

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术解析玉女颗粒化学成分

李思洁^{1,3}, 王雪宁^{2,3}, 胡军华^{2,3}, 章晨峰^{2,3}, 王振中^{1,2,3}, 肖伟^{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. 中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术解析玉女颗粒进行化学成分。方法 使用 Kromasil 100-3.5- C_{18} 色谱柱, 以乙腈-水梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 °C; 使用 Kromasil 100-5- C_{18} 色谱柱, 以甲醇-0.1%甲酸梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 °C; 采用电喷雾离子源 (ESI), 正、负离子模式扫描, 根据质谱数据结合文献报道进行成分鉴定。结果 色谱条件①玉女颗粒分析共鉴定出 83 个化学成分, 色谱条件②玉女颗粒分析共鉴定出 73 个化学成分。2 种色谱条件分析鉴定出 46 个相同化学成分, 共推断和鉴别出 110 个化合物, 其中 24 个化合物经对照品比对得到验证。结论 所建立的针对该方各药味化学成分特点的 2 种色谱条件能快速、准确地鉴定玉女颗粒中的化学成分, 可为经典名方玉女煎物质基础研究和新药研发提供依据, 也可为其他中成药的化学成分分析提供参考。

关键词: 玉女颗粒; 经典名方; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 毛蕊花糖苷; 芒果苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)23-7730-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.23.015

Analysis of chemical composition of Yunv Granules based on UPLC-Q-TOF-MS/MS technology

LI Si-jie^{1,3}, WANG Xue-ning^{2,3}, HU Jun-hua^{2,3}, ZHANG Chen-feng^{2,3}, WANG Zhen-zhong^{1,2,3}, XIAO Wei^{1,2,3}

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

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

3. National Key Research Office of New Technology of Pharmaceutical Process of Traditional Chinese Medicine, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To analyze the chemical composition of Yunv Granules based on UPLC-Q-TOF-MS technology. **Methods** The separation was carried out on a Kromasil 100-3.5- C_{18} column with a gradient elution of acetonitrile-water at a volume flow rate of 1.0 mL/min and a column temperature of 30 °C. ESI was used with positive and negative ionization modes, and the composition was identified according to the mass spectrometry data combined with the literature reports. **Results** A total of 83 chemical components were identified by the analysis of Yunv Granules under chromatographic conditions ①, 73 chemical components were identified by the analysis of Yunv Granules under chromatographic conditions ②, 46 identical chemical components were identified by the analysis of two sets of chromatographic conditions, and a total of 110 chemical components were inferred and identified, of which 24 chemical components were calibrated by the reference substance. **Conclusion** The two chromatographic conditions established for the characteristics of the chemical composition of each medicinal flavor of the formula can quickly and accurately identify the chemical composition in the Yunv Granules, which can provide a basis for the basic research and research and development of new drugs of the classic famous Yunv decoction, and can also provide a reference for the chemical composition analysis of other proprietary Chinese medicines.

Key words: Yunv Granules; classic prescription; UPLC-Q-TOF-MS/MS; verbascoside; mangiferin

收稿日期: 2023-04-06

作者简介: 李思洁, 女, 硕士研究生, 研究方向为药物分析。E-mail: lisijie1052@163.com

*通信作者: 肖伟, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药新药研发及过程控制研究。E-mail: kanionlunwen@163.com

古代经典名方在我国有着悠久、丰富的人用历史并应用至今,是历代医家临床实践精华的总结,玉女煎出自明代著名医家张景岳《景岳全书》五十一卷之“新方八阵”,由生石膏、熟地、麦冬、知母和牛膝 5 味药材组成,主治少阴不足、阳明有余,即所谓胃热阴虚证,可见烦热干渴、舌红苔黄而干;亦治消渴、消谷善饥等^[1]。该方清热与滋阴共进,虚实兼治,以治实为主,在临床上常被用于口腔溃疡、牙周炎和糖尿病等疾病的治疗^[2-4]。

从对玉女煎现有研究来看,以玉女煎加减治疗及临床观察研究为主,有关化学成分分析及药理作用的文献较少,对其物质基础及制剂的研究报道较少,玉女煎有关质量标准的研究极少,且面临的技术难点较多^[5]。本实验首次运用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术结合 2 种色谱条件定性分析了玉女颗粒中的化学成分。其中色谱条件①玉女颗粒分析共鉴定出 83 个化学成分,色谱条件②玉女颗粒分析共鉴定出 73 个化学成分,2 种色谱条件分析鉴定出 46 个相同化学成分,共推断和鉴别出 110 个化学成分,其中对照品标定 24 个化学成分。本研究能快速、准确地鉴定玉女颗粒中的化学成分,对玉女颗粒中主要有效成分进行了裂解模式和裂解途径的解析,为玉女颗粒质量标准研究提供理论基础。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1290 超高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);Agilent 6538 Q-TOF-MS 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);TG16MW 型台式高速离心机(湖南赫西仪器装备有限公司)

1.2 样品与试剂

色谱乙腈(德国默克公司,批号 I11662230132);色谱甲酸(赛默飞世尔科技有限公司,批号 202674)。精氨酸(质量分数 99.9%,批号 140685-201707)、烟酸(质量分数 99.8%,批号 100434-201603)、梓醇(质量分数 98.8%,批号 110808-202112)、香草酸(质量分数 99.8%,批号 110776-201503)、毛蕊花糖苷(质量分数 95.2%,批号 111530-201914)、 β -蜕皮甾酮(质量分数 98.3%,批

号 111638-201907)、槲皮素(质量分数 99.1%,批号 100081-201610)、山柰酚(质量分数 93.2%,批号 110861-202013)、知母皂苷 BII(质量分数 95.4%,批号 111839-202107)、汉黄芩素(供鉴别用,批号 111514-201706)、宝藜苷 I(质量分数 99.9%,批号 111852-201603)、松果菊苷(质量分数 91.8%,批号 111670-201907)、异阿魏酸(质量分数 99.3%,批号 111698-201904)、咖啡酸(质量分数 99.7%,批号 110885-201703)、阿魏酸(质量分数 99.0%,批号 110773-201614)、腺苷(质量分数 99.7%,批号 110879-201703)均购自中国食品药品检定研究院。柠檬酸(质量分数 99.5%,批号 20150417)购自国药集团化学试剂有限公司。5-羟甲基糠醛(质量分数 89.2%,批号 10163)、地黄苷 D(质量分数 93.4%,批号 9083)、新芒果苷(质量分数 98.0%,批号 10804)均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司。芒果苷(质量分数 98.21%,批号 MUST-15070110)、麦冬甲基黄烷酮 A(质量分数 98.42%,批号 MUST-20042315)、异毛蕊花糖苷(质量分数 98%,批号 FE07B014)均购自成都曼思特生物科技有限公司。益母草苷 A(质量分数 98%,批号 J11GB154353)购自上海源叶生物科技有限公司。玉女颗粒(批号 211101,江苏康缘药业股份有限公司)。

2 方法

2.1 色谱条件

① Kromasil 100-3.5- C_{18} (150 mm $\times$ 4.6 mm, 3.5 μ m) 色谱柱,流动相 A 为乙腈, B 为水,梯度洗脱(0~3 min, 15% A; 3~10 min, 15%~22% A; 10~40 min, 22%~35% A; 40~55 min, 35%~60% A; 55~60 min, 60%~100% A),柱温 30 $^{\circ}$ C; 体积流量 1.0 mL/min; 气体体积 3.0 L/min; 漂移管温度 100 $^{\circ}$ C。② Kromasil 100-5- C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱,以甲醇-0.1%甲酸梯度洗脱,流动相 A 为甲醇, B 为 0.1%甲酸,梯度洗脱(0~10 min, 3%~10% A; 10~40 min, 10%~60% A; 40~45 min, 60%~90% A; 45~50 min, 90%~95% A),柱温 30 $^{\circ}$ C; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 250 nm。

2.2 质谱条件

采用电喷雾离子源(ESI),正、负离子模式,毛细管电压 2000 V,质量扫描范围 m/z 100~3000;干燥气温度 350 $^{\circ}$ C;干燥气体积流量 10 L/min;雾化气压力 344.74 kPa;裂解电压 135 V;锥孔电压 65 V;二级碰撞能量选取 20、30、40 eV。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 玉女颗粒① 取本品 5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50 mL 50% 甲醇, 称定质量, 超声处理 1 h, 冷却, 再称定质量, 用 50% 甲醇补足减失质量, 滤过, 滤液蒸干, 用 10 mL 水复溶, 用水饱和的正丁醇萃取 2 次, 每次 30 mL, 合并正丁醇液, 氨水洗 1 次 (5 mL), 正丁醇液蒸干, 以 5 mL 甲醇复溶, 摇匀, 离心, 取上清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

2.3.2 玉女颗粒②: 取本品 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入水 20 mL, 称定质量, 超声处理 0.5 h, 冷却, 再称定质量, 用水补足减失质量, 摇匀, 离心, 取上清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

2.4 对照品溶液制备

取各对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成质量

浓度在 20~100 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液 HB1、HB2, 即得。

3 结果与分析

3.1 玉女颗粒 UPLC-Q-TOF-MS/MS 色谱图采集

在色谱条件①下按照“2.2”项质谱条件对玉女颗粒①进行定性分析; 在色谱条件②下按照“2.2”项质谱条件对玉女颗粒②进行定性分析, 总离子流图见图 1。

3.2 玉女颗粒化学成分分析

色谱条件①玉女颗粒分析共鉴定出 83 个化学成分, 色谱条件②玉女颗粒分析共鉴定出 73 个化学成分, 2 种色谱条件分析鉴定出 46 个相同化学成分, 共推断和鉴别出 110 个化合物, 其中 24 个化合物经过对照品比对得到验证, 见表 1、2。

玉女颗粒中起清热泻火、滋阴润燥作用的主要活性成分为皂苷类、黄酮类成分, 其含有的部

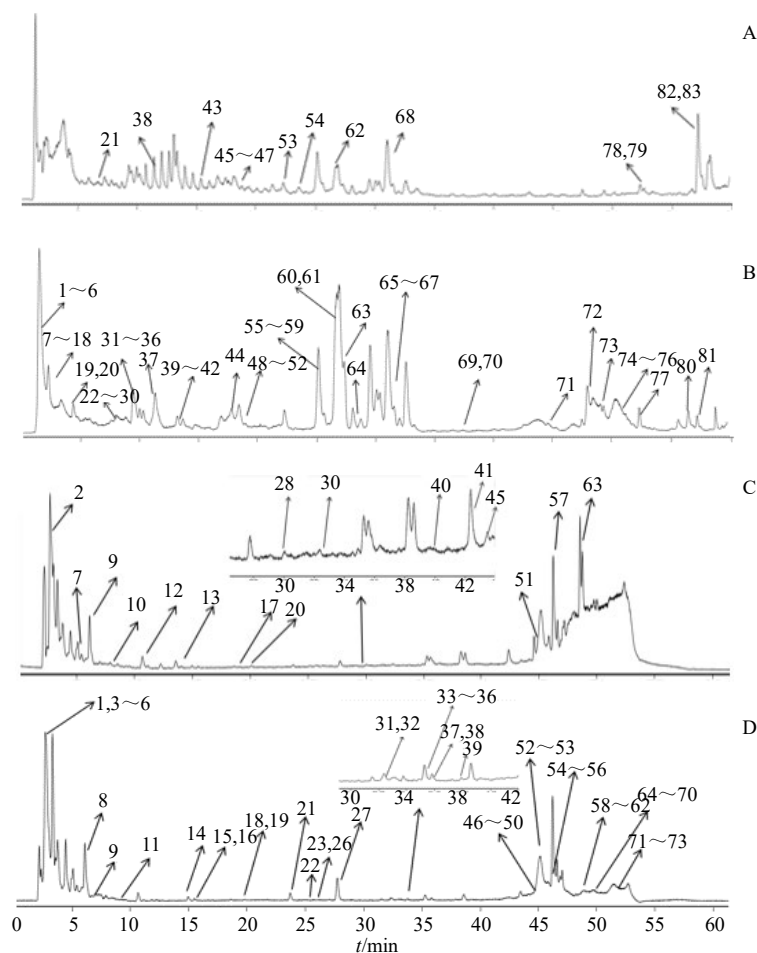


图 1 玉女颗粒①负、正离子 (A、B) 和玉女颗粒②负、正离子 (C、D) 模式下 TIC 图

Fig. 1 TIC diagram of Yunv Granules ① in negative, positive ion (A, B) mode and Yunv Granules ② in negative, positive ion (C, D) mode

表 1 玉女颗粒化学成分分析鉴定结果 (色谱条件①)

Table 1 Analysis and identification results of chemical components in Yunv Granules (chromatographic conditions ①)

峰号	t_R/min	化合物	分子式	m/z		离子模式	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	归属
				实测值	理论值				
1	2.03	香草酸 ^{[6]*}	C ₈ H ₈ O ₄	167.034 8	167.034 4	[M-H] ⁻	-1.30	108.022 1	N, S
2	2.09	腺苷 ^{[6-7]*}	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	308.098 4	308.100 0	[M+CH ₃ COO-H ₂ O] ⁻	-6.33	134.525 0, 136.080 1	M, S
3	2.16	新芒果苷 ^{[8-9]*}	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₆	583.128 6	583.130 5	[M-H] ⁻	-2.88	259.022 1, 331.041 6, 463.077 5, 493.098 8	Z
4	2.18	麦冬黄烷酮 A ^[10]	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	327.093 6	327.086 9	[M-H] ⁻	-0.13	163.074 1, 191.247 7	M
5	2.43	甘露醇 ^[11]	C ₆ H ₁₄ O ₆	181.071 5	181.071 8	[M-H] ⁻	-2.80	181.065 0	S, N
6	2.56	蔗糖 ^[6]	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	341.108 0	341.108 9	[M-H] ⁻	-3.80	161.044 3, 179.056 4	Z, S, M, N
7	2.71	丁二酸 ^[12]	C ₄ H ₆ O ₄	117.019 4	117.019 3	[M-H] ⁻	0.46	116.926 2	S
8	2.74	对羟基苯甲酸 ^[11]	C ₇ H ₆ O ₃	137.025 0	137.024 4	[M-H] ⁻	4.35	137.023 9	Z, N
9	2.91	壬二酸 ^[6,13]	C ₉ H ₁₆ O ₄	187.097 2	187.097 6	[M-H] ⁻	-4.74	125.092 8	S
10	2.81	松果菊苷 ^{[6,11]*}	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	827.263 0	827.261 5	[M+CH ₃ COO-H ₂ O] ⁻	1.35	135.856 4, 179.054 7, 623.061 8	S
11	3.04	2,3-二羟基苯甲酸 ^[14]	C ₇ H ₆ O ₄	153.019 6	153.019 3	[M-H] ⁻	1.94	153.622 9	S
12	3.09	5-羟甲基糠醛 ^{[15]*}	C ₆ H ₆ O ₃	167.034 4	167.035 0	[M+CH ₃ COO-H ₂ O] ⁻	-4.94	107.037 6, 123.041 6	Z, S, M, N
13	3.24	芒果苷 ^{[8-9]*}	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	421.076 8	421.077 6	[M-H] ⁻	-0.89	259.025 9, 301.035 0, 331.045 8	Z
14	3.25	獐牙菜苷 ^[11]	C ₁₆ H ₂₂ O ₉	357.117 7	357.119 1	[M-H] ⁻	-4.04	357.144 5	N
15	3.25	8-表番木鳖酸 ^[11]	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	357.117 7	357.118 6	[M-H-H ₂ O] ⁻	-3.68	119.943 2, 169.433 2	S
16	3.28	异芒果苷 ^[8]	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	421.076 8	421.077 6	[M-H] ⁻	-0.89	259.023 7, 301.035 2, 331.043 7	Z
17	3.47	地黄苦苷 ^[6]	C ₁₆ H ₂₆ O ₈	345.156 7	345.155 5	[M-H] ⁻	3.42	165.091 4, 185.875 4	S
18	4.53	β -地衣酚羧酸甲酯 ^[16]	C ₁₀ H ₁₀ O ₅	209.045 1	209.045 5	[M-H] ⁻	-1.92	136.047 5	M
19	5.27	阿魏酸 ^{[6,8]*}	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193.050 3	193.050 6	[M-H] ⁻	-1.70	132.913 7, 133.452 6, 149.059 2	N
20	5.72	洋地黄叶苷 C ^[11,16]	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	785.247 0	785.251 0	[M-H] ⁻	-4.98	133.062 6, 161.024 6, 623.221 6	S
21	5.92	甜菜碱 ^[6]	C ₅ H ₁₁ NO ₂	118.086 0	118.086 3	[M+H] ⁺	-2.18	118.086 8	S
22	6.01	咖啡酸 ^{[6,8]*}	C ₉ H ₈ O ₄	179.034 9	179.035 0	[M-H] ⁻	-0.49	134.038 0, 135.044 9	N, S
23	7.55	对羟基苯甲醛 ^[11]	C ₇ H ₆ O ₂	121.031 2	121.029 5	[M-H] ⁻	-2.04	121.029 9	M
24	8.43	牛膝甾酮 A ^[17]	C ₂₇ H ₄₄ O ₈	495.294 5	495.296 3	[M-H] ⁻	-3.69	175.098 9	N
25	8.61	牛膝皂苷 E ^[18]	C ₄₆ H ₇₀ O ₁₉	925.443 3	925.443 9	[M-H] ⁻	0.65	455.342 7, 631.384 1, 673.352 7	N
26	8.69	焦地黄苯乙醇苷 A ^[6,11]	C ₃₆ H ₄₈ O ₂₀	799.266 8	799.266 6	[M-H] ⁻	0.28	769.215 8	S
27	8.79	地黄紫罗兰苷 A/B ^[11]	C ₁₉ H ₃₄ O ₈	389.218 0	389.218 1	[M-H] ⁻	0.19	435.690 0	S
28	8.89	牡荆素 ^[19]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.098 0	431.098 1	[M-H] ⁻	-1.14	283.058 0, 311.055 9	Z
29	9.57	毛蕊花糖苷 ^{[7,11,16,20]*}	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.198 2	623.198 1	[M-H] ⁻	-2.19	135.078 2, 161.022 8, 461.169 7	S
30	9.57	连翘脂苷 A ^{[11]*}	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.197 0	623.198 1	[M-H] ⁻	-2.19	153.053 5	S
31	10.45	异毛蕊花糖苷 ^{[7,11,16,20]*}	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.197 0	623.198 1	[M-H] ⁻	-2.19	135.043 0, 161.023 6, 461.161 9	S
32	10.65	β -蜕皮甾酮 ^{[17]*}	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	479.299 8	479.301 4	[M-H] ⁻	-3.58	159.102 3, 319.190 5	N

续表 1

峰号	t_R/min	化合物	分子式	m/z		离子模式	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	归属
				实测值	理论值				
32	10.65	β -蜕皮甾酮 ^{[17]*}	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	479.299 8	479.301 4	[M-H] ⁻	-3.58	159.102 3, 319.190 5	N
33	10.65	25 <i>R</i> -牛膝甾酮 ^[21]	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	479.299 8	479.301 4	[M-H] ⁻	-3.58	313.179 5	N
34	10.65	25 <i>S</i> -牛膝甾酮 ^[21]	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	479.299 8	479.301 4	[M-H] ⁻	-3.58	313.179 5	N
35	10.68	牛膝甾酮 ^[17]	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	479.299 8	479.301 4	[M-H] ⁻	-3.58	159.101 5, 319.190 1	N
36	10.75	水龙骨科甾酮 B ^[17]	C ₂₇ H ₄₄ O ₈	495.294 5	495.296 3	[M-H] ⁻	-4.24	157.085 0, 175.100 7	N
37	11.87	吉奥诺昔 B ^[6,11]	C ₃₇ H ₅₀ O ₂₀	813.279 3	813.282 3	[M-H] ⁻	-3.95	651.233 1	S
38	13.27	烟酰胺 ^[22]	C ₆ H ₆ N ₂ O	123.038 9	123.055 3	[M+H] ⁺	-3.29	106.064 1	Z
39	13.60	鸢尾酚酮 ^[23]	C ₁₃ H ₁₀ O ₅	245.046 0	245.045 5	[M-H] ⁻	1.90	151.005 8	Z
40	13.91	薤白苷 J ^[8,23]	C ₄₅ H ₇₆ O ₂₀	935.481 3	935.485 7	[M-H] ⁻	-0.87	773.423 5	Z
41	13.92	知母皂苷 E ^[8,23]	C ₄₅ H ₇₆ O ₂₀	935.481 3	935.485 7	[M-H] ⁻	-0.87	773.423 5	Z
42	14.05	知母皂苷 N ^[8,23]	C ₄₅ H ₇₆ O ₂₀	935.481 3	935.485 7	[M-H] ⁻	-0.87	773.423 5	Z
43	16.66	麦冬黄烷酮 F ^[10]	C ₂₀ H ₂₂ O ₇	375.136 7	375.134 8	[M+H] ⁺	-9.37	183.552 8	M
44	17.61	人参皂苷 R ₀ (竹节参苷 V) ^[18]	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	955.468.3	955.490 8	[M-H] ⁻	-9.55	161.043 5, 613.365 4, 793.435 5	N
45	18.49	<i>N</i> -对反式香豆酰酰胺 ^[16]	C ₁₇ H ₁₇ NO ₃	284.128 4	284.128 1	[M+H] ⁺	0.99	164.070 1	M
46	19.06	冰片-2- α - <i>L</i> -阿拉伯呋喃糖基[1 $\rightarrow$ 6]- β - <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷 ^[16]	C ₂₁ H ₃₆ O ₁₀	471.219 5	471.220 1	[M+Na] ⁺	-1.25	109.092 4, 127.047 6	M
47	19.07	<i>N</i> -反式阿魏酰酰胺 ^[8]	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	314.137 5	314.138 7	[M+H] ⁺	-3.28	121.066 1, 145.086 4, 177.048 7	M、Z
48	19.50	知母皂苷 BII ^{[8-9,24]*}	C ₄₅ H ₇₆ O ₁₉	919.487 7	919.490 8	[M-H] ⁻	-3.38	595.378 1, 757.431 5	Z
49	19.60	新知母皂苷 BII ^[25]	C ₄₅ H ₇₆ O ₁₉	919.487 7	919.490 8	[M-H] ⁻	-3.38	757.431 5, 919.494 2	Z
50	19.65	2,6,4'-三羟基-4-甲氧基二苯甲酮 ^[8]	C ₁₄ H ₁₂ O ₅	259.061 7	259.061 2	[M-H] ⁻	0.04	149.993 9, 165.018 7	Z
51	20.46	姜状三七苷 RI ^[17-18]	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	793.438 0	793.437 4	[M-H] ⁻	-0.32	113.240 6, 455.355 8, 631.386 1	N
52	20.46	竹节人参皂苷 IVA ^[17]	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	793.438 0	793.437 4	[M-H] ⁻	-0.32	113.240 6, 631.386 1	N
53	22.92	表小檗碱 ^[26]	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	337.125 8	337.130 9	[M+H] ⁺	0.49	320.223 7	N
54	24.40	3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -Glc-(1-2)-[[2-carboxy-1-(carboxy-methyl-2-hydroxy-ethyl)-(1-3)]- β - <i>D</i> -GluA-28- <i>O</i> - β - <i>D</i> -Glc oleanolic acid ^[18]	C ₄₇ H ₇₂ O ₁₉	941.474 1	941.473 9	[M+H] ⁺	2.25	113.802 6	N
55	24.92	4,4'-二羟基-2'-甲氧基查耳酮 ^[23]	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	269.082 4	269.081 9	[M-H] ⁻	1.75	145.027 1	Z
56	24.92	知母皂苷 BIV ^[8]	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₃	1 063.533 1	1 063.533 7	[M-H] ⁻	0.59	739.432 1, 901.473 9	Z
57	25.42	6-醛基-异麦冬黄烷酮 A ^[10,16]	C ₁₉ H ₁₆ O ₇	355.082 1	355.082 3	[M-H] ⁻	-0.56	121.794 3, 327.774 4	M
58	25.48	知母皂苷 D ^[8]	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₉	917.472 4	917.475 2	[M-H] ⁻	-3.82	755.405 2	Z
59	25.74	大黄素 ^[27]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.046 0	269.045 5	[M-H] ⁻	1.84	269.244 2	Z
60	26.29	3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -Glc-[[β - <i>D</i> -GluA]- β - <i>D</i> -GluA oleanolic acid ^[18]	C ₄₈ H ₇₄ O ₂₀	969.476 5	969.470 1	[M-H] ⁻	4.57	793.437 8	N
61	26.32	3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -GluA- β - <i>D</i> -GluA-28- <i>O</i> - β - <i>D</i> -Glc oleanolic acid ^[18]	C ₄₈ H ₇₄ O ₂₀	969.476 5	969.470 1	[M-H] ⁻	4.57	793.437 8	N

续表 1

峰号	<i>t_R</i> /min	化合物	分子式	<i>m/z</i>		离子模式	误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	归属
				实测值	理论值				
62	26.51	β- <i>D</i> -glucopyranosyl 3β-[<i>O</i> - α- <i>L</i> -rhamnopyranosyl-(1- 3)- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranuro- nosyloxy]oleanolate ^[18]	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	955.498 1	955.506 8	[M+H] ⁺	1.46	613.556 4	N
63	26.61	异甘草素 ^[1,13]	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	315.087 5	315.087 4	[M+CH ₃ COO] ⁻	0.16	119.049 2, 135.163 2	Z
64	27.70	知母皂苷 E ^[24]	C ₄₆ H ₇₈ O ₁₉	933.502 3	933.506 5	[M-H] ⁻	-4.68	311.449 1	Z
65	31.11	汉黄芩素 ^{[13,27]*}	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.060 0	283.061 2	[M-H] ⁻	-3.89	163.720 8	N
66	32.72	知母皂苷 BIII ^[8-9]	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	901.478 0	901.480 2	[M-H] ⁻	1.70	739.420 3	Z
67	32.73	知母皂苷 C ^[23]	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	901.478 8	901.480 2	[M-H] ⁻	1.70	739.421 7	Z
68	32.76	知母皂苷 A1 ^[24]	C ₃₃ H ₅₄ O ₈	579.387 9	579.374 6	[M+H] ⁺	-2.11	417.330 8	Z
69	37.75	betavulgaroside IV ^[18]	C ₄₁ H ₆₂ O ₁₅	793.403 5	793.401 6	[M-H] ⁻	4.60	161.044 9	N
70	37.73	知母皂苷 III ^[8]	C ₃₉ H ₆₄ O ₁₄	755.402 6	755.402 3	[M-H] ⁻	-1.48	593.371 7	Z
71	45.33	构树宁 A ^[23]	C ₁₆ H ₁₈ O ₃	257.118 6	257.118 3	[M-H] ⁻	1.24	122.757 6, 135.003 9	Z
72	48.09	宝藿苷 I [*]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₀	513.174 1	513.176 6	[M-H] ⁻	-1.65	112.984 9	Z
73	49.54	黄芩素 ^[27]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.046 8	269.045 5	[M-H] ⁻	4.78	269.044 7	N
74	51.61	知母皂苷 AIII ^[8-9,24]	C ₃₉ H ₆₄ O ₁₃	739.425 5	739.427 4	[M-H] ⁻	-3.44	755.405 2, 917.470 1	Z
75	51.70	麦冬黄烷酮 C ^[10,16]	C ₁₉ H ₁₆ O ₇	355.083 4	355.082 3	[M-H] ⁻	3.12	121.028 7, 191.071 8, 327.086 8	M
76	52.73	麦冬黄烷酮 A ^[10]	C ₁₈ H ₁₄ O ₆	325.072 4	325.071 8	[M-H] ⁻	1.94	203.035 5, 297.078 5	M
77	52.88	大黄酚 ^[6,12]	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	253.050 3	253.050 6	[M-H] ⁻	-3.94	225.831 7	Z, N
78	53.60	甲基麦冬黄烷酮 A ^{[16]*}	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	365.099 2	365.099 6	[M+Na] ⁺	0.28	174.074 7	M
79	53.95	红苋甾酮 ^[21]	C ₁₉ H ₂₆ O ₅	335.182 2	335.185 3	[M+H] ⁺	-9.14	123.043 7	N
80	57.29	甲基麦冬黄烷酮 B ^[10]	C ₁₉ H ₂₀ O ₅	327.123 4	327.123 8	[M-H] ⁻	-1.34	205.040 5	M
81	57.31	麦冬二氢高异黄酮 D ^[16]	C ₂₀ H ₁₈ O ₇	369.097 4	369.098 0	[M-H] ⁻	-1.66	133.699 8	M
82	58.70	甲基麦冬黄烷酮 B ^[16]	C ₁₉ H ₁₈ O ₅	327.122 1	327.122 7	[M+H] ⁺	-1.72	135.076 5	M
83	58.85	棕榈酸 ^[6]	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	274.273 0	274.274 1	[M+NH ₄] ⁺	-4.04	257.262 2	S

*为对照品对比后确定; Z-知母 S-熟地黄 N-牛膝 M-麦冬, 表 2 同

*determined after comparison of the reference substance; Z-*Anemarrhenae Rhizoma* S-*Rehmanniae Radix Praeparata* N-*Achyranthis Bidentatae Radix* M-*Ophiopogonis Radix*, same as Table 2

表 2 玉女颗粒化学成分分析鉴定结果 (色谱条件②)

Table 2 Analysis and identification results of chemical components in Yunv Granules (chromatographic conditions ②)

峰号	<i>t_R</i> /min	化合物	分子式	<i>m/z</i>		离子模式	误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	归属
				实测值	理论值				
1	2.26	精氨酸 ^{[28]*}	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	173.104 3	173.104 4	[M-H] ⁻	-0.76	131.083 0	S
2	2.91	缬氨酸 ^[6]	C ₅ H ₁₁ NO ₂	118.087 0	118.086 3	[M+H] ⁺	6.32	118.086 1	S
3	3.18	蔗糖 ^[6]	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	341.109 9	341.108 9	[M-H] ⁻	1.60	179.056 7	M, N, S, Z
4	3.08	甘露醇 ^[11]	C ₆ H ₁₄ O ₆	181.072 1	181.071 8	[M-H] ⁻	1.92	163.280 0	S
5	3.61	<i>D</i> -核糖 ^[12]	C ₅ H ₁₀ O ₅	209.067 3	209.065 9	[M+CH ₃ COO] ⁻	3.92	149.022 4	N
6	3.66	焦地黄苯乙醇苷 A ^[11]	C ₃₆ H ₄₈ O ₂₀	827.268 7	827.261 5	[M+HCOO-H ₂ O] ⁻	8.69	175.190 5, 297.892 6, 605.190 3	S
7	4.97	烟酸 ^{[27]*}	C ₆ H ₅ NO ₂	124.039 8	124.039 3	[M+H] ⁺	2.58	123.055 4	Z
8	6.00	柠檬酸 ^{[7,12,27]*}	C ₆ H ₈ O ₇	191.020 5	191.019 7	[M-H] ⁻	3.90	111.009 9, 129.020 2, 173.010 3	S
9	7.77	梓醇 ^{[6]*}	C ₁₅ H ₂₂ O ₁₀	385.111 4	385.110 5	[M+Na] ⁺	2.85	223.059 0, 385.112 4	S
10	8.48	异亮氨酸 ^[6]	C ₆ H ₁₃ NO ₂	132.102 2	132.101 9	[M+H] ⁺	2.15	132.099 9	Z

续表 2

峰号	t _R /min	化合物	分子式	m/z		离子模式	误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	归属
				实测值	理论值				
11	9.36	腺苷 ^{[6]*}	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	266.089 6	266.089 5	[M-H] ⁻	1.41	119.035 2	M、S
12	10.75	N-对反式香豆酰酰胺 ^[16]	C ₁₇ H ₁₇ NO ₃	288.100 6	288.099 5	[M+Na-H ₂ O] ⁺	3.99	164.988 6	M
13	13.76	5-羟甲基糠醛 ^{[26]*}	C ₆ H ₆ O ₃	127.039 2	127.039 0	[M+H] ⁺	-0.14	109.029 1	M、N、 S、Z
14	14.96	地黄苷 D ^{[11]*}	C ₂₇ H ₄₂ O ₂₀	685.218 0	685.219 7	[M-H] ⁻	-2.74	179.060 5, 323.095 7	S
15	15.59	地黄苷 A/地黄苷 B ^[6]	C ₂₁ H ₃₂ O ₁₅	569.171 8	569.172 3	[M+HCOO] ⁻	-0.97	199.304 2	S
16	15.60	蜜力特苷 ^[7]	C ₂₁ H ₃₂ O ₁₅	569.171 8	569.172 3	[M+HCOO] ⁻	-0.97	463.142 7	S
17	18.72	益母草苷 A ^{[6]*}	C ₁₅ H ₂₄ O ₉	371.131 2	371.131 3	[M+Na] ⁺	0.08	209.069 6, 353.123 6, 371.133 3	S
18	19.80	脱咖啡酸毛蕊花糖苷 ^[11]	C ₂₀ H ₃₀ O ₁₂	461.164 9	461.166 4	[M-H] ⁻	-3.26	135.044 4	S
19	21.34	8-表番木鳖酸 ^[11]	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	375.128 8	375.127 1	[M-H] ⁻	-2.15	119.944 8, 151.076 8	S
20	22.08	硬脂酸 ^[12]	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	285.276 7	285.278 8	[M+H] ⁺	-7.40	284.292 0	N
21	23.93	新芒果苷 ^{[8,9]*}	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₆	583.131 8	583.130 5	[M-H] ⁻	2.21	259.024 4, 331.044 5, 493.096 5	Z
22	25.36	咖啡酸 ^{[8]*}	C ₉ H ₈ O ₄	179.035 0	179.035 0	[M-H] ⁻	-0.36	107.050 3, 134.037 4, 135.046 0	N、S
23	26.10	2,3-二羟基苯甲酸 ^[14]	C ₇ H ₆ O ₄	153.018 6	153.019 3	[M-H] ⁻	-4.60	107.136 1, 136.982 7	S
24	26.19	香草酸 ^{[8,27]*}	C ₈ H ₈ O ₄	167.036 0	167.034 4	[M-H] ⁻	5.69	108.023 7, 152.036 0	N、S
25	27.20	洋地黄苷 C ^[7,11]	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	785.249 9	785.251 0	[M-H] ⁻	-1.69	161.023 6, 623.219 1	S
26	27.24	松果菊苷 ^{[7,11]*}	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	785.249 9	785.251 0	[M-H] ⁻	-1.69	161.027 2, 179.037 1, 623.218 4	S
27	27.57	芒果苷 ^{[8,9]*}	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	421.078 3	421.077 6	[M-H] ⁻	1.30	259.024 5, 301.036 7, 331.048 2	Z
28	30.69	阿魏酸 ^{[14]*}	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193.051 7	193.050 6	[M-H] ⁻	5.37	135.042 0, 171.322 7, 193.052 9	N
29	31.51	毛蕊花糖苷 ^{[11]*}	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.198 7	623.198 1	[M-H] ⁻	0.89	135.048 2, 161.027 9, 315.107 0, 461.159 1	S
30	32.33	异阿魏酸 ^{[14]*}	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193.050 5	193.050 6	[M-H] ⁻	2.38	115.239 9, 1137.079 4, 193.087 9	N
31	33.48	异毛蕊花糖苷 ^{[11]*}	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.196 5	623.198 1	[M-H] ⁻	-2.89	135.046 3, 161.027 4, 461.159 9	S
32	33.84	焦地黄黄苯乙醇苷 D ^[11]	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₅	637.214 2	637.213 8	[M-H] ⁻	0.49	461.287 7	S
33	35.46	水龙骨甾酮 B ^[17]	C ₂₇ H ₄₄ O ₈	541.299 7	541.301 8	[M+HCOO] ⁻	-4.27	495.295 7	N
34	35.46	牛膝甾酮 A ^[17]	C ₂₇ H ₄₄ O ₈	541.299 7	541.301 8	[M+HCOO] ⁻	-4.27	495.295 7	N
35	35.59	牛膝甾酮 ^[17]	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	479.300 3	479.301 4	[M-H] ⁻	-1.44	159.103 3, 319.198 3	N
36	35.59	β-蜕皮甾酮 ^{[17]*}	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	479.300 3	479.301 4	[M-H] ⁻	-1.44	159.103 4, 319.970 6	N
37	35.96	25R-牛膝甾酮 ^[21]	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	525.305 7	525.306 9	[M+HCOO] ⁻	-2.62	313.407 1	N
38	35.96	25S-牛膝甾酮 ^[21]	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	525.305 7	525.306 9	[M+HCOO] ⁻	-2.62	313.407 1	N
39	37.83	对羟基苯甲醛 ^[11]	C ₇ H ₆ O ₂	121.031 0	121.029 5	[M-H] ⁻	-2.67	121.027 3	M
40	40.70	槲皮素 ^{[27]*}	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	303.050 6	303.049 9	[M+H] ⁺	2.16	107.979 1, 151.005 2, 282.953 9	N
41	43.30	冰片-2-O-α-L-阿拉伯 呋喃甲酰 ^[16]	C ₂₁ H ₃₆ O ₁₀	466.264 6	466.264 7	[M+NH ₄] ⁺	2.23	302.114 8	M
42	43.36	异甘草素 ^[13]	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	301.072 6	301.071 8	[M+HCOO] ⁻	3.83	255.558 9	Z
43	43.64	知母皂苷 N ^[8,23]	C ₄₅ H ₇₆ O ₂₀	935.482 8	935.485 7	[M-H] ⁻	-2.85	773.430 5	Z
44	43.65	薤白苷 J ^[8,23]	C ₄₅ H ₇₆ O ₂₀	935.482 8	935.485 7	[M-H] ⁻	-2.85	773.430 5	Z
45	43.71	冰片-2-α-L-阿拉伯呋 喃糖基(1→6)-β-D- 吡喃葡萄糖苷 ^[16]	C ₂₁ H ₃₆ O ₁₀	466.264 6	466.264 7	[M+NH ₄] ⁺	2.23	109.101 1, 127.037 6	M

续表 2

峰号	t_R/min	化合物	分子式	m/z		离子模式	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	归属
				实测值	理论值				
46	43.76	山奈酚 ^{[19,29]*}	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	328.059 9	328.058 9	[M+CH ₃ COO-H ₂ O] ⁻	0.68	185.948 7, 229.457 6, 271.933 3	N
47	43.88	知母皂苷 E ^I ^[8,23]	C ₄₅ H ₇₆ O ₂₀	935.482 8	935.485 7	[M-H] ⁻	-2.85	773.757 7	Z
48	44.80	知母皂苷 B ^{II} ^[8-9,24]	C ₄₅ H ₇₆ O ₁₉	919.490 7	919.490 8	[M-H] ⁻	-2.31	595.382 2, 757.434 8	Z
49	45.26	新知母皂苷 B ^{II} ^[8-9]	C ₄₅ H ₇₆ O ₁₉	919.490 7	919.490 8	[M-H] ⁻	-2.31	757.419 4	Z
50	45.32	人参皂苷 R ⁰ ^[17-18]	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	1 001.491 5	1 001.496 3	[M+HCOO] ⁻	-5.75	835.856 1	N
51	45.56	棕榈酸 ^[27]	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	274.273 8	274.274 1	[M+NH ₄] ⁺	-1.18	257.189 4	N
52	45.72	知母皂苷 D ^[8,24]	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₉	917.474 1	917.475 2	[M-H] ⁻	-1.24	669.891 7, 755.407 2, 917.464 7	Z
53	45.98	汉黄芩素 ^{[27]*}	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285.076 8	285.075 7	[M+H] ⁺	3.42	239.983 1, 267.067 0	N
54	46.22	3-O-β-D-Glc-(β-D-GluA)-β-D-GluA oleanolic acid ^[17]	C ₄₈ H ₇₄ O ₂₀	969.464 5	969.470 1	[M-H] ⁻	-5.23	969.476 4	N
55	46.30	知母皂苷 C ^[23]	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	901.479 1	901.480 2	[M-H] ⁻	-1.51	739.431 6	Z
56	46.45	3-O-β-D-GluA-β-D-GluA-28-O-β-D-Glc oleanolic acid ^[18]	C ₄₈ H ₇₄ O ₂₀	969.464 5	969.470 1	[M-H] ⁻	-5.23	969.468 1	N
57	46.72	齐墩果酸 ^[27]	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	439.357 5	439.357 1	[M+H-H ₂ O] ⁺	1.14	205.194 5, 249.181 9, 439.259 7	N
58	46.75	知母皂苷 B ^{III} ^[8]	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	901.479 1	901.480 2	[M+H] ⁺	-1.51	739.423 7	Z
59	46.81	大黄酮 ^[6,12]	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	253.051 1	253.050 6	[M-H] ⁻	1.75	209.056 0, 225.330 3	Z、N
60	46.91	牛膝皂苷 D ^[18]	C ₅₃ H ₈₂ O ₂₅	1 117.504 9	1 117.507 2	[M-H] ⁻	-2.41	731.305 9	N
61	46.93	牛膝皂苷 E ^[18]	C ₄₆ H ₇₀ O ₁₉	953.439 6	953.438 8	[M-H] ⁻	1.82	455.349 2, 569.745 0, 673.450 2	N
62	46.96	牛膝皂苷 B ^[18]	C ₄₇ H ₇₀ O ₂₀	953.439 6	953.438 8	[M-H] ⁻	8.08	161.046 0, 455.349 2	N
63	47.03	5,7-二羟基-6,8-二苯甲基-3-(4'-羟基-3'-甲氧基苄基)苯并甲氢吡喃-4-酮 ^[29]	C ₁₉ H ₂₀ O ₆	327.123 5	327.122 7	[M+H-H ₂ O] ⁺	2.20	326.342 9	M
64	47.09	姜状三七苷 R ^I ^[17-18]	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	793.438 7	793.438 0	[M-H] ⁻	0.61	455.091 2, 631.376 7	N
65	47.27	竹节人参皂苷 IVA ^[18]	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	793.438 7	793.438 0	[M-H] ⁻	0.61	113.023 1, 455.349 7, 569.382 3, 631.379 4	N
66	47.56	宝藿苷 I [*]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₀	513.174 1	513.176 6	[M-H] ⁻	-1.65	305.082 3, 351.087 1, 366.113 7	Z
67	48.35	邻苯二甲酸二丁酯 ^[14]	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	279.159 6	279.159 1	[M+H] ⁺	0.97	121.028 5, 149.021 8	N
68	48.60	甲基麦冬黄烷酮 B ^[10]	C ₁₉ H ₂₀ O ₅	327.123 4	327.123 8	[M-H] ⁻	-1.26	177.017 1, 205.045 5	M
69	48.65	麦冬二氢高异黄酮 D ^[16]	C ₂₀ H ₁₈ O ₇	369.097 9	369.098 0	[M-H] ⁻	-0.65	133.064 3	M
70	48.29	甲基麦冬黄烷酮 A ^{[6]*}	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	341.104 8	341.103 1	[M-H] ⁻	4.53	135.047 5, 178.066 9, 206.060 3	M
71	51.50	亚油酸 ^[28]	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	279.232 7	279.233 0	[M-H] ⁻	-0.70	235.302 1	S
72	51.68	知母皂苷 A ^{III} ^[8,23]	C ₃₉ H ₆₄ O ₁₃	739.425 4	739.427 4	[M-H] ⁻	-3.04	577.699 4	Z
73	51.71	知母皂苷 A ^{IV} ^[8]	C ₃₉ H ₆₄ O ₁₃	739.425 4	739.427 4	[M-H] ⁻	-3.04	577.699 4	Z

分皂苷、黄酮类成分紫外吸收属于末端吸收,采用紫外检测器测定吸收较弱、干扰较多,针对该方中糖类、皂苷类、黄酮类化学成分特点,采用了水提取和水饱和正丁醇萃取 2 种提取方式,建立了 2 种提取方式结合 2 种色谱条件进行化学成分分析。

3.3 主要化合物的鉴定与归属

3.3.1 源自知母的化合物 知母中主要活性成分包括皂苷、黄酮和多糖。皂苷类成分为知母降糖作用的主要活性成分,主要分为呋甾烷醇型和螺甾烷醇型。 $[M-H-nC_6H_{12}O_5]^-$ 为知母皂苷类成分共有

的特征碎片离子, 由于该类成分 C-3 位链接糖链, 因此在质谱裂解过程中多围绕脱糖基进行碎裂^[30], 质谱中会出现丢失乙酰基 $[M-H-nCH_3CO]^-$ 的碎片离子峰。在色谱条件①负离子模式下, 以峰 48 和峰 74 为例, 峰 48 产生分子离子峰 m/z 919.487 0 $[M-H]^-$, 脱去 1 个葡萄糖残基二级质谱得到了 m/z 757.431 5 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ 的碎片离子, 再脱去 1 个葡萄糖残基二级质谱得到了 m/z 595.378 1 $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_5]^-$; 峰 74 在色谱条件①负离子模式下产生分子离子峰 739.425 4 $[M-H]^-$, 脱去 1 个葡萄糖残基二级质谱得到了 m/z 577.699 4 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ 的碎片离子, 通过其质谱信息与文献报道^[9-10,24]对比, 推断峰 48、74 分别是知母皂苷 BII 和知母皂苷 AIII。芒果苷为知母中双苯吡酮类化合物^[9], 在色谱条件②负离子模式下, 峰 27 产生分子离子峰 m/z 421.086 2 $[M-H]^-$, 丢失中性碎片 $C_3H_6O_3$ 、 $C_4H_8O_4$ 、 $C_6H_{10}O_5$, 分别生成 m/z 331.048 2 $[M-H-C_3H_6O_3]^-$ 、301.036 7 $[M-H-C_4H_8O_4]^-$ 和 259.024 5 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ 碎片离子, 经对照品比对并结合文献报道^[9], 推断峰 27 为芒果苷, 其可能的裂解途径见图 2。

3.3.2 源自熟地黄的化合物 地黄中主要活性成分包括苯乙醇苷、环烯醚萜苷和多糖, 苯乙醇苷类

易发生糖苷键和酯苷键的断裂, 丢失咖啡酰基 ($C_9H_6O_3$)、乙酰基 (C_2H_2O) 以及葡萄糖残基 ($C_6H_{10}O_5$) 和鼠李糖残基 ($C_6H_{10}O_4$)。在色谱条件②下负离子模式, 峰 29 产生分子离子峰 623.198 7 $[M-H]^-$, 二级质谱得到了 m/z 461.159 1 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$ 、315.107 0 $[M-H-C_9H_6O_3-C_6H_{10}O_4]^-$ 、161.027 9 $[M-H-C_9H_6O_3-C_6H_{10}O_4-C_8H_8O_2]^-$ 、135.048 2 $[M-H-C_9H_6O_3-C_6H_{10}O_4-C_6H_{10}O_4]^-$; 环烯醚萜类容易断裂糖苷键, 丢失糖基, 并发生中性丢失 CO_2 、 H_2O 等中性离子的丢失, 在色谱条件②下负离子模式, 峰 19 产生分子离子峰 m/z 375.128 8 $[M-H]^-$, 二级质谱得到了 151.076 8 $[M-H-C_6H_{10}O_5-CO_2-H_2O]^-$ 、119.944 8 $[M-H-C_6H_{10}O_5-CO_2-H_2O-CH_3OH]^-$; 通过其质谱信息与文献报道^[11]对比, 推断化合物分别为毛蕊花糖苷和 8-表番木鳖酸, 毛蕊花糖苷其可能的裂解途径见图 3。

3.3.3 源自麦冬的化合物 麦冬的主要活性成分包括皂苷、多糖和黄酮, 其中黄酮类化合物易发生 RDA 裂解, 中性分子如 CO 、 H_2O 等碎片离子峰容易丢失, 与糖结合的黄酮苷类易发生糖苷键的断裂。在色谱条件②正离子模式下, 峰 45 产生离子 m/z 466.264 6 $[M+Na]^+$, 二级质谱得到了 m/z 302.114 8 $[M+H-C_6H_{12}O_5]^+$; 通过其质谱信息与文献报道^[25]

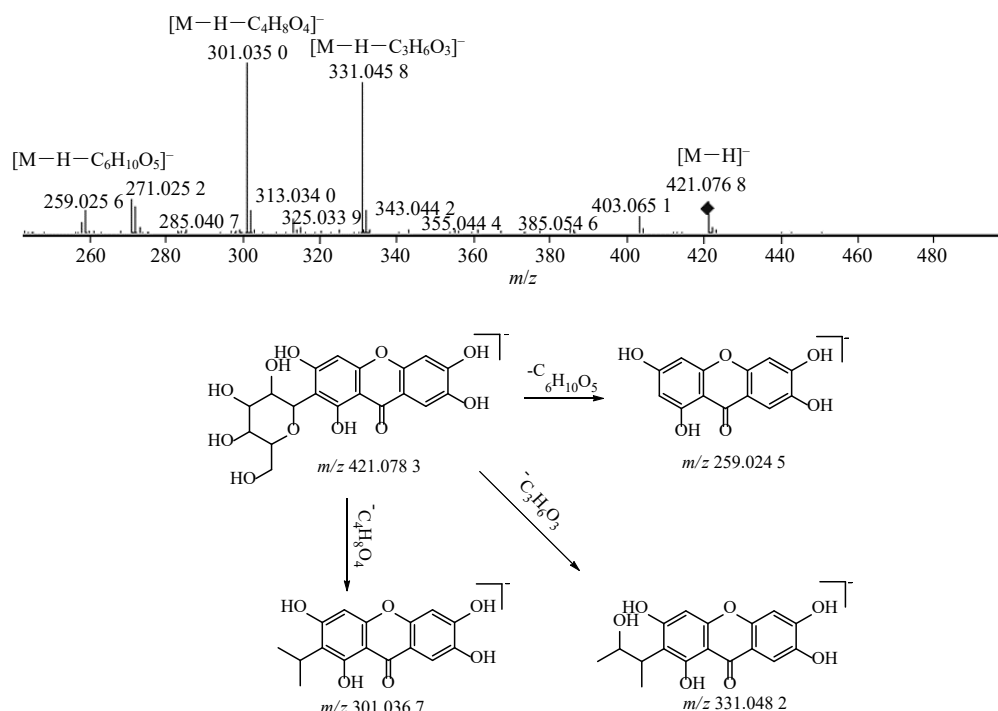


图 2 芒果苷二级质谱图及可能的裂解途径

Fig. 2 Secondary mass spectra and possible lysis pathways of mangiferin

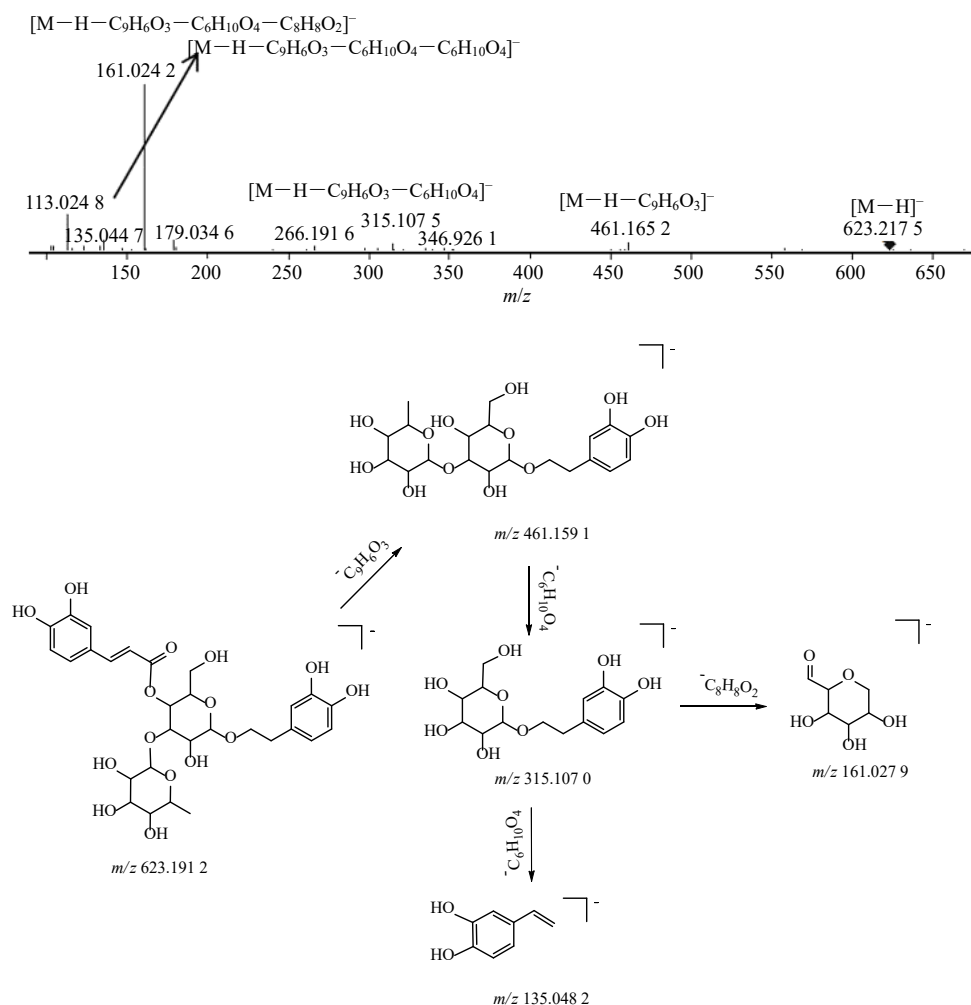


图 3 毛蕊花糖苷二级质谱图及可能的裂解途径

Fig. 3 Secondary mass spectra and possible lysis pathways of verbascoside

对比, 推断化合物冰片-2- α -L-阿拉伯呋喃糖基(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷。

3.3.4 源自牛膝的化合物 牛膝的主要活性成分包括皂苷、甾酮和多糖, 在色谱条件②负离子模式下, 峰 36 产生分子离子峰 m/z 479.299 8 $[M-H]^-$, 二级质谱得到了 m/z 479.300 0 $[M-H]^-$ 、319.190 5 $[M-H-C_8H_{15}O_3]^-$ 、159.102 3 $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_8H_{15}O_3]^-$; 通过其质谱信息与文献报道^[18]对比, 推断化合物分别为 β -蜕皮甾酮, 其可能的裂解途径见图 4。

4 讨论

本研究首次运用了 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术结合 2 种色谱条件定性分析了玉女颗粒中的化学成分。其中色谱条件①玉女颗粒分析共鉴定出 83 个化学成分, 色谱条件②玉女颗粒分析共鉴定出 73 个化学成分, 2 种色谱条件分析鉴定出 46 个相同化学

成分, 共推断和鉴别出 110 个化合物, 其中 24 个化合物经过对照品比对得到验证。在玉女颗粒中所鉴别出来的化学成分, 其中知母所含的知母皂苷 AIII 具有明显的抗肿瘤活性; 熟地黄中梓醇、地黄苷、毛蕊花糖苷等成分, 可以起到抗氧化、抗炎及抑制细胞凋亡等作用^[31]; 麦冬中的高异黄酮类化合物例如甲基麦冬黄酮 B 是中药麦冬的标志性成分, 具有良好的抗肿瘤、清除氧自由基、心肌保护等药理作用^[32]; 牛膝中的 chikusetsusaponin IV 在体外具有明显的抗炎、抗氧化和抗凝血作用^[33], 这也是玉女煎治疗口腔溃疡、急性口腔炎、三叉神经痛等疾病治疗机制之一。本研究能快速、准确地鉴定玉女颗粒中的化学成分, 可为经典名方玉女煎的物质基础研究和新药研发提供实验依据, 为玉女颗粒的质量控制、药效物质基础的阐明提供了帮助, 同时对其药理药效学研究和治疗牙周炎、口腔溃疡、糖尿病

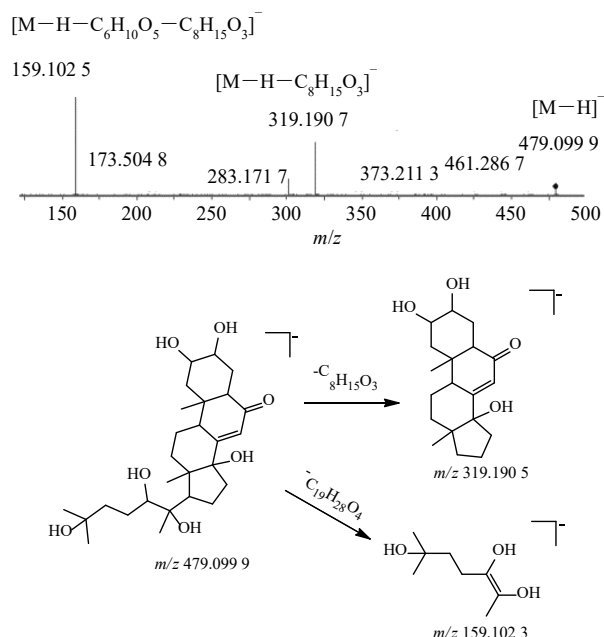


图 4 蜕皮甾酮二级质谱图及可能的裂解途径

Fig. 4 Secondary mass spectra and possible lysis pathways of β -ecdysterone

和皮炎的作用机制的深入研究提供了可靠的科学依据,还可为其他中成药的化学成分分析提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 叶兴法, 韩鹏, 陈剑. 玉女煎中药配方颗粒与传统汤剂中石膏的含量对比研究 [J]. 海峡药学, 2017, 29(8): 56-58.
- [2] 李梦佳, 王宏, 董臣林, 等. 基于网络药理学探讨玉女煎治疗牙周炎的作用机制 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2022, 22(8): 904-909.
- [3] 王卫, 吕佳健, 王欣, 等. 玉女煎治疗糖尿病及并发症研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(15): 223-231.
- [4] 孙欣彤, 于艳华, 李梦佳, 等. 清胃散合玉女煎对牙周炎大鼠炎症因子和细胞外基质金属蛋白酶的影响 [J]. 中华老年口腔医学杂志, 2021, 19(5): 286-290.
- [5] 曹旖岚, 杨蓉, 夏振江, 等. 玉女煎的用药历史沿革及其质量评价方法初探 [J]. 中国药师, 2021, 24(7): 343-348.
- [6] 杨福燕, 许如玲, 钮炜, 等. 经典名方一贯煎标准煎液 UPLC-Q-TOF-MS 化学成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(8): 2134-2147.
- [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] 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.
- [9] 任海东, 关亮俊, 高荣凯, 等. 加味酸枣仁汤体内外化学成分 UPLC-Q-TOF-MS 分析 [J]. 中南药学, 2020, 18(3): 477-480.
- [10] 郭哲, 陈丽, 梁琼麟, 等. 基于准确相对分子质量和多级质谱技术的 LC-MS 方法鉴定麦冬醇提液中高异黄酮类成分 [J]. 中草药, 2011, 42(5): 844-847.
- [11] 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.
- [12] 何天雨, 王璐, 李林, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的经典名方竹茹汤化学成分鉴定及网络药理学研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(19): 5235-5245.
- [13] 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.
- [14] 袁梦, 孙国东, 刘华石, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析大青龙汤化学成分 [J]. 现代中药研究与实践, 2022, 36(1): 37-44.
- [15] 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.
- [16] 雷艳, 刘传鑫, 李尹, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS^E 的玉泉丸化学成分表征 [J]. 中药材, 2020, 43(7): 1639-1646.
- [17] 陶益, 杜映珊, 黄苏润, 等. 牛膝不同炮制品中化学成分 UPLC-Q-TOF/MS 分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(12): 1-5.
- [18] 傅俊, 吴欢, 吴虹. UPLC-QTOF/MS-E 联合 UNIFI 筛选平台快速分析牛膝中三萜皂苷类成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(6): 1054-1061.
- [19] 续艳丽, 李晨曦, 杨飞霞, 等. 基于 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术分析经典名方芍药甘草汤的化学成分 [J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(6): 938-948.
- [20] 李浩然, 王少平, 孙志强, 等. UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 法分析桃红四物汤物质基准中化学成分 [J]. 中成药, 2022, 44(4): 1349-1354.
- [21] 王永春, 董金香, 李军鸽, 等. UPLC-Q-TOF/MS 技术结合 UNIFI 数据库快速分析经典名方温经汤标准汤剂的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2022, 39(6): 639-652.
- [22] 冯俊杰, 蒋海强, 董梅月, 等. 超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱法分析莱菔子化学成分 [J]. 化学分析计量, 2021, 30(11): 14-22.
- [23] 孙振刚, 邱昆成, 李丹, 等. UPLC-LTQ-Orbitrap XL 分析知母-黄柏药对化学成分 [J]. 中药材, 2017, 40(1): 101-106.
- [24] 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.
- [25] 赵阳, 康利平, 余河水, 等. 利用 UHPLC/Q-TOF MS 技术进行知母中 7 个甾体皂苷的含量测定 [J]. 中国药
学, 2013, 22(3): 226-233.
- [26] 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.
- [27] 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.
- [28] 黄浩洲, 仇敏, 唐进法, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS^E 技
术的三勒浆口服液上清液及沉淀部分化学成分分析
[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(14): 143-151.
- [29] 马文凤, 刘丽, 何枢衡, 等. 基于 HPLC-Q/TOF-MS 的
经典名方保阴煎化学物质组快速辨识研究 [J]. 中草
药, 2019, 50(17): 4181-4188.
- [30] 王晓婷, 于颖琦, 高慧. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 探
究知母皂苷类成分质谱裂解规律 [J]. 中华中医药杂
志, 2022, 37(5): 2593-2597.
- [31] 葛楠, 闫广利, 孙晖, 等. 熟地黄药效物质基础研究进
展 [J]. 中草药, 2023, 54(1): 292-302.
- [32] 高龙龙, 尹丽君, 孟伟凡, 等. 麦冬及其有效成分抗心
脑血管疾病的药理研究进展 [J]. 中国中医药现代远程
教育, 2021, 19(13): 182-185.
- [33] Yin L, Cao Y M, Gu C C, *et al.* Therapeutic effects of
Cyathula officinalis Kuan and its active fraction on acute
blood stasis rat model and identification constituents by
HPLC-QTOF/MS/MS [J]. *Phcog Mag*, 2017, 13(52): 693.
- [责任编辑 王文倩]