

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.18.014

基于UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS技术的血藤果化学成分分析*

熊佩¹, 李凯琳¹, 龚开妍¹, 史思林¹, 彭婕¹, 吴卫华^{1,2,3,△}, 蔡伟^{1,2,3}

(1. 湖南医药学院药学院, 湖南 怀化 418000; 2. 湖南医药学院医药研究湖南省重点实验室, 湖南 怀化 418000; 3. 湖南医药学院新型抗体药物及其智能运输系统湖南省重点实验室, 湖南 怀化 418000)

摘要:目的 建立分析血藤果化学成分的超高效液相色谱串联四极杆轨道阱质谱(UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS)法。方法 色谱柱为 Thermo Scientific Hypersil GOLD™ aQ 柱(100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm), 流动相为乙腈(含 0.1% 甲酸)-0.1% 甲酸溶液(梯度洗脱), 流速为 0.3 mL/min, 柱温为 40 °C, 进样量为 1 μL; 离子源为电喷雾(ESI)离子源, 分别采用正、负离子扫描模式。结果 采用一级母离子全扫描和数据依赖性前三强二级子离子扫描模式, 通过数据库、对照品及参考文献共鉴定出 51 个化学成分, 包括丝氨酸、L-精氨酸、天冬酰胺、谷氨酸等氨基酸类成分 15 个, 柠檬酸、酒石酸、奎宁酸、莽草酸等有机酸类成分 21 个, 生物碱、核苷等其他类成分 15 个。结论 所建立的方法可高效、快捷地鉴定血藤果的化学成分, 为后续药效物质和质量标准研究奠定了一定基础。

关键词:血藤果; 超高效液相色谱串联四极杆轨道阱质谱法; 定性鉴别; 氨基酸类; 有机酸类

中图分类号: R932; R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)18-0055-06

Identification of Chemical Constituents in the Kadsura Coccinea Fructus Based on UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS

XIONG Pei¹, LI Kailin¹, GONG Kaiyan¹, SHI Silin¹, PENG Jie¹, WU Weihua^{1,2,3}, CAI Wei^{1,2,3}

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Hunan University of Medicine, Huaihua, Hunan, China 418000; 2. Hunan Provincial Key Laboratory of Dong Medicine, Hunan University of Medicine, Huaihua, Hunan, China 418000; 3. Hunan Key Laboratory of Novel Antibody Drug and Its Intelligent Transportation System, Hunan University of Medicine, Huaihua, Hunan, China 418000)

Abstract: Objective To establish an ultra high-performance liquid chromatography-Q-Exactive Orbitrap mass spectrometry(UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS) method for identify the chemical constituents in the fruit of Kadsura Coccinea Fructus. **Methods** The chromatographic column was Thermo Scientific Hypersil GOLD™ aQ column(100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm), the mobile phase was acetonitrile(containing 0.1% formic acid)-0.1% formic acid solution(gradient elution), the flow rate was 0.3 mL/min, the column temperature was 40 °C, and the injection volume was 1 μL. The electrospray(ESI) ion source was adopted with two scanning modes of positive and negative ions respectively. **Results** Through the precursor ion full MS scan and the top three data-dependent MS2 scan mode, 51 chemical components were identified by database, standards and references, including 15 amino acids such as serine, L-arginine, asparagine and glutamic acid, 21 organic acids such as citric acid, tartaric acid, quinic acid and shikimic acid, and 15 other constituents such as alkaloids and nucleosides. **Conclusion** The established method can efficiently and quickly identify the chemical constituents of the Kadsura Coccinea Fructus, which lays a foundation for the study of subsequent pharmacodynamic substances and their quality standards.

Key words: Kadsura Coccinea Fructus; UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS; qualitative identification; amino acids; organic acids

血藤果为木兰科植物厚叶五味子 *Kadsura coccinea* (Lem) A. C. Smith 的干燥成熟果实^[1], 又名冷饭团、布福娜、香绣球、福星果、足球果^[2], 是集食用、药用、绿化、观赏于一体的多用途水果, 开发潜力较大。其多生于江西、福建、湖南、广东、广西、四川、贵州、云南等地, 秋末冬初果实成熟后采收, 干燥或鲜用, 具有祛风活络、调经止痛、益肾固精、补血养颜等功效, 常用于妇女围绝经期综合征、产后出血、妇女不孕^[1]。现有文献对黑老虎的研究多集中于根茎部, 发现的化学成分主要包括木质素类和三萜类, 以及单萜类、倍半萜类、甾体类、氨基酸等^[3]。血藤果作为黑老虎的果实, 仅有少量文献通过系统预算法对其可能的化学成分进行预试验, 仅能初步判定其可

能的化学成分^[4]。本试验中采用超高效液相色谱串联四极杆轨道阱质谱(UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS)技术结合超高效液相色谱快速高效的分离能力与质谱高特异性、高灵敏度的分析能力, 同时根据各对照品的标准图谱, 各色谱峰的一级、二级质谱数据及相关数据库和参考文献, 对血藤果的化学成分进行快速分析、鉴定, 为血藤果的后续开发提供基础。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Thermo Q-Exactive 型四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Dionex UltiMate 3000 型高效液相色谱仪(美国 Dionex 公司), DJ-

*基金项目: 湖南省教育厅科学研究项目[19A353]。

第一作者: 熊佩, 女, 在读大学本科, 研究方向为药物分析, (电子信箱)1098805409@qq.com。

△通信作者: 吴卫华, 男, 博士, 研究方向为中药研发, (电子信箱)44592259@qq.com。

B1200 型电子天平(福州华志科学仪器有限公司);KQ-300DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药

柠康酸(批号为 GE6650000),酒石酸(批号为 2018042074),对羟基苯甲醛(批号为 DH1925000),顺式乌头酸(批号为 20190512),均购自山东西亚化学工业有限公司,含量均大于 98%;奎宁酸(上海源叶生物科技有限公司,批号为 A06N11L130218,含量 > 98%);柠檬酸(批号为 C108869),L-(-)-苹果酸(批号为 M105695),均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司,含量均大于 98%;甲醇、乙腈、甲酸均为色谱级/质谱级;水为蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司);血藤果药材采自湖南省怀化市通道县,经湖南医药学院药学院蔡伟副教授鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 试验条件

色谱条件:色谱柱为 Thermo Scientific Hypersil GOLD™ aQ 柱(100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm);流动相为 0.1% 甲酸溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B),梯度洗脱(0~2 min 时 100% A, 2~5 min 时 100% A→98% A, 5~20 min 时 98% A→85% A);流速为 0.3 mL/min;进样量为 1 μL;柱温为 40℃。

质谱条件:电喷雾离子源,正离子模式下喷雾电压为 3.5 kV,鞘气压力为 35 arb,辅助气压力为 10 arb,离子传送管温度为 320℃,干燥气温度为 350℃,S-lens RF level 为 60,分辨率为 35 000,扫描范围为 m/z 100~800;负离子模式下喷雾电压为 3.2 kV,鞘气压力为 35 arb,辅助气压力为 10 arb,离子传送管温度为 320℃,干燥气温度为 350℃,S-lens RF level 为 60,分辨率为 35 000,扫描范围为 m/z 100~800。

2.2 溶液制备

分别取柠康酸、酒石酸、柠檬酸、L-(-)-苹果酸、奎宁酸、对羟基苯甲醛、顺式乌头酸对照品适量,精密称定,分别置 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并定容,摇匀,制成单一对照品贮备液;按一定比例混合,即得混合对照品溶液。称取冷冻干燥后的药材样品 1.0 g,精密称定,置 50 mL 锥形瓶中,加入 50% 甲醇 10 mL,超声(功率为 800 W,频率为 40 kHz)提取 1 h,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。50% 甲醇经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得阴性对照品溶液。

2.3 成分分析

2.3.1 筛选

在正离子扫描模式下筛选出 28 个化学成分,在负离子扫描模式下筛选出 25 个成分,共 51 个化学成分,其中 43 个化学成分为首次从血藤果中鉴定得到。各化学成分的保留时间、准分子离子峰质荷比的实测值与理

论值、二级碎片离子信息见表 1^[15-18],其正、负离子扫描模式下高分辨提取离子流图见图 1,UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术首次鉴定到的血藤果中 43 个化学成分的化学结构见图 2。

2.3.2 正负离子模式下同时鉴定

化合物 3、化合物 7 在正负离子模式下均被检测出,结合文献[5]报道,分别鉴定为天冬酰胺、谷氨酸。

2.3.3 正离子模式下鉴定

正离子模式下,峰 30、峰 38 的保留时间不同而准离子峰相同,通过与柠康酸标准品质谱行为进行对比确认,鉴定为对羟基苯甲醛的同分异构体。

峰 2、峰 19 的保留时间不同而准离子峰及二级碎片离子相同,结合文献[5-6]报道,分别鉴定为 D-精氨酸、L-精氨酸。

峰 5、峰 18 的保留时间不同而准离子峰及二级碎片离子相同,其中碎片离子 m/z 110.071 5[M+H-H₂O-CO]⁺是通过失去 1 个 CO₂ 和 1 个 H₂O 所得,结合文献[5-6]报道,分别鉴定为 D-组氨酸、L-组氨酸。

峰 14 和峰 26 保留时间不同但均产生准离子峰 144.101 8[M+H]⁺及碎片离子 m/z 98.096,结合文献[9]报道内容,分别鉴定为水苏碱及其同分异构体。

峰 15 与峰 25 的保留时间不同但均产生相同准离子峰,得到相同二级碎片离子 m/z 80.050 0,结合文献[8]报道,分别鉴定为烟酸及其同分异构体。

峰 16 与峰 28 的保留时间不同但均产生相同准离子峰,并通过失去 1 个 NH₃ 得到碎片离子 119.049 2[M+H-NH₃]⁺,结合文献[10]报道,鉴定为腺嘌呤的同分异构体。

峰 31、峰 39 保留时间不同但均产生相同准离子峰,得到二级碎片离子,其中碎片离子 m/z 136.075 6[M+H-CO-H₂O]⁺是通过失去 1 个 CO 和 1 个 H₂O 所得,结合文献[5-6]报道,分别鉴定为 D-酪氨酸、L-酪氨酸。

峰 32、峰 40 的保留时间不同但均得到相同准离子峰及二级碎片离子 m/z 123.044 1,结合文献[11]报道,鉴定为 2-羟基肉桂酸。

峰 37、峰 41 的保留时间不同但均得到相同准离子峰,并通过失去 1 个 CO 和 1 个 H₂O 得到碎片离子 m/z 86.096 9[M+H-CO-H₂O]⁺,结合文献[5-6]报道,分别鉴定为 D-亮氨酸、L-亮氨酸。

峰 48、峰 50 和峰 51 的保留时间不同但均产生相同准离子峰及二级碎片离子 m/z 117.070 0,结合文献[13]报道,鉴定为萘胺的同分异构体。

2.3.4 负离子模式下鉴定

负离子模式下,峰 9、峰 21、峰 34 的保留时间不同但准离子峰相同,通过与柠康酸标准品质谱行为对比,分别鉴定为柠康酸同分异构体。

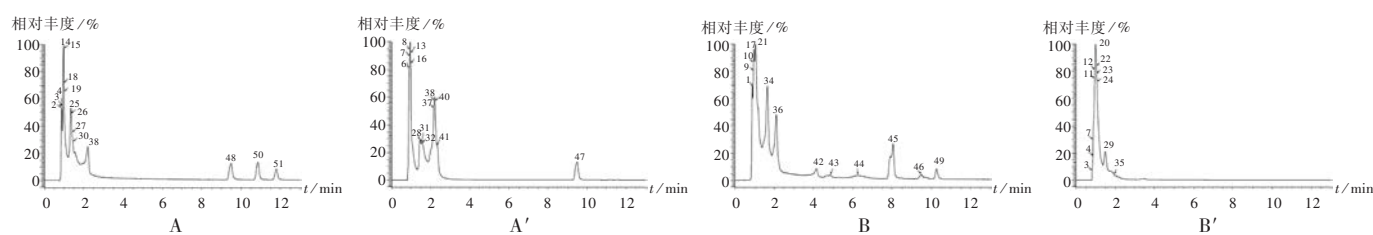
表 1 血藤果药材中化学成分信息
Tab. 1 Identification of chemical constituents in Kadsura Coccinea Fructus

峰号	保留时间 (min)	准离子峰质荷比(<i>m/z</i>)		误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	裂解碎片	裂解碎片	鉴定结果
		理论值	实际值			(MS/MS + fragmen)	(MS/MS - fragment)	
1	0.88	104.033 24	104.034 01	0.35	C ₅ H ₇ NO ₃		MS ² [104]:74.023 4(100),72.007 7(58)	丝氨酸 ^[5]
2	0.88	175.119 51	175.118 68	-1.55	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	MS ² [175]:70.065 8(100),112.075 9(25)		<i>D</i> -精氨酸 ^[5-6]
3	0.89	131.044 26	131.045 00	-0.89	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	MS ² [133]:74.024 3(100),87.055 7(32)	MS ² [131]:114.018 4(100),113.034 4(56),95.023 8(26),	天冬酰胺 ^[5]
	0.89	133.061 45	133.060 76	-0.07			88.039 0(21)	
4	0.89	195.049 48	195.050 17	-4.39	C ₆ H ₁₂ O ₇		MS ² [195]:75.007 4(100),129.018 2(34),59.012 5(23),	半乳糖酸 ^[14]
							87.007 4(12)	
5	0.89	156.076 75	156.076 58	-1.11	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	MS ² [156]:110.071 5(100),83.060 9(14),93.045 3(11)		<i>D</i> -组氨酸 ^[5-6]
6	0.90	147.077 03	147.076 29	-0.88	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	MS ² [147]:84.044 9(100),130.049 8(37)		谷氨酰胺 ^[5]
7	0.91	146.044 03	146.044 71	-1.52	C ₅ H ₉ NO ₄	MS ² [148]:84.044 9(100),102.055 3(18),130.049 9(13)	MS ² [146]:102.054 7(100),128.034 2(43)	谷氨酸 ^[5]
	0.91	148.061 04	148.060 32	-0.77				
8	0.91	104.107 99	104.107 32	3.16	C ₅ H ₁₃ NO	MS ² [104]:60.081 5(100)		胆碱 ^[7]
9	0.92	129.019 33	129.018 20	-8.77	C ₅ H ₈ O ₄		MS ² [129]:85.028 2(100),57.033 3(11)	柠檬酸的同分异构体
10	0.93	149.007 35	149.008 10	-7.12	C ₄ H ₆ O ₆		MS ² [149]:59.012 5(100),75.007 4(76),72.991 7(53),	酒石酸
							87.007 4(46),131.033 8(29),	
11	0.95	191.054 61	191.055 25	-4.51	C ₇ H ₁₂ O ₆		MS ² [191]:111.007 6(100),85.028 2(43),87.007 5(20)	奎宁酸
12	0.96	133.014 24	133.013 15	-8.24	C ₄ H ₆ O ₅		MS ² [133]:115.002 5(100),71.012 5(62),72.991 8(14)	<i>L</i> -(-)-苹果酸
13	0.97	138.054 95	138.054 87	-0.62	C ₇ H ₇ NO ₂	MS ² [138]:94.065 5(100),110.060 2(89)		葫芦巴碱 ^[8]
14	0.97	144.101 90	144.101 84	-0.45	C ₇ H ₁₃ O ₂ N	MS ² [144]:85.028 9(100),98.096 8(94),60.045 1(21)		水苏碱 ^[9]
15	0.97	124.039 30	124.039 32	0.12	C ₆ H ₅ NO ₂	MS ² [124]:80.050 0(100),96.044 7(57)		烟酸 ^[8]
16	0.97	136.061 77	136.061 69	-0.60	C ₅ H ₅ N ₃	MS ² [136]:119.035 3(100),94.040 2(36)		腺嘌呤的同分异构体 ^[10]
17	0.98	173.007 5	173.008 27	-5.15	C ₆ H ₆ O ₆		MS ² [173]:93.033 3(100),73.028 2(52),111.043 9(33),	反式乌头酸
							137.023 4(23),85.028 2(22)	
18	1.02	156.076 75	156.076 63	-0.79	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	MS ² [156]:110.071 5(100),83.060 9(16),93.045 3(13)		<i>L</i> -组氨酸 ^[5-6]
19	1.02	175.118 95	175.107 54	-1.02	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	MS ² [175]:70.065 9(100),112.075 9(20)		<i>L</i> -精氨酸 ^[5-6]
20	1.02	191.019 72	191.018 98	-3.90	C ₆ H ₈ O ₇		MS ² [191]:111.007 5(100),87.007 4(49),85.028 1(30)	柠檬酸
21	1.04	129.019 33	129.018 22	-8.61	C ₅ H ₈ O ₄		MS ² [129]:85.028 2(100),57.033 3(11)	柠檬酸的同分异构体
22	1.06	191.054 61	191.055 34	-4.04	C ₇ H ₁₂ O ₆		MS ² [191]:111.007 6(100),87.007 5(51),85.028 2(30)	奎宁酸的同分异构体
23	1.08	133.014 24	133.013 14	-8.32	C ₄ H ₆ O ₅		MS ² [133]:115.002 5(100),71.012 5(64),72.991 8(13)	<i>D</i> -(+)-苹果酸
24	1.20	173.045 55	173.044 60	-5.47	C ₇ H ₁₀ O ₅		MS ² [173]:93.033 2(100),73.028 1(46),111.043 9(29),	莽草酸 ^[15]
							137.023 3(21),83.048 9(19)	
25	1.35	124.039 30	124.039 33	0.20	C ₆ H ₅ NO ₂	MS ² [124]:80.050 0(100)		烟酸的同分异构体 ^[8]
26	1.37	144.101 90	144.101 82	-0.59	C ₇ H ₁₃ O ₂ N	MS ² [144]:98.096 7(100)		水苏碱的同分异构体 ^[9]
27	1.42	112.050 54	112.050 73	1.71	C ₄ H ₅ N ₃ O	MS ² [112]:95.024 3(100)		胞嘧啶 ^[10]
28	1.45	136.061 77	136.061 65	-0.89	C ₅ H ₅ N ₃	MS ² [136]:91.054 6(100),119.049 2(31)		腺嘌呤的同分异构体 ^[10]
29	1.49	191.019 72	191.019 04	-3.59	C ₅ H ₈ O ₄		MS ² [191]:111.007 6(100),87.007 5(49),85.028 2(28)	柠檬酸的同分异构体
30	1.58	123.044 05	123.044 11	0.44	C ₇ H ₆ O ₂	MS ² [123]:95.049 5(100)		对羟基苯甲醛的同分异构体
31	1.59	182.081 16	182.081 05	-0.66	C ₈ H ₁₁ NO ₃	MS ² [182]:136.075 6(100),91.054 6(73),119.049 3(70),		<i>D</i> -酪氨酸 ^[5-6]
						123.044 1(69),95.049 5(29)		
32	1.59	165.054 62	165.054 53	-0.55	C ₉ H ₈ O ₃	MS ² [165]:95.049 5(100),123.044 1(98),119.049 2(55),		2-羟基内桂酸的同分异构体 ^[11]
						91.054 6(25),147.043 9(15)		
33	1.65	173.007 5	173.009 16	2.23	C ₆ H ₆ O ₆		MS ² [173]:93.033 3(100),85.028 2(81),73.028 2(51),	顺式乌头酸
							111.044 0(31),137.023 5(21)	
34	1.65	129.019 33	129.018 31	-7.92	C ₅ H ₈ O ₄		MS ² [129]:85.028 2(100)	柠檬酸的同分异构体
35	1.87	117.017 37	117.018 10	0.95	C ₄ H ₆ O ₄		MS ² [117]:73.028 1(100)	丁二酸 ^[15]
36	2.10	243.061 34	243.062 00	-1.07	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆		MS ² [243]:110.023 5(100),82.028 5(39),200.055 8(26),	尿苷 ^[10]
							66.033 6(18)	

续表 1 血藤果药材中化学成分信息

Continued Tab. 1 Identification of chemical constituents in the Kadsura Coccinea Fructus

峰号	保留时间 (min)	理论值 (m/z)	实际值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	裂解碎片 (MS/MS + fragmen)	裂解碎片 (MS/MS - fragment)	鉴定结果
37	2.19	132.101 90	132.102 10	1.47	$C_6H_9NO_2$	$MS^2[132]:86.096 9(100), 69.070 5(22)$		D -亮氨酸 ^[5-6]
38	2.20	123.044 05	123.044 08	0.19	$C_7H_6O_2$	$MS^2[123]:95.049 5(100)$		对羟基苯甲醛的同分异构体
39	2.21	182.081 16	182.080 99	-0.99	$C_8H_{11}NO_3$	$MS^2[182]:136.075 6(100), 119.049 2(67), 91.054 6(64), 123.044 1(64), 95.049 5(27)$		L -酪氨酸 ^[5-6]
40	2.21	165.054 62	165.054 47	-0.91	$C_8H_6O_3$	$MS^2[165]:95.049 5(100), 123.044 1(85), 119.049 2(53), 91.054 6(24), 147.043 9(13)$		2-羟基肉桂酸的同分异构体 ^[11]
41	2.34	132.101 90	132.101 85	-0.42	$C_6H_9NO_2$	$MS^2[132]:86.096 9(100)$		L -亮氨酸 ^[5-6]
42	4.15	282.083 63	282.084 26	-0.47	$C_{10}H_{13}N_3O_3$		$MS^2[282]:150.041 1(100), 133.014 5(37)$	鸟嘌呤核苷 ^[10]
43	4.85	164.071 70	164.070 88	-5.01	$C_8H_{11}NO_2$		$MS^2[164]:147.044 2(100), 72.007 8(36), 96.968 2(35), 136.930 1(31)$	D -苯丙氨酸
44	6.28	164.071 70	164.070 88	-5.01	$C_8H_{11}NO_2$		$MS^2[164]:147.044 2(100), 96.958 9(95), 136.931 1(72), 72.007 8(45)$	L -苯丙氨酸
45	8.04	218.102 18	218.102 89	-2.32	$C_8H_7NO_3$		$MS^2[218]:88.039 0(100), 146.081 2(53), 71.048 9(24)$	D -泛酸 ^[16]
46	9.47	203.081 25	203.081 97	-3.11	$C_{11}H_{17}N_2O_2$		$MS^2[203]:116.049 3(100), 74.023 4(37), 142.065 1(33), 72.007 7(22)$	色氨酸 ^[17]
47	9.49	188.071 2	188.070 43	-0.93	$C_{11}H_9NO_2$	$MS^2[182]:118.065 3(100), 146.060 0(81), 144.080 7(23), 143.072 9(17)$		(E)-3-咪唑丙烯酸 ^[12]
48	9.49	144.080 77	144.080 70	-0.53	$C_{10}H_6N$	$MS^2[144]:84.960 2(100), 75.036 6(21), 117.070 0(14), 93.037 0(14), 92.053 0(13)$		萘胺的同分异构体 ^[13]
49	10.26	175.059 66	175.060 39	-4.61	$C_7H_{12}O_3$		$MS^2[175]:115.038 9(100), 113.059 6(41), 85.064 6(40)$	2-异丙基苹果酸 ^[18]
50	10.85	144.080 77	144.080 73	-0.32	$C_{10}H_6N$	$MS^2[144]:84.960 2(100), 117.070 0(82), 75.026 6(26), 93.037 0(19), 92.053 0(18)$		萘胺的同分异构体 ^[13]
51	11.79	144.080 77	144.080 70	-0.53	$C_{10}H_6N$	$MS^2[144]:84.960 2(100), 75.036 6(25), 92.053 0(21), 93.037 0(19), 117.070 0(17)$		萘胺的同分异构体 ^[13]



A, A'. 正离子扫描模式下 B, B'. 负离子扫描模式下

图 1 提取离子流图

A, A'. Under the positive ion scanning mode B, B'. Under the negative ion scanning mode

Fig. 1 Extraction ion flow diagram

峰 10、峰 33 的保留时间、碎片信息及特征峰分别与相应标准品一致,故准确鉴定为酒石酸、顺式乌头酸;峰 17 的准离子峰 m/z 与二级质谱信息与峰 33 一致,鉴定为反式乌头酸。

峰 11 的保留时间、碎片信息及特征峰与奎宁酸标准品一致,鉴定为奎宁酸;峰 22 的准离子峰 m/z 与二级质谱信息与峰 11 一致,鉴定为奎宁酸的同分异构体。

峰 12 的保留时间、碎片信息及特征峰与 $L-(-)$ -苹果酸标准品一致,故准确鉴定为 $L-(-)$ -苹果酸;峰 23 的准离子峰 m/z 与二级质谱信息与峰 12 一致,

故鉴定为 $D-(+)$ -苹果酸。

峰 20 的保留时间、碎片信息及特征峰与柠檬酸标准品一致,准确鉴定为柠檬酸;峰 29 的准离子峰 m/z 与二级质谱信息与峰 20 一致,故鉴定为柠檬酸同分异构体。

峰 43、峰 44 的保留时间不同但得到相同的准离子峰及二级碎片离子 m/z 147.044 2, 72.007 8, 结合文献[5-6]报道,推测其分别为 D -苯丙氨酸、 L -苯丙氨酸。

3 讨论

本试验中采用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术,分别在正、负离子扫描模式下首次对血藤果药材

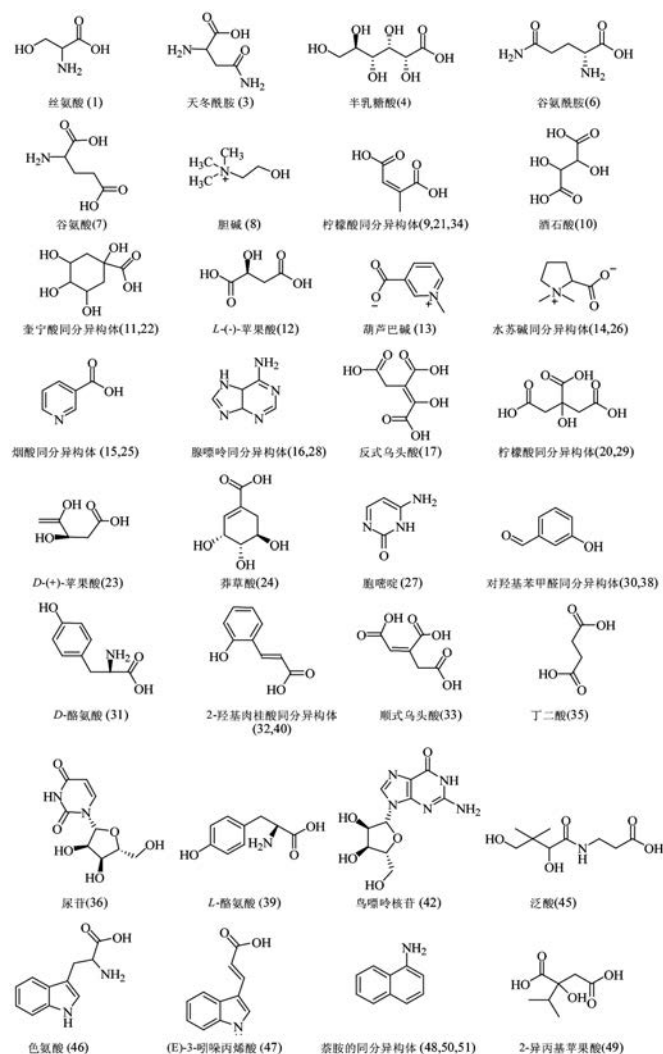


图2 血藤果药材中首次鉴定到的43个化学成分结构式
Fig. 2 Chemical structures of 43 constituents identified from *Kadsura Coccinea Fructus* for the first time

的成分进行研究,共鉴定出丝氨酸、L-精氨酸、天冬酰胺、谷氨酸等氨基酸类成分15个,柠檬酸、酒石酸、奎宁酸、莽草酸等有机酸类成分21个,生物碱、核苷等其他类成分15个。血藤果药材富含多种营养成分及较高药用价值,包含多种人体所需氨基酸,其中谷氨酸、精氨酸为功能性氨基酸^[19],具有预防心血管疾病和调节免疫等作用,精氨酸与组氨酸为儿童生长发育密切相关的必需氨基酸^[20]。酒石酸、苹果酸、柠檬酸等有机酸具有抗菌和抗氧化作用^[21-22]。此外,腺嘌呤具有舒张支气管平滑肌、抑制气道炎症、调节免疫作用^[23],尿苷、鸟嘌呤核苷具有抗肿瘤、抗病毒、肝损伤修复等作用^[24]。本研究中所建立的方法可高效、快捷地鉴定血藤果药材中的化学成分,为后续其药效物质研究奠定了基础,同时为更全面地开发利用血藤果的药食两用产品提供了理论依据。

参考文献

[1] 湖南省食品药品监督管理局. 湖南省中药材标准[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2009: 334.

[2] 李发林. 藤本植物——布福娜[J]. 福建热作科技, 2005, 30(2): i012.

[3] 舒永志, 成亮, 曹睿喆, 等. 黑老虎的化学成分研究[J]. 中草药, 2012, 43(3): 428-431.

[4] 肖聪颖, 汪冶, 郑钦方, 等. 桐药血藤果化学成分预实验[J]. 中国民族医药杂志, 2016, 22(2): 40-42.

[5] PIRAUD M, VIANEY-SABAN C, PETRITIS K, et al. ESI-MS/MS analysis of underivatized amino acids: a new tool for the diagnosis of inherited disorders of amino acid metabolism. Fragmentation study of 79 molecules of biological interest in positive and negative ionization mode[J]. Rapid Commun Mass Sp, 2003, 17(12): 1297-1311.

[6] HAN ML, XIE MY, HAN J, et al. Development and validation of a rapid, selective, and sensitive LC-MS/MS method for simultaneous determination of D- and L- amino acids in human serum: application to the study of hepatocellular carcinoma[J]. Anal Bioanal Chem, 2018, 410(10): 2517-2531.

[7] 李静, 李娟, 贾金萍, 等. 基于UHPLC-Q Extractive 轨道阱高分辨质谱的款冬花、叶的化学比较[J]. 药学报, 2018, 53(3): 444-452.

[8] LANG R, YAGAR E F, EGGERS R, et al. Quantitative investigation of trigonelline, nicotinic acid, and nicotinamide in foods, urine, and plasma by means of LC-MS/MS and stable isotope dilution analysis[J]. J Agr Food Chem, 2008, 56(23): 11114-11121.

[9] LI BH, WU JD, LI XL. Simultaneous determination and pharmacokinetic study of stachydrine and leonurine in rat plasma after oral administration of Herba Leonuri extract by LC-MS/MS[J]. J Pharmaceut Biomed, 2013, 76: 192-199.

[10] FAN H, LI SP, XIANG JJ, et al. Qualitative and quantitative determination of nucleosides, bases and their analogues in natural and cultured Cordyceps by pressurized liquid extraction and high performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-MS/MS)[J]. Anal Chim Acta, 2006, 567(2): 218-228.

[11] LIN Y, XU W, HUANG MQ, et al. Qualitative and quantitative analysis of phenolic acids, flavonoids and iridoid glycosides in Yinhuo Kanggan tablet by UPLC-QqQ-MS/MS[J]. Molecules, 2015, 20(7): 12209-12228.

[12] SHI XL, YANG Y, REN HX, et al. Identification of multiple components in deep eutectic solvent extract of Acanthopanax senticosus root by ultra-high-performance liquid chromatography with quadrupole orbitrap mass spectrometry[J]. Phytochem Lett, 2020, 35: 175-185.

[13] SAHA S, MISTRI R, RAY BC. Rapid and sensitive method for simultaneous determination of six carcinogenic aromatic amines in mainstream cigarette smoke by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2009, 1216(15): 3059-3063.

[14] GÖGER F, KÖSE YB, GÖGER G, et al. Phytochemical characterization of phenolics by LC-MS/MS and biological evaluation of *Ajuga orientalis* from Turkey[J]. Bangl J