

# 天智颗粒的化学成分及入血成分定性分析<sup>Δ</sup>

杨 成<sup>1\*</sup>, 胡 镨<sup>2#</sup>, 韩鹏昭<sup>1</sup>, 宋军营<sup>2</sup>, 张振强<sup>2</sup>, 孙 宁<sup>2</sup>, 王 潘<sup>2</sup>, 谢治深<sup>2</sup>, 李中华<sup>2</sup>(1. 河南中医药大学药学院, 郑州 450046; 2. 河南中医药大学中医药科学院, 郑州 450046)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)24-2973-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.24.06



**摘要** **目的** 定性分析天智颗粒的化学成分及入血成分,为阐明天智颗粒的药效物质基础提供参考。**方法** 采用超高效液相色谱-电喷雾-四极杆-飞行时间-串联质谱(UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS)技术,以Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub>为色谱柱,以0.5%甲酸水溶液-乙腈为流动相进行梯度洗脱,流速为0.3 mL/min,柱温为40 °C,进样量为10 μL。使用电喷雾离子源,在正离子模式下进行全扫描检测。运用MS-DIAL4.60工作站采集数据,通过与相关文献和SciFinder、PubChem、MassBank、TCMSP、TCM-ID等数据库进行对比,分析天智颗粒提取物(以50%甲醇为溶剂)的化学成分;对比空白血清、给药血清、天智颗粒提取物,分析入血成分。**结果** 从天智颗粒中初步鉴定出100个化合物,包括46个黄酮类、8个有机酸类、8个生物碱类、6个萜类、6个香豆素类、2个醌类、1个甾体类、7个糖苷类和16个其他类化合物。在此基础上,初步鉴定出10个原型入血成分,其中金雀异黄酮、千层纸素A、白杨素-7-*O*-β-葡萄糖醛酸苷、芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、6-*O*-甲基黄芩苷为黄酮类,2-羟基喹啉和异柯楠碱为生物碱类,7-羟基香豆素为香豆素类,1-茛醇为其他类。**结论** 2-羟基喹啉、7-羟基香豆素、金雀异黄酮、千层纸素A、异柯楠碱、白杨素-7-*O*-β-葡萄糖醛酸苷、芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、6-*O*-甲基黄芩苷可能是天智颗粒的药效物质。

**关键词** 天智颗粒;化学成分;入血成分;黄酮类;生物碱;超高效液相色谱-电喷雾-四极杆-飞行时间-串联质谱技术

## Analysis of chemical constituents of Tianzhi granules and their constituents absorbed into blood

YANG Cheng<sup>1</sup>, HU Kai<sup>2</sup>, HAN Pengzhao<sup>1</sup>, SONG Junying<sup>2</sup>, ZHANG Zhenqiang<sup>2</sup>, SUN Ning<sup>2</sup>, WANG Pan<sup>2</sup>, XIE Zhishen<sup>2</sup>, LI Zhonghua<sup>2</sup>(1. College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Academy of Chinese Medical Sciences, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To qualitatively analyze the chemical constituents from Tianzhi granules and their constituents absorbed into blood, and to provide reference for elucidating pharmacodynamic material basis of Tianzhi granules. **METHODS** UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS was adopted. The analysis was performed on an Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of 0.5% formic acid solution-acetonitrile (gradient elution) at the flow rate of 0.3 mL/min; the column temperature was 40 °C; the injection volume was 10 μL. Mass spectrometry was applied for the qualitative analysis under positive ionization mode and ESI ion source. Data were collected with MS-DIAL4.60, and then chemical constituents of the extract from Tianzhi granule (by 0.5% methanol) were analyzed by comparing with relevant literature, SciFinder, PubChem, MassBank, TCMSP, TCM-ID and other databases. The blank serum, administered serum and Tianzhi granule extract were compared to analyze the constituents absorbed into the blood. **RESULTS** One hundred compounds were preliminarily identified from Tianzhi granules, including 46 flavonoids, 8 organic acids, 8 alkaloids, 6 terpenes, 6 coumarins, 2 quinones, 1 steroids, 7 glycosides and 16 others. Based on it, 10 prototype constituents absorbed into blood were identified preliminarily, including genistein, melatonin A, chrysin-7-*O*-β-glucuronide, apigenin-7-*O*-glucuronide, wogonin, 6-*O*-methylbaicalin are flavonoids, 2-hydroxyquinoline and isonacolline are alkaloids, 7-hydroxycoumarin is coumarins, 1-indanol is others. **CONCLUSIONS** 2-hydroxyquinoline, 7-hydroxycoumarin, genistein, melatonin A, isonacolline, chrysin-7-*O*-β-glucuronide, apigenin-7-*O*-glucuronide, wogonin and 6-*O*-methylbaicalin may

be the pharmacodynamic material basis of Tianzhi granules.

**KEYWORDS** Tianzhi granules; chemical constituent; constituent absorbed into blood; flavonoids; alkaloids; UPLC-Q-TOF-MS/MS

<sup>Δ</sup>基金项目 国家自然科学基金资助项目(No.22174032);河南省自然科学基金资助项目(No.222300420060)

\* 第一作者 硕士研究生。研究方向:药物分析。电话:0371-86253082。E-mail:2836206505@qq.com

# 通信作者 副教授,硕士生导师,博士。研究方向:药物分析。电话:0371-86253082。E-mail:hk5268@126.com

天智颗粒是根据天麻钩藤饮研制而成的一种中成药<sup>[1]</sup>,主要由天麻、钩藤、石决明、杜仲、桑寄生、茯神、首乌藤、槐花、栀子、黄芩、川牛膝以及益母草12味中药组成。按君、臣、佐、使理论,各药相辅相成,使天智颗粒具有平肝潜阳、补益肝肾、益智安神之功效<sup>[2]</sup>。现代药理研究表明,天智颗粒可以通过提高胆碱能神经功能和抗氧化酶活性,抑制脑内兴奋性氨基酸的神经毒性,来改善血管性痴呆的症状<sup>[3]</sup>,临床主要用于治疗肝阳上亢的中风引起的智力减退、认知障碍等<sup>[4]</sup>,但其药效物质尚不明确,且关于天智颗粒的化学成分分析的报道亦较少。因此,有必要进一步研究该药所含的化学成分,进而明确其药效物质基础,建立科学的用药依据和质量控制方法。

超高效液相色谱-电喷雾-四极杆-飞行时间-串联质谱(UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS)技术相较于普通的高效液相色谱技术而言,可快速得到目标分析物的分子离子峰和碎片离子等信息,可以实现脱离标准品而对样品中多成分同时进行定性分析。目前,该技术被广泛用于代谢组学和化学成分、入血成分等分析的研究中,且在中药和中药制剂研究领域具有显著优势<sup>[5]</sup>。基于此,本研究采用UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS技术对天智颗粒的化学成分及入血成分进行定性分析,以期为阐明天智颗粒的药效物质基础提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括LC30AD型UPLC仪(日本Shimadzu公司)、SCIEX Triple TOF 6600型质谱仪(美国Sciex公司)、KQ5200DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、H2-16K型台式高速离心机(湖南可成仪器设备有限公司)、AL204型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

### 1.2 主要药品与试剂

天智颗粒(批号191003,规格5 g/袋)由仲景宛西制药股份有限公司提供;甲醇和乙腈均为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为纯化水。

### 1.3 动物

SD雄性健康大鼠,体质量(210±10)g,由郑州市惠济区华兴实验动物养殖场提供,饲养于河南中医药大学实验动物中心,实验动物生产许可证号为SCXK(豫)2019-0002。所有大鼠饲养于室温(24±2)℃、相对湿度(55±15)%、12 h黑暗/12 h光照循环的环境中,正常饮食、饮水。大鼠适应性喂养3 d后进行实验。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件和质谱条件

色谱条件如下:色谱柱为Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub>(4.6 mm×100 mm, 1.8 μm);流动相A为0.5%甲酸水溶液,流动相B为乙腈,梯度洗脱(0~5 min, 10%B; 5~10 min, 10%B→90%B; 10~25 min, 90%B→98%B; 25~30

min, 98%B→10%B; 30~40 min, 10%B);流速为0.3 mL/min;柱温为40℃;进样量为10 μL。质谱条件如下:使用电喷雾离子源,在正离子模式下进行全扫描检测,扫描范围*m/z* 50~1 000;涡旋喷雾温度为550℃;喷雾电压为80 eV;信息关联数据采集模式下,碰撞能量为(30±15)eV;喷雾气体1的压力为50 psi;加热升温气体2的压力为50 psi;窗口气体的压力为30 psi;喷雾电压为5 500 eV;TOF-MS和TOF-MS/MS的累积时间分别为250, 80 ms。

### 2.2 天智颗粒提取液的制备

精密称定天智颗粒7.5 g,加入50%甲醇50 mL溶解,超声(功率120 W,频率40 kHz)处理30 min,以12 000 r/min离心10 min,将上清液经0.22 μm滤过,取10.0 μL滤液进行UPLC-Q-TOF-MS/MS分析,鉴定其化学成分。

### 2.3 动物实验

将大鼠随机分为对照组和给药组,每组5只。给药组大鼠灌胃天智颗粒水溶液(1.5 mg/g),对照组大鼠灌胃等体积生理盐水,每日2次,给药间隔8 h,连续给药7 d。末次给药1 h后,腹腔注射戊巴比妥(0.001 5 mL/g)麻醉大鼠,于腹主动脉采集血样,以3 000 r/min离心30 min,取上层血清保存在-80℃冰箱中。

### 2.4 血清样本的处理与分析

为避免个体差异带来的影响,将对照组和给药组大鼠的血清分别进行组内等量混合。分别取两组的等量混合血清各0.3 mL,加入乙腈1.5 mL,涡旋5 min除去蛋白质,于4℃下以12 000 r/min离心10 min,取上清液在30℃下真空旋转蒸发干燥。将干燥后的残留物用75%乙腈100 μL溶解,滤过。将所得溶液储存于4℃冰箱中,用于UPLC-Q-TOF-MS/MS分析,鉴定其入血成分。

### 2.5 实验数据处理过程

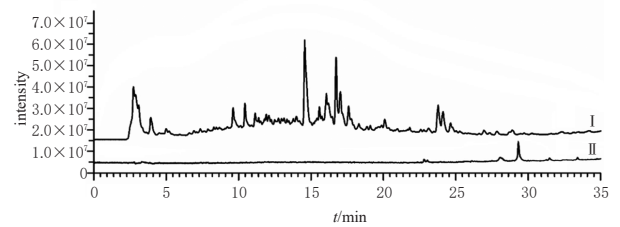
使用MS-DIAL4.60工作站采集数据,通过查阅与天麻、钩藤、杜仲等中草药相关的文献和SciFinder(<https://scifinder.cas.org>)、PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、MassBank(<https://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/>)、TCMSP(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)、TCMID(<http://www.megabionet.org/tcmid/>)、TCM-ID(<http://bidd.nus.edu.sg/group/TCMsite/default.aspx>)、TCM Database@Taiwan(<http://tcm.cmu.edu.tw/>)等数据库对化合物的名称、分子量、物质数字识别号(CAS号)、结构类型等信息进行整理。将收集所得化合物的精确分子量与理论分子量进行对比,并将分子质量误差在±10×10<sup>-6</sup>以内的化合物作为推测的可能化合物。分析可能化合物的质谱信息,并进行归类;推测其裂解过程,并对主要的离子碎片进行归属。通过对比空白血清(取自对照组大鼠)、给药血清(取自给药组大鼠)和天智颗粒提取液的总离子流图以及主要离子碎片等相关信息对入血成分进行分析。

### 3 结果

#### 3.1 化学成分分析

天智颗粒提取液在正离子模式下的总离子流图见图1,主要选择的正离子模式的离子为[M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、[M+H]<sup>+</sup>、[M+Na]<sup>+</sup>、[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>、[M+K]<sup>+</sup>。共鉴定出100个化合物,包括46个黄酮类、8个有机酸类、8个生物碱类、6个萜类、6个香豆素类、2个醌类、1个甾体类、7个糖苷类和16个其他类。除28个常见化合物(比如蔗糖、松三糖等常见糖苷类化合物,腺嘌呤、环磷酸鸟苷、维生素B<sub>2</sub>

等中药材中常见化合物)以外,其余72个化合物的质谱信息及来源见表1。



I:天智颗粒提取液; II:50%甲醇

图1 天智颗粒提取液在正离子模式下的总离子流图

表1 天智颗粒的化合物质谱信息及来源

序号	保留时间/min	离子模式	分子量		偏差/ppm	主要碎片离子 m/z	化合物	分子式	类型	来源	参考文献
			理论值	实测值							
1	9.37	[M+H] <sup>+</sup>	290.079 0	291.087 9	3.78	207.093 0, 189.081 2, 181.075 8, 179.096 8, 177.074 5	儿茶素 <sup>a</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	黄酮类	梔子、杜仲、钩藤黄芩	[6]
2	10.12	[M+H] <sup>+</sup>	302.042 7	303.050 2	-0.99	303.098 7, 257.082 9, 229.083 7, 137.078 2	槲皮素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	黄酮类	川牛膝、杜仲、槐花、桑寄生、茯神、益母草、梔子	[6]
3	11.65	[M+H] <sup>+</sup>	448.100 6	449.107 0	-3.12	294.625 9, 287.092 9, 258.078 2, 231.099 2	木犀草苷	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	黄酮类	-	[7]
4	12.04	[M+H] <sup>+</sup>	464.095 5	465.102 0	-2.80	303.092 1, 285.073 9, 257.070 0, 247.090 0, 229.082 1	金丝桃苷	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	黄酮类	钩藤、杜仲、川牛膝、益母草	[6]
5	12.04	[M+H] <sup>+</sup>	610.153 4	611.161 4	0.33	303.091 7, 127.053 7, 97.040 5, 85.040 5, 71.058 0	芦丁	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	黄酮类	杜仲、钩藤、槐花、川牛膝、梔子、益母草	[6]
6	12.04	[M+H] <sup>+</sup>	756.211 3	757.218 6	-0.66	413.148 5, 303.097 0, 85.041 9	槲皮素-3-O-芸香糖-(1→2)-O-鼠李糖苷	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> O <sub>20</sub>	黄酮类	-	
7	12.06	[M+H] <sup>+</sup>	302.042 7	303.050 5	0	303.094 6, 285.081 0, 274.087 4, 229.084 2, 165.043 4	桑色素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	黄酮类	-	[8]
8 <sup>b</sup>	12.20	[M+H] <sup>+</sup>	446.084 9	447.091 5	-2.68	283.122 8, 271.098 9, 235.108 0	芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	黄酮类	钩藤、槐花	
9	12.53	[M+H] <sup>+</sup>	318.037 6	319.044 5	-2.82	319.088 0, 273.073 0, 271.084 9, 245.080 2, 179.066 9	杨梅素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	黄酮类	桑寄生、天麻	[6]
10	12.55	[M+H] <sup>+</sup>	272.068 5	273.075 1	-4.39	277.121 7, 277.096 3, 153.037 4, 147.061 5	柚皮素	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	黄酮类	茯神	[7]
11	13.05	[M+H] <sup>+</sup>	594.158 5	595.165 5	-1.34	287.095 5, 85.041 8, 71.059 2	木犀草素-7-O-芸香糖苷	C <sub>27</sub> H <sub>26</sub> O <sub>15</sub>	黄酮类	首乌藤	[9]
12	13.25	[M+H] <sup>+</sup>	478.111 1	479.120 7	3.76	317.107 8, 302.088 2, 153.040 6, 145.070 4	异鼠李素-3-O-葡萄糖糖苷	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	黄酮类	-	[10]
13	13.25	[M+H] <sup>+</sup>	624.169 0	625.179 6	4.48	317.107 8, 303.057 2, 302.083 3	水仙苷	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	黄酮类	益母草	[11]
14 <sup>a</sup>	13.88	[M+H] <sup>+</sup>	284.068 5	285.075 2	-3.86	285.116 3, 270.090 0, 253.121 0, 211.141 1	千层纸素A	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	黄酮类	黄芩	[12]
15	14.01	[M+H] <sup>+</sup>	302.042 7	303.050 6	0.33	303.094 3, 285.038 1, 257.081 0, 229.081 9, 215.063 5	粘毛黄芩素 I	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	黄酮类	黄芩	[13]
16	14.56	[M+H] <sup>+</sup>	462.116 2	463.121 6	-5.18	301.109 0, 286.093 2, 221.851 1, 109.117 2	高车前苷	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	黄酮类	黄芩	[14]
17	16.05	[M+H] <sup>+</sup>	430.126 4	431.135 1	2.09	395.193 5, 269.112 5, 245.149 9	芒柄花苷	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	黄酮类	-	[15]
18 <sup>b</sup>	16.28	[M+H] <sup>+</sup>	476.095 5	477.102 9	-0.84	301.114 0, 286.086 2, 258.083 2	6-O-甲基黄芩苷	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	黄酮类	黄芩	
19 <sup>a</sup>	17.40	[M+H] <sup>+</sup>	460.100 6	461.109 1	1.52	285.118 3, 270.092 0	汉黄芩苷	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	黄酮类	黄芩	[16]
20	17.56	[M+H] <sup>+</sup>	254.057 9	255.065 7	0	255.100 3, 207.086 8, 153.040 7	白杨素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	黄酮类	黄芩、梔子	[17]
21 <sup>a</sup>	17.56	[M+H] <sup>+</sup>	430.090 0	431.097 4	-0.93	380.058 6, 255.102 5, 153.037 2, 129.052 6	白杨素-7-O-β-葡萄糖醛酸苷	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	黄酮类	-	
22	17.84	[M+H] <sup>+</sup>	446.084 9	447.093 0	1.52	285.115 6, 271.098 1, 253.082 5, 123.025 3	黄芩苷	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	黄酮类	黄芩、槐花、川牛膝	[16]
23	18.32	[M+H] <sup>+</sup>	314.079 0	315.084 2	-8.25	315.129 6, 300.106 4, 285.080 4, 282.089 0, 149.084 6	cirsimarin	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	黄酮类	黄芩	[18]
24	19.00	[M+H] <sup>+</sup>	346.068 9	347.075 5	-3.46	347.133 6, 332.108 2, 319.659 1, 314.084 2	粘毛黄芩素 III	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	黄酮类	黄芩	[13]
25	19.21	[M+H] <sup>+</sup>	286.047 7	287.053 8	-5.92	287.095 2, 273.828 9, 153.045 8, 135.273 8	木犀草素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	黄酮类	首乌藤	[6]
26	19.27	[M+H] <sup>+</sup>	374.100 2	375.107 2	-2.13	375.153 0, 360.136 0, 345.110 2, 327.097 2, 197.038 8	杨梅素-3,7,3',4'-四甲醚	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	黄酮类	-	
27	19.83	[M+H] <sup>+</sup>	284.068 5	285.077 5	4.21	285.116 2, 270.089 9, 267.098 1, 242.095 2	汉黄芩素	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	黄酮类	梔子、杜仲、槐花、黄芩、川牛膝	[16]
28 <sup>b</sup>	20.42	[M+H] <sup>+</sup>	270.052 8	271.061 2	2.21	271.098 1, 253.089 3, 243.102 3, 215.100 2, 153.040 6	金雀异黄酮	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	黄酮类	杜仲、槐花	[14]
29	20.75	[M+H] <sup>+</sup>	286.047 7	287.056 0	1.74	287.095 2, 259.098 0, 165.041 1, 153.038 8, 121.045 0	山柰酚	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	黄酮类	杜仲、钩藤、槐花、川牛膝、益母草、梔子	[15]
30	22.22	[M+H] <sup>+</sup>	300.063 4	301.070 3	-2.99	301.121 1, 286.086 0, 183.044 8, 168.030 9	黄芩素-4'-甲醚	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	黄酮类	黄芩	
31	23.32	[M+H] <sup>+</sup>	300.063 4	301.070 6	-1.99	301.113 6, 286.083 4, 258.094 1, 241.083 1	diosmetin	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	黄酮类	黄芩	[19]
32	24.56	[M+H] <sup>+</sup>	344.089 6	345.097 0	-1.16	345.146 6, 330.126 6	6-羟基-山柰酚-3,6,4'-三甲醚	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	黄酮类	-	[20]
33	26.15	[M+H] <sup>+</sup>	374.100 2	375.107 4	-1.60	375.163 7, 360.133 2, 345.110 0, 327.094 6, 227.085 1	黄芩新素 II	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	黄酮类	黄芩	[16]
34	29.06	[M+H] <sup>+</sup>	282.089 2	283.095 5	-5.30	283.133 6, 267.102 2, 251.097 5, 227.140 1	7,4'-二甲氧基异黄酮	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	黄酮类	-	
35	32.08	[M+H] <sup>+</sup>	298.084 1	299.091 3	-2.01	299.129 7, 284.104 8, 189.194 7	芹菜素-7,4'-二甲醚	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	黄酮类	首乌藤	
36	33.09	[M+H] <sup>+</sup>	298.084 1	299.092 1	0.67	299.124 3, 266.090 0, 248.110 0, 239.104 7, 166.045 1	5-羟基-6,7-二甲氧基黄酮	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	黄酮类	黄芩	
37	34.81	[M+H] <sup>+</sup>	292.073 6	293.080 3	-3.75	293.124 9, 278.094 4	karanjin	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	黄酮类	-	
38	6.37	[M+H] <sup>+</sup>	188.047 3	189.053 8	-6.88	189.081 1, 161.081 5, 146.057 4, 133.084 5, 131.064 0	兰雪醌	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	醌类	-	
39	35.07	[M+H] <sup>+</sup>	296.141 2	297.148 6	-1.35	297.191 1, 282.161 4, 279.173 6, 268.146 3, 254.127 9	隐丹参酮	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	醌类	-	[21]
40	3.27	[M+H] <sup>+</sup>	267.096 8	268.104 1	-1.86	268.151 9, 136.079 8, 57.041 1	腺苷	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	生物碱类	天麻、桑寄生	[15]
41	5.93	[M+H] <sup>+</sup>	313.131 4	314.138 5	-2.23	314.183 8, 296.147 7, 255.021 8, 178.108 4, 122.238 3	N-反式阿魏酰酰胺 <sup>a</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>	生物碱类	-	
42 <sup>b</sup>	8.18	[M+H] <sup>+</sup>	145.052 8	146.060 0	-4.11	146.077 0, 128.069 4, 118.081 0, 91.069 9	2-羟基喹啉	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> NO	生物碱类	槐花	
43	12.85	[M+H] <sup>+</sup>	368.173 6	369.180 8	-1.63	369.233 0, 351.221 9, 267.185 5, 160.098 5	帽柱叶碱	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	生物碱类	钩藤	[22]
44 <sup>a</sup>	13.82	[M+H] <sup>+</sup>	354.194 3	355.202 6	1.41	326.218 0, 212.159 7, 144.099 1	异柯楠碱	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	生物碱类	钩藤	

a:由于高分辨质谱的局限性无法区分同分异构体;b:血中原型化合物;-:由于缺乏对照实验和数据库局限性,无法确定具体来源

续表 1

序号	保留时 间/min	离子 模式	分子量		偏差/ ppm	主要碎片离子 $m/z$	化合物	分子式	类型	来源	参考 文献
			理论值	实测值							
45	14.92	[M+H] <sup>+</sup>	369.157 6	370.167 4	5.40	370.223 3, 352.207 9, 336.176 1, 290.134 5, 188.098 3	别隐品碱	C <sub>21</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	生物碱类	—	[23]
46	27.80	[M+H] <sup>+</sup>	285.136 5	286.144 0	-1.05	286.184 8, 201.080 9, 187.131 1, 135.108 2	胡椒碱	C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	生物碱类	—	[24]
47	5.02	[M+H] <sup>+</sup>	288.084 5	289.092 3	0	289.157 9, 195.876 6, 127.055 1, 109.042 3, 85.036 5	麦芽酚糖苷	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	糖苷类	栀子、槐花	
48	9.17	[M+H] <sup>+</sup>	432.126 8	433.136 1	3.46	271.091 4, 145.065 3, 127.058 3, 109.042 3	tachigroside B	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	糖苷类	槐花	[25]
49	10.35	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	682.247 3	700.285 3	5.14	341.188 3, 331.164 2, 323.186 0, 271.135 3, 175.098 5	松酯醇二葡萄糖苷	C <sub>23</sub> H <sub>42</sub> O <sub>16</sub>	糖苷类	杜仲	[26]
50	10.96	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	742.268 4	760.305 1	3.03	351.166 1, 339.174 9, 235.116 1, 217.117 7, 205.112 7	丁香树脂醇双葡萄糖苷	C <sub>24</sub> H <sub>46</sub> O <sub>18</sub>	糖苷类	杜仲	[26]
51	8.29	[M+Na] <sup>+</sup>	374.121 3	397.113 8	6.80	235.094 4, 217.082 4, 189.082 9, 104.084 7	京尼平苷酸	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	萜类	杜仲、栀子	[7]
52	8.96	[M+Na] <sup>+</sup>	550.189 8	573.178 4	-2.09	573.263 9, 541.224 2, 511.209 3, 365.162 5, 347.133 7	京尼平-β-D-龙胆双糖苷	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	萜类	栀子、杜仲	[12]
53	10.39	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	388.136 9	406.171 1	-0.49	209.108 9, 191.098 8, 181.113 4, 177.078 1, 159.066 6	栀子苷	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	萜类	栀子、杜仲、益母草	[12]
54	17.50	[M+H] <sup>+</sup>	300.208 9	301.216 2	-1.66	301.257 2, 283.242 5, 255.245 9, 245.145 7, 227.210 1	映贝壳二烯酸	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	萜类	—	
55	22.81	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	480.272 3	498.303 9	-5.62	319.270 5, 301.249 9, 273.251 2, 234.209 0	穿心莲丙素	C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> O <sub>6</sub>	萜类	—	
56	5.37	[M+H] <sup>+</sup>	176.047 3	177.054 3	-4.52	177.080 0, 149.081 2, 134.055 0, 133.084 6, 121.080 6	羟甲基香豆素	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	香豆素类	—	[26]
57 <sup>b</sup>	7.39	[M+H] <sup>+</sup>	162.031 7	163.038 9	-3.68	145.048 5, 135.063 4, 117.051 0	7-羟基香豆素	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	香豆素类	杜仲	[8]
58	8.29	[M+H] <sup>+</sup>	216.042 3	217.049 0	-5.07	217.076 2, 189.079 0, 173.097 4, 155.092 2, 129.145 0	8-甲氧基补骨脂素	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	香豆素类	—	
59	14.74	[M+H] <sup>+</sup>	206.057 9	207.064 9	-3.86	207.098 8, 192.065 9, 164.065 6, 175.065 4, 147.066 3	5,7-二甲氧基香豆素	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	香豆素类	—	
60	17.54	[M+H] <sup>+</sup>	206.057 9	207.065 0	-3.38	207.102 9, 192.068 0, 191.060 1, 179.094 8, 163.055 4	6,7-二甲氧基香豆素	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	香豆素类	川牛膝	
61	17.72	[M+H] <sup>+</sup>	246.089 2	247.098 1	4.45	247.129 2, 229.117 0, 190.089 5, 187.097 0	二氢山芹醇	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	香豆素类	—	[27]
62	7.40	[M+H] <sup>+</sup>	354.095 1	355.101 7	-3.38	163.062 6, 145.046 8, 135.061 8, 117.047 9	绿原酸	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	有机酸类	黄芩、杜仲、钩藤、栀子	[14]
63	8.94	[M+H] <sup>+</sup>	208.073 6	209.080 9	-2.39	209.109 0, 191.097 0, 177.080 1, 163.096 7, 148.068 7	3,4-二甲氧基肉桂酸	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	有机酸类	—	
64	13.68	[M+H] <sup>+</sup>	194.057 9	195.065 8	0.51	195.129 2, 177.078 2, 149.078 8, 145.046 8, 117.048 0	阿魏酸	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	有机酸类	黄芩、川牛膝、杜仲、益母草	[24]
65	23.49	[M+Na] <sup>+</sup>	926.523 9	949.513 7	0	815.592 4, 525.224 9, 507.200 7, 445.201 5	kaikasaponin III	C <sub>48</sub> H <sub>78</sub> O <sub>17</sub>	甾体类	槐花	
66	3.09	[M+H] <sup>+</sup>	135.054 5	136.061 6	-5.14	136.081 3, 119.051 2, 109.062 9	腺嘌呤	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> N <sub>5</sub>	其他类	天麻	[28]
67	3.47	[M+H] <sup>+</sup>	123.032 0	124.039 1	-5.64	124.056 8, 96.061 4, 80.058 8, 78.044 0, 52.025 2	烟酸	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>	其他类	槐花	[28]
68	5.37	[M+H] <sup>+</sup>	166.063 0	167.069 3	-8.98	167.091 6, 149.084 5, 121.082 1, 103.067 8, 81.080 6	丹皮酚	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	其他类	栀子	[6]
69 <sup>b</sup>	6.93	[M+H] <sup>+</sup>	134.073 2	135.079 7	-9.62	135.099 4, 117.084 4, 107.098 0, 93.081 5, 79.066 4	1-萜醇	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	其他类	—	
70	8.18	[M+H] <sup>+</sup>	204.089 9	205.097 1	-2.93	188.098 4, 170.085 0, 159.112 6, 160.092 9, 146.081 1	L-色氨酸 <sup>a</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	其他类	—	[11]
71	9.46	[M+H] <sup>+</sup>	246.136 8	247.144 4	-0.81	188.096 6, 170.083 4, 146.081 3, 144.102 1, 143.091 6	lenticin	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	其他类	—	[29]
72	17.86	[M+H] <sup>+</sup>	498.200 2	499.205 9	-4.21	337.200 6, 267.150 4, 265.136 0, 171.114 8, 144.101 8	长春花苷内酰胺	C <sub>28</sub> H <sub>38</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	其他类	钩藤	

3.1.1 黄酮类化合物 本研究共鉴定出 46 个黄酮类化合物,该类化合物主要以[M+H]<sup>+</sup>准分子离子峰形式存在,常丢失中性CO、H<sub>2</sub>O、CH<sub>3</sub>等碎片,有时也发生逆狄尔斯-阿德尔反应裂解形成碎片离子,黄酮苷则常丢失糖基形成[M+H-Glc]<sup>+</sup>的特征性碎片离子。以 13 号化合物为例,其准分子离子峰为  $m/z$  625.179 6 [M+H]<sup>+</sup>,推测其分子式为 C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>O<sub>16</sub>。其脱去 1 分子 Rha 和 1 分子 Glc,得到  $m/z$  317.107 8 [M+H-Rha-Glc]<sup>+</sup>的碎片离子,再脱去 CH<sub>3</sub>生成  $m/z$  302.083 3 [M+H-Rha-Glc-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>的碎片离子,或失去 1 个 CH<sub>2</sub>得到  $m/z$  303.057 2 [M+H-Rha-Glc-CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>的碎片离子。与相关文献<sup>[11]</sup>比对,推测其为水仙苷。其裂解过程见图 2。

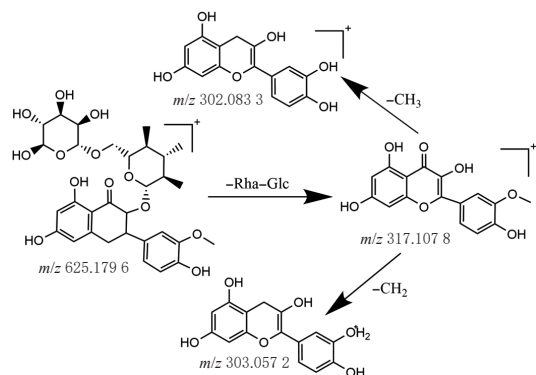


图 2 水仙苷在正离子模式下可能的裂解过程

3.1.2 有机酸类化合物 本研究共鉴定出 8 个有机酸类化合物,该类化合物主要以[M+H]<sup>+</sup>准分子离子峰形式存在。以 62 号化合物为例,其准分子离子峰为  $m/z$  355.101 7 [M+H]<sup>+</sup>,推测其分子式为 C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>。其失去 1 个奎宁酰基形成  $m/z$  163.062 6 [M+H-C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>的碎片离子,然后再丢失 1 分子 H<sub>2</sub>O 形成  $m/z$  145.046 8 [M+H-C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>的碎片离子;另外,该碎片离子还能丢失 1 分子 CO 形成  $m/z$  135.061 8 [M+H-C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>-CO]<sup>+</sup>的碎片离子,然后再失去 1 分子 H<sub>2</sub>O 形成  $m/z$  117.047 9 [M+H-C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>-CO-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>的碎片离子。与相关文献<sup>[14]</sup>对比,推断其为绿原酸(裂解图略)。

3.1.3 生物碱类化合物 本研究共鉴定出 8 个生物碱类化合物。以 43 号化合物为例,其准分子离子峰为  $m/z$  369.180 8 [M+H]<sup>+</sup>,推测其分子式 C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>。其主要质谱碎片离子为  $m/z$  351.221 9、267.185 5、160.098 5,分别对应 [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、[M+H-H<sub>2</sub>O-C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>、[M+H-H<sub>2</sub>O-C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N]<sup>+</sup>碎片离子。与相关文献<sup>[22]</sup>对比,推测其为帽柱叶碱。其裂解过程见图 3。

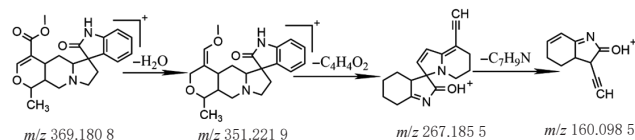


图 3 帽柱叶碱在正离子模式下可能的裂解过程

3.1.4 萜类化合物 本研究共鉴定出6个萜类化合物。以51号化合物为例,其准分子离子峰为 $m/z$  397.113 8  $[M+Na]^+$ ,通过MS-DIAL4.60工作站进行分析推测其分子式为 $C_{16}H_{22}O_{10}$ 。其主要质谱碎片离子为 $m/z$  235.094 4、217.082 4、189.082 9、104.084 7,分别对应 $[M+Na-C_6H_{10}O_5]^+$ 、 $[M+Na-C_6H_{10}O_5-H_2O]^+$ 、 $[M+Na-C_6H_{10}O_5-H_2O-CO]^+$ 、 $[M+Na-C_6H_{10}O_5-H_2O-CO-C_3HO_3]^+$ 碎片离子。与相关文献<sup>[7]</sup>和数据库对比,推测其为京尼平昔酸(裂解图略)。

3.1.5 香豆素类化合物 本研究共鉴定出6个香豆素类化合物,该类化合物裂解过程主要丢失 $-CH_3$ 、 $H_2O$ 、 $CO$ 等中性基团而产生碎片离子。以57号化合物为例,其准分子离子峰为 $m/z$  163.038 9  $[M+H]^+$ ,失去1分子 $H_2O$ 得到 $m/z$  145.048 5  $[M+H-H_2O]^+$ 的碎片离子,或丢失1分子 $CO$ 而形成 $m/z$  135.063 4  $[M+H-CO]^+$ 的碎片离子,再失去1分子 $H_2O$ 得到 $m/z$  117.051 0  $[M+H-CO-H_2O]^+$ 的碎片离子。与相关文献<sup>[9]</sup>和数据库对比,推断其为7-羟基香豆素(裂解图略)。

3.1.6 其他类化合物 在上述化合物的基础上,本研究还鉴定出2个醌类、1个甾体类、8个有机酸类、7个糖苷类、16个其他类化合物。分析鉴定方法同上述黄酮类、生物碱类等5类化合物的鉴定过程,不再一一列举。

### 3.2 入血成分分析

本研究共鉴定出10个原型入血成分,分别为1-萜醇、2-羟基喹啉、7-羟基香豆素、金雀异黄酮、千层纸素A、异柯楠碱、白杨素-7-O- $\beta$ -葡萄糖醛酸苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、6-O-甲基黄芩苷。以19号和44号化合物为例,19号化合物的准分子离子峰为 $m/z$  461.109 1  $[M+H]^+$ ,推测其分子式为 $C_{22}H_{20}O_{11}$ ,其相继脱去1分子糖苷和1分子 $CH_3$ 形成 $m/z$  285.118 3  $[M+H-C_6H_6O_6]^+$ 和 $m/z$  270.092 0  $[M+H-C_6H_6O_6-CH_3]^+$ 的碎片离子,与相关文献<sup>[9]</sup>对比,推测其为汉黄芩苷;44号化合物的准分子离子峰为 $m/z$  355.202 6  $[M+H]^+$ ,其相继脱去1分子 $CHO$ 、 $C_9H_6$ 、 $C_4H_6N$ ,分别对应 $m/z$  326.218 0、212.159 7、144.099 1,分别对应 $[M+H-CHO]^+$ 、 $[M+H-CHO-C_9H_6]^+$ 、 $[M+H-CHO-C_9H_6-C_4H_6N]^+$ 的碎片离子,与数据库信息对比,推测其为异柯楠碱。

## 4 讨论

目前,中药化学成分分析是研究中药药效物质基础的重点和难点。本研究采用UPLC-Q-TOF-MS/MS技术对天智颗粒化学成分和入血成分进行定性分析。结果显示,共鉴定出化学成分100个。基于此,在大鼠血清中共鉴定出10个原型入血成分,其中金雀异黄酮、千层纸素A、白杨素-7-O- $\beta$ -葡萄糖醛酸苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、6-O-甲基黄芩苷为黄酮类,2-羟基喹啉和异柯楠碱为生物碱类,7-羟基香豆素为香豆素类,1-萜醇为其他类。已有研究表明,黄酮类成分具有抗炎、镇痛、镇静以及保肝等药理活性,且能够通过显著上调脑源性神经营养因子的表达来发挥抗抑郁活性<sup>[30]</sup>;生物

碱类成分具有清热平肝、息风定惊之功效,对中枢神经系统具有镇静、催眠等作用<sup>[31]</sup>;香豆素类成分具有抗病毒、抗炎、抗肿瘤等药理活性<sup>[27]</sup>。基于此,推测2-羟基喹啉、7-羟基香豆素、金雀异黄酮、千层纸素A、异柯楠碱、白杨素-7-O- $\beta$ -葡萄糖醛酸苷、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、6-O-甲基黄芩苷可能是天智颗粒的药效物质。另外,受药物在大鼠体内吸收和代谢的影响,本研究在大鼠血清中检测到的原型入血成分较少,推测可能是由于药物在进入血液后快速代谢而生成其他物质所致。因此,关于天智颗粒的药效物质还需要进一步挖掘相关数据。

### 参考文献

- [1] 冯丽君,罗小娜,张瑞峰. 天智颗粒对轻中度老年血管性痴呆患者的影响[J]. 实用中西医结合临床,2020,20(3):104-105.
- [2] 韦永红,韦贵勇. 天智颗粒对阴虚阳亢型缺血性中风神经功能缺损、肢体运动功能的影响[J]. 中华中医药学刊,2020,38(4):208-212.
- [3] 武胜涛,张羽,李富慧,等. 盐酸美金刚片联合天智颗粒治疗血管性痴呆的临床观察[J]. 中国药房,2017,28(29):4109-4112.
- [4] 刘璐. 布南色林联合天智颗粒治疗慢性精神分裂症认知功能障碍的对照研究[J]. 河南大学学报(医学版),2021,40(2):96-100.
- [5] 王昱涵,王志萍,谢谭芳,等. UHPLC-Q-TOF-MS技术在中药及中药复方制剂研究中的应用[J]. 中国药师,2022,25(1):114-118.
- [6] 肖娟兰,赵鹿,张东旭,等. 基于HPLC-Q-TOF-MS/MS技术的蒙药安神补心六味丸化学成分辨识[J]. 中药材,2021,44(7):1656-1667.
- [7] 肖观林,钟惠娟,黄华靖,等. UPLC-Q-TOF-MS/MS鉴定小儿清咽颗粒化学成分[J]. 中国现代应用药学,2022,39(12):1627-1636.
- [8] 刘瑾,徐东川,隋在云. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS的桑白皮大鼠体内入血成分研究[J]. 中药材,2022,45(4):877-881.
- [9] 王凯,刘双,李蒙,等. 忍冬叶化学成分及其保肝活性研究[J]. 中草药,2022,53(8):2285-2291.
- [10] 周思倩,方艳,谭金桃,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS分析百蕊草醇提物的化学成分[J]. 天然产物研究与开发,2022,34(10):1633-1646.
- [11] 肖观林,江洁怡,李素梅,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的布渣叶化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(3):138-148.
- [12] 魏婷婷,沈晨,韩园园,等. UPLC-Q-TOF-MS快速鉴定止动颗粒血浆及尿液中移行成分[J]. 中草药,2019,50(17):4244-4253.
- [13] 胡恋琪,孙豪杰,熊优,等. 基于“成分-靶点-代谢”预测分析黄芩酒炙前后质量标志物[J]. 中草药,2020,51(10):2618-2626.

(下转第2984页)