

基于UHPLC-Q-Orbitrap HRMS技术的芪参益气滴丸中主要化学成分研究

刘丽伟^{1,2}, 周霖^{1,2}, 孙志^{1,2}, 聂会娟^{1,2}, 丁大领³, 秦迁⁴, 王振辉⁵, 侯朋艺⁶, 薛连平⁵, 康建^{1,2}, 张晓坚^{1,2*}

1. 郑州大学第一附属医院 药学部, 河南 郑州 450052
2. 河南省精准临床药学重点实验室, 河南 郑州 450052
3. 郑州大学第一附属医院 神经外科, 河南 郑州 450052
4. 郑州大学第一附属医院 体检科, 河南 郑州 450052
5. 河南理工大学医学院, 河南 焦作 454000
6. 赛默飞世尔科技(中国)有限公司 色谱质谱部, 上海 201206

摘要: 目的 为更加全面、系统、快速地表征芪参益气滴丸有效化学成分谱, 对芪参益气滴丸中主要化学成分进行快速识别鉴定和归属分类。方法 采用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS)技术, ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 以乙腈(A)-0.1%甲酸水(B)为流动相进行梯度洗脱, 以实现化合物的前期分离; 通过先进的 Q-Orbitrap MS 技术捕捉未知成分的精确相对分子质量及多级碎片离子信息, 同时与对照品的保留时间和质谱数据信息进行匹配, 并结合相关文献以及 Chemical Book、Mass Bank 等数据库最终实现对中药中复杂成分的快速准确识别。结果 共鉴定出 53 种化学成分, 其中包括有机酸类 14 种、黄酮类 10 种、醌类 10 种、皂苷类 2 种、氨基酸类 7 种及其他类 10 种。结论 本法可快速、准确地识别芪参益气滴丸中主要化学成分, 同时为其进一步的药效物质基础、质量控制及临床合理应用等研究奠定了科学的前期基础。

关键词: 芪参益气滴丸; UHPLC-Q-Orbitrap HRMS; 黄酮类; 醌类; 皂苷类

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)24-5761-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.24.006

Main chemical constituents research of Qishen Yiqi Dropping Pills based on UHPLC-Q-Orbitrap HRMS

LIU Li-wei^{1,2}, ZHOU Lin^{1,2}, SUN Zhi^{1,2}, NIE Hui-juan^{1,2}, DING Da-ling³, QIN Qian⁴, WANG Zhen-hui⁵, HOU Peng-yi⁶, XUE Lian-ping⁵, KANG Jian^{1,2}, ZHANG Xiao-jian^{1,2}

1. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, 450052, China
2. Henan Key Laboratory of Precision Clinical Pharmacy, Zhengzhou, 450052, China
3. Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, 450052, China
4. Medical Examination Center, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, 450052, China
5. Medical College, Henan Polytechnic University, Jiaozuo, 454000, China
6. Chromatography and Mass Spectrometry Division, Thermo Fisher Scientific, Shanghai 201206, China

Abstract: Objective To recognize the chemical profile of Qishen Yiqi Dropping Pills (QYDP) comprehensively, systematically and rapidly; ultra high performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) was employed to identify the main chemical composition of this preparation. **Methods** A gradient elution for separation was achieved through ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) with acetonitrile-water (containing 0.1% formic acid) as the mobile phase. Then, the novel Q-Orbitrap MS technology was employed to detect the information of accurate mass and multistage fragment ions. Chemical constituents were characterized by comparing their relative retention time and mass data with

收稿日期: 2018-04-07

基金项目: 郑州大学第一附属医院创新基金项目(2017)

作者简介: 刘丽伟, 女, 硕士, 药师, 研究方向为中药质量控制。Tel: (0371)66862570 E-mail: cpuliuliwei@126.com

*通信作者 张晓坚, 男, 主任药师, 研究方向为医院药学。Tel: (0371)66862570 E-mail: zhangxiaojian_yxb@163.com

that of the reference substance, meanwhile the reference literature, Mass Bank database, and Chemical Book network database were also consulted. **Results** A total of 53 ingredients were finally identified in this study, including 14 organic acids, 10 flavones, 10 anthraquinones, 2 saponins, 7 amino acids, and 10 others. **Conclusion** An efficient method was established in this work to identify the main chemical ingredients of QYDP rapidly and accurately; Meanwhile, this research will lay a scientific foundation for the further research on pharmacodynamic material basis, quality control, and clinical application of this medicine.

Key words: Qishen Yiqi Dropping Pills; UHPLC-Q-Orbitrap HRMS; flavonoid; quinones; saponins

芪参益气滴丸是由黄芪、丹参、三七和降香共 4 种中药材在传统中医药理论的指导下,经现代工艺提取药材中有效成分精制而成的滴丸制剂,是中药传统理论与现代科学的有机融合。该药中 4 味药材依照“君、臣、佐、使”的配伍原则共起益气养血、活血化瘀、行气止痛之功效。现代药理学研究发现,芪参益气滴丸能够明显改善心肌损伤、抑制血小板聚集,同时还具有生物利用度高、疗效好及无胃肠刺激、无明显毒副作用等显著特点,临床应用极为广泛^[1-3]。

中药化学成分复杂,尤其是经多种药材配伍而成的中药复方制剂,其有效化学成分谱较为模糊,药效物质基础不明确,难以科学地保证其临床使用安全有效,同时也严重限制了对其作用机制和质量控制的进一步深入研究。因此,明确中药有效化学成分,对于中医药走向现代化、科学化和国际化有至关重要的作用。王静等^[3]仅对芪参益气滴丸中的 5 种丹参活性成分进行了含量测定,傅俊曾等^[6]对药物中具有代表性的 4 类成分同时进行定量研究,彭晶晶等^[7]建立了该药的指纹图谱。这些研究虽然在一定程度上提高了药物的质量控制水平,但指认的化学成分较少,依然无法全面、系统、准确地阐明该药有效化学成分谱^[3-9]。因此,当前亟需建立一种新的科学研究方法,以期更加全面、快速、准确地识别芪参益气滴丸中主要活性成分,同时为该药更加安全有效地应用于临床提供一定的技术保障。

中药化学成分复杂,当前依靠传统的液相色谱及低分辨质谱已经不能实现对药物中复杂成分进行准确性的目的。因此,本实验将采用先进的 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术对芪参益气滴丸中主要化学成分进行快速识别,该技术同时具有高分辨率和高质量精度的强大优势,其首先利用四级杆对待测离子进行了预分离,然后通过敏感度极高的 Orbitrap 检测器对待测离子的精确质量数进行检测,该仪器具有极高的分辨率(最高为 140 000 FWHM),使得离子的质量数检测结果高度精准,完全能够满足对中药活性成分进行快速、准确性的

的需要。该研究在明确芪参益气滴丸中主要化学成分谱的同时,可为其进一步的药效物质基础、质量控制及临床合理应用等研究奠定科学的前期基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

UHPLC-Q-Orbitrap 液相色谱-质谱联用系统: Ultimate 3000 超高效液相色谱仪(美国 Dionex 公司); Q Exactive 型高分辨质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm, 美国 Waters 公司)。AL104 型万分之一分析天平(瑞士 Mettler Toledo 上海有限公司); MDS-6G 型多通量微波消解/萃取系统(上海新仪微波化学科技有限公司)。

1.2 试剂

对照品丹参酮 II_A(批号 MUST-15092512)、原儿茶醛(批号 MUST-15091608)、木犀草素(批号 MUST-16011015)、原儿茶酸(批号 MUST-16032112)、芹菜素(批号 MUST-16061301)、隐丹参酮(批号 MUST-16022403)、琥珀酸(批号 MUST-17030502)、丹参素(批号 MUST-15082714)、丹参素钠(批号 MUST-16030206)、咖啡酸(批号 MUST-15090803)、迷迭香酸(批号 MUST-15082904)、丹酚酸 A(批号 MUST-16012810)、阿魏酸乙酯(批号 MUST-15103105)、二氢丹参酮 I(批号 MUST-17032705)、芒柄花黄素(批号 MUST-17031005)、甜菜碱(批号 MUST-17032105)均购于成都曼思特生物科技有限公司;大黄素(批号 wkq16071004)对照品购于四川维克奇生物科技有限公司,质量分数均大于 98%;甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司);实验用水为娃哈哈纯净水;其他试剂均为分析纯;芪参益气滴丸(批号 151210,天士力制药集团股份有限公司)。

2 方法

2.1 质谱及色谱条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%甲酸水(B),梯度洗脱:

0~1.0 min, 5% A; 1.0~2.5 min, 5%~25% A; 2.5~6.0 min, 25%~50% A; 6.0~11.0 min, 50%~60% A; 11.0~13.0 min, 60%~70% A; 13.0~15.0 min, 70%~100% A; 15.0~18.0 min, 100% A; 体积流量为 0.2 mL/min, 进样量 10 μ L, 柱温 40 $^{\circ}$ C。

2.1.2 质谱条件 Q Exactive 高分辨质谱仪: 离子源采用 HESI 源 (heated ESI), 辅助气体流量为 10 μ L/min, 辅助气温度为 300 $^{\circ}$ C, 离子传输管温度 320 $^{\circ}$ C; 正离子模式: 鞘气体积流量 40 μ L/min, 喷雾电压 3.50 kV; 负离子模式: 鞘气体积流量 38 μ L/min, 喷雾电压 2.80 kV。扫描方式采用正、负离子 Full MS/dd-MS² 模式, 其中包括 1 次一级全扫描 (分辨率为 70 000 FWHM) 和 1 次数据依赖的二级扫描 (分辨率为 17 500 FWHM) 2 个事件, 质荷比窗口宽度设置为 2, 碰撞能梯度为 20、30、40 eV, 扫描范围 m/z 80~1 200。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取各对照品 1.0 mg, 精密称定后, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加入纯甲醇至刻度, 摇匀后, 制得质量浓度为 0.1 mg/mL 的单一对照品溶液; 取以上单一对照品溶液各 10 μ L 混合后稀释至 1 mL, 摇匀, 使最终制成各对照品质量浓度均为 1 μ g/mL 的混合对照品溶液。

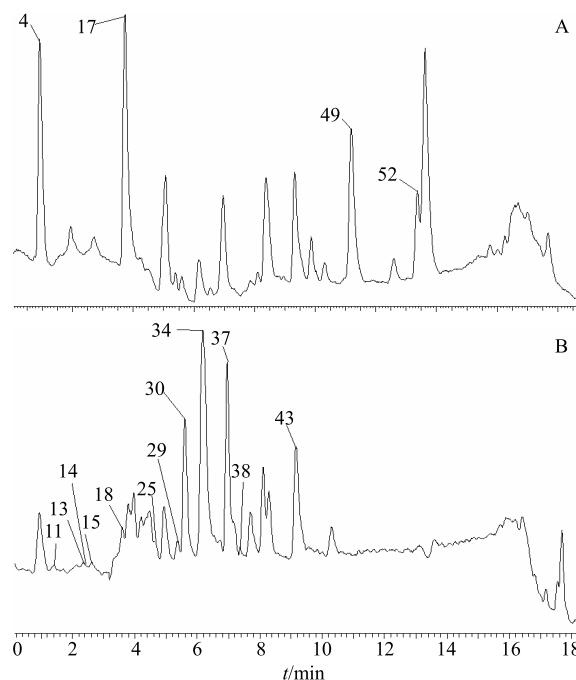
2.2.2 供试品溶液的制备 取本品约 1.0 g, 精密称定, 置于锥形瓶中, 精密加入 20 mL 纯甲醇, 微波萃取 (功率 600 W, 温度 70 $^{\circ}$ C, 压力 70 mPa, 时间 17 min), 取上层溶液并经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 取滤液, 即得供试品溶液。

2.3 化合物结构分析

根据质谱扫描结果提供的准分子离子及加荷、减荷离子等信息推断得到一级质谱的精确相对分子质量, 经 Xcalibur 2.0 软件拟合分子式, 并与 CD (compound discoverer, 2.1) 化合物分析鉴定软件和本地数据库进行比对, 对色谱峰进行初步推测, 再依据对照品 (或参考文献)、Mass Bank、Chemical Book 等数据库提供的保留时间及高能碰撞下产生的二级碎片离子信息, 进一步推测化学成分结构。

3 结果

混合对照品按照“2.1”项下优化的色谱、质谱条件进样后, 采集得到的 UHPLC-Q-Orbitrap 总离子流图见图 1; 芪参益气滴丸在“2.1”项下优化的色谱、质谱条件进样后, 采集得到的 UHPLC-Q-Orbitrap 总离子流图见图 2。依据“2.3”项下确定



A-正离子模式 B-负离子模式, 下同
A-positive ion mode B-negative ion mode, same as below

图 1 混合对照品总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatography of mixed standard references

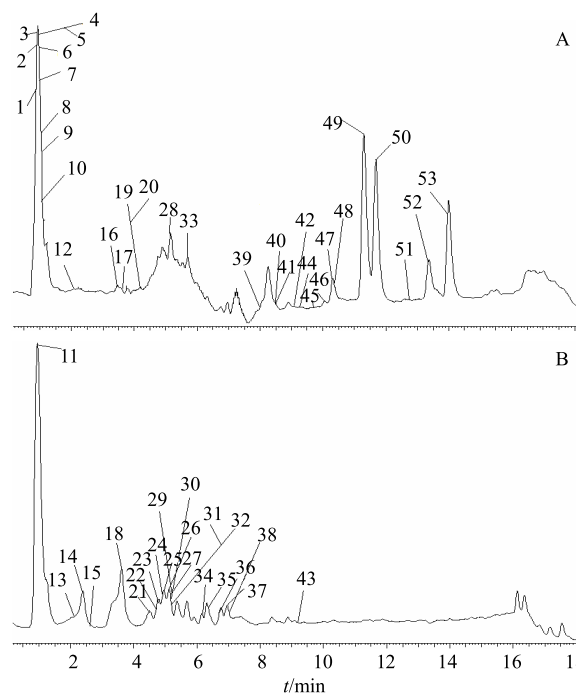


图 2 芪参益气滴丸总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatography of Qishen Yiqi Dropping Pills

的数据分析方法, 本实验共识别出 53 种化合物, 其中经推断的化合物有 36 种, 结果见表 1。

表 1 芪参益气滴丸化学成分鉴定结果

Table 1 Chemical composition identified in Qishen Yiqi Dropping Pills

编号	名称	分子式	模式	t/min	m/z (理论)	m/z (实测)	偏差	碎片离子	归属
1	精氨酸 ^[10]	C ₆ H ₁₄ O ₂ N ₄	p	0.83	175.118 95	175.118 80	-0.869	158.09 [M+H-NH ₃] ⁺ , 116.07 [M+H-NH ₃ -CH ₂ N ₂] ⁺ , 87.04 [M+H-NH ₃ -CH ₂ N ₂ -CH ₃ N] ⁺ , 70.07 [M+H-NH ₃ -CH ₂ N ₂ -HCOOH] ⁺	a, b, c
2	丙氨酸 ^[10]	C ₃ H ₇ NO ₂	p	0.90	90.054 95	90.055 28	3.608	73.03 [M+H-NH ₃] ⁺	a
3	苏氨酸 ^[10]	C ₄ H ₉ NO ₃	p	0.93	120.065 51	120.065 47	-0.414	102.06 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 74.06 [M+H-HCOOH] ⁺ , 56.05 [M+H-HCOOH-H ₂ O] ⁺	a
4	甜菜碱 [*]	C ₅ H ₁₁ NO ₂	p	0.94	118.086 25	118.086 20	-0.467	72.08 [M+H-HCOOH] ⁺ , 58.07 [M+H-HCOOH-CH ₃] ⁺	b
5	腺嘌呤 ^[10]	C ₅ H ₅ N ₅	p	0.94	136.061 77	136.061 65	-0.895	119.04 [M+H-NH ₃] ⁺ , 109.05 [M+H-HCN] ⁺ , 94.04 [M+H-HCN-NH] ⁺ , 67.03 [M+H-HCN-NH-HCN] ⁺	b
6	酪氨酸 ^[10]	C ₉ H ₁₁ NO ₃	p	0.97	182.081 16	182.081 04	-0.713	165.05 [M+H-NH ₃] ⁺ , 136.08 [M+H-HCOOH] ⁺ , 119.05 [M+H-HCOOH-NH ₃] ⁺	a
7	烟酸 ^[10]	C ₆ H ₅ NO ₂	p	1.20	124.039 30	124.039 30	-0.040	80.05 [M+H-CO ₂] ⁺ , 78.03 [M+H-HCOOH] ⁺	b
8	腺苷 ^[10]	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	p	1.24	268.104 03	268.103 70	-1.232	136.06 [M+H-C ₃ H ₈ O ₄] ⁺ , 119.04 [M+H-C ₃ H ₈ O ₄ -NH ₃] ⁺	b, c
9	鸟嘌呤 ^[10]	C ₅ H ₅ N ₅ O	p	1.29	152.056 68	152.056 55	-0.897	135.03 [M+H-NH ₃] ⁺ , 110.04 [M+H-CH ₂ N ₂] ⁺ , 107.04 [M+H-NH ₃ -CO] ⁺	b, c
10	亮氨酸 ^[10]	C ₆ H ₁₃ NO ₂	p	1.39	132.101 90	132.101 85	-0.418	86.10 [M+H-HCOOH] ⁺ , 69.07 [M+H-HCOOH-NH ₃] ⁺ , 57.06 [M+H-HCOOH-CH ₃ -CH ₂] ⁺	b
11	琥珀酸 [*]	C ₄ H ₆ O ₄	n	1.41	117.019 33	117.017 94	-11.895	99.01 [M-H-H ₂ O] ⁻	a
12	苯丙氨酸 ^[10]	C ₉ H ₁₁ NO ₂	p	2.02	166.086 25	166.086 07	-1.115	120.08 [M+H-HCOOH] ⁺ , 103.05 [M+H-HCOOH-NH ₃] ⁺	a
13	丹参素钠 [*]	C ₉ H ₉ O ₃ Na	n	2.13	197.045 54	197.044 80	1.777	179.03 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 135.04 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 123.04 [M-H-H ₂ O-CO-CO] ⁻ , 109.03 [M-H-H ₂ O-CO-CO-CH ₂] ⁻	a
14	丹参素 [*]	C ₉ H ₁₀ O ₃	n	2.39	197.045 54	197.044 71	-4.246	179.03 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 135.04 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 123.04 [M-H-H ₂ O-CO-CO] ⁻ , 109.03 [M-H-H ₂ O-CO-CO-CH ₂] ⁻	a
15	原儿茶酸 [*]	C ₇ H ₆ O ₄	n	2.67	153.019 33	153.018 22	-0.099	109.03 [M-H-CO ₂] ⁻	a
16	色氨酸 ^[10]	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	p	3.43	205.097 15	205.096 83	-1.581	188.07 [M+H-NH ₃] ⁺ , 170.06 [M+H-NH ₃ -H ₂ O] ⁺ , 159.09 [M+H-HCOOH] ⁺ , 142.07 [M+H-HCOOH-NH ₃] ⁺ , 132.08 [M+H-C ₂ H ₃ NO ₂] ⁺ , 118.07 [M+H-C ₂ H ₃ NO ₂ -CH ₂] ⁺	a
17	原儿茶醛 [*]	C ₇ H ₆ O ₃	p	3.63	139.038 97	139.038 85	-0.867	111.04 [M+H-CO] ⁺ , 93.03 [M+H-CO-H ₂ O] ⁺ , 65.04 [M+H-CO-H ₂ O-CO] ⁺	a
18	咖啡酸 [*]	C ₉ H ₈ O ₄	n	3.98	179.034 98	179.034 15	1.479	135.04 [M-H-CO ₂] ⁻ , 117.03 [M-H-CO ₂ -H ₂ O] ⁻ , 107.05 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻ , 89.04 [M-H-CO ₂ -CO-H ₂ O] ⁻	a, b
19	毛蕊异黄酮苷 ^[11]	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	p	4.45	447.128 57	447.127 72	-1.908	285.14 [M+H-Glc] ⁺ , 270.05 [M+H-Glc-CH ₃] ⁺ , 253.01 [M+H-Glc-CH ₃ OH] ⁺ , 225.05 [M+H-Glc-CH ₃ OH-CO] ⁺ , 137.05 [M+H-Glc-CH ₃ -C ₈ H ₅ O ₂] ⁺	b
20	千层纸素 A-5-O-葡萄糖苷 ^[12]	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	p	4.45	447.128 57	447.127 72	-1.908	285.08 [M+H-C ₆ H ₉ O ₅] ⁺	b
21	紫草酸 ^[13]	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₂	n	4.53	537.103 84	537.104 00	2.323	493.11 [M-H-CO ₂] ⁻ , 295.06 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 185.02 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 109.03 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₁₁ H ₈ O ₃] ⁻	a
22	丹酚酸 G ^[14]	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	n	4.73	417.082 71	417.082 73	2.654	373.09 [M-H-CO ₂] ⁻ , 197.05 [M-H-C ₁₁ H ₈ O ₅] ⁻ , 175.04 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 147.04 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -CO] ⁻	a
23	丹酚酸 D ^[14]	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	n	4.74	417.082 71	417.082 64	2.438	373.09 [M-H-CO ₂] ⁻ , 197.05 [M-H-C ₁₁ H ₈ O ₅] ⁻ , 175.04 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 147.04 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -CO] ⁻	a

续表 1

编号	名称	分子式	模式	t/min	m/z (理论)	m/z (实测)	偏差	碎片离子	归属
24	鼠李柠檬素 ^[15]	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	n	4.84	299.056 11	299.056 06	-0.172	284.03 [M-H-CH ₃] ⁻ , 255.03 [M-H-CH ₃ -CHO] ⁻ , 240.04 [M-H-CH ₃ -CO ₂] ⁻ , 227.04 [M-H-CH ₃ -CHO-CO] ⁻ , 211.04 [M-H-CH ₃ -CHO-CO ₂] ⁻ , 199.04 [M-H-CH ₃ -CHO-CO-CO] ⁻ , 183.04 [M-H-CH ₃ -CHO-CO ₂ -CO] ⁻	b
25	迷迭香酸*	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	n	4.94	359.077 24	359.077 09	2.635	197.04 [M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 179.03 [M-H-C ₉ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻ , 161.02 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 133.03 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -CO] ⁻ , 123.04 [M-H-C ₉ H ₆ O ₃ -H ₂ O-CO-CO] ⁻	a
26	丹酚酸 F ^[14]	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	n	5.18	313.071 76	313.071 62	3.052	269.08 [M-H-CO ₂] ⁻ , 159.04 [M-H-CO ₂ -C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 145.03 [M-H-CO ₂ -C ₆ H ₆ O ₂ -CH ₂] ⁻ , 109.03 [M-H-CO ₂ -C ₁₀ H ₈ O ₂] ⁻	a
27	黄芩苷 ^[16]	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	n	5.29	445.077 63	445.077 21	1.511	269.05 [M-H-C ₆ H ₈ O ₆] ⁻ , 241.05 [M-H-C ₆ H ₈ O ₆ -CO] ⁻ , 223.04 [M-H-C ₆ H ₈ O ₆ -CO-H ₂ O] ⁻ , 195.04 [M-H-C ₆ H ₈ O ₆ -CO-H ₂ O-CO] ⁻	a, b
28	芒柄花苷 ^[17]	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	p	5.35	431.133 65	431.132 81	-1.969	269.08 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 253.05 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₄] ⁺ , 237.05 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₃ OH] ⁺ , 213.09 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO-CO] ⁺ , 197.06 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO-CO-CH ₄] ⁺ , 137.02 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₃ -C ₈ H ₅ O] ⁺ , 118.04 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₃ -C ₇ H ₄ O ₃] ⁺	b
29	丹酚酸 A*	C ₂₆ H ₂₂ O ₁₀	n	5.39	493.114 02	493.113 98	2.413	295.06 [M-H-salviaic acid] ⁻ , 185.02 [M-H-salviaic acid-C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 109.03 [M-H-salviaic acid-C ₁₁ H ₆ O ₃] ⁻	a
30	木犀草素*	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	n	5.59	285.040 46	285.040 22	3.001	151.04 [M-H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁻ , 133.03 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 107.01 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -C ₂ H ₂] ⁻	a, d
31	丹酚酸 C ^[14]	C ₂₆ H ₂₀ O ₁₀	n	5.67	491.098 37	491.098 24	1.969	311.06 [M-H-C ₉ H ₈ O ₄] ⁻ , 293.05 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 265.05 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -CO] ⁻ , 135.04 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -CO ₂ -C ₈ H ₂ O] ⁻ , 109.03 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -CO-C ₁₀ H ₄ O ₂] ⁻	a
32	isomucronulatol-7-O-β-D-glucoside ^[18-19]	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₀	n	5.67	463.160 97	463.160 71	1.806	301.11 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 286.09 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₃] ⁻ , 271.06 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₃ -CH ₃] ⁻ , 149.02 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₃ -CH ₃ -C ₇ H ₆ O ₂] ⁻ , 135.04 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₃ -CH ₃ -C ₇ H ₄ O ₃] ⁻ , 121.03 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₃ -CH ₃ -C ₈ H ₆ O ₃] ⁻ , 109.03 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₃ -CH ₃ -C ₇ H ₄ O ₃ -C ₂ H ₂] ⁻	b
33	毛蕊异黄酮 ^[11]	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	p	5.69	285.075 75	285.075 13	-2.175	270.05 [M+H-CH ₃] ⁺ , 253.03 [M+H-CH ₃ OH] ⁺ , 225.05 [M+H-CH ₃ OH-CO] ⁺ , 137.02 [M+H-CH ₃ -C ₈ H ₅ O ₂] ⁺ , 134.04 [M+H-CH ₃ -C ₇ H ₄ O ₃] ⁺	b
34	芹菜素*	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	n	6.15	269.045 54	269.045 44	3.680	225.06 [M-H-CO ₂] ⁻ , 151.00 [M-H-C ₈ H ₆ O] ⁻ , 117.03 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 107.01 [M-H-C ₈ H ₆ O-CO ₂] ⁻	a, b
35	人参皂苷 Rb ₁ ^[20]	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	n	6.29	1 107.595 66	1 107.592 29	-2.054	945.54 [M-H-Glc] ⁻ , 783.49 [M-H-2Glc] ⁻ , 621.43 [M-H-3Glc] ⁻ , 459.39 [M-H-4Glc] ⁻	c
36	人参皂苷 F ₃ /人参皂苷 F ₅ ^[21]	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₃	n	6.47	769.474 36	769.469 30	-5.157	637.43 [M-H-Ara] ⁻ , 475.38 [M-H-Ara-Glc] ⁻ , 391.29 [M-H-Ara-Glc-C ₆ H ₁₂] ⁻	c
37	芒柄花黄素*	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	n	6.96	267.066 28	267.066 07	3.313	252.04 [M-H-CH ₃] ⁻ , 223.04 [M-H-CH ₃ -CHO] ⁻ , 195.04 [M-H-CH ₃ -CHO-CO] ⁻ , 132.02 [M-H-CH ₃ -C ₇ H ₄ O ₂] ⁻ , 91.02 [M-H-CH ₃ -C ₉ H ₅ O ₃] ⁻	b, d
38	阿魏酸乙酯*	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	n	7.19	221.081 93	221.081 71	3.956	177.09 [M-H-CO ₂] ⁻ , 149.10 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻ , 121.03 [M-H-CO ₂ -C ₄ H ₈] ⁻ , 93.03 [M-H-CO ₂ -C ₄ H ₈ -CO] ⁻	a
39	丹参酮 II _B ^[22]	C ₁₉ H ₁₈ O ₄	p	8.01	311.127 78	311.126 13	-5.321	293.12 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 275.11 [M+H-H ₂ O-H ₂ O] ⁺ , 267.14 [M+H-CO ₂] ⁺ , 252.11 [M+H-CO ₂ -CH ₃] ⁺ , 237.09 [M+H-CO ₂ -CH ₃ -CH ₃] ⁺ , 223.08 [M+H-CO ₂ -CH ₃ -CH ₃ -CH ₃] ⁺	a

续表 1

编号	名称	分子式	模式	t/min	m/z (理论)	m/z (实测)	偏差	碎片离子	归属
40	丹参新醌 A ^[13]	C ₁₈ H ₁₆ O ₄	p	8.51	297.112 13	297.110 57	-5.269	279.14 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 261.13 [M+H-H ₂ O-H ₂ O] ⁺ , 233.13 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-CO] ⁺ , 205.10 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-CO-CO] ⁺ , 190.08 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-CO-CO-CH ₃] ⁺	a
41	羟基丹参酮 II _A ^[23]	C ₁₉ H ₁₈ O ₄	p	8.56	311.127 78	311.126 19	-5.128	283.13 [M+H-CO] ⁺ , 265.12 [M+H-CO-H ₂ O] ⁺ , 250.10 [M+H-CO-H ₂ O-CH ₃] ⁺ , 235.08 [M+H-CO-H ₂ O-CH ₃ -CH ₃] ⁺ , 207.08 [M+H-CO-H ₂ O-CH ₃ -CH ₃ -CO] ⁺ , 179.09 [M+H-CO-H ₂ O-CH ₃ -CH ₃ -CO-CO] ⁺	a
42	β-羟基隐丹参酮 ^[24]	C ₁₉ H ₂₀ O ₄	p	9.13	313.143 43	313.142 00	-4.585	295.13 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 269.15 [M+H-CO ₂] ⁺ , 251.14 [M+H-H ₂ O-CO ₂] ⁺ , 236.12 [M+H-H ₂ O-CO ₂ -CH ₃] ⁺ , 223.15 [M+H-H ₂ O-CO ₂ -CO] ⁺ , 209.10 [M+H-H ₂ O-CO ₂ -C ₃ H ₆] ⁺ , 193.10 [M+H-H ₂ O-CO ₂ -CO-CH ₃ -CH ₃] ⁺	a
43	大黄素*	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	n	9.15	269.045 54	269.045 17	2.677	241.05 [M-H-CO] ⁻ , 225.06 [M-H-CO ₂] ⁻ , 197.06 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻ , 182.04 [M-H-CO ₂ -CO-CH ₃] ⁻	b
44	二氢丹参酮 I*	C ₁₈ H ₁₄ O ₃	p	9.32	279.101 57	279.100 46	-3.980	261.09 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 233.10 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 205.10 [M+H-H ₂ O-CO-CO] ⁺ , 190.08 [M+H-H ₂ O-CO-CO-CH ₃] ⁺	a
45	紫丹参萜 ^[25]	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	p	9.74	273.184 90	273.184 08	-3.026	255.17 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 243.17 [M+H-CH ₂ O] ⁺ , 199.11 [M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈] ⁺ , 171.08 [M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈ -C ₂ H ₄] ⁺	a
46	丹参酮 V ^[26]	C ₁₉ H ₂₂ O ₄	p	10.01	315.159 08	315.157 90	-3.762	297.15 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 279.14 [M+H-H ₂ O-H ₂ O] ⁺ , 235.08 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-C ₃ H ₈] ⁺ , 207.08 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-C ₃ H ₈ -CO] ⁺ , 179.09 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-C ₃ H ₈ -CO-CO] ⁺	a
47	桉油烯醇 ^[27]	C ₁₅ H ₂₄ O	p	10.31	221.189 99	221.189 32	-3.038	203.18 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 147.12 [M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈] ⁺ , 105.07 [M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈ -C ₃ H ₆] ⁺	d
48	丹参隐螺内酯 ^[28]	C ₁₇ H ₁₆ O ₃	p	10.47	269.117 22	269.116 49	-2.716	251.11 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 233.10 [M+H-H ₂ O-H ₂ O] ⁺ , 223.11 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 205.10 [M+H-H ₂ O-CO-H ₂ O] ⁺ , 141.07 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-CO-C ₄ H ₆] ⁺	a
49	隐丹参酮*	C ₁₉ H ₂₀ O ₃	p	11.21	297.148 52	297.147 67	-2.864	282.13 [M+H-CH ₃] ⁺ , 279.14 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 268.11 [M+H-C ₂ H ₅] ⁺ , 253.09 [M+H-C ₂ H ₅ -CH ₃] ⁺ , 251.14 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 236.12 [M+H-H ₂ O-CO-CH ₃] ⁺ , 221.10 [M+H-H ₂ O-CO-CH ₃ -CH ₃] ⁺ , 193.10 [M+H-H ₂ O-CO-CH ₃ -CH ₃ -CO] ⁺	a
50	花侧柏烯 ^[29]	C ₁₅ H ₂₂	p	11.31	203.179 43	203.178 94	-2.398	175.153 [M+H-C ₂ H ₄] ⁺ , 161.13 [M+H-C ₂ H ₄ -CH ₂] ⁺ , 147.12 [M+H-C ₂ H ₄ -CH ₂ -CH ₂] ⁺ , 133.10 [M+H-C ₂ H ₄ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂] ⁺ , 119.09 [M+H-C ₂ H ₄ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂] ⁺ , 105.04 [M+H-C ₂ H ₄ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂] ⁺ , 91.05 [M+H-C ₂ H ₄ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂] ⁺	c
51	香叶基丙酮 ^[30]	C ₁₃ H ₂₂ O	p	12.62	195.174 34	195.174 15	-0.983	177.16 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 137.13 [M+H-H ₂ O-C ₃ H ₄] ⁺ , 121.10 [M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈] ⁺ , 107.09 [M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈ -CH ₂] ⁺ , 95.09 [M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈ -C ₂ H ₂] ⁺ , 81.07 [M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈ -C ₂ H ₂ -CH ₂] ⁺	d
52	丹参酮 II _A *	C ₁₉ H ₁₈ O ₃	p	13.65	295.132 87	295.132 42	-1.528	277.12 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 249.13 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 234.10 [M+H-H ₂ O-CO-CH ₃] ⁺ , 221.13 [M+H-H ₂ O-CO-CO] ⁺ , 206.11 [M+H-H ₂ O-CO-CH ₃ -CO] ⁺ , 191.09 [M+H-H ₂ O-CO-CH ₃ -CO-CH ₃] ⁺	a
53	橙花叔醇 ^[31]	C ₁₅ H ₂₆ O	p	13.99	223.205 64	223.205 09	-2.473	205.20 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 123.12 [M+H-C ₆ H ₁₀] ⁺ , 107.09 [M+H-C ₆ H ₁₀ -CH ₃] ⁺	d

*代表与对照品对比; glc-葡萄糖 xyl-木糖 ara-阿拉伯糖 a-丹参 b-黄芪 c-三七 d-降香油 p-正离子模式 n-负离子模式

*means that compounds were confirmed with reference standards; glc-glucose xyl-xylose ara-arabinose a-Salvia miltiorrhiza Bunge b-Astragalus membranaceus (Fisch.) Bunge c-Panax pseudo-ginseng Wall. var. notoginseng (Burkill) Hoo et Tseng d-oil of Dalbergia odorifera T. Chen p-positive ion mode n-negative ion mode

3.1 黄酮类

黄酮类化合物广泛存在于自然界, 现泛指由 2 个苯环通过三碳链相互连接而成的一系列化合物, 具有 C₆-C₃-C₆ 基本骨架。查阅相关文献发现, 该类化合物在质谱条件下主要以糖基的断裂、环的 RDA 裂解以及 CO、CO₂、CHO、C₂H₂O、C₃O₂ 等一些中性小分子的碎片丢失为主要特征^[32]。本品中鉴定出的黄酮类化合物共 10 种, 分别为木犀草素、毛蕊异黄酮苷、千层纸素 A-5-O-葡萄糖苷、鼠李柠檬素、黄芩苷、芒柄花苷、isomucronulatol-7-O-β-D-glucoside、毛蕊异黄酮、芹菜素和芒柄花黄素。

以木犀草素为例, 该化合物在供试品中的保留时间为 5.59 min, 在混合对照品中的保留时间为 5.58 min。一级质谱信息显示该化合物在负离子模式下响应较好, 并得到 m/z 285.040 65 的准分子离子峰 $[M-H]^-$, 经 Xcalibar 软件拟合其分子式为 C₁₅H₉O₆。该化合物的二级质谱碎片离子信息有 m/z 241.047 67 $[M-H-CO_2]^-$ 、 m/z 151.002 73 $[M-H-C_8H_6O_2]^-$ 和 m/z 133.028 32 $[M-H-C_7H_4O_4]^-$, 发现其断裂方式符合黄酮类化合物的裂解规律。通过与对照品的保留时间和二级碎片离子进行比对后, 最终确定该化合物为木犀草素, 木犀草素的质谱裂解途径见图 3。

3.2 醌类

醌类化合物是中药中一类具有醌式结构的化学成分, 广泛存在于动植物和矿物中, 以蒽醌类居多, 萘醌和苯醌类次之, 且大多具有重要的生物活性。

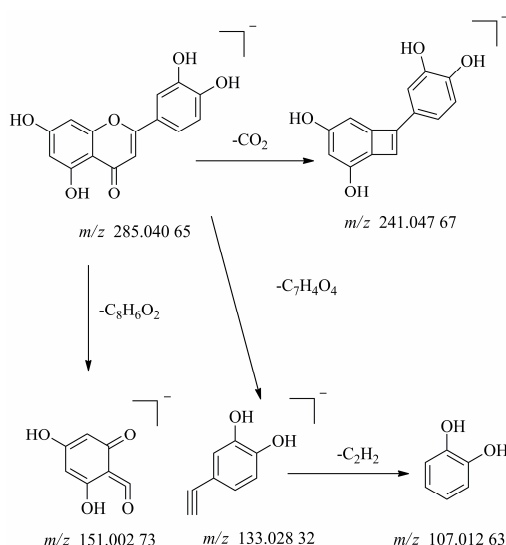


图 3 木犀草素的质谱裂解途径

Fig. 3 MS fragmentation pathways of luteolin

大多数该类化合物在正离子模式下的质谱响应好于负离子, 高能碰撞下逐步失去 CO (相对分子质量 28), 且伴随 CO₂ (相对分子质量 44) 的丢失; 苯环上的 CH₃、CH₃O 等取代基也易形成碎片离子; 此外, 蒽醌苷类化合物则易发生苷键断裂而失去糖苷配基^[33]。本品中共鉴定出 10 种醌类化合物, 分别为丹参酮 II_B、丹参新醌 A、羟基丹参酮 II_A、1-β-羟基隐丹参酮、大黄素、二氢丹参酮 I、丹参酮 V、丹参隐螺内酯、隐丹参酮和丹参酮 II_A。

以隐丹参酮为例, 其在供试品中的保留时间为 11.21 min, 在混合对照品中的保留时间为 11.19 min, 一级质谱信息显示该化合物在正离子模式下响应较好, 并得到 m/z 297.147 80 的准分子离子峰 $[M+H]^+$, 经 Xcalibar 软件拟合其分子式为 C₁₉H₂₁O₃。该化合物的二级质谱碎片离子信息有 m/z 282.125 06 $[M+H-CH_3]^+$ 、 m/z 279.137 79 $[M+H-H_2O]^+$ 、 m/z 268.109 31 $[M+H-C_2H_5]^+$ 、 m/z 253.086 17 $[M+H-C_2H_5-CH_3]^+$ 、 m/z 251.142 99 $[M+H-H_2O-CO]^+$ 、 m/z 236.119 19 $[M+H-H_2O-CO-CH_3]^+$ 、 m/z 221.096 21 $[M+H-H_2O-CO-CH_3-CH_3]^+$ 、 m/z 193.101 24 $[M+H-H_2O-CO-CH_3-CH_3-CO]^+$; 发现其断裂方式符合醌类化合物的裂解规律。通过与对照品的保留时间和二级碎片离子进行比对后, 最终确定该化合物为隐丹参酮, 隐丹参酮的质谱裂解途径见图 4。

3.3 有机酸类

有机酸是一类具有羧基 (-COOH)、酚羟基 (-C₆H₆O) 磺酸基 (-SO₃H)、亚磺酸基 (RSO₃H)、和硫酸基 (RCOSH) 等酸性基团的有机化合物。该类化合物在质谱条件下负离子的响应好于正离子, 在高能碰撞下易发生 m/z 18 (H₂O)、 m/z 45 (COOH)、 m/z 44 (CO₂) 等中性分子丢失, 从而产生相应的特征碎片离子峰。此外, 当该类化合物结构中含咖啡酸、丹参素和没食子酸时, 分别会出现咖啡酸 (或咖啡酰) 的丢失 $[M-H-\text{caffeic acid}]^-$ 、丹参素的丢失 $[M-H-\text{salvianic acid}]^-$ 和没食子酸丢失 $[M-H-\text{gallic acid}]^-$ ^[34-36]。本品中共鉴定出 14 种有机酸类化合物, 分别为烟酸、琥珀酸、丹参素钠、丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、咖啡酸、紫草酸、丹酚酸 G、丹酚酸 D、迷迭香酸、丹酚酸 F、丹酚酸 A、丹酚酸 C。

以迷迭香酸为例, 其在供试品中的保留时间为 4.94 min, 在混合对照品中的保留时间为 4.92 min,

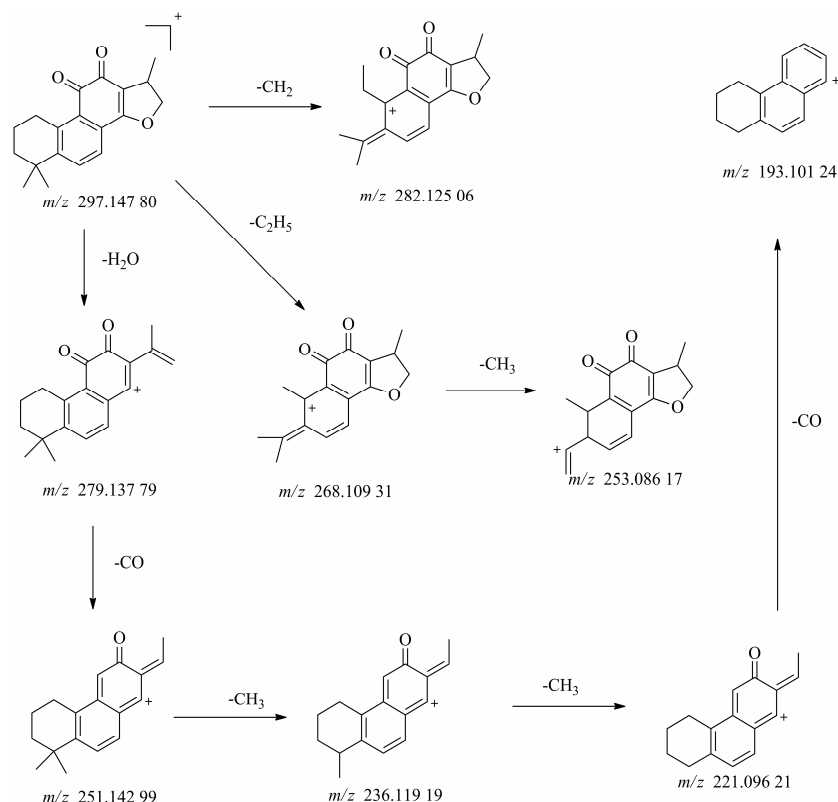


图 4 隐丹参酮的质谱裂解途径

Fig. 4 MS fragmentation pathways of cryptotanshinone

一级质谱信息显示该化合物在负离子模式下响应较好, 并得到 m/z 359.077 09 的准分子离子峰 $[M-H]^-$, 经 Xcalibar 软件拟合其分子式为 $C_{18}H_{15}O_8$ 。该化合物的二级质谱碎片离子信息有 m/z 197.044 97 $[M-H-\text{caffeoyl}]^-$ 、 m/z 179.034 24 $[M-H-\text{caffeic acid}]^-$ 、 m/z 161.023 48 $[M-H-C_9H_{10}O_5]^-$ 、 m/z 133.028 32 $[M-H-C_9H_{10}O_5-CO]^-$ 、 m/z 123.043 88 $[M-H-C_9H_6O_3-H_2O-CO-CO]^-$ 。发现其断裂方式符合有机酸类化合物的裂解规律, 通过与对照品的保留时间和二级碎片离子进行比对后, 最终确定该化合物为迷迭香酸, 迷迭香酸的质谱裂解途径见图 5。

3.4 皂苷类

皂苷是由皂苷元和糖两部分连接成苷的一类化合物, 该类化合物在质谱条件下的裂解方式主要表现为糖苷键的糖端断裂, 包括 162 (gluc)、132 (xylc 或 arac) 单糖以及 324 (glu-gluc)、294 (xyl-gluc 或 ara-gluc) 等二糖的丢失, 最后出现皂苷元的特征峰^[37]。本品中鉴定出的皂苷类化合物共 2 种, 分别为人参皂苷 Rb_1 和人参皂苷 F_3 /人参皂苷 F_5 。

以人参皂苷 Rb_1 为例, 一级质谱信息显示该化合

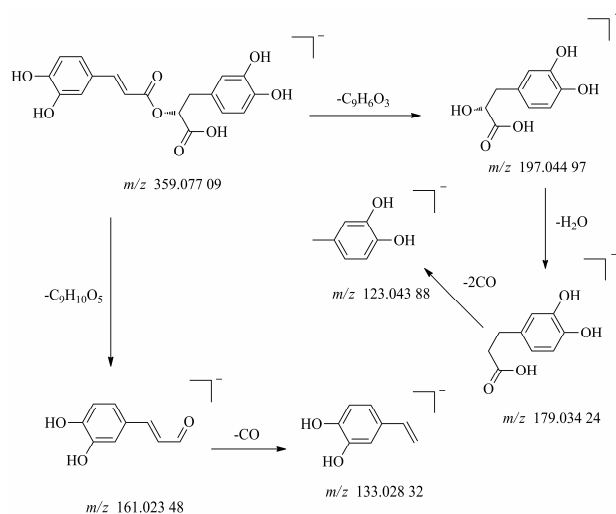


图 5 迷迭香酸的质谱裂解途径

Fig. 5 MS fragmentation pathways of rosmarinic acid

物在负离子模式下响应较好, 并得到 m/z 1107.592 29 的准分子离子峰 $[M-H]^-$, 经 Xcalibar 软件拟合其分子式为 $C_{54}H_{91}O_{23}$ 。该化合物的二级质谱信息主要有 m/z 945.543 21 $[M-H-Glc]^-$ 、 m/z 783.492 43 $[M-H-2Glc]^-$ 、 m/z 621.437 26 $[M-H-3Glc]^-$ 、 m/z

459.386 08 $[M-H-4Glc]^-$ 。发现其断裂方式符合皂苷类化合物的裂解规律,通过与文献报道^[21]进行比较后,最终确定该化合物为人参皂苷 Rb_1 , 人参皂苷 Rb_1 的质谱裂解途径见图 6。

3.5 氨基酸类

氨基酸类化合物含有氨基和羧基 2 种官能团,

质谱条件下常产生 $[M+H]^+$ 的准分子离子峰。查阅资料发现,大多数氨基酸(除精氨酸外)在正离子模式下会失去 NH_3 、 $COOH$ 或 OH 等基团,从而形成特征离子峰^[10]。本品中共鉴定出 7 种氨基酸类化合物,分别为亮氨酸、精氨酸、丙氨酸、苏氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸。

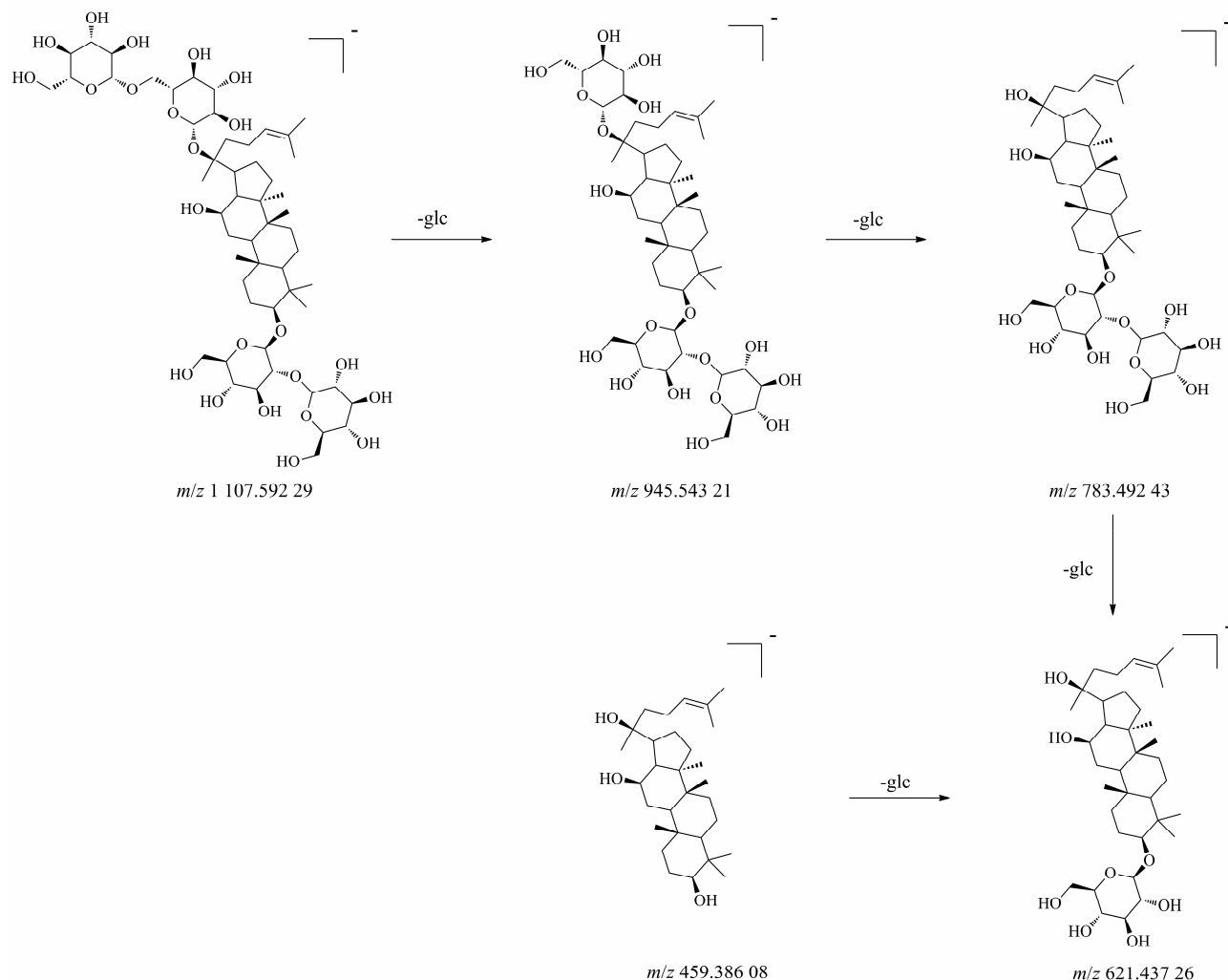


图 6 人参皂苷 Rb_1 的质谱裂解途径

Fig. 6 MS fragmentation pathways of ginsenoside Rb_1

以亮氨酸为例,一级质谱信息显示该化合物在正离子模式下响应较好,并得到 m/z 132.101 85 的准分子离子峰 $[M+H]^+$,经 Xcalibar 软件拟合其分子式为 $C_6H_{14}NO_2$ 。该化合物的二级质谱信息主要有 86.096 95 $[M+H-HCOOH]^+$, 69.070 58 $[M+H-HCOOH-NH_3]^+$, 57.057 96 $[M+H-HCOOH-CH_3-CH_2]^+$,发现其断裂方式符合氨基酸类化合物的裂解规律,通过与文献报道^[10]进行比对后,最终确定该化合物为亮氨酸,亮氨酸的质谱裂解途径见图 7。

3.6 其他类

此外,本实验还从药物中鉴定出了 10 种其他类化合物,分别为甜菜碱、腺嘌呤、腺苷、鸟嘌呤、阿魏酸乙酯、紫丹参萜醚、桉油烯醇、花侧柏烯、香叶基丙酮、橙花叔醇。

4 讨论

本实验前期分别考察了甲醇-水、甲醇-甲酸水、乙腈-水和乙腈-甲酸水作为流动相系统时,各色谱峰的分离效果,以选择最佳的流动相。结果显示,当有机相为甲醇时,色谱峰基线波动较大,出峰难

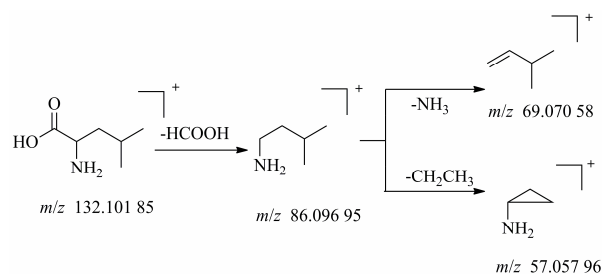


图 7 亮氨酸的质谱裂解途径

Fig. 7 MS fragmentation pathways of leucine

以分开且有严重拖尾现象；而使用乙腈时，色谱峰分离较好且出峰较多，基线平较为平稳；后将 0.1% 的甲酸加入水相时，发现各待测物峰形更佳，质谱响应更好；因此，本实验将乙腈-0.1%甲酸水作为流动相系统进行梯度洗脱。优化质谱条件时，本实验采用了一级定量 Full-MS 结合正、负离子同时扫描的模式对各成分响应进行初步研究，结果表明各化合物在正、负离子模式下的响应强度具有明显的差异。因此本实验按照各化合物的理化性质结合其不同离子模式下的质谱响应优劣，最终选择了质谱响应最好时的离子模式作为最佳检测条件，使各待测物均具有较好的响应值和峰形，并能够满足快速、准确的定性要求。

本实验在正、负离子同时扫描的模式下，对芪参益气滴丸中的主要化学成分进行快速识别分析，共鉴定出 53 种化学成分，其中包括 14 种有机酸类、10 种黄酮类、10 种醌类、2 种皂苷类、7 种氨基酸和 10 种其他类化合物。在以上成分中，有机酸类化合物具有抗炎、抑制血小板聚集、抗血栓、抗氧化、诱导肿瘤细胞凋亡等功能^[38]；黄酮类化合物具有抗炎、抗肿瘤、抗心律失常、抗滴虫和抗菌等作用^[39]；醌类化合物具有抗肿瘤、抗炎、延缓衰老的功效^[40]；皂苷类化合物具有降血糖、增强免疫、镇静等药理作用^[41]；氨基酸类化合物可参与多种生物途径。以上不同类别、不同来源的药物活性成分可通过协同或互补等作用，从而实现多成分、多通路、多靶点的治疗效果，最终使芪参益气滴丸发挥益气养血、活血化瘀、行气止痛的显著功效。

研究结果表明，本实验建立的基于 UPLC-Q-Orbitrap 的化学成分研究方法可系统、全面、准确地对芪参益气滴丸中的主要活性成分进行快速识别。本研究首次从整体层面上对芪参益气滴丸的有效成分化学谱进行深入探索，为明确其药效

物质基础提供了一定的科学依据，同时也为该药今后质量控制和提高和进一步的临床研究奠定了科学的理论基础。

参考文献

- [1] 古江勇, 袁 谷, 朱永宏, 等. 芪参益气滴丸治疗心血管疾病的计算药理学研究 [J]. 中国科学 B 辑: 化学, 2009, 39(11): 1415-1423.
- [2] 陈景瑞, 魏 静, 朱利洁, 等. 芪参益气滴丸对心血管系统疾病的药理作用研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(2): 434-437.
- [3] 王 静, 魏 娜, 赵洪芝, 等. HPLC、UPLC 测定芪参益气滴丸中 5 个丹参活性成分含量的比较研究 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(9): 1678-1682.
- [4] 孙 志, 周 霖, 姜晓芳, 等. UPLC-MS/MS 法结合模式识别同时测定芪参益气滴丸中 11 种成分 [J]. 中成药, 2017, 39(10): 2064-2068.
- [5] 龙 辉, 李怀国, 刘东文. HPLC、UPLC 测定芪参益气滴丸中丹参活性成分含量 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2015, 25(16): 190-191.
- [6] 傅俊曾, 宋生有, 姜 民, 等. 液相色谱-质谱联用同时测定芪参益气滴丸中黄芪甲苷、丹参素、原儿茶醛、人参皂苷 Rg_1 和 Rb_1 含量 [J]. 中国药理学杂志, 2012, 47(1): 61-64.
- [7] 彭晶晶, 李晓稳, 李东翔, 等. 双波长超高效液相色谱指纹图谱鉴定芪参益气滴丸质量 [J]. 中南药学, 2016, 14(11): 1188-1193.
- [8] 陈慧贞. 芪参益气滴丸多维指纹图谱研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [9] 李 明, 李瑞明, 张依倩, 等. 芪参益气滴丸及其挥发性成分降香油的 GC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2016, 47(10): 1702-1708.
- [10] 张 玉, 董文婷, 霍金海, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的广地龙化学成分分析 [J]. 中草药, 2017, 48(2): 252-262.
- [11] 束 艳, 宿树兰, 钱大玮, 等. 柔肝胶囊化学成分成分的 UPLC-ESI-QTOF/MS 分析 [J]. 中成药, 2011, 33(1): 73-78.
- [12] 刘大伟, 闫广利, 方 圆, 等. UPLC-ESI-TOF/MS 应用于黄芩化学成分的快速分析 [J]. 中医药信息, 2012, 29(4): 20-24.
- [13] 董 昕, 徐 立, 姜子洋. 丹参药材中水溶性及脂溶性成分的电喷雾离子阱质谱研究 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(14): 1048-1054.
- [14] 赵洪芝, 王 静, 姜 民, 等. 丹参总酚酸提取物 UPLC 指纹图谱及成分定性研究 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(4): 620-622.
- [15] Shu P, Hong J, Wu G. Analysis of flavonoids and phenolic

- acids in *Iris tectorum* by HPLC-DAD-ESI-MSn [J]. *Chin J Nat Med*, 2010, 8(3): 202-207.
- [16] MassBank of North American, Baicalin [DB/OL]. 2018-03-12. <http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/CCMSLIB00000078890>.
- [17] MassBank of North American, Ononin [DB/OL]. 2018-03-12. <http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/PS086206>.
- [18] 李东翔. 液质联用法对黄芩浸膏入血成分的定性研究 [A]// 2012年中国药学会暨第十二届中国药师周论文集 [C]. 南京: 中国药学会、江苏省人民政府, 2012.
- [19] 孙进华, 李先荣. UPLC-LTQ-Orbitrap 快速鉴定丹参川芎嗪注射液中化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(15): 64-67.
- [20] 赵 静, 秦振娟, 彭 冰, 等. 基于 UPLC-Q-TOF MS 技术的三七中皂苷类成分质谱裂解规律研究 [J]. 质谱学报, 2017, 38(1): 97-108.
- [21] 朱慧明. 基于液质联用技术的茛菪强心胶囊中多组分分析与药代动力学研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2014.
- [22] 刘 劫, 杨黄浩, 黎先春, 等. 高效液相色谱-电喷雾飞行时间质谱分析丹参中的丹参酮类化合物 [J]. 质谱学报, 2008, 29(5): 262-267.
- [23] Human Metabolome Database, Hydroxytanshinone [DB/OL]. 2012-09-11/2018-03-12. <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB36635>.
- [24] PubChem, 1beta-Hydroxycryptotanshinone [DB/OL]. 2006-10-25/2018-05-12. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10245003>.
- [25] PubChem, Przewalskin [DB/OL]. 2007-02-09/2018-05-12. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/14139389>.
- [26] PubChem, Neocryptotanshinone [DB/OL]. 2005-08-09/2018-05-12. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/184103>.
- [27] PubChem, Spathulenol [DB/OL]. 2005-08-08/2018-05-12. <http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/PS087604>.
- [28] 孔德云, 刘星堦, 滕脉坤, 等. 丹参中丹参螺旋缩酮内酯的结构 [J]. 药学报, 1985, 20(10): 747-751.
- [29] 黄永松, 傅家谟, 盛国英, 等. 高蜡原油及其生油岩中新生物标志物- α 雪松烯和花侧柏烯 [J]. 地球化学, 1991(3): 276-282.
- [30] MassBank of North American, Geranyl acetone [DB/OL]. 2018-03-12. <http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/PS088901>.2018.
- [31] MassBank of North American, *cis*-Nerolidol [DB/OL]. 2018-03-12. <http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/PS087604>.2018.
- [32] Masanori H, Toshisada S, Tsukasa I. New acylated anthocyanins and other flavonoids from the flowers of clematis cultivars [J]. *Nat Prod Commun*, 2011, 6(11): 1631-1636.
- [33] 高亮亮. 唐古特大黄、药用大黄和掌叶大黄的化学成分和生物活性研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2012.
- [34] 朱云祥, 陈璐琳, 龚婧如, 等. LC-Q-TOF-MS 及 LC-IT-MS 分析酸枣仁汤的化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(3): 457-465.
- [35] 毛 艳, 张瑞萍, 贺金华, 等. 高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱分析紫草中酚酸类化合物 [J]. 药物分析杂志, 2016, 36(7): 1199-1206.
- [36] Wei W L, Huang L F. Simultaneous determination of ferulic acid and phthalides of *Angelica sinensis* based on UPLC-Q-TOF/MS [J]. *Molecules*, 2015, 20(3): 4681-4694.
- [37] 孔海宁. 三七茎叶提取物中皂甙成分定性及三七皂甙 Fa 的制备 [D]. 天津: 天津大学, 2006.
- [38] 汤喜兰, 刘建勋, 李 磊. 中药有机酸类成分的药理作用及在心血管疾病的应用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 243-246.
- [39] 姚梅芬, 张思巨, 李 琳, 等. 苦参中黄酮类成分及其药理作用研究现状 [J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(3): 110-112.
- [40] 魏 蕾. 醌类化合物的分布和药理作用 [J]. 现代中药研究与实践, 2013, 27(1): 34-35.
- [41] 傅 晶, 张东明, 陈若芸. 远志属植物的皂苷类成分及其药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2006, 37(1): 144-146.