

# UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 对紫花地丁中化学成分的快速表征

吴欢<sup>1,2</sup>, 占远<sup>1,2,3</sup>, 陈海芳<sup>1</sup>, 李俊<sup>1,2</sup>, 简晖<sup>1,2\*</sup>, 张武岗<sup>1,2\*</sup>, 冯育林<sup>1,2</sup>, 杨世林<sup>1,2</sup>

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 中药固体制剂制造研究技术国家工程中心, 南昌 330004;  
3. 贵阳医学院, 贵阳 550004)

**[摘要]** **目的:**采用超高效液相色谱-电喷雾飞行时间串联质谱法(UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS)对紫花地丁水提取物的主要化学成分进行分析鉴定。**方法:**采用 Welch C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm),以 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B)为流动相梯度洗脱,流速 0.35 mL·min<sup>-1</sup>,质谱采用电喷雾(ESI)离子源,在正负离子模式下采集数据,运行时间为 30 min。**结果:**通过二级高分辨质谱分析结合对照品数据及相关文献,共鉴定 32 个化合物,包含香豆素、黄酮及有机酸类成分。**结论:**该研究利用 UHPLC 的高效分离能力和 MS 的高灵敏度检测优势,建立的分析方法,为控制紫花地丁药材质量、临床疗效及阐释其作用机制提供了科学依据。

**[关键词]** 紫花地丁; 超高效液相色谱-电喷雾飞行时间串联质谱法; 化学成分

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)24-0070-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016240070

## Rapid Identification of Chemical Constituents in *Violae Herba* by UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS

WU Huan<sup>1,2</sup>, ZHAN Yuan<sup>1,2,3</sup>, CHEN Hai-fang<sup>1</sup>, LI Jun<sup>1,2</sup>, JIAN Hui<sup>1,2\*</sup>,  
ZHANG Wu-gang<sup>1,2\*</sup>, FENG Yu-lin<sup>1,2</sup>, YANG Shi-lin<sup>1,2</sup>

(1. *Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;*

2. *National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal*

*Medicine, Nanchang 330004, China;* 3. *Guizhou Medical College, Guiyang 550004, China*)

**[Abstract]** **Objective:** Using the UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS to analyze and identify the the main components in the water extract of *Violae Herba*. **Method:** The separation was performed on UHPLC Welch C<sub>18</sub> column (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), with a mobile phase using water containing 0.1% formic acid (A) and acetonitrile (B) for gradient elution, the flow rate was 0.35 mL·min<sup>-1</sup>. Electrospray ion (ESI) source were applied for the analysis under the positive/negative ion mode, and the running time was 30 min. **Result:** Based on the standards of MS/MS and compared with the reference results, 32 compounds, containing coumarins, flavonoids and organic acids were identified. **Conclusion:** The efficient separation ability of UHPLC and high sensitive detection of MS are used in this study, which will provide the evidences for evaluating the quality of *Violae Herba*, stabilizing the curative effect in clinic, and explaining the mechanism.

**[Key words]** *Violae Herba*; UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS; chemical constituents

紫花地丁具有清热解毒、凉血消肿功效<sup>[1]</sup>。在临床上常用于治疗各种炎症、溃疡、脓疱疮、疖肿、呼

吸系统疾病、血栓及并发症、艾滋病、妇科疾病、过敏性紫癜、抗菌、咽炎等,外敷也可治跌打损伤、毒蛇咬

**[收稿日期]** 20160512(018)

**[基金项目]** 江西省科技计划项目(20144BDH80005);江西中医药大学科研项目(2010BS2040)

**[第一作者]** 吴欢,助理实验师,从事中药活性成分研究,Tel:0791-87119631,E-mail:bsbwu@163.com

**[通讯作者]** \* 简晖,教授,从事中药活性成分研究,Tel: 0791-87119650,E-mail:yangshilin@suda.edu.cn;

\* 张武岗,副教授,从事中药活性成分研究,Tel: 0791-87119650,E-mail:zwgch98@foxmail.com

伤等<sup>[2-6]</sup>,还是许多中成药的主要原料药,如二丁颗粒、尿感宁颗粒、康妇消炎栓等。目前化学成分研究仅报道了少量的香豆素、黄酮类成分<sup>[7-9]</sup>分离,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。但传统的中药化学成分分析需要经过繁琐的溶剂提取、薄层分析、柱色谱分离、波谱鉴定等方法,整个过程耗时、耗力、耗资源,而且分离目标的盲目性,导致了已知成分的重复分离和某些药效成分的遗漏,使得前期的分离鉴定工作白白浪费。超高效液相色谱-电喷雾飞行时间串联质谱联用技术(UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS)近年来已在中药化学分离和鉴定广泛应用,利用定性定量分析技术,在缺少对照品的情况下对成分进行相关结构分析,具有高效快速且灵敏度高的特性。因此,本实验采用 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 技术对紫花地丁水提取物中化学成分进行分析,根据化学成分的质谱信息及与对照品、相关文献数据比对,鉴定其结构,为进一步研究提供参考。

## 1 材料

Triple TOF™ 5600 型 LC-MS 质谱[AB SCIEX, 配备 DuoSpray™ 离子源,30A 型液相色谱系统(包括 LC-30AD 型输液泵,SIL-30AC 型自动进样器,CTO-30AC 型柱温箱, DGU-20A3 型真空脱气机, CBM-20A 型自动控制器)],BT25S 型 1/10 万电子分析天平(德国赛多利斯公司),KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

甲醇和乙腈(色谱纯, Fisher Scientific),甲酸(色谱纯,美国 TEDIA 公司);水为纯净水,经 Millipore 纯化仪过滤;紫花地丁(批号 130903,河南,江西江中武宁中药饮片有限公司);对照品秦皮乙素(批号 110741-200506),木犀草素(批号 111520-200504),槲皮素(批号 100081-201408)和绿原酸(批号 110753-201415)购于中国食品药品检定研究院,经 HPLC-ELSD 法测得纯度均 >98%。紫花地丁经江西中医药大学杨世林教授鉴定为堇菜科植物紫花地丁 *Viola yedoensis* 的干燥全草,标本存放于本实验室。

## 2 方法与结果

**2.1 供试样品制备** 称取紫花地丁全草粗粉 5.0 g,加水煎煮 2 次,第 1 次加入水 50 mL 煎煮 2 h,第 2 次加入水 50 mL 煎煮 1.5 h,合并 2 次煎液,减压回收溶剂得到总浸膏,总浸膏用 10% 甲醇 50 mL 超声溶解,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得供试样品。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取对照品秦皮乙

素、木犀草素、槲皮素、绿原酸适量,制成质量浓度约为 20 ng·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液,置于 4 °C 冰箱中避光保存,备用。

**2.3 色谱条件** 采用 UHPLC Welch C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm);流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0.1 ~ 4 min, 1% B; 4 ~ 6 min, 1% ~ 6% B; 6 ~ 11 min, 6% ~ 10% B; 11 ~ 16 min, 10% ~ 35% B; 16 ~ 20 min, 35% ~ 49% B; 20 ~ 24 min, 49% ~ 90% B; 24 ~ 27 min, 90% ~ 95% B);流速 0.35 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 40 °C,进样量 5.0 μL。

**2.4 质谱条件** 离子源为电喷雾离子化源(ESI),正负离子模式;一级扫描范围 *m/z* 80 ~ 1 500,二级扫描范围 *m/z* 50 ~ 1 500;喷雾电压 ±4 500 V,雾化气温度 600 °C,气帘气 172.36 kPa,雾化气和辅助气 344.74 kPa;去簇电压(DP) ±100 V;采用 TOF-MS-IDA-MS/MS 方法采集数据,TOF-MS 一级预扫描和触发的二级扫描 TOF-MS/MS 离子累积时间分别为 200,100 ms,CE 碰撞能量为 45 eV,CES 碰撞能量叠加为(40 ± 15) eV,触发二级的方法为 IDA,多重质量亏损(MMDF)和动态背景扣除(DBS)为触发二级的条件,满足该条件的优先进行二级扫描。

**2.5 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 成分鉴定** 用 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 对紫花地丁水提化学成分进行定性分析,正离子和负离子的质谱总离子流见图 1。通过 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 检测得到紫花地丁水提物中各化学成分的保留时间、质谱信息,并结合提取离子流图及与对照品、相关文献数据对比进行化学成分确认,结果见表 1。

**2.6 香豆素及其衍生物** 紫花地丁中共鉴定出 5 个香豆素类化合物,包括秦皮甲素(6),秦皮乙素(7),7-hydroxy-8-methoxycoumarin(13),东莨菪素(17)和早开堇菜苷(18)。

香豆素类化合物是以苯骈 α-吡喃酮为母核的衍生物,在苯环上常连有羟基、甲氧基、吡喃环、呋喃环等取代基。最大质谱特征是吡喃酮环失羰基,常丢失如-CH<sub>3</sub>,-CO,-OH,-CHO,H<sub>2</sub>O 等碎片。若苯环上连有甲氧基取代基,裂解先失去羰基,紧接着失去-CH<sub>3</sub>,形成共轭的氧鎓离子。如 9 号峰 *m/z* 177 [M - H]<sup>-</sup>,在二级质谱中,母离子先失去-CO 碎片,产生 *m/z* 149 [M - H - CO]<sup>-</sup> 离子,紧接着失去-OH 和-CHO,-CO 碎片,产生 *m/z* 133,121,105,77 离子,见图 2。结合裂解规律及文献[10-11]对照确定了其余化合物结构。

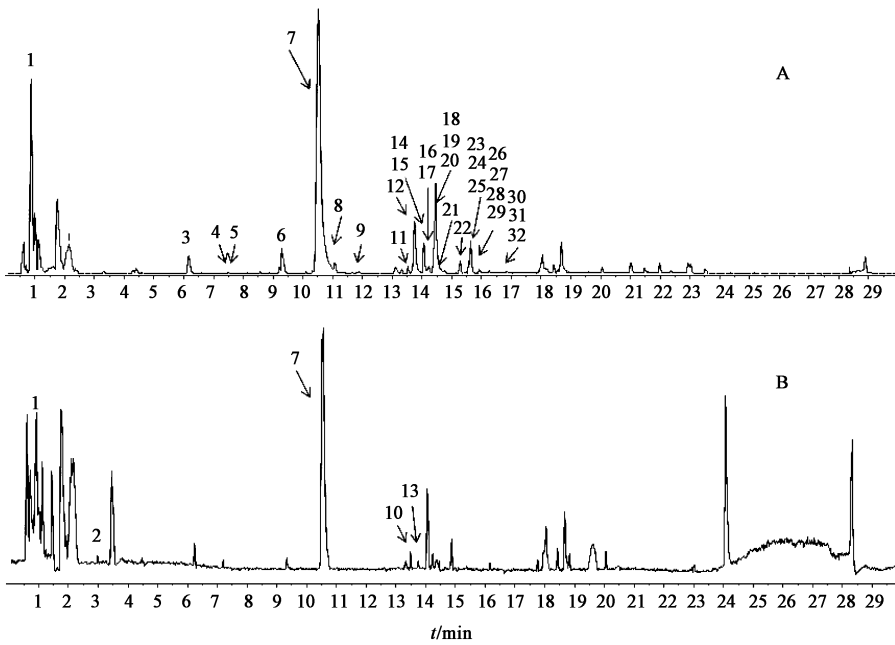


图 1 紫花地丁水提取物负离子 (A) 和正离子 (B) 扫描总离子流

Fig. 1 Total ion current chromatogram in negative (A) and positive (B) ion modes for *Violae Herba*

表 1 紫花地丁中化合物的 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 鉴定

Table 1 Identification of chemical constituents from *Violae Herba* by UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS

峰号	$t_R$ /min	分子式	离子模式	$m/z$	$\delta$	二级质谱碎片 $m/z$	鉴定成分
1	0.98	$C_7H_{12}O_6$	$[M - H]^-$	191.056 6	2.7	191.057 7, 173.047 2, 171.031 6, 127.041 5, 109.031 4, 93.037 5	奎尼酸
2	3.10	$C_7H_6O_5$	$[M + H]^+$	169.014 1	-0.9	169.015 0, 125.024 0, 124.016 8, 97.029 8	没食子酸
3	6.19	$C_7H_6O_4$	$[M - H]^-$	153.019 4	0.7	153.014 8, 109.029 5, 108.022 1, 91.019 6	原儿茶酸
4	8.60	$C_{13}H_{12}O_9$	$[M - H]^-$	311.040 9	0.2	311.040 9, 179.040 3, 135.048 0	单咖啡酰基酒石酸
5	8.65	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M - H]^-$	353.087 9	-0.2	353.084 3, 191.053 7, 179.032 5, 173.042 8, 161.022 9, 135.042 9, 134.035 6	新绿原酸
6	9.32	$C_{15}H_{16}O_9$	$[M - H]^-$	339.071 6	-1.7	339.072 5, 177.020 1, 133.031 4, 105.036 5	秦皮甲素
7	10.55	$C_9H_6O_4$	$[M - H]^-$	177.019 3	-0.1	177.018 9, 149.023 9, 133.029 7, 121.029 8, 107.014 6, 105.035 6	秦皮乙素
8	10.73	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M - H]^-$	353.087 9	-0.2	353.090 7, 191.054 8, 190.448 0, 179.032 7, 173.043 8, 161.023 5, 135.044 2	隐绿原酸
9	11.58	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M - H]^-$	353.087 9	-0.2	353.032 8, 191.054 6, 197.037 4, 173.044 3, 135.044 9	绿原酸
10	13.29	$C_{28}H_{34}O_{14}$	$[M + H]^+$	595.199 9	-3.8	595.200 3, 433.142 6, 287.057 1	isosakuranetin-5-rhamnoside-7-glucoside
11	13.57	$C_{25}H_{24}O_{12}$	$[M - H]^-$	515.119 8	0.6	515.126 0, 353.091 1, 335.080 5, 191.057 2, 179.036 0, 173.046 6, 161.025 4, 155.036 2, 135.045 8	1, 3-二咖啡酰奎宁酸
12	13.75	$C_{18}H_{10}O_8$	$[M - H]^-$	353.030 1	-0.5	353.031 2, 335.023 8, 325.026 3, 309.040 8, 307.034 4, 297.043 7, 281.048 9, 253.049 8, 209.058 9, 177.021 4, 133.031 7	mongolicumin A
13	13.85	$C_{10}H_8O_4$	$[M + H]^+$	193.049 4	-1.0	193.050 5, 178.026 8, 150.031 6, 137.060 6, 133.027 9, 122.036 4	7-hydroxy-8-methoxyecoumarin
14	14.08	$C_{26}H_{28}O_{14}$	$[M - H]^-$	563.140 5	-0.2	563.140 1, 473.110 1, 443.114 7, 425.092 4, 413.087 1, 395.077 9, 383.078 3, 365.061 6, 353.066 9, 325.072 2, 323.056 7, 297.076 9	apigenin-6-C- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-8-C- $\beta$ -D-glucopyranoside

续表 1

峰号	$t_R$ /min	分子式	离子模式	$m/z$	$\delta$	二级质谱碎片 $m/z$	鉴定成分
15	14.09	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	447.092 6	-1.6	447.054 5, 429.084 9, 411.067 3, 357.061 1, 327.051 4, 311.056 9, 297.040 4, 285.040 7, 133.031 2	异荭草素
16	14.21	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	447.092 5	-1.7	447.095 7, 429.091 2, 399.077 4, 369.059 6, 357.061 9, 339.050 8, 327.051 9, 311.063 1, 297.039 6, 285.039 6	荭草素
17	14.25	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	193.049 6	0.2	193.049 1, 178.026 3, 161.022 5, 150.030 4, 137.059 7, 133.027 7, 122.036 0, 121.027 9	东莨菪素
18	14.31	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	381.082 0	-1.8	381.034 7, 177.019 3, 149.024 4, 133.030 0, 105.037 3	早开堇菜苷
19	14.34	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	609.147 1	1.6	609.146 5, 447.087 9, 285.039 9, 284.032 9	kampferol-3, 7- <i>O</i> -diglucoside
20	14.34	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	193.050 3	-1.6	193.049 1, 178.027 9, 149.062 0, 134.036 9	阿魏酸
21	14.67	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	431.097 0	-3.2	341.073 2, 323.042 0, 311.055 4, 283.060 6, 282.056 7, 281.034 6	异牧荆素
22	15.18	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	623.198 4	0.3	623.201 7, 461.167 3, 179.035 2, 133.029 7	异阿克替苷
23	15.26	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	447.093 9	1.3	447.094 3, 285.039 9, 284.031 9, 255.029 4, 227.034 3	紫云英苷
24	15.29	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	515.117 7	-3.6	515.116 7, 353.085 4, 335.075 6, 191.054 6, 179.033 3, 173.044 0, 161.023 4, 155.033 8, 135.044 3	3,4-二咖啡酰奎宁酸
25	15.29	C <sub>18</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	353.031 3	2.9	353.028 9, 335.018 4, 325.049 0, 309.041 1, 297.035 0, 257.044 2, 253.049 1, 217.011 4, 117.018 3, 133.029 1	isobenzo [kl] xanthene-1,2-dicarboxylic acid, 6, 9, 10-trihydroxy
26	15.43	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	473.073 5	2	473.072 9, 311.041 2, 293.032 4, 219.029 5, 179.033 8, 149.008 7, 135.044 2	菊苣酸
27	15.55	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	609.182 5	0.1	609.182 5, 301.071 7	橙皮苷
28	15.65	C <sub>18</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	353.030 6	0.8	353.030 2, 335.019 5, 309.036 6, 297.037 2, 279.029 6, 217.014 9, 117.018 6, 133.029 7	isobenzo [kl] xanthene-1,2-dicarboxylic acid, 6, 9, 10-trihydroxy
29	15.66	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	515.119 9	0.7	515.120 8, 353.087 1, 335.077 3, 191.054 9, 179.033 8, 173.044 7, 161.024 0, 155.033 8, 135.044 7	4,5-二咖啡酰奎宁酸
30	16.77	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	285.040 9	1.5	285.040 2, 241.098 7, 175.036 5, 151.005 6, 133.030 6	木犀草素
31	16.79	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	301.035 9	1.8	301.034 2, 178.998 2, 151.002 5, 121.032 0, 107.012 8	槲皮素
32	16.83	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	[M - H] <sup>-</sup>	431.097 3	-2.5	431.099 2, 285.041 2, 284.032 4, 257.042 3, 151.005 5	kaempferol-3- <i>O</i> -rhamnopyranoside

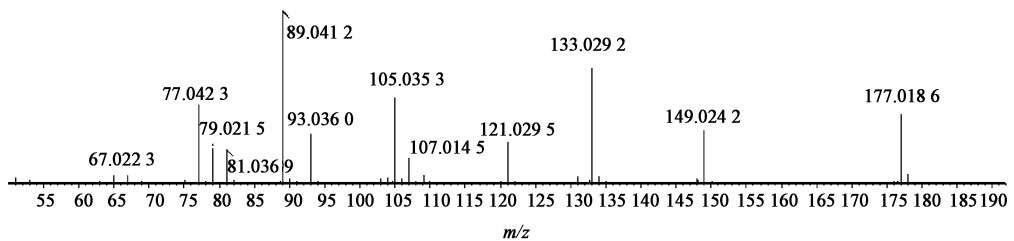


图 2 秦皮乙素的 MS<sup>2</sup>  
Fig. 2 MS<sup>2</sup> spectra of Esculetin

2.7 黄酮类及其衍生物 在紫花地丁中共鉴定出 11 个黄酮类化合物, 分别为 isosakuranetin-5-rhamnoside -7-glucoside (10), apigenin-6-C- $\alpha$ -L-

arabinopyranosyl-8-C- $\beta$ -D-glucopyranoside (14), 异荭草素 (15), 荭草素 (16), kampferol-3,7-*O*-diglucoside (19), 异牧荆素 (21), 紫云英苷 (23), 橙皮苷 (27),

木犀草素(30), 槲皮素(31)和 kaempferol-3-O-rhamnopyranoside(32)。黄酮类化合物主要在负离子模式下,除了 isosakuranetin-5-rhamnoside-7-glucoside(10)外。

在多级质谱中,黄酮苷元主要发生裂解,黄酮苷元的裂解以 C 环为中心产生不同方式丢失与重排的逆狄尔斯-阿尔德反应 (*retro*-Diels-Alder reaction, RDA) 裂解反应,最主要的碎裂是 C 环上 C-C 和 C-O 键的断裂,而产生  $A^{i,j}$  和  $B^{i,j}$  离子,  $i$  和  $j$  为 C 环上断裂键的位置。并将  $A^{i,j}$  和  $B^{i,j}$  离子作为黄酮类化合物的诊断离子,用于确定苷元类型与 A, B 及 C 环上的取代基类型。常见的碎片还有  $-CO$ 、 $-CO_2$ 、 $H_2O$ 、 $C_2H_2O$  等中性分子。

槲皮素在二级质谱的主要碎片有  $m/z$  301,

178, 151, 121, 107, 83, 65, 63。其中,碎片离子  $m/z$  151, 107 符合 RDA 裂解反应,  $m/z$  151 对应于裂解产生的  $^{1,3}A_0^-$  碎片,而  $m/z$  151 碎片再脱去 1 个  $CO_2$  形成了  $m/z$  107 碎片。母离子 C 环的 1/2 断裂产生,丢失  $^{1,3}B_0$  部分  $m/z$  121, 产生  $m/z$  178, 见图 3; 木犀草素在二级质谱的主要碎片有  $m/z$  285, 241, 175, 151, 133。其中,碎片离子  $m/z$  151, 133 符合 RDA 裂解反应,分别对应于裂解产生的  $^{1,3}A_0^-$  和  $^{1,3}B_0^-$  碎片。而母离子脱去 1 个  $CO_2$  形成了  $m/z$  241 碎片,丢失  $B_0$  部分产生  $m/z$  175, 见图 4。结合裂解规律及文献[12-15]对照确定了其余化合物结构。其中, isosakuranetin-5-rhamnoside-7-glucoside, kaempferol-3, 7-O-diglucoside, 荝草素和异牡荆素在该植物中首次发现。

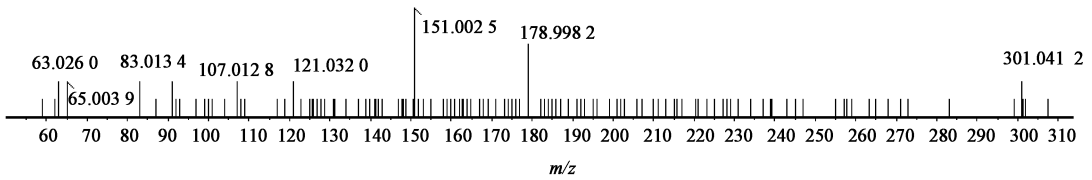


图 3 槲皮素的 MS<sup>2</sup>

Fig. 3 MS<sup>2</sup> spectra of quercetin

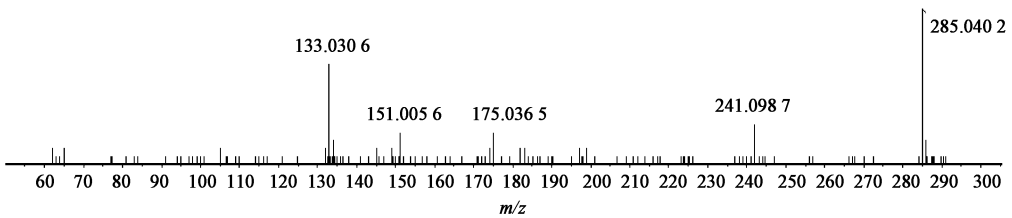


图 4 木犀草素的 MS<sup>2</sup>

Fig. 4 MS<sup>2</sup> spectra of luteolin

**2.8 有机酸** 通过有机酸化合物的羧基质谱裂解常以丢失  $H_2O$ 、 $CO$  和  $CO_2$  中性片段规律及文献[16-18]和对照品比对,在紫花地丁中共鉴定出 16 个有机酸: 奎尼酸(1), 没食子酸(2), 原儿茶酸(3), 单咖啡酰基酒石酸(4), 新绿原酸(5), 隐绿原酸(8), 绿原酸(9), 莱菔素(11), mongolicumin A(12), 阿魏酸(20), 异阿克替苷(22), 异绿原酸 B(24), isomongolicumin A I(25), 菊苣酸(26), isomongolicumin A II(28) 和异绿原酸 C(29)。其中, 绿原酸(9), 新绿原酸(5) 和隐绿原酸(8) 莱菔素(11), 异绿原酸 B(24) 和异绿原酸 C(29) 是由咖啡酸和奎宁酸以脂键连接的异构体, 在二级质谱中均会产生有咖啡酸和奎宁酸之间脂键断裂产生的碎片离子  $m/z$  191 ( $C_7H_{11}O_6$ )<sup>-</sup>, 179 ( $C_9H_7O_4$ )<sup>-</sup>, 173 ( $C_7H_9O_5$ )<sup>-</sup> 和 135 ( $C_8H_5O_2$ )<sup>-</sup>。如绿原酸质谱裂

解, 见图 5。

### 3 讨论

本实验运用 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 联用技术在正负离子模式下对紫花地丁水提物进行了化学成分定性分析, 通过 30 min 内各个色谱峰在质谱中的精确相对分子质量、碎片信息、质谱裂解规律和色谱保留规律, 并结合对照品的质谱信息和参考文献, 鉴定出紫花地丁中 32 个成分, 主要包括黄酮类、香豆素类、有机酸类, 其中 10, 16, 19, 21, 22 号成分为该植物中首次发现, 该结果为紫花地丁中具有生物活性的成分鉴定提供了一种快速、简便、可靠的手段, 能够为紫花地丁药效物质基础, 质量评价、药代动力学及作用机制方面的研究提供数据支撑。由此可见, 相对传统化学成分分离方法, UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 联用技术的应用, 既可以避免对已知化

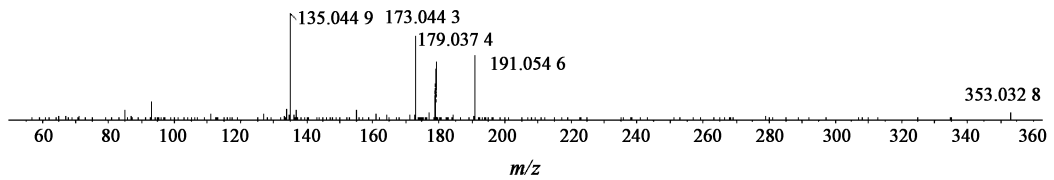


图 5 绿原酸的 MS<sup>2</sup>

Fig. 5 MS<sup>2</sup> spectra of chlorogenic acid

合物繁杂无谓的分离纯化及结构鉴定过程,又可将工作重点迅速地集中在分离一些具有药效的成分或新颖结构特征的化合物上,大大缩短了研究时间,增加了新颖结构化合物发现概率,不仅可节约资源,同时还可大大提高工作效率,加快分析进程。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:337-338.  
[2] 张德山,陈国联,任茜,等. 119种药用丁抗菌作用的实验研究[J]. 中医药学报,1991(2):47-50.  
[3] 叶春芝. 紫花地丁治疗蜂窝组织炎[J]. 浙江中医杂志,2006,41(3):170.  
[4] 姚惠青. 五味消毒饮加减治疗急性扁桃体炎42例[J]. 陕西中医,2006,27(8):914-915.  
[5] 吴渝梅. 五味消毒饮在呼吸系统疾病中的应用[J]. 实用中医内科杂志,2006,20(2):175-176.  
[6] 栗清亮. 解毒消肿汤为主治疗下肢深静脉血栓形成120例[J]. 陕西中医,2006,27(11):1370-1371.  
[7] Pan Y Y, Song Z P, Zhu G F, et al. Antipyretic effects of liposoluble fractions of *Viola yedoensis* [J]. Chinese Herbal Medicines, 2015, 7(1): 80-87.  
[8] Zhou H Y, Qin M J, Hong J L, et al. Chemical constituents of *Viola yedoensis* [J]. Chin J Nat Med, 2009, 7(4): 290-292.  
[9] Naohiro O, Yuji N, Tadaihiro T, et al. Collagenase inhibitors from *Viola yedoensis* [J]. J Nat Med, 2013, 67(1):240-245.

[10] 孙明谦,卢建秋,张宏桂. 呋喃香豆素类化合物电喷雾质谱裂解途径[J]. 药物分析杂志,2009,29(1):82-85.  
[11] 马强,白桦,王超,等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查化妆品中18种香豆素类化合物[J]. 分析测试学报,2014,33(3):248-255.  
[12] 夏爱军,李玲,董昕,等. UHPLC-Q-TOF/MS 技术应用于中药早莲草化学成分研究[J]. 解放军药学学报,2012,28(5):404-407.  
[13] 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.  
[14] 于金英,王云红,刘国强,等. HPLC-ESI-MS/MS 分析鉴定蕲蕈中黄酮类成分[J]. 中成药,2015,37(3):556-561.  
[15] 曹捷. 紫花地丁黄酮苷类成分的定性定量研究[D]. 上海:复旦大学,2013.  
[16] 刘颖,卢建秋,张加余,等. 苦碟子药材及其注射液中化学成分的HPLC-ESI-MS<sup>n</sup>分析[J]. 中国中药杂志,2013,38(16):2675-2681.  
[17] 张阿琴,李迺娜,张仓,等. LC-MS 分析消癌平注射液中有有机酸类成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(4):88-90.  
[18] 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.

[责任编辑 顾雪竹]