

基于UHPLC-Q-TOF-MS/MS分析猪牙皂中化学成分

景秀村¹, 李军茂¹, 冯育林¹, 葛菲¹, 姚闽^{2*}, 白吉庆^{1,3,4*} (1.江西中医药大学, 南昌 330004; 2.江西省药品检验检测研究院, 南昌 330004; 3.陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 4.陕西省中药原料质量检测技术服务中心 陕西 咸阳 712046)

摘要: 目的 建立液质联用分析方法全面、快速识别猪牙皂中的化学成分。方法 应用超高压液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱联用技术(UHPLC-Q-TOF-MS/MS)对猪牙皂提取物进行成分分析; 其流动相为 0.1%甲酸(A)-乙腈(B), 梯度洗脱, 流速 0.3 mL·min⁻¹。在负离子模式下获得精确的分子离子质量及二级碎片信息, 结合数据库及对照品进行结构鉴定。结果 共筛选出 78 种化合物(黄酮类化合物 32 个, 酚酸类化合物 15 个, 木脂素类 22 个, 单萜酸类化学成分 9 个), 潜在新化合物 14 个。结论 本研究全面分析了猪牙皂的化学成分, 为该药物药效物质基础和质量标准的研究提供了依据。

关键词: 猪牙皂; 皂荚; 化学成分; UHPLC-Q-TOF-MS/MS

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)23-3225-11

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20223494

引用本文: 景秀村, 李军茂, 冯育林, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 分析猪牙皂中化学成分[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(23): 3225-3235.

Analysis of Chemical Constituents in *Gleditsiae Fructus Abnormalis* Based on UHPLC-Q-TOF-MS/MS

JING Xiucun¹, LI Junmao¹, FENG Yulin¹, GE Fei¹, YAO Min^{2*}, BAI Jiqing^{1,3,4*} (1.Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2.Jiangxi Institute for Drug Control, Nanchang 330004, China; 3.Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China; 4.Shaanxi Chinese Medicine Raw Material Quality Testing Technology Service Center, Xi'an 712046, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To Establish a liquid chromatography-mass spectrometry analysis method to comprehensively and quickly identify the chemical components in *Gleditsiae Fructus Abnormalis*. **METHODS** The ultra-high liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry(UHPLC-Q-TOF-MS/MS) was applied for the composition analysis of *Gleditsiae Fructus Abnormalis* extract; its mobile phase was 0.1% formic acid(A)-acetonitrile(B) with gradient elution at a flow rate of 0.3 mL·min⁻¹. Accurate ion mass and secondary fragmentation information were obtained in negative ion mode, combined with databases and standard reference for structure elucidation. **RESULTS** A total of 78 compounds(32 flavonoids, 15 phenolic acids, 22 lignans and 9 chemical constituents of monoterpenoid acids) with 14 potential new compounds were screened. **CONCLUSION** This study comprehensively analyzes the chemical composition of *Gleditsiae Fructus Abnormalis*, and provides a basis for the investigation of the pharmacodynamic basis and quality standards of this drug.

KEYWORDS: *Gleditsiae Fructus Abnormalis*; *Gleditsia sinensis*; chemical composition; UHPLC-Q-TOF-MS/MS

猪牙皂为豆科植物皂荚(*Gleditsia sinensis* Lam.)的干燥不育果实^[1], 分布于中国东北、华北、华南以及中西部的四川、贵州等地^[2], 最早见载于《名医别录》:“皂荚生雍州川谷及鲁、邹县, 如猪牙者良^[3]。”猪牙皂作为中国的传统中药, 已广泛应用于临床, 具有去痰开窍、散结消肿的功效, 用于中风口噤, 昏迷不醒, 癰疽痰盛, 关窍不通, 喉痹痰阻, 顽痰喘咳, 咯痰不爽, 大便燥结, 外治痈肿^[1]。现代药理学研究表明猪牙皂提取物具有显著的抗肿瘤作用, 对肺癌(A549)、乳腺癌(MCF-7)、阴性乳腺癌(MDA-MB231)、肝癌(HepG2、Hep3B)、食管鳞状细胞癌 SLMT-1^[4-5]等肿瘤细胞

具有抑制增殖和诱导凋亡作用。此外, 还具有抗炎^[6]、抗过敏^[7]、抗高血脂^[8]、抗 HIV^[9]等作用。目前, 猪牙皂药理学、分子生物学方面的研究较多, 有关该药材化学成分系统研究报道较少, 因此需要建立一种快速有效的分析方法来阐明猪牙皂化学成分, 以阐明其药效物质基础。传统中草药提取分离方法具有耗时长、效率低的缺点。超高压液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱联用技术(UHPLC-Q-TOF-MS/MS)已经广泛应用于复杂的中草药及中药复方化学成分研究, 具有快速、准确的特点^[10-15]。因此, 本研究将采用 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 技术分析猪牙皂的化学成分, 为该药物药

基金项目: 江西省中医药中青年骨干人才培养计划项目[赣中医药科教字(2020)2 号]

作者简介: 景秀村, 男, 硕士生 E-mail: jingxiucun01@163.com
白吉庆, 男, 博士, 教授 E-mail: baijiqing323@126.com

*通信作者: 姚闽, 女, 博士, 高级工程师 E-mail: 2337263942@qq.com

效物质基础研究及质量标准的建立提供参考。

1 仪器与试剂

LC-30A 超高压液相色谱系统(日本岛津公司); Triple-TOF™5600 型质谱仪(美国 AB Sciex 公司, 包括 Analyst TF 1.6 数据采集工作站和 Peakview 1.2 数据分析软件); HC-3018R 高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); CP225D 十万分之一电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司); KQ250DB 型数控超声清洗器(巩义市予华仪器有限公司)。

猪牙皂药材从山东省邹城市柳下邑村购买, 由江西中医药大学白吉庆教授鉴定为豆科植物皂荚(*Gleditsia sinensis* Lam.)的干燥不育果实; 乙腈、甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 甲酸(色谱纯, 德国 Sigma 公司); 蒸馏水(杭州娃哈哈集团有限公司); 对照品木犀草素(中国食品药品检定研究院, 批号: 11520-201414); 对照品新绿原酸(批号: 130526)、隐绿原酸(批号: 17061401)均购自成都普菲德生物技术有限公司; 对照品柚皮素(成都克洛玛生物科技有限公司, 批号: CHB180916); 荭草素(批号: wkq21042911)、异荭草素(批号: wkq20071008)、牡荆素(批号: wkq20080703)、异牡荆素(批号: wkq21011902)均购自四川维克奇生物科技有限公司。对照品纯度均>98%。

2 方法

2.1 样品处理

将猪牙皂药材粉碎成粉末, 过 3 号筛, 精确称量 1.00 g, 放入 50 mL 锥形瓶中, 加入 70% 甲醇 30 mL, 超声波水浴提取 1 h, 补足失重。将提取液以 19 748×g 离心 10 min, 取上清液通过 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 置于样品瓶中。

2.2 液相条件

Welch UHPLC C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 柱温 40 °C; 流速 0.3 mL·min⁻¹; 流动相: 0.1% 甲酸(A)-乙腈(B)混合溶液。梯度洗脱: 0~4 min, 5%→10% B; 4~10 min, 10%→15% B; 10~20 min, 15%→16% B; 20~27 min, 16%→31% B; 27~33 min, 31%→59% B; 33~42 min, 59%→95% B; 42~42.1 min, 95%→5% B; 平衡 3 min。

2.3 质谱条件

负离子模式; 电喷雾离子源(ESI); 离子喷雾电压(ISVF): -4 500 V; 雾化气温度(TEM): 500 °C; 气帘气(CUR)压力: 25 psi; 雾化器(GS1)和辅助气(GS2)压力: 50 psi; 去簇电压(DP): -100 V; 碰撞能(CE): 35 eV; 碰撞能叠加: ±15 eV; TOF-MS

扫描质量范围(*m/z*): 50~1 250; 数据采集时间: 45 min。

2.4 猪牙皂提取物中化学成分分析

通过中国知网、Pubmed、SciFinder 等数据库收集皂荚属已报道化学成分, 建立皂荚属化合物数据库, 包含化合物名称、分子式、结构式等。应用 Peakview 1.2 软件进行数据分析, XIC Manager 功能筛选可能的化合物。根据其保留时间、分子离子峰、二级碎片等信息, 结合数据库资料及对照品, 推断可能的化学成分。化合物总离子流图见图 1, 化合物质谱数据见表 1。

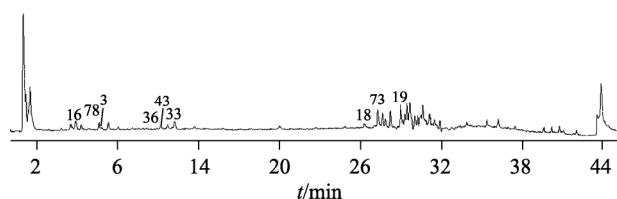


图 1 负离子模式下猪牙皂总离子流图

3-4-CQA; 16-Apigenin; 18-Luteolin; 19-Methyluteolin; 33-3,3,5,5,7-Pentahydroflavanone; 36-Orientin; 43-Epiaphzelechin 5-O-glucopyranoside; 73-3-T-5-CQA; 78-3-T-5-CQA。

Fig. 1 Total ion current diagram of *Gleditsiae Fructus Abnormalis* in negative ion mode

3-4-CQA; 16-Apigenin; 18-Luteolin; 19-Methyluteolin; 33-3,3,5,5,7-Pentahydroflavanone; 36-Orientin; 43-Epiaphzelechin 5-O-glucopyranoside; 73-3-T-5-CQA; 78-3-T-5-CQA.

3 结果

3.1 酚酸类化合物的鉴定

根据文献报道, 酚酸类化合物均含有奎尼酸骨架, 均存在离子碎片 *m/z* 191.056 1 和脱去 1 分子 H₂O 后形成的 *m/z* 173.045 5, 可用于酚酸类化合物的快速鉴别^[16-17]。另外, 根据文献报道可以得出以下规律: ①基峰为 173.045 5 时, 可以推测奎尼酸上存在 4 位取代; ②基峰为 191.056 1 时, 可以推测奎尼酸上存在 1,3 或 5 位取代(3 位单取代除外, 其基峰为该化合物的取代基团碎片离子); ③奎尼酸上 4 个羟基的取代断键难易顺序为 4 位>3 位>5 位>1 位^[16-18]。

3.1.1 单取代型酚酸的鉴别 以化合物 1 为例, 保留时间为 4.47 min, 准分子离子为 *m/z* 353.089 2 [M-H]⁻, 误差为 0.9, 分子式推测为 C₁₆H₁₈O₉, 主要离子碎片为 *m/z* 353.089 2, 191.056 2, 179.035 0, 173.045 5, 161.024 6 和 135.045 3。存在分子离子 *m/z* 191.056 2 及 *m/z* 173.045 5, 推测其为酚酸类化合物。根据碎片离子 *m/z* 179.035 0 以及其失去 44 Da(CO₂)和 18 Da(H₂O)后生成的 *m/z* 135.045 3 和 *m/z* 161.024 6, 推断其取代基为咖啡酰基。根据基

表1 猪牙皂的化学成分分析

Tab. 1 Analysis of chemical constituents of *Gleditsiae Fructus Abnormalis*

编号	分子式	模式	m/z 理论值	m/z 实测值	误差	保留时间/ min	二级离子碎片	名称	鉴定依据
1	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.087 8	353.088 1	0.9	4.47	353.089 2, 191.056 2, 179.035 0, 173.045 5, 161.024 6, 135.045 3	3-CQA	[16-18]
2*	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.087 8	353.088 0	0.6	6.20	191.055 8, 135.047 1	5-CQA	对照品
3*	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.087 8	353.088 1	1.0	6.77	353.089 2, 191.056 2, 179.035 3, 173.045 8, 161.023 5, 135.045 4	4-CQA	对照品
4	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	367.103 5	367.103 9	1.1	6.82	367.101 0, 193.051 0, 191.057 6, 134.037 8, 117.033 6	3-FQA	[16-18]
5	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	367.103 5	367.105 3	5.0	9.85	193.050 7, 173.046 1, 134.037 6	4-FQA	[16-18]
6	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	[M-H] ⁻	337.092 9	337.093 4	1.5	5.81	337.094 5, 191.055 4, 173.044 3, 163.039 6, 119.050 5	3- <i>p</i> -CoQA	[16-18]
7	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	[M-H] ⁻	337.092 9	337.092 4	-1.5	7.87	319.009 4, 191.055 2, 173.044 6, 163.039 5, 119.049 7	4- <i>p</i> -CoQA	[16-18]
8	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	[M-H] ⁻	337.092 9	337.093 5	1.8	8.21	191.056 7, 173.046 3, 119.049 7	5- <i>p</i> -CoQA	[16-18]
9	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	[M-H] ⁻	337.092 9	337.093 1	0.7	8.62	337.096 5, 173.045 6, 163.039 6, 137.021 7, 119.050 6	4- <i>p</i> -CoQA	[16-18]
10	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	483.129 7	483.132 9	6.6	25.97	483.131 4, 337.087 9, 173.045 4, 163.040 1, 119.050 1	3,5- <i>di-p</i> -CoQA	[16-18]
11	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₁	[M-H] ⁻	499.124 6	499.128 1	7.1	23.69	499.133 1, 353.089 8, 337.095 4, 191.056 7, 179.035 0, 135.045 1	3-C,5- <i>p</i> -CoQA	[16-18]
12	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₁	[M-H] ⁻	499.124 6	499.128 2	7.2	23.23	499.129 1, 353.085 3, 335.078 9, 179.035 1, 173.0464, 135.0465	4-C,5- <i>p</i> -CoQA	[16-18]
13	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₁	[M-H] ⁻	499.124 6	499.127 6	6.0	25.58	499.128 1, 353.090 3, 337.096 7, 191.055 9, 179.034 6, 173.045 0, 135.044 9	3- <i>p</i> -Co,4-CQA	[16-18]
14	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	515.119 5	515.122 5	5.9	22.67	515.124 0, 353.008 3, 191.053 1, 179.035 1, 173.044 6, 135.045 8	1,3- <i>di</i> -CQA	[16-18]
15	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	515.119 5	515.122 4	5.7	17.53	515.125 3, 353.091 7, 191.056 7, 179.036 3, 173.045 8, 161.023 7, 135.045 9	3,5- <i>di</i> -CQA	[16-18]
16	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.045 6	269.046 1	1.9	28.65	269.046 7, 225.057 9, 151.004 5, 149.025 0, 121.031 0, 117.035 6	Apigenin	[13-14]
17	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.045 6	269.045 5	-0.2	17.93	269.046 0, 225.055 4, 221.055 8, 183.045 3, 135.009 4, 133.029 7	7,3',4'-Trihydroxy flavone	[13-14]
18	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	285.040 5	285.041 2	2.6	26.28	285.041 4, 267.029 3, 257.004 8, 241.051 5, 151.003 7, 133.030 3	Luteolin	[13-14]
19	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	299.056 1	299.057 1	3.2	29.24	299.058 1, 284.034 8, 256.039 0, 227.035 9	Methyluteolin	[13-14]
20	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	299.056 1	299.056 3	0.6	16.66	299.056 9, 283.024 2, 256.040 2, 240.042 0, 227.033 4, 199.041 3, 165.018 3, 133.029 9	Methyluteolin	[13-14]
21	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	299.056 1	299.056 8	2.1	31.06	299.058 6, 284.034 3, 255.030 5, 227.035 8, 151.003 7, 133.030 1	Methyluteolin	[13-14]
22	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	283.061 2	283.061 8	2.1	32.41	283.061 6, 268.037 8, 211.042 8, 148.016 2, 117.035 2	Acacetin	[13-14]
23	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	313.071 8	313.072 6	2.6	32.71	313.074 8, 298.050 1, 283.052 7, 270.054 5, 255.030 5, 183.043 7, 159.044 6	Bimethyluteolin	[13-14]
24	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	313.071 8	313.072 2	1.5	24.25	313.073 7, 298.050 5, 269.048 5, 255.030 1, 135.008 5, 133.030 1, 132.020 6	Bimethyluteolin	[13-14]
25	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	313.071 8	313.072 5	2.2	27.01	313.075 0, 298.048 7, 269.046 0, 255.028 6, 183.040 0, 165.018 8, 133.029 8	Bimethyluteolin	[13-14]
26	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	[M-H] ⁻	315.051 0	315.051 9	2.7	27.52	315.052 8, 300.028 9, 271.026 1, 255.031 0, 243.031 5, 227.035 4	3-Methyl-quercetin	[13-14]
27	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	[M-H] ⁻	329.066 7	329.066 7	0	30.20	314.040 0, 299.020 6, 271.025 3, 151.005 0, 133.026 5	7,3',4'-Trihydroxy-3,8-dimethoxyflavone	[13-14]
28	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	287.056 1	287.056 7	2.1	24.85	287.058 4, 269.049 3, 151.003 7, 135.045 5, 134.038 5, 107.015 2	3',4',5,7-Tetrahydroxy flavanone	[13-14]
29	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	287.056 1	287.056 5	1.2	10.20	287.062 6, 260.049 2, 225.053 7, 137.028 3, 135.009 9, 121.030 6	Dihydrofisetin	[13-14]
30	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	[M-H] ⁻	269.081 9	269.082 5	2.2	33.44	269.082 6, 254.059 8, 225.092 8, 148.016 5, 135.009 0, 120.022 4, 119.050 2, 117.034 7	7-Methyl-liquiritigenin	[13-14]
31	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	[M-H] ⁻	269.081 9	269.081 7	-1.0	27.21	269.080 8, 253.052 4, 225.055 5, 183.044 4, 161.024 3, 145.031 7	4'-Methyl-liquiritigenin	[13-14]
32	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	301.035 4	301.035 6	0.8	26.21	301.031 7, 178.998 7, 165.056 8, 151.004 5, 121.030 9, 107.015 4	Quercetin	[13-14]
33	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	[M-H] ⁻	303.051 0	303.051 2	0.5	12.19	303.052 9, 285.041 4, 275.055 7, 241.051 0, 151.004 4, 133.029 3, 125.025 1	3,3',5',5',7-Pentahydroflavanone	[13-14]
34*	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.098 4	431.099 8	3.2	12.91	431.101 9, 341.068 6, 311.057 0, 283.061 9, 269.045 9, 117.034 8	Vitexin	对照品
35*	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.098 4	431.099 8	3.3	13.39	431.100 4, 413.095 5, 353.068 0, 341.066 9, 311.056 9, 283.059 4, 281.044 9, 117.032 2	Isovitexin	对照品
36*	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	447.093 3	447.094 8	3.4	10.89	447.095 5, 429.084 1, 357.062 9, 327.052 3, 297.042 1, 285.042 0, 151.003 3, 133.030 1, 117.035 5	Orientin	对照品
37*	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	447.093 3	447.094 9	3.7	11.18	447.0972 , 357.064 9, 327.052 6, 299.056 1, 174.956 2, 133.029 5	Homoorientin	对照品
38	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	447.093 3	447.094 7	3.2	11.94	447.095 8, 285.041 3, 151.002 7, 133.031 9	Luteolin-7- <i>O</i> -glc	[19]
39	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	447.093 3	447.095 4	4.6	14.50	447.095 4, 285.0409, 255.030 2, 151.004 4, 133.029 5, 107.012 1	Luteolin-7- <i>O</i> -glc	[19]
40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	447.093 3	447.094 8	3.5	23.10	447.094 0, 401.072 9, 285.040 8, 174.955 0, 151.002 7	Luteolin-5- <i>O</i> -glc	[19]
41	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	593.151 2	593.155 1	6.6	15.81	593.157 0, 447.097 9, 285.040 2, 284.033 1, 256.035 8	Lonicerin	[13-14]

续表 1

编号	分子式	模式	m/z 理论值	m/z 实测值	误差	保留时间/ min	二级离子碎片	名称	鉴定 依据
42	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	415.103 5	415.104 7	3.0	8.14	415.106 1, 295.062 4, 267.066 0, 253.049 9, 132.021 2, 117.035 4	Puerarin	[13-14]
43	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	435.129 7	435.131 1	3.2	11.20	435.132 2, 299.077 0, 273.074 1, 161.023 7, 137.024 7, 135.045 0, 125.025 0	Epiafzelechin 5- <i>O</i> -glucopyranoside	[13-14]
44	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	435.129 7	435.130 5	2.0	8.91	435.125 5, 299.076 9, 273.076 3, 151.040 6, 137.023 9, 135.044 3, 125.025 2	Propinqualin	[13-14]
45	C ₁₆ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	313.035 4	313.036 0	2.0	26.25	313.035 9, 295.052 3, 285.044 0, 267.029 1, 151.044 9, 133.030 8, 117.036 3, 107.012 2	4'-Carboxy, 5,7-trihydroxy flavone	[13-14]
46	C ₁₆ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	313.035 4	313.035 9	1.6	25.02	313.037 7, 295.027 0, 199.040 3, 187.001 3, 161.023 0, 133.029 0	4'-Carboxy, 5,7-trihydroxy flavone	[13-14]
47*	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	271.061 2	271.061 3	0.3	28.03	271.060 3, 151.003 1, 119.050 3	Naringenin	对照品
48	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	[M-H] ⁻	741.261 1	741.265 7	6.2	12.23	741.265 8, 579.215 2, 417.158 5, 402.133 7, 387.110 5, 181.050 8, 166.026 2	Liriodendrin	[20]
49	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₃	[M-H] ⁻	579.208 3	579.212 5	7.2	19.49	579.215 4, 417.158 3, 402.134 0, 387.110 5, 181.050 5, 166.026 8, 151.003 8	Syringaresinol- <i>O</i> -glc	[20]
50	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₃	[M-H] ⁻	579.208 3	579.210 9	4.4	12.23	579.211 8, 417.158 0, 402.133 4, 387.108 7, 181.049 8, 166.026 5, 151.003 4	Syringaresinol- <i>O</i> -glc	[20]
51	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₃	[M-H] ⁻	551.177 0	551.179 4	4.2	8.71	551.177 5, 389.122 6, 341.106 4, 195.066 7, 193.050 8	F ^{dihydro} (8- <i>O</i> -4) G'-glc	[20]
52	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₂	[M+HCOO] ⁻	583.202 1	583.205 7	6.1	8.78	537.201 6, 375.148 3, 195.066 9, 179.070 1	G(4- <i>O</i> -8)G-glc	[20]
53	C ₃₃ H ₄₆ O ₁₈	[M+HCOO] ⁻	775.265 5	775.274 5	11.6	9.29	729.268 7, 567.212 8, 405.158 9, 357.134 5, 195.066 0	S(4- <i>O</i> -8)G-glc-glc	[20]
54	C ₂₆ H ₃₆ O ₁₂	[M+HCOO] ⁻	585.217 8	585.222 7	8.5	9.49	539.222 1, 377.162 9, 329.139 7, 195.066 0, 165.055 5	G ^{dihydro} (4- <i>O</i> -8)G-glc	[20]
55	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₃	[M-H] ⁻	553.192 7	553.195 8	5.7	9.68	553.197 7, 391.140 7, 343.118 9, 195.065 7, 165.063 4	F ^{dihydro} (4- <i>O</i> -8)G-glc	[20]
56	C ₂₇ H ₃₆ O ₁₃	[M+HCOO] ⁻	613.212 7	613.218 3	9.1	11.13	567.211 3, 405.157 0, 357.134 6, 209.081 9, 195.006 3, 165.005 7	S(4- <i>O</i> -8)G-glc	[20]
57	C ₂₇ H ₃₈ O ₁₃	[M+HCOO] ⁻	615.228 4	615.233 7	8.8	11.58	569.225 2, 407.173 1, 359.150 2, 211.098 4, 195.065 6	S ^{dihydro} (4- <i>O</i> -8)G-glc	[20]
58	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₁	[M+HCOO] ⁻	567.207 2	567.212 6	9.4	13.66	521.206 6, 359.153 0, 341.140 6, 329.140 2,	G ^{dihydro} (5-8)G-glc	[20]
59	C ₂₀ H ₂₆ O ₇	[M-H] ⁻	377.160 6	377.161 1	1.4	13.72	377.093 8, 359.085 2, 329.140 9, 314.117 1, 149.024 6	G(4- <i>O</i> -8)G'	[20]
60	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₄	[M-H] ⁻	595.203 2	595.208 0	8.0	14.00	595.212 0, 433.154 5, 181.048 9, 166.029 8, 151.004 1	S ^{dihydro} sinapic(8-8)S-glc	[20]
61	C ₂₇ H ₃₆ O ₁₂	[M+HCOO] ⁻	597.217 8	597.222 9	8.6	14.75	551.218 3, 389.160 2, 371.152 8, 358.151 8,	S ^{dihydro} (5-8)G-glc	[20]
62	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	[M+HCOO] ⁻	565.191 6	565.196 6	8.8	17.08	519.188 0, 357.134 8, 151.040 3, 136.015 6	G(8-8)G-glc	[20]
63	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₁	[M+HCOO] ⁻	619.238 5	619.244 4	9.5	18.93	573.232 6, 525.218 2, 377.163 3, 195.068 1, 165.055 5	G(8- <i>O</i> -4)G (8- <i>O</i> -4)G ^{dihydro}	[20]
64	C ₃₁ H ₄₀ O ₁₂	[M+HCOO] ⁻	649.249 1	649.256 4	11.3	23.78	603.252 2, 407.167 9, 211.096 7, 195.066 7	S ^{dihydro} (4- <i>O</i> -8)G(4- <i>O</i> -8)G	[20]
65	C ₃₇ H ₄₆ O ₁₆	[M-H] ⁻	745.271 3	745.278 9	10.2	25.58	745.278 5, 583.226 1, 535.202 6, 387.148 5, 357.135 2, 195.066 5, 165.055 9	G(8- <i>O</i> -4)S(8-8)G-glc	[20]
66	C ₃₁ H ₃₆ O ₁₁	[M-H] ⁻	583.218 5	583.223 3	8.3	26.99	583.226 7, 535.202 1, 387.152 9, 369.137 3, 357.137 8, 195.065 8, 165.056 2	G(8- <i>O</i> -4)S(8-5)G	[20]
67	C ₃₁ H ₃₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	585.234 1	585.238 6	7.7	27.04	585.241 6, 537.217 4, 371.152 7, 359.152 9, 341.105 5, 195.066 5, 165.056 2	G(8- <i>O</i> -4)S(8-5) G ^{dihydro}	[20]
68	C ₃₁ H ₃₄ O ₁₁	[M-H] ⁻	581.202 8	581.208 2	9.2	28.77	581.210 5, 367.121 5, 355.122 4, 195.066 5, 165.056 4	G(8- <i>O</i> -4)S(8-5)G'	[20]
69	C ₄₂ H ₅₀ O ₁₆	[M-H] ⁻	809.302 6	809.310 3	9.5	29.54	809.315 5, 613.231 0, 417.159 1, 195.065 9, 165.055 2	G(8- <i>O</i> -4)S(8-8)S(4- <i>O</i> -8)G	[20]
70	C ₁₇ H ₂₆ O ₉	[M-H] ⁻	373.150 4	373.150 9	1.2	7.37	373.153 4, 199.096 7, 191.056 0, 181.087 8, 173.044 9	5-T'QA	[16-18]
71	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₂	[M-H] ⁻	535.182 1	535.185 2	5.7	18.53	535.136 8, 373.152 5, 353.087 9, 199.098 5, 191.056 1, 179.035 0, 173.045 1	3-T'-5-CQA	[16-18]
72	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₂	[M-H] ⁻	535.182 1	535.185 5	6.3	22.82	535.186 7, 373.153 6, 353.088 7, 199.097 2, 191.056 1, 179.035 6, 173.046 2	5-T'-1-CQA	[16-18]
73	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	519.187 2	519.190 7	6.7	27.14	519.191 6, 357.196 4, 191.056 5, 183.103 4, 179.035 1, 173.045 5	3-T-5-CQA	[16-18]
74	C ₁₇ H ₂₆ O ₈	[M-H] ⁻	357.155 5	357.156 0	1.4	13.22	357.156 3, 191.056 6, 173.046 5	3-TQA	[16-18]
75	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	519.187 2	519.180 6	6.5	23.68	519.188 7, 373.154 1, 199.095 0, 163.040 3, 119.049 9	5-T'-3- <i>p</i> -CoQA	[16-18]
76	C ₃₃ H ₃₂ O ₆	[M+HCOO] ⁻	569.217 0	569.212 1	-8.6	6.59	523.208 2, 505.197 1, 493.196 7, 341.110 8, 199.097 5, 181.087 2, 179.056 5, 169.087 1	Lactose-ter-OH	[21]
77	C ₃₃ H ₃₂ O ₅	[M+COOH] ⁻	553.222 1	553.217 5	-8.3	11.68	507.211 3, 341.109 1, 323.099 0, 183.102 7, 179.055 3, 161.045 2	Lactose-ter	[21]
78	C ₁₆ H ₂₆ O ₉	[M-H] ⁻	361.150 4	361.150 6	0.6	7.27	361.148 9, 199.097 5, 181.087 0, 179.057 1, 149.044 4, 119.035 6, 111.045 3, 89.025 3, 59.016 8	glc-ter-OH	[21]

注：*与对照品比对的化合物。

Note: *Compound compared with reference substance.

峰 m/z 191.056 2 和较强的碎片离子 m/z 179.035 0 以及文献报道, 推断其取代基在 5 位上。因此, 其二级碎片与文献报道相似^[16-18], 因此, 化合物 **1** 鉴定为 3-CQA。化合物 **1** 的裂解规律见图 2。

3.1.2 双取代型酚酸的鉴别 化合物 **10** 为例, 保留时间为 25.97 min, 准分子离子为 m/z 483.131 4

[M-H]⁻, 误差为 6.6, 分子式推测为 C₂₅H₂₄O₁₀, 主要离子碎片为 m/z 483.131 4, 337.087 9, 173.040 5, 163.040 1 和 m/z 119.050 1。分子离子失去 146 Da (C₉H₆O₂) 后生成 m/z 337.087 9, 继续中性失去 164 Da(C₉H₈O₃) 及 174 Da(C₇H₁₀O₅) 分别生成 m/z 173.045 4 及 m/z 163.040 1, 推测其 2 个取代基均为

桂皮酰基。此化合物基峰为 m/z 163.040 1, 再结合奎宁酸上取代断键难易规律, 推断此化合物取代基在 3, 5 位上。其二级碎片与文献报道相似^[16-18], 因此, 将化合物 **10** 判断为 3,5-*di-p*-CoQA。化合物 **10** 的裂解规律见图 3。

3.2 黄酮类化合物的裂解规律分析

黄酮类化合物的鉴定主要通过 C 环的 RDA 裂解、CO、CO₂、H₂O 等中性丢失^[11-12,19-20]。黄酮苷类主要有氧苷和碳苷, 它们裂解存在一定的差异性。黄酮碳苷的苷键为碳碳相连, 较难断裂, 主要为糖基的裂解规律为 30, 60, 90, 120 Da 等中性丢失; 黄酮氧苷直接断裂糖苷键丢失糖基^[21-22]。黄酮类化合物 RDA 裂解途径见图 4。

3.2.1 黄酮苷元类 以化合物 **16** 为例, 保留时间为 28.65 min, 准分子离子为 m/z 269.046 7 [M-H]⁻, 误差为 1.9, 分子式推测为 C₁₅H₁₀O₅, 主要离子碎片为 m/z 269.046 7, 225.057 9, 151.004 5, 149.025 0, 121.031 0 和 m/z 117.035 6。中性丢失 CO₂ 生成 m/z 225.057 9。根据 RDA 裂解产生的 m/z 107.016 1 (0,4A⁻) 可以明确判断 A 环上有 2 个-OH, 此前已有

文献报道, 并且可以通过碎片离子 m/z 151.004 5 (1,3A⁻) 及 m/z 117.035 6 (1,3B⁻) 进一步确认, 另一个取代基在 B 环上。值得注意的是, 离子碎片 m/z 149.025 0 在之前被认为 1,4B⁻+2H(C₉H₇O₂) 或 1,3A⁻-2H(C₇H₁O₄), 但是根据高分辨质谱数据计算得到的分子式(C₈H₅O₃), 将其判断为 RDA 均裂产生的 0,3A⁻+H 离子更为合适, 并且具有与之对应的离子 m/z 121.031 0 (0,3B⁻+H)。其二级碎片与文献报道相似^[13-14], 因此, 将化合物 **16** 鉴定为 Apigenin。化合物 **16** 的裂解规律见图 5。

化合物 **18** 保留时间为 26.28 min, 准分子离子为 m/z 285.041 4 [M-H]⁻, 误差为 2.6, 分子式推测为 C₁₅H₁₀O₆, 主要离子碎片为 m/z 285.041 4, 267.029 3, 257.004 8, 241.051 5, 151.003 7 和 m/z 133.030 3。母离子失去 H₂O 后生成 m/z 267.029 3; 失去 CO 生成 m/z 257.004 8; 失去 CO₂ 生成 m/z 241.051 5; RDA 裂解生成 m/z 151.003 7 (1,3A⁻)、 m/z 133.030 3 (1,3B⁻), 推测 2 个羟基在 A 环上, 2 个羟基在 B 环上。其二级碎片与文献报道相似^[13-14], 因此, 化合物 **18** 鉴定为 Luteolin。

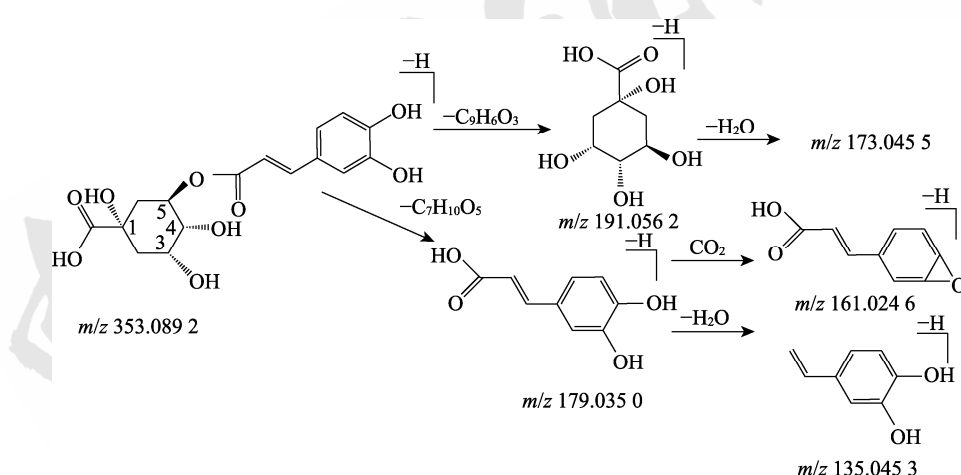


图 2 化合物 **1** 的裂解规律

Fig. 2 Fragmentation behaviors of compound **1**

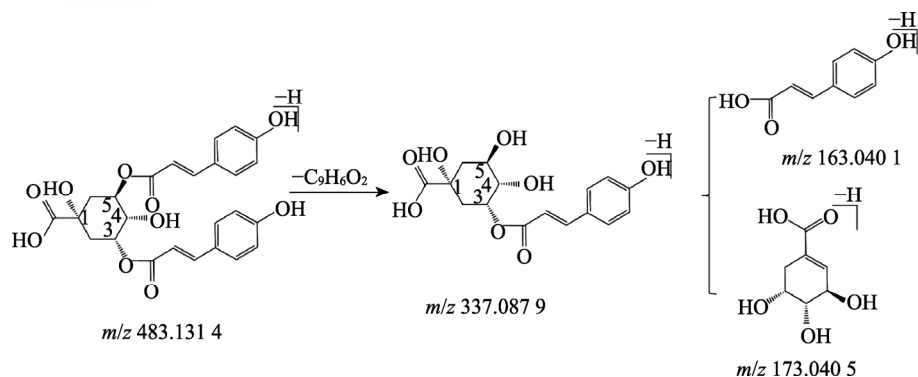


图 3 化合物 **10** 的裂解规律

Fig. 3 Fragmentation behaviors of compound **10**

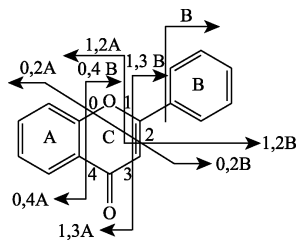


图4 黄酮类化合物常见RDA裂解途径

Fig. 4 Common RDA cleavage pathways of flavonoids

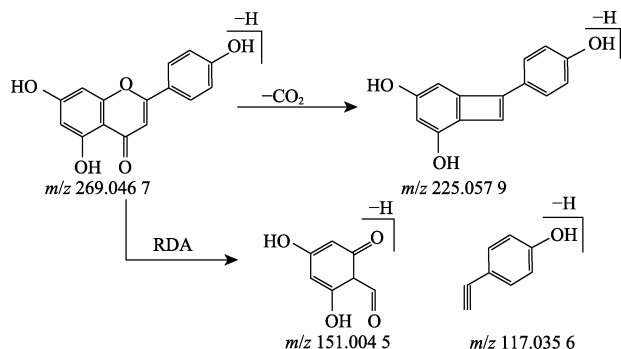


图5 化合物16的裂解规律

Fig. 5 Fragmentation behaviors of compound 16

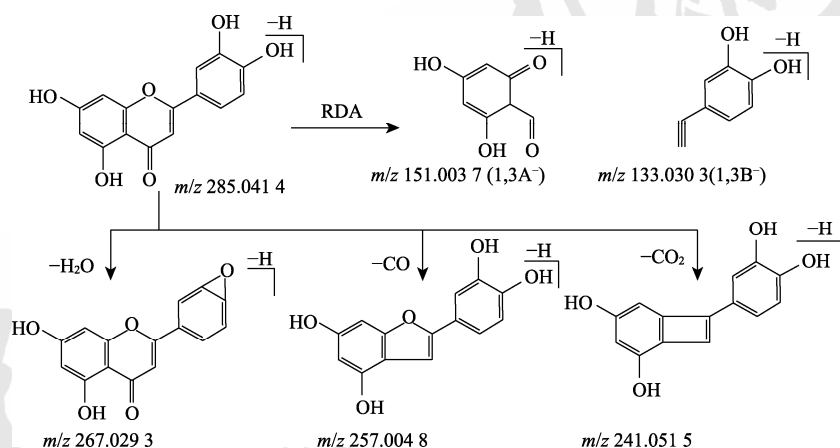


图6 化合物18的裂解规律

Fig. 6 Fragmentation behaviors of compound 18

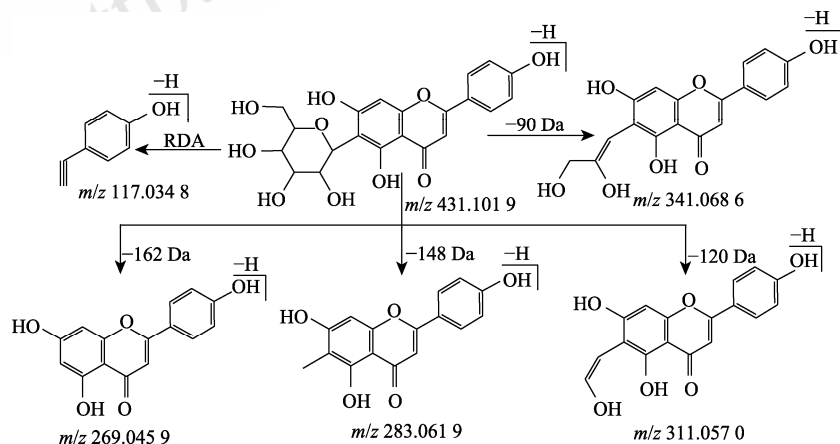


图7 化合物34的裂解规律

Fig. 7 Fragmentation behaviors of compound 34

化合物18的裂解规律见图6。

3.2.2 黄酮碳苷类 以化合物34为例,保留时间为12.91 min,准分子离子为 m/z 431.101 9[M-H]⁻,误差为3.2,分子式推测为C₂₁H₂₀O₁₀,主要离子碎片为 m/z 431.101 9, 341.068 6, 311.057 0, 283.061 9, 269.045 9和 m/z 117.034 8。具有90, 120 Da等中性丢失,分子离子失去 m/z 162.056 0后生成丰度较低的碎片离子 m/z 269.045 9,推测该化合物为黄酮碳苷,1分子葡萄糖基连接在黄酮苷元上。RDA裂解生成 m/z 117.034 8,推测有B环上连接一个羟基,则葡萄糖基及2个羟基连接在A环。其二级碎片与文献报道相似^[14,23-25],因此,化合物34鉴定为Vitexin。化合物34的裂解规律见图7。

3.2.3 黄酮氧苷类 以化合物38为例,保留时间为11.94 min,准分子离子为 m/z 447.095 8[M-H]⁻,误差为3.2,分子式推测为C₂₁H₂₀O₁₁,主要离子碎片为 m/z 447.095 8, 285.041 3, 151.002 7和 m/z 133.031 9。母离子失去162 Da(C₆H₁₀O₅)生成

m/z 285.041 3, 推测该化合物为黄酮氧苷及连接 1 分子葡萄糖基。碎片离子 m/z 285.041 3 RDA 进一步裂解生成 m/z 151.002 7(1,3A⁻)及 m/z 133.031 9 (1,3B⁻), 推测 A、B 环上均连接 2 分子羟基。其裂解的二级碎片与文献报道相似^[14,19], 因此, 化合物 **38** 鉴定为 Luteolin-7-*O*-glc。化合物 **38** 的裂解规律见图 8。

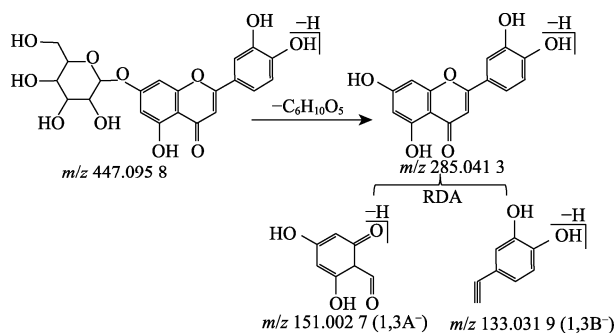


图 8 化合物 **38** 的裂解规律

Fig. 8 Fragmentation behaviors of compound **38**

3.3 木脂素类化合物成分分析

猪牙皂中的木脂素较多由 coniferyl alcohol 和 sinapyl alcohol 等苯丙素聚合而成, 生成 8-8、8-5、8-*O*-4 位连接的木脂素二聚体。生成二聚体后, 其

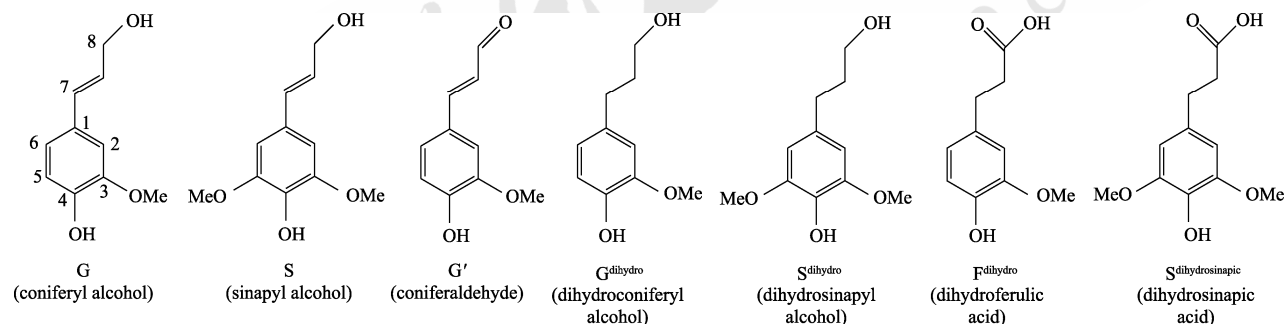


图 9 木脂素的基本单元

Fig. 9 Basic units of lignans

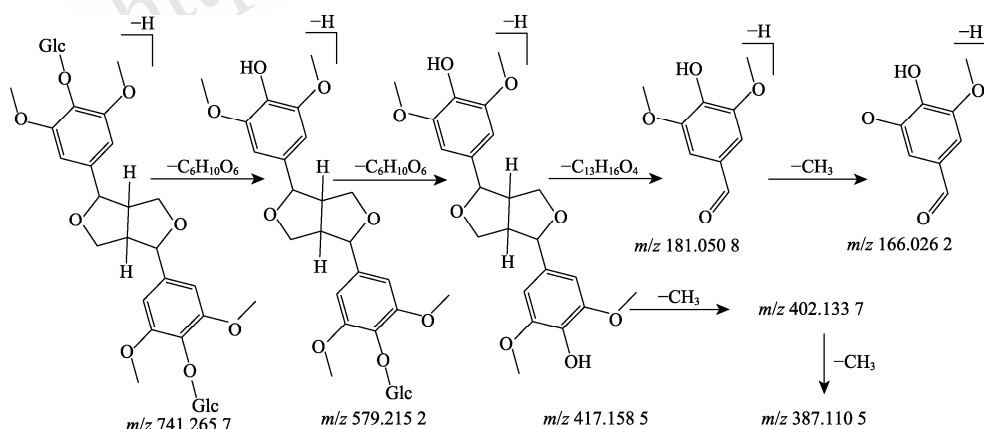


图 10 化合物 **48** 的裂解规律

Fig. 10 Fragmentation behaviors of compound **48**

末端的 *O*-4 位继续与其他苯丙素的 8 位连接生成三聚体、四聚体^[20]。不同结构的木脂素可能具有相同质量的母离子, 甚至较多离子碎片也是相同的。根据 RDA 裂解以及中性丢失(CO₂、CH₂O、H₂O)可以对不同类型的木脂素进行鉴定^[20]。组成木脂素的基本单元见图 9。

化合物 **48** 保留时间为 12.23 min, 准分子离子为 m/z 741.265 7[M-H]⁻, 误差为 6.2, 推测其分子式为 C₃₄H₄₆O₁₈, 主要离子碎片为 m/z 741.265 7, 579.215 2, 417.158 5, 402.133 7, 387.110 5, 181.050 8 和 166.026 2。母离子连续中性失去 162 Da 后生成 m/z 579.215 2 和 m/z 417.158 5, 推测此化合物连接 2 个葡萄糖基; 碎片离子 m/z 417.158 5 连续失去 15 Da(CH₃)生成 m/z 402.133 7 及 m/z 387.110 5; 碎片离子 m/z 181.050 8 失去 15 Da(CH₃)后生成 m/z 166.026 2。其裂解的二级碎片与文献报道相似^[20,26-27], 因此, 化合物 **48** 鉴定为 Liriodendrin。化合物 **48** 裂解规律见图 10。

化合物 **56** 保留时间为 11.13 min, 准分子离子为 m/z 613.212 7[M-COOH]⁻, 误差为 9.1, 推测其分子式为 C₂₇H₃₆O₁₃, 主要离子碎片为 m/z 567.211 3, 405.157 0, 357.134 6, 209.081 9, 195.006 3,

165.005 7。准分子离子失去 COOH 后生成分子离子 m/z 567.211 3, 继续失去 1 分子葡萄糖基 ($C_6H_{10}O_5$) 生成 m/z 405.157 0, 后发生 RDA 裂解生成 m/z 209.081 9 及 m/z 195.006 3。其裂解的二级碎片与文献报道相似^[20], 因此将化合物 **56** 鉴定为 S(4-O-8)G-glc。化合物 **56** 的裂解规律见图 11。

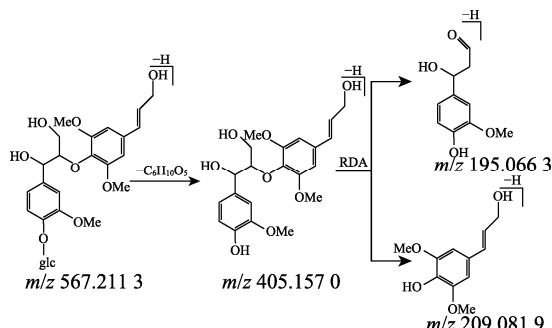


图 11 化合物 **56** 的裂解规律

Fig. 11 Fragmentation behaviors of compound **56**

化合物 **66** 保留时间为 26.99 min, 准分子离子为 m/z 583.226 7 [$M-H$]⁻, 误差为 8.3, 推测其分子式为 $C_{31}H_{36}O_{11}$, 主要离子碎片为 m/z 583.226 7, 535.202 1, 387.152 9, 369.137 3, 357.137 8, 195.065 8, 165.056 2。母离子失去 RDA 裂解生成 m/z 387.156 9 及 m/z 195.065 8, 继续失 H_2O 及 CH_2O 后分别生成 m/z 369.137 3 及 m/z 357.137 8。其裂解的二级碎片与文献报道相似^[20], 因此将化合物 **66** 鉴定为 G(8-O-4)S(8-5)G。化合物 **66** 的裂解规律见图 12。

3.4 单萜酸类化合物

从猪牙皂提取物中鉴定出 9 个单萜酸类化合物。2 种单萜单元基本结构及化合物 **73** 的裂解规律见图 13。以化合物 **73** 为例: 保留时间为 27.14 min, 准分子离子为 m/z 519.161 2 [$M-H$]⁻, 误差为 6.7, 推测其分子式为 $C_{26}H_{32}O_{11}$, 主要离子碎片为 m/z 519.191 6, 357.196 4, 191.056 5, 183.103 4, 179.035 1 和 m/z 173.045 5。母离子失去 $C_9H_6O_3$ (咖啡酰基) 生成 m/z 357.196 4, 继续 RDA 裂解生成 m/z 173.045 5 及 m/z 183.103 4。其裂解的二级碎片与文献报道相

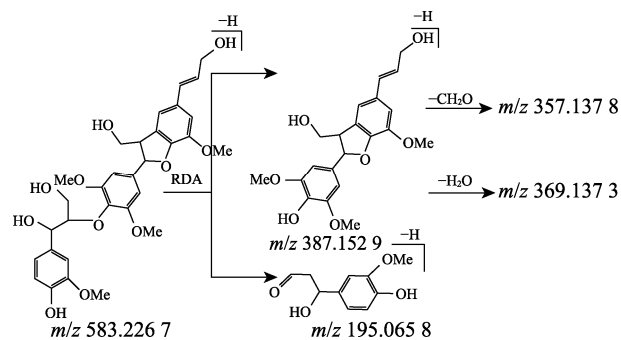


图 12 化合物 **66** 的裂解规律

Fig. 12 Fragmentation behaviors of compound **66**

似^[16,28], 因此, 将化合物 **73** 鉴定为 3-T-5-CQA。

化合物 **76** 保留时间为 6.59 min, 准分子离子为 m/z 569.212 1 [$M+HCOOH$]⁻, 误差为 -8.6, 推测其分子式为 $C_{33}H_{32}O_6$, 主要离子碎片为 m/z 523.208 2, 505.197 1, 493.196 7, 341.110 8, 199.097 5, 181.087 2, 179.056 5 和 m/z 169.087 1。母离子裂解生成 m/z 341.110 8 及 m/z 199.097 5; 分子离子 m/z 341.110 8 失去 $C_6H_{12}O_5$ 后生成 m/z 179.056 5; 分子离子 m/z 199.097 5 失去 H_2O 及 CH_2O 后分别生成 m/z 181.087 2 及 m/z 169.087 1。其裂解的二级碎片与文献报道相似^[28], 因此, 将化合物 **76** 鉴定为 Lactose-ter-OH。化合物 **76** 的裂解规律见图 14。

4 讨论

本研究建立了一种高效、系统的 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 方法对猪牙皂的化学成分进行鉴定: ①高分辨质谱获得每个化合物的前体离子及其二级离子碎片的精确质量; ②通过关键离子筛选目标化合物, 例如酚酸类化合物多存在离子碎片 m/z 191.056 1, 173.045 5, 双四氢呋喃型木脂素类多存在 m/z 181.050 8; ③根据二级质谱数据、文献报道以及对照品鉴别目标化合物。共筛选出 78 个化合物[黄酮类化合物 32 个, 酚酸类化合物 15 个, 木脂素类 22 个, 并发现 5 个新木脂素(化合物 **51**, **53**, **55**, **63**, **64**)和 9 个结构特殊的单萜酸类化合物(**70**~**78**)。这些单萜酸类化合物(图 15)的共同特征是它

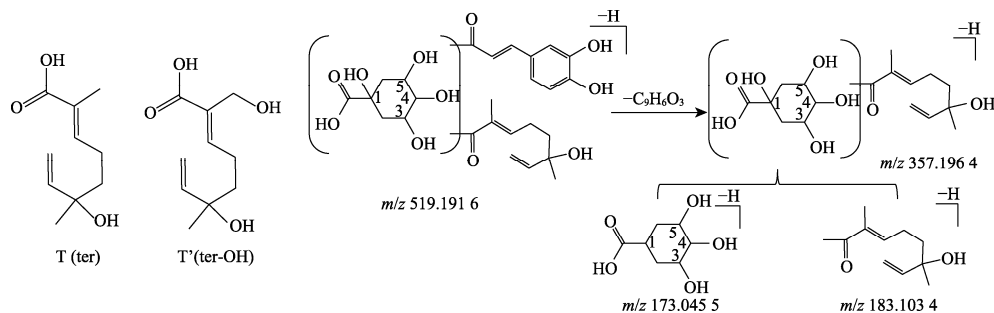


图 13 2 种单萜酸及化合物 **73** 的裂解规律

Fig. 13 Two monoterpenic acids and fragmentation behaviors of compound **73**

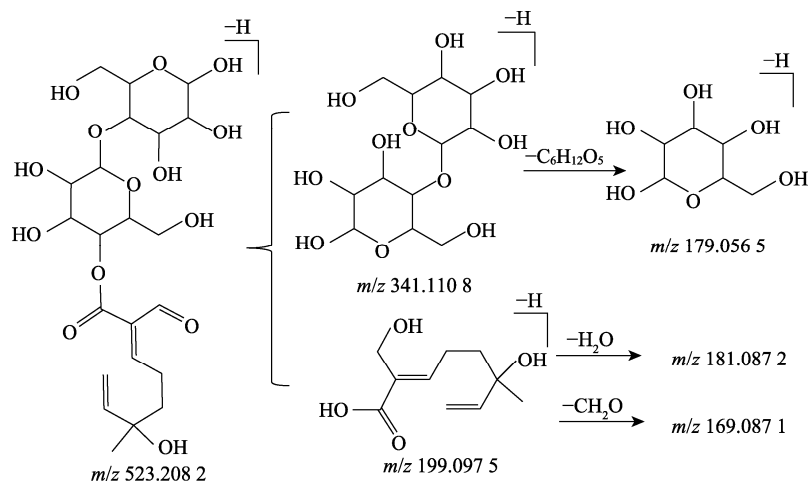


图 14 化合物 76 的裂解规律

Fig. 14 Fragmentation behaviors of compound 76

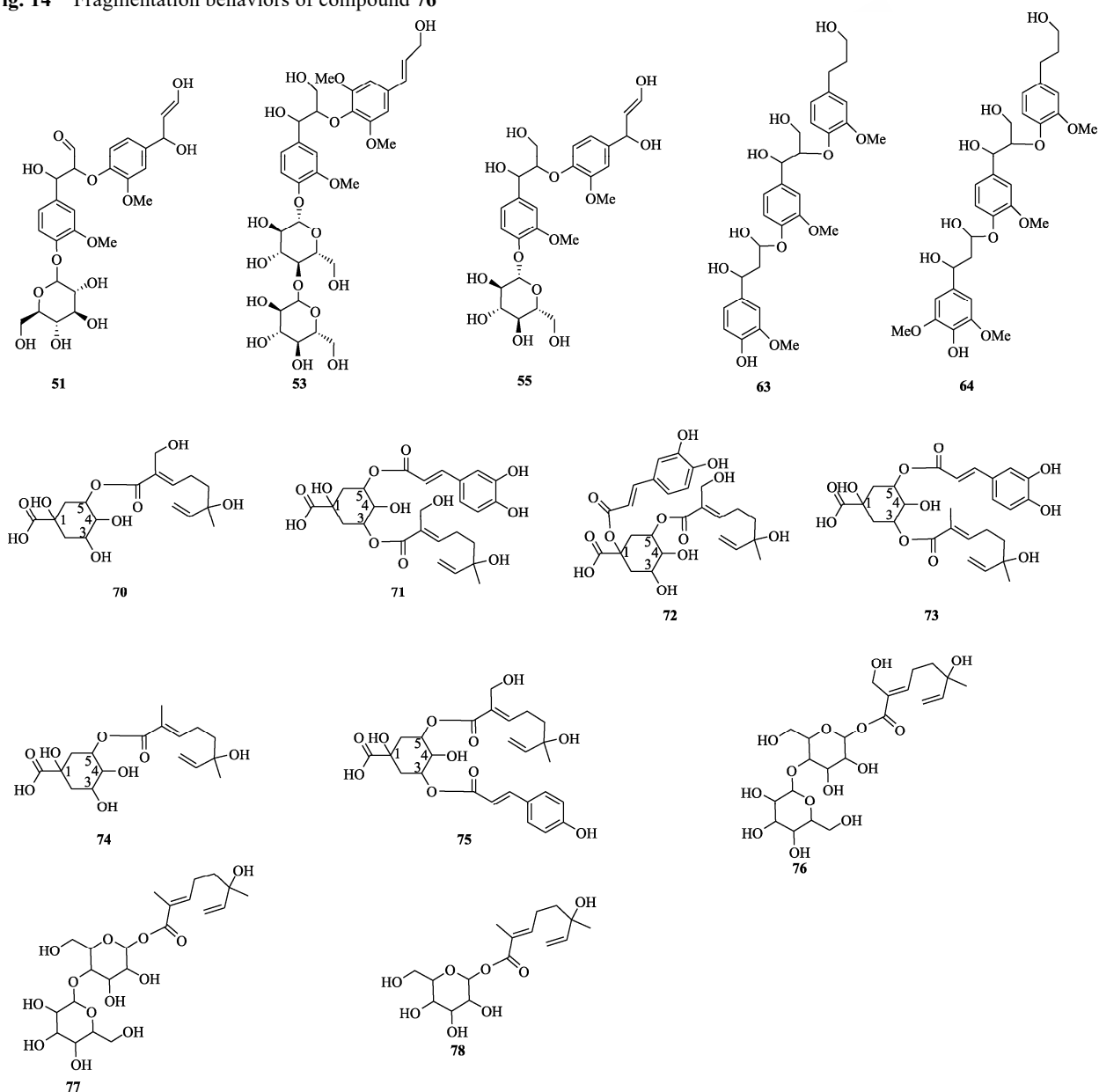


图 15 潜在新化合物的结构

Fig. 15 Structure of potential new compounds

们都与1个或2个结构新颖的单萜单元相连。Zeng等^[21]在皂角刺中分离到与这种单萜单元连接的牡荆素, 酰化的C-糖基黄酮被鉴定为(2''E, 6'''S)-4'-(6-羟基-2,6-二甲基辛-2,7-二烯酰基)-牡荆素。有趣的是, 这种特殊结构的单萜酸并不仅仅出现在黄酮类化合物上。本实验还发现一些绿原酸类及糖类与单萜单元相连。这种组合以前没有报道过。

在这些鉴定的化合物中, 研究较多的为碳苷黄酮类化合物。牡荆素具有抗心肌梗死、抗菌、抗肿瘤等药理作用^[29]。异牡荆素具有降血糖、抗菌、调节记忆、抑制 α -葡萄糖苷酶、降血压、抗氧化、抗肺癌、抗肝损伤及抗心律失常等作用^[30-32]。异荜草素具有抗氧化、抑制炎症发展、改善胰岛素抵抗、弱化肝纤维化发展以及诱导肝癌细胞凋亡等作用^[33]。荜草素具有抗糖尿病、心肌病的作用^[34-35]。这些药理作用均与猪牙皂提取物发挥的药理作用相符。因此, 可将牡荆素、异牡荆素、荜草素、异荜草素初步作为猪牙皂的质量标志物(Q-Marker)。

此外, 对猪牙皂化学成分中的同分异构体成分进行了系统研究, 结果表明UHPLC-Q-TOF-MS/MS可以有效区分的同分异构体。如木质素的2种基本结构S(8-5)G、S(8-8)G的质量均为 m/z 387.144 4[M-H]⁻, 根据两者离子丰度的差异以及中性丢失可以明显将其区分: 前者离子丰度极低, 易中性丢失H₂O生成丰度较高的离子峰; 而后者离子丰度较高, 不易丢失H₂O。

综上所述, UHPLC-Q-TOF-MS/MS可以作为鉴定中药中复杂化合物的有效方法^[36-37], 克服了传统中草药提取分离方法耗时长、效率低的缺点, 为进一步研究猪牙皂药效物质基础及质量标准提供了良好的依据。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2020.
- [2] LI J J, SHANG X C, ZHOU X T. Overview of medicinal research on *Gleditsia sinensis*[J]. Biol Teach(生物学教学), 2018, 43(2): 68-69.
- [3] (梁)陶弘景. 名医别录[M]. 尚志钧, 辑校. 北京: 人民卫生出版社, 1986.
- [4] LAU F Y, CHUI C H, GAMBARI R, et al. Antiproliferative and apoptosis-inducing activity of *Brucea javanica* extract on human carcinoma cells[J]. Int J Mol Med, 2005, 16(6): 1157-1162.
- [5] CHOW L M, TANG J C, TEO I T, et al. Antiproliferative activity of the extract of *Gleditsia sinensis* fruit on human solid tumour cell lines[J]. Chemotherapy, 2002, 48(6): 303-308.
- [6] KIM Y, KOH J H, AHN Y J, et al. The synergic

anti-inflammatory impact of *Gleditsia sinensis* lam. and *Lactobacillus brevis* KY21 on intestinal epithelial cells in a DSS-induced colitis model[J]. Korean J Food Sci Anim Resour, 2015, 35(5): 604-610.

- [7] CHONG W, FENG X Y, ZHEN G Z, et al. Inhibition of mast cell degranulation by saponins from *Gleditsia sinensis*: Structure-activity relationships[J]. Nat Prod Commun, 2009, 4(6): 777-782.
- [8] LEE J H, GO Y, LEE B, et al. The fruits of *Gleditsia sinensis* Lam. inhibits adipogenesis through modulation of mitotic clonal expansion and STAT3 activation in 3T3-L1 cells[J]. J Ethnopharmacol, 2018(222): 61-70.
- [9] KONOSHIMA T, YASUDA I, KASHIWADA Y, et al. Anti-AIDS agents, 21. Triterpenoid saponins as anti-HIV principles from fruits of *Gleditsia japonica* and *Gymnocladus chinensis*, and a structure-activity correlation[J]. J Nat Prod, 1995, 58(9): 1372-1377.
- [10] WANG Y, CHEN T, PAN L, et al. Application of liquid chromatography coupled with mass spectrometry technique in component analysis of *Salvia miltiorrhiza*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2014, 45(23): 3494-3502.
- [11] DU L Y, QIAN D W, SHANG E X, et al. UPLC-Q-TOF/MS-based screening and identification of the main flavonoids and their metabolites in rat bile, urine and feces after oral administration of *Scutellaria baicalensis* extract[J]. J Ethnopharmacol, 2015(169): 156-162.
- [12] ALARA O R, ABDURAHMAN N H, OBANIJESU E O, et al. Extract-rich in flavonoids from *Hibiscus sabdariffa* calyces: Optimizing microwave-assisted extraction method and characterization through LC-Q-TOF-MS analysis[J]. J Food Process Eng, 2020, 43(2).
- [13] YANG W Z, YE M, QIAO X, et al. Collision-induced dissociation of 40 flavonoid aglycones and differentiation of the common flavonoid subtypes using electrospray ionization ion-trap tandem mass spectrometry and quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Eur J Mass Spectrom (Chichester), 2012, 18(6): 493-503.
- [14] ZHANG J P, TIAN X H, YANG Y X, et al. *Gleditsia* species: An ethnomedical, phytochemical and pharmacological review[J]. J Ethnopharmacol, 2016(178): 155-171.
- [15] HAN J. Chemical composition analysis of *gleditsiae fructus abnormalis* based on UHPLC-Q-exactive-MS technology[J]. J Anhui Agric Sci(安徽农业科学), 2020, 48(24): 201-203.
- [16] OUYANG H, LI J M, WU B, et al. A robust platform based on ultra-high performance liquid chromatography Quadrupole time of flight tandem mass spectrometry with a two-step data mining strategy in the investigation, classification, and identification of chlorogenic acids in *Ainsliaea fragrans* Champ[J]. J Chromatogr A, 2017(1502): 38-50.
- [17] JAISWAL R, KIPROTICH J, KUHNERT N. Determination of the hydroxycinnamate profile of 12 members of the *Asteraceae* family[J]. Phytochemistry, 2011, 72(8): 781-790.
- [18] LI J M. Material basis identification and pharmacological mechanism researching of Fufang Xingxiangtuerfeng against cervicitis[D]. Nanchang: Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- [19] YANG W Z, QIAO X, BO T, et al. Low energy induced

- homolytic fragmentation of flavonol 3-O-glycosides by negative electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2014, 28(4): 385-395.
- [20] MORREEL K, DIMA O, KIM H, et al. Mass spectrometry-based sequencing of lignin oligomers[J]. Plant Physiol, 2010, 153(4): 1464-1478.
- [21] ZENG M N, QI M, KAN Y X, et al. A new flavonoid from the thorn of *Gleditsia sinensis* Lam[J]. Nat Prod Res, 2023, 37(2): 283-288.
- [22] GAN L, JI J, WANG L, et al. Identification of the metabolites in normal and AA rat plasma, urine and feces after oral administration of *Daphne genkwa* flavonoids by LC-Q-TOF-MS spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2020(177): 112856.
- [23] PENG A, LIN L Z, ZHAO M M. Screening of key flavonoids and monoterpenoids for xanthine oxidase inhibitory activity-oriented quality control of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 'Boju' based on spectrum-effect relationship coupled with UPLC-TOF-MS and HS-SPME-GC/MS[J]. Food Res Int, 2020(137): 109448.
- [24] KRÓL-KOGUS B, GLÓD D, KRAUZE-BARANOWSKA M, et al. Application of one-and two-dimensional high-performance liquid chromatography methodologies for the analysis of C-glycosylflavones from fenugreek seeds[J]. J Chromatogr A, 2014(1367): 48-56.
- [25] WARIDEL P, WOLFENDER J L, NDJOKO K, et al. Evaluation of quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and ion-trap multiple-stage mass spectrometry for the differentiation of C-glycosidic flavonoid isomers[J]. J Chromatogr A, 2001, 926(1): 29-41.
- [26] MA L, ZHANG R F, YU S L, et al. Chemical constituents of fructus gleditsiae abnormalis[J]. J China Pharm Univ(中国药科大学学报), 2015, 46(2): 188-193.
- [27] WANG D, YU J, XU X R, et al. Research progress of chemical compounds in tetrahydrofuran lignans[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2017, 23(8): 226-234.
- [28] WANG S, WANG Q, QIAO X, et al. Separation and characterization of triterpenoid saponins in *Gleditsia sinensis* by comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled with mass spectrometry[J]. Planta Med, 2016, 82(18): 1558-1567.
- [29] SHENG Y N, WANG C Y. Research progress on the mechanism of vitexin in preventing and treating diseases[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2021, 38(17): 2156-2161.
- [30] ZHAO F Z, DING C Z, LI X M. Effect of isovitexin on self-renewal and apoptosis in non-small cell lung cancer cells[J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2022, 38(3): 219-223.
- [31] QIAO Q, YA F, PANG X H, et al. The protective effect and mechanism of isovitexin on thioacetamide induced acute liver injury in mice[J]. J Guangxi Med Univ(广西医科大学学报), 2020, 37(3): 388-392.
- [32] REN J N, RAO B L, MA H X, et al. Effects of isovitexin on transient outward potassium current of ventricular myocytes in rats[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2017, 42(24): 4864-4869.
- [33] LUO C, LI Y, LONG J G, et al. Pharmacological effects of isoorientin[J]. Space Med & Med Eng(航天医学与医学工程), 2016, 29(5): 381-384.
- [34] HE Y F, LI G, GAI X Y, et al. Effects of orientin on insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and its mechanism[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2017, 33(9): 1221-1226.
- [35] LIU L Y, WANG H Y, HUANG X L. Cardioprotection of orientin against myocardial ischemia reperfusion injury through induction of autophagy[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2016, 32(4): 542-547.
- [36] XIAO G L, ZHONG H X, HUANG H J, et al. Identification of chemical constituents in Xiao'er Qingyan Granules by UPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2022, 39(12): 1627-1636.
- [37] WU Y, REN B N, ZHANG M, et al. Study on metabolism of chemical constituents in coptidis rhizome dispensing granule *in vivo*[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2022, 39(2): 147-153.

收稿日期: 2022-10-11
(本文责编: 陈怡心)