

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术快速鉴定降香中化学成分

孟晓伟, 朱清, 张妮, 刘同坦, 邓英红, 刘洋, 徐章俊, 邵峰, 陈兰英, 刘荣华*
(江西中医药大学, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 降香为我国传统名贵中药材,然目前市场上降香来源品种复杂,质量差异较大,为进一步明确其药效物质基础,采用超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间高分辨率质谱(UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术快速分析降香甲醇提取物中的化学成分。方法:采用 UPLC RRHD SB-C₁₈ 色谱柱(3.0 mm×100 mm,1.8 μm),以 0.1% 甲酸水溶液-乙腈为流动相进行梯度洗脱,流速 0.3 mL·min⁻¹,柱温 40℃;采用电喷雾离子源,负离子模式采集数据。结果:通过一级精确荷质比和二级碎片信息数据,结合文献资料,质谱裂解规律,Mass bank 质谱数据库及对对照品的保留时间等,从降香的甲醇提取物中初步鉴定 83 个化学成分,包括 18 个黄酮类,31 个异黄酮类,10 个新黄酮类,9 个异黄烷类,7 个其他类型黄酮和 8 个其他类成分。结论: UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术方法可快捷、准确、较全面地鉴定降香甲醇提取物中的化学成分,降香的主要化学成分为异黄酮、黄酮、新黄酮、异黄烷等黄酮类,为降香的药效物质基础研究奠定基础,也为降香药材的质量标准提升提供理论依据和技术支持。

[关键词] 降香; 黄檀属; 超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱; 化学成分; 黄酮类; 异黄酮类; 新黄酮类

[中图分类号] R22;R289;R2-031;R284.2 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2020)10-0107-12

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200813

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200103.1210.003.html>

[网络出版时间] 2020-01-03 14:29

Rapid Identification on Chemical Components in Dalbergiae Odoriferae Lignum by UPLC-Q-TOF-MS/MS

MENG Xiao-wei, ZHU Qing, ZHANG Ni, LIU Tong-tan, DENG Ying-hong, LIU Yang, XU Zhang-jun,
SHAO Feng, CHEN Lan-ying, LIU Rong-hua*
(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** Dalbergiae Odoriferae Lignum is a rare traditional Chinese medicine material in China. However, there are many varieties of various sources and different qualities in the market at present. In order to further define the pharmacodynamic substance basis, electrospray time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) was used to rapidly analyze chemical constituents of methanol extract of Dalbergiae Odoriferae Lignum. **Method:** Chromatographic separation was performed on an UPLC RRHD SB-C₁₈ (3.0 mm×100 mm, 1.8 μm) for gradient elution, with mixtures of acetonitrile and 0.1% formic acid-water as mobile phases at a flow rate of 0.3 mL·min⁻¹. The column temperature was maintained at 40℃. The data was collected in a negative ion mode with electro-spray ionization source (ESI). **Result:** According to molecular ion peaks and MS² mass spectrometry characteristic fragment ions, Mass Bank databases, as well as the mass spectrometry information of reference substances and relevant literatures, a total of 83 constituents were identified, including 18 flavones, 31 isoflavones, 10 neoflavonoids, 9 isoflavanones, 7 other flavonoids and 8 other components.

[收稿日期] 2019-10-31(010)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2018YFC1706102);国家自然科学基金项目(81660676);江西省中药学一流学科项目(JXSYLXK-ZHYA0065);江西省教育厅科学技术研究项目青年项目(GJJ180690)

[第一作者] 孟晓伟,在读博士,讲师,从事中药药效物质基础研究,Tel:0791-87118088,E-mail: xjzmxw@163.com

[通信作者] *刘荣华,博士,教授,从事中药药效物质基础研究,Tel:0791-87118992,E-mail: rhliu@163.com

Conclusion: UPLC-Q-TOF-MS/MS can quickly, accurately and comprehensively identify chemical constituents in methanol extract of *Dalbergiae Odoriferae Lignum*, and isoflavones, flavones, neoflavonoids and isoflavanones are the main chemical constituents, which laid a foundation for the basic research of medicinal substances of *Dalbergiae Odoriferae Lignum*, and provided theoretical basis and technical support for the improvement of quality standards of *Dalbergiae Odoriferae Lignum*.

[**Key words**] *Dalbergiae Odoriferae Lignum*; *Dalbergia*; UPLC-Q-TOF-MS/MS; chemical constituents; flavones; isoflavones; neoflavonoids

降香为豆科植物降香檀 *Dalbergia odorifera* 树干和根的干燥心材,2015 年版《中国药典》记载其具有化瘀止血,理气止痛的功效,用于吐血,衄血,外伤出血,肝郁胁痛,胸痹刺痛,跌扑伤痛,呕吐腹痛^[1]。现代研究表明降香主要含有挥发油和黄酮类成分,具有舒张血管、增加冠脉流量、抗氧化、抗炎、抗肿瘤等药理作用^[2-9]。中药降香始载于《本草纲目》,在临床上具有较高的药用价值,仅 2015 年版《中国药典》中收录使用降香药材或降香提取物的成方制剂有就 23 个。然而,由于降香为我国二级珍稀濒危保护植物降香黄檀的心材,资源稀缺,价格昂贵,导致市场上降香来源品种复杂,质量差异较大,药材及其成方制剂的质量控制标准不高。2015 年版《中国药典》收录的成方制剂和降香药材的质量控制仅为薄层鉴别或挥发油总量、醇浸出物的测定,这给临床用药和质量控制带来极大困扰。因此,研究降香的药效物质基础对降香药材及其制剂的质量标准提升具有重要的现实意义。

超高效液相色谱-串联四级杆飞行时间质谱仪 (UPLC-Q-TOF-MS) 具有高分辨率、高灵敏度、高准确性、重复性好、分析时间短、扫描范围广等优点,是研究中药复杂体系中化学成分和定性分析的重要工具^[10-11]。本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术方法对降香对照药材甲醇提取物中的化学成分进行快速定性分析,从中鉴定出 83 个化学成分,包括 18 个黄酮类,31 个异黄酮类,10 个新黄酮类,9 个异黄烷类,7 个其他类型黄酮和 8 个其他类成分,降香的甲醇提取物主要化学成分为异黄酮、黄酮、新黄酮、异黄烷等黄酮类成分,进一步揭示了降香的药效物质基础,为降香药材的质量标准提升提供理论依据和技术支持。

1 材料

Triple-TOF™ 5600⁺ 型质谱仪,Analyst TF 1.6 数据采集工作站和 Peakview 1.2 数据分析处理软件 (美国 AB Sciex 公司);LC-30AD 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司,包括 DGU-30A3 在线真空脱气机,

LC-30AD 泵,SIL-30AC 自动进样器,CBM-20A Lite 控制器,CTO-30A 柱温箱);Milli-Q 型超纯水系统 (德国默克公司);舒美 KQ-300DB 型数控超声仪 (昆山超声仪器有限公司,功率 300 W,频率 40 kHz)。

化学对照品:生松素、鸢尾黄素、染料木素、鹰嘴豆芽素 A 和美迪紫檀素 (成都普思生物科技公司,批号依次为 PS010411, PS010789, PS000784, PS001112, PS1591-0010MG,纯度均 >98%);刺芒柄花素、紫铆因、异甘草素和樱黄素 (上海迈瑞尔化学技术有限公司,批号依次为 69857008, TCI-B3803, 69857043, 70757011,纯度均 >97%);甘草素 (江西本草天工科技责任有限公司,批号 11062-080326,纯度 >98%),木犀草素 (中国食品药品检定研究院,批号 111520-200504,纯度 >98%),黄檀素 (上海吉至生化科技有限公司,批号 H6302ETCB,纯度 >98%);阔叶黄檀酚等其他单体为实验室从黄檀属植物交趾黄檀、阔叶黄檀等植物中分离鉴定得到单体,纯度均 >95%。乙腈 (质谱级,美国 ACS 公司),甲酸 (色谱级,美国 Sigma 公司),甲醇等其他试剂 (分析纯,西陇科学股份有限公司)。实验用降香药材为中国食品药品检定研究院购买的对照药材 (批号 120952-201007)。

2 方法

2.1 色谱条件 UPLC RRHD SB-C₁₈ 色谱柱 (3.0 mm × 100 mm, 1.8 μm); UPLC Guard 3PK, Zorbax SB-C₁₈ 保护柱 (3.0 mm × 5 mm, 1.8 μm);流速 0.3 mL·min⁻¹;进样量 1 μL;流动相 0.1% 甲酸溶液 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 0.01 min, 20% B; 0.01 ~ 35.00 min, 20% ~ 35% B; 35.00 ~ 50.00 min, 35% ~ 55% B; 50.00 ~ 60.00 min, 55% ~ 95% B; 60.00 ~ 62.00 min, 95% B; 62.00 ~ 62.10 min, 95% ~ 20% B; 62.10 ~ 65.00 min, 20% ~ 0B)。

2.2 质谱条件 采用 ESI 电喷雾离子源,负离子模式,数据依赖型扫描 (IDA) 方式采集数据;负离子源电压 -4 500 V,去簇电压 (DP) -100 V;碰撞电压 (CE) -40 eV;雾化气体 N₂,辅助气 1 (GS1)

0.34 MPa;辅助气 2(GS2)0.34 MPa;气帘气(CUR)0.28 MPa。离子源温度(TEM)为 500 ℃。一级质谱母离子扫描范围 m/z 100 ~ 1 500;IDA 设置响应值 >10 cps 的 6 个最高峰进行二级质谱扫描;子离子扫描范围 m/z 100 ~ 1 500,开启动态背景扣除(DBS),碰撞活化扫描(CES)为 15 eV。

2.3 对照品溶液的制备 取生松素、鸢尾黄素、染料木素、鹰嘴豆芽素 A 和美迪紫檀素等上述化学对照品适量,精密称定,用甲醇配置成质量浓度约为 200 mg·L⁻¹ 的对照品溶液,取上清液适量过 0.22 μm 微孔滤膜置于样品瓶中,作为对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备 取降香对照药材适量,称取约 1.0 g 置具塞锥形瓶中,加甲醇溶液 10 mL,密封,加热超声(40 kHz,210 W,40 ℃)提取30 min,放置澄清,取上清液适量,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤置于样品瓶中,作为供试品溶液。

3 结果与分析

3.1 化学成分的结构鉴定 分别取上述溶液,按

2.1 和 2.2 项下条件进样测试分析,降香对照药材甲醇提取液在负离子模式下的 UPLC-Q-TOF-MS 总离子流见图 1。利用前期建立降香的化学成分、质谱数据库,采用 Peakview 1.2 软件中 XIC Manager 模块进行精确相对分子质量自动筛查与分析,筛选条件设置为质量误差 ±5ppm,响应值 >3 000,根据准分子离子峰推断分子式,结合相关文献资料,Mass bank 和 Chemspider 质谱数据库、化合物质谱裂解规律和化学对照品的质谱信息等,对二级质谱碎片信息进行解析,推断其可能的化学结构,并进行结构归类和主要碎片离子信息归属,见表 1。

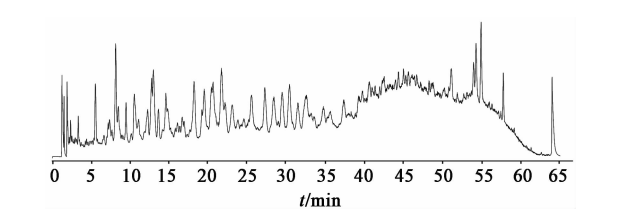


图 1 降香甲醇提取物的总离子流
Fig.1 TIC of methanol extract of Dalbergiae Odoriferae Lignum

表 1 降香甲醇提取物化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速鉴定分析

Table 1 Analysis result of chemical constituents of methanol extract of Dalbergiae Odoriferae Lignum

成分	结构类型	中/英文名称	分子式	[M - H] ⁻		δ /ppm	t _R /min	特征碎片离子 m/z
				理论值	实测值			
1 ¹⁾	查尔酮	2',4'-dihydroxychalcone	C ₁₅ H ₁₂ O ₃	239.071 4	239.072 4	4.4	31.49	239.071 3,197.061 2,169.066 6,148.017 2,141.071 9,135.010 3,109.031 1
2 ¹⁾	苯酰苯	2, 4- dihydroxy- 5-methoxybenzophenone	C ₁₄ H ₁₂ O ₄	243.066 3	243.066 5	0.7	31.39	243.068 0,228.044 3,227.036 9,200.049 7,199.043 5,184.053 0,171.051 0
3 ¹⁾	异黄酮	大豆苷 daidzein	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	253.050 6	253.051 1	2.0	11.73	253.050 7,225.011 2,223.040 6,208.054 2,195.045 9,135.011 2,133.032 0,117.037 1
4 ¹⁾	二氢黄酮	生松素 pinocembrin	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	255.066 3	255.066 8	4.9	40.53	255.066 6,213.056 3,185.061 6,171.045 9,151.005 0,145.067 6,107.017 4
5 ¹⁾	二氢黄酮	甘草素 liquiritigenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	255.066 3	255.066 8	2.0	12.98	255.066 2,135.011 0,119.053 3
6 ¹⁾	查尔酮	异甘草素 isoliquiritigenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	255.066 3	255.066 8	4.5	28.34	255.066 9,135.011 8,119.054 1
7	苯并呋喃	bolusanthin IV	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	255.066 3	255.066 8	2.5	32.50	255.066 4,240.043 6,212.048 3,211.040 8,196.053 9,167.051 6
8	呋喃	2,3-dimethoxyxanthone	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	255.066 3	255.066 8	2.0	27.20	255.066 7,240.041 8,237.055 9,227.073 0,226.029 5,211.040 1,209.061 7,193.064 0,181.069 3,157.067 5,137.024 0
9	二氢黄酮	7,8-dihydroxyflavanone	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	255.066 3	255.066 8	2.4	22.24	255.066 4,227.073 1,213.056 3,185.060 1,164.015 8,151.005 3,123.010 4,107.016 9
10	苯酰苯	2, 2', 5-trihydroxy- 4-methoxybenzophenone	C ₁₄ H ₁₂ O ₅	259.061 2	259.062 0	4.5	17.59	259.063 4,244.039 1,243.031 4,227.036 4,215.036 2,187.042 1,171.046 8
11 ¹⁾	苯酰苯	melannoin	C ₁₄ H ₁₂ O ₅	259.061 2	259.062 0	0.7	16.34	259.059 7,244.037 6,229.015 4,165.020 8,151.005 1,137.025 9,123.011 0,109.032 7

续表 1

成分	结构类型	中/英文名称	分子式	[M - H] ⁻		δ /ppm	t_R /min	特征碎片离子 m/z
				理论值	实测值			
12	异黄酮	unknown	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	267.066 3	267.067 1	0. 6	19. 16	267. 073 1, 252. 041 9, 251. 033 4, 224. 048 8, 208. 054 7, 195. 045 4, 167. 052 2
13 ¹⁾	黄檀内酯	黄檀素 dalbergin	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	267.066 3	267.067 1	3. 3	30. 40	252. 042 7, 224. 048 1, 195. 045 3, 180. 059 0
14 ¹⁾	异黄酮	刺芒柄花素 formononetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	267.066 3	267.067 1	3. 1	29. 43	267. 067 8, 252. 044 8, 251. 036 4, 223. 041 8, 208. 054 7, 195. 047 7, 135. 011 8, 132. 025 2
15 ¹⁾	异黄酮	染料木素 genistein	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 6	269.046 0	0. 8	20. 53	269. 046 6, 224. 048 3, 201. 057 4, 159. 046 5, 135. 047 5, 133. 032 1
16	黄酮	7,3',4'-trihydroxyflavone	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 6	269.046 0	1. 9	12. 04	269. 045 7, 241. 050 3, 213. 056 7, 201. 054 9, 135. 011 0, 133. 031 3
17	黄酮	unknown	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 6	269.046 0	1. 8	7. 32	269. 046 5, 252. 044 0, 241. 051 6, 239. 035 7, 226. 028 2, 213. 057 0, 211. 041 1, 195. 046 1, 167. 051 8, 135. 011 0, 133. 032 1
18	苯并呋喃	2-(2'-methoxy, 4'-hydroxy)-aryl-3-methyl-6-hydroxy-benzofuran	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	269.081 9	269.082 8	3. 2	33. 53	269. 080 3, 254. 059 1, 253. 051 3, 239. 035 5, 225. 056 8, 209. 061 8
19	苯并呋喃	pterolinus B	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	269.081 9	269.082 8	4. 3	37. 31	269. 081 3, 254. 059 1, 253. 050 9, 239. 035 4, 225. 056 7, 211. 040 6
20 ¹⁾	黄檀醌	4'- hydroxy-methoxydalbergione	4- C ₁₆ H ₁₄ O ₄	269.081 9	269.082 8	0. 1	21. 05	269. 081 9, 253. 049 9, 237. 056 5, 209. 064 0, 175. 044 1, 161. 026 6, 133. 033 0, 120. 023 9
21	二氢黄酮	山姜素 alpinetin	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	269.081 9	269.082 8	1. 7	23. 67	269. 080 7, 254. 058 4, 253. 050 1, 227. 070 7, 184. 052 1, 165. 019 3, 149. 996 7, 139. 039 0, 122. 002 9
22	查尔酮	2'-methoxyisoliquiritigenin	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	269.081 9	269.082 8	2. 4	30. 09	269. 082 2, 254. 057 9, 239. 035 0, 226. 027 2, 135. 011 1
23	紫檀烷	3- methoxy-hydroxypterocarp	9- C ₁₆ H ₁₄ O ₄	269.081 9	269.082 8	1. 2	17. 28	269. 082 7, 253. 051 0, 237. 055 5, 225. 056 1, 161. 0259, 117. 036 8
24	黄檀酚	黄檀酚 dalbergiphenol	C ₁₇ H ₁₈ O ₃	269.118 3	269.118 6	1. 0	45. 04	254. 097 7, 239. 071 9, 221. 061 8, 211. 078 7, 193. 067 0
25	二氢黄酮	unknown	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.061 2	271.061 6	0. 8	7. 53	271. 059 9, 256. 037 6, 227. 035 8, 149. 026 4, 135. 009 4, 121. 032 9
26 ¹⁾	查尔酮	紫柳因 butein	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.061 2	271.061 6	2. 9	19. 45	271. 062 4, 135. 047 6, 134. 040 0
27	二氢黄酮	紫柳素 butin	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.061 2	271.061 6	1. 4	8. 12	271. 060 3, 135. 045 7, 134. 038 7
28	二氢黄酮	unknown	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.061 2	271.061 6	2. 0	21. 70	271. 060 4, 256. 038 2, 238. 030 1, 227. 034 9, 211. 038 5, 135. 046 7
29	异黄烷	瑞斯蒂酚(±)-vestitol	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	271.097 6	271.098 1	4. 4	30. 32	271. 097 5, 256. 074 0, 241. 051 3, 197. 063 0, 149. 063 1, 135. 047 9, 123. 048 0, 109. 033 0
30	其他	2-(2,4-dihydroxyphenyl)-1-(4-hydroxy-2-methoxyphenyl)ethanone	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	273.076 9	273.077 1	0. 6	26. 70	273. 079 0, 255. 063 4, 240. 042 3, 149. 026 1, 148. 019 0, 123. 047 8, 121. 031 7, 108. 024 8
31 ¹⁾	黄檀内酯	melanettin	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.061 2	283.061 5	2. 4	16. 61	283. 061 9, 268. 039 4, 267. 031 0, 240. 044 2, 239. 036 8, 224. 050 0, 211. 041 6, 196. 055 1, 195. 047 2
32 ¹⁾	异黄酮	樱黄素 prunetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.061 2	283.061 5	2. 3	45. 93	283. 061 7, 268. 038 2, 255. 035 5, 240. 043 9, 224. 049 4, 211. 042 0, 135. 012 7

续表 1

成分	结构类型	中/英文名称	分子式	[M - H] ⁻		δ /ppm	t_R /min	特征碎片离子 m/z
				理论值	实测值			
33	异黄酮	3'-methoxydaidzein	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.061 2	283.061 5	0. 8	13. 13	283.061 7,268.038 3,251.035 8,239.036 0,223.041 1,211.041 1,195.046 1,148.018 8,135.011 0
34	异黄酮	豌豆查耳酮 xenognosin B	B C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.061 2	283.061 5	0. 9	10. 47	283.060 6,268.038 8,240.042 4,224.050 1,211.010 3,195.046 4,135.010 7
35 ¹⁾	异黄酮	毛蕊异黄酮 calycosin	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.061 2	283.061 5	2. 0	14. 58	283.061 3,268.038 6,239.035 8,223.041 2,211.041 2,195.046 3,148.018 0,135.010 6
36	异黄酮	7, 3'- dihydroxy- 5'- methoxyisoflavone	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.061 2	283.061 5	3. 0	22. 17	283.061 3,268.038 1,239.035 8,224.048 8,211.041 0,195.046 6,135.011 2
37 ¹⁾	异黄酮	鹰嘴豆芽素 A biochanin A	A C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.061 2	283.061 5	2. 8	42. 24	283.060 1,268.037 9,267.030 4,239.036 0,211.041 4,195.046 8,135.010 6,132.024 0
38 ¹⁾	黄酮	木犀草素 luteolin	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.040 5	285.040 6	2. 4	14. 36	285.040 3,241.049 6,217.060 9,199.041 1,175.041 5,151.004 9,133.032 5
39 ¹⁾	黄酮醇	漆黄素 fisetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.040 5	285.040 6	1. 6	8. 48	285.040 4,257.046 0,239.035 3,229.050 8,211.040 6,163.004 3,149.025 4,135.010 7,121.032 1
40	二氢异黄酮	瑞斯蒂酮 vestitone	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	285.076 9	285.077 3	1. 0	14. 17	285.077 7,270.054 4,241.051 6,227.035 3,149.062 6,135.010 6,134.039 1
41	二氢异黄酮	vestitone 同分异构体	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	285.076 9	285.077 3	0. 7	14. 91	285.077 6,270.053 5,255.031 3,148.017 9,135.011 0
42	异黄烷	7-O-methylvestitol	C ₁₇ H ₁₈ O ₄	285.113 2	285.113 8	2. 3	27. 20	270.090 3,299.067 2,240.043 6,237.056 6,227.072 3,209.062 0,195.046 4,183.082 9,157.068 5,137.025 4
43 ¹⁾	黄檀酚	阔叶黄檀酚 latifolin	C ₁₇ H ₁₈ O ₄	285.113 2	285.113 8	0. 5	35. 50	285.116 3,270.088 7,255.066 9,240.044 2,237.056 7,227.073 3,209.061 4,193.065 8
44 ¹⁾	二氢黄酮醇	二氢非瑟素 dihydrofisetin	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	287.056 1	287.056 4	1. 4	3. 48	287.054 9,269.045 2,259.061 4,241.051 2,225.056 0,163.003 9,149.024 8,135.010 1,121.030 9,109.031 5
45	二氢黄酮醇	3, 6, 7, 4'- tetrahydroxyflavanone	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	287.056 1	287.056 4	1. 2	4. 39	287.053 8,269.044 9,254.060 1,225.057 0,161.027 3,151.005 2,135.047 6,123.011 3,107.017 4
46	二氢黄酮	圣草酚 eriodictyol	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	287.056 1	287.056 4	0. 8	13. 19	287.057 6,271.024 2,229.015 5,151.005 1,135.047 4,107.016 8
47	异黄烷	4, 7, 2'-trihydroxy- 4'-methoxyisoflavanol	C ₁₆ H ₁₆ O ₅	287.092 5	287.092 7	0. 9	15. 14	287.090 3,272.069 6,257.046 2,240.044 1,229.051 8,211.041 4,201.056 5,165.058 0,150.034 4,137.026 5,135.047 6,122.040 4
48	异黄酮	鲍迪木醌 bowdichione	C ₁₆ H ₁₀ O ₆	297.040 5	297.040 7	1. 0	11. 07	297.040 3,281.009 4,266.021 7,254.022 6,238.027 4,226.027 5,210.032 9,198.033 3,182.037 8,135.010 2
49	异黄酮	7- hydroxy-3', 4'- dimethoxyisoflavone	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	297.076 9	297.077 7	0. 2	31. 44	297.036 3,282.052 6,267.028 9,254.059 8,239.035 8,238.026 5,211.041 8,195.046 2,167.052 8
50	异黄酮	2'-methoxyformononetin	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	297.076 9	297.077 7	0. 9	29. 99	297.083 0,282.054 6,267.031 4,239.036 9,223.044 6,211.041 6,195.047 1,183.044 5,167.052 9,155.050 6
51	异黄酮	鸢尾黄素 tectorigenin	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	299.056 1	299.056 5	1. 1	21. 44	299.056 4,284.033 8,255.030 7,240.043 7,227.036 2,200.049 2,191.000 0,133.031 6

续表 1

成分	结构类型	中/英文名称	分子式	[M - H] ⁻		δ /ppm	t_R /min	特征碎片离子 m/z
				理论值	实测值			
52 ¹⁾	黄檀内酯	3'-hydroxymelanettin	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	299.056 1	299.056 5	1.6	9.45	299.055 5, 284.032 4, 256.037 6, 240.042 7, 227.035 4, 212.047 8, 211.040 4, 199.040 3, 187.040 3, 158.038 2
53	异黄酮	koparin	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	299.056 1	299.056 5	1.6	8.62	299.055 4, 284.032 5, 255.030 3, 240.043 2, 227.036 0, 211.041 1, 187.041 2, 163.004 8, 158.039 1, 148.018 2, 135.017 0
54 ¹⁾	紫檀烷	美迪紫檀素 methylnissolin	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	299.092 5	299.093 1	0.9	32.41	299.094 6, 284.069 2, 269.046 4, 241.051 8, 226.029 0, 213.057 5, 197.062 7
55 ¹⁾	二氢异黄酮	紫苜蓿酮 sativanone	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	299.092 5	299.093 1	2.0	34.71	299.093 6, 283.062 7, 269.046 9, 241.050 6, 161.026 0, 135.011 8
56	异黄烷	odoriflavene	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	299.092 5	299.093 1	0.3	22.71	299.091 1, 284.070 1, 269.045 8, 241.053 0, 225.056 5, 197.059 6, 177.057 0, 162.035 4, 148.017 9, 135.046 9, 121.031 1, 109.033 8
57	二氢黄酮	高圣草酚 homoeriodictyol	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	301.071 8	301.072 3	1.9	10.47	301.072 5, 283.061 7, 268.038 1, 240.043 3, 224.048 3, 211.040 7, 198.033 2, 177.020 6, 149.025 6, 135.011 2, 121.032 0
58	二氢异黄酮醇	3-hydroxyvestitone	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	301.071 8	301.072 0	0.9	7.60	301.071 4, 286.048 5, 268.037 3, 151.005 0, 135.047 4
59	异黄烷	5'-methoxyvestitol	C ₁₇ H ₁₈ O ₅	301.108 2	301.108 5	2.2	31.39	301.109 6, 286.086 1, 271.062 5, 256.038 5, 225.056 6, 209.062 3, 165.058 0, 150.034 9, 136.019 6, 123.012 7, 109.033 7
60	异黄烷	微尖头酚 mucronulatol	C ₁₇ H ₁₈ O ₅	301.108 2	301.108 5	0.9	23.41	301.107 3, 286.084 8, 271.060 9, 255.065 4, 225.056 4, 209.059 7, 199.076 0, 149.027 3, 123.012 5
61	其他	2-[3-(4-hydroxyphenyl)-3-methoxypropyl]-5-methoxycyclohexa-2,5-diene-1,4-dione	C ₁₇ H ₁₈ O ₅	301.108 2	301.108 5	0.9	16.72	301.111 0, 271.061 2, 257.044 1, 242.022 6, 227.073 7, 199.076 5, 170.038 0, 149.026 9, 136.017 0, 109.032 8
62	异黄烷	(3 <i>R</i>)-3', dihydroxyvestitol	8-C ₁₆ H ₁₆ O ₆	303.087 4	303.087 7	1.0	12.91	303.087 5, 288.064 1, 270.053 3, 165.056 6, 151.041 3, 150.033 8, 137.026 2, 123.047 5, 109.032 8
63	黄檀内酯	melannein	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	313.071 8	313.072 3	1.0	18.64	313.070 5, 298.049 3, 297.039 6, 283.024 9, 269.046 0, 255.030 6, 241.052 1, 227.036 2, 211.040 2, 199.041 1, 183.045 5
64	异黄酮	2',7-dihydroxy-4',5'- dimethoxyisoflavone	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	313.071 8	313.072 3	0.4	14.78	313.071 2, 298.048 6, 283.025 7, 270.053 5, 255.030 3, 239.034 6, 227.035 9, 211.040 8, 199.040 5, 183.046 4, 171.046 4
65	黄酮醇	3,3',4',6-tetrahydroxy- 7-methoxyflavone	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	315.051 0	315.051 3	0.7	9.30	315.051 0, 300.028 2, 283.025 4, 272.032 2, 255.031 1, 243.030 8, 227.035 9, 193.015 1, 165.019 8, 151.005 4, 149.025 3, 121.032 7
66	二氢异黄酮醇	3,7-dihydroxy-2', 4'-dimethoxyisoflavanone	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	315.087 4	315.087 8	0.9	24.39	315.085 1, 297.077 2, 285.079 3, 270.054 1, 255.031 1, 239.035 9, 165.057 6, 135.012 5, 123.048 4
67	二氢异黄酮	violanone	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	315.087 4	315.087 8	0.8	16.88	315.087 1, 300.064 2, 285.041 0, 257.045 3, 241.050 5, 213.055 4, 176.013 9, 163.005 4, 149.026 7, 135.011 8

续表 1

成分	结构类型	中/英文名称	分子式	[M - H] ⁻		δ /ppm	t_R /min	特征碎片离子 m/z
				理论值	实测值			
68	二氢异黄酮	homoferreirin	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	315.087 4	315.087 8	0. 9	42. 43	315.087 2, 300.062 9, 285.041 4, 257.047 5, 230.058 8, 177.021 6, 164.013 5, 151.006 2
69	二氢异黄酮醇	isodarparvinol B 异构体	C ₁₆ H ₁₄ O ₇	317.066 7	317.067 2	0. 9	4. 22	317.064 6, 299.056 5, 284.032 8, 256.037 6, 240.041 9, 227.035 4, 211.040 3, 200.048 7, 177.019 4, 149.025 9, 135.009 1, 121.038
70	二氢异黄酮醇	isodarparvinol B	C ₁₆ H ₁₄ O ₇	317.066 7	317.067 2	1. 6	5. 52	317.066 9, 299.056 1, 284.032 9, 255.030 3, 240.043 2, 227.035 5, 211.040 7, 200.048 4, 177.020 3, 149.025 8, 135.010 9, 121.031 9
71	异黄烷	3'-methoxyvestitol hydroxy-8-	C ₁₇ H ₁₈ O ₆	317.103 1	317.103 4	0. 9	21. 65	317.102 5, 302.079 1, 287.056 2, 269.046 0, 241.050 8, 165.056 2, 150.033 7, 136.018 7, 124.0190
72	异黄酮	olibergin A	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	329.066 7	329.066 9	-0. 4	10. 83	329.067 0, 314.043 9, 299.020 9, 271.025 2, 255.031 2, 243.030 5, 227.035 5, 193.015 4, 163.005 3, 135.011 3
73	异黄酮	unknown	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	329.066 7	329.066 9	0. 1	20. 58	329.068 8, 314.043 6, 299.020 7, 271.025 9, 243.030 3, 193.051 6, 161.027 5, 135.011 1
74 ¹⁾	二氢异黄酮	3'-O-methylviolanone	C ₁₈ H ₁₈ O ₆	329.103 1	329.103 2	0. 6	25. 83	329.103 2, 314.080 6, 299.057 2, 284.032 3, 256.037 0, 161.027 3, 148.017 9, 135.011 6
75	二氢异黄酮	(3S)-2', 4', 5'-trimethoxy-7-hydroxyisoflavanone	C ₁₈ H ₁₈ O ₆	329.103 1	329.103 2	0. 4	32. 21	329.103 7, 314.081 0, 299.057 1, 284.034 0, 256.038 8, 240.042 6, 161.026 8, 135.011 7
76	其他	2-[2-(2, 4-dimethoxyphenyl)-2-oxoethoxy]-4-hydrobenzoic acid	C ₁₇ H ₁₆ O ₇	331.082 3	331.082 6	0. 3	14. 05	331.082 3, 316.056 9, 301.035 4, 273.039 3, 255.028 9, 191.035 7, 176.012 7, 139.042 4, 124.019 9
77	异黄烷	(3R)-duartin	C ₁₈ H ₂₀ O ₆	331.118 7	331.118 9	0. 6	21. 07	331.122 2, 316.094 2, 301.070 3, 286.048 6, 270.052 0, 257.043 9, 230.060 5, 213.049 4, 150.033 3, 137.026 1, 136.019 9
78	二氢异黄酮	5, 7-dihydroxy-2', 3', 4'-trimethoxyisoflavanone	C ₁₈ H ₁₈ O ₇	345.098 0	345.098 3	0. 2	20. 16	345.098 9, 330.074 1, 315.054 7, 295.060 4, 280.038 5, 265.013 6, 235.040 6, 177.020 4, 151.042 1, 135.011 4
79	二氢异黄酮	(3R)-7, 3'-dihydroxy-6, 2', 4'-trimethoxyisoflavanone	C ₁₈ H ₁₈ O ₇	345.098 0	345.098 3	0. 0	12. 95	345.097 8, 330.073 4, 315.052 2, 301.109 1, 297.040 8, 286.084 5, 285.076 5, 271.061 0, 193.053 2, 165.056 9, 150.033 6, 149.063 0
80	木脂素	南 烛 木 树 脂 酚 lyoniresinol	C ₂₂ H ₂₈ O ₈	419.171 1	419.170 7	-1. 0	4. 87	419.171 5, 404.148 2, 389.124 6, 373.129 9, 359.114 5, 358.106 7, 344.091 3, 327.087 7, 313.072 2, 301.070 9
81	黄酮苷	异荭草素 homoorientin	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.093 3	447.092 9	-1. 0	2. 08	447.092 9, 357.060 8, 339.049 0, 327.051 1, 299.056 1, 205.014 5, 177.019 5, 149.024 2, 121.030 7
82	二氢黄酮苷	3',5',5,7-tetrahydroxy-6-C- β -D-glucopyranosyl-flavanone	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	449.108 9	449.108 5	-0. 9	2. 45	449.103 8, 359.075 9, 329.067 3, 223.024 8, 193.015 6, 151.005 3, 135.046 3
83	三萜	oleanolic acid 3-acetate	C ₃₂ H ₅₀ O ₄	497.363 6	497.362 2	-2. 9	63. 91	497.362 8, 437.344 6

注: ¹⁾ 为与购买对照品或实验室分离得到单体化合物比对后确认(共 24 个)。

3.2 化学成分的质谱解析

3.2.1 黄酮类化合物 化合物 **38,39** 的质谱信息被别与木犀草素和漆黄素对照品的质谱信息一致。木犀草素的准分子离子峰为 $[M-H]^{-} m/z$ 285.040 6, 误差为 2.4 ppm, 二级质谱特征碎片离子有 $[M-H-CO-O]^{-} m/z$ 241.049 6, $[A^{1,3}]^{-} m/z$ 151.004 9, $[B^{1,3}]^{-} m/z$ 133.032 5; 漆黄素 C_3 位有羟基取代, 为黄酮醇类化合物, 其准分子离子峰为 $[M-H]^{-} m/z$ 285.040 6, 误差为 1.6 ppm, 二级质谱特征碎片离子有 $[M-H-CO]^{-} m/z$ 257.046 0, $[M-H-CO-H_2O]^{-} m/z$ 239.035 3, $[A^{1,3}]^{-} m/z$ 149.025 4 和 $[B^{1,3}]^{-} m/z$ 135.010 7。化合物 **65** 的准分子离子峰 $[M-H]^{-} m/z$ 315.051 3, 高分辨质谱下分子式为 $C_{16}H_{12}O_7$, 误差为 0.7 ppm, 二级质谱碎片信息有 $[M-H-CH_3]^{-} m/z$ 300.028 2, $[M-H-CH_3-H_2O] m/z$ 283.025 4, $[M-H-CH_3-CO]^{-} m/z$ 272.032 2, $[A^{1,3}]^{-} m/z$ 165.019 8 和 $[B^{1,3}]^{-} m/z$ 149.025 3, 根据降香文献报道, 推断可能为 3,3',4',6-tetrahydroxy-7-methoxyflavone。

化合物 **4,5** 分别经与生松素和甘草素对照品的质谱裂解信息和保留时间核对后鉴定出, 甘草素的准分子离子峰 $[M-H]^{-} m/z$ 255.066 8 (误差 2.0 ppm), 逆狄尔斯-阿德尔反应 (Retro Diels-Alder reaction, 以下简称 RDA) 裂解产生特征离子 $[A^{1,3}]^{-} m/z$ 135.011 0 和 $[B^{1,3}]^{-} m/z$ 119.053 3, 生松素的准分子离子峰 $[M-H]^{-} m/z$ 255.066 8 (误差 4.9 ppm), RDA 裂解产生特征离子 $[A^{1,3}]^{-} m/z$ 151.005 0。化合物 **27** 在高分辨质谱下的准分子离子峰 $[M-H]^{-} m/z$ 271.061 6, 推断分子式为 $C_{15}H_{12}O_5$, 误差 1.4 ppm, 且有二级质谱特征碎片离子为 m/z 135.045 7 和 m/z 134.038 7, 二级质谱碎片离子与对照品紫铆因的质谱信息比较十分相近, 经 Mass Bank 质谱数据库比对鉴定为紫铆素。化合物 **44** 的准分子离子峰为 $[M-H]^{-} m/z$ 287.056 4, 高分辨质谱推断分子式为 $C_{15}H_{12}O_6$, 误差为 1.4 ppm, 二级质谱特征碎片离子有 $[M-H-H_2O]^{-} m/z$ 269.045 2, $[M-H-CO]^{-} m/z$ 259.061 4, $[M-H-H_2O-CO]^{-} m/z$ 241.051 2 和 $[A^{1,3}]^{-} m/z$ 135.010 1, 经 Mass Bank 质谱数据库比对推断为二氢非瑟素。

综上, ESI 离子源负离子模式下黄酮或黄酮醇类化合物质谱裂解规律^[12-16], C 环容易失去氧原子 $[-16 u]$ 和羰基 $[-28 u]$; C 环容易发生 RDA 裂解, 产生特征性离子碎片 $[A^{1,3}]^{-}$ 和 $[B^{1,3}]^{-}$, 离子碎

片的峰强度主要受 A, B 环上取代基的影响; 黄酮醇类化合物电喷雾条件下 C 环容易失去 H_2O , CO , CO_2 等小分子; 电喷雾条件下, 黄酮醇苷类化合物容易优先失去糖基部分。

3.2.2 异黄酮类化合物 异黄酮类化合物 **3,14,15,35,37** 和 **51** 分别与大豆苷, 刺芒柄花素, 染料木素, 毛蕊异黄酮, 鹰嘴豆芽素 A 和鸢尾黄素对照品的质谱裂解信息和保留时间核对并鉴定。大豆苷的准分子离子峰 $[M-H]^{-} m/z$ 253.051 1 (误差 2.0 ppm), RDA 裂解产生特征离子 $[A^{1,3}]^{-} m/z$ 135.011 2, $[B^{1,3}]^{-} m/z$ 117.037 1 和 $[B^{0,3}]^{-} m/z$ 133.032 0; 刺芒柄花素的准分子离子峰 $[M-H]^{-} m/z$ 267.067 1 (误差 3.1 ppm), RDA 裂解产生特征离子 $[A^{1,3}]^{-} m/z$ 135.011 8 和 $[B^{1,3}] m/z$ 132.025 2, $C_{4'}$ 为甲氧基取代, 产生 $[M-H-CH_3]^{-} m/z$ 252.044 8; 染料木素的准分子离子峰 $[M-H]^{-} m/z$ 269.046 0 (误差 0.8 ppm), RDA 裂解产生特征离子 $[A^{0,3}]^{-} m/z$ 135.047 5 和 $[B^{0,3}]^{-} m/z$ 133.032 1; 毛蕊异黄酮的准分子离子峰 $[M-H]^{-} m/z$ 283.061 5 (误差 2.0 ppm), RDA 裂解产生特征离子 $[A^{1,3}]^{-} m/z$ 135.010 6 和 $[B^{1,3}] m/z$ 148.018 0, $C_{4'}$ 为甲氧基取代, 产生 $[M-H-CH_3]^{-} m/z$ 268.038 6; 鹰嘴豆芽素 A 的准分子离子峰 $[M-H]^{-} m/z$ 283.061 5 (误差 2.8 ppm), RDA 裂解产生特征离子 $[A^{0,3}]^{-} m/z$ 135.010 6 和 $[B^{0,3}-CH_3]^{-} m/z$ 132.024 0, $C_{4'}$ 为甲氧基取代, 产生 $[M-H-CH_3]^{-} m/z$ 268.037 9; 鸢尾黄素的分子式为 $C_{16}H_{12}O_6$, 其准分子离子峰 $[M-H]^{-} m/z$ 299.056 5 (误差 1.1 ppm), RDA 裂解产生特征离子 $[B^{0,3}]^{-} m/z$ 133.031 6; C_6 为甲氧基取代, 产生 $[M-H-CH_3]^{-} m/z$ 284.033 8。

在 ESI 离子源负离子模式下, 异黄酮类化合物^[17-19]有较强的准分子离子峰 $[M-H]^{-}$ 和 $[M-H-CH_3]^{-}$ 离子峰; C 环容易失去 $[-16 u]$ 和 $[-28 u]$, 也容易发生 RDA 裂解, 产生多种异黄酮类化合物的特征碎片离子 $[A^{0,3}]^{-}$, $[B^{0,3}]^{-}$ 与 $[A^{1,3}]^{-}$, $[B^{1,3}]^{-}$ 和 $[M-H-O]^{-}$, $[M-H-CO]^{-}$, $[M-H-O-CO]^{-}$, $[M-H-CO-O]^{-}$, 碎片离子峰强度及具体的断键位置主要受 A, B 环取代基的影响。当 A 环有 5,7 羟基取代, 且 B 环 $C_{4'}$ 为羟基或甲氧基取代时, 由于 C_4 羟基或甲氧基的吸电子效应, 与 C 环双键形成稳定共轭, 导致 C 环容易发生 0,3 键断裂, 且形成较弱的离子峰 $[A^{0,3}]^{-}$ 和

$[B^{0,3}]^-$ 。

二氢异黄酮类化合物 **55** 和 **74** 分别与紫苜蓿酮和 3'-*O*-methylviolanone 对照品的质谱信息相同。紫苜蓿酮的准分子离子峰为 $[M-H]^- m/z$ 299.093 1 (误差 2.0 ppm), 二级质谱特征碎片为 $[M-H-O]^- m/z$ 283.062 7, $[M-H-2CH_3]^- m/z$ 269.046 9, $[M-H-2CH_3-CO]^- m/z$ 241.050 6 和 $[A^{1,3}]^- m/z$ 135.011 8; 3'-*O*-methylviolanone 准分子离子峰为 $[M-H]^- m/z$ 329.103 2 (误差 0.6 ppm), 二级质谱特征碎片为 $[M-H-CH_3]^- m/z$ 314.080 6, $[M-H-2CH_3]^- m/z$ 299.057 2, $[M-H-3CH_3]^- m/z$ 284.032 3, $[M-H-2CH_3-CO]^- m/z$ 256.037 0 和 $[A^{1,3}]^- m/z$ 135.011 6。二氢异黄酮类化合物的质谱裂解途径与异黄酮相同, C 环容易失去 $[-16\text{ u}]$, $[-28\text{ u}]$ 和发生 RDA 裂解, B 环有甲氧基取代时, 容易产生 $[M-nCH_3]^-$ 碎片离子, 碎片离子强度和裂解的顺序与 A, B 环取代基的位置和基团有关。

二氢异黄酮醇类化合物质谱裂解与异黄酮类相似, 因有 C_3 位有醇羟基, 质谱碎片中常见失去水分子峰。化合物 **66** 和 **70** 的准分子离子峰 $[M-H]^-$ 分别为 m/z 315.087 8 (误差 0.9 ppm) 和 m/z 317.067 2 (误差 1.6 ppm), 分子式分别为 $C_{17}H_{16}O_6$ 和 $C_{16}H_{14}O_7$, 二级质谱碎片中均有明显的离子峰 $[M-H-H_2O]^-$, 分别为 m/z 297.077 2 和 m/z 299.056 1, 且分别有离子峰 $[A^{1,3}]^- m/z$ 135.012 5 和 m/z 135.010 9, 根据质谱裂解规律和降香化合物数据库, 推断可能为 3, 7-dihydroxy-2', 4'-dimethoxyisoflavanone 和 isodarpardinol B。

3.2.3 查尔酮类化合物 异甘草素^[20]的 C_2' , C_4 和 C_4' 位有羟基取代, 分子式为 $C_{15}H_{12}O_4$, 其准分子离子峰为 $[M-H]^- m/z$ 255.066 8 (误差 4.5 ppm), 二级质谱碎片离子有 m/z 135.011 8 和 m/z 119.054 1; 紫柳因的 C_2' , C_3 , C_4 和 C_4' 位有羟基取代, 分子式为 $C_{15}H_{12}O_5$, 其准分子离子峰为 $[M-H]^- m/z$ 271.061 6 (误差 2.9 ppm), 二级质谱碎片离子有 m/z 135.047 6 和 m/z 134.040 0。异甘草素和紫柳因 C_2 羟基上的自由电子与双键上 β -碳上自由基结合, 分别形成二氢黄酮异构体甘草素和紫柳素, 两者的二级质谱裂解途径与其异构体相似。化合物 **1** 的准分子离子峰为 $[M-H]^- m/z$ 239.072 4, 推断分子式为 $C_{15}H_{12}O_3$, 误差为 4.4 ppm, 二级特征碎片离子 $[M-H-C_8H_8]^- m/z$ 135.010 3, 经与实验室单体

质谱数据比对推断为 2', 4'-dihydroxychalcone。化合物 **22** 的准分子离子峰为 $[M-H]^- m/z$ 269.082 8, 推断分子式为 $C_{16}H_{14}O_4$, 误差为 2.4 ppm, 二级特征碎片离子 $[M-H-CH_3]^- m/z$ 254.057 9, $[M-H-C_9H_{10}O]^- m/z$ 135.011 1, 结合降香文献数据, 推断可能为 2'-methoxyisoliquiritigenin。

查尔酮类化合物^[21-23]单键容易发生断裂, 生成不同碎片离子, 但当 C_2' 和 C_2 有羟基或甲氧基取代时, 可以生成其他特有离子 $[b-1]$ 。当 C_2' 有羟基或甲氧基取代时, C_2 羟基上的自由电子与双键上 β -碳自由基结合, 形成 C 环后成为二氢黄酮类母核, 其质谱裂解特征具有二氢黄酮特点, 生成一些类似二氢黄酮裂解特征离子 $[A^{1,3}]$ 和 $[B^{1,3}]$ 。

3.2.4 新黄酮类化合物 化合物 **43** 的准分子离子峰为 $[M-H]^- m/z$ 285.113 8 (误差 0.5 ppm), 分子式为 $C_{17}H_{18}O_4$, 二级质谱特征碎片离子有 $[M-H-CH_3]^- m/z$ 270.088 7, $[M-H-2CH_3]^- m/z$ 255.066 9, $[M-H-2CH_3-H_2O]^- m/z$ 237.056 7, $[M-H-2CH_3-CO]^- m/z$ 227.073 3 等, 其二级质谱碎片信息与实验室质谱数据库中阔叶黄檀酚相同, 故鉴定化合物 **43** 为阔叶黄檀酚。化合物 **24** 的准分子离子峰为 $[M-H]^- m/z$ 269.118 6 (误差 1.0 ppm), 分子式为 $C_{17}H_{18}O_3$, 二级质谱特征碎片离子有 $[M-H-CH_3]^- m/z$ 254.097 7, $[M-H-2CH_3]^- m/z$ 239.071 9, $[M-H-2CH_3-H_2O]^- m/z$ 221.061 8, $[M-H-2CH_3-CO]^- m/z$ 211.078 7 等, 根据降香文献及质谱数据库推断其可能为黄檀酚。黄檀酚类化合物含有酚羟基, 质谱裂解中常失去 1 个水分子。

化合物 **13** 和 **31** 的质谱裂解信息与黄檀素对照品和实验室分离单体 melanettin 的质谱裂解信息和保留时间一致。黄檀素的准分子离子峰 $[M-H]^- m/z$ 267.067 1, 误差为 3.3 ppm, 二级质谱特征碎片离子有 $[M-H-CH_3]^- m/z$ 252.042 7, $[M-H-CH_3-CO]^- m/z$ 224.048 1, $[M-H-CH_3-CO-HCO]^- m/z$ 195.045 3 和 $[M-H-CH_3-CO-CO_2]^- m/z$ 180.059 0。化合物 melanettin 结构母核与黄檀素相同, 但在 C_4' 位有羟基取代, 其准分子离子峰 $[M-H]^- m/z$ 283.061 5, 误差为 2.4 ppm, 二级质谱特征碎片离子除有 $[M-H-CH_3]^- m/z$ 268.039 4, $[M-H-CH_3-CO]^- m/z$ 240.044 2, $[M-H-CH_3-CO-HCO]^- m/z$ 211.041 6 和 $[M-H-CH_3-CO-CO_2]^- m/z$ 196.055 1 外, 还有

特征离子碎片 $[M - H - O]^- m/z$ 267.031 0, $[M - H - O - CO]^- m/z$ 239.036 8, $[M - H - O - CO - CH_3]^- m/z$ 224.050 0, $[M - H - O - CO - CH_3 - HCO]^- m/z$ 195.047 2。这是由于 C_4 位的羟基与内酯环上双键能形成稳定的共轭体系,内酯环上羰基变得不太容易失去而产生另一条质谱裂解途径。黄檀内酯类化合物含有内酯环,质谱裂解中常失去二氧化碳 $[-44 u]$ 。

化合物 **2** 和 **11** 的质谱裂解信息经与实验室分离单体 2, 4-dihydroxy-5-methoxybenzophenone 和 Melannoin 的质谱裂解信息和保留时间一致。2, 4-dihydroxy-5-methoxybenzophenone 的准分子离子峰为 $[M - H]^- m/z$ 243.066 5, 误差为 0.7 ppm, 二级质谱特征碎片离子有 $[M - H - CH_3]^- m/z$ 228.044 3, $[M - H - O]^- m/z$ 227.036 9, $[M - H - CH_3 - CO]^- m/z$ 200.049 7, $[M - H - O - CO]^- m/z$ 199.043 5, $[M - H - CH_3 - CO - O]^- m/z$ 184.053 0。Melannoin 的准分子离子峰为 $[M - H]^- m/z$ 259.062 0, 误差为 0.7 ppm, 由于羰基两端的 2 个苯环上的羟基和甲氧基取代基均能与羰基形成较好的稳定共轭关系,羰基与苯环连接的 2 个单键会发生断裂,形成特征性碎片离子有 $[M - H - CH_3]^- m/z$ 244.037 6, $[M - H - C_6H_7O]^- m/z$ 165.020 8, $[M - H - C_6H_7O - CH_3]^- m/z$ 151.005 1, $[M - H - C_7H_7O_3]^- m/z$ 137.025 9, $[M - H - C_7H_7O_2 - CO]^- m/z$ 109.032 7。苯酰苯类羰基两端连接苯环的单键容易发生断裂,生成特征性离子,主要受苯环上取代基影响。

3.2.5 异黄烷类化合物 异黄烷类成分能和黄酮类成分一样进行 RDA 裂解,主要质谱特征为有强的 b 离子和弱的 a + 1 离子^[22-23]。化合物 **29** 的准分子离子峰 $[M - H]^- m/z$ 271.098 1, 高分辨质谱下分子式为 $C_{16}H_{16}O_4$, 误差为 4.4 ppm, 二级质谱特征离子有 $[M - H - CH_3]^- m/z$ 256.074 0, RDA 裂解产生 $[b]^- m/z$ 149.063 1, $[b - CH_3]^- m/z$ 135.047 9 和 $[a + 1]^- m/z$ 123.048 0; 根据异黄烷类化合物质谱裂解特征和降香文献数据库,推断为瑞斯蒂酚(±)-vestitol。化合物 **77** 的准分子离子峰 $[M - H]^- m/z$ 331.118 9, 高分辨质谱下分子式为 $C_{18}H_{20}O_6$, 误差为 0.6 ppm, 二级质谱特征离子有 $[M - H - CH_3]^- m/z$ 316.094 2, $[M - H - 2CH_3]^- m/z$ 301.070 3, $[M - H - 3CH_3]^- m/z$ 286.048 6, $[M - H - 3CH_3 - O]^- m/z$ 270.052 0, RDA 裂解产生 $[b - 2CH_3]^- m/z$

150.033 3, $[a - CH_3]^- m/z$ 137.026 1。根据异黄烷类化合物质谱裂解特征和降香文献数据库,推断为 (3R)-duartin。负离子模式下简单取代的异黄烷类成分如有甲氧基取代,则容易失去甲基,得到 $[M - H - nCH_3]^-$ 离子峰。

3.2.6 其他类成分 化合物 **54** 与美迪紫檀素对照品的质谱信息一致,其准分子离子峰 $[M - H]^- m/z$ 299.093 1, 高分辨质谱下分子式为 $C_{17}H_{16}O_5$, 误差为 0.9 ppm, 二级质谱特征离子有 $[M - H - CH_3]^- m/z$ 284.069 2, $[M - H - 2CH_3]^- m/z$ 269.046 4, $[M - H - 2CH_3 - CO]^- m/z$ 241.051 8 和 $[M - H - 2CH_3 - 2CO]^- m/z$ 213.057 5。化合物 **7** 的准分子离子峰 $[M - H]^- m/z$ 255.066 8, 高分辨质谱下推断分子式为 $C_{15}H_{12}O_4$, 误差为 2.5 ppm, 二级质谱特征离子有 $[M - H - CH_3]^- m/z$ 240.043 6, $[M - H - CH_3 - CO]^- m/z$ 212.048 3, $[M - H - CH_3 - CO - O]^- m/z$ 196.053 9 等, 经与文献[24-25]资料比对推断为 bolusanthin IV。

4 讨论与小结

降香为豆科植物降香檀树干和根的干燥心材,然而降香檀树干和根的心材非常小,一般 7~8 年后才可能有心材,更重要的是其心材为名贵红木海南黄花梨的来源,被大量用于制作工艺和家具等,目前已被收录为我国 II 级珍稀濒危保护植物名录,这导致市场降香药材资源急剧稀缺、价格昂贵或掺假掺杂,质量差异也较大^[26-27]。前期本课题组从市场购买多批降香药材,经与对照药材比对,发现差异较大。因此,为确保实验数据和药材的可靠性,特从中国食品药品检定研究院购买降香的对照药材作为实验用药材。

在实验过程中,分别比较了正、负离子模式下总离子流图,并进行了初步的数据分析,发现降香对照药材甲醇提取物在负离子模式下具有较好的响应值,各离子峰峰形较好,而在正离子扫描模式下响应值不是太好,且筛选出的离子峰数量和峰形不如负离子模式,因此,采用负离子模式采集分析数据。降香对照药材提取方法主要参考 2015 年版《中国药典》中降香药材鉴别的提取方法,实验中考察了不同提取方式和提取溶剂的影响,发现加热超声提取方法比较简便且提取效率较好。因此,采用加热超声提取的方法提取降香。

本课题组建立了降香甲醇提取物的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速分析的方法,结合 Peakview1.2 软

件中的 XIC Manager 功能进行精确相对分子质量筛选分析,通过比较一级精确荷质比和二级碎片信息数据,结合质谱裂解规律、化学对照品质谱信息、相关文献资料和 Mass bank, Chemspider 等质谱数据库,从降香对照药材的甲醇提取物中初步鉴定出 83 个化学成分,包括 6 个黄酮(其中 2 个黄酮醇,1 个黄酮苷),12 个二氢黄酮(其中 2 个二氢黄酮醇,1 个二氢黄酮苷),18 个异黄酮,13 个二氢异黄酮(其中 4 个二氢异黄酮醇),10 个新黄酮类(4 个黄檀内酯,3 个苯酰苯类,2 个黄檀酚,1 个黄檀醌),4 个查尔酮类,9 个异黄烷类,2 个紫檀烷类,3 个苯并呋喃类和 6 个其他类成分。另有小部分成分由于文献资料不足等原因,尚未鉴定出来。降香中主要化学成分为异黄酮类、黄酮类、新黄酮类,这与文献报道的情况相符合。新黄酮类成分是黄檀属植物的一类特征性成分,现代研究表明,该类成分具有抗骨质疏松、抗雄性激素、抗炎、抗肿瘤、抗过敏、抗氧化等多种生物活性^[28-35]。本课题组前期研究证实该新黄酮类成分对大鼠急性心肌缺血具有较好的保护作用;对 H9c2 细胞缺氧复氧所致损伤具有保护作用,作用机制可能与激活 Nrf2/HO-1 通路有关^[36-38]。降香中新黄酮类成分有待进一步深入研究。

黄酮类成分质谱裂解虽有一定规律,但相同结构母核的成分是质谱结构解析的难点,也是质谱分析仪器的不足,本研究中同分异构体类化合物的质谱解析主要根据不同类型结构特点、不同保留时间、不同取代基的共轭诱导等影响和化学对照品的质谱信息进行推断,可能存在一定不足。

综上,采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术方法可快捷、准确、较全面地鉴定降香甲醇提取物中的化学成分,降香中主要化学成分为二氢黄酮、异黄酮、新黄酮、紫檀烷等黄酮类成分。这些为降香的进一步深入研究奠定了一定基础,也为降香药材的质量标准提升提供理论参考和技术支持。此外,本研究对黄酮类成分质谱裂解规律进行了一些总结,对黄酮类成分结构解析提供一定借鉴。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:229.

[2] 范竹鸣,王佑华,谢瑞芳,等. 降香化学成分和药理作用研究进展[J]. 时珍国医国药,2016,27(10):2478-2480.

[3] 孟慧,夏欣怡,马国需,等. 降香檀心材化学成分及抗炎活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2018,30(5):

800-806.

[4] 王昊,梅文莉,郭志凯,等. 降香的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(9):1625-1629.

[5] 杨志宏,梅超,何雪辉,等. 降香化学成分、药理作用及药代特征的研究进展[J]. 中国中药杂志,2013,38(11):1679-1683.

[6] 王辉,梅文莉,赵夏博,等. 降香檀的化学成分与药理活性研究进展[J]. 中国民族民间医药,2011,20(10):20-23.

[7] LEE D,KIM K,KO W,et al. The Neoflavonoid latifolin isolated from MeOH extract of *Dalbergia odorifera* Attenuates inflammatory responses by inhibiting NF- κ B activationvia Nrf2-mediated heme oxygenase-1 expression[J]. Phytother Res,2014,28(8):1216-1223.

[8] 王昊.降香化学成分及生物活性研究[D]. 青岛:青岛科技大学,2014.

[9] SON N T. A review on the medicinal plant *Dalbergia odorifera* species; phytochemistry and biological activity [J]. Evid Based Complement Alternat Med,2017,2017:1-27.

[10] 魏文峰,王昶,张树明,等. 串联质谱技术在中药化学成分分析中的应用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(14):351-354.

[11] 雷军,边清泉,罗娅君. 高效液相色谱-质谱联用技术在分析中草药黄酮类化学成分方面的应用[J]. 绵阳师范学院学报,2012,31(5):51-56.

[12] 张伽妹,郭晓宇,全庆华,等. 基于 LTQ-Orbitrap 高分辨质谱技术的柘木化学成分分析[J]. 质谱学报,2018,39(5):599-606.

[13] 王燕,李晓波,李俊杰,等. 5,6,7,4'-四羟基黄酮和 5,6,7,4'-四甲氧基黄酮高分辨电喷雾串联质谱裂解规律对比研究[J]. 质谱学报,2016,37(5):385-392.

[14] 李想. 黄酮醇类化合物 ESI-IT-MSⁿ 质谱裂解规律的量子化学研究[D]. 佳木斯:佳木斯大学,2015.

[15] 郑国帅,赵鑫,范国荣. 黄酮醇糖苷及其结构类似物的质谱裂解规律研究[J]. 药学服务与研究,2015,15(3):196-200.

[16] 赵安琦,李博,张慧荣,等. 应用电喷雾质谱技术分析鉴定桑叶中黄酮类化合物[J]. 分子科学学报,2014,30(4):293-298.

[17] 方高,张鹏,叶晓岚,等. 淡豆豉异黄酮苷及其苷元的电喷雾离子阱质谱分析[J]. 第二军医大学学报,2013,34(10):1108-1115.

[18] 徐英,董静,王弘,等. 电喷雾-离子阱-飞行时间质谱联用研究黄酮和异黄酮苷元 C 环上的裂解规律[J]. 高等学校化学学报,2009,30(1):46-50.

[19] 池玉梅,朱华云,居羚,等. 高效液相-四极杆飞行时间串联质谱分析黄蜀葵花中黄酮醇类化合物[J]. 分析

化学,2009,37(2):227-231.

[20] 马海娟,高简,张亚丽,等. 基于 HPLC-MSⁿ 的甘草成分快速鉴定及质谱裂解途径研究[J]. 中华中医药杂志,2018,33(3):1120-1123.

[21] 马悦,赵乐凤,吕子燕,等. 高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱分析桑葚中黄酮类和多酚类物质[J]. 质谱学报,2017,38(1):45-51.

[22] 丛浦珠,李笋玉. 天然有机质谱学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:556-718.

[23] 陈焕文. 分析化学手册. 9A. 有机质谱分析[M]. 北京:化学工业出版社,2016:695-616.

[24] 孙维洋,李剑芳. 紫檀烷类化合物的分布及药理作用研究进展[J]. 亚太传统医药,2008(5):46-47.

[25] 李国玉,王金辉,李铤,等. 苦马豆果皮中紫檀烷和异黄酮类化合物的分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志,2003(4):36-39.

[26] 王超,张胜俊,谢宜芬. 降香黄檀人工栽培技术[J]. 安徽农学通报,2008,14(23):221,76.

[27] 高媛,李效文,陈秋夏. 降香黄檀引种栽培研究进展[J]. 浙江农业科学,2017,58(1):52-55.

[28] LIU R H, WANG D Q, ZHANG P Z, et al. A new diaryl 1,2-diketone from the heartwood of *Dalbergia latifolia* [J]. Nat Prod Res,2018,32(1):91-96.

[29] 刘荣华,林帅,张普照,等. 黄檀属植物新黄酮类化学成分与药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志,2017,42(24):4707-4715.

[30] 刘荣华,王定清,林帅,等. 阔叶黄檀三萜类化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(20):42-46.

[31] LIU R H, WEN X C, SHAO F, et al. Flavonoids from heartwood of *Dalbergia cochinchinensis*[J]. Chin Herbal Med,2016,8(1):89-93.

[32] 邵峰,唐芳瑞,陈慧娟,等. 4 个新黄酮类化合物抗中性粒细胞呼吸爆发作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(24):280-282.

[33] 刘荣华,温新潮,张普照,等. 交趾黄檀异黄酮类化学成分研究[J]. 中草药,2015,46(19):2851-2855.

[34] 孟晓伟,王定清,陈兰英,等. 阔叶黄檀心材新黄酮类化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2019,44(6):1186-1192.

[35] 刘荣华,温新潮,李于益,等. 交趾黄檀化学成分研究[J]. 中药材,2015,38(9):1868-1871.

[36] 李雪亮,陈兰英,官紫祎,等. 降香新黄酮 latifolin 对大鼠急性心肌缺血影响及介导 Nrf2 信号通路机制研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(20):3974-3982.

[37] SEKINE N, ASHITANI T, MURAYAMA T, et al. Bioactivity of latifolin and its derivatives against termites and fungi [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57 (13): 5707-5712.

[38] 张妮,陈兰英,骆瑶,等. 降香新黄酮 latifolin 通过 Nrf2/HO-1 通路抗 H9c2 细胞缺氧复氧损伤作用研究[J]. 中药材, 2019, doi: 10.13863/j.issn1001-4454. 2019. 07. 035.

[责任编辑 顾雪竹]