

UHPLC-Q-TOF/MS 法鉴定补肾益智方有效部位化学成分

谢斌¹, 吴学峰^{1,2}, 黄晓兰¹, 周熙¹, 胡英杰³, 吴惠勤^{1*}

[1. 广东省科学院测试分析研究所(中国广州分析测试中心), 广东省分析测试技术公共实验室, 广东省中药质量安全工程技术研究中心, 广东广州 510070; 2. 广东工业大学轻工化工学院, 广东广州 510006; 3. 广州中医药大学科技创新中心, 广东广州 510405]

摘要: 目的 建立 UHPLC-Q-TOF/MS 法鉴定补肾益智方有效部位化学成分。方法 该方有效部位 60% 甲醇提取液的分析采用 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱 (3.0 mm×150 mm, 2.7 μm); 流动相 0.1% 甲酸-乙腈, 梯度洗脱; 体积流量 0.35 mL/min; 柱温 30 °C; 电喷雾离子源; 正负离子扫描。结果 共鉴定出 141 个化合物, 包括 28 个香豆素类、24 个三萜类、16 个芍药苷类、14 个有机酸类、10 个黄酮类、7 个蒽醌类、7 个蒴类、7 个环烯醚萜类、6 个没食子酰类、22 个其他类。结论 该方法快速准确, 较全面阐明补肾益智方有效部位化学成分, 可为其质量控制提供科学依据。

关键词: 补肾益智方; 化学成分; UHPLC-Q-TOF/MS

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)01-0299-12

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.01.057

补肾益智方是由广州中医药大学赖世隆教授主持的国家九五攻关专项课题“补肾法为主治疗阿尔茨海默病的实验和临床研究”所设计的方剂, 由蛇床子、人参、枸杞子、制何首乌、女贞子、牡丹皮、冰片组成, 以平补肾中阴阳为主, 兼顾老年病人气血之不足, 活血通脉, 开窍醒神, 能有效针对阿尔茨海默病的病因病机。现代药理研究发现, 补肾益智方可提高痴呆患者在简易精神测试的分数, 改善阿尔茨海默病模型大鼠的行为障碍和学习能力^[1-2]; 其水煎液的醋酸乙酯部位在体外可抑制 M146L 细胞分泌 β 淀粉样蛋白^[3], 在体内对东莨菪碱致阿尔茨海默病模型小鼠具有改善学习记忆能力的作用^[4-5], 表明该部位是其抗阿尔茨海默病的有效物质。

补肾益智方有效部位组成复杂, 化学成分尚不明确, 制约了该方及有效部位的新药开发。UHPLC-Q-TOF/MS 技术具有高分辨率、高灵敏度和高效的特点, 是定性分析中药复方复杂组分的有力工具^[6]。因此, 本研究采用此技术对补肾益智方有效部位成分进行快速分析鉴定, 以期为其进一步的药效物质基础及质量控制研究提供依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1290 液相色谱-G6540 系列四级杆-飞行时间质谱联用仪 (美国 Agilent 公司, 配置 ESI 电喷雾离子源、Agilent MassHunter Qualitative Analysis B.07.00 软件); TP-114 型电子天平 (德国 Sartorius 公司); KQ2200 型超声波清洗器 (东莞市科桥超声波设备有限公司); H1850R 型离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

1.2 试剂与药物 补肾益智方有效部位由广州中医院大学科创中心根据确定提取工艺^[7]制成干浸膏, 经 HPLC 检测, 其质控指标成分二苯乙烯苷、蛇床子素含量分别为 67.2、10.6 mg/g。蛇床子、人参、枸杞子、制何首乌、女贞子、牡丹皮、冰片由广州中医院大学科创中心提供, 经专家鉴定为正品, 由广州中医院大学科创中心按照补肾益智方有效部位制备方法制成各单味药材干浸膏。大黄素 (批号 110756-201913)、熊果酸 (批号 110742-201823)、槲皮素 (批号 100081-200907)、人参皂苷 Re (批号 110754-201827)、人参皂苷 Rb1 (批号 110704-202028)、人参皂苷 Rg1 (批号 110703-201832)、人参皂苷 Rd (批号 111818-201603)、人参皂苷 Rg3 (批号 110804-201504)、金丝桃苷 (批号 111521-201809)、异槲皮苷 (批号 111809-201804)、二苯乙烯苷 (批号 110844-201109)、红景天苷 (批号 110818-201708)、特女贞苷 (批号 11926-201906)、芍药苷 (批号 110736-202044)、山姜素 (批号 110762-201806)、芦丁 (批号 100080-201811)、欧前胡素 (批号 110826-201918)、原儿茶酸 (批号 110809-201906)、芹菜素 (批号 11901-201603)、6, 7-二羟基香豆素 (批号 110741-201708) 对照品均购自中国食品药品检定研究院; 佛手酚 (批号 RFS-F02611811008)、花椒毒酚 (批号 H-065-181216)、橙皮内酯 (批号 C-097-190927) 对照品均购自成都瑞芬思生物科技有限公司; 水合氧化前胡素 (批号 S-128-180426) 对照品购自上海诗丹德生物技术有限公司。所有对照品纯度均 ≥ 98%。甲醇、乙腈为色谱纯, 购自德

收稿日期: 2022-02-19

基金项目: 广东省科学院建设国内一流研究机构专项资金资助项目 (2020GDASYL-20200103049)

作者简介: 谢斌 (1991—), 男, 博士生, 研究方向为中药药效物质基础。Tel: (020) 87687096, E-mail: xbgzy01@126.com

* 通信作者: 吴惠勤 (1961—), 男, 研究员, 研究方向为有机质谱分析。Tel: (020) 87686536, E-mail: 13802959756@139.com

国 Merck 公司; 纯净水购自屈臣氏集团 (香港) 有限公司; 甲酸为色谱纯, 购自美国 Thermo Fisher 公司。

2 方法

2.1 UHPLC-Q-TOF/MS 分析条件

2.1.1 色谱 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱 (3.0 mm×150 mm, 2.7 μm); 流动相 0.1% 甲酸 (A) -乙腈 (B), 梯度洗脱 (0~4 min, 95% A; 4~10 min, 95%~90% A; 10~15 min, 90% A; 15~40 min, 90%~80% A; 40~70 min, 80%~50% A; 70~80 min, 50%~20% A; 80~85 min, 20%~2% A; 85~87 min, 2% A; 87~87.1 min, 2%~95% A; 87.1~90 min, 95% A); 体积流量 0.35 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样量 5 μL。

2.1.2 质谱 电喷雾离子源 (ESI); 正负离子扫描; 一级质量扫描范围 m/z 100~1 500; 二级质量扫描范围 m/z 50~1 500; 喷雾电压 1 000 V; 毛细管电压 4 000、3 500 V; 毛细管出口电压 150 V; 锥孔电压 65 V; 干燥气温度 300 ℃, 体积流量 8 L/min; 鞘气温度 350 ℃, 体积流量 12 L/min; 碰撞能量梯度 10、20、40 eV。

2.2 供试品溶液制备 取有效部位适量, 粉碎, 混匀, 过 3 号筛, 称取 0.5 g, 置于 10 mL 量瓶中, 加入 60% 甲醇, 超声溶解, 定容, 得到贮备液, 取适量加入 60% 甲醇稀释 10 倍, 得到 5 μg/mL 溶液, 10 ℃、14 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 即得。

2.3 单味药材溶液制备 取蛇床子、人参、枸杞子、制何首乌、女贞子、牡丹皮、冰片适量, 按“2.2”项下方法制备, 即得。

2.4 对照品溶液制备 精密称取大黄素、熊果酸、槲皮素、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Rd、人参皂苷 Rg3、金丝桃苷、异槲皮苷、二苯乙炔苷、红景天苷、特女贞苷、芍药苷、山姜素、芦丁、欧前

胡素、原儿茶酸、芹菜素、6, 7-二羟基香豆素、佛手酚、花椒酚、橙皮内酯、水合氧化前胡素对照品适量, 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 得到贮备液, 临用前取适量混合, 甲醇稀释至质量浓度均为 5 μg/mL, 即得。

2.5 数据分析 根据补肾益智方药味组成, 查阅国内外关于方中各单味中药的相关文献, 建立补肾益智方化合物数据库 (BSYZ-Data), 包括化合物名称、结构、分子式、精确相对分子质量、特征碎片离子及所属化学类型等信息。采用 Agilent MassHunter Qualitative Analysis B. 07. 00 软件中的化合物查找及识别化合物功能, 导入自建补肾益智方数据库 (BSYZ-Data), 选定误差在 5.0×10^{-6} 以内的分子式进行目标化合物匹配, 同时生成各主要色谱峰化学式, 目标化合物的二级质谱图与对照品谱图、安捷伦-诗丹德标准天然产物高分辨质谱标准图谱库等数据库和参考文献进行比对和验证, 无法匹配则在 PubChem 等数据库中检索相同分子式及结构, 并根据色谱峰的分子式、一级精确质量数、二级碎片信息进行结构推导, 确认化学成分。

3 结果

精密吸取“2.2”至“2.4”项下供试品、单味药材、对照品溶液适量, 在“2.1”项条件下进样测定, 总离子流图见图 1, 共鉴定出 141 个化合物, 包括 28 个香豆素类、24 个三萜类、16 个芍药苷类、14 个有机酸类、10 个黄酮类、7 个萜醌类、7 个蔗类、7 个环烯醚萜类、6 个没食子酰类、22 个其他类, 其中 24 个经对照品验证。与单味药材比对后发现, 源于人参的化合物有 23 个, 源于蛇床子的化合物有 33 个, 源于何首乌的化合物有 36 个, 源于牡丹皮的化合物有 30 个, 源于女贞子的化合物有 16 个, 源于枸杞子的化合物有 8 个, 其中 1 个为何首乌和枸杞子共有, 1 个为女贞子和枸杞子共有, 2 个为何首乌和牡丹皮共有, 具体见表 1。

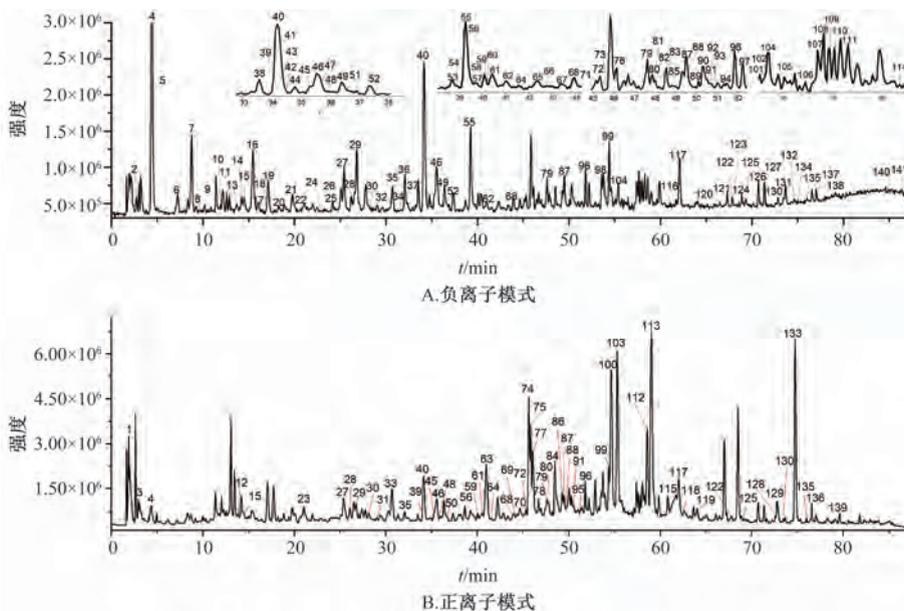


图 1 补肾益智方有效部位 UHPLC-Q-TOF/MS 总离子流图

表1 补肾益智方有效部位化学成分鉴定结果

峰号	保留时间/ min	分子式	离子模式	理论值 m/z	实测值 m/z	主要二级离子碎片 m/z	化合物	类别	归属
1	1.91	C ₃ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	118.0863	118.0864	58.0652	甜菜碱	生物碱类	枸杞子
2	2.69	C ₆ H ₈ O ₇	[M-H] ⁻	191.0197	191.0200	147.0281, 129.0194, 111.0091, 87.0091, 85.0297	柠檬酸	有机酸	枸杞子、何首乌
3	3.06	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ O ₄	[M+H] ⁺	268.1040	268.1037	136.0621, 119.0362, 108.0425, 94.0392	腺苷	生物碱类	枸杞子
4	4.40	C ₇ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	169.0142	169.0144	125.0245, 107.0140, 97.0295	没食子酸	酚酸类	何首乌、牡丹皮
5	4.65	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	331.0671	331.0672	288.9617, 271.0450, 241.0363, 211.0238, 203.0078, 169.0117, 151.0664, 112.9810	没食子酰己糖苷	酚酸苷类	何首乌
6	7.22	C ₈ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	167.0350	167.0355	149.0243, 137.0234, 123.0454, 108.0219, 95.0504	异香兰酸	有机酸类	牡丹皮
7*	8.77	C ₇ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	153.0193	153.0194	123.0453, 109.0296, 91.0192, 81.0348	原儿茶酸	酚酸类	牡丹皮
8	9.69	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	[M-H] ⁻	315.0722	315.0721	153.0193, 107.0139	2,5-二羟基苯甲酸-5-O-β-葡萄糖苷	酚酸苷类	何首乌
9*	11.60	C ₁₄ H ₂₀ O ₇	[M+COOH] ⁻	345.1191	345.1191	299.1137, 179.0544, 119.0353, 101.0242, 89.0244, 71.0141	红景天苷	其他类	女贞子
10	11.97	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₃ S	[M-H] ⁻	543.1178	543.1177	421.0809, 375.0774, 331.0469, 259.0284, 121.0297	芍药苷亚硫酸酯	芍药苷类	牡丹皮
11	12.84	C ₇ H ₆ O ₃	[M-H] ⁻	137.0244	137.0244	93.0348, 65.0396	2,4-二羟基苯甲醛	其他类	牡丹皮
12	13.63	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₂	[M+H] ⁺	247.1441	247.1430	232.0359, 217.0136, 188.0688, 146.0589, 118.0642	羟丙基罂呤	生物碱	何首乌
13	13.69	C ₈ H ₈ O ₅	[M-H] ⁻	183.0299	183.0299	168.0063, 124.0165	没食子酸甲酯	没食子酰类	牡丹皮
14	14.18	C ₉ H ₁₂ O ₄	[M-H] ⁻	183.0663	183.0666	139.0767, 109.0660, 95.0868	4-甲基环己-4-烯-1,2-二羧酸	有机酸类	何首乌
15	14.49	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂	[M-H] ⁻	495.1508	495.1506	465.1382, 477.1362, 137.0243	氧化芍药苷	芍药苷类	牡丹皮
16	15.47	C ₉ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	179.0350	179.0355	135.0455, 107.0511, 79.0556	芥子酸	有机酸类	牡丹皮
17*	15.98	C ₉ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	177.0193	177.0194	149.0253, 133.0294, 121.0294, 105.0345, 89.0401	七叶亭	香豆素类	蛇床子
18	16.96	C ₇ H ₆ O ₂	[M-H] ⁻	121.0295	121.0297	92.0272, 65.0400	水杨醛	其他类	牡丹皮
19	17.13	C ₉ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	179.0350	179.0355	135.0455, 107.0485, 79.0559	咖啡酸	有机酸类	牡丹皮
20	18.97	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₈	[M-H] ⁻	635.0890	635.0893	483.0769, 465.0665, 423.0510, 369.1501, 313.0555, 295.0465, 271.0448, 193.0106, 169.0141, 125.0240	1,3,6-三-O-没食子酰基-β-D-葡萄糖或其同分异构体	没食子酰类	牡丹皮
21	19.71	C ₉ H ₁₂ O ₄	[M-H] ⁻	183.0663	183.0665	139.0764, 121.0659, 95.0868	葡萄糖或其同分异构体	有机酸类	何首乌
22	20.63	C ₂₀ H ₂₈ O ₁₂	[M-H] ⁻	505.1563	505.1560	459.1439, 293.0875, 278.3230, 257.0463, 165.0546, 112.9840	1-甲基环己-4-烯-1,2-二羧酸	有机酸类	何首乌
23	20.90	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M+H] ⁺	355.1024	355.1013	193.0488, 153.0166	丹皮酚原苷或其异构体	芍药苷类	牡丹皮
24	22.78	C ₂₀ H ₂₈ O ₁₂	[M-H] ⁻	505.1563	505.1560	459.1500, 293.0874, 281.0654, 233.0643, 191.0533, 165.0546	丹皮酚原苷或其异构体	其他类	何首乌
25	24.14	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₈	[M-H] ⁻	635.0890	635.0890	483.0769, 465.0679, 313.0565, 295.0462, 271.0457, 211.0250, 193.0145, 169.0145, 151.0051, 125.0240	1,3,6-三-O-没食子酰基-β-D-葡萄糖或其同分异构体	没食子酰类	牡丹皮
26	25.06	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₈	[M-H] ⁻	635.0890	635.0893	483.0773, 465.0666, 423.0581, 313.0561, 271.0464, 235.0259, 211.0251, 193.0143, 169.0142, 137.0228	1,3,6-三-O-没食子酰基-β-D-葡萄糖或其同分异构体	没食子酰类	牡丹皮
27*	25.43	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	[M+COOH] ⁻	525.1614	525.1620	479.1552, 449.1455, 431.1345, 327.1086, 165.0567, 121.0299	芍药苷	芍药苷类	牡丹皮
28	26.26	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₆	[M-H] ⁻	647.1618	647.1623	629.1507, 527.1383, 509.1286, 491.1203, 479.1210, 463.1254, 399.0934, 313.0570, 271.0458, 169.0140, 137.0242	没食子酰-氧化芍药苷	芍药苷类	牡丹皮
29	26.78	C ₂₀ H ₂₂ O ₉	[M-H] ⁻	405.1191	405.1190	243.0663, 201.0525, 137.0236	二苯乙烯苷同分异构体	萜类	何首乌
30	28.19	C ₁₀ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	191.0350	191.0351	176.0111, 148.0161, 120.0207, 104.0266	6-羟基-7-甲氧基香豆素	香豆素类	蛇床子
31	28.89	C ₁₂ H ₁₀ O ₅	[M+H] ⁺	235.0601	235.0593	217.0496, 189.0540, 179.1037, 161.0605, 135.0244	5-羧甲基-7-羟基-2-甲基色原酮	其他类	何首乌
32	29.05	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	421.1140	421.1143	259.0595, 241.0508, 137.0214, 121.0247, 109.0296	6-甲氧基-2-乙酰基-8-O-葡萄糖苷	其他类	何首乌

续表 1

峰号	保留时间/ min	分子式	离子模式	理论值 m/z	实测值 m/z	主要二级离子碎片 m/z	化合物	类别	归属
33	30.35	$C_{14}H_{14}O_5$	$[M+H]^+$	263.091 4	263.090 7	245.074 7, 233.075 8, 217.080 5, 203.064 8, 189.047 8, 175.032 9	芸香亭	香豆素类	蛇床子
34	31.70	$C_{27}H_{32}O_{16}$	$[M-H]^-$	611.161 8	611.160 7	445.099 2, 169.014 3, 165.056 3, 151.003 2, 125.024 3	没食子氧化芍药苷 A	芍药苷类	牡丹皮
35	32.06	$C_{34}H_{38}O_{22}$	$[M-H]^-$	787.099 9	787.107 7	635.088 8, 617.077 9, 465.067 4, 447.056 4, 423.057 9, 405.047 4, 295.044 9, 277.035 2, 169.014 1	四没食子酰葡萄糖	没食子酰类	牡丹皮
36	32.06	$C_{17}H_{20}O_9$	$[M-H]^-$	367.103 5	367.103 8	205.050 6, 187.041 2, 161.060 7, 133.066 8	蛇床苷 A	其他类	蛇床子
37	32.16	$C_{22}H_{18}O_{10}$	$[M-H]^-$	441.082 7	441.082 4	289.072 0, 271.062 0, 245.083 2, 179.034 7, 169.014 2, 151.003 3, 137.024 6	[(2S,3R)-2-(3,4-二羟苯基)-3,5-二羟基-3,4-二氢-2H-色酮-7-基]3,4,5-三羟基苯甲酸 酯或其同分异构体	其他类	何首乌
38	33.54	$C_{27}H_{32}O_{16}$	$[M-H]^-$	611.161 8	611.161 8	445.098 2, 169.014 4, 165.055 4, 151.003 8, 125.024 5	没食子氧化芍药苷 B/D	芍药苷类	牡丹皮
39*	33.97	$C_{27}H_{30}O_{16}$	$[M-H]^-$	609.146 1	609.145 3	301.033 6, 300.027 4, 271.024 5, 255.030 3, 243.029 7, 178.999 2, 151.001 7, 121.026 4	芦丁	黄酮类	枸杞子、女贞子
40*	34.15	$C_{20}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	405.119 1	405.119 0	243.066 4, 137.024 3	二苯乙烯苷	萜类	何首乌
41*	34.34	$C_{21}H_{20}O_{12}$	$[M-H]^-$	463.088 2	463.087 7	301.034 5, 300.026 8, 271.024 8, 255.030 5, 243.064 5, 151.002 4, 121.012 5	异橐皮苷	黄酮类	何首乌
42	34.65	$C_{25}H_{30}O_{15}$	$[M-H]^-$	569.151 2	569.151 7	525.161 8, 389.085 2, 371.097 2, 363.107 8, 357.081 8, 345.097 6, 331.080 7, 221.007 2, 209.045 8, 202.999 6, 195.031 1, 177.019 1, 165.055 0, 151.039 8, 123.044 4	3'-羟基女贞苷酸	环烯醚萜苷	女贞子
43	34.65	$C_{22}H_{18}O_{10}$	$[M-H]^-$	441.082 7	441.084 5	289.071 7, 245.080 9, 179.034 9, 151.039 0, 137.023 9, 109.028 5	[(2S,3R)-2-(3,4-二羟苯基)-3,5-二羟基-3,4-二氢-2H-色酮-7-基]3,4,5-三羟基苯甲酸 酯或其同分异构体	其他类	何首乌
44	34.77	$C_{27}H_{22}O_{17}$	$[M-H]^-$	617.078 4	617.077 8	465.065 9, 313.056 3, 297.062 1, 169.014 1, 151.002 1, 125.042 9	dioxo-2,3,4,4a,6,15,16,16a-octahydrodibenzo [f, h] pyrano [3, 2-b] oxecin-2-yl 3, 4, 5-trihydroxybenzoate	其他类	女贞子
45*	35.26	$C_{21}H_{20}O_{12}$	$[M-H]^-$	463.088 2	463.087 7	300.028 0, 271.024 8, 255.030 0, 227.035 5, 178.998 9, 151.004 3, 121.030 4	金丝桃苷	黄酮类	何首乌
46	35.51	$C_{30}H_{32}O_{15}$	$[M-H]^-$	631.166 8	631.166 5	613.152 7, 491.117 3, 399.095 8, 375.073 4, 313.056 0, 271.046 5, 253.037 7, 211.024 9, 169.014 7, 151.004 5, 121.029 8	没食子酰-芍药苷	芍药苷类	牡丹皮
47	35.63	$C_{27}H_{32}O_{16}$	$[M-H]^-$	611.161 8	611.161 6	445.099 0, 169.014 8, 165.055 8, 151.003 1, 125.024 7	没食子氧化芍药苷 B/D	芍药苷类	牡丹皮
48	35.75	$C_{21}H_{20}O_{11}$	$[M-H]^-$	447.093 3	447.093 1	285.039 6, 284.032 9, 268.036 6, 151.003 7, 133.029 0, 121.029 9	木犀草苷	黄酮类	何首乌
49	36.37	$C_{18}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	397.114 0	397.114 6	235.061 2, 220.037 2, 217.051 0, 202.028 0, 191.070 9, 176.048 3	3-hydroxy-7-propan-2-yloxy-4-[(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl) oxan-2-yl]oxychromen-2-one 芸香亭	香豆素类	蛇床子
50	36.61	$C_{14}H_{14}O_5$	$[M+H]^+$	263.091 4	263.090 6	245.080 4, 217.084 9, 203.069 4, 191.033 1, 189.016 4, 175.038 5, 147.043 0, 119.048 5, 91.054 9	芸香亭	香豆素类	蛇床子
51	36.92	$C_{27}H_{26}O_{13}$	$[M-H]^-$	557.130 1	557.129 8	405.118 4, 313.057 0, 243.065 8, 169.014 9	四氢二苯乙烯-O-没食子酰-葡萄糖苷	萜类	何首乌

续表 1

峰号	保留时间/ min	分子式	离子模式	理论值 m/z	实测值 m/z	主要二级离子碎片 m/z	化合物	类别	归属
52	37.41	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	623.198 1	623.198 4	461.162 4, 315.104 3, 179.033 8, 161.024 6, 153.056 4, 143.034 3, 135.045 1, 113.024 8	毛蕊花糖苷	苯丙素类	女贞子
53	38.70	C ₁₉ H ₂₄ O ₁₁	[M-H] ⁻	427.124 6	427.125 1	265.071 9, 250.048 1, 235.024 1, 221.082 7, 206.057 3, 191.034 9, 176.013 7	3-[4,7-dimethoxy-6-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)-tetrahydro-2H-pyran-2-yl]oxy]benzofuran-5-yl] propanoic acid	其他类	何首乌
54	38.89	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	593.151 2	593.150 5	285.039 5, 255.081 2, 177.021 5, 151.002 2, 119.050 1	山柰酚-3-O-芸香糖苷	黄酮类	枸杞子
55	39.26	C ₄₁ H ₃₂ O ₂₆	[M-H] ⁻	939.110 9	939.110 4	787.098 2, 769.089 0, 725.096 4, 617.078 0, 599.067 3, 555.077 9, 465.067 0, 447.057 0, 431.061 5, 169.014 5	1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖	没食子酰类	牡丹皮
56	39.26	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	515.119 5	515.119 3	353.087 7, 335.076 9, 191.055 7, 179.034 8, 161.024 0, 155.036 0, 135.046 0, 93.035 5	异绿原酸 B	有机酸类	枸杞子
57	39.75	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	631.166 8	631.166 5	613.159 9, 399.085 8, 313.056 1, 271.044 7, 169.014 4, 151.004 3, 121.029 5	没食子酰-芍药苷	芍药苷类	牡丹皮
58*	40.05	C ₃₁ H ₄₂ O ₁₇	[M-H] ⁻	685.234 9	685.234 6	523.180 9, 453.140 3, 421.150 3, 299.112 3, 223.061 5, 89.024 1	特女贞苷	环烯醚萜苷	女贞子
59	40.05	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	615.171 9	615.171 8	597.161 0, 465.138 5, 447.129 4, 431.134 9, 299.077 3, 281.066 9, 239.055 8, 209.046 0, 165.056 3, 137.024 5, 93.034 8	牡丹皮苷 H	芍药苷类	牡丹皮
60	40.16	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	623.198 1	623.196 9	461.165 4, 315.050 2, 179.033 0, 161.024 8, 135.044 3	异毛蕊花糖苷	苯丙素类	女贞子
61	40.36	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	515.119 5	515.119 7	353.087 8, 335.076 0, 191.055 9, 179.035 3, 161.022 6, 135.045 4	1,3-O-二咖啡酰奎宁酸	有机酸类	枸杞子
62	40.85	C ₂₇ H ₂₆ O ₁₃	[M-H] ⁻	557.130 1	557.130 2	405.118 0, 313.057 3, 243.065 9, 169.013 2	白皮杉醇-3-O-β-D-(6"-O-没食子酰)-吡喃葡萄糖苷	萜类	何首乌
63*	40.98	C ₁₁ H ₁₆ O ₄	[M+H] ⁺	203.033 9	203.033 4	175.038 7, 159.043 8, 147.043 6, 131.048 7, 119.048 4, 103.053 7, 91.054 3	花椒毒酚	香豆素类	蛇床子
64	41.59	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.098 4	431.097 9	268.036 7, 240.042 5, 184.074 5, 166.134 0, 151.003 9, 108.014 8	芦荟大黄素葡萄糖苷	萜醌类	何首乌
65	42.33	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	[M-H] ⁻	191.035 5	191.035 4	163.039 7, 147.045 0, 132.021 2, 105.032 9	萆薢亭	香豆素类	蛇床子
66	42.76	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₃	[M-H] ⁻	555.114 4	555.113 9	537.106 6, 393.059 9, 376.054 0, 285.002 3, 274.012 9, 258.016 1, 243.066 4	polygonumosside A	萜类	何首乌
67	43.43	C ₂₅ H ₃₀ O ₁₄	[M-H] ⁻	553.156 3	553.156 0	509.168 8, 477.139 0, 373.090 5, 347.113 6, 329.101 2, 315.085 8, 251.053 5, 209.046 2, 165.056 3, 137.060 1, 119.034 6, 101.024 4	女贞苷酸	环烯醚萜苷	女贞子
68	43.93	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	515.119 5	515.120 0	353.088 3, 317.070 1, 299.057 2, 191.055 8, 179.035 4, 161.023 8, 155.035 2, 135.045 0, 93.034 7	异绿原酸 C	有机酸类	枸杞子
69	44.05	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	[M+H] ⁺	314.138 7	314.137 9	194.081 4, 177.052 9, 145.026 6, 121.063 1	N-反式阿魏酰酪胺	生物碱类	何首乌
70	44.60	C ₂₀ H ₂₄ O ₈	[M+H] ⁺	393.154 4	393.154 1	231.100 3, 189.054 6, 175.038 3, 147.043 2, 121.051 9, 119.047 1	6-(3,3,二甲基丙烯)-7-羟基香豆素-葡萄糖苷	香豆素类	蛇床子
71	45.16	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	447.129 7	447.129 7	411.134 1, 289.070 5, 243.066 3, 137.025 2	四氢二苯乙烯-O-乙酰葡萄糖苷	萜类	何首乌
72	45.22	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	[M-H] ⁻	451.124 6	451.125 1	289.071 0, 245.081 9, 221.043 0	儿茶素-己糖苷	黄酮类	何首乌
73	45.42	C ₂₇ H ₂₆ O ₁₃	[M-H] ⁻	557.130 1	557.130 8	405.122 4, 313.053 9, 243.064 6, 169.019 3	2,3,5,4'-四羟基芪-2-O-葡萄糖苷-3"-O-没食子酸酯	萜类	何首乌

续表 1

峰号	保留时间/ min	分子式	离子模式	理论值 m/z	实测值 m/z	主要二级离子碎片 m/z	化合物	类别	归属
74	45.65	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	[M+H] ⁺	261.112 1	261.111 8	243.099 1, 201.053 2, 189.053 9, 161.059 2, 159.044 3, 131.048 7, 117.070 0, 103.053 8	异橙皮内酯	香豆素类	蛇床子
75	45.83	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₀	[M+H] ⁺	439.159 9	439.159 3	277.106 1, 259.095 6, 205.048 9	cutimol-7-glucoside	其他类	蛇床子
76	46.02	C ₂₅ H ₃₂ O ₁₃	[M-H] ⁻	539.177 7	539.176 7	377.124 2, 345.098 3, 307.082 5, 275.092 5, 223.061 1, 209.046 4, 195.065 6, 179.057 0, 149.024 0, 119.034 5	橄欖苦苷	环烯醚萜苷	女贞子
77*	46.08	C ₁₁ H ₁₆ O ₄	[M+H] ⁺	203.033 9	203.033 6	175.038 0, 159.043 4, 147.043 2, 131.048 9, 119.048 7, 103.054 5, 91.054 1	佛手酚	香豆素类	蛇床子
78	45.83	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₀	[M+H] ⁺	439.159 9	439.160 4	277.105 9, 259.095 9, 205.048 1	cutimol-8 A	其他类	蛇床子
79	47.61	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₃	[M-H] ⁻	599.177 7	599.177 8	581.166 2, 569.166 2, 551.155 6, 477.140 5, 459.128 0, 447.130 0, 431.134 9, 429.119 1, 281.066 8, 239.055 9, 209.046 4, 177.055 4, 137.024 3, 121.029 7	牡丹皮苷 C	芍药苷类	牡丹皮
80	47.98	C ₁₂ H ₁₈ O ₅	[M+H] ⁺	233.044 4	233.043 6	218.019 8, 190.025 6, 162.029 2, 134.034 9, 106.039 1	5-甲氧基-8-羟基补骨脂素	香豆素类	蛇床子
81	47.80	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	[M-H] ⁻	312.124 1	312.124 4	297.101 2, 191.059 1, 190.051 9, 178.051 4, 148.053 5, 135.045 0, 107.048 3	N-顺式阿魏酰酯	生物碱类	何首乌
82*	47.86	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	[M+COOH] ⁻	845.490 4	845.490 3	799.483 4, 637.431 9, 476.380 1, 308.067 4, 161.045 0, 143.035 6, 131.034 2, 119.035 1, 113.025 0, 101.024 6	人参皂苷 Rgl	三萜类	人参
83*	47.98	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	[M+COOH] ⁻	991.548 3	991.548 0	945.541 3, 799.480 5, 783.487 0, 765.484 4, 637.433 5, 620.420 1, 475.386 9, 354.090 7, 161.044 3, 119.034 3, 101.023 5	人参皂苷 Re	三萜类	人参
84	48.78	C ₁₉ H ₂₁ NO ₅	[M+H] ⁺	344.149 2	344.148 7	194.077 7, 177.054 7, 145.028 3	N-反式阿魏酰基-3-甲基多巴胺	生物碱类	何首乌
85	48.97	C ₁₂ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	235.061 2	235.061 3	217.049 9, 191.079 0, 176.047 8, 161.024 0	5,6,7-三甲氧基香豆素	香豆素类	蛇床子
86*	49.28	C ₁₆ H ₁₆ O ₆	[M+H] ⁺	305.102 0	305.101 1	203.032 7, 175.036 7, 159.042 7, 147.042 9, 131.048 0, 119.048 4, 103.053 4, 91.053 7	水合氧化前胡素	香豆素类	蛇床子
87	49.52	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₃	[M-H] ⁻	599.177 0	599.177 2	581.165 5, 569.166 3, 477.141 1, 449.144 6, 165.055 9, 137.024 6, 121.030 2, 93.034 6	苯甲酰氧化芍药苷	芍药苷类	牡丹皮
88	49.51	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	[M+H] ⁺	247.096 5	247.095 3	229.082 5, 214.060 0, 201.088 2, 175.037 7	紫花前胡醇	香豆素类	蛇床子
89	50.07	C ₂₅ H ₃₂ O ₁₂	[M-H] ⁻	523.182 1	523.182 3	361.129 8, 291.087 7, 259.098 0, 223.061 4, 127.040 5, 101.025 1	女贞苷	环烯醚萜苷	女贞子
90	50.34	C ₁₂ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	235.061 2	235.061 5	220.037 8, 217.050 1, 202.025 6, 191.071 9, 176.048 1	6,7,8-三甲氧基香豆素	香豆素类	蛇床子
91	50.50	C ₃₁ H ₃₄ O ₁₄	[M-H] ⁻	629.187 6	629.187 6	611.171 1, 599.176 5, 477.140 9, 447.129 0, 315.085 1, 137.024 4, 93.035 5	牡丹皮苷 B	芍药苷类	牡丹皮
92	50.57	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	285.040 5	285.040 7	257.046 9, 241.049 0, 175.040 8, 151.004 0, 133.029 3, 121.027 2, 107.014 3	木犀草素	黄酮类	女贞子
93*	50.69	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	301.035 4	301.035 6	273.039 4, 245.041 6, 178.998 3, 151.004 2, 121.029 8, 107.013 8, 93.033 9	槲皮素	黄酮类	何首乌, 牡丹皮
94	51.30	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	[M-H] ⁻	407.134 8	407.134 8	245.082 0, 230.058 1, 215.034 5, 188.045 8, 159.044 8, 131.051 5	决明酮-8-O-葡萄糖苷	萜类	何首乌
95	51.30	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	[M+H] ⁺	409.149 3	409.147 9	247.095 5, 229.084 2, 214.068 4, 85.028 2	印度温椿苷	香豆素类	蛇床子
96	51.80	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₂	[M+H] ⁺	519.150 8	519.151 2	431.097 7, 371.098 2, 248.960 0, 189.055 0, 183.066 3, 165.054 6, 147.044 6, 121.065 5, 101.024 9	6'-O-反式-肉桂酰-8-表金吉酸	环烯醚萜苷	女贞子
97	52.16	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.098 4	431.099 0	269.045 6, 240.043 3, 225.055 6, 197.061 3, 181.066 7	大黄素-8-葡萄糖苷	萜类	何首乌

续表 1

峰号	保留时间/ min	分子式	离子模式	理论值 m/z	实测值 m/z	主要二级离子碎片 m/z	化合物	类别	归属
98	53.88	$C_{16}H_{10}O_7$	$[M-H]^-$	313.035 4	313.035 4	269.045 3, 251.036 2, 241.051 2, 225.054 4, 213.142 1	羧基大黄素	蒽醌类	何首乌
99	54.38	$C_{30}H_{32}O_{12}$	$[M+NH_4]^+$	602.223 2	602.221 0	427.137 6, 357.062 6, 267.085 1, 249.074 0, 221.080 5, 179.069 6, 151.074 2, 123.043 4, 105.033 5	苯甲酰-芍药苷	芍药苷类	牡丹皮
100	54.68	$C_{12}H_{18}O_4$	$[M+H]^+$	217.049 5	217.049 0	202.025 1, 189.052 7, 185.021 9, 174.029 8, 161.058 7, 146.034 9, 131.048 6, 115.053 2	8-甲氧补骨脂素	香豆素类	蛇床子
101	55.05	$C_{25}H_{28}O_{12}$	$[M-H]^-$	519.150 8	519.151 4	475.161 2, 327.108 1, 209.046 0, 189.056 1, 183.067 0, 165.056 1, 161.061 5, 147.045 8, 121.066 1, 95.051 1	6'-O-顺式-肉桂酰-8-表金吉苷酸	环烯醚萜苷	女贞子
102*	55.05	$C_{15}H_{10}O_5$	$[M-H]^-$	269.045 5	269.045 7	241.050 7, 225.054 7, 151.003 8, 149.024 3, 117.034 9	芹素	黄酮类	女贞子
103*	55.18	$C_{15}H_{16}O_4$	$[M+H]^+$	261.112 1	261.111 8	243.099 5, 201.053 0, 189.053 9, 161.058 6, 159.043 8, 131.048 7, 117.067 7, 103.054 4	橙皮内酯	香豆素类	蛇床子
104	55.36	$C_{42}H_{72}O_{14}$	$[M+COOH]^-$	845.490 4	845.490 2	799.484 4, 637.431 4, 475.378 2, 179.057 2, 161.046 0	人参皂苷 Rf	三萜类	人参
105	56.10	$C_{22}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	445.114 0	445.113 6	283.061 5, 240.043 5, 201.018 5, 112.983 6	大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷	蒽醌类	何首乌
106*	56.89	$C_{54}H_{92}O_{23}$	$[M-H]^-$	1 107.595 7	1 107.595 2	1 107.595 2	人参皂苷 Rb1	三萜类	人参
107	57.51	$C_{23}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	473.108 9	473.109 0	269.045 6, 240.041 3, 225.055 8, 169.085 1	大黄素-乙酰基葡萄糖苷	蒽醌类	何首乌
108	57.63	$C_{42}H_{72}O_{13}$	$[M+COOH]^-$	829.495 5	829.496 1	783.489 6, 637.431 8, 619.420 9, 475.378 8, 161.045 2, 143.035 1, 113.024 8, 101.024 7	20(S)-人参皂苷 Rg2	三萜类	人参
109	57.82	$C_{36}H_{62}O_9$	$[M+COOH]^-$	683.437 6	683.438 6	637.431 5, 476.376 7, 475.381 4, 161.042 8, 159.029 6, 143.033 1, 113.024 9, 101.023 5	人参皂苷 Rb1	三萜类	人参
110	58.06	$C_{42}H_{72}O_{13}$	$[M+COOH]^-$	829.495 5	829.496 5	783.490 3, 637.432 5, 619.421 6, 475.379 6, 161.045 9, 143.035 7, 113.024 5, 101.024 6	20(R)-人参皂苷 Rg2	三萜类	人参
111	58.62	$C_{36}H_{62}O_9$	$[M+COOH]^-$	683.437 6	683.438 8	637.425 1, 553.333 7, 475.379 4, 391.286 9, 161.044 9, 143.035 2, 113.024 6, 101.023 9	人参皂苷 Rb1	三萜类	人参
112	58.62	$C_{12}H_{18}O_4$	$[M+H]^+$	217.049 5	217.049 0	202.025 8, 174.030 6, 161.059 5, 146.035 7, 131.048 6	佛手柑内酯	香豆素类	蛇床子
113	59.05	$C_{13}H_{10}O_5$	$[M+H]^+$	247.060 1	247.059 5	217.012 7, 189.017 7, 171.006 8, 161.022 7, 133.028 0, 123.006 9, 105.033 1, 95.012 4	异茴芹内酯	香豆素类	蛇床子
114*	60.64	$C_{48}H_{32}O_{18}$	$[M+COOH]^-$	991.548 3	991.546 8	945.541 3, 783.488 4, 621.432 2, 179.058 9, 161.044 0, 113.023 8, 101.024 7	人参皂苷 Rd	三萜类	人参
115	60.78	$C_{15}H_{16}O_4$	$[M+H]^+$	261.112 1	261.111 8	243.100 7, 201.054 3, 189.054 2, 161.058 6, 159.043 6, 131.049 1	5-异戊烯氧基-7-甲氧基香豆素	香豆素类	蛇床子
116	61.14	$C_{42}H_{66}O_{14}$	$[M-H]^-$	793.438 0	793.437 2	673.395 9, 631.384 6, 569.383 9, 455.352 5, 175.023 3, 157.014 5, 113.024 4, 95.015 0	竹节参皂苷 IVa	三萜类	人参
117	61.91	$C_{14}H_{14}O_3$	$[M+H]^+$	231.101 6	231.101 1	189.053 3, 175.038 8, 147.043 6, 119.049 1, 91.054 3	欧前胡素酮	香豆素类	蛇床子
118	62.61	$C_{16}H_{14}O_5$	$[M+H]^+$	287.091 4	287.090 2	223.031 3, 185.019 7, 175.037 0, 147.041 6, 85.062 7	氧化前胡素	香豆素类	蛇床子
119	64.03	$C_{12}H_{18}O_5$	$[M+H]^+$	233.044 4	233.043 7	218.019 6, 190.024 7, 162.029 9, 134.035 9, 106.040 8	8-甲氧基-5-羟基补骨脂素	香豆素类	蛇床子
120	66.48	$C_{42}H_{70}O_{12}$	$[M+COOH]^-$	811.484 9	811.484 8	765.478 9, 619.421 3, 601.406 1, 457.368 1, 205.070 2, 161.045 3, 143.034 9, 125.023 6, 113.024 4, 101.024 8	人参皂苷 Rg6	三萜类	人参

续表 1

峰号	保留时间/ min	分子式	离子模式	理论值 m/z	实测值 m/z	主要二级离子碎片 m/z	化合物	类别	归属
121	67.28	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	[M+COOH] ⁻	811.484 9	811.485 0	765.478 7, 619.420 7, 601.408 3, 457.368 4, 205.072 0, 161.045 9, 143.035 3, 125.024 3, 113.024 5, 101.024 7	人参皂苷 F4	三萜类	人参
122	67.73	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	[M+H] ⁺	231.101 6	231.101 2		7-去甲基软木花椒素	香豆素类	蛇床子
123	67.90	C ₃₆ H ₆₀ O ₈	[M+COOH] ⁻	665.427 0	665.426 6	619.422 3, 161.046 7, 113.024 6	人参皂苷 Rh4	三萜类	人参
124	68.88	C ₃₆ H ₆₀ O ₈	[M+COOH] ⁻	665.427 0	665.427 3	619.420 4, 161.044 8	人参皂苷 Rk3	三萜类	人参
125	69.06	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	[M-H] ⁻	793.438 0	793.437 2	731.437 5, 613.374 4, 569.363 0, 455.354 0, 157.016 0, 113.024 8	姜状三七苷 R1	三萜类	人参
126	70.72	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	[M+COOH] ⁻	829.495 5	829.496 4	783.489 8, 621.436 8, 459.381 1, 161.046 0, 143.035 6, 113.024 6, 101.024 7	20(S)-人参皂苷 Rg3	三萜类	人参
127*	71.34	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	[M+COOH] ⁻	829.495 5	829.496 1	783.489 3, 621.436 1, 459.383 6, 161.045 3, 143.035 1, 113.024 6, 101.024 2	20(R)-人参皂苷 Rg3	三萜类	人参
128*	72.75	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	[M+H] ⁺	271.096 5	271.096 6	203.033 6, 185.022 4, 175.038 7, 159.044 3, 147.043 8, 131.048 4, 91.053 8	欧前胡素	香豆素类	蛇床子
129	72.81	C ₁₁ H ₁₆ O ₄	[M+H] ⁺	203.033 9	203.033 9	175.038 0, 159.043 9, 147.043 5, 131.049 1, 129.033 6, 119.047 7, 103.054 7, 91.054 1	6-羟基-2H-呋喃并[2,3-H]-1-苯并吡喃-2-酮	香豆素类	蛇床子
130	73.49	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	[M+COOH] ⁻	829.495 5	829.494 4	783.490 3, 621.436 5, 531.405 8, 161.045 6, 143.035 1, 113.023 8	人参皂苷 F2	三萜类	人参
131*	73.55	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.045 5	269.045 7	241.051 0, 225.056 5, 213.054 5, 207.045 4	大黄素	萘醌类	何首乌
132	74.60	C ₄₄ H ₇₄ O ₁₄	[M+COOH] ⁻	871.506 1	871.505 0	825.498 2, 783.490 2, 765.481 0, 687.445 2, 663.446 3, 621.436 6, 459.383 5, 305.089 1, 179.056 0, 161.045 9, 143.035 5, 113.024 8, 101.024 9	20(S)-人参皂苷 Rg3	三萜类	人参
133	74.78	C ₁₅ H ₁₆ O ₃	[M+H] ⁺	245.117 2	245.116 9	203.068 7, 189.053 9, 161.059 7, 159.043 5, 133.064 7, 131.048 8	蛇床子素	香豆素类	蛇床子
134	75.03	C ₄₄ H ₇₄ O ₁₄	[M+COOH] ⁻	871.506 1	871.505 3	825.498 3, 783.487 6, 765.477 4, 687.446 1, 665.463 2, 621.434 7, 459.374 7, 161.045 5, 113.025 7, 101.026 1	20(R)-人参皂苷 Rg3	三萜类	人参
135	76.01	C ₃₃ H ₃₈ O ₁₄	[M+COOH] ⁻	723.380 9	723.381 5	677.375 3, 415.145 4, 397.135 7, 379.123 5, 305.087 6, 279.233 2, 235.082 1, 179.054 4, 125.024 1	拟人参皂苷 RT5	三萜类	人参
136*	76.38	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	[M+H] ⁺	271.096 5	271.095 9	243.057 3, 201.050 8, 167.033 7, 131.049 2, 103.054 9	山姜素	黄酮类	蛇床子
137	76.56	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	[M+COOH] ⁻	811.484 9	811.485 4	765.479 9, 603.425 2, 221.065 9, 179.054 3, 161.054 3, 143.035 0, 125.024 1, 113.024 7, 101.024 7	人参皂苷 Rk1	三萜类	人参
138	76.99	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	[M+COOH] ⁻	811.484 9	811.485 7	765.478 4, 603.425 2, 221.064 5, 161.045 1, 143.034 1, 125.022 7, 113.024 5, 101.024 5	人参皂苷 Rg5	三萜类	人参
139	79.64	C ₁₆ H ₁₈ O ₄	[M+H] ⁺	275.127 8	275.127 5	219.064 2, 189.053 8, 161.060 7, 121.027 9	前胡素-7-甲醚	其他类	蛇床子
140*	85.17	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	[M-H] ⁻	455.353 1	455.352 9	407.330 1	熊果酸	三萜类	女贞子
141	86.34	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	[M-H] ⁻	279.233 0	279.232 9	279.232 9	亚油酸	有机酸类	女贞子

注: *为与对照品比对。

3.1 香豆素类 共鉴定出 28 个。该类化合物基母核为苯骈 α -吡喃酮，一般具有多个和芳环连接的氧原子、羟基、甲氧基，且常与异戊烯基，乙酰氧基等官能团连接，故其裂解特征主要为失去支链和连续丢失 CO、CH₃、OCH₃ 等基团。以峰 117 为例，保留时间为 61.91 min，正离子模式下，其准分子离子为 m/z 231.101 2 [M+H]⁺，分子式为 C₁₄H₁₄O₃。一条途径为侧链断裂，准分子离子 m/z 231.101 2

[M+H]⁺ 脱去 C₃H₆，形成 m/z 189.052 6 [M+H-C₃H₆]⁺；另一途径则为准分子离子 m/z 231.101 2 [M+H]⁺ 脱去 C₄H₈，生成 m/z 175.038 9 [M+H-C₄H₈]⁺，此碎片连续脱去 3 分子 CO，分别形成 m/z 147.043 8 [M+H-C₄H₈-CO]⁺、 m/z 119.049 1 [M+H-C₄H₈-2CO]⁺、 m/z 91.054 6 [M+H-C₄H₈-3CO]⁺。上述数据与文献 [8] 报道一致，推测该化合物为欧前胡素酚，其二级质谱图及裂解途径见图 2。

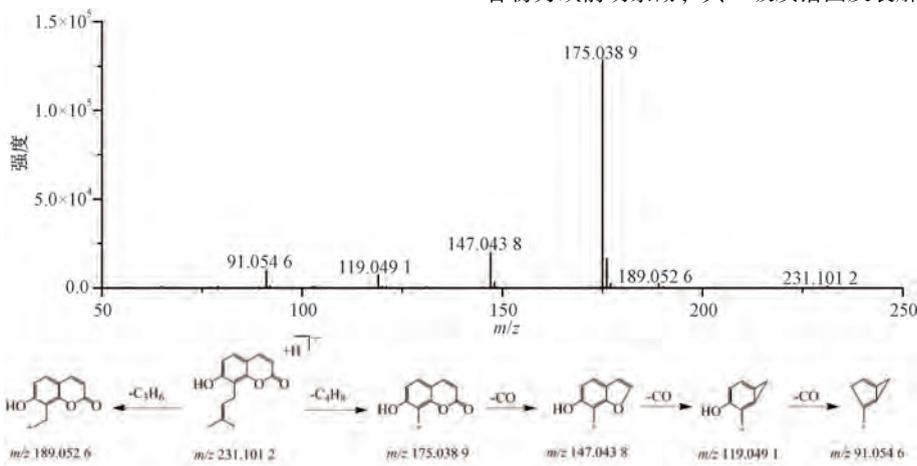


图 2 峰 117 二级质谱图及裂解途径

3.2 三萜类 共鉴定出 24 个，其中 23 个为三萜皂苷类，1 个为熊果酸。由于流动相系统中水相含有 0.1% 甲酸，故在负离子模式下三萜皂苷类成分准分子离子峰大多以 [M+COOH]⁻ 形式检出，并且结构中大多有葡萄糖等糖基取代，在二级碎裂过程中，其裂解特征主要为分子离子峰逐渐丢失糖分子形成一系列碎片，同时出现葡萄糖等糖内裂解碎片。以峰 82 为例，保留时间为 47.86 min，分子式为 C₄₂H₇₂O₁₄，负离子模式下，准分子离子 m/z 845.490 4 [M+COOH]⁻ 脱去甲酸，形成 m/z 799.483 4 [M-H]⁻，再连续脱去 2 个葡萄糖，分别生成 m/z 637.431 9 [M-H-C₆H₁₀O₅]⁻、 m/z 475.378 0 [M-H-2C₆H₁₀O₅]⁻。断裂形成的葡萄糖离子 m/z 179.053 4 [M-H]⁻，再发生糖内裂解形成一系列离子碎片。上述数据与对照品和文献 [9] 报道一致，推测该化合物为人参皂苷 Rg1，其二级质谱图及裂解途径见图 3。

3.3 有机酸类 共鉴定出 13 个。在负离子模式下，长链脂肪酸类产生较高响应的 [M-H]⁻ 准分子离子峰，不易断裂形成稳定的碎片离子；有机酚酸类化合物常失去 H₂O 和羧基 COO⁻ 或 HCOO⁻，从而产生相应的特征碎片离子峰。以峰 68 为例，保留时间为 43.93 min，负离子模式下，其准分子离子 m/z 515.120 1 [M-H]⁻，分子式 C₂₅H₂₄O₁₂，连续失去两分子 C₉H₆O₃，分别生成 m/z 353.088 3 [M-H-C₉H₆O₃]⁻、 m/z 191.055 9 [M-H-2C₉H₆O₃]⁻，再连续失去两分子 H₂O，分别产生 m/z 173.045 5、155.035 8 [M-H-COO-H₂O]⁻、 m/z 179.035 6 [M-H-C₉H₆O₃-C₇H₁₀O₅]⁻ 为支链咖啡酸碎片离子，脱去一分子水和甲酸，分别生成 m/z 161.024 4 [M-H-C₉H₆O₃-C₇H₁₀O₅-H₂O]⁻、 m/z 135.045 0 [M-H-C₉H₆O₃-C₇H₁₀O₅-CO₂]⁻。上述数据与文献 [10] 报

道一致，推测该化合物为异绿原酸 C，其二级质谱图和裂解途径见图 4。

3.4 黄酮类 共鉴定出 10 个。该类化合物 A、B 环上常连接羟基、甲氧基、甲基等官能团，而且常连接糖形成黄酮苷，故常发生糖苷键断裂及糖内裂解碎片。黄酮苷元类化合物的质谱裂解特征主要为丢失 CO、CH₃、OCH₃（含甲氧基者）基团或中性分子 H₂O，易发生 Retro Diels-Alder (RDA) 裂解而形成一系列特征离子峰。以峰 45 为例，保留时间为 35.26 min，分子式为 C₂₁H₂₀O₁₂，在负离子模式下，准分子离子 m/z 463.088 2 [M-H]⁻ 苷键断裂，脱去葡萄糖生成 m/z 301.033 1 [M-H-C₆H₁₀O₅]⁻，再失去 1 个 H，形成 m/z 300.028 1 [M-H-C₆H₁₀O₅-H]⁻，碎片离子 m/z 301.033 1 [M-H-C₆H₁₀O₅]⁻ 连续中性丢失 H₂O、CO 后分别生成 m/z 283.024 7 [M-H-C₆H₁₀O₅-H₂O]⁻、 m/z 255.030 0 [M-H-C₆H₁₀O₅-H₂O-CO]⁻。碎片离子 m/z 300.028 1 [M-H-C₆H₁₀O₅-H]⁻ 失去 1 个 H，形成双氧环后再连续中性丢失 CO，分别生成 m/z 271.024 6 [M-H-C₆H₁₀O₅-2H-CO]⁻、 m/z 243.029 8 [M-H-C₆H₁₀O₅-2H-2CO]⁻。上述数据与对照品和文献 [11] 报道一致，推测该化合物为金丝桃苷，其二级质谱图及裂解途径见图 5。

3.5 环烯醚萜类 共鉴定出 6 个。该类化合物大多具有半缩醛及环戊烷结构，其半缩醛 C₁-OH 性质不稳定，常与糖成苷的形式存在于植物中。以峰 58 为例，保留时间为 40.05 min，分子式为 C₃₁H₄₂O₁₇，在负离子模式下准分子离子 m/z 685.234 9 [M-H]⁻ 苷键断裂，脱去葡萄糖生成 m/z 523.183 2 [M-H-C₆H₁₀O₅]⁻，裂环环烯醚萜结构发生 RDA

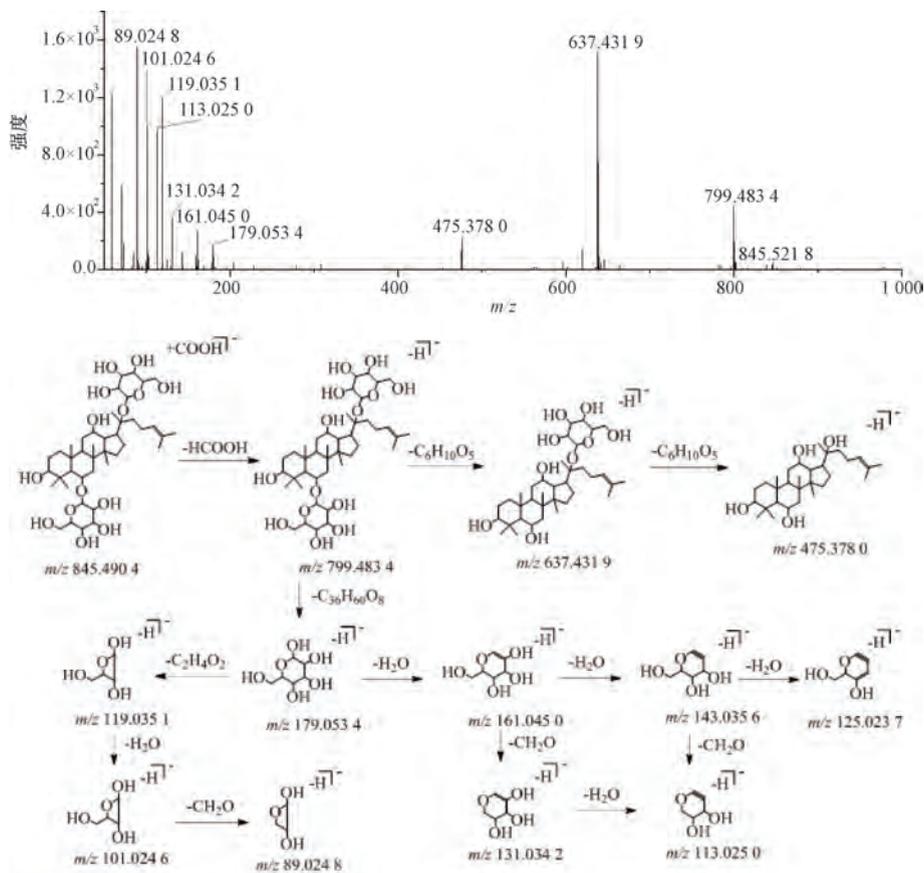


图3 峰82二级质谱图及裂解途径

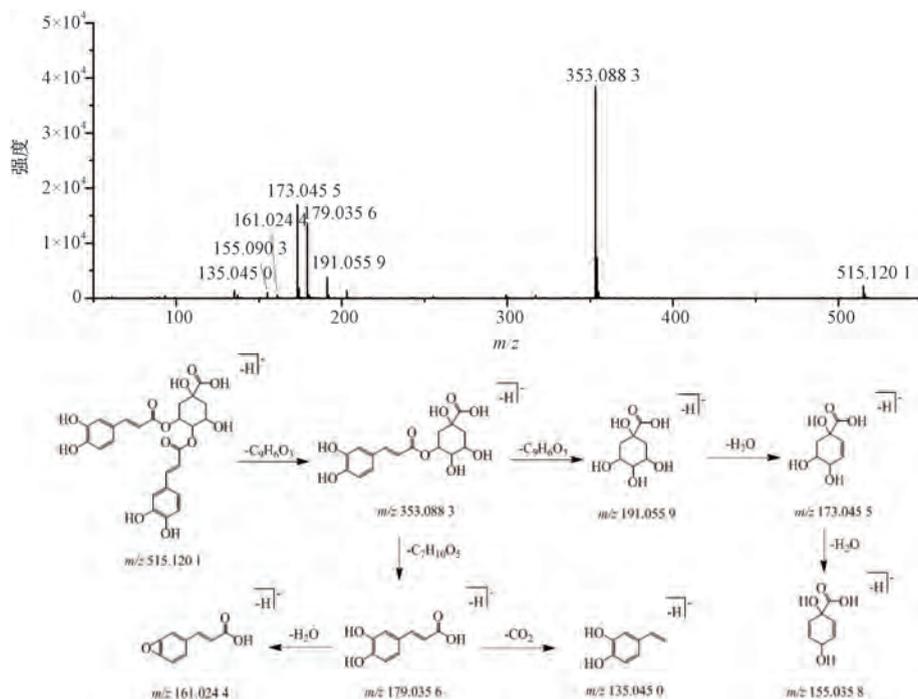


图4 峰68二级质谱图及裂解途径

反应, 形成 m/z 453.1396 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2]^-$ 。碎片离子 m/z 523.1832 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ 的环烯醚萜母核中半缩醛键断裂, 生成 m/z 421.1489 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3]^-$, 再

脱水后生成 m/z 403.1255 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3-\text{H}_2\text{O}]^-$, 或碎片离子 m/z 523.1832 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ 酯键断裂, 分别形成 m/z 299.1143 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_5]^-$ 、 m/z

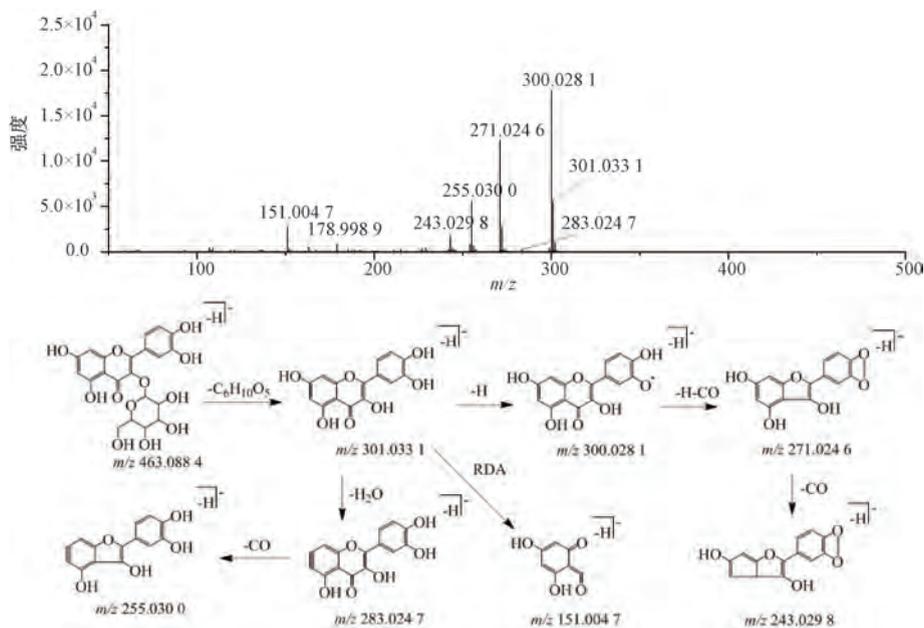


图5 峰45二级质谱图及裂解途径

223.061 3 [M-H-C₆H₁₀O₅-C₁₄H₂₀O₇]⁻。上述数据与对照品和文献 [12] 报道一致, 推测该化合物为特女贞苷, 其二

级质谱图及裂解途径见图6。

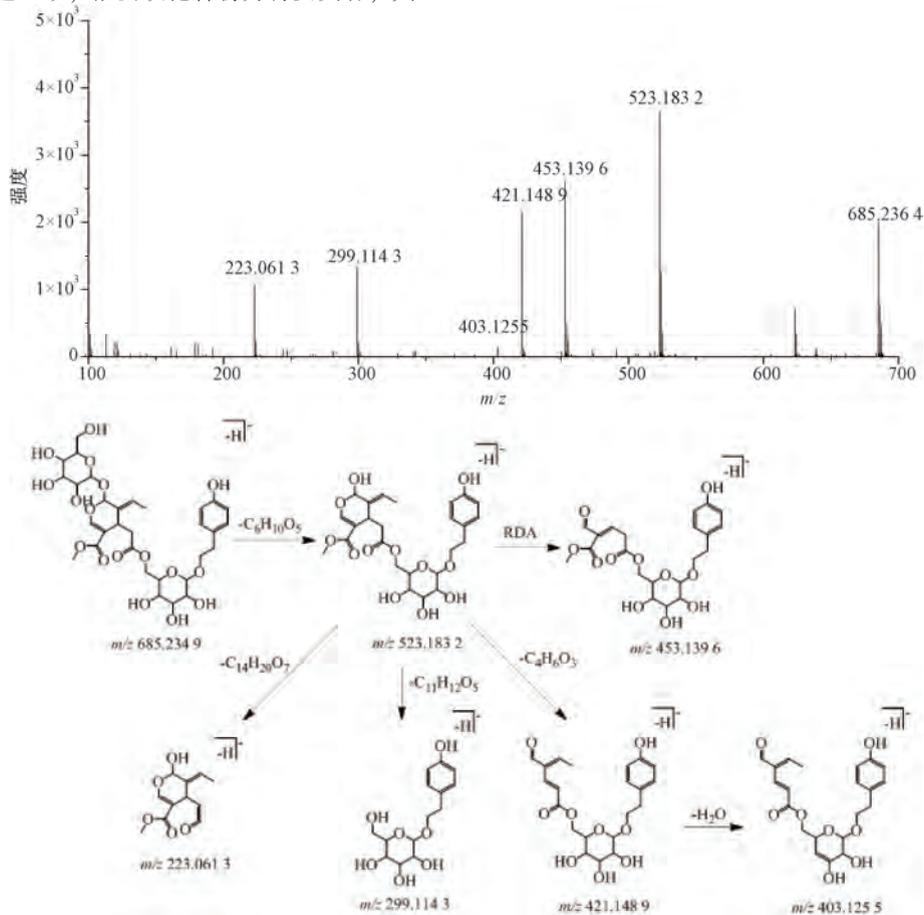


图6 峰58二级质谱图和裂解途径

3.6 其他 除“3.1”~“3.5”项下5类化合物外, 根据一级精确质量数、二级碎片离子信息、质谱裂解规律结合

数据库、文献报道, 还鉴定出芍药苷类、葱醌类、蒽类、生物碱类、没食子酰类等化合物。

4 讨论

本研究对提取溶剂、色谱柱和流动相进行考察,结果表明,60%甲醇溶解性最好,有效部位干浸膏为全溶状态,而且色谱图峰型良好,故选择60%甲醇进行提取分析。以0.1%甲酸-乙腈为流动相,Poroshell 120 EC-C₁₈色谱柱(3.0 mm×150 mm, 2.7 μm)进行分析时,色谱峰较多,分离度较好。正负离子模式下,补肾益智方有效部位的总离子流图的色谱峰数量丰富、信号强度较高,故本研究采用这2种模式进行分析。

结果,共鉴定出141个化合物,主要为香豆素类、三萜类、芍药苷类、有机酸类、黄酮类,并对其成分进行药材来源归属。其中多种成分具有抗阿尔茨海默病活性,是补肾益智方有效部位抗阿尔茨海默病的潜在药效物质。三萜类成分中,多种人参皂苷可防止记忆缺失,改善认知功能障碍^[13]。芍药苷类成分中的芍药苷具有改善认知能力、镇静、抗炎、镇痛、解痉等作用,可以有效调节阿尔茨海默病动物及细胞模型异常磷酸化的Tau蛋白和过度沉积的β-淀粉样蛋白(Aβ)水平,恢复乙酰胆碱、神经生长因子、Ca²⁺、α7烟碱样乙酰胆碱受体、腺苷受体等神经递质及神经受体的平衡状态^[14]。萜类成分中的二苯乙烯苷有助于改善拟痴呆大鼠的学习记忆能力,提高大鼠海马组织CA1区NEP、LRP-1表达,增强对Aβ的降解和转运^[15]。黄酮类成分中的槲皮素能够延缓Aβ沉积速度,促进神经干细胞发生,并改善阿尔茨海默病大鼠记忆功能^[16];木犀草素可通过减轻大脑神经炎症性病变,降低细胞凋亡及抑制Aβ和Tau蛋白的聚集,从而改善阿尔茨海默病大鼠的记忆功能^[17]。香豆素类成分中蛇床子素对APP/PS1双转基因阿尔茨海默病小鼠具有治疗作用,可以减轻脑内病理损伤,提高小鼠的学习与记忆能力^[18]。

综上所述,本研究对补肾益智方有效部位的化学成分进行辨识,阐明其主要物质组成,为进一步明确该方药效物质基础、质量控制、作用机制奠定基础。

致谢 感谢安捷伦公司提供的安捷伦-诗丹德标准天然产物高分辨质谱标准图谱库支持。

参考文献:

[1] 张魁华,赖世隆,王奇,等. 补肾益智方对老年性痴呆模型动物定位航行学习记忆功能的改善作用[J]. 中草药, 2002, 33(10): 917-920.

[2] Hou X Q, Zhang L, Yang C, et al. Alleviating effects of Bushen-Yizhi formula on ibotenic acid-induced cholinergic impairments in rat [J]. *Rejuvenation Res*, 2015, 18(2): 111-127.

[3] 杨从,侯雪芹,闫蓉,等. 补肾益智方有效部位群对M146L细胞分泌β淀粉样蛋白的抑制研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(8): 2010-2013.

[4] 侯雪芹,陈云波,程淑意,等. 补肾益智提取物对AD小鼠空间学习记忆及氧化应激-凋亡相关机制的研究[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(5): 1640-1643.

[5] Zhang S J, Luo D, Li L, et al. Ethyl acetate extract components of Bushen-Yizhi formula provides neuroprotection against scopolamine-induced cognitive impairment[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9824.

[6] 郑单单,魏文峰,霍金海,等. UPLC-Q-TOF-MS法分析芪风固表颗粒化学成分[J]. 中成药, 2020, 42(6): 1649-1657.

[7] 谢斌,卢元媛,王奇,等. 补肾益智方有效部位提取工艺的优选试验[J]. 广州中医药大学学报, 2015, 32(6): 1102-1106; 1110.

[8] Wang S, Qi P C, Zhou N, et al. A pre-classification strategy based on UPLC-triple-TOF/MS for metabolic screening and identification of *Radix glehniae* in rats[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2016, 408(26): 7423-7436.

[9] Wu W, Sun L, Zhang Z, et al. Profiling and multivariate statistical analysis of *Panax ginseng* based on ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 107: 141-150.

[10] 洪智慧,杜伟锋,杨莹,等. 基于UPLC-Triple-TOF/MS分析续断“发汗”前后化学成分[J]. 中草药, 2020, 51(5): 1233-1241.

[11] 王宇卿,李淑娇,庄果. 基于HPLC-Q-TOF/MS法的鬼针草血清药物化学探究[J]. 中成药, 2020, 42(11): 3074-3078.

[12] Li H, Yao W F, Liu Q A, et al. Application of UHPLC-ESI-Q-TOF-MS to identify multiple constituents in processed products of the herbal medicine *Ligustru lucidi Fructus* [J]. *Molecules*, 2017, 22(5): 689.

[13] 李琳,王晓良,彭英. 抗阿尔茨海默病天然产物及其药理学研究进展[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(2): 149-155.

[14] 邢敏,毛敬洁,陈文列,等. 芍药苷干预阿尔茨海默病作用机制研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(4): 1022-1026.

[15] 李小黎,刘晓梅,赵瑞珍,等. 何首乌二苯乙烯苷对拟痴呆大鼠学习记忆和海马组织CA1区脑啡肽酶及低密度脂蛋白相关受体1表达的影响[J]. 中国全科医学, 2015, 18(32): 3948-3951.

[16] Karimipour M, Rahbarghazi R, Tayefi H, et al. Quercetin promotes learning and memory performance concomitantly with neural stem/progenitor cell proliferation and neurogenesis in the adult rat dentate gyrus [J]. *Int J Dev Neurosci*, 2019, 74: 18-26.

[17] Park S, Kim D S, Kang S, et al. The combination of luteolin and l-theanine improved Alzheimer disease-like symptoms by potentiating hippocampal insulin signaling and decreasing neuroinflammation and norepinephrine degradation in amyloid-β-infused rats[J]. *Nutr Res*, 2018, 60(12): 116-131.

[18] 王雅萌,教亚男,闫宇辉,等. 蛇床子素对APP/PS1双转基因AD小鼠的治疗作用[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(21): 2573-2577.