

· 基础研究 ·

蒙古族药紫花高乌头总黄酮含量测定及其黄酮类化合物的UPLC-Q-Exactive MS定性分析[△]温荣¹, 郭文欣¹, 席琳图雅^{2,3}, 斯琴巴特尔^{2*}, 李旻辉^{1,2,4,5*}

1. 包头医学院, 内蒙古 包头 014040;

2. 内蒙古自治区中蒙医药研究院, 内蒙古 呼和浩特 010020;

3. 锡林郭勒盟蒙医医院, 内蒙古 锡林浩特 026000;

4. 内蒙古自治区特色道地药材资源保护与利用重点实验室, 内蒙古 包头 014040;

5. 道地药材蒙古黄芪种植与开发内蒙古自治区工程研究中心, 内蒙古 包头 014040

[摘要] 目的: 比较不同生长年限蒙古族药紫花高乌头栽培品全草中总黄酮的含量, 并对黄酮类化合物进行定性分析。方法: 通过超声波辅助提取结合紫外-可见分光光度计法测定4种不同生长年限紫花高乌头全草中总黄酮含量, 采用超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-Q-Exactive MS), 用Thermo Scientific Hypersil GOLD™ C₁₈色谱柱分离, 0.5% 乙酸铵水溶液-乙腈为流动相进行梯度洗脱; 采用电喷雾离子源(ESI)、全扫描/数据依赖二级扫描(Full MS/dd-MS²)模式采集数据。结果: 1年生紫花高乌头中总黄酮的含量较高; 从不同生长年限紫花高乌头栽培品中首次鉴定出10个黄酮类化合物。不同生长年限的紫花高乌头中黄酮类化合物的种类有一定差异。结论: 该方法简单、可行, 能用于不同生长年限紫花高乌头栽培品中总黄酮的含量测定与定性分析。研究结果可为紫花高乌头药效物质基础的进一步研究提供参考。

[关键词] 紫花高乌头; 栽培品; 黄酮; 超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱法

[中图分类号] R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2023)01-0038-09

doi: 10.13313/j.issn.1673-4890.20220316005

**Determination of Content of Total Flavonoids in *Aconitum septentrionale* and
UPLC-Q-Exactive MS Qualitative Analysis of the Flavonoids**

WEN Rong¹, GUO Wen-xing¹, XILIN Tu-ya^{2,3}, SIQIN Ba-te-cr^{2*}, LI Min-hui^{1,2,4,5*}

1. Baotou Medical College, Baotou 014040, China;

2. Inner Mongolia Institute of Traditional Chinese and Mongolian Medicine, Hohhot 010020, China;

3. Xilinguole Meng Mongolian General Hospital, Xilinhot 026000, China;

4. Inner Mongolia Key Laboratory of Characteristic Geoherbs Resources Protection and Utilization,
Baotou 014040, China;5. Inner Mongolia Engineering Research Center of Planting and Development of *Astragalus membranaceus* var.
mongolicus of Geoherbs, Baotou 014040, China

[Abstract] **Objective:** To compare the content of total flavonoids in the whole plants of cultivated *Aconitum septentrionale* of different years old and characterize the flavonoids. **Methods:** The total flavonoid content in whole plants of one-, two-, three-, and four-year-old *A. septentrionale* was determined by ultrasonic-assisted extraction combined with ultraviolet-visible spectrophotometer. The flavonoids were separated by ultra-performance liquid chromatography coupled with electrostatic field orbit trap high-resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Exactive MS). The UPLC-Q-Exactive MS conditions were Thermo Scientific Hypersil GOLD™ C₁₈ column, 0.5% ammonium acetate in water-acetonitrile as mobile

[△] **[基金项目]** 锡林郭勒盟科技计划项目(201801)

^{*} **[通信作者]** 斯琴巴特尔, 主任医师, 研究方向: 蒙医学; Tel: 0471-4961482, E-mail: sqbt1968@sohu.com

李旻辉, 教授, 研究方向: 中蒙药资源保护与利用; Tel: 0472-7167795, E-mail: li_minhui@aliyun.com

phase for gradient elution, electrospray ionization (ESI), full scan/data-dependent MS/MS (Full MS/dd-MS²). **Results:** The total flavonoid content reached the highest in one-year-old *A. septentrionale*. A total of 10 flavonoids were identified for the first time from *A. septentrionale* of different years old, and the types of flavonoids were different among plants of different years old. **Conclusion:** The method is simple and feasible, which can quickly determine the content of total flavonoids in cultivated *A. septentrionale* of different years old and quantitatively analyze the flavonoids. This study can serve as a reference for further research on the medicinal substances.

[Keywords] *Aconitum septentrionale* Koelle; cultivar; flavonoids; UPLC-Q-Exactive MS

紫花高乌头 *Aconitum septentrionale* Koelle 为毛茛科乌头属多年生草本植物,在我国分布于辽宁西北部、黑龙江西部、兴安北部(阿尔山市阿尔山和白狼镇)、兴安南部(克什克腾旗)、燕山北部(宁城县)等地。其全草入药[蒙古族药(以下简称蒙药)名:嘎布日地劳],性凉,味苦,具有清肺热之功效,主治肺热咳嗽、气管炎等肺部疾病^[1]。现代药理学研究表明,紫花高乌头能抑制炎症因子释放、增强抗炎细胞因子活性、调节细胞因子间失衡状态,从而改善慢性支气管炎模型大鼠的气管痰鸣声、增大通气量,达到治疗慢性支气管炎的效果^[2]。

中药化学成分的研究是药效物质研究的基础,天然黄酮类化合物具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤及防治心血管疾病等多方面的药理作用^[3]。蒙药紫花高乌头含有生物碱、黄酮、甾体等类成分。红艳等^[4]利用柱色谱和核磁共振(NMR)等方法从紫花高乌头中分离鉴定出8个生物碱类化合物。任志生等^[5]对紫花高乌头分别进行回流和超声提取,采用紫外-可见分光光度法测定了其不同部位总黄酮的含量。玉华等^[6]利用柱色谱和NMR等方法对紫花高乌头的石油醚提取物进行分离和鉴定,得到5个甾体类和3个三萜类化合物。超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-Q-Exactive MS)是一项具有高灵敏度、高分辨率和高通量的技术,与传统化学成分分离鉴别方法相比,具有简单、快速和准确的特点,能够对中药小分子化合物进行表征,是分析中药复杂成分的有效工具。本研究采用超声波辅助提取结合紫外-可见分光光度法分析4种不同生长年限紫花高乌头栽培品中总黄酮的含量;采用UPLC-Q-Exactive MS鉴定出10个黄酮类化合物,包括芦丁、异槲皮苷(或金丝桃苷)、番石榴苷、紫云英苷(或三叶豆苷)、山柰酚-3-*O*-阿拉伯糖苷、山柰酚、高车前素、金合欢素、鹰嘴豆芽素A、柳穿鱼黄素,为深入研究紫花高乌头药效物质基础提供参考。

1 材料

1.1 仪器

DZG-6050SA型真空干燥器(上海森信实验仪器有限公司);BT125D型精密电子天平(赛多利斯科学仪器厂);UV-6100S型紫外-可见分光光度计(上海美普达仪器有限公司);KQ-400DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);MH701型电子天平(东莞市明衡电子科技有限公司);UltiMate3000型高效液相色谱仪、Q Exactive型四极杆静电场轨道阱高分辨质谱仪(Thermo公司);Milli-Q型超纯水系统(Millipore公司)。

1.2 试药

对照品芦丁(纯度≥98%,四川省维克奇生物科技有限公司,批号:wkq17051605);硝酸铝(分析纯,天津市化学试剂三厂);乙酸铵、亚硝酸钠(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司);氢氧化钠(分析纯,天津市凯通化学试剂有限公司);无水乙醇(分析纯,天津市永大化学试剂有限公司);甲醇、乙腈(质谱纯,Thermo Fisher公司)。

1~4年生紫花高乌头栽培品药材各1批,于2020年7月25日采自宝格达山,经包头医学院生药教研室张春红教授鉴定均为毛茛科乌头属植物紫花高乌头 *Aconitum septentrionale* Koelle 全草。

2 方法

2.1 总黄酮含量测定

参考任志生等^[5]的方法,采取亚硝酸钠-硝酸铝法建立总黄酮的标准曲线回归方程,制备不同生长年限紫花高乌头全草的供试品溶液。精密吸取上述供试品溶液各1.0 mL,按标准曲线方法测定吸光度(*A*),计算总黄酮含量。

2.2 黄酮类化合物UPLC-Q-Exactive MS定性分析

2.2.1 样品的制备 分别取不同生长年限的紫花高

乌头栽培品全草干燥粉末, 过80目筛, 精密称取1 g, 置于50 mL具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇10 mL, 称定质量, 超声提取30 min后放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.22 μm 滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.2.2 色谱条件 Thermo Scientific Hypersil GOLD™ C₁₈选择性色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm); 流动相为0.5%乙酸铵水溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~15 min, 95%~65%A; 15~30 min, 65%~30%A; 30~45 min, 30%~5%A; 45~60 min, 5%A; 60~65 min, 5%~95%A; 65~70 min, 95%A); 流速为0.3 mL·min⁻¹; 检测波长为254 nm; 柱温为30 °C; 进样量为2 μL 。

2.2.3 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI), 扫描模式为全扫描/数据依赖二级扫描(Full MS/ddMS²), 扫描范围为 m/z 100~1000; 正、负离子切换采集模式; 载气为氮气(N₂); 喷雾电压为3.5 kV; 喷雾电流为70 μA ; 毛细管温度为320 °C; 探头加温器温度为350 °C; 分辨率采用MS Full Scan 70 000 FWHM、MS/MS 17 500 FWHM; 归一化碰撞能量(NCE)为20、40、60 eV。

2.2.4 数据分析 通过Thermo Scientific Compound Discover™ 3.2软件检索匹配数据, 将TCM 2.1数据库导入Compound Discover™ 3.2软件中的本地谱图库mzVault中, 根据化合物的峰提取、峰对齐、不同加和离子的质荷比、二级碎片离子等信息, 通过mzCloud、mzVault和ChemSpider数据库对数据进行检索和综合打分, 并结合黄酮类化合物裂解规律、相关文献报道及数据对比分析, 鉴定出紫花高乌头中黄酮类化合物的结构。

3 结果

3.1 总黄酮含量

以对照品芦丁的质量浓度为横坐标(X)、 A 为纵坐标(Y)绘制标准曲线, 得到回归方程为 $Y=0.0967X+0.0008$ ($r=0.9996$), 结果表明质量浓度为0.01094~0.08752 mg·mL⁻¹时, 其与 A 呈良好的线性关系。

用回归方程分别计算不同年限紫花高乌头中总黄酮含量, 每份样品平行测定3次。结果表明, 1年生紫花高乌头80%乙醇提取物中总黄酮含量较高(表1)。

表1 不同生长年限紫花高乌头中总黄酮质量分数

生长年限/年	编号	质量分数	平均质量分数	RSD
1	1-1	14.893	14.81	0.70
	1-2	14.850		
	1-3	14.696		
2	2-1	12.669	12.56	1.25
	2-2	12.633		
	2-3	12.381		
3	3-1	7.518	7.69	3.34
	3-2	7.561		
	3-3	7.983		
4	4-1	13.714	13.95	1.43
	4-2	14.075		
	4-3	14.045		

3.2 UPLC-Q-Exactive MS 鉴定黄酮类化合物

3.2.1 黄酮类化合物的裂解规律 黄酮类化合物是一类存在于自然界的具有1,3二苯基丙烷结构, 即以C6-C3-C6为基本碳架的化合物, 在黄酮类化合物基本母核基础上, 正、负离子模式下, 黄酮苷元离子发生C环0/2、0/3、0/4、1/3、2/4等C-C断裂和C-O键的断裂, 产生 $^{i+j}A^{+/-}$ 与 $^{i+j}B^{+/-}$ 等碎片离子, 也伴随发生丢失CO、CO₂、H₂O、C₂H₂O、C₂O₃等中性碎片的裂解。黄酮糖苷主要有氧糖苷、碳糖苷和碳氧糖苷, 黄酮O-糖苷的MS裂解主要为糖苷键断裂、糖糖键断裂、糖环交叉环切除裂解等方式, 产生特征碎片离子; 而黄酮C-糖苷多以糖环交叉环切除裂解为主, 且几乎不产生苷元碎片离子^[7]。在正离子模式下, 通过黄酮苷元产生的碎片离子信息不能鉴定化合物结构时, 黄酮苷元在负离子模式下产生的质谱碎片离子可以提供相应的补充信息^[8]。紫花高乌头中黄酮类化合物的质谱裂解途径主要包含黄酮苷元和黄酮-O-二糖苷的裂解模式(黄酮-O-糖苷可由黄酮-O-二糖苷裂解得到), 主要裂解方式见图1、图2。

3.2.2 UPLC-Q-Exactive MS 数据分析 紫花高乌头中黄酮类化合物总离子流图(TIC)见图3, 二级质谱碎片离子数据见图4, 紫花高乌头中的黄酮类化合物 t_R 主要集中在0~25 min, 分析结果见表2。

化合物1: $t_R=7.94$ min; 在ESI⁻模式下, 准分子离子峰为 m/z 609.14496 [M-H]⁻, 根据元素组成, 推断其分子式为C₂₇H₃₀O₁₆, 为槲皮素C环3位羟基与芸香糖结合形成的双糖苷。在碰撞诱导解离时, 其质谱裂解过程中脱去芸香糖, 得到苷元碎片

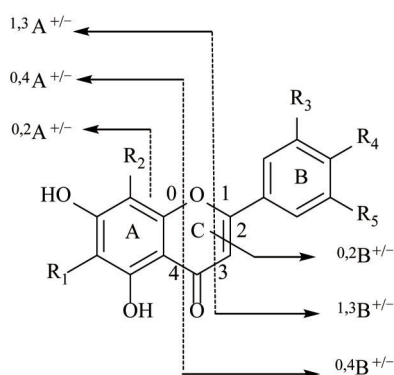


图1 紫花高乌头中黄酮苷元的特征碎片离子裂解模式

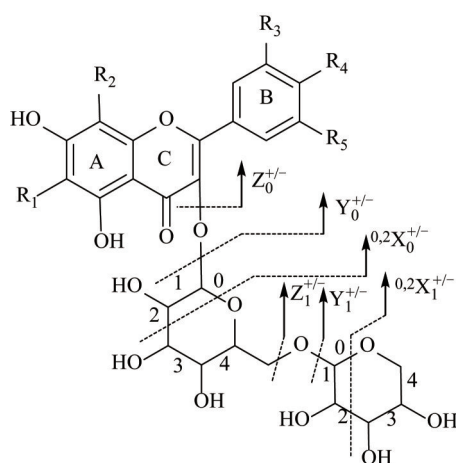


图2 紫花高乌头中黄酮-O-二糖苷的特征碎片离子裂解模式

m/z 301.036 68 $[M - H - C_{12}H_{20}O_9]^-$ 和 m/z 300.027 68 $[M - H - C_{12}H_{21}O_9]^-$, 其中 m/z 300.027 68 的丰度明显高于 m/z 301.036 68, 说明糖苷为 C 环 3 位取代^[8], 再失去中性分子 CO、CO₂ 和 H 离子等, 产生 m/z 271.024 96 $[M - H - C_{12}H_{22}O_9 - CO]^-$ 、 m/z 255.029 86 $[M - H - C_{12}H_{22}O_9 - CO_2]^-$ 、 m/z 243.029 31 $[M - H - C_{12}H_{22}O_9 - 2CO]^-$ 、 m/z 227.034 48 $[M - H - C_{12}H_{22}O_9 - CO_2 - CO]^-$ 的碎片离子, 或是发生逆狄尔斯-阿德尔 (RDA) 反应, 得到 m/z 151.002 53 ($^{1,3}A^-$) 碎片离子, 根据数据库检索及与文献[9]比对, 推测化合物 1 为芦丁。

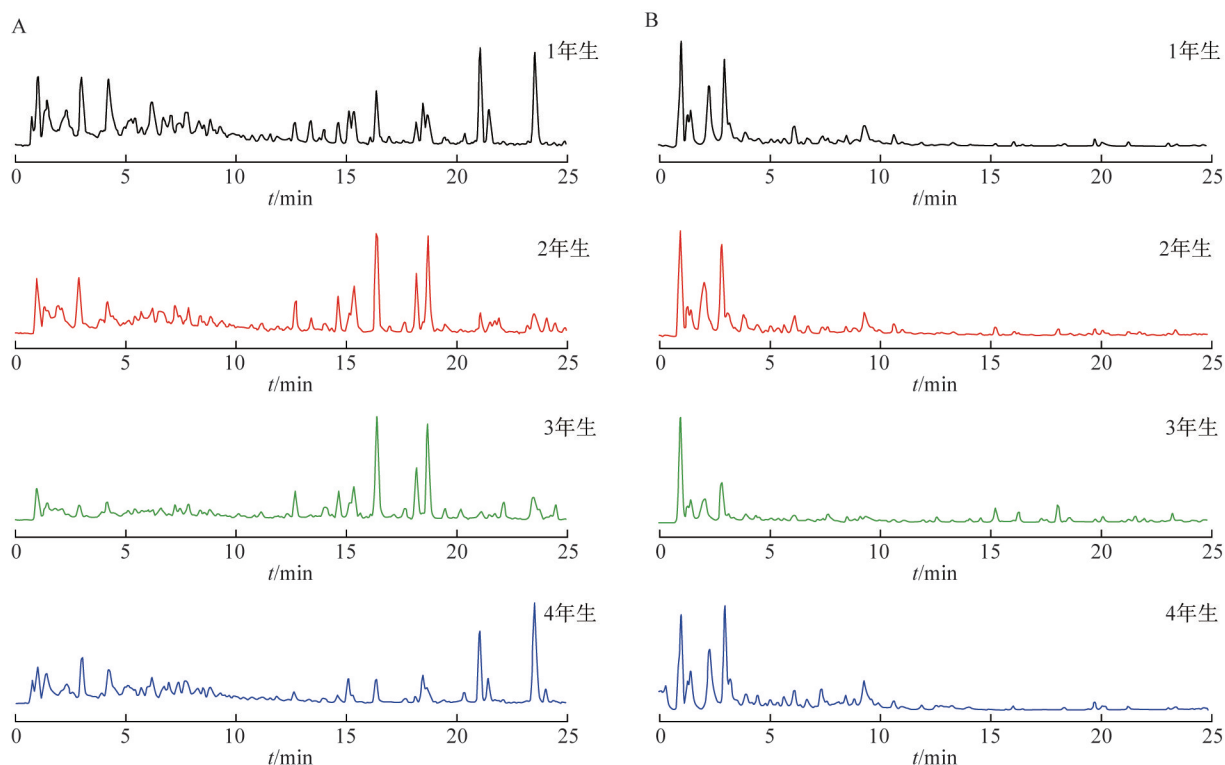
化合物 2: $t_R=8.26$ min; 在 ESI⁻ 模式下, 准分子离子峰为 m/z 463.088 78 $[M - H]^-$, 根据元素组成, 可推断出其分子式为 C₂₁H₂₀O₁₂。在碰撞诱导解离时, Y₀ 断裂脱去葡萄糖, 得到 m/z 301.035 58 $[M - H - C_6H_{10}O_5]^-$ 碎片离子或再失去 H 离子, 得到自由基苷元离子 m/z 300.027 34 $[M - H - C_6H_{11}O_5]^-$, 且丰度高于 m/z 301.035 58, 说明是糖苷为 C 环 3 位

取代^[8], 再失去中性分子 CO、CO₂ 和 H 离子等, 产生 m/z 271.024 90 $[M - H - C_6H_{12}O_5 - CO]^-$ 、 m/z 255.029 66 $[M - H - C_6H_{12}O_5 - CO_2]^-$ 、 m/z 243.029 46 $[M - H - C_6H_{12}O_5 - 2CO]^-$ 、 m/z 227.035 14 $[M - H - C_6H_{12}O_5 - CO_2 - CO]^-$ 的碎片离子, 或是发生 RDA 裂解, 得到 m/z 151.002 53 ($^{1,3}A^-$) 碎片离子, 金丝桃苷与异槲皮苷分别具有半乳糖和葡萄糖 2 种不同的六碳糖取代, 均连接于槲皮素 C 环 3 位, 裂解途径见图 5, 根据数据库检索及与文献[9-12]比对, 推测化合物 2 为异槲皮苷或金丝桃苷。

化合物 3: $t_R=8.49$ min; 在 ESI⁺ 模式下, 准分子离子峰为 m/z 435.090 39 $[M+H]^+$, 根据元素组成, 可推断出其分子式为 C₂₀H₁₈O₁₁, 二级质谱图中发现 m/z 345.061 10 ($^{0,2}X^+$)、 m/z 315.049 87 $[M+H - C_4H_7O_4]^+$ 、 m/z 303.049 56 (Y_0^+) 等典型碎片离子峰, 其中 m/z 303.049 56 为典型的槲皮素母核离子, 在碰撞诱导解离时, 失去中性分子 CO 和 H₂O, 得到 m/z 257.044 07 $[M+H - C_6H_{11}O_6]^+$ 的碎片离子, 或 C 环 2/4 断裂, 得到 m/z 229.049 74 $[M+H - C_7H_{11}O_7]^+$ 的碎片离子, 或发生 RDA 裂解, 得到 m/z 153.018 33 ($^{1,3}A^+$) 碎片离子, 根据数据库检索及与文献[16]比对, 推测化合物 3 为番石榴苷, 又名槲皮素-3-O- α -L-阿拉伯糖苷。

化合物 4: $t_R=9.09$ min; 在 ESI⁻ 模式下, 准分子离子峰为 m/z 447.094 27 $[M - H]^-$, 根据元素组成, 可推断出其分子式为 C₂₁H₂₀O₁₁, 在碰撞诱导解离时, 脱去 1 分子葡萄糖, 得到 m/z 285.042 84 $[M - H - C_6H_{10}O_5]^-$ 碎片离子, 继续失去 1 个 H 离子, 产生 m/z 284.033 02 $[M - H - C_6H_{11}O_5]^-$ 碎片离子, 自由基苷元离子 m/z 284 $[Y_0 - H]^-$ 比苷元离子 m/z 285 (Y_0^-) 丰度高, 说明糖苷为 C 环 3 位取代^[8], 再失去中性分子 CO、CO₂ 和 H 离子等, 得到 m/z 255.029 88 $[M - H - C_6H_{11}O_5 - CO]^-$ 、 m/z 227.034 67 $[M - H - C_6H_{11}O_5 - 2CO]^-$ 、 m/z 183.044 53 $[M - H - C_6H_{11}O_5 - 2CO - CO_2]^-$ 的碎片离子。三叶豆苷与紫云英苷分别具有半乳糖和葡萄糖 2 种不同六碳糖取代, 均连接于山柰酚的 C 环 3 位, 根据数据库检索及与文献[9-10,12,16]比对, 推测化合物 4 为紫云英苷或三叶豆苷。

化合物 5: $t_R=9.62$ min; 在 ESI⁺ 模式下, 准分子离子峰为 m/z 419.096 77 $[M+H]^+$, 根据元素组成, 推测分子式为 C₂₀H₁₈O₁₀, C 环 3 位阿拉伯糖基上失去



注: A. 正离子模式; B. 负离子模式。

图3 不同生长年限紫花高乌头样品的UPLC-Q-Exactive MS TIC

2分子 H_2O , 得到 m/z 383.074 25 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$ 的碎片离子, 或是失去阿拉伯糖基, 得到 m/z 287.054 57 (Y_0^+) $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4]^+$ 典型的碎片离子, 其余参考山柰酚裂解模式, 根据数据库检索及与文献[14]比对, 推测化合物5为山柰酚-3-*O*-阿拉伯糖苷。

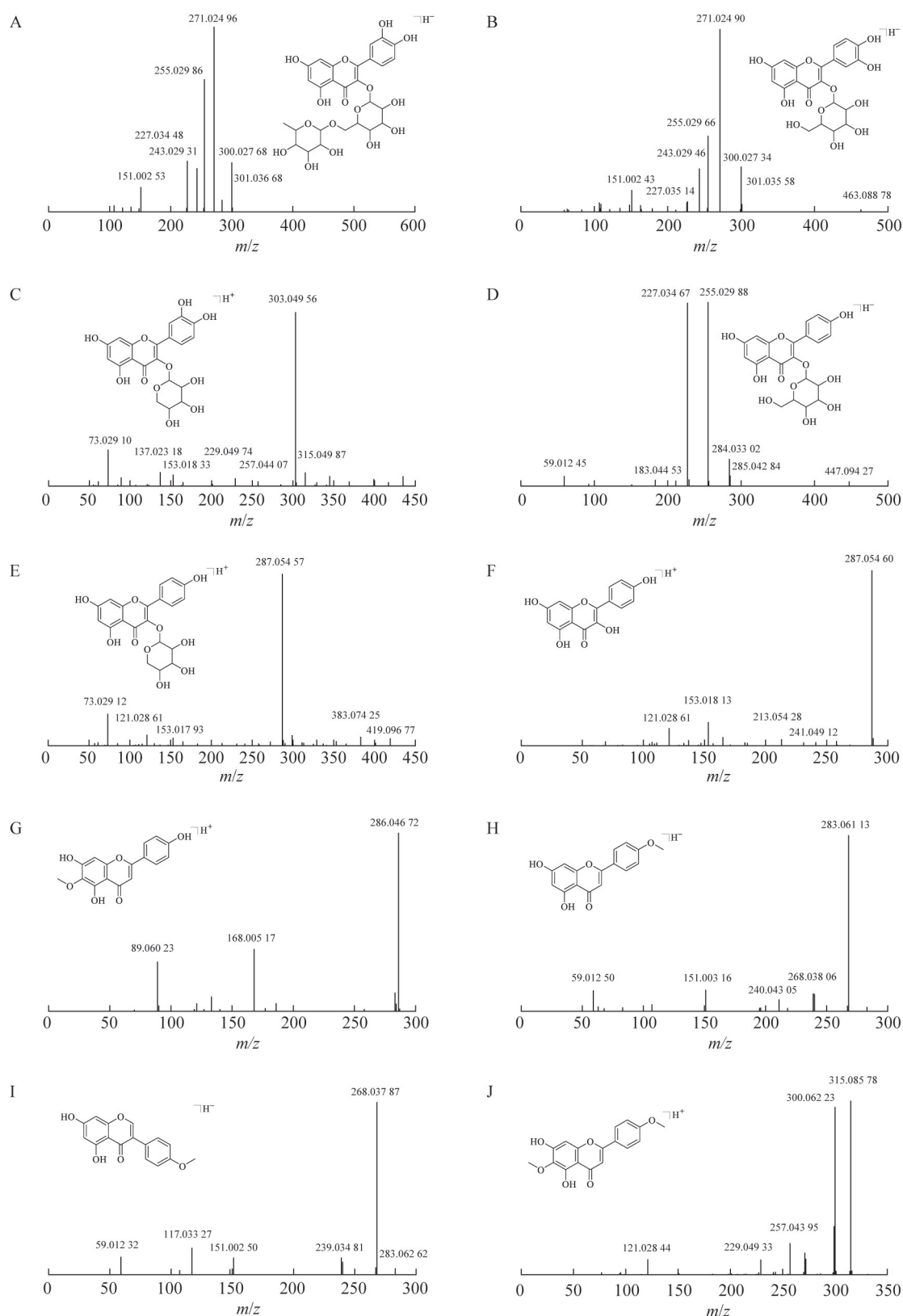
化合物6: $t_R=10.04$ min; 在 ESI^+ 模式下, 准分子离子峰为 m/z 287.054 60 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 根据元素组成, 推测分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$, 在碰撞诱导解离时, 脱去中性分子 CO 和 H_2O , 得到 m/z 241.049 12 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 的碎片离子, 或是脱去2分子 CO 和1分子 H_2O , 得到 m/z 213.054 28 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 的碎片离子, 或经RDA裂解形成 m/z 153.018 13 ($^{13}\text{A}^+$)、 m/z 121.028 61 ($^{02}\text{B}^+$)等碎片离子, 裂解途径见图5, 根据数据库检索及与文献[16-17]比对, 故推测化合物6为山柰酚。

化合物7: $t_R=14.07$ min; 在 ESI^+ 模式下, 准分子离子峰为 m/z 301.070 22 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 根据元素组成, 可推断出其分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$, 在碰撞诱导解离时, 失去A环甲氧基中的甲基离子, 得到 m/z 286.056 72 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3]^+$ 碎片离子, 再经RDA裂解形成 m/z 168.005 17 ($^{13}\text{A}^+$)的碎片离子, 根据数据库检索及

与文献[18]比对, 推测化合物7为高车前素。

化合物8: $t_R=19.61$ min; 在 ESI^- 模式下, 准分子离子峰为 m/z 283.061 13 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 根据元素组成, 可推断出其分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_{15}$, 在碰撞诱导解离时, 脱去B环甲氧基中的甲基离子, 得到碎片 m/z 268.038 06 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3]^-$, 再失去中性分子 CO , 得到 m/z 240.043 05 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3-\text{CO}]^-$, 或是发生RDA反应, 得到 m/z 151.003 16 ($^{13}\text{A}^-$)的碎片离子。根据数据库检索及文献[11]比对, 推测化合物8为金合欢素。

化合物9: $t_R=20.48$ min; 在 ESI^- 模式下, 准分子离子峰为 m/z 283.037 87 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 根据元素组成, 可推断出其分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$, 在碰撞诱导解离时脱去B环甲氧基上甲基离子, 得到 m/z 268.037 87 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3]^-$ 的碎片离子, 再脱去1分子 CO , 得到 m/z 239.034 81 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3-\text{CO}]^-$ 的碎片离子, 或是发生RDA裂解, 产生 m/z 151.002 50 ($^{13}\text{A}^-$)的碎片离子, 或是脱去甲氧基中的甲基后, 再发生RDA裂解, 产生 m/z 117.033 27 ($^{13}\text{B}^-$)典型碎片离子峰。化合物9和化合物10互为同分异构体, 根据黄酮化合物极性大于异黄酮, 反相色谱柱极性小的



注: A. 芦丁; B. 异槲皮苷或金丝桃苷; C. 番石榴苷; D. 紫云英苷或三叶豆苷; E. 山奈酚-3-O-阿拉伯糖苷; F. 山奈酚; G. 高车前素; H. 金合欢素; I. 鹰嘴豆芽素 A; J. 柳穿鱼黄素。

图 4 紫花高乌头中黄酮类化合物的二级质谱图

表 2 紫花高乌头中黄酮类化合物 UPLC-Q-Exactive MS 鉴定信息

序号	t_R/min	分子式	加合离子	m/z		误差/ $\times 10^{-6}$	二级质谱 (m/z)	化合物	来源	参考文献
				理论值	实测值					
1	7.94	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	609.145 58	609.145 90	0.52	609.144 96, 301.036 68, 300.027 68, 271.024 96, 255.029 86, 243.029 31, 227.034 48	芦丁 (rutin)	A、D	[9]
2	8.26	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	463.087 58	463.088 03	0.99	463.088 78, 301.035 58, 300.027 34, 271.024 90, 255.029 66	异槲皮苷 (isoquercetin) 或金丝桃苷 (hyperoside)	A、B、D	[9-12]
	8.29	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	465.103 38	465.102 91	-0.99	303.049 29, 257.042 91, 229.049 35, 153.017 97			[13-15]
3	8.49	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	435.092 81	435.092 34	-1.10	435.090 39, 345.061 10, 315.049 87, 303.049 56	番石榴苷 (guajavarin)	D	[16]
4	9.09	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	447.092 66	447.092 93	0.60	447.094 27, 285.042 84, 284.033 02, 255.029 88, 227.034 67	紫云英苷 (astragalin) 或三叶豆苷 (trifolin)	A~D	[9-10, 12, 16]
	9.14	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	449.108 46	449.108 08	-0.84	449.177 95, 287.054 57, 213.054 60, 153.018 23			[12-13]
5	9.62	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	419.097 90	419.097 45	-1.06	419.096 77, 383.074 25, 287.054 57	山柰酚-3- <i>O</i> -阿拉伯糖苷 (juglalin)	A、B、D	[14]
6	10.04	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	287.052 54	287.055 25	-1.00	287.054 60, 241.049 12, 213.054 28, 153.018 13, 121.028 61	山柰酚 (kaempferol)	C、D	[16-17]
7	14.07	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	299.055 49	299.055 59	0.34	284.032 93, 212.047 18, 136.987 05	高车前素 (hispidulin)	B	[11]
	14.13	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	301.071 29	299.055 11	-1.28	301.070 22, 286.046 72, 168.005 17			[18]
8	19.61	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	283.060 67	283.060 79	0.40	283.061 13, 268.038 06, 240.043 05, 151.003 16	金合欢素 (acacetin)	A、B	[11]
	19.65	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	285.076 27	285.076 02	-0.90	285.075 26, 270.051 73, 242.056 96, 153.018 13			[19]
9	20.48	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	283.060 67	283.060 79	0.40	283.062 62, 268.037 87, 239.034 81, 151.002 50, 117.033 27	鹰嘴豆芽素 A (biochanin A)	B	[20]
	20.53	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	285.076 37	285.076 12	-0.91	285.075 29, 270.051 79, 242.056 95, 167.033 77			[18, 21]
10	21.44	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	313.071 24	313.071 40	0.51	298.048 95, 283.024 75, 255.029 89, 163.002 62, 117.033 19	柳穿鱼黄素 (pectolarigenin)	A~D	[22]
	21.48	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	315.086 84	315.086 39	-1.44	315.085 69, 300.062 23, 257.043 95, 229.049 33			[23]

注: A~D. 1~4 年生栽培品。

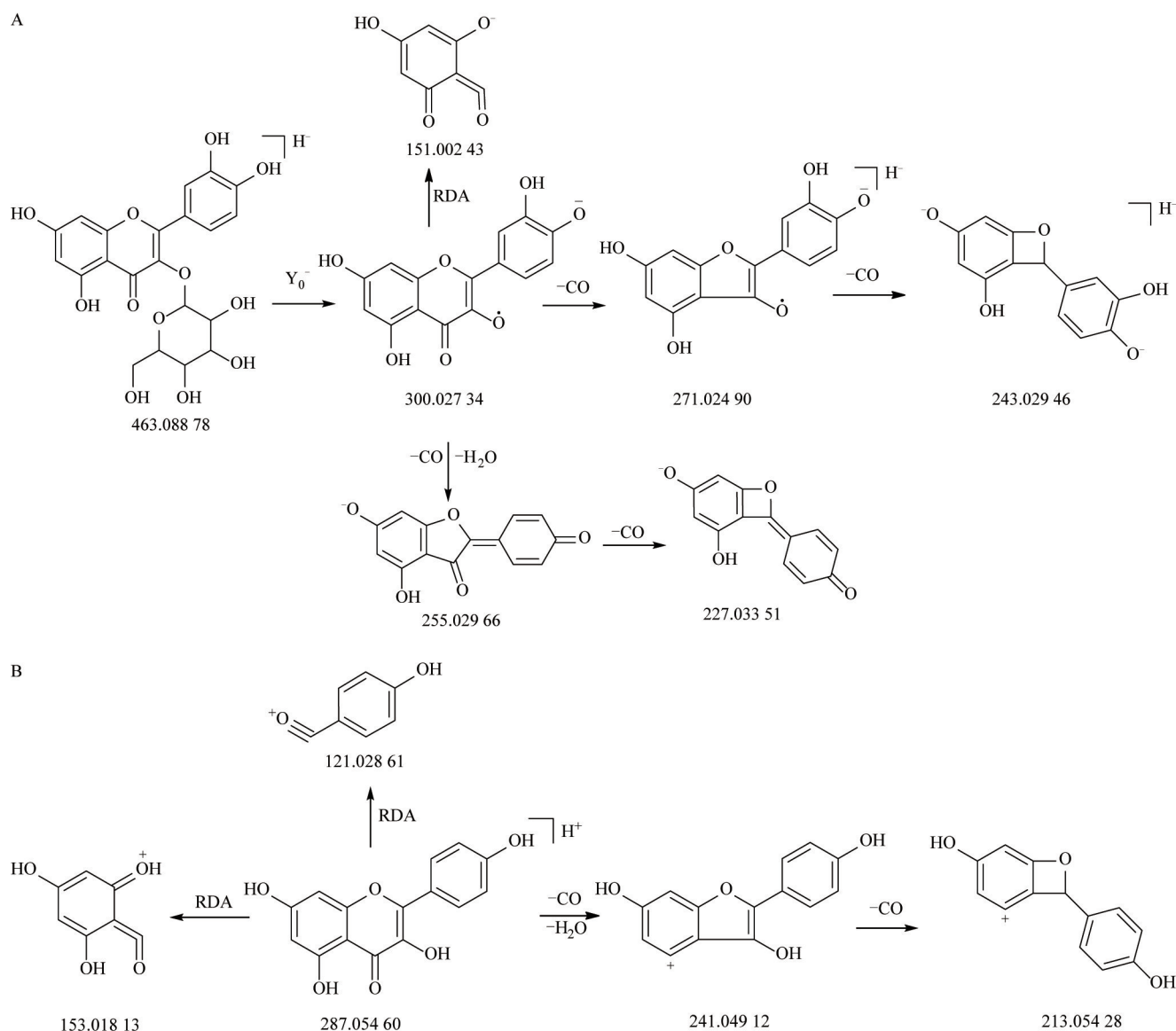
后出峰的原则, 综合数据库检索及与文献[18,21]比对, 推测化合物 **9** 为鹰嘴豆芽素 A。

化合物 **10**: $t_R=21.48 \text{ min}$; 在 ESI^+ 模式下, 准分子离子峰为 $m/z 315.085 78 [\text{M}+\text{H}]^+$, 根据元素组成, 可推断出其分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$, 在碰撞诱导解离时, 脱去 B 环甲氧基中的甲基离子, 得到碎片 $m/z 300.062 23 [\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3]^+$ 的碎片离子, 再脱去 1 分子 CO 和 H_2O , 得到碎片 $m/z 257.043 79 [\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 的碎片离子, 或发生 RDA 裂解, 脱去 B

环甲氧基中的甲基, 产生 $m/z 121.028 44 (^{0.2}\text{B}^+)$ 等典型碎片离子峰, 根据数据库检索及与文献[23]比对, 故推测化合物 **10** 为柳穿鱼黄素。

4 结论

本研究采用 UPLC-Q-Exactive MS 快速分析紫花高乌头中黄酮类化合物, 结合化合物精确相对分子质量、化合物极性、化合物裂解规律、特征离子、数据库和参考文献比对, 鉴定出紫花高乌头中 10 个



注: A. 负离子模式下化合物2的裂解途径; B. 正离子模式下化合物6的裂解途径。

图5 紫花高乌头中化合物2和化合物6可能的裂解途径

黄酮类化合物。通过研究发现,紫花高乌头1年生栽培品中的总黄酮含量较高;且不同生长年限紫花高乌头中总黄酮含量和黄酮类化合物种类均有一定的差异。该方法具有简单、快速、准确等特点,可对多种类型的化合物进行定性鉴别。本研究结果为紫花高乌头黄酮类化合物的进一步药效物质基础研究提供了依据,也为中药天然产物的鉴定提供了方法参考。

参考文献

- [1] 赵一之,赵利清,曹瑞. 内蒙古植物志:第2卷[M]. 呼和浩特:内蒙古人民出版社,2020:200-201.
- [2] 张新迪,魏彩红,俞晓英. 蒙药紫花高乌头不同溶剂萃
- [3] 李鑫萍,于溪璇,况婷瑞,等. 黄酮类衍生物抗肿瘤作用研究进展[J]. 药学学报,2021,56(4):913-923.
- [4] 红艳,王青虎,毕力格图,等. 蒙药紫花高乌头总生物碱的分离鉴定及其对大鼠慢性支气管炎的治疗作用机制研究[J]. 中国药理学杂志,2019,54(2):91-97.
- [5] 任志生,杜晓红,白小平. 紫花高乌头总黄酮的含量测定[J]. 基层医学论坛,2007(22):973-974.
- [6] 玉华,郝俊生,包银苹,等. 蒙药紫花高乌头化学成分分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志,2018,28(5):396-399.
- [7] 刘国柱. 中药中黄酮类化合物全定性分析策略[D]. 长沙:湖南师范大学,2010.
- [8] 邵思越. 毛竹和斑苦竹叶中黄酮类化合物的质谱定性

取部分对慢性支气管炎大鼠的治疗作用[J]. 辽宁中医杂志,2020,47(9):191-194.

- 研究[D]. 北京:中国林业科学研究院,2020.
- [9] 刘金玲,李文姣,王韧,等. 基于UPLC-Q-TOF/MS技术的桑叶化学成分快速识别分析[J]. 中国中医药信息杂志,2018,25(2):69-73.
- [10] 李伟,冯育林,黎田儿,等. UPLC-Q-TOF/MS技术结合诊断离子方法快速分析连钱草中黄酮类化合物[J]. 质谱学报,2016,37(6):504-516.
- [11] 王艺,冯丽萍,黄李璐,等. UPLC-Q-OrbitrapHRMS技术快速鉴定木芙蓉花化学成分[J]. 天然产物研究与开发,2021,33(12):2042-2052.
- [12] 严雅慧,吴涛,陈菊,等. 乃孜来颗粒中化学成分的UHPLC-Q-Orbitrap-MS分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(21):156-166.
- [13] ZHOU Q, WANG L, LIU B, et al. A tricoumaroylspermidine from rose demonstrates inhibitory activity against ethanol-induced apoptosis in HepG2 cells [J]. Food Funct, 2021, 12(13):5892-5902.
- [14] 张玉,顾芹英,翟燕娟,等. 合欢花药材特征图谱研究及超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱定性分析[J]. 中国医院用药评价与分析,2021,21(1):53-58,62.
- [15] 苏上,王丽金,吴杰,等. 笃斯越桔化学成分及其功能活性的研究进展[J]. 植物学报,2016,51(5):691-704.
- [16] 李翁坤,王艳鸽,曾丽珊,等. UHPLC-Q-Orbitrap-MS/MS法分析5种紫金牛属植物的黄酮类成分[J]. 中药新药与临床药理,2022,33(1):91-96.
- [17] 谢璐欣,黄秋连,杨碧穗,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS技术分析不同变种来源葛花的化学成分差异性[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(19):149-156.
- [18] 王宇卿,耿榕徽,张须学. 采用UPLC-Q-TOF-MS/MS技术分析宛艾化学成分[J]. 中国医院药学杂志,2018,38(5):500-505.
- [19] 袁梦,孙国东,刘华石,等. UPLC-Q-TOF-MS法分析大青龙汤化学成分[J]. 现代中药研究与实践,2022,36(1):37-44.
- [20] 孟晓伟,朱清,张妮,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术快速鉴定降香中化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(10):107-118.
- [21] 成焕波,胡辉,李清安,等. 保元汤物质基准UPLC-PDA指纹图谱的建立及化学成分指认[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(7):16-23.
- [22] 李蓉蓉. 基于液质联用技术的恒山黄芪中特征成分研究[D]. 太原:山西大学,2021.
- [23] 廖曼. 基于UHPLC-Q-TOF-MS/MS技术的金莲花药效物质基础分析及蛇床子素的体内外代谢研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2018.

(收稿日期:2022-03-16 编辑:田苗)