

基于UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS对白虎加人参汤的全成分分析及化学成分鉴定

王力彬¹, 冯甜², 王芳¹, 张小瑞³

1. 陕西能源职业技术学院 (陕西咸阳 712000)
2. 中国人民解放军空军军医大学天然药化教研室 (西安 710032)
3. 中国人民解放军空军第986医院药剂科 (西安 710032)

【摘要】目的 采用超高效液相串联-四极杆静电场轨道阱质谱 (UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS) 技术, 建立了一种高效的检测方法, 对白虎加人参汤的化学成分进行了分析鉴定。**方法** 采用 Waters UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 在 0.1% 甲酸水溶液和 0.1% 甲酸乙腈溶液中以 0.4 mL·min⁻¹ 的速度进行梯度洗脱, 正负离子模式同时进行检测; 根据一级高分辨质谱准确的质荷比数据、二级高分辨质谱碎片离子、色谱保留时间, 结合文献报道, 对检出的化合物成分进行鉴定。**结果** 检测到 74 个化合物成分, 包含黄酮类、生物碱类、查耳酮类、山酮类、酚类、苯丙素类、萜类、三萜类、环烯醚萜类、氨基酸类、芳香族化合物等。**结论** 利用 UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS 技术对中药复方鉴定, 为其物效机制、药理作用及其质量控制的进一步研究提供了初步的理论依据。

【关键词】 白虎加人参汤; 四极杆静电场轨道阱质谱; 化学组分分析

Analysis and identification of chemical constituents of Baihu-plus-Renshen decoction based on UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS

Li-Bin WANG¹, Tian FENG², Fang WANG¹, Xiao-Rui ZHANG³

1. Shaanxi Energy Institute, Xianyang 712000, Shaanxi Province, China
 2. Department of Materia Medica and Natural Medicines, The PLA Air Force Medical University, Xi'an 710032, China
 3. Department of Pharmacy, The PLA 986th Hospital, Xi'an 710032, China
- Corresponding author: Xiao-Rui ZHANG, Email: wtpierce@163.com

【Abstract】Objective Using UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS technology, an efficient method was established to analyze and identify the chemical constituents of Baihu-plus-Renshen decoction. **Methods** A Waters UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) was performed in 0.1% formic acid aqueous solution (A) and 0.1% formic acid acetonitrile solution (B) at a rate of 0.4 mL·min⁻¹ in gradient elution. Positive and negative ion modes were simultaneously detected. According to the accurate mass-to-charge ratio data of primary high-resolution mass spectrometry, fragment ions of secondary high-resolution mass spectrometry, chromatographic retention time, combined with literature and reports, to identify the

DOI: 10.19960/j.issn.1005-0698.202302010

基金项目: 陕西省自然科学基金项目 (2021JQ-887、2021JQ-888); 陕西省教育厅一般专项项目 (21JK0578)

通信作者: 张小瑞, 硕士, 副主任药师, Email: wtpierce@163.com

compounds which were obtained. **Results** 74 compound components are obtained containing flavonoids, alkaloids, chalcones, xanones, phenols, phenylpropanoids, terpenes, triterpenes, iridoids, amino acid derivatives, aromatic compounds, etc. **Conclusion** UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS technology provides a preliminary theoretical basis for the identification of traditional Chinese medicine compounds, and the further study of their pharmacological mechanisms, pharmacological effects and quality control.

【Keywords】 Baihu-plus-Renshen decoction; UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS; Chemical constituent identification

白虎加人参汤处方由人参(9 g)、知母(18 g)、甘草(6 g)、石膏(45 g)和粳米(12 g)组成,功能清热泻火、益气生津;主治伤寒或温病、里热盛而气阴不足、发热、烦渴、口舌干燥、汗多、脉大无力,以及暑病津气两伤、汗出恶寒、身热而渴等症^[1]。近年来,白虎加人参汤被广泛用于糖尿病的治疗^[2]。

中药方剂服用前需要煎煮,这会极大改变中药方剂的化学成分与比例^[3]。为了明确中药方剂煎煮后的效应物质基础,需要一种技术手段对中药汤剂进行化学组分分析。白虎加人参汤作为传统中药方剂,目前尚无其汤剂的化学组分研究,这对其基础物质研究和临床应用存在着极大问题。超高效液相串联-四极杆静电场轨道阱质谱具有高灵敏度、碎片离子化程度高、选择性强、重现性好等优点。目前被广泛应用于代谢物测定、中药组分分析鉴定研究。本文基于超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱串联质谱(UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS)技术,对白虎加人参汤的中药煎剂进行了化学成分鉴定,确定了其中74种成分。本研究以期为该组方的物效机制、药效基础以及临床开发应用提供理论依据。

1 仪器与试剂

安捷伦 1290 四元超高压液相色谱系统(美国安捷伦公司), Thermo Fisher Scientific Q Exactive Focus 超高分辨质谱仪(美国 Thermo Scientific 公司), Heraeus Fresco17 型高速离心机(美国 Thermo Scientific 公司), BSA124S-CW 型电子天平(德国 Sartorius 公司), YM-080S 型超声仪(深圳市方奥微电子有限公司)。

人参、知母、甘草、石膏等药材购自西京医院药学部中药房(批号分别为 201201、20210701、20210524、2107001), 粳米由空军

军医大学天然药物化学教研室提供,所有中药材经陕西中医药大学药学院宋小妹教授鉴定,均符合中国药典相关标准。甲醇、乙腈(质谱级,德国 CNW 公司), 甲酸(色谱级,美国 Sigma 公司), 超纯水由纯水机(德国 Merck Millipore 公司)制备。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

取人参 9 g、知母 18 g、甘草 6 g、石膏 45 g 和粳米 12 g, 加入纯水 750 mL, 浸泡 30 min, 100 °C 下回流 1 h, 提取 3 次, 合并滤液并过滤。利用旋转蒸发器除去多余水分, 浓缩至 2 g·mL⁻¹。

取 1 mL 浓缩提取液涡旋 30 s 后, 4 °C、13 800 × g 离心 15 min; 取上清 300 μL 于 EP 管中, 加入 1 000 μL 提取液(甲醇:水=4:1); 涡旋 30 s 后冰水浴超声 5 min, 4 °C、13 800 × g 离心 15 min; 取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤; 取 5 μL 进样。

2.2 色谱条件

色谱柱: Waters UPLC BEH C₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm); 柱温: 35 °C; 进样体积: 5 μL; 流动相: 0.1% 甲酸水溶液: 0.1% 甲酸乙腈溶液, 在 Agilent 超高效液相 1290 UPLC 控制下按表 1 程序进行分析; 流速: 0.4 mL·min⁻¹。

2.3 质谱条件

质谱仪能够在控制软件(Xcalibur, Thermo Fisher Scientific)控制下基于 FullScan-ddMS2 功能进行一级、二级质谱数据采集。详细参数: 鞘气速率 45 Arb; 辅助气流速率 15 Arb; 毛细管温度 400 °C; Full ms 分辨率 70 000 FWHM; MS2 分辨率 17 500 FWHM; 循环次数 3; m/z 扫描范围: 100~1 500 Da; 碰撞能量: NCE 模式下 15%, 30%, 45%; 喷雾电压: 4.0 kV(+) 或 -3.6 kV(-)。

表1 白虎加人参汤全成分分析色谱梯度洗脱程序

Table 1. Chromatographic gradient elution procedure for full component analysis of Baihu-jia-Renshen decoction

时间 (min)	0.1%甲酸水溶液 (%)	0.1%甲酸乙腈溶液 (%)
0	95	5
3.5	85	15
6	70	30
6.5	60	40
12	30	70
12.5	25	75
18	0	100
26	95	5
30	95	5

2.4 结果

对白虎加人参汤复方水煎液中进行正负离子检测模式同时扫描, 通过一级质谱的质荷比, 二级质谱的裂解碎片, 对比文献, 初步鉴定化合物 74 个, 11 类。结果见图 1 和表 2。

2.4.1 生物碱类化合物

本试验从白虎加人参汤中鉴定了 2 个生物碱类化合物, 为化合物 3 烟酸和化合物 65 三七素。以化合物 3 烟酸为例分析, 保留时间 $t_R=0.87$ min, 实测值 $[M+H]^+$ (m/z) = 124.039, 二级碎片有 m/z 78.034, 80.049, 96.044。烟酸结构较为简单, 质谱规律清晰, 大多碎片为失去一分子水减去 18 的碎片, 或脱掉羰基减少 28 的碎片。 m/z 96.044 为母离子脱去羰基的碎片, 继续失去一分子水得到 m/z 78.034。结合文献^[4]和 Thermo Scientific 数据库检索分析可知, 推断该化合物为烟酸。

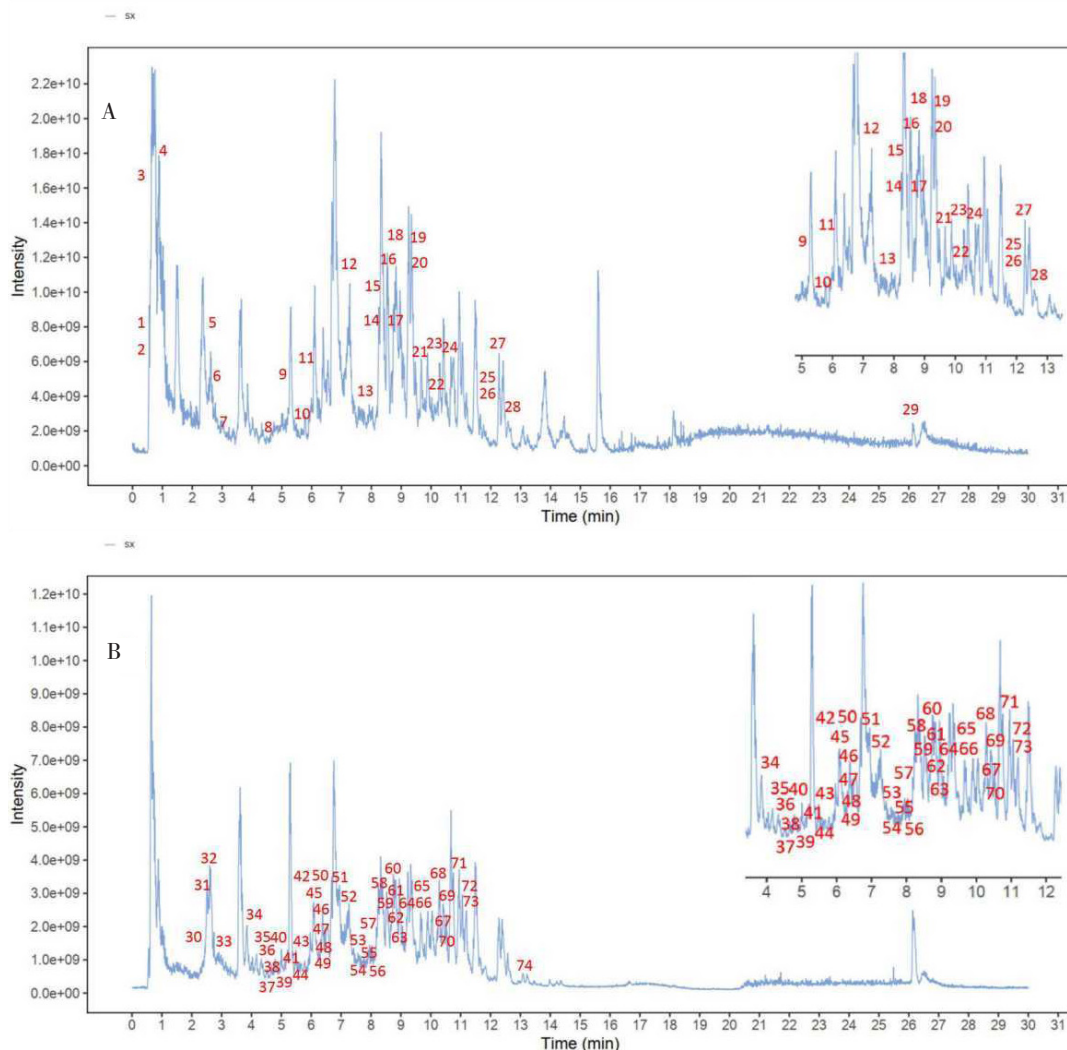


图1 白虎加人参汤基峰正离子模式 (A) 和负离子模式 (B) 的离子流图

Figure 1. Total ion chromatogram of Baihu-jia-Renshen decoction in positive (A) and negative (B) mode

表2 白虎加人参汤UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS鉴定成分

Table 2. Identification components of Baihu-jia-Renshen decoctionin by UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS

序号	化合物	分子式	保留时间 (min)	质荷比	二级碎片质荷比	化合物类别
1	异亮氨酸	C ₆ H ₁₃ NO ₂	0.75	132.102[M+H] ⁺	86.097	氨基酸
2	L-脯氨酸	C ₅ H ₉ NO ₂	0.75	116.071[M+H] ⁺	70.065	氨基酸
3	烟酸	C ₆ H ₅ NO ₂	0.87	124.039[M+H] ⁺	96.044, 80.049	生物碱
4	L-异亮氨酸	C ₆ H ₁₃ NO ₂	1.03	132.102[M+H] ⁺	86.097, 69.069	氨基酸
5	L-色氨酸	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	2.34	205.097[M+H] ⁺	188.073, 170.061, 159.091, 146.059, 132.081, 118.065	氨基酸
6	新芒果苷	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₆	2.62	585.145[M+H] ⁺	567.122, 465.095, 405.088, 369.066, 339.055, 327.049, 303.055, 299.056, 273.041	山酮类
7	芒果苷	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	3.07	423.093[M+H] ⁺	405.081, 339.049, 303.05, 299.056, 273.041, 213.124, 86.096, 70.065	山酮类
8	异芒果苷	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	4.76	423.093[M+H] ⁺	405.082, 387.069, 369.066, 339.055, 303.055, 273.041, 70.065	山酮类
9	甘草苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	5.30	441.115[M+Na] ⁺	423.362, 357.182, 120.082, 92.656, 86.097, 70.065	黄酮类
10	甘草素	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	5.96	257.081[M+H] ⁺	239.069, 211.076, 147.045, 137.023, 119.049, 92.651	黄酮类
11	甘草查尔酮B	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	6.21	287.091[M+H] ⁺	211.061, 193.048, 153.054	查尔酮类
12	拟人参皂苷F ₁₁	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	7.01	801.501[M+H] ⁺	457.364, 439.359, 421.345, 207.175, 143.107, 125.095, 107.085, 85.028, 71.048	萜类
13	异甘草素	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	7.64	257.081[M+H] ⁺	239.069, 211.076, 147.045, 137.023, 119.049, 92.65	查尔酮类
14	人参皂苷R _{g1}	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	8.40	823.482[M+Na] ⁺	643.594, 497.363	萜类
15	山奈素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	8.48	301.071[M+H] ⁺	286.047, 258.052	黄酮类
16	人参皂苷R _{g3}	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	8.75	807.486[M+Na] ⁺	349.113, 89.722	萜类
17	人参皂苷R _{g5}	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	8.85	767.495[M+H] ⁺	423.361, 203.178, 187.149, 129.055, 121.102, 109.101, 95.084, 85.029, 71.049	萜类
18	光甘草酮	C ₂₀ H ₁₆ O ₅	9.11	337.107[M+H] ⁺	319.097, 295.056, 283.061, 267.069, 239.073, 137.023, 109.065, 81.07	黄酮类
19	人参皂苷Re	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	9.22	969.538[M+Na] ⁺	789.486, 365.106, 203.054, 107.726, 92.65, 87.718	萜类
20	甘草皂苷G ₂₀	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₇	9.29	839.405[M+H] ⁺	487.344, 469.329, 451.33, 235.17, 189.164, 141.018, 85.029	萜类
21	人参皂苷Rf	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	9.59	801.497[M+H] ⁺	441.366, 423.362, 143.107, 125.096, 85.029, 71.049	萜类
22	甘草黄酮A	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	10.35	323.128[M+H] ⁺	267.064, 202.985, 189.092	黄酮类
23	竹节人参皂苷IVA	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	10.57	817.436[M+Na] ⁺	379.083, 361.074, 343.062, 269.058, 90.826	萜类
24	甘草查尔酮A	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	10.76	339.159[M+H] ⁺	297.148, 271.091, 245.117, 229.086, 121.029, 107.049, 69.07	黄酮类

续表2

序号	化合物	分子式	保留时间 (min)	质荷比	二级碎片质荷比	化合物类别
25	知母皂苷元	C ₂₇ H ₄₄ O ₃	11.49	417.337[M+H] ⁺	273.221, 255.209, 161.133, 147.118, 125.097, 69.071, 57.034	萜类
26	知母皂苷A-III	C ₃₉ H ₆₄ O ₁₃	11.49	741.443[M+H] ⁺	579.383, 417.337, 399.328, 273.221, 255.209, 145.049, 127.039, 97.028, 91.039, 85.029, 61.029	萜类
27	人参皂苷Rk ₁	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	12.35	789.474[M+Na] ⁺	365.103, 87.721	萜类
28	20(S)-人参皂苷 CK	C ₃₆ H ₆₂ O ₈	12.60	645.433[M+Na] ⁺	71.715	萜类
29	L-缬氨酸	C ₅ H ₁₁ NO ₂	26.14	118.086[M+H] ⁺	95.048, 72.081, 59.073, 58.065	氨基酸
30	肉桂酸	C ₉ H ₈ O ₂	2.58	147.045[M-H] ⁻	119.051	苯丙素类
31	苯乙酸	C ₈ H ₈ O ₂	2.63	135.045[M-H] ⁻	107.049, 91.054	芳香族化合物
32	没食子酸	C ₇ H ₆ O ₅	2.77	169.014[M-H] ⁻	151.004, 125.024	酚类
33	隐绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	3.16	353.088[M-H] ⁻	191.054, 179.035, 173.045, 135.046, 93.036	苯丙素类
34	邻香豆酸	C ₉ H ₈ O ₃	3.98	163.040[M-H] ⁻	135.046, 119.051, 91.055	苯丙素类
35	豆苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	4.45	461.110[M-H] ⁻	299.056, 284.031	黄酮类
36	异荭草素	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	4.58	447.095[M-H] ⁻	357.061, 327.051, 299.056, 285.042	黄酮类
37	龙胆苦苷	C ₁₆ H ₂₀ O ₉	4.65	355.104[M-H] ⁻	177.055, 149.019, 119.009	环烯醚萜类
38	棉花皮苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	4.75	479.083[M-H] ⁻	345.048, 327.056, 315.051, 287.056, 53.234	黄酮类
39	荭草苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	4.76	447.094[M-H] ⁻	327.051, 299.056, 297.041	黄酮类
40	土荆皮乙酸	C ₂₃ H ₂₈ O ₈	4.77	431.169[M-H] ⁻	280.947, 113.024, 92.672, 79.99, 74.295, 72.989	萜类
41	刺五加苷E	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	5.00	787.270[M+HCOO] ⁻	579.205, 417.153, 181.052, 166.028	苯丙素类
42	牡荆素	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	5.22	431.099[M-H] ⁻	341.066, 311.054, 283.062, 92.674	黄酮类
43	金丝桃苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	5.62	463.089[M-H] ⁻	331.047, 301.034, 271.027, 259.026	黄酮类
44	射干苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	5.87	461.110[M-H] ⁻	321.005, 299.056, 284.031, 92.673	黄酮类
45	洋地黄皂苷	C ₃₆ H ₆₂ O ₂₉	6.21	1227.566[M-H] ⁻	933.473, 771.416, 113.025, 101.024, 89.025	萜类
46	黄豆黄苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	6.44	445.115[M-H] ⁻	283.062, 268.039, 224.05	黄酮类
47	异牡荆素	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	6.45	431.099[M-H] ⁻	341.066, 311.054, 283.062, 92.673	黄酮类
48	蒙花苷	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₄	6.47	591.174[M-H] ⁻	255.066, 153.019, 135.008, 119.051, 65.689	黄酮类
49	异甘草苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	6.55	417.120[M-H] ⁻	255.067, 148.017, 135.009, 119.051	查尔酮类
50	知母皂苷BII	C ₄₅ H ₇₆ O ₁₉	6.77	919.492[M-H] ⁻	757.429, 595.38, 101.023, 85.029, 71.014	萜类
51	苍术苷A	C ₂₁ H ₃₆ O ₁₀	7.03	493.229[M+HCOO] ⁻	447.225, 315.184, 161.044, 101.023, 85.03, 71.015, 59.014	萜类
52	橙皮素	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	7.21	301.072[M-H] ⁻	286.049, 269.049, 257.045, 92.67	黄酮类
53	人参皂苷F ₃	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₃	7.49	815.480[M+HCOO] ⁻	769.473, 637.431, 89.025, 71.014, 59.014	萜类
54	蒺藜皂苷K	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₄	7.68	1077.513[M-H] ⁻	915.456, 753.409	三萜类
55	(S)-柚皮素	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	7.92	271.061[M-H] ⁻	177.019, 165.056, 151.004, 119.051, 107.014, 93.036	黄酮类

续表2

序号	化合物	分子式	保留时间 (min)	质荷比	二级碎片质荷比	化合物类别
56	人参皂苷Rh ₁	C ₃₆ H ₆₂ O ₉	7.99	683.438[M+HCOO] ⁻	637.43, 571.495, 320.374, 269.598, 101.023, 92.066, 76.503, 71.014, 59.014	萜类
57	山奈酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	8.10	285.040[M-H] ⁻	185.063, 151.004, 109.029	黄酮类
58	人参皂苷Rb ₁	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	8.54	1153.599[M+HCOO] ⁻	1107.589, 945.547, 783.483, 621.434, 221.067, 179.055, 161.045, 119.036, 113.026, 101.024, 89.025	萜类
59	人参皂苷Rc	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	8.67	1077.588[M-H] ⁻	945.524, 783.506, 621.436, 191.056, 149.044, 131.035, 101.024, 89.026	萜类
60	人参皂苷Rg ₂	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	8.75	783.490[M-H] ⁻	475.377, 113.024, 101.024, 71.014, 59.014	萜类
61	人参皂苷RO	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	8.80	955.493[M-H] ⁻	793.437, 569.386, 523.375, 455.359, 99.009, 89.025, 71.014	萜类
62	人参皂苷Rb ₂	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	8.85	1123.595[M+HCOO] ⁻	1077.556, 945.549, 783.486, 191.056, 149.046, 131.035, 89.026	萜类
63	人参皂苷F ₁	C ₃₆ H ₆₂ O ₉	8.96	683.439[M+HCOO] ⁻	637.43, 475.378, 161.046, 101.024, 85.03, 71.014, 59.014	萜类
64	木皂苷A	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₈	9.03	925.482[M-H] ⁻	613.374, 569.386, 89.026, 71.014	萜类
65	三七素	C ₈ H ₈ N ₂ O ₅	9.43	174.956[M-H] ⁻	146.962, 130.875, 118.966	生物碱
66	异脱水淫羊藿素	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	9.79	367.120[M-H] ⁻	352.096, 329.233, 309.041, 297.041, 92.675	黄酮类
67	去水淫羊藿黄素	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	10.24	367.120[M-H] ⁻	352.095, 309.04, 297.041, 284.031, 203.071, 148.017, 92.673	黄酮类
68	新补骨脂异黄酮	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	10.36	321.114[M-H] ⁻	306.089, 266.057, 199.077, 175.077, 145.03, 133.03, 121.029, 107.052	黄酮类
69	黄腐酚	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	10.57	353.140[M-H] ⁻	297.041, 284.032	黄酮类
70	马卡因	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	10.64	283.062[M-H] ⁻	268.039, 153.022, 135.009, 91.019	黄酮类
71	人参皂苷Rg ₃	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	10.96	783.490[M-H] ⁻	637.428, 475.377, 161.046, 113.024, 101.024, 85.029, 71.014, 59.014	萜类
72	地肤子皂苷	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₃	11.14	763.430[M-H] ⁻	613.377, 569.377, 89.025, 71.014, 59.014	萜类
73	光甘草定	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	11.32	323.129[M-H] ⁻	201.093, 187.112, 135.009, 91.019	黄酮类
74	桑黄酮	C ₂₅ H ₂₆ O ₆	13.01	421.166[M-H] ⁻	331.047, 301.038, 227.072, 193.086, 149.097, 125.097, 92.671	黄酮类

2.4.2 氨基酸类化合物

本试验从白虎加人参汤中鉴定了 5 个氨基酸类化合物, 分别为异亮氨酸、L- 脯氨酸、L- 异亮氨酸、L- 色氨酸、L- 缬氨酸。5 种氨基酸均在正离子模式下发现, 保留时间分别为 0.75, 0.75, 1.03, 2.34, 26.14 min。二级碎片中均有 [M+H-COOH]⁺ 或 [M+H-NH₃]⁺[5]。

2.4.3 酚类化合物

本试验从白虎加人参汤中鉴定了 1 个酚类化合物, 为化合物 32 没食子酸。t_R=2.77 min, 实测值 [M-H]⁻ (m/z) =169.041, 二级碎片为 151.004 和 125.024。负离子模式下, 母离子脱掉一分子水得到碎片 151.004。母离子脱掉 -COO⁻ 后得到碎片 125.024[6]。

2.4.4 苯丙素类化合物

本试验从白虎加人参汤中鉴定了4个苯丙素类化合物,分别为肉桂酸、隐绿原酸、邻香豆酸、刺五加苷E。以隐绿原酸为例分析, $t_R=3.16$ min, 实测值 $[M-H]^- (m/z)=353.088$, 二级碎片为191.054, 179.035, 173.045, 135.046, 93.036。结合文献^[7-8]报道, 碎片191.054为 $C_7H_{11}O_6 \cdot$, 继续脱掉一分子水后得到碎片173.035。碎片179.035为 $C_9H_7O_4 \cdot$, 继续脱掉 $-COO \cdot$ 后得到碎片 m/z 135.046, 侧链与羟基进一步脱去后得到的碎片为 $C_6H_5O^-$, m/z 为93.036。

2.4.5 查尔酮类化合物

本试验从白虎加人参汤中鉴定了3个查尔酮类化合物,分别为甘草查尔酮B、异甘草素、异甘草苷。以异甘草素为例分析, $t_R=7.64$ min, 实测值 $[M+H]^+ (m/z)=257.081$, 二级碎片为239.069, 211.076, 147.045, 137.023, 119.049, 92.65。母离子脱去一分子水得到碎片239.069。结合文献^[9-10]可知137.023, 119.049, 92.65 3个碎片为异甘草素常见质谱二级碎片, 分别为 $C_7H_5O_3^+$, $C_8H_7O \cdot$, $C_6H_4O \cdot$ 故确定该结构为异甘草素。

2.4.6 芳香族化合物

本试验从白虎加人参汤中鉴定了1个芳香族化合物, 为化合物31苯乙酸。 $t_R=2.63$ min, 实测值 $[M-H]^- (m/z)=135.045$, 二级碎片为107.049, 91.054。母离子脱掉羧基得到碎片107.049, 继续脱掉 O^- 离子得到碎片91.054。

2.4.7 环烯醚萜类化合物

本试验从白虎加人参汤中鉴定了1个环烯醚萜类化合物, 为化合物37龙胆苦苷。 $t_R=4.65$ min, 实测值 $[M-H]^- (m/z)=355.104$, 二级碎片为177.055, 149.019, 119.009。龙胆苦苷醚键断裂后得到碎片 $C_{10}H_9O_3 \cdot$, m/z 为177.055, 该碎片支链脱去后得到碎片 $C_8H_5O_3 \cdot$, m/z 为149.019, 继续裂解得到碎片 $C_7H_3O_{22} \cdot$, m/z 为119.009。结合文献^[11]可知, 该化合物为龙胆苦苷。

2.4.8 萜类化合物

本试验从白虎加人参汤中鉴定了27个萜类化合物, 分别为拟人参皂苷 F_{11} 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{g3} 、人参皂苷 R_{g5} 、人参皂苷 R_e 、甘草皂苷 G_{20} 、人参皂苷 R_f 、竹节人参皂苷 IVA 、知母皂苷元、知母皂苷 $A-III$ 、人参皂苷 R_{k1} 、 $20(S)-$

人参皂苷 CK 、土荆皮乙酸、洋地黄皂苷、知母皂苷 BII 、苍术苷 A 、人参皂苷 F_3 、人参皂苷 R_{h1} 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_c 、人参皂苷 R_{g2} 、人参皂苷 RO 、人参皂苷 R_{b2} 、人参皂苷 F_1 、木皂苷 A 、人参皂苷 R_{g3} 、地肤子皂苷。以人参皂苷 R_{g1} 为例, $t_R=8.4$ min, 实测值 $[M+Na]^+ (m/z)=823.482$, 二级碎片为643.594, 497.363。人参皂苷 R_{g1} 母离子 $[M+Na]^+$ 脱掉 Na^+ 和断掉醚键失去一分子六碳糖后得到碎片 $C_{36}H_{61}O_9 \cdot$, m/z 为643.594。人参皂苷 R_{g1} 母离子 $[M+Na]^+$ 两个醚键断裂失去两分子六碳糖后得到碎片 $C_{30}H_{50}O_4Na \cdot$, m/z 为497.363。结合文献^[12]可知, 该化合物为人参皂苷 R_{g1} 。

2.4.9 三萜类化合物

本试验从白虎加人参汤中鉴定了1个三萜类化合物, 为化合物54 菝葜皂苷 K 。 $t_R=7.68$ min, 实测值 $[M-H]^- (m/z)=1077.513$, 二级碎片为915.456, 753.409。菝葜皂苷母离子断掉醚键失去一分子六碳糖后得到碎片 $C_{45}H_{71}O_{19} \cdot$, m/z 为915.456。菝葜皂苷母离子断掉两个醚键失去两分子六碳糖后得到碎片 $C_{39}H_{60}O_{14}^2 \cdot$, m/z 为753.409^[13]。

2.4.10 山酮类化合物

本试验从白虎加人参汤中鉴定了3个山酮类化合物, 分别为新芒果苷、芒果苷、异芒果苷。与文献对比, 在正离子模式下新芒果苷有二级碎片567.122, 405.088。芒果苷与异芒果苷为同分异构体, 与文献^[14-16]对比, 在正离子模式下存在387.069, 339.049, 303.05, 273.041等主要二级碎片。因此可断定, 化合物6、7、8分别为新芒果苷、芒果苷、异芒果苷。

2.4.11 黄酮类化合物

本试验从白虎加人参汤中鉴定了26个黄酮类化合物, 分别为甘草苷、甘草素、山奈素、光甘草酮、甘草黄酮 A 、甘草查尔酮 A 、豆苷、异荳蔻素、棉花皮苷、荳蔻苷、牡荆素、金丝桃苷、射干苷、黄豆黄苷、异牡荆素、蒙花苷、橙皮素、 $(S)-$ 柚皮素、山奈酚、异脱水淫羊藿素、去水淫羊藿黄素、新补骨脂异黄酮、黄腐酚、马卡因、光甘草定、桑黄酮。以山奈酚为例, $t_R=8.10$ min, 实测值 $[M-H]^- (m/z)=285.040$, 二级碎片为185.063, 151.004, 109.029。山奈酚除了基准离子峰外, 其余二级碎片离子峰的丰度较低, 根据文献^[7, 17]报道, 185.063是其特征性的碎片离子。

3 讨论

中药组方绝对不是各味药材化学成分简单叠加,在共同煎煮过程中,其成分可能会产生复杂的化学变化与比例改变。白虎加人参汤作为传统经典名方,目前尚无其煎煮液的组分鉴定研究,这极大的限制了该组方在临床上的应用与进一步开发。试验完全模拟临床上该组方的组成比例与给药剂型,利用水煎法进行提取,水煎液经过处理后进行化学成分分析。本试验利用 UPLC-Q Exactive Focus 高分辨率液质联用系统,首次对白虎加人参汤煎煮液进行了组分测定。通过对色谱峰精确分子质量、二级碎片离子信息,色谱保留时间,以及结合文献分析对比,确证了 74 个化合物,包括 2 个生物碱类化合物,5 个氨基酸类化合物,1 个酚类化合物,4 个苯丙素类化合物,3 个查尔酮类化合物,1 个芳香族化合物,1 个环烯醚萜类化合物,27 个萜类化合物,1 个三萜类化合物,3 个山酮类化合物,26 个黄酮类化合物。本课题组在获得以上结果的基础上,通过与芒果苷、知母皂苷 A-III、甘草苷、人参皂苷 Rb₁、山奈酚、没食子酸、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rg₁ 等标准品的保留时间与碎片离子对比,数据全部吻合,进一步确证了试验的准确性。本研究对该方剂的再次开发提供了药效物质基础与质量控制信息,确保了该方剂应用中的稳定性、安全性、有效性。

参考文献

- 1 万友生. 寒温统一论(八)[J]. 辽宁中医杂志, 1983, 3(5): 26-28. [Wan YS. On the Unity of Cold and Temperature (VIII)[J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 1983, 3(5): 26-28.] DOI: 10.13192/j.ljtc.1983.05.28.wanysh.011.
- 2 屈楨明, 杨宇峰. 白虎加人参汤治疗 2 型糖尿病的系统评价和 Meta 分析 [J]. 中国处方药, 2022, 20(3): 16-18. [Qu ZM, Yang YF. Systematic review and meta-analysis of baihu and renshen decoction for treatment of type 2 diabetes mellitus[J]. Journal of China Prescription Drug, 2022, 20(3): 16-18.] DOI: 10.3969/j.issn.1671-945X.2022.03.006.
- 3 任美荣. 中药方剂不同提取方法药效成分化学动态变化研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2010.
- 4 黄泽玮, 刘忠莹, 黄瑛, 等. Orbitrap-Elite 高分辨质谱用于减肥及壮阳类保健食品和中成药中 54 种非法添加物的快速筛查及确证 [J]. 中国测试, 2019, 45(1): 71-76. [Huang ZW, Liu ZY, Huang Y, et al. Application of Orbitrap-Elite high resolution mass spectrometry for the rapid screening and confirmation of 54 illegal additives in healthy food and herbal medicines for slimming and anti-impotence[J]. China Measurement & Testing Technology, 2019, 45(1): 71-76.] DOI: 10.11857/j.issn.1674-5124.2018070007.
- 5 秦伟瀚, 刘翔, 阳勇, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 法分析凉山虫草化学成分 [J]. 分析测试学报, 2017, 36(3): 312-318. [Qin WH, Liu X, Yang Y, et al. Analysis of chemical constituents in cordyceps liangshanensis by UPLC-Q-TOF-MS[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2017, 36(3): 312-318.] DOI: 10.3969/j.issn.1004-4957.2017.03.003.
- 6 向进乐, 赵胜娟, 马丽苹, 等. 可食牡丹鲜花酶法制汁及主成分 HPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定 [J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(18): 137-143. [Xiang JL, Zhao SJ, Ma LP, et al. Juice production from fresh tree peony flower by enzyme treatment and its phytochemical identification by HPLC-Q-TOF-MS /MS[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(18): 137-143.] DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.021093.
- 7 严颖, 赵慧, 邹立思, 等. 杜仲雄花化学成分的液相色谱-电喷雾三重四极杆飞行时间质谱分析 [J]. 食品科学, 2018, 39(6): 215-221. [Yang Y, Zhao H, Zou LS, et al. Analysis of chemical constituents in male flowers of Eucommia ulmoides by liquid chromatography coupled with electrospray ionization-triple quadrupole-time of flight-tandem mass spectrometry (LC-ESI-TripleTOF-MS/MS)[J]. Food Science, 2018, 39(6): 215-221.] DOI: 10.7506/spkx1002-6630-201806034.
- 8 Lian WQ, Chun Y, Ping L. Structural characterization and identification of iridoid glycosides, saponins, phenolic acids and flavonoids in Flos Lonicerae Japonicae by a fast liquid chromatography method with diode-array detection and time-of-flight mass spectrometry[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2009, 23(19): 3227-3242. DOI: 10.1002/rcm.4245.
- 9 赵艳敏, 刘素香, 张晨曦, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术的甘草化学成分分析 [J]. 中草药, 2016, 47(12):

- 2061–2068. [Zhao YM, Liu SX, Zhang CX, et al. Analysis on chemical constituents from Glycyrrhizae Radix et Rhizoma by HPLC-Q-TOF-MS[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(12): 2061–2068.] DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.12.007.
- 10 张永, 严安定, 高建. 液质联用技术鉴定甘草提取物中的主要化学成分[J]. 中成药, 2012, 34(6): 1111–1115. [Zhang Y, Yan AD, Gao J. Identification of main chemical constituents in extracts of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma by HPLC/ESI-MS[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2012, 34(6): 1111–1115.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2012.06.030.
- 11 王薛, 陈卓, 向光芳. UPLC-Q-TOFMS 法分析中药龙胆和秦艽的化学成分[J]. 解放军药学学报, 2018, 34(1): 43–47. [Wang X, Chen Z, Xiang GF. Chemical compositions in *Gentiana scabra* and *Gentiana macrophylla* by UPLC-Q-TOFMS[J]. Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2018, 34(1): 43–47.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-9926.2018.01.012.
- 12 王静, 姚长良, 张建青, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 的人参配方颗粒化学成分及指纹图谱研究[J]. 中草药, 2022, 53(11): 3286–3294. [Wang J, Yao CL, Zhang JQ, et al. Study on chemical components and chromatographic fingerprints of Ginseng Dispensing Granules based on UPLC-Q-TOF-MS[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(11): 3286–3294.] DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.11.003.
- 13 郑伟, 王芳旭, 孙欣光, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF/MS 的中药质量研究方法的建立及其应用[C]. 2018 年中国质谱学术大会 (CMSC 2018) 论文集, 2018.
- 14 郭敏群, 严曾豪, 吴灏, 等. 基于 UFLC-Triple-TOF-MS/MS 技术的白虎加桂枝汤化学物质基础[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(10): 134–141. [Guo MQ, Yan ZH, Wu H, et al. Chemical material basis of extract of Baihu Jia Guizhi Tang by UFLC-Triple-TOF-MS / MS[J]. China Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2019, 25(10): 134–141.] DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20190713.
- 15 Peng Y, Zhao L, Lin D, et al. Determination of the chemical constituents of the different processed products of *Anemarrhena asphodeloides* Rhizomes by high-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Biomedical Chromatography, 2016, 30(4): 508–519. DOI: 10.1002/bmc.3575.
- 16 Qiao X, Li R, Song W, et al. A targeted strategy to analyze untargeted mass spectral data: Rapid chemical profiling of *Scutellaria baicalensis* using ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole orbitrap mass spectrometry and key ion filtering[J]. J Chromatogr A, 2016: 83–95. DOI: 10.1016/j.chroma.2016.02.079
- 17 杨洁, 陈纯, 邢建军, 等. 油菜蜂花粉中黄酮类化合物的提取与鉴定[J]. 食品科学, 2010, 31(22): 273–278. [Yang J, Chen C, Xing JJ, et al. Extraction and identification of flavonoids in Rape Bee Pollen[J]. Food Science, 2010, 31(22): 273–278.] DOI: 10.7506/spkx1002-6630-201022058.

收稿日期: 2022 年 06 月 13 日 修回日期: 2022 年 10 月 14 日
本文编辑: 周璐敏 洗静怡