

# 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术分析百合地黄汤的化学成分

周菲<sup>1,2</sup>, 林美斯<sup>3</sup>, 李锐<sup>2</sup>, 张春容<sup>2</sup>, 赵丽<sup>2</sup>, 林大胜<sup>1,2\*</sup>, 曹科<sup>2\*</sup>

(1. 成都中医药大学药学院, 西南特色中药资源重点实验室, 成都 611137;

2. 成都泰合健康科技股份有限公司, 成都 611731;

3. 成都中医药大学附属医院针灸学校, 成都 610097)

**[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)技术对百合地黄汤中的化学成分进行研究。方法: 选择 ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm), 以乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~3 min, 5%~11% A; 3~6 min, 11%~12% A; 6~8 min, 12% A; 8~12 min, 12%~20% A; 12~13 min, 20%~26% A; 13~15 min, 26%~32% A; 15~17 min, 32%~42% A; 17~19 min, 42%~5% A; 19~20 min, 5% A), 流速 0.4 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C, 进样量 5 μL; 采用电喷雾离子源, 在正、负离子模式下采集数据。运用 SCIEX OS 1.4 软件, 根据化合物的相对保留时间、准分子离子峰和碎片离子峰等信息, 结合对照品和相关文献资料进行化学成分分析。结果: 在百合地黄汤中共鉴定出 49 个化学成分, 包括酚酸甘油酯类 5 个, 苯乙醇苷类 15 个, 环烯醚萜类 11 个, 紫罗兰酮类 8 个, 苯丙素类 3 个, 核苷类 2 个, 有机酸类 1 个, 其他类 4 个; 其中酚酸甘油酯类来源于百合, 其他成分主要来源于地黄, 4 个化学成分(毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、阿魏酸、咖啡酸)经对照品比对鉴定。结论: 该研究建立了能快速、准确分析百合地黄汤化学成分的检测方法, 较全面地阐述了百合地黄汤的化学成分信息, 为该方的质量控制、药效物质基础研究以及复方制剂开发奠定了基础。

**[关键词]** 百合地黄汤; 化学成分; 酚酸甘油酯类; 苯乙醇苷类; 环烯醚萜类; 紫罗兰酮类; 苯丙素类

**[中图分类号]** R22; R28; O657; C37; R914 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)07-0015-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20192253

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190801.1313.006.html>

**[网络出版时间]** 2019-08-01 16:41

## Analysis of Chemical Constituents in Baihe Dihuangtang by UPLC-Q-TOF-MS

ZHOU Fei<sup>1,2</sup>, LIN Mei-si<sup>3</sup>, LI Rui<sup>2</sup>, ZHANG Chun-rong<sup>2</sup>, ZHAO Li<sup>2</sup>, LIN Da-sheng<sup>1,2\*</sup>, CAO Ke<sup>2\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine (TCM) Resources with Southwest Characteristics, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China;

2. Chengdu Taihe Health Technology Group Co. Ltd., Chengdu 611731, China;

3. School of Acupuncture and Moxibustion, Affiliated Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610097, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the chemical constituents in Baihe Dihuangtang by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS). **Method:** The separation was performed on an ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> column (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) by a gradient elution of acetonitrile-0.1% formic acid solution. The flow rate was 0.4 mL·min<sup>-1</sup> and the column temperature was 30 °C, the injection volume was 5 μL. Electrospray ionization was applied and the data were collected via positive and negative ion modes. By using SCIEX OS 1.4 software, the chemical constituents were analyzed based on the

**[收稿日期]** 20190702(007)

**[基金项目]** 四川省科技计划项目(2018SZ0008)

**[第一作者]** 周菲, 在读硕士, 从事中药制剂与质量控制研究, E-mail: 1083709968@qq.com

**[通信作者]** \* 林大胜, 高级工程师, 从事中药制剂与质量控制研究, E-mail: hoistlds@vip.sina.com;

\* 曹科, 硕士, 高级工程师, 从事中药制剂与质量控制研究, E-mail: alance@163.com

retention time, excimer ion peak and fragment ion peak of the compounds, as well as comparison with reference substances and literature data. **Result:** A total of 49 chemical constituents in Baihe Dihuangtang were identified, including 5 phenolic glycerides, 15 phenylethanoid glycosides, 11 iridoids, 8 lonones, 3 phenylpropanoids, 2 nucleosides, 1 organic acid, and 4 other compounds. Among them, phenolic glycerides belonged to *Lilium Bulbus*, and other components mainly belonged to *Rehmanniae Radix*. Four chemical constituents (acteoside, isoacteoside, ferulic acid and caffeic acid) were identified by comparison of reference substances. **Conclusion:** The established detection method can quickly and accurately analyze the chemical constituents of Baihe Dihuangtang. The information of chemical constituents in Baihe Dihuangtang is comprehensively expounded. The study establishes a foundation for the research of quality control, material foundation of efficacy and the development of compound preparations of Baihe Dihuangtang.

[**Key words**] Baihe Dihuangtang; chemical constituents; phenolic glycerides; phenylethanoid glycosides; iridoids; lonones; phenylpropanoids

百合地黄汤出自东汉·张仲景所著的《金匮要略·百合狐惑阴阳毒病脉证治》，全方由 2 味药物组成，君以百合，养阴润肺、清心安神，佐以地黄清热凉血、养阴、生津，两药合用，养阴清热、补益心肺，主治百合病之心肺阴虚内热证，是治疗百合病的经典方剂<sup>[1-2]</sup>。百合病病证与现代神经精神系统类疾病病证类似，现代临床上常用百合地黄汤及其加减方来治疗各种类型的抑郁症，疗效显著、安全性高<sup>[3-5]</sup>。

百合地黄汤作为一首经典方剂，具有悠久、丰富的药用历史，是国家中医药管理局颁布的《古代经典名方目录（第一批）》中的品种，极具开发价值。目前，百合地黄汤的研究多集中在临床疗效方面<sup>[3-5]</sup>，关于该方的化学成分研究还鲜有文献报道。中药复方成分复杂，要阐明百合地黄汤药效物质基础，对其化学成分的研究至关重要。UPLC-Q-TOF-MS 具有高速、高分辨率、高灵敏度等特点，可快速全面地对中药多成分体系进行鉴定与分析，该技术已被广泛用于中药研究领域<sup>[6-8]</sup>。本实验拟采用 UPLC-Q-TOF-MS 对百合地黄汤的化学成分进行分析，以期为该复方的质量控制、药效物质基础研究及其复方制剂开发提供参考。

## 1 材料

SCIEX X500R QTOF 型高分辨质谱系统（美国 AB SCIEX 公司），Nexera X2 LC-30AD 型超高效液相色谱系统（日本 Shimadzu 公司，配有 LC-30AD 型四元高压梯度泵，SIL-30AC 型自动进样器，CTO-30A 型柱温箱和 SPD-20A 型检测器），XS205DU 型 1/10 万电子分析天平（瑞士 Mettler-Toledo 公司）。

毛蕊花糖苷、阿魏酸、咖啡酸对照品（中国食品药品检定研究院，批号分别为 111530-201713，

110773-201614，110885-201703，纯度依次为 92.7%、99.0%、99.7%），异毛蕊花糖苷对照品（英国 PureChemLand 公司，批号 PCL-#-Ve635，纯度 99.47%）。百合和地黄药材分别采自湖南省隆回县和河南省武陟县，经四川省药品质量研究所主任药师黎跃成鉴定，分别为百合科植物百合 *Lilium brownii* var. *viridulum* 的干燥肉质鳞叶和玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* 的新鲜或干燥块根，分别按 2015 年版《中国药典》相关炮制方法制得百合饮片和生地黄饮片。水为屈臣氏超纯水，乙腈、甲醇、甲酸为色谱纯，其他试剂均为分析纯。

## 2 方法

**2.1 色谱条件** ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱（2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm），流动相乙腈（A）-0.1% 甲酸水溶液（B）梯度洗脱（0 ~ 3 min, 5% ~ 11% A；3 ~ 6 min, 11% ~ 12% A；6 ~ 8 min, 12% A；8 ~ 12 min, 12% ~ 20% A；12 ~ 13 min, 20% ~ 26% A；13 ~ 15 min, 26% ~ 32% A；15 ~ 17 min, 32% ~ 42% A；17 ~ 19 min, 42% ~ 5% A；19 ~ 20 min, 5% A），流速 0.4 mL·min<sup>-1</sup>，进样量 5 μL，柱温 30 °C。

**2.2 质谱条件** 采用电喷雾离子源（ESI），正、负离子模式检测，开启动态背景扣除。雾化气压力 0.38 MPa，辅助气压力 0.38 MPa，气帘气压力 0.17 MPa，离子源温度 350 °C，喷雾电压 5.5 kV / -4.5 kV。TOF-MS 参数为去簇电压 ± 80 V，碰撞能 ± 10 V，质量扫描范围 50 ~ 1 000。TOF-MS/MS 参数为去簇电压 ± 80 V，碰撞能 ± 35 V，质量扫描范围 50 ~ 1 000。

**2.3 供试品溶液的制备** 称取百合饮片 30 g 于烧杯中，加水 400 mL，浸泡 30 min，置电炉上加热至沸腾后保持微沸 50 min，煎煮至约 200 mL，滤过，得到

百合煎液。称取生地黄饮片 30 g 于烧杯中,加 9 倍量水浸泡 30 min,置电炉上加热至沸腾后保持微沸 20 min,滤过;残渣加 7 倍量水,加热至沸腾后保持微沸 15 min,滤过,合并 2 次滤液约 200 mL,得地黄煎液。合并上述 2 种煎液,合煎至 300 mL,得百合地黄汤标准煎液,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

**2.4 对照品溶液的配制** 分别取毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、阿魏酸、咖啡酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度分别为 18, 25, 112, 81 mg·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液,即得。

### 3 结果

**3.1 百合地黄汤的化学成分分析** 取混合对照品溶液和供试品溶液,按 2.1 和 2.2 项下条件测定,得总离子流色谱图,见图 1。采用 SCIEX OS 1.4 软件对总离子流色谱图进行提取,根据化学成分的保留时间、准分子离子峰和碎片离子峰等信息,推测化学成分的裂解过程,并通过与对照品、文献数据比对,进行成分分析和成分归属。结果在百合地黄汤中

鉴定出了 49 个化学成分,其中酚酸甘油酯类 5 个(峰 16, 24, 25, 27, 32),苯乙醇苷类 15 个(峰 7, 8, 12, 17, 18, 29~31, 34, 37, 38, 41, 43, 46, 48),环烯醚萜类 11 个(峰 5, 6, 9, 19, 20, 22, 33, 35, 36, 40, 44),紫罗兰酮类 8 个(峰 1, 10, 15, 21, 26, 39, 47, 49),苯丙素类 3 个(峰 13, 23, 28),核苷类 2 个(峰 3, 4),有机酸类 1 个(峰 2)和其他类 4 个(峰 11, 14, 42, 45),见表 1。

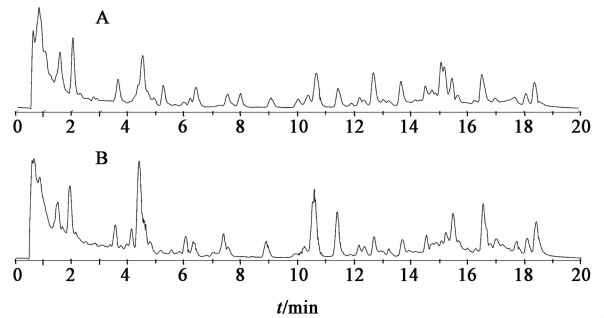


图 1 百合地黄汤在正离子(A)和负离子(B)模式下的总离子流  
Fig. 1 Total ion current chromatograms of Baihe Dihuangtang under positive ion mode (A) and negative ion mode (B)

表 1 百合地黄汤化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 鉴定

Table 1 Identification of chemical constituents from Baihe Dihuangtang by UPL-Q-TOF-MS

峰号	$t_R$ /min	分子式	$m/z$ 实测值	$\delta$ /ppm	二级质谱 $m/z$	化学成分	来源	参考文献
1	0.606	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>8</sub>	387.210 9 [M - H] <sup>-</sup>	1.40	179.055 9, 161.046 1, 143.033 9	rehmaionoside C	b	[9]
2	0.767	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	191.019 3 [M - H] <sup>-</sup>	-2.25	129.016 3, 111.008 7	柠檬酸	b	[10]
3	0.793	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub>	136.062 7 [M + H] <sup>+</sup>	3.67	119.034 2, 92.024 5	腺嘌呤	b	[11]
4	0.794	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	268.104 6 [M + H] <sup>+</sup>	2.13	136.061 9	腺苷	b	[11]
5	1.447	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	373.114 4 [M - H] <sup>-</sup>	1.02	123.045 2	京尼平苷酸	b	[9]
6	1.520	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	347.134 9 [M - H] <sup>-</sup>	0.40	149.062 9	益母草苷	b	[9]
7	1.670	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	375.129 5 [M - H] <sup>-</sup>	-0.45	169.084 6, 125.059 2	8-表番木鳖酸	b	[9-10]
8	1.933	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	461.166 0 [M - H] <sup>-</sup>	-0.98	315.110 1, 297.102 4, 135.044 7	decaffeoylacteoside	b	[9]
9	2.135	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	375.129 0 [M - H] <sup>-</sup>	-1.79	213.075 3, 169.086 6, 151.076 3	mussaenosidic acid	b	[9]
10	2.336	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>	299.149 9 [M - H] <sup>-</sup>	-0.37	139.116 6, 121.103 0	frehmaglutoside B	b	[9]
11	2.744	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	313.092 8 [M - H] <sup>-</sup>	-0.29	167.034 7, 152.011 2, 123.045 5	rhamnopyranosyl vanilloyl	b	[9]
12	2.291	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>	487.145 3 [M - H] <sup>-</sup>	-0.84	179.034 7	肉苁蓉苷 F	b	[9]
13 <sup>1)</sup>	3.005	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	179.034 8 [M - H] <sup>-</sup>	-1.01	135.044 9, 107.049 8, 89.039 8	咖啡酸	a/b	[12]
14	3.327	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	343.103 6 [M - H] <sup>-</sup>	0.41	197.043 0, 182.024 0	syringic acid-4-O- $\alpha$ -L-rhamnoside	b	[9]
15	3.357	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>	283.155 1 [M - H] <sup>-</sup>	0.20	139.112 3	5-羟基野菴酸	b	[9]
16	3.408	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	415.124 0 [M - H] <sup>-</sup>	-1.42	179.034 2, 161.023 8, 135.045 0	王百合苷 C	a	[13]
17	3.413	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>10</sub>	415.124 0 [M - H] <sup>-</sup>	-0.17	253.070 7, 179.034 2	2-phenylethyl-O- $\beta$ -dxylopyranosyl-(1→6)- $\beta$ -D-glucopyranoside	b	[9]
18	3.747	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>12</sub>	475.181 6 [M - H] <sup>-</sup>	-1.05	329.124 1, 161.045 9, 143.033 0	darendoside B	b	[9]
19	3.755	C <sub>25</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	357.136 1 [M - H] <sup>-</sup>	-0.20	216.332 6, 193.050 2	6-O-feruloylcatalpol	b	[9]

续表 1

峰号	$t_R$ /min	分子式	$m/z$ 实测值	$\delta$ /ppm	二级质谱 $m/z$	化学成分	来源	参考文献
20	3.898	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	549.162 1 [M-H] <sup>-</sup>	-1.09	284.104 1, 179.055 3	genipin-gentiobioside/genameside C	b	[9]
21	4.114	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub>	345.155 0 [M-H] <sup>-</sup>	-1.42	225.115 4, 183.106 2, 165.091 3	地黄苦苷	b	[9-10]
22	4.135	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	345.154 0 [M-H] <sup>-</sup>	-0.41	183.106 2, 165.091 3, 225.115 4	桃叶珊瑚苷	b	[10,14]
23	4.297	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	163.039 9 [M-H] <sup>-</sup> / 165.054 9 [M+H] <sup>+</sup>	-1.04 /1.70	119.049 9/147.044 7, 119.049, 91.064 4	对香豆酸	a	[13,15]
24	4.395	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	399.127 9 [M-H] <sup>-</sup> / 439.100 3 [M+K] <sup>+</sup>	-4.43 /0.46	163.039 1, 145.028 6, 119.049 5	王百合苷 A	a	[13,16]
25	4.781	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	237.076 7 [M-H] <sup>-</sup>	-0.63	163.037 6, 119.050 6, 145.028 9	1-O- <i>p</i> -香豆酰甘油	a	[13,17]
26	4.796	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	183.102 1 [M-H] <sup>-</sup>	-3.11	139.114 6, 123.003 8	地黄苦苷元	b	[9]
27	5.124	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>11</sub>	429.139 4 [M-H] <sup>-</sup>	-1.96	193.050 3, 175.039 6	王百合苷 F	a	[13]
28 <sup>1)</sup>	5.340	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	193.050 5 [M-H] <sup>-</sup> / 195.06 67 [M+H] <sup>+</sup>	-0.67 /3.59	134.037 3/145.028 1, 117.033 8, 89.038 9	阿魏酸	a/b	[12,15]
29	5.742	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>16</sub>	639.191 7 [M-H] <sup>-</sup>	-2.13	621.185 5, 529.159 2, 459.151 2, 323.098 9, 179.034 5	$\beta$ -hydroxyacteoside	b	[9]
30	6.036	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>20</sub>	785.249 0 [M-H] <sup>-</sup>	-2.51	623.218 0, 161.024 2	洋地黄叶苷 B/C	b	[10]
31	8.880	C <sub>36</sub> H <sub>48</sub> O <sub>20</sub>	799.265 1 [M-H] <sup>-</sup>	-1.90	637.208 3, 623.217 8, 605.207 5, 461.167 9	焦地黄苯乙醇苷 A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub>	b	[9]
32	10.578	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>11</sub>	441.138 8 [M-H] <sup>-</sup>	-3.26	381.117 9, 175.076 4, 163.039 4, 145.028 4, 119.049 9	王百合苷 B	a	[12-13]
33	11.230	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	497.165 3 [M-H] <sup>-</sup>	-2.31	335.166 4, 317.096 9, 167.034 3, 152.010 5	6-O-香草酰基筋骨草醇	b	[9]
34 <sup>1)</sup>	11.388	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	623.196 9 [M-H] <sup>-</sup>	-1.99	461.164 5, 315.108 0, 161.023 0, 135.045 2	毛蕊花糖苷	b	[10]
35	11.613	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>14</sub>	509.165 4 [M-H] <sup>-</sup>	0.59	179.034 2	地黄苷 C	b	[10]
36	11.615	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	509.165 4 [M-H] <sup>-</sup>	-2.06	347.166 0, 179.034 2, 161.023 0	6-O- <i>E</i> -caffeoylajugol	b	[9]
37 <sup>1)</sup>	12.145	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	623.196 7 [M-H] <sup>-</sup>	-2.31	461.164 9, 315.107 9, 161.023 9, 135.045 3	异毛蕊花糖苷	b	[10]
38	12.345	C <sub>37</sub> H <sub>50</sub> O <sub>20</sub>	813.280 5 [M-H] <sup>-</sup>	-2.18	637.231 0, 619.220 7, 491.180 9, 175.039 4	吉奥诺苷 B <sub>1</sub> /B <sub>2</sub>	b	[9-10]
39	12.912	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>9</sub>	429.211 5 [M-H] <sup>-</sup>	-3.52	267.161 1, 231.141 2, 205.157 7	jiocarotenoside A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub>	b	[9]
40	13.152	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>11</sub>	493.170 0 [M-H] <sup>-</sup>	-3.12	163.038 7	哈巴俄苷	b	[9]
41	13.204	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>15</sub>	637.212 0 [M-H] <sup>-</sup>	-2.81	491.154 6, 461.164 2, 175.039 5	焦地黄苯乙醇苷 D	b	[9,18]
42	13.214	C <sub>27</sub> H <sub>42</sub> O <sub>17</sub>	637.212 4 [M-H] <sup>-</sup>	-0.08	491.154 6, 439.808 8, 304.426 1	kanokoside C	b	[9]
43	13.662	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>15</sub>	637.212 7 [M-H] <sup>-</sup>	-1.71	475.180 2, 161.023 9	米团花苷 A	b	[9]
44	13.716	C <sub>25</sub> H <sub>32</sub> O <sub>12</sub>	523.180 6 [M-H] <sup>-</sup>	-2.87	361.138 8, 343.117 7, 193.049 9, 175.039 5	6-O- <i>E</i> -阿魏酰基筋骨草醇	b	[9-10]
45	14.077	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>14</sub>	621.217 0 [M-H] <sup>-</sup>	-0.85	193.048 1, 175.040 1	nigroside I/II	b	[9]
46	14.519	C <sub>31</sub> H <sub>40</sub> O <sub>15</sub>	651.227 7 [M-H] <sup>-</sup>	-2.67	475.179 3, 193.049 2, 175.039 4	地黄苷/异地黄苷	b	[9-10]
47	14.558	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>8</sub>	413.217 4 [M-H] <sup>-</sup>	-1.67	249.148 1, 187.146 3	aegetic acid 5-O- $\beta$ -D-quinovoside	b	[9]
48	14.863	C <sub>31</sub> H <sub>40</sub> O <sub>15</sub>	651.227 3 [M-H] <sup>-</sup>	-3.29	505.172 3, 475.180 2, 193.050 7, 175.039 9, 265.070 9	地黄苷/异地黄苷	b	[9-10]
49	15.307	C <sub>28</sub> H <sub>40</sub> O <sub>10</sub>	535.253 9 [M-H] <sup>-</sup>	-1.81	265.071 2, 205.047 9, 163.037 4	frehmaglutoside C/isomer	b	[9]

注: <sup>1)</sup>代表与对照品比对鉴定的化合物; a. 百合; b. 地黄。

**3.2 酚酸甘油酯类化合物的鉴定** 酚酸甘油酯类化合物由酚酸和甘油两部分组成。该类化合物在负离子模式下常有  $m/z$  163, 145, 119 等碎片离子, 其裂解途径主要为酯键断裂。酯键断裂丢失甘油部分产生  $m/z$  163 的酚酸碎片, 该碎片继续丢失  $H_2O$  产生  $m/z$  145 的碎片, 以及该碎片发生脱羧反应丢失  $CO_2$  形成的碎片  $m/z$  119。化合物 **16** 的分子式为  $C_{18}H_{24}O_{11}$ , 在负离子模式下, 准分子离子峰为  $m/z$  415. 124 0  $[M - H]^-$ , 其二级碎片离子主要有丢失甘油部分形成的碎片  $m/z$  179. 034 2  $[M - H - C_9H_{16}O_7]^-$ , 该碎片脱水后形成的碎片  $m/z$  161. 023 8  $[M - H - C_9H_{16}O_7 - H_2O]^-$ , 以及该碎片

脱羧后形成的碎片  $m/z$  135. 045 0  $[M - H - C_9H_{16}O_7 - CO_2]^-$ , 该裂解特征与文献[13]报道一致, 推测 16 号峰为王百合苷 C。化合物 **24** 的分子式为  $C_{18}H_{24}O_{10}$ , 在正离子模式下, 准分子离子峰为  $m/z$  439. 100 3  $[M + K]^+$ ; 在负离子模式下, 准分子离子峰为  $m/z$  399. 127 9  $[M - H]^-$ , 其负离子模式下二级碎片离子主要有丢失甘油部分形成的碎片  $m/z$  163. 039 1  $[M - H - C_9H_{16}O_7]^-$ , 该碎片脱水后形成的碎片  $m/z$  145. 028 6  $[M - H - C_9H_{16}O_7 - H_2O]^-$ , 以及该碎片脱羧后形成的碎片  $m/z$  119. 049 5  $[M - H - C_9H_{16}O_7 - CO_2]^-$ , 该裂解特征与文献[13, 16]报道一致, 推测 24 号峰为王百合苷 A, 其裂解途径见图 2。

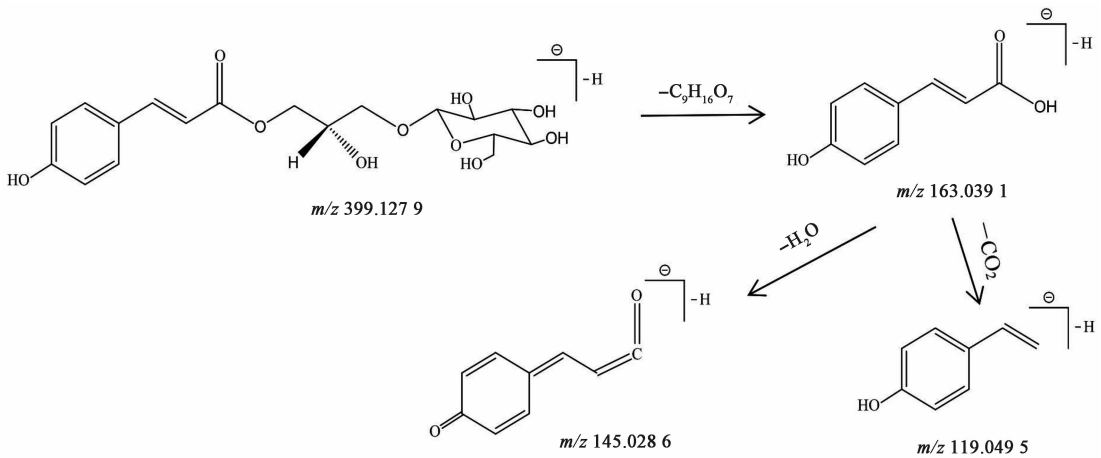


图 2 王百合苷 A 的裂解途径  
Fig. 2 Mass fragmentation pathways of regaloside A

**3.3 苯乙醇苷类化合物的鉴定** 苯乙醇苷类化合物由咖啡酸、糖和苯乙醇苷元三部分组成。该类化合物在负离子模式下常有  $m/z$  461, 315, 179, 135, 161 等碎片离子, 其裂解途径主要为酯苷键断裂和糖苷键断裂。酯苷键断裂丢失咖啡酰基 (caffeyl,  $m/z$  162) 产生  $m/z$  461 的碎片, 在此基础上, 丢失鼠李糖残基 ( $C_6H_{10}O_4$ ,  $m/z$  146) 产生  $m/z$  315 的碎片, 再进一步丢失中心葡萄糖脱水后形成  $m/z$  135 的碎片。此外, 糖苷键断裂丢失鼠李糖残基和葡萄糖残基形成  $m/z$  179 的咖啡酸碎片, 该碎片脱水后形成  $m/z$  161 的碎片。化合物 **8** 的分子式为  $C_{20}H_{30}O_{12}$ , 在负离子模式下, 准分子离子峰为  $m/z$  461. 166 0  $[M - H]^-$ , 其二级碎片离子主要有丢失鼠李糖残基的碎片  $m/z$  315. 110 1  $[M - H - C_6H_{10}O_4]^-$  和该碎片脱水后形成的碎片  $m/z$  297. 102 4  $[M - H - C_6H_{10}O_4 - H_2O]^-$ , 以及丢失鼠李糖残基和中心葡萄糖后继续脱水形成的碎片离子  $m/z$  135. 044 7  $[M - H - C_6H_{10}O_4 - Glc - H_2O]^-$ , 该裂解特征与文献[9]

报道一致, 推测 8 号峰为 decaffeoylacteoside。化合物 **34** 的分子式为  $C_{29}H_{36}O_{15}$ , 在负离子模式下, 准分子离子峰为  $m/z$  623. 196 9  $[M - H]^-$ , 其二级碎片离子主要有丢失咖啡酰基碎片  $m/z$  461. 164 5  $[M - H - caffeyl]^-$ , 继续丢失鼠李糖残基的碎片  $m/z$  315. 108 0  $[M - H - caffeyl - C_6H_{10}O_4]^-$ , 以及再丢失中心葡萄糖脱水后形成的碎片  $m/z$  135. 045 2  $[M - H - caffeyl - C_6H_{10}O_4 - Glc - H_2O]^-$ , 此外, 还有咖啡酸部分脱水后形成的碎片  $m/z$  161. 023 0  $[caffeyl - H - H_2O]^-$ , 该裂解特征与文献[10]报道一致, 经与对照品比对, 推测 34 号峰为毛蕊花糖苷, 其裂解途径见图 3。

**3.4 环烯醚萜类化合物的鉴定** 环烯醚萜类化合物是一类特殊的单萜, 其母核环烯醚萜醇多与糖结合形成苷类存在。该类化合物在负离子模式下裂解途径主要为糖苷键断裂丢失葡萄糖残基, 羧基、羟基断裂丢失  $CO_2$  和  $H_2O$  等中性分子以及丢失母核上的一些取代基。化合物 **9** 的分子式为  $C_{16}H_{24}O_{10}$ , 在

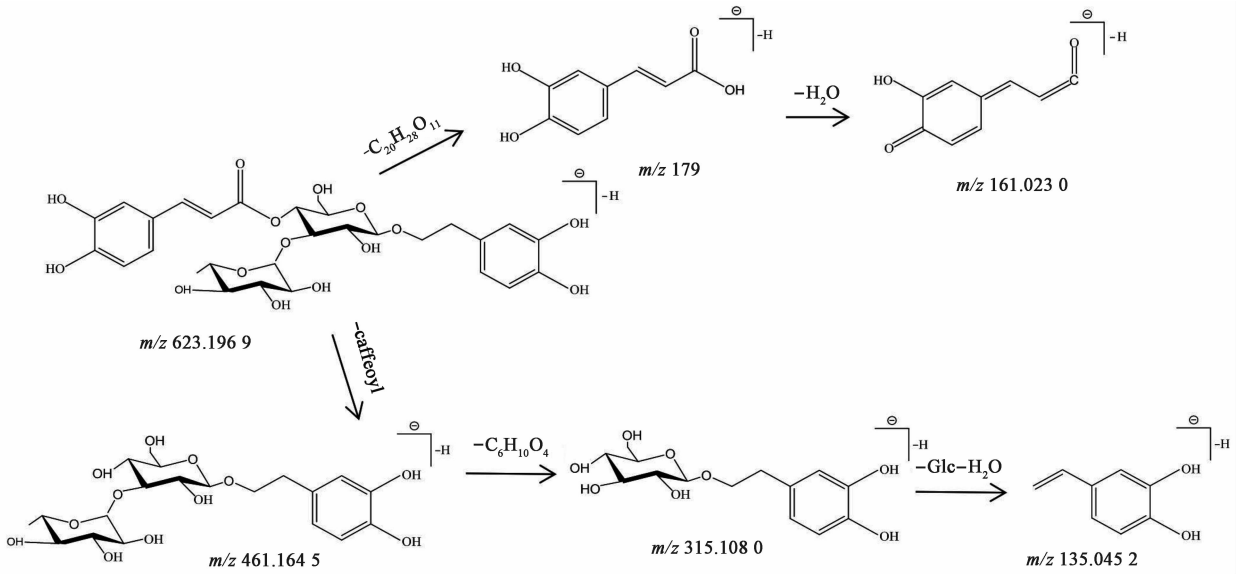


图 3 毛蕊花糖苷的裂解途径

Fig. 3 Mass fragmentation pathways of acteoside

负离子模式下, 准分子离子峰为  $m/z$  375.129 0  $[M - H]^-$ , 其二级碎片离子主要有丢失葡萄糖残基的碎片  $m/z$  213.075 3  $[M - H - Glc]^-$ , 该碎片继续脱羧形成的碎片  $m/z$  169.086 6  $[M - H - Glc - CO_2]^-$  以及再脱水形成的碎片  $m/z$  151.076 3  $[M - H - Glc - CO_2 - H_2O]^-$ , 该裂解特征与文献[9]报道一致, 推测 9 号峰为 mussaenosidic acid, 其裂解途径见图 4。化合物 44 的分子式为  $C_{25}H_{32}O_{12}$ , 在负离子模式下, 准分子离子峰为  $m/z$  523.180 6  $[M - H]^-$ ,

其二级碎片离子主要有丢失葡萄糖残基的碎片  $m/z$  361.138 8  $[M - H - Glc]^-$  以及该碎片脱水后形成的碎片  $m/z$  343.117 7  $[M - H - Glc - H_2O]^-$ , 此外, 还检测到丢失葡萄糖残基和中心母核后形成的取代基碎片  $m/z$  193.049 9  $[M - H - HTP]^-$  以及该碎片继续脱水形成的碎片  $m/z$  175.039 5  $[M - H - HTP - H_2O]^-$ , 该裂解特征与文献[9-10]报道一致, 推测 44 号峰为 6-*O*-*E*-阿魏酰基筋骨草醇。

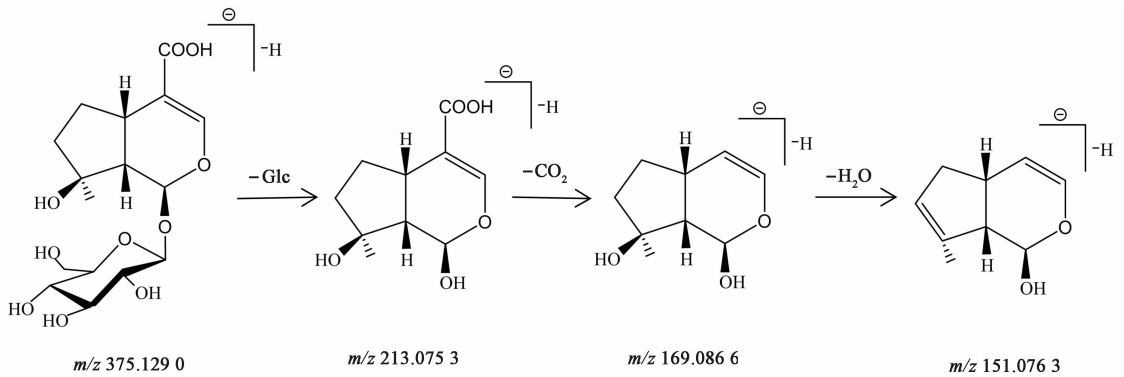


图 4 mussaenosidic acid 的裂解途径

Fig. 4 Mass fragmentation pathways of mussaenosidic acid

**3.5 紫罗兰酮类化合物的鉴定** 紫罗兰酮类化合物根据其结构中双键位置的不同有  $\alpha, \beta, \gamma$  共 3 种异构体, 其中  $\alpha, \beta$  异构体较为常见。该类化合物的裂解途径非常复杂, 可能发生重排、环化、异构化、聚合、脱羧、脱水、脱甲基等反应<sup>[19]</sup>。化合物 21 的分子式为  $C_{16}H_{26}O_8$ , 在负离子模式下, 准分子离子峰为

$m/z$  345.155 0  $[M - H]^-$ , 其二级碎片离子主要有丢失 1 个相对分子质量为 120 的基团得到碎片  $m/z$  225.115 4, 丢失葡萄糖残基的碎片  $m/z$  183.106 2  $[M - H - Glc]^-$  以及该碎片继续脱水形成的碎片  $m/z$  165.091 3  $[M - H - Glc - H_2O]^-$ , 该裂解特征与文献[9-10]报道一致, 推测 9 号峰为地黄苦苷。

化合物 39 的分子式为  $C_{21}H_{34}O_9$ , 在负离子模式下, 准分子离子峰为  $m/z$  429. 211 5  $[M - H]^-$ , 其二级碎片离子主要有丢失葡萄糖残基形成的碎片  $m/z$  267. 161 1  $[M - H - Glc]^-$ , 该碎片继续脱去 2 分子水形成的碎片  $m/z$  231. 141 2  $[M - H - Glc - 2H_2O]^-$ , 以及丢失葡萄糖残基后发生脱羧和脱水形成的碎片  $m/z$  205. 157 7  $[M - H - Glc - CO_2 - H_2O]^-$ , 该裂解特征与文献[9]报道一致, 推测 9 号峰为 jiocarotenoside A<sub>1</sub> 或 jiocarotenoside A<sub>2</sub>, jiocarotenoside A<sub>1</sub> 和 jiocarotenoside A<sub>2</sub> 是由双键位置不同形成的一对顺反异构体, 区分两者需进一步用对照品或核磁等方法确认。

#### 4 讨论

本研究中以水为溶媒进行百合地黄汤的煎煮, 该煎煮工艺是以古代医籍记载的煎煮方法为依据进行相关参数考察得出的。《金匱要略》中百合地黄汤的处方为百合七枚(擘), 生地黄汁一升。经考证, 方中百合为现代应用的干百合, 生地黄汁为鲜地黄蒸炙后绞汁<sup>[11]</sup>。由于生地黄汁炮制方法复杂, 且现代临床少用, 本课题组前期研究发现鲜地黄汁与生地黄煎液物质基础基本一致, 故以生地黄煎液替代鲜地黄汁入药。方中百合、生地黄用量由古籍考证结合现代中医临床使用情况, 并经专家共识后得出。

为全面反映出百合地黄汤的化学成分信息, 预试验中对色谱条件和质谱条件进行了优化。比较甲醇-水和乙腈-水流动相系统, 结果乙腈-水流动相系统色谱峰峰形较佳、分离度较好, 为进一步改善峰形, 增加质谱响应强度, 决定以乙腈-0.1% 甲酸水溶液进行梯度洗脱。此外, 为获得较多的碎片信息, 对质谱的去簇电压和碰撞能进行了优化, 决定将去簇电压设置为  $\pm 80$  V, 碰撞能分别设置为  $\pm 10$  V 和  $\pm 35$  V。

本实验采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术对百合地黄汤的化学成分进行分析, 鉴定出了 49 个化学成分, 包括酚酸甘油酯类、苯乙醇苷类、环烯醚萜类和紫罗兰酮类等多种成分, 其中酚酸甘油酯类来源于百合, 其他成分主要来源于地黄。研究表明<sup>[20-23]</sup>, 酚酸甘油酯类具有较好的抗氧化、抗菌等活性; 苯乙醇苷类具有较好的抗菌、抗炎、保肝、抗衰老、抗中枢神经细胞凋亡等活性; 环烯醚萜类具有较好的抗肿瘤、抗炎、保肝、神经保护作用等活性; 紫罗兰酮类中  $\alpha$ -紫罗兰酮主要用作化妆品香料,  $\beta$ -紫罗兰酮则具有较好的抗癌、抗菌、降血脂等活性; 这些成分为百合地

黄汤治疗神经精神系统类疾病提供了较好的物质基础, 为百合地黄汤的作用机制研究提供了有力依据。此外, 百合地黄汤中的百合皂苷具有抗抑郁活性, 多糖具有免疫调节、降血糖等活性<sup>[20]</sup>, 在该研究中由于检测条件的原因未对其进行大量研究, 后期实验中将对其进行深入探索。

本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术结合 SCIEX OS 1.4 软件数据处理平台对百合地黄汤中的化学成分进行了较为全面系统的分析, 丰富了百合地黄汤的化学成分信息, 并推导了酚酸甘油酯类化合物的裂解途径, 总结了苯乙醇苷类、环烯醚萜类和紫罗兰酮类化合物的质谱裂解规律, 可为研究同类化合物的质谱裂解方式提供参考, 并为百合地黄汤的质量控制、药效物质基础研究及其复方制剂开发奠定了基础。

#### [参考文献]

- [1] 元·赵以德. 金匱方论衍义[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1993: 38-39, 59-60.
- [2] 马柯, 张洪秀, 董振飞, 等. 百合地黄汤治疗抑郁症的研究进展[J]. 中成药, 2019, 41(4): 874-878.
- [3] 强亚, 武嫣斐. 百合地黄汤治疗阈下抑郁 48 例临床观察[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13(2): 256-257.
- [4] 管家齐, 孙燕, 陈文东. 百合地黄汤对抑郁模型小鼠脑内单胺类神经递质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 131-133.
- [5] 郭利红, 姚华强, 康震. 百合地黄汤治疗更年期抑郁症的临床疗效及对神经内分泌系统的影响[J]. 中医药导报, 2016, 22(8): 70-72.
- [6] 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.
- [7] CHEN Y, ZHAO Z, CHEN H, et al. Determination of ginsenosides in Asian and American ginsengs by liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight MS: assessing variations based on morphological characteristics[J]. J Ginseng Res, 2017, 41(1): 10-22.
- [8] 刘芳, 李奇娟, 刘巧, 等. 基于 LC-TOF-MS 分析不同品种和产地厚朴中化学成分的轮廓差异[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(10): 121-126.
- [9] 宋青青, 赵云芳, 张娜, 等. 生地黄 HPLC 指纹图谱的建立及其 HPLC-ESI-MS 分析[J]. 中草药, 2016, 47(23): 4247-4252.
- [10] 张波泳, 江振作, 王跃飞, 等. UPLC/ESI-Q-TOF MS 法分析鲜地黄、生地黄、熟地黄的化学成分[J]. 中成药, 2016, 38(5): 1104-1108.

- [11] 郑晓珂,杨雁芸,张艳丽,等. UPLC-MS/MS 法同时测定生地黄饮片中 7 种核苷类成分的含量[J]. 中药材,2018,41(5):1142-1144.
- [12] 张黄琴,严辉,钱大玮,等. 不同产地百合药材中 8 种活性成分的分析与评价[J]. 中国中药杂志,2017,42(2):311-318.
- [13] 袁志鹰,罗林明,陈乃宏,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 法分析百合珠芽化学成分及其薯蓣皂苷元抗肿瘤活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2019,31(5):808-813.
- [14] 赵新峰,李平,孙毓庆. 熟地黄的高效液相色谱/电喷雾电离-质谱分析[J]. 药物分析杂志,2007,27(6):874-876.
- [15] 王婷婷. 百合和梨的化学成分与活性研究[D]. 天津:天津大学,2015.
- [16] 秦昆明,方前波,蔡皓,等. 百合知母汤及其组方药味的高效液相色谱-电喷雾质谱研究[J]. 分析化学,2009,37(12):1759-1764.
- [17] 聂慧,严辉,钱大玮,等. 百合药材 UPLC 特征图谱及特征峰 QTOF-MS 分析研究[J]. 中药材,2013,36(7):1087-1092.
- [18] XU J D, MAO Q, SHEN H, et al. Ultra-high performance liquid chromatography coupled with photo-diode array and quadrupole/time-of-flight mass spectrometry based chemical profiling approach to evaluate the influence of preparation methods on the holistic quality of Qiong-Yu-Gao, a traditional complex herbal medicine [J]. J Chromatogr A, 2013, 1304:154-168.
- [19] 赵瑞峰,程侠,叶荣飞,等.  $\beta$ -紫罗兰酮热裂解行为的初步探讨[J]. 中山大学学报:自然科学版,2014,53(2):88-93.
- [20] 罗林明,裴刚,覃丽,等. 中药百合化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药新药与临床药理,2017,28(6):824-837.
- [21] 郑晓珂,刘媛媛,冯卫生,等. 天然苯乙醇苷类化合物研究进展[J]. 中国新药杂志,2011,20(3):230-234.
- [22] PASDARAN A, HAMED I A. The genus Scrophularia: a source of iridoids and terpenoids with a diverse biological activity[J]. Pharm Biol, 2017, 55(1):2211-2233.
- [23] 孙向荣,刘家仁,陈炳卿.  $\beta$ -紫罗兰酮的生物活性研究进展[J]. 毒理学杂志,2008,22(6):477-480.

[责任编辑 刘德文]