

基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析覆盆子不同部位的化学成分及其 9 种成分含量的快速测定

沈 瑶¹, 黄思红², 刘依茹¹, 李靖蕾¹, 陈昌伦¹, 刘考铧¹, 刘 伟³, 秦路平¹, 李荣胜^{3*}, 吴建军^{1*}

1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053

2. 上海中医药大学附属曙光医院宝山分院 儿科, 上海 201900

3. 上海中医药大学附属曙光医院肝病研究所, 肝肾疾病病证教育部重点实验室, 上海市中医临床重点实验室, 上海 201203

摘要: 目的 采用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS 法对覆盆子 *Rubus chingii* 不同部位(小核果和花托)化学成分进行分析鉴定, 并建立快速测定覆盆子中 9 种成分含量的方法。方法 采用 Acquity UPLC HSS T₃ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 以 0.1% 甲酸水与乙腈为流动相, 梯度洗脱; 覆盆子化学成分鉴定时采用正负离子 Full MS/dd-MS² 模式, 通过化合物的一级、二级质谱信息, 结合对照品比对确认, 进行覆盆子不同部位主要化学成分的快速、精准识别。采用 ACQUITY BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱在负离子 Full MS/SIM 模式, 建立快速测定覆盆子不同部位中 9 种成分(没食子酸、芦丁、鞣花酸、金丝桃苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、紫云英苷、椴树苷、槲皮素和山柰酚)含量的 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS 方法, 并测定其含量。结果 从覆盆子小核果和花托中共鉴定 122 种化学成分, 包括黄酮类 66 种、有机酸类 28 种、萜类 24 种、其他类 4 种。成功建立一种 6 min 完成覆盆子中 9 种成分含量测定的方法, 各成分在其线性范围内线性关系良好; 精密度、重复性及稳定性良好 (RSD≤6.30%); 加样回收率在 99.45%~105.30% (RSD≤4.43%), 并发现小核果中芦丁的含量显著高于花托; 而花托中的鞣花酸、山柰酚-3-O-芸香糖苷和椴树苷的含量显著高于小核果。结论 覆盆子小核果和花托部位的化学成分存在差异性, 运用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS 建立的定量方法分析时间短、灵敏度高、准确性好, 方法学考察结果均符合含量测定的要求, 可用于覆盆子中 9 种成分的快速测定。

关键词: 覆盆子; 小核果; 花托; 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱; 没食子酸; 芦丁; 鞣花酸; 金丝桃苷; 山柰酚-3-O-芸香糖苷; 紫云英苷; 椴树苷; 槲皮素; 山柰酚

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)15-4789-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.15.004

Analysis of chemical components in different parts of *Rubus chingii* and rapid determination of its nine main components by UHPLC-Q-Orbitrap high resolution mass spectrometry

SHEN Yao¹, HUANG Si-hong², LIU Yi-ru¹, LI Jing-lei¹, CHEN Chang-lun¹, LIU Kao-hua¹, LIU Wei³, QIN Lu-ping¹, LI Rong-sheng³, WU Jian-jun¹

1. School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

2. Department of Pediatric, Baoshan Branch, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201900, China

3. Institute of Liver Diseases, Key Laboratory of Liver and Kidney Diseases, Ministry of Education, Shanghai Key Laboratory of Traditional Chinese Clinical Medicine, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Shanghai 201203, China

Abstract: Objective UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS was used to analyze and identify the chemical components in different parts (drupelets and receptacles) of *Rubus chingii*, and a rapid method for the determination of nine components in drupelets and

收稿日期: 2023-01-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(81803794); 浙江中医药大学“5151 远志人才工程”(112123A12201/001/004/019)

作者简介: 沈 瑶(2001—), 在读本科生, 中药学专业。Tel: 15857227126 E-mail: shenyao0923@163.com

*通信作者: 吴建军, 博士, 副教授, 从事中药化学方向的研究。Tel: (0571)61768150 E-mail: wjjpharmacy@zcmu.edu.cn

李荣胜, 硕士, 工程师, 从事药物分析及药物代谢动力学研究。Tel: (021)20256526 E-mail: rongsheng.li@shhhzy.com

receptacles of *R. chingii* was established, and to provide the basis for the rational application of different parts of *R. chingii* and its quality evaluation. **Methods** Using Acquity UPLC HSS T₃ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) column with 0.1% formic acid water and acetonitrile as mobile phase, and gradient elution was performed. The identification of chemical components in *R. chingii* adopted the positive and negative ion Full MS/dd-MS² mode, combined with the primary and secondary mass spectrometry information of the compound, from the comparison and confirmation of reference substances, the main chemical components of *R. chingii* can be identified quickly and accurately. The UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS method for rapid determination of nine components in *R. chingii* was established by using Acquity BEHC₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) column in negative ion Full MS-SIM mode, and the contents of 10 batches of *R. chingii* were determined. **Results** A total of 122 chemical components in drupelets and receptacle of *R. chingii* were identified, including 66 flavonoids, 28 organic acids, 24 terpenoids and 4 other chemical components. Established a method successfully for the determination of nine components of *R. chingii* in 6 min, and the linear relationship of each component was good in its linear range. The precision, repeatability and stability were good (RSD≤6.30%); The recoveries were 99.45%–105.30% (RSD≤4.43%). Comparing the average content of nine components in 10 batches of drupelet and receptacle samples, the content of rutin in drupelets is higher than in receptacle, while the contents of ellagic acid, kaempferol 3-rutinoside and tiliroside are higher in receptacles than in drupelets of *R. chingii*. **Conclusion** The chemical compositions of different parts (drupelets and receptacles) of *R. chingii* were different. UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS method is achieved the rapid identification of chemical components in *R. chingii*. The established quantitative method has the advantages of short analysis time, high sensitivity and good accuracy, and the results of methodological investigation meet the requirements of content determination. It can be used for rapid determination of nine components in *R. chingii*, which can provide some scientific reference for its quality evaluation.

Key words: *Rubus chingii* Hu.; drupelet; receptacle; UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS; gallic acid; rutin; ellagic acid; hyperoside; kaempferol-3-O-rutinoside; astragalin; tiliroside; quercetin; kaempferol

覆盆子为蔷薇科悬钩子属植物华东覆盆子 *Rubus chingii* Hu. 的干燥果实，具有益肾固精缩尿、养肝明目的功效^[1]，应用历史悠久^[2]。覆盆子在我国浙江、福建、江苏等地区有广泛分布，于 2002 年被中华人民共和国卫生部认定为既是食品又是中药材的两用品种，兼具药食两用性，具备极高的研究和开发价值。覆盆子为聚合果，由多数小核果聚合而成，其构造可分为小核果和花托 2 部分（图 1）。现代研究表明，覆盆子中主要含黄酮类、有机酸类、萜类、甾体及多糖类等成分^[3-7]，然而，至今尚未发现对覆盆子不同部位的化学成分进行分析的研究报道，导致其不同部位的化学成分及其含量的差异尚不明确。目前《中国药典》2020 年版以鞣花酸和山柰酚-3-O-芸香糖苷作为含量测定项^[1]，已有文献报道^[8-9]通过 HPLC 法在 254、315、344 nm 波长切换下测定了覆盆子中 7 种成分的含量和在 360 nm 下测定 6 种成分的含量，采集时间约 60 min。本研究利用高分辨质谱的优势特点，一级质谱精确定量保证稳定性和准确度的同时，简化了操作处理流程，节省分析时间；首次对覆盆子不同部位（小核果和花托）化学成分进行分析鉴定，并采用 UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap HRMS 对小核果和花托中没食子酸、芦丁、鞣花酸、金丝桃苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、紫云英苷、椴树苷、

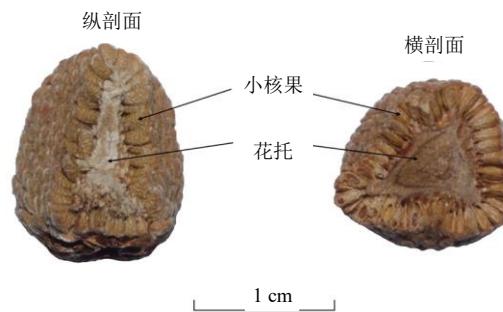


图 1 覆盆子构造图

Fig. 1 Structure map of *R. chingii* fruits

槲皮素和山柰酚共 9 种成分进行测定，以期为覆盆子不同部位的合理利用及质量评价提供参考依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Dionex Ultimate 3000 高压液相色谱、Q Exactive 四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱仪 (Thermo Fisher Co., 美国)、Sartorius BP211D 电子分析天平 (北京赛多利斯科学仪器有限公司)、微量移液器 (Eppendorf, 美国)、高速离心机 (Eppendorf, 德国)、HH-4 型数码恒温水浴锅 (国华仪器制造有限公司)。

1.2 试药与试剂

10 批次覆盆子中药材 (批号 S220501 ~

S220510) 购自瑞辉中药材有限公司, 产地杭州千岛湖, 经过浙江中医药大学药学院秦路平教授鉴定为蔷薇科植物华东覆盆子 *R. chingii* Hu. 的干燥果实。

对照品水杨酸(批号 AF21052253) 购自成都埃法生物科技有限公司; 没食子酸(批号 D0409AS)、槲皮素(批号 0821AS)、紫云英苷(批号 MB7087)、阿魏酸(批号 M1102AS)、金丝桃苷(批号 00807AS)、橙皮苷(批号 A1006AS)、柚皮苷(批号 J1110AS)、奎宁酸(批号 MB6731)、芦丁(批号 J0509AS) 购自大连美仑生物技术有限公司; 新绿原酸(批号 15020503)、咖啡酸(批号 190425)、绿原酸(批号 15020601)、异绿原酸A(批号 15030201)、异绿原酸B(批号 15030202)、异绿原酸C(批号 15030203)、隐绿原酸(批号 15020603) 购自上海融禾医药科技发展有限公司; 儿茶素(批号 PRF21062821)、原儿茶醛(批号 PRF10041021)、鞣花酸(批号 PRF21030521)、山柰酚-3-O-芸香糖苷(批号 PRF20071321)、银椴苷(批号 PRF21031542)、木犀草素(批号 BP0899)、木犀草苷(批号 BP0899)、刺芒柄花素(批号 BP0592)、异槲皮苷(批号 PRF10032142)、原儿茶酸(批号 PRF10061151) 均购自成都普瑞法科技开发有限公司; 以上对照品质量分数均大于 98%。色谱纯甲醇与乙腈购自美国赛默飞科技有限公司。色谱纯甲酸购自美国天地股份有限公司。分析纯无水乙醇购自中国杭州悦耳科技有限公司。超纯水通过 Milli-Q Academic System 制备获得。

2 方法与结果

2.2 覆盆子中化学成分鉴定

2.2.1 色谱条件 使用 Acquity UPLC HSS T₃ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 流动相 0.1% 甲酸水与乙腈, 梯度洗脱: 0~1 min, 2% 乙腈; 1~10 min, 2%~48% 乙腈; 10~11 min, 48% 乙腈; 11~12 min, 48%~95% 乙腈; 12~14 min, 95% 乙腈; 14~45 min, 2% 乙腈; 柱温 40 °C; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 3 μL。

2.2.2 质谱条件 采用 Q Exactive 四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱仪 (H-ESI) 作为分析检测的仪器, 电喷雾离子源 (ESI), 正、负离子 Full MS/dd-MS² 模式全扫描。正离子模式参数: 扫描范围 (*m/z* 100~1500); 分辨率 70 000; 喷雾电压 3.5 kV; 毛细管温度 320 °C; 辅助加热器温度 300 °C; 鞘气 (N₂) 流量 35 arb; 辅助气 (N₂) 流量 13 arb; 自动增益

控制 (AGC) 10⁶; s-lens 射频水平 50。负离子模式参数: 扫描范围 (*m/z* 100~1500); 分辨率 70 000; 喷雾电压 3.2 kV; 毛细管温度 320 °C; 辅助加热器温度 300 °C; 鞘气 (N₂) 流量 35 arb; 辅助气 (N₂) 流量 10 arb; 自动增益控制 (AGC) 10⁶; s-lens 射频水平 50。

2.2.3 对照品溶液的制备 取各对照品适量, 精密称定, 分别溶于 20% 甲醇中, 配成质量浓度为 1.0 mg/mL 的混合对照品储备液, 待用。所有对照品溶液均在 4 °C 条件下贮藏, 用于化学成分鉴定用。

2.2.4 供试品溶液的制备 将批号 S220503 覆盆子整果分离为小核果和花托, 粉碎, 过 60 目筛。分别精密称取供试品(覆盆子小核果、花托)粉末 1.0 g, 加 60% 乙醇 50 mL, 称定质量, 加热回流 60 min, 放冷, 再称定质量, 用 60% 乙醇补足减失的质量, 摆匀, 放置, 取上清液滤过, 取续滤液 1 mL 超纯水稀释至 10 mL, 在 12 000×g、4 °C 条件下离心 10 min, 待用。

2.2.5 鉴定结果 按照“2.2.1”及“2.2.2”项下色谱、质谱条件进样, 根据高分辨质谱提供的准分子离子和加荷离子等信息推测并得到一级质谱的精确相对分子质量, 经 Xcalibar 3.0 软件拟合分子式。对在高分辨质谱下获取的各成分推测, 再通过与对照品、文献、Mass Bank 等数据库及碎片离子信息, 进一步对覆盆子所含化学成分进行定性分析。从覆盆子中鉴定出 122 种化学成分, 包括黄酮类 66 种、有机酸类 28 种、萜类 24 种、其他类 4 种成分, 其中 27 种化学成分通过对照品比对确认, 44 个化合物与文献报道一致, 其他化合物根据数据库一级、二级碎片比对获得。覆盆子整果、小核果及花托提取液正负离子模式下的总离子流图见图 2, 结果见表 1。

2.2.6 化合物结构鉴定及质谱特征

(1) 黄酮类成分: 从覆盆子中鉴定的黄酮类成分多达 66 种, 见表 1。黄酮类化合物大多以 A-C-B3 个环状结构连接, 其 A 环 7 位和 C 环 3 位连接的 O-糖苷键容易断裂产生 [M-H₂O]⁻、[M-H-rha]⁻、[M-H-glc]⁻、[M-H-rutinose]⁻ 等碎片, C 环 C-O-C 键断裂或发生重排。在 MS 条件下, 在负离子模式下有较好的响应。以《中国药典》控制成分山柰酚-3-O-芸香糖苷和椴树苷为例, 一级质谱得到山柰酚-3-O-芸香糖苷 *m/z* 593.151 9 [M-H]⁻ 准分子离子峰, 化学式为 C₂₇H₃₀O₁₅, 在二级质谱下失去-C₁₂H₂₀O₉ 碎片得到 *m/z* 284.032 8 [M-H-C₁₅H₁₀O₆]⁻ 离子碎

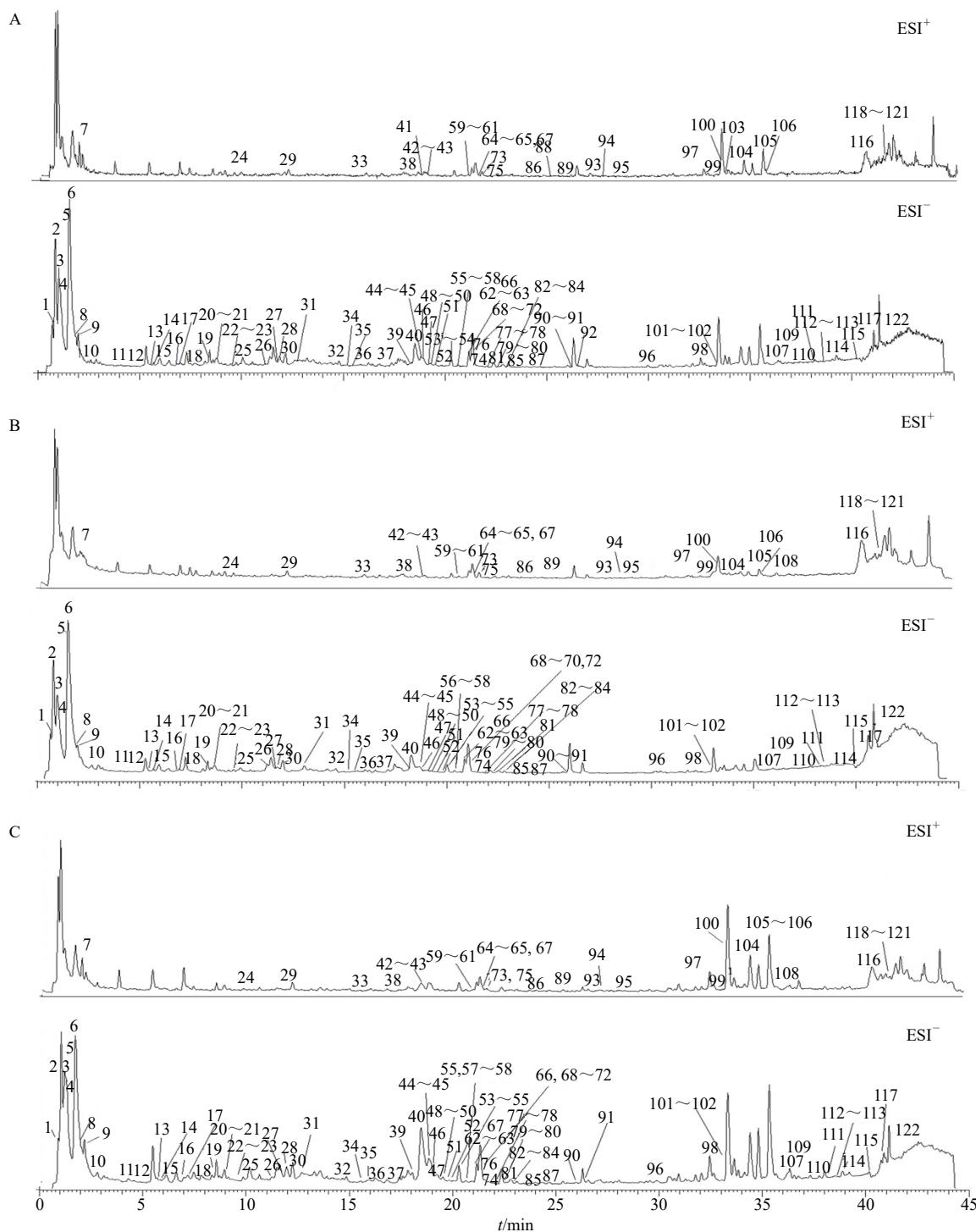


图2 覆盆子整果(A)及其不同部位(B:小核果;C:花托)提取液的总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatograms of extract of whole fruits (A), drupelets (B) and receptacles (C) of *R. chingii* extracts

片，该碎片进一步失去 $-\text{CH}_2\text{O}$ 碎片得到 m/z 255.029 8 [$\text{M}-\text{H}-\text{C}_{14}\text{H}_8\text{O}_5$] $^-$ ，该碎片失去 $-\text{CO}$ 碎片最终得到 m/z 227.034 4 [$\text{M}-\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_6\text{O}_4$] $^-$ 离子碎片。从裂解获得的一级、二级质谱离子碎片 m/z 值分析，化合物裂解途径符合黄酮类的裂解规律，

与文献报道裂解途径相似^[15]，通过对照品比对确定化合物为山柰酚-3-*O*-芸香糖苷，相应质谱裂解途径见图3。椴树苷 m/z 593.130 6 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ 准分子离子峰，化学式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$ 。在二级质谱下失去 $-\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_7$ 碎片得到 m/z 285.040 5 [$\text{M}-\text{H}-\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$] $^-$ 碎片，该

表1 覆盆子不同部位(小核果和花托)的化学成分鉴定

Table 1 Ingredient identification of different parts of *R. chingii* (drupelets and receptacles)

| 编号 | <i>t_R</i> /min | 模式 | 实测值 | 理论值 | 误差 | 化学式 | 主要的二级质谱碎片 | 鉴定成分 | 成分类型 | 部位 | |
|----|---------------------------|-----------------------------------|----------------|----------------|----------------------|---|--|------------------------|------|-----|----|
| | | | (<i>m/z</i>) | (<i>m/z</i>) | ($\times 10^{-6}$) | | | | | 小核果 | 花托 |
| 1 | 0.87 | [M-H] ⁻ | 115.0023 | 115.0025 | -2.479 | C ₄ H ₄ O ₄ | 115.0023, 91.0205, 7, 71.0124 | 马来酸 | 有机酸 | + | + |
| 2 | 0.99 | [M-H] ⁻ | 209.0298 | 209.0292 | 3.044 | C ₆ H ₁₀ O ₈ | 209.0299, 191.0189, 129.0180, 85.0280 | 枸橼酸 ^[10] | 有机酸 | + | - |
| 3 | 1.08 | [M-H] ⁻ | 723.2151 | 723.2131 | 2.848 | C ₃₃ H ₄₀ O ₁₈ | 723.1953, 433.1138, 289.0720, melitidin ^[11] , 253.0506 | 黄酮 | + | + | |
| 4 | 1.33 | [M-H] ⁻ | 149.0079 | 149.0081 | -0.084 | C ₄ H ₆ O ₆ | 149.0445, 131.0337, 101.0231, 酒石酸 ^[10] , 87.0074 | 有机酸 | + | + | |
| 5 | 1.57 | [M-H] ⁻ | 175.0238 | 175.0237 | 0.660 | C ₆ H ₈ O ₆ | 175.0240, 157.0133, 127.0024, 抗坏血酸 ^[10] , 83.0123 | 有机酸 | + | + | |
| 6 | 1.60 | [M-H] ⁻ | 191.0183 | 191.0186 | 1.052 | C ₆ H ₈ O ₇ | 191.0190, 173.0084, 129.0181, 柠檬酸 ^[11] , 111.0074 | 有机酸 | + | + | |
| 7 | 1.91 | [M+NH ₄] ⁺ | 136.0617 | 136.0604 | 1.276 | C ₄ H ₆ O ₄ | 136.0757, 119.0495, 107.0496, 丁二酸 ^[11] , 91.0548 | 有机酸 | + | + | |
| 8 | 2.02 | [M-H] ⁻ | 169.0133 | 169.0132 | 0.948 | C ₇ H ₆ O ₅ | 169.0133, 125.0231 | 没食子酸* | 有机酸 | + | + |
| 9 | 2.10 | [M-H] ⁻ | 133.0129 | 133.0132 | -0.230 | C ₄ H ₆ O ₅ | 133.0129, 115.0023 | 苹果酸 ^[10] | 有机酸 | + | + |
| 10 | 2.25 | [M-H] ⁻ | 207.0141 | 207.0135 | 2.543 | C ₆ H ₈ O ₈ | 207.0135 | 羟基柠檬酸 | 有机酸 | + | + |
| 11 | 4.15 | [M-H] ⁻ | 153.0182 | 153.0182 | -0.065 | C ₇ H ₆ O ₄ | 153.0183, 109.0281, 91.0176 | 原儿茶酸* | 有机酸 | + | + |
| 12 | 5.16 | [M-H] ⁻ | 191.0553 | 191.0550 | 1.389 | C ₇ H ₁₂ O ₆ | 191.0189, 129.0181, 111.0074, 奎宁酸*, 87.0073 | 有机酸 | + | + | |
| 13 | 5.70 | [M-H] ⁻ | 167.0340 | 167.0339 | 0.687 | C ₈ H ₈ O ₄ | 167.0341, 152.0104, 123.0438, 香草酸 ^[11] , 108.0203 | 有机酸 | + | + | |
| 14 | 5.76 | [M-H] ⁻ | 151.0390 | 151.0390 | 0.029 | C ₈ H ₈ O ₃ | 151.0390, 123.0438, 107.0488, 香草醛 ^[11] , 93.0332 | 其他 | + | + | |
| 15 | 6.29 | [M-H] ⁻ | 137.0232 | 137.0233 | -0.588 | C ₇ H ₆ O ₃ | 137.0232, 93.0332 | 对羟基苯甲酸 ^[12] | 有机酸 | + | + |
| 16 | 6.87 | [M-H] ⁻ | 181.0497 | 181.0495 | 1.131 | C ₉ H ₁₀ O ₄ | 181.0497, 163.0391, 135.0439, 丁香醛, 119.0489 | 黄酮 | + | + | |
| 17 | 7.04 | [M-H] ⁻ | 577.1357 | 577.1341 | 2.924 | C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂ | 557.1791, 521.2006, 301.0020, 原花青素 B ₁ , 165.0548 | 黄酮 | + | + | |
| 18 | 7.73 | [M-H] ⁻ | 577.1358 | 577.1341 | 3.028 | C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂ | 557.2408, 509.2188, 361.1659, 原花青素 B ₃ , 165.0546 | 黄酮 | + | + | |
| 19 | 8.46 | [M-H] ⁻ | 289.0719 | 289.0707 | 4.377 | C ₁₅ H ₁₄ O ₆ | 289.0721, 245.0820, 203.0706, 儿茶素*, 109.0282 | 黄酮 | + | + | |
| 20 | 8.73 | [M-H] ⁻ | 165.0546 | 165.0546 | 0.009 | C ₉ H ₁₀ O ₃ | 165.0547, 135.0439, 128.6831, 根皮酸, 93.0331 | 其他 | + | + | |
| 21 | 8.73 | [M-H] ⁻ | 577.1355 | 577.1341 | 2.508 | C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂ | 557.1801, 521.2042, 354.6276, 原花青素 B ₂ , 251.2362 | 黄酮 | + | + | |
| 22 | 9.68 | [M-H] ⁻ | 179.0340 | 179.0339 | 0.865 | C ₉ H ₈ O ₄ | 179.0341, 135.0439, 107.0489 | 咖啡酸* | 有机酸 | + | + |
| 23 | 9.74 | [M-H] ⁻ | 353.0880 | 353.0867 | 3.601 | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | 353.1247, 252.0006, 193.0506, 新绿原酸*, 159.0289 | 有机酸 | + | + | |
| 24 | 9.77 | [M+H] ⁺ | 887.2806 | 887.2816 | -1.109 | C ₃₉ H ₅₀ O ₂₃ | 887.2531, 435.1270, 273.0759, natsudaidain-3-O-(5- α -glucosyl-HMG)- β -glucoside ^[11] | 黄酮 | + | + | |
| 25 | 10.11 | [M-H] ⁻ | 577.1357 | 577.1341 | 2.924 | C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂ | 557.1801, 521.2042, 354.6276, 原花青素 B ₄ , 251.2362 | 黄酮 | + | + | |

续表1

| 编号 | <i>t</i> _R /min | 模式 | 实测值 (<i>m/z</i>) | 理论值 (<i>m/z</i>) | 误差 (×10 ⁻⁶) | 化学式 | 主要的二级质谱碎片 | 鉴定成分 | 成分类型 | 部位 | |
|----|----------------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|---|---|--|------|-----|----|
| | | | | | | | | | | 小核果 | 花托 |
| 26 | 11.34 | [M-H] ⁻ | 813.210 3 | 813.208 4 | 2.375 | C ₃₅ H ₄₂ O ₂₂ | 813.368 3, 777.389 6, 339.023 6 | limocitrin-3-O-(5- <i>a</i> -glucosyl-HMG)- β -glucoside ^[11] | 黄酮 | + | + |
| 27 | 11.89 | [2M-H] ⁻ | 279.014 6 | 279.013 5 | 3.750 | C ₆ H ₄ O ₄ | 279.014 9, 235.024 7, 191.034 3, 香豆酸 163.038 9 | 有机酸 | + | + | |
| 28 | 12.00 | [M-H] ⁻ | 289.072 0 | 289.070 7 | 4.481 | C ₁₅ H ₁₄ O ₆ | 289.072 1, 245.082 0, 203.070 6, 表儿茶素 109.028 2 | 黄酮 | + | + | |
| 29 | 12.19 | [M+H] ⁺ | 289.070 3 | 289.070 7 | -1.227 | C ₁₅ H ₁₂ O ₆ | 289.119 9, 271.059 8, 243.065 1, 香橙素 ^[12] 215.070 2 | 黄酮 | + | + | |
| 30 | 12.50 | [M-H] ⁻ | 595.167 3 | 595.165 8 | 2.610 | C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅ | 595.168 7, 475.126 3, 355.082 7, 圣草次昔 313.071 8 | 黄酮 | + | + | |
| 31 | 12.92 | [M-H] ⁻ | 163.039 1 | 163.039 0 | 0.139 | C ₉ H ₈ O ₃ | 163.039 1, 119.048 9, 93.033 3 对香豆酸 ^[11] | 有机酸 | + | + | |
| 32 | 14.88 | [M-H] ⁻ | 353.088 0 | 353.086 7 | 3.516 | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | 353.124 7, 252.000 6, 193.050 6, 绿原酸* 159.028 9 | 有机酸 | + | + | |
| 33 | 15.22 | [M+H] ⁺ | 229.085 6 | 229.085 9 | -1.269 | C ₁₄ H ₁₂ O ₃ | 229.085 6, 135.044 2, 119.049 3, 白藜芦醇 ^[11] 107.049 5 | 其他 | + | + | |
| 34 | 15.26 | [M-H] ⁻ | 197.044 9 | 197.044 4 | 2.335 | C ₉ H ₁₀ O ₅ | 197.044 8, 182.021 2, 153.054 6, 没食子酸乙酯 ^[12] 123.007 4 | 有机酸 | + | + | |
| 35 | 15.52 | [M-H] ⁻ | 137.023 2 | 137.023 3 | -0.111 | C ₇ H ₆ O ₃ | 137.023 2, 119.995 0, 109.028 0, 原儿茶醛* 93.033 2 | 有机酸 | + | + | |
| 36 | 16.05 | [M-H] ⁻ | 137.023 3 | 137.023 3 | -0.369 | C ₇ H ₆ O ₃ | 137.023 2, 93.033 1 水杨酸* | 有机酸 | + | + | |
| 37 | 17.08 | [M-H] ⁻ | 581.188 5 | 581.186 5 | 3.541 | C ₂₇ H ₃₄ O ₁₄ | 581.211 4, 373.129 7, 300.730 3, 2,4,6-trihydroxy 177.039 7 dihydrochalcone3-C- β -D-glucoside-6-O- β -D-glucoside ^[11] | 黄酮 | + | + | |
| 38 | 18.13 | [M+H] ⁺ | 465.102 3 | 465.102 8 | -1.059 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ | 465.100 3, 303.049 8 异槲皮昔* | 黄酮 | + | + | |
| 39 | 18.43 | [M-H] ⁻ | 353.088 0 | 353.086 7 | 3.516 | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | 353.087 8, 248.898 3, 159.028 9, 隐绿原酸* 115.038 8 | 有机酸 | + | + | |
| 40 | 18.55 | [M-H] ⁻ | 300.998 9 | 300.997 9 | 3.443 | C ₁₄ H ₆ O ₈ | 300.999 3, 229.014 7, 177.683 4 鞣花酸* | 有机酸 | + | + | |
| 41 | 18.59 | [M+H] ⁺ | 465.102 3 | 465.102 8 | -0.521 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ | 303.049 7, 153.127 1, 85.029 1 槲皮素-4-O- β -D-葡萄糖昔 | 黄酮 | - | + | |
| 42 | 18.70 | [M+H] ⁺ | 303.049 5 | 303.049 9 | -1.317 | C ₁₅ H ₁₀ O ₇ | 303.049 6, 229.049 6, 165.018 1 草棉黄素 | 黄酮 | + | + | |
| 43 | 18.73 | [M+H] ⁺ | 611.159 8 | 611.160 7 | -1.425 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆ | 611.162 7, 465.102 6, 303.049 8, 光牡荆素-2 129.054 6 | 黄酮 | + | + | |
| 44 | 18.94 | [M-H] ⁻ | 433.114 0 | 433.112 9 | 2.090 | C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀ | 433.041 7, 300.999 2, 163.474 0 柚皮苷-O-葡萄糖昔 | 黄酮 | + | + | |
| 45 | 18.94 | [M-H] ⁻ | 609.146 6 | 609.145 0 | 2.625 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆ | 609.147 0, 300.027 7, 271.048 0, 芦丁* 151.002 3 | 黄酮 | + | + | |
| 46 | 19.00 | [M-H] ⁻ | 515.119 6 | 515.118 4 | 2.383 | C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂ | 515.189 2, 199.133 0, 152.994 6 异绿原酸B* | 有机酸 | + | + | |
| 47 | 19.35 | [M-H] ⁻ | 597.182 8 | 597.181 4 | 2.350 | C ₂₇ H ₃₄ O ₁₅ | 597.183 0, 477.140 2, 387.108 9, phloretin-3',5'-di-C-glucofuranoside ^[11] | 黄酮 | + | + | |
| 48 | 19.41 | [M-H] ⁻ | 461.109 3 | 461.107 8 | 3.128 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁ | 461.240 6, 399.147 0, 377.297 0, 射干昔 199.452 0 | 黄酮 | + | + | |
| 49 | 19.53 | [M-H] ⁻ | 549.161 7 | 549.160 3 | 2.682 | C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃ | 505.100 2, 300.027 7, 271.024 5, 柚皮素-7-O-(2- β -D-呋喃糖基)- β -D-吡喃葡萄糖昔 | 黄酮 | + | + | |

续表1

| 编号 | t _r /min | 模式 | 实测值 (m/z) | 理论值 (m/z) | 误差 (×10 ⁻⁶) | 化学式 | 主要的二级质谱碎片 | 鉴定成分 | 成分类型 | 部位 | |
|----|---------------------|--------------------|--------------|--------------|----------------------------|---|--|------|------|-----|----|
| | | | | | | | | | | 小核果 | 花托 |
| 50 | 19.61 | [M-H] ⁻ | 463.125 2 | 463.123 5 | 3.654 | C ₂₂ H ₂₄ O ₁₁ | 463.091 8, 300.027 7, 178.997 7, 橙皮素-O-葡萄糖苷 151.002 5 | 黄酮 | + | + | |
| 51 | 20.32 | [M-H] ⁻ | 447.093 5 | 447.092 2 | 3.024 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁ | 447.093 9, 284.032 8, 255.029 9, 木犀草苷* 227.029 9 | 黄酮 | + | + | |
| 52 | 20.48 | [M-H] ⁻ | 435.130 2 | 435.128 6 | 3.784 | C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁ | 435.130 0, 273.077 0, 179.034 0, 根皮苷 ^[13-14] 167.033 9 | 黄酮 | + | + | |
| 53 | 20.51 | [M-H] ⁻ | 431.098 5 | 431.097 3 | 2.799 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀ | 431.097 5, 269.045 5, 183.161 3 牡荆素 | 黄酮 | + | + | |
| 54 | 20.62 | [M-H] ⁻ | 515.119 3 | 515.118 4 | 1.781 | C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂ | 515.189 2, 199.133 0, 152.994 6 异绿原酸 A* | 有机酸 | + | + | |
| 55 | 20.66 | [M-H] ⁻ | 547.145 9 | 547.144 6 | 2.418 | C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃ | 547.244 9, 501.307 9, 149.044 4, 白杨素-6-C-β-D-葡萄 糖-8-C-β-L-阿拉伯 | 黄酮 | + | + | |
| 56 | 20.79 | [M-H] ⁻ | 267.066 4 | 267.065 2 | 4.586 | C ₁₆ H ₁₂ O ₄ | 267.124 0, 223.133 7, 97.028 0 刺芒柄花素* | 黄酮 | + | - | |
| 57 | 20.85 | [M-H] ⁻ | 609.182 8 | 609.181 4 | 2.304 | C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅ | 609.147 0, 300.027 7, 271.04 8, 橙皮苷 151.002 3 | 黄酮 | + | + | |
| 58 | 20.87 | [M-H] ⁻ | 463.125 0 | 463.123 5 | 3.200 | C ₂₂ H ₂₄ O ₁₁ | 463.216 4, 331.176 5, 161.044 5, 橙皮素-O-葡萄糖苷 ^[11] 131.033 4 | 黄酮 | + | + | |
| 59 | 20.97 | [M+H] ⁺ | 449.107 7 | 449.107 8 | -0.307 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁ | 287.054 8, 180.943 9, 145.049 6 山柰酚-3-O-葡萄糖苷 ^[11] | 黄酮 | + | + | |
| 60 | 21.02 | [M+H] ⁺ | 195.064 9 | 195.065 2 | -1.258 | C ₁₀ H ₁₀ O ₄ | 195.138 4, 177.126 6, 159.117 4 阿魏酸* | 有机酸 | + | + | |
| 61 | 21.11 | [M+H] ⁺ | 287.054 5 | 287.055 0 | -1.729 | C ₁₅ H ₁₀ O ₆ | 287.054 7, 153.018 0 山柰酚* | 黄酮 | + | + | |
| 62 | 21.17 | [M-H] ⁻ | 593.151 9 | 593.150 1 | 3.074 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅ | 593.131 9, 285.040 6 山柰酚-3-O-芸香糖苷* | 黄酮 | + | + | |
| 63 | 21.20 | [M-H] ⁻ | 447.093 5 | 447.092 2 | 3.024 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁ | 447.093 9, 284.032 8, 255.029 9, 紫云英苷* 227.029 9 | 黄酮 | + | + | |
| 64 | 21.27 | [M+H] ⁺ | 463.122 8 | 463.123 5 | -1.485 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁ | 463.123 5 香叶木素-7-O-葡萄 糖苷 | 黄酮 | + | + | |
| 65 | 21.33 | [M+H] ⁺ | 287.054 4 | 287.055 0 | -2.001 | C ₁₅ H ₁₀ O ₆ | 287.054 8, 255.100 8, 227.106 3, 木犀草素* 195.080 9 | 黄酮 | + | + | |
| 66 | 21.36 | [M-H] ⁻ | 593.151 7 | 593.150 1 | 2.653 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅ | 593.131 9, 285.040 6 维采宁-2 | 黄酮 | + | + | |
| 67 | 21.39 | [M+H] ⁺ | 595.169 6 | 595.165 8 | 6.407 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅ | 595.166 6, 449.108 1, 287.054 7, 木犀草素-7-O-芸香 糖苷 | 黄酮 | + | + | |
| 68 | 21.42 | [M-H] ⁻ | 515.119 4 | 515.118 4 | 1.898 | C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂ | 515.189 2, 199.133 0, 152.994 6 异绿原酸 C* | 有机酸 | + | + | |
| 69 | 21.49 | [M-H] ⁻ | 463.089 0 | 463.087 1 | 4.011 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ | 463.088 7, 300.027 7, 271.025 0, 金丝桃苷* 151.002 4 | 黄酮 | + | + | |
| 70 | 21.55 | [M-H] ⁻ | 301.071 8 | 301.070 7 | 3.804 | C ₁₆ H ₁₄ O ₆ | 300.999 2 橙皮素 | 黄酮 | + | + | |
| 71 | 21.66 | [M-H] ⁻ | 651.157 4 | 651.155 6 | 2.725 | C ₂₉ H ₃₂ O ₁₇ | 651.183 1, 435.129 8, 253.050 4, 3'3,5-羟基-4',5'-甲氧 基黄酮-O-葡萄糖苷-鼠李糖苷 | 黄酮 | + | + | |
| 72 | 21.73 | [M-H] ⁻ | 547.145 9 | 547.144 6 | 2.290 | C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃ | 547.316 6, 501.307 1, 149.044 5 白杨素-6-C-α-L-阿拉 伯糖-8-C-β-D-葡萄 糖苷 | 黄酮 | - | + | |
| 73 | 21.74 | [M+H] ⁺ | 373.127 7 | 373.128 2 | -1.312 | C ₂₀ H ₂₀ O ₇ | 373.183 1, 296.237 1, 193.120 2 甜橙黄酮 | 黄酮 | + | + | |
| 74 | 21.97 | [M-H] ⁻ | 623.162 3 | 623.160 7 | 2.614 | C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆ | 623.161 7, 315.051 7, 299.019 3 异鼠李素-3-O-芸香 糖苷 | 黄酮 | + | + | |
| 75 | 21.99 | [M+H] ⁺ | 625.175 9 | 625.176 3 | -0.659 | C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆ | 317.065 5, 220.310 3 stellarin-2 | 其他 | + | + | |
| 76 | 22.09 | [M-H] ⁻ | 429.082 7 | 429.081 6 | 2.510 | C ₂₁ H ₁₈ O ₁₀ | 429.176 8, 249.113 0, 205.123 0, 白杨素-7-O-β-D-葡萄 糖醛酸苷 | 黄酮 | + | + | |

续表1

| 编号 | <i>t</i> _R /min | 模式 | 实测值 (<i>m/z</i>) | 理论值 (<i>m/z</i>) | 误差 (×10 ⁻⁶) | 化学式 | 主要的二级质谱碎片 | 鉴定成分 | 成分类型 | 部位 | |
|----|----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|---|---|------|------|-----|----|
| | | | | | | | | | | 小核果 | 花托 |
| 77 | 22.23 | [M-H] ⁻ | 463.125 3 | 463.123 5 | 3.934 | C ₂₂ H ₂₄ O ₁₁ | 463.218 2, 331.176 6, 191.055 1, 橙皮素-O-葡萄糖苷 ^[11] 89.022 9 | 黄酮 | + | + | |
| 78 | 22.40 | [M-H] ⁻ | 563.140 9 | 563.139 5 | 2.376 | C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄ | 563.138 6, 517.136 5, 365.018 9, 夏佛塔昔 304.996 2 | 黄酮 | + | + | |
| 79 | 22.66 | [M-H] ⁻ | 461.109 4 | 461.107 8 | 3.410 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁ | 461.241 3, 415.236 3, 391.029 5 (2S)-5,7-二羟基-6-甲 氧基黄酮 7-O-β-D-葡萄糖醛酸 | 黄酮 | + | + | |
| 80 | 22.74 | [M-H] ⁻ | 489.104 2 | 489.102 8 | 2.939 | C ₂₃ H ₂₂ O ₁₂ | 489.103 4, 285.040 5, 255.030 2, 5,7-二羟基-8,2'-二甲 氧基黄酮 7-O-β-D-葡萄糖醛酸 | 黄酮 | + | + | |
| 81 | 22.90 | [M+COOH] ⁻ | 491.119 6 | 491.118 4 | 2.377 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀ | 491.085 8, 341.139 7, 311.092 8, 田蓟昔 149.044 5 | 黄酮 | + | + | |
| 82 | 23.13 | [M+COOH] ⁻ | 491.119 6 | 491.118 4 | 2.377 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀ | 491.214 1, 445.204 8, 313.166 8 三叶豆紫檀昔 | 黄酮 | + | + | |
| 83 | 23.15 | [M-H] ⁻ | 263.128 9 | 263.127 8 | 4.045 | C ₁₅ H ₂₀ O ₄ | 263.128 6, 219.138 6, 204.114 8, 脱落酸 151.075 3 | 有机酸 | + | + | |
| 84 | 23.15 | [M-H] ⁻ | 563.140 9 | 563.139 5 | 2.483 | C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄ | 561.192 5, 515.284 0, 388.968 2, 异夏佛塔昔 96.958 7 | 黄酮 | + | + | |
| 85 | 23.60 | [M-H] ⁻ | 431.098 5 | 431.097 3 | 2.799 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀ | 431.098 9, 285.041 0, 255.029 1, 山柰酚鼠李糖昔 227.034 5 | 黄酮 | + | + | |
| 86 | 24.09 | [M+H] ⁺ | 303.049 4 | 303.049 9 | -1.911 | C ₁₅ H ₁₀ O ₇ | 303.049 6, 229.049 6, 165.018 1 檬皮素* | 黄酮 | + | + | |
| 87 | 24.47 | [M-H] ⁻ | 577.156 6 | 577.155 2 | 2.388 | C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄ | 577.286 4, 531.280 5, 399.239 4, 柚皮苷* 369.228 5 | 黄酮 | + | + | |
| 88 | 25.15 | [M+H] ⁺ | 579.170 2 | 579.170 8 | -1.039 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄ | 579.218 7, 499.223 9, 406.029 6, 佛来心昔 302.770 4 | 黄酮 | - | + | |
| 89 | 25.57 | [M+H] ⁺ | 361.091 1 | 361.091 8 | -2.032 | C ₁₈ H ₁₆ O ₈ | 361.163 6, 285.113 0, 181.085 9, 野鸢尾黄素 167.070 3 | 黄酮 | + | - | |
| 90 | 26.32 | [M-H] ⁻ | 313.072 0 | 313.070 7 | 4.234 | C ₁₇ H ₁₄ O ₆ | 313.238 7 3',4'-二羟基-7,5'-二 甲氧基黄酮 | 黄酮 | + | - | |
| 91 | 26.36 | [M-H] ⁻ | 593.130 4 | 593.129 0 | 2.466 | C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃ | 593.130 8, 285.040 7 银椴昔* | 黄酮 | + | + | |
| 92 | 26.62 | [M-H] ⁻ | 547.145 6 | 547.144 6 | 1.851 | C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃ | 547.313 1, 501.307 2, 161.044 7 白杨素-6-C-β-D-葡萄 糖-8-C-α-L-阿拉伯糖昔 | 黄酮 | - | + | |
| 93 | 27.24 | [M+H] ⁺ | 317.065 2 | 317.065 6 | -1.227 | C ₁₆ H ₁₂ O ₇ | 317.211 9, 299.201 6, 217.205 7 irilin D | 黄酮 | + | + | |
| 94 | 27.59 | [M+H] ⁺ | 361.092 0 | 361.091 8 | -1.672 | C ₁₈ H ₁₆ O ₈ | 361.163 6, 285.113 0, 181.085 9, irisin isomer 167.070 3 | 黄酮 | + | + | |
| 95 | 28.53 | [M+H] ⁺ | 301.070 0 | 301.070 7 | -2.075 | C ₁₆ H ₁₂ O ₆ | 301.216 3, 255.210 1, 199.147 4, 红车轴草素 121.101 3 | 黄酮 | + | + | |
| 96 | 30.10 | [M+COOH] ⁻ | 711.395 0 | 711.397 0 | 1.952 | C ₃₆ H ₅₈ O ₁₁ | 711.397 3, 503.338 0 nigaichigoside F ₁ ^[11] | 萜类 | + | + | |
| 97 | 32.59 | [M+Na] ⁺ | 801.387 9 | 801.387 5 | -0.411 | C ₃₇ H ₆₂ O ₁₇ | 801.387 6, 678.411 1, 621.325 1, 覆盆子昔 G ^[11] 549.703 0 | 萜类 | + | + | |
| 98 | 32.68 | [M+COOH] ⁻ | 691.353 6 | 691.355 2 | 1.613 | C ₃₂ H ₅₄ O ₁₃ | 645.349 8, 547.949 1, 299.581 7 15,18-di-O-β-D-gluco pyranosyl-13(<i>E</i>)- <i>ent</i> -labda-(8),13(14)- diene-3β,15,18-triol ^[11] | 萜类 | + | + | |

续表1

| 编号 | <i>t</i> _R /min | 模式 | 实测值 (<i>m/z</i>) | 理论值 (<i>m/z</i>) | 误差 (×10 ⁻⁶) | 化学式 | 主要的二级质谱碎片 | 鉴定成分 | 成分类型 | 部位 | |
|-----|----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|---|--|---|------|-----|----|
| | | | | | | | | | | 小核果 | 花托 |
| 99 | 32.79 | [M+Na] ⁺ | 801.3879 | 801.3875 | -0.411 | C ₃₇ H ₆₂ O ₁₇ | 801.387 3, 756.898 7, 558.909 1, 15-O-β-D-apio-412.613 9 | furanosyl-(1→2)-β-D-glucopranosyl-18-O-β-D-glucopyranosyl-13(E)-ent-labda-8(9), 13(14)-diene-3β,15,18-triol ^[11] | 萜类 | + | + |
| 100 | 33.42 | [M+H] ⁺ | 403.1381 | 403.1387 | -1.622 | C ₂₁ H ₂₂ O ₈ | 403.185 0, 374.763 3, 171.137 9 | 六甲氨基黄酮 | 黄酮 | + | + |
| 101 | 33.49 | [M-H] ⁻ | 645.3498 | 645.3481 | 2.668 | C ₃₂ H ₅₄ O ₁₃ | 645.350 3, 559.503 0, 314.042 2, 238.057 2 | 覆盆子苷 F ₅ ^[11] | 萜类 | + | + |
| 102 | 33.46 | [M+COOH] ⁻ | 691.3536 | 691.3552 | 1.613 | C ₃₂ H ₅₄ O ₁₃ | 645.350 0, 536.480 9, 365.883 1 | 15,18-di-O-β-D-gluco-pyranosyl-13(E)-ent-labda-8(9),13(14)-diene-3β,15,18-triol ^[11] | 萜类 | + | + |
| 103 | 33.71 | [M+H] ⁺ | 403.1382 | 403.1387 | -1.474 | C ₂₁ H ₂₂ O ₈ | 403.185 0, 374.763 3, 171.137 9 | 川陈皮素 | 黄酮 | - | + |
| 104 | 34.58 | [M+Na] ⁺ | 639.3351 | 639.3348 | -0.318 | C ₃₁ H ₅₂ O ₁₂ | 639.334 5, 507.202 3, 335.097 1, 251.818 0 | 覆盆子苷 F ₆ ^[11] | 萜类 | + | + |
| 105 | 35.53 | [M+H] ⁺ | 503.3405 | 503.3367 | 7.419 | C ₃₀ H ₄₆ O ₆ | 503.336 6, 485.325 6, 421.309 4, 287.236 9 | 1β,2α,19α-三羟基-3-羰基-12-烯-乌苏烷-28-酸 ^[12] | 萜类 | + | + |
| 106 | 35.69 | [M+H] ⁺ | 373.1284 | 373.1282 | -1.580 | C ₂₀ H ₂₀ O ₇ | 373.183 1, 358.437 4 | 桔红素 | 黄酮 | + | + |
| 107 | 36.33 | [M-H] ⁻ | 503.3367 | 503.3382 | 1.484 | C ₃₀ H ₄₈ O ₆ | 503.249 9, 437.047 8, 173.008 0, 111.007 2 | sericic acid ^[11] | 萜类 | + | + |
| 108 | 36.39 | [M+H] ⁺ | 485.3262 | 485.3260 | -0.191 | C ₃₀ H ₄₄ O ₅ | 485.328 4, 467.312 8, 439.319 6, 187.147 6 | 覆盆子酸 ^[11] | 萜类 | + | + |
| 109 | 36.42 | [M-H] ⁻ | 501.3211 | 501.3224 | 1.324 | C ₃₀ H ₄₆ O ₆ | 501.322 8, 453.301 2, 409.311 7, 255.568 7 | 2a,19a,24-trihydroxyurs-12-ene-3-oxo-28-acid ^[11] | 萜类 | + | + |
| 110 | 37.32 | [M-H] ⁻ | 503.3367 | 503.3382 | 1.484 | C ₃₀ H ₄₈ O ₆ | 503.338 4, 485.328 9, 441.343 5, 111.007 3 | hyptatic acid ^[11] | 萜类 | + | + |
| 111 | 38.21 | [M+COOH] ⁻ | 675.3586 | 675.3605 | 1.837 | C ₃₂ H ₅₄ O ₁₂ | 629.354 9, 497.311 9, 232.180 9 | 覆盆子苷 F ₇ ^[11] | 萜类 | + | + |
| 112 | 38.74 | [M-H] ⁻ | 487.3418 | 487.3430 | 1.189 | C ₃₀ H ₄₈ O ₅ | 487.344 7, 469.334 1, 371.831 2, 173.007 7 | 阿江榄仁酸 ^[11] | 萜类 | + | + |
| 113 | 38.78 | [M-H] ⁻ | 487.3418 | 487.3430 | 1.189 | C ₃₀ H ₄₈ O ₅ | 487.253 2, 315.075 1, 173.008 2, 111.007 5 | 2a,3a,19a-trihydroxyolean-12-ene-28-oic-acid ^[11] | 萜类 | + | + |
| 114 | 39.42 | [M-H] ⁻ | 487.3418 | 487.3430 | 1.189 | C ₃₀ H ₄₈ O ₅ | 487.254 8, 457.333 3, 173.008 1, 111.007 4 | 蔷薇酸 ^[13] | 萜类 | + | + |
| 115 | 40.41 | [M-H] ⁻ | 485.3262 | 485.3275 | 1.359 | C ₃₀ H ₄₆ O ₅ | 485.327 5, 467.317 3, 358.187 0, 227.410 8 | 2a,19a-dihydroxy-3-oxo-12-ursen-28-oic acid ^[12] | 萜类 | + | + |
| 116 | 40.57 | [M+H] ⁺ | 337.2373 | 337.2345 | -2.866 | C ₂₀ H ₃₂ O ₄ | 337.234 7 | ent-16a,17-dihydroxy-kauran-19-oic-acid ^[12] | 萜类 | + | + |

续表1

| 编号 | 时间 min | 模式 | 实测值 (<i>m/z</i>) | 理论值 (<i>m/z</i>) | 误差 ($\times 10^{-6}$) | 化学式 | 主要的二级质谱碎片 | 鉴定成分 | 成分类型 | 部位 | |
|-----|-----------|---------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|--|--|---|------|-----|----|
| | | | | | | | | | | 小核果 | 花托 |
| 117 | 41.28 | [M-H] ⁻ | 487.341 8 | 487.343 0 | 1.189 | C ₃₀ H ₄₈ O ₅ | 487.251 3, 351.169 2, 173.008 2, 委陵菜酸 ^[13] 111.007 4 | 萜类 | + | + | |
| 118 | 41.52 | [M+Na] ⁺ | 495.344 5 | 495.344 0 | -0.491 | C ₃₀ H ₄₈ O ₄ | 495.344 0 | 山楂酸 ^[14] | 萜类 | + | + |
| 119 | 41.54 | [M+H] ⁺ | 495.344 5 | 323.255 3 | -2.761 | C ₂₀ H ₃₄ O ₃ | 323.255 6, 277.213 9, 249.163 9 | ent-labda-8(17),13(E)-diene-3 β ,15,18-triol ^[11] | 萜类 | + | + |
| 120 | 41.57 | [M+Na] ⁺ | 323.258 1 | 495.344 0 | -0.491 | C ₃₀ H ₄₈ O ₄ | 495.344 0 | 2 α -羟基熊果酸 | 萜类 | + | + |
| 121 | 41.59 | [M+H] ⁺ | 323.258 1 | 323.255 3 | -2.761 | C ₂₀ H ₃₄ O ₃ | 323.255 6, 277.213 9, 249.163 9 | ent-labda-8(17),13(E)-diene-3 α ,15,18-triol ^[11] | 萜类 | + | + |
| 122 | 42.18 | [M-H] ⁻ | 455.352 0 | 455.353 3 | 1.328 | C ₃₀ H ₄₈ O ₃ | 455.224 0, 228.692 8, 91.951 2 | 齐墩果酸 ^[14] | 萜类 | + | + |

*经对照品指认；+表示测出 -表示未测出

*Confirmed with reference substance; +detected -not detected

碎片进一步裂解得到 m/z 255.029 7 [M-H-C₁₄H₈O₅]⁻，最终得到 m/z 227.029 7 [M-H-C₇H₂O₃]⁻ 离子碎片。从裂解获得的一级、二级质谱离子碎片 m/z 值分析，化合物裂解途径符合黄酮类的裂解规律，与对照品一致，通过对照品比对确定化合物为椴树苷，相应质谱裂解途径见图3。

(2) 有机酸类成分：研究表明有机酸是植物中

共有成分，且大多有生物活性。本次建立的分析方法从覆盆子中共鉴定出 28 个有机酸类成分，见表1。此类化合物在负离子模式下有较好的响应，因含有-COOH 官能团，一般容易断裂产生 [M-H-H₂O]⁻、[M-H-CO₂]⁻、[M-H-CO]⁻ 等小分子基团。以没食子酸和鞣花酸的裂解规律为例，一级质谱得到没食子酸 m/z 169.013 1 [M-H]⁻ 准分子离子

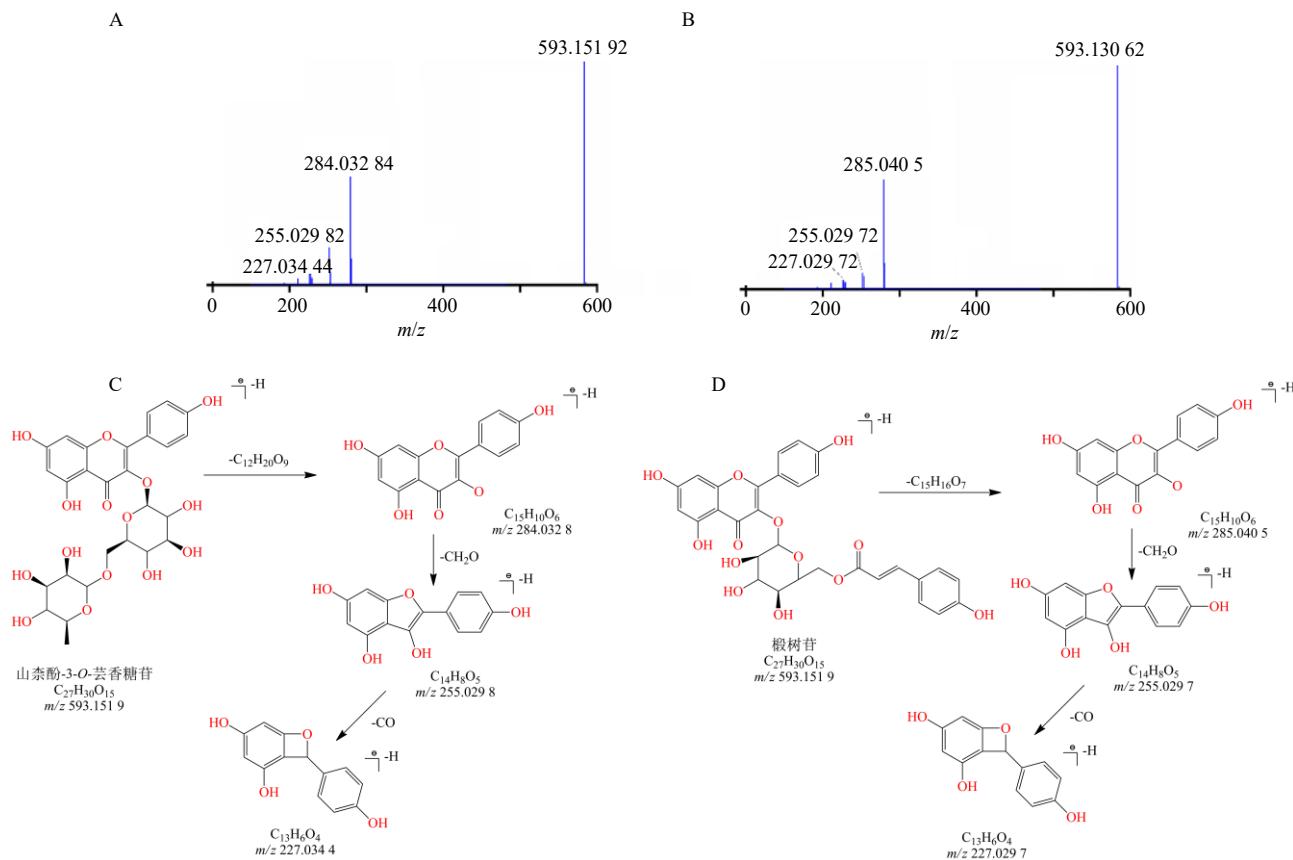


图3 山柰酚-3-O-芸香糖苷与椴树苷的质谱棒状图 (A、B) 和裂解途径 (C、D)

Fig. 3 Mass spectrometry (A, B) and fragmentation pathways (C, D) of kaempferol-3-rutinoside and tiliroside

峰, 化学式为 $C_7H_6O_5$, 在高能 H-ESI 质谱离子源碰撞离子作用下获得主要二级碎片离子信息为 m/z 150.969 4 [$M-H-H_2O$]⁻、 m/z 97.028 0 [$M-H-2CO_2-O$]⁻ 和 m/z 125.023 0 [$M-H-CO_2$]⁻ 3 个离子碎片。鞣花酸一级质谱得到 m/z 300.998 9 [$M-H$]⁻ 准分子离子峰, 化学式为 $C_{14}H_6O_8$, 二级质谱获得 m/z 283.994 0 [$M-H-H_2O$]⁻ 和 m/z 257.008 8 [$M-$

$H-CO_2$]⁻ 离子碎片。从裂解获得的一级、二级质谱离子碎片 m/z 值分析, 没食子酸和鞣花酸化合物裂解途径符合有机酸的裂解规律, 与文献报道裂解途径相似^[16], 同时通过对照品的一级、二级质谱裂解碎片和提取离子峰位置、相对保留时间比对, 最终确定化合物分别为没食子酸和鞣花酸, 相应质谱裂解途径见图 4。

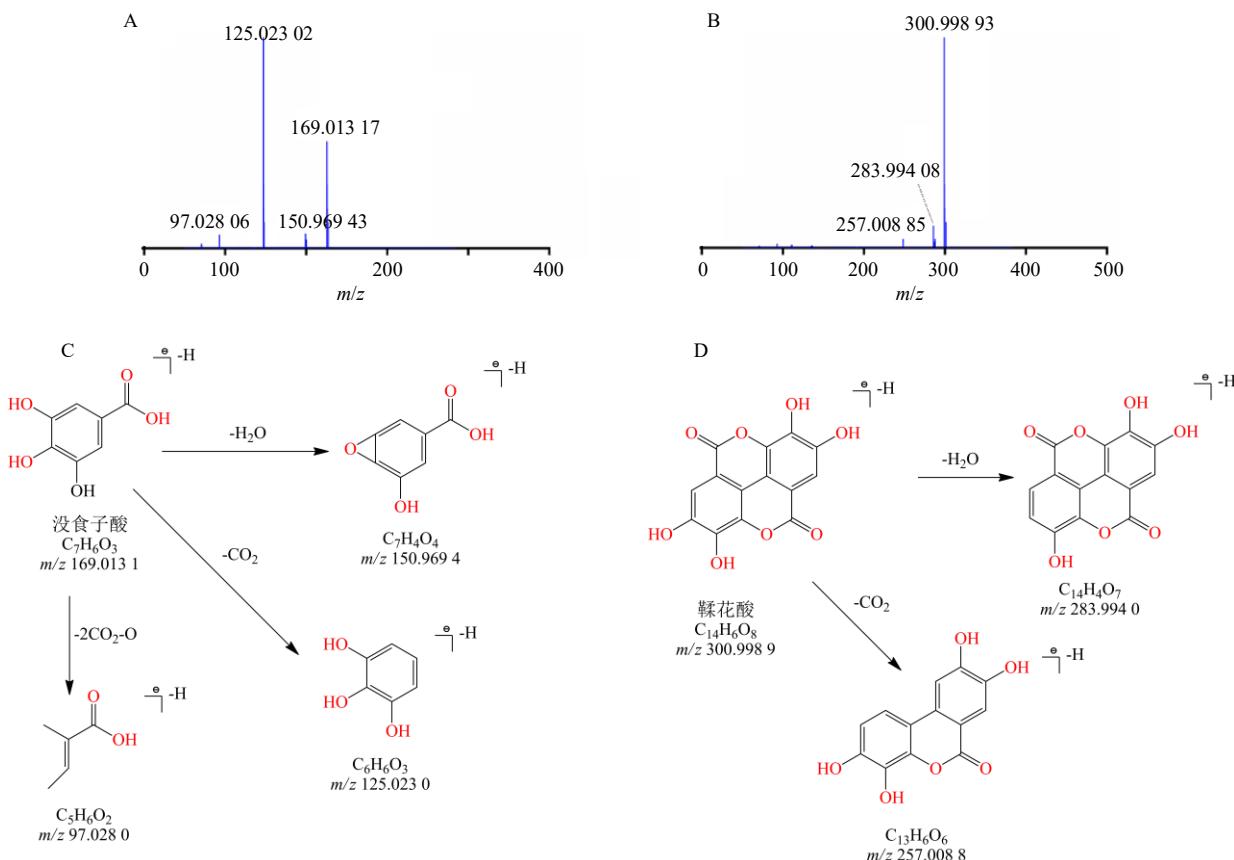


图 4 没食子酸与鞣花酸的质谱棒状图 (A、B) 和裂解途径 (C、D)

Fig. 4 Mass spectrometry (A, B) and fragmentation pathways (C, D) of gallic acid and ellagic acid

(3) 蒽类成分: 从覆盆子中鉴定的蒽类成分 24 种, 见表 1。蒽类化合物是以异戊二烯结构单元为基本骨架的烃类及其含氧衍生物, 以 5 个碳为基本单位, 按单位数量分为单蒽、二蒽、三蒽等。此类化合物一般在 $[M+H]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 、 $[M-H]^-$ 、 $[M+COOH]^-$ 等多种模式下均有响应, 通常容易发生糖苷键断裂, 丢失 $[M-H_2O]^-$ 、 $[M-CO_2]^-$ 、 $[M-Rha]^-$ 、 $[M-Glc]^-$ 、 $[M-Rutinose]^-$ 等碎片。以覆盆子酸为例, 该化合物在正离子模式下响应较好, 一级质谱得到覆盆子酸 m/z 485.328 4 $[M+H]^+$ 准分子离子峰, 化学式为 $C_{30}H_{44}O_5$, 在二级质谱条件下获得失去 1 分子 H_2O , 得到 m/z 467.312 7 $[M+H]-$

$H_2O]^-$, 该碎片进一步裂解失去 1 分子-CO 得到 m/z 439.319 6 $[M+H-CO]^-$ 碎片, 覆盆子酸的裂解途径与数据库蒽类化合物的裂解规律相符合。

(4) 其他类成分: 从覆盆子中鉴定出的其他类成分 4 种, 分别位香草醛、白藜芦醇和 stellarin-2、根皮酸。

2.3 覆盆子中 9 种成分定量测定

2.3.1 色谱条件 使用 Acquity UPLC BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 流动相为 0.1% 甲酸水与乙腈, 梯度洗脱: 0~0.6 min, 5% 乙腈; 0.6~1.0 min, 5%~25% 乙腈; 1.0~3.5 min, 25%~48% 乙腈; 3.5~4.0 min, 48%~95% 乙腈; 4.0~5.0 min,

95%乙腈; 5.01~6.0 min, 5%乙腈; 柱温 40 °C; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 3 μL。

2.3.2 质谱条件 参数为负离子 Full MS/SIM 模式全扫描, 分辨率 70 000; 喷雾电压 3.2 kV; 毛细管温度 320 °C; 辅助加热器温度 300 °C; 鞘气 (N_2) 流量 35 arb; 辅助气 (N_2) 流量 10 arb; 自动增益控制 (AGC) 10^6 ; s-lens 射频水平 50。扫描范围 (m/z 100~1500); 碰撞能梯度为 10、20、40 eV。

2.3.3 对照品溶液的制备 精密称取各对照品没食子酸 10.9 mg、芦丁 14.7 mg、鞣花酸 13.3 mg、金丝桃苷 11.8 mg、山柰酚-3-O-芸香糖苷 11.4 mg、紫云英苷 12.5 mg、椴树苷 11.3 mg、槲皮素 12.5 mg、山柰酚 20.0 mg, 柳氨酚 (内标) 10.0 mg 于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇定容, 分别配制成没食子酸 1.09 mg/mL、芦丁 1.47 mg/mL、鞣花酸 1.33 mg/mL、金丝桃苷 1.18 mg/mL、山柰酚-3-O-芸香糖苷 1.14 mg/mL、紫云英苷 1.25 mg/mL、椴树苷 1.13 mg/mL、槲皮素 1.25 mg/mL、山柰酚 2.00 mg/mL、柳氨酚 1.00 mg/mL 的单一对照品储备液。

2.3.4 供试品溶液的制备 将不同批号覆盆子整果分离为小核果和花托, 粉碎, 过 60 目筛。分别精密称取供试品 (覆盆子小核果、花托) 粉末 1.0 g, 加 60%乙醇 50 mL, 称定质量, 加热回流 60 min, 放冷, 再称定质量, 用 60%乙醇补足减失的质量, 摆匀, 放置, 取上清液滤过, 取续滤液 1 mL 超纯水稀释至 10 mL(含柳氨酚质量浓度 50 ng/mL) $12\ 000\times g$ 、4 °C 离心 10 min, 备用。

2.3.5 线性关系考察 分别精密量取混合对照品储备液适量, 用柳氨酚内标质量浓度为 50 ng/mL 的

20%甲醇稀释并定容, 因鞣花酸相对含量较高, 为了保证被测样品含量符合线性范围, 故鞣花酸对照品溶液依次配制成 54.47、136.19、340.48、851.20、2 128.00、5 320.00、13 300.00 ng/mL 的梯度溶液; 其他 8 种对照品溶液依次配制成 3.20、8.19、20.48、51.20、128.00、320.00、800.00 ng/mL 的梯度溶液。在“2.3.1”及“2.3.2”项所述色谱质谱条件进样分析, 记录峰面积。采用 Xcalibur 软件对结果数据处理, 以各待测物的质量浓度为横坐标 (X), 待测物峰和内标峰面积比值为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 得线性回归方程、相关系数 (r) 及线性范围。线性关系考察结果发现 9 种成分 (没食子酸、芦丁、鞣花酸、金丝桃苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、紫云英苷、椴树苷、槲皮素和山柰酚) 在质量浓度范围内线性关系良好, 鞣花酸线性范围为 54.47~13 300.00 ng/mL, 其他成分线性范围均在 3.26~800.00 ng/mL, 线性回归方程、 r 见表 2。

2.3.6 精密度考察 配制没食子酸、芦丁、鞣花酸、金丝桃苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、紫云英苷、椴树苷、槲皮素和山柰酚的质量浓度分别为 3.39、8.43、8.17、3.48、3.36、3.26、3.33、3.28、3.28 ng/mL 含用柳氨酚内标质量浓度为 50 ng/mL 的混合对照品溶液, 按“2.3.1”及“2.3.2”项所述条件, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 以对照品和内标物峰面积的比值计算 9 种成分的 RSD, 同 1 d 内连续进样 6 次来计算日内精密度, 连续 3 d, 每天进样 6 次来计算日间精密度, 结果见表 3, 表明该方法精密度良好。

2.3.7 重复性考察 按照“2.3.4”项方法平行制备的 6 份覆盆子供试液, 分别进样测定并计算各成分

表 2 各对照品线性关系

Table 2 Linear relationship of reference substances

| 名称 | 线性回归方程 | r | 线性范围/ (ng·mL ⁻¹) | 检测限/ (ng·mL ⁻¹) | 定量限/ (ng·mL ⁻¹) |
|--------------|------------------------|---------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 没食子酸 | $Y=0.014\ 1X-0.343\ 7$ | 0.999 3 | 3.39~828.40 | 1.36 | 3.39 |
| 芦丁 | $Y=0.021\ 6X-0.634\ 2$ | 0.999 0 | 3.37~823.20 | 1.35 | 3.37 |
| 鞣花酸 | $Y=0.003\ 5X-0.077\ 0$ | 1.000 0 | 54.47~13 300.00 | 3.27 | 8.17 |
| 金丝桃苷 | $Y=0.019\ 6X-0.385\ 4$ | 0.999 3 | 3.48~849.60 | 1.39 | 3.48 |
| 山柰酚-3-O-芸香糖苷 | $Y=0.021\ 9X-0.397\ 3$ | 0.999 7 | 3.36~820.80 | 1.34 | 3.36 |
| 紫云英苷 | $Y=0.020\ 7X-0.250\ 6$ | 0.999 8 | 3.26~796.80 | 1.30 | 3.26 |
| 椴树苷 | $Y=0.018\ 4X+0.096\ 0$ | 0.999 9 | 3.33~813.60 | 1.33 | 3.33 |
| 槲皮素 | $Y=0.012\ 3X+0.024\ 3$ | 1.000 0 | 3.28~800.00 | 1.31 | 3.28 |
| 山柰酚 | $Y=0.016\ 7X-0.129\ 9$ | 0.999 4 | 3.28~800.00 | 1.31 | 3.28 |

质量分数的 RSD 值。结果见表 3, 表明该方法重复性良好。

2.3.8 稳定性考察 取 3 份按照“2.3.4”项方法制备的覆盆子提取液, 放置于室温(25 ± 2)℃, 分别于 0、4、8、12、24 h 进样分析, 计算 9 种成分质量分数的 RSD 值。结果见表 3, 表明该供试品溶液 24 h 内稳定。

2.3.9 加样回收率 按照“2.3.4”项方法平行制备 9 份覆盆子提取液, 每 3 份为 1 组, 根据各成分在样品中量, 加入配制好的含 9 种成分对照品的混合

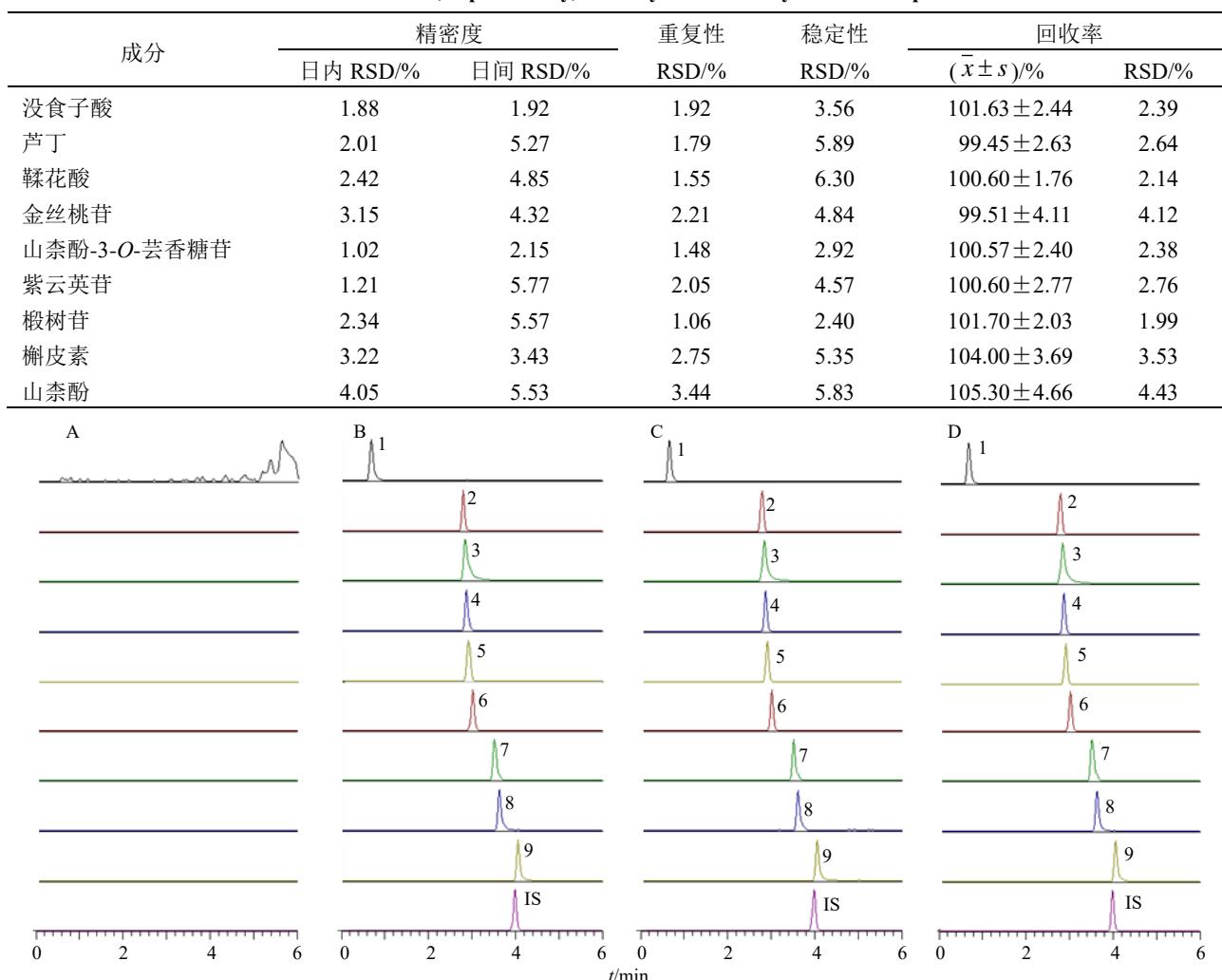
溶液适量, 使加入后各成分的量分别为覆盆子提取液中相应成分量的约 50%、100%、150%。计算各待测物的平均回收率及 RSD 值, 加样回收率的考察结果见表 3, 在建立的方法下 9 种成分和内标柳胺酚在空白对照溶剂、混合对照品溶液和覆盆子小核果、花托提取液的提取离子流图见图 5。

2.4 样品含量检测与结果

取收集的覆盆子样品, 按照“2.3”项下方法制备各批小核果和花托供试品溶液, 在“2.1”及“2.2”项下色谱质谱条件进样分析, 计算食子酸、芦丁、

表 3 9 种成分的精密度、重复性、稳定性和回收率

Table 3 Precision, repeatability, stability and recovery of nine compounds



A-空白溶剂对照 B-混合对照品溶液 C-覆盆子小核果提取液 D-覆盆子花托提取液; 1-没食子酸 2-芦丁 3-鞣花酸 4-金丝桃苷 5-山柰酚-3-O-芸香糖苷 6-紫云英苷 7-椴树苷 8-槲皮素 9-山柰酚 IS-柳胺酚

A-blank control solution B-mixed reference standard solution C-kernel extract of *R. chingii* D-receptacle extract of *R. chingii*; 1-gallic acid 2-rutin 3-ellagic acid 4-hyperoside 5-kaempferol-3-O-rutinoside 6-astragalin 7-tiliroside 8-quercetin 9-kaempferol IS-osalmid

图 5 待测化合物提取离子流图

Fig. 5 Extracted ion chromatogram of target compounds

鞣花酸、金丝桃苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、紫云英苷、椴树苷、槲皮素和山柰酚苷在各样品中的含量。实验结果见表4,发现不同批次样品的含量存在一定差异,10批次样品小核果中没食子酸0.006~0.023 mg/g、芦丁0.05~0.20 mg/g、鞣花酸1.06~4.48 mg/g、金丝桃苷0.005~0.078 mg/g、山柰酚-3-O-芸香糖苷0.15~0.41 mg/g、紫云英苷0.05~0.17 mg/g、椴树苷0.04~0.40 mg/g、槲皮素0.001 6~0.011 6 mg/g、山柰酚0.003 2~0.009 1 mg/g;花托中没食子酸0.013~0.024 mg/g、芦丁0.01~0.09 mg/g、鞣花酸2.97~5.69 mg/g、金丝桃苷0.004~0.056 mg/g、山柰酚-3-O-芸香糖苷0.21~0.62 mg/g、

紫云英苷0.06~0.21 mg/g、椴树苷0.17~0.43 mg/g、槲皮素0.001 6~0.007 5 mg/g、山柰酚0.000 3~0.011 5 mg/g。

统计结果显示,小核果中芦丁的含量显著性高于花托[(0.111±0.042) mg/g vs (0.045±0.028) mg/g, $P<0.01$],而花托中鞣花酸[(4.653±0.916) mg/g vs (2.890±1.232) mg/g, $P<0.01$]、山柰酚-3-O-芸香糖苷[(0.423±0.124) mg/g vs (0.302±0.095) mg/g, $P<0.05$]、椴树苷[(0.318±0.087) mg/g vs (0.162±0.125) mg/g, $P<0.01$]的含量显著性高于小核果,其他成分在小核果和花托中的含量分布无显著性差异。

表4 不同批次、不同部位覆盆子中9种成分含量

Table 4 Contents of nine components in different batches and parts of *R. chingii*

| 部位 | 批号 | 质量分数/(mg·g ⁻¹) | | | | | | | | |
|-----|-----------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------|--------------------------|-------------|---------------------------|-------------|-------------|
| | | 没食子酸 | 芦丁 | 鞣花酸 | 金丝桃苷 | 山柰酚-3-O-芸香糖苷 | 紫云英苷 | 椴树苷 | 槲皮素 | 山柰酚 |
| 小核果 | S220501-1 | 0.019 | 0.14 | 3.94 | 0.009 | 0.35 | 0.13 | 0.40 | 0.002 9 | 0.007 0 |
| | S220502-1 | 0.023 | 0.09 | 3.87 | 0.009 | 0.41 | 0.17 | 0.31 | 0.003 5 | 0.007 8 |
| | S220503-1 | 0.020 | 0.12 | 2.55 | 0.078 | 0.40 | 0.14 | 0.09 | 0.011 3 | 0.009 1 |
| | S220504-1 | 0.014 | 0.08 | 2.93 | 0.053 | 0.27 | 0.09 | 0.06 | 0.007 7 | 0.006 3 |
| | S220505-1 | 0.006 | 0.11 | 1.26 | 0.010 | 0.15 | 0.05 | 0.09 | 0.001 6 | 0.003 2 |
| | S220506-1 | 0.007 | 0.20 | 1.06 | 0.012 | 0.18 | 0.06 | 0.11 | 0.001 8 | 0.003 8 |
| | S220507-1 | 0.016 | 0.07 | 2.01 | 0.005 | 0.24 | 0.08 | 0.22 | 0.002 1 | 0.003 8 |
| | S220508-1 | 0.018 | 0.05 | 2.49 | 0.006 | 0.26 | 0.09 | 0.25 | 0.002 1 | 0.004 1 |
| | S220509-1 | 0.021 | 0.12 | 4.48 | 0.075 | 0.36 | 0.13 | 0.04 | 0.009 6 | 0.007 3 |
| | S220510-1 | 0.022 | 0.13 | 4.31 | 0.076 | 0.40 | 0.14 | 0.05 | 0.011 6 | 0.008 9 |
| 花托 | $\bar{x} \pm s$ | 0.017±0.006 | 0.111±0.042 | 2.890±1.232 | 0.033±0.033 | 0.302±0.095 | 0.108±0.039 | 0.162±0.125 | 0.005±0.004 | 0.006±0.002 |
| | S220501-2 | 0.019 | 0.06 | 5.39 | 0.039 | 0.56 | 0.19 | 0.31 | 0.005 2 | 0.008 9 |
| | S220502-2 | 0.020 | 0.07 | 5.41 | 0.041 | 0.62 | 0.21 | 0.39 | 0.007 0 | 0.011 5 |
| | S220503-2 | 0.022 | 0.02 | 4.96 | 0.007 | 0.35 | 0.13 | 0.38 | 0.001 9 | 0.006 1 |
| | S220504-2 | 0.024 | 0.02 | 4.82 | 0.009 | 0.38 | 0.15 | 0.40 | 0.002 0 | 0.007 0 |
| | S220505-2 | 0.015 | 0.07 | 2.97 | 0.048 | 0.44 | 0.08 | 0.33 | 0.006 3 | 0.005 4 |
| | S220506-2 | 0.016 | 0.09 | 3.44 | 0.056 | 0.28 | 0.10 | 0.43 | 0.007 5 | 0.006 1 |
| | S220507-2 | 0.017 | 0.05 | 5.69 | 0.026 | 0.43 | 0.15 | 0.28 | 0.001 6 | 0.000 3 |
| | S220508-2 | 0.018 | 0.05 | 5.15 | 0.027 | 0.48 | 0.16 | 0.30 | 0.001 6 | 0.000 3 |
| | S220509-2 | 0.013 | 0.01 | 4.85 | 0.004 | 0.48 | 0.06 | 0.17 | 0.001 6 | 0.003 1 |
| | S220510-2 | 0.017 | 0.01 | 3.85 | 0.005 | 0.21 | 0.07 | 0.19 | 0.001 7 | 0.003 3 |
| | $\bar{x} \pm s$ | 0.018±0.003 | 0.045±0.028 ^{##} | 4.653±0.916 ^{##} | 0.026±0.019 | 0.423±0.124 [#] | 0.130±0.051 | 0.318±0.087 ^{##} | 0.003±0.003 | 0.005±0.003 |

t 检验,与小核果比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$

t test, [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs drupelet group

3 讨论

覆盆子为聚合果,其构造可分为小核果和花托两部分。迄今为止,所有关于覆盆子的化学及药理方面的研究报道以及临床应用都是局限于覆盆子整果,导致覆盆子不同部位的化学成分及其含量的差异尚不明确,本研究首次将覆盆子分为小核果和花

托2个部分,对其化学成分及含量差异进行分析。近年来UHPLC-Q-Extactive Orbitrap HRMS联用技术,因其具有高分辨力、强分离能力、高灵敏度、稳定性好等特点,已较广泛应用于中药或复杂基质中待测成分的筛选、鉴定及定量分析^[17-20]。本研究采用HRMS技术,首先基于化合物的一级、二级质

谱信息，结合对照品比对确认等方法，从覆盆子小核果和花托中快速推断出122种化学成分，包括黄酮类66种，有机酸类28种，萜类24种，其他类4种。其中枸橼酸(2)、刺芒柄花素(57)、野鸢尾黄素(89)、3',4'-二羟基-7,5'-二甲氧基黄酮(90)为小核果特有成分；白杨素-6-C- α -L-阿拉伯糖-8-C- β -D-葡萄糖苷(72)、佛来心苷(88)、白杨素-6-C- β -D-葡萄糖-8-C- α -L-阿拉伯糖苷(92)和川陈皮素(103)为花托成分，其余成分皆为共有成分。

另外，《中国药典》2020年版以鞣花酸和山柰酚-3-O-芸香糖苷作为覆盆子的含量测定项，针对中药多成分、多靶点的特点，若能实现其多成分的定性及定量分析，从而可以从整体上更好地进行覆盆子质量评价，本研究利用HRMS高分辨的功能特点，采用一级质谱精确定量方法建立了快速测定覆盆子中包括药典含量测定项在内的9种成分（没食子酸、芦丁、鞣花酸、金丝桃苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、紫云英苷、椴树苷、槲皮素和山柰酚）含量的方法，并发现了小核果中芦丁($P<0.01$)的含量显著性高于花托，而花托中鞣花酸($P<0.01$)，山柰酚-3-O-芸香糖苷($P<0.05$)，椴树苷($P<0.01$)的含量显著性高于小核果，其他成分在小核果和花托中的含量分布虽有差别，但无显著性差异，提示了按照现行标准，花托部位对覆盆子整果的质量达标发挥重要作用。该方法在保证极高的稳定性和准确度的同时简化了操作处理流程，节省了分析时间（单个样品分析时间为6 min），为覆盆子的鉴别和质量评价提供了参考，有一定推广应用前景。

覆盆子作为药食同源品种，同时作为新“浙八味”培育品种，在我国拥有特定的资源优势，本研究结果发现覆盆子小核果和花托的化学成分及其含量存在差异性，不同的化学成分将导致功效的差异性，根据中药加工精深化的趋势，如何有效使用覆盆子的不同部位，合理确定其具体应用范围，使覆盆子的利用效益达到最大化，将是今后研究的方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突
参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 399-400.
- [2] 柯创, 张婷婷, 刘考铧, 等. 覆盆子的基原植物考证 [J]. 浙江中医药大学学报, 2021, 45(9): 1026-1032.
- [3] 郭卿. 覆盆子化学成分及质量标准研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2015.
- [4] 邓俊杰. HPLC-Q-TOF-MS技术在覆盆子指纹图谱建立和化学成分归属中的应用 [J]. 海峡药学, 2020, 32(5): 23-26.
- [5] Li X B, Jiang J Y, Chen Z, et al. Transcriptomic, proteomic and metabolomic analysis of flavonoid biosynthesis during fruit maturation in *Rubus chingii* hu [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 706667.
- [6] Chen Y, Chen Z Q, Guo Q W, et al. Identification of ellagitannins in the unripe fruit of *Rubus chingii* hu and evaluation of its potential antidiabetic activity [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(25): 7025-7039.
- [7] Chen Y, Xu L L, Wang Y J, et al. Study on the active polyphenol constituents in differently colored *Rubus Chingii* Hu and the structure-activity relationship of the main ellagitannins and ellagic acid [J]. *LWT*, 2020, 121: 108967.
- [8] 张晶, 汤尘尘, 方艳. HPLC法同时测定覆盆子中7个成分的含量 [J]. 中国药师, 2020, 23(12): 2496-2499.
- [9] 张玲, 邱晓霞, 岳婧怡. HPLC法同时测定覆盆子中鞣花酸和5种黄酮成分的含量 [J]. 中药材, 2017, 40(11): 2625-2628.
- [10] 王静宜, 余俊东, 陈悦, 等. 覆盆子的化学成分研究 [J]. 中草药, 2022, 53(13): 3897-3903.
- [11] Sheng J Y, Wang S Q, Liu K H, et al. *Rubus chingii* Hu: An overview of botany, traditional uses, phytochemistry, and pharmacology [J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18(6): 401-416.
- [12] 孙金旭, 朱会霞, 肖冬光. 覆盆子中有机酸含量的测定 [J]. 现代食品科技, 2013, 29(6): 1374-1376.
- [13] 毛菊华, 刘敏, 吴查青, 等. 华东覆盆子不同药用部位化学成分的含量分析 [J]. 中国药师, 2018, 21(4): 626-630.
- [14] 曹富, 邱晓霞, 张玲, 等. 反向高效液相色谱法测定覆盆子中3种三萜酸的含量 [J]. 安徽中医药大学学报, 2017, 36(4): 79-82.
- [15] 王晴, 黄政海, 于红红, 等. UPLC-Q-TOF/MS.E结合诊断离子过滤方法快速分析大黄中酚类成分 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(10): 1922-1931.
- [16] 廖强. UPLC-Q-Exactive 四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱仪在复方扶芳藤合剂中定性与定量的应用研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2019.
- [17] 王永丽, 张聪聪, 张凤, 等. UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HR-MS分析荆银颗粒的化学成分及其组织分布特征 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(22): 5537-5554.
- [18] 刘伟, 葛广波, 王永丽, 等. 基于UHPLC-Q-Orbitrap HRMS技术研究清肺排毒汤化学成分及小鼠组织分布 [J]. 中草药, 2020, 51(8): 2035-2045.
- [19] 刘亚涛, 刘芳, 贺晓立, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱测定五味子和醋五味子中8种木脂素成分含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(13): 1421-1427.
- [20] 张聪聪, 刘瀚泽, 王永丽, 等. UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS法同时测定大黄-桃仁药对中16种成分及其溶出规律探究 [J]. 中成药, 2022, 44(4): 1177-1183.