

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2023.08.019

基于 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 的 痂状炭角菌子实体化学成分分析

王志花, 刘国庆, 韩东晶, 周宁, 杨少华, 汪文君

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:痂状炭角菌(*Xylaria sp.* L1)是一种高价值药用真菌,属于炭角菌科,它生长在野外废弃的白蚁巢穴周围。文章应用超高效液相色谱(ultra-high performance liquid chromatography, UPLC)-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry, Q-Orbitrap HRMS)技术对痂状炭角菌子实体 80% 甲醇提取物的化学成分进行定性分析。采用 Welch RP-C₁₈ 柱色谱(150 mm×2.1 mm, 1.8 μm),以 0.1% 甲酸水溶液和 0.1% 甲酸乙腈为流动相进行梯度洗脱;高分辨质谱分析采用电喷雾离子源(electrospray ionization source, ESI),在正、负离子模式下扫描采集数据;从痂状炭角菌子实体中共检测到 41 种化合物,包含 6 种萜类化合物、4 种苯丙素类化合物、14 种生物碱类化合物、10 种长链不饱和脂肪酸类化合物、7 种甾体类化合物,其中有 18 种化合物为痂状炭角菌子实体中首次发现。该研究对痂状炭角菌子实体化学成分进行较全面地分析,为该真菌的深入研究奠定基础。

关键词:痂状炭角菌;超高效液相色谱(UPLC)-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(Q-Orbitrap HRMS);化学成分;裂解规律

中图分类号:R284.1

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2023)08-1129-07

Analysis and identification of chemical components of *Xylaria sp.* L1 sporocarps by UPLC-Q-Orbitrap HRMS

WANG Zhihua, LIU Guoqing, HAN Dongjing,
ZHOU Ning, YANG Shaohua, WANG Wenjun

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: *Xylaria sp.* L1 is a high value medicinal fungus belonging to the family of Xylariaceae. It is found growing in wilds around the abandoned termite nests. In this experiment, the chemical components of *Xylaria sp.* L1 sporocarps extracted with 80% methanol were analyzed and identified by ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry(UPLC-Q-Orbitrap HRMS) method. Compounds were performed on Welch RP-C₁₈ column(150 mm×2.1 mm, 1.8 μm) with a gradient elution of acetonitrile-water containing 0.1% formic acid. The data were collected in positive and negative ion modes using electron spray with electrospray ionization source(ESI). A total of 41 components were identified including six terpenoids, four phenylpropanoids, fourteen alkaloids, ten long chain unsaturated fatty acids and seven steroids components. Among them, 18 compounds were firstly identified in *Xylaria sp.* L1 sporocarps. The study has quite completely identified the chemical components in *Xylaria sp.* L1 sporocarps, which may lay the foundation for further study and utilization of the fungus.

收稿日期:2021-05-17;修回日期:2021-07-05

基金项目:国家重点研发计划资助项目(JZ2018ZDYF0541)

作者简介:王志花(1996—),女,安徽阜阳人,合肥工业大学硕士生;

刘国庆(1964—),男,安徽芜湖人,博士,合肥工业大学教授,硕士生导师,通信作者, E-mail:13675512000@163.com.

Key words: *Xylaria sp.* L1; ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Orbitrap HRMS); chemical composition; fragmentation pattern

炭角菌(*Xylaria sp.*)属真菌集中分布在温带、亚热带和热带地区,其中的主要化学成分是萜类、生物碱、甾醇及聚酮等次生代谢产物,已发现炭角菌的菌丝体或发酵液具有抗炎^[1]、细胞毒^[1]、抗真菌^[2]、抗菌^[3]、抗疟^[4]、抑制 α -葡萄糖苷酶^[4]、抗线虫^[5]和神经保护活性^[6]。近年来,从炭角菌中不断发现一些新的生物活性成分^[7-11]。表明该真菌属可能是开发药用化合物的一个有前途的来源。目前,炭角菌的研究工作主要集中在化学成分的分离与鉴定及药理作用研究等方面,使用液质联用技术对痂状炭角菌(*Xylaria sp.* L1)子实体化学成分进行分析的相关报道并不多^[12]。本课题组于 2019 年开始该菌的研究工作,目前已成功驯化一个痂状炭角菌菌种,建立了完善的实验室人工培养方案。前期研究表明,痂状炭角菌具有高效率利用生物质的特点,其发酵底物具有抗氧化的药理活性。本文继续研究该菌子实体活性成分,以明确痂状炭角菌的化学成分,对揭示其化学物质基础及配伍规律具有指导意义。

LTQ-Orbitrap 质谱仪综合了 LTQ 的多级质谱功能以及 Orbitrap 的高分辨能力,可短时间内同时实现母、子离子的高分辨采集和多级质谱碎裂,显著提高了对真菌复杂体系中化学成分的快速鉴定与分析能力^[13]。因此,本文采用超高效液相色谱(ultra-high performance liquid chromatography UPLC)-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry, Q-Orbitrap HRMS)技术对痂状炭角菌子实体的主要化学成分进行快速、全面地鉴定,便于为进一步阐明该炭角菌的药效物质奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

痂状炭角菌(*Xylaria sp.* L1)由本实验室从废弃白蚁窝中分离纯化获得,将痂状炭角菌子实体 50 °C 烘干至恒重后,粉碎后 36 目孔过筛密封备用。

乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯试剂,购于赛默飞世尔科技有限公司;去离子水由 Milli-Q 纯水系统制备。

MS105DU 电子天平(赛多利斯(上海)贸易有限公司);DHG-9146A 电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司);D3024R 微量冷冻离心机(北京大龙兴创实验仪器有限公司);MX-F 涡旋振荡器(武汉赛维尔生物科技有限公司);MTV-100 多管涡旋混合仪(杭州奥盛仪器有限公司);JP-040S 超声波清洗器(深圳洁盟清洗设备有限公司);UltiMate 3000 RS 色谱仪、Q Exactive 质谱仪(赛默飞世尔科技(中国)有限公司)。

1.2 样品的制备

称量样本约 200 mg,加入 1 mL 80% 甲醇^[14-15],涡旋混匀。加入 2~3 颗二氧化锆研磨珠,研磨提取 3 min;4 °C 条件下 8 000 r/min 离心 10 min。取上清液过 0.22 μ m 微孔滤膜,即得。

1.3 液相和质谱条件

液相色谱条件如下:色谱柱为 Welch RP-C₁₈ 色谱柱(150 mm \times 2.1 mm, 1.8 μ m);流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液,流动相 B 为 0.1% 甲酸乙腈;流速为 0.3 mL/min,进样室温度为 10 °C,柱温为 35 °C;进样量为 5 μ L;检测波长为 200~400 nm。梯度洗脱条件见表 1 所列。

表 1 梯度洗脱条件

时间/min	φ (流动相 A)	φ (流动相 B)
0	98	2
1	98	2
5	80	20
10	50	50
15	20	80
20	5	95
25	5	95
26	98	2
30	98	2

质谱条件如下:离子源为电喷雾离子源(electrospray ionization source, ESI),正负离子模式检测,离子源温度为 350 °C,鞘气流速为 30 L/min,辅助气流速为 10 L/min,扫尾气流速为 0.2 L/min,喷雾电压为 3 800 V,毛细管温度为 300 °C,扫描模式为全扫描/数据依赖二级扫描(Full MS/dd-MS₂),一级分辨率 70 000,二级分辨率 17 500,二级离子碎片的质荷比(m/z)扫描范围为 150~2 000。

2 结果与分析

2.1 痲状炭角菌子实体化学成分鉴定

将 UPLC-QE 所采集的原始数据导入 Thermo Compound Discover 2.0 (CD) 分析软件进行初步计算,该软件可充分利用高保真的 Orbitrap 数据来准确鉴定复杂基质中的化合物,通过定制相应的工作流程,结合了多种识别技术,包括与 mzCloud 库、mzVault 库、Chemspider 库进行碎

片及分子量匹配,从而初步筛选得出痲状炭角菌子实体提取物中可能存在的化合物。此外,借助 Thermo Xcalibur 2.2 分析软件对质谱数据进行进一步分析和处理,根据高分辨质谱信息对其分子式进行推导,偏差不得大于 5×10^6 ,对照参考文献和上述在线数据库,推导可能的裂解碎片,最终确定痲状炭角菌子实体提取物中存在的化合物,该提取物的 ESI-MS 质谱总离子流图如图 1 所示,其化学成分鉴定结果见表 2 所列。

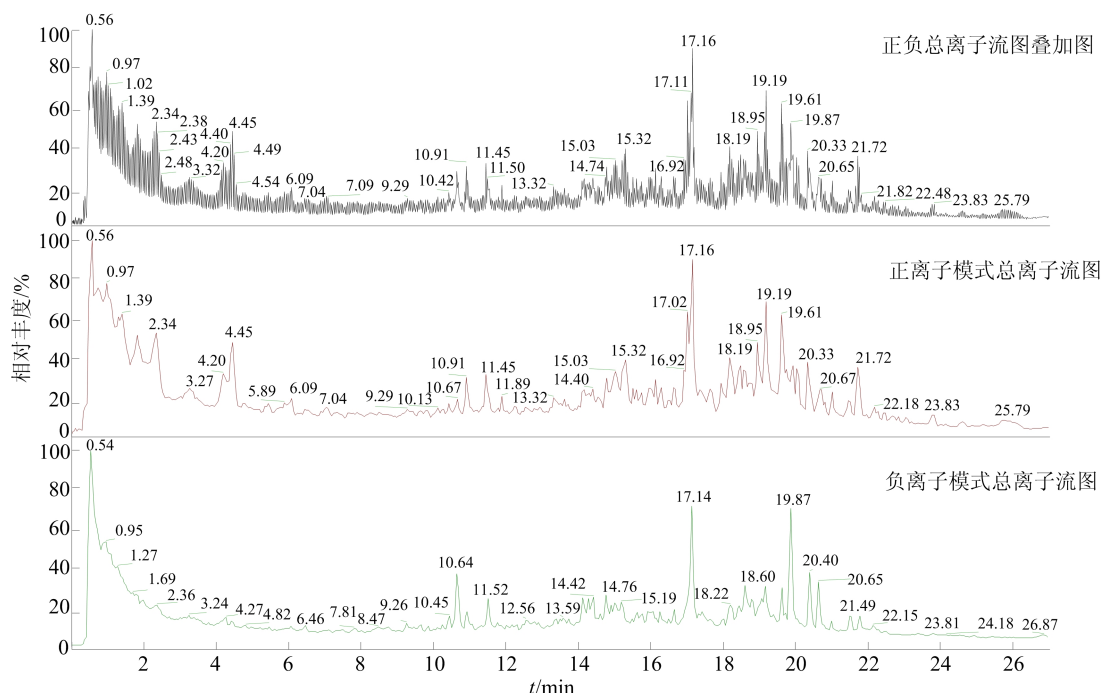


图 1 痲状炭角菌子实体提取物的 ESI-MS 质谱总离子流图

表 2 痲状炭角菌子实体提取物化学成分鉴定结果

序号	t_R /min	离子形式	m/z	分子式	误差/ 10^{-6}	二级质谱	化合物
1	1.38	$[M+H]^+$	268.10352	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	+1.8	136.1/119.0	Adenosine
2	2.36	$[M+H]^+$	137.04581	$C_5H_4N_4O$	+1.3	110.0/95.0	Hypoxanthine
3	2.37	$[M+H]^+$	283.09160	$C_{10}H_{13}N_5O_5$	+0.2	150.0/133.0/108.0	Guanosine
4	3.56	$[M-H]^+$	284.07590	$C_{10}H_{12}N_4O_6$	-0.8	151.0	Xanthosine
5	3.80	$[M+H]^+$	208.12116	$C_{11}H_{16}N_2O_2$	+0.8	191.1/149.1/103.0/87.0	Pilocarpine
6	3.91	$[M+H]^+$	298.11450	$C_{11}H_{15}N_5O_5$	-0.1	150.0/133.0	2'-O-Methylguanosine
7	4.20	$[M+NH_4]^+$	205.09697	$C_{11}H_9NO_2$	+0.9	146.1/170.1/118.1	Indole-3-acrylic acid
8	4.43	$[M+H]^+$	146.05998	C_9H_7NO	+0.4	128.1/118.1/91.1	4-Indolecarbaldehyde
9	5.42	$[M+H]^+$	298.09659	$C_{11}H_{15}N_5O_3S$	+0.8	163.04/136.1/119.0/97.0	5'-S-Methyl-5'-thioadenosine
10	6.93	$[M+H]^+$	194.08035	$C_8H_{10}N_4O_2$	+0.1	138.0	Caffeine
11	7.40	$[M+H]^+$	146.06003	C_9H_7NO	+0.4	128.0/118.0	8-Hydroxyquinoline
12	8.21	$[M-H]^+$	155.04527	$C_6H_8N_2O_3$	+6.0	137.0/109.0/93.0/72.9	Imidazolelactic acid
13	9.14	$[M+H]^+$	162.09116	$C_{10}H_{11}NO$	+1.1	144.1/143.1/117.1	3-(2-Hydroxyethyl) indole
14	9.29	$[M+H]^+$	176.07040	$C_{10}H_9NO_2$	+0.8	130.1	Indole-3-acetic acid
15	9.35	$[M+H]^+$	219.17389	$C_{15}H_{22}O$	+2.0	201.1/161.1/145.1/119.0/95.0	Nootkatone
16	10.29	$[M+H]^+$	218.16660	$C_{15}H_{22}O$	+2.0	201.1/145.1/119.0/105.0/127.1	Zerumbone
17	11.32	$[M+H]^+$	254.05770	$C_{15}H_{10}O_4$	+0.9	225.0/197.0	Daidzein
18	11.59	$[M+H]^+$	285.07520	$C_{16}H_{12}O_5$	+1.3	240.0/268.0	Glycitein

续表

序号	t_R/min	离子形式	m/z	分子式	误差/ 10^{-6}	二级质谱	化合物
19	12.51	$[\text{M}+\text{H}]^+$	207.064 87	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_5$	+1.4	192.0/164.0	Sinapinic acid
20	12.20	$[\text{M}-\text{H}]^+$	270.052 70	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	+0.4	241.0/151.0	Genistein
21	12.81	$[\text{M}+\text{H}]^+$	305.210 82	$\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_3$	+1.0	287.2/211.2/147.1	7 α -Hydroxytestosterone
22	14.39	$[\text{M}+\text{H}]^+$	274.192 83	$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_2$	+1.6	105.0/133.1/91.0	19-Nortestosterone
23	16.22	$[\text{M}+\text{H}]^+$	162.031 40	$\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$	+2.0	135.0/95.0/105.0	7-Hydroxycoumarin
24	16.24	$[\text{M}+\text{H}]^+$	941.508 42	$\text{C}_{48}\text{H}_{76}\text{O}_{18}$	+1.2	613.3/499.3/435.3	Soyasaponin II
25	16.35	$[\text{M}+\text{H}]^+$	942.517 83	$\text{C}_{48}\text{H}_{78}\text{O}_{18}$	+1.0	615.3/437.3/247.0/205.0/113.0	Soyasaponin I
26	16.96	$[\text{M}+\text{H}]^+$	255.231 31	$\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_2$	+2.1	237.2/219.2	Palmitoleic acid
27	17.36	$[\text{M}+\text{H}]^+$	438.348 80	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$	+0.7	421.3/95.0/107.0/119.0/ 159.1/201.1/201.1	Oleanolic acid
28	17.40	$[\text{M}+\text{H}]^+$	303.231 29	$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_3$	+1.9	285.2/201.1/145.1	16(R)-HETE
29	17.92	$[\text{M}+\text{H}]^+$	303.231 35	$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$	+1.8	285.2/267.2/131.0/105.0/91.0	Eicosapentaenoic acid
30	17.94	$[\text{M}+\text{H}]^+$	314.224 00	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$	+1.7	109.0/97.9	Progesterone
31	18.16	$[\text{M}+\text{H}]^+$	307.762 39	$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_2$	+2.7	67.0/81.0/95.0/109.1	11(Z),14(Z),17(Z)- Eicosatrienoic acid
32	18.67	$[\text{M}+\text{H}]^+$	290.224 00	$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_2$	+1.8	57.0/69.0/83.0/125.1	5 α -Dihydrotestosterone
33	19.21	$[\text{M}-\text{H}]^+$	277.217 41	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	+3.8	259.0/233.2/127.0/83.0	α -Eleostearic acid
34	19.81	$[\text{M}-\text{H}]^+$	303.230 57	$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$	+1.3	259.2/177.1/135.1	Arachidonic acid
35	19.86	$[\text{M}-\text{H}]^+$	279.282 30	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	+1.4	151.3/59.0	Linoleic acid
36	20.07	$[\text{M}+\text{H}]^+$	287.200 12	$\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_3$	+1.5	269.2/241.2/211.2/145.1	11-Oxoetiocholanolone
37	20.21	$[\text{M}+\text{H}]^+$	428.328 70	$\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$	+0.8	411.3/287.2/69.0/83.0	Ergosterol peroxide
38	20.34	$[\text{M}+\text{H}]^+$	335.293 58	$\text{C}_{22}\text{H}_{38}\text{O}_2$	-0.4	263.2/95.0/81.0	Docosatrienoic acid
39	20.65	$[\text{M}-\text{H}]^+$	281.248 47	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$	+0.4	166.4/55.8	Oleic acid
40	21.29	$[\text{M}+\text{H}]^+$	429.339 20	$\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$	+0.8	411.3/303.2/167.1/149.1	Nandrolone decanoate
41	21.93	$[\text{M}+\text{H}]^+$	402.349 00	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_3$	+1.2	217.1/161.0/127.1/71.0/145.1/ 105.0/93.0	Ageratriol

2.2 萜类化合物

萜类化合物以单萜、二萜、三萜及倍半萜等形式存在,本实验从痂状炭角菌子实体提取物中共鉴定了 6 种萜类化合物,包括 3 种三萜和 3 种倍半萜。在二级碎裂过程中,萜类化合物的裂解特征主要为 H_2O 、 CO_2H 自由基和 HCO_2H 分子离子的损失。以化合物 25 和 27 为例,化合物 27, $t_R=17.36$ min,正离子模式下得到准分子离子 m/z 为 456.360 30 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$,预测其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$ 。母离子失去 1 个 $-\text{OH}$ 形成 m/z 为 439.356 230 的 $[\text{M}+\text{H}-\text{OH}]^+$,再经过裂解形成 2 个离子碎片,其 m/z 为 245.189 88、175.148 15,前者依次失去 $-\text{COOH}$ 和 $-\text{C}_6\text{H}_{12}$ 形成碎片离子 m/z 为 201.163 71 的 $[\text{M}+\text{H}-\text{COOH}]^+$ 和 m/z 为 119.085 76 的 $[\text{M}+\text{H}-\text{COOH}-\text{C}_6\text{H}_{12}]^+$,后者丢失一分子甲基自由基形成 m/z 为 161.132 57 的 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3]^+$ 。参考文献[16-17]分析其可能的裂解途径,结合在线网络数据库比对鉴定该化合物为齐墩果酸。质谱裂解途径如图 2 所示。同样,对于化合物 25,其在正离子模式下准分子离子为 m/z 为 942.517 83 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 和 m/z 为

965.506 35 的 $[\text{M}+\text{H}+\text{Na}]^+$,二级质谱中存在 m/z 为 796.373 03 $[\text{M}-\text{rha}]^+$ 、 m/z 为 615.393 01 $[\text{M}+\text{H}-\text{rha}-\text{gal}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 、 m/z 的 439.356 23 $[\text{gal}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 等碎片离子。根据文献[18]比对,可以确定该化合物为大豆昔元。根据上述总结,推断化合物 15、16、24、41 分别为园柚酮、花姜酮、大豆皂苷 II 和藿香醇。

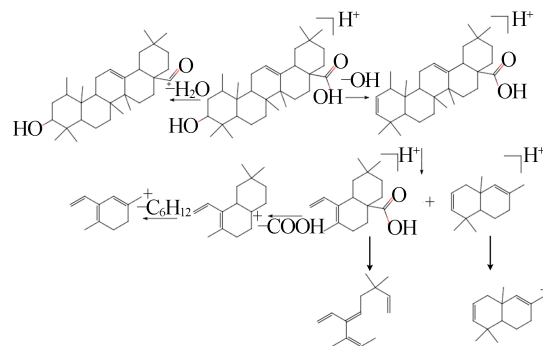


图 2 齐墩果酸可能的裂解途径

2.3 不饱和脂肪酸类化合物

本实验从痂状炭角菌子实体提取物中共鉴定了 10 个长链不饱和脂肪酸,其裂解方式相似,二

级质谱中主要丢失 H_2O 、 HCOOH 、 CO_2 等中性分子。以化合物 34 为例,在负离子模式下得到准分子离子 m/z 为 303.230 57 的 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 预测其分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$ 。二级质谱中可见失去 1 分子 H_2O 形成的碎片 m/z 为 285.222 20 的 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$, 或依次失去 1 分子 C_7H_{13} 和 1 分子 C_3H_5 形成的碎片 m/z 为 205.195 43 的 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_{13}]^-$ 、 m/z 为 163.075 61 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_5]^-$, 或依次失去 1 分子 HCOOH 和 1 分子 C_2H_4 , 形成的碎片 m/z 为 259.242 86 的 $[\text{M}-\text{H}-\text{HCOOH}]^-$ 、 m/z 为 231.210 82 的 $[\text{M}-\text{H}-\text{HCOOH}-\text{C}_2\text{H}_4]^-$ 。

经过数据库检索及与文献[19]比对,可推断该化合物为花生四烯酸。质谱裂解途径如图 3 所示。

同理,根据相对分子质量、碎片离子与 Mass-Bank 数据库比对结果,推断化合物 19、26、28、29、31、33、35、38、39 分别为芥子酸、棕榈油酸、16(R)-HETE、二十碳五烯酸、11(Z), 14(Z), 17(Z)-二十碳三烯酸、 α -桐酸、亚油酸、二十二碳三烯酸、油酸。

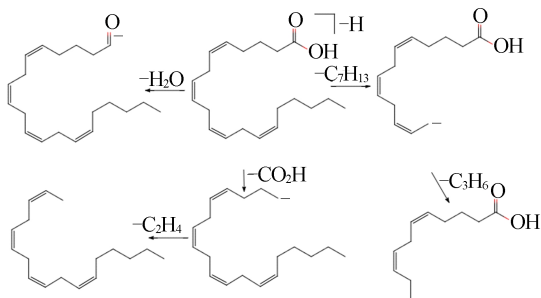


图 3 花生四烯酸可能的裂解途径

2.4 生物碱类化合物

本实验从痲状炭角菌子实体提取物中共鉴定了 14 种生物碱类化合物,包括化合物 1~14。生物碱多以正离子形式存在,因此正离子模式响应很强,且二级质谱碎片离子多是以 N^+ 为中心发生断裂,失去若干个甲基^[20-21]。例如,化合物 1 的准分子离子 m/z 为 268.103 52 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$ 为其预测分子式,在二级质谱中,失去 1 分子咪唑核糖残基形成碎片离子 m/z 为 136.061 81 的 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4]^+$, 再丢失 1 分子 NH_3 形成 m/z 为 119.035 46 的 $[\text{M}+\text{H}-\text{NH}_3]^+$, 经过数据库检索比对,鉴定该化合物为腺苷。

腺苷可能的裂解途径如图 4 所示。

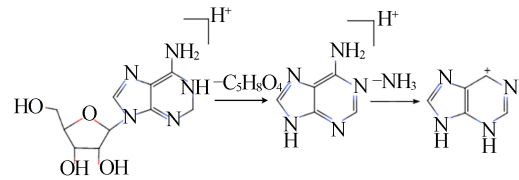


图 4 腺苷可能的裂解途径

2.5 苯丙素类化合物

本实验从痲状炭角菌子实体提取物中共鉴定了 4 种苯丙素类化合物,包括 1 种香豆素和 3 种黄酮类化合物,已鉴定的多数苯丙素的结构相似,裂解特征主要为丢失 CO 、 CO_2 、 CH_3 等中性分子。以化合物 20 和 23 为例。化合物 23, $t_R = 16.22$ min, 正离子模式下得到准分子离子 m/z 为 163.038 60 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 预测其分子式为 $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$ 。在二级质谱中,可见其分别丢失 1 分子 CO 或 1 分子 CO_2 形成的碎片离子 m/z 为 135.044 11 的 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$ 、 m/z 为 119.085 77 的 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2]^+$ 。根据化合物的二级质谱裂解特征,经过数据库检索及与文献[22]比对,确认该化合物为 7-羟基香豆素。质谱裂解途径如图 5 所示。化合物 20, 负离子模式下得到准分子离子 m/z 为 269.045 750 的 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 预测其分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$ 。在二级质谱中,可见其分别丢失 1 分子 CO 或 1 分子 $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}$ 形成的碎片离子 m/z 为 241.050 42 的 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$ 、 m/z 为 151.002 49 的 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_7\text{O}]^+$ 。根据化合物的二级质谱裂解特征,经过数据库检索及与文献[23]比对,确认该化合物为染料木黄酮,质谱裂解途径如图 6 所示。

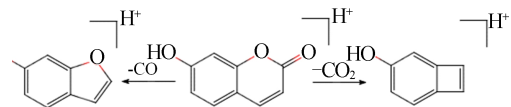


图 5 7-羟基香豆素可能的裂解途径

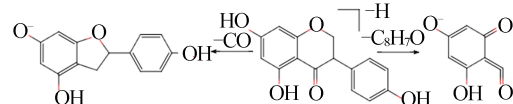


图 6 染料木黄酮可能的裂解途径

2.6 甾体类化合物

本实验从痲状炭角菌子实体提取物中共鉴定了 7 种甾体类化合物,分别为甾酮、7 α -羟基甾酮、孕酮、5 α -二氢甾酮、11-酮本胆烷醇酮、过氧化麦角甾醇、诺龙葵酸酯。甾体类化合物 A 环和 C 环的合适位置上有双键,容易进行 RDA 反应,产生

RDA 反应的产物离子。以化合物 40 为例,准分子离子 m/z 为 429.335 97 的 $[M+H]^+$,其预测分子式为 $C_{28}H_{44}O_3$,在二级质谱中,依次失去 1 分子水和 1 分子 C_9H_{12} 形成碎片离子 m/z 为 411.325 29 的 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 为 287.200 81 的 $[M+H-H_2O-C_9H_{12}]^+$,产生 A 环和 D 环上的烯键,接着进行 RDA 反应产生 RDA 产物离子 m/z 为 191.106 63 的 $[M+H-C_4H_6-C_3H_6]^+$,经过数据库检索,及与文献[24]比对,推断该化合物为过氧化麦角甾醇。质谱裂解途径如图 7 所示。

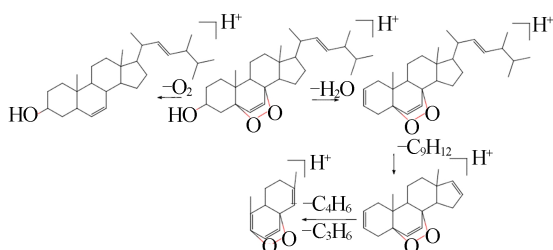


图 7 过氧化麦角甾醇可能的裂解途径

3 结 论

本文采用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术快速、全面地对痼状炭角菌 (*Xylaria sp.* L1) 子实体的化学成分作出鉴定,最后确定成分有 6 种萜类、10 种长链不饱和脂肪酸、14 种生物碱、4 种苯丙素、7 种甾体类。在鉴别出的 41 种成分之外,痼状炭角菌子实体提取物中有一些响应较好,但在已有的数据库中未找到相应的分子量,说明痼状炭角菌子实体中还有一些未知成分有待于进一步研究。

本实验从痼状炭角菌子实体中鉴定出的化学成分与前人分析炭角菌属的化学成分有较大不同,倍半萜类化合物园柚酮、花姜酮,甾体类化合物甾酮、7 α -羟基甾酮、孕酮、5 α -二氢甾酮、11-酮本胆烷醇酮以及 8 种长链不饱和脂肪酸类化合物芥子酸、16 (R)-HETE、二十碳五烯酸、11 (Z), 14 (Z), 17 (Z)-二十碳三烯酸、 α -桐酸、亚油酸、二十二碳三烯酸、油酸。在过去的研究中并不多。大豆苷元、黄豆黄素和染料木黄酮也为首次从炭角菌中鉴定出来,可能与本实验用豆渣作为炭角菌的培养基有关。

本实验虽然色谱峰没有完全分开,但是通过数据库比对确定总离子流图中的化学成分,排除外界干扰,对不同种类的化合物进行部分质谱解

析。研究结果表明,UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术可以快速系统地鉴定痼状炭角菌子实体的化学成分,并对其化学成分进行初步的探索,可为该真菌的合理利用与开发提供依据。

[参 考 文 献]

- [1] CHANG J C, HSIAO G, LIN R K, et al. Bioactive constituents from the termite nest-derived medicinal fungus *Xylaria nigripes* [J]. *Journal of Natural Products*, 2017, 80: 38-44.
- [2] SOMBOON P, POONSAWAD A, WATTANACHAISAE-REEKUL S, et al. Fungicide *Xylaria sp.* BCC 1067 extract induces reactive oxygen species and activates multidrug resistance system in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Future Microbiology*, 2017, 12: 417-440.
- [3] XU W F, HOU X M, YAO F H, et al. Xylapeptide A, an antibacterial cyclopentapeptide with an uncommon L-Pipecolic acid moiety from the associated fungus *Xylaria sp.* (GDG-102) [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 483-495.
- [4] MACIS-RUBALCAVA M L, SANCHEZ-FERNANDEZ R E. Secondary metabolites of endophytic *Xylaria* species with potential applications in medicine and agriculture [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2017, 33(1): 15-36.
- [5] KIM T Y, JANG J Y, YU N H, et al. Nematicidal activity of grammicin produced by *Xylaria grammica* KCTC 13121BP against *Meloidogyne incognita* [J]. *Pest Management Science*, 2018, 74(2): 384-391.
- [6] PAN N, LU L Y, LI M, et al. Xyloketal B alleviates cerebral infarction and neurologic deficits in a mouse stroke model by suppressing the ROS/TLR4/NF-kB inflammatory signaling pathway [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2017, 38 (9): 1236-1247.
- [7] GUO C J, WU P, XUE J H, et al. Xylaropyrones B and C, new g-pyrones from the endophytic fungus *Xylaria sp.* SC1440 [J]. *Natural Product Research*, 2018, 32 (13): 1525-1531.
- [8] LEI C W, YANG Z Q, ZENG Y P, et al. Xylastriasan A, a new cytochalasan from the fungus *Xylaria striata* [J]. *Natural Product Research*, 2018, 32(1): 7-13.
- [9] MCCLOSKEY S, NOPPAWAN S, MONGKOLTHANARUK W, et al. A new cerebroside and the cytotoxic constituents isolated from *Xylaria allantoidea* SWUF76 [J]. *Natural Product Research*, 2017, 31(12): 1422-1430.
- [10] TCHOUKOUA A, OTA T, AKANUMA R, et al. A phytotoxic bicyclic lactone and other compounds from endophyte *Xylaria curta* [J]. *Natural Product Research*, 2017, 31(18): 2113-2118.
- [11] ZHENG N, YAO F H, LIANG X F, et al. A new phthalide from the endophytic fungus *Xylaria sp.* GDG-102 [J]. *Natural Product Research*, 2018, 32(7): 755-760.

(下转第 1141 页)

- 科学,2004,11(2):8-13.
- [5] 吴永尧,彭振坤,罗泽民. 硒的多重生物学功能及对人和动物健康的影响[J]. 湖南农业大学学报,1997,23(3):294-300.
- [6] 全宗喜,康世良,武瑞. 硒及硒蛋白生物学作用的研究进展[J]. 动物医学进展,2002,23(6):17-19.
- [7] 陈福生,杨清华. 不同添加时间和添加量组合对酵母富硒效果的影响[J]. 中国酿造,2004,138(9):14-16.
- [8] 李淑敏. 酵母作为微量元素载体的研究及应用前景[J]. 微生物学通报,1999,26(3):220-222.
- [9] YIN H, CHEN Z, GU Z, et al. Optimization of natural fermentative medium for selenium-enriched yeast by d-optimal mixture design[J]. LWT-Food Science and Technology, 2009,42(1):327-331.
- [10] BNSZKY L, SIMONICS T, MARZ A. Sulphate metabolism of selenate-resistant *Schizosaccharomyces pombe* mutants[J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 2003,49(5):271-278.
- [11] KIELISZEK M, BLAZEJAK S, GIENKA I, et al. Accumulation and metabolism of selenium by yeast cells[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2015, 99(13):5373-5382.
- [12] 孙朝阳,张玉英,潘利华,等. 高富硒酵母菌株的筛选及其富硒特性分析[J]. 中国酿造,2020,39(9):116-120.
- [13] 杨波,刘志奎,卫功元,等. 培养方式对富硒产脲假丝酵母性能的影响[J]. 生物加工过程,2012,10(4):7-11.
- [14] 周洋枝,苏蒙蒙,路栋,等. 酵母富硒培养条件研究进展[J]. 农产品加工,2019,21(1):74-76.

(责任编辑 张 镛)

(上接第 1141 页)

- [12] 高聪,罗俊,刘霞,等. 炭角菌属真菌化学成分与生物活性研究进展[J]. 菌物学报,2016,35(7):767-781.
- [13] LUO Z Q, MA X Y, LIU Y, et al. An approach to characterizing the complicated sequential metabolism of salidroside in rats[J]. Molecules, 2016,21(6):706.
- [14] 王兴娜,黄午阳,刘吉开,等. 大炭角菌子实体化学成分的研究[J]. 中草药,2012,43(12):2327-2332.
- [15] 胡峻,张权,齐梦蝶,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的川西吊石苣苔中化学成分分析[J]. 中国中药杂志,2016,41(9):1658-1669.
- [16] FRANCESCA M, ERIKA R, MARIA P C. Chemical study of triterpenoid resinous materials in archaeological findings by means of direct exposure electron ionisation mass spectrometry and gas chromatography/mass spectrometry[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2010,20(11):1787-1800.
- [17] ANGN, MALKE D, LIU H. Simultaneous determination of main bioactive components in *Rosa multiflora* Thunb. and their fragmentation study by LC-MS[J]. Chromatographia, 2009,70(7):1253-1257.
- [18] 肖军霞,张声华. 大豆皂苷的高效液相色谱电喷雾串联质谱研究[J]. 中药材,2006,29(3):229-232.
- [19] SORGI C A, PETI A P F, PETTA T, et al. Comprehensive high-resolution multiple-reaction monitoring mass spectrometry for targeted eicosanoid assays[J]. Scientific Data, 2018,5(1):433-465.
- [20] YANG L, LIU R H, HE J W. Rapid analysis of the Chemical compositions in *semiliquidambar cathayensis* roots by ultra-high-performance liquid chromatography and quadrupole time-of-light tandem mass spectrometry[J]. Molecules, 2019,24(22):1-17.
- [21] YANG L, FANG Y, LIU R, et al. Phytochemical analysis, anti-inflammatory and antioxidant activities of *Dendropanax dentiger* roots[J]. BioMed Research International, 2020,2020:5084057.
- [22] YI P C, WEI J H, FENG L H, et al. Synthesis and evaluation of antibacterial activities of 5,7-Dihydroxycoumarin derivatives[J]. Archiv der Pharmazie, 2011,344(6):386-393.
- [23] CAPRIOLI G, NAVARINI L, CORTESE M. Quantification of isoflavones in coffee by using solid phase extraction (SPE) and high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS)[J]. Journal of Mass Spectrometry, 2016,51(9):698-703.
- [24] 罗静,杨伟,袁小红,等. 纵条纹炭角菌子实体的化学成分研究[J]. 中药材,2017,40(8):1853-1857.

(责任编辑 闫杏丽)