

UPLC-Q-TOF-MS 对桑白皮总黄酮提取物的快速分析

丁嘉华¹, 冯毅凡², 李卫民¹, 高英^{1*}

(1. 广州中医药大学, 广州 510006; 2. 广东药科大学, 广州 510006)

[摘要] **目的:**对桑白皮总黄酮提取物中的各化合物进行快速的分离和鉴定,并对其主要的裂解碎片和二级裂解规律进行探讨。**方法:**采用超高效液相串联四级杆飞行时间质谱联用技术(UPLC-Q-TOF-MS),在电喷雾离子源(ESI)负离子模式下进行分离和检测;使用 Waters 公司 BRH 分析柱(2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm);以 0.1% 甲酸水为流动相 A,乙腈为流动相 B,梯度洗脱;流速 0.3 mL·min⁻¹;柱温为 25 °C。**结果:**基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术分离所得精确相对分子质量,结合二级质谱裂解信息,使用 Masslynx 4.1 软件对数据进行统计和分析,并参考 SciFinder 数据库(美国化学学会在线数据库学术版),桑白皮总黄酮提取物中共鉴定出 13 种黄酮成分,其中有 7 个 Diels-Alder 加合物,主要代表物为桑根酮 C (sanggenon C),桑根酮 D (sanggenon D),6 种异戊烯基黄酮类化合物,代表物为桑辛素(morusin)。**结论:**通过超高效液相的分离,首次发现了桑白皮总黄酮提取物中的化合物在 ESI 源中脱去 H₂ 和 H₂O 的现象,并对其二级裂解碎片的规律进行探讨,同时也为桑白皮总黄酮提取物的成分鉴定提供了一个快速、简便、可靠的方法。

[关键词] 桑白皮; 总黄酮; Diels-Alder 加合物; 异戊烯基黄酮; 超高效液相串联四级杆飞行时间质谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)06-0078-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017060078

Rapid Analysis of Flavonoids Extraction from Mori Cortex by UPLC-Q-TOF-MS

DING Jia-hua¹, FENG Yi-fan², LI Wei-min¹, GAO Ying^{1*}

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

2. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To separate and identify flavonoids extraction from Mori Cortex rapidly, and investigate their fragmentation behavior and secondary fragmentation pattern upon electrospray ionization. **Method:** The extraction was separated and identified in electrospray ionization (ESI) negative mode by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS) technique. It was conducted on Waters BRH (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) column with 0.1% formic acid solution (phase A) and acetonitrile (phase B) as the mobile phase for gradient elution. The column temperature was 25 °C and the flow rate was 0.3 mL · min⁻¹. **Result:** Accurate relative molecular mass obtained by UPLC-Q-TOF-MS technique was combined with secondary mass spectrum fragmentation information for data statistics and analysis by using Masslynx 4.1. By referring to SciFinder database, 13 flavonoids, including 7 Diels-Alder compounds (represented by sanggenon C and sanggenon D) and 6 prenyl flavonoids (represented by morusin), were separated and identified from the flavonoids extraction of Mori Cortex. **Conclusion:** The loss of H₂ and H₂O was characterized here by using UPLC for the first time and their fragmentation behavior upon electrospray ionization was discussed, providing a rapid, simple and reliable method for the identification of flavonoids extraction from Mori Cortex.

[收稿日期] 20161205(031)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81373775)

[第一作者] 丁嘉华,在读硕士,从事中药新药的研究与开发,Tel:15918740394,E-mail:635405207@qq.com

[通讯作者] *高英,教授,从事中药新药的研究与开发,Tel:13925023915,E-mail:13925023915@139.com

[Key words] Mori Cortex; total flavonoids; Diels-Alder compounds; prenylated flavonoid; UPLC-Q-TOF-MS

桑白皮是桑科植物桑的干燥根皮,性寒、味甘。有泻肺平喘,行水消肿的功效^[1]。现代药理研究得出,桑白皮具有降血糖、降血脂、抗氧化、抗病毒、预防和治疗糖尿病的作用^[2-3]。桑白皮中主要含有黄酮类、生物碱类、多糖类及挥发油类等多种成分,黄酮类主要包含了异戊烯基黄酮类和 Diels-Alder 加合物,其中桑辛素,桑根酮 C, D 含量较高。桑白皮中黄酮类被认为是桑白皮的主要药理活性成分,研究表明异戊烯基的存在显著地增强了黄酮类化合物的生物活性,由于独特的结构和多种重要的生物活性,一直备受国内外药学家的关注^[4-6]。目前对于总黄酮中这 2 类成分的分离和进行药效对比的研究很少,对桑白皮总黄酮提取物中的异戊烯基黄酮类和 Diels-Alder 加合物的快速分析方法,也尚未见文献报道。

超高效液相色谱串联质谱技术(UPLC-Q-TOF-MS)是一种能够满足高通量、高灵敏度以及快速的非靶向分析方法,通过精确相对分子质量和二级质谱裂解确定分子式和分子结构。本文目的是对桑白皮总黄酮提取物中异戊烯基黄酮类和 Diels-Alder 加合物的结构进行对比分析,研究其在 ESI 源中的二级裂解规律,创建一种能快速简便地分离和分析桑白皮总黄酮提取物的方法。

1 材料

AQUITY UPLC-Q-TOF micro 型超高效液相串联四级杆飞行时间质谱联用仪(美国 Waters 公司),Masslynx 4.1 数据采集软件,KQ-300B 型超声波清洗器(上海之信仪器有限公司)。

乙腈、甲醇色谱纯(美国 TEDIA 公司),甲酸色谱纯(美国 DMA 公司),屈臣氏超纯水;对照品桑根酮 C,桑根酮 D,桑辛素,桑白皮总黄酮提取物粉末(辰光生物科技有限公司,纯度均为 98%,批号分别为 20160118,20140913,20140921,1504120852)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 Waters BRH-C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm);流动相 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0 ~ 3.6 min, 45% ~ 55% B; 3.6 ~ 7.6 min, 55% B; 7.6 ~ 9.6 min, 75% B);检测波长 280 nm,流速 0.3 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样量 10 μL。

2.2 质谱条件 电喷雾离子源 ESI,负离子模式采集

数据,毛细管电压(Capillary Voltage) 3 000 V,锥孔电压(Sample Cone) 30 V,离子源温度(Source Temp) 100 °C,脱溶剂温度(Dssolvation Temp) 300 °C,雾化气流速 50 L·h⁻¹,脱溶剂气流速 400 L·h⁻¹,质谱数据采集范围为 *m/z* 300 ~ 1 200,采集时间 0 ~ 10 min。以 Lock Mass 确保质荷比的准确性和重复性,亮氨酸-脑啡肽负离子模式下 [M - H]⁻ 为 554.2615。

2.3 对照品溶液的制备 分别取桑根酮 C,桑根酮 D,桑辛素对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度分别为桑根酮 C 234.1 mg·L⁻¹,桑根酮 D 190.4 mg·L⁻¹,桑辛素 208.7 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液,即得。

2.4 供试品溶液的制备 取桑白皮总黄酮粉末 0.3023 g,用色谱纯甲醇 10 mL 溶解,30 °C 下超声提取 40 min,放冷,用甲醇补足至 10 mL,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,备用。

2.5 结果分析 通过运用 UPLC-Q-TOF-MS/MS,使桑白皮总黄酮提取物里面的成分得到较好的分离和鉴定,负离子模式下,桑白皮总提取物的基峰离子色谱见图 1。每个峰所对应的化学成分的相对分子质量和元素组成见表 2。其中包括异戊烯基黄酮类成分和 Diels-Alder 加合物。

3 分析与讨论

有文献报道^[7]采用超声提取的方法可以加速有效成分进入溶剂,从而提高提取率,缩短提取时间,由于其中有效成分受高温不稳定,如桑根酮 C,避免提取温度过高所产生的影响。因此,最后优化出提取条件为,甲醇提取,超声 40 min,超声 1 次。为了得到更好的分离效果,对液相条件进行优化。通过预试验,将 UPLC 的最佳流速设定为 0.3 mL·min⁻¹。通过对甲醇-0.1% 甲酸水,乙腈-水,乙腈-0.1% 甲酸水流动相体系进行考察,同时考虑保留时间、加合离子和分离效果等因素、最终选择了流速为 0.3 mL·min⁻¹ 的乙腈-0.1% 甲酸水进行梯度洗脱,由于不同的离子模式下对离子有竞争抑制性作用,实验结果显示桑白皮总黄酮提取物在负离子模式下灵敏度、信噪比、响应值都比正离子模式下高,故选用负离子模式。

对于试验中的每个峰对应的分子离子峰的准确相对分子质量,按 Masslynx 4.1 软件计算得出其可

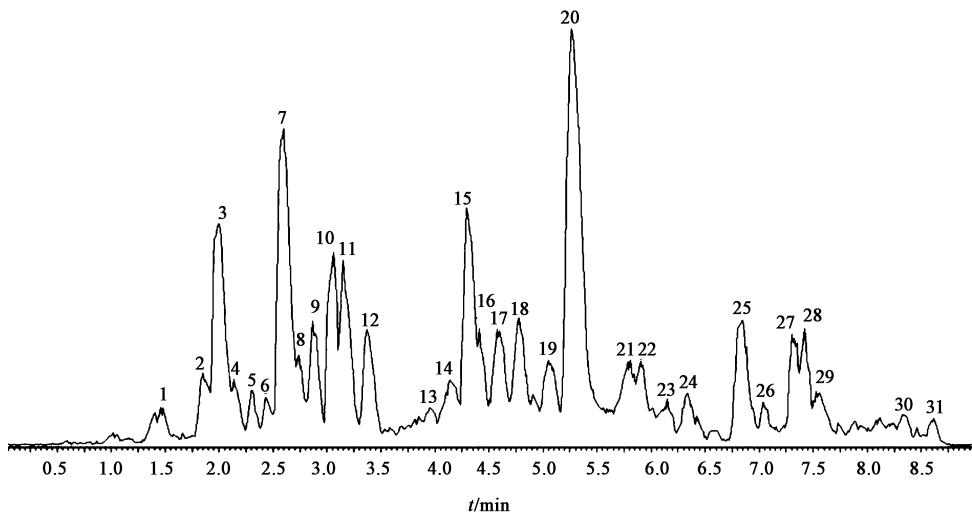


图 1 桑白皮总提取物基峰离子流色谱

Fig. 1 Base-peak ion (BPI) chromatograms of flavonoids extraction of Morus Cortex

表 1 桑白皮总黄酮提取物负离子模式下成分鉴定

Table 1 Identification of flavonoids extraction of Morus Cortex in negative mode

No.	t_R /min	δ	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	化学式	负离子二级信息	化合物
1	1.46	1.4	711.244	711.738	$C_{40}H_{40}O_{12}$	710.225[M - H - H ₂ O] ⁻ , 692.261, 601.178[M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 600.213	桑根酮 T
2	1.85	-5.2	579.166	579.581	$C_{34}H_{28}O_9$	469.124[M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 451.147[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂ O] ⁻ , 427.103[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - C ₃ H ₆] ⁻	桑呋喃素 C, 桑呋喃 C 桑呋喃 J, australisine C
3	2.01	1.3	707.219	707.707	$C_{35}H_{30}O_{11}$	705.219[M - H - H ₂] ⁻ , 638.215, 611.170, 353.106 [M - H - C ₂₀ H ₁₈ O ₆] ⁻ , 177.030, 125.030	桑根酮 C
4	2.13	-3.9	561.155	561.565	$C_{34}H_{26}O_8$	451.158[M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 450.116, 449.105 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂] ⁻ , 439.093	桑呋喃 G
5	2.32	-14.7	707.219	707.707	$C_{40}H_{36}O_{12}$	705.219[M - H - H ₂] ⁻ , 638.215, 611.170, 353.106 [M - H - C ₂₀ H ₁₈ O ₆] ⁻ , 177.030, 125.030	桑根酮 D
6	2.43	3.5	581.165	581.597	$C_{34}H_{30}O_9$	469.135[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂] ⁻ , 439.091, 451.124[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂ - H ₂ O] ⁻	桑黄酮 X, 桑黄酮 Y, 桑 黄酮 P
7	2.61	-3.8	691.197	691.707	$C_{40}H_{36}O_{11}$	673.250[M - H - H ₂ O] ⁻ , 581.182[M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 555.209, 539.158, 515.103[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂ O - CO ₂] ⁻ , 471.104[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 469.208[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂] ⁻	桑黄酮 G, 桑黄酮 K, wittorumiin C, multicaulisin
8	2.76	-7.4	693.228	693.723	$C_{40}H_{38}O_{11}$	691.212[M - H - H ₂] ⁻ , 675.222[M - H - H ₂ O] ⁻ , 583.142[M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 581.157[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂] ⁻ , 567.199[M - H - C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 539.170[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - CO ₂] ⁻ , 541.171, 531.197, 513.237, 473.143[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻	桑根酮 G, 桑黄酮 O
9	2.87	1.7	691.197	691.707	$C_{40}H_{36}O_{11}$	581.205[M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 579.165[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂] ⁻	桑黄酮 G, 桑黄酮 K, wittorumiin C, multicaulisin
10	3.06	-3.0	691.197	691.707	$C_{40}H_{36}O_{11}$	673.184[M - H - H ₂ O] ⁻ , 581.182 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 539.204, 555.191, 515.136[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂ O - CO ₂] ⁻ , 471.159[M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻	桑黄酮 G, 桑黄酮 K, wittorumiin C, multicaulisin

续表 1

No.	t_R /min	δ	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	化学式	负离子二级信息	化合物
11	3.15	-1.7	693.228	693.723	$C_{40}H_{38}O_{11}$	691.212 [M - H - H ₂] ⁻ , 583.200 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 581.157 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂] ⁻ , 541.171, 531.197, 513.237	桑根酮 G, 桑黄酮 O
12	3.37	-14.8	759.281	759.824	$C_{45}H_{44}O_{11}$	757.141 [M - H - H ₂] ⁻ , 739.221 [M - H - H ₂ - H ₂ O] ⁻ , 693.214	桑黄酮 N, 桑黄酮 H, mongolicin C
13	3.95	-2.6	757.248	757.820	$C_{45}H_{42}O_{11}$	647.134 [M - H - C ₆ H ₆ O ₃] ⁻	桑黄酮 W
14	4.14	-2.1	761.286	761.840	$C_{45}H_{46}O_{11}$	759.275 [M - H - H ₂] ⁻ , 741.332 [M - H - H ₂ - H ₂ O] ⁻ , 649.244 [M - H - H ₂ - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 581.178 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂ C ₅ H ₁₀] ⁻ , 539.166 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂] ⁻ , 359.234 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂ - C ₅ H ₁₀] ⁻	桑根酮醇 M
15	4.29	-19.6	423.181	423.486	$C_{25}H_{28}O_6$	421.172 [M - H - H ₂] ⁻ , 352.075, 309.026 [M - H - C ₉ H ₁₆] ⁻ , 352.075, 313.030 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 295.124 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂ O] ⁻ , 269.145 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - CO ₂] ⁻ , 243.071, 231.051, 226.057	桑根酮醇 A, 桑黄酮 E
16	4.41	-3.6	419.150	419.455	$C_{25}H_{24}O_6$	401.114 [M - H - H ₂ O] ⁻ , 363.083 [M - H - C ₄ H ₈] ⁻ , 349.052 [M - H - C ₅ H ₁₀] ⁻ , 317.096, 350.081, 309.106 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 335.049, 333.065, 322.082	环桑素
17	4.61	-5.5	421.163	421.470	$C_{25}H_{26}O_6$	401.125 [M - H - H ₂ O - H ₂] ⁻ , 376.145, 350.091, 349.097, 335.100, 311.076 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 309.106 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂] ⁻	桑酮醇 C, albanin E, 桑根酮醇 L
18	4.78	-1.4	421.165	421.470	$C_{25}H_{26}O_6$	419.138 [M - H - H ₂] ⁻ , 375.163, 350.080, 335.074, 278.095, 269.136, 231.059	桑根酮 N, 桑根酮 I, 桑酮醇 C, 桑黄酮 T, 桑黄酮 F, 桑黄酮 D, Albanin E, 桑根酮醇 L
19	5.05	-1.4	421.165	421.470	$C_{25}H_{26}O_6$	351.071 [M - H - C ₅ H ₁₀] ⁻ , 335.022, 311.046 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 297.101, 269.145, 251.148 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - C ₅ H ₁₀] ⁻ , 249.137 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - C ₅ H ₁₀ - H ₂] ⁻	桑黄酮 C
20	5.27	-1.2	419.150	419.455	$C_{25}H_{24}O_6$	375.192 [M - H - CO ₂] ⁻ , 349.085 [M - H - C ₅ H ₁₀] ⁻ , 309.111 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 297.116, 227.054, 217.054, 191.070, 173.060, 147.084, 109.033 [M - H - C ₁₉ H ₁₇ O ₅] ⁻	桑辛素
21	5.77	-5.5	421.163	421.470	$C_{25}H_{26}O_6$	259.132, 215.144	桑根酮 N, 桑根酮 I, 桑酮醇 C, 桑黄酮 T, 桑黄酮 F, 桑黄酮 D, albanin E, 桑根酮醇 L
22	5.91	6.4	421.159	421.470	$C_{25}H_{26}O_6$	401.133 [M - H - H ₂ O - H ₂] ⁻ , 375.163, 363.064, 349.097 [M - H - C ₄ H ₈ O] ⁻ , 336.082, 311.076 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 309.028 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂] ⁻	桑酮醇 C, albanin E, 桑根酮醇 L
23	6.15	0.6	491.234	491.603	$C_{30}H_{36}O_6$	473.204 [M - H - H ₂ O - H ₂] ⁻ , 365.216, 313.240, 150.998, 125.025	桑根酮醇 C

续表 1

No.	t_R /min	δ	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	化学式	负离子二级信息	化合物
24	6.34	-1.1	437.191	437.470	$C_{25}H_{26}O_7$	281.029, 125.023	环桑色醇, 桑根皮醇, 桑黄酮 U
25	6.85	-2.5	489.222	489.587	$C_{30}H_{34}O_6$	487.204 [M - H - H ₂] ⁻ , 419.135, 351.086, 349.048, 309.032, 255.155, 243.058, 231.063, 151.009, 125.019	桑根酮醇 B, rubraflavone C
26	7.05	-4.3	487.212	487.572	$C_{30}H_{32}O_6$	349.075, 243.142, 231.063	桑根酮醇 J, rubraflavone D, 桑根酮醇 B
27	7.31	2.8	491.235	492.603	$C_{30}H_{36}O_6$	473.204, 365.216, 313.240, 150.998, 125.025	桑根酮醇 C
28	7.42	-1.9	417.128	417.439	$C_{25}H_{22}O_6$	373.174 [M - H - CO ₂] ⁻ , 334.092, 289.082 [M - H - C ₆ H ₆ O ₂ - H ₂ O] ⁻ , 241.098	环桑皮色烯素, 环桑皮素
29	7.53	2.2	455.353	455.440	$C_{27}H_{20}O_7$	453.152 [M - H - H ₂] ⁻ , 371.132, 365.087, 350.010, 331.115	桑呋喃 R
30	8.32	5.3	489.228	489.587	$C_{30}H_{34}O_6$	487.168 [M - H - H ₂] ⁻ , 349.048, 309.032, 255.145, 243.049, 231.061, 125.087	桑根酮醇 B, rubraflavone C
31	8.62	5.7	487.206	487.572	$C_{30}H_{32}O_6$	243.056, 231.061	桑根酮醇 J, rubraflavone D, 桑根酮醇 B

注: 化合物一栏如有多项则说明为不能确切地鉴定化合物的结构, 化合物只标注第一次出现的英文。

能的分子式, 并且通过 SciFinder 数据库进行检索, 查出可能的化学结构和对应的化合物。1 到 14 号峰, 再加上 29 号峰均为 Diels-Alder 加合物, 其余的峰为异戊烯基黄酮类化合物。

1 号峰, 保留时间为 1.46 min, 从图中的一级质谱信息可以看出 m/z 711 为 [M - H]⁻, 通过 Msslynx 4.1 软件计算出元素组成得出分子式为 $C_{40}H_{40}O_{12}$, 而二级质谱碎片信息中, m/z 693 为从分子离子上失去 1 个水分子 (H_2O), m/z 601 是失去 1 个 $C_6H_6O_2$, 从 SciFinder 数据库检索并对比碎片离子峰, 鉴定出 1 号峰的化合物为桑根酮 T^[8]。

2 号峰, 保留时间为 1.85 min, 一级质谱离子 m/z 579 为 [M - H]⁻, 计算出元素组成得出分子式为 $C_{34}H_{28}O_9$, 再看二级质谱碎片信息, m/z 469 是从分子离子上失去 1 个 $C_6H_6O_2$, m/z 451 是失去 1 个 $C_6H_6O_2$ 和 1 个水分子, m/z 427 是失去 1 个 $C_6H_6O_2$, 1 个水分子 (H_2O) 和 1 个 C_3H_6 , 由于缺少对照品, 单从质谱峰难以区分和准确鉴定, 所以 2 号峰可能为桑呋喃素 C, 桑呋喃 C, 桑呋喃 J, australisine C 这 4 个化合物^[9], 并且它们互为同分异构体。

3 号峰和 5 号峰一级质谱信息为 m/z 707, 分别是桑根酮 C 和桑根酮 D 对照品, 两者互为同分异构体, 保留时间不一样, 但质谱峰以及二级质谱碎片离

子都一样, 同时碎片为 m/z 353 的分子离子是从 A 环上的 6 号位断裂而成。

7, 9, 10 号峰一级质谱信息为 m/z 691, 二级质谱中有 6 个主要的碎片离子, m/z 673 为分子离子失去 1 个水分子, m/z 581 是失去 1 个间苯二酚, m/z 515 是在 m/z 581 的基础上再失去 1 个水分子和 1 个二氧化碳分子, 而 m/z 471 是在 m/z 581 的基础上再失去 1 个间苯二酚。经过查阅文献, 并通过 SciFinder 数据库进行检索^[10-11], 可能是 4 种化合物, 因为它们互为同分异构体, 而且缺少对照品对照, 所以 7, 9, 10 号峰可能是桑黄酮 G, 桑黄酮 K, wittorumiin C, multicaulisin。裂解途径见图 2 (使用桑黄酮 G 作代表)。8 号和 11 号峰 m/z 693, 二级碎片 m/z 583 是分子离子失去 1 个间苯二酚, m/z 581, 539, 471 是 583 基础上分别失去了 1 个 H_2 中性离子, 1 个 CO_2 中性离子和 1 个间苯二酚。由于缺少文献的对照, 桑根酮 G 和桑黄酮 O 互为同分异构体^[12], 无法准确判定峰所对应的化合物。

14 号峰 m/z 761, 二级碎片 m/z 759 失去 1 个 H_2 中性离子, m/z 649 失去了 1 个 H_2 中性离子和 1 个间苯二酚, m/z 539 为在 649 基础上再失去 1 个间苯二酚, m/z 581 是原分子离子失去 1 个异戊烯基和 1 个间苯二酚, 而 m/z 359 则是在 581 基础上再失去 2 个间苯二酚, 即分子结构中所有的间苯二酚

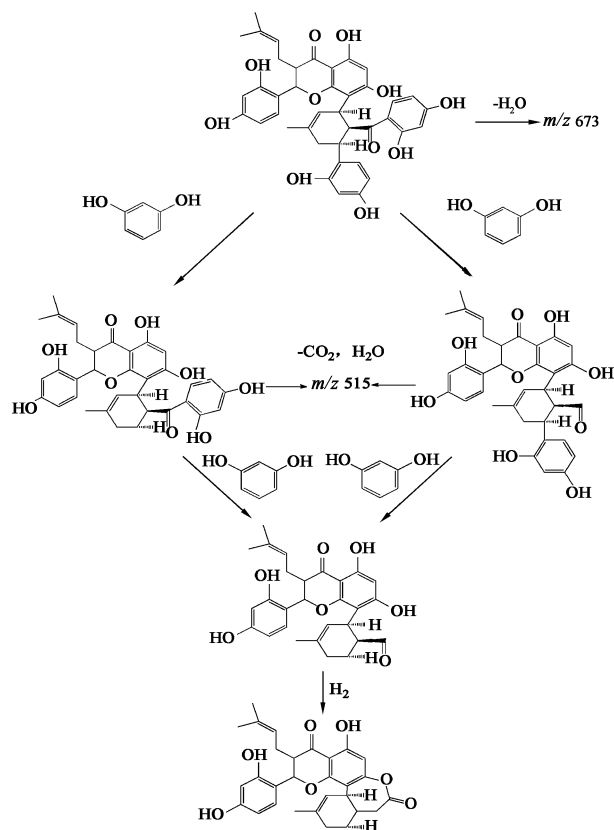


图 2 桑黄酮 G 裂解
Fig 2 Fragmentation of kuwanon G

都发生裂解, 经过查阅文献以及 SciFinder 数据库^[13], 鉴定此化合物为桑根酮醇 M。

16 和 20 号峰都是 m/z 419, 对比桑辛素标的保留时间, 确定 20 号峰是桑辛素, m/z 309 是失去 B 环(间苯二酚), m/z 349 是失去 C 环上的异戊烯基, m/z 249 则是同时失去以上两者, 同理可鉴别 16 号峰, 但由于产生特征碎片 m/z 363, 即失去 C_4H_8 , 在环桑素上存在 2 个异戊烯基, 其中在 A 环 3 号位上的异戊烯基与 B 环 6' 位形成环氧环, 从而可以失去异丁烯, 因此鉴定 16 号峰为环桑素^[14]。

17, 18, 19, 21, 22 号峰一级质谱均显示为 m/z 421, 从 SciFinder 数据库中可以找到共有 9 种桑属的异戊烯基黄酮类化合物。根据二级碎片信息显示, 只有 17, 19, 22 号峰产生了 m/z 311 的碎片, 由于失去黄酮上的 B 环(间苯二酚), 并且 B 环上没有其他的官能团, 所以 17, 19, 20 号峰相对分子质量均一样, 经查阅文献, 这 3 个峰的化合物可能为桑酮醇 C, albanin E, 桑根酮醇 L, 桑黄酮 C 的其中 3 个(四者互为同分异构体), 同时 19 号峰上产生 m/z 251, 即在 m/z 311 的基础上再失去 1 个异戊烯(C_5H_{10})。通过对比四者结构, 这 4 个当中, 只有桑黄酮 C 的异戊烯基没有连接在 B 环上, 所以判定 19 号峰是桑

黄酮 C^[15-16]。裂解途径见图 3。

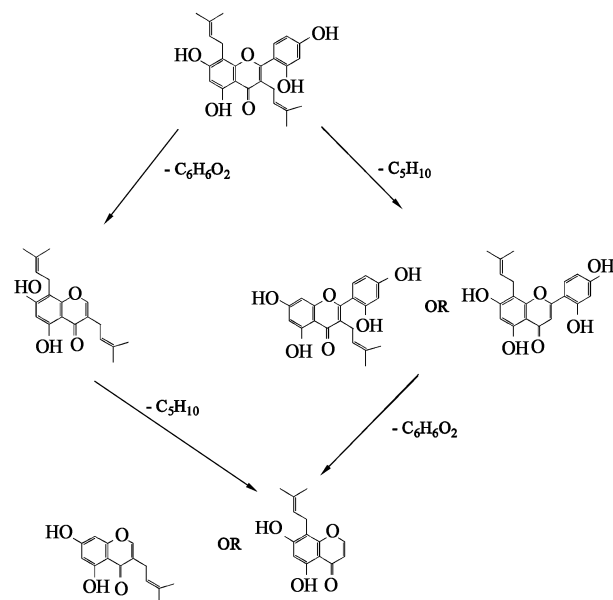


图 3 桑黄酮 C 裂解
Fig. 3 Fragmentation of kuwanon C

本实验应用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对桑白皮总黄酮提取物进行快速分析, 成功分离和鉴定出 7 个 Diels-Alder 加合物, 和 6 个异戊烯基黄酮类化合物, 共 13 个化合物。首次发现了桑白皮总黄酮提取物中的化合物在 ESI 源中脱去 H_2 和 H_2O 的现象, 但是桑白皮总黄酮提取物中的成分繁多, 由于缺少相应的对照品, 有部分化合物的鉴定尚需进一步的验证。综上所述, 本文可在 9 min 内分离鉴定出 13 种化合物, 节约了分析时间, 也避免了有效成分变质。初步探讨了桑白皮总黄酮提取物中主要成分的二级裂解规律, 并总结了主要成分的碎片离子, 为桑白皮总黄酮提取物的成分鉴定提供了一个快速、简便、可靠的方法。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 298.
[2] 吴志平, 谈建中, 顾振纶. 中药桑白皮化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(5): 10-16
[3] Oikonomakos N G, Tiraidis C, Leonidas D D, et al. Iminosugars as potential inhibitors of glycogenolysis: structural insights into the molecular basis of glycogen phosphorylase inhibition[J]. J Med Chem, 2006, 49(19): 5687-5701.
[4] Lee J J, YANG H, Yoo Y M, et al. Morusinol extracted from *Morus alba* inhibits arterial thrombosis and modulates platelet activation for the treatment of

- cardiovascular disease [J]. *J Atherosclerosis Thrombo*, 2012, 19(6):516-522.
- [5] 蒋昊, 徐立, 刘峻池, 等. 药桑的生物活性成分及药理作用研究进展 [J]. *蚕业科学*, 2011, 37(1): 98-104.
- [6] Dat N T, Binh P T, Quynh le T P, et al. Sanggenon C and O inhibit NO production, iNOS expression and NF- κ B activation in LPS-induced RAW264.7 cells [J]. *Immunopharm Immunot*, 2012, 34(1):84-88.
- [7] 张尧, 俸婷婷, 赵致, 等. 桑白皮化学成分研究 [J]. *中药材*, 2013, 36(7):1101-1103.
- [8] ZHENG Z P, TAN H Y, WANG M. Tyrosinase inhibition constituents from the roots of *Morus australis* [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(6):1008-1013.
- [9] QIN J, FAN M, HE J, et al. New cytotoxic and anti-inflammatory compounds isolated from *Morus alba* L. [J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29(18):1-8.
- [10] KANG K B, DONG Y L, Kim T B, et al. Prediction of tyrosinase inhibitory activities of *Morus alba*, root bark extracts from HPLC fingerprints [J]. *Microchem J*, 2013, 110(9):731-738.
- [11] Ferrari F, Delle Monache F, Suarez A I, et al. Multicaulisin, a new Diels-Alder type adduct from *Morus multicaulis* [J]. *Fitoterapia*, 2000, 71(2):213-215.
- [12] CUI L, Hyun-Sun L, Won-Keun O H, et al. Inhibition of sanggenon G isolated from *Morus alba* on the metastasis of cancer cell [J]. *Chin Herbal Med*, 2011, 3(1):23-16.
- [13] 崔锡强. 滇桑、蚕沙化学成分及生物活性的研究 [D]. 北京:中国协和医科大学,北京协和医学院清华大学医学部中国医学科学院, 2008.
- [14] Dat N T, Binh P T X, Le T P Q, et al. Cytotoxic prenylated flavonoids from *Morus alba* [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(8):1224-1227.
- [15] ZHANG Y, LUO J, WAN C, et al. Four new flavonoids with α -glucosidase inhibitory activities from *Morus alba* var. *tatarica* [J]. *Chem Biodivers*, 2015, 12(11): 1768-1776.
- [16] Jeong J Y, LIU Q, Kim S B, et al. Characterization of melanogenesis inhibitory constituents of *Morus alba* leaves and optimization of extraction conditions using response surface methodology [J]. *Molecules*, 2015, 20(5):8730-8741.

[责任编辑 顾雪竹]

欢迎订阅《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中华中医药学会、中国中医科学院中药研究所主办的学术刊物。本刊创建于1995年10月,主要设置栏目包括复方配伍专论、方剂学研究、药剂与炮制、资源与鉴定、化学分析、药物代谢、药理、毒理、临床、数据挖掘、中医传承及相关综述等。目前为CSCD来源期刊、中文核心期刊、科技核心期刊、RCCSE中国学术期刊排行榜核心期刊、美国《化学文摘》统计源期刊;并被评为中国中医药优秀期刊及中国学术期刊优秀期刊。

本刊为半月刊,16开本,234页,标准刊号ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价35元,全年840元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号2-417;国外由中国国际图书贸易集团有限公司办理发行,代号SM4655,欢迎订阅。读者还可通过本刊编辑部办理邮购,地址:北京市东城区东直门内南小街16号,收件人:《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编100700,Tel:(010)84076882,E-mail:syfxj_2010@188.com,网址:www.syfxjzz.com。