

基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 鉴定清心滋肾方入血化学成分

胡雨^{1,2}, 商娟^{1,2}, 李雪娇^{1,2}, 封云铎^{1,2}, 谢楷城^{1,2}, 姚卫峰²,
邹建东¹, 陈贇¹, 卢苏¹, 许美娟¹

(1. 南京中医药大学附属医院江苏省中医院, 江苏 南京 210029; 2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023)

摘要: 本研究基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS)法鉴定了清心滋肾方(QZP)的入血成分。将雌性 SD 大鼠连续灌胃 48.5 g/kg QZP 3 天后, 收集血浆样品, 利用固相萃取法去除蛋白, 采用 Agilent ZORBAX SB C18 色谱柱(4.6 mm×100 mm, 1.8 μm)分离, 以 0.1% 甲酸水溶液和甲醇-乙腈溶液(1:1, *V/V*)为流动相进行梯度洗脱, 在电喷雾离子源正、负离子模式下采集数据。根据精确质荷比、二级质谱信息、对照品信息及相关文献鉴定 QZP 入血成分, 并对化合物来源进行归属, 总结了环烯醚萜苷和双苄基异喹啉类生物碱化合物的特征碎片和裂解规律。结果表明, 大鼠血浆中共有 40 种来自 QZP 的入血原型成分, 包括 27 种生物碱、9 种环烯醚萜苷、2 种黄酮碳苷、1 种酚酸和 1 种脂肪酸。本方法可对 QZP 入血成分进行快速全面的分析鉴定, 为阐明其药效物质基础提供依据。

关键词: 清心滋肾方; 超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS); 入血成分; 生物碱; 环烯醚萜苷; 裂解规律

中图分类号: O675.63 文献标志码: A 文章编号: 1004-2997(2025)01-0048-17

DOI: 10.7538/zpxb.2024.0058 CSTR: 32365.14.zpxb.2024.0058

Identification of Plasma Absorbed Components of Qingxin Zishen Prescription by UPLC-Q-TOF MS

HU Yu^{1,2}, SHANG Juan^{1,2}, LI Xue-jiao^{1,2}, FENG Yun-hua^{1,2}, XIE Kai-cheng^{1,2}, YAO Wei-feng²,
ZOU Jian-dong¹, CHEN Yun¹, LU Su¹, XU Mei-juan¹

(1. Jiangsu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

Abstract: It has been confirmed in clinic that Qingxin Zishen Prescription (QZP) is effective and safe in relieving vasomotor symptoms. However, its active components have not been elucidated. In this study, a method based on ultra-performance liquid chromatography quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS) was developed to identify the plasma absorbed components of QZP. After continuous intragastric administration of 48.5 g/kg QZP for 3 days to female SD rats,

国家自然科学基金面上项目(82374005); 江苏省中医药科技发展计划重点项目(ZD202206); “十四五”江苏省重点学科—公共卫生与预防医学(035091005007); 南京中医药大学自然科学基金面上项目(XZR2020015); 第七批全国老中医药专家学术经验继承工作项目(国中医药人教函[2022]76号); 江苏省研究生科研创新计划项目(KYCX24_2340)

本文通信作者卢苏, 许美娟

plasma samples were collected and then pre-treated by solid phase extraction (SPE) to remove proteins in plasma. Then, chromatographic separation of the plasma samples was performed on an Agilent ZORBAX SB C18 column (4.6 mm×100 mm, 1.8 μm) using a gradient elution with a mobile phase composed of 0.1% formic acid aqueous solution (A) and methanol-acetonitrile (1:1, V/V, B) prior to MS analysis. The column temperature was kept at 40 °C. The MS and MS² analysis were performed with the electrospray ionization (ESI) source under both positive and negative ion modes from *m/z* 100 to 1 300. Intelligent dynamic background deduction, information dependent acquisition and highly sensitive mode were used to collect the data. According to the accurate *m/z* values of MS and MS² information, data from reference substance and related literature, the absorbed components in plasma were identified. In total, forty prototypes from QZP are identified and inferred in the plasma samples, including 27 alkaloids, 9 iridoid glycosides, 2 flavonoid carbon glycosides, 1 phenolic acid and 1 fatty acid. Among them, alkaloids are mainly from *Nelumbo nucifera* Gaertn, *Coptis chinensis* Franch, *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou, and *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Miq. ex Havil. Iridoid glycosides are mainly from *Rehmannia glutinosa* Libosch. and *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. Furthermore, the fragmentation pathways and characteristic fragment ions of iridoid glycosides and dibenzylisoquinoline alkaloids were summarized. This study provides not only a rapid and comprehensive analysis method for the plasma absorbed components of QZP, but also a scientific fundamental for elucidating the material basis of action of QZP.

Key words: Qingxin Zishen Prescription; ultra-performance liquid chromatography quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS); absorbed plasma components; alkaloids; iridoid glycosides; fragmentation pathway

清心滋肾方(Qingxin Zishen Prescription, QZP)是基于国医大师夏桂成教授“心(脑)-肾-子宫轴”学术理论,在清心滋肾汤的基础上化裁而成的一张验方,由钩藤、莲子心、黄连、酸枣仁、生地黄、山茱萸、浮小麦和丹参组成。全方心肾合治、清滋同用,主要用于肾阴虚型绝经综合征^[1],能够缓解绝经期烘热出汗、五心烦躁、失眠等症状。临床研究证实,该方缓解血管舒缩症状(vasomotor symptom, VMS)效果确切(临床控制率可达86.15%),安全性好^[2-3]。

超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS)技术具有灵敏度高、检测范围宽、选择性好,且能发生多级质谱、区分同分异构体等优点,在研究天然药物有效成分、药效成分代谢动力学等方面有着广泛应用^[4]。本课题组^[5]采用UPLC-Q-TOF MS技术分析QZP水煎液,共鉴定出83种化学成分,并对其中15种成分进行含量测定^[6],然而,QZP治疗VMS的药效物质基础尚不明确。该方药材多、成分复杂,分析入血成分可以更好地阐述中药药效物质基础和作用机制,也可为中药质量标志物的筛选提供

依据^[7-8]。

本文在前期研究的基础上,采用UPLC-Q-TOF MS技术分析QZP入血成分,以期阐明QZP治疗VMS的药效物质基础及其作用机制提供依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

Agilent 1290 高效液相色谱仪:美国 Agilent 公司产品; Triple TOFTM 5600 高分辨质谱仪:美国 SCIEX 公司产品; CPA225D 电子天平:德国赛多利斯公司产品; Advantage A10 超纯水机:法国 Millipore 公司产品; Centrifuge-5417R 冷冻离心机:德国 Eppendorf 公司产品; Vortex-Genie 2 型旋涡混合器:美国 Scientific Industries 公司产品; Waters Oasis HLB 3cc 60 mg 固相萃取小柱:美国 Waters 公司产品。

1.2 主要材料与试剂

钩藤、黄连、莲子心、酸枣仁、生地黄、酒萸肉、丹参和浮小麦饮片:购自江苏省中医院中药房,经张倩副主任中药师(江苏省中医院)鉴定分

别为茜草科植物钩藤 *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Miq. ex Havil. 的干燥带钩茎枝、毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎、睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 的成熟种子中的干燥幼叶及胚根、鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的干燥成熟种子、玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的干燥块根、山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉、唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎、禾本科小麦属植物小麦 *Triticum aestivum* L. 的干燥轻浮干瘪果实。

马鞭草苷(批号 DST191011-072)、莲心季胺碱(批号 DST190513-114)、去甲乌药碱(批号 DST190402-154)、莲心碱(批号 DST190913-066)、甲基莲心碱(批号 DST190903-033)、异莲心碱(批号 DST190828-066)、钩藤碱(批号 DST190612-015)、马钱苷(批号 DST190627038)、莫诺苷(批号 DST190603-39)、木兰花碱(批号 DST190625-004)对照品:成都德思特生物有限公司产品;缝籽嗉甲醚(批号 MUST-19042108)、盐酸药根碱(批号 MUST-20062609)、去氢钩藤碱(批号 MUST-19042108)、斯皮诺素(批号 MUST-18051904)、原儿茶醛(批号 MUST-21070608)、盐酸药根碱(批号 MUST-20062609)对照品:成都曼思特生物科技有限公司产品;异钩藤碱(批号 PS001036)对照品:成都普思生物科技股份有限公司产品;盐酸黄连碱(批号 C42435DBF)、小檗碱(批号 B5912C186)、盐酸巴马汀(批号 P2902E6AE)、表小檗碱(批号 E428311A6)、梓醇(批号 C154335E2)对照品:上海吉至生化科技有限公司产品;以上对照品质量分数均 $\geq 98\%$;甲醇、乙腈:均为色谱级,美国 Merck 公司产品;甲酸(色谱级):ACS 公司产品;水为 Milli-Q 超纯水;其余试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

SPF 级 SD 雌性大鼠(体重 180~220 g, 许可证号 SCXK(京)2019-0010):由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供。大鼠饲养于江苏省中医院基础药理实验室(实验动物中心),室温(22±2)℃,相对湿度(50±10)%,自由饮水摄食。整个实验研究过程严格遵守动物实验的各项伦理规定,并获得南京中医药大学附属医院实验动物伦理委员会批准(批准号:2022DW-02-02)。

1.4 实验条件

1.4.1 QZP 水煎液的制备 全方由 15 g 钩藤、5 g 莲子心、3 g 黄连、15 g 酸枣仁、10 g 生地黄、9 g 山茱萸、30 g 浮小麦、10 g 丹参组成。按全方临床常用剂量等比例扩大 15 倍,依照课题组前期制备方法^[5]煎煮,得相当于 2.9 g/mL 生药的 QZP 水煎液。

1.4.2 含药血浆的制备 适应性饲养 3 天后,将大鼠随机分为空白组和给药组,每组 6 只。给药组按 48.5 g/kg 生药量(临床 5 倍剂量)灌胃给予 QZP 水煎液,空白组灌胃相应量的生理盐水,早晚连续给药 3 天,实验结束前禁食 12 h,自由饮水。末次灌胃 0.5、2 h(每个时点 $n=3$)后,在 0.8 L/min 空气流量下,使用 3.5%异氟烷诱导进入麻醉状态,然后使用 1.5%异氟烷维持麻醉状态,腹主动脉采血于肝素化的离心管中,4℃下以 3 500 r/min 离心 10 min,取上清液,得到血浆样品,-80℃冷冻保存。

1.4.3 血浆样品的前处理 将空白组和给药组血浆融化后,合并给药组 0.5、2 h 血浆(各取 900 μ L),用 3 mL 甲醇和 3 mL 纯水活化的固相萃取柱萃取,以 2 mL 纯水冲洗,弃去洗脱液,再以 5 mL 甲醇洗脱,收集洗脱液,于 37℃氮气吹干,100 μ L 50%甲醇水复溶,振荡 1 min,4℃下以 12 000 r/min 离心 10 min,取上清液进样分析。

1.4.4 对照品溶液的制备 取适量的马鞭草苷、莲心碱和钩藤碱等对照品,精密称定,分别加入 50%甲醇水溶液溶解,涡旋混匀,配制成为 1 g/L 单一对照品储备液。分别取适量的单一对照品储备液,加入 50%甲醇水溶液制成生物碱质量浓度为 1 mg/L、其他化合物质量浓度为 2 mg/L 的混合对照品溶液。

1.4.5 色谱条件 Agilent ZORBAX SB C18 色谱柱(4.6 mm×100 mm, 1.8 μ m);流动相:A 相为 0.1%甲酸水溶液,B 相为甲醇-乙腈溶液(1:1, V/V);梯度洗脱程序:0~2.5 min(15%~20%B);2.5~7 min(20%~25%B),7~12 min(25%~50%B),12~19 min(50%~80%B),19~23 min(80%~46%B),23~26 min(46%~15%B),26~30 min(15%B);柱温 40℃;进样量 5 μ L。

1.4.6 质谱条件 电喷雾(ESI)离子源,正、负离子模式采集数据;正、负离子模式下喷雾电压

分别为 5 500、4 500 V; 离子化温度 550 °C; 雾化气(GS1)压强 344.7 kPa; 辅助加热气(GS2)压强 413.7 kPa; 气帘气(CUR)压强 137.9 kPa; 去簇电压 80 V。TOF MS 扫描模式: 质量扫描范围 m/z 100~1 300, 累积时间 0.249 9 s, 碰撞能量 10 eV。子离子扫描模式: 质量扫描范围 m/z 100~1 300, 碰撞能量(30±15) eV, 其他主要参数同 TOF MS 扫描模式。采用信息关联采集、智能化的动态背景扣除和高灵敏度的模式采集数据。通过调谐液传递系统(CDS)对分子质量准确度进行自动校准, 分析控制软件 Analyst® TF 1.6 software 控制仪器操作和数据采集。

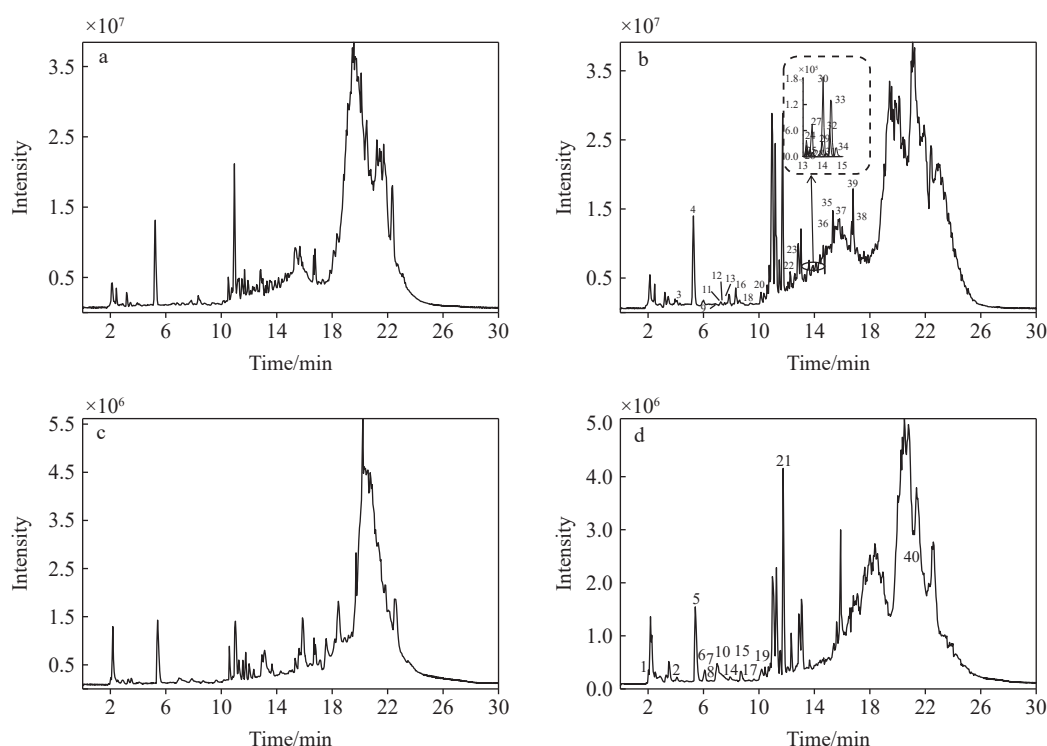
2 结果与讨论

在正、负离子模式下, 大鼠灌胃 QZP 水煎液后血浆的总离子流图示于图 1。借助 PeakView 1.2 软件分析, 并结合体外 QZP 各药材化学成分库、对照品保留时间、二级碎片离子信息、可能的质谱裂解途径、精确相对分子质量和文献报

道进行鉴定。结果表明, 从灌胃 QZP 的大鼠血浆中共鉴定出 40 种原型化合物, 包括 9 种环烯醚萜苷(峰 1、2、5、6、7、8、14、15、17)、27 种生物碱(峰 3、4、9、11、12、13、16、18、20、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39)、1 种酚酸(峰 10)、2 种黄酮碳苷(峰 19、21)和 1 种脂肪酸(峰 40), 示于图 2, 列于表 1。对于给药后血浆中新出现或明显增高, 且不是 QZP 原型成分的色谱峰, 推测其可能为 QZP 移行成分的代谢产物或其他内源性成分, 需要进一步深入研究。

2.1 环烯醚萜苷类入血原型化合物

本研究鉴定出的 9 种环烯醚萜苷类成分主要源于生地黄和山茱萸。研究表明, 环烯醚萜苷类化合物在负离子模式下可以检测到[M-H]⁻准分子离子峰, 当流动相中加入甲酸后, 对于母核结构中 C₄ 位含甲氧基的环烯醚萜苷还会出现[M+HCOO]⁻峰。此外, 环烯醚萜苷类成分的二级质谱还会产生 HCOOH(46 u)、H₂O(18 u)、CO₂



注: a. 空白血浆(正离子模式); b. 给药后血浆(正离子模式); c. 空白血浆(负离子模式); d. 给药后血浆(负离子模式); 虚线框中为个别成分的提取离子色谱图

图 1 正、负离子模式下, 各组大鼠血浆样品的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatograms of plasma samples from control and QZP-administered rats under positive and negative ion modes

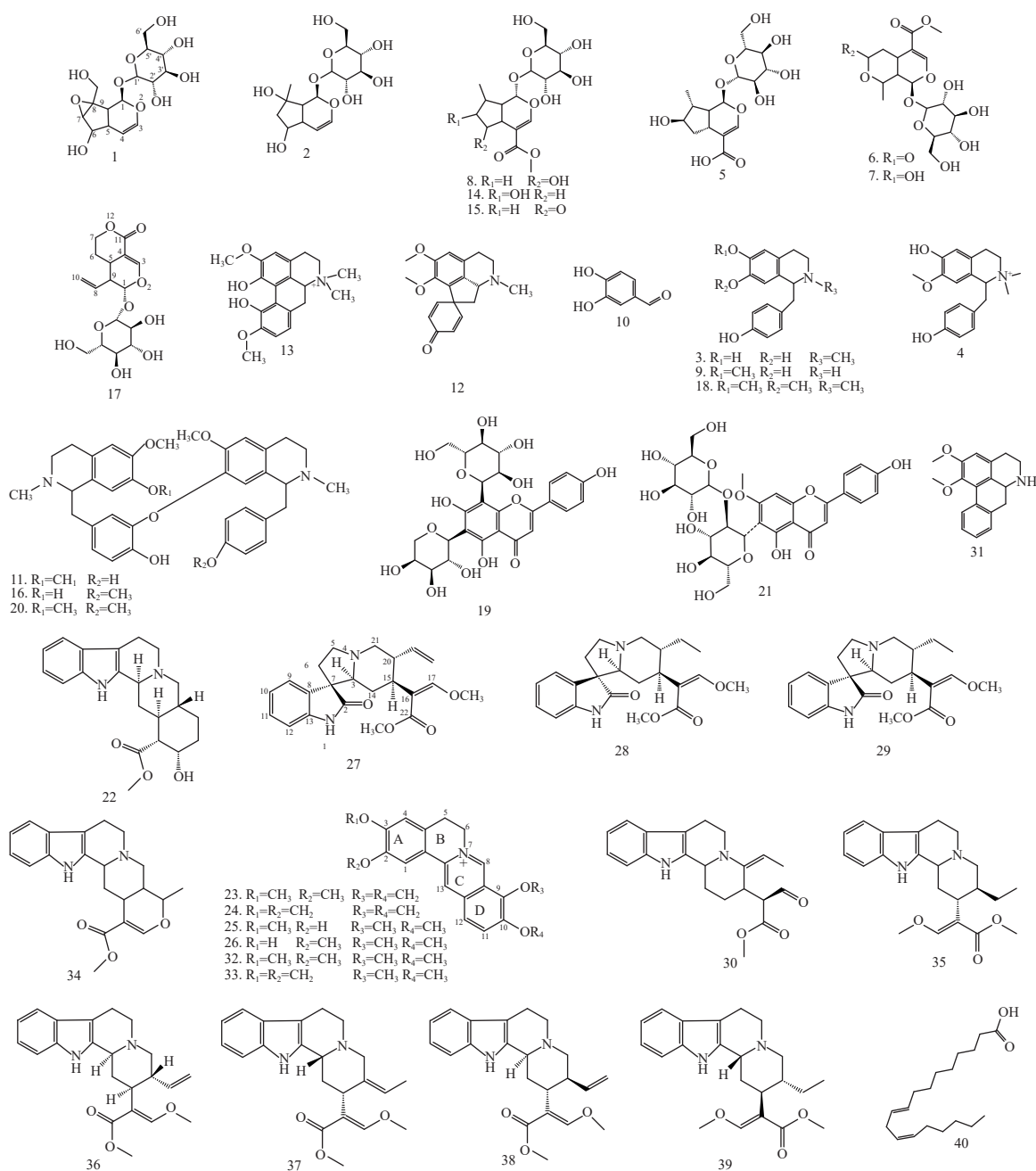


图2 QZP入血成分的结构

Fig. 2 Chemical structures of absorbed components of QZP in rat plasma

表1 清心滋肾方 UPLC-Q-TOF MS 入血成分分析结果

Table 1 Results of absorbed components of QZP by UPLC-Q-TOF MS

编号 No.	保留时间 Retention time/min	分子式 Molecular formula	理论值 Theoretical mass/u	加合离子 Adduct ion	实测值 Measured mass/u	偏差 Error/ $\times 10^{-6}$	碎片离子 Fragment ion (m/z)	名称 Compound name	来源 Origin
P1*	2.56	$C_{15}H_{22}O_{10}$	362.1213	$[M+HCOO]^-$	407.1180	-1.0	407.1208, 361.1129, 199.0601, 181.0494, 169.0499, 163.0411, 151.0420, 137.0309, 127.0395, 97.0318	梓醇	SDH
P2	4.06	$C_{15}H_{24}O_9$	348.1420	$[M+HCOO]^-$	393.1392	0.1	393.1396, 347.1338, 329.0250, 185.0821, 167.0707, 149.0603, 127.0401	益母草苷	SDH

续表

编号 No.	保留时间 Retention time/min	分子式 Molecular formula	理论值 Theoretical mass/u	加合离子 Adduct ion	实测值 Measured mass/u	偏差 Error/ $\times 10^{-6}$	碎片离子 Fragment ion (<i>m/z</i>)	名称 Compound name	来源 Origin
P3	4.65	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285.1365	[M+H] ⁺	286.1438	0.3	286.1437, 255.1008, 243.1024, 237.0912, 161.0599, 107.0499	N-甲基去甲 乌药碱	L
P4*	5.08	C ₁₉ H ₂₄ NO ₃	314.1756	[M] ⁺	314.1750	-2.1	314.1749, 269.1167, 237.0896, 175.0760, 107.0497	莲心季铵碱	L
P5	5.19	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	376.1370	[M-H] ⁻	375.1297	-2.0	375.1284, 169.0876, 151.0746, 119.0333	8-表番木鳖 酸	SDH
P6	5.69	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	404.1319	[M+HCOO] ⁻	449.1288	-0.4	449.1299, 403.1236, 359.1358, 241.0721, 223.0642, 197.0819, 179.0565, 101.0258	金吉苷	SZY
P7*	6.13	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₁	406.1475	[M+HCOO] ⁻	451.1438	-1.9	451.1437, 405.1385, 243.0868, 179.0557, 155.0347, 141.0558, 101.0249	莫诺苷	SZY
P8	6.15	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₀	390.1526	[M+HCOO] ⁻	435.1487	-2.4	435.1491, 389.1435, 227.0912, 127.0413, 101.0264	二氢山茱萸 苷	SZY
P9	6.87	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285.1365	[M+H] ⁺	286.1437	-0.2	286.1435, 269.1169, 254.0937, 237.0906, 175.0748, 143.0492, 107.0500	衡州乌药碱	L, SZR
P10*	7.01	C ₇ H ₆ O ₃	138.0317	[M-H] ⁻	137.0240	2.6	137.0242, 109.0302, 91.0189	原儿茶醛	D, H
P11*	7.31	C ₃₇ H ₄₂ N ₂ O ₆	610.3043	[M+H] ⁺	611.3119	0.5	611.3113, 580.2691, 568.2684, 503.2503, 489.2383, 356.0695, 355.0695, 299.0610, 221.0828, 206.1182	莲心碱	L
P12	7.37	C ₁₉ H ₂₁ NO ₃	311.1521	[M+H] ⁺	312.1590	-1.2	312.1594, 283.1321, 269.1170, 254.0925, 238.0980	原荷叶碱	L
P13*	7.53	C ₂₀ H ₂₄ NO ₄	342.1705	[M] ⁺	342.1700	-1.5	342.1700, 297.1121, 282.0885, 265.0856, 237.0905, 209.0951	木兰花碱	H, SZR
P14*	8.75	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₀	390.1526	[M+HCOO] ⁻	435.1490	-1.7	435.1493, 389.1441, 227.0915, 127.0401, 101.0253	马钱苷	SZY
P15*	8.76	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	388.1370	[M+HCOO] ⁻	433.1326	-3.3	433.1360, 387.1295, 225.0765, 101.0246	马鞭草苷	SZY
P16*	8.79	C ₃₇ H ₄₂ N ₂ O ₆	610.3043	[M+H] ⁺	611.3115	-0.1	611.3095, 580.2682, 568.2679, 489.2380, 475.2222, 192.1017	异莲心碱	L
P17	8.96	C ₁₆ H ₂₂ O ₉	358.1264	[M+HCOO] ⁻	403.1230	-1.3	403.1237, 357.1191, 237.0772, 195.0654, 151.0755, 125.0243	獐牙菜苷	SZY
P18	9.40	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	313.1756	[M+H] ⁺	314.1752	-1.4	314.1746, 283.1326, 269.1094, 237.0912, 107.0499	亚美罂粟碱	L
P19	10.20	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	564.1479	[M-H] ⁻	563.1387	-3.5	563.1393, 503.1162, 473.1072, 443.0961, 383.0758, 353.0647, 297.0778	异夏佛塔苷	L
P20*	10.72	C ₃₈ H ₄₄ N ₂ O ₆	624.3199	[M+H] ⁺	625.3264	-1.3	625.3270, 594.2825, 582.2854, 503.2544, 489.2377, 433.2823, 348.2263, 206.1167	甲基莲心碱	L
P21*	11.65	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	608.1741	[M-H] ⁻	607.1661	-1.3	607.1665, 487.1210, 445.1120, 427.1009, 325.0744, 307.0614, 292.0383, 281.0479	斯皮诺素	SZR
P22	12.20	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O ₃	354.1943	[M+H] ⁺	355.2016	-1.0	355.2012, 337.1852, 251.1541, 224.1279, 212.1281, 144.0812	育亨宾	G
P23*	13.12	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	336.1236	[M] ⁺	336.1227	-2.5	336.1230, 321.0984, 320.0928, 308.0757, 292.0971	表小檗碱	H
P24*	13.13	C ₁₉ H ₁₄ NO ₄	320.0923	[M] ⁺	320.0915	-2.3	320.0913, 318.0751, 292.0966, 262.0861	黄连碱	H
P25*	13.17	C ₂₀ H ₂₀ NO ₄	338.1392	[M] ⁺	338.1390	-0.8	338.1385, 323.1145, 322.1064, 308.0920, 307.0837, 306.1117, 294.1113, 280.0970, 279.0875	非洲防己碱	H
P26*	13.32	C ₂₀ H ₂₀ NO ₄	338.1392	[M] ⁺	338.1392	-2.8	338.1382, 323.1140, 322.1071, 308.0909, 307.0858, 306.1134, 294.1117, 280.0961, 279.0903	药根碱	H

续表

编号 No.	保留时间 Retention time/min	分子式 Molecular formula	理论值 Theoretical mass/u	加合离子 Adduct ion	实测值 Measured mass/u	偏差 Error/ $\times 10^{-6}$	碎片离子 Fragment ion (m/z)	名称 Compound name	来源 Origin
P27*	13.40	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₄	382.1893	[M+H] ⁺	383.1962	-0.9	383.1957, 351.1680, 319.1441, 267.1498, 224.1249, 215.1168, 201.1135, 160.0763	去氢钩藤碱	G
P28*	13.44	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₄	384.2049	[M+H] ⁺	385.2110	-3.1	385.2124, 353.1853, 269.1650, 241.1332, 226.1458, 187.0858, 160.0759	异钩藤碱	G
P29*	13.94	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₄	384.2049	[M+H] ⁺	385.2119	-0.6	385.2117, 353.1847, 269.1638, 226.1439, 215.1192, 160.0757	钩藤碱	G
P30	13.99	C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₃	352.1787	[M+H] ⁺	353.1858	-0.4	353.1855, 324.1615, 251.1553, 222.1159, 210.1135, 144.0802	缝籽嗉	G
P31	14.12	C ₁₈ H ₁₉ NO ₂	281.1416	[M+H] ⁺	282.1490	0.6	282.0499, 265.1208, 250.0987, 235.0751	N-去甲荷叶碱	L
P32*	14.31	C ₂₁ H ₂₂ NO ₄	352.1549	[M] ⁺	352.1542	-2.0	352.1541, 337.1306, 336.1230, 322.1071, 308.1273, 294.1119, 292.0959, 278.0786	巴马汀	H
P33*	14.37	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	336.1236	[M] ⁺	336.1232	-1.2	336.1230, 321.0991, 320.0913, 318.0754, 306.0758, 292.0967, 278.0803	小檗碱	H
P34	14.65	C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₃	352.1787	[M+H] ⁺	353.1859	-0.1	353.1865, 321.1601, 222.1114, 210.1111, 199.1251, 144.0807	四氢鸭脚木碱	G
P35	15.14	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₃	368.2100	[M+H] ⁺	369.2166	-1.7	369.2169, 337.1922, 251.1544, 238.1435, 226.1436, 170.0970, 144.0813	二氢柯楠因碱	G
P36	15.46	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₃	366.1943	[M+H] ⁺	367.2009	-2.0	367.2006, 355.2005, 251.1516, 236.1256, 224.1271, 144.0808	柯楠因	G
P37*	15.74	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₃	366.1943	[M+H] ⁺	367.2017	0.2	367.2018, 335.1747, 251.1544, 236.1280, 225.1384, 224.1283, 170.0964, 144.0807	缝籽嗉甲醚	G
P38	16.09	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₃	366.1943	[M+H] ⁺	367.2017	0.2	367.2006, 335.1751, 236.1279, 224.1268, 144.0806	去氢毛钩藤碱	G
P39	16.61	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₃	368.2100	[M+H] ⁺	369.2172	-0.2	369.2162, 337.1910, 298.1393, 251.1514, 238.1441, 226.1426, 170.0964, 144.0812	毛钩藤碱	G
P40	21.73	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.2402	[M-H] ⁻	279.2324	-2.0	279.2313, 261.2198, 205.1924	亚油酸	F

注: *表示与对照品比对; G. 钩藤; H. 黄连; L. 莲心; SDH. 生地黄; SZY. 山茱萸; SZR. 酸枣仁; D. 丹参; F. 浮小麦

(44 u)、Glc(162 u)等中性丢失及二氢吡喃环开裂的碎片离子。对于C₄位有乙酰基的环烯醚萜苷会产生[C₄H₅O₃]⁺特征碎片离子^[9]。

化合物P1、P7、P14和P15分别在2.56、6.13、8.75和8.76 min出现m/z 407、451、435和433离子峰,且均存在46 u和162 u的中性丢失,P1产生18 u和44 u的中性丢失,P7、P14和P15均存在m/z 101的特征碎片离子。通过与对照品和文献^[10-12]比对,P1、P7、P14和P15分别被鉴定为梓醇、莫诺苷、马钱苷和马鞭草苷,其中梓醇和马钱苷可能的裂解途径示于图3、4。可见,在流动相中加入甲酸后,对于母核结构C₄位不存在甲氧基的环烯醚萜苷类成分,在负离子模式下也会生成[M+HCOO]⁻峰。

根据以上裂解规律和特征碎片离子,推测

P2、P5、P6、P8和P17属于环烯醚萜苷类化合物,可能分别为益母草苷、8-表番木鳖酸、金吉苷、二氢山茱萸苷和獐牙菜苷。下面以P6为例阐述鉴定过程。P6在5.69 min处产生m/z 449离子峰,其主要碎片离子有m/z 403、359、241、223、197、179和101等。其中,m/z 403比m/z 449少46 u,提示m/z 449可能为m/z 403的[M+HCOO]⁻加合离子峰;m/z 241比m/z 403减少了162 u,推测可能含有葡萄糖残基;m/z 223比m/z 241减少18 u,推测m/z 241可能丢失H₂O基团;m/z 359比m/z 403、m/z 197比m/z 241、m/z 179比m/z 223均减少44 u,推测其均可能丢失CO₂基团;特征性碎片离子m/z 101提示结构中含有C₄位乙酰基。通过与文献^[13]对比,初步推测P6为金吉苷,其可能的裂解途径示于图5。

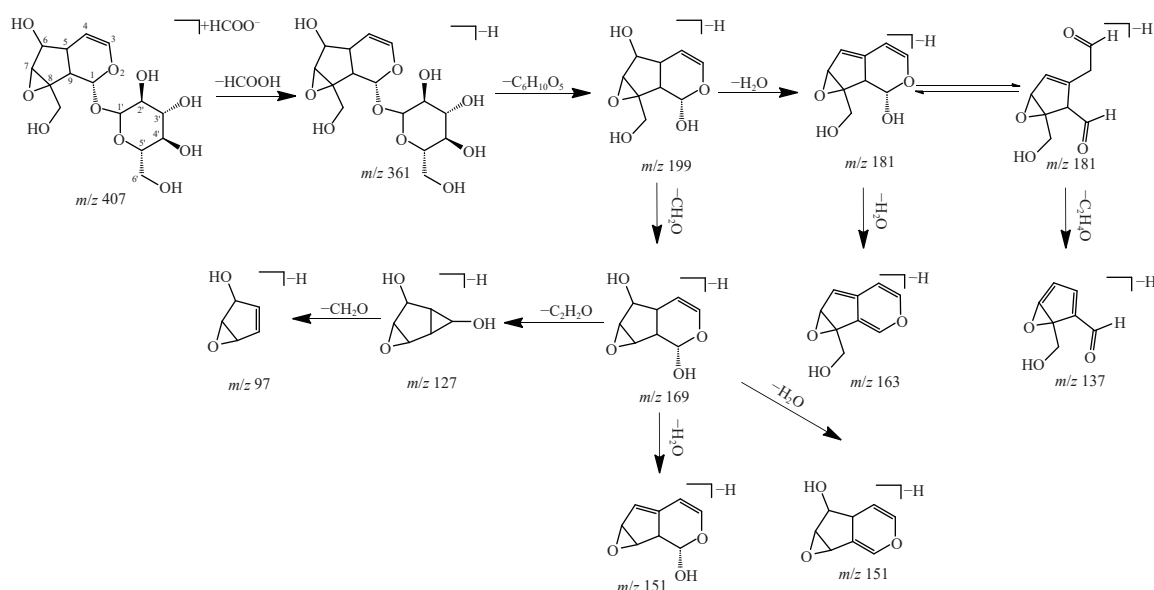


图3 梓醇可能的裂解途径

Fig. 3 Possible fragmentation pathways of catalpol

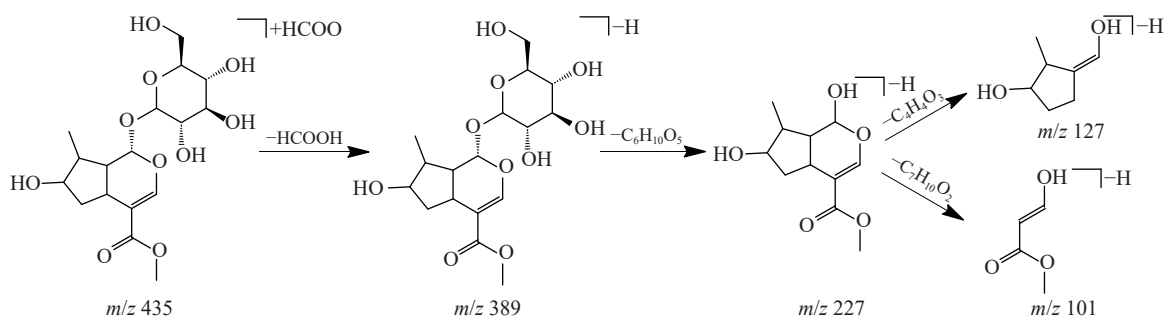


图4 马钱苷可能的裂解途径

Fig. 4 Possible fragmentation pathways of loganin

2.2 生物碱类入血原型化合物

本研究鉴定出的27个主要包括苜基异喹啉类(莲子心)、阿朴啡类(莲子心、黄连、酸枣仁)、小檗碱类(黄连)和单萜吲哚类(钩藤)生物碱。

生物碱类化合物在正离子模式下有较好的响应。苜基异喹啉类生物碱可分为单苜基异喹啉类和双苜基异喹啉类(分子质量>500),这2类生物碱均易失去 $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$ 、 CH_3NH_2 、 NH_3 ,形成45、31、17 u的中性丢失。单苜基异喹啉生物碱易发生 α 裂解及母核骨架断裂,根据苜基所连接基团的不同,会形成 m/z 107、137、151和175等特征碎片离子。双苜基异喹啉类生物碱易发生 β 裂解,丢失苜基和苜基所连基团,产生 m/z 206和192的AB环特征碎片离子^[14-15]。

阿朴啡类生物碱与苜基异喹啉类生物碱的裂解途径相似,如果结构中存在氮甲基,易形成

45、31 u的中性丢失^[14]。阿朴啡类生物碱可能因丢失含N的碎片易形成大的共轭结构体系,母核结构不易继续断裂,只发生侧链的断裂与重组,因此,没有质荷比较低、丰度较高的碎片离子^[16]。

小檗碱类生物碱多为季铵碱,母核一般不会发生裂解,不产生低于 m/z 200的碎片离子,易产生 $[\text{M}-2\text{H}]^+$ 特征碎片离子^[14]。小檗碱类生物碱主要发生小分子取代基的裂解与丢失,如取代基含2个或以上甲基时,会发生15、16、30 u的中性丢失^[17-18]。

钩藤单萜吲哚类生物碱主要分为四环和五环单萜吲哚生物碱,其中,四环单萜吲哚生物碱还可分为 C_2 氧化吲哚类和非氧化吲哚类^[19]。钩藤中氧化和非氧化单萜吲哚生物碱易发生吲哚母核的断裂,分别产生 m/z 160、144特征碎片离子^[14],四环氧单萜吲哚生物碱主要在 C_7 、 C_{20} 、

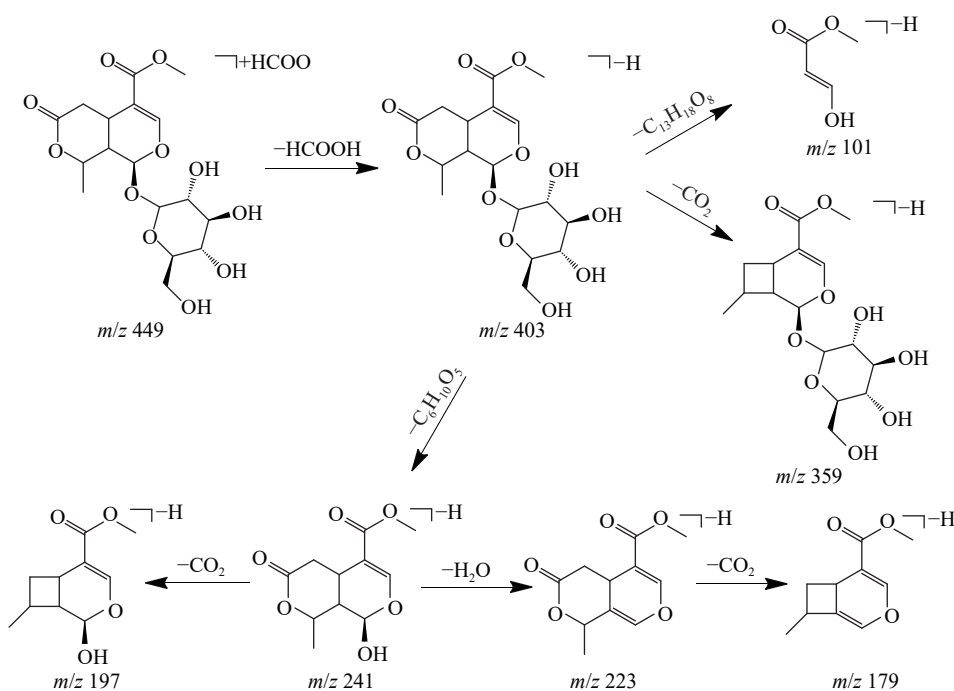


图5 金吉昔可能的裂解途径

Fig. 5 Possible fragmentation pathways of kingside

C_{20} 位置的取代类型存在差异, 其中 m/z 215 是 7R 结构的特征碎片离子; m/z 241、187 是 7S 结构的特征碎片离子; m/z 201 是 C_{20} 乙烯基的特征碎片离子^[20]。此外, 四环单萜吡啶生物碱还易丢失母核上的甲氧基(多为 C_{22} 上的甲氧基)、 C_{15} 和 C_{20} 位置上的取代基, 形成 $[M-32]^+$ 碎片离子, 亦可推测取代基类型^[21]。

2.2.1 苄基异喹啉类生物碱 P4 在 5.08 min 出现 m/z 314 峰, 其二级质谱有 45 u 的中性丢失, 且存在 m/z 175、107 等特征碎片离子, 推测为季铵类单苄基异喹啉生物碱。通过与对照品和文献^[22]

比对, 鉴定 P4 为莲心碱季铵碱, 其可能的裂解途径示于图 6。P11、P16 和 P20 分别在 7.31、8.79 和 10.72 min 产生 m/z 611、611 和 625 离子峰, 均发生 31 u ($-\text{CH}_3\text{NH}_2$) 和 43 u ($-\text{CH}_2\text{NCH}_3$) 的中性丢失, 推测为双苄基异喹啉类生物碱。通过与对照品和文献^[22-23] 比对, 鉴定 P11、P16 和 P20 分别为莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱。其中, 莲心碱可能的裂解途径示于图 7。可见, 双苄基异喹啉类生物碱可发生逆-狄尔斯-阿德尔反应(Retro Diels-Alder reaction, RDA), 丢失 $-\text{CH}_2\text{NCH}_3$ 产生 $[M+H-43]^+$ 碎片离子。

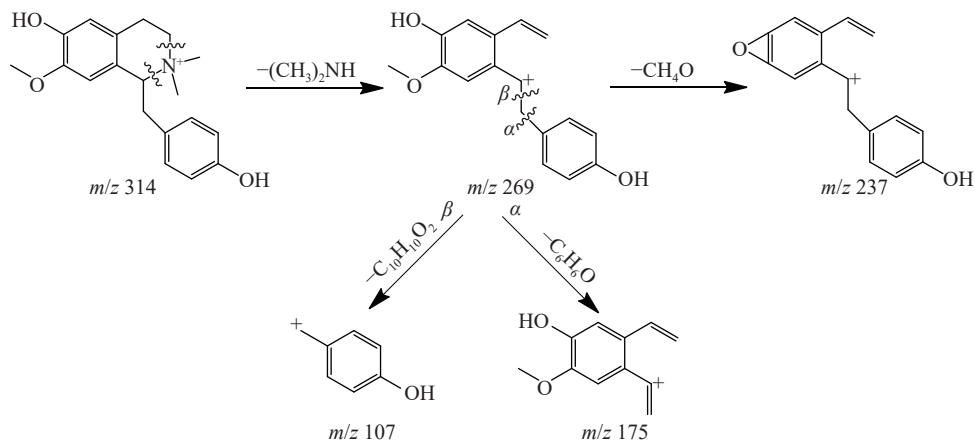


图6 莲心季铵碱可能的裂解途径

Fig. 6 Possible fragmentation pathways of lotusine

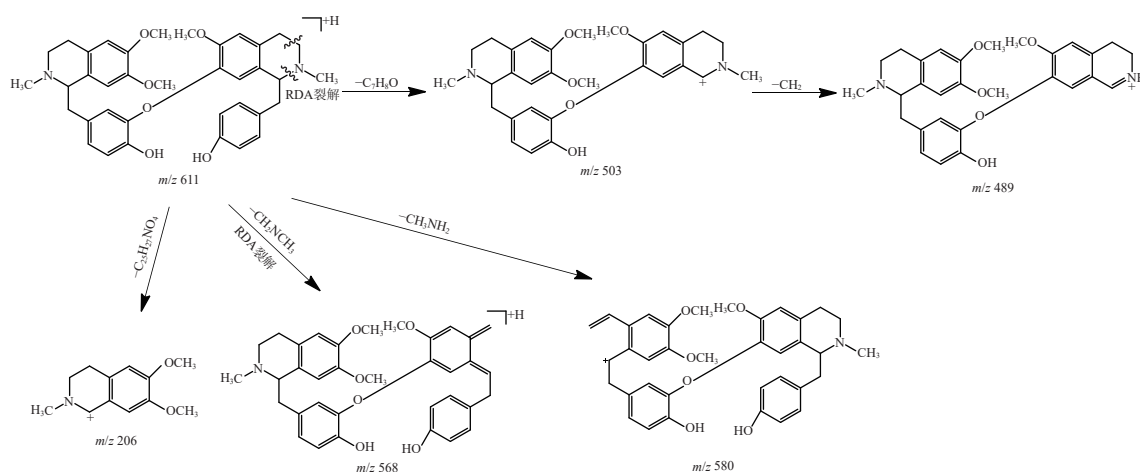


图7 莲心碱可能的裂解途径

Fig. 7 Possible fragmentation pathways of liensinine

根据以上裂解规律和特征碎片离子,推测P3、P9和P18属于单苜基异喹啉生物碱化合物,可能分别为*N*-甲基去甲乌药碱、衡州乌药碱和亚美罂粟碱。下面以P9为例阐述鉴定过程。P9在6.87 min处出现 m/z 286离子峰,其主要碎片离子有 m/z 269、254、237、175、143、107等,发生17、32 u中性丢失,分别提示结构中可能不含氮甲基和可能存在甲氧基,且有 m/z 175、107等单苜基异喹啉生物碱的特征碎片离子。根据文献^[24-25]比对,推测P9为衡州乌药碱,可能的裂解途径示于图8。

2.2.2 阿朴啡类生物碱 P13在7.53 min处产生 m/z 342离子峰,其二级质谱存在45 u的中性丢失,推测为季胺类生物碱,且易丢失 $-CH_3$ 、 $-OH$ 、 $-CO$ 等基团。通过与对照品和文献^[17]比对,鉴定其为木兰花碱。

根据以上裂解规律推测P12和P31为阿朴啡类生物碱,可能分别为原荷叶碱和*N*-去甲荷叶碱。下面以P31为例阐述鉴定过程。P31在14.12 min处产生 m/z 282离子峰,主要碎片离子有 m/z 265、250、235等,发生了17 u的中性丢失,不形成 m/z 较小和丰度较高的碎片离子。 m/z

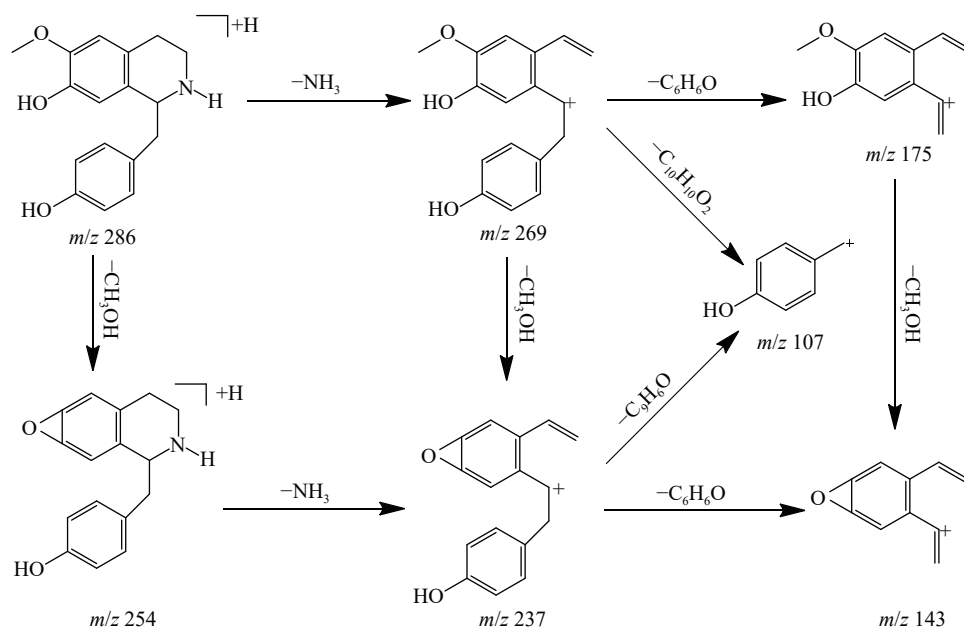


图8 衡州乌药碱可能的裂解途径

Fig. 8 Possible fragmentation pathways of coclaurine

265 比 m/z 282 减少 17 u, 推测不含氮甲基。 m/z 265 丢失 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{O}$ 基团, 产生 m/z 250、235 等碎片离子。通过与文献^[22]比对, 推测 P31 为 *N*-去甲荷叶碱, 可能的裂解途径示于图 9。

2.2.3 小檗碱类生物碱 P23、P24、P25、P26、P32 和 P33 分别在 13.12、13.13、13.17、13.32、14.31 和 14.37 min 出现 m/z 336、320、338、338、352 和 336 离子峰, 均发生小分子中性丢失, 如 18 u (H_2O)、15 u ($\text{CH}_3\cdot$)、28 u (CO) 等。此外, 均无低于 m/z 200 的碎片离子, 推测为小檗碱类生物碱。通过与对照品和文献^[17-18]比对, 鉴定 P23、P24、P25、P26、P32 和 P33 分别为表小檗碱、黄连碱、非洲防己碱、药根碱、巴马汀和小檗碱。

2.2.4 单萜吡啶类生物碱 P27、P28 和 P29 分别在 13.40、13.44 和 13.94 min 出现 m/z 383、385 和 385 的离子峰, P27 产生 m/z 215、201 特征碎片离子, P28 产生 m/z 241、187 特征碎片离子。

通过与对照品和文献^[21]比对, 鉴定 P27、P28 和 P29 分别为去氢钩藤碱(7R, C_{20} 乙烯基)、异钩藤碱(7S, C_{20} 乙基)和钩藤碱(7R, C_{20} 乙基)。其中, 异钩藤碱可能的裂解途径示于图 10。

P37 在 15.74 min 出现 m/z 367 离子峰, 产生 m/z 335、251 等碎片离子。通过与对照品和文献^[20, 26]比对, 鉴定其为非氧化单萜吡啶类生物碱缝籽嗉甲醚, 可能的裂解途径示于图 11。 m/z 236 碎片离子可能为其发生 C_2-C_3 和 C_5-C_6 麦氏重排断裂丢失 $-\text{C}_9\text{H}_9\text{N}$ 基团产生的, 其也易断裂 C_2-C_3 和 N_4-C_5 产生 m/z 144、224 碎片离子。

根据以上裂解规律推测 P30、P34、P35、P36、P38 和 P39 为非氧化吡啶类生物碱化合物, 可能分别为缝籽嗉、四氢鸭脚木碱、二氢柯楠因碱、柯楠因、去氢毛钩藤碱和毛钩藤碱。下面以 P34、P39 为例阐述鉴定过程。

P39 在 16.61 min 处产生 m/z 369 离子峰,

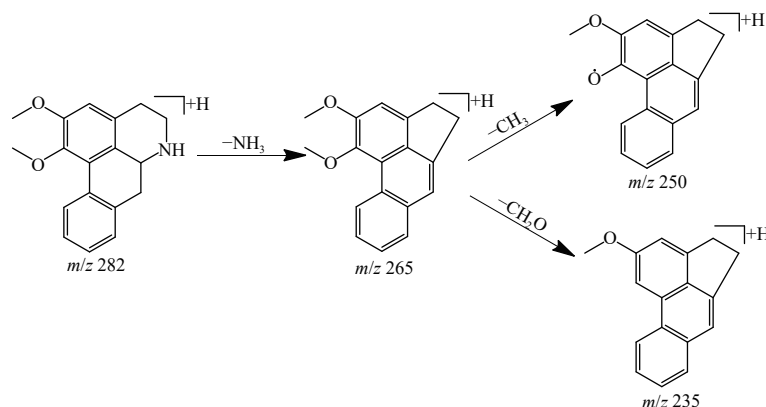


图 9 *N*-去甲荷叶碱可能的裂解途径

Fig. 9 Possible fragmentation pathways of nornuciferine

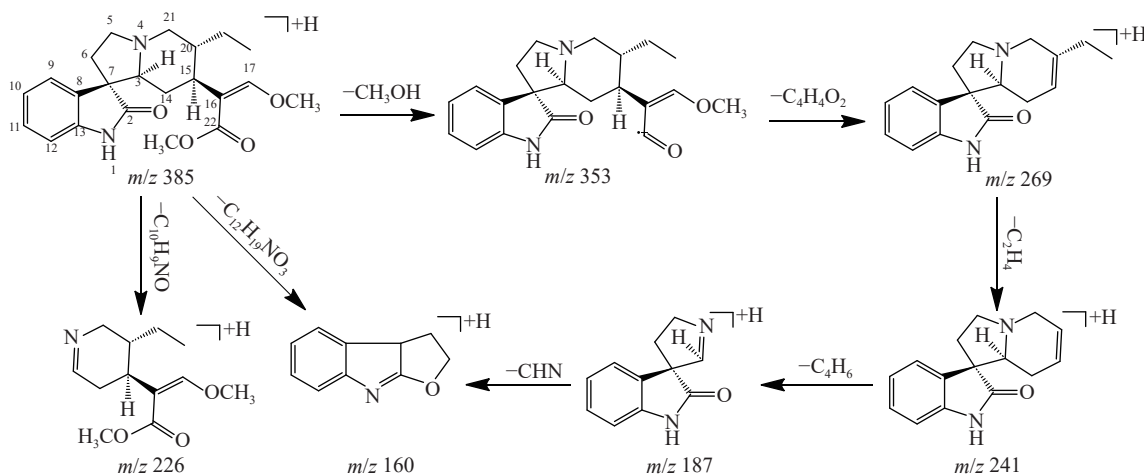


图 10 异钩藤碱可能的裂解途径

Fig. 10 Possible fragmentation pathways of isorhynchophylline

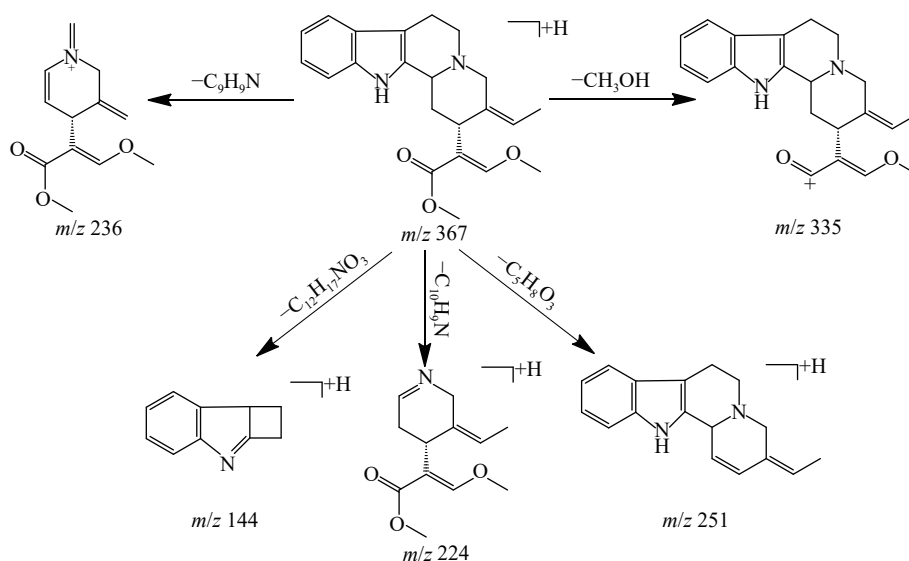


图 11 缝籽嗪甲醚可能的裂解途径

Fig. 11 Possible fragmentation pathways of geissoschizine methylether

m/z 369 丢失 C_{22} 和 C_{15} 上的碎片, 产生 m/z 335 和 251 碎片离子。 m/z 369 离子发生麦氏重排, 断裂 C_2-C_3 和 C_5-C_6 产生 m/z 236 碎片离子, 也易断裂 C_2-C_3 和 N_4-C_5 产生 m/z 144、224 碎片离子。通过与文献^[20, 26]比对, 推测 P39 为毛钩藤碱, 可能的裂解途径示于图 12。

P34 在 14.65 min 处产生 m/z 353 离子峰, 主要碎片离子有 m/z 321、222、210 和 144 等。 m/z 144 可能为非氧化单萜吲哚生物碱; m/z 321 比 m/z 353 减少 32 u, 提示其结构中可能存在甲氧基; 但不存在 m/z 251 离子, 提示其母核结构可能

与缝籽嗪甲醚和毛钩藤碱不同, 不存在 C_{15} 位的侧链基团, 取而代之的是侧链环化而形成的更稳定结构。因此, 推测 P34 为四氢鸭脚木碱, 具体裂解途径示于图 13。

2.3 酚酸类入血原型化合物

本研究鉴定出 1 种酚酸类成分, 主要来源于丹参和(或)黄连。酚酸类化合物含有羰基、羧基和羟基等酸性基团, 在负离子模式下有较强的离子响应, 易产生 $[M-H]^-$ 峰, 也易丢失中性小分子 CO_2 、 CO 和 H_2O 等^[27]。

P10 在 7.01 min 出现 m/z 137 离子峰, 且产生

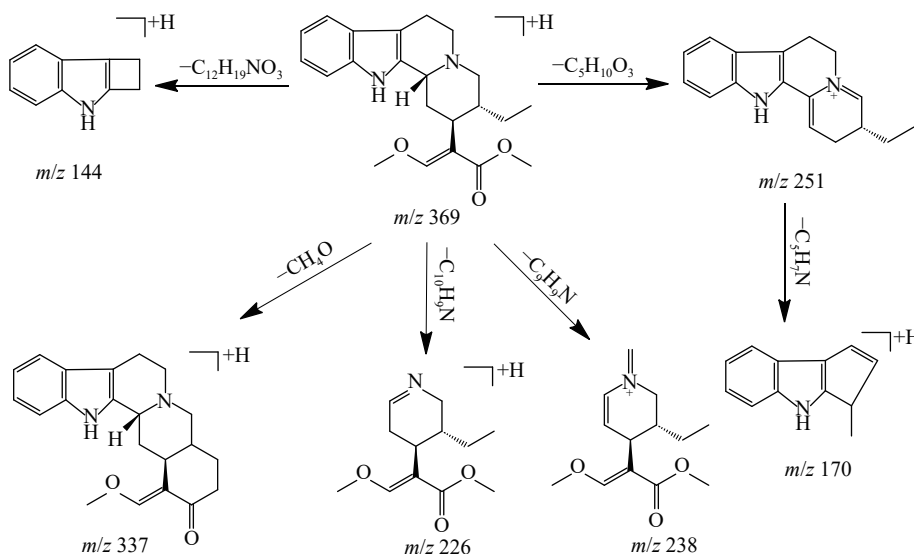


图 12 毛钩藤碱可能的裂解途径

Fig. 12 Possible fragmentation pathways of hirsutine

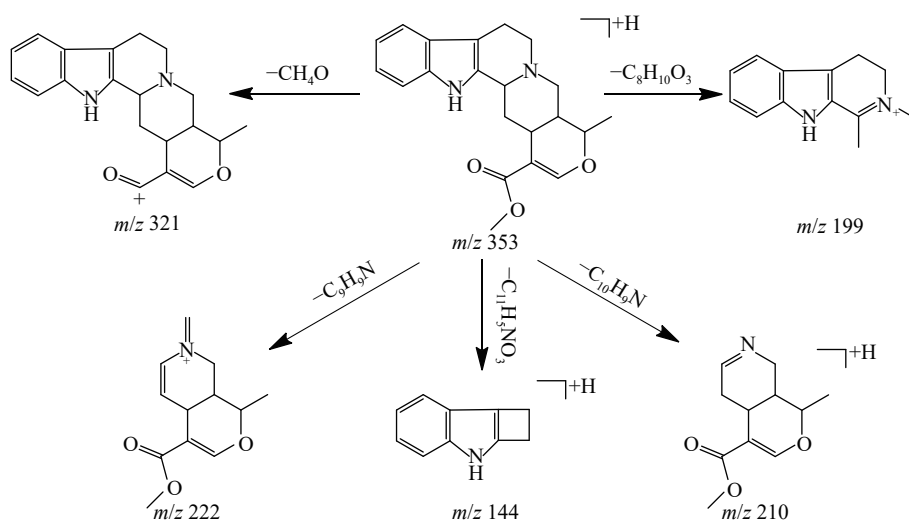


图 13 四氢鸭脚木碱可能的裂解途径

Fig. 13 Possible fragmentation pathways of tetrahydroalstonine

28 u 和 18 u 的中性丢失, 通过与对照品和文献^[28]比对, 鉴定其为原儿茶醛。

2.4 黄酮碳苷类入血原型化合物

本研究鉴定出 2 种黄酮碳苷类成分, 主要来源于莲子心和酸枣仁。大多数黄酮类化合物可在正、负离子模式下形成质谱峰, 其结构稳定, 不易发生 RDA 反应, 易丢失糖苷残基。含六碳糖的黄酮苷易丢失 160、120、90 u 等糖残基; 含五

碳糖的黄酮苷易丢失 90、60 u 等糖残基; 6-C-糖取代基比 8-C-糖取代基更易发生碎裂, 丢失 H₂O、CH₃ 等小分子基团^[29-30]。

P21 在 11.65 min 出现 *m/z* 607 离子峰, 并且存在丢失 160、120 u 碎片离子, 推测含有六碳糖。通过与对照品和文献^[30]比对, 鉴定其为斯皮诺素, 可能的裂解途径示于图 14。

根据以上裂解规律推测 P19 为黄酮苷类化

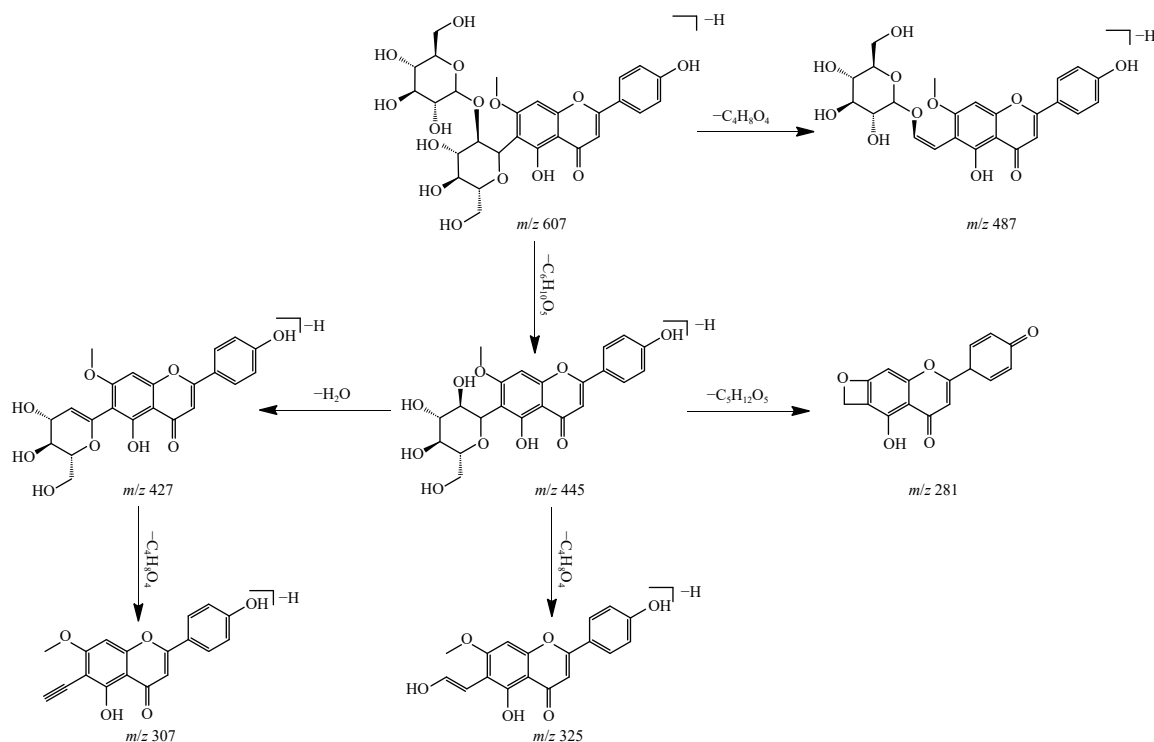


图 14 斯皮诺素可能的裂解途径

Fig. 14 Possible fragmentation pathways of spinosin

合物,其在 10.20 min 处产生 m/z 563 离子峰,可形成丢失 150、120、90、60 u 的碎片离子,推测含有六碳糖和五碳糖。因 m/z 503[M-H-60] 碎片

离子的相对丰度较高,推测 6-C 为五碳糖,通过与文献^[31]比对,推测 P19 为异夏佛塔苷,可能的裂解途径示于图 15。

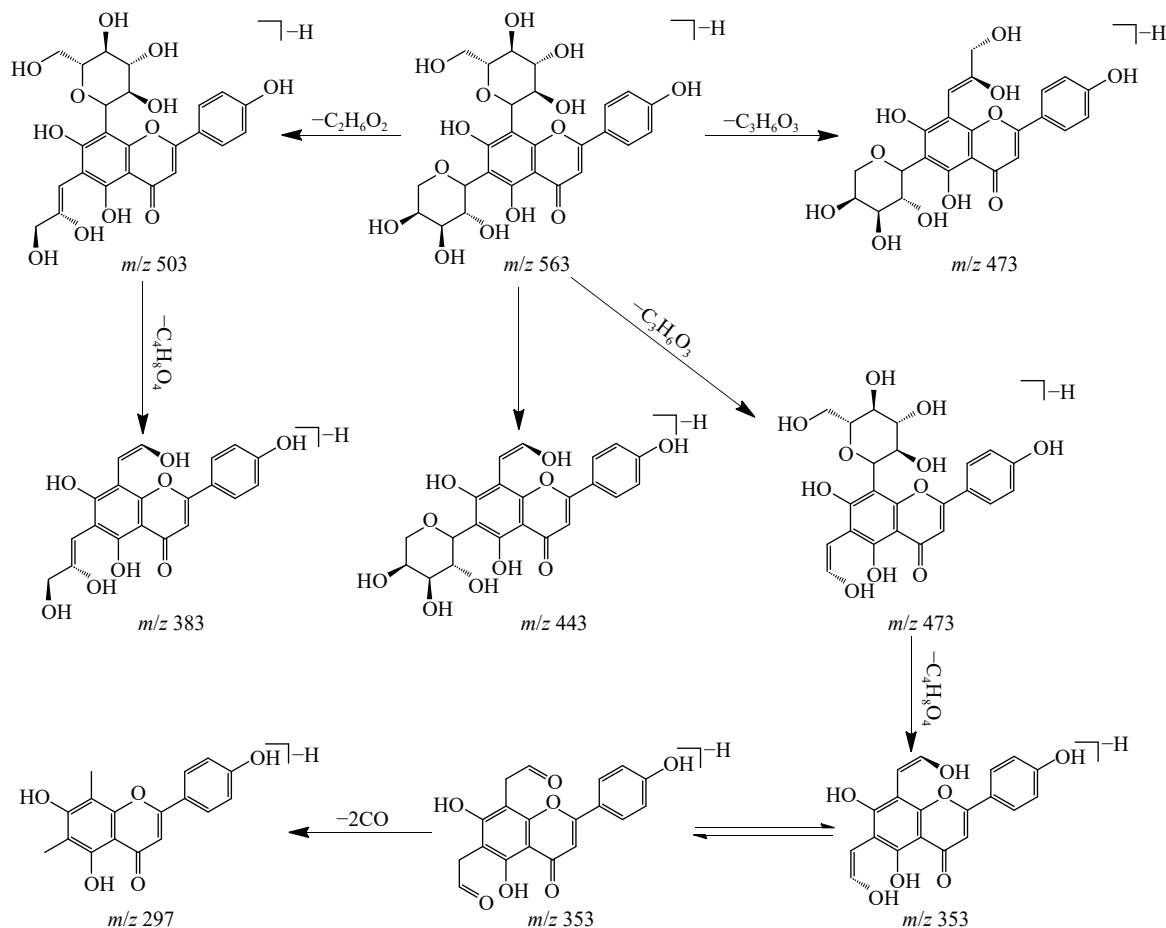


图 15 异夏佛塔苷可能的裂解途径

Fig. 15 Probable fragmentation pathways of isoshaftoside

2.5 脂肪酸类入血原型化合物

本研究结合文献^[32]推测出 1 种脂肪酸类,其在负离子模式下有较好的响应。

P40 在 21.73 min 可产生 m/z 279 离子峰,其

丢失 1 分子 H_2O 形成 m/z 261 碎片离子,进一步碎裂形成 m/z 205 碎片离子。该化合物的保留时间长,推测其极性较小,结合文献^[32]推测为亚油酸,可能的裂解途径示于图 16。

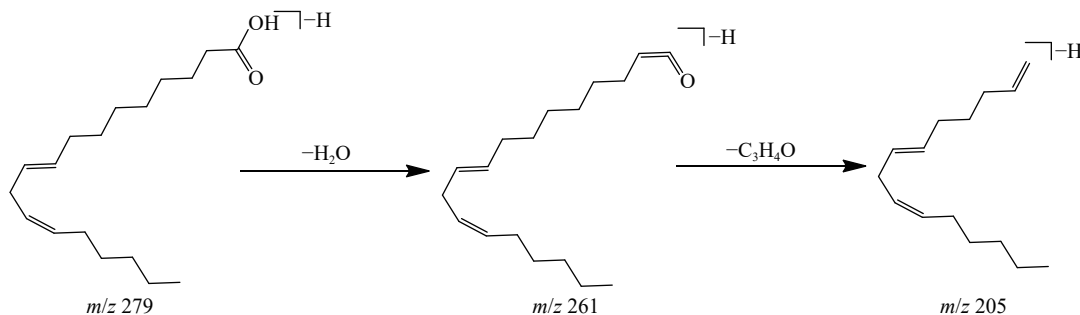


图 16 亚油酸可能的裂解途径

Fig. 16 Probable fragmentation pathways of linoleic acid

3 结论

本研究利用 UPLC-Q-TOF MS 法从灌胃 QZP 的大鼠血浆中初步鉴定出 40 个原型化合物, 其中 10 个来源于莲子心、11 个来源于钩藤、8 个来源于黄连、6 个来源于山茱萸、3 个来源于生地黄、3 个来源于酸枣仁、1 个来源于丹参、1 个来源于浮小麦。衢州乌药碱为莲子心和酸枣仁共有成分、原儿茶醛为黄连和丹参共有成分、木兰花碱为黄连和酸枣仁共有成分。可见, 入血成分主要是生物碱和环烯醚萜苷类化合物, 主要来源于钩藤、黄连、莲子心、山茱萸等, 这些成分可能与清心滋肾方治疗 VMS 的作用密切相关。但目前对其代谢途径尚不明确, 有待进一步研究这些入血成分的生物活性、血药浓度、代谢途径及其代谢产物, 以期更好地阐明该方治疗 VMS 的药效物质, 为探讨其作用机制提供依据。

本研究还发现并补充了环烯醚萜苷类和双苄基异喹啉类生物碱类化合物的裂解规律和特征碎片离子: 流动相中加入甲酸后, 即使环烯醚萜苷类化合物 C₄ 位不存在甲氧基, 也易生成[M+HCOO]⁻峰; 双苄基异喹啉类生物碱易发生 RDA 反应, 产生[M+H-43]⁺碎片离子, 可为这 2 类化合物的质谱定性分析提供参考。

参考文献:

- [1] 杨亚茹. 清心滋肾汤及莉芙敏对绝经期大鼠卵巢凋亡上游因子 bcl-2 及下游因子 Caspase-3 的影响[D]. 南京: 南京中医药大学, 2018.
- [2] 卢苏, 柳静, 陈赟, 陆葳, 许家莹, 季静, 金晶. 多中心、随机、盲法、平行对照 364 例绝经综合征临床研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(4): 876-878.
LU Su, LIU Jing, CHEN Yun, LU Wei, XU Jiaying, JI Jing, JIN Jing. Multicenter, randomized, blind, parallel controlled clinical study of 364 cases of menopausal syndrome[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica, 2014, 25(4): 876-878(in Chinese).
- [3] 胡荣魁. 国医大师夏桂成教授“心-肾-子宫轴”理论与临床应用研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.
- [4] 姚倩, 陈赟, 商娟, 裘晓昀, 陈影, 顾潇, 居文政, 邹建东, 卢苏, 许美娟. 基于 HPLC-Q-TOF/MS 和网络药理学的清心滋肾方防治绝经综合征潜在药效物质基础和作用机制研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2022, 27(5): 481-497.
YAO Qian, CHEN Yun, SHANG Juan, XI Xiaoyun, CHEN Ying, GU Xiao, JU Wenzheng, ZOU Jiandong,

- LU Su, XU Meijuan. Investigation of potential pharmacodynamic substances and mechanism of Qingxin-zhishen prescription decoction in treatment of menopause syndrome based on HPLC-Q-TOF-MS/MS and network pharmacology[J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2022, 27(5): 481-497(in Chinese).
- [5] 刘静, 陈赟, 姚倩, 阎咨伊, 陈影, 张优, 居文政, 卢苏, 许美娟. 清心滋肾方水煎液 HPLC 指纹图谱研究及其 15 种成分定量分析[J]. 中草药, 2020, 51(11): 2 937-2 945.
LIU Jing, CHEN Yun, YAO Qian, YAN Ziyi, CHEN Ying, ZHANG You, JU Wenzheng, LU Su, XU Meijuan. HPLC fingerprint of Qingxin Zhishen Prescription and its multi-component quantitative analysis[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51(11): 2 937-2 945(in Chinese).
- [6] 刘昌孝. 中药质量标志物(Q-marker): 提高中药质量标准及质量控制理论和促进中药产业科学发展[J]. 中草药, 2019, 50(19): 4 517-4 518.
LIU Changxiao. Quality marker (Q-marker) of Chinese materia medica: improving quality standard and quality control theory of CMM and promoting scientific development of CMM industry[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(19): 4 517-4 518(in Chinese).
- [7] 毕肖林, 马世堂, 狄留庆, 陈志鹏, 刘陶世. 中药药效物质筛选与辨识的研究思路及进展[J]. 中草药, 2018, 49(22): 5 229-5 234.
BI Xiaolin, MA Shitang, DI Liuqing, CHEN Zhipeng, LIU Taoshi. Research ideas and progress on screening and identification of pharmacodynamic substance of Chinese materia medica[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2018, 49(22): 5 229-5 234(in Chinese).
- [8] 张杨, 冯宝民, 卢轩. UPLC/Q-TOF-MS 联用技术在药物分析中的应用进展[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(11): 1 992-1 996.
ZHANG Yang, FENG Baomin, LU Xuan. Research progress on application of UPLC/Q-TOF-MS in pharmaceutical analysis[J]. Natural Product Research and Development, 2017, 29(11): 1 992-1 996(in Chinese).
- [9] 李存满, 骆亚薇, 田宝勇. 环烯醚萜类化合物的质谱裂解规律研究进展[J]. 河北师范大学学报(自然科学版), 2015, 39(6): 522-526.
LI Cunman, LUO Yawei, TIAN Baoyong. Research progress on mass spectral fragmentation of iridoids[J]. Journal of Hebei Normal University (Natural Science), 2015, 39(6): 522-526(in Chinese).
- [10] JEONG S H, JANG J H, CHO H Y, LEE Y B. Simultaneous determination of three iridoid glycosides of

- Rehmannia glutinosa in rat biological samples using a validated hydrophilic interaction-UHPLC-MS/MS method in pharmacokinetic and in vitro studies[J]. *Journal of Separation Science*, 2020, 43(22): 4 148-4 161.
- [11] CAI H, CAO G, CAI B. Rapid simultaneous identification and determination of the multiple compounds in crude Fructus Corni and its processed products by HPLC-MS/MS with multiple reaction monitoring mode[J]. *Pharm Biol*, 2013, 51(3): 273-278.
- [12] CAO G, ZHANG C, ZHANG Y, CONG X, CAI H, CAI B. Screening and identification of potential active components in crude Fructus Corni using solid-phase extraction and LC-LTQ-linear ion trap mass spectrometry[J]. *Pharm Biol*, 2012, 50(3): 278-283.
- [13] 樊晓荃, 付娟, 胡军华, 肖伟, 王振中. UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速分析六味地黄苷糖片化学成分[J]. *中草药*, 2021, 52(21): 6 473-6 484.
- FAN Xiaoquan, FU Juan, HU Junhua, XIAO Wei, WANG Zhenzhong. Rapid Identification of chemical components in Liuwei dihuang gantang tablets by UPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2021, 52(21): 6 473-6 484(in Chinese).
- [14] 余文怡, 应金琴, 刘艳芳, 徐青, 沈爱金, 梁鑫森. 诊断离子技术在中药质谱分析中的应用[J]. *分析测试学报*, 2022, 41(9): 1 419-1 430.
- YU Wenyi, YING Jinqin, LIU Yanfang, XU Qing, SHEN Aijin, LIANG Xinmiao. Application of diagnostic ion technology in mass spectrometry analysis of traditional Chinese medicine[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2022, 41(9): 1 419-1 430(in Chinese).
- [15] 杨鹏, 卿志星, 向锋, 莫长明, 唐其. HPLC-Q-TOF/MS 法鉴定两面针和单面针中的生物碱[J]. *中成药*, 2017, 39(8): 1 646-1 650.
- YANG Peng, QING Zhixing, XIANG Feng, MO Changming, TANG Qi. Identification of alkaloids in *Zanthoxylum nitidum* and *Zanthoxylum dissitum* by HPLC-Q-TOF/MS[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2017, 39(8): 1 646-1 650(in Chinese).
- [16] 卿志星, 程辟, 曾建国. 博落回中生物碱质谱裂解规律研究进展[J]. *中草药*, 2013, 44(20): 2 929-2 939.
- QING Zhixing, CHENG Pi, ZENG Jianguo. Research progress on mass spectral fragmentation behaviour of alkaloids in *Macleaya cordate*[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2013, 44(20): 2 929-2 939(in Chinese).
- [17] LIU Y, ZHANG Y, MENG Q, LONG J, WANG M, ZHANG X, YAN C, YAN D. Metabolic profile of alkaloids in Rhizoma Coptidis in rat plasma, urine and feces after oral administration using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2020, 34(9): e8763.
- [18] ZHENG G D, LI K, LI Y S, LIU E H. Fast profiling of chemical constituents in Yiqing Capsule by ultra-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *J Sep Sci*, 2012, 35(1): 174-183.
- [19] PAN H, YANG W, ZHANG Y, YANG M, FENG R, WU W, GUO D. An integrated strategy for the systematic characterization and discovery of new indole alkaloids from *Uncaria rhynchophylla* by UHPLC/DAD/LTQ-Orbitrap-MS[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407(20): 6 057-6 070.
- [20] WANG H, QI W, ZHANG L, YUAN D. Qualitative and quantitative analyses of alkaloids in *Uncaria* species by UPLC-ESI-Q-TOF/MS[J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2014, 62(11): 1 100-1 109.
- [21] XIE S, SHI Y, WANG Y, WU C, LIU W, FENG F, XIE N. Systematic identification and quantification of tetracyclic monoterpene oxindole alkaloids in *Uncaria rhynchophylla* and their fragmentations in Q-TOF-MS spectra[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013(81/82): 56-64.
- [22] ZHOU M, JIANG M, YING X, CUI Q, HAN Y, HOU Y, GAO J, BAI G, LUO G. Identification and comparison of anti-inflammatory ingredients from different organs of *Lotus nelumbo* by UPLC/Q-TOF and PCA coupled with a NF-kappaB reporter gene assay[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e81971.
- [23] LIN Z, WANG H, FU Q, AN H, LIANG Y, ZHANG B, HASHI Y, CHEN S. Simultaneous separation, identification and activity evaluation of three butyrylcholinesterase inhibitors from *Plumula nelumbinis* using on-line HPLC-UV coupled with ESI-IT-TOF-MS and BChE biochemical detection[J]. *Talanta*, 2013, 110: 180-189.
- [24] WANG D, LI Q, LIU R, XU H, YIN Y, WANG Y, WANG H, BI K. Quality control of Semen Ziziphi Spinosae standard decoction based on determination of multi-components using TOF-MS/MS and UPLC-PDA technology[J]. *J Pharm Anal*, 2019, 9(6): 406-413.
- [25] PEI H, SU W, GUI M, DOU M, ZHANG Y, WANG C, LU D. Comparative analysis of chemical constituents in different parts of lotus by UPLC and QToF-MS[J]. *Molecules*, 2021, 26(7): 1 855.

- [26] LONG J, WANG Y, XU C, LIU T, DUAN G, YU Y. Identification and quantification of alkaloid in khr98 and fragmentation pathways in HPLC-Q-TOF-MS[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2018, 66(5): 527-534.
- [27] LIANG W, CHEN W, WU L, LI S, QI Q, CUI Y, LIANG L, YE T, ZHANG L. Quality evaluation and chemical markers screening of *Salvia miltiorrhiza* Bge. (danshen) based on HPLC fingerprints and HPLC-MSⁿ coupled with chemometrics[J]. *Molecules*, 2017, 22(3): 478.
- [28] CAO J L, WEI J C, HU Y J, HE C W, CHEN M W, WAN J B, LI P. Qualitative and quantitative characterization of phenolic and diterpenoid constituents in Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) by comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled with hybrid linear ion trap Orbitrap mass[J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1 427: 79-89.
- [29] KIM W I, ZHAO B T, ZHANG H Y, LEE J H, SON J K, WOO M H. Quantitative and pattern recognition analyses of magnoflorine, spinosin, 6''-feruloyl spinosin and jujuboside A by HPLC in Zizyphi Semen[J]. *Arch Pharm Res*, 2014, 37(9): 1 139-1 147.
- [30] YANG B, YANG H, CHEN F, HUA Y, JIANG Y. Phytochemical analyses of *Ziziphus jujuba* Mill. var. spinosa seed by ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Analyst*, 2013, 138(22): 6 881-6 888.
- [31] ZHENG J, TIAN W, YANG C, SHI W, CAO P, LONG J, XIAO L, WU Y, LIANG J, LI X, ZHAO S, ZHANG K, ZHI H, SUN P. Date on identification of flavonoids in *Plumula nelumbinis* by UPLC-ESI-QTOF-MS and antioxidant activity from 13 habitats in China[J]. *Data Brief*, 2018, 21: 321-327.
- [32] 任洪民, 张金莲, 邓亚玲, 叶先文, 夏澜婷, 刘敏敏, 刘颖, 陈媛, 张琪, 王婷. 基于UPLC-Q-TOF-MS的多花黄精酒制前后化学成分分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(4): 110-121.
- REN Hongmin, ZHANG Jinlian, DENG Yaling, YE Xianwen, XIA Lanting, LIU Minmin, LIU Ying, CHEN Yuan, ZHANG Qi, WANG Ting. Analysis of chemical constitutions of polygonatum cyrtoneura dried rhizomes before and after processing with wine based on UPLC-Q-TOF-MS[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2021, 27(4): 110-121(in Chinese).

(收稿日期: 2024-04-19; 修回日期: 2024-06-25)