

分析与测试

基于 UPLC-Q-Exactive-Plus-Orbitrap-MS 技术的
木贼化学成分分析张宝^{1,2,3}, 李悦¹, 蒋礼^{2,3}, 刘佳¹, 马晓¹, 赵珊¹, 孙绪^{*4}

(1.贵阳市妇幼保健院/贵阳市儿童医院 药学部, 贵州 贵阳 550003;

2.贵州医科大学 贵州省药物制剂重点实验室, 贵州 贵阳 550004;

3.贵州医科大学 药学院, 贵州 贵阳 551113; 4.贵州省食品药品检验所, 贵州 贵阳 550004)

摘要:采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(UPLC-Q-Exactive-Plus-Orbitrap-MS)技术快速鉴定木贼的化学成分。色谱采用赛默飞公司 Hypersil GOLD C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)型色谱柱, 0.1%甲酸-水溶液为流动相 A, 乙腈为流动相 B, 设置流速、柱温和进样量分别为 0.3 mL/min, 40 ℃ 和 1 μL; 质谱采用电喷雾离子源(ESI), 正、负离子模式扫描。将化合物的保留时间、准分子离子和特征碎片离子与标准品或文献报道的化合物进行对比, 共鉴定化合物 70 个, 包括 22 个有机酸类、15 个氨基酸类、12 个生物碱类、7 个核苷类、4 个糖类、3 个黄酮类、2 个芳香醛及 5 个其他成分。UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术具有快速、准确、灵敏的优势, 采用该方法可快速分析鉴定木贼的化学成分, 为进一步研究其药效物质基础、作用机制及产品开发提供参考依据。

关键词: UPLC-Q-Exactive-Plus-Orbitrap-MS; 木贼; 化学成分; 有机酸; 生物碱

中图分类号: R282; O657 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2025)04-0094-11

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0431

Identification of Chemical Constituents in *Equisetum hyemale* L. Based on UPLC-Q-Exactive-Plus-Orbitrap-MS ZHANG Bao^{1,2,3}, LI Yue¹, JIANG Li^{2,3}, LIU Jia¹, MA Xiao¹, ZHAO Shan¹, SUN Xu^{*4} (1. Department of Pharmacy, Guiyang Maternal and Child Healthcare Hospital/Guiyang Children's Hospital, Guiyang 550003, China; 2. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 3. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 551113, China; 4. Guizhou Provincial Institute for Food and Drug Control, Guiyang 550004, China)

Abstract: UPLC-Q-Exactive-Plus-Orbitrap-MS was used to rapidly identify the chemical constituents in *Equisetum hyemale*. A Hypersil GOLD C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm) was used for gradient elution using acetonitrile (B)-0.1% formic acid solution (A) as mobile phase. The flow rate of 0.3 mL/min, column temperature was 40 ℃, and sample size was 1 μL. The electrospray ionization (ESI) source was adopted for the analysis in positive/negative ion mode. The retention time, quasi-molecular ions, and MS/MS characteristic fragment ions of the chemical constituents of *Equisetum hyemale* were compared with those of standards or previously reported compounds. A total of 70 compounds were identified from *Equisetum hyemale*, including 22 organic acids, 15 amino acids, 12 alkaloids, 7 nucleosides, 4 carbohydrates, 3 flavonoids, 2 aromatic aldehydes and 5 other constituents. UPLC-Q-Exactive-Plus-Orbitrap-MS method is rapid, accurate and sensitive, and quickly elucidates the chemical compositions of *Equisetum hyemale*, which provide reference for further pharmacodynamic material basis, mechanisms of action and product development study of the crude medicine.

Key words: UPLC-Q-Exactive-Plus-Orbitrap-MS; *Equisetum hyemale*; chemical constituents; organic acids; alkaloids

木贼(*Equisetum hyemale*)隶属于木贼科木贼属草本植物,其分布范围涵盖亚洲、欧洲、北美洲等地,在我国主要产于华北、华中、华南和西南各省^[1]。木贼的入药部位为地上部分,其主要功效是疏散风热、明目退翳,对角膜炎、结膜炎、高血压、鼻衄、疳证、疣等疾病具有较好的治疗作

收稿日期:2024-10-13;修回日期:2024-12-26

基金项目:贵阳市妇幼保健院优秀医学 C 类人才培养计划项目(筑妇医[2022]353 号)。

作者简介:张宝(1993-),男,贵州贵阳人,博士生,主要从事民族药药物代谢动力学及中药药效物质基础研究。

通讯作者:孙绪, E-mail: 928763710@qq.com。

用^[2,3]。以往研究多聚焦于木贼提取物的药效考察和药理活性测定,而对其丰富的化学成分知之甚少,研究者很难从“成分-药效-代谢-靶点”多维度阐明木贼的药效物质基础及药理作用机制,进而阻碍了木贼在临床上的推广应用和产品开发。由此可知,在中药的研究开发过程中,化学成分研究是最为基础却又最为关键的步骤之一。因此,快速、准确地鉴定木贼中的化学成分已成为推进木贼临床应用以及药物研发迫切需要解决的难题。常规的化学成分分析主要依赖柱层析分离及核磁共振波谱鉴定方法,整个过程的分析时间较长、解析难度大、材料消耗多、分离过程中容易丢失含量较少的成分,成分表征受限。与常规的化学成分分析相比,液-质联用技术分析具备分析周期短、灵敏度高、分离度良好以及成分表征更为全面的优点,近年来被广泛应用于中药材及中药复方制剂的化学成分研究^[4]。基于此,本研究运用 UPLC-Q-Exactive-Plus-Orbitrap-MS 技术快速鉴定木贼的化学成分,为木贼的药效物质基础、作用机制研究及产品开发提供科学依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Vanquish 型超高效液相色谱仪-Q-Exactive Plus 型高分辨质谱仪联用系统(美国 Thermo Fisher 科技公司);800 C 型多用途粉碎机(永康市红太阳机电有限公司);KQ5200 B 型高频声波清洗装置(昆山市超声仪器有限公司);SSY-T 型超纯净水制备装置(四川水思源环境科技有限公司);EL 204 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司);XK-16TR 型高速离心机(湖南湘科仪器设备公司)。

L-苯丙氨酸、壬二酸、苹果酸、柠檬酸、香豆素对照品(纯度 $\geq 98\%$,批号依次为:wkq22092706、wkq21060402、wkq22100801、wkq23031308、wkq23032810,四川维克奇生物科技有限公司);用于质谱分析的高纯度甲酸(美国 Thermo Fisher 科技公司);用于质谱分析的高纯度乙腈、甲醇(德国默克公司);用于色谱分析的高纯度乙醇(天津市科密欧化学试剂有限公司);所有用水均为超纯水。

木贼药材采集自贵州省清镇市红枫湖镇右二村,经贵州医科大学贵州省药物制剂重点实验室刘春花副教授鉴别,确定为木贼科植物木贼

Equisetum hyemale 的全草,样本(NO.20220703)保存于贵州医科大学贵州省药物制剂重点实验室药效物质基础组。

1.2 实验方法

1.2.1 供试品溶液的制备

取木贼地上部分,晒干后粉碎,过 3 号筛。精密称取 1 g 上述粉末,加入 25 mL $V(\text{乙醇}):V(\text{水})=1:1$ 溶液,称定质量,超声振荡(频率 40 kHz,功率 240 W)提取 60 min,放至室温,用 $V(\text{乙醇}):V(\text{水})=1:1$ 溶液补足减失的质量,充分混匀后快速抽滤,滤液离心 5 min(12 000 r/min),取上清液,即得。

1.2.2 对照品溶液的制备

分别取 1.1 各对照品适量,精密称定,用 $V(\text{乙醇}):V(\text{水})=1:1$ 溶液配制每 1 mL 含 1 mg 的对照品储备液,分别精密量取上述各对照品储备液适量予以混合,用 $V(\text{乙醇}):V(\text{水})=1:1$ 溶液稀释成 10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液,离心 5 min(12 000 r/min),取上清液即得。

1.2.3 色谱条件

色谱柱:Hypersil GOLD C_{18} 柱(100 mm $\times$ 2.1 mm,1.9 μm);柱温 40 $^{\circ}\text{C}$;进样量 1 μL ;流速 0.3 mL/min;流动相为乙腈(B)-0.1% 甲酸水溶液(A),0~1 min,5% B;1~15 min,5% B $\rightarrow$ 30% B;15~25 min,30% B $\rightarrow$ 60% B;25~28 min,60% B $\rightarrow$ 95% B;28~30 min,95% B。

1.2.4 质谱条件

采用电喷雾离子源,喷雾电压为 3 500 V(正模式)和 2 500 V(负模式),鞘气流速为 30 mL/min,辅助气流速为 10 mL/min,雾化气温度为 350 $^{\circ}\text{C}$;扫描模式为全扫描+数据依赖二级扫描的正负离子交换模式,扫描范围为 100~1 500 m/z ,毛细管温度为 320 $^{\circ}\text{C}$,离子透镜电压为 50.0 V,碰撞能梯度为 20、40、60 eV,一级分辨率为 70 000,二级分辨率为 17 500。

1.2.5 数据分析

将采集的原始数据导入 Compound Discoverer 3.1 软件进行基线校正、峰校准、去卷积分析等处理,以峰面积阈值 80 000、实测值与理论值的偏差小于 5、匹配分值不低于 80 为前置条件,将质谱信息与 Thermo Fisher Scientific 云端质谱数据库 mzCloud(<https://www.mzcloud.org/>)、PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)网络数据

库、中药成分高分辨质谱本地数据库 (Orbitrap Tditional Chinese Medicine Library, OTCML) 进行匹配,将匹配结果中化合物的质谱数据逐一与文献^[5-34]对比,从而快速鉴定木贼的化学成分。部分化合物的结构通过与对照品的质谱数据加以对比来进一步确认。

2 结果与讨论

2.1 化学成分分析

取 1.2.1、1.2.2 供试品溶液和混合对照品溶液,按 1.2.3、1.2.4 色谱-质谱条件进行检测,记录原始数据。采用 1.2.5 数据分析方法分析化合物结构,共鉴定了 70 个化合物,包括 22 个有机酸类、15 个氨基酸类、12 个生物碱类、7 个核苷类、4 个糖类、3 个黄酮类、2 个芳香醛及 5 个其他成分。木贼供试品在正、负离子模式下的总离子流图见图 1,鉴定化合物结果见表 1。

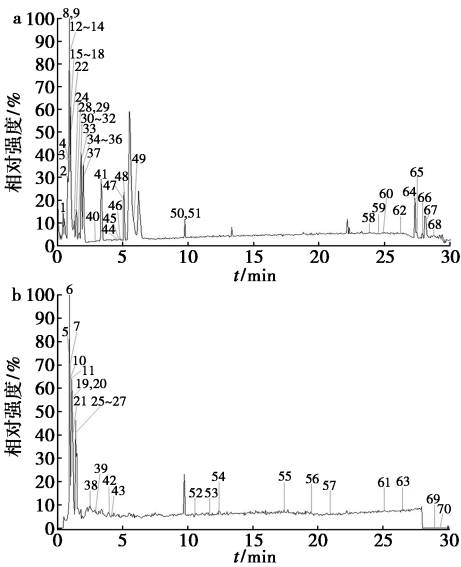


图 1 木贼样品在正(a)、负(b)离子模式下的总离子流图

Fig.1 Total ion current diagram of *Equisetum hyemale* in positive (a) and negative (b) ion mode

表 1 木贼的化学成分鉴定结果^注

Tab.1 Results of chemical composition identification of *Equisetum hyemale*

序号	保留时间 <i>t_R</i> /min	分子式	准分子 离子	实测值	理论值	误差	特征碎片离子	鉴定结果
1	0.65	C ₇ H ₅ NS	[M+H] ⁺	136.021 76	136.021 55	1.54	109.011 01	苯并噻唑 ^[5]
2	0.84	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	[M+H] ⁺	147.112 98	147.112 80	1.22	130.086 32,84.081 38,67.055 02	赖氨酸 ^[6]
3	0.89	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	[M+H] ⁺	156.076 90	156.076 75	0.96	110.071 53,95.060 84,93.045 17	组氨酸 ^[6]
4	0.89	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	[M+H] ⁺	175.119 05	175.118 95	0.57	158.092 44,130.097 55,116.070 79,70.065 85	精氨酸 ^[6]
5	0.91	C ₆ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	181.070 95	181.070 66	1.60	163.060 38,101.023 19,59.012 56	甘露醇 ^[7]
6	0.91	C ₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	[M-H] ⁻	174.087 54	174.087 32	1.26	157.079 22,146.960 21,131.081 50	瓜氨酸 ^[8]
7	0.91	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	341.108 86	341.107 84	2.99	179.055 47,119.033 85,101.023 19,89.023 17,71.012 59,59.012 57	麦芽糖 ^[9]
8	0.93	C ₄ H ₅ N ₃ O	[M+H] ⁺	112.050 89	112.050 54	3.12	95.024 41	4-氨基-2-巯基嘧啶 ^[10]
9	0.93	C ₅ H ₇ NO ₃	[M+H] ⁺	130.050 02	130.049 87	1.15	130.049 91,84.044 94	4-氧代脯氨酸 ^[10]
10	0.95	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	341.108 95	341.107 84	3.25	179.055 47,161.044 69,143.033 80,113.023 27	海藻糖 ^[11]
11	0.95	C ₆ H ₁₂ O ₇	[M-H] ⁻	195.050 34	195.049 93	2.10	129.018 20,99.007 51,96.968 27,87.007 47,75.007 48,71.012 57,59.012 56	葡萄糖酸 ^[11]
12	0.97	C ₆ H ₁₁ NO ₄	[M+H] ⁺	162.076 17	162.076 08	0.56	162.075 93,144.065 43,116.070 75	L-2-氨基己二酸 ^[12]
13	0.97	C ₅ H ₉ NO ₄	[M+H] ⁺	148.060 50	148.060 43	0.47	130.049 87,102.055 27,84.044 95	谷氨酸 ^[7]
14	0.97	C ₄ H ₉ NO ₂	[M+H] ⁺	104.071 02	104.070 61	3.94	87.044 60,69.034 20	γ-氨基丁酸 ^[13]
15	1.02	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	[M+H] ⁺	147.076 52	147.076 42	0.68	130.049 96,84.044 98	D/L-谷氨酰胺
16	1.02	C ₅ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	118.086 58	118.086 26	2.71	72.081 42	缬氨酸 ^[7]
17	1.02	C ₇ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	144.101 81	144.101 91	-0.69	84.081 31,58.065 91	水苏碱 ^[14]
18	1.02	C ₁₀ H ₁₈ N ₄ O ₆	[M+H] ⁺	291.129 94	291.129 91	0.10	291.129 58,273.009 03,247.029 98,229.019 17,175.118 76,121.034 56,103.024 37,70.065 82	精氨基琥珀酸 ^[6]
19	1.04	C ₄ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	133.013 05	133.013 15	-0.75	115.002 41,89.023 11,71.012 51,59.012 49	苹果酸 ^[7] ▲

续表

序号	保留时间 t_R/min	分子式	准分子 离子	实测值	理论值	误差	特征碎片离子	鉴定结果
20	1.04	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	149.044 45	149.044 45	0.00	133.014 40, 89.023 05	木糖 ^[15]
21	1.13	$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	323.028 90	323.027 49	4.36	323.028 66, 280.022 86, 211.000 63, 168.888 85, 96.968 28, 78.957 70	尿苷-5'-单磷酸 ^[16]
22	1.16	$\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5\text{O}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	152.056 73	152.056 69	0.26	135.030 06, 128.045 30, 110.035 10	2-氨基次黄嘌呤 ^[17]
23	1.28	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	341.109 22	341.107 84	4.05	179.055 18, 161.044 83	蔗糖 ^[11]
24	1.31	$\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	124.039 59	124.039 31	2.26	106.029 16, 80.050 10, 78.034 46	烟酸 ^[10]
25	1.38	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	191.019 01	191.018 63	1.99	173.008 38, 154.997 45, 129.018 19, 111.007 57, 87.007 49, 85.028 21	柠檬酸 ^[7] ▲
26	1.38	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	173.008 38	173.008 06	1.85	154.998 20, 129.018 16, 111.007 58, 85.028 22	乌头酸 ^[18]
27	1.38	$\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	129.018 23	129.018 24	-0.08	128.034 13, 85.028 25, 83.032 09, 72.991 94	柠康酸 ^[19]
28	1.50	$\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	130.050 08	130.049 87	1.61	84.044 97	焦谷氨酸 ^[11]
29	1.50	$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_{12}\text{S}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	613.159 06	613.159 24	-0.29	355.069 92, 177.957 82	氧化型谷胱甘肽 ^[20]
30	1.60	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	123.044 43	123.044 06	3.01	105.045 12, 95.049 64	对羟基苯甲醛 ^[10]
31	1.70	$\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	165.066 16	165.065 85	1.88	147.044 07, 123.044 20, 119.049 35, 95.049 62	蓖麻碱 ^[21]
32	1.75	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	268.103 82	268.104 03	-0.78	136.061 75, 119.035 14	腺苷 ^[22]
33	1.80	$\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	136.061 80	136.061 77	0.22	119.035 29, 92.024 57	6-氨基嘌呤 ^[7]
34	1.85	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	132.101 94	132.101 91	0.23	86.096 93, 69.070 58	异亮氨酸 ^[23]
35	1.91	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	284.099 15	284.098 95	0.70	152.056 59, 135.030 03	鸟苷 ^[7]
36	1.96	$\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	127.050 33	127.050 20	1.02	127.050 12, 110.023 83	5-甲基尿嘧啶 ^[24]
37	2.01	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	132.102 02	132.101 91	0.82	86.096 91, 69.070 53	亮氨酸 ^[7]
38	2.49	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_6$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	283.068 73	283.067 32	4.98	151.025 27, 108.019 10	黄嘌呤核苷 ^[25]
39	2.60	$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	131.034 03	131.033 89	1.07	113.023 39, 87.043 93, 85.064 79	戊二酸 ^[26]
40	2.93	$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	282.120 00	282.119 68	1.13	282.119 42, 136.061 74, 119.035 77	2'-甲氧基腺苷 ^[10]
41	3.35	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	166.086 17	166.086 26	-0.54	149.059 46, 120.080 91, 103.054 59	L-苯丙氨酸 ^[7] ▲
42	4.00	$\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_5$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	218.103 23	218.102 30	4.26	146.081 36, 88.039 18	泛酸 ^[19]
43	4.05	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	153.018 49	153.018 24	1.63	109.028 34, 91.017 42, 81.033 04	龙胆酸 ^[27]
44	5.06	$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	298.096 92	298.096 84	0.27	136.061 72, 119.035 48	5'-脱氧-5'-甲硫腺苷 ^[10]
45	5.06	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{NO}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	188.070 69	188.070 61	0.43	170.060 03, 146.060 07, 144.080 89, 142.065 22, 118.065 38, 115.054 58, 91.054 77	反式-3-吡啶丙烯酸 ^[10]
46	5.06	$\text{C}_9\text{H}_9\text{N}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	132.080 95	132.080 78	1.29	132.080 81, 117.057 53, 90.903 75	6-甲基吡啶 ^[10]
47	5.11	$\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	146.060 20	146.060 04	1.10	146.060 09, 118.065 32, 117.057 58	4-甲酰基吡啶 ^[10]
48	5.11	$\text{C}_8\text{H}_7\text{N}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	118.065 50	118.065 13	3.13	118.065 28, 94.944 01, 91.054 70, 76.933 60	吡啶 ^[10]
49	5.92	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	449.107 84	449.108 15	-0.69	287.054 81, 259.059 66, 241.049 56, 165.018 31, 153.018 26	山奈酚-7-O-葡萄糖苷 ^[28]
50	9.75	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	287.054 72	287.055 01	-1.01	213.054 46, 165.018 14, 153.018 16, 121.028 53, 68.997 82	山奈酚 ^[18]
51	9.75	$\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	147.044 01	147.044 06	-0.34	119.049 29, 91.054 69	香豆素▲
52	10.49	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	193.050 00	193.049 54	2.38	178.026 38, 149.059 89, 134.036 25, 121.028 38	阿魏酸 ^[23]
53	11.72	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	447.093 75	447.092 19	3.49	285.040 25, 284.032 78, 257.045 26	紫云英苷 ^[18]
54	12.39	$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	187.096 97	187.096 49	2.57	169.086 04, 143.107 03, 141.867 23, 125.096 11	壬二酸 ^[19] ▲

续表

序号	保留时间 t_R/min	分子式	准分子 离子	实测值	理论值	误差	特征碎片离子	鉴定结果
55	17.81	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_5$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	327.217 44	327.216 60	2.57	291.197 27, 211.133 79, 183.138 21, 85.028 18	corchorifatty acid F ^[27]
56	19.44	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	229.144 33	229.143 44	3.88	229.144 21, 211.133 53, 167.143 25	十二烷二酸 ^[22]
57	20.90	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_5$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	329.233 25	329.232 25	3.04	229.144 64, 171.101 97	(15Z)-9,12,13-三羟基-15-十八烯酸 ^[29]
58	23.91	$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	415.211 46	415.211 52	-0.14	119.085 62	双(4-乙基亚苄基)山梨醇 ^[30]
59	24.87	$\text{C}_{18}\text{H}_{39}\text{NO}_3$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	318.300 17	318.300 27	-0.31	318.299 56, 300.289 03, 282.278 69, 60.045 15	植物鞘胺醇 ^[31]
60	24.97	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_3$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	277.179 66	277.179 82	-0.58	137.059 56	6-姜烯酚 ^[32]
61	25.04	$\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{S}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	265.148 01	265.146 81	4.53	96.958 87	硫酸十二酯 ^[29]
62	26.64	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	235.169 39	235.169 26	0.55	235.168 98, 179.106 48, 123.044 03	3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛 ^[29]
63	26.67	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_3$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	293.211 52	293.211 12	1.36	249.222 40, 185.117 69, 125.096 12, 57.033 36	13-HoTrE ^[33]
64	27.10	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	279.231 96	279.231 86	-0.39	261.220 31, 243.210 69, 219.056 95, 209.153 85, 187.147 99, 173.132 20	α -桐酸 ^[27]
65	27.78	$\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	123.055 60	123.055 29	2.52	123.055 40, 96.044 77, 80.050 09	烟酰胺 ^[10]
66	27.87	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	279.159 00	279.159 09	-0.32	149.023 19, 121.028 28	邻苯二甲酸二丁酯 ^[27]
67	28.07	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	279.231 84	279.231 86	-0.07	149.023 19, 121.028 28, 79.055 02	α -亚麻酸 ^[7]
68	28.34	$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	271.262 82	271.263 16	-1.25	271.263 49, 243.142 27, 211.734 10, 71.086 20, 57.069 88	棕榈酸甲酯 ^[23]
69	29.14	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	255.232 79	255.231 86	3.64	255.232 71, 213.232 71	棕榈酸 ^[23]
70	29.50	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	283.264 19	283.263 16	3.64	283.263 73	硬脂酸 ^[34]

注: ▲表示与对照品对照。

2.2 主要成分的裂解规律分析

2.2.1 有机酸类成分

该类成分在高能碰撞下容易丢失中性小分子片段,①芳香酸或芳香酸酯的裂解容易发生在羧基或羧基衍生侧链,常丢失 CH_2 、 CH_3 、 COOH 、 CO_2 等小分子,羟基取代的芳香环通常不发生裂解。② α 断裂、 β 断裂及 i 断裂是链状有机酸和有机酸酯的经典断裂方式,从而容易丢失 COOH 、 CH_2COOH 和 CH_2 小分子片段,同时含有 OH 的有机酸容易丢失 H_2O 。此外,含有不饱和基团的长链有机酸类化合物的裂解规律相对复杂,可发生重排反应。以阿魏酸(52, $t_R = 10.49 \text{ min}$)、壬二酸(54, $t_R = 12.39 \text{ min}$)和 α -桐酸(64, $t_R = 27.10 \text{ min}$)为例。

化合物 52:在负离子模式下可见去质子化准分子离子 m/z :193.050 00 $[\text{M}-\text{H}]^-$,质谱软件拟合分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$, m/z :149.059 89 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ 是准分子离子丢失 1 分子 CO_2 产生的特征

碎片离子,接着该碎片离子丢失 1 分子 CH_3 或 1 分子 C_2H_4 生成碎片离子 m/z :134.036 25 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2-\text{CH}_3]^-$ 或 m/z :121.028 38 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2-\text{C}_2\text{H}_4]^-$;准分子离子也可先丢失 1 分子 CH_3 得到碎片离子 m/z :178.026 38 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3]^-$,再失去 1 分子 CO_2 得到碎片离子 m/z :134.036 25 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3-\text{CO}_2]^-$ 。该化合物的二级质谱及裂解规律(图 2)与文献[23]报道一致,推断为阿魏酸。

化合物 54:在负离子模式下可见去质子化准分子离子 m/z :187.096 97 $[\text{M}-\text{H}]^-$,质谱软件拟合分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_4$, m/z :169.086 04 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 、 m/z :143.107 03 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ 、125.096 11 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2 \text{ or } \text{M}-\text{H}-\text{CO}_2-\text{H}_2\text{O}]^-$ 是准分子离子丢失 H_2O 或 CO_2 分子产生一系列特征碎片离子;同时,该准分子离子可直接脱去 1 分子 HCOOH 产生碎片离子 m/z :141.867 23 $[\text{M}-\text{H}-\text{HCOOH}]^-$ 。该化合物的二级质谱及裂解规律(图 3)与壬二酸对照品以及文献[19]报道一致,

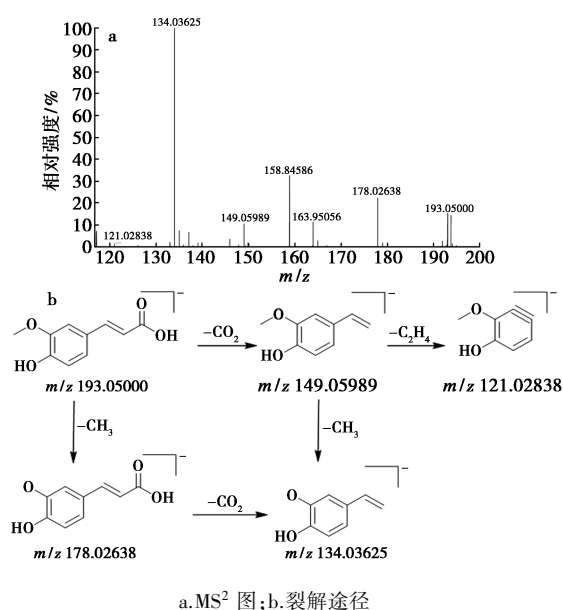
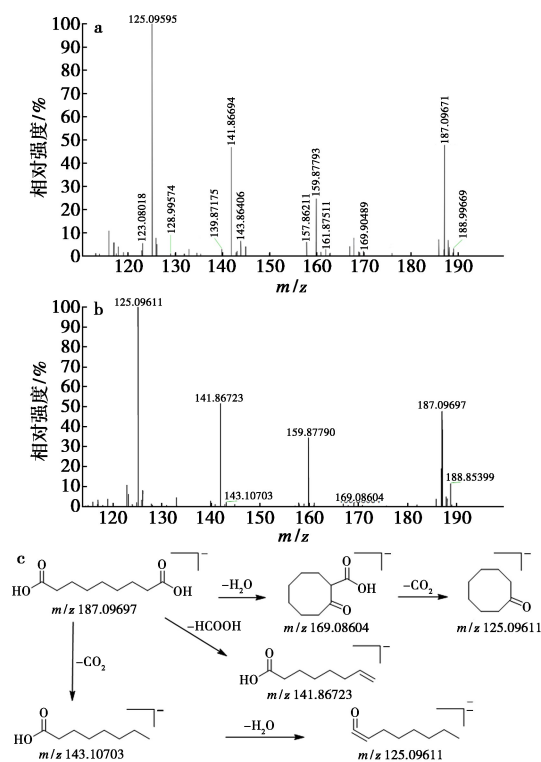


图 2 化合物 52 的质谱图及其裂解途径

Fig.2 Mass spectrum and fragmentation pathways of compound 52



a. 壬二酸的 MS² 图; b. 化合物 54 的 MS² 图; c. 裂解途径

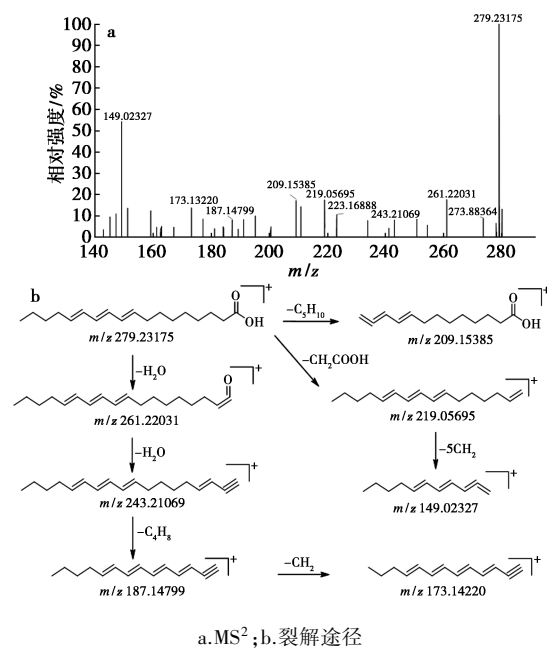
图 3 壬二酸、化合物 54 的质谱图及其裂解途径

Fig.3 Mass spectrum and fragmentation pathways of azelaic acid and compound 54

推断为壬二酸。

化合物 64 的裂解规律:在正离子模式下可见质子化准分子离子 m/z : 279.231 75 $[M+H]^+$, 质谱软件拟合分子式为 $C_{18}H_{30}O_2$, m/z : 209.153 85

$[M+H-5CH_2]^+$, m/z : 219.056 95 $[M+H-CH_2COOH]^+$, m/z : 149.023 27 $[M+H-CH_2COOH-5CH_2]^+$ 是准分子离子丢失 nCH_2 或 CH_2COOH 分子产生一系列特征碎片离子;该准分子离子也可先后脱去 nH_2O 、 nCH_2 分子产生一系列特征碎片离子 m/z : 261.220 31 $[M+H-H_2O]^+$, m/z : 243.210 69 $[M+H-2H_2O]^+$, m/z : 187.147 99 $[M+H-2H_2O-4CH_2]^+$, m/z : 173.132 20 $[M+H-2H_2O-5CH_2]^+$ 。该化合物的二级质谱及裂解规律(图 4)与文献[27]报道一致,推断为 α -桐酸。



a. MS²; b. 裂解途径

图 4 化合物 64 的质谱图及其裂解途径

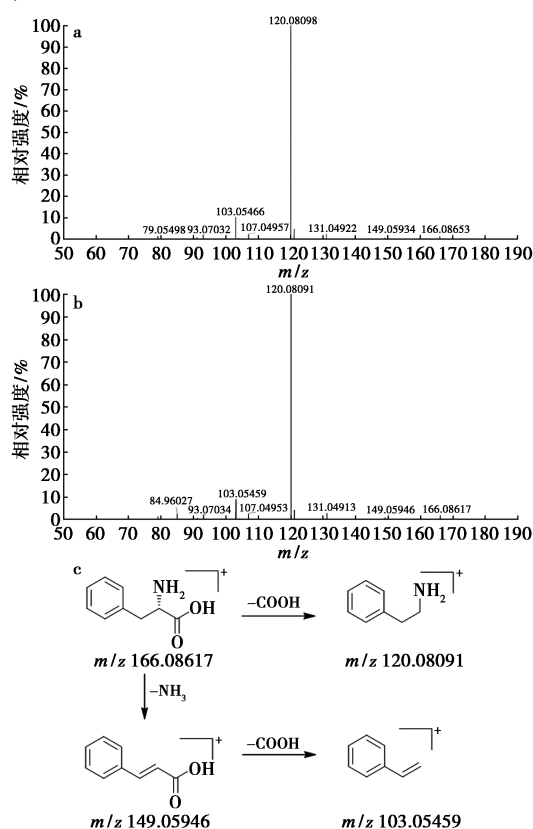
Fig.4 Mass spectrum and fragmentation pathways of compound 64

2.2.2 氨基酸类成分

该类成分在裂解过程中可能丢失 NH_3 、 H_2O 、 CO_2 及 $HCOOH$ 等小分子片段。各类型(α -、 β -、 γ -)氨基酸的裂解方式有所不同, α -氨基酸容易同时脱去 $HCOOH$ 、 NH_3 分子, β -氨基酸容易脱羧基或者含羧基的长碳链, γ -氨基酸容易先脱羧基再脱氨基。

以 L-苯丙氨酸(41, t_R = 3.35 min)为例:在正离子模式下可见质子化准分子离子为 m/z : 166.086 17 $[M+H]^+$, 质谱软件拟合分子式为 $C_9H_{11}NO_2$, m/z : 120.080 91 $[M+H-COOH]^+$ 是准分子离子丢失 1 分子 $COOH$ 产生的特征碎片离子;该准分子离子也可先后脱去 1 分子 NH_3 和 1 分子 $COOH$ 生产碎片离子 m/z : 149.059 46 $[M+H-NH_3]^+$ 和 m/z : 103.054 59 $[M+H-NH_3-$

$\text{COOH}]^+$ 。该化合物的二级质谱及裂解规律(图 5)与 L-苯丙氨酸对照品以及文献[7]报道一致,推断为 L-苯丙氨酸。



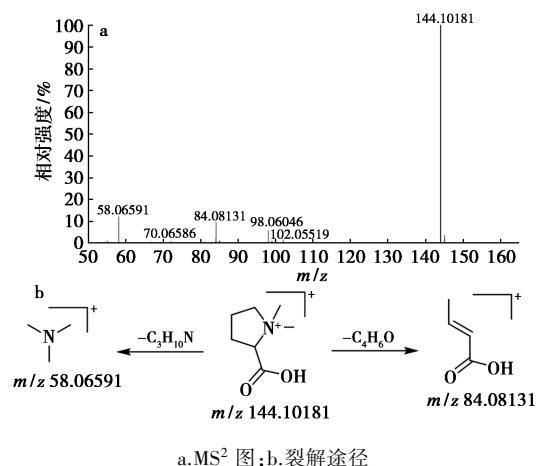
a. L-苯丙氨酸的 MS² 图; b. 化合物 41 的 MS² 图; c. 裂解途径
图 5 L-苯丙氨酸、化合物 41 的质谱图及其裂解途径

Fig.5 Mass spectrum and their fragmentation pathways of L-phenylalanine and compound 41

2.2.3 生物碱类成分

该类成分根据其母核的不同分为有机胺类、吡咯类、哌啶类、吡啶类、嘌呤及黄嘌呤等多种类型,不同类型的生物碱裂解方式区别较大,例如有机胺类主要的裂解方式为 β 裂解,酰胺类主要裂解方式为麦氏重排。但是,分析生物碱裂解特征不难发现,该类成分的裂解具有共同的特征,即容易丢失 $n\text{H}_2\text{O}$ 、 $n\text{CH}_3\text{OH}$ 、 $n(\text{CH}_2)\text{O}$ 、 $n\text{CO}$ 、 CHNH_2 、 NO 和 NH_3 等中性分子。

以水苏碱(17, $t_R = 1.02$ min)为例:在正离子模式下可见质子化准分子离子为 m/z :144.10181 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 质谱软件拟合分子式为 $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{NO}_2$, m/z :84.08131 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}]^+$ 、 m/z :58.06591 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_{10}\text{N}]^+$ 是准分子离子分别丢失 1 分子 $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$ 和 1 分子 $\text{C}_3\text{H}_{10}\text{N}$ 生成特征碎片离子。该化合物的二级质谱及裂解规律(图 6)与文献[14]报道一致,推断为水苏碱。



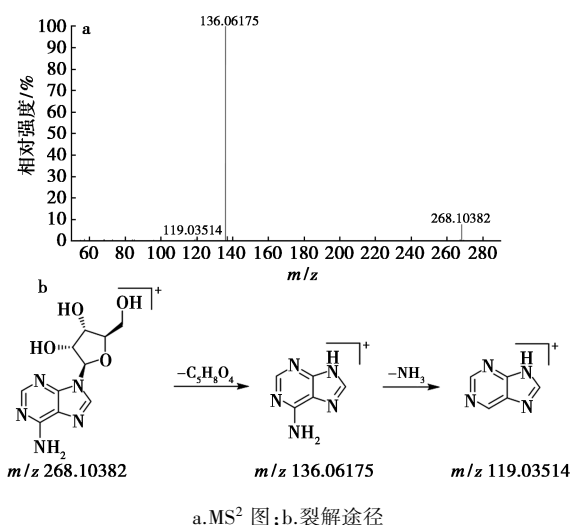
a. MS² 图; b. 裂解途径
图 6 化合物 17 的质谱图及其裂解途径

Fig.6 Mass spectrum and fragmentation pathways of compound 17

2.2.4 核苷类成分

此类成分由嘌呤或嘧啶苷元与核糖或脱氧核糖进行缩合而成,裂解过程中 C—N 键容易断裂失去糖基部分,接着嘌呤或嘧啶苷元上的取代基进一步断裂产生 NH_3 等小分子,也可能进一步发生开环反应。

以腺苷(32, $t_R = 1.75$ min)为例:在正离子模式下可见质子化准分子离子为 m/z :268.10382 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 质谱软件拟合分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$, m/z :136.06175 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4]^+$ 是准分子离子在裂解过程中发生氮苷键 C—N 断裂而丢失 1 分子核糖产生的特征碎片离子,该碎片离子进一步脱去 1 分子 NH_3 后生成碎片离子 m/z :119.03514 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4-\text{NH}_3]^+$ 。该化合物的二级质谱



a. MS² 图; b. 裂解途径

图 7 化合物 32 的质谱图及其裂解途径

Fig.7 Mass spectrum and fragmentation pathways of compound 32

及裂解规律(图 7)与文献[22]报道一致,推断为腺苷。

2.2.5 糖类成分

在负离子模式下鉴定了 4 个糖类化合物,为单糖或低聚糖,因此该研究仅讨论单糖和低聚糖的裂解规律。单糖含多个羟基,裂解过程中容易丢失 $n\text{H}_2\text{O}$ 、 CH_2O 等分子;低聚糖通常容易发生苷键断裂,得到相应的糖基,糖基可进一步裂解丢失 H_2O 、 CH_2O 、 CH_3 分子。

以海藻糖(10, $t_{\text{R}} = 0.95$ min)为例:在负离子模式下可见去质子化准分子离子 m/z : 341.11053 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 质谱软件拟合分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$, m/z : 179.05547 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_6]^-$ 是裂解过程中氧苷 C—O 键断裂生成的单糖碎片离子,接着连续丢失 H_2O 分子产生碎片离子 m/z : 161.04469 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 、 m/z : 143.03380 $[\text{M}-\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^-$, 最后再脱去 1 分子 CH_2O 生成碎片离子 m/z : 113.02327 $[\text{M}-\text{H}-2\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}]^-$ 。该化合物的二级质谱及裂解规律(图 8)与文献[11]报道一致,推断为海藻糖。

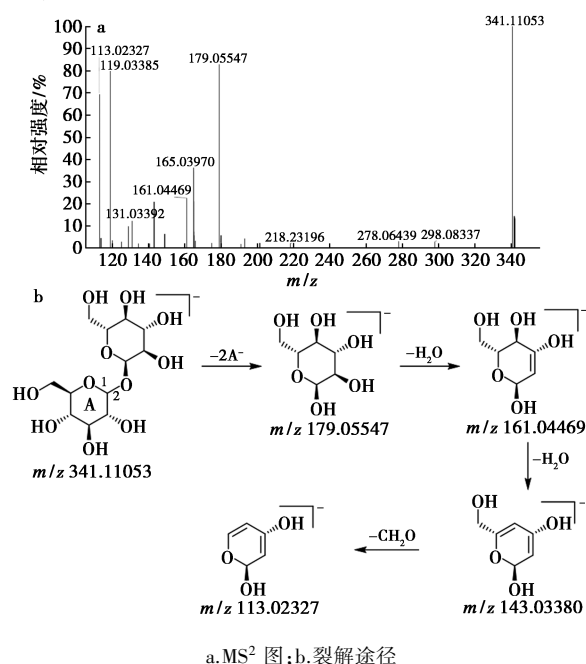


图 8 化合物 10 的质谱图及其裂解途径

Fig.8 Mass spectrum and fragmentation pathways of compound 10

2.2.6 黄酮类成分

该类成分在裂解过程中通常容易发生苷键断裂丢失糖基,苷元部分可能进一步丢失 H_2O 、 CO 、 C_3O_2 等中性小分子,黄酮及异黄酮苷元的 C 环容易发生逆狄尔斯-阿尔德(Retro Diels-Alder

reaction, RDA) 裂解。以山奈酚-7-O-葡萄糖苷(49, $t_{\text{R}} = 5.92$ min)为例:在正离子模式下可见质子化准分子离子 m/z : 449.10608 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 质谱软件拟合分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$, m/z : 287.05481 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$ 是准分子离子苷键断裂得到的特征碎片离子,进一步发生 RDA 裂解产生碎片离子 m/z : 153.01826 或丢失 1 分子 CO 产生碎片离子 m/z : 259.05966 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CO}]^+$ 。 m/z : 241.04956 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 或 m/z : 165.01831 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CO}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}]^+$ 是碎片离子 m/z : 259.05966 进一步丢失 1 分子 H_2O 或 1 分子 $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$ 生成的碎片离子。该化合物的二级质谱及裂解规律(图 9)与文献[28]报道一致,推断为山奈酚-7-O-葡萄糖苷。

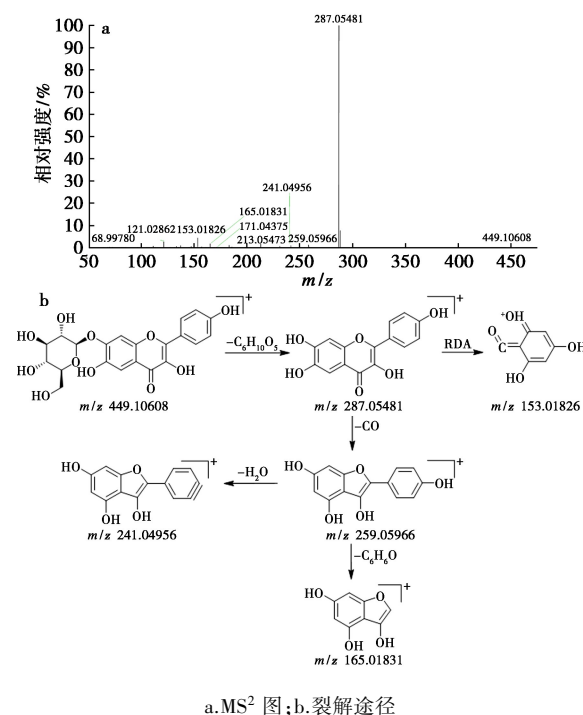


图 9 化合物 49 的质谱图及其裂解途径

Fig.9 Mass spectrum and fragmentation pathways of compound 49

2.2.7 芳香醛类成分

该类成分在裂解过程中主要丢失 1 分子 CO , 当芳香环上存在取代基时则可能发生裂解丢失相应的取代基产生 H_2O 、 OCH_3 、 CH_3 等中性分子,芳香环通常不发生裂解。

以对羟基苯甲醛(30, $t_{\text{R}} = 1.60$ min)为例:在正离子模式下可见质子化准分子离子 m/z : 123.05551 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 质谱软件拟合分子式为 $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$, 该准分子离子丢失 1 分子 H_2O 或 1 分子

CO 生成特征碎片离子 m/z : 105.045 12 [$M+H-H_2O$] $^+$ 或 m/z : 95.049 64 [$M+H-CO$] $^+$ 。该化合物的二级质谱及裂解规律(图 10)与文献[10]报道一致,推断为对羟基苯甲醛。

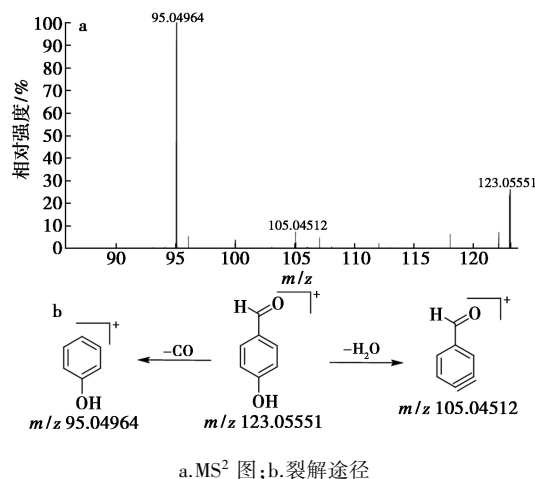


图 10 化合物 30 的质谱图及其裂解途径

Fig.10 Mass spectrum and fragmentation pathways of compound 30

3 结论

本研究首次运用 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术针对木贼的化学成分开展了快速的鉴定,综合分析保留时间、准分子离子、二级质谱特征碎片离子等质谱信息,结合对照品数据及相关文献共鉴定了 70 个化合物,其中有机酸类、氨基酸类、生物碱类、核苷类成分占比较高,糖类、黄酮类、芳香醛及其他类成分等较少。

化学成分是药用植物产生药效的物质基础,药效是临床应用的重要依据。结合文献报道分析本研究鉴定出的化合物发现,其中包含了多种活性化合物,这些化合物很可能是木贼发挥药效的重要物质。部分有机酸具有显著的抗炎、抗菌、抗病毒、抗氧化活性以及心脑血管疾病预防作用,例如阿魏酸,其能够显著降低猪细小病毒(PPV)的表达,同时降低感染 PK-15 细胞诱发白细胞介素 1β (IL- 1β)、白细胞介素 6 (IL-6) 等炎症因子的表达;亚麻酸、棕榈酸等不饱和脂肪酸具有降压、预防心血管疾病的作用,对高血脂、高胆固醇、动脉内膜的硬化均有显著的调控作用。氨基酸类成分对于维持身体的正常代谢和身体的健康都是必不可少的,木贼中富含多种氨基酸,对人体氨基酸的合成和摄取起着非常重要的作用,例如异亮氨酸,其参与调控胸腺、脾、脑下腺等器官的功能和

代谢。生物碱是自然界中发现较早的一类生物活性物质,经过科研人员不断地探索,发现部分生物碱具有抗菌消炎、抗肿瘤、抗血栓等活性,如:水苏碱、烟酰胺。此外,一些核苷和黄酮还显示了抗炎和抗氧化作用。木贼广泛的药理活性可能是各类成分多途径、多靶点协同作用的集中体现。后期课题组将进一步以“成分-药效-代谢-靶点”为切入点,多维模式探讨木贼药效物质基础及作用机制。

综上所述,该方法快速、准确、可靠,鉴定结果在一定程度上弥补了现阶段木贼化学成分研究的不足,为该药材后期药效物质基础、作用机制及产品开发提供参考依据。

参考文献:

- [1] Editorial Committee of Flora of China CAS. Flora Reipublicae Popularis Sinicae. Beijing: Science Press, 2004: 238.
中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 北京: 科学出版社, 2004: 238.
- [2] Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia. 1th Volume. Beijing: China Medical Technology Press, 2020: 64.
国家药典委员会. 中国药典(第一部). 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 64.
- [3] Pan X, Zhang C H. J. Jilin Med. Univ., 2018, **39**(3): 2 016-2 018.
潘旭, 张昌浩. 吉林医药学院学报, 2018, **39**(3): 2 016-2 018.
- [4] Yu Y J, Zhou K, Liu D S, Zhu X J, Guo Z H, Yuan S, Shi J. Chem. Reagents, 2024, **46**(10): 63-71.
于亚娟, 周轲, 刘东升, 朱旭江, 郭朝晖, 袁松, 石晶. 化学试剂, 2024, **46**(10): 63-71.
- [5] Zhang J, Wang T, Men Z Y, Mao H J, Wu Y F. China Environ. Sci., 2020, **40**(2): 851-856.
张静, 王婷, 门正宇, 毛洪钧, 吴宇峰. 中国环境科学, 2020, **40**(2): 851-856.
- [6] Zhang Y S, Zeng P, Cheng J R, Liu X M, Qiu Y Q, Zhang H N, Zhang Y H. J. Chin. Inst. Food Sci. Technol., 2018, **18**(6): 272-282.
张友胜, 曾萍, 程镜蓉, 刘学铭, 丘银清, 张惠娜, 张业辉. 中国食品学报, 2018, **18**(6): 272-282.
- [7] Chen J, Wu H, Liu R H, Zhang C N, Sun Y K. J. Chin. Med. Mater., 2022, **45**(3): 639-646.
陈剑, 吴昊, 刘润花, 张晨宁, 孙毅坤. 中药材, 2022,

- 45(3):639-646.
- [8] Zhu G H, Pang W, Chen X F, Hu J N. *Cent. South Pharm.*, 2020, **18**(8):1 344-1 347.
朱冠华, 庞韦, 程学芳, 胡娟妮. 中南药学, 2020, **18**(8):1 344-1 347.
- [9] Song K X. Nanoprimering with Green Synthesis of Silver Effects on the Germination and Physiological Characteristics of Alfalfa (*Medicago Sativa* L.). Xianyang: Northwest Agriculture & Forestry University, 2022.
宋克晓. 绿色合成纳米银引发对紫花苜蓿种子萌发及幼苗生理特性影响研究. 咸阳: 西北农林科技大学, 2022.
- [10] Hu H W, Zhao Y Y, Yang T L, Zheng Z X, Peng T, Deng F. *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Form.*, 2020, **26**(7): 148-155.
胡瀚文, 赵永艳, 杨天龙, 郑振兴, 彭腾, 邓放. 中国实验方剂学杂志, 2020, **26**(7): 148-155.
- [11] Xu X M. Study on Quality Evaluation of Different Species of Tibetan Medicine Berberidis Cortex Based on UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS Metabolomics. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
徐鑫梅. 基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 代谢物组学的多基原藏药小檗皮质量评价研究. 成都: 成都中医药大学, 2021.
- [12] Hao Z C. Screening and Application of Microorganisms that Inhibit Cyanobacteria Blooms. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2021.
郝忠超. 抑制蓝藻水华微生物的筛选与应用. 天津: 天津科技大学, 2021.
- [13] Liu N, Tang R Y, She C, Tao T, Min Y H, Li H. *Food Ferment. Ind.*, 2024, **50**(6): 254-259.
刘娜, 唐睿艺, 余城, 陶滔, 闵宇航, 李航. 食品与发酵工业, 2024, **50**(6): 254-259.
- [14] Liu M S, Yang B P, Yang W L, Cai Y, Wang K H, Peng M D, Chen B Z, Zheng G D. *Chin. J. Hosp. Pharm.*, 2021, **41**(23): 2 395-2 400; 2 427.
刘梦诗, 杨得坡, 杨婉玲, 蔡轶, 王康慧, 彭梦蝶, 陈柏忠, 郑国栋. 中国医院药学杂志, 2021, **41**(23): 2 395-2 400; 2 427.
- [15] Zhang J Y. Extraction Technology and Application of Gastrodin and Gastrodia Elata Polysaccharide. Lanzhou: Northwest Normal University, 2022.
张家义. 天麻素和天麻多糖的提取工艺及应用. 兰州: 西北师范大学, 2022.
- [16] Feng F. The Molecular Mechanism of *Xanthomonas* Type III Effector AvrAC to Regulate Plant Innate Immunity. Beijing: Tsinghua University, 2012.
冯锋. 黄单胞菌效应蛋白 AvrAC 调节植物先天免疫的分子机制. 北京: 清华大学, 2012.
- [17] Gao H, Xie Y C, Li X Y, Shi G S. *Chin. J. Pharm. Anal.*, 2015, **35**(9): 1 653-1 659.
高辉, 谢元超, 李晓燕, 史国生. 药物分析杂志, 2015, **35**(9): 1 653-1 659.
- [18] Yan Y H, Wu T, Chen J, Abdula R, Huang L, Aisa H A. *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Form.*, 2021, **27**(21): 156-166.
严雅慧, 吴涛, 陈菊, 热依木古丽·阿布都拉, 黄磊, 阿吉艾克拜尔·艾萨. 中国实验方剂学杂志, 2021, **27**(21): 156-166.
- [19] Li K L, Xiong P, Gong K Y, Peng J, Shi S L, Cai W. *Nat. Prod. Res. Dev.*, 2020, **32**(2): 250-256.
李凯琳, 熊佩, 龚开妍, 彭婕, 史思林, 蔡伟. 天然产物研究与开发, 2020, **32**(2): 250-256.
- [20] Vallverdú-queralt A, Verbaere A, Meudec E, Cheynier V, Sommerer N. *J. Agric. Food. Chem.*, 2015, **63**(1): 142-149.
- [21] Chen X H, Jin M C. *Chin. J. Health Lab. Technol.*, 2009, **19**(10): 2 213-2 215; 2 269.
陈晓红, 金米聪. 中国卫生检验杂志, 2009, **19**(10): 2 213-2 215; 2 269.
- [22] Cui W H, Deng X L, Wang S Q. *Chem. Res.*, 2023, **34**(4): 313-318.
崔维恒, 邓晓兰, 王思琴. 化学研究, 2023, **34**(4): 313-318.
- [23] Cui W H, Deng X L, Chen C Y. *Henan Sci.*, 2023, **41**(7): 978-984.
崔维恒, 邓晓兰, 陈驰宇. 河南科学, 2023, **41**(7): 978-984.
- [24] Yang M Y. Studies on the Influence of Non-aqueous Medium on the Catalytic Properties of *P. fluorescens*/*A. oryzae* Whole-cells and Their Cytotoxicities on the Microbial Cells. Guangzhou: South China University of Technology, 2014.
杨美艳. 非水介质对 *P. fluorescens*/*A. oryzae* 全细胞催化特性与细胞毒性影响的研究. 广州: 华南理工大学, 2014.
- [25] Chen J. Screening and Risk Prediction of Metabolic Markers of Thyroid Cancer and Laryngeal Cancer. Hefei: University of Science and Technology of China, 2020.
陈建. 甲状腺癌和喉癌代谢标志物的筛选及其风险预测. 合肥: 中国科学技术大学, 2020.
- [26] Zhou W Y, Hu B C, Zhao L R, Liu Z L. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.*, 2009, **30**(1): 31-35.
周维友, 胡炳成, 赵乐荣, 刘祖亮. 质谱学报, 2009, **30**(1): 31-35.

- [27] Zhang Y, Deng Q, Wei M, Zhang X. *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Form.*, 2021, **27**(15): 91-99.
张烨, 邓琦, 魏敏, 张旭. 中国实验方剂学杂志, 2021, **27**(15): 91-99.
- [28] Yang H T. Studies on Characteristic and Analysis of Chemical Components of *Aster tataricus* and Inhibitory Effect of Friedelan-3 β -ol on Cytochrome P450s in Human Liver Microsome. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2016.
杨浩天. 紫菀化学成分表征与分析及表木栓醇对人肝微粒体 CYP450 酶抑制作用研究. 石家庄: 河北医科大学, 2016.
- [29] Han Z Y, Hu E M, Deng X K, Li Y, Zhang L S, Cao F, Chen J Y, Zhou F J. *Sci. Technol. Food Ind.*, 2021, **42**(17): 16-23.
韩忠耀, 胡恩明, 邓先扩, 李燕, 张林甦, 曹芳, 陈建宇, 周福军. 食品工业科技, 2021, **42**(17): 16-23.
- [30] Yang L. Qualitative and Quantitative Study on Effective Compounds of Fangji Huangqi Tang Against Adriamycin-induced Nephropathy Based on the Process in Vivo. Taiyuan: Shanxi University, 2020.
杨柳. 基于体内过程的防己黄芪汤干预阿霉素肾病药效成分定性和定量研究. 太原: 山西大学, 2020.
- [31] Huang H Y, Kang J L, Yu Y H, Zhao P, Feng S X, Du Y, Li J S. *J. Instrum. Anal.*, 2019, **38**(1): 1-13.
黄海英, 康俊丽, 余亚辉, 赵鹏, 冯素香, 杜燕, 李建生. 分析测试学报, 2019, **38**(1): 1-13.
- [32] Li D Q. *J. Anhui Agric. Univ.*, 2021, **48**(2): 333-338.
李东芹. 安徽农业大学学报, 2021, **48**(2): 333-338.
- [33] Rao Y, Huang W P, Feng Y L, Ouyang H, Yang S L. *Chin. Tradit. Pat. Med.*, 2019, **41**(6): 1 455-1 462.
饶颖, 黄文平, 冯育林, 欧阳辉, 杨世林. 中成药, 2019, **41**(6): 1 455-1 462.
- [34] Liao Q J, Wang X Q, An M Z, Li Y H, Qiao Z W, Zhou H L, Song T F. *Liquor Mak. Sci. Technol.*, 2020, (12): 65-70.
廖勤俭, 王小琴, 安明哲, 李杨华, 乔宗伟, 周韩玲, 宋廷富. 酿酒科技, 2020, (12): 65-70.