

UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术快速鉴定木芙蓉花化学成分

王 艺¹,冯丽萍¹,黄李璐¹,胡 攀²,严 鑫²,王 希³,郑 雨³,夏厚林^{1*}¹成都中医药大学药学院,成都 611137;²成都市中草药研究所,成都 610016;³成都市植物园,成都 610083

摘要:利用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术对木芙蓉花化学成分进行快速识别与鉴定。色谱分离采用 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), 流动相 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~4 min, 95% → 90% A; 4~10 min, 90% → 55% A; 10~18 min, 55% → 5% A; 18~20 min, 5% A), 流速 0.3 mL/min, 柱温 25 °C; 质谱分析采用电喷雾离子源(ESI), 正、负离子两种方式采集数据, 扫描模式为全扫描/数据依赖二级扫描(Full MS/dd-MS²)。通过高分辨质谱分析、文献信息以及对对照品指认, 从木芙蓉花中共鉴定出 54 个化合物, 包括黄酮及其苷类成分 25 个, 有机酸类 14 个, 香豆素类成分 4 个, 氨基酸类 2 个, 核苷类 2 个, 生物碱类 2 个, 其他类 5 个。该方法可快速、高效的对木芙蓉花化学成分进行分离鉴定, 33 个成分首次在木芙蓉中发现, 11 个成分首次在木槿属中发现, 对木芙蓉花物质基础研究提供了一定的指导意义。

关键词:木芙蓉花; UPLC-Q-Orbitrap HRMS; 化学成分

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)12-2042-11

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.12.008

Rapid identification on chemical constituents of *Hibiscus mutabilis* flowers by UPLC-Q-Orbitrap HRMS

WANG Yi¹, FENG Li-ping¹, HUANG Li-lu¹, HU Pan², YAN Xin², WANG Xi³, ZHENG Yu³, XIA Hou-lin^{1*}

¹College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

²Chengdu Institution of Chinese Herbal Medicine, Chengdu 610016, China; ³Chengdu Botanical Garden, Chengdu 610083, China

Abstract: To rapidly analyze and identify the chemical constituents of *Hibiscus mutabilis* flowers, the method of ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Orbitrap HRMS) was selected. A Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) column was used in the study with the mobile phase of 0.1% formic acid aqueous solution (A) - acetonitrile (B) for gradient elution (0-4 min, 95% → 90% A; 4-10 min, 90% → 55% A; 10-18 min, 55% → 5% A; 18-20 min, 5% A), the flow rate was 0.3 mL/min and the column temperature was 25 °C. HRMS was equipped with electrospray ionization (ESI) and scanned in positive and negative ion modes by means of full scan/data dependent secondary scan (Full MS/dd-MS²). Through high-resolution mass spectrometry analysis, literature information and reference identification, 54 chemical constituents were identified in *Hibiscus mutabilis* flowers, including 24 flavonoids and flavonoid glycosides, 14 organic acids, four coumarins, two amino acids, two nucleosides, two alkaloids and five others. The method of UPLC-Q-Orbitrap HRMS can be rapidly and efficiently to analyze and identify the chemical constituents of *Hibiscus mutabilis* flowers. Thirty-three chemical constituents were reported for the first time in this herb, and 11 chemical constituents were found in *Hibiscus* for the first time, this study will provide a certain guiding guidance for the material basis research of *Hibiscus mutabilis* flowers.

Key words: *Hibiscus mutabilis* flowers; UPLC-Q-Orbitrap HRMS; chemical constituents

木芙蓉花, 为锦葵科木槿属植物木芙蓉 *Hibiscus*

mutabilis L. 的干燥花, 《本草纲目》云: “此花艳如荷花, 故有芙蓉、木莲之名……”^[1], 又有华木、拒霜、霜降花等多个称谓。味微辛、性凉, 归肺、肝经, 有清肺凉血, 散热解毒, 消肿排脓之效, 临床上多用于治疗肺热咳嗽、瘰疬、肠痈、白带等, 外用还可用于治疗

收稿日期: 2021-04-27

接受日期: 2021-10-12

基金项目: 2019 年四川省中医药健康旅游示范项目-芙蓉文创系列四川旅游特色化妆品技术研发(川中医药办发[2019]47 号)

* 通信作者 Tel: 86-013568899011; E-mail: xhl64@163.com

痈疔脓肿、脓耳、无名肿毒、烧烫伤等,收载于 2019 版《广东省中药材标准第三册》^[2]。

四川成都自古以来盛栽芙蓉,芙蓉花从 1983 年开始被定为成都市“市花”,是天府文化的重要组成部分,它不仅是城市地域人文特征的浓缩和象征,更是城市形象的重要标志和特色名片。除了人文方面的深厚积淀,木芙蓉也是兼具营养价值和药用价值的药食同源性中药,现代药理研究表明其具有抗过敏^[3]、降低血糖^[4]等作用并对溶血性链球菌有较强抑制作用^[2],其提取物也被广泛应用于化妆品^[5]和食品的原料或添加品^[6]等方面。但由于目前国内关于木芙蓉花化学成分的报道相对较少、相关药理研究多以粗提物为研究对象、药效物质基础的发现与作用机制的阐述不够深入等因素,其临床应用相对较少,范围局限,仅在治疗痈肿^[7]和炎症^[8]等方面有相关报道,不仅影响木芙蓉花在医药基础研究与应用上的发现与拓展,也是其在食品、化妆品等应用领域发展的瓶颈,故明确木芙蓉花的物质基础并开展相关的药理学研究对其应用和开发有着重要意义。超高效液相色谱串联四极杆静电场轨道阱质谱技术是近几年发展起来的新型液质联用技术,具有分辨率高、质量精度高、定性和定量能力强等特点,在中药分析领域也展现出了极大的应用前景。因此为了进一步了解木芙蓉花的化学成分,本实验采用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 对其进行化学分析,以期对木芙蓉花的物质基础做出阐述。

1 材料

Vanquish 型超高效液相色谱联用 Q Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);KQ-600DE 型超声波清洗器(频率 40 kHz,功率 600 W,昆山市超声仪器有限公司),Discovery DV215CD 型十万分之一电子天平(美国 Ohaus Corporation 公司);BS124S 型万分之一析天平(赛多利斯科学仪器有限公司)。

对照品盐酸黄连碱(中国食品药品检定研究院,批号 112026-201601);L-苯丙氨酸、芦丁、金丝桃苷、槲皮素(成都克洛玛生物科技有限公司,批号分别为 CHB180328、CHB190110、CHB171010、CHB180214);水杨酸、槲皮素、山奈酚(成都埃法生物科技有限公司,批号分别为 AF9070721、AF20032451、AF20050953);异槲皮苷、原儿茶酸(四川省维克奇生物科技有限公司,批号分别为 wkq20060104、wkq16012105);甜菜碱(成都得思特

生物技术有限公司,批号 DSTDT001202);腺苷(英国 PureChemLand 公司,批号 PCL-#-Ad559),以上对照品纯度均 >98%。色谱乙腈(美国 Fisher 公司),色谱甲醇(美国 TEDIA 公司),水为超纯水,乙醇为分析纯。

木芙蓉花样品于 2019 年 10 月中旬采集于四川省成都市三合镇木芙蓉花种植基地,自然阴干。经成都中医药大学药学院龙飞副教授鉴定为木芙蓉 *Hibiscus mutabilis* L. 的干燥花。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱为 Waters BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm),流动相:流动相 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~4 min, 95% → 90% A; 4~10 min, 90% → 55% A; 10~18 min, 55% → 5% A; 18~20 min, 5% A);流速:0.3 mL/min,柱温 25 °C,进样量:3 μL。

2.2 质谱条件

离子源:电喷雾离子源(ESI),扫描方式:正负离子同时扫描,喷雾电压:3.5 kV;鞘气流速:35 psi;辅助气流速:10 psi;毛细管温度:320 °C,探头加热器温度:350 °C;最大喷雾电流:100 A;S-Lens 分辨率:50。扫描模式为全扫描/数据依赖二级扫描(Full MS/dd-MS²),一级分辨率 70 000,二级分辨率 17 500,扫描范围 *m/z* 100~1 500。

2.3 对照品溶液的制备

分别称取甜菜碱、腺苷、苯丙氨酸、原儿茶酸、金丝桃苷、异槲皮苷、水杨酸、芦丁、槲皮素、小檗碱、山奈酚适量,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,制得浓度分别为 25 μg/mL 混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

称取芙蓉花粉末 5.0 g,加入 90% 乙醇 25 mL 进行回流提取两次,每次 2 h,过滤,合并滤液,过 0.22 μm 微孔滤膜即得。

3 结果与分析

按“2.1”“2.2”项下条件对木芙蓉花供试品溶液进行 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析,分别得到正负离子模式下的总离子流图(见图 1、2)。根据得到的高分辨精确化合物分子量,通过 Thermo Xcalibur 软件筛选出实测相对分子量与理论相对分子量差值小于 5 ppm 的化合物,并计算其可能的元素组成。结合 *mz* Cloud、*mz* Vault、ChemSpide、Pubchem 等数据库进行匹配,参考相关文献信息及与对照品比对等

方式,最终从木芙蓉花中鉴别出 54 个化学成分,质谱信息和结构见表 1 和图 3。54 个成分中黄酮及其苷类成分 25 个,有机酸类 14 个,香豆素类成分 4

个,氨基酸类 2 个,核苷类 2 个,生物碱类 2 个,其他类 5 个,其中 12 个化合物经过对照品比对后得到明确标识。

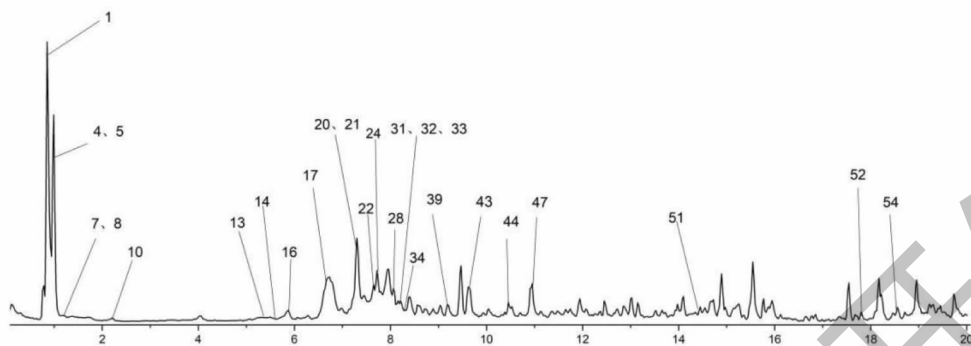


图 1 木芙蓉花 90% 乙醇提取物的 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 正离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of 90% ethanol extract of *Hibiscus mutabilis* flowers by UPLC-Q-Orbitrap HRMS in positive ion mode

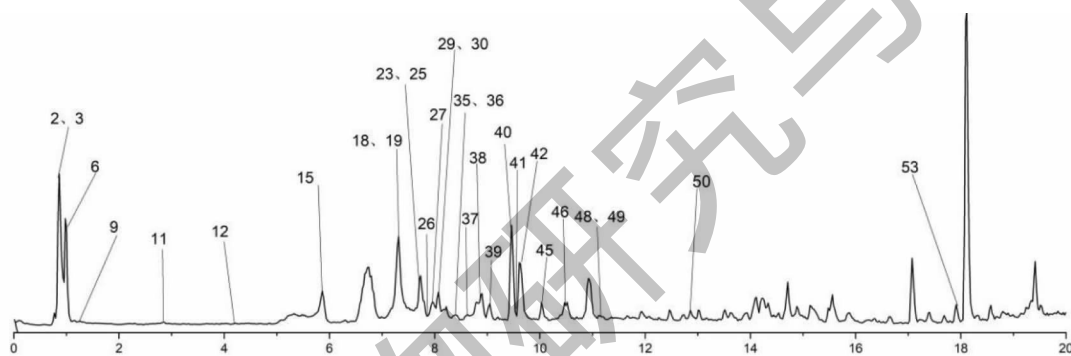


图 2 木芙蓉花 90% 乙醇提取物的 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 负离子流图

Fig. 2 Total ion chromatogram of 90% ethanol extract of *Hibiscus mutabilis* flowers by UPLC-Q-Orbitrap HRMS in negative ion mode

表 1 木芙蓉花化学成分 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析

Table 1 Identification of chemical constituents in *Hibiscus mutabilis* flowers by UPLC-Q-Orbitrap HRMS

峰号 No.	化合物 Compound	分子式 Formula	保留 时间 t_R (min)	m/z			误差 Error (ppm)	碎片离子 Fragment ions (MS/MS)	类别 Classify
				计算值 Calculated	测定值 Observed	离子模式 Mode			
1	甜菜碱 Betaine▲*#	$C_5H_{11}NO_2$	0.85	118.086 26	118.086 45	$[M+H]^+$	1.65	$[M+H-H_2O-C_2HO]^+ 59.073 62$	d
2	柠檬酸 Citric acid*	$C_6H_8O_7$	0.89	191.019 73	191.019 09	$[M-H]^-$	-3.33	$[M-H-H_2O]^- 173.008 58$, $[M-H-2H_2O-CO_2]^- 111.007 90$	b
3	蔗糖 Sucrose*	$C_{12}H_{22}O_{11}$	0.91	341.108 93	341.109 50	$[M-H]^-$	1.66	$[M-H-C_6H_{10}O_5]^- 179.055 25$, $[M-H-C_6H_{11}O_6]^- 161.044 68$, $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_2H_4O_2]^- 119.034 12$	g
4	腺苷 Adenosine▲*	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	0.99	268.104 03	268.103 94	$[M+H]^+$	-0.34	$[M+H-C_5H_8O_4]^+ 136.061 68$, $[M+H-C_5H_8O_4-NH_3]^+ 119.035 44$	e
5	正亮氨酸 DL-Norleucine*#	$C_6H_{13}NO_2$	0.99	132.101 91	132.101 96	$[M+H]^+$	0.41	$[M+H-NH_3]^+ 115.075 58$, $[M+H-H_2O-CO]^+ 86.096 89$	f
6	甲基丁二酸 Methylsuccinic acid*#	$C_5H_8O_4$	1.02	131.034 98	131.034 69	$[M-H]^-$	-2.23	$[M-H-H_2O]^- 113.023 39$, $[M-H-H_2O-CO]^- 87.044 11$, $[M-H-HCOOH-CH_3]^- 72.992 11$	b
7	吲哚-3-丙烯酸 Indole-3-acrylic acid*#	$C_{11}H_9NO_2$	1.06	188.070 61	188.070 79	$[M+H]^+$	0.98	$[M+H-H_2O]^+ 170.059 81$	b

续表 1 (Continued Tab. 1)

峰号 No.	化合物 Compound	分子式 Formula	保留 时间 t_R (min)	m/z			误差 Error (ppm)	碎片离子 Fragment ions (MS/MS)	类别 Classify
				计算值 Calculated	测定值 Observed	离子模式 Mode			
8	鸟嘌呤 Guanine *	C ₅ H ₅ N ₅ O	1.24	152.056 69	152.056 76	[M + H] ⁺	0.48	[M + H-NH ₃] ⁺ 135.030 08, [M + H-NHCNH] ⁺ 110.035 22	e
9	琥珀酸 Succinic acid *	C ₄ H ₆ O ₄	1.33	117.019 33	117.018 47	[M-H] ⁻	1.18	[M-H-H ₂ O] ⁻ 99.007 75, [M-H-CO ₂] ⁻ 73.028 40	b
10	L-苯丙氨酸 L-Phenylalanine ▲	C ₉ H ₁₁ NO ₂	2.21	166.086 26	166.086 32	[M + H] ⁺	0.39	[M + H-NH ₃] ⁺ 149.059 62, [M + H-NH ₃ -H ₂ O] ⁺ 131.049 18, [M + H-HCOOH] ⁺ 120.080 87, [M + H-HCOOH-NH ₃] ⁺ 103.054 54	f
11	原儿茶酸 Protocatechuic acid ▲ *	C ₇ H ₆ O ₄	2.84	153.019 33	153.018 59	[M-H] ⁻	-4.85	[M-H-H ₂ O] ⁻ 135.044 30, [M-H-CO ₂] ⁻ 109.028 51	b
12	4-羟基苯甲酸 4-Hydroxybenzoic acid *	C ₇ H ₆ O ₃	4.20	137.024 41	137.023 44	[M-H] ⁻	-3.43	[M-H-H ₂ O] ⁻ 119.013 02, [M-H-CO ₂] ⁻ 93.033 55, [M-H-HCOOH] ⁻ 91.017 92	b
13	东莨菪内酯 Scopoletin *	C ₁₀ H ₈ O ₄	5.37	193.049 54	193.049 47	[M + H] ⁺	-0.34	[M + H-CH ₃] ⁺ 178.026 02, [M + H-CO] ⁺ 165.054 75, [M + H-CO ₃] ⁺ 133.028 38	c
14	秦皮乙素 6,7-Dihydroxycoumarin	C ₉ H ₆ O ₄	5.57	179.033 89	179.033 91	[M + H] ⁺	0.14	[M + H-H ₂ O] ⁺ 161.059 02, [M + H-CO] ⁺ 151.039 05, [M + H-H ₂ O-CO] ⁺ 133.028 46, [M + H-H ₂ O-2CO] ⁺ 105.033 92	c
15	咖啡酸 Caffeic acid	C ₉ H ₈ O ₄	5.86	179.034 98	179.034 36	[M-H] ⁻	-3.47	[M-H-CO ₂] ⁻ 135.044 24, [M-H-CO ₂ -H ₂ O] ⁻ 117.033 89, [M-H-C ₂ O ₃] ⁻ 107.049 03	b
16	丁香酸 Syringic acid *	C ₉ H ₁₀ O ₅	5.93	199.060 10	199.060 18	[M + H] ⁺	0.40	[M + H-CO ₂] ⁺ 155.070 16, [M + H-CO ₂ -CH ₃] ⁺ 140.046 66, [M + H-CO ₂ -2CH ₃] ⁺ 125.023 21	b
17	秦皮素 Fraxetin * #	C ₁₀ H ₈ O ₅	6.66	209.044 45	209.044 22	[M + H] ⁺	-1.10	[M + H-CH ₃] ⁺ 194.020 89, [M + H-H ₂ O-CO] ⁺ 163.038 83, [M + H-H ₂ O-CO-CH ₂] ⁺ 149.023 30, [M + H-H ₂ O-CO-C ₂ H ₄] ⁺ 135.044 01	c
18	4-香豆酸 4-Coumaric acid	C ₉ H ₈ O ₃	7.17	163.040 06	163.039 31	[M-H] ⁻	-4.60	[M-H-CO ₂] ⁻ 119.049 22	b
19	2-香豆酸 2-Coumaric acid *	C ₉ H ₈ O ₃	7.24	163.040 06	163.039 25	[M-H] ⁻	-4.97	[M-H-CO ₂] ⁻ 119.049 22	b
20	紫苏苷 Peltatoside * #	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	7.30	597.145 01	597.143 74	[M + H] ⁺	-2.13	[M + H-C ₅ H ₈ O ₄] ⁺ 465.101 41, [M + H-C ₅ H ₈ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ 303.049 44, [M + H-C ₅ H ₈ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -HCOOH] ⁺ 257.044 01, [M + H-C ₅ H ₈ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -HCOOH-CO] ⁺ 229.049 21, [M + H-C ₅ H ₈ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₈ H ₆ O ₃] ⁺ 153.018 04, [M + H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ 303.049 35, [M + H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -H ₂ O] ⁺ 285.037 93, [M + H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -H ₂ O-CO] ⁺ 257.043 79, [M + H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₆ O ₃] ⁺ 165.017 91, [M + H-C ₁₄ H ₁₆ O ₈] ⁺ 153.018 05, [M + H-C ₁₄ H ₁₆ O ₉] ⁺ 137.023 21	a
21	金丝桃苷 Hyperoside ▲	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	7.30	465.102 75	465.101 87	[M + H] ⁺	-1.90	[M + H-CO] ⁺ 155.070 59, [M + H-CO-CH ₃] ⁺ 140.046 78	a
22	丁香醛 Syringaldehyde *	C ₉ H ₁₀ O ₄	7.45	183.065 19	183.065 17	[M + H] ⁺	-0.08	[M + H-CH ₃] ⁺ 178.026 57, [M-H-CO ₂] ⁻ 149.059 92, [M-H-CO ₂ -CH ₃] ⁻ 134.036 42	g
23	阿魏酸 Ferulic acid ▲	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	7.71	193.050 63	193.050 13	[M-H] ⁻	-2.60	[M + H-C ₅ H ₈ O ₄] ⁺ 449.107 67, [M + H-C ₅ H ₈ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ 287.054 50, [M + H-C ₁₁ H ₁₈ O ₉ -H ₂ O-2CO] ⁺ 213.054 09, [M + H-C ₁₁ H ₁₈ O ₉ -C ₈ H ₆ O ₂] ⁺ 153.018 39	b
24	山奈酚-3-O- 桑布双糖苷 Kaempferol-3-O- sambubioside *	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	7.72	581.150 10	581.149 35	[M + H] ⁺	-1.28		a

续表 1 (Continued Tab. 1)

峰号 No.	化合物 Compound	分子式 Formula	保留 时间 t_R (min)	m/z			误差 Error (ppm)	碎片离子 Fragment ions (MS/MS)	类别 Classify
				计算值 Calculated	测定值 Observed	离子模式 Mode			
25	异槲皮苷 Isoquercitrin▲	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	7.78	463.088 20	463.088 35	[M-H] ⁻	0.33	[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ 301.035 16、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -H] ⁻ 300.027 34、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -H ₂ CO] ⁻ 271.024 69、 ^[1,3] B:178.997 56、 ^[1,3] A:151.002 81	a
26	二氢槲皮素 Taxifolin	C ₁₅ H ₁₂ O ₀₇	7.93	303.051 03	303.051 12	[M-H] ⁻	0.31	[M-H-H ₂ O] ⁻ 285.040 31、[M-H-CO ₂] ⁻ 259.061 61、 [M-H-CO ₂ -H ₂ O] ⁻ 241.049 67、[M-H-C ₆ H ₄ O ₃] ⁻ 178.997 74、[M-H-C ₉ H ₇ O ₄] ⁻ 124.015 70	a
27	番石榴苷 Quercetin-3- arabinside*#	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	7.97	433.077 63	433.077 58	[M-H] ⁻	-0.13	[M-H-C ₅ H ₈ O ₄] ⁻ 301.035 03、[M-H-C ₅ H ₈ O ₄ -H ₂ CO] ⁻ 271.024 63、[M-H-C ₅ H ₈ O ₄ -CO-H ₂ O] ⁻ 255.029 65、 ^[1,3] B:178.997 68、 ^[1,3] A:151.002 85	a
28	水仙苷 Narcissin	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	8.06	625.176 31	625.175 72	[M+H] ⁺	-0.95	[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁺ 317.065 22	a
29	瑞诺昔 Quercetin-3- D-xyloside*	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	8.07	433.077 63	433.077 39	[M-H] ⁻	-0.56	[M-H-C ₅ H ₈ O ₄] ⁻ 301.035 19、[M-H-C ₅ H ₈ O ₄ -H ₂ CO] ⁻ 271.024 66、 ^[1,3] B:178.997 73、 ^[1,3] A:151.002 75	a
30	木犀草苷 Cynaroside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	8.07	447.093 28	447.093 11	[M-H] ⁻	-0.39	[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ 285.040 13	a
31	异鼠李素-3-O- 葡萄糖苷 Isorhamnetin- 3-O-glucoside	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	8.21	479.118 40	479.118 26	[M+H] ⁺	-0.30	[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ 317.065 09、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ - CH ₃] ⁺ 302.041 72、[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₈ O ₃] ⁺ 153.018 05	a
32	紫云英苷 Astragaln	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	8.21	449.107 84	449.107 54	[M+H] ⁺	-0.66	[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ 287.054 50、[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ - C ₇ H ₆ O ₂] ⁺ 165.017 72、[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₈ H ₆ O ₂] ⁺ 153.018 04、[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₈ H ₆ O ₃] ⁺ 137.023 27	a
33	广寄生苷 Avicularin*#	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	8.23	435.092 19	435.092 13	[M+H] ⁺	-0.13	[M+H-C ₅ H ₈ O ₄] ⁺ 303.049 53	a
34	异鼠李素 Isorhamnetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	8.28	317.065 58	317.065 61	[M+H] ⁺	0.10	[M+H-CH ₃] ⁺ 302.041 60、[M+H-C ₉ H ₈ O ₃] ⁺ 153.018 11	a
35	山奈酚-3-O- 吡喃阿拉伯糖苷 Juglalin*	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	8.39	417.082 72	417.082 86	[M-H] ⁻	0.34	[M-H-C ₅ H ₈ O ₄] ⁻ 285.040 25、[M-H-C ₅ H ₈ O ₄ -CO- H ₂ O] ⁻ 255.029 60、 ^[1,3] A:151.002 61	a
36	櫻桃苷 Naringenin- 7-O-glucoside*	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	8.44	433.114 02	433.114 29	[M-H] ⁻	0.62	[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ 271.060 94、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ - C ₈ H ₈ O] ⁻ 151.002 81、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ 145.028 27	a
37	壬二酸 Azelaic acid	C ₉ H ₁₆ O ₄	8.65	187.097 58	187.097 11	[M-H] ⁻	-2.52	[M-H-H ₂ O] ⁻ 169.096 83、[M-H-CO ₂] ⁻ 143.106 99、 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ 125.096 20、[M-H-H ₂ O-C ₂ O ₃] ⁻ 97.064 88	b
38	水杨酸 Salicylic acid▲	C ₇ H ₆ O ₃	8.85	137.024 42	137.024 54	[M-H] ⁻	0.89	[M-H-CO ₂] ⁻ 93.033 55	b
39	芦丁 Rutin▲	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	7.59	609.146 11	609.146 36	[M-H] ⁻	0.41	[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ 301.035 06、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -H] ⁻ 300.027 22、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -H ₂ O] ⁻ 283.024 32、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -CO] ⁻ 271.024 63、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -H ₂ O-CO] ⁻ 255.029 50、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -H ₂ O-2CO] ⁻ 227.034 58、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₈ H ₆ O ₃] ⁻ 151.002 62 [M-H-C ₉ H ₆ O ₂] ⁻ 447.095 76、[M-H-C ₉ H ₆ O ₂ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ 285.040 19、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO-H ₂ O] ⁻ 255.029 63、[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₈ H ₆ O ₂] ⁻ 151.002 44	a
40	椴树苷 Tilioside▲	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	9.46	593.130 06	593.129 64	[M-H] ⁻	-0.92		a

续表 1 (Continued Tab. 1)

峰号 No.	化合物 Compound	分子式 Formula	保留 时间 t_R (min)	m/z			误差 Error (ppm)	碎片离子 Fragment ions (MS/MS)	类别 Classify
				计算值 Calculated	测定值 Observed	离子模式 Mode			
41	阿福豆苷 Afzelin	$C_{21}H_{20}O_{10}$	9.51	431.098 37	431.098 05	[M-H] ⁻	-1.31	[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ 285.040 25、[M-H-C ₇ H ₁₂ O ₅] ⁻ 255.029 50、[M-H-C ₈ H ₁₂ O ₆] ⁻ 227.034 21	a
42	槲皮素 Quercetin	$C_{15}H_{10}O_7$	9.61	301.035 38	301.035 16	[M-H] ⁻	-0.72	[M-H-CO] ⁻ 273.040 53、[M-H-C ₇ H ₆ O ₂] ⁻ 178.997 85、 [M-H-C ₈ H ₆ O ₃] ⁻ 151.002 82、[M-H-C ₈ H ₄ O ₅] ⁻ 121.028 56、[M-H-C ₉ H ₄ O ₅] ⁻ 107.012 86	a
43	山奈酚-3-O- 芸香糖苷 Kaempferol- 3-O-rutinoside	$C_{27}H_{30}O_{15}$	9.67	595.165 75	595.163 92	[M+H] ⁺	-3.07	[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁺ 449.109 10、[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₄ - C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ 287.054 41、[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅ - C ₈ H ₆ O ₂] ⁺ 153.017 97	a
44	小檗碱 Berberine [▲]	$C_{20}H_{17}NO_4$	10.02	336.122 79	336.122 68	[M+H] ⁺	-0.33	[M+H-CH ₃] ⁺ 321.099 03、[M+H-CH ₃ -H] ⁺ 320.091 31、[M+H-CH ₃ -HCO] ⁺ 292.096 50、[M+ H-2CH ₃] ⁺ 306.075 01、[M+H-2CH ₃ -CO] ⁺ 278.080 90	d
45	柚皮素 Naringenin [*]	$C_{15}H_{12}O_5$	10.39	271.061 20	271.061 40	[M-H] ⁻	0.75	[M-H-C ₄ H ₄ O ₂] ⁻ 187.039 98、[M-H-C ₆ H ₆ O] ⁻ 177.018 36、[M-H-C ₇ H ₆ O ₂] ⁻ 165.018 34、[MHC ₈ H ₈ O] ⁻ 151.002 82、[M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ 119.049 26、[M-H- C ₉ H ₈ O ₃] ⁻ 107.012 85	a
46	山奈酚 Kaempferol [▲]	$C_{15}H_{10}O_6$	10.46	285.040 46	285.040 41	[M-H] ⁻	-0.18	[M-H-CO] ⁻ 257.044 59、[M-H-CO-H ₂ O] ⁻ 239.034 65、 [M-H-2CO] ⁻ 229.050 40、[M-H-2CO-H ₂ O] ⁻ 211.039 08、[M-H-2CO-CO ₂] ⁻ 185.059 97、[M-C ₂ H ₂ O] ⁻ 243.028 61	a
47	滨蒿内酯 Scoparone [*]	$C_{11}H_{10}O_4$	11.17	207.065 19	207.065 31	[M+H] ⁺	0.60	[M+H-CH ₃] ⁺ 192.041 46、[M+H-CO] ⁺ 179.070 42、[M+H-CH ₃ -CO] ⁺ 164.046 60、[M+H-2CO] ⁺ 151.075 18、[M+H-CH ₃ -2CO] ⁺ 136.052 00、[M+H- CO ₂] ⁺ 163.075 64	c
48	癸二酸 Sebacic acid	$C_{10}H_{18}O_4$	11.19	201.113 23	201.112 88	[M-H] ⁻	-1.75	[M-H-H ₂ O] ⁻ 183.102 05、[M-H-H ₂ O-CO] ⁻ 157.122 57、[M-H-2H ₂ O-CO] ⁻ 139.111 92	b
49	野鸢尾黄素 Irigenin [*]	$C_{18}H_{16}O_8$	11.21	359.077 24	359.076 64	[M-H] ⁻	-1.67	[M-H-2CH ₃] ⁻ 329.030 18、[M-H-2CH ₃ -CO] ⁻ 301.035 06、[M-H-3CH ₃ -CO] ⁻ 286.011 26 [M-H-CH ₃] ⁻ 358.069 27、[M-H-2CH ₃] ⁻ 343.045 75、 [M-H-3CH ₃] ⁻ 328.022 28、[M-H-3CH ₃ -CO] ⁻ 300.027 19、[M-H-4CH ₃ -CO] ⁻ 285.003 94、[M-H-4CH ₃ -2CO] ⁻ 257.009 09、[M-H-4CH ₃ -3CO] ⁻ 229.013 26	a
50	蔓荆子黄素 Casticin [*]	$C_{19}H_{18}O_8$	12.86	373.092 89	373.093 08	[M-H] ⁻	0.51	[M+H-CH ₃] ⁺ 374.099 55、[M+H-2CH ₃] ⁺ 359.075 59、[M+H-5CH ₃] ⁺ 314.040 95	a
51	艾黄素 Artemetin ^{*#}	$C_{20}H_{20}O_8$	14.37	389.123 09	389.122 92	[M+H] ⁺	-0.45	[M+H-CH ₃] ⁺ 374.099 55、[M+H-2CH ₃] ⁺ 359.075 59、[M+H-5CH ₃] ⁺ 314.040 95	a
52	油酰乙醇胺 Oleylethanolamide ^{*#}	$C_{20}H_{39}NO_2$	17.90	326.305 36	326.305 27	[M+H] ⁺	-0.26	[M+H-NH ₃] ⁺ 309.278 38、[M+H-NH ₃ -CO ₂] ⁺ 265.252 99	g
53	16-羟基十六酸 16-Hydroxyh- exadecanoic acid ^{*#}	$C_{16}H_{32}O_3$	17.91	271.227 87	271.227 72	[M-H] ⁻	-0.55	[M-H-HCOOH] ⁻ 225.221 89、[M-H-HCOOH-CO] ⁻ 197.190 46	g
54	油酸酰胺 Oleamide [*]	$C_{18}H_{35}NO$	18.43	282.279 14	282.278 99	[M+H] ⁺	-0.54	[M+H-NH ₃] ⁺ 265.251 92	g

注:a. 黄酮类;b. 有机酸类;c. 简单香豆素类;d. 生物碱类;e. 核苷类;f. 氨基酸类;g. 其他类。[▲]经对照品比对确认; * 未在木芙蓉中报道的化学成分;#未在木槿属中报道的化学成分

Note; a. Flavonoids; b. Organic acids; c. Coumarins; d. Alkaloids; e. Nucleosides; f. Amino acids; g. Others. [▲]Identifications confirmed with standard compound; * Chemical components that are not reported in *Hibiscus mutabilis* flowers; #Chemical components that are not reported in genus *Hibiscus*.

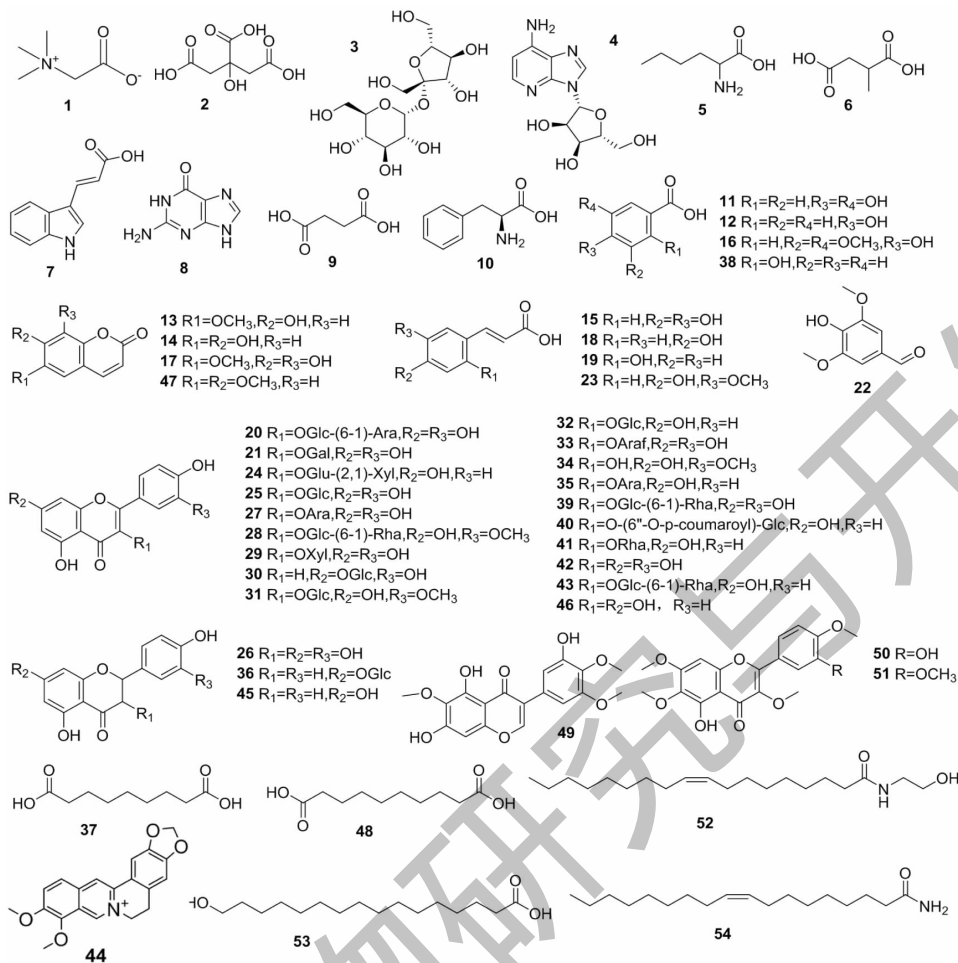


图3 木芙蓉花化合物的结构

Fig. 3 Compounds structures of *Hibiscus mutabilis* flowers

3.1 黄酮类及其苷类化合物鉴定

黄酮及其苷类成分为木芙蓉花的主要化学成分,本实验从木芙蓉花中鉴定了黄酮醇(峰34、42、46),以槲皮素、山奈酚、异鼠李素等为母核黄酮苷(峰20、21、24、25、27~29、31~33、35、39~41、43),二氢黄酮(峰25、36、45),黄酮(峰30、50、51),异黄酮类(峰49)化合物共25个。

黄酮醇糖苷类化合物易发生糖苷键断裂,丢失葡萄糖残基、鼠李糖残基或是木糖残基等碎片后形成黄酮醇苷元,而后苷元可继续丢失 CO_2 、 H_2O 等碎片离子或是发生逆狄尔斯-阿尔德(RDA)裂解,形成 $[^{1,3}A]^-$ 、 $[^{1,4}A]^-$ 、 $[^{1,3}B]^-$ 、 $[^{1,4}B]^-$ 等特征碎片离子^[9]。例如化合物27在ESI模式下的准分子离子峰 m/z 433.077 58,在二级质谱中,丢失了阿拉伯糖残基形成槲皮素特征离子 m/z 301.035 03、300.027 31,苷元离子丢失 H_2O 、 CO 等中性碎片形成碎片离

子 m/z 283.024 57、271.024 63、255.029 65、227.034 81;或者发生RDA裂解,脱去 $C_8H_6O_3$,生成特征碎片离子 m/z 151.002 85 $[^{1,3}A]^-$ 。根据文献信息^[10]比对,推测该化合物可能为番石榴苷;化合物46在ESI模式下的准分子离子峰 m/z 285.040 19,脱去 CO 、 H_2O 、 CO_2 后形成二级碎片离子 m/z 257.044 59、239.034 65、229.050 40、211.039 08;或是 C_4-C_{10} 键断裂形成碎片 m/z 243.028 61。根据文献信息^[11]及与对照品比对,确定该化合物为山奈酚,裂解途径见图4。

黄酮、异黄酮类化合物二级质谱裂解过程中易丢失 CO 、 CO_2 等,邻位羟基取代还易失去 H_2O ,若有甲氧基取代的时候,则优先连续丢失 CH_3 ,然后丢失 CO 。例如化合物50在ESI模式下的准分子离子峰 m/z 373.092 62,二级质谱产生的碎片离子 m/z

358.069 27、343.045 75、328.022 28、300.027 19、285.003 94、257.009 09、229.013 26。根据数据库检索及与文献信息^[12] 对比,确定该化合物为蔓荆子黄素。

二氢黄酮类化合物易丢失 H₂O、CO 等中性碎片离子或是发生 RDA 裂解。例如化合物 26 在 ESI⁻

模式下的准分子离子峰 m/z 303.144 81, 脱去 H₂O、CO₂ 后形成二级质谱产生的碎片离子 m/z 285.040 31、259.061 61、241.049 67; 或发生 RDA 裂解生成 $[^{1,4}A]^-$ 、 $[^{1,4}B]^-$ 特征碎片离子 m/z 178.997 74 和 m/z 124.015 70。根据数据库检索及与文献信息^[10] 对比,确定该化合物为二氢槲皮素。

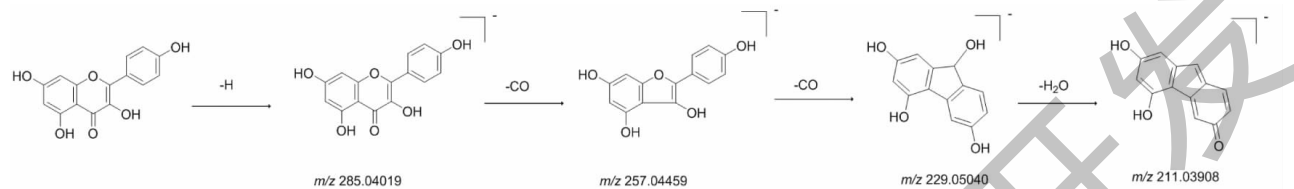


图 4 山奈酚的质谱裂解途径

Fig. 4 Fragmentation pathway of kaempferol

3.2 有机酸类成分

从木芙蓉花中共鉴别有机酸类成分 14 个 (峰 2、6、7、9、11、12、15、16、18、19、23、37、38、48), 二级质谱裂解特征通常易失去 H₂O、CO、CO₂、CH₂ 等中性碎片且大多在负离子模式下有较好响应。化合物

38 在 ESI⁻ 模式下的准分子离子峰为 m/z 137.023 50, 二级质谱产生的碎片离子 m/z 93.033 54。根据文献信息^[13] 及与对照品比对, 确定化合物为水杨酸, 裂解途径见图 5。

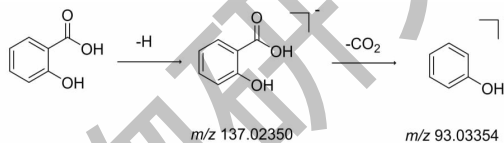


图 5 水杨酸的质谱裂解途径

Fig. 5 Fragmentation pathway of salicylic acid

3.3 香豆素类成分

从木芙蓉花中共鉴别香豆素类成分 4 个 (峰 13、14、17、47), 其二级质谱裂解过程中易丢失 CO、H₂O、CH₃ 等中性分子, 化合物 13 在 ESI⁺ 模式下的

准分子离子峰 m/z 193.049 47, 二级质谱产生的碎片离子 m/z 178.026 02、165.054 75、133.028 38。根据数据库检索及与文献信息^[14] 对比, 确定化合物为东莨菪内酯, 裂解途径见图 6。

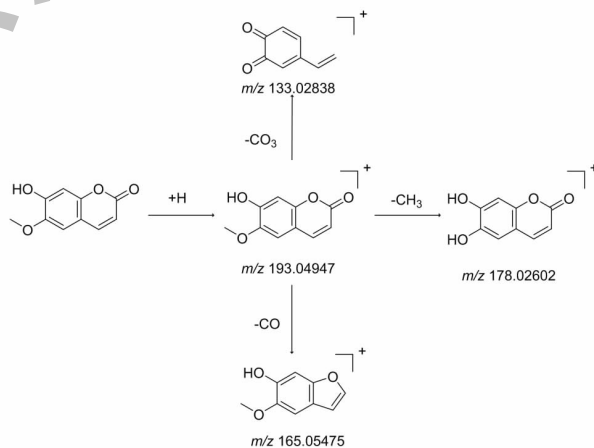


图 6 东莨菪内酯的质谱裂解途径

Fig. 6 Fragmentation pathway of scopoletin

3.4 核苷类成分

从木芙蓉花中共鉴别 2 个核苷类成分(峰 4、8), 化合物 **4** 在 ESI⁺ 模式下的准分子离子峰为 m/z 268.

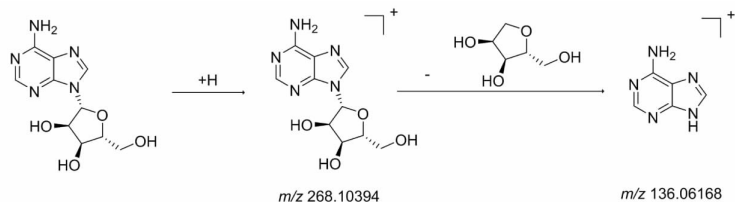


图 7 腺苷的质谱裂解途径

Fig. 7 Fragmentation pathway of adenosine

3.5 氨基酸类成分

从木芙蓉花中共鉴别 2 个氨基酸类成分(峰 7、12), 二级质谱裂解特征通常为连续丢失 NH₃、H₂O、HCOOH 等碎片, 化合物 **10** 在 ESI⁺ 模式下的准分子

离子峰为 m/z 166.086 07, 二级质谱产生的碎片离子有 m/z 149.059 62、131.049 18、120.080 87、103.054 54。根据文献信息^[16] 及与对照品比对, 确定该化合物为 L-苯丙氨酸, 裂解途径见图 8。

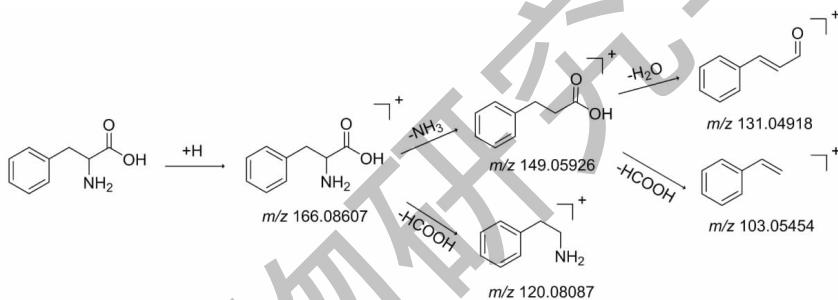


图 8 L-苯丙氨酸的质谱裂解途径

Fig. 8 Fragmentation pathway of L-phenylalanine

3.6 生物碱类成分

从木芙蓉花中共鉴别 2 个生物碱类成分(峰 1、44), 化合物 **1** 在 ESI⁺ 模式下的准分子离子峰为 m/z 118.086 45, 丢失一分子 CH₂ 和 COOH 后形成二级

碎片离子 m/z 59.073 62。根据文献信息^[17] 及与对照品比对, 确定该化合物为甜菜碱, 裂解途径见图 9。

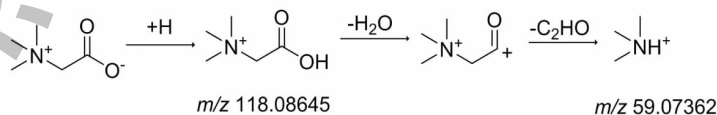


图 9 甜菜碱的质谱裂解途径

Fig. 9 Fragmentation pathway of betaine

3.7 其他类

从木芙蓉花中共鉴别 5 个其他类成分(峰 3、22、52、53、54), 化合物 **3** 在 ESI 离子模式下的准分子离子峰为 m/z 341.109 86, 二级质谱产生的碎片离子有 m/z 179.055 25、161.044 68、119.034 12。根据数据库检索及与文献信息^[14] 比对, 确定该化合

物为蔗糖。

4 讨论与结论

近年来, UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术以其高分辨率、高质量精度、定性定量快速准确等优点广泛应用于中药化学成分分析及复杂多成分质量控制等领域。本实验选用 0.1% 甲酸水-乙腈为流动相对木

芙蓉花化学成分进行梯度洗脱,为更好的探究木芙蓉花的化学成分,选用正、负两种离子扫描方式进行数据采集。根据现有文献报道的保留时间、相对分子量、准分子离子峰、二级质谱碎片离子,结合二级质谱裂解规律以及化学对照品质谱信息等,对各质谱峰进行归属分析,从木芙蓉花乙醇提取液中共检测到 7 类成分(黄酮及其苷类、有机酸类、香豆素类、氨基酸类、核苷类、生物碱类等),共 54 个化合物。结合文献以及 scifinder 数据库发现其中 33 个成分首次在木芙蓉中报道,11 个成分首次在木槿属中报道。在花中新发现的 11 个黄酮类成分,例如广寄生苷和番石榴苷通过降低游离脂肪酸的释放^[18]、柚皮素-7-O-葡萄糖苷通过激活 PPAR γ 受体和磷酸化 PI3K/AKT 信号通路表现出降糖作用^[19];蔓荆子黄素可通过下调 PI3K/Akt 信号通路抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭^[20]、与微管蛋白结合来促使 MCF7 乳腺癌细胞 G2/M 期阻滞^[21],广寄生苷、野鸢尾黄素通过抑制 PI3K/AKT 信号通路^[22]、ROS 介导的线粒体功能性障碍^[23]来诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡;樱桃苷对中波紫外线(UVB)导致的人角质细胞(HaCaT)损伤^[24]有修复作用等,对于木芙蓉花临床应用的拓展具有一定的意义。从构效关系来看,黄酮类成分的抗肿瘤、抗炎等多种药理活性主要受羟基化程度、C_{2,3}位双键、糖基以及母核结构的影响,木芙蓉花黄酮种类众多,结构多样性强,具有生物活性多样性。本文完善了木芙蓉的化学成分库,为后续木芙蓉花的开发利用、药效物质基础研究、质量控制等提供了依据。

木芙蓉是一种常用中药,木芙蓉叶收载于 2020 版《中国药典》^[25],且叶和花均可以入药。本实验与已报道的木芙蓉叶^[11]化学成分对比,相同的黄酮类成分有 14 个,有机酸和香豆素类成分 5 个,体现了同一药用植物不同部位中的化学成分具有一定的相似性。此外,木芙蓉花中某些已知成分未在此次分析中检测到,可能与 ESI 的离子化效率有关;同分异构体化合物的鉴定一直以来都是质谱分析中的难点,因此仅通过质谱来进行指认具有一定的局限性,需要核磁共振等波谱分析进一步确认。通过观察总离子流图,可以发现在保留时间 11 ~ 17 min 鉴别出化合物较少,因此为了进一步了解该段化合物的组

成,我们可以采用不同极性溶剂对其进行部位萃取,通过用相同高效液相色谱条件进行色谱峰分析,寻找其可能存在的极性部位,这也可为我们后续对木芙蓉花进行以化合物分离为手段的物质基础研究起到一定指示作用。

参考文献

- 1 Li SZ. Compendium of Materia Medica(本草纲目)[M]. Beijing:China Medical Science and Technology Press,2014:557.
- 2 Guangdong Food and Drug Administration. Guangdong Standard of Traditional Chinese Medicine Materials;Vol III(广东省中药材标准:第三册)[M]. Guangzhou:Guangdong Science & Technology Press,2019:95-101.
- 3 Iwaoka E, Oku H, Takahashi Y, et al. Allergy-preventive effects of *Hibiscus mutabilis* 'versicolor' and a novel allergy-preventive flavonoid glycoside[J]. Biol Pharm Bull,2009,32:509-512.
- 4 Wei W, Xiang F, Xu N, et al. Effects of total flavonoids of *Hibiscus rosea* on blood glucose and antioxidant ability of type 2 diabetic mice[J]. Acta Chin Med(中医学报),2020,35:1262-1265.
- 5 Kong WJ. A set of health care and skin care formula(一组保健护肤配方):CN111202690A[P]. 2020-05-29.
- 6 Xiong Z. Candy prepared with flower or flower extract(用花卉或花卉提取物制备的糖果):CN109349402A[P]. 2019-02-19.
- 7 Ke Y, Chen H. Observation on the curative effect of *Hibiscus mutabilis* flos in the treatment of carbuncle[J]. Chin Comm Doc(中国社区医师),2002(8):39.
- 8 Tang O, Yang D. Treatment of 35 cases of herpes zoster in eyelid with *Hibiscus mutabilis* flos and leaves combined with western medicine[J]. J Sichuan Tradit Chin Med(四川中医),2006,24(1):99.
- 9 Qin WH, Yang Y, Li Q, et al. Study on mass spectroscopic fragmentation of flavonoids from Herba Epimedii and identification of new compounds based on HR-MS[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2021,33:1478-1490.
- 10 Shu T, Ding LN, Wang Q, et al. Structural elucidation of flavonoids in the supercritical CO₂ extract of black Goji fruit by using ultra-high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry[J]. Food Sci(食品科学),2020,41(10):206-212.
- 11 Li JM, He MH, Ou YH, et al. Rapid identification of chemical

- constituents of *Folium Hibisci Mutabilis* by UHPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2016, 51: 1162-1168.
- 12 Luo DD, Peng HS, Zhang Y, et al. Comparison of chemical components between *Artemisia stolonifera* and *Artemisia argyi* using UPLC-Q-TOF-MS[J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2020, 45: 4057-4064.
- 13 Feng SX, Zhang HJ, Zhao D, et al. Chemical profiling and quantification of Tanreqing injection, a systematic quality control strategy equipped with UPLC-Q-Orbitrap fusion MS [J]. *J Liq Chromatogr R T*, 2020, 43(7-8): 255-270.
- 14 Wang JY, Gao GH, Zhu JQ, et al. Chemical profiling from water extract of *Wikstroemia indica* by UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2019, 44: 3055-3063.
- 15 Hu HW, Zhao YY, Yang TL, et al. Analysis and identification of chemical constituents of *Citri Sarcodactylis Fructus* by UPLC-Q-Orbitrap HRMS[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2020, 26(7): 148-155.
- 16 Yu HH, Gao XY. Identification of chemical components in capillary wormwood herb by UPLC-Q-TOF/MSE [J]. *Centr South Pharm* (中南药学), 2019, 17: 656-661.
- 17 Zhao H, Yan Y, Zou LS, et al. Identification of chemical constituents in *Magnoliae Officinalis Cortex* by UFLC-Triple TOF-MS/MS[J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2017, 52: 1824-1831.
- 18 Ou YW, Zhu XA, Su L, et al. Hypoglycemic activity of avicularin and guajaverin in guava leaves [J]. *Food Sci* (食品科学), 2016, 37(7): 168-174.
- 19 Nishina A, Daisuke S, Jun P, et al. Antidiabetic-like effects of naringenin-7-*O*-glucoside from edible chrysanthemum "Kotobuki" and naringenin by activation of the PI3K/Akt pathway and PPAR γ [J]. *Chem Biodivers*, 2019, 16(1): e1800434.
- 20 Fan L, Zhang Y, Zhou QH, et al. Expression of concern: casticein inhibits breast cancer cell migration and invasion by downregulation of PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(4): 1(4); BSR-20180738_EOC.
- 21 Lang S J, Schmiech M, Hafner S, et al. Chryso-splenol d, a flavonol from *Artemisia annua*, induces ERK1/2-mediated apoptosis in triple negative human breast cancer cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 4090.
- 22 Yu Q, Wang WS, Zhu BB, et al. Effect of avicularin on the apoptosis, cell cycle and PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Centr South Pharm* (中南药学), 2020, 18(1): 48-52.
- 23 Zhi X, Li C, Liu J, et al. Iri-genin from *Belamcanda chinensis* (L.) DC induces apoptosis of human breast cancer MDB-MA-231 cells via mitochondria-dependent pathway [J]. *Lat Am J Pharm*, 2019, 38(1): 13-17.
- 24 Eun JN, Ji YR. Anti-inflammatory effects of prunin on UVB-irradiated human keratinocytes [J]. *Biomed Dermatol*, 2018, 2(9).
- 25 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I (中华人民共和国药典; 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 63.