

基于UPLC-Q-TOF-MS的布芍调脂胶囊化学成分分析

肖观林, 江洁怡, 胥爱丽, 李养学, 毕晓黎*

(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, 广州 510095)

[摘要] 目的:采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术对中药复方布芍调脂胶囊中的化学成分进行定性分析。方法:采用Waters CORTECS UPLC C₁₈色谱柱(2.1 mm×150 mm, 1.6 μm),流动相甲醇-0.1%甲酸水溶液进行梯度洗脱,柱温40℃,流速0.24 mL·min⁻¹,进样量1 μL;质谱条件为X500R QTOF质谱仪,电喷雾离子源(ESI)分别在正、负离子模式下对色谱流出物进行高分辨四级杆飞行时间串联质谱检测,对各主要色谱峰进行归属。结果:通过高分辨质谱数据分析、结合参考文献数据以及对照品确认,共鉴别出53个化学成分,包括21个黄酮类,10个酚酸类,5个单萜及其苷类,7个二萜内酯类及10个倍半萜类成分,并对化合物的药材来源进行了归属,其中5个黄酮类化合物(芒果苷、异槲皮苷、香蒲新苷、异鼠李素-3-O-新橙皮苷、银椴苷)首次在布渣叶中发现。结论:UPLC-Q-TOF-MS联用技术为鉴别布芍调脂胶囊中化学成分提供简便、快速、准确的方法,鉴定得到的各类化学成分基本可涵盖组方中各药材的主要成分,为进一步阐明布芍调脂胶囊的药效物质基础、作用机制及优选质量控制指标提供了理论依据和技术方法。

[关键词] 布芍调脂胶囊;超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱;黄酮类;酚酸类;萜类

[中图分类号] R284.1;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)14-0190-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201613

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200429.1622.004.html>

[网络出版日期] 2020-4-29 16:38

Analysis of Chemical Constituents in Bushao Tiaozhi Capsules by UPLC-Q-TOF-MS

XIAO Guan-lin, JIANG Jie-yi, XU Ai-li, LI Yang-xue, BI Xiao-li*

(Guangdong Province Engineering Technology Research Institute of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development in TCM, Guangzhou 510095, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the main chemical constituents of traditional Chinese medicine compound Bushao Tiaozhi capsules by using UPLC-Q-TOF-MS technology. **Method:** The separation was eluted with Waters CORTECS UPLC C₁₈ column (2.1 mm×150 mm, 1.6 μm) in a gradient mode, with methanol-0.1% formic acid as the mobile phase. The column temperature was 40℃, the flow rate was 0.24 mL·min⁻¹, and the injection volume was 1 μL. The mass spectrometry condition was X500R QTOF mass spectrometry, the positive and negative electrospray ionization (ESI) was adopted for determine the chromatographic effluent, and the main chromatographic peaks were assigned and distinguished by Q-TOF. **Result:** A total of 53 chemical constituents were identified by reference confirmation, literature comparison, and high mass spectrometry data analysis. The chemical constituent cluster was composed of 21 flavonoids, 10 phenolics, 5 monoterpene glycosides, 7 diterpene lactones and 10 sesquiterpenes. Furthermore, all of the constituents were surveyed and classified according to their medicinal materials derivation. Among them, the 5

[收稿日期] 20191202(006)

[基金项目] 广东省科技计划项目(2017A070701017);国家“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09301011-002)

[第一作者] 肖观林,在读硕士,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,博士,主任中药师,硕士生导师,从事中药质量评价研究, Tel:020-83482098, E-mail:549732952@qq.com

flavonoids components (mangiferin, isoquercitrin, typhaneoside, isorhamnetin 3-*O*-neohesperidoside, tiliroside) were identified in *Microctis Folium* for the first time. **Conclusion:** This study shows that UPLC-Q-TOF-MS technology provides a simple, rapid, and accurate method for the identification of chemical constituents in Bushao Tiaozhi capsules. The identified chemical components mostly cover the main constituents of each medicinal material in the formula, so as to provide a new technological method and theoretical foundation for further defining the pharmacological basis and mechanism of action and optimizing the quality control of Bushao Tiaozhi capsules.

[Key words] Bushao Tiaozhi capsules; ultra-performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry; flavonoids; phenolics; terpenes

高脂血症是全球范围内的常见病、多发病,易引发动脉粥样硬化、脂肪肝等具有高发病率、高致残率和高死亡率的心脑血管疾病,严重危害人类的生命健康,因此有效防治高脂血症成为了当今研究的热点^[1-2]。布芍调脂胶囊是由广东省第二中医院(广东省中医药工程技术研究院)原创研发的中药六类新药,是在传统中医药理论指导下研制的调脂中药复方制剂,由布渣叶、赤芍、莪术(蓬莪术)和穿心莲4味药组成,具有消食化滞、活血祛瘀的功效,主要用于食滞痰热型高脂血症的治疗。课题组前期药理研究表明,布芍调脂胶囊的调血脂作用优于血脂康组,与非诺贝特组相当,可有效降低高脂血症小鼠总胆固醇(TC)和总甘油三酯(TG)含量,对高脂血症大鼠脂质代谢有较好的调节作用,具有明显的降脂作用,且未发现明显的毒副作用,适用于临床高脂血症的治疗^[3-4],已于2016年3月获得国家食品药品监督管理总局(CFDA)颁发的药物临床试验批件(批件号2016L02809),目前已经进入II a期临床研究。虽然目前已有关于其质量控制的相关研究,然而仅局限于评价原料药材质量优劣、半成品和成品指纹图谱等方面的研究,难以对药物质量进行全面把控。作为复方中药,其药效物质基础、作用机制研究也尚未明确。因此,全面、系统地分析布芍调脂胶囊中的化学成分对于明确该复方的活性成分、作用机制及完善质量控制体系具有重要的意义。

中药复方是中医用药的主要形式,其作用特点是通过多成分、多靶点、多途径对机体发挥整体的治疗作用。近年来,具有高选择性、高分辨率、高灵敏度的超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术在中药复杂体系成分的定性鉴别研究中发挥着至关重要的作用,为中药复方的质量研究提供强有力的技术支撑^[5-7]。因此,本实验采用UPLC-Q-TOF-MS技术对布芍调脂胶囊中的

化学成分进行系统研究,通过与对照品比对,结合准分子离子、二级碎片离子信息及相关参考文献,共鉴别出53个化学成分,包括21个黄酮类,10个酚酸类,5个单萜及其苷类,7个二萜内酯类及10个倍半萜类成分,并对其进行药材归属,为进一步阐明布芍调脂胶囊的药效物质基础和建立质量控制体系提供依据。

1 材料

ExionLC AC型液相色谱仪,X500R QTOF型质谱仪(美国Sciex公司);XS205型1/10万电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);KQ-700DE型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司,超声功率700 W,工作频率40 kHz);Sorvall Legend Micro 17R型微量离心机(美国Thermo Scientific公司,离心半径8.6 cm)。

对照品芒果苷、莪术二酮、吉马酮、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷(纯度93.2%)(中国食品药品检定研究院,批号分别为111607-200402,111800-201302,111665-201204,111571-201205);芍药苷(纯度95.7%),新绿原酸,隐绿原酸,芍药内酯苷,牡荆苷,香蒲新苷,新穿心莲内酯(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号分别为S-010-170214, X-014-180410, Y-067-180425, S-011-180908, M-023-120429, X-020-120305, C-049-161205);银椴苷(成都普瑞法科技开发有限公司,批号PRF9101501);异槲皮苷(成都埃法生物科技有限公司,批号AF7070301),未标明纯度的对照品均>98.0%。甲醇、甲酸、乙腈(质谱纯,美国Fisher公司),蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司)。

布芍调脂胶囊(批号20191012)由广东省第二中医院委托国药集团广东环球制药有限公司生产,方中所含4味药材布渣叶(*Microcos paniculata*),赤芍(*Paeonia lactiflora*),莪术(*Curcuma phaeocaulis*),穿心莲(*Andrographis paniculata*)均购自广东康美药业

股份有限公司,经广东省第二中医院(广东省中医药工程技术研究院)刘法锦研究员鉴定,均符合2015年版《中国药典》(一部)相应项下要求。

2 方法

2.1 供试品溶液制备 取布芍调脂胶囊内容物约0.5 g,精密称定,置于50 mL具塞锥形瓶中,精密加入75%甲醇25 mL,称定质量,超声(功率300 W,频率40 kHz),处理30 min,放冷,摇匀,离心处理(转速13 000 r·min⁻¹)10 min,取上清液,即得。

2.2 单味药材溶液的制备 按照处方量折算,取布渣叶、赤芍、穿心莲、莪术各0.5 g,分别精密加入75%甲醇25 mL,按2.1项下方法制备,得到各单味药材样品溶液。

2.3 对照品溶液制备 精密称取芒果苷、莪术二酮、吉马酮、异鼠李素-3-O-新橙皮苷、芍药苷、芍药内酯苷、牡荆苷、香蒲新苷、新穿心莲内酯、银椴苷、异槲皮苷、新绿原酸、隐绿原酸各对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为25.30, 18.52, 20.00, 14.50, 10.11, 14.20, 22.10, 17.85, 9.37, 10.50, 12.10, 20.12, 14.50 mg·L⁻¹的混合对照品溶液。

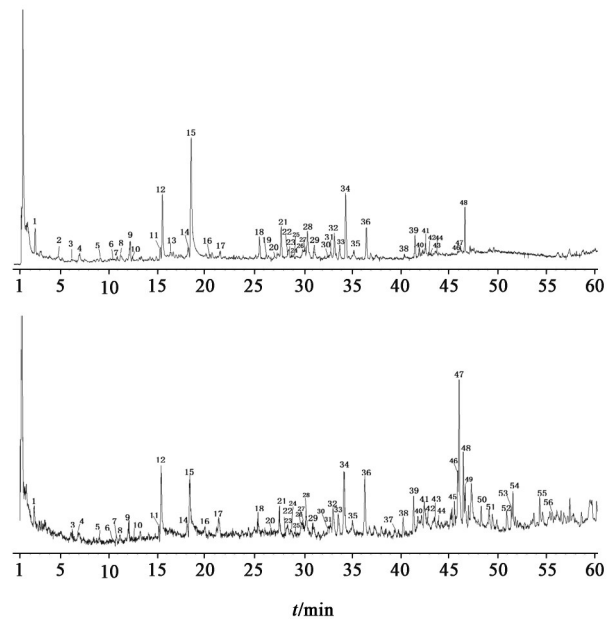
2.4 色谱条件 Waters CORTECS UPLC C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 1.6 μm);流动相甲醇(A)-0.1%甲酸水溶液(B),梯度洗脱(0~16 min, 7%~22%A; 16~23 min, 22%~29%A; 23~38 min, 29%~45%A; 38~50 min, 45%~70%A; 50~62 min, 70%~98%A; 62~68 min, 98%A);流速0.24 mL·min⁻¹;柱温40 °C;进样量1 μL。

2.5 质谱条件 Sciex X500R QTOF型质谱仪,正、负离子模式扫描测定,仪器参数如下,扫描范围 *m/z* 100~1 000,雾化气压力379.2 kPa,辅助气压力379.2 kPa,气帘气压力241.3 kPa,雾化温度

500 °C,正、负离子分别进行全扫描(ESI);正离子模式下,毛细管电压5 500 V,裂解电压100 V,碰撞能量35 V;负离子模式下,毛细管电压4 500 V,裂解电压-80 V,碰撞能量35 V。

3 结果与分析

3.1 鉴定结果 根据质谱数据分析化合物保留时间、准确相对分子质量、碎片离子信息并结合对照品和文献比对,共鉴别出53个化学成分,包括21个黄酮类,10个酚酸类,5个单萜及其苷类,7个二萜内酯类及10个倍半萜类成分。总离子流图见图1,通过与药材图谱对照确定了化合物来源归属,并首次在布渣叶中发现了芒果苷、异槲皮苷、香蒲新苷、异鼠李素-3-O-新橙皮苷、银椴苷^[8-19]。见表1。



A. 正离子模式; B. 负离子模式

图1 布芍调脂胶囊总离子流

Fig. 1 TIC of Bushao Tiaozi capsules

表1 布芍调脂胶囊中化学成分的UPLC-Q-TOF-MS鉴别分析

Table 1 Qualitative analysis results of chemical constituents in Bushao Tiaozi capsule by UPLC-Q-TOF-MS

No.	<i>t_R</i> /min	化合物	分子式	实测值(<i>m/z</i>)	碎片离子(<i>m/z</i>)	δ	来源
1	2.528	没食子酸 ^[8]	C ₇ H ₆ O ₅	169.013 7[M-H] ⁻	125.023 0[M-H-CO ₂] ⁻	-3.5	B
2	4.673	原儿茶酸 ^[9]	C ₇ H ₆ O ₄	153.019 3[M-H] ⁻	109.028 9[M-H-CO ₂] ⁻	-0.3	C
3	6.300	新绿原酸 ^a	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 4[M-H] ⁻	191.055 4[M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 179.034 2, 173.045 0, 135.044 9	-1.0	C
4	7.066	未知	C ₁₆ H ₁₆ O ₁₂	399.056 3[M-H] ⁻	204.999 5	-1.3	A
5	9.201	儿茶素 ^[8]	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.071 5[M-H] ⁻	221.083 3[M-H-C ₃ O ₂] ⁻ , 175.077 3[M-H-C ₃ O ₂ -CH ₂ O ₂] ⁻ , 121.030 6[M-H-C ₃ O ₂ -CO ₂ -C ₄ H ₈] ⁻ 291.086 1[M+H] ⁺ 207.066 2, 139.039 3, 123.044 5	-1.8	B
6	10.987	绿原酸 ^[10,16]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 1[M-H] ⁻	191.054 8[M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 173.045 3[M-H-C ₉ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻ 355.102 1[M+H] ⁺ 163.039 0, 145.028 8	-0.8	C

续表 1

No.	t_R /min	化合物	分子式	实测值(m/z)	碎片离子(m/z)	δ	来源
7	11.268	咖啡酸 ^[9,16]	C ₉ H ₈ O ₄	179.034 9[M-H] ⁻	135.044 8[M-H-CO ₂] ⁻ , 107.050 7	-0.2	C
8	11.336	羟基芍药苷 ^[8]	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂	495.148 9[M-H] ⁻	465.139 9, 281.065 9, 137.023 9	-3.8	B
9	12.306	未知	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₆	583.130 0[M-H] ⁻	565.120 6, 493.098 2, 463.086 6 585.142 9[M+H] ⁺ 531.114 0, 447.091 1, 369.060 7	-1.6	A
10	12.529	隐绿原酸 ^a	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 1[M-H] ⁻	191.056 2[M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 179.034 3, 173.045 3, 135.045 1, 173.044 8[M-H-C ₉ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻	-1.9	C
11	15.369	表儿茶素 ^[11,14-15]	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.071 4[M-H] ⁻	245.081 3, 203.070 9, 165.019 6, 151.039 9, 123.044 7, 109.029 1 291.086 2[M+H] ⁺ 207.066 0, 139.038 7, 123.043 9	-1.1	A
12	15.594	芍药内酯苷 ^{a[8]}	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	525.160 0[M+ HCOO] ⁻ , 479.156 3[M-H] ⁻	357.138 4[M-H-benzoic acid] ⁻ , 449.146 3[M-H-HCHO] ⁻ , 121.029 2[C ₈ H ₉ O] ⁻ 481.169 8[M+H] ⁺ 319.117 7[M+H-Glc] ⁺ , 133.064 2, 105.032 4	0.9	B
13	16.450	<i>p</i> -香豆酸 ^[11]	C ₉ H ₈ O ₃	163.039 9[M-H] ⁻	119.049 1[M-H-CO ₂] ⁻ , 93.034 3	-0.9	A
14	18.277	芒果苷 ^a	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	421.077 0[M-H] ⁻	403.067 9, 331.044 3[M-H-C ₃ H ₆ O ₃] ⁻ , 301.033 1[M-H-C ₄ H ₈ O ₄] ⁻ 423.091 8[M+H] ⁺ 303.050 5[M+H-C ₄ H ₈ O ₄] ⁺ , 273.039 5	-1.4	A
15	18.541	芍药苷 ^{a[8]}	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	525.160 4[M+ HCOO] ⁻ , 479.155 8[M-H] ⁻	449.141 9[M-H-HCHO] ⁻ , 327.105 9[M-H-HCHO-benzoic acid] ⁻ , 121.027 2[C ₈ H ₉ O] ⁻	-1.9	B
16	20.075	阿魏酸 ^[9,11,16]	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193.050 4[M-H] ⁻	178.027 7[M-H-CH ₃] ⁻ , 134.037 1[M-H-CH ₃ -CO ₂] ⁻ 195.065 2[M+H] ⁺ 177.055 4[M+H-H ₂ O] ⁺ , 145.028 4	-1.0	A C
17	21.539	neoprocumeneol或 异构体 ^[12]	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	235.168 7[M+H] ⁺	217.158 9[M+H-H ₂ O] ⁺ , 193.159 7, 177.127 7	-2.1	D
18	25.569	牡荆苷 ^{a[11,14-15]}	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.096 5[M-H] ⁻	311.052 3, 283.058 1 433.112 4[M+H] ⁺ 415.102 0[M+H-H ₂ O] ⁺ , 313.069 6, 283.059 6	-1.3	A
19	26.264	没食子酰芍药苷 或异构体 ^[8]	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₅	631.164 8[M-H] ⁻	613.156 1[M-H-H ₂ O] ⁻ , 491.119 1[M-H-H ₂ O-C ₇ H ₆ O ₂] ⁻ , 313.055 8[M-H-H ₂ O-C ₇ H ₆ O ₂ -C ₁₀ H ₉ O ₃] ⁻	-3.2	B
20	27.133	木犀草素-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> - 葡萄糖醛酸苷 ^[10]	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	461.072 5[M-H] ⁻	285.039 4[M-H-GlcA] ⁻ 463.086 7[M+H] ⁺ 287.054 6[M+H-GlcA] ⁺	-0.6	C
21	27.782	异牡荆苷 ^[11,14-15]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.097 1[M-H] ⁻	341.063 7, 311.052 6, 283.058 3 433.112 2[M+H] ⁺ 337.069 7, 313.069 3, 283.058 6	-2.9	A
22	28.515	鞣花酸 ^[13]	C ₁₄ H ₆ O ₈	300.998 7[M-H] ⁻	283.995 8[M-H-OH] ⁻ , 245.010 1[M-H-2CO] ⁻ , 229.014 5[M- H-CO-CO ₂] ⁻ 303.013 1[M+H] ⁺ 285.004 2[M+H-H ₂ O] ⁺ , 275.019 0[M+H-CO] ⁺ , 257.009 2[M+ H-H ₂ O-CO] ⁺	-0.9	B
23	28.535	异槲皮苷 ^a	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.087 9[M-H] ⁻	300.026 6[M-H-Glc] ⁻ , 271.024 9 465.102 8[M+H] ⁺ 303.050 0[M+H-Glc] ⁺	-0.6	A
24	28.634	香蒲新苷 ^a	C ₃₄ H ₄₂ O ₂₀	769.217 9[M-H] ⁻	315.050 1[M-H-2Rha-Glc] ⁻ 771.234 1[M+H] ⁺ 479.122 7[M+H-2Rha] ⁺ , 317.066 6[M+H-2Rha-Glc] ⁺	-2.3	A
25	28.906	芦丁 ^[14]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.145 1[M-H] ⁻	301.034 4, 283.028 1 611.160 8[M+H] ⁺ 465.105 0[M+H-Rha] ⁺ , 303.049 7[M+H-Rha-Glc] ⁺ , 137.024 6	-1.7	A
26	29.051	异鼠李素-3- <i>O</i> -新橙 皮苷 ^a	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	623.161 2[M-H] ⁻	315.051 3[M-H-Rha-Glc] ⁻ , 299.019 9 625.176 8[M+H] ⁺ 479.119 1[M+H-Rha] ⁺ , 317.066 2[M+H-Rha-Glc] ⁺	-0.9	A
27	30.239	佛莱心苷 ^[11]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	577.153 9[M-H] ⁻	559.145 1, 503.119 0, 383.075 6	-2.2	A

续表 1

No.	t_R /min	化合物	分子式	实测值(m/z)	碎片离子(m/z)	δ	来源
				579.169 5[M+H] ⁺	561.162 5, 543.150 8, 525.140 3		
28	30.467	异佛莱心苷 ^[11]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	577.154 8[M-H] ⁻	503.118 6, 383.075 8	-1.7	A
				579.169 8[M+H] ⁺	561.162 5, 543.150 8, 525.140 3		
29	31.181	芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷 ^[10]	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	445.076 6[M-H] ⁻	269.042 8[M-H-GlcA] ⁻	-2.3	C
				447.091 8[M+H] ⁺	271.058 3[M+H-GlcA] ⁺		
30	32.748	紫云英苷 ^[14]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.092 3[M-H] ⁻	284.031 3[M-H-Glc] ⁻	-2.2	A
				449.107 9[M+H] ⁺	287.054 7[M+H-Glc] ⁺		
31	32.927	异绿原酸B ^[9]	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.118 5[M-H] ⁻	353.086 5[M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 191.056 0[M-H-2C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 179.034 4, 173.045 0[M-H-2C ₉ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻	-2.0	C
32	33.254	山柰酚-3-O-芸香糖苷 ^[15]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.149 9[M-H] ⁻	285.036 8[M-H-Rha-Glc] ⁻	-2.2	A
				595.165 1[M+H] ⁺	449.108 7[M+H-Rha] ⁺ , 287.053 6[M+H-Rha-Glc] ⁺		
33	33.805	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷 ^[11,15]	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	477.101 8[M-H] ⁻	315.049 8[M-H-Glc] ⁻	-1.9	A
				479.117 5[M+H] ⁺	317.064 0[M+H-Glc] ⁺ , 302.042 6[M+H-Glc-CH ₃] ⁺		
34	34.418	水仙苷 ^[11,15]	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	623.160 6[M-H] ⁻	357.061 9, 315.047 5	-1.8	A
				625.175 7[M+H] ⁺	479.117 2[M+H-Rha] ⁺ , 317.063 1[M+H-Rha-Glc] ⁺ , 302.042 5[M+H-Rha-Glc-CH ₃] ⁺		
35	35.246	未知	C ₃₃ H ₃₈ O ₂₂	785.177 5[M-H] ⁻	605.115 8, 561.124 0, 285.040 6	-2.2	C
				787.193 0[M+H] ⁺	625.141 4, 463.090 3, 287.055 2		
36	36.547	穿心莲内酯 ^[16-17]	C ₂₀ H ₃₀ O ₅	395.206 7[M+H] ⁺	331.190 0[M-H-H ₂ O] ⁻ , 287.200 1[HCOO] ⁻	-2.1	C
				701.406 3[2M+H] ⁺	333.206 6[M+H-H ₂ O] ⁺ , 315.196 3[M+H-2H ₂ O] ⁺ , 297.186 7[M+H] ⁺ , 351.218 5[M+H-3H ₂ O] ⁺ , 285.186 5, 257.154 3[M+H] ⁺		
37	39.640	木犀草素 ^[9]	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287.055 3[M+H] ⁺	287.055 8, 165.018 9	0.9	C
38	40.458	异穿心莲内酯 ^[16]	C ₂₀ H ₃₀ O ₅	395.206 4[M+H] ⁺	331.192 9[M-H-H ₂ O] ⁻ , 287.201 9[HCOO] ⁻	-1.8	C
39	41.535	andropanside ^[16]	C ₂₆ H ₄₀ O ₉	541.262 8[M+H] ⁺	495.257 0[M-H] ⁻ , 333.205 9[M-H-Glc] ⁻	-2.7	C
					HCOO] ⁻		
40	41.982	银椴苷 ^a	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	593.129 6[M-H] ⁻	447.093 7[M-H-Rha] ⁻ , 285.038 3	-0.8	A
				595.144 0[M+H] ⁺	287.055 6, 147.043 5		
41	42.621	14-脱氧-11,12-二脱氢穿心莲内酯苷或异构体 ^[17]	C ₂₆ H ₃₈ O ₉	539.248 8[M+H] ⁺	331.190 7[M-H-Glc] ⁻	0.2	C
					HCOO] ⁻ , 493.242 3[M-H] ⁻		
42	42.984	苯甲酰芍药苷 ^[8,13]	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₂	629.186 4[M+H] ⁺	553.170 1[M-H-Glc] ⁻ , 431.134 8[M-H-benzoic acid] ⁻ , 121.028 3	-0.4	B
					HCOO] ⁻ , 583.181 9[M-H] ⁻		
43	43.281	芹菜素 ^[9]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 3[M-H] ⁻	151.003 6, 117.034 7	-1.0	C
44	43.772	异鼠李素 ^[11,14]	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	315.050 8[M-H] ⁻	300.026 5	-0.8	A
45	45.739	neoprocucumenol或异构体 ^[12]	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	235.168 7[M+H] ⁺	217.159 7[M+H-H ₂ O] ⁺ , 177.128 0, 161.096 5	1.0	D
46	46.067	14-脱氧-11,12-二脱氢穿心莲内酯苷或异构体 ^[17]	C ₂₆ H ₃₈ O ₉	539.249 0[M+H] ⁺	331.191 1[M-H-Glc] ⁻	-1.5	C
					HCOO] ⁻ , 493.242 2[M-H] ⁻		
47	46.220	脱水穿心莲内酯 ^[16-17]	C ₂₀ H ₂₈ O ₄	331.191 0[M-H] ⁻	331.190 0, 303.196 7, 283.170 5, 255.175 4	-1.5	C

续表 1

No.	t_R /min	化合物	分子式	实测值(m/z)	碎片离子(m/z)	δ	来源
				333.206 3[M+H] ⁺	315.198 2[M+H-H ₂ O] ⁺ , 297.187 0[M+H-2H ₂ O] ⁺		
48	46.656	新穿心莲内酯 ^{a[16-17]}	C ₂₆ H ₄₀ O ₈	525.269 4[M+H] ⁺	479.263 5[M-H] ⁻ , 317.212 7[M-H-Glc] ⁻ HCOO] ⁻	-2.2	C
49	46.816	neoprocucumenol 或 异构体 ^[12]	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	257.150 3[M+Na] ⁺ , 235.168 1 [M+H] ⁺	217.160 6, 189.164 1, 177.127 6, 161.096 4, 135.080 9, 91.054 2	-3.5	D
50	48.518	蓬莪术环氧酮 ^[18-19]	C ₁₅ H ₁₈ O ₃	247.132 4[M+H] ⁺ , 269.113 5 [M+Na] ⁺	229.124 1, 201.128 1, 183.118 5, 145.065 4, 139.038 7, 121.028 4	-3.5	D
51	49.300	莪术二酮 ^{a[18-19]}	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	237.184 6[M+H] ⁺	219.175 3, 191.180 6, 149.132 3, 135.116 8, 91.054 1, 55.054 0	-1.5	D
52	51.151	莪术烯醇 ^[18]	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	257.150 1[M+Na] ⁺ , 235.169 2 [M+H] ⁺	217.159 3, 199.147 4, 189.164 4	-1.1	D
53	51.585	furanogermacrene ^[12]	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	255.134 4[M+Na] ⁺ , 233.152 5 [M+H] ⁺	215.144 0, 187.149 0, 172.125 2, 145.101 7, 119.085 6, 91.054 3	-4.5	D
54	51.736	isofuranodienone ^[12]	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	253.119 1[M+Na] ⁺ , 231.137 0 [M+H] ⁺	213.128 0, 198.104 2, 173.096 7, 161.060 2, 149.059 4, 55.054 0	-3.1	D
55	54.498	莪术醇 ^[18-19]	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	237.184 3[M+H] ⁺	219.175 1, 201.164 4, 177.127 6	-2.4	D
56	55.548	吉马酮 ^{a[18-19]}	C ₁₅ H ₂₂ O	219.174 2[M+H] ⁺	201.164 7[M+H-H ₂ O] ⁺ , 177.128 1[M+H-C ₃ H ₆] ⁺ , 163.113 1[M+H-C ₄ H ₈] ⁺ , 159.117 7, 145.101 5, 117.070 0, 105.070 4, 91.054 2, 79.054 5, 55.054 3	-1.6	D

注:A.布渣叶;B.赤芍;C.穿心莲;D.莪术;a.与对照品比对鉴定。

3.2 黄酮类 从布芍调脂胶囊中共鉴别了21个黄酮类成分,包括化合物**5, 11, 14, 18, 20, 21, 23~30, 32~34, 37, 40, 43, 44**。大部分来自于药材布渣叶和穿心莲。黄酮类化合物在植物中大部分以游离或与糖结合成苷类或以碳糖基形式存在,经研究发现,黄酮类化合物的裂解方式主要是CO, CO₂等中性离子丢失, RDA裂解及糖基断裂。以山柰酚-3-O-芸香糖苷和水仙苷为例,正离子模式下,保留时间33.254 min,一级质谱信息显示,其准分子离子峰 m/z 595.165 1[M+H]⁺, 碎片离子为 m/z 449.108 7, 表现为脱去1个分子鼠李糖,碎片 m/z 287.053 6为碎片 m/z 449.108 7再脱去1个分子葡萄糖生成。根据其断裂方式,鉴定该化合物为山柰酚-3-O-芸香糖苷。保留时间34.418 min,一级质谱信息显示,其准分子离子峰 m/z 625.175 7[M+H]⁺, 其碎片离子为 m/z 479.117 2, 表现为脱去1个分子鼠李糖,碎片 m/z 317.063 1为碎片 m/z 479.117 2再脱去1个分子葡萄糖生成,碎片 m/z 302.042 5为碎片 m/z 317.063 1再脱去CH₃生成,根据其断裂方式,鉴定该化合物为水仙苷,可能的裂解途径见图2。

3.3 酚酸类 从布芍调脂胶囊中共鉴别了10个酚酸类成分,包括化合物**1~3, 6, 7, 10, 13, 16, 22, 31**。酚酸类化合物主要以负离子[M-H]⁻形式存在,裂解方式主要是发生CO₂或H₂O分子的中性离子丢失,当化合物结构中含有阿魏酸或咖啡酸时,易发生阿魏酰基或咖啡酰基的丢失。以没食子酸和绿原酸为例,在负离子模式下,保留时间2.528 min,一级质谱信息显示,其准分子离子峰 m/z 169.013 7[M-H]⁻, 其碎片离子为 m/z 125.023 0, 表现为脱羧基的反应,根据其断裂方式,鉴定该化合物为没食子酸。保留时间10.987 min,一级质谱信息显示,其准分子离子峰为 m/z 353.087 1, 其碎片离子 m/z 191.054 8是由准分子峰丢失奎宁酰基所致,碎片 m/z 173.045 3为碎片 m/z 191.054 8再脱去1个分子H₂O生成,根据其断裂方式,鉴定该化合物为绿原酸,没食子酸和绿原酸的裂解规律见图3。

3.4 单萜及其苷类 单萜及其苷类化合物主要存在于赤芍中,产生的分子离子峰较多,常见的如[M-H]⁻, [M+HCOO]⁻, [M+NH₄]⁺等,易丢失H₂O及CH₂O分子,或失去糖基离子,在裂解过程中常出现

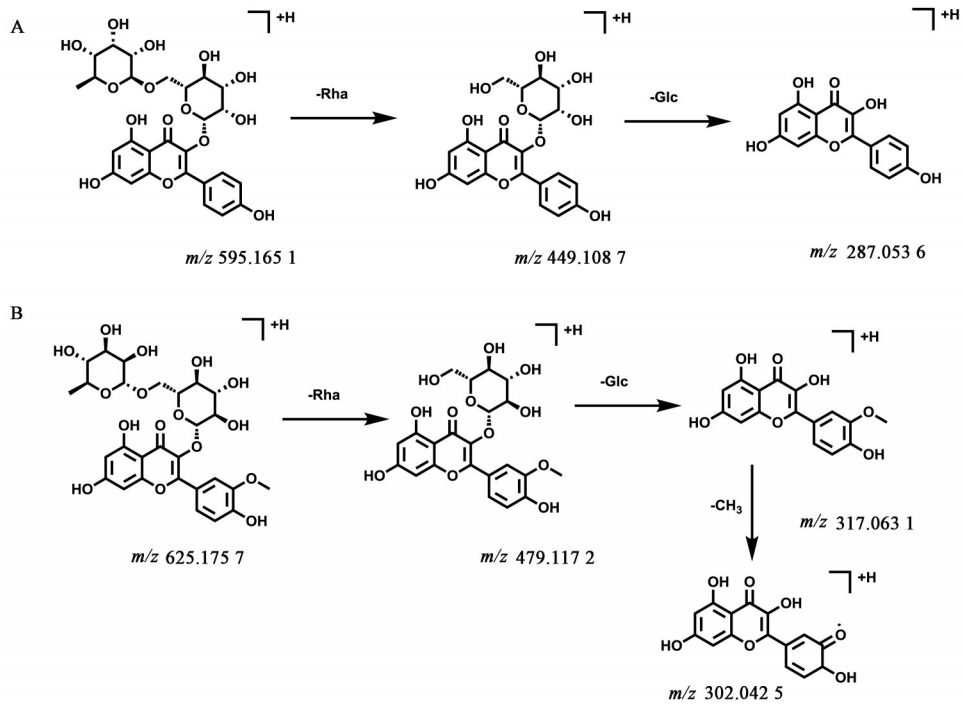


图2 山柰酚-3-O-芸香糖苷(A)和水仙苷(B)的质谱裂解途径

Fig. 2 Fragment pathways of kaempferol-3-rutinoside(A) and narcissoside(B)

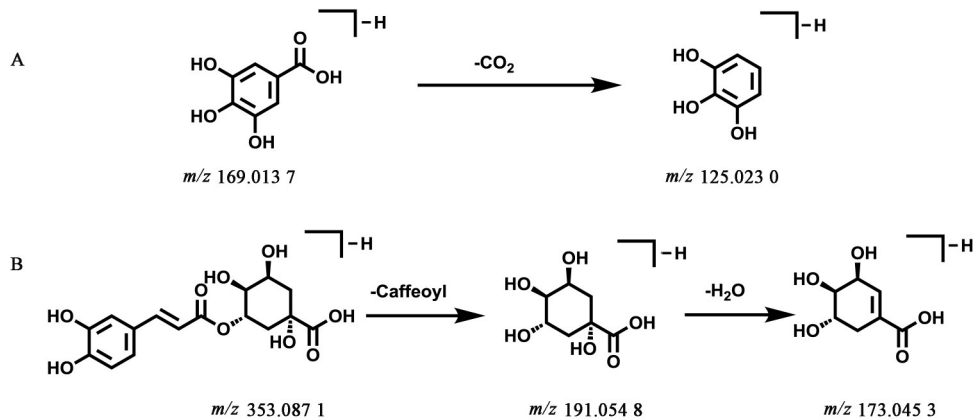


图3 没食子酸(A)和绿原酸(B)的质谱裂解途径

Fig. 3 Fragment pathways of gallic acid(A) and chlorogenic acid(B)

质量数为121的苯甲酸碎片离子。布芍调脂胶囊中共鉴定出5个单萜类化合物,包括化合物8,12,15,19,42,以芍药内酯苷和芍药苷为例,保留时间15.594 min,其分子离子峰为 m/z 525.160 0 $[M+HCOO]^-$, m/z 479.156 3的碎片离子为 $[M-H]^-$,碎片离子 m/z 449.146 3为 $[M-H]^-$ 离子峰脱去1个分子HCHO形成的,碎片离子 m/z 357.138 4为 $[M-H]^-$ 离子峰脱去1个分子苯甲酸形成的,碎片离子 m/z 121.029 2为断裂的苯甲酸分子,根据裂解规律,鉴定该化合物为芍药内酯苷。保留时间18.541 min,其分子离子峰为 m/z 525.160 4 $[M+HCOO]^-$, m/z 479.155 8的碎片离子为 $[M-H]^-$,碎

片离子 m/z 449.141 9为 $[M-H]^-$ 离子峰脱去1个分子HCHO形成的,碎片离子 m/z 327.105 9为碎片 m/z 449.141 9再脱去1个分子苯甲酸形成的,碎片离子 m/z 121.027 2为断裂的苯甲酸分子,根据裂解规律,并与对照品比对,鉴定该化合物为芍药苷。可能的裂解途径见图4。

3.5 二萜内酯类 二萜内酯类化合物主要存在于穿心莲中,产生的分子离子峰形式与裂解规律与单萜类化合物类似。布芍调脂胶囊中共鉴定出7个二萜内酯类化合物,包括化合物36,38,39,41,46~48,以穿心莲内酯和新穿心莲内酯为例,保留时间36.547 min,其分子离子峰为 m/z 701.406 3 $[2M+$

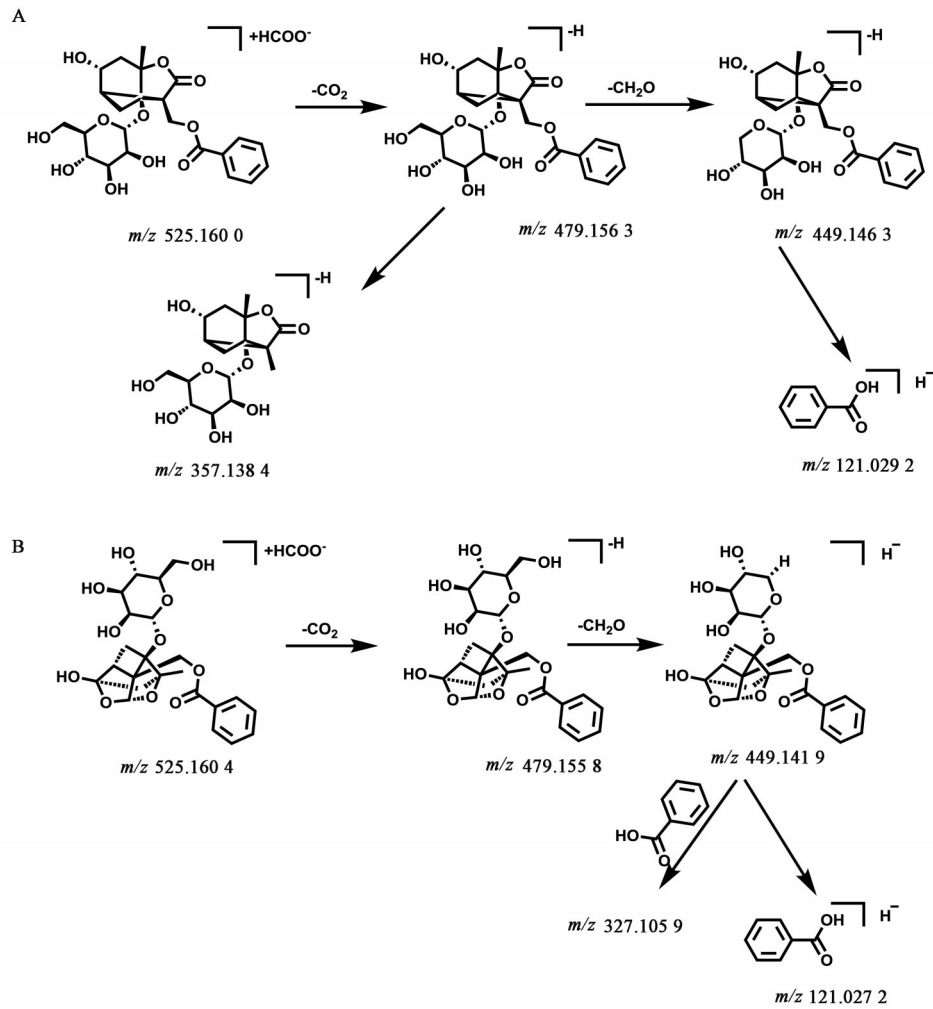


图4 芍药内酯苷(A)和芍药苷(B)的质谱裂解途径

Fig. 4 Fragment pathways of albiflorin (A) and paeoniflorin (B)

H^+ , m/z 351.2185的碎片离子为 $[M+H]^+$, $[M+H]^+$ 离子再分别失去 H_2O , CH_2O , CO 形成 m/z 333.2066 $[M+H-H_2O]^+$, m/z 315.1963 $[M+H-2H_2O]^+$, m/z 297.1867 $[M+H-3H_2O]^+$, m/z 285.1865 $[M+H-2H_2O-CH_2O]^+$, m/z 257.1543 $[M+H-2H_2O-CH_2O-CO]^+$, 根据裂解规律, 鉴定该化合物为穿心莲内酯。

保留时间为46.656 min, 其分子离子峰为 m/z 525.2694 $[M+HCOO]^-$, m/z 479.2635的碎片离子为 $[M-H]^-$, 其碎片离子 m/z 317.2127为碎片 m/z 479.2635丢失1个分子葡萄糖所致, 根据裂解规律, 并与对照品比对, 鉴定该化合物为新穿心莲内酯, 可能的裂解途径见图5。

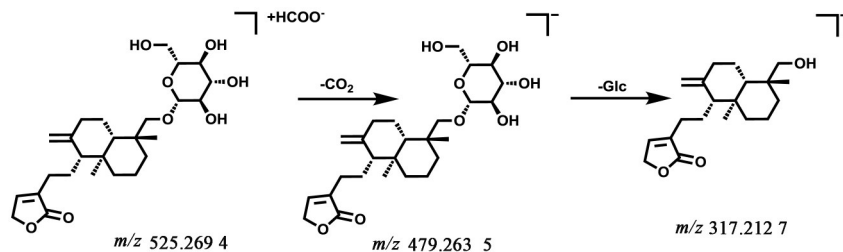


图5 新穿心莲内酯的质谱裂解途径

Fig. 5 Fragment pathways of neoandrographolide

3.6 倍半萜类 布芍调脂胶囊中共鉴定出10个倍半萜类化合物, 包括化合物17, 45, 49~56, 倍半萜类化合物主要存在莪术中, 产生的分子离子峰较多,

常见的如 $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$ 等。以吉马酮为例, 易丢失18, 42, 56 Da等特征碎片离子, 分别代表丢失 H_2O , C_3H_6 和 C_4H_8 。保留时间为55.548 min, 其分子

离子峰为 m/z 219.174 2 $[M+H]^+$, 其碎片离子吉马酮分别以 m/z 201.164 7 $[M+H-H_2O]^+$, m/z 177.128 1 $[M+H-C_3H_6]^+$, m/z 163.113 1 $[M+H-C_4H_8]^+$ 。根据裂解规律, 并与对照品比对, 鉴定该化合物为吉马酮, 可能的裂解途径见图6。

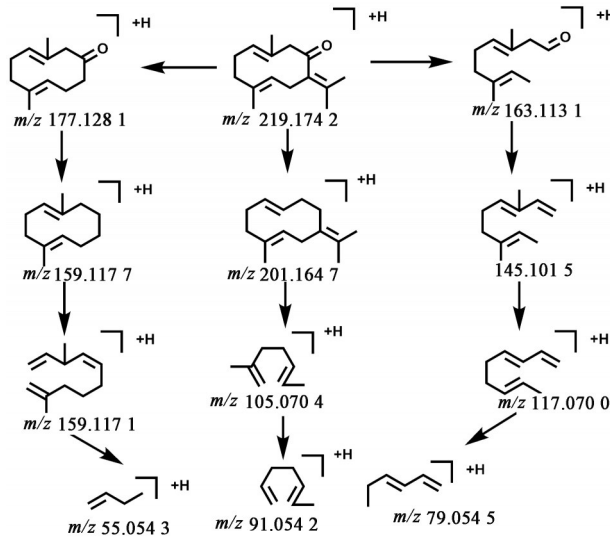


图6 吉马酮的质谱裂解途径

Fig. 6 Fragment pathways of germacrone

4 讨论

本实验进行了分析条件的多重优化, 考察流动相时比较了2种溶剂系统, 结果显示甲醇-水的洗脱效果优于乙腈-水, 且加入0.1%的甲酸可以更有效地提高负离子模式的质谱响应, 因此采用甲醇-0.1%甲酸水溶液作为流动相; 同时考虑到复方中所含挥发性的成分, 为了得到更准确、更丰富的信息, 实验采用超声提取法对布芍调脂胶囊进行处理。

采用UPLC-Q-TOF-MS技术对布芍调脂胶囊中的化学成分进行系统研究, 鉴定出的化学成分主要以黄酮类、酚酸类、单萜及其苷类、二萜内酯类、倍半萜类为主。其中黄酮类成分大多数来源于布渣叶和穿心莲, 并首次在布渣叶中发现了芒果苷、异槲皮苷、香蒲新苷、异鼠李素-3-O-新橙皮苷、银椴苷。酚酸类成分多数来源于穿心莲, 单萜及其苷类成分多数来源于赤芍, 二萜内酯类成分来自于穿心莲, 倍半萜成分来自于莪术, 实验鉴定出的成分都是各中药中含量高的主要成分和特征成分, 说明布芍调脂胶囊的炮制过程未造成各味药主成分的丢失, 为后续的研究起了至关重要的作用。同时, 考虑到布芍调脂胶囊复方中所含多种化合物响应模式各有不同, 实验中分别采用ESI⁺, ESI⁻两种离子模

式进行全扫描检测, 发现黄酮类成分、单萜及其苷类成分均有响应, 倍半萜类成分多数在ESI⁺模式下响应较好, 酚酸类和二萜内酯类成分在ESI⁻模式下响应较好。本研究中还存在着一些同分异构体和未知化学成分, 而仅依靠Q-TOF对同分异构化合物的结构鉴别与区分还存在着一定的局限, 因此还有待下一步深入研究。

UPLC-Q-TOF-MS液质联用技术以其灵敏、快速、准确的特点, 为中药成分的有效鉴定提供了有效便捷途径, 在中药的深入研究中发挥着至关重要的作用。本研究首次对布芍调脂胶囊中的化学成分进行全面地定性分析, 分离和鉴定了复方中53个化合物, 并对鉴定出的化合物进行了药材归属, 为进一步阐明布芍调脂胶囊的药效物质基础及质量控制提供了新的技术和方法。

[参考文献]

- [1] SZAPARY P O, RADER D J. The triglyceride-high-density lipoprotein axis: an important target of therapy? [J]. Am Heart J, 2004, 148(2): 211-221.
- [2] HOLVEN K B, ULVEN S M, BOGSRUD M P. Hyperlipidemia and cardiovascular disease with focus on familial hypercholesterolemia [J]. Curr Opin Lipidol, 2017, 28(5): 445-447.
- [3] 陈玉兴, 李茹月, 黄雪君, 等. 布芍调脂胶囊对高脂血症大鼠脂质代谢的影响及其作用靶点研究[J]. 临床医学工程, 2017, 24(11): 1525-1527.
- [4] 甘海宁, 曾晓会, 陈玉兴. 布芍调脂胶囊调脂作用的实验研究[J]. 按摩与康复医学, 2018, 9(6): 92-94.
- [5] 游飞祥, 袁雪海, 许浚, 等. 基于HPLC-Q-TOF/MS的六经头痛片化学成分分析[J]. 中草药, 2017, 48(20): 4157-4166.
- [6] 郭敏群, 严曾豪, 吴灏, 等. 基于UPLC-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.
- [7] 邵怡, 杨玉佩, 李家宇, 等. HPLC-Q-TOF-MS/MS分析防风芍药汤水煎液的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(8): 54-59.
- [8] 周海玲, 许舜军, 周若龙, 等. 白芍、赤芍化学成分的高效液相色谱-飞行时间串联质谱分析[J]. 中药材, 2018, 41(7): 1637-1640.
- [9] 靳鑫, 时圣明, 张东方, 等. 穿心莲化学成分的研究(II)[J]. 中草药, 2014, 45(2): 164-169.
- [10] 靳鑫, 时圣明, 张东方, 等. 穿心莲化学成分的研究[J]. 中草药, 2012, 43(1): 47-50.
- [11] 张敏, 李世涛, 王婷婷, 等. 布渣叶化学成分及功能性研究进展[J]. 中国果菜, 2016, 36(12): 20-23.

- [12] 韦明思,谷筱玉,袁铭,等.超高效合相色谱-四极杆飞行时间质谱联用技术快速分析广西莪术化学成分[J].分析化学,2019,47(7):1114-1120.
- [13] 陆小华,马骁,王建,等.赤芍的化学成分和药理作用研究进展[J].中草药,2015,46(4):595-602.
- [14] 刘昌乐,林爽,何卓儒,等.一测多评法测定布渣叶总黄酮部位中8种黄酮苷成分[J].中草药,2017,48(9):1872-1877.
- [15] 江洁怡,李养学,李素梅,等.HPLC同时测定布渣叶总黄酮提取物中6种黄酮类成分[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(9):40-43.
- [16] 蒋珍藕.穿心莲属植物化学成分研究进展[J].中成药,2011,33(8):1382-1388.
- [17] 焦姣姣,杨园珍,袁恩,等.UPLC-Q-TOF-MS筛选穿心莲中亲和Caco-2细胞的活性成分[J].中草药,2018,49(12):2946-2952.
- [18] 郝敏,童黄锦,张季,等.中药饮片质量标志物(Q-marker)研究:莪术饮片质量评价研究及质量标准探讨[J].中草药,2019,50(19):4673-4682.
- [19] HAO M, JI D, LI L, et al. Metabolic profiling analysis of three processed rhizomes of *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling by ultra-performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. Pharmacogn Mag, 2019, 15(60): 164-171.

[责任编辑 顾雪竹]