

贯叶金丝桃不同药用部位的化学成分分析

黄长亮^{1,2}, 赖成材², 王美燕^{1,2}, 南 易², 姚 兰², 王 秀², 孙 晴², 陈晓娟², 高 月², 梁海珍^{2*}, 马百平^{1,2*}

1. 广东药科大学, 广东 广州 510006

2. 军事科学院军事医学研究院, 北京 100850

摘要: 目的 探究贯叶金丝桃 *Hypericum perforatum* 不同药用部位的化学成分组成和含量差异。方法 采用超高效液相色谱-飞行时间质谱法 (UHPLC-Q-TOF-MS) 对贯叶金丝桃不同部位 (花、叶、果和茎) 中的化学成分进行表征和鉴定, 并通过多元统计分析筛选不同部位的差异性成分。利用超高效液相色谱-电雾式检测器 (UHPLC-CAD) 技术比较不同部位中化学成分的含量差异。结果 从贯叶金丝桃不同部位中共鉴定出 51 个化学成分, 包括 15 个黄酮类、20 个间苯三酚类、4 个萘并二蒽酮类、7 个有机酸类及 5 个其他类成分。不同部位间的化学成分存在一定差异, 通过多元统计分析共筛选出 15 个差异成分。半定量分析结果表明, 花和叶中的黄酮类成分含量高于果和茎, 其中叶中芦丁和金丝桃苷的含量是茎和果部位的 3~4 倍; 果中的间苯三酚类成分含量显著高于其他部位, 其贯叶金丝桃素的含量是叶部位的 3~4 倍; 茎中各成分的含量均低于其他部位。结论 综合定性和半定量方法明确了贯叶金丝桃不同药用部位间化学成分的组成和含量差异, 为贯叶金丝桃质量控制和资源的合理利用提供参考。

关键词: 贯叶金丝桃; 不同药用部位; UHPLC-Q-TOF-MS; 电雾式检测器; 多元统计分析; 芦丁; 金丝桃苷; 贯叶金丝桃素

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)07-2274-17

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.07.005

Analysis of chemical components of different medicinal parts of *Hypericum perforatum*

HUANG Changliang^{1,2}, LAI Chengcai², WANG Meiyan^{1,2}, NAN Yi², YAO Lan², WANG Xiu², SUN Qing², CHENG Xiaojuan², GAO Yue², LIANG Haizhen², MA Baiping²

1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China

Abstract: Objective To investigate the differences in the types and contents of chemical components among different medicinal parts of *Hypericum perforatum*. **Methods** The chemical composition in different parts of *H. perforatum* (flowers, leaves, fruits, and stems) was characterized and identified by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UHPLC-Q-TOF-MS). Multivariate statistical analysis was used to screen the differential makers between different parts. Ultra-performance liquid chromatography tandem charged aerosol detector (UHPLC-CAD) was applied for the semi-quantitative analysis of main chemicals in different medicinal parts. **Results** A total of 51 chemical components were identified from different parts of *H. perforatum*, including 15 flavonoids, 20 phloroglucinols, four naphthalene anthralones, seven organic acids and five others. The multivariate statistical analysis revealed significant distinctions in the chemical constituents among different medicinal parts and 15 differential makers were screen out. The results of semi-quantitative analysis indicated that the contents of flavonoids in flowers and leaves were higher than those in fruits and stems, with the contents of rutin and hypericin in leaves being 3 to 4 times higher than those in stems and fruits. Additionally, the contents of phloroglucinol derivatives in fruits exceeded those in other parts, with hyperforin content being 3 to 4 times higher than in leaves. The contents of all chemicals in the stems were found to be lower than those in other medicinal parts. **Conclusion** In this study, the established qualitative and semi-quantitative methods demonstrated the noticeable

收稿日期: 2024-11-07

作者简介: 黄长亮, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: hclxp805@163.com

*通信作者: 梁海珍, 实验师, 博士, 从事中药及天然药物药效物质基础研究。E-mail: lhzhcm@163.com

马百平, 研究员, 博士生导师, 从事中药及天然药物药效物质基础研究。E-mail: mabaiping@sina.com

differences in the types and contents of main chemical constituents among different medicinal parts of *H. perforatum*, which provides a theoretical basis for the quality control and rational utilization of resources of *H. perforatum*.

Key words: *Hypericum perforatum* L.; different medicinal parts; UHPLC-Q-TOF-MS; charged aerosol detector; multivariate statistical analysis; rutin; hypericin; hyperforin

贯叶金丝桃 *Hypericum perforatum* L. 为藤黄科金丝桃属草本植物, 其药用部位为干燥地上部分^[1]。贯叶金丝桃分布范围广泛, 用药历史悠久, 在欧洲又被称为圣约翰草^[2] (St. John's wort)。现代药理研究表明其具有抗抑郁、抗病毒、抗炎和增强免疫等药理作用^[3-6]。尤其在治疗抑郁相关疾病方面表现出显著疗效, 目前基于该植物开发的抗抑郁药物有路优泰、舒肝解郁胶囊等, 可用于治疗轻度和中度抑郁症^[7]。贯叶金丝桃中含有多种化学成分^[8], 包括萆薢二萜酮类成分 (金丝桃素、原金丝桃素、伪金丝桃素和原伪金丝桃素等)、黄酮类成分 (芦丁、异槲皮素、金丝桃苷、槲皮素和槲皮苷等)、间苯三酚类成分 (贯叶金丝桃素和加贯叶金丝桃素等) 和挥发油类等, 多项研究表明其是通过各成分间的协同作用来发挥药理活性^[9]。

《中国药典》2020 年版规定贯叶金丝桃的入药部位为“干燥地上部分”, 具体包括花、叶、茎和果。在实际应用中发现, 花、叶和果很容易从茎上脱落, 尤其在干燥和运输过程中, 从而使该药材中不同药用部位的比例发生改变。研究表明植物不同部位中的化学成分类型和含量均存在一定差异^[10-11]。因此为了保证贯叶金丝桃临床使用的有效性和质量一致性, 对其不同部位中的化学成分进行综合的定性和定量分析是十分必要的。目前对贯叶金丝桃不同部位的研究主要集中在少数活性成分的定量分析上。刘妍如等^[12]通过超高效液相色谱-紫外可见分光光度法 (ultra-high performance liquid chromatography-ultraviolet-visible spectroscopy, UHPLC-UV) 对贯叶金丝桃不同生长部位中的 6 种黄酮类成分进行了测定, 结果表明其叶中黄酮类成分大于花、果、茎和根。Çirak 等^[13]利用 HPLC-UV 比较了土耳其北部的贯叶金丝桃花、叶和茎中的伪金丝桃素和贯叶金丝桃素的含量, 结果表明花中二者的含量高于茎, 并在开花时含量最高。Kaçar 等^[14]利用 HPLC-UV 比较了贯叶金丝桃花和果中金丝桃素的含量, 结果显示花中金丝桃素的含量高于果。此外还有部分研究对其不同部位的化学成分进行报道, Zhang 等^[15]利用超高效液相色谱-飞行时间质谱法 (ultra-high

performance liquid chromatography-quadrupole time of flight tandem mass spectrometry, UHPLC-Q-TOF-MS) 从贯叶金丝桃的花、叶和茎中鉴定出 122 种化合物, 但并未对其进行进一步的含量研究。综上所述, 目前对于贯叶金丝桃不同部位的对比研究较为分散, 并未见对其进行综合全面的定性和定量分析研究; 同时现有报道对贯叶金丝桃主要活性成分的定量方法多采用紫外检测器, 只适用于吸收波长较接近的同类型化合物, 并未实现对不同类型化合物的同时定量分析。

液相色谱-高分辨质谱联用技术兼顾色谱的分离性能和质谱检测器的灵敏度, 可应用于复杂体系中化学成分的快速分离和结构鉴定, 目前在中药研究中得到了广泛应用^[16]。但中药化学成分的结构类型多样, 高分辨质谱中响应高低与化合物结构特征和含量均密切相关, 不能简单通过质谱响应来反映成分之间量的关系。电雾式检测器 (charged aerosol detector, CAD) 基于气溶胶粒径大小和表面荷电数量进行分析, 其检测信号不依赖于被测物质的化学结构, 而与被测化合物的含量成正比, 对不同结构类型的化合物有相对一致的响应; 同时对比其它通用型检测器如蒸发光散射检测器 (evaporative light-scattering detector, ELSD) 则具有更高的灵敏度和精密度、更宽的线性动态范围等优点^[17]。此外, 绝对定量方法的建立往往需要获得纯度较高的对照品和系统的方法学考察, 过程繁琐, 实现多个化合物的同时定量存在难度, 而 CAD 作为一种质量型检测器, 待测成分含量与其响应直接相关的特点为阐明复杂体系中多个成分间的含量关系提供了另一种解决思路—即不需对照品和方法学考察, 根据响应来判断不同样品中化合物含量差异的半定量分析, 方便操作且结果准确。Zheng 等^[18]采用 UHPLC-CAD 技术建立了山楂叶中 5 种成分的绝对定量和半定量方法并将其用于分析不同采收时间下山楂叶中的成分变化, 结果显示, 两种分析方法得到的化学成分变化趋势是一致的, 证实了 CAD 半定量分析方法的可靠性。石宇浩等^[19]采用 UPLC-CAD 技术对酸枣仁种皮和种仁中的 10 个主要成分

(包括皂苷类、黄酮类及生物碱类等不同类型)进行了半定量分析,明确了种皮和种仁中主要成分的相对含量差异。

本研究采用 UHPLC-Q-TOF/MS、化学计量学和 UHPLC-CAD 技术,对贯叶金丝桃不同药用部位(花、叶、果和茎)中的化学成分进行全面定性和多成分半定量分析,以期阐明贯叶金丝桃不同部位间化学成分的种类和含量差异,为贯叶金丝桃的质量控制和各部位资源的合理利用提供理论依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters ACQUITY H-Class 超高效液相色谱系统;SYNAPT G2-S 质谱系统(Waters 公司,美国);Vanquish Flex UHPLC 超高效液相色谱系统及电雾式检测器(Thermo Fisher 公司,美国);XSR105DU 十万分之一电子天平(Mettler Toledo 公司,美国);KQ-600DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂与材料

甲醇(质谱级,质量分数 $\geq 99\%$)、乙腈(质谱级,质量分数 $\geq 99\%$)和甲酸(质谱级,质量分数 $\geq 99\%$)均购自于美国 Thermo Fisher 公司;蒸馏水购自于广州屈臣氏蒸馏水试剂有限公司;其它试剂为市售分析纯。对照品芦丁(质量分数 92.2%,批号 H25Q-CV3C)、槲皮素(质量分数 99.1%,批号 17XR-HB6D)、金丝桃苷(质量分数 94.9%,批号 U23R-5Q88)、异槲皮苷(质量分数 97.2%,批号 2R82-449F)均购自于中国食品药品检定研究院;金丝桃素(质量分数 98.0%,批号 BP0752)和贯叶金丝桃素(质量分数 98.0%,批号 BP0751)均购自于成普瑞法科技开发有限公司。

共收集 5 批贯叶金丝桃样品,分别于 2022 年 8 月—2023 年 12 月购买自甘肃省陇南市礼县(20220201, S1)、甘肃省陇南市宕县(20220202, S2)、陕西省汉中市勉县(20220703, S3)、陕西省西安市蓝田县(20230804, S4)和陕西省商洛市柞水县(20231205, S5),样品均由中国医学研究院北京协和医学院药用植物研究所郭宝林教授鉴定为藤黄科植物贯叶金丝桃 *H. perforatum* L. 的干燥地上部分。样品购买后,分别取各批次贯叶金丝桃的不同部位(花、叶、果和茎)各 10 g,粉碎至颗粒均匀,过三号筛后,置于干燥通风处保存。

2 方法

2.1 供试品溶液的制备

精密称取各批次(S1~S5)贯叶金丝桃花、叶、果和茎粉末各 0.4 g,置于 25 mL 具塞锥形瓶中,按照 1:30 的物料比加入 70% 甲醇,称定质量,超声提取 30 min(功率 600 W、40 KHz),放置于室温后,称定质量,再加入 70% 的甲醇补足减失质量,用 0.22 μm 的微孔有机滤膜过滤,取续滤液即得供试品溶液。取各批次不同部位的贯叶金丝桃供试品溶液 100 μL ,混匀,作为质量控制样品(quality control, QC),用于验证方法的重复性,并作为 UHPLC-Q-TOF/MS 定性分析时的研究对象。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取芦丁、槲皮素、金丝桃苷、异槲皮苷、金丝桃素和贯叶金丝桃素对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,依次加入适量甲醇定容成 1 mg/mL 的对照品储备液,分别取对照品储备液 1.0 mL,置于 10 mL 量瓶中,加入甲醇定容成 100 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品混合液。

2.3 UHPLC-Q-TOF/MS 分析方法

2.3.1 色谱条件 采用 Waters ACQUITY HSS T3 C₁₈ 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm),柱温 40 $^{\circ}\text{C}$,流动相:0.1%甲酸水(A)-乙腈(B),体积流量 0.4 mL/min,进样量 1 μL ,梯度洗脱条件:0~2 min, 2%~15% B, 2~8 min, 15%~30% B, 8~11 min, 30%~60% B, 11~15 min, 60%~80% B, 15~28 min, 80%~90% B, 28~31.5 min, 90%~95% B, 31.5~34.5 min, 95% B, 34.50~35.0 min, 95%~2% B, 35.0~38.0 min, 2% B。

2.3.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),离子源温度为 100 $^{\circ}\text{C}$,脱溶剂气体为氮气,脱溶剂气温 450 $^{\circ}\text{C}$,脱溶剂气体流量 850 L/h,锥孔气体体积流量 50 L/h,采集模式为多能级数据采集(MS^E),扫描范围为 m/z 100~1 500,负离子模式下毛细管电压为 2.5 kV,正离子模式下毛细管电压为 3.0 kV,锥孔电压为 30 V,低能级碰撞能为 6 eV,高能级碰撞能为 30~50 eV,用亮氨酸脑啡肽作校正液进行实时校正。

2.4 UHPLC-CAD 半定量分析方法

采用 Waters ACQUITY HSS T3 C₁₈ 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm),柱温 40 $^{\circ}\text{C}$,流动相为 0.1%甲酸水(A)~乙腈(B),体积流量 0.4 mL/min,进样量 5 μL ,梯度洗脱条件:0~2 min, 2%~15%

B, 2~8 min, 15%~30% B, 8~11 min, 30%~60% B, 11~15 min, 60%~80% B, 15~28 min, 80%~90% B, 28~31.5 min, 90%~95% B, 31.50~34.5 min, 95% B, 34.5~35.0 min, 95%~2% B, 35.0~38.0 min。CAD 雾化温度 35 °C, 采集频率 10 Hz, 滤波常数 1.0 s。

2.5 数据处理与分析

数据采集通过 Masslynx V4.1 工作站(Waters 公司, 美国)完成。利用 Umetrics Ezinfo 3.0 软件(Waters 公司, 美国)对质谱数据进行处理, 主要参数设置如下: 保留时间 2~34 min, 偏差为 1.0×10^{-5} , 保留时间漂移值为 0.2 min; 对数据进行标准化处理后进行主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA), 根据 OPLS-DA 分析中的重要投影值(variable importance in projection, VIP) > 20 和 $|p(\text{corr})| > 0.5$ 进行差异性成分的筛选。

对贯叶金丝桃的不同药用部位进行半定量数据采集和分析由 Chromeleon 7 软件(Thermo Fisher 公司, 美国)完成。使用 Origin 2021 软件(OriginLab 公司, 美国)绘制聚类热图和柱状图。

3 结果与分析

3.1 贯叶金丝桃的化学成分分析

首先, 利用建立的 UHPLC-Q-TOF-MS 分析方法对不同批次的贯叶金丝桃(S1~S5)进行数据采集, 前期实验结果显示, 不同产地同一部位间的化学成分一致性较好, 而同一产地不同部位间的化学成分存在一定差异, 因而选择对贯叶金丝桃的不同部位展开研究。为了获得不同部位中所有的化学成分信息, 将不同批次供试品溶液各取 100 μL 混合均匀, 从而得到包含所有批次信息的 QC 样品, 并以此为研究对象进行定性分析, 结果如图 1 所示。通过 ChemSpider、SciFinder 等数据库检索和文献调研, 全面统计 2024 年以前报道的贯叶金丝桃中的化学成分, 建立了贯叶金丝桃化学成分数据库, 包括 130 种化合物的名称、分子式、相对分子质量和结构式, 将采集的化合物数据与建立的化学成分数据库进行比对, 分析各化合物的低能级和高能级质谱数据, 结合同一条件下对照品的裂解规律, 完成对贯叶金丝桃化学成分的分析鉴定, 共鉴定得到 51 个化学成分, 结构类型包括黄酮类、间苯三酚类和萘蒽二蒽酮类成分, 具体化合物的详细信息见表 1。

3.1.1 黄酮及黄酮苷类成分 贯叶金丝桃中的黄酮类化合物包括黄酮及黄酮苷类成分, 黄酮类成分在质谱中的裂解规律比较相似, 对于黄酮苷类化合物, 在质谱中通常先掉落糖基, 常见丢失鼠李糖、葡萄糖和芸香糖生成 $[\text{M}-\text{H}-146]^-$ 、 $[\text{M}-\text{H}-162]^-$ 和 $[\text{M}-\text{H}-308]^-$ 的特征碎片离子, 糖基掉落后的黄酮苷元容易发生 RDA 裂解, 产生 151、135、133 等特征离子, 同时, 还会发生中性小分子的丢失, 可见掉落 H_2O 、 CH_3 、 OCH_3 、 CO 、 CO_2 等的碎片离子峰^[30]。共从贯叶金丝桃不同部位中鉴定出 16 个黄酮类化合物, 包括 9 个黄酮和 7 个黄酮苷类成分。

色谱峰 9、10、11、12、13、14 属于黄酮苷类化合物, 以色谱峰 9 为例, 色谱峰 9 在正离子和负离子低能级下出现 m/z 465.101 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 和 m/z 463.092 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 的准分子离子峰, 推测其分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ 。在正离子和负离子高能级下分别出现 m/z 303.050 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$ 和 m/z 301.044 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}]^-$ 的特征碎片离子峰, 并在正离子和负离子高能级下发现了 m/z 153.018 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2-\text{CO}]^+$ 和 m/z 151.016 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2-\text{CO}]^-$ 的 RDA 特征裂解离子峰, 推测该化合物是以槲皮素为母核的黄酮类化合物, 并含有 1 分子的糖基。通过贯叶金丝桃数据库结合对照品, 鉴定该化合物为金丝桃苷, 化合物高能级质谱图和可能的裂解途径见图 2。

色谱峰 3、6、7、8、11、15、18、19、20 属于黄酮类化合物。以色谱峰 8 为例, 其在负离子低能级下存在 m/z 865.170 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 的准分子离子峰, 在负离子高能级下出现 m/z 577.133 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6]^-$ 、 m/z 289.080 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6]^-$ 脱去儿茶素的特征碎片离子, 对比参考文献的裂解碎片^[31], 结合建立的数据库鉴定鉴定峰 8 为原花青素 C2。以峰 18 为例, 峰 18 在正离子低能级和负离子低能级下出现 m/z 539.097 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 和 m/z 537.082 0 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 的准分子离子峰, 推测其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ 。在负离子高能级下出现失去 94 产生 m/z 443.044 1 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}]^-$ 的碎片离子, 以及失去 152、234 所产生的 m/z 385.078 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4]^-$ 、 m/z 151.016 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{23}\text{H}_{14}\text{O}_6]^-$ 的 RDA 特征碎片离子峰, 说明该化合物具有 2 分子黄酮母核的化合物, 对比参考文献的裂解碎片^[32]结合建立的数据库鉴定峰 21 为 3,8"-双芹菜素。

3.1.2 间苯三酚类化合物 多环多异戊烯基间苯

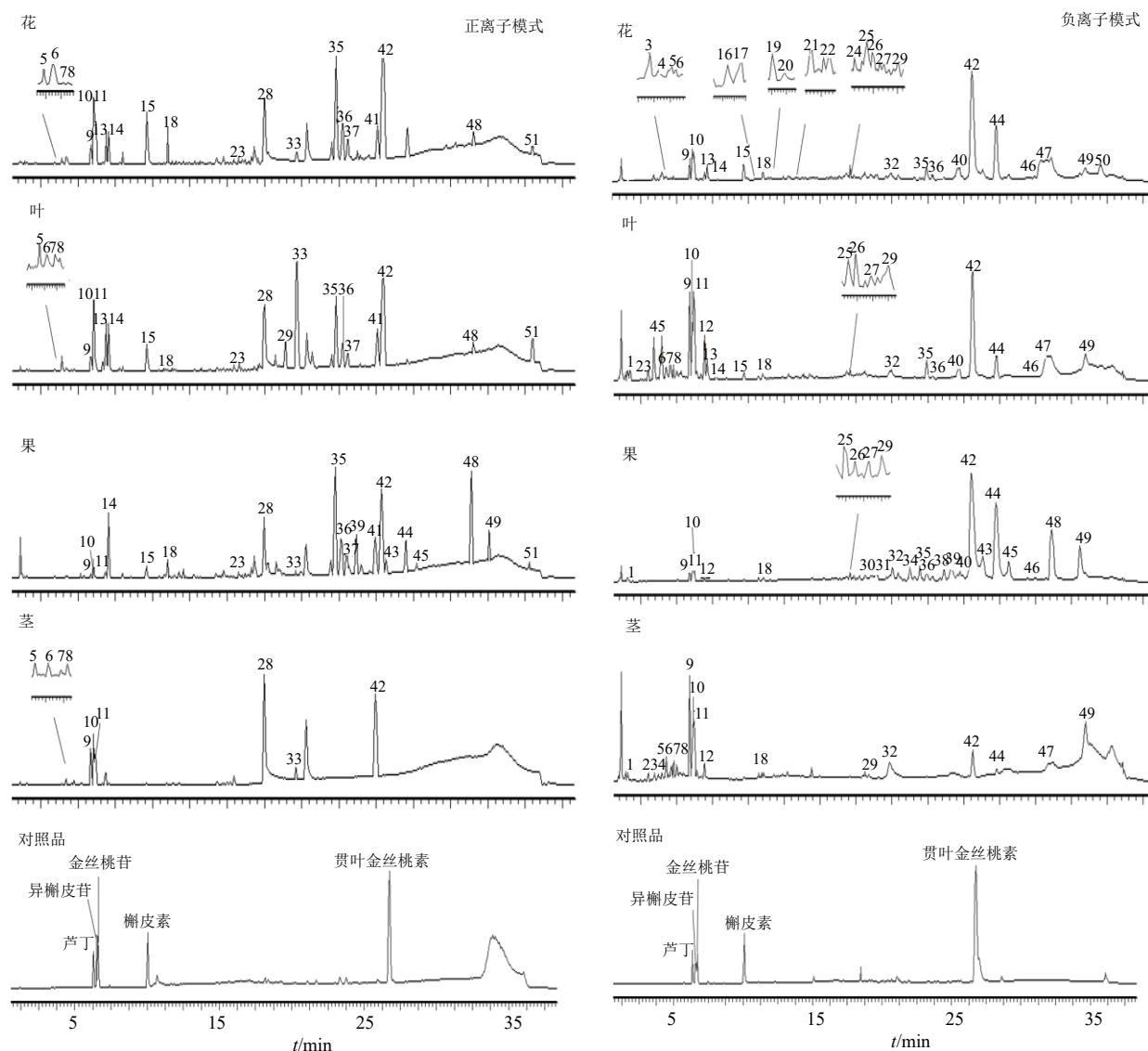


图 1 贯叶金丝桃不同药用部位在正离子和负离子模式下的 BPI 图

Fig. 1 BPI chromatograms of parts of *H. perforatum* in positive and negative ion modes

表 1 贯叶金丝桃不同部位中化学成分的鉴定结果

Table 1 Identified chemical constituents of parts of *H. perforatum*

峰号	t_R/min	化合物名称	分子式	加和离子	测量值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	类型	药用部位	参考文献
1	0.74	奎宁酸	$C_7H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	191.055 0	191.055 6	-3.14	135.047 1, 91.006 7	有机酸	花、叶、 果、茎	20
2	1.78	柠檬酸三甲酯	$C_9H_{14}O_7$	$[M-H]^-$	233.066 3	233.066 1	0.86	173.015 6, 151.897 7	有机酸	叶、茎	21
3	3.30	3-甲基槲皮素	$C_{16}H_{12}O_7$	$[M-H]^-$	315.050 1	315.050 5	-1.27	191.065 9, 179.047 7, 151.055 2	黄酮	叶、果	21
4	3.61	绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	353.086 1	353.087 3	-3.40	191.068 2, 179.046 8, 135.057 8	有机酸	花、叶、 果、茎	9
5	4.04	3-O-香豆酰基奎宁酸	$C_{16}H_{18}O_8$	$[M-H]^-$	337.092 8	337.092 7	0.30	191.029 6, 137.007 1, 91.006 7	有机酸	花、叶、 果、茎	9
6	4.11	原花青素 B1	$C_{30}H_{26}O_{12}$	$[M-H]^-$	577.133 3	577.134 6	-2.25	407.082 3, 339.062 2, 289.080 8	黄酮	叶、茎	22

表 1 (续)

峰号	tr/min	化合物名称	分子式	加和离子	测量值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	类型	药用部位	参考文献
7	4.84	儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	289.071 1	289.071 2	-0.35	271.033 9, 243.039 8, 191.066 2	黄酮	叶、茎	22
8	5.04	原花青素 C2	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	[M-H] ⁻	865.170 4	865.168 0	2.77	577.125 4, 451.103 5, 289.080 7	黄酮	叶、茎	22
9*	6.13	芦丁	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[M+H] ⁺	611.161 8	611.161 2	0.98	303.050 3, 153.018 5	黄酮	花、叶、果、茎	22
				[M-H] ⁻	609.146 0	609.145 6	0.66	301.036 9, 151.016 4			
10*	6.33	异槲皮苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M+H] ⁺	465.101 8	465.103 3	-3.23	303.050 4, 153.018 7	黄酮	花、叶、果、茎	22
				[M-H] ⁻	463.086 6	463.087 7	-2.28	301.042 6, 151.016 3			
11*	6.44	金丝桃苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M+H] ⁺	465.101 7	465.103 3	-3.44	303.050 8, 153.018 9	黄酮	花、叶、果、茎	22
				[M-H] ⁻	463.086 8	463.087 7	-1.94	301.042 3, 151.016 5			
12	6.95	扁蓄苷	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	[M+H] ⁺	435.093 5	435.092 7	1.83	303.050 2, 153.018 6	黄酮	花、叶、果、茎	22
				[M-H] ⁻	433.078 2	433.077 1	2.54	301.036 5, 151.016 3			
13	7.31	槲皮苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M+H] ⁺	449.107 0	449.108 4	-3.12	303.050 3, 153.013 6	黄酮	花、叶	9
				[M-H] ⁻	447.072 0	447.072 9	-2.01	301.037 2, 151.015 8			
14	8.29	6"-乙酰金丝桃苷	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	[M-H] ⁻	505.096 7	505.098 2	-2.97	407.075 5, 300.036 9, 255.039 8	黄酮	花、叶	22
15*	9.83	槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M+H] ⁺	303.049 9	303.050 5	-1.98	273.037 3, 153.018 1	黄酮	花、叶、果	9
				[M-H] ⁻	301.034 7	301.034 8	-0.33	271.033 8, 151.015 9			
16	10.62	3-O-香豆酰基奎宁酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	[M-H] ⁻	337.091 8	337.092 3	-1.48	219.070 1, 163.039 1, 135.044 2	有机酸	花	9
17	11.01	1,3,5,6-tetrahydroxy-4-prenylxanthone	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	[M-H] ⁻	327.086 4	327.086 9	-1.53	299.029 1, 269.055 4	其他	叶、果、茎	9
18	11.14	3,8"-双芹菜素	C ₃₀ H ₁₈ O ₁₀	[M+H] ⁺	539.097 5	539.097 8	-0.56	419.076 6, 377.065 9,	黄酮	花、叶、果、茎	9
				[M-H] ⁻	537.082 0	537.082 2	-0.37	443.044 1, 385.078 9			
19	11.77	穗花杉双黄酮	C ₃₀ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	537.082 0	537.082 2	-0.37	375.057 7, 299.028 9, 151.013 8	黄酮	花	23
20	11.99	5-甲基山柰酚	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	299.056 6	299.055 6	3.34	271.034 6, 243.036 2	黄酮	花、果	21
21	12.47	5-甲基山柰酚同分异构体	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	299.056 7	299.055 6	3.68	271.034 8, 243.041 5	黄酮	花、果	21
22	14.81	(6E,10E,14R)-14,15-dihydroxy-1,2-dinor-6,10-phytadien-3-one	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	[M-H] ⁻	295.227 9	295.227 3	2.03	255.243 0, 193.061 4	其他	花、叶、果、茎	22
23	16.17	hypericumoxide E	C ₃₅ H ₅₄ O ₇	[M+H] ⁺	587.397 3	587.397 8	-0.85	515.298 4, 275.127 5,	间苯三酚	花、叶、果	24
				[M-H] ⁻	585.377 4	585.379 1	-2.90	445.262 6, 255.241 7			
24	16.22	5,6,7,3',4'-pentahydroxy-3-methoxyflavone	C ₁₆ H ₁₂ O ₈	[M-H] ⁻	331.045 8	331.045 4	1.21	219.076 6, 207.078 1, 137.035 9	黄酮	花	5
25	16.46	hypericumoxide E 或同分异构体	C ₃₅ H ₅₄ O ₇	[M+H] ⁺	587.397 6	587.397 8	-0.34	569.384 5, 475.310 8,	间苯三酚	花、叶、果	24
				[M-H] ⁻	585.376 9	585.379 1	-3.76	567.373 1, 445.262 6			
26	17.46	oxy-cetoxypachymic acid	C ₃₅ H ₅₄ O ₆	[M-H] ⁻	569.384 0	569.384 2	-0.35	383.229 6, 313.154 2, 277.227 2	间苯三酚	花、叶、果	15
27	17.77	sarothralen D	C ₃₃ H ₄₄ O ₉	[M-H] ⁻	583.289 6	583.290 7	-1.88	417.233 8, 347.193 5, 275.138 8	间苯三酚	花、叶、果	23
28	17.85	undecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	[M+H] ⁺	257.248 3	257.248 1	0.78	203.141 4, 118.034 3	其他	花、叶、果、茎	22
29	18.55	furohyperforin isomer A hydroperoxide	C ₃₅ H ₅₂ O ₆	[M-H] ⁻	567.370 1	567.368 6	2.64	383.229 2, 313.153 5, 275.139 2	间苯三酚	花、叶、果、茎	25

表 1 (续)

峰号	t _R /min	化合物名称	分子式	加和离子	测量值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	类型	药用部位	参考文献
30	19.31	furohyperforin isomer B hydroperoxide	C ₃₅ H ₅₂ O ₆	[M-H] ⁻	567.367 0	567.368 6	-2.82	383.229 8, 331.200 2, 313.155 2,	间苯三酚	果	25
31	19.39	oxepaforin	C ₃₅ H ₅₂ O ₅	[M-H] ⁻	551.374 1	551.373 6	0.91	413.239 7, 383.229 9, 313.154 2	间苯三酚	果	25
32	19.91	脱镁叶绿酸盐 A	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₅	[M+H] ⁺	593.274 6	593.276 4	-3.03	533.256 4, 461.233 8, 445.206 4	其它	花、叶、 果、茎	22
33	20.91	hyperfirin	C ₃₀ H ₄₄ O ₄	[M-H] ⁻	467.315 0	467.316 1	-2.35	383.229 9, 313.154 6, 271.108 6	间苯三酚	花、叶、 果、茎	9
34	21.09	adhyperfirin	C ₃₁ H ₄₆ O ₄	[M-H] ⁻	481.332 7	481.331 8	1.87	397.245 0, 327.200 1, 271.144 5	间苯三酚	果	9
35	22.65	furohyperforin	C ₃₅ H ₅₂ O ₅	[M+Na] ⁺	575.371 9	575.371 2	1.22	575.371 9, 293.139 4,	间苯三酚	花、叶、	26
				[M-H] ⁻	551.374 4	551.373 6	1.45	411.259 8, 383.239 8		果	
36	23.01	furohyperforin isomer a	C ₃₅ H ₅₂ O ₅	[M+Na] ⁺	575.371 6	575.371 2	0.70	485.331 7, 293.143 3,	间苯三酚	花、叶、	26
				[M-H] ⁻	551.374 2	551.373 6	1.09	411.257 6, 383.229 9,		果	
37	23.40	furohyperforin isomer b	C ₃₅ H ₅₂ O ₅	[M+Na] ⁺	575.372 8	575.371 2	2.78	485.333 2, 465.344 9, 293.143 5	间苯三酚	花、叶、 果	26
38	23.49	原伪金丝桃素	C ₃₀ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	521.088 9	521.087 3	3.07	369.214 5, 301.153 6	萘并二萜酮	果	9
39	24.87	8-hydroxy- hyperforin-8,1- hemiacetal	C ₃₅ H ₅₂ O ₅	[M-H] ⁻	551.374 1	551.373 6	0.91	411.260 1, 329.181 1, 259.108 9	间苯三酚	果	26
40	25.05	furohyperforin- hemiacetal	C ₃₅ H ₅₂ O ₅	[M-H] ⁻	551.374 3	551.373 6	1.27	411.259 7, 329.180 0, 259.108 6	间苯三酚	花、叶、 果	26
41	25.30	贯叶金丝桃素碎片	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	[M+H] ⁺	338.189 0	338.188 2	-0.29	321.319 9, 275.128 4, 203.070 1	间苯三酚	花、叶、 果、茎	27
42*	26.05	贯叶金丝桃素	C ₃₅ H ₅₂ O ₄	[M+H] ⁺	537.396 4	537.394 4	3.72	481.341 1, 355.234 4,	间苯三酚	花、叶、	
				[M-H] ⁻	535.379 3	535.378 7	1.12	383.232 9, 313.165 5		果、茎	
43	26.57	贯叶金丝桃素同 分异构体	C ₃₅ H ₅₂ O ₄	[M-H] ⁻	535.379 2	535.378 7	0.93	383.230 0, 313.155 5, 271.108 8	间苯三酚	花、果	27
44	27.33	加贯叶金丝桃素	C ₃₆ H ₅₄ O ₄	[M+H] ⁺	551.410 4	551.410 0	0.73	397.245 5, 327.169 7,	间苯三酚	花、叶、	27
				[M-H] ⁻	549.396 3	549.394 4	3.46	285.123 3		果、茎	
45	28.34	加贯叶金丝桃素 同分异构体	C ₃₆ H ₅₄ O ₄	[M-H] ⁻	549.395 2	549.394 4	1.46	397.244 2, 327.199 1, 285.124 0	间苯三酚	花、果	15
46	29.78	3,4,5,6-tetrahydro phthalicanhydride	C ₂₉ H ₄₄ O ₅	[M-H] ⁻	471.310 4	471.311 0	-1.27	453.303 4, 275.139 3, 193.062 5	其它	花、叶、 果	5
47	30.94	伪金丝桃素	C ₃₀ H ₁₆ O ₉	[M-H] ⁻	519.071 0	519.071 6	-1.16	487.048 6, 421.070 1, 275.138 5	萘并二萜 酮	花、叶、 茎	28
48	31.12	贯叶金丝桃素同 分异构体	C ₃₅ H ₅₂ O ₄	[M-H] ⁻	535.379 2	535.378 7	0.93	383.230 0, 313.155 5, 271.108 8	间苯三酚	果	15
49	33.80	加贯叶金丝桃素 同分异构体	C ₃₆ H ₅₄ O ₄	[M-H] ⁻	549.395 0	549.394 4	1.09	411.259 9, 289.154 5, 183.024 1	间苯三酚	花、叶、 果	15
50	34.82	原金丝桃素	C ₃₀ H ₁₈ O ₈	[M-H] ⁻	505.093 7	505.092 3	2.77	455.322 2, 407.096 9, 183.024 6	萘并二萜 酮	花	29
51	35.67	贯叶金丝桃素同 分异构体	C ₃₅ H ₅₂ O ₄	[M+H] ⁺	537.393 9	537.394 4	-0.93	355.226 3, 219.101 6, 203.070 5	间苯三酚	花、叶、 果	15

*与对照品比对确认。

*confirmed by comparison with the reference substance.

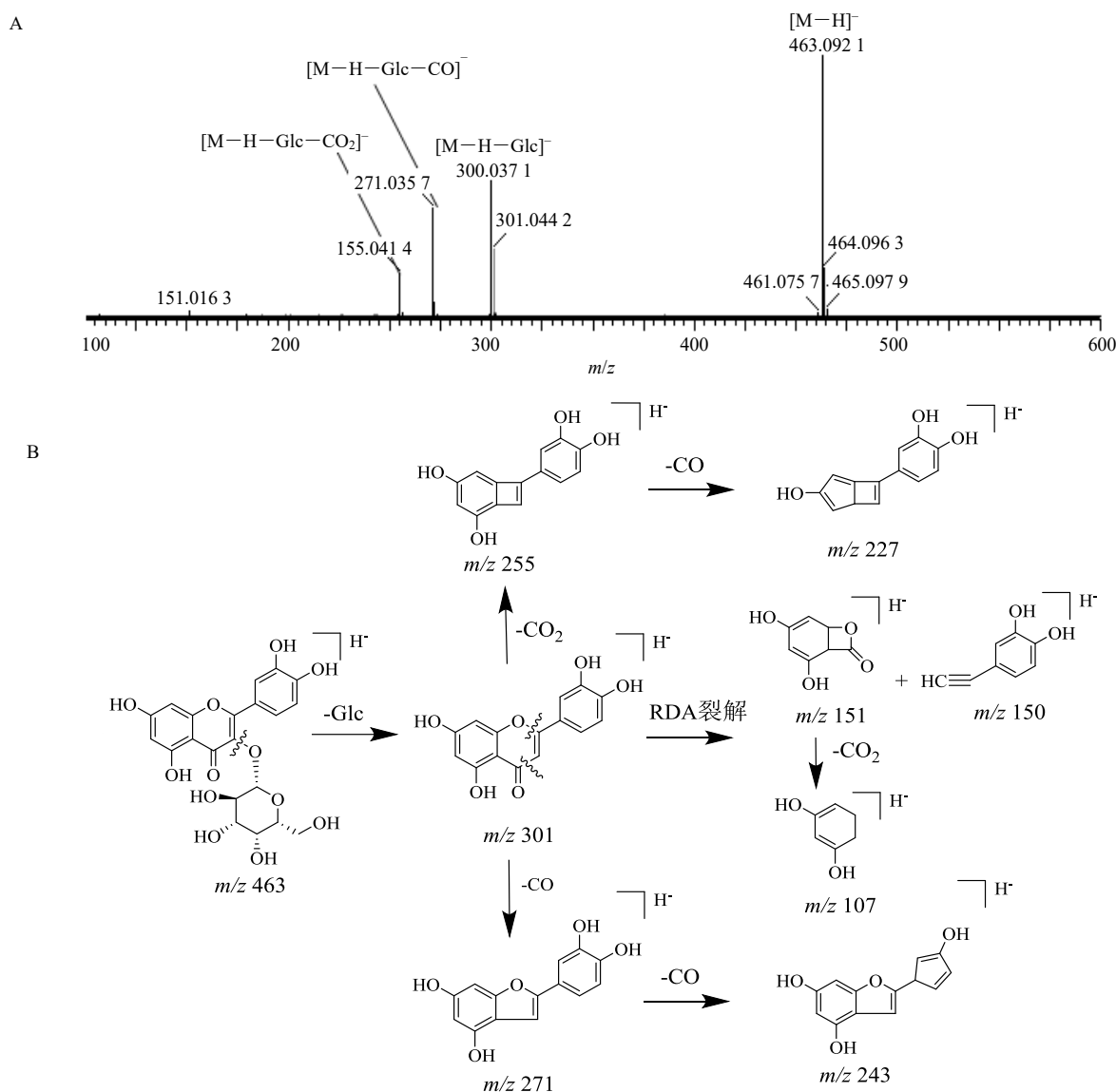


图 2 金丝桃苷在负离子模式下的高能级质谱图 (A) 和可能的裂解途径 (B)

Fig. 2 High-energy mass spectrum (A) and proposed fragmentation pathways (B) of hyperoside in negative mode

三酚衍生物 (polycyclic polyprenylated acylphoroglucinols, PPAPs) 是一类以酰基间苯三酚为母核和异戊烯基杂合形成的化合物, 多具有植物次生代谢中少见的桥环、螺环和金刚烷等复杂、刚性的核心骨架, 也是藤黄科植物中的独有特征性成分。贯叶金丝桃中 PPAPs 的代表成分为贯叶金丝桃素和加贯叶金丝桃素, 共从贯叶金丝桃中鉴定得到 20 个间苯三酚类化合物, 包括间苯三酚类化合物 12 个和贯叶金丝桃素氧化物 8 个。

色谱峰 42 和 44 鉴定为贯叶金丝桃素和加贯叶金丝桃素。以峰 42 为例, 其在正离子和负离子低能级下出现 m/z 537.398 4 $[M+H]^+$ 和 m/z 535.384 2

$[M-H]^-$ 的准分子离子峰, 推测其分子式为 $C_{35}H_{52}O_4$, 在负离子高能级下出现一系列失去异戊烯基产生的特征碎片离子峰 m/z 466.331 3 $[M-H-C_5H_9]^-$ 、 m/z 397.248 0 $[M-H-C_5H_9-C_5H_9]^-$ 、 m/z 383.284 6 $[M-H-C_5H_9-C_6H_{11}]^-$ 、 m/z 315.159 9 $[M-H-C_5H_9-C_6H_{11}-C_5H_8]^-$ 及 m/z 313.164 4 $[M-H-C_5H_9-C_6H_{11}-C_4H_6O]^-$ 。在正离子高能级下主要丢失异丁烯基和异戊二烯基产生相应的碎片, 异丁烯基的丢失为六中心协同机制, 包括质子的转移和烯醇式互变, 异戊二烯基的丢失为协同加成机制, 根据丢失的先后顺序可分为 2 条途径^[25]。途径 1 先失去异丁烯基出现 m/z 481.341 1 $[M+H-C_4H_8]^+$

的碎片离子,接着失去 70、56 生成 m/z 411.300 5 $[M+H-C_4H_8-C_4H_6O]^+$ 、 m/z 355.234 4 $[M+H-C_4H_8-C_4H_6O-C_4H_8]^+$ 的碎片离子峰;途径 2 先失去异戊二烯基生成 m/z 469.341 0 $[M+H-C_5H_8]^+$ 的碎片离子峰,接着失去 56、68、68 生成 m/z 413.279 9 $[M+H-C_5H_8-C_4H_8]^+$ 、 m/z 357.219 1 $[M+H-$

$C_5H_8-C_4H_8-C_4H_8]^+$ 、 m/z 277.150 9 $[M+H-C_5H_8-C_4H_8-C_5H_8-C_5H_8]^+$ 的碎片离子峰。通过以上质谱裂解行为结合对照品^[33],鉴定峰 42 为贯叶金丝桃素,其高能级质谱图和可能的裂解途径如图 3、4 所示。

贯叶金丝桃素不稳定,异戊烯基上的双键易被

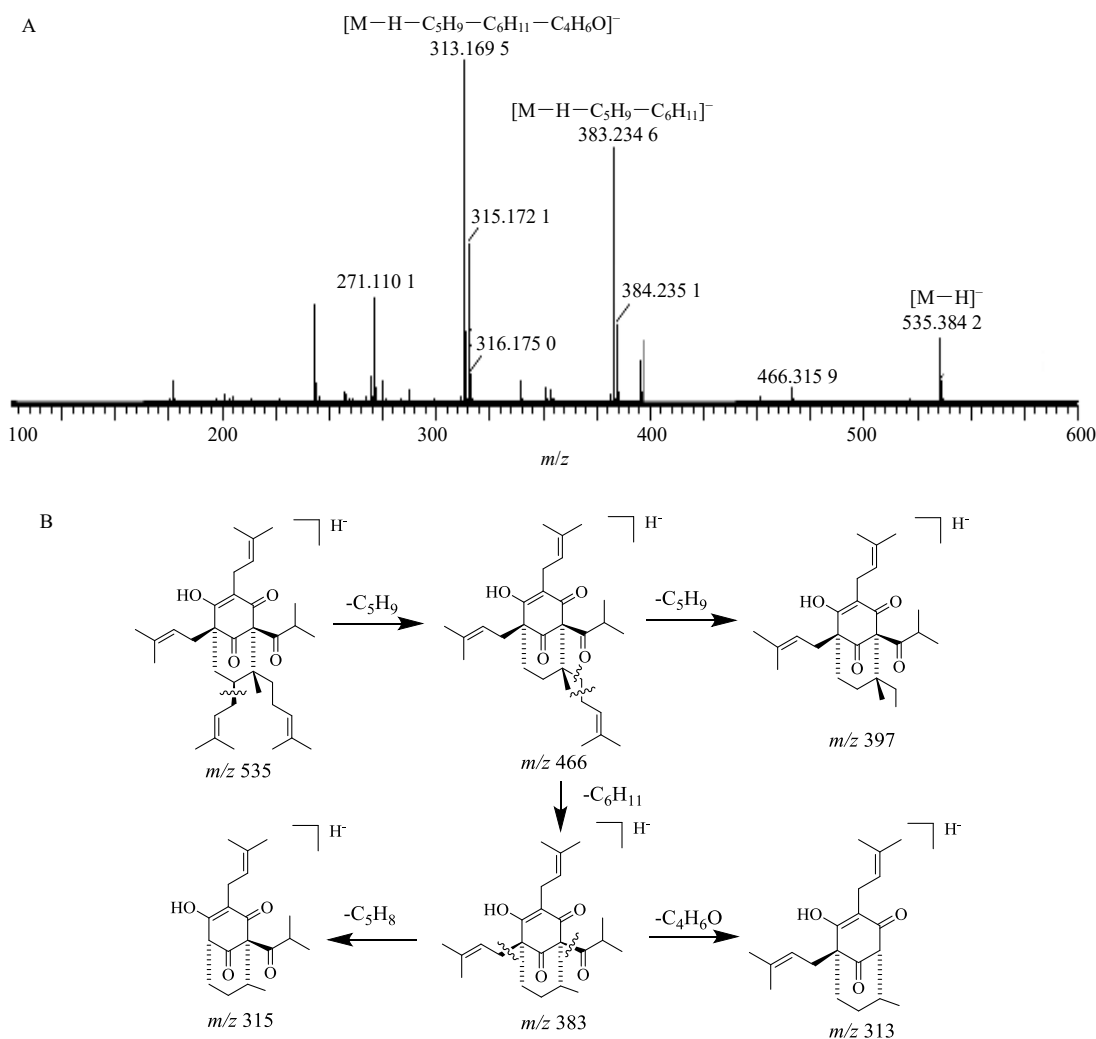


图 3 贯叶金丝桃素在负离子模式下的高能级质谱图 (A) 和可能的裂解途径 (B)

Fig. 3 High-energy mass spectrum (A) and proposed fragmentation pathways (B) of hyperforin in negative mode

氧化,生成环氧化物,由于具有多个异戊烯基,生成的环氧化物也有多种,但其相对分子质量均为 552,此类化合物性质不够稳定会进一步氧化生成环醚,环醚又会生成过氧化物,过氧化物和环醚的相对分子质量均为 567^[26]。从贯叶金丝桃中共鉴定出 8 种贯叶金丝桃素氧化物,包括 6 种相对分子质量为 552 的环氧化合物和 2 种相对分子质量为 567 的过氧化物。

色谱峰 29、30、31、35、36、37、39 和 40 鉴

定为贯叶金丝桃素氧化物。以峰 36、37 为例,峰 36 在正离子低能级下和负离子低能级下出现 m/z 553.397 9 $[M+H]^+$ 和 m/z 551.374 2 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰,推测其分子式为 $C_{35}H_{52}O_5$,在正离子高能级下,途径 1 先失去异戊二烯基生成 m/z 485.331 6 $[M+H-C_5H_8]^+$ 的碎片离子峰,接着失去异戊二烯基和异丁烯基生成 m/z 293.143 3 $[M+H-C_5H_8-C_5H_8-C_4H_8]^+$ 的碎片离子峰,再失去水生成 m/z 275.128 2 $[M+H-C_5H_8-C_5H_8-C_5H_8-C_4H_8-$

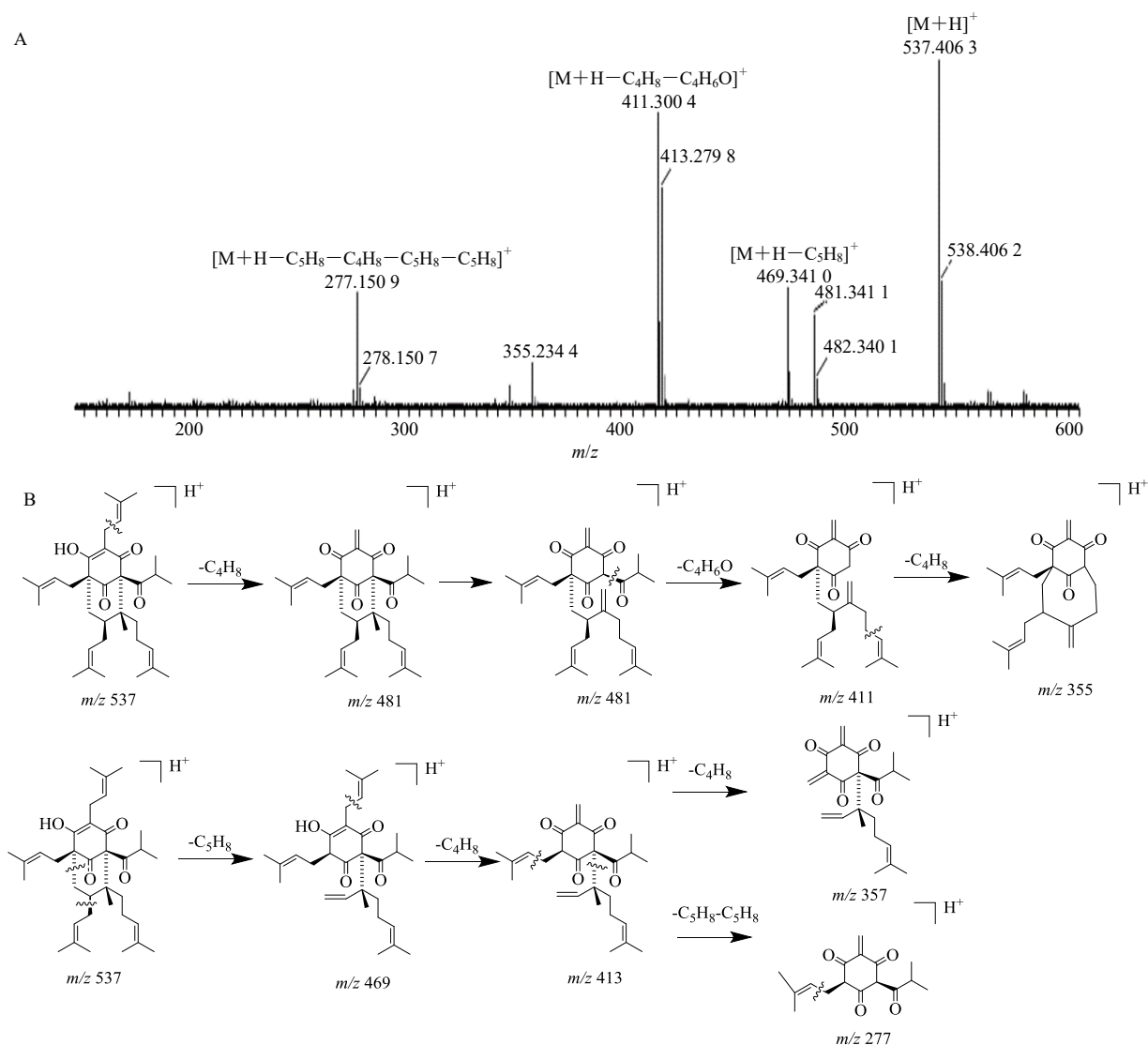


图 4 贯叶金丝桃素在正离子模式下的高能级质谱图 (A) 和可能的裂解途径 (B)

Fig. 4 High-energy mass spectrum (A) and proposed fragmentation pathways (B) of hyperforin in positive mode

$\text{H}_2\text{O}]^+$ 的碎片离子峰；途径 2 先失去异丁烯酮基和水生成 m/z 485.331 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 的碎片离子峰，再失去丁烯基生成 m/z 409.281 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_5\text{H}_8]^+$ 的碎片离子峰，最后失去异戊二烯基和丁烯基生成 m/z 217.086 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_6-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_5\text{H}_8-\text{C}_5\text{H}_8-\text{C}_4\text{H}_8]^+$ 的碎片离子峰。峰 37 的裂解规律和 36 相似，都具有 m/z 485、465、293、217 的特征碎片。通过以上质谱裂解行为将峰 36 和 37 鉴定为呋喃贯叶金丝桃素氧化物，结合文献报道^[25]，色谱峰 36 和 37 分别鉴定为化合物 furohyperforin isomer a 和 furohyperforin isomer b。

3.1.3 萆二蒽酮类化合物 萆二蒽酮类化合物是由两分子的蒽酮失去氢形成的化合物。贯叶金丝桃中的萆二蒽酮类化合物包括金丝桃素、原金

丝桃素和伪金丝桃素等。从贯叶金丝桃中共鉴定得到 4 个萆二蒽酮类化合物。贯叶金丝桃中的萆二蒽酮类成分主要为伪金丝桃素，含量比金丝桃素高 2~4 倍^[27]。

色谱峰 47 和 50 仅在负离子模式下有响应，峰 47 在负离子低能级下出现 m/z 519.071 0 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 的准分子离子峰，推测其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{16}\text{O}_9$ 。在负离子高能级下失去乙烯酮基和羰基出现 m/z 449.069 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2=\text{C}=\text{O}-\text{CO}]^-$ 的碎片离子峰，接着失去羰基出现 m/z 421.069 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2=\text{C}=\text{O}-\text{CO}-\text{CO}]^-$ 的碎片离子峰，以及分别失去 16、32、44 出现 m/z 503.043 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_4]^-$ 、 m/z 487.048 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3\text{OH}]^-$ 、 m/z 475.067 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ 的碎片离子峰。通过以上质谱行为，结合贯叶金丝桃数据

库和参考文献的裂解碎片^[28-29], 鉴定峰 47 为伪金丝桃素, 其高能级质谱图和可能的裂解途径见图 5。

色谱峰 50 在负离子低能级产生了 m/z 505.094 8 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰, 推测其分子式为 $C_{30}H_{18}O_8$ 。在负离子高能级下失去乙烯酮基和羰基出现 m/z 407.096 6 $[M-H-CH_2=C=O-CO-CO]^-$

的碎片离子峰, 接着失去乙酰基出现 m/z 363.097 8 $[M-H-CH_2=C=O-CO-CO-CO_2]^-$ 的碎片离子峰, 以及失去 44、28 出现的 m/z 461.106 9 $[M-H-CO_2]^-$ 、 m/z 433.110 7 $[M-H-CO_2-CO]^-$ 的碎片离子峰。通过以上质谱行为, 结合贯叶金丝桃数据库和参考文献的裂解碎片^[34], 鉴定峰 50 为原金丝桃素。

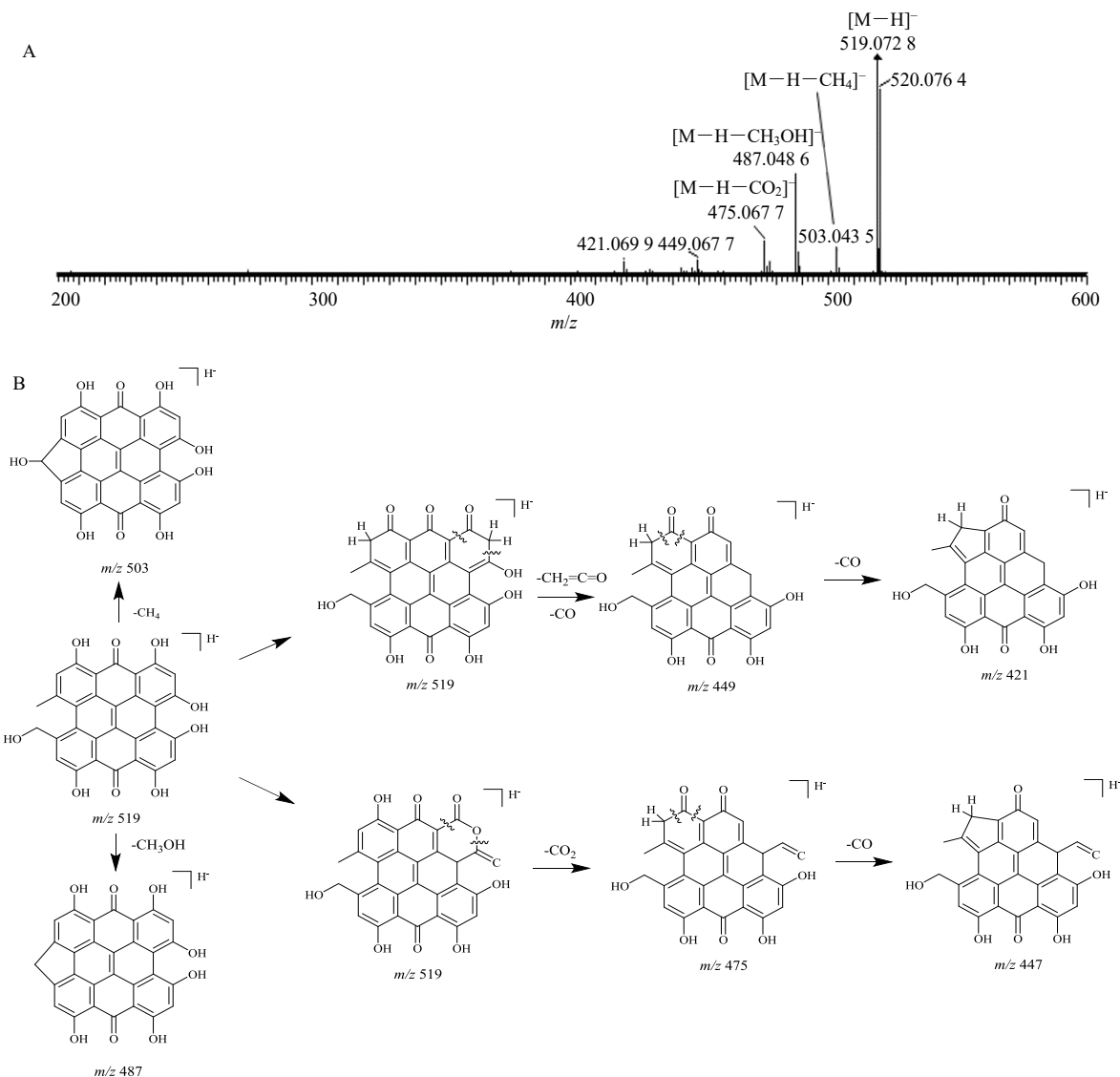


图 5 伪金丝桃素在负离子模式下的高能级质谱图 (A) 和可能的裂解途径 (B)

Fig. 5 High-energy mass spectrum (A) and proposed fragmentation pathways (B) of pseudohypericin in negative mode

3.2 多元统计分析

为了明确贯叶金丝桃不同药用部位的化学成分差异, 将贯叶金丝桃不同部位的 LC-MS 原始数据进行 PCA 分析, 所得正、负离子模式下的 PCA 得分图如图 6 所示。结果显示, QC 样品聚类较好, 说明仪器稳定性好, 该方法具有较好的重现性。贯叶金丝桃的花、叶、果和茎部位均分别呈现出组内

聚类, 组间明显分离的趋势, 表明其不同药用部位中的化学成分存在一定的差异。

基于无监督分析的结果, 对 4 种不同药用部位进行有监督的 OPLS-DA 分析, 如将花分为 1 类, 其余 3 个部位分为 1 类, 进行 OPLS-DA 分析, 以期找到造成不同部位差异的化学成分。通过 OPLS-DA 得分图 (图 7) 发现, 组别之间的分离效果更加

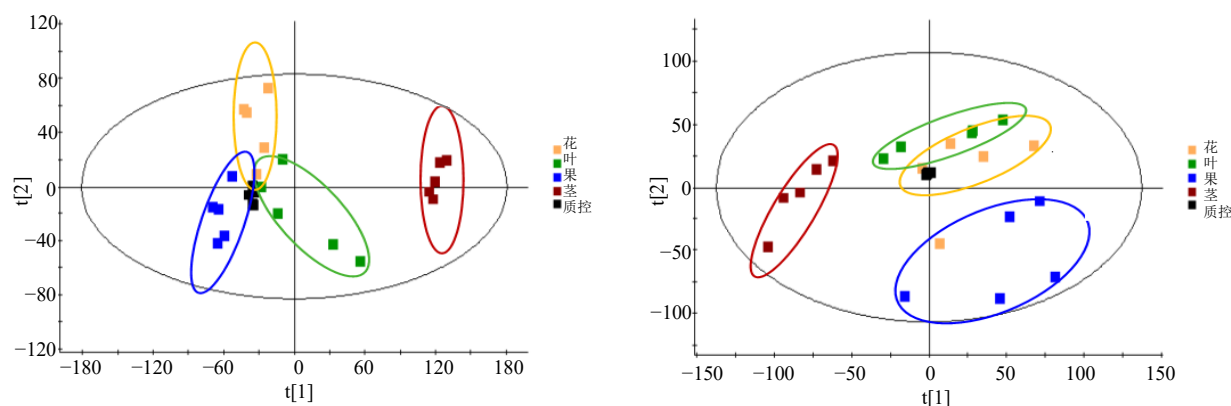


图 6 贯叶金丝桃不同部位的 PCA 图 (左: 正离子, 右: 负离子)

Fig. 6 PCA score plots of different parts of *H. perforatum* (left: positive, right: negative)

显著, 与 PCA 结果一致, 每个部位与其它 3 个部位之间均表现出明显的分离趋势。在 OPLS-DA 模型中, 各模型组的 R^2_X (cum) 均大于 0.7, R^2_Y (cum) 均大于 0.9, Q^2 值均大于 0.6, 表明模型构建良好, 预测性可靠^[35]。

根据 OPLS-DA 结果, 选择 VIP 值大于 20 和 p (corr) 绝对值大于 0.5 的变量为差异性成分, 最终共筛选出 15 种差异性化学成分, 包括儿茶素、异槲皮苷、金丝桃苷、槲皮素、3,8"-双芹菜素、原伪金丝桃素、伪金丝桃素、原花青素 C2、芦丁、贯叶金丝桃素和加贯叶金丝桃素等成分, 具体信息见表 2。进一步分析发现, 这些成分在不同部位间均可检测到, 其差异主要体现在信号响应强度的不同。

3.3 UHPLC-CAD 半定量分析

利用 UHPLC-CAD 技术对各批次 (S1~S5) 贯叶金丝桃的花、叶、果和茎进行半定量分析, 分别得到各批次贯叶金丝桃不同部位的 UHPLC-CAD 图, 结果显示, 不同批次贯叶金丝桃贯叶金丝桃的花、叶、果和茎化学成分一致性良好, 因此以 S4 的花、叶、果和茎为例进行分析, 如图 8 所示。通过前期的 UHPLC-Q-TOF/MS 定性分析和对照品的指认, 对同一条件下半定量分析的化学成分进行指认, 并使用归一化法分别计算 S4 不同部位中主要化学成分的占比, 花中主要化学成分芦丁、异槲皮苷、金丝桃苷、槲皮素和贯叶金丝桃素的占比分别为 3.94%、6.61%、7.58%、3.04%和 11.05%; 叶中主要成分 3-甲基槲皮素、绿原酸、儿茶素、芦丁、异槲皮苷、金丝桃苷、扁蓄苷和贯叶金丝桃素的占比分别为 3.29%、4.71%、3.06%、15.88%、5.92%、12.60%、3.68%、8.0%; 果中表征的主成分 hyperfirin、

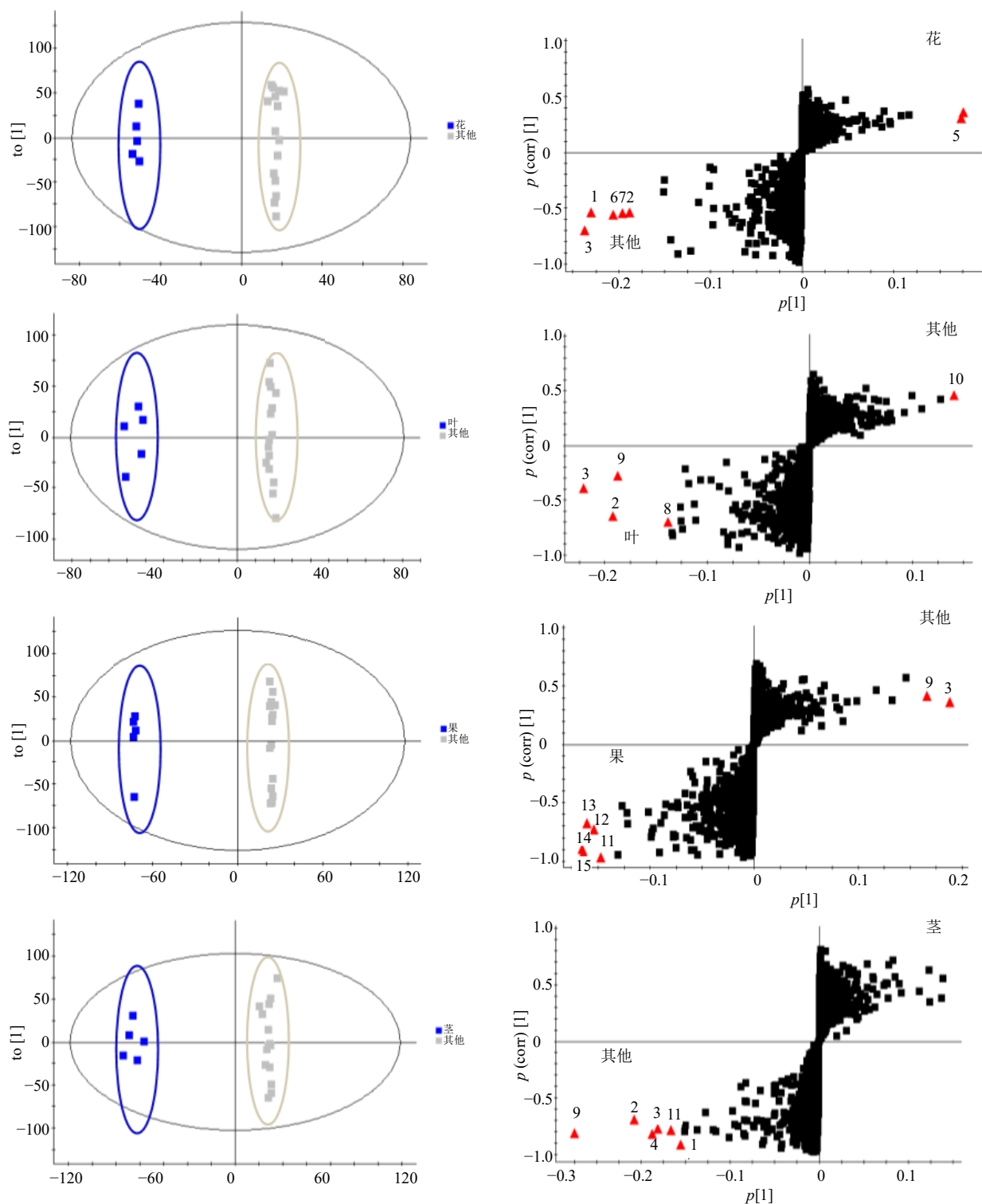
furohyperforin isomer、贯叶金丝桃素和加贯叶金丝桃素的占比分别为 6.26%、4.10%、41.88%、11.17%; 茎中化学成分种类较少, 除芦丁和 sarothralen D 外, 大部分成分的相对含量低于其他部位, 故不计算其各类化学成分的占比。

由于 CAD 为质量型检测器, 其响应与化合物浓度直接相关, 因此进一步统计各批次贯叶金丝桃主要化学成分的峰面积, 取 5 批次贯叶金丝桃化学成分峰面积的平均值, 使用 Origin 2021 软件绘制花、叶、果和茎化学成分的柱状图, 比较贯叶金丝桃不同部位之间 17 个化学成分的相对含量关系。由图 9 可知, 贯叶金丝桃中的主要化学成分可分为 2 类, 一类为间苯三酚类成分, 主要来源于贯叶金丝桃的果, 果中的间苯三酚类成分含量显著高于其他部位, 其所含加贯叶金丝桃素的相对含量是叶部位的 3~4 倍; 另一类成分为黄酮类成分, 来源于花和叶中, 其中叶部位中的黄酮类成分相对含量高于果和茎, 叶中芦丁和金丝桃苷的相对含量是茎和果部位的 3~4 倍, 茎中大部分成分的相对含量低于其他部位。

4 讨论

《中国药典》2020 年版规定贯叶金丝桃的药用部位为干燥的地上部分, 然其在实际应用中经常会发生花、叶和果从茎上脱落的现象, 而这是否会影响到药材质量是不明确的。利用 UHPLC-Q-TOF-MS 和 UHPLC-CAD 技术对贯叶金丝桃花、叶、果和茎 4 个药用部位的化学成分进行了定性和半定量指纹图谱分析, 从组成和含量全面对比了不同药用部位中的化学成分。

本研究首先考察了不同流动相体系 (水-甲醇、



1-儿茶素; 2-异槲皮苷; 3-金丝桃苷; 4-槲皮素; 5-3,8"-双芹菜素; 6-原伪金丝桃素; 7-伪金丝桃素; 8-原花青素 C2; 9-芦丁; 10-3,4,5,6-tetrahydrophthalicanhydride; 11-扁蓄苷; 12-hypericumoxide E; 13-furohyperforin isomer; 14-贯叶金丝桃素; 15-加贯叶金丝桃素。

1-catechin; 2-isoquercitrin; 3-hyperoside; 4-quercetin; 5-3,8"-biapigenin; 6-protopseudohypericin; 7-pseudohypericin; 8-proanthocyanidins C2; 9-rutin; 10-3,4,5,6-tetrahydrophthalicanhydride; 11-avicularin; 12-hypericumoxide E; 13-furohyperforin isomer; 14-hyperforin; 15-adhyperforin.

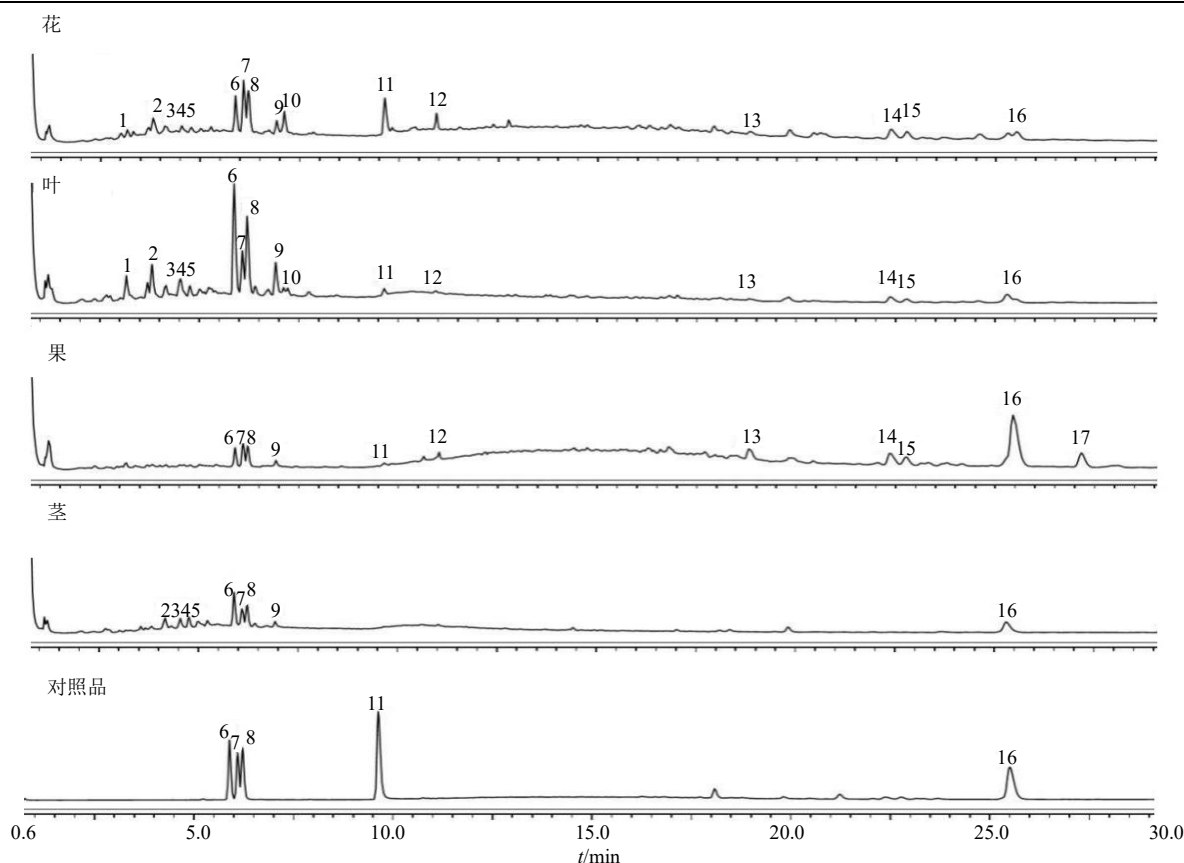
图 7 贯叶金丝桃不同部位的 OPLS-DA (左) 和 S-plot 图 (右)

Fig. 7 OPLS-DA (left) and S-plot (right) plots of different parts of *H. perforatum*

表 2 贯叶金丝桃不同部位的差异性化学成分

Table 2 Differential chemical composition between different parts of *H. perforatum*

序号	t_R /min	化合物名称	化合物类型	VIP 值	$ p(\text{corr}) $	分布部位
1	4.84	儿茶素	黄酮类	38.18	0.704 0	叶、茎
2	6.33	异槲皮苷	黄酮类	28.39	0.609 4	花、叶、果、茎
3	6.44	金丝桃苷	黄酮类	45.12	0.812 2	花、叶、果、茎
4	9.83	槲皮素	黄酮类	31.19	0.544 2	花、叶、果
5	11.14	3,8"-双芹菜素	黄酮类	23.41	0.786 8	花、果、茎
6	24.49	原伪金丝桃素	萜二蒽酮类	36.83	0.541 8	花、果
7	30.94	伪金丝桃素	萜二蒽酮类	33.53	0.564 1	花、叶
8	5.04	原花青素 C2	黄酮类	21.77	0.800 1	叶、茎
9	6.13	芦丁	黄酮类	34.96	0.696 9	花、叶、果、茎
10	29.78	3,4,5,6-tetrahydrophthalicanhydride	其他类	22.17	0.699 0	花、果
11	6.95	扁蓄苷	黄酮类	23.81	0.566 6	花、叶、果、茎
12	16.46	hypericumoxide E	间苯三酚类	23.95	0.971 8	花、果
13	19.39	furohyperforin isomer	间苯三酚类	26.13	0.677 5	果
14	25.92	贯叶金丝桃素	间苯三酚类	30.23	0.664 6	花、叶、果、茎
15	27.33	加贯叶金丝桃素	间苯三酚类	26.13	0.677 5	花、叶、果、茎



1-3-甲基槲皮素; 2-绿原酸; 3-原花青素 B1; 4-儿茶素; 5-原花青素 C2; 6-芦丁; 7-异槲皮苷; 8-金丝桃苷; 9-扁蓄苷; 10-槲皮苷; 11-槲皮素; 12-3, 8"-双芹菜素; 13-sarothralen D; 14-hyperfirin; 15-furohyperforin isomer; 16-贯叶金丝桃素; 17-加贯叶金丝桃素。
1-3-methylquercetin; 2-chlorogenic acid; 3-proanthocyanidins B1; 4-catechin; 5-proanthocyanidins C2; 6-rutin; 7-isoquercitrin; 8-hyperoside; 9-avicularin; 10-quercitrin; 11-quercetin; 12-3,8"-biapigenin; 13-sarothralen D; 14-hyperfirin; 15-furohyperforin isomer; 16-hyperforin; 17-adhyperforin.

图 8 贯叶金丝桃不同部位的 UHPLC-CAD 色谱图

Fig. 8 UHPLC-CAD chromatograms of different parts of *H. perforatum*

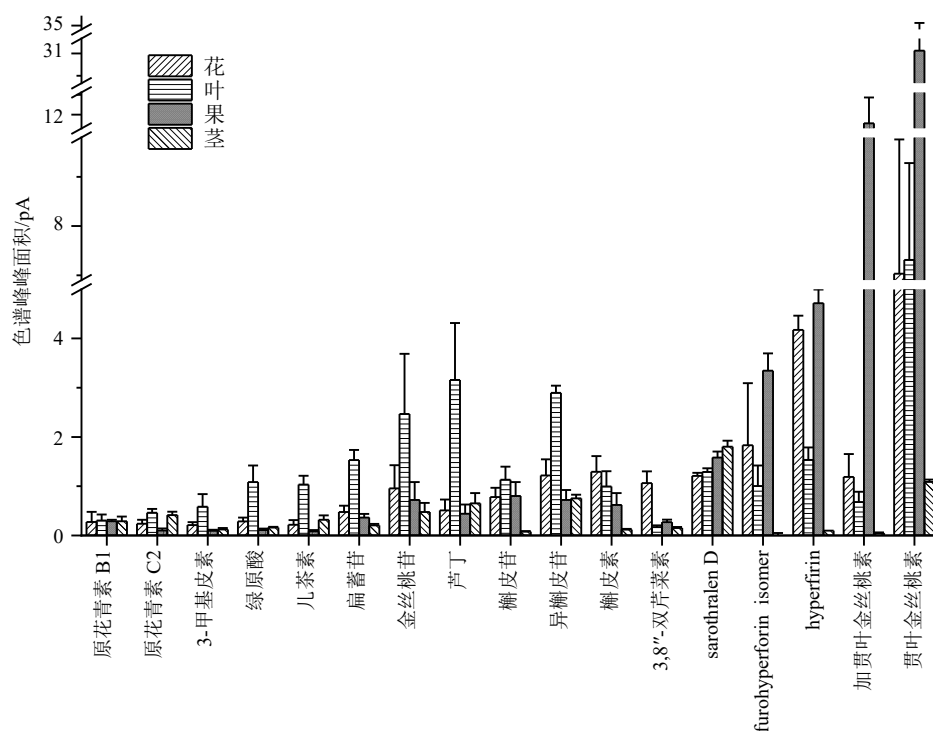


图 9 贯叶金丝桃不同部位的化学成分

Fig. 9 Chemical components of different parts of *H. perforatum*

水-乙腈、0.1%甲酸水-乙腈)对贯叶金丝桃化学成分分离效果的影响,结果显示在乙腈体系下,各待测成分分离效果较好,响应较高,且加甲酸后可显著改善色谱峰峰形;在该体系下,分别对不同的色谱柱(HSS T3 C₁₈、BEH C₁₈和BEH shield RP18)、不同的柱温(20、30、40℃)及不同的进样量(1、3、5 μL)进行了考察,结果发现贯叶金丝桃中的化学成分在HSS T3 C₁₈色谱柱、柱温为40℃及进样量为1 μL时有良好的分离效果。

本研究利用建立的分析方法,发现贯叶金丝桃不同产地同一部位之间的化学成分一致性良好,而同一产地不同部位之间的化学成分存在差异。为了明确贯叶金丝桃不同部位的化学成分组成,从贯叶金丝桃不同部位中共鉴定出51种化学成分,包括黄酮类、间苯三酚类和萘并二蒽酮类成分。文献调研发现,贯叶金丝桃中的黄酮类化合物可通过抑制单胺氧化酶活性及突触体对单胺类神经递质的重吸收,增加脑垂体和脑中多巴胺、5-羟色胺和多巴胺的浓度,另一方面通过对下丘脑-垂体-肾上腺轴的调节,降低抑郁症患者体内促肾上腺皮质激素和皮质醇的水平,从而产生抗抑郁作用^[36-37];贯叶金丝桃素可通过多种机制发挥抗抑郁

作用^[38],如通过竞争转运蛋白的结合位点选择性地抑制神经递质(去甲肾上腺素、5-羟色胺和多巴胺、γ-氨基丁酸和L-谷氨酸)的重吸收^[39];萘并二蒽酮类成分—金丝桃素则是通过抑制神经系统中单胺氧化酶的作用和5-羟色胺和多巴胺等单胺类神经递质的突触重吸收,同时抑制谷氨酸的释放,产生抗抑郁作用^[40]。根据以上研究可知,贯叶金丝桃中不同结构类型的成分均具有抗抑郁作用,仅是在机制上的侧重点不同,说明贯叶金丝桃的抗抑郁作用可能是不同结构类型成分的协同作用^[41]。

本研究进一步分析发现芦丁、异槲皮苷和金丝桃苷等黄酮类成分主要来源于贯叶金丝桃的花和叶部位,如芦丁和金丝桃苷在叶中的含量是果部位的3~4倍;间苯三酚类成分(贯叶金丝桃素和加贯叶金丝桃素等)则主要来源于果部位中,果中贯叶金丝桃素的含量是叶中的3~4倍;萘并二蒽酮类成分如原伪金丝桃素和伪金丝桃素则主要存在于花部位中。造成这些差异的原因可能与贯叶金丝桃存在的半透明腺、暗腺和分泌管等分泌结构有关,贯叶金丝桃中的次生代谢产物在这些分泌结构中合成或积累^[13,42],如贯叶金丝桃素是在半透明腺中产生^[43],金丝桃素和伪金丝桃素是在暗腺中产生,

其含量取决于其分泌结构的含量和大小^[44]。贯叶金丝桃整株植物中均存在分泌结构,但分泌结构相对含量存在差异,叶和生殖部位(花和果等)中的分泌结构相对含量较高,因此次生代谢产物具有明显的器官依赖性^[44]。通过以上分析可知,花、叶和果部位中的有效成分含量较高,对于贯叶金丝桃的质量有着重要作用,在本研究收集的贯叶金丝桃药材中,花、叶和果部位的比重约为药材的 33%。值得注意的是茎部位,虽然其部分成分含量相比其他部位较低,但关键的黄酮类成分芦丁、异槲皮苷和金丝桃苷含量是和花、果 2 个部位持平的,结合其在药材中较大的占比,对药材整体有效成分的贡献仍然不容忽视。因此在贯叶金丝桃的采收、干燥、运输过程中,应注意保护贯叶金丝桃植株的完整性,减少其花、叶和果部位的丢失;在临床应用中,贯叶金丝桃药材一般要切段使用,要注意收集散落的花、叶和果部位,与茎一起按比例入药(如 1:2),从而确保贯叶金丝桃质量的稳定性和有效性。

综上所述,本研究通过对贯叶金丝桃花、叶、果和茎中的化学成分的定性和半定量分析,充分阐明了贯叶金丝桃不同部位间化学成分的种类和含量差异,为贯叶金丝桃的质量控制和各药用部位资源的合理利用提供了理论依据和重要参考。

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: 242.
- [2] 裴瑾. 川产金丝桃属药用植物品种、品质与药效研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2002.
- [3] Wurglics M, Schubert-Zsilavecz M. *Hypericum perforatum*: A 'modern' herbal antidepressant: pharmacokinetics of active ingredients [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2006, 45: 449-468.
- [4] Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 131(3): 511-521.
- [5] Leandro V ã, de Oliveira Guerra M, Peters V M. Effect of the extract of *Hypericum perforatum* on neurodevelopment of regions related to pain control and convulsion [J]. *J Med Plants Res*, 2017, 11(6): 107-117.
- [6] 盛可心, 王昊冉, 徐凌川, 等. 贯叶连翘药理作用及其机制研究新进展 [J]. *中药药理与临床*, 2023, 39(3): 117-122.
- [7] Wang H, Yang X, Lai H, et al. Novel antidepressant mechanism of hypericin: Role of connexin 43-based gap junctions [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 167: 115545.
- [8] Kapoor S, Chandel R, Kaur R, et al. The flower of *Hypericum perforatum* L.: A traditional source of bioactives for new food and pharmaceutical applications [J]. *Biochem. Syst. Ecol*, 2023, 110: 104702.
- [9] Tatsis E C, Boeren S, Exarchou V, et al. Identification of the major constituents of *Hypericum perforatum* by LC/SPE/NMR and/or LC/MS [J]. *Phytochemistry*, 2007, 68(3): 383-393.
- [10] 盛益华, 王洪, 李思迪, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 鉴定杜仲不同部位中化学成分及其降血糖活性研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(19): 6228-6240.
- [11] 沈瑶, 黄思红, 刘依茹, 等. 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 [J]. *中草药*, 2023, 54(15): 4789-4803.
- [12] 刘妍如, 唐志书, 白宏博, 等. 贯叶连翘不同部位黄酮类成分差异与抗炎活性相关性分析 [J]. *中草药*, 2017, 48(21): 4465-4470.
- [13] Cirak C, Radusiene J, Janulis V, et al. Pseudohypericin and hyperforin in *Hypericum perforatum* from northern Turkey: Variation among populations, plant parts and phenological stages [J]. *J Integr Plant Biol*, 2008, 50(5): 575-580.
- [14] Kaçar O, Göksu E, Azkan N. Effects of morphogenetic and diurnal variability on the hypericin content in St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) [J]. *Afr J Biotechnol*, 2008, 7(13): 2163-2168.
- [15] Zhang Z, Ying Z, He M, et al. UPLC-Q-TOF-MS/MS combined with machine learning methods for screening quality indicators of *Hypericum perforatum* L [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2024, 248: 116313.
- [16] Chen Q, Shi J, Mu B, et al. Metabolomics combined with proteomics provides a novel interpretation of the changes in nonvolatile compounds during white tea processing [J]. *Food Chem*, 2020, 332: 127412.
- [17] Gamache P H, et al. *Chared aerosol detection for liquid chromatography and related separation techniques* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2023: 2.
- [18] Zheng W, Zhou M, Chai R, et al. Quality analysis of hawthorn leaves (the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge. var *major* NEBr) in different harvest time [J]. *Phytochem Anal*, 2022, 33(7): 1147-1155.
- [19] 石宇浩, 南易, 郑伟, 等. 酸枣仁种皮和种仁化学成分定性及半定量分析 [J]. *色谱*, 2024, 42(3): 234-244.
- [20] Ersoy E, Ozkan E E, Boga M, et al. Anti-aging potential and anti-tyrosinase activity of three *Hypericum* species with focus on phytochemical composition by LC-MS/MS [J]. *Ind Crops Prod*, 2019, 141: 111735.

- [21] 郑文惠, 白海英, 王丽瑶, 等. UPLC-QTOF-MS 法分析沙棘果实、叶和枝的成分 [J]. 中成药, 2020, 42(11): 2940-2947.
- [22] 徐连华, 田又平, 石菊妹, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 联合网络药理学研究贯叶连翘抗 SRAS-CoV-2 的有效成分和作用机制 [J]. 沈阳药科大学学报, 2025, doi:10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2023.0663.
- [23] Zhang R F, Ji Y Y, Morcol T, *et al.* UPLC-QToF-MS chemical profiling and characterization of antiproliferative and anti-inflammatory compounds from seven *Hypericum* species in China [J]. *Ind Crops Prod*, 2021, 173: 114156.
- [24] Ji Y Y, Zhang R F, Bensalel J, *et al.* Metabolomic and chemometric analyses of St. John's wort and related Asian *Hypericum* species linked to bioactivity [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 329: 118163.
- [25] Fuzzati N, Gabetta B, Strepponi I, *et al.* High-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry and multiple mass spectrometry studies of hyperforin degradation products [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 926(1): 187-198.
- [26] Seger C, Römpf H, Sturm S, *et al.* Characterization of supercritical fluid extracts of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) by HPLC - MS and GC - MS [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2004, 21(4): 453-463.
- [27] Patocka J. The chemistry, pharmacology, and toxicology of the biologically active constituents of the herb *Hypericum perforatum* L [J]. *J Appl Biomed*, 2003, 1(2): 61-70.
- [28] Mauri P, Pietta P. High performance liquid chromatography/electrospray mass spectrometry of *Hypericum perforatum* extracts [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2000, 14(2): 95-99.
- [29] Gadzovska S, Maury S, Ounnar S, *et al.* Identification and quantification of hypericin and pseudohypericin in different *Hypericum perforatum* L. *in vitro* cultures [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2005, 43(6): 591-601.
- [30] 朱赟斐, 谭善忠, 王洪兰, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的益气健脾颗粒化学成分分析 [J]. 中草药, 2022, 53(12): 3601-3613.
- [31] 郑伟, 周茗, 王双艳, 等. 不同来源山楂叶化学成分比较分析 [J]. 药学报, 2021, 56(12): 3526-3539.
- [32] Colovic M, Caccia S. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry of I3, II8-biapigenin, the major biflavone in *Hypericum perforatum* extracts [J]. *J Chromatogr B*, 2008, 863(1): 74-79.
- [33] Heinke R, Arnold N, Wessjohann L, *et al.* Negative ion tandem mass spectrometry of prenylated fungal metabolites and their derivatives [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405: 177-189.
- [34] Piperopoulos G, Lotz R, Wixforth A, *et al.* Determination of naphthodianthrone in plant extracts from *Hypericum perforatum* L. by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 1997, 695(2): 309-316.
- [35] 唐瑞, 吴杭莎, 李亚飞, 等. 基于液质联用技术结合化学计量法分析杜仲盐制前后差异性成分 [J]. 中草药, 2024, 55(5): 1518-1531.
- [36] 张庆建, 赵毅民, 杨明, 等. 黄酮类化合物对中枢神经系统的作用 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(8): 5-8.
- [37] Calapai G, Crupi A, Firenzuoli F, *et al.* Serotonin, norepinephrine and dopamine involvement in the antidepressant action of *Hypericum perforatum* [J]. *Pharmacopsychiatry*, 2001, 34(2): 45-49.
- [38] Li X X, Yan Y, Zhang J, *et al.* Hyperforin: A natural lead compound with multiple pharmacological activities [J]. *Phytochemistry*, 2023, 206: 113526.
- [39] 尹兴斌, 翟玉静, 曹飒丽, 等. 贯叶金丝桃药理作用研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(8): 1634-1637.
- [40] Chang Y, Wang S J. Hypericin, the active component of St. John's wort, inhibits glutamate release in the rat cerebrocortical synaptosomes via a mitogen-activated protein kinase-dependent pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 634(1/3): 53-61.
- [41] 吕琼琼, 刘巨源, 杨俊, 等. 中药贯叶金丝桃治疗抑郁症的进展 [J]. 国际神经精神科学杂志, 2012, 1(3): 22-26.
- [42] Lotocka B, Osinska E W A. Shoot anatomy and secretory structures in *Hypericum* species (Hypericaceae) [J]. *Bot J Linn Soc*, 2010, 163(1): 70-86.
- [43] Ciccirelli D. Translucent glands and secretory canals in *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae): Morphological, anatomical and histochemical studies during the course of ontogenesis [J]. *Ann Bot*, 88(4): 637-644.
- [44] Cirak C, Radusiene J. Factors affecting the variation of bioactive compounds in *Hypericum* species [J]. *Biol Futura*, 2019, 70(3): 198-209.

[责任编辑 王文倩]