

基于天然产物 UPLC-HRMS 数据库快速分析盒果藤化学成分

李天慧^{1,2,3}, 侯瑞琪^{1,2,3}, 吕蒙莹⁴, 袁洁^{1,2,3}, 姚军^{1,2,3*}

(1. 新疆医科大学药学院, 新疆乌鲁木齐 830017; 2. 新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830017; 3. 新疆及中亚特色医药资源教育部工程研究中心, 新疆乌鲁木齐 830017; 4. 扬州大学医学部中医药学院, 江苏扬州 225009)

摘要: 目的 快速分析盒果藤化学成分。方法 UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS 分析采用 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相 0.1% 甲酸-乙腈, 梯度洗脱; 体积流量 0.35 mL/min; 柱温 45 °C; 加热电喷雾离子源; 正负离子扫描。根据目标化合物的保留时间、精确质量数、二级质谱碎片等信息, 结合天然产物 UPLC-HRMS 数据库进行鉴定。结果 共鉴定出 60 个化合物, 包括 6 个黄酮类、12 个苯丙素类、7 个萜类、4 个甾体类、5 个氨基酸类、2 个有机酸类及 24 个其他类。结论 该方法可高效准确地鉴定盒果藤化学成分, 为该药材药效物质基础研究提供了参考。

关键词: 盒果藤; 化学成分; UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS; 天然产物 UPLC-HRMS 数据库

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)05-1732-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.05.045

盒果藤 *Operculina turpethum* (Linn.) S. Manso 是旋花科植物, 药用历史可追溯至公元 1010 年的《医典》, 书中以“Turbud”之名记载其为燥湿、排湿寒性物质, 可治疗关节炎^[1], 作为维吾尔族、壮族、傣族特色药材, 维医认为其根茎具有二级干热属性, 可祛痰除湿、利胆, 并借泻下之力清除异常体液^[2]。现代维药通滞苏润江胶囊将盒果藤与秋水仙、西红花等配伍, 协同发挥开通阻滞、消肿止痛功效, 临床用于治疗痛风性关节炎、类风湿关节炎等病症^[3]。

现代药理研究表明, 盒果藤含有甾醇、黄酮、糖苷、咖啡酰奎宁酸等成分^[4-7], 具有抗癌、抗炎、抗血糖、抗肝肾毒性等活性^[8-13], 故明确该药材化学成分是研究其药理活性的重要条件。超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱串联质谱 (UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS) 联用技术虽然广泛用于成分分析, 但难以区分母离子与二级质谱碎片高度相似的同分异构体和类似物, 制约了鉴定的准确性。目前, 对照品比对、数据库检索、自建数据库等方法应用于天然产物成分鉴定, 其中自建数据库既涵盖研究团队自主构建的专属数据资源^[14-16], 又包含商业机构开发的数千种对照品的天然产物超

高效液相-高分辨质谱 (UPLC-HRMS) 数据, 可实现同分异构体的精准区分, 为中药复杂体系中结构相似成分的鉴别提供依据。

本研究以保留时间、精确质量数、二级质谱碎片等信息为依据, 与天然产物 UPLC-HRMS 数据库进行比对, 以期系统阐明盒果藤化学成分, 为该药材药效物质基础分析及其药理活性考察提供了理论依据。

1 材料

1.1 仪器 ACQUITY UPLC I-Class 高效液相色谱仪 (美国沃特世公司); Thermo-Orbitrap-QE HF 高分辨液质联用质谱仪 (美国赛默飞世尔科技公司); 1000T 多功能粉碎机 (永康市敏业工贸有限公司); KQ-500DE 数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); AB135-S 电子分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); GHT210R 大容量高速台式冷冻离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

1.2 试剂 甲酸、甲醇、乙腈 (质谱纯, 美国赛默飞世尔科技公司); 纯净水 (广州屈臣氏食品饮料有限公司)。

1.3 药材 盒果藤购自云南大理, 经新疆医科大学丛媛媛教授鉴定为旋花科植物盒果藤 *Operculina*

收稿日期: 2026-01-07

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金重点项目 (2024D01D16)

作者简介: 李天慧 (2004—), 女 (满族), 硕士在读, 研究方向为药物分析。E-mail: lth3293@163.com

* 通信作者: 姚军 (1973—), 男, 博士, 教授, 研究方向为药物分析。E-mail: xydyaojun@163.com

turpethum (Linn.) S. Manso 的干燥地上部分。

1.4 数据库 天然产物 UPLC-HRMS 数据库由上海欧易生物医学科技有限公司提供, 包含 5 000 种以上对照品。

2 方法

2.1 供试品溶液制备 将干燥药材粉碎, 过 40 目筛, 取粉末约 1 g, 精密称定, 置于锥形瓶中, 加入 25 mL 75% 甲醇, 充分混匀, 25 °C 超声 (功率 100 W, 频率 40 kHz) 处理 60 min, 静置 3 h, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取滤液, 即得。

2.2 色谱条件 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相 0.1% 甲酸 (A) -乙腈 (B), 梯度洗脱 (0~3 min, 100% A; 3~18.5 min, 100%~80% A; 18.5~20 min, 80%~65% A; 20~26 min, 65%~60% A; 26~35 min, 60%~5% A; 35~38 min, 5% A; 38~38.1 min, 5%~100% A; 38.1~40 min, 100% A); 体积流量 0.35 mL/min; 柱温 45 °C; 进样量 5 μL。

2.3 质谱条件 加热电喷雾离子源 (H-ESI); 正负离子扫描; 扫描范围 m/z 100~1 500; 喷雾电压 3.8、-3.2 kV; 毛细管温度 320 °C; 辅助气加热温度 350 °C, 体积流量 8 arb; 鞘气体积流量 35 arb;

S-Lens 射频 50。数据采集方法为 Full MS/dd-MS², Full MS 分辨率为 60 000, NCE 能量梯度分别为 10%、20%、40%, dd-MS² 分辨率为 15 000。

3 结果

3.1 化学成分 共鉴定出 60 个化合物, 包括 6 个黄酮类、12 个苯丙素类、7 个萜类、4 个甾体类、5 个氨基酸类、2 个有机酸类及 24 个其他类, 总离子流图见图 1, 具体见表 1。

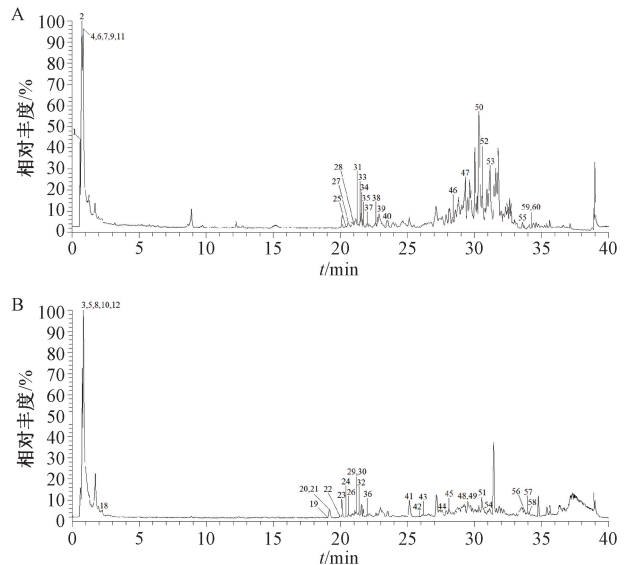


图 1 盒果藤正 (A)、负 (B) 离子模式下总离子流图

表 1 盒果藤化学成分鉴定结果

编号	t_R / min	化合物名称	分子式	离子模式	理论值 m/z	实测值 m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 m/z
1	0.65	盐酸 D-甘露糖胺	C ₆ H ₁₃ NO ₅	[M+H-H ₂ O] ⁺	162.076 7	162.076 2	-3.21	162.076 2, 144.065 6, 127.039 2, 97.028 9, 84.045 0
2	0.79	D-甘露醇	C ₆ H ₁₄ O ₆	[M+HCOO] ⁻	227.077 2	227.076 0	-5.50	181.070 5, 89.023 1
3	0.80	红杉醇	C ₇ H ₁₄ O ₆	[M+H] ⁺	195.086 3	195.087 1	3.90	195.112 9, 163.039 0, 141.054 7, 109.028 8, 81.034 1
4	0.81	D-脯氨酸	C ₅ H ₉ NO ₂	[M+H] ⁺	116.070 6	116.070 9	2.76	116.070 9, 70.065 8
5	0.82	乳糖酸	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₂	[M-H] ⁻	357.103 9	357.102 7	-3.30	357.102 9, 311.097 6, 305.288 6, 208.130 5, 149.044 0
6	0.83	松三糖	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	[M+Na] ⁺	527.158 3	527.158 2	-0.02	527.158 6, 365.105 2, 347.094 7, 203.052 7, 185.042 2
7	0.83	左旋葡聚糖	C ₆ H ₁₀ O ₅	[M+H-H ₂ O] ⁺	145.050 1	145.049 6	-3.52	127.039 0, 99.044 6, 85.029 0, 69.034 2
8	0.84	棉子糖	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	[M+HCOO] ⁻	549.167 2	549.166 3	-1.68	549.165 3, 503.160 5, 179.054 8, 101.023 0, 89.023 0
9	0.85	松二糖	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	[M+K] ⁺	381.079 4	381.079 0	-0.89	382.082 1, 381.079 3
10	0.85	D-(+)-苹果酸	C ₄ H ₆ O ₅	[M-H-H ₂ O] ⁻	115.003 1	115.002 2	-8.00	115.919 3, 115.002 3, 114.932 6, 71.012 4
11	0.93	N-甲基 L-脯氨酸	C ₆ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	130.086 3	130.086 5	1.69	130.086 6, 84.081 4, 70.065 8
12	0.94	景天庚酮糖	C ₇ H ₁₄ O ₇	[M-H-H ₂ O] ⁻	191.055 6	191.054 3	-6.80	191.054 8, 173.007 9, 154.997 3, 129.017 9, 111.007 4
13	1.13	DL-正缬氨酸	C ₅ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	118.086 3	118.086 6	3.05	118.086 5, 72.081 4, 55.054 9
14	1.35	烟酸核糖	C ₁₁ H ₁₃ NO ₆	[M+H] ⁺	256.081 6	256.081 4	-0.59	256.080 9, 238.070 3, 133.049 6, 124.039 5, 97.028 9
15	1.40	蔗果三糖	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	[M+Na] ⁺	527.158 3	527.158 3	0.02	527.158 6, 365.105 3, 347.094 7
16	1.46	烟酸	C ₆ H ₅ NO ₂	[M+H] ⁺	124.039 3	124.039 6	2.26	124.039 5, 96.044 8, 80.050 0
17	1.70	异烟酰胺	C ₆ H ₇ N ₂ O	[M+H] ⁺	123.055 3	123.055 6	2.11	123.055 4, 123.044 6, 95.049 6, 80.050 1
18	2.09	顺乌头酸	C ₆ H ₆ O ₆	[M-H] ⁻	173.009 2	173.007 9	-7.05	173.080 5, 129.017 9, 111.007 4, 85.028 1
19	19.02	1,3-二咖啡酰奎宁酸	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	515.119 5	515.118 7	-1.65	515.119 3, 353.087 2, 191.055 1, 179.033 9, 135.043 8
20	19.16	异麦角甾苷	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	623.198 1	623.197 2	-1.52	623.197 9, 501.184 1, 203.368 4, 161.023 2, 113.023 3
21	19.23	环己乙酸	C ₈ H ₁₄ O ₂	[M+HCOO] ⁻	187.097 6	187.096 6	-5.45	187.096 6, 125.095 9

续表1

编号	t_R / min	化合物名称	分子式	离子模式	理论值 m/z	实测值 m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 m/z
22	19.91	4,5-二咖啡酰奎宁酸	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	515.119 5	515.118 8	-1.44	515.118 5, 353.087 1, 191.055 1, 179.033 8, 135.043 8
23	20.13	牛蒡子苷元-4'-O-β-龙胆二糖苷	C ₃₃ H ₄₄ O ₁₆	[M+HCOO] ⁻	741.261 1	741.261 2	0.07	741.266 7, 695.255 5, 341.107 3, 221.066 0, 179.055 0
24	20.39	橄榄苦苷 ^[17]	C ₂₅ H ₃₂ O ₁₃	[M-H] ⁻	539.177 0	539.176 7	-0.65	539.176 6, 377.123 6, 307.081 9, 275.091 5, 149.023 2
25	20.42	3-甲氧基苯甲醛	C ₈ H ₈ O ₂	[M+H] ⁺	137.059 7	137.059 9	1.46	137.059 8, 119.049 3, 109.065 3, 94.042 2, 91.054 8
26	20.51	4,5-O-二咖啡酰基奎宁酸甲酯	C ₂₆ H ₂₆ O ₁₂	[M-H] ⁻	529.135 2	529.134 8	-0.64	529.134 2, 367.103 2, 305.303 0, 193.049 7
27	20.60	N-阿魏羟色胺	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₄	[M+H] ⁺	353.149 6	353.149 6	0.06	353.149 5, 177.054 7, 145.028 5
28	20.94	邻苯二甲醚	C ₈ H ₁₀ O ₂	[M+H-H ₂ O] ⁺	121.065 4	121.065 1	-2.48	121.065 2, 103.054 8, 93.070 5
29	21.22	咖啡酸乙酯	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	[M-H] ⁻	207.066 3	207.065 3	-4.73	207.065 5, 179.034 0, 161.023 2, 135.043 9
30	21.24	反式-4-羟基-2-壬烯酸	C ₉ H ₁₆ O ₃	[M-H] ⁻	171.102 7	171.101 5	-7.13	171.101 5, 153.090 7, 127.111 5, 125.095 8, 99.080 2, 71.048 9
31	21.27	L-丁香脂素	C ₂₂ H ₂₆ O ₈	[M+H] ⁺	419.170 0	419.169 8	-0.48	419.166 1, 401.159 9, 383.148 0, 369.134 0, 330.109 8, 315.086 3
32	21.33	尾叶香茶菜丙素 ^[18]	C ₂₀ H ₃₀ O ₅	[M+HCOO] ⁻	395.207 5	395.209 6	5.31	396.213 9, 395.210 2, 349.201 8, 327.217 7, 96.958 8
33	21.46	松脂素	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	[M+H-H ₂ O] ⁺	341.138 9	341.138 2	-2.14	341.137 2, 323.127 6, 291.101 8, 271.096 8, 217.085 6, 187.075 4
34	21.50	右旋蛇菰宁	C ₂₀ H ₂₀ O ₆	[M+H] ⁺	357.133 3	357.132 9	-0.95	357.129 9, 339.122 5, 321.111 9, 307.095 7, 289.085 8, 261.090 9
35	21.70	补骨脂素	C ₁₁ H ₆ O ₃	[M+H] ⁺	187.039 0	187.039 1	0.64	187.039 2, 143.049 3
36	21.95	知母皂苷 C ^[19]	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	[M+HCOO] ⁻	947.485 7	947.485 9	0.17	947.485 1, 901.480 2, 739.427 9, 101.023 0, 89.023 1, 71.012 5
37	22.06	异补骨脂素	C ₁₁ H ₆ O ₃	[M+H] ⁺	187.039 0	187.039 1	0.59	187.039 2, 131.049 3
38	22.65	4-雄烯-11β-醇-3,17-二酮	C ₁₉ H ₂₆ O ₃	[M+H-H ₂ O] ⁺	285.185 5	285.184 7	-2.74	285.185 5, 267.175 1, 249.163 7, 239.179 7
39	23.07	二氢茉莉酸	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	[M+H] ⁺	213.148 5	213.148 6	0.19	195.137 9, 159.116 9, 149.132 6, 107.085 9
40	23.55	6-甲基-5-庚烯-2-酮	C ₈ H ₁₄ O	[M+H-H ₂ O] ⁺	109.101 8	109.101 6	-1.92	109.101 6, 81.070 6, 67.055 0, 55.054 9
41	25.22	假马齿苋皂苷 I ^[20]	C ₄₆ H ₇₄ O ₂₀ S	[M+HCOO] ⁻	1 023.447 6	1 023.443 5	-4.02	1 023.445 7, 977.439 0, 917.416 8, 795.380 8, 121.028 2
42	25.99	20-去氧巨大戟萜醇 ^[21]	C ₂₀ H ₂₈ O ₄	[M-H] ⁻	331.191 5	331.190 7	-2.26	331.238 2, 331.191 4, 313.181 2
43	26.13	异补骨脂二氢黄酮	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	[M-H] ⁻	323.128 9	323.128 1	-2.41	323.128 2, 305.296 9, 221.081 4, 203.070 4, 119.048 7
44	27.50	新补骨脂素异黄酮	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	[M-H] ⁻	321.113 2	321.112 3	-2.87	321.112 5, 265.049 9
45	28.15	补骨脂二氢黄酮	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	[M-H] ⁻	323.128 9	323.128 0	-2.69	323.128 2, 305.283 1, 221.081 1, 203.070 2, 159.080 0, 119.048 9
46	28.36	十七酸甲酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	[M+NH ₄] ⁺	302.305 4	302.305 3	-0.13	303.308 7, 302.305 6
47	29.32	通关藤苷 B	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₄	[M+NH ₄] ⁺	798.463 4	798.464 4	1.19	663.375 4, 603.354 2, 473.290 6, 373.237 8, 313.216 3, 113.060 1
48	29.43	补骨脂查尔酮	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	[M-H] ⁻	323.128 9	323.128 0	-2.79	323.128 1, 305.294 2, 221.080 9, 203.070 3, 119.049 0
49	29.52	补骨脂定	C ₂₀ H ₁₆ O ₅	[M-H] ⁻	335.092 5	335.092 0	-1.40	335.091 8, 312.027 4, 280.036 1
50	30.40	通关藤苷 I ^[22]	C ₄₄ H ₆₂ O ₁₄	[M+H-H ₂ O] ⁺	797.411 3	797.411 9	0.79	675.375 1, 311.200 5, 293.190 1, 145.086 2, 113.060 2
51	30.47	异补骨脂查尔酮	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	[M-H] ⁻	323.128 9	323.128 0	-2.82	323.128 2, 221.081 1, 203.070 3, 119.048 8
52	30.69	通关藤苷 H ^[22]	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	[M+NH ₄] ⁺	812.479 1	812.480 1	1.21	491.301 5, 389.232 4, 347.221 5, 329.211 2, 145.086 2
53	31.02	圆柚酮 ^[23]	C ₁₅ H ₂₂ O	[M+H] ⁺	219.174 3	219.174 6	1.37	219.174 7, 161.133 1, 131.085 8
54	31.23	次甘氨酸查耳酮	C ₂₅ H ₂₆ O ₄	[M-H] ⁻	389.175 8	389.175 0	-2.11	389.175 1, 305.262 9, 320.103 4, 303.102 0, 277.049 8, 265.050 0
55	33.61	岩芹酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	[M+NH ₄] ⁺	300.289 7	300.289 6	-0.50	300.290 0, 283.263 3, 62.060 8
56	33.72	棕榈酰甘氨酸	C ₁₈ H ₃₅ NO ₃	[M-H] ⁻	312.254 4	312.253 9	-1.57	312.254 2, 305.280 8, 209.094 2, 74.023 4
57	33.90	2-羟基棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₃	[M-H] ⁻	271.227 9	271.227 6	-0.96	271.227 5, 225.221 7
58	34.12	2-油酰胺基乙酸	C ₂₀ H ₃₇ NO ₃	[M-H] ⁻	338.270 1	338.269 6	-1.45	339.125 6, 338.269 8, 116.927 2, 74.023 5
59	34.26	因香酚 ^[24]	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	[M+H] ⁺	307.263 2	307.263 3	0.59	307.262 3, 261.221 6, 243.211 2, 137.133 2, 123.117 0
60	34.28	松香酸 ^[25]	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	[M+H] ⁺	303.231 9	303.232 1	0.73	303.231 2, 257.226 1, 208.543 8, 149.132 6, 135.117 3, 123.117 3

3.2 质谱裂解途径

3.2.1 黄酮类 该类化合物基本母核为 2-苯基色原酮, 即 2 个苯环通过 3 个碳原子连接形成的 C₆-

C₃-C₆ 结构。在二级质谱的高能碰撞条件下, 其主要裂解方式包括糖苷键断裂、逆狄尔斯-阿尔德 (RDA) 裂解重排及 H₂O、CO₂ 等中性丢失。

以化合物 **45** 为例, 其保留时间为 28.15 min, 负离子模式下的准分子离子峰为 m/z 323.128 0 $[M-H]^-$, 推测其分子式为 $C_{20}H_{20}O_4$ 。准分子离子峰发生 RDA 裂解, 得到碎片离子 m/z 203.070 2, 继续失去一分子 CO_2 得到 m/z 159.080 0, 再失去一分子 C_3H_4 得到 m/z 119.048 9。基于上述裂解行为进行二级质谱碎片的精准匹配, 推测该化合物为补骨脂二氢黄酮, 其二级质谱镜像对比图及可能的裂解途径见图 2。

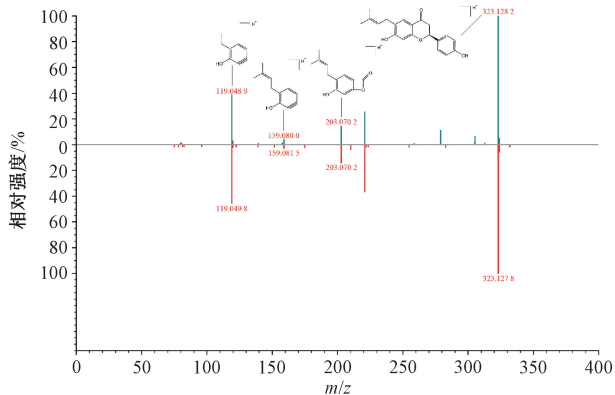


图 2 补骨脂二级质谱镜像对比图及可能的裂解途径

化合物 **54** 的保留时间为 31.23 min, 负离子模式下的准分子离子峰为 m/z 389.175 0 $[M-H]^-$, 推测其分子式为 $C_{25}H_{26}O_4$ 。准分子离子峰失去一分子 C_5O_9 得到碎片离子 m/z 320.103 4, 再脱去一分子 H_2O 或 C_4H_7 产生碎片离子 m/z 303.102 0、265.050 0。基于上述裂解行为进行二级质谱碎片的精准匹配, 推测该化合物为次甘酸查耳酮, 其二级质谱镜像对比图及可能的裂解途径见图 3。

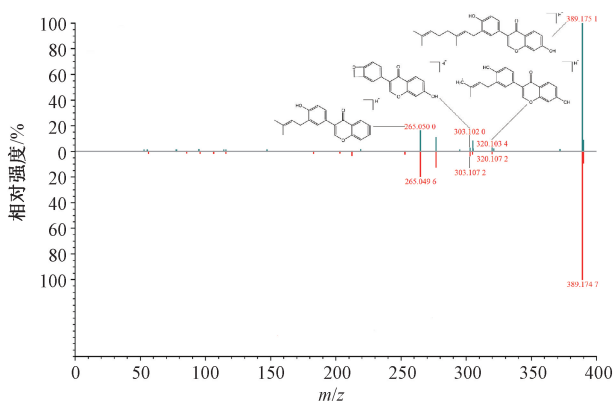


图 3 次甘酸查耳酮二级质谱镜像对比图及可能的裂解途径

3.2.2 苯丙素类 它是一类苯环与 3 个直链碳连接 (C_6-C_3) 构成的化合物, 在 高能碰撞下易丢失 CO 、 CO_2 、 CH_3 等中性碎片。

以化合物 **19** 为例, 其保留时间为 19.02 min,

负离子模式下的准分子离子峰为 m/z 515.118 7 $[M-H]^-$, 推测其分子式为 $C_{25}H_{24}O_{12}$ 。准分子离子峰失去一分子 $C_9H_9O_3$, 得到碎片离子 m/z 353.087 2, 继续失去一分子 $C_9H_6O_3$ 或 $C_7H_{10}O_5$ 得到 m/z 191.055 1、179.033 9。基于上述裂解行为进行二级质谱碎片的精准匹配, 推测该化合物为 1, 3-二咖啡酰奎宁酸, 其二级质谱镜像对比图和可能的裂解途径见图 4。

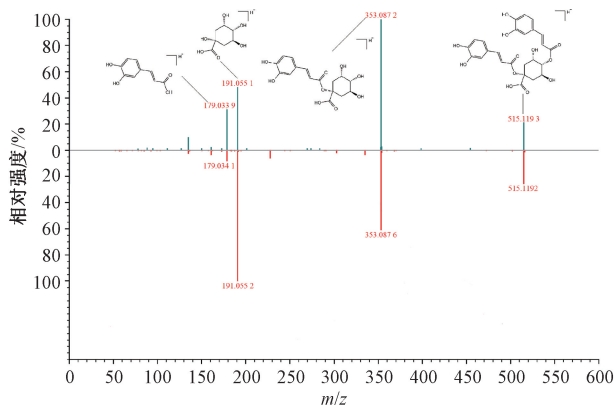


图 4 1, 3-二咖啡酰奎宁酸二级质谱镜像对比图及可能的裂解途径

化合物 **29** 的保留时间为 21.22 min, 负离子模式下的准分子离子峰为 $[M-H]^-$ m/z 207.065 3, 推测其分子式为 $C_{11}H_{12}O_4$ 。准分子离子峰 $[M-H]^-$ 失去一分子 C_2H_4 , 得到碎片离子 m/z 179.034 0, 继续丢失一分子 H_2O 得到 m/z 161.023 2, 再失去一分子 CHO 得到 m/z 135.043 9。基于上述裂解行为进行二级质谱碎片的精准匹配, 推测该化合物为咖啡酸乙酯, 其二级质谱镜像对比图和可能的裂解途径见图 5。

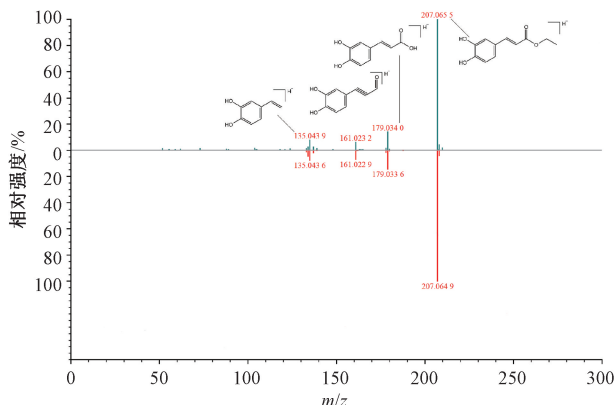


图 5 咖啡酸乙酯二级质谱镜像对比图及可能的裂解途径

3.2.3 萜类 该类化合物由异戊二烯聚合而成, 以游离或与糖结合成苷或酯的形式存在, 故糖苷键断裂, H_2O 、 CO 等中性丢失为萜类的主要裂解

特征。

以化合物 **24** 为例，其保留时间为 20.39 min，负离子模式下的准分子离子峰为 m/z 539.176 7 $[M-H]^-$ ，推测其分子式为 $C_{25}H_{32}O_{13}$ 。准分子离子峰失去一分子葡萄糖得到碎片离子 m/z 377.123 6，再失去一分子 C_4H_6O 得到 m/z 307.081 9。基于上述裂解行为进行二级质谱碎片的精准匹配，并结合文献 [17] 推测该化合物为橄榄苦苷，其二级质谱镜像对比图和可能的裂解途径见图 6。

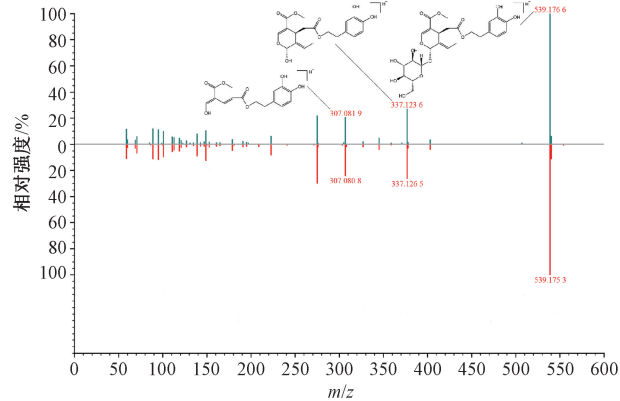


图 6 橄榄苦苷二级质谱镜像对比图及可能的裂解途径

化合物 **60** 的保留时间为 34.28 min，正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 303.232 1 $[M+H]^+$ ，推测其分子式为 $C_{20}H_{30}O_2$ 。准分子离子峰失去一分子 CH_2O_2 得到碎片离子 m/z 257.221 6，继续失去一分子 C_8H_{12} 得到 m/z 149.132 6，再失去一分子 CH_2 得到 m/z 135.117 3。基于上述裂解行为进行二级质谱碎片的精准匹配，并结合文献 [25] 推测该化合物为松香酸，其二级质谱镜像对比图和可能的裂解途径见图 7。

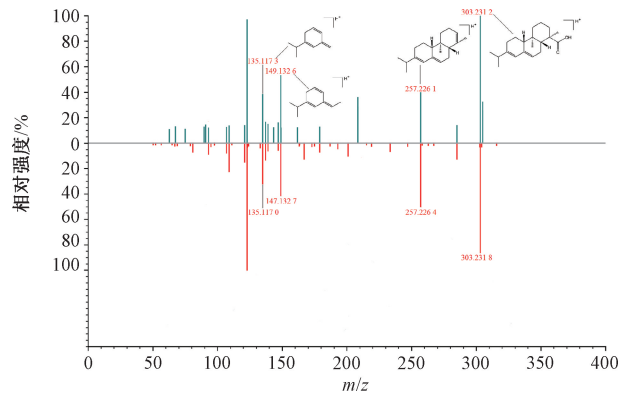


图 7 松香酸二级质谱镜像对比图及可能的裂解途径

3.2.4 其他类 在盒果藤中还鉴定出其他类化合物，包括有甾体类、有机酸类、氨基酸类、糖类等化合物。

以化合物 **6** 为例，其保留时间为 0.83 min，正离子模式下的准分子离子峰为 $[M+Na]^+ m/z$ 527.158 2，推测其分子式为 $C_{18}H_{32}O_{16}$ 。准分子离子峰 $[M+Na]^+$ 失去一分子葡萄糖，得到碎片离子 m/z 365.105 2，失去一分子 H_2O 得到 m/z 347.094 7，再失去一分子蔗糖得到 m/z 203.052 7，再失去一分子 H_2O 得到 m/z 185.042 2。基于上述裂解行为进行二级质谱碎片的精准匹配，推测该化合物为糖类化合物松三糖，其二级质谱镜像对比图和可能的裂解途径见图 8。

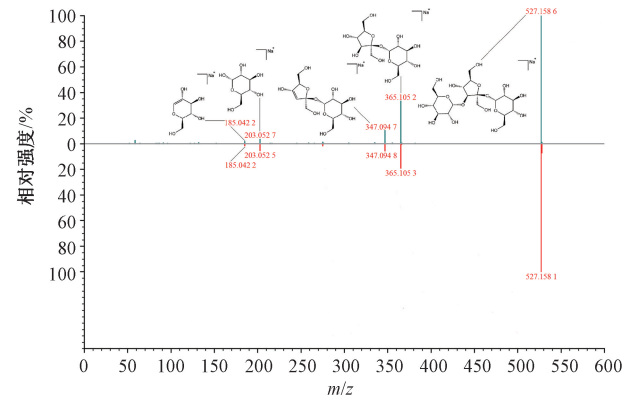


图 8 松三糖二级质谱镜像对比图及可能的裂解途径

化合物 **16** 的保留时间为 1.46 min，正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 124.039 6 $[M+H]^+$ ，推测其分子式为 $C_6H_5NO_2$ 。相关二级碎片离子有 m/z 96.044 8 $[M+H-H_2O]^+$ 、80.050 0 $[M+H-CO_2]^+$ 。基于上述裂解行为进行二级质谱碎片的精准匹配，推测该化合物为羧酸类化合物烟酸，其二级质谱镜像对比图和可能的裂解途径见图 9。

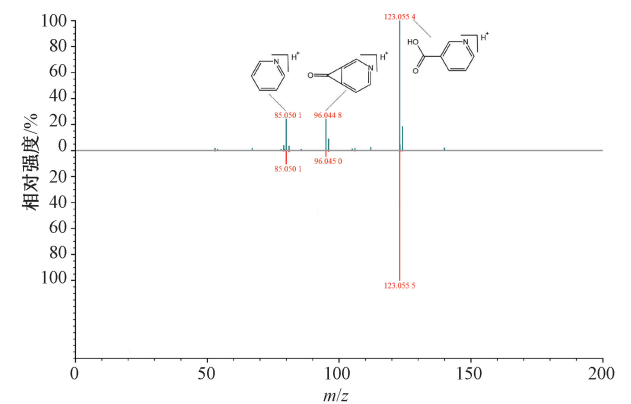


图 9 烟酸二级质谱镜像对比图及可能的裂解途径

4 讨论与结论

本研究采用 UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS 结合生物天然产物 UPLC-HRMS 数据库，从盒果藤中鉴定得到 60 种成分，提升了鉴定准确性，尤其在

区分同分异构体方面具有明显优势。

在实际分析过程中, 本研究发现多个同分异构体仅依靠质谱信息难以被准确区分。例如, 4个查尔酮类同分异构体异补骨脂二氢黄酮(43, $t_R = 26.13$ min)、补骨脂二氢黄酮(45, $t_R = 28.15$ min)、补骨脂查尔酮(48, $t_R = 29.43$ min)、异补骨脂查尔酮(51, $t_R = 30.47$ min)的分子式均为 $C_{20}H_{20}O_4$, 负离子模式下均具有相似的母离子 m/z 323.12 $[M-H]^-$, 二级质谱均发现 m/z 119.04、203.07、305.25等近似离子, 仅靠传统解谱方法易误判, 而通过与数据库中对照品的保留时间进行比对, 能准确区分它们在总离子流图中的位置, 从而在复杂样品中的准确性; 苯丙素类的1, 3-二咖啡酰奎宁酸(19, $t_R = 19.02$ min)与4, 5-二咖啡酰奎宁酸(22, $t_R = 19.91$ min)亦存在类似问题, 两者分子式为 $C_{25}H_{24}O_{12}$, 负离子模式下母离子实测值均为 m/z 515.11 $[M-H]^-$, 二级质谱均检出 m/z 135.04、179.03、191.05等特征离子, 根据数据库中标准保留时间能判断总离子流图中这2个相邻峰的归属, 避免误判为同一成分; 糖类同分异构体松三糖(6, $t_R = 0.83$ min)与蔗糖三糖(15, $t_R = 1.40$ min)同样需要根据保留时间区分, 两者分子式为 $C_{18}H_{32}O_{16}$, 正离子模式下母离子实测值均为 m/z 527.15 $[M+Na]^+$, 二级质谱均含有碎片离子 m/z 347.09、365.10, 仅靠质谱信息易混淆, 而与数据库标准保留时间对比后可精准匹配总离子流图中的色谱峰。

现代药理研究发现, 盒果藤药效源于多元化学成分体系。其中, 甾醇是抗炎关键成分, 其甲醇提取物可显著抑制卵白蛋白所致大鼠水肿^[8]; 黄酮能抑制 α -淀粉酶, 降低HFD-STZ诱导2型糖尿病大鼠血糖^[9]; 糖苷类具有抗肝肾毒性潜力^[10-11]; 咖啡酰奎宁酸类对肿瘤细胞具有抑制作用^[12]; 多糖具有抗氧化抗炎活性^[13], 与中医将该药材用于治疗水肿、关节炎、糖尿病、肝脏疾病及调节肠道功能一致。本研究所建立的方法可高效准确地鉴定盒果藤化学成分, 为该药材药效物质基础分析及其药理活性考察提供了理论依据, 并为其他中药复杂体系中同分异构体的准确识别提供了新思路。

参考文献:

[1] 张彦福, 杨真, 屈相玲, 等. 盒果藤在吾尔医学中应用的历史沿革[J]. 中国民族民间医药杂志, 2001, 10(3):

164-165; 186.
[2] 苏舒. 通滞苏润江胶囊治疗痛风性关节炎的效果观察[J]. 内蒙古中医药, 2022, 41(7): 45-46.
[3] 王瑞, 宋平, 高海峰. 通滞苏润江胶囊在治疗痛风性关节炎中的应用[J]. 山西中医, 2014, 30(10): 52-53.
[4] 徐念智. 壮药盒果藤活性成分及质量控制研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2022.
[5] 李兵, 李俊, 廖广凤, 等. 壮药盒果藤化学成分的研究[J]. 中药材, 2022, 45(3): 594-600.
[6] 李俊, 陈李璟, 卢汝梅, 等. 壮药盒果藤化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药导报, 2020, 26(6): 99-104.
[7] 李俊, 廖广凤, 徐念智, 等. 盒果藤化学成分及其抗炎活性[J]. 中成药, 2023, 45(1): 94-98.
[8] Ved A, Shukla S K, Singh N, et al. Pharmacognostical standardization, isolation of phytoconstituents (β -sitosterol), HPTLC analysis of extracts of *Operculina turpethum* (Linn.) roots and evaluation of cytotoxic, *in vitro*, and *in vivo* anti-inflammatory activities[J]. *Lett Org Chem*, 2022, 19(8): 636-650.
[9] Choudhary N, Khatik G L, Sharma R, et al. Ameliorative potential of *Operculina turpethum* against streptozotocin-induced diabetes in rats: biochemical and histopathological studies[J]. *3 Biotech*, 2021, 11(6): 309.
[10] Sharma V, Singh M. Antinephrotoxic efficacy of *Operculina turpethum* and its isolated stigma-5, 22 dien-3-O- β -D-glucopyranoside against *N*-nitrosodimethylamine induced renal carcinogenesis in male mice[J]. *Int J Phytopharm*, 2014, 4(2): 40-47.
[11] Ahmad R, Ahmed S, Khan N U, et al. *Operculina turpethum* attenuates *N*-nitrosodimethylamine induced toxic liver injury and clastogenicity in rats[J]. *Chem Biol Interact*, 2009, 181(2): 145-153.
[12] 杨馨, 黄颖, 徐念智, 等. 壮药盒果藤咖啡酰奎宁酸类化学成分及抗肿瘤活性研究[J]. 中药材, 2025, 48(2): 348-354.
[13] 王晨曦. 盒果藤多糖分离纯化、结构修饰及其生物活性研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2024.
[14] 刘小红, 李永刚, 孔芳, 等. 血浆中85种有毒生物碱快速筛查方法的建立及其应用[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(6): 1202-1211.
[15] 陈梦, 王伟影, 何志豪, 等. 基于轨道阱高分辨质谱联用技术建立食品中罂粟壳生物碱的快速筛查方法[J]. 分析科学学报, 2024, 40(1): 111-116.
[16] 唐晓琴, 赵舰, 贺丽迎, 等. 72种生物碱高分辨质谱数据库建立与应用[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(3): 228-233.
[17] 闫佳靓, 王海超, 张玲, 等. 基于UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS的秦皮成分分析[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(8): 1009-1020.
[18] 姜春保, 曾孝玉, 聂慧, 等. 尾叶香茶菜总二萜的抗炎活性及其LC-MS成分分析[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(A2): 205-207; 214.

- [19] 蔡泽荣, 胡玉梅, 刘文君, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 和 GC-MS 法分析银翘清热片化学成分[J]. 南京中医药大学学报, 2025, 41(9): 1198-1212.
- [20] Sookying S, Pekthong D, Oo-Puthinan S, et al. Quantitation of bacopaside I in rat biological samples by LC-QTOF-MS/MS and its pharmacokinetic application[J]. *Nat Prod Commun*, 2017, 12(6): 893-896.
- [21] Liu Q B, Li W, Huang L, et al. Identification, structural modification, and dichotomous effects on human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) replication of ingenane esters from *Euphorbia kansui*[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 156(8): 618-627.
- [22] 颜 昱, 李 军, 宋月林, 等. 利用 HPLC-IT-TOF-MS 表征 通关藤化学轮廓[J]. 中草药, 2018, 49(21): 5051-5060.
- [23] 周道堂, 段 慧, 彭 潇, 等. 基于 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术的飞龙掌血叶化学成分研究[J]. 中南药学, 2025, 23(11): 3189-3197.
- [24] 何 钦, 颜干明, 殷海霞, 等. 基于 UPLC-Q/TOF-MS 结合多元统计学方法分析不同来源乳香的化学成分[J]. 南京中医药大学学报, 2025, 41(5): 668-677.
- [25] 苟晓玲, 丁 银, 罗玉婷, 等. 基于超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱的藏药圆柏子化学成分分析研究[J]. 成都中医药大学学报, 2023, 46(3): 22-30.

以茯苓为例建立中成药 LPCR 分子鉴定方法

田艳秋¹, 黄灵鹤¹, 徐德宏¹, 谭朝阳^{1,2*}

(1. 湖南中医药大学药学院生物工程实验室, 湖南长沙 410208; 2. 湖南丹检医药科技有限公司, 湖南长沙 410208)

摘要: 目的 以茯苓为例, 建立一种适合中成药的全新分子鉴定技术——连接依赖 PCR (LPCR)。方法 根据茯苓的单核苷酸多态性 (SNP) 位点, 设计荧光探针和 PCR 引物。基于 Ct 值对检测条件进行优化, 考察方法特异性, 并对市售含茯苓的中成药进行检测。**结果** LPCR 具有良好的特异性、耐用性和灵敏度, 茯苓及六味地黄制剂 (丸、胶囊、滴丸、颗粒)、藿香正气制剂 (水、合剂、口服液、滴丸) 中均成功检测出相应条带, 并且缺茯苓阴性样品对检测结果无干扰。最低 10 个拷贝数时, 采用电泳法仍可检出茯苓。**结论** LPCR 可准确检测出不同剂型中成药中茯苓的特异性 DNA, 适用于高度降解 DNA 样品的检测, 通用性强, 可为该类制剂质量控制提供新的技术手段。

关键词: 中成药; 茯苓; 连接依赖 PCR (LPCR); 单核苷酸多态性 (SNP); 分子鉴定

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)05-1738-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.05.046

近年来, 分子生物学技术广泛应用于中药鉴定中^[1], 其中 DNA 条形码技术已被收入 2020 年版《中国药典》^[2], 成为中药材鉴定的法定方法^[3-5], 但需进行测序分析, 难以用于日常检测。限制性内切酶长度多态性 (PCR-RFLP) 已用于川贝母、霍山石斛等中药的鉴定中^[6], 特异性、重复性良好, 但要求检测所需差异位点正好是某种限制性内切酶的识别序列, 只适用于少数品种。位点特异性 PCR 在蛇类药材中得到应用, 在配方颗粒中也有大量报道^[7-9], 但其检测条件要求严格, 条件稍微改变就会产生不稳定的结果^[10]。此外, 荧光定量

PCR (qPCR)、多重连接探针扩增法 (MLPA)、高分辨率熔解曲线 (HRM)、环介导等温扩增 (LAMP)、多重 PCR^[11-17] 等分子检测技术在中药鉴定中均有应用, 但所需靶 DNA 序列较长, 一般为 100~500 bp。中成药中大多数药味经长时间高温提取、浓缩、干燥等程序处理后 DNA 降解严重、含量低微, 除粉末入药的药味外现有分子检测方法难以用于其质量控制^[18], 也鲜有分子鉴定的报道。

课题组前期创建了连接依赖 PCR (LPCR) 分子检测技术, 可对短至 10 bp 的靶 DNA 进行检测, 适用于严重降解的 DNA, 解决了中成药中药味分

收稿日期: 2025-10-11

基金项目: 湖南省自然科学基金面上项目 (2025JJ50100, 2025JJ80122); 湖南中医药大学“十四五”重点学科——生物工程学科 [校行发规字 [2023] 2号]; 湖南中医药大学研究生科研创新项目资助 (2024CX181)

作者简介: 田艳秋 (2001—), 女, 硕士, 从事中药资源及其质量研究。E-mail: tianyanqiu@stu.hnucm.edu.cn.

* 通信作者: 谭朝阳 (1970—), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事中药资源及其质量研究。E-mail: tomtzy@hnucm.edu.cn.