

基于自建数据库基础的UPLC Q-TOF MS的黄酮类化合物快速检测方法

杨荻 王琳琳 周晓迪 惠人杰

江南大学 药学院 药物分析实验室

背景与目的

黄酮类化合物是以C₆-C₃-C₆结构为基本母核的色原酮或色原烷的衍生物。它是植物次生代谢产物^[1]，广泛地存在于植物的各个部位，尤其是花、叶部位^[2]。其主要饮食来源于水果、谷物、茶和一些草药^[3]。

黄酮类化合物具有多种生物活性及药理作用，例如保护心脑血管、利胆保肝、清除自由基、抗氧化、抗癌、抗菌、抗过敏、抗炎症、抗病毒等^[4]在食品中，黄酮类化合物常用于天然甜味剂、天然抗氧化剂以及色素等功能性食品添加剂^[5]。

本文基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间高分辨质谱仪 (UPLC Q-TOF MS) 以及 UNIFI 质谱分析软件，建立了一种黄酮类化合物的快速检测方法。适合于样品中黄酮类化合物的非靶向筛选，大大降低了食品、医药等领域在黄酮类化合物研究前期筛选的工作量以及资金的投入。

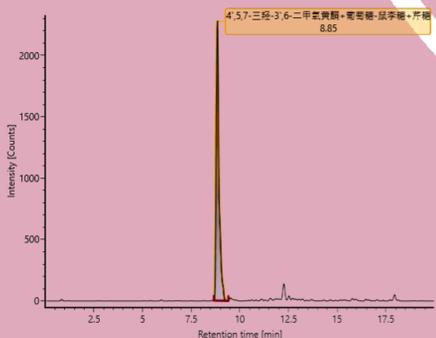
仪器与材料

超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱仪 (美国Waters公司)

中药口服液 (市售)
黑茶样品 (市售)
沙棘酒样品 (市售)

黄酮类化合物的定性及解析

m/z = 769.2203峰
出峰时间为8.85分钟
分子量与数据库比对
 $\Delta m/z = 0.8$ ppm
应为: 4',5,7-三羟基-3',6-二甲氧黄酮-7-O-芸香苷-4'-芹糖苷



进一步比对其二级图谱碎片，

获得碎片离子：

m/z = 609.1284,

对应芹糖以及两个甲基丢失；

m/z = 314.0431,

对应三个糖基以及一个甲基丢失；

m/z = 300.0276

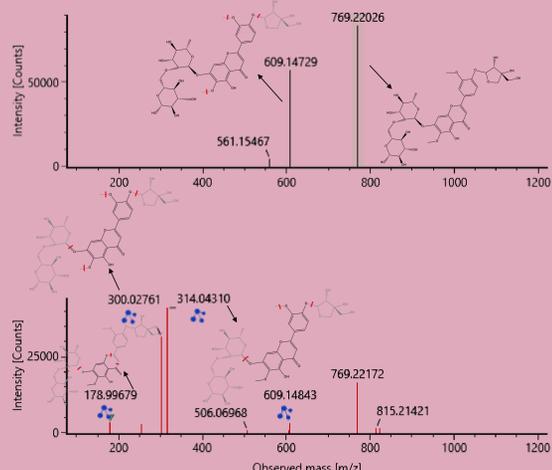
对应三个糖基以及两个甲基丢失

m/z = 178.9968

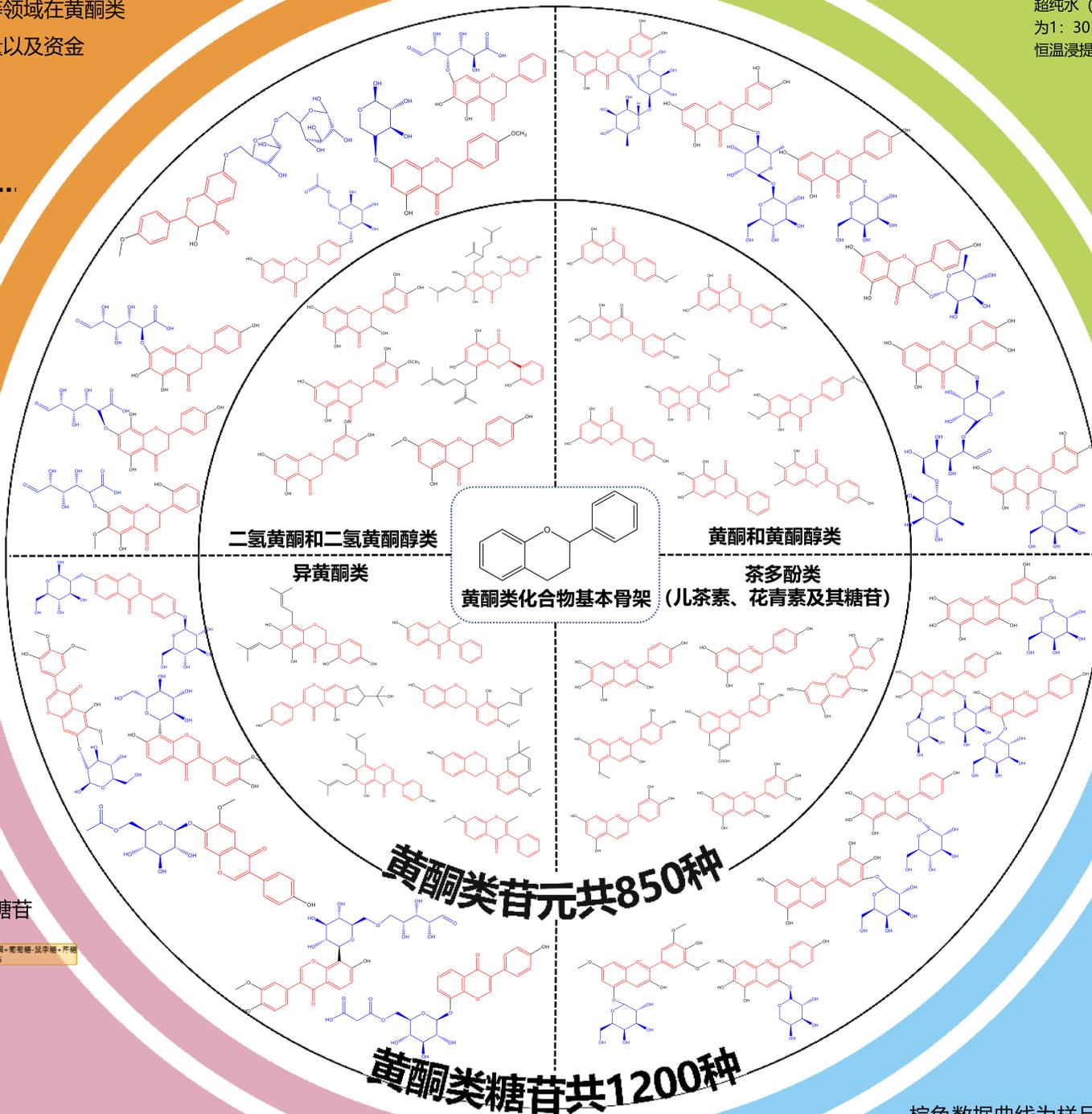
对应母环断裂后的碎片信息

经与数据库精确分子量比对，及碎片信息比对，可以判断该化合物为：4',5,7-三羟基-

3',6-二甲氧黄酮-7-O-芸香苷-4'-芹糖苷



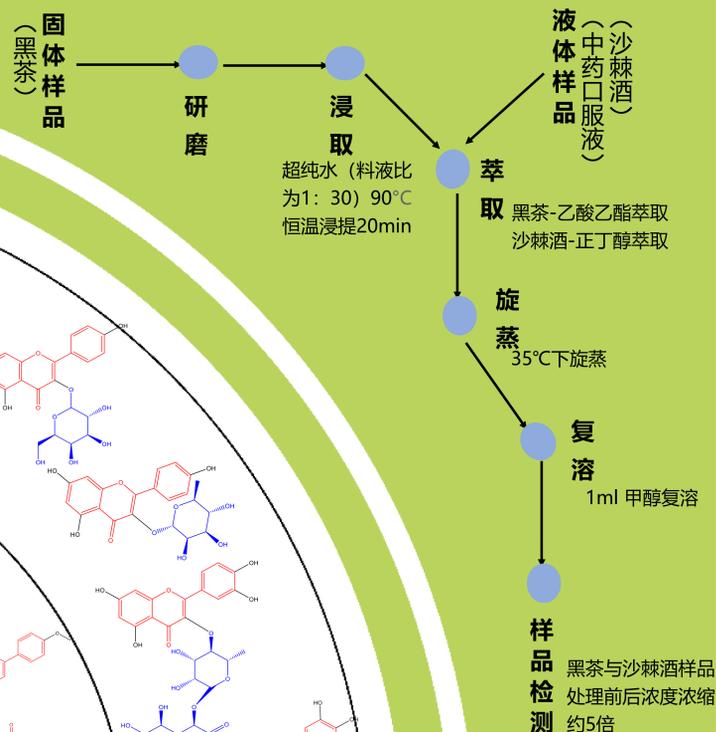
黄酮类化合物数据库



实验方法

样品前处理通用方案开发

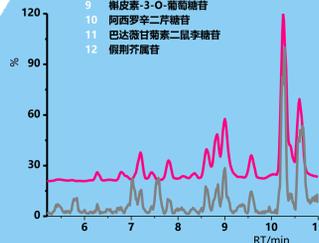
针对UPLC-Q-TOF仪器特性，根据对于不同种类样品的，采取多种前处理实验，最终摸索出一套通用处理方案。通过对黑茶、沙棘酒、中药口服液的处理试验，发现通用方案合理，且制备方法简单易操作，可用于高通量样品检测处理。具体流程如下：



实验结果

沙棘酒

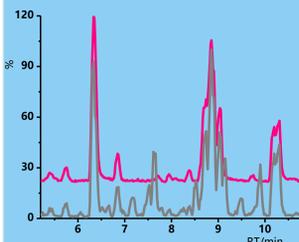
- 1 槲皮素-3-O-槐二糖-7-O-鼠李糖苷
- 2 槲皮素-3-O-葡萄糖-7-O-龙胆双糖苷
- 3 槲皮素-3-O-半乳糖-7-O-葡萄糖苷
- 4 山奈酚-3-O-槐二糖-7-O-鼠李糖苷
- 5 异鼠李素-3,7-O-二葡萄糖苷
- 6 芦丁
- 7 4,5,7-三羟基-6-二甲氧黄酮-葡萄糖-鼠李糖-芹糖
- 8 4'-羟基零素-二鼠李糖苷
- 9 槲皮素-3-O-葡萄糖苷
- 10 阿西罗辛-二葡萄糖苷
- 11 巴达德甘菊素-二鼠李糖苷
- 12 假荆芥糖苷



棕色数据曲线为样品总离子流图，代表样品中所有被检出物质情况，信息较为杂乱；红色线条为经数据库匹配筛选后的黄酮离子流图，可排除内源性物质的干扰，实现准确提取分离。

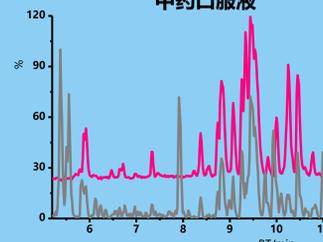
黑茶

- 1 原花青素-二聚体B2
- 2 儿茶素-没食子儿茶素
- 3 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯
- 4 2'-O-没食子儿茶素没食子酸酯
- 5 合欢鞣素
- 6 (-)-表儿茶素-3-O-没食子酸酯
- 7 5,8-苯并咪唑喹啉二聚体
- 8 杨梅素-鼠李糖苷
- 9 异鼠李素-芹糖



中药口服液

- 1 3'-甲氧基-6'-O-D-木糖基葡萄糖
- 2 槲皮素
- 3 大豆苷元-8-C-芹糖 (1-6) 葡萄糖苷
- 4 山奈酚-3-O-半乳糖苷
- 5 异鼠李素-新橙皮糖苷
- 6 儿茶素-二鼠李糖-葡萄糖苷
- 7 异鼠李素-芹糖苷
- 8 松属素-β-D-吡喃葡萄糖苷
- 9 三叶海棠素



讨论与小结

本文通过自建黄酮数据库，在UPLC Q-TOF MS的检测技术基础上，可对黄酮类化合物完成痕量物质的快速检测，与已有的黄酮类化合物分析方法相比，能在不具备标准品的条件下，对样品中黄酮类化合物的成分进行快速地检索分析，该方法快速、便捷、可操作性强，为食品、医药等各个领域的黄酮类化合物研究提供了参考。

[1] Abbas M, Saeed F, Anjum F M, et al. Natural polyphenols: An overview [J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20(8): 1689-1699.

[2] 黄酮类化合物在食品工业中的应用[J]. 科技资讯, 2004(07):64-65.

[3] Yousefi M, Shadnough M, Sohrabvandi S, et al. Encapsulation Systems for Delivery of Flavonoids: A Review [J]. Biointerface Research in Applied Chemistry, 2021, 11(6): 13934-13951.

[4] 孙晶, 薛社. 食品中黄酮类化学成份的比较研究[J]. 科技信息, 2014(13):59-60.

[5] 冯艺飞, 王笑颖. 黄酮类化合物的研究概况[J]. 江西化工, 2021, 37(04):102-104.