

板蓝根化学成分及抗氧化活性的研究

闫峻¹, 赵春芳², 李伯平¹, 刘志强³, 郭冬发¹, 郑重³

(1. 核工业北京地质研究院, 北京 100029; 2. 吉林大学, 吉林 长春 130021;
3. 中国科学院长春应用化学研究所, 吉林 长春 130022)

摘要: 采用高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)和直接进样的电喷雾串联质谱法(ESI-MS/MS)分析板蓝根乙酸乙酯提取物、正丁醇提取物和95%乙醇提取物的化学成分。同时,采用铁离子还原能力法(FRAP)评价板蓝根的抗氧化活性,并通过自由基清除能力法(DPPH)对FRAP法的测试结果进行验证。结果表明:在板蓝根乙酸乙酯提取物、正丁醇提取物和95%乙醇提取物中共鉴别出吡咯类、喹唑酮类、有机酸类、核苷类、嘌呤类、氨基酸类、黄酮类以及糖类等28个化合物。研究发现,板蓝根抗氧化活性部位主要集中在极性较低的化学组分中,吡咯类、喹唑酮类和有机酸类化合物是其主要的有效成分。该方法简便、快捷、灵敏,可为中药化学成分分析和抗氧化活性评价提供方法参考。

关键词: 板蓝根; 化学成分; 高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS); 电喷雾串联质谱(ESI-MS/MS); 抗氧化活性

中图分类号: O657.6 文献标志码: A 文章编号: 1004-2997(2017)02-0248-08

doi: 10.7538/zpxb.youxian.2016.0042

Chemical Constituents and Antioxidant Activity of Radix Isatidis

YAN Jun¹, ZHAO Chun-fang², LI Bo-ping¹, LIU Zhi-qiang³,
GUO Dong-fa¹, ZHENG Zhong³

(1. Beijing Research Institute of Uranium Geology, Beijing 100029, China;

2. Jilin University, Changchun 130021, China;

3. Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China)

Abstract: High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) and electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS) were applied to analyze the chemical constituents from acetate, *n*-BuOH and 95% ethanol extracts of Radix Isatidis. The separation was performed on a Kromasil C18 column (4.6 mm×250 mm×5 μm) with gradient of 0.15% acetic acid/water and methanol as mobile phase with a flow rate of 0.8 mL/min at 25 °C. The UV spectra of peaks were obtained by a diode array detector (DAD) under the detection wavelength at 254 nm and 265 nm. In order to get exact data of MS and MS² spectra, the atmosphere pressure

收稿日期: 2016-03-24; 修回日期: 2016-05-18

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20130102074JC)资助

作者简介: 闫峻(1982—), 男(汉族), 吉林通化人, 高级工程师, 从事中药及天然产物化学成分和质量控制研究。

E-mail: cncnyanjun@163.com

网络出版时间: 2016-09-01; 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20160901.1527.010.html>

chemical ionization ion source (APCI) and electrospray ionization ion source (ESI) in positive and negative scan mode were utilized. Up to date, twenty-eight compounds are identified from the crude extracts, including indoles, quinazolinones, organic acids, nucleosides, purines, amino acids, flavones and carbohydrates. Meanwhile, the antioxidant activity of the extracts from Radix Isatidis were estimated by the ferric reducing antioxidant power (FRAP) and radical scavenging (DPPH) methods. The results of the antioxidant activities indicated that the compositions of antioxidant activity are mainly existed in the small polarity part. Indoles, quinazolinones, organic acids and porphyrins are the main antioxidative constituents of Radix Isatidis. This method is rapid and sensitive, which can be used for analyzing the chemical compositions and antioxidant activities of traditional Chinese medicine in the future.

Key words: Radix Isatidis; chemical constituents; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS); electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS); antioxidant activity

板蓝根(Radix Isatidis)是十字花科植物菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)的干燥根,为临床常用中药,具有清热解毒、凉血利咽之功效,常用于治疗温毒发斑、舌绛紫暗、痄腮、喉痹、烂喉丹痧、大头瘟疫、丹毒、痈肿等症状^[1]。已报道的板蓝根化学成分主要包括吲哚类、喹唑酮类、芥子苷类、有机酸类和氨基酸类化合物等^[2]。

现代研究表明,自由基会损伤机体,与许多疾病的发生发展密切相关。传统的合成抗氧化剂虽然具有较强的抗氧化能力,但是长期服用会产生一定的毒性,甚至会致畸和致癌。因此,寻找能够有效清除自由基的中药或天然产物对于保护人类健康具有重要意义^[3]。板蓝根等清热解毒药物具有一定的抗氧化活性,但目前主要集中在对其中不饱和脂肪酸类和多糖类成分的研究^[4],而未见通过对板蓝根抗氧化活性组分进行筛选,继而确定其有效成分的报道。

中药化学成分研究的传统方法是用溶剂分配和柱色谱法将其逐一分离为纯的单一化合物,然后采用化学方法对其进行结构鉴定,该方法操作繁琐、分离效率和自动化程度低,且对微量组分的分离困难。目前,通常采用高效液相色谱法分离中药的有效化学成分,质谱法测定分子结构^[5]。高效液相色谱-质谱法可以同时完成成分分离和结构鉴定,具有高效、快速、灵敏等优点,是中药及天然产物有效成分定性定量分析的有效方法。电喷雾串联质谱法具有样品处理简单、分析速度快、灵敏度高、重现性好等特点,现已广

泛用于中药及天然产物化学成分的分析^[6]。

本研究拟采用高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)分析板蓝根乙酸乙酯提取物和板蓝根正丁醇提取物的化学成分,采用电喷雾串联质谱法(ESI-MS/MS)分析板蓝根95%乙醇提取物的化学成分,并采用铁离子还原能力法(FRAP)对板蓝根抗氧化活性进行评价,通过自由基清除法(DPPH)对FRAP法的评价结果进行验证,以期对板蓝根药效物质基础和谱效关系的研究、质量控制标准的制定提供依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

Waters 2695 高效液相色谱仪:美国 Waters 公司产品;Finnigan LCQ 离子阱质谱仪:美国 Finnigan 公司产品;自动酶标仪:奥地利 Clin-iBio 公司产品。

1.2 主要药材与试剂

板蓝根药材:购于北京同仁堂长春药店,经长春中医药大学王淑敏教授鉴定为十字花科植物菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)的干燥根;靛蓝和靛玉红对照品:由中国药品生物制品检定所提供;胞苷、腺嘌呤、尿苷、鸟苷、腺苷、苯丙氨酸、脯氨酸、精氨酸和苹果酸对照品:美国 Sigma 公司产品;1,1-二苯基-2-三硝基苯胍、2,4,6-三吡啶基三嗪、抗坏血酸:美国 Sigma 公司产品;甲醇、乙酸:均为色谱纯,美国 Fisher 公司产品;水为 18.2 MΩ·cm 超纯水;其他试剂均为

分析纯。

1.3 样品制备

称取 10 g 板蓝根药材,加水煎煮 2 次,每次 1 h,过滤,合并滤液,浓缩至适量;然后加入 3 倍量乙醇,搅匀,静置 24 h,过滤,减压浓缩至稠膏状,得板蓝根总提取物。将板蓝根总提取物加水溶解,用乙酸乙酯萃取,减压浓缩并干燥,得板蓝根乙酸乙酯提取物;用正丁醇萃取乙酸乙酯萃取后的部分,减压浓缩并干燥,得板蓝根正丁醇提取物;将正丁醇萃取后的部分干燥,加入 95%乙醇溶解,减压浓缩并干燥,得板蓝根 95%乙醇提取物。取板蓝根乙酸乙酯、正丁醇和 95%乙醇提取物各 0.5 g,分别置于 10 mL 容量瓶中,加 50%甲醇定容至刻度,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,即得板蓝根乙酸乙酯提取物、正丁醇提取物和 95%乙醇提取物的供试品溶液。

1.4 实验条件

1.4.1 板蓝根乙酸乙酯提取物的液相色谱-质谱分析条件 色谱条件:色谱柱为 Kromasil C18 分析柱(4.6 mm $\times$ 250 mm $\times$ 5 μm);流动相由 0.15%乙酸-水溶液(A)和甲醇(B)组成;线性梯度洗脱,0~45 min、40%~100%B,45~60 min、100%B;流速 0.8 mL/min;柱温 25 $^{\circ}\text{C}$;进样量 10 μL ;检测波长 254 nm。

质谱条件:大气压化学电离离子源(APCI),正、负离子模式检测,质量扫描范围 m/z 50~1 000,气化温度 450 $^{\circ}\text{C}$,毛细管温度 150 $^{\circ}\text{C}$,喷雾电压 4.0 kV,鞘气(N_2)流速 0.9 L/min,辅助气(N_2)流速 1.5 L/min。

1.4.2 板蓝根正丁醇提取物的液相色谱-质谱分析条件 色谱条件:色谱柱为 Kromasil C18 分析柱(4.6 mm $\times$ 250 mm $\times$ 5 μm);流动相由 0.15%乙酸-水溶液(A)和甲醇(B)组成;线性梯度洗脱,0~10 min、5%B,10~20 min、5%~20%B,20~30 min、20%~30%B,30~50 min、30%~35%B,50~65 min、35%~55%B;流速 0.8 mL/min;柱温 25 $^{\circ}\text{C}$;进样量 10 μL ;检测波长 265 nm。

质谱条件:电喷雾电离离子源(ESI),正、负离子模式检测,质量扫描范围 m/z 50~1 000,毛细管温度 250 $^{\circ}\text{C}$,喷雾电压 4.5 kV,鞘气(N_2)流速 0.9 L/min,辅助气(N_2)流速 3.0 L/min。

1.4.3 板蓝根 95%乙醇提取物的串联质谱分析条件 电喷雾电离离子源;正、负离子模式检测;质量扫描范围 m/z 50~1 000;毛细管温度 200 $^{\circ}\text{C}$;喷雾电压 4.5 kV;鞘气(N_2)流速 0.75 L/min;将板蓝根 95%乙醇提取物加甲醇稀释后采用流动注射泵进样,进样流速 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

1.5 板蓝根抗氧化活性研究

1.5.1 铁离子还原能力法(FRAP) 将板蓝根乙酸乙酯、正丁醇和 95%乙醇提取物分别用甲醇稀释,配制成 0.1 g/L 溶液,作为待测样品溶液。向抗坏血酸(Vc)对照品中加入甲醇,配制成 500 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 对照品溶液。将 0.3 mol/L 醋酸钠缓冲溶液(pH 3.6)、0.01 mol/L 2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ)溶液(溶解在 0.04 mol/L HCl 中)和 0.02 mol/L 三氯化铁溶液以 10:1:1(V:V:V)比例混合,配制成 FRAP 试剂。取 10 μL Vc 对照品溶液或待测样品溶液加入到 96 孔板中,然后迅速加入 300 μL FRAP 试剂,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 用自动酶标仪分别测定 0 min 和 4 min 的吸光度值,平行测定 3 次。FRAP 法的测量结果以相当于 500 $\mu\text{mol}/\text{L}$ Vc 抗氧化能力来计算,示于式(1):

$$\text{FRAP}(\mu\text{mol}/\text{L}) = \frac{0 \text{ min 样品吸光度} - 4 \text{ min 样品吸光度}}{0 \text{ min Vc 吸光度} - 4 \text{ min Vc 吸光度}} \quad (1)$$

1.5.2 自由基清除能力法(DPPH) 将板蓝根乙酸乙酯、正丁醇和 95%乙醇提取物分别用甲醇稀释,在 0.001~10 g/L 范围内配制成 10 个不同浓度的待测样品溶液。向 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)中加入甲醇配制成浓度为 65 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的溶液。将 20 μL 甲醇和 100 μL DPPH 溶液混合作为 A_0 ;20 μL 不同浓度的待测样品溶液和 100 μL DPPH 溶液混合作为 A_i ;20 μL 不同浓度的待测样品溶液和 100 μL 甲醇混合作为 A_j 。以上 3 种混合溶液避光放置 30 min,用自动酶标仪在 515 nm 波长下分别测定其吸光度值,每个样品平行测定 3 次,计算不同浓度样品对 DPPH 自由基的清除率(SA),其公式示于式(2):

$$\text{SA}\% = \frac{A_0 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

以清除率对各样品浓度做标准曲线,得线性回归方程 $\text{SA} = aC + b$,可计算出 $\text{SA} = 50\%$ 时的样品浓度 C ,即为该样品的 IC_{50} 值。

2 结果与讨论

2.1 板蓝根乙酸乙酯提取物化学成分的分析

板蓝根乙酸乙酯提取物的色谱图和总离子

流图示于图 1。

板蓝根乙酸乙酯提取物化学成分的 LC-MS/MS 数据,以及对应的化合物列于表 1。

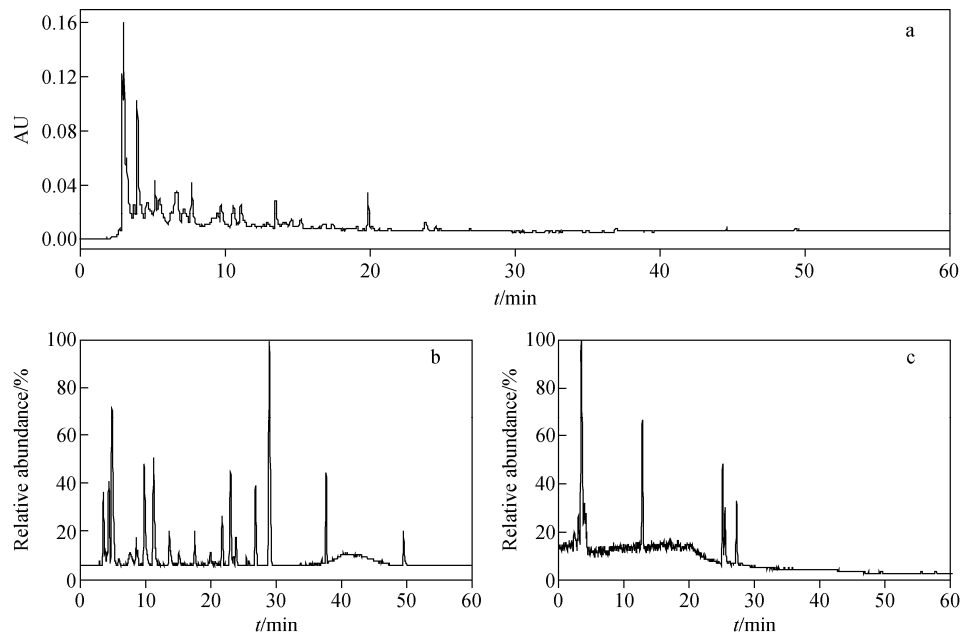


图 1 板蓝根乙酸乙酯提取物的液相色谱图(a),以及正离子(b)和负离子(c)模式下的总离子流图

Fig. 1 LC/MS chromatograms (a), positive (b) and negative (c) TIC of acetate extract from Radix Isatidis

表 1 板蓝根乙酸乙酯提取物的 LC-MS/MS 数据

Table 1 LC-MS/MS data of acetate extract from Radix Isatidis

序号	t_R/min	$m/z(+)$	$m/z(-)$	MS ²	化合物
1	10.59	166[M+H] ⁺		166 : 148[M+H-H ₂ O] ⁺ , 120[M+H-HCOOH] ⁺	N-醛基氨基苯甲酸 N-Formyl anthranilic acid ^[7]
2	11.50	267[M+H] ⁺		267 : 249[M+H-H ₂ O] ⁺ , 239 [M+H-CO] ⁺ , 146 [M+H-C ₆ H ₅ COOH] ⁺	3-羧基苯基喹唑酮 3-(2'-Carboxyphenyl)-4(3H)- quinazolinone ^[7]
3	12.81		137[M-H] ⁻	137 : 93[M-H-CO ₂] ⁻	水杨酸 Salicylic acid ^[8]
4	23.76	249[M+H] ⁺		249 : 221[M+H-CO] ⁺	色胺酮 Tryptanthrin ^[7]
5	28.87	263[M+H] ⁺		263 : 235[M+H-CO] ⁺ , 219[M-H-CO ₂] ⁺	靛蓝 Indigo [*]
6	34.35	263[M+H] ⁺		263 : 235[M+H-CO] ⁺ , 219[M-H-CO ₂] ⁺	靛玉红 Indirubin [*]
7	37.40	279[M+H] ⁺		279 : 223[M+H-2CO] ⁺ , 205[M+H-2CO-H ₂ O] ⁺	羟基靛玉红 Hydroxyindirubin ^[8]
8	46.37		277[M-H] ⁻	277 : 259[M-H-H ₂ O] ⁻ , 233[M-H-CO ₂] ⁻ , 217[M-H-CH ₃ COOH] ⁻	亚麻酸 Linolenic acid ^[7]

注: * 表示化合物 5 和 6 分别与相应的对照品具有相同的保留时间、质荷比和 MS² 谱

2.2 板蓝根正丁醇提取物化学成分的分析

板蓝根正丁醇提取物的色谱图和总离子流图示于图 2。

板蓝根正丁醇提取物化学成分的 LC-MS/MS 数据,以及对应的化合物列于表 2。

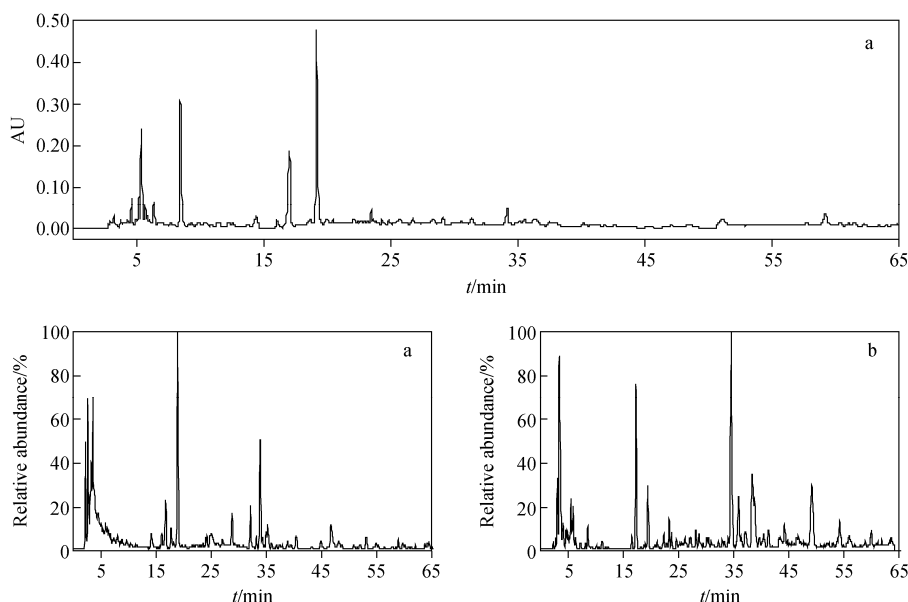


图 2 板蓝根正丁醇提取物的液相色谱图(a),以及正离子(b)和负离子(c)模式下的总离子流图

Fig. 2 LC/MS chromatograms (a), positive (b) and negative (c) TIC of *n*-BuOH extract from *Radix Isatidis*

表 2 板蓝根正丁醇提取物的 LC-MS/MS 数据

Table 2 LC-MS/MS data of *n*-BuOH extract from *Radix Isatidis*

序号	t_R /min	m/z (+)	m/z (-)	MS ²	化合物
9	4.51	244[M+H] ⁺		244 : 112[M+H-rib] ⁺	胞苷 Cytidine*
10	5.19	136[M+H] ⁺		—	腺嘌呤 Adenine*
11	5.44	152[M+H] ⁺		—	鸟嘌呤 Guanine*
12	8.28	245[M+H] ⁺		245 : 113[M+H-rib] ⁺	尿苷 Uridine*
13	16.80	284[M+H] ⁺		284 : 152[M+H-rib] ⁺	鸟苷 Guanosine*
14	17.77		164[M-H] ⁻	164 : 147[M-H-NH ₃] ⁻ , 118[M-H-HCOOH] ⁻	苯丙氨酸 Phenylalanine*
15	18.99	268[M+H] ⁺		268 : 136[M+H-rib] ⁺	腺苷 Adenosine*
16	35.55		593[M-H] ⁻	593 : 473[M-H-CH ₂ OH(CHOH) ₂ CHO] ⁻ , 431[M-H-glc] ⁻ , 341[M-H-glc-CH ₂ OHCHOHCHO] ⁻ , 311[M-H-glc-CH ₂ OH(CHOH) ₂ CHO] ⁻	皂草苷 Saponarin ^[9-10]
17	37.61		623[M-H] ⁻	623 : 503[M-H-CH ₂ OH(CHOH) ₂ CHO] ⁻ , 461[M-H-glc] ⁻ , 371[M-H-glc-CH ₂ OHCHOHCHO] ⁻ , 341[M-H-glc-CH ₂ OH(CHOH) ₂ CHO] ⁻	异金雀花素-7- <i>O</i> -吡喃葡萄糖苷 Isoscoparin-7- <i>O</i> -glucopyranoside ^[10]
18	44.13		593[M-H] ⁻	593 : 341[M-H-glc-CH ₂ OHCHOHCHO] ⁻ , 311[M-H-glc-CH ₂ OH(CHOH) ₂ CHO] ⁻	异牡荆素-6''- <i>O</i> -吡喃葡萄糖苷 Isovitexin-6''- <i>O</i> -glucopyranoside ^[9]
19	46.46		623[M-H] ⁻	623 : 371[M-H-glc-CH ₂ OHCHOHCHO] ⁻ , 341[M-H-glc-CH ₂ OH(CHOH) ₂ CHO] ⁻	异金雀花素-6''- <i>O</i> -吡喃葡萄糖苷 Isoscoparin-6''- <i>O</i> -glucopyranoside ^[11]
20	59.27		431	431 : 341[M-H-CH ₂ OHCHOHCHO] ⁻ , 311[M-H-CH ₂ OH(CHOH) ₂ CHO] ⁻	异牡荆素 Isovitexin ^[9-10]
21	60.43		461	461 : 371[M-H-CH ₂ OHCHOHCHO] ⁻ , 341[M-H-CH ₂ OH(CHOH) ₂ CHO] ⁻	异金雀花素 Isoscoparin ^[9-10]

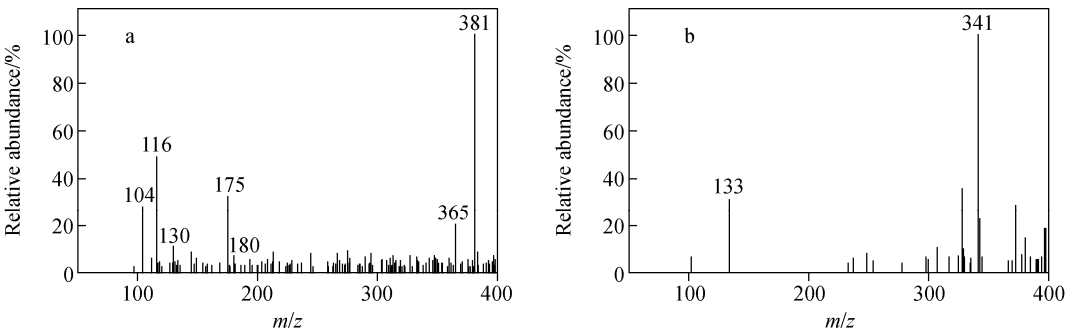
注: * 表示化合物 9~15 分别与相应的对照品具有相同的保留时间、质荷比和 MS² 谱

2.3 板蓝根 95%乙醇提取物化学成分的分析

板蓝根 95%乙醇提取物的一级全扫描电喷雾质谱图示于图 3。可知,在正离子模式下,板蓝根 95%乙醇提取物主要有 m/z 104、116、

130、175、180、365 和 381 离子;在负离子模式下,主要有 m/z 133、341 离子。

板蓝根 95%乙醇提取物化学成分 ESI-MSⁿ 数据,以及对应的化合物列于表 3。



注:a. 正离子模式;b. 负离子模式

图 3 板蓝根 95%乙醇提取物的一级全扫描质谱图

Fig. 3 Full scan electrospray ionization mass spectrometry of 95% ethanol extract from Radix Isatidis

表 3 板蓝根 95%乙醇提取物的 ESI-MSⁿ 数据

Table 3 ESI-MSⁿ data of 95% ethanol extract from Radix Isatidis

序号	$m/z(+)$	$m/z(-)$	MS ²	化合物
22	104[M+H] ⁺		104 : 86[M+H-H ₂ O] ⁺ , 60[M+H-CO ₂] ⁺	γ-氨基丁酸 γ-Aminobutyric acid ^[12]
23	116[M+H] ⁺		116 : 70[M+H-HCOOH] ⁺	脯氨酸 Proline*
24	130[M+H] ⁺		130 : 113[M+H-NH ₃] ⁺ , 84[M+H-SCH ₂] ⁺ , 70[M+H-SC ₂ H ₄] ⁺	表告依春 Epigotrin ^[12]
25	175[M+H] ⁺		175 : 157[M+H-H ₂ O] ⁺ , 140[M+H-H ₂ O-NH ₃] ⁺ , 112[M+H-HCOOC-NH ₃] ⁺	精氨酸 Arginine*
26	180[M+H] ⁺		180 : 162[M+H-H ₂ O] ⁺ , 144[M+H-2H ₂ O] ⁺ , 84[M+H-2H ₂ O-C ₂ H ₄ O ₂] ⁺ , 72[M+H-H ₂ O-C ₃ H ₆ O ₃] ⁺	氨基葡萄糖 Glucosamine ^[12-13]
27	365[M+Na] ⁺		365 : 203[M+Na-glc] ⁺ , 185[M+Na-glc-H ₂ O] ⁺	蔗糖 Sucrose ^[14-15]
	381 [M+K] ⁺		381 : 219[M+K-glc] ⁺ , 201[M+K-glc-H ₂ O] ⁺	
		341 [M-H] ⁻	341 : 281[M-H-C ₂ H ₄ O ₂] ⁻ , 179[M-H-glc] ⁻ , 161[M-H-H ₂ O] ⁻	
28		133[M-H] ⁻	133 : 115[M-H-H ₂ O] ⁻	苹果酸 Malic acid ^[16]

注:* 表示化合物 23 和 25 分别与相应的对照品具有相同的质谱断裂规律

2.4 板蓝根抗氧化活性的研究

FRAP 值的大小可以反映样品对铁离子还原能力的强弱。FRAP 值越大,说明该样品对铁离子的还原能力越强,即抗氧化活性越强;反之越弱。样品 IC_{50} 值可以反映该样品对 DPPH 自由基清除能力的强弱。 IC_{50} 值越小,表明该样品对 DPPH 自由基的清除能力越强,即抗氧化能力

越强;反之越弱^[17]。板蓝根乙酸乙酯提取物、正丁醇提取、95%乙醇提取物和总提取物的抗氧化活性结果列于表 4。可知,板蓝根不同化学组分抗氧化活力强弱为乙酸乙酯提取物>总提取物>正丁醇提取物>95%乙醇提取物。板蓝根乙酸乙酯提取物的抗氧化活性最强,说明其有效成分主要集中在极性较低的化学组分中。

表 4 板蓝根提取物的抗氧化活性

Table 4 Antioxidant activity of extract from Radix Isatidis

序号	提取物	FRAP/ ($\mu\text{mol/L}$)	DPPH		
			回归方程	相关系数 r	$IC_{50}/(\text{g/L})$
1	乙酸乙酯	1679.68	$SA=49.603C+15.792$	0.9973	0.690
2	正丁醇	898.42	$SA=12.405C+12.535$	0.9972	3.020
3	95%乙醇	800.78	$SA=10.400C+17.508$	0.9942	3.124
4	总提取物	1380.20	$SA=19.139C+16.270$	0.9963	1.762

2.5 讨论

本研究采用高效液相色谱-串联质谱法分析板蓝根乙酸乙酯提取物、正丁醇提取物的化学成分,采用电喷雾串联质谱法分析板蓝根 95%乙醇提取物的化学成分。在板蓝根乙酸乙酯、正丁醇和 95%乙醇提取物中共鉴别出 28 个化合物,其中,化合物 1、3、8 和 28 为有机酸类化合物,化合物 2 和 4 为喹啉酮类化合物,化合物 5、6 和 7 为吲哚类化合物,化合物 9、12、13 和 15 为核苷类化合物,化合物 10 和 11 为嘌呤类化合物,化合物 14、22、23 和 25 为氨基酸类化合物,化合物 16、17、18、19、20 和 21 为黄酮类化合物,化合物 24 为含硫类化合物。

化合物 5 与 6(m/z 263),化合物 16 与 18(m/z 593),化合物 17 与 19(m/z 623)互为同分异构体。化合物 5 与 6 均为靛苷水解产物,在一级全扫描质谱中具有相同的质荷比,在二级串联质谱中也具有相同的质谱断裂规律,需要参照对照品的保留时间进行鉴别;化合物 16 与 18,化合物 17 与 19 分别为异牡荆素和异金雀花素结合一分子葡萄糖氧苷所形成的化合物,在一级全扫描质谱中具有相同的质荷比,但在二级串联质谱中的质谱断裂规律有一定差异,可参考文献^[9-11]进行鉴别。

抗氧化活性评价结果表明,板蓝根抗氧化活性成分主要集中在极性较低的化学组分中。

结合化学成分研究数据可知,板蓝根抗氧化性的主要有效成分为吲哚类、喹啉酮类和有机酸类化合物,糖类和氨基酸类化合物的抗氧化活性较弱。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部) [M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:205-206.
- [2] 肖珊珊,金郁,孙毓庆. 板蓝根化学成分、药理及质量及控制研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2003,20(6):455-459.
XIAO Shanshan, JIN Yu, SUN Yuqing. Recent progress in the studies of chemical constituents, pharmacological effects and quality control methods on the roots of *Isatis indigotica* [J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2003, 20(6): 455-459(in Chinese).
- [3] 孙丽萍,王大仟,张智武. 11 种天然植物提取物对 DPPH 自由基的清除作用[J]. 食品科学, 2009,30(1):45-47.
SUN Liping, WANG Daqian, ZHANG Zhiwu. 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activities of eleven species of natural plant extracts[J]. Food Science, 2009, 30(1): 45-47 (in Chinese).
- [4] 陈瀚,李进,李祥,等. 板蓝根不同提取部位的体外抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志,2012, 18(9):184-186.
CHEN Han, LI Jin, LI Xiang, et al. Antioxida-

- tion of different extracts from *Isatidis indigotica* *in vitro*[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 18(9): 184-186(in Chinese).
- [5] 王晓良,陈明华,王芳,等. 板蓝根水提取物的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(8): 1 172-1 182.
- WANG Xiaoliang, CHEN Minghua, WANG Fang, et al. Chemical constituents from root of *Isatis indigotica* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2013, 38(8): 1 172-1 182(in Chinese).
- [6] 周慧,宋凤瑞,刘志强,等. 刺五加叶的 HPLC-UV 和 ESI-MS 指纹图谱研究[J]. 质谱学报, 2008, 29(6): 321-326.
- ZHOU Hui, SONG Fengrui, LIU Zhiqiang, et al. The fingerprints of leaves of *Acanthopanax Senticosus* by HPLC-UV and ESI-MS[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2008, 29(6): 321-326(in Chinese).
- [7] MHON T, PLITZKO I, HAMBURGER M. A comprehensive metabolite profiling of *Isatis tinctoria* leaf extracts[J]. Phytochemistry, 2009, 70(7): 924-934.
- [8] XIAO S S, BI K S, SUN Y Q. Identification of chemical constituents in the root of *Isatis indigotica* Fort. by LC/DAD/ESI/MS/MS[J]. Journal of Liquid Chromatography, 2007, 30(1): 73-85.
- [9] DENG X Y, GAO G H, ZHENG S N, et al. Qualitative and quantitative analysis of flavonoids in the leaves of *Isatis indigotica* Fort. by ultra-performance liquid chromatography with PDA and electrospray ionization tandem mass spectrometry detection[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2008, 48(3): 562-567.
- [10] FERRERS F, ANDRADE P B, VALENTAO P, et al. Further knowledge on barley (*Hordeum vulgare* L. leaves *O*-glycosyl-*C*-glycosyl flavones by liquid chromatography-UV diode-array detection-electrospray ionization mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1 182(1): 56-64.
- [11] FERRERS F, GIL-IZQUIERDO A, ANDRADE P B, et al. Characterization of *C*-glycosyl flavones *O*-glycosylated by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1 161(1/2): 214-223.
- [12] 刘舒,闫峻,李慧琳,等. 板蓝根化学成分的质谱研究[J]. 高等学校化学学报, 2010, 31(6): 1 143-1 147.
- LIU Shu, YAN Jun, LI Huilin, et al. Studies on chemical constituents of compound *Indigowoad Root Granule* by mass spectrometry[J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2010, 31(6): 1 143-1 147(in Chinese).
- [13] LU W Y, KIMBALL E, RABINOWITZ J D. A high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantitation of nitrogen-containing intracellular metabolites[J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2006, 17(1): 37-50.
- [14] 李锐,付铁军,及元乔,等. 膜荚黄芪与蒙古黄芪化学成分的高效液相色谱-质谱研究[J]. 分析化学, 2005, 33(12): 1 676-1 680.
- LI Rui, FU Tiejun, JI Yuanqiao, et al. A study of a *Stragalus mongholicus* and a *Stragalus membranaceus* by high performance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2005, 33(12): 1 676-1 680(in Chinese).
- [15] 郭明全,宋凤瑞,陈茂连,等. 刺五加寡糖的电喷雾多级串联质谱研究[J]. 高等学校化学学报, 2003, 24(9): 1 577-1 581.
- GUO Mingquan, SONG Fengrui, CHEN Maolian, et al. Studies on oligosaccharides from *Acanthopanax Senticosus* Harms (AS) by electrospray ionization tandem mass spectrometry (MSⁿ) [J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2003, 24(9): 1 577-1 581(in Chinese).
- [16] 刘巍,毛友安,钟科军,等. 直接电喷雾离子阱质谱法快速表征烟叶[J]. 分析实验室, 2008, 27(2): 65-69.
- LIU Wei, MAO Youan, ZHONG Kejun, et al. Fast characterization of tobacco leaves by direct electrospray ionization-ion trap mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2008, 27(2): 65-69(in Chinese).
- [17] 孙孟琪,齐瑶,宋凤瑞,等. 中药刺桐抗氧化成分的分离与活性评价研究[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(8): 1 762-1 765.
- SUN Mengqi, QI Yao, SONG Fengrui, et al. Studies on the isolation and the activities evaluation of anti-oxidation chemical compositions in *erythrina variegata*[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2010, 28(8): 1 762-1 765(in Chinese).