

基于 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 技术分析双参平肺颗粒化学成分

陈叶青¹, 范欣生^{1*}, 朱振华², 彭国平², 段金庵²

1. 南京中医药大学中医学院·中西医结合学院, 江苏 南京 210023

2. 南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023

摘要: 目的 采用超高效液相色谱-电喷雾/四级杆飞行时间串联质谱联用 (UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS) 技术对双参平肺颗粒中主要化学成分进行准确快速鉴定和归属分类。方法 采用 SynaptTM Q-TOF 型高分辨质谱仪、Waters ACQUITY UPLC 系统、Waters ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 以 0.1% 甲酸水溶液-乙腈为流动相进行梯度洗脱, 采用电喷雾 (ESI) 离子源, 在正、负离子模式下采集数据, 通过与对照品的保留时间及质谱数据信息对比, 并结合文献报道及质谱数据库中相同成分或同类成分的精确相对分子质量、质谱裂解规律进行匹配, 对双参平肺颗粒中复杂成分进行快速准确识别, 并明确各成分的药材归属。结果 共鉴定了 63 个化合物, 其中萜类化合物 24 个、酚酸类 7 个、丹参酮类成分 6 个、黄酮类 14 个、其他类 12 个。结论 利用建立的定性分析方法快速准确地识别双参平肺颗粒中主要化学成分, 为其进一步的体内显效成分分析、药效物质基础及质量控制研究奠定了基础。

关键词: 双参平肺颗粒; UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS; 皂苷类; 酚酸类; 丹参酮类; 黄酮类

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)02-0321-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.02.007

Chemical constituents of Shuangshen Pingfei Granules by UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS

CHEN Ye-qing¹, FAN Xin-sheng¹, ZHU Zhen-hua², PENG Guo-ping², DUAN Jin-ao²

1. College of Chinese Materia Medica, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: **Objective** A novel ultra-performance liquid chromatography tandem quadrupole time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) was applied to establish a method to recognize and classify the main chemical constituents of Shuangshen Pingfei Granules accurately and rapidly. **Methods** ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ chromatographic column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) was employed to UPLC analysis with the mobile phase consisting of acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution. ESI ion source was used to ensure the data collected in positive and negative ion mode. The chemical components of Shuangshen Pingfei Granules were identified by comparing with the retention time and the mass data of the reference substance, and consulting literature reports and mass spectrometry database. **Results** A total of 63 chemical components were identified, including 24 terpenoids, seven phenolic acids, six tanshinones, 14 flavonoids and 12 other classes. **Conclusion** The qualitative method established in this study could be used to rapidly and accurately identify the main chemical constituents of Shuangshen Pingfei Granules, and lay a foundation for the further analysis of effective ingredients *in vivo*, pharmacodynamic material basis and quality control research.

Key words: Shuangshen Pingfei Granules; UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS; saponins; phenolic acids; tanshinones; flavonoids

双参平肺颗粒是南京中医药大学范欣生教授课题组以经典名方为基础加减优选的临床验方, 用以治疗气阴不足、痰瘀交阻之肺纤维化等肺系慢病。

该方以人参平肺散为基础, 加味丹参, 全方共 8 味药。人参平肺散源自《症因脉治·卷三》, 主治“肺痹, 烦满喘呕……属气虚上逆者”^[1], 原方由人参、

收稿日期: 2019-07-05

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (81904084); 江苏省高等学校自然科学研究面上项目 (18KJB360004); 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心重点项目 (ZDXM-4)

作者简介: 陈叶青 (1988—), 讲师, 博士, 从事中药及方剂功效物质基础研究。Tel/Fax: (025)85811945 E-mail: chenyeq8804@163.com

*通信作者 范欣生 Tel/Fax: (025)85811945 E-mail: fanxsh126@126.com

桑白皮、地骨皮、橘红、知母、天冬、甘草 7 味药组成；从肺纤维化气虚络阻病机出发，配伍丹参活血化瘀^[2]。人参益气补肺，丹参通络化瘀，桑白皮、地骨皮清肺中伏热，天冬、知母滋阴润燥，橘红理气化痰，甘草和药。在临床应用中具有改善肺功能、明显减轻肺纤维化病人咳嗽、气急、紫绀等临床症状、控制病情发展、改善生活质量的作用。

课题组前期研究表明，双参平肺颗粒在改善肺功能及肺纤维化方面疗效确切^[3-4]，但其药效物质基础尚未明确。因此，亟需建立高灵敏度、高选择性以及快速分析的定性分析方法以对双参平肺颗粒中的化学成分进行快速识别和表征。本实验拟采用超高效液相色谱-电喷雾/四极杆飞行时间串联质谱联用技术 (UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS)，在正、负离子模式下采集数据，通过与对照品的保留时间及质谱数据信息比对，并结合文献报道及质谱数据库中相同成分或同类成分的精确相对分子质量、质谱裂解规律进行匹配，较全面的揭示双参平肺颗粒的化学成分，并明确各成分的药材归属，为双参平肺颗粒进一步的体内显效成分分析、药效物质基础及质量控制研究奠定基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters ACQUITY UPLC 系统 (美国 Waters 公司)；SynaptTM Q-TOF 型高分辨质谱 (美国 Waters 公司)，配备 ESI 离子源；MassLynxTM 4.1 质谱工作站软件 (美国 Waters 公司)，Waters ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 型色谱柱 (美国 Waters 公司)；Milli-Q 超纯水制备仪 (美国 Milli-pore 公司)；ML204/MS105 型电子天平 (梅特勒-托利公司)，Anke GL-16G II 型离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

1.2 药物与试剂

对照品柚皮苷 (批号 110722-201312)、隐丹参酮 (批号 110852-200806)、甘草苷 (批号 111610-201106)、知母皂苷 BII (批号 111839-201706)、丹酚酸 B (批号 111562-201716) 均购于中国食品药品检定研究院；甘草素 (批号 wkq16032403) 购于南京良纬生物科技有限公司；芒果苷 (批号 16071102)、知母皂苷 AIII (批号 16082311)、人参皂苷 Rg₁ (批号 16061907)、丹参酮 II_A (批号 16072805)、知母皂苷 BIII (批号 141218) 均购于四川维克奇生物科技有限公司；丹酚酸 A (批号

180304) 购于南京森贝伽生物科技有限公司；以上对照品质量分数均大于 98%。乙腈 (美国 Tedia 公司) 和甲酸 (德国 Merck 公司) 均为色谱纯；超纯水 (自制)；其他试剂为分析纯，均购于南化试剂有限公司；双参平肺颗粒^[5] (人参、丹参、桑白皮、地骨皮、橘红、知母、天冬、甘草等组成，由江苏省中药资源产业化过程协同创新中心提供，批号 20160822，生药量为 2.25 g/mL)。

2 方法

2.1 分析条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)；流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B)，梯度洗脱：0~1.0 min, 5% B；1.0~3.0 min, 5%~30% B；3.0~15.0 min, 30%~45% B；15.0~30.0 min, 45%~100% B；30.0~30.1 min, 5% B；体积流量 0.4 mL/min；进样体积 2 μL；柱温 40 °C。

2.1.2 质谱条件 离子源为电喷雾离子化源 (ESI)，采用正负离子模式检测；萃取电压 4.0 V；锥孔电压 30 V；毛细管电压 3.0 kV；脱溶剂气温度 400 °C；离子源温度 120 °C；脱溶剂气体积流量 800 L/h；锥孔气体积流量 50 L/h；碰撞能量 6~40 eV，离子能量 1 V；质量扫描范围 m/z 100~1 500。

2.2 溶液的制备

2.2.1 样品溶液的制备 取课题组前期制备的双参平肺颗粒 1 袋 (15 g)，研细，精密称取 2.5 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入 70% 甲醇 25 mL，称定质量，超声处理 1 h，摇匀后经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别取上述对照品适量，精密称定，置于 10 mL 棕色量瓶中，加入甲醇并定容至刻度，制备成 0.1 mg/mL 各对照品储备液；分别量取上述储备液适量，摇匀，加入甲醇稀释，制备成终质量浓度均为 1 μg/mL 的混合对照品溶液。储藏于 4 °C，进样前过 0.22 μm 微孔滤膜。

2.3 MS 数据分析

质谱数据通过 MassLynxTM 4.1 软件处理分析，对于有对照品的化合物：首先，与对照品图谱中各已知成分的相对保留时间、准分子离子等比对，再依据各对照品 MS² 碎片离子信息进一步确认。对于无对照品的化合物，初步进行前期推测，再参考文献报道、PubChem Compound、Mass Bank 或 Chemical Book 等数据库的相同或同类成分的相对

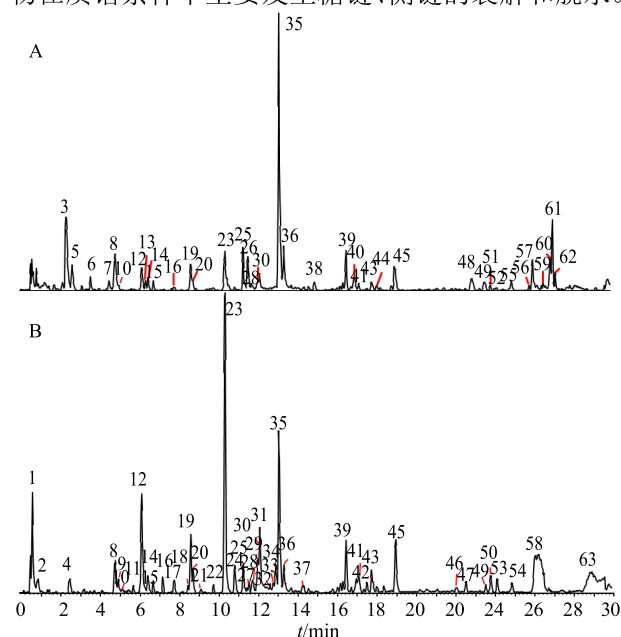
保留时间及 MS、MS² 碎片裂解规律进行比对分析，以准确性无对照品的未知化学成分。

3 结果与分析

按照“2.1”项下优化的色谱及质谱条件进样，获得正负离子模式下双参平肺颗粒样品及混合对照品溶液的 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS BPI 色谱图(图 1、2)。按照“2.3”项下 MS 数据分析方法确定化学成分的结构，对双参平肺颗粒主要成分进行快速表征，共鉴定了 63 个化合物(表 1)，其中 9 个来自人参，主要为皂苷类成分；14 个来自丹参，主要为丹酚酸类及丹参酮类成分；9 个来自桑白皮，主要为黄酮类及香豆素类成分；2 个来自地骨皮，主要为生物碱类成分；4 个来自橘红，主要为黄酮类成分；12 个来自知母，主要为知母皂苷类成分；4 个来自天冬，主要为有机酸类成分；9 个来自甘草，主要为甘草酸及甘草苷类成分。

3.1 皂苷类

从双参平肺颗粒中鉴定出的皂苷类成分主要为人参皂苷(源于人参)及知母皂苷(源于知母)。人参皂苷及知母皂苷类成分大多具有相同的基本结构，其母核结构大部分是由 17 个碳原子组成的四元环，同时链接不同的糖链而构成。因此，该类化合物在质谱条件下主要发生糖链、侧链的裂解和脱水。



A-正离子模式 B-负离子模式，图 2 同
A-positive ion B-negative ion, same as figure 2

图 1 双参平肺颗粒 BPI 色谱图

Fig. 1 BPI chromatograms of Shuangshen Pingfei Granules

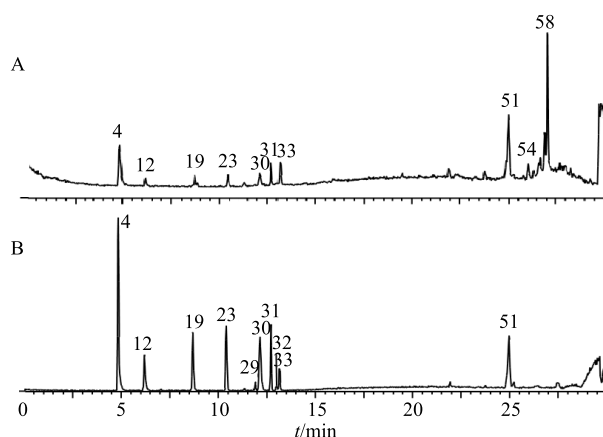


图 2 混合对照品 BPI 色谱图

Fig. 2 BPI chromatograms of mixed standard references

人参皂苷类化合物，以人参皂苷 Rg₁ 为例，其在负离子模式下的质谱数据 845 [M+HCOO]⁻、799 [M-2H]⁻、639 [M-H-C₆H₁₀O₅]⁻、393 [M-H-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₂]⁻、327 [M-H-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₂-C₄H₂O]⁻，比较其对照品，保留时间、质谱数据一致，故确定 32 号峰为人参皂苷 Rg₁，其质谱裂解规律见图 3。其他人参皂苷类成分(7、22、41、42、50、53、59 号峰)均有类似的质谱裂解规律，根据一级质谱及二级质谱数据，结合文献报道^[6-7]，逐一对其进行鉴定表征。

知母皂苷类化合物，以知母皂苷 AIII、知母皂苷 BII、知母皂苷 BIII 为例，在负离子模式下，知母皂苷 AIII 质谱数据 785 [M+HCOO]⁻、739 [M-H]⁻、577 [M-H-C₆H₁₀O₅]⁻、415 [M-H-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₀O₅]⁻，知母皂苷 BII 质谱数据 965 [M+HCOO]⁻、919 [M-H]⁻、757 [M-H-C₆H₁₀O₅]⁻、595 [M-H-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₀O₅]⁻，知母皂苷 BIII 质谱数据 947 [M+HCOO]⁻、901 [M-H]⁻、739 [M-H-C₆H₁₀O₅]⁻、577 [M-H-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₀O₅]⁻，通过与 3 种对照品比较，其保留时间、质谱数据一致，故确定 35、39、54 号峰分别为知母皂苷 BII、知母皂苷 BIII、知母皂苷 AIII，其质谱裂解规律分别见图 3。其他知母皂苷类成分(25、27、36、37、49、55 号峰)均有类似的质谱裂解规律，根据一级质谱及二级质谱数据，结合文献报道^[8-9]，逐一对其进行鉴定表征，分别为知母皂苷 E、知母皂苷 C、新知母皂苷 BII、知母皂苷 D/M、知母皂苷 AIV、知母皂苷 A1。

3.2 酚酸类

从双参平肺颗粒中鉴定出的酚酸类化合物主要

表 1 双参平肺颗粒体外化学成分 BPI 色谱图各色谱峰离子数据及鉴定结果

Table 1 Mass spectrometric data and identification results of chemical constituents in Shuangshen Pingfei Granules

编号	t _R /min	化合物	m/z (理论)	分子式	正离子 (m/z)			负离子 (m/z)			归属
					母离子	误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	母离子	误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	
1	0.66	丹酚酸 I	538.111 1	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₂	—	—	—	539.137 0	-1.5	377、341、143	丹参
2	0.96	异柠檬酸	192.027 0	C ₆ H ₈ O ₇	—	—	—	191.018 4	4.0	179、128	甘草
3	2.35	雪莲内酯	248.141 2	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	249.142 9	2.9	—	—	—	—	桑白皮
4	2.56	木犀草素-7-O-葡萄糖苷	448.100 5	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	—	—	—	447.017 6	-1.8	315、197、179	丹参
5	2.67	异紫花前胡内酯	246.089 2	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	247.179 9	2.9	—	—	—	—	桑白皮
6	3.60	白藜芦醇	308.271 5	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	307.087 9	1.9	—	—	—	—	桑白皮
7	4.53	人参皂苷 D	262.193 2	C ₁₇ H ₂₆ O ₂	262.190 7	-0.8	—	—	—	—	人参
8	4.85	地骨皮甲素	530.310 4	C ₂₈ H ₄₂ N ₄ O ₆	531.308 6	-1.8	367、293、222	529.303 0	-2.5	499、437、293	地骨皮
9	5.01	桑皮苷 A	568.179 2	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₄	—	—	—	567.169 7	-3.0	529	桑白皮
10	5.18	新芒果苷	584.481 2	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₆	585.143 7	3.1	531、367、222	583.128 2	-2.9	529、443、293	知母
11	5.77	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷	478.111 1	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	—	—	—	477.157 9	5.8	523、293、229	地骨皮
12	6.20	芒果苷	422.084 9	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	423.091 5	-2.8	405、357、273	421.077 8	1.7	301、259	知母
13	6.39	亚叶酸	473.165 9	C ₂₀ H ₂₃ N ₇ O ₇	474.259 1	8.1	423、307	—	—	—	天冬
14	6.52	异芒果苷	422.084 9	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	423.092 0	-1.7	405、303、197	421.076 2	-2.1	387、241	知母
15	6.79	枸橼苷	594.194 9	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	595.190 1	4.5	577、472、211	593.151 3	7.0	463/421/	橘红
16	7.27	金丝桃苷/异槲皮苷	464.095 5	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	—	—	—	463.116 2	3.8	509、301、165	桑白皮
17	7.85	桑叶甙 C	580.173 3	C ₃₄ H ₂₈ O ₉	581.193 9	2.2	419、273	579.166 9	2.4	485、415、173	桑白皮
18	8.54	环桉烯醇	426.386 2	C ₃₀ H ₅₀ O	—	—	—	425.380 4	-5.8	265、255	桑白皮
19	8.67	甘草苷	418.126 4	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	419.133 6	6.3	257、147、137	417.117 3	-3.1	255、135	甘草
20	8.79	异甘草苷	418.126 4	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	419.121 3	-0.5	483、263、257	417.118 7	-7.0	297、255	甘草
21	9.19	圣草次苷	596.137 7	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	—	—	—	595.168 8	7.3	447、263	橘红
22	9.83	人参皂苷 Rd	946.550 1	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	969.537 3	3.6	791、503、427	991.547 6	1.2	789、501、425	人参
23	10.43	柚皮苷	580.179 2	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	581.188 5	2.6	273、153	579.172 0	1.0	433、271	橘红
24	10.91	迷迭香酸	360.084 5	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	—	—	—	359.075 9	-2.2	197、179、161	桑白皮
25	11.34	知母皂苷 E	920.498 1	C ₄₅ H ₇₆ O ₁₉	919.487 3	0.9	757、595、433	935.490 5	3.2	981、493、311	知母
26	11.59	鸢尾黄素	300.063 4	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	301.104 4	3.2	261、243、189	—	—	—	天冬
27	11.64	知母皂苷 C	902.487 5	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	—	—	—	901.482 0	-1.3	723、549、493	知母
28	11.80	丹酚酸 D	418.090 0	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	419.135 2	-3.9	313	417.117 8	5.8	311、255	丹参
29	12.09	丹酚酸 B 异构体	718.153 4	C ₃₆ H ₃₀ O ₁₆	—	—	—	717.146 0	-3.6	519、339、295	丹参
30	12.15	甘草素	256.253 9	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	257.080 7	2.7	147/137	255.064 8	-2.9	145、135、119	甘草
31	12.17	丹酚酸 B	718.153 4	C ₃₆ H ₃₀ O ₁₆	—	—	—	717.146 0	-6.1	519、339、295	丹参
32	12.70	人参皂苷 Rg ₁	801.014 3	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	—	—	—	845.491 6	2.25	799、639、327	人参
33	12.87	丹酚酸 E	718.153 4	C ₃₆ H ₃₀ O ₁₆	—	—	—	717.146 6	-3.7	519、473、319	丹参
34	13.00	丹酚酸 A	494.121 3	C ₂₆ H ₂₂ O ₁₀	—	—	—	493.114 7	1.0	295、185	丹参
35	13.18	知母皂苷 BII	920.498 1	C ₄₅ H ₇₆ O ₁₉	903.498 6	5.2	741、579	919.493 9	-4.1	965、757、595	知母
36	13.40	新知母皂苷 BII	920.498 1	C ₄₅ H ₇₆ O ₁₉	903.498 6	5.2	741、579	919.493 5	-4.3	965、717、493	知母
37	14.40	知母皂苷 D/M	918.482 4	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₉	919.498 4	3.1	903、741、595	917.478 8	-2.0	963、669、565	知母
38	14.97	藜芦酚	242.057 9	C ₁₄ H ₁₀ O ₄	243.101 8	3.6	201、189、175	—	—	—	桑白皮
39	16.60	知母皂苷 BIII	902.487 5	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	903.478 5	0.4	741、579、417	901.484 7	-2.2	947、739、577	知母

续表 1

编号	t_R/min	化合物	m/z (理论)	分子式	正离子 (m/z)			负离子 (m/z)			归属
					母离子	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	母离子	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	
40	16.98	异橙皮内酯	260.104 9	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_4$	261.112 5	3.0	243、189	—	—	—	橘红
41	17.24	人参皂苷 Rb_1	1 108.602 9	$\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{O}_{23}$	1 109.604 7	4.6	1 091、749、407	1 107.603 8	5.0	1 153、576、329	人参
42	17.62	人参皂苷 Rb_2	1 078.592 4	$\text{C}_{53}\text{H}_{90}\text{O}_{22}$	—	—	—	1 077.599 4	3.1	1 123、683、561	人参
43	17.85	甘草皂苷 G2	838.398 7	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{17}$	839.414 9	-2.0	469、451、439	837.393 6	-1.9	955、819	甘草
44	18.14	甘草次酸	470.339 6	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_4$	471.202 0	2.9	407	469.188 0	7.3	515、329、116	甘草
45	19.03	甘草酸	822.403 8	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}$	823.414 7	4.2	741、647、417	821.400 6	-2.3	803、757	甘草
46	22.14	甘草皂苷 B2	810.480 2	$\text{C}_{42}\text{H}_{66}\text{O}_{15}$	—	—	—	811.488 0	3.9	665、487、216	甘草
47	22.61	6-乙酰麦角甾苷	666.216 0	$\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{O}_{16}$	—	—	—	665.217 1	0.8	216、116	人参
48	22.94	二氢丹参酮 I	278.094 3	$\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{O}_3$	279.101 3	4.2	261	—	—	—	丹参
49	23.60	知母皂苷 AIV	740.434 7	$\text{C}_{39}\text{H}_{64}\text{O}_{13}$	741.441 8	2.1	579、417	739.429 8	-7.9	785、352、216	知母
50	23.88	20(S)-人参皂苷 Rg_3	784.497 3	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{13}$	—	—	—	783.489 0	-4.1	829、216、116	人参
51	23.90	甘草西定	748.497 3	$\text{C}_{39}\text{H}_{72}\text{O}_{13}$	749.490 5	-1.6	587、425、407	—	—	—	甘草
52	24.08	丹参酮 V	314.151 8	$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_4$	315.152 1	2.2	297、269、154	—	—	—	丹参
53	24.23	人参皂苷 Rg_2	784.497 3	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_4$	—	—	—	783.490 2	-0.5	829、216、145	人参
54	24.95	知母皂苷 AIII	740.434 7	$\text{C}_{39}\text{H}_{64}\text{O}_{13}$	—	—	—	739.428 7	-3.7	785、739、577	知母
55	24.97	知母皂苷 A1	578.381 9	$\text{C}_{33}\text{H}_{54}\text{O}_8$	579.392 6	5.0	417、399	—	—	—	知母
56	25.88	薯蓣皂苷元	414.313 4	$\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_3$	415.316 6	2.6	297	—	—	—	天冬
57	26.05	隐丹参酮	296.141 2	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_3$	297.140 7	-3.3	251、115	—	—	—	丹参
58	26.31	二氢丹参内酯	266.188 2	$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_3$	—	—	—	265.146 1	-7.9	216、116	丹参
59	26.58	人参皂苷 F_2/Rg_3	784.497 3	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{13}$	784.530 8	7.1	749、587、261	—	—	—	人参
60	26.94	菝葜皂苷元	416.329 1	$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_3$	417.227 6	-5.1	462、281、149	—	—	—	天冬
61	27.07	丹参酮 II _A	294.125 6	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_3$	295.134 5	1.9	277、149	—	—	—	丹参
62	27.19	次丹参酮	282.162 0	$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_2$	283.168 7	4.1	265、149	—	—	—	丹参
63	28.99	去氢丹参酮 II _A	292.109 9	$\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_3$	—	—	—	293.177 1	4.2	216、199、116	丹参

为丹酚酸，来源于丹参。该类化合物常含有原儿茶醛、丹参素、咖啡酸及其二聚体或多聚体结构，在负离子模式条件下，常见丹参素、咖啡酸以及咖啡酰氧基等中性丢失。

以丹酚酸 A、丹酚酸 B 为例，丹酚酸 A 在负离子模式下的质谱数据 493 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、295 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ ，丹酚酸 B 在负离子模式下的质谱数据 717 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、519 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ 、339 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ 、321 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}]^-$ 、295 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^-$ ，通过与对照品比较，其保留时间、质谱数据一致，故确定 34、31 号峰分别为丹酚酸 A、丹酚酸 B，其质谱裂解规律分别见图 4。其他酚酸类化合物（1、24、28、29、33 号峰）均有类似的质谱裂解规律，根据质谱数据结合文献报道^[10-12]，逐一对其进行鉴定，分别为丹酚酸 I、迷迭香酸、丹

酚酸 D、丹酚酸 B 异构体、丹酚酸 E。

3.3 丹参酮类

丹参酮类化合物（来源于丹参）在正离子模式下响应较好，该类化合物的主要裂解特征为脱羰基，丢失水分子。以丹参酮 II_A、隐丹参酮为例，丹参酮 II_A 在正离子模式下的质谱数据 295 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、277 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ ，隐丹参酮在正离子模式下的质谱数据 297 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、251 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$ ，其质谱裂解规律分别见图 5。通过与对照品比较，确定 61、57 号峰分别为丹参酮 II_A、隐丹参酮。其他丹参酮类化合物（48、52、62、63 号峰）均有类似的质谱裂解规律，根据质谱数据结合文献报道^[10-12]，对其进行鉴定，分别为二氢丹参酮 I、丹参酮 V、次丹参酮、去氢丹参酮 II_A。

3.4 黄酮类

黄酮类化合物在植物界分布很广，该类化合物

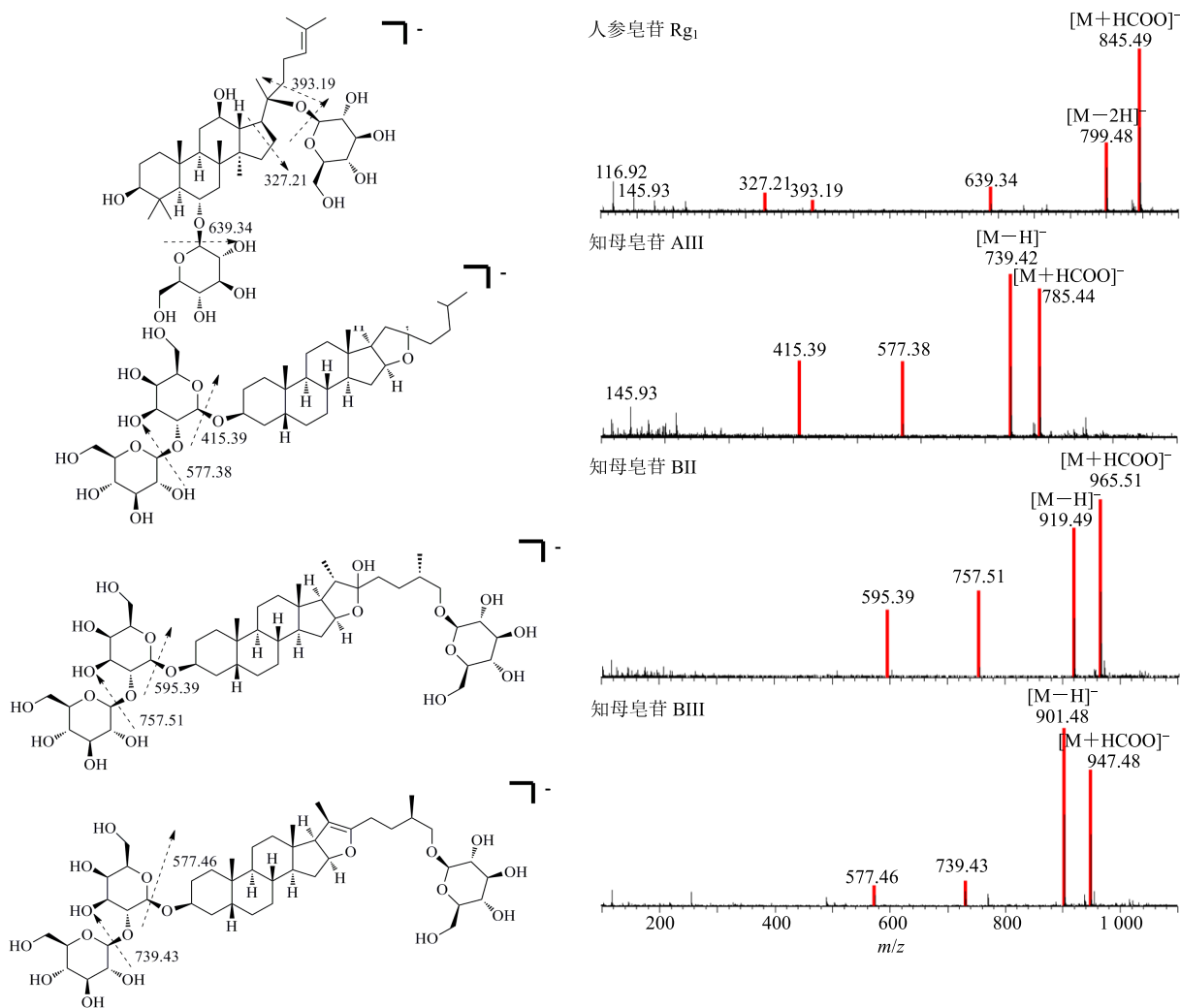


图 3 人参皂苷 Rg₁、知母皂苷 AIII、知母皂苷 BII 及知母皂苷 BIII 的质谱图及裂解过程

Fig. 3 Mass spectra and fragmentation pathways of ginsenoside Rg₁, timosaponin AIII, timosaponin BII, and timosaponin BIII

大多具有相同的基本结构，以 C6-C3-C6 为基本碳架，大多与糖结合成苷类或碳糖基的形式存在。由于黄酮类化合物具有相同的母核，因此，该类化合物在质谱条件下有相似的规律，主要发生糖链、侧链的裂解和脱水。

以柚皮苷、芒果苷、甘草苷、甘草素为例，柚皮苷在负离子模式下的质谱数据 579 [M-H]⁻、433 [M-H-C₆H₁₀O₄]⁻、271 [M-H-C₆H₁₀O₄-C₆H₁₀O₅]⁻，芒果苷在负离子模式下的质谱数据 421 [M-H]⁻、301 [M-H-C₄H₈O₄]⁻、259 [M-H-C₄H₈O₄-C₂H₂O]⁻，甘草素在负离子模式下的质谱数据 255 [M-H]⁻、135 [M-H-C₈H₈O]⁻、119 [M-H-C₈H₈O-O]⁻，甘草苷在负离子模式下的质谱数据 417 [M-H]⁻、255 [M-H-C₆H₁₀O₅]⁻、135 [M-H-C₆H₁₀O₅-C₈H₈O]⁻，其质谱裂解规律分别见图

6。通过与对照品比较，确定 12、19、23、30 号峰分别为芒果苷、甘草苷、柚皮苷、甘草素。由此可见，黄酮类的成分大多先断裂 1 或 2 分子的糖苷键，在二级质谱中也有 [M-H-120]⁻ 的特征碎片，m/z 120 的中性丢失有可能来自糖链（如芒果苷），有可能是黄酮苷元的 RDA 裂解导致的碎片生成（如甘草苷、甘草素）。其他黄酮类化合物（4、10、11、14~16、20、21、26 号峰）均有类似的质谱裂解规律，根据质谱数据结合文献报道^[13-14]，鉴定分别为木犀草素-7-O-葡萄糖苷、新芒果苷、异鼠李素-3-O-葡萄糖苷、异芒果苷、枸橼苷、金丝桃苷或异槲皮苷、异甘草苷、圣草次苷、鸢尾黄素。

4 讨论

肺纤维化作为一种严重的慢性疾病，已成为世界各国关注的重要公共卫生问题，尚无显著有效的

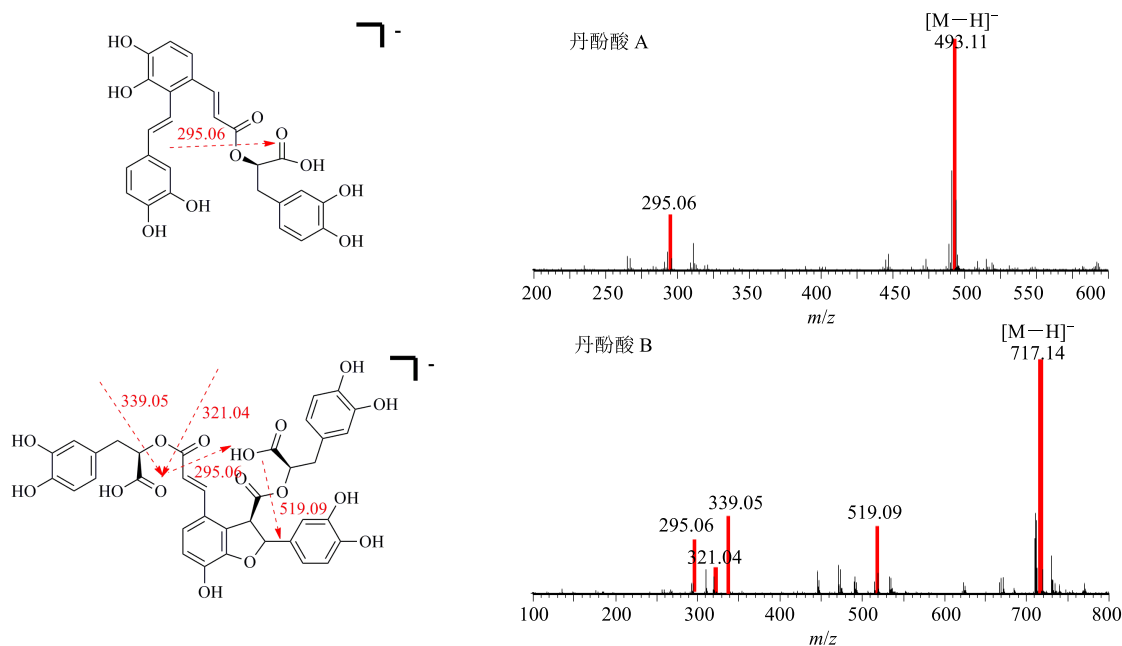


图 4 丹酚酸 A、丹酚酸 B 的质谱图及裂解过程

Fig. 4 Mass spectra and fragmentation pathways of salvianolic acid A and salvianolic acid B

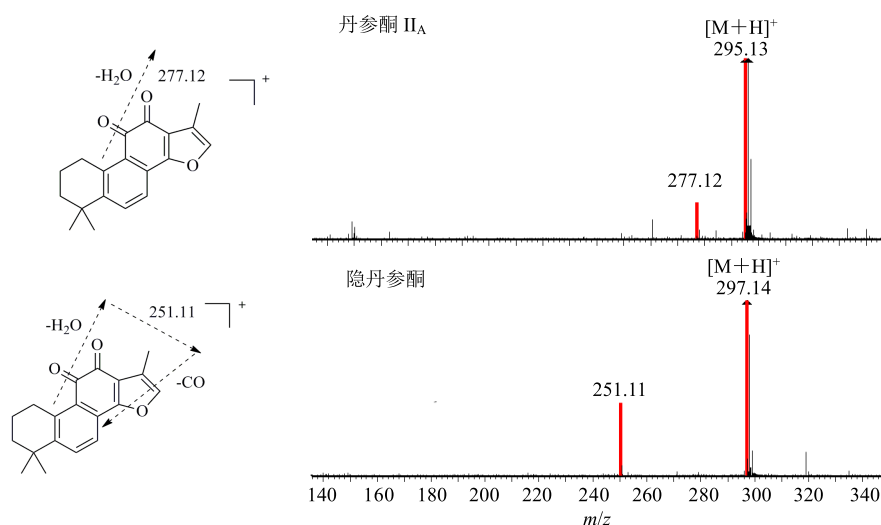


图 5 丹参酮 II_A、隐丹参酮的质谱图及裂解过程

Fig. 5 Mass spectra and fragmentation pathways of tanshinone II_A and cryptotanshinone

药物。人参平肺方是依据古方结合临床经验加味而成，由人参、丹参、桑白皮、地骨皮、橘红、知母、天冬、甘草 8 味药组成，临床疗效显著。制成具有清肺润燥，镇咳止呕功效的颗粒剂，用以治疗气阴不足、痰瘀交阻之肺纤维化。本课题组的前期药理研究表明，双参平肺颗粒在改善肺功能及肺纤维化方面疗效确切，但物质基础尚未明确。

超高效液相色谱-电喷雾/四级杆飞行时间串联质谱联用技术 (UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS) 是一种

用于中药、天然药物化学成分分析的定性定量技术，具有高灵敏度、高分辨率、高选择性、扫描范围广、用时短等特点。不仅可快速对中药复杂成分进行定性分析，还具有分辨率高、操作简单、节省溶剂的优点，因而在中药化学成分研究中的应用非常广泛。

本研究利用建立的 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 分析方法，分别采集正负离子模式下双参平肺颗粒体外样品的色谱图，对全方的主要成分快速表征。在 30 min 内共鉴定了 63 个化合物，其中萜类化合

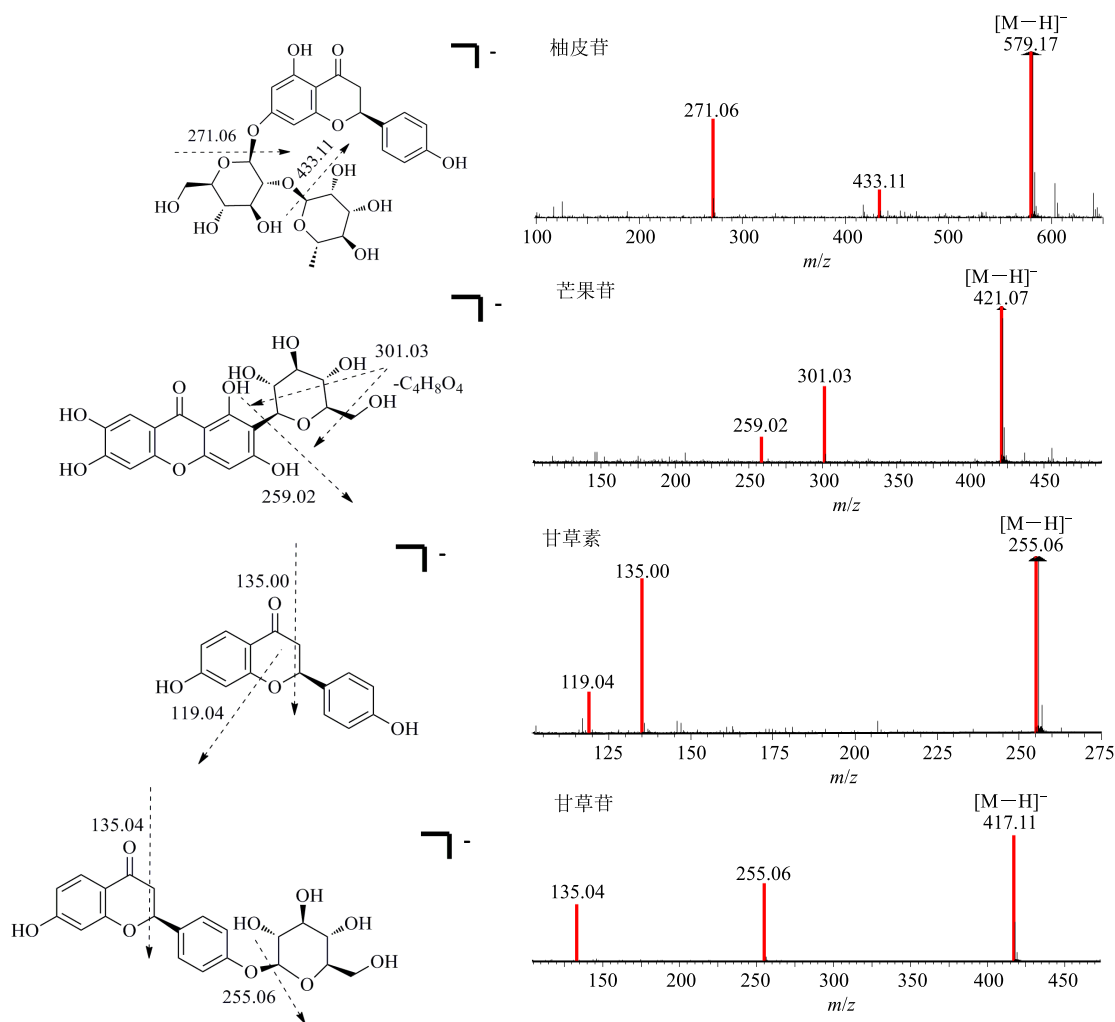


图 6 柚皮苷、芒果苷、甘草素及甘草苷的质谱图及裂解过程

Fig. 6 Mass spectra and fragmentation pathways of naringin, mangiferin, liquiritigenin, and liquiritin

物 24 个、酚酸类 7 个、丹参酮类成分 6 个、黄酮类 14 个、其他类 12 个。对各成分进行药材归属: 9 个来自人参、14 个来自丹参、9 个来自桑白皮、2 个来自地骨皮、4 个来自橘红、12 个来自知母、4 个来自天冬、10 个来自甘草, 且大多属于各药材的特征性药效成分。

基于 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 技术, 本实验建立的分析方法可实现准确、快速地对双参平肺颗粒中的化学成分进行识别, 较全面地揭示了双参平肺颗粒的主要化学成分, 为双参平肺颗粒的体内显效成分分析、药效物质基础及质量控制研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 张介宾. 类经 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1965.
- [2] 杨 澜, 张冷杉, 范欣生. 从阴火理论探讨肺纤维化的辨治特点 [J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(1): 9-11.
- [3] Chen F, Wang P L, Fan X S, *et al.* Effect of Renshen Pingfei Decoction, a traditional Chinese prescription, on IPF induced by Bleomycin in rats and regulation of TGF- β 1/Smad3 [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 186: 289-297.
- [4] 徐 康, 许惠琴, 范欣生, 等. 人参平肺方对二氧化硅所致大鼠肺纤维化的作用及机制探讨 [J]. 南京中医药大学学报, 2017, 33(1): 49-53.
- [5] 姜 苏. 双参平肺颗粒制剂工艺与质量标准研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2017.
- [6] Shin B K, Kwon S W, Park J H. Chemical diversity of ginseng saponins from *Panax ginseng* [J]. *J Ginseng Res*, 2015, 39(4): 287-298.
- [7] Wang Y, Choi H K, Brinckmann J A, *et al.* Chemical analysis of *Panax quinquefolius* (North American ginseng): A review [J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1426: 1-15.
- [8] 郭敏群, 严曾豪, 吴 灏, 等. 基于 UPLC-Triple-

- TOF-MS/MS 技术的白虎加桂枝汤化学物质基础 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(10): 134-141.
- [9] 孙振刚, 邱昆成, 李 丹, 等. UPLC-LTQ-Orbitrap XL 分析知母-黄柏药对化学成分 [J]. 中药材, 2017, 40(1): 101-106.
- [10] 高 添, 杨凌鉴, 盛鑫康, 等. 基于 HPLC-Q-TOF/MS 和 GC/MS 的香丹注射液化学成分分析 [J]. 中成药, 2019, 41(2): 345-352.
- [11] Zhang Q Q, Dong X, Liu X G, *et al.* Rapid separation and identification of multiple constituents in Danchong Injection by ultra-high performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Nat Med*, 2016, 14(2): 147-160.
- [12] Zhao X, Yang D H, Xu F, *et al.* The *in vivo* absorbed constituents and metabolites of Danshen decoction in rats identified by HPLC with electrospray ionization tandem ion trap and time-of-flight mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2015, 29(2): 285-304.
- [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] Peng Y, Zhao L, Lin D, *et al.* Determination of the chemical constituents of the different processed products of *Anemarrhena asphodeloides* rhizomes by high-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2016, 30(4): 508-519.