

# 基于UHPLC-Q-TOF-MS技术的中药补骨脂 化学成分表征与鉴定

胡万弟, 王诗雨, 徐翱昌, 王小莹, 高秀梅, 杨文志\*

(天津中医药大学 组分中药国家重点实验室, 天津 301617)

**[摘要]** 建立超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用技术(UHPLC-Q-TOF-MS), 结合自建化学成分数据库, 系统开展中药补骨脂化学成分的表征与鉴定。通过单因素实验依次对色谱分离条件(固定相、柱温、流动相、洗脱梯度)和质谱监测的关键参数(毛细管电压、喷嘴电压、Fragmentor)进行了优化, 最终采用 BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 流动相为 0.1% 甲酸水-乙腈, 流速 0.4 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 ℃, 在正、负离子模式下采用 Auto MS/MS 进行数据采集。通过对照品比对、二级质谱裂解碎片解析、自建数据库检索以及文献分析等, 从中药补骨脂中共鉴定或初步推导了 83 种化合物, 包括 58 种黄酮类、11 种香豆素类、4 种萘酚类、10 种其他类。其中有 16 种化合物通过与对照品比对获得鉴定, 10 种化合物可能尚未从补骨脂中报道。该研究对补骨脂中的化学成分进行快速定性分析, 为阐释其物质基础、促进质量控制提供了有益参考。

**[关键词]** 补骨脂; 超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱; 化学成分; 结构鉴定

## Characterization and identification of chemical components in traditional Chinese medicine Psoraleae Fructus based on UHPLC-Q-TOF-MS

HU Wan-di, WANG Shi-yu, XU Ao-chang, WANG Xiao-ying, GAO Xiu-mei, YANG Wen-zhi\*

(State Key Laboratory of Component-based Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

**[Abstract]** This study was designed to comprehensively characterize and identify the chemical components in traditional Chinese medicine Psoraleae Fructus by establishing an ultra-high performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-Q-TOF-MS) method in combination with in-house library. The chromatographic separation conditions (stationary phase, column temperature, mobile phase, and elution gradient) and key MS monitoring parameters (capillary voltage, nozzle voltage, and fragmentor) were sequentially optimized via single-factor experiments. A BEH C<sub>18</sub> column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) was finally adopted, with the mobile phase consisting of 0.1% formic acid in water (A) and acetonitrile (B) at the flow rate of 0.4 mL·min<sup>-1</sup> and column temperature of 30 ℃. Auto MS/MS was utilized for data acquisition in both positive and negative ion modes. By comparison with reference compounds, analysis of the MS<sup>2</sup> fragments, in-house library retrieval and literature research, 83 compounds were identified or tentatively characterized from Psoraleae Fructus, including 58 flavonoids, 11 coumarins, 4 terpenoid phenols, and 10 others. Sixteen of them were identified by comparison with reference compounds, and ten compounds may have not been reported from Psoraleae Fructus. This study achieved a rapid qualitative analysis on the chemical components in Psoraleae Fructus, which provided useful reference for elucidating its material basis and promoting the quality control.

**[Key words]** Psoraleae Fructus; ultra-high performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-Q-TOF-MS); chemical component; structural identification

DOI:10.19540/j.cnki.cjmm.20230222.201

**[收稿日期]** 2022-12-03

**[基金项目]** 国家自然科学基金重大项目(82192914); 国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持计划项目(ZYYCXTD-C-202009)

**[通信作者]** \* 杨文志, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药整体性质量控制方法, E-mail: wzyang0504@tjutcm.edu.cn

**[作者简介]** 胡万弟, 硕士研究生, 研究方向为中药分析新技术研究, E-mail: hwdcrown@163.com

中药补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实。2020年版《中国药典》一部记载,其性味辛、苦、温,归肾、脾经,具有温肾助阳、纳气平喘、温脾止泻等功效,用于肾阳不足,阳痿遗精,遗尿尿频,腰膝冷痛,肾虚作喘,五更泄泻等的治疗,外用可消风祛斑,治疗白癜风、斑秃<sup>[1]</sup>。现代药理学研究表明,补骨脂具有降血糖、抗肿瘤、抗氧化、抗骨质疏松、抗菌、抗炎、雌激素样等作用,临床上常用于治疗骨质疏松症、骨软化症和皮肤病<sup>[2-5]</sup>。另外,关于补骨脂不良反应的报道日益引起关注,以肝损伤为主<sup>[6]</sup>。

中药化学成分分析是中药现代研究的重要组成部分,对于阐明中药药效物质、开展质量控制研究、保障临床用药安全等具有重要的意义<sup>[7]</sup>。超高效液相色谱-质谱联用(UHPLC-MS)技术具有高灵敏度、高分辨率、高通量等特点,已广泛应用于中药复杂化学成分的定性与定量分析<sup>[8]</sup>。XU M J等<sup>[9]</sup>构建UHPLC-DAD-Q-TOF-MS分析技术,从补骨脂的乙醇提取物中鉴定出45种化合物,包括34种黄酮类、7种香豆素类、2种萘酚类和2种其他类。丁玉婷等<sup>[10]</sup>利用UHPLC-Q-TOF-MS从补骨脂的甲醇提取物中鉴定出44种化合物,包括28种黄酮类、10种香豆素类、2种萘酚类和4种其他成分。LEE A等<sup>[11]</sup>利用UHPLC-MS/MS技术,从补骨脂水提取物和乙醇提取物中共鉴定出50种化合物,包括38种黄酮类、7种香豆素类和5种其他类。本研究基于临床用药的常见提取方式<sup>[12]</sup>,构建UHPLC-Q-TOF-MS技术,并结合自建化学成分数据库,实现补骨脂水提取液中化学成分的快速、系统表征与鉴定,以期补骨脂的药效物质基础阐释和质量控制研究提供参考。

## 1 材料

### 1.1 药材

补骨脂样品(批号210601)购自北京同仁堂天津南开大药房有限公司,产地为云南德宏。补骨脂样品经天津中医药大学中药学院李先宽副教授鉴定,存放于作者所在的实验室。

### 1.2 对照品与试剂

乙腈(美国Fisher公司)、甲醇(美国Fisher公司)、甲酸(美国ACS)均为LC-MS级;去离子水产自Milli-Q系统(美国Millipore公司);补骨脂素(psoralen,批号DSTDB001801)、异补骨脂素

(isopsoralen,批号DSTDY000401)、补骨脂定(psoralidin,批号DST210201-094)、补骨脂苷(psoralenoside,批号DSTDB013301)、异补骨脂苷(isopsoralenoside,批号DSTDY026001)、新补骨脂异黄酮(neobavaisoflavone,批号DST211103-124)、corylifol A(批号DST201203-073)、大豆苷(daidzin,批号DST200706-019)、补骨脂宁(corylin,批号DST211106-096)、补骨脂甲素(bavachin,批号DST211011-095)、异补骨脂二氢黄酮(isobavachin,批号DST210512-446)、补骨脂二氢黄酮甲醚(bavachinin,批号DST200412-009)、异补骨脂色烯查尔酮(isobavachromene,批号DST211025-147)、补骨脂乙素(isobavachalcone,批号DST201026-097)、补骨脂查尔酮(bavachalcone,批号DST211102-160)、4'-O-甲基补骨脂查尔酮B(4'-O-methylbavachalcone B,批号DST211011-111)均购自成都德思特生物技术有限公司,纯度均在98%以上。

### 1.3 仪器

安捷伦1290超高效液相色谱串接6550 Q-TOF质谱仪(德国Agilent公司);Vortex-2旋涡混匀仪(上海沪析实业有限公司);SB-4200DTS/P超声波提取仪(宁波新芝生物科技股份有限公司);5804R低温高速离心机(德国Eppendorf公司);AX205十万分之一天平(瑞士Mettler Toledo公司);BP121S万分之一天平(瑞士Mettler Toledo公司)。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件

ACQUITY UPLC<sup>®</sup> BEH C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm);流动相A相为0.1%甲酸-水溶液,B相为乙腈;梯度洗脱(0~2 min,2% B;2~7 min,2%~10% B;7~18 min,10%~15% B;18~26 min,15%~22% B;26~36 min,22%~30% B;36~40 min,30%~35% B;40~45 min,35%~50% B;45~49 min,50%~75% B;49~52 min,75%~95% B);柱温30℃;流速0.4 mL·min<sup>-1</sup>;进样量2 μL;自动进样器温度4℃。

### 2.2 质谱条件

Agilent 6550 Q-TOF质谱仪常用参数:超高纯氮气(N<sub>2</sub>)和氮气发生器产生的氮气分别用作碰撞气体和鞘气/辅助气体。气体温度200℃,干燥气流速12 L·min<sup>-1</sup>,雾化器压力40 psi(1 psi≈6.895 kPa),鞘

气温度 350 ℃,鞘气流速 11 L·min<sup>-1</sup>,阈值设为 100 (1%),喷嘴电压 1.0 kV,毛细管电压 4.0 kV,Fragmentor 400 V,碰撞能量 50 V。正、负离子模式下采用 Auto MS/MS 模式采集样品的二级质谱数据。

### 2.3 对照品溶液的制备

分别精密称取各对照品适量,加 50% 甲醇配制成质量浓度为 1 mg·mL<sup>-1</sup>的对照品储备液,精密吸取各对照品储备液,混合并稀释成含各化合物质量浓度约为 10 μg·mL<sup>-1</sup>的混合对照品溶液,用于液质联用分析。

### 2.4 供试品溶液的制备

精密称取 1 g 补骨脂粉末(过 4 号筛),加入 10 mL 的超纯水,加热回流提取 1 h,冷却,补足失重,稀释成 50 mg·mL<sup>-1</sup>的溶液,于高速离心机上 14 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,取上清液,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得供试品溶液。

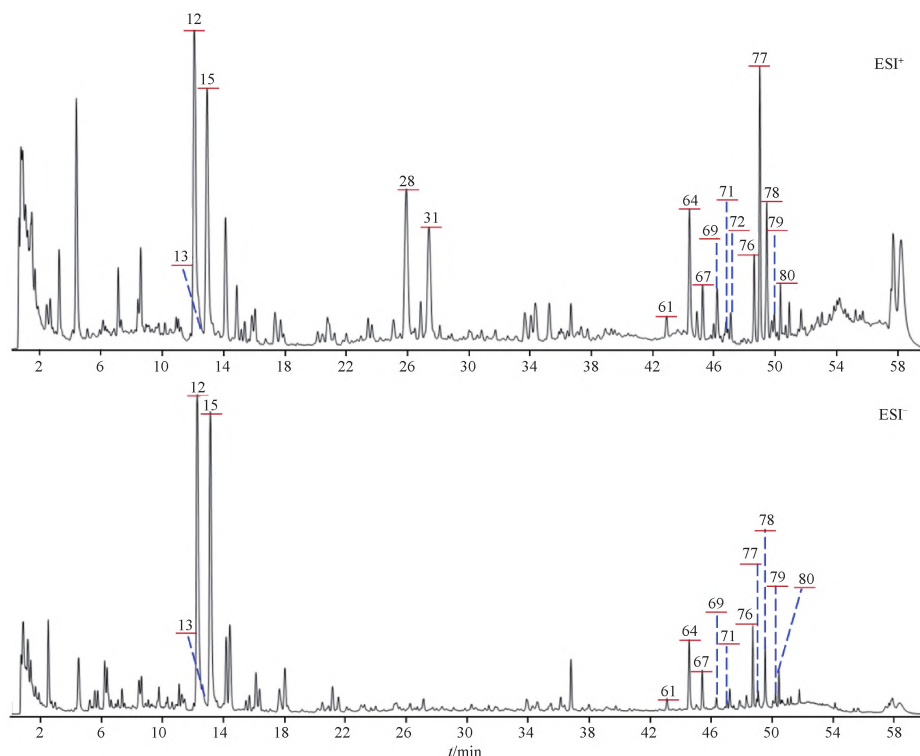
### 2.5 补骨脂数据库构建

利用 Web of Science (www. webofknowledge.

com)、PubChem (http://pubchem. ncbi. nlm. nih)、CNKI (www. cnki. net)、ChemSpider (www. chemspider. com)、ChemicalBook (www. chemicalbook. com) 等数据库,检索有关补骨脂植物化学的文献(截至 2021 年 9 月)。使用 ChemDraw 软件绘制这些已经报道成分的化学结构,并统计整理各化学成分的基本信息,包括化合物名称、分子式、精确质量数等,最终建立了包含 308 种补骨脂成分的数据库。

### 3 结果与分析

采用与对照品比对、自建补骨脂数据库检索、与文献比对等方法,对采集的正、负离子模式补骨脂水煎液高分辨质谱数据进行解析。共鉴定或推导 83 种化合物,其中包括 58 种黄酮类化合物、11 种香豆素类化合物、4 种萘酚类化合物及 10 种其他类。其中 16 种化合物通过对照品比对鉴定。正、负离子模式下补骨脂提取物的 TIC 图见图 1,详细的鉴定信息见表 1。



12. 补骨脂苷;13. 大豆苷;15. 异补骨脂苷;28. 补骨脂素;31. 异补骨脂素;61. 异补骨脂二氢黄酮;64. 新补骨脂异黄酮;67. 补骨脂甲素;69. 补骨脂宁;71. 补骨脂查尔酮;72. 补骨脂定;76. 补骨脂乙素;77. 补骨脂二氢黄酮甲醚;78. corylifol A;79. 异补骨脂色烯查尔酮;80. 4'-O-甲基补骨脂查尔酮 B。

图 1 正、负离子模式下补骨脂提取物的 TIC 图

Fig. 1 Total ion chromatogram (TIC) of Psoraleae Fructus extract recorded in both positive and negative modes

表 1 补骨脂化学成分鉴定信息

Table 1 Information of the components identified from Psoraleae Fructus

| No. | $t_R$<br>/min | 分子式                                             | 质荷比<br>( $m/z$ ) | 加合离子               | 误差/<br>$\times 10^{-6}$ | MS <sup>2</sup> 质谱碎片                                             | 化合物名称                                                                                                   | 结构类型 |
|-----|---------------|-------------------------------------------------|------------------|--------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1   | 0.85          | C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>   | 138.055 9        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.5                     | 92.049 7                                                         | 对氨基苯甲酸或同分异构体 <sup>2)</sup>                                                                              | 其他类  |
| 2   | 2.72          | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>    | 137.025 0        | [M-H] <sup>-</sup> | 4.4                     | 101.924 7, 93.034 1, 65.040 3                                    | protocatechualdehyde 或同分异构体                                                                             | 其他类  |
| 3   | 4.45          | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>    | 127.038 8        | [M+H] <sup>+</sup> | -1.6                    | 115.052 7, 101.039 7, 69.933 6                                   | maltol 或同分异构体                                                                                           | 其他类  |
| 4   | 6.20          | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>    | 139.039 0        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 65.039 4                                                         | protocatechualdehyde 或同分异构体                                                                             | 其他类  |
| 5   | 6.62          | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>    | 137.025 0        | [M-H] <sup>-</sup> | 4.4                     | 93.034 7                                                         | <i>p</i> -hydroxybenzoic acid 或同分异构体                                                                    | 其他类  |
| 6   | 8.65          | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>  | 337.106 9        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.6                    | 147.063 6, 119.049 1, 91.055 0                                   | psoralenol 或同分异构体                                                                                       | 黄酮类  |
| 7   | 10.24         | C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | 187.039 3        | [M+H] <sup>+</sup> | 1.6                     | 131.050 4, 115.054 8, 103.054 7                                  | 补骨脂呋喃香豆精或同分异构体                                                                                          | 香豆素类 |
| 8   | 11.11         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>  | 325.143 2        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.9                    | 147.029 0, 135.091 5, 91.055 0                                   | broussoualchalcone B 或同分异构体                                                                             | 黄酮类  |
| 9   | 11.28         | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>  | 417.118 1        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.2                     | 255.065 2, 137.025 4                                             | ( <i>Z</i> )-4',6-dihydroxyaurone 6-glucoside 或同分异构体 <sup>2)</sup>                                      | 黄酮类  |
| 10  | 11.28         | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>  | 271.060 2        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.4                     | 147.043 9, 137.023 1, 119.050 1                                  | genistein 或同分异构体                                                                                        | 黄酮类  |
| 11  | 12.14         | C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | 187.039 3        | [M+H] <sup>+</sup> | 1.6                     | 131.049 8, 115.054 3, 103.054 7                                  | 补骨脂素的同分异构体                                                                                              | 香豆素类 |
| 12  | 12.26         | C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>  | 365.088 8        | [M-H] <sup>-</sup> | 2.7                     | 102.047 4, 130.042 7                                             | 补骨脂苷 <sup>1)</sup>                                                                                      | 香豆素类 |
| 13  | 12.92         | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>  | 417.118 1        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.2                     | 255.068 1, 237.056 9, 227.072 7, 137.025 4                       | 大豆苷 <sup>1)</sup>                                                                                       | 黄酮类  |
| 14  | 12.99         | C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | 187.039 3        | [M+H] <sup>+</sup> | 1.6                     | 131.050 0, 103.055 2                                             | 异补骨脂素的同分异构体                                                                                             | 香豆素类 |
| 15  | 13.14         | C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>  | 365.088 8        | [M-H] <sup>-</sup> | 2.7                     | 158.037 5, 130.042 5, 102.047 1                                  | 异补骨脂苷 <sup>1)</sup>                                                                                     | 香豆素类 |
| 16  | 15.48         | C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub> | 565.155 3        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.3                     | 433.091 6, 269.046 0, 121.028 9                                  | apioside 或同分异构体 <sup>2)</sup>                                                                           | 黄酮类  |
| 17  | 16.11         | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>  | 417.118 1        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.2                     | 237.055 9, 137.024 3                                             | puerarin 或同分异构体 <sup>2)</sup>                                                                           | 黄酮类  |
| 18  | 16.12         | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub> | 563.176 1        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.4                     | 255.067 2, 137.024 4                                             | bavadin 或同分异构体                                                                                          | 黄酮类  |
| 19  | 16.82         | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub> | 433.112 9        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 283.062 1, 267.066 6, 255.066 3, 239.070 6, 165.020 0, 149.024 9 | vitexin 或同分异构体                                                                                          | 黄酮类  |
| 20  | 17.66         | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub> | 463.089 3        | [M-H] <sup>-</sup> | 2.4                     | 271.025 5, 151.004 1                                             | spiraeoside 或同分异构体 <sup>2)</sup>                                                                        | 黄酮类  |
| 21  | 17.76         | C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub> | 477.105 1        | [M-H] <sup>-</sup> | 2.6                     | 269.045 8, 135.008 6                                             | nepitrin 或同分异构体 <sup>2)</sup>                                                                           | 黄酮类  |
| 22  | 20.22         | C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | 187.039 3        | [M+H] <sup>+</sup> | 1.6                     | 131.050 6, 115.055 3                                             | 8-oxo-8 <i>H</i> -furo [2,3- <i>f</i> ] [1] benzopyran 或同分异构体                                           | 香豆素类 |
| 23  | 20.53         | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>  | 271.060 2        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.4                     | 225.055 5, 147.044 8, 137.024 2                                  | genistein 或同分异构体                                                                                        | 黄酮类  |
| 24  | 20.85         | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub> | 449.108 3        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.9                     | 287.058 0, 269.048 1, 153.020 4, 137.025 3                       | astragalin 或同分异构体                                                                                       | 黄酮类  |
| 25  | 20.98         | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>  | 255.065 4        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.8                     | 137.024 3                                                        | 4',7-dihydroxyflavone 或同分异构体 <sup>2)</sup>                                                              | 黄酮类  |
| 26  | 23.76         | C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub> | 459.128 6        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 255.065 4, 137.024 3                                             | 3-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl)-4-oxo-4 <i>H</i> -chromen-7-yl hexopyranoside 或同分异构体 <sup>2)</sup> | 黄酮类  |
| 27  | 25.17         | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>  | 255.065 4        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.8                     | 147.046 5, 137.025 7, 119.051 4                                  | 大豆苷元或同分异构体                                                                                              | 黄酮类  |

续表1

| No. | $t_R$<br>/min | 分子式                                            | 质荷比<br>( $m/z$ ) | 加合离子               | 误差/<br>$\times 10^{-6}$ | MS <sup>2</sup> 质谱碎片                                             | 化合物名称                                                                                  | 结构类型 |
|-----|---------------|------------------------------------------------|------------------|--------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 28  | 26.00         | C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>  | 187.039 3        | [M+H] <sup>+</sup> | 1.6                     | 131.050 3, 115.054 8, 103.055 1, 77.040 1                        | 补骨脂素 <sup>1)</sup>                                                                     | 香豆素类 |
| 29  | 26.01         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub> | 357.133 2        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.3                    | 165.018 9, 147.045 4, 137.024 3, 119.050 2                       | tomentosanol D 或同分异构体                                                                  | 黄酮类  |
| 30  | 26.95         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub> | 355.117 7        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.3                     | 279.066 7, 253.051 6, 237.056 3, 165.072 0, 137.025 0            | coryaurone A 或同分异构体                                                                    | 黄酮类  |
| 31  | 27.27         | C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>  | 187.039 3        | [M+H] <sup>+</sup> | 1.6                     | 131.050 1, 115.055 0, 103.055 1, 77.040 3                        | 异补骨脂素 <sup>1)</sup>                                                                    | 香豆素类 |
| 32  | 30.10         | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub> | 369.096 9        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 309.074 6, 297.039 4, 281.080 5, 269.044 5                       | corylidin 或同分异构体                                                                       | 香豆素类 |
| 33  | 30.22         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> | 341.138 4        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 161.028 5, 149.025 3, 137.028 6, 121.033 6, 93.035 4             | euchrenone a7 或同分异构体                                                                   | 黄酮类  |
| 34  | 30.64         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub> | 355.117 7        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.3                     | 279.065 7, 239.071 9, 149.024 0, 137.024 6                       | corylifol E 或同分异构体                                                                     | 黄酮类  |
| 35  | 30.65         | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub> | 337.106 9        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.6                    | 279.065 5, 251.072 9, 137.024 4, 59.051 0                        | 7-hydroxy-3-[2-(2-hydroxy-propan-2-yl)-benzofuran-5-yl]-4H-chromen-4-one 或同分异构体        | 黄酮类  |
| 36  | 30.94         | C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub> | 399.143 3        | [M+H] <sup>+</sup> | -1.5                    | 321.076 8, 283.058 8, 255.101 7, 149.024 2, 137.024 0, 119.050 6 | bavarigenin 或同分异构体                                                                     | 黄酮类  |
| 37  | 31.27         | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub> | 321.112 2        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 305.084 8, 137.026 2                                             | erythrinin A 或同分异构体                                                                    | 黄酮类  |
| 38  | 31.81         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub> | 355.117 7        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.3                     | 279.067 1, 239.072 7, 225.056 4, 149.025 2, 137.025 6            | hydroxy-psoralenol A 或同分异构体                                                            | 黄酮类  |
| 39  | 31.82         | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub> | 337.106 9        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.6                    | 137.025 3, 59.051 5                                              | 2'-hydroxyerythrinin A 或同分异构体                                                          | 黄酮类  |
| 40  | 32.64         | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub> | 355.153 9        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.3                    | 235.095 8, 217.101 8, 163.038 4, 147.043 9, 119.049 2            | ashitaba-chlcone 或同分异构体                                                                | 黄酮类  |
| 41  | 33.11         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub> | 339.122 6        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.3                    | 279.066 4, 267.065 8, 239.073 6, 137.022 8                       | psoralenol 或同分异构体                                                                      | 黄酮类  |
| 42  | 33.11         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub> | 355.117 7        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.3                     | 283.063 6, 255.066 1, 149.026 4, 137.026 5                       | hydroxy-psoralenol B 或同分异构体                                                            | 黄酮类  |
| 43  | 33.21         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub> | 355.117 7        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.3                     | 283.062 4, 211.041 7, 161.026 9, 147.046 3, 119.052 0            | erythrinin C 或同分异构体                                                                    | 黄酮类  |
| 44  | 33.74         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> | 341.138 4        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 203.072 1, 149.025 2, 147.045 7, 137.024 9, 119.050 6            | brosimacutin D 或同分异构体                                                                  | 黄酮类  |
| 45  | 34.13         | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub> | 321.112 2        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 305.080 9, 137.024 2                                             | erythrinin A 或同分异构体                                                                    | 黄酮类  |
| 46  | 34.13         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub> | 339.122 6        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.3                    | 279.067 6, 267.067 0, 137.024 2                                  | bakuisoflavone 或同分异构体                                                                  | 黄酮类  |
| 47  | 34.42         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub> | 339.122 6        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.3                    | 279.068 1, 267.067 5, 239.073 3, 137.025 7                       | 补骨脂色烯黄酮或同分异构体                                                                          | 黄酮类  |
| 48  | 34.43         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> | 341.138 4        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 203.073 1, 149.026 1, 147.046 6, 119.051 4                       | bavachromanol 或同分异构体                                                                   | 黄酮类  |
| 49  | 35.33         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub> | 339.122 6        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.3                    | 279.069 0, 267.068 7, 239.074 1, 137.026 7                       | 7-hydroxy-3-[4-hydroxy-3-(2-hydroxy-3-methylbut-3-enyl)phenyl]-4H-chromen-4-one 或同分异构体 | 黄酮类  |

续表1

| No. | $t_R$<br>/min | 分子式                                            | 质荷比<br>( $m/z$ ) | 加合离子               | 误差/<br>$\times 10^{-6}$ | MS <sup>2</sup> 质谱碎片                                             | 化合物名称                                                                          | 结构类型 |
|-----|---------------|------------------------------------------------|------------------|--------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|------|
| 50  | 35.96         | C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub> | 275.200 3        | [M+H] <sup>+</sup> | -1.1                    | 131.087 0, 115.054 2                                             | cyclobakuchiol C 或同分异构体                                                        | 其他类  |
| 51  | 35.97         | C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub> | 293.210 8        | [M+H] <sup>+</sup> | -1.0                    | 193.099 5, 167.083 9, 161.096 5, 137.071 9                       | 12,13-diobakuchiol 或同分异构体                                                      | 萘酚类  |
| 52  | 36.11         | C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub> | 275.200 3        | [M+H] <sup>+</sup> | -1.1                    | 157.065 1, 91.056 3                                              | 12,13-epoxybakuchiol 或同分异构体                                                    | 萘酚类  |
| 53  | 36.53         | C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub> | 289.179 7        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.4                    | 107.052 7, 77.042 4                                              | psoracorylifol A 或同分异构体                                                        | 其他类  |
| 54  | 36.53         | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O                | 107.049 1        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.9                    | 81.941 2, 55.937 7, 51.026 2                                     | benzaldehyde 或同分异构体                                                            | 其他类  |
| 55  | 37.19         | C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub> | 289.179 7        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.4                    | 107.051 4, 91.057 1, 55.020 4                                    | psoracorylifol B 或同分异构体                                                        | 其他类  |
| 56  | 37.43         | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub> | 337.106 9        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.6                    | 279.065 2, 223.074 8, 137.023 3, 59.050 1                        | 7-hydroxy-3-[2-(2-hydroxypropan-2-yl)-benzofuran-5-yl]-4H-chromen-4-one 或同分异构体 | 黄酮类  |
| 57  | 38.55         | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub> | 353.101 9        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.3                    | 281.049 6, 253.054 9, 209.064 0                                  | 补骨脂香豆雌烷 A 或同分异构体                                                               | 香豆素类 |
| 58  | 38.99         | C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> | 273.184 8        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.4                    | 147.079 5, 121.029 3, 107.048 7                                  | 3-hydroxybakuchiol 或同分异构体                                                      | 萘酚类  |
| 59  | 39.38         | C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> | 273.184 8        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.4                    | 171.080 3, 157.065 1, 107.048 6, 91.054 4                        | psoracorylifol E 或同分异构体                                                        | 其他类  |
| 60  | 43.00         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> | 341.138 4        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 149.024 5, 147.045 1, 121.029 3, 119.049 9                       | psorachalcone A 或同分异构体                                                         | 黄酮类  |
| 61  | 43.02         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub> | 325.143 2        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.9                    | 149.026 5, 147.043 8, 121.029 2, 93.034 8, 65.039 8              | 异补骨脂二氢黄酮 <sup>1)</sup>                                                         | 黄酮类  |
| 62  | 43.70         | C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub> | 389.174 7        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.3                    | 239.072 4, 137.025 7                                             | xambionone 或同分异构体 <sup>2)</sup>                                                | 黄酮类  |
| 63  | 44.12         | C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub> | 389.174 7        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.3                    | 267.068 0, 239.073 9, 137.028 2                                  | kanzonol E 或同分异构体 <sup>2)</sup>                                                | 黄酮类  |
| 64  | 44.51         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub> | 323.128 1        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.9                     | 255.065 4, 239.072 1, 137.025 2, 69.071 1                        | 新补骨脂异黄酮 <sup>1)</sup>                                                          | 黄酮类  |
| 65  | 44.58         | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub> | 321.114 7        | [M+H] <sup>+</sup> | 4.7                     | 135.009 1                                                        | corylin 或同分异构体                                                                 | 黄酮类  |
| 66  | 44.99         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub> | 323.128 1        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.9                     | 267.069 4, 239.074 5, 195.048 1, 165.074 2, 137.026 0            | isoneobavaisoflavone 或同分异构体                                                    | 黄酮类  |
| 67  | 45.36         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub> | 325.143 2        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.9                    | 181.069 3, 165.074 4, 147.048 5, 137.027 1, 121.032 5, 119.053 5 | 补骨脂甲素 <sup>1)</sup>                                                            | 黄酮类  |
| 68  | 45.88         | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> | 353.138 3        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.3                    | 269.048 6, 137.026 7, 69.073 7                                   | psoralenol methyl ether 或同分异构体                                                 | 黄酮类  |
| 69  | 46.31         | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub> | 321.112 2        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 305.085 8, 279.069 8, 137.028 2                                  | 补骨脂宁 <sup>1)</sup>                                                             | 黄酮类  |
| 70  | 46.75         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub> | 323.128 1        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.9                     | 203.074 9, 175.078 7, 147.048 0, 119.052 9                       | bavachromene 或同分异构体                                                            | 黄酮类  |
| 71  | 47.02         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub> | 325.143 2        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.9                    | 147.050 7, 119.055 3                                             | 补骨脂查尔酮 <sup>1)</sup>                                                           | 黄酮类  |
| 72  | 47.19         | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub> | 337.106 9        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.6                    | 281.049 9, 253.054 9, 209.064 8                                  | 补骨脂定 <sup>1)</sup>                                                             | 香豆素类 |
| 73  | 47.88         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> | 341.138 4        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 165.024 5, 137.029 3                                             | corylifol B 或同分异构体                                                             | 黄酮类  |
| 74  | 47.90         | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub> | 355.153 9        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.3                    | 219.113 5, 107.059 9                                             | 2'-hydroxybavachinin 或同分异构体                                                    | 黄酮类  |

续表1

| No. | $t_R$<br>/min | 分子式                                            | 质荷比<br>( $m/z$ ) | 加合离子               | 误差/<br>$\times 10^{-6}$ | MS <sup>2</sup> 质谱碎片                                                | 化合物名称                         | 结构类型 |
|-----|---------------|------------------------------------------------|------------------|--------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------|-------------------------------|------|
| 75  | 48.05         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub> | 325.143 2        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.9                    | 223.085 6, 197.072 9, 181.076 7,<br>165.082 0, 137.034 9, 91.065 0  | isobavachalcone 的同分异构体        | 黄酮类  |
| 76  | 48.73         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub> | 325.143 2        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.9                    | 149.025 5, 121.030 3                                                | 补骨脂乙素 <sup>1)</sup>           | 黄酮类  |
| 77  | 49.09         | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> | 339.159 7        | [M+H] <sup>+</sup> | 1.8                     | 219.106 6, 151.043 8, 147.048 9,<br>119.053 5                       | 补骨脂二氢黄酮甲醚 <sup>1)</sup>       | 黄酮类  |
| 78  | 49.54         | C <sub>25</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub> | 391.190 9        | [M+H] <sup>+</sup> | 1.3                     | 293.080 5, 267.063 9, 255.065 8,<br>239.071 4, 137.024 1            | corylifol A <sup>1)</sup>     | 黄酮类  |
| 79  | 50.06         | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub> | 323.128 1        | [M+H] <sup>+</sup> | 0.9                     | 203.075 5, 161.029 2, 149.029 6,<br>147.087 1, 121.034 0, 119.055 0 | 异补骨脂色烯查尔酮 <sup>1)</sup>       | 黄酮类  |
| 80  | 50.44         | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> | 339.159 7        | [M+H] <sup>+</sup> | 1.8                     | 219.101 8, 147.044 1, 119.049 4,<br>69.070 5                        | 4'-O-甲基补骨脂查耳酮 B <sup>1)</sup> | 黄酮类  |
| 81  | 51.01         | C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub> | 321.112 2        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 305.089 1, 137.030 7                                                | 补骨脂宁的同分异构体                    | 黄酮类  |
| 82  | 51.03         | C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub> | 389.174 7        | [M+H] <sup>+</sup> | -0.3                    | 305.094 5, 137.030 9                                                | 新补骨脂宁或同分异构体                   | 黄酮类  |
| 83  | 51.79         | C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O              | 257.190 0        | [M+H] <sup>+</sup> | 0                       | 133.065 0, 121.064 6, 107.049 2                                     | 补骨脂酚或同分异构体                    | 萜酚类  |

注: <sup>1)</sup> 通过对照品比对鉴定的化合物; <sup>2)</sup> 尚未从补骨脂中报道的化合物。

### 3.1 黄酮类化合物的鉴定

黄酮类化合物是补骨脂中的主要成分,具有抗肿瘤、保护心血管系统、抗菌等作用<sup>[3,13]</sup>。依据母核的结构,可将补骨脂中黄酮类化合物大致分为黄酮类和查尔酮类,其常见的中性丢失有 CH<sub>4</sub>、CH<sub>3</sub>、CO、H<sub>2</sub>O<sup>[14-16]</sup>。黄酮类化合物常见的裂解模式有逆狄尔斯-阿尔德反应(RDA),易发生<sup>1,3</sup>A<sup>+</sup>和<sup>0,2</sup>A<sup>+</sup>断裂;查尔酮类化合物常见的裂解模式有<sup>I</sup>B<sup>+</sup>和<sup>II</sup>B<sup>+</sup>断裂<sup>[17-19]</sup>。在正离子模式下常见的碎片离子包括  $m/z$  119.05、137.02、147.05、149.02 等<sup>[9-10]</sup>。从补骨脂中鉴定到的黄酮类化合物共 58 种,其中 11 种化合物(13、61、64、67、69、71、76~80)通过对照品比对鉴定。

**3.1.1 黄酮类** 化合物 13( $t_R$  = 12.92 min) 给出分子离子峰  $m/z$  417.118 1 [M+H]<sup>+</sup>,推断其分子式为 C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>,其二级质谱图与推断的裂解途径见图 2。碎片离子  $m/z$  255.068 1 [M+H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>]<sup>+</sup>是分子离子失去 1 个葡萄糖产生的。再通过中性丢失 H<sub>2</sub>O 或 CO,可分别得到碎片离子  $m/z$  237.056 9 [M+H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、227.072 7 [M+H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-CO]<sup>+</sup>。特征离子  $m/z$  137.025 4 [M+H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>O]<sup>+</sup>推测是离子  $m/z$  255.068 1 发生 RDA<sup>1,3</sup>A<sup>+</sup>裂解丢失 C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>O 产生的。通过与对照品对比,该化合物的保留时间、二级质谱碎片与大豆苷一致,故将

化合物 13 鉴定为大豆苷。

化合物 61( $t_R$  = 43.02 min) 显示分子离子峰为  $m/z$  325.143 2 [M+H]<sup>+</sup>,推断其分子式为 C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>。通过发生 RDA<sup>1,3</sup>A<sup>+</sup>裂解失去 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>,得到碎片离子  $m/z$  149.026 5 [M+H-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>]<sup>+</sup>。通过连续丢失 3 分子 CO,可观察到碎片离子  $m/z$  121.029 2 [M+H-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-CO]<sup>+</sup>、93.034 8 [M+H-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-2CO]<sup>+</sup>、65.039 8 [M+H-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-3CO]<sup>+</sup>。通过发生 RDA<sup>0,2</sup>A<sup>+</sup>断裂失去 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>,得到特征碎片离子  $m/z$  147.043 8 [M+H-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>]<sup>+</sup>。通过与对照品进行保留时间、二级质谱碎片的对比,将此化合物鉴定为异补骨脂二氢黄酮。相似的裂解途径也可以在化合物 44( $t_R$  = 33.74 min) 中观察到,其二级质谱图与推断的裂解途径见图 2。该化合物给出分子离子峰  $m/z$  341.138 4 [M+H]<sup>+</sup>,推断其分子式为 C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>。通过发生 RDA<sup>1,3</sup>A<sup>+</sup>裂解并失去 H<sub>2</sub>O,得到碎片离子  $m/z$  203.072 1 [M+H-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>;或失去 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O,得到特征碎片离子  $m/z$  149.025 2 [M+H-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O]<sup>+</sup>。通过发生 RDA<sup>0,2</sup>A<sup>+</sup>断裂,并失去 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O,得到特征碎片离子  $m/z$  147.045 7 [M+H-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O]<sup>+</sup>。接着失去 CO,得到特征碎片离子  $m/z$  119.050 6 [M+H-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O-CO]<sup>+</sup>。通过与文献比对,推断该化合物为 brosimacutin D 或

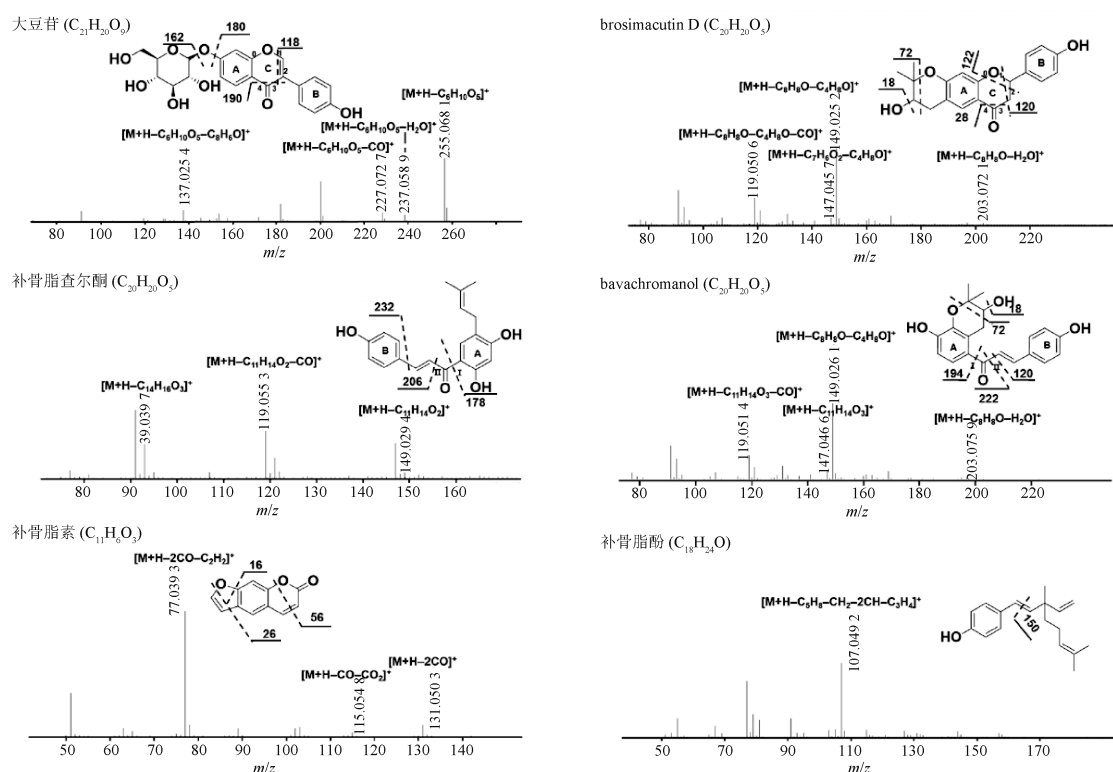


图 2 大豆苷、brosimacutin D、补骨脂查尔酮、bavachromanol、补骨脂素、补骨脂酚二级质谱图和推断的裂解途径

Fig. 2 MS<sup>2</sup> spectra and inferred fragmentation pathways for daidzin, brosimacutin D, bavachalcone, bavachromanol, psoralen, and bakuchiol

同分异构体<sup>[9]</sup>。

化合物 **47** ( $t_R = 34.42$  min) 给出分子离子峰  $m/z$  339.122 6  $[M+H]^+$ , 推断其分子式为 C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>。在其二级质谱图中, 可观察到由 RDA<sup>1,3</sup>A<sup>+</sup> 裂解产生的特征碎片离子  $m/z$  137.025 7  $[M+H-C_{13}H_{14}O_2]^+$ ; 通过丢失 2×CH<sub>4</sub> 和 CO, 得到碎片离子 279.068 1  $[M+H-2CH_4-CO]^+$ 。碎片离子  $m/z$  267.067 5  $[M+H-C_4H_8O]^+$  和  $m/z$  239.073 3  $[M+H-C_5H_{10}O_2]^+$  是通过丢失 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O 和 C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub> 得到的。经过与文献比对, 推测该化合物为补骨脂色烯黄酮或同分异构体<sup>[10]</sup>。

化合物 **17** ( $t_R = 16.11$  min) 与化合物 **13** 有相同的分子离子峰  $m/z$  417.118 1  $[M+H]^+$ 。在其二级质谱图中可以观察到特征碎片离子  $m/z$  137.02, 推测其为黄酮类化合物。此外, 化合物 **17** 在  $m/z$  237.055 9  $[M+H-C_6H_{10}O_5-H_2O]^+$  处产生主要碎片离子, 推测其结构中可能含有葡萄糖。自建数据库中未有可以匹配的化合物, 利用 PubChem 和 Chem-

Spider 等开源数据库进行检索, 初步推测化合物 **17** 为 puerarin 或同分异构体。

化合物 **63** ( $t_R = 44.12$  min) 显示分子离子峰  $m/z$  389.174 7  $[M+H]^+$ , 推断其分子式为 C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>。在其二级质谱图中可以观察到特征碎片离子  $m/z$  137.028 2  $[M+H-C_{18}H_{20}O]^+$ , 推测其为黄酮类化合物。通过连续丢失 1 分子 C<sub>9</sub>H<sub>14</sub> 和 CO, 可见碎片离子  $m/z$  267.068 0  $[M+H-C_9H_{14}]^+$  和  $m/z$  239.073 9  $[M+H-C_9H_{14}-CO]^+$ 。自建数据库中未发现可以匹配的化合物, 结合在线数据库检索, 初步推测化合物 **63** 为 kanzonol E 或同分异构体。

**3.1.2 查尔酮类** 化合物 **71** ( $t_R = 47.02$  min) 给出分子离子峰  $m/z$  325.143 2  $[M+H]^+$ , 推断其分子式为 C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>。通过<sup>1</sup>B<sup>+</sup> 断裂, 丢失 C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub> 和 CO, 可得到特征碎片离子  $m/z$  147.050 7  $[M+H-C_{11}H_{14}O_2]^+$  和  $m/z$  119.055 3  $[M+H-C_{11}H_{14}O_2-CO]^+$ 。并进一步丢失 2×CH<sub>2</sub>, 得碎片离子  $m/z$  93.039 7  $[M+H-C_{14}H_{16}O_3]^+$ 。与对照品进行比对,

鉴定该化合物为补骨脂查尔酮<sup>[20]</sup>,其二级质谱图与裂解途径见图2。

化合物**48**( $t_R=34.43$  min)显示分子离子峰  $m/z$  341.138 4  $[M+H]^+$ ,推断其分子式为  $C_{20}H_{20}O_5$ 。通过<sup>II</sup>A<sup>+</sup>断裂,失去  $C_8H_8O$  和  $H_2O$ ,可得碎片离子  $m/z$  203.073 1  $[M+H-C_8H_8O-H_2O]^+$ ;特征碎片离子  $m/z$  149.026 1  $[M+H-C_8H_8O-C_4H_8O]^+$ 是通过<sup>II</sup>A<sup>+</sup>断裂,丢失  $C_8H_8O$  和  $C_4H_8O$  得到的。通过<sup>I</sup>B<sup>+</sup>断裂,丢失  $C_{11}H_{14}O_3$  和  $CO$ ,产生特征碎片离子  $m/z$  147.046 6  $[M+H-C_{11}H_{14}O_3]^+$  和  $m/z$  119.051 4  $[M+H-C_{11}H_{14}O_3-CO]^+$ 。通过与文献和自建数据库比对,推测该化合物为 bavachromanol 或同分异构体<sup>[9,21]</sup>,其二级质谱图与裂解途径见图2。

化合物**70**( $t_R=46.75$  min)显示分子离子峰  $m/z$  323.128 1  $[M+H]^+$ ,推断其分子式为  $C_{20}H_{18}O_4$ 。通过<sup>II</sup>A<sup>+</sup>断裂,失去  $C_8H_8O$ ,可得碎片离子  $m/z$  203.074 9  $[M+H-C_8H_8O]^+$ ;继而失去  $CO$ ,得碎片离子  $m/z$  175.078 7  $[M+H-C_8H_8O-CO]^+$ ;通过<sup>I</sup>B<sup>+</sup>断裂,丢失  $C_{11}H_{12}O_2$  和  $CO$ ,可得特征碎片离子  $m/z$  147.048 0  $[M+H-C_{11}H_{12}O_2]^+$  和  $m/z$  119.052 9  $[M+H-C_{11}H_{12}O_2-CO]^+$ 。通过与文献比对,推测该化合物为 bavachromene 或同分异构体<sup>[10,21]</sup>。

### 3.2 香豆素类化合物的鉴定

香豆素类化合物是补骨脂的主要成分之一,也是其抗抑郁功效的主要成分<sup>[3]</sup>。香豆素类化合物常见的裂解途径主要为丢失取代基后再失去  $CO$  或  $CO_2$ <sup>[22-23]</sup>,从补骨脂中鉴定香豆素类化合物共11种,其中化合物**12**、**15**、**28**、**31**、**72**通过与对照品比对鉴定。

化合物**28**( $t_R=26.00$  min)给出分子离子峰  $m/z$  187.039 3  $[M+H]^+$ ,推断其分子式为  $C_{11}H_6O_3$ 。特征碎片离子  $m/z$  131.050 3  $[M+H-2CO]^+$ 是由分子离子失去  $2\times CO$  产生;通过再失去  $CO$  或  $C_2H_2$ ,可得碎片离子  $m/z$  103.055 1  $[M+H-3CO]^+$  或  $m/z$  77.040 1  $[M+H-2CO-C_2H_2]^+$ ;母离子通过丢失  $CO$  和  $CO_2$ ,可得特征碎片离子  $m/z$  115.054 8  $[M+H-CO-CO_2]^+$ 。通过与对照品比对,鉴定该化合物为补骨脂素,其二级质谱图与推测的裂解途径见图2。

化合物**72**( $t_R=47.19$  min)显示分子离子峰  $m/z$  337.106 9  $[M+H]^+$ ,推断其分子式为  $C_{20}H_{16}O_5$ 。碎

片离子  $m/z$  281.049 9  $[M+H-C_4H_8]^+$ 是分子离子丢失  $C_4H_8$  产生的;通过再失去  $CO$  或  $CO_2$ ,可以得到碎片离子  $m/z$  253.054 9  $[M+H-C_4H_8-CO]^+$  或  $m/z$  237.059 8  $[M+H-C_4H_8-CO_2]^+$ 。通过与对照品对比,将化合物**72**鉴定为补骨脂定。

化合物**32**( $t_R=30.10$  min)显示分子离子峰  $m/z$  369.096 9  $[M+H]^+$ ,推断其分子式为  $C_{20}H_{16}O_7$ 。分子离子通过连续失去  $C_4H_8O$  和  $CO$ ,得到碎片离子  $m/z$  297.039 4  $[M+H-C_4H_8O]^+$  和  $m/z$  269.044 5  $[M+H-C_4H_8O-CO]^+$ ;或通过连续失去  $C_2H_4O_2$  和  $CO$ ,产生碎片离子  $m/z$  309.074 6  $[M+H-C_2H_4O_2]^+$  和  $m/z$  281.080 5  $[M+H-C_2H_4O_2-CO]^+$ 。通过与文献和数据库比对,推测其为 corylidin 或同分异构体<sup>[9-10]</sup>。

化合物**57**( $t_R=38.55$  min)给出分子离子峰  $m/z$  353.101 9  $[M+H]^+$ ,推断其分子式为  $C_{20}H_{16}O_6$ 。碎片离子  $m/z$  281.049 6  $[M+H-C_4H_8O]^+$ 是由分子离子失去  $C_4H_8O$  所产生;通过连续丢失  $CO$  和  $CO_2$  产生碎片离子  $m/z$  253.054 9  $[M+H-C_4H_8O-CO]^+$  和  $m/z$  209.064 0  $[M+H-C_4H_8O-CO-CO_2]^+$ 。通过与文献和数据库比对,该化合物的质谱行为与补骨脂香豆雌烷A一致<sup>[9,11]</sup>,推测其为补骨脂香豆雌烷A或同分异构体。

### 3.3 萘酚类化合物的鉴定

研究表明补骨脂中的萘酚类化合物具有抗菌、抗炎等活性<sup>[3,24]</sup>,萘酚类化合物常见的裂解途径包括异戊烯基( $C_5H_8$ )的丢失。本实验通过与数据库和文献的比对,共鉴定了4种萘酚类化合物。

化合物**83**( $t_R=51.79$  min)给出分子离子峰  $m/z$  257.190 0  $[M+H]^+$ ,推断其分子式为  $C_{18}H_{24}O$ 。碎片离子  $m/z$  107.049 2 是由分子离子失去  $C_5H_8$  后再在其所连烃基上断裂失去  $C_6H_{10}$  所产生( $[M+H-C_5H_8-C_6H_{10}]^+$ )。通过与文献和数据库比对,推测其为补骨脂酚或同分异构体<sup>[10,25]</sup>,其二级质谱图与裂解途径见图2。

另外,对通过自建数据库检索未匹配的化合物,根据精确相对分子质量和二级质谱碎片,利用 PubChem 和 ChemSpider 等开源数据库进行再次检索,并对匹配的结果进一步筛选和鉴定。初步推断10种成分可能尚未从补骨脂水煎液中报道,分别是化合物**1**、**9**、**16**、**17**、**20**、**21**、**25**、**26**、**62**、**63**。下一步,需要更多的证据对这些成分的鉴定进行再确认。

#### 4 讨论

本研究采用 UHPLC-Q-TOF-MS 技术,结合自建化学成分数据库,对中药补骨脂主要的化学成分进行表征与鉴定。本实验开展了具有不同键合技术、键和基团的色谱柱进行固定相的筛选,如 BEH C<sub>18</sub>、Zorbax Eclipse Plus C<sub>18</sub>、Zorbax Extend C<sub>18</sub>、HSS C<sub>18</sub> SB、HSS T3、CSH Cyano 等,结果显示 BEH C<sub>18</sub> 色谱柱分离所得的离子数较多且峰形较好。进一步对水-乙腈、0.1%甲酸水-乙腈和 0.1%甲酸水-0.1%甲酸乙腈 3 种不同组成的流动相进行了比较,最终选择了峰形较好的 0.1%甲酸水-乙腈作为流动相。比较了 4 个水平的柱温(30、35、40、45℃),表明 30℃ 时分离效果最好,峰对称性良好。对质谱参数进行了优化,选取了 8 种补骨脂代表性化合物(补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂查尔酮、补骨脂定、补骨脂二氢黄酮甲醚、corylifol A、大豆苷、补骨脂苷),通过 3 次平行分析测定的峰面积平均值为评价指标,在正离子模式下,通过 Auto MS/MS 数据采集,对 4 个水平的喷嘴电压(500、1 000、1 500、2 000 V)、5 个水平的毛细管电压(3.0、3.2、3.5、3.7、4.0 kV)和 6 个水平的 Fragmentor(350、360、370、380、390、400 V)分别、依次进行优化。综合考虑各指标化合物的响应,最终设定喷嘴电压为 1 000 V,毛细管电压为 4.0 kV,Fragmentor 为 400 V。最后通过调整洗脱梯度,在 52 min 内实现了补骨脂化学成分的有效分离。本实验对正、负离子模式下所采集的高分辨二级质谱数据进行分析,发现补骨脂的化学成分在正离子模式下响应较好,可测定的峰更多。通过借助对照品、自建数据库、文献等比对,最终从中药补骨脂中鉴定了 83 种化合物,包括黄酮类 58 种、香豆素类 11 种、萘酚类 4 种、其他类 10 种。与先前研究相比<sup>[9-11]</sup>,本研究通过系统地优化色谱条件和质谱参数,能够从补骨脂中鉴定出更多的化学成分(83 vs 45/44/50),从而为补骨脂深入的化学成分研究奠定了一定的基础<sup>[26]</sup>。

本实验还存在不足之处。补骨脂化学成分种类繁多复杂,在分析过程中不同化学成分之间可能存在相互干扰;各成分之间含量差异较大,为含量低成分的检测和分析带来了相当的困难。另外,仅基于质谱信息,对于一些同分异构体的鉴定存在不确定性。本研究为补骨脂建立了包含 83 种化学成分的化学数据库,为后续补骨脂的质量控制研究等奠定

了基础。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [2] 杨阔, 高葺, 申宝德, 等. 补骨脂素的药理作用和肝肾损伤机制研究进展[J]. 中国医院用药评价与分析, 2021, 21(11): 1399.
- [3] 鲁亚奇, 张晓, 王金山, 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, 2019, 25(3): 180.
- [4] 杨阔, 高葺, 马亚中, 等. 补骨脂素药理作用及肝毒性机制的研究进展[J]. 中草药, 2021, 52(1): 289.
- [5] 林萍萍, 陈明珠, 张吟. 补骨脂及其主要化学成分降糖机制的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(9): 2392.
- [6] 张婧茜, 曲晓琳, 殷佳, 等. 补骨脂致肝损伤的研究进展[J]. 山东中医杂志, 2022, 41(5): 57.
- [7] 纪松岗, 吴海棠, 苗华艳, 等. 中药复方二神丸主要化学成分的高效液相-飞行时间质谱分析[J]. 药学实践杂志, 2011, 29(6): 435.
- [8] WANG H D, WANG H M, WANG X Y, et al. A novel hybrid scan approach enabling the ion-mobility separation and the alternate data-dependent and data-independent acquisitions (HDDID-DA): its combination with off-line two-dimensional liquid chromatography for comprehensively characterizing the multicomponents from Compound Danshen Dripping Pill [J]. Anal Chim Acta, 2022, 1193: 339320.
- [9] XU M J, WU B, DING T, et al. Simultaneous characterization of prenylated flavonoids and isoflavonoids in *Psoralea corylifolia* L. by liquid chromatography with diode-array detection and quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2012, 26(19): 2343.
- [10] 丁玉婷, 郑竹宏, 赵仁云, 等. UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 技术结合 UNIFI 筛查平台快速分析补骨脂化学成分[J]. 质谱学报, 2018, 39(6): 729.
- [11] LEE A, YANG H, KIM T, et al. Identification and pharmacokinetics of bioavailable anti-resorptive phytochemicals after oral administration of *Psoralea corylifolia* L. [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 144: 12300.
- [12] 颜冬梅, 陈家辉, 卢文滢, 等. 基于 2020 年版《中国药典》的含补骨脂成方制剂分析[J]. 亚太传统医药, 2022, 18(11): 33.
- [13] 魏蒙蒙, 王树瑶, 杨维, 等. 补骨脂的化学成分及主要毒性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(7): 207.
- [14] 赵依佳, 李军, 宋青青, 等. UPLC-Q-TOF-MS 结合分子量印迹和质量亏损过滤策略快速筛选并鉴定血竭中黄酮类化学成分[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(4): 993.
- [15] 张文文, 姚长良, 陈雪冰, 等. UPLC-Q-TOF/Fast DDA 结合 UNIFI 软件快速检测与鉴定小承气汤的化学成分[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(8): 2121.
- [16] QIAN Y X, ZHAO D X, WANG H D, et al. An ion mobility-enabled and high-efficiency hybrid scan approach in combination with ultra-high performance liquid chromatography enabling the

- comprehensive characterization of the multicomponents from *Carthamus tinctorius* [J]. J Chromatogr A, 2022, 1667: 462904.
- [17] 陈俊杰,李裕林. 黄酮类化合物的质谱研究[J]. 厦门大学学报,1994,33(1):123.
- [18] 杨龙飞,田伟,郑倩,等. 基于 UPLC/ESI-QTRAP-MS/MS 技术分析酸枣仁中黄酮类化合物[J]. 特产研究,2022,44(3):91.
- [19] 何天雨,王璐,李林,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的经典名方竹茹汤化学成分鉴定及网络药理学研究[J]. 中国中药杂志,2022,47(19):5235.
- [20] 郑燕,江媛,缪雨静,等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的补骨脂炮制机理研究[J]. 时珍国医国药,2022,33(3):600.
- [21] 罗娟敏,肖雪,洪流,等. HPLC/TOF-MS 和 HPLC/IT-MS<sup>n</sup> 联合用于补骨脂药材的化学成分分析[J]. 中草药,2014,45(7):924.
- [22] LUAN L J, SHEN X Y, LIU X S, et al. Qualitative analysis of *Psoraleae Fructus* by HPLC-DAD/TOF-MS fingerprint and quantitative analysis of multiple components by single marker [J]. Biomed Chromatogr, 2018, 32(2): e4059.
- [23] WANG S M, QIAN Y X, SUN M X, et al. Holistic quality evaluation of *Saposhnikovia Radix* (*Saposhnikovia divaricata*) by reversed-phase ultra-high performance liquid chromatography and hydrophilic interaction chromatography coupled with ion mobility quadrupole time-of-flight mass spectrometry-based untargeted metabolomics [J]. Arab J Chem, 2020, 13(12): 8835.
- [24] 张莹,吕惠子. 补骨脂的化学成分和药理作用研究进展[J]. 临床医药文献电子杂志,2020,7(30):195.
- [25] 王晶,韩燕全,魏良兵,等. 补骨脂-肉豆蔻配伍前后血中移行成分的 UPLC-Q-TOF/MS 分析[J]. 中草药,2018,49(22):5264.
- [26] 王丹妮,郭佳铭,柴欣,等. 基于一测多评法和薄层鉴别的补骨脂质量评价方法研究[J]. 中国中药杂志,2022,47(15):4089.

[责任编辑 张宁宁]