

基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 分析宣木瓜饮片化学成分

盛节英¹, 周洪雷^{1*}, 周倩^{2*}, 孙立立², 蒋海强¹, 张世明¹, 郭凤雪¹, 侯立静², 张翠珊¹, 董书红¹

1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

2. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250000

摘要: 目的 采用超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱(UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS), 对宣木瓜饮片的化学成分进行快速识别和鉴定。方法 采用 Halo C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm) 色谱柱, 0.05%甲酸水溶液(A)-0.05%甲酸的乙腈溶液(B)为流动相, 梯度洗脱, 体积流量 0.3 mL/min, 柱温 40 °C, 正、负离子模式扫描。结果 共鉴定出宣木瓜饮片中 25 种化学成分。包括游离氨基酸 5 种、有机酸类 11 种、糖苷类 2 种、黄酮 3 种和三萜 4 种。结论 该法可准确、快速地对宣木瓜饮片中化学成分进行定性分析, 为阐明宣木瓜药效物质基础和优选质量控制指标提供科学依据。

关键词: 宣木瓜; 超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱; 氨基酸类; 有机酸类; 黄酮类; 三萜类

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)20-4773-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.20.010

Analysis on chemical constituents of fruit of *Chaenomeles speciosa* by UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS

SHENG Jie-ying¹, ZHOU Hong-lei¹, ZHOU Qian², SUN Li-li², JIANG Hai-qiang¹, ZHANG Shi-ming¹, GUO Feng-xue¹, HOU Li-jing², ZHANG Cui-shan¹, DONG Shu-hong¹

1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. Shandong Academy of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250000, China

Abstract: Objective An ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry (UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS) method was developed to rapidly analyze and identify the chemical constituents from the fruit of *Chaenomeles speciosa*. **Methods** The analysis was performed on a Halo C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 2.7 μm) by gradient elution. The mobile phase consisted of 0.05% formic acid-acetonitrile and 0.05% formic acid-water at a flow rate of 0.3 mL/min. The column temperature was at 40 °C. The information of the compounds was acquired in positive and negative mode. **Results** Totally 25 compounds were identified, including five kinds of free amino acids, 11 organic acids, two glycosides, three flavonoids, and four triterpenes. **Conclusion** The established method is accurate, rapid, and sensitive, which provides a reference for further clarifying the material basis of its efficacy and the selection of quality control indicators.

Key words: fruit of *Chaenomeles speciosa*; UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS; amino acids; organic acids; flavonoids; triterpenes

木瓜为蔷薇科植物贴梗海棠 *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai 的干燥近成熟果实。其中, 产自安徽宣城的木瓜习称宣木瓜, 是安徽省道地药材, 又名皱皮木瓜、铁脚梨。宣木瓜品质优良, 《本草纲目》曾记载: “木瓜今处处有之, 宣称者为佳”。该药与“宁枸杞”“川杜仲”“藏红花”并称为我国

四大名产中药材。宣木瓜性温, 味酸涩, 有舒筋活络、祛风湿痹之功效^[1]。据文献报道^[2], 宣木瓜中含黄酮、三萜、氨基酸、有机酸、微量元素等多类化学成分, 但该药药效物质基础仍不甚明确, 为了深入研究宣木瓜药效物质基础, 并为质量控制提供评价指标。本实验采用超高效液相色谱-四级杆-

收稿日期: 2018-03-19

基金项目: 国家公益性行业科研专项: 30 种中药饮片产地加工与炮制生产一体化关键技术规范研究——宣木瓜 (201507002-2); 山东省自然科学基金项目 (ZR2015PH009)

作者简介: 盛节英 (1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药及复方活性成分与质量控制研究。E-mail: 1205881190@qq.com

*通信作者 周洪雷 (1967—), 男, 教授, 研究方向为中药及复方活性成分与质量控制研究。Tel: 13964017341 E-mail: zhouhongleicm@163.com
周倩 (1982—), 女, 副研究员, 研究方向为中药炮制及成分分析。Tel: (0531)82949803 E-mail: zhouqian0126@126.com

静电场轨道阱联用 (UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS) 技术首次对宣木瓜进行全成分分析, 同时根据对照品的标准图谱, 各色谱峰的一级、二级质谱数据及相关数据库匹配和参考文献, 明确主要成分组成, 研究也可为进一步开发利用宣木瓜提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪、Ultimate 3000 超高效液相色谱系统 (赛默飞世尔科技公司, 美国); Halo-C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm, AMD 公司, 美国); KQ-250E 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); CP225D-万分之一电子天平 (Sartorius AG 公司, 德国)。

1.2 试剂

色谱甲醇、乙腈 (Fisher 公司); 蒸馏水 (屈臣氏公司); 对照品原儿茶酸 (批号 PRF8032441, 质量分数 98%)、莽草酸 (批号 PRF7022322, 质量分数 95%)、山楂酸 (批号 PRF7121942, 质量分数 98%)、绿原酸 (批号 14811207, 质量分数 98%) 均购于成都普瑞法科技开发有限公司; 对照品齐墩果酸 (批号 Q-003-110225, 质量分数 98%)、熊果酸 (批号 X-006-110812, 质量分数 98%) 均购于成都瑞芬思生物科技有限公司; 对照品咖啡酸 (批号 110B022, 质量分数 98%) 购于北京索莱宝科技有限公司; 对照品山柰酚 (批号 C26J8Y38642, 质量分数 98%) 购于上海源叶生物科技有限公司; 对照品芦丁 (批号 100080-200306, 质量分数 95%) 购于中国食品药品检定研究院。

1.3 药材

宣木瓜药材 (批号 20161001) 购自安徽宣城市华佗岭中药材开发有限公司, 经山东中医药大学生药系李峰教授鉴定为木瓜 *Chaenomeles speciosa* (sweet) Nakai 的果实。宣木瓜饮片制备方法: 取宣木瓜药材, 照《中国药典》2015 年版方法, 洗净, 润透, 切薄片, 晒干即得类月牙形薄片, 外表棕红色, 有不规则深皱纹。切面棕红色, 气味清香, 味酸。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱为 Halo C₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm); 体积流量为 0.3 mL/min, 柱温 40 °C, 进样量 50 μL, 流动相 A 为 0.05% 甲酸水溶液, B 为 0.05% 甲酸乙腈溶液, 梯度洗脱: 0~15 min, 15% B; 15~

22 min, 15%~40% B; 22~60 min, 40%~90% B; 60~60.1 min, 90%~100% B; 60.1~67 min, 100% B; 67~67.1 min, 100%~15% B; 67.1~70 min, 15% B。

2.2 质谱条件

正离子模式检测条件: 离子源 HESI; 毛细管电压 3 500 V; 毛细管温度 350 °C; 源内温度 350 °C; 质谱采集范围 m/z 80~1 000; 分辨率为 70 000; S-Lens RF Level 为 55。负离子模式检测条件: 离子源 HESI; 毛细管电压 3 000 V; 毛细管温度 350 °C; 源内温度 350 °C; 质谱采集范围 m/z 80~1 200; 分辨率为 70 000; S-Lens RF Level 为 55。

2.3 供试品溶液制备

取宣木瓜粉末约 0.25 g, 精密称定, 精密加入 75% 的甲醇 10 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 再次称定质量, 用 75% 甲醇补足减失的质量, 滤过, 滤液过 0.22 μm 滤膜, 即得。

2.4 对照品溶液制备

分别精密称取咖啡酸、原儿茶酸、齐墩果酸、熊果酸、莽草酸、山柰酚、山楂酸、绿原酸, 芦丁对照品适量, 置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解定容, 制备单一对照品储备液, 混合对照品溶液储备液均由各对照品储备液混合并稀释得到, 均置于 4 °C 保存。

3 宣木瓜主要化学成分的鉴定

取宣木瓜供试品溶液及混合对照品储备液, 按“2.1”项下色谱条件进行分析, 分别得到正、负离子模式下总离子流图 (TIC) 及质谱图, 见图 1、2。根据 Xcalibur 计算出的高分辨精确质量数, 据实际测得的相对分子质量与理论相对分子质量二者偏差小于 5×10^{-6} 的原则及同位素丰度比, 确定各色谱峰对应化合物的分子式。根据建立的木瓜药材化学成分数据库信息 (包括中英文名称、分子式、精确相对分子质量、CAS 号), 与部分对照品的二级质谱数据, 并通过文献比对, 快速确证可能的化学成分。最终从宣木瓜饮片中推断出 25 种化学成分, 包括游离氨基酸 5 种、有机酸类 11 种、黄酮 5 种和三萜 4 种, 其中 9 种化学成分通过与对照品进行比较明确识别。被推断化学成分的相对保留时间、相对分子质量、分子式、一级质谱数据及二级质谱碎片离子见表 1。

3.1 氨基酸类

保留时间在 0.69~1.44 min, 正离子模式下,

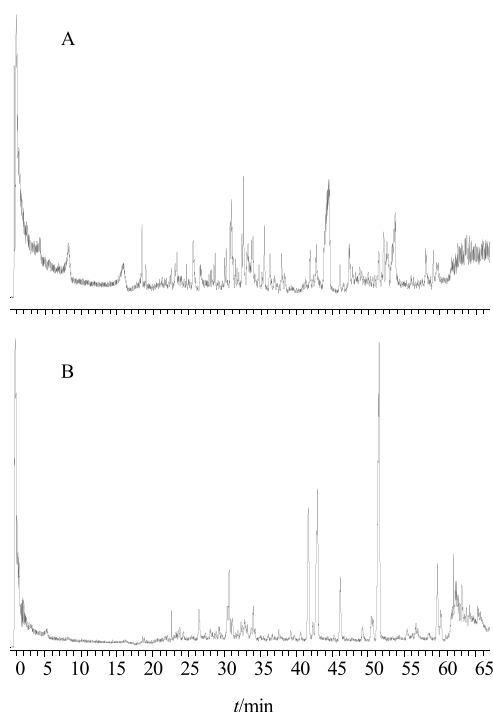


图 1 宣木瓜饮片 UPLC-Q-Exactive MS 的正离子 (A) 和负离子 (B) 质谱基峰离子流图

Fig. 1 Positive (A) and negative (B) UPLC-Q-Exactive MS base peak ion flow chart of fruit of *C. speciosa*

氨基酸的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 相对丰度较低, 实验发现正离子模式下除精氨酸外大多数氨基酸失去 NH_3 和 $COOH$ 或 OH , 与文献报道^[3]相符, 结合数据库搜索, 共推断出 5 种氨基酸, 分别为精氨酸、缬氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸和亮氨酸。以 5 号峰对应的化合物为例, 分子离子峰 $132.102\ 17\ [M+H]^+$ 丰度较低, 失去 $COOH$ 和 NH_3 形成较稳定的 $86.097\ 05\ [M+H-COOH]^+$ 、 $69.070\ 69\ [M+H-COOH-NH_3]^+$ 、 $57.034\ 29\ [M+H-NH_3-CH]^+$ 碎片离子, $m/z\ 69.070\ 69$ 离子可在高能碰撞下产生一系列丰度比较低的子离子。综上信息, 结合文献报道^[3,7], 推断 5 号峰对应的化合物为亮氨酸。

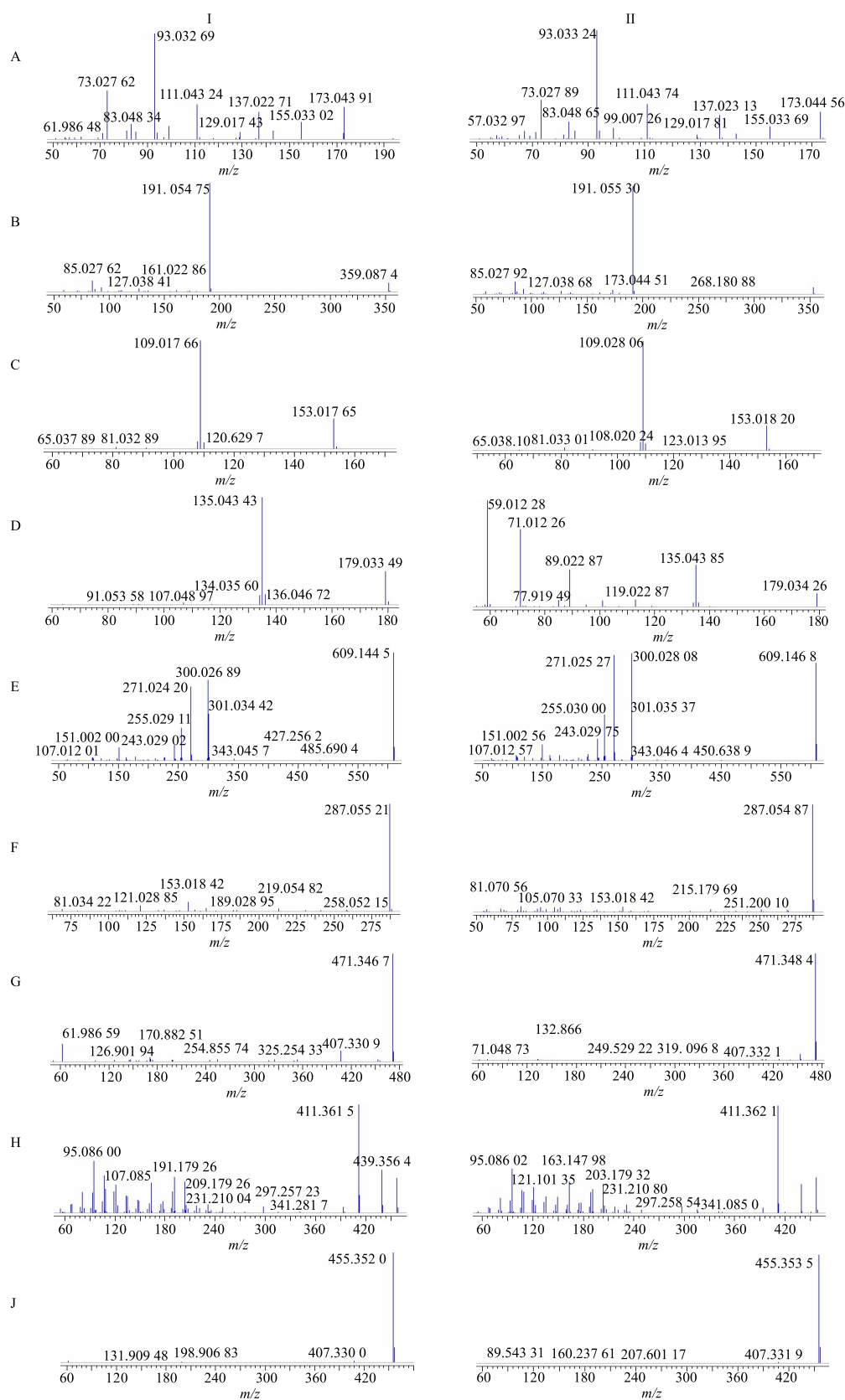
3.2 有机酸类

负离子模式下, 大部分有机酸保留时间在 $0.99\sim 2.71\ min$, 亚油酸的保留时间在 $32.34\ min$ 。保留时间 $0.99\ min$ 得到 $m/z\ 117.017\ 94$ 的 $[M-H]^-$ 质谱信号, 出现 $m/z\ 99.007\ 30\ [M-H-H_2O]^-$ 、 $73.027\ 92\ [M-H-CO_2]^-$ 、 $55.017\ 37\ [M-H-H_2O-CO_2]^-$, 结合文献报道^[4], 推测其为琥珀酸。保留时间在 $1.03\ min$ 得到 $191.055\ 40\ [M-H]^-$ 、 $173.044\ 82\ [M-H-H_2O]^-$ 、 $85.027\ 96\ [M-H-C_3H_5O_3]^-$, 结

合文献报道^[5], 推测其为奎尼酸。保留时间在 $1.05\ min$ 得到 $173.044\ 56\ [M-H]^-$ 质谱信号, 碎片离子为 $155.033\ 69\ [M-H-H_2O]^-$ 、 $137.023\ 13\ [M-H-H_2O-H_2O]^-$ 、 $111.043\ 74\ [M-H-C_2H_2O_3]^-$ 、 $93.033\ 04\ [M-H-CH_4O_4]^-$, 结合对照品及文献报道^[6], 推测其为莽草酸。保留时间在 $1.13\ min$ 得到 $m/z\ 169.013\ 32$ 的 $[M-H]^-$ 质谱信号, 出现 $151.002\ 59\ [M-H-OH]^-$ 、 $125.023\ 12\ [M-H-COO]^-$, 结合文献报道^[8], 推测其为没食子酸。保留时间在 $1.14\ min$ 时, 出现 $m/z\ 191.055\ 30\ [M-H]^-$ 质谱信号, 碎片离子为 $173.044\ 51\ [M-H-C_9H_9O_4]^-$ 、 $161.023\ 30\ [M-H-C_9H_8O_4]^-$, 结合对照品及文献报道^[9]推测其为绿原酸。保留时间在 $1.17\ min$, 得到 m/z 为 $153.018\ 20$ 的 $[M-H]^-$ 质谱信号, 碎片离子为 $109.028\ 06\ [M-H-CO_2]^-$ 、 $91.017\ 32\ [M-H-CO_2-H_2O]^-$ 、 $81.033\ 01\ [M-H-C_2O_3]^-$, 结合对照品及文献报道^[10], 推测其为原儿茶酸。保留时间在 $1.35\ min$ 得到 $179.034\ 09\ [M-H]^-$ 质谱信号, 碎片离子为 $135.043\ 87\ [M-H-CO_2]^-$ 、 $107.049\ 4\ [M-H-C_2O_3]^-$, 结合对照品及文献报道^[10], 推测其为咖啡酸。保留时间在 $1.57\ min$ 得到 $137.023\ 21\ [M-H]^-$ 、 $119.012\ 60\ [M-H-H_2O]^-$ 、 $108.020\ 33\ [M-H-CO]^-$, 结合文献报道^[12], 推测其为对羟基苯甲酸。保留时间在 $1.77\ min$ 得到 $291.086\ 18\ [M+H]^+$ 质谱信号, 碎片离子为 $273.076\ 48\ [M+H-H_2O]^+$ 、 $207.065\ 35\ [M+H-C_4H_4O_2]^+$ 、 $189.054\ 14\ [M+H-C_4H_6O_3]^+$ 、 $177.054\ 58\ [M+H-C_5H_6O_3]^+$ 、 $165.054\ 61\ [M+H-C_6H_6O_3]^+$ 、 $161.059\ 75\ [M+H-C_5H_6O_4]^+$ 、 $147.044\ 05\ [M+H-2H_2O-C_6H_4O_2]^+$ 、 $139.038\ 97\ [M+H-C_8H_8O_3]^+$, 结合文献报道^[13], 推测其为儿茶酸。保留时间在 $2.71\ min$ 得到 $367.103\ 85\ [M-H]^-$ 质谱信号, 碎片离子为 $191.055\ 68\ [M-H-C_{10}H_8O_3]^-$ 、 $179.034\ 19\ [M-H-C_8H_{12}O_3]^-$ 、 $135.043\ 91\ [M-H-C_9H_{12}O_7]^-$ 、 $93.032\ 73\ [M-H-C_{11}H_{14}O_8]^-$, 结合文献报道^[14], 推测其为绿原酸甲酯。保留时间在 $32.34\ min$ 得到 $281.247\ 53\ [M+H]^+$ 质谱信号, 碎片离子为 $263.236\ 76\ [M+H-H_2O]^+$ 、 $221.226\ 53\ [M-COOH-CH_2]^+$ 、 $179.143\ 25\ [M-COOH-C_4H_8]^+$ 、 $165.127\ 29\ [M-COOH-C_5H_{10}]^+$, 结合文献报道^[18], 推测其为亚油酸。

3.3 黄酮类

负离子模式下, 保留时间在 $3\ min$, 得到 $609.146\ 79\ [M-H]^-$ 质谱信号, 碎片离子为 $300.028\ 08\ [M-H-C_{12}H_{21}O_9]^-$ 、 $271.025\ 27\ [M-H-C_{13}H_{22}O_{10}]^-$ 、



A-莽草酸 B-绿原酸 C-原儿茶酸 D-咖啡酸 E-芦丁 F-山柰酚 G-山楂酸 H-齐墩果酸 J-熊果酸

A-shikimic acid B-chlorogenic acid C-protocatechuic acid D-caffeic acid E-rutin F-kaempferol G-hawthorn acid H-oleanolic acid J-ursolic acid

图 2 混合对照品 (I) 和供试品溶液 (II) 9 个成分的 UPLC-Q-Exactive MS 质谱图

Fig. 2 UPLC-Q-Exactive MS spectrum of nine components in mixed reference solution (I) and sample solution (II)

表 1 宣木瓜饮片中化学成分离子结构信息

Table 1 Characterization of chemical constituents in fruit of *C. speciosa* by UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS

峰号	t_R/min	一级质谱 (m/z)	[M+H] ⁺ 理论值 (m/z)	[M-H] ⁻ 理论值 (m/z)	分子式	误差 ($\times 10^{-6}$)	二级质谱 (m/z)	鉴定结果
1	0.69	174.095 13	175.118 95	—	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$	0.901	175.119 11 [M+H] ⁺ , 116.070 95 [M-CH ₄ N ₃] ⁺ , 71.069 21 [M-COOH-CH ₄ N ₃] ⁺ , 70.065 92 [M-CH ₂ O ₂ -CH ₄ N ₃] ⁺ , 60.056 49 [M+H-NH ₃ -COOH-C ₄ H ₃] ⁺	精氨酸 ^[3]
2	0.91	118.086 52	118.086 26	—	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$	2.243	118.086 52 [M+H] ⁺ , 72.081 52 [M-COOH] ⁺ , 59.073 80 [M+H-NH ₂ -C ₃ H ₇] ⁺ , 58.065 99 [M+H-COOH-NH ₃] ⁺	缬氨酸 ^[3]
3	0.99	117.017 94	—	117.018 24	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$	2.564	117.017 94 [M-H] ⁻ , 99.007 30 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 73.027 92 [M-H-CO ₂] ⁻ , 55.017 37 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻	琥珀酸 ^[4]
4	1.03	191.055 40	—	191.055 01	$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6$	-3.723	191.055 40 [M-H] ⁻ , 173.044 82 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 85.027 96 [M-H-C ₃ H ₇ O ₄] ⁻	奎尼酸 ^[5]
5 [*]	1.05	173.044 44	—	173.044 45	$\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5$	-1.445	173.044 56 [M-H] ⁻ , 155.033 69 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 137.023 13 [M-H-H ₂ O-H ₂ O] ⁻ , 111.043 74 [M-H-C ₂ H ₂ O ₃] ⁻ , 93.033 04 [M-H-CH ₄ O ₄] ⁻	莽草酸 ^[6]
6	1.10	132.102 17	132.101 91	—	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$	2.004	132.102 17 [M+H] ⁺ , 86.097 05 [M-COOH] ⁺ , 69.070 69 [M-COOH-NH ₃] ⁺ , 57.034 29 [M+H-NH ₃ -CH] ⁺	亮氨酸 ^[3,7]
7	1.13	169.013 15	—	169.013 32	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	1.010	169.013 32 [M-H] ⁻ , 151.002 59 [M-H-OH] ⁻ , 125.023 12 [M-H-COOH] ⁻	没食子酸 ^[8]
8 [*]	1.14	353.086 71	—	353.087 59	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	-0.619	191.055 30 [M-H-C ₉ H ₇ O ₃] ⁻ , 173.044 51 [M-H-C ₉ H ₉ O ₄] ⁻ , 161.023 30 [M-H-C ₉ H ₈ O ₄] ⁻	绿原酸 ^[9]
9 [*]	1.17	153.018 25	—	153.018 24	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$	0.006	153.018 20 [M-H] ⁻ , 109.028 06 [M-H-CO ₂] ⁻ , 91.017 32 [M-H-CO ₂ -H ₂ O] ⁻ , 81.033 01 [M-H-C ₂ O ₃] ⁻	原儿茶酸 ^[10]
10	1.34	182.081 18	182.081 44	—	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$	1.484	183.081 44 [M+H] ⁺ , 165.076 17 [M+H-NH ₃] ⁺ , 119.406 00 [M+H-COOH-NH ₃] ⁺	酪氨酸 ^[4]
11 [*]	1.35	179.033 88	—	179.034 12	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	1.061	179.034 26 [M-H] ⁻ , 135.043 85 [M-H-CO ₂] ⁻ , 107.049 25 [M-H-C ₂ O ₃] ⁻	咖啡酸 ^[10]
12	1.37	289.070 66	—	289.072 36	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	2.071	289.072 36 [M-H] ⁻ , 271.061 28 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 245.081 83 [M-H-CO ₂] ⁻ , 179.033 77 [M-H-C ₆ H ₆ O ₂] ⁻	儿茶素 ^[11]
13	1.44	166.086 24	166.086 26	—	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$	-0.091	166.086 24 [M+H] ⁺ , 120.080 99 [M-COOH] ⁺ , 103.039 45 [M-COOH-NH ₃] ⁺ , 91.039 62 [M+H-COOH-CH-NH ₃] ⁺	苯丙氨酸 ^[4]
14	1.57	137.023 32	—	137.023 21	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$	0.802	137.023 21 [M-H] ⁻ , 119.012 60 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 108.020 33 [M-H-CO] ⁻	对羟基苯甲酸 ^[12]
15	1.77	291.086 31	—	291.086 18	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	-0.463	291.086 18 [M+H] ⁺ , 273.076 48 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 207.065 35 [M+H-C ₄ H ₄ O ₂] ⁺ , 189.054 14 [M+H-C ₄ H ₆ O ₃] ⁺ , 177.054 58 [M+H-C ₃ H ₆ O ₃] ⁺ , 165.054 61 [M+H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁺ , 161.059 75 [M+H-C ₃ H ₆ O ₄] ⁺ , 147.044 05 [M+H-2H ₂ O-C ₆ H ₄ O ₂] ⁺ , 139.038 97 [M+H-C ₆ H ₈ O ₃] ⁺	儿茶酸 ^[13]
16	2.71	367.102 36	—	367.103 85	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_9$	1.075	367.103 85 [M-H] ⁻ , 191.055 68 [M-H-C ₁₀ H ₈ O ₃] ⁻ , 179.034 19 [M-H-C ₈ H ₁₂ O ₃] ⁻ , 135.043 91 [M-H-C ₉ H ₁₂ O ₇] ⁻ , 93.032 73 [M-H-C ₁₁ H ₁₄ O ₈] ⁻	绿原酸甲酯 ^[14]
17 [*]	3.00	609.145 01	—	609.146 79	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	1.120	609.146 79 [M-H] ⁻ , 300.028 08 [M-H-C ₁₂ H ₂₁ O ₉] ⁻ , 271.025 27 [M-H-C ₁₃ H ₂₂ O ₁₀] ⁻ , 255.030 00 [M-H-C ₁₃ H ₂₂ O ₁₁] ⁻ , 243.029 75 [M-H-C ₁₄ H ₂₂ O ₁₁] ⁻ , 227.067 34 [M-H-C ₁₄ H ₂₂ O ₁₂] ⁻	芦丁 ^[15]
18	3.36	463.087 10	—	463.088 90	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	1.513	300.028 08 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₃] ⁻ , 271.025 18 [M-H-C ₇ H ₁₂ O ₆] ⁻ , 255.029 94 [M-H-C ₇ H ₁₂ O ₇] ⁻ , 178.997 33 [M-H-C ₁₃ H ₁₆ O ₇] ⁻ , 151.002 58 [M-H-C ₁₄ H ₁₆ O ₈] ⁻	金丝桃苷 ^[16]

续表 1

峰号	t_R/min	一级质谱 (m/z)	[M+H] ⁺ 理论值 (m/z)	[M-H] ⁻ 理论值 (m/z)	分子式	误差 ($\times 10^{-4}$)	二级质谱 (m/z)	鉴定结果
19	17.20	301.034 28	—	301.035 95	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	1.907	273.041 32 [M-H-CO] ⁻ , 245.046 83 [M-H-C ₂ O ₂] ⁻ , 229.050 63 [M-H-C ₂ O ₃] ⁻ , 178.997 77 [M-H-C ₇ H ₆ O ₃] ⁻	槲皮素 ^[12]
20 [*]	21.06	287.055 01	287.054 87	—	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	-0.145	287.054 87 [M+H] ⁺ , 153.018 42 [M+H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁺ ,	山柰酚 ^[12]
21 [*]	32.30	471.348 39	—	471.346 88	$\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{O}_4$	0.863	471.346 88 [M-H] ⁻ , 453.337 34 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 407.332 09 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻	山楂酸 ^[17]
22	32.34	281.247 51	281.247 53	—	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	0.083	281.247 53 [M+H] ⁺ , 263.236 76 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 221.226 53 [M-COOH-CH ₂] ⁺ , 179.143 25 [M-COOH-C ₄ H ₈] ⁺ , 165.127 29 [M-COOH-C ₅ H ₁₀] ⁺	亚油酸 ^[18]
23 [*]	40.52	457.367 62	457.367 92	—	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$	-0.547	457.367 92 [M+H] ⁺ , 439.357 39 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 411.362 09 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 249.186 72 [M+H-C ₁₄ H ₂₄ O] ⁺	齐墩果酸 ^[17]
24	42.87	443.388 36	443.388 79	—	$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$	0.976	443.388 79 [M+H] ⁺ , 425.378 08 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 407.368 56 [M+H-2H ₂ O] ⁺ , 221.899 93 [M+H-C ₁₅ H ₂₆ O] ⁺	白桦脂醇 ^[19]
25 [*]	43.12	455.351 97	—	455.353 45	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$	0.838	455.353 45 [M-H] ⁻ , 407.331 88 [M-H-CH ₄ O ₂] ⁻	熊果酸 ^[20]

*通过对照品对比确认

*Identified by comparing with reference standards

255.030 00 [M-H-C₁₃H₂₂O₁₁]⁻、243.029 75 [M-H-C₁₄H₂₂O₁₁]⁻、227.034 67 [M-H-C₁₄H₂₂O₁₂]⁻，结合对照品及文献报道^[15]，推测其为芦丁。保留时间在 3.36 min，得到 609.145 01 [M-H]⁻质谱信号，碎片离子为 300.028 08 [M-H-C₆H₁₁O₅]⁻、271.025 18 [M-H-C₇H₁₂O₆]⁻、255.029 94 [M-H-C₇H₁₂O₇]⁻、178.997 33 [M-H-C₁₃H₁₆O₇]⁻、151.002 58 [M-H-C₁₄H₁₆O₈]⁻，结合文献报道^[16]，推测其为金丝桃苷。负离子模式下，保留时间在 1.37 min，得到 289.072 36 [M-H]⁻质谱信号，碎片离子为 271.061 28 [M-H-H₂O]⁻、245.081 83 [M-H-CO₂]⁻、179.033 77 [M-H-C₆H₆O₂]⁻，结合文献报道^[11]，推测其为儿茶素。保留时间在 17.20 min，得到 301.035 95 [M-H]⁻质谱信号，碎片离子为 273.041 32 [M-H-CO]⁻、245.046 83 [M-H-C₂O₂]⁻、229.050 63 [M-H-C₂O₃]⁻、178.997 77 [M-H-C₇H₆O₃]⁻，结合文献报道^[12]推测其为槲皮素。正离子模式下，保留时间在 21.06 min，得到 287.054 87 [M+H]⁺，碎片离子为 287.054 87 [M+H]⁺、153.018 13 [M+H-C₈H₆O₂]⁺，结合对照品及文献报道^[12]，推测其为山柰酚。

3.4 三萜类

负离子模式下，保留时间在 32.30 min，得到 471.346 88 [M-H]⁻质谱信号，碎片离子为 453.337 34 [M-H-H₂O]⁻、407.332 09 [M-H-H₂O-CO₂]⁻，

结合对照品及文献报道^[17]，推测其为山楂酸。正离子模式下，保留时间在 40.52 min，得到 457.367 92 [M+H]⁺质谱信号，碎片离子为 439.357 39 [M+H-H₂O]⁺、411.362 09 [M+H-H₂O-CO]⁺、249.186 72 [M+H-C₁₄H₂₄O]⁺，结合对照品及文献报道^[17]，推测其为齐墩果酸。保留时间在 42.87 min，得到 443.388 79 [M+H]⁺质谱信号，碎片离子为 425.378 08 [M+H-H₂O]⁺、407.368 56 [M+H-2H₂O]⁺、221.899 30 [M+H-C₁₅H₂₆O]⁺，结合文献报道^[19]，推测其为白桦脂醇。负离子模式下，保留时间在 43.12 min，得到 455.353 45 [M-H]⁻质谱信号，碎片离子为 407.331 88 [M-H-CH₄O₂]⁻，结合对照品及文献报道^[20]，推测其为熊果酸。

4 讨论

近年来，高效分离能力的色谱和高分辨、高灵敏质谱串联技术已在多组分中药及复方成分快速定性分析中逐渐凸显出独特优势^[6]，因此本研究采用该技术对宣木瓜饮片化学成分进行了分析，结果可准确快速的对成分作出分析。

供试品溶液的处理，分别考察了 100%、80%和 75%甲醇多种试剂，结果 75%甲醇作溶剂时得到的峰数更多。流动相考察了 A 相水、水-0.05%甲酸，B 相乙腈、乙腈-0.05%甲酸，发现 A 相水-0.05%甲酸和 B 相乙腈-0.05%甲酸能够有较好的分离度，也说明了流动相中加入少量的酸，能有效改善峰形及

提高分离度。

为了最大程度地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, 正离子总离子流图中大部分的峰集中在中间部位, 负离子总离子流图中的峰大部分集中在后半部分。

研究共鉴定出 25 个化学成分, 但有部分文献报道的化合物如鼠李糖苷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, 待进一步研究确证。同时从样品总离子流图中也发现, 一些响应较好的色谱峰未能在已有数据库中找到, 这表明宣木瓜中还有一些未知成分, 有待进一步研究开发。

通过查阅文献, 目前未见对宣木瓜化学成分全成分分析的研究报道, 因此研究可弥补现阶段对木瓜成分研究不足, 另传统宣木瓜饮片制备方法从原植物到药材再到中药饮片经过多次水处理和多次加工的过程, 成分损失大, 开展产地加工一体化研究势在必行, 本研究也可为后期进一步优化宣木瓜产地加工工艺、优选质量控制指标提供参考。

参考文献

- [1] 查日维, 谢晓梅, 杨沫, 等. 基于层次分析法的多指标综合评价优选宣木瓜提取方法 [J]. 中成药, 2014, 36(3): 643-646.
- [2] 张毅, 秦海军, 马玲, 等. 不同溶剂和提取方法对宣木瓜总黄酮提取率的影响 [J]. 中国药业, 2014(12): 27-29.
- [3] 渠琛玲, 张寒琦, 张华蓉, 等. 电喷雾质谱法研究氨基酸的质谱碎裂及其与人参皂苷 Rb₃ 的相互作用 [J]. 高等学校化学学报, 2008, 29(9): 1721-1726.
- [4] 张玉, 董文婷, 霍金海, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的广地龙化学成分分析 [J]. 中草药, 2017, 48(2): 252-262.
- [5] 王有志, 罗奇志, 罗佳波. 高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法测定双黄连粉针剂中奎尼酸的含量 [J]. 南方医科大学学报, 2010, 30(2): 401-402.
- [6] 徐钢, 单国顺, 周远征, 等. 狗脊升华与挥发性成分的 UPLC/Q-TOF-MS 分析 [J]. 中草药, 2013, 44(16): 2308-2312.
- [7] 曹书霞, 杨晓丽, 陈晓岚, 等. 氨基酸复合物的电喷雾质谱研究 [J]. 分析测试学报, 2004, 23(3): 64-66.
- [8] 聂妍, 侯媛媛, 李云鹃, 等. 生物活性结合 UPLC-Q/TOF 分析的芒果核仁中抗炎药效物质筛选研究 [J]. 中草药, 2015, 46(18): 2743-2749.
- [9] 居文政, 刘芳, 吴婷, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定人血浆中黄芩苷和绿原酸 [J]. 药科学, 2007, 42(10): 1074-1077.
- [10] 于生, 张丽, 单鸣秋, 等. UPLC-MS 法同时测定木瓜饮片中 8 种有机酸 [J]. 中草药, 2016, 47(14): 2465-2469.
- [11] 许文, 傅志勤, 林婧, 等. HPLC-Q-TOF-MS 和 UPLC-QqQ-MS 的三叶青主要成分定性定量研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4365-4372.
- [12] 高诚伟, 康勇, 雷泽模, 等. 皱皮木瓜中有机酸的研究 [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 1999(4): 319-321.
- [13] 孙国东, 霍金海, 王改丽, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的核桃楸皮成分分析 [J]. 中草药, 2017, 48(4): 657-667.
- [14] 刘娟秀, 罗益远, 刘训红, 等. 基于 UPLC-Triple TOF-MS/MS 技术分析苍耳草与苍耳子的差异化学成分 [J]. 中草药, 2016, 47(22): 3951-3958.
- [15] 张文君, 张国锋, 王立, 等. UPLC 法同时测定黑果腺肋花楸浆果中原花青素 B1、原花青素 B2、原花青素 B4、芦丁、槲皮素 [J]. 中草药, 2016, 47(24): 4452-4455.
- [16] 罗益远, 刘娟秀, 王锋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱同时测定首乌藤中 13 种成分 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1474-1479.
- [17] 王鑫, 陈雪晴, 尤蓉蓉, 等. 青叶胆化学成分成分的 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 分析 [J]. 中草药, 2017, 48(3): 453-459.
- [18] 侯娅, 马阳, 邹立思, 等. UPLC-Triple TOF-MS/MS 分析闽产太子参代谢物积累的动态变化 [J]. 中国新药杂志, 2015, 24(1): 90-96.
- [19] 霍金海, 都晓伟, 孙国东, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 分析北青龙衣成分 [J]. 中草药, 2016, 47(19): 3379-3388.
- [20] 杨晓静, 陈丽娜, 秦瑶, 等. UPLC-MS/MS 法测定中药材中齐墩果酸与熊果酸的含量 [J]. 分析测试学报, 2016, 35(6): 753-757.