

基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱技术的参松养心胶囊化学成分研究

刘丽伟^{1,2}, 周霖^{1,2}, 李卓伦^{1,2}, 王振辉³, 王晓霞^{1,2}, 姜晓芳^{1,2}, 裴健颖^{1,2}, 乔高星^{1,2}, 薛连平³, 孙志^{1,2}, 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. 河南理工大学医学院, 河南 焦作 454000

摘要: **目的** 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)建立一种快速识别参松养心胶囊中多种化学成分的定性分析方法。**方法** 主要通过先进的 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术捕捉未知化合物的精确相对分子质量及多级碎片离子信息, 同时与对照品的相对保留时间和质谱数据信息进行比对, 并结合相关参考文献以及 Mass Bank、Chemical Book 等网络数据库信息从而实现未知物的准确快速定性。**结果** 共鉴定出 54 种化学成分, 主要包括酚酸类、黄酮类、萜类、醌类、生物碱类及其他类化学成分。**结论** 建立的方法可系统、快速、准确地识别参松养心胶囊中的多种化学成分, 鉴定得到的各类化学成分基本可涵盖组方中各药材的主要成分, 为其药效物质基础研究、质量控制及进一步临床应用等提供了科学的理论依据。

关键词: 参松养心胶囊; 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱; 酚酸类; 黄酮类; 萜类; 醌类; 生物碱类

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)24-5930-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.24.004

Study on chemical constituents of Shensong Yangxin Capsule based on UHPLC-Q-Orbitrap HRMS

LIU Li-wei^{1,2}, ZHOU Lin^{1,2}, LI Zhuo-lun^{1,2}, WANG Zhen-hui³, WANG Xiao-xia^{1,2}, JIANG Xiao-fang^{1,2}, PEI Jian-ying^{1,2}, QIAO Gao-xing^{1,2}, XUE Lian-ping³, SUN Zhi^{1,2}, 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. Medical College, Henan Polytechnic University, Jiaozuo 454000, China

Abstract: Objective To investigate the chemical composition of Shensong Yangxin Capsule, a novel ultra high performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) was employed to establish a method that could identify the ingredients systematically and rapidly. **Methods** The information of accurate mass and multistage fragment ions was obtained by the novel UHPLC-Q-Orbitrap technology. Chemical constituents were characterized by comparing the relative retention time and the mass data of the reference substance, meanwhile consulting the reference literature or the Mass Bank, Chemical Book network database. **Results** A total of 54 compounds were finally identified in this research, including the phenolic acids, flavones, terpenoids, anthraquinones, alkaloids and others. **Conclusion** A method was established in this study to identify various chemical constituents of Shensong Yangxin Capsule systematically, rapidly and accurately. The identified chemical components mostly cover the main constituents of each medicinal material in the formula. Our work will lay a scientific foundation for the bioactive components screening, quality control improvement and further clinical application of this herbal formulation.

Key words: Shensong Yangxin Capsule; UHPLC-Q-Orbitrap HRMS; phenolic acids; flavones; terpenoids; anthraquinones; alkaloids

收稿日期: 2019-05-28

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目(20A350018)

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

参松养心胶囊是由人参、山茱萸、丹参、赤芍、甘松、黄连等 12 味中药材经现代分离方法提取加工而成的中药复方制剂^[1]。该药具有益气养阴、活血通络及清心安神之功效，临床效果显著，常用于气阴两虚、心络瘀阻导致的阵发性心房颤动和冠心病室性早搏，症如心悸不安、气短乏力、动则加剧、胸部闷痛、失眠多梦、盗汗、神倦懒言等^[2]。参松养心胶囊疗效确切，临床应用广泛，虽然目前已有其关于其质量控制的相关研究，然而多数研究仅重点关注了该复方制剂中的个别成分，难以对药物质量进行全面把控^[3-5]。辛海莉等^[6]建立了基于 HPLC 方法的参松养心胶囊指纹图谱，在一定程度上提高了该药物的质控水平，但其仅定性了其中的 2 种化合物，且该方法灵敏度低、特异性差、分析时间较长，也未能实现对药物中的主要活性成分进行全面、快速、准确地识别。中药复方是在传统中医药理论的指导下，依照“君臣佐使”的配伍原则，由数种单味药材配伍组成的统一整体。多成分、多靶点结合是中药治疗疾病的基本思想，同时也是其发挥增效减毒作用的药理学基础。因此，中药的有效性是药材中所有活性物质综合作用的体现，单一物质并不能发挥化学成分群的协同效应，也难以客观反映药材的真实质量。中药质量和安全问题直接关系到中医药的发展，目前已经愈来愈受到广泛重视和关注，而科学、有效的质量标准则是保证其临床用药有效性、安全性和稳定性的关键准绳，因此，当前亟需建立一种系统、简便、准确的方法以对中药质量进行更加科学的评价和把控^[7]。

随着现代科技的进步，液质联用技术借助于其高精度、高灵敏度和高选择性的特点，已广泛应用于中药活性成分分析和质量控制研究中，并展现出其全面筛选未知化合物强大的优势^[8]。本研究采用灵敏度高、准确性好的超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨率质谱 (ultra performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry, UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) 技术，建立一种系统分析参松养心胶囊中主要活性成分的快速识别方法。根据高分辨质谱获得的精准相对分子质量、多级碎片离子峰、保留时间及对照品和相关参考文献信息，可快速分析鉴定该药物中的未知活性成分，并明确其药材归属。本研究对今后探索中药复杂体系化学组成具有广泛的借鉴意义，为参松养心胶囊的药效物质基础研究和

其质量控制水平的进一步提升奠定了科学基础。

1 仪器与试剂

UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 高分辨液质联用仪：Ultimate 3000 型超高效液相色谱仪（美国 Dionex 公司），Q Exactive 型高分辨质谱（美国 Thermo FisherScientific 公司）。ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱（50 mm×2.1 mm，1.7 μm，美国 Waters 公司）；New Classic MS 型十万分之一分析天平（瑞士 Mettler Toledo 上海有限公司）；BX7200HP 台式超声波清洗器（上海新苗医疗器械制造有限公司）。

参松养心胶囊（批号 1811038，北京以岭药业有限公司），对照品甜菜碱（批号 MUST-17032105）、没食子酸（批号 MUST-15042910）、丹参素（批号 MUST-15082714）、丹参素钠（批号 MUST-16030206）、原儿茶醛（批号 MUST-15091608）、原儿茶酸（批号 MUST-16032112）、(+)-儿茶素（批号 MUST-16030812）、绿原酸（批号 MUST-16031610）、咖啡酸（批号 MUST-15090803）、芍药苷（批号 MUST-15090711）、鞣花酸（批号 MUST-17052603）、芦丁（批号 MUST-16031812）、金丝桃苷（批号 MUST-16032113）、芍药内酯苷（批号 MUST-16051601）、木犀草苷（批号 MUST-16012405）、迷迭香酸（批号 MUST-15082904）、人参皂苷 Rg₁（批号 MUST-17021414）、阿魏酸（批号 MUST-15091605）、黄芩苷（批号 MUST-18010410）、丹酚酸 A（批号 MUST-16012810）、丹酚酸 B（批号 MUST-15081916）、木犀草素（批号 MUST-16011015）、槲皮素（批号 MUST-16031804）、芹菜素（批号 MUST-16061301）、山柰酚（批号 MUST-16032801）、黄芩素（批号 MUST-17031608）、人参皂苷 Re（批号 MUST-17020715）、五味子醇甲（批号 MUST-17021905）、丹参酮 I（批号 MUST-16030210）、隐丹参酮（批号 MUST-16022403）、五味子甲素（批号 MUST-17022401）、丹参酮 II_A（批号 MUST-15092512），均购于成都曼思特生物科技有限公司；大黄素（wkq16071004）、二氢丹参酮 I（批号 wkq16072105）对照品购于四川维克奇生物科技有限公司；所有对照品质量分数均≥98%。甲醇（色谱纯，美国 Fisher 公司），乙腈（色谱纯，美国 Fisher 公司），水为超纯水，其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 色谱及质谱条件

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); 以乙腈为流动相 A, 0.1%甲酸水溶液为流动相 B, 梯度洗脱, 洗脱程序为 0~3 min, 5% A; 3~30 min, 5%~100% A; 30~35 min, 100% A; 体积流量为 0.2 mL/min; 进样量 5 μL; 柱温 40 °C。

2.1.2 质谱条件 UHPLC-Q Exactive 型液质联用系统: 离子源采用 HESI 源 (heated ESI), 辅助气温度为 300 °C, 辅助气体积流量为 10 μL/min, 离子传输管温度 320 °C; 正离子模式: 喷雾电压 3.50 kV, 鞘气体积流量 40 μL/min; 负离子模式: 喷雾电压 2.80 kV, 鞘气体积流量 38 μL/min。扫描方式: 采用正、负离子 Full MS/dd-MS2 同时扫描模式, 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, 质荷比窗口宽度为 2, 碰撞能梯度为 20、40、60 eV, 扫描范围 m/z 80~1 200。

2.2 供试品溶液的制备

取本品 3 粒, 去壳后, 取内容物约 1.0 g, 精密称定后, 置具塞锥形瓶中, 并精密加入纯甲醇 30 mL, 超声提取 (50 Hz, 20 min), 滤纸滤过, 后经 0.22 μm 微孔滤膜滤过即得供试品溶液。

2.3 对照品溶液的制备

取各对照品约 1.0 mg, 精密称定后, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加入纯甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 使最终制备成质量浓度为 0.1 mg/mL 的单一对照品储备液; 分别精密量取单一对照品储备液适量, 将其混合后加入纯甲醇稀释, 最后使得混合对照品溶液中各化合物质量浓度均为 1 μg/mL。

2.4 化合物结构分析

进样分析后, 根据高分辨质谱捕捉到的准分子离子和加和离子等信息推测并得到一级质谱的精准相对分子质量, 经 Xcalibur 2.0 软件拟合可能的分子式, 并与 CD (compound discovery, 2.1) 鉴定软件、Mass Frontier 7.0 鉴定软件等进行匹配, 对各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碎片离子信息, 进一步推断化学成分。

3 结果

参松养心胶囊样品及混合对照品溶液在优化的色谱及质谱条件下采集得到的 UHPLC-Q-Orbitrap 总离子流图, 分别见图 1、2。根据“2.3”项下的化合物结构分析方法, 共鉴定得到 54 种化学成分, 其中 33 种经对照品比对确证, 结果见表 1。

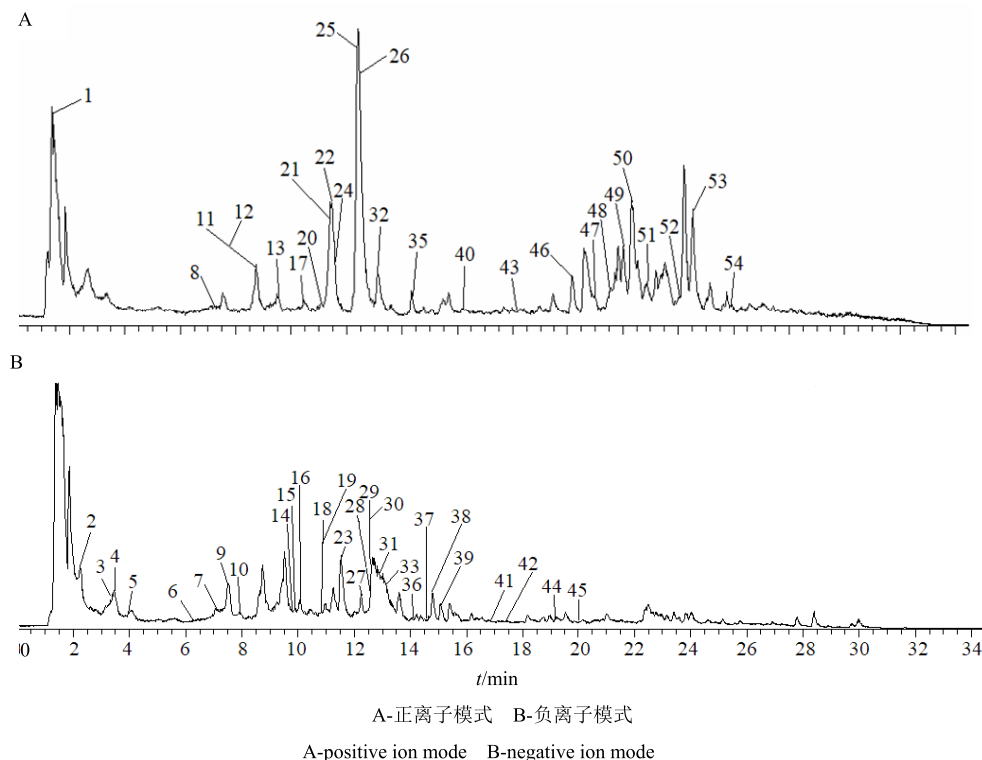


图 1 参松养心胶囊总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatography of Shensong Yangxin Capsule

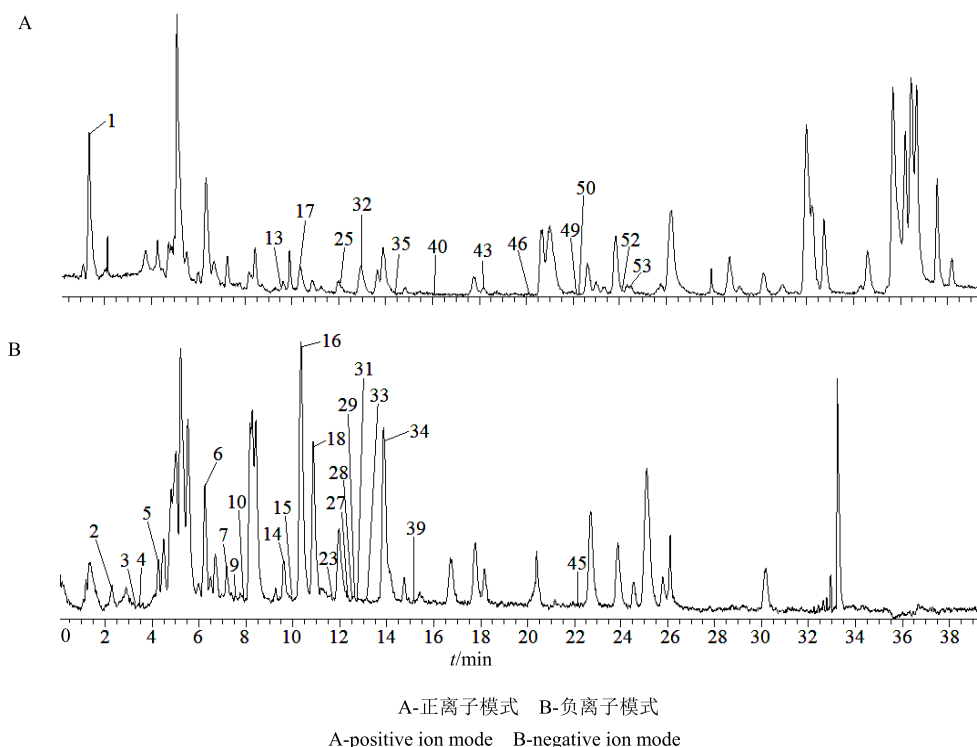


图 2 混合对照品总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatography of mixed standard references

表 1 参松养心胶囊化学成分鉴定结果

Table 1 Chemical composition identified in Shensong Yangxin Capsule

峰号	名称	分子式	模式	t_R/min	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	偏差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	归属
1	甜菜碱*	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$	p	1.38	118.086 25	118.085 85	-3.431	72.08 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2]^+$	h, s
2	没食子酸*	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	n	2.26	169.014 24	169.013 92	-1.932	125.02 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$	c, g, s
3	丹参素*	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$	n	3.46	197.045 54	197.045 15	-2.013	179.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$, 135.05 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$, 123.05 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-2\text{CO}_2]^-$	d
4	丹参素钠*	$\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_5\text{Na}$	n	3.48	219.027 49	219.027 05	-2.105	205.01 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2]^-$	d
5	原儿茶酸*	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$	n	4.02	153.019 33	153.019 07	-1.712	109.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$	c, d, g
6	原儿茶醛*	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$	n	6.36	137.024 41	137.024 12	-2.170	93.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$	h, d
7	儿茶素*	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	n	7.28	289.071 76	289.071 41	-1.216	221.08 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{O}_2]^-$, 175.08 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{O}_2-\text{CH}_2\text{O}_2]^-$, 121.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{O}_2-\text{CO}_2-\text{C}_4\text{H}_8]^-$	c
8	木兰花碱 ^[9]	$[\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{NO}_4]^+$	p	7.32	342.169 98	342.169 04	-2.761	297.11 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}]^+$, 282.09 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_3]^+$, 265.09 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_3-\text{OH}]^+$, 237.09 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_3-\text{OH}-\text{CO}]^+$, 222.07 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_3-\text{OH}-\text{CO}-\text{CH}_3]^+$, 205.06 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_4\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3-\text{OH}]^+$	h
9	绿原酸*	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	n	7.51	353.087 80	353.087 25	-1.573	191.06 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3]^-$	g, h
10	咖啡酸*	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	n	7.96	179.034 98	179.034 74	-1.352	135.05 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$	g, d
11	马钱苷	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	p	8.74	413.141 81	413.140 08	-4.207	395.13 $[\text{M}+\text{Na}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 251.09 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$, 219.06 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_4\text{O}]^+$, 185.04 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_5]^+$	s
12	紫堇定	$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_4$	p	8.74	342.169 98	342.168 67	-3.842	297.11 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}]^+$, 282.09 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_3]^+$, 265.09 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_3-\text{OH}]^+$, 237.09 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_3-\text{OH}-\text{CO}]^+$, 222.07 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_3-\text{OH}-\text{CO}-\text{CH}_3]^+$, 205.06 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_4\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3-\text{OH}]^+$	h
13	芍药苷*	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	p	9.50	503.152 38	503.150 63	-3.484	341.10 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$, 219.06 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2]^+$, 185.04 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_6]^+$	c

续表 1

峰号	名称	分子式	模式	t_R/min	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	偏差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	归属
14	鞣花酸*	$\text{C}_{14}\text{H}_6\text{O}_8$	n	9.87	300.998 99	300.998 63	-1.197	273.01 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}]^-$, 245.01 $[\text{M}-\text{H}-2\text{CO}]^-$, 201.02 $[\text{M}-\text{H}-2\text{CO}-\text{CO}_2]^-$, 157.03 $[\text{M}-\text{H}-2\text{CO}-2\text{CO}_2]^-$	c
15	芦丁*	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	n	9.91	609.146 10	609.145 57	-0.883	—	d, w
16	金丝桃苷*	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	n	10.10	463.088 19	463.087 71	-1.056	300.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_3]^-$, 271.02 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5-\text{CHO}]^-$, 255.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5-\text{CHO}-\text{O}]^-$	w
17	芍药内酯苷*	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	p	10.43	503.152 38	503.152 10	-0.562	341.10 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3]^+$, 219.06 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2]^+$, 185.04 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_6]^+$	c
18	木犀草苷*	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	n	10.97	447.093 28	447.092 77	-1.151	284.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_3]^-$, 255.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5-\text{CHO}]^-$, 227.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5-\text{CHO}-\text{CO}]^-$, 151.00 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5-\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_2]^-$, 121.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5-\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4]^-$, 107.01 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5-\text{C}_9\text{H}_5\text{O}_4]^-$	g
19	丹酚酸 D ^[10]	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$	n	10.97	417.082 71	417.081 94	-1.870	373.09 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$, 197.05 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_5]^-$, 175.04 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$	d
20	药根碱/非洲防己碱	$[\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{NO}_4]^+$	p	11.36	338.138 68	338.137 12	-4.627	322.11 $[\text{M}-\text{CH}_4]^+$, 308.09 $[\text{M}-\text{CH}_4-\text{CH}_2]^+$, 294.11 $[\text{M}-\text{CH}_4-\text{CO}]^+$, 279.09 $[\text{M}-\text{CH}_4-\text{CO}-\text{CH}_3]^+$, 265.07 $[\text{M}-\text{CH}_4-\text{CO}-\text{CH}_3-\text{CH}_2]^+$	h
21	小檗碱 ^[9,11]	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_4$	p	11.41	336.123 03	336.121 83	-3.584	321.10 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$, 320.09 $[\text{M}-\text{CH}_4]^+$, 306.08 $[\text{M}-\text{CH}_4-\text{CH}_2]^+$, 292.10 $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{CHO}]^+$, 278.08 $[\text{M}-\text{CH}_4-\text{CH}_2-\text{CO}]^+$, 262.09 $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{CHO}-\text{CH}_2\text{O}]^+$	h
22	黄连碱 ^[11]	$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NO}_4$	p	11.47	320.091 73	320.090 48	-3.919	292.10 $[\text{M}-\text{CO}]^+$, 262.09 $[\text{M}-\text{CO}-\text{CH}_2\text{O}]^+$, 204.08 $[\text{M}-\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	h
23	迷迭香酸*	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_8$	n	11.52	359.077 24	359.076 57	-1.868	197.05 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3]^-$, 179.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3-\text{H}_2\text{O}]^-$, 161.02 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3-\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}]^-$	d
24	药根碱/非洲防己碱 ^[11]	$[\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{NO}_4]^+$	p	11.54	338.138 68	338.137 08	-4.745	322.11 $[\text{M}-\text{CH}_4]^+$, 308.09 $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{CH}_3]^+$, 294.11 $[\text{M}-\text{CH}_4-\text{CO}]^+$, 279.09 $[\text{M}-\text{CH}_4-\text{CO}-\text{CH}_3]^+$, 265.07 $[\text{M}-\text{CH}_4-\text{CO}-\text{CH}_3-\text{CH}_2]^+$	h
25	人参皂苷 R _{g1} *	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{14}$	p	12.23	823.481 42	823.478 21	-3.908	643.42 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^+$, 203.05 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_8]^+$	r
26	巴马汀 ^[11]	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{NO}_4$	p	12.33	352.154 33	352.152 92	-4.017	337.13 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$, 336.12 $[\text{M}-\text{CH}_4]^+$, 322.11 $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{CH}_3]^+$, 308.13 $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}]^+$, 294.11 $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{CH}_3-\text{CO}]^+$, 278.08 $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}-\text{CH}_3-\text{CH}_3]^+$, 264.10 $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{CH}_3-\text{CO}-\text{CH}_2\text{O}]^+$, 250.09 $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}-\text{CH}_3-\text{CH}_3-\text{CO}]^+$	h
27	阿魏酸*	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	n	12.40	193.050 63	193.050 23	-2.083	178.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3]^-$, 149.06 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$, 134.04 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3-\text{CO}_2]^-$	h
28	黄芩苷 ^[12]	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$	n	12.52	445.077 63	445.077 27	-0.819	269.05 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^-$, 223.04 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{CO}-\text{H}_2\text{O}]^-$, 197.06 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{CO}-\text{CO}_2]^-$, 169.07 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{CO}-\text{CO}_2-\text{CO}]^-$	c, d
29	丹酚酸 A*	$\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	n	12.63	493.114 02	493.113 25	-1.562	295.06 $[\text{M}-\text{H}-\text{salviaicoid}]^-$, 185.02 $[\text{M}-\text{H}-\text{salviaicoid}-\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2]^-$, 109.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{salviaicoid}-\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_3]^-$	d
30	丹酚酸 C ^[10]	$\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	n	12.63	491.098 37	491.097 99	-0.774	311.06 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4]^-$, 293.05 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4-\text{H}_2\text{O}]^-$, 249.06 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2]^-$, 135.05 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}_2-\text{C}_8\text{H}_2\text{O}]^-$	d
31	丹酚酸 B*	$\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	n	12.86	717.146 10	717.144 90	-1.684	519.09 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3]^-$, 339.05 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4]^-$, 321.04 $[\text{M}-\text{H}-2\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 295.06 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_6]^-$, 293.05 $[\text{M}-\text{H}-2\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CO}]^-$, 277.05 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4-\text{CO}_2-\text{H}_2\text{O}]^-$, 185.02 $[\text{M}-\text{H}-2\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_3]^-$, 109.03 $[\text{M}-\text{H}-2\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_{12}\text{H}_4\text{O}_4]^-$	d
32	木犀草素*	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	p	13.00	287.055 01	287.053 99	-3.569	153.02 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_2]^+$, 135.04 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4]^+$	g
33	槲皮素*	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	n	13.06	301.035 37	301.034 85	-1.747	179.00 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2]^-$, 151.00 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2-\text{CO}]^-$, 107.01 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2-\text{CO}-\text{CO}_2]^-$	j, d
34	芹菜素*	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	n	14.22	269.045 54	269.045 20	-1.289	225.06 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$, 151.00 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}]^-$, 117.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4]^-$, 107.01 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}-\text{CO}_2]^-$	c
35	山柰酚*	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	p	14.49	287.055 01	287.054 20	-2.838	183.03 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}]^+$, 165.02 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2]^+$, 153.02 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_2]^+$, 137.02 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_3]^+$, 121.02 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4]^+$, 105.03 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_5]^+$	c
36	香叶木素 ^[13]	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	n	14.59	299.056 11	299.055 88	-0.774	284.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3]^-$, 256.04 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3-\text{CO}]^-$, 151.00 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2]^-$	g

续表 1

峰号	名称	分子式	模式	t_R/min	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	偏差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	归属
37	丹酚酸 F ^[10]	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	n	14.77	313.071 76	313.071 26	-1.602	269.08 [M-H-CO ₂] ⁻	d
38	刺槐素 ^[13]	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	n	15.10	283.061 19	283.060 61	-2.073	177.02 [M-H-C ₇ H ₆ O] ⁻ , 161.02 [M-H-C ₇ H ₆ O ₂] ⁻ , 151.00 [M-H-C ₉ H ₈ O] ⁻ , 133.03 [M-H-CH ₃ -C ₇ H ₃ O ₃] ⁻	g
39	黄芩素*	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	n	15.31	269.045 54	269.045 29	-0.954	251.03 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 241.05 [M-H-CO] ⁻ , 223.04 [M-H-CO-H ₂ O] ⁻ , 197.06 [M-H-CO-CO ₂] ⁻ , 169.07 [M-H-CO-CO ₂ -CO] ⁻	c
40	人参皂苷 Re*	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	p	16.15	969.539 33	969.539 55	0.220	789.47 [M+Na-C ₆ H ₁₂ O ₆] ⁺ , 365.10 [M+Na-C ₆ H ₁₂ O ₆ -C ₃₀ H ₄₈ O] ⁺ , 203.05 [M+Na-C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂] ⁺	r
41	丹参二醇 A ^[14]	C ₁₈ H ₁₆ O ₅	n	16.80	311.092 49	311.092 47	-0.086	296.07 [M-H-CH ₃] ⁻ , 267.10 [M-H-CO ₂] ⁻ , 223.11 [M-H-CO ₂ -CO ₂] ⁻ , 207.08 [M-H-CO ₂ -CO ₂ -CH ₄] ⁻ , 195.12 [M-H-CO ₂ -CO ₂ -CO] ⁻	d
42	毛蕊异黄酮 ^[15]	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	n	17.49	283.061 19	283.060 85	-1.225	268.04 [M-H-CH ₃] ⁻ , 240.04 [M-H-CH ₃ -CO] ⁻ , 107.01 [M-H-C ₁₀ H ₈ O ₃] ⁻	c
43	五味子醇甲*	C ₂₄ H ₃₂ O ₇	P	18.27	433.222 07	433.220 83	-2.885	415.21 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 400.19 [M+H-H ₂ O-CH ₃] ⁺ , 384.19 [M+H-H ₂ O-CH ₃ O] ⁺ , 369.17 [M+H-H ₂ O-CH ₃ O-CH ₃] ⁺ , 353.17 [M+H-H ₂ O-CH ₃ O-CH ₃ O] ⁺ , 346.14 [M+H-H ₂ O-C ₃ H ₉] ⁺ , 331.12 [M+H-H ₂ O-C ₃ H ₉ -CH ₃] ⁺	w
44	5,4'-二羟基-7-甲氧基黄酮 ^[16]	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	n	19.23	283.061 19	283.060 85	-1.225	117.03 [M-H-C ₈ H ₆ O ₄] ⁻ , 105.03 [M-H-C ₉ H ₆ O ₄] ⁻	t
45	大黄素*	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	n	20.01	269.045 54	269.045 35	-0.731	241.05 [M-H-CO] ⁻ , 225.06 [M-H-CO ₂] ⁻	h
46	二氢丹参酮 I*	C ₁₈ H ₁₄ O ₃	p	20.18	279.101 57	279.100 77	-2.869	149.02 [M+H-C ₁₀ H ₁₀] ⁺	d
47	丹参酮 V ^[17]	C ₁₉ H ₂₂ O ₄	p	21.00	315.159 08	315.158 29	-2.525	297.15 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 215.11 [M+H-H ₂ O-C ₃ H ₆ O] ⁺ , 201.09 [M+H-H ₂ O-C ₃ H ₆ O-CH ₂] ⁺ , 183.08 [M+H-H ₂ O-C ₃ H ₆ O-CH ₂ -H ₂ O] ⁺	d
48	丹参隐螺内酯 ^[18]	C ₁₇ H ₁₆ O ₃	p	21.51	269.117 22	269.116 46	-2.827	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] ⁺ , 205.10 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-CO] ⁺ , 190.08 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-CO-CH ₃] ⁺	d
49	丹参酮 I*	C ₁₈ H ₁₂ O ₃	p	22.27	277.085 92	277.085 24	-2.457	249.09 [M+H-CO] ⁺ , 221.10 [M+H-2CO] ⁺ , 193.10 [M+H-3CO] ⁺ , 178.08 [M+H-3CO-CH ₃] ⁺	d
50	隐丹参酮*	C ₁₉ H ₂₀ O ₃	p	22.33	297.148 52	297.147 86	-2.225	282.13 [M+H-CH ₃] ⁺ , 279.14 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 268.11 [M+H-C ₂ H ₃] ⁺ , 253.09 [M+H-C ₂ H ₃ -CH ₃] ⁺ , 251.14 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 237.09 [M+H-H ₂ O-C ₃ H ₆] ⁺ , 227.07 [M+H-C ₃ H ₁₀] ⁺	d
51	五味子乙素	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	p	22.92	401.195 86	401.194 85	-2.530	386.17 [M+H-CH ₃] ⁺ , 370.08 [M+H-CH ₃ -CO] ⁺ , 359.15 [M+H-C ₃ H ₆] ⁺ , 345.13 [M+H-C ₄ H ₈] ⁺ , 301.11 [M+H-C ₆ H ₁₂ O] ⁺ , 286.08 [M+H-C ₆ H ₁₂ O-CH ₃] ⁺ , 270.09 [M+H-C ₆ H ₁₂ O-CH ₃ O] ⁺ , 254.09 [M+H-C ₄ H ₈ -C ₃ H ₇ O ₃] ⁺ , 181.09 [M+H-C ₄ H ₈ -C ₉ H ₈ O ₃] ⁺	w
52	五味子甲素*	C ₂₄ H ₃₂ O ₆	p	24.20	417.227 16	417.226 17	-2.385	402.20 [M+H-CH ₃] ⁺ , 386.21 [M+H-CH ₃ O] ⁺ , 347.15 [M+H-C ₃ H ₁₀] ⁺ , 316.13 [M+H-C ₃ H ₁₀ -CH ₃ O] ⁺ , 301.11 [M+H-C ₃ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃] ⁺ , 285.11 [M+H-C ₃ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃ O] ⁺ , 270.09 [M+H-C ₃ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃ O-CH ₃] ⁺ , 242.09 [M+H-C ₃ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃ O-CH ₃ -CO] ⁺ , 227.07 [M+H-C ₃ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃ O-CH ₃ -CO-CH ₃] ⁺	w
53	丹参酮 II _A *	C ₁₉ H ₁₈ O ₃	p	24.52	295.132 87	295.132 23	-2.172	277.12 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 249.13 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 235.08 [M+H-H ₂ O-C ₃ H ₆] ⁺ , 221.13 [M+H-H ₂ O-CO-CO] ⁺ , 207.08 [M+H-H ₂ O-CO-C ₃ H ₆] ⁺	g, d
54	羟基丹参酮 II _A ^[19]	C ₁₉ H ₁₈ O ₄	p	25.90	311.127 78	311.126 80	-3.168	293.12 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 267.14 [M+H-CO ₂] ⁺ , 255.10 [M+H-C ₃ H ₄ O] ⁺ , 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] ⁺ , 197.06 [M+H-C ₃ H ₄ O-C ₃ H ₆ O] ⁺	d

*经对照品比对 c-赤芍 d-丹参 g-甘松 h-黄连 j-桑寄生 w-南五味子 r-人参 s-山茱萸 t-土鳖虫 p-正离子模式 n-负离子模式

*means that compounds were confirmed by standard references c-*Radix Rubrus Paeoniae Lactiflorae* d-*Radix Salviae Miltiorrhizae* g-*Radix et Rhizoma Nardostachyos* h-*Rhizoma Coptidis* j-*Radix Loranthei Seu Visci* w-*Radix Kadsurae Longipedunculatae* r-*Radix Ginseng* s-*Fructus Macrocarpii* t-*Eupolyphaga Seu Steleophaga* p-positive ion mode n-negative ion mode

3.1 酚酸类

酚酸类化合物是植物体内的一类重要次生代谢产物,广泛分布于药用植物中。质谱扫描过程中常以 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰形式存在,高能碰撞下易产生 $[M-H-H_2O]^-$ 或 $[M-H-CO_2]^-$ 中性丢失的碎片离子;当化合物结构中含没食子酸时,易产生没食子酸丢失 $[M-H-gallicacid]^-$ 和没食子酸的残基碎片离子;当化合物结构中含咖啡酸时,易产生咖啡酰基的丢失 $[M-H-caffeoyl]^-$ 和咖啡酸碎片离子^[20]。本研究从参松养心胶囊中鉴定出的酚酸类化合物共有 15 种,主要包括丹酚酸 B、丹酚酸 A、阿魏酸、咖啡酸、迷迭香酸、没食子酸、原儿茶酸、丹参素、丹参素钠、丹酚酸 C、丹酚酸 D、丹酚酸 F、绿原酸、原儿茶醛、鞣花酸。

以丹酚酸 B 为例,该化合物在供试品中的保留

时间为 12.86 min,在混合对照品中的保留时间为 12.88 min,该化合物在负离子模式下失去 H^+ ,得到 m/z 717.144 90 的准分子离子峰 $[M-H]^-$,并经 Xcalibar 软件拟合可能的分子式为 $C_{36}H_{30}O_{16}$,此外,高能碰撞下得到的多级碎片离子信息主要有 m/z 519.09 $[M-H-C_9H_{10}O_5]^-$, 339.05 $[M-H-C_9H_{10}O_5-C_9H_8O_4]^-$, 321.04 $[M-H-C_9H_{10}O_5-C_9H_{10}O_5]^-$, 295.06 $[M-H-C_9H_{10}O_5-C_{10}H_8O_6]^-$, 277.05 $[M-H-C_9H_{10}O_5-C_9H_{10}O_5-CO]^-$, 277.05 $[M-H-C_9H_{10}O_5-C_9H_8O_4-CO_2-H_2O]^-$, 185.02 $[M-H-C_9H_{10}O_5-C_9H_{10}O_5-C_7H_4O_3]^-$, 109.02 $[M-H-C_9H_{11}O_5-C_9H_{10}O_5-C_{12}H_4O_4]^-$,推测其裂解途径符合酚酸类化合物的裂解规律,并与对照品对比,最终确定该化合物为丹酚酸 B,其质谱裂解途径见图 3。

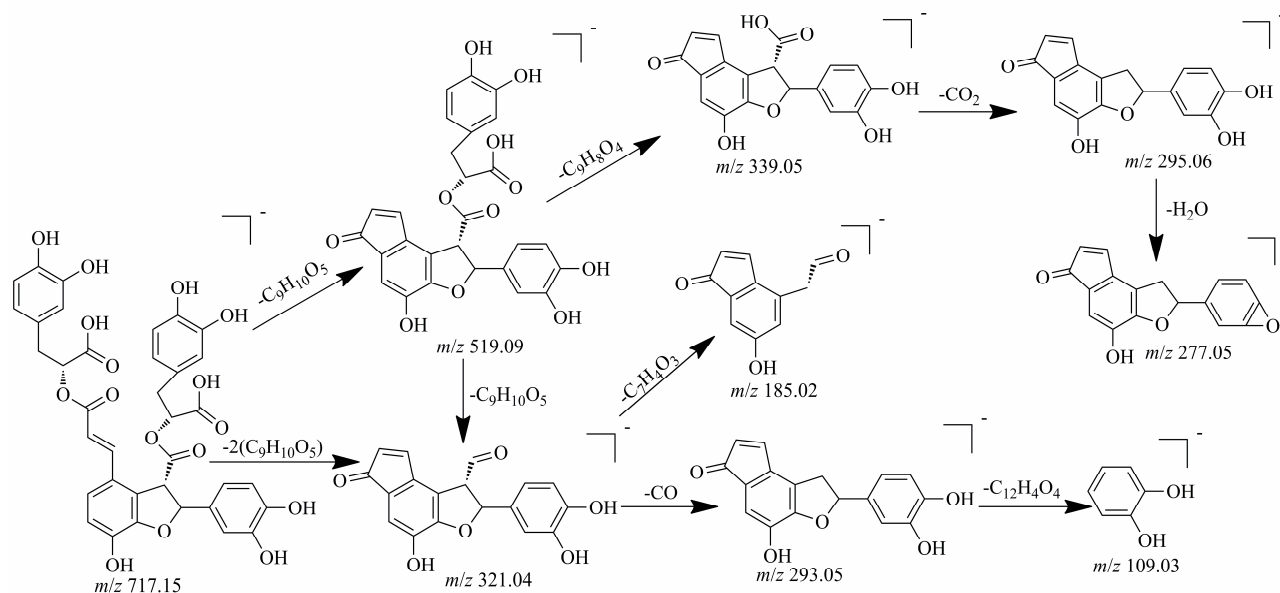


图 3 丹酚酸 B 的质谱裂解途径

Fig. 3 MS fragmentation pathways of salvianolic acid B

3.2 黄酮类

黄酮类物质是一类具有 2-苯基色原酮母核结构的化合物,现泛指 2 个苯环(A 环和 B 环)通过三碳链相互连接而成的 $C_6-C_3-C_6$ 基本碳架结构,该类化合物广泛存在于自然界,多数分布于双子叶植物及裸子植物中。查阅相关文献,可知黄酮类化合物在质谱条件下的断裂方式主要有包括 CO 、 CO_2 、 C_2H_2O 、 H_2O 等中性分子的丢失及 RDA 裂解(图 4)以及糖基的断裂^[21]。本研究在参松养心胶囊中共鉴定出 14 种黄酮类化合物,分别为芹菜素、(+)-儿茶素、槲皮素、金丝桃苷、刺槐素、香叶木素、木犀

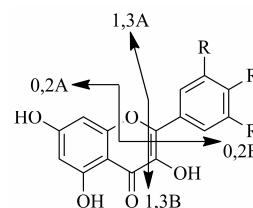


图 4 黄酮类化合物的主要裂解方式

Fig. 4 MS fragmentation patterns of flavonoids compounds

草素、木犀草苷、黄芩苷、5,4'-二羟基-7-甲氧基黄酮、毛蕊异黄酮、芦丁、山柰酚、黄芩素。

以芹菜素为例,该化合物在供试品中的保留时

间为 14.22 min, 在混合对照品中的保留时间为 14.24 min, 一级质谱信息显示其在负离子模式下响应较正离子好, 并得到 m/z 269.045 20 的准分子离子峰 $[M-H]^-$, 经 Xcalibar 软件拟合后推测其分子式为 $C_{15}H_{10}O_5$, 该化合物的二级离子碎片信息主要有 m/z 225.06、 m/z 151.00、 m/z 117.03、 m/z 107.01 分别对应 $[M-H-CO_2]^-$ 、 $[M-H-C_8H_6O]^-$ 、 $[M-H-C_7H_4O_4]^-$ 、 $[M-H-C_8H_6O]^-$; 推测其裂解途径符合黄酮类化合物的裂解规律, 并与对照品对比, 最终确定该化合物为芹菜素, 其质谱裂解途径见图 5。

3.3 萜类

萜类化合物是一类分子骨架以异戊二烯单元 (C5 单元) 为基本结构单元的化合物及其衍生物。本研究鉴定得到的萜类成分主要包括: 单萜类成分, 即芍药苷、芍药内酯苷; 三萜类成分, 即人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re ; 环烯醚萜类成分, 即马钱苷。这 5 种成分皆为萜类糖苷类成分, 该类成分通常在正离子模式下响应比负离子好, 质谱高能碰撞下易生成发生糖苷键的断裂而逐步脱去葡萄糖基的特征碎片离子。

以人参皂苷 Rg_1 为例, 该化合物在供试品中的

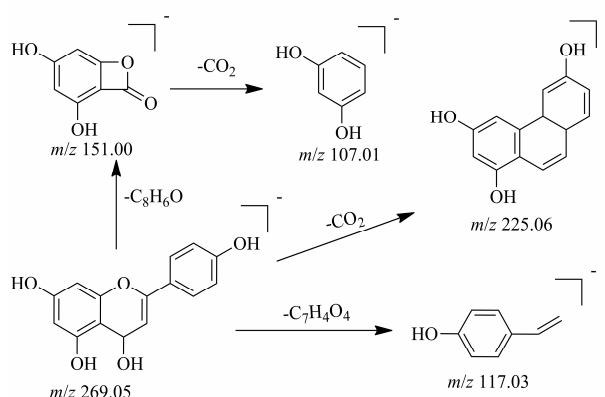


图 5 芹菜素的质谱裂解途径

Fig. 5 MS fragmentation pathways of apigenin

保留时间为 12.23 min, 在混合对照品中的保留时间为 12.25 min, 质谱采集得到 m/z 823.478 21 的准分子离子峰 $[M+Na]^+$, 经 Xcalibar 软件拟合后推测其分子式为 $C_{42}H_{72}O_{14}$, 二级碎片离子信息主要有 m/z 643.42 $[M+Na-C_6H_{12}O_6]^+$, 203.05 $[M+Na-C_6H_{12}O_6-C_{30}H_{48}O_2]^+$, 并与对照品进行比对, 最终确定该化合物为人参皂苷 Rg_1 , 其质谱裂解途径见图 6。

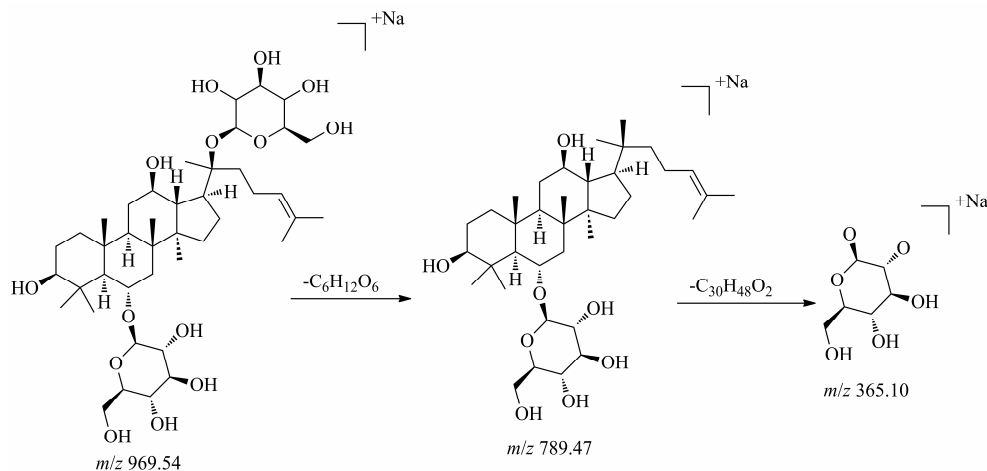


图 6 人参皂苷 Rg_1 的质谱裂解途径

Fig. 6 MS fragmentation pathways of ginsenoside Rg_1

3.4 醌类

醌类化合物是一类具有醌式结构的化学成分, 主要分为苯醌、萘醌、菲醌和蒽醌 4 种类型; 在中药中以蒽醌及其衍生物分布较多且具有重要的生物活性。该类化合物在质谱高能碰撞下会逐步失去 CO 分子, 且伴随 CO_2 丢失; 苯环上的取代基, 如 CH_3 、 CH_3O 易丢失形成碎片离子; 另外蒽醌苷类成分易发生苷键断裂而丢失糖苷配基^[22]。本品中共鉴别出 9 种蒽醌类化合物, 包括隐丹参酮、大黄素、

二氢丹参酮 I、丹参酮 II_A、丹参二醇 A、丹参酮 V、羟基丹参酮 II_A、丹参酮 I、丹参隐螺内酯。

以隐丹参酮为例, 该化合物在样品中的保留时间为 22.33 min, 在混合对照品中的保留时间同样也为 22.35 min, 一级质谱信息显示其在正离子模式下响应较负离子好, 并得到 m/z 297.147 86 的准分子离子峰 $[M+H]^+$, 经 Xcalibar 软件拟合后推测其分子式为 $C_{19}H_{20}O_3$, 该化合物的二级碎片离子信息主要有 m/z 282.13 $[M+H-CH_3]^+$, 279.14 $[M+H-$

$\text{H}_2\text{O}]^+$, 268.11 $[\text{M} + \text{H} - \text{C}_2\text{H}_5]^+$, 253.09 $[\text{M} + \text{H} - \text{C}_2\text{H}_5 - \text{CH}_3]^+$, 251.14 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_2\text{O} - \text{CO}]^+$, 237.09 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_2\text{O} - \text{C}_3\text{H}_6]^+$, 227.070 86 $[\text{M} + \text{H} - \text{C}_5\text{H}_{10}]^+$, 发现其符合醌类化合物的裂解规律, 结合对照品等相关信息进行对比, 因此确定该化合物为隐丹参酮, 其质谱裂解途径见图 7。

3.5 生物碱类

生物碱是一类含氮的有机化合物, 多数为含氮杂环结构, 植物中的生物碱多数以生物碱盐的形式存在。本研究鉴定得到的生物碱类化合物主要来源于参松养心胶囊中的黄连药材, 包括小檗碱、黄连碱、药根碱、非洲防己碱、巴马汀、紫堇定、木兰花碱及甜菜碱。该类化合物在正离子模式下的响应高于负离子模式, 高能碰撞下易产生 CO 、 CO_2 、 CH_4 、 CH_2 等中性分子丢失的碎片离子。

以小檗碱为例, 该化合物在供试品中的保留时间为 11.41 min, 因该化合物自身带正电荷, 所以采用正离子模式, 得到 m/z 336.121 83 的一级准分子离子峰; 在高能碰撞下产生的主要碎片信息有 m/z 321.10、 m/z 320.09、 m/z 306.08、 m/z 292.10、 m/z 278.08、 m/z 262.09 分别对应 $[\text{M} - \text{CH}_3]^+$ 、 $[\text{M} - \text{CH}_4]^+$ 、 $[\text{M} - \text{CH}_4 - \text{CH}_2]^+$ 、 $[\text{M} - \text{CH}_3 - \text{CHO}]^+$ 、 $[\text{M} - \text{CH}_4 - \text{CH}_2 - \text{CO}]^+$ 、 $[\text{M} - \text{CH}_3 - \text{CHO} - \text{CH}_2\text{O}]^+$, 发

现其符合生物碱类化合物的裂解规律, 结合 Mass Frontier7.0 软件拟合出小檗碱的碎片离子, 最终确定该化合物为小檗碱, 其质谱裂解途径见图 8。

3.6 其他类

此外, 从本品中还鉴定出了 3 种其他类化合物, 即五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素, 均为南五味子的主要成分。

4 讨论

4.1 提取方法的优化

本实验通过考察提取溶剂 (50%乙醇、70%乙醇、纯乙醇、50%甲醇、70%甲醇、纯甲醇) 及提取工艺 (索氏提取、回流提取、超声提取及微波萃取) 对样品提取率的影响, 以选择最佳的提取方法。按照供试品溶液的配制方法选择相应的溶剂及工艺进行提取, 按照优化后的色谱、质谱条件进样, 实验结果表明, 纯甲醇结合超声提取对参松养心胶囊中大部分化学成分表现出较高的提取效率。

此外, 本实验还对超声提取时间 (1~30 min) 进行了考察, 结果发现在 1~20 min 内, 化合物提取率与提取时间呈正相关, 当超过 20 min 时, 提取率无明显提高, 最终确定甲醇超声提取 20 min 为本实验最佳的提取条件。采用该提取方法鉴定得到的各类化学成分基本可涵盖参松养心胶囊组方中各药

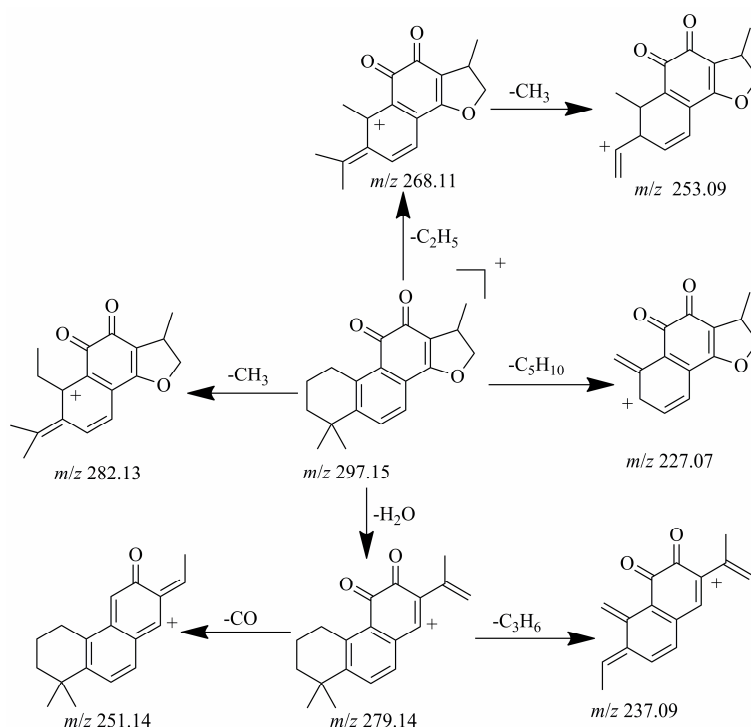


图 7 隐丹参酮的质谱裂解途径

Fig. 7 MS fragmentation pathways of cryptotanshinone

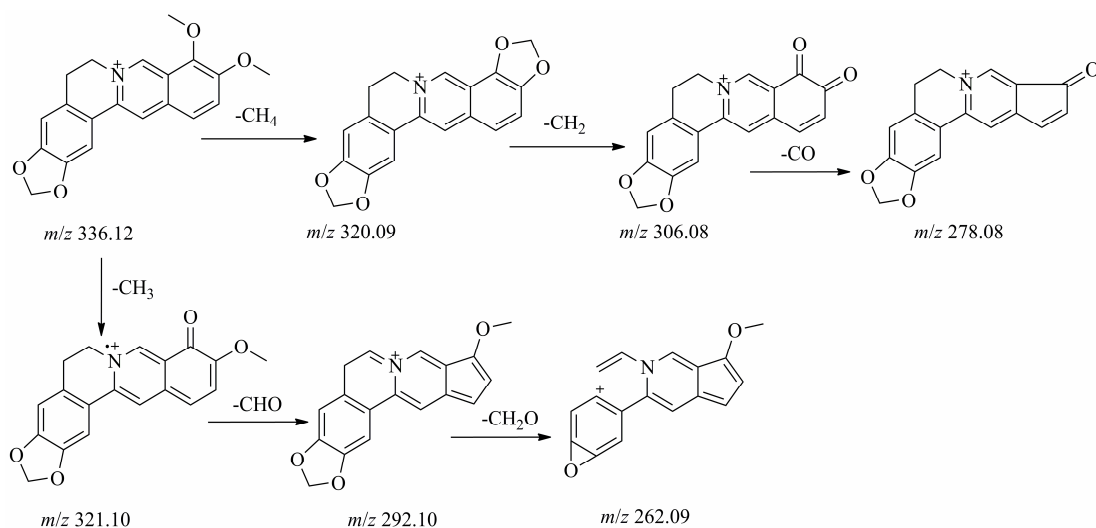


图 8 小檗碱的质谱裂解途径

Fig. 8 MS fragmentation pathways of berberine

材的主要成分。

4.2 色谱、质谱条件的优化

本实验在进行色谱柱的选择时，重点考察了 ACQUITY UPLC[®]HSS T3 型色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 和 ACQUITY UPLC[®]BEH C₁₈ 型色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm)，结果显示这 2 种色谱柱均有较好的分离效果，但经 HSS T3 色谱柱分离的多数化合物出峰偏靠后，保留时间较长，导致总分析时间延长。因此，在保证最优分离效果的前提下，本实验选择了分析时间更短的 UPLC[®]BEH C₁₈ 色谱柱进行前期化合物的分离。

在优化色谱条件时，本实验着重比较了甲醇-水、乙腈-水和乙腈-0.1%甲酸水作为流动相系统时的色谱行为，实验结果表明乙腈-水的分离效果明显优于甲醇-水，主要表现为色谱峰较多且分离较好；当在水相中加入 0.1% 的甲酸时，可见各成分峰形更佳，质谱响应更好；因此，本实验最终选择乙腈-0.1% 甲酸水作为流动相系统进行梯度洗脱。此外，本实验还采用了先进的正、负离子同时扫描模式对目标待测成分进行初步分析，发现各成分在正、负离子模式下响应差异明显，因此本研究按照不同化合物在质谱扫描时的响应优劣，同时结合各自的理化性质，最终选择了各待测成分质谱响应最佳时的离子模式作为检测条件，使各待测物均具有很好的峰形及响应值，能够满足准确性的要求。

本实验在正、负离子同时扫描的模式下，对参松养心胶囊中的主要活性化学成分进行快速识别，共鉴定出参松养心胶囊中的 54 个成分，其中酚酸类

15 种、黄酮类 14 种、萜类 5 种、醌类 9 种、生物碱类 8 种及其他类 3 种。在以上成分中，酚酸类是一类具有酚羟基母核结构的单/多酚酸聚合物超家族，具有清除氧自由基、抗炎、免疫调节、活血及抗肿瘤的药理作用^[23]；黄酮类化合物有明显的抗菌、抗病毒、抗抑郁、肝损伤保护、抗肿瘤及激素调节的作用^[24]；萜类成分中的人参皂苷类成分是人参的主要活性成分，具有抗心律失常、抗心肌肥厚、抗心肌缺血等心血管系统保护作用^[25]，单萜类成分具有一定的抗肿瘤、抗氧化以及神经保护作用^[26]；醌类化合物具有抗肿瘤、抗炎、延缓衰老的作用^[27]；生物碱类成分具有良好的抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抗炎、镇痛及保护心血管等作用^[28]。以上不同种类、不同来源的药物活性成分可通过协同或互补等作用，使参松养心胶囊更好地发挥益气养阴、活血通络及清心安神之功效，从而起到多通路、多靶点治疗的作用。

结果表明，本实验建立基于 UHPLC-Q-Orbitrap 技术的分析方法可高效、快速、全面地对参松养心胶囊中的活性化学成分进行准确识别。本研究能够从整体上系统地阐明参松养心胶囊的化学成分组成，为深入挖掘分析其药效物质奠定了坚实的基础，同时为今后参松养心胶囊质量控制标准的提升和临床应用提供更加科学的理论指导依据。

参考文献

- [1] 陈玉平, 黄开毅, 王曙宾. RP-HPLC 法同时测定参松养心胶囊中 4 种主要成分的含量 [J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(12): 848-851.

- [2] 朱培林, 杨中香. 参松养心胶囊联合维拉帕米治疗室性心动过速的疗效观察 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(3): 663-666.
- [3] 莫炫永. HPLC 测定参松养心胶囊中人参皂苷 Rb₁ 的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12): 112-114.
- [4] 陈 燊. HPLC 法测定参松养心胶囊中的丹参酮含量 [J]. 海峡药学, 2013, 25(8): 49-51.
- [5] 陈玉平, 黄开毅, 刘亚东, 等. 反相高效液相色谱法测定参松养心胶囊中五味子甲素和五味子酯甲含量 [J]. 中南药学, 2010, 8(7): 517-519.
- [6] 辛海莉, 何新荣, 李 巍. 参松养心胶囊的高效液相色谱指纹图谱研究 [J]. 中国药物应用与监测, 2012, 9(6): 321-324.
- [7] 孙 志, 侯朋艺, 周 霖, 等. 基于超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱的益心舒片中多种成分定量测定研究 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 1977-1982.
- [8] 吴文杰, 周伟娥, 张 元, 等. LC-MS/MS 技术在中药化学成分分析中的应用 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(11): 2735-2737.
- [9] 邱全玉, 邱昆成, 孙振刚, 等. LC-MS/MS 同时测定配伍知母对黄柏中 5 种成分含量的影响 [J]. 中药材, 2017, 40(12): 2884-2887.
- [10] 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.
- [11] 陈红英. 黄连化学成分分离及其降糖活性研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2012.
- [12] TCMSP. Baicalin [DB/OL]. 2019-05-25. <http://lsp.nwu.edu.cn/molecule.php?qn=2776>.
- [13] 郭盼盼. 广金钱草总黄酮纯化工艺优化及总黄酮提取物的抗氧化活性、定性和定量研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.
- [14] 孙雪飞, 赵海娟, 夏 青, 等. 丹参的化学成分研究进展 [A] // 中华中医药学会中药化学分会第八届学术年会论文集 [C]. 北京: 中华中医药学会中药化学分会委员会, 2013.
- [15] 束 艳, 宿树兰, 钱大玮, 等. 柔肝胶囊化学成分的 UPLC-ESI-QTOF/MS 分析 [J]. 中成药, 2011, 33(1): 73-78.
- [16] PubChem, Genkwanin [DB/OL]. (2005-03-28) [2019-05-25]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281617#section=Top>.
- [17] PubChem, Neocryptotanshinone [DB/OL]. (2005-08-09) [2019-05-25]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/184103#section=Top>.
- [18] 孔德云, 刘星塔, 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.
- [19] Human Metabolome Database. Hydroxytanshinone [DB/OL]. (2012-09-11) [2019-01-11]. <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB36635>.
- [20] 寇学良, 杨东花, 苏英英, 等. 丹参中丹酚酸 A 和丹酚酸 B 的 ESI-MS/MS 裂解规律解析 [J]. 中国现代中药, 2015, 17(10): 1026-1029.
- [21] 李 想. 黄酮醇类化合物 ESI-ITMSn 质谱裂解规律的量子化学研究 [D]. 佳木斯: 佳木斯大学, 2015.
- [22] 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.
- [23] 斯日古楞, 刘洪涛. 中药酚酸的体内代谢研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2008, 4(6): 49-51.
- [24] 郑海燕, 王晓杰. 黄酮类化合物药理作用的探讨 [J]. 中国生化药物杂志, 2017, 37(5): 441-443.
- [25] 朱晓丽. 人参皂苷药理作用研究进展 [J]. 中国药物经济学, 2017, 12(12): 152-154.
- [26] 郑世存, 李晓宇, 欧阳兵, 等. 芍药苷药理作用研究新进展 [J]. 中国药物警戒, 2012, 9(2): 100-103.
- [27] 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.
- [28] Cristina A D A A, Meira D F F, José D R, *et al.* Recent trends in pharmacological activity of alkaloids in animal colitis: Potential use for inflammatory bowel disease [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2017, 2017: 8528210.