

UPLC-Q-TOF-MS 法分析款冬花的化学成分

程晓叶, 张霞, 廖曼, 梁彩娟, 刁新鹏, 张兰桐*

河北医科大学药学院 药物分析教研室, 河北 石家庄 050017

摘要: **目的** 应用超高效液相色谱仪联用四级杆串联飞行时间质谱仪 (UPLC-Q-TOF-MS) 在正负离子模式下分离分析款冬花药材甲醇提取物成分。**方法** Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm), 以 0.1% 甲酸水 (A) - 乙腈 (B) 溶液为流动相。正离子模式: 梯度洗脱 0~1 min, 5%~17% B; 1~3 min, 17%~19% B; 3~14 min, 19%~44% B; 14~16 min, 44%~66% B; 16~26 min, 66%~87% B; 26~28 min, 87%~95% B; 28~33 min, 95% B。负离子模式: 梯度洗脱 0~2 min, 5%~14% B; 2~10 min, 14%~32% B; 10~15 min, 32% B。体积流量 0.4 mL/min, 进样量 5 μL。通过正、负离子质谱信息, 元素组成以及比对对照品或文献中化合物的保留时间和质谱数据等分析化合物信息。**结果** 结合 UPLC-Q-TOF-MS 提供的化合物准确相对分子质量共鉴定款冬花提取物中 34 个化合物, 包括萜类 12 个、黄酮类 8 个、酚酸类 7 个、苯并吡喃类化合物 2 个、苯并呋喃类 1 个、脂肪酮类 1 个和生物碱 3 个。**结论** 该方法为款冬花的质量控制及临床的合理应用提供了理论依据, 为阐明其药效物质基础提供参考。

关键词: 款冬花; UPLC-Q-TOF-MS; 萜类; 黄酮; 咖啡酰奎宁酸; 生物碱

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)12-2390-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.12.006

Analysis on chemical composition of *Farfarae Flos* by UPLC-Q-TOF-MS

CHENG Xiao-ye, ZHANG Xia, LIAO Man, LIANG Cai-juan, DIAO Xin-peng, ZHANG Lan-tong

Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

Abstract: **Objective** The chemical constituents in the methanol extract from *Farfarae Flos* were rapidly identified using UPLC-Q-TOF-MS in positive and negative ion modes. **Methods** The analysis was performed on an Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ chromatographic column (100 mm × 2.1 mm, 2.7 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile and 0.1% aq formic acid. In positive ion mode, gradient elution: 0—1 min, 5%—17% B; 1—3 min, 17%—19% B; 3—14 min, 19%—44% B; 14—16 min, 44%—66% B; 16—26 min, 66%—87% B; 26—28 min, 87%—95% B; 28—33 min, 95% B. In negative ion mode, gradient elution: 0—2 min, 5%—14% B; 2—10 min, 14%—32% B; 10—15 min, 32% B. The flow rate was 0.4 mL/min, and the injection volume was 5 μL. The information of the compounds was analyzed by positive and negative ion modes mass spectrum information, elements composition, reference substance retention time or mass spectrum parameters of compounds in literature. **Results** Thirty-four compounds in *Farfarae Flos* extracts were identified, combined with provided accurate molecular weight compounds by UPLC-Q-TOF-MS, including 12 kinds of terpenoids, eight kinds of flavonoids, seven kinds of phenolic acids, two kinds of pyran compounds, one kind of phenolic ketones, one kind of fat ketones, and three kinds of alkaloids. **Conclusion** The method provides the theory basis for quality control and the clinical reasonable application and provides the reference for clarifying its efficacy material base.

Key words: *Farfarae Flos*; UPLC-Q-TOF-MS; terpenoids; flavonoids; caffeoyl quinic acid; alkaloids

款冬花为菊科款冬属 *Tussilago* L. 植物款冬 *Tussilago farfara* L. 的干燥花蕾, 又称冬花, 主要分布在河北、河南、山西、湖北、四川等地。《中国药典》2015 年版一部中记载款冬花为常用中药, 具润肺下气、止咳化痰之功效。现代临床上款冬花主

要用于新久咳嗽、喘咳痰多、劳嗽咳血等症^[1]。目前, 款冬花已报道的化合物类型主要有倍半萜、黄酮、酚酸、生物碱等类型化合物^[2]。黄酮类化合物具有抗氧化、神经保护等作用; 倍半萜类化合物作为款冬花中另一类重要组分, 具有升高血压、抑制血

收稿日期: 2016-11-10

作者简介: 程晓叶 (1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药质量控制与药动学研究。Tel: 18232150476 E-mail: 2213599876@qq.com

*通信作者 张兰桐, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药质量控制与药动学研究。Tel: (0311)86266419 E-mail: zhanglantong@263.net

小板活性等作用;此外,吡咯里西啶生物碱则具有一致肝毒性^[3]。

目前,国内外针对款冬花的研究主要集中在药理作用、化合物的分离纯化上,随着药理作用的深入研究,其化学成分的全面快速鉴定成为亟待解决的问题。超高效液相联用四级杆串联飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)具有高分辨率、高灵敏度、高选择性、用时短、扫描范围广等特点,是中药物质基础研究的有力手段,在药材定性分析中具有独特的优势。本实验采用UPLC-Q-TOF-MS技术对款冬花药材提取物中化学成分进行分析,根据化学成分质谱信息及与对照品、相关文献数据比对,鉴定款冬花中醇提取物成分,对其进行归纳总结,并对各种化合物的质谱裂解规律进行推测,旨在为其质量控制提供准确、快速鉴定方法,为后期款冬花的深入研究提供技术支持。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Triple TOF™ 5600 型高分辨串联质谱仪(美国AB公司);超高效液相色谱系统(Shimadzu Nexera-X2 UHPLC system,日本);Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 2.7 μm);分析软件:Peak View 2.2(美国Applied Biosystems公司);KQ-5200E 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司);Sartorius BT125D 型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

1.2 试药

对照品芦丁(批号100080-201408)、山柰酚(批号110861-201310)、款冬酮(批号11184-201303)、绿原酸(批号110753-201415)均购自中国食品药品检定研究院;对照品金丝桃苷和异槲皮苷(实验室自制),所有对照品的质量分数均大于98%。色谱乙腈和甲醇(美国J. T. Baker公司);色谱纯甲酸(迪马科技有限公司);娃哈哈纯净水。

生药款冬花购买于张家口蔚县,经河北医科大学药学院生药学李连怀副教授鉴定为菊科款冬属植物款冬 *Tussilago farfara* L. 的干燥花蕾。

2 方法

2.1 UPLC 检测条件

Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 2.7 μm);流动相为0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)。质谱采用正离子模式时,色谱梯度洗脱条件为:0~1 min, 5%~17% B;1~3 min, 17%~19% B;3~14 min, 19%~44% B;14~16 min,

44%~66% B;16~26 min, 66%~87% B;26~28 min, 87%~95% B;28~33 min, 95% B。质谱采用负离子模式时,色谱梯度洗脱条件为:0~2 min, 5%~14% B;2~10 min, 14%~32% B;10~15 min, 32% B。体积流量0.4 mL/min,进样量5 μL。

2.2 MS 检测条件

正离子模式:电喷雾正离子源(ESI⁺),IDA(+)扫描。离子喷雾电压:5 500 V;去簇电压(DP):60 V;碰撞电压(CE):35 eV;碰撞能量扩展(CES):15 eV;雾化气(gas1):60 kPa;辅助加热气(gas2):65 kPa;气帘(CUR):35 kPa;去溶剂温度(TEM):550 °C;扫描范围(TOFMASSES):*m/z* 50~800。

负离子模式:电喷雾负离子源(ESI⁻),IDA(-)扫描。离子喷雾电压:-4 500 V;去簇电压(DP):-60 V;碰撞电压(CE):-25 eV;雾化气(gas1):60 kPa;辅助加热气(gas2):65 kPa;气帘(CUR):35 kPa;去溶剂温度(TEM):550 °C;扫描范围(TOFMASSES):*m/z* 50~800;碰撞能量扩展(CES):15 eV。

2.3 混合对照品溶液的制备

分别称取金丝桃苷、芦丁、异槲皮苷、山柰酚、款冬酮和绿原酸6种对照品各适量,加入一定量的甲醇,超声处理使其溶解,用0.22 μm微孔滤膜滤过,即得终质量浓度为0.5 mg/mL的混合对照品储备液,-20 °C保存,备用。

2.4 样品溶液的制备

称取生药款冬花样品粉末(过4号筛)1 g,置于具磨口塞的三角瓶中,加入甲醇20 mL,盖塞,超声提取30 min,室温放置,滤过,取续滤液,用0.22 μm微孔滤膜滤过,即得样品溶液。

3 结果

3.1 款冬花化学成分分析

采用UPLC-ESI-MS对款冬花药材醇提成分进行定性分析,萜类、黄酮和生物碱等类化合物采用正离子扫描模式,咖啡酰奎宁酸类化合物采用负离子扫描模式;(+)ESI-MS和(-)ESI-MS的质谱总离子流图(TIC)见图1。通过UPLC-ESI-Q-TOF-MS检测得到款冬花中各化学成分的保留时间(*t_R*)和质谱信息,结合对照品及相关文献数据的对比进行化学成分确认,(+)ESI-MS模式下检测到的化合物结果见表1,(-)ESI-MS模式下检测到的化合物结果见表2。

3.2 化合物的质谱裂解特征

3.2.1 化合物(+)ESI-MS质谱裂解特征

(1)千里光宁:*t_R*为3.626 min,正离子模式下

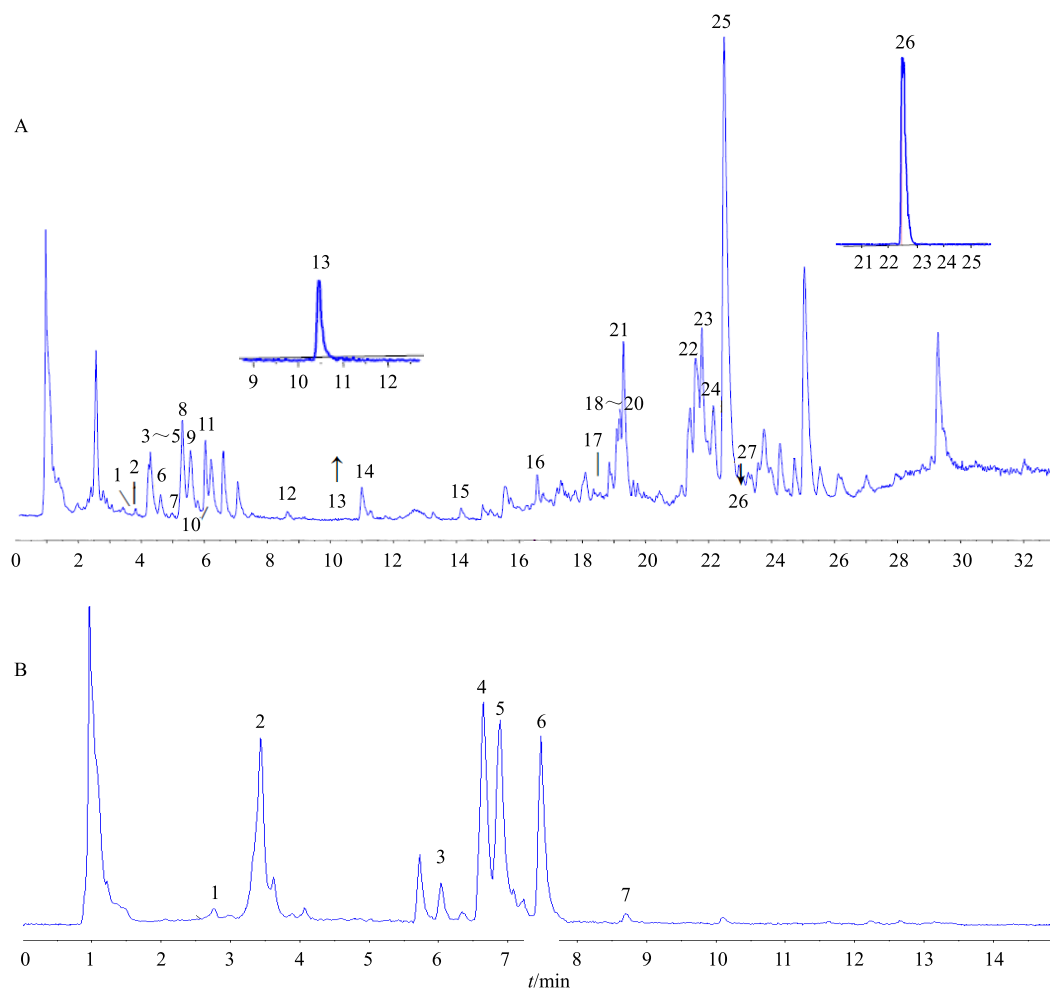


图1 款冬花正离子模式 (A) 和负离子模式 (B) 下的 TIC 图

Fig. 1 Total ion current chromatogram in positive ion (A) and negative ion (B) mode for extract from *Farfarae Flos*

准分子离子峰为 m/z 336 $[M+H]^+$, 脱去 necic acid 部分, 形成倒千里光裂碱 (retronecine) 特征碎片 m/z 138 $[M+H-C_{10}H_{14}O_4]^+$, 脱去 1 分子水形成特征碎片 m/z 120 $[M+H-C_{10}H_{14}O_4-H_2O]^+$, 再脱去 C_2H_2 形成特征碎片 m/z 94 $[M+H-C_{10}H_{14}O_4-H_2O-C_2H_2]^+$, 见图 2-1。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{18}H_{25}NO_5$, 相对分子质量理论值 336.180 55, 实测值 336.180 77, 误差为 0.6×10^{-6} , 据文献报道^[4]款冬花中存在千里光宁, 其相对分子质量为 335, 因此推测该化合物可能为千里光宁。

(2) 克氏千里光碱: t_R 分别为 3.821 和 4.305 min, 正离子模式下准分子离子峰均为 m/z 366 $[M+H]^+$, 脱去 necic acid 部分, 形成 otonecine 特征碎片 m/z 168 $[M+H-C_{10}H_{14}O_4]^+$, 脱去 1 分子水形成特征碎片 m/z 150 $[M+H-C_{10}H_{14}O_4-H_2O]^+$, 再脱去 CO 形成特征碎片 m/z 122 $[M+H-C_{10}H_{14}O_4-H_2O-$

$CO]^+$, 这 2 个化合物的质谱裂解规律一致, 分别见图 2-2、2-3, 根据元素组成分析, 它们的分子式均为 $C_{19}H_{27}NO_6$, 相对分子质量理论值 366.191 11, 实测值分别为 366.191 45 和 366.191 44, 误差均为 0.9×10^{-6} , 据文献报道^[4]款冬花中存在克氏千里光碱, 且存在同分异构体, 其相对分子质量均为 365, 因此推测该对化合物可能为克氏千里光碱的一对同分异构体。

(3) tussfarfarin A: t_R 为 5.997 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 235 $[M+H]^+$, 脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 217 $[M+H-H_2O]^+$, 脱去 CO 形成特征碎片 m/z 189 $[M+H-H_2O-CO]^+$, 脱去 CH_2 形成特征碎片 m/z 175 $[M+H-H_2O-CO-CH_2]^+$, 再脱去 1 分子 C_2H_2O 形成特征碎片 m/z 133 $[M+H-H_2O-CO-CH_2-C_2H_2O]^+$; 准分子离子峰 m/z 235 脱去 1 分子 C_2H_4O 形成特征碎片 m/z 191 $[M+$

表 1 正离子模式下款冬花化学成分的 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 鉴定结果

Table 1 Identification of chemical constituents from *Farfarae Flos* by UPLC-ESI-Q-TOF-MS in positive ion mode

峰号	t_R/min	相对分子质量		特征碎片 (m/z)	分子式	化合物
		理论值	实测值			
1	3.626	336.180 55	336.180 77	138, 120, 94	$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_5$	千里光宁
2	3.821	366.191 11	366.191 45	168, 150, 122	$\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_6$	克氏千里光碱或其同分异构体
3	4.222	465.102 75	465.102 40	303	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	金丝桃苷
4	4.225	611.160 66	611.160 53	303	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	芦丁
5	4.305	366.191 11	366.191 44	168, 150, 122	$\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_6$	克氏千里光碱或其同分异构体
6	4.616	465.102 75	465.103 16	303	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	异槲皮苷
7	5.007	435.092 19	435.091 88	303	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$	槲皮素-3- <i>O</i> -阿拉伯糖苷
8	5.227	595.165 75	595.165 42	287	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷
9	5.602	449.107 84	449.107 86	287	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	山柰酚-3- <i>O</i> -葡萄糖苷
10	5.979	465.102 75	465.103 01	303	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	槲皮素-4- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷
11	5.997	235.132 87	235.133 00	217, 191, 189, 145	$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_3$	tussfarfarin A
12	8.643	221.117 22	221.117 74	203, 165, 161, 145, 123	$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_3$	4-羟基-2,2-二甲基-6-乙酰基苯并四氢吡喃
13	10.460	287.055 01	287.055 31	231, 153	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	山柰酚
14	11.012	219.101 57	219.102 09	163, 121, 107, 77	$\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_3$	2,2-二甲基-6-乙酰基苯并二氢吡喃酮
15	14.158	235.169 26	235.169 72	217, 105, 161, 133, 119	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$	(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-3,4-环氧甜没药-7(14),10-二烯-2-酮
16	16.501	219.101 57	219.101 63	201, 177, 165, 161, 147, 115	$\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_3$	千里光酚酮
17	18.356	217.158 69	217.158 98	189, 175, 161, 133, 119, 105, 147, 91	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}$	1,2-脱氢- α -香附酮或其同分异构体
18	19.198	217.158 69	217.159 11	189, 175, 161, 133, 119, 105, 147, 91	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}$	1,2-脱氢- α -香附酮或其同分异构体
19	19.199	331.226 77	331.227 09	217, 161, 175, 189, 133, 147, 119	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_3$	款冬花酮
20	19.201	391.247 90	391.247 88	217, 175, 189, 147, 119	$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_5$	款冬酮
21	19.311	449.216 99	449.216 87	439, 247, 229, 201, 211, 271, 187	$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_8$	1 α ,5 α -二乙酰氧基-8-当归酰氧基-3 β ,4 β -环氧-甜没药-7(14),10-二烯-2-酮
22	21.679	507.295 25	507.294 68	249, 231, 189, 203, 161	$\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}_8$	款冬花素内酯
23	21.797	331.190 39	331.190 88	249, 231, 189, 203, 161	$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$	阿勒泰素 B
24	22.174	345.206 04	345.206 22	231, 203, 189, 147, 161, 145	$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_4$	新款冬花内酯
25	22.512	431.279 20	431.278 99	317, 233, 215, 173, 145, 97	$\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_5$	甲基丁酰基-3,14-去氢款冬素酯
26	22.523	491.300 33	491.299 85	377, 317, 233, 215, 173, 145	$\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}_7$	甲基丁酰款冬素酯
27	22.979	443.279 20	443.278 99	329, 233, 215, 173, 145, 97	$\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_5$	1 α ,7 β -二 (4-甲基千里光酰氧基)日本刺参萜-3(14)Z,8(10)-二烯-2-酮

表 2 负离子模式下款冬花化学成分的 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 鉴定结果

Table 2 Identification of chemical constituents from *Farfarae Flos* by UPLC-ESI-Q-TOF-MS in negative ion mode

峰号	t_R/min	相对分子质量		特征碎片 (m/z)	分子式	化合物
		理论值	实测值			
1	2.748	353.087 81	353.088 05	191, 179	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	5- <i>O</i> -咖啡酰奎宁酸
2	3.428	353.087 81	353.088 40	191, 179, 161	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	3- <i>O</i> -咖啡酰奎宁酸
3	3.611	353.087 81	353.088 37	191, 179, 173	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	4- <i>O</i> -咖啡酰奎宁酸
4	6.600	515.119 50	515.120 09	353, 335, 191, 179, 173, 161, 135	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$	4,5-二- <i>O</i> -咖啡酰奎宁酸
5	6.835	515.119 50	515.120 03	353, 191, 179, 135	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$	3,5-二- <i>O</i> -咖啡酰奎宁酸
6	7.433	515.119 50	515.120 03	353, 191, 179, 173, 135	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$	3,4-二- <i>O</i> -咖啡酰奎宁酸
7	8.889	529.135 15	529.135 42	367, 353, 191, 179, 173, 161	$\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$	3,4-二- <i>O</i> -咖啡酰奎宁酸甲酯

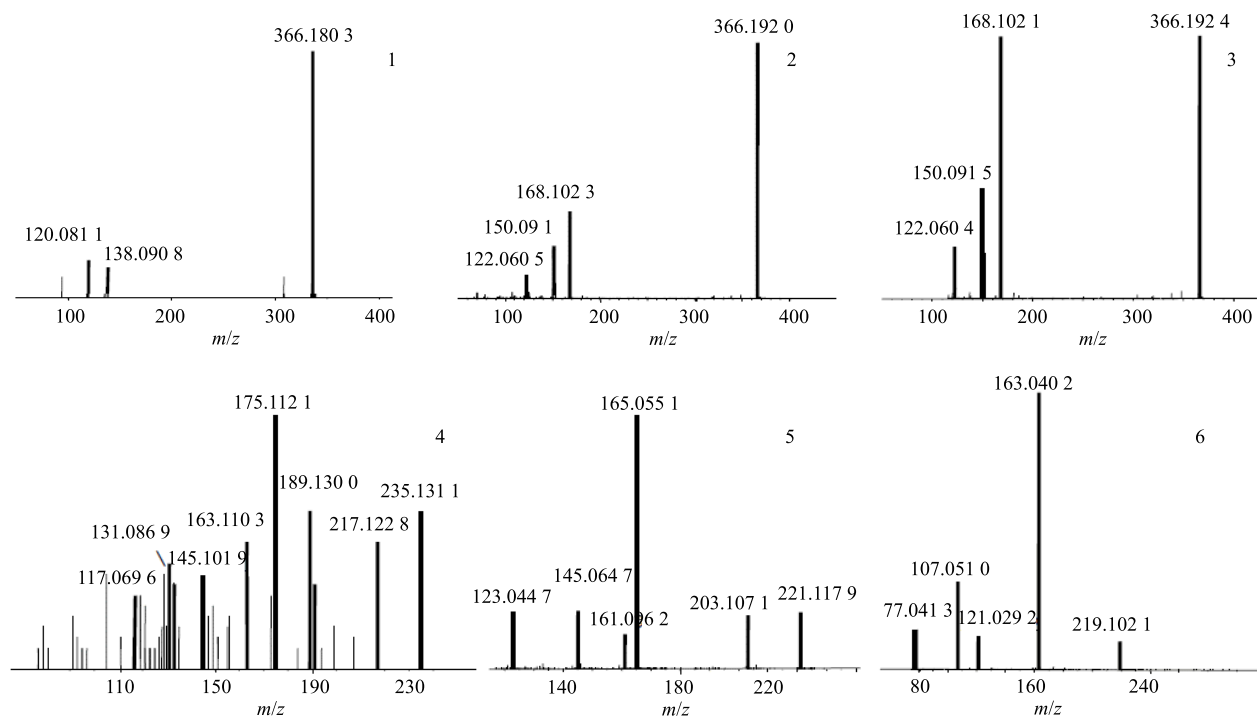
$\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}]^+$, 脱去 CO 形成特征碎片 m/z 163 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}-\text{CO}]^+$, 脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 145 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 脱去 CH_2 形成特征碎片 m/z 131 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2]^+$, 再失去 CH_2 形成特征碎片 m/z 117 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}-2\text{CH}_2]^+$, 见图 2-4, 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_3$, 相对分子质量理论值 235.132 87, 实测值 235.133 00, 误差为 0.6×10^{-6} , 据文献报道^[5]款冬花中存在 tussfarfarin A, 其相对分子质量 234, 推测该化合物可能为 tussfarfarin A。

(4) 4-羟基-2,2-二甲基-6-乙酰基苯并四氢吡喃: t_R 为 8.643 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 221 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分别脱去 1 分子 H_2O 和 C_4H_8 形成特征碎片 m/z 203 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 和 165 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$; m/z 203 的特征碎片脱去 $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ 形成特征碎片 m/z 161 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 再脱去 O 形成特征碎片 m/z 145 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{O}]^+$, m/z 165 的特征碎片脱去 $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ 形成特征碎片 m/z 123 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 见图 2-5。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_3$, 相对分子质量理论值为 221.117 22, 实测值 221.117 74, 误差为 2.4×10^{-6} , 据文献报道^[5]款冬花中存在 4-羟基-2,2-二甲基-6-乙酰基苯并四氢吡喃, 其相对分子质量为 220, 推测该化合物可能为 4-羟基-2,2-二甲基-6-乙

酰基苯并四氢吡喃。

(5) 2,2-二甲基-6-乙酰基苯并二氢吡喃酮: t_R 为 11.012 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 219 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 开环裂解脱去 C_4H_8 形成特征碎片 m/z 163 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$, 再脱去 $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ 形成特征碎片 m/z 121 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, m/z 219 的准分子离子峰脱去 $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$ 形成特征碎片 m/z 107 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}]^+$, 再脱去 CH_3O 形成特征碎片 m/z 77 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}-\text{CH}_3\text{O}]^+$, 见图 2-6。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_3$, 相对分子质量理论值 219.101 57, 实测值 219.102 09, 误差 2.4×10^{-6} , 据文献报道款冬花中存在 2,2-二甲基-6-乙酰基苯并二氢吡喃酮, 其相对分子质量为 218, 推测该化合物可能为 2,2-二甲基-6-乙酰基苯并二氢吡喃酮^[5-6]。

(6) 3,4-环氧甜没药-7(14),10-二烯-2-酮: t_R 为 14.158 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 235 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 217 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, m/z 217 的特征碎片分别脱去 C_8H_{12} 和 C_4H_8 形成特征碎片 m/z 105 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_8\text{H}_{12}]^+$ 和 161 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$, m/z 161 的特征碎片脱去 CO 形成特征碎片 m/z 133 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_8-\text{CO}]^+$, 再脱去 CH_2 形成特征碎片 m/z 119 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_8-\text{CO}-\text{CH}_2]^+$, 见图 2-7。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$,



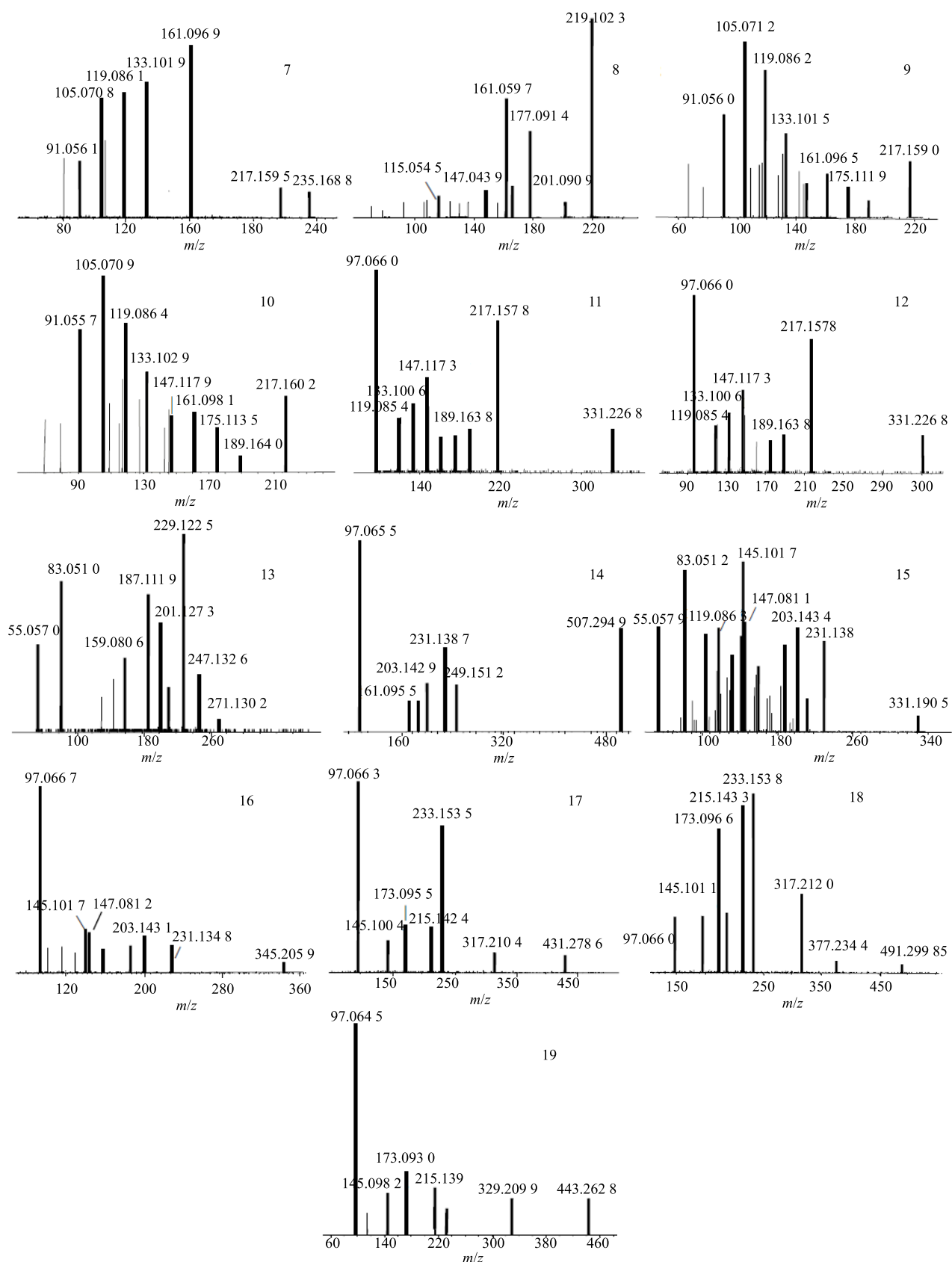


图 2 正离子模式下的 19 个成分的二级质谱图

Fig. 2 Mass spectra of 19 species composition in positive ion mode

相对分子质量理论值 235.169 26, 实测值 235.169 72, 误差为 2×10^{-6} , 据文献报道款冬花中存在 3,4-环氧甜没药-7(14),10-二烯-2-酮, 其相对分子质量为 234, 推测该化合物可能为 3,4-环氧甜没药-7(14),10-二烯-2-酮^[7-8]。

(7) 千里光酚酮: t_R 为 16.501 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 219 $[M+H]^+$, 脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 201 $[M+H-H_2O]^+$, m/z 219 的分子离子也可脱去 C_2H_2O 形成特征碎片 m/z 177 $[M+H-C_2H_2O]^+$, 再脱去 O 形成特征碎片 m/z 161 $[M+H-C_2H_2O-O]^+$, m/z 219 的分子离子还可脱去 C_4H_6 形成特征碎片 m/z 165 $[M+H-C_4H_6]^+$, 脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 147 $[M+H-C_4H_6-H_2O]^+$, 再脱去 CH_2 和 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 115 $[M+H-C_4H_6-2 H_2O-CH_2]^+$, 见图 2-8, 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{13}H_{14}O_3$, 相对分子质量理论值为 219.101 57, 实测值 219.101 63, 误差为 0.3×10^{-6} , 据文献报道款冬花中存在千里光酚酮, 其相对分子质量为 218, 推测该化合物可能为千里光酚酮^[7-8]。

(8) 1,2-脱氢- α -香附酮: t_R 分别为 18.356 和 19.198 min, 正离子模式下准分子离子峰均为 m/z 217 $[M+H]^+$, 分别脱去 CO 和 C_3H_6 形成特征碎片 m/z 189 $[M+H-CO]^+$ 和 175 $[M+H-C_3H_6]^+$, m/z 175 的特征碎片脱去 CH_2 形成特征碎片 m/z 161 $[M+H-C_3H_6-CH_2]^+$, 再分别脱去 CO, C_4H_8 和 CH_2 形成特征碎片 m/z 133 $[M+H-C_3H_6-CH_2-CO]^+$, m/z 105 $[M+H-C_3H_6-CH_2-C_4H_8]^+$ 和 m/z 147 $[M+H-C_3H_6-2CH_2]^+$, m/z 105 的特征碎片再脱去 CH_2 形成特征碎片 m/z 91 $[M+H-C_3H_6-2CH_2-C_4H_8]^+$, m/z 147 的特征碎片再脱去 1 分子 CO 形成特征碎片 m/z 119 $[M+H-C_3H_6-2CH_2-CO]^+$, 这 2 种化合物的质谱裂解规律一致, 分别见图 2-9、2-10, 根据元素组成分析, 该对化合物分子式均为 $C_{15}H_{20}O$, 相对分子质量理论值 217.158 69, 实测值分别为 217.158 98 和 217.159 11, 误差分别为 1.3×10^{-6} 和 1.9×10^{-6} , 据文献报道^[5]款冬花中存在 1,2-脱氢- α -香附酮, 其相对分子质量为 216, 因此, 推测该对化合物可能为 1,2-脱氢- α -香附酮的一对同分异构体。

(9) 款冬花酮: t_R 为 19.199 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 331 $[M+H]^+$, 脱去 $C_6H_{10}O_2$ 形成特征碎片 m/z 217 $[M+H-C_6H_{10}O_2]^+$, 再分别

脱去 C_4H_8 、 C_3H_6 和 1 分子 CO 形成特征碎片 m/z 161 $[M+H-C_6H_{10}O_2-C_4H_8]^+$ 、 m/z 175 $[M+H-C_6H_{10}O_2-C_3H_6]^+$ 和 189 $[M+H-C_6H_{10}O_2-CO]^+$ 。 m/z 189 的特征碎片脱去 C_4H_8 形成特征碎片 m/z 133 $[M+H-C_6H_{10}O_2-CO-C_4H_8]^+$, 也可脱去 C_3H_6 形成特征碎片 m/z 147 $[M+H-C_6H_{10}O_2-CO-C_3H_6]^+$, 再脱去 C_2H_4 形成特征碎片 m/z 119 $[M+H-C_6H_{10}O_2-CO-C_3H_6-C_2H_4]^+$, m/z 97 的特征碎片为酯键断裂形成的 C_6H_9O 碎片。见图 2-11, 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{21}H_{30}O_3$, 相对分子质量理论值 331.226 77, 实测值 331.227 09, 误差为 1×10^{-6} , 据文献报道^[1]款冬花中存在款冬花酮, 其相对分子质量为 330, 推测该化合物可能为款冬花酮。

(10) 款冬酮: t_R 为 19.201 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 391 $[M+H]^+$, 脱去 $C_2H_4O_2$ 形成特征碎片 m/z 331 $[M+H-C_2H_4O_2]^+$, 脱去 $C_6H_{10}O_2$ 形成特征碎片 m/z 217 $[M+H-C_2H_4O_2-C_6H_{10}O_2]^+$, 再分别脱去 C_3H_6 和 CO 形成特征碎片 m/z 175 $[M+H-C_2H_4O_2-C_6H_{10}O_2-C_3H_6]^+$ 和 189 $[M+H-C_2H_4O_2-C_6H_{10}O_2-CO]^+$, m/z 175 特征碎片再脱去 1 分子 CO 形成特征碎片 m/z 147 $[M+H-C_2H_4O_2-C_6H_{10}O_2-C_3H_6-CO]^+$, m/z 189 的特征碎片再脱去 C_5H_{10} 形成特征碎片 m/z 119 $[M+H-C_2H_4O_2-C_6H_{10}O_2-CO-C_5H_{10}]^+$, m/z 97 的特征碎片为酯键断裂形成的 C_6H_9O 碎片, 见图 2-12, 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{23}H_{34}O_5$, 相对分子质量理论值 391.247 90, 实测值为 391.247 88, 误差为 -0.1×10^{-6} , 据文献报道^[6,9-11]款冬花中含有款冬酮, 其相对分子质量为 390, 相同质谱条件下款冬酮对照品与其裂解规律一致, 因此判断该化合物为款冬酮。

(11) 1 α ,5 α -二乙酰氧基-8-当归酰氧基-3 β ,4 β -环氧-甜没药-7(14),10-二烯-2-酮: t_R 为 19.311 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 449 $[M+H]^+$, 脱去 $C_5H_8O_2$, H_2O 和 2 个 C_2H_2O 形成特征碎片 m/z 247 $[M+H-C_5H_8O_2-H_2O-2C_2H_2O]^+$, 脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 229 $[M+H-C_5H_8O_2-2H_2O-2C_2H_2O]^+$, 再分别脱去 1 分子 CO 和 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 201 $[M+H-C_5H_8O_2-2H_2O-2C_2H_2O-CO]^+$ 和 211 $[M+H-C_5H_8O_2-3H_2O-2C_2H_2O]^+$, m/z 449 的准分子离子也可脱去 C_5H_6O , C_3H_8 和 1 分子 CO 形成特征碎片 m/z 271 $[M+H-$

$\text{C}_5\text{H}_6\text{O}-\text{C}_5\text{H}_8-\text{CO}]^+$, 脱去 2 个 $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ 形成特征碎片 m/z 187 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_6\text{O}-\text{C}_5\text{H}_8-\text{CO}-2\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 再脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 159 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_6\text{O}-\text{C}_5\text{H}_8-\text{CO}-2\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$, m/z 83 的特征碎片为酯键断裂形成的 $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}$ 碎片, m/z 55 的特征碎片为碳碳单键断裂形成的 C_4H_7 碎片, 见图 2-13, 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_8$, 相对分子质量理论值 449.216 99, 实测值 449.216 87, 误差为 -0.3×10^{-6} , 据文献报道款冬花中存在 $1\alpha,5\alpha$ -二乙酰氧基-8-当归酰氧基- $3\beta,4\beta$ -环氧-甜没药-7(14),10-二烯-2-酮, 其相对分子质量为 448, 推测该化合物可能为 $1\alpha,5\alpha$ -二乙酰氧基-8-当归酰氧基- $3\beta,4\beta$ -环氧-甜没药-7(14),10-二烯-2-酮^[7-8]。

(12) 款冬花素内酯: t_R 为 21.679 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 507 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 连续脱去 $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$ 、 $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ 和 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}$ 形成特征碎片 m/z 249 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}]^+$, 脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 231 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 再分别脱去 C_3H_6 和 1 分子 CO 形成特征碎片 m/z 189 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_6]^+$ 和 203 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, m/z 203 的特征碎片脱去 C_3H_6 形成特征碎片 m/z 161 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{C}_3\text{H}_6]^+$, m/z 97 的特征碎片为酯键断裂形成的 $\text{C}_6\text{H}_9\text{O}$ 碎片, 见图 2-14。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}_8$, 相对分子质量理论值 507.295 25, 实测值 507.294 68, 误差为 -1.1×10^{-6} , 据文献报道^[1]款冬花中存在款冬花素内酯, 其相对分子质量为 506, 推测该化合物可能为款冬花素内酯。

(13) 阿勒泰橐吾素 B: t_R 为 21.797 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 331 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 脱去 $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ 形成特征碎片 m/z 231 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2]^+$, 脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 213 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}]^+$, 脱去 C_6H_8 形成特征碎片 m/z 133 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_6\text{H}_8]^+$, 脱去 CH_2 形成特征碎片 m/z 119 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_6\text{H}_8-\text{CH}_2]^+$, 再脱去 1 分子 CH_2 形成特征碎片 m/z 105 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_6\text{H}_8-2\text{CH}_2]^+$; m/z 213 的特征碎片也可脱去 C_4H_6 形成特征碎片 m/z 159 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_6]^+$, 再脱去 CH_2 形成特征碎片 m/z 145 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_6-\text{CH}_2]^+$; m/z 231 的特征碎片也可脱去 1 分子 CO 形

成特征碎片 m/z 203 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{CO}]^+$, 脱去 CH_2 形成特征碎片 m/z 189 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{CO}-\text{CH}_2]^+$, 再脱去 C_3H_6 形成特征碎片 m/z 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{C}_3\text{H}_6]^+$; m/z 231 的特征碎片也可发生重排, 脱去 CH_2 和 C_4H_8 形成特征碎片 m/z 161 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{CH}_2-\text{C}_4\text{H}_8]^+$, 再脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 143 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{CH}_2-\text{C}_4\text{H}_8-\text{H}_2\text{O}]^+$; m/z 83 的特征碎片为酯键断裂形成的 $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}$ 碎片, m/z 55 的特征碎片为碳碳单键断裂形成的 C_4H_7 碎片, 见图 2-15。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$, 相对分子质量理论值 331.190 39, 实测值 331.190 88, 误差为 1.5×10^{-6} , 据文献报道^[5]款冬花中存在阿勒泰橐吾素 B, 其相对分子质量为 330, 推测该化合物可能为阿勒泰橐吾素 B。

(14) 新款冬花内酯: t_R 为 22.174 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 345 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 脱去 $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2$ 形成特征碎片 m/z 231 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2]^+$, 再分别脱去 1 分子 CO 和 C_3H_6 形成特征碎片 m/z 203 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{CO}]^+$ 和 189 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{C}_3\text{H}_6]^+$, m/z 203 的特征碎片分别脱去 C_4H_8 和 C_3H_6 形成特征碎片 m/z 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{CO}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$ 和 161 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{CO}-\text{C}_3\text{H}_6]^+$, m/z 161 的特征碎片脱去 O 形成特征碎片 m/z 145 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{CO}-\text{C}_3\text{H}_6-\text{O}]^+$, m/z 97 的特征碎片为酯键断裂形成的 $\text{C}_6\text{H}_9\text{O}$ 碎片, 见图 2-16。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_4$, 相对分子质量理论值 345.206 04, 实测值 345.206 22, 误差为 0.5×10^{-6} , 据文献报道^[1]款冬花中存在新款冬花内酯, 其相对分子质量为 344, 推测该化合物可能为新款冬花内酯。

(15) 甲基丁酰基-3,14-去氢款冬素酯: t_R 为 22.512 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 431 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 脱去 $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2$ 形成特征碎片 m/z 317 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2]^+$, 酯键断裂脱去 $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}$ 形成特征碎片 m/z 233 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}]^+$, 脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 215 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 脱去 C_3H_6 形成特征碎片 m/z 173 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_6]^+$, 再脱去 1 分子 CO 形成特征碎片 m/z 145 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_6-\text{CO}]^+$, m/z 97 为酯键断裂形成的 $\text{C}_6\text{H}_9\text{O}$ 的特征碎片, 见图 2-17。根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_5$, 相对分子质

量理论值 431.279 20, 实测值 431.278 99, 误差为 -0.5×10^{-6} , 据文献报道款冬花中存在甲基丁酰基-3,14-去氢款冬素酯, 其相对分子质量为 430, 推测该化合物可能为甲基丁酰基-3,14-去氢款冬素酯^[1,6,12-13]。

(16) 甲基丁酰款冬素酯: t_R 为 22.523 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 491 $[M+H]^+$, 脱去 $C_6H_{10}O_2$ 形成特征碎片 m/z 377 $[M+H-C_6H_{10}O_2]^+$, 脱去 $C_2H_4O_2$ 形成特征碎片 m/z 317 $[M+H-C_6H_{10}O_2-C_2H_4O_2]^+$, 酯键断裂脱去 C_5H_8O 形成特征碎片 m/z 233 $[M+H-C_6H_{10}O_2-C_2H_4O_2-C_5H_8O]^+$, 脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 215 $[M+H-C_6H_{10}O_2-C_2H_4O_2-C_5H_8O-H_2O]^+$, 脱去 C_3H_6 形成特征碎片 m/z 173 $[M+H-C_6H_{10}O_2-C_2H_4O_2-C_5H_8O-H_2O-C_3H_6]^+$, 再脱去 1 分子 CO 形成特征碎片 m/z 145 $[M+H-C_6H_{10}O_2-C_2H_4O_2-C_5H_8O-H_2O-C_3H_6-CO]^+$, m/z 215 的特征碎片也可脱去 1 分子 CO 形成特征碎片 m/z 187 $[M+H-C_6H_{10}O_2-C_2H_4O_2-C_5H_8O-H_2O-CO]^+$, m/z 97 的特征碎片为酯键断裂形成的 C_6H_9O 碎片, 见图 2-18, 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{28}H_{42}O_7$, 相对分子质量理论值 491.300 33, 实测值 491.299 85, 误差为 -0.6×10^{-6} , 据文献报道^[9,12]款冬花中存在甲基丁酰款冬素酯, 其相对分子质量为 490, 推测该化合物可能为甲基丁酰款冬素酯。

(17) $1\alpha,7\beta$ -二 (4-甲基千里酰氧基) 日本刺参萜-3(14)Z,8(10)-二烯-2-酮: t_R 为 22.979 min, 正离子模式下准分子离子峰为 m/z 443 $[M+H]^+$, 脱去 $C_6H_{10}O_2$ 形成特征碎片 m/z 329 $[M+H-C_6H_{10}O_2]^+$, 酯键断裂脱去 C_6H_8O 形成特征碎片 m/z 233 $[M+H-C_6H_{10}O_2-C_6H_8O]^+$, 脱去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 215 $[M+H-C_6H_{10}O_2-C_6H_8O-H_2O]^+$, 脱去 C_3H_6 形成特征碎片 m/z 173 $[M+H-C_6H_{10}O_2-C_6H_8O-H_2O-C_3H_6]^+$, 再脱去 1 分子 CO 形成特征碎片 m/z 145 $[M+H-C_6H_{10}O_2-C_6H_8O-H_2O-C_3H_6-CO]^+$, m/z 97 为酯键断裂形成的 C_6H_9O 的特征碎片, 见图 2-19, 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{27}H_{38}O_5$, 相对分子质量理论值 443.279 2, 实测值 443.278 99, 误差为 -0.5×10^{-6} , 据文献报道款冬花中存在 $1\alpha,7\beta$ -二 (4-甲基千里酰氧基) 日本刺参萜-3(14)Z,8(10)-二烯-2-酮, 其相对分子质量为 442, 推测该化合物可能为 $1\alpha,7\beta$ -二 (4-甲基千里酰氧基) 日本刺参萜-3(14)Z,8(10)-二烯-2-酮^[1,14]。

3.2.2 化合物的 (-) ESI-MS 质谱裂解特征

(1) 单咖啡酰奎宁酸: 色谱峰 1、2、3 分别为 5-*O*-咖啡酰奎宁酸、3-*O*-咖啡酰奎宁酸和 4-*O*-咖啡酰奎宁酸, t_R 分别为 2.748、3.428 和 3.611 min^[15-18], 负离子模式下准分子离子峰均为 m/z 353 $[M-H]^-$, 主要的质谱碎片为失去咖啡酰基部分的特征碎片离子 m/z 191 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$ 和失去奎宁酸部分的特征碎片离子 m/z 179 $[M-H-C_7H_{10}O_5]^-$ 。此外, MS^2 图中均出现了 m/z 375 的碎片离子, 推测是 $[M+Na-2H]^-$ 离子, 色谱峰 1 和 3 还存在进一步失去 CO_2 的特征碎片离子 m/z 135 $[M-H-C_7H_{10}O_5-CO_2]^-$ 和 201 $[M-C_7H_{10}O_5+Na-2H]^-$ 的碎片离子, 色谱峰 1 通过与文献中 5-*O*-咖啡酰奎宁酸对照品的特征碎片比对一致, 其基峰为 m/z 191 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$, m/z 179 $[M-H-C_7H_{10}O_5]^-$ 处峰强度占基峰的 80%; 色谱峰 2 还存在 m/z 161 $[M-H-C_7H_{10}O_5-H_2O]^-$ 的特征碎片, 在相同质谱条件下与对照品的裂解规律一致, 其基峰为 m/z 191 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$, m/z 179 $[M-H-C_7H_{10}O_5]^-$ 处峰强度占基峰的 5%; 色谱峰 3 还存在 m/z 173 $[M-H-C_9H_6O_3-H_2O]^-$ 的特征碎片, 通过与文献 4-*O*-咖啡酰奎宁酸对照品的特征碎片比对一致, 其基峰为 m/z 173 $[M-H-C_9H_6O_3-H_2O]^-$ ^[19], 分别见图 3-1、3-2 和 3-3。根据元素组成分析, 化合物分子式均为 $C_{16}H_{18}O_9$, 相对分子质量理论值均为 353.087 81, 实测值分别为 353.088 05, 353.088 40 和 353.088 37, 误差分别为 0.7×10^{-6} 、 1.7×10^{-6} 和 1.6×10^{-6} , 据文献报道^[20]款冬花中存在 5-*O*-咖啡酰奎宁酸、3-*O*-咖啡酰奎宁酸和 4-*O*-咖啡酰奎宁酸, 其相对分子质量均为 354, 因此推测色谱峰 1、2、3 分别为 5-*O*-咖啡酰奎宁酸、3-*O*-咖啡酰奎宁酸和 4-*O*-咖啡酰奎宁酸。

(2) 二咖啡酰奎宁酸: 色谱峰 4、5、6 分别为 4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸和 3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸, t_R 分别为 6.600、6.835 和 7.433 min^[15,18,21-22], 负离子模式下准分子离子峰均为 m/z 515 $[M-H]^-$, 主要的二级质谱碎片为失去 1 个咖啡酰基的特征碎片离子 m/z 353 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$, 以及单咖啡酰奎宁酸的特征碎片离子 m/z 191 $[M-H-2C_9H_6O_3]^-$ 、179 $[M-H-C_9H_6O_3-C_7H_{10}O_5]^-$ 和 135 $[M-H-C_9H_6O_3-C_7H_{10}O_5-CO_2]^-$, 色谱峰 4 和 6 还存在 m/z 173 $[M-H-2C_9H_6O_3-H_2O]^-$ 的特征碎片离子, 此外, 色谱峰 4 还存在 m/z 335 $[M-H-C_9H_6O_3-H_2O]^-$ 和 161 $[M-H-C_9H_6O_3-H_2O]^-$ 的特征碎片离子。

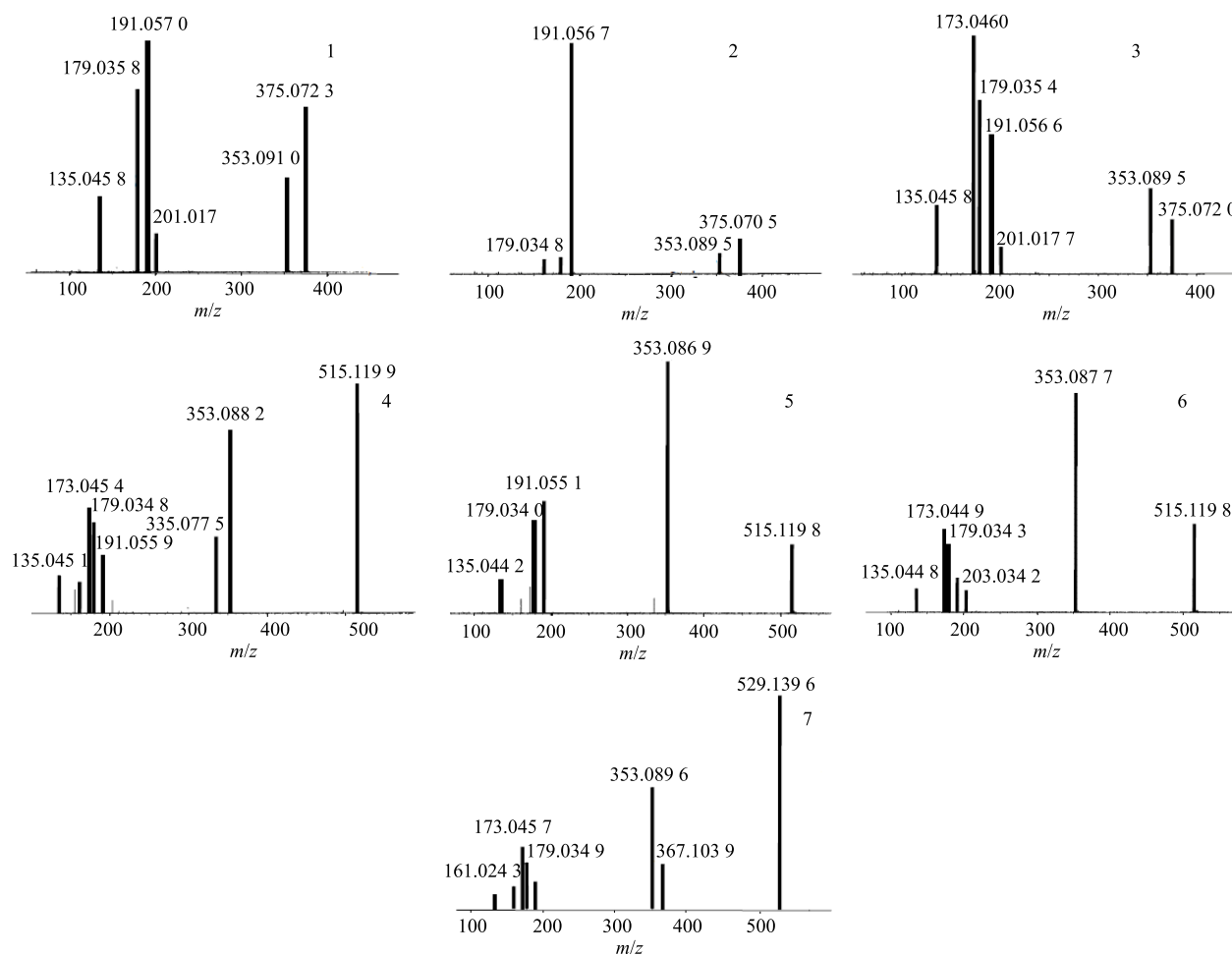


图3 负离子模式下的7个成分的二级质谱图

Fig. 3 Mass spectra of seven constituents in negative ion mode

$C_7H_{10}O_5 - H_2O$][−]的特征碎片离子^[19,22-23], 分别见图3-4、3-5和3-6。根据元素组成分析, 化合物分子式均为 $C_{25}H_{24}O_{12}$, 相对分子质量理论值均为515.11950, 实测值分别为515.12009、515.12003和515.11950, 误差分别为 1.2×10^{-6} 、 1×10^{-6} 和 1×10^{-6} , 据文献报道^[24]款冬花中存在4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸和3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 其相对分子质量均为516, 因此推测色谱峰4、5、6分别可能为4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸和3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸。

(3) 二咖啡酰奎宁酸甲酯: 色谱峰7为3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸甲酯, 分子式 $C_{26}H_{26}O_{12}$, t_R 为8.889 min^[15], 负离子模式下准分子离子峰为 m/z 529 $[M-H]^-$, 主要的质谱碎片为失去咖啡酰基部分的特征碎片离子 m/z 367 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$, 再失去 CH_2 的碎片离子 m/z 353 $[M-H-C_9H_6O_3-CH_2]^-$, 以及单咖啡酰奎宁酸的特征碎片离子 m/z 191 $[M-H-$

$2C_9H_6O_3-CH_2]^-$ 、179 $[M-H-C_9H_6O_3-CH_2-C_7H_{10}O_5]^-$ 、173 $[M-H-2C_9H_6O_3-CH_2-H_2O]^-$ 、161 $[M-H-C_9H_6O_3-CH_2-C_7H_{10}O_5-H_2O]^-$ 和135 $[M-H-C_9H_6O_3-CH_2-C_7H_{10}O_5-CO_2]^-$, 见图3-7, 根据元素组成分析, 该化合物分子式为 $C_{26}H_{26}O_{12}$, 相对分子质量理论值为529.13515, 实测值529.13542, 误差为 0.5×10^{-6} , 据文献报道^[25-26]款冬花中存在3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸甲酯, 其相对分子质量为530, 因此推测该化合物可能为3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸甲酯。

4 讨论

4.1 款冬花成分分析

通过UPLC-Q-TOF-MS对款冬花醇提取液进行分析, 结合PeakView 2.2软件中色谱峰对应的准分子离子信息、二级碎片信息以及对照品的保留时间, 并参考相关文献, 成功鉴定了34个化合物, 并推测了部分化合物的质谱裂解规律。款冬花中的主要化

学成分为萜、黄酮、酚酸、生物碱等类成分。本实验分析了萜类12个、黄酮类8个、酚酸类7个、苯并吡喃类化合物2个、苯并呋喃类1个、脂肪酮类1个和生物碱类3个。

4.2 款冬花提取方法与提取溶剂的优化

比较了回流提取与超声提取2种方法, 所得样品溶液进样分析, 结果表明提取化合物的种类以及峰形相差不大, 考虑到提取方法的简便性, 选择超声提取的方法。

比较了乙醇超声提取0.5 h和甲醇超声提取0.5 h 2种方法, 所得样品溶液进样分析, 结果表明甲醇超声所得样品溶液中化合物的种类明显多于乙醇超声方法制备的溶液, 且峰形尖锐, 响应较好, 故选择甲醇超声提取的方法。本实验通过对款冬花药材醇提液化学成分的研究, 为进一步阐明其药效物质基础以及后期药材的开发利用提供了理论依据。

参考文献

- [1] 刘可越, 张铁军, 高文远, 等. 款冬花的化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(22): 1837-1840.
- [2] 陈雪园, 张如松, 杨苏蓓. 款冬花的化学成分及药理毒理研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2012, 8(1): 173-174.
- [3] 曹 坤, 徐 溢, 王昌瑞, 等. 款冬花活性成分的分离纯化和质量控制研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(4): 619-625.
- [4] 濮社班, 徐德然, 张 勉, 等. 中药款冬中肝毒吡咯里西啶生物碱的 LC/MSⁿ 检测 [J]. 中国天然药物, 2004, 2(5): 293-296.
- [5] Liu L L, Yang J L, Shi Y P. Sesquiterpenoids and other constituents from the flower buds of *Tussilago farfara* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2011, 13(10): 920-929.
- [6] Liu Y F, Yang X W. HPLC fingerprint of chemical constituents of *Flos Farfarae* [J]. *Acta Pharm Sin*, 2009, 44(5): 510-514.
- [7] Yaoita Y, Suzuki N, Kikuchi M. Structures of new sesquiterpenoids from *Farfarae Flos* [J]. *Pharm Soc Japan*, 2001, 49(5): 645-648.
- [8] Yaoita Y. New oplopanetype sesquiterpenoid of *Flos Farfarae* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1999, 47(5): 705-707.
- [9] 刘可越, 刘海军, 张铁军, 等. 款冬花中萜类及甾体化合物的分离与鉴定 [J]. 复旦学报, 2010, 49(3): 389-393.
- [10] 张维冰, 王智聪, 张凌怡, 等. 超高效液相色谱-二极管阵列检测-串联质谱法测定菊花中的 10 种咖啡酰基奎宁酸和 22 种黄酮类化合物 [J]. 分析化学, 2013, 41(12): 1851-1861.
- [11] 李红军, 王增绘, 李文涛, 等. UPLC-Q-TOF/MS 法分析款冬花蜜炙前后的化学成分变化 [J]. 中国药房, 2015, 26(6): 792-794.
- [12] Wei S, Han G Q. Chemical constituents of *Tussilago farfara* L. [J]. *J Chin Pharm Sci*, 1996, 5(2): 63-66.
- [13] 李 玮, 杨秀伟. HPLC 法同时测定款冬花中 9 个主要成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(9): 1517-1524.
- [14] Kikuchi M. Structures of new sesquiterpenoid separated from the flower bud [J]. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40(10): 2753-2755.
- [15] Chen K X, Zhang Y T, Yang X W. Simultaneous quantification of ten phenolic acids in *Lonicerae Japonicae Flos* by HPLC-DAD [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2013, 22(6): 521-526.
- [16] 袁晓艳, 高明哲, 王 锴, 等. 高效液相色谱-质谱法分析菊芋叶中的绿原酸类化合物 [J]. 色谱, 2008, 26(3): 335-338.
- [17] 张 惠, 李 祥, 周红燕, 等. 反相高效液相色谱法同时测定脉络宁注射液中 6 种酚酸类成分的含量 [J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(2): 54-56.
- [18] 任晓蕾, 霍金海, 孙国东, 等. 短瓣金莲花化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 分析 [J]. 中草药, 2015, 46(23): 3475-3481.
- [19] 田晨煦, 徐小平, 廖丽云, 等. 高效液相色谱-串联质谱法分离鉴定绿原酸及其相关杂质 [J]. 色谱, 2007, 25(4): 496-500.
- [20] 张 倩, 张加余, 隋丞琳, 等. HPLC-DAD-ESI-MS/MS 研究金银花水提工艺中绿原酸类成分的变化规律 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(23): 3564-3567.
- [21] 吴 笛, 张 勉, 张朝凤, 等. 款冬花中黄酮和酚酸类成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(9): 1142-1143.
- [22] 侯靖宇, 陆 苑, 潘 洁, 等. UPLC-MS 法测定羊耳菊中 6 种成分的含量 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(11): 1917-1921.
- [23] 张湘东, 宋伟峰, 钟 鸣, 等. 高效液相色谱串联质谱法鉴定山银花水提取液的化学成分 [J]. 中国医药导报, 2012, 9(24): 113-114.
- [24] 张争争, 支海娟, 秦雪梅, 等. 基于 NMR 代谢组学技术的不同来源款冬花的化学比较 [J]. 药学学报, 2015, 50(5): 599-604.
- [25] 韩聪聪. 款冬花中萜类和黄酮类化合物分离技术研究 [D]. 重庆: 重庆大学, 2015.
- [26] 刘玉峰, 杨秀伟, 武 滨, 等. 款冬花化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(22): 2378-2381.