

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的益气健脾颗粒化学成分分析

朱赟斐^{1,2}, 谭善忠³, 王洪兰^{1,2}, 单晨啸¹, 崔小兵¹, 井山林^{1*}, 李俊松^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中药高效给药系统工程技术研究中心, 江苏 南京 210023

3. 南京中医药大学附属南京医院, 南京市第二医院中西医结合科, 江苏 南京 210003

摘要: **目的** 采用超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱联用技术对益气健脾颗粒中化学成分进行初步鉴定和归属分类。**方法** 采用 YMC-Pack ODS-A 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以 0.2% 甲酸水-甲醇为流动相体系, 梯度洗脱, 进样量 8 μL, 体积流量 1.0 mL/min, 在正、负离子模式下对色谱流出物进行质谱检测。**结果** 通过与对照品比对、自建数据库匹配, 结合文献报道, 从益气健脾颗粒中鉴定出 130 个化学成分, 包括 54 个黄酮类、22 个萜类、20 个含氮化合物、14 个香豆素类、12 个有机酸类, 还有 8 个醇苷类、鞘脂类等其他成分。**结论** 建立的定性分析方法能系统、快速地对益气健脾颗粒中的成分进行识别, 为益气健脾颗粒的质量控制和研究药效物质基础提供重要依据。

关键词: 益气健脾颗粒; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 裂解规律; 黄酮类; 萜类; 香豆素类; 有机酸类

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)12-3601-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.12.005

Identification of chemical constituents in Yiqi Jianpi Granules by UPLC-Q-TOF-MS/MS

ZHU Yun-fei^{1,2}, TAN Shan-zhong³, WANG Hong-lan^{1,2}, SHAN Chen-xiao¹, CUI Xiao-bing¹, JING Shan-lin¹, LI Jun-song^{1,2}

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Engineering Research Center for Efficient Delivery System of TCM, Nanjing 210023, China

3. Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing Second Hospital & Nanjing Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210003, China

Abstract: Objective To preliminarily identify and classify the chemical constituents in Yiqi Jianpi Granules (益气健脾颗粒) by ultra performance liquid chromatography quadrupole time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS). **Methods** The sample was performed on a YMC-Pack ODS-A chromatographic column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with 0.2% formic acid water-methanol as the mobile phase system by gradient elution. The injection volume was 8 μL and the volume flow rate was 1.0 mL/min. The chromatographic effluents were detected by mass spectrometry in positive and negative ion mode. **Results** A total of 130 chemical components were identified by the methods of comparing with reference substances, matching self-built database, and literature reports, including 54 flavonoids, 22 terpenoids, 20 nitrogen-containing compounds, 14 coumarins, 12 organic acids, and eight glycosides, sphingolipids and other components. **Conclusion** The established method can systematically and quickly identify and analyze the chemical constituents of Yiqi Jianpi Granules, which could provide an important basis for the quality control and pharmacodynamic material basis study of Yiqi Jianpi Granules.

Key words: Yiqi Jianpi Granules; UPLC-Q-TOF-MS/MS; fragmentation patterns; flavonoids; terpenoids; coumarins; organic acids

随着社会的进步, 慢性肝病在我国发病率呈逐年上升的趋势, 由于其病程长、病情复杂、迁延难愈, 给社会 and 患者造成很大负担^[1]。慢性肝病病机复杂, 有肝郁气滞、肝郁脾虚等^[2]。患者气血不畅,

收稿日期: 2022-01-25

基金项目: 江苏省中医药领军人才项目 (苏中医科教[2018]4 号)

作者简介: 朱赟斐 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药新剂型与新技术。E-mail: 13773679212@163.com

*通信作者: 李俊松, 硕士生导师, 研究员, 主要从事中药制剂关键技术与转化。E-mail: Lijunsong1964@163.com

井山林, 讲师, 主要从事中药质量评价及中药新产品开发研究。E-mail: 915298450@qq.com

肝脏疏泄条达功能下降, 各类管道失其通利, 瘀热痰毒阻滞肝络, 肝实质长期反复受损, 从而形成肝纤维化、肝硬化、肝衰竭等。

益气健脾颗粒由炙黄芪、太子参、当归、酒女贞子等九味药组成, 主要用于慢性肝病如肝硬化、肝衰竭等的治疗, 在临床应用已有十余年, 疗效确切。炙黄芪在方中重用, 以补益为主; 太子参补气健脾兼可生津, 两者共为君药。当归养血活血, 酒女贞子滋补肝肾阴精, 共为臣药。炒白术、茯苓、陈皮、酒黄芩进一步健脾, 同时理气、清热、利湿, 补而不滞, 为佐药。炙甘草调和诸药, 为使药。全方益气健脾治本, 清热、利湿、理气治标, 标本兼治, 共奏固肝气血之本, 祛湿热郁之邪之效。将其开发为新药, 可以更好地造福患者。

实验室前期进行的药理研究^[3]表明, 益气健脾方在动物实验中能够有效降低慢加急性肝衰竭模型大鼠的肝损伤相关指标, 如谷丙转氨酶、谷草转氨酶和总胆红素等, 减轻慢加急性肝衰竭模型大鼠的严重程度; 在临床上能够明显改善慢加急性肝衰竭患者肝功能指标, 如总胆红素、终末期肝病模型(MELD)评分, 提升慢加急性肝衰竭患者免疫功能如外周血淋巴细胞百分比, 改善慢加急性肝衰竭患者预后^[4]。

益气健脾颗粒的药理作用已有初步研究, 但其发挥药效的物质基础仍不明确, 因此, 本实验采用超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱技术(UPLC-Q-TOF-MS/MS)分别在正、负离子模式下对颗粒剂供试品溶液进行扫描, 通过与对照品的保留时间及质谱碎片离子进行匹配, 并结合文献报道与自建数据库中对应成分的精确相对分子质量、裂解规律进行比对, 对益气健脾颗粒的化学成分进行定性分析, 以期对颗粒剂的工艺优化、质量控制、作用机制探讨及深度开发等奠定基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Triple Q-TOF 5600 System-MS/MS 电喷雾飞行时间高分辨质谱仪(配备有电喷雾离子源系统, 美国 AB SCIEX 公司), LC-20ADXR 快速液相仪(DGU-20A3 脱气装置, SIL-20AXR 自动进样器, CTO-20AC 柱温箱, 日本 Shimadzu 公司); 数据采集和处理分别采用 Analyst TF 1.6 和 PeakView1.2 软件; KH-500DE 型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司); TD6002C 型电子天平(天津天马衡

基有限公司); Sartorius CPA225D 型分析天平(南京以马内仪器有限公司); XP-6 型精密天平(瑞士梅特勒-托利多公司); Synergy UV 系统超纯水仪(南京汉隆仪器有限公司); HH-8 型恒温水浴锅(常州国宇仪器制造有限公司); TGL-18C-C 型台式高速离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 试药

腺嘌呤(批号 S09S10D97125)、烟酸(批号 LC15716V)、黄嘌呤(批号 AJ0722MA14)、鸟苷(批号 AJ0609NA14)、异甘草苷(批号 R07D8F50056)、木犀草素(批号 YA0408YA13)、芸香柚皮苷(批号 P25J9L66554)、野黄芩苷(批号 Z01M10X81701)、异甘草素(批号 C03A8Q41092)、川陈皮素(批号 H22M8K32109)、白杨素(批号 X24O6C4947)、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮(批号 C09O8Y45293), 质量分数均 $\geq 98.0\%$, 购自上海源叶生物科技有限公司; 尿苷(批号 110887-201803)、腺苷(批号 110879-201703)、没食子酸(批号 110831-200302)、红景天苷(批号 110818-201708)、绿原酸(批号 110753-201817)、咖啡酸(批号 110885-201703)、阿魏酸(批号 110773-201915)、甘草苷(批号 111610-201908)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 111920-201907)、柚皮苷(批号 110722-201714)、橙皮苷(批号 110721-201617)、黄芩苷(批号 110715-201821)、汉黄芩苷(批号 112002-201702)、黄芩素(批号 111595-201808)、甘草酸铵(批号 110731-201619)、藜本内酯(批号 4431-01-0)、黄芪皂苷 IV(批号 110781-201717)质量分数均 $\geq 96.8\%$, 购于中国食品药品检定研究院; 槲皮素(批号 M216C186)、山柰酚(批号 K2452C186)质量分数 $\geq 98.0\%$, 购自上海吉至生化科技有限公司; 毛蕊花糖苷(批号 JBZ-7883)、洋川芎内酯 A(批号 111826-201806)质量分数 $\geq 98.0\%$, 购自南京金益柏生物科技有限公司; 3,5-二咖啡酰奎宁酸(批号 DSTDY003601)质量分数 $\geq 98.0\%$, 购于成都德思特生物技术有限公司; 汉黄芩素(批号 64320010)质量分数 $\geq 98.0\%$, 购于上海安谱实验科技股份有限公司; 黄芪皂苷 III(批号 180419)质量分数 $\geq 98.0\%$, 购自南京森贝伽生物科技有限公司。

益气健脾颗粒(批号 20210606, 实验室自制, 黄芪甲苷质量分数为 $0.067\ 2\ \text{mg/g}$, 红景天苷质量分数为 $0.228\ 2\ \text{mg/g}$); 甲酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 甲醇(质谱级, 德国 Merck

公司); 甲醇(分析纯, 国药化试集团); 水(屈臣氏蒸馏水与纯水仪自制超纯水); 糊精(分析纯, 罗恩试剂); 阿司帕坦(分析纯, 批号 H10M9A12035, 南京景竹生物科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱与质谱条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 YMC-Pack ODS-A(250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为 0.2% 甲酸水溶液(A)-甲醇(B), 梯度洗脱: 0~5 min, 5% B; 5~14 min, 5%~23% B; 14~25 min, 23%~28% B; 25~28 min, 28%~30% B; 28~44 min, 30%~34% B; 44~51 min, 34%~44% B; 51~60 min, 44%~46% B; 60~70 min, 46%~56% B; 70~80 min, 56%~74% B; 80~85 min, 74%~90% B; 85~90 min, 90% B, 90~92 min, 90%~5% B, 92~100 min, 5% B; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 8 μ L。

2.1.2 质谱条件 采用 TOF MS-IDA-MS/MS 模式; 正、负离子检测模式; 雾化气温度(TEM): 550 $^{\circ}$ C; 源内气体积流量(GSI, N_2): 379.225 kPa; 源内气体积流量(GS2, N_2): 275.800 kPa; 气帘气压力(CUR): 275.800 kPa; 喷雾电压(IS)4500 eV(ESI^-), 5500 eV(ESI^+); 去簇电压(DP)100 eV; 碰撞电压(CE)40 eV; 碰撞电压差 15 eV; 扫描范围为 m/z 50~1500。参数设置、数据采集和分析采用 Analyst 1.6 软件。

2.2 溶液的配制

2.2.1 混合对照品溶液的配制 取红景天苷、阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、黄芪皂苷 IV 等对照品适量, 精密称定, 置于量瓶中, 加甲醇制成各对照品储备液; 分别吸取各储备液适量, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 制成质量浓度均为 10 μ g/mL 的混合对照品溶液, 离心 10 min(14 000 r/min), 取上清, 即得。

2.2.2 供试品溶液的配制 取当归、炒白术、陈皮加 6 倍量水, 浸泡 0.5 h, 用水蒸气蒸馏法提取挥发油 4 h, 得挥发油, 放置备用, 蒸馏后的水溶液另器收集备用; 药渣与炙黄芪、太子参等加入全部饮片的 10 倍量水, 回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 滤过, 滤液合并, 与蒸馏后的水溶液合并, 并于 70 $^{\circ}$ C 减压浓缩至相对密度为 1.10~1.20 (60 $^{\circ}$ C), 趁热加入阿司帕坦、糊精适量, 干法制粒, 制成颗粒, 60~70 $^{\circ}$ C 干燥约 1 h, 放冷, 喷入上述当归挥发油等, 混匀, 即得。取益气健脾颗粒适量, 研细, 精密称

取 2.0 g, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 75% 甲醇 80 mL, 密塞, 称定质量, 加热回流 60 min (85 $^{\circ}$ C), 放冷至室温, 补足减失质量, 摇匀, 精密吸取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇定容至刻度, 摇匀, 离心 10 min (14 000 r/min), 取上清, 即得。此外, 按照颗粒剂供试品溶液的生药量, 分别取相应比例各单味药饮片, 同法制成单味药供试品溶液。

2.3 数据库的建立

在 TCMSP、CNKI、SciFinder、ChemicalBook 等数据库检索益气健脾颗粒中各药味相关的化学成分信息, 整理化合物的 CAS 号、分子式、相对分子质量、名称、分子结构式(mol 格式文件)等, 构建益气健脾颗粒的化学成分数据库。

2.4 数据处理、成分鉴别与分析

按“2.1”项下条件检测益气健脾颗粒供试品溶液, 将所得原始质谱数据导入 PeakView 1.2 软件, 得到正、负离子模式下的总离子流图(TIC), 见图 1。对于有对照品进行比对的化合物, 将供试品溶液中各成分的相对保留时间、准分子离子、MS/MS 碎片离子信息等与对照品图谱比对确认。无对照品比对的化合物, 通过逐个提取选定化合物的谱图与本地自建库中化合物进行匹配, 初步比对相对保留时间、相对分子质量、分子式、准分子离子, 筛选出误差在 5×10^{-6} 以内的成分, 再将二级谱图中化合物的碎片离子信息与相关文献资料、不同类别成分 MS 裂解规律进行比对分析, 以准确推定无对照品比对的化学成分。

结果从益气健脾颗粒中共鉴定和推测出 130 个化合物, 包括 20 个含氮化合物类成分、54 个黄酮及其苷类成分、22 个萜类成分、14 个香豆素类成分、12 个有机酸类成分和 8 个其他类成分。其中 35 个来自黄芪、10 个来自太子参、19 个来自当归、18 个来自女贞子、3 个来自白术、16 个来自陈皮、3 个来自茯苓、14 个来自黄芩、33 个来自甘草, 具体结果见表 1。其中 38 种化合物为多味药共有成分, 黄酮类黄芩苷、二氢黄酮类橙皮苷、异黄酮类毛蕊异黄酮葡萄糖苷、苯乙醇苷类红景天苷、有机酸类阿魏酸 36 个成分与对照品比对后确认。

3 主要化合物的鉴定与归属、各类化合物的鉴定分析

3.1 含氮化合物

本实验从益气健脾颗粒中初步鉴定出 20 个含氮化合物, 主要属于氨基酸、核苷类、嘌呤及环肽类, 且大多来源于黄芪和太子参。此类化合物的裂

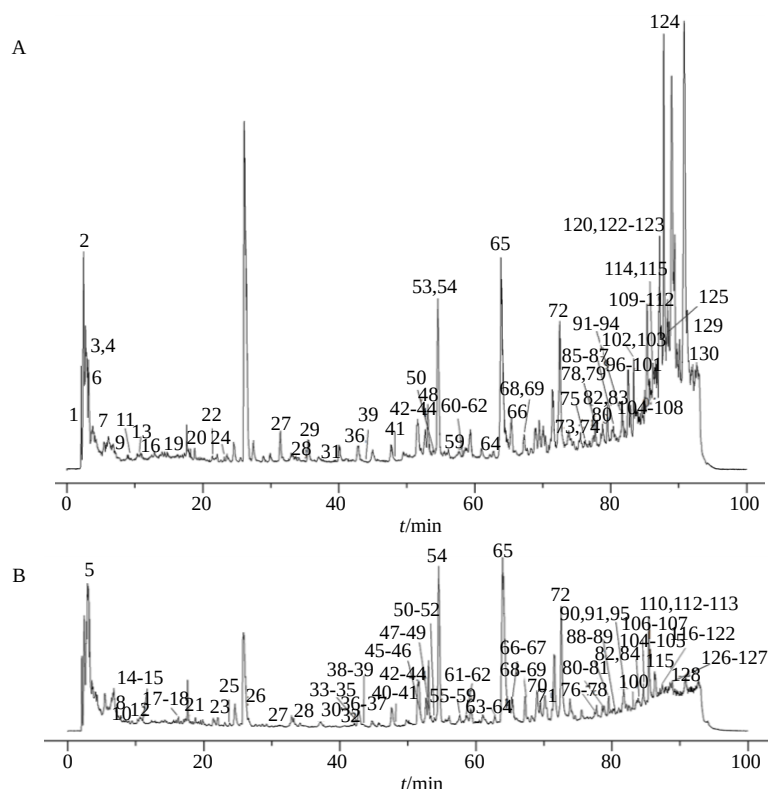


图 1 益气健脾颗粒正离子 (A) 和负离子(B) 模式 TIC 图

Fig. 1 Total ion chromatograms of Yiqi Jianpi Granules in positive (A) and negative (B) mode

表 1 益气健脾颗粒化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析

Table 1 Analysis of chemical constituents of Yiqi Jianpi Granules by UPLC-Q-TOF-MS/MS

峰号	t_R/min	分子式	化合物	模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	MS/MS 碎片 (m/z)	归属
1	2.31	$\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$	组氨酸 ^{[5]*}	+H	156.076 8	156.076 2	-3.52	110.072 9、156.077 5	A、B、C、F、G、H、I
2	2.40	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$	精氨酸 ^[6]	+H	175.119 0	175.118 4	-3.14	116.070 7、158.091 4、 175.118 2	A、B、C、E、F、G、H、 I
3	2.71	$\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$	谷氨酸 ^[5]	+H	148.060 4	148.060 0	-2.90	84.047 3、102.058 1、 130.050 6	A、B、C、F、H
4	2.74	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$	甜菜碱 ^[7]	+H	118.086 3	118.086 0	-2.20	59.078 2、118.086 3	A、B、C、D、E、F、H、I
5	3.08	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	蔗糖 ^[8]	-H	341.108 9	341.109 3	1.06	179.055 9、341.110 6	A、B、C、E、F、G
6	3.16	$\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5$	腺嘌呤 ^{[9]*}	+H	136.061 8	136.061 7	-0.51	119.035 9、136.060 3	A、B、C、E、F、H、I
7	4.57	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$	烟酸 ^{[6]*}	+H	124.039 3	124.039 2	-0.81	78.037 6、80.051 6、 106.033 7、124.040 7	A、B、C、F、G
8	7.01	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$	尿苷 ^{[10]*}	-H	243.062 3	243.063 0	3.04	68.019 4、82.031 1、 111.020 6、243.066 5	A、E、F
9	7.21	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_2$	黄嘌呤 ^{[6]*}	+H	153.040 7	153.040 2	-3.27	110.039 3、136.014 0、 153.045 5	A
10	7.60	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6\text{P}$	腺苷-2',3'-环磷酸 ^[6]	-H	328.045 3	328.045 5	0.76	134.047 9、192.989 2	A
11	8.74	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$	腺苷 ^{[5-6]*}	+H	268.104 0	268.104 3	1.01	119.035 9、136.062 2	A、B、C、E、G、H、I
12	10.51	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_7\text{P}$	环磷酸鸟苷 ^[10]	-H	344.040 2	344.040 9	2.15	133.016 5、150.043 1	A、C、G、I
13	11.02	$\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5\text{O}$	鸟嘌呤 ^[6]	+H	152.056 7	152.056 5	-1.25	110.037 1、135.030 9、 152.057 7	A、B、C、F、G、H、I

续表 1

峰号	t _R /min	分子式	化合物	模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 (×10 ⁻⁶)	MS/MS 碎片 (m/z)	归属
14	11.03	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅	鸟苷 ^{[5-6]*}	+H	284.099 0	284.098 6	-1.23	135.031 2、152.057 2	A、B、C、F、 G、H
				-H	282.084 4	282.084 6	0.74	133.015 9、150.042 3、282.085 0	
15	11.14	C ₇ H ₆ O ₅	没食子酸 ^{[7]*}	-H	169.014 3	169.014 7	2.66	125.023 9、169.012 3	A、F
16	12.84	C ₉ H ₁₁ NO ₂	L-苯丙氨酸 ^[6]	+H	166.086 3	166.085 9	-2.17	91.056 3、103.056 0、120.082 3	A、B、C、F、 G、H
17	15.91	C ₁₄ H ₂₀ O ₈	北升麻宁 ^[11]	-H	315.108 5	315.109 4	2.73	59.016 9、89.026 2、135.046 2、 315.111 9	D
18	16.69	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₄	女贞酸 ^[12]	-H	451.109 3	451.108 9	-0.95	227.057 2、271.045 8、433.101 7、 451.111 8	D
19	17.30	C ₁₄ H ₁₇ N ₅ O ₈	succinyladenosine ^[6]	+H	384.115 0	384.114 4	-1.54	136.061 6、252.072 5、384.115 5	A、C、E、G
20	17.93	C ₁₁ H ₉ NO ₂	(E)-3-吡啶丙烯酸 ^[6]	+H	188.070 6	188.070 3	-1.65	118.065 9、170.059 7、188.069 4	A、B、C、F、 G、H
21	18.74	C ₁₄ H ₂₀ O ₇	红景天苷*	-H	299.113 6	299.114 3	2.24	59.016 7、89.025 9、119.050 1、 137.061 6	D
22	21.32	C ₁₀ H ₈ O ₃	羟甲香豆素 ^[13]	+H	177.054 6	177.054 1	-2.94	145.029 2、177.053 5	I
23	21.93	C ₁₉ H ₂₈ O ₁₁	osmanthuside H ^[11, 14]	-H	431.155 9	431.155 7	-0.44	119.033 4、149.045 7、299.116 1、 431.159 4	D、H
24	23.04	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	绿原酸 ^{[15]*}	+H	355.102 4	355.101 9	-1.30	117.035 0、135.044 7、145.029 1、 163.039 7	A、C
25	23.80	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	花旗松素 ^[11]	-H	303.051 0	303.051 6	1.88	121.030 5、149.025 2、303.053 8	D、H
26	26.40	C ₉ H ₈ O ₄	咖啡酸 ^{[16]*}	-H	179.035 0	179.035 6	3.46	135.045 3	C、D、F
27	31.19	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	槲皮素 ^{[7, 17]*}	+H	303.049 9	303.048 9	-3.40	153.020 4、303.049 5	A、D、H、I
				-H	301.035 4	301.036 4	3.39	107.015 0、151.003 7、301.037 4	
28	34.16	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	维采宁-2 ^{[18]*}	+H	595.165 8	595.164 5	-2.10	577.154 2、595.165 1	B、D、G
				-H	593.151 2	593.151 2	0.02	473.112 6、503.144 2、593.158 9	
29	35.79	C ₉ H ₆ O ₂	香豆素 ^[11]	+H	147.044 1	147.043 9	-1.09	119.049 4、147.095 5	A
30	37.50	C ₉ H ₆ O ₃	4-羟基香豆素 ^[9]	-H	161.024 4	161.025 0	3.60	133.029 8、161.024 7	A
31	39.38	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	阿魏酸*	+H	195.065 2	195.064 7	-2.51	117.034 4、145.028 2、149.062 0、 177.054 9	C
32	42.19	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	圣草次苷/新北美圣草苷 ^[18]	-H	595.166 8	595.166 0	-1.41	287.058 0、595.170 6	G
33	42.54	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	甘草苷 ^{[19]*}	-H	417.119 1	417.117 9	-2.90	135.009 5、255.068 2、417.123 6	I
34	42.56	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	异甘草苷 ^{[19]*}	-H	417.119 1	417.117 8	-3.14	135.009 0、255.067 7、417.121 2	I
35	42.59	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	新甘草苷 ^[19]	-H	417.119 1	417.117 8	-3.14	135.009 5、255.067 6、417.119 7	I
36	42.66	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	毛蕊异黄酮葡萄糖苷*	+H	447.128 6	447.128 1	-1.05	253.049 6、285.076 5	A
				+COOH	491.118 4	491.117 9	-1.02	283.063 0	
37	42.87	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	新异甘草苷 ^[20]	-H	417.119 1	417.117 9	-2.90	135.009 5、255.067 4、417.120 9	I
38	43.73	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	夏佛塔苷 ^[19]	-H	563.140 6	563.139 7	-1.65	383.079 1、563.147 8	I
39	43.74	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	异夏佛塔苷 ^[19]	+H	565.155 2	565.153 7	-2.62	457.106 0、529.134 6、547.146 9、 565.155 9	I
				-H	563.140 6	563.139 7	-1.65	383.079 1、563.147 8	
40	48.02	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	木犀草素 ^{[11]*}	-H	285.040 5	285.040 8	1.19	107.013 9、133.030 2、175.041 4、 285.040 8	D
41	48.11	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	山柰酚 ^{[7, 17]*}	+H	287.055 0	287.055 5	1.71	153.018 0、287.053 8	A、D、H、I
				-H	285.040 5	285.040 4	-0.21	285.042 0	

续表 1

序号	t _R /min	分子式	化合物	模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 (×10 ⁻⁶)	MS/MS 碎片(m/z)	归属
42	51.32	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	芸香柚皮苷 ^{[18]*}	+H	581.186 5	581.185 5	-1.69	419.131 2	G
				-H	579.171 9	579.170 9	-1.78	151.004 1、271.063 2、579.176 2	
43	51.49	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	柚皮苷 ^{[21]*}	+H	581.186 5	581.184 7	-3.06	273.075 9	G
				-H	579.171 9	579.169 9	-3.51	271.062 4、579.175 8	
44	51.90	C ₂₅ H ₃₀ O ₁₄	女贞苷酸 ^[11]	+H	555.170 8	555.169 7	-2.04	121.066 0	D
				-H	553.156 3	553.154 4	-3.40	209.045 2、347.116 4、553.157 6	
45	52.00	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	白杨素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷 ^[22]	-H	547.145 7	547.143 6	-3.86	337.074 3、427.105 9、547.152 8	H
46	52.56	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	白杨素-6-C-葡萄糖-8-C-阿拉伯糖苷 ^[23]	-H	547.145 7	547.143 7	-3.67	337.074 2、427.107 4、547.149 8	H
47	53.10	C ₃₁ H ₄₂ O ₁₇	特女贞苷 ^[24]	-H	685.234 9	685.233 7	-1.78	299.115 4、453.143 3、523.187 5、685.243 4	D
48	53.14	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	野黄芩苷 ^{[25]*}	+H	463.087 1	463.089 1	4.32	287.054 5、463.085 5	H
				-H	461.072 6	461.071 8	-1.63	285.042 2	
49	53.17	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₄	决明子苷 B ^[10]	-H	565.156 3	565.156 3	0.04	271.063 7、565.162 3	I
50	54.00	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	大豆苷 ^[26]	+H	417.118 0	417.118 2	0.46	381.099 7、399.108 3、417.120 0	G、H
51	54.23	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	毛蕊花糖苷 ^{[7,19]*}	-H	623.198 1	623.196 4	-2.79	161.025 6、461.172 3、623.205 5	A、I
52	54.28	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	甲基橙皮苷 ^[26]	-H	623.198 1	623.196 2	-3.11	135.045 7、461.171 4、623.204 2	G
53	54.51	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	橙皮素 ^[21]	+H	303.086 3	303.086 1	-0.69	177.053 2、179.034 0、153.017 9、303.084 1	G
54	54.56	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	橙皮苷*	+H	611.197 1	611.195 8	-2.05	177.054 6、303.085 8、449.144 1	G
				-H	609.182 5	609.181 2	-2.12	301.072 5、609.185 1	
55	57.24	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1,3-双咖啡酰奎宁酸 ^[16]	-H	515.119 5	515.117 7	-3.49	173.046 9、353.090 7、515.121 0	C、D
56	57.25	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	异佛莱心苷 ^[19]	-H	577.156 3	577.154 3	-3.43	269.047 2、577.161 2	I
57	57.32	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	(-)-3,5 二咖啡酰奎宁酸 ^{[15]*}	-H	515.119 5	515.118 1	-2.72	191.056 6、353.088 4、515.121 9	C
58	57.34	C ₉ H ₁₆ O ₄	壬二酸 ^[6]	-H	187.097 6	187.098 5	4.92	125.098 4、169.087 5、187.099 4	A、B、C、E、F
59	57.73	C ₂₅ H ₃₂ O ₁₃	橄榄苦苷 ^[12,27]	+Na	563.173 5	563.173 4	-0.20	369.093 3、401.120 6	D
				-H	539.177 0	539.176 0	-1.89	223.059 7、377.126 2	
60	58.13	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	异鼠李素-3-O-新橙皮苷 ^[9]	+H	625.176 3	625.175 6	-1.14	625.181 1	A
61	58.54	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	芒柄花苷 ^[19,28-29]	+H	431.133 7	431.133 3	-0.84	253.049 6、269.081 0	A、I
				+COOH	475.123 5	475.123 8	0.65	267.067 5	
62	58.90	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₀	黄芪异黄烷苷 ^[21]	+H	463.159 9	463.160 3	0.93	301.107 9	A
				+COOH	507.149 7	507.149 7	0.00	299.095 4	
63	62.60	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	芹菜素-7-葡萄糖苷 ^[11,14]	-H	431.098 4	431.097 5	-2.02	269.047 7	D
64	62.61	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	染料木苷 ^[28]	+H	433.112 9	433.112 7	-0.51	271.060 0	A、H
				-H	431.098 4	431.097 6	-1.79	269.045 8	
65	63.80	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	黄芩苷*	+H	447.092 2	447.092 1	-0.20	271.059 4	H
				-H	445.077 6	445.076 4	-2.79	269.047 4	
66	65.25	C ₂₅ H ₃₅ N ₅ O ₆	太子参环肽甲 ^[30-31]	+H	502.266 0	502.267 0	1.97	261.122 7、318.139 2、389.173 6、502.263 6	B
67	65.94	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₀	黄芪紫檀烷苷 ^[6]	-H	463.161 0	463.160 6	-0.80	121.030 0、301.110 5、463.161 6	A
68	67.19	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	香风草苷 ^[18]	+H	595.202 1	595.201 2	-1.56	153.019 0、287.091 3、433.146 2、449.144 2	G
				-H	593.187 6	593.185 8	-3.00	285.078 6、593.193 2	

续表 1

序号	tr/min	分子式	化合物	模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	MS/MS 碎片(m/z)	归属
69	67.71	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₂	6'-O-肉桂酰基-8-表-金 吉昔酸 ^[11]	+H	521.165 4	521.165 3	-0.10	103.055 8、131.049 5	D
				-H	519.150 8	519.149 5	-2.50	147.044 6、161.061 5、519.155 7	
70	69.05	C ₃₁ H ₄₀ O ₁₅	角胡麻昔 ^[22]	-H	651.229 4	651.228 7	-1.14	193.049 5、475.172 9、505.171 9、 651.235 2	H
71	70.15	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₀	白杨素-7-O-β-葡萄糖醛 酸昔 ^[22]	-H	429.082 7	429.082 3	-0.98	253.051 8	H
72	72.45	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁	汉黄芩昔 ^{[12,32]*}	+H	461.107 8	461.107 4	-0.95	270.052 1、285.076 0	H
				-H	459.093 3	459.092 8	-1.07	283.063 1	
73	73.60	C ₃₃ H ₄₆ N ₆ O ₈	太子参环肽乙 ^[30,31]	+H	683.351 1	683.351 6	0.67	399.198 7、570.260 0、683.346 9	B
74	74.17	C ₃₆ H ₅₃ N ₇ O ₉	citrusin III ^[18]	+H	728.397 8	728.397 3	-0.62	700.399 1、728.396 6	G
75	76.21	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	鼠李柠檬素 ^[17]	+H	301.070 7	301.070 5	-0.53	301.071 0	A、H
76	77.23	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	甘草素 ^[20]	-H	255.066 3	255.066 8	2.04	91.019 8、119.050 6、135.009 4、 255.068 7	I
77	77.28	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	异甘草素 ^{[20,22]*}	-H	255.066 3	255.067 4	4.39	119.051 2、135.009 3、255.068 7	I
78	77.45	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	黄芩素 ^{[13,33]*}	+H	271.060 1	271.059 6	-1.84	123.008 1、253.049 2、271.059 0	H
				-H	269.045 6	269.046 1	2.04	251.037 4、269.046 2	
79	77.64	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	洋川芎内酯 A ^{[6,34]*}	+H	193.122 3	193.122 0	-1.61	137.063 1、147.116 9、175.118 8、 193.120 6	C
80	78.54	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	芒柄花素 ^[28,32]	+H	269.080 8	269.081 1	0.97	237.053 1、253.048 5、269.080 0	A、E、I
				-H	267.066 3	267.066 7	1.57	223.041 7、267.067 9	
81	79.28	C ₄₈ H ₇₂ O ₂₂	24-羟基-甘草皂昔 A ₃ ^[19]	-H	999.444 3	999.440 9	-3.35	837.400 6、999.460 8	I
82	79.50	C ₁₉ H ₁₈ O ₈	黄芩黄酮 II ^[25,33]	+H	375.107 4	375.107 3	-0.37	197.008 4、327.049 9、345.060 8、 375.107 1	H
				-H	373.092 9	373.092 3	-1.58	343.047 9	
83	79.53	C ₁₉ H ₁₈ O ₈	chrysosplenetin ^[32]	+H	375.107 4	375.107 2	-0.64	327.050 6、345.061 1、375.107 7	H
84	79.89	C ₁₂ H ₁₂ O ₃	洋川芎内酯 C ^[35]	-H	203.071 4	203.072 3	4.58	145.030 8、173.025 7、203.072 2	C
85	80.16	C ₄₀ H ₆₀ N ₈ O ₁₀	太子参环肽丙 ^[30,31]	+H	813.450 5	813.448 1	-2.97	211.145 1、324.222 5、601.333 1、 714.417 8	B
86	80.31	C ₃₆ H ₅₅ N ₇ O ₈	太子参环肽丁 ^[30,31]	+H	714.418 5	714.418 2	-0.41	358.209 8、471.276 2、629.371 3、 813.446 0	B
87	80.66	C ₃₄ H ₅₃ N ₇ O ₉	citrusin I ^[18]	+H	704.397 8	704.397 2	-0.78	686.381 3、704.411 0	G
88	80.81	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	—	-H	285.076 9	285.076 6	-0.88	151.002 5、269.041 8、285.079 6	I
89	81.01	C ₄₈ H ₇₂ O ₂₁	甘草皂昔 A ₃ ^[10]	-H	983.449 3	983.447 0	-2.37	823.407 3、983.460 0	I
90	81.60	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	汉黄芩素 ^{[25]*}	-H	283.061 2	283.062 1	3.18	163.004 4、283.062 7	H
91	81.65	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	毛蕊异黄酮 ^[6,36]	+H	285.075 8	285.075 8	0.18	151.054 9、269.044 8、285.075 6	A、H、I
				-H	283.061 2	283.061 7	1.77	163.004 1、283.063 8	
92	81.79	C ₃₇ H ₅₇ N ₇ O ₈	太子参环肽 A ^[30,31]	+H	728.434 1	728.433 1	-1.43	197.128 5、514.299 8、728.436 8	B
93	81.82	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	华良姜素 ^[32]	+H	315.086 3	315.086 6	0.92	257.044 1、285.040 0、315.087 6	C、H
94	81.85	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	黄芩黄酮 I ^[33]	+H	315.086 3	315.086 5	0.60	257.043 3、285.039 2、315.086 4	H
95	81.88	C ₁₅ H ₂₂ O ₅	没食子酸异辛酯 ^[26]	-H	281.139 5	281.139 2	-0.89	191.145 1、219.140 7、281.140 2	F、G
96	82.44	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	正丁基苯酚 ^[15]	+H	191.106 7	191.106 3	-1.88	105.072 1、117.071 3、145.101 9、 163.112 5、173.096 7、191.107 2	C
97	82.51	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	E-藁本内酯 ^{[6]*}	+H	191.106 7	191.106 2	-2.41	105.071 4、145.101 2、163.112 3、 173.096 1、191.106 4	C
98	82.53	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	Z-藁本内酯 ^{[6]*}	+H	191.106 7	191.106 7	0.21	105.071 9、145.101 8、163.112 6、 173.096 2、191.107 4	C
99	82.65	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	川陈皮素 ^{[21]*}	+H	403.138 7	403.138 8	0.15	373.091 6、403.139 5	G

续表 1

序号	t _R /min	分子式	化合物	模式	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	误差 (×10 ⁻⁶)	MS/MS 碎片 (m/z)	归属
100	82.84	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	白杨素 ^[25] *	—H	253.050 6	253.051 2	2.25	143.051 4、209.062 8、253.052 3	H
101	82.86	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	苍术内酯 III ^[21]	+H	249.148 5	249.148 4	-0.48	231.139 2	F
102	83.31	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	E-butylidenephthalide ^[6]	+H	189.091 0	189.090 8	-1.11	115.054 4、143.084 7、171.080 6、189.090 3	C
103	83.34	C ₂₂ H ₂₄ O ₉	3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮 ^[17] *	+H	433.149 3	433.149 3	-0.02	385.092 1、417.117 7、433.148 8	G
104	83.84	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	甘草异黄烷酮 ^[20]	+H	355.117 6	355.118 6	2.76	151.039 3、179.033 1、189.089 9、201.090 1、337.111 0、355.115 6	I
				—H	353.103 1	353.102 6	-1.30	125.025 4、227.073 7、353.107 1	
105	84.05	C ₁₈ H ₃₀ NO ₂	鞘氨醇 ^[31]	+H	302.305 4	302.305 6	0.79	88.078 0、106.087 8、284.295 0、302.305 1	All
106	84.53	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	甘草香豆素 ^[19]	+H	369.133 3	369.133 2	-0.19	285.072 0、313.069 9、369.133 1	I
				—H	367.118 7	367.118 1	-1.66	297.042 3、367.119 5	
107	84.54	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₇	甘草皂苷 G ₂ ^[37]	+H	839.406 0	839.405 8	-0.21	451.320 1、469.331 0、839.399 2	I
				—H	837.391 4	837.390 9	-0.62	351.059 0、837.400 5	
108	84.99	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	橘皮素 ^[38]	+H	373.128 2	373.128 2	0.05	343.081 1、373.128 2	G
109	85.25	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	白术内酯II ^[26]	+H	233.153 6	233.153 4	-0.90	187.148 3、215.142 7、233.153 5	F
110	85.35	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	甘草酸 ^[19,39] *	+H	823.411 1	823.410 4	-0.80	453.336 0、471.347 4、647.376 9	I
				—H	821.396 5	821.394 3	-2.69	193.036 5、351.059 2、821.406 2	
111	85.37	C ₃₀ H ₄₄ O ₃	melliferone ^[32]	+H	453.336 3	453.336 1	-0.49	407.333 5、435.323 8、453.334 7	I
112	85.40	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	乌拉尔甘草皂苷 B ^[39]	+H	823.411 1	823.409 8	-1.53	453.336 1、471.346 2、647.379 4	I
				—H	821.396 5	821.394 0	-3.06	351.058 7、821.404 5	
113	86.03	C ₄₂ H ₆₄ O ₁₅	甘草皂苷 B ₂ ^[10]	—H	807.417 3	807.416 9	-0.43	351.059 8、807.425 6	I
114	86.36	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	去甲基陈皮素 ^[26]	+H	389.123 1	389.122 7	-1.00	341.069 1、359.077 4、389.220 2	G
115	86.42	C ₂₀ H ₁₆ O ₆	甘草异黄酮 B ^[18]	+H	353.102 0	353.100 9	-3.00	153.017 0、283.061 6、311.055 8、353.101 0	I
				—H	351.087 4	351.087 5	0.26	283.099 2、351.089 0	
116	86.84	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	委陵菜酸 ^[11]	—H	487.342 9	487.341 3	-3.28	423.326 1、469.338 7、487.342 1	D、E
117	86.96	C ₁₈ H ₃₂ O ₄	9,10:12,13-双环氧十八烷酸 ^[6]	—H	311.222 8	311.222 7	-0.26	183.012 6、293.214 1、311.171 7	A、C、E、F
118	87.06	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	黄芪皂苷III ^[6] *	+COOH	829.458 0	829.457 1	-1.10	161.045 3、783.465 2	A
119	87.11	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	大豆皂苷 Bb ^[6]	+COOH	987.515 9	987.513 8	-2.15	615.398 1、923.477 8、941.524 1	A
120	87.35	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	黄芪皂苷 IV ^[9,29,36]	+H	785.468 2	785.468 1	-0.10	125.096 4、143.106 6、455.356 1、785.410 5	A
				+COOH	829.458 0	829.457 1	-1.10	161.045 3、783.465 2	
121	87.37	C ₂₁ H ₁₈ O ₆	甘草酚 ^[20]	—H	365.103 1	365.101 5	-4.27	295.025 0、365.104 7	I
122	87.42	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₅	黄芪皂苷 II ^[6,40]	+H	827.478 8	827.476 6	-2.60	157.050 1、175.060 5、455.349 9、827.457 3	A
				+COOH	871.468 6	871.466 7	-2.16	825.469 5	
123	87.53	C ₂₂ H ₂₆ O ₅	粗毛甘草素 D ^[32]	+H	371.185 3	371.185 1	-0.54	123.044 3、315.122 1、371.201 5	I
124	87.98	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	α-亚麻酸 ^[11]	+H	279.231 9	279.232 1	0.86	65.042 5、93.034 7、121.029 3、149.023 4	All
125	88.54	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆	黄芪皂苷 I ^[9]	+H	869.489 3	869.486 4	-3.35	455.351 4、635.388 8、689.403 9、869.482 1	A
126	88.63	C ₃₀ H ₄₄ O ₅	茯苓新酸 B ^[20]	—H	483.311 6	483.309 8	-3.72	409.278 4、465.249 8、483.314 3	E
127	89.28	C ₃₁ H ₄₆ O ₅	茯苓新酸 A ^[41]	—H	497.327 3	497.326 4	-1.71	423.285 7、497.331 1	E
128	91.46	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	2α-羟基熊果酸 ^[11]	—H	471.348 0	471.347 2	-1.65	427.267 2、471.351 3	D
129	91.53	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	β-甘草次酸 ^[37]	+H	471.346 9	471.345 9	-2.10	407.329 9、471.346 8	I
130	92.31	C ₃₀ H ₃₈ O ₄	双白术内酯 ^[42]	+H	463.284 3	463.284 2	-0.19	231.138 0、463.260 1	F

*与对照品比对确认的成分 A-炙黄芪 B-太子参 C-当归 D-酒女贞子 E-茯苓 F-炒白术 G-陈皮 H-酒黄芩 I-炙甘草 All-所有药味共有

*Compared with the reference substance A-Astragali Radix Praeparata cum Melle B-Pseudostellariae Radix C-Angelicae Sinensis Radix D-wine-processed Ligustri Lucidi Fructus E-Poria F-fried Atractylodis Macrocephalae Rhizoma G-Citri Reticulatae Pericarpium H-wine-processed Scutellariae Radix I-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle All-all flavors shared

解规律一般为以 N 原子为中心, 沿侧链朝苯环方向逐步丢失取代基, 进一步脱去氨基, 有时也可见苯环开裂^[22,39]。如果含有糖类, 则容易先失去与其相连的糖分子。氨基酸是一类既含氨基也含羧基官能团的化合物, 因此容易发生 α -裂解掉落氨基或羧基基团, 正离子模式下氨基酸类的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 相对丰度较低^[7,43]。

峰 12 在一级质谱下检测到 m/z 344.043 6 的分子离子峰, 二级质谱下检测到丢失 1 分子的 2',3'-环磷脂基核糖 (194) 形成的碎片离子 m/z 150.043 1, 在此基础上失去 1 分子的氨基形成 m/z 133.016 5 碎片, 环裂解丢失 CH_2N_2 形成 m/z 108.021 2 碎片, 结合文献数据^[10]推测为环磷酸鸟苷。环肽是由酰胺键或肽键形成的一类环状肽类化合物, 容易丢失水、羰基、氨基等碎片。按以上规律, 结合文献数据^[5-10,30-31]及碎片信息, 推测出其余含氮化合物, 具体见表 1。

3.2 黄酮及其苷类

从颗粒剂中初步推定出 54 个黄酮类成分, 主要来源于甘草、陈皮、黄芪、黄芩。黄酮类化合物具有 $C_6-C_3-C_6$ 的基本骨架, 在 MS 谱中裂解规律大多相似, 在负离子模式下响应较好。黄酮碳苷类成分常

发生糖环的开环裂解, 产生 $[M-H-60]^-$ 、 $[M-H-90]^-$ 和 $[M-H-120]^-$ 等一系列特征性碎片离子; 氧苷类化合物的裂解方式主要是糖苷键的断裂, 多见各种糖基如鼠李糖基 (Rha, 146)、葡萄糖基 (Glc, 162) 和芸香糖基 (Rutinose, 308) 等的掉落。而游离的黄酮苷元则易发生典型的逆狄尔斯-阿德尔 (Retro Diels-Alder reaction, RDA) 反应裂解, 得到 151、135、133 等特征碎片离子^[7]; 以及发生 C 环的重排, 可见 H_2O 、 C_2H_2 、 CH_3 、 OCH_3 、 CO 等的掉落^[6]。

例如峰 40 在负离子模式下有 m/z 285.040 8 的准分子离子峰, 碎片 m/z 267.034 2 是由其失去 1 分子水得到, 再脱去 C_2H_2 得到碎片 m/z 241.048 5, 同时, B 环掉落, 形成 m/z 175.041 4 的碎片离子, 随后发生 RDA 重排, 得到 2 个互补碎片离子 m/z 151.003 9 与 m/z 133.030 2, 结合文献报道^[8]推测为木犀草素。峰 67 给出了 m/z 463.161 6 $[M-H]^-$ 、301.110 5 $[M-H-Glc]^-$ 的碎片, 随后黄烷基母核断裂, 形成 m/z 271.062 1 等碎片, 依据文献报道^[6,44]推测为黄芪紫檀烷苷, 可能的裂解途径见图 2。根据上述相似规律推定出其余黄酮及其苷类成分, 具体见表 1。

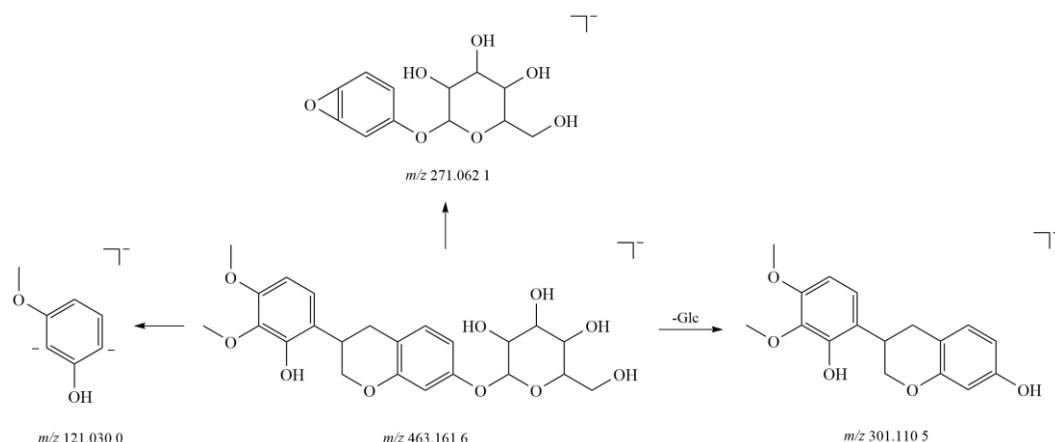


图 2 黄芪紫檀烷苷可能的裂解途径

Fig. 2 Proposed fragmentation pathway of isomucronulatol 7-O-β-D-glucoside

3.3 萜类

在益气健脾颗粒中共初步推定出 22 个萜类化合物, 萜类为基本碳架多具有 2 个或 2 个以上异戊二烯单位 (C_5 单位) 结构特征的化合物, 有的为游离三萜, 有的与糖结合以三萜皂苷的形式存在。环烯醚萜类成分主要存在于女贞子中, 三萜酸类化合物主要来自于女贞子、茯苓, 三萜皂苷类成分来自于甘草、黄芪。此类化合物容易发生糖苷键的断裂, 丢失鼠李糖、葡萄糖、葡萄糖醛酸 (GlcA) 等糖基, 在高

能量状态下, 常常丢失 H_2O 、 CO 等中性基团^[45-46], 此外苷元碎片上如果连接有甲基、咖啡酰基等基团, 则容易产生这些基团掉落的碎片。

例如, 峰 121 检测到 m/z 785.410 5 的分子离子峰, 首先丢失 1 分子葡萄糖基、1 分子水, 继续脱水得到 m/z 587.410 5, 同时也可以掉落木糖形成 m/z 473.359 0, 继续脱水形成 m/z 455.356 1, 还有 m/z 143.106 6、125.096 4 等碎片, 结合文献报道^[9,29,36]推测为黄芪皂苷 IV, 可能的裂解途径见图 3。

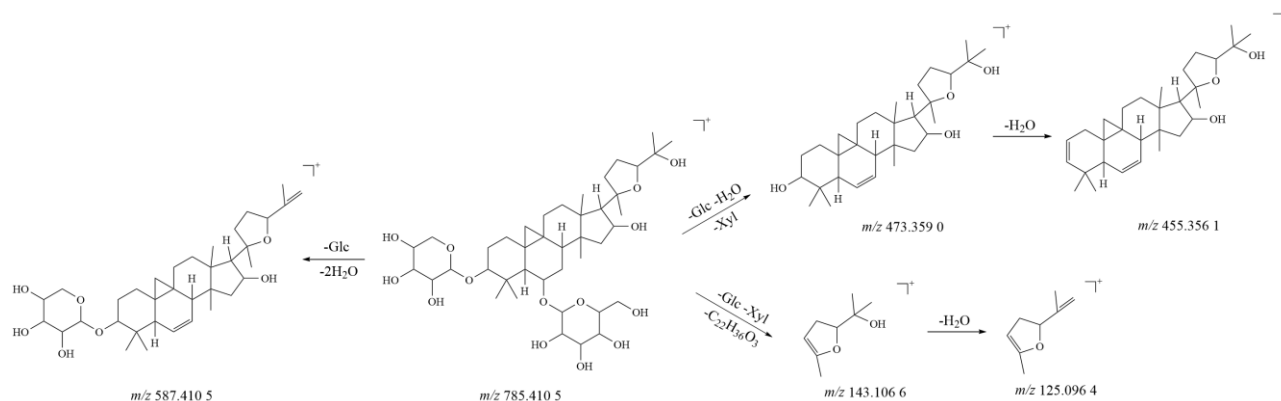


图 3 黄芪皂苷 IV 可能的裂解途径

Fig. 3 Proposed fragmentation pathway of astragaloside IV

3.4 香豆素类

在益气健脾颗粒中里共初步推定出 14 个香豆素类化合物，主要来源于当归、白术、甘草。这类化合物在正离子模式下响应较高，大多具有强的分子离子峰，其质谱经常出现一系列连续失去 $-\text{CO}$ 、 $-\text{OH}$ 或 H_2O 、 CH_3 或 OCH_3 以及烷基链的碎片离子峰，其中环上的 CO 比酯键中的更易失去^[27]。

例如，峰 110 在正离子模式下准分子离子为 m/z 233.153 5 $[\text{M} + \text{H}]^+$ ，二级碎片离子分别为 m/z 215.142 7 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_2\text{O}]^+$ 、 m/z 187.148 3 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_2\text{O} - \text{CO}]^+$ ，分别为依次脱水、掉落 1 分子 CO 形成。根据此裂解方式，结合文献报道^[26]中碎片信息，推测该化合物为白术内酯 II。

3.5 有机酸类

从益气健脾颗粒中共初步推定 12 个有机酸类成分，分别来自当归、黄芪、女贞子。此类化合物在负

离子模式下响应较高，特征碎片为小分子基团 COOH ，可根据羧基相连的基团可划分为脂肪酸和芳香酸 2 类，芳香酸类一般先产生芳香基团碎片离子，然后掉落 H_2O 、 CO_2 等中性小分子基团；脂肪酸类先丢失 H_2O 、 CO_2 等，随后逐渐脱落甲基、亚甲基等分子^[39]。

以峰 26 为例，准分子离子丢失 1 分子 CO_2 得到碎片 m/z 135.045 3 $[\text{M} - \text{H} - \text{CO}_2]^-$ ，继续丢失 1 分子 CO 形成碎片 m/z 107.051 7，最后脱去 1 分子水得到碎片 m/z 89.039 5，根据这些特征碎片结合文献报道^[19]推测为咖啡酸。以此裂解规律推测其他的有机酸类化合物，具体见表 1。

3.6 其他类

此外，在颗粒剂中还推测出蔗糖、醇苷类、鞘脂类等其他成分。其中，红景天苷为典型的苯乙醇苷类成分，依次掉落葡萄糖基、水分子等碎片。可能的裂解途径见图 4。

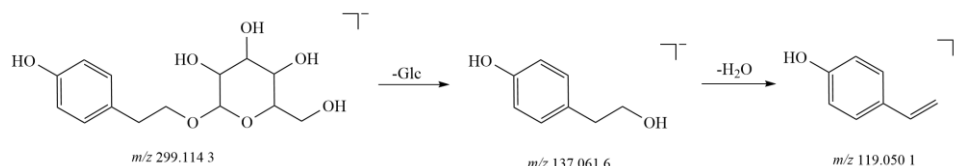


图 4 红景天苷可能的裂解途径

Fig. 4 Proposed fragmentation pathway of salidroside

4 讨论

中药复方是中药的优势所在，也是中医药的主流与精髓，辨证施治、复方合煎、随方配药无不体现着其中医临床的用药特色，益气健脾颗粒作为医院复方制剂，在临床已应用 10 余年，疗效确切。但全方药味较多，所含的化学成分非常复杂，本地自建库就收集了 500 余种化合物，本实验采用

UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术，利用 Peakview 软件呈现的碎片离子信息，结合网络数据库、自建本地数据库、文献报道等，对益气健脾颗粒所含化学成分进行了分析与归属，为颗粒剂后续的深度优化与开发及探讨其作用机制等研究奠定了理论基础。

该复方治疗慢性肝病的疗效离不开多成分、多机制的协同作用。有文献观察到黄芪水溶性黄酮类

对细胞免疫功能具有促进作用^[47], 还有文献报道黄芪多糖可升高谷胱甘肽过氧化物酶的活性, 具有一定的保护肝脏的疗效^[48]。现代药理学研究表明太子参中主要的活性成分是环肽、多糖、皂苷、氨基酸等, 具有改善心功能、调节免疫功能、改善脑缺血及抗氧化等功能^[49-50]。当归挥发油可能通过胰岛素相关信号通路等发挥血压调节作用, 当归多糖可能通过调节 Bax/Bcl-2/Caspase-3 等通路, 起到保肝作用^[51]。已有研究表明^[52], 女贞子提取物对肝脏损伤有着显著保护作用, 还可通过抑制因子 mRNA 等的表达有效调控炎症反应。其中齐墩果酸和熊果酸能够有效地抑制丙型肝炎病毒复制酶的活性, 对丙型肝炎具有明确的治疗作用。茯苓利水渗湿、健脾健胃等主要功效的发挥与其三萜类、多糖类或有机酸类成分^[53-54]。白术的主要有效成分白术多糖, 具有明显的防治非酒精性脂肪性肝炎的作用, 在改善肝损伤指标方面效果明显^[55], 同时, 内酯类、挥发油类成分具有抗癌作用^[56-57]。陈皮挥发油能松弛气管平滑肌, 镇咳作用显著。橙皮苷对蛋白非酶糖基化具有抑制作用, 对于肾脏和神经系统并发症方面具有明显的抑制作用^[58]。黄芩苷为主的黄酮类是黄芩的主要活性物质, 具有广谱的抗菌效果, 可解释黄芩具有清热解毒的作用^[59]。炙甘草中的甘草多糖, 能够加快小鼠的生长, 提高脾脏指数和胸腺指数。此外甘草多糖可增加白细胞介素-2 的分泌, 能促进 T 细胞等的活化和增殖, 并分泌相关因子, 进一步改善肿瘤细胞和病毒感染细胞的损伤^[60]。结合传统认知中各味药的主要功效及现代药理学研究, 可以初步判定, 本实验推定的 100 多种成分可能与颗粒剂发挥益气健脾的作用密切相关。

本研究仍有不足之处, 指认出的来源于白术、茯苓的成分较少, 可能是由于多糖等大分子不易检出。同时本方中白术、当归、陈皮 3 味药中挥发油作为主要活性成分之一, 却因提取过程中的损失以及 LC-MS 检测方式的特殊性未能全面分析, 许多光学异构的同分异构体也不能清晰辨别。因此, 今后可关注 GC-MS 联用技术指认挥发性成分, 入血成分分析等进一步分析益气健脾颗粒的药效物质基础与作用机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 叶永安. 在实践中学习, 在探索中进步: 谈慢性肝病的中医、中西医结合研究策略 [J]. 中医杂志, 2015, 56(24): 2083-2088.

[2] 许剑, 曹文富. 基于扶阳学说浅谈慢性肝病从阳虚论治 [J]. 实用中医药杂志, 2020, 36(7): 958-959.

[3] Tang L, Wang F, Xiao L, et al. Yi-Qi-Jian-Pi formula modulates the PI3K/AKT signaling pathway to attenuate acute-on-chronic liver failure by suppressing hypoxic injury and apoptosis *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 280: 114411.

[4] 廉亚男, 徐立华, 谭善忠, 等. 基于正虚病机的益气健脾法治疗对 HBV-ACLF 患者外周血 T 淋巴细胞的影响 [J]. 中国中医急症, 2015, 24(12): 2106-2108.

[5] 侯娅, 马阳, 邹立思, 等. 基于 UPLC-Triple TOF-MS/MS 技术的不同产地太子参水提物化学组成分析 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(15): 275-280.

[6] 雷冬梅, 姚长良, 陈雪冰, 等. 基于 RP-Q-TOF-MS 和 HILIC-Q-TOF-MS 的经典名方当归补血汤成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(8): 2109-2120.

[7] 史静超, 张淑蓉, 柴智, 等. 基于 UPLC-QE-Orbitrap-MS 技术的芪降糖胶囊化学成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(16): 116-123.

[8] 孙克寒, 杨会, 王淑琪, 等. 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 分析四妙勇安汤的化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(10): 2658-2667.

[9] 许如玲, 范君婷, 董惠敏, 等. 经典名方黄芪桂枝五物汤标准煎液化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 分析 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(23): 5614-5630.

[10] 闵会, 罗婷婷, 印晓红, 等. 基于 HPLC-Q/TOF-MS 的经典名方苓桂术甘汤成分快速分析 [J]. 中国现代中药, 2021, 23(3): 529-535.

[11] 肖雪, 许思敏, 高映敏, 等. 盐制女贞子化学成分的 UPLC-Q/TOF MS 鉴定研究 [J]. 现代食品科技, 2019, 35(10): 253-260.

[12] 全立国, 牛艳艳, 贾力莉, 等. 基于 UPLC-ESI-QTOF-MS/MS 技术检测扶正固本颗粒化学成分 [J]. 中国药物警戒, 2021, 18(9): 831-836.

[13] 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.

[14] Zhang D J, Sun L L, Mao B B, et al. Analysis of chemical variations between raw and wine-processed *Ligustri Lucidi Fructus* by ultra-high-performance liquid chromatography-Q-Exactive Orbitrap/MS combined with multivariate statistical analysis approach [J]. *Biomed Chromatogr*, 2021, 35(4): e5025.

[15] Wu Y, Wang L, Liu G, et al. Characterization of principal compositions in the roots of *Angelica sinensis* by HPLC-ESI-MSⁿ and chemical comparison of its different parts [J]. *J Chin Pharmaceut Sci*, 2014, 23(6): 393.

[16] 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.

- [17] 黄海英, 康俊丽, 余亚辉, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap MS 法分析补肺益肾方的化学成分 [J]. 分析测试学报, 2019, 38(1): 1-13.
- [18] 张珂, 许霞, 李婷, 等. 利用 UHPLC-IT-TOF-MS 分析陈皮的化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(4): 899-909.
- [19] 王永丽, 张聪聪, 张凤, 等. UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HR-MS 分析荆银颗粒的化学成分及其组织分布特征 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(22): 5537-5554.
- [20] 刘佳星, 魏洁, 武锦春, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的酸枣仁汤颗粒化学成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(12): 1-12.
- [21] 徐菲, 潘宇, 李涵颖, 等. UPLC-Q-TOF/MS 技术结合 UNIFI 软件分析肝复乐化学成分 [J]. 药物分析杂志, 2021, 41(5): 760-778.
- [22] 闫伊萌, 岳可心, 刘玉生, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS-E 的黄英咳嗽糖浆化学成分分析 [J/OL]. 应用化学: 1-21[2021-09-22]. <https://doi.org/10.19894/j.issn.1000-0518.200305>.
- [23] 凌霄, 李伟霞, 王晓艳, 等. UPLC-Q-TOF-MS 分析芍药汤水煎液化学成分 [J]. 中国现代中药, 2021, 23(1): 48-56.
- [24] 刘彦玲, 刘传鑫, 田悦, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 的渴络欣胶囊化学成分研究 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(4): 622-629.
- [25] 杨丽, 袁丰瑞, 曹岚, 等. 基于 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 技术快速鉴定柴石退热颗粒的化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(17): 152-159.
- [26] 龙红萍, 李欣, 王婷婷, 等. 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 的小儿扶脾颗粒的化学成分研究 [J]. 中草药, 2018, 49(23): 5522-5531.
- [27] 游飞祥, 袁雪海, 许浚, 等. 基于 HPLC-Q-TOF/MS 的六经头痛片化学成分分析 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4157-4166.
- [28] 唐清, 郑玉莹, 关敏怡, 等. 基于 UPLC-Triple TOF MS/MS 技术的补肺活血胶囊化学物质基础研究 [J]. 中南药学, 2018, 16(12): 1677-1683.
- [29] Li M Y, Yue X Y, Gao Y J, *et al.* Method for rapidly discovering active components in Yupingfeng granules by UPLC-ESI-Q-TOF-MS [J]. *J Mass Spectrom*, 2020, 55(10): e4627.
- [30] 傅兴圣, 邹立思, 刘训红, 等. UPLC-ESI-TOF MS/MS 分析太子参中环肽类成分 [J]. 质谱学报, 2013, 34(3): 179-184.
- [31] 侯娅, 马阳, 邹立思, 等. 基于 UPLC-Triple TOF-MS/MS 技术分析不同产地太子参的差异化化学成分 [J]. 质谱学报, 2015, 36(4): 359-366.
- [32] 孙国东, 霍金海, 张树明, 等. UPLC-Q-TOF/MS 法分析川菊止痛胶囊成分 [J]. 中成药, 2019, 41(12): 3052-3060.
- [33] 褚衍涛, 魏文峰, 霍金海, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析芩苈清肺浓缩丸中的化学成分 [J]. 中成药, 2016, 38(6): 1303-1310.
- [34] Chen L L, Qi J, Chang Y X, *et al.* Identification and determination of the major constituents in traditional Chinese medicinal formula Danggui-Shaoyao-San by HPLC-DAD-ESI-MS/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 50(2): 127-137.
- [35] 张纪红, 吴卫东, 刘建庭, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术活血止痛胶囊化学成分的快速分析 [J]. 中草药, 2020, 51(12): 3139-3146.
- [36] 信悦, 白晶. 复方黄芪生脉饮化学成分的 UPLC-Q-TOF/MS 分析 [J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2021, 37(1): 21-25.
- [37] 陈叶青, 范欣生, 朱振华, 等. 基于 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 技术分析双参肺颗粒化学成分 [J]. 中草药, 2020, 51(2): 321-329.
- [38] 崔莉莉, 陈勇, 张蒙伟, 等. UHPLC-MS/MS 法测定新冠肺炎经验方寒湿郁肺汤中 11 种主成分的含量 [J]. 药学实践杂志, 2021, 39(2): 148-151.
- [39] 张雯霞, 冯敏, 苗雨露, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的还贝止咳方化学成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(14): 3022-3034.
- [40] Sun S, Xie Z S, Liu E H, *et al.* Chemical profiling of Jinqi Jiangtang Tablets by HPLC-ESI-Q-TOF/MS [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(3): 229-240.
- [41] 赵秋龙, 张丽, 卞晓坤, 等. UPLC-QTRAP-MS 分析不同产地茯苓药材中 8 个三萜酸类成分 [J]. 药物分析杂志, 2020, 40(7): 1169-1177.
- [42] 钟艳梅, 冯毅凡, 郭姣. 基于 UPLC/Q-TOFMS 技术的白术药材化学成分快速识别研究 [J]. 质谱学报, 2015, 36(1): 72-77.
- [43] 唐明, 高霞, 耿婷, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的七味通痹口服液化学成分分析 [J]. 中草药, 2021, 52(8): 2226-2236.
- [44] 王倩, 李冰冰, 黄文静, 等. 基于 2 种色谱-质谱联用技术的参芪降糖颗粒化学成分分析 [J]. 中草药, 2021, 52(6): 1568-1581.
- [45] 杨悦, 刘颖, 刘晓谦, 等. 基于超高效液相色谱串联质谱技术的山楂核抗菌、抗氧化药效物质基础研究 [J]. 世界中医药, 2021, 16(17): 2527-2532.
- [46] 樊晓莹, 付娟, 胡军华, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速分析六味地黄苷糖片化学成分 [J]. 中草药, 2021, 52(21): 6473-6484.
- [47] Lai X Y, Xia W B, Wei J, *et al.* Therapeutic effect of *Astragalus* polysaccharides on hepatocellular carcinoma H22-bearing mice [J]. *Dose Response*, 2017, 15(1): 1559325816685182.
- [48] 吴娇, 王聪. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 新乡医学院学报, 2018, 35(9): 755-760.

- [49] 邓舟. 益气解毒活血法治疗慢性乙型肝炎肝纤维化的临床研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2020.
- [50] 李志华. 太子参多糖对东莨菪碱所致小鼠记忆障碍的改善作用 [J]. 泰山医学院学报, 2009, 30(9): 673-675.
- [51] 宋之臻. 当归多糖肝靶向作用及保护急性肝损伤机理的研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.
- [52] 王涛, 刘佳维, 赵雪莹. 女贞子中化学成分、药理作用的研究进展 [J]. 黑龙江中医药, 2019, 48(6): 352-354.
- [53] 崔鹤蓉, 王睿林, 郭文博, 等. 茯苓的化学成分、药理作用及临床应用研究进展 [J]. 西北药学杂志, 2019, 34(5): 694-700.
- [54] 邓媛媛, 邵贝贝, 王光忠, 等. 茯苓调节免疫功能有效物质的比较研究 [J]. 中国医药指南, 2012, 10(12): 94-95.
- [55] 车财妍, 李红山, 应豪, 等. 白术多糖对非酒精性脂肪性肝炎的防治作用研究 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(7): 1801-1803.
- [56] 邹辉, 杨郴, 易美玲, 等. 白术化学成分分离鉴定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(17): 43-48.
- [57] 张雪青, 邵邻相, 吴文才, 等. 白术挥发油抑菌及抗肿瘤作用研究 [J]. 浙江师范大学学报: 自然科学版, 2016, 39(4): 436-442.
- [58] 李晓芳, 张健康, 王慧鸾, 等. 陈皮的研究进展 [J]. 江西中医药, 2014, 45(3): 76-78.
- [59] 程国强, 冯年平, 唐琦文, 等. 黄芩苷对眼科常见病原菌的体外抗菌作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(6): 347-348.
- [60] Chen J, Zhu X Q, Yang L, et al. Effect of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. polysaccharide on growth performance and immunologic function in mice in Ural City, Xinjiang [J]. *Asian Pacific J Tropical Med*, 2016, 9(11): 1078-1083.

[责任编辑 王文倩]