

基于巫藿苷为主要代谢产物的生源途径推导 及淫羊藿新化合物鉴定分析研究

秦伟瀚, 阳 勇, 郭延奎, 李 卿, 刘 翔*

重庆市中药研究院, 重庆 400065

摘要:结合淫羊藿黄酮醇成分次生代谢规律及高分辨质谱,构建以巫藿苷为特征产物的生源合成途径,推导验证淫羊藿新化合物的化学结构。高分辨质谱采集 15 个品种的 54 批次淫羊藿样品数据,利用 PeakView 软件的 Formula Finder、Mass Calculators、XIC manager 等功能、在线数据库 (SciFinder、Reaxys、ChemSpider 等) 及二级质谱碎裂规律,解析验证所推导代谢产物的化学结构。本实验在不同品种批次淫羊藿样品中分析鉴定出了 12 个新化合物。该研究方法可以简化繁琐的植化分离步骤,为具有药效活性次生代谢产物分析鉴定提供了一种新的思路。

关键词:淫羊藿;黄酮代谢;高分辨质谱法;巫藿苷;新化合物

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)9-1529-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.9.011

Derivation of the biogenic pathway and identification and analysis of the new compounds of *Epimedium* based on Wushanicariin as the main metabolite

QIN Wei-han, YANG Yong, GUO Yan-lei, LI Qin, LIU Xiang*

Chongqing Institute of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400065, China

Abstract: In combination with the secondary metabolism and high resolution mass spectrometry of the flavanol components of *Epimedium*, a biogenic synthesis pathway with wushanicariin as the characteristic product was constructed to derive and verify the chemical structure of new components. Fifty-four batches of *Epimedium* samples from 15 varieties were collected by high resolution mass spectrometry. The chemical structure of the deduced metabolites was analyzed and verified by using the functions of Formula Finder, Mass Calculators, XIC manager, online database (SciFinder, Reaxys, ChemSpider, etc.) and the fragmentation rule of secondary mass spectrometry of PeakView software. In this experiment, 12 new compounds were identified in different kinds of *Epimedium* samples. This research method can simplify the complicated steps of phytochemical separation and provide a new way for the analysis and identification of bioactive secondary metabolites.

Key words: *Epimedium*; flavonoid metabolism; high resolution mass spectrometry; wushanicariin; new compounds

淫羊藿 (*Epimedium brevicornu* Maxim) 又名仙灵脾, 是小檗科 (Berberidaceae) 淫羊藿属 (*Epimedium*) 的多年生草本植物^[1]。该属植物集中分布于中国、北非、朝鲜等地, 全属共有 55 种左右, 中国有 47 种, 是该属的现代地理分布中心^[2]。淫羊藿的主要有效成分是以 2-苯基色原酮为母核, 在 C-8、C-7、C-5、C-3、C-4' 位上具有异戊烯基、羟基、糖基、甲氧基的

黄酮醇类衍生物; 据统计, 该类化合物已经鉴定出 62 种, 其代表性成分如淫羊藿苷、朝藿定、宝藿苷等^[3-5]; 近年来研究发现, 淫羊藿在生殖系统、抑制肿瘤转移、免疫系统、改善记忆和抗衰老方面均有作用, 临床运用广泛^[6-8]。虽然对淫羊藿药效物质基础研究已经较为深入, 但黄酮类成分的化学相关文献报道较少。迄今对淫羊藿类黄酮次生代谢途径尚无系统报道; 张华峰等认为, 淫羊藿苷、朝藿定等是以二氢黄酮醇为底物经过一系列酶促反应形成的, 酶促反应类型主要包括异戊烯基取代、甲基化或转糖基反应等^[9]; 笔者以淫羊藿中含异戊烯基黄酮醇类成分代谢规律为依据, 通过构建特征黄酮的次生代

收稿日期: 2020-03-05 接受日期: 2020-07-16

基金项目: 重庆市科技局项目 (cc-cstc-CA-19-2; cstc2019jxjl-jbky 0017); 重庆市自然科学基金 (cstc2019jcyj-msxmX0464, cstc2018jcyjAX0316); 重庆市卫健委项目 (ZY201802 117)

* 通信作者 Tel: 86-23-89029192; E-mail: zysliux@163.com

谢途径,结合高分辨质谱及相关软件分析鉴定出了12个新化合物,该实验结果进一步阐释完善了淫羊藿的药效物质,为后续关键基因关键酶的代谢调控提供了科学依据。

1 材料

1.1 仪器

LC-30A型超高效液相色谱仪(日本,岛津公司);Triple TOF™ 4600型四极杆串联飞行时间高分辨质谱仪(美国,AB公司);DFT-200型超高速中药粉碎机(中国,上海化科实验器材有限公司);CPX2800-C型超声波清洗机(美国,BRANSON公司);Microfuge 16型高速离心机(美国,贝克曼库尔特公司);Direct-Q5型超纯水一体机系统(德国,默

克密理博公司);AUW220型万分之一分析天平(日本,岛津公司)。

1.2 试剂

巫藿苷为自制,经HPLC测定质量分数大于98%;淫羊藿苷(批号:110737-201516)购于中国食品药品检定研究院;朝藿定A(批号:110623-72-8)、朝藿定B(批号:110623-73-9)、朝藿定C(批号:110642-44-9),均购于成都埃法生物科技有限公司。甲醇、乙腈(HPLC级,德国Merek公司);甲酸(质谱级,德国Sigma-Aldrich公司);一级水由Millipore Direct-Q5超纯水机制备;其余试剂为分析纯。本实验用淫羊藿药材经刘翔副研究采集鉴定,样品采集信息见表1。

表1 淫羊藿样品采集信息表

Table 1 *Epimedium* sample collection information table

| 植物基源 Botanic origin | 学名 Scientific name | 样品编号 Sample No. | 采集地点 Collection location |
|------------------------|---|--------------------|-----------------------------|
| 保靖淫羊藿 | <i>E. baojingense</i> Q. L. Chen et B. M. Yang | S1, S2 | 湖南省 |
| 直距淫羊藿 | <i>E. mikinorii</i> Stearn | S3, S4 | 湖北省 |
| 黔岭淫羊藿 | <i>E. leptorrhizum</i> Stearn | S5, S6 | 重庆市 |
| 四川淫羊藿 | <i>E. sutchuenense</i> Franch. | S7, S8 | 重庆市、四川省 |
| 偏斜淫羊藿 | <i>E. truncatum</i> H. R. Liang | S9, S10 | 湖南省 |
| 湖南淫羊藿 | <i>E. hunanense</i> Hand. -Mazz. | S11 ~ S15 | 湖南省 |
| 柔毛淫羊藿 | <i>E. pubescens</i> Maxim. | S16 ~ S22 | 四川省、重庆市 |
| 薄叶淫羊藿 | <i>E. membranaceum</i> K. Meyer | S23, S24 | 四川省 |
| 天平山淫羊藿 | <i>E. myrianthum</i> Stearn | S25 ~ S41 | 重庆市 |
| 长蕊淫羊藿 | <i>E. dolichostemon</i> Stearn | S42 ~ S44 | 重庆市 |
| 黔北淫羊藿 | <i>E. borealiguizhouense</i> S. Z. He et Y. K. Ying | S45, S46 | 贵州省 |
| 粗毛淫羊藿 | <i>E. acuminatum</i> Franch. | S47 ~ S49 | 重庆市 |
| 金城山淫羊藿 | <i>E. jinchengshanense</i> Yan J. Zhang & J. Q. Li | S50 | 重庆市 |
| 单叶淫羊藿 | <i>E. simplicifolium</i> Ying | S51, S52 | 重庆市 |
| 竹山淫羊藿 | <i>E. zhushanense</i> K. F. Wu et S. X. Qian | S53, S54 | 重庆市 |

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱为ACQUITY UPLC CSH C₁₈柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm);流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B),梯度洗脱(0 ~ 1.0 min, 11% A; 1.0 ~ 11.0 min, 11% → 82% A; 11.0 ~ 12.5 min, 82% A; 12.5 ~ 12.6 min, 82% → 11% A; 12.6 ~ 15.0 min, 11% A);柱温35℃;流速0.25 mL/min;进样量2 μL。

2.2 质谱条件

离子源为ESI源,Positive模式采集数据。TOF-MS扫描模式参数为:扫描范围 m/z 100 ~ 1 000,累积时间0.230 028 s,离子化温度(TEM)550℃,雾化

气(GS1)55 psi,辅助加热气(GS2)50 psi,气帘气(CUR)25 psi,去簇电压(DP)60 V,碰撞能量(CE)30 eV,喷雾电压(IS)5 500 V。采用IDA,DBS和高灵敏度的模式采集数据。子离子扫描模式的参数为:扫描范围 m/z 50 ~ 1 000,累积时间0.110 002 s,碰撞能量叠加CES(30 ± 15) eV,其他主要参数同TOF-MS扫描模式。

2.3 制备供试品溶液

淫羊藿样品于60℃鼓风干燥箱中烘干,高速粉碎机粉碎成细末,过50目筛,精密称取样品粉末0.2 g,置100 mL锥形瓶中,精密移入稀乙醇溶液20 mL,密塞,称定质量,超声提取(功率:300 W,频率:

40 kHz)40 min,放冷,再次称定质量,稀乙醇补足质量后摇匀,过滤,精密量取 1 mL 续滤液于 25 mL 容量瓶中,加色谱甲醇定容至刻度,摇匀,12 000 rpm 离心 10 min,即得。

2.4 样品数据分析处理

结合淫羊藿相关文献,总结剖析黄酮醇类成分的次生代谢规律,运用 ChemDraw 软件构建以巫藿苷为主要代谢产物的特征黄酮代谢途径,将推导成分的分子式、精确质量数、化学结构等信息代入 PeakView 软件,提取分析高分辨质谱采集的不同批次淫羊藿样品数据,采用软件 XIC manager、Formula Finder、Mass Calculators 等功能、在线数据库 (SciFinder、Reaxys、ChemSpider、Metlin、HMDB、Chemical Book) 及二级质谱碎裂规律,鉴定验证所推导的代谢产物化学结构。

3 结果与分析

3.1 化合物结构推导

本研究以淫羊藿黄酮醇次生代谢规律为依据,构建了以巫藿苷为主要产物的生源合成途径 (图 1),将推导的代谢产物结果采用“2.4”项下数据处理方法进行分析,共鉴定出了 12 个新化合物 (表

2)。笔者分析发现含异戊烯基黄酮醇类成分的 C-7 位羟基只能进行单葡萄糖苷化 (淫羊藿属苷 C、淫羊藿次苷 I、icariin 等) 和双葡萄糖苷化 (cuhuoside、diphyllaside C、粗毛淫羊藿苷等) 反应,同样 C-4' 位羟基则只能发生甲基化反应^[10,11];由于黄酮与黄酮醇结构差异仅在于 C-3 位羟基,且都为同种植物的次生代谢产物,故推测该途径中黄酮母核 C-7 位、C-4' 位羟基会在酶的催化下分别发生葡萄糖基转移反应和甲基转移反应。但与淫羊藿黄酮醇成分结构不同的是,在此途径中异戊烯基的结合位点由 C-8 位变为了 C-6 位,同时母核的 C-3' 及 C-5' 位发生了单加氧反应,根据文献报道,在黄酮类的次生代谢途径中,存在 F3'H 和 F3'5'H 两种酶,可以在 C-3'、C-5' 位同时引入或单独引入羟基,所以推测在此途径中也可能存在上述两种氧化反应类型。以巫藿苷化学结构为参考同时结合黄酮醇代谢规律推测该途径中黄酮母核先在 C-4'、C-7 位羟基化后生成 **X1** 和 **X3**,之后在 C-6 位结合异戊烯基生成 **X5**,并在此基础上发生 C-3' 位及 C-3'、C-5' 位的羟基化生成 **X7** 和 **X12**;在此基础上,会在黄酮母核的 C-3'、C-4' 以及 C-5' 位发生甲基化和葡萄糖苷化反应。

表 2 淫羊藿黄酮新化合物鉴定结果表

Table 2 *Epimedium* flavonoid new compound identification result table

| 编号 No. | 保留时间 t_R (min) | 离子归属 Ion mode | 质荷比 Mass-to-charge ratio (m/z) | | | 偏差 Deviation (ppm) | 分子式 Formula | 响应值 Intensity (cps) | 鉴定结果 Identification results |
|------------|------------------------|------------------|---------------------------------------|-----------------|---|--------------------------|----------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| | | | 理论值 Calculated | 实测值 Measured | 二级碎片 Secondary fragment ion | | | | |
| X7 | 8.78 | $[M+H]^+$ | 355.117 62 | 355.118 32 | 299.058 4, 271.062 6 | 2.0 | $C_{20}H_{18}O_6$ | 113 711 | 新化合物 |
| X8 | 8.98 | $[M+H]^+$ | 383.148 92 | 383.150 60 | 327.089 4, 284.070 8 | 4.4 | $C_{22}H_{22}O_6$ | 89 849 | 新化合物 |
| X9 | 9.77 | $[M+H]^+$ | 397.164 57 | 397.165 55 | 351.126 3, 341.104 8, 323.094 9 | 2.5 | $C_{23}H_{24}O_6$ | 43 125 | 新化合物 |
| X10 | 6.83 | $[M+H]^+$ | 517.170 44 | 517.171 36 | 355.119 8, 299.056 9 | 1.8 | $C_{26}H_{28}O_{11}$ | 106 641 | 新化合物 |
| X12 | 8.90 | $[M+H]^+$ | 339.122 70 | 339.123 65 | 283.062 0, 255.067 1 | 2.8 | $C_{20}H_{18}O_5$ | 235 367 | 新化合物 |
| X13 | 7.87 | $[M+H]^+$ | 501.175 52 | 501.177 48 | 339.125 5, 283.060 3 | 3.9 | $C_{26}H_{28}O_{10}$ | 6 990 | 新化合物 |
| X14 | 9.69 | $[M+H]^+$ | 353.138 35 | 353.138 44 | 297.079 3, 269.083 9 | 0.3 | $C_{21}H_{20}O_5$ | 825 684 | 新化合物 |
| X17 | 7.35 | $[M+H]^+$ | 529.206 82 | 529.207 25 | 367.120 9, 313.068 8 | 0.8 | $C_{28}H_{32}O_{10}$ | 14 550 | 新化合物 |
| X18 | 6.91 | $[M+H]^+$ | 679.223 26 | 679.224 81 | 661.512 4, 517.178 6, 355.122 4, 299.059 2 | 2.3 | $C_{32}H_{38}O_{16}$ | 338 112 | 新化合物 |
| X19 | 7.37 | $[M+H]^+$ | 693.238 91 | 693.236 00 | 531.194 1, 369.138 2, 313.074 6 | 4.2 | $C_{33}H_{40}O_{16}$ | 117 092 | 新化合物 |
| X21 | 6.46 | $[M+H]^+$ | 545.201 74 | 545.202 89 | 383.149 0 | 2.1 | $C_{28}H_{32}O_{11}$ | 40 477 | 新化合物 |
| X22 | 7.62 | $[M+H]^+$ | 707.254 56 | 707.256 79 | 545.211 7, 383.154 6, 327.090 4 | 3.2 | $C_{34}H_{42}O_{16}$ | 31 125 | 新化合物 |

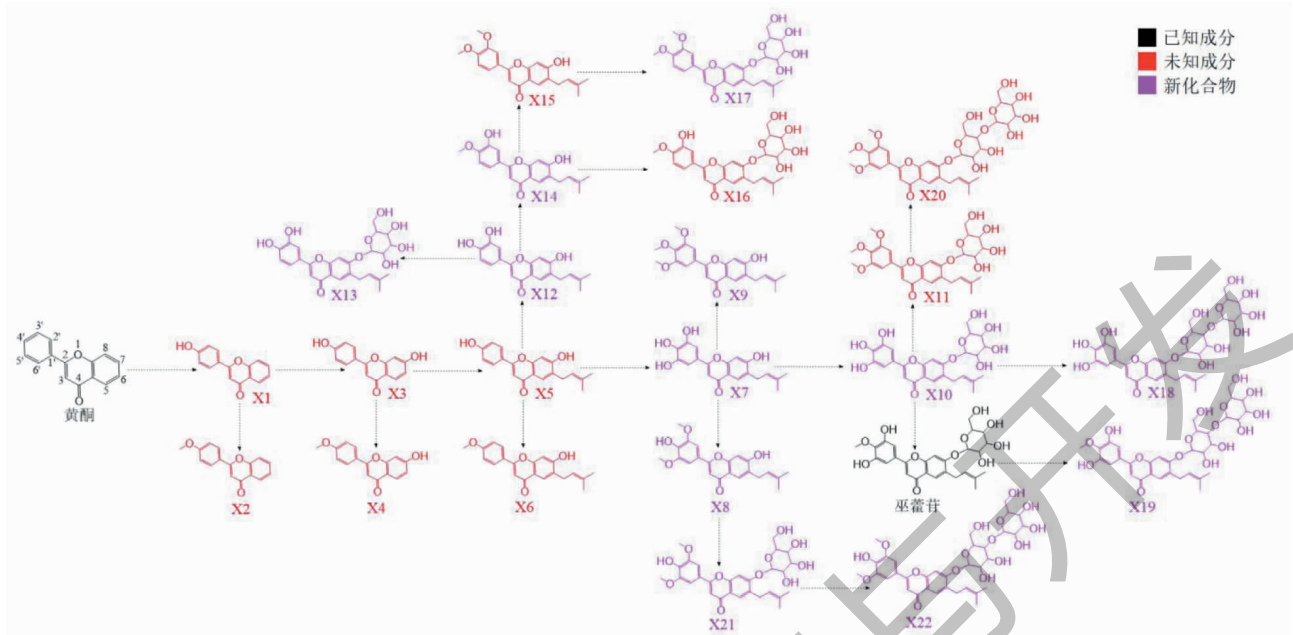


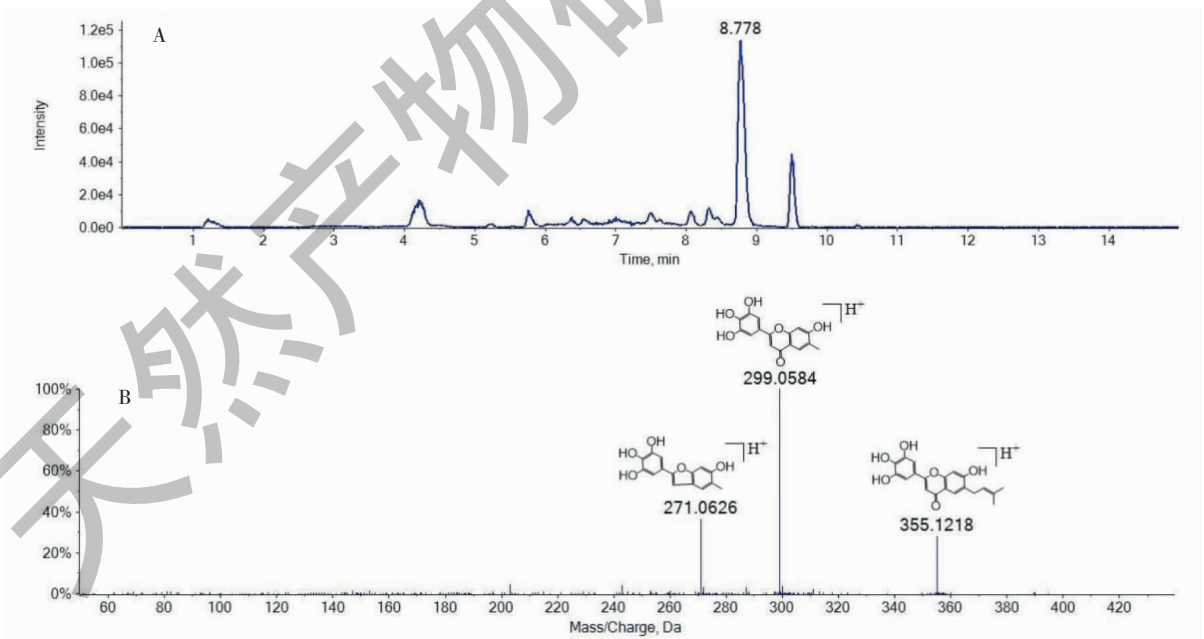
图1 淫羊藿黄酮次生代谢网络推导图

Fig. 1 Derivation of *Epimedium* flavonoid secondary metabolism network

3.2 高分辨质谱验证分析

化合物 **X7** 的母离子 m/z 为 355.1218, 由 PeakView 软件的 Mass Calculators、Formula Finder 等功能推测该化合物结构中可能含有异戊烯基和羰

基, 将该化合物结构信息代入 SciFinder、Reaxys 等在线数据库进行检索, 未匹配到与 **X7** 相一致的化学结构, 鉴定其为淫羊藿的新化合物。提取离子图和二级碎片裂解规律图见图 2。

图2 化合物 **X7** 的提取离子图(A)及二级碎片裂解规律图(B)Fig. 2 Compound **X7** extracted ion diagram (A) and second fragment fragmentation diagram (B)

化合物 **X8** 的母离子 m/z 为 383.1534, 由 PeakView 软件的 Mass Calculators、Formula Finder 等功能推测该化合物结构中可能含有异戊烯基和羰

基, 将该化合物结构信息代入 SciFinder、Reaxys 等在线数据库进行检索, 未匹配到与 **X8** 相一致的化学结构, 鉴定其为淫羊藿的新化合物。提取离子图和

二级碎片裂解规律图见图 3。

化合物 **X9** 的母离子 m/z 为 397.168 1, 由 PeakView 软件的 Mass Calculators、Formula Finder 等功能推测该化合物结构中可能含有异戊烯基、甲基、

甲氧基和羟基, 将该化合物结构信息代入 SciFinder、Reaxys 等在线数据库进行检索, 未匹配到与 **X9** 相一致的化学结构, 鉴定其为淫羊藿的新化合物。提取离子图和二级碎片裂解规律图见图 4。

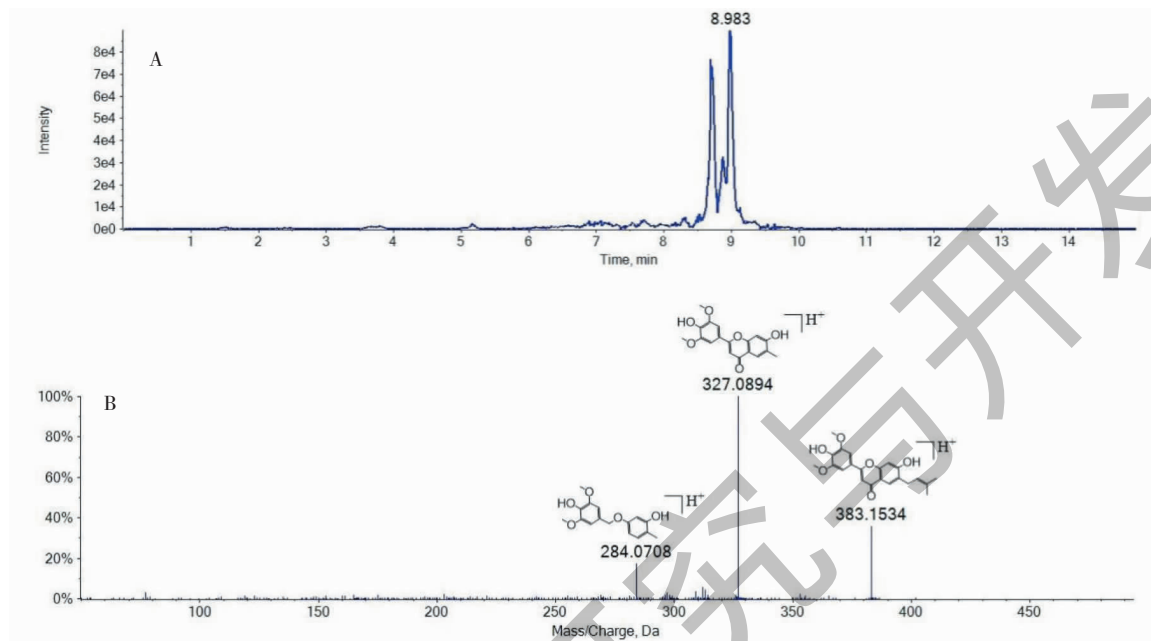


图 3 化合物 **X8** 的提取离子图 (A) 及二级碎片裂解规律图 (B)

Fig. 3 Compound **X8** extracted ion diagram (A) and second fragment fragmentation diagram (B)

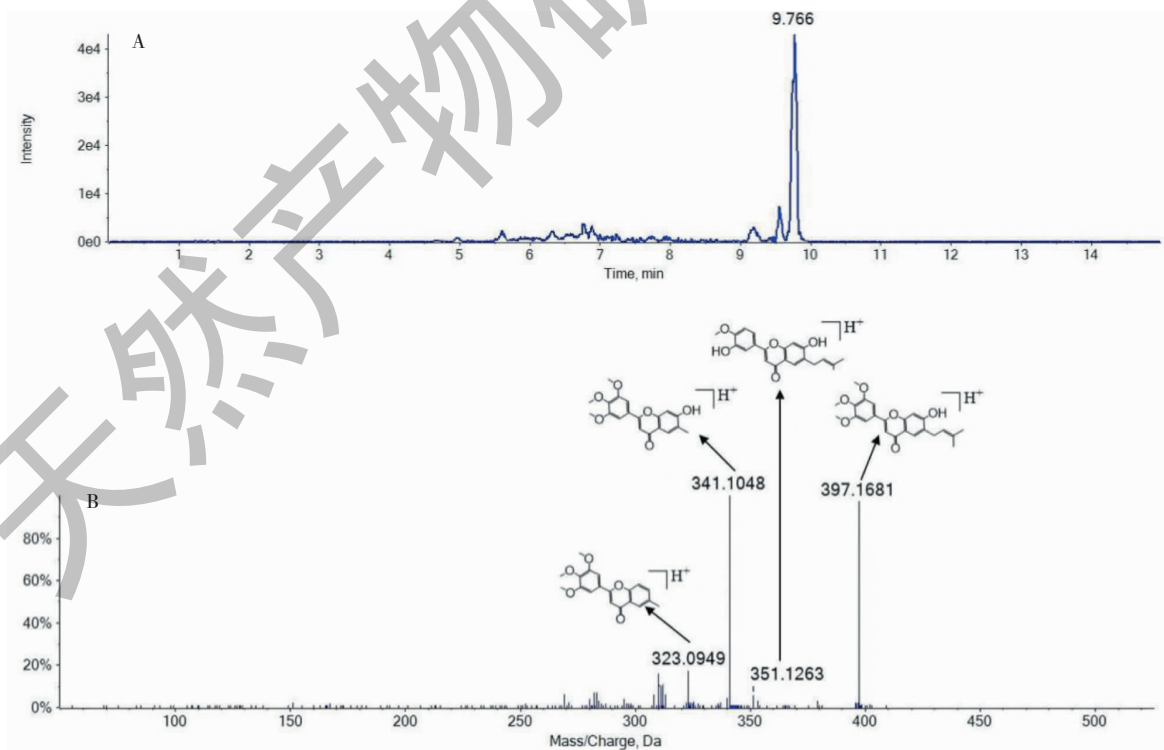


图 4 化合物 **X9** 的提取离子图 (A) 及二级碎片裂解规律图 (B)

Fig. 4 Compound **X9** extracted ion diagram (A) and second fragment fragmentation diagram (B)

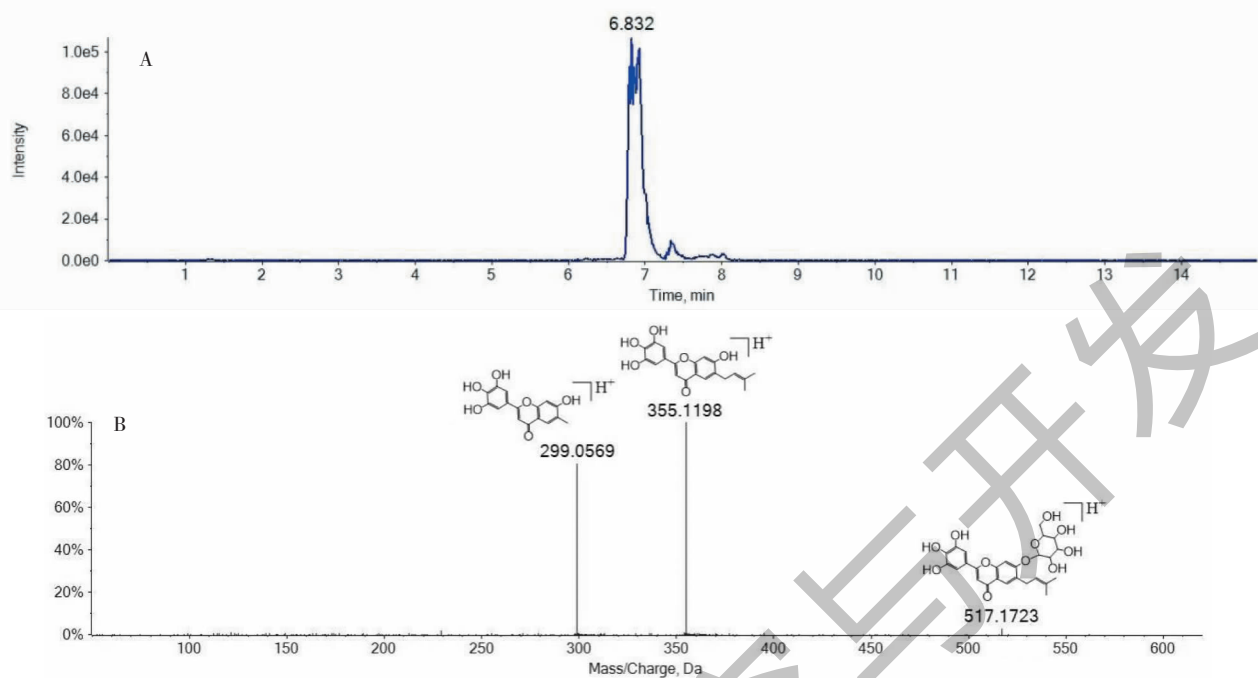


图5 化合物 **X10** 的提取离子图(A)及二级碎片裂解规律图(B)

Fig. 5 Compound **X10** extracted ion diagram (A) and second fragment fragmentation diagram (B)

化合物 **X10** 的母离子 m/z 为 517.1723, 由 PeakView 软件的 Mass Calculators、Formula Finder 等功能推测该化合物结构中可能含有葡萄糖苷和异戊烯基, 将该化合物结构信息代入 SciFinder、Reaxys 等

在线数据库进行检索, 未匹配到与 **X10** 相一致的化学结构, 鉴定其为淫羊藿的新化合物。提取离子图和二级碎片裂解规律图见图 5。

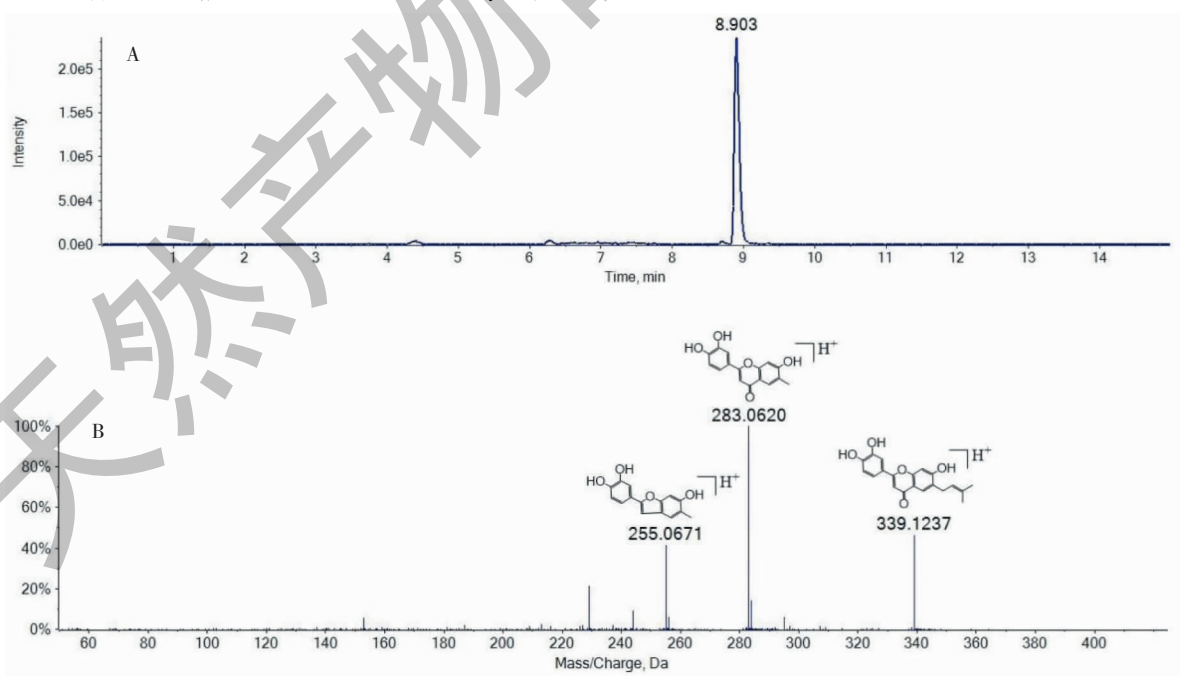


图6 化合物 **X12** 的提取离子图(A)及二级碎片裂解规律图(B)

Fig. 6 Compound **X12** extracted ion diagram (A) and second fragment fragmentation diagram (B)

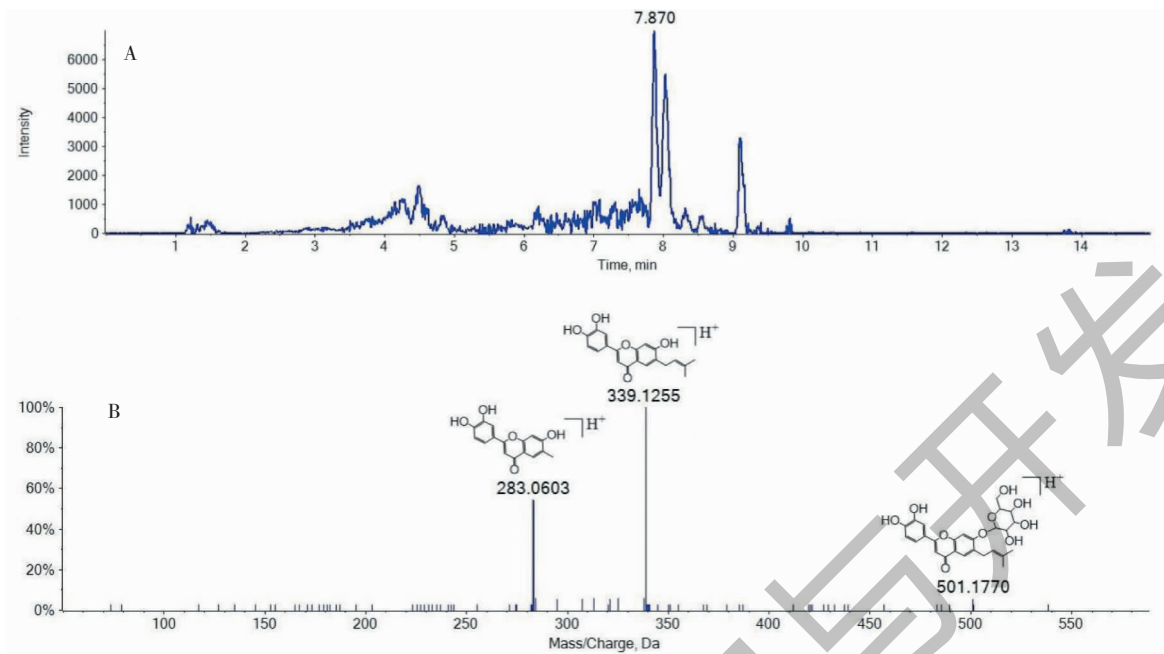


图7 化合物 X13 的提取离子图(A)及二级碎片裂解规律图(B)

Fig. 7 Compound X13 extracted ion diagram (A) and second fragment fragmentation diagram (B)

化合物 X12 的母离子 m/z 为 339.1237, 由 PeakView 软件的 Mass Calculators、Formula Finder 等功能推测该化合物结构中可能含有异戊烯基和羰基, 将该化合物结构信息代入 SciFinder、Reaxys 等在线数据库进行检索, 未匹配到与 X12 相一致的化学结构, 鉴定其为淫羊藿的新化合物。提取离子图和二级碎片裂解规律图见图 6。

化合物 X13 的母离子 m/z 为 501.1770, 由 PeakView 软件的 Mass Calculators、Formula Finder 等功能推测该化合物结构中可能含有葡萄糖苷和异戊烯基, 将该化合物结构信息代入 SciFinder、Reaxys 等在线数据库进行检索, 未匹配到与 X13 相一致的化学结构, 鉴定其为淫羊藿的新化合物。提取离子图和二级碎片裂解规律图见图 7。

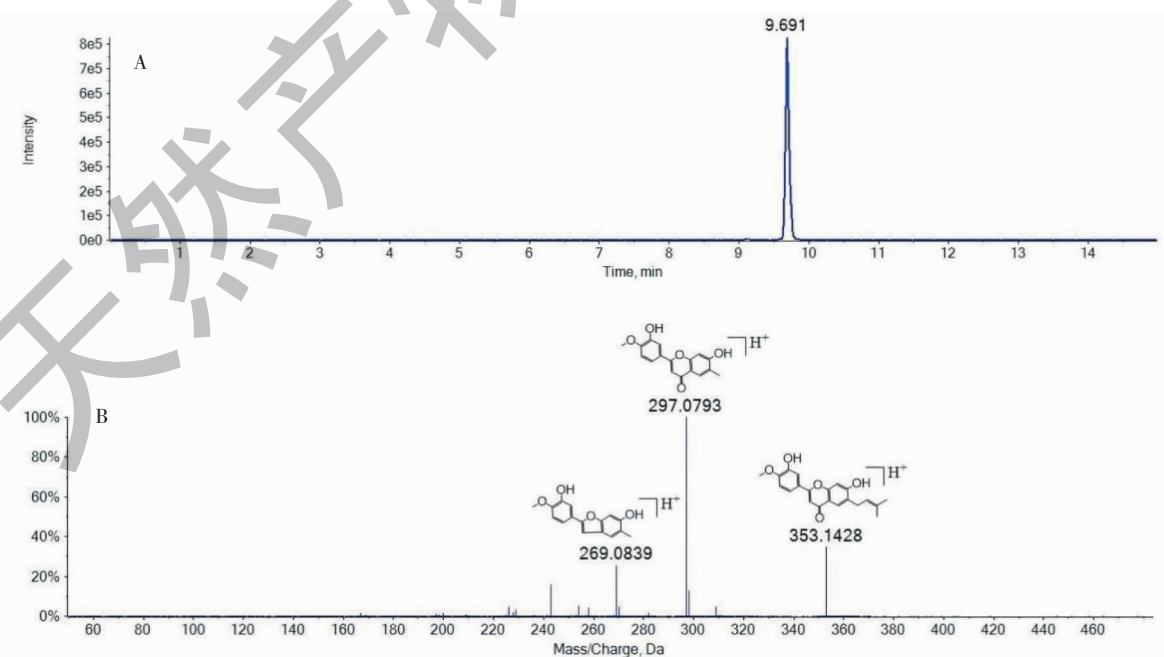


图8 化合物 X14 的提取离子图(A)及二级碎片裂解规律图(B)

Fig. 8 Compound X14 extracted ion diagram (A) and second fragment fragmentation diagram (B)

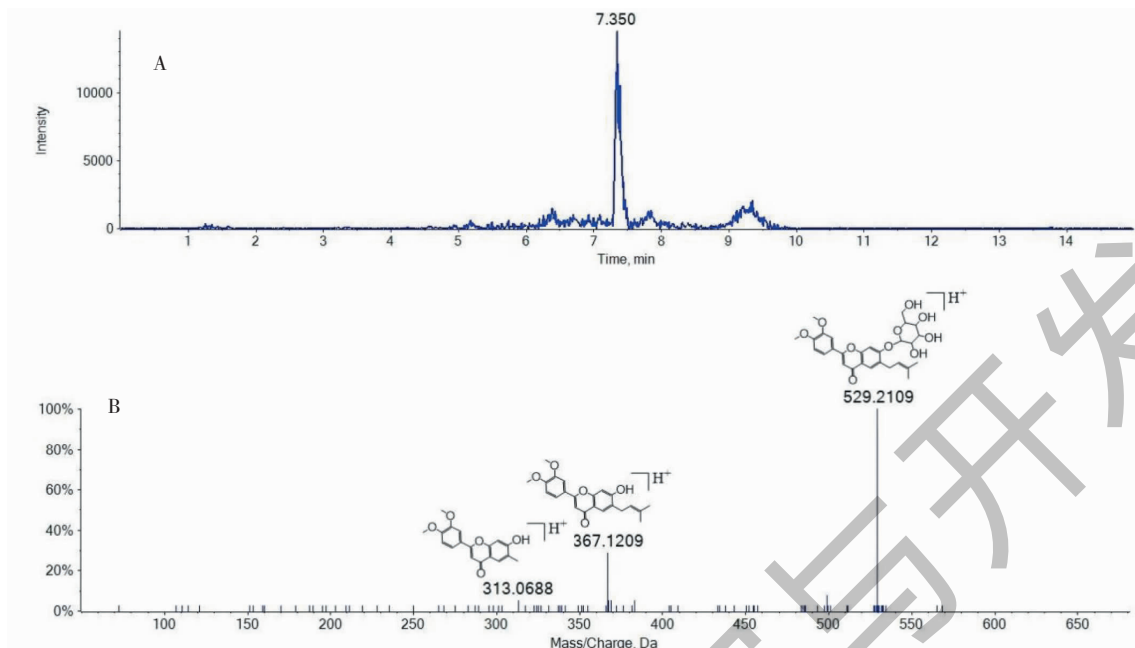


图9 化合物 X17 的提取离子图(A)及二级碎片裂解规律图(B)

Fig. 9 Compound X17 extracted ion diagram (A) and second fragment fragmentation diagram (B)

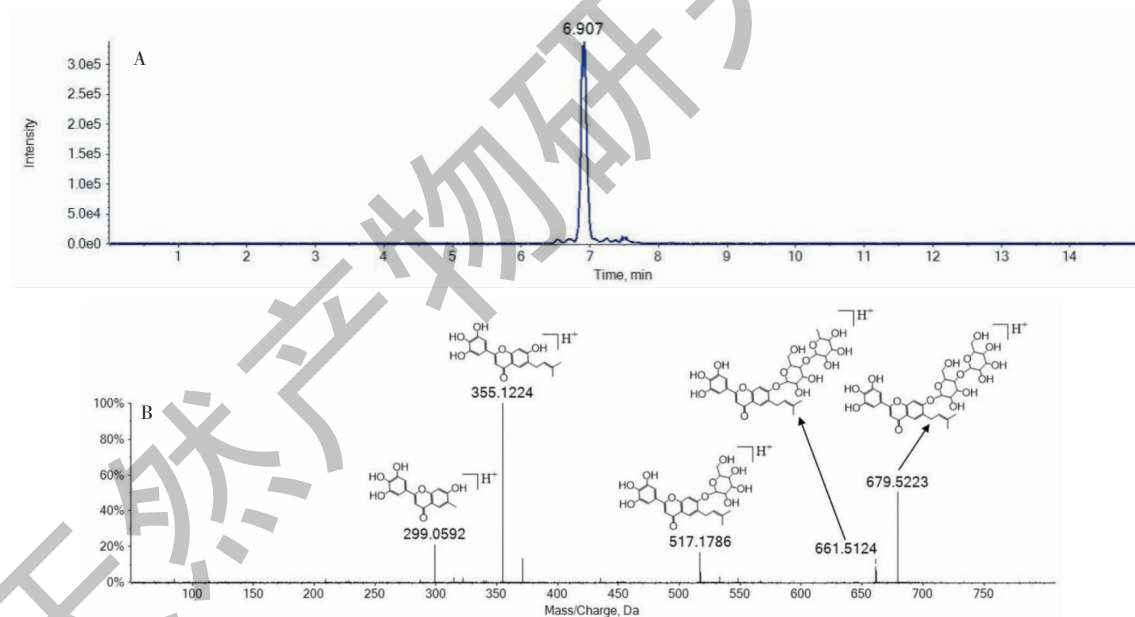


图10 化合物 X18 的提取离子图(A)及二级碎片裂解规律图(B)

Fig. 10 Compound X18 extracted ion diagram (A) and second fragment fragmentation diagram (B)

化合物 X14 的母离子 m/z 为 353.1428, 由 PeakView 软件的 Mass Calculators、Formula Finder 等功能推测该化合物结构中可能含有异戊烯基和羰基, 将该化合物结构信息代入 SciFinder、Reaxys 等在线数据库进行检索, 未匹配到与 X14 相一致的化学结构, 鉴定其为淫羊藿的新化合物。提取离子图和二级碎片裂解规律图见图 8。

化合物 X17 的母离子 m/z 为 529.2109, 由 PeakView 软件的 Mass Calculators、Formula Finder 等功能推测该化合物结构中可能含有葡萄糖苷和异戊烯基, 将该化合物结构信息代入 SciFinder、Reaxys 等在线数据库进行检索, 未匹配到与 X17 相一致的化学结构, 鉴定其为淫羊藿的新化合物。提取离子图和二级碎片裂解规律图见图 9。

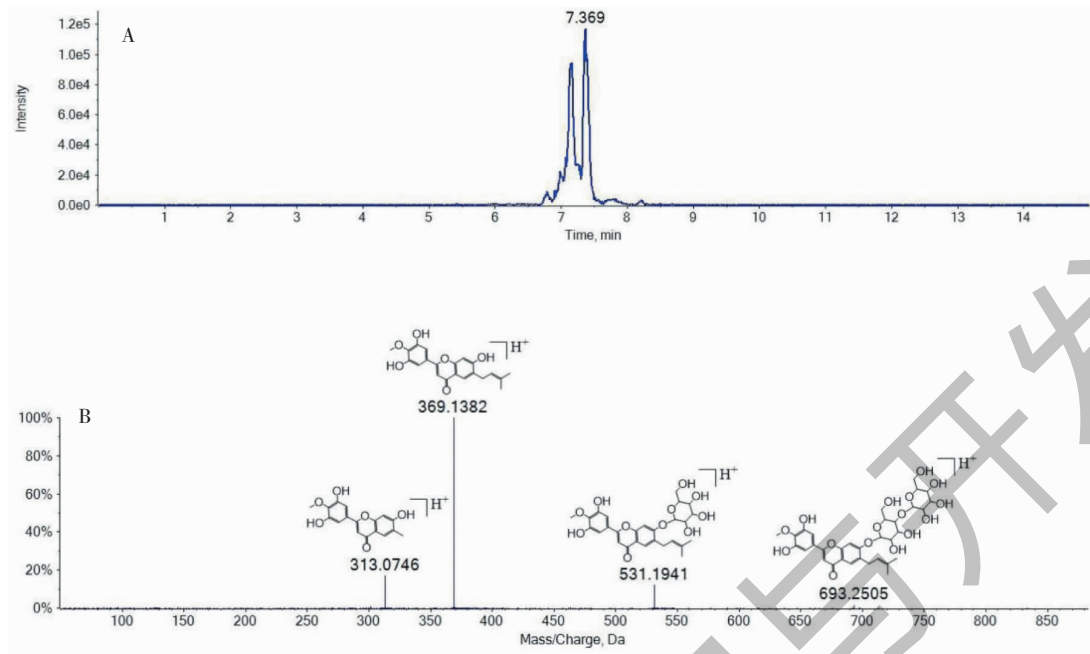


图 11 化合物 X19 的提取离子图 (A) 及二级碎片裂解规律图 (B)

Fig. 11 Compound X19 extracted ion diagram (A) and second fragment fragmentation diagram (B)

化合物 X18 的母离子 m/z 为 679.5223, 由 PeakView 软件的 Mass Calculators、Formula Finder 等功能推测该化合物结构中可能含有羟基、葡萄糖苷和异戊烯基, 将该化合物结构信息代入 SciFinder、Reaxys 等在线数据库进行检索, 未匹配到与 X18 相一致的化学结构, 鉴定其为淫羊藿的新化合物。提取离子图和二级碎片裂解规律图见图 10。

化合物 X19 的母离子 m/z 为 693.2505, 由 PeakView 软件的 Mass Calculators、Formula Finder 等功能推测该化合物结构中可能含有葡萄糖苷和异戊烯基, 将该化合物结构信息代入 SciFinder、Reaxys 等在线数据库进行检索, 未匹配到与 X19 相一致的化学结构, 鉴定其为淫羊藿的新化合物。提取离子图和二级碎片裂解规律图见图 11。

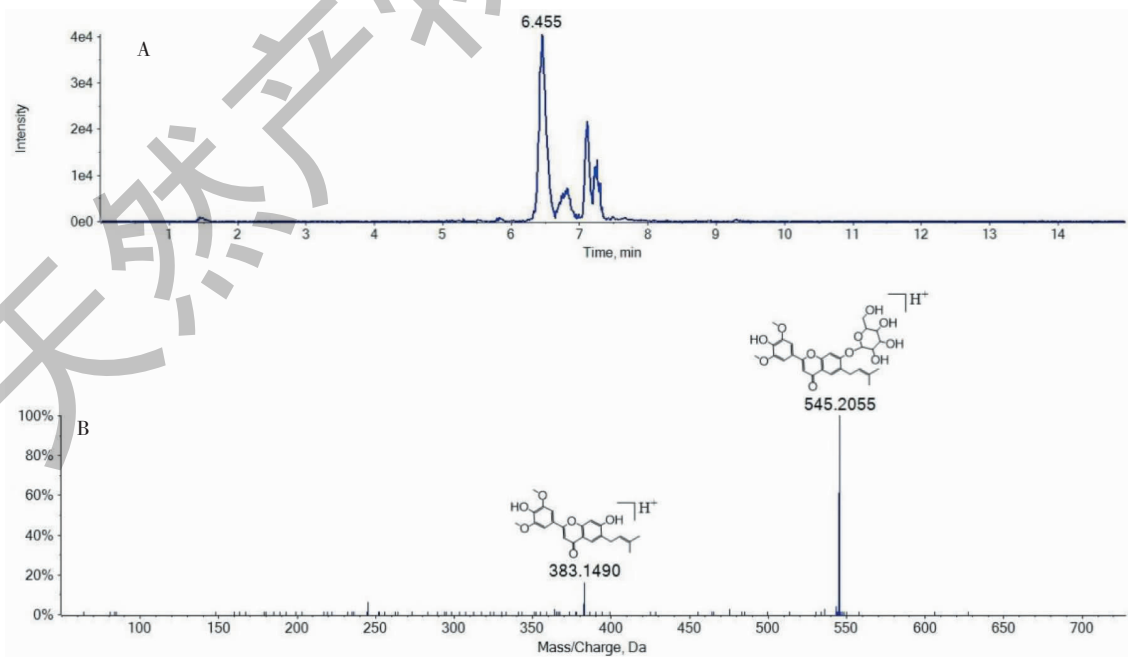


图 12 化合物 X21 的提取离子图 (A) 及二级碎片裂解规律图 (B)

Fig. 12 Compound X21 extracted ion diagram (A) and second fragment fragmentation diagram (B)

化合物 **X21** 的母离子 m/z 为 545.205 5, 由 PeakView 软件的 Mass Calculators、Formula Finder 等功能推测该化合物结构中可能含有葡萄糖苷, 将该化合物结构信息代入 SciFinder、Reaxys 等在线数据库进行检索, 未匹配到与 **X21** 相一致的化学结构, 鉴定其为淫羊藿的新化合物。提取离子图和二级碎片裂解规律图见图 12。

化合物 **X22** 的母离子 m/z 为 707.265 7, 由 PeakView 软件的 Mass Calculators、Formula Finder 等功能推测该化合物结构中可能含有葡萄糖苷和异戊烯基, 将该化合物结构信息代入 SciFinder、Reaxys 等在线数据库进行检索, 未匹配到与 **X22** 相一致的化学结构, 鉴定其为淫羊藿的新化合物。提取离子图和二级碎片裂解规律图见图 13。

4 讨论

淫羊藿是我国一味重要的中药材, 其功效确切, 临床应用广泛。迄今对淫羊藿的药效黄酮已有了较

为深入研究; 据笔者统计, 淫羊藿中含异戊烯基黄酮醇类成分有 60 余个, 而黄酮仅 20 余个。在黄酮醇母核的 C-7、C-3、C-4' 位羟基主要发生葡萄糖苷化、鼠李糖苷化以及甲基化反应; 由于黄酮与黄酮醇结构类似, 推测在同一种植物中相同酶的催化作用下可能会发生相同或相似的生化反应。据此本研究参考黄酮醇次生代谢规律, 推导出以巫藿苷为特征产物的生源合成途径, 结合 Q-TOF、PeakView 软件对推导结果进行分析验证; 从该途径中共鉴定出了 12 个新化合物, 进一步补充明确了淫羊藿的药效物质基础。淫羊藿药用品种混乱 (商用就达 15 个种), 不同品种间质量变化差异大, 难以得到有效保障; 但如果能够掌握淫羊藿黄酮次生产物代谢途径的分子机制, 就可以借助转基因技术来调节基因的表达和酶的合成, 提高目标产物的含量, 最终改善药材的品质和质量; 该实验结果也为阐明淫羊藿有效黄酮的生物合成途径, 揭示淫羊藿品质形成的分子机制提供科学依据。

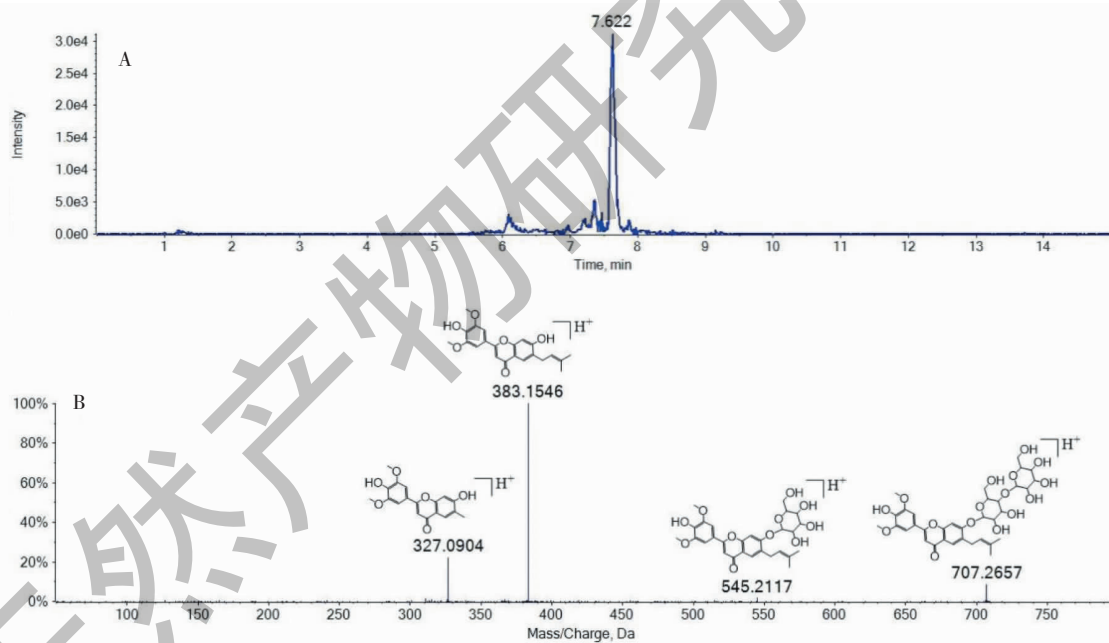


图 13 化合物 **X22** 的提取离子图 (A) 及二级碎片裂解规律图 (B)

Fig. 13 Compound **X22** extracted ion diagram (A) and second fragment fragmentation diagram (B)

参考文献

- 1 Wang YZ, Jiang DC, Rong LS, et al. Comparative analysis of flavonoids in *Epimedium koreanum* from northeast China [J]. J Pharm Anal (药物分析杂志), 2019, 39: 2034-2040.
- 2 Qin WH, Yang Y, Liu X, et al. Correlations between quality and species, altitude, taxa of *Epimedium* plants by UPLC-MS/MS [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发),

2017, 29: 278-283.

- 3 Luo L, Yuan ZY, Huang HY, et al. Advances in the chemical constituents and pharmacological studies of *Epimedium* [J]. Asia-Pac Tradit Med (亚太传统医药), 2019, 15: 190-194.
- 4 Shen J, Wang Q, Xiong WJ, et al. Content determination of 6 flavonoids in *Epimedium brevicornu* from Shenqiyanshen granules based on HPLC-QAMS [J]. Chin Pharm (中国药房), 2019, 30: 2327-2331. (下转第 1575 页)