

[29]

蔡 芳, 任繁栋, 任达兵, 等. 整合定性策略用于大黄素代谢物的高通量靶向鉴定[J]. 分析化学, 2019, 47(8): 1212-1222.

[30]

Song R, Xu L, Xu F G, *et al.* *In vivo* metabolism study of rhubarb decoction in rat using High-performance liquid chromatography with UV photodiode-array and mass-spectrometric detection: A strategy for systematic analysis of metabolites from traditional Chinese medicines in biological samples[J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(45): 7144-7152.

[31]

Junko K, Atsuko T, Izumi M, *et al.* Characterization of emodin metabolites in Raji cells by LC-APCI-MS/MS[J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17(21): 7493-7499.

[32]

Aly A H, Edrada-Ebel R, Wray V, *et al.* Bioactive metabolites from the endophytic fungus *Ampelomyces* sp. isolated from the medicinal plant *Urospermum picroides* [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(8): 1716-1725.

[33]

Kimakova K, Kimakova A, Idkowiak J, *et al.* E: Phenotyping the genus *Hypericum* by secondary metabolite profiling: emodin vs. skyrin, two possible key intermediates in hypericin biosynthesis [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(29): 7689-7699.

[34]

Akinfala T O, Houbaken J, Sulyok M, *et al.* Moulds and their secondary metabolites associated with the fermentation and storage of two cocoa bean hybrids in Nigeria[J]. *Int J Food Microbiol*, 2020, 316: 108490.

基于 UHPLC-Orbitrap-MS/MS 法分析青蒿鳖甲汤化学成分

韩鑫龙^{1,2}, 成 欣^{2,6}, 孙颖超³, 李雨桐^{1,2}, 杨加顺⁴, 张静莹⁵, 唐 玲^{2,6*}
(1. 大连大学生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116622; 2. 南方医科大学中医药学院, 广东 广州 510515; 3. 大连三仪动物药品有限公司, 辽宁 大连 116036; 4. 南方医科大学第三附属医院, 广东 广州 510630; 5. 广东医科大学第二临床医学院, 广东 东莞 523808; 6. 广东省中药制剂重点实验室/广东省中药制剂技术工程实验室, 广东 广州 510515)

摘要: **目的** 利用 UHPLC-Orbitrap-MS/MS 法对青蒿鳖甲汤化学成分进行分析。**方法** 采用 UHPLC-Orbitrap-MS/MS 技术, 结合 Mass Frontier7.0、Compound Discoverer3.0、Xcalibur 软件、在线数据库 ChemSpider 和 mzCloud、Scifinder、Pubmed、PlantCyc, 检索青蒿鳖甲汤一级、二级质谱数据, 推断其裂解规律, 鉴别其化学成分。**结果** 共鉴定了青蒿鳖甲汤中的 71 种化学成分, 主要包括酚酸类、黄酮类、香豆素类以及萜类。**结论** 该方法快速准确, 可用于青蒿鳖甲汤化学成分的鉴定, 为该方药效物质基础研究及质量控制提供了理论参考。

关键词: 青蒿鳖甲汤; 化学成分; UHPLC-Orbitrap-MS/MS

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)12-3531-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.12.053

青蒿鳖甲汤, 最早出现于清代叶天士《临证指南医案·卷五·温热·热陷血分王案》, 后在温病学家吴鞠通著的《温病条辨·卷三·下焦篇·风温》条文十二中又有记载。其药方为青蒿、鳖甲、细生地、知母与丹皮, 此方相比叶天士的来看, 去淡竹叶, 规范了用量, 使方证配伍更为严谨切合, 并冠以方名做出方论, 青蒿鳖甲汤就是由此而来^[1]。

青蒿鳖甲汤广泛应用于临床各科发热症候的病症治疗, 除此之外对恶性肿瘤、泌尿系统疾病、更年期综合征等也有较好的疗效^[2]。有关这一方剂的化学成分分析较为鲜见。因此, 探明其化学成分对其药效物质基础、质量控制

方向上有重要意义^[3]。

近年来, 超高效液相色谱-高分辨质谱联用技术凭借其高分辨、高精度等优点在天然产物的鉴定中得到了广泛的应用。本研究利用超高分辨三合一质谱仪对青蒿鳖甲汤的主要化学成分进行快速、全面的结构鉴定, 以期为该方药效物质基础及质量控制提供理论支持。

1 材料

1.1 仪器 液质联用系统(美国 Thermo Fisher 公司), 包括高效液相色谱仪、自动进样器、柱温箱、二元泵、质谱; CPA225D 电子分析天平(德国赛多利斯公司); JP-080ST 超声波清洗器(深圳市洁盟清洗设备有限公司); 旋转蒸

收稿日期: 2020-05-23

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81573661); 广东医科大学帮扶专项资金(4SG19044G, 4SG19057G)

作者简介: 韩鑫龙, 硕士生, 从事天然药物活性成分研究。E-mail: 429148868@qq.com

* 通信作者: 唐 玲(1977—), 女, 教授, 硕士生导师, 从事中药及复方药效物质基础及作用机理研究。E-mail: tangyuling6688@163.com

发仪（上海爱朗仪器有限公司）。

1.2 试剂与药物 青蒿、鳖甲、生地、知母、丹皮饮片购于康美药业有限公司。甲醇（色谱纯，德国 Merck 公司）、屈臣氏蒸馏水（广州屈臣氏食品饮料有限公司），其余试剂均为分析纯。脯氨酸（批号 140677-201507）、梓醇（批号 110808-201210）、芍药苷（批号 110736-200934）、青蒿素（批号 1201016-201004）、夏佛塔苷（批号 111912-201703）、东莨菪内酯（批号 110768-200504）、藁本内酯（批号 111737-201001）对照品均购自中国食品药品检定研究院，纯度≥98%。

2 方法

2.1 溶液制备

2.1.1 供试品溶液 称取青蒿 18 g、鳖甲 45 g、细生地 36 g、知母 18 g、丹皮 27 g，共 144 g。鳖甲加 450 mL 水煎煮 1 h，过滤后加入 450 mL 水煎煮 45 min，同时将其他药材浸泡 45 min。将两次鳖甲煎煮液和其他药材混合，微沸煮 1 h，得到总体积约 1 000 mL，浓缩约至 275 mL，冻干保存。取冻干粉 0.050 4 g，溶于 10 mL 甲醇中，超声溶解 5 min 后过 0.22 μm 微孔滤膜，即得，质量浓度约为 5 mg/mL。

2.1.2 对照品溶液 精密称取对照品粉末于 10 mL 量瓶中，甲醇溶解稀释至刻度，摇匀，制得对照品储备液，取 50 μL，甲醇稀释至 1 mL，即得。

2.2 色谱条件 Hypersil gold C₁₈ 色谱柱（2.1 mm × 100 mm，1.9 μm）；流动相 0.2% 乙酸（A）-甲醇（B），梯度洗脱（0~6 min，20%~75% B；6~12 min，75%~95% B；12~17 min，95% B）；体积流量 0.3 mL/min；进样室温度 4 ℃；柱温 45 ℃；进样量 2 μL。

2.3 质谱条件 ESI 源，正负离子检测模式；离子源温度 350 ℃，毛细管温度 275 ℃；鞘气体积流量 40 L/min，辅助气体积流量 8 L/min，扫尾气体积流量 1 L/min；喷雾电压 3 500 V；扫描范围 *m/z* 75~1 100。

2.4 数据分析 利用 Compound Discoverer3.0 软件进行分析，获得误差范围≤5.0×10⁻⁶ 分子式和二级质谱碎裂信息，采用网络数据库 Chemspider、Scifinder 等进行峰匹配检索。

3 结果

3.1 UHPLC-Orbitrap-MS/MS 青蒿鳖甲汤样品总离子流图中各色谱峰得到了较好的分离，检测时间 17 min。

3.2 化学成分鉴定 依据保留时间、高分辨分子量、二级质谱特征碎片，结合数据库检索、文献、对照品对化学成分进行指认，共鉴定出 71 个化合物，包括有机酚酸类 11 个、黄酮类 10 个、萜类 10 个、香豆素类 9 个、氨基酸类 7 个、苷类 6 个、糖类 4 个、生物碱类 3 个、皂苷类 3 个、环烯醚萜、酯类各 2 个、苯酚、木脂素、苯丙素、其他类各 1 个，见表 1，总离子流图见图 1。以下以峰 2、19、24、41、49、59 为例，说明分析过程。

表 1 青蒿鳖甲汤化学成分分析结果

峰号	<i>t_R</i> /min	分子式	一级质谱	误差(×10 ⁻⁶)	碎片离子	成分名	类别	来源
1	0.827	C ₆ H ₁₄ O ₆	182.079 0	3.0	71.01, 89.02, 101.02, 163.06	甘露醇	糖类	生地
2*	0.831	C ₅ H ₉ NO ₂	115.063 3	4.8	70.06, 98.05	脯氨酸	氨基酸类	鳖甲
3	0.847	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	504.169 0	1.1	89.02, 179.05, 383.11	甘露三糖	糖类	生地
4	0.938	C ₉ H ₈ O ₃	164.047 3	3.3	95.04, 91.05, 119.04, 147.04	对羟基肉桂酸	有机酚酸类	生地
5	0.968	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅	283.091 7	1.9	135.03, 152.05	鸟苷	苷类	鳖甲
6	0.974	C ₅ H ₅ N ₅ O	151.049 4	3.6	110.03, 128.04, 135.03	鸟嘌呤	苷类	生地
7	1.031	C ₂₄ H ₄₂ O ₂₁	666.221 9	0.8	179.05, 341.10, 383.11	水苏糖/麦芽四糖	糖类	生地
8	1.079	C ₆ H ₁₃ NO ₂	131.094 6	4.2	86.09, 69.06	亮氨酸	氨基酸类	鳖甲
9	1.111	C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₅	243.085 5	2.3	81.04, 109.04	胞苷	苷类	生地
10	1.133	C ₆ H ₆ N ₂ O	122.048 0	4.5	80.04, 96.04	烟酰胺	生物碱类	知母
11	1.147	C ₅ H ₅ N ₅	135.054 5	4.1	92.02, 119.03	腺嘌呤	苷类	生地
12	1.195	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	267.096 8	2.0	136.06, 85.02	腺苷	苷类	生地
13	1.221	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₃	251.101 8	2.2	136.06, 99.04	虫草素	生物碱类	知母
14	1.283	C ₅ H ₉ NO ₄	147.053 2	3.8	102.05, 128.03	谷氨酸	氨基酸类	鳖甲
15	1.289	C ₂₁ H ₃₂ O ₁₅	524.174 1	1.0	89.02, 119.03, 179.05, 161.04	地黄苷 A	有机酚酸类	生地
16	1.302	C ₆ H ₆ O ₃	126.031 7	4.3	81.03, 109.02	羟甲基糠醛	其他类	生地
17	1.359	C ₉ H ₁₁ NO ₂	165.079 0	3.3	103.05, 120.08	苯丙氨酸	氨基酸类	鳖甲
18	1.430	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	244.069 5	2.3	110.02, 152.03, 200.05	尿苷	苷类	生地
19*	1.758	C ₁₅ H ₂₂ O ₁₀	362.121 3	1.5	97.02, 151.03, 169.04, 199.06	梓醇	萜类	丹皮
20	1.934	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.095 0	1.5	133.02, 193.04	东莨菪苷	香豆素类	青蒿
21	2.293	C ₅ H ₉ NO ₄	147.053 2	3.7	84.04, 102.05	谷氨酸	氨基酸类	鳖甲
22	3.048	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	594.158 5	0.9	295.05, 325.07, 337.07	维采宁 II	黄酮类	知母
23*	3.966	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	564.147 9	1.0	295.05, 325.07, 379.08	夏佛塔苷	黄酮类	知母
24	3.984	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.105 7	1.3	283.05, 313.07, 337.06	牡荆素	黄酮类	知母
25	4.192	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	178.063 0	3.1	91.05, 119.04, 133.06, 147.04	松柏醛	苯丙素类	知母
26	4.209	C ₁₁ H ₁₀ O ₅	222.052 8	2.5	162.03, 190.02, 209.01	白蜡树精	香豆素类	知母
27	4.242	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.105 7	1.3	283.06, 313.07, 337.07	异牡荆素	黄酮类	知母

续表 1

峰号	t_{R}/min	分子式	一级质谱	误差($\times 10^{-6}$)	碎片离子	成分名	类别	来源
28	4.295	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$	220.084 8	2.5	74.02,132.04,132.04,144.04	5-羟基色氨酸	氨基酸类	鳖甲
29	4.348	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	204.089 9	2.7	74.02,116.04,142.06	色氨酸	氨基酸类	鳖甲
30	4.411	$\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4$	206.057 9	2.7	151.07,163.03,191.03	滨蒿内酯	香豆素类	青蒿
31	4.420	$\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_2$	146.036 8	3.8	91.05,103.05	香豆素	香豆素类	青蒿
32	4.474	$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	524.174 1	1.0	89.02,119.03,179.05	密力特苷	萜类	生地
33	4.848	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$	138.031 7	3.9	93.03,65.03	水杨酸	有机酚酸类	青蒿
34	5.026	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	374.121 3	1.5	123.04,149.05,211.06	京尼平苷酸	萜类	青蒿
35	5.139	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3$	176.047 3	3.1	121.06,133.06	甲氧基香豆素	香豆素类	青蒿
36 *	5.359	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_5$	282.146 7	1.9	131.08,201.12,219.13	青蒿素	萜类	青蒿
37	5.379	$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_7$	286.105 3	1.9	121.02,123.04	水杨苷	糖类	青蒿
38	5.689	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_9$	340.079 4	1.6	133.02,177.01	秦皮甲素	香豆素类	生地
39	5.868	$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_7$	300.120 9	1.8	85.02,89.02,101.02,119.03	红景天苷	有机酚酸类	生地
40	5.944	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	290.079 0	1.9	109.02,125.02,245.08	儿茶精	有机酚酸类	丹皮
41	5.982	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$	166.063 0	3.3	121.06,125.05,149.05	丹皮酚	有机酚酸类	丹皮
42	6.194	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$	168.042 3	3.3	108.02,123.04,80.02	甲氧基水杨酸	有机酚酸类	青蒿
43 *	6.512	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$	192.042 3	2.9	104.02,148.01,176.01	东莨菪内酯	香豆素类	青蒿
44	6.517	$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	376.137 0	1.5	169.08,213.07,113.02	马钱苷酸	萜类	青蒿
45	6.521	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$	496.158 1	1.1	93.03,137.02	羟基芍药苷	萜类	青蒿
46 *	6.522	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_2$	190.099 4	2.9	91.05,105.06,145.10	藁本内酯	香豆素类	青蒿
47	6.548	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_2$	188.083 7	2.9	128.06,143.08,171.08	丁烯基苯酚	苯酚类	青蒿
48	6.555	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$	248.141 2	2.2	143.08,189.09,185.13	小白菊内酯	萜类	青蒿
49	6.601	$\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_{16}$	584.137 7	0.9	301.03,331.04,493.09,463.08	新芒果苷	黄酮类	知母
50	6.604	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$	248.141 2	0.5	185.13,189.09	青蒿乙素	萜类	青蒿
51	6.817	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$	234.162 0	2.3	105.06,91.05,119.08,133.10	青蒿酸	萜类	青蒿
52	6.914	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$	248.141 2	2.2	105.06,185.13,203.14	木香内酯	生物碱	青蒿
53	6.972	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$	236.177 6	2.3	81.06,105.06,163.11,219.17	二氢青蒿酸	萜类	青蒿
54	7.133	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$	374.100 2	1.5	299.05,317.06,342.07	金腰乙素	黄酮类	知母
55	7.547	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_2$	230.130 7	2.4	105.06,131.08,143.08,185.13	去氢木香内酯	木脂素类	青蒿
56	7.710	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$	152.047 3	3.6	109.02,136.01	香兰素	有机酚酸类	青蒿
57	7.848	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_3$	194.094 3	2.8	95.04,121.02	尼泊金异丁酯	酯类	丹皮
58	8.280	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$	182.057 9	3.0	92.91,151.00,166.02	香草酸甲酯	酯类	丹皮
59 *	8.419	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	480.163 2	1.1	121.02,327.10	芍药苷	萜类	丹皮
60	8.725	$\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$	178.026 6	3.1	133.02,149.02	瑞香素	香豆素类	青蒿
61	9.287	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$	148.052 4	3.7	134.03,178.02	肉桂酸	有机酚酸类	青蒿
62	9.316	$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_4$	432.324 0	1.3	253.19,271.20,289.21	支脱皂苷元	皂苷类	知母
63	9.333	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	194.057 9	2.8	134.03,149.05,178.02	异阿魏酸	有机酚酸类	生地
64	9.380	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	194.05791	2.8	134.03,178.02,193.04	阿魏酸	有机酚酸类	生地
65	9.770	$\text{C}_{39}\text{H}_{64}\text{O}_{13}$	740.434 7	4.9	85.03,97.03,127.04	知母皂苷 A-Ⅲ	皂苷类	知母
66	10.214	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	464.095 5	1.2	271.02,301.3,300.02	异槲皮苷	黄酮类	青蒿
67	10.382	$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_3$	416.329 1	1.3	255.21,273.22	菝葜皂苷元	皂苷类	知母
68	11.184	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	448.100 6	1.2	151.00,271.02,300.02	槲皮甙	黄酮类	青蒿
69	11.211	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	624.169 0	0.9	300.02,271.02	水仙苷	黄酮类	青蒿
70	12.811	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	272.068 5	2.0	119.04,151.00,107.01	柚皮素	黄酮类	青蒿
71	13.426	$\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$	584.189 4	0.9	121.02,165.05	苯甲酰芍药苷	萜类	丹皮

注：* 为通过对照品确认。

峰 2 分子离子峰为 m/z 114.06 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ，其裂解碎片 m/z 70.06 $[\text{M}-\text{H}-\text{HCOOH}]^-$ ，确定分子式为 $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$ 。查找数据库以及文献与 *L*-脯氨酸相符，经过对照确定峰 2 为 *L*-脯氨酸^[4-5]。

峰 19 分子离子峰为 m/z 362.12 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ，二级质谱产生 199.06 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ 、169.04 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_2\text{OH}]^-$ 、151.03 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_2\text{OH}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 特征峰，确定分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ 。查找数据库和文献，发现它与梓

醇的碎片基本一致，经过对照品比对，推断峰 19 为梓醇^[6-7]，可能的裂解途径，见图 2。

峰 24 的分子离子峰为 m/z 433.11 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ，二级质谱中产生 342.10 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3]^+$ 、283.05 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2]^+$ 、313.07 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4]^+$ 特征峰，确定分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ 。查找数据库和文献，发现它与牡荆素的碎片信息基本一致，推断峰 24 为牡荆素^[8-9]，可能的裂解途径，见图 3。

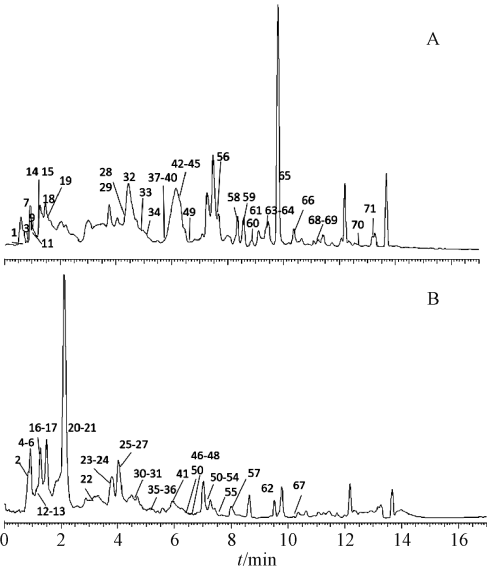


图 1 青蒿鳖甲汤负离子模式 (A)、正离子模式 (B) 总离子流图

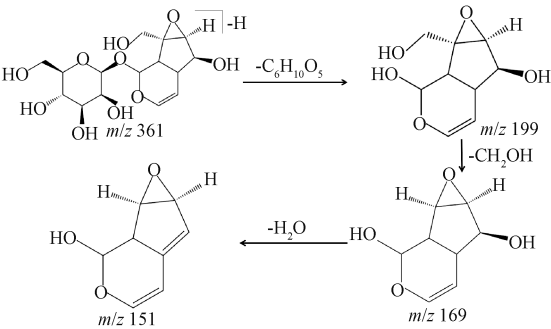


图 2 桉醇裂解途径

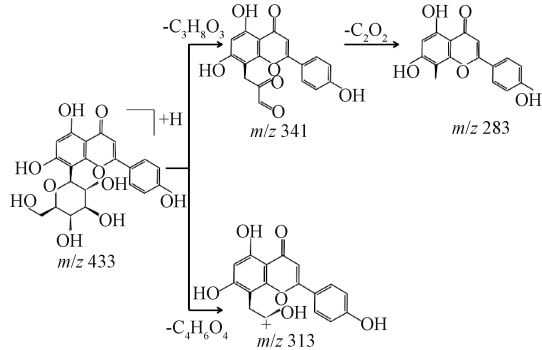


图 3 牡荆素裂解途径

峰 41 的分子离子峰为 m/z 167.06 $[M+H]^+$ ，二级质谱产生 149.05 $[M+H-H_2O]^+$ 、125.05 $[M+H-CH_2CO]^+$ 和 121.06 $[M+H-H_2O-CO_2]^+$ 特征峰，确定其分子式为 $C_9H_{10}O_3$ 。查找数据库以及文献，发现它丹皮酚的碎片基本一致，推断峰 41 为丹皮酚^[10-11]，可能的裂解途径，见图 4。

峰 49 的离子峰为 m/z 584.13 $[M+H]^+$ ，二级质谱中有规律的脱去 90、120 的产物离子峰，没出现脱糖基的特

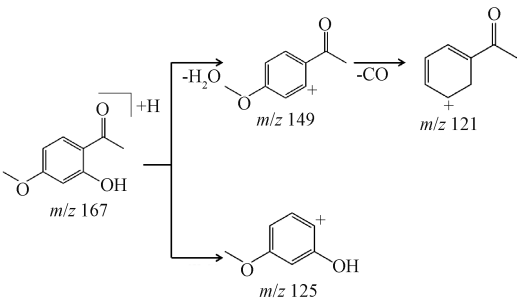


图 4 丹皮酚裂解途径

征离子峰 493.09 $[M+H-90]^+$ 、463.08 $[M+H-120]^+$ 、331.04 $[M+H-90-Glu]^+$ ，推测为六碳六氧糖的碳苷类化合物，确定其分子式为 $C_{25}H_{28}O_{16}$ 。查找数据库和文献，发现它与新芒果苷的碎片基本一致，推断峰 49 为新芒果苷^[12-13]。

峰 59 的分子离子峰为 m/z 479.16 $[M-H]^-$ ，碎片离子 m/z 121.02 为苯甲酸分子，确定其分子式为 $C_7H_6O_2$ 。查找数据库和文献，发现它与芍药苷的碎片基本一致，推断峰 59 为芍药苷^[14-15]，可能的裂解途径，见图 5。

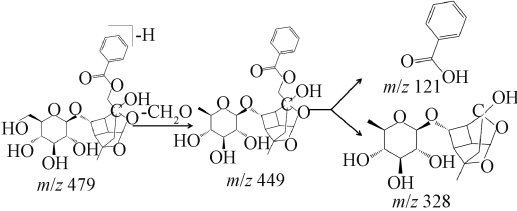


图 5 芍药苷裂解途径

4 讨论

本实验分别采用 C_{18} 色谱柱和亲水型色谱柱进行预实验分析，结果发现 C_{18} 色谱柱的分离效果较好，考虑是由于组方成分复杂造成的亲水型色谱柱分离效果不明显，故选择本文中的 Hypersil gold C_{18} 型色谱柱进行实验。在梯度优化过程中，发现使用比较缓慢的梯度时，前 10 min 出峰较少，分离效果不佳，故把梯度条件加快，最终选定了本次文章中所用的实验条件。

本实验采用 UHPLC-Orbitrap-MS/MS 技术在正负离子模式下对青蒿鳖甲汤样品的化学成分进行分析^[3, 16-17]，共鉴定了 70 种化学成分。实验中发现青蒿鳖甲汤中主要含有机酚酸、黄酮、萜类、香豆素类等化学成分，猜测这些成分可能是其发挥药效作用的物质基础。如源自青蒿中的成分青蒿素、青蒿酸、东莨菪内酯具有抗肿瘤、抗炎止痛等作用^[18-20]，源自生地中的成分桉醇，具有有抗癌、抗肝炎病毒等作用^[21]，源自知母中的菝葜皂苷元具有清热解毒止渴除烦等作用^[22]，丹皮中主要成分丹皮酚具有抗炎、解热镇痛和抑制变态反应的作用^[23]，鳖甲中含有的多种氨基酸如谷氨酸、脯氨酸等具有调节生理机能、催化代谢等^[24]作用。

综上所述，本实验通过 UHPLC-Orbitrap-MS/MS 技术较全面地分析并鉴别了青蒿鳖甲汤中存在的化学成分及其复

方产物^[25-26]，填补并丰富了该复方的化学成分信息，为进一步解释青蒿鳖甲汤药效作用提供有力的科学依据，并为下一步寻找其关键活性成分物质奠定了研究基础。同时也可以作为潜在的中药材新资源开发提供参考依据，为其他类似化合物质谱解析提供参考。

参考文献：

[1] 蔺禹帆, 栗 栗. 青蒿鳖甲汤临床及实验研究进展[J]. 吉林中医药, 2017, 37(10): 1075-1080.

[2] 王佳雯, 翟永松, 王满元, 等.《温病条辨》青蒿鳖甲汤现代药理及临床应用研究进展[J]. 实用中医内科杂志, 2016, 30(7): 95-98.

[3] 李海波, 秦大鹏, 葛 雯, 等. 青蒿化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(14): 3461-3470.

[4] 于红红, 高晓燕. 基于 UPLC-Q-TOF/MS~E 快速分析绵茵陈中化学成分[J]. 中南药学, 2019, 17(5): 656-661.

[5] 张 玉, 董文婷, 霍金海, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的广地龙化学成分分析[J]. 中草药, 2017, 48(2): 252-262.

[6] 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.

[7] 王静哲, 刘 震, 马立满, 等. 基于 UPLC-Q-TOF MS 分析加工炮制对玄参化学成分的影响[J]. 质谱学报, 2016, 37(1): 1-9.

[8] 龙红萍, 李 欣, 王婷婷, 等. 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 的小儿扶脾颗粒的化学成分研究[J]. 中草药, 2018, 49(23): 5522-5531.

[9] 任晓蕾, 霍金海, 孙国东, 等. 短瓣金莲花化学成分的分析[J]. 中草药, 2015, 46(23): 3475-3481.

[10] 胡云飞, 裴月梅, 吴 虹, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术研究不同产地牡丹皮药材化学成分的差异[J]. 中草药, 2016, 47(17): 2984-2992.

[11] 李金花, 曾 锐, 瞿 燕, 等. UPLC-Q-TOF-MS~E 技术结合 UNIFI 数据库快速定性分析黄牡丹化学成分[J]. 中草药, 2017, 48(8): 1529-1536.

[12] 孙振刚, 邱昆成, 李 丹, 等. UPLC-LTQ-Orbitrap XL 分

析知母-黄柏药对化学成分[J]. 中药材, 2017, 40(1): 101-106.

[13] 李玲云, 王 云, 刘梦娇, 等. 栀子金花丸化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速鉴定与分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 1-11.

[14] 高黎明, 魏小梅, 何仰清. 白花牡丹化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(10): 948-951.

[15] 王镇方, 赵 阳, 庞 旭, 等. 利用 UPLC-Q-TOF-MS~E 快速分析四物汤中的化学成分[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(21): 3702-3708.

[16] 杨 岚, 王满元, 张 东, 等. 青蒿药材中东莨菪内酯的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(10): 10-11.

[17] 陈坚平, 钟艳梅, 余楚钦, 等. UHPLC-Q-TOF-MS 法分析蒿甲虚热清颗粒的化学成分[J]. 中药材, 2017, 40(6): 1368-1372.

[18] 史婷婷, 张小波, 郭兰萍, 等. 地理环境因子对黄花蒿中青蒿酸含量空间分布影响的探测分析[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(22): 4282-4286.

[19] 廖昌军, 臧志和, 邵 英, 等. 青蒿中有效成分的萃取及含量测定[J]. 医药导报, 2016, 35(1): 71-74.

[20] 韩 枫. 东莨菪内酯的药理活性和药动力学研究进展[J]. 中国药房, 2011, 22(31): 2971-2972.

[21] 李红伟, 孟祥乐. 地黄化学成分及其药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2015, 38(2): 218-228.

[22] 张 锐. 知母拔莨皂苷元的分离纯化以及体外诱导肝癌细胞 HepG2 凋亡的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.

[23] 高立民, 满其倩. 丹皮酚抗肿瘤作用及作用机制研究进展[J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 300-303.

[24] 唐尹萍, 刘焱文. 鳖甲研究概况[J]. 中国药师, 2010, 13(3): 423-425.

[25] 唐尹萍, 陈进文, 刘焱文, 等. 鳖甲与醋鳖甲抗肝纤维化活性部位的化学成分比较[J]. 医药导报, 2010, 29(9): 1127-1129.

[26] 滕明归, 谢程成, 王 也, 等. UPLC-MS/MS 法检测青蒿中青蒿素的含量[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(20): 5041-5043.