

草乌、川乌及附子中生物碱类成分的 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS 对比分析

戴胜云^{1#}, 崔议方^{2#}, 徐静², 周红燕², 宋书祚³, 兰先明³, 张稳稳³,
郑健^{1*}, 张加余^{3*}

(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629; 2. 山东中医药大学 药学院, 山东 济南 250300;
3. 滨州医学院 药学院, 山东 烟台 264003)

[摘要] 利用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS 液质联用技术对草乌、川乌及附子中的生物碱类成分进行系统分析, 并对对比分析三者所含生物碱类成分的差异。利用固相萃取柱对样品进行预处理后, 采用 0.1% 氨水(A) -乙腈(B) 进行梯度洗脱, 在 ESI 正离子模式下建立 3 种药材中生物碱类成分的 LC-MS 表征方法, 采集对照品与样品的高分辨质谱数据。结合对照品裂解行为、保留时间、精确相对分子质量等信息以及相关参考文献, 最终从草乌、川乌及附子中鉴定得到 155 种成分, 其中草乌中有 130 种, 川乌中有 127 种, 附子中有 92 种。结果表明, 草乌、川乌及附子中以单酯型生物碱与醇胺型生物碱为主, 且草乌与川乌的生物碱种类更为相似。该文可为阐明 3 种乌头属中药的药理作用和临床应用差异研究提供借鉴。

[关键词] UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS; 草乌; 川乌; 附子; 生物碱

Comparison of alkaloids in *Aconiti Kusnezoffii Radix*, *Aconiti Radix*, and *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* based on UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS

DAI Sheng-yun^{1#}, CUI Yi-fang^{2#}, XU Jing², ZHOU Hong-yan², SONG Shu-yi³, LAN Xian-ming³,
ZHANG Wen-wen³, ZHENG Jian^{1*}, ZHANG Jia-yu^{3*}

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China;
2. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250300, China;
3. School of Pharmacy, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China)

[Abstract] UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS was used to systematically analyze and compare the alkaloids in *Aconiti Kusnezoffii Radix*, *Aconiti Radix*, and *Aconiti Lateralis Radix Praeparata*. After the samples were pretreated in the solid-phase extraction cartridges, 0.1% ammonium hydroxide (A) -acetonitrile (B) was used for gradient elution. The LC-MS method for characterization of alkaloids in the three herbal medicines was established in ESI positive ion mode to collect high resolution MS data of reference substances and samples. On the basis of the information of reference substance cracking behavior, retention time, accurate molecular mass, and related literature, a total of 155 alkaloids were identified in *Aconiti Kusnezoffii Radix*, *Aconiti Radix*, and *Aconiti Lateralis Radix Praeparata*. Specifically, 130, 127, and 92 alkaloids were identified in *Aconiti Kusnezoffii Radix*, *Aconiti Radix*, and *Aconiti Lateralis Ra-*

[收稿日期] 2022-01-24

[基金项目] 山东省泰山学者青年专家项目(tsqn202103110); 山东省中药材及饮片标准研究课题(2020-246); 山东省青创人才引育团队——中药复杂体系作用模式解析创新研究团队项目(10073004); 中国食品药品检定研究院中青年基金项目(2022A2); 山东省重大科技创新工程项目(2021CXGC010511)

[通信作者] * 张加余 教授, 硕士生导师, 主要从事中药质量控制及体内代谢研究, Tel: (0535) 6913713, E-mail: zhangjiayu0615@163.com; * 郑健, 研究员, 硕士生导师, 主要从事民族药质量标准研究, Tel: (010) 53852080, E-mail: zhengjian@nifdc.org.cn

[作者简介] #戴胜云, 助理研究员, Tel: (010) 53852078, E-mail: daisy@nifdc.org.cn; #崔议方, 硕士研究生, E-mail: 15194181692@163.com

dix Praeparata, respectively. Monoester alkaloids and amino-alcohol alkaloids were dominant in the three herbal medicines, and the alkaloids in *Aconiti Kusnezoffii* Radix and *Aconiti* Radix were similar. This paper can provide a reference for elucidating the pharmacological effects and clinical application differences of the three herbal medicines produced from plants of *Aconitum*.

[Key words] UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS; *Aconiti Kusnezoffii* Radix; *Aconiti* Radix; *Aconiti Lateralis* Radix Praeparata; alkaloids

DOI: 10.19540/j.cnki.cjemm.20220506.201

川乌与附子分别为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的干燥母根与子根, 草乌为毛茛科植物北乌头 *A. kusnezoffii* Reichb. 的干燥块根, 三者均来源于毛茛科植物, 具有较强的毒性^[1]。它们具有相似的性味归经, 但川乌与草乌功效偏于祛寒止痛, 附子回阳救逆功效更为强大, 有“回阳救逆第一品药”之称^[1-4]。其中, 川乌与草乌虽功效相似, 但草乌毒性更为猛烈, 具有麻醉作用, 而川乌毒性相对较小, 无麻醉作用, 二者在临床应用时常相须使用^[5-6]。生物碱是乌头类中药“毒效双性”的重要物质基础, 现代研究表明生物碱具有较强的抗癌、抗炎、镇痛、局部麻醉等药理活性, 还可对神经、心脏、肝脏等产生明显的毒副作用^[4, 7-12]。

目前, 已有相关研究证明川乌与草乌、川乌与附子中的生物碱种类与含量存在一定差异^[6, 13-14], 但相关研究并不深入, 且未见有关川乌、草乌以及附子中的生物碱成分的系统对比分析研究。鉴于 UHPLC-HR-MS 技术的高分辨率、高质量精度、质量范围宽、动态范围广等优势^[15], 本文采用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS 液质联用技术对 3 种药材所含的生物碱类成分进行全面对比分析研究, 以期后续草乌、川乌及附子相关药效对比研究和临床应用提供可靠的依据。

1 材料

1.1 仪器与试剂 ThermoFisher DIONEX Ultimate 3000 超高效液相色谱仪与 Q-Exactive 组合型四极杆 Orbitrap 质谱仪(美国 ThermoFisher Scientific 公司), 基于 X Calibur 2.2 工作站采集与处理数据; KQ-250DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); TGL20M 型高速冷冻离心机(赛默飞世尔科技有限公司); QL-861 旋涡混合器(江苏其林贝尔仪器制造有限公司); 强酸性阳离子交换树脂(Strata X-C, Phenomenex 公司, 平均粒径 33 μm , 平均孔径 85 \AA , 200 mg/3 mL); 屈臣氏蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司); 氨水、乙腈(色谱纯, 天津

康科德科技有限公司)。

苯甲酰新乌头原碱(批号 111785-201805, 纯度 93.1%)、苯甲酰乌头原碱(批号 111794-201705, 纯度 99.1%)、苯甲酰次乌头原碱(批号 111796-201705, 纯度 98.6%)、乌头双酯型对照提取物(批号 112029-201601, 纯度为新乌头碱 31.7%, 次乌头碱 30.0%, 乌头碱 31.8%), 以上均购自中国食品药品检定研究院。

1.2 药材 川乌、草乌及附子均为中国食品药品检定研究院民族药室 2019 年中药饮片抽检工作中所收集, 所有样品经中国食品药品检定研究院民族药室郑健研究员鉴定为合格药材。

2 方法

2.1 供试品溶液的制备 取各样品粉末(过 3 号筛)约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 1% 盐酸溶液-甲醇(7:3)混合溶液 25 mL, 称定质量, 超声处理(功率 300 W, 频率 40 kHz; 水温 40 $^{\circ}\text{C}$ 以下) 30 min, 放冷, 补足失重, 摇匀, 取上清液至离心管中, 离心(4 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$) 15 min。精密量取上清液 10 mL, 分次加至已处理的 Strata X-C 柱(以甲醇、水各 3 mL, 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 6 mL 预洗)中, 容器用 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 6 mL 分次洗涤加至固相萃取柱, 抽干, 再分别用水、甲醇各 6 mL 洗脱, 弃去洗脱液, 用氨水-无水乙醇(1:6)溶液 10 mL 洗脱, 收集洗脱液, 减压回收溶剂(40 $^{\circ}\text{C}$ 以下)至干, 残渣加 0.1% 甲酸的甲醇溶液定容至 3 mL, 滤过, 即得。

2.2 对照品溶液的制备 称取乌头双酯型对照提取物以及 3 种单酯型生物碱(苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱、苯甲酰新乌头碱)各 5 mg, 加入甲醇使溶解, 制成混合溶液, 即得。

2.3 色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm); 流动相为 0.1% 氨水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~3 min, 0~15% B; 3~10 min, 15%~40% B; 10~16 min, 40%~70% B; 16~20 min, 70%~90% B); 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 流速 0.3 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;

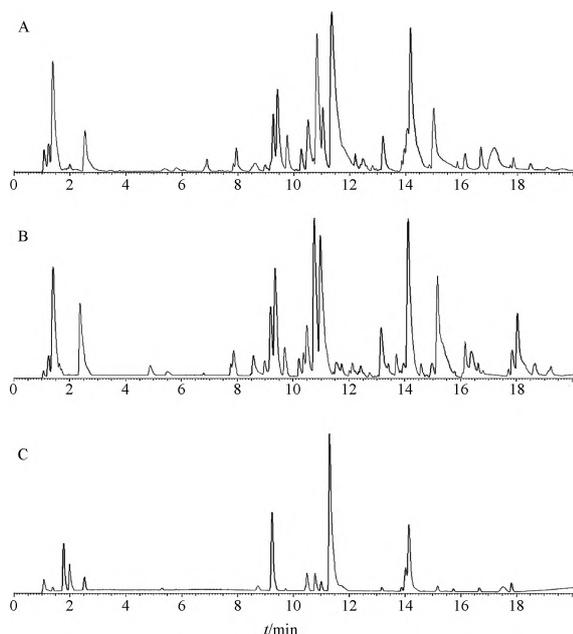
进样量 2 μL 。

2.4 质谱条件 选用电喷雾离子源(ESI),样品采用 Full MS/dd-MS² 扫描模式进行采集,一级扫描分辨率为 70 000,二级扫描分辨率为 35 000,傅里叶高分辨扫描范围 m/z 20 ~ 1 200,归一化碰撞能量(NCE): 20、40、60 eV。采用正离子检测模式,条件为毛细管温度 320 $^{\circ}\text{C}$,鞘气流速 35 arb,辅助气流速 10 arb,喷雾电压 3.5 kV。

2.5 高分辨质谱数据的处理 利用 X Calibur 2.2 工作站进行数据处理,相关参数设定为 C [0 ~ 70],H [0 ~ 120],O [0 ~ 40],N [0 ~ 5]以及环不饱和和双键数(RDB) [0 ~ 15],质量精度误差在 5×10^{-6} 以内。

3 结果与讨论

3.1 成分鉴定 草乌、川乌以及附子的 BPC 图见图 1。由图中可以看出,草乌与川乌中的生物碱成分相对丰富。结合精确相对分子质量、对照品碎片裂解规律、多级质谱数据、色谱保留行为以及相关文献等信息,本文最终从草乌、川乌及附子中鉴定出了 155 种生物碱类成分。所有成分鉴定信息见表 1。



A.草乌; B.川乌; C.附子。

图 1 草乌、川乌及附子的代表性 BPC 图

Fig.1 The representative BPC chromatograms of Aconiti Kusnezoffii Radix, Aconiti Radix, and Aconiti Lateralis Radix Praeparata

二萜类生物碱是草乌、川乌以及附子中的主要活性成分,也是其主要的毒性成分^[16]。根据母核结构的不同,二萜生物碱可分为 C18、C19、C20 以及双二萜类,其中 C19 型生物碱根据 C3、C8 和 C14 位取代基的不同,常分为多酯型生物碱、单酯型生物碱和醇胺型生物碱等^[17]。本研究发现草乌、川乌以及附子中的生物碱成分基本以 C19 类型为主,其母核结构见图 2。由于生物碱类成分中常存在 AcOH、C₆H₅COOH 以及 CH₃OH 等基团取代,故而在正离子模式下,可检测到 [M+H-AcOH]⁺、[M+H-C₆H₅COOH]⁺、[M+H-CH₃OH]⁺ 及 [M+H-AcOH-CH₃OH]⁺ 等诊断离子。同时,由于 CO、H₂O 等中性碎片的丢失,也会产生 [M+H-CO]⁺、[M+H-H₂O]⁺ 及 [M+H-AcOH-CH₃OH-CO]⁺、[M+H-CH₃OH-H₂O]⁺ 等特征碎片离子^[18]。

3.2 多酯型生物碱 C19 型生物碱中酯键的数量决定化合物的毒性强弱。在 C19 型生物碱中,多酯型毒性最强。据研究表明,多酯型生物碱的毒性通常体现在损伤心血管、致神经毒性及损伤肝肾功能等方面^[19-24]。同时,多酯型生物碱也具有较强的抗肿瘤、镇痛、抗炎、驱虫杀虫等药理作用^[25-28]。该类生物碱的代表性成分主要有乌头碱、次乌头碱、新乌头碱等。2020 年版《中国药典》就以这 3 种成分作为川乌、草乌、附子的含量检测指标。本研究共从草乌、川乌以及附子中鉴定出 29 种多酯型生物碱。

峰 75 与峰 144 的保留时间分别为 12.84、18.03 min。在正离子模式下两者分别产生准分子离子峰 m/z 616.310 55 与 m/z 616.310 12,推测其可能的分子式为 C₃₃H₄₅NO₁₀,误差分别为 -1.741×10^{-6} 与 -3.328×10^{-6} 。峰 144 丢失 1 分子的 AcOH 产生 m/z 556 的碎片离子,并在此基础上发生 CH₃OH、CO 及二者组合形式的中性丢失,产生碎片离子 m/z 524 [M+H-AcOH-CH₃OH]⁺、496 [M+H-AcOH-CH₃OH-CO]⁺、464 [M+H-AcOH-2CH₃OH-CO]⁺。同时,由于丢失 BzOH、CO、CH₃OH 及 H₂O 等所产生的碎片离子 m/z 352 [M+H-BzOH-AcOH-2H₂O-CO]⁺、370 [M+H-BzOH-2CH₃OH]⁺、342 [M+H-BzOH-2CH₃OH-CO]⁺、310 [M+H-BzOH-3CH₃OH-CO]⁺ 等也可被检测到。此外,本研究亦检测到 m/z 58 的 [C₇H₈N]⁺ 及 BzOH 裂解所产生的碎片离子 [C₇H₅O]⁺ (m/z 105) 的产生,二者的产生在生物碱

表1 草乌、川乌及附子中生物碱成分信息

Table 1 Information of alkaloids in *Aconiti Kusnezoffii Radix*, *Aconiti Radix*, and *Aconiti Lateralis Radix Praeparata*

No.	分子式	t_R /min	m/z [M+H] ⁺		误差 / $\times 10^{-6}$	碎片离子	鉴定成分	类型	草乌	川乌	附子
			理论值	实际值							
1	C ₃₁ H ₄₃ NO ₉	1.02	574.30106	574.29980	-2.191	574(2.09), 572(3.43), 510(2.46), 105(100.00)	benzoylhypacoitine isomer	单酯型			√
2	C ₂₂ H ₃₅ NO ₆	1.30	410.25371	410.25223	-1.484	410(4.71), 358(7.76), 284(100.00)	N-deethylaconine isomer	醇胺型			√
3	C ₂₃ H ₃₇ NO ₉	1.52	472.25411	472.25266	-3.066	472(62.35), 209(56.82), 129(58.20), 125(63.93), 101(58.84), 94(54.72), 87(56.73), 85(71.96), 70(73.62), 58(100)	beiwutinine	醇胺型	√		
4	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	1.57	272.12811	272.12729	-3.050	115(31.85), 107(100.00), 95(21.37), 91(9.68), 79(11.62), 59(10.51)	higenamine	其他型			√
5	C ₂₄ H ₃₉ NO ₉	2.52	486.26976	486.26859	-2.402	436.23(81.16), 390.35(37.24), 378.19(52.99)	mesaconine	醇胺型	√	√	√
6	C ₂₂ H ₃₅ NO ₆	2.67	410.25371	410.25272	-2.424	392.24(11.25), 368.89(27.94), 350.88(17.95), 58.07(100.00)	N-deethylaconine isomer	醇胺型	√	√	√
7	C ₂₂ H ₂₉ NO ₅	4.40	388.21185	388.21057	-1.279	388(47.32), 160(76.64), 155(51.84), 144(100.00), 131(50.13), 129(41.94), 117(45.80), 105(76.61), 93(44.72)	guan-fu base Y/isomer	单酯型	√		√
8	C ₂₂ H ₃₃ NO ₅	5.05	392.24314	392.24219	-2.446	374(14.59), 356(7.59), 344(9.60), 298(7.59), 284(9.19), 105(18.24), 58(100.00)	hokbusine B/isomer	单酯型	√		√
9	C ₄₉ H ₇₃ NO ₁₀	5.31	410.25371	410.25287	-0.844	392(11.59), 374(11.02), 105(29.24), 58(100.00)	N-deethylaconine isomer	醇胺型	√		√
10	C ₂₅ H ₄₁ NO ₉	5.44	500.28541	500.28445	-1.915	500(10.55), 481(9.44), 450(17.20), 418(13.13), 58(100.00)	aconine	醇胺型	√	√	√
11	C ₂₃ H ₃₇ NO ₇	6.37	440.26428	440.26346	-1.860	440(7.66), 422(10.21), 58(100.00)	9-hydroxyl-senbusine A isomer	醇胺型	√	√	√
12	C ₂₄ H ₃₇ NO ₈	6.79	468.25919	468.25824	-2.036	418(59.47), 386(33.81), 105(34.20), 75(100.00)	1,7,8-trihydroxy-20-(hydroxymethyl)-16-methoxy-4-(methoxymethyl)aconitan-14-ylacetate	单酯型			√
13	C ₂₄ H ₃₉ NO ₈	7.25	470.27484	470.27396	-1.879	452(25.91), 420(10.60), 58(100.00)	hyaconine isomer	醇胺型	√	√	√
14	C ₂₄ H ₃₅ NO ₈	7.37	466.24354	466.24231	-2.646	448(6.50), 402(12.87), 193(14.76), 143(18.90), 141(16.02), 129(23.64), 108(51.54), 93(31.26), 58(90.33)	kusnezosine C/isomer	多酯型	√		
15	C ₂₂ H ₃₅ NO ₆	7.61	410.25371	410.25284	-2.131	368(46.57), 350(26.92), 58(25.88)	N-deethylaconine isomer	醇胺型	√		√
16	C ₂₃ H ₃₇ NO ₇	7.65	440.26428	440.26328	-3.515	422(9.41), 390(4.65), 336(4.22), 160(80.14), 155(69.10), 144(77.32), 91(100.00), 58(47.80)	9-hydroxyl-senbusine A	醇胺型	√		√
17	C ₂₂ H ₂₉ NO ₅	7.67	388.21185	388.21063	-1.219	328(53.99), 280(46.30), 210(54.48), 167(46.06), 143(53.09), 105(64.13), 58(61.37)	guan-fu base Y/isomer	单酯型	√		
18	C ₂₀ H ₂₇ NO ₃	7.91	330.20637	330.20547	-2.726	330(100.00), 312(25.69), 294(22.17)	hetisine	醇胺型	√	√	√
19	C ₂₃ H ₃₇ NO ₆	7.94	424.26936	424.26843	-2.202	406(8.65), 388(9.47), 58(100.00)	senbusine A	醇胺型	√	√	√
20	C ₂₂ H ₃₃ NO ₄	8.14	376.24824	376.24716	-1.075	376(12.32), 290(11.41), 114(27.84), 105(25.92), 93(18.71), 88(30.91), 79(19.39), 74(100.00), 56(34.84)	beiwusine A/beiwusine B/ka-	醇胺型	√		√
21	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	8.23	180.10191	180.10155	-1.972	153.01(1.85), 56.97(100.00)	(R)-salsolinol	其他型			√
22	C ₂₃ H ₃₅ NO ₆	8.27	422.25371	422.25253	-1.184	404(25.22), 372(12.72), 105(57.59), 74(100.00), 58(78.08)	gadesine isomer	醇胺型			√
23	C ₂₂ H ₃₅ NO ₅	8.49	394.25879	394.25781	-2.510	376(8.86), 358(7.69), 326(4.27), 105(22.50), 58(100.00)	chuanfumine/karakolidine	醇胺型	√	√	√

续表1

No.	分子式	t_R /min	m/z [M+H] ⁺		误差 / $\times 10^{-6}$	碎片离子	鉴定成分	类型	草乌	川乌	附子
			理论值	实际值							
24	C ₂₃ H ₃₇ NO ₇	8.54	440.264 28	440.263 34	-2.133	440(12.71), 422(14.55), 58(100.00)	9-hydroxyl-senbusine A isomer	醇胺型	✓	✓	✓
25	C ₂₁ H ₃₃ NO ₄	8.63	364.248 24	364.247 62	-1.688	346(10.16), 328(13.55), 58(100.00)	16-hydroxycardiopetaline isomer	醇胺型			✓
26	C ₂₄ H ₃₉ NO ₈	8.64	470.274 84	470.273 25	-3.389	438(26.76), 406(18.47), 365(17.20), 356(15.44), 318(15.69), 260(14.14), 140(49.86), 108(41.94)	hyaconine	醇胺型	✓	✓	✓
27	C ₂₀ H ₂₇ NO ₃	8.74	330.206 37	330.205 60	-2.333	330(100.00), 312(13.19)	hetisine isomer	醇胺型	✓	✓	✓
28	C ₂₂ H ₂₉ NO ₅	8.91	388.211 85	388.210 54	-1.309	210(51.83), 176(52.48), 195(54.65), 155(57.12), 144(53.54), 131(68.42), 117(66.02), 105(100.00), 93(49.90), 58(84.64)	guan-fu base Y/isomer	单酯型	✓	✓	
29	C ₂₄ H ₃₃ NO ₅	9.36	416.243 15	416.241 46	-4.059	416(22.74), 330(100.00), 312(64.30), 296(6.26)	guan-fu base Z/isomer	单酯型	✓	✓	
30	C ₃₁ H ₄₃ NO ₁₁	9.36	606.290 89	606.289 49	-2.305	556.25(7.04), 411.36(5.19), 105.03(100.00)	(-)-(A-b)-14 α -benzoyloxy-3 α , 8 β , 10 β , 13 β , 15 α -penta-hydroxy-1 α , 6 α , 16 β , 18-tetra-methoxy-N-methyloaconitane	单酯型	✓	✓	✓
31	C ₂₃ H ₃₇ NO ₆	9.38	424.269 36	424.268 43	-2.202	406(13.08), 356(8.42), 131(29.48), 58(100.00)	senbusine A/isomer	醇胺型	✓	✓	✓
32	C ₂₂ H ₂₉ NO ₅	9.38	388.211 85	388.210 88	-0.969	388(100.00), 328(74.83), 192(22.82), 179(30.44), 105(45.44), 131(22.05), 129(36.54), 117(23.16)	guan-fu base Y/isomer	单酯型	✓	✓	
33	C ₂₃ H ₃₇ NO ₅	9.41	408.274 45	408.273 53	-2.253	390(7.64), 358(5.34), 105(58(100.00))	talatisidine/isotalatisidine	醇胺型	✓	✓	✓
34	C ₂₂ H ₃₅ NO ₅	9.47	394.258 79	394.258 03	-0.770	376(18.87), 358(6.19), 105(58(100.00))	chuanfumine/karakolidine	醇胺型	✓	✓	✓
35	C ₂₂ H ₃₅ NO ₄	9.65	378.263 89	378.263 15	-1.943	378(3.68), 360(10.61), 342(4.58), 58(100.00)	karakoline(karacoline) /aconi-carchamine A	醇胺型	✓	✓	✓
36	C ₂₁ H ₃₃ NO ₄	9.73	364.248 24	364.247 41	-3.771	346(70.97), 328(18.95), 310(9.82), 58(100.00)	16-hydroxycardiopetaline	醇胺型			✓
37	C ₂₅ H ₄₁ NO ₈	9.90	484.290 49	484.289 46	-2.134	484(12.80), 452(24.46), 420(14.11), 376(12.64), 94(100.00)	deoxyaconine isomer	醇胺型			✓
38	C ₂₄ H ₃₉ NO ₇	9.94	454.279 93	454.279 24	-1.517	454(8.80), 422(6.94), 276(3.78), 58(100.00)	forensicine/15- α -hydroxyneo-line(senbusine C, fuziline, 15-epinagarine) /10-hydroxyneoline	醇胺型	✓	✓	✓
39	C ₂₅ H ₄₁ NO ₇	10.04	468.295 57	468.294 46	-3.561	386(9.60), 354(9.99), 292(9.79), 58(100.00)	lycoctonine	醇胺型	✓	✓	✓
40	C ₄₉ H ₇₃ NO ₁₀	10.07	410.253 71	410.252 84	-3.468	392(100.00), 356(12.15), 17.16, 105(23.31), 58(75.94)	N-deethyloaconine	醇胺型	✓	✓	
41	C ₂₄ H ₃₇ NO ₈	10.08	468.259 19	468.293 91	-3.553	386(9.60), 354(9.99), 58(100.00)	1, 7, 8-trihydroxy-20-(hydroxymethyl)-16-methoxy-4-(methoxymethyl) aconitan-14-ylacetate isomer	单酯型			✓
42	C ₂₄ H ₃₃ NO ₅	10.09	416.243 15	416.241 76	-3.338	330(9.53), 328(21.13), 312(49.12), 310(14.84), 195(22.69), 181(22.91), 144(100.00), 105(44.09)	guan-fu base Z/isomer	单酯型	✓	✓	
43	C ₂₂ H ₃₃ NO ₃	10.15	360.253 32	360.252 47	-2.361	268(8.78), 253(17.45), 131(91.46)	12- <i>epi</i> -napeelline/isomer	醇胺型	✓	✓	✓
44	C ₂₄ H ₃₅ NO ₈	10.18	466.243 54	466.242 28	-2.710	434(22.37), 402(14.05), 195(13.91), 179(21.79), 155(25.25), 108(28.47), 94(100.00), 85(52.79), 58(58.92)	kusnezosine C/isomer	多酯型	✓		
45	C ₂₃ H ₃₅ NO ₆	10.19	422.253 71	422.252 56	-2.734	404(19.22), 372(15.65), 344(11.22), 108(77.71), 105(17.46), 58(100.00)	gadesine	醇胺型			✓

续表1

No.	分子式	t_R /min	m/z [M+H] ⁺		误差 / $\times 10^{-6}$	碎片离子	鉴定成分	类型	草乌	川乌	附子
			理论值	实际值							
46	C ₂₂ H ₃₅ NO ₅	10.49	394.258 79	394.257 78	-1.020	376 (100.00), 348 (18.77), 328 (17.94), 105(38.63), 58(93.43)	chuanfumine/karakolidine	醇胺型	√	√	√
47	C ₂₅ H ₄₁ NO ₈	10.61	484.290 49	484.289 37	-3.453	452(7.08), 58(100.00)	deoxyaconine	醇胺型	√	√	
48	C ₂₆ H ₄₁ NO ₇	10.63	480.295 58	480.294 19	-2.892	374 (17.72), 356 (14.23), 154 (26.34), 122(37.78), 58(100.00)	8-deoxy-14-dehydro aconosine	醇胺型	√	√	
49	C ₂₁ H ₃₃ NO ₄	10.65	364.248 24	364.247 34	-2.457	364(1.64), 58(100.00)	16-hydroxycardiopetaline isomer	醇胺型			√
50	C ₂₅ H ₃₉ NO ₆	10.79	450.285 01	450.283 63	-4.292	432(6.33), 400(2.86), 58(100.00)	condelphine	单酯型	√	√	
51	C ₂₄ H ₃₉ NO ₆	10.80	438.285 01	438.283 94	-2.451	420(14.71), 388(14.84), 356(12.47), 108(78.08), 58(100.00)	bullatine B/neoline/6-epi-forsticine	醇胺型	√	√	√
52	C ₃₁ H ₄₃ NO ₉	10.93	574.301 05	574.299 87	-3.024	524(5.47), 360(2.08), 105(100.00), 58(38.25)	benzoylhypocoitine isomer	单酯型	√	√	√
53	C ₃₁ H ₄₃ NO ₁₀	10.97	590.295 97	590.294 99	-3.441	590(2.83), 540(4.42), 105(100.00), 58(3.05)	benzoylmesaconine isomer	单酯型		√	
54	C ₂₂ H ₃₅ NO ₄	11.01	378.263 89	378.263 03	-2.261	360(14.34), 338(3.28), 105(21.58), 58(100.00)	karakoline (karakoline) /aconicarchamine A	醇胺型	√	√	√
55	C ₂₂ H ₃₃ NO ₅	11.25	392.243 14	392.242 22	-2.370	374 (54.33), 344 (100.00), 316 (37.94), 58(66.25)	hokbusine B/isomer	单酯型	√	√	
56 ¹⁾	C ₃₁ H ₄₃ NO ₁₀	11.31	590.295 97	590.294 43	-2.614	498(2.37), 477(2.53), 365(32.78), 105(100.00)	benzoylmesaconine isomer	单酯型	√	√	√
57	C ₂₂ H ₃₃ NO ₃	11.42	360.253 32	360.252 44	-2.610	342(79.76), 131(75.57), 58(100.00)	12- <i>epi</i> -napeclline/isomer	醇胺型	√	√	√
58	C ₃₂ H ₄₅ NO ₁₁	11.55	620.306 53	620.305 30	-1.995	570 (7.98), 539 (8.19), 105 (100.00), 58(19.34)	(-)-(A-b)-14 α -benzoyloxy-3 α ,10 β ,13 β ,15 α -tetrahydroxy-1 α ,6 α ,8 β ,16 β ,18-pentamethoxy-N-methylaconitane	单酯型		√	√
59	C ₂₄ H ₃₁ NO ₆	11.60	430.222 41	430.221 07	-3.124	430(59.71), 407(19.21), 398(20.18), 370(100.00), 344(18.58), 328(43.44), 310(57.58), 105(67.66), 91(41.18)	guan-fu base A	多酯型	√		
60	C ₃₁ H ₄₃ NO ₁₀	11.72	590.295 97	590.294 37	-2.292	540(3.54), 105(100.00)	benzoylmesaconine isomer	单酯型		√	√
61	C ₂₃ H ₃₃ NO ₆	11.76	420.238 06	420.237 12	-2.247	402 (15.72), 388 (12.33), 375 (12.17), 358 (12.43), 347 (11.51), 108(87.71), 58(100.00)	giralidine F	醇胺型	√		√
62	C ₂₄ H ₃₃ NO ₅	11.87	416.243 15	416.241 73	-3.411	98(100.00), 81(6.42), 58(13.03)	guan-fu base Z/isomer	单酯型	√	√	
63	C ₂₇ H ₄₃ NO ₈	11.89	510.306 14	510.305 21	-1.830	492(15.78), 404(70.51), 107(100.00), 58(80.16)	14-O-acetylneoline	单酯型	√	√	
64	C ₂₆ H ₄₂ NO ₇	12.14	480.295 57	480.294 46	-2.330	423(4.90), 402(8.57), 108(28.65), 58(100.00)	bullatine C/isomer	醇胺型		√	√
65	C ₂₅ H ₄₁ NO ₇	12.17	468.295 57	468.294 56	-2.176	436(8.85), 376(6.57), 372(6.58), 58(100.00)	lycoctonine isomer	醇胺型	√	√	
66	C ₂₂ H ₃₃ NO ₅	12.18	392.243 15	392.242 31	-2.141	374(34.00), 304(3.09), 58(22.53)	hokbusine B/isomer	单酯型	√		√
67	C ₂₄ H ₃₉ NO ₆	12.26	438.285 01	438.284 18	-1.904	438(1.41), 108(14.84), 58(100.00)	bullatine B/neoline/6-epiforsticine	醇胺型	√	√	√
68	C ₂₂ H ₃₃ NO ₄	12.38	376.248 24	376.247 25	-2.618	358(56.64), 308(8.34), 58(100.00)	beiwusine A/beiwusine B/karakanine	醇胺型	√	√	√
69	C ₂₂ H ₂₉ NO ₃	12.38	356.222 02	356.221 28	-2.078	356(69.47), 296(96.42), 278(26.64)	songoramine	醇胺型	√	√	√
70	C ₂₂ H ₃₃ NO ₃	12.44	360.251 95	360.251 95	-2.361	342 (70.08), 155 (43.64), 143 (57.92), 131 (76.75), 129 (43.71), 105(80.40), 58(100.00), 81(53.11)	12- <i>epi</i> -napeclline/isomer	醇胺型	√	√	√
71	C ₂₂ H ₃₃ NO ₃	12.44	360.253 32	360.252 53	-2.194	342(35.62), 131(60.93), 58(100.00)	12- <i>epi</i> -napeclline/isomer	醇胺型	√	√	√
72	C ₂₄ H ₃₇ NO ₅	12.46	420.274 45	420.273 62	-1.974	402(10.76), 388(3.11), 58(100.00)	N-ethylhokbusine B	单酯型	√	√	√
73	C ₃₂ H ₄₃ NO ₈	12.75	570.306 14	570.304 63	-2.654	131(100.00), 108(9.02), 103(13.60), 58(20.16)	phordeoxyaconitine/isomer	单酯型	√	√	√

续表1

No.	分子式	t_R /min	m/z [M+H] ⁺		误差 / $\times 10^{-6}$	碎片离子	鉴定成分	类型	草乌	川乌	附子
			理论值	实际值							
74	C ₂₂ H ₃₅ NO ₄	12.75	378.263 89	378.263 12	-2.023	378(2.08), 272(1.22), 244(3.91), 58(100.00)	karakoline (karacoline) /acornicarhamine A	醇胺型	√	√	√
75	C ₃₃ H ₄₅ NO ₁₀	12.84	616.311 62	616.310 55	-1.741	616(1.88), 566(1.50), 131(100.00), 103(10.29)	hypaconitine isomer	多酯型	√	√	√
76	C ₃₁ H ₄₃ NO ₉	12.92	574.301 05	574.300 17	-1.547	542(1.97), 446(1.80), 105(100.00), 58(3.10)	benzoylhypaconitine isomer	单酯型	√	√	√
77	C ₂₄ H ₃₇ NO ₆	12.97	436.269 36	436.268 55	-1.867	418(26.90), 372(7.67), 358(8.46), 340(18.86), 324(6.31), 322(9.25), 58(100.00), 105(22.31)	guiwuline	醇胺型	√	√	√
78	C ₂₂ H ₃₃ NO ₃	13.15	360.253 32	360.252 29	-2.860	342(61.48), 324(8.98), 105(68.89), 58(100.00)	12- <i>epi</i> -napeclline/isomer	醇胺型	√	√	√
79 ¹⁾	C ₃₂ H ₄₅ NO ₁₀	13.15	604.311 62	604.310 18	-2.388	604(3.35), 554(5.87), 548(3.29), 458(2.69), 382(2.92), 105(100.00), 58(17.16)	benzoylaconine	单酯型	√	√	√
80	C ₂₇ H ₃₁ NO ₅	13.22	450.227 50	450.225 83	-3.708	450(9.38), 432(20.03), 58(69.63)	ignavine	单酯型	√	√	√
81	C ₂₅ H ₄₁ NO ₇	13.25	468.295 57	468.294 83	-1.600	436(17.22), 404(10.12), 372(11.07), 105(9.20), 58(100.00)	lycoctonine isomer	醇胺型	√	√	
82	C ₃₁ H ₃₅ NO ₈	13.26	550.243 54	550.242 49	-1.915	550.24 (2.45), 428.20 (2.02), 326.17(2.88), 308.16(3.85), 105.03(100.00)	(+)-(13 <i>R</i> ,19 <i>S</i>)-1 β ,11 α -diacetoxo-2 α -benzoyloxy-13, 19-dihydroxyhetisan	多酯型	√	√	√
83	C ₃₂ H ₄₅ NO ₁₁	13.38	620.306 53	620.305 24	-2.092	556(3.86), 514(6.53), 105(66.64), 75(100.00)	(-)-(A-c)-14 α -benzoyloxy-3 α ,10 β ,13 β ,15 α -tetrahydroxy-1 α ,6 α ,8 β ,16 β ,18-pentamethoxy-N-methylaconitane	单酯型	√	√	√
84	C ₃₀ H ₄₁ NO ₇	13.39	528.295 58	528.294 49	-2.061	528(1.97), 510(5.65), 456(1.90), 105(100.00), 58(58.89)	(-)-(A-b)-14 α -benzoyloxy-N-ethyl-1 α ,8 β ,15 α -trihydroxy-16 β ,18-dimethoxy aconitane	单酯型		√	√
85	C ₃₃ H ₄₅ NO ₁₂	13.41	648.301 45	648.299 80	-3.394	588(7.03), 520(4.44), 486(4.89), 418(4.91), 370(10.59), 105(100.00)	beiwutine	多酯型	√	√	√
86	C ₂₂ H ₃₃ NO ₄	13.49	376.248 24	376.247 44	-2.113	358.24(23.97), 58.07(44.60)	beiwusine A/beiwusine B/karakanine	醇胺型	√	√	√
87	C ₂₄ H ₃₃ NO ₅	13.72	416.243 15	416.241 76	-3.338	398(100.00), 348(7.79), 169(22.38), 129(18.55), 111(32.06), 105(34.23), 98(35.85), 93(21.04), 58(47.40)	guan-fu base Z/isomer	单酯型	√	√	
88	C ₂₆ H ₄₁ NO ₇	13.77	480.295 58	480.294 10	-3.079	448(6.59), 462(5.15), 380(4.06), 167(13.81), 122(7.14), 108(32.40), 58(100.00)	8-deoxy-14-dehydroaconosine	醇胺型	√	√	
89	C ₂₅ H ₃₉ NO ₇	13.79	466.279 92	466.278 99	-3.190	466(5.93), 434(38.88), 356(6.39), 108(70.96), 105(12.59), 58(100.00)	delbruine	醇胺型		√	√
90	C ₃₃ H ₄₇ NO ₁₁	13.81	634.322 18	634.320 86	-2.093	634(9.57), 105(100.00), 58(20.70)	8-O-methyl-beiwutinine	单酯型		√	
91	C ₃₁ H ₄₁ NO ₉	13.87	572.285 41	572.283 57	-3.212	421(2.95), 366(2.70), 354(2.52), 344(2.48), 176(5.88), 105(100.00), 95(7.51)	dehydrated benzoylmesaconine	单酯型	√		
92	C ₂₂ H ₂₉ NO ₃	13.88	356.222 02	356.221 19	-2.331	356(44.31), 296(32.09), 290(7.50), 58(43.46)	songoramine isomer	醇胺型	√	√	√
93	C ₂₅ H ₃₇ NO ₉	13.92	496.254 11	496.252 75	-2.737	464(28.37), 432(12.61), 325(10.13), 144(86.64), 129(29.10), 108(44.67), 102(35.96), 72(27.25), 58(86.77)	kusnezosine A	多酯型	√		
94	C ₂₂ H ₃₃ NO ₃	14.06	360.253 32	360.252 35	-2.694	342(15.93), 325(6.95), 314(12.62), 131(29.80), 58(100.00)	12- <i>epi</i> -napeclline/isomer	醇胺型	√	√	√

续表1

No.	分子式	t_R /min	m/z [M+H] ⁺		误差 / $\times 10^{-6}$	碎片离子	鉴定成分	类型	草乌	川乌	附子
			理论值	实际值							
95	C ₃₂ H ₄₅ NO ₁₀	14.07	604.311 62	604.309 39	-3.695	604(3.45), 554(6.00), 384(3.68), 105(100.00), 58(15.69)	benzoylaconitine isomer	单酯型	√	√	√
96	C ₂₂ H ₃₁ NO ₃	14.15	358.237 67	358.236 72	-2.653	340(58.52), 58(67.30)	songorine	醇胺型	√	√	√
97	C ₂₆ H ₄₃ NO ₇	14.16	482.311 22	482.310 00	-3.685	464(3.00), 368(2.59), 340(2.27), 105(3.59), 75(100.00), 58(58.12)	delphatine	醇胺型		√	
98	C ₃₂ H ₄₅ NO ₁₀	14.18	602.295 97	602.291 20	-7.925	552(5.94), 474(2.36), 464(3.10), 324(2.48), 221(3.41), 160(10.58), 105(100.00), 58(23.85)	<i>N</i> -demethyl-hyaconitine/isomer	多酯型	√		
99	C ₃₁ H ₄₃ NO ₈	14.29	558.306 14	558.304 50	-2.944	540(7.52), 508(2.16), 105(100.00), 58(45.19)	isodelphinine	多酯型	√	√	√
100 ¹⁾	C ₃₃ H ₄₅ NO ₁₁	14.59	632.306 53	632.305 18	-2.147	572(4.28), 540(2.98), 508(2.29), 354(14.83), 105(100.00)	mesaconitine	多酯型	√	√	√
101	C ₃₁ H ₄₁ NO ₈	14.66	556.290 49	556.288 70	-3.224	538(15.48), 322(8.38), 192(10.20), 121(100.00), 89(73.23), 105(67.40)	pyrohyaconine	单酯型	√		
102	C ₃₂ H ₄₅ NO ₉	14.70	588.316 71	588.315 37	-2.275	193(4.13), 154(3.99), 122(5.65), 105(100.00), 58(15.96), 95(7.38), 84(6.83)	benzoyldeoxyaconine/isomer	单酯型	√	√	√
103	C ₃₁ H ₄₁ NO ₉	14.76	572.285 41	572.283 63	-3.107	522(3.12), 398(2.04), 394(1.72), 337(1.53), 258(1.49), 176(4.68), 105(100.00), 75(6.31)	pyromesaconitine	单酯型	√		
104	C ₃₃ H ₄₇ NO ₁₀	14.84	618.327 27	618.325 81	-2.366	135(6.18), 125(4.63), 105(100.00), 95(5.67), 85(3.76)	8-ethoxy-14-benzoylmesaconine/isomer	多酯型	√		
105	C ₂₂ H ₃₃ NO ₂	14.85	344.258 40	344.257 66	-0.746	326(6.58), 105(17.14), 58(100.00)	denudatine isomer	醇胺型	√	√	
106	C ₂₅ H ₄₁ NO ₆	14.90	452.300 66	452.299 68	-2.177	388(9.22), 58(100.00)	chasmanine	醇胺型	√	√	√
107	C ₂₄ H ₃₉ NO ₅	15.12	422.290 10	422.289 00	-2.604	390(4.82), 358(7.07), 58(100.00)	talatizamine	醇胺型	√	√	√
108	C ₃₂ H ₄₃ O ₉ N	15.16	586.301 06	586.299 19	-3.187	536(4.41), 190(7.02), 131(7.11), 111(5.32), 105(100.00), 95(4.50), 75(9.09), 58(16.80)	1, 15-dimethoxy-3-hydroxy-14-benzoyl-16-ketoneoline	单酯型	√	√	√
109	C ₃₃ H ₄₅ NO ₈	15.18	584.321 79	584.320 50	-0.006	566(3.05), 553(1.78), 131(100.00), 58(21.61)	(-)-(-)-14 α -cinnamoyloxy- <i>N</i> -ethyl-1 α , 8 β , 15 α -trihydroxy-6 α , 16 β , 18-trimethoxyaconitane/patentine	单酯型	√	√	√
110	C ₃₄ H ₄₇ NO ₁₂	15.19	662.317 10	662.315 61	-2.253	602(6.87), 384(18.66), 105(100.00), 58(21.89)	aconifine (10-hydroxyaconitine) / (-)-(-)-8 β -acetoxy-14 α -benzoyloxy- <i>N</i> -ethyl-3 α , 10 β , 13 β , 15 α -tetrahydroxy-1 α , 6 α , 16 β , 18-tetramethoxyaconitane	多酯型	√	√	√
111	C ₃₂ H ₄₅ NO ₁₀	15.21	604.311 62	604.310 30	-2.189	604(4.89), 554(5.72), 105(100.00), 58(23.68)	benzoylaconitine isomer	单酯型	√		√
112 ¹⁾	C ₃₄ H ₄₇ NO ₁₁	15.24	646.322 18	646.321 29	-1.389	586(4.52), 554(12.90), 526(4.02), 522(3.97), 368(21.36), 105(100.00), 58(25.38)	aconitine	多酯型	√	√	√
113	C ₂₆ H ₄₁ NO ₇	15.46	480.295 58	480.294 10	-3.079	420(16.60), 388(10.05), 334(10.25), 302(9.49), 226(10.16), 154(53.93), 108(55.52), 105(16.42), 58(100.00)	bullatine C/isomer	醇胺型	√		
114	C ₃₂ H ₄₅ NO ₈	15.47	572.321 79	572.320 68	-1.946	484.27(33.07), 456.27(14.16), 322.18(42.44), 294.18(35.36), 105.03(48.27)	14- <i>O</i> -anisoylneoline	单酯型	√	√	√
115	C ₃₂ H ₄₃ O ₉ N	15.48	586.301 06	586.299 13	-3.289	536(5.40), 276(7.97), 226(5.68), 131(15.05), 111(11.66), 105(100.00), 95(6.48), 75(10.36), 58(20.79)	pyroaconitine	单酯型	√	√	

续表1

No.	分子式	t_R /min	m/z [M+H] ⁺		误差 / $\times 10^{-6}$	碎片离子	鉴定成分	类型	草乌	川乌	附子
			理论值	实际值							
116	C ₂₅ H ₄₁ NO ₆	15.58	452.30066	452.29974	-2.044	388.25(6.45), 356.22(7.71), 58.07(100.00)	chasmanine isomer	醇胺型	√	√	√
117	C ₃₄ H ₄₇ NO ₁₀	15.80	630.32727	630.32611	-1.845	570(8.14), 560(4.13), 538(9.07), 105(100.00), 58(12.29)	3-deoxyaconitine isomer	多酯型	√	√	
118	C ₂₃ H ₃₇ NO ₄	15.83	392.27953	392.27856	-2.486	360(83.13), 324(12.34), 58(100.00)	sachaconitine isomer	醇胺型	√	√	√
119	C ₃₁ H ₄₃ NO ₇	15.83	542.31123	542.31018	-1.935	542(1.33), 524(1.43), 506(1.50), 492(2.00), 105(54.26), 58(1.42)	aconicarchamine B/14-benzoylneoline	多酯型	√	√	√
120	C ₂₅ H ₃₇ NO ₈	15.90	480.25919	480.25784	-2.818	448(21.05), 221(6.46), 207(27.79), 58(92.24), 108(58.08), 105(43.04)	kusnezosine B	多酯型	√		
121	C ₃₆ H ₄₉ NO ₁₃	15.91	704.32767	704.32532	-3.332	556(21.60), 524(19.65), 496(13.31), 410(6.84), 342(7.35), 338(76.66), 293(6.80), 109(6.70), 105(100.00), 88(8.62)	10-hydroxyl-3-acetylaconitine	多酯型	√		
122	C ₃₂ H ₄₃ O ₉ N	15.92	586.30106	586.29932	-2.965	536(5.69), 105(100.00), 58(16.51), 190(7.82), 111(7.04), 95(4.89), 75(5.61)	dehydrated benzoylaconine	单酯型	√	√	
123	C ₃₄ H ₄₇ NO ₉	16.21	614.33238	614.33069	-2.716	614(6.23), 596(8.33), 532(3.39), 508(9.13), 105(100.00), 58(38.45), 122(5.24)	chasmaconitine	多酯型	√	√	√
124	C ₃₄ H ₄₇ NO ₁₁	16.22	646.31436	646.32092	-1.961	586(5.81), 526(5.66), 504(5.41), 105(100.00), 58(13.97)	(-)-(A-b)-8β-acetoxy-14α-benzoyloxy-N-ethyl-3α,10β,13β-trihydroxy-1α,6α,16β,18-tetramethoxyaconitane/(-)-(A-b)-14α-benzoyloxy-N-ethyl-3α,10β,13β,15α-tetrahydroxy-1α,6α,8β,16β,18-pentamethoxyaconitane	多酯型	√	√	√
125	C ₂₆ H ₄₁ NO ₆	16.24	464.30066	464.29962	-2.250	432(12.90), 382(4.59), 58(100.00)	monoacetylalozamine	单酯型	√	√	√
126	C ₃₃ H ₄₇ NO ₁₀	16.26	618.32727	618.32532	-3.159	221(7.24), 193(9.80), 189(5.30), 161(6.42), 148(6.58), 108(6.77), 105(100.00), 95(7.66), 72(30.29), 58(8.12)	8-ethoxy-14-benzoylmesaconine/isomer	多酯型	√		
127	C ₃₁ H ₄₃ NO ₉	16.38	574.30105	574.29956	-2.609	574(2.33), 542(6.88), 105(100.00)	benzoylhypaconine	单酯型	√	√	
128	C ₂₄ H ₃₁ NO ₄	16.54	398.23259	398.23123	-1.355	398(24.78), 278(18.66), 167(15.82), 193(13.63), 141(18.79), 129(36.27), 131(50.7), 121(100.00), 105(15.51), 93(48.76), 79(18.89), 67(13.89)	15-acetylsongoramine	醇胺型	√		
129	C ₃₅ H ₄₉ NO ₁₁	16.69	660.33783	660.33636	-3.068	572(9.18), 544(2.74), 512(4.36), 354(18.09), 105(100.00)	isoaconitine/yunaconitine	多酯型	√		
130	C ₃₃ H ₄₅ NO ₇	16.73	568.32688	568.32574	-2.004	131.05(100.00), 103.05(12.77), 58.07(15.67)	8-O-cinnamoylneoline	单酯型	√	√	
131	C ₃₁ H ₄₃ NO ₈	16.77	558.30614	558.30487	-2.281	526.28(2.36), 358.30(4.20), 105.03(100.00), 58.07(33.45)	(-)-(A-b)-14α-benzoyloxy-N-ethyl-8β,13β,15α-trihydroxy-1α,16β,18-trimethoxyaconitane	单酯型	√	√	√
132	C ₂₅ H ₃₉ NO ₆	16.78	450.28501	450.28403	-2.186	450(8.03), 418(7.94), 105(13.36), 58(100.00)	condelphine isomer	单酯型	√	√	
133	C ₂₃ H ₃₇ NO ₄	16.80	392.27953	392.27844	-4.190	392(4.43), 360(13.03), 342(3.32), 58(100.00)	sachaconitine isomer	醇胺型	√	√	√
134	C ₃₂ H ₄₅ NO ₈	16.87	572.32179	572.32092	-1.527	450(14.68), 418(100.00), 386(47.81), 105(77.27), 58(76.13)	14-O-anisoylneoline isomer	单酯型	√		
135	C ₃₁ H ₄₁ NO ₈	16.95	556.29049	556.28931	-2.128	524(8.85), 418(23.42), 105(100.00), 58(4.17)	dehydrated benzoylhypaconine/isomer	单酯型	√	√	

续表1

No.	分子式	t_R /min	m/z [M+H] ⁺		误差 / $\times 10^{-6}$	碎片离子	鉴定成分	类型	草乌	川乌	附子
			理论值	实际值							
136	C ₃₁ H ₄₁ NO ₇	17.01	540.295 58	540.294 37	-2.238	522(14.96), 464(4.75), 340(9.95), 105(100.00), 58(18.78)	12- <i>epi</i> -15- <i>O</i> -acetyl-17-benzoyl-16-hydroxy-16, 17-dihydropelline/isomer	多酯型	√	√	√
137	C ₃₁ H ₄₁ NO ₈	17.12	556.290 49	556.288 76	-3.116	524(9.88), 417(2.75), 260(2.50), 105(100.00), 94(25.59), 88(11.85)	aconine	单酯型	√	√	√
138	C ₂₂ H ₃₃ NO ₂	17.31	344.258 40	344.257 66	-0.746	344(2.05), 105(3.83), 74(100.00), 58(14.30)	denudatine isomer	醇胺型	√	√	
139	C ₃₂ H ₄₅ NO ₉	17.36	588.316 71	588.315 86	-1.442	556(4.74), 524(3.39), 105(100.00), 58(26.75)	benzoyldeoxyaconine/isomer	单酯型	√		√
140	C ₃₂ H ₄₃ NO ₁₀	17.43	602.295 97	602.293 64	-3.873	567(3.03), 492(3.19), 342(3.62), 338(19.32), 306(3.81), 105(100.00), 58(10.31)	<i>N</i> -demethyl-hyaconitine/isomer	多酯型	√		
141 ¹⁾	C ₃₁ H ₄₃ NO ₉	17.49	574.301 06	574.299 80	-2.191	542(5.76), 526(2.41), 105(100.00), 58(2.84)	benzoylhypaconitine isomer	单酯型	√	√	√
142	C ₃₃ H ₄₅ NO ₉	17.84	600.315 31	600.315 31	-2.329	568(9.26), 508(31.93), 480(11.58), 476(13.70), 105(100.00), 58(17.47)	13-deoxyhyaconitine	多酯型	√	√	
143	C ₃₆ H ₄₉ NO ₁₂	17.88	688.332 75	688.330 93	-3.444	628(6.40), 556(22.78), 524(28.50), 464(10.42), 338(67.86), 105(100.00)	flaconitine/3-acetylaconitine	多酯型	√	√	
144 ¹⁾	C ₃₃ H ₄₅ NO ₁₀	18.03	616.311 62	616.310 12	-3.328	616(2.81), 556(6.82), 532(2.74), 524(10.24), 496(2.36), 492(3.06), 470(2.38), 464(4.81), 370(3.10), 352(5.62), 342(5.10), 338(26.75), 326(2.13), 310(4.66), 105(100.00), 58(11.06)	hyaconitine	多酯型	√	√	√
145	C ₃₁ H ₄₁ NO ₈	18.14	556.290 49	556.288 57	-3.458	524(7.17), 328(2.83), 364(2.54), 105(100.00), 94(17.55), 88(9.35)	dehydrated benzoylhypaconine/isomer	单酯型	√	√	√
146	C ₃₅ H ₄₉ NO ₁₁	18.36	660.337 84	660.336 18	-2.510	570(22.21), 538(14.66), 510(12.86), 105(100.00), 58(19.35)	isoaconitine/yunaconitine	多酯型	√	√	√
147	C ₂₂ H ₃₃ NO ₂	18.40	344.258 40	344.257 51	-2.602	326(64.52), 105(10.77), 58(100.00)	denudatine	醇胺型	√	√	
148	C ₃₂ H ₄₅ NO ₉	18.66	588.316 70	588.315 37	-2.275	556(4.57), 403(2.28), 105(100.00), 58(2.40)	14-benzoyldeoxyaconine	单酯型	√	√	√
149	C ₃₁ H ₄₃ NO ₇	18.87	542.311 22	542.310 30	-1.713	510(2.95), 479(2.66), 392(2.40), 374(2.88), 105(100.00), 58(59.99)	(-)-(A-b)-14 α -benzoyloxy-N-ethyl-8 β , 15 α -dihydroxy-1 α , 16 β , 18-trimethoxyaconitane	单酯型	√	√	
150	C ₂₂ H ₃₅ NO ₂	18.99	346.274 05	346.273 07	-2.847	282(1.64), 145(100.00), 105(10.19), 58(16.11)	dihydroatisine	醇胺型	√	√	
151	C ₃₂ H ₄₃ NO ₈	19.14	570.306 14	570.304 69	-2.549	567(4.05), 538(10.01), 108(21.67), 105(100.00), 102(15.13), 75(4.32), 58(21.89)	phrodeoxyaconitine/isomer	单酯型	√	√	√
152	C ₃₂ H ₄₅ NO ₉	19.17	588.316 70	588.315 25	-1.458	556(6.24), 105(100.00), 58(17.96)	14-benzoyldeoxyaconine isomer	单酯型	√	√	√
153	C ₃₄ H ₄₇ NO ₁₁	19.36	646.322 19	646.320 31	-2.905	554(10.19), 368(21.29), 144(7.30), 128(8.10), 108(9.98), 105(100), 102(10.44), 89(20.16), 58(23.59)	aconitine isomer	多酯型	√	√	
154	C ₃₄ H ₄₇ NO ₁₀	19.80	630.327 27	630.325 81	-2.321	524(9.53), 492(7.72), 423(6.06), 342(6.22), 338(31.38), 263(6.59), 105(100.00), 88(12.50), 95(6.20)	3-deoxyaconitine/(-)-(A-b)-8 β -acetoxy-14 α -benzoyloxy-N-ethyl-13 β , 15 α -dihydroxy-1 α , 16 α , 16 β , 18-tetramethoxyaconitane	多酯型	√	√	
155	C ₃₁ H ₄₃ NO ₈	19.82	558.306 14	558.304 93	-2.174	558.30(4.03), 526.28(3.66), 105.03(100.00), 58.07(32.99)	(-)-(A-b)-14 α -benzoyloxy-N-ethyl-1 α , 8 β , 15 α -trihydroxy-6 α , 16 β , 18-trimethoxyaconitane	单酯型	√	√	√

注: ¹⁾ 经对照品比对确认。

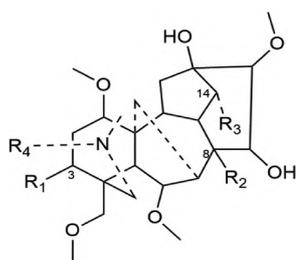


图2 C19型生物碱母核结构

Fig.2 The core structure of C19 alkaloids

相关文献中并未见报道,推测可能是由于本实验电压较大,准分子离子峰碎裂比较充分所致。通过与对照品保留时间及碎片离子进行对比,并结合相关文献,该成分最终被鉴定为 hypaconitine^[29]。其可能的裂解途径见图3。由于峰75具有与该成分相同的精确相对分子质量与相似的质谱裂解行为,故推测峰75为 hypaconitine isomer。其他多酯型生物碱具体信息见表1。

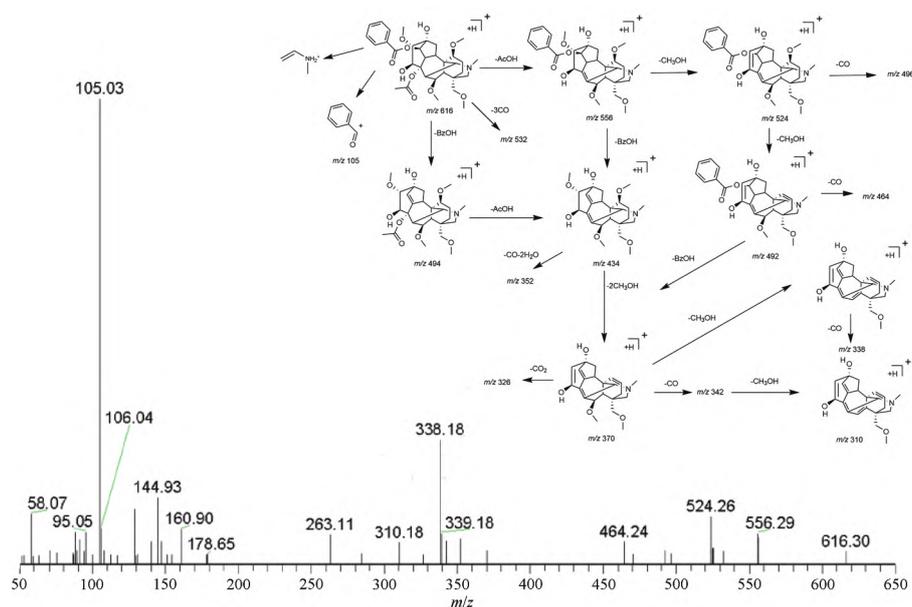


图3 峰144的二级质谱图及裂解途径

Fig.3 ESI-MS² mass spectrum and possible fragmentation pathway of peak 144

3.3 单酯型生物碱 单酯型生物碱可由多酯型生物碱水解而来,与多酯型生物碱相比,其结构特点为8 β -OH未被酯化,分子中仅含有1个酯基,故而毒性相对较弱。研究表明,单酯型生物碱对细胞的毒性损伤能力仅有多酯型生物碱的1/200~1/100^[30]。常见的单酯型生物碱主要有苯甲酰乌头碱、苯甲酰中乌头碱、苯甲酰次乌头碱等。本研究共鉴定出57种单酯型生物碱。

峰72的保留时间为12.46 min,在正离子模式下产生分子离子峰 m/z 420.273 62,推测其可能的分子式为 $C_{24}H_{37}NO_5$,误差为 -1.974×10^{-6} 。其可能的裂解方式与多酯型生物碱类似,碎片离子的产生多与 CH_3OH 、 H_2O 、 $AcOH$ 等碎片离子的丢失有关。峰72的分子离子峰在失去1分子水分子后产生碎片离子峰 m/z 302,在失去1分子 $AcOH$ 后产生碎片

离子峰 m/z 360,在失去1分子 CH_3OH 后产生碎片离子峰 m/z 388。同时,在其二级质谱图中,检测到高峰度的分子离子峰 m/z 58,表明 $[C_3H_8N]^+$ 离子的存在。故结合该峰色谱保留行为、碎片离子、精确相对分子质量及相关文献,初步推测峰72为 *N*-ethyl-hokbusine B^[31]。其他单酯型生物碱具体信息见表1。

3.4 醇胺型生物碱 本实验共从3种中药中鉴定出67种醇胺型生物碱,与多酯型生物碱与单酯型生物碱相比,醇胺型生物碱的毒性进一步减小,为乌头碱的1/4 000~1/2 000,但其生物活性相对二者而言也较弱^[32]。附子灵、脱氧乌头原碱、尼奥灵、8-甲氧基次乌宁等是醇胺型C19二萜生物碱的代表性物质,具有保护心血管、抗肿瘤、镇痛等作用^[33-36]。

峰 118 与峰 133 的分子离子峰分别为 m/z 392.278 56 与 m/z 392.278 44, 推测其可能的分子式为 $C_{23}H_{37}NO_4$ (误差分别为 -2.486×10^{-6} 与 -4.190×10^{-6})。在正离子模式下, 二者丢失 1 分子的 CH_3OH (32) 产生碎片离子峰 m/z 360, 同时, 在此基础上连续失去 H_2O (18) 产生的碎片离子 m/z 342 与 m/z 324 也被检测到。但由于二级质谱信息有限, 无法根据现有信息区分其同分异构体, 因此结合各相关信息, 推测峰 118 与峰 133 为 *sachaconitine isomer*^[37]。其他醇胺型生物碱具体信息见表 1。

3.5 对比分析 本研究共从草乌、川乌及附子中检测出 155 种成分, 其中草乌 131 种, 川乌 127 种, 附子 92 种, 见图 4。同时, 川乌与草乌有 108 种共有

成分, 川乌与附子有 81 种共有成分, 草乌与附子有 80 种共有成分, 三者共有成分有 74 种, 见图 5。

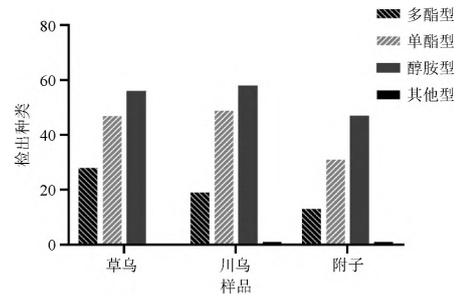
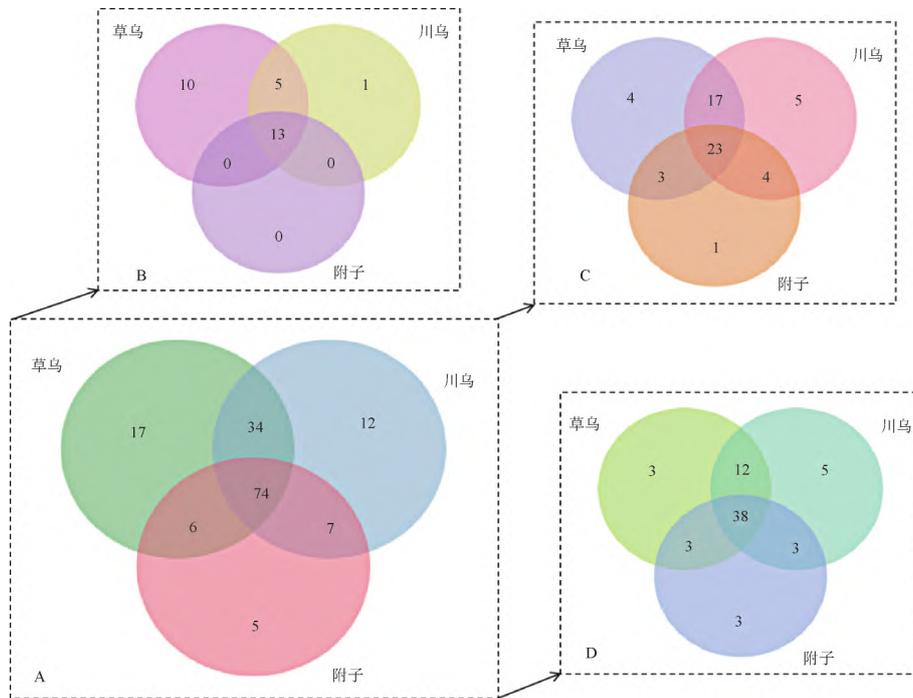


图 4 草乌、川乌及附子中生物碱检出种类
Fig.4 Distribution of alkaloids detected in *Aconiti Kusnezoffii Radix*, *Aconiti Radix*, and *Aconiti Lateralis Radix Praeparata*



A. 总生物碱; B. 多酯型生物碱; C. 单酯型生物碱; D. 醇胺型生物碱。

图 5 草乌、川乌及附子中的共有生物碱统计

Fig.5 Statistics of alkaloids shared by *Aconiti Kusnezoffii Radix*, *Aconiti Radix*, and *Aconiti Lateralis Radix Praeparata*

结果表明, 草乌、川乌以及附子中均以单酯型生物碱与醇胺型生物碱为主, 含有 *mesaconine*、*hetisine*、*senbusine A*、*hyaconine* 等多种相同成分。同时通过对比分析发现, 无论是总生物碱还是多酯型生物碱、单酯型生物碱以及醇胺型生物碱, 川乌与草乌的生物碱类成分都更为相似, 但二者在多酯型生物碱种类方面具有一定的差异性。与川乌相比, 草

乌中的多酯型生物碱更为丰富, 且含有 *guan-fu base A* 等特有成分。有报道表明, *guan-fu base A* 可通过下调 P2Y12 受体降低大鼠的机械性和热敏性疼痛过敏, 具有较好的镇痛效果^[38], 这为目前二者药效方面的相关报道提供了理论依据。目前的报道表明, 川乌与草乌药性相似, 但草乌相对川乌而言毒性更为猛烈, 且在除痹止痛方面具有更大的优势, 在临

床上常作为重要的麻醉药物使用^[39]。附子与草乌、川乌相比,生物碱种类则相对较少,与二者的生物碱种类重合度也较低,其药性也有别于草乌与川乌,更偏向于回阳救逆,可用于肢冷脉微、心阳不足、胸痹心痛等的治疗。此外,除常见的生物碱类成分,从附子中所检测到的(R)-salsolinol等成分也已被报道具有一定的神经毒性,与帕金森病存在明显关联^[40]。因此,附子所存在的毒性同样不可忽视,使用时应多加注意。

4 结论

本文采用UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS液质联用技术对草乌、川乌及附子中的生物碱类成分进行了深入分析与鉴定,从三者中共鉴定出了155种生物碱类成分。UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS液质联用技术具有高分辨率、高扫描速率、精确的结构表征等优势,能够在没有对照品的情况下实现多成分的快速鉴定,被广泛应用于中药成分的快速分析、筛查与鉴定^[41]。通过结合对照品的碎片裂解行为,本研究对乌头类二萜生物碱成分的裂解规律进行了进一步探索,由于C3、C8和C14位各取代基的出现, $[M+H-AcOH]^+$ 、 $[M+H-C_6H_5COOH]^+$ 、 $[M+H-CH_3OH]^+$ 等各种碎片离子得以被检测到,此外,本研究还新发现了乌头类生物碱可裂解产生 m/z 58 ($[C_3H_8N]^+$) 以及 m/z 105 ($[C_7H_6O]^+$) 等特征性碎片离子,可为生物碱的鉴定提供依据。

草乌、川乌及附子中生物碱为其主要活性成分,相比于C20型生物碱、酰胺类生物碱、吡咯类生物碱等,C19型生物碱在三者体内种类分布更多,为主要的成分类群。本研究深入解析了草乌、川乌及附子中的生物碱类成分,结果表明草乌、川乌以及附子中的生物碱既具有相似性又保留其各自的独特性,能为后续三者的相关研究提供参考借鉴。同时,本实验依旧存在不足,所采用的提取方法与液质条件不适于长链酯型生物碱的提取与分析,故而在本研究中乌头属中药中大量存在的长链酯型生物碱的分析有所欠缺,接下来将进一步优化提取方式与液质分析条件,对该类生物碱进行深入分析。

[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] 李双, 黎锐, 曾勇, 等. 川乌的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(12): 2433.
- [3] 苗鑫, 张晓菲, 刘丹丹, 等. 草乌毒性及相关模型构建的研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(6): 836.
- [4] 姜波, 常晶晶, 张春蕾, 等. 附子心脏毒性及配伍减毒增效机制研究进展[J]. 药物评价研究, 2021, 44(6): 1346.
- [5] 张卫华, 郭诚杰. 附子、川乌、草乌应用经验[N]. 中国中医药报, 2017-03-06(4).
- [6] 苏玉, 勐静. 中药川乌与草乌的鉴别比较及药理活性分析[J]. 当代医药论丛, 2020, 18(7): 57.
- [7] TAO H, ZUO L, XU H, et al. Alkaloids as anticancer agents: a review of Chinese patents in recent 5 years [J]. Recent Pat Anti-cancer Drug Discov, 2020, 15(1): 2.
- [8] 咎珂, 蒋黄卉, 金红宇, 等. 中药肝毒性吡咯里西啶生物碱的质量控制研究进展[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(4): 572.
- [9] 李梦婷, 张慧琼, 文瑞琪, 等. 基于斑马鱼研究附子脂溶性总生物碱的神经毒性[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(6): 63.
- [10] 陈良妮, 程雪梅, 陈勇, 等. 川乌药理作用、毒性、质量控制方法研究进展[J]. 中成药, 2021, 43(3): 722.
- [11] 刘杰, 林巧, 周勤梅, 等. 附子中1个新的苯基异喹啉生物碱及其心肌保护活性[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(12): 3265.
- [12] 叶协滔, 钟凌云, 杨明, 等. 不同炮制方法对川乌抗痛风性关节炎及心脏毒性作用的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(18): 121.
- [13] SUN A, GAO B, DING X, et al. Quantitative and qualitative analysis of aconitum alkaloids in raw and processed Chuanwu and Caowu by HPLC in combination with automated analytical system and ESI/MS/MS [J]. J. Anal Methods Chem, 2012, 2012: 936131.
- [14] 王蕾, 张先灵, 王鑫, 等. UPLC-MSⁿ法对生川乌、生附片化学成分的比较研究[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(9): 1640.
- [15] 曾彬, 刘红梅, 刘晓梅, 等. UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS技术在中药分析中的应用[J]. 中药材, 2020, 43(9): 2312.
- [16] 程显隆, 白宗利, 肖新月, 等. 乌头类制品中3个双酯型生物碱的RRLC-MS/MS法分析[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(9): 1646.
- [17] 张金玲, 毛绒, 杜光. 川乌生物碱类成分及药理作用研究进展[J]. 医药导报, 2019, 38(8): 1048.
- [18] YUE H, PI Z, SONG F, et al. Studies on the aconitine-type alkaloids in the roots of *Aconitum carmichaeli* Deb. by HPLC/ESI-MS/MSⁿ [J]. Talanta, 2009, 77(5): 1800.
- [19] 姜婷, 张江, 木卡代斯·斯依提, 等. 基于中药模拟炮制的乌头属植物水解机制及液质联用测定方法的研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(19): 3543.
- [20] 李志勇. 附子成分次乌头碱心脏毒性及中毒机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2008.
- [21] 饶朝龙, 彭成. 乌头类生物碱 ras 基因表达影响及其抗肿瘤分子机制研究[J]. 现代预防医学, 2010, 37(6): 1098.
- [22] 王迎春, 周桔红, 郝宏. 36例乌头碱中毒致室性心律失常的临床研究[J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(13): 2549.
- [23] NYIRIMIGABO E, XU Y, LI Y, et al. A review on phytochemi-

- stry, pharmacology and toxicology studies of *Aconitum* [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2015, 67(1): 1.
- [24] HOLSTEGE C P, MITCHELL K, BARLOTTA K, et al. Toxicity and drug interactions associated with herbal products: ephedra and St. John's Wort [J]. *Med Clin North Am*, 2005, 89(6): 1225.
- [25] 李峨 陈信义. 乌头碱抗耐药性人口腔鳞状上皮癌细胞作用的体外研究[J]. *中国中医药信息杂志* 2004, 11(2): 103.
- [26] 刘芳 杨春华 梁敬钰 等. C(19)型二萜生物碱药理活性和毒性研究进展[J]. *海峡药学* 2012 24(4): 1.
- [27] 谭雄斯 庞武耀. HPLC 梯度洗脱法同时测定活血镇痛膏中防己诺林碱、粉防己碱、新乌头碱、乌头碱和次乌头碱[J]. *中国药师* 2017 20(4): 763.
- [28] 郑世超 严小英 陈菊 等. 基于蛋白互作网络分析祛风湿药川乌的抗炎机制[J]. *中国中药杂志* 2017 42(9): 1747.
- [29] 秦语欣 张先灵 王蕾 等. HPLC-MS 法研究川乌炮制前后化学成分的变化[J]. *北京中医药大学学报* 2016 39(4): 298.
- [30] 赵永堂. 新乌头碱、乌头碱与次乌头碱在附子不同炮制法中含量变化的实验研究[J]. *中国医药导报* 2012 9(14): 27.
- [31] XIONG L, PENG C, XIE X F, et al. Alkaloids isolated from the lateral root of *Aconitum carmichaelii* [J]. *Molecules*, 2012, 17(8): 9939.
- [32] 刘帅 李妍 李卫飞 等. 乌头类中药毒性及现代毒理学研究进展[J]. *中草药* 2016 47(22): 4095.
- [33] 徐墩海 宋风瑞 赵洪峰 等. 人参四逆汤生物碱和皂苷成分的研究[J]. *中国中药杂志* 2002 27(10): 742.
- [34] DE INÉS C, REINA M, GAVÍN J A, et al. *In vitro* cytotoxicity of norditerpenoid alkaloids [J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 2006, 61(1/2): 11.
- [35] LIU X X, JIAN X X, CAI X F, et al. Cardioactive C₁₉-diterpenoid alkaloids from the lateral roots of *Aconitum carmichaelii* "Fu Zi" [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2012, 60(1): 144.
- [36] SUZUKI T, MIYAMOTO K, YOKOYAMA N, et al. Processed aconite root and its active ingredient neoline may alleviate oxaliplatin-induced peripheral neuropathic pain [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 186: 44.
- [37] YAN G, SUN H, SUN W, et al. Rapid and global detection and characterization of aconitum alkaloids in Yin Chen Si Ni Tang, a traditional Chinese medical formula, by ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry and automated data analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(3): 421.
- [38] ZOU L, YU K, FAN Y, et al. The inhibition by guanfu base A of neuropathic pain mediated by P2Y(12) receptor in dorsal root ganglia [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2019, 10(3): 1318.
- [39] 刘正兵. 中药川乌与草乌的鉴别比较及药理活性分析[J]. *世界最新医学信息文摘* 2019, 19(53): 213.
- [40] ZHU W, WANG D, ZHENG J, et al. Effect of (R)-salsolinol and N-methyl-(R)-salsolinol on the balance impairment between dopamine and acetylcholine in rat brain: involvement in pathogenesis of Parkinson disease [J]. *Clin Chem*, 2008, 54(4): 705.
- [41] 崔议方 王红 阮健 等. 基于 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 鉴定欧前胡素在大鼠体内的代谢产物[J]. *中国中药杂志*, 2022 47(15): 4202.

[责任编辑 张宁宁]