

基于 UPLC-Q-TOF-MS 和网络药理学探讨菟丝子-枸杞子药对治疗早发性卵巢功能不全的成分及机制

宗 政， 胡 扬*， 徐蓓蕾， 辛国松， 张文君， 陈鹰翔， 刘树森， 孙向明， 宋 辉， 李文兰*
(哈尔滨商业大学药学院，黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要：目的 探讨菟丝子-枸杞子药对治疗早发性卵巢功能不全的成分及机制。方法 采用 UPLC-Q-TOF-MS 法进行分析，结合质谱信息、对照品比对、参考文献以及 UNIFI 软件对化合物进行指认。采用网络药理学构建“成分-靶点”网络并富集相关通路，再对关键成分与核心靶点进行分子对接。结果 共鉴定出 110 种成分，包括 26 种黄酮类、23 种生物碱类、15 种苯丙素类、31 种有机酸类、15 种其他类，其中菟丝子和枸杞子共有成分 32 种，菟丝子独有 38 种，枸杞子独有 40 种。成分与疾病交集靶点有 629 个，核心靶点有 10 个；药对主要参与丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸蛋白激酶活性、膜筏、多肽反应等过程，通过 PI3K-Akt 信号通路、神经活性配体-受体相互作用、MAPK 信号通路等治疗早发性卵巢功能不全；共有 4 个关键靶点和 5 种关键活性成分，药对关键成分与核心靶点展现出较强的结合能力。结论 本研究通过 UPLC-Q-TOF-MS 结合网络药理学对菟丝子-枸杞子药对化学成分进行解析，揭示其可能通过多成分、多靶点、多途径来发挥治疗早发性卵巢功能不全的作用。
关键词：菟丝子-枸杞子药对；早发性卵巢功能不全；化学成分；作用机制；UPLC-Q-TOF-MS；网络药理学
中图分类号：R284.1；R966 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2025)02-0649-10
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.02.047

早发性卵巢功能不全为早发于育龄期女性的妇科疾病，临床表现为性腺功能减退、不孕、闭经，且伴有雌激素水平降低、促性腺激素水平升高、骨质疏松等症状^[1-3]。菟丝子、枸杞子始载于《神农本草经》，列为上品；菟丝子性平，味甘、辛，具有滋补肝肾、明目止泻功效；枸杞子性平，味甘，具有滋补肝肾，益精明目功效。菟丝子-枸杞子作为左归丸、五子衍宗丸等经典方剂的核心药对^[4-5]，被广泛用于治疗早发性卵巢功能不全、男性不育症、少弱精子等疾病^[6-7]。

菟丝子和枸杞子中含黄酮类、生物碱类、有机酸类等化学成分，课题组前期对菟丝子成分进行了分析，而关于该药对的成分分析及归属研究尚未见报道^[8-9]。菟丝子-枸杞子作为治疗早发性卵巢功能不全的核心药对，现阶段关于此药对的有效成分、作用靶点和分子机制尚不明确。因此本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术和 UNIFI 数据库软件对菟丝子-枸杞子及其单味药化学成分进行分析并归属，并通过网络药理学及分子对接技术，构建“成分-靶点”相互作用网络图，探究菟丝子-枸杞子治疗早发性卵巢功能不全可

能的调控机制，以期为此药对的临床运用及药效物质基础的深入研究提供充分的科学依据。

1 材料

1.1 试剂与药物

菟丝子（产地黑龙江）购自黑龙江未名制药有限公司，枸杞子（产地宁夏）购自哈尔滨普方药业饮片有限公司，经哈尔滨商业大学徐蓓蕾副教授鉴定菟丝子为旋花科菟丝子属菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam. 的干燥成熟种子，枸杞子为茄科枸杞属宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥成熟果实。金丝桃苷（批号 22041804）、紫云英苷（批号 21101302）、异鼠李素（批号 22030404）、槲皮苷（批号 21032404）、异槲皮苷（批号 20112404）、香豆素（批号 20071703）、东莨菪素（批号 21071605）对照品购自成都格利普生物科技有限公司；柠檬酸（批号 SM0425GA14）、4-羟基香豆素（批号 M14HB182080）、3-羟基肉桂酸（批号 L19J8Z40260）、木犀草苷（批号 A22GB141264）、东莨菪苷（批号 J09A11T120042）、甜菜碱（批号 DJ0615YA13）、绿原酸（批号 Y24J7K16726）、芦丁（批号 D13HB202516）对照品购自上海源叶生物科技

收稿日期：2023-11-30
基金项目：黑龙江省重点研发计划项目（2022ZX02C08）
作者简介：宗 政（1996—），男，硕士生，从事中药药效物质基础及质量标准化研究。E-mail: zongzheng0823@163.com
*通信作者：胡 扬（1986—），女，硕士，高级工程师，从事中药药效物质基础研究。E-mail: huy0506@126.com
李文兰（1967—），女，博士，教授，博士生导师，从事中药药效物质基础及质量标准化研究。E-mail: lwlzd@163.com
网络出版日期：2024-02-27
网络出版地址：http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20240226.1619.002.html.

有限公司；槲皮素（批号 Y29A10Y779806）、山柰酚（批号 A01HJ190000）、阿魏酸（批号 20181106）对照品购自上海金穗生物科技有限公司；芹菜素（批号 20170224）对照品购自中国食品药品检定研究院。乙腈、甲醇、甲酸（色谱纯）购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；甲醇（色谱纯）、95%乙醇（分析纯）购自天津市天力化学试剂有限公司。

1.2 仪器 SYNAPT G2-Si 质谱仪、Acquity UPLC I-Class 色谱仪（美国 Waters 公司）；电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；快速混匀器（常州国华电器有限公司）；台式离心机（上海安亭科学仪器厂）；超声清洗器（深圳市洁盟清洗设备有限公司）。

2 方法

2.1 成分分析

2.1.1 供试品溶液制备 菟丝子-枸杞子中菟丝子、枸杞子按 1:1 比例入药，粉碎后加入 95%乙醇（料液比 1:8）浸泡 12 h，加热回流提取 3 次，每次 3 h；药渣干燥后再用 10 倍量水煎煮 2 次，每次 1 h，合并醇提液和水提液，浓缩至浸膏，-20℃保存。精密称取适量浸膏，加入 80%甲醇充分溶解，12 000 r/min 离心 15 min，取上清液，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得 1 g/mL（以生药计）菟丝子-枸杞子供试品溶液。菟丝子、枸杞子单味药供试品溶液制备方法同上。

2.1.2 对照品溶液制备 分别取金丝桃苷、紫云英苷、异鼠李素、槲皮苷、异槲皮苷、香豆素、东莨菪素、柠檬酸、4-羟基香豆素、3-羟基肉桂酸、木犀草苷、东莨菪苷、甜菜碱、芦丁、槲皮素、山柰酚、阿魏酸、绿原酸、芹菜素对照品适量，80%甲醇溶解并定容于 10 mL 量瓶中，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。

2.1.3 UPLC-Q-TOF-MS 条件

2.1.3.1 色谱 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱（50 mm×2.1 mm，1.7 μm）；流动相乙腈（A）-水（含 0.1%甲酸）（B），梯度洗脱（0~3 min，2%~11%A；3~5 min，11%~14%A；5~6 min，14%~17%A；6~8 min，17%~20%A；8~12 min，20%~32%A；12~20 min，32%~44%A；20~26 min，44%~62%A；26~31 min，62%~100%A）；体积流量 0.3 mL/min；柱温 30℃；进样量 3 μL。

2.1.3.2 质谱 电喷雾离子源（ESI）；正、负离子扫描；扫描范围 m/z 50~1 200；毛细管电压 3.0 kV；锥孔电压 40 V；碰撞能量 20~45 eV；锥孔气体积流量 50 L/h；离子源温度 100℃；去溶剂气温度 400℃；去溶剂气体积流量 800 L/h；采用 MS/MS 模式采集二级质谱信息。

2.1.4 数据处理 通过从 PubMed、CNKI、ChemSpider、分析平台（TCMSP）等数据库以及相关文献收集关于菟丝子、枸杞子相关内容，构建菟丝子-枸杞子成分自建库。通过设置保留时间误差小于 0.1 min，质量误差小于 1×10^{-5} ，样品阈值强度为 500 counts，运用 UNIFI 软件以及 Waters

Masslynx 4.1 软件进行数据分析，根据分子量、分子式、碎片离子、同类化合物的质谱裂解规律及相关文献资料和对照品信息进行化合物解析。

2.2 网络药理学及分子对接研究

2.2.1 菟丝子-枸杞子药对治疗早发性卵巢功能不全关键靶点筛选 借助 TCMSP 数据库（<https://old.tcmssp-e.com/tcmssp.php>）及 SwissTargetPrediction 平台（<http://www.swisstargetprediction.ch/>）获取菟丝子-枸杞子鉴定出的成分的作用靶点，整理删除重复靶点后，利用 Uniprot 数据库（<https://www.uniprot.org/>）获得上述筛选得到的标准化基因名称。利用 DrugBank 数据库（<https://go.drugbank.com/>）、OMIM 数据库（<https://omim.org/>）、GeneCards 数据库（<https://www.genecards.org/>）、DisGeNET 数据库（<https://www.disgenet.org/home/>）以及 TTD 数据库（<http://db.idrblab.net/td/>）以“premature ovarian insufficiency”及“POI”作为关键词进行早发性卵巢功能不全相关的疾病靶点检索。将菟丝子-枸杞子关键靶点与早发性卵巢功能不全关键靶点输入到韦恩图绘图工具 Venny 2.1.0（<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>），通过取交集得到共同靶点，将其作为菟丝子-枸杞子治疗早发性卵巢功能不全的关键靶点，并绘图进行可视化展示。

2.2.2 蛋白-蛋白相互作用（PPI）网络构建 将交集靶点基因导入 STRING 网站（<https://cn.string-db.org/>），设置 minimum required interaction score 为 highest confidence（0.900），选择蛋白种类为“Homo sapiens”，并删除离节点，在线预测各基因间相互联系。

2.2.3 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 将交集靶点输入 Metascape 网站（<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>）物种设置为人类，设置富集分析的筛选阈值为 $P<0.01$ ，分别进行交集靶点的 GO 生物学过程（BP）、细胞定位（CC）和分子功能（MF）分析和 KEGG 信号通路富集分析。将结果整合到生物在线绘图工具微生信绘制 GO 富集分析柱状图和 KEGG 富集分析气泡图。

2.2.4 “成分-靶点”网络构建 将菟丝子-枸杞子活性成分和交集靶点导入到 Cytoscape 3.10.0 软件，构建“成分-靶点”网络，并进行可视化展示。

2.2.5 关键成分与核心靶点的分子对接验证 从 PDB 数据库（<https://www.rcsb.org/>）和 Uniprot 数据库（<http://www.uniprot.org/>）下载核心靶点的高解析精度（ <2.50 ）的蛋白质三维结构数据，将筛选的关键成分和核心靶点信息输入 AutoDock Vina 软件，进行分子对接。

3 结果

3.1 化学成分分析 正、负离子模式采集的菟丝子-枸杞子、菟丝子、枸杞子的基峰色谱图（BPI）见图 1。从中共鉴定得到 110 种成分，包括 26 种黄酮类、23 种生物碱类、15 种苯丙素类、31 种有机酸类、15 种其他类；其中菟丝子和枸杞子共有成分 32 种，菟丝子独有 38 种，枸杞

子独有 40 种，其中 19 种成分通过对照品比对鉴定，见表 1。

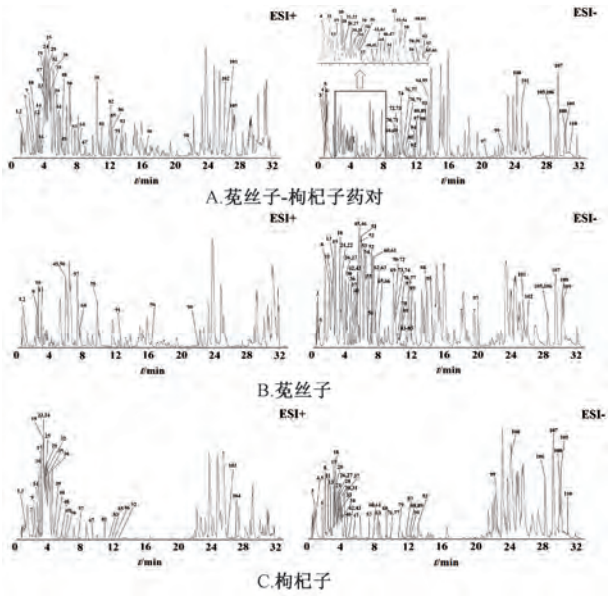


图 1 菟丝子-枸杞子药对、菟丝子、枸杞子提取物的基峰色谱图

3.2 结构解析

3.2.1 黄酮类 黄酮类化合物是菟丝子-枸杞子药对的主要成分，在菟丝子中尤为常见，主要包括黄酮和黄酮醇，其中黄酮苷元在质谱裂解过程中易发生逆狄尔斯-阿尔德反应 (RDA)，产生 CH_3 、 CO 、 H_2O 等特征碎片离子，而黄酮苷类化合物易发生糖苷键的断裂而易丢失葡萄糖基、端基脱氧六碳糖基等基团，此外苷类化合物还易发生糖-糖键的断裂^[31-32]。本研究从菟丝子-枸杞子中共鉴定得到黄酮类成分 26 种，其中用对照品辅助鉴定了 10 种。以化合物 55 为例，其准分子离子峰 m/z 463.084 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ，推断分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ ，碎片离子 m/z 301.030 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ 是分子离子丢失 1 个半乳糖产生的；碎片离子 m/z 255.029 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^-$ 是分子离子丢失 1 个半乳糖，再丢失一分子 H_2O ，再进一步丢失 CO 基团产生的。该化合物的保留时间、二级质谱碎片与对照品一致，故推测化合物 55 为金丝桃苷，其二级质谱图与可能的裂解规律见图 2。

3.2.2 生物碱类 生物碱类化合物是药对的主要成分，在枸杞子中尤为常见，主要包括莨菪烷类、咪唑类、哌啶类、吡咯类、酰胺类等类型，其中以吡咯类和酰胺类生物碱为主。吡咯类生物碱由于含氮五元杂环常取代有羟基、甲基、醛基等基团，因此其在裂解过程中极易发生 CH_2O 、 CO 等中性丢失而形成丁酸甲酯基团、丁酸基团等碎片离子。酰胺类生物碱由于其酰胺键的特殊性，多产生咖啡酰基、酪胺分子、二氢咖啡酰基等碎片离子。由于酰胺类生物碱多具有羟基、甲氧基等含氧基团，因此会进一步丢失 CH_3 、 H_2O 、 CO 等基团。亚精胺型酰胺是以亚精胺为基本结构的一类生物碱，也是枸杞中尤为常见的类型之一。此类结构

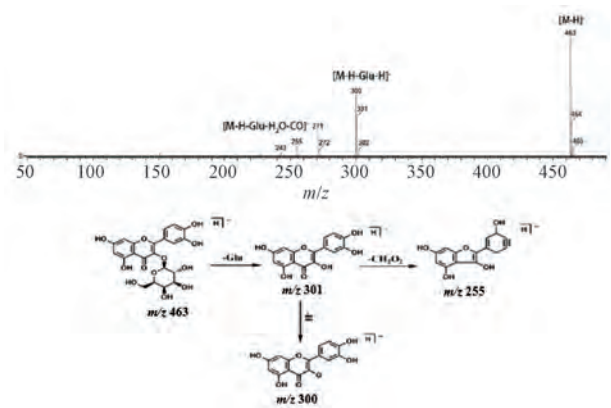


图 2 金丝桃苷二级质谱图和推断的裂解途径

易发生 NH_3 、 CO 、 $\text{C}_4\text{H}_9\text{N}$ 等中性丢失^[33-35]。本研究利用 1 个对照品进行辅助解析，从菟丝子-枸杞子中共鉴定得到生物碱类成分 23 种。以化合物 38 为例，其准分子离子峰 m/z 472.249 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ，推断分子式为 $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_6$ 。其碎片离子 m/z 310.210 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3]^+$ 是分子离子丢失 1 个 $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$ 基团产生的；碎片离子 m/z 293.183 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3-\text{NH}_3]^+$ 是分子离子丢失一分子 H_2O ，进一步丢失 NH_3 基团产生的；碎片离子 m/z 163.039 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3]^+$ 是分子离子丢失 1 个 $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3$ 基团产生的；碎片离子 m/z 220.098 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3]^+$ 是分子离子丢失 1 个 $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$ 基团产生的^[20]。故推测化合物 38 为 *N*1-咖啡酰-*N*3-二氢咖啡酰亚精胺，其二级质谱图与可能的裂解规律见图 3。

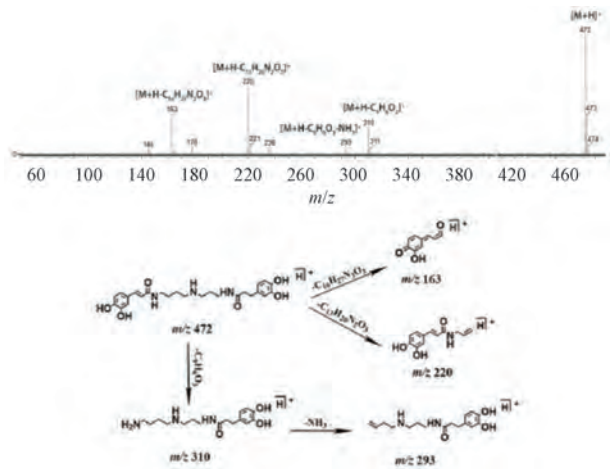


图 3 *N*1-咖啡酰-*N*3-二氢咖啡酰亚精胺二级质谱图和推断的裂解途径

3.2.3 苯丙素类 苯丙素类化合物是药对的主要成分之一，在菟丝子和枸杞子中均广泛存在。香豆素类化合物 α -吡喃酮环多存在羟基、甲氧基、酚羟基、羧基及糖基等含氧官能团，因此其极易产生 CO 、 CH_3 、 CO_2 等基团中性丢失；而苷元的酚羟基、羧基等含氧基团极易与糖基上的羟基发生脱水缩合反应，从而产生葡萄糖基、木糖糖基的中性丢失^[36-37]。本研究从菟丝子-枸杞子中共鉴定得到苯丙素

表 1 菟丝子-枸杞子药对化学成分表征

编号	t_R/min	名称	离子模式	分子式	理论值 m/z	实测值 m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	类型	碎片离子 m/z	归属	文献
1	0.55	甜菜碱 [#]	[M+H] ⁺	C ₃ H ₁₁ NO ₂	118.086 8	118.087 3	4.23	生物碱类	59.071 2	A, B	[10]
2	0.55	缬氨酸	[M+H] ⁺	C ₃ H ₁₁ NO ₂	118.086 8	118.087 3	4.23	有机酸类	118.088 3	A, B	[11]
3	0.67	D-半乳糖/D-葡萄糖/D-甘露糖	[M-H] ⁻	C ₆ H ₁₂ O ₆	179.055 6	179.056 8	6.70	其他类	—	A, B	[12]
4	0.69	L-苹果酸	[M-H] ⁻	C ₄ H ₆ O ₅	133.013 7	133.013 1	-4.51	有机酸类	96.069 6	B	[13]
5	0.73	枸杞酸	[M-H] ⁻	C ₁₂ H ₁₈ O ₁₁	337.077 1	337.076 8	-0.89	有机酸类	277.058 9	B	[10]
6	0.79	柠檬酸 [#]	[M-H] ⁻	C ₆ H ₈ O ₇	191.019 2	191.019 7	2.62	有机酸类	173.009 3, 128.033 2, 111.008 2	A, B	[13]
7	2.05	9 α -hhydroxy-d-sesamin-O-acetylglucoside	[M+H] ⁺	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₃	575.176 5	575.179 6	5.39	其他类	491.199 2	B	[14]
8	2.14	新绿原酸葡萄糖苷	[M-H] ⁻	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₄	515.140 1	515.140 9	1.55	有机酸类	341.088 7, 191.052 9, 179.033 5	A, B	[15]
9	2.17	7-羟基香豆素	[M+H] ⁺	C ₉ H ₆ O ₃	163.039 5	163.039 7	1.23	苯丙素类	147.045 7, 117.033 4	A, B	[15]
10	2.36	麦芽酚	[M+H] ⁺	C ₆ H ₆ O ₃	127.037 5	127.037 3	-1.57	有机酸类	109.028 4	A	[16]
11	2.45	绿原酸葡萄糖苷	[M-H] ⁻	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₄	515.140 1	515.140 9	1.55	有机酸类	353.086 2, 191.052 9, 179.033 5	A, B	[16]
12	2.50	4-羟基香豆素 [#]	[M+H] ⁺	C ₉ H ₆ O ₃	163.039 5	163.039 7	1.23	苯丙素类	147.045 7, 117.033 4	A	[15]
13	2.63	1-O-咖啡酰奎尼酸	[M-H] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 3	353.086 2	-3.12	有机酸类	191.052 9	A, B	[17]
14	2.72	2glu-[kukoamine]	[M+H] ⁺	C ₄₀ H ₆₂ N ₄ O ₁₆	855.423 9	855.417 8	-7.13	生物碱类	693.369 7, 531.313 7, 455.243 4, 384.166 1	B	[18]
15	2.88	3,4-二咖啡酰奎尼酸	[M-H] ⁻	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.119 0	515.121 0	3.88	有机酸类	341.088 7, 173.043 8, 135.043 0	A, B	[19]
16	2.91	tris(dihydrocaffeoyl) spermine	[M+H] ⁺	C ₃₇ H ₄₈ N ₄ O ₉	693.350 0	693.355 8	8.37	生物碱类	455.243 4, 384.166 1, 293.183 2	B	[20]
17	3.08	glu-kukoamine	[M+H] ⁺	C ₃₄ H ₅₂ N ₄ O ₁₁	691.355 4	691.360 7	7.67	生物碱类	531.313 7, 455.243 4, 384.166 1, 222.115 6	B	[18]
18	3.14	隐绿原酸葡萄糖苷	[M-H] ⁻	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₇	515.140 1	515.140 9	1.55	有机酸类	353.086 2, 191.052 9	A, B	[16]
19	3.29	N1-咖啡酰-N3-二氢咖啡酰-亚精胺-二己糖	[M+H] ⁺	C ₃₇ H ₅₃ N ₃ O ₁₆	796.350 4	796.357 7	9.17	生物碱类	634.299 5, 384.166 1	B	[21]
20	3.33	lycibarbarspermidine M	[M-H] ⁻	C ₃₇ H ₅₅ N ₃ O ₁₆	796.350 4	796.356 6	7.79	生物碱类	634.303 8, 472.243 0	B	[18]
21	3.47	新绿原酸	[M-H] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 3	353.086 2	-3.12	有机酸类	191.052 9, 179.033 5	A, B	[17]
22	3.48	槲皮素-3-O-半乳糖-7-O-葡萄糖苷	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	625.140 5	625.144 3	6.08	黄酮类	179.033 5	A	[22]
23	3.49	N1,N3-bis-dhc-spermidine-di-hexose	[M+H] ⁺	C ₃₇ H ₅₅ N ₃ O ₁₆	798.366 1	798.365 8	-0.38	生物碱类	636.312 0, 474.261 2, 384.166 1, 222.115 6	B	[23]
24	3.50	东莨菪苷 [#]	[M+H] ⁺	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	355.102 9	355.1012	-4.79	苯丙素类	193.050 2, 178.033 6, 137.230 5, 133.044 0	B	[10]
25	3.71	N1,N10-二氢咖啡酰亚胺己糖/lycibarbarspermidine J	[M+H] ⁺	C ₃₁ H ₄₅ N ₃ O ₁₁	636.313 2	636.312 0	-1.89	生物碱类	474.261 2, 384.166 1, 222.115 6	B	[23]
26	3.72	绿原酸 [#]	[M-H] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 3	353.086 2	-3.12	有机酸类	191.052 9, 179.033 5	A, B	[17]
27	3.74	隐绿原酸	[M-H] ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 3	353.086 2	-3.12	有机酸类	191.052 9, 179.034 1	A, B	[17]
28	3.76	槲皮素-鼠李糖-二己糖苷	[M-H] ⁻	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	771.198 4	771.203 7	7.45	黄酮类	191.052 9	B	[21]
29	3.79	咖啡酰基(二氢咖啡酰基)亚精胺-二己糖苷	[M+H] ⁺	C ₃₇ H ₅₃ N ₃ O ₁₆	796.350 4	796.347 7	3.39	有机酸类	634.299 5, 472.249 0, 382.150 5	B	[24]
30	3.82	咖啡因	[M-H] ⁻	C ₉ H ₈ O ₄	179.034 4	179.033 5	-5.03	有机酸类	163.038 4, 135.043 0, 119.051 9	A, B	[10]
31	3.88	lycibarbarspermidine B	[M-H] ⁻	C ₃₁ H ₄₃ N ₃ O ₁₁	632.281 9	632.282 2	0.47	生物碱类	470.233 7, 334.181 3	B	[18]
32	3.91	N1-二氢咖啡酰,N10-咖啡酰亚精胺己糖	[M+H] ⁺	C ₃₁ H ₄₃ N ₃ O ₁₁	634.297 6	634.299 6	3.15	生物碱类	472.249 0, 222.115 6	B	[23]
33	4.02	lycibarbarspermidine B isomer	[M-H] ⁻	C ₃₁ H ₄₃ N ₃ O ₁₁	632.281 9	632.282 2	0.47	生物碱类	470.233 7, 334.181 3	B	[18]
34	4.12	对香豆素-2-O- β -D-葡萄糖- α -D-葡萄糖苷	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₈ O ₁₃	487.145 2	487.141 1	-8.42	苯丙素类	325.089 2, 163.038 4	B	[18]
35	4.19	N1,N10-二氢咖啡酰亚精胺	[M+H] ⁺	C ₂₅ H ₃₅ N ₃ O ₆	474.260 4	474.261 2	1.69	生物碱类	222.115 6, 123.064 5	B	[20]

续表 1

编号	t_R/min	名称	离子模式	分子式	理论值 m/z	实测值 m/z	误差($\times 10^{-6}$)	类型	碎片离子 m/z	归属	文献
36	4.24	牡荆素葡萄糖苷	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	609.145 6	609.142 5	5.09	黄酮类	431.102 1, 311.065 5	A	[14]
37	4.36	香豆酰奎宁酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_8$	337.092 3	337.092 9	1.78	苯丙素类	191.052 9	A, B	[16]
38	4.51	N1-咖啡酰-N3,2-二氢咖啡酰亚精胺	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_6$	472.244 8	472.249 0	8.89	生物碱类	310.210 1, 293.183 2, 220.098 0, 163.039 7	B	[10]
39	4.93	1-C-氨基-L-吡啶醇	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_6$	198.097 8	198.097 4	-2.02	生物碱类	163.039 7, 145.026 4	B	[15]
40	4.96	阿魏酰奎宁酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_9$	367.102 9	367.104 0	3.00	有机酸类	193.049 6, 163.038 4	B	[25]
41	4.98	新菟丝子苷 B	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{O}_{20}$	795.234 8	795.237 8	3.77	苯丙素类	163.038 4, 119.048 8	A	[12]
42	5.02	4-羟基肉桂酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	163.039 5	163.038 4	-6.75	有机酸类	119.048 8	A, B	[16]
43	5.09	3-羟基肉桂酸 [#]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	163.039 5	163.038 4	-6.75	有机酸类	119.048 8	A, B	[16]
44	5.14	N1,N3,2-咖啡酰亚精胺	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_6$	470.229 1	470.231 6	5.32	生物碱类	308.192 4, 220.098 0, 163.039 7	B	[18]
45	5.32	melanettin	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	283.060 6	283.062 3	6.01	其他类	239.083 1, 195.093 3	A	[16]
46	5.43	calendollaside	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	607.166 3	607.166 0	-0.49	黄酮类	445.110 1, 163.038 4	A	[14]
47	5.47	槲皮素-2-(鼠李糖)-己糖苷	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{20}$	755.203 5	755.210 0	8.61	黄酮类	625.144 3, 300.030 7	B	[26]
48	5.73	东莨菪素 [#]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$	193.050 7	193.052 5	9.32	苯丙素类	178.033 6, 137.230 5, 133.044 0	B	[10]
49	5.89	3-羟基香豆素	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$	163.039 5	163.039 7	1.23	苯丙素类	135.045 3, 119.048 1, 107.048 8	A, B	[10]
50	5.93	阿魏酸 [#]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	195.065 7	195.066 5	-4.10	有机酸类	180.042 7, 151.072 0, 136.047 6	A, B	[10]
51	5.97	neoflousmin	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	607.166 3	607.166 0	-0.49	其他类	445.110 1, 163.038 4	A	[27]
52	6.13	槲皮素-3-O- β -D-半乳糖- β -D-芹糖苷	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{16}$	595.129 9	595.132 8	4.87	黄酮类	471.133 5, 300.030 7, 163.038 4	A	[28]
53	6.63	芦丁 [#]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	609.145 6	609.145 6	0	黄酮类	463.088 4, 300.037 0	A, B	[29]
54	6.69	金丝桃苷 [#]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	463.087 7	463.084 5	-6.91	黄酮类	301.037 4, 300.031 7, 271.027 2, 255.028 7	A	[17]
55	6.54	异槲皮苷 [#]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	463.087 7	463.084 5	-6.91	黄酮类	301.037 4, 300.031 1, 271.022 2, 255.028 7	A	[17]
56	7.22	木犀草苷 [#]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	447.092 7	447.092 8	0.21	黄酮类	285.035 1, 227.034 9	A	[22]
57	7.40	香豆素 [#]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_2$	147.044 6	147.045 7	7.48	苯丙素类	119.048 0	A, B	[20]
58	7.47	D-松脂醇-4-O-吡喃葡萄糖	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_{11}$	519.186 6	519.182 0	-8.86	苯丙素类	357.134 1, 179.033 5	A	[14]
59	7.52	异鼠李素-3-O-芸香糖苷	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	623.161 2	623.159 2	-3.21	黄酮类	315.052 2, 300.030 7	A	[21]
60	7.61	紫云英苷 [#]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	447.092 7	447.092 8	0.21	黄酮类	284.035 1, 227.034 9	A, B	[17]
61	7.63	槲皮苷 [#]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	447.092 7	447.092 8	0.21	黄酮类	300.030 7, 271.028 1, 255.029 8	A, B	[22]
62	7.64	异鼠李素-3-O-吡喃半乳糖苷	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	477.103 3	477.103 8	1.05	黄酮类	314.046 2, 271.023 7	A	[22]
63	7.84	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	477.103 3	477.103 8	1.05	黄酮类	314.045 5, 271.022 9	A, B	[29]
64	7.90	杜鹃黄素	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$	317.066 1	317.063 8	-7.25	其他类	177.055 7, 121.027 0	A	[16]
65	7.94	槲皮素-3-O-乙酰半乳糖苷	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_{13}$	505.092 8	505.092 3	-0.99	黄酮类	477.103 8, 300.030 7, 271.028 1	A	[14]
66	7.97	壬二酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_4$	187.097 0	187.096 6	-2.14	有机酸类	125.095 9	A	[10]
67	9.04	表儿茶素	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	291.086 9	291.087 7	2.75	黄酮类	272.127 2	B	[20]
68	9.46	6-(6-cyano-1H-indol-3-yl)-6-oxohexanoic acid	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$	269.092 6	269.093 8	4.46	其他类	225.103 1, 156.084 2	B	[22]
69	9.66	4-咖啡酰-5-香豆酰奎宁酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$	499.124 0	499.124 6	1.20	苯丙素类	269.093 8, 173.043 8	A	[16]
70	9.72	山柰酚-3,7-O-二葡萄糖苷	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	609.145 6	609.146 2	0.98	黄酮类	285.044 3, 239.033 4	A	[16]
71	9.73	槲皮素-3-O-新橙皮苷	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	609.145 6	609.146 2	0.98	黄酮类	300.037 0, 269.093 8	A	[16]
72	9.74	菟丝子苷 B	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{O}_{16}$	663.192 5	663.192 5	0	苯丙素类	369.097 7, 285.037 0, 163.038 4	A	[14]

续表 1
654

编号	t_R/min	名称	离子模式	分子式	理论值 m/z	实测值 m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	类型	碎片离子 m/z	归属	文献
73	9.87	菟丝子苷 D	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{O}_{21}$	825.245 3	825.250 1	5.82	苯内素类	529.137 8, 367.104 0	A	[14]
74	10.00	菟丝子胺	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$	269.092 6	269.093 8	4.46	生物碱类	156.084 2	A	[14]
75	10.07	芹菜素 [#]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	271.060 6	271.061 1	1.84	黄酮类	225.103 4, 151.004 5	A	[22]
76	10.29	槲皮素 [#]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	301.034 8	301.037 1	7.64	黄酮类	151.004 2	A, B	[29]
77	10.31	6-羟基木犀草素	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	301.034 8	301.037 1	7.64	黄酮类	284.035 1, 227.034 9	A, B	[15]
78	10.50	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	593.150 6	593.152 1	2.53	黄酮类	285.045 3, 239.034 1	A	[21]
79	10.70	山柰酚-3- <i>O</i> -新橙皮苷	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	593.150 6	593.152 1	2.53	黄酮类	502.270 4, 285.037 0	B	[21]
80	10.82	3-demethoxy-9- α -hydroxyl piperitol- <i>O</i> -diglucoside	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{O}_{17}$	681.203 1	681.204 6	2.20	其他类	623.137 3, 323.077 1, 173.073 8	A	[14]
81	10.85	5, 6-dihydrosalsonine	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{45}\text{H}_{75}\text{NO}_{16}$	886.516 4	886.512 8	-4.06	生物碱	416.351 9, 398.344 9	B	[30]
82	11.13	知母皂苷 B III	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{45}\text{H}_{74}\text{O}_{18}$	903.495 3	903.494 4	-1.00	其他类	741.439 9, 417.331 8, 273.222 3	B	[18]
83	11.51	菟丝子苷 A	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{O}_{16}$	663.192 5	663.193 6	1.66	苯内素类	369.097 7	A	[12]
84	11.56	枸杞酞胺 B	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{36}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_8$	625.255 0	625.255 5	0.80	生物碱类	351.219 5, 201.051 9	B	[30]
85	11.74	cuscutic acid A3	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{O}_{17}$	713.359 6	713.355 8	-5.33	苯内素类	285.044 3, 225.103 1	A	[14]
86	11.76	枸杞苷 B	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{47}\text{H}_{77}\text{NO}_{17}$	928.527 0	928.530 6	3.88	生物碱类	458.358 0, 273.222 3, 255.211 1	B	[18]
87	11.83	枸杞酞胺 C	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{NO}_7$	492.202 2	492.205 4	6.50	生物碱类	462.186 4, 325.100 6, 293.093 6	B	[30]
88	11.91	山柰酚 [#]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	285.039 9	285.039 9	0	黄酮类	239.033 4, 185.059 0	A, B	[29]
89	12.18	异鼠李素 [#]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$	315.050 5	315.052 2	5.40	黄酮类	300.030 9, 271.027 9, 227.034 5	A, B	[29]
90	12.38	三羟基十八碳二烯酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_5$	327.217 1	327.218 2	3.36	有机酸类	229.143 1, 211.131 6, 171.102 2	B	[12]
91	12.82	1-乙酰基- β -咔啉	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$	211.087 1	211.086 8	-1.42	生物碱类	167.064 3	A	[15]
92	13.02	洋槐萜皂苷	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{51}\text{H}_{84}\text{O}_{22}$	1 049.553 2	1 049.551 5	-1.62	其他类	887.500 4, 417.331 8, 273.222 3, 255.211 1	B	[30]
93	13.22	三羟基十八碳烯酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_5$	329.232 8	329.235 3	7.59	有机酸类	229.142 7, 211.132 1	B	[12]
94	13.41	cuscutic acid C	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{38}\text{H}_{68}\text{O}_{20}$	843.422 6	843.423 0	0.47	其他类	633.347 5, 243.198 5, 163.060 7	A	[14]
95	13.52	cuscutic acid A2	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{32}\text{H}_{58}\text{O}_{16}$	697.364 7	697.365 5	1.15	其他类	243.197 4, 163.061 7	A	[14]
96	16.32	cuscutic acid A	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{38}\text{H}_{68}\text{O}_{21}$	861.433 1	861.433 1	0	其他类	659.365 4, 455.299 3	A	[12]
97	20.26	孕酮	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$	313.216 8	313.215 6	-3.83	其他类	146.964 8	A	[22]
98	22.26	2, 6-十八碳二炔酸	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_2$	277.216 8	277.217 8	3.61	有机酸类	219.212 1	A	[30]
99	22.72	inulanolide A	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{O}_9$	595.290 7	595.292 6	3.19	其他类	476.274 5, 271.225 2, 241.011 0	B	[26]
100	24.57	hydroxyoctadec dienoic acid	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_3$	295.227 3	295.225 2	-7.11	有机酸类	277.218 8, 255.232 0	B	[14]
101	25.02	异棕桐酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	255.232 4	255.232 0	-1.57	有机酸类	255.232 0, 224.069 2	A	[14]
102	26.08	cuscutic resinoside A	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{31}\text{H}_{54}\text{O}_{12}$	619.369 4	619.369 8	0.65	其他类	575.375 7, 313.276 2	A	[14]
103	26.18	地骨皮乙素/地骨皮甲素	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_6$	531.318 3	531.313 9	-8.28	生物碱类	367.255 6, 165.250 1	B	[20]
104	28.48	十五酸甲酯	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	255.232 4	255.232 0	-1.57	有机酸类	116.927 3	A	[14]
105	28.59	亚麻酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	279.232 4	279.234 1	6.09	有机酸类	255.099 6, 116.927 3	A, B	[10]
106	29.56	亚麻酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	277.216 8	277.218 9	7.58	有机酸类	233.223 1, 125.099 7	A, B	[10]
107	29.66	莨菪碱	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_3$	290.175 6	290.177 8	7.58	生物碱类	133.086 7	B	[23]
108	30.36	棕榈酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	255.232 4	255.232 0	-1.57	有机酸类	165.054 5, 137.023 5	A, B	[10]
109	30.51	油酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$	281.248 1	281.246 2	-6.76	有机酸类	255.232 2, 116.928 1	A, B	[10]
110	31.41	硬脂酸	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	283.263 7	283.263 3	-1.41	有机酸类	281.248 1, 255.232 0, 116.927 3	B	[14]

注: [#]为经对照品比对; A 为菟丝子, B 为枸杞子。

类成分 15 种，其中用对照品辅助鉴定了 4 种成分。以化合物 **24** 为例，其准分子离子峰 m/z 355.101 2 $[M+H]^+$ ，推断分子式为 $C_{16}H_{18}O_9$ 。其碎片离子 m/z 193.050 2 $[M+H-C_6H_{10}O_5]^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_6H_{10}O_5$ 基团产生的；碎片离子 m/z 178.033 6 $[M+H-C_6H_{10}O_5-CH_3]^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_6H_{10}O_5$ 基团，进一步丢失 1 个 CH_3 基团产生的；碎片离子 m/z 133.044 0 $[M+H-C_6H_{10}O_5-CO-CH_3OH]^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_6H_{10}O_5$ 基团，进一步丢失 1 个 CO 基团，再进一步丢失 1 个 CH_3OH 基团产生的；碎片离子 m/z 137.230 5 $[M+H-C_6H_{10}O_5-CO-CO]^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_6H_{10}O_5$ 基团，进一步丢失 1 个 CO 基团，再进一步丢失 1 个 CO 基团产生的。该化合物的保留时间、二级质谱碎片与对照品一致，故推测化合物 **24** 为东莨菪苷，其二级质谱图与可能的裂解规律见图 4。

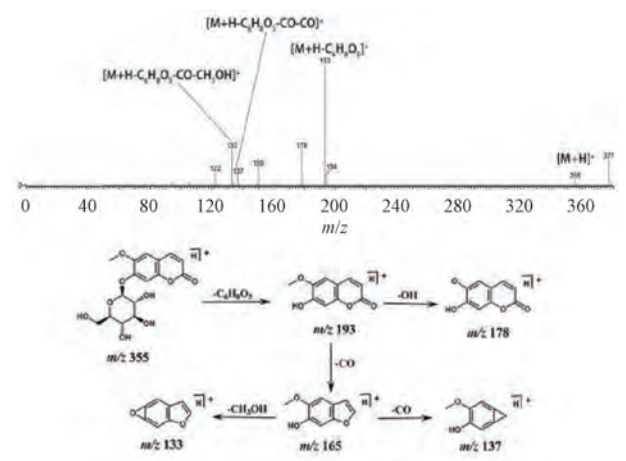


图 4 东莨菪苷二级质谱图和推断的裂解途径

3.2.4 有机酸类 有机酸类化合物是药对的主要成分之一，在菟丝子和枸杞子中均广泛存在，主要为酰化有机酸，包括单酯类、二酯类绿原酸类，但也含有其他有机酸类化合物。该类化合物发生裂解时易脱去咖啡酰基、奎宁酸、阿魏酰基、肉桂酰基等基团，同时易丢失中性基团 CO 、 CO_2 、 H_2O 等产生碎片离子^[38]。本研究从菟丝子-枸杞子中共鉴定得到有机酸类成分 31 种，其中用对照品辅助鉴定了 4 种成分。以化合物 **6** 为例，其准分子离子峰 m/z 191.019 7 $[M-H]^-$ ，推断其分子式为 $C_6H_8O_7$ ，碎片离子 m/z 173.009 3 $[M-H-H_2O]^-$ 是分子离子丢失 1 个 H_2O 产生的；碎片离子 m/z 128.033 2 $[M-H-H_2O-CO_2]^-$ 是分子离子丢失 1 个 H_2O ，再进一步丢失 1 个 CO_2 基团产生的；碎片离子 m/z 111.008 2 $[M-H-H_2O-CO_2-H_2O]^-$ 是分子离子丢失 1 个 H_2O ，进一步丢失 1 个 CO_2 基团，再进一步丢失 1 个 H_2O 产生的。该化合物的保留时间、二级质谱碎片与对照品一致，故推测化合物 **6** 为柠檬酸，其二级质谱图与可能的裂解规律见图 5。

3.2.5 其他类 菟丝子-枸杞子中还有许多其他类化合物，如氨基酸类、甾体类和糖类化合物等。本研究从菟丝子-枸杞子中共鉴定得到其他类成分 15 种。以化合物 **92** 为例，其准分子离子 m/z 1 049.551 5 $[M+H]^+$ ，推断分子式为 $C_{51}H_{84}O_{22}$ ，其碎片离子峰 m/z 887.500 4 $[M+H-C_6H_{10}O_5]^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_6H_{10}O_5$ 基团产生的；碎片离子 m/z 417.331 8 $[M+H-C_9H_6O_3-C_{18}H_{30}O_{14}]^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_6H_{10}O_5$ 基团，进一步丢失 1 个 $C_{18}H_{30}O_{14}$ 基团产生的；碎片离子 m/z 273.222 3 $[M+H-C_9H_6O_3-C_{18}H_{30}O_{14}-C_8H_{16}O_2]^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_6H_{10}O_5$ 基团，进一步丢失 1 个

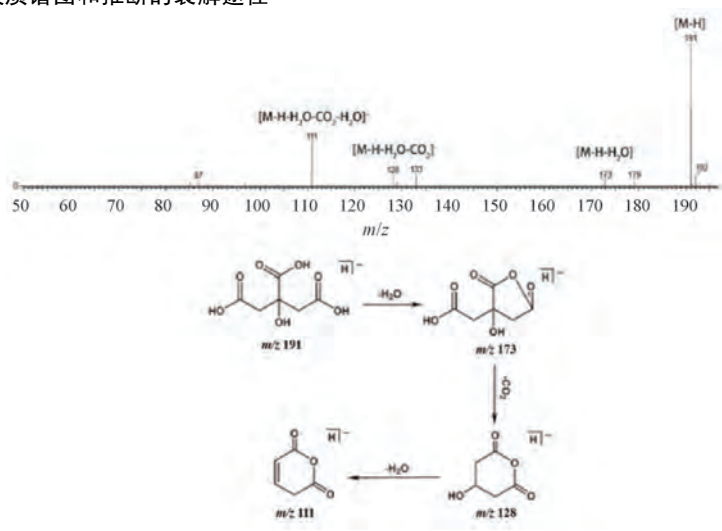


图 5 柠檬酸二级质谱图和推断的裂解途径

$C_{18}H_{30}O_{14}$ 基团，再进一步丢失 1 个 $C_8H_{16}O_2$ 基团产生的；碎片离子 m/z 255.211 1 $[M+H-C_9H_6O_3-C_{18}H_{30}O_{14}-C_8H_{16}O_2-H_2O]^+$ 是分子离子丢失 1 个 $C_6H_{10}O_5$ 基团，进一步丢失 1 个 $C_{18}H_{30}O_{14}$ 基团，再进一步丢失 1 个 $C_8H_{16}O_2$ 基团，再进一步丢失 1 个 H_2O 产生的^[39]。故推测化合物 **92** 为洋茛菪皂

苷，其二级质谱图与可能的裂解规律见图 6。

3.3 网络药理学及分子对接研究

3.3.1 菟丝子-枸杞子药对治疗早发性卵巢功能不全关键靶点筛选 共筛选得到菟丝子-枸杞子成分 60 种，潜在靶点 1 019 个，其中 50 种成分没有找到潜在靶点；筛选得到

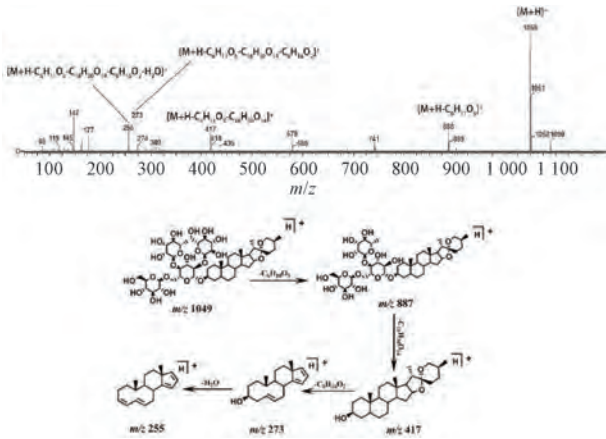


图 6 洋菝蓂皂苷二级质谱图和推断的裂解途径

早发性卵巢功能不全疾病靶点 5 681 个，绘制成分靶点与疾病靶点交集韦恩图，见图 7A，取交集后共得到 629 个共有靶点。

3.3.2 蛋白-蛋白相互作用（PPI）网络的构建 将筛选得到的 629 个共有靶点导入 STRING 数据库，构建 PPI 网络图，见图 7B。度值（degree）排序前 10 位的核心基因分别为 AKT1（度值 336）、GAPDH（度值 330）、ALB（度值 329）、INS（度值 310）、TNF（度值 306）、IL6（度值 294）、TP53（度值 292）、CTNNB1（度值 255）、EGFR（度值 251）。推测它们是菝丝子-枸杞子治疗早发性卵巢功能不全的潜在核心靶点。

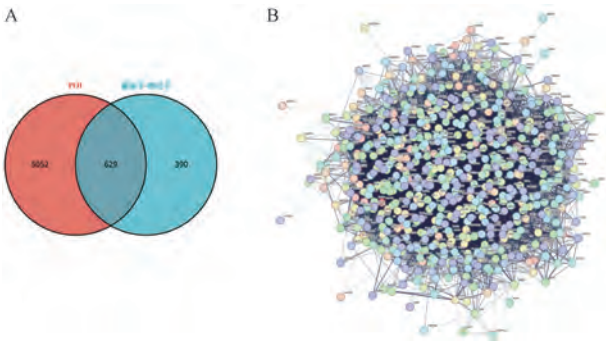


图 7 成分靶点与疾病靶点交集韦恩图（A）及关潜在靶点 PPI 网络结构图（B）

3.3.3 GO 功能富集分析与 KEGG 通路分析 共得到 6 907 条 GO 富集结果，其中生物过程占 886 条，主要涉及丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸蛋白激酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性、跨膜受体蛋白酪氨酸激酶活性等；细胞组成占 474 条，主要涉及膜筏、膜微区、囊泡内腔等；分子功能占 5 547 条，主要涉及多肽反应、对异生物质刺激反应、激酶活性正向调节等过程，见图 8。通过对菝丝子-枸杞子治疗早发性卵巢功能不全的潜在靶点进行 KEGG 分析，共富集得到得到 PI3K-Akt 信号通路、神经活性配体-受体相互作用、MAPK 信号通路、脂质与动脉粥样硬化、化学致癌-受体激活通路等 306 条通路。本研究选取富集程度最高的 30 条 KEGG 通路展示，其中横坐标为 KEGG 通路的富集百分比，纵坐标为

KEGG 通路名称，圆点大小表示通路所关联的基因数，颜色为通路富集分析结果 P 值的 $-\log_{10}$ 对数，数值越大颜色越红，反之越紫。其中 PI3K-Akt 信号通路的 P 值较小颜色偏红，且相比其他通路效果显著，见图 8。菝丝子-枸杞子具有多成分、多靶点的作用特点，能够通过调节多种通路从而达到治疗早发性卵巢功能不全的目的。

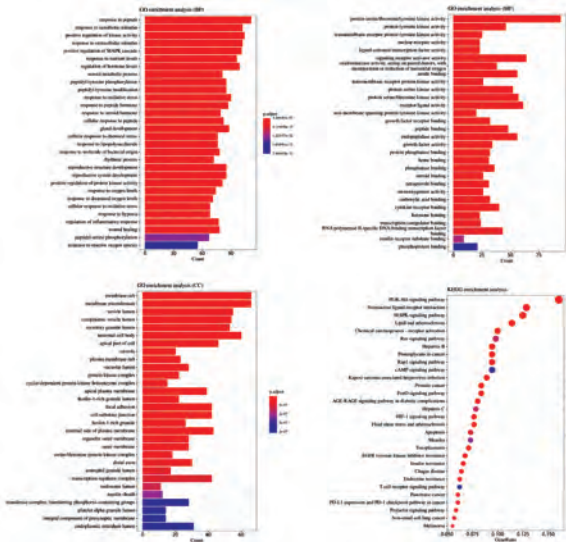


图 8 菝丝子-枸杞子 GO 富集、KEGG 通路富集分析图

3.3.4 “成分-靶点”网络构建 将鉴定得到的 110 种成分以及对应的潜在靶点导入 Cytoscape 3.10.0 软件中，构建“成分-靶点”网络，网络中共有 691 个节点（包括药物 2 个，化合物 60 个，共有靶点 629 个），见图 9。菝丝子-枸杞子 60 种成分、629 个潜在靶点以及 2 个药物之间关系密切，提示菝丝子-枸杞子可能通过多成分、多靶点发挥治疗早发性卵巢功能不全的作用，其中金丝桃苷、山柰酚、槲皮素、异槲皮苷、阿魏酸等成分可能为潜在活性成分，AKT1、INS、TP53、IL6、TNF 等可能为潜在关键靶点。

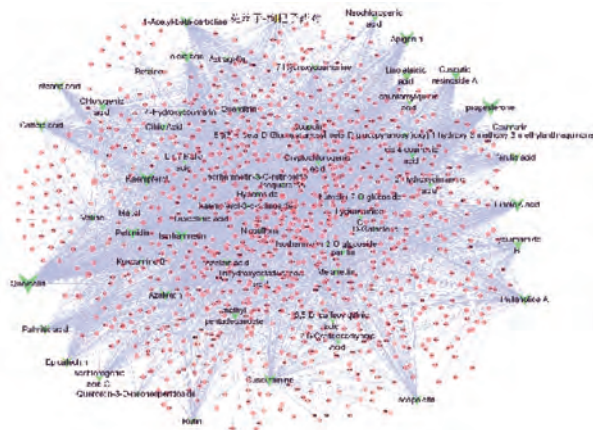


图 9 成分-靶点富集通路网络关系图

3.3.5 关键成分与核心靶点的分子对接验证 根据相关文献报道以及“成分-靶点”网络中交集靶点的度值以选择金丝桃苷、山柰酚、槲皮素、异槲皮苷、阿魏酸为关键成分

以及 4 个核心靶点蛋白（AKT1、INS、TNF、TP53），对关键成分与核心靶点蛋白进行分子对接，结合能越小说明成分与靶点越易结合。其中选择 4 个靶点结合能较低的 2 种成分绘制分子对接过程，见图 10。关键成分与核心靶点的结合能均小于-5 kJ/mol，以上结果充分说明关键成分与核心靶点结合较紧密，生物亲和力高，具有较高的药效活性。

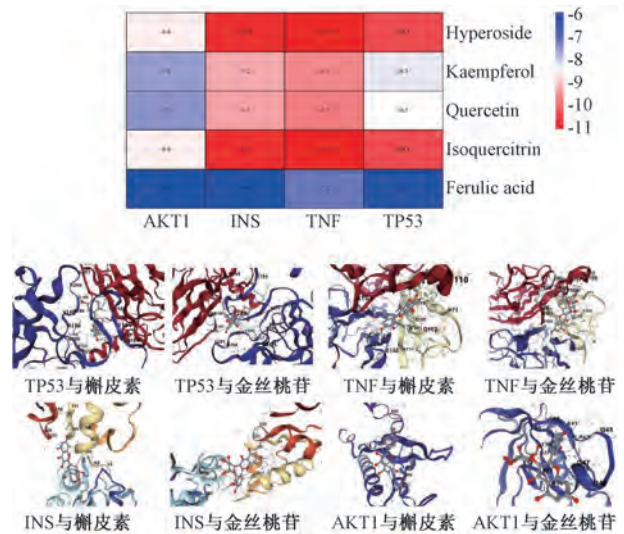


图 10 分子对接图

4 讨论

本研究虽然对菟丝子-枸杞子及单味药所含化学成分进行了分析鉴定与归属，但尚存在不足之处。其中菟丝子-枸杞子各化学成分含量差异较大，且所含成分种类较多，各成分之间可能存在相互干扰，因此部分响应值低、极性类似及低含量成分很难被分析和检测；对于一些同分异构体成分的鉴定仅依靠质谱信息存在较大的不确定性；此外，该方法无法分析鉴定多糖类成分，因此后期还需要进一步研究^[40]。

本研究采用网络药理学方法，共筛选出菟丝子-枸杞子化学成分与治疗早发性卵巢功能不全相关的靶点 629 个；通过 PPI 网络筛选出核心靶点 10 个；富集分析显示，菟丝子-枸杞子主要参与丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸蛋白激酶活性、膜筏、多肽反应等过程，与 PI3K-Akt 信号通路、神经活性配体-受体相互作用、MAPK 信号通路等治疗早发性卵巢功能不全相关，说明菟丝子-枸杞子治疗早发性卵巢功能不全具有多成分、多靶点的优势。通过“成分-靶点”网络分析进一步得到 4 个关键靶点（AKT1、INS、TNF、TP53）和 5 种关键活性成分（金丝桃苷、山柰酚、槲皮素、异槲皮苷、阿魏酸）；分子对接结果显示，菟丝子-枸杞子关键成分与核心靶点初步展现出较强的结合能力。由于网络药理学具有时效性，所筛选关于药对治疗早发性卵巢功能不全的成分作用靶点及相关通路后续还需进一步研究。

综上所述，本研究利用 UPLC-Q-TOF-MS 技术，通过 UNIFI 数据库、自建本地数据库、文献报道等较全面地地分析并鉴定了菟丝子-枸杞子 110 种成分并进行归属，同时结

合网络药理学预测菟丝子-枸杞子治疗早发性卵巢功能不全的核心靶点及作用机制，可为菟丝子-枸杞子的药效物质基础及作用机制研究提供科学参考。

参考文献：

[1] 朱 璨,夏宛廷,韩娜娜,等. 早发性卵巢功能不全与免疫的相关性及临床研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41 (5): 111-114.

[2] 许万枫,苏 洁,翁路安,等. 孕康口服液对早发性卵巢功能不全小鼠的影响[J]. 中成药, 2020, 42(5): 1180-1186.

[3] 常晓英,刘阿慧,曾海京,等. 环境内分泌干扰物与女性生殖系统相关疾病的研究进展[J]. 中国妇产科临床杂志, 2023, 24(3): 334-336.

[4] 李佳珊,徐盼瑜,杜寒倩,等. 基于数据挖掘的具有雄激素样作用中药的规律分析[J]. 中草药, 2022, 53 (18): 5786-5798.

[5] 佟 雷,刘金丽,孙琳林,等. 左归丸及右归丸对卵巢早衰小鼠卵巢衰老的预防作用[J]. 中成药, 2017, 39(2): 260-265.

[6] 李锦英,张兆萍,叶金飞,等. 基于网络药理学的菟丝子-枸杞子药对治疗卵巢早衰的作用机制研究[J]. 中国药房, 2020, 31(18): 2202-2209.

[7] 赵 聪,王 彬,赵 琦,等. 菟丝子枸杞子药对对少弱精子症小鼠模型睾丸组织结构及精子质量的影响[J]. 中国男科学杂志, 2023, 37(3): 77-81.

[8] 张蒙蒙. 菟丝子拟雌激素作用的体内直接作用物质及代谢组学研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2020.

[9] 吴志瑰,付小梅,吴蜀瑶,等. 菟丝子药材品种考证、资源调查及商品药材鉴定[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(19): 3831-3835.

[10] 贾金茹,彭 博,李 婷,等. 直接注射-多级质谱全扫描法快速分析枸杞子化学成分组[J]. 质谱学报, 2022, 43(3): 300-311.

[11] 林慧彬,林建强,林建群,等. 山东 4 种菟丝子氨基酸比较研究[J]. 时珍国医国药, 2001, 11(3): 195.

[12] 刘 祥,欧阳明安. 南方菟丝子水溶性成分的研究[J]. 武夷科学, 2013, 29(1): 216-221.

[13] 李 娜,任 杰,王丽卫,等. 发酵枸杞酒沉淀物成分鉴定及稳定性提升研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(2): 41-50.

[14] 王尧尧. 南方菟丝子-丹参寄生化学成分变化研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2020.

[15] He X H, Yang W Z, Ye M, et al. Differentiation of *Cuscuta chinensis* and *Cuscuta australis* by HPLC-DAD-MS analysis and HPLC-UV quantitation[J]. *Planta Med*, 2011, 77 (17): 1950-1957.

[16] Ahmad A, Tandon S, Xuan T D, et al. A review on phytoconstituents and biological activities of *Cuscuta* species[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 92: 772.

[17] 周 园,董秋菊,周玲玉,等. 大菟丝子及其清炒品中黄酮和有机酸类成分含量的比较[J]. 时珍国医国药, 2019, 30 (9): 2131-2133.

[18] 陈栋杰. 中药枸杞子酰胺及苯丙素类成分分析及产地鉴别

研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.

[19] 李文兰, 丁晶鑫, 藏宝珊, 等. 基于 HPLC-Q TOF-MS/MS 技术分析纯化后菟丝子拟雌激素活性成分[J]. 中国药学杂志, 2014, 49(20): 1791-1795.

[20] 潘福璐, 韩 星, 冀艳华, 等. 基于多成分药物代谢的枸杞子质控成分遴选研究[J]. 世界中医药, 2020, 15(13): 1865-1871.

[21] 吕海洋, 幸岑臻, 高梦笛, 等. 宁夏枸杞多酚 Q-TOF/MS^E 分析及对细胞抗氧化能力的影响[J]. 核农学报, 2017, 31(2): 298-306.

[22] 王靖雅, 孙向明, 宋 辉, 等. 基于 HPLC-Q/TOFMS/MS 技术的菟丝子醇提取物的大鼠体内成分分析[J]. 中草药, 2018, 49(16): 3770-3775.

[23] Ahad H, Jin H L, Liu Y F, *et al.* Chemical profiling of spermidines in goji berry by strong cation exchange solid-phase extraction (SCX-SPE) combined with ultrahigh-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS/MS) [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2019, 1137(C): 121923.

[24] Lu W Y, Jiang Q Q, Shi H M, *et al.* Partial least-squares-discriminant analysis differentiating Chinese wolfberries by UPLC-MS and flow injection mass spectrometric (FIMS) fingerprints[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(37): 9073-9080.

[25] 李 新. 枸杞子提取物不同制备过程中主要活性成分的变化规律研究[D]. 银川: 北方民族大学, 2021.

[26] Zhang J X, Guan S H, Sun J H, *et al.* Characterization and profiling of phenolic amides from *Cortex Lycii* by ultra-high performance liquid chromatography coupled with LTQ-Orbitrap mass spectrometry[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407(2): 581-595.

[27] 马 雪, 琚艳君, 苟春林, 等. 超高效液相色谱-离子淌度-四极杆飞行时间质谱法识别精河枸杞中多酚类化合物[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(10): 3243-3251.

[28] 高佃华. 菟丝子化学成分的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2009.

[29] 张燕丽, 孟凡佳, 田 园, 等. PUR PLISH 法同时测定不同产地菟丝子中 6 种主要活性成分含量[J]. 化学工程师, 2019, 33(5): 29-33.

[30] Xiao X, Wei R, Nan Z, *et al.* Comparative study of the chemical constituents and bioactivities of the extracts from fruits, leaves and root barks of *Lycium barbarum* [J]. *Molecules*, 2019, 24(8): 1585.

[31] Xu M J, Wu B, Ding T, *et al.* Simultaneous characterization of prenylated flavonoids and isoflavonoids in *Psoralea corylifolia* L. by liquid chromatography with diode-array detection and quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2012, 26(19): 2343-2458.

[32] 丁玉婷, 郑竹宏, 赵仁云, 等. UPLC-Q-TOF-MSE 技术结合 UNIFI 筛查平台快速分析补骨脂化学成分[J]. 质谱学报, 2018, 39(6): 729-745.

[33] 袁 洁, 古丽斯坦·阿不来提, 布比阿加尔·哈依拉提, 等. 液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱法鉴定阿尔泰金雀花中 21 种黄酮类化合物[J]. 理化检验 (化学分册), 2022, 58(4): 373-380.

[34] 周正群. 枸杞子抗阿尔茨海默病活性成分研究[D]. 广州: 暨南大学, 2016.

[35] 陈晓鹤, 苏 磊, 蒋丽娟, 等. 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap 高分辨质谱的地骨皮化学成分分析[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(20): 4486-4494.

[36] 胡 静, 杨媛媛, 任 慧, 等. 光叶丁公藤中化学成分的分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(18): 124-132.

[37] Sun C H, Wang Y Z, Sun S Y. Fragmentation pathways of protonated coumarin by ES-QE-Orbitrap-MS/MS coupled with DF T calculations[J]. *J Mass Spectrom*, 2020, 55(5): e4496.

[38] 潘明霞, 赵淑军, 刘 洁, 等. 白芷中香豆素类化合物的超临界流体色谱分离方法研究[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(7): 1120-1128.

[39] 夏永刚, 宫凤秋, 郭信东, 等. 知母、麦冬和薯蓣中螺甾体皂苷的质谱裂解规律研究[J]. 中医药学报, 2017, 45(5): 10-13.

[40] 谢 文, 陈华国, 赵 超, 等. 枸杞多糖的生物活性及作用机制研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(5): 349-359.