

UPLC/Q-TOF MS/MS 负离子模式下 环氧烷型环烯醚萜苷的结构表征

牟德华¹, 胡高爽¹, 李存满²

(1. 河北科技大学生物科学与工程学院, 河北 石家庄 050018;

2. 河北科技大学, 河北省分析测试研究中心, 河北 石家庄 050018)

摘要: 利用四极杆飞行时间串联质谱(Q-TOF MS/MS)研究 4 个环氧烷型环烯醚萜苷同系组分(胡黄连苷 I、胡黄连苷 II、胡麻属苷、梓醇)的质谱裂解行为。在大气压化学电离源负离子(APCI⁻)模式下, 该类同系组分主要的裂解途径除了常见的母环上取代基的断裂, 如中性丢失 H₂O、CO₂ 和葡萄糖基等, 生成^{1,6}F⁻、^{1,4}F⁻等特征碎片离子; 另外还存在葡萄糖基环的断裂, 生成^{0,4}A₁⁻、^{1,4}A₁⁻及^{2,4}A₁⁻等碎片离子。通过对上述环氧烷型同系组分的质谱裂解行为进行归纳总结, 依据其裂解规律, 利用 UPLC/Q-TOF MS/MS 对胡黄连提取物中的环烯醚萜苷类化合物进行表征, 共初步鉴定出 10 个环烯醚萜苷, 其中包括 8 个环氧烷型环烯醚萜苷(胡黄连苷 I、胡黄连苷 II、胡黄连苷 III、胡黄连苷 IV、黄金树苷、梓苷、婆婆纳苷和 Piscroside B)和 2 个环戊烷型环烯醚萜(Boschnaloside 和 Mussaenosidic acid)。该方法有助于推动胡黄连在物质基础表征、质量控制和临床应用上的开发和利用。

关键词: 环氧烷型环烯醚萜苷; 裂解行为; 超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱(UPLC/Q-TOF MS/MS); 大气压化学电离源负离子模式; 胡黄连

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2019)02-0197-11

doi: 10.7538/zpxb.2018.0073

Structural Characterization of Epoxytane-type Iridoid Glucosides by UPLC/Q-TOF MS/MS

MOU De-hua¹, HU Gao-shuang¹, LI Cun-man²

(1. College of Bioscience and Bioengineering, Hebei University
of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China;

2. Hebei Research Centre of Analysis and Testing,
Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

Abstract: Iridoid glucosides (IGs) are an important class of widely distributed secondary plant metabolites with a wide range of biological and physiological activities, which can be divided into several sub-classes, such as cyclopentene-type, cyclopentane-type, and

收稿日期: 2018-06-14; 修回日期: 2018-08-30

基金项目: 河北省科技计划项目(批准号: 17227116D)资助

作者简介: 牟德华(1960—), 男(汉族), 山东广饶人, 教授, 从事食品药品分离分析及加工工艺研究。E-mail: 2268306646@qq.com

通信作者: 李存满(1973—), 女(汉族), 河北武邑人, 副研究员, 从事复杂体系的分离分析研究。E-mail: lcm_hebei@sina.com

网络出版时间: 2018-11-27; 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20181123.1513.012.html>

epoxytane-type IGs. In this work, the mass spectral fragmentation behaviors of 4 standard epoxytane-type IGs, including picroside I, picroside II, sesamoside and catalpol, were studied by negative atmospheric pressure chemical ionization (APCI⁻) of quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (Q-TOF MS/MS). In the MS/MS spectra of $[M-H]^-$, not only the frequently occurring neutral losses, such as H_2O , CO_2 , CH_3OH and glucosidic units were detected, which confirmed the presence of functional substituents in the structures of the IGs, but also the characteristic ring cleavages of the aglycone moiety were observed, corresponding to $^{1,4}F^-$, $^{1,6}F^-$ ions based on accurate mass measurements and the elemental compositions of the product ions, which could give valuable information on the basic structural skeletons. The $^{1,4}F^-$ ion resulted from cleavage of the dihydropyran ring with the loss of 3-oxopropanoate, while the emerging of $^{1,6}F^-$ ions, which was different from the characteristic fragments $^{2,6}F^-$, $^{2,7}F^-$ ions in cyclopentane-type and cyclopentene-type IGs. In addition, ring cleavages of the sugar moieties were also observed, corresponding to $^{0,4}A_1^-$, $^{1,4}A_1^-$ and $^{2,4}A_1^-$ ions, yielding useful information for their characterization. On the other hand, the mass spectral fragmentation patterns of epoxytane-type IGs in negative ion mode were more characteristic than those in positive ion mode. And the fragmentation pathways of the IGs in APCI⁻ mode were found to be similar to those in ESI⁻ mode. Based on the fragmentation patterns of these 4 standard epoxytane-type IGs, 10 IGs were characterized in the extract of *Picrohiza scrophulariiflora* Pennell using ultra-performance liquid chromatography (UPLC)/Q-TOF MS/MS, of which 8 IGs were unambiguously or tentatively identified as epoxytane-type IGs (picroside I, picroside II, picroside III, picroside IV, specioside, catalposide, veronicoside and picroside B) and 2 tentatively identified as cyclopentane-type IGs (boschnaloside and mussaenosidic acid). The UPLC/Q-TOF MS/MS method has been demonstrated to be an effective tool in analyzing the IG components in *Picrohiza scrophulariiflora* Pennell, which provide references for the studies of chemical constituents in the complex matrix and the exploitation of medicinal resources. And in the future, efforts should be made to explain the fragmentation pathways more accurately by combining the calculation of the quantum chemistry at a molecular level.

Key words: epoxytane-type iridoid glucoside; fragmentation behavior; ultra high performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC/Q-TOF MS/MS); negative atmospheric pressure chemical ionization; *Picrohiza scrophulariiflora* Pennell

环烯醚萜类化合物是一类分布广泛的重要植物代谢产物,在自然界中一般以苷的形式存在,是许多中药材及其制剂的主要有效成分,具有多种生物活性^[1]。从分子结构角度看,环烯醚萜苷含有1个特征的结构骨架,即1个二氢吡喃环顺式连接1个环戊烷类的单元结构,在C1位置上通常连接1个葡萄糖基。根据环烯醚萜苷基本骨架(母核)的结构,可将其分为环

戊烯型、环戊烷型、环氧烷型和裂环环烯醚萜苷等同系组分^[2]。

近年来,环烯醚萜苷的质谱裂解行为逐渐引起人们关注^[3-6],但关于环氧烷型环烯醚萜苷裂解途径探讨的文献^[7-8]较少,梓醇是一种研究较多的环氧烷型环烯醚萜苷。卢建秋等^[7]利用高效液相色谱(HPLC)-离子阱质谱考察了梓醇在正负离子模式下的裂解途径,发现在负离

子模式下,只出现 $[2M-H]^-$ 峰,MS/MS 分析只发现了取代基的断裂,未发现其他特征性碎片离子;Nurahmat 等^[9]利用高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(HPLC-Q-TOF MS/MS)技术对补肾益气方的功能成分进行定性和定量分析,分离鉴定出 3 个环烯醚萜苷类化合物,其中包括梓醇,获得的质谱碎片离子信息只涉及母环上取代基的断裂;Tao 等^[10]利用 UPLC/Q-TOF MS 考察了梓醇在人类肠道菌群作用下的代谢产物,结果表明,正离子模式下代谢产物的质谱信息更丰富;Es-Safi 等^[8]利用高效液相色谱-三重四极杆质谱(HPLC-QQQ MS)考察了 6 个环烯醚萜苷(包括 3 个环氧烷型)的质谱裂解行为,由于四极杆质谱不能给出各化合物的精确质量数,因此,为了确定待测化合物的分子质量,实验选择正、负离子模式同时进行,3 个环氧烷型环烯醚萜苷在负离子模式下的质谱信息相对较少,除了发现母环上取代基和葡萄糖基环的断裂,未发现母环的断裂;Li 等^[11]在超高效液相色谱-高分辨质谱负离子模式下,从猴面包树果肉中鉴定出 6 个环烯醚萜苷,包括 3 个环氧烷型环烯醚萜苷,发现其裂解途径除了母环上取代基的断裂外,还存在母环上半缩醛结构的异构化而造成二氢吡喃环的开裂,这与本课题组考察的环戊烷型和环戊烯型环烯醚萜苷的裂解途径相似^[12]。目前,尚未发现针对环氧烷型同系组分的裂解行为进行系统性归纳与总结的报道。

本研究拟应用 Q-TOF MS/MS 对环氧烷型环烯醚萜苷同系组分(包括胡黄连苷 I、胡黄连

苷 II、胡麻属苷和梓醇)在大气压化学电离源负离子(APCI⁻)模式下的质谱裂解行为进行系统性的探讨和归纳,并利用 UPLC/Q-TOF-MS/MS 对胡黄连提取物中的环烯醚萜苷类化合物进行表征。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

LC-30A 超高效液相色谱仪:日本岛津公司产品;Triple TOF 5600⁺四极杆-飞行时间质谱联用仪:美国 AB Sciex 公司产品,配有 DouSpray 离子源;数据采集软件为 AnaLyst[®] TF 1.6;数据处理软件为 Peakview 2.0。

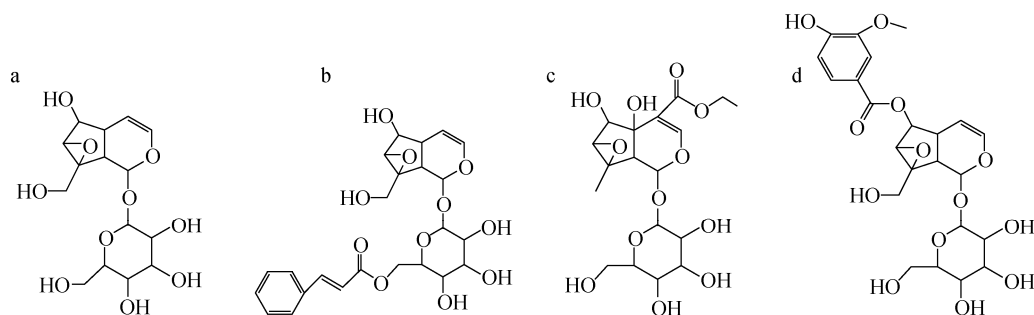
1.2 主要材料与试剂

乙腈:色谱纯,英国 Fisher Scientific 公司产品;甲酸:色谱纯,美国 TEDIA 公司产品;梓醇、胡麻属苷、胡黄连苷 I、胡黄连苷 II 对照品:成都曼思特生物科技有限公司产品,其结构示于图 1;胡黄连:购自石家庄神威大药房;实验用水为 Milli-Q 超纯水。

1.3 实验条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱:InfinityLab Poroshall120 EC-C18 柱(2.1 mm×150 mm×2.7 μm);流动相:A 为乙腈,B 为 0.1%甲酸水溶液;洗脱程序:0~20 min(5%~15%A),20~35 min(15%~40%A),35~40 min(40%A);流速 0.40 mL/min;柱温 30℃;进样体积 10 μL。

1.3.2 质谱条件 APCI 离子源,雾化气压力 345 kPa,辅助气压力 345 kPa,气帘气压力 241 kPa,离子源温度 550.0℃,喷雾电压 5.5 keV,碰撞诱导电压 30 V,质量扫描范围 m/z 50~1 000。



注:a. 梓醇;b. 胡黄连苷 I;c. 胡麻属苷;d. 胡黄连苷 II

图 1 环烯醚萜苷 4 种对照品的结构式

Fig. 1 Structures of 4 standards of iridoid glucosides

1.4 胡黄连提取物的制备

称取约 5.0 g 粉碎后的胡黄连药材粉末,利用快速溶剂萃取仪进行提取,提取溶剂为 30% 乙醇,提取时间 5 min,提取温度 80 ℃,提取压力 10 342 kPa,提取 2 次。合并提取液,减压浓缩至约 5.0 mL,冷却后用水定容至 5.0 mL。取 2.0 mL 提取液上样至预先平衡好的 HPD722 型大孔树脂柱(10 cm×2 cm)中,静态吸附约 15 min,再依次用 30 mL 水、30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇和 95% 乙醇依次洗脱并收集洗脱液。实验结果表明,环烯醚萜苷主要集中于 30% 乙醇洗脱液中,因此将该部分作为本实验的分析对象。

1.5 离子命名

环烯醚萜苷骨架断裂产生的诊断性碎片离子的命名沿用本课题组之前对环烯醚萜苷裂解碎片离子的离子命名法进行^[12]。其中, i,jF 代表从苷元裂解产生的碎片离子, i 和 j 分别表示基本骨架的环上各键之间的断裂; k,lA_j^- 、 k,lB_j^- 、 k,lC_j^- 代表糖苷部分产生的碎片离子, j 是指从苷元处算起,糖苷内部键断裂的数目, k 和 l 是指单糖内部环在不同键之间断裂的情况; Y_j^- 和 Z_j^- 代表包括苷元在内的碎片离子。环烯醚萜苷断裂途径命名示意图示于图 2。

2 结果与讨论

2.1 在负离子模式下,环氧烷型环烯醚萜苷对照品的 MS 分析

在 APCI 负离子模式下,考察 4 个环氧烷型环烯醚萜苷对照品的裂解途径。在一级质谱图中,均检测到加合离子 $[M+HCOO]^-$ 以及准分子离子 $[M-H]^-$,这与环戊烷型和环戊烯型环烯醚萜苷在流动相加入 0.1% 甲酸添加剂时的一级 MS 信息有所不同,对后者而言,只有当 C4 位为甲酯基或内酯时,该环烯醚萜苷才会出现 $[M+HCOO]^-$ 加合离子^[12]。

2.2 在负离子模式下,环氧烷型环烯醚萜苷对照品的 MS/MS 分析

为进一步探究环氧烷型环烯醚萜苷在负离子模式下的裂解行为,分别以 2.1 节中 4 个对照品的 $[M-H]^-$ 为母离子,进行 MS/MS 分析。根据所生成碎片离子的特点,将上述 4 个对照品分为 2 组:第 1 组包括胡黄连苷 I 和梓

醇;第 2 组包括胡黄连苷 II 和胡麻属苷。

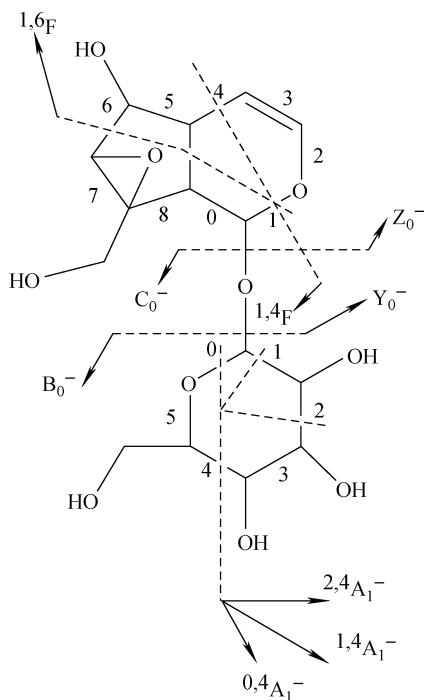


图 2 以梓醇为例,环烯醚萜苷在 APCI 负离子模式下的离子命名示意图

Fig. 2 Taking catalpol for example, ion nomenclature adopted for fragmentation of iridoid glucoside in APCI⁻ mode

第 1 组中的胡黄连苷 I 和梓醇的分子结构中苷元部分相同,C6 和 C8 位均有相同的取代基,只是糖基部分不同,示于图 1。因此,这 2 个对照品的质谱裂解途径相似,二者的一级、二级质谱图和梓醇的裂解途径示于图 3。根据碎片离子的精确质量数可获得其元素组成,以排除一些碎片离子在定性上的不确定性。由图 3e 可见,梓醇母环上的取代基断裂丢失葡萄糖基单元,产生 m/z 199.1 $[M-H-Glc]^-$ 碎片离子,继而丢失 1 分子 H_2O 和 1 分子 CH_2O ,生成 m/z 181.1 $[M-H-Glc-H_2O]^-$ 和 m/z 169.1 $[M-H-Glc-CH_2O]^-$ 。同时,发现环烯醚萜苷特征性的母核环上的半缩醛结构异构化,造成二氢吡喃环的断裂,产生碎片离子 $1,4F^-$ (m/z 137.0, 127.0),这与环戊烷型和环戊烯型环烯醚萜苷的断裂途径相似^[12]。

第 2 组中胡黄连苷 II 和胡麻属苷的一级、二级质谱图示于图 4a~4d,胡麻属苷的裂解途

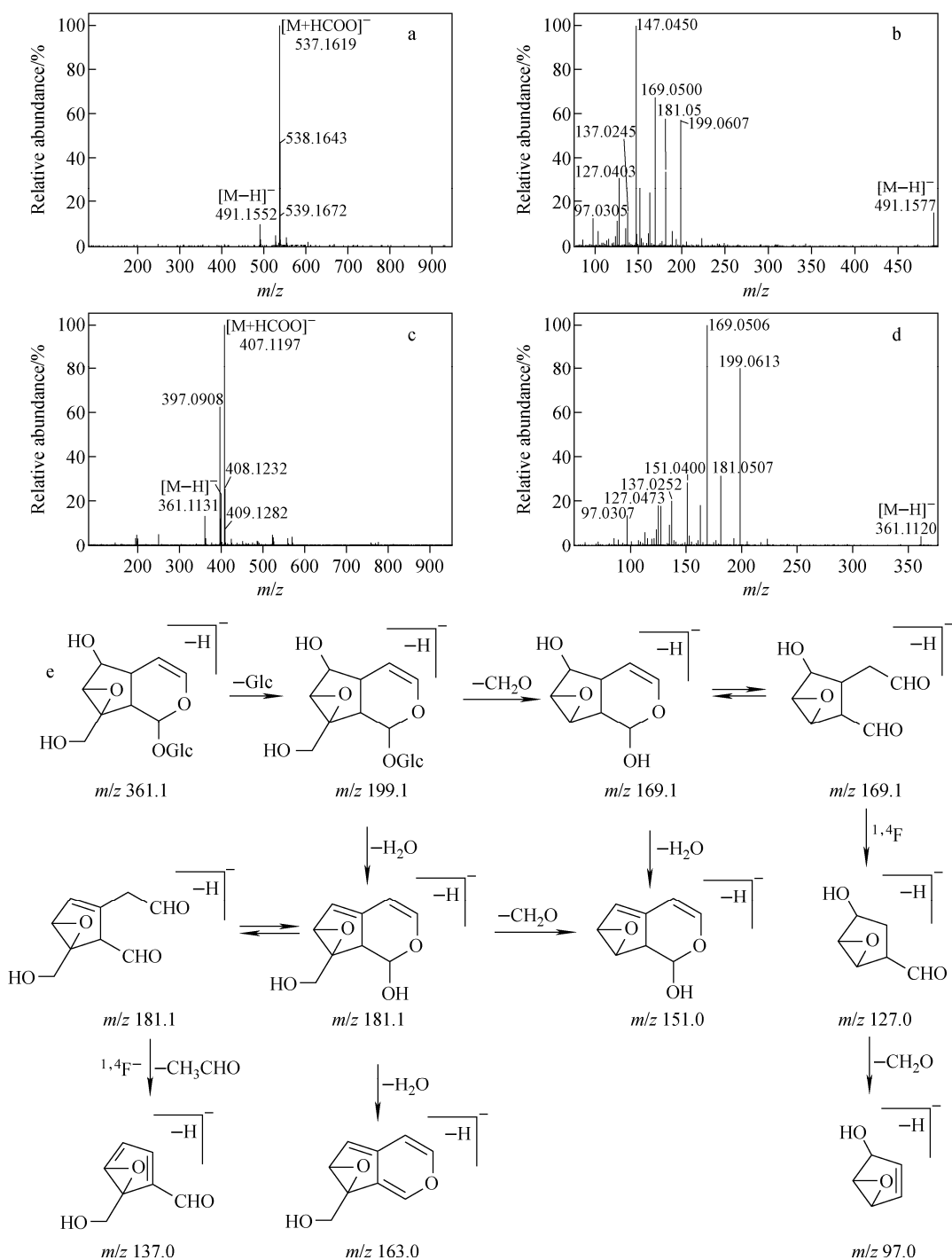


图3 在 $APCI^-$ 模式下, 胡黄连苷 I 的 Q-TOF MS 图(a)和 MS/MS 图(b), 梓醇的 MS 图(c)、MS/MS 图(d)及其裂解途径示意图(e)

Fig. 3 Q-TOF MS spectrum (a) and MS/MS spectrum (b) of picroside I, MS (c), MS/MS (d) and the fragmentation pathway (e) of catalpol in $APCI^-$ mode

径示于图 4e。该组对照品的质谱裂解途径与第 1 组存在差异, 推测其主要原因是第 2 组对照品的苷元取代基的空间结构较大。由图 4e 可见, 胡麻属苷存在常见的中性丢失, 生成 m/z

401.1 $[M-H-H_2O]^-$ 或葡萄糖基 m/z 257.1 $[M-H-Glc]^-$ 等。另外, 还会发生母环半缩醛结构的异构化, 形成 2 个醛基取代基, 丢失 1 分子 CO , 生成 m/z 193.0 碎片离子, 还存在母

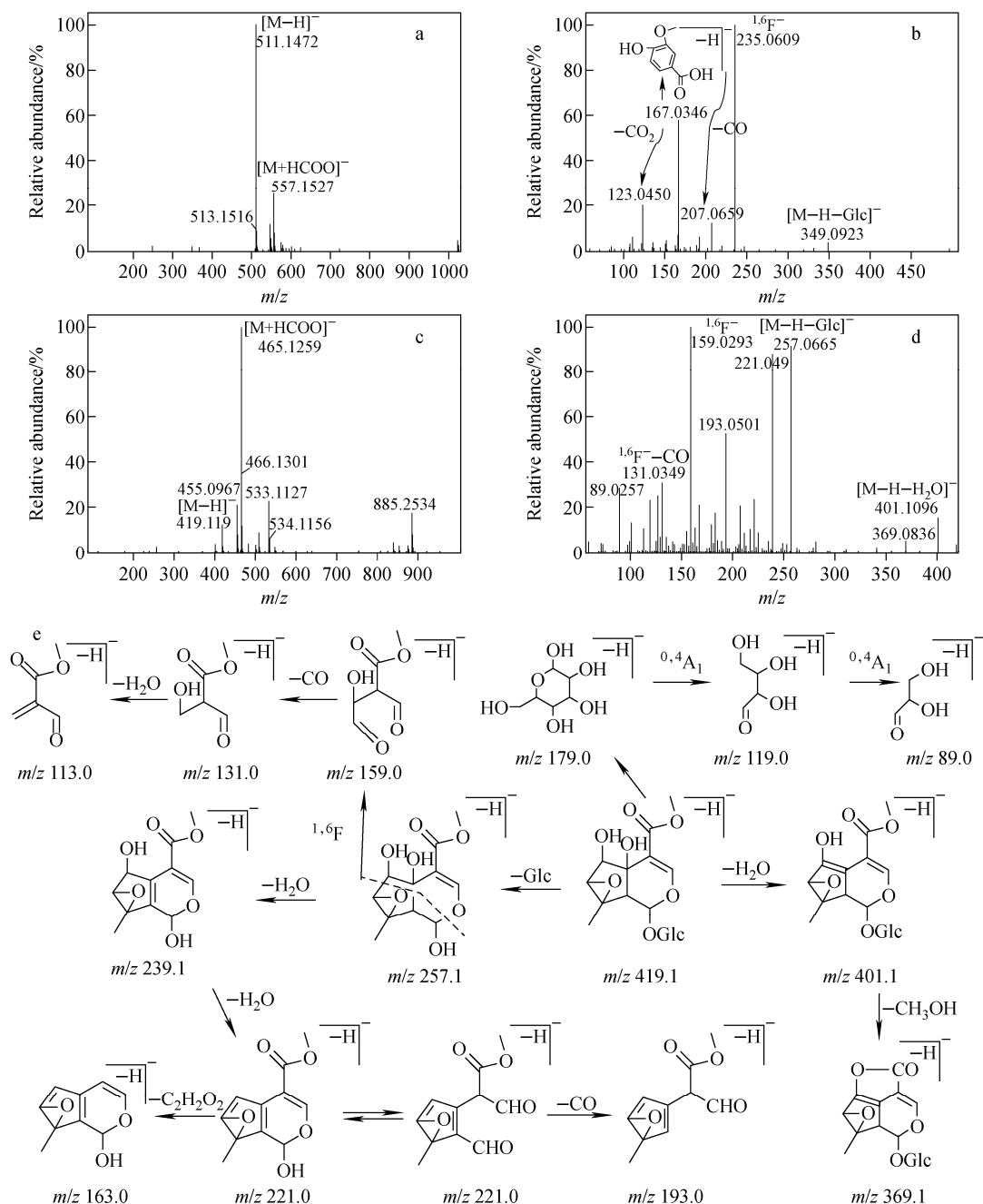


图4 在 APCI⁻ 模式下, 胡黄连苷 II 的 Q-TOF MS 图(a)和 MS/MS 图(b), 胡麻属苷的 MS 图(c)、MS/MS 图(d)及其裂解途径示意图(e)

Fig. 4 Q-TOF MS spectrum (a) and MS/MS spectrum (b) of picroside II, MS (c), MS/MS (d) and the fragmentation pathway (e) of sesamside in APCI⁻ mode

环结构中 C1 和 C6 的断裂, 生成^{1,6}F⁻离子 (m/z 159.0), 进而依次失去 1 分子 CO 和 1 分子 H₂O 而产生 m/z 131.0 和 m/z 113.0 碎片离子。

综上所述, 在 APCI⁻ 模式下, 环氧烷型环烯醚萜苷主要的质谱裂解途径不仅包括常见的

母环上取代基的断裂, 如丢失 H₂O、CO₂ 和葡萄糖基等; 还有该类同系组分特征的母环断裂, 生成^{1,4}F⁻、^{1,6}F⁻ 等特征碎片离子。这是由于环烯醚萜苷骨架上存在 1 个二氢吡喃环, 这种半缩醛结构趋向于异构化, 形成 2 个醛基取代基, 从而造成二氢吡喃环的断裂, 生成^{1,4}F⁻ 离

子;而 $^{1,6}\text{F}^-$ 碎片离子的生成与环戊烷型及环戊烯型环烯醚萜苷断裂生成 $^{2,6}\text{F}^-$ 和 $^{2,7}\text{F}^-$ 离子^[12] 的规律不同,可能是由于该类同系组分结构中存在环氧烷造成的。同时,该类同系组分还存在葡萄糖基环的断裂,生成 $^{0,4}\text{A}_1^-$ 、 $^{1,4}\text{A}_1^-$ 及 $^{2,4}\text{A}_1^-$ 等碎片离子。在 APCI^+ 模式下,环戊烷型环烯醚萜苷一级质谱中主要出现准分子离子 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 以及加合离子峰 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 、 $[\text{M}+\text{H}_2\text{O}]^+$ 、 $[\text{M}+\text{K}]^+$ 等;二级质谱中,除了失去葡萄糖基、 H_2O 或 CH_3OH 等,特征性碎片离子相对较少(另文发表)。环戊烷型环烯醚萜苷在 APCI^- 模式下的 MS/MS 碎片离子信息较 APCI^+ 模式丰富,碎片离子特征性更强。

2.3 胡黄连提取物的 MS 及 MS/MS 分析

利用 UPLC/Q-TOF MS 和 MS/MS 对胡黄连提取物中环烯醚萜类化合物进行表征。该提取物在负离子模式下的总离子流图示于图 5。从胡黄连提取物中共鉴定出 10 个环烯醚萜苷,其主要的质谱信息列于表 1。通过比对峰 6、8 与对照品的保留时间(t_{R})以及质谱信息,确定二者分别为胡黄连苷 II 和胡黄连苷 I;推测另外 8 个化合物依次为 Boschnalioside、Mussaenosidic acid、梓苷、Piscroside B、胡黄连苷 III、黄金树苷、胡黄连苷 IV、婆婆纳苷,它们二级质谱图及分子结构式示于图 6。

峰 1 的准分子离子 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 为 m/z 343.104 2 $[\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{O}_8]^-$ 。在 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 的二级质谱中,出现碎片离子 C_0^- (m/z 179.1)、 $^{0,4}\text{A}_1^-$ (m/z 119.0)、 $^{1,4}\text{A}_1^-$ (m/z 89.0)和 $^{2,4}\text{A}_1^-$ (m/z

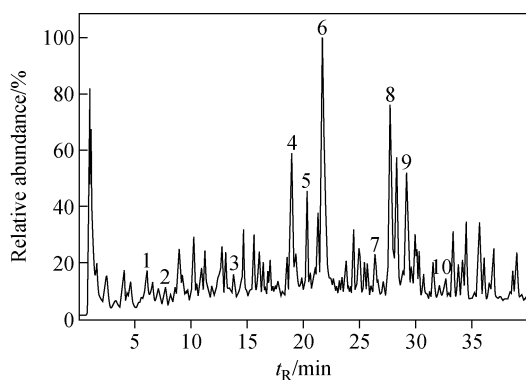


图 5 负离子模式下,胡黄连提取物的总离子流图

Fig. 5 Total ion chromatogram of extract

of *Picrorhiza scrophulariiflora* Pennell in APCI^- mode

59.0),表明峰 1 化合物的苷元部分连接 1 个葡萄糖基团^[12]。碎片离子 m/z 181.1 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}]^-$ 对应苷元部分, $^{2,7}\text{F}_0^-$ (m/z 85.0) 和 $^{2,6}\text{F}_0^-$ (m/z 101.0)特征离子的出现^[12] 表明该化合物为环戊烷型环烯醚萜苷。因此,推测峰 1 为 Boschnaaside,该化合物曾在胡黄连中发现^[13]。

在峰 2 的一级质谱图中,只发现准分子离子峰 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (m/z 375.128 8, $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{O}_{10}$)。以 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 为母离子,在其二级质谱图中,碎片离子 m/z 213.1 是由中性丢失 1 分子葡萄糖基 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}]^-$ 生成的,基峰碎片离子 m/z 169.1 对应 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}-\text{CO}_2]^-$,表明苷元部分含有 1 个羧基取代基。另外,还出现 $^{1,4}\text{F}^-$ (m/z 125.1) 和 $^{2,7}\text{F}_0^-$ (m/z 101.0) 特征离子,表明 C8 位可能连接 1 个 CH_2OH 或 1 个 OH 和 1 个 CH_3 。由于碎片离子 m/z 107.0 可能是由 $^{1,4}\text{F}^-$ (m/z 125.1) 进一步丢失 1 分子 H_2O 生成的,因此,C8 位可能连接 1 个 OH 和 1 个 CH_3 。碎片离子 m/z 113.0 是 $^{2,7}\text{F}^-$ 特征离子,由此推测 C6 位无取代基。综上,推测峰 2 为 Mussaenosidic acid,该化合物曾于胡黄连中发现^[13]。在峰 2 化合物的一级质谱图中未发现加合分子离子 $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$,这与文献^[12] 报道的当 C4 位取代基不是甲酯基或内酯时,该环烯醚萜苷只形成 $[\text{M}-\text{H}]^-$,而不形成加合离子的结论一致。

峰 3 的一级质谱图中同时出现准分子离子 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (m/z 481.137 6, $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{O}_{12}$) 和加合离子峰 $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$ (m/z 527.167 6, $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{O}_{14}$),因此,较容易确定该化合物的分子质量及分子式。以 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 为母离子的 MS/MS 图中,碎片离子 m/z 319.1 是由母环上丢失 1 分子葡萄糖基生成,基峰碎片离子 m/z 205.1 是环戊烷型环烯醚萜 C1 和 C6 断裂产生的 $^{1,6}\text{F}^-$ 特征离子,碎片离子 m/z 137.0 是丢失苷元上的对羟基苯甲酸(p -HBA)生成。因此,推测峰 3 为梓苷,该化合物也曾在胡黄连中发现^[13]。

在峰 4 的一级质谱图中,出现准分子离子 m/z 507.2 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、加合分子离子峰 m/z 553.154 1 $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$ 和二聚体分子离子峰 m/z 1 015.3 $[\text{2M}-\text{H}]^-$,依据精确分子质量确定峰 4 分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$,分子质量为 508.2。

表 1 UPLC/Q-TOF MS 检测到的胡黄连提取物中的环烯醚萜苷信息							
Table 1 Information of IGs detected by UPLC/Q-TOF MS from the extract of <i>P. scrophularii flora Pennell</i>							
峰号 Peak	保留时间 t_R/min	一级质谱离子 MS ion (m/z)	[M-H] ⁻ 的 主要碎片离子 Major fragment of [M-H] ⁻ (m/z)	计算质量数 Calculated (m/z)	分子式 Molecular formula	与理论值误差 Error from theoretical value/ 10^{-6}	化合物名称 Characterization
1	6.089	343.1042[M-H] ⁻	179.0543	179.0555	C ₆ H ₁₁ O ₆	-4.0	Boschnaloside
			161.0455	161.0450	C ₆ H ₉ O ₅	-4.6	
			143.0350	143.0344	C ₆ H ₇ O ₄	-4.1	
			119.0347	119.0344	C ₄ H ₇ O ₄	-1.5	
			89.0255	89.0316	C ₃ H ₅ O ₃	5.4	
2	7.071	375.1303[M-H] ⁻	213.0769	213.0768	C ₁₀ H ₁₃ O ₅	-4.4	Mussaenosidicacid
			161.0455	161.0450	C ₆ H ₉ O ₅	-2.2	
			149.0608	149.0602	C ₉ H ₉ O ₂	-5.0	
			125.0612	125.0608	C ₇ H ₉ O ₂	3.2	
			101.0244	101.0238	C ₄ H ₅ O ₃	-1.2	
3	13.841	481.1342[M-H] ⁻ , 527.1676[M+HCOO] ⁻	89.0244	89.0238	C ₃ H ₅ O ₃	6.5	梓苷
			319.0827	319.0817	C ₁₆ H ₁₅ O ₇	-0.4	
			205.0509	205.0500	C ₁₁ H ₉ O ₄	-0.2	
			177.0549	177.0551	C ₁₀ H ₉ O ₃	-6.3	
			137.0246	137.0238	C ₇ H ₅ O ₃	-4.5	
4	18.934	507.1508[M-H] ⁻ , 553.1541[M+HCOO] ⁻	163.0402	163.0401	C ₉ H ₇ O ₃	0.8	Piscroside B
			145.0297	145.0295	C ₉ H ₅ O ₂	1.4	
5	20.296	537.1609[M-H] ⁻ , 583.1649[M+HCOO] ⁻	337.094	337.0929	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	3.3	胡黄连苷Ⅲ
			193.0511	193.0506	C ₁₀ H ₉ O ₄	2.4	
			175.0406	175.0401	C ₁₀ H ₈ O ₃	3.0	
			160.0168	160.0166	C ₉ H ₄ O ₃	1.3	
6	21.692	511.1448[M-H] ⁻ , 557.1505[M+HCOO] ⁻	349.0930	349.0923	C ₁₇ H ₁₇ O ₈	2.3	胡黄连苷Ⅱ
			235.0608	235.0606	C ₁₂ H ₁₁ O ₅	0.4	
			207.0657	207.0657	C ₁₁ H ₁₁ O ₄	0.6	
			167.0345	167.0344	C ₈ H ₇ O ₄	0.7	
			123.0455	123.0446	C ₇ H ₇ O ₂	3.6	
7	26.371	507.1513[M-H] ⁻ , 553.1552[M+HCOO] ⁻	345.0991	345.0980	C ₁₈ H ₁₇ O ₇	3.3	黄金树苷
			231.0669	231.0663	C ₉ H ₇ O ₃	2.7	
			163.0403	163.0401	C ₉ H ₅ O ₂	0.8	
			145.0296	145.0295	C ₄ H ₇ O ₄	0.7	
			119.0508	119.0502	C ₄ H ₇ O ₄	4.7	
8	27.618	537.1619[M+HCOO] ⁻ , 491.1586[M-H] ⁻	199.0619	199.0606	C ₉ H ₁₁ O ₅	4.0	胡黄连苷Ⅰ
			181.0513	181.0500	C ₉ H ₉ O ₄	4.2	
			169.0520	169.0500	C ₈ H ₉ O ₄	-2.2	
			151.0401	151.0395	C ₈ H ₇ O ₃	4.2	
			137.0244	137.0238	C ₇ H ₅ O ₃	4.2	
9	29.166	537.1616[M-H] ⁻ , 583.1278[M+HCOO] ⁻	375.1095	375.1085	C ₁₉ H ₁₉ O ₈	1.0	胡黄连苷Ⅳ
			261.0771	261.0768	C ₁₄ H ₁₃ O ₅	0.9	
			193.0508	193.0506	C ₁₀ H ₉ O ₄	0.9	
10	32.669	511.1466[M+HCOO] ⁻ , 465.1303[M-H] ⁻	189.0549	189.0557	C ₁₁ H ₉ O ₃	-4.3	婆婆纳苷
			181.0549	181.0506	C ₉ H ₉ O ₄	-2.9	
			161.0608	161.0602	C ₁₀ H ₉ O ₂	3.7	
			135.0452	135.0446	C ₈ H ₇ O ₂	2.6	
			121.0292	121.0295	C ₇ H ₅ O ₂	-2.5	

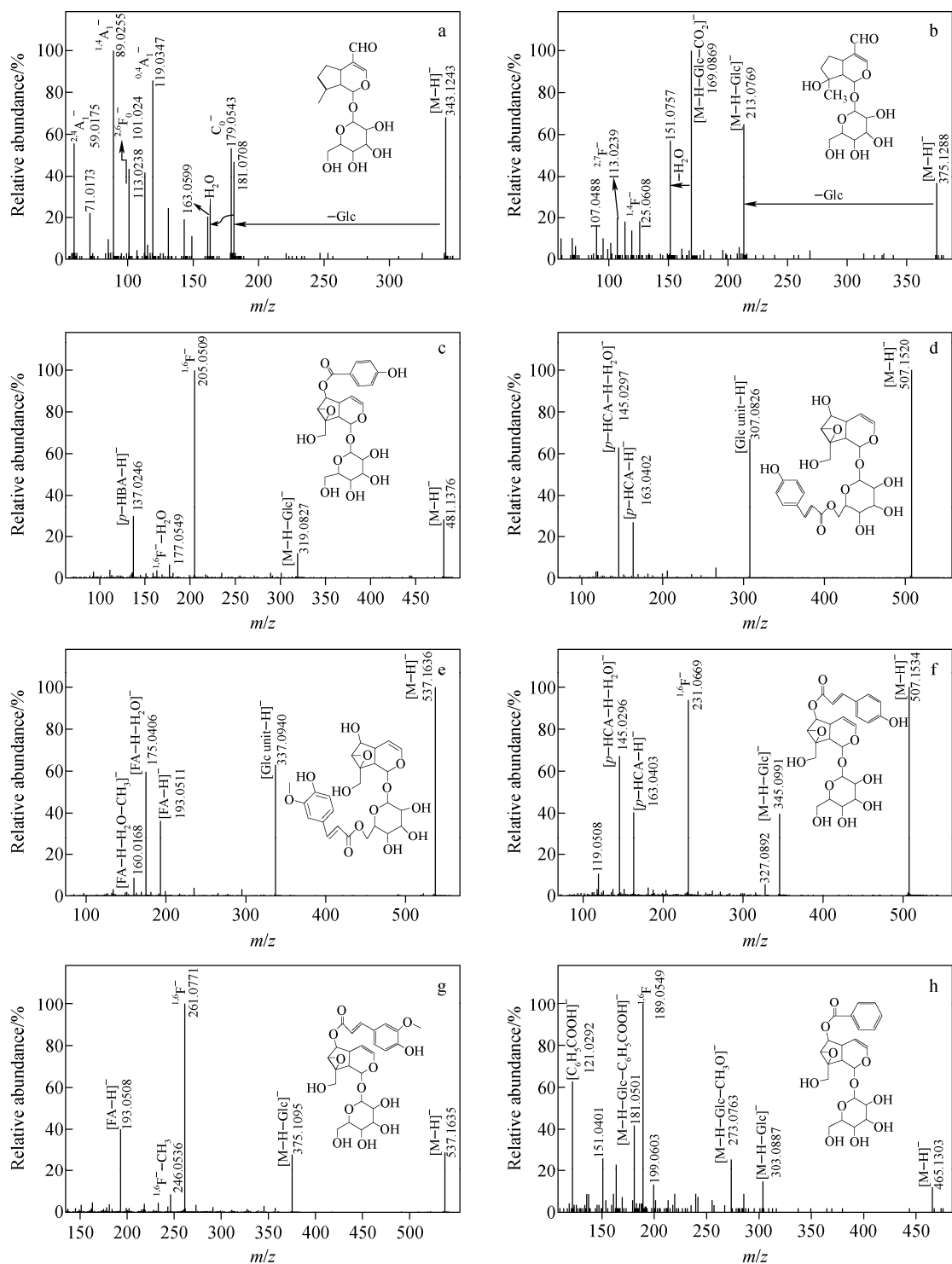


图6 峰1(a),2(b),3(c),4(d),5(e),7(f),9(g),10(h)的准分子离子峰 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 二级质谱图及化合物结构式

Fig. 6 MS/MS spectra of the $[\text{M}-\text{H}]^-$ ions of peak 1(a), 2(b), 3(c), 4(d), 5(e), 7(f), 9(g), 10(h) and their structures

以 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (m/z 507.2)为母离子的MS/MS图中,碎片离子 m/z 307.1是由母环丢失1分

子葡萄糖基(葡萄糖基上带有1分子肉桂酸基团)生成的,碎片离子 m/z 163.0是糖基上丢失

的1分子对羟基肉桂酸(*p*-HCA)取代基; m/z 145.0可能是由*p*-HCA继续丢失1分子 H_2O 生成的。综上,推测峰4为环氧烷型环烯醚萜苷Piscroside B,该化合物曾在胡黄连中发现^[13-14]。

在峰5的一级质谱图中,出现准分子离子 $[M-H]^-$ (m/z 537.163 6, $C_{25}H_{29}O_{13}$)和 $[M+HCOO]^-$ (m/z 583.164 9, $C_{26}H_{31}O_{15}$)。在 $[M-H]^-$ 的MS/MS图中,碎片离子 m/z 337.1是葡萄糖基(葡萄糖基上带有1分子阿魏酸基团FA),碎片离子 m/z 193.1、175.0和160.0分别是 $[FA-H]^-$ 、 $[FA-H-H_2O]^-$ 和 $[FA-H-H_2O-CH_3]^-$ 。因此,推测峰5为胡黄连苷Ⅲ。

峰7的准分子离子为 $[M-H]^-$ (m/z 507.153 4, $C_{24}H_{27}O_{12}$),据此推测其与峰4互为同分异构体。在MS/MS图中,碎片离子 m/z 345.1是苷元丢失1分子葡萄糖基而产生的,基峰碎片离子 m/z 231.1是环氧烷型环烯醚萜苷特征离子 $^{1,6}F^-$ 。此外,碎片离子 m/z 163.0的存在进一步确认峰7化合物含有1对羟基肉桂酸取代基。峰7的质谱裂解碎片信息与化合物黄金树苷一致,该化合物曾在胡黄连中发现^[13-14],因此,推测峰7为黄金树苷。

峰9的准分子离子为 $[M-H]^-$ (m/z 537.163 5, $C_{25}H_{29}O_{13}$),与峰5互为同分异构体。基峰碎片离子 m/z 261.077 1对应 $^{1,6}F^-$ 特征离子,碎片离子 m/z 375.1是由母离子丢失苷元连接的葡萄糖基生成的; m/z 193.1表明苷元上连接有1个阿魏酸(FA)取代基。因此,推测峰9为胡黄连苷Ⅳ。

峰10的保留时间为32.7 min。在一级质谱图中,出现准分子离子峰 $[M-H]^-$ (m/z 465.130 36, $C_{22}H_{25}O_{11}$)和加合分子离子峰 $[M+HCOO]^-$ (基峰, m/z 511.145 9, $C_{23}H_{27}O_{13}$),表明该化合物的分子质量为466.1。以 $[M-H]^-$ (m/z 465.130 3)为母离子进行MS/MS分析,出现碎片离子 m/z 303.1,推测该化合物失去1个葡萄糖基,继而失去1分子苯甲酸,生成碎片离子 m/z 181.1($[M-H-Glc-C_6H_5COOH]^-$);碎片离子 m/z 121.0对应苯甲酰基 $[C_6H_5COO]^-$ 。作为基峰的碎片离子 m/z 189.1,对应环氧烷型环烯醚萜苷的特征离子 $^{1,6}F^-$ 。因此,推测峰10为已在胡黄连中发现的环氧烷型环烯醚萜苷婆婆纳苷^[13-14]。

3 结论

本研究利用Q-TOF MS/MS系统考察了4种环氧烷型环烯醚萜苷同系组分的质谱裂解规律。在APCI⁻模式下,环氧烷型环烯醚萜苷主要的质谱裂解途径除了常见的母环上取代基的断裂外(如丢失 H_2O 、 CO_2 和葡萄糖基等),还有该类同系组分特征的母环断裂,生成 $^{1,4}F^-$ 、 $^{1,6}F^-$ 等特征碎片离子。同时,该类同系组分还存在葡萄糖基环的断裂,生成 $^{0,4}A_1^-$ 、 $^{1,4}A_1^-$ 和 $^{2,4}A_1^-$ 等碎片离子。在此基础上,利用UPLC/Q-TOF MS/MS对胡黄连提取物中的环烯醚萜苷类化合物进行表征,结合本课题组先前的工作^[12],共鉴定出10个环烯醚萜苷。实验结果表明,在APCI⁻模式下,环烯醚萜苷的质谱裂解途径与ESI⁻模式下的裂解途径相似,没有明显差异。该研究有助于推动胡黄连在物质基础表征、质量控制和临床应用上的开发和利用。

参考文献:

- [1] WANG L, XUE G B. Catalpol suppresses osteosarcoma cell proliferation through blocking epithelial-mesenchymal transition (EMT) and inducing apoptosis[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2018, 495(1): 27-34.
- [2] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海:科学技术出版社, 1996:437.
- [3] ELMASRI W A, YANG T J, HEGAZY M F, MECHREF Y, PARE P W. Iridoid glycoside permethylation enhances chromatographic separation and chemical ionization[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2016, 30(18): 2 033-2 042.
- [4] LI C M, ZHAO Y Y, GUO Z M, ZHANG X L, XUE X Y, LIANG X M. Effective 2D-RPLC/RPLC enrichment and separation of micro-components from *Hedyotis diffusa* Willd. and characterization by using ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2014, 99(1): 35-44.
- [5] WU Y, AI Y, WANG F R, MA W, BIAN Q X, LEE D Y W, DAI R H. Simultaneous determination of four secoiridoid and iridoid glycosides

- in rat plasma by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application to a comparative pharmacokinetic study[J]. Biomedical Chromatography, 2016, 30(2): 97-104.
- [6] 李存满,梁鑫森,薛兴亚. 电喷雾离子源正离子模式下环烯醚萜苷的质谱裂解行为[J]. 高等学校化学学报, 2013, 34(3): 567-572.
- LI Cunman, LIANG Xinmiao, XUE Xingya. Electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry of iridoid glucosides in positive ion mode[J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2013, 34(3): 567-572(in Chinese).
- [7] ES-SAFI N E, KERHOAS L, DUCROT P H. Fragmentation study of iridoid glucosides through positive and negative electrospray ionization, collision-induced dissociation and tandem mass spectrometry[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2007, 21(7): 1 165-1 175.
- [8] 卢建秋,孙明谦,张宏桂. 梔子苷和梓醇的电喷雾质谱裂解机制研究[J]. 中草药, 2008, 39(7): 1 011-1 014.
- LU Jianqiu, SUN Mingqian, ZHANG Honggui. Mechanisms of catalpol and jasminoidin by electrospray ionization mass spectrometry[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2008, 39(7): 1 011-1 014(in Chinese).
- [9] NURAHMAT M, CHEN M, LUO Q L, LING Y, DONG J C, HUANG C G. Rapid characterization and determination of multiple components in Bu-Shen-Yi-Qi-Fang by high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization and quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 2014, 37(23): 3 509-3 517.
- [10] TAO J H, ZHAO M, WANG D G, HONG S, XU J D, JENSEN S R, JIA X B, ZHANG Q W, LI S L. Biotransformation and metabolic profile of catalpol with human intestinal microflora by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2016, (1 009): 163-169.
- [11] LI X N, SUN J H, SHI, H M, YU L, RIDGE C D, MAZZOLA E P, OKUNJI C, IWU M M, MICHEL T K, CHEN P. Profiling hydroxycinnamic acid glycosides, iridoid glycosides, and phenylethanoid glycosides in baobab fruit pulp (*Adansonia digitata*) [J]. Food Research International, 2017, 99(Pt): 755-761.
- [12] LI C M, ZHANG X L, XUE X Y, ZHANG F F, XU Q, LIANG X M. Structural characterization of iridoid glucosides by ultra-performance liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2008, 22(12): 1 941-1 954.
- [13] KUMAR V, CHAUHAN R S, TANDON C. Biosynthesis and therapeutic implications of iridoid glycosides from *Picrorhiza genus*: the road ahead[J]. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 2017, 26(1): 1-13.
- [14] 何希瑞,李倩,张春玲,常育,姚宏,赵婷. 胡黄连化学成分及单体化合物药理活性研究新进展[J]. 环球中医药, 2012, 5(9): 708-713.
- HE Xirui, LI Qian, ZHANG Chunling, CHANG Yu, YAO Hong, ZHAO Ting. Phytochemical and biological studies on *Picrorrhiza scrophularaeflora* Pennell[J]. Global Traditional Chinese Medicine, 2012, 5(9): 708-713(in Chinese).