

# 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术快速 鉴定截叶铁扫帚中化学成分

朱高峰<sup>1,2</sup>, 陈 瑞<sup>2</sup>, 王建塔<sup>2</sup>, 汤 磊<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>贵州医科大学, 基础医学院, 贵州 贵阳

<sup>2</sup>贵州省化学合成药物研发利用工程技术研究中心, 贵州 贵阳

Email: zgf-gy@126.com, \*tlei1974@163.com

收稿日期: 2021年2月22日; 录用日期: 2021年5月1日; 发布日期: 2021年5月8日

## 摘 要

目的: 应用液质联用技术和UNIFI分析软件对截叶铁扫帚的化学成分进行快速地定性分析。方法: 在正负模式下采集数据, 使用UNIFI数据处理系统进行识别, 结合碎片离子、在线数据库系统和查阅相关文献, 对主要的碎片离子峰进行结构确证。结果: 本次实验共推断出82个化学成分。结论: 该方法快速简便地分析出了截叶铁扫帚的化学成分, 为下一步研究截叶铁扫帚的物质成分与作用机制奠定了理论基础。

## 关键词

截叶铁扫帚, 液质联用, UNIFI, 鉴定, 化学成分

# Rapid Identification on Chemical Components in *Lespedeza Cuneata* by UPLC-Q-TOF-MS/MS

Gaofeng Zhu<sup>1,2</sup>, Rui Chen<sup>2</sup>, Jianta Wang<sup>2</sup>, Lei Tang<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>School of Basic Medical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang Guizhou

<sup>2</sup>Guizhou Provincial Engineering Technology Research Center for Chemical Drug R&D, Guiyang Guizhou

Email: zgf-gy@126.com, \*tlei1974@163.com

Received: Feb. 22<sup>nd</sup>, 2021; accepted: May 1<sup>st</sup>, 2021; published: May 8<sup>th</sup>, 2021

## Abstract

**Objective:** Rapid qualitative analysis of chemical constituents of *Lespedeza cuneata* by liquid

\*通讯作者。

文章引用: 朱高峰, 陈瑞, 王建塔, 汤磊. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术快速鉴定截叶铁扫帚中化学成分[J]. 药物化学, 2021, 9(2): 35-43. DOI: 10.12677/hjmce.2021.92005

chromatography-mass spectrometry and UNIFI analysis software. **Methods:** Data were collected in positive and negative modes and identified by UNIFI data processing system. The main fragment ion peaks were confirmed by combining with fragment ion, online database system and relevant literature. **Result:** 82 chemical constituents were inferred in this experiment. **Conclusion:** This method can quickly and easily analyze the chemical constituents of *Lespedeza cuneata*, which lays a theoretical foundation for the further research on the material composition and mechanism of *Lespedeza cuneata*.

## Keywords

*Lespedeza cuneata*, LC-MS, UNIFI, Identification, Chemical Constituents

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

截叶铁扫帚为豆科(*Leguminosae*)胡枝子属(*Lespedeza*)植物的干燥全草, 全国各地均有分布, 多以全草入药[1]。现代药理实验研究表明, 截叶铁扫帚具有抗氧化、抗炎抗菌、抗卵巢癌、保肝等多种生理活性。文献报道[2]-[15]截叶铁扫帚的化学成分有黄酮类、木脂素类、酚酸类、糖类、挥发油、苷类、苯丙素等。但尚未有应用 LC-MS 对截叶铁扫帚化学成分进行研究的报道。

液质联用技术操作简便, 检测灵敏度高, 分离能力强, 简单迅速。目前主要应用于环境检测、中药多组分分析、中药体内代谢物分析、质控研究等领域中。为了更好的开发利用截叶铁扫帚的药用价值, 探索其生物活性的物质基础, 为截叶铁扫帚的质量控制研究、临床应用、资源开发提供理论依据。为明确截叶铁扫帚化学成分, 本文采用液质连用方法对其醇提取物进行化学鉴定。

## 2. 材料与仪器

### 2.1. 药材

截叶铁扫帚购于同仁堂贵阳药店, 经贵州医科大学药学院徐冉老师鉴定为豆科植物截叶铁扫帚(*Lespedeza cuneata* (Dum. Cours.) G. Don.)的干燥全草。

### 2.2. 仪器与试剂

超高效液相色谱(H-Class Acquity, waters, USA)、四极杆飞行时间质谱仪(Xevo G2-XS Qtof waters, USA)、UNIFI 科学信息系统(1.8, waters, USA)。

乙腈、甲醇(HPLC、默克、德国), 甲酸(LC/MS、赛默飞、中国), 蒸馏水(屈臣氏、中国), 其余试剂均为分析纯。

## 3. 方法与结果

### 3.1. 样品的制备

称取适量截叶铁扫帚, 加入 10 倍量的 75%乙醇回流提取 4 h, 减压蒸除溶剂得黑色浸膏状物。取上述浸膏, 用 75%甲醇溶解稀释成  $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 高速离心( $13,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}\cdot 10 \text{ min}$ ), 取上清液待用。

### 3.2. 液质条件

液相条件: 色谱柱 BEH C18 (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm, Waters ACQUITY); 进样量 3 μl, 柱温 40℃, 流速 0.3 mL/min; 流动相: 0.01%甲酸水(A)-乙腈(B), 梯度洗脱程序: 0~2 min 90% A; 2~5 min 90%~70% A; 5~8 min 70%~30% A; 8~15 min 30%~20% A; 15~28 min 20%~2% A; 29 min 2%~90% A; 29~30 min 90% A。

质谱条件: 电喷雾离子源(ESI), 正负模式参数相同, 采集模式为 MS<sup>E</sup> 轮廓图。数据采集范围 m/z 50~1200。碰撞气氦气; 雾化气(N<sub>2</sub>)体积流量为 600 L/h, 脱溶剂气温度为 350℃, 锥孔气流量为 50 L/h, 离子源温度 110℃, 毛细管电压 2.0 kV, 高能量扫描电压 30~40 V。

### 3.3. 结果

通过 MassLynx V4.1 软件进行数据采集, 将所得数据在 UNIFI 平台中快速匹配数据库, 选择误差小于 10ppm 的化合物通过对比对照品、查看二级质谱碎片离子信息、查阅文献、结合质谱裂解规律等方法推断鉴定化合物成分及来源。正模式下共推断和鉴定化合物 82 种, 负模式共推断和鉴定化合物 19 种, 结果分别见表 1 和表 2。

#### 正负模式下的色谱图及鉴定结果

采集的数据以时间(分钟)为横坐标, 一级质谱峰高百分比为纵坐标绘图, 分别得到图 1 和图 2。对两张图上主要色谱峰进行数字标识, 后结合该色谱峰的母亲离子峰和碎片离子峰进行结构确证。根据色谱峰保留时间, 鉴定出的分子式、一级质谱、加合物的形式、真实值与理论值的误差、二级碎片和鉴定的化合物进行制表, 分别得到表 1 和表 2。

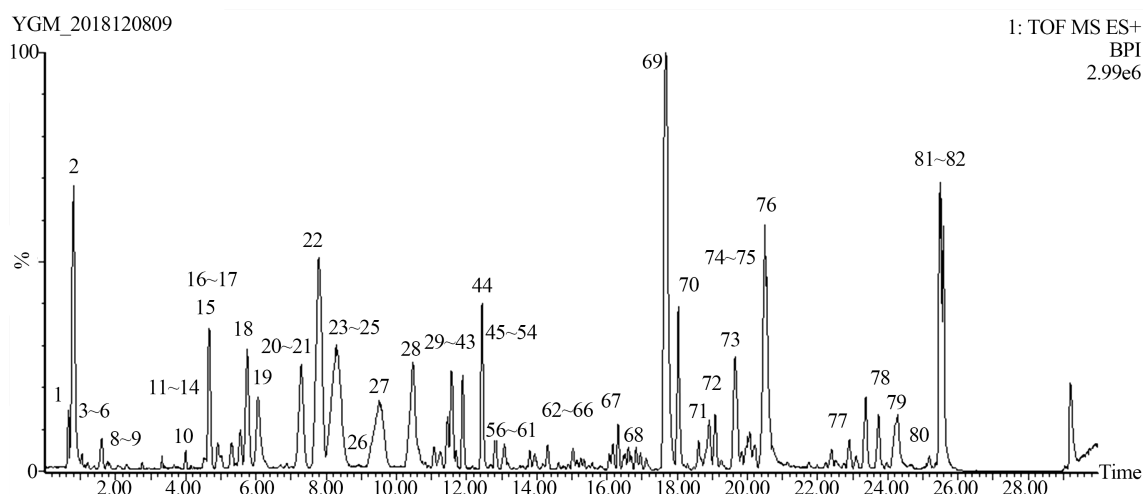


Figure 1. Base peak ion flow diagram of *Lespedeza cuneata* ethnlol extract in positive mode

图 1. 截叶铁扫帚醇提取物 UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 正模式下的基峰离子流图

Table 1. Identification results of positive mode *Lespedeza cuneata*

表 1. 正模式下载叶铁扫帚鉴定结果

峰号	保留时间 (min)	分子式	观测 m/z	加合物	误差 ppm	碎片离子	鉴定
1	0.78	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	455.1165	+Na	-1.5	127.039、97.028	车叶草酸
2	0.8	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> O <sub>9</sub>	351.0692	+Na	2.1	163.060	多糖
3	0.83	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> O	152.0572	+H	-2.7	85.027、111.043、135.030	鸟嘌呤

## Continued

4	1.6	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	268.1046	+H	-0.4	92.023、119.034、236.078	腺苷
5	1.75	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	348.1295	+NH <sub>4</sub>	5.6	186.0786	1-O-vanilloyl-glucose
6	1.84	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	166.0868	+NH <sub>4</sub>	-2.8	91.053、103.055	二氢香豆素
7	2.92	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	383.0954	+Na	-1.6	140.046、181.049	1-O-(4-羟基-3,5-二甲氧基苯甲酰)-吡喃葡萄糖
8	3.65	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	137.0603	+H	-5.1	122.036	对二甲苯醌
9	3.97	C <sub>32</sub> H <sub>38</sub> O <sub>19</sub>	727.2086	+H	-0.5	430.085 577.154	王不留行黄酮苷
10	4.0	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	611.1612	+H	-6.6	130.064、287.053	槲皮素-3-O-鼠李糖苷-7-O-葡萄糖苷
11	4.14	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	291.0869	+H	-1.8	123.043、139.039、153.055	儿茶素
12	4.21	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> O <sub>19</sub>	741.2242	+H	-1.5	433.112、595.165	山奈酚-3-O-鼠李糖基-芸香糖苷
13	4.55	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>8</sub>	409.1838	+Na	-2.0	189.127、207.138	roseoside
14	4.6	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>13</sub>	524.1404	+NH <sub>4</sub>	-0.7	202.046	iso-quercitrin 6'-acetate
15	4.67	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	475.1240	+H	-2.2	163.038 343.083	1,5-anhydro-glucitol
16	5.34	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	611.1612	+H	-0.3	565.154	sophorin
17	5.55	C <sub>33</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	581.1448	+H	2.7	137.022、475.101、565.150	三桉胶树黄酮
18	5.75	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	449.1084	+H	-1.6	269.044、329.065、431.097	异荛草素
19	6.06	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	565.1557	+H	-1.6	145.028 547.144	异夏佛塔苷
20	7.18	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	563.2104	+Na	0.1	163.075 399.103	1,3-dihydroxy-gluco-pyranoside
21	7.29	C <sub>34</sub> H <sub>26</sub> O <sub>10</sub>	595.1604	+H	4.0	165.017、283.058	7,4,7'',4''-四甲基阿曼托黄素
22	7.8	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	565.1557	+H	0.6	271.060、415.102、433.112	夏佛塔苷
23	8.25	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>9</sub>	480.2234	+NH <sub>4</sub>	-2.5	109.027、135.043	野马追内酯 A
24	8.3	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>11</sub>	433.1710	+H	-1.5	119.048	darendosideA
25	8.31	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	433.1135	+H	-1.9	177.018 255.065	阿福豆苷
26	8.93	C <sub>25</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	535.1452	+H	-0.5	271.06	茜根酸
27	9.53	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	433.1135	+H	-1.0	271.060、313.071	牡荆苷
28	10.47	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>	535.1428	+Na	-3.1	121.027	胡黄连苦苷 II
29	10.54	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	595.1663	+H	0	119.048、269.045	芹菜素-6,8-二-C-半乳糖苷
30	10.78	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>7</sub>	401.1576	+Na	2.2	167.070、211.096	3-hydroxypropyl-1,3-propanediol
31	10.8	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub>	419.1706	+H	-2.8	249.112、389.158、401.158	丁香脂素
32	10.82	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	463.1240	+H	-1.4	299.055、328.057	异金雀花素
33	10.93	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	449.1084	+H	-1.3	181.048、432.106	红蓼素
34	10.98	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> O <sub>11</sub>	554.2601	+NH <sub>4</sub>	-0.7	219.101、371.148	3-(hydroxymethyl)-mannopyranoside
35	11.08	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	609.1819	+H	-6.2	146.059、271.059	iso-spinosin
36	11.24	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	219.0997	+Na	9.4	137.059	黑麦草内酯
37	11.45	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	287.0556	+H	0	118.041、119.048、163.039	异黄芩素
38	11.48	C <sub>26</sub> H <sub>34</sub> O <sub>10</sub>	524.2496	+NH <sub>4</sub>	-0.9	219.101、341.138	aviculin
39	11.57	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	449.1084	+H	-1.8	95.048、109.027	cynaroside
40	11.76	C <sub>31</sub> H <sub>42</sub> O <sub>18</sub>	725.2269	+Na	2.5	167.07	新女贞子苷
41	11.89	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	313.0712	+H	-0.1	133.028、283.060	2-乙酰基大黄素
42	11.91	C <sub>26</sub> H <sub>34</sub> O <sub>11</sub>	540.2445	+NH <sub>4</sub>	-3.7	146.059、389.159	7-methoxy-gluco-pyranoside

## Continued

43	12.43	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	327.1596	+H	-1.8	107.048、175.071、160.052	licarinA
44	12.47	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	287.0556	+H	-0.5	137.059、153.018	木犀草素
45	12.71	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	289.0712	+H	-0.7	123.043、270.050	3,5-Dimethoxy-1,6-dihydroxyanthone
46	12.78	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>	361.1651	+H	-2.9	137.059	(+)-isolariciresinol
47	12.83	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>	331.1521	+Na	-1.1	137.058、219.100	乙酰大花旋覆花内酯
48	13.08	C <sub>30</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	657.1795	+Na	-2.1	263.048	山奈素-7-O-鼠李糖苷
49	13.18	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	303.0505	+H	1.8	135.044、287.056	herbacetin
50	13.35	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	285.0763	+H	1.3	107.048、253.049	calycosin
51	13.48	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub>	359.1495	+H	-2.7	269.082、325.107	isobutylshikonin
52	13.51	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>7</sub>	389.1600	+H	-3.6	125.059、357.133	trachelogenin
53	13.63	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	387.1444	+H	-2.3	151.039、345.096	floranol
54	13.95	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	271.0606	+H	-6.0	167.033	大黄素
55	14.09	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>	355.1158	+Na	5.8	148.050、151.075	3-duartin
56	14.19	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	287.0556	+H	1.3	229.049	3-羟基黄芩素
57	14.26	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	331.0818	+H	0.1	107.048、315.050	商陆素
58	14.32	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	333.0974	+H	1.3	151.039、167.034	1-羟基--四甲氧基黄酮
59	14.38	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>8</sub>	417.1549	+H	-0.6	385.128	1-acetoxypinoresinol
60	14.62	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	371.1131	+H	-2.8	149.023、181.049	sesamolin
61	14.64	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	351.2171	+H	-1.6	167.070、235.171	14-去氧-12-羟基穿心莲内酯
62	15.04	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	255.0657	+H	-8.2	107.048、151.038	1-羟基-3-甲氧基蒽醌
63	15.15	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	353.2304	+Na	-0.8	111.08	天师酸
64	15.35	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>	343.1545	+H	-3.2	180.077	风藤素 B
65	15.62	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	355.1182	+H	2.6	151.038	细辛脂素
66	15.64	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	315.0869	+H	-0.4	131.049、283.060	尼泊尔鸢尾异黄酮
67	16.32	C <sub>48</sub> H <sub>78</sub> O <sub>18</sub>	943.5266	+H	-0.7	273.222、423.361	大豆皂苷 I
68	16.85	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>	357.1338	+H	-0.8	123.043	三白酯酮
69	17.67	C <sub>28</sub> H <sub>42</sub> O <sub>11</sub>	577.2625	+Na	-0.4	93.056	11-methoxy-6-ylhexopyranoside
70	18.04	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	353.1025	+H	0.9	298.047	licioflavoneB
71	18.58	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	353.1025	+H	-1.7	213.055、297.039	sophora-iso-flavoneA
72	19.42	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>	337.1076	+H	-1.3	283.06	猫尾草异黄酮
73	19.68	C <sub>25</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>	423.1808	+H	-3.9	177.018、311.054	6,8-diprenylorobol
74	20.02	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	262.1443	+NH <sub>4</sub>	-4.9	213.055	蛇床子素
75	20.2	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	392.1709	+NH <sub>4</sub>	-1.8	167.072	1-羟基松脂酚
76	20.43	C <sub>42</sub> H <sub>68</sub> O <sub>12</sub>	787.4608	+Na	3.2	133.086	柴胡皂苷 E
77	23.11	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	323.2586	+H	2.6	261.223	豨莶精醇
78	23.85	C <sub>29</sub> H <sub>46</sub> O	411.3627	+H	-3.3	107.049、175.111	4,22-二烯-3-酮甾甙烷
79	24.25	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O	425.3783	+H	-2.4	121.100、135.116	羽扇豆烯酮
80	24.57	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	455.3525	+H	-2.9	439.322	(5xi,18xi)-3-oxolup-20-en-28-saure
81	24.64	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O <sub>4</sub>	463.3787	+H	-5.6	97.100	tocospiroA
82	25.19	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	441.3773	+H	-2.1	189.164、427.363	glochidonol

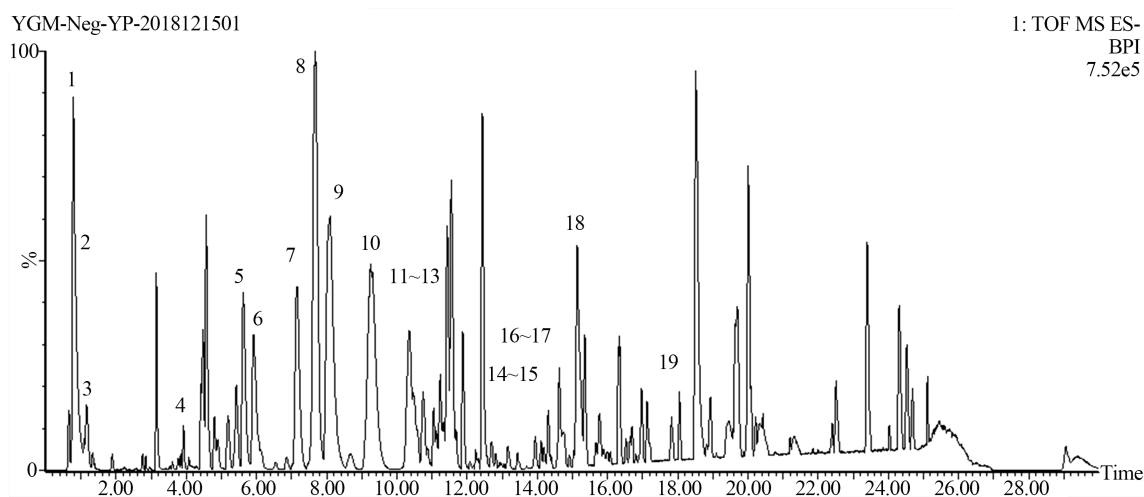


Figure 2. Base peak ion flow diagram of *Lespedeza cuneata* ethnlol extract in negative mode

图 2. 截叶铁扫帚醇提取物 UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 负模式下的基峰离子流图

Table 2. Identification results of negative mode *Lespedeza cuneata*

表 2. 负模式下载叶铁扫帚鉴定结果

峰号	保留时间 (min)	分子式	观测 m/z	加合物	误差 ppm	碎片离子	鉴定
1	0.79	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	341.109	-H	0.2	129.020、177.039、267.072	蔗糖
2	0.82	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	209.0667	-H	0.3	149.046、177.039	景天庚酮糖
3	0.94	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	133.0151	-H	6.6	115.004	2-羟基-丁二酸
4	3.93	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	609.1485	-H	3.9	489.104、519.113	槲皮素-7-O-葡萄糖苷
5	5.63	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	447.0947	-H	3.1	133.030、268.037、325.035	红蓼素
6	5.63	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	445.0789	-H	2.8	299.056、369.062	黄芩苷
7	7.15	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	593.1541	-H	4.8	413.089、473.108	芹菜素-6,8-二-C-半乳糖苷
8	7.67	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	563.1438	-H	5.7	269.046、443.099	异夏佛托苷
9	8.07	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	431.0996	-H	2.8	269.045	牡荆苷
10	9.27	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	577.1583	-H	3.4	269.045、413.088	牡荆苷-2"-O-鼠李糖苷
11	11.05	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	607.1698	-H	4.8	312.062、353.066	2"-O-葡萄糖基当药黄素
12	11.18	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	433.0785	-H	2.0	300.027	avicularin
13	11.88	C <sub>25</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	533.1316	-H	3.0	282.052、341.066	茜根酸
14	12.57	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> O <sub>14</sub>	537.1278	-H	5.2	399.094、417.104、447.093	西伯利亚远志皂苷咕吨酮 B
15	13.17	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	301.0358	-H	1.4	133.030、285.040	草棉黄素
16	13.32	C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	299.0201	-H	1.2	285.04	1-羟基-3,7,8-三甲氧黄酮
17	14.28	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	301.0721	-H	1.2	165.019、271.024	decussatin
18	15.14	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	329.2337	-H	1.2	171.103、139.113	天师酸
19	18.05	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	313.2388	-H	1.1	201.113	癸二酸二丁酯

## 4. 讨论

### 4.1. 黄酮及其苷类的鉴定

黄酮类化合物是天然化学成分中一类常见的化学成分，在胡枝子属中发现了黄酮类、黄酮醇类、异

黄酮类等成分，多以成苷的形式存在。在本研究中发现了 32 个黄酮类化合物，如异荭草素、阿福豆苷、红蓼素、黄芩苷等。与糖结合成苷的化合物在质谱中以糖基的断裂为主，如峰 9 的  $[M+H]^+$  为 727.2076，采用元素分析得出分子式为  $C_{32}H_{38}O_{19}$ ，有  $[M+H-Ara]^+$  577.154、 $[M+H-Ara-Glu]^+$  413.085 等碎片离子，皆为母核结构失去糖基后的碎片，结合 Chemspider 数据库搜索碎片离子进行匹配，推断出峰 9 为王不留行黄酮苷。

峰 44 与峰 37 在正模式下均观测到  $[M+H]^+$  为 287，两个峰分析出的分子式为  $C_{15}H_{10}O_6$ ，且在 UNIFI 数据库中匹配的化合物误差在 5 ppm 以内，对二级质谱图进行分析，发现两者的碎片有所不同，峰 44 的碎片有 153 和 137，而峰 37 则出现了 118 与 119 的碎片，和文献[16]对比判断出峰 44 为木犀草素，峰 37 为异黄芩素。峰 5 在负模式下观测到的  $m/z$  为 447.0947，在质谱信息中可观察到脱去一分子葡萄糖后再中性丢失  $H_2O$  得到 268 的碎片以及发生 RDA 裂解的 133 碎片，可以确定糖连接在 A 环上，其裂解途径如图 3，结合文献信息[17]确定为红蓼素。

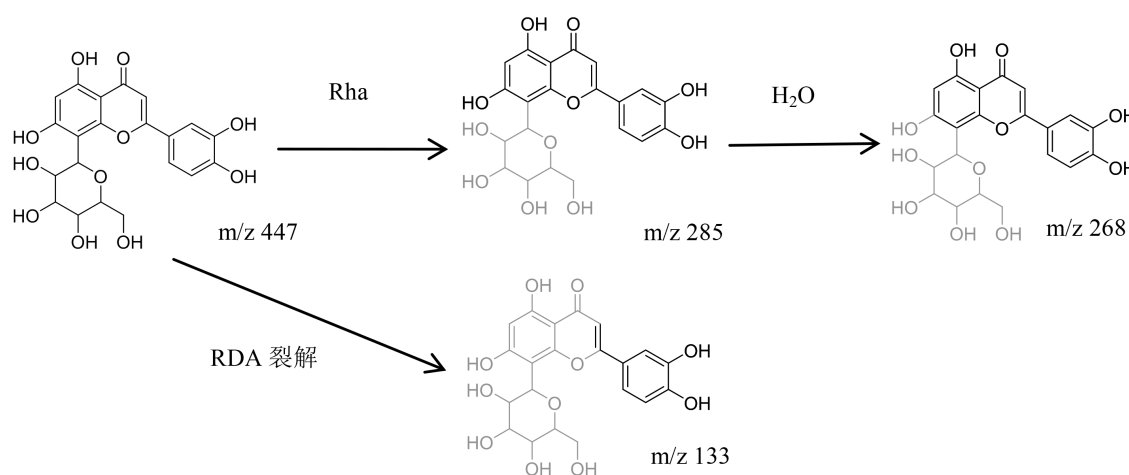


Figure 3. Pyrolysis pathway of orientin

图 3. 红蓼素的裂解途径

#### 4.2. 苯丙素及其苷类的鉴定

苯丙素类化合物是截叶铁扫帚中另一类重要的化学成分，包括木脂素类和香豆素类，本实验共鉴定了 18 个化合物，其中有 3 个香豆素类和 3 个木脂素类化合物，观察发现均出现了 CO 或者  $CO_2$  的中性丢失。74 号峰在  $ESI^+$  观测到  $[M+NH_4]^+$  262.1433，分子中有丢失 213 的碎片，推测其结构中有正丙烯结构，对比文献[18]判断 74 号峰为蛇床子素，峰 20 在正模式下有  $m/z$  为 399.103 的碎片，判断结构中有糖基相连，且质量数误差为 0.1 ppm，通过在线数据库搜索，得到峰 20 的化学名为 1,3-dihydroxy-D-glucopyranoside。

#### 4.3. 醌类化合物的鉴定

目前在截叶铁扫帚中发现的醌类化合物较少，本次研究中鉴定 6 个醌类化合物，分为苯醌、萘醌和蒽醌三类，此类化合物与黄酮类化合物的质谱裂解有相似之处，都有 CO 碎片离子的出现。在负模式下 8 号峰根据分子式以及结构式等对应数据库中的化合物为 2,5-二甲基苯醌，再通过一二级质谱图在线搜索，发现二级质谱中有  $CH_3$  的碎片，综合分析后鉴定 8 号峰为对二甲苯醌。54 和 62 号峰在  $ESI^+$  的保留时间接近，且分别有 167 和 151 的碎片，推断这两个峰可能为同一类化合物，并且相差一个氧，再结合文献[19]判断 54 号峰为大黄素，62 号峰为 1-羟基-3-甲氧基蒽醌。

#### 4.4. 萜类化合物的鉴定

综合保留时间、特征碎片离子和质谱裂解规律共推断出 14 个萜类化合物, 主要有单萜、环烯醚萜、三萜等。因萜类化合物母核结构较多, 无特殊裂解规律, 常因每一种化合物的结构不同而有不同的裂解方式。36 号峰准分子离子峰为 $[M+Na]^+$ , 推断出分子式为  $C_{11}H_{16}O_3$ , 二级质谱有丢失正丙醇碎片, 结合文献[20]和数据库判定 36 号峰为黑麦草内酯。峰 13 在  $ESI^+$  观测到的  $m/z$   $[M+Na]^+$  409.1825, 分子式为  $C_{19}H_{30}O_8$ , 裂解碎片为 $[M+H-Rha-OH]^+$  207.138, 在此基础上再中性丢失  $H_2O$ , 得到 189.127 的碎片, 查阅文献[21]鉴定为 roseoside。

#### 4.5. 其他类化合物的鉴定

本次研究鉴定了其他类化合物 11 个, 其中包括糖类如蔗糖、景天庚酮糖等, 有机酸如天麻酸、2-羟基-丁二酸以及儿茶素等, 嘌呤类如鸟嘌呤、腺苷等。11 号峰在低能量区可观测到准分子离子峰 $[M+H]^+$  291, 高能区有 139.039、123.043、153.055 的碎片, 为 C 环的 1,4 和 1,3 的断裂形成的碎片, 综合文献[23]分析出 11 号峰为儿茶素。峰 1 在  $ESI^-$  模式下 $[M-H]^-$  341.109, 分子式为  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , 在负模式下糖发生裂解, 分析碎片 $[M-H-Glu-H_2]^-$  177、 $[M-H-Fru-CH_2-H_2O]^-$  129 等, 结合文献[24]鉴定为蔗糖。

### 5. 结论

本文数据分析采用了 waters 的 UNIFI 分析软件, 结合已知文献建立化合物数据库, 并充分利用 chemspinder 在线数据库, 根据化合物二级质谱并结合化合物结构特点, 正模式下共推断出 82 种化学成分。该方法快速简便地分析出了截叶铁扫帚的化学成分, 为下一步研究截叶铁扫帚的物质成分与作用机制奠定了理论基础。

### 参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 1444.
- [2] 刘英波, 刘亮, 潘年松, 冯华, 谭怀美, 周德权, 等. 苗药夜关门化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 甘肃中医药大学学报, 2017, 34(4): 90-93.
- [3] 周健, 张剑峰, 吕燕妮, 陈芳有, 张东明, 魏筱华. 截叶铁扫帚化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1): 228-234.
- [4] 刘毅, 陈羲之. 云南常用中草药单验方荟萃[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2012: 11.
- [5] 蔡玲, 黄坚, 吕杨, 周斌, 陈龙胜. HPLC-ELSD 法测定夜关门中 D-松醇的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 80-82.
- [6] 李金花, 黄林芳, 曾锐, 瞿燕. UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 技术结合 UNIFI 数据库快速定性分析黄牡丹化学成分[J]. 中草药, 2017, 48(8): 1529-1536.
- [7] 王美玲, 张清清, 付爽, 刘月红, 梁钊镭, 陈娜, 等. UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 技术结合 UNIFI 数据库筛查方法快速分析巴戟天化学成分[J]. 质谱学报, 2017, 38(1): 75-82.
- [8] 张剑峰. 截叶铁扫帚的化学成分及生物活性研究[D]: [博士学位论文]. 北京: 北京协和医学院, 2016.
- [9] 张剑峰, 李创军, 马洁, 杨敬芝, 张东明. 截叶铁扫帚化学成分研究[C]//中国药学会中药与天然药物专业委员会. 第一届《药学报》药学前沿论坛暨 2015 年中国药学会中药与天然药物专业委员会会议论文集. 《药学报》编委会、中国药学会中药与天然药物专业委员会: 中国药学会, 2015: 1.
- [10] 欧庆平. 截叶铁扫帚中木脂素类化学成分研究[D]: [硕士学位论文]. 上海: 上海交通大学, 2015.
- [11] 唐超, 潘年松, 罗俊. 截叶铁扫帚提取物 GC-MS 分析[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2018, 55(3): 643-648.
- [12] 朱晓勤, 曾建伟, 邹秀红, 等. 截叶铁扫帚挥发油化学成分分析[J]. 福建中医学院学报, 2010, 20(2): 24-27.
- [13] 曹平. 截叶铁扫帚的化学成分及抗糖尿病肾病活性研究[D]: [硕士学位论文]. 大理: 大理大学, 2017.



- [14] Do, Q.M. and Koo, Y.M. (2007) Isolation and Physiological Activities of Pinitol in *Lespedeza cuneata*. Doctoral Dissertation, Chosun University, Gwangju.
- [15] Baek, J., Lee, D., Lee, T.K., Song, J.H., Lee, J.S., Lee, S., *et al.* (2018) (-)-9'-O-( $\alpha$ -1-Rhamnopyranosyl)lyoniresinol from *Lespedeza cuneata* Suppresses Ovarian Cancer Cell Proliferation through Induction of Apoptosis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **28**, 122-128. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.11.045>
- [16] 王领弟, 徐宝欣, 李艳荣, 潘海峰, 韩信草. UPLC 指纹图谱及 LC-MS 化学成分分析[J]. 中药材, 2017, 40(8): 1870-1875.
- [17] Zhao, N., Sun, Q., Song, Y., Wang, L., Zhang, T. and Meng, F. (2018) Comparative Pharmacokinetics Study of Orientin in Rat Plasma by UHPLC-MS/MS after Intravenous Administration of Single Orientin and *Trollius chinensis* Bunge Extract. *Biomedical Chromatography*, **32**, e4142. <https://doi.org/10.1002/bmc.4142>
- [18] Yadav, M., Song, F.F., Huang, J., Chakravarti, A. and Jacob, N.K. (2018) Ocimum Flavone Orientin as a Countermeasure for Thrombocytopenia. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 5075. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23419-x>
- [19] 马小红, 沈少林, 韩凤梅, 陈勇. 大黄蒽醌类化合物电喷雾质谱研究[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2006(4): 403-406.
- [20] Chung, C.Y., Liu, C.H., Burnouf, T., Wang, G.-H., Chang, S.-P., Jassey, A., *et al.* (2016) Activity-Based and Fraction-Guided Analysis of *Phyllanthus urinaria* Identifies Loliolide as Potent Inhibitor of Hepatitis C Virus Entry. *Antiviral Research*, **130**, 58-68. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.03.012>
- [21] 王举涛, 李盈, 胡华萍, 许凤清. 腺梗豨莶草正丁醇部位化学成分研究[J]. 中药材, 2017, 40(3): 608-611.
- [22] 孙学军, 孙志伟, 户宝军, 盛筱, 尤进茂. 单糖衍生物的电喷雾质谱裂解规律研究[J]. 分析化学, 2008(10): 1309-1315.
- [23] 刘国强, 董静, 王弘, 万乐人, 端裕树, 陈世忠. 4种儿茶素类化合物电喷雾质谱裂解规律的研究[J]. 高等学校化学学报, 2009, 30(8): 1566-1570.
- [24] 冯华, 刘英波, 刘亮, 潘年松, 周德权. 苗药夜关门高效液相色谱指纹图谱的鉴别研究[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(2): 377-378.