基于UPLC-QE-HF-MS/MS技术分析红凉伞化学成分及入血成分Δ

石　慧[1,2,3*]，李　晓[1]，周　英[1,2]，丁晶鑫[1]，刘　畅[1,2]，刘雄伟[1,2]，董　秀[4]，陈　赟[1]，俸婷婷[1,2#]（1.贵州中医药大学药学院，贵阳　550025；2.贵州中医药大学药食两用资源应用与开发研究中心，贵阳　550025；3.贵州中医药大学纳米药物技术研究中心，贵阳　550025；4.贵州三力制药股份有限公司，贵州 安顺　561100）

中图分类号　R917　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）03-0316-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.03.09

摘　要　目的　分析红凉伞提取物化学成分及入血成分，初步阐明其可能的药效物质基础。**方法**　采用配对比较法将12只大鼠随机分为空白组和红凉伞给药组，每组6只。每天上、下午各给药1次，连续3 d；第4天再次给药后，取血后制备血清样品。采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱技术对红凉伞提取物和血清样品中化学成分进行分析鉴定。使用Compound Discoverer 3.0软件进行保留时间矫正、峰识别、峰提取等工作，根据二级质谱信息，利用Thermo mzCloud在线数据库、Thermo mzVault本地数据库，并参照有关文献和对照品质谱信息，初步鉴定红凉伞化学成分及入血成分。**结果**　从红凉伞提取物中共鉴定出34个化合物，主要为香豆素类、黄酮类、有机酸类、氨基酸类等成分，包括岩白菜素、槲皮素、没食子酸、L-焦谷氨酸等化合物；从血清样本中共鉴定出5个入血成分，分别为L-焦谷氨酸、丁香酸、岩白菜素、朱砂根皂苷A、麦考酚酸。**结论**　本研究初步推测L-焦谷氨酸、丁香酸、岩白菜素、朱砂根皂苷A、麦考酚酸是红凉伞的药效物质基础。

关键词　红凉伞；化学成分；入血成分；超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱

Analysis of chemical constituents and components absorbed into plasma of *Ardisia crenata* based on UPLC-QE-HF-MS/MS

SHI Hui[1,2,3], LI Xiao[1], ZHOU Ying[1,2], DING Jingxin[1], LIU Chang[1,2], LIU Xiongwei[1,2], DONG Xiu[4], CHEN Yun[1], FENG Tingting[1,2] (1. School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 2. Research Center for Application and Development of Medicine and Food Dual-use Resources, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 3. Nano-drug Technology Research Center of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 4. Guizhou Sanli Pharmaceutical Co., Ltd., Guizhou Anshun 561100, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To analyze the chemical constituents and components absorbed into plasma of the extract of *Ardisia crenata* and to elucidate its possible pharmacodynamic material basis. **METHODS** Overall, 12 rats were randomly assigned to the blank group (n=6) and *A. crenata* group (n=6) by the paired comparison method. The drug was administered once daily in the morning and afternoon for three days. Serum samples were prepared from serum after redosing on 4th day. The UPLC-QE-HF-MS/MS was used to analyze and identify the chemical constituents in *A. crenata* extract and serum samples. Compound Discoverer 3.0 was employed for retention time correction, peak identification, and peak extraction. According to the secondary mass spectrometry information, the Thermo mzCloud online and Thermo mzVault local databases, referring to the relevant literature and control quality spectrum information were used to preliminarily identify the chemical constituents and components absorbed into plasma of *A. crenata*. **RESULTS** A total of 34 compounds were identified from the extract of *A. crenata*, mainly coumarins, flavonoids, organic acids, amino acids, including bergenin, quercetin, gallic acid, L-pyroglutamic acid, etc. Besides, 5 components absorbed into plasma were identified from serum samples: L-pyroglutamic acid, syringic acid, bergenin, cinnabar root saponin A, and mycophenolic acid. **CONCLUSIONS** L-pyroglutamic acid, syringic acid, bergenin, cinnabar root saponin A, and mycophenolic acid may act as the pharmacodynamic material basis of *A. crenata*.

KEYWORDS *Ardisia crenata*; chemical constituents; components absorbed into plasma; UPLC-QE-HF-MS/MS

Δ**基金项目** 贵州省科技计划项目（No.黔科合基础-ZK〔2022〕一般483）；贵州省科技成果应用及产业化（非临床专项）项目（No.黔科合成果〔2021〕一般137）；贵州省教育厅高校科技创新团队（No.黔教技〔2023〕069号）；贵州省教育厅高等学校科学研究项目（青年项目）（No.黔教技〔2022〕216号）；安顺市科技计划项目（No.安市科社〔2022〕15号）；贵州中医药大学博士启动基金（No.贵中医博士启动〔2019〕16）

＊**第一作者** 讲师，博士。研究方向：中药及民族药药效物质基础及质量标准。E-mail：462278666@qq.com

＃**通信作者** 教授，博士。研究方向：中药民族药及食药资源基础研究与应用。E-mail：ftt0809@163.com

红凉伞是紫金牛科紫金牛属植物红凉伞*Ardisia crenata* Sims var. bicolor（Walk）C.Y. Wu et C. Chen的干燥根及根茎，是壮族、瑶族常用民间草药[1—2]。红凉伞具有祛风除湿、清热解毒、止咳平喘等功效，常用于治疗跌

打损伤、关节疼痛、扁桃体炎、咽喉肿痛、腰背痛等[3—4]。红凉伞中主要化学成分有三萜皂苷类、黄酮类、香豆素类和酚酸类等多种成分[5—6]，现代药理学研究表明其具有抗病毒、抗肿瘤、防治心脑血管疾病及抑制乳腺癌转移等作用[7—8]。但红凉伞治疗疾病的药效物质基础尚不明确，且关于红凉伞的化学成分研究较少。基于中药血清药物化学理论，中药真正发挥功效的活性成分与其所含的固有成分往往不同，只有从血中发现直接作用的活性物质并追溯其前体化合物才能真正阐明中药发挥临床疗效的药效物质基础[9]。因此，本研究采用可以高效、快速得到目标分析物的分子离子峰和碎片离子等信息的超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法（UPLC-QE-HF-MS/MS）对红凉伞的化学成分进行分析，同时依据中药血清药物化学理论对其入血成分进行分析，以期为红凉伞药效物质基础研究提供参考，为建立科学的用药依据和质量控制方法提供依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括Thermo Vanquish型超高效液相色谱仪、Thermo Q-Exactive HF/MS四极杆串联高分辨质谱仪（美国Thermo Fisher Scientific公司），JP2-160型万分之一电子天平（日本Chyo公司），XS205型十万分之一电子天平（瑞士Mettler-Toledo公司），SB-600DTY型超声波清洗器（宁波新芝生科技股份有限公司），MTN-2800D型氮吹仪（天津奥特赛恩斯仪器有限公司）。

1.2 主要药品与试剂

红凉伞药材于2019年10月采集于贵州省凯里市雷山县雷公山，并经贵州中医药大学药学院魏升华教授鉴定为紫金牛科紫金牛属红凉伞*A. crenata* Sims var. bicolor（Walk）C.Y. Wu et C. Chen的干燥根及根茎。对照品岩白菜素（批号PS000991）、朱砂根皂苷A（批号PS011516）、丁香酸（批号D-019-180426）均购于成都瑞芬思生物科技有限公司，纯度均≥98%；甲醇、乙腈、甲酸为质谱级，水为超纯水。

1.3 动物

本研究所用动物为健康雄性清洁级SD大鼠，共12只，体重（200±20）g，购于长沙市天勤生物技术有限公司，动物生产许可证号为SCXK（湘）2019-0014。本研究动物实验符合贵州中医药大学实验动物伦理委员会审查批准要求（批准号为20210169）。

2 方法

2.1 红凉伞提取物的制备

称取红凉伞药材250 g，加10倍量水（mL/g）煎煮2次，每次2 h，趁热过滤，合并滤液。将滤液经旋转蒸发仪浓缩，真空干燥备用，得率为33.90%。

2.2 供试品溶液的制备

取相当于0.2 g生药材质量的提取物细粉，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入甲醇20 mL，密塞，称定质量；超声（功率180 W，频率40 kHz）处理40 min，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，收集续滤液。精密量取续滤液5 mL，置于10 mL量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，过0.22 μm微孔滤膜至进样杯中，供UPLC-QE-HF-MS/MS分析。

2.3 对照品溶液的配制

精密称取岩白菜素、朱砂根皂苷A、丁香酸对照品约10 mg分别至10 mL容量瓶中，用甲醇定容，得质量浓度为1 mg/mL的储备液。分别精密量取上述对照品储备液各500 μL，置于同一10 mL量瓶中，加甲醇定容，得混合对照品溶液。

2.4 分组、给药及取材

大鼠适应性喂养1周后，采用配对比较法将其随机分为空白组和红凉伞给药组，每组6只。实验期间，空白组大鼠自由摄食饮水，给药组大鼠灌胃“2.1”项下制备的提取物（生药质量浓度为0.5 g/mL），给药剂量为5 g/kg（约等于10倍成人临床等效剂量），每天上、下午各给药1次，连续3 d。第4天上午再次给药1 h后，腹腔注射2%戊巴比妥钠（2.25 mL/kg）对大鼠进行麻醉。腹主动脉取血，静置30 min，低温、低速离心（4 ℃，4 000 r/min，15 min），收集上清液，立刻冻存于－80 ℃冰箱中，供后续处理分析。

2.5 血清样品处理

取空白组和红凉伞给药组大鼠血清各200 μL，分别加入3倍量甲醇，涡旋混匀，在4 ℃下以10 000 r/min离心15 min，取上清液至EP管中，以37 ℃氮气吹干。残渣加入100 μL甲醇复溶，涡旋2 min，溶解，在4 ℃下以14 000 r/min离心15 min，取上清液，过0.22 μm微孔滤膜，即得待测血清样品。

2.6 检测条件

2.6.1 色谱条件

采用Agilent Zorbax Eclipse C_{18}色谱柱（100 mm×2.1 mm×1.8 μm）；流动相为乙腈（A）-0.1%甲酸溶液（B），梯度洗脱（0～2 min，5%A；2～7 min，5%A→30%A；7～12 min，30%A→78%A；12～14 min，78%A；14～18 min，78%A→95%A）；柱温为30 ℃；流速为0.3 mL/min；进样量为2 μL；自动进样器温度为4 ℃。

2.6.2 质谱条件

采用电喷雾离子源（ESI），在正、负离子模式下检测；加热器温度为325 ℃；鞘气压力为45 arb，辅助气压力为15 arb，吹扫气压力为1 arb；电喷雾电压为3.5 kV；毛细管温度为330 ℃；S-Lens RF Level为55；扫描模式为一级全扫描（full scan，*m/z* 100→1 500）与数据依赖性二级质谱扫描（dd-MS^2，Top N＝10）；分辨率为70 000

（一级质谱）、17 500（二级质谱）；碰撞模式为高能量碰撞解离模式。

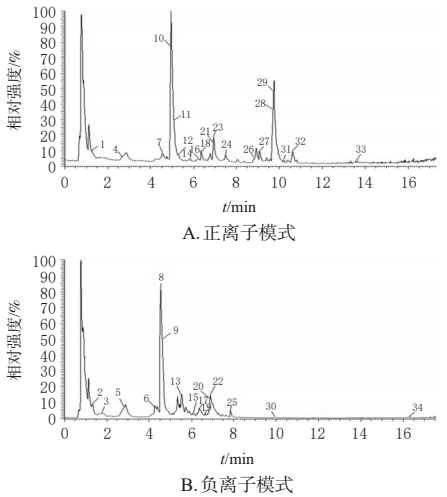
2.7 红凉伞化学成分及入血成分分析

取红凉伞供试品溶液、含药血清样品、空白血清样品，按“2.6”项下条件进行UPLC-QE-HF-MS/MS分析，记录图谱信息。使用Compound Discoverer 3.0软件进行保留时间矫正、峰识别、峰提取等工作，根据二级质谱信息，利用Thermo mzCloud在线数据库、Thermo mzVault本地数据库，并参照有关文献和对照品质谱信息，初步鉴定红凉伞化学成分及入血成分。

3 结果

3.1 红凉伞提取物化学成分鉴定

对红凉伞样品的质谱数据进行分析可知，从红凉伞提取物中共鉴定出34个化合物，其中包括香豆素类化合物4个、黄酮类化合物5个、黄酮苷类化合物1个、有机酸类化合物3个、酯类化合物4个、酚类化合物3个、皂苷类化合物2个、氨基酸类化合物3个、脂肪酸类化合物3个、其他类化合物6个，详见表1。红凉伞样品的总离子流图见图1。



A. 正离子模式

B. 负离子模式

图1 正、负离子模式下红凉伞提取物的总离子流图

表1 红凉伞提取物中化学成分鉴定结果

序号	保留时间/min	化合物名称	分子式	模式	准分子离子峰(*m/z*)	主要特征碎片(*m/z*)	化合物类型
1	1.180	L-焦谷氨酸	$C_5H_7NO_3$	$[M+H]^+$	130.049 9	112.087 1，84.044 9	氨基酸类
2	1.310	1-乙氧基-4-羟基-5-羰基-2,5-二氢-1*H*-吡咯-3-甲酸甲酯	$C_8H_{11}NO_5$	$[M-H]^-$	200.055 9	156.065 7，96.355 3	酯类
3	1.776	没食子酸	$C_7H_6O_5$	$[M-H]^-$	169.013 5	125.023 5，60.057 2	有机酸类
4	2.576	L-苯丙氨酸	$C_9H_{11}NO_2$	$[M+H]^+$	166.086 3	149.059 7，120.080 9	氨基酸类
5	2.832	1-水杨酸葡萄糖醛酸酯	$C_{13}H_{14}O_9$	$[M-H]^-$	313.056 7	266.111 1，258.801 1，193.013 5，101.467 5，70.193 5，68.421 0	酯类
6	4.260	秦皮素	$C_{10}H_8O_5$	$[M-H]^-$	207.029 3	192.005 8，147.446 4	香豆素类
7	4.547	丁香酸	$C_9H_{10}O_5$	$[M+H]^+$	199.060 0	181.049 4，155.070 1，153.090 9，140.046 7，139.038 9，123.044 2，95.049 6	有机酸类
8	4.556	岩白菜素	$C_{14}H_{16}O_9$	$[M-H]^-$	327.072 2	297.332 8，249.040 2，237.039 5，213.936 7，207.029 3，193.013 4，192.005 9，154.388 5	香豆素类
9	4.577	3-(2,3-二氢苯并[1,4]二噁英-6-基)-7-羟基-2-三氟甲基-4-酮	$C_{18}H_{11}F_3O_5$	$[M-H]^-$	363.048 9	290.186 2，177.873 7	黄酮类
10	4.901	异香草酸	$C_8H_8O_4$	$[M+H]^+$	169.049 4	125.059 8，123.080 5，111.044 3，110.036 5，95.085 9	有机酸类
11	5.078	对羟基苯甲酸乙酯	$C_9H_{10}O_3$	$[M+H]^+$	167.070 3	152.010 4，121.101 3	酯类
12	5.270	4,9-二羟基-7*H*-呋喃并[3,2-g]色烯-7-酮	$C_{11}H_6O_5$	$[M+H]^+$	219.028 6	204.041 6，201.054 6，191.070 2，159.044 0	其他类
13	5.512	*N*-乙酰基-L-苯丙氨酸	$C_{11}H_{13}NO_3$	$[M-H]^-$	206.081 7	164.070 9，147.044 2	氨基酸类
14	5.840	槲皮素3-*O*-鼠李糖苷-7-*O*-葡萄糖苷	$C_{27}H_{30}O_{16}$	$[M+H]^+$	611.160 7	465.102 5，303.049 6，242.102 1	黄酮苷类
15	6.072	11-*O*-香草酰岩白菜素	$C_{22}H_{22}O_{12}$	$[M-H]^-$	477.103 9	207.029 3，192.005 7	香豆素类
16	6.225	黄颜木素	$C_{15}H_{12}O_6$	$[M+H]^+$	289.070 4	271.059 8，258.072 8，243.065 0，215.070 2，187.130 9，153.018 3，139.038 9，137.079 0	黄酮类
17	6.378	朱砂根皂苷A	$C_{53}H_{88}O_{22}$	$[M-H]^-$	1 075.571 4	161.044 7，131.034 0，113.023 4，101.023 4	皂苷类
18	6.383	3-羟基-2-甲基吡啶	C_6H_7NO	$[M+H]^+$	110.060 3	95.049 5，92.049 9	其他类
19	6.663	槲皮素	$C_{15}H_{10}O_7$	$[M-H]^-$	301.035 4	178.997 7，151.002 8，121.028 4，107.012 6	黄酮类
20	6.836	百两金皂苷A	$C_{52}H_{84}O_{22}$	$[M-H]^-$	1 059.540 5	161.044 7，159.129 1，113.023 4，101.023 4	皂苷类
21	6.900	杨梅素	$C_{15}H_{10}O_8$	$[M+H]^+$	319.044 5	301.034 0，153.018 1，111.007 9，107.049 4，79.762 4	黄酮类
22	6.903	(10*E*,15*Z*)-9,12,13-三羟基-10,15-十八碳二烯酸	$C_{18}H_{32}O_5$	$[M-H]^-$	327.217 7	171.101 8，85.028 5	脂肪酸类
23	6.919	白藜芦醇	$C_{14}H_{12}O_3$	$[M+H]^+$	229.085 7	211.075 2，193.064 9	酚类
24	7.502	11-*O*-丁香酰矮地茶素	$C_{23}H_{24}O_{13}$	$[M+H]^+$	509.128 8	103.131 0，93.237 5，80.950 1	香豆素类
25	7.838	麦考酚酸	$C_{17}H_{20}O_6$	$[M-H]^-$	319.118 8	258.899 2，192.042 1，179.034 3，120.301 3，89.225 4，73.028 4，72.093 8，59.012 8	酚类
26	8.837	4-甲基伞形酮葡萄糖醛酸	$C_{16}H_{16}O_9$	$[M+H]^+$	353.086 4	353.086 5，177.054 6，85.029 0	其他类
27	9.063	圣草酚	$C_{15}H_{12}O_6$	$[M+H]^+$	289.070 3	271.059 5，153.018 1，58.065 9	黄酮类
28	9.711	3,6,19-三羟基-12-烯-28-酸	$C_{30}H_{48}O_5$	$[M+H]^+$	489.357 2	471.346 6，453.335 9	脂肪酸类
29	9.734	2-(2,3-二氢-1,4-苯并二噁英-6-基)-2-苯基乙胺	$C_{16}H_{17}NO_2$	$[M+H]^+$	256.132 8	238.122 3，105.033 8	其他类
30	9.936	(*Z*)-12,13-二羟基十八烷基-9-烯酸	$C_{18}H_{34}O_4$	$[M-H]^-$	313.238 6	211.933 0，201.112 4，87.795 9，72.766 2，59.949 3，57.526 1	脂肪酸类
31	10.210	瑟丹酸内酯	$C_{12}H_{18}O_2$	$[M+H]^+$	195.137 9	177.127 4，159.116 8	酯类
32	10.629	4-乙氧基苯甲醛	$C_9H_{10}O_2$	$[M+H]^+$	151.075 3	136.051 9，123.080 5	其他类
33	13.549	隐丹参酮	$C_{19}H_{20}O_3$	$[M+H]^+$	297.148 3	279.137 8，254.093 6	其他类
34	16.259	2,2′-亚甲基双(4-甲基-6-叔丁基苯酚)	$C_{23}H_{32}O_2$	$[M-H]^-$	339.232 9	217.095 5，163.112 1	酚类

3.2 主要化合物结构解析

3.2.1 香豆素类化合物的鉴定

本研究以化合物8为例进行鉴定分析。在负离子模式下，化合物8的保留时间为4.556 min，准分子离子峰为*m/z* 327.072 2[M－H]⁻，分子式为$C_{14}H_{16}O_9$。二级质谱信息中，首先，母离子丢失1分子－CH_2O，得到碎片离子*m/z* 297.332 8[M－H－OCH_2]⁻，进一步丢失1分子－CH_2OH和1分子－OH，得到碎片离子*m/z* 249.040 2[M－H－OCH_2－CH_2OH－OH]⁻，再丢失2分子H_2O，得到碎片离子*m/z* 213.936 7[M－H－OCH_2－CH_2OH－OH－$2H_2O$]⁻；或者在丢失1分子－CH_2O的基础上，丢失1分子－CH_2OH和1分子－CHO，得到碎片离子*m/z* 237.039 5[M－H－OCH_2－CH_2OH－CHO]⁻，进一步丢失1分子CO_2，得到碎片离子*m/z* 193.013 4[M－H－OCH_2－CH_2OH－CHO－CO_2]⁻。其中，最强的碎片离子峰是母离子丢失1分子－$C_4H_8O_4$得到碎片离子*m/z* 207.029 3[M－H－$C_4H_8O_4$]⁻，进一步丢失1分子－CH_3得到碎片离子*m/z* 192.005 9[M－H－$C_4H_8O_4$－CH_3]⁻，再通过内酯环裂解与氢位移，得到碎片离子*m/z* 154.388 5[M－H－$C_4H_8O_4$－CH_3－C_2O+H]⁻。根据碎片信息、对照品比对及文献报道[10]，推测该化合物为岩白菜素，其可能裂解途径见图2。

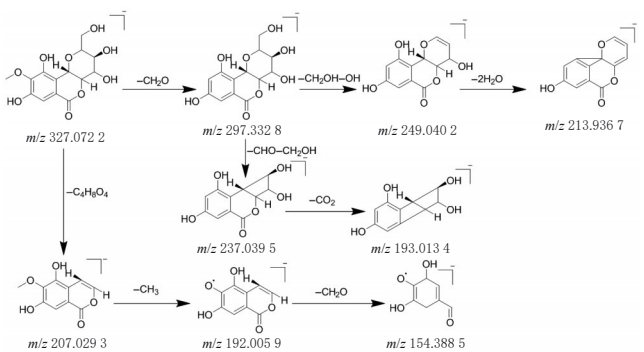


图2 岩白菜素的质谱裂解途径

3.2.2 黄酮及其苷类化合物的鉴定

本研究从红凉伞提取物中共鉴定了6个黄酮及其苷类化合物，主要结构类型为黄酮醇类及糖苷类等，本研究分别以化合物19和化合物14为例进行鉴定分析。

在负离子模式下，化合物19的保留时间为6.663 min，准分子离子峰为*m/z* 301.035 4[M－H]⁻，分子式为$C_{15}H_{10}O_7$。母离子分别通过黄酮类化合物的2种经典裂解途径——RDA裂解和裂解途径Ⅱ裂解，得到碎片离子*m/z* 151.002 8[M－H－$C_8H_6O_3$]⁻和*m/z* 107.012 6[M－H－$C_9H_6O_5$]⁻，其均为黄酮类化合物的特征碎片离子。准分子离子峰*m/z* 301.035 4[M－H]⁻再丢失1分子－$C_8H_3O_5$得到碎片离子*m/z* 121.028 4[M－H－$C_8H_3O_5$]⁻。根据碎片离子信息及文献报道[11]，推测该化合物为黄酮类化合物槲皮素，其可能裂解途径见图3。

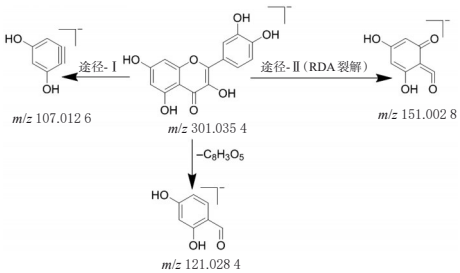


图3 槲皮素的质谱裂解途径

在正离子模式下，化合物14的保留时间为5.840 min，准分子离子峰为*m/z* 611.160 7[M+H]⁺，分子式为$C_{27}H_{30}O_{16}$。母离子首先丢失1分子鼠李糖（Rha）得到碎片离子*m/z* 465.102 5[M+H－Rha]⁺，再丢失1分子葡萄糖（Glc）生成*m/z* 303.049 6[M+H－Rha－Glc]⁺，再进一步丢失1分子－CO和2分子－OH获得碎片离子*m/z* 242.102 1[M+H－Rha－Glc－CO－2OH]⁺。根据碎片信息及文献报道[12]，推测其为黄酮苷类化合物槲皮素3-*O*-鼠李糖苷-7-*O*-葡萄糖苷，其可能的裂解途径见图4。

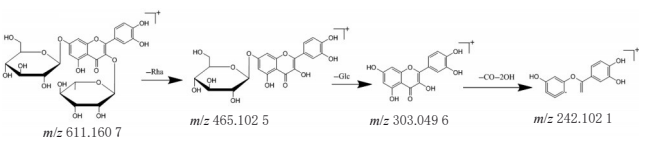


图4 槲皮素3-*O*-鼠李糖苷-7-*O*-葡萄糖苷的质谱裂解途径

3.2.3 有机酸类化合物的鉴定

在红凉伞提取物中找到较多有机酸类化合物，此类化合物结构相对简单，多为苯环连接－OH、－OCH_3、－COOH等基团。

本研究以化合物7为例进行鉴定分析。在正离子模式下，化合物7的保留时间为4.547 min，准分子离子峰为*m/z* 199.060 0[M+H]⁺，分子式为$C_9H_{10}O_5$。母离子脱去1分子H_2O生成碎片离子*m/z* 181.049 4[M+H－H_2O]⁺；或者失去1分子CO_2获得碎片离子*m/z* 155.070 1[M+H－CO_2]⁺，在此基础上再失去1分子－CH_3获得碎片离子*m/z* 140.046 7[M+H－CO_2－CH_3]⁺，继续丢失1分子－OH获得*m/z* 123.044 2[M+H－CO_2－CH_3－OH]⁺，再丢失1分子－CO生成碎片离子*m/z* 95.049 6[M+H－CO_2－CH_3－OH－CO]⁺。根据碎片离子信息、对照品比对及文献报道[8]，推测该化合物为丁香酸，其可能裂解途径见图5。

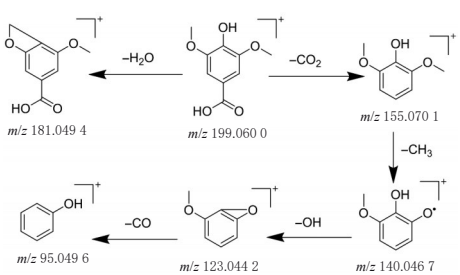


图5 丁香酸的质谱裂解途径

3.3 红凉伞入血成分鉴定

本研究首先通过空白血清扣除大鼠血液中物质对药材入血成分分析的影响，然后通过对比含药血清、空白血清以及红凉伞药材提取物的质谱信息，根据色谱峰保留时间、质谱裂解规律及与对照品的比较，共鉴定出5个入血成分，分别为L-焦谷氨酸、丁香酸、岩白菜素、朱砂根皂苷A、麦考酚酸，详见表2。正、负离子模式下大鼠空白血清及含药血清的总离子流图见图6。

表2 红凉伞提取物入血成分鉴定结果

序号	保留时间/min	化合物名称	分子式	模式	准分子离子峰(*m/z*)	主要特征碎片(*m/z*)
Y1	0.926	L-焦谷氨酸	$C_5H_7NO_3$	$[M-H]^+$	130.049 9	112.087 1，84.044 9
Y2	4.464	丁香酸	$C_9H_{10}O_5$	$[M-H]^+$	199.060 0	181.049 1，155.070 1
Y3	4.953	岩白菜素	$C_{14}H_{16}O_9$	$[M-H]^-$	327.217 8	192.005 8，297.332 8
Y4	6.061	朱砂根皂苷A	$C_{53}H_{88}O_{22}$	$[M-H]^-$	1 075.571 3	161.044 6，113.023 5
Y5	10.659	麦考酚酸	$C_{17}H_{20}O_6$	$[M-H]^-$	319.118 7	275.128 6，210.745 2

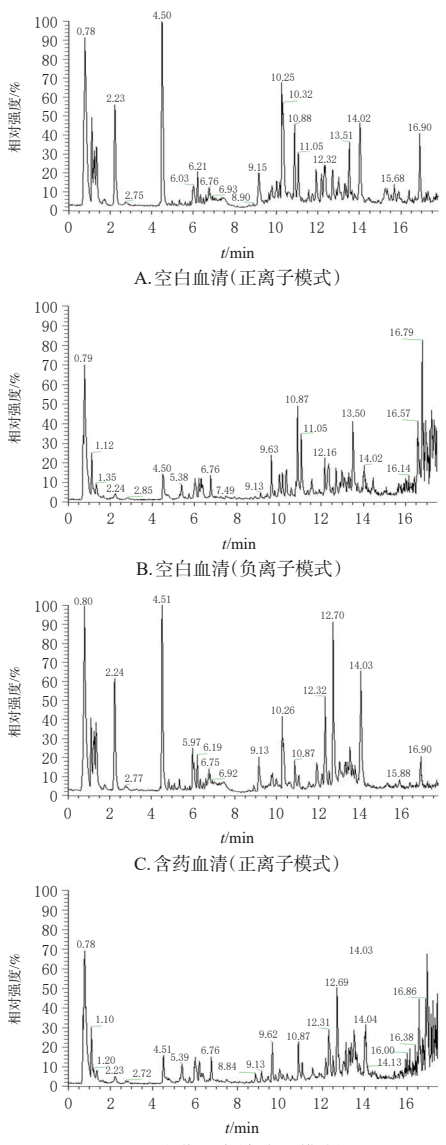


图6 正、负离子模式下大鼠空白血清及含药血清的总离子流图

3.4 对照品验证

在红凉伞提取物的化学成分及入血成分中，岩白菜素、丁香酸和朱砂根皂苷A这3个成分均有检出。因此，本研究选择岩白菜素、丁香酸和朱砂根皂苷A的对照品进行化合物验证。将红凉伞提取物中这3个成分的二级质谱图与各相应对照品的二级质谱图进行镜像比对，发现两者的碎片离子大量重合，基本可以确定为同一化合物，验证了本研究数据的准确性。本研究以岩白菜素的二级质谱图为例进行结果展示，详见图7。

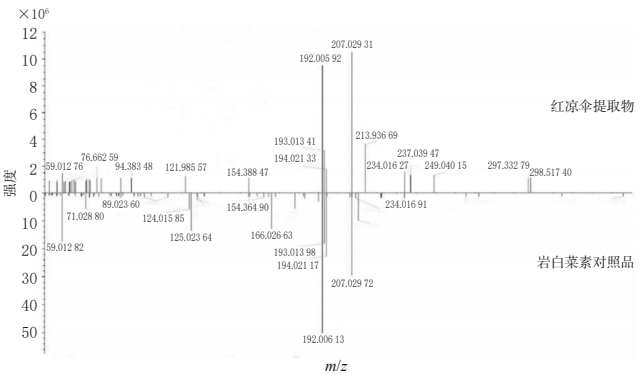


图7 岩白菜素二级质谱图比对镜像图

4 讨论

本研究采用UPLC-QE-HF-MS技术结合中药血清药物化学理论，鉴定出了红凉伞提取物中的34个化学成分，并鉴定出5个原型入血成分，分别为L-焦谷氨酸、丁香酸、岩白菜素、朱砂根皂苷A、麦考酚酸。红凉伞的化学成分及入血成分主要为香豆素类、黄酮类、酚酸类及皂苷类成分。其中，岩白菜素为香豆素类化合物，具有抗炎镇痛、抗心律失常、抗肿瘤、抗氧化、促进睡眠等作用，同时其对呼吸系统、消化系统、免疫系统有一定影响[13]；丁香酸具有治疗白内障的作用[14]；麦考酚酸是有机酸类物质，具有抗肿瘤、抗癌、抗炎等作用[15—16]；朱砂根皂苷A等三萜皂苷类化合物具有抗肿瘤、抗病毒、抗氧化、抗炎、增强免疫等药理作用[17]；L-焦谷氨酸及其衍生物具有较好的抑菌、抗氧化及抗炎作用[18]。

综上所述，L-焦谷氨酸、丁香酸、岩白菜素、朱砂根皂苷A及麦考酚酸可以初步推测为红凉伞的药效物质基础，为后续研究奠定了基础。但中药化学成分复杂，部分化合物响应值较低，本研究检测及鉴定出的成分并不完全，研究结果具有一定局限性，后续还需进行深入研究。

参考文献

[1] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准：2003年版[M]. 贵阳：贵州科技出版社，2003：164.
Guizhou Provincial Drug Administration. Quality standards for traditional Chinese medicine and ethnic medicinal materials in Guizhou province：2003 edition[M]. Guiyang：Guizhou Science and Technology Publishing House，2003：164.

[2] 魏江存，陈勇，康梦莹，等. 瑶药红凉伞的质量标准初步研究[J]. 广西中医药大学学报，2016，19(4)：62-64.
WEI J C，CHEN Y，KANG M Y，et al. Primary research on quality standard for *Ardisia crenata* Sims. var. bicolor (Walker) of Yao medicine[J]. J Guangxi Univ Chin Med，2016，19(4)：62-64.

[3] 王雪，唐生安，翟慧媛，等. 红凉伞抗肿瘤转移化学成分研究[J]. 中国中药杂志，2011，36(7)：881-885.
WANG X，TANG S A ZHAI H Y，et al. Studies on anti-tumor metastatic constituents from *Ardisia crenata*[J]. China J Chin Mater Med，2011，36(7)：881-885.

[4] 宿树兰，李永辉，欧阳臻，等. 紫金牛属药用植物中三萜皂苷成分的研究进展[J]. 中药材，2003，26(2)：144-148.
SU S L，LI Y H，OUYANG Z，et al. Research progress of triterpenoid saponins in medicinal plants of *Ardisia*[J]. J Chin Med Mater，2003，26(2)：144-148.

[5] 叶洪波，周永强，廖张蓉，等. 红凉伞根三萜类化学成分分离与鉴定[J]. 中药材，2022，45(2)：346-350.
YE H B，ZHOU Y Q，LIAO Z R，et al. Isolation and identification of triterpenoids from the roots of *Ardisia crenata* var. bicolor[J]. J Chin Med Mater，2022，45(2)：346-350.

[6] 李晓，石慧，丁晶鑫，等. 不同基原八爪金龙药材中黄酮、香豆素类化学成分分析[J]. 中国药房，2021，32(4)：443-452.
LI X，SHI H，DING J X，et al. Analysis of chemical constituents as flavonoids and coumarins in Radix Ardisiae from different sources[J]. China Pharm，2021，32(4)：443-452.

[7] 胡志霞，王文元，王岩，等. 红凉伞提取物调控MNX1-AS1对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 新中医，2020，52(22)：10-14.
HU Z X，WANG W Y，WANG Y，et al. Effect of extract of *Ardisia crenata* var. bicolor regulating MNX1-AS1 on proliferation and apoptosis of breast cancer cells[J]. J N Chin Med，2020，52(22)：10-14.

[8] 王雪. 红凉伞抗肿瘤转移化学成分研究[D]. 天津：天津医科大学，2011.
WANG X. Studies on anti-tumor metastatic constituents from *Ardisia crenata*[D]. Tianjin：Tianjin Medical University，2011.

[9] 闫广利，孙晖，张爱华，等. 中药血清药物化学研究概况及其理论和方法拓展[J]. 中国中药杂志，2015，40(17)：3406-3412.
YAN G L，SUN H，ZHANG A H，et al. Progress of serum pharmacochemistry of traditional Chinese medicine and further development of its theory and method[J]. China J Chin Mater Med，2015，40(17)：3406-3412.

[10] LI B H，WU J D，LI X L. LC-MS/MS determination and pharmacokinetic study of bergenin，the main bioactive component of *Bergenia purpurascens* after oral administration in rats[J]. J Pharm Anal，2013，3(4)：229-234.

[11] 李伟，冯育林，黎田儿，等. UPLC-Q-TOF/MS技术结合诊断离子方法快速分析连钱草中黄酮类化合物[J]. 质谱学报，2016，37(6)：504-516.
LI W，FENG Y L，LI T E，et al. Rapid analysis on flavonoids in *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr by UPLC-Q-TOF/MS coupled with diagnostic ions[J]. J Chin Mass Spectrom Soc，2016，37(6)：504-516.

[12] MIZUNO T，UCHIYAMA N，TANAKA S，et al. Flavonoids from *Sedum japonicum* subsp. *oryzifolium* (Crassulaceae)[J]. Molecules，2022，27(21)：7632.

[13] 崔爽，张明倩，梁五林，等. 岩白菜的药理作用研究进展[J]. 西部中医药，2022，35(10)：123-128.
CUI S，ZHANG M Q，LIANG W L，et al. Advances in pharmacological action of Yanbaicai[J]. West J Tradit Chin Med，2022，35(10)：123-128.

[14] 刁红星，易燕群，戚辉，等. 石斛酚与丁香酸联合抗白内障作用及其机制研究[J]. 中国中药杂志，2012，37(16)：2429-2434.
DIAO H X，YI Y Q，QI H，et al. Study on anti-cataract effect of gigantol combined with syringic acid and their mechanism[J]. China J Chin Mater Med，2012，37(16)：2429-2434.

[15] BENJANUWATTRA J，CHAIYAWAT P，PRUKSAKORN D，et al. Therapeutic potential and molecular mechanisms of mycophenolic acid as an anticancer agent[J]. Eur J Pharmacol，2020，887：173580.

[16] MORENO-ARQUIETA I A，CARDENAS-DE LA GARZA J A，ESQUIVEL-VALERIO J A，et al. Mycophenolate mofetil and mycophenolic acid for the treatment of eosinophilic fasciitis：report of two cases and literature review[J]. J Dermatolog Treat，2022，33(3)：1765-1768.

[17] 叶晴，陈金鹏，凌悦，等. 朱砂根化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中草药，2022，53(9)：2851-2860.
YE Q，CHEN J P，LING Y，et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of Ardisiae Crenatae Radix[J]. Chin Tradit Herb Drugs，2022，53(9)：2851-2860.

[18] 艾立坤. L-焦谷氨酸磺酰酯类衍生物抗菌活性及(+)-Alstonlarsine A的合成探索[D]. 贵阳：贵州大学，2023.
AI L K. Antibacterial activity of sulfonyl derivatives of L-pyroglutamate and synthesis of (+)-Alstonlarsine A[D]. Guiyang：Guizhou University，2023.

（收稿日期：2023-08-11　修回日期：2023-11-24）
（编辑：林　静）