

UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用快速分析川党参的化学成分

安太勇¹, 陈晓虎^{2*}, 张梅^{1*}, 张毅²

1. 成都中医药大学药学院 中药材标准化教育部重点实验室 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137
2. 重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121

摘要: 目的 采用 UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪在正、负离子模式下分离鉴定川党参 *Codonopsis tangshen* 药材的化学成分。方法 Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 分离, 以乙腈 (A)-0.1% 甲酸水溶液 (B) 为流动相进行梯度洗脱, 质谱采用正、负离子监测模式、全扫描及自动触发二级质谱扫描功能, 对川党参药材的化学成分进行快速分离和鉴定。结果 根据高分辨质谱数据从川党参 50% 甲醇提取物中共鉴定出 36 个化合物, 包括生物碱类 7 个、苯丙素类 7 个、多炔类 3 个、己醇苷与己烯醇苷 6 个、有机酸类 8 个、氨基酸类 3 个、核苷类 1 个、倍半萜类 1 个; 其中 9 个成分经与对照品比对而准确鉴定, 19 个成分在该植物中首次发现, 1 个成分为潜在的新化合物。结论 该方法可快速分离鉴定川党参的化学成分, 为其质量控制和药效物质基础研究提供理论依据。

关键词: 川党参; UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱; 生物碱; 苯丙素; 多炔

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)07-1533-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.07.008

Rapid analysis on chemical constituents in roots of *Codonopsis tangshen* by UPLC coupled with Q-Exactive quadrupole-orbitrap mass spectrometry

An Tai-yong¹, CHEN Xiao-hu², ZHANG Mei¹, ZHANG Yi²

1. State key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicines of Ministry of Education, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
2. Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing 401121, China

Abstract: Objective The chemical constituents from the roots of *Codonopsis tangshen* were isolated and identified using ultra-high performance liquid chromatography coupled with Q-Exactive quadrupole-orbitrap MS spectrometry in positive and negative ion modes. **Methods** The 50% methanol extract from the roots of *C. tangshen* was isolated on an Acquity UPLC BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm). The mobile phase was acetonitrile and water containing 0.1% formic acid by gradient elution. The constituents in the roots of *C. tangshen* were rapidly isolated and identified by HRMS in the positive and negative ion mode using both full scan and two stage threshold-triggered mass modes. **Results** A total of 36 compounds from the roots of *C. tangshen* were identified, including 7 alkaloids, 7 phenylpropanoids, 3 polyacetylenes, 6 hexanol glycosides and hexylene glycosides, 8 organic acids, 3 amino acids, 1 nucleoside, and 1 sesquiterpenoid. Among them, nine compounds were unambiguously identified comparing with the reference standards. Nineteen chemical components were reported in this plant for the first time. One of them is potential new compound. **Conclusion** Chemical components in the roots of *C. tangshen* were isolated and identified rapidly with UPLC-Q-Exactive

收稿日期: 2017-12-20

基金项目: 国家“十二五”重大新药创制专项 (2014ZX09304307-002); 药品医疗器械审评审批制度改革子课题 (中药) (ZG2016-2-06)

作者简介: 安太勇 (1993—), 男, 硕士研究生, 研究方向为药物分析。Tel: 15310077239 E-mail: 1981159708@qq.com

*通信作者 张梅 (1963—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药及其复方物质基础及质量标准化研究。

Tel: (028)61800231 E-mail: zhangmei63@126.com

陈晓虎 (1978—), 男, 硕士, 副主任中药师, 研究方向为中药质量研究。Tel: (023)86072753 E-mail: chenxiaohu78@126.com

quadrupole-orbitrap MS technology to provide the theory basis for the study on the quality control and pharmacodynamic material.

Key words: *Codonopsis tangshen* Oliv.; UPLC-Q-Exactive quadrupole-orbitrap MS; alkaloid; phenylpropanoid; polyacetylene

川党参为桔梗科植物川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv. 的干燥根, 属于《中国药典》2015年版收载品种党参的基原植物之一。主要分布于重庆、湖北、陕西等地。川党参始载于《本草纲目拾遗》, 具有健脾益肺、养血生津的功效, 主要用于脾肺气虚、咳嗽虚喘、气血不足等症^[1]。《中国药典》2015年版党参收载有3个基原: 党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.、素花党参 *C. pilosula* Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen 和川党参。目前, 对党参化学成分的研究较多, 其主要含有多糖、苯丙素、生物碱、聚乙炔醇和酚酸等多种化学成分^[2-5]; 而对于川党参化学成分的相关研究较少^[6-9], 尤其是较全面的化学成分研究还未见相关文献报道。

Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪是一种新型高分辨质谱仪, 可采用全扫描和自动触发二级扫描模式同时对正、负离子进行测定, 能够提供高质量的全扫描和 MS/MS 数据, 具有高分辨率、高灵敏度的特点, 特别适用于对中药复杂组分的鉴定^[10]。本实验利用该技术对川党参药材中的化学成分进行分离分析, 共鉴定36个化合物, 包括生物碱类7个、苯丙素类7个、多炔类3个、己醇苷与己烯醇苷6个、有机酸类8个、氨基酸类3个、核苷类1个、倍半萜类1个, 其中9个成分经与对照品比对而准确鉴定, 19个成分在该植物中首次报道, 1个成分为潜在的新化合物。本研究快速分离鉴定了川党参的化学成分, 为川党参的质量控制和药效研究提供了物质研究基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器

UPLC-Q Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪 (Thermo Fisher Scientific 公司, 美国); Ultimate 3000 超高效液相色谱系统 (Dionex 公司, 美国); Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm, Waters 公司, 美国); MSU224S-100-DU 万分之一电子天平 (Sartorius 公司, 德国); AX-205 十万分之一电子天平 (Mettler 公司, 瑞士); KQ-500DB 型超声波清洗器 (昆山市超声波仪器有限公司); Milli-Q Synergy 型超纯水仪 (Millipore 公司, 美国)。

1.2 试药

对照品党参炔苷 (批号 111732-201607)、原儿茶酸 (批号 110809-201205)、琥珀酸 (批号 110896-201602)、腺苷 (批号 110879-201703)、苯丙氨酸 (批号 140676-201706)、酪氨酸 (批号 140609-201513)、色氨酸 (批号 140686-201303) 均购于中国食品药品检定研究院; 白术内酯 III (批号 B-035-160331) 购于成都瑞芬思生物科技有限公司; 党参三醇为本实验室自制, 所有对照品的质量分数均≥97%。乙腈 (Merck 公司, 美国)、甲酸 (Sigma-Aldrich 公司, 美国) 均为 LC-MS 级, 水为纯净水 (Milli-Q Synergy 公司, 美国)。

川党参于2016年10月采自湖北省恩施市板桥镇 (N: 35°35', E: 109°16'), 经重庆市食品药品检验检测研究院中药室张毅副研究员鉴定为桔梗科植物川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv. 的根。

2 方法

2.1 UPLC 检测条件

Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈 (A) -0.1%甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0~15 min, 3%~21% A; 15~30 min, 21%~80% A; 30~33 min, 80% A); 柱温 35 °C, 体积流量 0.3 mL/min, 进样量 2 μL。

2.2 MS 检测条件

离子源为 HESI 源, 正、负离子检测模式, 鞘气压力 206.8 kPa; 辅助气体积流量 10 L/min; 喷雾电压 2.00 kV; 离子传输管温度 320 °C; 辅助气温度 350 °C; 扫描模式: Full MS/dd-MS²; Full MS 分辨率 70 000, dd-MS² 分辨率 17 500; 扫描范围 *m/z* 80~1 200; MS/MS 模式时, 所用碰撞能量为 40 eV。

2.3 混合对照品溶液的制备

分别称取党参炔苷、党参三醇、白术内酯 III、原儿茶酸、琥珀酸、腺苷、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸 9 种对照品各适量, 加 50%甲醇制成质量浓度为 0.2 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

称取川党参粉末 (过 3 号筛) 1 g 置于锥形瓶中, 精密加入 50%甲醇水溶液 25 mL, 称定质量, 超声处理 60 min, 放冷, 称定质量, 再用 50%甲醇水溶

液补足减失的质量，离心（5 000 r/min）5 min，取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。

3 结果与分析

通过 UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱检测得到川党参药材 50% 甲醇水提取物中各化学成分的保留时间（ t_R ）和质谱信息，使用 Xcalibur 3.0 软件（Thermo Fisher Scientific 公司，美国）对高分辨质谱信息进行数据分析，结合对照品及相关文献的比对进行化合物的确认。总离子流图见图 1，被鉴定化合物的 t_R 、质谱信息和相关文献见表 1。

3.1 生物碱类化合物的鉴定

在正离子模式下，峰 5 在一级质谱中准分子离子峰为 m/z 416 $[M+H]^+$ ，在二级质谱中， $[M+H]^+$ 失去 1 个葡萄糖残基 $C_6H_{10}O_5$ 形成特征碎片 m/z 254 $[M+H-C_6H_{10}O_5]^+$ ，再失去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 236 $[M+H-C_6H_{10}O_5-H_2O]^+$ ，继续失去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 218 $[M+H-C_6H_{10}O_5-2H_2O]^+$ ；或特征碎片 m/z 236 失去 1 分子 NH_2CH_3 形成特征碎片 m/z 205 $[M+H-C_6H_{10}O_5-H_2O-NH_2CH_3]^+$ ，再失去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 187 $[M+H-C_6H_{10}O_5-2H_2O-NH_2CH_3]^+$ ；或特征碎片 m/z 236 失去 1 分子 C_3H_9NO 形成特征碎片 m/z 161 $[M+H-C_6H_{10}O_5-H_2O-C_3H_9NO]^+$ ，质谱裂解途径见图 2。峰 7、9 均呈现失去 1 分子 H_2O 、失去 2 分子 H_2O 、失去 1 分子 NH_2CH_3 的裂解规律，峰 7 的质谱裂解碎片与峰 5 失去 1 个葡萄糖残基 $C_6H_{10}O_5$

$C_6H_{10}O_5$ 后的质谱裂解碎片相同，其中峰 7 应为峰 5 的苷元部分，峰 9 仅比峰 7 少 1 个羟基，根据质谱信息和相关文献报道^[13,15]比较，推测峰 5、7、9 分别为 codonopiloside A、codonopsinol B 和党参次碱。

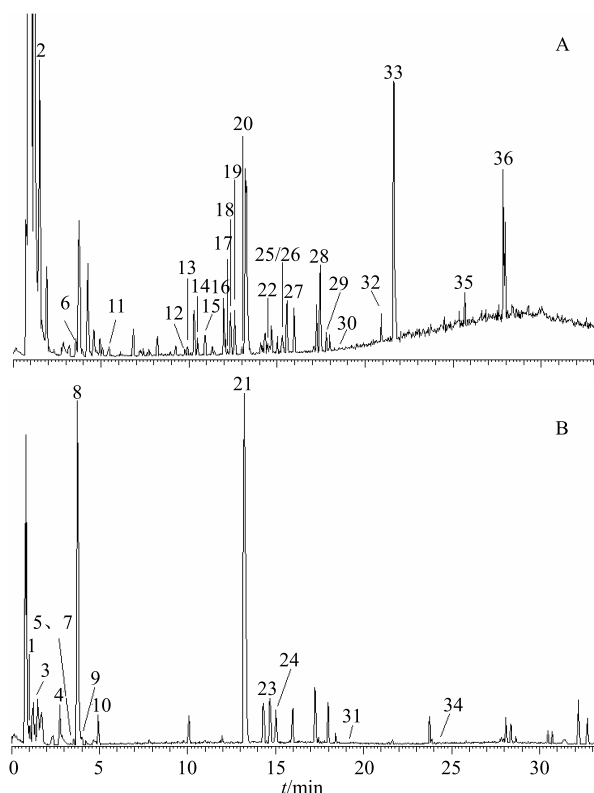


图 1 川党参负离子模式 (A) 和正离子模式 (B) 下的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms in negative ion (A) and positive ion (B) mode for extract from roots of *C. tangshen*

表 1 UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱对川党参中化学成分的鉴定分析

Table 1 Identification of chemical constituents from roots of *C. tangshen* by UPLC-quadrupole-orbitrap MS

峰号	t_R /min	准分子离子	偏差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	碎片离子	化合物	类型
1 [#]	1.33	182.081 1 $[M+H]^+$	0.111	$C_9H_{11}NO_3$	165.054 4 $[M+H-NH_3]^+$, 147.043 8 $[M+H-NH_3-H_2O]^+$, 136.075 5 $[M+H-HCOOH]^+$	酪氨酸 ^[11]	a
2 ^{*#}	1.44	117.018 2 $[M-H]^-$	-0.300	$C_4H_6O_4$	99.007 6 $[M-H-H_2O]^-$, 73.028 2 $[M-H-CO_2]^-$	琥珀酸 ^[12]	b
3 [#]	1.46	268.103 7 $[M+H]^+$	-1.009	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	136.061 6 $[M+H-C_5H_8O_4]^+$	腺苷 ^[4,6]	c
4 [#]	2.77	166.086 2 $[M+H]^+$	-0.272	$C_9H_{11}NO_2$	149.059 5 $[M+H-NH_3]^+$, 131.049 0 $[M+H-NH_3-H_2O]^+$, 120.080 8 $[M+H-HCOOH]^+$	苯丙氨酸 ^[11]	a
5 [*]	3.38	416.191 4 $[M+H]^+$	-0.379	$C_{19}H_{29}NO_9$	254.138 4 $[M+H-C_6H_{10}O_5]^+$, 236.108 6 $[M+H-C_6H_{10}O_5-H_2O]^+$, 218.118 4 $[M+H-C_6H_{10}O_5-2H_2O]^+$, 205.085 9 $[M+H-C_6H_{10}O_5-H_2O-NH_2CH_3]^+$, 187.075 4 $[M+H-C_6H_{10}O_5-2H_2O-NH_2CH_3]^+$, 161.060 4 $[M+H-C_6H_{10}O_5-H_2O-C_3H_9NO]^+$	codonopiloside A ^[13]	d
6 ^{*#}	3.53	153.018 4 $[M-H]^-$	1.469	$C_7H_6O_4$	109.028 3 $[M-H-CO_2]^-$	原儿茶酸 ^[14]	b

续表 1

峰号	t_R/min	准分子离子	偏差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	碎片离子	化合物	类型
7*	3.55	254.138 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$	-0.766	$\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_4$	236.128 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 218.118 5 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, 205.085 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{NH}_2\text{CH}_3]^+$, 187.075 6 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{NH}_2\text{CH}_3]^+$, 161.059 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_9\text{NO}]^+$	codonopsinol B ^[13]	d
8	3.75	268.154 0 $[\text{M}]^+$	-1.062	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{NO}_4$	250.142 4 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 220.133 3 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}]^+$, 205.086 1 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{NH}(\text{CH}_3)_2]^+$, 161.059 4 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}]^+$	codonopyrrolidium B ^[6]	d
9*	4.09	238.143 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$	-1.050	$\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_3$	220.133 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 202.122 6 $[\text{M}+\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, 189.090 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{NH}_2\text{CH}_3]^+$	党参次碱 ^[15]	d
10 [#]	4.93	205.096 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$	-0.849	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	188.070 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{NH}_3]^+$, 170.059 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{NH}_3-\text{H}_2\text{O}]^+$, 159.091 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{HCOOH}]^+$	色氨酸 ^[11]	a
11*	5.45	137.023 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$	0.945	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$	93.033 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$	对羟基苯甲酸 ^[14]	b
12	9.75	423.188 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$	5.510	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_{11}$	261.134 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$	反式-2-己烯基- β -槐糖苷 ^[45]	e
13*	9.92	163.039 2 $[\text{M}-\text{H}]^-$	1.898	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	119.049 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$	香豆酸 ^[14]	f
14*	10.49	423.188 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$	5.652	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_{11}$	261.134 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$	顺式-3-己烯基- β -槐糖苷 ^[5,7]	e
15*	10.92	325.093 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$	5.371	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_8$	163.039 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 119.049 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CO}_2]^-$	香豆酸葡萄糖苷 ^[4]	f
16	11.96	677.231 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$	4.089	$\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_{18}$	497.167 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^-$, 453.177 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{CO}_2]^-$	党参苷 I ^[8]	f
17	12.20	393.177 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$	5.612	$\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{O}_{10}$	261.134 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4]^-$	2-己烯基- β -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- α -L-阿拉伯糖苷 ^[7]	e
18	12.36	425.204 2 $[\text{M}-\text{H}]^-$	5.837	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_{11}$	263.150 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 101.023 1 $[\text{M}-\text{H}-2\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$	己基- β -槐糖苷 ^[7]	e
19*	12.57	469.135 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$	4.002	$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$	325.092 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_4]^-$, 163.039 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 119.048 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CO}_2]^-$	党参苷 V 异构体 ^[5]	f
20	13.00	425.203 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$	5.272	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_{11}$	263.150 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 101.023 1 $[\text{M}-\text{H}-2\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$	己基- β -龙胆二糖苷 ^[7]	e
21	13.29	350.195 8 $[\text{M}]^+$	-1.141	$\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{NO}_5$	268.155 0 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_7\text{O}+\text{H}]^+$, 250.143 5 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_7\text{O}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 220.133 0 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_7\text{O}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}]^+$, 205.085 8 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_7\text{O}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{NH}(\text{CH}_3)_2]^+$, 161.059 4 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_7\text{O}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}]^+$	codonopyrrolidium A ^[6]	d
22*	14.57	395.193 0 $[\text{M}-\text{H}]^-$	4.824	$\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{O}_{10}$	263.150 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4]^-$, 101.023 1 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$	五碳醛糖基葡萄糖正己醇苷 ^[5]	e
23*	14.69	352.211 7 $[\text{M}]^+$	-0.339	$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{NO}_5$	268.153 1 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_9\text{O}+\text{H}]^+$, 250.143 5 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_9\text{O}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 220.133 0 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_9\text{O}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}]^+$, 205.085 8 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_9\text{O}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{NH}(\text{CH}_3)_2]^+$, 161.059 4 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_9\text{O}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}]^+$	未知化合物	d
24*	15.02	350.195 8 $[\text{M}]^+$	-1.141	$\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{NO}_5$	268.154 5 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_7\text{O}+\text{H}]^+$, 250.143 1 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_7\text{O}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 205.085 9 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_7\text{O}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{NH}(\text{CH}_3)_2]^+$	codonopyrrolidium A 异构体	d

续表 1

峰号	t_R/min	准分子离子	偏差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	碎片离子	化合物	类型
25	15.30	557.225 1 [M-H] ⁻	4.114	C ₂₆ H ₃₈ O ₁₃	233.118 2 [M-H-C ₁₂ H ₂₀ O ₁₀] ⁻ , 215.107 2 [M-H-C ₁₂ H ₂₀ O ₁₀ -H ₂ O] ⁻	lobetyolinin ^[12]	g
26	15.37	469.136 0 [M-H] ⁻	4.130	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₂	325.093 3 [M-H-C ₆ H ₈ O ₄] ⁻ , 163.039 1 [M-H-C ₆ H ₈ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 119.049 0 [M-H-C ₆ H ₈ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO ₂] ⁻	党参昔 V ^[4-5,9]	f
27 [*]	15.39	187.097 0 [M-H] ⁻	2.857	C ₉ H ₁₆ O ₄	169.086 1 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 125.096 0 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻	壬二酸 ^[4-5]	b
28 [#]	17.46	395.172 0 [M-H] ⁻	4.949	C ₂₀ H ₂₈ O ₈	233.117 7 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 215.106 9 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -H ₂ O] ⁻	党参炔昔 ^[16]	g
29	17.79	823.269 2 [M-H] ⁻	4.579	C ₃₈ H ₄₈ O ₂₀	497.167 6 [M-H-C ₁₅ H ₁₈ O ₈] ⁻ , 453.227 0 [M-H-C ₁₅ H ₁₈ O ₈ -CO ₂] ⁻ , 325.092 0 [M-H-C ₂₃ H ₃₀ O ₁₂] ⁻ , 163.039 1 [M-H-C ₂₃ H ₃₀ O ₁₂ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 119.048 9 [M-H-C ₂₃ H ₃₀ O ₁₂ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO ₂] ⁻	6''-反式对香豆酰党参昔 I ^[4-6]	f
30	18.53	823.269 4 [M-H] ⁻	4.725	C ₃₈ H ₄₈ O ₂₀	497.167 3 [M-H-C ₁₅ H ₁₈ O ₈] ⁻ , 453.227 1 [M-H-C ₁₅ H ₁₈ O ₈ -CO ₂] ⁻ , 325.092 5 [M-H-C ₂₃ H ₃₀ O ₁₂] ⁻ , 163.039 1 [M-H-C ₂₃ H ₃₀ O ₁₂ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 119.049 1 [M-H-C ₂₃ H ₃₀ O ₁₂ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO ₂] ⁻	6''-顺式对香豆酰党参昔 I ^[4-6]	f
31 [#]	19.12	235.132 8 [M+H] ⁺	-0.259	C ₁₄ H ₁₈ O ₃	217.122 2 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 199.111 7 [M+H-2H ₂ O] ⁺	党参三醇 ^[16]	g
32 [*]	20.91	327.218 4 [M-H] ⁻	5.744	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	229.144 4 [M-H-C ₆ H ₁₀ O] ⁻ , 211.133 6 [M-H-C ₆ H ₁₀ O-H ₂ O] ⁻	9,12,13-三羟基-10,15-十八碳二烯酸 ^[5]	b
33 [*]	21.61	329.233 8 [M-H] ⁻	4.706	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	229.144 4 [M-H-C ₆ H ₁₂ O] ⁻ , 211.133 6 [M-H-C ₆ H ₁₂ O-H ₂ O] ⁻	9,12,13-三羟基-10-十八碳烯酸 ^[5]	b
34 ^{*#}	24.24	249.148 2 [M+H] ⁺	-1.068	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	231.137 7 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 203.142 9 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺	白术内酯 III ^[17]	h
35 [*]	25.65	313.239 0 [M-H] ⁻	5.536	C ₁₈ H ₃₄ O ₄	201.112 7 [M-H-C ₈ H ₁₆] ⁻	9,10-二羟基-12-十八碳烯酸 ^[5]	b
36 [*]	27.84	295.228 0 [M-H] ⁻	4.467	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	277.217 5 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 251.239 2 [M-H-CO ₂] ⁻	9,10-环氧-12-十八碳烯酸 ^[4]	b

*首次报道从川党参中分离得到; #经与对照品比对确认; a-氨基酸 b-有机酸 c-核苷 d-生物碱 e-己醇昔及己烯醇昔 f-苯丙素 g-多炔 h-倍半萜

*Compositions reported from roots of *C. tangshen* for the first time; #compositions identified by comparing with reference standards; a-amino acid b-organic acid c-nucleoside d-alkaloid e-hexanol glycoside and hexylene glycoside f-phenylpropanoid g-polyacetylene h-sesquiterpenoid

在正离子模式下, 峰 21 和 24 在一级质谱中准分子离子峰均为 m/z 350 [M]⁺, 峰 21 在二级质谱中, [M]⁺失去 C₅H₇O 形成特征碎片 m/z 268 [M-C₅H₇O+H]⁺; 再失去 1 分子 H₂O 形成特征碎片 m/z 250 [M-C₅H₇O+H-H₂O]⁺; 特征碎片 m/z 250 失去 CH₂O 形成特征碎片 m/z 220 [M-C₅H₇O+H-H₂O-CH₂O]⁺; 或特征碎片 m/z 250 失去 1 分子 NH (CH₃)₂ 形成特征碎片 m/z 205 [M-C₅H₇O+H-H₂O-NH (CH₃)₂]⁺; 或特征碎片 m/z 250 失去 1 分子 C₄H₁₁NO

形成特征碎片 m/z 161 [M-C₅H₇O+H-H₂O-C₄H₁₁NO]⁺, 质谱裂解途径见图 3。峰 8 的裂解碎片与峰 21 失去 C₅H₇O 后的裂解碎片一致, 应为峰 21 的昔元部分; 峰 24 在二级质谱中除未出现离子碎片 m/z 220、161 外, 其余离子碎片同峰 21; 根据质谱信息和相关文献报道^[7,12]比较, 推测峰 8 为 codonopyrrolidium B, 峰 21 为 codonopyrrolidium A, 峰 24 为 codonopyrrolidium A 异构体。

在正离子模式下, 峰 23 在一级质谱中准分子离子

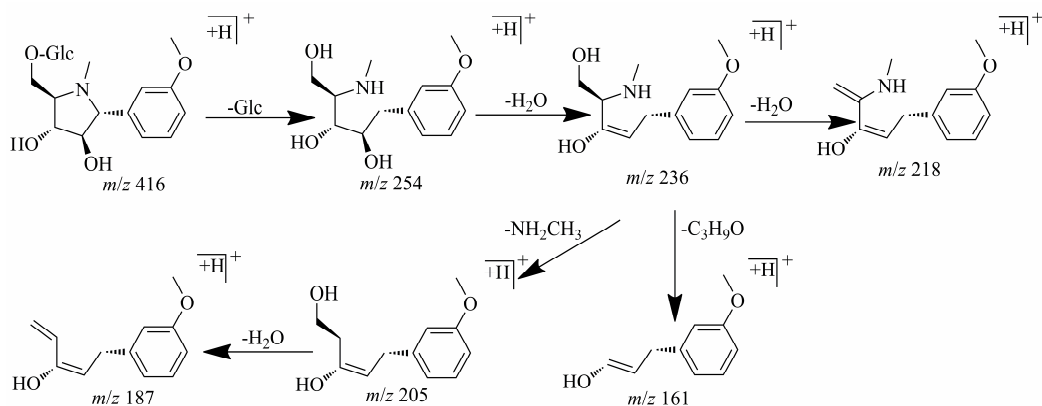


图 2 Codonopiloside A 质谱裂解途径

Fig. 2 MS fragmentation pathway of codonopiloside A

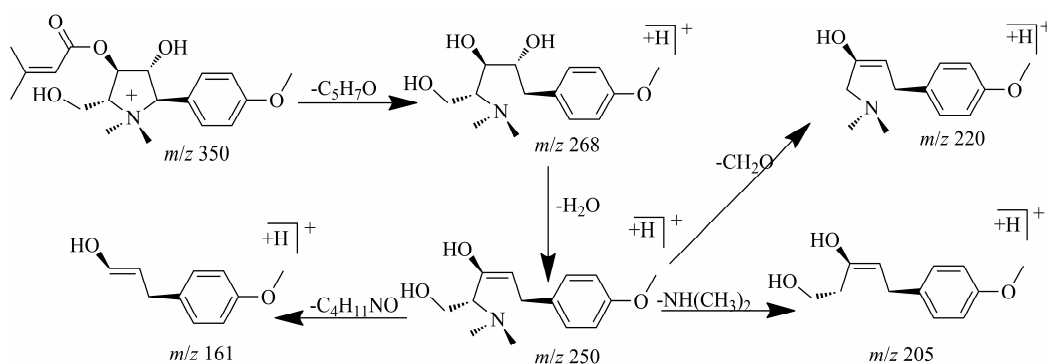


图 3 Codonopyrrolidinium A 质谱裂解途径

Fig. 3 MS fragmentation pathway of codonopyrrolidinium A

子峰为 m/z 352 $[M]^+$, 根据精确分子质量计算该化合物的分子式为 $C_{19}H_{30}NO_5$, 与峰 21 相比多 2 个 H 原子, 在二级质谱中, 除离子碎片 m/z 85 与峰 21 中离子碎片 m/z 83 不同外, 其余离子碎片均相同, 推测其结构为 codonopyrrolidinium A 中的丁烯酰基结构的饱和结构。在 Scifinder、Chemspider 等在线数据库中均未检索到与之相匹配的结构, 因此推测峰 23 为潜在的新化合物, 其精确结构有待于通过获得单体化合物经谱学方法 (如 NMR) 确证。

3.2 苯丙素类化合物的鉴定

在负离子模式下, 峰 19 和 26 在一级质谱中均出现准分子离子峰 m/z 469 $[M-H]^-$, 在二级质谱中均出现 $[M-H]^-$ 失去 $C_6H_8O_4$ 形成特征碎片 m/z 325 $[M-H-C_6H_8O_4]^-$, 再失去 1 个葡萄糖残基 $C_6H_{10}O_5$ 形成特征碎片 m/z 163 $[M-H-C_6H_8O_4-C_6H_{10}O_5]^-$, 继续失去 1 分子 CO_2 形成特征碎片 m/z 119 $[M-H-C_6H_8O_4-C_6H_{10}O_5-CO_2]^-$, 质谱裂解途径见图 4。根据质谱信息和相关文献数据^[4-5,9]比较, 推测峰 19 为

党参昔 V 异构体, 峰 26 为党参昔 V。

在负离子模式下, 峰 29 和 30 在一级质谱中均出现准分子离子峰 m/z 823 $[M-H]^-$, 在二级质谱中均出现 $[M-H]^-$ 发生糖苷键断裂形成的特征碎片 m/z 497 $[M-H-C_{15}H_{18}O_8]^-$ 和 m/z 325 $[M-H-C_{23}H_{30}O_{12}]^-$, 特征碎片 m/z 497 失去 1 分子 CO_2 形成特征碎片 m/z 453 $[M-H-C_{15}H_{18}O_8-CO_2]^-$; 或特征碎片 m/z 325 失去 1 个葡萄糖残基 $C_6H_{10}O_5$ 形成特征碎片 m/z 163 $[M-H-C_{23}H_{30}O_{12}-C_6H_{10}O_5]^-$, 再失去 1 分子 CO_2 形成特征碎片 m/z 119 $[M-H-C_{23}H_{30}O_{12}-C_6H_{10}O_5-CO_2]^-$, 质谱裂解途径见图 5。根据质谱信息与相关文献^[4-6]比较, 初步推测峰 29 和 30 的结构为 6'''-对香豆酰党参昔 I 的顺式或反式结构, 通过 Discovery Studio 软件计算二者的脂水分分配系数 ($\log P$ 值) 分别为 0.59、0.47, 反式结构极性稍强, 在反相色谱柱中较先出峰, 因此推测峰 29 和 30 分别为 6'''-反式对香豆酰党参昔 I 和 6'''-顺式对香豆酰党参昔 I。

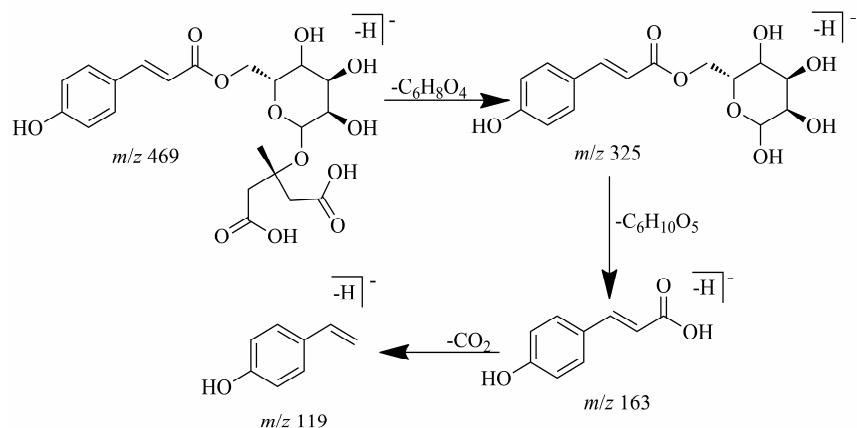


图 4 党参苷 V 质谱裂解途径

Fig. 4 MS fragmentation pathway of tangshenoside V

3.3 多炔类化合物的鉴定

在负离子模式下, 峰 25 在一级质谱中出现准分子离子峰 m/z 557 $[M-H]^-$, 在二级质谱中 $[M-H]^-$ 失去 1 个槐糖残基形成特征碎片 233 $[M-C_{12}H_{20}O_{10}]^-$, 继续失去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 215 $[M-C_{12}H_{20}O_{10}-H_2O]^-$, 质谱裂解途径见图 6。根据质谱信息和相关文献报道^[12]比较, 推测该化合物为 lobetyolinin。

3.4 己醇苷及己烯醇苷类化合物的鉴定

在负离子模式下, 峰 12 和 14 在一级质谱中均

出现准分子离子峰 m/z 423 $[M-H]^-$, 在二级质谱中均出现: $[M-H]^-$ 失去 1 个葡萄糖残基 ($C_6H_{10}O_5$) 形成特征碎片 m/z 261 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ 。根据质谱信息和相关文献报道^[5,7]比较, 初步推测峰 12 和 14 为顺式-3-己烯基- β -槐糖苷和反式-2-己烯基- β -槐糖苷, 通过软件计算二者的 $\log P$ 值分别为-2.0、-1.86, 后者极性稍强, 在反相色谱柱中较先出峰, 因此推测峰 12 和 14 分别为反式-2-己烯基- β -槐糖苷和顺式-3-己烯基- β -槐糖苷。

在负离子模式下, 峰 18 和 20 在一级质谱中均

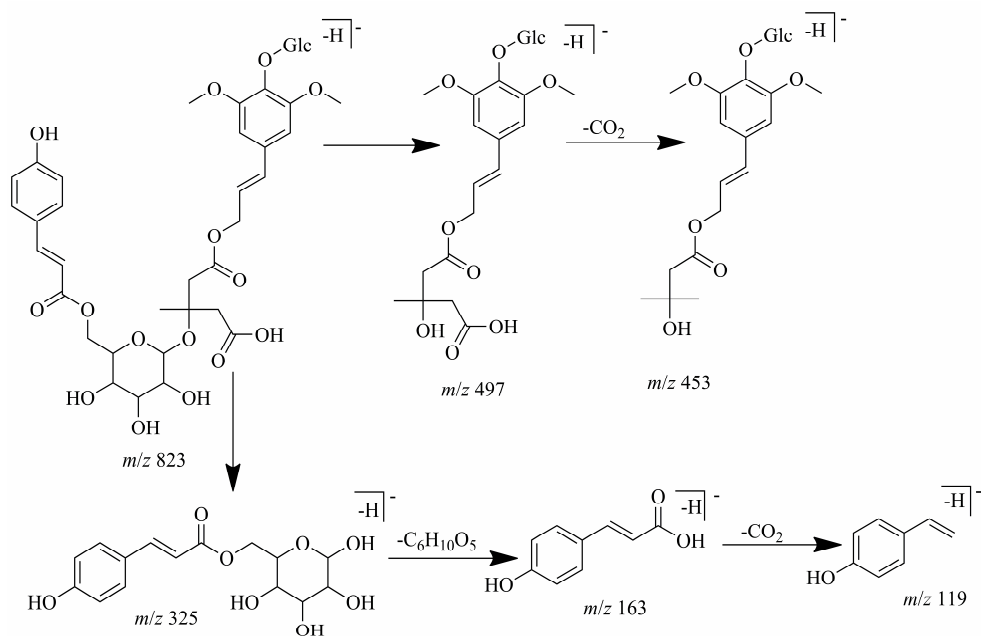


图 5 6'''-反式对香豆酰党参苷 I 和 6'''-顺式对香豆酰党参苷 I 质谱裂解途径

Fig. 5 MS fragmentation pathways of 6'''-*trans-p*-coumaroyl-tangshenoside I and 6'''-*cis-p*-coumaroyl-tangshenoside I

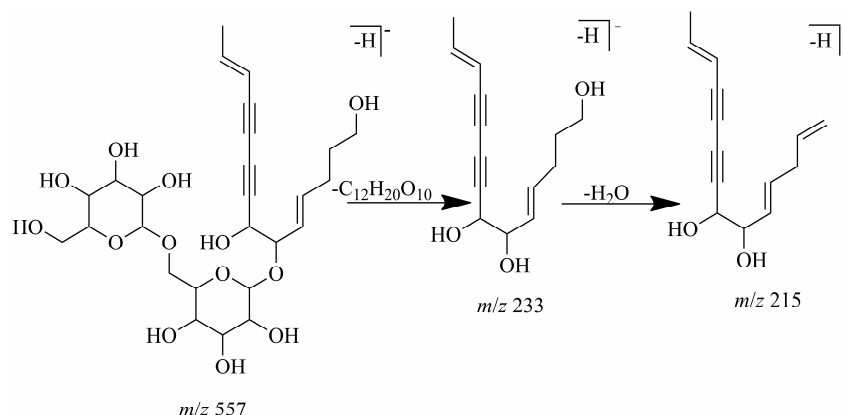


图 6 Lobetyolinin 质谱裂解途径

Fig. 6 MS fragmentation pathway of lobetyolinin

出现准分子离子峰 m/z 425 $[M-H]^-$, 在二级质谱中均出现 $[M-H]^-$ 失去 1 个葡萄糖残基形成特征碎片 m/z 263 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$, 再失去 1 个葡萄糖残基 $C_6H_{10}O_5$ 形成特征碎片 m/z 101 $[M-H-2C_6H_{10}O_5]^-$ 。根据质谱信息和相关文献报道^[4,7]比较, 初步推测峰 18 和 20 为己基- β -槐糖苷或己基- β -龙胆二糖苷, 通过软件计算二者的 $\log P$ 值分别为 -1.68、-1.72, 后者极性稍弱, 在反相色谱柱中较后出峰, 因此推测峰 18 和 20 分别为己基- β -槐糖苷和己基- β -龙胆二糖苷。

在负离子模式下, 峰 22 在一级质谱中出现准分子离子峰 m/z 395 $[M-H]^-$, 在二级质谱中, $[M-H]^-$ 失去 1 个五碳醛糖残基 ($C_5H_8O_4$) 形成特征碎片 m/z 263 $[M-H-C_5H_8O_4]^-$, 再失去 1 个葡萄糖残基形成特征碎片 m/z 101 $[M-H-C_5H_8O_4-C_6H_{10}O_5]^-$, 质谱裂解途径见图 7。根据质谱信息和相关文献报道^[5]比较, 推测峰 22 为五碳醛糖基葡萄糖正己醇苷。

3.5 有机酸类化合物的鉴定

在负离子模式下, 峰 32 在一级质谱中出现准分

子离子峰 m/z 327 $[M-H]^-$, 在二级质谱中, $[M-H]^-$ 失去 $C_6H_{10}O$ 形成特征碎片 m/z 229 $[M-H-C_6H_{10}O]^-$, 失去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 211 $[M-H-C_6H_{10}O-H_2O]^-$, 质谱裂解途径见图 8。根据质谱信息和相关文献报道^[5]比较, 推测峰 32 为 9,12,13-三羟基-10,15-十八碳二烯酸。

3.6 倍半萜类化合物的鉴定

在正离子模式下, 峰 34 在一级质谱中准分子离子峰为 m/z 249 $[M+H]^+$, 在二级质谱中, $[M+H]^+$ 失去 1 分子 H_2O 形成特征碎片 m/z 231 $[M+H-H_2O]^+$, 再失去 1 分子 CO 形成特征碎片 m/z 203 $[M+H-H_2O-CO]^+$, 质谱裂解途径见图 9。根据质谱信息和相关文献数据^[17]并与对照品比较, 判定峰 34 为白术内酯 III。

3.7 核苷类化合物的鉴定

在正离子模式下, 峰 3 在一级质谱中准分子离子峰为 m/z 268 $[M+H]^+$, 在二级质谱中, $[M+H]^+$ 失去 1 分子呋喃核糖残基 ($C_5H_8O_4$) 形成特征碎片 m/z 136 $[M+H-C_5H_8O_4]^+$, 质谱裂解途径见图 10。根据质谱信息和相关文献^[4,6]并与对照品比较, 判定

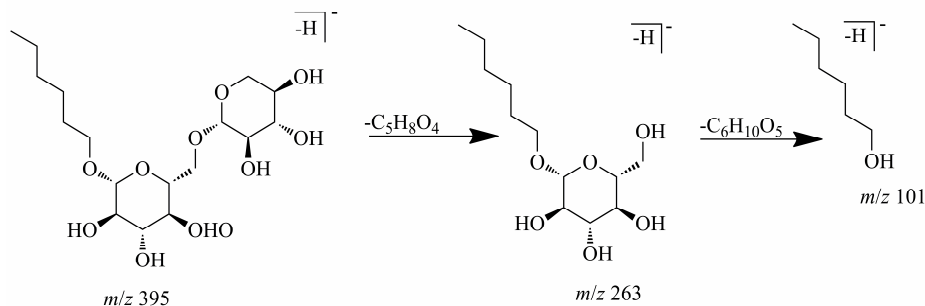


图 7 五碳醛糖基葡萄糖正己醇苷质谱裂解途径

Fig. 7 MS fragmentation pathway of hexyl-6-O- β -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranoside

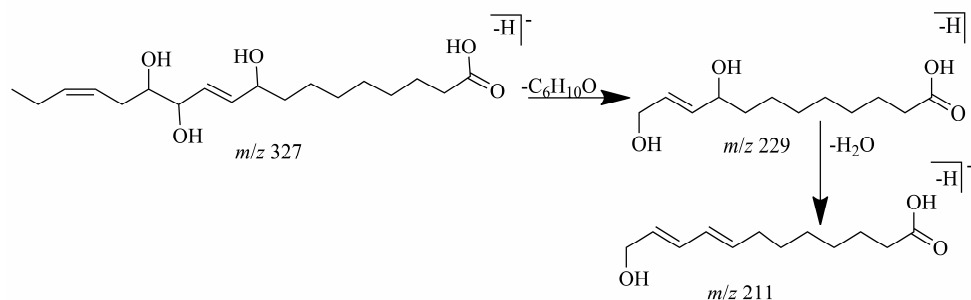


图 8 9,12,13-三羟基-10,15-十八碳二烯酸质谱裂解途径

Fig. 8 MS fragmentation pathway of 9,12,13-trihydroxy-10,15-octadecadienoic acid

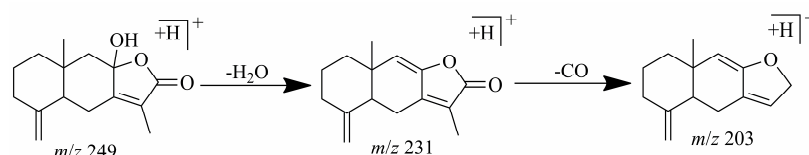


图 9 白术内酯 III 质谱裂解途径

Fig. 9 MS fragmentation pathway of atractylenolide III

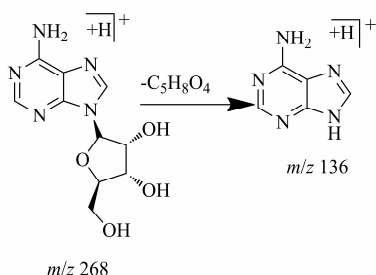


图 10 腺苷质谱裂解途径

Fig. 10 MS fragmentation pathway of adenosine

峰 3 为腺苷。

4 讨论

4.1 川党参提取方法的优化

考虑天然产物化学结构的稳定性,本研究采用超声提取,比较了乙醇、甲醇、70%甲醇水、50%甲醇水和 30%甲醇水的提取效率,结果显示 50%甲醇水提取溶液中的质谱信息丰富,化合物种类多;比较了不同超声提取时间,结果表明超声提取 60 min 比 30、45 min 质谱响应高,故选择超声提取 60 min。

4.2 川党参化学成分分析

Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱同时具有高分辨率和高灵敏度的特点,可以得到微量成分的高分辨质谱信息,同时结合自动触发多级质谱技术,极大丰富了化合物多级质谱裂解信息,尤其适用于缺乏对照品的传统中药化学成分筛查以及新化合物的发掘。本研究仅利用液质信息就从川

党参中分离鉴定出 36 个化合物,其中 19 个为首次在该植物中报道,1 个为潜在的新化合物,表明 Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱在快速筛查天然药物方面具有独道优势。川党参中化学成分与文献报道的党参和素花党参中成分不尽相同,多种成分(如 codonopyrrolidinium A、codonopyrrolidinium B 等)都为川党参中独有,而党参中有的多种成分(如 codonopsin A、radicamine A、京尼平苷等)^[4,13]在川党参中未检出,有必要从化学成分方面对川党参的道地性进行深入研究。本实验通过对川党参药材化学成分的研究,为进一步阐明其药效物质基础以及更深入的开发利用提供了理论依据。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 冯佩佩, 李忠祥, 原 忠. 党参属药用植物化学成分和药理研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(4): 207-311.
- [3] He J Y, Ma N, Zhu S, et al. The genus *Codonopsis* (Campanulaceae): A review of phytochemistry, bioactivity and quality control [J]. *J Nat Med*, 2015, 69(1): 1-21.
- [4] Ma X Q, Leung A K M, Chan C L, et al. UHPLC-MS/MS analysis of the impact of sulfur fumigation on the chemical profile of *Codonopsis Radix* (Dangshen) [J]. *Analyst*, 2014, 139(2): 505-516.
- [5] 张 靖, 徐筱杰, 徐 文, 等. HPLC-LTQ-Orbitrap-MSⁿ 快速鉴别党参药材中化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志

- 志, 2015, 21(9): 59-63.
- [6] Tsai T H, Lin L C. Phenolic glycosides and pyrrolidine alkaloids from *Codonopsis tangshen* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2008, 56(11): 1546-1550.
- [7] Yuda M, Ohtani K, Mizutani K, *et al.* Neolignan glycosides from roots of *Codonopsis tangshen* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(6): 1989-1993.
- [8] Mizutani K, Yuda M, Tanaka O, *et al.* Tangshenosides I and II from chuan-dangshen, the roots of *Codonopsis tangshen* Oliv. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(7): 2726-2729.
- [9] Song D, Chou G X, Zhong G Y, *et al.* Two new phenylpropanoid derivatives from *Codonopsis tangshen* Oliv. [J]. *Helv Chim Acta*, 2008, 91(10): 1984-1988.
- [10] 王勇为. 确证定量分析新工具-Thermo Scientific Q Exactive 台式四极杆-轨道阱高分辨质谱仪 [J]. 现代科学仪器, 2011, 10(5): 138-140.
- [11] 杨 鲜, 祝慧凤, 王 涛, 等. 重庆巫山等多地党参氨基酸及营养价值比较与分析 [J]. 食品科学, 2014, 35(15): 251-257.
- [12] 朱恩圆, 贺 庆, 王峥涛, 等. 党参化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(2): 94-95.
- [13] Wakana D, Kawahara N, Goda Y. Two new pyrrolidine alkaloids, codonopsinol C and codonopiloside A, isolated from *Codonopsis pilosula* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2013, 61(12): 1315-1317.
- [14] Norr H, Wagner H. New constituents from *Codonopsis pilosula* [J]. *Planta Med*, 1994, 60(5): 494-495.
- [15] Tashkhodzhaev B, Aripova S F, Turgunov K K, *et al.* Stereochemistry of the alkaloids codonopsine and codonopsinine [J]. *Chem Nat Compd*, 2004, 40(6): 618-619.
- [16] He J Y, Zhu S, Goda Y, *et al.* Quality evaluation of medicinally-used *Codonopsis* species and *Codonopsis Radix* based on the contents of pyrrolidine alkaloids, phenylpropanoid and polyacetylenes [J]. *J Nat Med*, 2014, 68(2): 326-339.
- [17] Wang Z T, Xu G J, Hattori M. Constituents of the roots of *Codonopsis pilosula* [J]. *Shoyakugaku Zasshi*, 1988, 42(4): 339-342.