

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的江西特产 中药茶芎化学成分研究

郑鹏¹, 黄敏¹, 张金莲^{1*},
郑郁清¹, 商杰¹, 郭静英¹, 刘明贵², 徐葱茏²

¹江西中医药大学药学院, 南昌 330004; ²江西景德中药股份有限公司, 景德镇 333302

摘要: 茶芎是江西省九江地区的特产中药材之一, 其药效物质基础尚不明确, 故采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱法 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 对茶芎的化学成分进行快速分析及鉴定。采用 Titank C₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.1% 甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 流速为 0.25 mL/min, 进样量为 3 μL; 选择电喷雾离子源分别在正、负离子模式下扫描分析, 通过保留时间、精确相对分子质量和二级质谱裂解碎片, 对所得成分的主要色谱峰进行鉴定。结果显示从茶芎中共鉴定出 72 个化学成分, 主要包括苯酞类成分 33 个, 有机酸类成分 32 个, 生物碱类成分 5 个, 其他类成分 2 个。该研究建立的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 方法可以快速准确且较全面地分析鉴定茶芎中的化学成分, 可为其质量控制及药效物质基础研究提供科学依据。

关键词: 茶芎; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 苯酞类; 有机酸类; 生物碱类

中图分类号: R248.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024)1-0052-11

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.1.006

Study on the chemical composition of Jiangxi specialty Chinese medicine Chaxiong based on UPLC-Q-TOF-MS/MS

ZHENG Peng¹, HUANG Min¹, ZHANG Jin-lian^{1*},
ZHENG Yu-qing¹, SHANG Jie¹, GUO Jing-ying¹, LIU Ming-gui², XU Cong-long²

¹School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

²Jiangxi Jingde Chinese Traditional Medicine Co., Ltd., Jingdezhen 333302, China

Abstract: To rapidly analyze and identify the chemical composition of Chaxiong, one of the special Chinese medicine in Jiujiang area of Jiangxi Province, and its pharmacological substance basis is not clear, ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) was analyzed in this study. The chromatography was performed on a Titank C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) with acetonitrile-0.1% formic acid water as the mobile phase for gradient elution with a flow rate of 0.25 mL/min and an injection volume of 3 μL. The mass spectrometry was scanned in positive and negative ion modes with electrospray ion source (ESI) to identify the main chromatographic peaks of the obtained components by retention time, accurate relative molecular mass and secondary mass spectrometry cleavage fragmentation. The results of this study showed that a total of 72 chemical components were identified from Chaxiong, including 33 phenanthrene components, 32 organic acid components, five alkaloid components, and two other components. The UPLC-Q-TOF-MS/MS method established in this study can quickly, accurately and comprehensively analyze and identify the chemical components in Chaxiong, providing a reference for its quality control and pharmacological substance basis research.

Key words: Chaxiong; UPLC-Q-TOF-MS/MS; phenanthrene; organic acid; alkaloid

茶芎来源于伞形科藁本属植物茶芎 (*Ligusticum sinense* Oliv. cv. Chaxiong Mss.) 的干燥根茎, 其性温, 味辛, 归肝、心经, 具有活血行气、祛风止痛的功效^[1]。近年来, 研究发现茶芎还具有抗炎、镇痛、抗

血栓形成、促进血管扩张等作用^[2],在放射性口腔炎^[3]、脑卒中^[4]、血栓性疾病^[5]、新型冠状病毒肺炎^[6]等方面有一定的治疗效果。茶芎是江西省特产中药材之一,主要产于九江地区的武宁、瑞昌、德安等县市,是当地重要的中药资源和经济作物。茶芎药用历史悠久,古代称为“抚芎”,与川芎等合称为“芎穹”,最早见于《神农本草经》,列为上品^[7]。宋代以后,“抚芎”名称出现分化^[8],清代《本草纲目拾遗》^[9]、《本经逢原》^[10]和《得配本草》^[11]等著作均有记载,现收载于 2014 年版《江西省中药材标准》。

目前关于茶芎化学成分的研究报道较少,现有的文献主要涉及苯酞类、有机酚酸类、生物碱类和多糖等化学成分的分离鉴定,但这些研究周期长、效率低,且多数文献年代较早,缺乏全面性和创新性。为了提高茶芎化学成分的分离效率和纯度, Gong 等^[12]采用高效液相色谱(HPLC)法建立了茶芎的指纹图谱,并指认和测定了其成分如绿原酸和阿魏酸等。然而,相关药理研究多以粗提物为对象,对于茶芎的药效物质基础和作用机制还不够深入探讨,导致茶芎的临床应用受到限制。因此,明确茶芎的物质基础对于开展相关的药效学研究、进一步应用和开发茶芎有着重要意义。

超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF-MS/MS)分析技术具有快速、高效、灵敏度高等特点,能够实现对化合物的快速分离和精确鉴定,在中药研究方面已经得到广泛应用^[13]。前人研究发现,在正离子模式下苯酞类成分、氨基酸类成分和生物碱类成分响应较强^[14],而在负离子模式下有机酚酸类成分响应程度更好^[15]。因此,本研究基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术,同时采用正离子和负离子两种离子化模式检测,对茶芎化学成分进行快速分析,进一步明确了茶芎中苯酞类、有机酚酸类、生物碱类等多种化学成分的构成,为茶芎的质量控制及药效物质基础研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 药材与试剂

茶芎采收于江西省武宁县,经江西中医药大学张寿文教授鉴定为伞形科植物茶芎(*Ligusticum sinense* Oliv. cv. Chaxiong Mss.)的干燥根茎;色谱级甲酸(批号:73C1812PR),色谱级乙腈(批号:302Y1906HB),均购于美国 ACS 公司;屈臣氏饮用水(广州屈臣氏食品饮料有限公司);其余试剂为分

析纯。

1.2 仪器

Triple-TOF 5600+ 高分辨质谱仪,配备 ESI 离子源及 Analyst 1.6 数据处理软件;Peak View 数据处理软件(美国 AB SCIEX 公司)。

1.3 供试品溶液制备

取茶芎粉末(过四号筛)约 0.8 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加入 80% 甲醇 10 mL,密塞,称定重量,超声 25 min,放冷,称定重量,用 80% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,13 000 r/min 离心 10 min,取上清液,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得。

1.4 色谱条件

采用 Titan C₁₈(100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱,以乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0 ~ 10 min, 5% → 50% A; 10 ~ 18 min, 50% → 55% A; 18 ~ 30 min, 55% → 65% A; 30 ~ 40 min, 65% → 95% A; 40 ~ 42 min, 95% A; 42 ~ 42.1 min, 95% → 5% A; 42.1 ~ 45 min, 5% A),柱温 40 °C,流速 0.25 mL/min,进样量 3 μL。

1.5 质谱条件

采用电喷雾离子源(ESI),正、负离子检测模式。扫描方式为全扫描,质量扫描范围 m/z 50 ~ 1 000;喷雾电压(ISVF)5 500 kV;离子源温度(TEM)500 °C;去簇电压(DP)100 V;碰撞能量(CE)35 eV,碰撞能量叠加(CES)35 ± 15 eV;气帘气压力(CUR)40 kPa;雾化器 GS1 和辅助气 GS2 压力为 50 kPa;数据采集时间 46 min。

1.6 数据处理

数据采集软件:Analyst 1.6;数据分析软件:Peakview 1.2。通过 CNKI、SciFinder、Geenmedical、TCMSP、PubMed 等平台及数据库,查阅相关文献,收集茶芎以及藁本属植物报道的化合物信息,汇总后删除重复的成分,建立成分的一级质谱数据库,其中包含化合物名称、分子式、分子量等基本信息。将液质联用仪采集的数据导入 Peakview 1.2 软件中,利用 XIC Manager 插件进行无目标筛查,对筛查出的化合物进行碎片离子比对,结合色谱保留时间、精确分子质量、特征碎片离子、MS/MS 裂解规律和文献报道等指征茶芎的化学成分。

2 结果

通过 UPLC-Q-TOF-MS 对茶芎的化学成分进行分析,得到正离子和负离子模式的质谱总离子流图

见图1。根据“1.6”项下数据分析方法,结合文献报道,从茶苧中共鉴定出72个化合物,其中苯酞类化

合物33个,有机酸类成分32个,生物碱类成分5个,其他类成分2个,结果见表1。

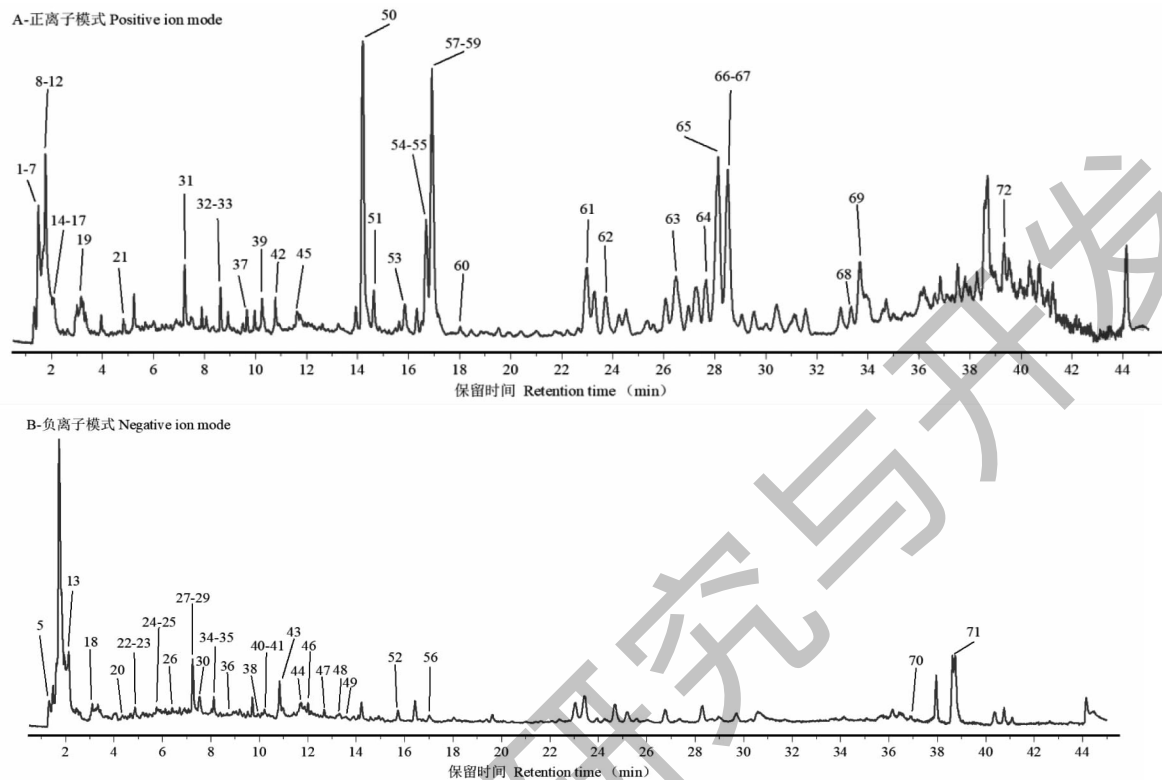


图1 茶苧正离子(A)和负离子(B)模式总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of Chaxiong in positive (A) and negative (B) mode

表1 茶苧化学成分的UPLC-Q-TOF-MS/MS分析

Table 1 Analysis of chemical constituents in Chaxiong by UPLC-Q-TOF-MS/MS

序号 No.	保留时间 t_R (min)	离子模式 Ion mode	实测值 Measured value (m/z)	误差 Error ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 Fragment ion	分子式 Molecular formula	化合物 Compound	类别 Classification	参考文献 Ref.
1	1.09	$[M+H]^+$	156.076 7	-0.4	110.071 6、93.004 7	$C_6H_9N_3O_2$	组氨酸 Histidine	B	8
2	1.13	$[M+H]^+$	175.119 5	2.9	130.097 7	$C_6H_{14}N_4O_2$	精氨酸 Arginine	B	8
3	1.21	$[M+H]^+$	104.107 1	0.7	60.081 1、58.065 6	$C_5H_{13}NO$	胆碱 Choline hydroxide*	C	16
4	1.29	$[M+H]^+$	118.086 2	-0.9	118.086 3、58.065 3	$C_5H_{11}NO_2$	缬氨酸 Valine	B	8
5	1.29	$[M-H]^-$	341.108 8	-0.4	179.056 2	$C_{12}H_{22}O_{11}$	蔗糖 Sucrose	D	8
6	1.30	$[M+H]^+$	116.070 5	-1.2	70.065 2	$C_5H_9NO_2$	脯氨酸 Proline	B	8
7	1.38	$[M+H]^+$	136.061 7	-0.7	119.035 2	$C_5H_5N_5$	腺嘌呤 Adenine	C	16, 17
8	1.80	$[M+H]^+$	150.058 1	-1.2	133.033 4、87.025 7	$C_5H_{11}O_2NS$	甲硫氨酸 Methionine*	B	18
9	1.84	$[M+H]^+$	130.049 8	-0.4	84.044 2	$C_5H_7NO_3$	焦谷氨酸 Pyroglutamic acid*	B	18
10	1.86	$[M+H]^+$	245.077 0	0.7	113.034 9、96.007 8、70.028 6	$C_9H_{12}N_2O_6$	尿苷 Uridine*	C	17
11	1.87	$[M+H]^+$	113.034 6	0.1	96.007 4、70.029 6	$C_4H_4N_2O_2$	尿嘧啶 Uracil*	C	17, 19

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	保留时间 t_R (min)	离子模式 Ion mode	实测值 Measured value (m/z)	误差 Error ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 Fragment ion	分子式 Molecular formula	化合物 Compound	类别 Classification	参考文献 Ref.
12	1.94	[M+H] ⁺	268.104 7	2.3	136.062 3、119.049 3	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	腺苷 Adenosine	C	16,20
13	2.13	[M-H] ⁻	117.019 0	-2.5	116.929 9、99.925 4、73.028 3、55.020 1	C ₄ H ₆ O ₄	琥珀酸 Succinic acid*	B	17
14	2.18	[M+H] ⁺	182.081 3	0.6	136.075 5、119.049 0、91.054 6	C ₉ H ₁₁ NO ₃	酪氨酸 Tyrosine	B	8
15	2.18	[M+H] ⁺	165.054 6	0	119.040 8、95.049 4、77.038 1	C ₉ H ₈ O ₃	4-羟基肉桂酸 4-Hydroxycinnamic acid*	B	21
16	2.26	[M+H] ⁺	132.102 0	0.6	86.096 4、69.069 6	C ₆ H ₁₃ NO ₂	异亮氨酸 Isoleucine	B	8,20
17	2.43	[M+H] ⁺	132.102 0	0.6	86.095 7、69.069 2	C ₆ H ₁₃ NO ₂	亮氨酸 Leucine	B	8,20
18	2.99	[M-H] ⁻	169.014 0	-1.6	125.025 0	C ₇ H ₆ O ₅	没食子酸 Gallic acid*	B	17,19
19	3.42	[M+H] ⁺	166.086 4	0.9	120.080 7、103.054 3	C ₉ H ₁₁ NO ₂	苯丙氨酸 Phenprobamate	B	8
20	4.17	[M-H] ⁻	153.019 2	-0.8	153.017 5、109.028 8、91.019 5	C ₇ H ₆ O ₄	原儿茶酸 Protocatechuic acid*	B	19
21	4.55	[M+H] ⁺	205.096 7	-2.5	188.070 9、170.060 1、159.091 6、132.080 6、118.065 1	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	色氨酸 Tryptophan*	B	17
22	5.04	[M-H] ⁻	353.088 0	0.6	191.057 1、173.045 6、161.024 3、135.045 1	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	绿原酸 Chlorogenic acid	B	12
23	5.37	[M-H] ⁻	167.035 1	1	167.028 9、123.043 9	C ₈ H ₈ O ₄	香草酸 Vanillic acid*	B	17
24	5.70	[M-H] ⁻	179.034 8	-0.8	179.033 1、135.045 0	C ₉ H ₈ O ₄	咖啡酸 Caffeic acid	B	20,22
25	5.80	[M-H] ⁻	515.119 4	-0.3	353.088 4、335.077 0、191.056 0	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	异绿原酸 B Isochlorogenic acid B*	B	12
26	6.26	[M-H] ⁻	165.055 3	-2.6	165.055 7、121.042 7	C ₉ H ₁₀ O ₃	3-(2-羟基苯基)丙酸 3-(2-Hydroxyphenyl) propionic Acid	B	22
27	7.06	[M-H] ⁻	515.119 2	-0.6	353.086 2、191.057 0、179.034 9	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	异绿原酸 A Isochlorogenic acid A*	B	12
28	7.21	[M-H] ⁻	193.050 8	0.9	193.049 8、178.027 3、149.060 3、134.037 5	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	阿魏酸 Ferulic acid	B	8,22
29	7.32	[M-H] ⁻	515.119 2	-0.6	353.087 3、191.056 1、179.053 6	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	异绿原酸 C Isochlorogenic acid C*	B	12
30	7.44	[M-H] ⁻	221.082 1	0.8	221.083 6、190.998 0、163.006 4、133.066 2	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	二羟基丁基苯酐异构体 I Dihydroxybutyl phthalide isomer I*	A	17
31	7.47	[M+H] ⁺	227.127 8	0.2	209.113 8、191.105 3、153.053 5	C ₁₂ H ₁₈ O ₄	洋川芎内酯 N Senkyunolide N	A	20
32	8.26	[M+H] ⁺	189.091 0	0.2	153.069 3、128.060 5	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	丁烯基苯酐异构体 I N-Butylidene-phthalide isomer I	A	22
33	8.29	[M+H] ⁺	225.112 0	-0.6	207.101 7、165.088 4、143.082 4	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	洋川芎内酯 I Senkyunolide I	A	20,22

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	保留时间 t_R (min)	离子模式 Ion mode	实测值 Measured value (m/z)	误差 Error ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 Fragment ion	分子式 Molecular formula	化合物 Compound	类别 Classification	参考文献 Ref.
34	8.33	[M-H] ⁻	137.024 3	-0.9	93.034 5、75.021 9	C ₇ H ₆ O ₃	水杨酸 Salicylic acid	B	17
35	8.40	[M-H] ⁻	193.050 8	0.8	178.026 8、134.037 4	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	阿魏酸异构体 I Ferulic acid isomer I	B	8
36	8.75	[M-H] ⁻	207.066 0	-1.5	179.072 6、163.981 6、137.026 4、109.028 3	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	3-羟甲基-4-甲氧基肉桂酸 3-Hydroxymethyl-4-methoxycinnamic acid	B	22
37	9.40	[M+H] ⁺	225.112 0	-0.6	207.029 4、191.019 2	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	洋川芎内酯 H Senkyunolide H	A	20,22
38	10.03	[M-H] ⁻	221.082 1	0.7	177.092 9	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	4,7-二羟基-3-丁基苯酐 4,7-Dihydroxy-3-butylphthalide [*]	A	17
39	10.31	[M+H] ⁺	189.091 2	1	171.080 5、128.061 9、119.049 7、105.069 6	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	丁烯基苯酐异构体 II <i>N</i> -Butylidene-phthalide isomer II	A	22
40	10.31	[M-H] ⁻	207.102 5	-1	189.091 8、161.093 3	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	洋川芎内酯 K Senkyunolide K [*]	A	20,22
41	10.55	[M-H] ⁻	355.119 0	0.7	193.056 3	C ₂₀ H ₂₀ O ₆	阿魏酸松柏酯 Coniferyl ferulate	B	17
42	10.56	[M+H] ⁺	163.039 0	-0.1	163.039 2、135.043 8、107.054 4、91.053 1	C ₉ H ₆ O ₃	伞形花内酯 7-Hydroxycoumarine	D	20
43	10.85	[M-H] ⁻	177.092 0	-0.5	177.093 7、149.098 3	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	甲基丁香酚 Methyl eugenol [*]	B	12
44	11.59	[M-H] ⁻	207.102 8	0.8	161.096 9	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	洋川芎内酯 G Senkyunolide G	A	20
45	11.60	[M+H] ⁺	191.106 7	0.4	173.091 1、145.100 9、105.068 7、91.053 6	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	藁本内酯异构体 I Ligustilide isomer I	A	22
46	12.08	[M-H] ⁻	205.087 2	0.9	205.087 4、161.097 0、91.017 5	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	4-羟基-3-丁基苯酐 4-Hydroxy-3-butylphthalide	A	20,22
47	12.77	[M-H] ⁻	203.071 5	0.7	203.072 3、173.025 3	C ₁₂ H ₁₂ O ₃	洋川芎内酯 B Senkyunolide B	A	22
48	13.16	[M-H] ⁻	193.050 8	0.7	193.049 0、178.029 1、134.036 6	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	阿魏酸异构体 II Ferulic acid isomer II	B	
49	13.59	[M-H] ⁻	203.071 5	0.7	203.071 5、143.050 1	C ₁₂ H ₁₂ O ₃	洋川芎内酯 C Senkyunolide C	A	20
50	14.34	[M+H] ⁺	193.123 2	4.5	175.112 3、147.116 7、137.059 8、105.069 1、91.054 7	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	洋川芎内酯 A Senkyunolide A	A	20,22
51	14.84	[M+H] ⁺	191.106 8	0.9	173.097 3、145.101 1、135.044 2、117.070 0、105.070 2、91.054 5	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	正丁基苯酐 3-Butylphthalide	A	22
52	15.96	[M-H] ⁻	221.081 9	-0.3	221.153 1、203.068 2	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	二羟基丁基苯酐异构体 II Dihydroxybutylphthalide isomer II [*]	A	

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No.	保留时间 t_R (min)	离子模式 Ion mode	实测值 Measured value (m/z)	误差 Error ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 Fragment ion	分子式 Molecular formula	化合物 Compound	类别 Classification	参考文献 Ref.
53	15.99	[M + H] ⁺	191.106 9	1.2	173.096 7, 145.101 2, 117.069 9, 105.069 6, 91.054 1	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	藁本内酯异构体 II Ligustilide isomer II	A	22
54	16.54	[M + H] ⁺	195.138 6	3.3	177.127 5, 149.132 6, 125.059 8	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	新蛇床内酯 Sedanolide	A	20, 22
55	16.85	[M + H] ⁺	397.201 1	0.4	379.184 6, 191.106 3	C ₂₄ H ₂₈ O ₅	川芎醇内酯 A Ligusticum chuanxiang alcohol lactone A*	A	
56	17.15	[M-H] ⁻	221.081 8	-0.8	205.132 0, 191.070 1	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	二羟基丁基苯酐异构体 III Dihydroxybutyl phthalide isomer III*	A	
57	17.17	[M + H] ⁺	381.206 8	2.1	191.108 2, 173.097 1, 145.101 4	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	欧当归内酯 A 异构体 I Levistilide A isomer I	A	
58	17.18	[M + H] ⁺	191.107 6	4.7	191.107 6, 173.097 0, 145.100 7, 117.070 1, 105.069 5, 91.054 5	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	Z-藁本内酯 Z-Ligustilide	A	22
59	17.58	[M + H] ⁺	189.091 1	0.4	171.082 9, 153.070 3, 128.062 1, 115.054 7	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	丁烯基苯酐 N-Butylidene-phthalide	A	20
60	17.96	[M + H] ⁺	397.201 2	0.7	397.391 7, 379.209 7, 207.102 0, 191.106 1	C ₂₄ H ₂₈ O ₅	川芎醇内酯 B Ligusticum chuanxiang alcohol lactone B*	A	
61	23.18	[M + H] ⁺	381.206 3	0.8	191.107 1, 173.095 9, 163.111 8, 145.101 4	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	欧当归内酯 A Levistilide A	A	
62	23.99	[M + H] ⁺	383.221 6	-0.3	383.220 9, 193.122 1, 191.106 9	C ₂₄ H ₃₀ O ₄	Chaxiongrolide B	A	
63	26.32	[M + H] ⁺	385.237 2	-0.4	385.239 0, 193.121 6, 175.111 0, 137.059 0	C ₂₄ H ₃₂ O ₄	Chaxiongrolide C	A	
64	27.50	[M + H] ⁺	383.220 9	-2.1	191.107 2	C ₂₄ H ₃₀ O ₄	Chaxiongrolide B 异构体 I Chaxiongrolide B isomer I	A	
65	28.19	[M + H] ⁺	381.206 3	0.6	191.107 2, 173.096 2, 145.100 9	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	欧当归内酯 A 异构体 II Levistilide A isomer II	A	
66	28.44	[M + H] ⁺	383.221 1	-1.6	193.119 8, 191.106 6, 175.111 9	C ₂₄ H ₃₀ O ₄	Chaxiongrolide B 异构体 II Chaxiongrolide B isomer II	A	
67	28.52	[M + H] ⁺	381.206 3	0.6	191.107 6, 145.101 1, 135.044 1	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	欧当归内酯 A 异构体 III Levistilide A isomer III	A	
68	33.38	[M + H] ⁺	381.206 2	0.5	381.206 9, 191.107 1, 173.095 6	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	欧当归内酯 A 异构体 IV Levistilide A isomer IV	A	
69	33.96	[M + H] ⁺	385.237 5	0.3	191.106 1, 177.127 1	C ₂₄ H ₃₂ O ₄	Chaxiongrolide C 异构体 Chaxiongrolide C isomer	A	
70	37.09	[M-H] ⁻	279.233 2	0.9	279.239 2	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	亚油酸 Linoleic acid	B	17
71	38.93	[M-H] ⁻	255.232 8	-0.5	255.233 3	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	棕榈酸 Palmitic acid	B	8
72	39.34	[M + H] ⁺	283.263 2	1.0	281.247 7	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	油酸 Oleic acid	B	16, 20

注: * 为茶芎中首次发现的成分; A: 苯酐类成分; B: 有机酸类成分; C: 生物碱类成分; D: 其他类成分。

Note: * Compound identified from Chaixiong for the first time; A: Phthalide; B: Organic acids; C: Alkaloids; D: Other components.

2.1 苯酞类

苯酞类成分是从茶芎中鉴定得到数量最多的成分,也是最主要的药效成分。其主要包括简单苯酞类和苯酞二聚体类两种类型。

2.1.1 简单苯酞类

简单苯酞类化合物裂解方式主要有2种,一种是苯酞类化合物侧链断裂脱烯(C_nH_{2n})产生 $[M - C_nH_{2n} + H]^+$ 碎片,另一种是苯酞内酯环开环脱水再脱羰基,产生 $[M + H - H_2O]^+$ 、 $[M + H - H_2O - CO]^+$ 碎片。本研究从茶芎中鉴别出的简单苯酞类成分21个,包括化合物**30**~**33**、**37**~**40**、**44**~**47**、**49**、**50**~**54**、**56**、**58**、**59**。以化合物**50**为例进行解析,化合物

50的准分子离子峰为 m/z 193.123 2 $[M + H]^+$,根据元素组成分析,判断该化合物的分子式为 $C_{12}H_{16}O_2$,其裂解方式主要有2种。其一,苯酞类化合物侧链断裂失去一分子 C_4H_8 得到碎片离子 m/z 137.059 8 $[M + H - C_4H_8]^+$;其二,苯酞内酯环开环脱去一分子 H_2O 得到碎片离子 m/z 175.112 3 $[M + H - H_2O]^+$,继续脱去一分子 CO 得到碎片离子 m/z 147.116 7 $[M + H - H_2O - CO]^+$,继而脱去一分子 C_3H_6 得到碎片离子 m/z 105.069 1 $[M + H - H_2O - CO - C_3H_6]^+$ (见图2),与文献^[13,14]报道的裂解方式基本一致,故推测化合物**50**为洋川芎内酯A。

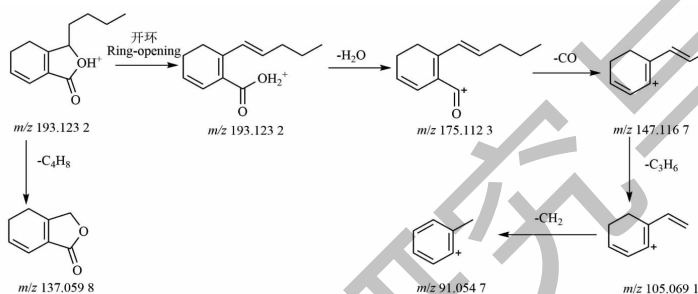


图2 洋川芎内酯A可能的质谱裂解途径

Fig. 2 Possible mass spectrometry fragmentation pathway of senkyunolide A

2.1.2 苯酞二聚体类

苯酞二聚体类化合物是一类由2个苯酞单体聚合物形成的化合物,在高能量撞击下易开环,形成苯酞单体碎片离子,在此基础上产生与上述单体相同的特征裂解碎片。本研究从茶芎中鉴别出苯酞二聚体类化合物12个,包括化合物**55**、**57**、**60**~**69**。化合物**61**在正离子模式下得到 m/z 381.206 0的分子离子峰,分析确定化合物分子式为 $C_{24}H_{28}O_4$,在高能

量轰击下开环,形成 m/z 191.107 1 $[M/2 + H]^+$ 苯酞单体碎片离子,在此基础上脱去一分子 C_2H_4 产生碎片 m/z 163.111 8 $[M/2 + H - C_2H_4]^+$;苯酞单体开环,脱去一分子 H_2O 形成 m/z 173.095 9 $[M/2 + H - H_2O]^+$ 碎片离子,再脱去一分子 CO 产生碎片离子 m/z 145.101 4 $[M/2 + H - H_2O - CO]^+$ (见图3),与文献^[13]报道的裂解方式基本一致,故推测化合物**61**为欧当归内酯A。

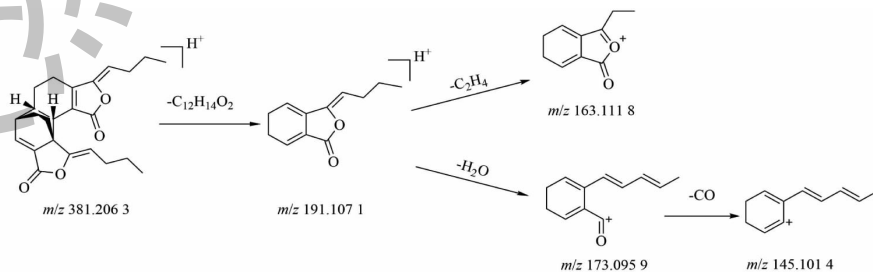


图3 欧当归内酯A可能的质谱裂解途径

Fig. 3 Possible mass spectrometry fragmentation pathway of levistilide A

2.2 有机酸类

2.2.1 氨基酸类

氨基酸类化合物因含有氨基和羧基而易丢失

NH_3 、 $HCOOH$ 、 CO_2 、 H_2O 等中性分子产生一系列特征碎片。本研究从茶芎中鉴定出11种氨基酸,包括6种人体必需氨基酸(化合物**4**、**8**、**16**、**17**、**19**、**21**)和

5 种人体非必需氨基酸(化合物 **1**、**2**、**6**、**9**、**19**)。化合物 **21** 在正离子模式下准分子离子峰为 m/z 205.097 2 $[M + H]^+$, 其裂解过程为丢失一分子 NH_3 形成 m/z 188.070 9 $[M + H - \text{NH}_3]^+$, 再丢失一分子 H_2O 形成 m/z 170.060 1 $[M + H - \text{NH}_3 - \text{H}_2\text{O}]^+$; 或者丢失两分子 CO 形成 m/z 132.080 6 $[M + H -$

$\text{NH}_3 - 2\text{CO}]^+$, 再丢失一分子 CH_2 形成 m/z 118.065 2 $[M + H - \text{NH}_3 - 2\text{CO} - \text{CH}_2]^+$; 由 $[M + H]^+$ 丢失一分子 HCOOH 形成 m/z 159.091 6 $[M + H - \text{HCOOH}]^+$ (见图 4), 与文献^[21]报道的裂解方式基本一致, 故推测化合物 **21** 为色氨酸。

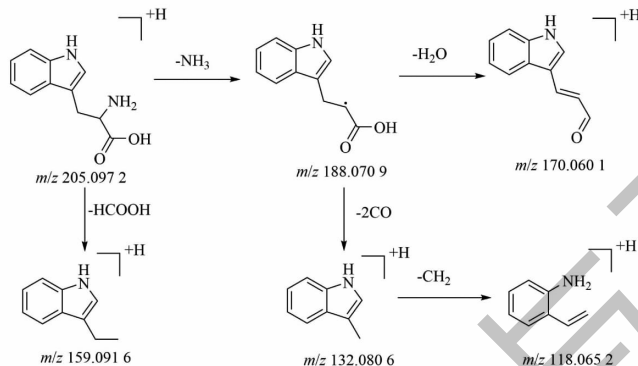


图 4 色氨酸可能的质谱裂解途径

Fig. 4 Possible mass spectrometry fragmentation pathway of tryptophan

2.2.2 有机酚酸类

有机酚酸类成分是茶芎中活血化瘀的主要药效成分, 该类成分多在负离子模式下响应较好, 其裂解的方式主要有 α 裂解, 以及中性 CO_2 、 CO 、 H_2O 分子的脱离。本研究从茶芎中鉴定出有机酚酸类化合物 21 个, 包括 **13**、**15**、**18**、**20**、**22** ~ **29**、**34** ~ **36**、**41**、**43**、**49**、**70** ~ **72**。化合物 **22** 在负离子模式下得到 m/z

353.088 0 的分子离子峰, 分析确定化合物分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$, 通过 α 裂解得到碎片离子 m/z 191.057 1 $[M - \text{H} - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3]^-$, 继续脱去一分子 H_2O 得到碎片 m/z 173.045 6 $[M - \text{H} - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3 - \text{H}_2\text{O}]^-$ (见图 5), 与文献^[23]报道的裂解方式基本一致, 故推测化合物 **22** 为绿原酸。

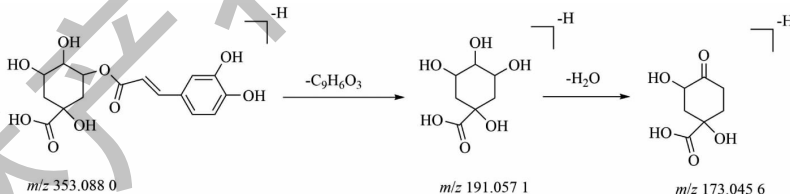


图 5 绿原酸可能的质谱裂解途径

Fig. 5 Possible mass spectrometry fragmentation pathway of chlorogenic acid

2.3 生物碱类

本研究共鉴定出生物碱类成分 5 个, 包括化合物 **3**、**7**、**10** ~ **12**, 主要在正离子模式下以 $[M + H]^+$ 形式存在。化合物 **10** 在正离子模式下得到 m/z 245.077 0 的分子离子峰, 分析确定化合物分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$, 在高能量撞击下, 失去一分子 $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4$, 产生了 m/z 113.034 9 $[M + H - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4]^+$ 的碎片离子峰, 继续失去一分子 OH , 得到碎片离子 m/z 96.007 8 $[M + H - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4 - \text{OH}]^+$, 继而脱去一分子 CN 得到碎片离子 m/z 70.028 6 $[M + H - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4 -$

$\text{OH} - \text{CN}]^+$ (见图 6), 与文献^[24]报道的裂解方式基本一致, 故推测化合物 **10** 为尿苷。化合物 **12** 在正离子模式下得到 m/z 268.104 0 的分子离子峰, 分析确定化合物分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$, 在高能量撞击下, 失去一分子 $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4$, 产生了 m/z 136.062 0 $[M + H - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4]^+$ 的碎片离子峰, 继续失去一分子 NH_3 , 得到碎片离子 m/z 119.035 6 $[M + H - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4 - \text{NH}_3]^+$ (见图 7), 与文献^[14]报道的裂解方式基本一致, 故推测化合物 **12** 为腺苷。

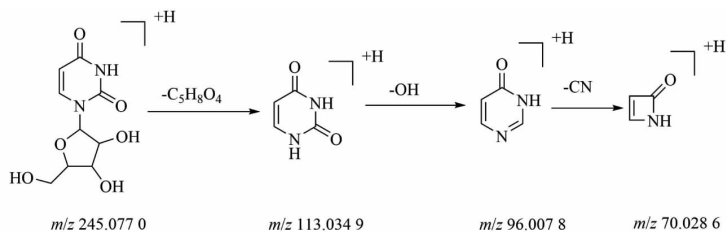


图6 尿苷可能的质谱裂解途径

Fig. 6 Possible mass spectrometry fragmentation pathway of uridine

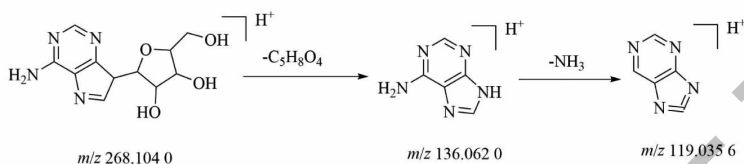


图7 腺苷可能的质谱裂解途径

Fig. 7 Possible mass spectrometry fragmentation pathway of adenosine

2.4 其他类

本研究从茶芎中共鉴别出2个其他类成分,包括化合物**5**和化合物**42**。化合物**5**准分子离子峰为 m/z 341.1099 $[M-H]^-$,在高能量撞击下,失去一分子 $C_6H_{11}O_5$,产生了 m/z 179.0562的碎片离子峰,接着失去一分子 H_2O ,形成 m/z 161.0464 $[M-H-C_6H_{11}O_5-H_2O]^-$ 的碎片离子峰(见图8),与文

献^[25]报道的裂解方式基本一致,故推测化合物**5**为蔗糖。化合物**42**正离子模式下形成质子化准分子离子 m/z 163.0388 $[M+H]^+$,预测其分子式为 $C_9H_6O_3$,连续脱去两分子CO分别得到碎片离子 m/z 135.0438 $[M+H-CO]^+$ 、 m/z 107.0544 $[M+H-2CO]^+$ (见图9),与文献^[26,27]报道的裂解方式基本一致,故推测化合物**42**为伞形花内酯。

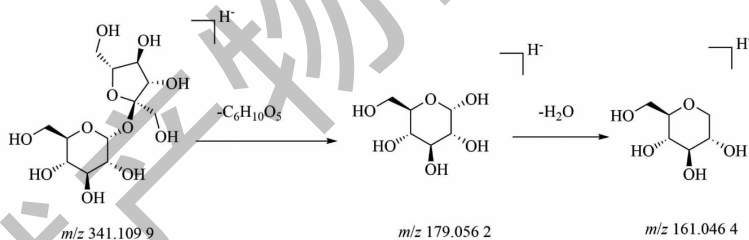


图8 蔗糖可能的质谱裂解途径

Fig. 8 Possible mass spectrometry fragmentation pathway of sucrose

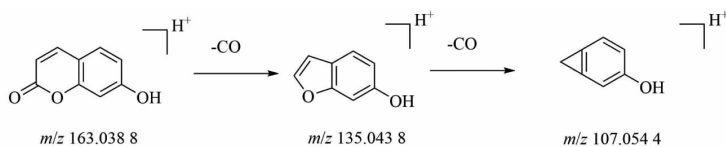


图9 伞形花内酯可能的质谱裂解途径

Fig. 9 Possible mass spectrometry fragmentation pathway of umbelliferone

3 讨论与结论

本研究采用正离子和负离子两种离子化模式检测,通过保留时间、精确相对分子质量和二级质谱裂解碎片,对茶芎中的化合物进行了检测和鉴定,结果

从茶芎中共鉴定出72个化合物,其中苯酞类化合物33个,有机酸类成分32个(包括11个氨基酸和21个有机酚酸类成分),生物碱类成分5个,其他类成分2个。对结果进行分析发现,茶芎中苯酞类和有机

机酸类成分种类最多,与现有文献^[16]报道的结果基本一致。

苯酞类化合物是一类具有苯酞结构的有机化合物,是伞形科植物的特征性成分之一,在藁本属植物川芎和当归属植物当归中广泛存在^[28],Han^[15]总结现有研究成果发现,川芎药材中已分离鉴定出 70 余个苯酞类化合物;Zhang 等^[20]采用 UPLC-Q-TOF/MS 技术从当归中鉴定出 55 个苯酞类化合物。现代研究发现,苯酞类化合物具有防治心脑血管疾病、抗菌、抗肿瘤、抗炎、镇痛和杀虫等多种生物活性^[28],例如,正丁基苯酞^[29]、藁本内酯^[30]和洋川芎内酯 A^[31]等成分可通过不同的机制保护大脑神经元免受脑缺血的损伤。

有机酸类成分是一类分子结构中含有羧基的化合物,在药用植物中广泛分布,主要富集于植物的根茎部位,如伞形科植物川芎和当归等,植物的叶和果实部位也有较高的含量。有机酸类成分可以调节体内的酸碱平衡、促进新陈代谢、增强免疫力、抗氧化、抗炎、抗菌等,其中氨基酸类成分是人体必需营养成分之一,能够促进机体新陈代谢,提高人体免疫力,如精氨酸有改善心脑血管疾病、增强机体免疫功能等作用^[32];有机酚酸类成分具有抗氧化、抗血小板聚集、抗动脉粥样硬化、调节免疫等作用^[33],如阿魏酸能够延长小鼠凝血时间,减轻动静脉旁路模型大鼠血栓干、湿重,对血栓形成有明显抑制作用^[34]。

因此本研究建立的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 方法可以快速准确且较全面地分析鉴定茶芎中的化学成分,为茶芎的质量控制和药效评价提供了科学依据,并为茶芎中其他未知组分的发现和鉴定奠定了基础。然而,本研究也存在一些局限性,例如化合物的结构推断不够准确,没有对特征性成分定量分析,没有考虑化合物之间的相互作用与协同效应等。基于此,未来的研究方向可从以下几方面展开:优化 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的分析条件和参数,提高茶芎中化合物的检测效率和准确度;利用其他的分析方法对茶芎中的化合物进行结构验证和补充,如核磁共振、红外光谱、紫外光谱等,提高茶芎中化合物的鉴定可靠性和完整性;对茶芎中的特征性成分进行定量分析,建立茶芎的质量标准和评价体系,反映茶芎中各种化合物的含量差异和相对贡献;结合药理学和生物学的方法,探究茶芎中化合物的作用机制和相互作用,阐明茶芎的药效物质基础和药效成分组合等。

参考文献

- Jiangxi Food and Drug Administration. Standard of traditional Chinese Medicine in Jiangxi Province(江西省中药材标准)[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2014: 220.
- Huang M, Ye XW, Zhang JL, et al. Research progress and quality marker prediction of *Ligusticum sinense* Oliv. cv. Chaxiong in Jiangxi Province[J]. World Chin Med(世界中医药), 2023, 18: 1657-1666.
- Li QQ, Liu Y, Leng X, et al. Clinical study on prevention and treatment of radiation stomatitis of nasopharyngeal carcinoma with low temperature water extract of Chaxiong[J]. Lab Med Clin(检验医学与临床), 2022, 19: 2933-2936.
- Yang JB, Wang AG, Cheng XL, et al. Anti-stroke components in roots of *Ligusticum sinense* Oliv. cv. Chaxiong and the chemical constituents[J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2022, 24: 990-995.
- Wu XH, Yin XM, Yuan YJ, et al. Study on Jiangxi specialty traditional Chinese Medicine Chaxiong against ADP-induced platelet aggregation[J]. Prac Clin J Integr Tradit Chin West Med(实用中西医结合临床), 2021, 21: 155-156.
- Wang MH, Pi CH, Yang M, et al. A clinical research on COVID-19 syndrome of dampness due to spleen deficiency prevention based on Jiangxi characteristic herbal pieces fried Semen Coicis and *Ligusticum sinense*[J]. Drug Eval(药品评价), 2021, 18: 196-198.
- Fan CS. Preliminary study on Jiangxi specialty Chinese medicine Chaxiong[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 1982, 7: 8-11.
- Luo YM. Research progress of Chaxiong[J]. J Jiangxi Univ Chin Med(江西中医学院学报), 1998, 2: 40-42.
- Zhao XM. The compendium of Materia Medica(本草纲目拾遗)[M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 1998: 78.
- Zhang L. Benjing Fengyuan(本经逢原)[M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 1996: 285.
- Yan XT. Depei Bencao(得配本草)[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1958: 240.
- Gong WW, Luo GM, Qin Q, et al. Establishment of HPLC fingerprint and content determination of differential components in *Ligusticum sinense*[J]. China Pharm(中国药房), 2022, 33: 1968-1973.
- Pan MF. Studies on chemical constituents of *Ligusticum Chuanxiong* and content determination of multi-marker compounds[D]. Chengdu: Southwest Jiaotong University(西南交通大学), 2014.

- 14 Han W. Advances in the chemical constituents and pharmacological effects of *Ligusticum sinense* Oliv cv. Chaxiong[J]. China Med Her(中国医药导报), 2017, 14:45-48.
- 15 Han W. Advances in chemical constituents and pharmacological effects of *Ligusticum chuanxiong*[J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2017, 19:1341-1349.
- 16 Jia ZX, Cong SY, Pan MX, et al. Analysis of chemical constituents of Suxiao Jiuxin Pills by UPLC-Q-TOF-MS[J]. Drug Eval Res(药物评价研究), 2023, 46:330-341.
- 17 Du YQ, Yang H, Tan CM, et al. Rapid analysis of chemical components in Baoxingning Capsules based on UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS technology[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2022, 57:1842-1850.
- 18 Zhang XJ, Zhang YL, Zuo DD, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Ligusticum chuanxiong* Hort. [J]. Chin Med Inf(中医药信息), 2020, 37:128-133.
- 19 Xu HR, Qiao XY, Zhang TH, et al. Analysis of chemical components of Miao medicine *Rosae Roxburghii* Folium based on UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS[J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2022, 24:1850-1860.
- 20 Zhang QQ, Feng Y, Li CH, et al. Rapid identification of phthalides and organic acids in *Angelica sinensis* based on UPLC-Q-TOF/MS[J]. China Pharm(中国药房), 2022, 33:579-585.
- 21 Yang H, Zeng L, Zheng ZX, et al. Analysis of the chemical constituents of the ethnomedicine green prickly point based on UHPLC-Q/Orbitrap HRMS technique[J]. J Chin Med Mater(中药材), 2022, 45:2144-2150.
- 22 Wei Q, Yang JB, Wang AG, et al. Chemical constituents from aerial parts of *Ligusticum sinense* cv. Chaxiong[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2014, 45:1980-1983.
- 23 Wang J. Study on the chemical constituents of anti-cerebral stroke in *Ligusticum sinense* Oliv. cv Chaxiong[D]. Beijing: Peking Union Medical College(北京协和医学院), 2011.
- 24 Zhang CC, Wang CH, Li J, et al. Identification of chemical compositions and rapid quantification of amygdalin and prunasin in *Prunus persica* by UHPLC-Q-Orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2022, 42:347-355.
- 25 Zhang X. Changes of processing components of *Gastrodia elata* processed with ginger from Jian Changbang, Jiangxi Province and its mechanism of action on migraine[D]. Nanchang: Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine(江西中医药大学), 2021.
- 26 Zhang Y, Deng Q, Wei M, et al. Rapid Identification chemical constituents in *Angelica keiskei* based on UPLC-Q-Orbitrap HRMST echnology[J]. Asia-Pacific Tradit Med(亚太传统医药), 2022, 18:40-49.
- 27 Ma L, Shi HY, Cai MC, et al. Analysis on ingredients of Wendan Decoction absorbed into plasma based on UPLC-QE-Orbitrap-MS[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2022, 33:1090-1097.
- 28 Yang YL, Feng Y, Chen H, et al. Research advance in phthalides and their biological activities[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2022, 34:1439-1453.
- 29 Ni WJ, Li WX, Wang XY, et al. Research progress on pharmacological effects and clinical combined application of 3-n-butylphthalide in cerebrovascular diseases[J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 2022, 57:3047-3056.
- 30 Zhang Z. Extraction, separation and purification of Z-ligustilide with neuroprotective effect in Chuanxiong[D]. Changsha: Hunan University(湖南大学), 2019.
- 31 Lin H. Protective effect of senkyunolide A against rats cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. J North Pharmacy(北方药学), 2016, 13:114-115.
- 32 Yang X, Zhu HF, Wang T, et al. Comparative analysis of amino acid composition and nutritional value of roots of *Codonopsis pilosula* from Wushan and other growing regions in China[J]. Food Sci(食品科学), 2014, 35:251-257.
- 33 Zhang N, Du LL, Wang D, et al. Research progress of phenolic acids in traditional Chinese medicine[J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2006, 2:25-28.
- 34 Liu HY, Lin QX, Ji YL, et al. Study on antiplatelet activity and antithrombotic effect of ferulic acid from an active ingredient of traditional Chinese medicine[J]. J Jiangxi Univ Chin Med(江西中医药), 2020, 51:63-66.