

UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 结合离子排除列表快速鉴定侗药马卡列丙中化学成分

李凯琳¹, 熊佩¹, 龚开妍¹, 彭婕¹, 史思林¹, 蔡伟^{1,2,3*}

¹湖南医药学院药学院; ²新型抗体药物及其智能运输系统湖南省重点实验室; ³侗医药研究湖南省重点实验室, 怀化 418000

摘要:为进一步阐明侗药马卡列丙中未知的化学成分,采用UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS快速分析侗药马卡列丙中的化学成分。色谱柱为Thermo Scientific Hypersil GOLD(100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm),流动相为0.1%甲酸水-乙腈,梯度洗脱,流速为0.3 mL/min,进样量为2 μL,负离子模式下,采用一级母离子全扫描和数据依赖性前三强二级子离子扫描并结合排除离子列表模式(Full Scan MS/dd-MS²/Exclusion list)采集数据。通过对照品,参考文献和数据库从侗药马卡列丙中共鉴定出40个化合物,均为从该植物中首次发现。该方法可以快速、有效、准确地对侗药马卡列丙中化学成分进行分析,为侗药马卡列丙的质量控制和药效物质基础研究奠定基础。

关键词:马卡列丙;UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS;成分鉴定;离子排除列表

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)2-0250-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.2.009

Rapid characterization of constituents in *Duhaldea nervosa* based on UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS combined with exclusion list technique

LI Kai-lin¹, XIONG Pei¹, GONG Kai-yan¹, PENG Jie¹, SHI Si-lin¹, CAI Wei^{1,2,3*}

¹School of Pharmaceutical Sciences, Hunan University of Medicine;

²Hunan Province Key Laboratory for Antibody-based Drug and Intelligent Delivery System, Hunan University of Medicine;

³Hunan Provincial Key Laboratory of Dong Medicine, Hunan University of Medicine, Huaihua 418000, China

Abstract: To investigate the unknown constituents of *Duhaldea nervosa* by UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS combined with exclusion list technique. The analysis was performed on a Thermo Scientific Hypersil GOLD (100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm), with a mobile phase consisting of 0.1% formic acid in water and acetonitrile for gradient elution. The flow rate was 0.3 mL/min and the injection volume was 2 μL. The data was acquired in negative mode at full scan and at the MS² data triggered by data-dependent MS² combined with exclusion list scanning. Finally, a total of 40 constituents was identified by comparing the reference compounds, bibliography data and database. To our best knowledge, it is the first time to report those compounds from *Duhaldea nervosa*. A rapid, effective, and accuracy method was built to study the constituents of *Duhaldea nervosa* in this study, which will be very helpful for the further study in quality control and material basis.

Key words: *Duhaldea nervosa*; UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS; identification; exclusion list

侗药马卡列丙 *Duhaldea nervosa* 是菊科旋覆花属显脉旋覆花的全草,分布于广西、云南、贵州等地,又有毛秀才、小黑药之称,具有祛风湿、通经络、消肿止痛的作用,主要用于风湿性关节炎、腰腿痛、骨折等病痛^[1]。目前国内外关于马卡列丙的化学成分

的系统研究较少,已分离得到的化学成分仅有57个,主要为挥发油类,甙体,和萜类等化学成分^[2],本课题组前期采用液质联用结合质谱树相似度过滤技术鉴定了47个绿原酸类成分^[3],其他成分鲜有报道。近年来,超高效液相色谱高分辨质谱联用仪,因其高分辨率,灵敏度和高分离度,被广泛的应用于食品,环境,药物等,尤其是中药中成分的定性分析。为了进一步深入的了解马卡列丙中未知的化学成分,本实验采用UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS结合

收稿日期:2019-10-10 接受日期:2020-03-03

基金项目:国家自然科学基金青年项目(81603393);湖南省自然科学基金青年项目(2018JJ3376);湖南省教育厅资助科研项目(19A353)

*通信作者 Tel:86-745-2381210;E-mail:wcai@bucm.edu.cn

离子排除列表,快速、有效、准确地对侗药马卡列丙中化学成分进行了分析鉴定,为侗药马卡列丙的质量控制和药效物质基础研究奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Thermo Q-Exactive Focus 四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪与 Dionex UltiMate 3000 戴安高效液相色谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),Mighty-10 超纯水机(上海砾鼎水处理设备有限公司),电子天平(福州华志科学仪器有限公司)。

1.2 实验材料

马卡列丙购自云南,经湖南医药学院汪治教授鉴定为显脉旋覆花 *Duhaldea nervosa* 的根。色谱甲醇、乙腈(Macklin 公司)、甲酸(赛默飞世尔科技有限公司)均为液质纯,其他试剂皆为分析纯。

柠康酸(批号 GE6650000)、4-羟基苯甲酸(批号 DH1925000)、水杨酸(批号 VO0525000)、没食子酸(批号 LW7525000)、顺式乌头酸(批号 20190512)、辛二酸(批号 20190620)、壬二酸(批号 CM1980000)、阿魏酸(批号 UD3365500)、十四烷二酸(批号 20190601)、脱落酸(批号 20190529)、间苯二甲酸(批号 NT2007000)均购自山东西亚化学股份有限公司;L-(-)-苹果酸(批号 M105695)、N-乙酰缬氨酸(批号 A109366)、4-香豆酸(批号 LotK1805057)、咖啡酸(批号 C108306)、柠檬酸(批号 C108869)、丁香酸(批号 S104156)均购自 aladdin;酒石酸(批号 2018042074)购自天津致远化学试剂有限公司,以上纯度均大于 98%。

2 试验方法

2.1 对照品溶液的制备

分别精确称取柠康酸、L-(-)-苹果酸、4-羟基苯甲酸、水杨酸、酒石酸、N-乙酰缬氨酸、4-香豆酸、间苯二甲酸、没食子酸、顺式乌头酸、辛二酸、咖啡酸、壬二酸、柠檬酸、阿魏酸、丁香酸、十四烷二酸、脱落酸适量,置于 10 mL 的容量瓶中,用甲醇定容,即得。

2.2 供试品溶液的制备

精确称取马卡列丙粉末 50 g 置于圆底烧瓶中,加入 400 ml 50% 乙醇溶液,回流提取两次,每次 1 h,合并所得提取液,在 50 °C 条件下减压浓缩后得浸膏,浸膏用适量的甲醇溶解,样品溶液经 0.22 μm 的微孔滤膜过滤,取续滤液即得供试品溶液。

2.3 色谱条件

Thermo Scientific Hypersil GOLD(100 mm × 2.1

mm,1.9 μm),流速为 0.3 mL/min,柱温为 35 °C,进样量为 2 μL,流动相为 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B)梯度洗脱:0~2 min,95%→90% A;2~5 min,90%→80% A;5~10 min,80%→70% A;10~12 min,75%→45% A;12~20 min,45%→20% A;20~25 min,20%→5% A;25~26 min,5%→95% A;26~30 min,95% A。

2.4 质谱条件

电喷雾离子源,负离子模式下扫描,数据采用一级母离子全扫描和数据依赖性前三强二级子离子扫描并结合排除离子列表模式(Full Scan MS/dd-MS²/Exclusion list),质谱扫描范围: m/z 100~1 200;分辨率为 35 000;喷雾电压为 3 kV;鞘气压力为 30 arb;辅助气压力为 10 arb;毛细管温度为 320 °C;S-lens 为 50。

3 结果与分析

3.1 液质条件的优化

为了能获得更好的色谱峰型和分离度,本实验考察了不同的溶剂种类,如甲醇,乙腈,水等;不同的酸的不同浓度,如 0.1% 甲酸、0.05% 甲酸、0.1% 乙酸、0.05% 乙酸等;不同的流动相梯度;不同的柱温;最终结果表明乙腈和 0.1% 甲酸水,在 35 °C 时分离效果最合适。

常规的数据采集模式(Full Scan MS/dd-MS²),对于共流出时的微量成分(强度非前三强的离子),不能采集到二级数据,因此这类成分在用液质进行结构鉴定时,往往会造成丢失。为了解决微量成分的二级质谱数据采集问题,本实验建立了数据采用一级母离子全扫描和数据依赖性前三强二级子离子扫描并结合排除离子列表的数据采集模式。排除离子列表中的离子的来源有两方面,来源一为仪器本身的离子干扰,具体方法为,进空白溶液,从空白溶液中,选择离子响应强度前 100 强的离子,导入排除离子列表。来源二为本课题组前期从该植物中已鉴定的化合物,主要为绿原酸类成分。使用该方法,可以采集到更多微量未知成分的二级质谱数据,用于成分的结构解析。

3.2 样品中成分的鉴定

通过对照品,参考文献和数据库,从侗药马卡列丙中共鉴定了 40 个化学成分,其高分辨提取离子流图如图 1 所示,各化学成分的保留时间,准分子离子峰的质荷比的理论值和实测值,碎片离子等数据,如表 1 所示。

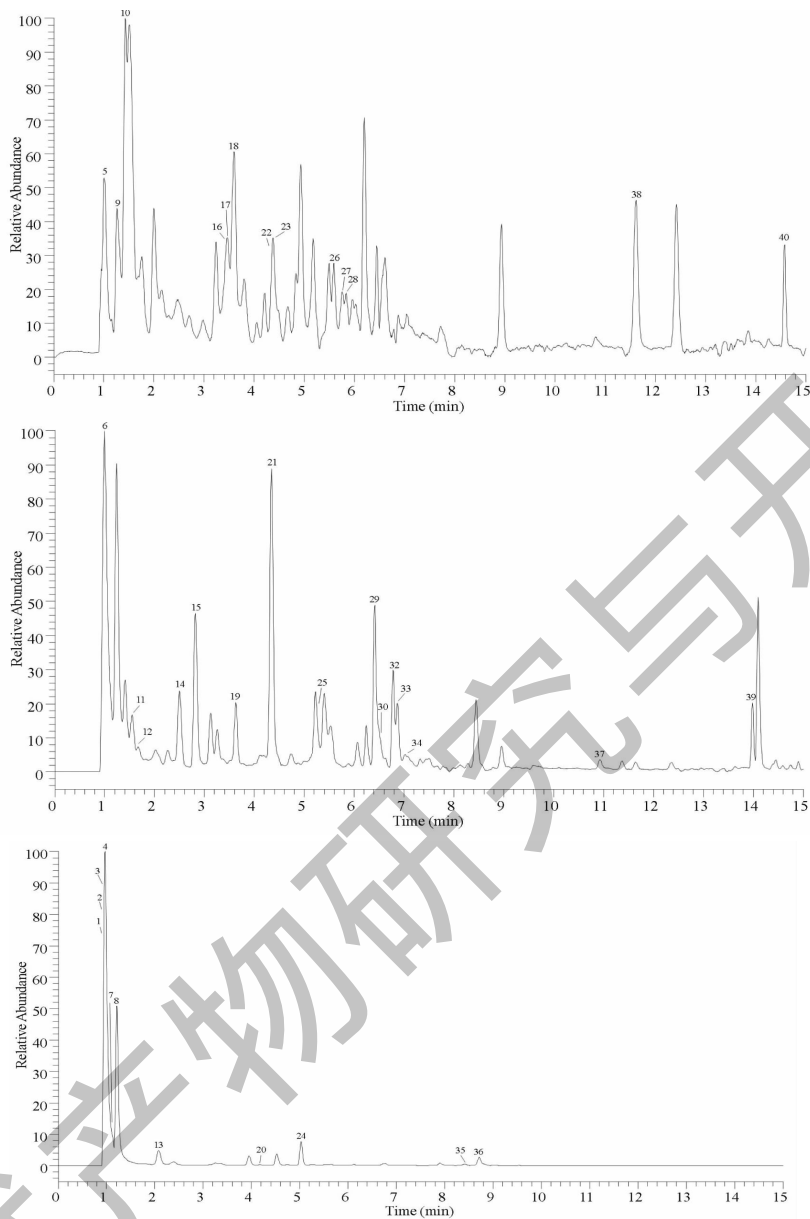


图1 马卡列丙提取物在负离子模式下的 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 提取离子流图

Fig. 1 The extract ion chromatogram of in negative ion mode of extract from *D. nervosa* using UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS

表1 马卡列丙中化学成分鉴定结果

Table 1 Identification results of the chemical constituents in *D. nervosa*

序号 No.	t_R (min)	理论值 Theoretical mass	实际值 Experimental mass	误差 Error (ppm)	分子式 Formula [M-H] ⁻	裂解碎片 MS/MS fragment	鉴定结果 Identification result
1	0.95	195.051 03	195.050 05	-5.00	C ₆ H ₁₁ O ₇	MS ² [195]:75.007 3(100),129.018 1(81),99.007 5(32),87.002 4(24)	葡萄糖醛酸
2	0.95	149.009 16	149.007 98	-4.25	C ₄ H ₅ O ₆	MS ² [149]:87.007 3(100),72.991 7(53),59.012 4(23),103.002 3(21)	酒石酸
3	0.96	133.014 25	133.012 97	-5.47	C ₄ H ₅ O ₅	MS ² [133]:115.002 3(100),71.012 4(42)	L-(-)-苹果酸
4	0.97	191.019 73	191.018 72	-5.27	C ₆ H ₇ O ₇	MS ² [191]:111.007 4(100),87.007 4(34),85.028 1(30)	柠檬酸

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	t_R (min)	理论值 Theoretical mass	实际值 Experimental mass	误差 Error (ppm)	分子式 Formula [M-H] ⁻	裂解碎片 MS/MS fragment	鉴定结果 Identification result
5	0.99	145.014 25	145.013 06	-4.40	C ₅ H ₅ O ₅	MS ² [145]:101.023 1(100),127.024 0(27),83.012 5(27),126.018 4(21),57.033 2(17)	2-氧戊二酸
6	0.99	173.009 16	173.008 21	-2.33	C ₆ H ₅ O ₆	MS ² [173]:111.007 5(100),85.028 1(16)	反式乌头酸
7	1.11	133.014 25	133.013 05	-4.87	C ₄ H ₅ O ₅	MS ² [133]:115.002 3(100),71.012 4(43)	D-(+)-苹果酸
8	1.24	173.009 16	173.008 13	-2.79	C ₆ H ₅ O ₆	MS ² [173]:85.028 1(100),111.007 4(29),129.018 1(25)	顺式乌头酸
9	1.26	188.056 46	188.055 57	-4.71	C ₇ H ₁₀ O ₅ N	MS ² [188]:128.034 1(100),102.054 7(66),144.065 5(38),59.012 5(35),170.044 9(29)	N-乙酰-谷氨酸
10	1.42	147.066 28	147.065 17	-3.83	C ₆ H ₁₁ O ₄	MS ² [147]:129.054 5(100),101.059 4(58),59.012 4(36)	甲羟戊酸
11	1.56	169.014 25	169.013 28	-2.47	C ₇ H ₅ O ₅	MS ² [169]:125.023 2(100)	没食子酸
12	1.69	129.019 33	129.018 17	-0.07	C ₅ H ₅ O ₄	MS ² [129]:85.028 1(100),72.991 7(55),83.048 8(24),128.034 0(18)	柠康酸
13	2.08	191.056 11	191.055 21	-4.72	C ₇ H ₁₁ O ₆	MS ² [191]:101.059 4(100),115.038 8(42),129.054 5(42),145.049 4(13),72.991 7(10)	D-(-)-奎宁酸
14	2.50	218.103 40	218.102 74	-3.01	C ₉ H ₁₆ O ₅ N	MS ² [218]:88.039 0(100),146.081 1(52)	泛酸
15	2.82	153.019 33	153.018 26	-3.42	C ₇ H ₅ O ₄	MS ² [153]:109.028 2(100)	原儿茶酸
16	3.42	151.040 07	151.038 96	-7.33	C ₈ H ₇ O ₃	MS ² [151]:121.064 5(100),107.048 9(79),123.043 8(68)	2-羟基苯乙酸
17	3.47	375.129 67	375.129 49	-0.48	C ₁₆ H ₂₃ O ₁₀	MS ² [375]:151.075 2(100),146.986 3(99),213.076 3(57),169.085 9(53),125.059 5(50),107.049 0(30),101.022 9(29)	Mussaenosidic acid
18	3.59	158.082 27	158.081 16	-3.53	C ₇ H ₁₂ O ₃ N	MS ² [158]:116.0704(100),130.9824(24)	N-乙酰缬氨酸
19	3.63	203.082 60	203.081 88	-3.55	C ₁₁ H ₁₁ O ₂ N ₂	MS ² [203]:116.049 2(100),74.023 3(38),72.007 7(32),142.065 0(27),159.091 8(21)	色氨酸
20	4.17	137.024 42	137.023 28	-8.30	C ₇ H ₅ O ₃	MS ² [137]:93.033 1(100)	4-羟基苯甲酸
21	4.34	175.061 20	175.060 24	-2.33	C ₇ H ₁₁ O ₅	MS ² [175]:115.038 7(100),113.059 4(38),85.064 5(33)	2-异丙基苹果酸
22	4.37	164.071 70	164.070 60	-3.37	C ₉ H ₁₀ O ₂ N	MS ² [164]:147.044 0(100),72.007 7(22)	苯丙氨酸
23	4.92	181.050 63	181.049 73	-1.95	C ₉ H ₉ O ₄	MS ² [181]:135.493 9(100),163.039 0(63),136.982 3(29),119.043 9(11)	4-羟基苯乳酸
24	5.03	179.034 98	179.033 98	-2.53	C ₉ H ₇ O ₄	MS ² [179]:135.043 9(100)	咖啡酸
25	5.33	197.045 55	197.044 69	-4.35	C ₉ H ₉ O ₅	MS ² [197]:182.021 0(100),153.054 3(23)	丁香酸
26	5.59	131.071 37	131.070 22	-4.57	C ₆ H ₁₁ O ₃	MS ² [131]:85.064 5(100)	2-羟基己酸
27	5.75	131.071 37	131.070 16	-5.03	C ₆ H ₁₁ O ₃	MS ² [131]:85.064 5(100)	2-羟基己酸
28	5.85	165.019 33	165.018 23	-6.68	C ₈ H ₅ O ₄	MS ² [165]:121.027 9(100)	间苯二甲酸
29	6.41	163.040 07	163.039 05	-2.88	C ₉ H ₇ O ₃	MS ² [163]:119.048 9(100),120.052 2(6)	4-香豆酸
30	6.53	165.055 72	165.054 72	-2.72	C ₉ H ₉ O ₃	MS ² [165]:121.064 6(100),147.043 9(25)	3-(4-羟基苯基)丙酸

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	t_R (min)	理论值 Theoretical mass	实际值 Experimental mass	误差 Error (ppm)	分子式 Formula [M-H] ⁻	裂解碎片 MS/MS fragment	鉴定结果 Identification result
31	6.77	165.055 72	165.054 69	-2.90	C ₉ H ₉ O ₃	MS ² [165]:121.064 6(100),106.041 1(19)	3-(4-羟基苯基)丙酸
32	6.79	173.081 93	173.080 93	-2.62	C ₈ H ₁₃ O ₄	MS ² [173]:111.080 2(100),146.986 3(58)	辛二酸
33	6.87	174.056 05	174.055 07	-2.49	C ₁₀ H ₈ O ₂ N	MS ² [174]:146.960 1(100),130.065 0(80),111.080 2(60)	吡啶-3-乙酸
34	7.02	193.050 63	193.049 82	-4.21	C ₁₀ H ₉ O ₄	MS ² [193]:178.026 1(100),134.036 1(86),149.059 6(42),137.023 1(16)	阿魏酸
35	8.41	137.024 42	137.023 27	-8.37	C ₇ H ₅ O ₃	MS ² [137]:93.033 4(100)	水杨酸
36	8.71	187.097 58	187.096 59	-5.30	C ₉ H ₁₅ O ₄	MS ² [187]:125.095 9(100),146.986 3(52)	壬二酸
37	10.93	263.128 88	263.128 85	-0.12	C ₁₅ H ₁₉ O ₄	MS ² [263]:219.138 4(100),201.127 6(65),151.075 3(46),152.083 0(32),139.075 1(22)	脱落酸
38	11.61	201.113 23	201.112 35	-4.39	C ₁₀ H ₁₇ O ₄	MS ² [201]:139.111 6(100),183.101 7(77),146.986 3(51)	3-叔丁基丙酸
39	13.99	187.133 97	187.133 15	-4.37	C ₁₀ H ₁₉ O ₃	MS ² [187]:59.012 4(100),146.986 3(22)	10-羟基癸酸
40	14.58	257.175 83	257.175 72	-0.44	C ₁₄ H ₂₅ O ₄	MS ² [257]:239.164 9(100),195.174 7(39)	十四烷二酸

3.3 化学成分鉴定

化合物 **2** ~ **4**、**8**、**11** ~ **12**、**18**、**20**、**24** ~ **25**、**28** ~ **29**、**32**、**34** ~ **37** 和 **40** 的保留时间分别为 0.95、0.96、0.97、1.24、1.56、1.69、3.59、4.17、5.03、5.33、5.85、6.41、6.79、7.02、8.41、8.71、10.93、14.58 min, 通过与对照品的保留时间, 高分辨质谱, 碎片离子比对, 准确鉴定为酒石酸、L-(-)-苹果酸、柠檬酸、顺式乌头酸、没食子酸、柠檬酸、N-乙酰缬氨酸、4-羟基苯甲酸、咖啡酸、丁香酸、间苯二甲酸、4-香豆酸、辛二酸、阿魏酸、水杨酸、壬二酸、脱落酸、十四烷二酸。

化合物 **6** 和 **7** 分别与化合物 **8** (顺式乌头酸) 和化合物 **3** (L-(-)-苹果酸) 具有相同的一级和二级质谱信息, 因此将化合物 **6** 和 **7** 分别鉴定为反式乌头酸和 D-(+)-苹果酸。

化合物 **1** 的准分子离子峰为 [M-H]⁻ m/z 195.050 05 (C₆H₁₁O₇, 5.00 ppm), 二级碎片离子为 75.007 3、129.018 1、99.007 5、87.002 4, 结合文献报道^[4], 鉴定为葡萄糖醛酸; 化合物 **5** 的保留时间为 0.99 min, 其分子式 [M-H]⁻ 为 C₅H₅O₅ (145.013 06, -4.40 ppm), 二级碎片为 101.023 1、127.024 0、83.012 5, 根据文献报道^[5], 鉴定为 2-氧戊二酸。

化合物 **9**、**19** 和 **22** 的准分子离子峰分别为 m/z 188.055 57、203.081 88 和 164.070 60 [M-H]⁻, 通

过与 Thermo 内置的数据库比对, 分别鉴定为 N-乙酰谷氨酸, 色氨酸和苯丙氨酸。

化合物 **10** 的准分子离子峰为 m/z 147.065 17 [M-H]⁻, 二级碎片离子为 m/z 129.054 5、101.059 4、59.012 4, 并结合文献报道^[6], 鉴定为甲羟戊酸。

化合物 **13** 的准分子离子峰为 m/z 191.055 21 [M-H]⁻, 产生了 m/z 101.059 4、115.038 8、129.054 5 和 145.049 4 的二级碎片离子, 根据文献报道^[7], 鉴定为 D-(-)-奎宁酸。

化合物 **14** 的保留时间为 2.50 min, 准分子离子峰为 m/z 218.102 74 [M-H]⁻, 二级碎片为 m/z 88.039 0 和 146.081 1, 结合文献^[8], 鉴定为泛酸。

化合物 **15** 的准分子离子峰为 m/z 153.018 26 [M-H]⁻, 通过丢失 CO₂, 形成 m/z 109.028 2 的二级碎片离子, 结合文献报道^[9], 鉴定为原儿茶酸。

化合物 **16** 的保留时间为 3.42 min, 产生 m/z 151.038 96 [M-H]⁻ 的准分子离子和 m/z 121.064 5、107.048 9、123.043 8 的二级碎片离子, 根据文献报道^[10], 鉴定为 2-羟基苯乙酸。

化合物 **17** 的保留时间为 3.47 min, 产生了 m/z 375.129 49 [M-H]⁻ 的准分子离子峰, 以 375.129 49 [M-H]⁻ 为母离子, 在其二级质谱图中, 碎片离子 m/z 213.075 9 是由中性丢失 1 分子葡萄糖基 ([M-H-Glc]⁻) 生成的, 基峰碎片离子 m/z 169.085 9 对应

$[\text{M-H-Glc-CO}_2]^-$, 结合文献^[11], 鉴定为 *mussaenosidic acid*。

化合物 **21** 的保留时间为 4.34 min, 准分子离子峰为 m/z 175.060 24 $[\text{M-H}]^-$, 产生了 m/z 115.038 7 的二级碎片离子, 结合文献报道^[12], 鉴定为 2-异丙基苹果酸。

化合物 **23** 的保留时间为 4.92 min, 产生 m/z 181.049 73 $[\text{M-H}]^-$ 准分子离子峰和 m/z 135.493 9 和 163.039 0 的二级碎片离子, 并结合文献报道^[13], 鉴定为 4-羟基苯乳酸。

化合物 **26** 和 **27** 的出峰时间为 5.59 和 5.75 min, 均得到 m/z 131.071 37 $[\text{M-H}]^-$ 的准分子离子峰, 且具有相同的二级碎片离子 m/z 85.064 5, 根据文献报道^[13], 鉴定为 2-羟基己酸的同分异构体。

化合物 **30** 和 **31** 的保留时间分别为 6.53 和 6.77 min, 均得到 m/z 165.054 7 $[\text{M-H}]^-$ 的质谱信号和二级碎片离子 m/z 121.064 6, 结合文献^[14], 鉴定为 3-(4-羟基苯基)丙酸的同分异构体。

化合物 **33** 的准分子离子峰为 m/z 174.055 07 $[\text{M-H}]^-$, 碎片离子为 m/z 135.043 9, 结合文献报道^[15], 鉴定为 吡啶-3-乙酸。

化合物 **38** 的保留时间为 11.61 min, 产生了 m/z 201.112 35 $[\text{M-H}]^-$ 的准分子离子峰和 m/z 139.111 6、183.101 7、146.986 3 的二级碎片离子, 结合文献^[16], 鉴定为 3-叔丁基丙酸。

化合物 **39** 的保留时间为 13.99 min, 准分子离子为 m/z 187.133 15 $[\text{M-H}]^-$, 二级碎片离子为 m/z 59.012 4 和 146.986 3, 根据文献报道^[17], 鉴定为 10-羟基癸酸。

4 讨论

本实验首次采用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 结合排除离子列表研究了侗药马卡列丙中的化学成分。排除离子列表可以很好的排除仪器中背景离子和已鉴定的化合物离子的干扰, 从而产生更多有用的二级质谱数据, 进而可以首次从该植物中鉴定更多未报道的化合物。本实验从侗药马卡列丙中鉴定了 40 个化学成分, 均是从该植物中首次发现。侗药马卡列丙具有祛风湿、通经络、消肿止痛的传统功效, 现代药理研究表明其主要活性为抗炎、镇痛和抗氧化。相关研究表明, 马卡列丙中分离得到的麝香草酚、异丁酸百里香酯和绿原酸类成分具有明显的抗炎和镇痛作用^[3,18]。本研究首次从马卡列丙中鉴定出的咖啡酸、没食子酸、水杨酸、奎尼酸、原儿茶

酸和香豆酸等化学成分拥有较强的抗炎活性^[19,20]; 酒石酸、苹果酸、柠檬酸、原儿茶酸和阿魏酸等具有较好的抗菌和抗氧化作用^[21,22]。该结果为阐明马卡列丙中抗炎和抗氧化的化学物质奠定基础, 后续仍需进一步进行网络药理学和实验研究来验证其药效物质。与此同时, 排除离子列表在液质成分鉴定的应用, 极大地促进了中药中化学成分的首次发现。

参考文献

- Xiao CW. Exploration of Medicine of Dong Nationality[M]. Changsha: Yuelu Press (岳麓书社), 2004.
- Yan L, Jin HZ, Nie LY, et al. Chemical constituents from *Inula nervosa* Wall[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2011, 23: 258-261.
- Liu L, Zhang J, Zheng B, et al. Rapid characterization of chlorogenic acids in *Duhaldea nervosa* based on ultra-high-performance liquid chromatography-linear trap quadrupole-Orbitrap-mass spectrometry and mass spectral trees similarity filter technique[J]. J Sep Sci, 2018, 41: 1764-1774.
- Sandín-España P, Mateo-Miranda M, López-Goti C, et al. Development of a rapid and direct method for the determination of organic acids in peach fruit using LC-ESI-MS[J]. Food Chem, 2016, 192: 268-273.
- Matsumoto H, Ikoma Y. Effect of different postharvest temperatures on the accumulation of sugars, organic acids, and amino acids in the juice sacs of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) fruit[J]. J Agr Food Chem, 2012, 60: 9900-9909.
- Saini GS, Wani TA, Gautam A, et al. Validation of the LC-MS/MS method for the quantification of mevalonic acid in human plasma and determination of the matrix effect[J]. J Lipid Res, 2006, 47: 2340-2345.
- Flores P, Hellfn P, Fenoll J. Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry[J]. Food Chem, 2012, 132: 1049-1054.
- He MH, Li XY, Zeng LH, et al. Determination of pantothenic acid in honey by isotope dilution-ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. China Brewing (中国酿造), 2015, 34: 157-160.
- Chen L, Qi J, Chang YX, et al. Identification and determination of the major constituents in Traditional Chinese Medicinal formula Danggui-Shaoyao-San by HPLC-DAD-ESI-MS/MS[J]. J Pharmaceut Biomed, 2009, 50: 127-137.
- Kajita M, Niwa T, Watanabe K. Analysis of urinary organic acids by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry[J]. J Chromatogr B: Bio-

- medical Sciences and Applications, 1993, 622:263-268.
- 11 Mu DH, Hu GS, Li CM. Structural characterization of epoxytane-type iridoid glucosides by UPLC/Q-TOF MS/MS [J]. J Chin Mass Spectrom Soc, 2019, 40:197-207.
 - 12 Ricciutelli M, Moretti S, Galarini R, et al. Identification and quantification of new isomers of isopropyl-malic acid in wine by LC-IT and LC-Q-Orbitrap [J]. Food Chem, 2019, 294:390-396.
 - 13 Yu ST, Liu HX, Li K, et al. Identification of chemical constituents in Naozhenning granule by UHPLC coupled with hybrid quadrupole-orbitrap MS [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2018, 53:609-620.
 - 14 Guy PA, Renouf M, Barron D, et al. Quantitative analysis of plasma caffeic and ferulic acid equivalents by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2009, 877:3965-3974.
 - 15 Hou S, Zhu J, Ding M, et al. Simultaneous determination of gibberellic acid, indole-3-acetic acid and abscisic acid in wheat extracts by solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. Talanta, 2008, 76:798-802.
 - 16 Yu S, Liu H, Li K, et al. Rapid characterization of the absorbed constituents in rat serum after oral administration and action mechanism of Naozhenning granule using LC-MS and network pharmacology [J]. J Pharmaceut Biomed, 2019, 166:281-290.
 - 17 Wang W. Isolation and identification of molecular constituents from the protective plant polymer suberin [D]. CUNY, 2007.
 - 18 Chen D, Li K, Hu YB, et al. Determination of thymol and thymyl isobutyrate in *Inula nervosa* Wall by HPLC [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm (中国民族民间医药), 2012, 21(21):45-46.
 - 19 Su GY. Study on caffeic acid and chlorogenic acid in suppressing AGEs-induced inflammation [D]. Guangzhou: South China University of Technology (华南理工大学), 2018.
 - 20 Guan XQ, Mao JL, Tang YX, et al. Research progress on pharmacological effects of *p*-coumaric acid [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49:4162-417.
 - 21 Eswaranandam S, Hettiarachchy NS, Johnson MG. Antimicrobial activity of citric, lactic, malic, or tartaric acids and nisin-incorporated soy protein film against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella gaminara* [J]. J Sci Food, 2004, 69(3):FMS79-FMS84.
 - 22 Wang LX, Wang F, Chen X, et al. Pharmacological research progress of sodium ferulate in cardio-cerebral vascular disease [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2019, 50:772-777.
-
- (上接第 238 页)
- 2 Tseng YC, Xia NH, Gilbert MG. Piperaceae. In: Wu ZY, Raven PH, Hong DY editors. Flora of China, Vol. 4 [M]. Beijing/St. Louis: Science Press/Missouri Botanical Garden Press, 1999:110-129.
 - 3 Wu ZY, Zhou TY, Xiao PG. Xinhua Bencao Gangyao: Vol. 1 (新华本草纲要: 第一册) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1988:195.
 - 4 Yang J, Su Y, Luo JF, et al. New amide alkaloids from *Piper longum* fruits [J]. Nat Prod Bioprospect, 2013, 3:277-281.
 - 5 Yang J, Huang TJ, Luo JF, et al. Chemical constituents from *Leea asiatica* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发). 2018, 30:1382-1386.
 - 6 Li CY, Tsai WJ, Damu AG, et al. Isolation and identification of antiplatelet aggregatory principles from the leaves of *Piper lolot* [J]. J Agr Food Chem, 2007, 55:9436-9442.
 - 7 Achenbach H, Fietz W, W'rrth J, et al. Constituents of tropical medicinal plants, IXX. GC/MS-investigations of the constituents of *Piper amalago*-30 new amides of the piperine-type [J]. Planta Med, 1986, 52(1):12-18.
 - 8 Xia MY, Yang J, Zhang PH, et al. Amides, isoquinoline alkaloids and dipeptides from the aerial parts of *Piper mullesua* [J]. Nat Prod Bioprospect, 2018, 8:419-430.
 - 9 Sim KM, Mak CN, Ho LP. A new amide alkaloid from the leaves of *Piper sarmentosum* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2009, 11:757-760.
 - 10 Wang YH, Goto M, Wang LT, et al. Multidrug resistance-selective antiproliferative activity of *Piper* amide alkaloids and synthetic analogues [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2014, 24:4818-4821.