

的有力手段^[9-10]。本实验采用此分析技术对杜仲入血成分进行研究,共鉴定出 12 种原型入血成分。根据入血成分可能是中药的有效活性成分^[11]这一观点,结合参考文献 [12-13] 分析推测其可能为潜在的抗补体活性成分。

本实验从抗补体活性与入血成分两方面对杜仲进行研究,以期有助于拓宽对杜仲药用功效的认知,同时也为进一步讨论杜仲的药效活性提供参考。

参考文献:

[1] 袁尚红,张学俊,任雅芳,等. 全杜仲胶囊治疗高血压的临床疗效[J]. 中国社区医师 (医学专业), 2012, 14 (35): 138.

[2] 王 娟,褚小刚. 全杜仲胶囊联合红花逍遥片治疗绝经后骨质疏松 38 例[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34 (4): 1086-1087.

[3] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志第 79 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1996: 23.

[4] 郭 静,李 敏,杨付梅,等. 补体旁路激活致小鼠急性肺损伤的炎症病理机制研究[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(11): 1521-1526.

[5] Arumugam T V, Woodruff T M, Lathia J D, et al. Neuroprotection in stroke by complement inhibition and immunoglobulin therapy [J]. *Neuroscience*, 2008, 158 (3):

1074-1089.

[6] 倪付勇,谢 雪,温建辉,等. 茯苓非多糖类化学成分的抗补体活性[J]. 中草药, 2019, 50(11): 2529-2533.

[7] He M, Jia J, Li J, et al. Application of characteristic ion filtering with ultra-highperformance liquid chromatography quadrupole time of flight tandem mass spectrometry for rapid detection and identification of chemical profiling in *Eucommia ulmoides* Oliv[J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1554: 81-91.

[8] 栾庆祥. 杜仲化学成分和药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(9): 153-156.

[9] 唐 娟,吴 耽,陈思颖,等. 基于 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 的红禾麻提取物化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(24): 67-72.

[10] 翟兴英,张 凌,李冰涛,等. 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析半夏药材中的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(7): 173-183.

[11] 常存库,王喜军. 中药血清药物化学理论与方法的意义[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2010, 12(4): 634-637.

[12] 徐 晗,章蕴毅,张建文,等. 天然产物中的抗补体活性成分[J]. 中国天然药物, 2007, 5(5): 322-332.

[13] 倪付勇,刘 露,宋亚玲,等. 金银花中抗补体活性酚酸类成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(2): 269-274.

HPLC-MS/MS 法分析中华常春藤与洋常春藤化学成分

倪力军¹, 诸葛 敏¹, 高丽丽², 胡江宁³, 金汉台³, 金志文³
(1. 华东理工大学化学与分子工程学院, 上海 200237; 2. 中国医学科学院药物研究所, 北京 100050; 3. 浙江康恩贝中药有限公司, 浙江 丽水 323400)

摘要: **目的** 采用 HPLC-MS/MS 法分析中华常春藤与洋常春藤的化学成分。**方法** 中华常春藤与洋常春藤 80% 甲醇提取物的分析采用 Hypersil Gold C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 3 μm); 流动相 0.05% 甲酸-甲醇, 梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 检测波长 205 nm。采用电喷雾 (ESI) 离子源, 在正负离子模式下采集数据。**结果** 通过相对分子量、参考文献、对照品和数据库等提供的化学信息, 从 2 种常春藤中鉴定或推断出 53 种成分。**结论** 该方法准确稳定, 重复性好, 可用于中华常春藤叶和洋常春藤叶的质量控制。

关键词: 洋常春藤; 中华常春藤; 定性分析; HPLC-MS/MS

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)04-1094-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.04.049

中华常春藤 *Hedera nepalensis* var. *K. Koch var. sinensis* (Tobl.) Rehder 和洋常春藤 *Hedera helix* L 为五加科常春藤属的 2 个亚种, 两者在我国大部分地区均有分布。中华常

春藤药用价值被许多中药典籍记载^[1], 功能主治祛风利湿、活血化瘀、平肝、解毒, 可用于治疗风湿关节急性结膜炎等病症。洋常春藤原产于欧洲和北非^[2], 已被列入欧

收稿日期: 2020-08-18
基金项目: 国家科技重大专项重大新药创制 (2018ZX09721003)
作者简介: 倪力军 (1963—), 女, 教授, 硕士生导师, 研究方向为天然产物的分离纯化与中药新药开发。Tel: (021) 64253694, E-mail: nljfyt@163.com

洲药典^[3]，其乙醇提取物具有止咳解痉、抗炎、抗病毒、抗氧化、抗癌等作用^[4-5]，但国内对其药用研究较少。文献记载表明中华常春藤和洋常春藤的临床适应症不同。对比研究两者化学成分的异同对于开发以常春藤为原料的植物新药具有重要意义。

常春藤属植物主要含五环三萜皂苷、黄酮类、多酚类和有机酸等成分。Kanwal 等^[6]、Saleem 等^[7]、Jafri 等^[8]研究中华常春藤时分别使用甲醇、正己烷、乙酸乙酯、水进行提取，发现各相提取物中主要含有黄酮、固醇、三萜皂苷和强心苷类成分。洋常春藤中被研究最多、生物活性较好的成分主要为三萜皂苷类（占比 2.5%~6%）^[5]，洋常春藤还含有其他成分^[9]，如黄酮类、酚酸类、花色苷类、香豆素类、生物碱、挥发油、维他命、碳水化合物。但对比中华常春藤和洋常春藤化学成分的研究尚未见报道。本研究使用 HPLC-MS/MS 对 2 种常春藤中化学成分进行定性鉴别和对比分析，从成分种类和化学结构层面上了解其化学成分的异同。

1 材料与方法

1.1 仪器 XSE105DU 电子天平 [十万分之一，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司]；Mili-Q 超纯水仪（美国 Millipore 公司）；Thermo UltiMate 3000 高效液相色谱仪、Thermo Q-Exactive Plus MS/MS 质谱仪（美国 Thermo Fisher 公司）；DS-3510 DTH 超声波清洗器（上海生析超声仪器有限公司）。

1.2 试剂与药物 甲醇（色谱纯，德国 Merck 公司）；甲酸（分析纯，上海凌峰化学试剂有限公司）；超纯水采用纯水仪自制。对照品隐绿原酸（色谱纯，上海柏卡化学技术有限公司）；常春藤皂苷 C（色谱纯，浙江康恩贝制药股份有限公司）； α -常春藤皂苷、秦皮甲素（色谱纯，中国食品药品检定研究院）；绿原酸、芦丁、烟花苷、常春藤皂苷 B、常春藤皂苷 D（色谱纯，南京春秋生物工程有限公司）。

洋常春藤干燥叶批号为 HZ170402，于 2017 年 4 月 1 日采摘于浙江杭州市；中华常春藤干燥叶批号为 ZH180423，于 2018 年 4 月 23 日采摘于浙江省松阳县，均由浙江康恩贝中药有限公司提供，经中国中医科学院中药研究所陈士林教授鉴定为五加科常春藤属洋常春藤 *Hedera helix* L.、中华常春藤 *Hedera nepalensis* var. *K. Koch* var. *sinensis* (Tobl.) Rehder。

1.3 供试品溶液制备 精密称量洋常春藤、中华常春藤干燥叶（40 目）0.5 g，以料液比 1：100 加入 80% 甲醇，80℃ 水浴回流提取 1 h，补足减失质量，过 0.22 μm 微孔有机相滤膜，取续滤液，即得。

1.4 对照品溶液制备 精密称定各对照品适量于量瓶中，加入甲醇超声溶解，放冷，甲醇定容至刻度，即得。

1.5 分析条件

1.5.1 色谱 Hypersil Gold C₁₈ 色谱柱（100 mm×2.1 mm，3 μm ）；流动相 0.05% 甲酸（A）-甲醇（B），梯度洗脱（0~1.5 min，5% B；1.5~5 min，5%~20% B；5~15 min，

20%~40% B；15~30 min，40%~70% B；30~34 min，70%~90% B；34~37 min，90% B；37~40 min，90%~5% B）；体积流量 0.3 mL/min；检测波长 205 nm；进样量 2 μL 。

1.5.2 质谱 采用电喷雾离子化源（ESI）；正负离子模式检测；Full MS 一级扫描，分辨率 70 000；dd-MS² 模式二级扫描，分辨率 17 500；鞘气体积流量 45 $\mu\text{L}/\text{min}$ ；喷雾电压 3.50 kV；辅助气体积流量 15 $\mu\text{L}/\text{min}$ ；辅助气温度 250℃；毛细管温度 375℃；质量扫描范围 m/z 150~2 000。

2 结果

洋常春藤和中华常春藤的正、负总离子流图见图 1~2，正离子模式相对负离子模式出峰更多且信号更强，故解析化学成分以正离子模式信息为主。正离子模式下，共从 2 种常春藤中鉴定或推断出 48 种成分，见表 1，可大致将其分为有机酸、黄酮苷、皂苷 3 个结构大类；负离子模式下，补充推断出 5 种成分，见表 2。解析时使用 Xcalibur 软件打开数据文件，由一级谱数据获得准分子离子峰，随后将准分子离子峰二级谱的碎片信息与文献 [6-17]、质谱数据库网站对比进行深入鉴定。

一般来说，中药中的类似成分通常具有相似的结构，特征化合物通过连接不同的化学基团，包括羟基、甲氧基、乙酰基、甲基以及与糖基脱水缩合形成新的化合物^[10]。糖基通常为葡萄糖、鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、木糖、葡萄糖醛酸。

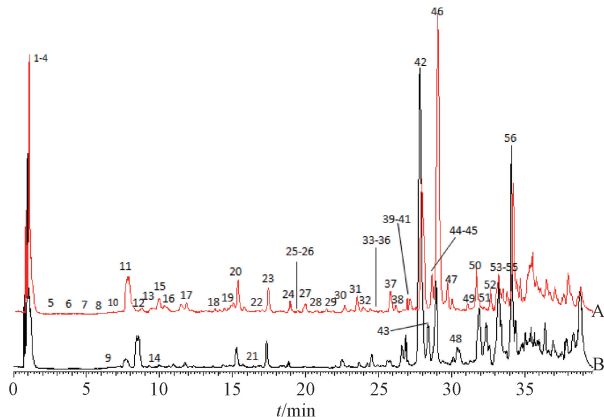


图 1 正离子模式下中华常春藤、洋常春藤总离子流图

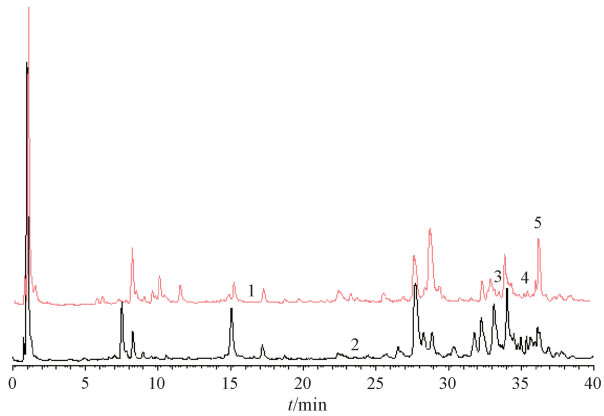


图 2 负离子模式下中华常春藤、洋常春藤总离子流图

表 1 正离子模式下洋常春藤、中华常春藤叶中化学成分

编号	t_{R}/min		[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	化合物	碎片离子	分子式
	洋常春藤	中华常春藤					
1	0.89	0.87	244.092 7	266.123 4	cytidine	112.050 9	C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₅
2	1.03	1.00	193.175 1	—	quinic acid	129.054 7, 111.044 4	C ₇ H ₁₂ O ₆
3	1.29	1.27	152.056 6	—	guanine	135.030 2	C ₅ H ₅ N ₅ O
4	1.62	1.59	182.081 1	—	<i>L</i> -tyrosine	165.054 7, 136.075 8	C ₉ H ₁₁ NO ₃
5	2.76	2.74	284.098 9	—	guanosine	152.056 7	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅
6	3.66	3.63	166.086 2	—	<i>L</i> -phenylalanine	120.081 0, 93.070 5	C ₉ H ₁₁ NO ₂
7	4.49	4.47	289.091 7	311.073 6	phlorin	127.039 1, 85.029 0	C ₁₂ H ₁₆ O ₈
8	6.34	6.30	341.086 9	—	esculine *	179.033 9	C ₁₅ H ₁₆ O ₉
9	6.78	—	355.102 4	377.084 1	neochlorogenic acid	193.049 4, 163.038 8	C ₁₆ H ₁₈ O ₉
10	7.44	7.40	355.102 2	377.084 1	chlorogenic acid *	193.049 4, 163.038 8	C ₁₆ H ₁₈ O ₉
11	7.70	7.80	355.102 2	377.084 3	4-dicaffeoylquinic acid *	193.049 4, 163.038 8	C ₁₆ H ₁₈ O ₉
12	8.42	8.41	433.134 2	455.115 9	afzelin	127.032 9, 145.049 6	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀
13	—	8.72	425.141 8	—	未知	161.059 7	—
14	9.43	—	387.201 0	409.183 0	bevenopran	133.085 9, 89.060 1	C ₂₀ H ₂₆ N ₄ O ₄
15	9.87	9.82	339.107 2	361.089 1	4-methylumbelliferone-A- <i>D</i> -galactopyranoside	234.990 4, 147.044 2	C ₁₆ H ₁₈ O ₈
16	—	10.24	533.259 0	555.241 1	未知	333.078 9	—
17	12.06	12.04	453.343 5	475.325 6	(+)-catechin 5- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranoside	435.332 7, 322.248 8	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁
18	—	14.84	517.134 0	539.115 7	dicaffeoylquinic acid	317.084 2, 163.038 8	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂
19	14.90	14.89	183.078 0	205.059 9	sorbitol	155.046 7, 127.015 6, 98.984 6	C ₆ H ₁₄ O ₆
20	15.28	15.27	611.160 9	633.142 1	rutin *	465.102 8, 303.049 8	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆
21	16.10	—	487.215 3	—	未知	333.079 0	—
22	—	15.69	517.264 4	539.246 4	dicaffeoylquinic acid	191.142 9, 133.101 2	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂
23	17.37	17.35	595.165 7	617.147 5	nicotiflorin *	287.054 8, 86.028 9	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅
24	18.80	18.81	679.511 8	701.493 5	未知	661.501 0, 548.416 7	—
25	18.43	18.41	287.125 2	—	abscisic acid	129.054 8, 85.029 0	C ₁₅ H ₂₀ O ₄
26	18.66	19.64	359.148 7	381.130 8	matairesinol	163.073 5, 137.059 7	C ₂₀ H ₂₂ O ₆
27	18.91	18.88	792.595 9	814.577 8	未知	774.585 9, 661.500 5, 435.334 6	—
28	—	21.12	419.245 7	441.245 6	<i>H</i> -Phe-Pro-Arg-OH	375.140 4, 149.023 7	C ₂₀ H ₃₀ N ₆ O ₄
29	—	21.34	1 018.792 1	1 040.746 2	未知	1 000.754 2, 887.669 6, 548.417 2	—
30	22.86	22.84	785.469 9	807.449 9	hederoside E ₁	535.286 1, 184.073 3	C ₄₃ H ₇₅ O ₁₂
31	—	23.60	653.427 4	675.407 4	Taiwan ivy XII	635.395 7, 513.370 7	C ₃₆ H ₆₀ O ₁₀
32	23.87	23.85	449.237 7	471.219 7	quercitrin	362.939 4, 287.054 8	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁
33	—	23.91	801.499 4	823.481 0	未知	639.240 3, 381.114 2	—
34	24.38	24.35	739.426 5	761.408 0	eryloside A	591.355 3, 437.340 9	C ₄₀ H ₆₆ O ₁₂
35	—	24.62	695.421 2	—	lyofolic acid	484.347 2, 344.717 9	C ₃₈ H ₆₂ O ₁₁
36	24.76	24.75	1 091.563 6	1 113.545 7	dipsacus saponin K	453.336 3, 407.331 1	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₃
37	25.10	25.07	959.521 5	981.503 5	staunoside A	407.330 7, 147.065 2	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₉
38	25.74	25.72	1 119.558 6	1 141.541 4	hederasaponin I	437.341 9, 129.054 7	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₄
39	—	26.82	639.436 8	661.428 3	ginsenoside Rhlor isomeride	550.220 5, 466.200 2, 341.236 4	C ₃₆ H ₆₂ O ₉
40	27.09	27.05	1 279.634 9	1 301.612 9	hederagenin 3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranosyl-(1→2)- <i>O</i> -α- <i>L</i> -arabinopyranosyl-28- <i>O</i> -α- <i>L</i> -rhamnopyranosyl-(1→4)- <i>O</i> -acetyl-β- <i>D</i> -glucopyranosyl-(1→6)- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranosyl ester	661.429 0, 453.337 0	C ₆₁ H ₉₈ O ₂₈
					oleanolic acid 3- <i>O</i> -α- <i>L</i> -Rhamnopyranosyl(1→4)- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucuronopyranoside		
41	—	27.31	769.474 9	791.454 9	—	575.342 1, 394.790 9, 333.081 1	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₃
42	27.84	27.81	1 221.626 3	1 243.607 8	hederacoside C *	1 075.568 4, 751.462 1, 473.362 3	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₆
43	28.34	—	1 075.569 9	1 097.551 6	hederasaponin D *	455.350 4, 437.341 1, 279.107 3	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₂
44	—	28.20	637.462 4	659.412 4	corchorusin C	559.233 9, 529.223 1	C ₃₆ H ₆₀ O ₉
45	—	28.57	745.412 9	—	未知	727.402 2, 701.423 5	—
46	28.95	28.94	1 263.637 3	1 285.619 9	HN-saponins N	455.351 4, 205.070 5	C ₆₁ H ₉₈ O ₂₇
47	—	29.51	679.441 3	701.423 3	3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -acetyl-glucopyranosyl-23-hydroxy-longispinogenin	436.187 4, 339.135 4	C ₃₈ H ₆₂ O ₁₀
48	30.83	—	487.305 4	509.287 4	guillaic acid	377.283 2, 175.148 1	C ₃₀ H ₄₆ O ₅
49	30.95	30.92	1 221.626 8	1 243.608 6	isomeride of hederacoside C	455.351 9, 437.341 5, 147.065 2	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₆
50	31.50	31.48	913.515 6	935.497 6	hederasaponin H	455.351 9, 437.341 5, 129.054 7	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇
51	31.91	31.87	1 205.633 9	1 227.613 5	hederasaponin B *	493.150 9, 437.341 5	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₅
52	32.15	32.10	767.457 2	789.439 2	glycoside <i>L</i> -F ₂	453.335 2, 407.331 0	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₃
53	32.52	32.53	1 247.624 3	1 269.624 3	glycosides <i>L</i> -F ₃	535.163 0	C ₆₁ H ₉₈ O ₂₆
54	33.10	33.12	751.464 3	773.444 3	pulchrenoside A	455.353 3, 437.341 2, 203.179 4	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₂
55	33.23	33.20	1 221.626 8	1 243.608 6	isomeride of hederacoside C	9 455.351 9, 437.341 5, 147.065 2	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₆
56	34.12	34.10	751.462 5	773.444 3	α-hederin	619.419 8, 473.362 3, 455.351 4, 437.340 9, 409.346 1	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₂

注：* 表示经对照品比对,二级碎片离子的前级离子均为[M+H]⁺。

表 2 负离子模式下洋常春藤、中华常春藤叶中化学成分

编号	t_{R}/min		$[\text{M}-\text{H}]^{-}$	$[\text{M}+\text{HCOO}]^{-}$	化合物	碎片离子	分子式
	洋常春藤	中华常春藤					
1	—	16. 65	499. 123 3	545. 128 8	apigenin 7- (6'' -crotonylglucoside)	191. 054 9, 163. 038 8	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$
2	23. 54	—	503. 336 5	549. 342 2	arjungenin	329. 232 5	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_6$
3	—	33. 67	269. 211 5	315. 253 3	estrone	197. 190 0, 59. 012 5	$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_2$
4	35. 67	35. 65	733. 451 5	779. 456 8	eleutheroside K	587. 393 2, 455. 352 1	$\text{C}_{41}\text{H}_{66}\text{O}_{11}$
5	36. 62	36. 41	455. 352 0	501. 357 4	ursolic acid	381. 105 1, 115. 919 0	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$

注:二级碎片离子的前级离子均为 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ 。

2.1 有机酸类化合物鉴定 液质分析表明, 2 种常春藤中均含有绿原酸异构体, 它是由咖啡酸和奎尼酸缩合而成的一种酯类化合物^[14], 因其缩合位置不同有多种同分异构体。绿原酸类化合物有 3 个保留时间, 分别为 6. 78、7. 44、7. 70 min, 一级碎片信息有 m/z 355. 102 4 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 、 m/z 377. 084 1 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 、353. 087 4 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$, 正离子模式二级碎片信息 m/z 193. 049 4、 m/z 163. 038 8 分别是 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 脱去咖啡酸、奎尼酸的碎片。结合参考文献 [11] 并根据分子空间对称结构判断极性大小为 新绿原酸>绿原酸>隐绿原酸, 并由对照品比对出绿原酸和隐绿原酸的出峰时间

间为 7. 40、7. 80 min, 所以保留时间为 6. 78 min 的峰为新绿原酸。3 种绿原酸裂解途径类似, 以绿原酸为例, 其正离子模式下可能的碎裂途径见图 3。

中华常春藤在 t_{R} 为 14. 84、15. 69 min 处检测到一级碎片信息为 m/z 517. 134 0 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 、 m/z 539. 115 7 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 、 m/z 515. 118 7 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$, 洋常春藤中未检出该成分, 推测其为一分子咖啡酸与两分子奎尼酸缩合位置不同形成同分异构体, 可能成分有 1, 5-dicaffeoylquinic acid、3, 4-dicaffeoylquinic acid、3, 5- dicaffeoylquinic acid 和 4, 5-dicaffeoylquinic acid^[16]。

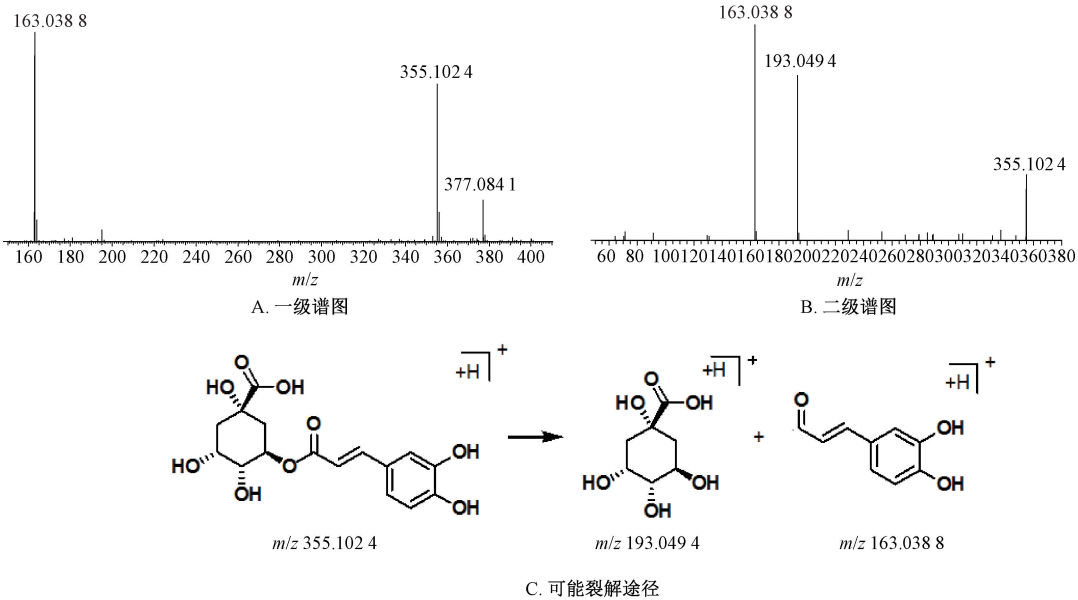


图 3 正离子模式下绿原酸的质谱图及可能裂解途径

2.2 黄酮苷类化合物鉴定 黄酮类化合物结构中常连接有酚羟基、甲氧基、甲基、异戊烯基等官能团, 还常与糖结合成苷, 此类化合物在碎裂时会丢失糖基碎片^[10]。液质结果表明, 常春藤中黄酮苷类化合物有芦丁、烟花苷、阿福豆苷。芦丁为槲皮素与一分子鼠李糖和一分子葡萄糖脱水缩合形成, 一级碎片信息有 m/z 611. 160 9 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 、 m/z 633. 142 1 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 、 m/z 609. 145 3 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$, 正离子模式二级碎片信息 m/z 465. 102 4 为 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 脱去一分子鼠李糖基 (m/z 146. 058 5)、 m/z 303. 049 5 为 $[\text{M}-\text{鼠李糖}+\text{H}]^{+}$ 进一步脱去一分子葡萄糖基 (m/z 162. 052 6)。以芦丁为例, 给出了黄酮苷类成分丢失糖基碎片的可能裂解途径, 见图 4。

烟花苷 (t_{R} 17. 37 min) 为一分子山柰酚与一分子鼠李糖和一分子葡萄糖脱水缩合形成, 一级碎片信息有 m/z 595. 165 7 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 、 m/z 617. 147 5 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 、 m/z 593. 149 5 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$, 二级碎片信息 m/z 449. 107 5、 m/z 287. 054 7 分别为 $[\text{M}-\text{鼠李糖}+\text{H}]^{+}$ 、 $[\text{M}-\text{鼠李糖}-\text{葡萄糖}+\text{H}]^{+}$ 。阿福豆苷 (t_{R} 8. 42 min) 为一分子山柰酚和一分子鼠李糖脱水缩合形成, 一级碎片信息有 m/z 433. 134 1 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 、 m/z 455. 115 9 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 、 m/z 431. 118 3 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ 。

2.3 皂苷类化合物鉴定 皂苷类化合物主要以常春藤皂苷元、齐墩果酸为母核, 连接糖链而成。其中含量较高、活性较强的皂苷为常春藤皂苷 C 和 α -常春藤皂苷^[5]。对照品对比, 鉴定 t_{R} 为 27. 84 min 的峰为常春藤皂苷 C, 其由一分

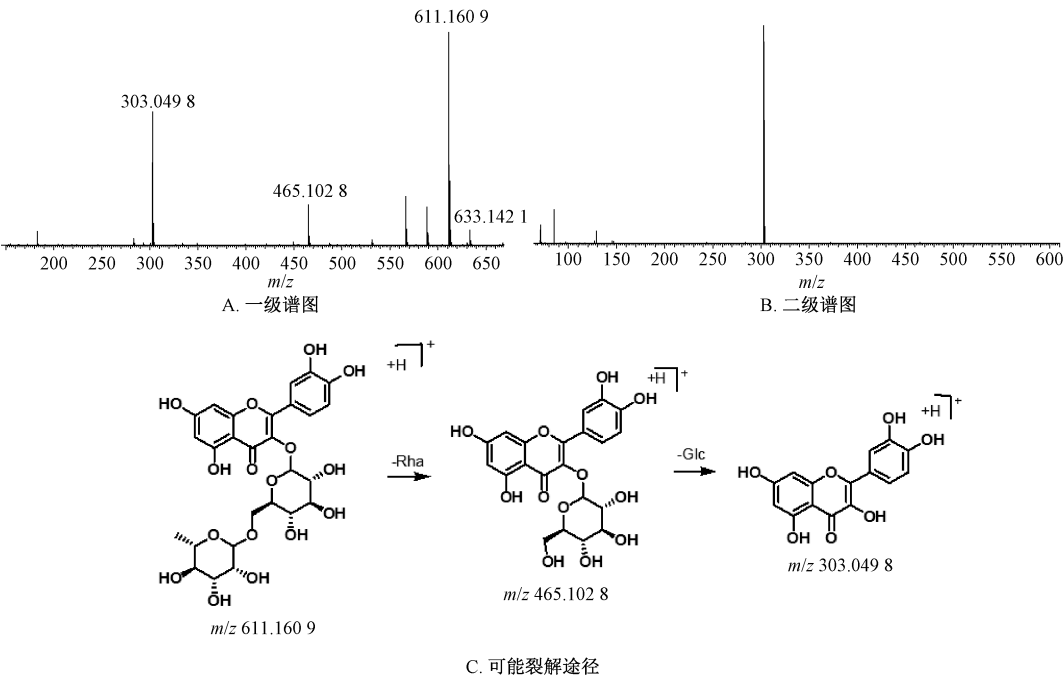


图 4 正离子模式下芦丁的质谱图及可能碎裂途径

子 hederagenin、两分子鼠李糖、一分子阿拉伯糖和两分子葡萄糖缩合而成，一级碎片信息有 m/z 1 221.626 8 $[M+H]^+$ 、 m/z 1 243.606 8 $[M+Na]^+$ 、 m/z 121 9.606 8 $[M-H]^-$ 、 m/z 1 265.613 0 $[M+HCOO]^-$ ，正离子模式下常春藤

皂苷 C 碎片过于破碎，不利于解析，故用负离子模式下的信息进行解释。负离子模式下其二级碎片信息 m/z 1 073.549 8、749.446 0 分别对应 $[M-鼠李糖-H]^-$ 、 $[M-鼠李糖-2 葡萄糖-H]^-$ ，常春藤皂苷 C 可能的碎裂途径见图 5。

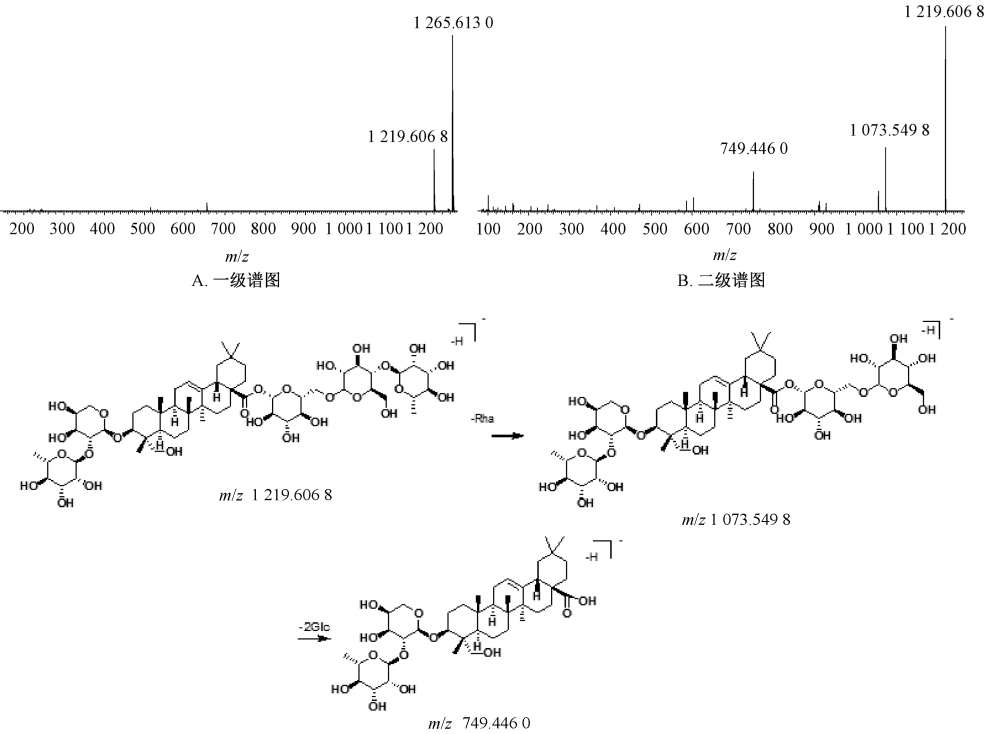


图 5 负离子模式下常春藤皂苷 C 的质谱图及可能碎裂途径

与 α -常春藤皂苷对照品比对，鉴定 t_R 34.12 min 的峰为 α -常春藤皂苷，由一分子 hederagenin、一分子鼠李糖和一分子阿拉伯糖缩合而成，一级碎片信息有 m/z 751.462 5

$[M+H]^+$ 、 m/z 773.444 5 $[M+Na]^+$ 、 m/z 749.446 9 $[M-H]^-$ ，二级碎片信息有 m/z 619.419 8、473.362 3、455.351 4、437.340 9、409.346 1 分别对应 $[M-阿拉伯糖+H]^+$ 、 $[hed-$

eragenin + H]⁺、[hederagenin-H₂O + H]⁺、[hederagenin-2H₂O+H]⁺、[hederagenin-2H₂O-CO+H]⁺。

2.4 成分对比 结果表明, 中华常春藤和洋常春藤在所含化学成分上有许多共同特征, 成分结构也基本相同, 51 组峰中共有峰有 39 组。中华常春藤中有二咖啡酰奎尼酸、台湾常春藤 XII 等 16 种洋常春藤中没有的成分; 洋常春藤中有新绿原酸、常春藤皂苷 D 等 6 种中华常春藤中没有的成分。

信号较强成分, 如芦丁、烟花苷、常春藤皂苷 C、α-常春藤皂苷等成分在中华常春藤和洋常春藤中均有分布, 且这几种成分为常春藤主要活性成分, 表明这 2 种常春藤主要成分相同, 特异性分布成分多为含量较低组分。根据液质分析比较, 推测 2 种常春藤的主要活性成分含量不同、各自独有的成分与其他化合物的协同作用, 可能是 2 种药材体现出不同临床作用的原因。

3 讨论

植物学上主要是依据叶片外观形貌和其显微图像的绒毛特征区分中华常春藤和洋常春藤。本研究较为系统地定性分析、比较了中华常春藤和洋常春藤叶中的化学成分, 结果表明 2 种常春藤中的大类化学成分相同。由于对照品的稀缺, 一些同分异构体成分还需要通过核磁等方法进一步研究来佐证。但中华常春藤所含化学成分相对较多, 表明中华常春藤和洋常春藤存在差异。由于本研究分析样品有限, 进一步可收集更多样品, 借鉴文献 [18] 的做法, 对 2 种常春藤进行近红外光谱及 HPLC 指纹图谱分析, 采用多元统计分析方法根据分子光谱提供的整体信息进行 2 种药材的快速区分与鉴别; 根据指纹图谱间进行整体相似度评价, 根据主要组分含量的统计学差异比较其共有成分含量的差异。

参考文献:

[1] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区瑶药材质量标准 (第 1 卷) [S]. 广西: 广西壮族自治区食品药品监督管理局, 2013: 241.

[2] Green A F, Ramsey T S, Ramsey J. Phylogeny and biogeography of ivies (*Hedera* spp., Araliaceae), a polyploid complex of woody vines [J]. *Syst Bot*, 2011, 36 (4): 1114-1127.

[3] European directorate for the quality of medicines & healthCare. European Pharmacopoeia 8.0 [M]. Strasbourg: Council of Europe, 2013: 1282.

[4] Süleyman H, Mshvildadze V, Gepdiremen A, *et al.* Acute and chronic antiinflammatory profile of the *Ivy* plant, *Hedera helix*,

in rats[J]. *Phytomedicine*, 2003, 10(5): 370-374.

[5] Lutsenko Y, Bylka W, Matlawska I, *et al.* *Hedera helix* as a medicinal plant[J]. *Herba Pol*, 2010, 56(1): 81-93.

[6] Kanwal S, Ullah N, Haq I, *et al.* Antioxidant, antitumor activities and phytochemical investigation of *Hedera nepalensis* K. Koch, an important medicinal plant from Pakistan[J]. *Pak J Bot*, 2011, 43 (4): 85-89.

[7] Saleem S, Jafri L, Haq I, *et al.* Plants *Fagonia cretica* L. and *Hedera nepalensis* K. Koch contain natural compounds with potent dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitory activity[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 156(1): 26-32.

[8] Jafri L, Saleem S, Ullah N, *et al.* *In vitro* assessment of antioxidant potential and determination of polyphenolic compounds of *Hedera nepalensis* K. Koch[J]. *Arab J Chem*, 2017, 10(2): 3699-3706.

[9] Yu M, Shin Y J, Kim N, *et al.* Determination of saponins and flavonoids in *Ivy* leaf extracts using HPLC-DAD [J]. *J Chromatogr Sci*, 2015, 53(4): 478-483.

[10] 王小俊, 邓玉环, 张丽萍, 等. UPLC-DAD-MS 定性和定量分析蕲艾中的酚酸和黄酮类成分[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5): 983-989.

[11] 赵桂铃, 缪兴龙, 宋兆辉, 等. UPLC-Q-TOF/MS 法坤怡宁颗粒化学成分分析[J]. 中成药, 2020, 42 (4): 1074-1082.

[12] 杨林军, 谢彦云, 李志锋, 等. UPLC/Q-TOF-MS/MS 分析中华常春藤中的化学成分[J]. 中草药, 2016, 47 (4): 566-572.

[13] Kim N, Shin Y J, Park S J, *et al.* Simultaneous determination of six compounds in *Hedera helix* L. using UPLC-ESI-MS/MS [J]. *Chromatographia*, 2017, 80(7): 1025-1033.

[14] 郑单单, 魏文峰, 霍金海, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析芪风固表颗粒化学成分[J]. 中成药, 2020, 42 (6): 1649-1657.

[15] Clifford M N, Knight S, Kuhnert N. Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MSⁿ[J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(10): 3821-3832.

[16] 董 珊, 肖伟敏, 彭祖茂, 等. HPLC 法同时测定金银花等样品中 6 种绿原酸异构体的含量[J]. 食品科技, 2020, 45 (3): 300-306.

[17] Yu M, Shin Y J, Kim N, *et al.* Determination of saponins and flavonoids in *Ivy* leaf extracts using HPLC-DAD [J]. *J Chromatogr Sci*, 2015, 53(4): 478-483.

[18] Ni L J, Zhang F F, Han M Y, *et al.* Qualitative analysis of the roots of *salvia miltiorrhiza* and *salvia yunnanensis* based on NIR, UHPLC and LC-MS-MS[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 170 (5): 295-304.