

## 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术分析加味左金丸化学成分及指纹图谱研究

陈会朋<sup>1</sup>, 王 银<sup>1</sup>, 余惠旻<sup>2\*</sup>, 周红祖<sup>3\*</sup>

1. 北京中医药大学深圳医院(龙岗), 广东 深圳 518116

2. 深圳大学医学院, 广东 深圳 518060

3. 深圳市中医院, 广东 深圳 518033

**摘要:** 目的 采用 UPLC-Q-TOF/MS 技术对加味左金丸中的化学成分进行定性分析。方法 色谱柱为 ACQUITY Premier BEH C<sub>18</sub> (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 流动相为乙腈-甲醇-0.1%甲酸水溶液, 梯度洗脱, 体积流量为 0.3 mL/min; 质谱的离子源为 ESI, 模式为正、负离子模式。通过质谱给出的分子离子峰和二级质谱碎片离子峰, 结合对照品的相对保留时间, 参考相关的文献, 对于加味左金丸中的化学成分进行鉴定。并建立不同批次加味左金丸样品的指纹图谱。结果 通过对数据的分析, 从加味左金丸中鉴定出 92 个成分, 其中包括 16 个有机酸类成分、34 个黄酮类成分、17 个生物碱类成分、21 个萜类成分与 4 个其他类成分。建立的加味左金丸指纹图谱有 13 个共有峰, 分别为黄芩苷、山柰酚-3-O-葡萄糖苷、槲皮素、汉黄芩素、甘草素、千层纸素 A、芍药苷、吴茱萸次碱、小檗碱、巴马汀、枸橼苷、橙皮苷、柴胡皂苷 d。指纹图谱方法的精密性、稳定性、重复性良好, 多批次加味左金丸的成分基本一致。结论 建立的 UPLC-Q-TOF/MS 方法对化学成分进行了鉴定, 建立的指纹图谱方法为进一步分析加味左金丸的物质基础提供了重要依据。

**关键词:** HPLC-MS; 加味左金丸; 裂解规律; 指纹图谱; 黄芩苷; 山柰酚-3-O-葡萄糖苷; 汉黄芩素; 甘草素; 千层纸素 A; 芍药苷; 吴茱萸次碱; 小檗碱; 柴胡皂苷 d

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2023)14-4442-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.14.005

## Chemical components and chromatographic fingerprints of Jiawei Zuojin Pill based on UPLC-Q-TOF/MS

CHEN Hui-peng<sup>1</sup>, WANG Yin<sup>1</sup>, YU Hui-min<sup>2</sup>, ZHOU Hong-zu<sup>3</sup>

1. Shenzhen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Shenzhen 518116, China

2. School of Medicine, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China

3. Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital, Shenzhen 518033, China

**Abstract: Objective** To qualitatively analyze the main chemical constituents of traditional Chinese medicine compound Jiawei Zuojin Pill (加味左金丸) by using UPLC-Q-TOF/MS technology. **Methods** The separation was performed on ACQUITY Premier BEH C<sub>18</sub> column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), and the gradient elution of acetonitrile-methanol-0.1% formic acid was used as mobile phase at a flow rate of 0.3 mL/min. The data was collected by the positive and negative ion modes using Q-TOF/MS and ESI source. The main chemical constituents of Jiawei Zuojin Pill were identified according to the exact molecular mass, the cleavage fragments of MS/MS, the literature data, and the reference control. And chromatographic fingerprints of different batches of Jiawei Zuojin Pill were established. **Results** A total of 92 chemical components were identified in Jiawei Zuojin Pill, including 16 organic acids, 34 flavonoids, 17 alkaloids, 21 terpenoid and four other components. The HPLC fingerprint of Jiawei Zuojin Pill was established with 13 common peaks, which were baicalin, astragaloside, quercetin, wogonin, liquiritigenin, oroxylin A, paeoniflorin, rutecarpine,

收稿日期: 2023-01-19

基金项目: 深圳市基础研究专项(自然科学基金)基础研究面上项目(JCYJ20220531102208019); 2022 年深圳市药学会医院药学研究基金(恒瑞基金)(SZ2022A25); 深圳大学聚徒+创研项目(2022 年度)

作者简介: 陈会朋(1988—), 男, 主管中药师, 研究方向为中药复方研究。Tel: 13410898605 E-mail: 372677278@qq.com

\*通信作者: 余惠旻, 男, 博士, 副研究员, 主要从事中药及其复方的现代药理研究。E-mail: yuhuimin@szu.edu.cn

周红祖, 女, 主任中药师, 中药特色技术传承人(粤中医办函[2016]54 号), 主要从事中药学基础及中药药理、鉴定研究。

E-mail: zhouhzu@163.com

berberine, palmatine, poncirin, hesperidin, saikosaponin d. And the precision, stability and reproducibility of the HPLC fingerprint were acceptable. The components in different batches of Jiawei Zuojin Pill were basically similar. **Conclusion** This study showed that UPLC-Q-TOF/MS technology provided a rapid and accurate method for the identification of chemical constituents in Jiawei Zuojin Pill. The HPLC fingerprint could provide an important basis for the quality control and pharmacodynamic material basis study of Jiawei Zuojin Pill.

**Key words:** HPLC-MS; Jiawei Zuojin Pill; fragmentation patterns; fingerprint; baicalin; astragalin; wogonin; liquiritigenin; oroxylin A; paeoniflorin; rutecarpine; berberine; saikosaponin d

中成药由于由多个中药材组成,同时经过多次提取分离,其化学成分相对较为复杂,研究难度比较大。采用传统的提取分离鉴定手段,不仅周期长、效率低,同时还不能比较全面地进行分析研究。UPLC-Q-TOF/MS 的分析技术作为目前一种快速分析中成药、中药材、中药提取物中化学成分的手段,因其高灵敏度、高效、准确的特点,被广泛应用于中药的定性研究中<sup>[1-4]</sup>。UPLC-Q-TOF/MS 一方面可以对相对分子质量进行精确分析,结合数据库可推导化合物结构,另一方面可以进行二级质谱分析,通过二级质谱中碎片峰,进一步确证其结构,定量与定性双重分析手段提高了化合物结构确证的准确性。

加味左金丸载于《中国药典》2020 年版,由黄连(姜炙)、吴茱萸(甘草炙)、黄芩、柴胡、木香、香附(醋炙)、郁金、白芍、青皮(醋炙)、枳壳(去瓢麸炒)、陈皮、延胡索(醋炙)、当归、甘草 14 味中药材组成,具有平肝降逆、疏郁止痛的功效<sup>[5]</sup>,临床上用于胃炎、胃溃疡、结肠炎等<sup>[6-13]</sup>,同时具有抗肿瘤的活性<sup>[14]</sup>。目前,通过文献调研,加味左金丸的成分研究只限于指标含量的测定<sup>[15]</sup>,未见对其化学成分进行系统和深入的研究。课题组在前期已经对其进行了指标成分的定量研究与无机元素的分析研究<sup>[15-16]</sup>,在此基础上为了进一步剖析其物质基础与有效成分。本实验采用高分辨质谱对其含有的化学成分进行定性分析,对该中成药中化学成分进行精确的相对分子质量测定,通过质谱裂解规律,进而确定其分子式,同时结合参考文献与对照品准确定位,为加味左金丸的系统深入研究提供研究的基础。最后,进一步通过建立指纹图谱,为该中成药的质量控制提供依据。

## 1 仪器与材料

1290 Infinity II 液相色谱系统(美国 Agilent 公司); 1260 液相色谱系统(美国 Agilent 公司); 6230 B 飞行时间(TOF)液质联用系统, MassHunter Acquisition 色谱工作站(美国 Agilent 公司);

Arium<sup>®</sup> 水纯化系统(德国 Sartorius 公司); Secura125-1C 型电子天平(德国 Sartorius 公司); SB-1200DT 型超声波清洗器(宁波新芝超声波仪器有限公司)。

对照品阿魏酸(批号 110773-201313, 质量分数 99.4%)、芍药苷(批号 110736-201842, 质量分数 97.4%)、黄芩苷(批号 110715-201821, 质量分数 95.4%)、木香烃内酯(批号 111524-201710, 质量分数 99.5%)、去氢木香内酯(批号 111525-201912, 质量分数 99.6%)、延胡索乙素(批号 110726-201819, 质量分数 99.8%)、吴茱萸次碱(批号 110801-201608, 质量分数 99.7%)、盐酸小檗碱(批号 110713-201814, 质量分数 86.7%)、盐酸巴马汀(批号 110732-201812, 质量分数 97.6%)、吴茱萸碱(批号 110802-201710, 质量分数 99.6%)、柚皮苷(批号 110722-201815, 质量分数 91.7%)、橙皮苷(批号 110721-201818, 质量分数 96.2%)、柴胡皂苷 a(批号 110777-201912, 质量分数 94.8%)、柴胡皂苷 d(批号 110778-201912, 质量分数 96.3%)、槲皮素(批号 100081-201610, 质量分数 98.6%)、汉黄芩素(批号 111514-202207, 质量分数 98.6%), 均购自中国食品药品检验研究院。山柰酚-3-O-葡萄糖苷(批号 221011, 质量分数 99.6%)、甘草素(批号 220517, 质量分数 99.8%)、千层纸素 A(批号 220106, 质量分数 99.5%)、枸橼苷(批号 220803, 质量分数 99.6%), 购自深圳惠达生物科技有限公司。

加味左金丸为北京同仁堂制药有限公司生产, 批号为 1903226、1705061、1705062、1705063、1903501、2005041、2007112、2009021、2011011、2012012、2103022、2105103、2107124、2109121、2111202, 分别编号为 S1~S15。甲醇、乙腈, 色谱纯, 默克公司。水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件

色谱柱为 ACQUITY Premier BEH C<sub>18</sub> (100 mm×

2.1 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ); 流动相 A 为乙腈-甲醇 1:1, B 为 0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱: 0~3 min, 5% A; 3~10 min, 5%~20% A; 10~15 min, 20%~40% A; 15~20 min, 40%~60% A; 20~30 min, 60%~80% A; 30~38 min, 80%~90% A; 体积流量为 0.3 mL/min; 柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样量 3  $\mu\text{L}$ 。

## 2.2 质谱条件

离子源为 ESI 源, 采集模式正离子与负离子模式, 离子扫描范围为  $m/z$  100~1500, 干燥气温度 360  $^{\circ}\text{C}$ , 干燥气体积流量 10 L/min, 雾化器压力 400 kPa, 裂解电压 175 V, 毛细管电压 3500 V, 碰撞能量 30 eV。

## 2.3 溶液的制备

**2.3.1 供试品溶液的制备** 取本品适量, 研细, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 称定质量, 超声 30 min (功率 250 W、频率 40 kHz), 放冷, 用 50% 甲醇补足减失质量, 摇匀, 用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

**2.3.2 药材溶液的制备** 按加味左金丸处方比例和工艺, 分别制备含单味药材的样品, 并按“2.3”项下方法制备各药材溶液。

**2.3.3 对照品溶液的制备** 精密称取各对照品适量, 置 10 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 制成质量浓度约为 10  $\mu\text{g/mL}$  的对照品溶液。

## 3 结果

### 3.1 加味左金丸中化合物的鉴定与分析

取供试品溶液和各药材溶液, 按“2.1”项下的

色谱与“2.2”项下的质谱条件, 高分辨质谱测定, 得到正、负离子模式下的总离子流图, 见图 1。通过质谱给出的分子离子峰和二级质谱碎片离子峰, 结合对照品的相对保留时间, 参考相关的文献, 从加味左金丸中分离和鉴定出 92 个成分, 包括 16 个有机酸类成分、34 个黄酮类成分、17 个生物碱类成分、21 个萜类成分与 4 个其他类成分。其中 14 个来自枳壳、陈皮和青皮, 11 个来自甘草, 14 个来自白芍, 6 个来自香附, 10 个来自黄连, 2 个来自吴茱萸, 11 个来自黄芩, 7 个来自延胡索, 5 个来自木香, 5 个来自柴胡, 6 个来自当归, 2 个来自郁金, 具体结果见表 1。

### 3.2 有机酸类化合物

有机酸类是分子结构中含有羧基的化合物, 在中草药的叶、根、特别是果实中广泛分布。方中的有机酸类化合物根据羧基相连的结构, 主要分为脂肪族类有机酸和芳香族类有机酸。加味左金丸中共鉴定出 16 个有机酸, 包括化合物 1、4、5、7、10、12、13、18、45、63、68、73、77、78、82、91。由于结构中都含有羧基, 因此质谱中的负离子模式的响应最好, 二级质谱容易产生  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  等中性丢失。例如绿原酸的裂解规律, 负离子模式可见其分子离子峰  $m/z$  353  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 其特征碎片离子为  $m/z$  191、 $m/z$  179、 $m/z$  173、 $m/z$  161、 $m/z$  135, 其中  $m/z$  191 与  $m/z$  179 是其酰氧键断裂产生的碎片,  $m/z$  191 与  $m/z$  179 的碎片峰丢失  $\text{H}_2\text{O}$  形成  $m/z$  173、 $m/z$  161 的碎片峰,  $m/z$  173 的碎片峰丢失  $\text{CO}_2$  形成  $m/z$  135 的碎片峰, 经与文献报道<sup>[33]</sup>对比, 确定该化

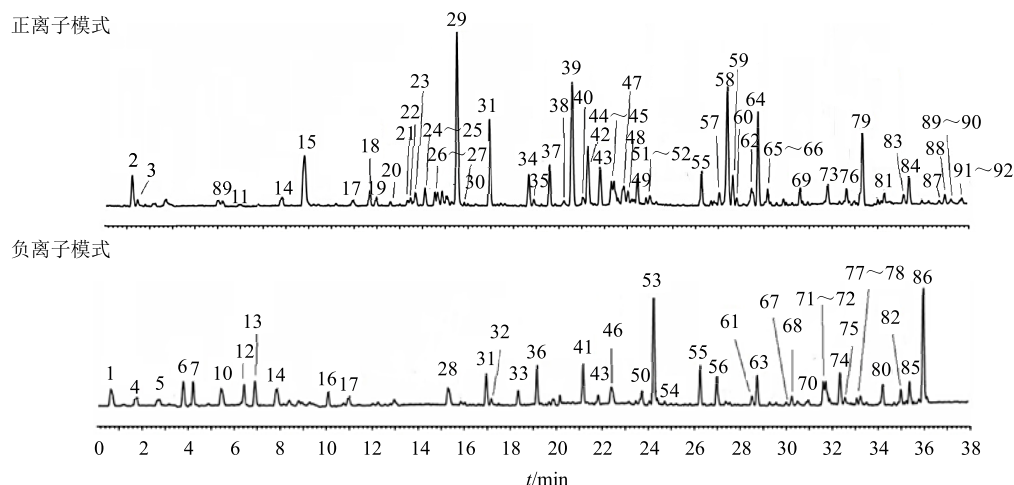


图 1 加味左金丸提取液的 UPLC-Q-TOF/MS 总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatograms of Jiawei Zuojin Pill extracting solution by UPLC-Q-TOF/MS

表 1 加味左金丸提取液中化合物的 UPLC-Q-TOF/MS 定性分析结果

Table 1 Qualitative analysis results of chemical constituents in Jiawei Zuojin Pill extracting solution by UPLC-Q-TOF/MS

| 峰号 | $t_R/\text{min}$ | 准分子离子峰                                             | 分子式                                               | 实测值 ( $m/z$ )          | 理论值 ( $m/z$ )          | 误差 ( $\times 10^{-6}$ ) | 碎片离子                                                  | 化合物名称                 | 来源植物                     |
|----|------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| 1  | 0.65             | $[\text{M}-\text{H}]^-$                            | $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6$               | 191.053 8              | 191.054 5              | -3.66                   | 127.103 4, 109.044 1, 93.160 4                        | 奎宁酸                   | 陈皮、青皮、枳壳 <sup>[17]</sup> |
| 2  | 1.26             | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$         | 595.165 2              | 595.165 9              | -1.18                   | 577.165 3, 433.117 3                                  | 新西兰牡荆苷 II             | 甘草 <sup>[18]</sup>       |
| 3  | 1.43             | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$         | 579.184 1              | 579.184 7              | -1.04                   | 136.065 1                                             | 野漆树苷                  | 陈皮、青皮、枳壳 <sup>[17]</sup> |
| 4  | 1.78             | $[\text{M}-\text{H}]^-$                            | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$                  | 169.013 3              | 169.013 5              | -1.18                   | 125.023 2                                             | 没食子酸                  | 白芍 <sup>[19]</sup>       |
| 5  | 2.68             | $[\text{M}-\text{H}]^-$                            | $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$                  | 191.019 6              | 191.019 3              | 1.57                    | 173.008 3, 129.021 3                                  | 柠檬酸                   | 白芍 <sup>[19]</sup>       |
| 6  | 3.72             | $[\text{M}-\text{H}]^-$                            | $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{14}\text{S}$ | 559.112 8              | 559.112 3              | 0.89                    | 530.106 1, 397.074 5                                  | 氧化芍药苷亚硫酸酯             | 白芍 <sup>[19]</sup>       |
| 7  | 4.31             | $[\text{M}-\text{H}]^-$                            | $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$               | 165.056 3              | 165.055 5              | 4.85                    | 121.066 4, 119.050 1, 93.034 5                        | 对羟基苯丙酸                | 甘草 <sup>[20]</sup>       |
| 8  | 5.11             | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$         | 497.166 5              | 497.165 7              | 1.61                    | 467.153 3, 359.127 4, 335.112 7                       | 氧化芍药苷                 | 白芍 <sup>[19]</sup>       |
| 9  | 5.23             | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$         | 481.170 6              | 481.170 3              | 0.62                    | 319.117 1, 301.107 5, 197.080 4                       | 芍药内酯苷                 | 白芍 <sup>[20]</sup>       |
| 10 | 5.51             | $[\text{M}-\text{H}]^-$                            | $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_5$            | 209.046 2              | 209.045 6              | 2.87                    | 165.056 6, 121.065 3                                  | 对羟基苯基丙二酸              | 甘草 <sup>[20]</sup>       |
| 11 | 5.92             | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}$             | 234.178 6              | 234.177 4              | 0.85                    | 146.173 2                                             | rotundine B           | 香附 <sup>[21]</sup>       |
| 12 | 6.43             | $[\text{M}-\text{H}]^-$                            | $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$            | 289.070 1              | 289.071 3              | -0.69                   | 271.060 6, 181.070 2                                  | 儿茶素                   | 白芍 <sup>[19]</sup>       |
| 13 | 6.91             | $[\text{M}-\text{H}]^-$                            | $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$            | 353.087 2              | 353.086 5              | 1.98                    | 191.064 2, 179.043 1, 161.021 6                       | 绿原酸                   | 黄连 <sup>[18]</sup>       |
| 14 | 7.88             | $[\text{M}+\text{H}]^+$<br>$[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$            | 257.080 6<br>255.080 4 | 257.080 9<br>255.080 9 | -1.17<br>-1.96          | 147.044 1, 137.023 3,<br>135.009 2                    | 2',4,4'-三羟基查耳酮        | 甘草 <sup>[20]</sup>       |
| 15 | 8.93             | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$    | 288.114 1              | 288.114 7              | -2.08                   | 273.089 8, 244.087 5, 217.076 9, 190.066 2            | 吴茱萸次碱*                | 吴茱萸 <sup>[22-23]</sup>   |
| 16 | 10.14            | $[\text{M}-\text{H}]^-$                            | $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{13}\text{S}$ | 543.116 9              | 543.117 3              | -0.74                   | 513.106 5, 381.075 3                                  | 芍药苷亚硫酸酯               | 白芍 <sup>[19]</sup>       |
| 17 | 11.05            | $[\text{M}-\text{H}]^-$<br>$[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$         | 445.085 2<br>447.085 7 | 445.084 9<br>447.084 9 | 0.67<br>1.79            | 269.046 3                                             | 黄芩苷*                  | 黄芩 <sup>[24]</sup>       |
| 18 | 11.63            | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_8$            | 345.051 3              | 344.047 1              | 1.98                    | 181.052 7, 161.065 8                                  | 牡丹皮苷 F                | 白芍 <sup>[19]</sup>       |
| 19 | 12.02            | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}$             | 234.178 2              | 234.177 3              | 3.84                    | 216.173 5, 188.172 8, 160.162 6, 146.175 2            | (+)- $\beta$ -rotunol | 香附 <sup>[21]</sup>       |
| 20 | 12.64            | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}_5$           | 352.116 5              | 352.117 4              | -2.56                   | 337.091 4, 322.399 8, 308.088 9, 294.072 9            | 氧化小檗碱                 | 黄连 <sup>[25]</sup>       |
| 21 | 13.42            | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$         | 565.154 7              | 565.155 3              | -1.06                   | 433.114 2, 415.105 2                                  | 夏佛托苷                  | 甘草 <sup>[18]</sup>       |
| 22 | 13.62            | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_6$            | 319.116 8              | 319.117 8              | -3.13                   | 301.106 5, 197.080 6, 105.033 2, 77.039 3             | 芍药内酯 C                | 白芍 <sup>[20]</sup>       |
| 23 | 13.78            | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_4$           | 356.177 8              | 356.178 5              | -1.97                   | 340.154 1, 308.128 4, 192.101 6, 177.078 1, 148.075 8 | 异紫堇碱                  | 延胡索 <sup>[26]</sup>      |
| 24 | 14.22            | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_5$           | 354.125 3              | 354.126 1              | -2.26                   | 336.123 2, 188.070 3, 149.059 4, 135.044 3            | 原阿片碱                  | 延胡索 <sup>[26]</sup>      |
| 25 | 14.22            | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_4$           | 356.178 8              | 356.178 2              | 1.68                    | 178.086 5, 163.062 4, 151.057 6                       | 延胡索乙素*                | 延胡索 <sup>[26]</sup>      |
| 26 | 14.51            | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_5$           | 370.156 9              | 370.157 4              | -1.35                   | 342.169 4, 295.069 1, 206.081 5                       | 隐品碱                   | 延胡索 <sup>[26]</sup>      |
| 27 | 14.73            | $[\text{M}+\text{H}]^+$                            | $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_4$           | 356.177 7              | 356.178 2              | -1.40                   | 340.154 1, 310.119 5, 292.096 2                       | 海罂粟碱                  | 延胡索 <sup>[26]</sup>      |

续表 1

| 峰号 | $t_R/\text{min}$ | 准分子离子峰                  | 分子式                                        | 实测值 ( $m/z$ ) | 理论值 ( $m/z$ ) | 误差 ( $\times 10^{-6}$ ) | 碎片离子                                                                                                          | 化合物名称                     | 来源植物                                          |
|----|------------------|-------------------------|--------------------------------------------|---------------|---------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------------|
| 28 | 15.33            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{13}$  | 547.154 5     | 547.153 1     | 2.56                    | 487.114 5, 457.107 2,<br>367.076 1, 337.069 4                                                                 | 白杨素-6-C-阿拉伯糖-<br>8-C-葡萄糖苷 | 黄芩 <sup>[24]</sup>                            |
| 29 | 15.56            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$  | 481.172 1     | 481.171 2     | 1.87                    | 451.160 1, 359.135 9,<br>329.122 2                                                                            | 芍药苷*                      | 白芍 <sup>[19]</sup>                            |
| 30 | 15.76            | $[\text{M}]^+$          | $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{NO}_4$    | 342.169 1     | 342.169 6     | -1.46                   | 297.115 2, 265.091 3                                                                                          | 木兰碱                       | 黄连 <sup>[18]</sup>                            |
| 31 | 15.84            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{NO}_{11}$ | 445.086 1     | 445.084 4     | 3.82                    | 269.060 5, 225.040 3                                                                                          | 去甲汉黄芩素-7-O-               | 黄芩 <sup>[24]</sup>                            |
|    |                  | $[\text{M}+\text{H}]^+$ |                                            | 447.083 9     | 447.084 4     | -1.12                   | 197.040 2                                                                                                     | $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷         |                                               |
| 32 | 17.17            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{10}$  | 649.237 2     | 649.236 2     | 1.54                    | 487.081 5                                                                                                     | 长梗冬青苷                     | 陈皮、青皮、枳壳 <sup>[17]</sup>                      |
| 33 | 18.41            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$  | 595.176 9     | 595.177 6     | -1.18                   | 287.084 1, 151.039 5                                                                                          | 圣草枸杞苷                     | 陈皮、青皮、枳壳 <sup>[17]</sup>                      |
| 34 | 18.72            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_3$    | 208.096 3     | 208.096 8     | -2.40                   | 165.094 6, 150.073 2                                                                                          | 唐松草林碱                     | 黄连 <sup>[18]</sup>                            |
| 35 | 18.91            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NO}_4$    | 350.132 1     | 350.131 1     | 2.86                    | 334.107 2, 320.091 4,<br>304.096 2, 290.081 7                                                                 | 二氢白屈菜红碱                   | 延胡索 <sup>[26]</sup>                           |
| 36 | 19.13            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$  | 595.176 9     | 595.177 8     | -1.51                   | 287.089 4, 151.160 1,<br>135.096 7                                                                            | 新圣草枸杞苷                    | 陈皮、青皮、枳壳 <sup>[17]</sup>                      |
| 37 | 19.65            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$     | 303.049 2     | 303.049 5     | -0.99                   | 257.043 1, 229.051 3                                                                                          | 槲皮素*                      | 甘草 <sup>[18]</sup>                            |
| 38 | 20.21            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$  | 465.103 8     | 465.103 4     | 1.29                    | 303.051 5, 285.039 5,<br>257.044 3                                                                            | 金丝桃苷                      | 白芍 <sup>[19]</sup>                            |
| 39 | 20.66            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$  | 449.107 3     | 449.108 3     | -2.23                   | 287.055 4, 153.081 6,<br>135.024 3                                                                            | 山柰酚-3-O-葡萄糖苷*             | 白芍 <sup>[19]</sup>                            |
| 40 | 21.13            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$     | 257.080 5     | 257.080 8     | -1.17                   | 239.073 1, 137.027 2                                                                                          | 甘草素*                      | 甘草 <sup>[18]</sup>                            |
| 41 | 21.24            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$  | 579.167 6     | 579.168 7     | -1.90                   | 433.167 2, 271.090 6,<br>153.001 4                                                                            | 柚皮苷*                      | 青皮、枳壳 <sup>[17]</sup> ,<br>陈皮 <sup>[21]</sup> |
| 42 | 21.38            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_2$     | 233.153 1     | 233.153 6     | -2.14                   | 215.143 2, 187.147 1,<br>159.116 5, 145.100 4,<br>131.084 1, 119.084 2,<br>105.069 5, 91.053 4,<br>81.069 6   | 木香炔内酯*                    | 木香 <sup>[27-28]</sup>                         |
| 43 | 21.86            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$     | 299.063 8     | 299.063 3     | 1.67                    | 286.038 1                                                                                                     | 5,7,4'-三羟基-8-甲氧基黄酮        | 黄芩 <sup>[24]</sup>                            |
|    |                  | $[\text{M}+\text{H}]^+$ |                                            | 301.064 1     | 301.063 3     | 2.66                    |                                                                                                               |                           |                                               |
| 44 | 22.41            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$     | 249.148 6     | 249.148 2     | 1.61                    | 231.138 3, 203.143 1,<br>213.125 1, 185.131 6,<br>157.099 4, 143.084 4                                        | 珊瑚玛内酯                     | 木香 <sup>[28]</sup>                            |
| 45 | 22.48            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_3$     | 207.101 7     | 207.101 4     | 1.45                    | 137.059 2, 165.090 4                                                                                          | 乙酸丁香酚酯                    | 木香 <sup>[28]</sup>                            |
| 46 | 22.56            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$  | 579.169 8     | 579.168 7     | 1.90                    | 271.090 1, 151.001 7                                                                                          | 芸香柚皮苷                     | 青皮、枳壳 <sup>[17]</sup> ,<br>陈皮 <sup>[21]</sup> |
| 47 | 22.87            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$     | 235.169 5     | 235.169 2     | 1.28                    | 161.133 5                                                                                                     | 木香酸                       | 木香 <sup>[28]</sup>                            |
| 48 | 23.15            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_2$     | 231.138 8     | 231.138 2     | 2.60                    | 213.127 4, 195.116 2,<br>185.132 1, 180.093 2,<br>175.076 3, 165.069 3,<br>157.101 4, 143.085 2,<br>128.062 5 | 去氢木香内酯*                   | 木香 <sup>[27-28]</sup>                         |
| 49 | 23.54            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$  | 611.173 9     | 611.174 6     | -0.82                   | 449.119 2, 303.099 3,<br>195.096 1                                                                            | 橙皮苷*                      | 青皮、枳壳 <sup>[17]</sup> ,<br>陈皮 <sup>[21]</sup> |
| 50 | 23.63            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$     | 285.040 9     | 285.040 4     | 1.75                    | 199.040 5, 175.042 1,<br>151.005 3, 133.031 4                                                                 | 木犀草素                      | 黄芩 <sup>[29]</sup>                            |

续表 1

| 峰号 | $t_R/\text{min}$ | 准分子离子峰     | 分子式                  | 实测值 ( $m/z$ ) | 理论值 ( $m/z$ ) | 误差( $\times 10^{-6}$ ) | 碎片离子                                                                   | 化合物名称          | 来源植物                                     |
|----|------------------|------------|----------------------|---------------|---------------|------------------------|------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------------------------|
| 51 | 23.81            | $[M]^+$    | $C_{20}H_{20}NO_4$   | 338.138 6     | 338.138 8     | -0.59                  | 323.123 4, 294.115 2                                                   | 非洲防己碱          | 黄连 <sup>[18]</sup>                       |
| 52 | 24.03            | $[M]^+$    | $C_{20}H_{18}NO_4$   | 336.122 1     | 336.123 3     | -3.57                  | 320.093 2, 308.138 2                                                   | 表小檗碱           | 黄连 <sup>[18]</sup>                       |
| 53 | 24.33            | $[M-H]^-$  | $C_{42}H_{68}O_{13}$ | 779.459 4     | 779.459 0     | 0.51                   | 617.407 3                                                              | 柴胡皂苷 a*        | 柴胡 <sup>[29]</sup>                       |
| 54 | 24.78            | $[M-H]^-$  | $C_{15}H_{10}O_5$    | 269.045 8     | 269.045 5     | 1.12                   | 251.033 4, 241.053 1,<br>223.038 4, 195.044 1,<br>169.067 1            | 芹菜素            | 黄芩 <sup>[29]</sup>                       |
| 55 | 26.37            | $[M-H]^-$  | $C_{16}H_{12}O_5$    | 283.069 8     | 283.068 1     | 5.30                   | 268.036 2, 240.037 2                                                   | 汉黄芩素*          | 黄芩 <sup>[24]</sup>                       |
|    |                  | $[M+H]^+$  |                      | 285.067 5     | 285.068 1     | -2.10                  | 239.034 3, 224.046 9                                                   |                |                                          |
| 56 | 27.07            | $[M-H]^-$  | $C_{42}H_{68}O_{13}$ | 779.459 3     | 779.459 2     | 0.13                   | 617.404 3                                                              | 柴胡皂苷 d*        | 柴胡 <sup>[29]</sup>                       |
| 57 | 27.16            | $[M+H]^+$  | $C_{28}H_{32}O_{15}$ | 609.173 5     | 609.174 3     | -1.31                  | 463.173 9, 301.176 1                                                   | 香叶木苷           | 枳壳、青皮、陈皮 <sup>[21]</sup>                 |
| 58 | 27.44            | $[M]^+$    | $C_{20}H_{18}NO_4$   | 336.121 2     | 336.123 3     | -6.25                  | 321.105 2, 320.092 7,<br>292.104 2                                     | 小檗碱*           | 黄连 <sup>[18]</sup>                       |
| 59 | 27.76            | $[M]^+$    | $C_{21}H_{22}NO_4$   | 352.154 1     | 352.154 2     | -0.28                  | 337.132 9, 336.126 3,<br>308.136 9                                     | 巴马汀*           | 黄连 <sup>[18]</sup>                       |
| 60 | 27.85            | $[M+H]^+$  | $C_{15}H_{12}O_5$    | 285.067 8     | 285.068 4     | -2.10                  | 269.080 4, 267.065 4,<br>137.059 2                                     | 大黄素甲醚          | 延胡索 <sup>[26]</sup>                      |
| 61 | 28.56            | $[M-H]^-$  | $C_{48}H_{78}O_{17}$ | 925.516 1     | 925.515 1     | 1.08                   | 857.481 4                                                              | 柴胡皂苷 C         | 柴胡 <sup>[29]</sup>                       |
| 62 | 28.63            | $[M+H]^+$  | $C_{15}H_{12}O_5$    | 273.074 2     | 273.075 4     | -4.39                  | 131.054 1                                                              | 柚皮素            | 甘草 <sup>[18]</sup><br>白芍 <sup>[20]</sup> |
| 63 | 28.78            | $[M-H]^-$  | $C_{11}H_{12}O_4$    | 207.065 5     | 207.065 3     | 0.97                   | 192.043 1, 148.054 7                                                   | 反式-3,4-二甲氧基肉桂酸 | 黄连 <sup>[18]</sup>                       |
| 64 | 28.84            | $[M+H]^+$  | $C_{19}H_{17}N_3O$   | 304.145 7     | 304.145 1     | 1.97                   | 286.097 1, 171.091 1,<br>161.070 8, 144.080 7,<br>134.059 4            | 吴茱萸碱*          | 吴茱萸 <sup>[22-23]</sup>                   |
| 65 | 29.21            | $[M+H]^+$  | $C_{20}H_{17}NO_5$   | 352.117 9     | 352.117 5     | 1.13                   | 337.093 5, 308.093 4                                                   | 8-O-小檗碱        | 黄连 <sup>[18]</sup>                       |
| 66 | 29.21            | $[M+Na]^+$ | $C_{21}H_{22}O_9$    | 441.114 6     | 441.115 2     | -1.36                  | 321.042 5                                                              | 甘草苷            | 甘草 <sup>[18]</sup>                       |
| 67 | 30.13            | $[M-H]^-$  | $C_{15}H_{10}O_5$    | 269.053 3     | 269.052 3     | 3.72                   | 251.040 3, 241.022 6,<br>225.031 2                                     | 去甲汉黄芩素         | 黄芩 <sup>[24]</sup>                       |
| 68 | 30.31            | $[M-H]^-$  | $C_{10}H_{10}O_4$    | 193.049 1     | 193.050 3     | -6.22                  | 149.042 1                                                              | 阿魏酸*           | 当归 <sup>[30]</sup>                       |
| 69 | 30.62            | $[M+H]^+$  | $C_{24}H_{28}O_4$    | 381.206 6     | 381.206 4     | 0.52                   | 335.204 1, 307.204 8,<br>283.205 3                                     | 新当归内酯          | 当归 <sup>[30]</sup>                       |
| 70 | 31.03            | $[M-H]^-$  | $C_{42}H_{68}O_{13}$ | 779.455 3     | 779.455 1     | 0.26                   | 617.452 7, 471.451 8                                                   | 柴胡皂苷 G         | 柴胡 <sup>[31]</sup>                       |
| 71 | 31.76            | $[M-H]^-$  | $C_{15}H_{24}O$      | 219.311 1     | 219.312 1     | -4.56                  | 201.313 2, 193.316 2,<br>175.312 5, 133.325 1,<br>109.321 1            | 石竹烯氧化物         | 郁金 <sup>[32]</sup>                       |
| 72 | 31.81            | $[M-H]^-$  | $C_{15}H_{24}O_3$    | 251.391 8     | 251.391 2     | 2.39                   | 233.391 5, 219.394 1,<br>207.392 1, 201.392 8,<br>189.393 5, 173.392 6 | 甜没药姜黄醇         | 郁金 <sup>[32]</sup>                       |
| 73 | 31.87            | $[M+H]^+$  | $C_{16}H_{32}O_2$    | 257.248 7     | 257.248 3     | 1.55                   | 239.247 2, 184.247 6,<br>161.248 3, 109.248 5                          | 棕榈酸            | 当归 <sup>[30]</sup>                       |
| 74 | 32.41            | $[M-H]^-$  | $C_{25}H_{24}O_6$    | 419.149 5     | 419.148 5     | 2.39                   | 391.161 1                                                              | 甘草宁 H          | 甘草 <sup>[18]</sup>                       |
| 75 | 32.62            | $[M-H]^-$  | $C_{44}H_{70}O_{14}$ | 821.470 3     | 821.476 7     | -7.79                  | 779.448 3, 761.463 1,<br>617.402 7                                     | 4"-O-乙酰基柴胡苷 D  | 柴胡 <sup>[29]</sup>                       |
| 76 | 32.75            | $[M+H]^+$  | $C_{21}H_{18}O_6$    | 367.116 2     | 367.117 5     | -3.54                  | 339.127 3, 311.052 7,<br>283.063 4                                     | 甘草醇            | 甘草 <sup>[18]</sup>                       |
| 77 | 33.14            | $[M-H]^-$  | $C_{18}H_{32}O_2$    | 279.233 7     | 279.234 1     | -1.43                  | 255.234 8, 241.234 4                                                   | 亚油酸            | 当归 <sup>[30]</sup>                       |

续表 1

| 峰号 | $t_R/\text{min}$ | 准分子离子峰                  | 分子式                                       | 实测值 ( $m/z$ ) | 理论值 ( $m/z$ ) | 误差 ( $\times 10^{-6}$ ) | 碎片离子                                                                   | 化合物名称                      | 来源植物                                          |
|----|------------------|-------------------------|-------------------------------------------|---------------|---------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------------------------|
| 78 | 33.22            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$    | 277.216 4     | 277.217 2     | -2.89                   | 255.216 6, 248.217 3,<br>219.216 3, 206.216 2                          | 亚麻酸                        | 当归 <sup>[30]</sup>                            |
| 79 | 33.38            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$    | 285.075 1     | 285.075 9     | -2.81                   | 270.052 8                                                              | 千层纸素 A*                    | 黄芩 <sup>[18]</sup>                            |
| 80 | 34.31            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$    | 313.072 6     | 313.071 1     | 4.79                    | 298.049 6, 295.228 2,<br>283.024 6, 255.024 7,<br>164.982 5            | 二羟基-二甲氧基黄酮                 | 黄芩 <sup>[29]</sup>                            |
| 81 | 34.45            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$    | 237.177 1     | 237.177 3     | -0.84                   | 219.172 7, 201.175 1                                                   | isocorymbolone             | 香附 <sup>[21]</sup>                            |
| 82 | 35.06            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$    | 281.248 6     | 281.250 2     | -5.69                   | 255.252 2, 164.253 1,<br>130.241 1                                     | 十八烯酸                       | 当归 <sup>[30]</sup>                            |
| 83 | 35.22            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$    | 373.121 5     | 373.120 1     | 3.75                    | 357.128 3, 343.125 2,<br>329.123 8, 312.115 3                          | 甜橙黄酮                       | 青皮、枳壳、陈<br>皮 <sup>[21]</sup>                  |
| 84 | 35.43            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_8$    | 403.119 9     | 403.119 4     | 1.24                    | 388.105 4, 373.108 3,<br>355.089 0, 358.098 1,<br>330.006 7, 327.065 3 | 川陈皮素                       | 青皮、枳壳 <sup>[17]</sup> 、<br>陈皮 <sup>[21]</sup> |
| 85 | 35.58            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$    | 253.050 8     | 253.050 6     | 0.79                    | 209.063 3, 143.054 3,<br>63.039 1                                      | 白杨素                        | 黄芩 <sup>[29]</sup>                            |
| 86 | 36.14            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$ | 593.124 2     | 593.124 1     | 0.17                    | 447.289 8, 285.082 6,<br>270.079 2                                     | 枸橼苷*                       | 陈皮、青皮、枳<br>壳 <sup>[17]</sup>                  |
| 87 | 36.77            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$    | 237.176 3     | 237.176 4     | -0.42                   | 219.173 9, 201.174 6,<br>179.172 4                                     | cypersol B                 | 香附 <sup>[21]</sup>                            |
| 88 | 36.98            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_6$    | 343.109 7     | 343.109 5     | 0.58                    | 327.103 3, 313.103 8,<br>299.105 1, 282.103 5                          | 黄芩配基甲醚                     | 青皮、枳壳、陈<br>皮 <sup>[21]</sup>                  |
| 89 | 37.35            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_9$    | 433.141 4     | 433.140 5     | 2.08                    | 418.142 9, 403.148 2,<br>385.143 6                                     | 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧<br>基黄酮 | 青皮、枳壳、陈<br>皮 <sup>[21]</sup>                  |
| 90 | 37.35            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}$      | 219.167 2     | 219.167 4     | -0.91                   | 201.163 3, 163.167 3,<br>145.165 1, 135.163 4                          | 香附烯酮                       | 香附 <sup>[21]</sup>                            |
| 91 | 37.76            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$    | 279.159 8     | 279.159 2     | 2.15                    | 205.085 6, 149.023 8,<br>57.069 3                                      | 邻苯二甲酸二丁酯                   | 白芍 <sup>[20]</sup>                            |
| 92 | 37.76            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}$      | 219.168 9     | 219.168 4     | 2.28                    | 201.165 5, 163.168 1,<br>145.166 3, 135.167 2                          | $\alpha$ -香附酮              | 香附 <sup>[21]</sup>                            |

\*该化合物是由对照品进行指认

\*This compound was identified using reference standards

合物为绿原酸。例如没食子酸的质谱裂解规律，负离子模式可见其分子离子峰  $m/z$  169  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ，其特征碎片离子为  $m/z$  125、107、97，分别为分子离子峰丢失  $\text{CO}_2$ 、 $\text{CO}_2$  与  $\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CO}_2$  与  $\text{CO}$  产生的裂解的碎片，经与文献报道<sup>[34]</sup>对比，确定该化合物为没食子酸。

### 3.3 黄酮类化合物

黄酮类化合物广泛存在于自然界的植物中，是以黄酮（2-苯基色原酮）为母核而衍生的一类黄色色素，以  $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$  为基本碳架的一系列化合物，在植物体内大部分与糖结合成苷类的形式存在，也有的以游离形式存在。根据三碳键（ $\text{C}_3$ ）结构的氧化程度和 B 环的连接位置等特点，黄酮类化合物可分

为下列几类：黄酮和黄酮醇；黄烷酮（又称二氢黄酮）和黄烷酮醇（又称二氢黄酮醇）；异黄酮；异黄烷酮（又称二氢异黄酮）；查耳酮；二氢查耳酮；橙酮；黄烷和黄烷醇。糖基多连在  $\text{C}_8$  或  $\text{C}_6$  位置上，以氧苷为主，连接的糖有单糖（葡萄糖、半乳糖、鼠李糖等），双糖（槐糖、龙胆二糖、芸香糖等）、三糖（龙胆三糖、槐三糖等）与酰化糖（2-乙酰葡萄糖、吗啡酰葡萄糖等）。加味左金丸中共鉴定出黄酮共 34 个，其中黄酮苷元 19 个、黄酮苷 15 个。按母核的结构不同，包括黄酮 20 个、二氢黄酮 10 个、黄酮醇 3 个、查耳酮 1 个。黄酮类化合物在质谱中的裂解方式，主要有  $\text{CO}$ 、 $\text{CO}_2$  等中性离子丢失、丢失侧链基团，糖基的断裂，C 环发生 RDA 裂解等。以

二氢黄酮苷类成分柚皮苷为例,负离子模式可见其分子离子峰  $m/z$  579  $[M-H]^-$ ,其特征碎片离子为  $m/z$  433、 $m/z$  271、 $m/z$  153,其中  $m/z$  433 为准分子离子峰脱去鼠李糖得到的碎片峰, $m/z$  271 为碎片峰  $m/z$  433 脱去 1 分子葡萄糖产生的, $m/z$  153 是碎片峰  $m/z$  271 发生逆-狄尔斯-阿尔德反应(RDA)裂解,丢失  $m/z$  120 中性碎片得到的,经与文献报道<sup>[35]</sup>对比,确定该化合物为柚皮苷。以黄酮类成分汉黄芩素为例,正离子模式可见其分子离子峰  $m/z$  285  $[M+H]^+$ ,负离子模式可见其分子离子峰  $m/z$  283  $[M-H]^-$ ,其特征碎片离子为  $m/z$  268、 $m/z$  240、 $m/z$  239、 $m/z$  224,其中  $m/z$  268 为准分子离子峰脱去甲基得到的碎片峰, $m/z$  240 为碎片峰  $m/z$  268 脱去-CO 得到的碎片峰, $m/z$  240 为碎片峰  $m/z$  268 脱去-COH 得到的碎片峰, $m/z$  224 为碎片峰  $m/z$  268 脱去-COH 得到的碎片峰,经与文献报道<sup>[24]</sup>对比,确定该化合物为汉黄芩素,其二级质谱图见图 2,可能的裂解途径见图 3。

### 3.4 生物碱类化合物

生物碱是存在于自然界中的一类含氮的碱性有机化合物,有显著的生物活性,是中草药中重要的有效成分之一。加味左金丸中鉴定得到 17 个生物碱类成分,主要来在于黄连、吴茱萸和延胡索。生物碱的类型主要为异喹啉类生物碱和吲哚类生物碱,

异喹啉类生物碱主要来自于黄连和延胡索,如表小檗碱、小檗碱、氧化小檗碱、巴马汀等;吲哚类生物碱主要来自于吴茱萸,如吴茱萸次碱和吴茱萸碱。以异喹啉类生物碱原小檗碱型的小檗碱举例,正离子模式下的分子离子峰为  $m/z$  336  $[M]^+$ ,其特征碎片离子为  $m/z$  321、 $m/z$  320、 $m/z$  292,其中  $m/z$  320 为准分子离子峰失去端基上的甲基并发生氢重排得到的碎片峰, $m/z$  292 为碎片峰  $m/z$  320 脱去-CO 产生的,经与文献报道<sup>[35]</sup>对比,进一步对比对照品确定该化合物为小檗碱。以异喹啉类生物碱氧化小檗碱型的氧化小檗碱举例,正离子模式下的分子离子峰为  $m/z$  352  $[M+H]^+$ ,其特征碎片离子为  $m/z$  337、 $m/z$  322、 $m/z$  308、 $m/z$  294,其中  $m/z$  337 为准分子离子峰失去甲基得到的碎片峰,其中  $m/z$  322 为  $m/z$  337 碎片峰失去端基上的甲基并发生氢重排得到的碎片峰, $m/z$  308 为  $m/z$  337 碎片峰失去-CHO 得到的碎片峰, $m/z$  294 为  $m/z$  308 碎片峰失去甲基得到的碎片峰,经与文献报道<sup>[25]</sup>对比,确定该化合物为氧化小檗碱,其二级质谱图见图 4,可能的裂解途径见图 5。以吲哚类生物碱的吴茱萸次碱举例,正离子模式下的分子离子峰为  $m/z$  288  $[M+H]^+$ ,其特征碎片离子为  $m/z$  273、244、217、190,其中  $m/z$  273 为准分子离子峰失去-CH<sub>3</sub> 得到的碎片峰,其中  $m/z$

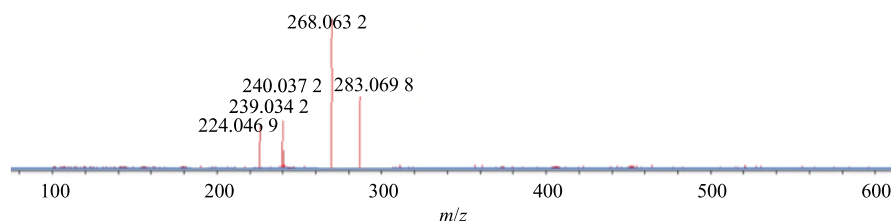


图 2 汉黄芩素的 MS/MS 图

Fig. 2 Secondary mass spectrum of wogonin

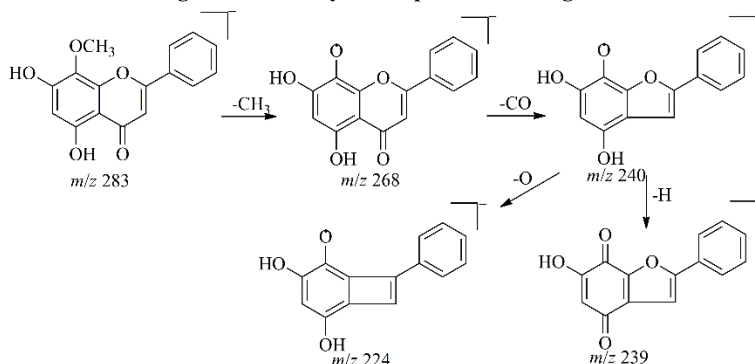


图 3 汉黄芩素可能的裂解途径

Fig. 3 Proposed fragmentation pathway of wogonin

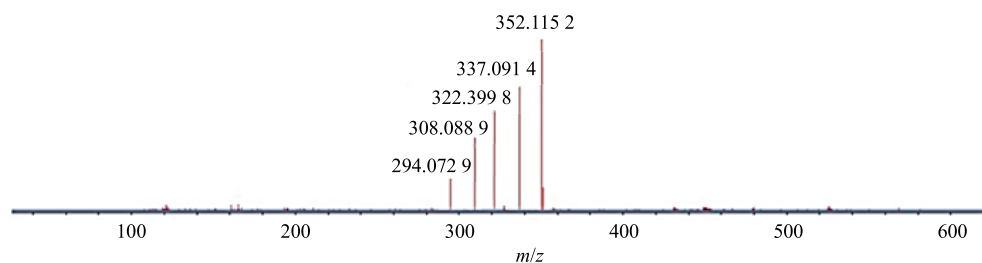


图 4 氧化小檗碱的 MS/MS 图

Fig. 4 Secondary mass spectrum of isoquinoline oxide alkaloids

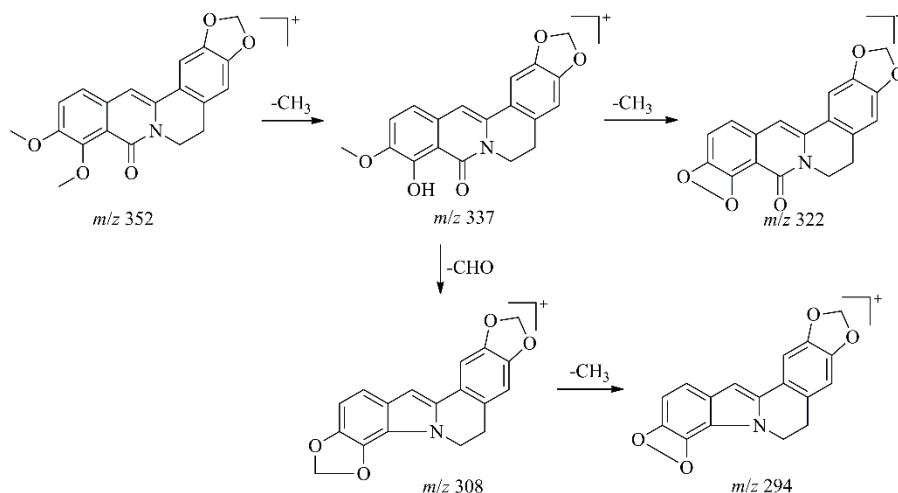


图 5 氧化小檗碱可能的裂解途径

Fig. 5 Proposed fragmentation pathway of isoquinoline oxide alkaloids

244 为  $m/z$  273 碎片峰丢失  $\text{-HCO}$  的碎片峰,  $m/z$  217 为  $m/z$  244 碎片峰失去  $\text{-HCN}$  得到的碎片峰,  $m/z$  190 为  $m/z$  217 碎片峰失去  $\text{-HCN}$  得到的碎片峰, 经与文献报道<sup>[23]</sup>对比, 进一步对比对照品确定该化合物为吴茱萸次碱, 其二级质谱图见图 6, 可能的裂解途径见图 7。

### 3.5 萜类化合物

萜类化合物是由甲戊二羟酸衍生、且分子骨架以异戊二烯单元 ( $\text{C}_5$  单元) 为基本结构单元的化合物及其衍生物, 在自然界中, 萜类化合物分布很广,

有些具有生理活性。根据分子中包括异戊二烯单位的数目将萜类可分为单萜、倍半萜、二萜、二倍半萜、三萜、四萜、多萜。加味左金丸中鉴定得到 21 个萜类成分, 有倍半萜类、倍半萜内酯类、单萜类和三萜类。倍半萜类化合物有  $\alpha$ -香附酮、香附烯酮、石竹烯氧化物、isocorymbolone、cypersol B; 倍半萜内酯类化合物有去氢木香烃内酯、木香烃内酯、珊瑚内酯、木香酸; 单萜类化合物主要来自于白芍, 有氧化芍药苷亚硫酸酯、氧化芍药苷、芍药苷亚硫酸酯、芍药苷、芍药内酯苷、芍药内酯 C; 三萜类

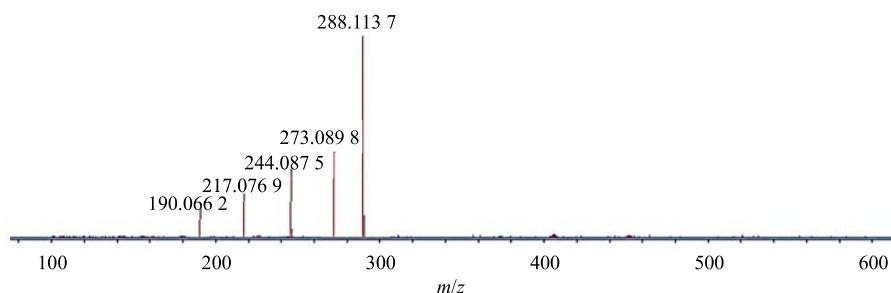


图 6 吴茱萸次碱的 MS/MS 图

Fig. 6 Secondary mass spectrum of rutaecarpine

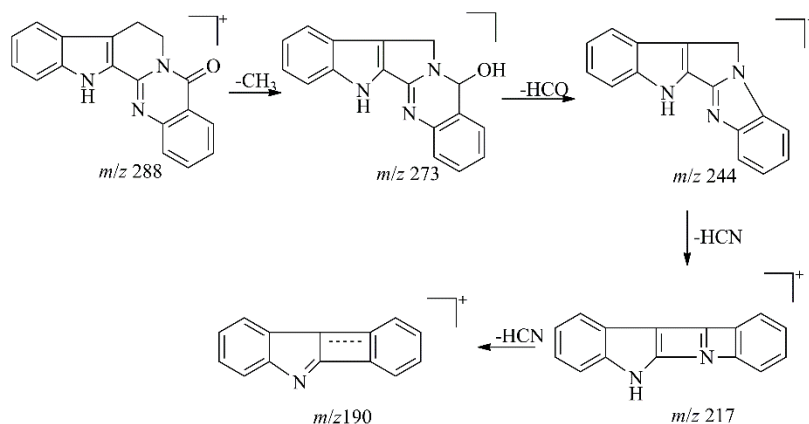


图 7 吴茱萸次碱可能的裂解途径

Fig. 7 Proposed fragmentation pathway of rutaecarpine

化合物主要来自于柴胡，有柴胡皂苷 D、柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 C、4"-O-乙酰基柴胡皂苷 D、柴胡皂苷 G、长梗冬青苷。以倍半萜内酯类化合物去氢木香烯内酯举例，正离子模式下的分子离子峰为  $m/z$  231  $[M+H]^+$ ，其特征碎片离子为  $m/z$  213、195、185、180、175、165、157、143、128，其中  $m/z$  213 为准分子离子峰失去 1 分子  $H_2O$  得到的碎片峰，其中  $m/z$  195 为准分子离子峰失去 2 分子  $H_2O$  得到的碎片峰，其中  $m/z$  185 为  $m/z$  213 碎片峰失去 CO 得到的碎片峰，经与文献报道<sup>[28]</sup>对比，确定该化合物为去氢木香烯内酯。以三萜皂苷类化合物柴胡皂苷 G 举例，负离子模式下的分子离子峰为  $m/z$  779  $[M-H]^-$ ，根据精确相对分子质量可确定其分子式为  $C_{42}H_{68}O_{13}$ ，其特征碎片离子为  $m/z$  617、471，其中  $m/z$  617 为母离子峰失去 1 分子半乳糖得到的碎片峰，其中  $m/z$  471 为  $m/z$  617 碎片峰失去 1 分子的葡萄糖得到的碎片峰，经与文献报道<sup>[29]</sup>对比，确定该化合物为柴胡皂苷 G。

### 3.6 指纹图谱的建立

**3.6.1 色谱条件** 指纹图谱的色谱条件为：色谱柱为 Atlantis T3  $C_{18}$  (250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m)；流动相 A 为乙腈，流动相 B 为 0.05% 磷酸水溶液，梯度洗脱：0~5 min, 5% A；5~40 min, 5%~40% A；40~60 min, 40%~60% A；60~90 min, 60%~80% A；90~94 min, 80%~5% A；94~104 min, 5% A；体积流量为 1.0 mL/min；检测波长 220 nm；柱温 40  $^{\circ}$ C；进样量 10  $\mu$ L。液相色谱图见图 8。

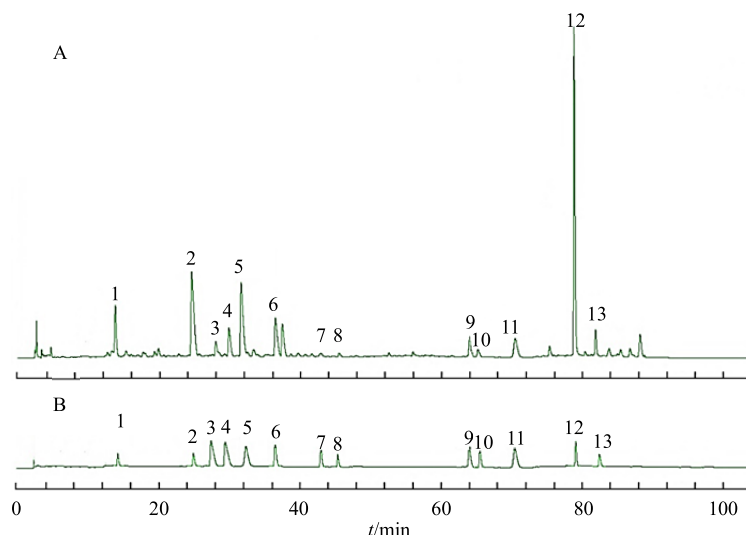
**3.6.2 精密度试验** 取同一批次 (1903226) 的样品，按“2.3.1”项方法制备成供试品溶液，作为精密度试验溶液，按“3.6.1”项下的色谱条件，供试品溶液连续进样 6 次测定。由于 12 号峰（橙皮苷）

面积最大，同时分离度符合要求，因此选择此峰为参照峰。以 12 号峰为参照峰，计算 13 个共有峰的相对保留时间与相对峰面积。结果显示，各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 1.0%，相对峰面积的 RSD 均小于 4.0%，表明方法的精密度良好。

**3.6.3 重复性试验** 取同一批次 (1903226) 的样品，精密称取 6 份，按“2.3.1”项方法制备成供试品溶液，作为重复性试验溶液，按“3.6.1”项下的色谱条件，进样测定。以 12 号峰为参照峰，计算 13 个共有峰的相对保留时间与相对峰面积。结果显示，各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 1.0%，相对峰面积的 RSD 均小于 4.0%，表明该检测方法重复性良好。

**3.6.4 稳定性试验** 按“2.3.1”项方法制备成供试品溶液，作为稳定性试验溶液，按“3.6.1”项下的色谱条件，分别在 0、2、4、6、8、12、16、18、24、36、48 h 进行测定。以 12 号峰为参照峰，计算 13 个共有峰的相对保留时间与相对峰面积。结果显示，各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 2.0%，相对峰面积的 RSD 均小于 4.0%，表明 48 h 内供试品溶液的稳定性良好。

**3.6.5 指纹图谱的建立及相似度评价** 将 15 批加味左金丸按“2.3.1”项方法制成供试品溶液，按“3.6.1”项指纹图谱的色谱条件对其进行检测，记录色谱图，数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”，以 S1 号样品的色谱图为参照图谱进行全谱峰匹配，经过与对照品比对，指认了 13 个共有峰，1 号峰为黄芩苷、2 号峰为山柰酚-3-O-葡萄糖苷、3 号峰为槲皮素、4 号峰为汉黄芩素、5 号峰为甘草素、6 号峰为千层纸素 A、7 号峰为芍药苷、8 号峰为吴茱萸次碱、9 号峰为小檗碱、10 号



1-黄芩苷 2-山柰酚-3-O-葡萄糖苷 3-槲皮素 4-汉黄芩素 5-甘草素 6-千层纸素 A 7-芍药苷 8-吴茱萸次碱 9-小檗碱 10-巴马汀  
11-枸橼苷 12-橙皮苷 13-柴胡皂苷 d  
1-baicalin 2-astragalin 3-quercetin 4-wogonin 5-liquiritigenin 6-oroxylin A 7-paeoniflorin 8-rutecarpine 9-berberine 10-palmatine  
11-poncirin 12-hesperidin 13-saikosaponin d

图 8 加味左金丸供试品溶液 (A) 与混合对照品溶液 (B) 的 HPLC 图

Fig. 8 HPLC of Jiawei Zuojin Pill (A) and mixed reference substances solution (B)

峰为巴马汀、11 号峰为枸橼苷、12 号峰为橙皮苷、13 号峰为柴胡皂苷 d。15 批加味左金丸样品的指纹图谱叠加图谱，见图 9，各批样品与对照图谱的相似度分别为 0.972、0.977、0.979、0.981、0.991、0.984、0.992、0.991、0.992、0.985、0.982、0.984、0.990、0.979、0.988。结果显示，15 批加味左金丸与对照图谱的相似度均在 0.95 以上，这表明 15 批次加味左金丸质量的稳定性和均一性良好。

#### 4 讨论

为了对加味左金丸的物质基础进行深入的研究，本研究采用具有强大分离鉴定能力的高分辨质谱技术对于加味左金丸的化学成分进行系统分析。

实验中供试品的提取方式采用药典中的方法，但是本研究对于提取溶剂和提取时间也进一步进行了确认，因为处理过程中溶剂会有变化和时间也会产生误差，因此分别考察了该样品处理方式的耐用性范围。本研究主要对于色谱条件和质谱条件进行了较为系统、全面的优化，以便提高质谱的分离鉴定能力。首先对于色谱条件进行了优化，在流动相考察中，分别考察了乙腈水溶液、甲醇水溶液、甲醇乙腈水

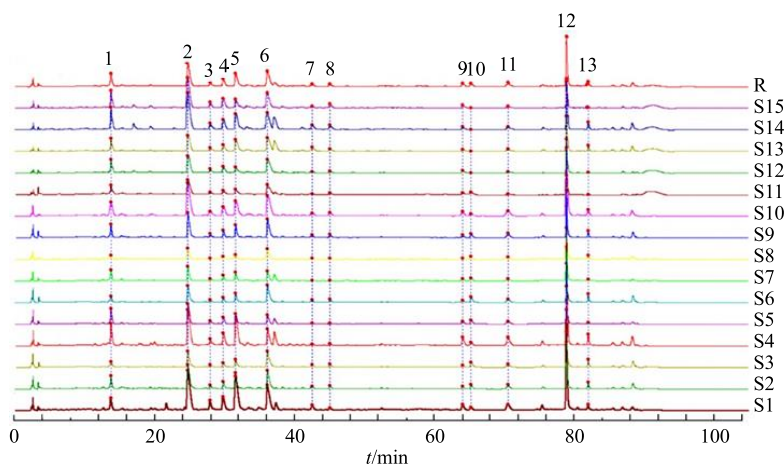


图 9 15 批加味左金丸指纹图谱

Fig. 9 Fingerprints of 15 batches of Jiawei Zuojin Pill

溶液、乙腈甲酸水溶液、甲醇甲酸水溶液、乙腈乙酸铵水溶液、甲醇乙酸水溶液，综合分离度和分离的峰个数确定了乙腈甲醇甲酸水溶液体系。在色谱柱考察中，不仅仅对于不同厂家的 C<sub>18</sub> 柱进行了考察，而且对于其他类型的填料也进行了考察，由于是 UPLC 体系，体积流量不能太高，样品必须进行滤过，进样量也要进行优化，以免超载进样。其次对于质谱条件进行了优化，由于中成药中成分较为复杂，有些酸性成分在负离子模式的响应更好，因此采用了正、负离子模式同时进行采样，同时对于二级质谱的碰撞能量进行了优化，以便得到更多的碎片峰信息，有利于质谱数据解析。

本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术共鉴定了 92 个化学成分，主要包括 16 个有机酸类成分、34 个黄酮类成分、17 个生物碱类成分、21 个萜类成分与 4 个其他类成分。加味左金丸具有平肝降逆、疏郁止痛的功效，研究证明复方中君药黄连中的生物碱具有抗氧化和消炎的作用<sup>[36-37]</sup>，复方中君药吴茱萸中的生物碱具有镇痛、镇静安神的作用<sup>[38]</sup>，臣药黄芩中的黄酮具有抗菌、抗炎、免疫调节、镇静和解热的作用<sup>[39]</sup>。加味左金丸中多个成分共同发挥作用，使其临床广泛用于胃炎、食管炎与慢性结肠炎等疾病的治疗。基于化学成分的研究，为了更好地控制该中成药的质量，本实验建立了该中成药的液相指纹图谱，对于多批次的样品进行了测定，也通过数据表明样品质量的稳定性。

本研究首次对加味左金丸中多种化学成分进行了系统的分离和鉴定，基本阐明了该中成药中的化学成分的种类，并对各个成分进行了药材来源的归属，为加味左金丸的药效的基础研究提供参考。当然，在整个研究过程中，有一些化学成分还未鉴定，需要后续做进一步的研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 刘耀晨, 许浚, 张洪兵, 等. 基于化学成分特有性的质量标志物发现策略及应用 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2548-2556.
- [2] 朱赞斐, 谭善忠, 王洪兰, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的益气健脾颗粒化学成分分析 [J]. 中草药, 2022, 53(12): 3601-3613.
- [3] 刘黎明, 戴玉豪, 杨维, 等. 基于超高效液相色谱法-串联质谱技术和网络药理学的复方感冒灵成分及作用机制验证 [J]. 世界中医药, 2022, 17(21): 2998-3005.
- [4] 史敏, 任炳楠, 吴茵. UPLC-Q-TOF-MS/MS 法分析养心定悸胶囊的化学成分 [J]. 中药材, 2022, 45(4): 870-876.
- [5] 中国药典 [S]. 一部. 2020, 854-855.
- [6] 侯杏. 加味左金丸治疗寒热错杂型慢性结肠炎的临床疗效观察 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2014.
- [7] 赵藏. 加味左金丸联合情志干预治疗胃食管反流病肝胃郁热证的疗效观察 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
- [8] 万军鸽. 加味左金丸合金铃子散治疗消化性溃疡临床观察 [J]. 中医药临床杂志, 2015, 27(4): 517-519.
- [9] 余凌风, 范仕华, 余云忠. 加味左金丸合小柴胡汤联合奥美拉唑治疗慢性胃炎的效果观察 [J]. 基层医学论坛, 2021, 25(29): 4241-4243.
- [10] 李亚南. 加味左金丸治疗肝胃郁热型胃食管反流病的临床观察及抗复发的研究 [D]. 郑州: 河南中医药大学, 2019.
- [11] 李伟, 余红军. 加味左金丸联合铝碳酸镁治疗反流性食管炎临床研究 [J]. 新中医, 2021, 53(9): 10-13.
- [12] 辛可. 加味左金丸治疗肝胃不和型慢性浅表性胃炎的临床效果观察 [J]. 中国医药指南, 2017, 15(26): 191-192.
- [13] 林婕. 加味左金丸与艾司奥美拉唑治疗肝胃郁热型难治性胃食管反流病疗效对比观察 [J]. 现代消化及介入诊疗, 2018, 23(3): 364-366.
- [14] 文娜, 胡运莲, 刘斌斌, 等. 基于胃干细胞标记物-Lgr5 研究加味左金丸对大鼠胃癌前病变的影响 [J]. 华南国防医学杂志, 2020, 34(10): 691-694.
- [15] 陈会朋, 王银, 陈香玲, 等. 液质联用法同时测定加味左金丸中 13 种有效成分 [J]. 中草药, 2020, 51(14): 3693-3699.
- [16] 石巧玲, 周红祖, 高厚明, 等. 基于 ICP-MS 法的加味左金丸中无机元素分析 [J]. 中草药, 2021, 52(22): 6864-6870.
- [17] 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.
- [18] 王婷婷, 安靓, 梁琨, 等. 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap 高分辨质谱的葛根芩连汤的化学成分分析 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1498-1507.
- [19] 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.
- [20] 肖垚垚, 朱菁, 刘心雨, 等. 芍药甘草汤化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及其质量标志物 (Q-Marker) 的预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(24): 7960-7969.
- [21] 潘玄玄, 宋粉云, 李华. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的沉香化气丸化学成分分析 [J]. 中草药, 2018, 49(13): 2984-2992.

- [22] 赵晓梅, 程宇欣, 梁彩霞, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的吴茱萸化学成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(6): 113-126.
- [23] 王彬, 贾正平, 马慧萍, 等. 高分辨多级质谱对吴茱萸次碱及其衍生物的裂解途径的研究 [J]. 湘南学院学报, 2017, 38(2): 24-29.
- [24] 彭春, 唐玲, 王燕, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的三黄片化学成分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(7): 757-764.
- [25] 郝艺铭, 霍金海, 王涛, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术对黄连须生物碱类成分及其裂解规律的分析 [J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(21): 2582-2586.
- [26] 袁付丽, 刘传鑫, 王强, 等. UPLC-Q-TOF/MSE 结合 UNIFI 信息学平台快速检测与鉴别九味镇心颗粒中的化学成分 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(10): 1997-2008.
- [27] 姚万龙, 刘娅, 姚喆, 等. UPLC-TOF-MS 分析乐脉颗粒的化学成分 [J]. 中药材, 2014, 37(12): 2286-2288.
- [28] 肖娟兰, 赵鹿, 张东旭, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的蒙药安神补心六味丸化学成分辨识 [J]. 中药材, 2021, 44(7): 1656-1667.
- [29] 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.
- [30] 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.
- [31] 吴呈祥. 正柴胡饮活性成分的液质联用分析及其抗炎活性评价 [D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
- [32] 张尚霞, 王宇红, 龙红萍, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 法的郁金水提物的化学成分研究 [J]. 中南药学, 2021, 19(5): 820-826.
- [33] 谭林威, 金辉辉, 刘永祥, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术快速分析肠炎宁片中主要化学成分 [J]. 中草药, 2020, 51(16): 4124-4132.
- [34] 杨杰, 李卓伦, 孟海阳, 等. UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 法分析精制冠心软胶囊化学成分 [J]. 中草药, 2020, 51(13): 3406-3415.
- [35] 孙钰婧, 霍志鹏, 王玉, 等. 结肠炎奇效颗粒中化学成分的 UPLC-Q-TOF/MSE 分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(9): 157-167.
- [36] 张永欣, 朱童, 杨丹, 等. 黄连须根提取物生物碱类成分及抑菌活性研究 [J]. 世界中医药, 2021, 16(17): 2556-2561.
- [37] 田金凤. 玄参和黄连的化学成分分离及其生物活性研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- [38] 崔晓秋. 吴茱萸化学成分研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2004.
- [39] 刘英学. 黄芩的化学成分研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.

[责任编辑 王文倩]