

· 资源与质量评价 ·

基于 UPLC-LTQ-Orbitrap 高分辨质谱的 中药瓜蒌化学成分分析

李欣¹, 唐力英², 许静¹, 于现阔², 杨洪军², 李德凤², 张毅²,
范建伟³, 苏瑞强³, 吴宏伟^{2*}, 张琼^{1*}

(1. 山西医科大学 药学院, 太原 030001; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;
3. 鲁南制药集团股份有限公司 中药制药共性技术国家重点实验室, 山东 临沂 276006)

[摘要] 目的: 基于超高效液相色谱-线性离子阱-静电场轨道阱高分辨质谱系统(UPLC-LTQ-Orbitrap-MS)分析鉴定中药瓜蒌的化学成分。方法: 瓜蒌样品粉碎过筛后采用70%甲醇超声提取, Waters HSS T3-C₁₈色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm), 流动相0.1%甲酸水溶液-甲醇梯度洗脱, 流速0.3 mL·min⁻¹, 采用电喷雾离子源(ESI), 正、负离子分别进行一级、二级质谱数据采集。为了获得更多的化合物信息, 根据色谱峰分离情况、质谱响应强度以及一级质谱解卷积后提取得到的准分子离子数量, 优化样品提取条件、色谱及质谱参数。根据精确相对分子质量、离子碎片信息、相关对照品比对, 并结合瓜蒌化学成分文献信息, 对其中的化学成分进行分析鉴定。结果: 从瓜蒌中共分析鉴定了91个化学成分, 包括14个氨基酸类化合物, 5个单萜类化合物, 5个四环三萜类化合物, 1个五环三萜类化合物, 14个黄酮类化合物, 17个有机酸类化合物, 3个多糖类化合物, 7个核苷类化合物, 7个生物碱及含氮化合物, 12个挥发性成分, 1个植物甾醇, 及其他5种化合物。结论: 该方法具有高效分离、高灵敏检测优势, 可较为全面地对瓜蒌中不同类型化合物进行分析鉴定, 为瓜蒌药效物质基础及质量标准研究提供参考。

[关键词] 瓜蒌; 化学成分; 超高效液相色谱-线性离子阱-静电场轨道阱高分辨质谱

[中图分类号] R284.1; R289; R22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)01-0201-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181715

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180614.1140.002.html>

[网络出版时间] 2018-06-14 15:22

Analysis and Identification of Chemical Components in Trichosanthis Fructus by UPLC-LTQ-Orbitrap-MS

LI Xin¹, TANG Li-ying², XU Jing¹, YU Xian-kuo², YANG Hong-jun², LI De-feng²,
ZHANG Yi², FAN Jian-wei³, SU Rui-qiang³, WU Hong-wei^{2*}, ZHANG Qiong^{1*}

(1. School of Pharmacy, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

3. State Key Laboratory of Generic Manufacture Technology of Chinese Traditional Medicine,
Lunan Pharmaceutical Group Co. Ltd., Linyi 276006, China)

[Abstract] **Objective:** To analysis and identify the chemical components in Trichosanthis Fructus by

[收稿日期] 20180227(003)

[基金项目] 山东省重大科技创新工程-“中医精方”重大科技创新工程项目(2018CXGC1305); 国家自然科学基金项目(81403210)

[第一作者] 李欣, 在读硕士, 从事中药质量标准化研究, E-mail: 2570658177@qq.com

[通信作者] * 张琼, 博士, 副教授, 从事天然产物研究, Tel: 0351-4012311, E-mail: 5109402@qq.com;

* 吴宏伟, 博士, 副研究员, 从事中药质量控制及代谢组学工作, Tel: 010-64032656, E-mail: whw9905012@163.com

UPLC-LTQ-Orbitrap-MS. **Method:** Samples of *Trichosanthis Fructus* were extracted by ultrasonic with 70% methanol after smashing and sifting by 40 mesh sieve. Thermo Scientific™ Dionex™ UltiMate™ 3000 Rapid Separation LC system performed UPLC separations with Waters HSS T3-C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) column. The mobile phase was 0.1% formic acid water (A) -methanol (B) with a gradient elution. The volume flow was 0.3 mL · min⁻¹. A Thermo Scientific™ LTQ-Orbitrap mass spectrometer equipped with a ESI probe was employed. The samples were respectively scanned in MS¹ and MS² mode of positive and negative ions. According to the chromatographic peak separation, mass signal intensity, and the number of molecular ions in MS¹ model, the extraction condition, chromatogram and mass spectrum parameters were optimized. The chemical compounds were identified by the accurate mass measurement of molecular ions and fragment ion and comparison with reference substance. **Result:** 91 chemical compositions in *Trichosanthis Fructus* were totally identified, including 14 amino acids, 5 monoterpenoids, 5 tetracyclic triterpenoids, 1 pentacyclic triterpene, 14 flavonoids, 17 organic acids, 3 polysaccharides, 7 nucleotides, 7 alkaloids and nitrogen compounds, 2 volatile components, 1 phytosterol, 5 other compositions. **Conclusion:** The established UPLC-LTQ-Orbitrap-MS method can be used to quickly analyze and identify the main chemical constituents of *Trichosanthis Fructus*. The chemical information concerning the constituents in *Trichosanthis Fructus* could be helpful to the quality control and further studies of *Trichosanthis Fructus*.

[**Key words**] *Trichosanthis Fructus*; chemical composition; UPLC-LTQ-Orbitrap-MS

瓜蒌为葫芦科植物瓜蒌和双边瓜蒌的果实,具有清热涤痰、宽胸散结、润燥滑肠之功效,临床常用于治疗用于肺热咳嗽、痰浊黄稠、胸痹心痛等^[1],现代药理学研究表明瓜蒌具有降低血清胆固醇、扩张冠脉、抗心肌缺血、改善微循环、抑制血小板聚集、耐缺氧、抗心律失常等作用^[2-5]。除了全瓜蒌果实外,瓜蒌的果皮(瓜蒌皮),种子(瓜蒌子),根(天花粉)均可单独入药,均被 2015 年版《中国药典》收载。瓜蒌(包含全果实、种子、果皮、根、茎)的化学成分主要有三萜类、甾醇类、黄酮类、酚类、生物碱类、氨基酸、有机酸、挥发油及油脂等^[6-7]。虽然瓜蒌涉及化学成分较多,但是目前 2015 年版《中国药典》中瓜蒌果实项下还没有特征性的定量质控指标,并且未见对全瓜蒌果实的高分辨质谱分析报道。

线性离子阱串联静电场轨道阱傅里叶变换高分辨质谱仪(LTQ-Orbitrap-MS),其中线性离子阱(LTQ)可以实现多级质谱功能,而静电场轨道阱(Orbitrap)可提供高分辨的质谱信息。UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 系统将超高效液相色谱与线性离子阱高分辨质谱技术相结合,既实现了超高效液相技术对于复杂样品快速分离的优势,又能够获得母离子、子离子及多级碎片离子的高分辨质谱信息,对于中药复杂体系中化学成分的鉴定与分析具有一定优势^[8-10]。本研究基于 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS,对中药瓜蒌(全果实)的化学成分进行分析。

1 材料

Ultimate 3000 型超高效液相色谱仪,LTQ-Orbitrap 质谱仪,Xcalibur2.1 工作站(美国 Thermo-Fisher 公司);QI 数据处理软件(美国沃特世公司);Eppendorf Centrifuge5424 R 型离心机(德国艾本德公司);PL402-L 型 1/10 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多集团)。

质谱级甲醇、乙腈、甲酸(赛默飞世尔科技有限公司),分析级甲醇(北京化工厂),娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。药材瓜蒌(北京仟草饮片公司,经中国中医科学院中药研究所巢志茂研究员鉴定为栝楼 *Trichosanthes kirilowii* 的干燥成熟果实);对照品丹皮酚(山东省中药化学对照品工程技术研究中心,批号 552-41-0,纯度 ≥ 98%);对照品黄芩苷(中国食品药品检定研究院,批号 110715-200514,纯度 ≥ 95%);对照品木犀草苷(批号 CHB-M-026,纯度 ≥ 98%),槲皮素(批号 CHB-H-020,纯度 ≥ 98%),槲皮苷(批号 CHB160504,纯度 ≥ 98%),木犀草素(批号 CHB160917,纯度 ≥ 98%),芹菜素(批号 CHB-M-027,纯度 ≥ 98%),均购自成都克洛玛生物科技有限公司;对照品 L-亮氨酸(批号 16082710,纯度 ≥ 98%),L-缬氨酸(批号 16090716,纯度 ≥ 98%),3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇(批号 B10363,纯度 ≥ 98%),腺苷(批号 B10217,纯度 ≥ 98%),胞苷(批号 B10217,纯度 ≥ 98%),琥珀酸(批号 16091510,纯度 ≥ 98%),均购自上海士

峰生物科技有限公司。

2 方法

2.1 供试液的制备 精密称取瓜蒌粉(过 40 目筛)1 g,精密加入 70% 甲醇 10 mL,超声 40 min,离心 12 min($12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$),取上清液,过 $0.22\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜,即得。

2.2 对照品溶液制备 精密称取对照品腺苷 2.51 mg,胞苷 1.58 mg,木犀草苷 3.35 mg,槲皮苷 2.29 mg,槲皮素 7.09 mg,黄芩苷 2.63 mg,丹皮酚 1.16 mg,亮氨酸 1.83 mg,缬氨酸 2.50 mg,琥珀酸 2.15 mg,3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇 1.6 mg,置于 25 mL 量瓶内,用甲醇溶解,定容,制得混合对照品溶液。另取对照品芹菜素 4.63 mg,木犀草素 1.55 mg,分别置于 10 mL 量瓶内,用甲醇溶解,定容,制得对照品溶液。

2.3 分析条件

2.3.1 色谱条件 Waters HSS T3- C_{18} 色谱柱($2.1\text{ mm}\times 100\text{ mm}, 1.8\ \mu\text{m}$);流动相甲醇(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~5 min,3%~10% A;5~25 min,10%~40% A;25~35 min,40%~60% A;35~45 min,60%~80% A;45~50 min,80%~95% A;50~60 min,95% A);流速 $0.3\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量 $1\ \mu\text{L}$ 。

2.3.2 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI),正、负离子分别检测,一级、多级模式分别扫描。离子源电压 3.5 kV,毛细管加热温度为 $350\text{ }^\circ\text{C}$,鞘气压力 0.24 MPa ,辅气压力为 0.07 MPa ,离子源温度 $350\text{ }^\circ\text{C}$,鞘气、辅助气均为氮气。质谱质量轴校准采用外标法(质量误差小于 5 ppm),校准质量正离子选择 74.096 43, 3.060 37, 195.084 65, 262.636 12, 524.264 96 和 1 022.003 41,负离子选择 230.101 74, 249.152 99, 407.280 3。一级全扫质量扫描 m/z 100~1 500,分辨率 30 000;二级质谱采用依赖性扫描,在一级扫描基础上选取其前三进行诱导碰撞解离(CID)获取其二级质谱数据。

2.4 瓜蒌化学成分数据库的建立 在收集瓜蒌相关对照品的基础上,通过国内外数据库(Scifinder, TCMID, TCM@Taiwan, TCMSP, Reaxys, CNKI 等)检索瓜蒌(根、茎、果实、种子、果皮等)相关化学成分信息,建立瓜蒌化学成分数据库,并计算相关化合物的 $[\text{M} + \text{H}]^+$, $[\text{M} + \text{Na}]^+$, $[\text{M} - \text{H}]^-$, $[\text{M} + \text{HCOO}]^-$ 等准分子离子的精确质荷比,为化合物分析鉴定提供参考。

3 结果

3.1 分析条件优化 瓜蒌果实中主要化合物为三萜类、黄酮类、糖类、及酸性化合物,一般的在负离子模式下黄酮类及酸性化合物具有较好的响应,且三萜类化合物在正、负离子模式下的响应差别不大,因此基于负离子检测模式,对提取溶剂、流动相分别进行考察。

在相同分析条件下,乙醇及不同浓度的甲醇提取物的一级质谱数据经 QI 软件解卷积后所得到离子(准分子离子)数量存在较大差异,其中 70% 甲醇提取液所获得离子数量最多,因此确定提取溶剂为 70% 甲醇。由于流动相的 pH 对化合物离子化效果存在较大影响,直接影响所获的分子离子数量,因此在相同的分析条件下对水相中甲酸的浓度进行了单因素考察,在甲醇-水、甲醇-0.1% 甲酸水、甲醇-0.05% 甲酸水 3 种洗脱体系中,甲醇-0.1% 甲酸水体系下的样品解卷积后所得到的离子数量最多,离子化效果最好。见图 1。

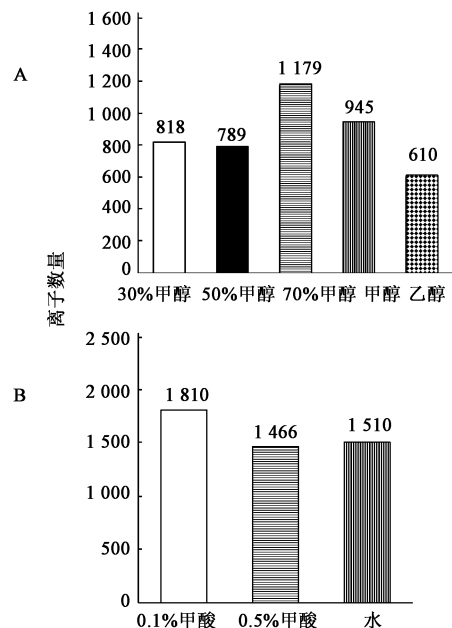
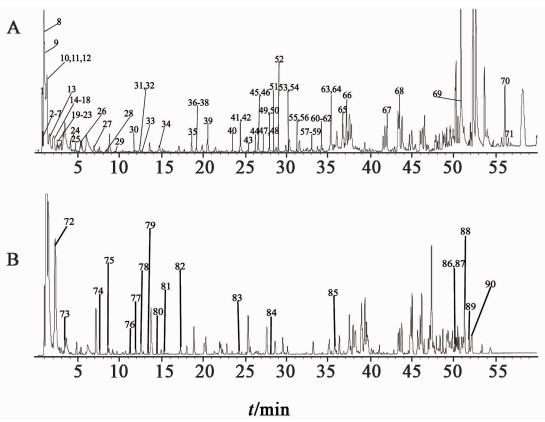


图 1 基于获得的前离子数目考察提取溶剂种类(A)及流动相 pH(B)

Fig.1 Determine the type of extraction solvent (A) and pH of mobile phase (B) based on number of obtained ions

此外,基于以上结果,以一级质谱获得的离子数量以及色谱峰分离情况为指标,对流动相的组成,甲醇-0.1% 甲酸水与乙腈-0.1% 甲酸水进行了考察,同时对洗脱条件进行了优化,最终确定了 2.3 项下分析条件,在此条件下获得了较好的色谱分离及质谱相应效果,正、负离子的基峰图(BPC)见图 2。

3.2 化合物的鉴定 基于以上样品处理方法及分



A. 正离子; B. 负离子

图 2 瓜蒌提取物质谱检测基峰 (BPC)

Fig. 2 Extracts of *Trichosanthis Fructus* BPC

析条件,在正、负离子模式下从瓜蒌中共分析鉴定了 90 个化学成分,包括 14 个氨基酸类化合物,10 个萜

类,14 个黄酮类化合物,17 个有机酸类化合物,3 个多糖类化合物,7 个核苷类化合物,7 个生物碱及含氮化合物,12 个挥发性成分,1 个植物甾醇,及其他 5 种化合物。在鉴定的过程中,首先在正离子模式下进行化合物的分析与鉴定,在此基础上进一步在负离子模式进行分析与验证,结果详见表 1^[11-44]。

3.3 化合物结构鉴定及质谱特征

3.3.1 氨基酸类 共鉴定出 14 个,包括赖氨酸、精氨酸、门冬氨酸、组氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、蛋氨酸、缬氨酸、酪氨酸、苏氨酸、焦谷氨酸,在正、负离子模式下均可检测到,主要以 $[M + H]^+$, $[M - H]^-$ 分子离子形式存在,在二级质谱中主要形成 $[M - H_2O + H]^+$, $[M - NH_3 + H]^+$ 碎片离子。例如,酪氨酸在一级质谱中以 $[M + H]^+$ 存在 (m/z 182.08),其二级碎片离子 164.07 是丢失

表 1 瓜蒌果实的正、负离子模式下的化合物鉴定及数据归属

Table 1 Compound identification and data attribution of positive and negative ion modes of *Trichosanthis Fructus*

| 化合物 | t_R /min | 检测离子 | 实测值 | 理论值 | δ | 分子式 | MS ² | 鉴定化合物 |
|---------------------|------------|--------------|------------|-----------|----------|--|---|------------------------------------|
| 1 ^{1,2)} | 0.8 | $[M + H]^+$ | 147.112 70 | 147.112 8 | -0.7 | C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂ | - | 赖氨酸 ^[11] |
| 2 ^{1,2)} | 0.9 | $[M + H]^+$ | 175.118 79 | 175.119 0 | -1.2 | C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂ | 158.090 72, 128.070 04, 116.070 07, 70.064 50 | 精氨酸 ^[11] |
| 3 ^{1,2)} | 0.90 | $[M + H]^+$ | 134.044 49 | 134.044 8 | -2.3 | C ₄ H ₇ NO ₄ | - | 门冬氨酸 ^[11] |
| 4 ^{1,2)} | 0.90 | $[M + H]^+$ | 156.076 55 | 156.076 8 | -1.6 | C ₆ H ₉ N ₃ O ₂ | 138.06 1, 137.096 16, 127.039 06, 99.044 09 | 组氨酸 ^[11] |
| 5 ^{1,2)} | 0.93 | $[M + H]^+$ | 120.065 34 | 120.065 5 | -1.3 | C ₄ H ₉ NO ₃ | - | 苏氨酸 ^[11] |
| 6 ^{1,2)} | 0.93 | $[M + H]^+$ | 148.060 38 | 148.060 5 | -0.8 | C ₅ H ₉ NO ₄ | - | 谷氨酸 ^[11] |
| 7 ^{1,2,x)} | 0.94 | $[M + H]^+$ | 118.086 14 | 118.086 3 | -1.4 | C ₅ H ₁₁ NO ₂ | 72.080 57, 55.053 95 | 缬氨酸 ^[11] |
| 8 ^{1,x)} | 1 | $[M + H]^+$ | 244.092 79 | 244.092 8 | 0.0 | C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₅ | 198.112 75 | 胞苷 |
| 9 ^{1,2)} | 1.27 | $[M + H]^+$ | 179.054 79 | 179.055 0 | -1.2 | C ₆ H ₁₀ O ₆ | 133.049 58, 115.038 93, 85.028 21, 73.028 16 | 半乳糖酸 γ -内酯 ^[12] |
| 10 ^{1,2)} | 1.56 | $[M + H]^+$ | 136.061 86 | 136.061 8 | 0.4 | C ₅ H ₅ N ₅ | 118.049 92, 90.054 95, 51.753 13 | 腺嘌呤 ^[13-14] |
| 11 ¹⁾ | 1.58 | $[M + H]^+$ | 112.050 48 | 112.050 6 | -1.1 | C ₄ H ₅ N ₃ O | - | 胞嘧啶 ^[15] |
| 12 ^{1,2)} | 1.63 | $[M + H]^+$ | 150.057 90 | 150.058 3 | -2.6 | C ₅ H ₁₁ NO ₂ S | - | 蛋氨酸 ^[11] |
| 13 ^{1,2)} | 1.70 | $[M + H]^+$ | 124.039 07 | 124.039 3 | -1.0 | C ₆ H ₅ NO ₂ | 106.028 71, 62.166 77, | 烟酸 ^[14] |
| 14 ^{1,2)} | 2.11 | $[M + H]^+$ | 182.080 98 | 182.081 2 | -1.2 | C ₉ H ₁₁ NO ₃ | 164.070 6, 96.044 34, 87.043 93 | 酪氨酸 ^[11] ¹⁴⁾ |
| 15 ^{1,2)} | 2.12 | $[M + H]^+$ | 130.049 87 | 130.049 9 | -0.2 | C ₅ H ₇ NO ₃ | 130.050 08, 84.044 27 | 焦谷氨酸 ^[11] |
| 16 ^{1,2)} | 2.16 | $[M + Na]^+$ | 112.039 06 | 112.037 0 | 8.3 | C ₃ H ₇ NO ₂ | 70.064 90 | 丙氨酸 ^[11] |
| 17 ^{1,2)} | 2.22 | $[M + H]^+$ | 137.045 68 | 137.045 8 | -0.9 | C ₅ H ₄ N ₄ O | 118.049 90, 109.064 70, 90.054 69 | 次黄嘌呤 ^[15] |
| 18 ^{1,2)} | 2.25 | $[M + H]^+$ | 140.034 16 | 140.034 2 | -0.3 | C ₆ H ₅ NO ₃ | 111.007 70, 94.028 68, 68.996 86 | 4-羟基-烟酸 ^[16] |
| 19 ¹⁾ | 2.48 | $[M + Na]^+$ | 231.083 90 | 231.084 0 | -0.4 | C ₈ H ₁₆ O ₆ | 213.073 46, 199.057 85, 184.108 15 | 乙基-D-呋喃葡萄糖苷 ^[17] |
| 20 ^{1,2)} | 2.57 | $[M + Na]^+$ | 141.015 79 | 141.015 9 | -0.8 | C ₄ H ₆ O ₄ | - | 琥珀酸 ^[14,18-19] |
| 21 ^{1,2)} | 2.64 | $[M + H]^+$ | 132.101 93 | 132.101 9 | 0.2 | C ₆ H ₁₃ NO ₂ | 114.054 93, 90.054 83, 69.069 67 | 异亮氨酸 ^[11] |

续表 1

| 化合物 | t_R/min | 检测离子 | 实测值 | 理论值 | δ | 分子式 | MS^2 | 鉴定化合物 |
|----------------------|------------------|-------------------------|------------|-----------|----------|---|--|--|
| 22 ¹⁾ | 2.76 | [M + H] ⁺ | 113.034 36 | 113.034 6 | -2.1 | C ₄ H ₄ N ₂ O ₂ | 95.007 79 | 尿嘧啶 ^[13-14,18] |
| 23 ^{1,2,*)} | 2.84 | [M + H] ⁺ | 132.101 87 | 132.101 9 | -0.2 | C ₆ H ₁₃ NO ₂ | 114.054 93, 90.054 83, 86.096 33, 69.069 67 | 亮氨酸 ^[11] |
| 24 ^{1,2,*)} | 4.09 | [M + H] ⁺ | 268.104 28 | 268.104 1 | 0.7 | C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄ | - | 腺苷 ^[20,16] |
| | | [M + HCOO] ⁻ | 312.095 25 | 312.095 0 | 0.8 | | 266.089 75, 134.047 52 | |
| 25 ^{1,2)} | 4.56 | [M + Na] ⁺ | 290.070 11 | 290.070 1 | 0 | C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₅ | - | 6-异次黄嘌呤核苷 ^[13] |
| | | [M - H] ⁻ | 267.073 52 | 267.073 6 | -0.3 | | 135.031 33 | |
| 26 ^{1,2)} | 5.41 | [M + H] ⁺ | 166.086 23 | 166.086 3 | -0.4 | C ₉ H ₁₁ NO ₂ | - | 苯丙氨酸 ^[11,14] |
| | | [M - H] ⁻ | 164.071 79 | 164.071 8 | -0.1 | | 147.045 24 | |
| 27 ^{1,2)} | 7.08 | [M + H] ⁺ | 108.044 26 | 108.044 4 | -1.3 | C ₆ H ₅ NO | 80.048 81, 59.064 30 | 4-吡啶甲醛 ^[15] |
| 28 ^{1,2)} | 8.46 | [M + Na] ⁺ | 353.084 57 | 353.084 4 | 0.5 | C ₁₄ H ₁₈ O ₉ | 335.122 92, 320.12216.92274, 210, 185.042 01 | 香草酸-4-O-β-D-葡萄糖苷 ^[20] |
| 29 ¹⁾ | 9.52 | [M + H] ⁺ | 304.176 76 | 304.175 5 | 4.1 | C ₁₄ H ₂₅ NO ₆ | - | 1-deoxy-1-[2'-oxo-1'-pyrrolidinyl]-2-n-butyl-α-fructofuranoside ^[21] |
| 30 ^{1,2)} | 11.62 | [M + H] ⁺ | 217.096 87 | 217.097 2 | -1.5 | C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂ | 171.090 93, 144.080 20 | 2, 3, 4, 9-tetrahydro-1H-pyrido [3, 4-b] indole-3-carboxylic acid ^[14] |
| 31 ^{1,2)} | 12.39 | [M + Na] ⁺ | 425.178 58 | 425.178 3 | 0.7 | C ₁₉ H ₃₀ O ₉ | 304.125 67, 263.124 45, 245.062 18, 185.041 28 | 6, 9, 11-trihydroxy-4, 7-megastigadien-3-one-11-O-β-D-glucopyranoside ^[19] |
| 32 ¹⁾ | 12.58 | [M + Na] ⁺ | 277.058 28 | 277.058 4 | -0.4 | C ₁₄ H ₁₀ N ₂ O ₃ | - | 1-acetyl-3-carboxy-β-carboline ^[19] |
| 33 ¹⁾ | 12.88 | [M + H] ⁺ | 237.134 56 | 237.133 3 | 5.3 | C ₁₀ H ₂₀ O ₆ | 177.102 4, 193.073 79, 220.108 34, | 正丁基-咪喃果糖苷 ^[17] |
| 34 ^{1,2)} | 14.73 | [M + Na] ⁺ | 234.073 65 | 234.073 8 | -0.6 | C ₁₀ H ₁₃ NO ₄ | 216.063 22, 179.106 89, 107.966 86 | 4-(2-formyl-5-hydroxy methylpyrrol-1-yl)-butyric acid ^[22] |
| 35 ^{1,2)} | 18.59 | [M + Na] ⁺ | 541.225 22 | 541.225 6 | -0.7 | C ₂₄ H ₃₈ O ₁₂ | - | 6, 9-dihydroxy-4, 7-megastigadien-3-one-9-O-[α-L-apifuranosyl-(1 → 2)-β-D-glucopyranoside] ^[19] |
| | | [M - H] ⁻ | 517.229 25 | 517.229 0 | 0.3 | | 385.187 68, 205.123 90, 153.092 50 | |
| 36 ^{1,2)} | 19.12 | [M + Na] ⁺ | 247.130 52 | 247.130 5 | 0.1 | C ₁₃ H ₂₀ O ₃ | 247.130 74 | 3, 5-dihydroxy-6, 7-megastigadien-9-one ^[19] |
| 37 ¹⁾ | 19.25 | [M + Na] ⁺ | 257.042 02 | 257.042 1 | -0.3 | C ₁₂ H ₁₀ O ₅ | 238.969 82, 225.109 85, 142.049 94, 120.987 26 | 5,5'-双氧甲基咪喃醛 ^[16] |
| 38 ^{1,2)} | 19.42 | [M + Na] ⁺ | 339.047 55 | 339.047 6 | -0.1 | C ₁₆ H ₁₂ O ₇ | - | isoetin 5'-methyl ether ^[23] |
| | | [M - H] ⁻ | 315.051 09 | 315.051 1 | 0 | | 287.055 90, 271.061 16, 256.037 81, 175.003 72 | |
| 39 ¹⁾ | 20.51 | [M + H] ⁺ | 197.117 07 | 197.117 2 | -0.7 | C ₁₁ H ₁₆ O ₃ | - | (-)-黑麦草内酯 ^[24-25] |
| 40 ^{1,2)} | 22.01 | [M + Na] ⁺ | 247.130 52 | 247.130 5 | 0.1 | C ₁₃ H ₂₀ O ₃ | 229.048 65 | 3, 5-dihydroxy-6, 7-megastigadien-9-one ^[19] |
| 41 ^{1,2)} | 24.44 | [M + Na] ⁺ | 427.157 37 | 427.157 5 | -0.3 | C ₁₈ H ₂₈ O ₁₀ | - | 2, 7-dimethyl-2, 4-diene-deca-α, ω-diacid-8-O-β-D-glu ^[19] |

续表 1

| 化合物 | t_R/min | 检测离子 | 实测值 | 理论值 | δ | 分子式 | MS ² | 鉴定化合物 |
|-----------------------------|------------------|------------------------------|------------|-----------|----------|--|--|--|
| | | $[\text{M} - \text{H}]^-$ | 403.160 68 | 403.161 | -0.8 | | 343.139 34, 241.107 85, 223.097 66, 179.107 97, 135.117 94 | |
| 42 ^{1,2,x)} | 24.59 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 449.107 54 | 449.107 8 | -0.6 | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$ | 287.054 35 | 槲皮苷 |
| 43 ^{1,2)} | 25.44 | $[\text{M} + \text{Na}]^+$ | 633.142 16 | 633.142 7 | -0.9 | $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$ | 487.085 90, 331.100 74 | 槲皮素-3-O- β -芸香糖苷 ^[20,22] |
| 44 ^{1,2)} | 26.2 | $[\text{M} + \text{Na}]^+$ | 457.074 09 | 457.074 2 | -0.2 | $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$ | | 槲皮素-3-O- α -D-核糖苷 ^[20] |
| | | $[\text{M} - \text{H}]^-$ | 433.078 67 | 433.077 7 | 2.2 | | 343.045 87, 300.028 14, 178.998 64, 151.003 77 | |
| 45 ^{1,2)} | 26.55 | $[\text{M} + \text{Na}]^+$ | 579.220 07 | 579.220 1 | -0.1 | $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{O}_{10}$ | 531.200 38, 399.082 43, 382.139 53, 367.115 84, 301.141 51 | ehletianol C ^[26] |
| 46 ^{1,2)} | 26.66 | $[\text{M} + \text{Na}]^+$ | 455.094 94 | 455.094 9 | 0.1 | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ | 436.674 74, 293.042 24, 185.041 95 | 芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖苷 ^[27] |
| 47 ^{1,2)} | 27.14 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 463.123 80 | 463.123 5 | 0.6 | $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ | 301.071 84, 390.197 48, 259.129 33, 201.123 9 | 金圣草黄素-7-O- β -D-葡萄糖苷 ^[24,26] |
| 48 ^{1,2,x)} | 27.49 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 449.107 67 | 449.107 8 | -0.3 | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$ | - | 木犀草苷 |
| 49 ^{1,2)} | 27.89 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 190.142 90 | 190.143 1 | -1.0 | $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}$ | - | 1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-2-butanol-1-one ^[28] |
| 50 ^{1,2)} | 28.02 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 287.054 76 | 287.055 | -0.8 | $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$ | 269.115 20, 188.989 59, 167.034 01 | 4'-羟基黄酮素 ^[29] |
| 51 ^{1,2,x)} | 28.51 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 167.070 10 | 167.070 3 | -1.2 | $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$ | - | 丹皮酚 ^[30] |
| 52 ¹⁾ | 28.98 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 208.133 18 | 208.133 2 | -0.1 | $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_2$ | - | ethyl-3-methyl-4,5,6,7-tetrahydro-1H-indole-2-carboxylate ^[15] |
| 53 ¹⁾ | 30.08 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 575.433 29 | 575.430 6 | 4.7 | $\text{C}_{35}\text{H}_{58}\text{O}_6$ | 413.265 96, 396.802 12 | α -菠菜甾醇-3 β -D-葡萄糖苷 ^[18,24] |
| 54 ^{1,2,x)} | 30.2 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 303.050 17 | 303.049 9 | 0.9 | $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ | 270.139 62, 246.082 08, 172.957 70 | 槲皮素 |
| 55 ^{1,2)} | 31.17 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 309.086 94 | 309.087 | -0.2 | $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$ | 290.196 20, 273.185 52, 217.159 06 | 酒渣碱 ^[19] |
| 56 ^{1,2)} | 31.34 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 287.055 05 | 287.055 | 0.2 | $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$ | 269.211 46, 224.966 31 | 木犀草素 ^[27] |
| 57 ^{1,2)} | 32.99 | $[\text{M} + \text{Na}]^+$ | 701.350 78 | 701.350 8 | 0.0 | $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_{12}$ | 643.469 73, 351.142 43, 539.299 50, 586.927 19 | arvenins III ^[31] |
| 58 ^{1,2,x)} | 33.35 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 271.059 90 | 271.060 1 | -0.7 | $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$ | 239.125 55, 135.002 99 | 芹菜素 ^[27] |
| 59 ^{1,2)} | 33.69 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 301.070 86 | 301.070 7 | 0.5 | $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$ | | 金圣草黄素 ^[29,19] |
| | | $[\text{M} - \text{H}]^-$ | 299.054 66 | 299.056 2 | -5 | | 263.164 89, 183.102 51, 143.071 33 | |
| 60 ¹⁾ | 34.11 | $[\text{M} + \text{Na}]^+$ | 247.130 52 | 247.130 5 | 0.1 | $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3$ | 229.121 40, 201.126 54, 187.110 90 | 3,5-dihydroxy-6,7-megastigmadien-9-one ^[19] |
| 61 ^{1,2)} | 34.15 | $[\text{M} + \text{Na}]^+$ | 539.298 52 | 539.298 0 | 1.0 | $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_7$ | 517.32, 515.302 67, 499.31, 497.292 72, 479.28, 455.28 | cucurbitacin D ^[32-34] |
| | | $[\text{M} + \text{HCOO}]^-$ | 561.305 36 | 561.306 9 | -2.7 | | | |
| 62 ¹⁾ | 34.15 | $[\text{M} + \text{Na}]^+$ | 541.313 85 | 541.313 7 | 0.3 | $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_7$ | - | 23,24-dihydrocucurbitacin D ^[32-33] |
| 63 ^{1,2)} | 35.29 | $[\text{M} + \text{H}]^+$ | 183.080 26 | 183.080 5 | -1.3 | $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}$ | - | 4-甲基联苯呋喃 ^[28] |
| 64 ^{1,2)} | 35.64 | $[\text{M} + \text{Na}]^+$ | 743.361 86 | 743.361 4 | 0.6 | $\text{C}_{38}\text{H}_{56}\text{O}_{13}$ | - | opercurins A ^[31] |
| | | $[\text{M} + \text{HCOO}]^-$ | 765.366 58 | 765.370 3 | -4.9 | | 701.357 97, 719.367 55, 497.292 08, 569.313 42 | |

续表 1

| 化合物 | t_R/min | 检测离子 | 实测值 | 理论值 | δ | 分子式 | MS ² | 鉴定化合物 |
|--------------------|------------------|-------------------------|------------|-----------|----------|---|--|---|
| 65 ^{1,2)} | 36.71 | [M + Na] ⁺ | 353.230 08 | 353.229 9 | 0.5 | C ₁₈ H ₃₄ O ₅ | - | 天师酸 ^[19] |
| 66 ^{1,2)} | 37.13 | [M + Na] ⁺ | 581.308 65 | 581.308 6 | 0.1 | C ₃₂ H ₄₆ O ₈ | | cucurbitacin B ^[35,33-34] |
| | | [M + HCOO] ⁻ | 603.315 98 | 603.317 5 | -2.5 | | 557.313 42, 539.302 80, 497.292 76, 411.218 69 | |
| 67 ¹⁾ | 41.94 | [M + H] ⁺ | 107.049 2 | 107.049 2 | 0 | C ₇ H ₆ O | 95.008 29, 79.054 06 | 苯甲醛 ^[28] |
| 68 ¹⁾ | 43.51 | [M + Na] ⁺ | 217.156 01 | 217.156 4 | -1.8 | C ₁₃ H ₂₂ O | 185.117 32, 170.959 32, 153.090 17, 135.080 54, 80.947 67 | 牛儿基丙酮 ^[28] |
| 69 ¹⁾ | 50.83 | [M + H] ⁺ | 239.236 53 | 239.237 | -2.0 | C ₁₆ H ₃₀ O | - | 7-十六炔-1-醇 ^[15] |
| 70 ¹⁾ | 56.19 | [M + H] ⁺ | 714.550 38 | 714.551 5 | -1.6 | C ₄₀ H ₇₅ NO ₉ | 696.542 18, 681.543 76, 551.504 15, 534.488 89, 516.479 09, 441.322 05 | soyacerebroside I ^[36,33] |
| 71 ¹⁾ | 56.70 | [M + Na] ⁺ | 687.401 22 | 687.402 1 | -1.3 | C ₄₄ H ₅₆ O ₅ | - | (3 α)-3, 29-dihydroxy-7-oxomultiflor-8-ene-3, 29-diyl dibenzoate ^[30,37] |
| 72 ²⁾ | 2.13 | [M + HCOO] ⁻ | 133.050 22 | 133.050 6 | -2.9 | C ₄ H ₈ O ₂ | - | 丁酸 ^[43] |
| 73 ²⁾ | 3.05 | [M + HCOO] ⁻ | 133.050 22 | 133.050 6 | -2.9 | C ₄ H ₈ O ₂ | - | 3-羟基丁酮 ^[28] |
| 74 ²⁾ | 7.50 | [M - H] ⁻ | 167.034 44 | 167.035 1 | -4.0 | C ₈ H ₈ O ₄ | - | 4-羟基-2-甲氧基-苯甲酸 ^[16] |
| 75 ²⁾ | 8.54 | [M - H] ⁻ | 167.034 44 | 167.035 1 | -4.0 | C ₈ H ₈ O ₄ | - | 异香草酸 ^[20,24,29] |
| 76 ²⁾ | 11.37 | [M + HCOO] ⁻ | 161.081 3 | 161.081 9 | -3.7 | C ₆ H ₁₂ O ₂ | - | 己酸 ^[43] |
| 77 ²⁾ | 11.81 | [M - H] ⁻ | 167.034 33 | 167.035 1 | -4.6 | C ₈ H ₈ O ₄ | - | 香草酸 ^[20,24,29] |
| 78 ²⁾ | 12.43 | [M + HCOO] ⁻ | 161.081 38 | 161.081 9 | -3.2 | C ₆ H ₁₂ O ₂ | - | 4-羟基-4-甲基-2-戊酮 ^[28] |
| 79 ²⁾ | 13.05 | [M + HCOO] ⁻ | 152.034 84 | 152.035 3 | -3.0 | C ₆ H ₅ NO | 132.868 64, 106.990 13, 93.022 01 | 4-吡啶甲醛 ^[15] |
| 80 ²⁾ | 14.29 | [M + HCOO] ⁻ | 161.081 35 | 161.081 9 | -3.4 | C ₆ H ₁₂ O ₂ | - | 甲酸戊酯 ^[43] |
| 81 ²⁾ | 15.28 | [M - H] ⁻ | 131.070 97 | 131.071 4 | -3.3 | C ₆ H ₁₂ O ₃ | 112.986 62, 85.065 72 | 2,5-二羟甲基咪喃 ^[38] |
| 82 ²⁾ | 17.78 | [M - H] ⁻ | 281.138 31 | 281.139 5 | -4.2 | C ₁₅ H ₂₂ O ₅ | - | 4'-dihydrophaseic acid ^[22] |
| 83 ²⁾ | 24.41 | [M + HCOO] ⁻ | 145.086 54 | 145.087 | -3.2 | C ₆ H ₁₂ O | 99.081 48 | 己醛 ^[43] |
| 84 ²⁾ | 28.03 | [M - H] ⁻ | 238.107 41 | 238.108 6 | -5.0 | C ₁₂ H ₁₇ NO ₄ | 94.030 01, 124.040 50, 220.026 49, 164.108 28 | 1-羧丙基-5-乙氧甲基-1H-吡咯-2-醛-吡咯 ^[29] |
| 85 ²⁾ | 35.72 | [M + HCOO] ⁻ | 299.055 06 | 299.056 1 | -3.5 | C ₁₅ H ₁₀ O ₄ | 284.032 99, 271.024 44, 256.000 98 | 7,3'-dihydroisoflavones ^[39] |
| 86 ²⁾ | 50.17 | [M - H] ⁻ | 255.231 73 | 255.233 | -5.0 | C ₁₆ H ₃₂ O ₂ | 255.23 | 棕榈酸 ^[15,12,33,40-42] |
| 87 ²⁾ | 50.33 | [M - H] ⁻ | 227.200 58 | 227.201 7 | -4.9 | C ₁₄ H ₂₈ O ₂ | - | 肉豆蔻酸 ^[15,40] |
| 88 ²⁾ | 51.34 | [M - H] ⁻ | 279.231 58 | 279.233 | -5.1 | C ₁₈ H ₃₂ O ₂ | 279.23, 261.221 89 | 亚油酸 ^[15,40,42] |
| 89 ²⁾ | 51.90 | [M - H] ⁻ | 255.231 79 | 255.233 | -4.7 | C ₁₆ H ₃₂ O ₂ | 229.110 50, 116.929 39, 154.976 72, 229.110 50 | 十五烷酸甲酯 ^[28] |
| 90 ²⁾ | 52.23 | [M - H] ⁻ | 281.247 23 | 281.248 7 | -5.2 | C ₁₈ H ₃₄ O ₂ | - | 油酸 ^[40,42] |

注: ¹⁾ 为正离子模式下检测到; ²⁾ 为负离子模式下检测到; 化合物 36, 40, 60 可能为以下同分异构体, 3,5-dihydroxy-6,7-megastigmadiene-9-one^[19], 3-hydroxy-5,6-epoxy-7-megastigmadiene-9-one^[19], blumenol A^[17,35], 8,9-dihydro-8,9-dihydroxymegastigmatrienone^[31]; - 未获得二级质谱数据; z 为经对照品比对的化合物。

一分子的水形成的碎片离子 [M + H - H₂O]⁺, 二级碎片离子 87.04 是丢失一分子的苯酚形成的碎片离子 [M + H - C₆H₆O]⁺。氨基酸类化合物作为果实中基本的生命物质, 文献报道其主要来源于于

果肉^[43]。
3.3.2 萜类 鉴定出 11 个, 单萜类化合物 5 个分别为 6,9,11-trihydroxy-4,7-megastigmadiene-3-one-11-O- β -D-glucopyranoside, 6, 9-dihydroxy-4, 7-

megastigmadien-3-one-9-*O*-[α -*L*-apifuranosyl-(1 \rightarrow)- β -*D*-glucopyranoside], (-)-黑麦草内酯, 3, 5-dihydroxy-6, 7-megastigmadien-9-one, 3-hydroxy-5, 6-epoxy-7-megastigmadiene-9-one; 四环三萜类 5 个, 分别为 cucurbitacin B, arvenins III, cucurbitacin D, 23, 24-dihydrocucurbitacin D, opercurins A; 五环三萜 1 个 (3 α)-3, 29-dihydroxy-7-oxomulti flor-8-ene-3, 29-diyldibenzoate。以上萜类化合物大部分在正、负离子模式均有响应, 常以 [M + Na]⁺, [M + HCOO]⁻ 形式存在的, 其中 [M + HCOO]⁻ 的二级碎片离子常常会进一步脱 H₂O 和 CO, 例如 cucurbitacin D (化合物 61) 的一级质谱中分子离子以 [M + HCOO]⁻ 形式存在 (*m/z* 561. 31), 其二级碎片离子 517. 32 为丢失一分子二氧化碳分子形成的碎片离子 [M + HCOO - CO]⁻, 515. 30 为丢失一分子水和一分子一氧化碳形成的碎片离子 [M + HCOO - H₂O - CO]⁻, 499. 31 为丢失一分子水和一分子二氧化碳形成的碎片离子 [M + HCOO - H₂O - CO]⁻, 497. 29 为丢失二分子水和一分子一氧化碳形成的碎片离子 [M + HCOO - 2H₂O - CO]⁻, 479. 28 为丢失三分子水和一分子一氧化碳形成的碎片离子 [M + HCOO - 3H₂O - CO]⁻, 455. 28 为丢失三分子水形成的碎片离子 [M + HCOO - 3H₂O]⁻。

3. 3. 3 黄酮类 共鉴定出 14 个, 包括槲皮苷, 槲皮素-3-*O*- β -芸香糖苷, 槲皮素-3-*O*- α -*D*-核糖苷, 芹菜素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷, 金圣草黄素-7-*O*- β -*D* 葡萄糖苷, 木犀草苷, 4-羟基黄芩素, 芹菜素, 槲皮素, 丹皮酚, 木犀草素, 金圣草黄素等。黄酮类化合物在正、负离子模式下均有响应, 在一级质谱中分子离子以 [M + H]⁺, [M + Na]⁺, [M - H]⁻ 形式存在。例如芹菜素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷在正离子模式下以 [M + Na]⁺ 形式存在 (*m/z* 455. 09), 其二级碎片离子 436. 67 为丢失一分子氢自由基和一分子水形成的碎片离子 [M + Na - H - H₂O]⁺, 293. 04 为丢失一分子的葡萄糖形成的碎片离子 [M + Na - C₆H₁₀O₅], 二级碎片离子 185. 04 为丢失一分子的芹菜素形成的碎片离子 [M + Na - C₁₅H₁₀O₅]⁺。

3. 3. 4 有机酸 鉴定出 17 种, 包括烟酸, 4-羟基烟酸, 琥珀酸, 天麻酸, 丁酸, 香草酸、异香草酸, 己酸, 4-羟基-2-甲氧基-苯甲酸, 亚油酸, 棕榈酸, 肉豆蔻酸, 油酸, 香草酸-4-*O*- β -*D*-葡萄糖苷, 2, 7-dimethyl-2, 4-diene-deca- α , ω -diacid-8-*O*- β -*D*-glu, 4'-dihydrophaseic acid。在一级质谱中, 有机酸主要以负离子 [M - H]⁻ 形式存在, 例如亚油酸 (化合物

88) 仅在负离子模式下有响应, 以 [M - H]⁻ 离子形式存在 (*m/z* 279. 23), 其二级质谱中 *m/z* 261. 22 为丢失一分子水形成的 [M - H₂O - H]⁻ 碎片离子。

3. 3. 5 植物甾醇类 鉴定出 1 个 α -菠菜甾醇-3 β -*D*-葡萄糖苷, 仅在正离子模式下以 [M + H]⁺ 形式下存在。 α -菠菜甾醇-3 β -*D*-葡萄糖苷在正离子模式下主要以 [M + H]⁺ 形式存在 (*m/z* 575. 43), 二级碎片离子 413. 27 为丢失一分子的-glu 形成的碎片离子 [M + H - C₆H₁₀O₅]⁺, 碎片离子 396. 80 为丢失一分子的-O-glu 和一分子氢自由基形成的碎片离子 [M + H - H - C₆H₁₀O₆]⁺。

3. 3. 6 糖类 鉴定出 3 种, 包括半乳糖酸 γ -内酯, 正丁基呋喃果糖苷, 乙基-*D*-呋喃葡萄糖苷, 主要在正离子模式下有响应, 以 [M + Na]⁺, [M + H]⁺ 形式存在。

3. 3. 7 核苷类 鉴定出 7 种, 胞苷、腺嘌呤、胞嘧啶、次黄嘌呤、尿嘧啶、腺苷和 6-异次黄嘌呤核苷。由于化合物中含有碱性基团氨基 (NH₂), 在弱酸性条件下, 主要以正离子 [M + H]⁺ 形式存在。例如尿嘧啶在正离子模式下以 [M + H]⁺ 形式存在 (*m/z* 113. 03), 其二级裂解碎片离子 95. 01 为丢失一分子氮形成的碎片离子 [M + H - NH₃]⁺。

3. 3. 8 生物碱及其他含氮类 鉴定出 7 种 1-deoxy-1-[2'-oxo-1'-pyrrolidinyl]-2-*n*-butyl- α -fructofurano-side, 2, 3, 4, 9-tetrahydro-1H-pyrido [3, 4-*b*] indole-3-carboxylic acid, 1-acetyl-3-carboxy- β -carboline, 4-(2-formyl-5-hydroxy methylpyrrol-1-yl)-butyric acid, 酒渣碱, soyacerebroside I, 1-羧丙基-5-乙氧甲基-1H-吡咯-2-醛-吡咯。在酸性条件下, 主要以 [M + H]⁺, [M + Na]⁺ 正离子形式存在的。

3. 3. 9 挥发油及油脂类 共检测到 12 种化合物 1-(2, 6, 6-trimethyl-1, 3-cyclohexadien-1-yl)-2-buten-1-one, 4-甲基联苯呋喃, ethyl-3-methyl-4, 5, 6, 7-tetrahydro-1H-indole-2-carboxylate, 苯甲醛, 牛儿基丙酮, 7-十六炔-1-醇, 3-羟基丁酮, 4-羟基-4-甲基-2-戊酮, 己醛, 十五烷酸甲酯, 甲酸戊酯, 4-吡啶甲醛。这一类化合物在正离子模式下大部分以 [M + H]⁺ 形式存在的, 负离子模式下大部分以 [M + HCOO]⁻ 形式存在。

4 讨论

本研究基于 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 对中药瓜蒌 (全果实) 的化学成分进行分析鉴定。为了获得更多的化合物信息, 根据一级质谱解卷积后获得的准分子离子数量, 对样品提取溶剂、流动相的 pH 进

行了筛选,在此基础上根据色谱峰分离情况、质谱响应强度进一步对色谱分离条件及质谱参数进行了优化。

在化合物鉴定的过程中,首先基于一级质谱数据解卷积后获得的质荷比与所建立的化学成分数据库进行比对,在相对误差 $\delta < 10$ ppm 条件下,初步鉴定可能的化合物,在此基础上进行靶向二级质谱分析检测以及相关对照品的分析,根据化合物的精确相对分子质量、离子碎片信息、对照品比对以及文献信息对化合物进行鉴定,并从中鉴定了 91 个化学成分。在 2015 年版《中国药典》中,瓜蒌(全果实),瓜蒌子,瓜蒌皮,天花粉(瓜蒌根)均为收载品种,其中只有瓜蒌子有定量质控指标,为 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇,但是该指标成分为脂溶性成分(2015 年版《中国药典》中采用二氯甲烷为提取溶剂),临床水煎很难煎煮出来,无法真实体现中药的临床疗效,并且在本实验条件下,笔者针对该成分的一系列准分子离子进行靶向提取,其响应值极低,接近于噪音水平。另一方面,本实验以 70% 甲醇作为提取溶剂可以较为全面地反映瓜蒌的中、大极性成分,更接近于临床煎煮。其中,分析得到的黄酮类化合物具有抗炎,心血管保护,扩张冠脉等作用^[45-46],与瓜蒌临床治疗“胸痹”的作用较为接近,但该类成分特征不强;而葫芦素类成分是从葫芦科等植物中分离得到的三萜类化合物,是葫芦科植物的特征性成分之一,具有广泛的药理活性,如护肝、抗炎、抗菌、预防和治疗癌症等^[47-49],本实验中检测到了 cucurbitacin B, cucurbitacin D, 23,24-dihydrocucurbitacin D, 等葫芦素类成分,可以考虑作为全瓜蒌的特征性质量控制指标。

总之,本研究通过 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 可较为全面地对瓜蒌中不同类型化合物进行分析鉴定,该方法具有高效分离、高灵敏度的优势,为进一步研究瓜蒌药效物质基础及质量标准提供参考。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:112-113.
- [2] Jang K C, Lee J H, Kim S C, et al. Antibacterial and radical scavenging activities of 1-C-(*p*-hydroxyphenyl)-glycerol from *Trichosanthes kirilowii* [J]. J Appl Bio Chem, 2007, 50(1): 17-21.
- [3] 苏雪芬,李先涛,谢蓉,等. 冠心病痰瘀互结证临床用药规律的文献研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(14): 191-198.
- [4] 吴波,曹红,陈思维,等. 瓜蒌提取物对缺血缺氧及缺血后再灌注损伤心肌的保护作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(6): 450-451, 465.
- [5] 刘金娜,温春秀,刘铭,等. 瓜蒌的化学成分和药理活性研究进展[J]. 中药材, 2013, 36(5): 843-848.
- [6] 巢志茂,何波,敖平. 瓜蒌的化学成分研究进展[J]. 国外医学:中医中药分册, 1998, 20(2): 7-10.
- [7] 滕勇荣,张永清. 瓜蒌化学成分研究进展[J]. 山东中医药大学学报, 2011, 35(1): 85-86.
- [8] 刘荣霞,果德安,叶敏,等. 液质联用技术(LC/MS)在中药现代研究中的应用[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2005, 7(5): 33-40, 84.
- [9] 周立分,赵栋云,刘霞,等. LTQ-Orbitrap MS 在中药研发中的应用[J]. 江西中医药, 2017, 48(12): 75-78.
- [10] 王勇. LTQ-Orbitrap Velos 双分压线性阱和静电场轨道阱组合式高分辨质谱性能及应用[J]. 现代仪器与医疗, 2010, 16(5): 15-19.
- [11] 贡瑞生,张黎明,郑建科. 山东栝楼氨基酸及微量元素的分析[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(6): 43-44.
- [12] 巢志茂,何波. 栝楼果实的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(10): 612.
- [13] 李爱峰,孙爱玲,柳仁民,等. 栝楼果皮水溶性部位化学成分研究(英文)[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(11): 3420-3423.
- [14] CHAI X, LI S, ZHU L, et al. Chemical constituents of the roots of *Trichosanthes kirilowii* [J]. Chem Nat Compd, 2014, 50(5): 965-967.
- [15] 李爱峰. 栝楼(*Trichosanthes kirilowii* Maxim.) 果皮化学成分研究[D]. 济南:山东中医药大学, 2014.
- [16] 刘岱琳,曲戈霞,王乃利,等. 瓜蒌的抗血小板聚集活性成分研究[J]. 中草药, 2004, 35(12): 1334-1336.
- [17] 范雪梅,陈刚,郭丽娜,等. 瓜蒌化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(11): 871-874.
- [18] 时岩鹏,姚庆强,刘拥军,等. 栝楼化学成分的研究及其 α -菠菜甾醇的含量测定(I)[J]. 中草药, 2002, 33(1): 16-18.
- [19] 陈亮. 瓜蒌化学成分与质量标准研究[D]. 上海:上海中医药大学, 2011.
- [20] 徐美霞. 瓜蒌皮化学成分分离与鉴定[D]. 泰安:山东农业大学, 2013.
- [21] FAN X, CHEN G, SHA Y, et al. Chemical constituents from the fruits of *Trichosanthes kirilowii* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2012, 14(6): 528-532.
- [22] DUAN W, PAN S, YU Z, et al. Studies on chemical constituents of twigs of *Trichosanthes kirilowii* Maxim [J]. Asian J Chem, 2015, 27(8): 2756-2758.
- [23] Rahman M A A, Moon S. Isoetin 5'-methyl ether, A cytotoxic flavone from *Trichosanthes kirilowii* [J]. Bull

- Korean Chem Soc, 2007, 28(8):1261-1264.
- [24] 安亮,何侃,张沿军,等. 双边栝楼果实化学成分研究[J]. 中南药学, 2015, 13(1):37-39.
- [25] 韦兴光,杨春芳,时岩鹏,等. 栝楼化学成分的研究(II)[J]. 中草药, 2005, 36(增刊):67-68.
- [26] Minh C V, Nhiem N X, Yen H T, et al. Chemical constituents of *Trichosanthes kirilowii* and their cytotoxic activities [J]. Arch Pharm Res, 2015, 38(8):1443-1448.
- [27] 李爱峰,孙爱玲,柳仁民,等. 栝楼果皮化学成分研究[J]. 中药材, 2014, 37(3):428-431.
- [28] 巢志茂,刘静明. 双边栝楼皮挥发油的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(6):37-39.
- [29] 孙晓业,吴红华,付爱珍,等. 瓜蒌的化学成分研究[J]. 药学学报, 2012, 47(7):922-925.
- [30] 马跃平,高健,傅克玲,等. 瓜蒌霜化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(11):876-879.
- [31] XU Y, CHEN G, LU X, et al. Chemical constituents from *Trichosanthes kirilowii* Maxim. [J]. Biochem Syst Ecol, 2012, 43:114-116.
- [32] Oh H, Mun Y J, Im S J, et al. Cucurbitacins from *Trichosanthes kirilowii* as the inhibitory components on tyrosinase activity and melanin synthesis of B16/F10 melanoma cells[J]. Planta Med, 2002, 68(9):832-833.
- [33] 黄庆勇. 天花粉中总皂苷提取工艺及乙酸乙酯部位活性筛选研究[D]. 福州:福建中医药大学, 2015.
- [34] Ryu S, Lee S, Choi S, et al. Antitumor activity of *Trichosanthes kirilowii* [J]. Arch Pharm Res, 1994, 17(5):348-353.
- [35] Dat N T, JIN X, HONG Y, et al. An isoaurone and other constituents from *Trichosanthes kirilowii* seeds inhibit hypoxia-inducible factor-1 and nuclear factor-KB [J]. J Nat Prod, 2010, 73(6):1167-1169.
- [36] 安亮. 双边栝楼果实化学成分及其对 3T3-L1 前脂肪细胞增殖和分化影响的研究[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2015.
- [37] WU T, CHENG X, S. W. Annie B, et al. Multiflorane triterpene esters from the seeds of *Trichosanthes kirilowii* [J]. Helv Chim Acta, 2005, 88(10):2617-2623.
- [38] 范雪梅,陈刚,苏姗姗,等. 瓜蒌化学成分分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(12):947-948, 954.
- [39] XU Y, WU J, XIANG Z, et al. Three flavonoids from *Trichosanthes kirilowii* Maxim [J]. J Inst Ind Appl Eng, 2014, 2(3):127-130.
- [40] 曾益坤,黄秀娟,王兴国. 栝楼籽油理化性质及其脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂, 2007, 32(10):80-82.
- [41] 巢志茂,刘静明. 双边栝楼化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(2):97-99, 127.
- [42] 霍启录,陈振德,许重远,等. 双边栝蒌种子油含量及其脂肪酸的测定[J]. 华西药学杂志, 2002, 17(5):351-352.
- [43] JIANG X, WU S, ZHOU Z, et al. Physicochemical properties and volatile profiles of cold-pressed *Trichosanthes kirilowii* Maxim seed oils [J]. Int J Food Properties, 2016, 19(8):1765-1775.
- [44] 王玲娜,于京平,张永清. 栝楼化学成分研究概述[J]. 环球中医药, 2014, 7(1):72-76.
- [45] 王艳芳,王新华,朱宇同. 槲皮素药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(2):171-173.
- [46] 王祝枝,王晓华,朱玉,等. 不同产地瓜蒌皮药材中槲皮素及总黄酮含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(19):86-89.
- [47] 蓝天,刘卫国,王晓稼. 葫芦素 B 抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(12):2801-2803.
- [48] 张延亭,欧阳东云,何贤辉. 葫芦素 B 抗肿瘤作用及其机制研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(1):112-115.
- [49] 孙文,巢志茂,王淳,吴等. HPLC-UV 对栝楼各部位中葫芦素 B 的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(23):86-88.

[责任编辑 顾雪竹]