



## 基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱的麻杏石甘汤化学成分分析

赵雪, 顾妍秋, 楚皓文, 吴彩胜, 李镐, 陈啸飞

### Analysis of the chemical constituents of Maxing Shigan decoction by UPLC-Q-TOF/MS

ZHAO Xue, GU Yanqiu, CHU Haowen, WU Caisheng, LI Gao, CHEN Xiaofei

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202306028>

### 您可能感兴趣的其他文章

#### Articles you may be interested in

联用超高效液相色谱-高分辨飞行时间质谱技术对扶正化瘀胶囊化学成分快速鉴别

Rapid identification of chemical constituents of Fuzheng Huayu capsules by UHPLC-TOF/MS

药学实践与服务. 2019, 37(5): 406-415 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.05.005

高效液相-高分辨飞行时间质谱对复方夏枯草消瘤方化学成分的鉴别

Identification of chemical constituents of Xiakucao Xiaoliu mixture by HPLC-TOF/MS

药学实践与服务. 2020, 38(2): 138-142, 155 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.201907116

三色片醇提物抗补体活性物质的UPLC-Q-TOF-MS/MS研究

Study on components with anti-complement activity from ethanol extract of Sanse tablets by UPLC-Q-TOF-MS/MS

药学实践与服务. 2021, 39(4): 322-330 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202101036

基于UPLC-Q-TOF-MS技术鉴定防风在大鼠体内的入血成分及代谢产物

Identification of components and metabolites of *Saposhnikovia Radix* decoction in rats' plasma by UPLC-Q-TOF-MS

药学实践与服务. 2019, 37(6): 512-517 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.06.008

抗新冠肺炎中药莲花清瘟胶囊化学成分与临床功效研究进展

Research progress on chemical composition and clinical efficacy of Lianhua Qingwen (LHQW) capsule, a traditional Chinese medicine (TCM) used to treat COVID-19

药学实践与服务. 2021, 39(4): 291-294, 361 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202011002

UHPLC-MS/MS法测定新冠肺炎经验方寒湿郁肺汤中11种主成分的含量

Determination of 11 main components in Hanshi Yufei decoction, a COVID-19 empirical prescription by UHPLC-MS/MS

药学实践与服务. 2021, 39(2): 148-151, 156 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202012017



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

## 基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱的麻杏石甘汤化学成分分析

赵雪<sup>1</sup>, 顾妍秋<sup>2</sup>, 楚皓文<sup>3</sup>, 吴彩胜<sup>4</sup>, 李 镐<sup>1</sup>, 陈啸飞<sup>5</sup> (1. 延边大学药学院, 吉林 延吉 133002; 2. 上海交通大学医学院附属第九人民医院, 上海 200001; 3. 中国人民解放军 32268 部队, 云南 大理 671003; 4. 厦门大学药学院, 福建 厦门 361005; 5. 海军军医大学药学院, 上海 200433)

**[摘要]** 目的 通过超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-QTOF/MS)联用技术定性分析中药复方麻杏石甘汤中的主要化学成分。方法 采用 UPLC BEH C<sub>18</sub> 柱 (2.1 mm×100 mm, 2.5 μm), 柱温是 40 °C, 以 0.4 ml/min 流速的 0.1% 甲酸水-0.1% 甲酸乙腈流动相梯度洗脱, 分析时间为 15 min; 质谱条件为电喷雾离子源 (ESI), 正、负离子全扫描模式采集质谱数据。结果 通过 UPLC-QTOF/MS 分析和对照品验证, 共鉴别出麻杏石甘汤组方中 59 种化学成分。结论 本研究建立了一种超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱 (UPLC-QTOF/MS) 联用方法鉴别中药麻杏石甘汤的化学成分, 该方法简便高效, 灵敏准确, 为麻杏石甘汤药效物质基础与作用机制的深入研究提供依据, 有助于中药治疗新冠肺炎的组方配伍优化和质量控制。

**[关键词]** 麻杏石甘汤; 化学成分; 新型冠状病毒肺炎; UPLC-QTOF/MS

**[文章编号]** 2097-2024(2023)00-0001-08 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202306028

## Analysis of the chemical constituents of Mxing Shigan decoction by UPLC-Q-TOF/MS

ZHAO Xue<sup>1</sup>, GU Yanqiu<sup>2</sup>, CHU Haowen<sup>3</sup>, WU Caisheng<sup>4</sup>, LI Gao<sup>1</sup>, CHEN Xiaofei<sup>5</sup> (1. School of Pharmacy, Yan Bian University, Yanji 133002, China; 2. Shanghai Ninth People's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200001, China; 3. Unit 32268 of the People's Liberation Army, Dali 671003, China; 4. School of Pharmacy, Xia Men University, Xiamen 361005, China; 5. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To analyze chemical constituents of compound Mxing Shigan decoction by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-QTOF/MS). **Methods** The separation was performed on a UPLC BEH C<sub>18</sub> column (2.1 mm×100 mm, 2.5 μm), with a gradient elution applying 0.1% aqueous formic acid solution and 0.1% formic acid acetonitrile as a mobile phase. The column temperature was 40 °C. The flow rate was 0.4 ml/min and the analysis time was 15 min. Mass spectrometry (MS) data were collected in both positive and negative ESI ion modes. **Results** Through UPLC-QTOF/MS analysis and reference validation, a total of 59 chemical components in Mxing Shigan decoction were identified. **Conclusion** In this study, an ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-QTOF/MS) method was established to identify the chemical components of Mxing Shigan decoction. This method is simple, efficient, sensitive and accurate, and provides a basis for the elucidation of the pharmacodynamic material basis and mechanism of Mxing Shigan decoction. It can provide data reference for the optimization of the compatibility of traditional Chinese medicine in the treatment of COVID-19.

**[Key words]** Mxing Shigan decoction; chemical composition; COVID-19; UPLC-Q-TOF-MS

新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 由严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型 (SARS-CoV-2) 引起<sup>[1-2]</sup>。SARS-CoV-2 是冠状病毒科和 β 冠状病毒属的成员, 是影响人类呼吸功能的新冠肺炎大流行的病原

体<sup>[1, 3-4]</sup>, 因其对公共卫生构成严重威胁而受到全球关注。中医对传染性疾病的认识较早, 早在秦汉时期的《黄帝内经》中就记载有“五疫之至, 皆相染易, 无问大小, 病状相似”。数年来, 传统中医药在防病治病中积累了丰富的临床经验, 开拓了数以万计的中药复方<sup>[5]</sup>。根据我国中医药出版社在 2020 年 2 月出版发行的《新型冠状病毒肺炎中医诊疗手册》, 新冠肺炎属中医“瘟疫”范畴, 通过分析历代中医药对瘟疫的防治经验, 对于新冠肺炎的预防和治疗具有积极作用。

**[基金项目]** 国家自然科学基金(82141215)

**[作者简介]** 赵雪, 硕士研究生, Email: 1463193211@qq.com

**[通信作者]** 李 镐, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 天然药物活性成分及作用机理, Email: gli@ybu.edu.cn; 陈啸飞, 博士, 副教授, 博士生导师, 研究方向: 药物分析学, 抗肿瘤药物筛选与开发, Email: xfchen2010@163.com

清肺排毒汤作为国家卫健委、国家中医药管理局推荐在新冠肺炎临床治疗期使用的中药复方,在此次疫情防控中起到关键性的作用,其由麻杏石甘汤、射干麻黄汤、小柴胡汤、五苓散、橘枳姜汤等加减化裁而成<sup>[6]</sup>,方中各味药材在新冠肺炎不同病理过程治疗阶段都发挥重要作用<sup>[7-8]</sup>。中药复方麻杏石甘汤,始载于张仲景《伤寒杂病论》,书中所述“若汗出喘,无大热者,可与麻黄杏仁石膏甘草汤”。原方由麻黄、杏仁、石膏和甘草四味药配伍而成<sup>[9]</sup>,君药为麻黄,辛苦宣肺、解表平喘;臣药为石膏,辛凉宣泄,君臣配合发散肺经郁热而平喘;佐药为杏仁,宣降肺气,辅助麻黄止咳平喘;使药为甘草,协调诸药<sup>[10]</sup>,主治外感风邪、邪热壅肺证<sup>[4, 11-13]</sup>。多年以来,以麻杏石甘汤为基础方的各类制剂广泛应用于临床中。近年来,研究学者们在麻杏石甘汤的研究上也取得了众多成果,其具有多种药理活性,包括抗流感病毒活性,改善微血管通透性过高和抑制炎症反应等<sup>[14]</sup>。袁丽等<sup>[15]</sup>使用网络药理学初步预测了麻杏石甘汤对新冠肺炎的抗病毒和抗炎作用,并建立了 IL-6 诱导的大鼠肺上皮 II 型细胞(RLE-6TN)损伤模型,探讨麻杏石甘汤的抗炎活性和可能的作用机制。吴佳等<sup>[16]</sup>探讨以麻杏石甘汤联合西药对症治疗新型冠状病毒肺炎的临床疗效及不良反应,研究结果表明,加味麻杏石甘汤联合推荐的治疗方案可促进新冠肺炎患者的康复,而且不增加不良反应的风险。

同化学药相比,中药研究最大的困难在于它是一个复杂体系。明确中药复方的化学成分对中药的药效与作用机制的阐明具有重要意义。本研究利用 UPLC-QTOF/MS 技术,系统分析麻杏石甘汤的化学组分,其目的在于揭示麻杏石甘汤中各组方的药理活性与组方原理,为促进传统中医药方剂在新冠肺炎临床实践中提供重要的参考数据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

安捷伦 1290 型超高效液相色谱仪、6538 UHD Accurate-Mass Q-TOF/MS、MassHunter 工作站和质谱分析软件(美国 Agilent 公司);低温高速离心机、低温双开门冰箱(美国 Thermo 公司);循环水式真空泵(上海东玺制冷仪器设备有限公司);涡旋仪(美国 Labnet 公司);电子天平(日本 A&D Company Limited 公司)。

### 1.2 药品与试剂

麻黄、甘草、苦杏仁、石膏(上海雷允上医药公

司);苦杏仁苷(29883-15-6,纯度 $\geq 98\%$ )、甘草苷(551-15-5,纯度 $\geq 98\%$ )、甘草酸(1405-86-3,纯度 $\geq 98\%$ )购自成都格利普生物科技有限公司;麻黄碱(50-98-6,纯度 $\geq 98\%$ ,中国食品药品检定研究院);二甲基亚砜、乙腈、甲醇、甲酸(美国 Sigma Chemical 公司);屈臣氏纯净水(广州屈臣氏食品饮料有限公司)。

### 1.3 样品和对照品溶液的制备

依照《伤寒杂病论》中麻杏石甘汤处方的配伍,用电子天平称取药材麻黄 9 g,苦杏仁 9 g,石膏 18 g,甘草 6 g 放置于干净的 1000 ml 的圆底烧瓶内,加入纯化水 1.4 L,先浸泡 1 h,然后冷凝回流提取 2 h。提取液用四层纱布过滤,得滤液。将滤渣再次用 1.4 L 纯化水回流提取 1 h,四层纱布过滤,将两次滤液合并后,使用旋转蒸发器浓缩至 50 ml。麻杏石甘汤 13 000 $\times$ g 离心 10 min,然后,吸取上清液用 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜过滤,即可得到麻杏石甘汤供试品溶液,冰箱 4  $^{\circ}$ C 冷藏,备用。分别准确称取苦杏仁苷,甘草苷,甘草酸,麻黄碱各适量,用二甲基亚砜溶剂进行溶解稀释,定容,即可得到 1 mg/ml 的单一成分对照品储备液;分别精密量取 100  $\mu$ l 混合,二甲基亚砜定容,制成 100  $\mu$ g/ml 的对照品混合母液,分装后 4  $^{\circ}$ C 冰箱冷藏,备用。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件

色谱柱:UPLC BEH C<sub>18</sub> 柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 2.5  $\mu$ m);流动相 A:含 0.1% 甲酸的水,流动相 B:含 0.1% 甲酸的乙腈,梯度洗脱:A 相为 0~2 min, 95%, 2~13 min, 95%~5%, 13~15 min, 5%, B 相为 0~2 min, 5%, 2~13 min, 5%~95%, 13~15 min, 95%;进样体积:3  $\mu$ l;样品进样前基线用流动相平衡 5~10 min;流速:0.4 ml/min;柱温:40  $^{\circ}$ C;检测时间 15 min。

### 2.2 质谱条件

离子源:电喷雾(ESI)离子源;正负离子模式下采集数据;扫描模式为:全扫描/数据依赖的二级扫描(Full scan/ddMS<sup>2</sup>)。ESI 源条件如下:干燥气温度:350  $^{\circ}$ C,干燥气体流量:11 L/min;碎裂电压:120 V;毛细管电压:4000 V(ESI+)/3500 V(ESI-);质谱扫描范围:50~1500  $m/z$ 。正离子模式下参考离子  $m/z$  取值范围为 121.0509~922.0098,负离子模式下参考离子  $m/z$  取值范围为 112.9856~1033.9881。MS<sup>2</sup> 采用 40 eV 的碰撞能量对母离子进行二级碎裂。得到的数据使用安捷伦 MassHunter 工作站进

行计算和分析。

### 2.3 数据采集与处理

采用 UPLC-QTOF-MS/MS 技术对麻杏石甘汤化学成分的数据信息进行了定性分析,我们通过查阅国内外文献、数据库(HMDB, PubChem)等,建立麻杏石甘汤的化学成分数据库,利用 QTOF/MS 提供的精确分子量导入 MassHunter 分析软件,对采集的数据与化合物库进行进一步的比对和鉴定。

## 3 结果

### 3.1 麻杏石甘汤 UPLC-Q-TOF-MS 色谱图采集

按照“2.1”和“2.2”项下色谱质谱条件,各种化合物在正、负离子扫描模式下的分离效果和离子化程度均比较明显,得到麻杏石甘汤供试品溶液正、

负离子模式下的 UPLC-QTOF/MS 总离子流图(见图 1),结合麻杏石甘汤的化合物自建库,初步筛选出 59 种化合物,其中正离子模式下有 42 种化合物,而负离子模式下则有 30 种化合物,同时在正离子模式下和负离子模式下鉴别出了 13 种化合物。

### 3.2 麻杏石甘汤化学成分鉴定分析

将所得数据导入 MassHunter 分析软件进行采集和分析,并且通过与化学成分数据库逐一比对得到麻杏石甘汤化合物成分的鉴定结果。共鉴定出 59 个化合物如表 1 所示,为进一步确定该复方的成分,本研究结合购买的对照品和国内外报道文献在 120 V 电压、40 eV 条件下对所得数据中可能存在同分异构体的化合物(甘草苷,甘草酸,麻黄碱,苦杏仁苷)进行了二级质谱碎片离子的分析与鉴定。

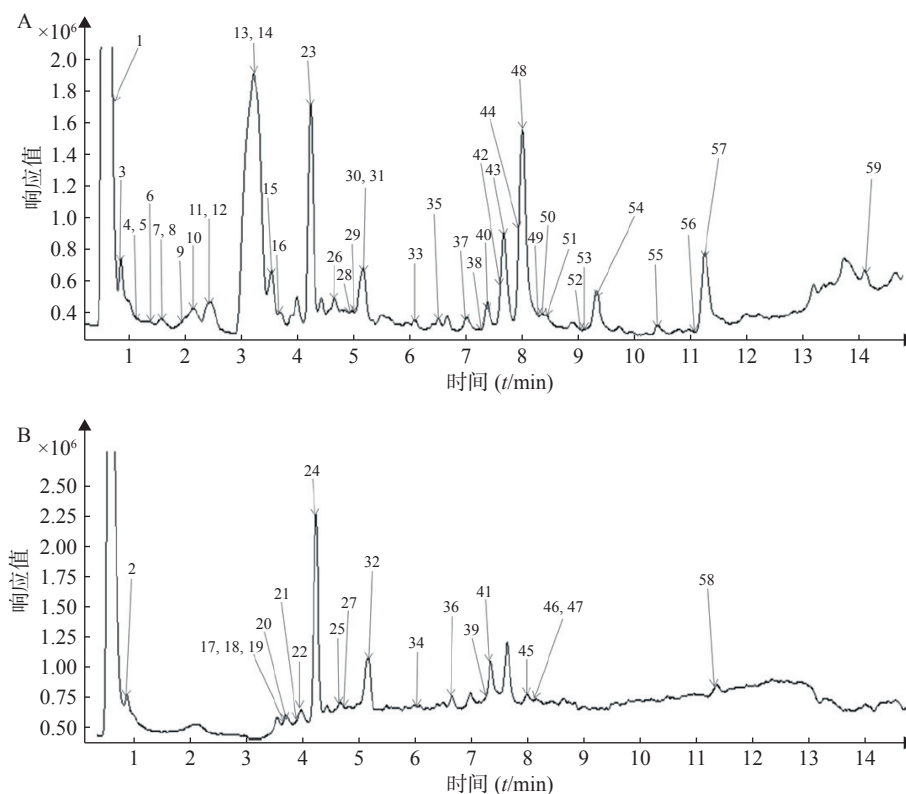


图 1 麻杏石甘汤的 UPLC-QTOF/MS 色谱图

A.正离子模式; B.负离子模式

表 1 麻杏石甘汤的 UPLC-QTOF/MS 鉴定结果

序号	保留时间(min)	化合物	分子式	离子模式	$m/z$	质量	误差(ppm)	药材来源
1	0.645	蔗糖	$C_{12}H_{22}O_{11}$	$[M+Na]^+$	365.1045	342.1163	-2.15	苦杏仁
	0.657			$[M+HCOO]^-$	387.1176	342.1194	9.37	
2	0.905	柠檬酸	$C_6H_8O_7$	$[M-H]^-$	191.0911	192.0271	0.54	苦杏仁
3	0.918	腺苷	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	$[M+H]^+$	268.1024	267.0949	-6.79	苦杏仁
4	1.034	异亮氨酸	$C_6H_{13}NO_2$	$[M+H]^+$	132.1012	131.0939	-5.88	苦杏仁
5	1.034	丙位己内酯	$C_6H_{10}O_2$	$[M+NH_4]^+$	132.1012	114.0673	-6.68	苦杏仁
6	1.572	复盆子酮	$C_{10}H_{12}O_2$	$[M+NH_4]^+$	182.1165	164.0824	-8	麻黄

(续表 1)

序号	保留时间(min)	化合物	分子式	离子模式	<i>m/z</i>	质量	误差(ppm)	药材来源
7	1.630	1-苯基-1,2-丙二酮	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	166.0857	148.0519	-3.55	麻黄
8	1.630	苯丙氨酸	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	166.0852	165.0784	-3.3	苦杏仁
9	2.118 2.155	杏仁核酰胺	C <sub>20</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>12</sub>	[M+Na] <sup>+</sup>	498.1582	475.1686	-0.73	苦杏仁
				[M+HCOO] <sup>-</sup>	520.1677	475.1694	0.99	
10	2.176	吡啶酮	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	134.0599	133.0525	-1.66	苦杏仁
11	2.457	间甲基丙酮	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	152.1065	134.0747	-3.78	麻黄
12	2.457	去甲基麻黄碱	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	152.1065	151.0922	-3.54	麻黄
13	3.244	麻黄碱	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	166.1221	165.1448	-3.27	麻黄
14	3.244	4-异丙基-苯甲醛	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	166.1221	148.0883	-3.62	麻黄
15	3.542	O-N-甲基伪麻黄碱	C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	180.1382	179.1308	-1.08	麻黄
16	3.583 3.603	扁桃酸-β-龙胆二糖苷	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>	[M+Na] <sup>+</sup>	499.1420	476.1525	-1.02	苦杏仁
				[M-H] <sup>-</sup>	475.1469	476.1542	2.45	
17	3.727	对羟基苯甲酸乙酯	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	165.0555	166.0628	-1.3	麻黄
18	3.727	苯甲醛	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	[M+CH <sub>3</sub> COO] <sup>-</sup>	165.0556	106.0417	-1.83	麻黄
19	3.727	苯乙酮	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	[M+HCOO] <sup>-</sup>	165.0555	120.0573	-1.93	麻黄
20	3.752 3.804	对香豆酸	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	[M+HCOO] <sup>-</sup>	209.0450	164.0469	-2.43	麻黄
				[M+H] <sup>+</sup>	165.0542	164.0464	-5.88	
21	3.992 4.005	(+) -儿茶素	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	289.0724	290.0793	0.97	麻黄、苦杏仁
				[M+H] <sup>+</sup>	291.0850	290.0776	-4.94	
22	4.034	苜蓿-β-龙胆二酸	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>11</sub>	[M+HCOO] <sup>-</sup>	477.1618	432.1632	0.09	苦杏仁
23	4.270 4.270 4.274	苦杏仁苷	C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>11</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	458.1649	457.1587	-0.62	苦杏仁
				[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	475.1927	457.1587	-0.62	
				[M+HCOO] <sup>-</sup>	502.1570	457.1590	-1.46	
24	4.274	6"-O-乙酰苦参碱	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	[M+CH <sub>3</sub> COO] <sup>-</sup>	519.1482	460.1341	-6.1	甘草
25	4.712	异夏佛塔苷	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	563.1422	564.1481	0.4	甘草
26	4.717	夏佛塔苷	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	565.1552	564.1472	-1.25	甘草
27	4.754	野黑樱苷	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>6</sub>	[M+HCOO] <sup>-</sup>	340.1035	295.1051	-1.79	苦杏仁
28	5.007 5.027	1-甲氧基槲皮素	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	579.1700	578.1630	-1.04	甘草
				[M-H] <sup>-</sup>	577.1563	578.1639	0.51	
29	5.147 5.176	芹糖异甘草苷	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	551.1744	550.1672	-2.61	甘草
				[M-H] <sup>-</sup>	549.1619	550.1690	0.56	
30	5.205	4',7-二羟基黄酮	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	257.0802	256.0726	-2.72	甘草
31	5.205 5.225	甘草苷	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	419.1377	418.1267	0.84	甘草、苦杏仁
				[M-H] <sup>-</sup>	417.1203	418.1273	2.26	
32	5.225	槲皮素	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	[M+HCOO] <sup>-</sup>	417.1203	372.1220	2.83	甘草
33	6.132 6.161	芒柄花苷	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	431.1330	430.1252	-2.86	甘草
				[M+HCOO] <sup>-</sup>	475.1249	430.1260	-1	
34	6.161	芹菜素-5-鼠李糖苷	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	[M+CH <sub>3</sub> COO] <sup>-</sup>	475.1248	416.1105	-0.57	麻黄
35	6.687	甘草皂苷A3	C <sub>48</sub> H <sub>72</sub> O <sub>21</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	985.4643	984.4567	0.11	甘草
36	6.964	甘草皂苷E2	C <sub>42</sub> H <sub>60</sub> O <sub>16</sub>	[M+CH <sub>3</sub> COO] <sup>-</sup>	879.3996	820.3863	-2.28	甘草
37	7.026	甘草内酯	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	469.3302	468.3230	-1.99	甘草
38	7.407 7.410	田蓟苷	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	[M+Na] <sup>+</sup>	469.1100	446.1209	-0.88	麻黄
				[M+HCOO] <sup>-</sup>	491.1210	446.1223	2.19	
39	7.410	芹菜甙元-8-O-葡萄糖苷	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	[M+CH <sub>3</sub> COO] <sup>-</sup>	491.1211	432.1068	2.77	麻黄
40	7.415 7.419	甘草皂苷G2	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>17</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	839.4060	838.3982	-0.6	甘草
				[M-H] <sup>-</sup>	837.3909	838.3980	-0.8	
41	7.419	光甘草轮	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	[M+CH <sub>3</sub> COO] <sup>-</sup>	357.0631	298.0489	3.88	甘草
42	7.668	18-α-甘草次酸	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	471.3464	470.3388	-1.72	甘草
43	7.697 7.717	甘草酸	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	823.4107	822.4030	-0.93	苦杏仁、甘草
				[M-H] <sup>-</sup>	821.3976	822.4044	0.78	

(续表 1)

序号	保留时间(min)	化合物	分子式	离子模式	$m/z$	质量	误差(ppm)	药材来源
44	8.044	反式-2-壬烯醛	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	158.1536	140.1198	-6.07	麻黄
45	8.255	3-丁基-3a,4,5,6-四氢-顺式-1(3H)-异苯并呋喃酮	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	[M+CH <sub>3</sub> COO] <sup>-</sup>	253.1441	194.1301	-2.92	麻黄
46	8.263	反式-2-癸烯酸乙酯	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	[M+HCOO] <sup>-</sup>	243.1593	198.1617	-1.26	麻黄
47	8.263	2-十一烯酸	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	[M+CH <sub>3</sub> COO] <sup>-</sup>	243.1597	184.1459	-2.32	苦杏仁
48	8.284	甘草皂苷J2	C <sub>42</sub> H <sub>64</sub> O <sub>16</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	825.4220	824.4146	-5.92	甘草
49	8.375	十六烷酸	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	274.2734	256.2394	-3.33	麻黄
50	8.458	2-十四酮	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	230.2467	212.2127	-6.07	甘草
51	8.483	2-羟基十六烷酸	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	290.2674	272.2339	-4.56	苦杏仁
52	9.360	康唑烷酮	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	437.1925	436.1852	-7.69	甘草
53	9.369	双(4-乙基苯亚甲基)山梨糖醇	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	415.2111	414.2035	-1.76	苦杏仁
54	9.451	棕榈酸乙酯	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	302.3040	284.2702	-4.79	麻黄
55	10.428	花生酸	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	330.3354	312.3015	-4.23	麻黄
56	11.280	对苯二甲酸二丁酯	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	279.1585	278.1509	-3.11	苦杏仁
57	11.314	二十二烷酸	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	358.3663	340.3324	-5.08	苦杏仁
58	11.466	2,3,4-三甲基-5-苯基恶唑啉	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO	[M+CH <sub>3</sub> COO] <sup>-</sup>	250.1457	191.1318	3.86	麻黄
59	14.310	苯乙烯	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	122.0962	104.0621	-4.99	麻黄

### 3.3 主要类别化合物的鉴定及裂解规律研究

#### 3.3.1 生物碱类

麻黄的主要有效成分为总生物碱,其具有平喘的功效,麻黄碱不仅是临床常用的生物碱类化合物,并且是麻黄中的标志性成分,其作用于支气管平滑肌并伴有解痉的疗效,以达到止咳平喘的效果。在正离子模式下,13号峰的母离子峰是  $m/z$  166.1210[M+H]<sup>+</sup>,  $m/z$  148.1093 为该化合物的主要碎片离子峰,可判断为母离子峰先脱去一分子的 H<sub>2</sub>O 而得;得到的碎片离子脱掉一个 CH<sub>3</sub> 即可得到  $m/z$  133.0869[M+H-H<sub>2</sub>O-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>的碎片离子;碎片离子  $m/z$  148.1093[M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>进一步脱掉一个 CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, 得到碎片离子  $m/z$  117.0602[M+H-H<sub>2</sub>O-CH<sub>3</sub>N]<sup>+</sup>, 对照品的二级质谱碎片离子图,如图 2 所示,同时参

考麻黄碱的碎片离子( $m/z$ ),根据生物碱类化合物的裂解规律可以推测出该峰为麻黄碱,裂解途径如图 3 所示。

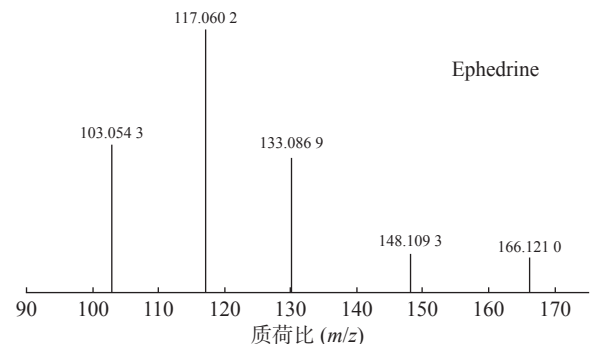


图 2 麻黄碱正离子模式下二级质谱碎片图

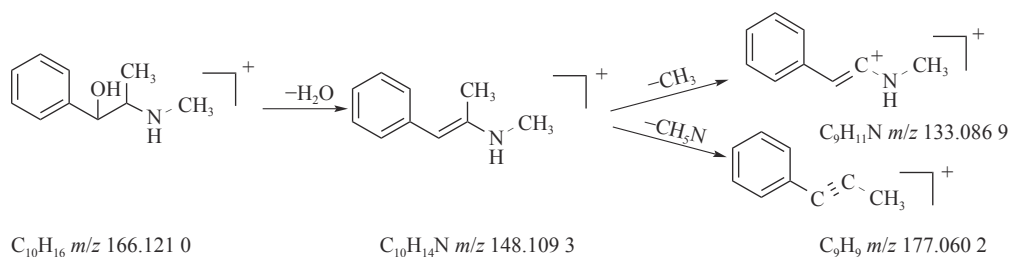


图 3 麻黄碱的裂解途径

#### 3.3.2 黄酮类

甘草中成分繁多,黄酮类是其成分之一,31号峰在正离子模式下裂解途径如下:其母离子

峰  $m/z$  419.1328[M+H]<sup>+</sup>首先脱去一分子的脱水葡萄糖,得到  $m/z$  257.0831[M+H-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>]<sup>+</sup>的一个碎片离子峰;其碎片离子进一步失去一个 H<sub>2</sub>O 分子,得

到碎片离子  $m/z$  239.0746 $[M+H-C_6H_{10}O_5-H_2O]^+$ ; 碎片离子再一次分别脱掉一个 CO 和  $C_6H_4O$ , 产生  $m/z$  211.0743 $[M+H-C_6H_{10}O_5-H_2O-CO]^+$ 和  $m/z$  147.0443 $[M+H-C_6H_{10}O_5-H_2O-C_6H_4O]^+$ 的两种碎片离子峰, 在逆狄尔斯-阿尔德反应(RDA)的裂解下, 碎片离子峰  $m/z$  257.0831 $[M+H-C_6H_{10}O_5]^+$ 产生了两种碎片离子, 分别是  $m/z$ 137.0240 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_8H_8O]^+$ 和  $m/z$ 119.0495 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_7H_4O_3]^+$ , 通过参考甘草苷化合物的碎片离子( $m/z$ ), 对照对照品二级质谱碎片图, 如图4所示, 由此可以鉴定出该化合物为甘草苷, 裂解途径如图5所示。

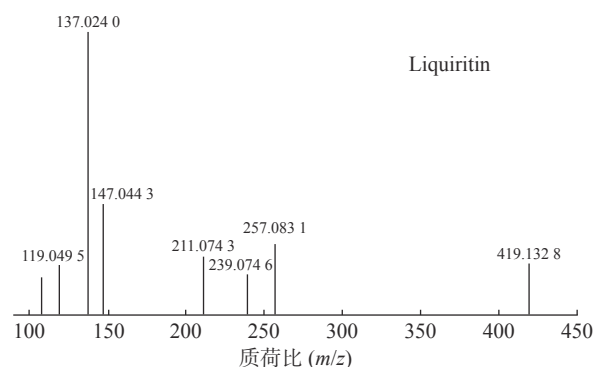


图4 甘草苷正离子模式下二级质谱碎片图

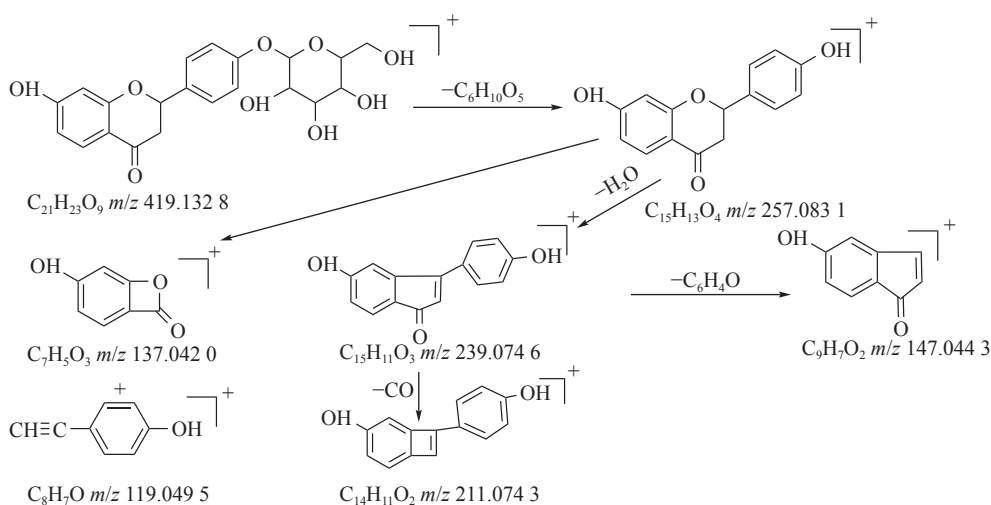


图5 甘草苷的裂解途径

### 3.3.3 三萜类

甘草酸属于三萜皂苷类, 在甘草、苦杏仁中都有其成分。在正离子的扫描模式下, 43号峰的母离子峰为  $m/z$  823.4118 $[M+H]^+$ , 母离子峰首先脱去一分子的糖醛酸, 得到碎片离子  $m/z$  647.3810 $[M+H-C_6H_8O_6]^+$ , 然后又脱去一个糖醛酸, 得到碎片离子  $m/z$  471.3449 $[M+H-2C_6H_8O_6]^+$ , 接着又失去一分子的  $H_2O$ , 得到  $m/z$  453.3341 $[M+H-2C_6H_8O_6-H_2O]^+$ 的碎片离子峰, 本研究参考化合物甘草酸的碎片离子( $m/z$ ), 以及参照对照品二级质谱碎片图, 如图6所示, 根据该类化合物的相关裂解规律可以判断为甘草酸, 裂解途径如图7所示。

### 3.3.4 氰苷类

苦杏仁属传统常用中药, 苦杏仁苷是苦杏仁中的一种主要成分。在正离子模式下, 化合物23的分子式为  $C_{20}H_{27}NO_{11}$ , 由  $m/z$  458.1649 $[M+H]^+$ 和  $m/z$  475.1927 $[M+NH_4]^+$ 的两个峰可知,  $m/z$  296.1153处的峰值归因于  $[M+NH_4-Glc]^+$ 。将可能的碎片化途径与参考数据进行比较<sup>[17-19]</sup>, 并结合 ESI(+) 模式

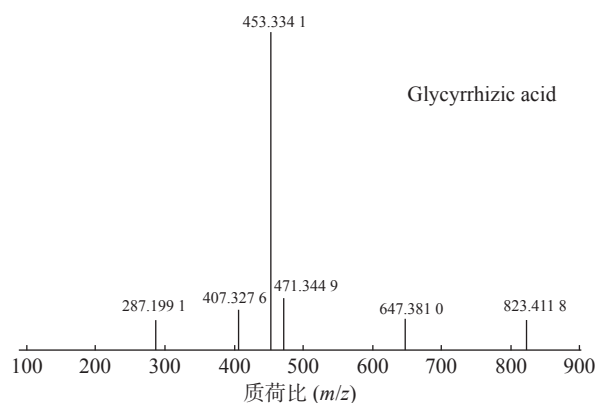


图6 甘草酸正离子模式下二级质谱碎片图

保留时间与参照对照品二级质谱碎片图(见图8), 结果表明化合物23为苦杏仁苷, 是苦杏仁中存在的一种化学成分, 其他特征碎片以及可能的碎片裂解途径如图9所示。

## 4 讨论

麻杏石甘汤由麻黄、杏仁、石膏和甘草组方而成, 方中麻黄主要的生物碱类化合物具有止咳平

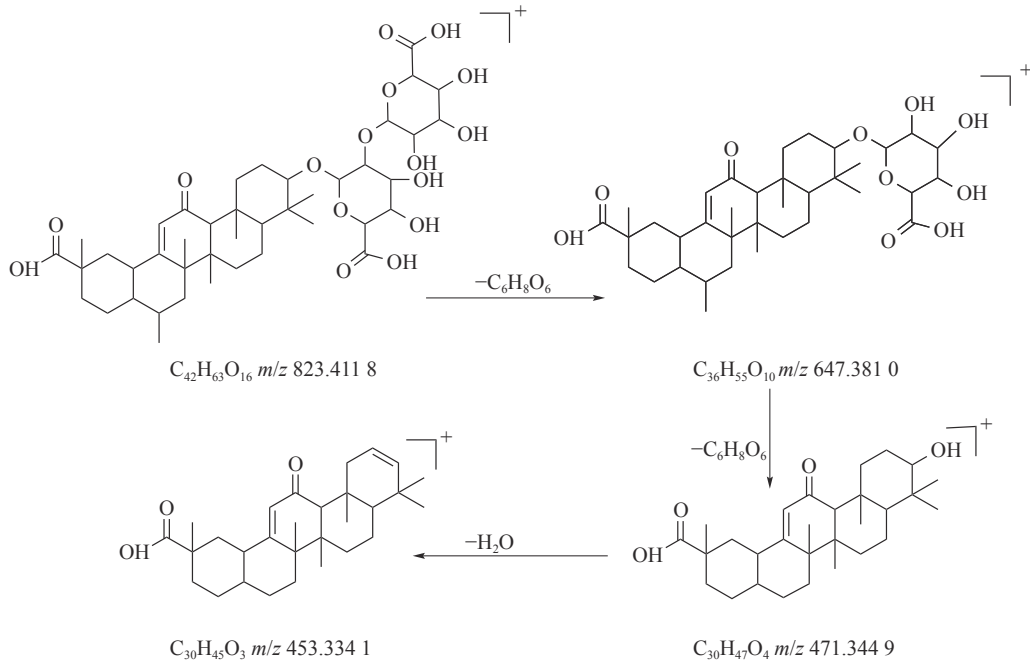


图7 甘草酸的裂解途径

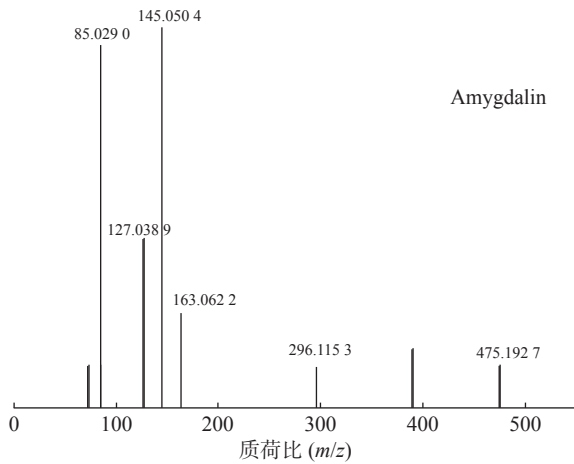


图8 苦杏仁苷正离子模式下二级质谱碎片图

喘、镇痛等临床疗效,甘草中的黄酮类成分有明显的抗炎、抗菌、抗肿瘤的功效,此外,方中甘草酸和苦杏仁苷等有效成分均有其平喘、止咳的作用。麻杏石甘汤组方简单,药效显著,在新冠肺炎不同病理过程的治疗阶段都有其身影,但是已有研究对该方的化学成分深入研究尚浅,因此,明确麻杏石甘汤的主要化学成分对于揭示其组方原理,阐明作用机制与药效物质基础具有一定的参考价值。

本研究采用UPLC-QTOF/MS技术,在短时间内对麻杏石甘汤的化学成分进行了定性分析,一共鉴定出了59种有效的化学成分,该方法分离速度快,分辨率高且分析时间短。采用二级质谱分析

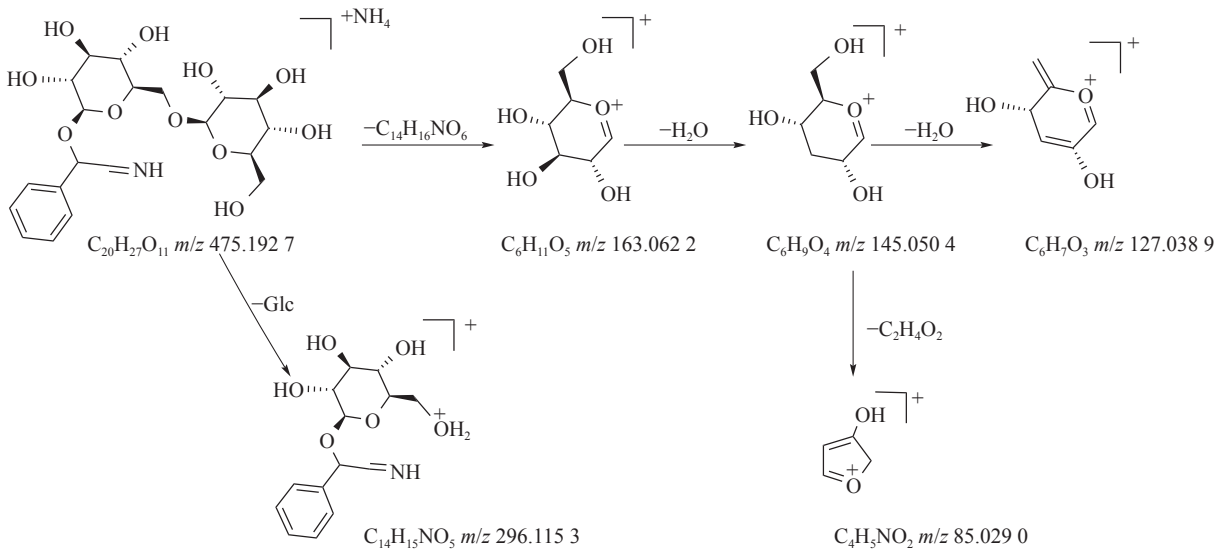


图9 苦杏仁苷的裂解途径



证了麻黄碱等主要成分的质谱碎片裂解规律,为麻杏石甘汤的入血成分的快速鉴定提供方法学基础。本研究为麻杏石甘汤抗新冠肺炎药效物质基础及其作用机制的深入研究奠定基础。

### 【参考文献】

- [1] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. Addendum: a pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J]. *Nature*, 2020, 588(7836): E6.
- [2] CORONAVIRIDAE Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and Naming it SARS-CoV-2[J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(4): 536-544.
- [3] WU F, ZHAO S, YU B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China[J]. *Nature*, 2020, 579(7798): 265-269.
- [4] LU R J, ZHAO X, LI J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding[J]. *Lancet*, 2020, 395(10224): 565-574.
- [5] 全瑞国, 韦丽琴, 郑东华. 古代瘟疫的中医药防治启发新冠肺炎的思考 [J]. *北方药学*, 2020, 17(8): 176-178.
- [6] ZHOU Y Y, GAO W Y, GU X R, et al. Identification and attribution of chemical constituents of Qingfei Paidu Decoction based on UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS technology[J]. *China J Chin Mater Med*, 2020, 45(13): 3035-3044.
- [7] ZHAO Z Y, LI Y D, ZHOU L Y, et al. Prevention and treatment of COVID-19 using Traditional Chinese Medicine: a review[J]. *Phytomedicine*, 2021, 85: 153308.
- [8] NI L Q, CHEN L L, HUANG X, et al. Combating COVID-19 with integrated traditional Chinese and Western medicine in China[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(7): 1149-1162.
- [9] 荆瑶瑶, 邢龄艺, 李想, 等. 麻杏石甘汤现代研究概述 [J]. *天津中医药大学学报*, 2023, 42(2): 264-272.
- [10] 张艳, 刘雪松, 薛沾枚, 等. 麻杏石甘汤处方药材研究进展 [J]. *现代畜牧科技*, 2023(1): 5-8.
- [11] FEI Y X, ZHAO B, YIN Q Y, et al. Ma Xing Shi Gan Decoction attenuates PM<sub>2.5</sub> induced lung injury via inhibiting HMGB1/TLR4/NFκB signal pathway in rat[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1361.
- [12] LI Q Q, BAI C, YANG R C, et al. Deciphering the pharmacological mechanisms of Ma Xing Shi Gan Decoction against COVID-19 through integrating network pharmacology and experimental exploration[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 581691.
- [13] YANG R C, LIU H, BAI C, et al. Chemical composition and pharmacological mechanism of Qingfei Paidu Decoction and Ma Xing Shi Gan Decoction against Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): in silico and experimental study[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 157: 104820.
- [14] GUO T T, GUO Y N, LIU Q B, et al. The TCM prescription Ma-xing-Shi-Gan-Tang inhibits *Streptococcus pneumoniae* pathogenesis by targeting pneumolysin[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 275: 114133.
- [15] LI Y, CHU F H, LI P, et al. Potential effect of Mxing Shigan Decoction against coronavirus disease 2019 (COVID-19) revealed by network pharmacology and experimental verification[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 271: 113854.
- [16] WU J, TANG F, ZHANG X Q, et al. Application of Jiawei Mxing Shigan Tang in the treatment of COVID-19: an observational study[J]. *Front Med*, 2022, 9: 1028171.
- [17] ZHENG L, FANG L X, CONG H J, et al. Identification of chemical constituents and rat metabolites of Kangxianling Granule by HPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. *Biomed Chromatogr*, 2015, 29(11): 1750-1758.
- [18] XU S Y, XU X F, YUAN S X, et al. Identification and analysis of amygdalin, neoamygdalin and amygdalin amide in different processed bitter almonds by HPLC-ESI-MS/MS and HPLC-DAD[J]. *Molecules*, 2017, 22(9): 1425.
- [19] FU S, CHENG R R, DENG Z X, et al. Qualitative analysis of chemical components in Lianhua Qingwen capsule by HPLC-Q Exactive-Orbitrap-MS coupled with GC-MS[J]. *J Pharm Anal*, 2021, 11(6): 709-716.

[收稿日期] 2023-06-14 [修回日期] 2023-11-06

[本文编辑] 陈盛新