

基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术快速分析裂叶独活中香豆素类成分

顿珠次仁¹, 邓敏芝², 朱根华², 袁恩², 张雪冰婷², 严志宏²(1. 西藏藏医药大学, 西藏 拉萨 850000; 2. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004)

摘要: **目的** 以超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱联用(UHPLC-Q-TOF/MS)技术建立裂叶独活中香豆素类化学成分的快速定性分析方法。**方法** 采用 Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 以 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)为流动相, 梯度洗脱; 流速: 0.25 mL·min⁻¹; 柱温: 40 °C; 进样量: 2 μL。采用电喷雾离子源正离子 TOF MS 全扫结合 IDA-MS² 扫描模式收集样品质谱数据。应用 PeakView 软件中 Xic Manager、Formula Finder 等模块分析计算, 并根据对照品裂解规律、相关文献和各色谱峰的二级碎片离子, 鉴定裂叶独活中香豆素类化合物。**结果** 从裂叶独活中共鉴定出 34 个香豆素类化合物, 其中 29 个为该植物相关文献的首次报道。**结论** 裂叶独活中不同类型香豆素具有独特的裂解规律。所建立的裂叶独活香豆素类化学成分定性分析的方法准确、可靠、高效, 适用于香豆素类成分快速鉴定, 可为裂叶独活成分及其药效物质基础研究提供参考。

关键词: 裂叶独活; 超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱联用; 香豆素; 化学成分

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2022)01-0105-10

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2022.01.015

Analysis of Chemical Constituents of Coumarins in *Heraeleum millefolium* by UPLC-Q-TOF-MS

DUNZHU Ciren¹, DENG Minzhi², ZHU Genhua², YUAN En², ZHANG Xuebingting², YAN Zhihong²(1. Tibetan Traditional Medical College, Lhasa 850000 Tibetan, China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China)

Abstract: Objective To establish a rapid qualitative analysis method for coumarin in *Heraeleum millefolium* by using UPLC-Q-TOF-MS. **Methods** The separation was performed on Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) column with gradient elution of 0.1% formic acid (A) - acetonitrile (B), The flow rate was 0.25 mL·min⁻¹, the column temperature was 40 °C, and the injection quantity was 2 μL. ESI positive ion mode was used for acquisition and detection, and the MS and MS/MS data were collected by full scanning and information dependent acquisition (IDA) mode, respectively. The coumarin compounds in *H. millefolium* were identified by using PeakView software, combined with the fragmentation behaviors of standard compounds, related references, and the fragment ions of each chromatographic peak. **Results** A total of 34 coumarin compounds in *H. millefolium* were identified, among them, 29 coumarins were reported from this plant for the first time. **Conclusion** Different types of coumarins in *H. millefolium* showed unique fragmentation patterns. The method of qualitative analysis of coumarins in *H. millefolium* established in this study is accurate, reliable and efficient, which is suitable for rapid identification of coumarins, and provides an experimental basis for the research on the ingredients of *H. millefolium* and the subsequent elucidation of its medicinal material basis.

Keywords: *Heraeleum millefolium*; UPLC-Q-TOF-MS; coumarins; chemical constituents

收稿日期: 2021-06-24

作者简介: 顿珠次仁, 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 藏药质量标准与成分分析。Email: 17604580@qq.com。通信作者: 严志宏, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 中药精油成分分析。Email: yanzhihong03@126.com。

基金项目: 2018 年度西藏自治区藏医药管理局局级科研课题(JJKT2018004)。

伞形科独活属植物裂叶独活 *Heracleum millefolium* Diels, 藏药名为巴木保, 别名千叶独活、藏当归, 主要分布于我国西藏地区海拔 3 800~5 000 m 的山坡草地、山顶或砂砾等区域, 是一种常用藏药, 味辛、苦, 微温, 民间用于祛风湿、止痛和治疗跌打劳伤等症^[1]。目前, 对裂叶独活的化学成分研究较少。饶高雄等^[2]采用硅胶柱层析法, 从裂叶独活和长裂叶独活中分离出 11 个化合物, 其中 6 个为香豆素类成分。严志宏等^[3]采用高速逆流色谱法从裂叶独活根部位分离出 3 个香豆素类成分, 同时发现这 3 种香豆素含量较高。香豆素类成分具有抗肿瘤^[4]、抗炎抗菌^[5]、抗氧化^[6]和镇痛^[7]等作用, 常作为中药鉴别和质量评价的指标成分。因此, 有必要对裂叶独活中香豆素类化合物进行全面的分析研究。超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用(UHPLC-Q-TOF-MS)技术将液相的高分离度与质谱的高灵敏、高分辨等优势相结合, 具有快速且强大的结构表征能力, 已在复杂中药化学成分快速分离和鉴定中得到了广泛的运用^[8]。本实验采用 UHPLC-Q-TOF-MS 技术对裂叶独活醇提液中的香豆素类成分进行定性分析, 以期对裂叶独活的物质基础研究提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器 TripleTOF 5600 型高分辨质谱仪(美国 SCIEX 公司); LC-30AD 型超高效液相色谱仪(日本岛津公司); TGL-16B 型低温高速离心机(上海安亭科学仪器公司); BT-125D 型电子天平(德国 Sartorius 公司); SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂); Milli-Q-Synthesis 超纯水纯化系统(美国 Millipore 公司); KQ-3200DE 型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司); DZTW 调温电热套(北京市永光明医疗仪器有限公司)。

1.2 试剂与材料 补骨脂素(批号: FY1031B1332)、东莨菪内酯(批号: FY1155B4449)、佛手柑内酯(批号: FY1232B1304)、欧前胡素(批号: FY1495B1859)、蛇床子素(批号: 110822-201308)、氧化前胡素(FY2856B1050)、二氢欧山芹醇当归酸酯(批号: FY1223B2424)对照品, 购自中国食品药品检定研究院和南通飞宇生物科技有限公司; 水为超纯水; 质谱级甲醇、乙腈(美国 ACS 恩科化学有限公司); 质谱级甲酸(美国 Thermo Fisher 公司); 其他试剂均为分析纯; 裂叶独活药材采购于西藏山南地区贡嘎县岗堆镇, 由江西中医药大学药学院龚千锋教授鉴定为伞形科独活属植物裂叶独活(*H. millefolium* Diels 的全草)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 采用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~23 min, 5%~25% B; 23~30 min, 25%~40% B; 30~45 min, 40%~65% B; 45~65 min, 65%~95% B; 65~67 min, 95% B; 67~67.1 min, 95%~5% B; 67.1~70 min, 5% B); 柱温: 40 °C; 进样量: 2 μL; 流速: 0.25 mL·min⁻¹。

2.2 质谱条件 采用 ESI 电喷雾离子源, 正离子模式检测。质量扫描范围(*m/z*): 100~1 500, 喷雾电压(ISVF) 5.5 kV, 离子源温度(TEM) 500 °C, 去簇电压(DP) 100 V, 碰撞能量(CE) 45 V, 碰撞能量叠加(CES) 15 V, 气帘气压力(CUR) 275.8 kPa, 雾化气(GS1)和辅助气(GS2)压力均为 344.8 kPa, 数据采集时间 55 min, 采用 TOF-MS-IDA-MS/MS 方式采集数据。IDA 设置响应值超过 100 cps 的 6 个最高峰进行二级质谱扫描, 子离子扫描范围(*m/z*): 50~1 250。满足该条件的优先进行二级扫描, 开启动态背景扣除(DBS)。

2.3 溶液配制

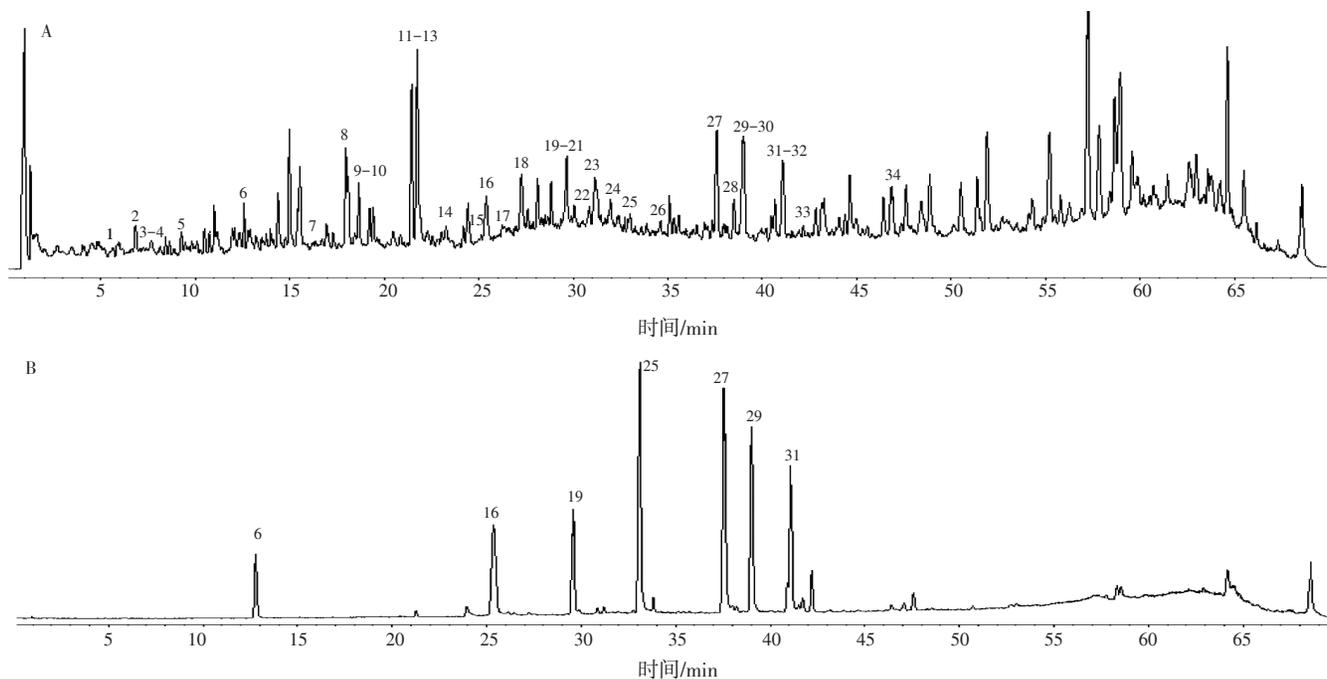
2.3.1 供试品溶液的配制 裂叶独活药材粉碎, 过 80 目筛, 精密称取 5 g, 加入 70% 乙醇溶液(料液比为 1:12)浸泡 30 min, 超声提取(50 °C, 600 W, 20 kHz) 2 h, 过滤; 取上清液 1 mL 于 2 mL 离心管内, 放入高速离心机中以 13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min (离心半径 8.5 cm); 离心后取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 置于 1.5 mL 液相瓶内, 即得供试品溶液。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素、东莨菪内酯、佛手柑内酯、欧前胡素、蛇床子素、氧化前胡素、二氢欧山芹醇当归酸酯对照品各 1 mg, 分别置于 2 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度。摇匀后取对照品溶液各 100 μL 移入 2 mL 离心管内, 并稀释至澄清; 放入高速离心机中以 13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min (离心半径 8.5 cm); 离心后取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 置于 1.5 mL 液相瓶内, 即得各浓度均为 10 μg·mL⁻¹ 的香豆素混合对照品溶液。

2.4 裂叶独活醇提液香豆素类成分的鉴定结果 将裂叶独活供试品和香豆素混合对照品溶液按“2.1”“2.2”项下条件进行分析, 得到裂叶独活和对照品正离子模式下的总离子流图, 见图 1。结合国内外裂叶独活成分相关研究, 借助 Scifinder、Reaxys 和 ChemSpider 数据库, 收集整理出裂叶独活各类香豆素类成分。采用 PeakView 1.2 软件的 XIC Manager 目

标物筛查功能, 根据加合离子[M+H]⁺初步筛选出质量偏差小于5×10⁻⁶的香豆素类成分, 并获取符合条件的准分子离子的二级碎片信息, 结合对照品裂解规

律及文献进一步比对, 鉴定出34个香豆素类化合物。结果见表1。



A. 裂叶独活醇提取物; B. 香豆素混合对照品。6. 东莨菪内酯; 16. 补骨脂素; 19. 佛手柑内酯; 25. 氧化前胡素; 27. 欧前胡素; 29. 蛇床子素; 31. 二氢欧山芹醇当归酸酯

图1 裂叶独活醇提取物与对照品的总离子流图

Figure 1 TIC of alcohol extract of *H. millefolium* Diels and reference substances

表1 裂叶独活醇提取液香豆素类化学成分的鉴定结果

Table 1 Identification of coumarins in alcohol extract of *H. millefolium* Diels

峰号	t _R /min	精确质量	实测值	质量误差(×10 ⁻⁶)	分子式	二级质谱	化合物名称
1	5.64	325.091 79	325.091 25	-1.7	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	163[M+H-Glc] ⁺ , 145[M+H-Glc-H ₂ O] ⁺ , 135[M+H-Glc-CO] ⁺ , 107[M+H-2CO] ⁺	茵芋苷*
2	6.83	163.038 97	163.038 81	-1	C ₉ H ₆ O ₃	145[M+H-H ₂ O] ⁺ , 135[M+H-CO] ⁺ , 117[M+H-CO-H ₂ O] ⁺ , 107[M+H-2CO] ⁺	伞形花内酯*
3	7.21	193.049 54	193.049 01	-2.7	C ₁₀ H ₈ O ₄	178[M+H-CH ₃] ⁺ , 150[M+H-CH ₃ -CO] ⁺ , 133[M+H-CH ₃ OH-CO] ⁺ , 122[M+H-CH ₃ -2CO] ⁺	5-羟基-7-甲氧基香豆素*
4	7.36	179.033 9	179.033 2	-4	C ₉ H ₆ O ₄	151[M+H-CO] ⁺ , 133[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 123[M+H-2CO] ⁺ , 77[M+H-H ₂ O-3CO] ⁺	6,7-二羟基香豆素*
5	9.83	355.102 4	355.101 7	-1.8	C ₁₆ H ₁₈ O ₅	193[M+H-Glc] ⁺ , 178[M+H-Glc-CH ₃] ⁺ , 150[M+H-Glc-CH ₃ -CO] ⁺ , 133[M+H-Glc-CH ₃ OH-CO] ⁺	东莨菪苷*
6	12.82	193.049 5	193.049 0	-2.8	C ₁₀ H ₈ O ₄	178[M+H-CH ₃] ⁺ , 150[M+H-CH ₃ -CO] ⁺ , 133[M+H-CH ₃ OH-CO] ⁺ , 122[M+H-CH ₃ -2CO] ⁺	东莨菪内酯*
7	16.44	409.149 3	409.148 4	-2.2	C ₂₀ H ₂₀ O ₆	247[M+H-Glc] ⁺ , 229[M+H-Glc-H ₂ O] ⁺ , 175[M+H-Glc-H ₂ O-C ₄ H ₈] ⁺ , 147[M+H-Glc-H ₂ O-C ₄ H ₈ -CO] ⁺	紫花前胡苷*
8	17.82	247.096 5	247.096 2	-1.3	C ₁₄ H ₁₆ O ₄	229[M+H-H ₂ O] ⁺ , 175[M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈] ⁺ , 147[M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈ -CO] ⁺ , 131[M+H-H ₂ O-CH ₂ -C ₄ H ₈ -2CO] ⁺	二氢山芹醇*
9	18.09	203.033 9	203.033 4	-2.6	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	175[M+H-CO] ⁺ , 159[M+H-CO ₂] ⁺ , 147[M+H-2CO] ⁺ , 131[M+H-CO ₂ -CO] ⁺	佛手酚*
10	18.09	287.091 4	287.091 2	-0.6	C ₁₆ H ₁₆ O ₅	269[M+H-H ₂ O] ⁺ , 203[M+H-C ₃ H ₆ O] ⁺ , 175[M+H-C ₃ H ₆ O-CO] ⁺ , 131[M+H-C ₃ H ₆ O-CO-CO ₂] ⁺	栓翅芹烯醇*
11	21.44	279.122 7	279.122 0	-2.5	C ₁₅ H ₁₆ O ₅	243[M+H-H ₂ O] ⁺ , 189[M+H-C ₄ H ₈ O ₂] ⁺ , 131[M+H-C ₄ H ₈ O ₂ -CH ₂ O-CO] ⁺ , 103[M+H-C ₄ H ₈ O ₂ -CH ₂ O-2CO] ⁺	白花前胡醇*
12	21.74	203.033 9	203.033 3	-3.1	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	185[M+H-H ₂ O] ⁺ , 175[M+H-CO] ⁺ , 159[M+H-CO ₂] ⁺ , 147[M+H-2CO] ⁺	花椒毒醇*
13	21.74	305.102 0	305.101 5	-1.7	C ₁₆ H ₁₆ O ₆	269[M+H-H ₂ O] ⁺ , 203[M+H-C ₃ H ₆ O ₂] ⁺ , 175[M+H-C ₃ H ₆ O ₂ -CO] ⁺ , 159[M+H-C ₃ H ₆ O ₂ -CO ₂] ⁺	水合氧化前胡素*
14	23.89	247.096 5	247.095 9	-2.5	C ₁₄ H ₁₆ O ₄	229[M+H-H ₂ O] ⁺ , 213[M+H-H ₂ O-CH ₂] ⁺ , 175[M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈] ⁺ , 147[M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈ -CO] ⁺	异紫花前胡内酯*
15	25.15	317.102 0	317.101 5	-1.5	C ₁₇ H ₁₈ O ₆	233[M+H-C ₄ H ₈ O] ⁺ , 218[M+H-C ₄ H ₈ O-CH ₃] ⁺ , 190[M+H-C ₄ H ₈ O-CH ₃ -CO] ⁺ , 162[M+H-C ₄ H ₈ O-CH ₃ -2CO] ⁺	白当归醇*
16	25.39	187.039 0	187.038 6	-2.1	C ₁₁ H ₁₀ O ₃	159[M+H-CO] ⁺ , 143[M+H-CO ₂] ⁺ , 131[M+H-2CO] ⁺ , 115[M+H-CO ₂ -CO] ⁺	补骨脂素*
17	26.51	187.039 0	187.038 5	-2.7	C ₁₁ H ₁₀ O ₃	159[M+H-CO] ⁺ , 143[M+H-CO ₂] ⁺ , 131[M+H-2CO] ⁺ , 115[M+H-CO ₂ -CO] ⁺	异补骨脂素*
18	27.26	217.049 5	217.049 2	-1.6	C ₁₃ H ₁₄ O ₄	202[M+H-CH ₃] ⁺ , 174[M+H-CH ₃ -CO] ⁺ , 161[M+H-2CO] ⁺ , 146[M+H-CH ₃ -2CO] ⁺	花椒毒素*
19	29.58	217.049 5	217.049 0	-2.3	C ₁₃ H ₁₄ O ₄	202[M+H-CH ₃] ⁺ , 174[M+H-CH ₃ -CO] ⁺ , 161[M+H-2CO] ⁺ , 146[M+H-CH ₃ -2CO] ⁺	佛手柑内酯

(续表 1)

峰号	t_R /min	精确质量	实测值	质量误差($\times 10^{-6}$)	分子式	二级质谱	化合物名称
20	29.66	287.091 4	287.091 0	-1.4	$C_{16}H_{16}O_3$	$203[M+H-C_3H_6O]^+$, $185[M+H-C_3H_6O-H_2O]^+$, $175[M+H-C_3H_6O-CO]^+$, $159[M+H-C_3H_6O-CO_2]^+$	栓翅芹内酯*
21	29.93	247.060 1	247.059 7	-1.5	$C_{13}H_{16}O_3$	$232[M+H-CH_3]^+$, $217[M+H-2CH_3]^+$, $189[M+H-2CH_3-CO]^+$, $161[M+H-2CH_3-2CO]^+$	异茴芹内酯
22	31.12	261.112 1	261.111 8	-1.3	$C_{15}H_{16}O_3$	$243[M+H-H_2O]^+$, $189[M+H-C_3H_6O]^+$, $131[M+H-C_3H_6O-CH_2O-CO]^+$, $103[M+H-C_3H_6O-CH_2O-2CO]^+$	Suberenol*
23	31.18	217.049 5	217.048 9	-2.8	$C_{12}H_{16}O_3$	$202[M+H-CH_3]^+$, $174[M+H-CH_3-CO]^+$, $161[M+H-2CO]^+$, $146[M+H-CH_3-2CO]^+$	异佛手柑内酯
24	31.99	287.091 4	287.091 2	-0.8	$C_{16}H_{16}O_3$	$203[M+H-C_3H_6O]^+$, $185[M+H-C_3H_6O-H_2O]^+$, $175[M+H-C_3H_6O-CO]^+$, $159[M+H-C_3H_6O-CO_2]^+$	异氧化前胡内酯*
25	32.99	287.091 4	287.090 9	-1.9	$C_{16}H_{16}O_3$	$203[M+H-C_3H_6O]^+$, $185[M+H-C_3H_6O-H_2O]^+$, $175[M+H-C_3H_6O-CO]^+$, $159[M+H-C_3H_6O-CO_2]^+$	氧化前胡素*
26	34.58	231.101 6	231.101 0	-2.3	$C_{14}H_{16}O_3$	$175[M+H-C_3H_6O]^+$, $147[M+H-C_3H_6O-CO]^+$, $131[M+H-C_3H_6O-CO_2]^+$, $119[M+H-C_3H_6O-2CO]^+$	欧前胡素*
27	37.57	271.096 5	271.096 2	-1	$C_{16}H_{16}O_3$	$203[M+H-C_3H_6O]^+$, $185[M+H-C_3H_6O-H_2O]^+$, $175[M+H-C_3H_6O-CO]^+$, $159[M+H-C_3H_6O-CO_2]^+$	欧前胡素*
28	38.92	301.107 1	301.106 7	-1.2	$C_{17}H_{16}O_3$	$233[M+H-C_3H_6O]^+$, $218[M+H-C_3H_6O-CH_3]^+$, $162[M+H-C_3H_6O-CH_3-2CO]^+$, $134[M+H-C_3H_6O-CH_3-3CO]^+$	珊瑚菜素*
29	39.03	245.117 2	245.117 0	-1	$C_{15}H_{16}O_3$	$189[M+H-C_3H_6O]^+$, $159[M+H-C_3H_6O-CH_2O]^+$, $131[M+H-C_3H_6O-CH_2O-CO]^+$, $103[M+H-C_3H_6O-CH_2O-2CO]^+$	蛇床子素
30	39.43	271.096 5	271.096 1	-1.5	$C_{16}H_{16}O_3$	$203[M+H-C_3H_6O]^+$, $175[M+H-C_3H_6O-CO]^+$, $159[M+H-C_3H_6O-CO_2]^+$, $147[M+H-C_3H_6O-2CO]^+$	别异欧前胡素*
31	41.1	329.138 4	329.137 9	-1.3	$C_{19}H_{20}O_3$	$229[M+H-C_3H_6O]^+$, $214[M+H-C_3H_6O-CH_3]^+$, $175[M+H-C_3H_6O-C_3H_6O]^+$, $131[M+H-C_3H_6O-CH_2-C_3H_6O-2CO]^+$	二氢欧山芹醇当归酸酯
32	41.11	229.085 9	229.085 7	-0.9	$C_{14}H_{16}O_3$	$214[M+H-CH_3]^+$, $213[M+H-CH_3]^+$, $175[M+H-C_3H_6O]^+$, $131[M+H-CH_2-C_3H_6O-2CO]^+$	川白芷素*
33	42.18	271.096 5	271.096 1	-1.4	$C_{16}H_{16}O_3$	$203[M+H-C_3H_6O]^+$, $175[M+H-C_3H_6O-CO]^+$, $159[M+H-C_3H_6O-CO_2]^+$, $147[M+H-C_3H_6O-2CO]^+$	异欧前胡素*
34	47.61	339.159 1	339.158 8	-1	$C_{21}H_{22}O_3$	$203[M+H-2C_3H_6O]^+$, $175[M+H-2C_3H_6O-CO]^+$, $159[M+H-2C_3H_6O-CO_2]^+$, $147[M+H-2C_3H_6O-2CO]^+$	佛手柑素*

注: *为首次从该植物中发现

2.5 香豆素类对照品质谱裂解规律 裂叶独活中香豆素结构类型主要有简单香豆素(I型)、呋喃香豆素(II型)和二氢呋喃香豆素(III型)等。取代基主要有羟基、甲氧基、羟异丙基、异戊烯基、变形异戊烯基以及后两者与香豆素形成的醚等^[2-3]。因此,本实验分别选择东莨菪内酯、补骨脂素、佛手柑内酯、氧化前胡素、欧前胡素、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯等7个不同类型的香豆素对照品,探讨和总结这3类香豆素质谱裂解规律。

2.5.1 简单香豆素(I型)裂解规律 简单香豆素是由苯骈 α -吡喃酮基本母核和羟基、甲氧基或异戊烯基等取代基组成,取代基位置主要在C₆、C₇或C₈位。其主要裂解方式是先根据取代基不同,失去特有的取代基,然后再连续中性丢失吡喃环上的2分子CO,苯环上有羟基取代的,则多失去1分子CO,直至氧原子全部丢失为止。若取代基为甲氧基和羟基,以对照品东莨菪内酯(峰6, $t_R=12.82$ min)为

例,准分子离子峰为 m/z 193.049 0[M+H]⁺,首先脱去甲基自由基或CH₃O产生 m/z 178[M+H-CH₃]⁺和 m/z 161[M+H-CH₃O]⁺两个特征二级碎片离子,它们再分别连续丢失2分子CO形成碎片离子 m/z 150、122和 m/z 133、105,而碎片离子 m/z 122苯环上有羟基取代,再失去1分子CO产生碎片离子 m/z 94。东莨菪内酯裂解途径见图2。若取代基为异戊烯基,以蛇床子素(峰29, $t_R=39.03$ min)为例,准分子离子峰为 m/z 245.117 0[M+H]⁺,首先发生苯基裂解脱去异丁烯基(C₄H₈, $\Delta m=56$)产生碎片离子 m/z 189[M+H-C₄H₈]⁺,该碎片离子先后发生甲氧基断裂并脱去吡喃环上1分子CO产生高丰度特征碎片离子 m/z 131,再脱去1分子CO形成碎片离子 m/z 103。蛇床子素裂解途径见图3。

2.5.2 呋喃香豆素(II型)裂解规律 呋喃香豆素是由苯骈 α -吡喃酮基本母核的C₇位羟基与C₆或C₈位异戊烯基缩合而形成的6,7-呋喃香豆素型(线型)和

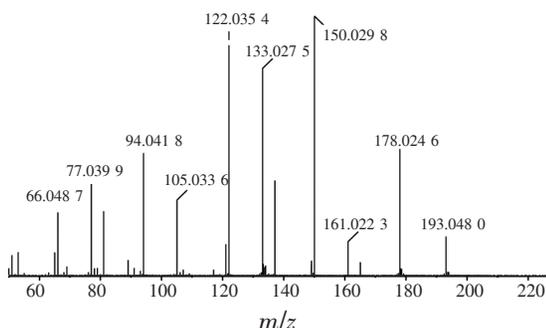
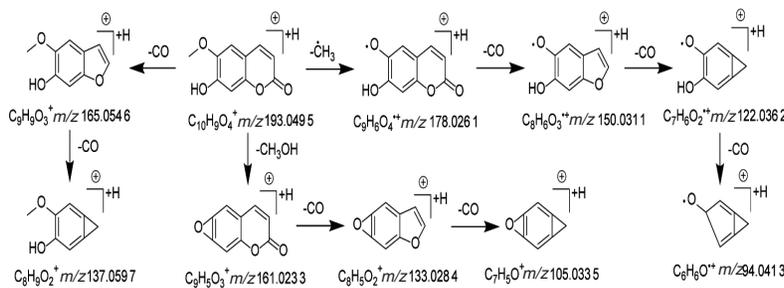


图2 东莨菪内酯质谱裂解途径
Figure 2 Fragmentation pathways of scopoletin



7, 8-呋喃骈香豆素型(角型)化合物, 这两种构型的呋喃香豆素质谱裂解无明显区别。取代基主要为羟基、甲氧基或异戊烯氧基等, 取代位置主要在 C₅ 位和 C₈ 位, 少数在 C₄ 位也有取代, 呋喃香豆素基本裂解方式与简单香豆素基本相同, 不同之处在于这类香豆素 C₆ 和 C₇ 位多骈一个呋喃环, 裂解过程中一方面比简单香豆素多脱去呋喃环上的 1 分子 CO, 另一方面也可直接脱去吡喃环上 1 分子 CO₂, 产生相应的特征碎片离子。

首先, 以不含侧链取代基的补骨脂素(峰 16, t_R=25.39 min)为例, 准分子离子峰为 m/z 187.038 6[M+H]⁺, 可连续脱去吡喃环和呋喃环上的 1 分子、2 分子和 3 分子 CO 产生碎片离子 m/z 159 [M+H-CO]⁺、m/z 131 [M+H-2CO]⁺和 m/z 103 [M+H-3CO]⁺; 也可直

接脱去吡喃环上的一分子 CO₂ 形成碎片离子 m/z 143 [M+H-CO₂]⁺, 再进一步脱去呋喃环上的一分子 CO 形成碎片离子 m/z 115 [M+H-CO₂-CO]⁺。补骨脂素裂解途径见图 4。

若取代基为甲氧基, 以 C₅ 位甲氧基取代的佛手柑内酯(峰 19, t_R=29.85 min)为例, 质谱给出的准分子离子峰为 m/z 217.049 0[M+H]⁺, 首先脱去一个甲基自由基, 产生碎片离子 m/z 202[M+H-CH₃]⁺, 该碎片离子再连续脱去 3 分子 CO 形成碎片离子 m/z 174、m/z 146 和 m/z 118; 也可直接先脱去 1 分子 CO₂ 产生碎片离子 m/z 173[M+H-CO₂]⁺, 此碎片离子再依次脱去 1 分子 CO、1 个亚甲基和 1 分子 CO, 分别产生碎片离子 m/z 145、m/z 131 和 m/z 103。佛手柑内酯裂解途径见图 5。

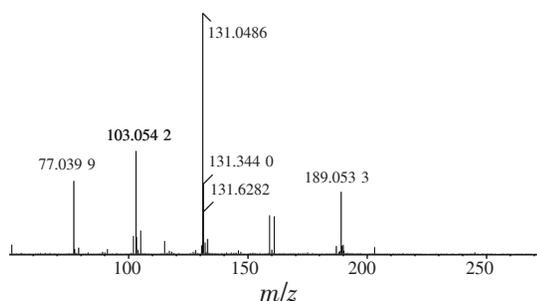


图 3 蛇床子素质谱裂解途径

Figure 3 Fragmentation pathways of osthole

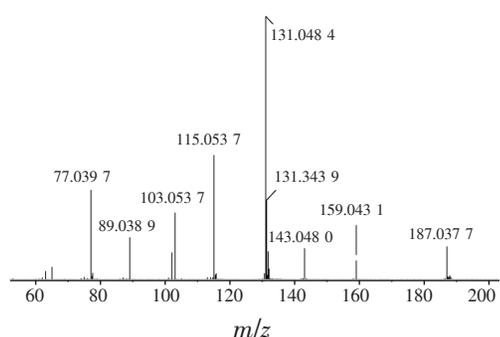
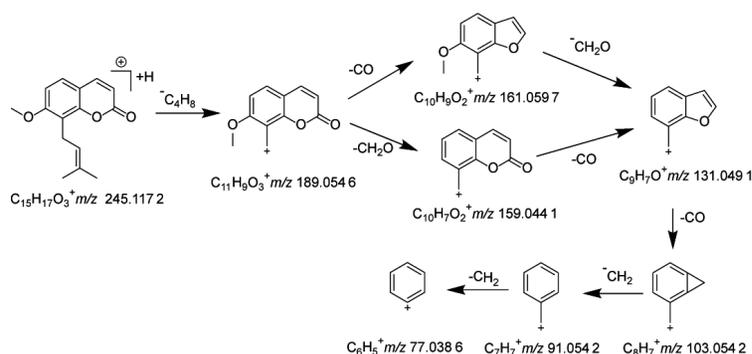


图 4 补骨脂素质谱裂解途径

Figure 4 Fragmentation pathways of psoralen

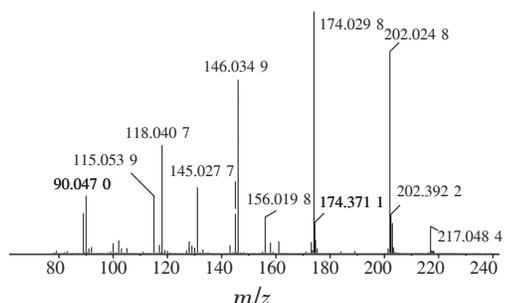
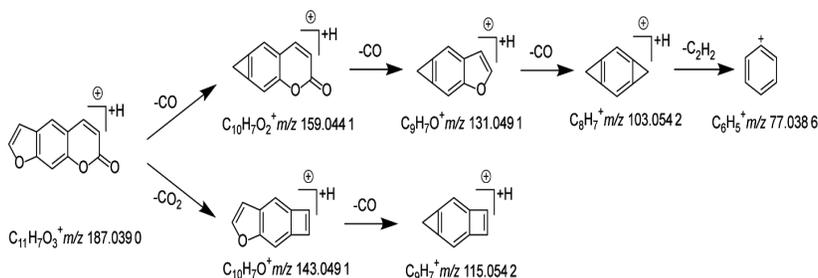
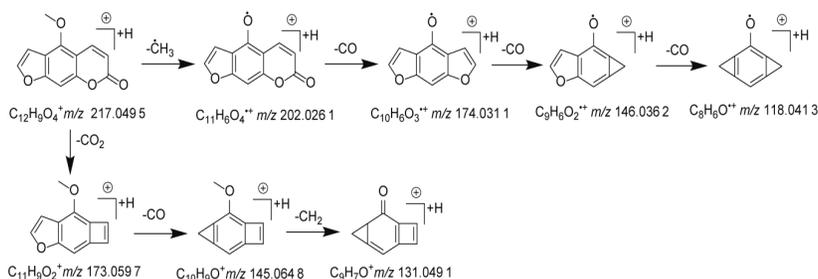


图 5 佛手柑内酯裂解途径

Figure 5 Fragmentation pathways of bergapten



若取代基为异戊烯氧基, 以 C8 位异戊烯取代的欧前胡素(峰 27, $t_R=37.57$ min)为例, 质谱给出的准分子离子峰为 m/z 271.096 2 $[M+H]^+$, 易发生烯丙基裂解, 使与氧相连的 β 键断裂脱去异戊烯基(C_5H_8 , $\Delta m=68$)形成碎片离子 m/z 203 $[M+H-C_5H_8]^+$, 此碎片离子也主要按照连续脱去 3 分子 CO 或先脱去 1 分子 CO_2 后再脱去 1 分子 CO 两条途径进一步裂解。另一条途径是 C8 位异戊烯基脱去后形成的 C8-OH 易脱去 1 分子 H_2O 产生碎片离子 m/z 185 $[M+H-C_5H_8-H_2O]^+$, 再连续脱去 3 分子 CO 产生 m/z 157、 m/z 129 和 m/z 101, 而碎片离子 m/z 69 是异戊烯基获得电子而形成。欧前胡素裂解途径见图 6。

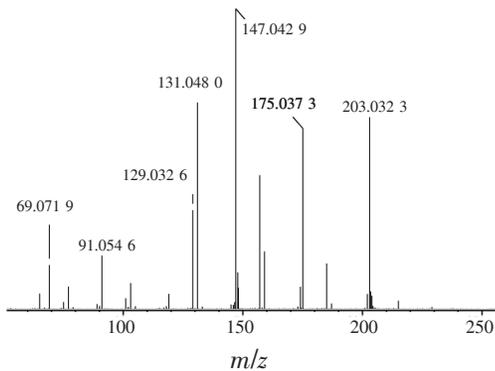


图 6 欧前胡素质谱裂解途径

Figure 6 Fragmentation pathways of imperatorin

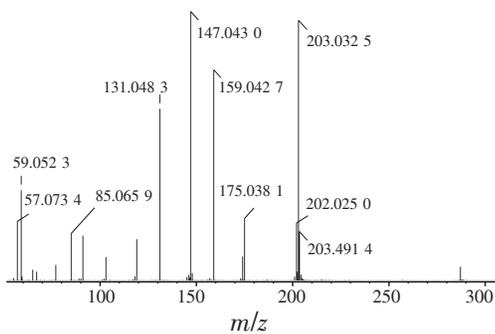
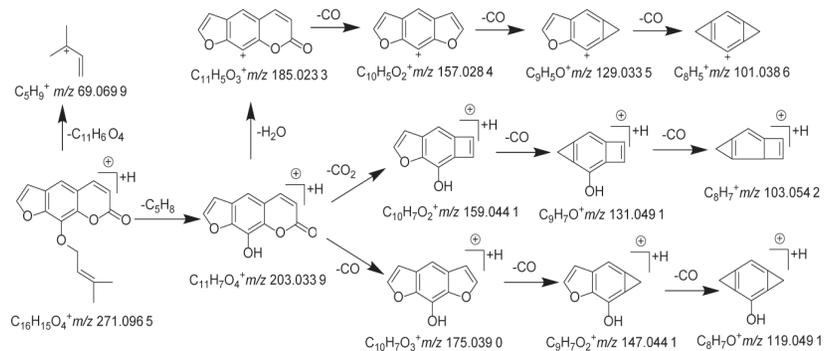
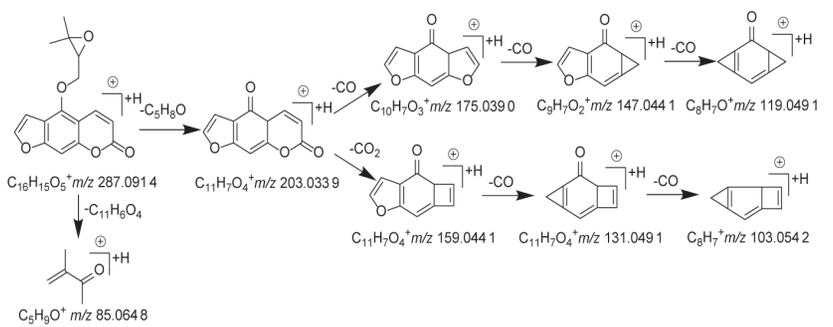


图 7 氧化前胡素二级质谱图和质谱裂解途径

Figure 7 Fragmentation pathways of oxypeucedanin



若取代基为环氧异戊烯氧基, 以 C5 位 1', 2'-环氧异戊烯氧基取代的氧化前胡素(峰 25, $t_R=32.99$ min)为例, 质谱给出的准分子离子峰为 m/z 287.091 1 $[M+H]^+$, C5 位取代基易发生氢重排, 中性丢失 1 分子 C_5H_8O 产生碎片离子 m/z 203 $[M+H-C_5H_8O]^+$, 该碎片离子与欧前胡素裂解产生的特征碎片离子 m/z 203 $[M+H-C_5H_8]^+$ 质荷比相同。但未观察到 m/z 203 脱水后产生的 m/z 185、 m/z 157 和 m/z 129 等碎片离子, 这与脱去取代基形成的 C5-OH 易发生氢重排与吡喃环上的氧原子形成更稳定的共轭羰基结构有关, 碎片离子 m/z 85 是环氧异戊烯氧基获得电子而形成。氧化前胡素裂解途径见图 7。

2.5.3 二氢呋喃香豆素(Ⅲ型)裂解规律 二氢呋喃香豆素类化合物中, 有一部分 C2 位羟异丙基取代的角型二氢呋喃香豆素类化合物质谱裂解具有独特规律。以二氢欧山芹醇当归酸酯(峰 31, $t_R=41.1$ min)为例, 质谱给出的准分子离子峰为 m/z 329.139 7 $[M+H]^+$, 易发生麦氏重排脱去当归酸形成碎片离子 m/z 229 $[M+H-C_8H_8O_2]^+$, 此碎片离子可按三条途径进一步裂解。主要裂解途径是先脱去一分子 CH_4 产生碎片

离子 m/z 213, 再脱去一分子 C_2H_2 后连续脱去两分子 CO 分别产生 m/z 187, m/z 159 和 m/z 131 三个碎片离子; 另一条途径是先苜基裂解脱去一分子 C_4H_6 产生苜基碎片离子 m/z 175, 再脱去一分子 CO 形成碎片离子 m/z 147; 也可直接脱去甲基自由基产生的碎片离子 m/z 214。二氢欧山芹醇当归酸酯裂解途径见图 8。

2.6 裂叶独活醇提液中香豆素类成分鉴定 根据 7 个

对照品质谱裂解规律，并结合不同质谱峰准分子离子、保留时间和二级碎片离子等信息，共从裂叶独活醇提液中鉴定出 34 种香豆素类成分，结构见图 9。

2.6.1 简单香豆素类成分鉴定

2.6.1.1 伞形花内酯、烟苧苷和 6,7-二羟基香豆素
 化合物 **2** 的 t_R 为 6.24 min，ESI⁺模式下给出的准分子离子峰为 m/z 163.038 8[M+H]⁺，二级质谱图呈现出的 m/z 145[M+H-H₂O]⁺提示结构中存在羟基，准分子离子连续脱去 2 分子 CO 形成碎片离子 m/z 135[M+H-CO]⁺和 m/z 117[M+H-2CO]⁺。另一个碎片离子 m/z 89 [M+H-H₂O-2CO]⁺是由准分子离子脱去 1 分子 H₂O 和 2 分子 CO 而产生。质谱元素组成计算得出分子式为 C₉H₆O₃，根据该化合物碎片离子，并结合文献报道^[9]，

鉴定其为伞形花内酯。化合物 **1** 的 t_R 为 5.64 min，ESI⁺模式下给出的准分子离子峰为 m/z 325.090 9[M+H]⁺，较伞形花内酯质量数多 162 Da，二级质谱图出现 m/z 163、145、117、89 等与伞形花内酯相同的碎片离子，故推测该化合物是由伞形花内酯 C₇-OH 上取代 1 分子六碳糖，文献报道^[10]香豆素常与葡萄糖和芹糖连接成糖苷，故鉴定其为烟苧苷。化合物 **4** 的 t_R 为 7.36 min，ESI⁺模式下给出的准分子离子峰为 m/z 179.033 2[M+H]⁺，质量数较伞形花内酯多 16 Da，碎片离子 m/z 151[M+H-CO]⁺， m/z 123[M+H-2CO]⁺是连续脱去 2 分子 CO 而产生，根据另两个碎片离子 m/z 133 [M+H-CO-H₂O]⁺和 m/z 77 [M+H-3CO-H₂O]⁺，推测该化合物较伞形花内酯多一个羟基，其中一个直

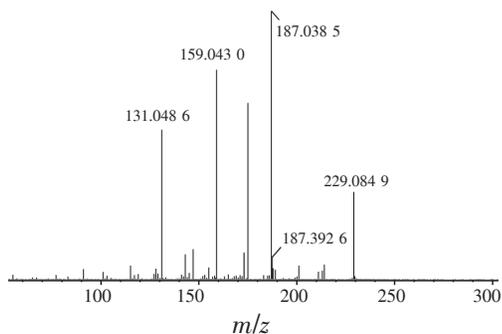
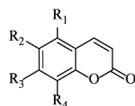
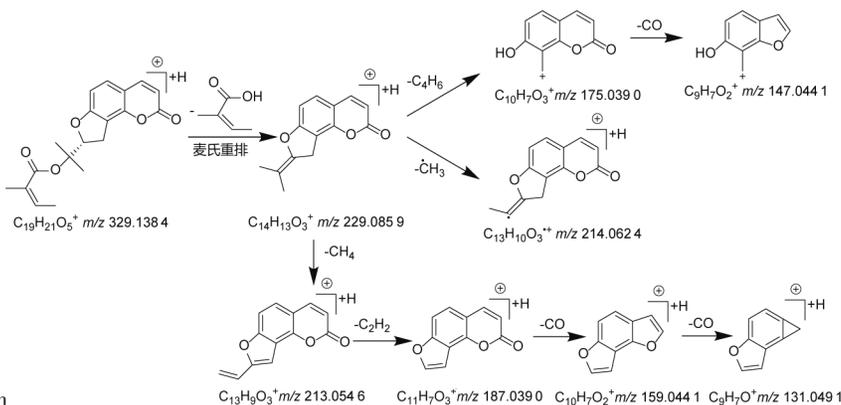
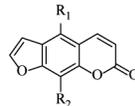


图 8 二氢欧山芹醇当归酸酯质谱裂解途径

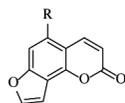
Figure 8 Fragmentation pathways of columbianadin



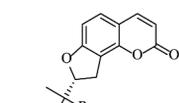
1. 茵芋苷: R₁=H R₂=H R₃=OGlc R₄=H
2. 伞形花内酯: R₁=H R₂=H R₃=OH R₄=H
3. 5-羟基-7-甲氧基香豆素: R₁=OH R₂=H R₃=OCH₃ R₄=H
4. 6,7-二羟基香豆素: R₁=H R₂=OH R₃=OH R₄=H
5. 东莨菪苷: R₁=H R₂=OCH₃ R₃=OGlc R₄=H
6. 东莨菪内酯: R₁=H R₂=OCH₃ R₃=OH R₄=H
11. 白花前胡醇: R₁=H R₂=H₂C R₃=OCH₃ R₄=H
22. Suberenol: R₁=H R₂=HC=C(OH)R₃=OCH₃ R₄=H
26. 欧前胡素酚: R₁=H R₂=H R₃=OH R₄=H₂C
29. 蛇床子素: R₁=H R₂=H R₃=OCH₃ R₄=H₂C



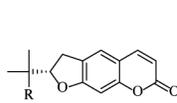
9. 佛手酚: R₁=OH R₂=H
10. 栓翅芹烯醇: R₁=H R₂=O-CH(OH)-CH=CH₂
12. 花椒毒醇: R₁=H R₂=OH
13. 水合氧化前胡素: R₁=O-CH(OH)-CH(OH)-CH=CH₂ R₂=H
15. 白当归脑: R₁=OCH₃ R₂=O-CH(OH)-CH=CH₂
16. 补骨脂素: R₁=H R₂=H
18. 花椒毒素: R₁=H R₂=OCH₃
19. 佛手柑内酯: R₁=OCH₃ R₂=H
20. 栓翅芹内酯: R₁=H R₂=O-CH(OH)-CH=CH₂
21. 异茵芋内酯: R₁=OCH₃ R₂=OCH₃
24. 异氧化前胡内酯: R₁=O-CH(OH)-CH(OH)-CH=CH₂ R₂=H
25. 氧化前胡素: R₁=O-CH(OH)-CH=CH₂ R₂=H
27. 欧前胡素: R₁=H R₂=O-CH(OH)-CH=CH₂
28. 珊瑚菜素: R₁=OCH₃ R₂=O-CH(OH)-CH=CH₂
30. 别异欧前胡素: R₁=OH R₂=H₂C-CH=CH₂
33. 异欧前胡素: R₁=O-CH(OH)-CH=CH₂ R₂=H
34. 佛手柑素: R₁=O-CH(OH)-CH(OH)-CH=CH₂ R₂=H



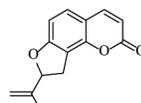
17. 异补骨脂醇: R=H
23. 异佛手柑内酯: R=OCH₃



8. 二氢山芹醇: R=OH
31. 二氢欧山芹醇当归酸酯: R=O-C(=O)-CH=CH₂



7. 紫花前胡苷: R=Glc
14. 异紫花前胡内酯: R=OH



32. 川白芷素

图 9 裂叶独活醇提液中香豆素类化合物结构

Figure 9 Structures of coumarin compounds in alcohol extract of *H. millefolium* Diels

接产生脱水峰, 另一个发生 H 重排形成羰基结构, 导致多脱去 1 分子 CO, 结合相关文献报道^[11], 鉴定为 6,7-二羟基香豆素。

2.6.1.2 东莨菪内酯、东莨菪苷和 5-羟基-7-甲氧基香豆素 化合物 **3**、**5**、**6** 的 t_R 分别为 7.21、9.83、12.82 min, 其中化合物 **3**、**6** 的准分子离子峰都为 m/z 193.049 0[M+H]⁺, 互为同分异构体。其中化合物 **6** 经对照品鉴定为东莨菪内酯, 化合物 **3** 产生的碎片离子与东莨菪内酯相同, 保留时间提示, 该化合物极性比东莨菪内酯大, 结合相关文献报道^[12], 鉴定其为 5-羟基-7-甲氧基香豆素。化合物 **5** 的 t_R 为 9.83 min, 准分子离子峰为 m/z 355.101 7[M+H]⁺, 质量数比东莨菪内酯多 162 Da, 主要碎片离子 m/z 193.0490[M+H-Glc]⁺、178[M+H-Glc-CH₃]⁺ 和 m/z 161[M+H-Glc-CH₄O]⁺ 与东莨菪内酯相同, 故推测是东莨菪内酯 C₇-OH 上取代一分子葡萄糖, 结合文献报道^[13], 鉴定其为东莨菪苷。

2.6.1.3 蛇床子素、欧前胡素酚、白花前胡醇和 Suberenol 化合物 **29** 的 t_R 为 39.03 min, 准分子离子峰为 m/z 245.117 0[M+H]⁺, 经对照品鉴定为蛇床子素; 化合物 **26** 准分子离子峰为 m/z 231.101 0[M+H]⁺, 质量数比蛇床子素少 14 Da, 二级质谱图呈现的碎片离子 m/z 175 [M+H-C₄H₈]⁺ 提示该化合物结构中有异戊烯基取代, 同时观察到该碎片离子依次脱去 3 分子 CO 分别产生碎片离子 m/z 147[M+H-C₄H₈-CO]⁺、119[M+H-C₄H₈-2CO]⁺ 和 91[M+H-C₄H₈-3CO]⁺, 说明香豆素苯环上有羟基取代, 结合相关文献报道^[14], 鉴定其为欧前胡素酚; 化合物 **11** 准分子离子峰为 m/z 279.122 0[M+H]⁺, 二级碎片离子主要有 m/z 243[M+H-H₂O]⁺、189[M+H-C₄H₁₀O₂]⁺ 和 131[M+H-C₄H₁₀O₂-CH₂O-CO]⁺, 裂解方式与蛇床子素相似, 根据相关文献报道^[15], 鉴定为白桦前胡醇; 化合物 **22** 准分子离子峰为 m/z 261.111 8[M+H]⁺, 质量数比蛇床子素多 16 Da, 碎片离子 m/z 243[M+H-H₂O]⁺、189[M+H-C₄H₈O]⁺、131[M+H-C₄H₈O-CH₂O-CO]⁺ 提示该化合物易发生苜基裂解脱去变形异丁烯氧基, 且侧链分别有甲氧基和羟基存在, 结合相关文献报道^[16], 鉴定其为 Suberenol。

2.6.2 呋喃香豆素类成分鉴定

2.6.2.1 欧前胡素、别异欧前胡素、异欧前胡素、珊瑚菜素和佛手柑素 化合物 **27**、**30** 和 **33** 的 t_R 分别为 37.57、38.50、42.18 min, 三者准分子离子峰都为 m/z 271.096 2[M+H]⁺, 提示它们互为同分异构体。其

中化合物 **27** 经对照品鉴定为欧前胡素, 化合物 **30** 和 **33** 二级质谱图都呈现出 m/z 203、175、159、131、147、119 等与欧前胡素裂解过程中相同的特征碎片离子, 但未出现脱水碎片离子 m/z 185, 根据欧前胡素和氧化前胡素裂解规律, 推测这两个化合物脱去异戊烯基后的碎片离子结构中的羟基位于 C₅ 位, 结合碎片离子、保留时间和相关文献报道^[17], 这 3 个化合物分别鉴定为欧前胡素、别异欧前胡素和异欧前胡素。化合物 **28** 准分子离子峰为 m/z 301.106 7[M+H]⁺, 质量数比欧前胡素多 30 Da, 二级质谱图呈现出 m/z 233[M+H-C₅H₈]⁺、218[M+H-C₅H₈-CH₃]⁺、215[M+H-C₅H₈-H₂O]⁺、134[M+H-C₅H₈-CH₃-3CO]⁺ 等特征碎片离子, 提示其结构比欧前胡素多一个甲氧基, 故鉴定其为珊瑚菜素。化合物 **34** 准分子离子峰为 m/z 339.158 8[M+H]⁺, 质量数比欧前胡素多 68 Da, 呈现出 m/z 203[M+H-2C₅H₈]⁺、175[M+H-2C₅H₈-CO]⁺、159[M+H-2C₅H₈-CO₂]⁺、147[M+H-2C₅H₈-2CO]⁺、131[M+H-2C₅H₈-CO₂-CO]⁺ 等特征碎片离子, 提示其结构比欧前胡素多一个异戊烯基, 结合相关文献报道^[14], 鉴定其为佛手柑素。

2.6.2.2 佛手柑内酯、异佛手柑内酯、花椒毒素和异茴芹内酯 化合物 **18**、**19** 和 **23** 的 t_R 分别为 27.26、29.58、31.18 min, 三者准分子离子峰都为 m/z 217.049 0[M+H]⁺, 提示它们互为同分异构体。其中化合物 **19** 经对照品鉴定为佛手柑内酯, 化合物 **23** 碎片离子及丰度都与佛手柑内酯相同, 结合保留时间和相关文献报道^[18], 鉴定其为异佛手柑内酯; 化合物 **18** 碎片离子与佛手柑内酯相同, 但 m/z 202[M+H-CH₃]⁺ 的丰度更高, 据研究^[14]报道, C₈ 位甲氧基取代的线性呋喃香豆素比 C₅ 位更易消除甲基, 花椒毒素符合此规律, 故鉴定化合物 **18** 为花椒毒素。化合物 **21** 准分子离子峰为 m/z 247.059 7[M+H]⁺, 质量数比佛手柑内酯多 30 Da, 根据二级质谱图呈现的 m/z 232[M+H-CH₃]⁺、217[M+H-2CH₃]⁺、189[M+H-2CH₃-CO]⁺、161[M+H-2CH₃-2CO]⁺ 等碎片离子, 鉴定其为异茴芹内酯。

2.6.2.3 补骨脂素和异补骨脂素 化合物 **16** 和 **17** 的 t_R 分别为 25.39、26.51 min, 二者准分子离子峰都为 m/z 187.038 5[M+H]⁺, 化合物 **16** 经对照品鉴定为补骨脂素; 化合物 **17** 二级质谱图呈现的碎片离子与补骨脂素一致, 保留时间提示其极性较补骨脂素小, 结合相关文献报道^[19], 鉴定其为异补骨脂素。

2.6.2.4 花椒毒醇和佛手酚 化合物 **9** 和化合物 **12** 的

t_R 分别为 18.09、21.74 min, 准分子离子峰都为 m/z 203.033 $4[M+H]^+$, 其中化合物 **12** 产生特征碎片离子 m/z 185 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 175 $[M+H-CO]^+$ 、 m/z 159 $[M+H-CO_2]^+$ 、 m/z 147 $[M+H-2CO]^+$ 和 m/z 119 $[M+H-3CO]^+$ 与对照品欧前胡素脱去异戊烯基后的碎片离子相同, 提示其结构为 C_8 位羟基取代线性呋喃香豆素, 故鉴定其为花椒毒醇; 化合物 **9** 产生的碎片离子与对照品氧化前胡素脱去异戊烯氧基后的碎片离子相同, 未观察到碎片离子 m/z 185, 说明在 C_5 位羟基取代, 故鉴定其为佛手酚。

2.6.2.5 栓翅芹烯醇、栓翅芹内酯、异氧化前胡内酯、氧化前胡素、水合氧化前胡素、白当归脑 化合物 **10**、**20**、**24** 和 **25** 的 t_R 分别为 18.09、29.66、31.99、32.99 min, 4 个化合物准分子离子峰都为 m/z 287.090 $9[M+H]^+$, 其中化合物 **25** 经对照品鉴定为氧化前胡素, 化合物 **24** 呈现的碎片离子与氧化前胡素相同, 根据化合物极性和相关文献报道^[20], 鉴定其为异氧化前胡内酯, 而化合物 **20** 的二级质谱图中不仅含有与氧化前胡素相同的碎片离子, 而且能够观察到脱水碎片离子 m/z 185 $[M+H-C_5H_8O-H_2O]^+$, 提示其为 C_8 位异戊烯氧基取代线性呋喃香豆素, 故鉴定其为栓翅芹内酯; 化合物 **10** 呈现出特征碎片离子 m/z 269 $[M+H-H_2O]^+$ 和 203 $[M+H-C_5H_8O]^+$, 提示其侧链为带羟基的变形异戊烯基, 故鉴定为栓翅芹烯醇; 化合物 **15** 的准分子离子峰为 m/z 317.101 $5[M+H]^+$, 质量数比氧化前胡素多 30 Da, 特征碎片离子为 m/z 302 $[M+H-CH_3]^+$ 、233 $[M+H-C_5H_8O]^+$ 、218 $[M+H-C_5H_8O-CH_3]^+$ 和 203 $[M+H-C_5H_8O-OCH_3]^+$, 提示其结构中含有异戊烯氧基和甲氧基取代, 故鉴定其为白当归脑; 化合物 **13** 准分子离子峰为 m/z 305.101 $5[M+H]^+$, 质量数比氧化前胡素多 18 Da, 特征碎片离子为 m/z 269 $[M+H-2H_2O]^+$ 、203 $[M+H-C_5H_8O-H_2O]^+$ 、175 $[M+H-C_5H_8O-H_2O-CO]^+$ 、159 $[M+H-C_5H_8O-H_2O-CO_2]^+$, 比氧化前胡素多脱去一分子 H_2O , 结合相关文献报道^[21], 鉴定其为水合氧化前胡素。

2.6.3 二氢呋喃香豆素类成分鉴定 二氢欧山芹醇当归酸酯、二氢欧山芹醇、异紫花前胡内酯和川白芷素: 化合物 **31** 的 t_R 分别为 41.1 min, 准分子离子峰为 m/z 329.137 $9[M+H]^+$, 经对照品鉴定为二氢欧山芹醇当归酸酯; 化合物 **32** 准分子离子峰为 m/z 229.085 $7[M+H]^+$, 质量数比二氢欧山芹醇当归酸酯少 100 Da, 主要碎片离子与二氢欧山芹醇当归酸酯脱去当归酸后的碎片离子相同, 结合相关文献报

道^[14], 鉴定其为川白芷素; 化合物 **8** 和化合物 **14** 的 t_R 分别为 17.82 min 和 23.89 min, 准分子离子峰都为 m/z 247.095 $9[M+H]^+$, 提示两者互为同分异构体, 呈现出 m/z 229 $[M+H-H_2O]^+$ 、214 $[M+H-H_2O-CH_3]^+$ 、213 $[M+H-H_2O-CH_4]^+$ 、175 $[M+H-H_2O-C_4H_6]^+$ 等与二氢欧山芹醇当归酸酯相似的特征碎片离子, 故推测两个化合物属于羟异丙基二氢呋喃香豆素。这类化合物结构存在线型和角型的异构, 且角型异构体的极性相对更小^[22], 故鉴定化合物 **8**、**14** 分别为二氢欧山芹醇和异紫花前胡内酯; 化合物 **7** 准分子离子峰为 m/z 409.148 $4[M+H]^+$, 二级质谱图呈现出 m/z 247 $[M+H-Glc]^+$ 、229 $[M+H-Glc-H_2O]^+$ 、187 $[M+H-Glc-CH_4-C_2H_2]^+$ 、175 $[M+H-Glc-H_2O-C_4H_6]^+$ 、159 $[M+H-Glc-CH_4-C_2H_2-CO]^+$, 提示其结构与二氢欧山芹醇当归酸酯相似, 且连接一分子葡萄糖形成糖苷键, 结合相关文献报道^[23], 鉴定其为紫花前胡苷。

3 讨论

根据香豆素类化合物对照品和裂叶独活中各类香豆素化合物裂解规律发现: (1) 在取代基相同的情况下, 简单香豆素和呋喃香豆素的共同裂解方式是连续丢失 CO 或乙酰基, 有羟基取代者则多丢失 1 分子 CO, 直至所有的氧原子全部失掉为止。不同之处在于呋喃香豆素比简单香豆素多联合一个呋喃环, 裂解过程中会比简单香豆素多丢失 2 分子 CO 或 1 分子 CO_2 ; (2) 取代基不同也会产生独特的裂解方式: ① 取代基为甲氧基, 通常丢失甲基自由基或乙酰基; ② 取代基为异戊烯基, 会发生苜基裂解脱去异丁烯基 (C_4H_8 , $\Delta m=56$), 产生特征苜基碎片离子; ③ 呋喃香豆素取代基多为异戊烯氧基或环氧异戊烯氧基, 易失去侧链, 脱去异戊烯基 (C_5H_8 , $\Delta m=68$) 或环氧异戊烯基 (C_5H_8O , $\Delta m=84$), 获得电子后形成碎片离子 m/z 69 和 m/z 85, 脱去侧链后大多数会裂解生成特征碎片离子 m/z 203, 该碎片离子能否进一步脱水形成 m/z 185 可用于鉴定取代基位置 (C_5 位或 C_8 位); ④ 二氢呋喃香豆素大多连接羟异丙基结构, 羟基部分会形成单酯、双酯或糖苷结构, 脱去羟基部分后形成的特征碎片离子 m/z 229 可用于鉴定这类化合物; ⑤ 呋喃香豆素和二氢呋喃香豆素都存在线型和角型的异构, 其中角型结构由于空间位阻大, 极性相对较小。

本研究采用 UHPLC-Q-TOF/MS 技术在正离子模式下建立了一种可同时高效分离多种香豆素类成分

的方法,通过数据库快速筛查和二级质谱分析,从裂叶独活醇提取液中可快速鉴定出34种香豆素类成分,其中29个为该植物相关文献中的首次报道。该鉴定方法具有快速、灵敏及高分辨率等优点,可作为裂叶独活质量控制的方法,为进一步研究裂叶独活奠定了基础,同时也为裂叶独活药效物质基础研究及临床药学研究提供了重要参考。

参考文献:

- [1] 赵欢, 杨晨悦, 赵梓钧, 等. 藏药裂叶独活内生真菌 *Cosmospora stegonsporii* 发酵液中的二酮哌嗪类成分研究[J]. 中药材, 2018, 41(5): 1099-1102.
- [2] 饶高雄, 溥发鼎, 孙汉董. 裂叶独活和长裂叶独活的化学成分及其分类学意义[J]. 天然产物研究与开发, 1995, 7(2): 16-19.
- [3] 严志宏, 黄秀珍, 顿珠次仁, 等. 高速逆流色谱分离制备裂叶独活中香豆素类成分[J]. 中草药, 2015, 46(20): 3023-3027.
- [4] TONG K H, XIN C, CHEN W Z. Isoimperatorin induces apoptosis of the SGC-7901 human gastric cancer cell line via the mitochondria-mediated pathway[J]. *Onco Lett*, 2017, 13(1): 518-524.
- [5] TADA Y, SHIKISHIMA Y, TAKAISHI Y, et al. Coumarins and γ -pyrone derivatives from *Prangos pabularia*: antibacterial activity and inhibition of cytokine release[J]. *Phytochemistry*, 2002, 59(6): 649-654.
- [6] 谭荣, 李本鹏, 蒋向辉, 等. 长毛风毛菊中总香豆素的提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(5): 906-911.
- [7] 文小燕, 许国清, 容丽英, 等. 白芷介导NF- κ B-i NOS靶标镇痛作用成分的筛选及同时测定[J]. 今日药学, 2019, 29(6): 375-378.
- [8] 张启云, 彭国梅, 李冰涛, 等. UHPLC-Q-TOF/MS技术分析葛根醇提取液中化学成分[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(4): 513-518.
- [9] YANG Y F, ZHANG L, YANG X W. Distribution assessments of coumarins from *Angelicae pubescentis radix* in rat cerebrospinal fluid and brain by liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis[J]. *Molecules*, 2018, 23(1): 225-225.
- [10] 原忠, 周碧野, 张志诚, 等. 北沙参的苷类成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2002, 19(3): 183-185.
- [11] 张婷. 6, 7-二羟基香豆素的合成与研究[D]. 南京: 南京理工大学, 2007.
- [12] CHEN J X, HUANG S H, WANG Y, et al. Studies on the chemical constituents from *Lobelia chinensis*[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2010, 33(11): 1721-1724.
- [13] 张晶, 温泉, 徐旭, 等. 基于UHPLC-QTOF-MS/MS技术的铁筷子中3个香豆素在大鼠体内代谢研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(21): 4330-4338.
- [14] WANG B, LIU X, ZHOU A, et al. Simultaneous analysis of coumarin derivatives in extracts of *Radix angelicae pubescentis* (Duhuo) by HPLC-DAD-ESI-MSn technique[J]. *Anal Methods*, 2014, 6(19): 7996-8002.
- [15] YANG Y F, XU W, SONG W, et al. Transport of twelve coumarins from *Angelicae pubescentis radix* across a MDCK-pHaMDR cell monolayer-an in vitro model for blood-brain barrier permeability[J]. *Molecules*, 2015, 20(7): 11719-11732.
- [16] SMYTH T J P, RAMACHANDRAN V, BROOKS P, et al. Investigation of antibacterial phytochemicals in the bark and leaves of *Ficus coronata* by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-ion trap mass spectrometry (HPLC-ESI-MSⁿ) and ESI-MSⁿ[J]. *Electrophoresis*, 2012, 33(4): 713-718.
- [17] 杨维. 基于液质联用技术的北沙参化学成分分析与药代动力学研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2010.
- [18] LI L H, ZHANG H F, HU S, et al. Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high-performance liquid chromatography for determination of coumarin compounds in *Radix angelicae dahuricae* [J]. *Chromatographia*, 2012, 75(3/4): 131-137.
- [19] 杨洁芳. LC-MS法同时测定骨康胶囊中6种主要成分的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(35): 3344-3346.
- [20] ZHANG Y B, DENG G G, WANG T X, et al. Tissue distribution study of *Angelica dahurica* cv. *Yubaizhi* in rat by ultra-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 174: 43-49.
- [21] YANG Y F, ZHANG L, ZHANG Y B, ET al. Simultaneous assessment of absorption characteristics of coumarins from *Angelicae pubescentis radix*: in vitro transport across Caco-2 cell and in vivo pharmacokinetics in rats after oral administration[J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1060: 308-315.
- [22] GAO D, WANG B, HUO Z, et al. Analysis of chemical constituents in an herbal formula *Jitong Ning* tablet[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 140: 301-312.
- [23] XIU W W, YOU B Z, LEI Z, et al. Simultaneous quantification of 33 active components in *Notopterygii rhizoma et radix* using ultra high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B*, 2018, 1092: 244-251.

(编辑: 梁进权)