

UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速分析六味地黄苷糖片化学成分

樊晓荃^{1,3}, 付娟^{2,3}, 胡军华^{2,3}, 肖伟^{2,3}, 王振中^{1,2,3*}

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210000

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

3. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对六味地黄苷糖片中的化学成分进行分析和鉴定。方法 色谱柱为 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.3%甲酸水溶液作为流动相, 梯度洗脱, 体积流量 1 mL/min, 柱温 35 ℃, 进样量 10 μL; 采用电喷雾离子源, 负离子模式下采集数据, 根据精确质荷比、二级碎片离子信息, 结合对照品和文献数据鉴定六味地黄苷糖片中的化学成分。结果 共鉴定和推测出 71 个化合物, 其中 25 个来自酒萸肉、19 个来自熟地黄、31 个来自牡丹皮、2 个来自泽泻、3 个来自茯苓、2 个来自山药。其中 22 个化合物经对照品验证。结论 基本明确了六味地黄苷糖片的化学物质基础, 为六味地黄苷糖片的质量控制及药效物质基础研究提供了参考。

关键词: 六味地黄苷糖片; 质谱分析; 质量控制; 化学成分谱; 酒萸肉; 熟地黄; 牡丹皮; 泽泻; 茯苓; 山药

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2021)21-6473-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.21.004

Rapid identification of chemical components in Liuwei dihuang gantang Tablets by UPLC-Q-TOF-MS/MS

FAN Xiao-quan^{1,3}, FU Juan^{2,3}, HU Jun-hua^{2,3}, XIAO Wei^{2,3}, WANG Zhen-zhong^{1,2,3}

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

3. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents in Liuwei Dihuang gantang tablets (六味地黄糖苷片) by using UPLC-Q-TOF-MS/MS. **Methods** The chromatographic conditions were as follows: Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column with acetonitrile and 0.3% formic acid as mobile phase, gradient elution, flow rate of 1 mL/min, The column temperature was 35 degrees, the injection volume was 10 L; mass spectrometry conditions: The data were collected by electrospray ion source (ESI) under negative ion mode. These components were further analyzed based on the accurate mass ratio, the two level fragment ion information, the reference materials and literature data. **Results** A total of 71 compounds were identified and speculated, 25 of which came from liquor cornus, 19 from *Rehmannia Radix Praeparata*, 31 from *Mutan Cortex*, 2 from *Alismatis Rhizoma*, 3 from *Poria* and 2 from *Dioscoreae Rhizoma*. Among them, 22 compounds were verified by reference substance. **Conclusion** The results basically clarified the chemical basis of Liuwei Dihuang gantang tablets, and provided a reference for the quality control and pharmacodynamic material basis of Liuwei Dihuang gantang tablets.

Key words: Liuwei Dihuang gantang tablets; mass spectrometry; quality control; chemical composition spectrum; liquor cornus; *Rehmannia Radix Praeparata*; *Mutan Cortex*; *Alismatis Rhizoma*; *Poria*; *Dioscoreae Rhizoma*

六味地黄汤是中医滋补肾阴的经典名方, 由熟地黄、酒萸肉、牡丹皮、山药、茯苓、泽泻组成^[1], 由宋朝名医钱乙首创, 主要用于腰膝酸软、头晕目眩、耳聋耳鸣、盗汗自汗等肾阴不足之症^[2]。近代实

收稿日期: 2021-03-18

基金项目: 重大新药创制科技重大专项 (2013ZX09402203)

作者简介: 樊晓荃, 男, 硕士研究生, 研究方向为药物分析。Tel: 15720600226 E-mail: 815405571@qq.com

*通信作者: 王振中, 男, 高级工程师, 博士, 主要从事中药新剂型研发。Tel: (0518)81522367 E-mail: wzzhz-nj@163.com

践证明,六味地黄方广泛应用于治疗肾脏疾病、更年期综合症、高血压、肝脏疾病等数 10 种疾病^[3-5]。

六味地黄苷糖片是基于对六味地黄汤的大量基础研究开发而成,用于治疗伴有肾阴虚的更年期综合症。该药从汤剂出发,经过 2 步醇沉、2 步色谱分离得到了苷类、多糖以及寡糖 3 个有效部位,在此基础上得到了六味地黄苷糖片。

研究表明六味地黄苷糖片具有改善慢性多重不可预期应激所致焦虑抑郁样行为及阿尔茨海默病动物模型转基因小鼠认知缺陷的作用^[5],其中苷类成分对免疫及内分泌调节起重要作用^[6]。为阐明六味地黄苷糖片的药效物质基础,本实验对六味地黄苷糖片中的化学成分(主要为苷类成分)进行了研究,运用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对六味地黄苷糖片中的成分进行定性分析,为六味地黄苷糖片的质量控制及药效物质基础研究提供依据。

1 材料

Agilent 1290 超高效液相色谱仪(DAD 检测器,美国安捷伦公司);Agilent 6538 Q-TOF 质谱仪(美国安捷伦公司);Mettler Toledo XP6 型电子分析天平(百万分之一,瑞士梅特勒公司);Mettler Toledo AL204 电子分析天平(十万分之一,瑞士梅特勒公司);KQ-500DB 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司);Milli-Q Academic 纯水仪(美国密理博公司)。色谱乙腈(德国默克公司);色谱甲酸(美国天地公司)。

莫诺苷(批号 111998-201703,质量分数 97.4%)、马钱苷(批号 111640-201808,质量分数 99%)、芍药苷(批号 110736-201943,质量分数 95.1%)、毛蕊花糖苷(批号 111530-201914,质量分数 95.2%)、马钱苷酸(批号 111865-201704,质量分数 97.4%)、獐芽菜苦苷(批号 110785-201404,质量分数 98.3%)、没食子酸(批号 110831-201605,质量分数 90.8%)、中国食品药品检定研究院;牡丹酚原苷(批号 200302,质量分数 98%)、腺苷(批号 201901,质量分数 98%)、松果菊苷(批号 201904,质量分数 98%)、没食子酰芍药苷(批号 201901,质量分数 98%),南京森贝伽生物科技有限公司;獐芽菜苷(批号 7001,质量分数 98%)、异毛蕊花糖苷(批号 7283,质量分数 98%)、地黄苷 D(批号 7433,质量分数 98%)、焦地黄苯乙醇苷 B(批号 LOT8184,质量分数 98%),上海施丹德生物技术有限公司;氧化芍药苷(批号 19120604,质量分数 99.67%)、山茱萸新苷(批号 19080905,质量分数 98%)、连翘酯苷 E

(批号 DSTDL008301,质量分数 98%)、丹皮酚新苷(批号 DST200910-076,质量分数 98%)、8-表番木鳖酸(批号 DST200422-157,质量分数 98%),成都德思特生物技术有限公司。六味地黄苷糖片(批号 20181001),江苏康缘药业股份有限公司。

2 方法

2.1 检测条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈(A)-0.3% 甲酸水溶液(B),梯度洗脱(0~22 min, 4%~8% A; 31~60 min, 8%~14% A; 65~80 min, 18%~25% A; 85 min, 90% A),柱温 35 ℃,体积流量 1 mL/min,检测波长 250 nm,进样量 10 μL。

2.1.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),负离子模式,毛细管电压 4000 V,质量扫描范围 100~2000;干燥气温度 350 ℃;干燥气体积流量 10 L/min;雾化气压力 275.75 kPa;裂解电压 100 V;锥孔电压 65 V;碰撞能量根据不同化合物的需要选取 15~40 eV。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的配制 分别取莫诺苷、马钱苷、芍药苷、牡丹酚原苷、丹皮酚新苷、山茱萸新苷、腺苷、獐芽菜苷、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、松果菊苷、氧化芍药苷、地黄苷 D、没食子酰芍药苷、8-表番木鳖酸、焦地黄苯乙醇苷 B、獐牙菜苦苷、连翘酯苷 E、马钱苷酸、没食子酸适量置于量瓶中,用水溶解稀释至刻度,制备成含各成分 50~100 μg/mL 混合对照品溶液,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过备用。

2.2.2 供试品溶液的配制 取六味地黄苷糖片 10 片,研细,取约 0.2 g,精密称定,置 10 mL 量瓶中,加纯水适量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz) 5 min,放冷,用水稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

3 结果与分析

按“2.1”项下条件检测六味地黄苷糖片供试品溶液,得到对照品及六味地黄苷糖片负离子模式下总离子色谱图,见图 1、2。根据精确质荷比,二级碎片离子信息,结合对照品和文献数据共鉴定和推测出 71 个化合物,其中 25 个来自酒萸肉,19 个来自熟地黄,31 个来自牡丹皮,2 个来自泽泻,3 个来自茯苓,2 个来自山药。所测得成分中有 20 个化合物经与对照品比对得到鉴定,结果见表 1。

3.1 苯乙醇苷类化合物

此类化合物均来自熟地黄药材。该类化合物通

常是由咖啡酰基、苯乙醇苷元和糖连接而成，通常在质谱中均可检测出 $[M-H-162]^-$ ，是由准分子离子脱去 1 个葡萄糖基 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ 或 1 个咖啡酰基 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$ 得到的，因此可以根据化合物的结构来判断脱掉的基团。以峰 58 为例，在负离子模式下有准分子离子峰 m/z 799.266 0，二级

质谱得到了 m/z 623.220 5、477.162 7、297.133 5、297.133 5 等碎片，推测为峰 58 化合物母离子先后丢失了 1 个 CH_2 、1 个咖啡酰基 ($C_9H_6O_3$)、1 个鼠李糖基 ($C_6H_{10}O_4$) 以及 1 分子葡萄糖 ($C_6H_{12}O_6$)，结合文献报道^[14]碎片推测峰 58 为焦地黄苯乙醇苷 A，见图 3、4。

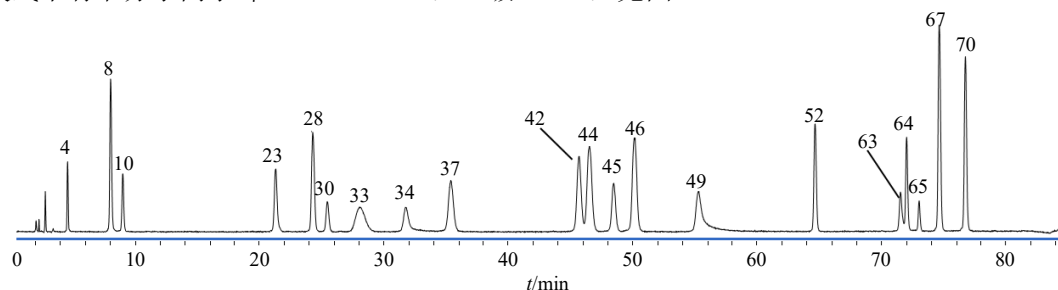


图 1 负离子模式下对照品总离子流图

Fig. 1 Total ion current diagram of mixed reference in negative ion mode

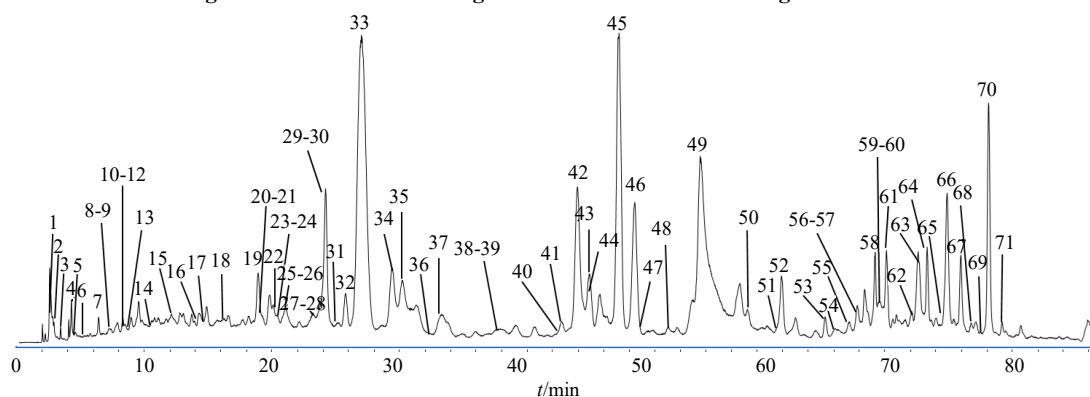


图 2 负离子模式下六味地黄苷糖片总离子流图

Fig. 2 Total ion current diagram of Liuwei Dihuang gantang tablets in negative ion mode

表 1 六味地黄苷糖片化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析

Table 1 Analysis of chemical constituents in Liuwei Dihuang Gantang Tablets by UPLC-Q-TOF-MS/MS

序号	t_R/min	$[M-H]^-/[M+HCOOH-H]^-$			分子式	MS ²	化合物	归属
		实测值 (m/z)	理论值 (m/z)	偏差 ($\times 10^{-6}$)				
1	2.681	181.072 0	182.079 0	1.43	$C_6H_{14}O_6$	181.072 4 $[M-H]^-$, 163.062 3 $[M-H-H_2O]^-$	甘露醇 ^[7]	B、E
2	2.879	149.009 0	150.016 4	1.11	$C_4H_6O_6$	149.009 3 $[M-H]^-$	D-酒石酸 ^[8]	A
3	3.440	133.014 0	134.021 5	-1.47	$C_4H_6O_5$	133.013 7 $[M-H]^-$	L-苹果酸 ^[8-11]	A、F
4	4.297	266.089 5	267.096 8	-1.26	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	312.094 0 $[M-H+HCOOH]^-$, 266.088 7 $[M-H]^-$	腺苷 ^{[12]*}	B~F
		312.095 3						
5	4.412	191.019 3	192.027 0	-2.09	$C_6H_8O_7$	191.019 0 $[M-H]^-$, 173.009 3 $[M-H-H_2O]^-$	柠檬酸 ^[7,13-14]	B
6	5.435	117.019 0	118.026 6	-2.20	$C_4H_6O_4$	117.019 1 $[M-H]^-$	琥珀酸 ^[8,12,15]	A
7	6.408	495.134 5	496.142 8		$C_{19}H_{27}O_{15}$	495.134 5 $[M-H]^-$	未知	B
8	7.413	169.014 0	170.021 5	-2.06	$C_7H_6O_5$	169.015 3 $[M-H]^-$, 125.023 8 $[M-H-COO]^-$	没食子酸 ^{[16-18]*}	A、C
9	7.875	483.075 9	484.085 3	-1.01	$C_{20}H_{20}O_{14}$	483.080 2 $[M-H]^-$, 331.063 5 $[M-H-digalloylglucose]^{[8,12,15]}$		A
						$C_7H_4O_4]^-$, 313.054 9 $[M-H-C_7H_4O_4-H_2O]^-$, 169.012 1 $[C_7H_6O_5-H]^-$, 125.023 2 $[C_7H_6O_5-H-COO]^-$		

续表 1

序号	t_R/min	$[\text{M}-\text{H}]^-/[\text{M}+\text{HCOOH}-\text{H}]^-$			分子式	MS^2	化合物	归属
		实测值 (m/z)	理论值 (m/z)	偏差 ($\times 10^{-6}$)				
10	8.502	685.218 5 731.224 5	686.226 9	-0.77	$\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_{20}$	731.225 1 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 685.220 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 505.156 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}]^-$, 323.097 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 179.056 3 $[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{H}]^-$	地黄苷 D ^{[7,13-14]*}	B
11	8.864	463.136 5	464.116 6	-0.34	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_{14}$	463.108 6 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 403.085 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2]^-$, 373.076 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2-\text{CH}_2\text{O}]^-$, 343.066 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2-\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}]^-$, 301.055 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 241.034 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4]^-$, 169.012 3 $[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5-\text{H}]^-$, 125.024 0 $[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5-\text{H}-\text{COO}]^-$	mudanoside B ^[16-18]	C
12	8.979	479.140 6 433.135 0	434.178 8	-1.39	$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_{11}$	479.140 6 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 433.035 0 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 271.044 07 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 253.096 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^-$, 179.028 4 $[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{H}]^-$, 169.014 1 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3]^-$	7-O-乙基莫诺昔 ^[8,12,15]	A
13	9.392	523.165 1 569.171 3	524.174 1	0.09	$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	569.171 3 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 523.165 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 463.108 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2]^-$, 343.077 87 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}]^-$	密力特昔 ^[7,13-14]	B
14	10.486	125.024 2	126.031 7		$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$	125.024 2 $[\text{M}-\text{H}]^-$	5-羟甲基糠醛	A~F
15	12.113	483.075 8	484.085 3	-0.65	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{14}$	483.078 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 331.067 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4]^-$, 313.057 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4-\text{H}_2\text{O}]^-$, 169.014 3 $[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5-\text{H}]^-$, 125.025 0 $[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5-\text{H}-\text{COO}]^-$	digalloylglucose ^[8,12,15]	A
16	14.240	153.019 3	154.026 6	-1.85	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$	153.019 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$	原儿茶酸 ^[8,12,15]	A
17	14.889	623.218 2	624.205 4	3.71	$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$	623.217 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 477.156 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 315.104 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 153.017 5 $[\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_3-\text{H}]^-$	连翘酯苷 A ^[19-21]	B
18	16.581	375.128 8	376.136 9	-2.40	$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	375.130 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 213.067 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$	马钱苷酸同分异构体	A
19	18.906	461.164 5	462.173 7	-0.53	$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$	461.164 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 315.107 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 297.096 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{H}_2\text{O}]^-$, 161.044 0 $[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}]^-$, 135.044 1 $[\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2-\text{H}]^-$	脱咖啡酸毛蕊花糖苷 ^[7,13-14]	B
20	19.203	445.097 4	446.142 4	-0.65	$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$	445.097 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$	paeonovicoside ^[18]	C
21	19.302	343.133 0	344.047 1	-2.67	$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_8$	389.144 4 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 181.050 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 161.044 6 $[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}]^-$	牡丹皮苷 F ^[16-18]	C
22	20.110	375.130 4	376.136 9	-1.26	$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	375.128 0 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 213.075 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 169.086 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CO}_2]^-$, 151.076 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CO}_2-\text{H}_2\text{O}]^-$, 119.034 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CO}_2-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}]^-$	8-表番木鳖酸 ^{[7,13-14]*}	B
23	20.456	345.117 7	346.162 8	-2.78	$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_8$	345.117 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 183.182 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 179.648 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2]^-$, 165.053 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}]^-$	地黄苦昔 ^[7,13-14]	B
24	20.934	329.086 0	330.095 1	-1.93	$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_9$	329.087 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 167.034 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 161.045 3 $[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}]^-$	mudanoside A	C

续表 1

序号	t _R /min	[M-H] ⁻ /[M+HCOOH-H] ⁻			分子式	MS ²	化合物	归属
		实测值 (m/z)	理论值 (m/z)	偏差 (×10 ⁻⁶)				
25	21.115	137.023 9	138.031 7	-2.94	C ₇ H ₆ O ₃	137.023 9 [M-H] ⁻	对羟基苯甲酸 ^[16-18]	C
26	21.396	343.137 1	344.147 1	-2.52	C ₁₆ H ₂₄ O ₈	389.142 0 [M-H+HCOOH] ⁻ , 181.048 9 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 161.023 7 [C ₆ H ₁₀ O ₅ -H] ⁻	牡丹皮苷 G ^[16-18]	C
27	22.371	461.167 7	462.173 7	-3.95	C ₂₀ H ₃₀ O ₁₂	461.166 5 [M-H] ⁻ , 315.107 9 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ , 153.055 0 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₈ H ₇ O ₂] ⁻ , 135.045 4 [C ₈ H ₈ O ₂ -H] ⁻	连翘酯苷 E ^{[19-21]*}	C
28	23.902	405.141 1 451.146 0	406.147 5	-0.82	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₁	451.143 9 [M-H+HCOOH] ⁻ , 405.138 3 [M-H] ⁻ , 243.085 9 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻	莫诺昔同分异构体	A
29	24.034	449.128 8	404.131 9	-0.96	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	449.127 9 [M-H+HCOOH] ⁻	金吉昔 ^[19-21]	A
30	24.133	375.129 6	376.136 9	0.11	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	375.129 8 [M-H] ⁻ , 213.080 9 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 169.084 5 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO ₂] ⁻ , 161.045 6 [C ₆ H ₁₀ O ₅ -H] ⁻ , 151.076 2 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO ₂ -H ₂ O] ⁻ , 125.061 5 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₃ H ₄ O ₃] ⁻	马钱苷酸*	A
31	25.122	183.029 0	184.037 2	-2.26	C ₈ H ₈ O ₅	183.029 7 [M-H] ⁻ , 169.013 0 [M-H-CH ₂] ⁻ , 125.023 3 [M-H-COO] ⁻	没食子酸甲酯 ^[8,12,15]	A
32	25.765	389.145 8 435.151 2	390.152 6	-1.16	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₀	435.150 5 [M-H+HCOOH] ⁻ , 389.145 3 [M-H] ⁻ , 227.092 4 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻	二氢山茱萸苷 ^[8,12,15]	A
33	27.002	405.139 0 451.148 0	406.147 5	-0.82	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₁	451.147 1 [M-H+HCOOH] ⁻ , 405.140 4 [M-H] ⁻ , 243.086 4 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 225.077 1 [M-H-C ₆ H ₁₂ O ₆] ⁻ , 181.049 3 [M-H-C ₆ H ₁₂ O ₆ -CO ₂] ⁻ , 179.055 7 [C ₆ H ₁₂ O ₆ -H] ⁻ , 141.055 1 [M-H-C ₆ H ₁₂ O ₆ -C ₄ H ₆ O ₃] ⁻	莫诺昔 ^{[12]*}	A
34	29.409	495.150 3	496.158 1	-0.50	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂	495.151 5 [M-H] ⁻ , 465.132 5 [M-H-HCHO] ⁻ , 313.096 2 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 195.065 9 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₆ O ₃] ⁻ , 165.053 6 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₆ O ₃ -HCHO] ⁻ , 137.024 4 [C ₇ H ₆ O ₃ -H] ⁻	氧化芍药苷 ^{[12]*}	C
35	30.069	495.149 3	496.158 1	-0.50	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂	495.146 8 [M-H] ⁻ , 313.091 9 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -H ₂ O] ⁻	氧化芍药苷同分异构体	C
36	32.080	121.030 0	122.036 8	-0.51	C ₇ H ₆ O ₂	121.029 4 [M-H] ⁻	对羟基苯甲醛 ^[8,12,15]	A
37	33.168	373.113 8 419.153 6	374.121 3		C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	419.153 6 [M-H+HCOOH] ⁻ , 373.112 8 [M-H] ⁻ , 211.026 7 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 161.044 2 [C ₆ H ₁₀ O ₅ -H] ⁻	獐芽菜苦苷 ^{[8,12,15]*}	A
38	37.850	479.168 6 525.164 4	480.163 2	-1.17	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	525.164 4 [M-H+HCOOH] ⁻ , 479.147 9 [M-H] ⁻ , 317.197 2 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻	mudanpioside I ^[16-18]	C
39	37.950	525.161 2	526.168 6	-1.15	C ₂₄ H ₃₀ O ₁₃	525.163 0 [M-H] ⁻ , 495.150 0 [M-H-HCHO] ⁻ , 363.268 5 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 165.057 1 [C ₉ H ₁₀ O ₃ -H] ⁻	mudanpioside E ^[16-18]	C
40	42.435	635.091 7	636.096 3	-0.02	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	635.087 4 [M-H] ⁻ , 483.077 2 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 465.065 4 [M-H-C ₇ H ₆ O ₅] ⁻ , 331.057 8 [M-H-2C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 313.057 8 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -C ₇ H ₆ O ₅] ⁻ , 317.027 6 [M-2H] ⁻ , 295.050 1 [M-H-2C ₇ H ₆ O ₅] ⁻ , 169.013 1 [C ₇ H ₆ O ₅ -H] ⁻ , 125.024 0 [C ₇ H ₆ O ₅ -H-COO] ⁻	三没食子酰葡萄糖 ^[16-18]	C

续表 1

序号	t_R/min	$[\text{M}-\text{H}]^-/[\text{M}+\text{HCOOH}-\text{H}]^-$			分子式	MS^2	化合物	归属
		实测值 (m/z)	理论值 (m/z)	偏差 ($\times 10^{-6}$)				
41	42.682	435.151 0	390.152 6	-1.19	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	435.151 2 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$	马钱苷同分异构体	A
42	43.926	459.148 7 505.155 0	460.158 1	-2.49	$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$	505.155 7 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 459.149 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 293.086 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3]^-$, 165.055 6 $[\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3-\text{H}]^-$	牡丹酚原苷 ^{[16-18]*}	C
43	44.381	387.164 6 433.133 6	388.136 9	-3.91	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	433.129 3 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 387.126 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 225.075 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$	马鞭草苷 ^[12]	A
44	44.859	357.118 3 403.124 1	358.126 4	0.24	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_9$	403.122 7 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 357.116 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 195.170 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$	獐芽菜苷 ^{[12]*}	A
45	47.184	435.151 0	390.152 6	-0.33	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	435.149 3 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 227.091 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 209.079 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^-$, 179.548 0 $[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{H}]^-$, 125.024 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3]^-$	马钱苷 ^{[12]*}	A
46	48.173	459.148 7 505.155 0	460.158 1	-0.86	$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$	505.155 1 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 459.149 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 293.087 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3]^-$, 165.056 2 $[\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3-\text{H}]^-$	丹皮酚新苷 ^{[16-18]*}	C
47	48.404	621.203 1	622.210 9	-2.30	$\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_{17}$	667.210 1 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 621.203 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 165.055 0 $[\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3-\text{H}]^-$	suffruticoside E	C
48	51.141	635.085 1	636.096 3	-4.51	$\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_{18}$	483.057 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4]^-$, 465.048 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5]^-$, 313.043 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5]^-$, 169.007 8 $[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5-\text{H}]^-$, 125.019 7 $[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5-\text{H}-\text{COO}]^-$	三没食子酰葡萄糖	A
49	53.548	479.154 0 525.159 7	480.163 2	-0.80	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	525.161 1 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 479.154 0 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 449.142 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{HCHO}]^-$, 327.106 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{HCHO}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2]^-$, 165.055 5 $[\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3-\text{H}]^-$, 121.029 8 $[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2-\text{H}]^-$	芍药苷 ^{[12]*}	C
50	56.797	647.162 4	648.169 0	-0.49	$\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	647.161 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 525.565 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2]^-$, 509.129 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_3]^-$, 491.120 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_3-\text{H}_2\text{O}]^-$, 479.122 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_3-2\text{H}_2\text{O}]^-$, 331.068 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2-\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$, 313.057 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2-\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{H}_2\text{O}]^-$, 169.014 7 $[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5-\text{H}]^-$, 137.024 2 $[\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_3-\text{H}]^-$	galloyloxypaeoniflorin ^[16-18]	C
51	59.501	635.087 7	636.096 3	-1.05	$\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_{18}$	635.089 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 483.077 1 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4]^-$, 465.066 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5]^-$, 313.055 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5]^-$, 295.044 5 $[\text{M}-\text{H}-2\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5]^-$, 169.013 6 $[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5-\text{H}]^-$, 125.023 8 $[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5-\text{H}-\text{COO}]^-$	三没食子酰葡萄糖 ^[16-18]	C
52	59.945	785.249 9	786.258 2	-0.09	$\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{O}_{20}$	785.248 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 623.218 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 179.035 4 $[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{H}]^-$, 161.024 0 $[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}]^-$, 135.041 1 $[\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2-\text{H}]^-$	洋地黄叶苷 C ^[7,13-14]	B
53	63.343	785.251 6	786.258 2	-0.23	$\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{O}_{20}$	785.249 6 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 623.217 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$, 179.035 8 $[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{H}]^-$, 161.024 0 $[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}]^-$, 135.044 5 $[\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2-\text{H}]^-$	松果菊苷 ^{[7,13-14]*}	B
54	64.200	509.221 2	510.173 7	-0.93	$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$	555.169 1 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 509.221 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 479.119 1 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$, 165.095 3 $[\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3-\text{H}]^-$	mudanpioside D	C

续表 1

序号	<i>t_R</i> /min	[M-H] ⁺ /[M+HCOOH-H] ⁺			分子式	MS ²	化合物	归属
		实测值 (<i>m/z</i>)	理论值 (<i>m/z</i>)	偏差 (×10 ⁻⁶)				
55	65.865	611.161 3	612.169 0	-0.17	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	611.162 0 [M-H] ⁺ , 445.098 1 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₃] ⁺ , 301.050 5 [M-H-C ₁₅ H ₁₈ O ₇] ⁺ , 283.045 4 [M-H-C ₁₅ H ₂₀ O ₈] ⁺ , 169.013 5 [C ₇ H ₆ O ₅ -H] ⁺ , 165.055 0 [C ₉ H ₁₀ O ₃ -H] ⁺	suffruticoside A/C ^[16-18]	C
56	66.393	611.162 0	612.169 0	0.33	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	611.163 2 [M-H] ⁺ , 445.096 3 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₃] ⁺ , 301.054 8 [M-H-C ₁₅ H ₁₈ O ₇] ⁺ , 169.013 1 [C ₇ H ₆ O ₅ -H] ⁺ , 165.049 [C ₉ H ₁₀ O ₃ -H] ⁺ , 125.024 2 [C ₇ H ₆ O ₅ -H-COO] ⁺	suffruticoside A/C ^[16-18]	C
57	66.426	787.096 3	788.107 2	0.46	C ₃₄ H ₂₈ O ₂₂	787.100 6 [M-H] ⁺ , 635.194 8 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁺ , 617.075 6 [M-H-C ₇ H ₆ O ₅] ⁺ , 483.074 9 [M-H-2C ₇ H ₄ O ₄] ⁺ , 465.068 5 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -C ₇ H ₆ O ₅] ⁺ , 447.059 5 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -C ₇ H ₆ O ₅ -H ₂ O] ⁺ , 393.047 1 [M-2H] ⁺ , 313.059 3 [M-H-2C ₇ H ₄ O ₄ -C ₇ H ₆ O ₅] ⁺ , 295.044 5 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄ -2C ₇ H ₆ O ₅] ⁺ , 169.013 3 [C ₇ H ₆ O ₅ -H] ⁺	1,2,3,6-四没食子酰葡萄糖 ^[21,22-24]	C
58	67.234	799.266 0	800.273 9	-1.66	C ₃₆ H ₄₈ O ₂₀	799.269 0 [M-H] ⁺ , 637.177 2 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 623.220 5 [M-H-C ₁₀ H ₈ O ₃] ⁺ , 605.210 3 [M-H-C ₁₀ H ₈ O ₃ -H ₂ O] ⁺ , 477.162 1 [M-H-C ₁₀ H ₈ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁺ , 297.133 5 [M-H-C ₁₀ H ₈ O ₃ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₂ O ₆] ⁺ , 175.039 1 [C ₁₀ H ₈ O ₃ -H] ⁺	焦地黄苯乙醇苷 A ^[7,13-14]	B
59	67.465	435.222 5	390.225 4	-1.21	C ₁₉ H ₃₄ O ₈	435.223 5 [M-H+HCOOH] ⁺	地黄紫罗兰苷 A/B ^[7,13-14]	B
60	67.597	477.067 0	478.074 7	-0.88	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	477.069 3 [M-H] ⁺ , 315.013 8 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺	2-(3,4-二羟基苯基)-5,7-二羟基-4-氧代-4 <i>H</i> -1-苯并吡喃-3-基-BETA-D-吡喃葡萄糖苷酸	A
61	68.141	611.159 2	612.169 0	-2.08	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	611.159 6 [M-H] ⁺ , 463.218 2 [M-H-C ₅ H ₈ O ₅] ⁺ , 445.096 5 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₃] ⁺ , 313.054 4 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₃ -C ₅ H ₈ O ₄] ⁺ , 283.047 1 [M-H-C ₁₅ H ₂₀ O ₈] ⁺ , 169.013 1 [C ₇ H ₆ O ₅ -H] ⁺ , 165.054 7 [C ₉ H ₁₀ O ₃ -H] ⁺	suffruticoside B/D ^[16-18]	C
62	70.037	611.160 0	612.169 0	-0.67	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	611.160 2 [M-H] ⁺ , 463.093 8 [M-H-C ₅ H ₈ O ₅] ⁺ , 445.093 8 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₃] ⁺ , 313.057 8 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₃ -C ₅ H ₈ O ₄] ⁺ , 283.043 5 [M-H-C ₁₅ H ₂₀ O ₈] ⁺ , 169.013 3 [C ₇ H ₆ O ₅ -H] ⁺ , 165.054 9 [C ₉ H ₁₀ O ₃ -H] ⁺ , 125.023 8 [C ₇ H ₆ O ₅ -H-COO] ⁺	suffruticoside B/D ^[16-18]	C
63	70.614	631.166 0	632.174 1	0.58	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₅	631.166 4 [M-H] ⁺ , 613.154 9 [M-H-H ₂ O] ⁺ , 509.129 6 [M-H-C ₇ H ₆ O ₂] ⁺ , 491.119 1 [M-H-C ₇ H ₆ O ₂ -H ₂ O] ⁺ , 477.066 9 [M-H-C ₇ H ₆ O ₄] ⁺ , 331.065 3 [M-H-C ₇ H ₆ O ₂ -C ₁₀ H ₁₀ O ₃] ⁺ , 313.055 6 [M-H-C ₇ H ₆ O ₂ -C ₁₀ H ₁₀ O ₃ -H ₂ O] ⁺ , 169.013 4 [C ₇ H ₆ O ₅ -H] ⁺ , 125.024 6 [C ₇ H ₆ O ₅ -H-COO] ⁺	没食子酰芍药苷*	C

续表 1

序号	t_R/min	$[M-H]^-/[M+HCOOH-H]^-$			分子式	MS^2	化合物	归属
		实测值 (m/z)	理论值 (m/z)	偏差 ($\times 10^{-6}$)				
64	71.324	623.196 5	624.205 4	0.15	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.198 8 $[M-H]^-$, 461.164 9 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$, 315.107 2 $[M-H-C_6H_{10}O_4]^-$, 161.024 3 $[C_6H_{10}O_5-H]^-$, 135.044 6 $[C_8H_8O_2-H]^-$	毛蕊花糖苷 ^{[7,13-14]*}	B
65	72.692	813.284 4	814.289 5	0.20	$C_{37}H_{50}O_{20}$	813.283 9 $[M-H]^-$, 637.234 7 $[M-H-C_{10}H_8O_3]^-$, 619.223 1 $[M-H-C_{10}H_8O_3-H_2O]^-$, 491.175 1 $[M-H-C_{10}H_8O_3-C_6H_{10}O_4]^-$, 175.039 8 $[C_{10}H_8O_3-H]^-$, 151.006 1 $[C_9H_{12}O_2-H]^-$	焦地黄苯乙醇苷 B ^{[7,13-14]*}	B
66	72.889	939.108 4	940.118 2	0.48	$C_{41}H_{32}O_{26}$	939.107 9 $[M-H]^-$, 787.096 5 $[M-H-C_7H_4O_4]^-$, 617.080 7 $[M-H-2C_7H_4O_4-H_2O]^-$, 469.055 1 $[M-2H]^-$	五没食子酰葡萄糖 ^[16-18]	C
67	73.961	623.196 6	624.205 4	0.15	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.196 1 $[M-H]^-$, 461.164 6 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$, 315.107 0 $[M-H-C_6H_{10}O_4]^-$, 161.023 6 $[C_6H_{10}O_5-H]^-$, 135.045 1 $[C_8H_8O_2-H]^-$	异毛蕊花糖苷 ^{[7,13-14]*}	B
68	74.786	615.171 0	616.179 2	0.09	$C_{30}H_{32}O_{14}$	615.167 5 $[M-H]^-$, 585.162 6 $[M-H-HCHO]^-$, 495.149 1 $[M-H-C_7H_4O_2]^-$, 477.138 5 $[M-H-C_7H_5O_3]^-$, 315.097 1 $[M-H-C_7H_5O_3-C_6H_{10}O_5]^-$, 177.056 1 $[M-H-C_7H_5O_3-C_6H_{10}O_5-C_7H_6O_3]^-$, 137.023 7 $[C_7H_6O_3-H]^-$	mudanpioside H ^[16-18]	C
69	75.544	645.181 7	646.189 8	-0.93	$C_{31}H_{34}O_{15}$	645.182 9 $[M-H]^-$, 465.059 8 $[M-H-C_6H_{12}O_6]^-$	paeonidanin B ^[16-18]	C
70	76.138	541.158 0	542.163 6	0.62	$C_{24}H_{30}O_{14}$	541.156 9 $[M-H]^-$, 379.101 7 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$, 347.075 4 $[M-H-C_6H_{10}O_5-CH_3OH]^-$, 227.070 6 $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_4H_6O_3]^-$, 195.066 5 $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_4H_6O_3-C_5H_6O]^-$, 169.013 4 $[C_7H_6O_5-H]^-$, 125.024 0 $[C_7H_6O_5-H-COO]^-$	山茱萸新苷 ^{[8,12,15]*}	A
71	77.184	637.210 7	638.221 1	-0.91	$C_{30}H_{38}O_{15}$	637.212 2 $[M-H]^-$, 475.146 4 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$, 461.163 5 $[M-H-C_{10}H_8O_3]^-$, 315.107 2 $[M-H-C_9H_6O_3-C_6H_{10}O_4]^-$, 193.049 3 $[M-H-C_9H_6O_3-C_6H_{10}O_4-C_7H_6O_2]^-$, 161.023 4 $[C_6H_{10}O_5-H]^-$, 135.043 6 $[C_8H_8O_2-H]^-$	焦地黄苯乙醇苷 D ^[7,13-14]	B

*通过对照品比对确认的成分 A-酒萸肉 B-熟地黄 C-牡丹皮 D-泽泻 E-茯苓 F-山茱萸

*-confirmed by reference materials A-Liquor cornus B-Rehmannia Radix Praeparata C-Mutan Cortex D-Alismatis Rhizoma E-Poria F-Dioscoreae Rhizoma

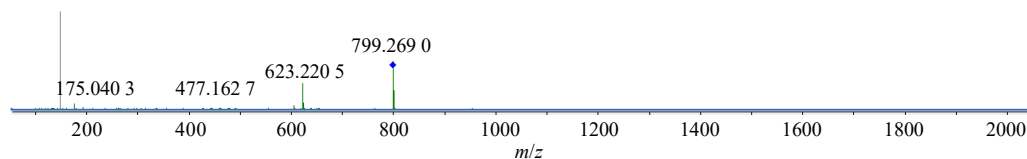


图 3 焦地黄苯乙醇苷 A 的 MS/MS 图

Fig. 3 Secondary mass spectrum of jionoside A

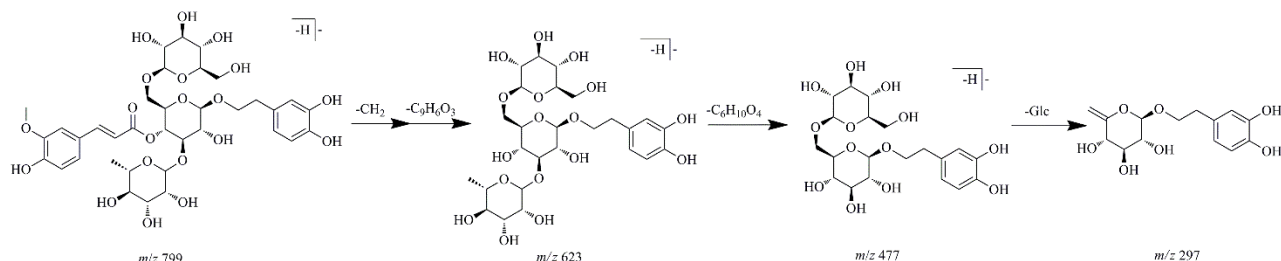


图 4 焦地黄苯乙醇苷 A 可能的裂解途径

Fig. 4 Proposed fragmentation pathway of jionoside A

结合碎片离子及文献报道^[7,14], 峰 52、53、64、65、67、71 分别为脱咖啡酸毛蕊花糖苷、洋地黄叶苷 C、松果菊苷、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B、异毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 D。

3.2 单萜苷类

单萜苷类化合物主要来自于牡丹皮, 这类成分通常由单萜部分 (蒽烷骨架 $C_9H_9O_3$) 与葡萄糖脱水缩合同时进行与芳香酸类化合物的酯化得到。在流动相中有甲酸的情况下, 单萜苷类化合物通常会得到 $[M-H+HCOOH]^-$ 的离子峰, 以峰 49 为例 (图 5), 经对照品比对后确认为芍药苷, 负离子模式下, 一级质谱中有准分子离子峰 m/z 479.151 0 同时出现

了 $[M-H+HCOOH]^-$ 峰 m/z 525.157 7, 二级质谱中可以观察到丢失了 $HCHO$ 后的碎片离子 m/z 449.130 0 $[M-H-HCHO]^-$ 、丢失了 $HCHO$ 和苯甲酸的碎片离子 m/z 327.095 7 $[M-H-HCHO-C_7H_6O_2]^-$ 以及丢失了糖基和苯甲酸的碎片离子 $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_7H_6O_2]^-$ m/z 195.065 0, 此外还发现了蒽烷骨架的碎片离子 m/z 165.055 5 $[M-H-HCHO-C_7H_6O_2-C_6H_{10}O_5]^-$, 可能的裂解途径见图 6。峰 11, 负离子模式下, 一级质谱中有准分子离子峰 m/z 463.136 5, 二级质谱中可以观察到蒽烷骨架离子 m/z 165.062 0, 结合碎片及文献报道^[16-18]推断峰 11 为 mudanpioside B。峰 34 经对照品指认为氧

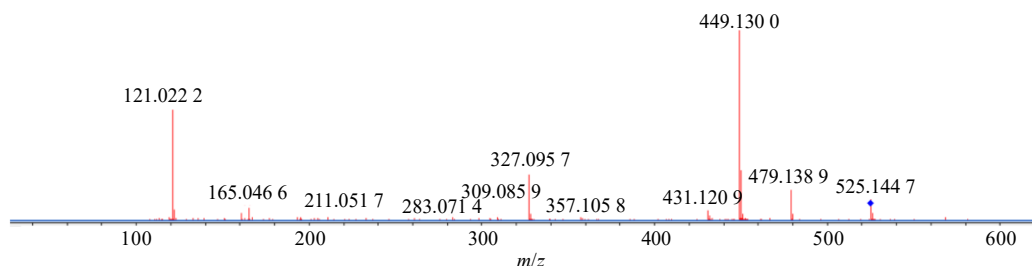


图 5 芍药苷的 MS/MS 图

Fig. 5 Proposed fragmentation pathway of Paeoniflorin

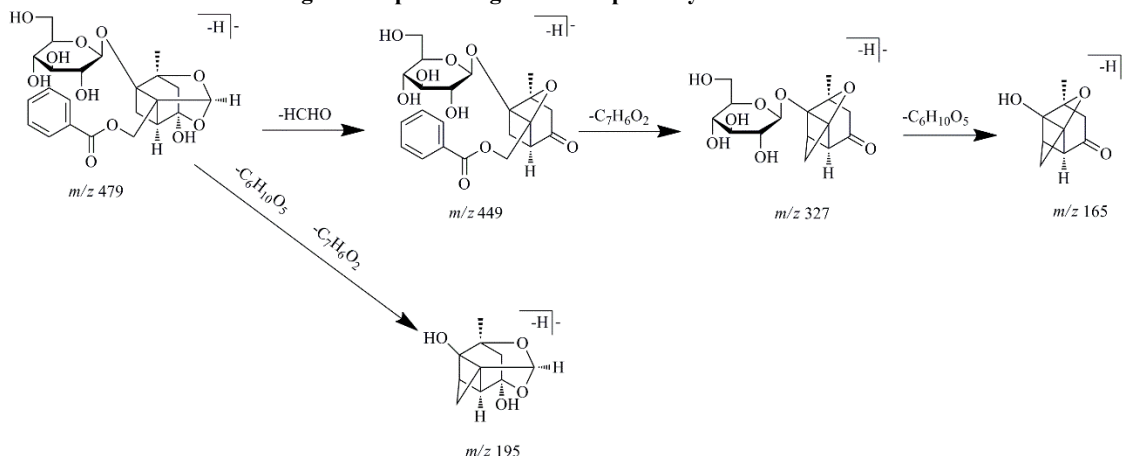


图 6 芍药苷可能的裂解途径

Fig. 6 Proposed fragmentation pathway of paeoniflorin

化芍药苷, 有准分子离子峰 m/z 495.150 3, 二级质谱下可见 m/z 465.132 5 $[M-H-HCHO]^-$ 及蒽烷骨架离子 m/z 165.053 6。峰 38、39、50、63 有相同规律, 分别推测为 mudanpioside I、mudanpioside E、galloyloxypaeoniflorin、没食子酰芍药苷。

3.3 糖苷类

糖苷类化合物主要来自酒萸肉、牡丹皮、熟地黄, 多具有没食子酸或葡萄糖结构。以峰 57 为例(图 7), 准分子离子峰为 m/z 787.096 3, 二级质谱中可见碎片 m/z 635.194 8、617.075 6、465.068 5、447.059 5、313.059 3、295.044 5, 结合文献, 推测为 1,2,3,6-四没食子酰葡萄糖, 可能的裂解途径见图 8。结合碎片离子及文献报道^[16-18], 推测峰 9、15

为 digalloylglucose, 峰 40、48、51 为三没食子酰葡萄糖, 峰 66 为五没食子酰葡萄糖。结合对照品及推测峰 42、46 分别为牡丹酚原苷、丹皮酚新苷。结合文献报道^[16-18]推测峰 55、56 为 suffruticoside A/C, 峰 61、62 为 suffruticoside B/D。

峰 33 经对照品指认为莫诺苷, 准分子离子峰为 m/z 405.139 0, 一级质谱下可以观察到 m/z 451.130 0 $[M-H+HCOOH]^-$, 二级质谱中观察到 m/z 243.077 2 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ 、225.066 4 $[M-H-C_6H_{10}O_5-H_2O]^-$ 、141.048 7 $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_4H_6O_3]^-$, 质谱信息及可能的裂解途径见图 9、10。结合碎片离子及文献报道^[12,22-27]推测峰 10、12、13、30、32、37、43~45、70 分别为地黄苷 D、7-*O*-乙基莫诺苷、密力特

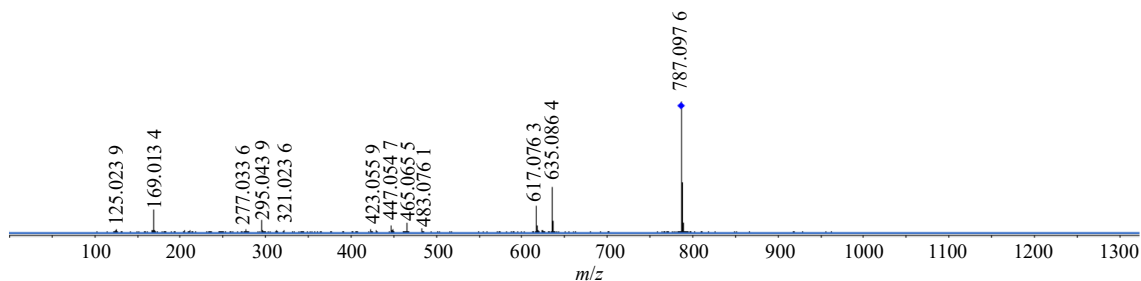


图 7 1,2,3,6-四没食子酰葡萄糖的 MS/MS 图

Fig. 7 The proposed fragmentation pathway of 1,2,3,6-tetragalloylglucose

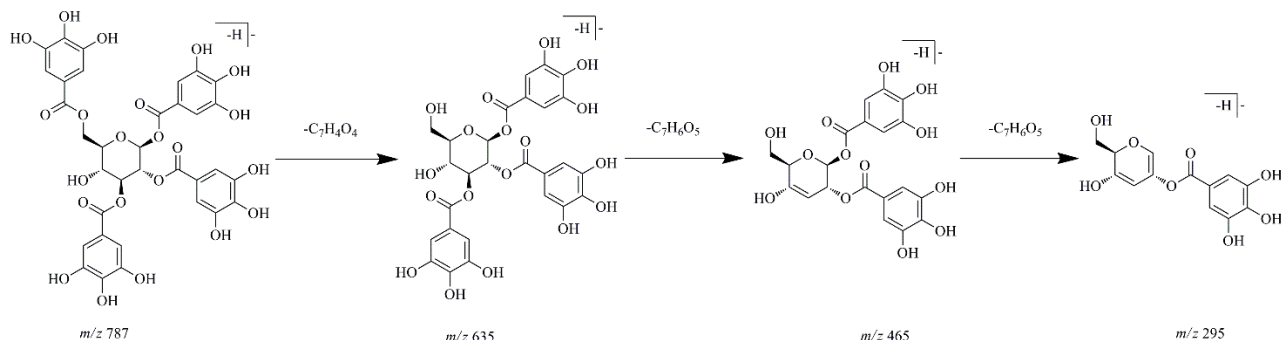


图 8 1,2,3,6-四没食子酰葡萄糖可能的裂解途径

Fig. 8 Proposed fragmentation pathway of 1,2,3,6-tetragalloylglucose

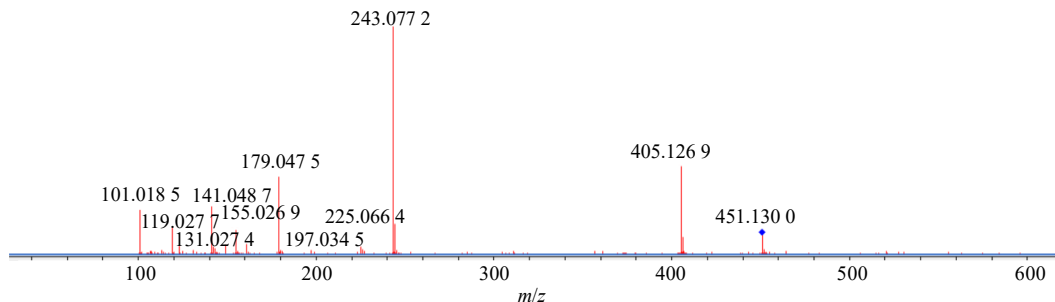


图 9 莫诺苷的 MS/MS 图

Fig. 9 Proposed fragmentation pathway of morroniside

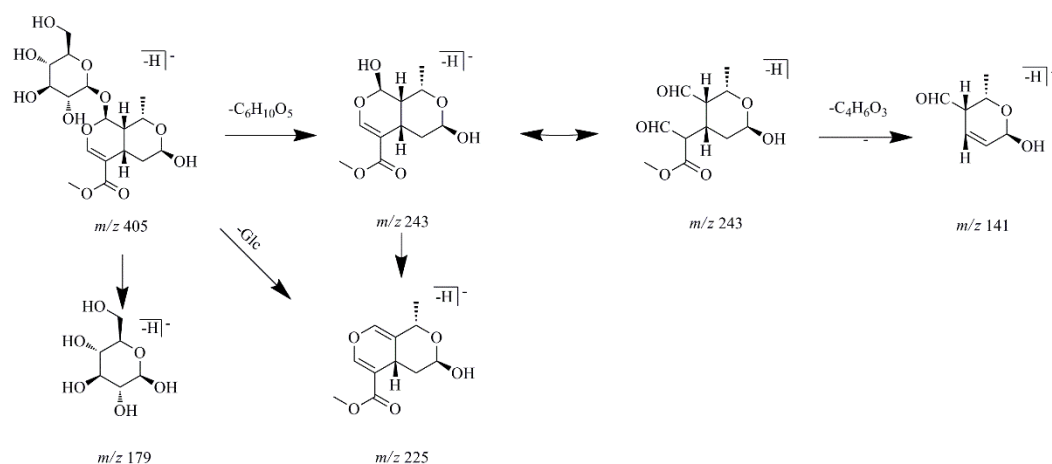


图 10 莫诺昔可能的裂解途径

Fig. 10 The proposed fragmentation pathway of morroniside

昔、金吉昔、二氢山茱萸昔、獐芽菜苦昔、马鞭草昔、獐芽菜昔、马钱昔、山茱萸新昔。

4 讨论

近年来,随着社会经济的发展,生活节奏逐渐变快,更年期综合症的发病率呈上升趋势,给患者带来很大困扰,并影响其生活质量和身心健康。针对这一问题,在中医药理论指导下,按照由“中药饮片组方(饮片配伍)向中药复方活性成分群组方(组分配伍)发展”的中药经典方剂“二次开发”思路,对六味地黄方活性物质组方进行了探讨,从汤剂出发,经过两步醇沉、两步色谱分离得到了苷类、多糖以及寡糖 3 个有效部位,在此基础上得到了六味地黄苷糖片。六味地黄苷糖片现有的质量标准缺乏完善的质量控制方法,为阐明药效物质基础,后续会对六味地黄苷糖片中的化学成分进行定量、入血实验研究。

本实验采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对六味地黄苷糖片中的化学成分进行了快速分析,结合单味药材对质谱峰进行了归属,并通过一级质谱获得的准分子离子峰推测鉴定出了 71 个六味地黄苷糖片中可能含有的化合物。其中莫诺昔、马钱昔、芍药昔、牡丹酚原昔等 20 个化合物经由对照品指认,其余成分通过二级质谱提供的碎片离子结合相关文献推测指认,因六味地黄苷糖片中含有较多环烯醚萜苷类成分,结合文献报道^[20-21]及实际情况选择了在负离子模式下检测,指认结果显示来自泽泻、茯苓、山药中的成分较少,推测 3 味药材在六味地黄苷糖片中主要提供糖类成分,因此未能检出,后续需进一步完善。本实验运用 UPLC-Q-TOF-MS/MS

技术对六味地黄苷糖片进行了全面系统地解析,为六味地黄苷糖片后续的入血实验研究和关键成分定量控制提供了理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 邱伊星. 六味地黄丸及其相关制剂的指纹图谱质量控制方法研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2016.
- [2] 王泷. 易水学派医家运用六味地黄丸经验 [J]. 长春中医药大学学报, 2018, 34(1): 70-72.
- [3] 虞学军, 林齐鸣, 曹小玉. 近年研究六味地黄丸的文献分析 [J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(3): 87-88.
- [4] 耿丽, 蔡云芳. 六味地黄丸 HPLC 指纹图谱建立及主要成分分析 [J]. 世界中医药, 2019, 14(11): 2875-2878.
- [5] 王晓燕. 六味地黄苷糖中糖苷部位的化学成分研究 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2009.
- [6] 周青儒, 程肖蕊, 周文霞, 等. 六味地黄苷糖对脂多糖所致神经炎症模型小鼠学习记忆损伤的作用 [J]. 国际药学研究杂志, 2019, 46(5): 363-370.
- [7] 张波泳, 江振作, 王跃飞, 等. UPLC/ESI-Q-TOF MS 法分析鲜地黄、生地黄、熟地黄的化学成分 [J]. 中成药, 2016, 38(5): 1104-1108.
- [8] 杜伟锋, 张云, 丛晓东, 等. HPLC-ESI-MS 法分析山茱萸炮制前后的化学成分 [J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(1): 62-65.
- [9] 林鹏, 李银保. 山药的化学成分及其生物活性研究进展 [J]. 广东化工, 2015, 42(23): 118-119.
- [10] 袁书林. 山药的化学成分和生物活性作用研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2008, 29(3): 176-179.
- [11] 龚凌霄, 池静雯, 王静, 等. 山药中主要功能性成分及其作用机制研究进展 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(16): 312-319.
- [12] 赵婷秀, 曹迪, 茆文莉, 等. HPLC-QTOF-MS 分析六味

- 地黄丸不同部位的化学成分 [J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(4): 489-496.
- [13] 张振凌, 吴若男, 于文娜, 等. 生地黄产地加工炮制一体化工艺研究 [J]. 中草药, 2018, 49(20): 4767-4772.
- [14] Wang X, Wu C, Xu M, *et al.* Optimisation for simultaneous determination of iridoid glycosides and oligosaccharides in *Radix Rehmannia* by microwave assisted extraction and HILIC-UHPLC-TQ-MS/MS [J]. *Phytochem Anal*, 2020, 31(3): 340-348.
- [15] Deng S X, West B J, Jensen C J. UPLC-TOF-MS characterization and identification of bioactive iridoids in *Cornus mas* fruit [J]. *J Anal Methods Chem*, 2013, 2013: 1-7.
- [16] 夏成凯, 詹云武, 胡云飞, 等. HPLC 法同时测定不同产地牡丹皮中 13 种化学成分的含量 [J]. 中草药, 2019, 50(4): 970-974.
- [17] 赵文军, 林阳, 李鹏飞, 等. 牡丹皮化学成分的 HPLC-QTOFMS 分析 [J]. 药学实践杂志, 2014, 32(4): 261-265.
- [18] 胡云飞, 裴月梅, 吴虹, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术研究不同产地牡丹皮药材化学成分的差异 [J]. 中草药, 2016, 47(17): 2984-2992.
- [19] 白雪, 黄惠锋, 吴修红, 等. HPLC-DAD-MS/MS 法分析金银花中化学成分 [J]. 食品与药品, 2015, 17(1): 5-8.
- [20] 霍金海, 孙国东, 魏文峰, 等. UPLC-Q-TOF/MS 法分析牛黄清感胶囊成分 [J]. 中成药, 2018, 40(10): 2340-2348.
- [21] 李泮霖, 李楚源, 刘孟华, 等. 基于 UFLC-Triple-Q-TOF-MS/MS 技术的金银花、山银花化学成分比较 [J]. 中南药学, 2016, 14(4): 363-369.
- [22] 李存满, 梁鑫淼, 薛兴亚. 电喷雾离子源正离子模式下环烯醚萜苷的质谱裂解行为 [J]. 高等学校化学学报, 2013, 34(3): 567-572.
- [23] 牟德华, 胡高爽, 李存满. UPLC/Q-TOF MS/MS 负离子模式下环氧烷型环烯醚萜苷的结构表征 [J]. 质谱学报, 2019, 40(2): 197-207.
- [24] 周丹丹, 邹秦文, 林瑞超. 基于超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱质谱的胃复春片化学成分研究 [J]. 世界中医药, 2020, 15(13): 1841-1848.
- [25] 吴昕怡, 刘小莉. 环烯醚萜类成分生物合成途径及关键酶基因研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(8): 44-48.
- [26] Wu Q, Yuan Q, Liu E H, *et al.* Fragmentation study of iridoid glycosides and phenylpropanoid glycosides in *Radix Scrophulariae* by rapid resolution liquid chromatography with diode-array detection and electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2010, 24(8): 808-819.
- [27] 刘桦, 周婷婷, 范国荣. 液质联用技术在环烯醚萜苷类化合物研究中的应用 [J]. 药学服务与研究, 2011, 11(1): 45-49.

[责任编辑 王文倩]