

银蓝调脂胶囊化学成分鉴定及其药材归属

肖观林¹, 李素梅¹, 陈 昭¹, 杨敏娟², 邱锦燕², 毕晓黎^{1*}

(1. 广东省中医药工程技术研究院, 广东省中医药研究开发重点实验室, 广东 广州 510095; 2. 广州中医药大学第五临床医学院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 鉴定银蓝调脂胶囊化学成分, 并对其进行药材归属。**方法** 该药物 50% 乙醇提取液的分析采用 Waters ACQUITY BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相乙腈-0.1% 甲酸, 梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 ℃; 电喷雾离子源; 正负离子扫描, 通过高分辨质谱数据、相关文献、对照品进行鉴定。**结果** 共鉴别出 77 种成分, 包括 42 种黄酮、16 种皂苷、4 种香豆素、4 种内酯、10 种有机酸、1 种柠檬苦素, 并且 20 种归属于绞股蓝, 12 种归属于化橘红, 14 种归属于银杏叶, 38 种归属于蜂胶, 7 种为共有成分。**结论** 本实验基本明确了银蓝调脂胶囊化学物质基础, 可为该制剂质量控制及药效物质基础研究提供实验依据和理论支撑。

关键词: 银蓝调脂胶囊; 化学成分; 药材归属; UPLC-Q-TOF-MS/MS

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)07-2420-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.07.055

高脂血症是一种多因素致病的综合性脂质代谢紊乱性疾病^[1-3]。银蓝调脂胶囊是广东省第二中医院自主研发的中药六类新药, 由化橘红、银杏叶、绞股蓝、蜂胶 4 味药组成, 主要用于气虚痰瘀阻痹型高脂血症的治疗, 具有抗炎、抗高脂血症等潜在作用^[4-6]。该制剂作为复方中药, 化学成分复杂, 目前相关研究主要包括原料药材及成品指纹图谱、临床疗效及机制等, 关于物质基础的考察较薄弱, 尚无对其成分进行全面定性分析的报道, 不利于全面质量控制。

UPLC-Q-TOF-MS/MS 法已广泛应用于中药及其复方药效物质基础研究领域^[7-10], 本实验首次采用该技术对银蓝调脂胶囊中化学成分进行快速全面的筛查, 并对其进行药材归属, 以期揭示该制剂潜在药效物质基础、质量控制、临床合理应用等提供科学依据和参考。

1 材料

ExionLC AC 型液相色谱仪 (日本岛津公司); X500R 质谱仪 (美国 AB Sciex 公司); XS205 型电子分析天平 (瑞士 Mettler-Toledo 公司)。

芦丁 (批号 100080-201409, 纯度 91.9%)、银杏内酯 C (批号 110864-200906, 纯度 97.1%)、柚皮苷 (批号 110722-201111, 纯度 93.2%)、银杏内酯 A (批号 110862-201009, 纯度 96.9%)、白杨素 (批号 111701-20050)、咖啡酸苯乙酯 (批号 112024-20160) 对照品均购自中国食品药品检定研究院; 野漆树苷 (批号 Y-106-150626)、水合氧化前胡素 (批号 S-128-151113)、柚皮素 (批号 Y-030-150714)、乔松素 (批号 Q-060-160407) 对照品均购自成都

瑞芬思生物科技有限公司, 纯度均大于 98%; 异槲皮苷 (批号 AF707030) 对照品购自成都埃法生物科技有限公司, 纯度大于 98%; 异橙皮内酯 (批号 PRF8081725) 对照品购自成都普瑞法科技开发有限公司, 纯度大于 98%。甲醇、乙腈、甲酸均为色谱纯 (美国 Fisher Chemical 公司); 其余试剂均为分析纯; 水为蒸馏水。

银蓝调脂胶囊由广东省第二中医院制剂研究室提供, 方中化橘红、银杏叶、绞股蓝、蜂胶均购自广东康美药业股份有限公司, 经广东省第二中医院刘法锦研究员鉴定为正品, 符合 2020 年版《中国药典》一部规定。

2 方法

2.1 供试品溶液制备 将本品内容物研细, 称取 0.25 g, 置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 加入 50% 乙醇 25 mL, 超声处理 30 min, 放冷, 摇匀, 13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.2 单味药材溶液制备 称取化橘红、银杏叶、绞股蓝、蜂胶各 0.25 g, 加入 50% 乙醇 25 mL, 按“2.1”项下方法制备, 即得。

2.3 对照品溶液制备 精密称取各对照品适量, 置于 10 mL 棕色瓶中, 甲醇超声溶解, 室温放至澄清, 13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.4 色谱条件 Waters ACQUITY BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相乙腈 (A) -0.1% 甲酸 (B), 梯度洗脱 (0~3 min, 8%~25% A; 3~12 min, 25%~47%

收稿日期: 2022-08-16

基金项目: 广东省中医药局科研项目 (20222016)

作者简介: 肖观林 (1994—), 男, 硕士, 助理研究员, 从事中药质量评价研究。Tel: (020) 83482098, E-mail: 164669079@qq.com

* 通信作者: 毕晓黎 (1979—), 女, 博士, 主任中药师, 博士生导师, 从事中药质量评价研究。Tel: (020) 83482098, E-mail: 13770635223@163.com

A; 12~25 min, 47%~79% A; 25~32 min, 79%~95% A; 32~35 min, 95% A); 体积流量 0.3 mL/min; 样品管理器温度 15 ℃; 柱温 30 ℃; 进样量 1 μL。

2.5 质谱条件 电喷雾离子源; 正负离子扫描, 扫描范围 m/z 100~1 500; 雾化气压 (GS) 55 psi (1 psi = 6.845 kPa); 辅助气压 (GS2) 55 psi; 气帘气压 (CUR) 35 psi; 离子源温度 500 ℃, MS^2 碰撞能 (35±15) eV; 正离子模式下离子喷雾电压 5.5 kV, 簇裂解电压 100 V; 负离子模式下离子喷雾电压 -4.5 kV, 簇裂解电压 -80 V。

3 结果

3.1 成分分析 UPLC-Q-TOF-MS/MS 总离子流图见图 1。根据保留时间、高分辨分子量、二级碎片离子信息, 结合对照品、Scifinder、MassBank、ChemSpider 等质谱数据库和文献 [11-23], 共鉴别出 77 种成分, 其中 12 种与对照品比对后得到识别, 包括 42 种黄酮类 (峰 5~9、11、14~18、20、23~24、26~34、37~39、41、45、47~50、53、55、60、63~65、69、71~72、75)、16 种皂苷类 (峰 35~36、42、44、51、54、57~58、61~62、66~68、70、73~74)、4 种香豆素类 (峰 19、25、40、77)、4 种内酯类 (峰 10、13、21~22)、10 种有机酸类 (峰 1~4、12、46、52、56、59、76)、1 种柠檬苦素类 (峰 43), 并且 20 种归属于绞股蓝, 12 种归属于化橘红, 14 种归属于银杏叶, 38 种归属于蜂胶, 7 种为共有成分, 具体见表 1。

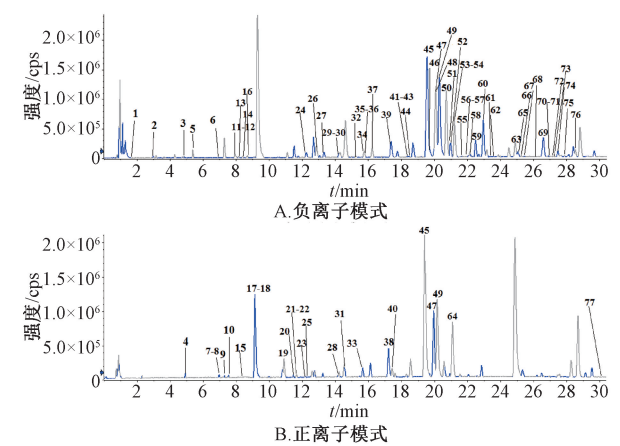


图 1 银蓝调脂胶囊 UPLC-Q-TOF-MS/MS 总离子流图

3.2 成分鉴定

3.2.1 黄酮类 共鉴定出 42 种。峰 5 的准分子离子峰为

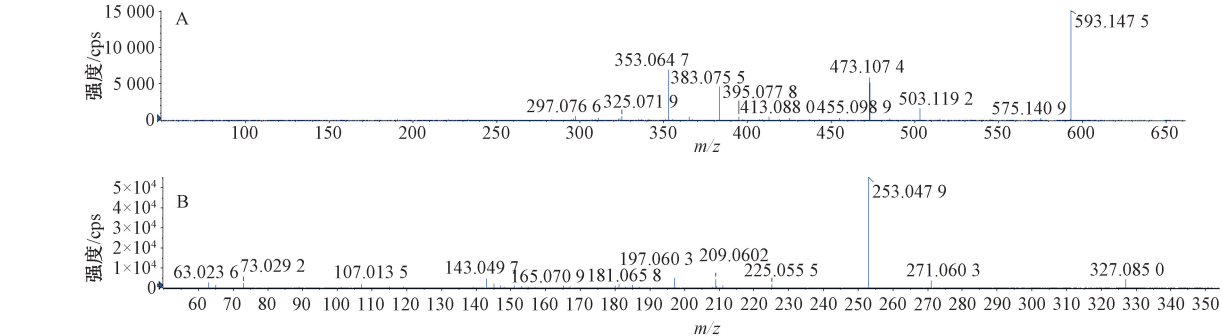


图 2 维采宁-2 (A)、短叶松素-3-O-丙酸酯 (B) 二级质谱图

m/z 593.150 2 $[M-H]^-$, 脱去 $C_4H_8O_4$ 得到碎片 m/z 473.107 4, 再脱去 $C_3H_6O_3$ 得到碎片 m/z 383.075 5, 以及脱去 2 个 $C_4H_8O_4$ 得到碎片 m/z 353.064 7, 同时 m/z 383.075 5 脱去 CH_2O 得到碎片 m/z 353.064 7, 结合碎片信息和文献 [17] 鉴定为维采宁-2, 其二级质谱、裂解途径分别见图 2A、3A。峰 60 的准分子离子峰为 m/z 327.085 9 $[M-H]^-$, 二级碎片包括 m/z 253.047 9、209.060 2、181.065 8、165.070 9 特征峰, 结合碎片信息和文献 [13] 鉴定为短叶松素-3-O-丙酸酯, 其二级质谱、裂解途径分别见图 2B、3B。

3.2.2 皂苷类 共鉴定出 16 种, 均来源于绞股蓝。峰 57 的准分子离子峰为 m/z 845.492 1 $[M+HCOO]^-$, 二级碎片离子包括 m/z 799.482 6 $[M-H]^-$, 脱去一分子糖基得到碎片 m/z 637.431 1, 再脱去一分子糖基得到碎片 m/z 475.379 9, 结合质谱裂解规律和文献 [19] 鉴定为绞股蓝皂苷 LX X IV, 其二级质谱见图 4A。峰 61 的准分子离子峰为 m/z 829.492 8 $[M+HCOO]^-$, 二级碎片离子为 m/z 783.488 2 $[M-H]^-$, 脱去一分子糖基得到碎片 m/z 621.438 0, 结合质谱裂解规律和文献 [19] 鉴定为人参皂苷 F_2 , 其二级质谱、裂解途径分别见图 4B、5A。峰 66 的准分子离子峰为 m/z 827.476 1 $[M+HCOO]^-$, 二级碎片离子为 m/z 781.475 9 $[M-H]^-$, 脱去一分子糖基得到碎片 m/z 619.425 1, 结合文献 [19] 鉴定为达木林 B, 其二级质谱、裂解途径分别见图 4C、5B。

3.2.3 香豆素类 共鉴定出 4 种, 主要来源于化橘红。峰 77 的准分子离子峰为 m/z 299.164 7 $[M+H]^+$, 脱去 $C_{10}H_{16}$ 得到碎片 m/z 163.040 0, 再脱去一分子 CO 得到碎片 m/z 135.042 6, 继续脱去一分子 CO 得到碎片 m/z 107.050 0, 与橙皮油内酯碎裂方式一致, 结合碎片信息和文献 [18] 鉴定为橙皮油内酯, 其二级质谱、裂解途径分别见图 6~7。

3.2.4 内酯类 共鉴定出 4 种, 主要来源于银杏叶。峰 21 的准分子离子峰为 m/z 409.148 1 $[M+H]^+$, 脱去一分子 H_2O 得到碎片 m/z 391.139 9、373.128 8、355.119 1, 再脱去一分子 CO 得到碎片 m/z 327.123 5, 同时 m/z 373.128 8 脱去一分子 CO 得到碎片 m/z 345.133 4, 与银杏内酯 A 对照品一致, 故鉴定为该成分, 其二级质谱见图 8。

3.2.5 有机酸类 共鉴别出 10 种。峰 2 的准分子离子峰为 m/z 153.018 9 $[M-H]^-$, 脱去一分子 CO_2 、 H_2O 分别

表 1 银蓝调脂胶囊化学成分鉴定结果

峰号	t_R/min	名称	分子式	一级质谱 m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 m/z	来源
1	1.75	没食子酸	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	169.014 1 [M-H] ⁻	-0.8	125.024 6 [M-H-CO ₂] ⁻	银杏叶/蜂胶
2	2.97	原儿茶酸	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$	153.018 9 [M-H] ⁻	-2.7	109.028 5 [M-H-CO ₂] ⁻ , 91.018 9 [M-H-CO ₂ -H ₂ O] ⁻	化橘红/蜂胶
3	4.70	<i>p</i> -香豆酸	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	163.040 1 [M-H] ⁻	0	119.050 1 [M-H-CO ₂] ⁻	银杏叶/蜂胶
4	4.82	香草酸	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$	169.049 9 [M+H] ⁺	2.2	151.041 4 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 123.045 2 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺	银杏叶
5	5.18	维采宁-2	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	593.150 2 [M-H] ⁻	-1.7	473.107 4 [M-H-C ₄ H ₈ O ₄] ⁻ , 383.075 5 [M-H-C ₄ H ₈ O ₄ -C ₃ H ₆ O ₃] ⁻ , 353.064 7 [M-H-2C ₄ H ₈ O ₄] ⁻	化橘红
6	6.72	kaempferol-3- <i>O</i> -(2',6'-dihydroxyl)-glucoside	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{19}$	739.205 8 [M-H] ⁻	-4.5	285.039 1 [C ₁₅ H ₁₀ O ₁₆] ⁻ , 284.032 5 [C ₁₅ H ₁₀ O ₁₆ -H] ⁻	绞股蓝
7	7.00	鞣皮素	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	303.049 7 [M+H] ⁺	-0.7	257.045 5 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 213.057 1 [M+H-2CO-H ₂ O-O] ⁺ , 166.027 2 [M+H-CO-C ₆ H ₅ O ₂] ⁺	银杏叶/蜂胶
8	7.26	芦丁*	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	611.160 2 [M+H] ⁺	-0.8	303.048 2 [M+H-Rha-Glc] ⁺	银杏叶/蜂胶
9	7.36	异鞣皮苷*	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	465.103 7 [M+H] ⁺	2.0	303.050 5 [M-H-Glc] ⁻	银杏叶
10	7.61	银杏内酯 J	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	425.144 7 [M+H] ⁺	-2.0	407.136 8 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 363.144 9 [M+H-H ₂ O-CO ₂] ⁺	银杏叶
11	7.92	新北美圣草苷	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	595.164 4 [M-H] ⁻	-4.0	459.112 3 [M-H-C ₆ H ₄ O ₂ -CO] ⁻ , 287.055 7 [M-H-Rha-Glc] ⁻ , 151.003 1 [M-H-Rha-Glc-C ₆ H ₄ O ₂ -CO] ⁻	化橘红
12	7.93	阿魏酸	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	193.050 4 [M-H] ⁻	-1.2	178.026 4 [M-H-CH ₃] ⁻ , 134.037 4 [M-H-CH ₃ -CO ₂] ⁻	银杏叶/蜂胶
13	8.13	银杏内酯 C*	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$	439.123 3 [M-H] ⁻	-2.9	383.133 0 [M-H-2CO] ⁻ , 365.124 4 [M-H-2CO-H ₂ O] ⁻ , 321.134 2 [M-H-2CO-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 303.123 5 [M-H-2CO-H ₂ O-2CO ₂] ⁻ , 259.133 8 [M-H-2CO-H ₂ O-2CO ₂ -H ₂ O] ⁻	银杏叶
14	8.33	鞣皮素-3- <i>O</i> -芸香糖苷	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	609.043 6 [M-H] ⁻	-4.1	300.026 5 [M-H-Rha-Glc] ⁻ , 271.024 2 [M-H-Rha-Glc-CO] ⁻ , 255.029 2 [M-H-Rha-Glc-CO-O] ⁻	绞股蓝
15	8.47	3- <i>O</i> -[6- <i>O</i> -(鼠李糖基)-葡萄糖基]-山奈素	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	595.166 1 [M+H] ⁺	0.6	449.107 3 [M+H-Rha] ⁺ , 287.055 3 [M+H-Rha-Glc] ⁺	银杏叶
16	8.82	山奈醇-4'- <i>O</i> -葡萄糖苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	447.092 2 [M-H] ⁻	-2.4	285.040 2 [M-H-Glc] ⁻	绞股蓝
17	9.05	野漆树苷*	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	579.170 2 [M+H] ⁺	-1.1	433.113 9 [M+H-Rha] ⁺ , 271.058 7 [M+H-Rha-Glc] ⁺	化橘红
18	9.11	柚皮苷*	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$	581.186 0 [M+H] ⁺	-0.9	315.086 5 [M+H-Rha-C ₈ H ₈ O] ⁺ , 273.074 3 [M+H-Rha-Glc] ⁺ , 153.018 6 [M+H-Rha-Glc-C ₈ H ₈ O] ⁺	化橘红
19	10.87	橙皮内酯	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_4$	261.111 7 [M+H] ⁺	-1.7	189.053 7 [M+H-C ₄ H ₈ O] ⁺ , 159.044 5 [M+H-C ₄ H ₈ O-CH ₂ O] ⁺ , 131.048 7 [M+H-C ₄ H ₈ O-CH ₂ O-CO] ⁺	化橘红
20	11.41	3- <i>O</i> -[6- <i>O</i> -(鼠李糖基)-葡萄糖基]-异鼠李素	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	625.174 4 [M+H] ⁺	-3.1	479.118 7 [M+H-Rha] ⁺ , 317.064 1 [M+H-Rha-Glc] ⁺	银杏叶
21	11.62	银杏内酯 A*	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_9$	409.148 1 [M+H] ⁺	-3.0	391.139 6 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 373.130 7 [M+H-2H ₂ O] ⁺ , 355.120 1 [M+H-3H ₂ O] ⁺ , 345.134 5 [M+H-2H ₂ O-CO] ⁺ , 327.123 7 [M+H-3H ₂ O-CO] ⁺	银杏叶
22	11.63	银杏内酯 B	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	425.144 0 [M+H] ⁺	-0.5	407.134 3 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 389.124 4 [M+H-2H ₂ O] ⁺ , 371.113 2 [M+H-3H ₂ O] ⁺ , 361.129 4 [M+H-2H ₂ O-CO] ⁺ , 343.119 0 [M+H-3H ₂ O-CO] ⁺	银杏叶
23	12.15	木犀草素	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	287.055 5 [M+H] ⁺	1.8	153.019 1 [M+H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁺	蜂胶
24	12.19	桑色素	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	301.033 9 [M-H] ⁻	-4.9	273.040 1 [M-H-CO] ⁻ , 178.998 2, 151.002 9	蜂胶
25	12.23	水合氧化前胡素*	$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_6$	305.102 2 [M+H] ⁺	0.6	203.034 4 [M+H-C ₅ H ₁₀ O ₂] ⁺ , 175.039 8 [M+H-C ₅ H ₁₀ O ₂ -CO] ⁺ , 159.045 2 [M+H-C ₅ H ₁₀ O ₂ -CO-O] ⁺ , 147.044 7 [M+H-C ₅ H ₁₀ O ₂ -2CO] ⁺ , 131.049 9 [M+H-C ₅ H ₁₀ O ₂ -2CO-O] ⁺	化橘红
26	12.83	商陆黄素-3- <i>O</i> -芸香糖苷	$\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_{16}$	637.174 8 [M-H] ⁻	-4.0	329.063 4 [M-H-Rha-Glc] ⁻ , 314.040 2 [M-H-Rha-Glc-CH ₃] ⁻ , 299.017 9 [M-H-Rha-Glc-2CH ₃] ⁻	绞股蓝
27	13.25	鞣皮素-3-甲基醚	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$	315.049 6 [M-H] ⁻	-4.5	300.025 3 [M-H-CH ₃] ⁻ , 271.023 2 [M-H-CH ₃ -CO] ⁻	蜂胶
28	14.11	柚皮素*	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	273.075 6 [M+H] ⁺	-0.5	153.018 3 [M+H-C ₈ H ₈ O] ⁺ , 147.044 5 [M+H-C ₈ H ₈ O ₃] ⁺	化橘红

续表 1

峰号	t_R/min	名称	分子式	一级质谱 m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 m/z	来源
29	14.25	芹菜素	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	269.044 6 [M-H] ⁻	-3.6	251.036 0 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 225.055 1 [M-H-CO ₂] ⁻ , 151.003 5 [M-H-C ₈ H ₆ O] ⁻ , 117.033 9 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻	化橘红/银杏叶/蜂胶
30	14.28	短叶松素	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	271.059 9 [M-H] ⁻	-5.0	253.048 8 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 225.055 3 [M-H-H ₂ O-CO] ⁻	蜂胶
31	14.60	山奈酚	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	287.055 6 [M+H] ⁺	2.1	259.061 0 [M+H-CO] ⁺ , 231.066 4 [M+H-2CO] ⁺	绞股蓝
32	15.21	异鼠李素	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$	315.049 8 [M-H] ⁻	-3.9	300.025 8 [M-H-CH ₃] ⁻	蜂胶
33	15.61	山奈素	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	301.069 3 [M+H] ⁺	-4.5	286.046 1 [M+H-CH ₃] ⁺ , 258.052 7 [M+H-CH ₃ -CO] ⁺	蜂胶
34	15.72	木犀草素-5-甲醚	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	299.054 8 [M-H] ⁻	-4.4	284.030 3 [M-H-CH ₃] ⁻ , 255.028 2	蜂胶
35	15.94	人参皂苷 Rb1	$\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{O}_{23}$	1 153.597 7 [M+HCOO] ⁻	-3.0	1 107.594 6 [M-H] ⁻	绞股蓝
36	15.95 3 β , 20S, 21-trihydroxy-2S-methoxydammar-23-ene 3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-[β - <i>D</i> -xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β - <i>D</i> -glucopyranosyl-21- <i>O</i> - β - <i>D</i> -xylopyranoside		$\text{C}_{53}\text{H}_{90}\text{O}_{21}$	1 107.592 4 [M-H] ⁻	-2.9	961.533 4 [M-H-Rha] ⁻ , 815.106 2 [M-H-2Rha] ⁻	绞股蓝
37	16.20	鞣皮素-二甲醚	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$	329.065 4 [M-H] ⁻	-3.9	314.040 8 [M-H-CH ₃] ⁺ , 299.018 0 [M-H-2CH ₃] ⁺	蜂胶
38	17.24	鹰嘴豆芽素 A	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	285.074 8 [M+H] ⁺	-3.3	270.051 0 [M+H-CH ₃] ⁺ , 242.057 4 [M+H-CH ₃ -CO] ⁺	蜂胶
39	17.29	高良姜素-5-甲醚	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	283.059 9[M-H] ⁻	-4.6	268.036 4 [M-H-CH ₃] ⁺ , 239.033 2 [M-H-CH ₃ -CO ₂] ⁺	蜂胶
40	17.36	异橙皮内酯*	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_4$	261.111 3 [M+H] ⁺	-3.2	189.053 9 [M+H-C ₄ H ₈ O] ⁺ , 159.044 8 [M+H-C ₄ H ₈ O-CH ₂ O] ⁺ , 131.049 0 [M+H-C ₄ H ₈ O-CH ₂ O-CO] ⁺	化橘红
41	18.38	鞣皮素-3,3'-二甲醚	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$	329.065 5 [M-H] ⁻	-3.7	314.039 9 [M-H-CH ₃] ⁺ , 299.016 6 [M-H-2CH ₃] ⁺ , 271.022 4 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁺	蜂胶
42	18.40	人参皂苷 Rg1	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{14}$	845.490 6 [M+HCOO] ⁻	0.3	799.481 5 [M-H] ⁻ , 637.439 3 [M-H-Glc] ⁻	绞股蓝
43	18.45	柠檬苦素	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_8$	469.186 3 [M-H] ⁻	-1.0	423.190 8 [M-H-CO ₂ -H ₂ O] ⁻	化橘红
44	19.02	七叶胆苷X VII	$\text{C}_{48}\text{H}_{82}\text{O}_{18}$	991.545 4 [M+HCOO] ⁻	-2.9	945.539 7 [M-H] ⁻	绞股蓝
45	19.56	白杨素*	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$	253.049 6 [M-H] ⁻	-3.9	209.059 2 [M-H-CO ₂] ⁻ , 143.049 0 [M-H-C ₃ O ₂ -C ₂ H ₂ O] ⁻	蜂胶
46	19.88	咖啡酸苯酯	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$	255.064 3 [M+H] ⁺	-3.6	153.017 4	蜂胶
47	20.08	乔松素*	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$	269.081 9 [M-H] ⁻	-2.4	178.026 8 [M-H-C ₇ H ₇] ⁻ , 134.037 2 [M-H-C ₇ H ₇ -CO ₂] ⁻	蜂胶
48	20.18	甲氧基白杨素	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	283.059 9 [M-H] ⁻	-4.6	213.053 8 [M-H-C ₂ H ₂ O] ⁻ , 151.002 5	蜂胶
49	20.29	高良姜素	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	269.044 3 [M-H] ⁻	-4.6	153.017 3	蜂胶
50	20.73	短叶松素-3- <i>O</i> -乙酸酯	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$	313.070 5 [M-H] ⁻	-4.0	268.034 9 [M-CH ₃] ⁻ , 239.032 4 [M-H-CO ₂] ⁻	蜂胶
51	20.87 3 β , 12 β -20(<i>S</i>)-trihydroxydammar-24-ene-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyl-20- <i>O</i> -[β - <i>D</i> -6- <i>O</i> -acetylglucopyranosyl-(1-2)- β - <i>D</i> -glucopyranoside]		$\text{C}_{50}\text{H}_{84}\text{O}_{19}$	1 033.556 0 [M+HCOO] ⁻	-2.8	252.042 1 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 241.049 6 [M-H-CO] ⁻ , 213.054 7 [M-H-2CO] ⁻ , 153.017 7	蜂胶
						987.551 5 [M-H] ⁻ , 945.538 6 [M-H-C ₂ H ₂ O] ⁻	绞股蓝

续表 1
2424

峰号	t_R/min	名称	分子式	一级质谱 m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 m/z	来源
52	20.64	咖啡酸苯乙酯*	$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_4$	283.096 6 [M-H] ⁻	-3.5	179.033 6 [M-C ₈ H ₉] ⁻ , 135.043 8 [M-C ₈ H ₉ -CO ₂] ⁻	蜂胶
53	21.22	合金欢素	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	283.060 0 [M-H] ⁻	-4.1	268.034 9 [M-H-CH ₃] ⁻ , 239.032 3 [M-H-CH ₃ -CO] ⁻ , 211.037 5	蜂胶
54	21.29	绞股蓝皂苷 XXX V	$\text{C}_{53}\text{H}_{88}\text{O}_{23}$	1 137.456 7 [M+HCOO] ⁻	-2.8	1 091.560 2 [M-H] ⁻ , 1 049.550 7, 903.500 4	绞股蓝
55	21.52	泽兰林素	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$	343.081 9 [M-H] ⁻	-1.4	328.057 0 [M-H-CH ₃] ⁻ , 313.034 1 [M-H-2CH ₃] ⁻ , 285.039 3 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	蜂胶
56	21.80	积雪草酸	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_5$	487.342 2 [M-H] ⁻	-1.5	487.3416	蜂胶
57	21.95	绞股蓝皂苷 LXX IV	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{14}$	845.492 1 [M+HCOO] ⁻	-2.0	799.482 6 [M-H] ⁻ , 637.431 1 [M-H-Glc] ⁻ , 475.379 9 [M-H-2Glc] ⁻	绞股蓝
58	22.28	绞股蓝皂苷 LXX IV 或异构体	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{14}$	845.489 8 [M+HCOO] ⁻	-0.7	799.483 5 [M-H] ⁻ , 637.428 5 [M-H-Glc] ⁻ , 475.380 2 [M-H-2Glc] ⁻	绞股蓝
59	22.48	咖啡酸桂酯	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_4$	295.096 3 [M-H] ⁻	-4.3	178.026 2 [M-H-C ₉ H ₉] ⁻ , 134.035 9 [M-H-C ₉ H ₉ -CO ₂] ⁻	蜂胶
60	22.96	短叶松素-3-O-丙酸酯	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$	327.085 9 [M-H] ⁻	-4.6	253.047 9 [M-C ₃ H ₅ O-H ₂ O] ⁻ , 209.060 2 [M-C ₃ H ₅ O-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 181.065 8 [M-C ₃ H ₅ O-H ₂ O-CO ₂ -CO] ⁻ , 165.070 9 [M-C ₃ H ₅ O-H ₂ O-2CO ₂] ⁻	蜂胶
61	23.36	人参皂苷 F ₂	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{13}$	829.492 8 [M+HCOO] ⁻	-3.2	783.488 2 [M-H] ⁻ , 621.438 0 [M-H-Glc] ⁻	绞股蓝
62	23.68	人参皂苷 Rg ₃	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{13}$	829.492 5 [M+HCOO] ⁻	-3.6	783.486 5 [M-H] ⁻ , 621.434 6 [M-H-Glc] ⁻ , 459.386 3 [M-H-2Glc] ⁻	绞股蓝
63	24.89	短叶松素-3-O-丁酸酯	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6$	341.101 9 [M-H] ⁻	-3.4	253.048 1 [M-C ₄ H ₇ O-H ₂ O] ⁻ , 209.060 6 [M-C ₄ H ₇ O-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 143.050 1 [M-C ₄ H ₇ O-H ₂ O-C ₃ O ₂ -C ₂ H ₂ O] ⁻	蜂胶
64	24.91	白杨素-5-甲醚	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$	269.079 9 [M+H] ⁺	-3.5	254.056 8 [M+H-CH ₃] ⁺ , 226.061 2	蜂胶
65	25.13	短叶松素-3-O-戊酸酯	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_6$	353.101 4 [M-H] ⁻	-4.7	271.060 4 [M-C ₅ H ₇ O] ⁻ , 253.048 6 [M-C ₅ H ₇ O-H ₂ O] ⁻	蜂胶
66	25.24	达木林 B	$\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{O}_{13}$	827.476 1 [M+HCOO] ⁻	-4.5	781.475 9 [M-H] ⁻ , 619.425 1 [M-H-Glc] ⁻	绞股蓝
67	25.34	绞股蓝皂苷 XXX V	$\text{C}_{47}\text{H}_{78}\text{O}_{18}$	975.517 0 [M+HCOO] ⁻	-2.6	929.505 6 [M-H] ⁻	绞股蓝
68	26.04	绞股蓝皂苷 TN1	$\text{C}_{36}\text{H}_{62}\text{O}_9$	683.436 6 [M+HCOO] ⁻	-1.5	637.432 0 [M-H] ⁻ , 475.379 8 [M-H-Glc] ⁻	绞股蓝
69	26.60	pinobanksin-3-O-pentenoateor-2-methylbutyrate	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$	355.117 3 [M-H] ⁻	-4.0	253.047 8 [M-C ₃ H ₅ O-H ₂ O] ⁻	蜂胶
70	26.84	人参皂苷 Rg ₆	$\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{O}_{12}$	811.482 5 [M+HCOO] ⁻	-3.0	765.477 3 [M-H] ⁻ , 603.430 2 [M-H-Glc] ⁻	绞股蓝
71	26.89	短叶松素-3-O-己酸酯	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$	367.117 0 [M-H] ⁻	-4.7	271.060 2 [M-C ₆ H ₉ O] ⁻ , 253.049 3 [M-C ₆ H ₉ O-H ₂ O] ⁻	蜂胶
72	27.11	短叶松素-3-O-辛酸酯	$\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{O}_6$	403.116 8 [M-H] ⁻	-4.7	253.049 4 [M-C ₉ H ₉ O-H ₂ O] ⁻	蜂胶
73	27.21	人参皂苷 Rg ₅	$\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{O}_{12}$	811.482 5 [M+HCOO] ⁻	-3.0	765.476 1 [M-H] ⁻ , 603.424 8 [M-H-Glc] ⁻	绞股蓝
74	27.51	人参皂苷 CK	$\text{C}_{36}\text{H}_{62}\text{O}_8$	667.440 8 [M+HCOO] ⁻	-2.8	621.427 2 [M-H] ⁻ , 459.374 2 [M-H-Glc] ⁻	绞股蓝
75	27.70	短叶松素-3-O-己酸酯	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_6$	369.132 6 [M-H] ⁻	-4.8	253.048 3 [M-C ₈ H ₁₁ O-H ₂ O] ⁻	蜂胶
76	28.56	2-羟基油酸	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_3$	297.242 2 [M-H] ⁻	-4.4	279.233 1 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 171.102 6	蜂胶
77	29.99	橙皮油内酯	$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_3$	299.164 7 [M+H] ⁺	1.8	163.040 0 [M+H-C ₁₀ H ₁₆] ⁺ , 135.042 6 [M+H-C ₁₀ H ₁₆ -CO] ⁺ , 107.050 0 [M+H-C ₁₀ H ₁₆ -2CO] ⁺	化橘红

注:* 为对照品比对。

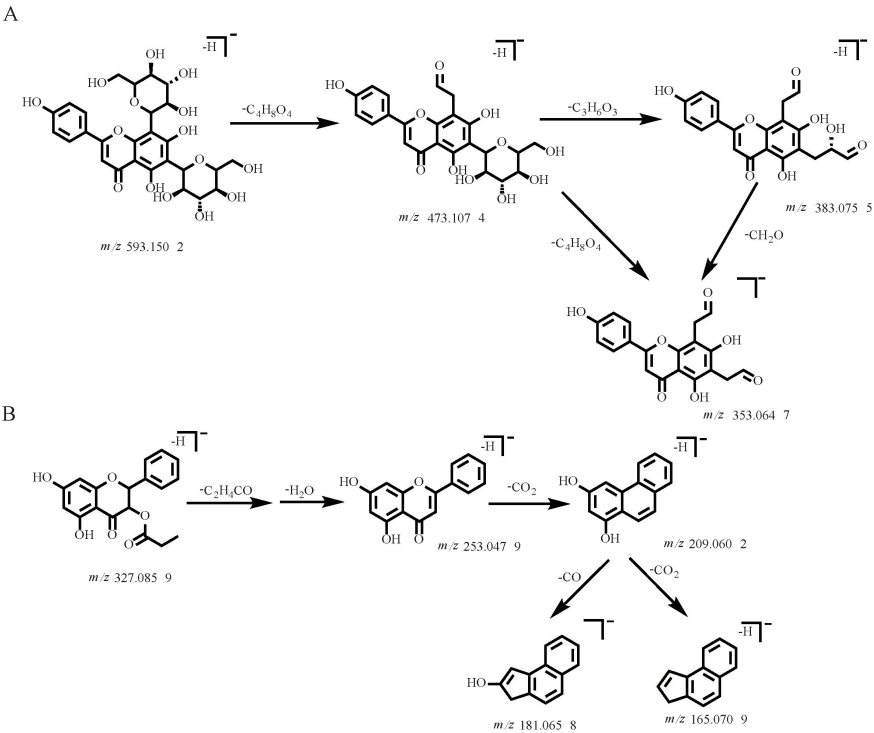


图 3 维采宁-2 (A)、短叶松素-3-O-丙酸酯 (B) 质谱裂解途径

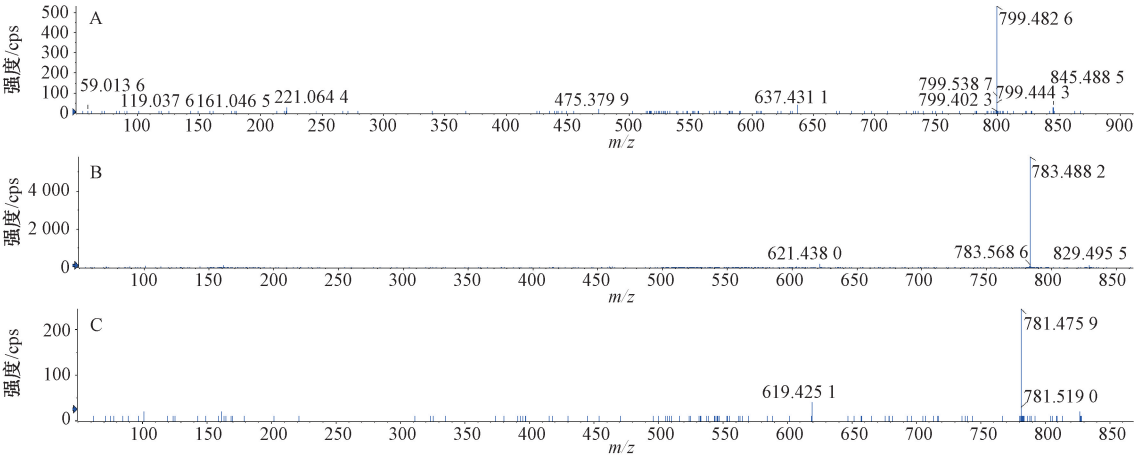


图 4 绞股蓝皂苷 LXXIV (A)、人参皂苷 F₂ (B)、达木林 B (C) 二级质谱图

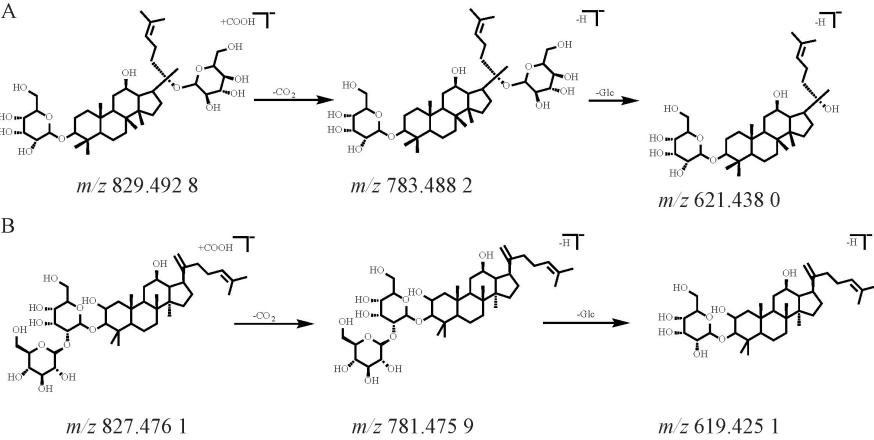


图 5 人参皂苷 F₂ (A)、达木林 B (B) 质谱裂解途径

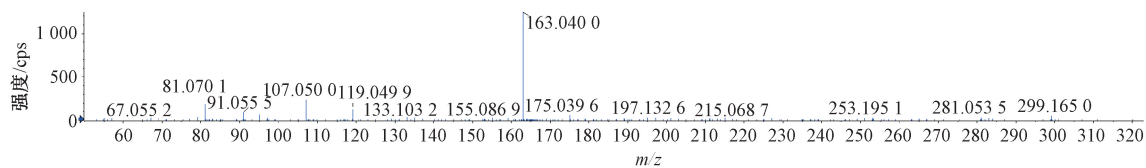


图 6 橙皮油内酯二级质谱图

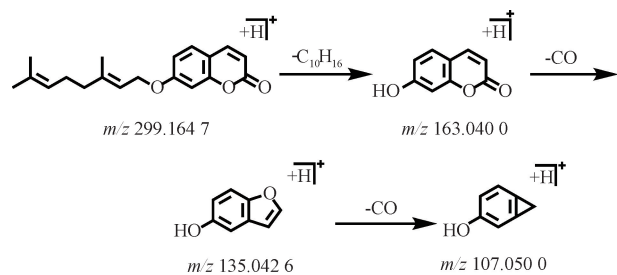


图 7 橙皮油内酯质谱裂解途径

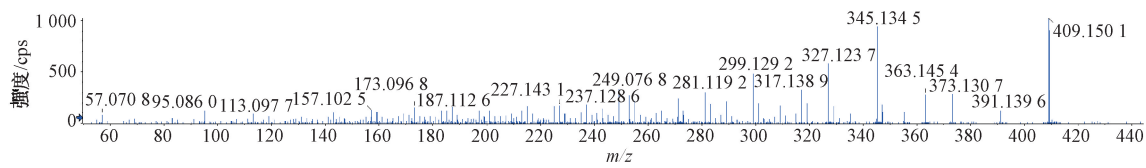


图 8 银杏内酯 A 二级质谱图

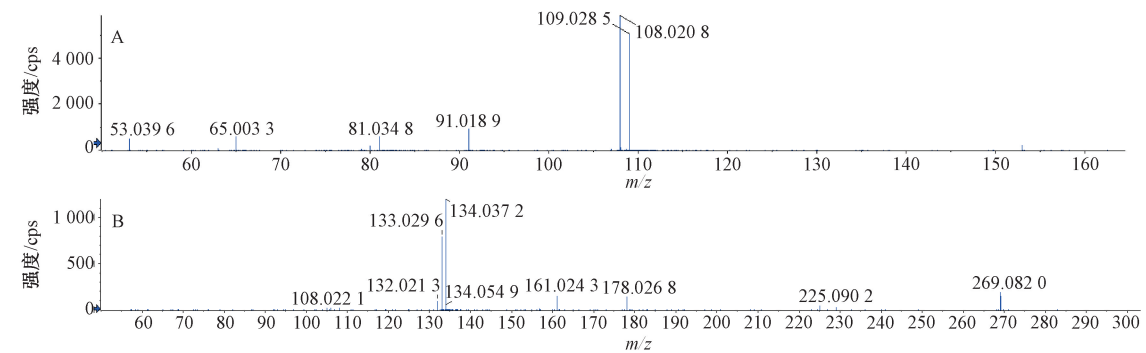


图 9 原儿茶酸 (A)、咖啡酸苄酯 (B) 二级质谱图

得到碎片 m/z 109.028 5、91.018 9，结合碎片信息和文献 [15] 鉴定为原儿茶酸，其二级质谱、裂解途径分别见图 9A、10。峰 46 的准分子离子峰为 m/z 269.081 9 $[M-H]^-$ ，脱去 C_7H_7 得到碎片 m/z 178.026 8，再脱去一分子 CO_2 得到碎片 m/z 134.037 2，结合碎片信息和文献 [13] 鉴定为咖啡酸苄酯，其二级质谱见图 9B。

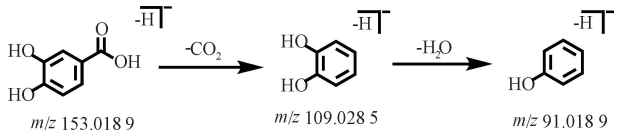


图 10 原儿茶酸质谱裂解途径

4 讨论与结论

本实验从银蓝调脂胶囊中分离鉴定出 77 个化合物，以黄酮类、绞股蓝皂苷类、香豆素类、内酯类、有机酸类为主，大多数与高脂血症发病机制有关。例如，黄酮类具有

抗氧化、抗炎、抗癌、降血糖、损伤保护等作用，其中柚皮苷能调节脂质代谢，改善脂代谢紊乱，防治高脂血症^[24]，而柚皮素可减轻胰岛素抵抗、脂肪组织扩张及炎症^[25]；皂苷类来源于绞股蓝，大多具有抗肿瘤、抗炎、降血糖、保护肝脏等作用，可改善多种糖尿病并发症^[26]；香豆素类来源于化橘红，其中橙皮内酯、异橙皮内酯具有良好的抗炎、抗菌活性^[27]；内酯类主要来源于银杏叶，是治疗神经系统疾病一类重要的活性成分，银杏内酯 A、B、C 均具有特异性的抗血小板活化因子活性^[28]，并且上述成分均为全方药材中含量较高的主要成分或特征成分，推测可能是在体内产生药效作用的物质，能为后续定量分析、入血成分、药动学等方面的研究起到重要作用。另外，银蓝调脂胶囊 4 味组方药材中某些已知成分未在本实验中检测到，可能与 ESI 离子化效率有关，也可能与药材处理方法、产地、生长和采收时间、液质条件等因素相关，具体有待

进一步研究。

综上所述,本实验采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 法分析银蓝调脂胶囊中化学成分,并进行药味归属,不仅丰富了该制剂化合物组成信息,也为进一步阐明其药效物质基础及建立其质量控制标准提供了新的技术和方法。

参考文献:

[1] Drechsler M, Megens R T A, van Zandvoort M, *et al.* Hyperlipidemia-triggered neutrophilia promotes early atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2010, 122(18): 1837-1845.

[2] Malloy M J, Kane J P. Hyperlipidemia and cardiovascular disease[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2012, 23(6): 591-592.

[3] Sparrow C P, Parthasarathy S, Steinberg D. A macrophage receptor that recognizes oxidized low density lipoprotein but not acetylated low density lipoprotein[J]. *J Biol Chem*, 1989, 264(5): 2599-2604.

[4] 陈玉兴,黄雪君,杜铁良,等.银蓝调脂胶囊对实验性高脂血症新西兰兔血清脂质水平的影响[J].*中成药*, 2014, 36(7): 1518-1521.

[5] 谢凯枫,卓俊城,曾晓会,等.银蓝调脂胶囊通过促进 RCT 和 TG 水解调控高脂血症小鼠脂质代谢的机制研究[J].*中药材*, 2018, 41(4): 955-960.

[6] 黄丹娥,李茹月,蔡大可,等.银蓝调脂胶囊对巨噬细胞泡沫化的抑制作用及机制研究[J].*世界科学技术(中医药现代化)*, 2018, 20(11): 2014-2020.

[7] 李 偲,张东旭,刘羽康,等.基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 法的耳聿胶囊化学成分辨识及归属[J].*中成药*, 2022, 44(1): 132-141.

[8] 崔琳琳,包永睿,王 帅,等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速鉴定补肺健脾方的化学成分[J].*中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(9): 184-193.

[9] 韩鑫龙,成 欣,孙颖超,等.基于 UHPLC-Orbitrap-MS/MS 法分析青蒿鳖甲汤化学成分[J].*中成药*, 2021, 43(12): 3531-3535.

[10] 王婷婷,安 骛,梁 琨,等.基于 UPLC-LTQ-Orbitrap 高分辨质谱的葛根芩连汤的化学成分分析[J].*中草药*, 2020, 51(6): 1498-1507.

[11] 张翠平,胡福良.蜂胶中的黄酮类化合物[J].*天然产物研究与开发*, 2009, 21(6): 1084-1090.

[12] 金 平,张 宇,王 会,等.蜂胶的化学成分及药理作用[J].*吉林中医药*, 2018, 38(4): 432-434.

[13] 姚 静,孙建国,吴 亮,等.蜂胶化学成分的 LC-IT-TOF-MS 鉴别[J].*中国药科大学学报*, 2017, 48(2): 178-183.

[14] 胡蓉蓉,姚 鑫. UPLC-MS/MS 测定银杏叶提取物中 10 个黄酮类成分的含量[J].*中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(24): 90-95.

[15] 李泮霖,黄 昕,云 莎,等.基于 UFLC-Triple TOF-MS/MS 技术的银杏叶提取物注射液化学物质基础研究[J].*中南药学*, 2017, 15(5): 573-579.

[16] 刘群娣,谢春燕,闫李丽,等.化橘红化学成分的 HPLC-DAD-MS/MS 分析[J].*世界科学技术(中医药现代化)*, 2011, 13(5): 864-867.

[17] Zeng X, Su W W, Zheng Y Y, *et al.* UFLC-Q-TOF-MS/MS-based screening and identification of flavonoids and derived metabolites in human urine after oral administration of exocarpium citri grandis extract [J]. *Molecules*, 2018, 23(4): 895.

[18] 彭 维,吴万征,邹 威,等.原创中药红珠胶囊基于 RRLC-ESI-MS/MS 技术的化学成分分析[J].*中山大学学报(自然科学版)*, 2014, 53(4): 119-122.

[19] Ling Y, Lei Z N, Li X Y, *et al.* Characterization and identification of the chemical constituents of gynostemma pentaphyllum using high performance liquid chromatography-electrospray ionization-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-QTOF-MS/MS) [J]. *Anal Lett*, 2020, 53(5): 760-773.

[20] 袁志鹰,谢梦洲,黄惠勇.绞股蓝植物资源、化学成分及药理研究进展[J].*亚太传统医药*, 2019, 15(7): 190-197.

[21] 王 昕,郭晓敏,程捷恺,等.基于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 和 LTQ-MSⁿ 联用技术快速鉴定绞股蓝皂苷类化学成分[J].*中国药学杂志*, 2020, 55(24): 2044-2051.

[22] 温秀萍,翁艳鸿,陈祖倩,等. UPLC-MS/MS 法同时测定绞股蓝中 16 个皂苷类成分的含量[J].*药物分析杂志*, 2022, 42(2): 198-210.

[23] 曲正义,郑培和,李亚丽,等.超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法对三七果中皂苷类成分的快速鉴定[J].*分析化学*, 2022, 50(2): 225-259.

[24] 谭 超,肖红波.柚皮苷对大鼠 PCSK9-LDLR 表达及血脂代谢的影响[J].*动物医学进展*, 2018, 39(5): 91-93.

[25] Assini J M, Mulvihill E E, Sutherland B G, *et al.* Naringenin prevents cholesterol-induced systemic inflammation, metabolic dysregulation, and atherosclerosis in Ldlr^{-/-} mice [J]. *J Lipid Res*, 2013, 54(3): 711-724.

[26] 诸夔姐,寿旗扬,田雨闪,等.绞股蓝治疗糖尿病的效应成分群及作用机制研究进展[J].*中草药*, 2020, 51(8): 2248-2257.

[27] 王艳慧.化橘红的研究进展[J].*世界科学技术(中医药现代化)*, 2017, 19(6): 1076-1082.

[28] 张 峥,叶小玉,肖 强,等. UPLC-TOF-MS 快速测定不同核用银杏品种银杏叶中银杏内酯和白果内酯含量[J].*天然产物研究与开发*, 2015, 27(2): 286-288; 300.