

质谱能量分辨曲线法 快速区分香豆素类位置异构体

李 乾^{1,2}, 刘 洁^{2,3}, 李月婷^{2,4}, 阳 娇^{2,4},
苏汝彬^{2,4}, 贾志鑫^{2,3}, 肖红斌^{1,2,3}

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002; 2. 北京中医药大学中药分析与转化研究中心, 北京 100029;
3. 北京中医药大学, 北京中医药研究院, 北京 100029; 4. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029)

摘要:利用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UHPLC-Q-TOF MS)技术,结合能量分辨曲线,建立了快速区分香豆素类位置异构体的方法。对互为位置异构体的化合物施加 2~40 V 的动态碰撞能量,以位置异构体中分子质量相同且丰度百分比差异较大的 1 对碎片离子绘制能量分辨曲线。实现了单取代线型、双取代线型和角型呋喃香豆素以及简单香豆素各类位置异构体的快速区分。依据质谱的高分辨及高灵敏的特征,根据碎片离子的丰度差异,推测了双取代线型呋喃、角型呋喃及简单香豆素产生丰度差异的碎裂机理。结果表明:4 对 5,8 单取代线型呋喃香豆素类、1 对双取代线型呋喃香豆素、1 对双取代线型和角型呋喃香豆素和 1 对简单香豆素的能量分辨曲线表现出明显差异。本实验通过质谱能量曲线法对上述 7 对香豆素类位置异构体进行区分,其中 5,8 位双取代线型呋喃香豆素、角型和线型呋喃香豆素、双取代简单香豆素这 3 对位置异构体,首次通过能量分辨曲线发现了丰度有明显差异的 1 对碎片离子。该方法操作简单,质谱能量分辨曲线差异明显,能够实现在无对照品的情况下快速区分这 7 对香豆素类位置异构体。

关键词:香豆素;位置异构体;能量分辨曲线;超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UHPLC-Q-TOF MS)

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:1004-2997(2020)06-0614-10

doi:10.7538/zpxb.2019.0105

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Identification of Coumarin Isomers by Mass Spectrometry Using Breakdown Curves

LI Qian^{1,2}, LIU Jie^{2,3}, LI Yue-ting^{2,4}, YANG Jiao^{2,4}, SU Ru-bin^{2,4},
JIA Zhi-xin^{2,3}, XIAO Hong-bin^{1,2,3}

(1. School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832002, China;

2. Research Center for Chinese Medicine Analysis and Transformation,

Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 3. Beijing Research Institute
of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

4. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

收稿日期:2019-08-05;修回日期:2019-10-08

基金项目:国家自然科学基金项目(81774155,81803703)资助

作者简介:李 乾(1994—),男(汉族),山东人,硕士研究生,药物分析专业。E-mail: 13287960609@163.com

通信作者:肖红斌(1969—),男(汉族),湖北人,教授,从事中药物物质基础及作用机制系统分析。E-mail: hbxiao69@163.com

网络出版时间:2020-09-03;网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20200902.0837.004.html>

Abstract: A mass spectrometry method was established to distinguish the position isomers of coumarin rapidly by using breakdown curves. The dynamic collision energies of 2-40 V were applied to the position isomers, and the breakdown curves were drawn by a pair of fragment ions with the same molecular weight and greatly difference abundance percentages in position isomers. Herein, the rapid distinction of monosubstituted linear furanocoumarins (LFCs), disubstituted LFCs, angular furanocoumarins (AFCs) and simple coumarins (SCs) was realized by this method. The possible fragmentation mechanisms of disubstituted LFCs, AFCs and SCs were deduced according to the abundance differences of fragment ions based on the high resolution and high sensitivity of mass spectrometry. The results indicated that the breakdown curves of 4 pairs of 5,8-monosubstituted LFCs, one pair of disubstituted LFCs, one pair of disubstituted LFCs and AFCs as well as one pair of SCs were obviously different. This is the first time to distinguish the position isomers of coumarin mentioned above by using breakdown curves. Moreover, the fragment ions with marked abundance differences of three pair position isomers of coumarin including 5,8-disubstituted LFCs, AFCs and LFCs, disubstituted SCs were reported by breakdown curves for the first time. This method is simple and can quickly distinguish these seven pair position isomers of coumarin without standards.

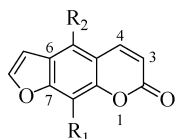
Key words: coumarin; positional isomer; breakdown curves; UHPLC-Q-TOF MS

香豆素类化合物广泛存在于白芷^[1]、沙参^[2]、羌活^[3]、当归^[4]、独活^[5]等中药材中,具有抗肿瘤、抗氧化、抗菌、舒张血管等生物活性^[6],是元胡止痛片^[7]、藿香正气水^[8]、都梁丸^[9]等复方制剂的重要成分。然而,香豆素类化合物中存在多种位置异构体,互为位置异构体的化合物往往具有不同的药理、生理和毒理性^[10]。如欧前胡素和异欧前胡素对肝细胞色素 P450 表达的影响不同,且异欧前胡素致肝损伤较欧前胡素更严重^[11];蛇床子素具有比软木花椒素更广泛的药理作用,如抗心律失常、抗血栓、抗炎抗氧化以及类激素样等作用^[12-13]。因此,区分香豆素类位置异构体十分必要。

近年来,随着质谱分辨率及精确度的提高,有报道^[2,4]通过保留时间及特征碎片离子对香豆素类同分异构体化合物进行区分。依据保留时间区分位置异构体时,各化合物可能会因色谱条件的改变而变化,因此需要标准品比对进行准确性。在采用特征碎片离子区分香豆素类位置异构体的报道中,仅有单取代呋喃香豆素类化合物中的花椒毒酚和花椒毒素可通过特征碎片离子 m/z 185.023 3 区分其位置异构

体^[1-2],方法不具备普适性。质谱能量分辨曲线法是以碰撞能量为横坐标,母离子或碎片离子在该能量下的相对丰度为纵坐标,该方法不仅可以区分异构体,还可以提供碎裂机理信息^[14-17]。Zhang 等^[16]利用 ESI-MS/MS 技术构建能量分辨曲线区分了苯乙酮类位置异构体;黄钰等^[18]利用质谱能量分辨曲线法快速区分了达格列净中间体及其位置异构体。

本研究拟建立一种灵敏、准确、快速区分香豆素类位置异构体的分析方法。即以 7 对位置异构体为例,其结构示于图 1、2,包括 4 对 5,8 单取代线型呋喃香豆素类位置异构体:欧前胡素和异欧前胡素,花椒毒酚和佛手酚,异桉薹芹醇和氧化前胡素,白芷属脑和水合氧化前胡素;1 对 5,8 双取代线型呋喃香豆素类位置异构体:珊瑚菜素和 8-甲氧基异欧前胡素;1 对角型及线型呋喃香豆素类位置异构体:茴芹内酯和异虎耳草素;1 对简单香豆素类位置异构体:蛇床子素和软木花椒素。通过施加 2、4……38、40 V 碰撞能量,获取丰富的质谱信息,寻找相对丰度差异较大的 1 对离子构建能量分辨曲线,希望实现在没有标准品的情况下快速、准确地区分香豆素类位置异构体。



花椒毒酚: $R_1=OH$, $R_2=H$

佛手酚: $R_1=H$, $R_2=OH$

欧前胡素: $R_1=OCH_2CH=C(CH_3)_2$, $R_2=H$

异欧前胡素: $R_1=H$, $R_2=OCH_2CH=C(CH_3)_2$

异桉翅芹醇: $R_1=OCH_2CH(OH)C(CH_2)CH_3$, $R_2=H$

氧化前胡素: $R_1=H$, $R_2=OCH_2CH(O)CH(CH_3)_2$

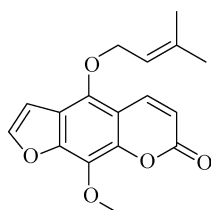
白芷属脑: $R_1=OCH_2CH(OH)C(CH_2)CH_3$, $R_2=H$

水合氧化前胡素: $R_1=OCH_2CH(OH)C(CH_2)CH_3$, $R_2=H$

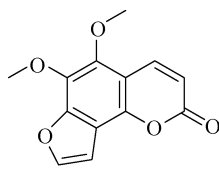
图 1 5,8 单取代线型呋喃香豆素类化合物的结构

Fig. 1 Chemical structures of 5,8 monosubstituted

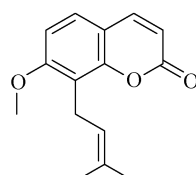
linear furanocoumarin compounds



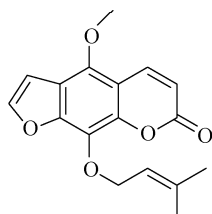
8-甲氧基异欧前胡素



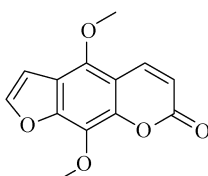
茴芹内酯



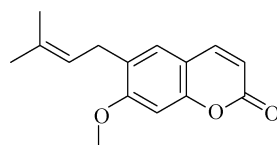
蛇床子素



珊瑚菜素



异虎耳草素



软木花椒素

图 2 3 对双取代香豆素类化合物的结构

Fig. 2 Chemical structures of three pairs of disubstituted coumarins

花椒毒酚(H-065-181216)、佛手酚(F-026-181108)、蛇床子素(S-008-170204)、软木花椒素(R-053-190117)、欧前胡素(O-001-170526)、异欧前胡素(Y-007-170426)、水合氧化前胡素(S-128-170426)、氧化前胡素(Y-151-180713)、8-甲氧基异欧前胡素(J-073-190219)、茴芹内酯(H-078-170104)、异虎耳草素(Y-100-181017) 11 种标准品:纯度均大于 98%,成都瑞芬思生物科技有限公司产品;白芷属脑(X21F10L81196)、异桉翅芹醇(X21F10L81197)、珊瑚菜素(P12A8F33827) 标准品:纯度均大于 98%,上海源叶生物科技有限公司产品。使用 70% 甲醇超声溶解标准

1 实验部分

1.1 仪器与装置

Agilent 1290 超高效液相色谱仪、Agilent 6550 离子漏斗四极杆飞行时间-串联质谱仪、Agilent Mass Hunter Qualitative Analysis B. 07. 00 软件:美国 Agilent 公司产品;Milli-Q 超纯水制备仪:美国 Millipore 公司产品;AT 201 型 1/10 万电子天平:瑞士 Mettler Toledo 公司产品;KQ-500E 型超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司产品。

1.2 材料与试剂

乙腈、甲醇(质谱级):美国 Fisher 公司产品;乙酸(质谱级):美国 Sigma 公司产品;乙酸铵(分析纯):北京化工厂有限责任公司产品。

品,配制成 1 mg/L 溶液后,进样分析。

1.3 实验条件

1.3.1 色谱条件 Agilent ZORBAX ECLIPSE Plus C18 色谱柱(2.1 mm×100 mm×1.8 μm);流动相:A 为 0.1% 乙酸-2 mmol/L 乙酸铵水溶液,B 为乙腈;梯度洗脱:0~4 min(5%~15%B),4~14 min(15%~30%B),14~20 min(30%~50%B),20~28 min(50%~60%B),28~34 min(60%~70%B),34~40 min(70%~90%B),40~45 min(90%~100%B);柱温 35 °C;流速 0.4 mL/min;检测波长 254 nm;进样量 2 μL。

1.3.2 质谱条件 Dual AJS ESI 离子源,正离

子模式;干燥气体积流量 11 L/min,干燥气温度 200 ℃,雾化气压力 2.76×10^5 Pa;毛细管电压 4 000 V,裂解电压 380 V;一级质量扫描范围 m/z 100~900,二级质量扫描范围 m/z 50~700;所有标准品施加碰撞能量 2、4……38、40 V。

2 结果与讨论

2.1 4 对 5,8 单取代线型呋喃香豆素类位置异构体的区分

据文献^[1-2,20]报道,欧前胡素碎片离子 m/z 175.039 0 $[M+H-R-CO]^+$ 相对丰度大于 m/z 159.044 1 $[M+H-R-CO_2]^+$,异欧前胡素碎片离子 m/z 159.044 1 相对丰度大于 m/z 175.039 0。为揭示不同碰撞能量下 5,8 单取代线型呋喃香豆素类化合物的丰度变化规律,实现根据一对碎片离子(m/z 175.039 0 和 m/z 159.044 1)的丰度差异及变化规律即可区分 5,8 单取代线型呋喃香豆素类化合物的目的,本研究对互为 5,8 单取代线型呋喃香豆素类位置异构体:欧前胡素和异欧前胡素,花椒毒酚和佛手酚,异栓翅芹醇和氧化前胡素,白芷属脑和水合氧化前胡素施加 0~40 V 的动态碰撞能量。

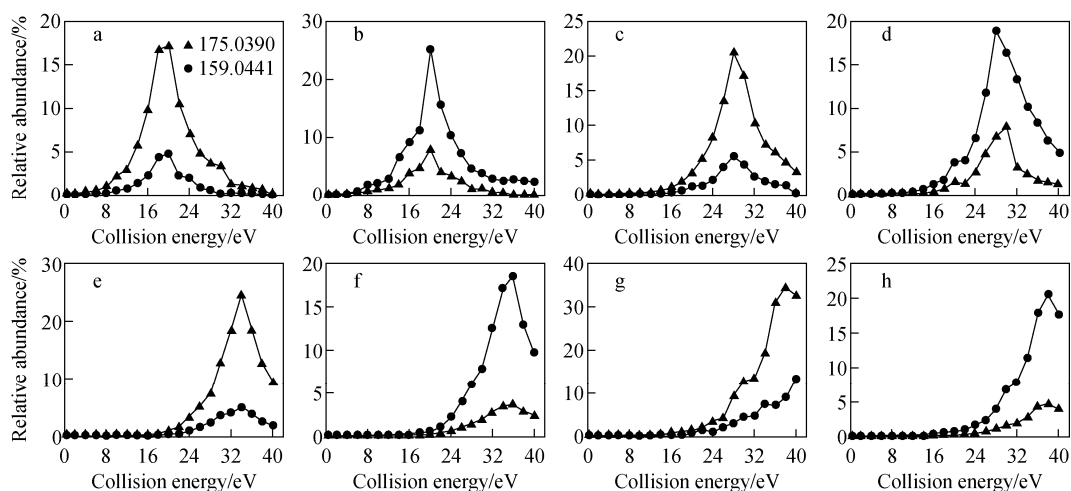
4 对位置异构体的能量分辨曲线示于图 3。可见,5,8 位单取代线型呋喃香豆素类化合物的碎片离子 m/z 175.039 0 $[M+H-R-CO]^+$ 与 m/z 159.044 1 $[M+H-R-CO_2]^+$ 丰度差异

较大,且随着碰撞能量的增加,8 位单取代线型呋喃香豆素类化合物的碎片离子 m/z 175.039 0 丰度始终比 m/z 159.044 1 大,而 5 位单取代线型呋喃香豆素类化合物的碎片离子 m/z 159.044 1 丰度始终比 m/z 175.039 0 大。因此,当 m/z 175.039 0 相对丰度大于 m/z 159.044 1 时,可鉴定为 8 位单取代线型呋喃香豆素类化合物;当 m/z 159.044 1 相对丰度大于 m/z 175.039 0 时,可鉴定为 5 位单取代线型呋喃香豆素类化合物。

推测其原因,对于 8 位单取代线型呋喃香豆素类化合物,8 位烷基丢失后,8 位羰基与 2 位羰基形成 $\pi-\pi$ 共轭,2 位和 8 位均易丢失 CO;而对于 5 位烷基丢失后,5 位羰基与 2 位羰基不能形成 $\pi-\pi$ 共轭,5 位不易丢失 CO,2 位羰基易丢失 CO_2 ^[19]。

2.2 5,8 位双取代线型呋喃香豆素类位置异构体的区分

双取代线型呋喃香豆素类化合物比单取代类化合物更复杂,根据碎片离子的丰度差异鉴别该类位置异构体的研究报道较少。本研究以珊瑚素和 8-甲氧基异欧前胡素为例,施加 0~40 V 的动态碰撞能量,得到二级质谱图示于图 4。发现碎片离子 m/z 173.023 3 $[M+H-CH_3O-C_5H_9-CO]^+$ 在 28 V 时的丰度差异明显,因此选定该碎片离子绘制能量分辨曲线,示于图 5a,5b。



注: a. 花椒毒酚; b. 佛手酚; c. 欧前胡素; d. 异欧前胡素; e. 异栓翅芹醇; f. 氧化前胡素; g. 白芷属脑; h. 水合氧化前胡素

图 3 5,8 单取代线型呋喃香豆素类化合物的能量曲线

Fig. 3 Energy curves of 5,8-monosubstituted linear furanocoumarins

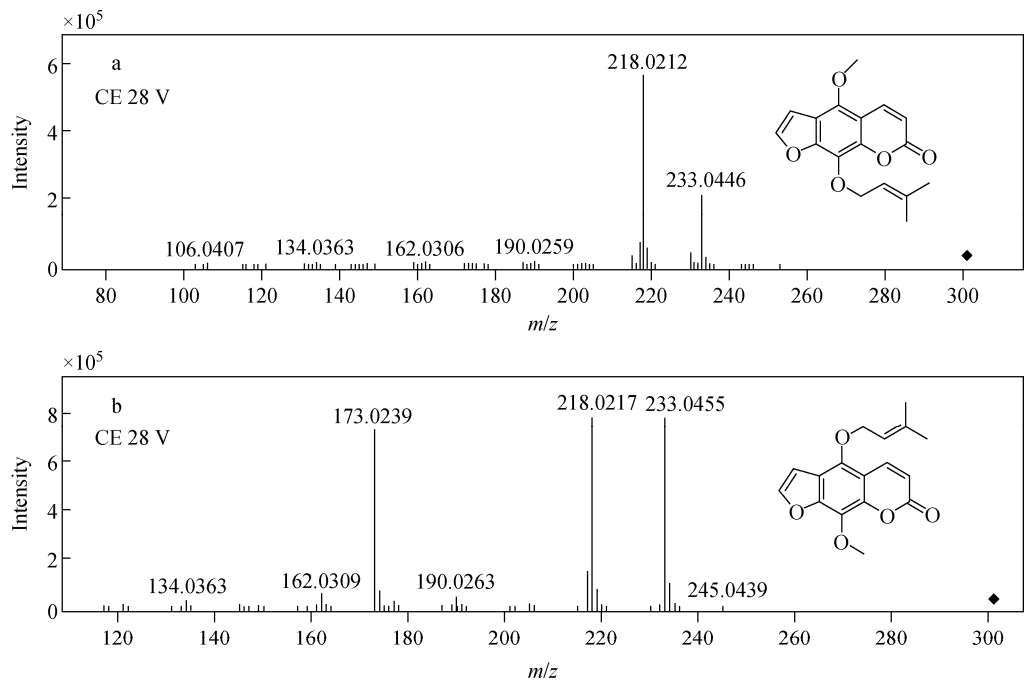
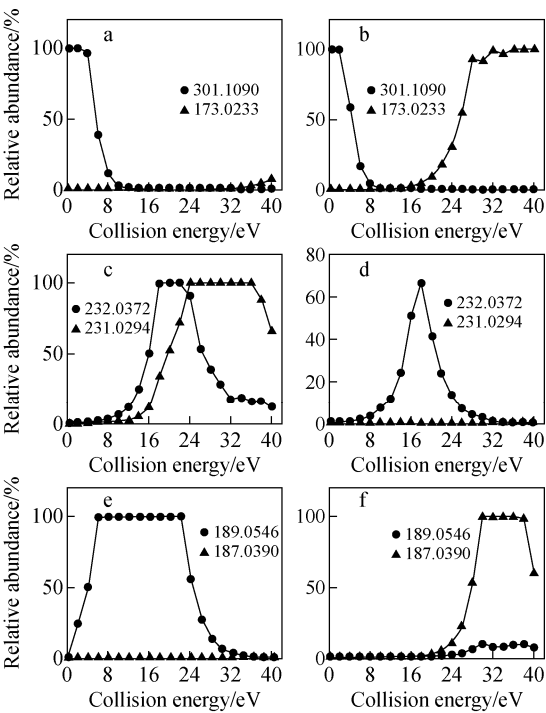


图 4 珊瑚菜素(a)和 8-甲氧基异欧前胡素(b)[M+H]⁺ 的二级质谱图
Fig. 4 MS/MS spectra of phellopterin (a) and cnidilin (b) [M+H]⁺



注：a. 珊瑚菜素；b. 8-甲氧基异欧前胡素；
c. 茴芹内酯；d. 异虎耳草素；
e. 蛇床子素；f. 软木花椒素

图 5 3 对位置异构体的能量曲线图
Fig. 5 Energy curves of three pair isomers

可见,随着碰撞能量的增加,8-甲氧基异欧前胡素的碎片离子 m/z 173.023 3 丰度在碰撞能量为 16 V 时逐渐增大,当碰撞能量为 28 V 时达到基峰水平,而随着碰撞能量的增加,珊瑚菜素的碎片离子 m/z 173.023 3 丰度始终低于 10%。因此,当碰撞能量为 28~40 V 时,化合物碎片离子 m/z 173.023 3 丰度达到基峰水平,即可鉴定为 8-甲氧基异欧前胡素;若化合物碎片离子 m/z 173.023 3 丰度低于 10%,则鉴定为珊瑚菜素。

产生此现象的原因可能由异戊烯基($-C_5H_9$)或甲氧基($-OCH_3$)丢失的难易程度决定的,但碎片离子 m/z 205.049 5 $[M+H-C_5H_9-CO]^+$ 的能量曲线差异不大,因此,决定碎片离子 m/z 173.023 3 $[M+H-CH_3O-C_5H_9-CO]^+$ 丰度差异的原因可能是 8 位甲氧基($-OCH_3$)比 5 位甲氧基更易丢失。

2.3 1 对角型及线型呋喃香豆素类位置异构体化合物的区分

根据环合位置的不同,呋喃香豆素分为线型呋喃香豆素(6,7 环合)和角型呋喃香豆素(7,8 环合)。目前尚无根据碎片离子的丰度差异鉴别线型和角型呋喃香豆素类位置异构体的

报道。本研究以茴芹内酯和异虎耳草素为例,施加 0~40 V 动态碰撞能量,结果示于图 6,碎片离子 m/z 232.037 2 $[M+H-CH_3]^+$ 和 m/z 231.029 4 $[M+H-CH_4]^+$ 在碰撞能量为 24 V 时的丰度差异明显,因此,选定这 2 个碎片离子绘制能量分辨曲线,示于图 5c、5d。由图可见,随着碰撞能量的增加,角型呋喃香豆素茴芹内酯均产生碎片离子 m/z 232.037 2 $[M+H-CH_3]^+$ 和 m/z 231.029 4 $[M+H-CH_4]^+$ 。当能量为 18~22 V 时,碎片离子 m/z 232.037 2 达到基峰水平;当能量为 24~36 V 时,碎片离子 m/z 231.029 4 达到基峰水平;随着碰撞能量的增加,线型呋喃香豆素异虎耳草素产生碎片离子 m/z 232.037 2 $[M+H-CH_3]^+$,而几乎不产生碎片离子 m/z 231.029 4 $[M+H-CH_4]^+$ 。即可以通过碎片离子 m/z 231.029 4 的丰度区分这对位置异构体,当碰撞能量为 24~36 V 时,将碎片离子 m/z 231.029 4 的丰度能够达到基峰水平的化合物鉴定为茴芹内酯;当碰撞能量为 0~40 V 时,将碎片离子 m/z 231.029 4 的丰度几乎为 0 的化合物鉴定为异虎耳草素。

根据此现象,推测茴芹内酯与异虎耳草素

产生碎片离子 m/z 232.037 2 和 m/z 231.029 4 的丰度差别可能是因为茴芹内酯 6 位甲氧基丢失甲基后,能够与 5 位甲氧基缩合成环,进一步丢失 1 个氢离子,而异虎耳草素不存在邻位取代。基于此,推测茴芹内酯和异虎耳草素的裂解规律示于图 7。

2.4 1 对双取代简单香豆素类位置异构体化合物的区分

简单香豆素类化合物因结构简单且相似,在固定碰撞能量值下不易发现碎片离子丰度差别。本研究以蛇床子素和软木花椒素为例,施加 0~40 V 动态碰撞能量,结果示于图 8,碎片离子 m/z 189.054 6 $[M+H-C_4H_8]^+$ 和 m/z 187.039 0 在 26 V 时的丰度差异明显,故选定此对碎片离子绘制能量分辨曲线,示于图 5e、5f。可见,随着碰撞能量的增加,7,8 双取代的简单香豆素蛇床子素产生的碎片离子 m/z 189.054 6 $[M+H-C_4H_8]^+$ 丰度呈先增加达基峰后下降的趋势,碎片离子 m/z 187.039 0 丰度几乎为零;而 6,7 位双取代的简单香豆素软木花椒素产生的碎片离子 m/z 187.039 0 丰度呈先增加达基峰后下降的趋势,碎片离子 m/z

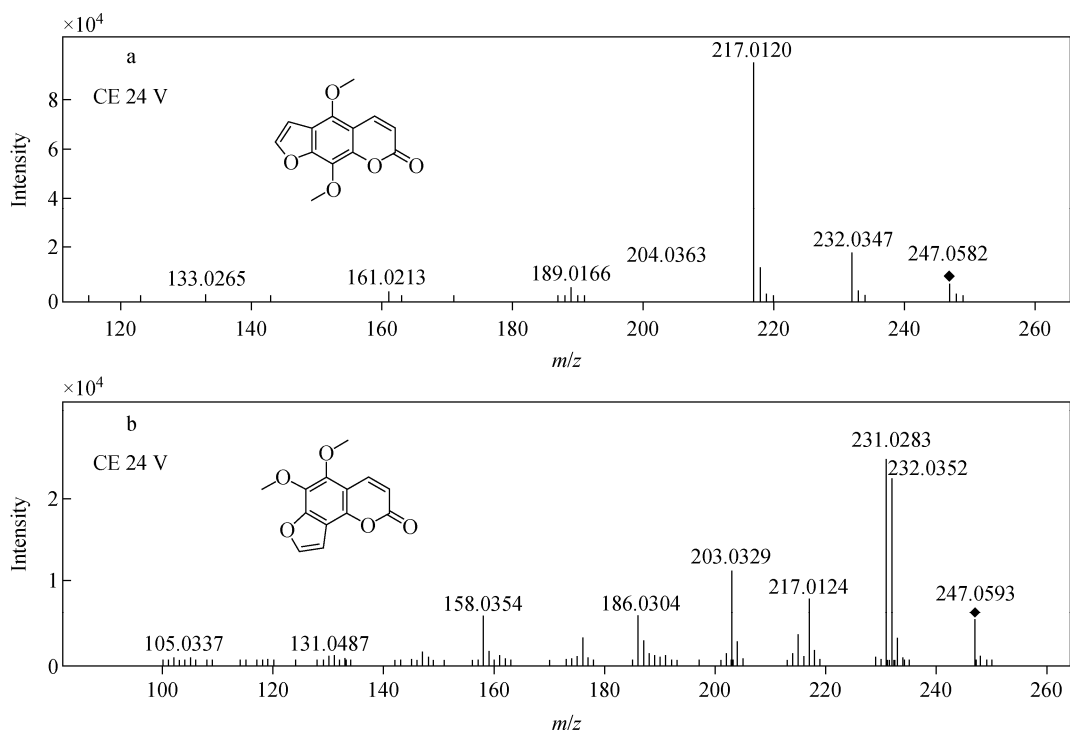


图 6 茴芹内酯(a)和异虎耳草素(b) $[M+H]^+$ 的二级质谱图

Fig. 6 MS/MS spectra of pimpinellin (a) and isopimpinellin (b) $[M+H]^+$

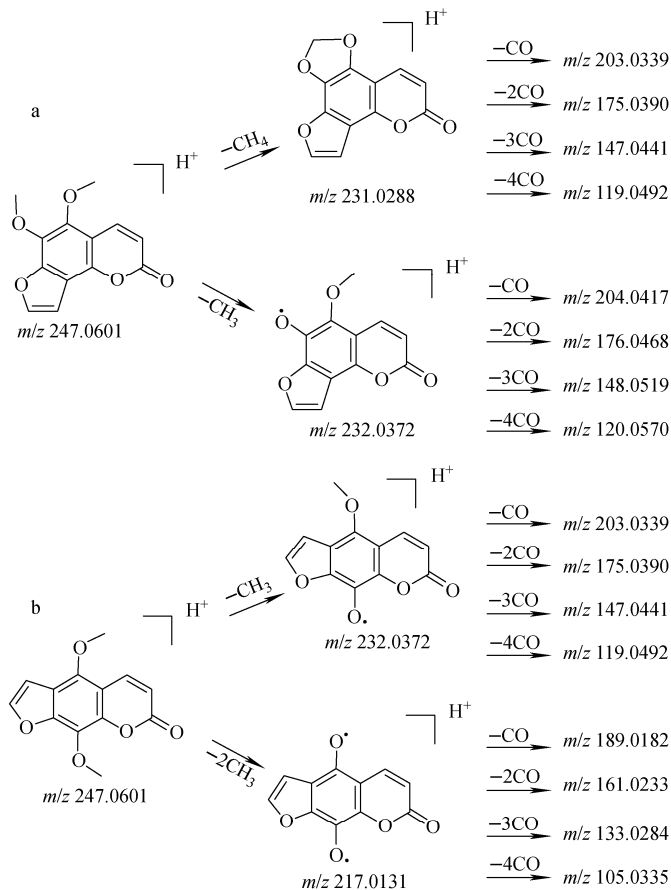


图 7 茜苿内酯(a)和异虎耳草素(b) $[M+H]^+$ 可能的裂解规律^[1,21]

Fig. 7 Possible fragment pathways of pimpinellin (a) and isopimpinellin (b) $[M+H]^+$

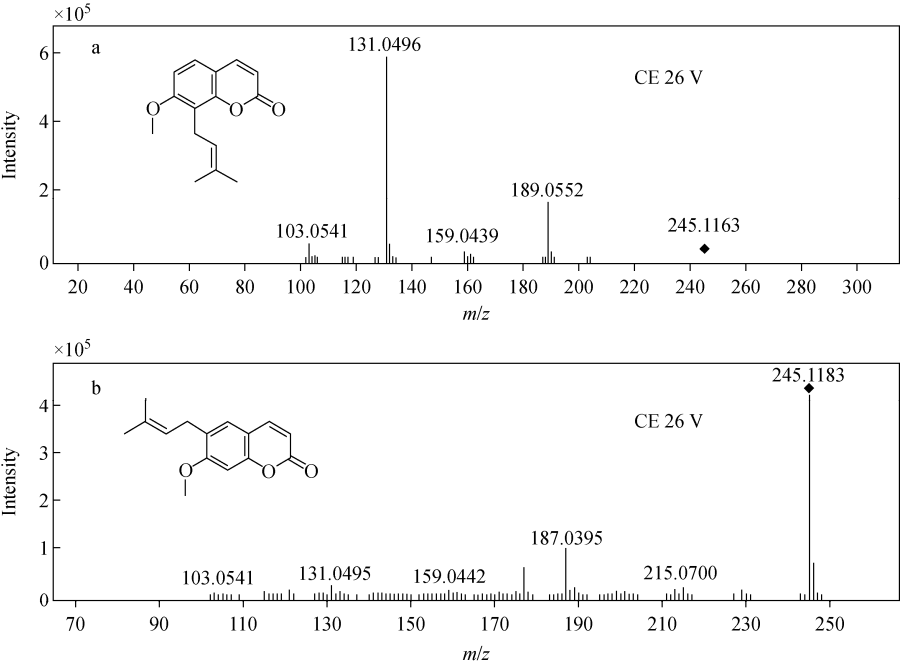


图 8 蛇床子素(a)和软木花椒素(b) $[M+H]^+$ 的二级质谱图

Fig. 8 MS/MS spectra of osthole (a) and suberosin (b) $[M+H]^+$

189.054 6 相对丰度均小于 10%。即当碎片离子 m/z 189.054 6 丰度大于 m/z 187.039 0 时, 鉴定为蛇床子素; 当碎片离子 m/z 187.039 0 丰度大于 m/z 189.054 6 时, 鉴定为软木花椒素。

蛇床子素与软木花椒素产生离子丰度差异的原因可能为: 蛇床子素中 8 位异戊烯基异裂后, 8 位与 2 位羰基形成 π - π 共轭体系, 使电子

更稳定, 碎片离子 m/z 189.054 6 稳定存在。而软木花椒素 6 位与 2 位羰基不能形成 π - π 共轭体系, 故软木花椒素与 6 位异戊烯基异裂后, 碎片离子 m/z 189.054 6 丰度很低。但软木花椒素 6 位均裂后可与 7 位甲氧基缩合成环, 在此过程中丢失 2 个氢离子, 产生碎片离子 m/z 187.039 0^[19]。基于此, 推测蛇床子素和软木花椒素的裂解规律示于图 9。

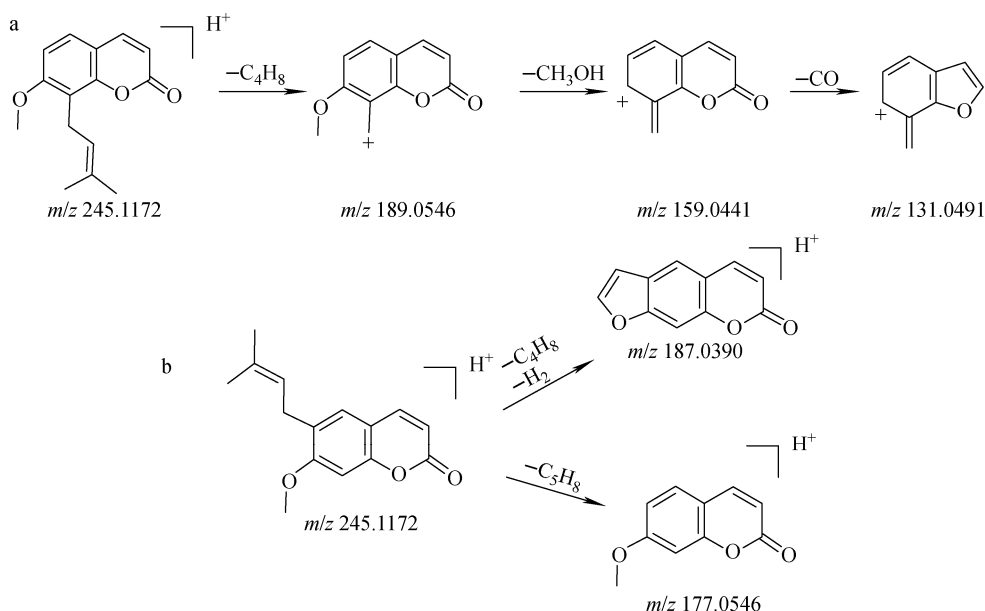


图 9 蛇床子素(a)和软木花椒素(b) $[M+H]^+$ 可能的裂解规律^[22-23]

Fig. 9 Possible fragment pathways of osthole (a) and suberosin (b) $[M+H]^+$ ^[22-23]

3 结论

本研究利用 UHPLC-Q-TOF MS 技术通过能量分辨曲线法对 7 对香豆素类位置异构体进行快速区分, 发现了珊瑚菜素和 8-甲氧基异欧前胡素、茴芹内酯和异虎耳草素、蛇床子素和软木花椒素中差异较大的碎片离子, 推测了造成这种差异可能的碎裂机理。5 位或 8 位单取代线型呋喃香豆素类位置异构体可以通过碎片离子 m/z 175.039 0 及 m/z 159.044 1 的丰度差异进行区分; 5, 8 双取代线型呋喃香豆素类位置异构体, 珊瑚菜素和 8-甲氧基异欧前胡素, 因 8 位甲氧基比 5 位甲氧基更易丢失, 可通过碎片离子 m/z 173.023 3 的丰度差异进行区分; 角型及线型呋喃香豆素类位置异构体, 茴芹内酯和异虎耳草素, 因角型呋喃香豆素茴芹内酯为 5, 6 邻位甲氧基双取代, 在裂解过程中可

以进行缩合成环, 进一步丢失 1 个氢离子, 而线型呋喃香豆素异虎耳草素不是邻位取代, 可通过碎片离子 m/z 231.029 4 的丰度差异进行区分; 简单香豆素类位置异构体, 蛇床子素和软木花椒素, 因蛇床子素 8 位丢失 C_4H_8 后能与 2 位羰基形成 π - π 共轭, 而软木花椒素 6 位不能与 2 位羰基形成 π - π 共轭, 造成了碎片离子 m/z 189.054 6 的丰度高于软木花椒素; 软木花椒素 6 位可与 7 位甲氧基缩合成环, 而蛇床子素因 π - π 共轭, 8 位不易给电子, 难以缩合成环, 造成了碎片离子 m/z 187.039 0 的丰度高于蛇床子素。通过这种方法, 实现了无标准品时可以简单、快速、准确地区分 7 对香豆素类位置异构体, 为进一步研究体内香豆素类化合物奠定了基础, 也为其他位置异构体的快速区分提供了思路和参考。

参考文献:

- [1] LI B, ZHANG X, WANG J, ZHANG L, GAO B W, SHI S P, WANG X H, LI J, TU P F. Simultaneous characterisation of fifty coumarins from the roots of *Angelica dahurica* by off-line two-dimensional high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionisation tandem mass spectrometry[J]. *Phytochem Anal*, 2014, 25(3): 229-240.
- [2] YANG W, YE M, LIU M, KONG D Z, SHI R, SHI X W, ZHANG K R, WANG Q, ZHANG L T. A practical strategy for the characterization of coumarins in *Radix Glehniae* by liquid chromatography coupled with triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1 217(27): 4 587-4 600.
- [3] 刘文武, 蒋晓文, 张帅, 祖宇欣, 赵庆春. 羌活中香豆素类化学成分及其抗氧化活性研究[J]. *中草药*, 2019, 50(6): 1 310-1 315.
LIU Wenwu, JIANG Xiaowen, ZHANG Shuai, ZU Yuxin, ZHAO Qingchun. Chemical constituents of coumarins compounds from *Notopterygium incisum* and their anti-oxidant activity[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2019, 50(6): 1 310-1 315(in Chinese).
- [4] 蒋虎刚, 赵信科, 蔺文燕, 李亮, 李娇, 李应东. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 定性分析当归中多种香豆素类成分[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(13): 157-162.
JIANG Hugang, ZHAO Xinke, LIN Wenyan, LI Liang, LI Jiao, LI Yingdong. Qualtitative analysis of multiple cumarins in *angelicae sinensis radix* based on HPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2019, 25(13): 157-162(in Chinese).
- [5] WAN M Q, ZHANF Y B, YANF Y F, JIA L Y, YANG X W. Analysis of the chemical composition of *Angelicae Pubescentis Radix* by ultra-performance liquid chromatography and quadrupole time-of-flight tandem mass specteometry[J]. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 2019, 28(3): 145-159.
- [6] 程果, 徐国兵. 香豆素类化合物的药理作用研究进展[J]. *中成药*, 2013, 35(6): 1 288-1 291.
CHENG Guo, XU Guobing. Advances in pharmacological action of coumarins[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2013, 35(6): 1 288-1 291(in Chinese).
- [7] 韩彦琪, 许浚, 龚苏晓, 张铁军, 刘昌孝. HPLC-QTOF/MS 方法分析元胡止痛方的化学成分[J]. *药学报*, 2017, 52(1): 132-138.
HAN Yanqi, XU Jun, GONG Suxiao, ZHANG Tiejun, LIU Changxiao. Identification of chemical constituents of Yuanhu Zhitong prescription by HPLC-QTOF/MS[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2017, 52(1): 132-138(in Chinese).
- [8] 卢建秋, 刘永刚, 刘丹, 乔延江. LC-MS 分析藿香正气水中化学成分[J]. *北京中医药大学学报*, 2006, 29(4): 270-272.
LU Jianqiu, LIU Yonggang, LIU Dan, QIAO Yanjiang. Analysisi on chemical principles of Huoxiangzhengqi solution by HPLC-MS[J]. *Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine*, 2006, 29(4): 270-272(in Chinese).
- [9] 韦玮, 王力, 梁丽, 王逾珍, 海丽娜, 杨秀伟. 中药药对“都梁丸”化学成分的研究[J]. *中国现代中药*, 2017, 19(7): 944-955.
WEI Wei, WANG Li, LIANG Li, WANG Yuzhen, HAI Li'na, YANG Xiuwei. Chemical constituents from couplet medicine of “Duliang” pill[J]. *Mod Chin Med*, 2017, 19(7): 944-955(in Chinese).
- [10] YIN Q, WANG L, SUN C. Rapid identification of miglitol and its isomers by electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2016, 30: 155-161.
- [11] 王笃军, 王硕, 严峰, 王国斌, 许海玉, 欧阳臻, 魏渊. 欧前胡素和异欧前胡素对小鼠肝 CYP450 的影响[J]. *中成药*, 2017, 39(1): 14-20.
WANG Dujun, WANG Shuo, YAN Feng, WANG Guobin, XU Haiyu, OUYANG Zhen, WEI Yuan. Effects of imperatorin and isoimperatorin on liver cytochrome P450s in mice[J]. *Chinese Trditional Palent Medicine*, 2017, 39(1): 14-20(in Chinese).
- [12] ZHU J J, JIANG J G. Pharmacological and nutritional effects of natural coumarins and their structure-activityrelationships[J]. *Mollecular Nutrition & Food Research*, 2018: 1-73.
- [13] YALDA S, FATANEH J, ZEYNAB M, LEILI B. Potential anticancer properties of Osthol: a comprehensive mechanistic review[J]. *Nutri-*

- ents, 2018, 10(1): 36-52.
- [14] KONG Q J, Y R X, HU N, SUN C R, PAN Y J. Identification of isomers of resveratrol dimer and their analogues from wine grapes by HPLC/MS^{*} and HPLC/DAD-UV[J]. Food Chemistry, 2011, 127(2): 727-734.
- [15] WENSING M W, SNYDER A P, HARDEN C S. Energy resolved mass spectrometry of diethyl alkyl phosphonates with an atmospheric pressure ionization tandem mass spectrometer [J]. Journal of Mass Spectrometry, 1995, 30 (11): 1 539-1 545.
- [16] ZHANG X, SHAN L, HUANG H, YANG X W, LIANG X, XING A T, HUANG H Q, LIU X R, SU J, ZHANG W D. Rapid identification of acetophenones in two *Cynanchum* species using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2009, 49(3): 715-725.
- [17] 李敏,王秀娟,陈娟娟,徐继林,严小军. 质谱能量分辨曲线法区分氧化脂类前列腺素异构体[J]. 药物分析杂志,2014,34(7):1 161-1 169.
LI Min, WANG Xiujuan, CHEN Juanjuan, XU Jilin, YAN Xiaojun. Identification of oxulipins prostaglandin by mass spectrometry using breakdown curves[J]. Chin J Pharm Anal, 2014, 34 (7): 1 161-1 169(in Chinese).
- [18] 黄钰,马格,尹欣驰,张健,潘远江. HPLC-IT-TOF MS快速区分达格列净中间体及其位置异构体[J]. 质谱学报,2017,38(4):443-449.
HUANG Yu, MA Ge, YIN Xinch, ZHANG Jian, PAN Yuanjiang. Rapid identification of dapagliflozin intermediate and its isomer by HPLC-IT-TOF MS[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2017, 38(4): 443-449(in Chinese).
- [19] KANG J, ZHOU L, SUN J, HAN J, GUO D A. Chromatographic fingerprint analysis and characterization of furocoumarins in the roots of *Angelica dahurica* by HPLC/DAD/ESI-MS^{*} technique[J]. J Pharm Biomed Anal, 2008, 47 (45): 778-785.
- [20] 王旭光,杨洪军,王松松,马艳,李德凤,张毅,刘有平,许海玉. 基于LTQ-Orbitrap的白芷中5种呋喃香豆素类化合物的质谱裂解规律研究[J]. 中国中药杂志,2015,40(7):1 334-1 341.
WANG Xuguang, YANG Hongjun, WANG Songsong, MA Yan, LI Defeng, ZHANG Yi, LIU Youping, XU Haiyu. Fragmentation pathways of five furocoumarine using line ion trap with orbitrapmass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chinese Materia Medicine, 2015, 40 (7): 1 334-1 341(in Chinese).
- [21] TIAN Y L, SHI R, GAO M, WANG H X, DU Y F, ZHANG L T, WANG Q, ZHANG M. Differentiation of furanocoumarin isomers with ratio of relative abundance of characteristic fragment ions and application in *Angelicae dahuricae* Radix[J]. Chromatographia, 2017, 80(9): 1 401-1 410.
- [22] 廖曼. 基于UHPLC-Q-TOF-MS/MS技术的金莲花药效物质基础分析及蛇床子素的体内外代谢研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2018.
- [23] LIAO M, DIAO X, CHENG X, SUN Y P, ZHANG L T. Nontargeted SWATH acquisition mode for metabolites identification of osthole in rats using ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. RSC Advances, 2018, 8(27): 14 925-14 935.