# HPLC-QTOF/MS 法鉴定甘草泻心汤中化学成分

何 颖[1]，涂正伟[2#]，邹爱英[1*]，刘慧敏[3]，高利兴[1]，李 玥[4]，李春晓[5]

1. 天津中医药大学第二附属医院，天津 300250
2. 天津市南开医院 天津市急腹症器官损伤与中西医修复重点实验室，天津 300100
3. 深圳市宝安纯中医治疗医院，广东 深圳 518000
4. 天津市滨海新区大港中医医院，天津 300270
5. 天津市肿瘤医院空港医院，天津 300450

**摘 要：目的** 对甘草泻心汤中化学成分进行鉴定。**方法** 对甘草泻心汤、单味药汤剂和混合对照品进行 HPLC 分析。采用 Agela venusil MP $C_{18}$（2）色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：0.2%甲酸水溶液－乙腈，梯度洗脱，检测波长 265、327 nm，体积流量 1.0 mL/min，柱温 25 ℃，进样量 10 μL。液路采用三通分流 0.2 mL/min 进入 ESI 源，在正、负离子模式下进行质谱检测。采用甲酸钠溶液作为内参校准液每针校正。根据对照品、文献报道和数据库数据推测鉴定相关色谱峰的化合物和单味药来源。**结果** 提取出 85 个基峰离子，根据元素分析推测出其化学式，其中 80 个推测出了可能的化合物结构信息，采用对照品确证了 6 个成分，其中归属于甘草、黄芩、大枣、黄连、干姜、半夏分别为 40、31、13、11、5、1 个成分。**结论** HPLC-QTOF/MS 作为一种高选择性、高分离度、高灵敏度的分析手段能有效地鉴定甘草泻心汤中化学成分。

**关键词：**甘草泻心汤；甘草；黄芩；化学成分；HPLC-QTOF/MS 法

**中图分类号：**R286.02 **文献标志码：**A **文章编号：**1674 - 5515(2021)11 - 2246 - 09

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.11.005

# Identification of chemical constituents in Gancao Xiexin Decoction by HPLC-QTOF/MS

HE Ying[1], TU Zheng-wei[2], ZOU Ai-ying[1], LIU Hui-min[3], GAO Li-xing[1], LI Yue[4], LI Chun-xiao[5]

1. The Second Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300250, China
2. Tianjin Key Laboratory of Acute Abdomen Disease Associated Organ Injury and ITCWM Repair, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China
3. Shenzhen Baoan Hospital of Pure Chinese Medicine Treatment, Shenzhen 518000, China
4. Dagang Hospital of Traditional Chinese Medicine of Tianjin Binhai New Area, Tianjin 300270, China
5. Tianjin Medical University Cancer Hospital Airport Hospital, Tianjin 300450, China

**Abstract: Objective** To identify the chemical constituents in Gancao Xiexin Decoction. **Methods** GancaoXiexin Decoction, single herb decoction and mixed reference substance were analyzed on HPLC $C_{18}$ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase 0.2% formic acid- acetonitrile at a flow rate of 1.0 mL/min. Detection wavelengths were set at 265 and 327 nm, volume flow rate was 1.0 mL/min, column temperature was 25 ℃, and sample injection volume was 10 μL. The fluid was infused into the ESI source at a flow rate of 0.2 mL/min by a tees，and was scanned in positive and negative ion mode by MS2. Sodium formate solution was used as internal standard. The compound attribution of related chromatographic peaks and the source of single herb were deduced and identified by comparison with the standard, literature, and database. **Results** Base peak chromatogram ions (85) were extracted and chemical formulas were deduced by elemental analysis, of which 80 constituents were deduced, and 6 constituents were confirmed using

**收稿日期：**2021-08-18

**基金项目：**全国中药特色技术传承人才培训项目（国中医药人教函[2018]204 号）；第六批全国老中医药专家学术经验继承工作；天津市卫健委中医、中西医结合科研基金项目（2019039）；天津市卫健委中医、中西医结合科研基金项目（2019050）；天津中医药大学第二附属医院横向科研项目（20191201）

**作者简介：**何 颖（1978—），女，副主任药师，研究方向为中药合理用药。E-mail: hyhyhy8231_cn@sina.com

涂正伟（1986—），男，助理研究员，研究方向为中药药效物质基础研究。E-mail: tuzw_fsnkyy@nankai.edu.cn

***通信作者：**邹爱英，女，主任药师，研究方向为医院中药饮片质量控制和中药临床合理应用。E-mail: zy2fyxb@163.com

#共同第一作者

reference substances. *Glycyrrhizae Radix* et *Rhizoma*, *Scutellariae Radix*, *Jujubae Fructus*, *Coptidis Rhizoma*, *Zingiberis Rhizome*, and *Pinelliae Rhizoma* contributed 40, 31, 13, 11, 5, and 1 constituents, respectively. **Conclusion** HPLC-QTOF/MS can be applied in identification of constituents in Gancao Xiexin Decoction as a high selectivity, high resolution, and high sensitivity method.

**Key words:** Gancao Xiexin Decoction; *Glycyrrhizae Radix* et *Rhizoma*; *Scutellariae Radix*; chemical constituent; HPLC-QTOF/MS

甘草泻心汤始载于《伤寒杂病论》，由甘草（炙）、黄芩、干姜、半夏（洗）、大枣（擘）、黄连组成[1]，具有益气和胃、消痞止呕的功效，主治伤寒痞证，胃气虚弱，腹中雷鸣，下利，水谷不化，心下痞硬而满，干呕心烦不得安，临床常用于急慢性胃肠炎症、白塞氏综合征等[2-4]。中药化学组成是其发挥治疗作用的基础，阐明中药中药效物质不仅有助于提高质量控制标准，也是开展其体内过程、作用机制研究的首要前提。传统的色谱分离方法研究中药和中药复方汤剂中化学成分的工作量巨大，核磁共振结构解析对所获得的单体成分需要达到一定的量和纯度，而高效液相色谱－四极杆飞行时间串联质谱技术（HPLC-QTOF/MS）将 HPLC 对复杂样品的高分离能力和质谱高选择性、高灵敏度以及化合物鉴别能力结合起来，在省去大量的色谱分离工作的情况下直接对中药复方汤剂中化学成分体系进行快速分析[5]。甘草泻心汤所含 6 味中药都是较常见的药物，其各自所含化学成分均有较多的研究报道，但是复方汤剂的复杂化学体系并不是各组成中药化学成分的简单罗列，其受煎煮溶剂、方法等影响，会与单味药材有所差异，单味药材所含化学成分在组方后受到稀释而不易被检出，同时配伍共煎的体系环境也会影响各种成分的提取率，并有可能产生部分新的化学成分，因此有必要对复方汤剂进行化学成分的研究。本实验利用 HPLC-QTOF/MS 技术快速分析甘草泻心汤中化学成分的组成，为甘草泻心汤进一步的质量和血清药物化学研究提供依据。

## 1　仪器与材料

HPLC-QTOF/MS 组成：Dionex Ultimate3000 型 HPLC（美国赛默飞公司），micrOTOF-Q Ⅱ型 MS（配 ESI 离子源，工作站为 Hystar3.2，美国 Bruker 公司）；Heraeus Pico17 微量高速离心机（美国赛默飞公司）；Elix Essential 纯水/Simplicity Ultrapure 超纯水系统（美国密理博公司）；BT25S 分析天平（德国赛多利斯公司）。

乙腈（HPLC 级，天津康科德公司）、甲酸（HPLC 级，Merck 公司）、流动相用水为超纯水系统制备。甘草苷（批号 111610-201908）、黄芩苷（批号 110715-201821）、鸟苷（批号 111977-201501）、盐酸小檗碱（批号 110713-201814）、汉黄芩苷（批号 112002-201702）对照品均购自中国食品药品检定研究院，甘草酸铵对照品（批号 1001167400）购自 Sigma-Aldrich 公司。炙甘草（批号 19107055）、清半夏（批号 231909010-1）、黄芩（批号 19112125-1）、黄连（批号 2019100021）、干姜（批号 19111001-1）、大枣（批号 19101029-2）饮片均由江阴天江药业公司提供，经天津中医药大学李天祥教授鉴定。

## 2　方法与结果

### 2.1　色谱－质谱条件

Agela venusil MP $C_{18}$（2）色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：0.2%甲酸水溶液（A）－乙腈（B），梯度洗脱程序：0～6 min，4.0% B；6～9 min，4.0%～7.0% B；9～20 min，7.0～15.0% B；20～25 min，15.0%～17.5% B；25～35 min，17.5%～19.0% B；35～50 min，19.0%～25.0% B；50～65 min，25.0%～27.5% B；65～80 min，27.5%～35.0% B；80～95 min，35.0%～50.0% B；95～100 min，50.0%～90.0% B；100～110 min，90.0% B；检测波长 265、327 nm，体积流量 1.0 mL/min，柱温 25 ℃，进样量 10 μL，采集时间 110 min。

液路采用三通分流 0.2 mL/min 进入 ESI 源，在正、负离子模式下分别进行质谱检测。使用氮气作为干燥气和雾化气，雾化气压力 0.8 Bar（$8\times10^4$ Pa），干燥气体积流量 8.0 L/min，干燥气温度 200 ℃，负离子模式毛细管电压 3 500 V，正离子模式毛细管电压 4 000 V，质量数扫描范围：*m*/*z* 50～1 000，AutoMS/MS 模式采集二级谱。采用甲酸钠溶液作为内参校准液每针校正。

### 2.2　供试品溶液的制备

按照甘草泻心汤的组方配比（炙甘草 12 g、黄芩 9 g、干姜 9 g、半夏 12 g、大枣 36 g、黄连 3 g）称取全方及各单味药，加约 9 倍量水，浸泡 30 min 后回流提取 30 min，以 200 目滤网滤过；再加约 7 倍量水，回流提取 20 min，滤过，合并滤液，减压浓缩（温度≤50 ℃）后转移至量瓶制备约 0.2 g 生药/mL 的混悬液（各单味药加水量、定容质量浓度按全方质量计算），冷藏备用。依次精密吸取全方样

品和各单味药样品各 1 mL，置于 EP 管中，加入 1 mL 甲醇，涡旋振荡 1 min，12 000 r/min 离心 5 min，吸取上清液，即得甘草泻心汤全方供试品溶液和各单味药供试品溶液。

### 2.3 混合对照品溶液的制备

分别称取黄芩苷、汉黄芩苷、甘草苷、甘草酸铵、鸟苷、盐酸小檗碱对照品适量，加 50%甲醇溶解混匀，制成混合对照品溶液。

### 2.4 样品测定

精密吸取甘草泻心汤全方供试品溶液、各单味药供试品溶液和混合对照品溶液各 10 μL，按以上色谱质谱条件进样测定。

### 2.5 化合物鉴定分析

将采集的 LC-MS 数据采用 DataAnalysis 4.0 打开，提取内标质谱数据以校正样品质谱数据，提取基峰离子流图（BPC），并做平滑化处理，质谱数据显示 4 位小数，根据精确质量做元素分析，根据对照品、文献和数据库数据推测、鉴定相关色谱峰。

经过对校正后的全方正、负质谱数据元素分析共推测出 85 个离子峰的化学式，与单味药质谱数据、对照品、文献和数据库数据比对分析，推测出了其中 80 个可能化合物结构，采用对照品确证了其中 6 个成分，结果见表 1，甘草泻心汤正、负离子模式基峰离子流图见图 1。

**表 1 甘草泻心汤主要 BPC 离子峰化学成分**

**Table 1 Chemical constituents of main BPC ions in Gancao Xiexin Decoction**

| 峰号 | $t_R$/min | 离子模式 | 化合物名称 | 分子式 | 理论 $M$r | 实测 $M$r | $\delta$ | 主要特征碎片 | 药材归属 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2.99 | neg | 蔗糖[6] | $C_{12}H_{22}O_{11}$ | 341.108 9 | 341.110 0 | 3.0 | 209、193、179、165、135、119 | 甘草、黄芩、黄连、干姜、大枣 |
| 2 | 5.69 | neg | 尿苷* | $C_9H_{12}N_2O_6$ | 243.062 3 | 243.062 4 | 0.8 | 188、111 | 大枣、甘草、干姜 |
| 3 | 6.56 | pos | 腺苷[7] | $C_{10}H_{13}N_5O_4$ | 268.104 0 | 268.106 2 | 8.0 | 214、136、99 | 甘草、黄芩、黄连、干姜、大枣 |
| 4 | 8.07 | neg | 环磷酸腺苷* | $C_{10}H_{12}N_5O_6P$ | 328.045 2 | 328.047 0 | 5.3 | 134 | 大枣 |
|  | 8.14 | pos |  |  | 330.059 8 | 330.061 4 | 4.9 | 294、136 |  |
| 5 | 8.44 | neg | 鸟苷# | $C_{10}H_{12}N_5O_5$ | 282.084 4 | 282.086 3 | 6.6 | 305、173、150、129 | 大枣、甘草、干姜 |
| 6 | 9.15 | neg | 环磷酸鸟苷* | $C_{10}H_{12}N_5O_7P$ | 344.040 2 | 344.042 7 | 7.4 | 247、161、150 | 大枣 |
| 7 | 13.09 | neg | 苯丙氨酸[7] | $C_9H_{11}NO_2$ | 164.071 7 | 164.072 9 | 7.5 | 147、129、111 | 干姜、大枣、半夏、甘草 |
|  | 13.12 | pos |  |  | 166.086 3 | 166.089 3 | 18.4 | 149、127、109 |  |
| 8 | 20.27 | neg | *L*-色氨酸[7] | $C_{11}H_{12}N_2O_2$ | 203.082 6 | 203.083 2 | 2.9 | 159、142、116 | 黄连 |
| 9 | 21.52 | neg | 无刺枣苄苷Ⅰ[8] | $C_{19}H_{28}O_{11}$ | 431.155 9 | 431.156 9 | 2.3 | 323、248、137 | 大枣 |
| 10 | 24.50 | neg | 甘草素-4'-*O*-β-*D*-葡萄糖(1→6)-*O*-β-*D*-葡萄糖苷[9] | $C_{21}H_{22}O_9$ | 579.171 9 | 579.170 9 | −1.8 | 625、579、417（BPI） | 甘草 |
| 11 | 27.14 | neg | vicenin-2[10] | $C_{27}H_{30}O_{15}$ | 593.151 2 | 593.150 0 | −2.1 | 463、345、220、112 | 甘草 |
| 12 | 27.93 | neg | 木兰花碱[11] | $C_{20}H_{23}NO_4$ | 340.155 4 | 340.156 0 | 1.8 | 326、284、259 | 黄连、大枣 |
|  | 27.90 | pos |  |  | 342.170 0 | 342.167 6 | 7.0 | 297、265 |  |
| 13 | 30.53 | neg | 夏佛塔苷[12] | $C_{26}H_{28}O_{14}$ | 563.140 6 | 563.140 8 | 0.2 | 415、366、289、165 | 甘草、黄芩 |
| 14 | 31.25 | neg | 3,5,7,2',5'-五羟基黄酮[6] | $C_{15}H_{12}O_7$ | 303.051 0 | 303.051 5 | 1.5 | 285、177、125 | 黄芩 |
|  | 31.29 | pos |  |  | 305.065 6 | 305.066 7 | 3.5 | 327、287、210、141 |  |
| 15 | 36.03 | neg | 8-阿拉伯糖基-6-葡萄糖基-5,7-二羟基黄酮[6] | $C_{26}H_{28}O_{13}$ | 547.145 7 | 547.146 8 | 2.1 | 417、264、255 | 黄芩 |
|  | 35.91 | pos |  |  | 549.160 3 | 549.165 6 | 9.6 | 419、356、257 |  |
| 16 | 36.97 | neg | 4′-*O*-芹糖(1→2)-葡萄糖甘草苷[13] | $C_{26}H_{30}O_{13}$ | 549.161 4 | 549.159 8 | −2.9 | 431、345、301、273 | 甘草 |

**续表 1**

| 峰号 | $t_R$/min | 离子模式 | 化合物名称 | 分子式 | 理论 *M*r | 实测 *M*r | *δ* | 主要特征碎片 | 药材归属 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 17 | 37.61 | neg | 甘草苷# | $C_{21}H_{22}O_9$ | 417.119 1 | 417.118 4 | −1.7 | 255 | 甘草 |
| | 37.55 | pos | | | 419.133 7 | 419.135 9 | 5.4 | 257 | |
| 18 | 38.55 | neg | 黏毛黄芩素Ⅰ*[14] | $C_{15}H_{10}O_7$ | 301.035 4 | 301.036 9 | 5.0 | 193、151、125 | 黄芩 |
| 19 | 39.77 | neg | 毛蕊花糖苷[14] | $C_{29}H_{36}O_{15}$ | 623.198 1 | 623.195 6 | −4.0 | | 黄芩 |
| 20 | 39.82 | neg | 6-阿拉伯糖基-8-葡萄糖基-5,7-二羟基黄酮[6] | $C_{26}H_{28}O_{13}$ | 547.145 7 | 547.144 4 | −2.4 | | 黄芩 |
| | 39.72 | pos | | | 549.160 3 | 549.164 4 | 7.6 | | |
| 21 | 41.06 | neg | 野黄芩苷[14] | $C_{21}H_{18}O_{12}$ | 461.072 5 | 461.069 4 | −6.8 | 407、285、175、113 | 黄芩 |
| | 40.99 | pos | | | 463.087 1 | 463.089 8 | 5.8 | 324、186 | |
| 22 | 41.99 | neg | 15、20 的同分异构体[6] | $C_{26}H_{28}O_{13}$ | 547.145 7 | 547.144 7 | −1.9 | 461、375、301、177 | 黄芩 |
| | 41.91 | pos | | | 549.160 3 | 549.161 7 | 2.6 | 421 | |
| 23 | 42.44 | pos | 格陵兰黄连碱[11] | $C_{19}H_{16}NO_4^+$ | 322.107 4 | 322.109 9 | 7.8 | 307、279 | 黄连 |
| 24 | 50.17 | neg | 非洲防己碱或药根碱[15] | $C_{20}H_{20}NO_4^+$ | 338.139 8 | 338.139 8 | 0.0 | 323 | 黄连 |
| | 50.01 | pos | | | 338.138 7 | 338.141 2 | 7.4 | 303 | |
| 25 | 50.60 | pos | 表小檗碱[15] | $C_{20}H_{18}NO_4^+$ | 336.123 0 | 336.125 4 | 7.0 | 303、291、239、141 | 黄连 |
| 26 | 51.56 | neg | 非洲防己碱或药根碱[15] | $C_{20}H_{20}NO_4^+$ | 338.139 8 | 338.139 7 | −0.3 | 323 | 黄连 |
| | 51.36 | pos | | | 338.138 7 | 338.141 1 | 7.2 | 320 | |
| 27 | 51.63 | pos | 黄连碱[15] | $C_{19}H_{14}NO_4^+$ | 320.091 7 | 320.093 1 | 4.2 | 292 | 黄连 |
| 28 | 53.97 | neg | 异甘草苷元 4'-*O*-芹糖(1→2)-葡萄糖[13] | $C_{26}H_{30}O_{13}$ | 549.161 4 | 549.162 1 | 1.3 | 297、267 | 甘草 |
| | 53.86 | pos | | | 551.175 9 | 551.176 8 | 1.7 | 419、269、257 | |
| 29 | 54.15 | neg | 刺芒柄花苷[15] | $C_{22}H_{22}O_9$ | 475.124 6 | 475.122 9 | −3.5 | 475、429、267 | 甘草 |
| | 54.06 | pos | | | 431.133 7 | 431.132 5 | −2.8 | 269 | |
| 30 | 54.98 | neg | 木蝴蝶苷 A[14-15] | $C_{21}H_{20}O_{10}$ | 431.098 4 | 431.096 6 | −4.2 | 415、269 | 黄芩 |
| | 54.92 | pos | | | 433.112 9 | 433.111 6 | −3.1 | 271 | |
| 31 | 56.02 | neg | 黄芩苷# | $C_{21}H_{18}O_{11}$ | 445.077 6 | 445.077 5 | −0.4 | 445、269、175、113 | 黄芩 |
| | 55.73 | pos | | | 447.092 2 | 447.092 6 | 0.8 | 271 | |
| 32 | 56.33 | neg | 异甘草苷[15] | $C_{21}H_{22}O_9$ | 417.119 1 | 417.117 7 | −3.5 | 255 | 甘草 |
| | 56.20 | pos | | | 419.133 7 | 419.135 0 | 3.1 | 257 | |
| 33 | 59.15 | pos | 防己碱[15]或巴马汀[16] | $C_{21}H_{22}NO_4^+$ | 352.154 3 | 352.156 4 | 5.9 | 141 | 黄连 |
| 34 | 60.44 | neg | 5,7,8-三羟基黄酮-7-*O*-葡萄糖苷[15] | $C_{21}H_{20}O_{11}$ | 447.093 3 | 447.093 9 | 1.3 | 271、175、113 | 黄芩 |
| | 60.38 | pos | | | 449.107 8 | 449.107 2 | −1.3 | 273 | |
| 35 | 60.80 | pos | 小檗碱# | $C_{20}H_{18}NO_4^+$ | 336.123 0 | 336.125 0 | 5.8 | 321、320、292 | 黄连 |
| 36 | 61.25 | neg | 甘草素[13] | $C_{15}H_{12}O_4$ | 255.066 3 | 255.066 6 | 1.3 | 135 | 甘草 |
| 37 | 62.31 | neg | 芹菜素-7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷[6]或去甲汉黄芩素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸苷[17] | $C_{21}H_{18}O_{11}$ | 445.077 6 | 445.078 1 | 1.1 | 891、269、175、113 | 黄芩 |
| | 62.17 | pos | | | 447.092 2 | 447.092 5 | 0.8 | 893、271 | |
| 38 | 63.15 | neg | 粗毛豚草素-7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷[6] | $C_{22}H_{20}O_{12}$ | 475.088 2 | 475.0881 | −0.3 | 299、175、113 | 黄芩 |
| | 62.94 | pos | | | 477.102 8 | 477.103 6 | 1.7 | 301 | |
| 39 | 65.80 | neg | 汉黄芩苷# | $C_{22}H_{20}O_{11}$ | 459.093 3 | 459.093 0 | −0.7 | 283、269、175、113 | 黄芩 |
| | 65.66 | pos | | | 461.107 8 | 461.107 9 | 0.2 | 271 | |

续表 1

| 峰号 | $t_R$/min | 离子模式 | 化合物名称 | 分子式 | 理论 *M*r | 实测 *M*r | $\delta$ | 主要特征碎片 | 药材归属 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 40 | 66.29 | neg | 38 的同分异构体 | $C_{22}H_{20}O_{12}$ | 475.088 2 | 475.088 5 | 0.6 | 475、429、315、283 | 黄芩 |
| | 66.13 | pos | | | 477.102 8 | 477.1031 | 0.7 | 477、431、317 | |
| 41 | 68.48 | neg | 芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸苷[6]或去甲汉黄芩素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸苷[17] | $C_{21}H_{18}O_{11}$ | 445.077 6 | 445.076 6 | −2.4 | 269 | 黄芩 |
| | 68.32 | pos | | | 447.092 2 | 447.091 7 | −1.0 | 350 | |
| 42 | 69.10 | pos | 乌拉尔甘草皂苷 P[10] | $C_{42}H_{64}O_{16}$ | 825.426 7 | 825.425 1 | −2.0 | 455 | 甘草 |
| 43 | 70.40 | neg | 5,7-二羟基-6-甲氧基黄酮-7-*O*-葡萄糖醛酸苷[6] | $C_{22}H_{20}O_{11}$ | 459.093 3 | 459.092 6 | −1.6 | 919、283 | 黄芩 |
| | 70.30 | pos | | | 461.107 8 | 461.107 8 | 0.0 | 921、285、271、206 | |
| 44 | 71.79 | neg | (2*S*)-5-hydroxy-6-methoxyflavanone-7-*O*-β-*D*-glucuronide[14] | $C_{22}H_{22}O_{11}$ | 461.108 9 | 461.106 4 | −5.6 | 313、285 | 黄芩 |
| | 71.61 | pos | | | 463.123 5 | 463.123 6 | 0.2 | 287 | |
| 45 | 72.81 | neg | 千层纸苷[14] | $C_{22}H_{20}O_{11}$ | 459.093 3 | 459.093 5 | 0.5 | 269 | 黄芩 |
| | 72.61 | pos | | | 461.1078 | 461.1097 | 4.1 | 433 | |
| 46 | 74.06 | neg | 5,7,2',3'-四羟基黄酮、5,7,2',5'-四羟基黄酮、5,7,2',6'-四羟基黄酮、野黄芩素或异野黄芩素[14] | $C_{15}H_{10}O_6$ | 285.0405 | 285.0422 | 6.3 | 249、161、112 | 黄芩 |
| 47 | 75.50 | neg | 甘草皂苷 H2、K2 或乌拉尔甘草皂苷 B[13] | $C_{42}H_{62}O_{16}$ | 821.396 5 | 821.397 9 | 1.7 | 895（BPI)、469 | 甘草 |
| | 75.34 | pos | | | 823.411 1 | 823.412 8 | 2.1 | 897（BPI)、471 | |
| 48 | 75.84 | neg | 二羟基甘草次酸[15] | $C_{42}H_{62}O_{18}$ | 853.386 3 | 853.388 6 | 2.7 | | 甘草 |
| | 75.68 | pos | | | 855.400 9 | 855.403 5 | 3.1 | | |
| 49 | 78.38 | neg | 4'-羟基汉黄芩素、高车前素、韧黄芩素 II、5,8,2'-三羟基-7-甲氧基黄酮或半枝莲素[6, 14] | $C_{16}H_{12}O_6$ | 299.056 1 | 299.057 6 | 4.9 | 284 | 黄芩 |
| 50 | 78.38 | neg | 甘草皂苷 A3[18] | $C_{48}H_{72}O_{21}$ | 983.449 3 | 983.446 5 | −2.9 | 896、491、410 | 甘草 |
| | 78.23 | pos | | | 985.463 9 | 985.462 3 | −1.6 | 809、633、301、141 | |
| 51 | 80.07 | neg | 4'-羟基汉黄芩素、高车前素、韧黄芩素 II、5,8,2'-三羟基-7-甲氧基黄酮或半枝莲素[6, 14] | $C_{16}H_{12}O_6$ | 299.056 1 | 299.056 6 | 1.5 | 284 | 黄芩 |
| 52 | 80.29 | neg | 芹菜素[6] | $C_{15}H_{10}O_5$ | 269.045 5 | 269.045 7 | 0.6 | 136、113 | 黄芩 |
| 53 | 80.98 | neg | 同 49 | $C_{16}H_{12}O_6$ | 299.056 1 | 299.056 1 | 0.0 | 284 | 黄芩 |
| | 80.81 | pos | | | 301.070 7 | 301.068 9 | −5.8 | 141 | |
| 54 | 81.94 | neg | 22β-乙酰氧基甘草甜素[10] | $C_{44}H_{64}O_{18}$ | 879.402 0 | 879.403 0 | 1.2 | 835、393、313 | 甘草 |
| | 81.80 | pos | | | 881.416 5 | 881.417 6 | 1.2 | 837、705、529 | |

**续表 1**

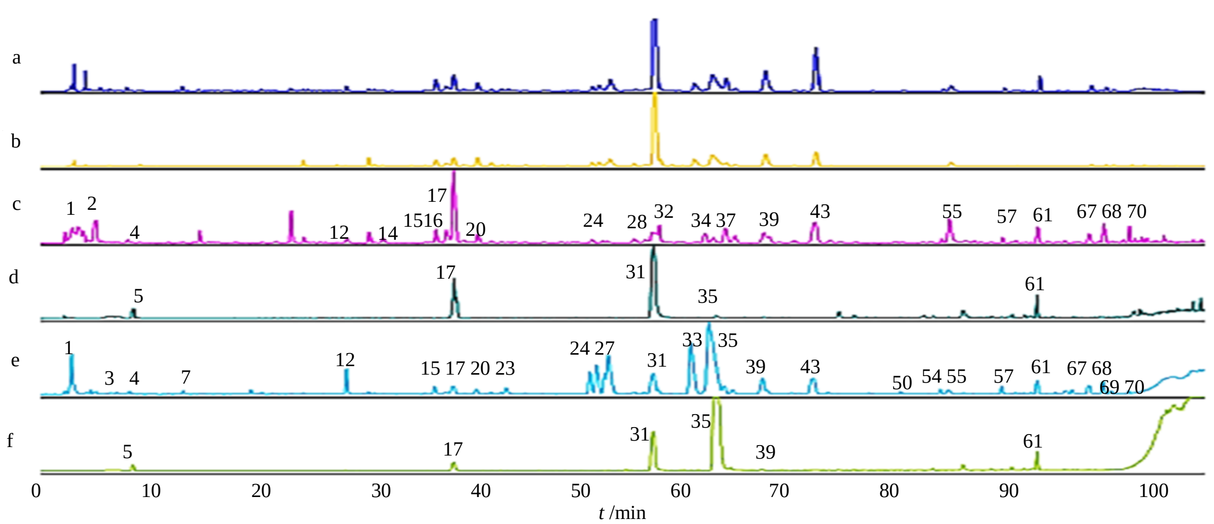
| 峰号 | $t_R$/min | 离子模式 | 化合物名称 | 分子式 | 理论 *M*r | 实测 *M*r | *δ* | 主要特征碎片 | 药材归属 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 55 | 82.63 | neg | 黄芩素[14] | $C_{15}H_{10}O_5$ | 269.045 5 | 269.045 6 | 0.4 | 242、135 | 黄芩 |
| | 82.55 | pos | | | 271.060 1 | 271.059 3 | −2.9 | 226、141 | |
| 56 | 86.41 | neg | 4'-羟基汉黄芩素、高车前素、韧黄芩素II、5,8,2'-三羟基-7-甲氧基黄酮或半枝莲素[6, 14] | $C_{16}H_{12}O_6$ | 299.056 1 | 299.057 1 | 3.3 | 284 | 黄芩 |
| | 86.31 | pos | | | 301.070 7 | 301.071 0 | 1.3 | 141 | |
| 57 | 87.45 | neg | 甘草皂苷 G[13, 18] | $C_{42}H_{62}O_{17}$ | 837.391 4 | 837.392 4 | 1.2 | 859、837、819 | 甘草 |
| | 87.37 | pos | | | 839.406 0 | 839.409 1 | 3.7 | 861、821、487、420 | |
| 58 | 88.65 | neg | 异甘草苷元、光果甘苷元或(*S*)-生松黄烷酮[10] | $C_{15}H_{12}O_4$ | 255.066 3 | 255.068 1 | 7.0 | 229、153、135、119 | 甘草 |
| | 88.57 | pos | | | 257.080 8 | 257.081 1 | 1.0 | | |
| 59 | 88.77 | neg | 22β-乙酰氧基甘草甜素[10] | $C_{44}H_{64}O_{17}$ | 863.407 1 | 863.409 0 | 2.2 | 499、473 | 甘草 |
| | 88.67 | pos | | | 865.421 6 | 865.427 1 | 6.3 | 841、689 | |
| 60 | 89.19 | neg | 羟基甘草酸[13] | $C_{42}H_{62}O_{17}$ | 837.391 4 | 837.393 9 | 2.9 | 591、499 | 甘草 |
| | 89.06 | pos | | | 839.406 0 | 839.408 5 | 3.0 | 701、659 | |
| 61 | 90.64 | neg | 甘草酸# | $C_{42}H_{62}O_{16}$ | 821.396 5 | 821.398 7 | 2.7 | 645、469 | 甘草 |
| | 90.63 | pos | | | 823.411 1 | 823.415 3 | 5.1 | 647、471、453 | |
| 62 | 91.40 | pos | 甘草皂苷 B2 或其同分异构体[18] | $C_{42}H_{64}O_{15}$ | 809.431 8 | 809.436 8 | 6.2 | 647 | 甘草 |
| 63 | 91.84 | neg | 未知物 | $C_{25}H_{32}O_9$ | 475.197 4 | 475.195 6 | −3.8 | 497、415、265、213、179 | 6味药均无该成分，可能为煎煮新生成化合物 |
| | 91.72 | pos | | | 477.211 9 | 477.218 3 | 13.3 | 499、417（BPI) | |
| 64 | 92.26 | pos | 甘草皂苷 B2 或其同分异构体[18] | $C_{42}H_{64}O_{15}$ | 809.431 8 | 809.435 8 | 4.9 | 633、457 | 甘草 |
| 65 | 93.17 | neg | 甘草皂苷 H2、K2 或乌拉尔甘草皂苷 B[13] | $C_{42}H_{62}O_{16}$ | 821.396 5 | 821.395 0 | −1.8 | 473、445、367 | 甘草 |
| | 93.09 | pos | | | 823.411 1 | 823.415 2 | 5.1 | 647、471、453、369 | |
| 66 | 94.29 | pos | 甘草皂苷 H2、K2 或乌拉尔甘草皂苷 B[13] | $C_{42}H_{62}O_{16}$ | 823.411 1 | 823.415 6 | 5.6 | 647、362 | 甘草 |
| 67 | 95.35 | neg | 汉黄芩素[14] | $C_{16}H_{12}O_5$ | 283.061 2 | 283.061 5 | 0.9 | 283、268 | 黄芩 |
| | 95.28 | pos | | | 285.075 7 | 285.077 0 | 4.3 | 177 | |
| 68 | 96.64 | neg | 5,7-二羟基-2′,3′,6,8-四甲氧基黄酮[6] | $C_{19}H_{18}O_8$ | 373.092 9 | 373.092 5 | −1.2 | 358、343、311 | 黄芩 |
| | 96.60 | pos | | | 375.1074 | 375.109 8 | 6.4 | 771、397、338 | |
| 69 | 97.35 | neg | 木蝴蝶素 A(千层纸素 A)或 5,6-二羟基-7-甲氧基黄酮[14] | $C_{16}H_{12}O_5$ | 283.061 2 | 283.061 7 | 1.8 | 268、178、112 | 黄芩 |
| | 97.29 | pos | | | 285.075 7 | 285.076 4 | 2.1 | 269、261、203、141 | |
| 70 | 98.95 | neg | 甘草宁 B 或 N[12-13] | $C_{21}H_{20}O_6$ | 367.118 7 | 367.117 9 | −2.1 | 271、247、232 | 甘草 |
| | 98.94 | pos | | | 369.133 3 | 369.134 1 | 2.4 | 338、313 | |
| 71 | 99.46 | neg | 粗毛甘草素 C[13] | $C_{21}H_{24}O_5$ | 355.155 1 | 355.153 5 | −4.5 | 245、179、112 | 甘草 |
| 72 | 99.66 | neg | 甘草异黄酮 B 或半甘草异黄酮 B[10] | $C_{20}H_{16}O_6$ | 351.087 4 | 351.085 8 | −4.7 | 339、311 | 甘草 |

续表 1

| 峰号 | $t_R$/min | 离子模式 | 化合物名称 | 分子式 | 理论 $M$r | 实测 $M$r | $\delta$ | 主要特征碎片 | 药材归属 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 73 | 100.10 | neg | 甘草黄酮醇、异甘草黄酮醇或甘草宁 L[12] | $C_{20}H_{18}O_6$ | 353.103 1 | 353.115 8 | 36.1 | 287、239、195、113 | 甘草 |
| 74 | 100.32 | neg | 甘草香豆酮或 5'-异戊烯基甘草二酮[12] | $C_{20}H_{20}O_5$ | 339.123 8 | 339.123 1 | −1.9 | 265、239、195 | 甘草 |
| 75 | 100.53 | neg | 甘草利酮或甘草香豆精-7-甲醚[10] | $C_{22}H_{22}O_6$ | 381.134 4 | 381.133 9 | −1.1 | 313、265、239 | 甘草 |
| 76 | 100.57 | neg | 甘草黄酮醇、异甘草黄酮醇或甘草宁 L[12] | $C_{20}H_{18}O_6$ | 353.103 1 | 353.102 7 | −1.1 | 313、265、195 | 甘草 |
| 77 | 100.75 | neg | 甘草香豆酮或 5'-异戊烯基甘草二酮[12] | $C_{20}H_{20}O_5$ | 339.123 8 | 339.124 1 | 1.0 | 313、265、239 | 甘草 |
| 78 | 100.97 | neg | 甘草黄酮醇、异甘草黄酮醇或甘草宁 L[12] | $C_{20}H_{18}O_6$ | 353.103 1 | 353.103 7 | 1.8 | 313、265、195、112 | 甘草 |
| 79 | 101.41 | neg | 甘草宁 A、G、M[10,13] | $C_{21}H_{20}O_5$ | 351.123 8 | 351.121 6 | −6.2 | 337、273 | 甘草 |
| 80 | 102.07 | neg | 未知物 | $C_{16}H_{30}O_3$ | 269.212 2 | 269.212 9 | 2.7 | 249、195、178 | 大枣 |
| 81 | 102.17 | neg | 甘草异黄酮 B 或半甘草异黄酮 B[10] | $C_{20}H_{16}O_6$ | 351.087 4 | 351.085 8 | −4.7 | 337、287、269 | 甘草 |
| 82 | 102.25 | neg | 未知物 | $C_{16}H_{30}O_3$ | 269.212 2 | 269.212 5 | 1.0 | 249、239、195、178 | 大枣 |
| 83 | 102.66 | neg | 未知物 | $C_{16}H_{28}O_3$ | 267.196 6 | 267.197 8 | 4.4 | 249、195、178、112 | 大枣 |
| 84 | 102.91 | neg | 未知物 | $C_{16}H_{28}O_3$ | 267.196 6 | 267.196 0 | −2.0 | 178、112 | 大枣 |
| 85 | 102.99 | neg | 甘草类黄酮 P[13] | $C_{22}H_{24}O_5$ | 367.155 1 | 367.154 8 | −0.8 | 180、112 | 甘草 |

*表示参考 TCMSP 数据库化合物数据推测得出结果；#表示经对照品比对确证

*indicates the results obtained by referring to the compound data of the TCMSP database; #indicates that it is confirmed by comparison with the reference substance




a-265 nm UV 图　b-327 nm UV 图　c-甘草泻心汤负离子模式 BPC 图　d-混合对照品负离子模式 BPC 图　e-甘草泻心汤正离子模式 BPC 图　f-混合对照品正离子模式 BPC 图

a-265 nm UV chromatogram　b-327 nm UV chromatogram　c-negative BPC of Gancao Xiexin Decoction　d-negative BPC of mixed reference substances　e-positive BPC of Gancao Xiexin Decoction　f-positive BPC of mixed reference substances

**图 1　甘草泻心汤正、负离子模式基峰离子流图**

**Fig. 1　Base peak ion chromatograms in positive and negative mode of Gancao Xiexin Decoction**

根据文献报道[6]，蔗糖分子式为 $C_{12}H_{22}O_{11}$，离子碎片有 *m/z* 179、119，其中 *m/z* 179 为糖苷键断裂后的葡萄糖半缩醛碎片离子，*m/z* 119 为果糖半缩醛开环所剩的$[C_4H_7O_4]^-$碎片，1 号峰也出现了这 2 个碎片离子，结合其保留时间和大多数组方药材都有该成分的信息推测为蔗糖。

2、3、5 号峰均出现了比分子离子峰少 *m/z* 132 的碎片离子，这 3 个成分都在大枣中有检出，根据计算得到的分子式和大枣相关文献报道[7]、数据库以及对照品信息，符合核苷类化合物尿苷、腺苷和鸟苷，－*m/z* 132 为脱去一分子脱氧核糖，2 号峰的碎片 *m/z* 111 符合尿嘧啶的$[M-H]^-$、3 号峰的碎片 *m/z* 136 符合腺嘌呤的$[M+H]^+$、5 号峰的碎片 *m/z* 150 符合鸟嘌呤的$[M-H]^-$，5 号峰的保留时间和离子峰信息与鸟苷对照品一致，可以确证为鸟苷；4、6 号峰分别含有 *m/z* 136（负谱 *m/z* 134）和 *m/z* 150（正谱 *m/z* 152）的碎片，与准分子离子峰相比减少 *m/z* 194，结合文献报道[7]和数据库，符合环磷酸腺苷和环磷酸鸟苷分别脱去 1 分子环磷酸脱氧核糖的情况。其中核苷类化合物以鸟苷为例，其裂解过程见图 2。

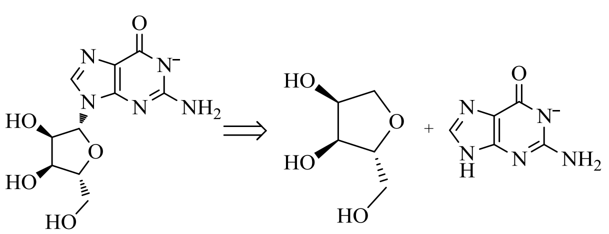


图 2　鸟苷负离子模式质谱裂解过程

**Fig. 2 MS fragmentation pathway of guanosine in negative mode**

17 号峰在正、负离子模式下的准分子离子分别为 *m/z* 419.135 9、417.118 4，元素分析分子式为 $C_{21}H_{22}O_9$，主要碎片离子为 *m/z* 257、255，为脱掉一分子葡萄糖，符合甘草苷的结构信息，经对照品确证为甘草苷。10 号峰在负离子模式下的准分子离子为 *m/z* 579.173 1，其碎片离子 *m/z* 417 比准分子离子少 162，为丢 1 个葡萄糖，*m/z* 417 为甘草苷或异甘草苷，结合文献报道[8]推测为甘草素-4'-*O*-β-*D*-葡萄糖-(1→6)-*O*-β-*D*-葡萄糖苷。

正离子模式下 12、23～27、33、35 号峰由黄连贡献的成分具有远比负离子模式下强的离子峰，提示这是黄连中一系列的生物碱成分，其中 35 号峰 *m/z* 336.125 0 经元素分析分子式为 $C_{20}H_{18}NO_4^+$，经对照品确证为小檗碱。23 号峰 *m/z* 322.109 9 经元素分析分子式为 $C_{19}H_{16}NO_4^+$，符合格陵兰黄连碱的文献信息[9]，25 号峰是 35 号峰同分异构体，根据文献报道[10]推测为表小檗碱，24、26 号峰分子离子峰均为 *m/z* 338，经元素分析分子式为 $C_{20}H_{20}NO_4^+$，根据文献报道[10]，非洲防己碱和药根碱均符合，暂无法区分。

31、37、41 号峰的相对分子质量均为 446，元素分析得到的分子式为 $C_{21}H_{18}O_{11}$，负离子模式下均有丢失一分子葡萄糖醛酸（－176）得到的 *m/z* 269 碎片，且均为黄芩贡献成分，与黄芩素、芹菜素等三羟基黄酮相符，经对照品确认 31 号峰为黄芩苷，37、41 号峰结合文献推测为芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡糖醛酸苷[6]或去甲汉黄芩素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸苷[11]，两者暂无法区分。

### 2.6　化合物药材归属分析

经对比甘草泻心汤与各单味药材离子峰数据，85 个离子峰中有 40 个成分在甘草中有检出，31 个成分在黄芩中有检出，13 个成分在大枣中有检出，11 个成分在黄连中有检出，5 个成分在干姜中有检出，1 个成分在半夏中有检出，其中有部分成分是数种药材共有的成分，而 63 号离子峰在 6 味药材中均未检出，有可能是煎煮过程中新产生的成分，其化合物结构信息有待进一步研究才能确定。

## 3　讨论

本研究利用 HPLC-QTOF/MS 技术对甘草泻心汤和各组成单味药材汤剂进行分析。通过解析推测了大部分主要离子峰的化合物信息，相较于文献报道的各药材中所含的化合物种类繁多，在复方和相同稀释比例的单味药水煎汤剂中检测到的化合物只有 85 种，这其中有可能是因为结构相近的同分异构体的分离困难导致的难以解析，也有可能是传统的水煎汤剂的提取过程对于小极性化合物不能有效提取造成的。因此利用 HPLC-QTOF/MS 技术获得的甘草泻心汤中化学成分信息是比较接近其真实化学物质世界的。HPLC-QTOF/MS 具有较高的灵敏度，能检测含量较小的成分，所获得的质谱数据在没有对照品的情况下通过碎片信息结合文献和数据库能初步推测其化合物信息，对于种类复杂且缺少大量对照品鉴定的中药和中药复方化学成分研究工作提供了快速的研究途径。

较为遗憾的是质谱数据仅能提供化合物质量信息和有限的二级碎片结构信息，对于结构非常相近的同分异构体的分辨还存在很大的困难，但相较

于整个的色谱分离纯化再采用核磁鉴定化合物结构的漫长周期，HPLC-QTOF/MS 基本能满足中药和中药复方中化学成分快速推测鉴定的需求，实际研究过程中再结合化合物在体系中所占的比重或根据计算机模拟分子对接、谱效关系筛选的药效关键离子峰，再有目标地分离纯化或购买可能的对照品进行结构确证。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**参考文献**

[1] 郝万山. 郝万山伤寒论讲稿 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.

[2] 曹志强, 王国义. 甘草泻心汤治疗溃疡性结肠炎的作用研究及临床疗效评价 [J]. 中国全科医学, 2019, 22(S2): 170-172.

[3] 王路颖, 焦圣军, 卢 丹, 等. 从中焦斡旋气机理论浅析甘草泻心汤临床应用 [J]. 环球中医药, 2019, 12(4): 553-554.

[4] 郑文君, 裴静波. 甘草泻心汤方证缕析与体质辨识应用 [J]. 浙江中医杂志, 2017, 52(2): 122-123.

[5] 雷 军, 边清泉, 罗娅君. 高效液相色谱-质谱联用技术在分析中草药黄酮类化学成分方面的应用 [J]. 绵阳师范学院学报, 2012, 31(5): 51-56.

[6] 柴冲冲, 曹 妍, 毛 民, 等. 基于 HPLC 特征图谱、UPLC-Q-TOF/MS 定性及多成分定量的黄芩酒炙前后化学成分变化研究 [J]. 中草药, 2020, 51(9): 2436-2447.

[7] 郝艺铭, 霍金海, 王 涛, 等. UPLC-Q-TOF/MS 技术分析黄连中非生物碱类成分 [J]. 中药材，2020, 143(2): 354-358.

[8] Okamura N, Yagi A, Nishiora I. Studies on the constituents of *Zizyphi Fructus*. Ⅴ. Structures of glycosides of alcohol, vomifoliol and naringenin [J]. *Chem Pharm Bull*, 1981, 29(12): 3507-3514.

[9] 刘圆圆, 杨桠楠, 王 尉, 等. 乌拉尔甘草中两个新的二氢黄酮苷类成分 [J]. 药学学报, 2017, 52(6): 948-951.

[10] Guan Z, Wang M, Cai Y, *et al*. Rapid characterization of the chemical constituents of Sijunzi decoction by UHPLC coupled with Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2018, 1086: 11-22.

[11] 侯晓杰，刘 文，张建锋，等. 黄连-吴茱萸药对 UPLC-MS/MS 指纹图谱研究 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(10): 2331-2333.

[12] 崔园园, 周永峰, 马艳芹, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 法分析生、炙甘草中化学成分的差异性 [J]. 中国药房, 2020, 31(9): 1049-1053.

[13] 赵艳敏, 刘素香, 张晨曦, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术的甘草化学成分分析 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2061-2068.

[14] Wang Z, Wang S, Kuang Y, *et al*. A comprehensive review on phytochemistry, pharmacology, and flavonoid biosynthesis of *Scutellaria baicalensis* [J]. *Pharm Biol*, 2018, 56(1): 465-484.

[15] 陈 俊，陈 聪，彭小芝，等. 基于 UPLC-Q/TOF-MS/MS 的葛根黄芩黄连汤主要成分分析及鉴定 [J]. 中药材, 2019, 42(9): 2074-2078.

[16] Wang J, Wang L, Lou G, *et al*. *Coptidis Rhizoma*: a comprehensive review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology [J]. *Pharm Biol*, 2019, 57(1): 193-225.

[17] 彭 春, 唐 玲, 王 燕. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的三黄片化学成分解析 [J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(7): 757-764.

[18] 马海娟, 高 简, 张亚丽, 等. 基于 HPLC-$MS^n$ 的甘草成分快速鉴定及质谱裂解途径研究 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(3): 1120-1123.

[责任编辑 解学星]