

质谱自动化注释 workflow 解析黄连-吴茱萸药对化学成分

夏俊杰, 田 港, 刘瑞娜, 徐琼芳, 唐 靓, 方 乐, 金桢寓, 何佩佩, 曹 岗*, 单琪媛*
浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311400

摘要:目的 以临床常用经典方左金丸黄连 *Coptidis Rhizoma*-吴茱萸 *Evodiae Fructus* 药对为例, 鉴定药对全局化学成分并推导药对中代表性成分的质谱碎裂规律, 为黄连-吴茱萸药对后续质量控制、药效评价、机制研究提供参考。**方法** 运用超高效液相色谱-飞行时间质谱联用技术 (UPLC-Q-TOF-MS), 基于 MZmine-SIRIUS 质谱自动化注释 workflow, 辅助进行黄连-吴茱萸药对的全局化学成分解析。**结果** 共鉴定了包括生物碱、有机酸、黄酮、苷类、苦味素类在内的成分 144 种, 其中已报道成分 123 种, 未报道的新成分 21 种。此外, 根据 SIRIUS 中 Fragmentation Tree 推导并绘制黄连及吴茱萸中代表性成分木兰花碱、药根碱、巴马汀、小檗碱、柠檬苦素、奎宁酸、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、去氢吴茱萸碱共 9 个成分的质谱碎裂途径。**结论** 采用质谱自动化注释 workflow 鉴定了黄连-吴茱萸药对成分, 推导药对中代表性的 9 种主要成分质谱碎裂规律, 为黄连-吴茱萸药对全成分鉴定和质量控制研究提供参考, 为后续基于成分的配伍药效比较及机制考察提供研究基础。

关键词: 质谱自动化解析; 左金丸; 黄连; 吴茱萸; 裂解途径; 木兰花碱; 药根碱; 巴马汀; 小檗碱; 柠檬苦素; 奎宁酸; 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; 去氢吴茱萸碱

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)22-7601-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.22.004

Identification of chemical components from *Coptidis Rhizoma* - *Evodiae Fructus* herbal pair based on automated mass spectrometry annotation workflow

XIA Junjie, TIAN Gang, LIU Ruina, XU Qiongfang, TANG Jing, FANG Le, JIN Zhenyu, HE Peipei, CAO Gang, SHAN Qiyan

School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311400, China

Abstract: Objective To identify the compounds of *Coptidis Rhizoma* - *Evodiae Fructus* herbal pair from Zuojin Pills (左金丸) and to deduce the mass spectrum fragmentation law of representative components in herbal pair, providing reference for subsequent quality control, efficacy investigation, and compatibility mechanism. **Methods** Ultrahigh performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) and automated annotation of mass spectrum based on the MZmine-SIRIUS workflow were used to identify global components from the *Coptidis Rhizoma* - *Evodiae Fructus* herbal pair. **Results** A total of 144 compounds including alkaloids, organic acids, flavonoids, glycosides and picroids were identified in this study, of which 123 were known and 21 were newly identified. In addition, fragmentations of nine typical components, including magnoflorine, jatrorrhizine, palmatine, berberine, limonin, quinic acid, rutaecarpine, evodiamine and dehydroevodiamine, were deduced and draw based on Fragmentation Tree provided by SIRIUS. **Conclusion** In this study, *Coptidis Rhizoma* - *Evodiae Fructus* herbal pair was globally identified by automated mass spectrometry annotation workflow, fragmentations of nine representative main components from this herbal pair were deduced, which provided reference for the study of global component identification and quality control of *Coptidis Rhizoma* - *Evodiae Fructus* herbal pair, and provided chemical basis for the subsequent therapeutic effects comparison and mechanism elucidation after herbal combination.

Key words: automated mass spectrometry annotation; Zuojin Pills; *Coptidis Rhizoma*; *Evodiae Fructus*; fragmentation pathway; magnoflorine; jatrorrhizine; palmatine; berberine; limonin; quinic acid; rutaecarpine; evodiamine; dehydroevodiamine

收稿日期: 2024-06-04

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (82304724); 浙江省卫生健康委临床研究应用项目 (2024ZL376); 浙江中医药大学自然科学青年探索项目 (2023JKZKTS06)

作者简介: 夏俊杰, 男, 本科生, 研究方向为中药炮制物质基础。E-mail: 1606747921@qq.com

*通信作者: 曹 岗, 博士生导师, 研究员, 研究方向为中药炮制物质基础及机制。E-mail: caogang33@163.com

单琪媛, 博士, 高级实验师, 研究方向为中药炮制物质基础及机制。E-mail: shanqiyan@zcmu.edu.cn

黄连 *Coptidis Rhizoma* 味苦，性寒，具有清热燥湿、泻火解毒的功效，常用于治疗一些由内热引起的症状^[1]，如口渴、喉咙痛、口腔溃疡等，及胃肠道消化性溃疡和炎症^[2]。吴茱萸 *Evodiae Fructus* 味辛、苦，性热，具有散寒止痛、降逆止呕、助阳止泻的功效，常用于治疗寒性病症引起的腹痛、呕吐、腹泻等^[1]。黄连-吴茱萸配伍为临床常用经典药对，尤其在治疗胃肠道疾病方面效果显著^[3]。最为著名的经典配伍为左金丸（黄连-吴茱萸比例为 6：1，源自《丹溪心法》），常用于肝火犯胃、脘胁疼痛、口苦嘈杂、呕吐酸水。此外还有配伍比例为 1：6 的反左金丸，比例为 2：1 的甘露散，比例为 1：1 的茱萸丸^[4]。黄连和吴茱萸 2 种中药药性一寒一热，相互补足又相互制约，具有清肝泻火、降逆和胃之功。两药配伍可以协同增效，且能减轻或抵消吴茱萸可能引起的不良反应。

黄连和吴茱萸主要含有生物碱、黄酮、甾体、萜类、有机酸、挥发油等多种化学成分^[4]。其中黄连以异喹啉类生物碱为主要药效物质^[2]，而吴茱萸以吲哚类生物碱、喹诺酮类生物碱及苦味素类为主要活性成分^[5-6]。此前已有研究分别对黄连及吴茱萸的成分进行分析和药理研究，对于临床应用具有重要意义；然而对两者配伍进行全面的成分鉴定尚待进一步深入研究。

液相色谱-串联质谱联用技术凭借其高精度、高通量和高灵敏度的优点，已成为定性分析中运用的主要技术之一^[7]。随着质谱仪检测速度和检测精度的提高，质谱产出的数据也成倍增加。如何正确、快捷地解析数据，是运用高分辨质谱进行定性研究的一大挑战^[8]。为满足研究中海量数据解析的需求，运用质谱自动化注释 workflow，加速复杂样本的解析效率尤为关键。

全球天然产物社区 (GNPS, <https://gnps.ucsd.edu/>) 通过提供 MS/MS 图谱与公共谱库的镜像匹配，生成分子网络提示化合物群结构关联信息^[9]。尽管分子网络可以改善质谱数据解析体验，但受限于仪器兼容性、采集条件设置、公共质谱库收录数量，质谱数据的整体自动化注释率仍较低（约为 20%）。不同于 GNPS 注释依赖于 MS/MS 和公共谱库，开源质谱解析 workflow SIRIUS 通过深度学习算法，基于结构分子指纹图谱、MS/MS 图谱、公共开源光谱库多维信息构建 AI 预测模型，显著提高质谱数据整体自动化注释率，准确度达到 70%^[10]。

为充分了解黄连-吴茱萸药对的化学成分信息，本实验将采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术，MZmine 完成质谱数据格式转化，结合 SIRIUS workflow 进行质谱成分自动化解析鉴定，并与文献报道的相对分子质量、二级碎片等信息进行核对验证，鉴定 6：1 经典配伍比例下黄连-吴茱萸药对化学成分，推导 2 味中药代表性 9 种主要成分的质谱裂解规律，以期黄连-吴茱萸药对全局成分鉴定和质量控制提供参考，为后续药效比较及机制考察提供研究基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

ACQUITY UPLC I-Class PLUS/Xevo G2-XS QTOF-MS 超高压液相色谱-飞行时间质谱联用系统（美国沃特世公司），XL-04A 型密封型手提式中药粉碎机（广州市旭朗机械设备有限公司），BSA124S 型电子天平（0.1 mg，德国赛多利斯公司），SQP 型电子天平（0.01 mg，德国赛多利斯公司），KQ-500DB 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司），H1-16K 台式高速离心机（湖南可成仪器设备有限公司）。

1.2 药材与试药

吴茱萸（批号 20180819s，浙江中医药大学中药饮片有限公司），经浙江中医药大学药学院朱波副教授鉴定为芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 的干燥近成熟果实；黄连（批号 200529，南京海源中药饮片有限公司）经朱波副教授鉴定为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎；对应药材样本保存于浙江中医药大学药学院。对照品药根碱（货号 L-TE186-5mg，上海贤鼎生物科技有限公司，经 HPLC 检测质量分数≥97%）、小檗碱（批号 M24A10K86772，上海源叶生物科技有限公司，经 HPLC 检测质量分数≥98%）、巴马汀（批号 RP200616，成都麦德生科技有限公司，经 HPLC 质量分数 99.08%）、木兰花碱（货号 M303045-5 mg，上海阿拉丁生化科技股份有限公司，经 HPLC 检测质量分数≥98%）、奎宁酸（批号 K29D9B77039，上海源叶生物科技有限公司，经 HPLC 检测质量分数≥98%）、柠檬苦素（批号 H23J9K65962，上海源叶生物科技有限公司，经 HPLC 检测质量分数≥98%）、去氢吴茱萸碱（批号 RFS-Q06811812010，成都瑞芬思生物科技有限公司，经 HPLC 检测质量分数>98%）、吴茱萸碱（批号 MUST-18031410，成都曼思特生物科技有限公司，经 HPLC 检测质量分数 99.87%）、吴茱萸次碱（批号 MUST-18031411，成都曼思特生

物科技有限公司, 经 HPLC 检测质量分数 99.18%)。超纯水, 来自 Unique-S*型多功能超纯水系统, 购自锐思捷水纯化技术有限公司; 甲酸, 色谱级, 购自美国西格玛奥德里奇公司, 甲醇、乙腈, LC-MS 级, 购自美国赛默飞世尔科技公司。

2 方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 称取黄连主要成分对照品木兰花碱、药根碱、小檗碱、巴马汀; 吴茱萸主要成分对照品奎宁酸、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素、去氢吴茱萸碱适量, 加甲醇溶解, 配制成终质量浓度 15 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品混合溶液。

2.1.2 样品溶液的制备 取黄连、吴茱萸药材粉末(过三号筛)分别约为 0.6、0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 浸泡 30 min, 超声处理(功率 300 W、频率 40 kHz) 30 min。放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量。12 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 即得供试品溶液。

2.2 色谱条件

Waters ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm); 流动相乙腈(B)-0.1%甲酸水溶液(A)进行分离。梯度洗脱: 0~2.0 min, 6% B; 2.0~10.0 min, 6%~30% B; 10.0~13.5 min, 30%~44% B; 13.5~22.0 min, 44%~70% B; 22.0~26.0 min, 70%~95% B; 26.0~28.0 min, 95% B; 28.0~28.2 min, 95%~6% B; 28.2~30.0 min, 6% B。柱温

40 $^{\circ}\text{C}$, 体积流量 0.3 mL/min, 进样体积 2 μL 。

2.3 质谱条件

电喷雾电离源正、负离子模式下, 在 m/z 50~1200 质量范围内采集数据。毛细管电压 2.5 kV, 采样锥电压 30 V, 源温度 100 $^{\circ}\text{C}$, 锥气流量 100 L/Hr, 脱溶剂温度 350 $^{\circ}\text{C}$, 气体流量 600 L/h。

2.4 鉴定方法

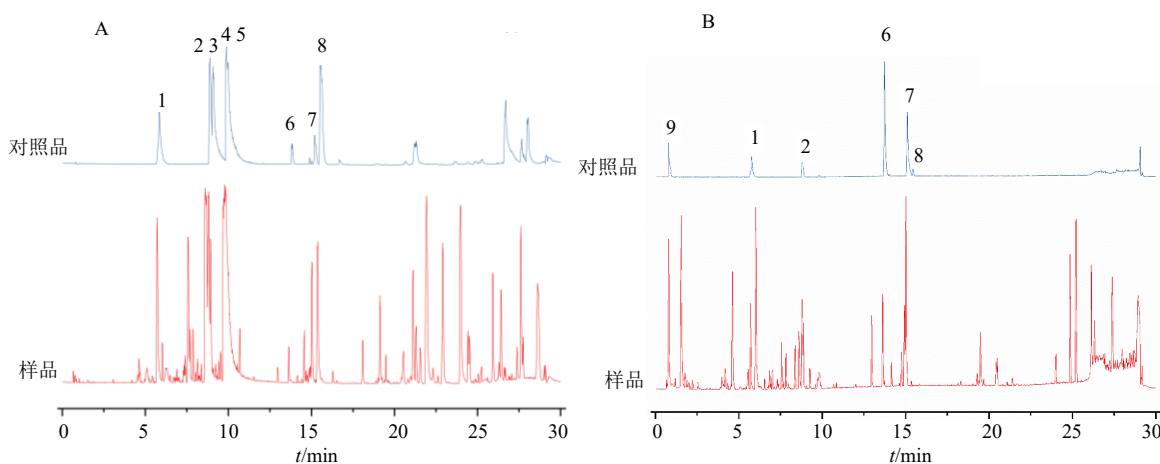
通过查阅文献, 建立起包含分子式、相对分子质量、二级碎片、CAS 号在内的有关黄连和吴茱萸成分质谱一级碎片信息表。

采用质谱自动化解析开源工作流 MZmine-SIRIUS 进行数据预处理及成分鉴定: 采用 Proteowizard V3.0.20233 完成质谱原始数据格式转化、MZmineV2.53 软件完成质谱数据预处理, 结合开源软件 SIRIUS 自动化解析工作流, 对正负离子模式下采集的质谱数据进行自动注释。根据色谱保留时间、精确相对分子质量、质谱二级分子碎片信息, 以及自动化解析结果, 结合自建化学成分信息库, 对特征峰进行鉴定并核对二级质谱, 记录各特征峰的保留时间、名称、分子式、相对分子质量理论值和测定值、二级质谱离子碎片。

3 结果与分析

3.1 鉴定结果

黄连-吴茱萸药对代表性成分对照品和样本正、负离子模式下典型总离子流图见图 1, MZmine-SIRIUS 工作流鉴定结果见表 1。



1-木兰花碱; 2-药根碱; 3-去氢吴茱萸碱; 4-巴马汀; 5-小檗碱; 6-柠檬苦素; 7-吴茱萸碱; 8-吴茱萸次碱; 9-奎宁酸。
1-magnoflorine; 2-jatrorrhizine; 3-dehydroevodiamine; 4-palmatine; 5-berberine; 6-limonin; 7-evodiamine; 8-rutaecarpine; 9-quinic acid.

图 1 黄连-吴茱萸药对代表性成分对照品和样本正 (A)、负 (B) 离子模式总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of typical standard references and samples from *Coptidis Rhizoma - Evodiae Fructus* herbal pair in positive (A) and negative (B) ion modes

表 1 MZmine-SIRIUS workflow鉴定黄连-吴茱萸药对成分结果
Table 1 Identification of *Coptidis Rhizoma* - *Evodiae Fructus* herbal pair by MZmine-SIRIUS workflow

序号	<i>t_R</i> /min	测定结果	分子式	加合 离子	理论值 (<i>m/z</i>)	测定值 (<i>m/z</i>)	偏差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子 (<i>m/z</i>)	Tree Score
1	0.71	<i>L</i> -精氨酸 ^[11]	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	[M+H] ⁺	175.119 5	175.119 5	0.00	130.095 8, 116.067 9, 70.064 3	36.79
2	0.77	asparagine	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	[M-H] ⁻	131.045 7	131.045 4	-2.29	114.019 5, 113.037 5, 88.038 6	47.29
3*	0.81	奎宁酸 ^[11]	C ₇ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	191.055 6	191.055 7	0.52	173.045 2, 127.039 3, 93.033 9	117.37
4	0.84	salsolinol	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	180.102 5	180.102 7	1.11	166.086 6, 163.076 3, 145.065 5, 117.070 6	68.86
5	0.85	苹果酸 ^[11]	C ₄ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	133.013 7	133.013 4	-2.26	115.001 8, 71.013 4	39.91
6	0.85	柠檬酸 ^[11]	C ₆ H ₈ O ₇	[M-H] ⁻	191.019 2	191.018 0	-6.28	154.992 6, 111.007 3, 85.028 5	70.34
7	0.99	norsalsolinol	C ₉ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	166.086 8	166.086 7	-0.60	149.061 0, 137.061 6, 121.064 9	110.12
8	1.03	腺苷 ^[12]	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	[M+H] ⁺	268.104 6	268.105 0	1.49	136.062 8, 119.035 2	23.93
9	1.54	2-hydroxy-3-[3-hydroxy-4-[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyphenyl]propanoic acid	C ₁₅ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	359.097 8	359.098 0	0.56	197.044 7, 179.034 0, 135.044 3, 123.044 1	62.11
10	1.74	苯丙氨酸 ^[11]	C ₉ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	166.086 8	166.086 7	-0.60	120.082 1, 103.056 1, 91.053 6, 77.038 5	50.35
11	1.78	3-carboxy-4-hydroxy phenoxy glucoside ^[13]	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	[M-H] ⁻	315.071 6	315.071 7	0.32	153.017 7, 152.010 8	44.94
12	1.88	丹参素 ^[11]	C ₉ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	197.045 0	197.045 2	1.01	179.034 4, 135.044 3, 123.044 2	86.09
13	1.89	咖啡酰葡萄糖醛酸或其异构体 ^[14]	C ₁₅ H ₁₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	355.066 5	355.066 4	-0.28	195.050 4, 179.034 0, 135.044 4	74.54
14	2.02	咖啡酰葡萄糖醛酸或其异构体 ^[14]	C ₁₅ H ₁₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	355.066 5	355.066 3	-0.56	195.050 3, 179.034 1, 135.044 4	62.80
15	2.10	4- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖基香草醇或其异构体 ^[14]	C ₁₄ H ₂₀ O ₈	[M-H] ⁻	315.108 0	315.107 4	-1.90	153.055 3, 123.042 8	63.27
16	2.23	4- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖基香草醇或其异构体 ^[14]	C ₁₄ H ₂₀ O ₈	[M-H] ⁻	315.108 0	315.107 4	-1.90	153.055 0, 123.044 6	31.52
17	2.30	咖啡酰葡萄糖或其异构体 ^[14]	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	341.087 3	341.086 4	-2.64	195.050 2, 163.039 6, 119.048 9	34.16
18	2.5	新绿原酸 ^[14]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.087 3	353.087 2	-0.28	191.055 3, 179.034 5, 135.044 2	89.74
19	2.69	咖啡酰葡萄糖醛酸 ^[14]	C ₁₅ H ₁₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	355.066 5	355.066 5	0.00	195.050 3, 179.034 2, 135.044 4	63.98
20	2.97	咖啡酰葡萄糖或其异构体 ^[14]	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	341.087 3	341.086 9	-1.17	195.050 9, 163.039 0, 119.049 5	43.48
21	3.06	<i>L</i> -色氨酸 ^[11]	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	[M-H] ⁻	203.082 1	203.081 4	-3.45	159.070 1, 142.065 0, 116.050 1	53.59
22	3.12	咖啡酰葡萄糖或其异构体 ^[14]	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	341.087 3	341.087 8	1.47	195.050 2, 163.039 5, 119.049 4	33.58

表 1 (续)

序号	t_R /min	测定结果	分子式	加合离子	理论值 (m/z)	测定值 (m/z)	偏差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	Tree Score
23	3.28	阿魏酰葡萄糖酸 ^[14]	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	371.097 8	371.098 5	1.89	195.049 8, 193.050 0, 134.036 4	53.61
24	3.63	endotelon	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	[M-H] ⁻	577.134 6	577.134 9	0.52	407.074 2, 289.071 4, 245.080 9, 125.023 8	107.33
25	3.98	咖啡酰葡萄糖醛酸或其异构体 ^[14]	C ₁₅ H ₁₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	355.066 5	355.066 7	0.56	195.050 3, 179.034 5, 135.044 4	92.57
26	4.04	阿魏酰葡萄糖酸或其异构体 ^[14]	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	371.097 8	371.097 5	-0.81	195.050 0, 193.050 1, 134.036 5	52.11
27	4.20	绿原酸 ^[14]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.087 3	353.086 8	-1.42	191.055 4, 179.034 5, 135.044 4	—
28	4.53	隐绿原酸 ^[14]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.087 3	353.086 8	-1.42	191.055 5, 179.034 4, 135.044 5	50.64
29	4.61	阿魏酰奎宁酸 ^[14]	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	367.102 9	367.103 4	1.36	193.050 0, 134.036 4	46.72
30	4.65	咖啡酸 ^[11]	C ₉ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	179.034 4	179.033 9	-2.79	135.044 2, 117.034 8,	44.33
31	4.86	阿魏酰葡萄糖酸或其异构体 ^[14]	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	371.097 8	371.097 7	-0.27	195.050 8, 193.050 1, 134.036 5	61.26
32	4.96	5-甲氧基- <i>N</i> -甲基色胺 ^[15]	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O	[M+H] ⁺	205.134 1	205.134 5	1.95	174.091 9, 162.091 9, 159.068 4, 143.073 8, 130.065 8	76.05
33	5.09	咖啡酰葡萄糖或其异构体 ^[14]	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	341.087 3	341.086 7	-1.76	195.051 1, 163.038 7, 119.049 0	—
34	5.19	5-甲氧基- <i>N,N</i> -二甲基色胺 ^[16]	C ₁₃ H ₁₈ N ₂ O	[M+H] ⁺	219.149 7	219.149 9	0.91	174.091 8, 143.074 1, 130.064 3	81.83
35	5.23	阿魏酰葡萄糖酸或其异构体 ^[14]	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	371.097 8	371.097 3	-1.35	161.023 8, 135.044 5, 133.029 4	58.19
36	5.51	香树素-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷 ^[14]	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	449.108 4	449.107 9	-1.11	287.056 1, 269.045 3	—
37	5.58	β -咔啉 ^[17]	C ₁₁ H ₈ N ₂	[M+H] ⁺	169.076 6	169.076 7	0.59	142.066 3, 115.054 6	8.83
38	5.61	吴茱萸酰胺II ^[15]	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₃	[M+H] ⁺	336.134 8	336.133 4	-4.16	161.071 1, 134.058 4	61.89
39*	5.71	木兰花碱 ^[18]	C ₂₀ H ₂₄ NO ₄	[M] ⁺	342.170 5	342.170 7	0.58	297.113 0, 282.088 9, 265.086 8, 237.091 1	117.43
40	5.75	阿魏酰葡萄糖酸或其异构体 ^[14]	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	371.097 8	371.097 8	0.00	195.050 3, 193.050 2, 134.036 6	88.20
41	6.01	阿魏酰奎尼酸 ^[14]	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	367.102 9	367.103 5	1.63	193.050 3, 134.036 8	96.05
42	6.72	木兰花碱葡萄糖苷 ^[13]	C ₂₆ H ₃₄ NO ₉	[M] ⁺	504.223 4	504.221 6	-3.57	342.169 7, 206.117 7	—
43	6.91	芦丁 ^[13]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[M-H] ⁻	609.145 6	609.144 9	-1.15	463.087 2, 301.033 8	60.82
44	7.01	槲皮素 ^[12]	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M+H] ⁺	303.050 5	303.049 8	-2.31	285.038 7, 257.043 3, 229.047 8, 201.055 6, 165.016 6, 153.018 5	88.16
45	7.02	金丝桃苷 ^[14]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	463.087 7	463.087 1	-1.30	301.032 6, 271.024 0	60.69
46	7.03	蝙蝠葛任碱葡萄糖苷 ^[13]	C ₂₇ H ₃₆ NO ₉	[M] ⁺	518.239 0	518.238 4	-1.16	356.184 6, 206.118 0	—
47	7.06	小檗红碱葡萄糖苷 ^[13]	C ₂₅ H ₂₆ NO ₉	[M] ⁺	484.160 8	484.158 3	-5.16	322.108 2, 307.084 4	—
48	7.14	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷 ^[13]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	593.150 7	593.150 9	0.34	285.039 6	18.77
49	7.15	木犀草素 ^[11]	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M+H] ⁺	287.055 6	287.055 4	-0.70	153.016 3, 135.045 0	3.58
50	7.15	异槲皮苷 ^[13]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	463.087 7	463.087 2	-1.08	300.026 3, 271.024 9	37.75
51	7.29	延胡索乙素 ^[18]	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	[M+H] ⁺	356.186 2	356.186 2	0.00	206.117 7, 190.086 2	55.16

表 1 (续)

序号	<i>t</i> _R /min	测定结果	分子式	加合 离子	理论值 (<i>m/z</i>)	测定值 (<i>m/z</i>)	偏差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子 (<i>m/z</i>)	Tree Score
52	7.39	10-formyl folic acid	C ₂₀ H ₁₉ N ₇ O ₇	[M+H] ⁺	470.142 4	470.144 8	5.10	308.092 2	11.00
53	7.43	去亚甲基小檗碱葡萄糖苷 ^[13]	C ₂₅ H ₂₈ NO ₉	[M] ⁺	486.176 4	486.175 9	-1.03	324.123 1, 308.091 1	25.51
54	7.58	小檗红碱 ^[18]	C ₁₉ H ₁₆ NO ₄	[M] ⁺	322.107 9	322.107 8	-0.31	307.084 2, 279.089 0	64.56
55	7.62	槲皮素-3- <i>O</i> - α -D-吡喃阿拉伯糖苷 ^[14]	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	433.077 1	433.076 3	-1.85	301.030 4, 271.029 5, 255.032 6, 243.034 1	—
56	7.69	去亚甲基小檗碱 ^[13]	C ₁₉ H ₁₈ NO ₄	[M] ⁺	324.123 6	324.123 6	0.00	309.099 4	44.42
57	7.82	异鼠李素-3- <i>O</i> -芸香糖苷 ^[14]	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	[M-H] ⁻	623.161 2	623.161 0	-0.32	315.050 4, 300.026 9	75.80
58	7.84	柠檬黄素-3- <i>O</i> -芸香糖苷 ^[14]	C ₂₉ H ₃₄ O ₁₇	[M-H] ⁻	653.171 8	653.171 3	-0.77	345.059 3, 330.036 8, 329.029 7	67.23
59	7.97	异鼠李素-3- <i>O</i> - β -D-半乳糖苷 ^[14]	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	[M-H] ⁻	477.103 3	477.103 7	0.84	314.042 4	—
60	8.06	柠檬黄素-3- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷 ^[14]	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₃	[M-H] ⁻	507.113 9	507.113 8	-0.20	301.035 0, 286.010 9	—
61	8.12	异鼠李素-3- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷 ^[14]	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	[M-H] ⁻	477.103 3	477.103 8	1.05	314.042 5	50.25
62	8.14	<i>N</i> -甲基氢化小檗碱 ^[13]	C ₂₁ H ₂₄ NO ₄	[M] ⁺	354.170 5	354.170 5	0.00	339.145 5, 338.139 0, 308.090 1	65.63
63	8.36	柯伊利素-7- <i>O</i> -芸香糖苷 ^[14]	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	607.166 3	607.168 0	2.80	599.056 6	29.98
64	8.42	原阿片碱 ^[18]	C ₂₀ H ₁₉ NO ₅	[M+H] ⁺	354.134 2	354.133 7	-1.41	339.112 9, 324.084 3, 310.077 2	24.06
65	8.59	非洲防己碱 ^[13]	C ₂₀ H ₂₀ NO ₄	[M] ⁺	338.139 2	338.139 8	1.77	323.115 6, 322.108 1, 308.092 6, 306.113 4, 294.113 3, 280.097 3	75.77
66	8.60	四氢小檗碱或其异构体 ^[14]	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	[M-H] ⁻	338.139 2	338.139 5	0.89	323.115 5, 308.092 1, 293.068 7, 264.066 4	73.45
67	8.62	黄连碱 ^[18]	C ₁₉ H ₁₄ NO ₄	[M] ⁺	320.092 3	320.093 8	4.69	292.097 3, 262.086 7, 234.091 3	78.05
68	8.65	表小檗碱 ^[12]	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	[M] ⁺	336.123 6	336.124 2	1.79	320.092 6, 306.112 2, 292.097 7, 278.080 9	75.64
69	8.78	四氢小檗碱或其异构体 ^[14]	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	[M-H] ⁻	338.139 2	338.139 4	0.59	323.115 8, 308.092 3, 293.068 7, 264.066 5	59.47
70*	8.79	药根碱 ^[18]	C ₂₀ H ₂₀ NO ₄	[M] ⁺	338.139 2	338.140 2	2.96	323.115 7, 322.108 7, 308.092 9, 306.113 6, 294.113 6, 280.097 6	78.73
71*	8.93	去氢吴茱萸碱 ^[14]	C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O	[M+H] ⁺	302.129 3	302.130 8	4.96	287.105 6, 286.099 0, 272.081 4, 258.103 9	29.80
72	9.02	吴茱萸次碱-10- <i>O</i> -芸香糖苷 ^[16]	C ₃₀ H ₃₃ N ₃ O ₁₁	[M+H] ⁺	612.219 3	612.218 7	-0.98	466.159 2, 304.108 2	24.83
73	9.23	格兰地新 ^[18]	C ₁₉ H ₁₆ NO ₄	[M] ⁺	322.107 9	322.108 1	0.62	307.084 0, 279.088 7	25.82
74	9.34	吴茱萸次碱-10- <i>O</i> - β -D-葡萄糖吡喃糖苷 ^[14]	C ₂₄ H ₂₃ N ₃ O ₇	[M+H] ⁺	466.161 4	466.160 8	-1.29	304.108 0	22.42
75	9.43	6-(3-methoxyphenyl)-2-(4-methoxyphenyl)-1 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridine	C ₂₀ H ₁₇ N ₃ O ₂	[M+H] ⁺	332.139 9	332.140 0	0.30	317.116 1, 302.093 0, 274.097 7	39.07
76	9.55	甲基黄连碱 ^[18]	C ₂₀ H ₁₅ NO ₄	[M+H] ⁺	334.107 9	334.108 1	0.60	319.080 6, 306.111 9, 304.094 9, 290.080 3	49.36
77	9.61	吴茱萸宁碱 ^[15]	C ₁₉ H ₁₃ N ₃ O	[M+H] ⁺	300.113 7	300.113 2	-1.67	285.089 5, 167.060 0, 134.060 5	31.87

表 1 (续)

序号	t_R /min	测定结果	分子式	加合离子	理论值 (m/z)	测定值 (m/z)	偏差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	Tree Score
78*	9.82	巴马汀 ^[18]	C ₂₁ H ₂₂ NO ₄	[M] ⁺	352.154 9	352.155 4	1.42	337.131 7, 336.125 8, 322.109 6, 308.130 2, 294.114 3	81.04
79*	9.87	小檗碱 ^[18]	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	[M] ⁺	336.123 6	336.123 4	-0.60	320.092 8, 306.077 1, 304.097 7, 292.097 7, 278.082 0	59.48
80	10.20	graucin A 或其异构体 ^[14]	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	501.176 1	501.176 2	0.20	457.187 7, 413.196 8	—
81	10.42	graucin A 或其异构体 ^[14]	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	501.176 1	501.177 4	2.59	457.185 7, 413.193 9	—
82	10.68	13-甲基小檗碱 ^[19]	C ₂₁ H ₂₀ NO ₄	[M] ⁺	350.139 2	350.139 2	0.00	335.114 0, 334.107 2, 320.091 0, 306.111 9	47.56
83	10.70	1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-hydroxy-3-(7-methoxy-1-benzofuran-2-carbonyl)-2-(4-propan-2-yloxyphenyl)-2H-pyrrol-5-one	C ₃₀ H ₂₅ NO ₈	[M+H] ⁺	528.165 8	528.165 6	2.65	334.107 7, 319.084 0, 304.060 9	50.10
84	12.95	吴茱萸苦素 ^[14]	C ₂₆ H ₃₀ O ₉	[M-H] ⁻	485.181 2	485.181 5	0.62	423.181 2, 397.164 9, 383.149 4	48.52
85	12.97	12 α -羟基柠檬苦素 ^[20]	C ₂₆ H ₃₀ O ₉	[M+H] ⁺	487.196 8	487.196 0	-1.64	441.189 7, 161.060 4	99.49
86	13.16	1-羟基吴茱萸次碱或其异构体 ^[14]	C ₁₈ H ₁₃ N ₃ O ₂	[M+H] ⁺	304.108 6	304.109 0	1.32	286.097 9, 257.093 6, 167.060 9	65.09
87	13.57	7 β -羟基吴茱萸次碱 ^[14]	C ₁₈ H ₁₃ N ₃ O ₂	[M+H] ⁺	304.108 6	304.108 4	-0.66	286.094 3	25.66
88*	13.63	柠檬苦素 ^[14]	C ₂₆ H ₃₀ O ₈	[M+H] ⁺	471.201 9	471.201 1	-1.70	425.196 3, 161.060 6	111.34
89	13.73	14-甲酰二氢吴茱萸次碱 ^[14]	C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O ₂	[M+H] ⁺	318.124 3	318.123 9	-1.26	199.087 8, 171.092 4, 144.081 5	68.74
90	13.76	二氢吴茱萸次碱 ^[15]	C ₁₈ H ₁₅ N ₃ O	[M+H] ⁺	290.129 3	290.128 6	-2.41	171.092 1, 144.080 8, 120.044 7	35.15
91	14.15	吴茱萸内酯醇 ^[14]	C ₂₆ H ₂₈ O ₉	[M-H] ⁻	483.165 5	483.166 4	1.86	421.165 6, 395.149 9, 161.060 1	129.71
92	14.56	小檗浸碱 ^[18]	C ₂₀ H ₁₇ NO ₅	[M+H] ⁺	352.118 5	352.118 4	-0.28	337.094 8, 322.071 3, 308.091 7, 294.076 4	40.17
93	14.63	吴茱萸苦素乙酸酯或其异构体 ^[14]	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	527.191 7	527.191 6	-0.19	485.181 2, 467.171 4	—
94	14.67	吴茱萸酰胺 ^[14]	C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O	[M+H] ⁺	308.176 3	308.176 3	0.00	134.061 1	29.55
95	14.76	6 β -乙酰氧-5-表柠檬苦素或其异构体 ^[20]	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₀	[M+H] ⁺	529.207 4	529.207 5	0.19	425.195 8, 161.060 8	132.03
96	14.87	去甲基吴茱萸酰胺 ^[20]	C ₁₈ H ₁₉ N ₃ O	[M+H] ⁺	294.160 6	294.160 6	0.00	144.081 5, 134.061 0, 116.050 4	32.28
97	14.92	2-羟基-4-甲氧基-5-(3'-甲基-2'-烯基)-喹诺酮 ^[14]	C ₁₅ H ₁₇ NO ₂	[M+H] ⁺	244.133 8	244.134 1	1.23	188.071 7, 130.066 4	67.89
98	14.92	6 β -乙酰氧-5-表柠檬苦素或其异构体 ^[20]	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₀	[M+H] ⁺	529.207 4	529.207 5	0.19	425.195 9, 161.060 5	85.85
99*	15.03	吴茱萸碱 ^[14]	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O	[M+H] ⁺	304.145 0	304.145 6	1.97	171.092 6, 161.071 9, 144.081 8, 134.061 3	60.63
100*	15.35	吴茱萸次碱 ^[14]	C ₁₈ H ₁₃ N ₃ O	[M+H] ⁺	288.113 7	288.113 6	-0.35	273.090 3, 244.087 0, 169.076 1	62.48

表 1 (续)

序号	t_R/min	测定结果	分子式	加合离子	理论值 (m/z)	测定值 (m/z)	偏差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	Tree Score
101	15.40	1-甲基-2-[7-羟基-(<i>E</i>)-9-十三烯基]-4(1 <i>H</i>)-喹诺酮 ^[14]	C ₂₃ H ₃₃ NO ₂	[M+H] ⁺	356.259 0	356.258 7	-0.84	338.248 2, 186.093 6, 173.083 4	38.18
102	16.14	1-甲基-2-[7-羰基-(<i>E</i>)-9-十三烯基]-4(1 <i>H</i>)-喹诺酮 ^[14]	C ₂₃ H ₃₁ NO ₂	[M+H] ⁺	354.243 3	354.242 1	-3.39	228.138 9, 200.103 3, 186.091 9, 173.083 8	30.90
103	16.29	吴茱萸酰胺甲 ^[14]	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O	[M+H] ⁺	306.160 6	306.160 5	-0.33	144.081 1, 134.061 0	54.48
104	16.43	双羟基吴茱萸卡品碱 ^[14]	C ₂₃ H ₃₃ NO ₃	[M+H] ⁺	372.253 9	372.253 4	-1.34	354.241 3, 338.246 3, 298.178 3, 186.091 7, 173.082 5	67.77
105	16.52	2-methyl-3-(non-1-en-1-yl)quinolin-4(1 <i>H</i>)-one	C ₁₉ H ₂₅ NO	[M+H] ⁺	284.201 4	284.201 7	1.06	186.091 7, 173.083 8	53.99
106	17.52	1-甲基-2-[(1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,7 <i>Z</i>)-1,4,7-十一三烯基]-4(1 <i>H</i>)-喹诺酮或其异构体 ^[14]	C ₂₁ H ₂₅ NO	[M+H] ⁺	308.201 4	308.201 5	0.32	198.091 0, 186.091 4, 184.076 4, 173.084 3	34.08
107	17.70	1-甲基-2-[(1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,7 <i>Z</i>)-1,4,7-十一三烯基]-4(1 <i>H</i>)-喹诺酮或其异构体 ^[14]	C ₂₁ H ₂₅ NO	[M+H] ⁺	308.201 4	308.201 8	1.30	198.092 8, 186.091 1, 184.076 4, 173.083 5	57.89
108	18.08	1-甲基-2-正壬基-4(1 <i>H</i>)-喹诺酮 ^[14]	C ₁₉ H ₂₇ NO	[M+H] ⁺	286.217 1	286.217 7	2.10	200.106 8, 186.091 5, 173.084 4	32.65
109	18.26	1-甲基-2-[(1 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,7 <i>Z</i> ,10 <i>E</i>)-1,4,7,10-十三四烯基]-4(1 <i>H</i>)-喹诺酮 ^[14]	C ₂₃ H ₂₇ NO	[M+H] ⁺	334.217 1	334.216 9	-0.60	186.089 6, 173.083 5	32.75
110	19.02	1-甲基-2-[(4 <i>Z</i> ,7 <i>Z</i> ,10 <i>E</i>)-4,7,10-十三三烯基]-4(1 <i>H</i>)-喹诺酮异构体 ^[14]	C ₂₃ H ₂₉ NO	[M+H] ⁺	336.232 7	336.232 9	0.59	186.091 9, 173.084 2	34.28
111	19.13	1-甲基-2-[(<i>Z</i>)-6-十一烯基]-4(1 <i>H</i>)-喹诺酮 ^[14]	C ₂₁ H ₂₉ NO	[M+H] ⁺	312.232 7	312.233 2	1.60	214.123 3, 200.107 8, 186.092 3, 173.084 5	33.21
112	19.24	1-甲基-2-[(4 <i>Z</i> ,7 <i>Z</i> ,10 <i>E</i>)-4,7,10-十三三烯基]-4(1 <i>H</i>)-喹诺酮 ^[14]	C ₂₃ H ₂₉ NO	[M+H] ⁺	336.232 7	336.232 9	0.59	186.091 5, 173.082 1	21.94
113	19.29	lysofungin	C ₂₇ H ₄₉ O ₁₂ P	[M-H] ⁻	595.288 3	595.289 1	1.34	279.231 9, 241.011 6, 152.995 0	34.75
114	19.40	[(2 <i>R</i>)-3-[2-aminoethoxy(hydroxy)phosphoryl]oxy-2-hydroxypropyl] octadeca-9,12-dienoate	C ₂₃ H ₄₄ NO ₇ P	[M+H] ⁺	478.293 4	478.293 8	0.84	337.276 7, 306.277 7, 109.102 3, 95.087 0, 91.055 6	2 024.34
115	19.48	2-linoleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine	C ₂₆ H ₅₀ NO ₇ P	[M+H] ⁺	520.340 3	520.341 3	1.92	184.074 0, 104.107 9	5 047.03
116	19.60	1-甲基-2-正癸基-4(1 <i>H</i>)-喹诺酮 ^[14]	C ₂₀ H ₂₉ NO	[M+H] ⁺	300.232 7	300.233 2	1.67	186.092 0, 173.084 1	37.60
117	19.68	dimorphecolate	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	[M-H] ⁻	295.227 3	295.226 9	-1.35	277.217 1, 171.101 5	40.64
118	20.11	3-(dodec-1-en-1-yl)-2-methylquinolin-4(1 <i>H</i>)-one	C ₂₂ H ₃₁ NO	[M+H] ⁺	326.248 4	326.248 7	0.92	186.092 4, 172.076 3	34.86
119	20.43	1-甲基-2-[(3 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> ,9 <i>Z</i> ,12 <i>E</i>)-3,6,9,12-十五四烯基]-4(1 <i>H</i>)-喹诺酮 ^[14]	C ₂₅ H ₃₁ NO	[M+H] ⁺	362.248 4	362.249 2	2.21	186.092 0, 173.084 1	55.75

表 1 (续)

序号	t_R/min	测定结果	分子式	加合离子	理论值 (m/z)	测定值 (m/z)	偏差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	Tree Score
120	20.43	1-palmitoyl-3-glyceryl phosphoryl inositol	$\text{C}_{25}\text{H}_{49}\text{O}_{12}\text{P}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	571.288 3	571.288 1	-0.35	255.232 3, 241.011 8, 152.995 1	31.91
121	20.49	1-palmitoylphosphatidylcholine	$\text{C}_{24}\text{H}_{50}\text{NO}_7\text{P}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	496.340 3	496.340 5	0.40	184.074 0, 125.000 6, 104.107 6	5 036.04
122	20.53	1-甲基-2-[(4Z,7Z)-4,7-十三二 烯基]-4(1H)-喹诺酮 ^[14]	$\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	338.248 4	338.249 2	2.37	186.092 2, 173.084 4	54.77
123	20.77	1-甲基-2-[(3E,6Z,9Z,12E)- 3,6,9,12-十五四烯]-4(1H)- 喹诺酮异构体 ^[14]	$\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	362.248 4	362.248 0	-1.10	186.091 3, 173.084 8	62.59
124	20.81	goshuyic acid	$\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_2$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	223.169 8	223.170 1	1.34	175.112 8, 83.049 5	10.81
125	20.93	1-甲基-2-[(Z)-6-十一烯基]- 4(1H)-喹诺酮异构体 ^[14]	$\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	312.232 7	312.233 6	2.88	186.092 2, 173.082 9	19.81
126	21.11	1-甲基-2-正十一烷基-4(1H)- 喹诺酮 ^[14]	$\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	314.248 4	314.249 1	2.23	228.138 9, 200.107 8, 186.092 4, 173.084 6	34.67
127	21.29	1-甲基-2-[(3E,6Z,9Z)-3,6,9-十 五三烯基]-4(1H)-喹诺酮 ^[14]	$\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	364.264 0	364.265 6	4.39	186.092 4, 173.084 5	77.33
128	21.55	1-甲基-2-[(6Z,9Z,12E)-6,9,12- 十五三烯基]-4(1H)-喹诺酮 ^[14]	$\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	364.264 0	364.264 6	1.65	186.092 2, 173.084 3	77.44
129	21.90	吴茱萸新碱 ^[14]	$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	340.264 0	340.264 3	0.88	256.169 6, 242.154 7, 228.138 7, 214.123 0, 200.107 8, 186.092 5, 173.084 4	54.02
130	22.14	1-甲基-2-十二烷基-4(1H)-喹 诺酮或 2-十三烷基-4(1H)- 喹诺酮 ^[14]	$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	328.264 0	328.264 5	1.52	186.092 8, 173.084 0	24.19
131	22.32	1-甲基-2-[(Z)-7-十三烯基]- 4(1H)-喹诺酮 ^[14]	$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	340.264 0	340.264 6	0.18	186.092 4, 173.084 4	24.51
132	22.61	1-甲基-2-十二烷基-4(1H)-喹 诺酮或 2-十三烷基-4(1H)- 喹诺酮 ^[14]	$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	328.264 0	328.264 2	0.61	186.092 2, 173.084 4	40.69
133	22.88	1-甲基-2-[(6Z,9Z)-6,9-十五二 烯基]-4(1H)-喹诺酮 ^[14]	$\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	366.279 7	366.281 1	3.82	242.154 6, 228.139 2, 186.092 5, 173.084 5	66.14
134	23.96	二氢吴茱萸卡品碱 ^[14]	$\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	342.279 7	342.280 9	3.51	256.170 1, 242.154 5, 200.108 0, 186.092 4, 173.084 7	39.77
135	24.02	9,12,15-octadecatrienoic acid	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	277.216 8	277.216 9	0.36	275.203 2, 217.160 4	15.49
136	24.42	1-甲基-2-[(Z)-10-十五烯基]- 4(1H)-喹诺酮 ^[14]	$\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	368.295 3	368.296 4	2.99	228.138 9, 214.123 0, 186.092 3, 173.084 4	37.26
137	24.52	1-甲基-2-[(Z)-9-十五烯基]- 4(1H)-喹诺酮 ^[14]	$\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	368.295 3	368.294 3	-2.72	186.092 0, 173.084 5	36.32
138	24.68	1-甲基-2-十四烷基-4(1H)-喹 诺酮或其异构体 ^[14]	$\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	356.295 3	356.295 1	-0.56	186.092 3, 173.084 2	24.89
139	25.04	1-甲基-2-十四烷基-4(1H)-喹 诺酮或其异构体 ^[14]	$\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	356.295 3	356.295 9	1.68	186.092 3, 173.084 4	36.99
140	25.21	亚油酸 ^[11]	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	279.232 4	279.232 5	0.36	261.222 3, 243.210 4	14.97

表 1 (续)

序号	t_{R}/min	测定结果	分子式	加合离子	理论值 (m/z)	测定值 (m/z)	偏差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	Tree Score
141	25.23	harderoporphyrin	$\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	609.271 3	609.271 9	0.98	559.233 9, 531.236 9, 485.233 7	87.76
142	25.24	1,3-dipropyl-8-(1-propyl-butyl)-3,7-dihydro-purine-2,6-dione	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_2$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	333.229 1	333.228 0	-3.30	275.149 9	20.52
143	25.60	pheophorbide A	$\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	593.276 4	593.276 6	0.34	533.255 2, 505.225 2, 460.226 5	75.14
144	25.92	1-甲基-2-十五烷基-4(1H)-喹诺酮 ^[14]	$\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{NO}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	370.311 0	370.312 0	2.70	186.092 4, 173.084 5	38.39

*对照品确认。

*confirmed by reference standards.

本实验中左金丸在《中国药典》2020年版的质控成分小檗碱能鉴定出,并且通过MZmine-SIRIUS workflow辅助鉴定,对比文献中收集到的黄连和吴茱萸成分的质谱信息,本研究共鉴定出144种化合物,其中21种未被包含在已发表的黄连、吴茱萸分离或鉴定成分中,为MZmine-SIRIUS workflow新鉴定成分(表1名称右上角无引文)。后续可结合分离、活性检测手段进一步验证并探究生物活性。

3.2 质谱裂解推断

结合 SIRIUS Fragmentation Tree 信息,对黄连-吴茱萸药对代表性成分进行裂解规律推测,并经由对应标准品进行质谱碎裂途径验证。除奎宁酸为负离子模式采集外,其他8个成分的二级质谱图均在正离子模式下采集。通过分析质谱信息,结合 SIRIUS 计算得出的 Fragmentation Tree 碎裂树图,推导9种成分可能的裂解途径,并经对照品验证。

黄连主要成分小檗碱及吴茱萸中代表成分吴茱萸碱的 SIRIUS 质谱碎裂树图各离子峰相对强度分别见图 2-A、3-A。

原小檗碱型生物碱的裂解:药根碱、小檗碱、巴马汀有相似的结构母核,由质谱信息及 SIRIUS 注释的碎裂树信息,能看出黄连中原小檗碱型生物碱之间存在转化关系,见图 2-A。

木兰花碱的裂解:在正离子模式下检测到分子离子 m/z 342.170 7 $[\text{M}]^+$,可裂解形成 m/z 297.112 7 $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}]^+$ 碎片,再依次脱去 1 个甲基和 1 个羟基得到 m/z 282.089 2 $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_3]^+$ 以及 m/z 265.086 4 $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_3-\text{OH}]^+$,继续裂解得到 m/z 237.091 2 $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_7\text{N}-\text{CH}_3-\text{OH}-\text{CO}]^+$,见图 2-B。

吴茱萸碱的裂解:在正离子模式下检测到分子离子 m/z 304.145 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$,其可通过 RDA 裂解形成 m/z 171.092 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}]^+$ 及 m/z 134.060 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2]^+$ 。通过 SIRIUS 提供的碎裂树裂解线索,推测前者可继续裂解得到碎片 m/z 144.081 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}-\text{CHN}]^+$,后者还可由 m/z 161.071 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}]^+$ 裂解得到,见图 3-A。

去氢吴茱萸碱的裂解:在正离子模式下检测到分子离子 m/z 302.129 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$,其可以依次裂解形成 m/z 287.105 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3]^+$ 、 m/z 286.098 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3-\text{H}]^+$ 以及 m/z 258.103 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3-\text{H}-\text{CO}]^+$,见图 3-B。

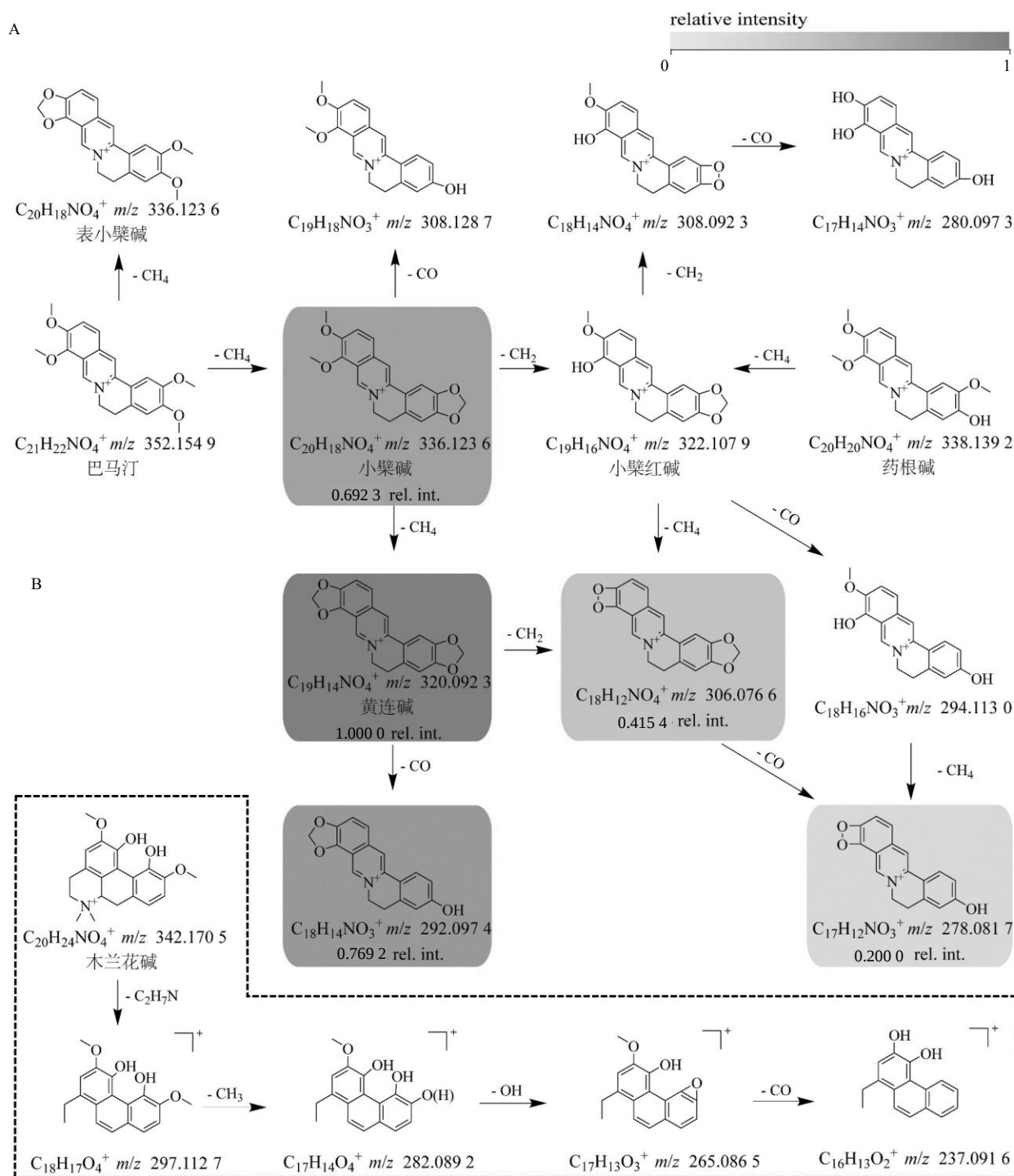
吴茱萸次碱的裂解:在正离子模式下检测到分子离子 m/z 288.113 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$,其一方面可以依次裂解形成 m/z 273.090 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3]^+$ 和 m/z 244.087 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3-\text{CHO}]^+$,另一方面可裂解得到 m/z 425.196 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_7\text{H}_5\text{NO}]^+$,见图 3-C。

柠檬苦素的裂解:在正离子模式下检测到分子离子 m/z 471.201 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$,可脱去 1 分子酯基和 2 个氢原子形成 m/z 425.196 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2]^+$,再脱去 $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$ 形成碎片 m/z 161.060 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{O}_2-\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4]^+$,见图 3-D。

奎宁酸的裂解:在负离子模式下检测到分子离子 m/z 191.055 6 $[\text{M}-\text{H}]^-$,其羧基及多个羟基易发生断裂,各碎片峰可推测为 m/z 173.045 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 、 m/z 127.039 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}_2]^-$ 及 m/z 93.034 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}_2-2\text{OH}]^-$,见图 3-E。

4 讨论

本实验采用的 UPLC-Q-TOF-MS 技术和基于 MZmine-SIRIUS 自动化注释质谱解析 workflow,为中



灰度值代表各离子峰的相对强度，取自 SIRIUS 计算得到的碎裂树图，图 3 同。

The grayscale values represent relative intensities of each ion peak, obtained from fragmentation tree by SIRIUS, same as Fig. 3.

图 2 巴马汀、小檗碱、药根碱 (A) 及木兰花碱 (B) 裂解途径推导

Fig. 2 Fragmentation behavior of palmatine, berberine, jatrorrhizine (A) and magnoflorine (B)

药复杂成分的鉴定提供了便利和较高的自动注释准确度。由于质谱仪的原理决定了其无法区别同分异构体，本实验通过结合使用对照品以及自建信息表对比的方法对部分存在同分异构现象的成分根据

保留时间进行了区分。

实验鉴定出了大量生物碱、黄酮、苷类、有机酸和苦味素等成分，发现黄连与吴茱萸的大部分生物碱和苦味素类成分在正离子模式下能够得到较好

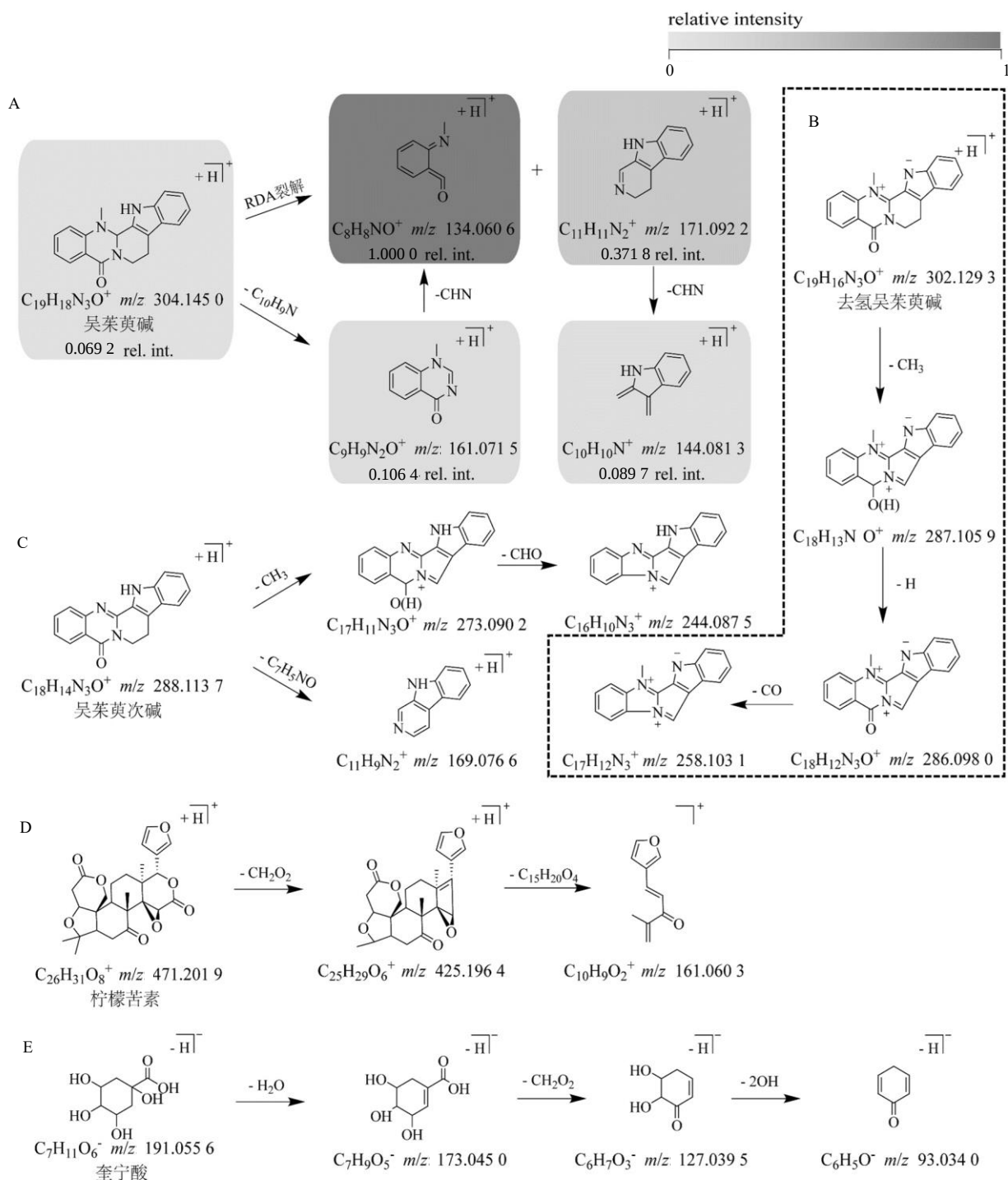


图 3 吴茱萸碱 (A)、去氢吴茱萸碱 (B)、吴茱萸次碱 (C)、柠檬苦素 (D) 及奎宁酸 (E) 的裂解途径推导

Fig. 3 Fragmentation behavior of evodiamine (A), dehydroevodiamine (B), rutaecarpine (C), limonin (D) and quinic acid (E)

的响应, 而大部分苷类和有机酸类成分在负离子模式下响应较好。此外, 本研究对药对中的代表性物质的裂解途径进行了推导并绘图, 为后续化学成分快速鉴定及配比研究奠定基础。

综上所述, 本实验研究不仅整理并确定了大量黄连与吴茱萸已知化合物的存在, 尝试鉴定了 22

个由 SIRIUS 软件基于分子结构指纹机器学习模型推测的化合物, 还推导了黄连-吴茱萸药对中 9 个代表性主要成分的裂解途径, 将有助于更好地了解黄连和吴茱萸配伍的化学成分及其特点。其次, 本实验的工作流鉴定方法能为研究黄连与吴茱萸药物间的作用及配伍机制提供化学基础, 以期更好地

指导药物搭配和临床应用。最后,希望通过该研究帮助黄连、吴茱萸及其药对的质量检测方法和评估体系的建立,提高中药使用的安全性和有效性,为后续基于成分的配伍药效比较及机制考察提供研究基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 178, 316.
- [2] 付琳, 付强, 李冀, 等. 黄连化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医学报, 2021, 49(2): 87-92.
- [3] 苏莞云, 刘鱼刚, 岳林阳, 等. 基于数据挖掘分析《中华医典·方书》黄连-吴茱萸药对的用药规律 [J]. 实用中医内科杂志, 2023, 37(1): 140-143.
- [4] 王旭, 徐蓓蕾, 吴迪, 等. 不同配伍比例的黄连-吴茱萸药对研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(3): 21-30.
- [5] 李玲, 刘杨, 夏凡, 等. 吴茱萸碱对肺癌荷瘤小鼠生长及 HIF-1 α /VEGF 信号通路的影响 [J]. 世界中医药, 2023, 18(13): 1867-1871.
- [6] 刘丽, 张笑敏, 许浚, 等. 吴茱萸化学成分和药理作用及质量标志物 (Q-Marker) 的预测分析 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2689-2702.
- [7] Chen Y H, Bi J H, Xie M, *et al.* Classification-based strategies to simplify complex traditional Chinese medicine (TCM) researches through liquid chromatography-mass spectrometry in the last decade (2011–2020): Theory, technical route and difficulty [J]. *J Chromatogr A*, 2021, 1651: 462307.
- [8] Moracci L, Traldi P, Agostini M. Mass spectrometry for a holistic view of natural extracts of phytotherapeutic interest [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2020, 39(5/6): 553-573.
- [9] Neto F C, Raftery D. Expanding urinary metabolite annotation through integrated mass spectral similarity networking [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(35): 12001-12010.
- [10] Dührkop K, Nothias L F, Fleischauer M, *et al.* Systematic classification of unknown metabolites using high-resolution fragmentation mass spectra [J]. *Nat Biotechnol*, 2021, 39(4): 462-471.
- [11] 郝艺铭, 霍金海, 王涛, 等. UPLC-Q-TOF/MS 技术分析黄连中非生物碱类成分 [J]. 中药材, 2020, 43(2): 354-358.
- [12] Hao Y M, Huo J H, Wang T, *et al.* Chemical profiling of *Coptis* rootlet and screening of its bioactive compounds in inhibiting *Staphylococcus aureus* by UPLC-Q-TOF/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 180: 113089.
- [13] 朱童, 杨丹, 刘珊珊, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS-E 技术的黄连地上部分与地下部分化学成分比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(4): 980-987.
- [14] 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.
- [15] 黄小龙, 沈冰冰, 梁雪娟, 等. HPLC-Q-TOF-MS/MS 快速鉴别吴茱萸中的生物碱类组分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(19): 102-108.
- [16] 苏秀丽, 印敏, 徐曙, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析吴茱萸化学成分 [J]. 中成药, 2017, 39(6): 1223-1227.
- [17] 朱梅桂, 蒋建勤. 吴茱萸生物碱类化学成分及其药理活性研究近况 [J]. 云南化工, 2020, 47(8): 31-33.
- [18] 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.
- [19] 陈文文, 过林, 贺敏, 等. UPLC-DAD/Q-TOF-MS 法分析左金丸化学成分 [J]. 中成药, 2017, 39(11): 2412-2414.
- [20] 李文兰, 孙向明, 陈晨, 等. 基于 UPLC-Q-TOF MS 的吴茱萸致肝毒性部位及入血成分分析 [J]. 质谱学报, 2017, 38(3): 282-293.

[责任编辑 王文倩]