

UPLC-Q-TOF-MS/MS 联和 GNPS 技术对山茱萸及其炮制品的化学成分差异研究

向俊¹, 范倩^{2,3}, 陈雪冰³, 徐婷¹, 汪玉梅³, 王倩^{3*}, 张翠仙^{3*}

1. 广州中医药大学第二附属医院, 广东 广州 510120

2. 广东一方制药有限公司, 广东 佛山 528244

3. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006

摘要: 目的 山茱萸 *Fructus Corni* 及其炮制品 (酒制山茱萸和盐制山茱萸) 临床上广泛应用, 对其进行系统化学成分分析, 以期阐释山茱萸及其不同炮制品间差异性成分。方法 结合全球天然产物交互分子网络平台 (global natural products social molecular networking, GNPS) 技术, 采用超高效液相色谱-四极杆/飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 对山茱萸化学成分进行全成分分析; 采用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和偏最小二乘判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 等方法分析山茱萸及其不同炮制品主要差异成分信息。结果 通过与对照品比对、数据库匹配及 GNPS 分子网络分析, 从山茱萸中共鉴定出 117 个化学成分: 44 个环烯醚萜类成分、22 个鞣质类成分、2 个三萜类成分、19 个黄酮及其苷类成分、21 个有机酸类成分、9 个其他类成分; 其中 12 个首次从山茱萸中报道 (含 9 个潜在新成分)。PCA ($R^2_X=0.888$, $Q^2=0.647$) 和 PLS-DA ($R^2_X=0.858$, $R^2_Y=0.92$, $Q^2=0.763$) 对山茱萸及其炮制品进行分析, 共筛出 32 个化学标记物。结论 对山茱萸水提取物中化学成分进行较为全面分析, 为其药效物质基础及质量控制研究奠定基础。同时较全面分析了山茱萸及其不同炮制品间的差异性成分, 也为山茱萸不同炮制品的临床合理应用提供技术指导。

关键词: 山茱萸; 炮制品; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 全球天然产物交互分子网络平台; 差异物分析; 马钱苷; 莫诺苷; 獐芽菜苷; 没食子酸

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2023)24-7989-18

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.24.005

Research on chemical constituent differences of the *Corni Fructus* and its processed products by UPLC-Q-TOF-MS/MS coupled with GNPS

XIANG Jun¹, FAN Qian^{2,3}, CHEN Xue-bing³, XU Ting¹, WANG Yu-mei³, WANG Qian³, ZHANG Cui-xian³

1. Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China

2. Pharmacy Department, Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, China

3. School of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

Abstract: **Objective** *Corni Fructus* (CF) and its processed products (wine-made and salt-made) were widely used in clinical practice. The chemical components of them were systematically analyzed to elucidate the differential constituents between crude and processed CF. **Methods** A sensitive ultra-high-performance liquid chromatography quadrupole/time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) method coupled with global natural products social molecular networking (GNPS) was used to totally analyse the character constituents of CF, meanwhile, principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) were applied to find the chemical markers for differentiating CF and its processed products. **Results** A total of 117 chemical components were tentatively identified through comparison with the control, database matching and GNPS molecular network analysis, including 44 iridoids, 22 tannins, two triterpenoids, 19 flavonoids and glycosides, 21 organic acids, and 9 other compounds. Among them, 12 components were reported from CF for the first time (including 9 potential new components). A total of

收稿日期: 2023-03-21

基金项目: 广州中医药大学“薪火计划”重点项目 (XH20170110); 广州中医药大学“高水平大学建设”项目 (No.81)

作者简介: 向俊 (1986—), 男, 主管中药师, 研究方向为临床中药学。E-mail: doctortom@126.com

*通信作者: 张翠仙 (1975—), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为天然药物化学。E-mail: zhangcui-xian@gzucm.edu.cn

王倩 (1979—), 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药药性研究。E-mail: 020830@gzucm.edu.cn

32 chemical markers were screened by PCA ($R^2_X = 0.888$, $Q^2 = 0.647$) and PLS-DA ($R^2_X = 0.858$, $R^2_Y = 0.92$, $Q^2 = 0.763$) analysis.

Conclusions The chemical components in water extract of CF were analyzed comprehensively to lay a foundation for its pharmacodynamic material basis and quality control. Moreover, a comprehensive analysis of the differential constituents between crude and processed CF provided technical guidance for the clinical rational application of the CF and its different processed products.

Key words: *Corni Fructus*; processed products; UPLC-Q-TOF-MS/MS; global natural products social molecular networking; differential constituents analysis; loganin; morroniside; sweroside; gallic acid

山茱萸 *Corni Fructus* 为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉, 产于山西、陕西、甘肃、江苏、浙江等省, 在朝鲜、日本也有分布^[1]。山茱萸首载于《神农本草经》: “山茱萸味酸平, 主心下邪气、逐寒湿痹, 去三虫, 久服轻身”^[2]。山茱萸为我国传统的名贵滋补中药材^[3-4], 性微温, 味酸涩, 为收敛性强壮药, 有补肝益肾, 收涩固脱之功效, 用于治疗肾脏虚寒, 高血压, 头晕耳鸣, 月经过多等疾病; 其主要含有环烯醚萜类、鞣质类、黄酮类、芳香酚酸类及三萜类等多种化学成分; 现代研究表明山茱萸具有补肝益肾、降糖、抗氧化、神经保护等多种药理作用。现代《中药炮制学》中将山茱萸的炮制方法归于“蒸法”, 常见方法有清蒸、酒蒸、盐蒸等, 目前临床主要为酒萸肉, 而广东等地区为使药更易入肾, 临床上常用盐制品^[5-7]。文献调研表明山茱萸及其炮制品物质基础相对薄弱^[4,8]。全球分子网络(global natural product social molecular networking, GNPS)是基于质谱技术建立的“可视性”分子网络^[9-11]。通过天然物的二级质谱特征可将具有相似二级质谱信息的分子聚在一起, 形成分子笼。GNPS 中不同母离子、分子笼形状、尺寸和 Node 颜色意味着不同的化合物簇。同时由于强大质谱库的存在, 可以快捷、可视、简便的用于指导天然物分离, 尤其是在结构新颖化合物的发现中具有明显优势。因此本研究首先采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 结合 GNPS 分子网络技术对山茱萸水提物进行全成分分析, 并采用多元统计方法对山茱萸及其炮制品的差异性成分进行分析, 以期从整体的角度探究山茱萸及其不同炮制品间差异成分, 为山茱萸临床合理利用提供技术指导。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Triple-TOFTM 5600+型三重四级杆飞行时间质谱(美国 AB SCIEX 公司, 配日本岛津 LC-30AD 超高压液相色谱仪、日本 Shimadzu 公司 SIL-30AC 自动进样器); Milli-Q 超纯水系统(美国

Millipore 公司); 卢湘仪 DD-5M 低速离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司); 煎煮锅(广州文新电器有限公司); Sartorius 赛多利斯十万分之一天平(季尔国际贸易有限公司)。

1.2 试剂与试药

除 LC-MS 用甲醇和乙腈(均为色谱级, 德国默克股份有限公司), 甲酸(质谱级, 美国 Fluka 公司)外其余试剂皆为分析纯(购于天津市大茂化学试剂厂)。对照品马钱苷(批号 RP181112)、獐牙菜苷(批号 RP180506)、莫诺苷(批号 RP181024)、熊果酸(批号 RP190115)、没食子酸(批号 RP190162)、芦丁(批号 RP190213)和槲皮素(批号 RP190602)均购自于成都麦德生股份有限公司, 各对照品质量分数均大于 98%。

山茱萸(Cor, 批号 190401211、181103291、180200361)、盐制山茱萸(Ycor, 批号 190504271、190201811、190401251)和酒萸肉(Jcor, 批号 180507117、180200971、190405171)均购自康美药业股份有限公司, 经广州中医药大学中药学院黄海波副教授鉴定为山茱萸科植物山茱萸 *C. officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉。按《中国药典》2020 年版和 2011 年版《广东省中药饮片炮制规范》检验均合格, 样品保存在广州中医药大学中药学院海洋天然物实验室。

2 方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备 分别取山茱萸及其炮制品饮片各 30.0 g, 精密称定。分别加入 1 L 纯净水浸泡 30 min, 水煮 2 h 制成水煎液, 趁热滤过, 药渣采用此方法再煎煮 1 次后, 合并 2 次滤液, 离心(4000 r/min、15 min), 上清滤液浓缩至约 300 mL 后加 3 倍 95%乙醇沉糖, 于 4 °C 冰箱静置 24 h, 离心(4000 r/min、15 min), 上清液在 50 °C 减压浓缩至粘稠状态, 氮气吹干仪吹干部分溶剂, 得稠浸膏。取浸膏适量, 用 80%甲醇水配制质量浓度约为 50 mg/mL 的样品溶液, 摇匀, 用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.1.2 对照品溶液的制备 取马钱苷、獐牙菜苷、莫诺苷、熊果酸、没食子酸、芦丁和槲皮素对照品适量,加 80%甲醇制成各成分均含 0.02 mg/mL 的混合溶液,作为对照品溶液。

2.2 分析条件

2.2.1 色谱条件 ACE C₁₈ 色谱柱 (150 mm×2.1 mm, 3 μm, 广州菲罗门科学仪器有限公司), 体积流量 0.4 mL/min, PDA 全波长扫描, 柱温 30 °C, 进样量 2 μL。以乙腈为流动相 A, 0.1%甲酸水为流动相 B, 梯度洗脱: 0~5 min, 5% A; 5~15 min, 5%~10% A; 15~18 min, 10% A; 18~25 min, 10%~15% A; 25~30 min, 15% A; 30~38 min, 15%~20% A; 38~41 min, 20%~25% A; 41~42 min, 25% A; 42~50 min, 25%~50% A; 50~55 min, 50%~70% A; 55~60 min, 70%~85% A; 60~62 min, 85%~90% A; 62~65 min, 90% A。

2.2.2 质谱条件 电喷雾离子化源 (ESI), 采用正、负离子扫描模式 (用亮氨酸脑啡肽作校正液, 进行实时校正)。离子喷雾电压 (ISVE): +5500/-5500 V; 涡轮喷雾温度 (TEM): 550 °C; 气帘气压力 (GUR): 241.3 kPa; 雾化气 (Gas1): 379.2 kPa; 辅助气 (Gas2): 379.2 kPa; 解簇电位 (DP): ±100 V; 碰撞能量 (CE): ±30 eV; 碰撞能散布 (CES): 15 eV; 离子释放延迟 (IRD): 67 V; 离子释放宽度 (IRW): 25 V; IDA 设置响应值超过 100 cps 的 8 个最高峰进行二级质谱扫描, 子离子扫描范围 m/z 100~1200。

2.3 化学数据库分析

使用 Peak ViewTM 软件 (版本 1.2, AB Sciex) 对山茱萸中复杂化合物进行定性鉴别。首先, 通过检索相关文献和化学数据库网站 (CNKI、Chemspider、Web of Science、PubMed 和 SciFinder 等), 建立山茱萸化合物数据库^[4], 包括名称、分子式和化学结构文件。然后, 将数据库导入到 Peak ViewTM 软件的 XIC Manager 模块对目标化合物进行峰提取和匹配。提取的参数设置如下: XIC 强度 (XIC intensity) > 50 counts, $S/N > 10$, 同位素差异度 (isotope ratio % difference) < 20, 质量误差 (mass error) < 1×10^{-5} 。经计算筛选后, 软件将各化合物的实测数据与软件理论的数据进行匹配, 将匹配度大于 75% 且质谱碎片裂解过程合理的结果作为山茱萸最终鉴定出来的化合物。

2.4 GNPS 网络的建立

按“2.2”项下检测条件进样, 获得正、负离子

模式下山茱萸样品及混合对照品溶液的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 二级质谱文件, 通过 MS Convert 软件转换后利用 FileZilla FTP Client 连接器导入 GNPS 平台 (<http://gnps.ucsd.edu>), 分别建立正负离子模式下的山茱萸 GNPS 网络, 并与混合对照品和谱库中的数据进行匹配; 数据分析在 Cytoscape 3.6.1 软件中进行。

2.5 色谱峰提取、校正、归一化

UPLC-Q-TOF-MS/MS 采集的原始质谱数据利用 Maker View 1.2 软件 (AB SCIEX 公司, 美国) 进行分识别、匹配、分对齐、滤噪等预处理。具体步骤如下: 将原始质谱数据导入 Maker View 1.2 软件后, 首先进行参数设置, 峰识别参数选择: 最小保留时间 0.01 min, 最小保留时间 115 min, 最小质荷比宽度 5 scans, 噪波阈值 100。峰对齐参数设置: 保留时间差 0.2 min, 质荷比容差 1×10^{-5} 。滤噪参数选择: 去除少于 6 个样本中出现的峰, 最大峰数目 8000 经处理后可得到峰表, 峰表主要显示化合物的保留时间和 m/z 等信息, 里面有大量缺失值, 产生的主要原因: 不存在该峰、峰存在但其检验值过小以致于不能被正确识别、未在 80% 以上的同组样本中出现, 故需对其按“80%”原则剔除, 再进行峰面积的归一化处理, 即完成对数据的标准化预处理。

2.6 主成分分析和多元统计分析

利用 SIMCA-P 14.0 软件对原始峰表数据进行多元统计分析, 数据经过 Parato 变换后, 首先采用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 对山茱萸组、酒茱萸组、盐制山茱萸组构建 PCA 模型, 通过初步观察各样品的聚集情况, 直观地表达山茱萸及其不同炮制品之间的化学组成成分差异; 随后选择偏最小二乘判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 进行有监督的数据分析, 进一步通过 S-plot、PLS-DA 模型中变量的变量权重值 (VIP 值, 即反应离子贡献度) 大于 1.5 为临界值寻找山茱萸与其不同炮制品的潜在差异化学成分。

3 结果与分析

按“2.2”项下检测条件进样, 获得 UPLC-Q-TOF-MS/MS 正、负离子模式下山茱萸样品 TIC 图 (图 1)。通过与对照品比对、数据库匹配分析、相关参考文献, 对山茱萸主要成分进行快速表征, 共鉴定或推断 117 种成分 (表 1): 44 个环烯醚萜类成分 (24 个环戊烷环烯醚萜类、12 个裂环型环烯醚萜类、8 个环烯醚萜二聚体)、2 个三萜类成分、22 个

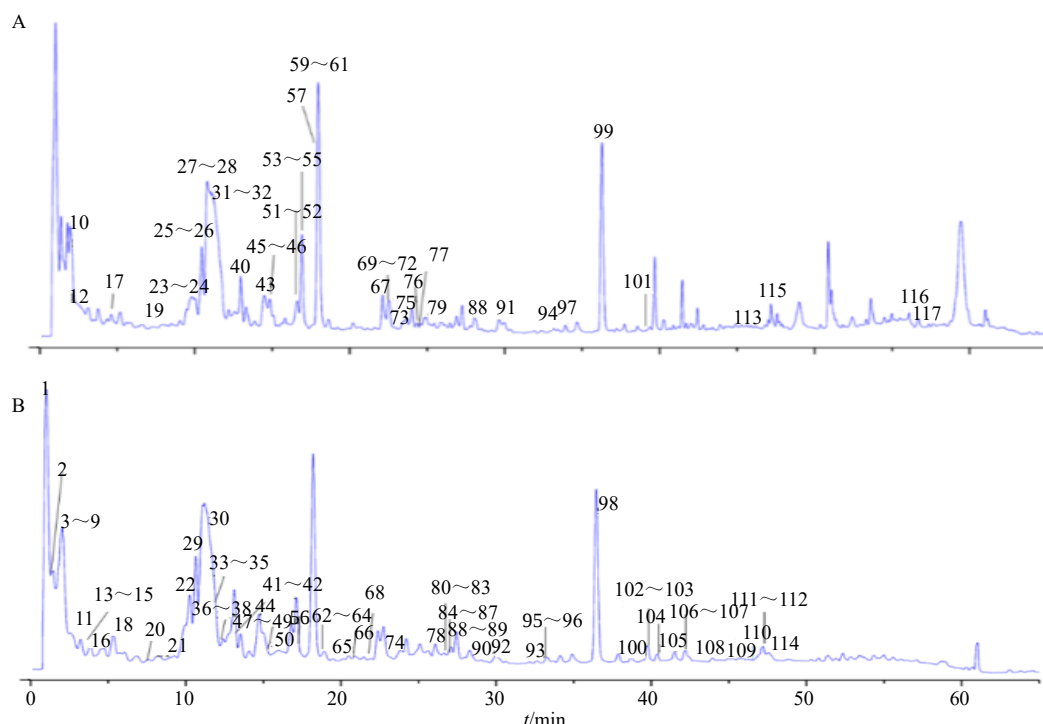


图 1 山茱萸水提物 UPLC-Q-TOF-MS/MS 正 (A)、负 (B) 总离子流图

Fig. 1 Positive (A), negative (B) total ion flow chromatograms of water extract of *Corni Fructus* by UPLC-Q-TOF-MS/MS

表 1 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 和 GNPS 鉴定的山茱萸中成分离子信息

Table 1 Characterization of component ion information of *Corni Fructus* by UPLC-Q-TOF-MS/MS and GNPS

编号	t_R/min	分子式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	化合物
1	1.003	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$	149.009 2	149.009 3 ^a	0.89	149.009 1, 130.999 4, 105.020 5, 103.005 1	酒石酸 ^[12]
2	1.102	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$	133.014 2	133.014 5 ^a	1.61	133.013 3, 115.003 3	苹果酸 ^[12]
3	1.459	$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_6$	205.071 8	205.072 6 ^a	4.04	205.038 4, 187.026 2, 161.050 3, 145.015 0, 143.036 4, 125.025 0	奎宁酸甲酯 ^[13]
4	1.605	$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_{10}$	331.067 1	331.067 3 ^a	0.83	331.068 3, 271.047 0, 241.035 6, 211.024 3, 169.014 8, 151.004 4, 139.003 3, 125.024 4	3- <i>O</i> -没食子酰- β - <i>D</i> -葡萄糖 ^[13]
5	1.864	$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_5$	147.029 9	147.030 0 ^a	0.55	147.032 1, 129.019 8, 114.999 3, 101.026 6	苹果酸甲酯 ^[14]
6	2.032	$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$	361.077 6	361.078 1 ^a	1.15	361.076 9, 343.067 5, 325.054 9, 301.057 1, 271.044 7, 241.035 0, 211.023 1, 169.013 5	7- <i>O</i> -没食子酰- <i>D</i> -景天庚酮糖 ^[15]
7	2.087	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	169.014 2	169.014 4 ^a	0.81	169.012 8, 125.023 8, 107.014 2	没食子酸 ^[15] &
8	2.088	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$	125.024 4	125.024 7 ^a	2.58	125.025 6, 107.016 4	5-羟甲基糠醛 ^[14]
9	2.199	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{14}$	483.078 0	483.078 2 ^a	0.31	483.081 2, 447.069 9, 331.069 5, 313.056 1, 211.025 0, 179.032 7, 169.013 2, 125.025 2	二没食子酰葡萄糖苷或其异构体 ^[15]
10	2.610	$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	377.144 2	377.144 3 ^b	0.16	377.144 6, 331.076 5, 313.059 5, 215.092 5, 197.080 6, 179.070 3, 153.054 7	8 <i>R</i> -hydroxy-10-hydrosyweroside 或 8 <i>S</i> -hydroxy-10-hydrosyweroside ^[16]
11	2.766	$\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_{18}$	633.073 3	633.075 6 ^a	3.58	633.077 7, 481.066 8, 331.069 7, 300.999 4, 275.019 7, 249.040 1, 169.014 8	1- <i>O</i> -没食子酰基-4,6- <i>O</i> -六羟基联苯二甲酰基- β - <i>D</i> -葡萄糖或 1- <i>O</i> -没食子酰基-4,6- <i>O</i> -六羟基联苯二甲酰基- α - <i>D</i> -葡萄糖 ^[13]
12	2.850	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_8$	329.123 1	329.121 7 ^b	-4.18	329.120 3, 311.131 2, 293.123 4, 283.137 5, 265.124 8, 247.114 0, 229.103 3, 211.098 9	melitadioside B 异构体 ^[4]

续表 1

编号	t_R/min	分子式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	化合物
13	3.254	$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_{10}$	331.067 1	331.067 5 ^a	1.44	331.068 9, 313.060 1, 271.043 9, 241.046 2, 169.014 0, 125.024 0	1- <i>O</i> -没食子酰- β - <i>D</i> -葡萄糖 ^[12]
14	3.413	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{14}$	483.078 0	483.078 7 ^a	1.46	483.080 3, 331.068 8, 313.057 2, 169.013 8, 151.000 9, 125.024 5	2,3-二- <i>O</i> -没食子酰- β - <i>D</i> -葡萄糖苷或其同分异构 ^[12]
15	3.857	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$	161.045 5	161.045 7 ^a	1.14	161.048 1, 143.036 1, 115.040 2	二甲基苹果酸 ^[13]
16	4.200	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$	153.019 3	153.019 6 ^a	1.54	153.019 1, 109.029 8	原儿茶酸或 3,5-二羟基苯甲酸 ^[17]
17 ^A	4.621	$\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	426.197 0	426.196 6 ^c	-0.87	426.188 9, 247.118 0, 229.107 4, 211.096 8, 197.081 1, 169.086 0, 151.075 9, 133.065 4	CO-1 [@]
18	5.234	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	479.118 4	479.119 6 ^d	2.60	479.122 8, 317.068 4, 299.057 3, 281.049 6, 255.067 9, 237.056 7, 119.032 7	F-1 ^{*[17]}
19	7.159	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$	405.138 8	404.131 9 ^b	-0.79	405.173 0, 243.085 6, 225.075 4, 207.064 2, 181.048 5	10-羟基山茱萸苷 ^[4,18]
20	7.898	$\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_{18}$	633.073 3	633.075 2 ^a	2.86	633.077 3, 463.057 9, 360.992 6, 313.048 9, 300.996 8, 169.018 3	2- <i>O</i> -没食子酰-4,6-(<i>S</i>)-六羟基联苯二甲酰基- <i>D</i> -葡萄糖苷 ^[13]
21	8.525	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$	347.076 1	347.077 5 ^d	3.95	347.077 3, 329.068 8, 303.086 4, 285.076 8, 273.074 6, 259.061 7, 244.039 0	柚皮素-7- <i>O</i> -甲基醚 ^[19]
22	9.256	$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_{16}$	567.193 1	567.194 1 ^a	1.84	567.192 0, 507.176 8, 477.162 2, 447.152 4, 405.138 3, 315.105 3, 285.097 1, 243.086 6	cornusglucoside F ^[20]
23	9.471	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$	405.139 1	405.139 2 ^b	0.10	405.141 8, 373.120 2, 355.104 2, 243.087 2, 211.060 0, 193.049 5, 167.034 4	戟叶马鞭草苷 ^[18]
24	9.802	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	389.144 2	389.144 4 ^b	0.45	389.177 9, 371.165 0, 339.101 7, 227.090 8, 209.081 2, 195.065 2, 181.087 0	7-脱氢马钱素 ^[15]
25	10.067	$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_8$	317.123 1	317.121 0 ^b	-6.70	317.120 5, 271.193 8, 203.053 6, 185.042 8, 163.039 3, 155.067 0, 143.030 4, 127.036 6	tachioside 同分异构体 ^[4]
26	10.361	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	391.159 7	390.152 6 ^b	-0.54	391.194 6, 341.123 0, 229.109 7, 211.097 0, 179.069 8, 161.060 5	马钱苷同分异构体 ^[4]
27	10.466	$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	377.144 2	377.144 6 ^b	0.88	377.132 3, 359.134 1, 341.122 7, 215.091 9, 197.081 1, 179.070 6, 151.075 4	马钱子酸 ^[15]
28	10.467	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_9$	359.133 7	359.133 7 ^b	0.07	359.133 5, 341.124 0, 323.112 2, 197.081 5, 179.071 2, 161.059 7, 151.075 7	獐牙菜苷同分异构体 ^[4]
29	10.801	$\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{O}_{22}$	785.084 3	785.087 3 ^a	3.88	785.091 6, 633.079 3, 589.085 5, 483.076 5, 300.998 9, 275.016 9, 249.037 4, 169.013 7	特里马素I或其同分异构体 ^[14]
30	11.301	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$	405.140 2	405.140 4 ^a	0.40	405.142 6, 373.115 2, 359.078 8, 243.086 3, 225.078 0, 213.076 8, 179.034 1, 155.034 1	莫诺苷 ^[15] &
31	11.064	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	389.144 2	389.144 1 ^b	-0.40	389.148 3, 357.118 5, 339.106 6, 321.093 4, 227.091 3, 209.081 1, 195.065 8, 181.086 2, 177.054 8	马鞭草苷 ^[14]
32	11.067	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5$	227.091 4	227.091 2 ^b	-0.99	227.091 4, 209.080 6, 195.065 2, 177.054 7, 167.069 9, 155.033 6, 149.059 7, 139.039 2	脱水莫诺苷元 ^[18]
33	11.450	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{14}$	483.078 0	483.078 2 ^a	0.46	483.081 2, 331.076 1, 313.056 0, 271.045 7, 241.037 0, 211.026 0, 193.013 4, 169.012 8, 125.026 7	二没食子酰葡萄糖苷或其异构体 ^[15]
34	11.746	$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_{16}$	567.193 1	567.194 4 ^a	2.32	567.198 4, 531.013 2, 507.179 6, 477.165 7, 447.155 5, 405.140 4, 285.098 6, 243.086 2	cornusglucoside E ^[20]

续表 1

编号	t_R/min	分子式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	化合物
35	11.894	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	179.035	179.035 ^a	0.11	179.035 1, 161.025 5 , 135.045 3 , 117.035 4 , 107.052 1	咖啡酸 ^[15]
36	12.717	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{14}$	483.078 0	483.078 5 ^a	0.94	483.080 9, 465.070 7 , 439.090 5 , 331.067 6 , 313.056 8 , 287.078 1, 271.046 8, 241.035 5, 211.021 9, 169.014 1	二没食子酰葡萄糖苷或其异构体 ^[15]
37	12.774	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_9$	357.119 1	357.119 1 ^a	-0.11	357.121 1, 177.055 4, 162.031 6, 149.005 5, 113.021 8	獐牙菜苷同分异构体 ^[4]
38	12.986	$\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_{18}$	635.089 0	635.090 9 ^a	3.03	635.095 7, 599.080 6, 483.079 9 , 465.070 0 , 421.078 8, 313.055 2 , 295.044 2, 169.013 4	1,2,6-三- <i>O</i> -没食子酰- β - <i>D</i> -葡萄糖苷 ^[4,12]
39	13.265	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$	405.139 1	405.139 0 ^b	-0.44	405.143 6, 387.156 8 , 243.086 6 , 225.071 8 , 211.059 8 , 165.054 9, 151.038 3, 125.023 4	金吉苷或表金吉苷 ^[18]
40	13.303	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	391.159 7	390.152 6 ^b	-0.37	391.184 8, 229.106 9 , 211.060 9 , 193.050 4 , 151.039 6	马钱苷同分异构体 ^[4]
41	13.328	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	389.108 9	389.109 3 ^a	-0.19	389.110 1, 345.121 4 , 209.046 3 , 183.067 0 , 165.055 8 , 149.072 0 , 139.003 8 , 121.066 4	裂环氧化马钱酸 ^[18]
42	13.986	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_8$	327.108 5	327.109 0 ^a	1.35	327.109 2, 280.869 2, 165.054 6, 147.044 8 , 119.035 8	meliadoside B ^[17]
43 ^A	14.373	$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$	493.155 0	493.154 6 ^b	-0.99	493.268 6, 475.147 5 , 457.132 8 , 439.124 9 , 421.114 5 , 403.108 0 , 385.099 9, 359.135 1 , 215.091 6, 197.081 5 , 179.070 1	CO-2 [@]
44	14.579	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{14}$	483.078 0	483.078 6 ^a	1.11	483.083 8, 331.071 1 , 313.056 9 , 273.085 0, 169.014 3 , 151.005 0 , 125.024 0	没食子酸 4- <i>O</i> - β - <i>D</i> -(6'- <i>O</i> -没食子酰基)-葡萄糖 苷或其异构体 ^[21]
45 ^A	14.675	$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$	522.180 0	522.180 0 ^c	-0.96	522.222 9, 505.153 5 , 455.153 5 , 279.068 7, 227.091 8 , 195.0573	CO-3 [@]
46	14.983	$\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$	521.186 5	521.186 5 ^b	0.11	521.219 2, 475.138 1 , 359.133 9 , 197.080 7 , 179.070 2	logmalicids A 或 logmalicids B ^[22]
47	15.765	$\text{C}_{41}\text{H}_{30}\text{O}_{27}$	953.090 2	953.095 7 ^a	5.82	953.102 0 , 909.110 8 , 785.092 5 , 765.063 6, 543.074 8, 483.074 8, 425.015 5, 300.997 4	异诃子素 ^[1]
48	15.822	$\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{O}_{22}$	785.084 3	785.088 8 ^a	5.68	785.093 0 , 633.076 0 , 483.080 2 , 300.998 9 , 249.039 5, 169.013 8	特里马素I或其同分异构体 ^[14]
49	15.967	$\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_{18}$	635.089 0	635.091 7 ^a	4.32	635.094 0 , 483.080 2 , 465.068 2 , 331.070 9 , 313.058 9 , 295.045 5 , 169.014 1	3,4,6-三- <i>O</i> -没食子酰基- β - <i>D</i> -葡萄糖苷 ^[4]
50	16.492	$\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_{18}$	633.073 3	633.075 3 ^a	3.13	633.106 2 , 615.103 3 , 483.077 0, 481.066 0 , 169.013 4	水杨梅素 D ^[15]
51	16.506	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	391.159 9	391.159 8 ^b	-0.28	373.152 7 , 359.135 7 , 341.123 5 , 229.107 3 , 211.096 9 , 197.080 2 , 179.070 3 , 151.074 7	8-表没食子素 ^[4,20]
52	16.626	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	389.144 2	389.144 6 ^b	0.97	389.176 6 , 371.177 1 , 227.090 8 , 195.065 1 , 177.053 4 , 149.058 8	裂环马钱苷 ^[18]
53	16.829	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	271.060 1	271.059 9 ^b	0.65	271.056 4 , 243.069 4 , 215.066 2 , 197.067 3 , 153.021 2	apigenin 同分异构体 ^[4]
54	16.917	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_9$	359.133 7	359.133 5 ^b	-0.39	359.132 8 , 197.080 3 , 179.070 3 , 151.074 9 , 137.060 0, 133.065 3, 127.039 1	獐牙菜苷 ^[14] &
55 ^A	17.446	$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$	475.215 0	475.214 7 ^b	-1.01	475.144 2, 457.132 3 , 439.125 5 , 421.113 0 , 355.102 2 , 309.138 8 , 197.080 5 , 179.070 0 ,	CO-4 [@]
56	17.477	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	163.040 1	163.040 2 ^a	0.82	163.038 7 , 145.027 6 , 119.050 3 , 104.027 4	对羟基桂皮酸 ^[4,23]

续表 1

编号	t_R/min	分子式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	化合物
57 ^A	17.785	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₅	523.165 0	523.165 2 ^b	0.83	523.121 8, 505.142 3, 487.138 1, 473.130 7, 455.115 3, 427.125 7, 409.106 7, 229.099 1, 211.099 1, 179.069 3	CO-5 [@]
58	17.885	C ₁₄ H ₁₄ O ₉	325.056 5	325.056 8 ^a	0.92	325.057 4, 193.050 4, 178.026 7, 149.060 7, 134.037 5, 117.032 5, 103.005 1	咖啡酰酸单甲酯 ^[4,20]
59	17.972	C ₁₆ H ₂₂ O ₉	359.133 7	359.134 0 ^b	0.99	359.133 7, 341.124 0, 323.116 4, 305.104 4, 197.081 4, 179.070 9, 161.060 2, 151.076 3	獐牙菜苷同分异构体 ^[4]
60	17.972	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	179.070 3	179.070 1 ^b	-0.97	179.071 2, 161.060 2, 151.076 6, 133.065 1, 123.082 1, 109.066 3	<i>p</i> -methoxy cinnamic acid ^[4,20]
61	17.974	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₀	391.159 9	391.160 1 ^b	0.52	391.160 1, 373.146 8, 359.132 0, 341.122 7, 229.106 7, 211.095 9, 197.080 9, 179.069 6	马钱苷 ^{[15]&}
62	18.718	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	635.089	635.091 2 ^a	3.49	635.094 6, 483.080 6, 465.070 3, 313.055 8, 295.046 7, 169.013 6, 125.025 2	1,2,3-三- <i>O</i> -没食子酰- β - <i>D</i> -葡萄糖苷 ^[4,12]
63	18.891	C ₃₄ H ₂₆ O ₂₂	785.084 3	785.084 4 ^a	0.16	785.092 4, 613.044 8, 463.049 3, 301.002 0, 249.041 0, 169.016 2	特里马素I或其同分异构体 ^[14]
64	18.984	C ₉ H ₁₀ O ₅	197.045 5	197.045 7 ^a	1.00	197.808 8, 182.020 4, 162.840 0, 153.057 8, 138.034 3, 121.030 7	丁香酸 ^[4,12]
65	20.617	C ₂₃ H ₃₆ O ₁₆	567.193 1	567.194 1 ^a	1.92	567.195 5, 521.191 5, 489.150 7, 389.219 0, 359.131 6, 293.080 4, 227.091 5, 146.966 4	Isomer of cornusglucoside F ^[4]
66	20.872	C ₃₄ H ₂₆ O ₂₂	785.084 3	785.087 3 ^a	3.89	785.095 4, 665.119 1, 615.064 7, 463.046 4, 313.056 6, 300.998 6, 249.042 3, 169.018 5	特里马素I或其同分异构体 ^[14]
67	21.609	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₀	391.159 9	391.159 9 ^b	0.03	359.137 9, 229.106 7, 179.069 7, 151.038 7	二氢山茱萸苷 ^[18]
68	21.720	C ₃₄ H ₂₈ O ₂₂	787.099 9	787.104 1 ^a	5.29	787.108 3, 635.092 4, 465.069 4, 423.060 4, 313.049 3, 169.015 1	1,2,4,6-四- <i>O</i> -没食子酰- β - <i>D</i> -葡萄糖苷 ^[21]
69	22.117	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₄	507.170 8	507.170 4 ^b	-0.90	489.158 4, 475.144 5, 457.134 2, 439.123 4, 229.096 7, 211.096 7, 197.081 0, 179.070 3	山茱萸新苷 IV ^[13]
70 ^A	22.119	C ₂₁ H ₂₈ O ₁₃	489.160 0	489.159 4 ^b	1.71	489.238 6, 471.149 2, 457.134 0, 439.124 1, 421.108 4, 411.126 5, 229.107 6, 211.096 9, 179.070 3	CO-6 [@]
71	22.276	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	405.139 1	405.138 9 ^b	-0.61	405.131 6, 387.131 9, 243.085 7, 225.075 0, 211.059 1, 193.048 8, 165.054 6	裂马钱子苷 ^[13]
72 [@]	22.733	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₄	495.076 0	495.076 1 ^b	-0.70	495.073 2, 459.047 0, 319.045 6, 151.041 8	杨梅素-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖醛酸
73 ^A	23.332	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	627.154 0	627.154 1 ^b	-0.84	627.151 8, 481.095 0, 319.044 1, 145.049 8, 129.055 5	杨梅素-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖- α - <i>L</i> -鼠李糖 [@]
74	23.836	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	477.103 9	477.104 7 ^a	1.79	477.106 1, 433.116 6, 313.056 6, 271.060 7, 253.034 9, 211.025 6, 169.013 2	4- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -galloyl- β - <i>D</i> -glucopyranosyl- <i>cis</i> - <i>p</i> -coumaric acid ^[20]
75	24.041	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₄	507.170 8	507.171 2 ^b	0.72	507.181 5, 345.116 3, 313.086 4, 211.095 5, 193.086 0, 179.069 9, 161.060 1	山茱萸新苷III或山茱萸新苷IV ^[13]
76 [@]	24.491	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	597.144 0	597.144 1 ^b	-1.30	597.143 8, 465.100 8, 303.049 4	槲皮素-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖- α - <i>L</i> -阿拉伯糖
77 ^A	24.610	C ₂₆ H ₂₆ O ₁₇	611.124 0	611.123 4 ^b	-1.42	611.120 3, 479.081 6, 303.049 8, 159.029 3, 113.023 5	槲皮素-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖醛酸- α - <i>L</i> -阿拉伯糖 [@]
78	25.279	C ₃₄ H ₂₆ O ₂₂	785.084 3	785.084 9 ^a	0.73	785.088 5, 634.086 0, 483.087 7, 300.997 3, 249.037 5, 169.013 4	特里马素I或其同分异构体 ^[14]
79	25.894	C ₂₆ H ₃₀ N ₂ O ₉	515.202 4	515.207 1 ^b	9.08	515.207 1, 353.150 5, 283.106 5, 265.098 4, 203.050 8, 160.074 8	javaniside ^[17]

续表 1

编号	t_R/min	分子式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	化合物
80	26.059	$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_8$	303.013 5	303.013 5 ^a	-0.24	303.014 1, 285.002 8, 257.007 9, 247.023 1, 229.012 4, 219.027 9, 201.017 2, 183.007 0	逆没食子酸 ^[13]
81	26.618	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	609.146 1	609.148 5 ^a	3.85	609.151 2, 591.143 1, 463.094 5, 373.045 4, 343.048 3, 301.034 6, 300.027 2	芦丁 ^{[4]&}
82	26.664	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	421.114	421.114 7 ^a	1.52	421.116 8, 281.068 4, 239.054 0, 221.049 9, 137.025 4	dunnianosides D ^[17]
83	26.892	$\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{O}_{22}$	787.099 9	787.104 7 ^a	6.04	787.108 1, 635.095 4, 617.084 4, 465.070 3, 447.059 6, 295.045 8, 169.015 3	1,2,3,6-四- <i>O</i> -没食子酰- β - <i>D</i> -葡萄糖苷 ^[14]
84	27.060	$\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_{12}$	464.096	464.092 7 ^a	-7.07	464.094 5, 302.039 2, 301.031 9, 272.026 7, 256.033 3, 151.003 7	飞燕草素-3- <i>O</i> - β -吡喃型半乳糖苷 ^[13]
85	27.062	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	463.088 2	463.089 0 ^a	1.80	463.089 5, 343.045 8, 301.036 0, 300.027 8, 271.024 8, 243.027 8, 151.002 8	槲皮素-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷或其同分异构体
86	27.146	$\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_{11}$	521.202 8	521.204 0 ^a	2.18	521.206 6, 463.080 6, 359.152 3, 344.126 1, 326.115 2, 300.026 8, 241.050 7	(-)-isolariciresinol-9'- β -glucopyranoside 或其同分异构体 ^[20]
87	27.441	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{13}$	477.067 5	477.068 5 ^a	2.08	477.068 8, 301.034 4, 283.024 8, 255.030 6, 245.045 1, 151.003 1	槲皮素-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖醛酸 ^[18]
88 ^A	28.153	$\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	433.169 0	433.169 1 ^b	-0.37	433.163 5, 415.165 7, 401.146 7, 383.132 6, 365.128 4, 229.108 2, 211.095 2, 197.084 0, 179.070 9, 161.057 7	CO-11 [@]
89	28.246	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_5$	183.029 9	183.030 0 ^a	0.79	183.031 7, 165.015 4, 147.896 9, 139.041 9	没食子酸甲酯 ^[23]
90	29.421	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	593.151 2	593.152 6 ^a	2.43	593.154 5, 477.069 8, 447.086 2, 327.050 1, 285.040 6, 255.028 5	山柰酚-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β - <i>D</i> -葡萄糖苷或忍冬苦苷 ^[13,23]
91	29.670	$\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_7$	333.190 8	333.190 8 ^b	0.17	333.200 6, 315.026 9, 153.126 9, 135.116 8, 107.085 3	F-2 ^{*[4,20]}
92	30.646	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	447.093 3	447.094 1 ^a	1.75	447.094 4, 357.061 8, 327.039 4, 285.040 2, 284.032 0, 255.029 6, 227.033 8, 151.001 4	山柰酚-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷/山柰酚-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -半乳糖苷 ^[23]
93	32.174	$\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_{11}$	519.187 2	519.187 3 ^a	0.29	519.187 0, 357.135 9, 161.047 6, 151.041 1	pinoresinol-4- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucoside ^[17]
94 [@]	32.571	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{12}$	463.086 0	463.086 3 ^b	-1.32	463.086 8, 287.054 4, 159.027 7, 113.022 9	山柰酚-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖醛酸
95	33.161	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	447.093 3	447.093 2 ^a	-0.08	447.061 8, 415.032 6, 315.016 5, 299.992 2, 284.032 2, 255.032 0, 227.036 7	4'-甲氧基山柰酚- α - <i>L</i> -阿拉伯糖 ^[4]
96	33.353	$\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{O}_{20}$	823.286 7	823.293 0 ^d	7.70	823.299 6, 777.292 0, 745.266 2, 615.234 1, 583.211 1, 227.092 2, 225.077 0	cornuside N ^[24]
97	33.912	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$	551.175 9	551.175 3 ^b	-1.12	551.173 2, 309.096 2, 291.084 9, 261.072 4, 231.075 0, 165.050 4, 147.043 5	2'- <i>O</i> -(<i>p</i> -coumaroyl)-kingiside ^[17]
98	36.111	$\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{O}_{20}$	823.286 7	823.292 7 ^d	7.37	823.300 6, 777.293 1, 745.268 1, 615.235 4, 583.210 0, 513.159 9, 227.093 2, 225.076 1	cornuside L 或 cornuside II ^[24]
99	36.287	$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	543.170 8	543.170 2 ^b	-1.15	543.169 6, 525.158 3, 493.134 7, 381.117 3, 373.150 3, 349.091 4, 341.123 0, 211.096 0, 197.080 5	山茱萸新苷 ^[4,12]
100	38.336	$\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{O}_{20}$	823.286 7	823.293 0 ^d	7.73	823.293 7, 777.289 5, 745.264 6, 615.234 8, 583.208 6, 513.150 7, 227.091 8, 225.087 7	cornuside L 或 cornuside II ^[4,24]
101	39.123	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$	361.164 6	361.164 5 ^b	-0.20	361.164 3, 343.150 1, 315.123 9, 285.111 1, 283.095 9, 257.117 2, 189.091 4,	(+)-isolariciresinol ^[17]
102	39.413	$\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{O}_{20}$	823.286 7	823.294 0 ^d	8.88	823.299 7, 777.292 7, 745.265 0, 615.235 8, 583.211 5, 389.156 5, 225.077 0	cornuside M ^[4,24]

续表 1

编号	t_R/min	分子式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	化合物
103	39.910	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$	287.056 1	287.056 6 ^a	1.53	287.055 1, 259.061 4, 241.050 7, 151.001 6, 135.045 4, 123.008 1	2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> - <i>trans</i> -aromadendrin ^[19]
104	40.046	$\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{O}_{20}$	823.286 7	823.293 7 ^d	8.53	823.228 9, 777.293 1, 745.276 7, 615.235 5, 583.198 6, 453.173 6, 225.085 2	cornuside O ^[4,24]
105	41.722	$\text{C}_{41}\text{H}_{54}\text{O}_{24}$	929.293 2	929.300 7 ^a	8.01	929.305 8, 767.256 4, 735.222 0, 541.152 5, 379.104 0, 347.083 6, 309.065 3, 169.013 1	cornuside R 或 cornuside S ^[17]
106	42.113	$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_7$	391.176 2	391.176 8 ^a	1.36	391.177 8, 323.866 6, 301.035 0, 229.123 8, 211.111 1, 199.108 4	cornucadinose A ^[17]
107	42.172	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	301.035 4	301.035 9 ^a	1.76	301.035 6, 273.041 4, 257.045 2, 245.045 2, 229.050 9, 211.039 8, 151.004 3, 121.030 3	槲皮素 ^[15,20] &
108	42.833	$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_8$	421.186 8	421.187 7 ^a	2.05	421.189 2, 375.016 1, 259.135 4, 241.125 14, 226.102 8, 216.958 1	cornucadinose B ^[17]
109	44.202	$\text{C}_{41}\text{H}_{54}\text{O}_{24}$	929.293 2	929.299 8 ^a	7.03	929.305 4, 767.256 5, 735.229 2, 703.240 1, 541.163 7, 347.074 5, 309.062 4, 169.012 5	cornuside U ^[17]
110	45.243	$\text{C}_{41}\text{H}_{54}\text{O}_{24}$	929.293 2	929.299 8 ^a	7.08	929.307 0, 735.207 9, 541.157 4, 509.678 8, 169.014 1	cornuside T ^[4,17]
111	45.274	$\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_{12}$	597.217 8	597.221 6 ^d	6.46	597.217 4, 551.217 4, 389.162 3, 227.107 7	cornucadinose D ^[4,17]
112	45.527	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	269.045 5	269.045 9 ^a	1.22	269.045 7, 251.135 6, 227.039 0, 151.001 5, 117.033 8	apigenin ^[20]
113	45.634	$\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_{12}$	555.243 6	555.242 5 ^b	-1.98	555.276 4, 393.201 9, 345.132 4, 231.138 0, 213.125 9, 189.090 4	cornucadinose C ^[4,17]
114	45.905	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	287.055 0	287.055 0 ^a	2.09	287.055 1, 269.043 0, 241.048 8, 231.066 7, 213.053 0, 194.024 2, 153.019 9	木犀草素 ^[15,20]
115	46.807	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}$ 8	499.207 5	499.207 0 ^b	-0.96	499.208 3, 337.154 7, 319.144 6, 267.112 0, 194.084 8, 171.091 3	vincoside lactam ^[17]
116	55.906	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$	473.362 5	473.362 0 ^b	-1.04	473.310 1, 455.354 3, 437.342 6, 409.345 3, 391.335 3, 381.339 2, 205.156 5, 189.162 5	2 α -羟基熊果酸或山楂酸 ^[12]
117	59.901	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$	457.367 6	457.367 4 ^b	-0.59	457.364 4, 439.357 8, 411.362 1, 393.355 0, 341.288 7, 249.182 6, 203.178 0, 191.179 6	熊果酸 ^[12] &

表中粗体“碎片离子”数字代表该化合物二级质谱图中响应度比较高(>40%),非粗体表示该碎片离子响应度比较低(10%~30%)。F-1*: (2*S*)-5,3',5'-trihydroxy-flavanone-7-*O*- β -*D*-glucopyranoside/(2*R*)-5,3',5'-trihydroxy-flavanone-7-*O*- β -*D*-glucopyranoside; F-2*: sachalinoide B/(4 α)-3-(5,5-dimethyltetrahydrofuran-1-yl)-3-*O*- β -*D*-glucopyranoside; a: [M-H]⁻, b: [M+H]⁺, c: [M+NH₄]⁺, d: [M+HCOO]⁻; &代表与对照品比对 ^代表 GNPS 分析出的潜在的新化合物 @代表首次从山茱萸中分析得到的化合物

The number “fragment ion” in bold in the table indicates high relative abundance of ions (>40%) in the MS² spectrum of the compound; non-bold indicates low relative abundance of ions (10%~30%) for the fragment ion F-1*: (2*S*)-5,3',5'-trihydroxy-flavanone-7-*O*- β -*D*-glucopyranoside/(2*R*)-5,3',5'-trihydroxy-flavanone-7-*O*- β -*D*-glucopyranoside; F-2*: sachalinoide B/(4 α)-3-(5,5-dimethyltetrahydrofuran-1-yl)-3-*O*- β -*D*-glucopyranoside; a: [M-H]⁻, b: [M+H]⁺, c: [M+NH₄]⁺, d: [M+HCOO]⁻; & means the result from comparison with control; ^ stands for the potential new compound by GNPS; @ means the compounds were firstly analyzed from *Corni Fructus*

鞣质类成分、19 个黄酮及其苷类成分、21 个芳香酸类成分和 9 个其他类成分。其中 12 个为山茱萸中首次鉴定到的化合物(9 个为潜在新成分)。

3.1 利用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对山茱萸化学成分的分析

3.1.1 环烯醚萜类化合物 此类物质是山茱萸茱萸中含量最高的成分类群,为其主要活性成分。结构类型涉及环戊烷型环烯醚萜(代表结构马钱苷)、裂

环烯醚萜(代表结构莫诺苷)和环烯醚萜二聚体(代表结构 cornuside O) 3 类,其大部分与糖相连形成环烯醚萜苷^[4]。通过质谱分析,在山茱萸水提取物中共鉴别 37 个已知的环烯醚萜类(表 1): 17 种环戊烷型环烯醚萜、12 种裂环环烯醚萜及 8 种环烯醚萜二聚体。此类成分在正离子模式下响应较好。在正离子模式检测下,峰 61 给出了 m/z 391.160 1 [M+H]⁺ 的分子离子峰,二级质谱图(图 2)中可观察到碎

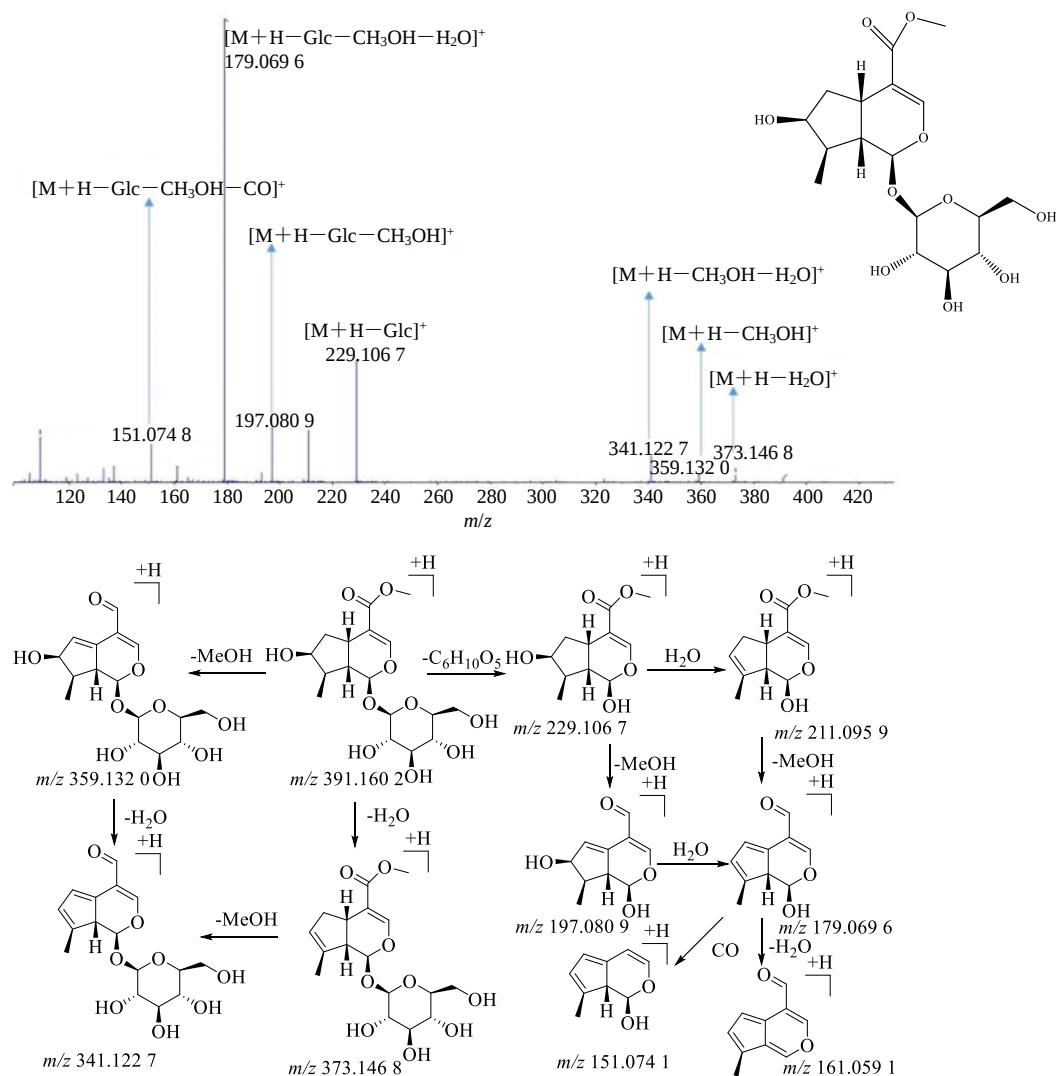


图2 马钱苷的二级质谱图及裂解规律图

Fig. 2 MS² spectrum and proposed fragmentation pathways of loganin

片离子 *m/z* 373.146 8 [M+H-H₂O]⁺、359.132 0 [M+H-CH₃OH]⁺、341.122 7 [M+H-CH₃OH-H₂O]⁺、229.106 7 [M+H-Glc]⁺、211.095 9 [M+H-Glc-H₂O]⁺、197.080 9 [M+H-Glc-CH₃OH]⁺、179.069 6 [M+H-Glc-CH₃OH-H₂O]⁺ 和 151.074 8 [M+H-Glc-CH₃OH-CO]⁺，其保留时间和裂解方式均与马钱苷对照品一致，且质谱裂解方式与文献报道一致^[25]，推测峰 61 为马钱苷。同样根据马钱苷裂解规律及文献数据的对比^[15,25]，系列该类型的化合物被鉴定（19、23、24、26、27、31、52、39、40、46、51、67、69、71、75），见表 1。

对于裂环环烯醚萜的结构鉴定，在负离子模式检测下，峰 30 给出了 *m/z* 405.142 6 [M-H]⁻ 的准分子离子峰，其主要的裂解是丢失侧链的葡萄糖残基、H₂O 和 CH₃OH 分子。其次是结构中不稳定的半缩

醛结构开环回醛式，然后脱去 1 分子 CO。二级质谱图中，其主要的碎片离子有 *m/z* 373.115 2 [M-H-CH₃OH]⁻、243.086 3 [M-H-Glc]⁻、225.078 0 [M+H-Glc-H₂O]⁻、193.051 0 [M-H-Glc-CH₃OH-H₂O]⁻、155.034 1 [M-H-Glc-CH₃OH-2CO]⁻，其保留时间和裂解方式均与莫诺苷对照品一致，且质谱裂解方式与文献报道一致^[25]，确认峰 30 为莫诺苷，其裂解规律如图 3 所示。类似地，通过莫诺苷裂解规律及文献数据的对比^[25]，系列此类化合物均被鉴定（22、28、32、34、37、41、54、59、65、99、97），见表 1。环烯醚萜二聚体类化合物为环戊烷型环烯醚萜和裂环环烯醚萜通过单键连接在一起而形成的环烯醚萜类化合物。在负离子模式检测下，峰 104 在负离子模式检测下给出了 *m/z* 823.228 9 [M+HCOO]⁻ 的分子离子峰，二级质谱图

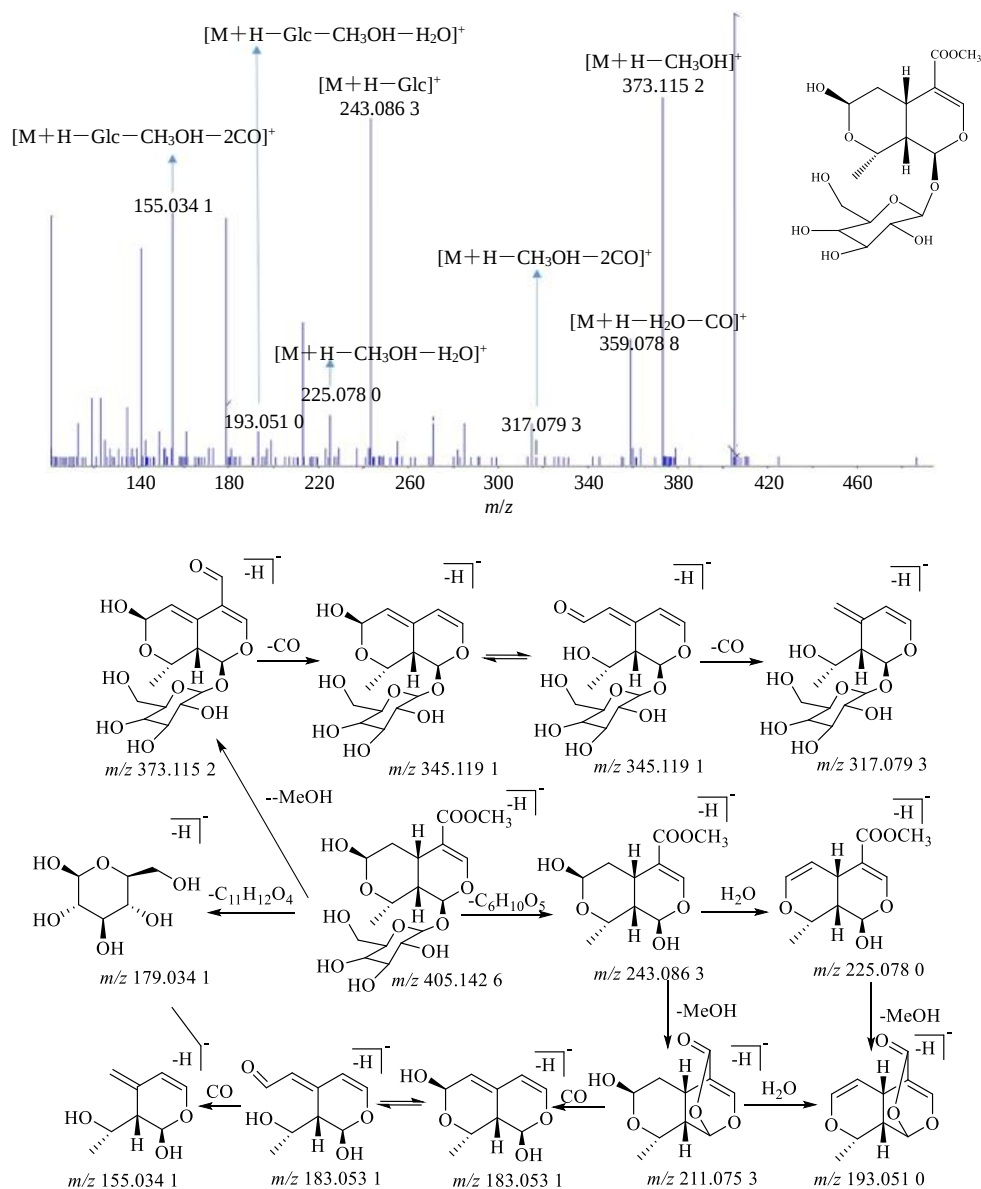


图3 莫诺昔的二级质谱图及裂解规律图

Fig. 3 MS² spectrum and proposed fragmentation pathways of morroniside

可观察到碎片离子 m/z 777.293 1 $[M+H-HCOOH]^-$ 、615.235 5 $[M+H-HCOOH-Glc]^-$ 、453.173 6 $[M+H-HCOOH-2Glc]^-$ 等, 和它的 4 个同分异构体不同的是它具有连续丢失 2 个葡萄糖的特征性离子, 通过对比参考文献数据^[4,24], 推测峰 104 为 cornuside O。同系列化合物也均被确定(96、98、100、102、105、109 和 110), 见表 1。

3.1.2 黄酮类化合物 通过数据库分析, 在山茱萸提取物中共检测到 14 个黄酮类已知化合物。对于黄酮及其苷类化合物的裂解, 先是失去连在环上的取代基如羟基、甲氧基、糖基; 随后是 C 环的开裂或者重排。C 环的开裂一般产生 A⁻和 B⁻离子, C 环的

重排涉及 CO (m/z 28)、 HCO (m/z 29)、 CO_2 (m/z 44) 等的丢失。其中从中性丢失的小分子, 可以推断其连在环上的取代基。C 环的开裂产生的离子对于母核的推断具有重要的意义。如峰 **107** 在负离子模式检测下显示了 m/z 301.035 6 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 的准分子离子峰, 其主要的碎片离子有 m/z 273.041 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}]^-$ 、257.045 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ 、229.050 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2-\text{CO}]^-$ 、151.004 3、121.030 3, 其中 m/z 151.004 3 是由 $\text{RDA}^{1,3} \text{A}^-$ 裂解产生的碎片离子, m/z 121.030 3 是由 $\text{RDA}^{1,3} \text{B}^-$ 丢失 1 分子 CO 得到的碎片离子, 其保留时间和二级裂解碎片均与槲皮素对照品一致, 峰 **107** 被鉴定为槲皮素。类似地, 通过

槲皮素和芦丁的裂解规律及文献数据的对比^[18], 其他黄酮类化合物 **18**、**21**、**53**、**81**、**84**、**85**、**87**、**90**、**92**、**95**、**103**、**112** 和 **114** 均被鉴定 (表 1)。

3.1.3 鞣质类化合物 在山茱萸水提物中共检测到 22 个鞣质类化合物。对于没食子酰鞣质类的鉴定, 其裂解规律为中性丢失没食子酰基 (galloyl, 152)、丢失整个葡萄糖基 (162) 及糖环的交叉环切除裂解 ($C_2H_4O_2$, 60; $C_3H_6O_3$, 90)。在负离子模式下, 峰 **6** 在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 361.076 9 $[M-H]^-$, 其主要二级信息有 m/z 343.067 5 $[M-H-H_2O]^-$ 、325.054 9 $[M-H-2H_2O]^-$ 、 m/z 301.057 1 $[M-H-60]^-$ 、271.044 7 $[M-H-90]^-$ 、241.035 0 $[M-H-120]^-$ 、211.023 1 $[M-H-150]^-$ 、169.013 5、125.024 6, 其二级碎片主要是由于糖链的断裂或者丢失整个糖基产生的。 m/z 301.057 1、271.044 7、241.035 0、211.023 1 均是由于糖链不同位置处的断裂, 分别丢失中性碎片 $C_2H_4O_2$ (m/z 60)、 $C_3H_6O_3$ (m/z 90)、 $C_4H_8O_4$ (m/z 120) 和 $C_5H_{10}O_5$ (m/z 150) 产生。 m/z 169.013 5 和 125.024 6 则是由母离子相继丢失整个景天庚酮糖和 CO_2 得到的。根据以上碎片离子信息及参考文献数据^[26], 推测峰 **6** 为 7-*O*-没食子酰-*D*-景天庚酮糖。类似地, 通过 7-*O*-没食子酰景天庚酮糖的裂解规律及文献数据的对比^[21,26], 同系列鞣质类化合物 **4**、**9**、**13**、**14**、**20**、**33**、**36**、**38**、**44**、**47**、**49**、**62**、**68**、**83** 均被鉴定; **29**、**63**、**66**、**78** 与 **48** 均为特里马素 I 或其同分异构体; 同样地化合物 **11**、**20** 和 **50** 也依次被鉴定 (表 1)。

3.1.4 芳香酚酸类化合物 此类化合物含有较多的酚羟基和羧基, 裂解时易失去 H_2O 、 CO 、 CO_2 及 $HCOOH$ 等基团。在山茱萸水提物中共检测到 22 个有机酸类化合物。峰 **7** 在正离子模式下出现 m/z 171.028 7 $[M+H]^+$ 的准分子离子峰。其二级碎片主要有 m/z 153.017 0 $[M+H-H_2O]^+$ 、135.009 4 $[M+H-2H_2O]^+$ 、125.026 0 $[M+H-HCOOH]^+$ 、109.028 8 $[M+H-H_2O-CO_2]^+$ 和 107.013 4 $[M+H-2H_2O-CO]^+$, 通过与对照品保留时间及二级碎片的比对, 可确定峰 **7** 为没食子酸。类似地, 通过没食子酸的裂解规律及文献数据的对比^[20], 系列芳香酚酸类化合物 **1**~**3**、**5**、**12**、**15**、**16**、**25**、**35**、**42**、**56**、**58**、**60**、**64**、**74**、**80**、**82**、**86**、**89**、**93** 和 **101** 均被鉴定 (表 1)。

3.1.5 三萜类化合物 三萜类化合物是山茱萸的有效成分之一, 在山茱萸样品中共鉴定了 2 个三萜化合物 (**116** 和 **117**), 见表 1。峰 **117** 在正离子模

式下显示了 m/z 457.364 4 $[M+H]^+$ 的准分子离子峰, 主要的碎片离子有 m/z 439.357 8 $[M+H-H_2O]^+$ 、411.362 1 $[M+H-HCOOH]^+$ 和 393.355 0 $[M+H-HCOOH-H_2O]^+$, 其主要的裂解先是丢失侧链的 H_2O 分子和 $HCOOH$ 。然后是结构当中的 C 环容易进行 RDA 裂解, 把母核分为 A、B 环和 C、D 环。而碎片离子 m/z 203.178 0 $[M+H-C_{14}H_{22}]^+$ 和 191.179 6 $[M+H-Glc-C_{15}H_{22}]^+$ 是由 RDA 裂解产生。其保留时间和裂解方式均与熊果酸对照品一致, 且质谱裂解方式与文献报道一致^[12], 确认峰 **117** 为熊果酸。

3.1.6 其他类化合物 其他类成分包括甾体类、生物碱类和糖类等。在山茱萸提取物中共检测到 9 个其他类化合物。在负离子模式下, 峰 **8** 的准分子离子峰为 m/z 125.025 6 $[M-H]^-$, 经软件计算其分子式为 $C_6H_6O_3$, 其主要的碎片离子为 m/z 107.016 4 $[M-H-H_2O]^-$, 通过参考文献的比对^[14], 推测峰 **8** 为 5-羟甲基糠醛。峰 **111** 准分子离子峰为 m/z 597.217 4 $[M+HCOO]^-$, 对应的分子式为 $C_{27}H_{36}O_{12}$, 主要的碎片离子为 m/z 551.217 4、389.162 3、227.107 7。其中 m/z 551.217 4 是由母离子丢失 $HCOOH$ 产生的, m/z 389.162 3、227.107 7 则是由母离子相继丢失 2 分子葡萄糖残基产生的。根据参考文献报道^[17], 推测峰 **111** 为 cornucadinoside D。同样地系列化合物还有 **91** (异构体)、**106**、**108** 和 **113** 也被鉴定。而 **79**、**115** 则为生物碱。

3.2 通过 GNPS 对山茱萸水提物中环烯醚萜和黄酮类化合物的鉴定

基于 MS/MS 光谱的相似性, 正、负离子模式下的山茱萸水煎煮液样品和山茱萸混合标准品的可视化 GNPS 分子网络分别被建立 (正离子: <https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=523dd234cc4e457cbe293ccc7570a655>; 负离子: <https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=63d7ee40b7ae480a98ef4a9cbe4844fc>)。在正离子模式下的 GNPS 分子网络里, 分析了 2 个主要的分子笼。通过分子笼 Node 点信息、对照品及质谱数据, 推测鉴定了 12 个化合物: 9 个为潜在的新化合物 (结构涉及 7 个环烯醚萜类和 2 个黄酮类) 和 3 个首次在山茱萸属植物中鉴定的黄酮类成分 (图 4), 在负离子模式下山茱萸的 GNPS 分子网络里, 暂未挖掘分析到新的化合物。主要对此 12 个成分进行描述。

在正离子模式下分子笼 I 的相对分子质量在

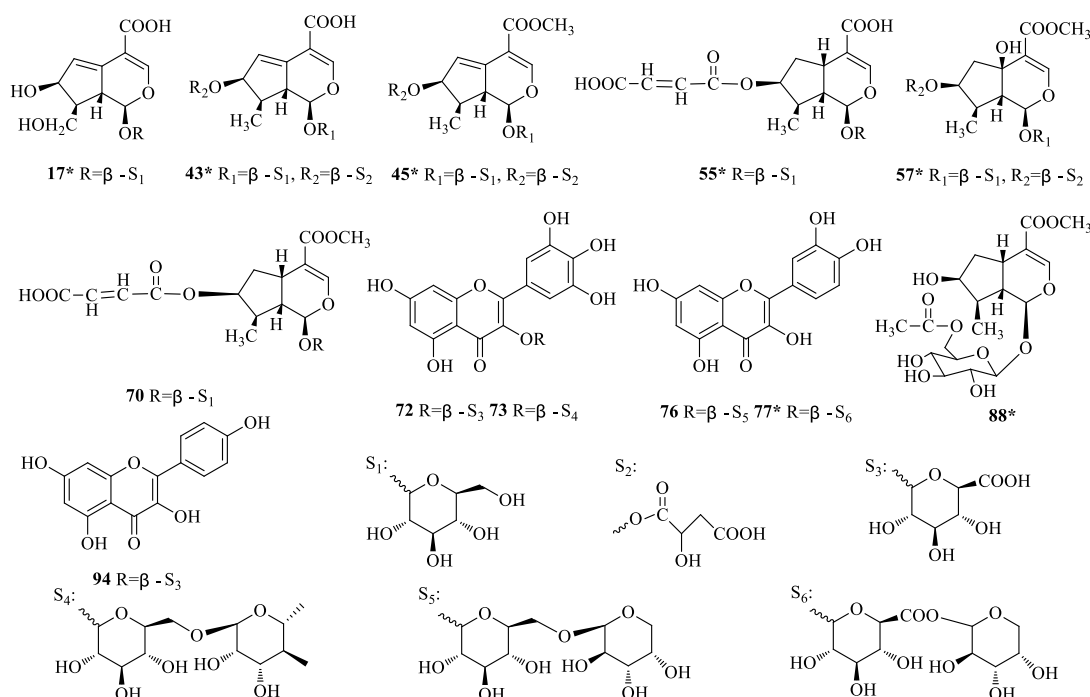


图 4 山茱萸中 12 个首次鉴定化合物的化学结构 (* 为 9 个潜在新结构)

Fig. 4 Chemical structure of 12 compounds firstly identified from *Corni Fructus* (* means potential new structures)

m/z 331.103~798.338, 主要结构类型为环烯醚萜类化合物 (图 5-A)。其中节点 408.187 $[M+NH_4]^+$ 经 LC-MS 与对照品的保留时间及二级碎片信息鉴定马钱苷。同时节点 m/z 377.144 $[M+H]^+$ 和 m/z 394.171 $[M+NH_4]^+$ 为马钱子酸 (峰 27), 节点 m/z 507.171 $[M+H]^+$ 和 m/z 524.197 $[M+NH_4]^+$ 为山茱萸新苷 III 或山茱萸新苷 IV (峰 75)。以节点 m/z 493.155 和 m/z 426.197 的鉴定为例, 节点 m/z 493.155 与 m/z 507.171 相关联, 且比 m/z 507.171 低 14, 推测其可能比 m/z 507.171 少 1 个 $-CH_2$ 基团。并且 m/z 493.155 节点二级质谱图中出现 m/z 493.268 6 $[M+H]^+$ 的准分子离子峰, 分子式为 $C_{20}H_{28}O_{14}$, 其主要的二级碎片有 m/z 475.147 5 $[M+H-H_2O]^+$ 、457.132 8 $[M+H-2H_2O]^+$ 、439.124 9 $[M+H-3H_2O]^+$ 、359.135 1 $[M+H-C_4H_6O_5]^+$ 、197.081 5 $[M+H-C_4H_6O_5-Glc]^+$ 、179.070 1 $[M+H-C_4H_6O_5-Glc-H_2O]^+$ (图 5-B), 与 m/z 507.171 的二级裂解相似, 但由于未发现与脱去 CH_3OH 相关的 $[M+H-CH_3OH]^+$ 、 $[M+H-CH_3OH-H_2O]^+$ 、 $[M+H-CH_3OH-H_2O-CO]^+$ 等碎片离子, 说明其 C-4 位连接 “-COOH” 取代基, 而非 “-COOCH₃” 取代基, 推测节点 m/z 493.155 为 CO-2 (峰 43), 经过 SciFinder 查找验证, 该化合物为山茱萸属植物中潜在新化合物。节点 m/z 426.197 与 m/z 377.144

(马钱子酸) 相关联, 表明它们在结构上类似。节点 m/z 426.197 相对分子质量和 m/z 377.144 相差 32, 而且节点 m/z 426.197 产生的准分子离子峰为 426.188 9 $[M+NH_4]^+$, 其二级碎片有 m/z 409.170 0 $[M+NH_4-NH_3]^+$ 、247.118 0 $[M+NH_4-NH_3-Glc]^+$ 、229.107 4 $[M+NH_4-NH_3-Glc-H_2O]^+$ 、211.096 8 $[M+NH_4-NH_3-Glc-2H_2O]^+$ 、197.081 1 $[M+NH_4-NH_3-Glc-H_2O-CH_3OH]^+$ 、169.086 0 $[M+NH_4-NH_3-Glc-H_2O-CH_3OH-CO]^+$ 、151.075 9 $[M+NH_4-NH_3-Glc-2H_2O-CH_3OH-CO]^+$ 、133.065 4 $[M+NH_4-NH_3-Glc-3H_2O-CH_3OH-CO]^+$, 二级碎片显示有 3 个中性水分子的丢失, 及 CH_3OH 和 CO 的相继丢失, 基于质谱数据分析及与之关联的参考化合物 m/z 377.144 (马钱子酸), 推测节点 m/z 426.197 化合物为 CO-1 (峰 17), 经过 SciFinder 查找验证, 为山茱萸属植物中潜在的新化合物。此外, 其他一系列未知离子 m/z 522.18、475.215、523.165、489.16、433.169 也聚集在同一个分子笼内, 表明这些离子与马钱苷具有相同的母核, 同时结合它们的二级碎片, 推断分别为 CO-3、CO-4、CO-5、CO-6、CO-11, 经过 SciFinder 查找验证, 均为山茱萸属植物中潜在的新化合物。

分子笼 II 主要由黄酮及鞣质类化合物构成 (图 5-C)。其中节点 m/z 611.16 经 LC-MS 与对照品的保

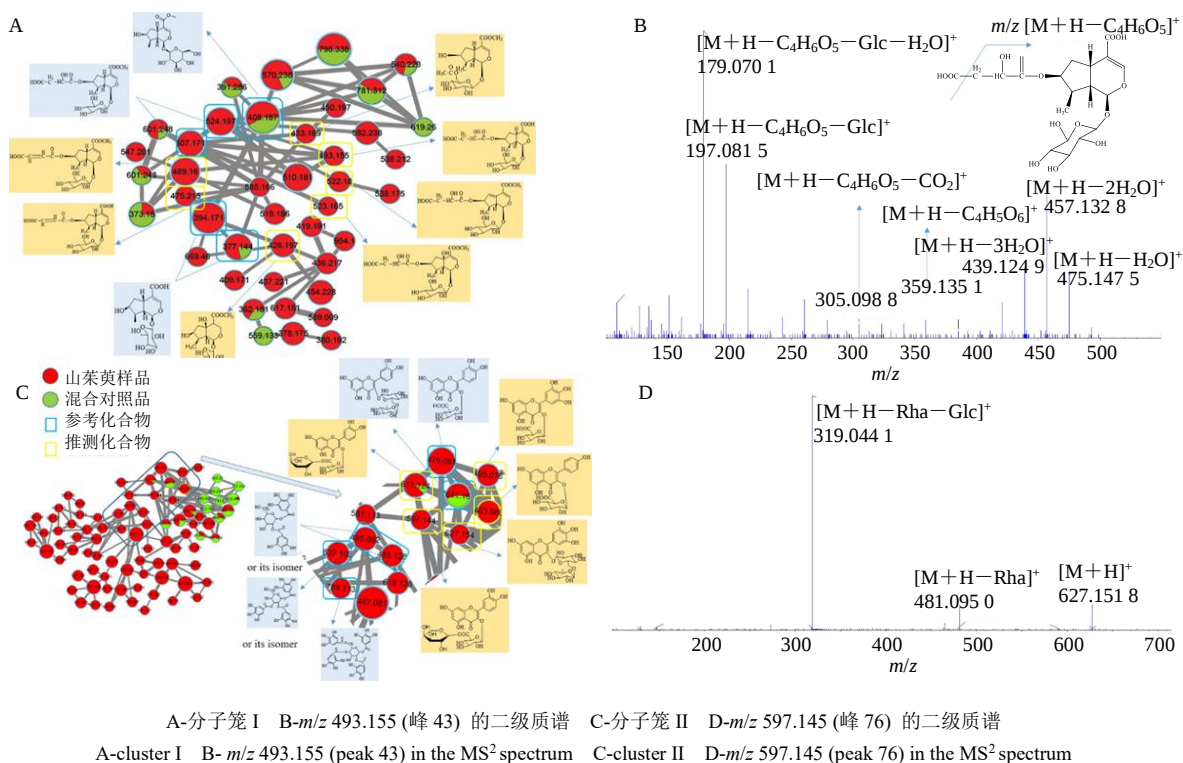


图 5 山茱萸的分子网络图和二级质谱图

Fig. 5 GNPS and MS² spectrum of *Corni Fructus*

留时间及二级碎片信息鉴定为芦丁。以芦丁作为参考物质鉴定其他离子的化学结构。节点 m/z 597.144、479.081、611.124 均和节点 m/z 611.16 (峰 81 即芦丁) 相关联, 具有相同的二级碎片离子 m/z 303, 表明 m/z 597.144、479.081、611.124 这 3 个化合物和 m/z 611.16 (芦丁) 具有相同的槲皮素苷元。其中节点 m/z 597.144 产生的准分子离子峰为 m/z 597.143 9 $[M+H]^+$, 其主要的二级碎片为 m/z 465.100 8 $[M+H-Ara]^+$ 、447.0868 $[M+H-Ara-H_2O]^+$ 、303.049 4 $[M+H-Ara-Glc]^+$, 可见 m/z 303.049 4 $[M+H-Ara-Glc]^+$ 是母离子相继丢失阿拉伯糖和葡萄糖的产生的, 因此结合关联对照品 m/z 611.16 (芦丁) 及二级碎片信息, 节点 m/z 597.144 被鉴定为槲皮素-3- O - β -D-葡萄糖- α -L-阿拉伯糖 (峰 76 即 CO-9), 经过 SciFinder 查找验证, 该化合物为山茱萸植物中首次鉴定到。同理, 节点 m/z 479.081 的主要二级碎片 m/z 303.049 0 $[M+H-Glu]^+$ 是由于母离子丢失 1 分子葡萄糖醛酸 (Glu, 176) 产生的。而节点 m/z 611.123 的分子离子峰为 m/z 611.122 9 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{26}H_{26}O_{17}$, 其主要二级碎片为 m/z 479.081 6 $[M+H-Ara]^+$ 、303.049 8 $[M+H-Ara-Glu]^+$, 对比 m/z 611.16 (峰 81 即芦

丁) 及其二级碎片信息, 因此节点 m/z 479.081 和节点 m/z 611.124 分别鉴定为槲皮素-3- O - β -D-葡萄糖醛酸 (峰 87) 和槲皮素-3- O - β -D-葡萄糖醛酸- α -L-阿拉伯糖 (峰 77 即 CO-10), 经过 SciFinder 查找验证, 后者为山茱萸属植物中潜在的新化合物。类似地, 节点 m/z 627.154 和 m/z 611.16 (芦丁) 也相关联, 它产生的准分子离子峰为 627.151 8 $[M+H]^+$, 其二级碎片为 m/z 481.095 0 $[M+H-Rha]^+$ 、319.044 1 $[M+H-Rha-Glc]^+$, 它和 m/z 611.16 (芦丁) 丢失相同的中性碎片片段 $[-Rha-Glc]$, 但是具有不同的苷元母核, 节点 m/z 627.154 的主要二级碎片离子为 m/z 319.044 1, 表明其苷元为杨梅素, 因此节点 m/z 627.154 被鉴定为杨梅素-3- O - β -D-葡萄糖- α -L-鼠李糖 (峰 73 即 CO-8), 经过 SciFinder 查找验证, 该化合物为山茱萸属植物中潜在的新化合物。同理, 节点 m/z 495.076、479.081、463.086 相关联, 它们丢失相同的中性碎片片段葡萄糖醛酸, 但具有不同的苷元母核。其中节点 m/z 479.081 前面已经描述, 为已知化合物槲皮素-3- O - β -D-葡萄糖醛酸。节点 m/z 495.076 的二级质谱图中形成了 m/z 319.045 6 的基峰, 表明其苷元为杨梅素; 节点 m/z 463.086 的二级质谱图中形成了 m/z 287.054 4 的基

峰表明其苷元为山柰酚，结合其二级碎片信息，节点 m/z 495.076、463.086 分别被鉴定为杨梅素-3- O - β -D-葡萄糖醛酸（峰 72 即 CO-7）、山柰酚-3- O - β -D-葡萄糖醛酸（峰 94 即 CO-12），经过 SciFinder 查找验证，两者均为山茱萸属植物中首次鉴定到。

3.3 山茱萸及其不同炮制品差异性分析结果

3.3.1 山茱萸及其不同炮制品之间差异化学成分的筛选与鉴定 根据“2.2”项下的检测条件，对山茱萸及其不同炮制品的临床水煎煮液的供试品溶液测样分析。经过预处理后的数据矩阵进行一系列的多元统计分析，采用正离子模式山茱萸及其炮制品样本进行 PCA 模式识别，得到 PCA 的得分图（图 6-A）。利用 PCA 模型生成得分散点图可知，山茱萸、盐制山茱萸和酒茱萸肉分别集中于 2 个不同的区域，且在主成分 $t[1]$ 方向有明显区分，表明山茱萸炮制前后在化学成分种类及含量上差异明显。

PCA 通过对样本整体水平的评估，在一个低维空间内用最少的成分数量描述最大的变异量，既可反映数据的原始状态，又反映组内和组间差异。而 PLS-DA 是基于降维的多维向量分析方法，可预设分类，尽量去除未控制变量对数据分析的影响，二者相互补充。PLS-DA 得分图显示生山茱萸、酒茱萸肉和盐制山茱萸能够较好的分离，各自聚类（图 6-B~D）。同时模型参数显示为 $R^2_X=0.858$ ， $R^2_Y=$

0.92， $Q^2=0.763$ ，说明模型的拟合准确性及模型的内部验证预测能力较好；采用 200 次置换检验对模型进行验证。结果显示 R^2 和 Q^2 回归线与左边纵轴相交（ R^2 -intercept=0.575； Q^2 -intercept=-0.189）， Q^2 在 y 轴上的截距小于 0，说明模型没有过拟合。PLS-DA 的 VIP 得分图见图 6-D。本研究选择 VIP 值大于 1.5 的变量作为差异变量。正离子模式下共筛选出 226 个变量。通过精确质量数测定与 MS/MS 分析，并与文献报道相比较，及与对照品保留行为及质谱数据进行比对，共鉴定出 32 个差异性成分（表 2），分别为 14 个环烯醚萜类化合物、9 个芳香酚酸类化合物、2 个鞣质类成分、3 个黄酮类化合物和 4 个其他类成分。

3.3.2 主要差异性成分在山茱萸及其不同炮制品的相对含量 在上述差异化合物中，经过查阅相关文献，目前文献报道^[27-28]比较多的山茱萸药效成分主要有莫诺苷、马钱苷、7- O -没食子酰- D -景天庚酮糖、5-羟甲基糠醛、獐牙菜苷、没食子酸、咖啡酰单甲酯、逆没食子酸。其中补肝益肾的主要活性成分为马钱苷^[27]、莫诺苷^[28]、7- O -没食子酰- D -景天庚酮糖^[29]、5-羟甲基糠醛^[30]和逆没食子酸^[31]。研究表明与中药功能属性密切相关的化学物质，作为反映中药安全性和有效性的标示性物质进行质量控制更为合适。因此本研究通过不同样品中差异成分在质谱

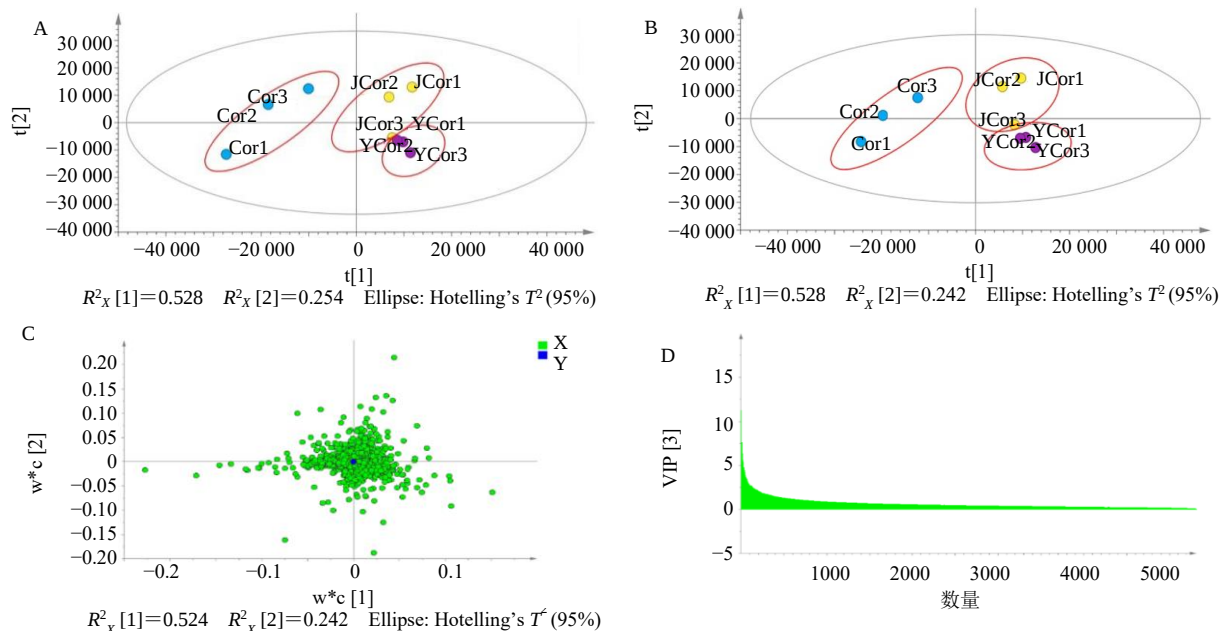


图 6 山茱萸及其炮制品的 PCA (A) 和 PLS-DA (B) 的得分图及 PLS-DA 的载荷图 (C) 和 VIP 图 (D)

Fig. 6 PCA score chart (A), PLS-DA score chart (B), PLS-DA loading plot (C), and VIP plot of PLS-DA (D) of *Corni Fructus* and its processed products

表 2 山茱萸及其炮制品的 32 个化学标记物 (VIP>1.5)

Table 2 32 chemical markers from *Corni Fructus* and its processed products (VIP > 1.5)

编号	VIP	t_R/min	分子式	m/z		化合物
				理论值	实测值	
1	11.26	11.301	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₁	405.140 2	405.140 4	莫诺昔
2	9.72	22.345	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₄	507.170 8	507.170 4	山茱萸新苷IV
3	9.31	2.032	C ₁₄ H ₁₈ O ₁₁	361.077 6	361.078 1	7- <i>O</i> -没食子酰- <i>D</i> -景天庚酮糖
4	7.83	18.199	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₀	391.159 9	391.160 1	马钱苷
5	7.80	36.451	C ₂₄ H ₃₀ O ₁₄	543.170 8	543.170 2	山茱萸新苷
6	7.09	3.857	C ₆ H ₁₀ O ₅	161.045 5	161.045 7	二甲基苹果酸
7	6.59	26.059	C ₁₄ H ₆ O ₈	303.013 5	303.013 5	逆没食子酸
8	6.36	24.232	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₄	507.170 8	507.171 2	山茱萸新苷III
9	6.17	27.441	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	477.067 5	477.068 5	槲皮素-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖醛酸
10	5.63	2.087	C ₇ H ₆ O ₅	169.014 2	169.014 4	没食子酸
11	5.27	10.759	C ₂₆ H ₃₀ N ₂ O ₉	515.202 4	515.207 1	javaniside
12	3.55	42.172	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301.035 4	301.035 9	槲皮素
13	3.55	1.102	C ₄ H ₆ O ₅	133.014 5	133.014 2	苹果酸
14	3.53	10.649	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	377.144 2	377.144 6	马钱子酸
15	3.28	13.501	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	389.108 9	389.109 3	裂环氧化马钱酸
16	3.23	1.605	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.067 1	331.067 3	3- <i>O</i> -没食子酰- β - <i>D</i> -葡萄糖
17	3.05	11.746	C ₂₃ H ₃₆ O ₁₆	567.193 1	567.194 4	cornusglucoside E
18	2.90	1.003	C ₄ H ₆ O ₆	149.009 2	149.009 3	酒石酸
19	2.90	11.894	C ₉ H ₈ O ₄	179.035 0	179.035 0	咖啡酸
20	2.81	27.062	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.088 2	463.089 0	槲皮素-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷或其同分异构体
21	2.69	16.826	C ₁₉ H ₂₈ O ₁₁	433.169 0	433.169 1	CO-11
22	2.51	17.885	C ₁₄ H ₁₄ O ₉	325.056 5	325.056 8	咖啡酰酸单甲酯
23	2.46	17.132	C ₁₆ H ₂₂ O ₉	359.133 7	359.133 5	獐牙菜苷
24	2.42	39.423	C ₃₄ H ₅₀ O ₂₀	823.286 7	823.294 0	cornuside M
25	2.36	2.088	C ₆ H ₆ O ₃	125.024 4	125.024 7	5-羟甲基糠醛
26	2.33	26.892	C ₃₄ H ₂₈ O ₂₂	787.099 9	787.104 7	1,2,3,6-四- <i>O</i> -没食子酰- β - <i>D</i> -葡萄糖苷
27	2.28	9.256	C ₂₃ H ₃₆ O ₁₆	567.193 1	567.194 1	cornusglucoside F
28	2.25	4.200	C ₇ H ₆ O ₄	153.019 3	153.019 6	原儿茶酸或 3,5-二羟基苯甲酸
29	2.18	1.459	C ₈ H ₁₄ O ₆	205.071 8	205.072 6	奎宁酸甲酯
30	2.12	22.527	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	405.139 1	405.138 9	裂马钱子苷
31	2.08	34.126	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	551.175 9	551.175 3	2'- <i>O</i> -(<i>p</i> -coumaroyl)-kingside
32	2.08	12.986	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	635.089 0	635.090 9	1,2,6-三- <i>O</i> -没食子酰- β - <i>D</i> -葡萄糖苷

检测中的响应度(即强度)来初步计算衡量差异性成分的相对含量,着重分析与山茱萸功能属性密切相关的差异性化合物在不同炮制品中的相对含量(图 7)。

可以看出,经过炮制后,5-羟甲基糠醛、没食子酸和逆没食子酸的含量都显著增加,其中 5-羟甲基糠醛具有非常明显的保肝益肾作用,逆没食子酸具有抗糖尿病、保护肝肾功能的功效^[31],这可能跟山茱萸炮制后温补肝肾的作用增强有关,临床主要用于滋补方剂。经炮制后 7-*O*-没食子酰-*D*-景天庚酮糖、莫诺昔、苹果酸含量显著降低,可能与炮制过程促进它们分解有关。其中莫诺昔具有抗休克与固虚脱的作用,苹果酸抗血栓作用,所以这成分的

变化可能对其炮制后敛汗固脱作用减弱有关。对于獐牙菜苷和马钱苷,酒制品含量相比于生品略微降低了,但盐制品比生品略增加,可能是因为盐制条件有助于提高它们的溶解度。由此可见,上述山茱萸主要差异性活性成分含量变化可能是炮制过程中不同山茱萸炮制品药效改变的物质基础。

4 讨论

本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术结合 GNPS 分子网络技术系统地分析了山茱萸水煎液的化学成分,鉴定了 117 个化合物,其中 12 个首次从山茱萸中分析得到,进一步明确了山茱萸临床应用的化学物质基础。同时采用 UPLC-Q-TOF/MS 结合多元统计分析方法对山茱萸、酒制山茱萸和盐制山

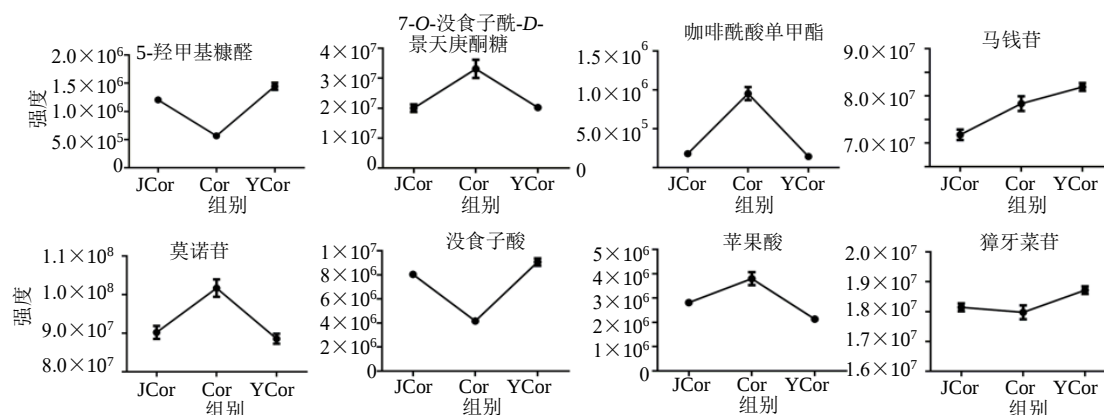


图 7 山茱萸及其炮制品典型化学标记物的相对含量

Fig. 7 Relative contents of typically chemical markers of *Corni Fructus* and its processed products

茱萸进行差异物分析,筛选了 32 个化学差异物。此研究不仅丰富了山茱萸化学物质基础,还初步明确了山茱萸炮制后药效成分改变的物质基础,为后续药效物质基础研究提供详实的物质基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 叶贤胜,赫军,张佳琳,等. 山茱萸的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(24): 4605-4609.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第五十六卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1990: 84.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 29-30.
- [4] 范倩,陈雪冰,荣莉,等. 山茱萸化学成分、生物活性、复方应用及质量控制研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(7): 1244-1258.
- [5] 龚千锋. 中药炮制学 [M]. 4 版. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 315.
- [6] 许冬谨,刘再强,陈华师. 盐制山茱萸炮制工艺研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 46-47.
- [7] 呼海涛,张振凌. 山茱萸炮制历史沿革及临床应用研究 [J]. 河南中医学院学报, 2007, 22(1): 53-54.
- [8] Wang Y J, Chen S Y, Mo J X, et al. Investigate the metabolic profile and potential active compounds of *Fructus Corni* in the treatment of heart failure by applying ultra-performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry and network pharmacology [J]. *J Sep Sci*, 2022, 45(24): 4348-4363.
- [9] Wang Y M, Fan Q, Xiang J, et al. Structural characterization and discrimination of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* by a molecular networking strategy coupled with ultra-high-performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2020, 34(11): e8760.
- [10] 范倩,陈雪冰,汪玉梅,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 及 GNPS 技术的炮附片二萜类生物碱成分 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2021, 60(3): 30-44.
- [11] 程桃芳,金慧子,刘昌孝,等. LC-MS/MS 分子网络及其对中药研究的启发 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 265-273.
- [12] Cao G, Zhang C R, Zhang Y, et al. Global detection and identification of components from crude and processed traditional Chinese medicine by liquid chromatography connected with hybrid ion trap and time-of-flight-mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2011, 34(15): 1845-1852.
- [13] 程琛舒. 山茱萸化学成分的研究 [D]. 合肥: 安徽大学, 2011.
- [14] Cao G, Zhang Y, Feng J, et al. A rapid and sensitive assay for determining the main components in processed *Fructus Corni* by UPLC-Q-TOF-MS [J]. *Chromatographia*, 2011, 73(1): 135-141.
- [15] Xue C S, Zhang A H, Sun H, et al. An improved ultra-performance liquid chromatography-electrospray ionization/quadrupole-time-of-flight high-definition mass spectrometry method for determining ingredients of herbal *Fructus Corni* in blood samples [J]. *Pharmacogn Mag*, 2014, 10(40): 422-429.
- [16] Li Y C, Yang J, Li J K, et al. Two new secoiridoid glucosides from the twigs of *Cornus officinalis* [J]. *Chem Nat Compd*, 2016, 52(4): 647-650.
- [17] 潘雪格. 中药山茱萸、丹参化学成分和生物活性的研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [18] 梁晋如. 山茱萸的化学成分及其生物活性研究 [D]. 西安: 西北大学, 2018.
- [19] Rudrapaul P, Kyriakopoulos A M, De U C, et al. New flavonoids from the fruits of *Cornus mas*, Cornaceae [J].

- Phytochem Lett*, 2015, 11: 292-295.
- [20] 叶贤胜. 中药山茱萸的化学成分和生物活性研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [21] Lee J, Jang D S, Kim N H, *et al.* Galloyl glucoses from the seeds of *Cornus officinalis* with inhibitory activity against protein glycation, aldose reductase, and cataractogenesis *ex vivo* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2011, 34(3): 443-446.
- [22] Ma W, Wang K J, Cheng C S, *et al.* Bioactive compounds from *Cornus officinalis* fruits and their effects on diabetic nephropathy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(3): 840-845.
- [23] Zhang Y E, Liu E H, Li H J, *et al.* Chemical constituents from the fruit of *Cornus officinalis* [J]. *Chin J Nat Med*, 2010, 7(5): 365-367.
- [24] Ye X S, He J, Cheng Y C, *et al.* Cornusides A-O, bioactive iridoid glucoside dimers from the fruit of *Cornus officinalis* [J]. *J Nat Prod*, 2017, 80(12): 3103-3111.
- [25] Cao G, Cai H, Yue X K, *et al.* Investigation of the effect of rice wine on the metabolites of the main components of herbal medicine in rat urine by ultrahigh-performance liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight mass spectrometry: A case study on *Cornus officinalis* [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2013, 2013: 306712.
- [26] Lee C M, Jung H A, Oh S H, *et al.* Kinetic and molecular docking studies of loganin and 7-O-galloyl-D-sedoheptulose from *Corni Fructus* as therapeutic agents for diabetic complications through inhibition of aldose reductase [J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(6): 1090-1098.
- [27] 杜伟锋. 山茱萸炮制前后药效学研究及活性成分分析 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2008.
- [28] Du W F, Cai H, Wang M Y, *et al.* Simultaneous determination of six active components in crude and processed *Fructus Corni* by high performance liquid chromatography [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 48(1): 194-197.
- [29] Cai H, Cao G, Cai B C. Rapid simultaneous identification and determination of the multiple compounds in crude *Fructus Corni* and its processed products by HPLC-MS/MS with multiple reaction monitoring mode [J]. *Pharm Biol*, 2013, 51(3): 273-278.
- [30] 常增荣, 李姣, 郝博, 等. 中药山茱萸炮制前后特征化学成分的分析 [J]. *药物分析杂志*, 2015, 35(2): 338-343.
- [31] Fatima N, Hafizur R M, Hameed A, *et al.* Ellagic acid in *Embllica officinalis* exerts anti-diabetic activity through the action on β -cells of pancreas [J]. *Europ J Nutr*, 2017, 56(2): 591-601.

[责任编辑 王文倩]