

UPLC-Q-TOF-MS^E 技术快速定性艾纳香抗菌有效部位的化学成分元超^{1,3},王鸿发²,胡璇^{1,3},庞玉新^{1,3*}¹中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所,儋州 571737;²黑龙江八一农垦大学农学院,大庆 163319;³海南省艾纳香工程技术研究中心,儋州 571737

摘要:为明确艾纳香药效物质基础,采用超高效液相色谱仪联用四级杆串联飞行时间质谱仪(UPLC-Q-TOF-MS^E)技术快速鉴定艾纳香有效部位化学成分。色谱柱为 BEH C₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm),流动相为 0.1% 甲酸水(A)-0.1% 甲酸乙腈(B)梯度洗脱,流速为 0.4 mL/min,电喷雾高分辨质谱分别采用正负离子两种模式进行扫描。结合天然产物词典(DNP, Dictionary of natural products)和文献对化学成分进行定性。乙酸乙酯部位共检测到 23 种成分,鉴定出 22 种,石油醚部位检测到 25 种成分,鉴定出 21 种。本研究明确了艾纳香有效部位的化学组成,为艾纳香中药先导化合物的发现提供依据。

关键词:艾纳香;液质联用;化学成分;定性分析

中图分类号:R93

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.11.009

Rapid Identification on Chemical Constituents of Antimicrobial Fractions from *Blumea balsamifera* (L.) DC. by UPLC-Q-TOF-MS^E

YUAN Chao^{1,3}, WANG Hong-fa², HU Xuan^{1,3}, PANG Yu-xin^{1,3*}¹Tropical crops Genetic Resources Institute, CATAS, Danzhou 571737, China;²College of Agronomy, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;³Hainan Engineering Research Center for *Blumea balsamifera*, Danzhou 571737, China

Abstract: To investigate the active chemical composition of *Blumea balsamifera* (L.) DC., a rapid identification of chemical constituents method of ultra-high performance liquid coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS^E) was conducted. A BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) eluted with a step gradient mobile phase composed of water (A) and acetonitrile (B) each containing 0.1% formic acid and the flow rate was 0.40 mL/min, HRESI/MS was operated in positive/negative ion mode individually. Qualitative identification was recorded by combination of DNP with literature reported. 22 compounds were identified from the 23 peaks detected in EtOAc part, and 21 compounds were determined from the 25 signals detected in petroleum ether fraction. This study clarified the chemical composition of effective parts of *Blumea balsamifera* (L.) DC. and provides basis for new drug agents exploration from *Blumea balsamifera* (L.) DC.

Key words: *Blumea balsamifera* (L.) DC.; UPLC-Q-TOF-MS; chemical constituents; qualitative analyses

艾纳香(*Blumea balsamifera* (L.) DC.)又名大风艾,冰片艾^[1],为菊科艾纳香属植物,为2015版中国药典规定的冰片唯一来源植物^[2]。中药大辞典中记载,其性味辛、苦、温,具有降低血压,扩张血管,利尿等功效^[3]。艾纳香广泛分布于我国贵州和海南等地,在少数民族民间具有广泛的用药历史,如海南黎族百姓将其用于刀枪伤和虫蛇咬伤等外伤愈

合^[4],艾纳香煮水后可用于产后妇女沐浴^[5],现代药理研究亦显示艾纳香具有广泛药理活性,如陈艳等人^[6]研究显示艾纳香具有较好的抗菌效果和开发为妇科洗液的前景。由深圳海王药业开发的艾纳香总黄酮制剂已获得中药五类新药批件,进入临床Ⅱ期,具有心肌保护和降血脂功效^[7]。我们实验室前期对艾纳香不同提取部位的抗菌活性研究显示,艾纳香的石油醚部位和乙酸乙酯部位均表现出较强的抗菌活性,为进一步明确各有效部位的化学成分组成,以为将来从艾纳香中寻找新药先导化合物提供依据,我们对艾纳香的石油醚部位和乙酸乙酯部

收稿日期:2018-06-28 接受日期:2018-10-09

基金项目:中国热带农业科学院基本科研业务费专项(1630032018019);中国热带农业科学院基本科研业务费专项(1630032015039);国家自然科学基金(81603245)

*通信作者 Tel:86-898-23300370;E-mail:blumeachina@126.com

位分别进行了正负离子模式下的 UPLC-Q-TOF-MS/UV 分析,结合天然产物词典(DNP)等数据库以及文献报道,快速定性了其化学组成。

超高压液相色谱结合飞行时间质谱联用技术是一种具有高灵敏度和强大结构分析能力的新型分析技术,广泛应用于中药药效物质基础分析,复方成分分析,以及代谢组学研究等各个领域^[8]。天然产物词典收集了大量已报道的各种植物、微生物中的化学成分结构信息,结合目前已有的艾纳香化学成分报道,以及 UPLC-Q-TOF-MS/UV 给出的碎片信息及紫外信息,可以实现艾纳香有效部位化学组成的快速鉴定。

1 仪器与材料

Waters Acquity TM 超高压液相色谱系统(Waters Corporation, Milford, MA, 美国); Waters SYNAPT G2 HDMS 高分辨率飞行时间质谱(Waters Corp., Manchester, UK) 配电喷雾离子源分别采用正负离子模式(ESI),乙腈(色谱纯级, Fisher Scientific 公司),水为纯净水(杭州娃哈哈集团),其余试剂为分析纯。

实验用艾纳香为 2017 年 5 月采集于农业农村部儋州药用植物种质资源圃,经中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所庞玉新研究员鉴定为菊科艾纳香属植物 *Blumea balsamifera* (L.) DC.

2 方法

2.1 样品溶液的制备

艾纳香叶片阴干,粉碎,称取 600 g,用无水甲醇回流提取 30 min,共回流 2 次,合并滤液,浓缩至干,3 倍水悬浮浸膏,石油醚萃取 3 次,合并萃取液,减压浓缩至干,获得石油醚部位,水层继续用乙酸乙酯萃取,合并滤液并减压浓缩至干,获得乙酸乙酯部

位。分别加入甲醇,超声溶解,过 0.22 微孔滤膜,获得石油醚部位和乙酸乙酯部位样品溶液。

2.2 UPLC 条件

色谱柱为 Waters BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm),流速为 0.40 mL/min,流动相为 0.1% 甲酸水(A)-0.1% 甲酸乙腈(B)。洗脱梯度为:0 ~ 10 min, 5% ~ 50% B; 10 ~ 15 min, 50% ~ 90% B; 15 ~ 16 min, 99% B。柱温 35℃,进样体积 1 μL。

2.3 MS 检测条件

电喷雾离子源(ESI),正负离子模式,雾化 N₂ 体积流量为 800 L/h,脱溶剂气温度为 400℃,锥孔气流量为 50 L/h,离子源温度 100℃,毛细管电压 3.0 kV,锥孔电压 40 V,离子喷雾电压(ESI⁻) 2 200 V 和(ESI⁺) 3 000 V;MSE 扫描模式检测,扫描范围 *m/z* 100 ~ 1 500。

2.4 数据采集和处理

采用 MS^E 和 DAD 模式采集数据,结合 MassLynx 4.1 软件对正负离子模式下的总离子流进行分析,结合离子碎片,保留时间,精确质荷比,分子式预测软件 Elemental composition,紫外吸收特征,相关离线数据库(DNP)和在线数据库(Chemspider, Pubmed),以及参考文献对化合物进行确认。

3 结果

结合 Masslynx 4.1 软件对艾纳香石油醚部位和乙酸乙酯部位分别采用正负离子两种模式检测,(-)ESI-MS 的质谱基峰离子流图(BPI)见图 1,从乙酸乙酯部位中鉴定出 22 种成分,石油醚部位中鉴定 21 种成分,其中共有成分 13 种,鉴定出的化学成分结构类型主要分属黄酮类,绿原酸类和倍半萜类。

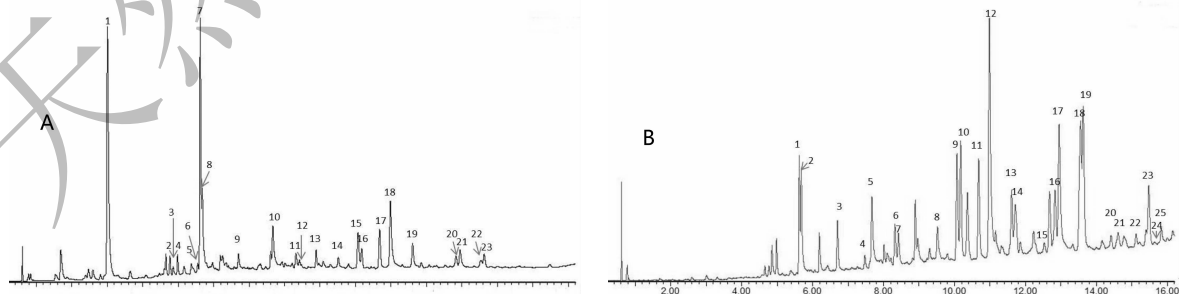


图 1 艾纳香提取物 UPLC-Q-TOF-MS^E 负离子模式下的基峰离子流(BPI)图

Fig. 1 Base peak ion (BPI) chromatograms of extracts of *Blumea balsamifera* (L.) DC. in negative ion mode by UPLC-Q-TOF-MS^E

注:A 乙酸乙酯提取物;B 石油醚提取物。

Note: A ethyl acetate extract fraction; B petroleum ether fraction.

3.1 黄酮及其苷类鉴定

乙酸乙酯部位中峰 2 ($t_R = 4.77$ min) 在负离子模式下的分子离子峰 $[M-H]^-$ m/z 为 609.1448, 推测分子式为 $C_{27}H_{30}O_{16}$, 结合 Chemspider 数据库推测可能为芦丁, 二级碎片离子中明显出现信号 m/z 301.0468 ($C_{15}H_9O_7$) $^-$ 以及 m/z 300.0450 ($C_{15}H_8O_7$) $^-$, 为芦丁脱去-Rha-Glc 后得到苷元碎片离子峰, 其中 m/z 300.0450 的峰丰度明显大于 m/z 301.0468, 说明黄酮 C 环 C-3 位的糖苷键主要以均裂为主。在二级质谱信息中除了容易丢失糖基形成苷元外, 苷元还容易发生中性丢失生成 $[M-H-CO]^-$ 峰, 例如负离子扫描模式下, 峰 2 的二级裂解产生明显的 m/z 271.0457 $[M-Rha-Glu-H-CO]^-$ 碎片峰^[9], 另外, 由于黄酮苷元的 C 环容易发生 RDA 裂解, 形成互补离子, 因此产生 m/z 151.0272 的碎片峰, 详细裂解规律见图 2, 质谱图见图 3, 结合文献^[10], 推测峰 2 为芦丁。

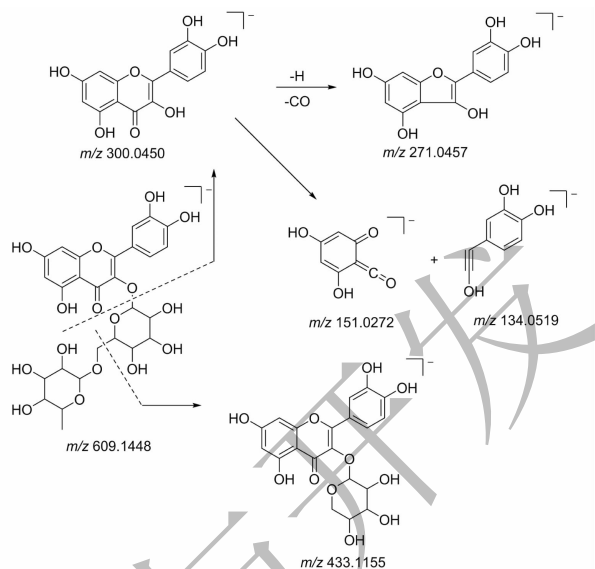


图 2 推测的芦丁裂解途径

Fig. 2 Possible fragmentation pathway of Rutin

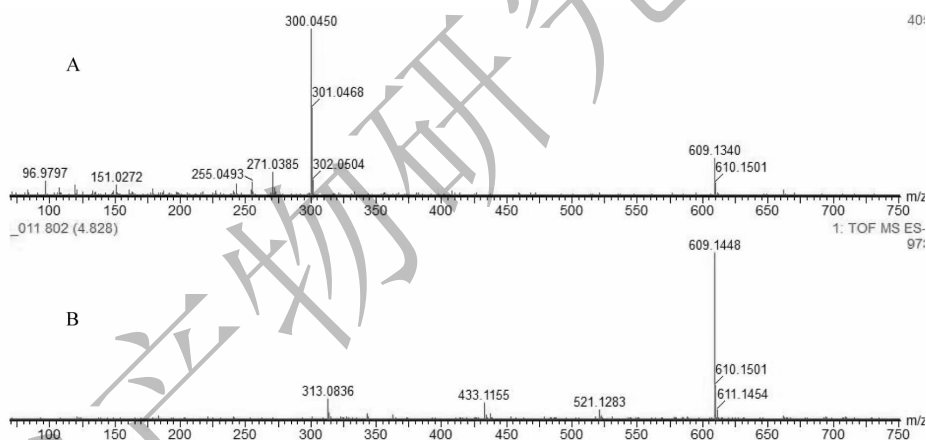


图 3 芦丁的二级(A)和一级(B)质谱图(ESI $^-$)

Fig. 3 MS 2 (A) and MS 1 (B) spectra (ESI $^-$) of Rutin

峰 3 ($t_R = 4.85$ min) 和峰 4 ($t_R = 4.98$ min), 负离子模式下的分子离子峰 $[M-H]^-$ m/z 均为 463.0931, 根据 Elemental Composition 给出其分子式为 $C_{21}H_{20}O_{12}$, 结合 Chemspider 和 PubMed 数据库, 推测其可能为金丝桃苷, 异槲皮苷或杨梅苷, 进一步分析二级质谱上出现明显的 m/z 301.0544 的碎片峰, 为糖苷丢失糖基形成的苷元离子, 确定峰 3 可能为金丝桃苷或异槲皮苷^[7] (图 4), 峰 3, 4 的二级裂解碎片跟峰 2 芦丁在低 m/z 区间都非常相似, 主要二级裂解碎片均有 301.0392 $[M-glc]^-$, 300.0450 $[M-H-glc]^-$, 271.0385 $[M-H-glc-CO-H]^-$, 243.0487 $[M-H-glc-CO-H-CO]^-$, 151.0219 ($C_7H_3O_4$) $^-$ (图 5), 由于

这两个同分异构体结构非常相似, 裂解规律相近, 故进一步通过保留时间的不同^[26], 推测峰 3 为金丝桃苷, 峰 4 为异槲皮苷。

乙酸乙酯部位中的峰 9 分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 317.0781, Masslynx 给出分子式为 $C_{14}H_{16}O_7$, 黄酮醇类母核 C 环容易发生脱羧形成碎片离子 m/z 289.0897 ($C_{15}H_{14}O_6$) $^-$, 结合文献^[13]报道, 推测其为 3, 3', 5, 7-四羟基-4'-甲氧基二氢黄酮。峰 15 分子离子峰 $[M-H]^-$ m/z 为 329.0786, 推测其分子式为 $C_{17}H_{14}O_7$, 同时产生 m/z 314.0605 $[M-H-CH_3]^-$ 和 299.0371 $[M-H-2CH_3]^-$ 两个碎片峰, 通过文献^[12] 比对, 推测其为 3, 3', 5-三羟基-4', 7-二甲氧基黄酮。

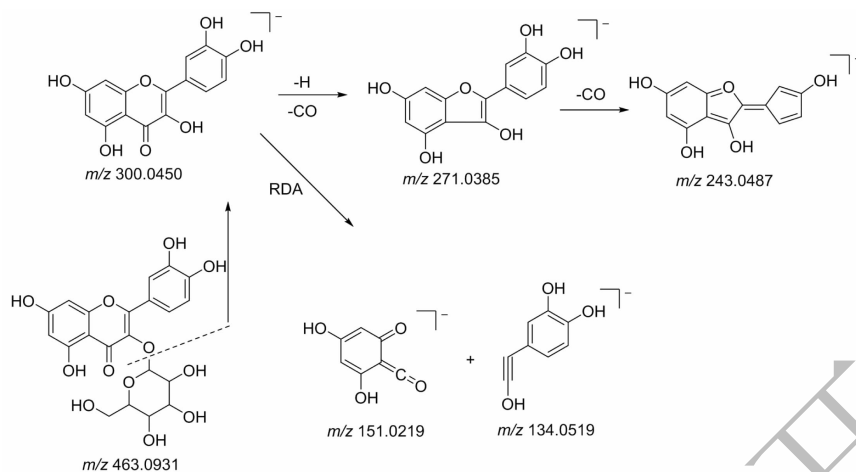
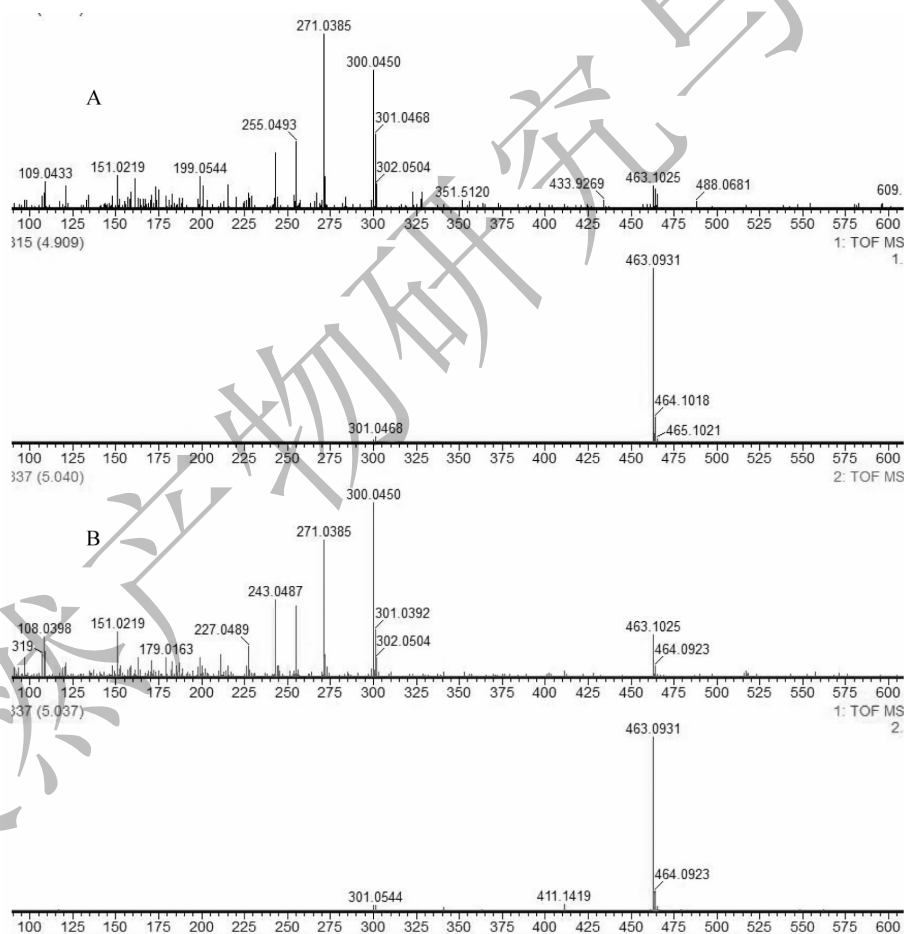


图 4 金丝桃苷和异槲皮苷裂解途径

Fig. 4 Possible fragmentation pathway of hyperoside and isoquercitrin

图 5 金丝桃苷或异槲皮素的二级和一级质谱图 (ESI⁻)Fig. 5 MS² and MS¹ spectra (ESI⁻) of hyperoside or isoquercitrin

注: A 峰 3 的二级和一级质谱; B 峰 4 的二级和一级质谱。

Note: A MS² and MS¹ of peak 3; B MS² and MS¹ of peak 4.

峰 17 分子离子峰 $[M-H]^-$ m/z 为 301.0848, 两个特征碎片离子峰 m/z 165.0366 ($C_8H_5O_4$)⁻ 和 m/z

135.0677 ($C_8H_7O_2$)⁻ 为二氢黄酮从 C 环发生 RDA 断裂形成的互补片段, 根据文献^[13] 推测其为艾纳香

素。同理根据 Masslynx 给出的质谱信息,结合文献以及 DNP 和 Chemspider 等数据库比对,对其他黄酮

类化合物分别进行了鉴定,鉴定结果见表 1 和表 2。

3.2 绿原酸类鉴定

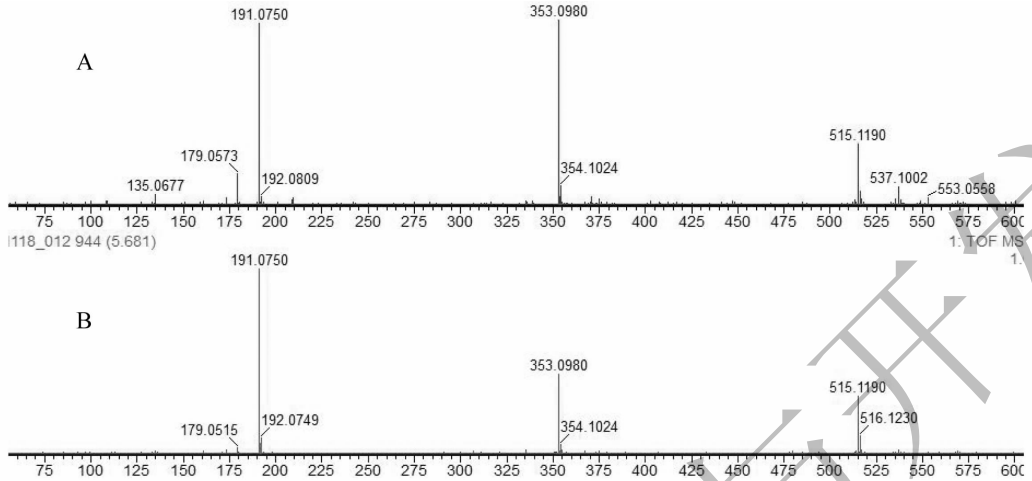


图 6 2 个具有代表性绿原酸类化合物的 MS 图 (ESI)

Fig. 6 MS spectra (ESI) of 2 representative chlorogenic acids

注:A 1,5-O-二咖啡酰奎尼酸;B 3,5-O-二咖啡酰奎尼酸。

Note:A 1,5-O-DiCQA;B 3,5-O-DiCQA.

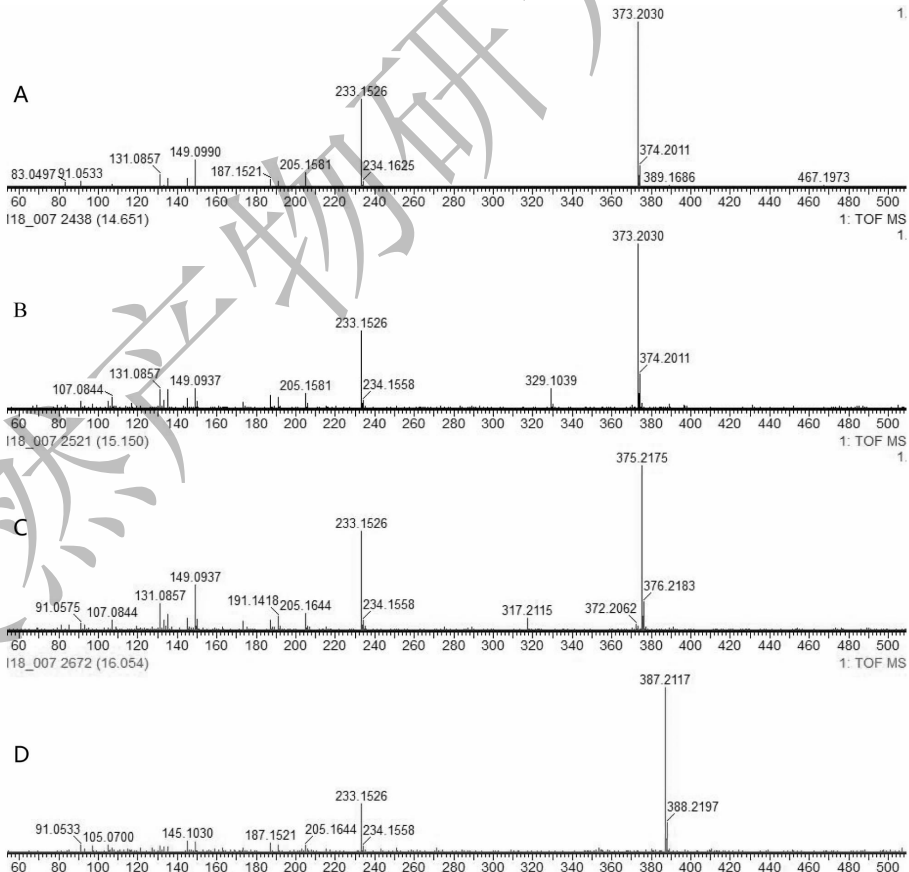


图 7 4 个具有代表性倍半萜类化合物的 MS 图 (ESI)

Fig. 7 MS spectra (ESI) of 4 representative sesquiterpenes

注:A Blumeaene A;B Blumeaene B;C Balsamiferine E;D Blumeaene D.

通常绿原酸类化合物在负离子模式下,会出现 m/z 179.051 5 [M-H]⁻ (咖啡酸), 191.075 0 (C₇H₁₁O₆)⁻ (奎尼酸), 353.098 0 [M-H]⁻ (单取代咖啡酰奎尼酸), 515.119 0 [M-H]⁻ (双取代咖啡酰奎尼酸), 677.480 7 [M-H]⁻ 和 723.488 8 [M-H + HCOOH]⁻ (三取代咖啡酰奎尼酸)的峰。本研究中峰 4-7 均出现 m/z 515.119 0 [M-H]⁻ 的准分子离子峰和 m/z 353.098 0 [M-H-caffeoyl]⁻ 的碎片峰,提示了其均为双取代咖啡酰奎尼酸类化合物。峰 4,5 在 ESI⁻ 中均先失去两分子咖啡酰,然后失去 1 分子水 (18 Da) 产生 m/z 173.062 3 [M-2caffeoyl-H-H₂O]⁻ 的子离子,因此推断峰 4 和 5 均为 4 位酰化,进一步的比对,确定其分别为 1.4-DiCQA 和 3.4-DiCQA。峰 6,7 的准分子离子峰均失去两分子咖啡酰基,产生 m/z 191.075 0 [M-H-2caffeoyl]⁻ 的子离子,推断其酰化位置为 3 或 5 位,进一步的质谱比对,确定其分别为 1.5-DiCQA 和 3.5-DiCQA^[14] (图 6),乙酸乙酯部位中共鉴

定出 5 个绿原酸类成分,包括 1 个咖啡酸和 4 个二取代咖啡酰奎尼酸类化合物。

3.3 萜类成分的鉴定

石油醚部位保留时间在 14-16min 范围内的几个小峰, m/z 分别为 373.203 0 (C₂₂H₂₉O₅)⁺, 375.217 5 (C₂₀H₃₂O₅Na)⁺, 387.217 7 (C₂₁H₃₂O₅Na)⁺ (图 7),根据 Masslynx 给出元素组成,结合 DNP,Chempidder 等数据库,推测其可能为愈创木酮型倍半萜类,由质谱图进一步分析可知这几种化合物均具有 m/z 233.152 6 (C₁₆H₂₅O)⁺ 的碎片峰,推测其可能为愈创木酮母核^[15],同时都具有 205.164 4 (C₁₅H₂₅)⁺ 的碎片离子峰,推测其为愈创木酮型母核脱去一分子 CO (28 Da) 形成的碎片,结合已有的艾纳香相关文献比对,从中鉴定出 5 种萜类化合物,分别为 Blumeaene A、B、C、D^[16],以及 Balsamiferine E^[17],结果见表 1,2。

表 1 艾纳香乙酸乙酯提取物化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 鉴定结果

Table 1 Identification of chemical constituents from EtOAc extract of *Blumea balsamifera* (L.) DC. by UPLC-Q-TOF-MS^E

序号 No.	保留时间 t_R (min)	分子式 Formula	实测值 Measured (m/z)	理论值 Calculated (m/z)	偏差 Deviation (ppm)	加和离子峰 Adduct ion peak	碎片离子 Fragmentation ions (m/z)	化合物 Compounds	文献 Ref.
1	3.01	C ₉ H ₈ O ₄	179.051 5	179.052 2	-3.9	[M-H] ⁻	189.095 1, 179.051 5, 135.062 6	咖啡酸	18
2	4.77	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.144 8	609.145 6	-1.3	[M-H] ⁻	609.144 8, 301.046 8, 300.045 0	芦丁	19
3	4.85	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.093 1	463.093 5	-0.9	[M-H] ⁻	463.093 1, 301.046 8, 300.045 0	金丝桃苷	7,26
4	4.98	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.093 1	463.093 5	-0.9	[M-H] ⁻	463.093 1, 301.046 8, 300.045 0	异槲皮苷	7,26
5	5.37	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.119 0	515.119 0	0	[M-H] ⁻	515.119 0, 353.098 0, 179.051 5, 173.068 1	1.4-O-DiCQA	14
6	5.55	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.119 0	515.119 0	0	[M-H] ⁻	515.119 0, 353.089 8, 179.057 3, 173.062 3	3.4-O-DiCQA	14
7	5.62	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.119 0	515.119 0	0	[M-H] ⁻	515.119 0, 353.098 0, 191.075 0, 179.057 3	1.5-O-DiCQA	14
8	5.68	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.119 0	515.119 0	0	[M-H] ⁻	515.119 0, 353.098 0, 191.075 0, 179.051 5	3.5-O-DiCQA	14
9	6.70	C ₁₆ H ₁₄ O ₇	317.078 1	317.079 0	-2.8	[2M + HCOO] ⁻	677.127 5, 317.078 1, 289.089 7	3,3',5,7-四羟基-4'- 甲氧基二氢黄酮	13
10	7.67	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.054 3	285.055 2	-3.2	[M-H] ⁻	301.054 4, 285.054 3, 180.031 2,	木犀草素	11
11	8.31	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	315.069 9	315.069 2	2.2	[M-H] ⁻	315.069 9, 300.045 0, 299.029 6	7-甲氧基槲皮素	20
12	8.42	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	299.065 0	299.076 7	-0.6	[M-H] ⁻	299.065 0, 289.089 7	3,5,7-三羟基-4'-甲 氧基黄酮	13
13	8.89	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	299.037 1	299.037 9	-2.7	[M-H] ⁻	299.037 1	Chrysoeriol	13

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	保留时间 t_R (min)	分子式 Formula	实测值 Measured (m/z)	理论值 Calculated (m/z)	偏差 Deviation (ppm)	加和离子峰 Adduct ion peak	碎片离子 Fragmentation ions (m/z)	化合物 Compounds	文献 Ref.
14	9.51	$C_{16}H_{12}O_7$	315.062 2	315.063 3	-3.5	[M-H] ⁻	315.062 2, 300.037 4	3,3',4',5-四羟基-7-甲氧基黄酮	21
15	10.07	$C_{17}H_{14}O_7$	329.078 6	329.078 7	-0.3	[M-H] ⁻	329.078 6, 314.060 5, 299.037 1	3,3',5-三羟基-4',7-二甲氧基黄酮	12
16	10.17	$C_{17}H_{14}O_7$	329.076 5	329.078 7	-6.7	[M-H] ⁻	329.076 5, 314.060 5	4',5,7-三羟基-3,3'-二甲氧基黄酮	13
17	10.68	$C_{16}H_{14}O_6$	301.084 8	301.084 6	0.7	[M-H] ⁻	302.088 4, 301.084 8, 165.036 6, 135.067 7	艾纳香素	13
18	10.98	$C_{16}H_{12}O_7$	315.062 2	315.063 3	-3.5	[M-H] ⁻	315.062 2, 300.075 3, 299.067 4, 284.049 9	怪柳黄素	22
19	11.60	$C_{17}H_{14}O_7$	329.078 6	329.078 7	-0.3	[M-H] ⁻	330.080 1, 329.078 6, 314.060 5, 299.029 6	3,5,7-三羟基-3',4'-二甲氧基黄酮	13
20	12.82	$C_{17}H_{14}O_6$	315.087 5	315.086 9	1.9	[M+H] ⁺	317.086 8, 316.090 3, 315.087 5	Unknown	
21	12.94	$C_{17}H_{14}O_7$	331.083 4	331.082 8	1.8	[M+H] ⁺	331.083 4, 315.079 8, 285.221 6	商陆素	13
22	13.53	$C_{18}H_{16}O_7$	345.097 8	345.097 4	1.2	[M+H] ⁺	346.106 4, 345.097 8, 330.073 1, 301.216 6	阿亚黄素	12
23	13.63	$C_{18}H_{16}O_7$	345.097 8	345.097 4	1.2	[M+H] ⁺	347.100 3, 346.098 3, 345.097 8, 330.073 1	5,7-二羟基-3,3',4'-三甲氧基黄酮	12

表 2 艾纳香石油醚提取物化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 鉴定结果

Table 2 Identification of chemical constituents from petroleum ether extract of *Blumea balsamifera* (L.) DC. by UPLC-Q-TOF-MS^E

序号 No.	保留时间 t_R (min)	分子式 Formula	实测值 Measured (m/z)	理论值 Calculated (m/z)	偏差 Deviation (ppm)	加和离子峰 Adduct ion peak	碎片离子 Fragmentation ions (m/z)	化合物 Compounds	文献 Ref.
1	5.62	$C_{25}H_{24}O_{12}$	515.119 0	515.119 0	0	[M-H] ⁻	515.119 0, 353.098 0, 191.075 0, 179.057 3	1,5-O-DiCQA	14
2	5.68	$C_{25}H_{24}O_{12}$	515.119 0	515.119 0	0	[M-H] ⁻	515.119 0, 353.106 2, 191.075 0, 179.051 5	3,5-O-DiCQA	14
3	6.70	$C_{16}H_{14}O_7$	317.078 1	317.079 0	-2.8	[M-H] ⁻	317.085 9, 289.082 2	3,3',5,7-四羟基-4'-甲氧基二氢黄酮	13
4	7.46	$C_{15}H_{12}O_6$	287.068 4	287.068 8	-1.4	[M-H] ⁻	287.068 4, 177.036 0, 151.016 5	北美圣草素	20
5	7.67	$C_{15}H_{10}O_6$	285.054 3	285.055 2	-3.2	[M-H] ⁻	301.054 4, 285.054 3	木犀草素	12
6	8.32	$C_{16}H_{12}O_7$	315.069 9	315.069 2	2.2	[M-H] ⁻	315.069 9, 300.045 0	7-甲氧基槲皮素	20
7	8.42	$C_{16}H_{12}O_6$	299.075 0	299.076 7	-0.6	[M-H] ⁻	299.075 0, 289.082 2	3,5,7-三羟基-4'-甲氧基黄酮	13
8	9.51	$C_{16}H_{12}O_7$	317.063 4	317.063 7	-1.0	[M+H] ⁺	317.063 4, 301.072 4	3,3',4',5-四羟基-7-甲氧基黄酮	21
9	10.06	$C_{17}H_{14}O_7$	331.075 5	331.075 9	-1.2	[M+H] ⁺	331.075 5, 315.079 8, 287.094 2,	3,3',5-三羟基-4',7-二甲氧基黄酮	12
10	10.16	$C_{17}H_{14}O_7$	329.076 5	329.078 7	-3.7	[M-H] ⁻	329.076 5, 314.060 5	4',5,7-三羟基-3,3'-二甲氧基黄酮	13
11	10.67	$C_{16}H_{14}O_6$	303.087 6	303.086 9	0.23	[M+H] ⁺	303.087 6, 285.073 8, 167.036 5	艾纳香素	13

续表 2(Continued Tab. 2)

序号 No.	保留时间 t_R (min)	分子式 Formula	实测值 Measured (m/z)	理论值 Calculated (m/z)	偏差 Deviation (ppm)	加和离子峰 Adduct ion peak	碎片离子 Fragmentation ions (m/z)	化合物 Compounds	文献 Ref.
12	10.98	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	317.063 4	317.063 7	-0.1	[M + H] ⁺	317.063 4, 301.072 4	怪柳黄素	23
13	11.61	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	329.078 6	329.078 7	-0.3	[M-H] ⁻	329.078 6, 314.060 5, 299.029 6	3,5,7-三羟基-3',4'- 二甲氧基黄酮	13
14	11.71	C ₂₂ H ₂₀ O ₆	389.194 5	389.194 0	1.3	[M + H] ⁺	389.194 5, 233.159 3, 179.070 6, 151.077 0	Unknown	
15	12.23	C ₂₈ H ₂₄ O ₄	425.165 0	425.165 3	-0.7	[M + H] ⁺	425.165 0, 233.152 6	Unknown	
16	12.83	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	315.087 5	315.086 9	1.9	[M + H] ⁺	317.086 8, 316.090 3, 315.087 5	Unknown	
17	12.94	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	331.083 4	331.082 8	1.8	[M + H] ⁺	331.083 4, 285.221 6	商陆素	13
18	13.55	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	345.097 8	345.097 4	1.2	[M + H] ⁺	345.097 8, 330.073 1, 233.159 3	阿亚黄素	12
19	13.61	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	345.097 8	345.097 4	1.2	[M + H] ⁺	345.097 8, 330.073 1	5,7-二羟基-3,3',4'- 三甲氧基黄酮	12
20	14.41	C ₂₂ H ₂₈ O ₅	373.203 0	373.201 5	4.0	[M + H] ⁺	373.203 0, 233.152 6, 149.099 0	Blumeane A	16
21	14.60	C ₂₂ H ₂₈ O ₅	373.203 0	373.201 5	4.0	[M + H] ⁺	373.203 0, 233.152 6, 149.099 0	Blumeane B	16
22	15.10	C ₂₀ H ₃₂ O ₅	375.217 5	375.217 1	1.1	[M + Na] ⁺	375.217 5, 317.211 5, 233.152 6, 149.099 0	Balsamiferine E	17
23	15.48	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	359.112 4	359.113 1	-1.9	[M + H] ⁺	359.112 4, 344.090 6	Unknown	
24	15.75	C ₁₉ H ₃₀ O ₅	361.238 2	361.239 3	-3.1	[M + Na] ⁺	361.238 2	Blumeane C	16
25	16.00	C ₂₁ H ₃₂ O ₅	387.211 7	387.211 3	1.0	[M + Na] ⁺	387.211 7, 233.152 6	Blumeane D	16

4 讨论

本实验首次运用 UPLC-Q-TOF-MS^E 技术结合天然产物词典 (DNP), PubMed, Chemspider 等数据库以及相关参考文献定性分析了艾纳香不同提取部位的化学成分。为全面获得各种类型化合物的信息,本研究采用了正负离子两种模式进行质谱扫描,同时在数据采集模式上分别通过低能量碰撞扫描获得化合物的分子离子峰和加和峰,通过高能量碰撞扫描获得化合物裂解形成的碎片峰,通过两者的关联,再结合保留时间和紫外吸收情况,为化合物结构鉴定提供充足信息。

本研究从艾纳香乙酸乙酯部位中鉴定出 22 种成分,结构类型主要属于绿原酸类和黄酮类,从艾纳香石油醚部位中分离鉴定出 21 种成分,结构类型主要为黄酮类和倍半萜类,两个提取部位中的共有成分为 13 种,共计 4 种成分未找到匹配化合物,暂未定性。鉴定出的黄酮类成分主要结构类型分属于黄酮苷、黄酮、以及二氢黄酮,在质谱图中黄酮苷容易发生脱糖基裂解,形成苷元和糖基碎片,黄酮和二氢黄酮容易发生 C 环 RDA 裂解,形成两个互补的碎片

离子。根据文献报道^[23],艾纳香中主要含有黄酮类和萜类成分,本次研究鉴定出来的化合物多数与之前文献报道的化合物一致,同时本次分析鉴定出了之前艾纳香研究中未报道的绿原酸类化合物,绿原酸类化合物广泛分布于各种药用植物中,具有抗炎,抗菌,细胞毒等广泛的生物活性^[24,25],本研究为艾纳香药理活性的解释提供了新的依据。研究中发现艾纳香石油醚萃取物中的小极性部位富含倍半萜类化合物,主要属于愈创木型倍半萜,该类化合物结构新颖,目前研究相对较少,因此,该研究提示艾纳香化学成分的研究今后可以重点放在石油醚部位上,主要集中于发现小极性部位中的结构新颖的萜类成分。

总之,本实验采用先进的 UPLC-Q-TOF-MS^E 技术,结合各种数据库和文献,对艾纳香的两种活性部位进行了快速定性分析,不仅使人们能够快速了解艾纳香中的主要活性成分组成情况,而且为今后艾纳香药材质量控制和药效物质基础研究提供了借鉴。

参考文献

- 1 China Flora Editorial Board of CAS(中国科学院植物志编辑委员会). Flora of China(中国植物志)[M]. Beijing:

- Science Press, 1988.
- 2 National Pharmacopoeia Committee (国家药典委员会). Pharmacopoeia of People's Republic of China(国家药典委员会. 中华人民共和国药典) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015.
 - 3 Nanjing University of Traditional Chinese Medicine(南京中医药大学). Traditional Chinese medicine dictionary(中药大辞典) [M]. Shanghai: Science and Technology Press, 2006.
 - 4 State Administration of Traditional Chinese Medicine(国家中医药管理局). Chinese herbals(中华本草) [M]. Shanghai: Science and Technology Press, 1999.
 - 5 Hugo J de Boer, Crystle Cotingting. Medicinal plants for women's healthcare in southeast Asia: a meta-analysis of their traditional use, chemical constituents, and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151: 747-767.
 - 6 Chen Y(陈艳), Wang K(王凯), Yang Q(杨全), et al. Prescription screening test and inhibitory rate experiment of *Blumea gynecological* Lotion [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med* (中国中医药信息杂志), 2017, 24: 87-90.
 - 7 Tan DP(谭道鹏), Yan QX(严启新), Kang H(康晖), et al. Research on chemical constituents of *Blumea balsamifera* [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2012, 24: 718-721.
 - 8 Li JH(李金花), Zeng R(曾锐), Qu Y(瞿燕), et al. Rapid identification on chemical constituents in roots of *Paeonia delavayi* var *lutea* by UPLC-Q-TOF-MS^E Combined with UNIFI informatics platform [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2017, 48: 1529-1536.
 - 9 Li W(李伟), Feng YL(冯育林), Li TE(黎田儿), et al. Rapid analysis on flavonoids in *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr by UPLC-Q-TOF/MS couple with diagnostic ions [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc* (质谱学报), 2016, 37: 504-516.
 - 10 Li ZH(李振华), Xu JD(徐金娣), Ju JM(鞠建明), et al. Chemical constituents from water extract of *Toosendan Fructus* by UPLC-ESI-Q-TOF-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2015, 46: 496-501.
 - 11 Chen M(陈铭), Jin HZ(金慧子), Yan L(严岚), et al. Flavonoids from *Blumea balsamifera* [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2010, 22: 991-994.
 - 12 Chen M(陈铭). Studies on the active constituents of *Blumea balsamifera* [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University (上海交通大学), 2009.
 - 13 Yan QX(严启新), Tan DP(谭道鹏), Kang H(康晖), et al. Study on flavonoids constituents of *Blumea balsamifera* [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(5): 86-89.
 - 14 Zhang Q(张倩). Studies on chlorogenic acids in Qingkailing injection by LC-MSⁿ [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine(北京中医药大学), 2013.
 - 15 Cong PZ(丛浦珠), Li XY(李筍玉). Mass spectrometric atlas of natural compounds(天然有机化合物质谱图集) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2011.
 - 16 Chen M, Qin JJ, Fu JJ, et al. Blumeaenes A-J, sesquiterpenoid esters from *Blumea balsamifera* with NO inhibitory activity [J]. *Planta Med*, 2010, 76: 897-902.
 - 17 Xu J, Jin DQ, Liu C, et al. Isolation, characterization and NO inhibitory activities of sesquiterpenes from *Blumea balsamifera* [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60: 8051.
 - 18 Huang W, Tan T, Li Z, et al. Structural characterization and discrimination of *Chimonanthus nitens* Oliv. leaf from different geographical origins based on multiple chromatographic analysis combined with chemometric methods [J]. *J pharm biomed anal*, 2018, 154: 236-244.
 - 19 Xu W(许文), Fu ZQ(傅志勤), Lin J(林婧), et al. Qualitative and quantitative analysis on major element in *Tetrastigma hemsleyanum* by HPLC-Q-TOF-MS and UPLC-QqQ-MS [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2014, 39: 4365-4372.
 - 20 Huang YL(黄永林), Zhu TC(朱廷春), Wen YX(文永新), et al. Isolation and identification of chemical constituents from *Blumea balsamifera* [J]. *Guihaia* (广西植物), 2010, 30: 560-562.
 - 21 Ali DMH, Wong KC, Lim PK. Flavonoids from *Blumea balsamifera* [J]. *Fitoterapia*, 2005, 76(1): 128-130.
 - 22 Saewan N, Koysoomboon S, Chantrapromma K. Anti-tyrosinase and anti-cancer activities of flavonoids from *Blumea balsamifera* (L.) DC [J]. *J Med Plants Res*, 2011, 5: 1018-1025.
 - 23 Pang YX, Wang D, Fan ZW, et al. *Blumea balsamifera*-A phytochemical and pharmacological review [J]. *Molecules*, 2014, 19: 9453-9477.
 - 24 Song YL(宋亚玲), Wang HM(王红梅), Ni FY(倪付勇), et al. Study on anti-inflammatory activities of phenolic acids from *Lonicerae Japonicae Flos* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2015, 46: 490-495.
 - 25 Zhao Y(赵昱), Zhao J(赵军), Li XP(李湘萍), et al. Research progress of caffeoylquinic acid [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2006, 11: 869-874.
 - 26 Wu T(吴涛), Jian L(蒋岚), Aisa AJAKBE(阿吉艾克拜尔·艾萨). Determination of flavonoids in Mianhuahua flavonoids tablets [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2011, 42: 713-715.