基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术分析黑骨藤追风活络胶囊的物质基础及入血成分

田燕荣[1]，王嘉伟[2]，李慧馨[3]，胡　晓[2*]，孙宜春[1,3*]

（1. 贵州中医药大学，贵州贵阳 550025；2. 上海医药工业研究院有限公司，上海 201203；
3. 国药集团同济堂（贵州）制药有限公司，贵州贵阳 550026）

摘要：采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对黑骨藤追风活络胶囊提取物的物质基础和入血成分进行了研究，根据化合物的保留时间、准分子离子峰和二级质谱信息，并结合对照品及文献报道，从黑骨藤追风活络胶囊中共鉴定出 82 个化合物，其中包括生物碱类化合物 47 个、苯丙素类化合物 9 个、甾体类化合物 7 个和其他类化合物 19 个。在此基础上，在灌胃给药的大鼠血清中共鉴定出 9 个原型入血成分，包括 7 个生物碱，即 *N*- 去甲基青藤碱、二氢青藤碱、青藤碱、光千金藤碱、木兰花碱、异青藤碱和 6-*O*- 去甲基蝙蝠葛波酚碱，以及 1 个核苷和 1 个脂肪酸。本研究阐明了黑骨藤追风活络胶囊的物质基础和入血成分，为其后续试验研究提供了参考。

关键词：黑骨藤追风活络胶囊；UPLC-Q-TOF-MS/MS；物质基础；入血成分

中图分类号：R917；R284.1　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2024)05-0686-12

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.05.013

Analyses of Material Basis and Components Migrating to Blood of *Heiguteng Zhuifeng Huoluo* Capsules by UPLC-Q-TOF-MS/MS

TIAN Yanrong[1], WANG Jiawei[2], LI Huixin[3], HU Xiao[2*], SUN Yichun[1,3*]

(*1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025; 2. Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai 201203; 3. China National Pharmaceutical Group (Guizhou) Tongjitang Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550026*)

ABSTRACT: The material basis and blood-entering components of the *Heiguteng Zhuifeng Huoluo* Capsules (HZHC) extract were investigated by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS). Based on the retention times, quasi-molecular ion peaks, and secondary mass spectrometry information, combined with the reference substances and literature data, a total of 82 compounds were identified from the HZHC, including 47 alkaloids, 9 phenylpropanoids, 7 steroids, and 19 other compounds. Based on this, 9 prototype compounds absorbed into the blood were identified in the serum of rats that received HZHC via gavage, including 7 alkaloids, which were *N*-demethylsinomenine, dihydrosinomenine, sinomenine, stepharine, magnoflorine, isosinomenine and 6-*O*-demethylmenisporphine, 1 nucleoside and 1 fatty acid. This preliminary investigation elucidated the material basis and blood-absorbed components of the HZHC, which would provide a reference for subsequent experimental research.

Key Words: *Heiguteng Zhuifeng Huoluo* capsule; UPLC-Q-TOF-MS/MS; material basis; blood- absorbed component

黑骨藤追风活络胶囊由青风藤（*Caulis Sinomenii*）、黑骨藤［系萝藦科植物黑龙骨（*Periploca forrestii* Schltr）的根茎］和追风伞［系报春花科植物狭叶落地梅（*Lysimachia paridiformis* Franch.）的全草或根］三味药物按比例 3 ∶ 2 ∶ 1.7 组成，出自《湘西苗药汇编》，是普遍流传于苗族民间的有效经验方，被国药集团同济堂（贵州）制药有限公司开发为独家专利新药（国药准字 Z20025279）。此方中，青风藤味苦，性平，归肝、脾经；具有祛风湿、通经络、镇痛和利小便等功效[1—2]；黑骨藤是苗族医药常用药材，味苦、辛，性温，有小毒，主治风湿关节痛、跌打损伤和月经不调等[3]；追风伞是苗族长期用于治疗痹症的有效经验用药，具有祛风通络、活血止痛之效[4]。三药合用，苗医中其主治“抬奥、抬蒙：僵见风，稿计凋嘎边蒙”，即中医的“祛风除湿，通络止痛”，可用于风寒湿痹，肩臂腰腿疼痛，临床中对于类风湿关节炎（rheumatoid arthritis，RA）患者有良好的疗效[5]。

已有研究证实，黑骨藤追风活络胶囊能有效降低 RA 患者血清及关节液中炎症因子的表达，降低 RA 患者关节腔内的炎症反应，缓解骨侵蚀，从而减轻 RA 患者的关节炎肿胀程度和关节疼痛[6]。但针对黑骨藤追风活络胶囊的物质基础方面的报道较少，其潜在药效物质基础尚不明确。

因此，为充分挖掘和合理开发黑骨藤追风活络胶囊，本研究利用中药血清药物化学的相关理论，结合 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术研究黑骨藤追风活络胶囊的物质基础和入血成分，初步探究其药效物质基础，以期为该药的合理使用和临床推广提供理论依据。

1 仪器与试药

Xevo G2 型四极杆串联飞行时间质谱仪和 Acquity™ 超高效液相色谱系统（美国 Waters 公司）；TurboVap® LV 型氮气浓缩仪（瑞士 Biotage 公司）；MS204S 型电子天平［梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司］。

黑骨藤追风活络胶囊［国药集团同济堂（贵州）制药有限公司，批号 180816］；青风藤、黑骨藤和追风伞药材［国药集团同济堂（贵州）制药有限公司］；木兰花碱（成都德斯特生物技术有限公司，含量 98.0%，批号 DST180226-004）；绿原酸（中国食品药品检定研究院，含量 99.3%，批号 1N7K-9CB1）；新绿原酸（含量 98.0%，批号 3209）、隐绿原酸（含量 98.0%，批号 3208）、尿苷（含量 98.0%，批号 3555）均购自上海诗丹德科技有限公司；甲酸、水合氯醛和乙腈均为质谱级，其他试剂均为分析级，水为纯化水。

雄性 SD 大鼠 10 只［SPF 级，体质量（200±20）g］购自上海必凯科翼生物科技有限公司，动物生产许可证号为 SCXK（沪）2018-0006。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

复方供试品溶液：取黑骨藤追风活络胶囊数粒，混匀，精密称定，置 50 mL 具塞锥形瓶中，加入甲醇 25 mL 超声（功率 350 W，频率 50 Hz）提取 30 min，放冷至室温，摇匀，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得复方供试品溶液。

单方供试品溶液：取适量青风藤、黑骨藤和追风伞药材粉末，精密称定，分别置 50 mL 具塞锥形瓶中，加入甲醇 25 mL 超声（功率 350 W，频率 50 Hz）提取 30 min，放冷至室温，摇匀，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得各单方供试品溶液。

混合对照品溶液：取木兰花碱、绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸和尿苷对照品适量，精密称定，加入甲醇制成每 1 mL 中分别含木兰花碱、绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸和尿苷 40、50、50、60、60 μg 的混合对照品溶液。

2.2 动物试验方案

将大鼠随机分为对照组和给药组，每组 5 只。适应性饲养 1 周。试验前 12 h 禁食、不禁水。给药组灌胃剂量为 0.28 g/kg（按成人临床剂量 0.045 g/kg 的 6.3 倍折算），空白组给予等量生理盐水；给药 2 h 后，腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉，从心脏取血，置未抗凝的

收稿日期：2023-07-05

基金项目：中央引导地方科技发展资金（GZIM 202001-9-2，归肺经类中药质量标志物快速鉴别及质量追溯系统研究）

作者简介：田燕荣（1997—），女，硕士研究生，专业方向：中药及民族药质量控制及新药研究。

通信作者：孙宜春（1984—），男，主任药师，硕士生导师，从事中药药效物质基础研究及中药新药开发。

E-mail：suntjt@126.com

胡　晓（1983—），男，研究员，博士生导师，从事中药药效物质基础研究及天然先导化合物的发现。

E-mail：xjtuyxhx@126.com

1.5 mL 离心管中，于 4 ℃离心 (6 067.2×*g*) 10 min，取上层血清置 －80 ℃冰箱中保存待用。

2.3 血清样品的处理

合并每组血清样品，精密吸取血清 500 μL，加入 3 倍量的甲醇沉淀蛋白，涡旋 5 min，于 4 ℃离心 (24 268.8×*g*) 10 min，取上清液，用温和的 37 ℃氮气流吹干，再加甲醇 100 μL 复溶，涡旋 5 min，于 4 ℃离心 (24 268.8×*g*) 10 min，即得血清样品溶液。

2.4 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析方法

2.4.1 色谱条件

色谱柱 Waters ACQUITY UPLC® HSS T_3 柱 (2.1 mm×100 mm，1.8 μm)；流动相 A 为 0.1%的甲酸水溶液，B 为乙腈，洗脱梯度 (0—1 min，B 0；1—20 min，B 0—28%；20—40 min，B 28%—80%；40—42 min，B 80%—100%；42—45 min，B 100%；45—45.1 min，B 100 % —0；45.1—48 min，B 0)；柱温 35 ℃；流速 0.36 mL/min；进样量 1 μL。

2.4.2 质谱条件

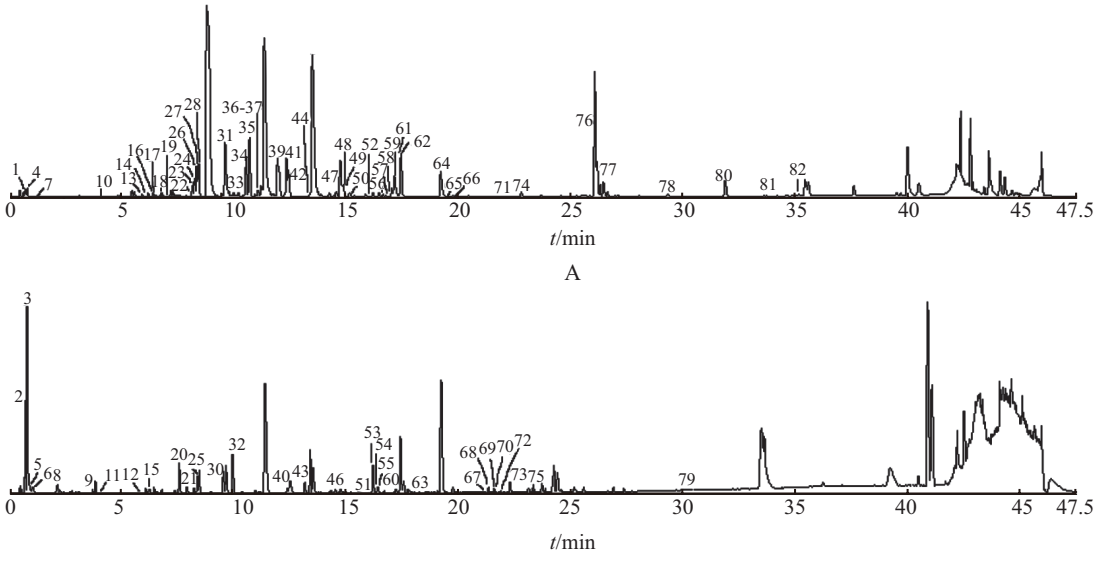
离子源 电喷雾电离源 (ESI)，正 / 负离子扫描模式，全波长扫描；质量扫描范围 50 ～ 1 500；脱溶剂气 氮气；脱溶剂气流速 500 L/h；温度 400 ℃；锥孔气 氮气；锥孔气流速 100 L/h；电压 40 eV；电离源温度 120 ℃；毛细管电压 3 500 eV；碰撞气 氩气；低碰撞能 6 eV；高碰撞能 30 ～ 60 eV。以亮氨酸脑啡肽溶液作为实时校正标准溶液，流速 5 μL/min，正离子模式下 *m*/*z* 556.277 1[M+H]$^+$，负离子模式下 *m*/*z* 554.261 5[M－H]$^-$。

2.5 化学成分分析

取“**2.1**”项下的复方供试品溶液和各单方药材供试品溶液，以及“**2.3**”项下的血清样品溶液，按“**2.4**”项下的色谱质谱条件进样测定，得到正、负离子模式下的基峰色谱图（图 1 ～ 3）。通过 MassLynx 4.1 软件采集质谱数据，提取各个色谱峰的准分子离子峰、碎片峰信息，结合对照品及文献数据，对化合物进行分析和结构鉴定。

2.6 黑骨藤追风活络胶囊化学成分的鉴别

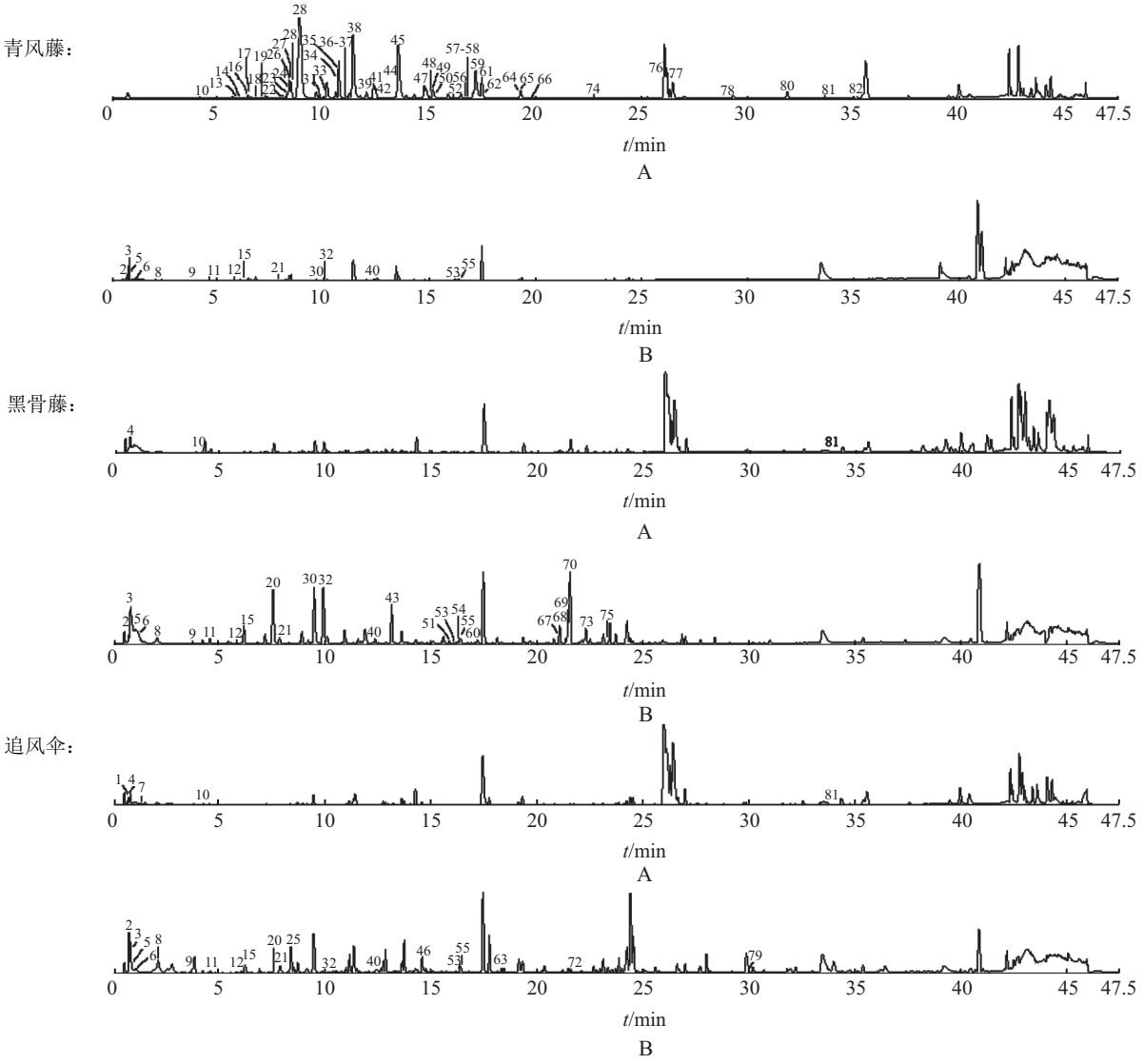
通过准分子离子峰确定分子式，二级碎片信息分析化合物质谱裂解规律，结合对照品及相关文献数据，共鉴定了 82 个化学成分：生物碱类 47 个、苯丙素类 9 个、甾体类 7 个，其他类 19 个。通过与单味药材色谱信息进行比对，归属了上述 82 个化合物的药材来源，其中青风藤专属成分 45 个、黑骨藤专属成分 11 个、追风伞专属成分 7 个、共有成分 19 个，如表 1 和图 4 所示（其中，化合物 19 和 77 是



A—正离子模式图；B—负离子模式图。

图 1　黑骨藤追风活络胶囊基峰色谱图

Fig.1　Base Peak Chromatograms of *Heiguteng Zhuifeng Huoluo* Capsules (HZHC)



A—正离子模式图；B—负离子模式图。

图 2 各单方药材基峰色谱图

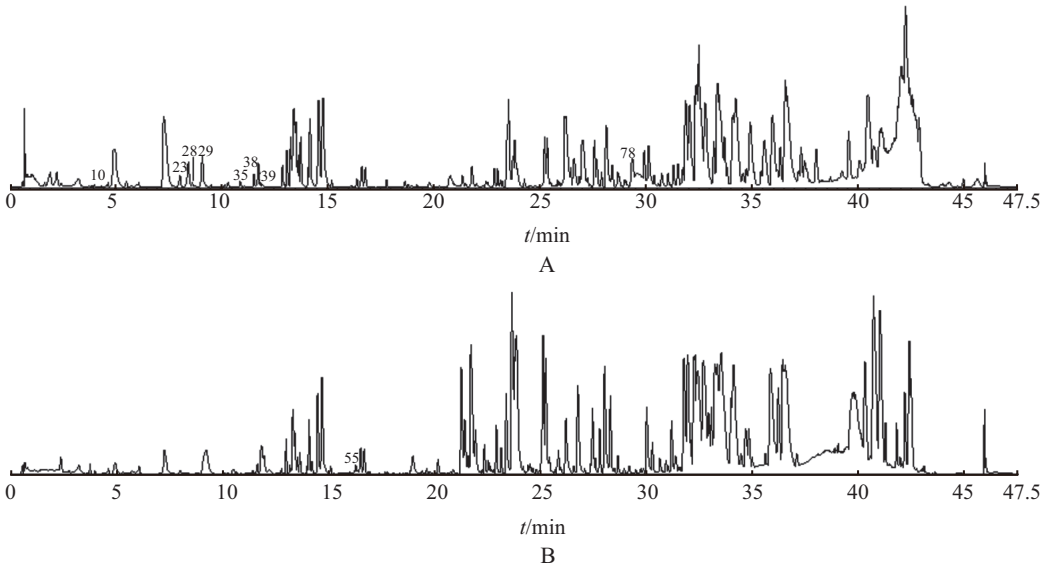
Fig.2 Base Peak Chromatograms of Each Single Herbal Medicine

异构体，结构未知，故在图中未体现）。

2.6.1 生物碱类化合物

生物碱类化合物多来源于青风藤，主要为苄基异喹啉型（峰 **16**、**17**、**22**、**26**、**27**、**34**、**36**、**37**、**42**）、阿朴啡型（峰 **38**、**41**、**45**、**48**、**49**、**77**、**78**、**80**、**82**）、吗啡烷型（峰 **13**、**14**、**18**、**19**、**23**、**24**、**28**、**29**、**31**、**39**、**57**）、原小檗碱型和小檗碱型（峰 **44**、**47**、**50**、**52**、**56**、**58**、**59**、**61**、**62**、**65**、**74**、**76**）。这 5 种异喹啉类生物碱以及其他生物碱（峰 **1**、**4**、**33**、**35**、**64**、**66**）。这类化合物在正离子模式中响应较高。

吗啡烷型生物碱在青风藤中最为常见，该类化合物易先失去 N 上取代基及含 N 桥环。以峰 **29** 为例，在正离子模式下，准分子离子峰为 *m/z* 330.170 9 $[M+H]^+$，推断可能的分子式为 $C_{19}H_{23}NO_4$，MS^E 质谱图产生 *m/z* 273.111 2$[M+H-C_3H_7N]^+$、241.086 1 $[M+H-C_3H_7N-CH_4O]^+$、239.071 5$[M+H-C_3H_7N-CH_4O-2H]^+$、213.089 5$[M+H-C_3H_7N-CH_4O-CO]^+$、211.075 4$[M+H-C_3H_7N-CH_4O-2H-CO]^+$、209.059 8$[M+H-C_3H_7N-2CH_4O]^+$、207.044 3$[M+H-C_3H_7N-2CH_4O-2H]^+$、181.064 1$[M+H-C_3H_7N-$



A—正离子模式图；B—负离子模式图。

图 3　大鼠含药血清基峰色谱图

Fig.3　Base Peak Chromatograms of Drug-containing Serum of Rats

$2CH_4O-CO]^+$、153.069 1[M+H－C_3H_7N－$2CH_4O$－$2CO]^+$ 等碎片离子（如图 5A 所示），确定为青藤碱，与文献 [7—8] 报道相符合。

原小檗碱型和小檗碱型在结构上主要区别在于 C 环氢化程度不同，其质谱裂解方式是相同的，都是先失去环上的羟基、甲氧基等取代基，进一步丢失母核的 CO 等基团，使得母核形成 *p*-π 共轭体系，因此母核中的 N 原子较难丢失。化合物 **61**（表 1）的准分子离子峰为 336.124 0[M]$^+$，推断分子式为 $C_{20}H_{18}NO_4^+$，MS^E 图谱中产生 *m*/*z* 321.096 7[M+H－CH_3]$^+$、320.092 5[M+H－CH_3－H]$^+$、306.113 8[M+H－$2CH_3$]$^+$、292.096 6[M+H－CH_3–H－CO]$^+$、278.077 0[M+H－$2CH_3$－CO]$^+$ 等碎片离子（如图 5B 所示），经查阅文献 [7—8]，与伪小檗碱的主要裂解一致。

苄基异喹啉类生物碱的母核常最先裂解，一方面会丢失 [$NH(CH_3)_2$]$^+$、[NH_2CH_3]$^+$、[NH_3]$^+$ 等基团从而形成 [M－45]$^+$、[M－31]$^+$、[M－17]$^+$ 的碎片峰，另一方面会易发生 α 裂解，形成 *m*/*z* 相对较小的碎片。峰 **34** 的准分子离子峰为 286.144 7 [M+H]$^+$，推断分子式为 $C_{17}H_{19}NO_3$，MS^E 图谱中一方面因母核断裂，丢失一分子 NH_3 产生 *m*/*z* 269.115 8 的碎片离子，后再发生断裂继而丢失 CH_3OH，形成环氧结构，产生 *m*/*z* 237.090 0 的碎片离子；另一方面，母核发生 α 裂解，产生 *m*/*z* 178.081 0 和 107.050 0 的碎片离子（见图 5C），经查阅文献 [7—8]，与乌药碱的主要裂解一致。

阿朴啡型生物碱易先断裂苯环上甲氧基、羟基及 N 上甲基等取代基。峰 **38** 的准分子离子峰为 342.169 8[M]$^+$，推测分子式为 $C_{20}H_{24}NO_4^+$，MS^E 图谱中产生 *m*/*z* 297.113 3[M+H－$(CH_3)_2NH$]$^+$、282.088 2[M+H－$(CH_3)_2NH$－CH_3]$^+$、265.084 9[M+H－$(CH_3)_2NH$－CH_3OH]$^+$、237.090 0[M+H－$(CH_3)_2NH$－CH_3OH－CO]$^+$ 等碎片离子（如图 5D 所示），经与文献 [7—8] 比对和对照品确认，确定为木兰花碱。

2.6.2　苯丙素类化合物

苯丙素类化合物（峰 **20**、**25**、**30**、**32**、**40**、**43**、**51**、**54**、**60**）在 3 种药材中均有分布，多为绿原酸异构体。峰 **20**、**30**、**32** 在负离子模式下的准分子峰均为 *m*/*z* 353，提示分子式为 $C_{16}H_{18}O_9$。MS^E 图谱中，多产生 *m*/*z* 191、179、135 等碎片离子，为脱去咖啡酸或奎宁酸时，酯键或醚键断裂产生的碎片离子，故推断 3 个化合物均为绿原酸的同分异构体。经过与对照品和文献 [9] 数据对比，确证峰 **20** 为新绿原酸，峰 **30** 为绿原酸（裂解途径如图 6 所示），

表 1　黑骨藤追风活络胶囊的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 化学成分鉴别结果

Tab.1　Identification Results of HZHC by UPLC-Q-TOF-MS/MS

峰号[1]	保留时间 / min	化合物名称	分子式	加合离子	试验值（*m/z*）	真实值（*m/z*）	误差 /×10^{-6}	主要离子碎片	来源[2]
1	0.786	甜菜碱	$C_5H_{11}NO_2$	$[M+H]^+$	118.087 1	118.086 8	2.5	—	L
2	0.786	葡萄糖酸	$C_6H_{12}O_7$	$[M-H]^-$	195.050 0	195.050 5	-2.6	—	S、P、L
3	0.872	奎尼酸	$C_7H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	191.054 9	191.055 6	-3.7	—	S、P、L
4	0.883	水苏碱	$C_7H_{13}NO_2$	$[M+H]^+$	144.102 6	144.102 5	0.7	—	P、L
5	0.889	蔗糖	$C_{12}H_{22}O_{11}$	$[M+HCOO]^-$	387.114 2	387.113 9	0.8	179.055 2	S、P、L
6	1.141	苹果酸	$C_4H_6O_5$	$[M-H]^-$	133.013 6	133.013 7	-0.8	115.003 1	S、P、L
7	1.381	2- 哌啶甲酸	$C_6H_{11}NO_2$	$[M+H]^+$	130.086 2	130.086 8	-4.6	128.058 9	L
8	2.211	枸橼酸	$C_6H_8O_7$	$[M-H]^-$	191.019 2	191.019 2	0.0	111.006 8、87.005 3	S、P、L
9*	3.789	尿苷	$C_9H_{12}N_2O_6$	$[M-H]^-$	243.062 1	243.061 7	1.6	200.989 1、187.989 4	S、P、L
10	4.156	腺苷	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	$[M+H]^+$	268.104 1	268.104 6	-1.9	136.061 3	S、P、L
11	4.653	鸟苷	$C_{10}H_{13}N_5O_5$	$[M-H]^-$	282.083 5	282.083 8	-1.1	150.0410、133.014 1、108.019 8	S、P、L
12	5.877	香草酸	$C_8H_8O_4$	$[M-H]^-$	167.035 2	167.034 4	4.8	152.916 5	S、P、L
13	5.980	去甲基二氢青藤碱	$C_{18}H_{23}NO_4$	$[M+H]^+$	318.170 3	318.170 5	-0.6	243.099 9、241.080 8、215.106 6、213.085 0、211.073 0、209.055 8、183.081 2、155.085 4	S
14	6.146	青藤碱 -4-*O*-β-*D*- 葡萄糖苷	$C_{25}H_{33}NO_9$	$[M+H]^+$	492.222 7	492.223 4	-1.4	330.168 5、299.121 3、267.099 0、255.102 2、223.070 4	S
15	6.318	原儿茶酸	$C_7H_6O_4$	$[M-H]^-$	153.018 6	153.018 8	-1.3	109.028 7、108.019 8	S、P、L
16	6.461	去甲基乌头碱 -4'-*O*-β-*D*- 葡萄糖苷	$C_{22}H_{27}NO_8$	$[M+H]^+$	434.181 9	434.181 5	0.9	272.132 9、255.102 2、161.058 4、107.047 1	S
17	6.592	laudanosoline-1-*O*-xylopyranose	$C_{22}H_{27}NO_8$	$[M+H]^+$	434.181 8	434.181 5	0.7	255.102 2、161.058 4	S
18	6.838	cephatonine-2-*O*-β-*D*-glucopyranoside	$C_{26}H_{35}NO_{10}$	$[M+H]^+$	522.234 5	522.233 9	1.1	303.123 7、285.113 3、270.090 9、243.100 1、192.101 6	S
19	7.222	青藤碱 -4-*O*-β-*D*- 葡萄糖苷异构体	$C_{25}H_{33}NO_9$	$[M+H]^+$	492.224 2	492.223 4	1.6	330.168 5、255.102 2	S
20*	7.655	新绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	353.087 2	353.087 3	-0.3	191.050 8、179.029 8、173.044 1、135.041 7	P、L
21	7.964	原儿茶醛	$C_7H_6O_3$	$[M-H]^-$	137.023 7	137.023 9	-1.5	—	S、P、L
22	8.217	去甲乌头碱	$C_{16}H_{17}NO_3$	$[M+H]^+$	272.129 0	272.128 7	1.1	255.102 2、165.067 2、152.060 9、127.055 8、115.051 2、107.047 1	S
23	8.303	*N*- 去甲基青藤碱	$C_{18}H_{21}NO_4$	$[M+H]^+$	316.155 2	316.154 9	0.9	239.070 8、209.059 7、178.076 9、137.061 0	S
24	8.468	*N*- 甲基青藤碱	$C_{20}H_{25}NO_4$	$[M+H]^+$	344.186 3	344.186 2	0.3	255.096 8、241.087 1、239.070 1、213.088 0、207.042 4、195.080 6、181.065 1	S
25	8.492	对羟基苯丙酸	$C_9H_{10}O_3$	$[M-H]^-$	165.054 9	165.055 2	-1.8	119.945 3	L
26	8.531	乌药碱 -*O*- 葡萄糖苷	$C_{23}H_{29}NO_8$	$[M+H]^+$	448.197 1	448.197 1	0.0	286.144 0、269.116 3、237.087 7、207.040 6、175.074 6、137.056 2、107.047 1	S
27	8.616	6-*O*-methyl-laudanosoline-1-*O*-glucoside	$C_{24}H_{31}NO_9$	$[M+H]^+$	478.207 1	478.207 7	-1.3	316.155 9、192.101 6、177.078 8	S
28	8.634	二氢青藤碱	$C_{19}H_{25}NO_4$	$[M+H]^+$	332.186 2	332.186 2	0.0	193.101 4、181.066 2、165.072 4、153.067 0	S
29	9.011	青藤碱	$C_{19}H_{23}NO_4$	$[M+H]^+$	330.170 9	330.170 5	1.2	273.111 2、241.086 1、239.071 5、213.089 5、211.075 4、209.059 8、207.044 3、181.064 1、153.069 1	S
30*	9.606	绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	353.087 4	353.087 3	0.3	191.047 9、179.027 0、173.044 9、135.039 4	S、P
31	9.823	*N*- 去甲基清风藤碱	$C_{18}H_{19}NO_4$	$[M+H]^+$	314.139 6	314.139 2	1.3	298.109 8、283.081 5、254.080 1、237.075 1	S

（续表 1）

峰号 [1)]	保留时间 / min	化合物名称	分子式	加合离子	试验值（*m/z*）	真实值（*m/z*）	误差 /×10^{-6}	主要离子碎片	来源 [2)]
32*	10.046	隐绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	353.087 2	353.087 3	-0.3	191.047 9、179.029 8、173.039 1、135.041 7	S、P、L
33	10.276	尖防己碱	$C_{19}H_{24}ClNO_6$	$[M+H]^+$	398.137 0	398.137 0	0.0	323.067 2、305.100 9、277.104 8	S
34	10.756	乌药碱	$C_{17}H_{19}NO_3$	$[M+H]^+$	286.144 7	286.144 3	1.4	269.115 8、237.090 0、178.081 0、107.050 0	S
35	10.887	光千金藤碱	$C_{18}H_{19}NO_3$	$[M+H]^+$	298.144 4	298.144 3	0.3	254.089 9、238.097 2、161.084 3、160.075 5、146.059 5	S
36	11.003	去甲基乌药碱 -6-*O*-β-*D*- 葡萄糖苷	$C_{22}H_{27}NO_8$	$[M+H]^+$	434.181 6	434.181 5	0.2	298.106 3、272.126 2、255.102 2、209.095 2、181.060 7、161.063 6、107.051 3	S
37	11.106	藤泊它碱	$C_{20}H_{26}NO_4^+$	$[M]^+$	344.186 1	344.186 2	-0.3	312.125 9、297.100 1、192.101 6、165.067 2、128.047 4	S
38*	11.585	木兰花碱	$C_{20}H_{24}NO_4^+$	$[M]^+$	342.169 8	342.170 5	-2.0	297.113 3、282.088 2、265.084 9、237.090 0	S
39	11.998	异青藤碱	$C_{19}H_{23}NO_4$	$[M+H]^+$	330.170 3	330.170 5	-0.6	298.141 6、270.151 4、245.120 9、241.087 6、223.076 5、209.059 7、195.080 1、181.066 2、153.067 0、152.060 9、141.067 2、115.055 6	S
40	12.460	乙酰苯丙氨酸	$C_{11}H_{13}NO_3$	$[M-H]^-$	206.081 1	206.081 7	-2.9	—	S、P、L
41	12.580	樟叶木防己碱	$C_{20}H_{24}NO_4^+$	$[M]^+$	342.170 7	342.170 5	0.6	297.110 7、265.086 0、233.058 8、222.068 9、205.063 5、194.072 4、177.067 9、165.069 8、151.053 1	S
42	12.660	木兰箭毒碱	$C_{19}H_{24}NO_3^+$	$[M]^+$	314.175 9	314.175 6	1.0	297.110 7、265.086 0、250.060 8、239.070 8、237.094 0、222.062 8、205.060 5、194.069 5、176.061 7、165.067 2、143.047 8、115.055 6、107.049 2	S
43	13.205	3-*O*- 咖啡酰基 4-*O*- 芥子酰基奎宁酸	$C_{27}H_{28}O_{13}$	$[M-H]^-$	559.144 7	559.145 2	-0.9	419.171 4、353.084 4、191.059 1、179.033 3、161.022 5、135.043 2	P
44	13.428	碎叶紫堇碱	$C_{19}H_{19}NO_4$	$[M+H]^+$	326.138 7	326.139 2	-1.5	178.082 4	S
45	13.543	蝙蝠葛任碱	$C_{21}H_{26}NO_4^+$	$[M]^+$	356.185 3	356.186 2	-2.5	296.106 1、281.081 1、265.086 0、248.080 8、236.083 6、219.078 1、207.078 8、206.069 9、189.067 3、178.076 9、165.069 8、152.060 9、139.052 0	S
46	14.767	杨梅苷	$C_{21}H_{20}O_{12}$	$[M-H]^-$	463.085 9	463.087 7	-3.9	300.030 2、271.027 6	L
47	14.773	千金藤宁碱	$C_{19}H_{18}NO_4^+$	$[M]^+$	324.123 6	324.123 6	0.0	309.099 7、294.0741、266.079 8、237.078 3	S
48	15.068	蝙蝠葛波酚碱	$C_{19}H_{15}NO_4$	$[M+H]^+$	322.108 1	322.107 9	0.6	307.080 9、294.077 6、279.087 7、278.080 0、266.079 8、264.064 0、250.086 7	S
49	15.086	紫堇定甲醚	$C_{21}H_{25}NO_4$	$[M+H]^+$	356.186 3	356.186 2	0.3	280.107 5、265.082 6、237.087 7、222.081 1	S
50	15.400	Thalifaurine	$C_{19}H_{16}NO_4^+$	$[M]^+$	322.108 1	322.107 9	0.6	307.845 0、279.091 1、278.080 0、266.083 2、250.086 7	S
51	16.006	异绿原酸 B	$C_{25}H_{24}O_{12}$	$[M-H]^-$	515.117 3	515.119 0	-3.3	223.056 9、195.065 0、191.056 3、179.033 3、173.045 7、135.043 2	P
52	16.081	四氢表小檗碱	$C_{20}H_{21}NO_4$	$[M+H]^+$	340.154 7	340.154 9	-0.6	298.106 3、284.125 8、192.101 6、163.038 3	S
53	16.292	无梗五加苷 B	$C_{28}H_{36}O_{13}$	$[M-H]^-$	579.207 7	579.207 8	-0.2	417.157 4、181.052 7	S、P、L
54	16.430	异绿原酸 A	$C_{25}H_{24}O_{12}$	$[M-H]^-$	515.117 5	515.119 0	-2.9	417.157 4、223.063 0、191.059 1、179.033 3、135.043 2	P
55	16.449	壬二酸	$C_9H_{16}O_4$	$[M-H]^-$	187.097 0	187.097 0	0.0	—	S、P、L
56	16.693	脱氢离木番荔枝亭	$C_{20}H_{20}NO_4^+$	$[M]^+$	338.139 3	338.139 2	0.3	323.117 1、308.089 8、294.111 5、280.094 4、279.088 2、250.084 0	S
57	16.842	14- 表青藤碱	$C_{19}H_{23}NO_4$	$[M+H]^+$	330.170 5	330.170 5	0.0	223.070 4、207.046 4、195.080 1、181.060 7、165.067 2、152.060 9、139.052 0	S

（续表 1）

峰号[1]	保留时间 / min	化合物名称	分子式	加合离子	试验值（*m/z*）	真实值（*m/z*）	误差 /×10^{-6}	主要离子碎片	来源[2]
58	16.990	脱氢紫堇达明碱	$C_{20}H_{20}NO_4^+$	$[M]^+$	338.139 2	338.139 2	0.0	323.113 4、308.089 8、294.111 5、280.094 4、279.088 2、250.087 2	S
59	17.288	伪非洲防己碱	$C_{20}H_{20}NO_4^+$	$[M]^+$	338.139 7	338.139 2	1.5	323.113 4、322.106 1、308.089 8、294.111 5、280.094 4、279.088 2、250.087 2	S
60	17.310	异绿原酸 C	$C_{25}H_{24}O_{12}$	$[M-H]^-$	515.118 6	515.119 0	-0.8	223.063 0、195.065 0、191.059 1、179.033 3、173.045 7、135.043 2	P
61	17.408	伪小檗碱	$C_{20}H_{18}NO_4^+$	$[M]^+$	336.124 0	336.123 6	1.2	321.096 7、320.092 5、306.113 8、292.096 6、278.077 0	S
62	17.557	非洲防己碱	$C_{20}H_{20}NO_4^+$	$[M]^+$	338.139 0	338.139 2	-0.6	—	S
63	18.382	朝藿定 B	$C_{38}H_{48}O_{19}$	$[M-H]^-$	807.268 6	807.271 2	-3.2	645.213 6、514.144 7、351.086 5	L
64	19.347	*N*- 阿魏酰酪胺	$C_{18}H_{19}NO_4$	$[M+H]^+$	314.139 3	314.139 2	0.3	207.064 1、177.051 5、145.027 5、121.063 5、117.030 9	S
65	19.530	黄藤素	$C_{21}H_{22}NO_4^+$	$[M]^+$	352.155 3	352.154 9	1.1	337.121 6、336.122 8	S
66	19.862	*N*- 反式 - 阿魏酰 -3- 甲氧基酪胺	$C_{19}H_{21}NO_5$	$[M+H]^+$	344.149 7	344.149 8	-0.3	167.066 3、165.061 9	S
67	21.108	corchorusoside C	$C_{35}H_{54}O_{13}$	$[M+COOH]^-$	727.257 6	727.260 2	-3.6	519.295 4	P
68	21.386	Δ^5-pregnene-3β,16α,20*S*-triol 20-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→6)-β-*D*-glucopyranosyl-(1→2)-β-*D*-digitalopyranoside	$C_{40}H_{66}O_{17}$	$[M+COOH]^-$	863.427 2	863.427 7	-0.6	817.424 0、655.364 2、493.313 7、323.099 8	P
69	21.489	滇杠柳苷 I	$C_{36}H_{54}O_{13}$	$[M+COOH]^-$	739.354 1	739.354 1	0.0	693.345 8、531.292 4、387.140 6	P
70	21.583	杠柳毒苷	$C_{36}H_{56}O_{13}$	$[M+COOH]^-$	741.369 1	741.369 7	-0.8	695.364 4、533.313 8、389.236 7、371.114 2、353.096 7、335.078 5	P
71	21.906	淫羊藿苷	$C_{33}H_{40}O_{15}$	$[M+H]^+$	677.242 3	677.244 5	-3.2	553.154 3、391.125 3	L
72	21.929	滇杠柳苷元 A	$C_{23}H_{32}O_5$	$[M+COOH]^-$	433.221 7	433.222 6	-2.1	—	P
73	22.335	杠柳苷元	$C_{23}H_{34}O_5$	$[M+COOH]^-$	435.238 0	435.238 3	-0.7	—	P
74	22.833	氧化异紫堇根碱	$C_{20}H_{21}NO_5$	$[M+H]^+$	356.150 1	356.149 8	0.8	280.104 0、207.064 1、178.087 8、163.064 5、149.022 6、136.051 8	S
75	23.405	glycoside K	$C_{40}H_{66}O_{16}$	$[M+COOH]^-$	847.432 1	847.432 7	-0.7	801.427 2、639.371 9、477.120 5、317.111 0	P
76	26.037	8- 氧巴马亭	$C_{21}H_{21}NO_5$	$[M+H]^+$	368.149 3	368.149 8	-1.4	310.104 4、294.077 6、278.080 0、266.083 2	S
77	26.466	蝙蝠葛波酚碱异构体	$C_{19}H_{15}NO_4$	$[M+H]^+$	322.107 5	322.107 9	-1.2	306.081 1、292.094 5、278.080 0、262.085 6、250.086 7、235.062 7、219.065 9、207.070 0、191.076 2	S
78	29.355	6-*O*- 去甲基蝙蝠葛波酚碱	$C_{18}H_{13}NO_4$	$[M+H]^+$	308.092 4	308.092 3	0.3	281.070 8、264.064 0、236.067 8、222.056 7、219.065 9、194.058 2、191.070 5、190.061 9	S
79	30.224	(12)-9,10- 二羟基 -12- 十八碳烯酸	$C_{18}H_{34}O_4$	$[M-H]^-$	313.237 9	313.237 9	0.0	—	L
80	31.889	蝙蝠葛宁	$C_{20}H_{17}NO_5$	$[M+H]^+$	352.119 0	352.118 5	1.4	322.071 1、294.077 6、279.050 1、251.058 5、223.064 2	S
81	33.616	亚麻酸	$C_{18}H_{30}O_2$	$[M+H]^+$	279.232 6	279.232 4	0.7	235.062 7、184.074 8、141.115 8、89.050 8、81.070 8	S、P、L
82	35.161	山豆根波芬诺灵碱	$C_{19}H_{15}NO_5$	$[M+H]^+$	338.102 6	338.102 8	-0.6	322.067 4、294.077 6、280.063 0、264.070 6、251.058 5、235.062 7、209.047 8	S

注：[1] “*” 表示与对照品比对后确认；[2] S 表示青风藤，P 表示黑骨藤，L 表示追风伞。

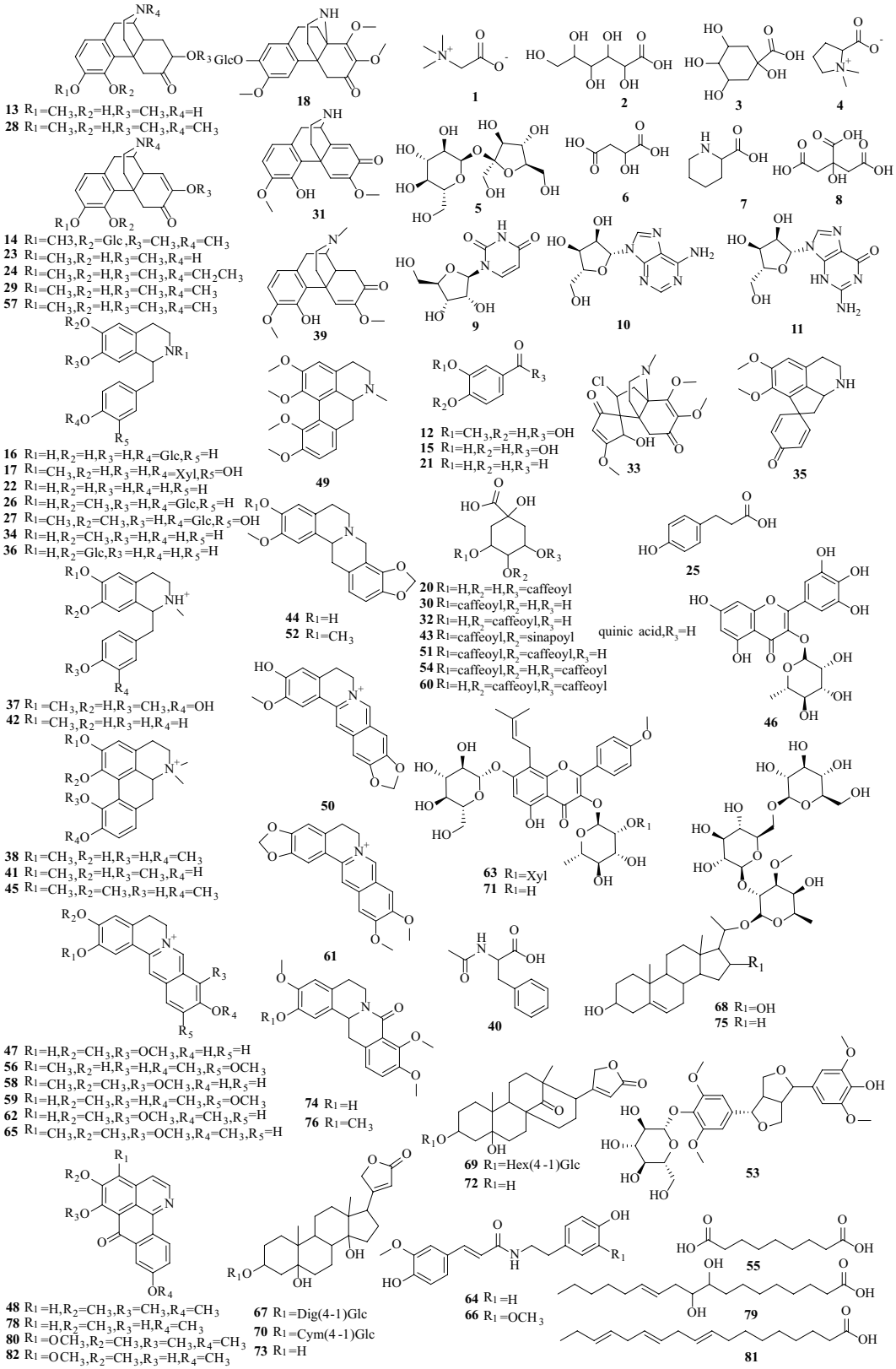
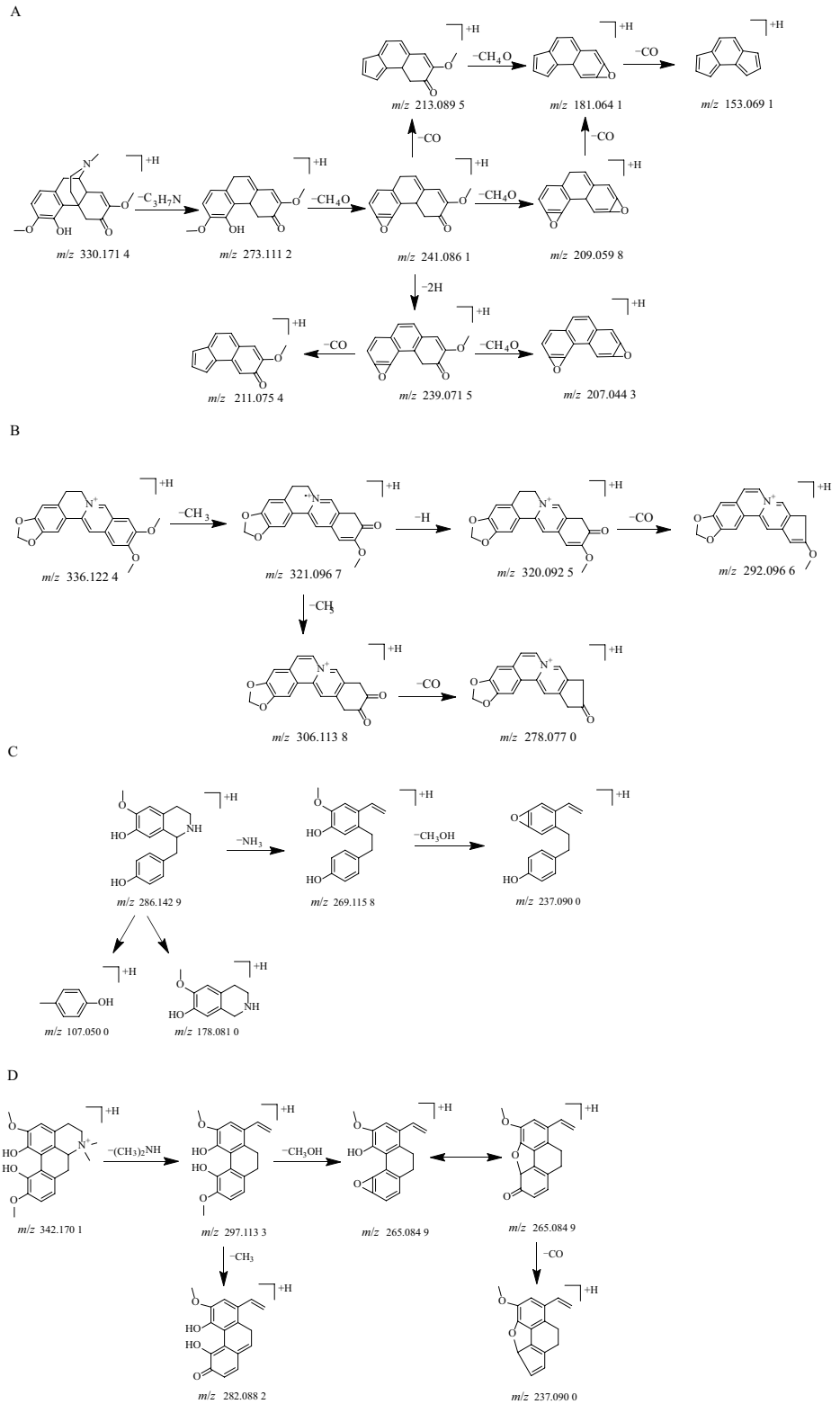


图 4　黑骨藤追风活络胶囊中鉴定的化合物结构

Fig.4　Chemical Structures of Compounds Identified in HZHC



A—峰 **29** 化合物；B—峰 **61** 化合物；C—峰 **34** 化合物；D—峰 **38** 化合物。

图 5 生物碱裂解途径

Fig.5 Cleavage Pathways of Alkaloids

峰 **32** 为隐绿原酸。

2.6.3 甾体类化合物

甾体类化合物主要来源于黑骨藤（峰 **67**、**68**、**69**、**70**、**72**、**73**、**75**），以甲型强心苷类化合物为主，其次是 C_{21} 甾体类化合物。甲型强心苷和 C_{21} 甾体化合物中多数含有糖基取代结构，其质谱裂解方式多以失去糖基，苷元脱去 H_2O 为主。峰 **70** 的准分子离子峰为 695.364 4[M－H]⁻，推测分子式为 $C_{36}H_{56}O_{13}$，MS^E 图谱中产生 *m*/*z* 533.313 8[M－H－Glu]⁻、*m*/*z* 389.236 7[M－H－Glu－$C_7H_{14}O_4$]⁻、*m*/*z* 371.114 2[M－H－Glu－$C_7H_{14}O_4$－H_2O]⁻、*m*/*z* 353.096 7[M－H－Glu－$C_7H_{14}O_4$－$2H_2O$]⁻、*m*/*z* 335.078 5[M－H－Glu－$C_7H_{14}O_4$－$3H_2O$]⁻ 等碎片离子（如图 7 所示），确定为杠柳毒苷，与文献[10—11]报道相符合。

2.6.4 其他类化合物

结合相关文献及二级碎片，本方法还鉴定了包括氨基酸、糖类、有机酸等其他类化合物。由于其他类化合物数量较少，且质谱碎片特征性不够明显，本研究不展开讲解。

2.7 入血原型成分的鉴别

通过比较给药组与空白对照组大鼠血清以及黑骨藤追风活络胶囊提取物的保留时间和质谱特征，指认出黑骨藤追风活络胶囊的 9 个原型成分，分别鉴定为：腺苷（**10**）、*N*-去甲基青藤碱（**23**）、二氢青藤碱（**28**）、青藤碱（**29**）、光千金藤碱（**35**）、木兰花碱（**38**）、异青藤碱（**39**）、壬二酸（**55**）、6-*O*-去甲基蝙蝠葛波酚碱（**78**）。其中 **29**、**35**、**38**、**39**、**23**、**28**、**78** 均为来自君药青风藤的生物碱；**10** 和 **55** 为 3 个处方药味的共有成分。

3 讨论

本试验利用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 对黑骨藤追风活络胶囊的化学成分进行全面表征，共鉴定化合物 82 个，其中包括生物碱类、苯丙素类、甾体类及

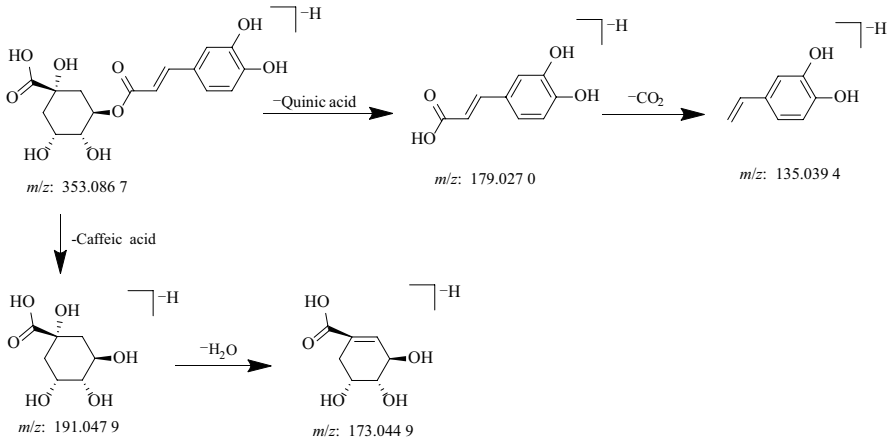


图 6　峰 30 的裂解途径

Fig.6　Cracking Pathways of Peak **30** Compound

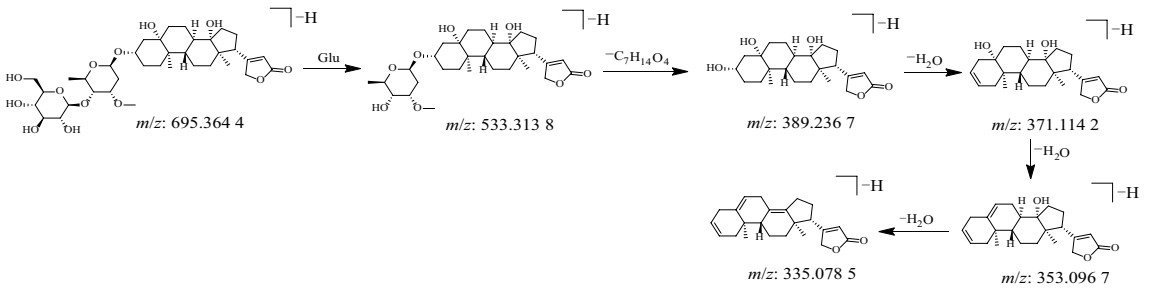


图 7　峰 70 的裂解途径

Fig.7　Cracking Pathway of Peak **70**

其他类，基本明确了黑骨藤追风活络胶囊的物质基础。对大类成分的质谱裂解规律进行了总结，为相应成分的快速鉴定提供了理论依据。

黑骨藤追风活络胶囊为传统口服中药，口服药进入机体后经历复杂的代谢过程，只有吸收入血的成分并达到一定血药浓度才可能发挥药效[12—13]。本研究在初步明确黑骨藤追风活络胶囊的物质基础后，进一步开展其入血成分初步研究。前期考察了大鼠灌胃后不同采血时间，通过比较含药血清色谱图中峰强度、峰数目及入血峰面积，最终确定大鼠灌胃后的最佳采血时间点为 2 h。从大鼠给药后 2 h 的含药血清中共鉴定出 9 个原型入血成分，包括 7 个生物碱（*N*- 去甲基青藤碱、二氢青藤碱、青藤碱、光千金藤碱、木兰花碱、异青藤碱和 6-*O*- 去甲基蝙蝠葛波酚碱），1 个核苷（腺苷）和 1 个脂肪酸（壬二酸）。生物碱类成分均来源于青风藤，腺苷和壬二酸为青风藤、黑骨藤和追风伞共有成分。青风藤为黑骨藤追风活络胶囊的君药，其中生物碱是青风藤主要的药理活性成分，具有镇痛、抗炎、免疫调节等重要作用[14—15]。已有研究表明，青藤碱和木兰花碱可通过抑制炎症因子和阻碍滑膜细胞增生减轻骨破坏，进而延缓 RA 患者病情的发展[16—17]；光千金藤碱、腺苷和壬二酸均具有抗炎作用[18—20]，进一步表明这些成分是黑骨藤追风活络胶囊抗类风湿关节炎的物质基础。在含药血清中未能检测出来源于黑骨藤和追风伞专属的原型入血成分，推测可能是由于这两味药材的专属成分在制剂中本身含量就低，导致吸收入血的药物浓度更低，或受在大鼠体内吸收、代谢性质影响，在进入血液后快速代谢而生成其他物质所致。

参考文献：

[1] 欧志安. 湘西苗药汇编 [M]. 湖南 : 岳麓书社 , 1990.

[2] 罗艳群 , 沈小兰 , 蔡三金 , 等. 青风藤化学成分和药理作用的研究进展及其质量标志物 (Q-Marker) 的预测分析 [J]. 中草药 , 2022, **53**(3): 898-911.

[3] 安兰兰 , 刘育辰 , 刘 刚 , 等. 苗药黑骨藤研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. 中华中医药学刊 , 2021, **39**(1): 136-141.

[4] 黄旭龙 , 范东生 , 高 源 , 等. 苗药追风伞的研究进展 [J]. 黑龙江农业科学 , 2018, (8): 132-135.

[5] 刘 杨 , 姜珊珊 , 陈向云 , 等. 黑骨藤追风活络胶囊对 RA 大鼠 PI3K/AKT/HIF-1α 通路的作用 [J]. 中国免疫学杂志 , 2019, **35**(18): 2206-2212.

[6] 古金华 , 吴娅琳 , 陈文礼 , 等. 黑骨藤追风活络胶囊治疗风寒湿痹型 RA 的临床疗效及机制 [J]. 中国实验方剂学杂志 , 2018, **24**(3): 180-184.

[7] 尹茂静. 青风藤化学成分及生物活性研究 [D]. 天津 , 天津中医药大学硕士学位论文 , 2021.

[8] JIANG Z M, WANG L J, PANG H Q, *et al*. Rapid profiling of alkaloid analogues in Sinomenii Caulis by an integrated characterization strategy and quantitative analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, **174**: 376-385.

[9] 何 峰 , 张 昀 , 张艳萍 , 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的舒肝宁注射液指纹图谱化学成分研究 [J]. 中国医药科学 , 2023, **13**(13): 64-68.

[10] FENG J Q, ZHAO W M. Five new pregnane glycosides from the root barks of Periploca sepium [J]. *Helvetica Chimica Acta*, 2008, **91**(9): 1798-1805.

[11] 李 琪 , 王 博 , 李晨阳 , 等. 黑骨藤 LC-MS 定性分析及 4 种绿原酸一测多评分析方法 [J]. 四川师范大学学报 (自然科学版), 2021, **44**(5): 666-673.

[12] 常存库 , 王喜军. 中药血清药物化学理论与方法的意义 [J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2010, **12**(4): 634-637.

[13] 王喜军. 中药血清药物化学的研究动态及发展趋势 [J]. 中国中药杂志 , 2006, **31**(10): 789-793.

[14] 陈舒茵 , 梁国成 , 秦 辛. 青风藤的化学成分与药理研究现状 [J]. 亚太传统医药 , 2022, **18**(3): 207-212.

[15] ZHAO X X, PENG C, ZHANG H, *et al*. Sinomenium acutum: a review of chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use [J]. *Pharm Biol*, 2012, **50**(8):1053-1061.

[16] 胡剑威 , 丁 超 , 吴 莹 , 等. 青藤碱及其制剂治疗类风湿性关节炎的研究进展 [J/OL]. 陕西中医药大学学报 : 1-7[2024-04-14].

[17] 申 玥. 威灵仙活性成分木兰花碱抗类风湿性关节炎滑膜增生作用机制研究 [D]. 成都 : 成都大学硕士学位论文 , 2024.

[18] HAO T, YANG Y, LI N, *et al*. Inflammatory mechanism of cerebral ischemia-reperfusion injury with treatment of stepharine in rats [J]. *Phytomedicine*, 2020, 153353.

[19] 蒋激扬 , 刘 发. 腺苷的抗炎作用 [J]. 中国药理学通报 , 1998, (S1): 4.

[20] 宋莎莎 , 王永芳 , 陈 毅 , 等. 壬二酸和水杨酸对痤疮丙酸杆菌诱导的细胞炎症因子及 TLR4 蛋白表达的影响 [J]. 现代药物与临床 , 2024, **39**(2): 296-303.