

引用:张玉婷,莎日娜,何春龙,王焕芸,范蕾,孙丽君.基于HPLC-MS/MS技术的蒙药健脾五味丸体外化学成分及血中移行成分研究[J].中医药导报,2025,31(5):71-79.

基于HPLC-MS/MS技术的蒙药健脾五味丸体外化学成分及血中移行成分研究*

张玉婷¹,莎日娜²,何春龙¹,王焕芸¹,范蕾¹,孙丽君¹

(1.内蒙古医科大学药学院,内蒙古 呼和浩特 010107;

2.内蒙古医科大学第二附属医院,内蒙古 呼和浩特 010110)

[摘要] 目的:通过测定蒙药健脾五味丸体外及小鼠灌胃后血中移行成分,研究其主要药效物质基础。方法:采用高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)技术, SepaxHP-C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相为1%甲酸(A)-乙腈(B)梯度洗脱,将混合对照品溶液、健脾五味丸供试品溶液、空白血清和不同时间段的含药血清进行定性分析,使用全扫描模式正、负离子检测模式下采集色谱图,通过比对Xcalibur 3.0软件数据库、文献以及部分对照品的离子流图、质谱碎片裂解信息,鉴定目标化合物。结果:健脾五味丸供试品溶液鉴定出47个化合物,包括黄酮类、二萜类、环烯醚萜类和酚酸类,共鉴定出42个入血成分,其中30 min入血成分有40个,60 min入血成分有38个,90 min入血成分有37个,120 min入血代谢产物有32个。结论:该方法灵敏度高,可为蒙药健脾五味丸的药效物质基础研究提供参考。

[关键词] 健脾五味丸;蒙药;高效液相色谱-串联质谱;化学成分;移行成分;小鼠

[中图分类号] R284.2 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)05-0071-09

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.05.012

Study on in Vitro Chemical Components and Blood-Transported Components of Mongolian Medicine Jianpi Wuwei Pill (健脾五味丸) Based on HPLC-MS/MS Technology

ZHANG Yuting¹, SHA Rina², HE Chunlong¹, WANG Huanyun¹, FAN Lie¹, SUN Lijun¹

(1.College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia 010107, China;

2.The Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia 010110, China)

[Abstract] Objective: To investigate the pharmacodynamic material basis of Mongolian medicine Jianpi Wuwei Pill by analyzing its in vitro chemical components and blood-transported components after intragastric administration in mice. Methods: HPLC-MS/MS was performed on a Sepax HP-C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) with a mobile phase of 1% formic acid (A)-acetonitrile (B) under gradient elution. Qualitative analysis was conducted on mixed reference solutions, Jianpi Wuwei Pill test solutions, blank serum, and drug-containing serum collected at different time points. Chromatograms were acquired in full scan mode under both positive and negative ion detection. Target compounds were identified by comparing retention times, ion chromatograms, mass spectral fragmentation patterns, and literature data using the Xcalibur 3.0 software database. Results: A total of 47 compounds were identified in the test solution, including flavonoids, diterpenoids, iridoids, and phenolic acids. Forty-two blood-transported components were detected, with 40, 38, 37, and 32 components observed at 30, 60, 90, and 120 min post-administration, respectively. Conclusion: The established method exhibits high sensitivity and provides a reference for elucidating the pharmacodynamic material basis of Jianpi Wuwei Pill.

[Keywords] Jianpi Wuwei Pill; Mongolian medicine; HPLC-MS/MS; chemical components; migratory components; mice

*基金项目:内蒙古医科大学面上项目(202210132033);内蒙古医科大学2022年学科建设项目(YKD2022XK011)

通信作者:何春龙,男,副教授,研究方向为中蒙药质量控制及药效物质基础研究

健脾五味丸,蒙药名布特格勒其-5,是蒙古族传统方剂。它由诃子、五灵脂、寒水石、土木香和胡黄连五味药配制而成。该药收载在《内蒙古蒙成药标准》^[1],具有健脾和胃、理气镇痛功能,主要用于“赫依协日”“宝日”“巴达干”病引起的胃脘胀满、上腹疼痛症^[2-7]。健脾五味丸在高脂血症的治疗上具有显著的临床效果,但目前其药效物质基础尚不明确,缺乏科学用药依据,同时原标准仅收载一项显微鉴别和薄层鉴别^[8],质量标准低,所以对其药效物质基础和质量标准进行研究很有价值。

通过研究血清中的化学物质,观测血清中外源性活性物质及其作用和代谢过程,是研究中草药药效物质基础较为科学的方法。为了进一步研究健脾五味丸的主要化学成分以及血中移行成分,本研究采用血清药物化学研究方法,采用HPLC-MS/MS技术对健脾五味丸化学成分和小鼠灌胃给药后的血中移行成分进行研究,以期对蒙药健脾五味丸质量标准的制定及其药效物质基础研究提供科学依据^[9-14]。

1 材料

1.1 主要仪器 1260型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);4.6 mm×250.0 mm,5.0 μm Sepax HP-C₁₈柱(美国SEPAX公司);十万分之一电子天平(德国Sartorius公司,型号:AB135-S);AB135-S电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器公司,d=0.01 mg);800A艾泽拉多功能粉碎机(永康市红太阳机电有限公司);KQ-500DE超声仪(昆山市超声仪器厂);Q-Exactive液相色谱-质谱联用系统、ThermoUltiMate3000系统高效液相色谱仪均购自美国Thermo-Fisher公司;CTTL-DCI型氮吹仪(北京同泰联科技发展有限公司)。

1.2 试药 健脾五味丸(内蒙古库伦蒙药有限公司,批号:220309,2208182;内蒙古国际蒙医院,批号:20210413,20220521,20221123);原儿茶酸(批号:#G2131283,纯度≥98%);没食子酸(批号:#B2218027纯度≥97.7%);胡黄连苷 I(批号:22082705,纯度≥98%);胡黄连苷 II(批号:22091706,纯度≥98%);鞣花酸(批号:K-003-150730,纯度≥98%);土木香内酯(批号:Z1709S72302,纯度≥98%);异土木香内酯(批号:Z30S11S126545,纯度≥98%)均购于上海源叶生物科技有限公司;甲醇、乙腈(均为色谱纯),超纯水(实验室自制),甲酸为色谱纯(阿拉丁试剂有限公司);氯化钠注射液(浙江国镜药液有限公司);羧甲基纤维素钠(上海山浦化工有限公司)。

1.3 动物 雄性昆明小鼠共10只,体质量(25±5)g,购于河南斯克贝斯生物科技股份有限公司,生产许可证号:SCXK(豫)2020-0005。于内蒙古医科大学动物管理中心屏障区适应性喂养1周后开始实验,给药前禁食12 h,自由饮水。实验遵循《关于动物与福利的作者指南共识》,并获得内蒙古医科大学伦理委员会批准,科研伦理审批号:YKD202402228。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 安捷伦1260型高效液相色谱仪Sepax HP-C₁₈柱(4.6 mm×250.0 mm,5.0 μm);流动相乙腈(B)-0.1%甲酸水溶液(A)水溶液,梯度洗脱(0~12 min,10%~15%B;12~15 min,15%~23%B;15~35 min,23%~24%B;35~40 min,24%~50%B;

40~45 min,50%~75%B);流速1 mL/min,检测波长254 nm,柱温28 ℃,溶液进样10 μL。

2.2 质谱条件 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液,梯度条件同“2.1”项。离子源为HESI源;使用全扫描模式正、负离子检测模式下采集。辅助气体积流量1 L/min,喷雾电压2.80 kV,离子传输管温度300 ℃,辅助气温度400 ℃,碰撞能量(CE)为45 eV;检测方式为Full MS/dd-MS2,Full MS分辨率70 000,dd-MS2分辨率17 500,扫描范围m/z 110~1 000。

2.3 样品的制备

2.3.1 混合对照品溶液的制备 精密称定原儿茶酸、没食子酸、胡黄连苷 I、胡黄连苷 II、鞣花酸、土木香内酯、异土木香内酯对照品适量,加甲醇溶解制成含1.93 mg/mL原儿茶酸、0.07 mg/mL没食子酸、3.28 mg/mL胡黄连苷 I、1.88 mg/mL胡黄连苷 II、1.85 mg/mL鞣花酸、0.32 mg/mL土木香内酯、0.31 mg/mL异土木香内酯的混合对照品溶液。

2.3.2 健脾五味丸供试品溶液的制备 取健脾五味丸粉末(过6号筛)约0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入10 mL甲醇,称定质量,采用超声提取法(频率为40 kHz,功率为220 W)提取30 min,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液即得。

2.3.3 健脾五味丸给药样品溶液制备 取健脾五味丸粉末(过6号筛)适量,精密称定,加入1%羧甲基纤维素钠适量,充分混合,制成浓度为0.3 g/mL的健脾五味丸混悬液。

2.3.4 动物饲养、给药及血样采集^[15] 将小鼠随机分为空白组(2只)和给药组(8只),空白组灌胃生理盐水,给药组给予健脾五味丸混悬液[给药剂量7.32 mg/(kg·d)]。灌胃1周后取血,最后一次给药前小鼠禁食12 h,自由饮水。分别在给药后0.5、1.0、1.5、2.0 h时各处理2只,摘眼球取血1 mL置于1.5 mL的离心管中,取血后立即在4 ℃、4 000 r/min下离心10 min(离心半径为17.5 cm),取上层血清。

2.3.5 血清样品的制备 取200 μL血清样品,加入600 μL甲醇沉淀蛋白,涡旋3 min,12 000 r/min,4 ℃离心10 min(离心半径为17.5 cm),吸取上清液至1.5 mL EP管,温和37 ℃氮气流吹干;加100 μL甲醇溶液复溶,涡旋3 min,12 000 r/min离心10 min(离心半径为17.5 cm),取上清液进样分析。

3 结果

按“2.1”项下色谱条件、“2.2”项下质谱条件分别取混合对照品溶液、健脾五味丸供试品溶液及不同时间段给药后的小鼠血清样品进行数据采集和结果分析。依据样品及空白血浆总离子流图(见图1~3)提取到相对分子量和质谱离子峰,经Xcalibur 3.0软件结合对照品、参考文献等提供的二级质谱离子碎片信息比对,进一步鉴定出给药所含的化学成分。健脾五味丸体外鉴定出47个成分,入血鉴定出42个成分,其中30 min入血成分有40个,60 min入血成分有38个,90 min入血成分有37个,120 min入血代谢产物有32个。各化合物信息见表1,代谢后的产物见表2。

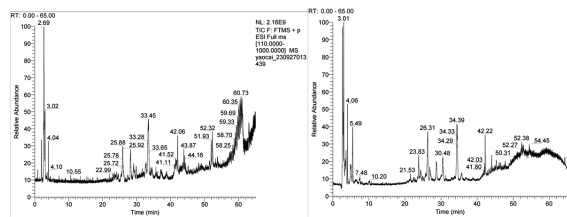


图1 正负离子模式下健脾五味丸的总离子流图

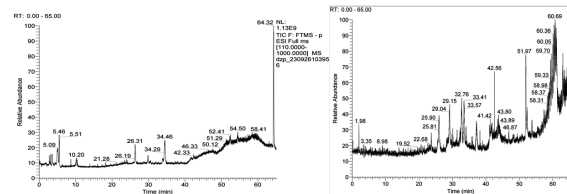


图2 正负离子模式下对照品离子流图

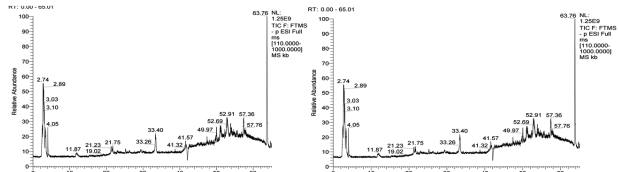


图3 正负离子模式下空白血清离子流图

以环烯醚萜类胡黄连苷Ⅱ为例,母离子 m/z 511.144 6中性丢失糖基($C_6H_{10}O_5$)产生碎片离子 m/z 349.093 8,丢失 H_2O 产生碎片离子 m/z 349.083 8,进一步中性丢失 $C_9H_{10}O_4$ 产生碎片离子 m/z 167.034 0,与文献[16-18]报道一致。母离子 m/z 511.144 6中性丢失糖基($C_6H_{10}O_5$)产生碎片离子 m/z 349.093 8,进一步丢失 $C_5H_6O_3$ 产生碎片离子 m/z 235.060 9,推测该化合物为胡黄连苷Ⅱ。(见图4)

表1 健脾五味丸化合物质谱信息

编号	分子式	化合物	离子模式	分子量理论值	分子量实测值	误差($\times 10^{-6}$)	碎片离子	样品中保留时间/min	分类	入血存在时间/min
1	$C_{29}H_{38}O_{11}$	胡黄连苷Ⅰ	[M-H] ⁻	491.154 8	491.159 2	8.958 5	491.154 2, 199.061 6, 169.050 6, 147.044 5	27.53	环烯醚萜苷类	30, 60
2	$C_{29}H_{38}O_{13}$	胡黄连苷Ⅱ	[M-H] ⁻	511.145 7	511.146 5	1.565 1	511.146 5, 110.043 3, 123.044 4, 165.055 4, 147.044 7	23.18	环烯醚萜苷类	30, 60, 90, 120
3	$C_{28}H_{36}O_{13}$	胡黄连苷Ⅲ	[M+H] ⁺	539.175 9	539.174 8	-2.040 2	539.174 8, 193.050 2, 175.045 8	24.28	环烯醚萜苷类	30, 60, 90, 120
4	$C_8H_8O_4$	香草酸	[M-H] ⁻	167.033 9	167.034 8	5.388 1	152.010 9, 123.044 4, 167.034 8	23.24	肉桂酸类	30, 60, 90, 120
5	$C_{18}H_{18}O_7$	云杉素	[M-H] ⁻	297.096 9	297.096 7	-0.673 2	297.096 7, 183.004 9, 135.044 8, 135.030 7, 135.055 9, 166.924 3	41.30	糖苷	30, 60, 90, 120
6	$C_{16}H_{22}O_8$	针叶素	[M+H] ⁺	343.138 7	343.138 6	-0.291 4	240.231 9, 183.174 8, 343.132 6	44.81	单糖衍生物	30, 60, 90, 120
7	$C_{15}H_{20}O_8$	草夹竹桃苷	[M+H] ⁺	329.123 1	329.122 9	-0.607 7	351.107 2, 189.051 0	3.27	苯乙酮苷类	30, 60, 90, 120
8	$C_{17}H_{22}O_9$	桃叶珊瑚苷	[M+H] ⁺	347.133 7	347.132 2	-4.321 1	347.132 2	51.05	环烯醚萜苷类	30, 60, 90, 120
9	$C_{17}H_{16}O_7$	熊果苷	[M+H] ⁺	273.096 8	273.095 1	-6.224 9	273.095 1	53.03	氢醌葡萄糖苷类	30, 60, 90, 120
10	$C_{14}H_{16}O_9$	矮茶素	[M+H] ⁺	329.086 7	329.084 6	-6.381 3	329.084 5, 209.045 2, 263.050 3, 251.055 9, 329.084 5, 221.042 8, 293.063 1, 311.073 2	3.49	异香豆精类	30, 60, 90
11	$C_{15}H_{22}O_{10}$	梓醇	[M+H] ⁺	363.128 6	363.127 2	-3.855 4	380.154 0, 385.108 9	3.28	环烯醚萜葡萄糖苷类	30, 60, 90
12	$C_{30}H_{48}O_4$	常春藤皂苷	[M-H] ⁻	471.346 9	471.349 8	6.152 6	471.349 7	50.50	齐墩果烷型五环三萜类	
13	$C_6H_6O_2$	对苯二酚	[M+H] ⁺	111.044 1	111.045 4	8.104 9	111.044 9, 111.056 2, 110.061 0, 110.032 7	3.32	酚酸类	30, 60, 90, 120
14	$C_{20}H_{30}O$	β -谷甾醇	[M+H] ⁺	415.393 4	415.394 4	2.407 4	415.394 4, 119.085 9, 116.053 4, 119.085 9	46.80	四环三萜类	
15	$C_{15}H_{18}O_7$	苦味素	[M-H] ⁻	309.096 9	309.099 8	9.382 2	309.099 7, 137.023 8, 111.044 5, 123.044 4	24.83	萜类	30, 60, 90, 120
16	$C_{15}H_{10}O_7$	草棉黄素	[M+H] ⁺	303.049 9	303.05 00	0.330 0	303.049 9, 133.101 9, 121.101 8, 169.109 0	3.81	黄酮醇类	30, 60, 90, 120
17	$C_{28}H_{38}O_{12}$	葡萄糖苷	[M+H] ⁺	509.165 4	509.164 2	-2.356 8	509.164 2, 147.044 6, 148.048 2, 165.055 2, 532.151 4, 533.162 9, 203.053 1	3.81	黄酮类化合物	30, 60, 90, 120
18	$C_{16}H_{22}O_8$	松柏苷	[M+H] ⁺	343.138 7	343.137 8	-2.622 8	343.131 7, 226.043 3, 183.174 9	2.94	单糖衍生物	30, 60, 90, 120
19	$C_{10}H_{12}O_3$	针叶醇	[M-H] ⁻	179.070 3	179.071 4	6.142 8	179.071 4, 121.029 0	44.18	苯丙烷类	30, 60, 90, 120
20	$C_{15}H_{30}O_2$	异土木香内酯	[M+H] ⁺	233.153 6	233.153 4	-0.857 8	233.153 3, 255.135 4	48.98	萜类	30, 60, 90, 120
21	$C_{15}H_{30}O_2$	土木香内酯	[M+H] ⁺	233.153 6	233.153 4	-0.857 8	115.054 8, 129.065 9, 131.085 9, 145.097 5, 133.065 1, 187.148 4	48.98	萜类	30, 60, 90, 120
22	$C_{18}H_{32}O_2$	亚油酸	[M+H] ⁺	279.231 9	279.234 2	8.236 9	279.234 1	59.35	脂肪酸	30, 60, 90, 120
23	$C_{18}H_{30}O_2$	亚麻酸	[M+H] ⁺	279.231 9	279.234 1	7.878 8	279.234 1	59.37	多烯脂肪酸	30, 60, 90, 120
24	$C_{18}H_{34}O_2$	油酸	[M-H] ⁻	281.247 5	281.249 9	8.533 4	281.249 8, 256.237 5	63.33	脂肪酸	30, 60, 90, 120
25	$C_7H_6O_5$	没食子酸	[M-H] ⁻	169.013 1	169.013 8	4.141 7	169.099 9, 170.019 9, 125.019 5, 126.029 8	10.27	多酚类	30, 60, 90

续表1:

编号	分子式	化合物	离子模式	分子量理论值	分子量实测值	误差(×10 ⁻⁶)	碎片离子	样品中保留 时间/min	分类	入血存在 时间/min
26	C ₁₄ H ₆ O ₈	鞣花酸	[M+H] ⁺	191.049 1	191.049 7	3.140 6	191.049 7	26.68	多酚二内酯	30,60,90,120
27	C ₂₀ H ₁₈ ClNO ₄	盐酸小檗碱	[M+H] ⁺	324.115 0	324.113 1	-5.862 1	314.057 6,310.107 0,311.110 8	53.16	多酚类	30,60,90
28	C ₂₁ H ₃₀ O ₆	姜黄素	[M+H] ⁺	369.133 3	369.132 2	-2.980 0	369.132 0,370.135 9	47.71	二酮类	30
29	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₈	柯里拉京	[M-H] ⁻	633.072 2	633.077 5	8.371 9	300.903 6	16.02	天然多酚单宁酸类	30,60,90,120
30	C ₇ H ₁₂ O ₆	奎宁酸	[M-H] ⁻	191.055 0	191.056 1	5.757 5	191.056 1	3.41	酚类	30,60,90,120
31	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	香叶酸乙酯	[M+H] ⁺	197.080 8	197.087 1	-3.551 8	197.080 0,93.034 1,151.039 2,125.059 9, 111.044 3	3.50	酯类	30,60,90,120
32	C ₉ H ₈ O ₄	山楂酸	[M+H] ⁺	473.362 5	473.360 7	-3.802 6	203.179 5,205.159 0	49.43	五环三萜类	30,60,90
33	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	亚油酸	[M-H] ⁻	279.231 9	279.234 3	8.595 0	279.234 2	59.36	脂肪酸	30,60,90,120
34	C ₇ H ₁₀ O ₅	莽草酸	[M+H] ⁺	175.060 1	175.061 1	5.712 3	129.055 2,157.044 7,175.061 1	3.08	有机酸类	30,60,90,120
35	C ₁₅ H ₃ O	丁基基甲苯	[M+H] ⁺	221.190 0	221.180 5	2.260 5	219.173 9,161.095 8	2.97	烃基化合物	120
36	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	科罗索酸	[M-H] ⁻	219.174 3	219.176 4	9.581 4	219.176 4	48.14	α- 香树脂醇型 或乌斯烷型五环 三萜类	120
37	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	软脂酸	[M-H] ⁻	255.231 9	255.234 0	8.227 8	253.233 9	62.52	脂肪酸类	30,60,90,120
38	C ₇ H ₆ O ₄	原儿茶酸	[M-H] ⁻	153.018 2	153.018 1	-0.653 5	108.019 8,153.018 7	5.55	酚酸类	30,60,90,120
39	C ₃₀ H ₁₈ O ₁₀	穗花杉双黄酮	[M+H] ⁺	395.143 0	395.146 9	9.869 8	395.146 8	45.07	双黄酮类	
40	C ₃₀ H ₁₈ O ₁₀	扁柏双黄酮	[M+H] ⁺	395.143 0	395.143 0	0.000 0	395.143 0	45.07	黄酮类	
41	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₁	槲皮苷	[M+H] ⁺	449.107 8	499.102 4	-3.117 3	413.082 9,345.068 7,369.068 7	51.07	黄酮类	
42	C ₇ H ₆ O ₃	4- 羟基苯甲酸	[M+H] ⁺	139.039 0	139.039 0	0.000 0	93.033 9,95.049 5,139.039 0	3.52	酯类	30,60,90,120
43	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	山柰素	[M+H] ⁺	287.055 0	287.052 6	-8.360 8	287.052 6,165.019 0,287.069 8	3.46	黄酮醇类	30,60,90,120
44	C ₉ H ₈ O ₃	熊果酸	[M-H] ⁻	455.352 0	455.355 7	8.125 6	455.355 7,456.359 6,514.343 5	55.09	天然三萜羧酸类	30
45	C ₆ H ₆ O ₂	焦性儿茶酚	[M+H] ⁺	111.044 1	111.044 3	1.801 1	111.055 5,65.039 3,81.033 9	43.06	胺类	30,60,90,120
46	C ₄ H ₆ N ₄ O ₃	尿囊素	[M+H] ⁺	159.051 3	159.058 5	7.544 7	159.058 4	2.61	咪唑杂环化合物	120
47	C ₉ H ₁₁ NO ₃	L- 酪氨酸	[M+H] ⁺	150.091 3	150.092 0	4.663 8	119.049 8,136.076 1,123.044 7,165.055 3	3.21	氨基酸	30,60,90,120

表 2 代谢化合物质谱信息

序号	分子式	离子模式	理论原子质量	实际原子质量	误差(×10 ⁻⁶)	样品中保留时间/min	化合物	类型
1	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₃	[M-H] ⁻	535.144 6	535.148 3	8.958 4	45.18	胡黄连苷 I -甲基化	代谢产物
2	C ₃₀ H ₃₆ O ₁₇	[M-H] ⁻	667.186 9	667.180 9	6.914 0	37.86	胡黄连苷 I -葡萄糖醛酸化	代谢产物
3	C ₂₄ H ₂₇ O ₁₁	[M-H] ⁻	490.147 0	490.146 5	8.993 1	3.02	胡黄连苷 I -还原	代谢产物
4	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₆ S	[M-H] ⁻	591.101 4	591.103 3	1.565 1	23.66	胡黄连苷 II -磺酸化	代谢产物
5	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₉	[M-H] ⁻	687.176 7	687.177 8	3.214 3	19.99	胡黄连苷 II -葡萄糖醛酸化	代谢产物
6	C ₂₃ H ₂₇ O ₁₃	[M-H] ⁻	510.136 8	510.131 7	1.600 8	47.12	胡黄连苷 II -还原	代谢产物
7	C ₂₅ H ₃₀ O ₁₆ S	[M+H] ⁺	619.132 7	619.132 0	2.040 2	47.59	胡黄连苷 III -磺酸化	代谢产物
8	C ₃₁ H ₃₈ O ₁₉	[M+H] ⁺	715.208 0	715.201 9	1.130 6	23.79	胡黄连苷 III -葡萄糖醛酸化	代谢产物
9	C ₈ H ₈ O ₇ S	[M-H] ⁻	246.990 7	246.991 8	5.388 1	15.20	香草酸-磺酸化	代谢产物
10	C ₉ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	181.049 5	181.049 8	4.453 6	12.03	香草酸-甲基化	代谢产物
11	C ₁₄ H ₁₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	343.066 0	343.067 6	1.657 0	6.78	香草酸-葡萄糖醛酸化	代谢产物
12	C ₈ H ₇ O ₄	[M-H] ⁻	166.026 1	166.021 9	4.663 8	22.76	香草酸-还原	代谢产物
13	C ₁₅ H ₂₀ O ₇	[M-H] ⁻	311.112 5	311.114 0	0.673 2	42.23	云杉素-甲基化	代谢产物
14	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₃	[M-H] ⁻	473.129 0	473.125 5	4.821 4	53.82	云杉素-葡萄糖醛酸化	代谢产物
15	C ₁₄ H ₁₇ O ₇	[M-H] ⁻	296.089 1	296.086 5	7.397 6	2.62	云杉素-还原	代谢产物
16	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁ S	[M+H] ⁺	423.095 6	423.095 0	0.291 4	4.28	针叶素-磺酸化	代谢产物
17	C ₁₇ H ₂₄ O ₈	[M+H] ⁺	357.154 4	357.151 1	1.418 1	22.66	针叶素-甲基化	代谢产物

续表2:

序号	分子式	离子模式	理论原子质量	实际原子质量	误差($\times 10^6$)	样品中保留时间/min	化合物	类型
18	C ₂₂ H ₃₀ O ₁₄	[M+H] ⁺	519.170 8	519.175 7	9.239 8	48.79	针叶素-葡萄糖醛酸化	代谢产物
19	C ₁₆ H ₂₁ O ₈	[M+H] ⁺	342.130 9	342.130 0	9.438 0	4.09	针叶素-还原	代谢产物
20	C ₁₅ H ₂₀ O ₁₁ S	[M+H] ⁺	409.079 9	409.078 9	0.607 7	4.02	草夹竹桃苷-磺酸化	代谢产物
21	C ₁₆ H ₂₂ O ₈	[M+H] ⁺	343.138 7	343.135 5	2.444 5	20.17	草夹竹桃苷-甲基化	代谢产物
22	C ₂₁ H ₂₈ O ₁₄	[M+H] ⁺	505.155 2	505.155 8	9.325 8	54.82	草夹竹桃苷-葡萄糖醛酸化	代谢产物
23	C ₁₅ H ₁₉ O ₈	[M+H] ⁺	328.115 3	328.117 8	1.187 8	43.15	草夹竹桃苷-还原	代谢产物
24	C ₁₅ H ₂₂ O ₁₂ S	[M+H] ⁺	427.090 5	427.094 0	4.321 1	2.99	桃叶珊瑚苷-磺酸化	代谢产物
25	C ₁₆ H ₂₄ O ₉	[M+H] ⁺	361.149 3	361.147 6	8.194 9	55.79	桃叶珊瑚苷-甲基化	代谢产物
26	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₅	[M+H] ⁺	523.165 7	523.169 7	4.707 2	48.47	桃叶珊瑚苷-葡萄糖醛酸化	代谢产物
27	C ₁₅ H ₂₁ O ₉	[M+H] ⁺	346.125 8	346.123 8	7.645 7	4.03	桃叶珊瑚苷-还原	代谢产物
28	C ₁₂ H ₁₆ O ₁₀ S	[M+H] ⁺	353.053 7	353.056 3	6.224 9	25.89	熊果苷-磺酸化	代谢产物
29	C ₁₄ H ₁₆ O ₁₂ S	[M+H] ⁺	409.043 5	409.041 0	6.381 3	3.73	矮茶素-磺酸化	代谢产物
30	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	[M+H] ⁺	343.102 4	343.104 7	6.111 9	46.56	矮茶素-甲基化	代谢产物
31	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₅	[M+H] ⁺	505.118 8	505.116 8	6.703 5	46.87	矮茶素-葡萄糖醛酸化	代谢产物
32	C ₁₅ H ₂₂ O ₁₃ S	[M+H] ⁺	443.085 4	443.082 6	3.855 4	51.19	梓醇-磺酸化	代谢产物
33	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	[M+H] ⁺	377.144 2	377.144 5	6.319 4	21.47	梓醇-甲基化	代谢产物
34	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₆	[M+H] ⁺	539.160 7	539.164 9	0.795 5	53.61	梓醇-葡萄糖醛酸化	代谢产物
35	C ₃₀ H ₄₇ O ₄	[M-H] ⁻	470.339 1	470.336 8	6.152 5	55.07	常春藤皂苷-还原	代谢产物
36	C ₆ H ₆ O ₅ S	[M+H] ⁺	191.000 9	191.001 6	8.104 8	33.85	对苯二酚-磺酸化	代谢产物
37	C ₇ H ₈ O ₂	[M+H] ⁺	125.059 7	125.059 8	3.664 9	4.02	对苯二酚-甲基化	代谢产物
38	C ₁₂ H ₁₄ O ₈	[M+H] ⁺	287.076 1	287.076 7	0.799 6	33.47	对苯二酚-葡萄糖醛酸化	代谢产物
39	C ₆ H ₅ O ₂	[M+H] ⁺	110.036 2	110.035 4	2.090 0	49.92	对苯二酚-还原	代谢产物
40	C ₂₀ H ₃₀ O ₃ S	[M+H] ⁺	479.355 3	479.355 4	2.407 4	43.60	β -谷甾醇-磺酸化	代谢产物
41	C ₃₀ H ₅₂ O	[M+H] ⁺	429.409 1	429.406 9	0.208 6	59.75	β -谷甾醇-甲基化	代谢产物
42	C ₃₅ H ₅₈ O ₆	[M+H] ⁺	575.430 6	575.430 6	5.123 3	30.75	β -谷甾醇-葡萄糖醛酸化	代谢产物
43	C ₁₅ H ₁₈ O ₁₀ S	[M-H] ⁻	389.053 7	389.050 3	9.382 1	4.06	苦味素-磺酸化	代谢产物
44	C ₁₆ H ₂₀ O ₇	[M-H] ⁻	323.112 5	323.113 7	8.739 2	60.22	苦味素-甲基化	代谢产物
45	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₃	[M-H] ⁻	485.129 0	485.124 3	3.713 9	46.81	苦味素-葡萄糖醛酸化	代谢产物
46	C ₁₅ H ₁₇ O ₇	[M-H] ⁻	308.089 1	308.086 2	9.688 2	2.86	苦味素-还原	代谢产物
47	C ₁₅ H ₁₀ O ₁₀ S	[M+H] ⁺	383.006 7	383.005 2	0.330 0	42.22	草棉黄素-磺酸化	代谢产物
48	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	[M+H] ⁺	317.065 6	317.068 6	3.916 4	3.39	草棉黄素-甲基化	代谢产物
49	C ₁₅ H ₉ O ₇	[M+H] ⁺	302.042 1	302.043 9	9.461 7	3.55	草棉黄素-还原	代谢产物
50	C ₃₀ H ₃₆ O ₁₈	[M+H] ⁺	685.197 4	685.193 4	2.356 8	48.84	葡萄糖苷-葡萄糖醛酸化	代谢产物
51	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁ S	[M+H] ⁺	423.095 6	423.095 0	2.622 9	4.28	松柏苷-磺酸化	代谢产物
52	C ₁₇ H ₂₄ O ₈	[M+H] ⁺	357.154 4	357.151 1	1.418 1	22.66	松柏苷-甲基化	代谢产物
53	C ₂₂ H ₃₀ O ₁₄	[M+H] ⁺	519.170 8	519.175 7	9.239 8	48.79	松柏苷-葡萄糖醛酸化	代谢产物
54	C ₁₆ H ₂₁ O ₈	[M+H] ⁺	342.130 9	342.130 0	9.438 0	4.09	松柏苷-还原	代谢产物
55	C ₁₀ H ₁₂ O ₆ S	[M-H] ⁻	259.027 1	259.028 3	6.142 8	49.58	针叶醇-磺酸化	代谢产物
56	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	[M-H] ⁻	193.085 9	193.086 4	4.632 7	46.63	针叶醇-甲基化	代谢产物
57	C ₁₆ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	355.102 4	355.102 5	2.589 5	28.58	针叶醇-葡萄糖醛酸化	代谢产物
58	C ₁₀ H ₁₁ O ₃	[M-H] ⁻	178.062 4	178.063 0	0.281 6	2.92	针叶醇-还原	代谢产物
59	C ₁₅ H ₂₀ O ₅ S	[M+H] ⁺	313.110 4	313.113 4	0.857 8	3.04	异土木香内酯-磺酸化	代谢产物
60	C ₁₆ H ₂₂ O ₂	[M+H] ⁺	247.169 3	247.166 8	9.581 2	50.73	异土木香内酯-甲基化	代谢产物
61	C ₂₁ H ₂₈ O ₈	[M+H] ⁺	409.185 7	409.182 4	10.114 6	43.19	异土木香内酯-葡萄糖醛酸化	代谢产物
62	C ₁₅ H ₁₉ O ₂	[M+H] ⁺	232.145 8	232.144 5	8.064 9	42.16	异土木香内酯-还原	代谢产物
63	C ₁₅ H ₂₀ O ₅ S	[M+H] ⁺	313.110 4	313.113 4	0.857 8	3.04	土木香内酯-磺酸化	代谢产物
64	C ₁₆ H ₂₂ O ₂	[M+H] ⁺	247.169 3	247.166 8	9.581 2	50.73	土木香内酯-甲基化	代谢产物

续表2:

序号	分子式	离子模式	理论原子质量	实际原子质量	误差($\times 10^{-6}$)	样品中保留时间/min	化合物	类型
65	C ₂₁ H ₂₈ O ₈	[M+H] ⁺	409.185 7	409.182 4	10.114 6	43.19	土木香内酯-葡萄糖醛酸化	代谢产物
66	C ₁₅ H ₁₉ O ₂	[M+H] ⁺	232.145 8	232.144 5	8.064 9	42.16	土木香内酯-还原	代谢产物
67	C ₁₈ H ₃₂ O ₅ S	[M+H] ⁺	361.204 3	361.201 8	8.236 8	46.84	亚油酸-磺酸化	代谢产物
68	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	[M+H] ⁺	295.263 2	295.262 7	6.921 3	63.02	亚油酸-甲基化	代谢产物
69	C ₂₄ H ₄₀ O ₈	[M+H] ⁺	457.279 6	457.275 4	1.693 4	52.75	亚油酸-葡萄糖醛酸化	代谢产物
70	C ₁₈ H ₃₁ O ₂	[M+H] ⁺	280.239 7	280.238 0	9.184 8	32.80	亚油酸-还原	代谢产物
71	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	[M+H] ⁺	293.247 5	293.247 3	7.878 7	60.91	亚麻酸-甲基化	代谢产物
72	C ₂₄ H ₃₈ O ₈	[M+H] ⁺	455.263 9	455.268 2	0.682 0	2.21	亚麻酸-葡萄糖醛酸化	代谢产物
73	C ₁₈ H ₂₉ O ₂	[M+H] ⁺	278.224 0	278.225 2	9.445 0	33.19	亚麻酸-还原	代谢产物
74	C ₁₈ H ₃₄ O ₅ S	[M-H] ⁻	361.204 3	361.202 7	8.533 3	43.97	油酸-磺酸化	代谢产物
75	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	[M-H] ⁻	295.263 2	295.261 4	4.429 6	21.12	油酸-甲基化	代谢产物
76	C ₁₈ H ₃₃ O ₂	[M-H] ⁻	280.239 7	280.237 0	6.096 3	53.63	油酸-还原	代谢产物
77	C ₈ H ₈ O ₅	[M-H] ⁻	183.028 8	183.029 3	4.141 7	2.82	没食子酸-甲基化	代谢产物
78	C ₇ H ₆ O ₉ S	[M-H] ⁻	264.964 9	264.965 6	2.731 8	3.46	没食子酸-磺酸化	代谢产物
79	C ₁₃ H ₁₄ O ₁₁	[M-H] ⁻	345.045 2	345.046 5	2.641 9	5.08	没食子酸-葡萄糖醛酸化	代谢产物
80	C ₇ H ₅ O ₅	[M-H] ⁻	168.005 3	168.001 6	3.767 6	3.56	没食子酸-还原	代谢产物
81	C ₁₄ H ₆ O ₁₁ S	[M+H] ⁺	382.970 4	382.974 6	3.140 5	2.95	鞣花酸-磺酸化	代谢产物
82	C ₂₀ H ₁₄ O ₁₄	[M+H] ⁺	479.045 6	479.040 8	10.966 8	44.17	鞣花酸-葡萄糖醛酸化	代谢产物
83	C ₁₄ H ₅ O ₈	[M+H] ⁺	190.041 3	190.049 9	10.020 0	6.34	鞣花酸-还原	代谢产物
84	C ₂₁ H ₂₀ ClNO ₄	[M+H] ⁺	386.115 4	386.111 8	5.862 2	3.02	盐酸小檗碱-甲基化	代谢产物
85	C ₂₀ H ₁₈ ClNO ₅ S	[M+H] ⁺	452.056 5	452.059 0	9.323 7	4.25	盐酸小檗碱-磺酸化	代谢产物
86	C ₂₆ H ₂₆ ClNO ₁₀	[M+H] ⁺	548.131 8	548.133 5	5.530 3	44.82	盐酸小檗碱-葡萄糖醛酸化	代谢产物
87	C ₂₂ H ₂₂ O ₆	[M+H] ⁺	383.148 9	383.142 1	2.980 0	47.02	姜黄素-甲基化	代谢产物
88	C ₂₁ H ₁₉ O ₆	[M+H] ⁺	368.125 4	368.127 4	17.748 0	2.30	姜黄素-还原	代谢产物
89	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₈	[M-H] ⁻	647.087 9	647.089 4	8.371 8	2.40	柯里拉京-甲基化	代谢产物
90	C ₃₃ H ₃₀ O ₂₄	[M-H] ⁻	809.104 3	809.103 3	2.318 1	37.04	柯里拉京-葡萄糖醛酸化	代谢产物
91	C ₂₇ H ₂₁ O ₁₈	[M-H] ⁻	632.064 4	632.064 1	1.235 9	2.56	柯里拉京-还原	代谢产物
92	C ₈ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	205.070 7	205.073 7	5.757 5	27.86	奎宁酸-甲基化	代谢产物
93	C ₇ H ₁₃ O ₉ S	[M-H] ⁻	272.019 7	272.019 8	14.628 9	4.10	奎宁酸-磺酸化	代谢产物
94	C ₁₃ H ₂₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	367.087 1	367.085 8	0.367 6	46.74	奎宁酸-葡萄糖醛酸化	代谢产物
95	C ₇ H ₁₁ O ₆	[M-H] ⁻	190.047 2	190.049 0	3.541 4	3.39	奎宁酸-还原	代谢产物
96	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	[M+H] ⁺	211.096 5	211.096 4	31.965 6	44.08	香叶酸乙酯-甲基化	代谢产物
97	C ₁₀ H ₁₂ O ₇ S	[M+H] ⁺	277.037 6	277.039 9	0.473 7	2.47	香叶酸乙酯-磺酸化	代谢产物
98	C ₁₀ H ₁₁ O ₄	[M+H] ⁺	196.073 0	196.073 2	8.302 1	64.57	香叶酸乙酯-还原	代谢产物
99	C ₃₁ H ₅₀ O ₄	[M+H] ⁺	487.378 2	487.379 7	3.802 6	2.74	山楂酸-甲基化	代谢产物
100	C ₃₀ H ₄₈ O ₇ S	[M+H] ⁺	553.319 4	553.317 0	3.077 7	24.11	山楂酸-磺酸化	代谢产物
101	C ₃₀ H ₄₇ O ₄	[M+H] ⁺	472.354 7	472.359 2	4.337 5	43.77	山楂酸-还原	代谢产物
102	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	[M-H] ⁻	293.247 5	293.249 7	8.594 9	8.13	亚油酸-甲基化	代谢产物
103	C ₁₈ H ₃₂ O ₅ S	[M-H] ⁻	359.188 7	359.187 0	7.502 1	44.05	亚油酸-磺酸化	代谢产物
104	C ₂₄ H ₄₀ O ₈	[M-H] ⁻	455.263 9	455.267 6	4.732 9	29.84	亚油酸-葡萄糖醛酸化	代谢产物
105	C ₈ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	189.075 8	189.073 9	5.712 3	9.43	莽草酸-甲基化	代谢产物
106	C ₇ H ₁₀ O ₈ S	[M+H] ⁺	255.016 9	255.014 4	10.049 0	4.18	莽草酸-磺酸化	代谢产物
107	C ₁₃ H ₁₈ O ₁₁	[M+H] ⁺	351.092 2	351.091 3	9.803 4	40.55	莽草酸-葡萄糖醛酸化	代谢产物
108	C ₇ H ₉ O ₅	[M+H] ⁺	174.052 3	174.054 4	2.563 4	2.10	莽草酸-还原	代谢产物
109	C ₁₆ H ₂₆ O	[M+H] ⁺	235.205 6	235.205 4	42.951 3	49.52	丁基羟基甲苯-甲基化	代谢产物
110	C ₁₅ H ₂₄ O ₄ S	[M+H] ⁺	301.146 8	301.140 6	0.850 3	49.10	丁基羟基甲苯-磺酸化	代谢产物
111	C ₂₁ H ₃₂ O ₇	[M+H] ⁺	397.222 1	397.224 2	20.588 4	63.00	丁基羟基甲苯-葡萄糖醛酸化	代谢产物

续表2:

序号	分子式	离子模式	理论原子质量	实际原子质量	误差($\times 10^{-6}$)	样品中保留时间/min	化合物	类型
112	C ₁₅ H ₂₃ O	[M+H] ⁺	220.182 2	220.181 3	5.286 7	7.58	丁基羟基甲苯-还原	代谢产物
113	C ₃₀ H ₄₈ O ₇ S	[M-H] ⁻	551.303 7	551.300 1	4.724 1	55.23	科罗素酸-磺酸化	代谢产物
114	C ₁₆ H ₃₂ O ₅ S	[M-H] ⁻	335.188 7	335.187 0	8.227 7	45.35	软脂酸-磺酸化	代谢产物
115	C ₂₂ H ₄₀ O ₈	[M-H] ⁻	431.263 9	431.265 5	5.071 8	48.77	软脂酸-葡萄糖醛酸化	代谢产物
116	C ₈ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	167.033 9	167.034 3	0.653 5	3.50	原儿茶酸-甲基化	代谢产物
117	C ₇ H ₆ O ₇ S	[M-H] ⁻	232.975 0	232.976 1	2.394 7	11.44	原儿茶酸-磺酸化	代谢产物
118	C ₃₀ H ₁₈ O ₁₃ S	[M+H] ⁺	619.054 1	619.059 1	2.782 4	2.31	穗花杉双黄酮-磺酸化	代谢产物
119	C ₃₆ H ₃₀ O ₁₆	[M+H] ⁺	715.129 4	715.124 3	8.076 8	40.85	穗花杉双黄酮-葡萄糖醛酸化	代谢产物
120	C ₃₀ H ₁₇ O ₁₀	[M+H] ⁺	394.135 2	394.134 7	7.131 6	17.57	穗花杉双黄酮-还原	代谢产物
121	C ₃₀ H ₁₈ O ₁₃ S	[M+H] ⁺	619.054 1	619.059 1	2.782 4	2.31	扁柏双黄酮-磺酸化	代谢产物
122	C ₃₆ H ₃₀ O ₁₆	[M+H] ⁺	715.129 4	715.124 3	8.076 8	40.85	扁柏双黄酮-葡萄糖醛酸化	代谢产物
123	C ₃₀ H ₁₇ O ₁₀	[M+H] ⁺	394.135 2	394.134 7	7.131 6	17.57	扁柏双黄酮	代谢产物
124	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	[M+H] ⁺	463.123 5	463.127 1	12.024 0	50.97	槲皮苷-甲基化	代谢产物
125	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₇	[M+H] ⁺	625.139 9	625.136 8	7.773 2	48.44	槲皮苷-葡萄糖醛酸化	代谢产物
126	C ₈ H ₈ O ₃	[M+H] ⁺	153.054 6	153.054 3	0.000 0	2.80	4-羟基苯甲酸-甲基化	代谢产物
127	C ₇ H ₆ O ₆ S	[M+H] ⁺	218.995 8	218.995 4	1.960 1	3.75	4-羟基苯甲酸-磺酸化	代谢产物
128	C ₇ H ₅ O ₃	[M+H] ⁺	138.031 1	138.040 0	1.826 5	16.02	4-羟基苯甲酸-还原	代谢产物
129	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	[M+H] ⁺	301.070 7	301.073 5	8.360 8	1.08	山柰素-甲基化	代谢产物
130	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	[M+H] ⁺	463.087 1	463.089 1	9.300 1	48.95	山柰素-葡萄糖醛酸化	代谢产物
131	C ₃₀ H ₄₈ O ₆ S	[M-H] ⁻	535.308 8	535.309 6	8.125 5	55.12	熊果酸-磺酸化	代谢产物
132	C ₃₆ H ₃₀ O ₉	[M-H] ⁻	631.384 1	631.388 7	1.494 5	2.44	熊果酸-葡萄糖醛酸化	代谢产物
133	C ₇ H ₈ O ₂	[M+H] ⁺	125.059 7	125.059 6	1.801 1	2.73	焦性儿茶酚-甲基化	代谢产物
134	C ₁₂ H ₁₄ O ₈	[M+H] ⁺	287.076 1	287.076 6	0.799 6	33.39	焦性儿茶酚-葡萄糖醛酸化	代谢产物
135	C ₄ H ₆ N ₄ O ₆ S	[M+H] ⁺	239.008 1	239.006 7	45.266 4	2.97	尿囊素-磺酸化	代谢产物
136	C ₁₀ H ₁₄ N ₄ O ₉	[M+H] ⁺	335.083 4	335.084 4	5.857 6	22.42	尿囊素-葡萄糖醛酸化	代谢产物
137	C ₄ H ₅ N ₄ O ₃	[M+H] ⁺	158.043 4	158.045 2	2.984 3	3.34	尿囊素-还原	代谢产物
138	C ₁₀ H ₁₃ NO ₃	[M+H] ⁺	196.096 8	196.096 8	4.663 8	3.06	L-酪氨酸-甲基化	代谢产物
139	C ₉ H ₁₁ NO ₆ S	[M+H] ⁺	262.038 0	262.038 4	0.000 0	2.27	L-酪氨酸-磺酸化	代谢产物
140	C ₁₅ H ₁₉ NO ₉	[M+H] ⁺	358.113 3	358.111 3	1.526 5	3.50	L-酪氨酸-葡萄糖醛酸化	代谢产物
141	C ₉ H ₁₀ NO ₃	[M+H] ⁺	149.083 5	149.082 2	5.584 9	3.73	L-酪氨酸-还原	代谢产物

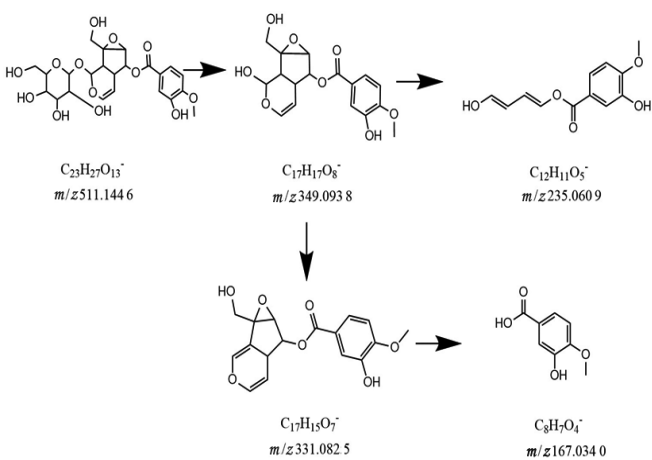
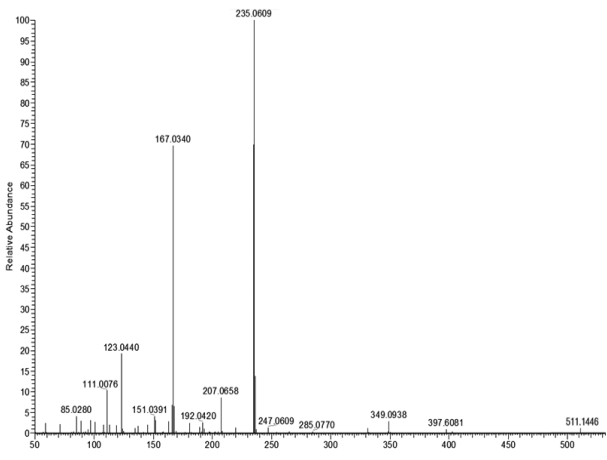


图 4 胡黄连苷 II 二级碎片及裂解途径

黄酮类化合物以扁柏双黄酮为例,其保留时间是45.07 min,准分子离子峰[M-H]⁻为 m/z 539.098 8,分子式C₃₀H₁₈O₁₀。根据扁柏双黄酮的质谱图,其特征性碎片离子有 m/z 287.055 6, 271.057 6, 259.058 8和255.062 9。在扁柏双黄酮结构中,碎片

离子 m/z 287.055 6 C₁₅H₁₀O₆的保留时间为40.16 min,且与母药的碎片离子 m/z 539.098 8相差C₁₅H₈O₄,表明是扁柏双黄酮丢失了C₁₅H₈O₄的代谢产物, m/z 271.057 6是母药通过连续丢失C₁₅H₈O₄和O形成的,而 m/z 255.062 9是母药通过连续丢失

$C_{15}H_8O_4$ 和 O 产生的。碎片离子 m/z 259.058 8 是在 m/z 287.055 6 基础上通过连续丢失 CO 产生的^[19]。(见图 5)

酚酸类化合物原儿茶酸保留时间是 10.09 min, 一级质谱得到原儿茶酸 m/z 153.018 2 $[M-H]^-$ 准分子离子峰, 化学式为 $C_7H_6O_4$, 获得主要二级碎片离子信息为 m/z 109.028 2、 m/z 91.017 5, 2 个离子碎片。在原儿茶酸结构中, 碎片离子 m/z 109.028 2 $C_6H_6O_2$ 的保留时间为 10.09 min, 且与母药的离子碎片丢失了一分子 CO_2 形成了 $[M-H-CO_2]^-$, 表明是原儿茶酸丢失了 CO_2 的代谢产物, 碎片离子 m/z 91.017 5 C_7H_8 的保留时间为 10.09 min, 且与母药的离子碎片丢失了一分子 CO_2 与一分子 H_2O , 形成 $[M-H-H_2O-CO_2]^-$, 表明是原儿茶酸丢失了 CO_2 与 H_2O 的代谢产物^[20-21]。(见图 6)

4 讨论与结论

蒙药材及复方研究的基本困难在于药效物质基础不明, 蒙药口服给药后, 经消化道、肠道菌群作用, 生成一种由蒙药固有成分及其代谢产物组成的混合物, 有的直接被排泄, 有的被选择性吸收, 经肝酶作用进入血液, 通过血液运输到各个器官组织或靶点, 并在达到一定的血药浓度时才能真正起效。可见, 不论蒙药含有多少成分, 只有进入血液的成分才有可能成为有效成分(外用及直接刺激胃肠道药物除外)。因此, 注重蒙药口服后的体内过程, 从体内成分的角度去研究蒙药更为合理。通过分析口服给药后血清中成分, 确定蒙药及复

方的体内直接作用物质, 将成为快速、准确地确定蒙药药效物质基础的有效途径。

本研究通过对蒙药健脾五味丸体外和入血成分进行分析, 确定健脾五味丸体外包含原儿茶酸、没食子酸、胡黄连苷 I、胡黄连苷 II、胡黄连苷 III、鞣花酸、土木香内酯和土木香内酯等在 47 个化学成分, 通过对比给药后不同时间质谱数据, 42 个成分被吸收入血(5 个成分未入血), 39 个成分在 30 min 时入血, 有 3 个成分 120 min 才入血(丁基羟基甲苯、科罗索酸、尿囊素); 姜黄素和熊果酸在 60 min 就检测不到, 说明代谢时间较短。胡黄连苷 I 在 90 min 检测不到, 5 个成分在 120 min 检测不到, 而其余成分在 120 min 仍能检测出。

没食子酸、鞣花酸、原儿茶酸、莽草酸等成分为诃子药材的主要有效成分; 胡黄连苷 I、胡黄连苷 II、胡黄连苷 III、桃叶珊瑚苷、梓醇、草夹竹桃苷、盐酸小檗碱等成分为胡黄连药材的主要有效成分; 土木香内酯、异土木香内酯等成分为土木香药材的有效成分; 原儿茶酸、尿囊素、L-酪氨酸、 β -谷甾醇、熊果酸等成分为五灵脂主要有效成分, 均已入血, 可见对血中移行成分进行研究可为药效物质基础阐释提供科学依据^[22-23]。

综上所述, HPLC-MS/MS 技术不仅可作为蒙药健脾五味丸血中移行成分的分析手段, 而且也为该制剂的药效物质基础研究及质量标准的制定提供一定的参考。但是, 蒙药健脾

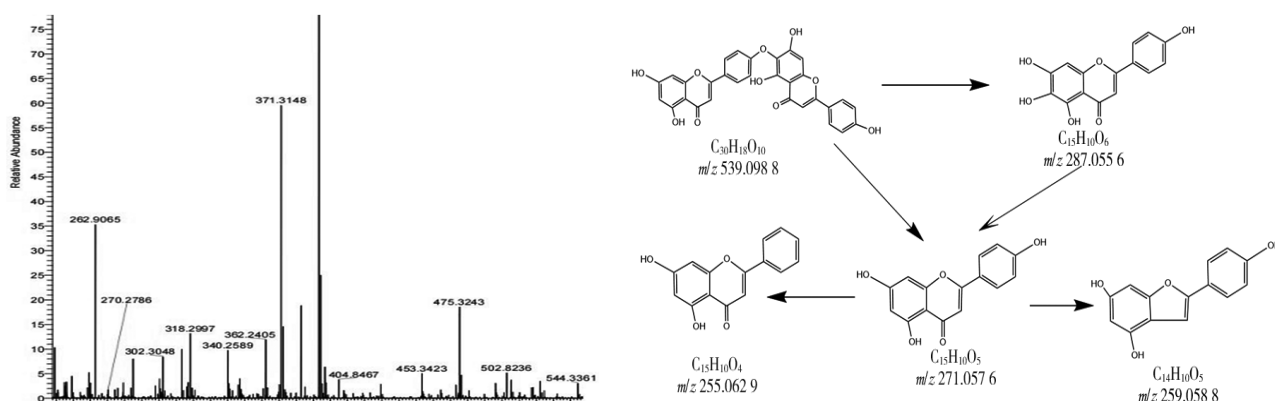


图 5 扁柏双黄酮二级碎片及裂解途径

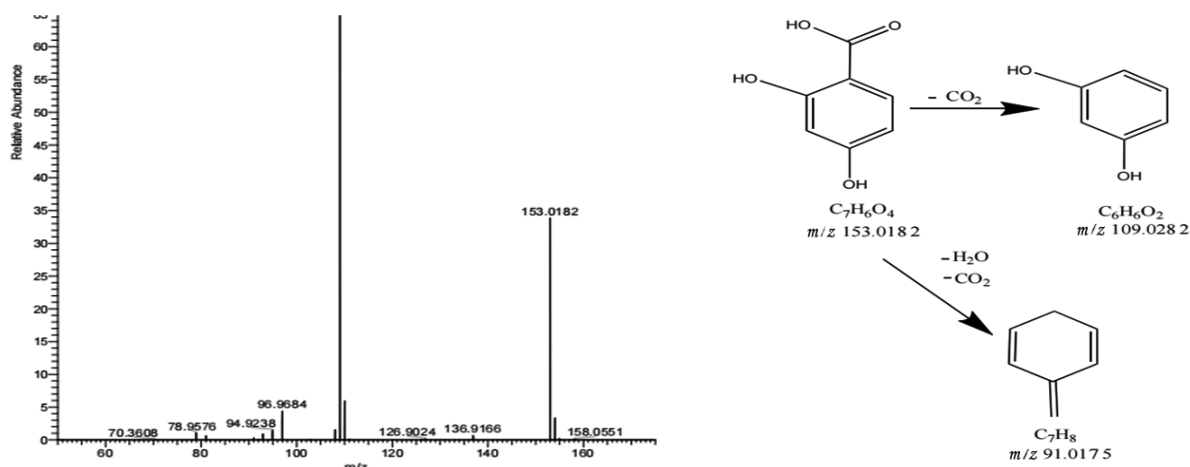


图 6 原儿茶酸二级碎片及裂解途径

五味丸的分析仍存在成分复杂、分离难度大、作用机制欠明确等问题,方中所含矿物药寒水石主要成分是硫酸钙或碳酸钙及微量元素,主要在胃肠道发挥疗效,吸收入血的成分主要是微量元素,参与体内酶的反应,血中移行成分暂时无法运用该方法进行鉴定,需要采用多种方法协同配合完成分析。

参考文献

- [1] 内蒙古卫生厅.内蒙古蒙成药标准[S].赤峰:内蒙古科学技术出版社,1984:337.
- [2] 申凤霞,马云,李倩,等.基于一测多评法的不同药材中6个环烯醚萜苷类成分的含量测定研究[J].天然产物研究与开发,2025,37(1):122-130,64.
- [3] 陈逾佳.藏药十味诃子丸质量标准提升及其血清药化研究[D].成都:成都中医药大学,2022.
- [4] 谭慧敏,周亮,邹慧禅.栀子苷介导GLP-1R/Akt信号通路改善大鼠脑缺血再灌注损伤和神经元凋亡的研究[J].药物评价研究,2022,45(9):1822-1829.
- [5] 范倩,陈雪冰,荣莉,等.山茱萸化学成分、生物活性、复方应用及质量控制研究进展[J].天然产物研究与开发,2020,32(7):1244-1258.
- [6] XU X, WANG W, ZHAO Z, et al. Effects of total iridoid glycosides of *Picrorhiza scrophulariiflora* against non-alcoholic steatohepatitis rats induced by high-fat and high-sugar diet through regulation of lipid metabolism[J]. Chinese Herbal Medicines,2020,12 (1):67-72.
- [7] 戴瑶瑶,闫滨滨,颜雨豪,等.玄参中环烯醚萜类化合物的研究进展[J].中草药,2023,54(9):2993-3003.
- [8] 王喜军.中药及中药复方的血清药物化学研究[J].世界科学技术-中药现代化,2002,4(2):1-4.
- [9] 杨夏,赵桂柱,孙丽君.高效液相法测定蒙成药健脾五味丸中没食子酸的含量[J].临床医药文献电子杂志,2019,6(17):18-19,21.
- [10] 武晓伟,郝艳艳,聂春霞,等.中药血清药物化学的方法学概述及应用领域研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(3):173-179.
- [11] 张雯霞,冯敏,苗雨露,等.中药血清药物化学的应用现状概述[J].药物评价研究,2019,42(7):1448-1453.
- [12] 李国霞,何嘉琪.中药及中药复方的血清药物化学研究[J].现代医学与健康研究电子杂志,2018,2(11):153.
- [13] 朱春璐,王静,乔宇航,等.都梁丸的血清药物化学研究[J].中国现代应用药学,2020,37(4):443-446.
- [14] 周枝.基于血清药物化学和多组学的金银花与山银花的成分差异性分析研究[D].贵阳:贵州大学,2020.
- [15] 孙翠翠.小鼠常规采血方法在实验研究中的应用[J].兽医导刊,2020(11):127.
- [16] 田香,拉喜那木吉拉,哈日呼,等.UHPLC-Q-TOF-MS/MS法鉴定地格达-4味汤中化合物及入血成分[J].中成药,2022,44(3):700-707.
- [17] 牟德华,胡高爽,李存满.UPLC/Q-TOF MS/MS负离子模式下环氧化物型环烯醚萜苷的结构表征[J].质谱学报,2019,40(2):197-207.
- [18] 王知斌,李凯,高岩,等.UPLC-ESI-MS/MS法同时测定黄连中4种环烯醚萜[J].中成药,2019,41(9):2144-2148.
- [19] 陈宇婷.扁柏双黄酮和雷公藤红素的体内外代谢研究及其纳米胶束的制备与评价[D].石家庄:河北医科大学,2020.
- [20] 刘玟君.当归藤抗炎机制及抗炎有效成分的研究[D].南宁:广西中医药大学,2021.
- [21] 苏艺萍,叶向丽,李煌,等.UPLC-MS/MS法同时测定鼠曲草中的咖啡酸、原儿茶酸和绿原酸[J].国际药学研究杂志,2020,47(11):1001-1005.
- [22] 张刘强,韩曼飞,易婧羽,等.西藏黄连根茎的化学成分研究[J].中华中医药杂志,2017,32(5):2070-2074.
- [23] 张清,李荣胜,黄思红,等.基于UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS技术分析黄芪汤颗粒的化学成分与小鼠口服后的入血成分[J].上海中医药杂志,2023,57(9):70-77.
- (收稿日期:2024-07-12 编辑:罗英姣)
- (上接第55页)2016,6:19817.
- [22] DUHON B H, PHAN T T, TAYLOR S L, et al. Current mechanistic understandings of lymphedema and lipedema: Tales of fluid, fat, and fibrosis[J]. Int J Mol Sci,2022,23(12):6621.
- [23] AVRAHAM T, ZAMPELL J C, YAN A L, et al. Th2 differentiation is necessary for soft tissue fibrosis and lymphatic dysfunction resulting from lymphedema [J]. FASEB J,2013,27(3):1114-1126.
- [24] LY C L, NORES G D G, KATARU R P, et al. T helper 2 differentiation is necessary for development of lymphedema[J]. Transl Res,2019,206:57-70.
- [25] BOWMAN C, ROCKSON S G. The role of inflammation in lymphedema: A narrative review of pathogenesis and opportunities for therapeutic intervention[J]. Int J Mol Sci,2024,25(7):3907.
- [26] LI C Y, KATARU R P, MEHRARA B J. Histopathologic features of lymphedema: A molecular review[J]. Int J Mol Sci,2020,21(7):2546.
- [27] MEHRARA B J, PARK H J, KATARU R P, et al. Pilot study of anti-Th2 immunotherapy for the treatment of breast cancer-related upper extremity lymphedema[J]. Biology,2021,10(9):934.
- [28] KATARU R P, BAIK J E, PARK H J, et al. Regulation of immune function by the lymphatic system in lymphedema[J]. Front Immunol,2019,10:470.
- (收稿日期:2024-09-19 编辑:罗英姣)