

QTRAP-UFLC-MS/MS 同时测定不同产地番荔枝子中氨基酸和核苷类成分的含量及 PCA 和 TOPSIS 分析

李 月, 胡 鹏, 张园娇, 陈亚运, 陈建伟, 李 祥*

南京中医药大学, 江 苏 南 京 210023

摘 要: **目的** 建立超快速液相色谱-串联四级杆/线性离子阱质谱 (QTRAP-UFLC-MS/MS) 同时测定不同产地番荔枝子中氨基酸和核苷类成分含量的方法, 分析比较不同产地样品中 25 种成分的差异, 为番荔枝子资源的综合利用提供科学依据。**方法** 采用 Waters XBridge Amide 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 3.5 μm); 以 0.2% 甲酸水 (A) -0.2% 甲酸乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱, 体积流量 0.6 mL/min; 柱温 30 °C, 正离子多反应监测 (MRM) 模式测定。采用主成分分析 (PCA) 和 TOPSIS 分析对不同产地番荔枝子进行综合性评价。**结果** 15 种氨基酸和 10 种核苷类成分的浓度与峰面积呈良好的线性关系 ($r^2 > 0.9947$); 方法精密性、重复性和稳定性的 RSD 值均小于 3.87%; 平均加样回收率在 94.90%~98.78%, RSD 在 0.84%~3.01%。不同产地番荔枝子中氨基酸和核苷类成分存在一定的差异性, 其中海南产的综合质量最高。**结论** 该方法简便、准确、可靠, 可根据目标成分优选不同产地的番荔枝子, 也为其质量评价提供了可靠的依据。

关键词: 番荔枝子; 氨基酸; 核苷; UFLC-MS/MS; 不同产地; PCA; TOPSIS

中图分类号: R286.022 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)11-2671-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.11.028

PCA and TOPSIS analysis and determination of amino acids and nucleosides in seeds of *Annona squamosa* from different producing areas by QTRAP-UFLC-MS/MS

LI Yue, HU Peng, ZHANG Yuan-jiao, CHEN Ya-yun, CHEN Jian-wei, LI Xiang

Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To establish a QTRAP-UFLC-MS/MS method for the determination of 15 kinds of amino acids and 10 kinds of nucleosides in the seeds of *Annona squamosa* from different producing areas, to analyze and investigate the difference of the 25 components in samples from five habitats, and provide scientific basis for its comprehensive utilization. **Methods** The analysis was carried out on a Waters XBridge Amide column (100 mm × 2.1 mm, 3.5 μm) with elution by mobile phase of 0.2% formic acid in water (A)-0.2% formic acid in acetonitrile (B) at a flow rate of 0.6 mL/min. The column temperature was maintained at 30 °C. The target compounds were analyzed by the positive ion multiple reaction monitoring (MRM) mode. The comprehensive evaluation of the seeds from *A. squamosa* in five habitats was carried out by PCA and TOPSIS analysis. **Results** All 15 kinds of amino acids and 10 kinds of nucleosides showed good linearity ($r^2 > 0.9947$). The RSDs of the precision, repeatability, and stability tests were less than 3.87%. The average recovery rates were in the range from 94.90% to 98.78%, RSDs were in the range from 0.84% to 3.01%. There are differences in the composition and content of amino acids and nucleosides in the seeds of *A. squamosa* from different habitats, among which Hainan produced the highest comprehensive quality. **Conclusion** The method is simple, accurate, and reliable, which can provide the reliable basis for quality evaluation of the seeds from *A. squamosa*, and samples from different habitats can be optimized according to the target component.

Key words: seeds of *Annona squamosa*; amino acids; nucleosides; UFLC-MS/MS; producing area; PCA; TOPSIS

番荔枝子为番荔枝科番荔枝属植物番荔枝 *Annona squamosa* Linn. 的干燥成熟种子^[1], 性味

苦、寒, 归心、肺、肝、肾、脾经, 其功效为消积杀虫、清热解毒、解郁、止血^[2-3], 临床上主要用于

收稿日期: 2017-12-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81274057, 81573577)

作者简介: 李 月 (1993—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药化学活性成分的基础研究及应用。E-mail: 15295518509@163.com

*通信作者 李 祥 (1953—), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药及复方药效物质基础。E-mail: lixiang_8182@163.com

恶疮肿痛、驱虫等^[4-5]，化学成分有内酯、二萜、环肽、生物碱及少量黄酮、木脂素等成分，具有多种生物活性。现代药理研究表明，氨基酸是构建人体细胞、修复人体组织的基础物质，具有营养支持、免疫调节、抗肿瘤等作用^[6]；核苷类成分是生物细胞维持生命的重要物质，具有抗肿瘤、抗病毒、免疫调节、改善脑细胞代谢、镇静中枢神经等多种药理生理活性^[7-9]。目前对于番荔枝子中内酯^[10]和挥发油^[11]类成分的研究已多有报道，而对氨基酸和核苷类成分的测定尚未见报道。番荔枝原产于热带美洲，现我国台湾、福建、广东、广西、云南、海南等南方地区均有大规模栽培，不同产地种植条件，都会影响其药材品质。本实验基于超快速液相色谱-串联四级杆/线性离子阱质谱(QTRAP-UFLC-MS/MS)技术，建立同时测定番荔枝子中 15 种氨基酸和 10 种核苷类成分含量的方法，对国内 5 个主要产地药材进行分析比较。应用主成分分析(PCA)^[12-13]和 TOPSIS 法^[14]对样品进行综合评价，考察药材的质量状况，为番荔枝子功效物质基础的深入研究和内在品质的全面控制提供新的方法参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

ABSciex QTRAP 5500 质谱仪(美国 ABSciex 公司)；LC-20A 快速液相仪(配有 DGU-20A3 在线脱气机、LC-20ADXR 泵、SIL-20AXR 自动进样器及 CTO-20AC 柱温箱，日本 Shimadzu 公司)；KH-500DB 型数控超声波清洗器(100 kHz，昆山禾创超声仪器有限公司)；Sartorius BT125D 十万分之一电子天平(德国赛多利斯公司)；ME36S 型百万分之一电子天平(德国赛多利斯公司)；TGL-16B 型离心机(上海安亭科学仪器厂)；Milli-Q 超纯水系统(Millipore 公司)。

1.2 试药及试剂

15 种氨基酸对照品：甘氨酸(批号 B21915)、丙氨酸(批号 B21911)、丝氨酸(批号 B21932)、脯氨酸(批号 B21914)、缬氨酸(批号 B21936)、苏氨酸(批号 B21933)、亮氨酸(批号 B21925)、天冬氨酸(批号 B21934)、谷氨酸(批号 B21916)、赖氨酸(批号 B21922)、甲硫氨酸(批号 B21913)、组氨酸(批号 B21938)、苯丙氨酸(批号 B21910)、精氨酸(批号 B21920)、酪氨酸(批号 B21924)；10 种核苷类对照品：尿嘧啶(批号 00469-200401)、腺嘌呤(批号 110886-200001)、次黄嘌呤(批号

B20211)、鸟嘌呤(批号 140631-200904)、胸苷(批号 1001182663)、尿苷(批号 887-200202)、2'-脱氧鸟苷(批号 1000943454)、腺苷(批号 110879-200202)、肌苷(批号 40669-201104)、鸟苷(批号 1001103046)；所有对照品均购于上海源叶生物科技有限公司，质量分数均大于 98%。水为超纯水；乙腈、甲酸为色谱纯(德国 Merck 公司)；其余试剂为分析纯。

番荔枝子不同产地样品均为实地采集于云南(S1)、海南(S2)、广西(S3)、福建(S4)、广东(S5)，所有样品均经南京中医药大学陈建伟教授鉴定为番荔枝科番荔枝属植物番荔枝 *Annona squamosa* L. 的干燥成熟种子。

2 方法与结果

2.1 分析条件

2.1.1 色谱条件 Waters XBridge Amide (100 mm×2.1 mm, 3.5 μm)；流动相：0.2%甲酸水(A)-0.2%甲酸乙腈(B)，梯度洗脱(0~2.5 min, 15% A；2.5~5 min, 15%~50% A；5~7 min, 50% A；7~8 min, 50%~15% A；8~11 min, 15% A)；柱温 30 ℃，体积流量 0.6 mL/min，进样量 2 μL。

2.1.2 质谱条件 离子化模式 ESI⁺；采集方式为多反应监测(MRM)；喷雾电压 5.5 kV；离子化温度 550 ℃；气帘气(Curtain Gas)为 241.3 kPa(35 psi)，Gas1 为 379.2 kPa(55 psi)，Gas2 为 379.2 kPa(55 psi)。15 种氨基酸和 10 种核苷优化的质谱条件参数见表 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、脯氨酸、缬氨酸、苏氨酸、亮氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、精氨酸、酪氨酸、尿嘧啶、腺嘌呤、次黄嘌呤、鸟嘌呤、胸苷、尿苷、2'-脱氧鸟苷、腺苷、肌苷、鸟苷对照品适量，加超纯水配制成 200.4、1 868.4、2 465.0、3 006.0、1 006.0、406.4、494.0、594.0、405.6、494.0、99.6、988.0、497.0、3 976.0、200.4、393.6、19.6、19.9、147.6、20.0、304.8、99.0、197.2、101.6、294.0 μg/mL 的对照品储备液。取各对照品储备液适量，加水定容至 100 mL 制成混合对照品溶液，并逐级稀释，得到一系列不同质量浓度的 15 种氨基酸和 10 种核苷混合对照品溶液，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，供分析用。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取干燥至恒定质量

表 1 15 种氨基酸和 10 种核苷主要质谱条件参数

Table 1 Main mass spectrometric parameters of 15 amino acids and 10 kinds of nucleosides

化合物	t_R/min	MRM 离子对 (m/z)	去簇电压/V	碰撞电压/eV
甘氨酸	3.34	76.04/30.00	73	6
丙氨酸	2.71	90.06/44.02	79	10
丝氨酸	4.16	106.05/59.99	67	8
脯氨酸	2.04	116.07/70.02	68	10
缬氨酸	1.89	118.09/72.06	54	10
苏氨酸	3.56	120.07/74.00	93	20
亮氨酸	1.51	132.10/86.05	98	10
天冬氨酸	3.70	134.05/87.96	59	10
谷氨酸	5.47	147.08/83.92	83	14
赖氨酸	5.39	147.11/83.91	66	14
甲硫氨酸	1.80	150.06/104.03	91	10
组氨酸	5.31	156.08/110.03	95	16
苯丙氨酸	1.49	166.10/120.05	56	14
精氨酸	5.35	175.12/70.02	88	18
酪氨酸	2.08	182.16/136.08	46	17
尿嘧啶	0.61	113.04/70.00	111	21
腺嘌呤	1.93	136.06/136.00	51	24
次黄嘌呤	1.15	137.05/137.05	51	24
鸟嘌呤	2.06	152.00/135.00	51	25
胸苷	0.68	243.10/127.07	61	13
尿苷	0.95	244.90/113.00	103	13
2'-脱氧鸟苷	1.43	268.10/152.10	61	15
腺苷	1.62	268.10/136.07	86	23
肌苷	1.21	269.00/137.05	46	15
鸟苷	1.77	284.30/152.00	62	15

表 2 15 种氨基酸和 10 种核苷标准曲线、LOD 和 LOQ

Table 2 Calibration curves, LOD, and LOQ of 15 amino acids and 10 kinds of nucleosides

化合物	标准曲线	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	r^2	LOD/(ng·mL ⁻¹)	LOQ/(ng·mL ⁻¹)
甘氨酸	$Y=138 X+4\ 880$	20.04~2\ 004	0.999 1	4.01	10.02
丙氨酸	$Y=1\ 860 X+222\ 000$	186.84~18\ 684	0.999 9	31.13	93.40
丝氨酸	$Y=872 X+52\ 100$	4.93~24\ 650	0.999 6	1.64	4.93
脯氨酸	$Y=10\ 100 X-459\ 000$	30.06~30\ 060	0.999 5	7.52	15.03
缬氨酸	$Y=10\ 100 X+136\ 000$	10.06~10\ 060	0.999 2	0.13	0.40
苏氨酸	$Y=1\ 250 X+70\ 400$	81.28~4\ 064	0.999 1	20.32	40.64
亮氨酸	$Y=27\ 700 X+403\ 000$	4.94~4\ 940	0.997 9	0.66	1.98
天冬氨酸	$Y=1\ 120 X+36\ 200$	29.70~5\ 940	0.999 8	3.57	11.88
谷氨酸	$Y=4\ 740 X+99\ 900$	20.28~4\ 056	1.000 0	0.81	4.06
赖氨酸	$Y=3\ 040 X+43\ 100$	24.70~4\ 940	0.999 6	2.47	4.94
甲硫氨酸	$Y=4\ 160 X+3\ 600$	0.996~996	0.999 8	0.20	0.50
组氨酸	$Y=12\ 400 X+91\ 600$	19.76~9\ 880	1.000 0	3.95	9.88
苯丙氨酸	$Y=18\ 800 X+102\ 000$	4.97~4\ 970	0.999 9	0.50	1.99
精氨酸	$Y=5\ 690 X+430\ 000$	19.88~39\ 760	0.999 8	0.32	1.08
酪氨酸	$Y=9\ 780 X+179\ 000$	2.04~2\ 004	0.999 8	0.20	0.63
尿嘧啶	$Y=299 X+35\ 600$	1.97~3\ 936	0.999 0	0.32	0.79
腺嘌呤	$Y=58\ 100 X+461\ 000$	1.96~196	0.994 7	0.98	1.96
次黄嘌呤	$Y=2\ 470 X+59\ 300$	1.99~199	0.999 3	0.39	0.99
鸟嘌呤	$Y=3\ 780 X+98\ 000$	14.76~1\ 476	0.999 2	2.36	5.90
胸苷	$Y=2\ 940 X+3\ 200$	2.00~200	0.999 4	0.50	1.00
尿苷	$Y=1\ 260 X+28\ 000$	30.48~3\ 048	0.999 2	3.05	15.24
2'-脱氧鸟苷	$Y=13\ 000 X+143\ 000$	0.49~990	0.999 7	0.15	0.59
腺苷	$Y=25\ 400 X+944\ 000$	19.72~1\ 972	0.999 4	0.39	0.99
肌苷	$Y=16\ 900 X+127\ 000$	10.16~1\ 016	0.999 4	2.03	5.08
鸟苷	$Y=15\ 600 X+346\ 000$	14.70~2\ 940	0.999 9	0.29	0.74

的各产地样品粉末 1.0 g, 置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 20 mL 超纯水, 室温下超声 (100 kHz) 提取 60 min, 吸取上清液于 12 000 r/min 转速下离心 10 min, 吸取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜待用。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密吸取“2.2.1”项下不同浓度系列对照品溶液及混合对照品储备液各 2 μL , 在“2.1.1”和“2.1.2”项下色谱-质谱条件测定, 以对照品的峰面积 (Y) 对相应的质量浓度 (X) 进行线性回归, 得回归方程、相关系数和线性范围; 按信噪比 (S/N) = 3 计算检测限 (LOD), $S/N=10$ 计算定量限 (LOQ)。结果见表 2 和图 1。

2.3.2 精密度试验 精密吸取一定浓度的混合对照品溶液, 按照“2.1.1”和“2.1.2”项下色谱-质谱条件连续进样 6 次, 测定 15 种氨基酸和 10 种核苷对照品的峰面积 RSD 在 0.61%~3.34%。

2.3.3 重复性试验 精密称定番荔枝子 S2 样品 6 份, 每份 1.0 g, 分别按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.1.1”和“2.1.2”项下色谱-质谱条件进样测定, 15 种氨基酸和 10 种核苷的质量分数 RSD, 25 种成分质量分数的 RSD 在 1.08%~3.87%, 表明该方法的重复性良好。

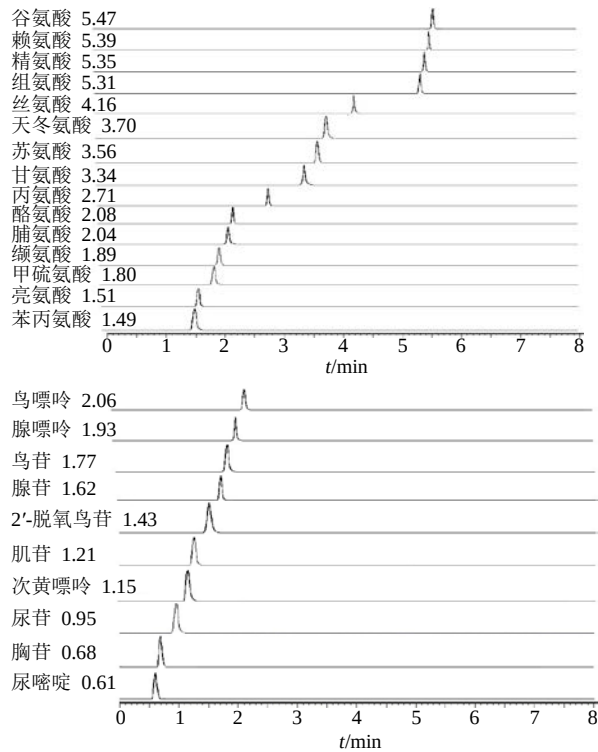


图 1 15 种氨基酸 (A) 和 10 种核苷 (B) MRM 图

Fig. 1 MRM of 15 amino acids (A) and 10 nucleosides (B)

2.3.4 稳定性试验 取番荔枝子 S2 样品的供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 时按照“2.1.1”和“2.1.2”项下色谱-质谱条件进样分析, 测定 15 种氨基酸和 10 种核苷峰面积 RSD, RSD 在 1.07%~3.73%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.5 加样回收率试验 精密称取已知含量的番荔枝子 S2 样品 1.0 g, 分别精密加入低 (80%)、中 (100%)、高 (120%) 3 个水平的对照品适量, 每个水平 3 份, 共 9 份, 按照“2.2.2”项下方法制备加样回收供试品溶液, 按照“2.1.1”和“2.1.2”项下色谱-质谱条件进样测定, 计算其加样回收率和相对标准偏差, 结果见表 3。25 种成分的平均加样回收率在 94.90%~98.78%, RSD 在 0.84%~3.01%, 表明该方法加样回收率良好。

2.4 样品测定

按照“2.2.2”项下方法制备 5 个产地样品的供试品溶液, 按照“2.1.1”和“2.1.2”项下色谱-质谱条件进样测定相应的峰面积, 根据对应的标准曲线计算出供试样品中 15 种氨基酸和 10 种核苷类成分的含量, 结果见表 3。

表 3 番荔枝子中 15 种氨基酸和 10 种核苷的含量 ($n = 3$)Table 3 Contents of 15 kinds of amino acids and 10 kinds of nucleosides in seeds of *A. squamosa* ($n = 3$)

编号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)													
	甘氨酸	丙氨酸	丝氨酸	脯氨酸	缬氨酸	苏氨酸	亮氨酸	天冬氨酸	谷氨酸	赖氨酸	甲硫氨酸	组氨酸	苯丙氨酸	精氨酸
S1	0.000	0.000	119.931	1 202.158	212.158	0.000	0.000	0.000	395.574	438.283	0.000	315.458	221.787	2 598.243
S2	0.000	239.570	0.000	1 855.624	456.713	0.000	0.000	286.393	751.059	819.533	167.615	523.523	743.596	1 958.524
S3	0.000	0.000	767.867	750.673	466.614	146.256	0.000	0.000	443.042	484.993	125.308	356.587	274.447	1 452.373
S4	71.478	0.000	411.560	1 219.980	264.634	91.616	233.191	754.250	389.034	430.388	91.894	313.845	229.234	1 519.156
S5	61.623	167.527	476.583	511.069	299.287	0.000	0.000	104.071	304.435	336.309	93.817	312.232	215.404	1 362.742

编号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)											
	酪氨酸	尿嘧啶	腺嘌呤	次黄嘌呤	鸟嘌呤	胸苷	尿苷	2'-脱氧鸟苷	腺苷	肌苷	鸟苷	氨基酸总量
S1	0.000	106.288	0.000	0.000	102.751	5.337	118.333	4.100	202.409	0.000	248.769	5 503.592
S2	1.022	378.194	0.000	3.117	125.767	10.088	156.587	9.246	232.724	16.604	285.949	7 803.172
S3	1.616	134.047	2.561	9.045	111.746	1.874	153.730	0.392	211.858	15.420	266.718	5 269.776
S4	2.382	76.522	0.000	0.737	90.053	4.582	102.460	3.246	175.638	12.639	216.077	6 022.642
S5	0.695	72.174	0.000	0.664	42.063	1.463	72.222	0.000	123.276	8.692	107.103	4 245.794

2.5 样品中氨基酸和核苷含量的 PCA

应用 SPSS 22.0 统计软件, 分别以番荔枝子中 15 种氨基酸和 10 种核苷类成分的量与其对应的组别组成矩阵, 对不同产地番荔枝子样品测定结果进行主成分分析。PCA 时提取主成分进行分析, 同时为各主成分因子更好地解释各变量, 分析中对特征值及因子载荷矩阵采用了方差最大化正交旋转。

15 种氨基酸前 4 个主成分 (PC1、PC2、PC3、PC4) 的特征值均大于 1, 累积贡献率达到 100%, 说明这 4 个因子在评价不同产地番荔枝子内在质量上起着绝对的主导作用, 其特征值、贡献率和累积贡献率见表 4。谷氨酸、赖氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸在 PC1 上有较高载荷, 说明 PC1 主要反映了这 7 种氨基酸的信

息;同理,PC2 主要反映了天冬氨酸、亮氨酸、酪氨酸、甘氨酸的信息;PC3 主要反映了精氨酸的信息;PC4 主要反映了苏氨酸、丙氨酸的信息。PC1、PC2、PC3、PC4 包含了 15 种氨基酸中 14 种成分

的信息。番荔枝子中 15 种氨基酸总因子得分 (F) 为各主成分因子得分与方差贡献率乘积,计算出各产地番荔枝子的综合得分见表 5,可以看出 S2 得分最高,S1 得分最低。

表 4 15 种氨基酸主成分的特征值及贡献率

Table 4 Eigenvalue of principal component and contribution rate of 15 kinds of amino acids

成分	初始			旋转后		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	6.826	45.509	45.509	6.409	42.726	42.726
2	3.984	26.562	72.071	3.269	21.794	64.520
3	2.637	17.577	89.648	3.082	20.548	85.068
4	1.553	10.352	100.000	2.24	14.932	100.000

表 5 不同产地番荔枝子的氨基酸主成分因子及品质综合评价

Table 5 Principal component factors and quality evaluation for seeds of *A. squamosa* from different producing areas in amino acids

编号	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4	F	综合排名
S1	2 833.013 8	-602.618 4	-2 885.066 9	-294.702 0	442.270 4	5
S2	5 226.725 1	-119.133 3	-2 398.137 8	-742.675 1	1 603.541 1	1
S3	2 417.931 1	-480.004 8	-837.667 2	308.847 7	802.466 3	3
S4	2 656.191 2	732.816 5	-1 507.966 3	37.016 5	990.264 7	2
S5	1 901.862 1	-328.033 3	-927.981 1	-98.098 6	535.768 4	4

10 种核苷前 2 个主成分 (PC1、PC2) 的特征值均大于 1,累积贡献率达到 88.273%,能够客观地反映不同产地番荔枝子的内在质量,其特征值、贡献率和累积贡献率见表 6。胸苷、2'-脱氧鸟苷、尿嘧啶、腺苷、鸟嘌呤、鸟苷、尿苷在 PC1 上有较高载荷,说明 PC1 主要反映了这 7 种核苷的信息;同理,PC2 主要反映了次黄嘌呤、腺嘌呤的信息。PC1 和 PC2 包含了 10 种核苷中 9 种成分的信息。番荔枝子中 10 种核苷 F 为各主成分因子得分与方差贡献率乘积,计算出各产地番荔枝子的综合得分见表 7,可以看出 S2 得分最高,S5 得分最低。

2.6 TOPSIS 分析

分别以氨基酸和核苷类成分以及所有成分的含量为分析指标,采用 TOPSIS 分析方法对 5 个不同产地番荔枝子进行综合分析,得出排序结果。

2.6.1 归一化处理 将 5 个不同产地番荔枝子中 15 种氨基酸和 10 种核苷的含量数据矩阵分别进行归一化处理,并建立相应矩阵,计算 α 值,归一化处理后的矩阵见表 8。

$$\alpha_{ij} = X_{ij} / \sum_{i=1}^{10} X_{ij}^2$$

X_{ij} 表示第 i 个评价对象在第 j 个指标上的取值; α_{ij} 表示第 i 个评价对象在第 j 个指标上归一化处理后的取值

表 6 10 种核苷主成分的特征值及贡献率

Table 6 Eigenvalue of principal component and contribution rate of 10 kinds of nucleosides

成分	初始			旋转后		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	5.981	59.815	59.815	5.331	53.314	53.314
2	2.846	28.458	88.273	3.496	34.959	88.273
3	0.986	9.861	98.134			
4	0.187	1.866	100.000			

表 7 不同产地番荔枝子的核苷主成分因子及品质综合评价
Table 7 Principal component factors and quality evaluation for seeds of *A. squamosa* from different producing areas in nucleosides

编号	主成分 1	主成分 2	F	综合排名
S1	645.617 2	355.572 3	468.508 9	3
S2	1 001.264 7	465.478 6	696.541 0	1
S3	722.662 5	421.807 9	532.740 1	2
S4	550.199 2	314.847 4	403.400 7	4
S5	345.270 8	192.410 4	251.342 4	5

表 8 不同产地番荔枝子中氨基酸和核苷含量归一化处理后的矩阵

Table 8 Matrix after normalization for seeds of *A. squamosa* from different producing areas in amino acids and nucleosides

编号	α												
	甘氨酸	丙氨酸	丝氨酸	脯氨酸	缬氨酸	苏氨酸	亮氨酸	天冬氨酸	谷氨酸	赖氨酸	甲硫氨酸	组氨酸	苯丙氨酸
S1	0.000 0	0.000 0	0.119 9	0.448 0	0.267 1	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.367 1	0.370 8	0.000 0	0.377 9	0.251 7
S2	0.000 0	0.819 5	0.000 0	0.691 5	0.575 0	0.000 0	0.000 0	0.352 1	0.697 1	0.693 3	0.678 4	0.627 2	0.843 9
S3	0.000 0	0.000 0	0.767 7	0.279 7	0.587 4	0.847 5	0.000 0	0.000 0	0.411 2	0.410 3	0.507 2	0.427 2	0.311 5
S4	0.757 4	0.000 0	0.411 5	0.454 6	0.333 2	0.530 9	1.000 0	0.927 2	0.361 1	0.364 1	0.371 9	0.376 0	0.260 2
S5	0.653 0	0.573 1	0.476 5	0.190 4	0.376 8	0.000 0	0.000 0	0.127 9	0.282 6	0.284 5	0.379 7	0.374 1	0.244 5

编号	α												
	精氨酸	酪氨酸	尿嘧啶	腺嘌呤	次黄嘌呤	鸟嘌呤	胸苷	尿苷	2'-脱氧鸟苷	腺苷	肌苷	鸟苷	
S1	0.632 8	0.000 0	0.248 2	0.000 0	0.000 0	0.465 4	0.426 1	0.424 1	0.385 7	0.469 2	0.000 0	0.476 2	
S2	0.477 0	0.326 3	0.883 2	0.000 0	0.324 1	0.569 7	0.805 4	0.561 1	0.869 8	0.539 5	0.606 8	0.547 3	
S3	0.353 7	0.515 9	0.313 0	1.000 0	0.940 4	0.506 2	0.149 6	0.550 9	0.036 9	0.491 2	0.563 5	0.510 5	
S4	0.370 0	0.760 4	0.178 7	0.000 0	0.076 6	0.407 9	0.365 8	0.367 2	0.305 4	0.407 2	0.461 9	0.413 6	
S5	0.331 9	0.221 9	0.168 5	0.000 0	0.069 0	0.190 5	0.116 8	0.258 8	0.000 0	0.285 8	0.317 6	0.205 0	

0.547 3); $Z^- = (0.168 5, 0.000 0, 0.000 0, 0.190 5, 0.116 8, 0.258 8, 0.000 0, 0.285 8, 0.000 0, 0.205 0)$

(3) 总体成分: $Z^+ = (0.757 4, 0.819 5, 0.767 7, 0.691 5, 0.587 4, 0.847 5, 1.000 0, 0.927 2, 0.697 1, 0.693 3, 0.678 4, 0.627 2, 0.843 9, 0.632 8, 0.760 4, 0.883 2, 1.000 0, 0.940 4, 0.569 7, 0.805 4, 0.561 1, 0.869 8, 0.539 5, 0.606 8, 0.547 3)$; $Z^- = (0.000 0, 0.000 0, 0.000 0, 0.190 4, 0.267 1, 0.000 0, 0.000 0, 0.000 0, 0.282 6, 0.284 5, 0.000 0, 0.374 1, 0.244 5, 0.331 3, 0.000 0, 0.168 5, 0.000 0, 0.000 0, 0.190 5, 0.116 8, 0.258 8, 0.000 0, 0.285 8, 0.000 0, 0.205 0)$

2.6.3 相对贴近度 (C_i) 的计算 根据下列公式计算

$$C_i = \frac{D_i^-}{D_i^+ + D_i^-}$$

D_i 为每个评价指标与最优、最劣差值平方和的开方值; D_i^+ 表示各个评价对象与最优方案的距离; D_i^- 表示各个评价对象与最劣方案的距离

2.6.4 TOPSIS 分析结果 按照 C_i 大小将各评价对象排序, C_i 值越大, 表示综合的品质越好。不同样

2.6.2 最优与最劣方案 根据归一化处理后的样本情况得到最优 (Z^+) 和最劣 (Z^-) 值向量。

(1) 氨基酸类成分: $Z^+ = (0.757 4, 0.819 5, 0.767 7, 0.691 5, 0.587 4, 0.847 5, 1.000 0, 0.927 2, 0.697 1, 0.693 3, 0.678 4, 0.627 2, 0.843 9, 0.632 8, 0.760 4)$; $Z^- = (0.000 0, 0.000 0, 0.000 0, 0.190 4, 0.267 1, 0.000 0, 0.000 0, 0.000 0, 0.282 6, 0.284 5, 0.000 0, 0.374 1, 0.244 5, 0.331 3, 0.000 0)$ 。

(2) 核苷类成分: $Z^+ = (0.883 2, 1.000 0, 0.940 4, 0.569 7, 0.805 4, 0.561 1, 0.869 8, 0.539 5, 0.606 8,$

品中 15 种氨基酸和 10 种核苷类成分 TOPSIS 分析结果见表 9。以氨基酸为分析指标, S4 最优, S1 最差; 以核苷为分析指标, S2 最优, S5 最差; 以总成分为分析指标, S2 最优, S1 最差。

3 讨论

番荔枝子样品中 15 种氨基酸和 10 种核苷类成分测定表明, 不同产地的样品在氨基酸和核苷的组成和量上均存在一定的差异性。从各氨基酸所占比例来看, 在 5 个产地样品中精氨酸含量最高, 酪氨酸含量最低, 脯氨酸、赖氨酸、谷氨酸、组氨酸、丝氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、天冬氨酸含量较高, 甲硫氨酸、丙氨酸、苏氨酸、亮氨酸、甘氨酸含量较低; 从各核苷所占比例来看, 在 5 个产地样品中鸟苷含量最高, 腺嘌呤含量最低, 腺苷、尿嘧啶、尿苷、鸟嘌呤含量较高, 肌苷、胸苷、2'-脱氧鸟苷、次黄嘌呤含量较低。从氨基酸总量上来看, 海南最大, 其次是福建、云南、广西, 广东最小; 从核苷总量上来看, 海南最大, 其次是广西、云南、福建, 广东最小。

表 9 番荔枝子中 15 种氨基酸和 10 种核苷的 TOPSIS 分析结果

Table 9 TOPSIS evaluation results of 15 kinds of amino acids and 10 kinds of nucleosides in seeds from *A. squamosa*

样品	总成分				氨基酸				核苷			
	D_i^+	D_i^-	C_i	排名	D_i^+	D_i^-	C_i	排名	D_i^+	D_i^-	C_i	排名
S1	3.023 6	0.804 2	0.210 1	5	2.463 5	0.431 2	0.148 9	5	1.753 2	0.678 8	0.279 1	4
S2	2.192 0	2.263 4	0.508 0	1	1.850 6	1.578 4	0.460 3	2	1.174 7	1.622 2	0.580 0	1
S3	2.320 6	2.127 7	0.478 3	3	1.981 6	1.407 7	0.415 3	3	1.207 7	1.595 5	0.569 2	2
S4	2.163 8	2.044 8	0.485 9	2	1.344 5	1.920 8	0.588 2	1	1.695 4	0.701 3	0.292 6	3
S5	2.835 9	1.144 2	0.287 5	4	2.010 2	1.097 1	0.353 1	4	2.000 3	0.325 1	0.139 8	5

番荔枝子样品中 15 种氨基酸和 10 种核苷类成分含量 PCA 和 TOPSIS 分析表明,不同产地样品中这 25 种成分具有较强的地域差异性。以氨基酸为分析指标,海南最优,其次是福建、广西、云南,广东最差;以核苷为分析指标,海南最优,其次是广西、福建、云南,广东最差。

本实验建立了 QTRAP-UFLC-MS/MS 测定不同产地番荔枝子中氨基酸和核苷类成分的含量的方法,探索不同产地对番荔枝子中氨基酸和核苷类成分的影响。综合评价结果显示,海南番荔枝子的综合评价得分最高,广东番荔枝子的最低。结合 PCA 和 TOPSIS 分析,考察药材的质量状况,为优选番荔枝子适宜产地提供理论依据,也为番荔枝子功效物质基础的深入研究和内在品质的综合评价提供新的方法参考。

参考文献

[1] 国家中医药管理局. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998.

[2] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药标准 (第二册) [M]. 广州: 广东科技出版社, 2004.

[3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1979.

[4] 陈封怀. 中国科学院华南植物研究所. 广东植物志 (第二卷) [M]. 广州: 广东科技出版社, 1991.

[5] 蒋英, 李秉滔, 李延辉. 中国植物志 (*Reipubliae Popularis Sinicae*) [M]. 北京: 科学出版社, 1979.

[6] 徐琪寿. 氨基酸药理学研究进展 [J]. 氨基酸和生物资源, 1996, 18(1): 30-32.

[7] Kinahan J J, Kowal E P, Grindey G B. Biochemical and antitumor effects of the combination of thymidine and 1- β -D-arebinofuranosylcytosine against leukemia L1210 [J]. *Cancer Res*, 1981, 41(2): 445-451.

[8] Lee J, Chuang T H, Redecke E V, *et al.* Molecular basis for the immunostimulatory activity of guanine nucleoside analogs: Activation of Toll-like receptor 7 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(11): 6646-6651.

[9] Wang R. Advances in pyrimidine [J]. *Lett Biot*, 2007, 18(3): 539-542.

[10] 陈勇, 邱燕, 苗筠杰, 等. 番荔枝内酯类化合物研究进展 [J]. 现代中药研究与实践, 2016, 30(3): 83-86.

[11] 邱燕, 陈勇, 苗筠杰, 等. 番荔枝子油化学成分 GC-MS 分析 [J]. 中国现代中药, 2015, 17(6): 548-550.

[12] 罗益远, 刘娟秀, 刘训红, 等. 不同加工方法何首乌中多元功效物质的测定及主成分分析 [J]. 中草药, 2016, 47(2): 318-323.

[13] 樊修和, 吴启南, 蒋征, 等. UPLC-MS/MS 法测定不同产地浮萍中 9 种核苷类成分的量 [J]. 中草药, 2015, 46(21): 3253-3257.

[14] 王胜男, 华愉教, 邹立思, 等. 不同加工玄参核苷类成分的含量测定及 TOPSIS 分析 [J]. 中国药学, 2016, 51(4): 274-279.