusin	其他类

注: *首次从连翘中获得鉴定的化合物

Note: *chemical components identified in *F. suspense* for the first time

3.3 化合物质谱裂解特征分析

本研究共鉴定出 45 种化合物, 主要包括木脂素类、黄酮类、萜类、有机酸类等。选择每一类化合物的代表性化合物, 同时考虑到连翘酯苷 A 和连翘苷为 2015 版《中国药典》(一部) 中连翘项下含量测定的主要特征性成分, 故对连翘酯苷 A、连翘苷、松脂醇、金丝桃苷、汉黄芩苷、阿魏酸和奎宁酸等 7 种化合物进行裂解特征分析。

3.3.1 连翘酯苷 A 根据文献报道, 苯乙醇苷类化合物在连翘中的含量很高, 其中主要为连翘酯苷 A^[6]。35 号化合物在 ESI⁻ 模式下的准分子离子为 m/z 623[M-H]⁻, 先脱去 1 分子鼠李糖, 形成碎片离子 m/z 461[M-H-C₆H₁₀O₅]⁻; 然后再脱去 1 分子 H₂O, 形成碎片离子 m/z 443[M-H-C₆H₁₀O₅-H₂O]⁻; 再脱去 C₁₃H₁₂O₆, 形成碎片离子 m/z 179[M-H-C₆H₁₀O₅-H₂O-C₁₃H₁₂O₆]⁻; 最后再脱去 1 分子 H₂O, 形成碎片离子 m/z 161[M-H-C₆H₁₀O₅-2H₂O-C₁₃H₁₂O₆]⁻。根据 35 号化合物的裂解碎片特征判断该化合物为连翘酯苷 A, 其二级质谱图见图 2, 裂解途径见图 3。

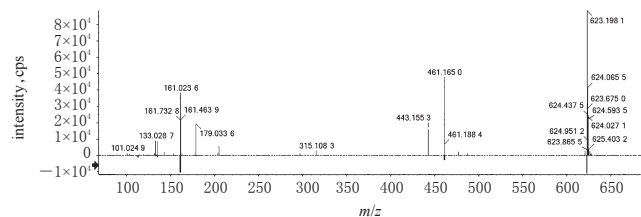


图 2 连翘酯苷 A 的二级质谱图

Fig 2 MS/MS spectrum of forsythiaside A

3.3.2 连翘苷 根据文献报道, 连翘苷为连翘的主要活性成分^[15]。44 号化合物在 ESI⁺ 模式下的准分子离子为 m/z 557[M+Na]⁺, 先脱去 1 分子葡萄糖并发生氢重排而形

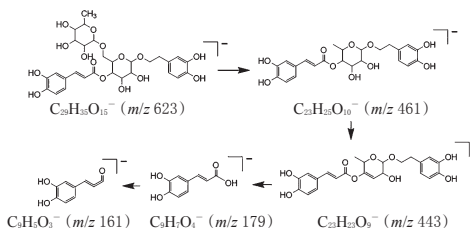


图 3 连翘酯苷 A 的裂解途径

Fig 3 Fragmentation pathway of forsythiaside A

成碎片离子 m/z 395[M+Na-C₆H₁₀O₅]⁺; 或者脱去 C₆H₁₀O₆ 得到碎片离子 m/z 379[M+Na-C₆H₁₀O₆]⁺; 或者脱去 2 个五元环及所连接的甲氧基苯环得到碎片离子 m/z 309[M+Na-C₁₄H₁₆O₄]⁺, 后脱去苯环形成碎片 m/z 185[M+Na-C₁₄H₁₆O₄-C₆H₅O₂]⁺。根据 44 号化合物的裂解碎片特征判断该化合物为连翘苷, 其二级质谱图见图 4, 裂解途径见图 5。

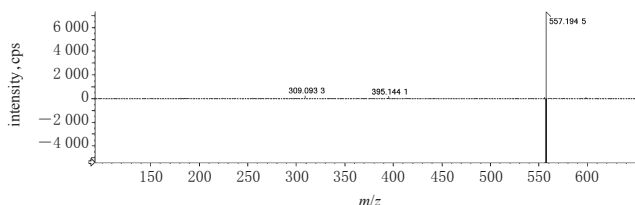


图 4 连翘苷的二级质谱图

Fig 4 MS/MS spectrum of hyperoside

3.3.3 松脂醇 18 号化合物在 ESI⁺ 模式下的准分子离子为 m/z 359[M+H]⁺, 脱去 1 分子水形成碎片离子 m/z 341[M+H-H₂O]⁺, 再脱去 OCH₂ 形成碎片离子 m/z 311[M+H-H₂O-OCH₂]⁺, 再脱去 1 个苯环形成碎片离子 m/z 205[M+H-H₂O-2OCH₂-C₆H₄]⁺, 再脱去 C₅H₈O 形成碎片离子 m/z 151[M+H-H₂O-OCH₂-C₆H₄-C₅H₈O]⁺, 再

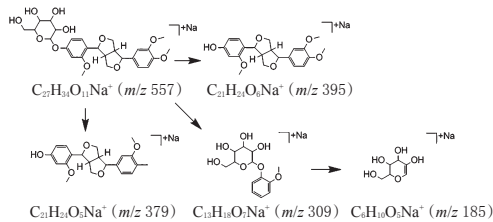


图5 连翘苷的裂解途径

Fig 5 Fragmentation pathway of hyperoside

脱去 $C_5H_6O_2$ 形成碎片离子 m/z 137 $[M+H-H_2O-OCH_2-C_6H_4-C_5H_6O_2]^+$, 最后脱去 1 分子甲基形成碎片离子 m/z 122 $[M+H-H_2O-OCH_2-C_6H_4-C_5H_6O_2-CH_3]^+$ 。该化合物为首次从连翘中鉴定出, 根据其裂解碎片特征判断该化合物为松脂醇, 其二级质谱图见图 6, 裂解途径见图 7。

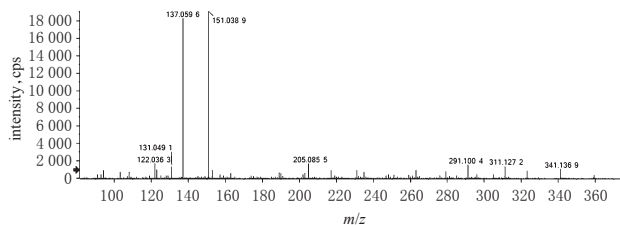


图6 松脂醇的二级质谱图

Fig 6 MS/MS spectrum of pinoresinol

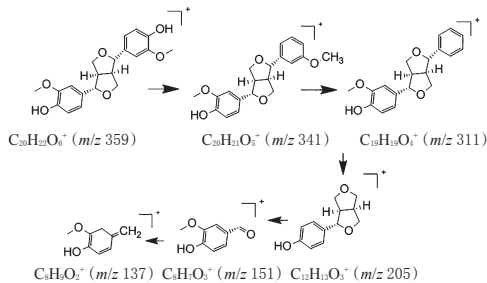


图7 松脂醇的裂解途径

Fig 7 Fragmentation pathway of pinoresinol

3.3.4 金丝桃苷 连翘含有大量的黄酮类成分, 主要包括黄酮、黄酮醇、二氢黄酮等结构母核, 据文献报道, 连翘中含有金丝桃苷^[16]。36号化合物在ESI⁻模式下的准分子离子为 m/z 463 $[M-H]^-$, 糖链均裂脱去 1 分子半乳糖形成碎片离子 m/z 300 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$; 糖链异裂脱去 1 分子半乳糖形成碎片离子 m/z 301 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$; 基峰离子 m/z 300 失去 1 分子 CO 和 1 个 H 形成碎片离子 m/z 271 $[M-H-C_6H_{11}O_5-CO-H]^-$; 碎片离子 m/z 301 失去 1 分子 CO 和 1 分子 H_2O 形成碎片离子 m/z 255 $[M-H-C_6H_{10}O_5-CO-H_2O]^-$ 。根据 36 号化合物的裂解碎片特征判断该化合物为金丝桃苷, 其二级质谱图见图 8, 裂解途径见图 9。

3.3.5 汉黄芩苷 43号化合物在ESI⁺模式下的准分子离子为 m/z 483 $[M+Na]^+$, 脱去 $C_6H_8O_4$ 形成碎片离子 m/z 339 $[M+Na-C_6H_8O_4]^+$; 或者脱去 1 分子葡萄糖形成碎片离子 m/z 321 $[M+Na-C_6H_{10}O_5]^+$ 。该化合物为首次从连

翘中鉴定出, 根据其化合物的裂解碎片特征判断该化合物为槲皮苷, 其二级质谱图见图 10。

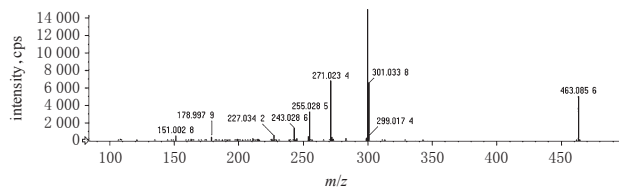


图8 金丝桃苷的二级质谱图

Fig 8 MS/MS spectrum of hyperoside

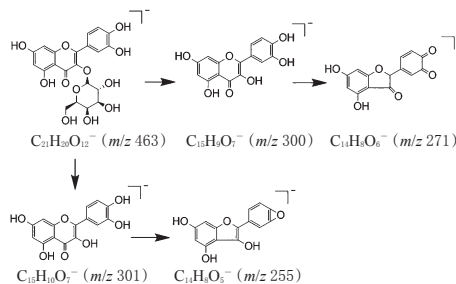


图9 金丝桃苷的裂解途径

Fig 9 Fragmentation pathway of hyperoside

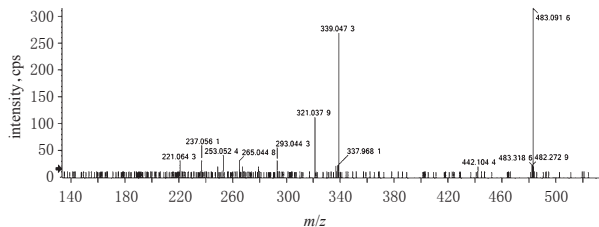


图10 汉黄芩苷的二级质谱图

Fig 10 MS/MS spectrum of wogonoside

3.3.6 阿魏酸 据文献报道, 连翘中含有有机酸类成分, 如阿魏酸^[17]。37号化合物在ESI⁻模式下的准分子离子为 m/z 193 $[M-H]^-$, 脱去 CH_3 形成碎片离子 m/z 178 $[M-H-CH_3]^-$, 再脱去 1 分子 CO_2 形成碎片离子 m/z 134 $[M-H-CH_2-CO_2]^-$; 脱去 1 分子 $COOH$ 形成碎片离子 m/z 133 $[M-H-CH_3-COOH]^-$ 。碎片离子 m/z 134 脱去 CH 形成碎片离子 m/z 121 $[M-H-CH_2-CO_2-CH]^-$, 再脱去 CH_3 形成碎片离子 m/z 106 $[M-H-CH_2-CO_2-CH-CH_3]^-$ 。根据 37 号化合物的裂解碎片特征判断该化合物为阿魏酸, 其二级质谱图见图 11。

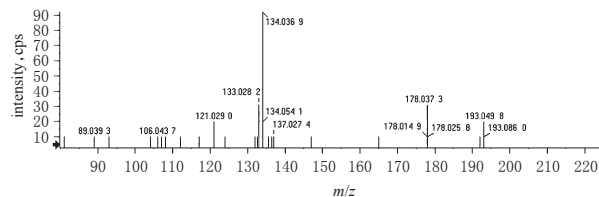


图11 阿魏酸的二级质谱图

Fig 11 MS/MS spectrum of ferulic acid

3.3.7 奎宁酸 26号化合物在ESI⁻模式下的准分子离子为 m/z 191 $[M-H]^-$, 脱去 CH_4O_3 形成碎片离子 m/z 127 $[M-H-CH_4O_3]^-$, 再脱去 1 分子水形成碎片离子 m/z 109 $[M-H-CH_4O_3-H_2O]^-$ 。该化合物为首次从连翘中

鉴定出,根据其化合物的裂解碎片特征判断其为奎宁酸,其二级质谱图见图12。

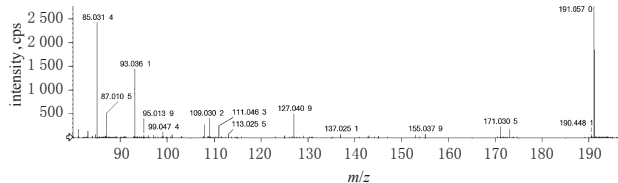


图12 奎宁酸的二级质谱图

Fig 12 MS/MS spectrum of quinic acid

4 讨论

本研究采用的UPLC-Q-TOF-MS技术能够在较短时间内完成复杂成分的分析工作,为连翘的化学成分鉴定提供了一种高效的分析方法^[18-20]。中药材成分复杂,且不同成分之间的含量相差悬殊,UPLC系统采用粒径小于2 μm的柱填料用于成分分离,与传统高效液相色谱(HPLC)系统普遍采用的5 μm柱填料相比,前者理论板数更高,可获得更好的分离效果。由于连翘中含有大量的黄酮类化合物,因此本课题组在流动相中加入0.1%甲酸,以提高黄酮类化合物检测的灵敏度。质谱条件选择的离子喷雾(ESI⁺/ESI⁻)电压为5 500 V/-4 500 V,在这个电压条件下,所有离子都能获得较高的电离效率。去簇电压选择80 V/-80 V,在这个电压条件下,可以有效消除溶剂的离子簇,也可防止母离子发生源内裂解。

以往研究多针对连翘的苯乙醇苷类化合物进行分析。本研究从连翘中鉴定出的45个化合物大多为木质素类、萜类、醌类和黄酮类化合物,可为连翘中其他类成分的深入研究提供基础。

综上所述,本研究利用MS的高分辨率、高灵敏度等特点^[21],对连翘药材的化学成分进行了分析,共鉴定出45个化合物,主要为苯乙醇苷类、木脂素类及黄酮类化合物,其中有19个化合物为首次在连翘中得以鉴定;同时,明确了连翘中苯乙醇苷类化学成分的MS裂解规律,可为连翘属药用植物类似化学成分的MS裂解途径研究提供参考。这些化合物的结构通过高分辨MS得到了初步的确定,可为连翘体内物质基础分析,尤其是微量成分的体内代谢研究提供方法学借鉴。

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,2015:170.
 [2] 孔海英. 连翘的药理作用分析[J]. 中国卫生标准管理, 2016,7(3):125-126.
 [3] 田丁,史梦琪,王赟. 连翘挥发油化学成分及其药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2018,30(10):175-183.
 [4] 夏丽,韩竹箴,田童,等. 连翘的化学成分及抗炎活性研究[J]. 上海中医药杂志,2019,53(4):85-92.
 [5] 王玲芝,严文瑞,汪青波,等. 紫外光度法测定连翘总苯乙醇苷的含量[J/OL]. 山西大学学报(自然科学版),2019 [2019-05-06]. [https://doi.org/10.13451/j.cnki.shanxi.univ\(nat.sci.\)](https://doi.org/10.13451/j.cnki.shanxi.univ(nat.sci.)).2018.11.08.007.

[6] 刘福艳,刘福强,谢元超,等. 液质联用技术在药物分析中的应用研究进展[J]. 中国药品标准,2008,9(6):443-446.
 [7] JIA MQ, XIONG YJ, XUE Y, et al. Using UPLC-MS/MS for characterization of active components in extracts of Yupingfeng and application to a comparative pharmacokinetic study in rat plasma after oral administration[J]. *Molecules*, 2017. DOI: 10.3390/molecules22050810.
 [8] CHENG YY, TSAI TH. Analysis of Sheng-mai-san, a ginseng-containing multiple components traditional Chinese herbal medicine using liquid chromatography tandem mass spectrometry and physical examination by electron and light microscopies[J]. *Molecules*, 2016. DOI: 10.3390/molecules21091159.
 [9] 褚衍涛,魏文峰,霍金海,等. UPLC-Q-TOF-MS法分析芩百清肺浓缩丸中的化学成分[J]. 中成药,2016,38(6):1303-1310.
 [10] 霍金海,孙国东,魏文峰,等. UPLC-Q-TOF/MS法分析牛黄清感胶囊成分[J]. 中成药,2018,40(10):230-238.
 [11] 霍金海,都晓伟,孙国东,等. 基于UPLC-Q-TOF/MS分析北青龙衣成分[J]. 中草药,2016,47(19):3379-3388.
 [12] 白璐,许晓双,张福生,等. 基于UPLC/Q-TOF-MS代谢组学技术研究远志不同品种间的化学差异性[J]. 中药材,2015,38(9):1819-1824.
 [13] 闫利利,史家文,王金芳,等. 基于UPLC/Q-TOF-MS方法分析半夏泻心汤的化学成分[J]. 药学学报,2013,48(4):526-531.
 [14] 卫倩,李萍,吴桐,等. 连翘中苯乙醇苷类成分的研究进展[J]. 中国临床药理学杂志,2018,34(20):2481-2485.
 [15] 徐未芳,高子怡,赵二劳. 连翘中连翘苷的提取工艺研究进展[J]. 山东化工,2018,47(22):56-57.
 [16] 刘章友,李杨,周永峰,等. 基于UPLC最佳色谱参数的连翘中7个活性成分一测多评分析方法的建立及应用[J]. 大理大学学报,2018,3(4):24-30.
 [17] 郝洋,张熙洁,刘晓红. HPLC法同时测定连翘败毒丸中5种成分的含量[J]. 中国药房,2016,27(6):815-818.
 [18] NI YN, ZHUANG H, KOKOT S. A high performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry method for the analysis of the natural medicine, *Forsythia suspensa*[J]. *Analytical Letters*, 2014, 47(1):102-116.
 [19] SU W, LIU Q, YANG Q, et al. Separation of four compounds from *forsythia suspensa* by counter-current chromatography with stepwise elution[J]. *Sep Sci Technol*, 2014,49(13):2098-2104.
 [20] 支旭然,苑霖,生宁,等. HPLC-MS/MS法测定不同采收期连翘叶中9种成分[J]. 中草药,2013,44(22):3231-3235.
 [21] CUI Y, WANG Q, SHI X, et al. Simultaneous quantification of 14 bioactive constituents in *Forsythia suspensa* by liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry[J]. *Phytochem Anal*, 2010,21(3):253-260.

(收稿日期:2019-05-10 修回日期:2019-09-28)

(编辑:段思怡)