

# 基于 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术的乔林与叶林杜仲叶次生代谢产物比较研究

申梦园<sup>1,2</sup>, 吴蓓<sup>1,2</sup>, 段涵琪<sup>1,2</sup>,  
杨放晴<sup>1,2</sup>, 王福<sup>1,2</sup>, 陈鸿平<sup>1,2</sup>, 刘友平<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>西南特色中药资源国家重点实验室;<sup>2</sup>成都中医药大学药学院, 成都 611130

**摘要:** 本文应用超高效液相-四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱 (UPLC-Q-Orbitrap HRMS) 技术, 对乔林杜仲叶与叶林杜仲叶进行次生代谢产物分析, 并比较其次生代谢产物差异。通过多级离子碎片信息结合 mzCloud 网络数据库、中药高分辨质谱数据库 (OTCML), 对照品比对及文献数据库进行准确定性。从乔林杜仲叶与叶林杜仲叶中共鉴定出次生代谢物 62 种, 包括黄酮类 9 种, 苯丙素类 9 种, 环烯醚萜类 2 种, 有机酸类 21 种, 香豆素类 5 种, 其他类成分 16 种, 其中香豆素类成分为首次在杜仲叶中发现的成分。通过主成分分析 (PCA) 及正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA) 对各样品数据进行处理, 结果乔林杜仲叶与叶林杜仲叶能够很好地区分, 根据变量重要性投影 (VIP) 值 >1 筛选出两种栽培方式的杜仲叶在相对含量上存在差异的成分有 10 个, 其中独立样本 *t* 检验中存在显著差异 ( $P < 0.05$ ) 的成分有 *D*-(-)-奎尼酸、柠檬酸、4-甲基伞形酮、4,5-二咖啡酰奎宁酸、3',4'-二羟基苯丙酮。该方法可准确、高效地测定杜仲叶中的化学成分及其相对含量变化, 为杜仲叶的品质评价提供了理论依据。

**关键词:** 乔林杜仲叶; 叶林杜仲叶; 次生代谢产物; UPLC-Q-Orbitrap HRMS; 化学模式识别

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2022)8-1385-15

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2022.8.014

## Comparative study on secondary metabolites of *Eucommia ulmoides* leaves between arboreal forest and leaf forest based on UPLC-Q-Orbitrap HRMS

SHEN Meng-yuan<sup>1,2</sup>, WU Bei<sup>1,2</sup>, DUAN Han-qi<sup>1,2</sup>,  
YANG Fang-qing<sup>1,2</sup>, WANG Fu<sup>1,2</sup>, CHEN Hong-ping<sup>1,2</sup>, LIU You-ping<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Southwest Characteristic Traditional Chinese Medicine Resources;

<sup>2</sup>School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611130, China

**Abstract:** In this study, UPLC-Q-Orbitrap HRMS was used to analyze the secondary metabolites of *E. ulmoides* leaves between arboreal forest and leaf forest. The differences of them were analyzed and compared. Accurate qualitative analysis was carried out by combining multi-level ion fragment information with mzCloud network database, high resolution mass spectrometry database of traditional Chinese medicine, comparison of reference materials and literature database. A total of 62 species of secondary metabolites were identified, including 9 flavonoids, 9 phenylpropanoids, 2 iridoids, 21 organic acids, 5 coumarins and 16 other components, among which coumarins were first discovered in *E. ulmoides* leaves. Principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were used to process the sample data. The results showed that *E. ulmoides* leaves of arboreal forest could be distinguished from *E. ulmoides* leaves of leaf. According to VIP value >1, 10 components with different relative contents were screened from *E. ulmoides* leaves. The components with significant differences ( $P < 0.05$ ) were *D*-(-)-quinic acid, citric acid, 4-methylumbelliferone, 4,5-dicaffeoylquinic acid, 3',4'-dihydroxyphenylacetone by independent sample *t*-test. This method can accurately and efficiently determine the chemical constituents in *eucommia ulmoides* leaves and analyze the changes of their relative content, which provides a theoretical basis for quality eval-

收稿日期: 2021-09-24 接受日期: 2022-02-23

基金项目: 四川省科技厅重点研发项目 (2019YFS0527); 西南特色中药资源重点实验室开放研究基金 (2020QNS002); 成都中医药大学双一流中药质量保障提升创新科研团队 (030041011)

\* 通信作者 E-mail: youpingliu@cdutcm.edu.cn

uation of *eucommia ulmoides* leaves.

**Key words:** *Eucommia ulmoides* leaves of arboreal forest; *E. ulmoides* leaves of leaf forest; secondary metabolites; UPLC-Q-Orbitrap HRMS; chemical pattern recognition

杜仲叶为杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv 的干燥叶,于 2005 版《中华人民共和国药典》中首次收载入药,具有补肝肾,强筋骨的功效<sup>[1]</sup>。主要成分为苯丙素类、黄酮类、环烯醚萜类及有机酸类等<sup>[2]</sup>。杜仲传统药用部位为皮,由于环剥技术的不规范使得大量的杜仲皮遭到严重破坏,难以再生。杜仲叶有较强的再生能力,产量巨大,目前有关杜仲叶成分的研究多有报道<sup>[3]</sup>。

杜仲根据栽培方式不同分为乔林和叶林杜仲,乔林杜仲是高 25 m 以上的传统杜仲树,以经营木材为目的,生长周期长,采叶困难<sup>[4]</sup>,导致杜仲叶投入与产出效率相对较低,为此人们在科学技术水平上进行创新,将乔林杜仲进行矮化密植形成叶林杜仲,使产叶量增大,经营周期缩短,采叶方便<sup>[5]</sup>。目前叶林杜仲已在湖北勋西、河南汝阳、灵宝,陕西略阳等地大规模人工栽培<sup>[6]</sup>。我国药典尚未对杜仲叶的栽培方式提出明确要求,对于乔林与叶林杜仲叶的植物代谢组是否有差异,已有文献对乔林与叶林杜仲叶中绿原酸、京尼平苷酸、桃叶珊瑚苷及总黄酮进行了研究,发现不同产地、不同采收时间杜仲叶中总黄酮、绿原酸、京尼平苷酸、桃叶珊瑚苷含量变化不一<sup>[7,8]</sup>,这些研究为乔林杜仲叶与叶林杜仲叶化学成分的深入奠定了基础,但研究指认的成分较少,难以全面有效阐明杜仲叶成分谱的变化。

本实验将在前人研究的基础上以四川省旺苍县和通江县两个产地的 3 年生乔林杜仲叶和新引种的叶林杜仲叶为研究对象,通过超高效液相-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱技术对乔林与叶林杜仲叶进行无差别代谢全成分分析。并结合化学模式识别技术对两种栽培方式的杜仲叶进行比较研究,以期

为杜仲叶用模式合理栽培和利用提供理论基础。

## 1 材料与方法

Vanquish 型超高效液相色谱联用 Q-Exactive 型四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);L-100 型高速多功能粉碎机(上海冰都电器有限公司);UPTUO-I-1000TE 超纯水制备仪(成都超纯科技有限公司);BT125D 型十万分之一电子天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司);Ultrasonic Cleaner 型超声机(功率 100 W, 50 Hz)。

绿原酸(批号: CHB190121);芦丁(批号: CHB190110);京尼平苷酸(批号: CHB201202);咖啡酸(批号: CHB180308);儿茶素(批号: CHB180809);二氢槲皮素(批号: CHB190105);阿魏酸(批号: wkq21010504);车叶草苷(批号: CHB180522);阿魏酸对照品购自四川省维克奇生物科技有限公司;其余均购自成都克罗马生物科技有限公司;纯度均  $\geq 98\%$ 。乙腈(美国 Fisher Chemical, 色谱纯);甲醇(北京化工厂, 分析纯);实验用水为超纯水。

杜仲叶药材采自四川省广元市旺苍县深溪村杜仲试点种植基地和四川省巴中市通江县石婆山杜仲规模化种植基地,经成都中医药大学严铸云教授鉴定为杜仲科植物杜仲 *E. ulmoides* Oliv 的干燥叶,于实验室药材储藏室保存。每个产地定点采集五棵乔林杜仲叶和五棵叶林杜仲叶,为了尽可能消除杜仲树个体间的差异,同一产地同种栽培方式的杜仲叶粉末取等量混合均匀,平均分成三份。样品信息如表 1 所示。

表 1 杜仲叶样品收集信息

Table 1 Collection information of *E. ulmoides* leaves

编号 No.	产地 Origin	栽培方式 Cultivation mode	采收时间 Collecting time
WQ1	四川省旺苍县 Wangcang County, Sichuan Province	乔林 Arboreal forest	2021. 05. 04
WQ2		乔林 Arboreal forest	2021. 05. 04
WQ3		乔林 Arboreal forest	2021. 05. 04
WA1		叶林 Leaf forest	2021. 05. 04
WA2		叶林 Leaf forest	2021. 05. 04

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	产地 Origin	栽培方式 Cultivation mode	采收时间 Collecting time
WA3	四川省通江县 Tongjiang County, Sichuan Province	叶林 Leaf forest	2021.05.04
TQ1		乔林 Arboreal forest	2021.05.09
TQ2		乔林 Arboreal forest	2021.05.09
TQ3		乔林 Arboreal forest	2021.05.09
TA1		叶林 Leaf forest	2021.05.09
TA2		叶林 Leaf forest	2021.05.09
TA3		叶林 Leaf forest	2021.05.09

## 1.1 溶液配制

### 1.1.1 供试品溶液

精密称取混合均匀的杜仲叶粉末约 1 g(过 3 号药典筛),置于具塞锥形瓶中,精密加 50% 甲醇 20 mL,超声处理 1.5 h(500 W,40 kHz)后,放凉,补足失重,滤过,离心(10 000 r/min,10 min,4 ℃),取滤液过 0.22 μm 微孔滤膜,即得供试品溶液。

### 1.1.2 对照品溶液

分别取绿原酸、芦丁、京尼平苷酸、儿茶素、二氢槲皮素、阿魏酸、车叶草苷、咖啡酸对照品适量,分别置 1 mL 容量瓶中,加 50% 甲醇定容,所得对照品溶液浓度分别为 1.09、0.57、1.18、0.72、0.38、0.49、0.66、1.24 mg/mL,置于 4 ℃ 的冰箱中冷藏保存。

## 1.2 检测条件

### 1.2.1 色谱条件

Vanquish 型超高效液相色谱联用 Q-Exactive 型四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪,Agilent Extend-C<sub>18</sub> 色谱柱(3.0 mm × 100 mm,1.8 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~15 min,7%→18% B;15~35 min,18%→25% B;35~45 min,25%→35% B;45~50 min,35%→45% B),流速 0.8 mL/min,柱温 35 ℃,进样量 3 μL。检测波长 254 nm。

### 1.2.2 质谱条件

采用电喷雾离子源(ESI),正、负离子切换模式扫描,扫描范围 100~1 500 *m/z*,Full MS 一级分辨率 35 000,二级分辨率 17 500;正负离子同时扫描,喷雾电压为 3.5 kV;离子源温度 350 ℃,鞘气流速 35 arb,辅助气流速 10 arb,离子传输管温度 320 ℃。S 状透镜电压(S-Lens)50 V,碰撞能量梯度为 20、40、60 eV。

### 1.2.3 数据处理

利用 Compound Discoverer 3.0 软件将 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 所采集的原始数据提取拟合出分子式和一级质谱的精确相对分子质量,将所得结果与 mzCloud, mz Vault, ChemSpider 数据库及本地中药成分高分辨质谱数据库 OTCML 进行匹配,对匹配结果设置过滤参数:峰面积阈值 8 万,一级准分子离子及二级碎片离子质量偏差 5 ppm(1 ppm = 1 × 10<sup>-6</sup>),匹配度分值 > 80。将过滤后的目标化合物的碎片离子信息与对照品及相关参考文献信息进行比较,对化合物鉴定。

## 2 结果与分析

杜仲叶 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 的总离子流图(total ion chromatograms, TIC)如图 1 和图 2 所示。乔林与叶林杜仲叶的化学成分在物质种类上较为一致如图 3 所示。其中共有成分有 62 种,黄酮类 9 种,苯丙素类 9 种,环烯醚萜类 2 种,有机酸类 21 种,香豆素类 5 种,其他类 16 种,结果见表 2。其中 8 种成分与对照品比对而确认,其余化合物结合数据库及参考文献鉴定。

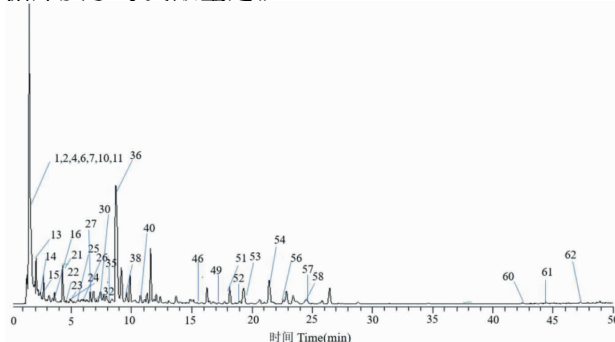


图 1 在 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 负离子模式下通江县乔林杜仲叶的总离子流图

Fig. 1 TIC of *E. ulmoides* leaves of arboreal forest in Tongjiang County under UPLC-Q-Orbitrap HRMS in negative ion mode

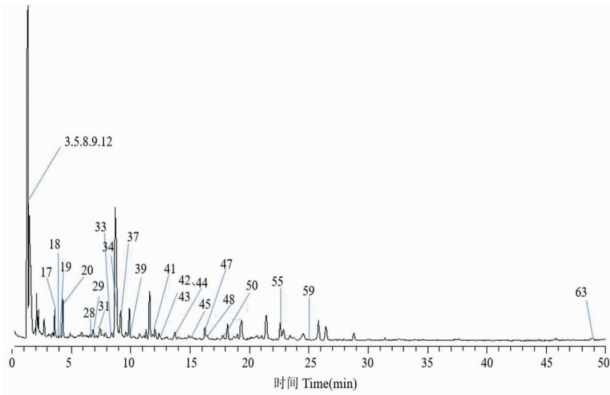


图2 在UPLC-Q-Orbitrap HRMS正离子模式下  
通江县乔林杜仲叶的总离子流图

Fig. 2 TIC of *E. ulmoides* leaves of arboreal forest in Tongjiang County under UPLC-Q-Orbitrap HRMS in positive ion mode

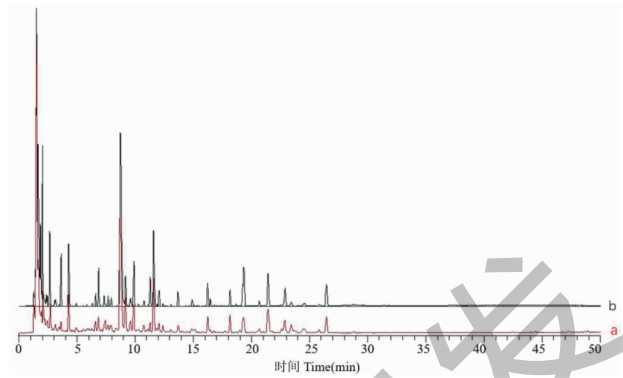


图3 负离子模式下通江县乔林与叶林杜仲叶层叠图

Fig. 3 Cascade diagram of *E. ulmoides* leaves between arboreal forest and leaf forest in Tongjiang County under negative ion mode  
注:a:为乔林杜仲叶;b:为叶林杜仲叶。Note:a:*E. ulmoides* leaves of arboreal forest;b:*E. ulmoides* leaves of leaf forest.

表2 杜仲叶化学成分的质谱信息

Table 2 Chemical constituents of *E. ulmoides* leaves by mass spectrometry

编号 No.	保留时间 $t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular	离子模式 Ion mode	实测值 Measured value ( $m/z$ )	理论值 Observed value ( $m/z$ )	误差 Deviation (ppm)	二级碎片离子 Secondary fragment ion ( $m/z$ )	分类 Classification
1	1.454	葡萄糖酸 Gluconic acid <sup>[28]</sup> *	$C_6H_{12}O_7$	$[M-H]^-$	195.050 8	195.051	-1.02	177.040 0 $[M-H-H_2O]^-$ 、41.018 6 $[M-H-3H_2O]^-$	有机酸类 Organic acids
2	1.458	$\alpha, \alpha$ -海藻糖 $\alpha, \alpha$ -Trehalose <sup>[12]</sup> *	$C_{12}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	341.109 1	341.108 9	0.59	179.055 7 $[M-H-Glu]^-$ 、161.044 6 $[M-H-Glu-H_2O]^-$	其他 Other
3	1.48	5-羟甲基-2-糠醛 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde <sup>[9]</sup>	$C_6H_6O_3$	$[M+H]^+$	127.039 2	127.038 9	2.36	109.028 8 $[M+H-H_2O]^+$ 、 81.034 1 $[M+H-H_2O-CO]^+$	其他 Other
4	1.489	$D$ - $\alpha$ -羟基戊二酸 $D$ - $\alpha$ -Hydroxyglutaric acid <sup>[16]</sup>	$C_5H_8O_5$	$[M-H]^-$	147.029 3	147.029 8	-3.4	129.018 6 $[M-H-H_2O]^-$ 、85.028 6 $[M-H-H_2O-CO_2]^-$	有机酸类 Organic acids
5	1.498	$D$ -(+)-脯氨酸 $D$ -(+)-proline <sup>[10,19]</sup>	$C_5H_9NO_2$	$[M+H]^+$	116.070 9	116.070 6	2.58	98.071 5 $[M+H-H_2O]^+$ 、 70.065 8 $[M+H-H_2O-CO]^+$ 、 55.055 0 $[M+H-CO-CH_2-H]^+$	其他 Other
6	1.506	$D$ -(-)-奎尼酸 $D$ -(-)-Quinic acid <sup>[10,15]</sup> *	$C_7H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	191.055 8	191.056 1	-1.57	173.045 1 $[M-H-H_2O]^-$ 、127.039 3 $[M-H-2H_2O-CO]^-$ 、111.044 3 $[M-H-2H_2O-CO_2]^-$ 、93.033 7 $[M-H-2H_2O-CO-2OH]^-$	有机酸类 Organic acids
7	1.566	$D$ -(-)-果糖 $D$ -(-)-Fructose <sup>[10]</sup>	$C_6H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	179.056 1	179.056 1	0	161.045 2 $[M-H-H_2O]^-$ 、101.023 6 $[M-H-O-CO_2]^-$	其他 Other
8	1.599	吡哆醇 Pyridoxine <sup>[12]</sup>	$C_8H_{11}NO_3$	$[M+H]^+$	170.081 2	170.081 1	0.59	152.070 7 $[M+H-H_2O]^+$ 、 124.075 8 $[M+H-HCOOH]^+$ 、 106.065 3 $[M+H-H_2O-HCOOH]^+$	其他 Other
9	1.633	$L$ -酪氨酸 $L$ -tyrosine <sup>[12]</sup>	$C_9H_{11}NO_3$	$[M+H]^+$	182.081 4	182.081 1	1.65	165.054 7 $[M+H-NH_3]^+$ 、 136.075 8 $[M+H-HCOOH]^+$ 、 119.049 4 $[M+H-HCOOH-NH_3]^+$ 、 91.054 7 $[M+H-C_2H_5NO_3]^+$	其他 Other

续表 2 (Continued Tab. 2)

编号 No.	保留时间 $t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular	离子模式 Ion mode	实测值 Measured value ( $m/z$ )	理论值 Observed value ( $m/z$ )	误差 Deviation (ppm)	二级碎片离子 Secondary fragment ion ( $m/z$ )	分类 Classification
10	1.655	柠檬酸 Citric acid <sup>[11,12,18]</sup> *	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	191.019 4	191.019 7	-1.57	173.009 0 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 129.018 6 [M-H-H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 111.008 0 [M-H-H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 87.007 9 [M-H-H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	有机酸类 Organic acids
11	1.673	顺乌头酸 <i>cis</i> -Aconitic acid <sup>[12]</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	173.008 5	173.009 1	-3.47	111.008 0 [M-H-HCOOH-OH] <sup>-</sup>	有机酸类 Organic acids
12	1.682	对香豆醛 <i>p</i> -Coumaraldehyde <sup>[12]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	149.059 8	149.059 7	0.67	131.049 3 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 103.054 7 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>	香豆素类 Coumarins
13	2.087	反乌头酸 <i>trans</i> -Aconitic acid <sup>[12]</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	173.008 5	173.009 1	-3.47	111.008 0 [M-H-HCOOH-OH] <sup>-</sup>	有机酸类 Organic acids
14	2.519	3-羟基-3-甲基戊二酸 3-Hydroxy-3-methylglutaric acid <sup>[9]</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	161.045 1	161.045 5	-2.48	143.034 2 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 99.044 3 [M-H-COOH-OH] <sup>-</sup>	有机酸类 Organic acids
15	2.688	3',4'-二羟基苯丙酮 3',4'-Dihydroxyphenylacetone <sup>[16]</sup> *	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	165.055 1	165.055 7	-3.64	150.031 5 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 137.060 2 [M-H-CO] <sup>-</sup> , 123.044 4 [M-H-CO-CH <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	苯丙素类 Phenylpropanoids
16	3.604	DL-苹果酸 DL-Malic acid <sup>[16]</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	133.013 5	133.014 2	-4.51	115.002 9 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 89.023 5 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 71.012 9 [M-H-CO <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 149.060 0 [M+H-NH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 131.049 3 [M+H-NH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 120.081 1 [M+H-HCOOH] <sup>+</sup> , 103.054 7 [M+H-HCOOH-NH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	有机酸类 Organic acids
17	3.617	苯丙氨酸 <i>L</i> -Phenylalanine <sup>[12]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	166.086 4	166.086 2	1.2	202.107 5 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 184.097 1 [M+H-2H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	有机酸类 Organic acids
18	4.098	泛酸 Pantothenic acid <sup>[13]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	220.118	220.117 9	-0.45	109.028 8 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	其他 Other
19	4.177	麦芽酚 Maltol <sup>[14]</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	127.039 3	127.038 9	3.15	149.059 7 [M+H-CO] <sup>+</sup> , 133.064 6 [M+H-CO-O] <sup>+</sup> , 121.065 0 [M+H-CO-CO] <sup>+</sup>	香豆素类 Coumarins
20	4.258	4-甲基伞形酮 4-Methylumbelliferone <sup>[13]</sup> *	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	177.054 7	177.054 6	0.56	123.044 4 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 107.013 0 [M-H-HCOOH-CH <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	有机酸类 Organic acids
21	4.346	同质酸 Homogentisic acid <sup>[19]</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	167.034 4	167.034 9	-2.99	211.061 1 [M-H-Glu] <sup>-</sup> , 167.071 0 [M-H-Glu-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 123.044. 4 [M-H-CO <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 193.050. 7 [M-H-Glu-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 149.060 2 [M-H-Glu-H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	环烯醚萜类 Iridoids
22	4.44	京尼平昔酸 Geniposidic acid <sup>[22,24]</sup> #	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	373.114 3	373.114	0.8	123.044 4 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	有机酸类 Organic acids
23	4.541	3-羟基扁桃酸 3-Hydroxymandelic acid <sup>[21]</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	167.034 4	167.034 9	-2.99	179.055 7 [M-H-Glu] <sup>-</sup> , 161.044 6 [M-H-Glu-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	其他 Other
24	4.661	蔗糖 Sucrose <sup>[12]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	341.109 1	341.108 9	0.59	121.065 5 [M-H-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 103.054 4 [M-H-COOH-H] <sup>-</sup> , 90.932 5 [M-H-COOH-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	苯丙素类 Phenylpropanoids
25	5.593	苯丙酸 Hydrocinnamic acid <sup>[11]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	149.060 2	149.060 8	-4.02		

续表 2 (Continued Tab. 2)

编号 No.	保留时间 $t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular	离子模式 Ion mode	实测值 Measured value ( $m/z$ )	理论值 Observed value ( $m/z$ )	误差 Deviation (ppm)	二级碎片离子 Secondary fragment ion ( $m/z$ )	分类 Classification
26	5.715	己二酸 Adipic acid <sup>[9,16]</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	145.049 9	145.050 6	-4.83	127.039 4 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 101.059 9 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 83.049 3 [M-H-H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	有机酸类 Organic acids
27	6.659	2-茴香酸 2-Anisic acid <sup>[12]</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	151.039 4	151.04	-3.97	107.049 4 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 121.028 7 [M-H-CH <sub>3</sub> -O + H] <sup>-</sup>	有机酸类 Organic acids
28	6.935	麝香苷酸 Mussaenosidic acid <sup>[12]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	377.145 6	377.144 2	3.71	216.077 0 [M + H-Glu + H] <sup>+</sup> , 172.087 0 [M + H-Glu + H-CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	有机酸类 Organic acids
29	7.453	香豆素 Coumarin <sup>[12]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	147.044 1	147.044	0.68	119.049 4 [M + H-CO] <sup>+</sup> , 91.054 7 [M + H-CO-CO] <sup>+</sup>	香豆素类 Coumarins
30	7.455	苦杏仁酸 Asperulosidic acid <sup>[12]</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	431.119 3	431.119 4	-0.23	269.061 7 [M-H-Glu] <sup>-</sup> , 225.076 6 [M-H-Glu-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 207.066 5 [M-H-Glu-CO <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	有机酸类 Organic acids
31	7.617	3, 4-二甲基苯甲酸 3, 4-Dimethylbenzoic acid <sup>[9]*</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	151.075 5	151.075 3	1.32	121.065 0 [M + H-CH <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 105.070 3 [M + H-COOH-H] <sup>+</sup> , 91.054 8 [M-COOH-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> , 79.054 8 [M + H-CH <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> -COOH + H + H] <sup>+</sup>	有机酸类 Organic acids
32	7.999	4-羟基苯甲酸 4-Hydroxy-Benzoic acid <sup>[15]</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	137.023 8	137.024 4	-4.38	93.033 7 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	有机酸类 Organic acids
33	8.328	3, 5-二甲氧基-4-羟基苯甲醛 3, 5-Dimethoxy-4-Hydroxybenzaldehyde <sup>[12]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	183.065 9	183.065 1	4.37	154.990 8 [M + H-CO] <sup>+</sup> , 123.044 1 [M + H-CO-CH <sub>3</sub> -O-H] <sup>+</sup> , 95.049 4 [M + H-CO-CH <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> + H + H] <sup>+</sup>	其他 Other
34	8.56	山柰酚-7-O-葡萄糖苷 Kaempferol-7-O-glucoside <sup>[12]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	449.107 1	449.107 8	-1.56	287.055 0 [M + H-Glu] <sup>+</sup> , 153.018 5 [M + H-Glu-C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	黄酮类 Flavonoids
35	8.699	咖啡酸 Caffeic acid <sup>[19] #</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	179.034 5	179.034 9	-2.2	135.044 4 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 117.033 8 [M-H-CO <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 107.049 6 [M-H-CO <sub>2</sub> -CO] <sup>-</sup> , 89.023 4 [M-H-CO <sub>2</sub> -Phenylpropanoids CO-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	苯丙素类 Phenylpropanoids
36	9.106	绿原酸 Chlorogenic acid <sup>[19] #</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	353.088 2	353.087 8	1.13	191.055 8 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 179.034 6 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup> , 173.044 5 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , Phenylpropanoids 135.044 5 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	苯丙素类 Phenylpropanoids
37	9.132	4-羟基苯甲醛 4-Hydroxybenzaldehyde <sup>[12]</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	123.044 3	123.044	2.44	105.034 1 [M + H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 95.049 6 [M + H-CO] <sup>+</sup>	其他 Other
38	9.855	车叶草苷 Asperuloside <sup>[22] #</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	413.108 8	413.108 9	-0.24	191.034 6 [M-H-Glu-CO-CH <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 147.044 5 [M-H-Glu-CO-CH <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	环烯醚萜类 Iridoids
39	10.265	6, 7-二羟基香豆素 6, 7-Dihydroxy Coumarin <sup>[12]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	179.034 0	179.033 8	1.12	151.039 2 [M + H-CO] <sup>+</sup>	香豆素类 Coumarins

续表 2(Continued Tab. 2)

编号 No.	保留时间 $t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular	离子模式 Ion mode	实测值 Measured value ( $m/z$ )	理论值 Observed value ( $m/z$ )	误差 Deviation (ppm)	二级碎片离子 Secondary fragment ion ( $m/z$ )	分类 Classification
40	10.998	原花青素 B2 Procyanidin B2 <sup>[15]</sup>	$C_{30}H_{26}O_{12}$	[M-H] <sup>-</sup>	577.137 6	577.135 1	4.33	425.089 1 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> 、 407.077 3 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> 、 289.072 2 [M-H-C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> ] <sup>-</sup> 、 125.023 7 [M-H-C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> -CO <sub>2</sub> - C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>-</sup>	其他 Other
41	12.031	4-香豆酸 4-Coumaric acid <sup>[30]</sup>	$C_9H_8O_3$	[M+H] <sup>+</sup>	165.054 7	165.054 6	0.61	147.044 1 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> 、 119.049 4 [M+H-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>	苯丙素类 Phenylpropanoids
42	12.357	原儿茶醛 Protocatechuic aldehyde <sup>[12]</sup>	$C_7H_6O_3$	[M+H] <sup>+</sup>	139.039 0	139.038 9	0.72	121.028 7 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> 、 111.044 4 [M+H-CO] <sup>+</sup> 、93.033 9 [M+H-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> 、65.039 2 [M+H-CO-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup>	苯丙素类 Phenylpropanoids
43	12.358	儿茶素 Catechin <sup>[16]</sup> #	$C_{15}H_{14}O_6$	[M+H] <sup>+</sup>	291.086 5	291.086 3	0.69	179.070 3 [M+H-C <sub>3</sub> O <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> 、 123.044 4 [M+H-C <sub>3</sub> O <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> - C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> ] <sup>+</sup>	有机酸类 Organic acids
44	13.731	4-吲哚甲醛 4-Indolecarbal- dehyde <sup>[13]</sup>	$C_9H_7NO$	[M+H] <sup>+</sup>	146.060 1	146.06	0.69	118.065 4 [M+H-CO] <sup>+</sup> 、117.057 6 [M+H-CO-H] <sup>+</sup> 、100.048 0 [M+ H-CO-H-NH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	其他 Other
45	15.095	苯乙醛 Phenylacetalde- hyde <sup>[17]</sup>	$C_8H_8O$	[M+H] <sup>+</sup>	121.065	121.064 7	2.48	93.070 4 [M+H-CO] <sup>+</sup> 、79.054 7 [M+H-CO-CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	其他 Other
46	15.767	杨梅素 3-O-β- D-半乳吡喃糖 苷 Myricetin3-O- beta-D-galacto- pyranoside <sup>[18]</sup>	$C_{21}H_{20}O_{13}$	[M-H] <sup>-</sup>	479.083	479.083 1	-0.21	316.022 6 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> -H] <sup>-</sup>	黄酮类 Flavonoids
47	16.267	7-羟基香豆素 7-Hydroxycou- marin <sup>[13]</sup>	$C_9H_6O_3$	[M+H] <sup>+</sup>	163.039 1	163.038 9	0.61	135.044 2 [M+H-CO] <sup>+</sup> 、107.049 5 [M+H-2CO] <sup>+</sup> 、117.033 8 [M+ H-CO-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> 、145.028 5 [M+H- H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> 、89.039 2 [M+H-2CO- H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> 287.054 8 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> 、	香豆素类 Coumarins
48	16.358	二氢槲皮素 Taxifolin <sup>[18]</sup> #	$C_{15}H_{12}O_7$	[M+H] <sup>+</sup>	305.064 2	305.065 5	1.31	149.023 4 [M+H-H <sub>2</sub> O-C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> + H+H] <sup>+</sup> 、185.059 4 [M+H- C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>+</sup>	黄酮类 Flavonoids
49	17.246	阿魏酸 Ferulic acid <sup>[15,21]</sup> #	$C_{10}H_{10}O_4$	[M-H] <sup>-</sup>	193.050 3	193.050 6	-1.55	178.026 7 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> 、134.036 6 [M-H-CH <sub>2</sub> -COOH] <sup>-</sup> 、121.028 6 [M-H-2CH <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> 、106.041 5 [M-H-2CH <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	苯丙素类 Phenylpropanoids
50	17.696	3-甲氧基苯甲 醛 3-Methoxybenz- aldehyde <sup>[12]</sup>	$C_8H_8O_2$	[M+H] <sup>+</sup>	137.059 8	137.059 7	0.73	122.036 4 [M+H-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> 、94.041 8 [M+H-CH <sub>3</sub> -CO] <sup>+</sup>	其他 Other
51	18.104	芦丁 Rutin <sup>[19,35]</sup> #*	$C_{27}H_{30}O_{16}$	[M-H] <sup>-</sup>	609.146 7	609.146 1	0.98	300.027 8 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> O <sub>9</sub> ] <sup>-</sup> 、271. 025 1 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub> -CO] <sup>-</sup> 、255. 030 0 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> 、243. 030 0 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub> -CO-CO] <sup>-</sup> 、 151.003 1 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> O <sub>9</sub> -CO- C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> 、107.012 9 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub> -CO-C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	黄酮类 Flavonoids

续表 2 (Continued Tab. 2)

编号 No.	保留时间 $t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular	离子模式 Ion mode	实测值 Measured value ( $m/z$ )	理论值 Observed value ( $m/z$ )	误差 Deviation (ppm)	二级碎片离子 Secondary fragment ion ( $m/z$ )	分类 Classification
52	18.986	原花青素 B1 Procyanidin B1 <sup>[15]</sup>	$C_{30}H_{26}O_{12}$	[M-H] <sup>-</sup>	577.136	577.135	1.56	425.089 1 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 407.077 3 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 289.072 2 [M-H-C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> ] <sup>-</sup> , 125.023 7 [M-H-C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>-</sup> , 300.027 7 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> ] <sup>-</sup> , 271.025 0 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> -CHO] <sup>-</sup> , 255.029 9 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> - HCO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 178.998 1 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> -C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 151.003 0 [M-H- C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> -C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> -CO] <sup>-</sup> , 93.033 7 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 65.038 8 [M-H-CO <sub>2</sub> -CO] <sup>-</sup>	其他 Other
53	19.197	槲皮素-3-O-β- D-葡萄糖苷 Quercetin-3-O- β-D-glucoside <sup>[27]*</sup>	$C_{21}H_{20}O_{12}$	[M-H] <sup>-</sup>	463.088	463.088	1.07	287.055 0 [M+H-Glu] <sup>+</sup> , 153.018 5 [M+H-Glu-C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	黄酮类 Flavonoids
54	21.72	水杨酸 Salicylic acid <sup>[15,16]</sup>	$C_7H_6O_3$	[M-H] <sup>-</sup>	137.023	137.024	-4.38	353.087 9 [M-H-caffeoyl] <sup>-</sup> , 191.055 6 [quinic acid-H] <sup>-</sup> , 179.034 4 [caffeic acid-H] <sup>-</sup> , 135.044 4 [caffeic acid-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	有机酸类 Organic acids
55	22.801	三叶草苷 Trifolin <sup>[12]</sup>	$C_{21}H_{20}O_{11}$	[M+H] <sup>+</sup>	449.107	449.107	-1.56	301.072 0 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub> ] <sup>-</sup> , 286. 048 6 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 242. 058 6 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub> -CH <sub>3</sub> -CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> , 151.001 0 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub> -C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>	黄酮类 Flavonoids
56	22.814	4,5-二咖啡酰 奎宁酸 4,5-Dicaffeoyl quinic acid <sup>[23]*</sup>	$C_{25}H_{24}O_{12}$	[M-H] <sup>-</sup>	515.119	515.119	0	178.026 7 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 134.036 6 [M-H-CH <sub>2</sub> -COOH+H] <sup>-</sup>	苯丙素类 Phenylpropanoids
57	24.332	新橙皮苷 Neohesperidin <sup>[20]</sup>	$C_{28}H_{34}O_{15}$	[M-H] <sup>-</sup>	609.183	609.182	1.97	271.059 4 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 153.018 2 [M+H-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	黄酮类 Flavonoids
58	24.633	异阿魏酸 Isoferulic acid <sup>[24]</sup>	$C_{10}H_{10}O_4$	[M-H] <sup>-</sup>	193.050	193.050	-1.04	177.018 4 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O] <sup>-</sup> , 151.003 1 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>-</sup> , 119.049 5 [M-H-C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup> , 93.033 7 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>	苯丙素类 Phenylpropanoids
59	25.145	圣草素 Eriodictyol <sup>[24]</sup>	$C_{15}H_{12}O_6$	[M+H] <sup>+</sup>	289.070	289.070	0	309.207 2 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 183.138 3 [M-H-H <sub>2</sub> O-C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O+H] <sup>-</sup>	黄酮类 Flavonoids
60	42.421	柚皮素 Naringenin <sup>[19,22]</sup>	$C_{15}H_{12}O_5$	[M-H] <sup>-</sup>	271.061	271.061	1.11	311.221 5 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	黄酮类 Flavonoids
61	44.354	未知 Unknow	$C_{18}H_{32}O_5$	[M-H] <sup>-</sup>	327.217	327.217	0.92	275.201 0 [M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup> , 203.143 9 [M+H-2COOH] <sup>+</sup>	未知 Unknown
62	47.626	(15Z)-9,12, 13-Trihydroxy- 15-octadecenoic acid <sup>[26]</sup>	$C_{18}H_{34}O_5$	[M-H] <sup>-</sup>	329.233	329.233	0.61		其他 Other
63	49.249	9S,13R-12-Oxo- phytdienoic acid <sup>[16]</sup>	$C_{18}H_{28}O_3$	[M+H] <sup>+</sup>	293.211	293.211	1.71		有机酸类 Organic acids

注: \* 乔林与叶林杜仲叶中相对含量上存在差异的化学成分; # 经对照品比对后的结果。

Note: \* Chemical constituents with differences in relative content in *E. ulmoides* leaves of arboreal forest and leaf forest; # After comparison with the reference substance.



### 3.1 黄酮类化合物裂解途径

黄酮类化合物是一类含有 2-苯基色原酮结构的化合物,主要包括黄酮苷元和黄酮苷类。在负离子模式下,黄酮苷类化合物首先易脱去糖基,而后进行黄酮苷元的裂解,黄酮苷元类裂解方式主要有两种:一是脱去  $\text{CO}$ 、 $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$  等中性离子;二是发生狄尔斯-阿尔德(RDA)裂解,C 环裂开产生具有特征性的二级碎片,此裂解方式也是黄酮类化合物的主要裂解规律。本研究共鉴定和推测出 9 种黄酮类化合物。以化合物 **51** 号为例,在负离子模式下的准分子离子峰为  $m/z$  609.1467  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ,可推测其分子式为  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$ ,失去  $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_9$ ,形成二级碎片例子  $m/z$  300.0278  $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_9]^-$ ,失去  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_9$ 、 $\text{CO}$ ,形成二级碎片离子  $m/z$  271.0251  $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_9-\text{CO}]^-$ 、 $m/z$  243.0298  $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_9-\text{CO}-\text{CO}]^-$ ,失去  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_9$ 、 $\text{CO}$ 、 $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_2$ 、 $\text{CO}_2$ ,形成二级碎片离子  $m/z$  151.0032  $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_9-\text{CO}-\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_2]^-$ 、 $m/z$  107.0129  $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_9-\text{CO}-\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_2-\text{CO}_2]^-$ 、 $m/z$  255.0300  $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_9-\text{CO}_2]^-$ ;根据文献报道及对照品比对后确定该化合物为芦丁,其二级碎片图及裂解规律简图 4、5。

### 3.2 苯丙素类化合物裂解途径

苯丙素类化合物是形成木质素的前体,在杜仲叶中含量较高。通过参考文献及对照品比对从杜仲叶中鉴定出了 9 种苯丙素类化合物。以化合物 **36** 为例,在负离子模式下形成准分子离子峰为  $m/z$  353.0882  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ,推测其分子式为  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$ ,在二级质谱中,依次丢掉  $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$ 、 $\text{H}_2\text{O}$  形成碎片离子  $m/z$  191.0558  $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3]^-$ 、 $m/z$  173.0450  $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3-\text{H}_2\text{O}]^-$ ;连续脱掉  $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5$ 、 $\text{CO}_2$  形成碎片离子  $m/z$  179.0346  $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ 、 $m/z$  135.0445  $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CO}_2]^-$ ;根据文献报道及对照品比对

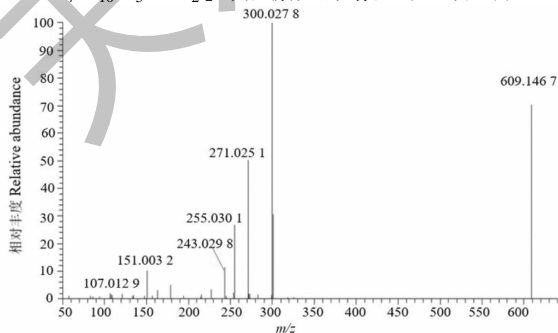


图 4 芦丁二级质谱图

Fig. 4 Secondary mass spectrum of rutin

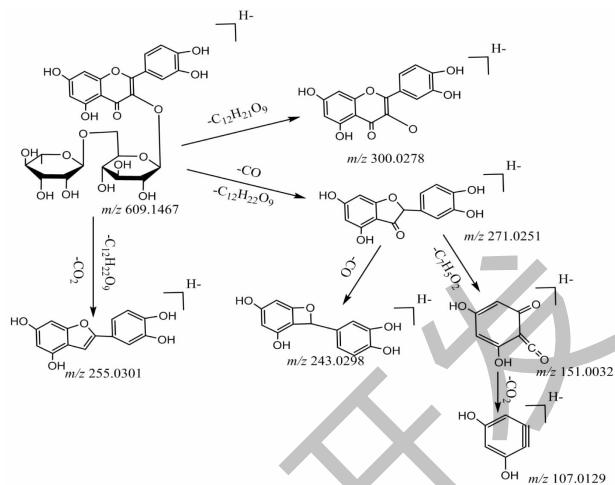


图 5 芦丁质谱裂解途径

Fig. 5 Fragment pathway of rutin

后确定化合物 **36** 号为绿原酸,其二级碎片图及裂解规律如图 6、7 所示。

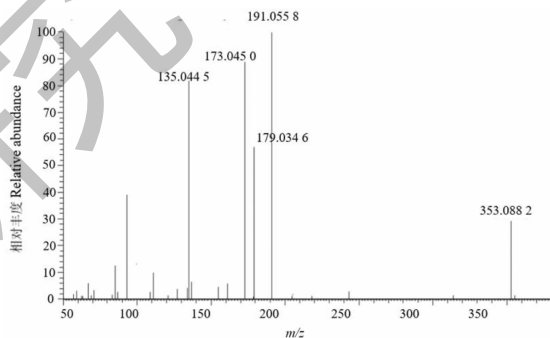


图 6 绿原酸二级质谱图

Fig. 6 Secondary mass spectrum of chlorogenic acid

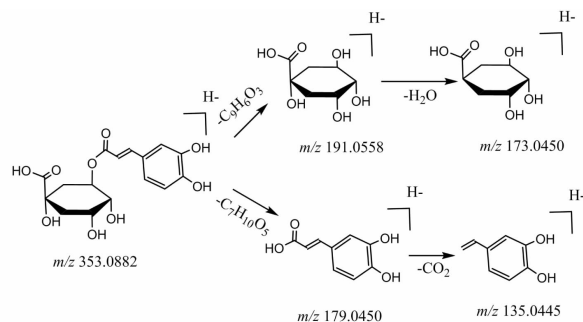


图 7 绿原酸质谱裂解途径

Fig. 7 Fragment pathway of chlorogenic acid

### 3.3 环烯醚萜类化合物裂解途径

环烯醚萜类化合物的裂解表现为中性丢失母环上的功能基团  $\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CO}_2$ 、 $\text{CH}_3\text{COOH}$  和糖单元等以及糖苷键断裂,中性丢失葡萄糖残基 ( $-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ ,

-Glu)或葡萄糖(-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, -Gluconse)。在负离子模式下从杜仲叶中共鉴定出2种环烯醚萜类:化合物**22**和**38**。以化合物**22**为例,在负离子模式下的准分子离子峰为  $m/z$  373.114 3 [M-H]<sup>-</sup>, 推测出其分子式为 C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub>, 脱去葡萄糖残基得  $m/z$  211.061 1 [M-H-Glu]<sup>-</sup>, 后再脱去 CO<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>O 形成碎片离子  $m/z$  167.071 0 [M-H-Glu-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>、 $m/z$  123.044 4 [M-H-CO<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>、 $m/z$  193.050 7 [M-H-Glu-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>、 $m/z$  149.060 2 [M-H-Glu-H<sub>2</sub>O-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>; 根据文献报道及对对照品比对后确定化合物**22**为京尼平昔酸。其二级碎片图及裂解规律图如图8、9示。

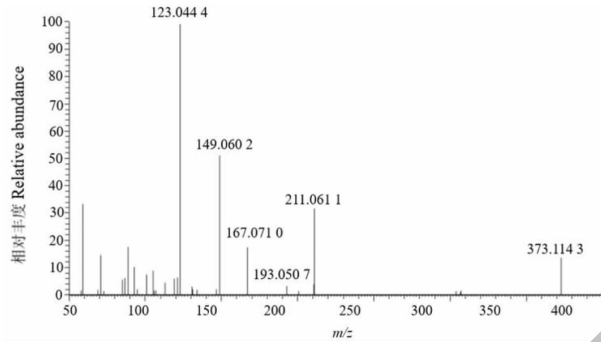


图8 京尼平昔酸二级质谱图

Fig. 8 Secondary mass spectrum of geniposide acid

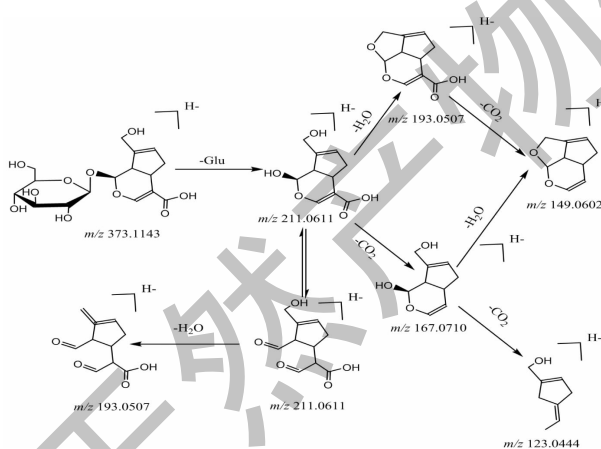


图9 京尼平昔酸质谱裂解途径

Fig. 9 Fragment pathway of geniposide

### 3.4 有机酸类化合物裂解途径

有机酸是一类具有羧基, 酚羟基等酸性基团有机化合物。二级质谱裂解特征主要为先失去糖苷、酰基, 而后丢掉 CO、OH、H<sub>2</sub>O、CO<sub>2</sub>、HCOOH 等中性分子, 从杜仲叶中共鉴定出21种有机酸类化合物。以化合物**6**为例, 其在负离子模式下形成准分子离子  $m/z$  191.055 8 [M-H]<sup>-</sup>, 推测其分子式为 C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>

O<sub>6</sub>; 在二级质谱中, 丢掉 H<sub>2</sub>O、HCOOH、CO 形成碎片离子  $m/z$  173.055 8 [M-H-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>、 $m/z$  127.039 3 [M-H-H<sub>2</sub>O-HCOOH]<sup>-</sup>、 $m/z$  85.028 6 [M-H-H<sub>2</sub>O-HCOOH-H<sub>2</sub>O-CO + H]<sup>-</sup>。根据文献报道, 确定化合物**6**为D-(-)-奎尼酸。其二级碎片图及裂解规律图如图10、11所示。

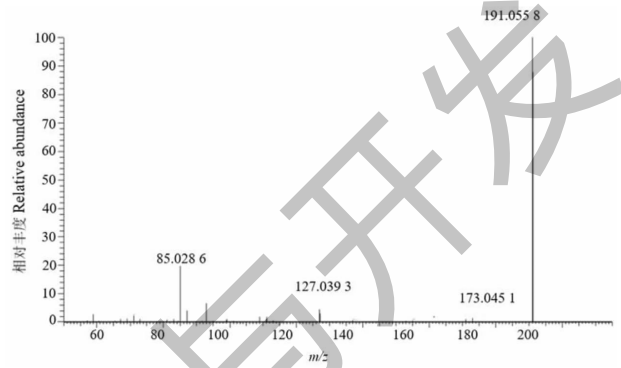


图10 D-(-)-奎尼酸二级质谱图

Fig. 10 Secondary mass spectrum of D-(-)-quinic acid

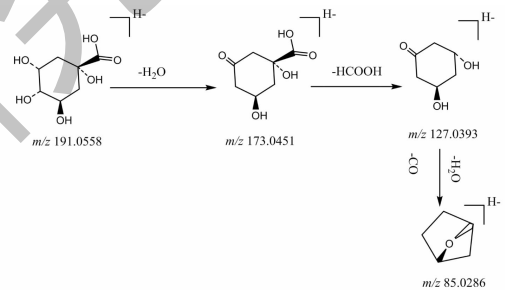


图11 D-(-)-奎尼酸质谱裂解途径

Fig. 11 Fragment pathway of D-(-)-quinic acid

### 3.5 香豆素类化合物裂解途径

香豆素指含有苯骈α-吡喃酮母核的肉桂酸型衍生物, 具有芳香气味。根据取代基的不同可分为简单香豆素、呋喃香豆素、吡喃香豆素以及其他香豆素类。尽管香豆素取代位点和取代基不同, 但它们的断裂模式具有一定的规律。香豆素的基本骨架很难被断裂, 主要是通过丢失 -CH<sub>3</sub>、-CO、-CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O 等小分子基团来产生碎片离子。本实验共鉴定了5种香豆素类成分。以化合物**47**为例, 在正离子模式下准分子离子峰为  $m/z$  163.039 1, 可推测其分子式为 C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>, 在正离子模式下失去 H<sub>2</sub>O、CO 分别形成二级碎片离子。  $m/z$  135.044 2 [M + H-CO]<sup>+</sup>、 $m/z$  107.049. 5 [M + H-2CO]<sup>+</sup>、 $m/z$  117.033. 8 [M + H-2CO-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、 $m/z$  145.028 5 [M + H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、 $m/z$  89.039 2 [M + H-2CO-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 根据参考文献比对推

测出该化合物为 7-羟基香豆素。其二级碎片图及裂解规律如图 12、13 所示。

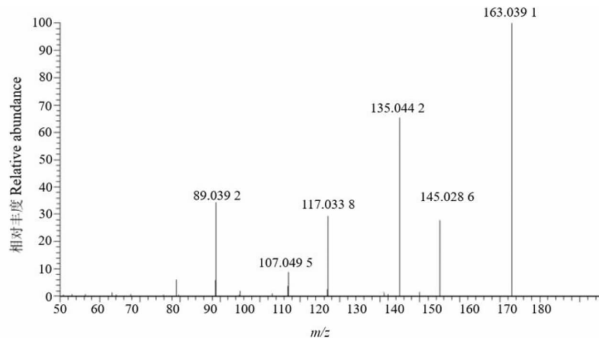


图 12 7-羟基香豆素二级质谱图

Fig. 12 Secondary mass spectrum of 7-hydroxycoumarin

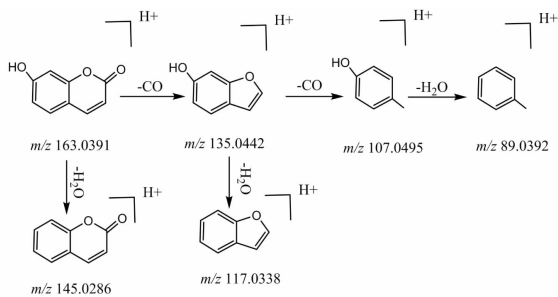


图 13 7-羟基香豆素质谱裂解途径

Fig. 13 Fragment pathway of 7-hydroxycoumarin

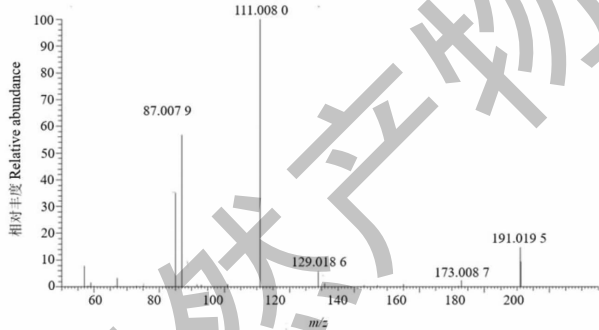


图 14 柠檬酸二级质谱图

Fig. 14 Secondary mass spectrum of citric acid

### 3.6 其他类化合物裂解途径

其他类化合物共鉴定出 16 种。以化合物 **10** 为例,其在负离子模式下可形成准分子离子  $m/z$  191.0194  $[M-H]^-$ ,可推测其分子式为  $C_6H_8O_7$ ;在二级质谱中,可推测其丢失  $H_2O$ 、 $CO_2$ 、 $C_2H_2O$  形成碎片离子  $m/z$  173.0090  $[M-H-H_2O]^-$ 、 $m/z$  129.0186  $[M-H-H_2O-CO_2]^-$ 、 $m/z$  111.0080  $[M-H-H_2O-CO_2-H_2O]^-$ 、 $m/z$  87.0079  $[M-H-H_2O-CO_2-C_2H_2O]^-$ ;根据

文献报道可推测出该化合物为柠檬酸,其二级碎片图及裂解规律图如图 14、15 所示;化合物 **3** 在正离子模式下准分子离子为  $m/z$  127.0392  $[M+H]^+$ ,推测其分子式为  $C_6H_6O_3$ ,二级质谱中依次失去  $H_2O$ 、 $CO$  形成碎片离子  $m/z$  109.0288  $[M+H-H_2O]^+$ 、 $m/z$  81.0341  $[M+H-H_2O-CO]^+$ ,根据文献报道确定化合物 **3** 为 5-羟甲基-2-糠醛。其二级碎片图及裂解规律图如图 16、17 所示。

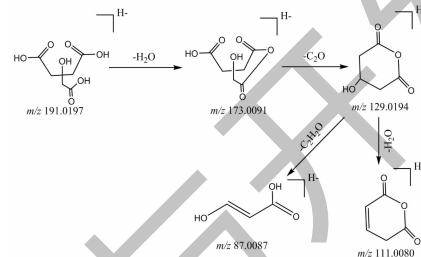


图 15 柠檬酸质谱裂解途径

Fig. 15 Fragment pathway of citric acid

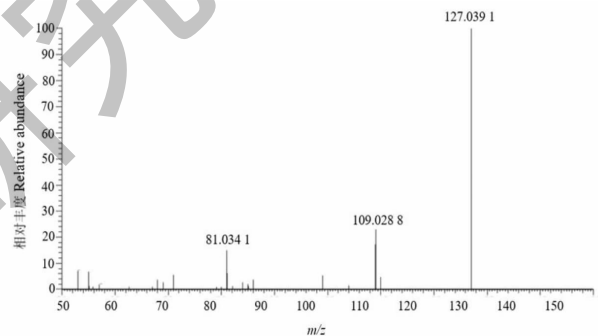


图 6 5-羟甲基-2-糠醛二级质谱图

Fig. 16 Secondary mass spectrum of 5-hydroxymethyl-2-furfural

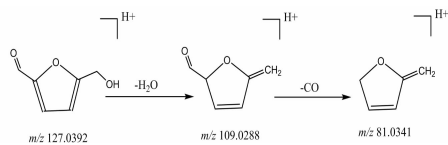


图 17 5-羟甲基-2-糠醛质谱裂解途径

Fig. 17 Fragment pathway of 5-hydroxymethyl-2-furfural

### 3.7 乔林与叶林杜仲叶主成分分析

将上述杜仲叶样品 63 个共有成分的峰面积导入 SIMCA14.1 软件,通过主成分分析初步判断各样本的聚集情况,反映组内和组间差异。PCA 拟合的模型  $R^2X=0.954$ ,  $Q^2=0.745$ ,均  $>0.5$ ,表明该模型具有较好的预测能力。由 PCA 得分图(见图 18)可看出,旺苍乔林杜仲叶、旺苍叶林杜仲叶、通江乔林杜仲叶和通江叶林杜仲叶各自都能很好地聚为一

类,且乔林杜仲叶与叶林杜仲叶在  $t[1]$  主成分方向区分明显,叶林杜仲叶分布在  $t[1]$  轴右侧,乔林杜仲叶分布在  $t[1]$  轴左侧。

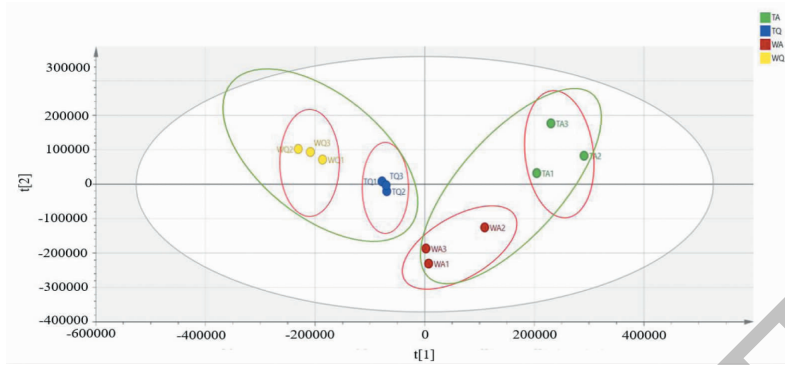


图 18 杜仲叶 PCA 得分散点图

Fig. 18 Scatter plot of PCA score of *E. ulmoides* leaves

注:TA:通江叶林杜仲叶;TQ:通江乔林杜仲叶;WA:旺苍叶林杜仲叶;WQ:旺苍乔林杜仲叶。Note:TA:*E. ulmoides* leaves of leaf forest in Tongjiang;TQ:*E. ulmoides* leaves of arboreal forest in Tongjiang;WA:*E. ulmoides* leaves of leaf forest in Wangcang;WQ:*E. ulmoides* leaves of arboreal forest in Wangcang.

### 3.8 乔林与叶林杜仲叶正交偏最小二乘法-判别分析

为了更好地突出乔林杜仲叶与叶林杜仲叶的组间差异,寻找差异成分,将杜仲叶样品中 63 个共有峰峰面积导入 SIMCA14.1 软件,进行有监督的正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)。采用常用变量重要性投影(VIP)值反映代谢物对组分的贡献性大小,一般认为  $VIP > 1$  的变量对组分有显著贡献,OPLS-DA 拟合的模型  $R^2 X = 0.735$ ,  $R^2 Y = 0.95$ ,  $Q^2 = 0.867$ ,均  $> 0.5$ ,表示该模型的预测能力较强,可以作为两种栽培方式杜仲叶的模式识别方法,杜仲叶样品 OPLS-DA 得分散点图如图 19 所示。VIP 结果见图 20,最终在正负离子模式下共筛选出 10 个

差异性成分,分别是 *D*-(-)-奎尼酸、柠檬酸、 $\alpha, \alpha$ -海藻糖、葡萄糖酸、芦丁、3,4-二甲苯基甲酸、槲皮素-3-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、4-甲基伞形酮、4,5-二咖啡酰奎宁酸、3',4'-二羟基苯丙酮,这些成分可作为区分乔林与叶林杜仲叶的特征性成分。

### 3.9 统计学分析

为比较上述对两种栽培方式影响较大的 10 种成分是否具有显著差异,采用 SPSS24.0 软件,对 10 种差异成分色谱峰的峰面积进行两独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$  表示具有显著差异,以峰面积为纵坐标,主要差异成分为横坐标,绘制乔林和叶林杜仲叶差异成分柱形图。

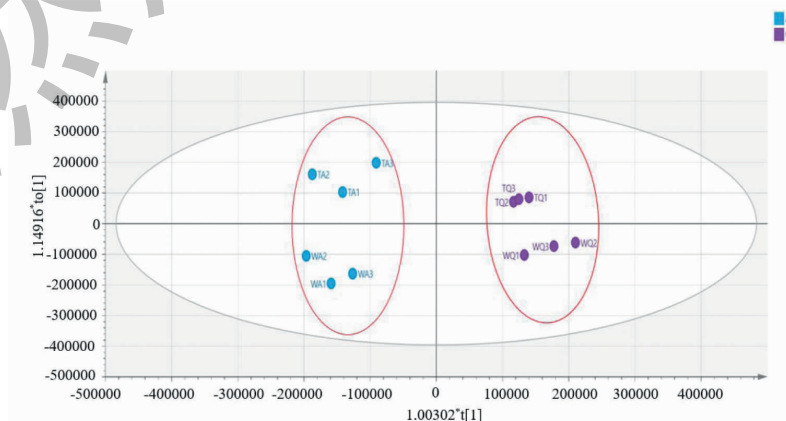


图 19 杜仲叶 OPLS-DA 得分散点图

Fig. 19 Scattered plot of OPLC-DA score of *E. ulmoides* leaves

注:A:叶林杜仲叶;Q:乔林杜仲叶,下同。Note:A:*E. ulmoides* leaves of leaf forest;Q:*E. ulmoides* leaves of arboreal forest,the same below.

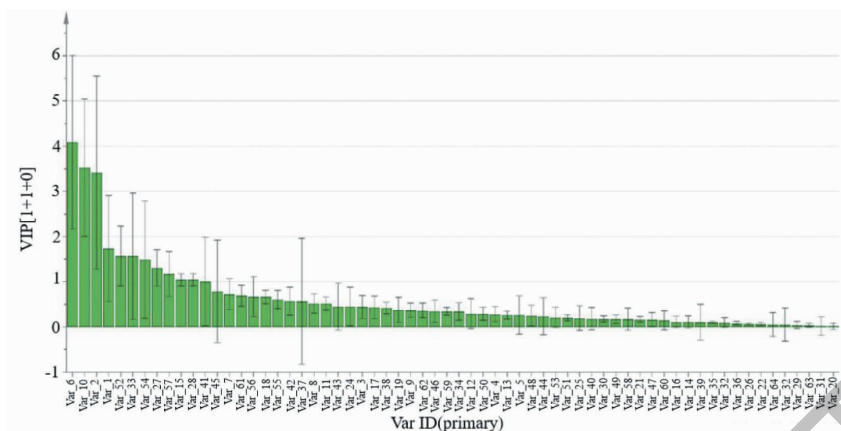


图 20 不同栽培方式杜仲叶差异成分 VIP 图

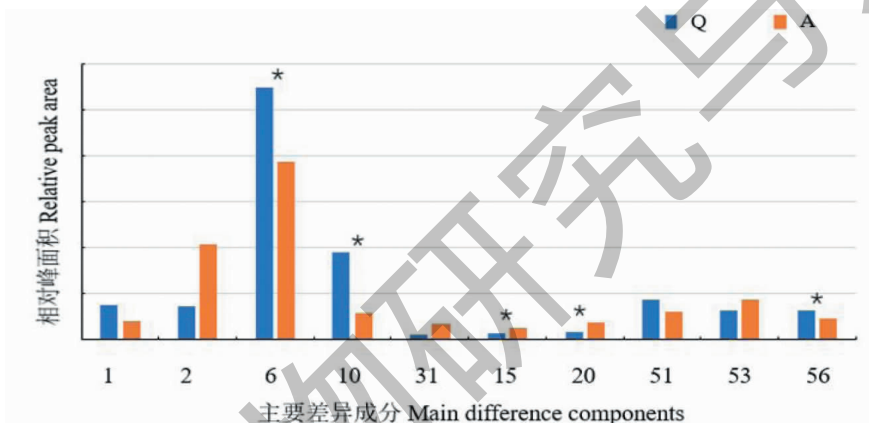
Fig. 20 VIP diagram of different components of *E. ulmoides* leaves under different cultivation methods

图 21 不同栽培模式杜仲叶差异成分比较

Fig. 21 Difference components in *E. ulmoides* leaves under different cultivation modes

注：“\*”表示存在显著差异性成分。Note：“\*” indicates main difference components.

由图 21 可知,两种栽培方式中的主要差异成分葡萄糖酸(1)、D-(-)-奎尼酸(6)、柠檬酸(10)、芦丁(51)、4,5-二咖啡酰奎宁酸(56)在乔林杜仲叶中含量相对较高,而叶林杜仲叶中 $\alpha,\alpha$ -海藻糖(2)、3,4-二甲基苯甲酸(31)、3',4'-二羟基苯丙酮(15)、4-甲基伞形酮(20)、槲皮素-3-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(53)的含量相对较高。其中 D-(-)-奎尼酸、柠檬酸、3',4'-二羟基苯丙酮、4-甲基伞形酮、4,5-二咖啡酰奎宁酸在两种栽培方式中的杜仲叶中存在显著差异,可见乔林与叶林杜仲叶中的主要成分存在有明显差异。

### 3 讨论与结论

本文采用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术对乔林与叶林杜仲叶代谢轮廓和差异成分进行了全面分析。共鉴定了 62 个化合物,其中包括其 9 种黄酮类成分,9 种苯丙素类成分,2 种环烯醚萜类成分,21

种有机酸类成分,5 种香豆素类成分和 16 种其他类成分,其中香豆素类成分对香豆醛、7-羟基香豆素、6,7-二羟基香豆素、香豆素、4-甲基伞形酮为首次在杜仲叶中发现的成分,这些成分可能与其抗肿瘤和抗骨质疏松效果密切相关。

两种栽培方式下杜仲叶化学成分基本一致,但相对含量上存在差异,其中存在显著差异成分包括 D-(-)-奎尼酸、柠檬酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、3',4'-二羟基苯丙酮、4-甲基伞形酮。其中 D-(-)-奎尼酸、柠檬酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸在乔林杜仲叶中含量相对较高,3',4'-二羟基苯丙酮、4-甲基伞形酮在叶林杜仲叶中含量相对较高。这些成分在含量上的差异可作为区分乔林与叶林杜仲叶的特征性成分。其中 D-(-)-奎尼酸为对映纯化合物如绿原酸、咖啡酰奎尼酸等合成中有用的手性源<sup>[28]</sup>,4,5-二咖啡酰奎

宁酸具有抗氧化、抗炎等生物活性<sup>[29]</sup>,4-甲基伞形酮具有抗炎、抑制透明质酸等作用<sup>[30,31]</sup>,因此建议将D-(-)-奎尼酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、4-甲基伞形酮作为区分乔林与叶林杜仲叶的质量控制指标成分。现代药理研究表明D-(-)-奎尼酸具有增强胆汁降低脂肪,肝脏解毒,预防脂肪肝的作用<sup>[32]</sup>;4,5-二咖啡酰奎宁酸具有益气养阴,活血健脑的功效,用于治疗气阴两虚及心脑血管疾病等<sup>[33]</sup>,4-甲基伞形酮是一种透明质酸生物合成抑制剂,在体外具有一定程度的抗菌能力,在细胞水平具有肿瘤抑制作用<sup>[34]</sup>。本研究将乔林与叶林的杜仲叶区分开来,有利于更好地应用不同栽培方式下的杜仲叶的优势成分,为杜仲叶产品综合开发利用提供了一定的理论基础。

本研究采用超高效液相-四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱法只能通过准分子离子及多级碎片离子对化合物进行预测,对于存在的同分异构体还需要进一步结合核磁共振技术进行鉴定。文献报道<sup>[7,8]</sup>,不同采收期、不同产地、不同树龄杜仲叶中成分具有差异性,下一步将通过UPLC-Q-Orbitrap HRMS技术对不同产地、不同采收期、不同树龄杜仲叶中全成分进行比较研究,为杜仲叶品质评价奠定基础。

#### 参考文献

- 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, 2020:173.
- Yan Y, Zhao H, Zou LS, et al. Difference of chemical constituents in different medicinal parts of *Eucommia ulmoides* by LC-Triple-TOF-MS/MS[J]. J Chin Mass Spectrom Soc (质谱学报), 2018, 39(1): 101-111.
- Ji C. Research progress of *Eucommia ulmoides* leaves replacing *Eucommia ulmoides* bark [J]. China Strateg Emerg Ind (中国战略新兴产业), 2017(4): 181-182.
- Li DF. *Eucommia ulmoides* [M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press (中国中医药出版社), 2001: 17.
- Zhao TR, Zhao R, Chen SZ. Input-output efficiency analysis of four cultivation modes of *Eucommia* based on DEA-Malmquist [J]. Issues Forest Econ (林业经济问题), 2017, 37(4): 92-95.
- Li G, Li ZK, Li H. Study on development strategy of *Eucommia ulmoides* Chinese medicine industry [J]. Mode Chin Med (中国现代中药), 2021, 23: 567-586.
- Yang XF, Wang Y, Ma YM. Study on the accumulation dynamics of chlorogenic acid in *Eucommia ulmoides* Oliv under different cultivation modes [J]. J Shanxi Univ Sci Technol (陕西科技大学学报), 2012, 30(2): 9-11.
- Lv Q, Peng MJ, Peng S, et al. Effects of different planting modes on contents of active ingredients in leaves, twig and bark in *Eucommia ulmoides* [J]. Non-wood Forest Res (经济林研究), 2012, 30(1): 73-76.
- Zuo LH, Zhou S, Li ZL, et al. Study on chemical constituents of Tiandan Tongluo Capsule based on UPLC-Q-Orbitrap HRMS [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49: 1031-1040.
- Zhang Y, Deng Q, Wei M, et al. Identification of chemical constituents in *Coptis chinensis* inflorescence by UPLC-Q-Orbitrap HRMS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2021, 27(15): 91-99.
- Huang GQ, Liang J, Wei JY, et al. Analysis and Identification of chemical constituents in hypoglycemic effective fractions of Longan Folium based on UPLC-Q-Orbitrap HRMS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志) 2021, 27(6): 127-138.
- Xu RL, Fan JT, Dong HM, et al. UPLC-Q-TOF-MS analysis on chemical constituents of classical-prescription Huangqi UPLC-Q-TOF-MS analysis on chemical constituents of classical prescription Huangqi Guizhi Wuwu Tang standard decoction [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2020, 45: 5614-5630.
- 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.
- Sui JF, Dong WT, Chen LY, et al. Analysis of chemical constituents of Ginseng-Douchi compound fermentation products based on UPLC-Q-TOF-MS [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2021, 46: 1417-1429.
- Cui XM, Wang ZX, Ren H, et al. Chemical constituents of *Potentilla glabra* var. *mandshurica* based on UPLC-Q-Orbitrap HRMS [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2020, 43: 1901-1906.
- Zhou S, Li ZL, Niu C, et al. Analysis of chemical constituents of Fukejing capsules based on UPLC-Q-Orbitrap HRMS [J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2018, 38: 813-821.
- Liu JY, Zao Z, Li JW, et al. Application of gas chromatography-high resolution quadrupole time of flight mass spectrometry to the analysis of benzaldehyde, benzyl alcohol, acetophenone and phenylacetaldehyde in complex aromatic sam-

- ples[J]. Chin J Chromatogr(色谱),2015,33:146-151.
- 18 Liu H, Chen C, Di X, et al. HPLC fingerprint analysis of *Juglans mandshurica* root based on-UHPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. Mod Chin Med(中国现代中药),2020,22:862-870.
- 19 Yang J, Li ZL, Meng HY, et al. Constituent analysis of Jingzhi Guanxin Soft capsule based on UHPLC-Q-Orbitrap HRMS[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2020,51:3406-3415.
- 20 Yang FQ, He LY, Yang D, et al. Analysis and identification of flavonoids in Citri Reticulatae Pericarpium with different aging time by UPLC-Q-Orbitrap HRMS[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志),2021,27(12):125-132.
- 21 Zhou MY, Huo JH, Sun GD, et al. Identification of 45 kinds of chemical components of *Forsythia suspensa* by UPLC-Q-TOF-MS[J]. China Pharm(中国药房),2019,30:3067-3073.
- 22 Yan Y, Zhao H, Zou LS, et al. Analysis of chemical constituents in male flowers of *Eucommia ulmoides* by liquid chromatography coupled with electrospray ionization-triple quadrupole time of flight-tandem mass spectrometry(LC-ESI-Triple TOF-MS/MS)[J]. Food Sci(食品科学),2018,39(6):215-221.
- 23 Zhang WB, Wang ZC, Zhang LY. Determination of 10 caffeoylquinic acids and 22 flavonoids in chrysanthemum by ultra high performance liquid chromatography diode array detection tandem mass spectrometry[J]. Chin J Anal Chem(分析化学),2013,41:1851-1861.
- 24 Liu YL, Liu CX, Tian Y, et al. Analysis of chemical constituents of Ke-Luo-Xin capsules extract by UPLC-Q-TOF-MS[J]. Drug Eval Res(药物评价研究),2019,42:622-629.
- 25 Peng FF, Lin GM, Zang BR. Analysis of differential chemical compositions of aurantii fructus immaturus before and after stir-frying with bran and chemical compositions of wheat bran after processing by UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup>[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志),2020,26(24):144-152.
- 26 Zhang WX, Feng M, Miao YL, et al. Analysis of chemical components of Huanbei Zhike prescription based on UPLC-Q-TOF-MS/MS technology[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2019,44:3022-3034.
- 27 Wu LF, Wang XQ, Chen XM, et al. Chemical constituents and pharmacological activities of Radix Paeoniae[J]. J Int Pharm Res(国际药学研究杂志),2020,47(3):175-187.
- 28 Zhou X, Xie B, Huang XL, et al. Study on chemical constituents differences between Armeniaca Semen and persicae Semen based on high-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. J Instrum Anal(分析测试学报),2021,40:940-946.
- 29 Wang Y, Zhan MR, Jia YQ. Analysis of metabolites of 4,5-dicaffeoylquinic acid in rat plasma and urine based on LC-MS[D]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2020,45:391-397.
- 30 Steen Emily H, Short Walker D, Li Hui, et al. Skin-specific knockdown of hyaluronan in mice by an optimized topical 4-methylumbelliferone formulation[J]. Drug Deliver,2021,28(1):422-432.
- 31 Niu XT, Lin XX, Zhu ZW, et al. The study on anti-inflammatory effect and mechanisms of 4-methylumbelliferone in keloid fibroblasts[J]. Chin J Aesthet Med(中国美容医学),2020,29(7):97-100.
- 32 Wan YS, Gao YT, Zhang Y, et al. Progress in researches for D-quinic acid[J]. Heilongjiang Med J(黑龙江医药),2013,26:818-822.
- 33 Zhan MR, Jia YQ, Chen L, et al. Analysis of metabolites of 4,5-dicaffeoylquinic acid in rat plasma and urine based on LC-MS[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2020,45:391-397.
- 34 Fang Y. Effects of 4-methyl umbellifolactone on tissue RED-OX and immune system of *Bombyx mori*[D]. Suzhou: Soochow University(苏州大学),2014.
- 35 Huang JJ, Huang ZS, Chen HG, et al. Analysis of polyphenols from *Mesona chinensis* by UPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2021,33:758-766.