UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析凉粉草多酚组分的化学成分

黄家晋[1],黄智霖[2],陈鸿庚[2],刘　坤[2],王立抗[2],郅　慧[3],丁利君[1],郑俊霞[2]*

[1]广东工业大学轻工化工学院;[2]广东工业大学生物医药学院;[3]广州中医药大学中药学院,广州 510006

摘　要:岭南特色药材凉粉草(*Mesona chinensis* Benth.)具有很好的消暑、清热、解毒等功能,被称为"仙草"。本研究采用超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS/MS),选用 Waters Acquity UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm);流动相为 0.1% 甲酸乙腈溶液(A)-0.1% 甲酸水溶液(B),梯度洗脱;电喷雾离子源(ESI),负离子监测。共鉴定出 51 个化合物,包括 40 个酚类、3 个萜类和 8 个其它化合物,其中 1 个苯丙酸、1 个苯丙酸二聚体、1 个苯丙酸三聚体、3 个黄酮和 3 个萜类首次在凉粉草植物中被发现。

关键词:凉粉草;多酚;UPLC-Q-TOF-MS/MS

中图分类号:284.1;284.2　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1001-6880(2021)5-0758-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.5.006

Analysis of polyphenols from *Mesona chinensis* by UPLC-Q-TOF-MS/MS

HUANG Jia-jin[1],HUANG Zhi-lin[2],CHEN Hong-geng[2],
LIU Kun[2],WANG Li-kang[2],ZHI Hui[3],DING Li-jun[1],ZHENG Jun-xia[2]*

[1]*School of Chemical Engineering and Light Industry*;
[2]*School of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*,*Guangdong University of Technology*;
[3]*School of Pharmaceutical Science*,*Guangzhou University of Chinese Medicine*,*Guangzhou 510006*,*China*

Abstract:*Meisona chinensis* Benth.,a characteristic herb of south of China,is known as "Immortal herb" because of its excellent functions of heat elimination,heat clearing,detoxification and so on. Ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass/mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) was selected for the study. A BEH C_{18} column (2.1 mm × 100 mm,1.7 μm) was used with the mobile phase of eluent (A) MeCN containing 0.1% formic acid and eluent B 0.1% formic acid in water. Q-TOF-MS and electrospray ion (ESI) source were applied for the analysis under the negative ions. Fifty-one compounds were identified including 40 polyphenols,3 terpenoids,and 8 other compounds,whereas 1 phenylpropionic acids,1 lignan dimers,2 lignan trimmers,3 flavonoids and 3 terpenoids were firstly identified in *Meisona chinensis* Benth.

Key words:*Mesona chinensis* Benth.;polyphenols;UPLC-Q-TOF-MS/MS

凉粉草(*Mesona chinensis* Benth.),是唇形科凉粉草属草本植物,分布在印度东北部,东南亚和中国台湾、福建、广东、广西和云南。凉粉草作为一种中药材,被誉为"仙草",具有收敛、甘甜、清寒、清热、凉血、解毒的功效[1],并且已经被开发为食品、天然保健品甚至是临床药品。现有研究证明,它的根、茎、叶及花各个组织含有大量的生物活性物质,包括多糖、黄酮、萜类、维生素和酚类[2],具有很高的营养和医药保健价值。

酚类化合物对植物的生长起着重要的作用,对人体的各个器官也有十分强的保护作用。据报道,有学者通过研究发现凉粉草含有降血糖和高血压物质,包括 β-谷甾醇、豆甾醇、α-和 β-淀粉蛋白、齐墩果酸、马兜铃酸和 β-谷甾醇糖苷[3]。同时,也有学者从凉粉草的水提液中鉴定出山奈酚、芹菜素、咖啡酸、原儿茶酸、丁香酸、香草酸、对羟基苯甲酸、齐墩果酸和熊果酸九种活性化合物[4],其中咖啡酸、原儿茶酸、山奈酚等被认为是凉粉草抗氧化活性的重要组成部分,包括降低 LDL 氧化和炎症,从而提供预防心血管疾病的保护。

超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术,具有灵敏度高、分辨率

收稿日期:2020-11-23　　接受日期:2021-03-17
基金项目:国家自然科学基金面上项目(82073977);国家自然科学基金面上项目(81773593)
*通信作者 E-mail:junxiazheng@gdut.edu.cn

高、分离效率高、分析时间短等优点[5],同时还能得到化合物的分子量、元素组成以及离子碎片等信息,可快速确定化合物的结构,在药物分析领域得到越来越广泛的应用。目前尚不完全了解凉粉草多酚的成分,本实验采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对凉粉草中的化学成分进行快速、全面地定性分析,为凉粉草酚类化学成分的研究提供重要参考。

1　材料、试剂与仪器

1.1　材料

凉粉草样品于 2019 年 6 月采自福建省龙岩市,经暨南大学张英副教授鉴定为凉粉草(*Mesona chinensis* Benth.)。

1.2　主要试剂

乙腈(色谱纯)购自美国 Sigma 公司、甲酸(色谱纯)购自美国 Sigma 公司、甲醇(色谱纯)瑞典 Oceanpak 公司;单体对照品:caffeic acid、quercetin-3-*O*-rutinoside、isoquercetin、quercetin 和 kaempferol 国药集团化学试剂有限公司(纯度≥98.0%);AB-8 大孔树脂购自东鸿化工有限公司;纯水为 Milli-Q 系统纯化水。其他试剂均为分析纯。

1.3　仪器

超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱联用仪(Nexera UHPLC LC-30A + AB SCIEX Triple TOF™ 5600 +);PHS-3B 雷磁 pH 计(上海精密科学仪器有限公司);ML-104 电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司);Milli-Q Advantage A10 纯水系统;普通层析柱(40 mm × 60 cm)。

2　方法

2.1　凉粉草多酚提取

将凉粉草全草进行清洗后,在阴凉通风处风干,切碎,干燥保存。准确称重凉粉草 60 g,用 1.5 L 去离子水在微沸状态下提取3次,每次2 h[6]。参照 Li 等[7]和 Bai 等[8]纯化方法,略有改动,采用 AB-8 大孔树脂进行纯化,按质量比 1/40(样品/填料)进行上样,先用去离子水洗至洗脱液无多糖和蛋白质等杂质,再用 75% 乙醇进行多酚化合物的洗脱,将洗脱液富集、浓缩和冷冻干燥得多酚提取物。

2.2　供试品和对照品溶液的制备

将凉粉草多酚提取物和对照品用甲醇充分溶解,稀释至 50 μg/mL,过 0.22 μm 有机微孔滤膜即得,供 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析。

2.3　UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析条件

2.3.1　色谱条件

色谱柱为 Waters Acquity UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm × 100 mm,1.7 μm),流速为 0.3 mL/min。柱温为 40 ℃,进样量为 3 μL。洗脱液为 A,0.1% 的甲酸乙腈溶液和 B,0.1% 的甲酸水溶液。梯度洗脱条件:0.01 ~ 1 min,5% → 10% A;1 ~ 5 min,10% → 30% A;5 ~ 8 min,30% A;8 ~ 9 min,30% → 50% A;9 ~ 12 min,50% → 60% A;12 ~ 20 min,60% → 80% A;20 ~ 21 min,80% → 90% A;21 ~ 22 min,90% → 95% A[9]。

2.3.2　质谱条件

以负 ESI 模式运行,并配备 DuoSpray™ 离子源(AB Sciex,加利福尼亚州福斯特城)。MS-MS 检测器的条件如下:离子喷雾电压为-4.5 kV;离子源加热器,40 ℃;帘气,35 psi;雾化气体(GS1),55 psi;TIS 气体(GS2),55 psi;碰撞能量(CE),35 eV;碰撞能量扩散(CES),15 eV。质量范围设置为 *m/z* 100 ~ 2 000[9]。采用 Peak View 分析软件和 Scifinder 网

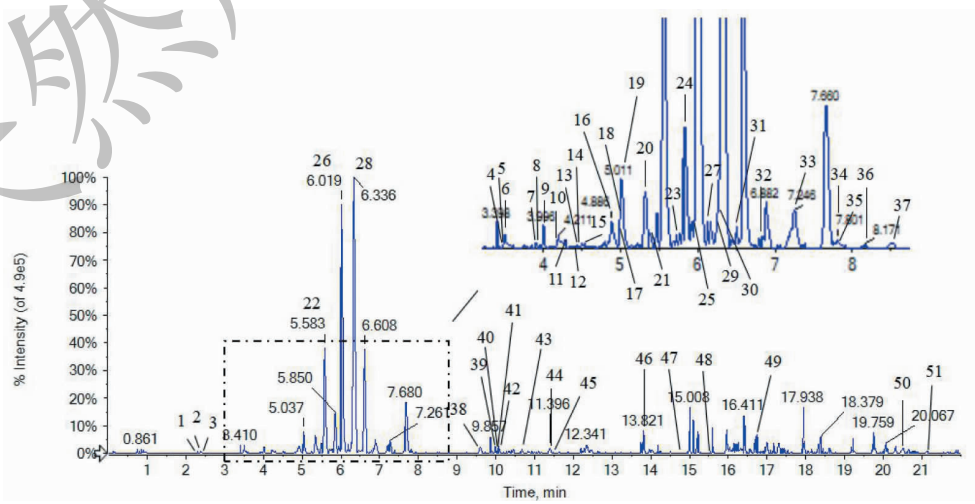

图 1　凉粉草多酚负离子模式下的总离子流图

Fig. 1　The total ion chromatograms of polyphenols from *M. chinensis* in negative ion modes

络数据库进行检索和分析。

3 结果与讨论

本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术测定凉粉草总酚提取物成分的保留时间、前体离子、MS/MS 产物离子。凉粉草多酚样品在负离子模式下的总离子电流色谱图如图 1 所示，共鉴定出 51 个化合物，包括 8 个苯丙酸、3 个苯丙酸二聚体、4 个苯丙酸三聚体、1 个苯丙酸四聚体、17 个黄酮类、7 个酚酸类、3 个萜类和 8 个其它化合物。相关化合物质谱信息和结构见表 1 和图 2。

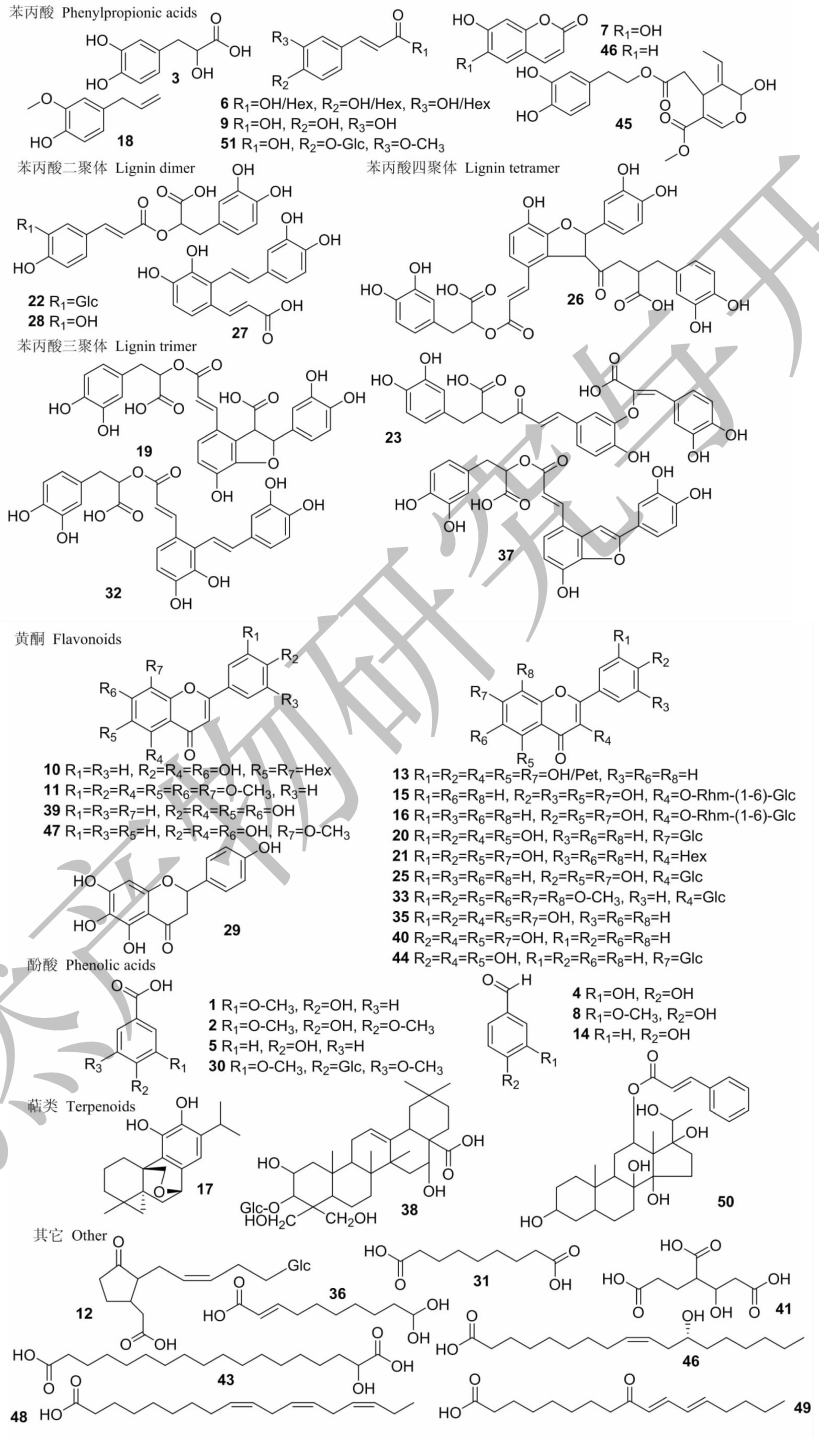

图 2 凉粉草多酚化合物的结构

Fig. 2 Structures of polyphenols from *M. chinensis*

表 1 凉粉草 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析结果

Table 1 UPLC-Q-TOF-MS/MS analysis results of *Meisona chinensis*

序号 No.	类别 Classify	出峰时间 $t_{R(min)}$	$[M-H]^-$ 观测值 Observed $[M-H]^-$ (m/z)	分子式 Formula	碎片离子 Fragment ions (MS/MS)	化合物 Compound	参考文献 Ref.
3	苯丙酸	2.39	197.045 8	$C_9H_{10}O_5$	197.807 9、179.037 4、151.040 5、135.045 9、123.046 8、107.911 2	丹参素 Danshensu	10
6		3.48	341.087 1	$C_{15}H_{18}O_9$	341.087 2、281.069 7、251.057 8、221.053 3、179.034 5、135.045 2、134.036 4	咖啡酰己糖苷 Caffeoyl hexoside[FI]	11
7		3.90	177.019 4	$C_9H_6O_4$	177.019 4、160.843 2、149.023 5、133.031 1、121.029 8、109.029 5、105.035 6	6,7-二羟基香豆素 6,7-Dihydroxycoumarin	11
9		3.99	179.035 5	$C_9H_8O_4$	179.034 3、161.033 3、136.047 8、135.044 9、134.036 8、117.034 1、107.050 1	咖啡酸 Caffeic acid	对照品
18		4.93	163.040 5	$C_{10}H_{12}O_2$	162.839 0、145.889 6、119.050 3、117.034 7、104.028 7	丁香酚 Eugenol	12
42		10.07	161.024 5	$C_9H_6O_3$	161.024 9、143.899 4、133.029 3、132.040 3、124.890 9、116.930 0、105.012 4	7-羟基香豆素 Umbelliferone	13
45		11.49	377.172 6	$C_{19}H_{22}O_8$	377.097 3、341.197 2、284.883 2、174.956 7	Oleoeuropein aglycone	14
51		21.21	369.242 0	$C_{16}H_{18}O_{10}$	337.215 6、311.167 2、193.122 0、163.112 0、161.096 3	阿魏酸葡萄糖苷 Ferulic acid-4-*O*-glucuronide	15
22	苯丙酸二聚体	5.53	521.128 9	$C_{24}H_{26}O_{13}$	521.130 5、359.077 0、197.045 5、161.025 1、135.045 2	异迷迭香酸苷 Rosmarinic acid-3-*O*-glucoside	15
27		6.16	313.071 4	$C_{17}H_{14}O_6$	314.094 7、239.948 4、174.9559、151.040 2、121.035 8	丹酚酸 F Salvianolic acid F[FI]	16
28		6.27	359.076 3	$C_{18}H_{16}O_8$	359.203 8、359.076 0、197.044 5、161.023 9、135.044 6	迷迭香酸 Rosmarinic acid	15
19	苯丙酸三聚体	5.00	537.102 6	$C_{27}H_{22}O_{12}$	537.104 1、357.060 8、339.049 7、313.071 3、295.060 1、229.012 2	紫草酸 Lithospermic acid	17
23		5.71	537.102 2	$C_{27}H_{22}O_{12}$	469.833 2、339.049 6、295.060 0、185.022 0	丹酚酸 H Salvianolic acid H[FI]	18
32		6.75	493.111 4	$C_{26}H_{22}O_{10}$	493.111 9、447.097 5、313.074 7、295.058 9、135.241 5	丹酚酸 A Salvianolic acid A	19
37		8.52	491.096 4	$C_{26}H_{20}O_{10}$	491.174 2、311.054 3、293.044 0、265.049 5、179.032 7、135.045 6	丹酚酸 C Salvianolic acid C	11
26	苯丙酸四聚体	5.92	717.145 3	$C_{36}H_{30}O_{16}$	673.159 1、537.104 2、519.093 0、493.112 3、383.071 8、339.049 5、321.039 4、295.059 7、179.032 0	丹酚酸 B Salvianolic acid B	17
10	黄酮	4.18	593.150 2	$C_{27}H_{30}O_{15}$	503.116 5、473.107 8、353.065 2、297.078 8	Apigenin-6,8-*di*-*C*-hexoside[FI]	20
11		4.24	401.239 1	$C_{21}H_{22}O_8$	365.000 0、343.000 0、295.000 0、269.000 0、203.000 0、109.000 0	川陈皮素 Nobiletin[FI]	21
13		4.37	433.207 1	$C_{20}H_{18}O_{11}$	387.197 5、295.905 2、235.920 9、189.127 0	槲皮素戊聚糖 Quercetin-pentoside	13
15		4.51	609.146 0	$C_{27}H_{30}O_{16}$	463.090 8、446.085 9、299.016 9	芦丁 Quercetin-3-*O*-rutinoside	对照品
16		4.88	593.149 5	$C_{27}H_{30}O_{15}$	593.208 4、447.093 6、327.047 2、285.039 5、284.031 6	Aromadendrin-3-*O*-rutinoside	12
20		5.32	463.086 9	$C_{21}H_{20}O_{12}$	463.086 4、301.033 7、300.026 1、271.023 6、255.028 7、151.002 3	槲皮黄苷 Quercimeritrin	22
21		5.34	463.087 5	$C_{21}H_{20}O_{12}$	463.087 6、301.034 6、300.026 6、271.023 7、255.028 1	Quercetin-3-*O*-hexoside	23
24		5.83	447.092 0	$C_{21}H_{20}O_{11}$	285.038 3、284.031 2、255.028 2、227.033 7、151.002 3	Isomer of kaempferol-3-*O*-glucoside	24

续表 1(Continued Tab. 1)

序号 No.	类别 Classify	出峰时间 $t_{R(min)}$	[M-H]⁻ 观测值 Observed [M-H]⁻ (m/z)	分子式 Formula	碎片离子 Fragment ions (MS/MS)	化合物 Compound	参考文献 Ref.
25		5.85	447.092 2	$C_{21}H_{20}O_{11}$	285.039 9、284.031 9、255.029 5、227.034 0	紫云英苷 Astragalin	24
29		6.27	287.149 7	$C_{15}H_{12}O_6$	287.147 1、269.141 1、259.061 0、227.129 1、209.117 7、125.021 1	红花素 Carthamidin	25
33		7.25	579.315 6	$C_{27}H_{31}O_{14}$	533.312 1、453.302 1、399.254 0、337.259 0	Nobiletin-3-*O*-*β*-*D*-glucoside[FI]	26
34		7.81	301.034 9	$C_{15}H_{10}O_7$	273.039 6、255.031 7、178.997 1、151.002 9、121.029 7	异槲皮素 Isoquercetin	对照品
35		7.83	301.034 9	$C_{15}H_{10}O_7$	301.976 3、255.227 5、178.997 4、151.005 1、179.027 9、121.028 7	槲皮素 Quercetin	对照品
39		9.97	285.040 0	$C_{15}H_{10}O_6$	285.039 7、257.045 6、239.033 8、229.049 4、211.040 5	野黄芩素 Scutellarein	27
40		9.99	285.040 2	$C_{15}H_{10}O_6$	285.039 4、239.03 34、229.049 8、211.038 9	山奈酚 Kaempferol	对照品
44		11.39	447.132 0	$C_{21}H_{20}O_{11}$	447.133 3、431.102 9、242.942 0、174.954 8、149.001 1	Kaempferol-7-*O*-glucoside	28
47		14.72	299.185 6	$C_{16}H_{12}O_6$	284.031 0、231.949 3、185.010 2、181.159 3、142.943 0	Isoscutellarein-8-methyl ether	27
1	酚酸	2.32	167.035 4	$C_8H_8O_4$	167.035 1、149.025 9、137.025 7、123.045 6、121.030 1、109.030 5、108.022 5	香草酸 Vanillic acid	29
2		2.39	197.045 8	$C_9H_{10}O_5$	197.807 6、153.900 7、135.047 1、123.046 2	丁香酸 Syringic acid	30
4		3.41	137.025 1	$C_7H_6O_3$	137.455 4、137.026 4、136.018 0、124.019 7、119.016 6、109.029 8、108.023 4	原儿茶醛 Protocatechuic aldehyde	22
5		3.42	138.031 7	$C_7H_6O_3$	137.026 0、119.014 8、109.031 7、108.022 7	对苯酚甲酸 4-Hydroxybenzoic acid	31
8		3.98	151.040 5	$C_8H_8O_3$	151.039 6、121.004 2、109.030 0、108.021 9、107.062 1	香草醛 Vanillin	21
14		4.37	121.030 1	$C_7H_6O_2$	121.028 7、108.021 9	对羟基苯甲醛 *p*-Hydroxybenzaldehyde	21
30		6.29	359.076 4	$C_{15}H_{20}O_{10}$	359.076 9、197.045 1、179.096 3、161.024 2、137.032 5、133.029 9	丁香酸葡萄糖苷 Syringic acid glucoside	15
17	萜类	4.89	315.050 3	$C_{20}H_{28}O_3$	315.055 5、261.838 6、254.055 0、181.065 9、153.071 0、127.057 3	20-去氧鼠尾草酚 20-Deoxocarnosol[FI]	16
38		9.59	695.400 0	$C_{37}H_{60}O_{12}$	649.395 8、487.341 6、384.885 3、346.905 4	3-*O*-*D*-glucopyranosyl platycodigenin methyl ester[FI]	32
50		20.44	513.308 9	$C_{30}H_{42}O_7$	511.665 8、445.112 2、377.865 9、319.823 9、235.969 4、164.930 4	Marstenacigenin A[FI]	32
12	其它	4.28	387.164 9	$C_{18}H_{28}O_9$	387.164 9、341.107 2、207.102 9、163.109 7、113.024 2	Tuberonic acid glucoside	23
31		6.40	187.097 8	$C_9H_{16}O_4$	187.100 1、169.088 7、142.942 2、125.098 2、124.705 0、123.081 2	壬二酸 Azelaic acid	26
36		8.16	201.113 3	$C_{10}H_{18}O_4$	201.113 0、183.100 7、164.834 1、147.893 3、140.116 2、139.112 7、137.097 4	(*E*)-10, 10-Dihydroxy-2-decenoic acid	33
41		10.07	205.050 9	$C_7H_{10}O_7$	205.049 6、177.054 3、161.023 6、135.044 1、125.872 5、105.033 3	Homoisocitric acid	34
43		10.66	329.232 5	$C_{18}H_{34}O_5$	330.238 8、293.210 4、229.144 9、211.132 8、171.102 2、139.110 5	Hydroxy octadecanedioic acid	35
46		13.86	297.152 5	$C_{18}H_{34}O_3$	239.074 9、225.057 7、184.015 0、183.011 5、170.006 1、119.050 6	蓖麻油酸 Ricinoleic acid	32

续表 1(Continued Tab. 1)

序号 No.	类别 Classify	出峰时间 $t_{R(min)}$	[M-H]⁻ 观测值 Observed [M-H]⁻ (m/z)	分子式 Formula	碎片离子 Fragment ions (MS/MS)	化合物 Compound	参考文献 Ref.
48		15.56	277.143 8	$C_{18}H_{30}O_2$	277.143 8、233.153 5、208.939 1、181.896 0、147.007 3、134.038 0、127.111 8	α-亚麻酸 α-Linolenic acid	36
49		16.78	293.178 6	$C_{18}H_{30}O_3$	293.178 4、221.157 9、182.2146	(E, E)-9-Oxooctadeca-10, 12-dienoic acid	26

注:FI:首次在凉粉草植物中发现。Note:FI:Firstly identified in *M. chinensis*.

3.1　苯丙酸

在凉粉草多酚样品中,化合物 **3**、**6**、**7**、**9**、**18**、**42**、**45** 和 **51** 属于苯丙酸类化合物,分别是丹参素[10]、咖啡酰己糖苷[11]、6,7-二羟基香豆素[11]、咖啡酸、丁香酚[12]、7-羟基香豆素[13]、oleoeuropein aglycone[14] 和阿魏酸葡萄糖苷[15]。以咖啡酸和咖啡酰己糖苷为例,二者质谱裂解途径见图 3。咖啡酰己糖苷母离子[M-H]⁻为 *m/z* 341.087 1,再失去一个己糖得到碎片 *m/z* 179.034 3,这是咖啡酸的母离子。咖啡酸进一步裂解,丢失一个羟基得到 *m/z* 161.033 3,*m/z* 135.044 9 则是裂解一个羧基后得到的离子碎片[11]。

3.2　苯丙酸二聚体

以异迷迭香酸苷[15]和迷迭香酸[15]为苯丙酸二聚体的裂解例子,裂解情况见图 4,异迷迭香酸苷在二级离子碎片中存在 *m/z* 179.034 3,表现为异迷迭香酸苷脱去一个己糖,得到迷迭香酸(*m/z* 359.077 0)。迷迭香酸进一步裂解,得到离子峰为 *m/z* 197.045 5 的丹参素碎片和 *m/z* 161.023 9 的碎片,再丢失一个羰基得到离子碎片 *m/z* 135.044 6[15]。同时,化合物 **27** 初步鉴定为丹酚酸 F[16]。

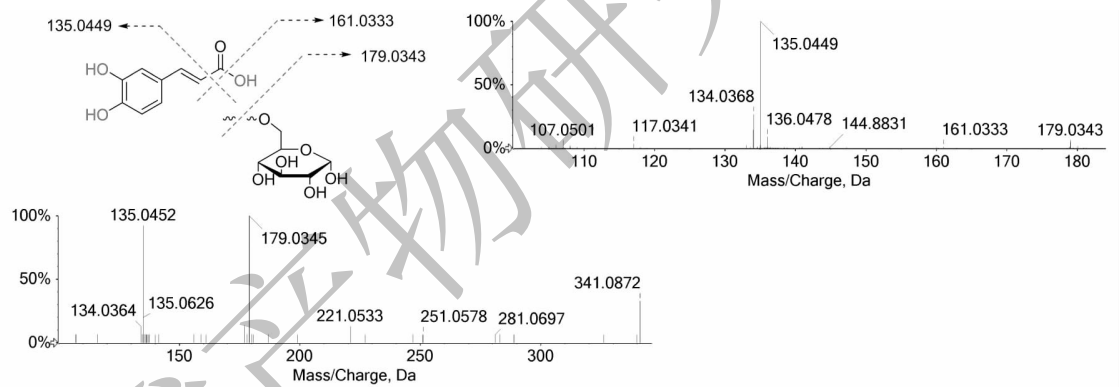

图 3　咖啡酸和咖啡酰己糖苷的质谱裂解途径图

Fig. 3　Fragmentation pathways of caffeic acid and caffeoyl hexoside

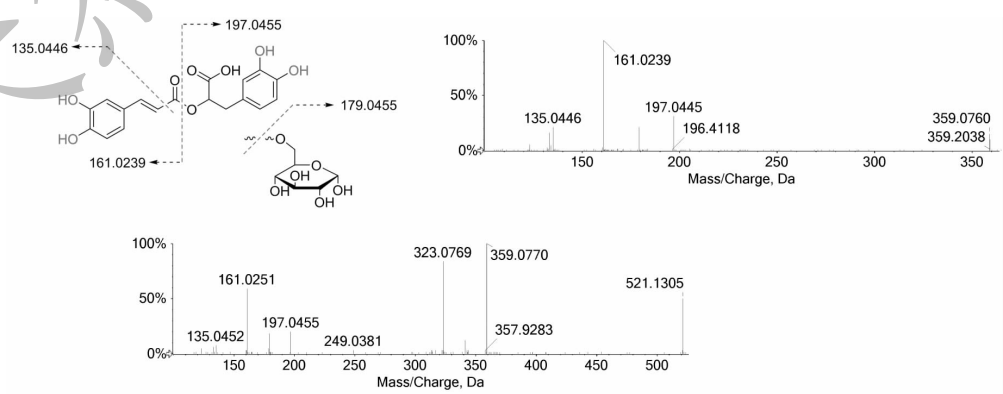

图 4　迷迭香酸己糖苷和迷迭香酸的质谱裂解途径图

Fig. 4　Fragmentation pathways of rosmarinic acid-*O*-hexoside and rosmarinic acid

3.3 苯丙酸三聚体

4 个三聚体在凉粉草多酚样品中被鉴定,分别是紫草酸[17]、丹酚酸 H[18]、丹酚酸 A[19] 和丹酚酸 C[11]。丹酚酸 C 的裂解规律如图 5,[M-H]⁻为 *m/z* 491.174 2,类似迷迭香酸,在丹参素分子处发生裂解得到 *m/z* 179.032 7 和 311.054 3,进一步裂解羧基得到 *m/z* 135.045 6 和 179.032 7。同时,因碰撞碎裂产生的子离子还有 *m/z* 293.044 0 和 265.049 5[11]。

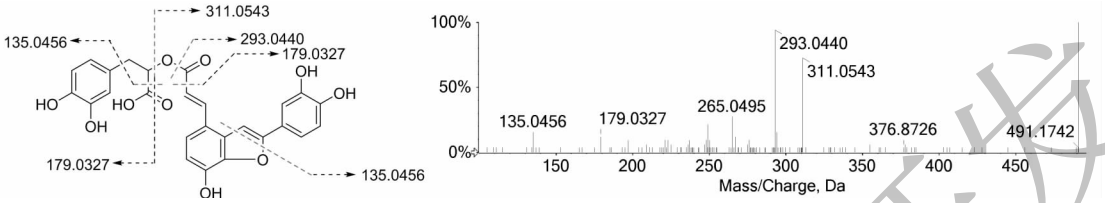

图 5 丹酚酸 C 的质谱裂解途径图

Fig. 5 Fragmentation pathways of salvianolic acid C

3.4 苯丙酸四聚体

化合物 **26** 的母离子[M-H]⁻为 *m/z* 717.145 3,分子式 $C_{36}H_{30}O_{16}$,MS/MS 离子产物有 *m/z* 519.093 0、339.049 5、321.039 4 和 179.032 0 等,初步鉴定为丹酚酸 B[17],质谱裂解途径见图 6。

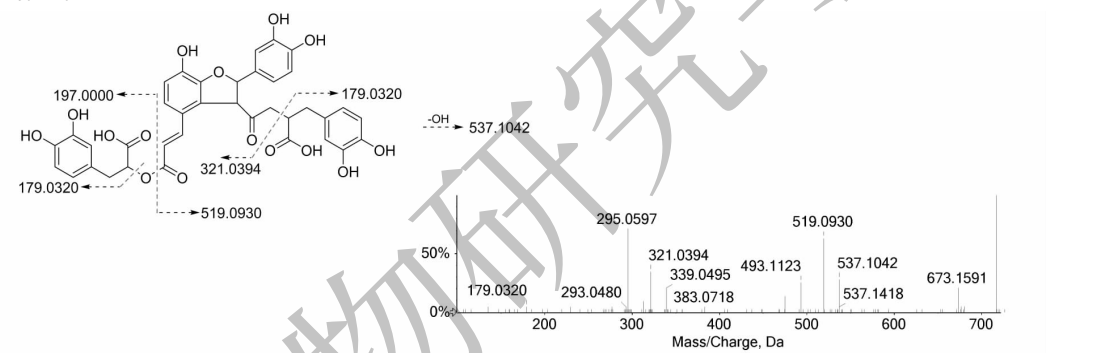

图 6 丹酚酸 B 的质谱裂解途径图

Fig. 6 Fragmentation pathways of salvianolic acid C

3.5 黄酮

一共有 4 个黄酮类化合物被鉴定。化合物 **10** 通过二级离子碎片 *m/z* 503.116 5、473.107 8 和 297.078 8,初步鉴定为 apigenin-6, 8-di-*C*-hexoside[20]。化合物 **11**、**39** 和 **47** 分别被鉴定为 nobiletin、scutellarein 和 isoscutellarein-8-methyl ether。

12 个黄酮醇类化合物在凉粉草多酚中被鉴定。化合物 **13**、**15**、**20**、**21**、**34** 和 **35** 都有槲皮素的二级特征离子 *m/z* 301,部分还有 *m/z* 295 或者 255,是槲皮素和它的衍生物,分别被鉴定为槲皮素戊聚糖[13]、芦丁、槲皮黄苷[22]、quercetin-3-*O*-hexoside[23]、异槲皮素和槲皮素。化合物 **16**、**24**、**25**、**40** 和 **44** 中,几乎都有 *m/z* 285、255 和 239 的特征离子,初步鉴定为 aromadendrin-3-*O*-rutinoside[12]、isomer of kaempferol-3-*O*-glucoside[24]、紫云英苷[24]、山奈酚和 kaempferol-7-*O*-glucoside[28]。化合物 **33** 的母离子[M-H]⁻为 *m/z* 579.315 6,母离子丢失一个葡萄糖得到 *m/z* 399.254 0,初步鉴定为 nobiletin-3-*O*-*β*-*D*-glucoside。

1 个二氢黄酮类被鉴定。化合物 **29** 的母离子[M-H]⁻为 *m/z* 287.149 7,二级碎片 *m/z* 269.141 1、259.061 0、227.129 1 和 125.021 1,初步鉴定为红花素[25]。

3.6 酚酸类

一共有 7 个酚酸类化合物被鉴定。化合物 **1** 丢失一个羧基,生成一个特征离子 *m/z* 123.045 6,同时拥有特征离子 *m/z* 149.025 9、137.025 7、121.030 1 和 108.022 5,初步鉴定为香草酸[29]。化合物 **2** 的母离子[M-H]⁻为 *m/z* 197.045 8,分子式为 $C_9H_{10}O_5$,母离子丢失一个羧基得到 *m/z* 153.900 7,再失去一个甲氧基得到 *m/z* 123.046 2,初步鉴定为丁香酸[30]。化合物 **4** 和 **5** 都拥有的特征离子 *m/z* 119,是丢失一个羟基得到的离子,分别被鉴定为原儿茶

醛[22]和对苯酚甲酸[31]。化合物 **8** 分子式为 $C_8H_8O_3$,失去一个甲氧基得到离子 *m/z* 121.004 2,初步鉴定为香草醛[21]。化合物 **14** 被鉴定为对羟基苯甲醛[21]。母离子[M-H]$^-$为 *m/z* 359.076 4 的化合物 30,失去一个葡萄糖得到 *m/z* 197.045 1,再失去一个羧基得到 *m/z* 137.032 5,初步鉴定为丁香酸葡萄糖苷[15]。

3.7 萜类

化合物 **17**、**38** 和 **50** 分别被鉴定为 20-去氧鼠尾草酚[16]、3-*O*-*D*-glucopyranosyl platycodigenin methyl ester[32]和 marstenacigenin A[32],相关液质数据和结构式见表 1 和图 2。

3.8 其它

化合物 **12**、**31**、**36**、**41**、**43**、**46**、**48** 和 **49** 分别被鉴定为 tuberonic acid glucoside[23]、壬二酸[26]、(*E*)-10, 10-dihydroxy-2-decenoic acid[33]、homoisocitric acid[34]、hydroxy octadecanedioic acid[35]、蓖麻油酸[32]、α-亚麻酸[36]和(*E*,*E*)-9-oxooctadeca-10,12-dienoic acid[26],相关液质数据和结构式见表 1 和图 2。

4 结论

本研究建立了 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对凉粉草多酚组分进行分析的方法,通过分析质谱原始数据,包括:相对分子质量、保留时间、元素组成、碎片离子等信息,结合对照品、数据库和文献报道分析鉴定,鉴定并推测出 51 个化合物,证实了凉粉草多酚组分主要为黄酮类和苯丙酸及其多聚体组成,其中咖啡酰己糖苷、丹酚酸 F、丹酚酸 H、apigenin-6,8-*di*-*C*-hexoside、川陈皮素、nobiletin-3-*O*-β-*D*-glucoside、20-去氧鼠尾草酚、3-*O*-*D*-glucopyranosyl platycodigenin methyl ester、marstenacigenin A 尚未在凉粉草相关文献中被报道,本研究认为该 9 个化合物在凉粉草中首次被发现。研究结果为凉粉草药效物质基础研究及开发利用奠定基础,对进一步开发新药具有重要的指导意义。

参考文献

1 Flora of China Editorial of Committee of Chinese Academy of Sciences. Flora of China(中国植物志)[M]. Beijing: Science Press, 1995, 66: 547.

2 Shyu MH, Kao TC, Yen GC. Hsian-tsao(*Mesona procumbens* Heml.) prevents against rat liver fibrosis induced by CCl(4) via inhibition of hepatic stellate cells activation[J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46: 3707-3713.

3 Yen GC, Hung CY. Effects of alkaline and heat treatment on antioxidative activity and total phenolics of extracts from Hsian-tsao(*Mesona procumbens* Hemsl.)[J]. Food Res Int, 2000, 33: 487-492.

4 Huang HC, Chuang SH, Wu YC, et al. Hypolipidaemic function of Hsian-tsao tea(*Mesona procumbens* Hemsl.): working mechanisms and active components[J]. J Funct Food, 2016, 26: 217-227.

5 Yuan ZY, Luo LW, Chen NH, et al. Rapid analysis of chemical constituents of Lily Bulbil by UPLC-Q-TOF-MS and the antitumor activity of diosgenin[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31: 808-813.

6 Huang LY, Huang HY, Wang YY, et al. Total phenolic, flavonoid contents and antioxidant capacities of aqueous extract of 16 common edible flowers[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2017, 38(4): 353-356.

7 Li YC, Li BX, Lv YF, et al. Study on purification process of polyphenols from blueberry leaves with AB-8 macroporous resins[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2012, 33(20): 258-261.

8 Bai WM, Huang GS, Kong WB, et al. Adsorption separation of olive polyphenols from olive oil processing effluent by AB-8 macroporous resin[J]. China Oils Fats(中国油脂), 2015, 40(1): 74-77.

9 Zheng JX, Tian WY, Yang C, et al. Identification of flavonoids in *Plumula nelumbinis* and evaluation of their antioxidant properties from different habitats[J]. Ind Crop Prod, 2019, 127: 36-45.

10 Xin S, Jie Z, Xu W, et al. Rapid screening and quantitative determination of active components in Qing-Hua-Yu-Re-Formula using UHPLC-Q-TOF/MS and HPLC-UV[J]. J Anal Methods Chem, 2018, 2018: 8535127.

11 Contreras MDM, Algieri F, Rodriguez-Nogales A, et al. Phytochemical profiling of anti-inflammatory *Lavandula* extracts via RP-HPLC-DAD-QTOF-MS and -MS/MS: Assessment of their qualitative and quantitative differences[J]. Electrophoresis, 2017, 39: 9-10.

12 Pandey R, Chandra P, Srivastava M, et al. Simultaneous quantitative determination of multiple bioactive markers in *Ocimum* sanctumobtained from different locations and its marketed herbal formulations using UPLC-ESI-MS/MS combined with principal component analysis[J]. Phytochem Anal, 2015, 26: 383-394.

13 Zhuang B, Bi ZM, Wang YZ, et al. Chemical profiling and quantitation of bioactive compounds in Platycladi Cacumen by UPLC-Q-TOF-MS/MS and UPLC-DAD[J]. J Pharm Biomed Anal, 2018, 154: 207.

14 Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties[J]. Molecules, 2010, 15: 7313-7352.

15 Ren Q, Wang YL, Wang ML, et al. Screening and identification of the metabolites in rat urine and feces after oral administration of *Lycopus lucidus* Turcz extract by UHPLCQ-TOF-MS mass spectrometry[J]. J Chromatogr B, 2016, 1027: 64-73.

16 Yang ST, Wu X, Rui W, et al. UPLC/Q-TOF-MS analysis for identification of hydrophilic phenolics and lipophilic diterpenoids from Radix Salviae Miltiorrhizae[J]. Acta Chromatogr, 2015, 1(4): 1-18.

17 Chen Y, Zhang N, Ma J, et al. A Platelet/CMC coupled with offline UPLC-QTOF-MS/MS for screening antiplatelet activity components from aqueous extract of Danshen[J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 117: 178-183.

18 Chen XF, Lou ZY, Zhang H, et al. Identification of multiple components in Guanxinning injection using hydrophilic interaction liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry and reversed-phase liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2011, 25: 1661-1674.

19 Cai HD, Su SL, Li YH, et al. Danshen can interact with intestinal bacteria from normal and chronic renal failure rats[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 109: 1758-1771.

20 Tsamo AT, Ndibewu PP, Dakora FD. Phytochemical profile of seeds from 21 Bambara groundnut landraces via UPLC-qT-OF-MS[J]. Food Res Int, 2018, 112: 160-168.

21 Lin LZ, Yang QY, Zhao K, et al. Identification of the free phenolic profile of Adlay bran by UPLC-QTOF-MS/MS and inhibitory mechanisms of phenolic acids against xanthine oxidase[J]. Food Chem, 2018, 253: 108-118.

22 Wei FH, Chen MT, Luo CH, et al. Developing an Absorption-Based quality control method for Hu-Gan-Kang-Yuan capsules by UFLC-QTOF-MS/MS screening and HPLC-DAD quantitative determination [J]. Molecules, 2016, 21 (5): 592.

23 Zhang L, Xu L, Ye YH, et al. Phytochemical profiles and screening of α-glucosidase inhibitors of four *Acer* species leaves with ultra-filtration combined with UPLC-QTOF-MS/MS[J]. Ind Crop Prod, 2019, 129: 156-168.

24 Xu JY, Yu YL, Shi RY, et al. Organ-specific metabolic shifts of flavonoids in *Scutellaria baicalensis* at different growth and development stages[J]. Molecules, 2018, 23(2): 428.

25 Hong CC, Chang C, Zhang H, et al. Identification and characterization of polyphenols in different varieties of *Camellia oleifera* seed cakes by UPLC-QTOF-MS [J]. Food Res Int, 2019, 126: 108614.

26 Wang YR, Wang CZ, Li HQ, et al. Discovery of the potential biomarkers for discrimination between *Hedyotis diffusa* and *Hedyotis corymbosa* by UPLC-QTOF/MS metabolome analysis [J]. Molecules, 2018, 23(7): 1525.

27 Wong TL, An YQ, Yan BC, et al. Comprehensive quantitative analysis of Chinese patent drug YinHuang Drop Pill by ultra high-performance liquid chromatography quadrupole time of flight mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 125: 415-426.

28 Karar EGM, Kuhnert N. UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS characterization of phenolics from *Crataegus monogyna* and *Crataegus laevigata*(Hawthorn) leaves, fruits and their herbal derived drops (Crataegutt Tropfen) [J]. J Chem Biol Ther, 2016, 1: 102.

29 Kumar B, Pandey R. HPLC-QTOF-MS/MS-based rapid screening of phenolics and triterpenic acids in leaf extracts of *Ocimum* species and their interspecies variation[J]. J Liq Chromatogr Relat Technol, 2016, 39: 225-238.

30 Bai S, Li P, Liu J et al. A UFLC-MS/MS method for the simultaneous determination of eight bioactive constituents from red wine and dealcoholized red wine in rat plasma: Application to a comparative pharmacokinetic study [J]. Biomed Chromatogr, 2018, 33(3): e4437.

31 Cocuron JC, Casas MI, Yang F, et al. Beyond the wall: High-throughput quantification of plant soluble and cell-wall bound phenolics by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2019, 1589: 93-104.

32 Wang CZ, Zhang NQ, Wang ZZ, et al. Nontargeted metabolomic analysis of four different parts of *Platycodon grandiflorum* grown in northeast China[J]. Molecules, 2017, 22(8): 1280.

33 Leyva-Jimenez FJ, Lozano-Sanchez S, Borras-Linares I, et al. Potential antimicrobial activity of honey phenolic compounds against Gram positive and Gram negative bacteria[J]. LWT, 2019, 101: 236-245.

34 Fu YY, Shan MQ, Hu MH, et al. Chemical profiling of Banxia-Baizhu-Tianma decoction by ultra-fast liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2019, 174: 595-607.

35 Farag MA, Weigend M, Luebert F, et al. Phytochemical, phylogenetic, and anti-inflammatory evaluation of 43 *Urtica* accessions (stinging nettle) based on UPLC-Q-TOF-MS metabolomic profiles [J]. Phytochemistry, 2013, 96: 170-183.

36 Lee YH, Kim B, Kim S, et al. Characterization of metabolite profiles from the leaves of green perilla(*Perilla frutescens*) by ultra high performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry and screening for their antioxidant properties [J]. J Food Drug Anal, 2017, 25: 776-788.