

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.18.008

超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法 分析金水六君煎化学成分*

李红亮, 金思岑[△]

(重庆太极实业<集团>股份有限公司, 重庆 401123)

摘要:目的 建立分析金水六君煎中多种化学成分的超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(UPLC-Q-Orbitrap HRMS)法。方法 色谱柱为 Thermo Scientific Accucore™ C₁₈ 柱(100 mm×3 mm, 2.6 μm), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-0.1% 甲酸乙腈溶液(梯度洗脱), 流速为 0.3 mL/min, 柱温为 30℃, 进样量为 3 μL; 采用电喷雾离子源(ESI), 采用正、负离子全扫描/数据依赖二级扫描(Full MS/dd-MS²)模式; 利用数据库、文献比对及对照品确认鉴定化学成分。结果 共鉴定出 63 个化学成分, 其中, 黄酮类 22 个、生物碱类 9 个、内酯类 6 个、香豆素类 3 个、芳香族类 6 个、有机酸类 5 个、氨基酸类 4 个、核苷酸类 2 个、糖类 2 个及其他类 4 个。结论 所建立的方法可系统、准确、快速地鉴定金水六君煎中多种化学成分, 为其后续质量控制提供依据。

关键词: 金水六君煎; 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法; 化学成分; 鉴定

中图分类号: R917; R914.1

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)18-0030-07

Identification of Chemical Components of Jinshuilijun Decoction by UPLC-Q-Orbitrap HRMS

LI Hongliang, JIN Sichen

(Chongqing Taiji Industry <Group> Co., Ltd., Chongqing, China 401123)

Abstract: Objective To establish an ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field-orbital-trap-high resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Orbitrap HRMS) method for the analysis of various chemical components in Jinshuilijun Decoction. **Methods** The chromatographic column was Thermo Scientific Accucore™ C₁₈ column (100 mm×3 mm, 2.6 μm), the mobile phase was 0.1% formic acid aqueous solution-0.1% formic acid acetonitrile solution (gradient elution), the flow rate was 0.3 mL/min, the column temperature was 30℃, and the injection volume was 3 μL. The electrospray ion source (ESI) was adopted with the positive and negative ion full scanning/data dependent secondary scanning (Full MS/dd-MS²) mode. The chemical components were identified by database, literature comparison and reference materials. **Results** A total of 63 chemical components were identified, including twenty-two flavonoids, nine alkaloids, six lactones, three coumarins, six aromatic series, five organic acids, four amino acids, two nucleic acids, two carbohydrates, and four other components. **Conclusion** The established method can systematically, accurately and rapidly identify various chemical components in Jinshuilijun Decoction, and provide a basis for its quality control.

Key words: Jinshuilijun Decoction; UPLC-Q-Orbitrap HRMS; chemical components; identification

金水六君煎见于明代张介宾的《景岳全书》, 被列为国家中医药管理局协同国家药品监督管理局公布的《古代经典名方目录(第一批)》第 58 首^[1], 由当归、熟地黄、陈皮、半夏、茯苓、炙甘草、生姜 7 味药材组方, 主治肺肾虚寒、水泛为痰, 或年迈阴虚、血气不足、外受风寒、咳嗽呕恶、喘逆多痰等症^[2]。近年来对该方的药效学研究较多, 但对其化学成分的研究仅停留在单个或多个成分的含量测定方法及多成分的高效液相色谱指纹图谱研究^[3-5], 而经典名方中物质组分的全面分析是制订其质量标准的基础^[6]。为更好地控制金水六君煎的质量, 需对其化学成分进行全面研究。超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(UPLC-Q-Orbi-

trap HRMS)法能快速识别中药复方中的化学成分, 且分辨率和灵敏度均较高, 广泛应用于中药复方的组分分析^[7-8]。本研究中建立了分析金水六君煎中主要化学成分的 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 法, 进一步明确了该煎剂的物质基础, 为后续的质量属性研究提供了数据支持。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Vanquish 型 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 仪(美国 Thermo Scientific 公司); XSE205DU 型十万分之一电子天平、AE240 型万分之一电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); KQ-500DE 型超声波清洗仪(昆山市超

* 基金项目: 国家科技重大专项课题[2018ZX09721-005]。

第一作者: 李红亮, 男, 硕士, 工程师, 研究方向为新药开发及中药制剂, (电子信箱) taijilhongliang@163.com。

[△] 通信作者: 金思岑, 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向为中药新药研发, (电子信箱) 18584485@qq.com。

声仪器有限公司)。

1.2 试药

金水六君煎(公司自制);甘草苷对照品(批号为111610-201908,含量95.0%),橙皮苷对照品(批号为110721-201818,含量96.2%),柚皮苷对照品(批号为110722-201815,含量91.7%),6-姜辣素对照品(批号为111833-201806,含量93.6%),腺苷对照品(批号为110879-201703,含量99.7%),藁本内酯对照品(批号为111737-201910),阿魏酸对照品(批号为110773-201614,含量99.0%),异阿魏酸对照品(批号为111698-201904,含量99.3%),滨蒿内酯对照品(批号为111511-201704,含量99.9%),均购自中国食品药品检定研究院;异甘草苷对照品(成都昂赛思生物科技有限公司,批号为5041-81-6,含量 $\geq 98.0\%$);洋川芎内酯A对照品(成都普菲生物技术有限公司,批号为17051901,含量 $\geq 98.0\%$)。乙腈、甲酸为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 试验条件

色谱条件:色谱柱为Thermo Scientific Accucore™C₁₈柱(100 mm×3 mm,2.6 μm);流动相为0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈溶液(B),梯度洗脱(0~23 min时30%B→95%B,23~25 min时95%B,25~30 min时95%B→30%B);流速为0.3 mL/min;柱温为30℃;进样量为3 μL 。

质谱条件:电喷雾离子源(ESI);扫描模式为正、负离子全扫描/数据依赖二级扫描(Full MS/dd-MS²);离子源温度为350℃;鞘气为氮气,流速为35 arb;辅助气为氮气,流速为10 arb;离子传输管温度为320℃;喷雾电压为3.2 kV。一级质谱扫描分辨率[以半峰全宽(FWHM)计]为70 000 FWHM;二级分辨率为17 500 FWHM;扫描范围质荷比(m/z)100~1 500;碰撞能量梯度为20,40,60 eV。

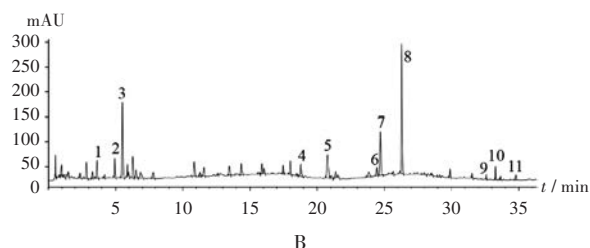
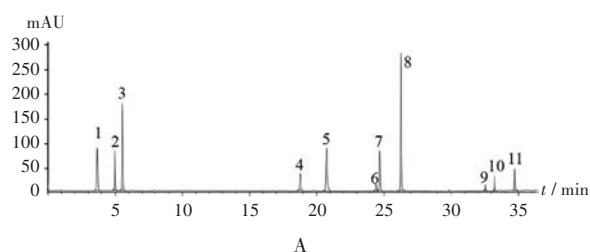
2.2 溶液制备

取甘草苷、异甘草苷、橙皮苷、柚皮苷、6-姜辣素、腺苷、藁本内酯、阿魏酸、异阿魏酸、洋川芎内酯A、滨蒿内酯对照品各适量,精密称定,加甲醇制成上述成分质量浓度分别为11.5,10.3,11.2,10.2,10.3,10.1,51.2,10.4,9.7,50.7,50.5 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。取样品5 mL,减压回收溶剂,蒸干,加水20 mL,溶解,加40 mL乙酸乙酯萃取1次,回收溶剂,加甲醇溶解,置5 mL容量瓶中,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.3 检测结果

取2.2项下2种溶液各适量,按2.1项下试验条件进样测定,记录色谱图(见图1),总离子流图(TIC)见图2。

利用Compound Discoverer 3.0软件对原始数据进行峰对齐和峰提取,通过与mzCloud质谱数据库及mzVault网络数据库进行匹配,并与相关文献进行对比以及对对照品进行确认,共鉴定63个化学成分,包括黄酮类22个、生物碱类9个、内酯类6个、芳香族类6个、有机酸类5个、香豆素类3个、氨基酸类4个、核苷酸类2个、糖苷类2个及其他类4个。具体成分信息见表1。



1. 腺苷 2. 阿魏酸 3. 甘草苷 4. 柚皮苷 5. 异阿魏酸
6. 橙皮苷 7. 异甘草苷 8. 滨蒿内酯 9. 洋川芎内酯A
10. 6-姜辣素 11. 藁本内酯

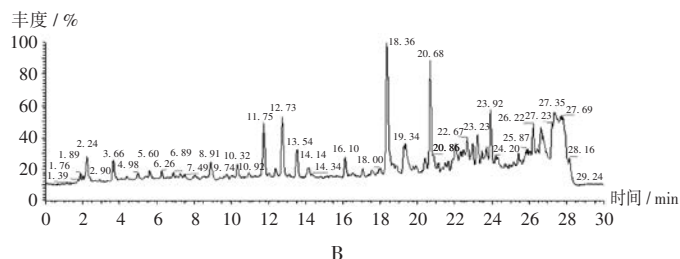
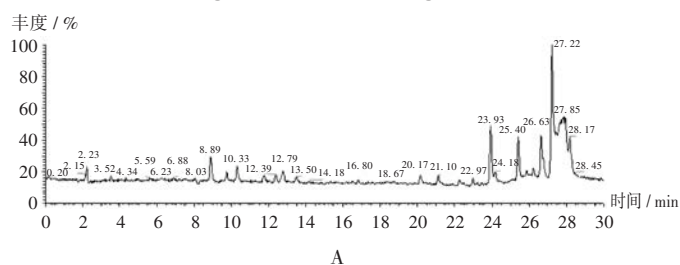
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Adenosine 2. Ferulic acid 3. Liquiritin 4. Naringin 5. Isoferulic acid 6. Hesperidin 7. Isoliquiritin 8. Scoparone 9. Ligustrolide A 10. 6-Gingerol 11. Ligustilide

A. Mixed reference solution B. Test solution

Fig. 1 HPLC chromatograms



A. 正离子 B. 负离子

图2 总离子流图

A. Positive ion B. Negative ion

Fig. 2 Total ion flow chromatogram

表 1 金水六君煎化学成分信息
Tab. 1 Characterization of chemical components of Jinshuijiun Decoction

序号	保留时间(min)	正/负离子(m/z)	($\pm$)ESI-MS(m/z)	$\delta(\times 10^{-6})$	化学式	结构鉴定	来源	类型
1	1.74	175.118 90 [M+H] ⁺	158.092 32, 130.097 6	-0.17	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	精氨酸	半夏 ^[9]	氨基酸
2	1.75	104.107 41 [M+H] ⁺	104.107 37, 60.081 47	4.85	C ₅ H ₁₃ NO	胆碱	半夏 ^[10]	生物碱
3	1.89	110.060 46 [M+H] ⁺	110.060 3	3.87	C ₆ H ₇ NO	3-羟基-2-甲基吡啶	-	生物碱
4	2.04	136.061 89 [M+H] ⁺	136.061 92, 119.086	0.88	C ₅ H ₅ N ₅	腺嘌呤	半夏 ^[11] , 地黄 ^[12]	核苷酸
5	2.15	527.158 26 [M+Na] ⁺	383.119 6, 341.109 5	0.08	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	甘露三糖	地黄 ^[13]	糖类
6	2.23	341.109 70 [M+Na] ⁺	179.055 5	-0.31	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	蔗糖	地黄 ^[14]	糖类
7	2.23	144.101 91 [M+H] ⁺	144.101 91	0.06	C ₇ H ₁₃ NO ₂	DL-水苏碱	地黄 ^[15]	生物碱
8	2.41	268.103 91 [M+H] ⁺	136.061 1, 119.035 3	0.65	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ O ₄	腺苷	半夏 ^[11] , 地黄 ^[12]	核苷酸
9	2.75	123.055 63 [M+H] ⁺	106.029 47, 78.034 72	2.82	C ₆ H ₆ N ₂ O	烟碱	半夏 ^[16]	生物碱
10	2.93	130.050 13 [M+H] ⁺	108.274 06, 84.045 01	1.98	C ₅ H ₇ NO ₃	L-焦谷氨酸	-	氨基酸
11	4.09	144.048 80 [M+H] ⁺	126.037 32, 113.029 6	1.70	C ₆ H ₉ NOS	4-甲基-5-噻唑乙醇	-	其他
12	4.10	169.076 26 [M+H] ⁺	169.076 13	1.42	C ₁₁ H ₈ N ₂	喹唑	-	生物碱
13	4.81	153.018 65 [M-H] ⁻	109.028 64, 64.997 84	-4.45	C ₇ H ₆ O ₄	2,3-二羟基苯甲酸	-	芳香族
14	5.36	114.091 61 [M+H] ⁺	96.081 21, 79.054 79	2.42	C ₆ H ₁₁ NO	己内酰胺	-	生物碱
15	8.08	211.144 12 [M+H] ⁺	183.149 29, 155.154 22	0.44	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₂	cyclo(leucylprolyl)	半夏 ^[17]	氨基酸
16	8.45	193.049 82 [M+H] ⁺	178.026 06, 165.054 66, 149.059 60, 133.028 37, 119.018 90, 105.033 74	1.40	C ₁₀ H ₈ O ₄	东莨菪亭	当归 ^[18]	香豆素
17	8.90	257.080 69 [M+H] ⁺	147.043 91, 137.023 33	-0.58	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	异甘草素	甘草 ^[19]	黄酮
18	8.91	417.119 45 [M-H] ⁻	255.066 16, 153.018 6	0.18	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	甘草苷	甘草 ^[19]	黄酮
19	9.35	193.050 17 [M-H] ⁻	178.026 66, 149.023 71	-2.61	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	异阿魏酸	当归 ^[20]	有机酸
20	9.61	197.117 65 [M+H] ⁺	179.106 86, 161.096 24, 133.101 41	2.07	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	黑麦草内酯	-	内酯
21	9.64	245.128 51 [M+H] ⁺	217.133 99, 154.073 79	0.13	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₂	cyclo(phenylalanyl-prolyl)	-	氨基酸
22	9.76	273.075 53 [M+H] ⁺	171.028 72, 153.018 19	0.50	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	柚皮素	陈皮 ^[21]	黄酮
23	9.76	579.172 00 [M-H] ⁻	271.061 1, 151.002 85	0.27	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	柚皮苷	陈皮 ^[22]	黄酮
24	9.89	623.199 04 [M-H] ⁻	461.165 47, 161.023 82	1.43	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethyl 3-O-(6-deoxy- β -L-mannopyranosyl)-6-O-[(2e)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-propenoyl]- β -D-glucopyranoside	地黄 ^[23]	其他
25	9.95	193.050 13 [M-H] ⁻	178.026 60, 149.060 09, 134.036 48, 123.044 78	-1.07	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	阿魏酸	当归 ^[20] , 地黄 ^[24]	有机酸
26	10.07	207.065 19 [M+H] ⁺	192.041 72, 179.040 16, 151.075 36	0.00	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	滨蒿内酯	当归 ^[25]	香豆素
27	10.30	465.139 22 [M+H] ⁺	303.086, 177.054 52	0.99	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₁	4'-methoxy-7-O- β -D-glucopyranosyl-8,3'-dihydroxyflavanone	陈皮 ^[26]	黄酮
28	10.32	303.086 49 [M+H] ⁺	177.054 82, 171.028 95	0.57	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	橙皮素	陈皮 ^[26]	黄酮
29	10.32	611.197 33 [M+H] ⁺	303.086 40, 177.054 82, 153.018 40	0.22	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	橙皮苷	陈皮 ^[27]	黄酮
30	10.60	151.039 49 [M-H] ⁻	135.008 03, 109.028 52	-4.80	C ₈ H ₈ O ₃	间苯二酚-乙酸酯	-	芳香族
31	10.75	433.114 20 [M-H] ⁻	433.113 5, 271.061 22	0.73	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydro-2h-chromen-5-yl β -D-glucopyranoside	陈皮	黄酮
32	11.80	549.161 50 [M-H] ⁻	255.066 16, 153.018 57	0.20	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	ligniritigenin-7-O- β -D-apiosyl-4'-O- β -D-glucoside	甘草 ^[28]	黄酮
33	12.03	431.134 06 [M+H] ⁺	269.080 87, 254.057 34	0.92	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	芒柄花苷	甘草 ^[28]	黄酮
34	12.38	417.111 93 [M-H] ⁻	297.077, 255.066 19	0.75	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	异甘草苷	甘草 ^[29]	黄酮

续表 1 金水六君煎化学成分信息

Continued Tab. 1 Characterization of chemical components of Jinshuilijun Decoction

序号	保留时间(min)	正/负离子(m/z)	($\pm$)ESI-MSn(m/z)	$\delta(\times 10^{-6})$	化学式	结构鉴定	来源	类型
35	12.68	187.097 06 [M+H] ⁺	125.096 32, 97.064 89	-2.04	C ₉ H ₁₆ O ₄	壬二酸	当归 ^[30]	有机酸
36	12.80	255.066 33 [M-H] ⁻	153.018 57, 135.007 92	-0.14	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	甘草素	甘草 ^[19]	黄酮
37	13.15	247.133 03 [M+H-H ₂ O] ⁺	219.138 9, 204.114 9	-0.09	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	($\pm$)-脱落酸	茯苓	有机酸
38	13.48	595.201 90 [M+H] ⁺	397.126 68, 287.091 1	0.20	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	枸橼萜	陈皮 ^[21]	黄酮
39	13.97	285.076 20 [M+H] ⁺	268.037 78, 211.039 1	1.08	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	黄豆黄素	甘草 ^[31]	黄酮
40	14.11	493.183 90 [M+Na] ⁺	493.182	1.64	C ₂₆ H ₃₀ O ₈	柠檬苦素	陈皮 ^[27]	内酯
41	14.47	255.065 22 [M+H] ⁺	255.065 06	0.35	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	大豆素	半夏 ^[11]	黄酮
42	15.16	301.074 98 [M-H] ⁻	286.047 18, 257.080 75	0.77	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)chroman-4-one	-	香豆素
43	16.18	189.091 02 [M+H] ⁺	171.080 37, 133.028 46	0.64	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	5-phenylcyclohexane-1,3-dione	-	其他
44	16.41	256.263 73 [M+H] ⁺	238.182 4, 88.076 25	0.59	C ₁₆ H ₁₃ NO	棕榈酰胺	半夏 ^[17]	生物碱
45	17.06	767.231 75 [2M+Na] ⁺	373.127 99, 343.081 05	1.38	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	红橘素	陈皮 ^[27]	黄酮
46	17.37	205.086 67 [M-H] ⁻	161.096 51, 138.031 62	-0.11	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)benzoic acid	-	芳香族
47	17.44	299.056 18 [M-H] ⁻	284.032 71, 255.030 04	0.53	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	高车前素	-	黄酮
48	17.57	269.080 93 [M+H] ⁺	254.057 21, 237.054 61	0.26	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	芒柄花黄素	甘草 ^[28]	黄酮
49	17.58	271.130 43 [M+Na] ⁺	249.148 65, 213.127 5	0.05	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	(3 α R, 8R, 8 α R, 9 α R)-8-hydroxy-8 α -methyl-3,5-bis(methylene)decahydronaphtho[2,3-b]furan-2(3H)-one	-	内酯
50	17.68	193.122 50 [M+H] ⁺	175.111 70, 147.116 8	0.99	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	洋川芎内酯 A	当归 ^[32]	内酯
51	18.08	191.106 95 [M+H] ⁺	173.096 12, 145.101 1	0.30	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	正丁基苯酚	当归 ^[20]	内酯
52	18.36	277.179 20 [M+H-H ₂ O] ⁺	177.090 97, 145.064 76,	-0.40	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	6-姜辣素	生姜 ^[33]	其他
53	18.61	329.233 86 [M-H] ⁻	229.144 32, 211.133 6	1.26	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	(15Z)-9,12,13-trihydroxy-15-octadecenoic acid	-	有机酸
54	18.88	355.099 76 [M+Na] ⁺	343.117 5, 313.070 47	0.57	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	6-去甲氧基橘皮素	陈皮 ^[34]	黄酮
55	18.89	137.059 84 [M+H] ⁺	122.036 51, 94.041 86	-0.10	C ₈ H ₈ O ₂	4-甲氧基苯甲醛	-	芳香族
56	19.27	403.138 64 [M+H] ⁺	388.115 5, 373.091 98	-0.29	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	川陈皮素	陈皮 ^[27]	黄酮
57	19.90	191.106 70 [M+H] ⁺	173.096 08, 135.044 07	0.15	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	蒙内内酯	当归 ^[35]	内酯
58	21.09	315.086 43 [M+H] ⁺	298.048 46, 283.025 12	0.39	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	毡毛美洲茶素	-	黄酮
59	21.46	277.180 24 [M+H] ⁺	137.059 77, 122.036 46	1.69	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	姜烯酚	生姜 ^[36]	芳香族
60	21.47	137.059 97 [M+H] ⁺	122.036 39, 94.041 82	-0.10	C ₈ H ₈ O ₂	3-甲氧基苯甲醛	-	芳香族
61	21.81	325.144 04 [M+H] ⁺	305.212 19, 201.091 87	1.82	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	光甘草定	甘草 ^[37]	黄酮
62	26.06	298.310 42 [M+H] ⁺	85.101 76, 71.086 24	-0.04	C ₁₉ H ₂₉ NO	十三吗琳	-	生物碱
63	27.79	338.341 52 [M+H] ⁺	321.315 03, 303.304 38	0.11	C ₂₂ H ₄₃ NO	芥酸酰胺	半夏 ^[38]	生物碱

注：- 为未知。
Note: - refers to unknown.

2.4 成分鉴定与分析

黄酮类化合物:共鉴定出 22 种,分别为化合物 17~18, 22~23, 27~29, 31~34, 36, 38~39, 41, 45, 47~48, 54, 56, 58, 61。以化合物 29 橙皮苷为例,根据保留时间 10.32 min,及在正离子模式下一级质谱信息中其准分子离子峰的 m/z 611.197 33,推测其分子式为 C₂₈H₃₄O₁₅;进一步进行二级质谱扫描,根据碎片离子峰(1)的 m/z 303.086 40,分析其为准分子离子丢失 C₁₂H₂₀O₉形成的碎片;根据碎片离子峰(2) m/z 177.054 82 和(3) m/z 153.018 40,分析其为碎片离子峰(1)裂解形成

的 2 个碎片离子峰。根据其二级质谱裂解方式,检索 mzCloud 和 mzVault 网络数据库,推测为橙皮苷,最后经与对照品比对确定。质谱裂解途径见图 3。

生物碱类化合物:共鉴定出 9 种,分别为化合物 2~3, 7, 9, 12, 14, 44, 62~63。以化合物 9 烟碱为例,根据保留时间 2.75 min,及正离子模式下一级质谱信息中其准分子离子峰的 m/z 123.055 63,推测其分子式为 C₆H₆N₂O;进一步进行二级质谱扫描,根据碎片离子峰(1)的 m/z 106.029 47,分析其为准分子离子丢失 —NH₃形成的碎片;根据碎片离子峰(2)的 m/z 78.034 72,分

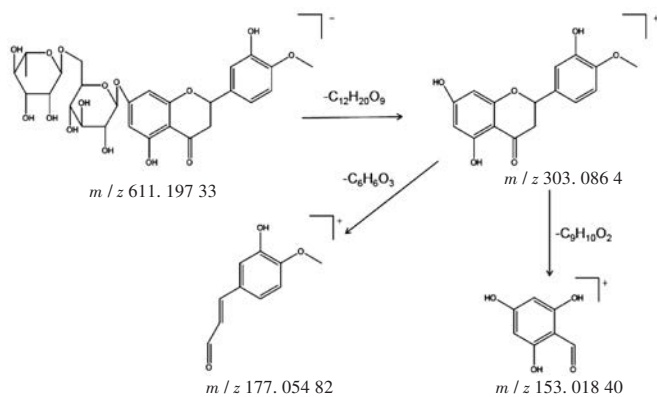


图3 橙皮苷质谱裂解途径

Fig. 3 MS fragmentation pathway of hesperidin

析其为碎片离子峰(1)丢失 —CO— 形成的碎片。根据其二级质谱裂解方式,检索 mzCloud 和 mzVault 网络数据库,推测为烟碱。质谱裂解途径见图4。

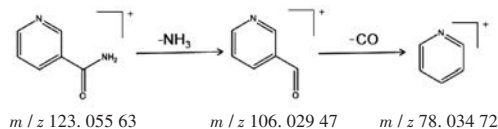


图4 烟碱质谱裂解途径

Fig. 4 MS fragmentation pathway of nicotinic

内酯类化合物:共鉴定出6种,分别为化合物20, 40, 49~51, 57。以化合物20黑麦草内酯为例,根据保留时间9.61 min,及正离子模式下一级质谱信息中其准分子离子峰的 m/z 197.11765,推测其分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3$; 进一步进行二级质谱扫描,根据碎片离子峰(1)的 m/z 179.10686,分析其为准分子离子丢失 H_2O 后形成的碎片;根据碎片离子峰(2)的 m/z 161.09624,分析其为由碎片离子峰(1)丢失 H_2O 形成的碎片;根据碎片离子峰(3)的 m/z 133.10141,分析其为碎片离子峰(2)丢失 —CO— 形成的碎片。根据其二级质谱裂解方式,检索 mzCloud 和 mzVault 网络数据库,推测为黑麦草内酯。质谱裂解途径见图5。

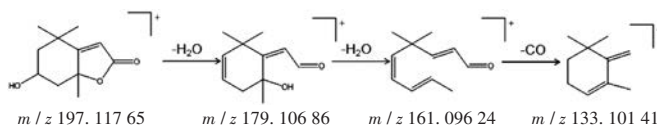


图5 黑麦草内酯质谱裂解途径

Fig. 5 MS fragmentation pathway of lololide

香豆素类化合物:共鉴定出3种,分别为化合物16, 26, 42。以化合物26滨蒿内酯为例,根据保留时间10.07 min,及在正离子模式下一级质谱信息中其准分子离子峰的 m/z 207.06519,推测其分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4$; 进一步进行二级质谱扫描,根据碎片离子峰(1)的 m/z 192.04172,分析其为准分子离子丢失 —CH_3 形成的碎片;根据碎片离子峰(2)的 m/z 179.04016,分析其为准分子离子丢失 —CO—

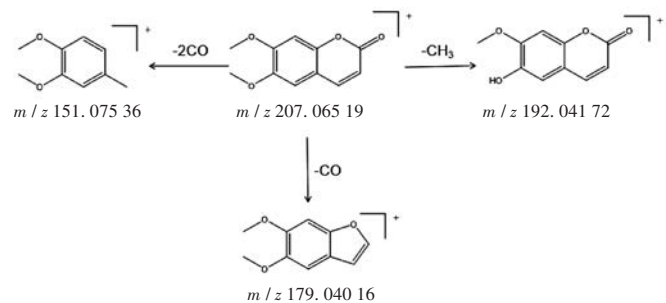


图6 滨蒿内酯质谱裂解途径

Fig. 6 MS fragmentation pathway of scoparone

形成的碎片;根据碎片离子峰(3)的 m/z 151.07536,分析其为准分子离子丢失2个 —CO— 形成的碎片。根据其二级质谱裂解方式,检索 mzCloud 和 mzVault 网络数据库,推测为滨蒿内酯,最后经与对照品比对确定。质谱裂解途径见图6。

芳香族类化合物:共鉴定出6种,分别为化合物13, 30, 46, 55, 59~60。以化合物55(4-甲氧基苯甲醛)为例,根据保留时间18.89 min,及在正离子模式下一级质谱信息中其准分子离子峰的 m/z 137.05984,推测其分子式为 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$; 进一步进行二级质谱扫描,根据碎片离子峰(1)的 m/z 122.03651,分析其为准分子离子丢失 —CH_3 形成的碎片;根据碎片离子峰(2)的 m/z 94.04186,分析其为碎片离子(1)丢失 —CO— 形成的碎片。根据其二级质谱裂解方式,检索 mzCloud 和 mzVault 网络数据库,推测为4-甲氧基苯甲醛。质谱裂解途径见图7。

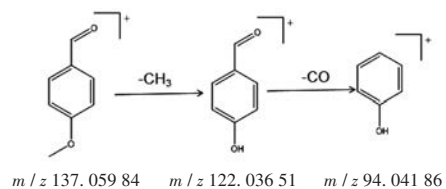


图7 4-甲氧基苯甲醛质谱裂解途径

Fig. 7 MS fragmentation pathway of 4-methoxy benzaldehyde

有机酸类化合物:共鉴定出5种,分别为化合物19, 25, 35, 37, 53。以化合物25阿魏酸为例,根据保留时间9.95 min及在负离子模式下一级质谱信息中其准分子离子峰的 m/z 193.05013,推测其分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$; 进一步进行二级质谱扫描,根据碎片离子峰(1)的 m/z 178.02660,分析其为准分子离子丢失 —CH_3 形成的碎片;根据碎片离子峰(2)的 m/z 149.06009,分析其为准分子离子丢失 CO_2 后形成的碎片;根据碎片离子峰(3)的 m/z 134.03648,分析其为碎片离子(2)丢失 —CH_3 形成的碎片;根据碎片离子峰(4)的 m/z 123.04478,分析其是由碎片离子(2)丢失 C_2H_2 形成的碎片。根据其二级质谱裂解方式,检索 mzCloud 和

mzVault网络数据库,推测为阿魏酸,最后经与对照品比对确定。质谱裂解途径见图8。

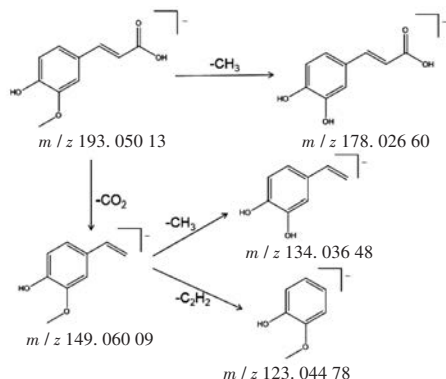


图8 阿魏酸质谱裂解途径

Fig. 8 MS fragmentation pathway of ferulic acid

氨基酸类化合物:共鉴定出4种,分别为化合物1,10,15,21。以化合物1精氨酸为例,根据保留时间1.74 min及在正离子模式下一级质谱信息中其准分子离子峰的 m/z 175.11890,推测其分子式为 $C_6H_{14}N_4O_2$;进一步进行二级质谱扫描,根据碎片离子峰(1)的 m/z 158.09232,分析其为准分子离子丢失 $-NH_3$ 形成的碎片;根据碎片离子峰(2)的 m/z 130.0976,分析其为准分子离子丢失 $-COOH$ 后形成的碎片。根据其二级质谱裂解方式,检索mzCloud和mzVault网络数据库,推测为精氨酸。质谱裂解途径见图9。

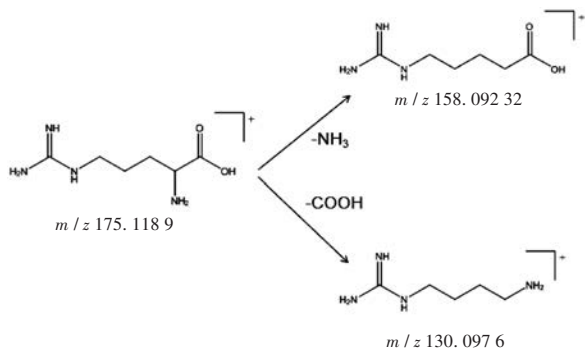


图9 精氨酸质谱裂解途径

Fig. 9 MS fragmentation pathway of arginine

核苷酸类化合物:共鉴定出2种,分别为化合物4,8。以化合物8腺苷为例,根据保留时间2.41 min,及正离子模式下一级质谱信息中其准分子离子峰的 m/z 268.10391,推测其分子式为 $C_{10}H_{13}N_5O_4$;进一步进行二级质谱扫描,根据碎片离子峰(1)的 m/z 136.06117,分析其为准分子离子丢失 $C_5H_8O_4$ 形成的碎片;根据碎片离子峰(2)的 m/z 119.0353,分析其为碎片离子(1)丢失 $-NH_3$ 形成的碎片。根据其二级质谱裂解方式,检索mzCloud和mzVault网络数据库,推测为腺苷,最后经与对照品比对确定。质谱裂解途径见图10。

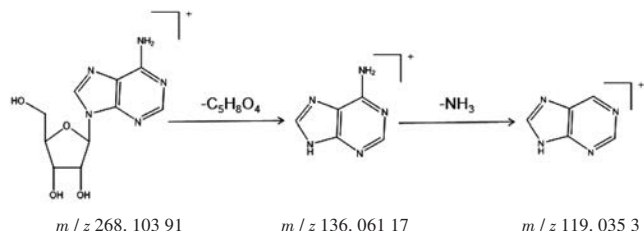


图10 腺苷质谱裂解途径

Fig. 10 MS fragmentation pathway of adenosine

糖类化合物:共鉴定出2种,分别为化合物5和6。以化合物6蔗糖为例,根据保留时间2.23 min,及在正离子模式下一级质谱信息中其准分子离子峰的 m/z 341.10970,推测其分子式为 $C_{12}H_{22}O_{11}$;进一步进行二级质谱扫描,根据碎片离子峰的 m/z 179.0555,分析其为准分子离子丢失 $C_6H_{10}O_5$ 形成的碎片。根据其二级质谱裂解方式,检索mzCloud和mzVault网络数据库,推测为蔗糖。质谱裂解途径见图11。

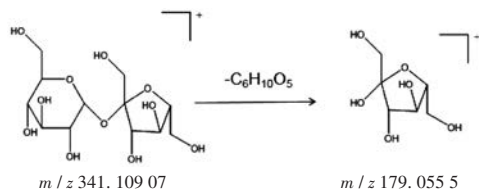


图11 蔗糖质谱裂解途径

Fig. 11 MS fragmentation pathway of sucrose

其他类化合物:共鉴定出4种其他类化合物,分别为化合物11,24,43,52。

3 讨论

本研究中采用了正、负离子同时扫描的方法对金水六君煎中的化合物进行检测,在此基础上根据色谱峰分离情况优化色谱条件及样品提取条件,流动相考察了乙腈-0.1%甲酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液、0.1%甲酸乙腈溶液-0.1%甲酸水溶液,发现以0.1%甲酸水溶液-0.1%甲酸乙腈溶液为流动相时,色谱峰分离效果较好,故选用。

本研究中鉴定出金水六君煎物质基准中63个化学成分,通过查阅文献对这些成分的来源进行分析,发现黄酮类成分多来源于甘草和陈皮,生物碱类成分多来源于半夏,酚酸类成分多来源于生姜,内酯和苯丙素类成分多来源于当归,氨基酸类成分多来源于半夏和茯苓。本研究中对金水六君煎的化学成分进行了较全面的研究,为其物质基础、入血成分及其代谢物的研究奠定了基础。

本研究还存在一定不足,尚有很多化合物未鉴定出来,包括某些药材的代表性成分,如熟地黄的毛蕊花糖苷、梓醇及地黄苷D等,可能是由于供试品制备时仅

采用乙酸乙酯萃取,导致样品中化学成分提取不完全。后续可通过优化样品制备条件,或采用多个不同极性的有机溶剂对样品进行萃取,并对每个组分都进行鉴别。而对于其他未鉴定出的化学成分仍待更深入的研究。

本研究中有11个化学成分通过与对照品比对而准确鉴定,以此为基础,建立了同时测定金水六君煎中11种主要成分的UPLC法^[3],从而对金水六君煎的物质基础及现代制剂质量进行控制与评价,为相关新药开发奠定了坚实的基础。

参考文献

- [1] 董自亮,李红亮,罗维早,等. 经典名方金水六君煎的古代文献分析[J]. 中国中药杂志,2020,45(23):5639-5644.
- [2] 明·张介宾. 景岳全书[M]. 上海:上海科学技术出版社,1959:986-988.
- [3] 董自亮,李红亮,原欢欢,等. UPLC测定经典名方金水六君煎中11种成分[J]. 中草药,2021,52(3):711-717.
- [4] 李培荣,宋小雪,闫丽莉,等. 金水六君煎物质基准HPLC指纹图谱的建立[J]. 中药材,2021,44(10):2379-2383.
- [5] 宋小雪,陈忠新,闫丽莉,等. RP-HPLC-UV法测定经典名方金水六君煎中橙皮苷的含量[J]. 化学工程师,2021,35(10):23-26.
- [6] 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.
- [7] 田萍,马开,梁瑞峰,等. 基于UPLC-Q-Orbitrap HRMS技术的真武汤化学成分分析[J]. 中药材,2022,45(5):1148-1157.
- [8] 贺美莲,郭常川,石峰,等. Orbitrap高分辨质谱技术在药物分析领域中的应用进展[J]. 药物分析杂志,2019,39(1):105-110.
- [9] 师健友,周立,王敏,等. 半夏药材生品及其炮制品指纹图谱的比较研究[J]. 现代生物医学进展,2007,7(3):370-371.
- [10] 周倩,吴皓,许凤清. 半夏中生物碱的研究[J]. 中国中医药信息杂志,2006,13(1):102-103.
- [11] 张之昊,戴忠,胡晓茹,等. 半夏化学成分的分离与鉴定[J]. 中药材,2013,36(10):1620-1622.
- [12] 翟兴英,张凌,李冰涛,等. 采用UPLC-Q-TOF-MS/MS分析半夏药材中的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(7):173-183.
- [13] 郭丽娜,白皎,裴月湖. 生地黄化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报,2013,30(7):506-508.
- [14] 周丽. 基于整体观的地黄“九蒸九制”质/效评价研究[D]. 南京:南京中医药大学,2017.
- [15] 黄桢,朱俏俏,戚进,等. 地黄的化学成分研究[J]. 海峡药学,2016,28(7):34-36.
- [16] 卢鹏伟. 地黄的化学成分和炮制的比较研究[D]. 开封:河南大学,2008.
- [17] 陈凤凰,唐文明,孟娜安,等. 安顺产半夏化学成分的研究[J]. 贵州科学,2006,24(4):34-36.
- [18] 蒋庭玉. 拐芹当归化学成分研究[D]. 济南:山东大学,2011.
- [19] 周燕,王明奎,廖循,等. 甘草化学成分的高效液相色谱-串联质谱分析[J]. 分析化学,2004,32(2):174-178.
- [20] 赵雪娇,王海峰,赵丹奇,等. 当归化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报,2013,30(3):182-185.
- [21] 赵祎娜. 源于同一植物的陈皮与青皮的品质评价研究[D]. 成都:成都中医药大学,2011.
- [22] 张梁,周杰,朱蔚,等. HPLC-DAD-ESI-MSⁿ和GC-MS比较陈皮、橘皮和霉变橘皮中的化学成分[J]. 食品与发酵工程,2013,39(4):192-198.
- [23] 陶益,蒋妍慧,唐克建,等. 地黄炮制前后化学成分的UHPLC-Q-TOF/MS比较研究[J]. 中药新药与临床药理,2016,27(1):102-106.
- [24] 周婕. 湖北地黄化学成分研究[D]. 北京:北京协和医学院,2019.
- [25] 杨秀伟,王继彦,严仲铨,等. 四种长白山产当归属药用植物的香豆精成分研究[J]. 中药材,1994,17(4):30-32.
- [26] 马琳,黄小方,欧阳辉,等. UHPLC-Q-TOF-MS-MS快速鉴定陈皮化学成分[J]. 亚太传统医药,2015,11(19):33-37.
- [27] 唐维,叶勇树,王国才,等. 广陈皮水提物的化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(4):30-33.
- [28] 刘育辰,陈有根,王丹,等. 甘草化学成分研究[J]. 药物分析杂志,2011,31(7):1251-1255.
- [29] 芮春兰. 国内对甘草化学成分的研究进展[J]. 中国校医,2006,20(1):105-106.
- [30] 孙蓉,张亚因,吕丽莉. 当归基于功效物质基础的抗脑缺血药理作用研究进展[J]. 中国药物警戒,2011,8(10):615-618.
- [31] 冯长根,宇微微,甘强. 甘草中黄豆黄苷的分离鉴定及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性[J]. 科技导报,2014,32(16):29-33.
- [32] 宋秋月,付迎波,刘江,等. 当归的化学成分研究[J]. 中草药,2011,42(10):1900-1904.
- [33] 宣伟东,卞俊,袁兵,等. 生姜化学成分的研究[J]. 中草药,2008,39(11):1616-1619.
- [34] 刘欣媛,嵇长久,彭文文. 中药枳壳的化学成分研究[J]. 中国药理学杂志,2018,53(19):1627-1631.
- [35] 王海燕,陈汝贤,许鸿章. 当归化学成分研究[J]. 中国中药杂志,1998,23(3):167-168.
- [36] 芮雯,冯毅凡,吴妍,等. 干姜油中姜酚类成分的UPLC/Q-TOFMS分析[J]. 中草药,2008,39(5):667-668.
- [37] 崔永明. 甘草黄酮的分离鉴定、药效及其指纹图谱研究[D]. 武汉:华中科技大学,2008.
- [38] 唐成林,罗夫来,赵致,等. 半夏植株腐解液对8种作物的化感作用及化感物质成分分析[J]. 核农学报,2018,32(8):1639-1648.

(收稿日期:2022-06-14)