

· 中药工业 ·

基于HPLC-LTQ-Orbitraps-MSⁿ分析比较酸枣仁-五味子药对单煎液和合煎液化学成分[△]

王晓玫¹, 刘洁^{1,2}, 丁永胜^{1,3}, 罗静^{1,4}, 赵程博文^{1,5}, 姚子蔚¹, 李秋雨^{1,3}, 刘金凤¹, 于佳禾¹, 魏晓嘉¹, 李佳园¹, 万国慧¹, 金重先¹, 王雨青¹, 杨雪¹, 吕研¹, 边丽华¹, 王春国^{1*}, 石晋丽^{1*}

1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 102488;

2. 首都儿科研究所 附属儿童医院, 北京 100020;

3. 华润双鹤药业股份有限公司, 北京 100102;

4. 重庆药友制药, 重庆 401121;

5. 北京中医药大学 东直门医院, 北京 100700

【摘要】 目的: 对酸枣仁-五味子药对单煎液、合煎液(2:1)化学成分进行分析, 探究该药对配伍合煎后化学成分的变化。**方法:** 采用高效液相色谱-线性离子阱串联静电场轨道阱质谱法(HPLC-LTQ-Orbitraps-MSⁿ), 在电喷雾离子源(ESI)的正、负离子模式下, 采用傅里叶变换高分辨全扫方式(TF, Full scan, Resolution 30 000)数据依赖性(data-dependent acquisition) ddMS²和 ddMS³方法分别对酸枣仁-五味子药对单煎液、合煎液(2:1)采集数据。根据保留时间、高分辨质谱精确相对分子质量和多级碎片信息进行分析。**结果:** 对酸枣仁单煎液中共50个色谱信号进行化学成分鉴定, 指出10个(黄酮类6个、生物碱类2个、皂苷类2个)近10年报道过指纹图谱分析或含量测定的化合物; 对五味子单煎液中共32个色谱信号进行化学成分鉴定, 指出10个(均为木脂素类)近10年报道过指纹图谱分析或含量测定的成分; 对酸枣仁-五味子药对(2:1)合煎液中共50个色谱信号进行化学成分鉴定, 指出19个(黄酮类5个、生物碱类1个、皂苷类1个、木脂素类12个)近10年报道过指纹图谱分析或含量测定的成分, 这些成分在各自单煎液中均已被指认。合煎液中未检出酸枣仁单煎液中检出的酸枣仁皂苷B, 但检测到1个五味子单煎液中缺少的离子峰, 系来自五味子药材的木脂素类同分异构体。**结论:** 通过HPLC-LTQ-Orbitraps-MSⁿ, 初步发现酸枣仁-五味子药对(2:1)配伍前后化学成分的变化, 为进一步研究两者的配伍作用机制提供参考。

【关键词】 酸枣仁; 五味子; 合煎液; 高效液相色谱-线性离子阱串联静电场轨道阱质谱法; 化学成分

【中图分类号】 R284 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4890(2021)11-1949-18

doi: 10. 13313/j. issn. 1673-4890. 20200928004

Comparison of Chemical Components between Ziziphi Spinosae Semen or Schisandrae Chinensis Fructus Monodecoction and Their Co-decoction by HPLC-LTQ-Orbitraps-MSⁿ

WANG Xiao-mei¹, LIU Jie^{1,2}, DING Yong-sheng^{1,3}, LUO Jing^{1,4}, ZHAO Cheng-bo-wen^{1,5}, YAO Zi-wei¹, LI Qiu-yu^{1,3}, LIU Jin-feng¹, YU Jia-he¹, WEI Xiao-jia¹, LI Jia-yuan¹, WAN Guo-hui¹, JIN Zhong-xian¹, WANG Yu-qing¹, YANG Xue¹, LYU Yan¹, BIAN Li-hua¹, WANG Chun-guo^{1*}, SHI Jin-li^{1*}

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China;

2. Children's Hospital Affiliated to Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China;

3. China Resources Double-Crane Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 100102, China;

4. YaoPharma Co., Ltd., Chongqing 401121, China;

5. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China

[△] **【基金项目】** 国家自然科学基金面上项目(81673560); 北京市技术开发类横向课题(2017110031015577)

^{*} **【通信作者】** 石晋丽, 教授, 研究方向: 中药药效物质基础; E-mail: shijl@vip.sina.com
王春国, 实验师, 研究方向: 中药药效物质基础; E-mail: wangcg1119@126.com

[Abstract] **Objective:** To investigate the chemical components of *Ziziphi Spinosae Semen* monodecoction, *Schisandrae Chinensis Fructus* monodecoction, and their co-decoction (with the compatibility ratio of 2 : 1) by high performance liquid chromatography-linear ion trap-orbitrap high resolution mass spectrometry (HPLC-LTQ-Orbitrap-MSⁿ). **Methods:** Electrospray ionization source (ESI) was applied to the analysis in positive and negative ion modes respectively. Fourier transform-infrared spectroscopy (TF, Full Scan, Resolution of 30 000) and data-dependent acquisition of ddMS² and ddMS³ spectra were employed, and the retention time, accurate mass measurements, and mass fragmentation patterns were analyzed. **Results:** A total of fifty chromatographic signals in the positive and negative ion modes of *Ziziphi Spinosae Semen* monodecoction were detected and their chemical components were identified, among which ten compounds (6 flavonoids, 2 alkaloids, and 2 saponins) had been identified by fingerprint analysis or reported for content determination in the last ten years. Thirty-two chromatographic signals representing different components were identified in the positive and negative ion modes of *Schisandrae Chinensis Fructus* monodecoction, and ten lignans had been identified for fingerprint analysis or reported for content determination in the last ten years. Fifty chromatographic signals were identified in the positive and negative ion modes of the co-decoction of *Ziziphi Spinosae Semen* and *Schisandrae Chinensis Fructus*, and 19 compounds (5 flavonoids, 1 alkaloid, 1 saponin, and 12 lignans) of which had been detected in the monodecoction for fingerprint analysis or content determination in the last ten years. Jujuboside B, a saponin, was detected in *Ziziphi Spinosae Semen* monodecoction while not in the co-decoction. However, an ion peak representing lignan isomer in *Schisandrae Chinensis Fructus* was detected only in the co-decoction. **Conclusion:** HPLC-LTQ-Orbitraps-MSⁿ realized the qualitative analysis of the chemical composition changes of monodecoction and co-decoction of *Ziziphi Spinosae Semen* and *Schisandrae Chinensis Fructus* (2 : 1), which provided a reference for the further research on the compatibility mechanism of the two medicinal materials.

[Keywords] *Ziziphi Spinosae Semen*; *Schisandrae Chinensis Fructus*; co-decoction; HPLC-LTQ-Orbitraps-MSⁿ; chemical composition

酸枣仁来源于鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的干燥成熟种子^{[1]382-384}, 主要含三萜 (含三萜皂苷)、黄酮、生物碱等成分。五味子来源于为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实^{[1]68}, 主要含木脂素、挥发油、降三萜等成分。基于脱胎于《神农本草经》的药对理论的指导, 两者配伍可全方位补心气、安心神^[2], 常联合应用治疗失眠、健忘、焦虑等临床疾病, 酸枣仁-五味子配伍比例以 1 : 1 和 2 : 1 为主^[3]。本课题组前期研究发现, 炒酸枣仁-醋五味子 2 : 1 配伍时, 具有显著的抗焦虑作用^[4]。有研究者采用超高效液相色谱法 (UPLC) 和高效液相色谱法 (HPLC) 对酸枣仁-五味子 1 : 1 配伍药对进行指纹图谱分析和含量测定^[5-6], 发现配伍后斯皮诺素、酸枣仁皂苷 A、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子乙素 5 个成分的溶出均降低, 认为与煎煮过程中的大量沉淀有关^[5]。早在 2009 年, 王卫记等^[7]运用高效液相色谱-电喷雾离子阱质谱法 (HPLC-ESI-MSⁿ) 技术, 从酸枣仁有效部位中鉴定出 13 个化合物; 2018 年, 毛怡宁等^[8]通过超高效液相色谱-线性离子阱串联静电场轨道阱联用质谱法

(UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS) 技术, 从酸枣仁中鉴定、推断出 24 个化合物和 4 个未知化合物; 夏丽文等^[9]应用超高效液相色谱-电喷雾飞行时间质谱 (UPLC-ESI-TOF/MS) 技术在五味子中表征出 24 个峰并初步鉴定了 17 个峰。目前, 尚未见酸枣仁-五味子 2 : 1 配伍前后化学成分变化的报道。本研究利用 HPLC-LTQ-Orbitraps-MSⁿ 技术对该药对 2 : 1 配伍前后的化学成分进行分析、比较, 为进一步研究两者配伍作用机制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Accela 600 pump 型高效液相色谱仪、LTQ-Orbitrap XL 型质谱仪, 配有加热电喷雾离子源 (HESI)、Xcalibur 2.1 化学工作站 (美国 Thermo Scientific 公司); R200D 型分析天平 (十万分之一, 德国 Satorius 公司)。

1.2 试药

对照品芦丁 (中国食品药品检定研究院, 批号: 100080-200707, 纯度 ≥ 98%); 五味子醇乙 (上海源叶生物科技有限公司, 批号: P14N10F103016, 纯

度 $\geq 98\%$);五味子酯甲(四川维克奇生物科技有限公司,批号:wkq16050901,纯度 $\geq 98\%$);乙醇(北京化工厂,分析纯);娃哈哈矿泉水(杭州娃哈哈集团有限公司);甲酸、甲醇、乙腈(赛默飞世尔科技有限公司,质谱纯)。

炒酸枣仁(批号:20150601)购于四川禾一天然药业有限公司,醋五味子(批号:20160122)购于吉林省元力药业有限公司,经北京中医药大学石晋丽教授鉴定,分别为鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的干燥成熟种子,木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实。

2 方法

2.1 分析样品制备

单煎液样品制备:精密称取炒酸枣仁 30.03 g、醋五味子 30.02 g,分别置于 500 mL 圆底烧瓶中,2 个样品均加 8 倍量 80% 乙醇浸泡 30 min,加热回流 1 h,滤过;滤液备用,滤渣加 10 倍量纯水,加热回流提取 1 h,滤过,合并 2 次滤液,浓缩并用甲醇定容于 25 mL 量瓶中,得酸枣仁单煎液样品、五味子单煎液样品。

合煎液样品制备:精密称取炒酸枣仁 20.01 g,醋五味子 10.00 g,制法同上。以上样品分别过 0.45 μm 微孔滤膜于液相进样瓶中备用。

2.2 色谱条件

色谱柱 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B),梯度洗脱(0~5 min, 2%~3%A; 5~8 min, 3%~9%A; 8~30 min, 9%~11%A; 30~32 min, 11%~18%A; 32~52 min, 18%~19%A; 52~67 min, 19%~25%A; 67~74 min, 25%~43%A; 74~78 min, 43%~52%A; 78~89 min, 52%~55%A; 89~114 min, 55%~95%A);流速为 0.4 mL $\cdot$ min⁻¹;柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$;检测波长为 210 nm;进样量为 4 μL 。

2.3 质谱条件

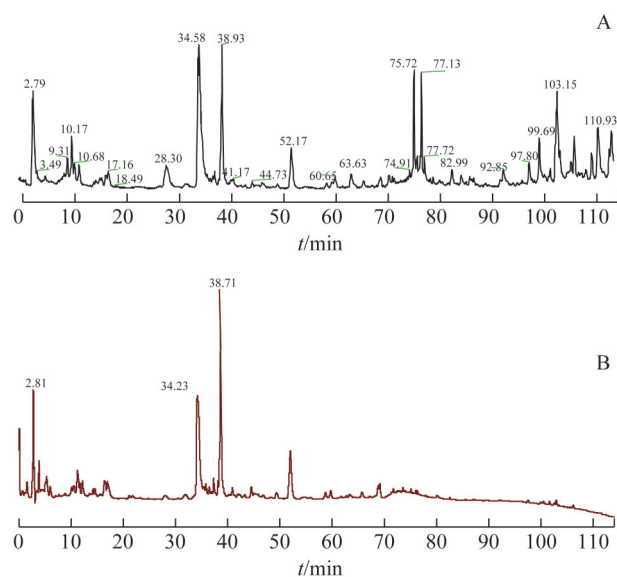
HESI 源电压(正离子模式 3.0 kV,负离子模式 4.0 kV);干燥气流速:15 L $\cdot$ min⁻¹,干燥气体温度(正离子模式 300 $^{\circ}\text{C}$,负离子模式 350 $^{\circ}\text{C}$);毛细管温度:250~350 $^{\circ}\text{C}$;碰撞电压:6~10 V;扫描范围: m/z 100~1500。采用傅里叶变换高分辨全扫方式

(TF, Full scan, Resolution 30 000)和数据依赖性(data-dependent acquisition) ddMS²和 ddMS³方法获取各级质谱碎片。

3 结果

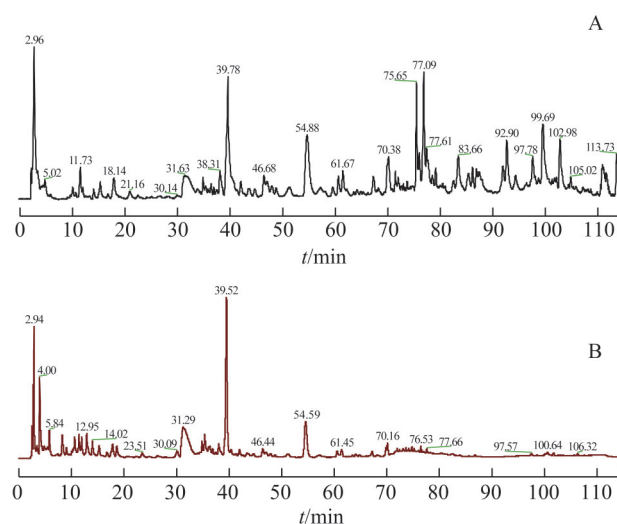
3.1 配伍前后整体分析

酸枣仁、五味子药对(2:1)单煎液、合煎液在正、负离子模式下的总离子流图(TIC)见图 1~6。



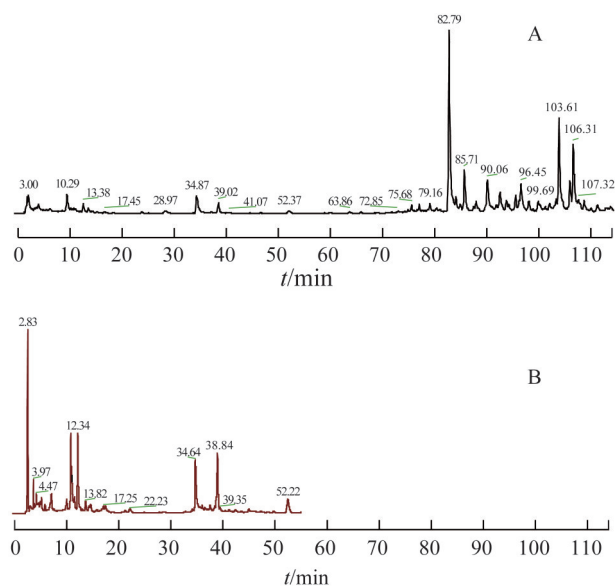
注: A. 酸枣仁单煎液正离子模式 TIC; B. 酸枣仁单煎液正离子模式 UV 254 nm 响应。

图1 酸枣仁单煎液正离子模式 TIC 及 UV 254 nm 响应



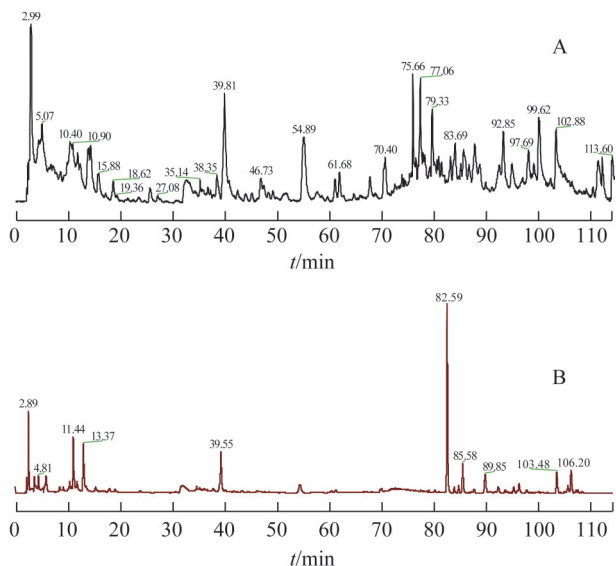
注: A. 酸枣仁单煎液负离子模式 TIC; B. 酸枣仁单煎液负离子模式 UV 254 nm 响应。

图2 酸枣仁单煎液负离子模式 TIC 及 UV 254 nm 响应



注：A. 五味子单煎液正离子模式TIC；B. 五味子单煎液正离子模式UV 254 nm 响应。

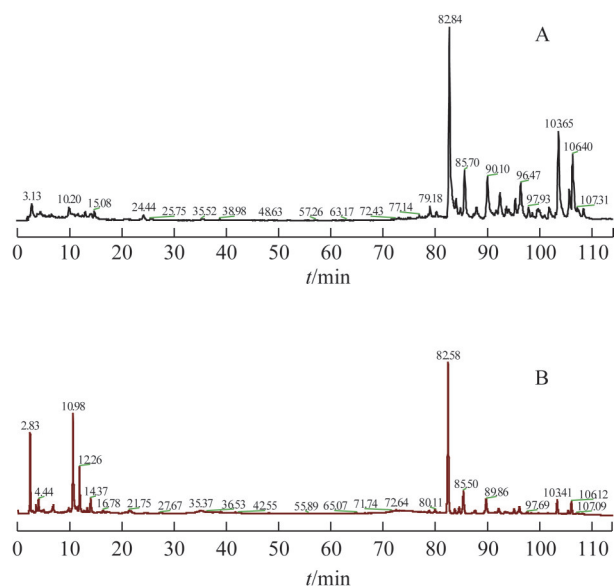
图3 五味子单煎液正离子模式TIC及UV 254 nm 响应



注：A. 五味子单煎液负离子模式TIC；B. 五味子单煎液负离子模式UV 254 nm 响应。

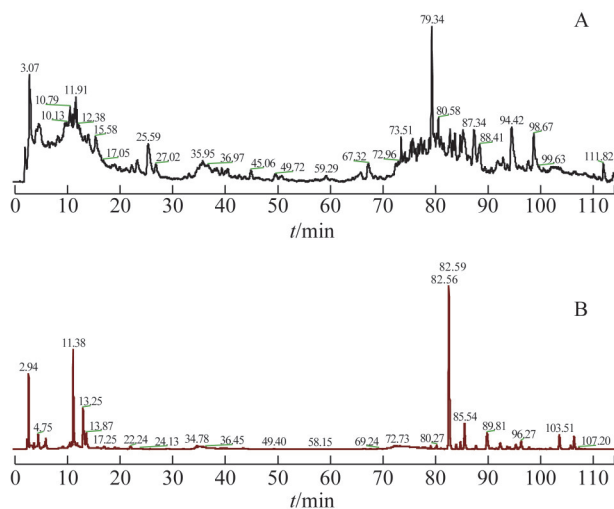
图4 五味子单煎液负离子模式TIC及UV 254 nm 响应

根据保留时间信息、高分辨质谱精确相对分子质量和多级碎片信息，与已报道的相关化合物碎片进行比对分析，在酸枣仁单煎液正、负离子模式下共对50个色谱信号进行化学成分鉴定，指认出其中10个（黄酮类6个、生物碱2个、皂苷2个）近10年报道过指纹图谱分析或含量测定的化合物，并发现8个黄酮类化合物在正、负离子模式下均可检出；在五味子单煎液正、负离子模式下共对32个色



注：A. 酸枣仁-五味子（2：1）合煎液正离子模式TIC；B. 酸枣仁-五味子（2：1）合煎液正离子模式UV 254 nm 响应。

图5 酸枣仁-五味子（2：1）合煎液正离子模式TIC及UV 254 nm 响应



注：A. 酸枣仁-五味子（2：1）合煎液负离子模式TIC；B. 酸枣仁-五味子（2：1）合煎液负离子模式UV 254 nm 响应。

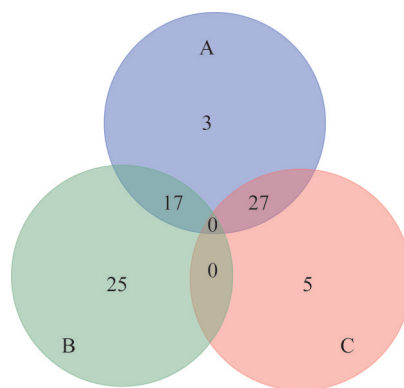
图6 酸枣仁-五味子（2：1）合煎液负离子模式TIC及UV 254 nm 响应

谱信号进行化学成分鉴定，指认出10个近10年报道过指纹图谱分析或含量测定的成分（均为木脂素类）；在酸枣仁-五味子药对（2：1）合煎液正、负离子模式下共对50个色谱信号进行化学成分鉴定，指认出19个近10年报道过指纹图谱分析或含量测定的成分（黄酮类5个、生物碱1个、皂苷1个、木脂素类12个），这些成分在各自单煎液中均已被指认。

合煎液未检出单煎液中可检出的1个酸枣仁皂苷(酸枣仁皂苷B)和1个具有同分异构体的酸枣仁生物碱(酸李碱或木兰花碱)。酸枣仁与五味子单煎液中指认出的共计21个成分,除去前述的酸枣仁皂苷B、酸李碱或木兰花碱,即为本研究在合煎液中指认出的19个成分。在检出成分个数略有减少的同时,合煎液中检出了1个来自五味子的同分异构体离子峰,该峰在单煎液中未检出,笔者认为这是值得注意的。

来源于酸枣仁或五味子的近10年报道过指纹图谱分析或含量测定的化合物,在酸枣仁单煎液中指认出的10个,分别为文赛宁-II^[10-11]、6'''-对羟基苯甲酰斯皮诺素^[10-11]、6'''-阿魏酰斯皮诺素^[10-11]、6'''-对香豆酰斯皮诺素^[10]、芦丁^[12]、斯皮诺素^[7-8](以上6个为黄酮类)、酸李碱^[13]、木兰花碱^[14](以上2个为生物碱)、酸枣仁皂苷A^[15-16]、酸枣仁皂苷B^[15-16](以上2个为皂苷);在五味子单煎液中指认出的10个木脂素类成分为五味子醇甲^[17]、五味子醇乙^[17]、五味子酯甲^[17]、五味子甲素^[17]、五味子乙素^[17]、五味子丙素^[17]、五味子酚^[18]、五味子酯乙^[18]、戈米辛D^[19]和戈米辛J^[19]。酸枣仁单煎液正、负离子模式下均可检出的8个化合物是异牡荆素-2''-O-吡喃葡萄糖苷、当药黄素、6'''-香草酰斯皮诺素、6'''-对羟基苯甲酰斯皮诺素、异牡荆素-2''-O-6-阿魏酰-葡萄糖苷、6'''-芥子酰斯皮诺素、6'''-对香豆酰斯皮诺素、6'''-(-)-phaseoylspinosin,其中,当药黄素和6'''-对羟基苯甲酰斯皮诺素在合煎液正、负离子模式下均可检出,6'''-香草酰斯皮诺素、6'''-对香豆酰斯皮诺素仅在合煎液负离子模式下可见检出,6'''-(-)-phaseoylspinosin和异牡荆素-2''-O-6-阿魏酰葡萄糖苷在合煎液中未检出。

酸枣仁、五味子单煎液与合煎液的共有成分和特有成分种类见图7(所有在同一样品的正、负离子模式下均可检出的化合物在该样品中仅保留1次)。由图7可见,酸枣仁单煎液中1/2的色谱信息和五味子单煎液中大部分的色谱信息在合煎液中也存在,合煎液中存在2个特有成分,为戈米辛L₁/L₂/M₁/M₂信号3和9,12-亚油酸同分异构体信号2;其中戈米辛L₁/L₂/M₁/M₂信号3有较大研究意义,表明合煎液中新增了五味子木脂素离子峰。



注: A. 酸枣仁-五味子合煎液(2:1)中化合物数量; B. 酸枣仁单煎液中化合物数量; C. 五味子单煎液中化合物数量。

图7 酸枣仁、五味子单煎液与合煎液(2:1)韦恩图

3.2 酸枣仁单煎液分析

酸枣仁单煎液中鉴定出50个色谱信号,除2个有机酸及其糖苷类成分[24-羟基美洲茶酸、美洲茶酸(出现2次)]、4个生物碱类成分(乌药碱、酸李碱/木兰花碱、木兰花碱/酸李碱、6-葡萄糖-乌药碱)、5个皂苷类成分(原酸枣仁皂苷A、原酸枣仁皂苷B、酸枣仁皂苷A、酸枣仁皂苷B、乙酰胺枣仁皂苷)外,其余成分均为黄酮类化合物。本研究对酸枣仁单煎液的鉴定结果见表1。以黄酮类成分为例进行分析。

酸枣仁中的黄酮类化合物大多为黄酮碳苷,在正离子模式下可少量检出;在负离子模式下,可较多检出,而且质谱裂解有较强的规律性,一般在与苷元直接相连的六碳糖上产生碎裂,脱去60(-CHO-CH₂OH)、90(-CHOH-CHO-CH₂OH)、120(-CHOH-CHOH-CHO-CH₂OH)质量单位的碎片峰^[8,23-24],见图8^[23]。

如化合物7准分子离子峰为 m/z 593 [M-H]⁻,二级质谱为 m/z 533 [M-H-60]⁻, m/z 503 [M-H-90]⁻, m/z 473 [M-H-120]⁻, m/z 413 [M-H-120-60]⁻, m/z 383 [M-H-120-90]⁻, m/z 353 [M-H-120-120]⁻, 2次脱去60、90、120质量单位的碎片离子,可以推断化合物7为由2个六碳糖分别与苷元直接相连的黄酮二碳苷。化合物12准分子离子峰为 m/z 593 [M-H]⁻,二级质谱为 m/z 413 [M-H-Glc-H₂O]⁻, m/z 353 [M-H-Glc-H₂O-60]⁻, m/z 293 [M-H-Glc-H₂O-120]⁻,有规律地产生脱去60、90、120质量单位的碎片峰,基本可以判断为六碳糖的黄酮碳苷类化合物。化合物15准分子离子峰为

表 1 HPLC-LTQ-Orbitrap MSⁿ 分析的酸枣仁单煎液中化合物

化合物	t_R /min	母离子	分子式	理论值	实测值	误差 (δ)	MS/MS ² /MS ³ 碎片 离子信息	推测化合物	参考文献
1	15.75	M^+	$C_{23}H_{29}NO_8$	448.196 59	448.195 37	- 2.729	(MS ² 448.22) 286.116 24 ; 6-葡萄糖-乌药碱 (MS ³ 448.19→286.12) 269.033 23, 237.133 94, 174.939 51, 106.935 88		[20]
2	20.91	$[M-H]^-$	$C_{15}H_{14}O_6$	289.070 66	289.070 19	- 1.642	(MS ² 289.07) 271.163 21, 儿茶素/表儿茶素 245.002 47, 230.978 00, 164.953 39, 160.837 10		[7]
3	21.42	$[M-H]^-$	$C_{15}H_{14}O_6$	289.070 66	289.070 34	- 1.123	(MS ² 289.07) 271.013 98, 表儿茶素/儿茶素 245.018 16, 205.061 34, 164.945 45, 160.939 09		[20]
4	28.30	M^+	$C_{17}H_{19}NO_3$	286.143 77	286.142 49	- 4.473	269.116 21, 254.093 06, 乌药碱 237.090 35, 209.095 41; (MS ³ 286.14→269.05) 106.860 78		[21]
5 [*]	34.58	M^+	$C_{20}H_{24}NO_4$	342.169 98	342.168 88	- 3.215	(MS ² 342.17→297.07) 282.049 19, 265.054 11, 237.009 03, 207.118 80, 165.028 32	酸李碱/木兰花碱	[7,21-22]
6 [*]	35.09	$[M-H]^-$	$C_{27}H_{30}O_{15}$	593.150 10	593.149 29	- 1.366	(MS ² 593.15) 533.393 07, 6,8-二碳葡萄糖基芹素 503.185 42, 473.139 22, 383.243 84, 353.125 55	(文赛宁-II, 维采宁)	[20]
7	36.53	$[M+H]^+$	$C_{42}H_{48}O_{23}$	921.265 91	921.265 44	- 0.510	759.212 16, 447.118 74, 429.087 77, 411.125 03, 392.813 02	6"- (4"-O-葡萄糖)-香草酰 斯皮诺素	[7]
8 [#]	37.52	$[M+H]^+$	$C_{27}H_{30}O_{15}$	595.165 75	595.164 12	- 2.733	(MS ² 595.16) 433.127 32, 415.113 22, 367.095 83, 313.095 52, 283.066 59	异牡荆素-2"-O-吡喃葡萄糖苷	[8]
9	37.90	$[M+H]^+$	$C_{21}H_{20}O_{10}$	433.113 47	433.111 76	- 3.952	(MS ² 433.11→415.12) 397.124 79, 379.132 75, 367.104 16, 337.060 52, 283.007 05	牡荆素/异牡荆素	[8]
10 [*]	38.05	M^+	$C_{20}H_{24}NO_4^+$	342.169 98	342.169 34	- 1.870	(MS ² 342.17→297.09) 282.040 86, 265.058 14, 255.078 09, 237.112 52, 206.981 78	木兰花碱/酸李碱	[7,21]
11	38.20	$[M+H]^+$	$C_{32}H_{38}O_{19}$	727.208 01	727.206 48	- 2.104	595.164 06, 581.148 25, 449.106 26, 287.054 14; (MS ² 727.21) 433.029 54	山茶苷 B	[8]
12 [#]	38.31	$[M-H]^-$	$C_{27}H_{30}O_{15}$	593.150 10	593.149 05	- 1.764	(MS ² 593.15) 413.117 00, 353.143 68, 325.213 68, 293.107 73 ; (MS ³ 593.15 →413.17) 334.860 11	异牡荆素-2"-O-吡喃葡萄糖苷	[20]
13	38.87	$[M+H]^+$	$C_{28}H_{32}O_{15}$	609.181 40	609.179 99	- 2.315	591.170 53, 489.138 18, 447.127 47, 429.117 19, 327.085 78	异金雀儿黄素-7-O-葡萄糖 苷/鸭跖黄酮苷	[8]
14 [#]	39.29	$[M+H]^+$	$C_{22}H_{22}O_{10}$	447.128 57	447.127 23	- 3.004	(MS ² 447.13) 411.109 16, 351.134 31; (MS ³ 447.13 →447.17) 429.094 79, 327.099 98, 297.048 83	当药黄素	[8]
15 [*]	39.37	$[M-H]^-$	$C_{27}H_{30}O_{16}$	609.145 01	609.143 86	- 1.890	301.071 29, 283.023 47, 257.080 78, 227.091 74, 221.067 64	芦丁	[12]
16 [*]	39.78	$[M-H]^-$	$C_{28}H_{32}O_{15}$	607.165 75	607.163 21	- 4.183	445.149 17, 427.101 07; (MS ³ 607.16→487.18) 367.115 66, 325.107 91; (MS ³ 607.16→427.15) 307.008 85	斯皮诺素	[8]

续表1

化合物	t_R/min	母离子	分子式	理论值	实测值	误差 (δ)	MS/MS ² /MS ³ 碎片离子信息	推测化合物	参考文献
17	40.67	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	431.097 27	431.097 02	- 0.580	394.888 12, 371.075 84, 341.065 06, 311.054 84, 269.210 66	异牡荆素	[20]
18 [#]	42.46	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	445.112 92	445.112 06	- 1.932	281.064 97; (MS ² 445.11) 385.301 61, 355.033 45, 325.105 22, 297.141 30	当药黄素	[20]
19 [#]	43.72	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{O}_{18}$	759.213 09	759.212 89	- 0.263	(MS ² 759.21) 639.068 42, 429.147 09, 381.124 51, 351.186 95, 327.125 73	6"-香草酰斯皮诺素	[8]
20 [#]	44.78	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{O}_{18}$	757.197 44	757.194 70	- 3.619	445.112 12; (MS ² 757.20) 637.257 87, 427.188 90, 367.196 72, 307.185 76	6"-香草酰斯皮诺素	[20]
21 [#]	45.71	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{O}_{17}$	729.202 53	729.201 48	- 1.440	(MS ² 729.20) 609.106 87, 447.083 31, 429.130 13, 351.105 77, 327.070 80	6"-对羟基苯甲酰斯皮诺素	[7]
22 [#]	45.95	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{O}_{18}$	771.213 09	771.212 10	- 1.284	595.165 04, 433.112 12, 397.094 70, 367.143 49, 337.058 84	异牡荆素-2"-O-6-阿魏酰-葡萄糖苷	[7]
23	46.19	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{44}\text{H}_{50}\text{NO}_{23}$	960.276 81	960.276 25	- 0.583	798.225 34, 780.209 72, 744.202 82, 392.814 24, 351.085 57	6"-O-(3S-葡萄糖-3-羟基-吡啶-乙酰基)斯皮诺素	[7]
24	46.20	$[\text{M} - \text{H}]^-$			942.262 39		(MS ² 942.6) 762.311 77, 607.263 43, 487.203 19, 444.928 83, 427.213 56	未知1 (斯皮诺素类黄酮碳苷化合物)	[21]
25	46.61	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{44}\text{H}_{50}\text{NO}_{22}$	944.281 90	944.281 92	0.023	824.124 88, 429.087 71, 392.814 33, 327.085 72, 297.111 51	6"-O-(3-葡萄糖吡啶-乙酰基)斯皮诺素	[7]
26	46.68	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	593.150 10	593.148 68	- 2.394	(MS ² 593.15) 327.161 68, 284.969 97, 256.068 82, 254.961 75, 241.161 85	山柰酚-3-O-芸香糖苷	[20]
27 [#]	47.07	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{O}_{17}$	727.187 42	727.184 57	- 3.925	(MS ² 727.18) 607.197 08, 445.191 16, 427.183 29, 325.176 27, 307.017 40	6"-对羟基苯甲酰斯皮诺素	[20]
28 [#]	48.76	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{O}_{18}$	769.197 99	769.194 95	- 3.951	593.148 80, 412.879 00, 353.085 48; (MS ³ 769.19 → 413.14) 395.202 94, 293.145 42	异牡荆素-2"-O-6-阿魏酰-葡萄糖苷	[20]
29	49.18	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{43}\text{H}_{52}\text{O}_{19}$	873.317 56	873.317 32	- 0.275	855.306 15, 837.223 27, 447.127 08, 429.151 37, 392.814 76	6"-dihydrophaseoylspinosin	[7]
30 [#]	51.26	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{39}\text{H}_{42}\text{O}_{19}$	815.239 31	815.239 07	- 0.294	609.180 54, 429.087 80, 411.361 54, 392.814 24, 327.085 63	6"-芥子酰斯皮诺素	[7]
31 [#]	51.64	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{39}\text{H}_{42}\text{O}_{19}$	813.224 20	813.220 76	- 4.230	696.782 59, 607.163 94; (MS ² 813.22) 427.174 62, 337.180 33, 307.105 41	6"-芥子酰斯皮诺素	[20]
32 [#]	52.17	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{O}_{17}$	755.218 18	755.216 92	- 1.668	609.179 81, 447.127 32, 429.116 73, 411.106 38, 393.095 52	6"-对香豆酰斯皮诺素	[7]
33 [*]	55.42	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{38}\text{H}_{40}\text{O}_{18}$	783.213 64	783.210 57	- 3.920	(MS ² 783.21) 607.185 79, 445.269 29, 427.164 98, 325.111 15, 307.082 34	6"-阿魏酰斯皮诺素	[20]
34	57.33	$[\text{M} - \text{H}]^-$			943.265 93		(MS ² 943.27) 607.162 54, 445.086 98, 427.215 64, 325.426 27, 306.691 44	未知2 (斯皮诺素类黄酮碳苷化合物)	[20]

续表1

化合物	t_R/min	母离子	分子式	理论值	实测值	误差 (δ)	MS/MS ² /MS ³ 碎片离子信息	推测化合物	参考文献
35	60.36	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{44}\text{H}_{50}\text{NO}_{22}$	944.281 90	944.281 92	0.023	(MS ³ 944.28→764.22) 746.315 06, 728.352 97, 393.184 69; (MS ³ 944.28→327.10) 327.150 51, 285.100 59	6''-O-(3-葡萄糖-吡喃-乙酰基)斯皮诺素	[7]
36	62.06	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{54}\text{H}_{58}\text{NO}_{26}$	1 136.324 16	1 136.323 12	- 0.915	974.290 77, 798.214 29; (MS ² 1136.32) 780.190 67, 762.279 91, 327.170 99	6''-O-(3S-葡萄糖-3-羟基-吡喃-乙酰基)-6'''-阿魏酰斯皮诺素	[7]
37 [#]	63.26	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{43}\text{H}_{50}\text{O}_{19}$	871.301 91	871.302 31	0.459	(MS ² 871.30) 447.106 08, 429.139 77, 393.252 50, 351.157 71, 327.169 31	6'''-(-)-phaseoylspinosin	[7]
38 [#]	65.05	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{43}\text{H}_{50}\text{O}_{19}$	869.286 80	869.283 02	- 4.348	(MS ² 869.28) 839.395 45, 607.259 22, 589.223 27, 445.130 13, 427.163 21	6'''-(-)-phaseoylspinosin	[20]
39	65.48	$[\text{M} - \text{H}]^-$			711.189 58		(MS ² 711.19) 589.210 14, 445.057 74, 427.126 95, 325.275 33, 307.122 86	未知 3 (斯皮诺素类黄酮碳苷化合物)	[20]
40 [#]	66.50	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{O}_{17}$	753.203 07	753.199 65	- 4.541	607.164 12; (MS ² 753.20) 445.237 73, 427.132 81, 325.103 21, 307.025 02	6'''-对香豆酰斯皮诺素	[20]
41	68.05	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{64}\text{H}_{106}\text{O}_{32}$	1 385.658 90	1 385.652 59	- 4.550	478.627 47; (MS ² 1385.65) 1 367.588 13, 1 253.457 76, 1 081.395 02, 949.631 35	原酸枣仁皂苷 A	[20]
42	70.34	$[\text{M} - \text{H}]^-$			1 118.309 81		(MS ² 1118.31) 998.276 98, 762.276 73, 663.232 12, 607.161 99, 427.325 41	未知 4 (斯皮诺素类黄酮碳苷化合物)	[20]
43	71.17	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{58}\text{H}_{96}\text{O}_{27}$	1 223.605 52	1 223.602 66	- 2.340	(MS ² 1223.60) 1205.487 55, 1 091.548 10, 919.423 34; (MS ³ 1 223.60→787.44) 625.493 23, 479.281 92	原酸枣仁皂苷 B	[20]
44 [*]	75.37	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{58}\text{H}_{94}\text{O}_{26}$	1 205.594 96	1 205.595 21	0.207	1 055.498 78, 911.442 63, 749.435 24, 603.258 67, 455.178 65	酸枣仁皂苷 A	[20]
45	77.39	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	285.039 36	285.038 88	- 1.684	(MS ² 285.04) 257.100 28, 229.123 72, 185.036 74, 169.042 97, 150.905 36	山柰酚	[20]
46 [*]	77.39	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{52}\text{H}_{84}\text{O}_{21}$	1 043.542 14	1 043.536 99	- 4.935	911.442 63, 893.262 63, 765.442 38, 749.435 24, 603.258 67	酸枣仁皂苷 B	[20]
47	78.65	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{54}\text{H}_{86}\text{O}_{22}$	1 085.552 70	1 085.548 71	- 3.676	1 043.538 45, 1 025.497 92, 911.462 71, 765.441 10, 749.386 41	乙酰酸枣仁皂苷	[20]
48	82.74	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_6$	501.321 07	501.320 62	- 0.889	471.309 84, 452.921 11, 439.067 05, 409.234 34, 379.133 54	24-羟基美洲茶酸	[7]
49	92.86	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_5$	485.326 15	485.325 87	- 0.579	315.252 38; (MS ² 485.33) 467.441 96, 439.350 80, 423.335 27; (MS ³ 485.33→423.34) 393.678 07	美洲茶酸信号 1	[7]
50	102.90	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_5$	485.326 15	485.326 35	0.410	(MS ² 485.33) 467.390 72, 439.299 80, 423.420 29, 399.241 42; (MS ³ 485.33→423.43) 393.330 81	美洲茶酸信号 2	[7]

注: *表示文献记载做过指纹图谱分析或含量测定的成分; #表示酸枣仁单煎液正负离子模式下均可检出的成分, 表 2~3 同。

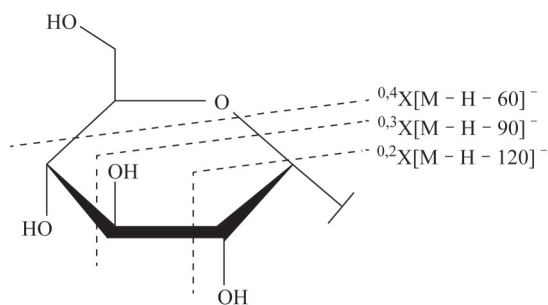


图8 黄酮C-糖苷糖环的裂解规律

m/z 607 $[M-H]^-$, 二级质谱为 m/z 445 $[M-H-Glc]^-$, m/z 427 $[M-H-Glc-H_2O]^-$, m/z 367 $[M-H-Glc-H_2O-60]^-$, m/z 337 $[M-H-Glc-H_2O-90]^-$, m/z 325 $[M-H-120-Glc]^-$, m/z 307 $[M-H-Glc-H_2O-120]^-$ 。化合物 **18** 准分子离子峰为 m/z 455 $[M-H]^-$, 二级质谱为 m/z 385 $[M-H-60]^-$, m/z 355 $[M-H-90]^-$, m/z 325 $[M-H-120]^-$, m/z 297 $[M-H-120-CO]^-$, m/z 281 $[M-H-120-CO-CH_3]^-$, 以上离子碎片符合当药黄素的裂解规律。化合物 **31** 准分子离子峰为 m/z 813 $[M-H]^-$, 二级质谱为 m/z 607 $[M-H-sinapoyl]^-$, m/z 427 $[M-H-sinapoyl-Glc-H_2O]^-$, m/z 337 $[M-H-sinapoyl-Glc-H_2O-90]^-$, m/z 307 $[M-H-sinapoyl-Glc-H_2O-120]^-$, 以上离子碎片符合6"-芥子酰斯皮诺素的裂解规律。结合文献^[7,12,20]推测化合物 **7**、**12**、**15**、**18**、**31** 分别为6, 8-二碳葡萄糖基芹菜素(文赛宁-II, 维采宁)、异牡荆素-2"-O-吡喃葡萄糖苷、斯皮诺素、当药黄素、6"-芥子酰斯皮诺素。化合物 **24**、**34**、**39**、**42** 一级质谱分别出现 m/z 942 $[M-H]^-$, 943 $[M-H]^-$, 711 $[M-H]^-$, 1118 $[M-H]^-$, 二级质谱均出现 m/z 607, 445, 427 等碎片离子, 与斯皮诺素的质谱行为相似, 提示其在C-6处具有和斯皮诺素相同的结构骨架和2个糖基团(葡萄糖), 推测其为斯皮诺素类黄酮碳苷化合物^[19-20]。6, 8-二碳葡萄糖基芹菜素(文赛宁-II, 维采宁)可能的裂解途径见图9。

3.3 五味子单煎液分析

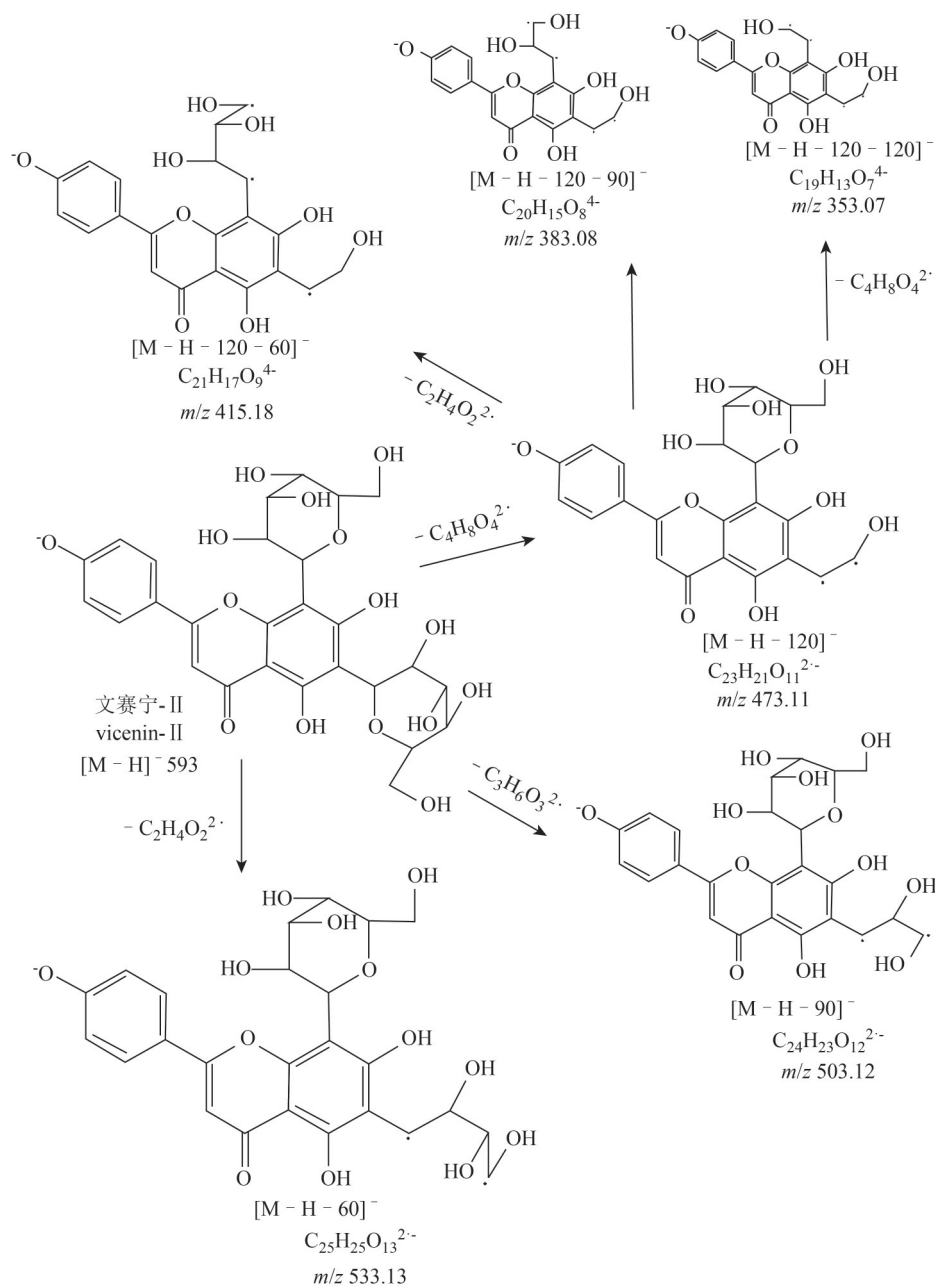
五味子单煎液中鉴定出32个色谱信号, 除12个有机酸、内酯类成分(异柠檬酸、柠檬酸、披针叶五味子二内酯C同分异构体1~3、披针叶五味子二内酯C、9, 12-亚油酸同分异构体1、 α -亚麻酸或同分异构体信号1、 α -亚麻酸或同分异构体信号2、内消

旋二氢愈疮木酯酸、 α -亚麻酸或同分异构体信号3、9, 12-亚油酸)外, 其余成分均为木脂素类化合物。本研究对五味子单煎液的鉴定结果见表2^[9,25-41]。

以木脂素类成分为例进行分析。五味子木脂素类化合物须在正离子模式下检测。常丢失 $-CH_3$ 、 $-OCH_3$ 、 $-CH_3OH$ 、 $-C_5H_{10}$ 、 $-C_6H_5COOH$ 、 $-C_2H_4O$ 、 $-CH_2O$ 等基团, 生成相应的质谱碎片。其中化合物 **12** 和 **19** 的误差均介于 $-5 \sim -10$ 。五味子酯甲与戈米辛G为同分异构体, 具有相似的裂解途径(图10)。故将五味子醇乙、五味子酯甲和存在于酸枣仁等多种常见中药中的化合物芦丁配制成的混合对照品在正离子模式下进样分析(图11), 确定其中 m/z 399 (t_R 21.29, 图11中蓝色实线框所示)和 m/z 415 (t_R 23.88, 图11中红色实线框所示)分别为此体系下五味子醇乙($C_{23}H_{28}O_7$)离子化并脱去1 H_2O 和五味子酯甲($C_{30}H_{32}O_9$)离子化并脱去1 $C_7H_6O_2$ 后形成的离子峰, 结合参考文献^[32,36], 确定化合物 **12** 为五味子醇乙, 推测化合物 **19** 可能为五味子酯甲或戈米辛G。

3.4 酸枣仁-五味子合煎液(2:1)分析

合煎液中鉴定出58个色谱信号, 其中23个信号(因当药黄素和6"-对羟基苯甲酰斯皮诺素在正、负离子模式下均可检出, 实为21个化合物)来自酸枣仁, 约占酸枣仁单煎液中检出化合物的1/2; 32个信号来自五味子, 即五味子单煎液中的绝大部分化合物在合煎液中可检出。本研究对酸枣仁-五味子合煎液(2:1)的鉴定结果见表3^[7-8,12,20-42]。与五味子单煎液不同的是, 合煎液比单煎液在 $C_{22}H_{26}O_6$ 同分异构体(m/z 387.18)提取离子流图(EIC) t_R 48.52 min附近多出明显的离子流峰, 一级质谱检出时间可认为在 t_R 48.48 min ($C_{22}H_{26}O_6$ 母离子误差为 -2.170)。结合文献推测, 合煎液中发生了来自五味子木脂素类化合物的转化^[42]。三级离子的提取结果佐证了以上猜想(以387.18为一级离子进行三级离子提取, 结果显示, 二级离子分别为 m/z 325.16、325.13、355.15、357.20时可在五味子单煎液中提取到三级离子, 二级离子分别为 m/z 325.13、325.22、355.21(2次)、357.13时可在酸枣仁-五味子(2:1)合煎液中提取到三级碎片, 即合煎液比单煎液在二级离子 m/z 355.21处多了1个三级离子的提取结果)。



注: ·表示单电子; 图 10 同。

图 9 6,8-二碳葡萄糖基芹素(文赛宁-II, 维采宁)可能的裂解途径

表 2 HPLC-LTQ-Orbitrap MSⁿ 分析的五味子单煎液中化合物

化合物	<i>t_R</i> /min	母离子	分子式	理论值	实测值	误差 (δ)	MS/MS ² /MS ³ 碎片离子信息	推测化合物	参考文献
1	5.71	[M - H] ⁻	C ₆ H ₈ O ₇	191.018 63	191.019 12	2.570	(MS ² 191.02) 172.987 30, 130.810 93, 128.924 96, 110.830 70, 86.88 902	柠檬酸/异柠檬酸	[9,25]
2	9.99	[M - H] ⁻	C ₆ H ₈ O ₇	191.018 63	191.019 04	2.152	(MS ² 191.02) 172.912 54, 130.917 05, 128.899 90, 110.818 39, 86.879 06	柠檬酸/异柠檬酸	[9,25]
3	72.39	[M - H] ⁻	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₀	543.222 47	543.221 98	- 0.902	(MS ² 543.22) 525.254 58, 499.290 89, 481.300 23, 445.272 77, 381.320 50	披针叶五味子二内酯 C 同分异构体 1	[26-28]

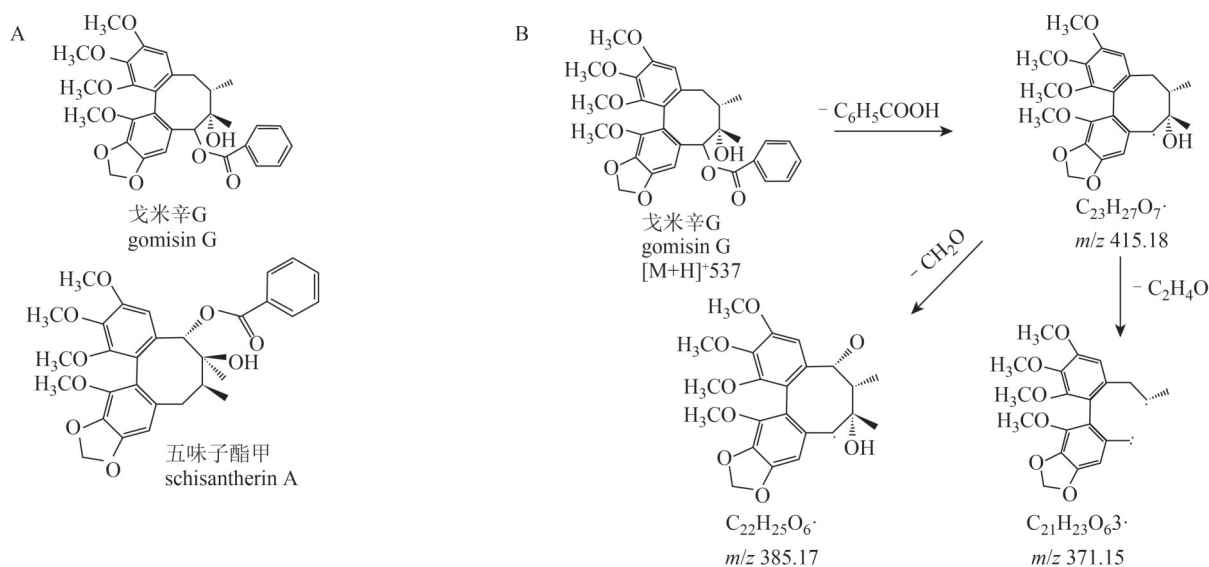
续表2

化合物	t_R/min	母离子	分子式	理论值	实测值	误差 (δ)	MS/MS ² /MS ³ 碎片 离子信息	推测化合物	参考文献
4	73.76	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{10}$	543.222 47	543.221 56	- 1.675	(MS ² 543.22) 525.253 30, 499.298 28, 481.231 02, 445.306 21, 397.446 96	披针叶五味子二内酯 C	[26-28]
5	78.01	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_6$	401.195 87	401.195 13	- 1.844	(MS ² 401.20) 386.193 39, 369.194 52, 337.152 13, 331.159 97, 300.252 56	γ -五味子素	[29]
6	79.08	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6$	387.180 22	387.180 33	0.284	(MS ² 387.18) 355.182 56, 326.233 12, 310.931 12, 234.996 86, 151.148 06	戈米辛 L ₁ /L ₂ /M ₁ /M ₂ 信号 1	[30]
7	80.10	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_9$	531.258 86	531.259 16	0.565	(MS ² 531.26) 453.280 27, 431.144 59, 387.339 78, 371.980 96, 357.069 15	当归酰戈米辛 Q/ 巴豆酰戈米辛 Q	[29]
8	81.00	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{10}$	543.222 47	543.221 92	- 1.012	(MS ² 543.22) 498.243 96; (MS ³ 543.22→499.35) 481.246 61, 379.760 31; (MS ³ 543.22→441.23) 423.292 08, 339.371 98	披针叶五味子二内酯 C 同分异构体 2	[26-28]
9 [*]	81.79	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{10}$	531.222 47	531.224 37	3.577	449.194 55, 424.341 06, 423.361 05, 401.194 85, 341.137 66	戈米辛 D	[31]
10	82.23	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{10}$	543.222 47	543.221 62	- 1.565	(MS ² 543.22) 483.233 83, 481.252 75, 441.265 99, 423.244 87, 379.169 31	披针叶五味子二内酯 C 同分异构体 3	[26-28]
11 [*]	84.93	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_6$	389.195 87	389.194 61	- 3.237	374.172 21, 358.172 06, 342.145 84, 319.117 16, 287.056 03	戈米辛 J	[32]
12 ^{Δ*}	85.84	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_7$	417.190 77	417.188 08	- 6.469	399.179 60, 268.108 55, 154.989 90; (MS ² 399.18) 369.223 91, 330.161 07,	五味子醇乙	空白
13	87.24	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_9$	515.227 56	515.226 14	- 2.754	(MS ² 515.23) 469.236 15, 385.150 09, 355.146 67, 323.113 16, 297.062 93	巴豆酰戈米辛 P	[33]
14	88.18	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	279.231 86	279.231 78	- 0.287	(MS ² 279.23) 261.260 53, 259.029 02, 243.230 29, 234.993 65, 233.280 43	9,12-亚油酸同分异构体 信号 1	[27-28]
15 [*]	89.86	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_6$	401.195 87	401.195 13	- 1.844	(MS ² 401.20) 386.203 70, 369.190 64, 337.178 77, 331.142 94, 300.159 85	五味子乙素	[29]
16	90.68	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	277.216 21	277.216 09	- 0.433	(MS ² 277.22) 275.275 30, 259.146 33, 233.210 24, 208.727 91, 179.054 78	α -亚麻酸或同分异构体 信号 1	[27-28]
17 [*]	90.85	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_7$	433.222 08	433.22000	- 4.801	415.174 19, 400.182 25, 384.156 10, 369.168 82, 353.137 76	五味子醇甲	[34-35]
18	92.14	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6$	387.180 22	387.179 11	- 2.867	368.160 92, 357.169 46, 355.153 05, 311.129 09, 235.168 64	戈米辛 L ₁ /L ₂ /M ₁ /M ₂ 信号 2	[30]
19 ^{Δ*}	94.35	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_9$	537.211 91	537.208 07	- 7.148	(MS ² 537.21) 437.227 54, 415.190 37, 371.149 11, 340.221 98, 258.785 98	五味子酯甲/戈米辛 G	空白
20 [*]	94.79	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_6$	403.211 52	403.210 51	- 2.505	(MS ² 403.21) 388.188 48, 371.148 04, 356.124 69, 340.129 79, 301.106 51	五味子酚	[37]
21	95.41	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_6$	403.211 52	403.210 39	- 2.802	(MS ² 403.21) 388.187 23, 371.185 76, 356.240 66, 331.143 52, 317.257 17	戈米辛 K ₁	[36]
22	97.77	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	277.216 21	277.216 37	0.577	(MS ² 277.22) 275.210 08, 259.279 60, 233.272 31, 208.745 36, 179.097 15	α -亚麻酸或同分异构体 信号 2	[27-28]

续表2

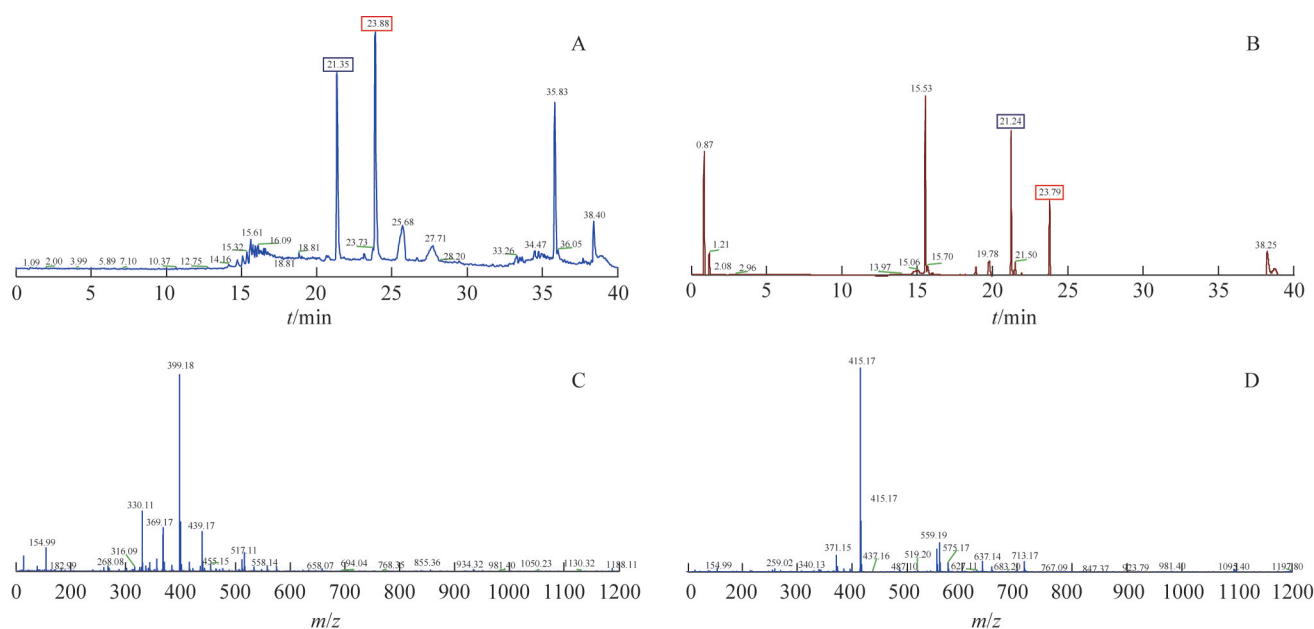
化合物	t_R/min	母离子	分子式	理论值	实测值	误差 (δ)	MS/MS ² /MS ³ 碎片离子信息	推测化合物	参考文献
23	98.22	$[M+H]^+$	$C_{23}H_{30}O_6$	403.211 52	403.210 69	- 2.058	(MS ² 403.21) 388.159 36, 371.184 54, 356.208 95, 340.166 14, 331.117 03	戈米辛 K ₂ /K ₃	[39]
24 [*]	98.49	$[M+H]^+$	$C_{28}H_{34}O_9$	515.227 56	515.226 32	- 2.407	(MS ² 515.23) 469.228 33, 385.144 35, 355.216 19, 343.108 76, 323.116 09	五味子酯乙/五味子酯丙	[40]
25	99.69	$[M+H]^+$	$C_{28}H_{34}O_9$	515.227 56	515.226 07	- 2.892	(MS ² 515.23) 469.242 43, 385.164 86, 355.212 22, 323.104 43, 316.221 19	戈米辛 E	[33]
26	101.31	$[M+H]^+$	$C_{22}H_{26}O_6$	387.180 22	387.179 26	- 2.479	(MS ³ 387.18→357.20) 326.161 71, 234.960 60, 221.113 83, 180.991 27, 136.927 11	五味子酚乙 (五味子酚B)	[37]
27 [*]	103.55	$[M+H]^+$	$C_{24}H_{32}O_6$	417.227 17	417.226 01	- 2.769	402.193 91, 370.185 03, 361.164 86, 347.167 24, 316.156 25	五味子甲素	[27]
28	105.72	$[M+H]^+$	$C_{23}H_{28}O_6$	401.195 87	401.195 07	- 1.994	(MS ² 401.20) 383.210 33, 368.536 04, 353.256 23, 325.159 21, 314.434 78	戈米辛 R	[29,31]
29	106.31	$[M+H]^+$	$C_{23}H_{28}O_6$	401.195 87	401.195 10	- 1.919	(MS ² 401.20) 386.186 68, 371.185 73, 331.123 99, 300.062 96, 273.117 74	戈米辛 N	[41]
30 [*]	107.61	$[M+H]^+$	$C_{22}H_{24}O_6$	385.164 56	385.163 57	- 2.570	370.171 36, 315.085 66; (MS ² 385.16) 355.141 85; (MS ³ 385.16→315.11) 300.141 94, 285.019 35	五味子丙素	[27]
31	109.94	$[M-H]^-$	$C_{18}H_{30}O_2$	277.216 21	277.215 94	- 0.974	(MS ² 277.22) 275.331 60, 259.228 91, 257.468 44, 233.195 56, 179.087 68	α -亚麻酸或同分异构体 信号 3	[27-28]
32	113.52	$[M-H]^-$	$C_{18}H_{32}O_2$	279.231 86	279.231 87	0.036	(MS ² 279.23) 261.181 34, 259.208 31, 243.120 24, 154.679 17, 82.953 38	9,12-亚油酸	[27-28]

注: ^{*}表示化合物 12 和 19 的鉴定分别参考了五味子醇乙和五味子酯甲对照品。



注: A. 戈米辛G及五味子酯甲结构式; B. 戈米辛G可能的裂解途径。

图10 戈米辛G、五味子酯甲结构式及戈米辛G可能的裂解途径



注: A. 混合对照品(芦丁、五味子醇乙、五味子酯甲,均为 $20\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)正离子模式TIC; B. 混合对照品UV 254 nm响应; C. 五味子醇乙对照品正离子模式MS碎片(t_R 21.29 min); D. 五味子酯甲对照品正离子模式MS一级碎片(t_R 23.88 min)。

图11 混合对照品在正离子模式下的TIC、UV(254 nm)响应及五味子醇乙(t_R 21.29 min)、五味子酯甲(t_R 23.88 min)MS一级碎片

3.5 酸枣仁-五味子合煎液(2:1)分析

合煎液中鉴定出58个色谱信号,其中23个信号(因当药黄素和6"-对羟基苯甲酰斯皮诺素在正、负离子模式下均可检出,实为21个化合物)来自酸枣仁,约占酸枣仁单煎液中检出化合物的1/2;32个信号来自五味子,即五味子单煎液中的绝大部分化合物在合煎液中可检出。本研究对酸枣仁-五味子合煎液(2:1)的鉴定结果见表3^[7-8,12,20-42]。与五味子单煎液不同的是,合煎液比单煎液在 $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6$ 同分异构体(m/z 387.18)提取离子流图(EIC) t_R 48.52 min

附近多出明显的离子流峰,一级质谱检出时间可认为在 t_R 48.48 min($\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6$ 母离子误差为-2.170)。结合文献推测,合煎液中发生了来自五味子木脂素类化合物的转化^[42]。三级离子的提取结果佐证了以上猜想(以387.18为一级离子进行三级离子提取,结果显示,二级离子分别为 m/z 325.16、325.13、355.15、357.20时可在五味子单煎液中提取到三级离子,二级离子分别为 m/z 325.13、325.22、355.21(2次)、357.13时可在酸枣仁-五味子(2:1)合煎液中提取到三级碎片,即合煎液比单煎液在二级离子 m/z 355.21处多了1个三级离子的提取结果)。

表3 HPLC-LTQ-Orbitrap MSⁿ分析的酸枣仁-五味子合煎液(2:1)中化合物的质谱数据

化合物	t_R/min	母离子	分子式	理论值	实测值	误差(δ)	MS/MS ² /MS ³ 碎片离子信息	推测化合物	来源
1	4.79	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	191.018 63	191.018 94	1.628	127.003 70; (MS ² 191.02) 110.858 05, 92.897 52, 86.861 01, 84.891 25	异柠檬酸	五味子
2	9.89	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	191.018 63	191.018 98	1.838	129.019 18; (MS ² 191.02) 130.847 81, 110.827 91, 100.769 45, 86.896 64	柠檬酸	五味子
3	20.89	$[\text{M}-\text{H}]^-$	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	289.070 66	289.070 13	-1.849	271.045 75, 245.065 61, 231.049 76, 165.055 08, 161.045 06	儿茶素/表儿茶素	酸枣仁
4	28.35	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_3$	286.143 77	286.142 97	-2.796	269.116 18, 254.101 94, 237.220 75, 209.043 8, 106.991 55	乌药碱	酸枣仁

续表3

化合物	t_R/min	母离子	分子式	理论值	实测值	误差 (δ)	MS / MS ² / MS ³ 碎片离子信息	推测化合物	来源
5 [*]	34.84	[M + H] ⁺	C ₂₀ H ₂₄ NO ₄ ⁺	342.169 98	342.169 59	- 1.140	(MS ³ 342.17→297.09) 282.060 67, 265.040 01, 237.023 44, 206.922 00, 164.996 32	酸李碱/木兰花碱	酸枣仁
6	38.80	[M + H] ⁺	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	609.181 40	609.179 63	- 2.906	489.192 47, 447.121 43, 429.087 40, 327.158 54	异金雀儿黄素-7-O-葡萄糖苷/鸭跖黄酮苷	酸枣仁
7 [*]	39.78	[M - H] ⁻	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	607.165 75	607.163 21	- 4.183	445.170 23, 427.195 10, 367.135 80, 307.139 10	斯皮诺素	酸枣仁
8 [#]	40.25	[M + H] ⁺	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	447.128 57	447.129 49	2.050	429.087 46, 411.161 32, 351.091 00, 327.083 37, 297.081 09	当药黄素	酸枣仁
9 [*]	40.59	[M - H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.145 01	609.143 55	- 2.399	301.034 30, 283.081 05, 257.081 60, 245.047 97, 151.039 75	芦丁	酸枣仁
10	40.67	[M - H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.097 27	431.096 07	- 2.791	395.190 80, 371.093 35, 341.108 15, 311.039 89, 269.210 57	异牡荆素	酸枣仁
11 [#]	42.44	[M - H] ⁻	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	445.112 92	445.114 23	2.936	384.933 99, 355.062 87, 297.076 32, 281.138 55	当药黄素	酸枣仁
12 [*]	46.41	[M - H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.150 10	593.14905	- 1.764	533.148 99, 503.175 78, 473.201 11, 383.170 47	6,8-二碳葡萄糖基芹菜素 (文赛宁-II, 维采宁)	酸枣仁
13	46.71	[M - H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.150 10	593.149 05	- 1.770	(MS ² 593.15) 327.276 98, 285.009 16, 256.006 01, 255.075 23, 241.036 85	山柰酚-3-O-芸香糖苷	酸枣仁
14 [*]	47.08	[M - H] ⁻	C ₃₅ H ₃₆ O ₁₇	727.187 42	727.186 40	- 0.654	(MS ² 727.18) 607.292 05, 445.205 32, 427.195 89, 306.917 76	6"-对羟基苯甲酰斯皮诺素	酸枣仁
15 [*]	47.39	[M + H] ⁺	C ₃₅ H ₃₆ O ₁₇	729.202 53	729.201 48	- 1.440	447.115 05, 429.087 49, 351.067 41, 327.083 25	6"-对羟基苯甲酰斯皮诺素	酸枣仁
16	48.48	[M + H] ⁺	C ₂₂ H ₂₆ O ₆	387.180 22	387.179 38	- 2.170	386.172 09, 371.100 59, 355.069 21, 329.137 79, 219.173 77	戈米辛 L ₁ /L ₂ /M ₁ /M ₂ 信号1	五味子
17 [*]	55.30	[M - H] ⁻	C ₃₈ H ₄₀ O ₁₈	783.213 64	783.20886	- 5.402	607.237 73, 427.194 95, 325.091 16, 309.917 63	6"-阿魏酰斯皮诺素	酸枣仁
18 [*]	67.22	[M - H] ⁻	C ₃₇ H ₃₈ O ₁₇	753.203 07	753.20361	1.439	607.227 05, 445.185 00, 427.197 39, 306.917 82	6"-对香豆酰斯皮诺素	酸枣仁
19	72.12	[M - H] ⁻	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₀	543.222 47	543.222 05	- 0.773	381.189 15; (MS ² 543.22) 525.311 71, 499.312 19, 481.200 56, 445.235 23	披针叶五味子二内酯C 同分异构体1	五味子
20 [*]	72.36	[M + H] ⁺	C ₂₈ H ₃₆ O ₈	501.248 29	501.247 16	- 2.254	485.215 48, 483.235 41, 468.210 33, 401.194 73	当归酰戈米辛 H/巴豆酰戈米辛 H	五味子
21	73.47	[M - H] ⁻	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₀	543.222 47	543.221 86	- 1.123	(MS ² 543.22) 525.224 91, 499.273 93, 481.249 21, 445.271 48, 397.386 29	披针叶五味子二内酯C	五味子
22 [*]	75.73	[M - H] ⁻	C ₃₈ H ₃₄ O ₂₆	1 205.594 96	1 205.593 63	- 1.102	1 055.393 43, 911.336 61, 749.227 84, 603.241 82, 455.168 43	酸枣仁皂苷 A	酸枣仁
23	77.30	[M - H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.039 36	285.038 88	- 1.700	257.081 09, 229.143 42, 185.117 51, 169.013 52, 151.001 01	山柰酚	酸枣仁
24	79.26	[M + H] ⁺	C ₂₂ H ₂₆ O ₆	387.180 22	387.180 51	0.749	(MS ² 387.18) 368.263 82, 357.231 41, 356.177 70, 251.276 25, 235.093 41	戈米辛 L ₁ /L ₂ /M ₁ /M ₂ 信号2	五味子

续表3

化合物	t_R/min	母离子	分子式	理论值	实测值	误差 (δ)	MS / MS ² / MS ³ 碎片离子信息	推测化合物	来源
25*	80.80	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{10}$	531.222 47	531.222 11	- 0.678	449.231 69, 424.341 13, 423.173 61, 401.190 28, 341.173 22	戈米辛 D	五味子
26	82.17	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{10}$	543.222 47	543.221 80	- 1.233	(MS ² 543.22) 483.274 72, 481.301 94, 441.240 72, 423.179 38, 379.258 06	披针叶五味子二内酯 C 同分异构体 3	五味子
27	82.20	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_9$	531.258 86	531.258 30	- 1.054	(MS ² 531.26) 453.214 17, 431.339 54, 387.275 88, 371.190 19, 357.225 77	当归酰戈米辛 Q/巴豆酰戈米辛 Q	五味子
28	82.32	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_6$	501.321 07	501.321 66	1.186	471.200 68, 453.225 98, 439.182 62, 409.146 15, 379.209 59	24-羟基美洲茶酸	酸枣仁
29*	84.87	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_7$	417.190 77	417.189 06	- 4.122	399.178 80, 369.168 70, 353.173 98, 337.142 27, 330.108 98	五味子醇乙	五味子
30*	85.07	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_6$	389.195 87	389.195 34	- 1.362	(MS ² 389.19) 374.192 29, 358.133 21, 342.185 88, 319.114 14, 287.062 99	戈米辛 J	五味子
31	87.33	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_9$	515.227 56	515.225 95	- 3.123	(MS ² 515.23) 469.230 59, 385.145 20, 355.155 33, 323.142 82, 297.140 11	巴豆酰戈米辛 P	五味子
32	88.14	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	279.231 86	279.232 15	1.039	(MS ² 279.23) 261.261 23, 259.113 77, 243.293 88, 235.100 95, 233.210 17	9,12-亚油酸同分异构体信号 1	五味子
33	90.71	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	277.216 21	277.216 19	- 0.072	275.199 83, 258.978 82, 233.153 63, 209.044 74, 178.956 85	α -亚麻酸或同分异构体信号 1	五味子
34	92.23	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6$	387.180 22	387.179 17	- 2.712	(MS ² 387.18) 368.343 48, 357.167 88, 356.177 70, 372.160 19, 235.215 33	戈米辛 L ₁ /L ₂ /M ₁ /M ₂ 信号 3	五味子
35	92.65	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_5$	485.326 15	485.325 59	- 1.156	467.279 91, 423.178 99, 398.902 25, 393.190 31, 315.252 69	美洲茶酸信号 1	酸枣仁
36*	94.35	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_9$	537.211 91	537.208 92	- 5.566	437.156 68, 415.174 56, 385.164 31, 371.148 96, 340.130 52	五味子酯甲/戈米辛 G	五味子
37*	94.73	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_6$	403.211 52	403.210 45	- 2.654	(MS ² 403.21) 388.177 15, 371.197 91, 356.199 31, 340.202 97, 315.264 80	五味子酚	五味子
38	95.09	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_6$	403.211 52	403.210 39	- 2.802	(MS ² 403.21) 388.248 69, 356.158 51, 331.050 69, 317.329 10; (MS ³ 403.21 $\rightarrow$ 340.22) 325.162 93	戈米辛 K ₁	五味子
39	96.12	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	279.231 86	279.231 90	0.143	(MS ² 279.23) 261.120 18, 259.149 72, 235.278 08, 233.152 53, 82.944 41	9,12-亚油酸同分异构体信号 2	五味子
40	97.05	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_6$	403.211 52	403.210 72	- 1.984	(MS ² 403.21) 388.224 43, 371.173 89, 356.202 85, 331.232 54, 317.142 64	戈米辛 K ₂ /K ₃	五味子
41*	98.36	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_7$	433.222 08	433.222 14	0.139	415.174 13, 400.151 92, 384.156 68, 369.169 71, 353.138 09	五味子醇甲	五味子
42*	98.66	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_9$	515.227 56	515.225 95	- 3.125	(MS ² 515.23) 469.213 75, 385.203 61, 355.116 82, 343.248 78, 323.175 17	五味子酯乙/五味子酯丙	五味子

续表3

化合物	t_R/min	母离子	分子式	理论值	实测值	误差 (δ)	MS / MS ² / MS ³ 碎片离子信息	推测化合物	来源
43	99.59	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6$	387.180 22	387.179 02	- 3.099	(MS ³ 387.18→357.13) 326.152 01, 221.109 47, 205.205 98, 181.072 24, 136.946 29	五味子酚乙 (五味子酚B)	五味子
44	99.73	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_9$	515.227 56	515.225 52	- 3.959	(MS ² 515.23) 469.248 47, 385.159 24, 355.217 83, 323.131 71, 316.152 59	戈米辛 E	五味子
45	103.13	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_5$	485.326 15	485.325 65	- 1.030	467.315 40, 439.319 49, 399.346 13, 393.308 84, 315.252 53	美洲茶酸信号 2	酸枣仁
46*	103.46	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_6$	417.227 17	417.225 83	- 3.212	402.203 03, 370.176 85, 361.164 70, 347.148 22, 316.129 82	五味子甲素	五味子
47*	106.01	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_6$	385.164 57	385.165 62	2.739	370.177 03, 315.122 50; (MS ² 385.16) 355.195 53; (MS ³ 385.16→355.17) 323.154 17, 285.050 66	五味子丙素	五味子
48*	107.72	$[\text{M} + \text{H}]^+$	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_6$	401.195 87	401.195 07	- 1.994	386.215 61, 371.168 03, 331.110 29, 301.157 26, 300.118 62	五味子乙素	五味子
49	109.98	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	277.216 21	277.215 91	- 1.082	(MS ² 272.22) 275.235 87, 259.233 64, 257.281 31, 233.249 33, 179.100 20	α -亚麻酸或同分异构体信号 2	五味子
50	113.52	$[\text{M} - \text{H}]^-$	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	279.231 86	279.231 90	0.143	(MS ² 279.23) 261.310 36, 259.265 56, 243.264 37, 154.875 34, 82.944 41	9,12-亚油酸	五味子

4 讨论

一般而言,具有碱性基团的化合物适合质谱正离子模式分析,具有酸性基团的化合物适合质谱负离子模式分析^[8]。酸枣仁、五味子中同时具有碱性和酸性基团,理论上在质谱正、负离子模式下均有响应值,故本实验分别选用正、负离子模式对酸枣仁单煎液、五味子单煎液、酸枣仁-五味子(2:1)合煎液进行分析,较为全面地进行了以上三者的化学成分表征。酸枣仁单煎液中10个曾做过含量测定的化合物中,只有2个黄酮类成分(6'''-对羟基苯甲酰斯皮诺素、6'''-对香豆酰斯皮诺素)在正、负离子模式下可同时检出,其余4个黄酮类(文赛宁-Ⅱ、6'''-阿魏酰斯皮诺素、芦丁、斯皮诺素)、2个生物碱(酸李碱、木兰花碱)、2个皂苷(酸枣仁皂苷A、酸枣仁皂苷B)成分仅在负离子模式下可检出,验证了负离子模式适宜分析酸枣仁中的化合物(黄酮和三萜皂苷类化合物均含有多个羟基等酸性基团,在负离子模式下,羟基易形成稳定的氧负离子^[8]),对酸枣仁的化学成分研究结果进行了补充。

相关研究对酸枣仁-五味子药对1:1配伍的单煎液、合煎液进行了UPLC指纹图谱分析和HPLC含量测定^[5-6],在酸枣仁单煎液指纹图谱中确定了11个共有峰,在五味子单煎液指纹图谱中确定了10个共有峰,在酸枣仁-五味子合煎液指纹图谱中确定了16个共有峰,并鉴定了其中的斯皮诺素、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素5个成分;发现与单煎液相比,除五味子甲素外,合煎液中的斯皮诺素、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子乙素的溶出成分峰面积均降低;酸枣仁皂苷A与五味子醇甲的含量在合煎液中显著降低,与单煎液差异有统计学意义($P<0.01$);本研究在合煎液中酸枣仁皂苷B缺失的结果与之显示出一致趋势。

此外,本研究以80%乙醇和水各进行1h加热回流提取,较全面地提取了其中的化合物;在此前提下,合煎液中鉴定出的酸枣仁化合物在数量上仅为单煎液中的1/2,五味子中的戈米辛R、戈米辛N、 γ -五味子素(及1个 α -亚麻酸或其同分异构体的信号)在合煎液中缺失,进一步说明以上两药配伍煎煮时可能因各化学成分之间的反应,溶液pH的变

化,皂苷、鞣质等成分的影响,受热水解等过程的影响导致组分的溶出率降低^[6]。不同的是,本研究通过合煎液中增加了1个五味子木脂素离子峰的结果,推测合煎过程也可能增加化合物溶出或使化合物发生结构转化。

中医理论认为,酸枣仁与五味子同具酸味,均具有养心安神、收敛固涩之功效,符合“七情和合”的组合原理;两者配伍用量以酸枣仁为多,说明在此相须药对中,酸枣仁为君药,五味子为臣药^[43]。本课题组前期实验研究表明,酸枣仁-五味子(2:1)配伍时,具有显著的抗焦虑作用,其抗焦虑效果优于酸枣仁、五味子单独使用,两者的配伍作用机制尚不明确。利用高分辨质谱技术结合质谱结构解析软件,研究酸枣仁、五味子配伍前后化学成分的变化,为两者配伍前后在体内吸收、分布、代谢、排泄过程的研究提供参考,有助于阐明两者配伍作用机制,指导临床用药。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020.
- [2] 白丽婷,王莹,高卓林,等. 五味子酸枣仁软胶囊改善动物睡眠功能的研究[J]. 特产研究,2019,41(3):44-47.
- [3] 刘洁,赵程博文,石晋丽,等. 酸枣仁-五味子药对在中医方剂中的应用规律分析[J]. 中医药学报,2018,46(3):9-13.
- [4] 刘洁. 基于HPA轴及BDNF-ERK-ECS信号通路探讨酸枣仁-五味子药对的抗焦虑作用及其机制[D]. 北京:北京中医药大学,2018.
- [5] 高家荣,吴溪,韩燕全,等. 酸枣仁-五味子药对的单煎液、单煎混合液与合煎液UPLC特征指纹图谱相关性研究[J]. 中成药,2013,35(5):1001-1005.
- [6] 高家荣,周丽,韩燕全,等. HPLC法测定酸枣仁与五味子配伍前后酸枣仁皂苷A和五味子醇甲[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(7):38-41.
- [7] 王卫记,罗建光,孔令义. HPLC-ESI-MSⁿ分析酸枣仁有效部位的化学成分[J]. 中国中药杂志,2009,34(21):2768-2773.
- [8] 毛怡宁,武文奇,康莹,等. 酸枣仁中化学成分UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS快速分析[J]. 中国中药杂志,2018,43(24):4884-4891.
- [9] 夏丽文,彭丽萍,杨东华,等. 超高效液相色谱-电喷雾飞行时间质谱分析五味子化学成分[J]. 中医药信息,2012,29(4):27-30.
- [10] 杨旭,冉瑞雪,宋伟,等. 酸枣仁黄酮HPLC指纹图谱建立及2种成分测定[J]. 中成药,2017,39(5):989-992.
- [11] 宋伟,唐生安,曹冰雁,等. 酸枣仁黄酮部位不同配伍的解郁安神作用及谱-效相关性分析[J]. 中草药,2018,49(5):1123-1131.
- [12] 李自红,魏悦,范毅,等. 芦丁的电喷雾离子阱质谱分析[J]. 分析试验室,2015,34(2):186-189.
- [13] 杨奕. 酸枣仁生物碱部位质量控制方法及其抗抑郁作用机制的研究[D]. 天津:天津医科大学,2013.
- [14] 李冰洁,宋伟,宋方芹,等. HPLC-DAD同时测定酸枣仁提取物中生物碱与黄酮类成分[J]. 中药材,2017,40(10):2376-2379.
- [15] 周赛男. 酸枣仁及桑白皮质量研究[D]. 太原:山西医科大学,2019.
- [16] 杨军宣,周年华,张建刚,等. HPLC-ELSD法同时测定复方枣仁胶囊中酸枣仁皂苷A和B[J]. 中成药,2013,35(10):2179-2182.
- [17] 孙小玲,朱麒麟,何凡. RRLC法同时测定天王补心丸中6种木脂素类成分的含量[J]. 中国药事,2016,30(11):1112-1116.
- [18] 白宏博,冯志强,史鑫波,等. 超高压液相色谱法同时测定北五味子中7种木脂素类化合物[J]. 天然产物研究与开发,2017,29(4):605-609.
- [19] 陈舒舒,石婧婧,邹立思,等. UFLC-Q-TRAP-MS/MS同时测定五味子中木脂素及有机酸类成分[J]. 中国中药杂志,2018,43(10):2104-2111.
- [20] 张敏. 酸枣仁水提取物体内过程研究[D]. 太原:山西大学,2019.
- [21] ZHANG F X, LI M, QIAO L R, et al. Rapid characterization of Ziziphi Spinosae Semen by UPLC/Qtof MS with novel informatics platform and its application in evaluation of two seeds from Ziziphus species[J]. J Pharm Biomed Anal,2016,122:59-80.
- [22] 朱云祥,陈璐琳,龚婧如,等. LC-Q-TOF-MS及LC-IT-MS分析酸枣仁汤的化学成分[J]. 中国中药杂志,2014,39(3):457-465.
- [23] MA L H, SONG J, SHI Y Q, et al. Anti-hepatitis B virus activity of chickweed [*Stellaria media* (L.) Vill.] extracts in HepG2. 2. 15 cells[J]. Molecules,2012,17(7):8633-8646.
- [24] 吴新安,都模勤. 黄酮碳苷类化合物ESIMS-MS裂解规律初探[J]. 天然产物研究与开发,2011,23(6):1085-1087.
- [25] 牛研,王书芳. LC-Q-TOF-MS和LC-IT-MSⁿ分析当归芍药散中化学成分[J]. 中草药,2014,45(8):1056-1062.
- [26] SHI P Y, HE Q, ZHANG Y F, et al. Characterisation and identification of isomeric dibenzocyclooctadiene lignans from *Schisandra Chinensis* by high-performance liquid

- chromatography combined with electrospray ionisation tandem mass spectrometry[J]. *Phytochem Anal*, 2009, 20(3):197-206.
- [27] YANG S S, SHAN L L, LUO H M, et al. Rapid classification and identification of chemical components of *Schisandra chinensis* by UPLC-Q-TOF/MS combined with data post-processing [J]. *Molecules*, 2017, 22(10): E1778.
- [28] 李斌. 北五味子三萜类化合物分离纯化、结构鉴定及抗肝癌活性研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学, 2011.
- [29] HUANG X, SONG F R, LIU Z Q, et al. Studies on lignan constituents from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. fruits using high-performance liquid chromatography/electrospray ionization multiple-stage tandem mass spectrometry [J]. *J Mass Spectrom*, 2007, 42(9): 1148-1161.
- [30] HE X G, LIAN L Z, LIN L Z. Analysis of lignan constituents from *Schisandra chinensis* by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 1997, 757(1/2):81-87.
- [31] GAO Y, WU S M, CONG R H, et al. Characterization of lignans in *Schisandra chinensis* oil with a single analysis process by UPLC-Q/TOF-MS [J]. *Chem Phys Lipids*, 2019, 218:158-167.
- [32] WANG J Y, JIANG B, SHAN Y Y, et al. Metabolic mapping of *Schisandra chinensis* lignans and their metabolites in rats using a metabolomic approach based on HPLC with quadrupole time-of-flight MS/MS spectrometry[J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(2):378-388.
- [33] LIU K Y, SONG Y G, LIU Y L, et al. An integrated strategy using UPLC-QTOF-MS^E and UPLC-QTOF-MRM (enhanced target) for pharmacokinetics study of wine processed *Schisandra Chinensis* fructus in rats [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 139:165-178.
- [34] ZOU D X, WANG J F, ZHANG B, et al. Analysis of chemical constituents in wuzi-yanzong-wan by UPLC-ESI-LTQ-orbitrap-MS [J]. *Molecules*, 2015, 20(12): 21373-21404.
- [35] 惠婷婷, 夏忠庭, 张兰兰, 等. HPLC-ESI-MS分析郁舒颗粒的化学成分[J]. *药物分析杂志*, 2013, 33(4):586-594.
- [36] 李伟, 刘亚丽, 宋永贵, 等. UPLC-Q-TOF-MSE结合OPLS-DA模式快速鉴定南、北五味子化学成分与识别差异标志物[J]. *中草药*, 2015, 46(15):2212-2218.
- [37] 王洪洁, 陈延镛. 红花五味子中木脂素成分的化学研究[J]. *药学报*, 1985, 20(11):832-841.
- [38] 黄鑫, 宋凤瑞, 刘志强, 等. 五味子中木脂素类成分的高效液相色谱-电喷雾质谱研究[J]. *化学学报*, 2008, 66(9):1059-1066.
- [39] IKEYA Y, TAGUCHI H, YOSIOKA I. The constituents of *Schizandra chinensis* Baill. VII. The structures of three new lignans, (-)-gomisin K1 and (+)-gomisins K2 and K3[J]. *Chem Pharm Bull*, 1980, 28(8):2422-2427.
- [40] 李伟, 宋永贵, 刘匡一, 等. UHPLC-QTOF/MS^E与代谢组学技术对北五味子炮制前后化学成分迁移研究[J]. *药学报*, 2016, 51(9):1445-1450.
- [41] KIM S J, SHIN H, CHEON S M, et al. A sensitive UHPLC-MS/MS method for the simultaneous quantification of three lignans in human plasma and its application to a pharmacokinetic study[J]. *J Sep Sci*, 2017, 40(17):3430-3439.
- [42] 丁博, 陈文锐, 王志元, 等. 高效液相色谱-串联三重四级杆飞行时间质谱法鉴别五味子中木脂素成分[J]. *食品科学*, 2018, 39(8):160-166.
- [43] 吴溪, 高家荣, 吴德林, 等. 酸枣仁-五味子药对不同配比的中医应用数据分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(22):273-276.

(收稿日期: 2020-09-28 编辑: 王笑辉)