

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2025)19-0057-08

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.19.011



超高效液相色谱-加热型电喷雾离子源-静电场轨道阱-质谱法快速鉴定冬荪化学成分*

陈霞¹, 胡恩明², 陈佳林², 杨莹², 何志龙¹, 王道平^{2Δ}

(1. 毕节医学高等专科学校药理学系, 贵州 毕节 551700; 2. 贵州省天然产物研究中心, 贵州 贵阳 550025)

摘要:目的 建立快速鉴定冬荪化学成分的超高效液相色谱-加热型电喷雾离子源-静电场轨道阱-质谱(UPLC-HESI-Orbitrap-MS)法。方法 分别采用80%甲醇溶液、丙酮、氯仿、乙酸乙酯提取冬荪。色谱柱为Waters Acquity UPLC HSS T₃柱(100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm), 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液(梯度洗脱), 流速为0.3 mL/min, 柱温为40℃, 进样量为10 μL; 采用全扫描数据依赖二级扫描采集模式采集数据, 全扫描质量范围为质荷比(*m/z*)80~900, 采用正、负离子模式采集, 正、负离子喷雾电压分别为3 000, 2 500 V, 高能碰撞室取得成分碎片离子, 所得离子与美国Thermo Fisher公司自建的中药材数据库及在线数据库mzCloud进行匹配。结果 从冬荪中鉴定出37种化学成分, 其中含量较高的2种成分为α-亚麻酸和烟酰胺, 首次鉴定出的6种成分分别为烟酰胺、对羟基安息香醛、升麻素苷、新鲁斯可皂苷元、α-亚麻酸、二氢石蒜碱。结论 该方法操作简便, 可较全面地鉴定冬荪的化学成分, 为其进一步质量标准研究提供参考。

关键词:超高效液相色谱-加热型电喷雾离子源-静电场轨道阱-质谱法; 冬荪; 化学成分

Rapid Identification of Chemical Constituents of *Phallus Impudicus* by UPLC-HESI-Orbitrap-MS

CHEN Xia¹, HU Enming², CHEN Jialin², YANG Ying², HE Zhilong¹, WANG Daoping²

(1. Bijie Medical College, Bijie, Guizhou, China 551700; 2. Natural Products Research Center of Guizhou Province, Guiyang, Guizhou, China 550025)

Abstract: Objective To establish an ultra-performance liquid chromatography-heated electrospray ionization-orbitrap-mass spectrometry (UPLC-HESI-Orbitrap-MS) method for the rapid identification of the chemical constituents in *Phallus impudicus*. **Methods** The extractions of *Phallus impudicus* were extracted by 80% methanol solution, acetone, chloroform, and ethyl acetate, respectively. The chromatographic column was Waters Acquity UPLC HSS T₃ column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 0.3 mL/min, the column temperature was 40℃, and the injection volume was 10 μL. Data acquisition was performed in full scan mode coupled with data-dependent MS² scanning. The full-scan mass range was set at *m/z* of 80-900 in both positive and negative ion modes. The spray voltages for positive and negative ions were 3 000 V and 2 500 V, respectively. Fragment ions of the components were obtained via high-energy collision-induced dissociation and matched against the in-house database of traditional Chinese medicines established by the Thermo Fisher and the online database mzCloud. **Result** A total of 37 chemical constituents were identified from *Phallus impudicus*, among which α-linolenic acid and nicotinamide were the two most abundant compounds. Six compounds, namely nicotinamide, *p*-hydroxybenzaldehyde, cimifugoside, neoruscogenin, α-linolenic acid, and dihydrolycorine, were identified for the first time. **Conclusion** The method is simple, which can comprehensively identify the chemical constituents of *Phallus impudicus*, and provide a reference for further research on its quality standard.

Key words: UPLC-HESI-Orbitrap-MS; *Phallus impudicus*; chemical constituents

冬荪 *Phallus impudicus* L. 为鬼笔目鬼笔科鬼笔属下物种, 又称竹下菌、无裙荪、竹菌, 是一种地方珍贵食用菌, 生长于腐殖质层中, 分布于我国西南地区的贵州、云南、四川等地。真菌可产生多种活性代谢物^[1], 如多糖^[2]、多酚、黄酮^[3]、有机酸等, 且有抗氧化、抗肿瘤、调血脂、降血糖等功效^[4]。目前尚无快速检测冬荪其他化学成分的相关报道。静电场轨道阱(Orbitrap)为近年来快速发展的现代高分辨质谱分析技术, 以其超高分辨率提供精确的分子量, 确定未知化合物的分

子式, 其高能碰撞解离(HCD)可提供精确碎片离子, 确定其裂解规律, 推断未知化合物的结构, 具有灵敏度高、选择性好、迅速快捷等优点, 能提供丰富的化合物结构信息, 在鉴定中药活性成分方面具有很大优势^[5-8]。故本研究中建立了快速鉴别冬荪不同溶剂提取液化学成分的超高效液相色谱-加热型电喷雾离子源-Orbitrap-质谱(UPLC-HESI-Orbitrap-MS)法, 为鉴别冬荪及其药效物质基础提供参考。现报道如下。

*基金项目: 贵州省毕节市科学技术局、毕节医学高等专科学校联合基金项目[毕科联合字yz[2021]6号]。

第一作者: 陈霞, 女, 硕士研究生, 副教授, 研究方向为天然药物成分与生理活性, (电子信箱)281816720@qq.com。

Δ通信作者: 王道平, 男, 大学本科, 副研究员, 研究方向为药物分析, (电子信箱)84531970@qq.com。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Thermo Fish U3000 tandem Q Exactive Focus 型高分辨液质联用仪(美国 Thermo Fisher 公司);KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为 500 W,频率为 40 kHz);XSR205DU 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司,精度为 0.01 mg)。

1.2 试剂

丙酮(批号为 20210816;检 1),乙酸乙酯(批号为 20210619),氯仿(批号为 20210820),甲酸(色谱纯,批号为 20171012),均购自天津市科密欧化学试剂有限公司;甲醇(国药集团试剂有限公司,批号为 20220910);乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司,批号为 UN1648);水为娃哈哈纯净水;冬荪采自贵州省毕节市,经贵州省天然产物研究中心王道平副研究员鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 样品处理

取冬荪药材的菌柄和菌盖,分别置 50 °C 恒温干燥箱中,24 h 后粉碎,过 120 目筛,即得冬荪菌柄和菌盖粉末。取冬荪菌柄和菌盖粉末各 2.0 g^[9],精密称定,各平行 8 份,分别置 8 个 100 mL 锥形瓶中,依次用 10 mL 80% 甲醇溶液溶解,丙酮溶解,氯仿溶解,乙酸乙酯浸泡 6 h 至样品粉末完全被溶剂浸透^[10],超声提取(功率为 500 W,频率为 30 kHz)50 min,静置 1 h,取上清液,0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得提取液^[11-12]。

2.2 试验条件

1)色谱条件。色谱柱:Waters Acquity UPLC HSS T₃ 柱(100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm);流动相:乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液,梯度洗脱(0~5 min 时 5%A,5~42 min 时 5%A → 95%A,42~47 min 时 95%A);流速:0.3 mL/min;柱温:40 °C;进样量:10 μL。

2)质谱条件^[13-14]。采用全扫描数据依赖二级扫描采集模式(DDA)。全扫描质量范围:质荷比(m/z)80~900;喷雾电压:3 000 V(正离子)和 2 500 V(负离子);毛细管传输温度:350 °C;鞘气值:35 arb;辅助气:10 arb;Probe 温度:350 °C;分辨率:70 000(一级)和 17 500(二级);动态碰撞能量:3 种质谱叠加(20%,40%,60%)。

2.3 数据处理

经质谱仪采集数据,高能碰撞室取得成分碎片离子,所得离子与中药材数据库(美国 Thermo Fisher 公司自建)、Compound Discover 软件中在线数据库 mzCloud 进行匹配,辅助解析质谱数据。其原理为由高分辨质谱给出的精确分子量计算分子式,由二级离子推断化合物的结构可能性,综合一级与二级质谱数据解析冬荪的化学成分。

2.4 总离子流图与数据筛查

对冬荪菌柄和菌盖的 80% 甲醇溶液、丙酮、乙酸乙

酯、氯仿提取液的化学成分进行分离、鉴定,总离子流图见图 1。根据保留时间、化合物精确分子量、二级碎片离子与中药材数据库及在线数据库 mzCloud 进行比对,得 37 种冬荪化学成分(见表 1)。烟酰胺、对羟基安息香醛、升麻素苷、新鲁斯可皂苷元、 α -亚麻酸、二氢石蒜碱 6 种化学成分为首次从冬荪药材中鉴定出。

2.5 菌柄与菌盖不同溶剂提取液化学成分差异分析

2.5.1 菌柄

丙酮提取液:共提取出 13 种化学成分,分别为甘露醇、5-脱氢奎尼酸、烟酰胺、烟酸、泛酸钙、3-甲基戊二酸、亮氨酸、6-羟基吡啶醇、4-甲氧基苯乙酸、壬二酸、人参皂苷 R_{g1}、 α -亚麻酸、光甘草内酯。

80% 甲醇溶液提取液:共提取出 14 种化学成分,分别为奎宁酸、柠檬酸、 γ -氨基丁酸、柠檬酸、L-苯丙氨酸、泛酸钙、L-色氨酸、3-甲基戊二酸、2-异丙基苹果酸、亮氨酸、壬二酸、对羟基肉桂酸、 α -亚麻酸、光甘草内酯。

氯仿提取液:共提取出 10 种化学成分,分别为烟酰胺、烟酸、丙酮酸、5-羟甲基糠醛、腺嘌呤、亮氨酸、吡啶醇、壬二酸、 α -亚麻酸、光甘草内酯。

乙酸乙酯提取液:共提取出 8 种化学成分,分别为 D-葡萄糖酸-1,5-内酯、烟酸、1,5-无水葡萄糖醇、2-氧代己二酸、烟酰胺、5-羟甲基糠醛、亮氨酸、 α -亚麻酸。

2.5.2 菌盖

丙酮提取液:共提取出 9 种化学成分,分别为甘露醇、泛酸钙、烟酰胺、L-苯丙氨酸、己二酸、二氢石蒜碱、 α -亚麻酸、光甘草内酯、吡啶醇。

80% 甲醇溶液提取液:共提取出 16 种化学成分,分别为 D-葡萄糖酸、 γ -氨基丁酸、柠檬酸、烟酰胺、对羟基安息香醛、腺苷、L-亮氨酸、奎宁酸、L-苯丙氨酸、升麻素苷、壬二酸、 α -亚麻酸、光甘草内酯、新鲁斯可皂苷元、亚油酸甲酯、吡啶醇。

氯仿提取液:共提取出 4 种化学成分,分别为原儿茶醛、烟酰胺、对羟基肉桂酸、丙酮酸。

乙酸乙酯提取液:共提取出 5 种化学成分,分别为烟酰胺、2-异丙基苹果酸、L-苯丙氨酸、泛酸钙、 α -亚麻酸。

2.5.3 整体分析

由 2.5.1 和 2.5.2 项下分析可见,菌柄所含化学成分整体比菌盖多;80% 甲醇溶液提取出的化学成分最多,丙酮次之,推测冬荪中亲水性成分居多。有 6 种提取液中均提取出 α -亚麻酸和烟酰胺,这 2 种化学成分在冬荪中的含量最高。

2.6 首次鉴定出的化学成分质谱裂解解析

2.6.1 烟酰胺

第 1 条裂解途径:1)质子化反应(+H⁺)。烟酰胺分子通过质子化,生成 1 个带正电荷的离子,相对分子质量为 $m/z = 123.06$ 。2) π -键重排。分子内部发生 π -键

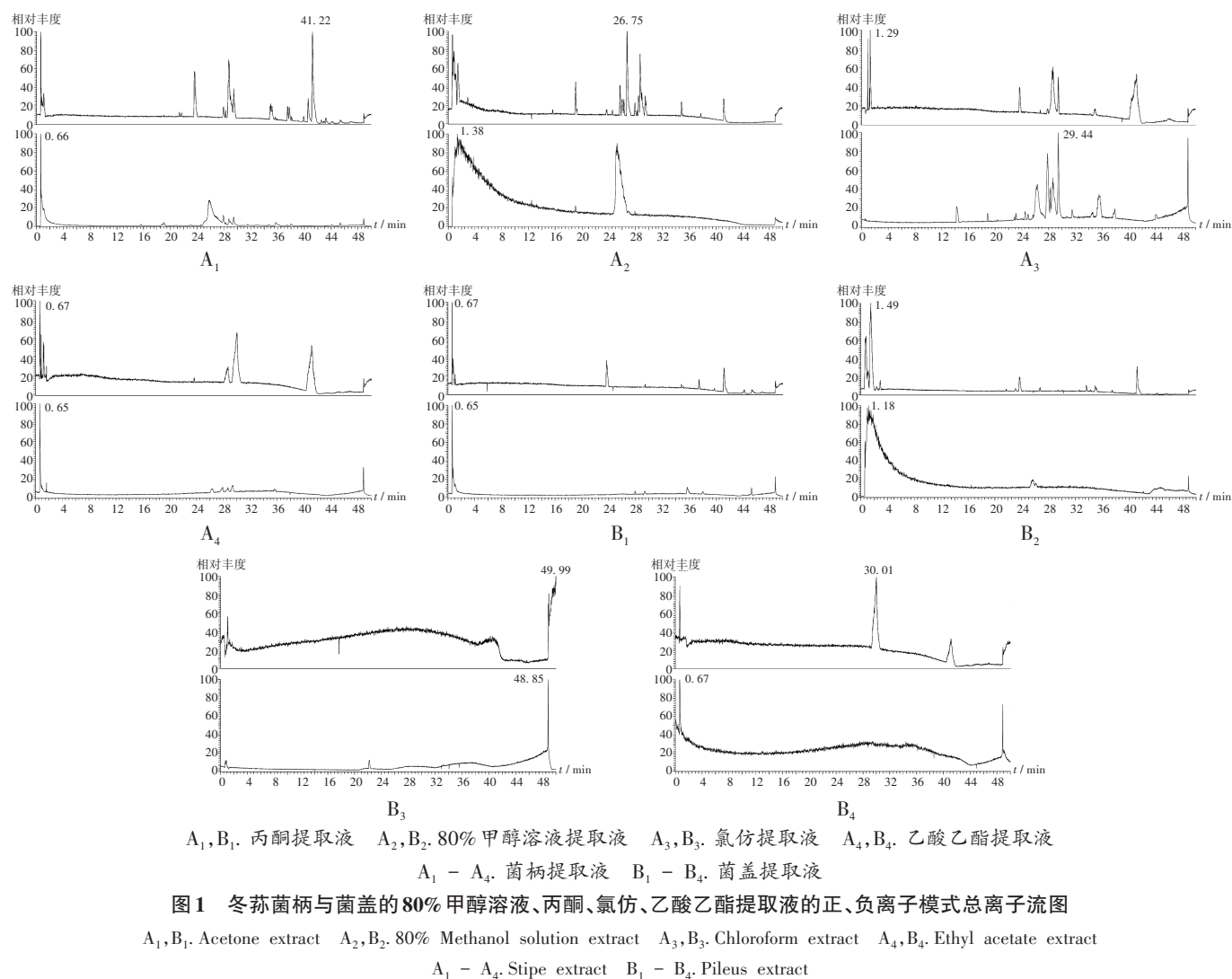


Fig. 1 Positive ion and negative ion TIC chromatograms of the stipe and pileus of *Phallus inopudicus* with 80% methanol, acetone, chloroform, ethyl acetate

重排,使结构稳定,并继续保持 $m/z = 123.06$ 的离子形式。3)氨基脱除 ($-NH_3$)。在 高能环境下,质子化的烟酰胺脱去 1 个氨基 ($-NH_3$),形成 1 个新的碎片,相对分子质量为 $m/z = 106.03$ 。4)基团反应 (rHR)。裂解过程中可能发生基团的转移或反应,进一步稳定生成 $m/z = 106.03$ 的离子。详见图 2 A。

第 2 条裂解途径:1)质子化反应 ($+H^+$)。烟酰胺分子通过质子化生成 1 个正离子,相对分子质量为 $m/z = 123.06$ 。2)裂解路径选择 (Lib)。质子化后的烟酰胺通过不同的裂解路径生成新碎片。3)路径 1 (失去 H^+)。烟酰胺分子通过裂解失去 1 个质子 ($-H^+$),重排后生成新的离子,相对分子质量为 $m/z = 80.05$ 。4)路径 2 (直接裂解)。质子化的烟酰胺分子在另一种裂解路径中通过结构重排,也形成 $m/z = 80.05$ 的离子。详见图 2 B。

第 3 条裂解途径:1)质子化反应 ($+H^+$)。烟酰胺分子 (左侧)通过接受 1 个质子 (H^+),形成质子化的分子离子,相对分子质量为 $m/z = 123.06$ 。此时,质子化作

用在分子中的羰基氧上,导致结构带正电荷。2)水分子加成反应 ($+rOH$)。在进一步的反应中,分子通过与 1 个羟基 (rOH) 的加成反应,导致羰基转化为羟基,并生成新的带电离子。3)生成新的碎片 ($m/z = 96.04$)。最终生成 1 个新的离子,相对分子质量为 $m/z = 96.04$ 。该碎片具有 1 个吡啶环结构,且羟基带有正电荷。详见图 2 C。

2. 6. 2 对羟基安息香醛

第 1 条裂解途径:1)质子化反应 ($+H^+$)。对羟基安息香醛分子接受 1 个质子 (H^+),形成质子化的离子,相对分子质量为 $m/z = 123.04$ 。质子化作用使羰基氧带正电荷,同时增加了分子的反应活性。2)裂解路径 (Lib)。质子化分子发生裂解,通过失去某些基团 (如羰基部分),生成稳定的碎片离子。3)生成新碎片 ($m/z = 95.05$)。最终裂解生成 1 个新的离子,相对分子质量为 $m/z = 95.05$,保留了对羟基苯环的结构。该离子带正电荷,是高能裂解的稳定产物。详见图 3 A。

第 2 条裂解途径:1)质子化反应 ($+H^+$)。对羟基安

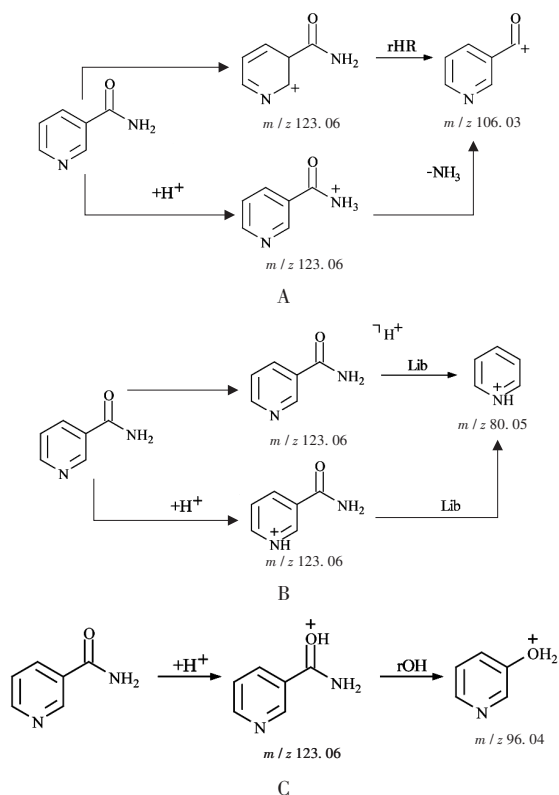
表 1 冬 荪 化 学 成 分 分 析
Tab. 1 Chemical constituents of *Phallus inopudicus*

序号	分子式	加合 离子	质荷比(<i>m/z</i>)		二级碎片离子 MS ²	化合物
			理论值	测量值		
1	C ₆ H ₁₄ O ₆	-H	182.077 80	181.070 51	163.059 89;113.022 95;101.022 93;89.022 91;71.012 37	甘露醇(mannitol)
2	C ₇ H ₁₀ O ₆	+H	208.057 00	209.065 55	171.028 67;145.049 07;127.038 64;99.007 27;83.048 74	5-脱氢奎尼酸(5-dehydroquinic acid)
3	C ₆ H ₆ N ₂ O	+H	122.047 90	123.055 24	106.028 80;96.044 56;80.049 90	烟酰胺(nicotinamide)
4	C ₆ H ₃ NO ₂	+H	123.031 90	124.039 20	96.044 52;80.049 84	烟酸(nicotinic acid)
5	C ₉ H ₁₇ NO ₅	-H	219.109 50	218.102 17	146.080 81;116.069 97;99.043 62;88.038 86;71.048 72	泛酸钙(calcium pantothenate)
6	C ₆ H ₁₀ O ₄	-H	146.056 50	145.049 19	127.038 57;101.059 29;83.048 70	3-甲基戊二酸(3-methylglutaric acid)
7	C ₆ H ₁₂ O ₃	-H	132.077 20	131.069 90	113.059 32;102.987 18;85.064 36;69.033 08	亮氨酸(leucic acid)
8	C ₈ H ₇ NO	-H	151.062 90	134.096 19	119.072 75;117.069 73;105.069 91;91.054 44	6-羟基吲哚(6-hydroxyindole)
9	C ₉ H ₁₀ O ₃	-H	166.061 70	165.054 23	147.043 72;136.930 74;119.048 71;96.958 60;72.991 62	4-甲氧基苯乙酸(4-methoxyphenylacetic acid)
10	C ₉ H ₁₆ O ₄	-H	188.103 60	187.096 27	169.085 49;143.106 40;125.095 70;123.079 97;97.064 29	壬二酸(azelaic acid)
11	C ₄ 2H ₁₂ O ₁₄	-H	846.495 20	845.484 38	799.480 96;637.427 19;475.376 22;119.033 48;89.022 75	人参皂苷 Rg ₁ (ginsenoside Rg ₁)
12	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	+H	278.223 70	279.23068	261.219 67;238.084 92;173.131 85;95.085 68;81.070 24	α -亚麻酸(α -linolenic acid)
13	C ₇ H ₁₂ O ₆	-H	192.062 50	191.055 04	147.028 64;129.017 87;111.007 26;87.007 23;85.027 97	奎宁酸(quinic acid)
14	C ₅ H ₈ O ₅	-H	148.035 93	147.028 72	129.018 05;115.002 24;103.038 69;87.007 37;85.028 10	柠檬酸(citramalic acid)
15	C ₉ H ₈ O ₃	+H	164.046 34	165.075 91	147.064 39;129.054 23;111.043 82;99.044 11;85.028 69	对香豆酸(<i>p</i> -coumaric acid)
16	C ₃₀ H ₄₄ O ₄	+H	468.319 87	469.326 66	451.316 89;138.389 82;72.514 11	光甘草内酯(glabrolide)
17	C ₆ H ₆ O ₃	+H	126.031 56	127.038 71	109.039 84;99.044 22;84.992 32;81.033 85;71.049 65	5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethylfurfural)
18	C ₅ H ₃ N ₃	+H	135.054 17	136.061 39	119.035 13;109.010 60;94.040 02;91.054 34;72.937 55	腺嘌呤(adenine)
19	C ₆ H ₁₀ O ₆	-H	178.046 43	177.040 10	147.028 43;129.017 91;99.007 32;89.022 90;71.012 42	<i>D</i> -葡萄糖酸-1,5-内酯(<i>D</i> -glucono-1,5-lactone)
20	C ₉ H ₁₁ NO ₂	+H	165.078 61	166.085 45	148.111 65;136.075 33;120.080 75;103.054 28;79.054 65	<i>L</i> -苯丙氨酸(<i>L</i> -phenylalanine)
21	C ₆ H ₁₀ O ₄	-H	146.056 51	145.049 12	127.038 63;101.059 29;87.007 27;83.048 73;57.033 14	己二酸(adipic acid)
22	C ₆ H ₈ O ₇	-H	192.025 78	191.018 43	173.008 18;129.018 07;111.007 43;87.007 39;85.028 11	柠檬酸(citric acid)
23	C ₇ H ₆ O ₂	+H	122.036 68	123.055 26	105.044 75;95.044 59;80.049 92;68.050 12	对羟基安息香醛(<i>p</i> -hydroxybenzaldehyde)
24	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ O ₄	+H	267.095 96	268.102 66	250.091 75;136.061 57;119.035 04	腺苷(adenosine)
25	C ₆ H ₁₃ NO ₂	+H	131.094 44	132.080 38	86.096 85;69.070 43	<i>L</i> -亮氨酸(<i>L</i> -leucine)
26	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₁	+Na	446.177 38	469.165 99	307.115 02;115.033 45	升麻素苷(prim- <i>O</i> -glucosylcimifugin)
27	C ₂₇ H ₄₀ O ₄	+H	428.289 78	429.273 25	411.324 01;393.312 65;287.198 64;167.089 17;120.080 53	新鲁斯可皂苷元(neurucogenin)
28	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	+H	294.254 93	295.262 51	263.235 72;245.225 27;109.101 16;95.085 69;81.070 26	亚油酸甲酯(methyl linoleate)
29	C ₃ H ₄ O ₃	-H	148.037 43	147.013 78	119.024 01;102.947 56;90.932 30;87.923 90;61.987 00	丙酮酸(pyruvic acid)
30	C ₄ H ₉ NO ₂	+H	103.063 61	104.107 19	87.044 49;69.034 00;60.081 57	γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid)
31	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	+H	187.062 95	188.070 31	170.058 90;146.059 83;144.080 69;132.080 52;118.065 12	<i>L</i> -色氨酸(<i>L</i> -tryptophan)
32	C ₇ H ₁₂ O ₃	-H	176.067 30	175.060 10	157.049 44;131.070 07;115.038 75;113.059 46;85.064 48	2-异丙基苹果酸(2-isopropylmalic acid)
33	C ₆ H ₁₂ O ₅	-H	164.067 08	163.059 78	131.033 49;113.022 87;101.022 88;85.027 95;71.012 34	1,5-无水葡萄糖醇(1,5-anhydro- <i>D</i> -glucitol)
34	C ₆ H ₈ O ₅	-H	160.035 74	159.028 44	141.017 82;115.038 51;113.022 93;97.027 95;85.027 92	2-氧代己二酸(2-ketoadipic acid)
35	C ₁₆ H ₁₉ NO ₄	+H	289.130 27	290.267 70	272.257 26;254.246 58;224.236 42;109.101 16;60.045 05	二氢石蒜碱(dihydrolycorine)
36	C ₆ H ₁₂ O ₇	-H	196.057 04	195.049 77	177.039 17;159.028 76;129.017 88;99.007 20;75.007 26	<i>D</i> -葡萄糖酸(<i>D</i> -gluconic acid)
37	C ₇ H ₈ O ₃	-H	138.030 49	137.023 19	119.012 56;109.028 28;93.033 23	原儿茶醛(protocatechualdehyde)

息香醛分子接受 1 个质子(H⁺),生成质子化的离子,相对分子质量为 *m/z* = 123.04。质子化主要发生在分子的羰基氧或羟基氧上,使分子带正电荷。2)水分子加成反应(+H₂O)。质子化的分子与水分子发生加成反应,生成 1 个新的离子,但相对分子质量仍保持 *m/z* = 123.04。3)脱水裂解(-H₂O)。在 高能环境下,分子发生脱水反应,生成新的裂解产物,相对分子质量降为

m/z = 105.03。此时,分子的结构发生了重排,形成更稳定的苯环结构。4) π -键重排和裂解(Lib)。分子可能通过 π -键的重排直接裂解,跳过水分子的加成或脱除,也生成 *m/z* = 105.03 的特征离子。详见图 3 B。

第 3 条裂解途径:1)质子化反应(+H⁺)。对羟基安息香醛分子接受 1 个质子,形成质子化的离子,相对分子质量为 *m/z* = 123.04。质子化位置可能在羰基氧或



A. 第 1 条裂解途径 B. 第 2 条裂解途径 C. 第 3 条裂解途径

图 2 烟酰胺在质谱分析中的裂解途径

A. The first cleavage pathway B. The second cleavage pathway

C. The third cleavage pathway

Fig. 2 The cleavage pathways of nicotinamide in the mass spectrometry

羟基氧上,增强分子裂解活性。2)初步裂解(Lib)。质子化后分子通过初步裂解失去 1 个氢原子,生成新的离子($m/z = 122.04$)。此裂解使分子带有 1 个正电荷,同时生成部分自由基。3)多路径裂解。路径 α —— 自由基迁移与重排。分子发生自由基迁移和重排,形成不同的结构形式,相对分子质量均为 $m/z = 122.04$ 。结构稳定性增强,为进一步裂解准备。路径 i —— 生成小分子碎片($m/z = 80.03$)。分子进一步裂解,失去部分侧链或基

团,最终形成稳定的碎片离子,相对分子质量为 $m/z = 80.03$ 。路径 rHA —— 分子内氢转移。自由基作用下,分子内氢原子转移,生成多个可能的裂解产物,相对分子质量保持为 $m/z = 122.04$ 。4)生成最终产物。 $m/z = 80.03$ 的碎片离子是该裂解路径的关键特征产物,代表了分子的特定裂解行为和化学性质。详见图 3 C。

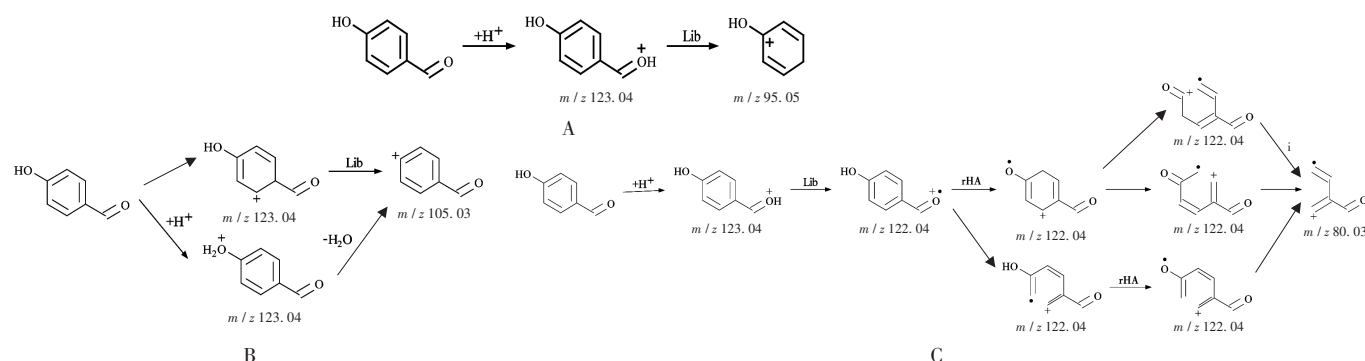
2. 6. 3 升麻素苷^[15]

第 1 条裂解途径:1)质子化反应($+H^+$)。升麻素苷分子首先接受 1 个质子(H^+),形成质子化的离子,相对分子质量为 $m/z = 469.17$ 。质子化主要发生在糖基部分的羟基或母核的羰基上,使分子带正电荷。2)裂解路径(rHB)。在高能环境下,糖基部分(多羟基结构)断裂,从主分子中脱落,断裂后的主分子部分保留母核结构,相对分子质量显著降低。3)生成最终产物($m/z = 307.12$)。裂解后生成的主要碎片保留了升麻素母核的核心结构,同时带有部分侧链基团。最终生成相对分子质量为 $m/z = 307.12$ 的特征碎片,该碎片可用于确认升麻素苷的存在及其结构特性。详见图 4 A。

第 2 条裂解途径:1)质子化反应($+H^+$)。升麻素苷分子接受 1 个质子(H^+),生成质子化的离子,相对分子质量为 $m/z = 469.17$ 。质子化主要发生在糖基或母核的羰基位置,使分子带正电荷。2)第 1 步裂解(rHB)。分子在高能环境下裂解,糖基部分的 1 个末端发生化学键断裂,导致质量变化,但分子总体仍保持相对分子质量为 $m/z = 469.17$ 。3)第 2 步裂解(Lib)。分子进一步裂解,部分糖基结构脱落,相对分子质量降低,生成相对分子质量为 $m/z = 451.16$ 的离子碎片。此步为糖基裂解的主要路径。4)生成最终碎片(rHR)。剩余的糖基部分脱落,生成 1 个关键特征碎片离子,相对分子质量为 $m/z = 115.04$ 。该小分子碎片保留了部分糖的羟基和碳骨架特征,是质谱分析的重要标志。详见图 4 B。

2. 6. 4 新鲁斯可皂苷元

第 1 条裂解途径:1)质子化反应($+H^+$)。新鲁斯可

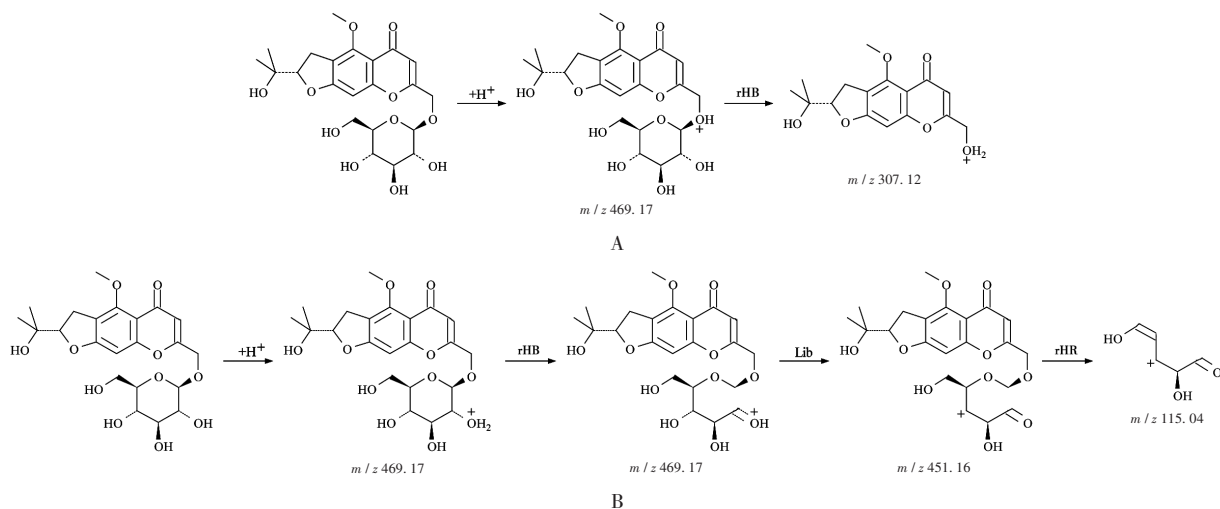


A. 第 1 条裂解途径 B. 第 2 条裂解途径 C. 第 3 条裂解途径

图 3 对羟基安息香醛在质谱分析中的裂解途径

A. The first cleavage pathway B. The second cleavage pathway C. The third cleavage pathway

Fig. 3 The cleavage pathways of *p* - hydroxybenzaldehyde in the mass spectrometry



A. 第1条裂解途径 B. 第2条裂解途径

图4 升麻素苷在质谱分析中的裂解途径

A. The first cleavage pathway B. The second cleavage pathway

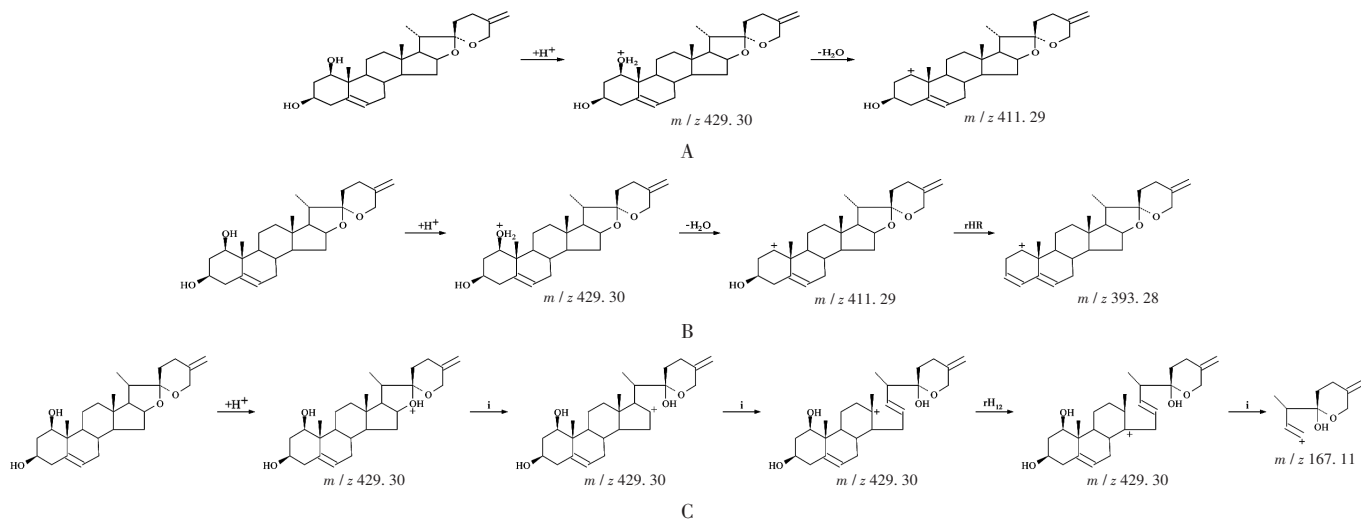
Fig. 4 The cleavage pathways of prim - O - glucosylcimifugin in the mass spectrometry

皂苷元分子首先接受1个质子(H^+),形成质子化的分子离子,相对分子质量为 $m/z = 429.30$ 。质子化作用通常发生在分子中的羟基($-OH$)基团,使分子带正电荷。2)脱水反应($-H_2O$)。质子化的新鲁斯可皂苷元发生脱水反应(移除1个水分子),该过程导致分子质量降低,生成1个新的特征碎片离子,相对分子质量为 $m/z = 411.29$ 。脱水反应表明分子中的羟基基团具有活性,在高能环境下易失去水分子。详见图5 A。

第2条裂解途径:1)质子化反应($+H^+$)。新鲁斯可皂苷元分子接受1个质子(H^+),形成质子化的分子离子,相对分子质量为 $m/z = 429.30$ 。质子化发生在羟基($-OH$)基团上,使分子带正电荷。2)脱水反应($-H_2O$)。质子化后的分子发生脱水反应(失去1个水分子),生成

新的碎片离子,相对分子质量降为 $m/z = 411.29$ 。该过程表明分子中的羟基活性较高,易脱去水分子。3)进一步裂解(rHR)。在更高能量条件下,分子发生自由基转移或其他重排反应,失去部分基团,生成相对分子质量为 $m/z = 393.28$ 的最终碎片离子。这一裂解路径主要涉及甾体骨架的稳定性和裂解行为。详见图5 B。

第3条裂解途径:1)质子化反应($+H^+$)。新鲁斯可皂苷元分子接受1个质子(H^+),形成质子化的分子离子,相对分子质量为 $m/z = 429.30$ 。质子化通常发生在羟基($-OH$)或醚氧基上,使分子带正电荷。2)构象重排(i)。在质子化后,相对分子可能经历内部构象的重排或自由基迁移,生成稳定的中间离子,保持相对分子质量为 $m/z = 429.30$ 。3)进一步裂解(rH₁₂)。在高能环境



A. 第1条裂解途径 B. 第2条裂解途径 C. 第3条裂解途径

图5 新鲁斯可皂苷元在质谱分析中的裂解途径

A. The first cleavage pathway B. The second cleavage pathway C. The third cleavage pathway

Fig. 5 The cleavage pathways of neuruscogenin in the mass spectrometry

下,分子发生进一步裂解,失去部分氢原子或发生自由基重排,相对分子质量仍为 $m/z = 429.30$,显示出稳定的中间体结构。4)最终裂解生成特征碎片(i)。分子通过裂解生成1个小分子碎片,相对分子质量为 $m/z = 167.11$ 。该特征碎片可能来源于甾体母核的部分裂解,并保留了部分羟基和其他基团。详见图5 C。

2.6.5 α -亚麻酸

第1条裂解途径:1)质子化反应($+H^+$)。 α -亚麻酸分子通过接受1个质子(H^+),形成质子化离子,相对分子质量为 $m/z = 279.23$ 。质子化通常发生在羧基($-COOH$)上,使分子带正电荷。2)裂解途径(Lib)。分子在高能环境下发生裂解,可能形成以下2种产物。路径1——质子化分子裂解,生成中间产物,保持相对分子质量为 $m/z = 279.23$ 。路径2——分子进一步失去部分基团或通过内部重排,生成新的特征碎片($m/z = 261.22$)。分子通过失去1个水分子或其他小基团,裂解为 $m/z = 261.22$ 的碎片。表明 α -亚麻酸分子中碳链和双键结构的稳定性较高,最终裂解发生在羧基附近。详见图6 A。

第2条裂解途径:1) π -键质子化反应(π)。 α -亚麻酸分子中的羧基($-COOH$)或双键通过质子化反应形成正离子,相对分子质量为 $m/z = 279.23$ 。此过程使分子带正电荷,增强其裂解活性。2)初步裂解(Lib)。质子化后的 α -亚麻酸发生初步裂解,可能涉及碳链断裂,生成相对分子质量为 $m/z = 277.22$ 的中间体。表明分子的裂解主要发生在双键附近。3)进一步裂解(Lib)。中间体通过自由基作用或分子内重排,进一步断裂生成新的碎片离子,相对分子质量为 $m/z = 275.20$ 。该特

征碎片反映了 α -亚麻酸碳链骨架的高能裂解模式。4)自由基重排(rH_{12})。分子继续发生自由基迁移或氢转移,生成另1个稳定的裂解碎片,保持双键特征,相对分子质量为 $m/z = 275.20$ 。5)最终裂解(Lib)。通过进一步的分子内断裂或重排,最终生成相对分子质量为 $m/z = 173.13$ 的特征碎片。表明裂解过程涉及碳链的部分剥离和稳定片段的形成。详见图6 B。

第3条裂解途径:1)质子化反应(π)。 α -亚麻酸分子通过质子化作用形成正离子,相对分子质量为 $m/z = 279.23$ 。质子化通常发生在羧基($-COOH$)上,使分子带正电荷,活化双键碳链。2)分子内断裂(i)。在高能条件下,分子发生碳链裂解,羧基部分与碳链分离。断裂后的碎片形成1个小分子离子,相对分子质量为 $m/z = 95.09$ 。该碎片保留了部分双键结构,是碳链裂解的特征产物。详见图6 C。

2.6.6 二氢石蒜碱

第1条裂解途径:1)质子化反应($+H^+$)。二氢石蒜碱分子首先接受1个质子(H^+),形成带正电荷的离子,相对分子质量为 $m/z = 290.14$ 。质子化通常发生在氮原子或羟基附近,使分子带正电荷并增强其裂解活性。2)脱水反应($-H_2O$)。质子化的二氢石蒜碱分子进一步发生脱水反应(失去1个水分子),生成新的碎片离子,相对分子质量降为 $m/z = 272.13$ 。表明分子中具有活性羟基,在高能环境下易失去水分子。详见图7 A。

第2条裂解途径:1)质子化反应($+H^+$)。二氢石蒜碱分子首先接受1个质子(H^+),形成质子化离子,相对分子质量为 $m/z = 290.14$ 。质子化反应通常发生在氮原子或羟基上,使分子带正电荷并活化,增强裂解能力。

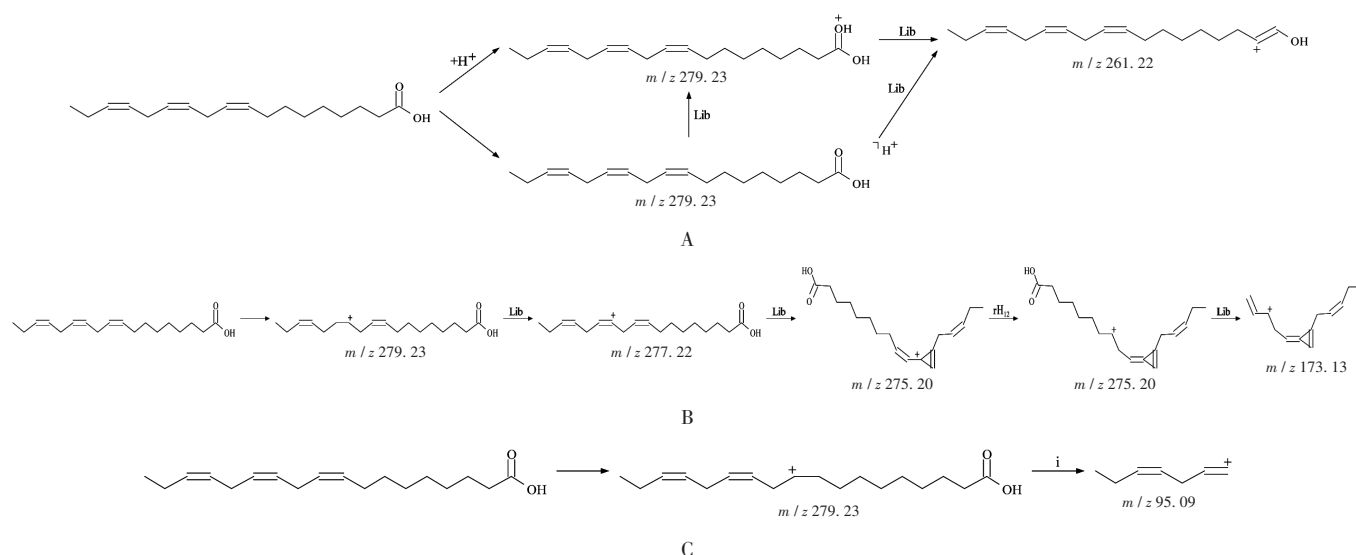
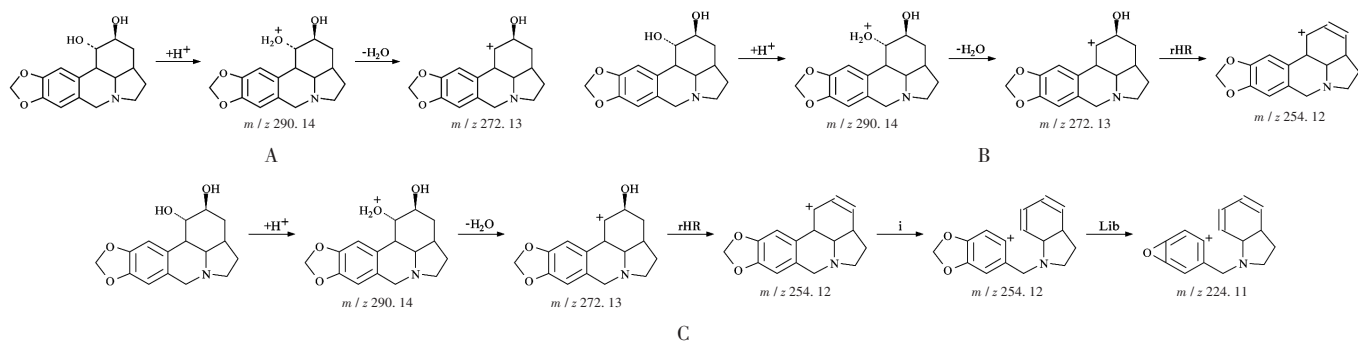


图6 α -亚麻酸在质谱分析中的裂解途径

A. The first cleavage pathway B. The second cleavage pathway C. The third cleavage pathway

Fig. 6 The cleavage pathways of α -linolenic acid in the mass spectrometry



A. 第1条裂解途径 B. 第2条裂解途径 C. 第3条裂解途径

图7 二氢石蒜碱在质谱分析中的裂解途径

A. The first cleavage pathway B. The second cleavage pathway C. The third cleavage pathway

Fig. 7 The cleavage pathways of dihydrolycorine in the mass spectrometry

2)脱水反应($-H_2O$)。质子化的二氢石蒜碱分子失去1个水分子,生成相对分子质量为 $m/z = 272.13$ 的碎片离子。表明分子中含有活性羟基,易在质谱高能条件下失去水分子。3)进一步裂解(rHR)。分子发生自由基重排或进一步裂解,失去部分基团,生成相对分子质量为 $m/z = 254.12$ 的特征碎片。该碎片保留了二氢石蒜碱的主要骨架结构,包含杂环和芳香环部分。详见图7 B。

第3条裂解途径。1)质子化反应($+H^+$)。二氢石蒜碱分子接受1个质子(H^+),形成质子化离子,相对分子质量为 $m/z = 290.14$ 。质子化反应通常发生在氮原子或羟基上,使分子带正电荷并活化。2)脱水反应($-H_2O$)。质子化的分子通过失去1个水分子,生成相对分子质量为 $m/z = 272.13$ 的碎片离子。表明分子中的羟基是活性基团,在高能环境下易脱水。3)自由基重排(rHR)。分子进一步发生自由基重排或分子内电子迁移,生成相对分子质量为 $m/z = 254.12$ 的特征碎片。该碎片保留了二氢石蒜碱的核心母核结构,包括氧杂环和芳香环。4)进一步裂解(i)。特征碎片 $m/z = 254.12$ 通过内部重排或小基团的脱离,生成相对分子质量为 $m/z = 224.11$ 的碎片离子。此步展示了芳香环和氮杂环的稳定性及其裂解规律。5)最终裂解(Lib)。分子通过进一步重排或键断裂,最终形成 $m/z = 224.11$ 的稳定碎片。详见图7 C。

3 讨论

冬苣中含有多种氨基酸、维生素成分,低脂,营养丰富,药食同源,通过成分分析,可掌握有益活性物质,有助于开发食品、保健食品等,提高农副产品的附加值,带动冬苣的产业发展。本研究中采用UPLC-HESI-Orbitrap-MS法对冬苣的80%甲醇溶液、丙酮、乙酸乙酯、氯仿提取液进行化学成分分析,利用保留时间、化合物相对分子质量、二级碎片离子等指标快速、准确地鉴定出37种化学成分,对首次从冬苣中鉴定出的6种化学成分,根据其碎片离子推测其裂解途径。该方法简便、高效、灵敏性好,为冬苣药效物质基础提供了数据支持,对分离冬苣的化学成分具有参考意义。

参考文献

- [1] 丁瑞瑞,令狐姪,郭春连,等. 竹荪多糖提取工艺及其对肿瘤抑制作用的研究[J]. 广州化工,2014,42(15):61-63.
- [2] 隋新,谢洋,付东,等. 真菌多糖提取工艺研究进展[J]. 化学工程师,2018,32(5):66-67.
- [3] 宫雪,张博,辛广,等. 食用菌中黄酮类物质的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2016,7(7):2821-2827.
- [4] 王伟,孙彬,张玉,等. 几种特色食用菌功能活性成分的研究进展[J]. 浙江农业科学,2015,56(11):1786-1790.
- [5] 陈兰青,黎淑贞,甘礼社,等. 基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱分析勒菜化学成分[J]. 亚热带植物科学,2023,52(4):301-309.
- [6] 曾浏希,黎维,王东,等. UHPLC-Q Exactive 高分辨质谱联用法分析淫羊藿中的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报,2023,40(5):581-592.
- [7] 刘艺静,吕悦广,胡琪,等. 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法鉴定白茶和普洱生茶中的化学成分[J]. 分析测试学报,2023,42(5):586-595.
- [8] 闫佳靓,王海超,张玲,等. 基于UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS的秦皮成分分析[J]. 中国现代应用药学,2023,40(8):1009-1020.
- [9] 计玮玮,俞婷婷,李颖,等. 毛竹林下栽培竹荪子实体总黄酮提取工艺[J]. 中国食用菌,2022,41(9):60-64.
- [10] 姜石磊. 蒙药草乌叶化学成分检测[J]. 中国民族医药杂志,2022,28(2):47-49.
- [11] 王莉婷,李颜伶,徐广,等. 基于UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS技术的前子不同溶剂提取物成分分析[J]. 中国药师,2022,25(8):1341-1347.
- [12] 黄美,周静,伍城颖,等. 基于UPLC-QTOF-MS/MS的藏药翼首草不同提取物化学成分比较研究[J]. 中国野生植物资源,2022,41(6):31-40.
- [13] 李亚梅,杨扬,杨义芳,等. 基于UPLC-QTOF-MS/MS技术的裸花紫珠不同溶剂提取物的成分分析[J]. 中药材,2020,43(11):2707-2712.
- [14] 萨出仁贵,激力木格,包哈申. 基于UPLC-Q-Exactive MS技术的蒙药烘草乌含药血清成分鉴定[J]. 内蒙古医科大学学报,2024,46(3):256-261.
- [15] 张婉婉,张子建,杨梦华,等. 基于UPLC-QTOF-MS/MS的升麻素苷在正常大鼠和牙周炎模型大鼠体内代谢研究[J]. 中草药,2024,55(12):4084-4098.

(收稿日期:2024-08-22;修回日期:2025-06-19)