

基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的槐角药材化学成分分析

孙国东, 霍金海, 潘五九, 王伟明*

黑龙江省中医药科学院 中药研究所, 黑龙江 哈尔滨 150036

摘要:目的 采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱技术分析不同产地槐角的主要共性成分和差异性成分。方法 BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 0.1% 甲酸水溶液-0.1% 甲酸乙腈为流动相梯度洗脱; 质谱采用电喷雾 (ESI) 离子源, 在正、负离子模式下采集数据。通过 Markerview 1.2.1 软件提取 11 个产地样本中 1 000 个离子, 按离子在所有样本中均出现, 且相对强度基本大于 1×10^4 的原则选取共有离子; 通过主成分分析找出不同产地槐角差异性特征化合物。通过 Peakview 2.0/Masterview 1.0 软件, 依据精确质量数和同位素峰度比确定分子式, 通过二级谱图比对、对照品裂解规律分析, 结合文献报道, 确定结构式。结果 鉴定或推断了不同产地槐角药材中共有的 24 个化合物的结构, 以黄酮类成分为主, 筛选并推断了 21 个差异性化合物的结构。结论 该方法检测快速、准确, 为槐角药材的化学成分鉴定提供一种新的策略, 主要共性成分的确定为质量评价指标选择及药效物质深入研究奠定了基础, 差异成分亦可作为槐角药材产地鉴别及道地性评价的依据之一加以深入研究。

关键词: 液相色谱-四极杆飞行时间质谱; 槐角; 黄酮; 染料木素; 芒柄花素; 没食子酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)16-3774-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.16.007

Identification and characterization of major chemical compounds in *Sophorae Fructus* based on UPLC-Q-TOF/MS

SUN Guo-dong, HUO Jin-hai, PAN Wu-jiu, WANG Wei-ming

Institute of Chinese Materia Medica, Heilongjiang Academy of Chinese Medicine Sciences, Harbin 150036, China

Abstract: Objective To identify the common compounds and variance compounds of *Sophorae Fructus* from different regions by ultra performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS). **Methods** The separation was performed on Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), with a mobile phase using water with 0.1% formic acid (A) and acetonitrile with 0.1% formic acid (B) for gradient elution; Q-TOF/MS and electrospray ion (ESI) source were applied for the analysis under the positive ion mode and the negative ion mode; 1 000 ions were extracted through Markerview 1.2.1 software from *Sophorae Fructus* of 11 different regions. And common ions (compounds) were selected according to the following principles: One ion can be detected in all samples, and most of the peak area was greater than the 1×10^4 ; The variance ions (compounds) were selected according to principal components analysis. The formula of common ions was then determined by accurate mass and isotopic abundance ratio from target screening function of Peakview 2.0/masterview 1.0 software, and its structure were determined by analysis of MS/MS fragment or comparison with standard substances and references. **Results** A total of 24 common compounds and 21 variance compounds were identified and inferred in *Sophorae Fructus* from different producing areas. **Conclusion** UPLC-Q-TOF/MS method which develops a new strategy can identify the main chemical constituents from *Sophorae Fructus* rapidly and accurately. The determination of the main common components lays a foundation for the selection of quality evaluation indexes and the in-depth study of pharmacodynamic substances. The variance components can also be used as one of the bases for the identification of origin and authentic evaluation of *Sophorae Fructus*.

Key words: LC-Q-TOF/MS; *Sophorae Fructus*; flavone; genistein; formononetin; gallic acid

收稿日期: 2018-10-30

基金项目: 国家中药材产业技术体系专项资金 (CARS-21)

作者简介: 孙国东, 男, 助理研究员, 研究方向为中药质量评价及药效物质基础研究。Tel: (0451)55653086-6902 E-mail: xiaoqijulian@163.com

*通信作者 王伟明, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药新产品研发。Tel: (0451)55665478 E-mail: zyyjy@163.com

中药槐角为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥成熟果实, 药用历史悠久, 具有清热泻火、凉血止血的功效, 用于肠热便血、痔肿出血, 肝热头痛、眩晕目赤, 是历版《中国药典》收载的常用中药。槐角中含有黄酮、异黄酮、生物碱、三萜皂苷、氨基酸和磷脂类成分。其中异黄酮类化合物与己烯雌酚相似, 具有雌激素样活性, 对骨质疏松、癌症等疑难病症有较好的防治效果, 从槐角中提取此类化合物成为国际上研究和开发的热点^[1]。

目前, 关于槐角药材的质量控制多集中于染料木苷、染料木素、槐角苷、芸香苷、槲皮素及芦丁等黄酮类成分的含量测定^[2-3]。其中《中国药典》2015 年版仅测定槐角苷的含量^[4]。研究表明, 不同产地及采摘期槐角质量存在较大差异, 有必要对不同产地槐角药材化学成分进行全面系统的分析^[5-6]。近年来, 将液相色谱的高效分离能力和高分辨质谱鉴定能力相结合, 广泛用于中药材成分分析与鉴定^[7-10]。本研究采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF/MS) 技术对槐角样品进行在线分离分析, 快速鉴定不同产地槐角的主要共性和差异性成分, 为其药效物质基础及质量控制研究奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Acquity UPLC (Waters, USA, 包括二元高压梯度泵、真空脱气机、自动进样器、柱温箱); AB Sciex Triple-TOFTM 5600+型质谱仪 (配有 ESI 源和 APCI 源), 数据采集软件: Analyst TF 1.6 software; 数据处理软件系统: Peakview 2.0/Masterview 1.0 software、Markerview 1.2.1、Natural products HR-MS/MS Spectral Library 1.0 software (美国 AB SCIEX 公司)。

1.2 试剂

甲醇、乙腈 (色谱纯, 德国 Merck 公司), 甲酸 (色谱纯, 美国 Fisher 公司), 蒸馏水 (广州屈臣氏食品饮料有限公司), 甲醇 (分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司), 乙醇 (分析纯, 天津市福晨化学试剂厂)。

1.3 药材与对照品

槐角药材于 2017 年 11~12 月采自安徽、北京、甘肃、河北、河南、内蒙古、山东、陕西、新疆、宁夏、吉林 11 个产地, 每个产地采集 2 份样本, 每份约 500 g, 经黑龙江省中医药科学院王伟明研究员鉴定为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的成熟果实, 通风处阴干, 粉碎, 过 60 目筛用于样品制备。

染料木素 (批号 11704-200501)、没食子酸 (批号 110831-200302), 中国食品药品检定研究院; 芒柄花素 (批号 L-018-140128, 成都瑞芬思生物科技有限公司); 对照品质量分数均 $\geq 98\%$ 。

2 方法

2.1 对照品溶液的制备

取染料木素 1.01 mg、芒柄花素 1.03 mg、没食子酸 1.02 mg, 分别加入 20 mL 甲醇制成药 50 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液作为对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

取不同产地槐角药材粉末 2.0 g, 精密称定, 加 70%乙醇 25 mL 超声处理 (功率 300 W, 频率 40 kHz) 45 min, 放冷, 补足 70%乙醇, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

2.3 色谱条件

Acquity BEH C₁₈ (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, Acquity UPLC BEH C₁₈ 保护柱 (5 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm); 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液, B 为 0.1%甲酸乙腈溶液; 梯度洗脱: 0~2 min, 95%~80% A; 2~10 min, 80%~60% A; 10~11 min, 60%~50% A; 11~15 min, 50%~30% A; 15~22 min, 30% A~0; 22~22.1 min, 0~95% A; 22.1~25 min, 95% A; 体积流量 0.3 mL/min; 样品仓温度 4 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 5 μL ; 分析时间 25 min。

2.4 质谱条件

离子化模式为电喷雾正、负离子模式, 正、负离子源电压分别为 5 500 V/-4 500 V, 离子源温度为 550 $^{\circ}\text{C}$, 雾化气体为 N₂, 雾化气 (Gas1) 为 380 kPa, 辅助气 (Gas2) 为 380 kPa, 气帘气为 240 kPa, 裂解电压 (DP) 分别为 80 V/-80 V, 碰撞能量 (CE) 分别为 40 eV/-40 eV, 碰撞能量扩展 (CES) 均为 20 eV。TOF MS 扫描范围为 m/z 100~1 500, 数据采集所用软件为 Analyst TF 1.6 software, 数据处理软件为 Peakview 2.0/Masterview 1.0 software。

2.5 数据分析

2.5.1 不同产地槐角主要共有成分分析 吸取 11 个产地槐角药材的供试品溶液, 进样测定, 记录 UPLC-MS 色谱图, 通过 Markerview 1.2.1 软件提取 1 000 个离子, 选取在所有样本中均出现, 相对强度基本大于 1×10^4 的主要共有离子。再通过 Peakview 2.0/Masterview 1.0 软件, 依据精确质量数和同位素峰度比确定分子式, 通过对照品及数据库的二级谱图比对、裂解规律分析, 结合已有文献报道, 确定

共有离子结构式。

2.5.2 不同产地槐角差异性成分分析

(1) 预处理: 将 UPLC-Q-TOF/MS 采集的质谱数据通过 Markerview 1.2.1 软件进行峰检测和峰匹配, 生成包含保留时间 (允许偏差 0.2 min)、核质比 (允许偏差 1×10^{-5})、峰面积 (5 000 个离子) 的数据矩阵, 先将每个样品的峰面积归一化处理, 再对数据矩阵进行分析和数据筛选, 进行去噪缺失值的修正等处理。

(2) 主成分分析 (PCA): 将数据预处理结果通过 Markerview 1.2.1 进行多维数据的分析。数据的多元统计分析采用 PCA 方法进行模式识别。建立模型后, 分别产生得分矩阵图和载荷矩阵图, 通过得分矩阵图来获得各组数据的分型信息。而载荷矩阵

图能反映各个变量对样品分型的影响, 从而找出不同产地槐角差异性特征化合物。

3 结果与讨论

3.1 UPLC-Q-TOF/MS 结果

由于槐角化学成分复杂, 采用一种模式很难顾及所有的化合物, 因此采用正、负 2 种离子扫描模式进行扫描, 正、负离子模式下的总离子色谱图见图 1。结果表明, 在正、负离子模式下, 获得了良好的分离效果及离子化效率。

3.2 共有离子 (化合物) 的表征与鉴定

飞行时间质谱为高分辨质谱, 可以测得偏差小于 1×10^{-5} 的离子质量, 同时结合同位素丰度比进行分析, 可以准确计算所测化合物的分子式。对选取的共有化合物进行了结构分析, 结果见表 1。鉴

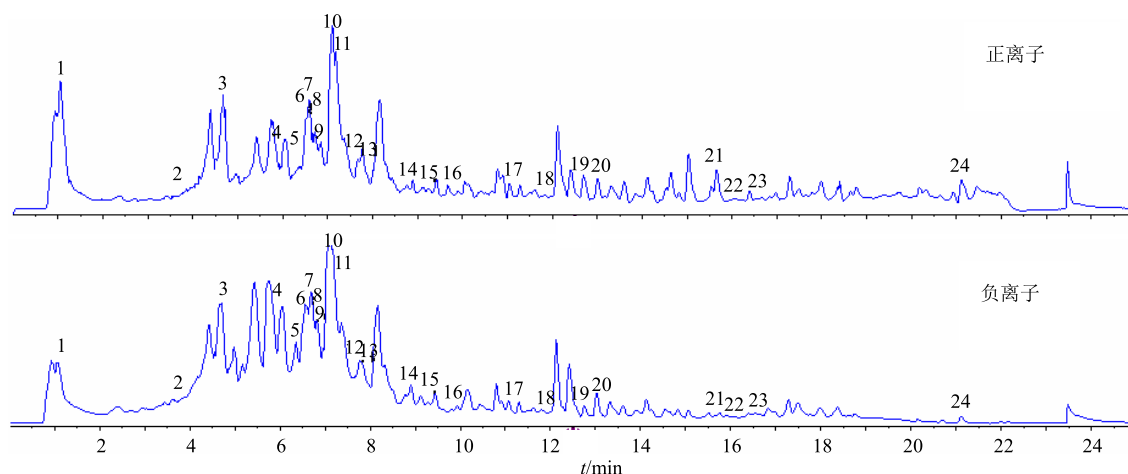


图 1 槐角药材总离子流图

Fig. 1 TIC chromatograms of *Sophorae fructus*

表 1 槐角药材共有离子结构信息

Table 1 Characterization of common chemical constituents of *Sophorae Fructus* by UPLC-ESI-Q-TOF/MS

峰号	t_R/min	测定值	理论值	误差 ($\times 10^{-5}$)	分子式	主要二级碎片离子 (MS/MS) 及来源	鉴定结果
1	1.1	191.018 5	191.018 63	-0.7	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	191 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 173 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$, 154 $[\text{M}-\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^-$, 129 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$, 111 $[\text{M}-\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$	柠檬酸
2	3.7	171.028 5	171.028 80	-1.8	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	171 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 135 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, 127 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2]^+$, 109 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^+$, 107 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2-2\text{H}]^+$	没食子酸
3	4.7	595.163 9	595.165 75	-3.1	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	595 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 433 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$, 271 $[\text{M}+\text{H}-2\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$, 215 $[\text{M}+\text{H}-2\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-2\text{CO}]^+$, 127 $[\text{M}+\text{H}-2\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-2\text{CO}-\text{C}_7\text{H}_4]^+$	山柰酚-3-O-芸香糖苷
4	6.2	287.054 2	287.055 01	-2.8	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	287 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 258 $[\text{M}+\text{H}-\text{CHO}]^+$, 241 $[\text{M}+\text{H}-\text{CHO}-\text{OH}]^+$, 213 $[\text{M}+\text{H}-\text{CHO}-\text{OH}-\text{CO}]^+$, 165 $[\text{M}+\text{H}-\text{CHO}-\text{OH}-\text{C}_6\text{H}_4]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{CHO}-\text{OH}-\text{C}_7\text{H}_4]^+$, 121 $[\text{M}+\text{H}-\text{CHO}-\text{OH}-\text{C}_7\text{H}_2\text{O}]^+$	山柰酚
5	6.2	449.105 4	449.107 84	-5.4	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	449 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 329 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4]^+$, 271 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2]^+$, 258 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2-\text{CH}]^+$, 213 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2-2\text{CHO}]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_7]^+$, 127 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_7-\text{CH}_2\text{O}]^+$	山柰酚-3-O-β-D-葡萄糖苷
	6.5	303.049 0	303.049 93	-3.1	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	303 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 285 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 257 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 229 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}]^+$, 201 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-3\text{CO}]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}-\text{C}_6\text{H}_4]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}-\text{C}_6\text{H}_2\text{O}]^+$	槲皮素

续表 1

峰号	t_R/min	测定值	理论值	误差 ($\times 10^{-5}$)	分子式	主要二级碎片离子 (MS/MS) 及来源	鉴定结果
7	6.5	611.155 9	611.160 66	-7.8	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	611 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 465 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^+$, 303 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$, 129 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_9\text{H}_2\text{O}_4]^+$	芦丁
8	6.5	465.101 5	465.102 75	-2.7	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	465 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 345 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4]^+$, 303 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 257 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}_2]^+$, 229 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}_2-\text{CO}]^+$, 165 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}_2-\text{CO}-\text{C}_5\text{H}_4]^+$	槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷
9	6.7	255.066 9	255.065 19	6.7	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$	255 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 237 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 227 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 199 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}]^+$, 181 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 152 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}-\text{H}_2\text{O}-\text{CHO}]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_8\text{H}_4]^+$	大豆苷元
10	7.1	433.110 7	433.112 92	-5.1	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	433 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 313 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4]^+$, 271 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 243 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 215 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_6]^+$	染料木苷
11	7.2	579.165 3	579.170 83	-9.5	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$	579 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 459 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}]^-$, 339 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4]^-$, 313 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_8]^-$, 271 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_8-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^-$, 151 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_8-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}]^-$	柚皮苷
12	7.7	271.060 9	271.060 10	3.0	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	271 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 253 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 243 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 215 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}]^+$, 197 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 169 $[\text{M}+\text{H}-3\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_8\text{H}_4]^+$	染料木素
13	7.8	579.167 8	579.170 83	-5.2	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	579 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 433 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^+$, 271 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$, 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6-\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_3]^+$	染料木素-7-二葡萄糖基鼠李糖苷
14	8.7	315.087 1	315.086 31	2.5	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$	315 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 300 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3]^+$, 272 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3-\text{CO}]^+$, 257 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CH}_3-\text{CO}]^+$, 229 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CH}_3-2\text{CO}]^+$	二甲氧基大豆黄素
15	9.2	431.132 4	431.133 66	-2.9	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_9$	431 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 269 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$, 254 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_3]^+$, 213 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_7]^+$	芒柄花苷
16	9.8	417.117 8	417.118 01	-0.5	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_9$	417 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 271 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^+$, 243 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{CO}]^+$, 215 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4-2\text{CO}]^+$	大豆苷
17	11.1	447.128 1	447.128 57	-1.1	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	447 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 285 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$, 270 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_3]^+$, 242 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_3-\text{CO}]^+$	黄豆黄苷
18	11.7	547.107 8	547.114 11	-11.5	$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_{19}$	547 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 299 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_{16}\text{O}_{13}]^+$, 269 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_{16}\text{O}_{13}-\text{CH}_2\text{O}]^+$, 241 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_{16}\text{O}_{13}-\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	半乳糖醛酸
19	12.7	283.060 7	283.060 10	2.1	$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_5$	283 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 253 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}]^+$, 225 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 197 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}-2\text{CO}]^+$, 169 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}-3\text{CO}]^+$, 155 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}-3\text{CO}-\text{CH}_2]^+$	胰凝乳素
20	13.1	269.081 4	269.080 84	2.1	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$	269 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 253 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4]^+$, 237 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4\text{O}]^+$, 225 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4-\text{CO}]^+$, 213 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}]^+$, 197 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4-2\text{CO}]^+$, 181 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4\text{O}-2\text{CO}]^+$	芒柄花素
21	15.7	797.470 0	797.468 18	2.3	$\text{C}_{42}\text{H}_{68}\text{O}_{14}$	797 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 599 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2]^+$, 581 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}]^+$, 423 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_5]^+$, 405 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2-2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_5]^+$	大豆皂醇 B-3- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖醛酸苷
22	16.1	297.075 5	297.075 75	-0.8	$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_5$	297 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 267 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}]^+$, 239 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 224 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3]^+$, 211 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}-2\text{CO}]^+$, 196 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}-2\text{CO}-\text{CH}_3]^+$, 168 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}-3\text{CO}-\text{CH}_3]^+$	7-甲氧基胰凝乳素
23	16.4	283.096 4	283.096 49	-0.3	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_4$	283 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 267 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4]^+$, 240 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4-\text{CHO}]^+$, 227 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4-\text{CHO}-\text{CH}_2]^+$, 211 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4-2\text{CHO}]^+$, 197 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4-\text{CHO}-\text{CHO}-\text{CH}_2]^+$, 169 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_4-2\text{CHO}-\text{CH}_2-\text{CO}]^+$	5,4-二羟基-7,3-二甲氧基异黄酮
24	21.1	279.232 0	279.231 86	0.5	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	279 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 261 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 243 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, 223 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$, 209 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{10}]^+$, 187 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$, 173 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_5\text{H}_{10}]^+$, 149 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_7\text{H}_{10}]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_8\text{H}_{10}]^+$, 123 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_9\text{H}_{12}]^+$, 109 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{10}\text{H}_{14}]^+$	亚麻酸

定或推断了其 24 个化合物的结构, 包括 20 个黄酮类化合物、3 个有机酸类化合物、1 个磷脂类、1 个多糖类及 1 个其他类化合物。选取典型的黄酮及有机酸类化合物进行质谱裂解规律分析, 总结如下。

化合物 **12** 为黄酮类化合物, 其二级质谱碎片的准分子离子 $271 [M+H]^+$ 丰度极高, 较为稳定, 易失去 B 环上 4' 位羟基而同时发生重排形成 $253 [M+H-H_2O]^+$ 碎片离子, 此碎片进一步脱掉 B 环并发生重排形成 $153 [M+H-H_2O-C_8H_4]^+$ 碎片离子, 准分子离子也可失去 C 环上的 CO 形成 $243 [M+H-CO]^+$ 碎片离子, 此碎片继续失去 1 个 CO 并发生重排后形成 $215 [M+H-2CO]^+$ 碎片离子, 此碎片离子再次失去 1 分子 H_2O 及 CO 形成 $197 [M+H-2CO-H_2O]^+$ 碎片离子及 $169 [M+H-3CO-H_2O]^+$ 碎片离子, 通过查询相关成分的文献及检索 SCIEX 公司 (美国) 的 HR-MS/MS Spectral Library 1.0 质谱数据库, 推断化合物 **12** 为染料木素, 其二级质谱数据库对照镜像图、裂解可能途径以及离子碎片数据分别见图 2、3^[11]。

化合物 **20** 为黄酮类化合物, 其二级质谱碎片的准分子离子 $269 [M+H]^+$ 丰度最高, 较为稳定,

易失去 B 环上 4' 位甲氧基上的甲基而同时发生重排形成碎片离子 $253 [M+H-CH_3]^+$, 此碎片进一步脱掉 B 环 4' 位的氧形成碎片离子 $237 [M+H-OCH_3]^+$, 253 碎片离子也可失去 C 环上的 CO 形成碎片离子 $225 [M+H-CO-CH_3]^+$, 此碎片继续失去 1 个 CO 并发生重排后形成 $197 [M+H-2CO-CH_3]^+$ 碎片离子, 再次失 1 个 O 形成 $181 [M+H-2CO-O-CH_3]^+$ 碎片离子, 另一条裂解途径为准分子离子直接失去 2 个 CO 形成 $213 [M+H-2CO]^+$ 碎片离子。通过查询相关成分的文献及检索 SCIEX 公司 (美国) 的 HR-MS/MS Spectral Library 1.0 质谱数据库, 推断化合物 **20** 为芒柄花素, 其二级质谱数据库对照镜像图 (正、负模式)、裂解可能途径以及离子碎片数据计算分别见图 4、5^[12]。

化合物 **2** 为有机酸类化合物, 其二级质谱碎片的准分子离子 $171 [M+H]^+$ 丰度较低, 较为不稳定, 易连续失去苯环上的 2 分子 H_2O 并发生重排形成 $153 [M+H-H_2O]^+$ 碎片离子及 $127 [M+H-2H_2O]^+$ 碎片离子, 153 碎片离子也可失去苯环上的羧酸形成 $109 [M+H-H_2O-CO_2]^+$ 碎片离子及 $107 [M+H-H_2O-HCOOH]^+$ 碎片离子。通过查

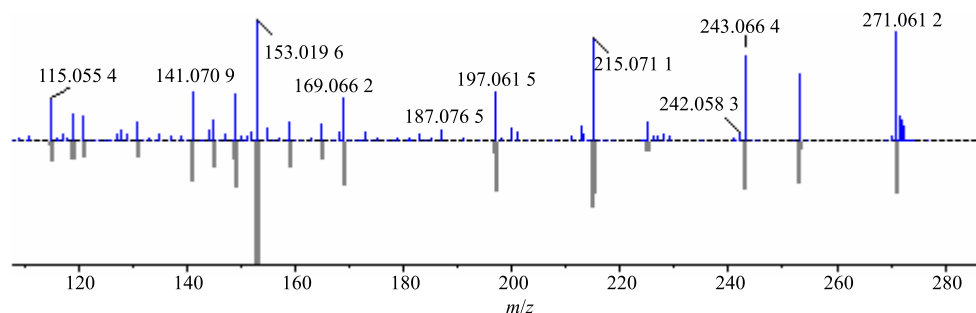


图 2 化合物 **12** 二级质谱图及与染料木素对照品比对镜像图

Fig. 2 MS/MS spectrum of genistein for compound **12**

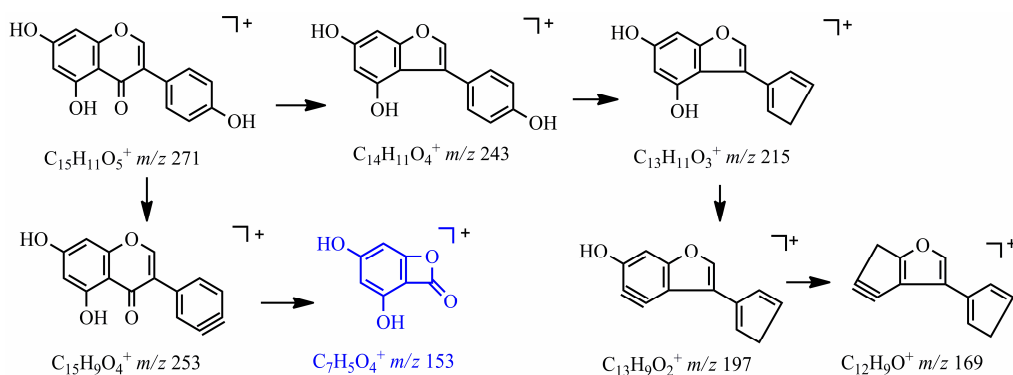


图 3 化合物 **12** 结构解析图

Fig. 3 Chemical structure and fragmentation pathway for compound **12**

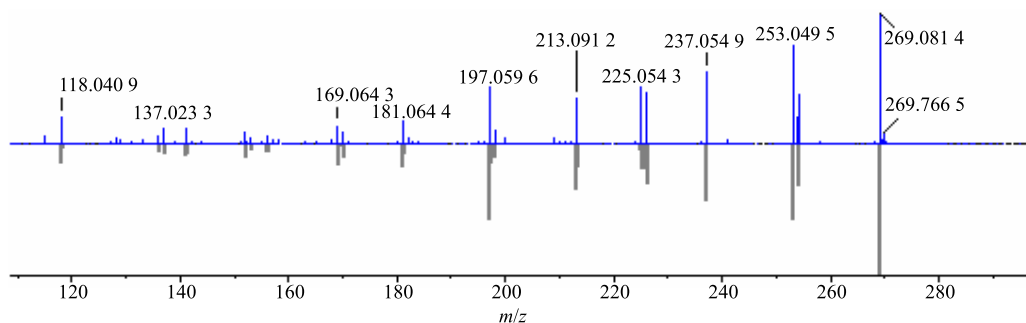


图 4 化合物 20 二级质谱图及与芒柄花素对照品比对镜像图

Fig. 4 MS/MS spectrum of formononetin for compound 20

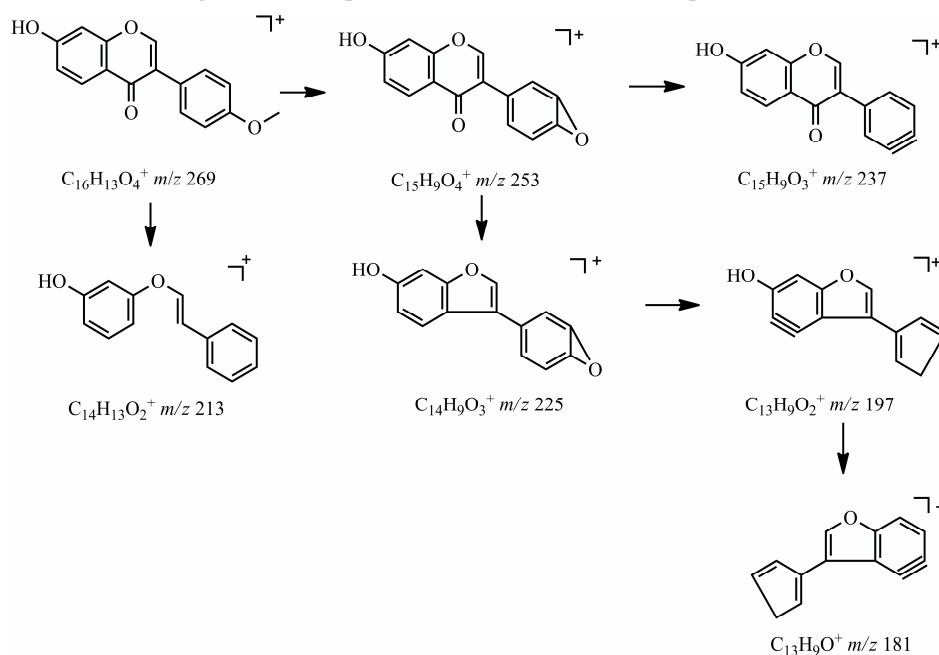


图 5 化合物 20 结构解析图

Fig. 5 Chemical structure and fragmentation pathway for compound 20

询相关成分的文献及检索 SCIEX 公司（美国）的 HR-MS/MS Spectral Library 1.0 质谱数据库，推断化合物 2 为没食子酸，其二级质谱数据库对照镜像图、裂解可能途径以及离子碎片数据计算分别见图 6、7^[14]。

3.3 不同产地槐角化学成分差异性分析

对正、负离子模式下不同产地槐角数据进行 PCA 模式识别分析，见图 8。通过不同产地药材的得分图可以看出，河南、内蒙古、陕西、甘肃距离较近，归为一类，新疆、北京、山东、宁夏、安徽、

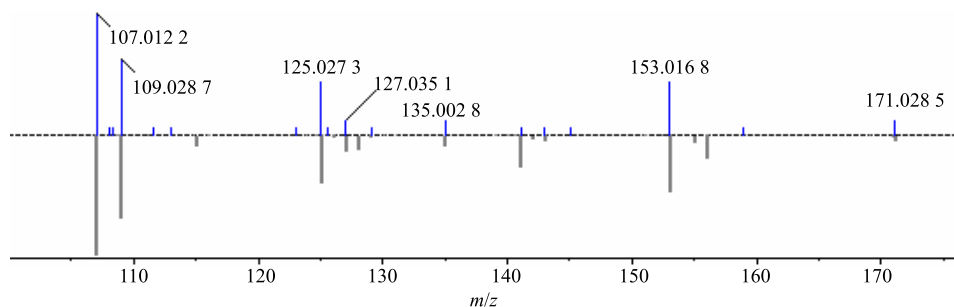


图 6 化合物 2 二级质谱图及与没食子酸对照品比对镜像图

Fig. 6 MS/MS spectrum of gallic acid for compound 2

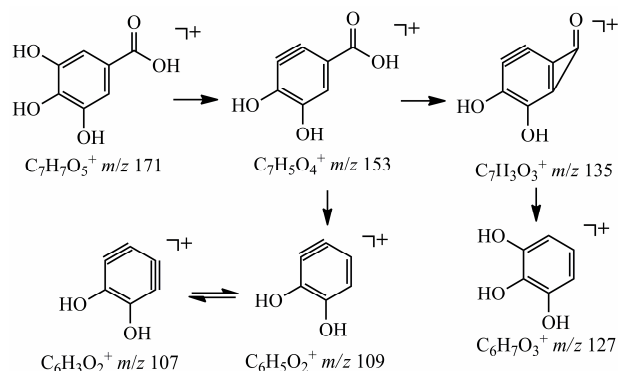


图 7 化合物 2 结构解析图

Fig. 7 Chemical structure and fragmentation pathway for compound 2

吉林、河北距离较近，归为一类。

通过载荷矩阵图中的各个变量进一步对影响不同产地槐角药材质量的化学成分进行比较分析，在载荷矩阵图中的各个点表示各个保留时间-质荷比变量，其离中心点的距离远近则表示了该变量为样品组分型所做出的贡献大小，偏离越远的点，说明其在不同样品中的含量变化越大。最终筛选并推断了 21 个化合物的结构，结果见表 2。

差异化合物仍以黄酮类成分为主，21 个成分中包括 10 个黄酮类化合物、7 个酚酸类化合物、1 个生物碱类化合物及 2 个醌类化合物、1 个脂肪烃。以不同产地为横坐标，以差异成分（按照表 2 中化

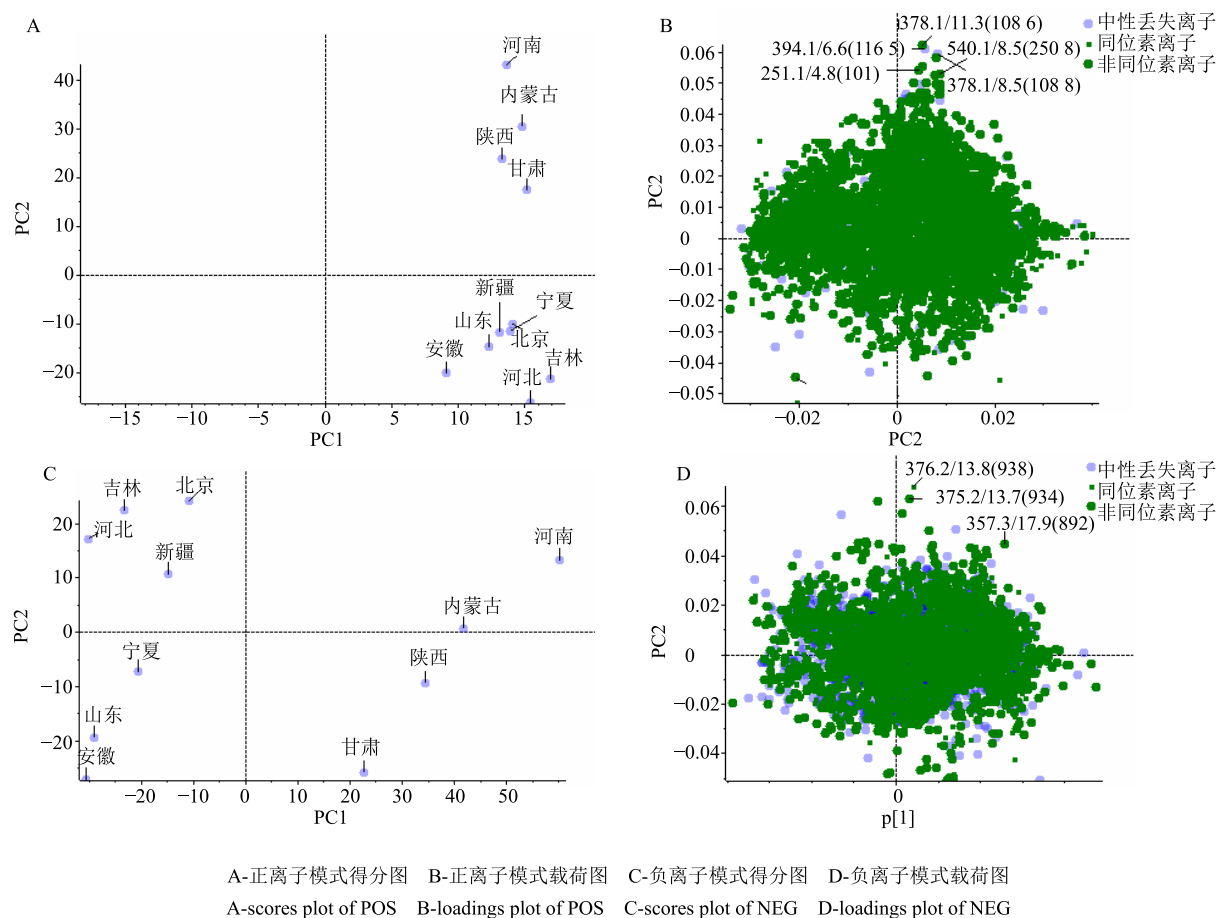


图 8 不同产地槐角药材 PCA 图

Fig. 8 Principal component analysis (PCA) for *Sophorae fructus* of different product area

合物顺序)归一化后的峰面积为纵坐标,使用 Matlab 软件作图,得到 11 个不同产地 21 个化合物含量差异灰度图,以灰度大小来代表成分含量的高低,见图 9。

通过分析差异化合物在各样本间的含量可知,化合物 1、4、12 在河南、内蒙古、陕西、甘肃产

地检出量高于其他 7 个产地,而化合物 6、11、13、14、16、17、19~21 在河南、内蒙古、陕西、甘肃产地几乎检测不到,而在其他 7 个产地检出量较高,可作为 11 个产地的区别标志物;19 为酚酸类成分,在山东产地检出量均高于其他产地,可作为山东产地的标志物;7 和 8 均为黄酮类成分,其在北京产

表 2 不同产地槐角药材差异化化合物结构信息

Table 2 Characterization of diverse chemical constituents of *Sophorae fructus* by UPLC-ESI-Q-TOF/MS

峰号	t_R/min	测定值	理论值	误差 ($\times 10^{-5}$)	分子式	主要二级碎片离子 (MS/MS) 及来源	鉴定结果
1	3.1	367.150 7	367.149 98	2.0	$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_7$	367 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 349 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 332 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{NH}_3]^+$, 303 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}_2]^+$, 229 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{NH}_3-\text{C}_7\text{H}_5\text{O}]^+$, 188 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}_2-\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2]^+$, 146 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}_2-\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$	2'- α -mannosyl- <i>L</i> -tryptophan
2	3.1	599.200 9	599.197 05	6.4	$\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$	599 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 509 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3]^-$, 479 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3-\text{CH}_2\text{O}]^-$, 395 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2]^-$, 317 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_3]^-$, 233 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_3-\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2]^-$, 149 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_3-\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2-\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2]^-$	loganin pentaacetate
3	3.6	507.072 1	507.071 06	2.1	$\text{C}_{29}\text{H}_{14}\text{O}_9$	507 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 337 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_5]^+$, 127 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{23}\text{H}_8\text{O}_6]^+$	5,5'-[carbonylbis(4,1-phenyleneoxy)]bis(2-benzofuran-1,3-dione)
4	5.6	681.163 7	681.166 14	-3.6	$\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_{18}$	681 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 519 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3]^+$, 433 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_3\text{H}_2\text{O}_3]^+$, 271 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_3\text{H}_2\text{O}_3-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3]^+$	5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4 <i>H</i> -chromen-3-yl 6- <i>O</i> -(carboxyacetyl)-2- <i>O</i> -(6-deoxy- β - <i>D</i> -gulopyranosyl)- β - <i>D</i> -allopyranoside
5	6.5	371.098 8	371.097 27	4.1	$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	371 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 209 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3]^-$, 191 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}]^-$, 167 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_6]^-$, 123 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{CO}_2]^-$	2-[4-(β - <i>D</i> -glucopyranosyloxy)-2-methoxyphenoxy] acrylic acid
6	6.6	503.141 8	503.139 53	4.5	$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$	503 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 461 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^-$, 371 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3]^-$, 341 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3-\text{CH}_2\text{O}]^-$, 299 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^-$, 269 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{18}\text{O}_9]^-$, 167 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_9]^-$, 123 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_9-\text{CO}_2]^-$	1- <i>O</i> -[(2 <i>E</i>)-3-[4-(β - <i>D</i> -glucopyranosyloxy)-3-hydroxyphenyl]-2-propenyl]- β - <i>D</i> -glucopyranose
7	7.4	501.113 0	501.118 01	-10.0	$\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_9$	501 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 293 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4]^-$, 255 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4-\text{C}_3\text{H}_2]^-$, 227 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4-\text{C}_3\text{H}_2-\text{CO}]^-$, 271 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 151 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}]^-$	5-methoxy-10-(7-methoxy-1,3-benzodioxo-1,5-yl)-3-(4-methoxyphenyl)-9,10-dihydro-4 <i>H</i> ,8 <i>H</i> -pyrano[2,3- <i>f</i>]chromene-4,8-dione
8	7.8	549.121 8	549.123 88	-3.8	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{14}$	549 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 301 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8]^+$, 286 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8-\text{CH}_3]^+$	5-hydroxy-3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-4-oxo-4 <i>H</i> -chromen-7-yl- <i>O</i> -(carboxyacetyl)- β - <i>D</i> -threo-hexopyranoside
9	7.8	559.147 8	559.150 49	-4.8	$\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{O}_{13}$	559 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 413 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 269 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_4]^-$, 239 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_4-\text{CH}_2\text{O}]^-$	5,7-dihydroxy-6-(4-hydroxy-6-methyl-5-oxo-3-((3,4,5-trihydroxy-6-methyltetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-2-yl)oxy)tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-2-yl)-2-(4-hydroxyphenyl)-4 <i>H</i> -chromen-4-one
10	7.8	457.172 7	457.170 44	4.9	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_{11}$	457 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 325 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4]^-$, 163 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 148 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_3]^-$, 344 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_8]^-$	4-allyl-2-methoxyphenyl-6- <i>O</i> - β - <i>D</i> -ribofuranosyl- β - <i>D</i> -allopyranoside
11	8.1	519.111 0	519.113 32	-4.5	$\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{O}_{13}$	519 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 313 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_7]^+$, 271 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_7-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$, 243 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_7-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$, 214 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_7-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CHO}]^+$, 159 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_8]^+$, 127 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_7-\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_3]^+$	5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4 <i>H</i> -chromen-7-yl 6- <i>O</i> -(carboxyacetyl)- β - <i>D</i> -glucopyranoside
12	8.7	499.184 1	499.181 00	6.2	$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$	499 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 457 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^-$, 367 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3]^-$, 163 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3-\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_6]^-$, 148 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3-\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{CH}_3]^-$	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-3-methyl-4-methylene-3-propionyltetrahydro-2-furan-2-yl 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetyl- β - <i>D</i> -glucopyranoside
13	8.7	545.183 0	545.186 48	-6.4	$\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$	545 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 499 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2]^-$, 457 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^-$, 353 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}_5]^-$, 163 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_9]^-$, 148 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}-\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_9-\text{CH}_3]^-$	6,6'-dimethyloctahydro-2 <i>H</i> ,2' <i>H</i> -2,2'-bipyran-3,3',4,4',5,5'-hexayl hexaacetate

续表 2

峰号	t_R/min	测定值	理论值	误差 ($\times 10^{-5}$)	分子式	主要二级碎片离子 (MS/MS) 及来源	鉴定结果
14	9.2	895.276 6	895.280 78	-4.7	$\text{C}_{48}\text{H}_{48}\text{O}_{17}$	895 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 689 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 527 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_3]^-$, 431 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_3]^-$, 463 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_3]^-$, 437 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_3-\text{C}_2\text{H}_2]^-$, 275 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_3-\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_3]^-$	4a,8,12b-trihydroxy-3-methyl-9-6-methyl-5-(5-oxo-6-(2-(1,5,8-trihydroxy-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-2-yl)ethyl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-yl)oxy)tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3-((6-methyl-5-oxo-5,6-dihydro-2H-pyran-2-yl)oxy)-3,4,4a,12b-tetrahydrotetraphene-1,7,12(2H)-trione
15	9.3	505.135 7	505.134 05	3.3	$\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$	505 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 257 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8]^+$, 239 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8-\text{H}_2\text{O}]^+$, 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4\text{O}]^+$, 137 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}]^+$	1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthalenyl-2, 3, 4, 6-tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranoside
16	10.0	447.129 4	447.128 57	1.9	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	447 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 285 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$, 270 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_3]^+$, 253 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_3-\text{OH}]^+$, 242 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_3-\text{CO}]^+$, 229 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_2\text{O}_2]^+$, 213 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_3-\text{CO}-\text{CHO}]^+$	毛蕊异黄酮
17	10.4	285.042 2	285.039 36	10.0	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	285 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 239 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2]^+$, 211 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2-\text{CO}]^+$, 159 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_2\text{O}_4]^+$	[(1-hydroxy-9-oxo-9H-xanthen-3-yl) oxy] acetic acid
18	10.5	547.107 9	547.108 23	-0.6	$\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{O}_{14}$	547 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 299 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8]^+$, 269 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8-\text{CH}_2\text{O}]^+$, 241 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8-\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	2-((2,8-dihydroxy-7-methoxy-5,10-dioxo-5,10-dihydrochromeno[5,4,3-cde]chromen-3-yl)oxy)-5-hydroxy-6-methyltetrahydro-2H-pyran-3,4-diyl diacetate
19	10.7	533.127 8	533.128 97	-2.2	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{13}$	533 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 447 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_2\text{O}_3]^+$, 285 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8]^+$, 270 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8-\text{CH}_3]^+$, 229 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8-\text{C}_2\text{O}_2]^+$, 213 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_8-\text{C}_2\text{O}_2-\text{CH}_4]^+$	3-(4-hydroxyphenyl)-6-methoxy-4-oxo-4H-chromen-7-yl-6- <i>O</i> -(carboxyacetyl)- β -D-glucopyranoside
20	15.0	407.366 3	407.367 23	-2.3	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}$	407 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 269 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{18}]^+$, 255 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{18}-\text{CH}_2]^+$, 229 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{18}-\text{CH}_2-\text{C}_2\text{H}_2]^+$, 203 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{18}-\text{CH}_2-\text{C}_2\text{H}_2-\text{C}_2\text{H}_2-\text{C}_2\text{H}_2]^+$, 147 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{18}-\text{CH}_2-\text{C}_2\text{H}_2-\text{C}_2\text{H}_2-\text{C}_4\text{H}_8]^+$, 133 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{18}-\text{CH}_2-\text{C}_2\text{H}_2-\text{C}_2\text{H}_2-\text{C}_4\text{H}_8-\text{CH}_2]^+$	2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,8,10,12,14,18,22-tetracosaoctan
21	20.2	271.060 4	271.060 10	1.1	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	271 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 243 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$, 215 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{CO}]^+$, 197 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 153 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}]^+$	大黄素

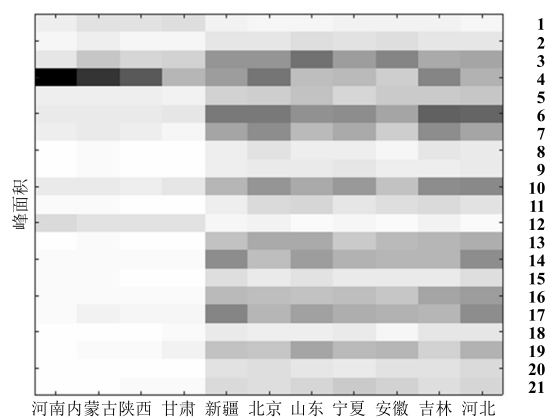


图 9 不同产地差异成分灰度图

Fig. 9 Grayscale images of different components in producing area

地检出量高于其他产地, 可以作为北京产地的标志物; **9** 为黄酮类成分, **21** 为酚酸类成分, 此 2 种成分在宁夏产地检出量高于其他产地, 可以作为宁夏产地的标志物。

4 讨论

本研究广泛收集了全国 11 个产地的槐角药材, 具有一定的代表性。槐角药材资源分布广泛, 其中道地药材产区为陕西、河南, 历史悠久, 目前以陕西省的资源蕴藏量及产量最大。非目标性筛查不同产地槐角药材的离子信息, 每个色谱峰往往代表了多种化合物, 体现了中药成分的复杂性。因此, 高分辨指纹图谱的研究更需要 PCA 等化学计量学软件评价其相似性及差异性^[14]。

本实验鉴定或推断了不同产地槐角药材中共有

的 26 个化合物的结构,这些化合物具有较高的质谱响应,可作为槐角药材主要的药效物质基础加以深入研究。实验过程中共找出 114 个对槐角药材差异性分组贡献较大的离子,但其中大部分离子在 peakview 中筛查出的数据结果误差较大,或在 chemspider 数据库中无法给出化合物结构式,说明这些差异离子往往是受环境调控产生的次生代谢中间产物,属未知化合物,鉴定较为困难。已鉴定的 21 个化合物基本为黄酮类及酚酸类化合物,在天然产物中的查耳酮合酶、查耳酮异构酶、黄酮醇合酶、二羟基黄酮醇还原酶以及糖基转移酶等的作用下,合成为黄酮类及其苷类或其衍生物,或形成酚酸类成分,此结果可能与地理位置、气候、土壤等生境差异密切相关,而这些差异成分亦可作为槐角药材产地鉴别及道地性评价的依据之一。本研究表明,不同产地槐角药材化学成分存在较大差异,单一的含量测定难以满足质量控制的要求,需借鉴中药指纹图谱技术从整体上控制槐角药材质量。

参考文献

- [1] 韦华梅,王剑波. 中药槐角的研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2010, 6(3): 115-119.
- [2] 边清泉,杨振萍,刘家琴,等. HPLC 同时测定槐角丸中生药槐角的 4 种有效成分 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(19): 1513-1515.
- [3] 王志玲,刘景东,勾凌燕,等. HPLC 同时测定槐角中的芦丁和槐角苷 [J]. 华西药学杂志, 2010, 25(1): 72-74.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [5] 丛维涛,崔健,陈新,等. 不同产地槐角的质量分析 [J]. 吉林中医药, 2005, 25(6): 51.
- [6] 刘元昀,王志玲,勾凌燕,等. 不同时间采摘的槐角中芦丁和槐角苷的含量测定 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(35): 21631-21633.
- [7] 胡云飞,裴月梅,吴虹,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术研究不同产地牡丹皮药材化学成分的差异 [J]. 中草药, 2016, 47(17): 2984-2992.
- [8] 李伟,刘亚丽,宋永贵,等. UPLC-Q-TOF-MS^E 结合 OPLS-DA 模式快速鉴定南、北五味子化学成分与识别差异标志物 [J]. 中草药, 2015, 46(15): 2212-2218.
- [9] 周永峰,李瑞煜,张定堃,等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 的五味子不同部位化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1087-1092.
- [10] 秦伟瀚,刘飞,刘翔,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 法分析江西虫草化学成分 [J]. 中药材, 2017, 40(6): 1339-1344.
- [11] 王凤芹,蒋可志,李祖光,等. 银杏叶提取物中染料木素的分离纯化及结构鉴定 [J]. 色谱, 2007, 25(4): 509-513.
- [12] 李慧,万乐人,王弘,等. 异黄酮同分异构体的 ESI-IT-TOF 质谱特征及区别 [J]. 高等学校化学学报, 2007, 28(12): 2284-2289.
- [13] 梁静,徐风,尚明英,等. 赤芍化学成分没食子酸丙酯在大鼠体内的代谢研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(22): 3970-3976.
- [14] 孙立丽,王萌,任晓亮,等. 化学模式识别方法在中药质量控制研究中的应用进展 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4339-4345.