

UPLC/Q-TOF-MS/MS 分析中华常春藤中的化学成分

杨林军¹, 谢彦云³, 李志锋¹, 李伟¹, 何明珍^{1*}, 吴蓓^{2*}, 冯育林¹, 杨世林¹

1. 江西中医药大学 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006

2. 南昌市食品药品检验所, 江西 南昌 330006

3. 湖南师范大学医学院, 湖南 长沙 410013

摘要: 目的 利用超高效液相色谱-飞行时间质谱联用技术 (UPLC/Q-TOF-MS/MS), 对中华常春藤 *Hedera nepalensis* 茎叶中的化学成分进行分析和鉴定。方法 采用 Welch C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 以 0.1% 甲酸水溶液 (A) 和乙腈 (B) 为流动相进行梯度洗脱, 体积流量 0.3 mL/min, 柱温 40 °C, 进样量 5 μL。质谱采用电喷雾 (ESI) 离子源, 在正负离子模式下采集数据, 使用质谱分析软件中的目标化合物筛查法, 通过保留时间、精确相对分子质量和二级质谱裂解碎片鉴定监测到的化学成分。结果 在优化的液质联用条件下, 结合 Scifinder 数据库、对照品和相关文献鉴定了 43 个化合物, 包括三萜皂苷、黄酮苷类、苯丙素类和核苷类化合物。结论 UPLC/Q-TOF-MS/MS 方法能快捷、准确、较全面地鉴定中华常春藤中的化学成分, 为中华常春藤化学成分的进一步提取分离和药效物质基础的研究提供科学依据。

关键词: 中华常春藤; 超高效液相色谱-飞行时间质谱; 三萜皂苷; 黄酮苷类; 苯丙素类; 核苷类

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)04-0566-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.04.007

Analysis on chemical constituents in *Hedera nepalensis* by UPLC/Q-TOF-MS/MS

YANG Lin-jun¹, XIE Yan-yun³, LI Zhi-feng¹, LI Wei¹, HE Ming-zhen¹, WU Bei², FENG Yu-lin¹, YANG Shi-lin¹

1. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

2. Nanchang Institute for Food and Drug Control, Nanchang 330006, China

3. The Medical College of Hunan Normal University, Changsha 410013, China

Abstract: Objective Using UPLC/Q-TOF-MS/MS to analyze and identify the chemical constituents from the stems and leaves of *Hedera nepalensis*. **Methods** The analysis was performed on an Welch C₁₈ reverse phase column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile (B) and 0.1% formic acid (A) was used as gradient elute. The flow rate was 0.3 mL/min gradient elution and column temperature was 40 °C, the injection volume was 5 μL, MS conditions were ESI, positive and negative ion mode scanning. **Results** Under the optimized condition, based on the database of Scifinder, MS/MS of standards and compared with reference results, 43 compounds were identified, including triterpenoid saponins, flavonoid glycosides, phenylpropanoids, and nucleotides. **Conclusion** By using UPLC/Q-TOF-MS/MS method the main chemical constituents from *H. nepalensis* can be rapidly and accurately identified.

Key words: *Hedera nepalensis* K. Koch; UPLC/Q-TOF-MS/MS; triterpenoid saponin; flavonoid glycosides; phenylpropanoids; nucleotides

中华常春藤 *Hedera nepalensis* K. Koch, 又名土鼓藤、钻天风、三角风、散骨风、风荷梨藤, 是五加科常春藤属常绿攀援灌木。作为一种观赏性的植物, 其分布范围广, 北自甘肃东南部、陕西南部、河南、山

东, 南至广东、江西、福建, 西自西藏波密, 东至江苏、浙江的广大区域^[1]。《中华本草》记载其功能主治为祛风、利湿、和血、解毒, 用于风湿痹痛、瘫痪、月经不调、跌打损伤、咽喉肿痛、疔疮肿毒、肝炎^[2]。

收稿日期: 2015-07-24

基金项目: 江西民族传统药现代化科技与产业发展协同创新中心开放基金资助项目 (JXXT201402009); 江西省青年科学家培养对象项目 (20142BCB23022); 江西省研究生创新专项资金 (YC2014-S290)

作者简介: 杨林军, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药活性成分研究。Tel: (0791)87119632 E-mail: yanglinjun89@yahoo.com

*通信作者 何明珍, 女, 讲师, 研究方向为中药活性成分研究。Tel: (0791)87119633 E-mail: hmz07@163.com

吴蓓, 女, 副主任药师, 研究方向为中药质量标准研究。Tel: (0791)88538270 E-mail: wubei8@163.com

国内外对常春藤属植物的化学成分研究表明,该属植物主要含五环三萜皂苷、黄酮类、多酚类和有机酸等化合物,五环三萜皂苷中尤以常春藤皂苷和齐墩果烷型为主^[3-5]。常春藤苷 C 和 α -常春藤素是中华常春藤中主要的活性物质,近年来研究发现两者在解痉、抗肿瘤、抗氧化和改善肌肉运动方面有良好的药理活性^[6-9],因此,有必要对中华常春藤的化学成分进行深入的研究。超高效液相色谱与飞行时间质谱联用(UPLC/Q-TOF-MS/MS)技术作为一种新型的分析技术可以提供良好的分离效果,具有高分辨、高灵敏的定性能力和强大的结构表征能力,已广泛运用到中药药效物质基础、中药化学成分分析、代谢组学等研究领域^[10]。本研究采用 UPLC/Q-TOF-MS/MS 技术,鉴定了中华常春藤茎叶中 43 个化合物,包括三萜皂苷、黄酮苷类、苯丙素类和核苷类化合物,为进一步研究中华常春藤的化学成分及阐释其药效物质基础提供依据。

1 仪器与材料

超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱(AB SCIEX Triple TOF 5600+; Foster City, CA),配有电喷雾离子源(ESI)、Analyst 1.6 色谱工作站和 Peakview 等质谱分析软件(AB SCIEX 公司);岛津超高效液相色谱仪(Nexera UPLC LC-30A, 日本),含在线真空脱气机,自动进样器,柱温箱,高压二元梯度泵和二极阵列检测器;Welch C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m);Sartorius BT25S 型十万分之一电子分析天平(赛多利斯公司,德国);KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);甲酸(色谱纯,美国 TEDIA 公司);水为 Milli-Q 系统纯化水(美国 Millipore 公司),其余试剂为分析纯。对照品常春藤苷 C、芦丁、金丝桃苷、绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、秦皮乙素、秦皮甲素、熊果酸、腺苷、鸟嘌呤和木犀草苷均购自中国食品药品检定研究院, α -常春藤素和常春藤皂苷元为自制,经过 HPLC-ELSD 法测得质量分数大于 95%。

中华常春藤茎叶于 2014 年 9 月采自湖南长沙,经南昌市食品药品检验所副主任药师吴蓓鉴定为中华常春藤 *Hedera nepalensis* K. Koch 的茎叶。

2 方法

2.1 供试品的制备

称取粉碎的中华常春藤药材 2 g,加甲醇 50 mL,超声提取(50 kHz, 300 W) 30 min,滤过,

残渣加甲醇 50 mL,再超声提取 30 min,滤过,合并滤液,减压浓缩,甲醇定容至 25 mL。进样前用 0.22 μ m 微孔滤膜滤过。

2.2 对照品溶液的配制

精密称取常春藤苷 C、芦丁、金丝桃苷、绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、秦皮乙素、秦皮甲素、熊果酸、腺苷、鸟嘌呤、木犀草苷、 α -常春藤素和常春藤皂苷元对照品适量,加甲醇超声溶解、定容,于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中避光保存备用,进样前用 0.22 μ m 微孔滤膜滤过。

2.3 质谱条件

离子源为电喷雾离子化源(ESI),正负离子模式扫描;质量数扫描范围 m/z 100~1 500;喷雾电压:±4 500 V,雾化气温度:600 $^{\circ}$ C,气帘气:172.36 kPa,雾化气和辅助气:344.74 kPa;去簇电压(DP):±120 V;采用 TOF-MS-IDA-MS/MS 方法采集数据,TOF/MS 一级预扫描和触发的二级扫描 TOF/MS/MS 离子累积时间分别为 200、100 ms,碰撞能量(CE)为±70 eV,碰撞能量叠加(CES)为±(70±15) eV, m/z 80~1 600,触发二级的方法为 IDA,多重质量亏损(MMDF)和动态背景扣除(DBS)为触发二级的条件,满足该条件的优先进行二级扫描。

2.4 液相条件

色谱柱:UPLC Welch C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m);流动相:以 0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)进行梯度洗脱:0~1.5 min, 5% B; 1.5~5 min, 5%~20% B; 5~15 min, 20%~40% B; 15~30 min, 40%~70% B; 30~34 min, 70%~90% B; 34~37 min, 90% B; 37~40 min, 90%~5% B; 体积流量 0.3 mL/min;进样体积 5 μ L。

3 化合物质谱分析

利用 Analyst TF1.6 软件对中华常春藤茎叶的甲醇提取物进行分析,通过常春藤属植物的 Scifinder 数据库和相关文献检索,结合 Peakview 软件中 XIC Manager 功能对目标化合物进行了鉴定和确证。利用 Peakview 软件中 Formula finder 功能,结合相关化合物的一级质谱和二级质谱,以及同位素分布和化合物裂解规律,进行未知化合物的分析与鉴别。(−) ESI-MS 和 (+) ESI-MS 的质谱总离子流图(TIC)见图 1,已鉴定的各化学成分保留时间、质谱信息以及相关文献数据见表 1。

与对照品的质谱信息匹配,鉴定了中华常春藤茎叶中的常春藤苷 C、芦丁、金丝桃苷、绿原酸、

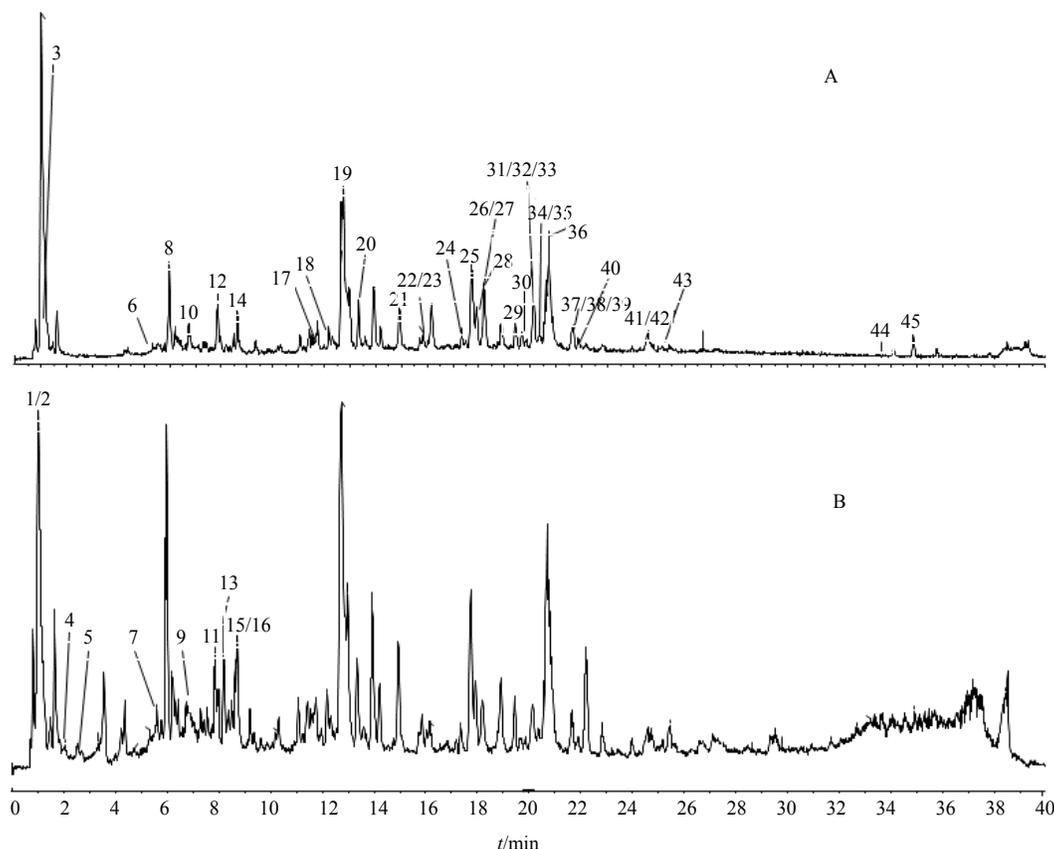


图 1 中华常春藤茎叶 UPLC/Q-TOF-MS/MS 的负离子 (A) 和正离子 (B) 总离子流图

Fig. 1 Negative (A) and positive (B) UPLC/Q-TOF-MS/MS total ion flow chart of stems and leaves in *H. nepalensis*

新绿原酸、隐绿原酸、秦皮乙素、秦皮甲素、熊果酸、腺苷、鸟嘌呤、木犀草苷、 α -常春藤素和常春藤皂苷元共 14 个化合物。利用 Peakview 软件中 XIC Manager 功能对目标化合物进行查找和确定，并通过 Formula finder 软件、相关数据库、同位素分布以及目标化合物的元素组成和裂解途径分析，鉴定了 29 个化合物，同时推测了 2 个潜在的新化合物。

3.1 常春藤皂苷类化合物的鉴定

常春藤苷 C 和 α -常春藤素是中华常春藤中活性较好的常春藤皂苷化合物。XIC Manager 软件中发现 $C_{59}H_{96}O_{26}$ 在负离子模式下有 2 个保留时间，与常春藤苷 C 对照品质谱信息比对，鉴定样品中峰 25 为常春藤苷 C，母离子峰 m/z 1 219.615 2 $[M-H]^-$ ，另外有 m/z 1 073.565 3、911.505 3、749.449 4、603.391 9、471.349 1 碎片，分别对应 $[M-H-Rha]^-$ 、 $[M-H-Rha-Glc]^-$ 、 $[M-H-Rha-2Glc]^-$ 、 $[M-H-2Rha-2Glc]^-$ 、 $[M-H-2Rha-2Glc-Ara]^-$ 。 m/z 1 055.539 2 比 m/z 1 073.565 3 少 18，为鼠李糖环上羟基与邻位结合脱去 1 分子水产生的碎片离子，峰 24 的母离子峰 m/z 1 219.618 0，通过皂苷裂解规

律推测该化合物可能为白头翁皂苷 B4^[17]。与 α -常春藤素对照品质谱比对，鉴定峰 32 为 α -常春藤素，母离子峰 m/z 749.450 6 $[M-H]^-$ ，脱去鼠李糖 Rha 后形成特征碎片 m/z 603.393 5 $[M-H-Rha]^-$ ，再脱去 1 分子阿拉伯糖形成 m/z 471.350 3 $[M-H-Rha-Ara]^-$ 。由常春藤苷 C 和 α -常春藤素的裂解途径可知，碎片离子 m/z 471.35 是常春藤皂苷型化合物的特征碎片，因此鉴定峰 17、19、20、21、22、27、28、29、30、34、35 为常春藤皂苷类化合物。峰 19、20，峰 30、34 为 2 对同分异构体，根据常春藤属植物的相关文献、化合物裂解途径和 Scifinder 数据库，推测峰 19、20 可能是以常春藤皂苷元为母核，含有 2 个 Glc、1 个 Rha 和 1 个 Ara 被甲酸化的新三萜皂苷类化合物，峰 30、34 可能是以常春藤皂苷元为母核，葡萄糖醛酸化的三萜皂苷类化合物^[20-22]。

3.2 黄酮苷类化合物

Yu 等^[26]利用 HPLC 同时测定了中华常春藤中包括芦丁和烟花苷在内的黄酮和三萜皂苷类成分^[28]。与芦丁对照品比对，鉴定峰 12 为芦丁，母离子 m/z

表 1 中华常春藤茎叶提取物的化学成分分析

Table 1 Analysis on chemical constituents from extract of stems and leaves in *H. nepalensis*

峰号	t_R /min	相对分子质量 (负/正离子模式)		分子式	化合物	二级碎片 (m/z)	偏差/ ($\times 10^{-3}$)	参考 文献
		实测值	理论值					
1	1.00	268.102 4	268.104 0	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	腺苷	136.061 4, 119.034 7	-5.9	10
2	1.01	152.055 2	152.056 6	C ₅ H ₅ N ₃ O	鸟嘌呤	135.030 7, 110.030 4	-5.4	10
3	1.07	191.056 3	191.056 1	C ₇ H ₁₂ O ₆	奎宁酸	109.031 7	1.0	11
4	1.82	268.102 7	268.104 0	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	腺苷同分异构体	136.060 6, 119.034 9	-4.9	10
5	2.52	152.055 6	152.056 6	C ₅ H ₅ N ₃ O	鸟嘌呤同分异构体	107.032 5, 93.009 9	-4.7	10
6	5.26	353.087 4	353.087 8	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	新绿原酸	191.055 8, 179.035 5, 161.022 3, 135.044 8	-2.1	4
7	5.42	341.085 7	341.086 7	C ₁₅ H ₁₆ O ₉	秦皮甲素	179.038 3, 135.042 8, 123.046 0	-2.7	12
8	6.02	353.087 2	353.087 2	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	绿原酸	191.055 5, 173.046 8, 161.021 5, 135.043 4	-3.3	4
9	6.49	179.033 8	179.033 1	C ₉ H ₆ O ₄	秦皮乙素	123.048 2, 105.032 7, 89.037 3	-4.2	12
10	6.63	353.087 4	353.087 8	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	隐绿原酸	191.055 8, 173.043 0, 161.023 4, 135.046 9	-2.1	4
11	7.85	303.049 1	303.049 9	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	桑色素	155.046 8, 153.021 6, 137.026 6, 127.052 6, 109.028 4, 91.056 1	-2.6	5
12	7.87	609.146 6	609.146 1	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	芦丁	301.034 3, 151.002 8	1.0	4
13	8.31	465.100 0	465.102 7	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	金丝桃苷	303.048 0, 257.038 4, 229.048 5, 153.016 7, 137.022 8	-5.9	5
14	8.63	593.151 1	593.151 1	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	烟花苷	285.039 8, 255.029 2, 227.033 8	-0.1	4
15	8.63	287.053 7	287.055 0	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	3,3',4',7-四羟基黄酮	153.017 9, 128.059 5, 93.033 0	-4.5	5
16	8.64	449.105 8	449.107 8	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	木犀草苷	287.052 2, 213.054 4, 153.017 6	-4.5	5
17	11.68	1 117.547 8	1 117.543 6	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₄	hederasaponin I	647.379 1, 471.347 0	3.7	3
18	12.15	941.482 9	941.475 2	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₉	saponin PH	795.400 2, 633.373 3, 471.314 2	6.5	13
19	12.97	1 119.565 6	1 119.559 2	C ₅₄ H ₈₈ O ₂₄	未知	1 073.558 3, 749.441 2, 603.389 0, 471.431 4	5.7	
20	13.33	1 119.563 4	1 119.559 2	C ₅₄ H ₈₈ O ₂₄	未知	1 073.554 0, 749.446 5, 603.388 9, 471.347 3, 423.326 6	3.7	
21	14.82	881.490 8	881.490 4	C ₄₆ H ₇₄ O ₁₆	常春藤皂苷元 3-O-β-D-吡喃核糖-(1→3)-α-L-吡喃葡萄糖-(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖苷	765.438 2, 603.387 2, 471.346 4, 423.327 1	0.5	14
22	15.72	957.512 2	957.506 4	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₉	staunoside A	749.450 0, 603.389 6, 585.380 1, 471.350 1, 423.335 9	6.0	15
23	15.76	1 235.616 1	1 235.606 6	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₇	pastuchoside C	1 173.606 4, 1 027.553 2, 703.429 9, 469.148 4	7.7	16
24	17.34	1 219.620 3	1 219.611 7	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₆	白头翁皂苷 B4	1 157.618 8, 849.507 7, 687.452 6, 541.381 9, 471.345 3	7.1	17
25	17.72	1 219.619 9	1 219.611 7	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₆	常春藤苷 C	1 073.565 3, 911.565 3, 749.449 4, 603.391 9, 471.349 1	6.8	18
26	17.90	471.311 3	471.311 3	C ₂₉ H ₄₄ O ₅	norarjunlic acid	471.309 5, 387.255 8	-0.5	13
27	17.93	765.443 7	765.443 0	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₃	HN-saponin F	603.387 6, 471.354 3	0.9	19
28	18.14	1 073.557 7	1 073.553 8	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₂	常春藤皂苷 D	911.505 9, 749.453 6, 603.388 4, 471.345 7, 423.340 3	3.6	19
29	19.68	633.400 0	633.400 8	C ₃₆ H ₅₈ O ₉	HN-saponin D1	471.361 5	-1.1	19

续表 1

峰号	t_R /min	相对分子质量 (负/正离子模式)		分子式	化合物	二级碎片 (m/z)	偏差/ ($\times 10^{-3}$)	参考 文献
		实测值	理论值					
30	19.85	647.380 6	647.380 6	C ₃₆ H ₅₆ O ₁₀	(3 β)-23,28-dihydroxy-28-oxoolean-12-en-3-yl- β -D-glucopyranosiduronic acid	471.356 3, 423.325 7, 119.034 4	0.9	20
31	20.05	1 203.622 0	1 203.616 7	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₅	常春藤皂苷 B	1 057.555 6, 895.514 9, 733.454 1, 587.397 3, 455.355 9	0.4	21
32	20.14	749.450 5	749.448 1	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₂	α -常春藤素	603.379 5, 585.384 6, 471.350 3, 423.321 6	3.2	18
33	20.28	487.342 8	487.342 9	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	2 α ,3 β ,23-三羟基-12-烯-28-齐墩果酸皂苷	441.350 0, 409.310 6	-0.2	14
34	20.37	647.380 5	647.380 0	C ₃₆ H ₅₆ O ₁₀	(2 β ,3 β)-2,28-dihydroxy-28-oxoolean-12-en-3-yl- β -D-glucopyranosiduronic acid	571.364 2, 471.346 7, 423.325 7, 113.024 2	0.8	22
35	20.71	795.456 2	795.453 6	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₄	皂苷 IV	603.389 8, 585.379 9, 471.345 9, 423.325 8	3.3	23
36	21.55	651.404 8	651.411 3	C ₃₆ H ₆₀ O ₁₀	台湾常春藤 XII		-6.8	24
37	21.55	603.391 0	603.391 0	C ₃₅ H ₅₆ O ₈	常春藤 K3	471.365 6, 393.315 9	1.3	19
38	21.88	617.370 2	617.369 5	C ₃₅ H ₅₄ O ₉	台湾常春藤 VII	571.361 8, 423.327 0, 247.570 7	1.2	24
39	22.05	777.445 4	777.445 4	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₃	bifinoside A	613.373 9, 569.380 7, 455.348 6, 99.011 0	3.1	25
40	24.56	779.460 7	779.458 7	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	齐墩果酸 3-O- β -D-吡喃半乳糖-(1 \rightarrow 3)- β -D-吡喃葡萄糖苷	733.453 6, 587.396 2, 569.385 8, 455.352 8	2.6	14
41	24.57	733.456 5	733.453 2	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₁	五加苷 K	587.393 3, 455.356 6	4.5	14
42	25.10	485.326 9	485.327 2	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	奎诺酸	467.316 0, 423.324 3	-0.7	26
43	26.65	471.347 4	471.348 0	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	常春藤皂苷元	393.324 4	-1.2	27
44	33.59	455.352 3	455.353 0	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	齐墩果酸	299.008 6	-3.1	19
45	34.67	455.351 6	455.353 0	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	熊果酸	391.295 3	-4.4	19

609.143 0 [M-H]⁻, 其二级碎片有 m/z 301.034 3、151.002 8, m/z 301.034 3 为母离子 [M-H]⁻ 脱掉鼠李糖和葡萄糖形成的特征碎片, [M-H-Rha-Gla]⁻ 碎片 RDA 裂解后形成 m/z 151.002 8 碎片。峰 14 母离子 m/z 593.154 7 [M-H]⁻, 脱去鼠李糖和葡萄糖后形成特征碎片 m/z 285.038 9 [M-H-Rha-Gla]⁻, 利用 Peakview 软件中 Formula finder 功能, 设定测得相对分子质量和理论精确相对分子质量的偏差小于 5×10^{-3} , 鉴定样品中峰 13 为烟花苷。金丝桃苷和木犀草苷正离子模式下响应好, 与对照品质谱信息比对, 鉴定峰 16 为木犀草苷, 峰 13 为金丝桃苷。据芦丁和金丝桃苷对照品的碎片裂解规律, 发现峰 11、15 中有特征碎片 m/z 153、128, 推测峰 11、15 分别为桑色素和 3,3',4',7-四羟基黄酮^[5]。

3.3 苯丙素类化合物

据相关文献报道, 中华常春藤中含有绿原酸^[28]。绿原酸在负离子模式下有 3 个 t_R 值, 与对照品质谱信息比对, 鉴定样品中峰 8 为绿原酸, 峰 5 为新绿

原酸, 峰 6 为隐绿原酸。绿原酸二级碎片有 m/z 191.055 5、179.034 5、161.021 5、135.043 4, m/z 191.055 5 为母离子 [M-H]⁻ 水解后奎宁酸的分子离子峰, m/z 135.043 4 为咖啡酸脱羧后的分子离子峰。秦皮甲素和秦皮乙素为香豆素类化合物, 在常春藤属中首次发现, 与秦皮甲素和秦皮乙素对照品质谱信息比对, 鉴定样品中峰 7 为秦皮甲素, 峰 9 为秦皮乙素, 秦皮甲素二级碎片有 m/z 179.038 3、135.042 8、123.046 0, 苷键断裂形成 m/z 179.038 3 和 m/z 135.042 8 碎片, m/z 179.038 3 RDA 裂解得到 m/z 123.046 0 碎片^[12]。

3.4 核苷类化合物

腺苷和鸟嘌呤为含氮化合物, 在常春藤属植物的文献暂未有相关报道, 但两者存在于大部分的植物和动物体内, 是一种生物活性良好的内源性物质。腺苷和鸟嘌呤结构的不稳定, 使得这 2 种化合物容易异构化。腺苷和鸟嘌呤对照品在 XIC Manager 软件查找中有 2 个 t_R 。腺苷对照品的 t_R 为

0.99 和 1.85 min, 植物中化合物 $C_{10}H_{13}N_5O_4$ t_R 为 1.00 和 1.82 min, 且偏差小于 6×10^{-3} , 峰 1 鉴定为腺苷, 推断峰 4 为腺苷同分异构体, 两者中碎片 m/z 136 均为腺苷脱去糖苷元后的碎片^[10]。鸟嘌呤对照品的 t_R 为 1.00 和 2.55 min, 样品中 $C_5H_5N_5O$ t_R 为 1.01 和 2.52 min, 样品中 t_R 为 1.01 min 的二级碎片有 m/z 135.030 7、110.030 4, 分别对应 $[M+H-NH_3]^+$ 和 $[M+H-NHCNH]^+$ 。根据关于鸟嘌呤的质谱报道, 鉴定该峰 2 为鸟嘌呤, 峰 5 为鸟嘌呤的同分异构体^[10]。

3.5 齐墩果酸型类化合物

熊果酸为齐墩果酸类化合物, 母核相对分子质量为 m/z 456, 相关文献报道常春藤属植物中含有该化合物^[19]。熊果酸在负离子模式下响应较好, 熊果酸对照品 t_R 为 34.70 min, 样品中化合物 $C_{30}H_{48}O_3$ 的 t_R 为 33.59 和 34.67 min, 根据熊果酸对照品 t_R 、同位素分布和二级碎片信息, 鉴定峰 45 为熊果酸, 峰 44 为齐墩果酸。

4 讨论

4.1 液质联用条件的优化

色谱柱考察了 Shim-Pack XR- C_{18} 柱、Welch C_{18} 柱和 Waters- C_{18} 柱 3 种色谱柱, 通过色谱峰以及分离度方面的考察, 发现在 Welch C_{18} 色谱柱条件下, 化合物的峰性和分离度更好, 这有利于质谱的定性分析。药材的处理本实验采用了无水乙醇、100% 甲醇、80% 乙醇, 考察发现 100% 甲醇作溶剂时得到的峰数更多。流动相考察了甲醇-水、甲醇-0.1% 甲酸、乙腈-水、乙腈-0.1% 甲酸, 流动相中加入少量的酸, 能有效的改善峰形及离子化效果。甲醇和乙腈的比较研究发现, 用乙腈-0.1% 甲酸各个峰之间分离度较好, 且大部分的峰集中在总离子流程图的中间部位, 因此选用乙腈-0.1% 甲酸作为流动相。为了最大程度的推测样品中的化合物, 本实验采用了正、负离子 2 种质谱扫描模式。

4.2 样品中化合物的分析

据有关文献报道, 中华常春藤中含有大量的多酚、黄酮和有机酸类化合物, 但该植物中并未发现, 如槲皮素、儿茶酚和咖啡酸等在正负离子模式下均未找到, 这有可能与药材的产地、药材处理过程以及液质条件有关, 有待进一步研究确证。同时从样品总离子流图中也发现, 有一些响应较好的色谱峰未能在已有数据库中找到, 证明中华常春藤中还有一些未知成分, 有待进一步研究开发。

本实验建立中华常春藤的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速分析的方法, 基于化合物的精确相对分子量、相关数据库和参考文献, 鉴定了中华常春藤中 43 个化合物。为控制中华常春藤药材的质量、稳定其临床疗效及阐释其作用机制提供了科学依据; 并且提示该方法也同样可用于其他中药及中药复方的多成分分析, 进而为中药复方的物质基础研究提供一种简单快捷、有效可靠的分析方法。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第 58 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (第 15 卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [3] Elias R, Lanza A M D, Vidal-Ollivier E, et al. Triterpenoid saponins from the leaves of *Hedera helix* [J]. *J Nat Prod*, 1991, 54(1): 98-103.
- [4] Trute A, Nahrstedt A. Identification and quantitative analysis of phenolic compounds from the dry extract of *Hedera helix* [J]. *Planta Med*, 1997, 63(2): 177-179.
- [5] Jafri L, Saleem S, Ullah N, et al. *In vitro* assessment of antioxidant potential and determination of polyphenolic compounds of *Hedera nepalensis* K. Koch [J]. *Arab J Chem*, 2014, 5(2): 1-8.
- [6] Sieben A, Prenner L, Sorkalla T, et al. α -Hederin, but not hederacoside C and hederagenin from *Hedera helix*, affects the binding behavior, dynamics, and regulation of β_2 -Adrenergic receptors [J]. *Biochemistry*, 2009, 48(15): 3477-3482.
- [7] Mendel M, Chłopecka M, Dziekan N, et al. The effect of the whole extract of common ivy (*Hedera helix*) leaves and selected active substances on the motoric activity of rat isolated stomach strips [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 134(3): 796-802.
- [8] Rai A. The effects of alcoholic *Hedera helix* plant extract on ehrlich ascitic tumour cells *in vitro* and its antitumour activities *in vivo* [J]. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 2011, 11(2): 47-50.
- [9] Zeil S, Schwanebeck U, Vogelberg C. Tolerance and effect of an add-on treatment with a cough medicine containing ivy leaves dry extract on lung function in children with bronchial asthma [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(10): 1216-1220.
- [10] 张水寒, 蔡萍, 陈林, 等. 高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱分析雪峰虫草化学成分 [J]. 中草药, 2015, 46(6): 817-821.
- [11] Abu-Reidah I M, Ali-Shtayeh M S, Jamous R M, et al. HPLC-DAD-ESI-MS/MS screening of bioactive

- components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits [J]. *Food Chem*, 2015, 166(1): 179-191.
- [12] 迪丽拜尔·马木提. 毛菊苣中秦皮甲素和秦皮乙素的药代动力学及生物转化研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2014.
- [13] 范姣姣, 文红梅, 单晨啸, 等. 基于 UFLC-Q-TOF/MS 技术的八月札化学成分研究 [J]. *中草药*, 2013, 44(23): 3282-3288.
- [14] 郭宜城, 欧阳辉, 何明珍, 等. UPLC/Q-TOF-MS/MS 鉴定西南银莲花中的皂苷类成分 [J]. *中草药*, 2014, 45(10): 1378-1387.
- [15] Bedir E, Kırmızıpekmez H, Sticher O, et al. Triterpene saponins from the fruits of *Hedera helix* [J]. *Phytochemistry*, 2000, 53(8): 905-909.
- [16] Mshvildadze V, Elias R, Faure R, et al. Triterpenoid saponins from leaves of *Hedera pastuchowii* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2004, 52(12): 1411-1415.
- [17] 许慧君. 白头翁质量评价与五环三萜皂苷类成分的物代谢动力学研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2012.
- [18] Demirci B, Goppel M, Demirci F, et al. HPLC profiling and quantification of active principles in leaves of *Hedera helix* L. [J]. *Die Pharm-An Int J Pharm Sci*, 2004, 59(10): 770-774.
- [19] Kizu H, Kitayama S, Nakatani F, et al. Studies on nepalese crude drugs. III. On the saponins of *Hedera nepalensis* K. Koch [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(8): 3324-3329.
- [20] Lee J M, Lee D G, Lee K H, et al. Isolation and identification of phytochemical constituents from the fruits of *Acanthopanax senticosus* [J]. *Afr J Pharm Pharmacol*, 2013, 7(6): 294-301.
- [21] Song J, Yeo S G, Hong E H, et al. Antiviral activity of Hederasaponin B from *Hedera helix* against Enterovirus 71 subgenotypes C₃ and C_{4a} [J]. *Biomol Therap*, 2014, 22(1): 41-46.
- [22] Tava A, Mella M, Avato P, et al. New triterpenic saponins from the aerial parts of *Medicago arabica* (L.) Huds [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(7): 2826-2835.
- [23] Kizu H, Hirabayashi S, Suzuki M, et al. Studies on the constituents of *Hedera rhombea* bean. IV. on the hederagenin glycosides. (2) [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(8): 3473-3478.
- [24] Tomimori T. Triterpene glycosides of *Hedera taurie* [J]. *Japan J Pharmacognosy*, 1987, 41(1): 55-57.
- [25] Tung N H, Quang T H, Ngan N T T, et al. Oleanolic triterpene saponins from the roots of *Panax bipinnatifidus* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2011, 59(11): 1417-1420.
- [26] Saleem S, Jafri L, ul Haq I, et al. Plants *Fagonia cretica* L. and *Hedera nepalensis* K. Koch contain natural compounds with potent dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitory activity [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 156(8): 26-32.
- [27] Gaillard Y, Blaise P, Darré A, et al. An unusual case of death: suffocation caused by leaves of common ivy (*Hedera helix*). Detection of hederacoside C, α -hederin, and hederagenin by LC-EI/MS-MS [J]. *J Anal Toxicol*, 2003, 27(4): 257-262.
- [28] Yu M, Shin Y J, Kim N, et al. Determination of saponins and flavonoids in ivy leaf extracts using HPLC-DAD [J]. *J Chromatogr Sci*, 2015, 53(4): 478-483.