

基于 UHPLC-Q-Orbitrap-MS 鉴定黄芩的化学成分及血中移行成分

陈 馨, 张欣然, 牟立婷, 任恒鑫, 张 宇, 王丽红, 孙长海*

佳木斯大学药学院, 黑龙江 佳木斯 154007

摘要: 目的 对黄芩 *Scutellaria baicalensis* 中化学成分及其血中移行成分进行定性分析, 为黄芩药效物质基础研究提供参考。方法 采用 U3000-Q Exactive 超高效液相色谱-液质联用仪, 获得黄芩水煎液、混合对照品溶液、空白血清和含药血清的液相色谱-质谱信息, 通过比对 OTCML (Thermo Science)、mzCloud、ChemSpider、Massbank 数据库及部分对照品的提取离子流色谱图、质谱碎片裂解信息, 鉴定出目标化合物。结果 黄芩水煎液中共鉴定出 125 个化合物, 包括黄酮类、苯丙酸苷类、环烯醚萜苷类、三萜类、生物碱等; 对黄芩血中移行成分进行分析, 共鉴定出 25 个原型成分, 包括黄酮类、二萜类、环烯醚萜类和生物碱类; 其中 19 个化合物为首次报道的黄芩血中移行成分, 包括半乳糖醛酸、 α,α -海藻糖、黄芩前列素 B、白杨素 6-C-葡萄糖苷 8-C-阿拉伯糖苷、ajugapitin、白杨素 6-C- α -L-阿拉伯吡喃糖苷 8-C-葡萄糖苷、圣草酚-7-葡萄糖苷、白杨素 6-C-葡萄糖苷 8-C- α -L-阿拉伯吡喃糖苷、白杨素 6-C-阿拉伯糖苷 8-C-葡萄糖苷、6-O-甲基黄芩苷、二氢黄芩苷、芹菜素 7-O-葡萄糖醛酸、蓟黄素、5,7,2,-三羟基黄酮、5,8,2'-三羟基-6,7-二甲氧基黄酮、黄芩新素 I、柳穿鱼黄素、二氢梓醇、香叶木素。结论 对黄芩水煎液中的化学成分进行了定性分析的基础上, 明确了大鼠 ig 黄芩水煎液后血中移行成分, 表明黄芩中具有潜在药理活性的成分主要为黄酮类化合物, 为进一步阐明黄芩的药理作用和机制奠定基础。

关键词: 黄芩; 移行成分; UHPLC-Q-Orbitrap-MS; 黄芩素; 汉黄芩素; 黄芩苷; 千层纸素 A

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)09-2722-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.09.004

Characterization of chemical constituents and identification of absorbed prototypes components in rat serum of *Scutellaria baicalensis* by UHPLC-Q-Orbitrap-MS

CHEN Xin, ZHANG Xin-ran, MU Li-ting, REN Heng-xin, ZHANG Yu, WANG Li-hong, SUN Chang-hai

College of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China

Abstract: Objective The chemical constituents in *Scutellaria baicalensis* and its absorbed prototypes components were qualitatively analyzed, which provided a reference for the basic research of the pharmacodynamics of *Scutellaria baicalensis*. **Methods** U3000-Q Exactive LC-MS/MS was used to obtain the liquid chromatography-mass spectrometry information of *Scutellaria baicalensis* aqueous decoction, mixed standard solution, blank serum and drug-containing serum, and then the target compound was identified by comparing the extracted ion chromatogram and mass spectrometry fragmentation information of OTCML (Thermo Science), mzCloud, ChemSpider, Massbank databases and some standards. **Results** 125 compounds were identified from the *Scutellaria baicalensis* aqueous decoction, including flavonoids, phenylpropionic glycosides, iridoid glycosides, triterpenoids, alkaloids, etc, among which 25 compounds were reported for the first time. In addition, the same analysis method was used to analyze the absorption components in the serum of *Scutellaria baicalensis*. 25 prototype compounds were identified, including flavonoids, diterpenoids, iridoid glycosides, terpenoids and alkaloids, among which 19 compounds were reported for the first time, including galacturonic acid, α,α -trehalose, scutellaprostin B, chrysin 6-C-glucoside 8-C-arabinoside, ajugapitin, chrysin 6-C- α -L-arabinopyranoside-8-C-glucoside, eriodictyol 7-glucuronide, chrysin 6-C-glucoside-8-C- α -L-arabinopyranoside, chrysin 6-C-arabinoside 8-C-glucoside, 6-O-methylscutellarin, dihydrobaicalin, apigenin 7-O-glucuronide, skrofulin, 5,7,2,-trihydroxyflavone, 5,8,2'-trihydroxy-6,7- dimethoxyflavone, skullcapflavone I, pectolinarigenin, dihydrocatalpol, diosmetin. **Conclusion** In this study, the chemical components in *Scutellaria baicalensis* aqueous were qualitatively analyzed, and on this basis, components with potential the transitional components in the blood of rats after ig *Scutellaria baicalensis* aqueous were identified, indicating that the chemical

收稿日期: 2022-12-01

基金项目: 佳木斯大学药学科团队 (JDXKTD-2019005)

作者简介: 陈 馨 (1995—), 硕士研究生, 研究方向为中药分析与体内代谢。E-mail: 291680693@qq.com

*通信作者: 孙长海 (1974—), 男, 副教授, 从事中药分析与体内代谢研究。E-mail: sch-jms@sohu.com

pharmacological activity in *Scutellaria baicalensis* were mainly flavonoids, which laid a foundation for further elucidating the pharmacological action and mechanism of *Scutellaria baicalensis*.

Key words: *Scutellaria baicalensis* Georgi; absorbed prototypes components; UHPLC-Q-Orbitrap-MS; baicalein; wogonin; baicalin; oroxylin A

中医药是中国独特的宝藏,几千年来,中医药在中国及其他国家临床防治中发挥重要作用^[1-2]。然而,因其成分的复杂性,许多中药的化学成分和血中移行成分尚不完全清楚。因此,迫切需要进行系统研究,探明其药效物质基础。

黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 最早记载于东汉的《神农本草经》,列为上品,书中指出黄芩属唇形科,常以根部入药,性寒,味苦^[3]。黄芩也常用于蒙药,被记录在蒙医、藏医文献中,如《四部医典》《晶珠本草》《蒙药正典》等。根据《中国药典》2020 年版统计,目前在中药复方中有 482 种含有黄芩,可用于治疗 150 多种疾病^[4]。黄芩的化学成分主要为黄酮类^[5]、多糖类、挥发油等。具有抗菌、抗炎、抗过敏、抗氧化等药理作用^[6-9]。研究表明,黄芩苷是黄芩中代表性的生物活性成分,其药理活性表明在抑制炎症方面具有重要作用^[10]。中药血清药物化学结合 UHPLC-MS/MS 是筛选中药有效成分的有效手段,而黄芩的血中移行成分却鲜有报道。以往的研究主要集中在黄芩的化学成分研究^[11-13]。本研究采用电喷雾四极杆轨道阱质谱质谱法 (ultra high performance liquid chromatography-electro spray ionization-Q-Orbitrap-mass spectrometric, UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS) 对 ig 黄芩后大鼠体内血中移行成分进行分析,为后续代谢组学、药动学和网络药理学研究提供依据。也为进一步完善黄芩的质量控制,阐明黄芩的药理作用及机制提供有效信息。

1 材料

1.1 仪器与设备

U3000-Q Exactive 超高效液质联用仪、可调式移液枪 (美国 Thermo 有限公司); TGL-16 G 型台式离心机 (上海安亭科学仪器厂); XH-D 型旋涡混合器 (无锡莱浦仪器设备有限公司); 立式冰柜 (-20 °C, 广州广城设备厂); KQ-250 型医用数控超声波清洗机 (昆山超声仪器有限公司); Sartorius BP211D 型电子分析天平 (德国赛多利股份公司); D10-12 型氮吹仪 (杭州奥盛仪器有限公司)。

1.2 药物及试剂

黄芩 (批号 22072601) 饮片购自于佳木斯大仁

堂药业有限公司,经佳木斯大学生药学教研室王红教授鉴定为唇形科植物黄芩 *S. baicalensis* Georgi 的干燥根。且 U3000-Q Exactive 超高效液质联用仪测定,黄芩苷质量分数 > 8.0%。对照品黄芩素、汉黄芩素、黄芩苷、千层纸素 A、去甲汉黄芩素、香叶木素、汉黄芩苷,质量分数均大于 98%,购自大连美仑生物技术有限公司;乙腈 (质量分数大于 99.99%,色谱级) 购自德国 Merck 科技公司;甲酸 (质量分数大于 99.8%,色谱级) 购自美国 ROE 科技公司;和泰 S15 系统超纯水机购自上海和泰仪器有限公司。

1.3 动物

12 只雄性 SD 大鼠,体质量 180~220 g,购自辽宁长生生物技术有限公司,许可证号 SYXK (黑) 2015-014。饲养于温度 22~24 °C,相对湿度 50%~60% 的环境下,并保持在光/暗循环 12 h/12 h,自由获取标准饮食和水。适应性喂养 2 周,实验前禁食 12 h,自由饮水。动物实验经佳木斯大学医学院动物保护与利用委员会批准,批准号 JMSU-210。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 黄芩水煎液的制备 将黄芩饮片粉碎成均匀的粉末干燥后,过 60 目筛。精密称取 10 g 干燥粉末,放入 500 mL 圆底烧瓶中。向该烧瓶中加入 200 mL 纯水。冷凝回流 2 次,每次 2 h,将溶液浓缩至 10 mL。在室温下用 40 Hz 超声提取 45 min。将 1 mL 提取物在 10 000 r/min 下离心 15 min,用 0.22 μm 的滤膜滤过,得到黄芩水煎液,用于 UHPLC-ESI-QE-MS 分析。

2.1.2 体内样品制备 根据体质量,将大鼠随机分为 2 组 ($n=6$),黄芩组 ig 6 mL/kg 的黄芩水煎液,对照组 ig 等体积的蒸馏水。给药后 30 min,眼眶静脉丛采血,于 1.5 mL 离心管中。静置 30 min,3500 r/min 离心 15 min (4 °C)。取上清液转移到离心管中,于 -80 °C 下保存备用。

将同组大鼠血清等体积混合。取 400 μL 甲醇添加到 100 μL 混合样品中,涡旋 5 s,3500 r/min 离心 15 min (4 °C)。将上清液转移到离心管中,并在氮吹仪中在 40 °C 下离心 120 min。将浓缩样品加入

100 μL 甲醇。将溶液涡旋混合 1 min, 3500 r/min 离心 15 min (4 $^{\circ}\text{C}$)。取 10 μL 上清液于 UHPLC-ESI-QE-MS 系统进样分析。

2.2 色谱和质谱条件

2.2.1 色谱条件 Thermo Hypersil Gold LC 柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.9 μm), 流动相为 0.1% 甲酸水 (A)-0.1% 甲酸的乙腈溶液 (B), 梯度洗脱: 0~2 min, 5% B; 2~22 min, 5%~95% B; 22~40 min, 95% B; 40~45 min, 95%~5% B。平衡时间为 10 min。体积流量为 0.3 mL/min, 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$, 柱体积为 10 μL 。

2.2.2 质谱条件 采用正、负离子模式分析样品。喷雾电压 3.5 kV (+)/3.2 kV (-); 鞘气压力 241 kPa; 辅助气体压力 69 kPa; 毛细管温度 320 $^{\circ}\text{C}$; 扫描模式: 一级 (分辨率 70 000) 和二级 (分辨率 17 500); 扫描范围 m/z 100~1500。将归一化碰撞能量设定为 30 eV, 阶梯碰撞能量为 20、40、60 eV。选择全扫描质谱中相对丰度最高的前 10 个离子获得每个周期的 MS/MS 谱。使用 Xcalibur™ 2.2 软件进行 (Thermo Fisher) 数据处理。

3 结果

3.1 黄芩水煎液化学成分的鉴定

高分辨率质谱数据由 UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS 获得。UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS 分析黄芩水煎液正、负离子模式的基峰色谱图如图 1 所示。根据结构信息, 从而可能确定与官能团和取代基有关的据 UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS、OTCML (Thermo

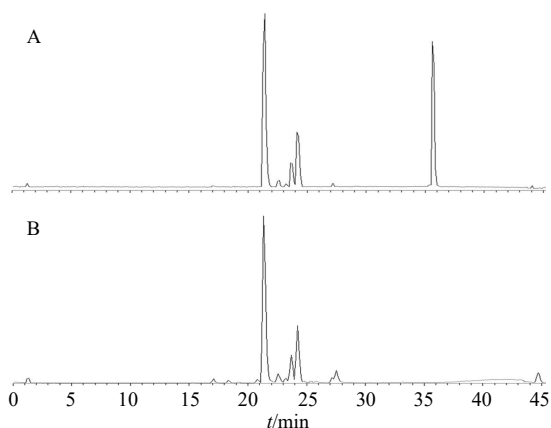


图 1 黄芩水煎液负离子 (A) 和正离子 (B) 模式的 UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS 的基峰色谱图

Fig. 1 Base peak chromatograms of *S. baicalensis* Georgi aqueous decoction in negative (A) and positive (B) modes by UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS

Science)、mzCloud、ChemSpider、Massbank 数据库和文献, 初步推导出分子结构。此外, 通过 MS² 碎片离子进一步确定其中性丢失。初步鉴定 125 个化合物, 包括 6 个苯丙酸类化合物、85 个黄酮类化合物、4 个二萜类化合物、2 个三萜类化合物、1 个甾体类化合物、3 个环烯醚萜类化合物、1 个四环类化合物和 1 个生物碱类化合物, 以及 21 个其他化合物, 见表 1。

3.2 黄芩血中移行成分的鉴定

由于血中移行成分可能是药效物质基础, 因此, 有必要建立一种可靠的分析方法检测黄芩血中移行成分。采用正、负离子模式分析样品, 黄芩中的大部分成分具有较好的 MS 响应。图 2-A~D 显示了对照血清、含药血清的提取离子流色谱图。进一步将对照血清和黄芩色谱图进行比较。大鼠血清中血中移行成分和黄芩提取物样品中均存在 25 个色谱峰, 见表 1。通过比较其保留时间和 MS 数据, 将这些化合物鉴定为黄芩的血中移行成分。其中 19 个化合物为首次报道 (化合物 1~9、12~14、17、19~24)。

3.2.1 黄酮类化合物 黄酮类化合物具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗过敏、抗焦虑等作用^[14-15], 其母核结构见图 3。在黄芩中共检测出了 21 种黄酮类化合物, 具体结构取代基见表 2, 其中包括 8 个黄酮 O-苷、4 个黄酮 C-苷和 9 个游离黄酮。

(1) 黄酮 O-苷类化合物: 共鉴定了 8 个黄酮 O-苷化合物。黄酮化合物中出现了特征性的 OGluA 中性丢失。黄芩苷的二级质谱图如图 4 所示。根据丢失的离子碎片 H₂O、CO、CO₂ 和 CH₃ 进行鉴定。黄芩苷在 [M-H]⁻ 处显示出 445.077 9 的碎片离子。碎片离子 m/z 269.045 7 对应中性丢失 OGluA, m/z 241.051 0 和 225.055 2 碎片离子分别对应 [M-H-OGluA-CO]⁻ 和 [M-H-OGluA-CO₂]⁻。碎片离子 m/z 225.055 2 丢失 CO 碎片产生 m/z 197.059 6 的碎片离子, 因此, 化合物 15 被初步鉴定为黄芩苷^[19-20], 并通过与对照品比对得到进一步的确定。利用这些相似的碎裂模式, 初步表征了其他 7 种黄酮 O-苷类化合物 (3、7、12~14、19、25)。

(2) 黄酮 C-苷类化合物: 化合物 4、6、8 和 9 显示了相同的分子式 C₂₆H₂₈O₁₃, [M-H]⁻ m/z 547.146 7。被鉴定为 chrysin di-C-glycosides 的同分异构。观察到这 4 种化合物的 MS/MS 谱有相同离子碎片 [M-H-90]⁻ m/z 457.114 6, [M-H-180]⁻

表 1 正、负离子模式下黄芩的化学成分及血中移行成分

Table 1 Chemical constituents in *S. baicalensis* and its absorbed prototypes components in rat serum in positive and negative

序号	t _R /min	分子式	离子模式	m/z		误差 (×10 ⁻⁶)	主要碎片离子(m/z)	化合物名称
				实测值	理论值			
1*	1.10	C ₆ H ₉ O ₇	[M-H] ⁻	193.034 1	193.035 4	-6.195	131.033 3, 113.022 9, 72.991 4	半乳糖醛酸
2*	1.10	C ₁₂ H ₂₁ O ₁₁	[M-H] ⁻	341.108 3	341.108 9	1.831	323.295 4, 119.033 5, 85.022 8	α,α-海藻糖
3*	10.72	C ₂₅ H ₁₉ O ₉	[M-H] ⁻	463.090 0	463.088 2	3.889	287.056 1, 161.023 4, 125.023 0	黄芩前列素 B
4*	11.05	C ₂₆ H ₂₇ O ₁₃	[M-H] ⁻	547.146 7	547.145 7	1.857	457.114 6, 367.082 3, 337.072 1	白杨素 6-C-葡萄糖苷 8-C-阿拉伯糖苷
5*	11.16	C ₂₉ H ₄₁ O ₉	[M-H] ⁻	549.151 6	549.149 5	3.628	489.134 6, 459.120 3	ajugapitin
6*	11.42	C ₂₆ H ₂₇ O ₁₃	[M-H] ⁻	547.146 7	547.145 7	0.599	457.114 6, 367.082 3, 337.072 1	白杨素 6-C-α-L-阿拉伯吡喃糖苷 8-C-葡萄糖苷
7*	11.27	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂	[M-H] ⁻	463.090 0	463.088 2	3.889	287.056 1, 161.023 4, 125.023 0	圣草酚-7-葡萄糖苷
8*	11.75	C ₂₆ H ₂₇ O ₁₃	[M-H] ⁻	547.146 4	547.145 7	1.290	457.114 1, 367.082 2, 337.072 0	白杨素 6-C-葡萄糖苷 8-C-α-L-阿拉伯吡喃糖苷
9*	12.00	C ₂₆ H ₂₇ O ₁₃	[M-H] ⁻	547.146 4	547.145 7	1.290	457.114 1, 367.082 2, 337.072 0	白杨素 6-C-阿拉伯糖苷 8-C-葡萄糖苷
10*	14.15	C ₁₅ H ₉ O ₅	[M-H] ⁻	269.045 6	269.045 6	0.496	251.034 6, 241.050 3, 197.060 4	黄芩素
11*	15.60	C ₁₆ H ₁₁ O ₅	[M-H] ⁻	283.061 2	283.061 2	0.294	268.037 8	汉黄芩素
12*	15.92	C ₂₂ H ₁₉ O ₁₂	[M-H] ⁻	475.088 7	475.088 2	1.075	299.056 2, 284.032 8	6-O-甲基黄芩苷
13*	16.14	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁	[M-H] ⁻	447.093 6	447.093 3	0.840	271.061 4, 243.066 1	二氢黄芩苷
14*	16.14	C ₂₁ H ₁₇ O ₁₁	[M-H] ⁻	445.077 5	445.077 6	-0.190	269.045 7, 241.050 1, 225.055 6	芹菜素 7-O-葡萄糖醛酸
15*	16.14	C ₂₁ H ₁₇ O ₁₁	[M-H] ⁻	445.077 8	445.077 6	0.484	269.045 7, 241.051 0, 225.055 2	黄芩苷
16*	16.28	C ₁₆ H ₁₁ O ₅	[M-H] ⁻	283.061 4	283.061 2	0.718	268.038 0, 163.002 1	千层纸素 A
17*	16.61	C ₁₇ H ₁₃ O ₆	[M-H] ⁻	313.072 0	313.071 8	0.826	298.048 3, 283.205 0, 211.039 6	蓟黄素
18*	17.19	C ₁₅ H ₉ O ₅	[M-H] ⁻	269.045 7	269.045 6	0.496	251.034 6, 241.050 3, 223.039 4	去甲汉黄芩素
19*	17.19	C ₁₅ H ₉ O ₅	[M-H] ⁻	349.002 8	349.004 9	-5.970	269.045 7, 251.033 6, 223.039 8	5,7,2-三羟基黄酮
20*	17.84	C ₁₇ H ₁₃ O ₇	[M-H] ⁻	329.066 8	329.066 7	0.377	314.043 5, 299.020 3	5,8,2'-三羟基-6,7-二甲氧基黄酮
21*	19.19	C ₁₇ H ₁₃ O ₆	[M-H] ⁻	313.071 6	313.071 8	-0.452	269.082 0, 165.017 9	黄芩新素 I
22*	21.04	C ₁₇ H ₁₃ O ₆	[M-H] ⁻	313.072 0	313.071 8	0.826	298.048 3, 283.025 0, 211.039 6	柳穿鱼黄素
23*	1.05	C ₁₅ H ₂₃ O ₁₀	[M+H] ⁺	365.104 7	365.101 9	7.519	203.052 1, 185.041 7	二氢梓醇
24*	15.91	C ₁₆ H ₁₃ O ₆	[M+H] ⁺	301.069 7	301.070 6	-2.905	286.046 4, 202.010 2, 183.999 8	香叶木素
25*	16.26	C ₂₂ H ₂₁ O ₁₁	[M+H] ⁺	461.106 8	461.107 8	-2.099	285.075 2, 270.051 7	汉黄芩苷
26	1.21	C ₃ H ₁₀ N ₂ O ₃	[M-H] ⁻	146.069 3	146.066 6	-1.848	102.947 0, 87.923 6, 61.986 6	谷氨酰胺
27	1.31	C ₃ H ₇ NO ₃	[M-H] ⁻	129.042 9	129.042 6	-0.023	113.924 6	焦谷氨酸
28	1.32	C ₃ H ₉ NO ₂	[M-H] ⁻	115.063 8	115.130 1	-0.999	99.924 1, 97.929 6	脯氨酸
29	1.36	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	[M-H] ⁻	267.097 0	267.024 4	0.266	194.080 5, 175.112 1, 59.011 9	腺苷
30	1.41	C ₉ H ₁₁ NO ₃	[M-H] ⁻	181.074 2	181.108 9	0.1801	152.916 2, 92.918 3	酪氨酸
31	1.60	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M-H] ⁻	131.095 0	130.098 2	-0.008	117.002 8, 102.987 0, 74.992 0	异亮氨酸
32	2.93	C ₁₁ H ₉ NO ₂	[M-H] ⁻	187.063 6	187.049 1	-0.775	159.877 2, 141.866 8, 122.892 7	3-吡啶丙烯酸
33	2.97	C ₉ H ₇ NO	[M-H] ⁻	145.053 0	145.051 1	-1.337	61.986 6	4-吡啶甲醛
34	3.66	C ₁₁ H ₉ NO ₂	[M-H] ⁻	187.063 6	187.063 3	-1.496	159.877 1, 141.866 6	反式-3-吡啶丙烯酸
35	8.18	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	302.042 7	302.043 0	0.696	149.023 2, 125.022 9, 57.032 8	槲皮素
36	10.65	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	302.079 1	302.079 2	4.635	161.023 0, 139.038 5, 124.015 0	7-甲氧基-5,3,4-三羟基黄酮
37	10.69	C ₁₄ H ₁₅ N	[M-H] ⁻	197.120 7	197.120 8	7.610	162.837 7, 61.986 6	二甲胺
38	11.82	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	[M-H] ⁻	564.147 9	564.156 3	0.148	279.232 7, 78.957 3	夏佛塔苷
39	13.29	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	286.047 7	286.047 8	3.496	239.034 3, 137.022 9, 117.033 0	木犀草素
40	13.68	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	492.126 9	492.126 7	-3.048	329.066 3, 314.043 1, 299.019 2	2-羟基-3-(5-羟基-7,8-二甲氧基-4-氧代-4H-色烯-2-基)苯基 β-D-吡喃葡萄糖苷
41	14.00	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	[M-H] ⁻	462.080 1	462.053 1	-0.584	294.032 4, 109.999 3	灯盏乙素
42	14.11	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	624.205 6	623.197 5	0.744	161.023 0, 133.027 9	2-(3,4-二羟基苯基)乙基 3-O-(6-脱氧-β-L-吡喃甘露糖基)-6-O-[(2E)-3-(3,4-二羟基苯基)-2-丙烯酸基]-β-D-吡喃葡萄糖苷

续表 1

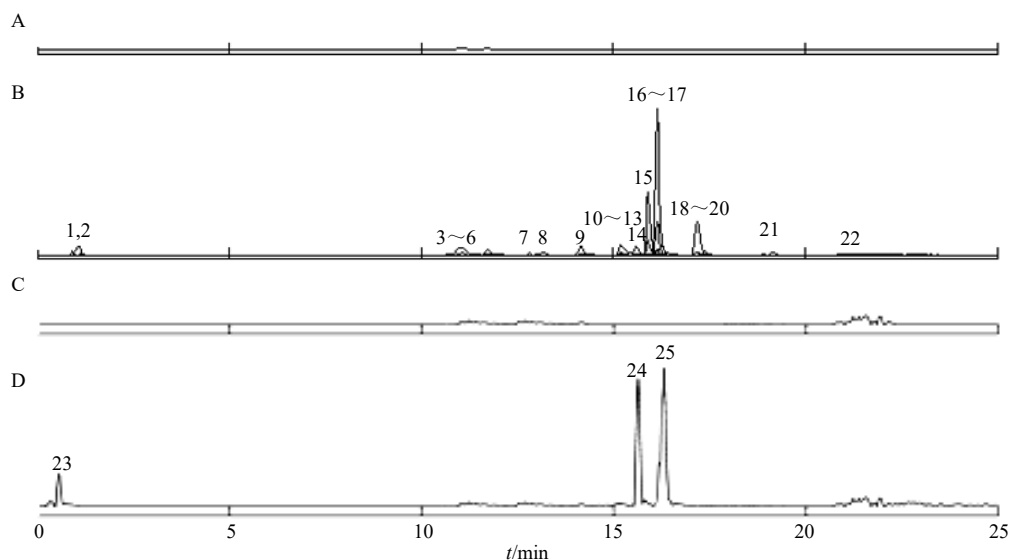
序号	<i>t_R</i> /min	分子式	离子模式	<i>m/z</i>		误差 ($\times 10^{-6}$)	主要碎片离子(<i>m/z</i>)	化合物名称
				实测值	理论值			
43	14.59	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	288.063 5	288.063 3	-0.625	174.954 8, 146.959 7	2,4,6-三羟基-2-(4-羟基苄基)-1-苯并呋喃-3(2 <i>H</i>)酮
44	17.45	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	[M-H] ⁻	330.074 0	330.058 4	-0.472	314.043 1, 299.019 4, 143.048 8	黄曲霉毒素 G2
45	17.88	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	286.047 9	286.047 8	-0.420	201.054 5, 125.022 9	山柰酚
46	17.98	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	270.053 0	270.554 3	1.530	243.065 8, 139.002 3, 124.015 1	5,7,8-三羟基黄酮
47	18.00	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	432.106 3	432.045 4	-0.141	269.045 3	芹黄素葡萄糖苷
48	18.15	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	416.111 1	461.046 2	0.097	325.072 0, 295.060 9, 267.066 1	葛根素
49	18.25	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	[M-H] ⁻	338.100 3	338.154 2	1.594	183.010 9	4-甲基伞形基- α -D-吡喃葡萄糖苷
50	18.33	C ₁₀ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	176.047 6	176.013 1	-1.958	146.959 7, 118.964 7	4-甲基伞形酮
51	18.56	C ₁₃ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	230.058 1	230.057 4	-2.869	200.85 7, 99.924 1	甲氧呋豆素
52	19.58	C ₁₅ H ₈ O ₅	[M-H] ⁻	268.037 5	268.037 6	0.298	239.034 4, 163.002 3, 109.999 2	香豆素
53	20.10	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	446.121 5	446.121 4	-1.345	274.061 0, 241.065 8, 169.054 9	甘氨酸
54	20.14	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	[M-H] ⁻	286.084 2	286.146 4	0.217	243.030 7, 178.991 7	樱花素
55	20.23	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	254.057 3	254.046 1	-4.405	211.075 6, 169.064 2	白杨素
56	20.82	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	284.068 5	284.046 4	-7.763	239.035 4, 211.039 3, 119.048 5	黄豆黄素
57	22.14	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	270.052 9	270.052 8	-4.444	243.065 8, 225.054 9, 124.015 1	芹菜素
58	23.09	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	[M-H] ⁻	270.089 3	270.086 1	-1.166	173.059 6, 157.064 4	豆蔻素
59	23.28	C ₁₄ H ₁₄ N ₂ O ₃ S ₂	[M-H] ⁻	322.045 6	322.046 2	1.832	240.992 3, 201.900 0, 146.959 9	4-(乙酰氨基)-3-苄基-2-硫代-2,3-二氢-1,3-噻唑-5-羧酸乙酯
60	23.61	C ₉ H ₁₉ NO	[M-H] ⁻	157.147 0	157.046 4	-6.403	103.918 6, 96.958 4	2,2,6,6-四甲基-1-哌啶醇
61	24.18	C ₁₆ H ₁₄ O ₇	[M-H] ⁻	318.074 0	318.046 1	-8.779	112.98 4	李属素
62	26.31	C ₁₄ H ₂₁ NO ₄	[M-H] ⁻	267.147 2	267.256 4	0.408	204.101 9, 162.054 9	阿替洛尔酸
63	27.18	C ₁₉ H ₁₈ O ₈	[M-H] ⁻	374.100 3	374.046 1	-1.448	343.045 6, 300.027 5, 151.973 6	5,2'-二羟基-6,7,8,6'-四甲氧基黄酮
64	28.19	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₂ S ₂	[M-H] ⁻	314.113 1	314.146 2	1.053	298.040 8, 238.024 6, 173.059 7	<i>N</i> -{[(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-乙基-1-氮杂双环[2.2.2]辛-2-基]甲基}-2-噻吩磺酰胺
65	30.49	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	[M-H] ⁻	194.094 6	194.064 3	-1.562	160.840 8	4-乙氧基乙基苯甲酸酯
66	31.30	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	270.052 8	270.046 1	-2.485	241.065 8, 195.010 0, 123.007 1	木黄酮
67	33.40	C ₁₆ H ₂₄ O ₃	[M-H] ⁻	264.173 1	264.167 4	-2.150	180.911 1, 152.893 6	3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲酸甲酯
68	33.60	C ₁₈ H ₂₀ N ₄	[M-H] ⁻	292.167 8	292.046 4	-4.157	96.958 4	2-(3 <i>S</i>)-1-(2-甲基苄基)-3-吡咯烷基]-1 <i>H</i> -咪唑并[4,5- <i>b</i>]吡啶
69	33.61	C ₂₄ H ₃₀ O ₆	[M-H] ⁻	414.205 2	414.204 6	-1.376	330.014 5, 315.014 5	双(4-乙基亚苄基)山梨醇
70	33.97	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	[M-H] ⁻	317.293 0	317.294 0	3.089	148.859 3, 112.984 0	2-氨基-1,3,4-十八烷三醇
71	34.23	C ₁₄ H ₃₁ N	[M-H] ⁻	213.246 2	213.279 2	1.549	115.919 0, 99.924 1	1-十四胺
72	35.32	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	[M-H] ⁻	234.162 2	234.179 5	0.737	245.560 1, 207.517 0, 103.918 5	3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛
73	35.81	C ₁₅ H ₂₂ O	[M-H] ⁻	218.167 4	218.179 6	5.573	159.858 9, 127.868 9	香柏酮
74	36.47	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	[M-H] ⁻	278.152 2	278.187 6	1.274	233.221 1, 196.795 7	邻苯二甲酸二异丁酯
75	36.77	C ₉ H ₆ O ₃	[M-H] ⁻	162.032 0	162.064 7	2.021	92.993 8, 77.211 7, 61.986 4	7-羟基香豆素
76	36.81	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	[M-H] ⁻	278.152 1	278.198 7	1.676	233.221 0, 115.919 0, 99.924 1	邻苯二甲酸二丁酯
77	36.82	C ₁₇ H ₁₄ O ₈	[M-H] ⁻	345.442 5	345.449 7	4.016	268.916 3, 225.918 5	粘毛黄芩素III
78	37.84	C ₁₅ H ₂₂ O	[M-H] ⁻	218.167 2	218.179 6	5.702	159.858 5, 65.595 2	3,5-二叔丁基苯甲醛
79	38.24	C ₁₂ H ₂₆ O ₄ S	[M-H] ⁻	266.155 3	266.176 1	7.822	204.101 9, 194.080 5, 175.112 1	十二烷基硫酸盐
80	38.88	C ₁₉ H ₄₁ N	[M-H] ⁻	283.324 1	283.349 6	9.017	197.853 7, 115.918 9	西曲铵
81	40.37	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	[M-H] ⁻	178.063 3	178.076 1	0.721	152.916 3, 108.863 6	4-甲氧基肉桂酸
82	40.56	C ₁₄ H ₃₀ O ₄ S	[M-H] ⁻	294.186 6	294.186 5	-0.442	158.977 1, 130.981 9, 102.987 0	硫酸肉豆蔻酯
83	40.57	C ₁₈ H ₃₀ O ₃ S	[M-H] ⁻	326.191 5	326.191 4	-4.292	197.026 6, 193.011 0, 163.111 4	4-十二烷基苯磺酸
84	40.60	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	[M-H] ⁻	354.277 3	354.276 1	-3.303	177.090 8, 163.111 5, 96.958 4	1-亚油酰甘油

续表 1

序号	t _R /min	分子式	离子模式	m/z		误差 (×10 ⁻⁶)	主要碎片离子(m/z)	化合物名称
				实测值	理论值			
85	40.63	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	[M-H] ⁻	340.240 1	340.279 2	1.150	147.079 8	2,2'-亚甲基双(4-甲基-6-叔丁基苯酚)
86	40.65	C ₂₀ H ₃₀ N ₂ O ₄	[M-H] ⁻	362.222 3	362.175 4	-1.295	344.173 4, 158.977 1, 130.982 0	N-{4-[(2R,3R)-3-羟甲基-4-异丁基-5-氧代-2-吗啉基]苯基}-3-甲基丁酰胺
87	40.8	C ₂₂ H ₄₃ NO	[M-H] ⁻	337.334 9	337.334 0	-2.638	269.045 4, 241.050 7	芥酸酰胺
88	40.83	C ₁₆ H ₃₃ NO	[M-H] ⁻	255.256 5	255.275 4	0.740	219.844 5, 211.075 6	十六烷酰胺
89	40.93	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	[M-H] ⁻	254.224 4	254.279 6	2.171	221.841 9, 143.048 7, 83.012 2	Δ2-反式十六烯酸
90	41.03	C ₁₈ H ₃₅ NO	[M-H] ⁻	281.272 1	281.264 1	-2.837	268.037 3, 163.002 1	油酸酰胺
91	41.34	C ₁₈ H ₃₇ NO	[M-H] ⁻	283.287 7	283.279 6	-0.287	268.036 9, 115.918 9	硬脂酰胺
92	41.38	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	[M-H] ⁻	256.240 0	256.251 2	4.371	164.834 7, 99.924 1, 96.958 4	棕榈酸
93	41.45	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	[M-H] ⁻	390.277 1	390.279 4	5.996	285.004 2, 269.045 0, 201.018 8	邻苯二甲酸双(2-乙基己基)酯
94	41.48	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	301.255 8	301.276 4	0.732	268.037 5, 165.989 4, 119.012 5	粘毛黄芩素I
95	41.48	C ₂₆ H ₃₆ O ₄	[M-H] ⁻	412.259 6	412.276 4	0.408	330.037 8, 315.014 5, 149.022 7	5,5'-[(6Z)-6-十四烯-1,14-二基]双(1,3-苯二酚)
96	41.53	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	[M-H] ⁻	358.308 5	358.345 1	1.022	181.065 7, 121.027 9	1-硬脂酰甘油
97	41.57	C ₁₉ H ₃₉ NO	[M-H] ⁻	297.303 3	297.374 1	2.379	183.011 0	tridemorph
98	41.88	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	[M-H] ⁻	418.308 4	418.356 0	1.139	295.060 9, 267.066 1	邻苯二甲酸癸基辛酯
99	1.21	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	[M+H] ⁺	174.119 2	175.120 0	1.358	116.071 0, 70.066 0, 60.055 6	精氨酸
100	1.30	C ₆ H ₆ O ₃	[M+H] ⁺	126.032 0	126.125 3	-0.900	109.028 8, 85.051 6	邻苯三酚
101	1.76	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M+H] ⁺	195.065 1	195.046 3	-0.380	153.054 6, 111.044 4, 107.049 5	阿魏酸
102	2.00	C ₇ H ₆ O ₄	[M+H] ⁺	153.018 0	153.046 4	-1.472	151.002 2, 125.022 9, 107.012 2	龙胆酸
103	2.33	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M+H] ⁺	355.102 7	355.154 0	0.961	163.038 9, 145.041 1, 117.033 4	隐绿原酸
104	3.57	C ₆ H ₈ O ₂	[M+H] ⁺	113.060 1	113.064 1	3.573	95.0496 4, 85.0647 9, 71.0498 6	山梨酸
105	6.37	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M+H] ⁺	353.087 8	353.084 3	0.272	127.038 5, 93.032 9, 85.027 7	绿原酸
106	7.40	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	[M+H] ⁺	289.071 7	289.054 6	0.280	151.038 5, 137.022 8, 83.012 1	儿茶素
107	8.46	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M+H] ⁺	595.165 9	595.168 2	0.351	258.052 8, 213.054 8, 85.029 1	山柰酚-3-O-β-吡喃葡萄糖苷-7-O-α-鼠李糖苷
108	8.63	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[M+H] ⁺	609.146 5	609.464 4	0.584	457.087 0, 300.027 3, 243.029 4	芦丁
109	8.83	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M+H] ⁺	463.088 4	463.051 3	6.346	271.024 7, 255.029 6, 135.007 1	槲皮素-3-β-D-葡萄糖苷
110	8.91	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	[M+H] ⁺	579.171 4	579.146 2	0.691	552.736 3, 433.113 2, 71.050 0	山柰苷
111	8.93	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.113 2	433.156 2	0.492	415.254 7, 287.055 2, 241.049 9	阿福豆苷
112	13.28	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	[M+H] ⁺	287.091 3	287.095 1	-0.209	161.033 9, 153.044 0, 133.049 3	野樱素
113	20.31	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₂	[M+H] ⁺	491.126 7	491.152 2	3.110	329.072 4	鸢尾素 A
114	24.18	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	[M+H] ⁺	355.117 4	355.117 4	0.605	185.059 8, 135.044 1, 129.070 0	细辛脂素
115	25.26	C ₁₅ H ₂₂ O	[M+H] ⁺	219.174 3	219.176 4	0.542	201.163 5, 163.111 7, 161.134 3	诺卡酮
116	25.67	C ₁₅ H ₂₂ O	[M+H] ⁺	219.174 3	219.176 4	0.542	201.163 8, 163.111 7, 151.111 7	花姜酮
117	26.34	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	[M+H] ⁺	267.006 4	267.043 1	1.242	252.057 2, 237.054 5, 213.091 1	芒柄花黄素
118	27.45	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	[M+H] ⁺	277.143 3	277.154 2	1.236	161.096 1, 133.101 2, 105.069 9	邻苯二甲酸-1-丁酯-2-异丁酯
119	28.03	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	[M+H] ⁺	235.169 0	235.131 1	1.048	217.158 6, 189.163 7, 175.111 8	莜术醇
120	29.34	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	[M+H] ⁺	279.231 8	279.267 1	0.382	261.221 3, 149.096 1, 121.101 2	松油酸
121	29.4	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M+H] ⁺	353.088 1	353.042 1	0.324	163.039 3	1-咖啡酰奎宁酸
122	30.01	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	[M+H] ⁺	429.124 6	429.156 2	0.586	267.066 4, 252.042 9	芒柄花苷
123	30.31	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	[M+H] ⁺	293.171 6	293.146 2	1.112	221.157 4	6-姜酚
124	33.71	C ₁₅ H ₁₆ O ₉	[M+H] ⁺	339.072 1	339.046 2	2.184	177.019 4	七叶苷
125	39.04	C ₄₃ H ₇₉ O ₁₃ P	[M+H] ⁺	833.129 2	833.125 6	0.235	285.278 8, 109.100 9, 85.101 2	1-[(羟基{[(1S,2R,3R,4S,5S,6R)-2,3,4,5,6-五羟基环己基]氧}磷酰基)氧]-3-(棕榈酰氧基)-2-丙基(4Z,7Z)-4,7-十八烷二烯酸酯

“*”表示黄芩血中移行成分

“*”represents the migration component in *S. baicalensis* blood



1~25 表示黄芩血中移行成分：10-黄芩素 11-汉黄芩素 15-黄芩苷 16-千层纸素 A 18-去甲汉黄芩素 24-香叶木素 25-汉黄芩苷

1-25 represents the migration component in *S. baicalensis* blood. 10-baicalin 11-wogonin 15-baicalin 16-oxoxylin A 18-norwogonin 24-diosmetin 25-wogonoside

图 2 空白血清负离子 (A)、含药血清负离子 (B)、空白血清正离子 (C)、含药血清正离子 (D) 模式的提取离子流色谱图 (UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS)

Fig. 2 Extracted ion chromatogram of blank serum in negative (A), serum of *S. baicalensis* Georgi after intragastric administration in negative (B) and the base peak chromatograms of blank serum in positive (C), serum of *S. baicalensis* Georgi after intragastric administration in positive (D) mode by UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS

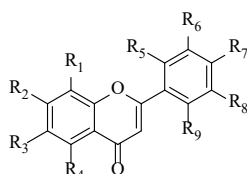


图 3 黄酮类化合物母核结构

Fig. 3 Parent core structure of flavonoids

m/z 367.082 3 和 $[M-H-210]^-$ m/z 337.072 1。因此, 化合物 4、6、9 和 10 分别被鉴定为已知化合物白杨素 6-*C*-葡萄糖苷 8-*C*-阿拉伯糖苷 (图 5-A)、白杨素 6-*C*- α -*L*-阿拉伯吡喃糖苷 8-*C*-葡萄糖苷、白杨素 6-*C*-葡萄糖苷 8-*C*- α -*L*-阿拉伯吡喃糖苷和白杨素 6-*C*-阿拉伯糖苷 8-*C*-葡萄糖苷^[16-18]。

(3) 黄酮苷元类化合物: 共有 9 种化合物被鉴定为黄酮苷元, 这些化合物的特征离子碎片分别是 $[M-H-CO_2]^-$ 、 $[M-H-CO]^-$ 、 $[M-H-CHO]^-$ 和 $[M-H-CH_3]^-$, 在 MS^2 中性丢失 C_3O_2 ^[21-22]。化合物 10 ($t_R=14.15$ min) 和 18 ($t_R=17.19$ min) 均在 $[M-H]^-$ 处显示出 m/z 269 的碎片离子。碎片离子 m/z 241.050 3、225.050 6、197.060 4 分别对应 $[M-H-$

$CO]^-$ 、 $[M-H-CHO]^-$ 、 $[M-H-C_3O_2]^-$ 。此外, 化合物 10 与对照品一致。因此, 化合物 10 鉴定为黄芩素 (图 5-B)。其异构体化合物 18 被鉴定为去甲汉黄芩素^[23], 与对照品一致。化合物 11 ($t_R=15.6$ min) 和 16 ($t_R=16.28$ min) 均在 $[M-H]^-$ 处显示出 m/z 283.061 4 的碎片离子。特征碎片 m/z 268.038 0 表明存在 $-CH_3$ 丢失。化合物 11 和 16 被认为是汉黄芩素和千层纸素 A^[27], 并通过与对照品比对得到进一步的确认。化合物 17 ($t_R=16.61$ min)、21 ($t_R=19.19$ min) 和 22 ($t_R=21.04$ min) 均在 $[M-H]^-$ 处显示出碎片离子 m/z 313.071 8。离子碎片 m/z 298.048 3、269.082 0、283.025 0 分别对应于 $[M-H-CH_3]^-$ 、 $[M-H-CO_2]^-$ 、 $[M-H-CHO]^-$ 。化合物 17、21 和 22 被鉴定为黄酮素、黄芩新素 I 和柳穿鱼黄素。化合物 20 ($t_R=17.84$ min) 在 $[M-H]^-$ 处显示出碎片离子 m/z 329.066 8。碎片离子 m/z 314.043 5、299.020 3 分别对应于 $[M-H-CH_3]^-$ 和 $[M-H-CHO]^-$ 。化合物 20 被鉴定为 5,8,2'-三羟基-6,7-二甲氧基黄酮。化合物 24 ($t_R=15.91$ min) 在 $[M+H]^+$ 处显示出碎片离子 m/z 301.069 8。碎片离子 m/z 286.046 4 对

表 2 黄芩中黄酮类化合物在大鼠血中移行成分的化学结构

Table 2 Chemical structures of flavonoids in *S. baicalensis* Georgi in rat serum

峰号	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉
3	H	OGluA	OH	OH	OH	H	OH	H	H
4	β-ara	OH	β-ara	OH	H	H	H	H	H
6	Glc	H	β-ara	OH	H	H	H	H	H
7	H	OGluA	H	OH	H	H	OH	OH	H
8	Glc	H	Glc	OH	H	H	H	H	H
9	Glc	OH	Glc	OH	H	H	H	H	H
10	OH	OH	OH	H	H	H	H	H	H
11	H	OGluA	OH	OH	H	H	H	H	H
12	H	OGluA	H	OH	H	H	OH	H	H
13	OCH ₃	OH	H	OH	H	H	H	H	H
14	H	OGluA	OCH ₃	OH	H	H	OH	H	H
15	H	OGluA	OH	OH	H	H	H	H	H
16	H	OH	OCH ₃	OH	H	H	H	H	H
17	H	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	H	OH	H	H
18	OH	OH	H	OH	H	H	H	H	H
19	H	OH	H	OH	OH	H	H	H	H
20	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	H	H	H	OH
21	OCH ₃	OCH ₃	H	OH	OH	H	H	H	H
22	H	OH	OCH ₃	OH	H	H	OCH ₃	H	H
24	H	OH	H	OH	H	OH	OCH ₃	H	H
25	OCH ₃	OGluA	OH	H	H	H	H	H	H

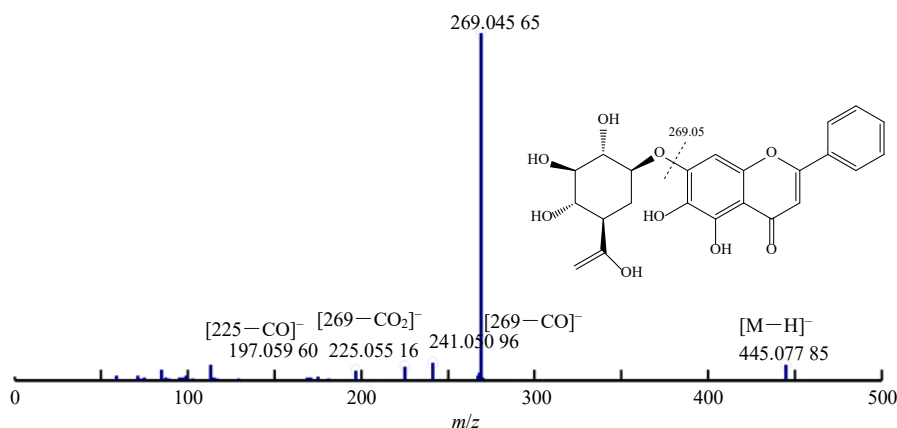


图 4 黄芩苷的二级质谱图

Fig. 4 ESI-MS/MS spectra of of baicalin

应 $[M+H-CH_3]^+$ 。化合物 **24** 鉴定为香叶木素^[25]，化合物 **25** ($t_R=16.26$ min) 在 $[M+H]^+$ 处显示出碎片离子 m/z 461.106 8，碎片离子 m/z 285.075 2 和 270.051 7 对应 $[M+H-GluA]^+$ 和 $[M+H-GluA-CH_3]^+$ ，化合物 **25** 被鉴定为汉黄芩苷。化合物 **24** 和 **25** 通过与对照品比对得到进一步的确证。

3.2.2 二萜类化合物 二萜类化合物具有多种药理活性，如镇痛、抑制真菌和抗癌活性^[26-27]。本实验中，共鉴定出 1 个二萜类化合物。化合物 **5** ($t_R=11.16$ min) 在 $[M-H]^-$ 处显示出碎片离子 m/z 549.151 6。 m/z 489.134 6 和 459.120 3 的碎片离子分别对应 $[M-H-OAc]^-$ 和 $[M-H-OAc-CH_2O]^-$ ，

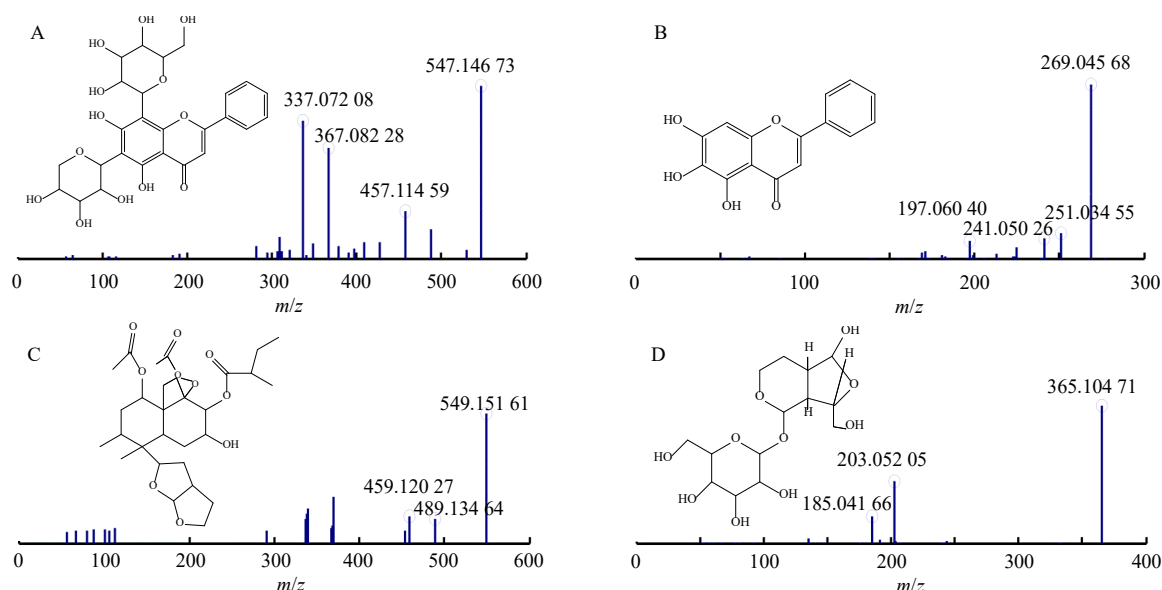


图 5 白杨素 6-C-葡萄糖苷 8-C-阿拉伯糖苷 (A)、黄芩素 (B)、ajugapitin (C) 和二氢梓醇 (D) 的二级质谱图

Fig. 5 ESI-MS/MS spectra of chrysin 6-C-glucoside 8-C-arabinoside (A), baicalein (B), ajugapitin (C), and dihydrocatalpol (D)

与二萜类化合物的质谱裂解规律一致。因此, 化合物 5 被鉴定为 ajugapitin^[28], 见图 5-C。

3.2.3 环烯醚萜苷类化合物 环烯醚萜苷类化合物具有多种药理作用, 如免疫调节、增强认知和抗氧化活性^[29-30]。本实验中, 鉴定出 1 个环烯醚萜苷类化合物。化合物 23 ($t_R=1.05$ min) 在 $[M+H]^+$ 处显示出碎片离子 m/z 365.104 7。碎片离子 m/z 203.052 1 与中性丢失 Glc 有关, 在碎片离子 m/z 185.041 7 对应 $[M+H-Glc-H_2O]^+$ 。与环烯醚萜苷的质谱裂解规律一致。因此, 化合物 23 被鉴定为二氢梓醇^[31], 见图 5-D。

3.2.4 其他化合物 化合物 1 ($t_R=1.1$ min) 在 $[M-H]^-$ 处显示出碎片离子 m/z 193.034 2。碎片离子 m/z 131.033 3 对应于 $[M-H-CO_2-H_2O]^-$ 。化合物 1 被鉴定为半乳糖醛酸^[32]。化合物 2 ($t_R=1.1$ min) 在 $[M-H]^-$ 处显示出碎片离子 m/z 341.108 3。碎片离子 m/z 323.295 4 对应 $[M-H-H_2O]^-$ 。化合物 2 被鉴定为 α,α -海藻糖^[33]。

4 讨论

4.1 样品优化

在 UHPLC-MS 分析前, 采用正交试验设计以黄芩苷的提取率为指标优化了样品制备方法, 使黄芩的有效成分获得良好的提取效率。比较了不同提取次数 (1、2、3 次)、提取时间 (1、2、3 h) 和溶剂体积 (200、250、300 mL) 的提取效率。结果表明与其他提取次数相比, 2 次提取显示了对研究化

合物的更强的提取能力。比较了不同提取时间和溶剂体积。结果表明, 250 mL 的溶剂体积和 2 h 的提取时间提取样品效率最佳。因此, 用 250 mL 水提取黄芩 2 次, 每次 2 h 为最佳的提取方法。

4.2 样品采集和制备

本研究比较了将大鼠 ig 黄芩水煎液后不同时间点从眼底静脉丛收集采集的血清色谱峰。结果表明, 血清色谱峰在大鼠 ig 黄芩水煎液后 10~20 min 最多。并且对固相萃取法、液-液萃取法和蛋白沉淀法进行比较, 结果表明, 蛋白沉淀法对分析物有较好的提取效果。

4.3 小结

本研究成功建立了黄芩化学成分的 UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS 分析方法。共鉴定出 125 个化合物, 包括苯乙醇苷、黄酮类、二萜类、甾体类、环烯醚萜苷、三萜类和生物碱。此外, 本研究采用 UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS 法对黄芩体内血中移行成分进行了检测和鉴定。共鉴定出 25 个血中移行成分。结果表明, 黄酮类化合物是大鼠血清中的主要成分。本研究结果为进一步提高黄芩的质量控制, 阐明黄芩的药理作用及作用机制提供了有价值的化学信息。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Lv X J, Sun Z, Wang P L, *et al.* Chemical profiling and quantification of Dan-Deng-Tong-Nao-Capsule using ultra high performance liquid chromatography coupled with

- high resolution hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 148: 189-204.
- [2] Lu X Y, Li C, Liu T, *et al.* Chemical analysis, pharmacological activity and process optimization of the proportion of bilobalide and ginkgolides in *Ginkgo biloba* extract [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 160: 46-54.
- [3] Lin C C, Shieh D E. The anti-inflammatory activity of *Scutellaria rivularis* extracts and its active components, baicalin, baicalein and wogonin [J]. *Am J Chin Med*, 1996, 24(1): 31-36.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 314-315.
- [5] Ji S, Li R, Wang Q, *et al.* Anti-H1N1 virus, cytotoxic and Nrf2 activation activities of chemical constituents from *Scutellaria baicalensis* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 176: 475-484.
- [6] Zhang D Y, Wu J, Ye F, *et al.* Inhibition of cancer cell proliferation and prostaglandin E2 synthesis by *Scutellaria baicalensis* [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(14): 4037-4043.
- [7] Park K I, Park H S, Kang S R, *et al.* Korean *Scutellaria baicalensis* water extract inhibits cell cycle G₁/S transition by suppressing cyclin D1 expression and matrix-metalloproteinase-2 activity in human lung cancer cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 133(2): 634-641.
- [8] Cheng O M, Li Z H, Han Y, *et al.* Baicalin improved the spatial learning ability of global ischemia/reperfusion rats by reducing hippocampal apoptosis [J]. *Brain Res*, 2012, 1470: 111-118.
- [9] Wang D D, Zeng J X, Xiang W, *et al.* Online coupling of the Ussing chamber, solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for screening and analysis of active constituents of traditional Chinese medicines [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1609: 460480.
- [10] Liu G Z, Ma J Y, Chen Y Z, *et al.* Investigation of flavonoid profile of *Scutellaria baicalensis* Georgi by high performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(23): 4809-4814.
- [11] Qiao X, Li R, Song W, *et al.* A targeted strategy to analyze untargeted mass spectral data: Rapid chemical profiling of *Scutellaria baicalensis* using ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole orbitrap mass spectrometry and key ion filtering [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1441: 83-95.
- [12] Harborne J B, Williams C A. Advances in flavonoid research since 1992 [J]. *Phytochemistry*, 2000, 55(6): 481-504.
- [13] Heim K E, *et al.* Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships [J]. *J Nutr Biochem*, 2002, 13(10): 572-584.
- [14] Wu W, Yan C Y, Li L, *et al.* Studies on the flavones using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1047(2): 213-220.
- [15] Wang D W, Li F, Zhao J P, *et al.* Fabrication of graphene/polyaniline composite paper via *in situ* anodic electropolymerization for high-performance flexible electrode [J]. *ACS Nano*, 2009, 3(7): 1745-1752.
- [16] Ferreres F, Silva B M, Andrade P B, *et al.* Approach to the study of C-glycosyl flavones by ion trap HPLC-PAD-ESI/MS/MS: Application to seeds of quince (*Cydonia oblonga*) [J]. *Phytochem Anal*, 2003, 14(6): 352-359.
- [17] Guo X, Lin S, Yang P M, *et al.* Rapid characterization and identification of the chemical constituents and rat metabolites of Deng-Zhan-Xi-Xin injection using ultra high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2018, 41(18): 3569-3582.
- [18] Xu J, Qian D W, Jiang S, *et al.* UPLC-Q-TOF/MS for analysis of the metabolites of flavone glycosides from *Scutellaria baicalensis* Georgi by human fecal flora *in vitro* [J]. *Chromatographia*, 2013, 76(15/16): 975-983.
- [19] Tsimogiannis D, Samiotaki M, Panayotou G, *et al.* Characterization of flavonoid subgroups and hydroxy substitution by HPLC-MS/MS [J]. *Molecules*, 2007, 12(3): 593-606.
- [20] Cuyckens F, Claeys M. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids [J]. *J Mass Spectrom*, 2004, 39(1): 1-15.
- [21] Tomimori T, Miyaichi Y, Imoto Y, *et al.* Studies on the constituents of *Scutellaria* species. II. on the flavonoid constituents of the root of *Scutellaria baicalensis* Georgi (2) [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1983, 103(6): 607-611.
- [22] Lin I H, Lee M C, Chuang W C. Application of LC/MS and ICP/MS for establishing the fingerprint spectrum of the traditional Chinese medicinal preparation Gan-Lu-Yin [J]. *J Sep Sci*, 2006, 29(1): 172-179.
- [23] Spanakis M, Kamas S, Niopas I. Simultaneous determination of the flavonoid aglycones diosmetin and hesperetin in human plasma and urine by a validated GC/MS method: *In vivo* metabolic reduction of diosmetin to hesperetin [J]. *Biomed Chromatogr*, 2009, 23(2): 124-131.
- [24] Maurya R, Ravi M, Singh S, *et al.* A review on cassane and norcassane diterpenes and their pharmacological studies [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(2): 272-280.

- [25] Tirapelli C R, Ambrosio S R, da Costa F B, *et al.* Diterpenes: A therapeutic promise for cardiovascular diseases [J]. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*, 2008, 3(1): 1-8.
- [26] de la Torre M C, *et al.* Neo-clerodane diterpenoids from *Ajuga australis* and *A. orientalis* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(1): 121-123.
- [27] Ghisalberti E L. Biological and pharmacological activity of naturally occurring iridoids and secoiridoids [J]. *Phytomedicine*, 1998, 5(2): 147-163.
- [28] Jeong E J, Lee K Y, Kim S H, *et al.* Cognitive-enhancing and antioxidant activities of iridoid glycosides from *Scrophularia buergeriana* in scopolamine-treated mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 588(1): 78-84.
- [29] Li C T, Liu Y Q, Abdulla R, *et al.* Characterization and identification of chemical components in *Neopicrorhiza scrophulariiflora* roots by liquid chromatography-electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *Anal Methods*, 2014, 6(11): 3634-3643.
- [30] Kuorelahti S, Kalkkinen N, Penttilä M, *et al.* Identification in the mold *Hypocrea jecorina* of the first fungal *D*-galacturonic acid reductase [J]. *Biochemistry*, 2005, 44(33): 11234-11240.
- [31] Agius F, González-Lamothe R, Caballero J L, *et al.* Engineering increased vitamin C levels in plants by overexpression of a *D*-galacturonic acid reductase [J]. *Nat Biotechnol*, 2003, 21(2): 177-181.
- [32] Aliferis K A, Jabaji S. ¹H NMR and GC-MS metabolic fingerprinting of developmental stages of *Rhizoctonia solani* *Sclerotia* [J]. *Metabolomics*, 2010, 6(1): 96-108.
- [33] Albertorio F, Chapa V A, Chen X, *et al.* The α,α -(1 $\rightarrow$ 1) linkage of trehalose is key to anhydrobiotic preservation [J]. *J Am Chem Soc*, 2007, 129(34): 10567-10574.

[责任编辑 王文倩]