

# 蒙药三子散醇提物化学成分的HPLC-Q-Exactive-MS快速分析与鉴定<sup>Δ</sup>

李君<sup>1,2,3\*</sup>, 胡玉霞<sup>1,2,3</sup>, 张梦迪<sup>3</sup>, 王跃武<sup>1,2,3</sup>, 张谦<sup>1,2,3</sup>, 胡格吉胡<sup>4</sup>, 高峰<sup>3</sup>, 常福厚<sup>3#</sup>(1.内蒙古医科大学新药安全评价研究中心, 呼和浩特 010110; 2.内蒙古医科大学新药筛选工程研究中心, 呼和浩特 010110; 3.内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010110; 4.内蒙古医科大学附属医院麻醉科, 呼和浩特 010110)

中图分类号 R931.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)11-1348-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.11.12



**摘要** 目的 系统研究三子散醇提物的化学组成,为阐明该方的药效物质基础提供参考。方法 采用高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(HPLC-Q-Exactive-MS)技术进行分析。色谱条件:采用Shim-pack GIST-HP C<sub>18</sub>色谱柱,以乙腈-0.1%甲酸溶液为流动相进行梯度洗脱,流速为1 mL/min,柱温为40 ℃,进样量为10 μL。质谱条件:采用电喷雾离子源,在正、负离子检测模式下检测。检测方式为Full MS/dd-MS<sup>2</sup>, Full MS分辨率为70 000, dd-MS<sup>2</sup>分辨率为17 500,扫描范围为 $m/z$  110~1 200。通过与对照品、参考文献和自建数据库信息比对对各离子峰进行鉴定。结果 在蒙药三子散醇提物中共鉴定出化合物64个,包括9个黄酮类成分、13个环烯醚萜类成分、14个有机酸类成分、18个鞣质类成分、3个三萜类成分、3个氨基酸类成分和4个脂肪酸类成分。结论 本研究发现蒙药三子散醇提物中主要含环烯醚萜类、鞣质类和黄酮类成分等,可能是三子散发挥药效的物质基础。

**关键词** 蒙药;三子散;高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱;成分组成;结构鉴定

## Rapid analysis and identification of chemical components of ethanol extract from Mongolian medicine Sanzi san by HPLC-Q-Exactive-MS

LI Jun<sup>1, 2, 3</sup>, HU Yuxia<sup>1, 2, 3</sup>, ZHANG Mengdi<sup>3</sup>, WANG Yuewu<sup>1, 2, 3</sup>, ZHANG Qian<sup>1, 2, 3</sup>, HU Geji<sup>4</sup>, GAO Feng<sup>3</sup>, CHANG Fuhou<sup>3</sup> (1. The Center for New Drug Safety Evaluation and Research, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 2. Engineering Research Center of New Pharmaceutical Screening, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 3. College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 4. Dept. of Anesthesiology, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To systematically study the chemical components of ethanol extract from Sanzi san, and to provide reference for clarifying the pharmacodynamic material basis of the formulation. **METHODS** HPLC-Q-Exactive-MS technology was adopted. The determination was performed on Shim-pack GIST-HP C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution for gradient elution at the flow rate of 1 mL/min. The column temperature was 40 ℃, and sample size was 10 μL. Mass spectrometry conditions included the electrospray spray ion source was used for detection in positive and negative ion detection modes. Full MS/dd-MS<sup>2</sup> detection mode was adopted, the resolution of Full MS was 70 000 and the resolution of dd-MS<sup>2</sup> was 17 500. The scanning range was  $m/z$  110-1 200. The ion peaks were identified by comparing with the information of control substances, literature references and self-built database. **RESULTS** A total of 64 components were identified in the ethanol

<sup>Δ</sup> 基金项目:内蒙古自治区卫生健康委卫生健康科技计划项目(No.202201186);内蒙古自治区高等学校科学技术研究项目(No.NJZY22655);内蒙古自治区高等学校科学研究项目(No.NJZY21593);内蒙古医科大学实验室开放基金项目(No.2021ZN20);内蒙古医科大学科技百万工程联合项目[No.YKD2017KJBW(LH)030]

\* 助理研究员, 硕士。研究方向:中蒙药药效物质。电话:0471-6653663。E-mail:nmg15547126231@sina.com

# 通信作者:教授, 博士。研究方向:生化与分子药理学。电话:0471-6653216。E-mail:changfh@163.com

extract of Mongolian medicine Sanzi san, including 9 flavonoids, 13 iridoids, 14 organic acids, 18 tannins, 3 triterpenes, 3 amino acids and 4 fatty acids. **CONCLUSIONS** The ethanol extract of Mongolian medicine Sanzi san mainly include iridoids, tannins and flavonoids, which might be the pharmacodynamic material basis of Sanzi san.

**KEYWORDS** Mongolian medicine; Sanzi san; HPLC-Q-Exactive-MS; composition; structure identification

三子散系蒙古族经典名方,收载于2020年版《中国药典》(一部),由诃子、川楝子、栀子3味药材按1:1:1配比组成<sup>[1]</sup>。该方具有清血热、解毒等功效,将其制成糊状外用还具有收敛、止痛、消炎的作用,蒙医临床用于温热、血热、眩晕、新久热等疾病的治疗<sup>[2]</sup>。现有研究表明,三子散所含化学成分主要包括环烯醚萜苷类、鞣质类、黄酮类、有机酸类等<sup>[3]</sup>,但在疾病治疗过程中发挥药效的活性成分尚不清楚。而明确该方的化学物质组成是阐明其药效物质基础的重要前提。本课题组前期采用高效液相色谱串联三重四极杆质谱技术,以方中没食子酸、阿魏酸、栀子苷、槲皮素、川楝素等10种成分含量为指标,通过正交实验对三子散的醇提工艺进行了优化<sup>[4]</sup>,并在最优提取工艺的支撑下,通过冷冻干燥技术获得了三子散醇提物。在此基础上,本研究采用具有分析周期短、检测灵敏度高等特点的高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(HPLC-Q-Exactive-MS)技术对三子散醇提物中的复杂化学成分进行快速在线分离与鉴定,从而为后续该方移行入血成分分析、药动学-药效学相关性研究等提供基础,进而阐明该方的药效物质基础。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

HPLC-Q-Exactive型高效液相色谱-质谱联用系统(含Ultimate 3000型色谱仪、Q-Exactive型高分辨质谱仪)购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;AP135W型十万分之一电子天平购自日本Shimadzu公司;KH-500DV型数控超声波清洗器购自昆山禾创超声有限公司;2TB-A型磁力加热搅拌电热套购自山东鄞城华鲁电热仪器有限公司;RE3000A型全自动旋转蒸发仪购自郑州科达机械仪器设备有限公司;FDU2110型冷冻干燥机购自东京理化器械株式会社。

### 1.2 主要药品与试剂

栀子(批号19072703,产地为江西)、川楝子(批号200101131,产地为四川)、诃子(批号20022403,产地为云南)饮片均购自内蒙古北域药业有限责任公司,经内蒙古医科大学药学院中药资源教研室渠弼教授鉴定分别为茜草科植物栀子*Gardenia jasminoides* Ellis、楝科植物川楝*Melia toosendan* Sieb. et Zucc.和绒毛诃子*Terminalia chebula* Retz. var *tomentella* Kurt.的干燥成熟果实。川楝素(批号111824-201804,纯度 $\geq 96.9\%$ )、栀子苷(批号110749-201718,纯度 $\geq 97.6\%$ )、山柰酚(批号110861-202013,纯度 $\geq 98.0\%$ )、没食子酸(批号110831-201605,纯度 $\geq 98.8\%$ )、鞣花酸(批号111959-201903,纯度 $\geq 88.8\%$ )、槲皮素(批号100081-201810,纯度 $\geq 99.1\%$ )、阿魏酸(批号110773-201914,纯度 $\geq 99.0\%$ )、芦丁(批号21020402,纯度 $\geq 98.0\%$ )、绿原酸(批号

110753-202018,纯度 $\geq 96.1\%$ )9种对照品均购自中国食品药品检定研究院;柯里拉京(批号DST190113-012,纯度 $\geq 98.2\%$ )、木犀草素(批号DSTD003201,纯度 $\geq 98.0\%$ )、齐墩果酸(批号DSTDQ005101,纯度 $\geq 98.0\%$ )3种对照品均购自成都德思特生物科技有限公司;甲醇、乙腈均为色谱纯,甲酸、乙酸铵均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法

### 2.1 色谱-质谱条件

采用Shim-pack GIST-HP C<sub>18</sub>色谱柱(150 mm×4.6 mm, 3 μm),以乙腈(A)-0.1%甲酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~10 min, 10% A; 10~15 min, 10% A→30% A; 15~25 min, 30% A→70% A; 25~30 min, 70% A→90% A; 30~35 min, 90% A; 35~40 min, 10% A);流速为1 mL/min;柱温为40 ℃;进样量为10 μL。

采用电喷雾离子源(ESI),在正、负离子检测模式下检测。正离子检测模式下的检测条件为:辅助气体积流量30 L/min,喷雾电压3.50 kV,离子传输管温度300 ℃,辅助气温度200 ℃,碰撞能量45 eV;负离子检测模式下的检测条件为:辅助气体积流量30 L/min,喷雾电压2.80 kV,离子传输管温度400 ℃,辅助气温度100 ℃,碰撞能量30 eV。检测方式为Full MS/dd-MS<sup>2</sup>,Full MS分辨率为70 000,dd-MS<sup>2</sup>分辨率为17 500,扫描范围为*m/z* 110~1 200。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备 根据前期实验基础<sup>[4]</sup>,按处方比例称取川楝子、栀子、诃子饮片,粉碎,混匀,过60目筛。称取混合粉末共约180.00 g,置于圆底烧瓶中,加50%乙醇1 800 mL,用电热套加热回流提取3次、每次1.5 h,分别过滤并收集滤液。合并3次滤液,旋蒸浓缩,回收乙醇,浓缩液冷冻干燥,得到三子散醇提物冻干粉。称取上述冻干粉1.0 g于10 mL量瓶中,加甲醇至刻度后称质量,超声(功率200 W,频率50 kHz)20 min,冷却至室温,再次称定其质量,以甲醇补足减少的质量,经0.22 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取川楝素、栀子苷、齐墩果酸、山柰酚、没食子酸、鞣花酸、柯里拉京、槲皮素、阿魏酸、芦丁、木犀草素、绿原酸12种对照品各适量,分别置于不同10 mL量瓶中,加甲醇溶解定容,制成上述12种成分质量浓度分别为475、201、258、285、206、200、239、237、255、228、292、344 μg/mL的单一对照品贮备液。分别精密量取上述各单一对照品贮备液适量,置于同一10 mL量瓶中,加甲醇定容,制成上述12种成分质量浓度分别为950、402、516、570、412、400、478、474、510、456、584、688 ng/mL的混合对照品溶液,将其置于4 ℃保存,备用。

## 2.3 数据库的建立及分析

利用中国知网、万方等数据库检索有关三子散全方及各单味药材化学成分研究的文献,将收集的化学成分信息进行汇总,建立一个包括化合物名称、分子式、精确分子量、一级和多级质谱碎片等信息的本地数据库,从而为化合物的鉴定提供参考。将供试品溶液和对照品溶液在正、负离子模式下检测到的质谱信息导入 Xcalibur 3.0 软件进行数据处理,利用 HPLC-Q-Exactive-MS 高分辨质谱计算化合物的精确分子量,再结合保留时间、质谱信息及 Xcalibur 3.0 软件拟合的分子式,通过与已建立数据库中化合物信息和部分对照品质谱数据进行比对,以实际测得与理论的偏差小于 10 ppm 为原则<sup>[5]</sup>,快速鉴别出三子散醇提物中所含有的固有化学

成分。

## 3 结果

### 3.1 三子散醇提物的总离子流图及成分分析

按“2.1”项下色谱-质谱条件,对三子散醇提物进行 HPLC-Q-Exactive-MS 检测分析,获得了三子散醇提物在正、负离子检测模式下的总离子流图(见图 1)。根据“2.3”项下分析方法,最终鉴定出化合物 64 个,包括 9 个黄酮类成分、13 个环烯醚萜类成分、14 个有机酸类成分、18 个鞣质类成分、3 个三萜类成分、3 个氨基酸类成分和 4 个脂肪酸类成分。其中,有 11 个成分的结构通过与对照品比对得到了确证。三子散醇提物化学成分的 HPLC-Q-Exactive-MS 鉴定结果见表 1。

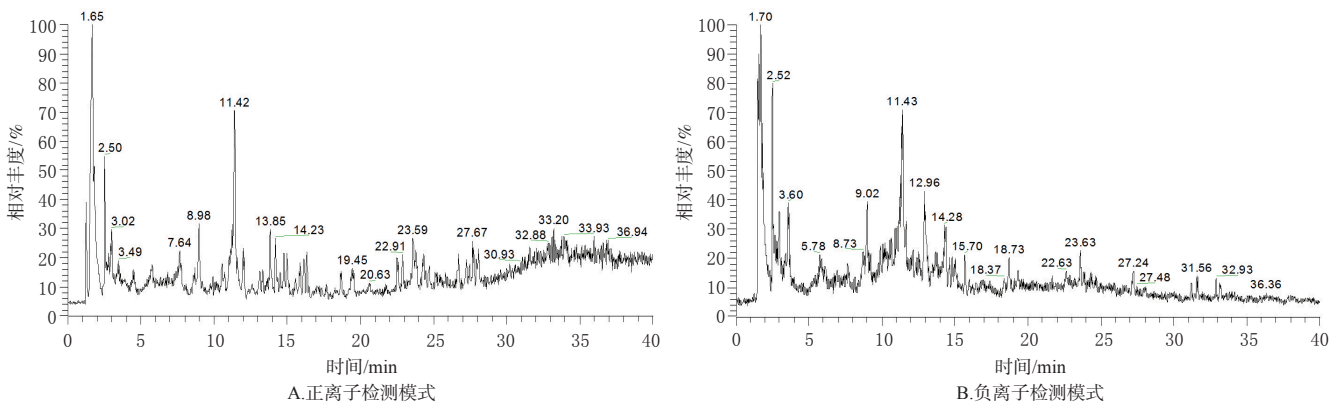


图 1 正、负离子检测模式下三子散 HPLC-Q-Exactive-MS 分析的总离子流图

表 1 三子散醇提物化学成分的 HPLC-Q-Exactive-MS 鉴定结果

序号	名称	保留时间/min	分子式	离子模式	分子量		误差/ppm	离子碎片(m/z)	类型
					理论值	实测值			
1	精氨酸 <sup>[6]</sup>	1.40	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	173.103 30	173.103 58	1.605	173.103 58, 131.081 50	氨基酸类
2	奎宁酸 <sup>[7]</sup>	1.56	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	191.055 01	191.055 44	2.227	191.055 44	有机酸类
3	脯氨酸 <sup>[7]</sup>	1.57	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	116.070 60	116.070 53	-0.647	116.070 53, 70.065 65	氨基酸类
4	粘酸 <sup>[6]</sup>	1.58	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	209.029 19	209.029 79	2.853	209.029 79, 165.076 23	有机酸类
5	缬氨酸 <sup>[6]</sup>	1.69	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	118.086 25	118.086 19	-0.522	118.086 19, 72.081 41	氨基酸类
6	柠檬酸 <sup>[6-7]</sup>	1.69	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	191.018 62	191.019 07	2.309	191.019 07, 173.008 24, 147.029 37	有机酸类
7	莽草酸 <sup>[6]</sup>	1.71	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	173.044 44	173.044 65	1.157	155.033 98, 137.023 28, 111.007 53, 93.033 27	有机酸类
8	诃子次酸 <sup>[6]</sup>	1.73	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	355.029 58	355.030 27	1.922	355.030 27, 311.040 77, 293.030 82, 275.021 58, 249.040 44, 205.050 17, 193.013 61	鞣质类
9	苹果酸 <sup>[6-7]</sup>	1.77	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	133.013 14	133.013 09	-0.449	133.013 09, 115.002 43	有机酸类
10	松脂醇 <sup>[6]</sup>	2.51	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	359.148 91	359.148 28	-1.768	359.148 28	黄酮类
11	没食子酰葡萄糖 <sup>[6]</sup>	2.62	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	331.065 97	331.065 38	4.250	169.013 32, 125.023 41	鞣质类
12	没食子酸-3-O-β-D-葡萄糖苷 <sup>[6]</sup>	2.65	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	331.065 97	331.065 38	1.407	331.065 38, 169.013 28, 125.023 26	鞣质类
13	琥珀酸 <sup>[6]</sup>	2.72	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	117.018 23	117.018 08	-1.326	117.018 08	有机酸类
14	没食子酸 <sup>[6]</sup>	3.57	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	169.013 14	169.013 34	0.190	169.013 34, 125.023 26	有机酸类
15	石榴皮鞣素 <sup>[6]</sup>	3.72	C <sub>24</sub> H <sub>12</sub> O <sub>22</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	781.051 89	781.051 63	3.497	600.990 78, 169.012 25	鞣质类
16	山栀子苷 <sup>[5,9-10]</sup>	5.39	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	391.123 48	391.123 34	4.735	229.071 56, 211.060 76, 193.050 11, 185.081 24, 167.070 63, 149.059 68	环烯醚萜类
17	去乙酰车叶草苷酸甲酯 <sup>[5,7]</sup>	5.59	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	[M+HCOO] <sup>-</sup>	449.128 96	449.128 11	-1.908	449.128 11	环烯醚萜类
18	原儿茶酸 <sup>[6]</sup>	7.10	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	153.018 23	153.018 31	-0.075	153.018 31, 109.028 29	环烯醚萜类
19	羟异栀子苷 <sup>[5,9-10]</sup>	8.69	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	403.123 48	403.123 98	-3.741	241.071 79, 193.050 02, 127.038 93, 101.023 19	环烯醚萜类
20	没食子酸丙酯 <sup>[6]</sup>	8.83	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	211.060 09	211.060 71	2.890	211.060 71, 169.121 70	鞣质类
21	1,6-二没食子酰葡萄糖 <sup>[11]</sup>	9.14	C <sub>28</sub> H <sub>26</sub> O <sub>14</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	483.076 93	483.076 40	3.226	331.067 47, 313.056 82, 211.024 28, 169.013 28	鞣质类
22	去乙酰车叶草苷酸 <sup>[7]</sup>	9.57	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	389.107 83	389.107 16	3.398	389.107 16	环烯醚萜类
23	京尼平苷酸 <sup>[6]</sup>	9.58	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	373.112 92	373.112 04	2.993	211.060 79, 167.034 06	环烯醚萜类
24	对羟基苯甲酸 <sup>[5,12]</sup>	9.67	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	137.023 32	137.023 30	-0.150	137.023 30	有机酸类

\* :有对照品比对

续表 1

序号	名称	保留时间/min	分子式	离子模式	分子量		误差/ppm	离子碎片( <i>m/z</i> )	类型
					理论值	实测值			
25	鸡屎藤次苷甲酯 <sup>[5,10]</sup>	9.97	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	403.123 48	403.124 69	2.982	241.071 72, 179.038 89	环烯醚萜类
26	诃子素 <sup>[9]</sup>	10.31	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	311.039 75	311.039 56	4.792	311.039 56, 267.051 33	鞣质类
27	没食子酸甲酯 <sup>[6]</sup>	10.53	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	183.028 79	183.029 21	2.023	168.005 51, 124.015 33, 111.007 40	鞣质类
28	绿原酸 <sup>[9-10]</sup>	10.76	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	353.086 70	353.087 74	1.271	191.055 54, 179.034 23, 173.044 75, 135.044 10	有机酸类
29	槲皮素-3-O-葡萄糖苷 <sup>[6]</sup>	10.94	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	477.066 36	477.067 05	1.432	477.067 05, 169.013 26	鞣质类
30	柯里拉京 <sup>[5,11]</sup>	11.11	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>18</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	633.072 24	633.074 40	3.412	300.999 39, 169.013 34	鞣质类
31	栀子酸 <sup>[9]</sup>	11.16	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>10</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	373.112 92	373.114 04	2.993	373.114 04	环烯醚萜类
32	京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷 <sup>[10]</sup>	11.30	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	549.181 39	549.182 86	2.665	225.077 62, 207.067 08	环烯醚萜类
33	栀子苷 <sup>[5,7]</sup>	11.47	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	[M+HCOO] <sup>-</sup>	433.134 05	433.133 82	3.065	225.077 03, 207.065 87, 123.043 95	环烯醚萜类
34	苦藏红花酸 <sup>[9]</sup>	11.59	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	345.154 39	345.156 10	4.942	345.156 10	环烯醚萜类
35	1,3,6-三没食子酰葡萄糖 <sup>[6]</sup>	11.65	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>18</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	635.087 89	635.087 90	3.165	635.089 90, 169.013 31	鞣质类
36	对羟基苯甲醛 <sup>[9]</sup>	11.78	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	121.028 40	121.028 28	-1.041	121.028 28	有机酸类
37	没食子酰基莽草酸 <sup>[6]</sup>	12.38	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>17</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	629.077 32	629.079 16	2.916	169.013 29, 477.067 29, 125.023 28, 325.056 82	鞣质类
38	1,2,3,6-四没食子酰葡萄糖 <sup>[6]</sup>	12.54	C <sub>34</sub> H <sub>38</sub> O <sub>22</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	787.098 84	787.104 06	4.621	635.089 48, 617.078 86, 295.045 96, 169.013 15	鞣质类
39	芦丁 <sup>[11]</sup>	12.68	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	609.145 01	609.147 22	2.405	301.034 76, 300.027 80, 271.025 27, 151.002 62	黄酮类
40	鞣花酸 <sup>[9]</sup>	12.92	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	300.997 89	300.999 30	4.673	300.999 30	鞣质类
41	没食子酸乙酯 <sup>[6,13]</sup>	12.98	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	197.044 44	197.044 98	2.690	169.013 38, 140.010 31, 125.023 49, 111.007 25	鞣质类
42	香草醛 <sup>[9]</sup>	13.04	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	151.038 97	151.039 00	0.195	151.039 00	有机酸类
43	金丝桃苷 <sup>[14]</sup>	13.12	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	463.087 10	463.087 74	0.638	463.087 74, 301.034 64, 300.027 68, 169.013 63	黄酮类
44	新绿原酸 <sup>[7]</sup>	13.31	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	353.086 70	353.088 38	1.671	191.055 53, 179.034 21	有机酸类
45	槲皮素脱氧己糖 <sup>[6]</sup>	13.88	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	447.092 18	447.092 18	1.742	447.092 18, 285.039 61, 151.002 72	黄酮类
46	花旗松素 <sup>[15]</sup>	14.48	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	303.049 92	303.051 24	4.326	303.051 24, 285.040 92, 151.002 66	黄酮类
47	阿魏酸 <sup>[15]</sup>	15.14	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	195.065 18	195.060 11	2.977	177.054 20, 149.059 33	有机酸类
48	柚皮素 <sup>[9]</sup>	15.60	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	271.060 09	271.061 55	5.350	271.061 55, 151.002 61, 119.048 98	鞣质类
49	没食子儿茶素 <sup>[6]</sup>	16.16	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	305.065 57	305.066 93	4.428	305.066 93, 125.023 27	鞣质类
50	山柰酚 <sup>[15]</sup>	16.37	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	287.055 01	287.054 53	-0.485	287.054 53	黄酮类
51	槲皮素 <sup>[13]</sup>	16.50	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	301.034 27	301.035 58	1.301	301.035 58, 273.041 08, 269.045 81, 178.997 86, 151.002 64	黄酮类
52	芹菜素 <sup>[10]</sup>	17.87	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	269.044 44	269.045 81	1.360	151.002 72	黄酮类
53	木犀草素 <sup>[13]</sup>	18.13	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	285.039 36	285.040 83	1.466	285.040 83, 151.002 52	黄酮类
54	川楝素 <sup>[8,12]</sup>	18.60	C <sub>28</sub> H <sub>38</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	573.233 03	573.233 95	1.590	573.233 95, 531.212 92	三萜类
55	栀子花酸 B <sup>[9]</sup>	22.14	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	485.326 15	485.327 67	3.130	485.327 67	环烯醚萜类
56	芝麻素 <sup>[16]</sup>	22.26	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	353.101 96	353.103 49	4.320	353.103 49	鞣质类
57	印楝素 <sup>[12]</sup>	24.47	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> O <sub>8</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	589.279 59	589.279 59	-4.759	589.279 59, 529.253 11	有机酸类
58	α-亚麻酸 <sup>[16]</sup>	30.31	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	277.216 20	277.217 32	4.016	277.217 32, 259.206 63	脂肪酸类
59	齐墩果酸 <sup>[16]</sup>	30.55	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	455.351 97	455.353 70	3.795	455.353 70, 437.203 98	三萜类
60	熊果酸 <sup>[16]</sup>	30.57	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	455.351 97	455.352 89	3.795	455.352 89, 437.204 68	三萜类
61	亚油酸 <sup>[13]</sup>	31.66	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	279.231 85	279.233 18	4.739	279.233 18, 235.133 94	脂肪酸类
62	棕榈酸 <sup>[9]</sup>	33.01	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	255.231 85	255.232 93	1.073	255.232 93, 210.998 62	脂肪酸类
63	栀子花乙酸 <sup>[14]</sup>	33.12	C <sub>28</sub> H <sub>38</sub> O <sub>8</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	487.341 80	487.341 43	-0.761	487.341 43, 469.003 31, 451.319 98	环烯醚萜类
64	油酸 <sup>[9]</sup>	33.23	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	281.247 50	281.248 84	4.740	281.248 84, 265.075 53	脂肪酸类

### 3.2 成分鉴定过程分析

鉴于同类成分具有相似的裂解规律,本文选取组方中主要含有的环烯醚萜类成分、黄酮类成分、有机酸类成分和鞣质类成分为例进行成分鉴定过程分析。

3.2.1 环烯醚萜类成分 在组方中共鉴定出环烯醚萜类化合物 13 个。本研究以栀子苷(化合物 33)为例来说明环烯醚萜类成分的结构鉴定过程:在负离子检测模式下可见  $m/z$  433.133 82[M+COOH]<sup>-</sup> 的准分子离子峰,准分子离子峰相继失去 1 分子甲酸和 1 分子中性碎片葡萄糖残基后产生碎片离子峰  $m/z$  225.077 03[M-H-Glu]<sup>-</sup>,然后进一步丢失 1 分子 H<sub>2</sub>O 得到碎片离子峰  $m/z$  207.066 04[M-H-Glu-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>,随后苷元进一步发生逆狄尔斯-阿德尔反应产生碎片离子峰  $m/z$  123.043 95。

结合化合物的分子式、裂解规律、碎片离子峰信息及与对照品比对结果<sup>[5,7]</sup>,确认化合物 33 为栀子苷。栀子苷对照品和化合物 33 的二级质谱(MS<sup>2</sup>)图分别见图 2、图 3,栀子苷可能的裂解途径见图 4。

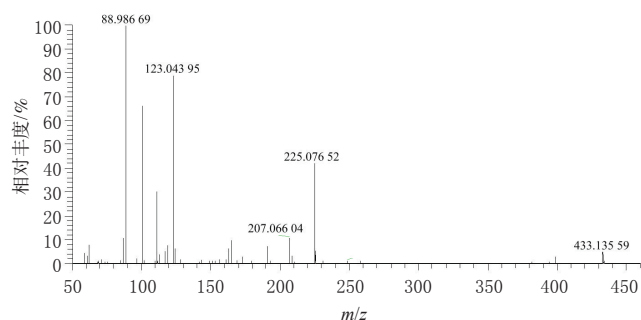


图2 栀子苷对照品的 MS<sup>2</sup> 图

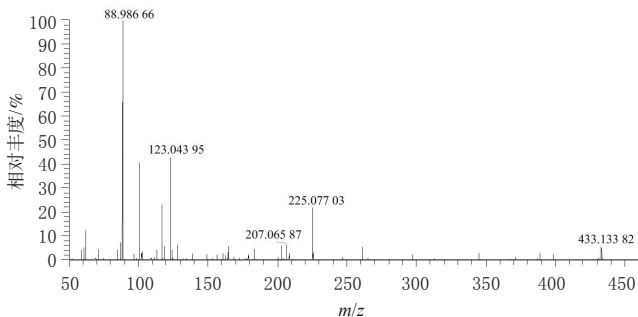


图3 化合物33的MS<sup>2</sup>图

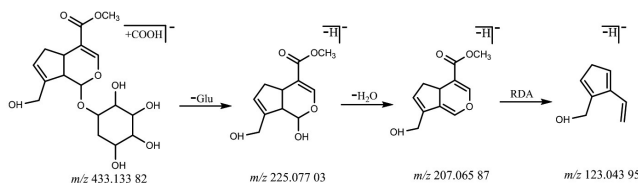


图4 栀子苷可能的裂解途径

3.2.2 黄酮类成分 在组方中共鉴定出黄酮类化合物9个。本研究以芦丁(化合物39)为例来说明黄酮类成分的结构鉴定过程:在负离子检测模式下可见  $m/z$  609.147 22[M-H]<sup>-</sup>的准分子离子峰,并发现其主要二级碎片离子峰为  $m/z$  301.034 76、 $m/z$  300.027 80、 $m/z$  271.025 27、 $m/z$  151.002 62,即准分子离子峰通过碰撞解离丢失芸香糖产生碎片离子峰  $m/z$  301.034 76[M-H-C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>]<sup>-</sup>,并进一步脱去1个氢产生碎片离子峰  $m/z$  300.027 80[M-H-C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>-H]<sup>-</sup>,或脱去1个中性碎片H<sub>2</sub>CO产生碎片离子峰  $m/z$  271.025 27[M-H-C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>-H<sub>2</sub>CO]<sup>-</sup>,或发生逆狄尔斯-阿德尔反应产生碎片离子峰  $m/z$  151.002 62。结合化合物的分子式、裂解规律、碎片离子峰信息及与对照品比对结果,确认化合物39为芦丁<sup>[11]</sup>。芦丁对照品和化合物39的MS<sup>2</sup>图分别见图5、图6,芦丁可能的裂解途径见图7。

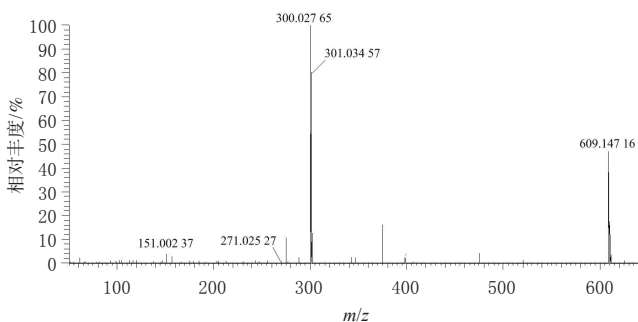


图5 芦丁对照品的MS<sup>2</sup>图

3.2.3 有机酸类成分 在组方中共鉴定出有机酸类化合物14个。本研究以绿原酸(化合物28)为例来说明有机酸类化合物的结构鉴定过程:在负离子检测模式下可见  $m/z$  353.087 74[M-H]<sup>-</sup>的准分子离子峰,其特征裂解途径为结构中酯键断裂产生奎宁酸(quinic acid, QA)及咖啡酸(caffeic acid, CA),主要二级碎片离子峰为  $m/z$  191.055 54[QA-H]<sup>-</sup>、 $m/z$  179.034 23[CA-H]<sup>-</sup>、 $m/z$

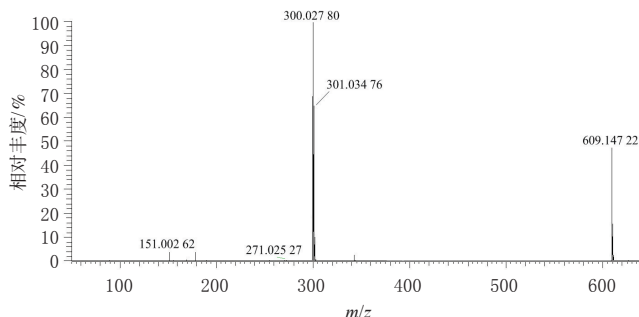


图6 化合物39的MS<sup>2</sup>图

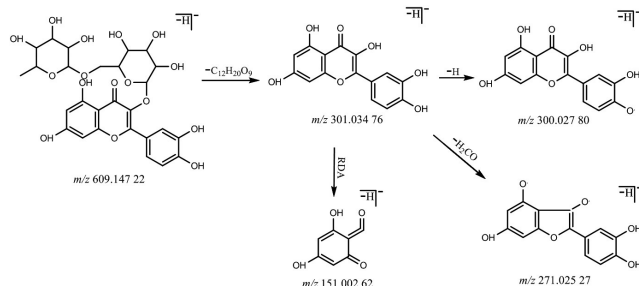


图7 芦丁可能的裂解途径

173.044 75[QA-H-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>、 $m/z$  135.044 10[CA-H-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>,即准分子离子峰脱去咖啡酰氧基或奎宁酸基团产生  $m/z$  191.055 54[QA-H]<sup>-</sup>或  $m/z$  179.034 23[CA-H]<sup>-</sup>的特征碎片离子峰,然后进一步丢失1分子CO<sub>2</sub>或1分子H<sub>2</sub>O产生  $m/z$  173.044 75[QA-H-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>、 $m/z$  135.044 10[CA-H-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>的碎片离子峰。结合化合物的分子式、裂解规律、碎片信息及与对照品的比对结果,确认化合物28为绿原酸<sup>[9-10]</sup>。绿原酸对照品和化合物28的MS<sup>2</sup>图分别见图8、图9,绿原酸可能的裂解途径见图10。

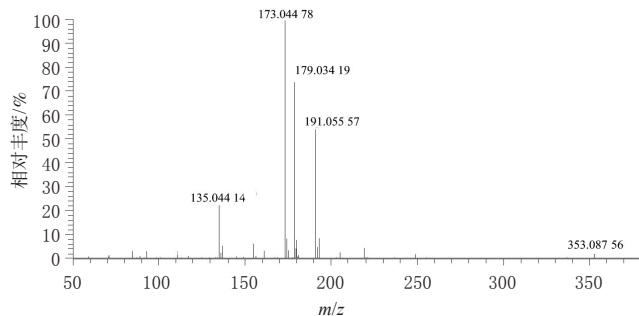


图8 绿原酸对照品的MS<sup>2</sup>图

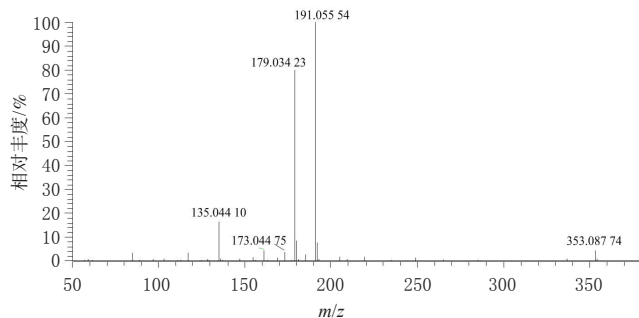


图9 化合物28的MS<sup>2</sup>图

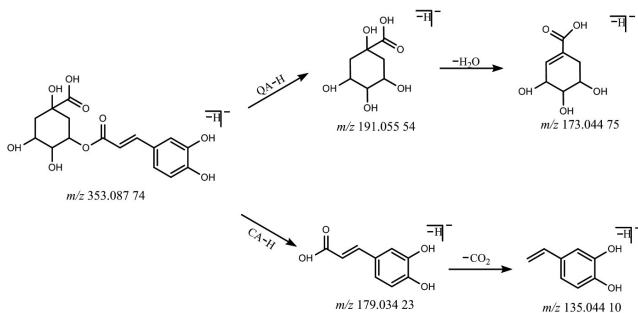


图10 绿原酸可能的裂解途径

3.2.4 鞣质类成分 在组方中共鉴别出鞣质类化合物18个。本研究以柯里拉京(化合物30)为例来说明鞣质类成分的结构鉴定过程:在负离子检测模式下可见  $m/z$  633.074 40 $[M-H]^-$  的准分子离子峰,准分子离子峰失去1分子没食子酰葡萄糖单元形成特征碎片离子峰  $m/z$  300.999 39 $[M-H-galloyl-glu]^-$ ,或失去1分子葡萄糖单元和1分子六羟基二苯甲酰基(HHDP)产生碎片离子峰  $m/z$  169.013 34 $[M-H-glu-HHDP]^-$ 。结合化合物的分子式、裂解规律、碎片信息及与对照品比对的结果,确认化合物30为柯里拉京<sup>[11]</sup>。柯里拉京对照品和化合物30的MS<sup>2</sup>图分别见图11、图12,柯里拉京可能的裂解途径见图13。

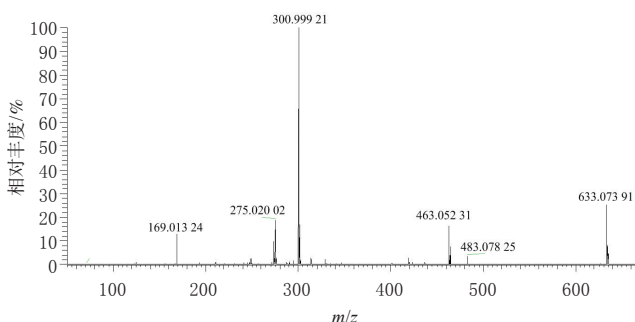


图11 柯里拉京对照品的MS<sup>2</sup>图

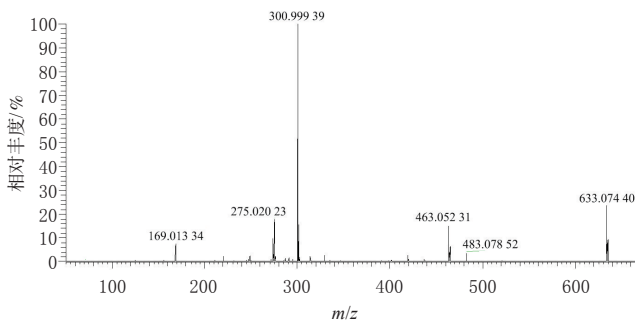


图12 化合物30的MS<sup>2</sup>图

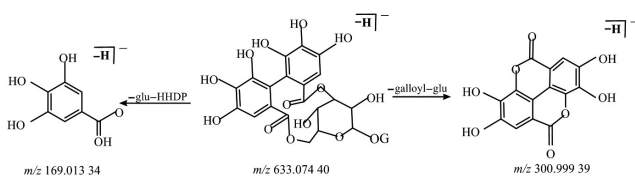


图13 柯里拉京可能的裂解途径

## 4 讨论

在前期预实验中,本课题组对不同流动相体系(乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸溶液、甲醇-水和甲醇-0.1%甲酸溶液)进行了考察。结果表明,在流动相中加入适量甲酸能够明显改变组方中成分的质谱响应值;而与甲醇比较,采用乙腈为流动相组成部分能够显著提高组方中各成分的分离度。因此,本研究采用乙腈-0.1%甲酸溶液作为流动相体系。

由于传统复方制剂中成分较多且响应模式不尽相同,为获得全面的质谱信息,本研究采用正、负离子全扫描模式对三子散醇提物中的化学成分进行了辨识分析。结果,在三子散醇提物中共鉴定出64个化学成分,以环烯醚萜类、黄酮类、鞣质类、有机酸类为主。现代药理学研究表明,环烯醚萜类成分栀子苷在抗炎、抗氧化、降压、调脂等方面作用显著,并具有保肝利胆的作用<sup>[17-18]</sup>。黄酮类化合物存在于多种药用植物中,具有多重生物活性:槲皮素可通过缩小心肌梗死面积、降低心肌髓过氧化物酶活力而发挥心肌保护作用<sup>[19]</sup>;芦丁具有显著的抗炎活性,且该作用可能与其减少促炎细胞因子和炎症介质的产生有关<sup>[20]</sup>。鞣质类成分大多具有抗真菌及抗肿瘤活性,同时对结肠癌、肝癌和宫颈癌细胞均表现出了一定的抑制作用<sup>[11]</sup>。此外,本研究还鉴定出了多种有机酸类成分,其在心血管相关疾病方面作用广泛:苹果酸可提高琥珀酸脱氢酶、细胞色素氧化酶活性,增加腺苷三磷酸合成,进而保护心肌细胞的完整性<sup>[21]</sup>;没食子酸具有较强的抗氧化活性,对异丙肾上腺素诱导的心肌梗死模型大鼠有较好的心脏保护作用<sup>[22]</sup>;绿原酸对中轻度高血压患者具有降压作用,这可能与抑制活性氧的过量产生、降低氧化应激有关<sup>[23]</sup>。在鉴定出的三萜类成分中,熊果酸和齐墩果酸可通过抑制血管平滑肌细胞的异常增殖和迁移而发挥抗动脉粥样硬化作用<sup>[24]</sup>。

综上,本研究采用HPLC-Q-Exactive-MS技术对三子散醇提物的化学成分进行了系统、快速、全面的定性研究,所鉴定出的多种化合物可能是三子散发挥药效的物质基础,但仍需进行进一步的药效学验证。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:512-513.
- [2] 奥·乌力吉,布和巴特尔.传统蒙药与方剂[M].赤峰:内蒙古科学技术出版社,2013:207.
- [3] 雷露静.蒙药三子散质量控制及血清药物化学初步研究[D].呼和浩特:内蒙古医科大学,2016.
- [4] 李君,周旻昱,王跃武,等.基于HPLC-MS/MS法多指标优化蒙药三子散醇提取工艺[J/OL].中药材,2022(1):168-172[2022-04-02]. <https://kns.cnki.net/kns8/defaultresult/index>. DOI:10.13863/j.Issn10-01-4454.2022.01.029.
- [5] 李玲云,王云,刘梦娇,等.栀子金花丸化学成分的UPLC-

- Q-TOF-MS/MS快速鉴定与分析[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(14):1-11.
- [6] 黄浩洲,仇敏,唐进法,等.基于UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup>技术的三勒浆口服液上清液及沉淀部分化学成分分析[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(14):143-151.
- [7] 陈梦倩,王允吉,冯芳.基于UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS的栀子甘草豉汤化学成分分析[J].广州化工,2021,49(8):97-103.
- [8] 念其滨,陈玲,陈茜,等.川楝子饮片化学成分的HPLC-TOF-MS分析[J].中国医院药学杂志,2013,33(23):1948-1951.
- [9] 雷磊,王玉,霍志鹏,等.LCMS-IT-TOF分析栀子炒焦前后化学成分的变化[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(17):88-97.
- [10] 赵权,张优,陈影,等.HPLC-VWD-Q-TOF-MS/MS法定性与定量分析枳实栀子豉汤成分[J].中成药,2021,43(11):3067-3075.
- [11] 周坤,简平,梁文仪,等.基于UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS分析藏药诃子与毛诃子化学成分[J].质谱学报,2020,41(3):254-267.
- [12] 李振华,徐金娣,鞠建明,等.川楝子水提化学成分的UPLC-ESI-Q-TOF-MS分析[J].中草药,2015,46(4):496-501.
- [13] 罗媛,王昌权,巩仔鹏,等.UPLC-Q-TOF-MS/MS分析苗药云实皮的化学成分[J].中国药房,2020,31(20):2481-2486.
- [14] 严欢,左月明,袁恩,等.基于UHPLC-Q-TOF-MS技术分析栀子花的化学成分[J].中药材,2018,41(6):1359-1364.
- [15] 王锡龙.半夏镇痛活性筛选、基于UPLC-MS/MS技术的藤茶化学成分分析[D].广州:广东药学院,2015.
- [16] 孙钰婧,霍志鹏,王玉,等.结肠炎奇效颗粒中化学成分的UPLC-Q-TOF/MS<sup>E</sup>分析[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(9):157-167.
- [17] 阿润,吴凤娇,王秀兰,等.栀子在中、蒙医药中的应用概况及药理作用研究进展[J].中成药,2021,43(2):459-463.
- [18] 史永平,孔浩天,李昊楠,等.栀子的化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测分析[J].中草药,2019,50(2):281-289.
- [19] 马纳,李亚静,范吉平.槲皮素药理作用研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2018,20(8):221-224.
- [20] 冯爽,马霄,冯亚莉,等.天然化合物芦丁的治疗潜力[J].化学通报,2021,84(12):1338-1344.
- [21] 汤喜兰,刘建勋,李磊.中药有机酸类成分的药理作用及在心血管疾病的应用[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(5):243-246.
- [22] 郑雪花,杨君,杨跃辉.没食子酸药理作用的研究进展[J].中国医院药学杂志,2017,37(1):94-98,102.
- [23] 王庆华,杜婷婷,张智慧,等.绿原酸的药理作用及机制研究进展[J].药学学报,2020,55(10):2273-2280.
- [24] 张明发,沈雅琴.熊果酸和齐墩果酸的血管药理作用研究进展[J].药物评价研究,2017,40(10):1510-1519.

(收稿日期:2022-01-12 修回日期:2022-04-19)

(编辑:林 静)

(上接第1347页)

- [5] 魏俊军.高效液相色谱法测定当归补血丸中阿魏酸含量[J].长江大学学报(自科版)医学卷,2009,6(1):66-67.
- [6] 马洪燕,郑学燕,贾海英,等.正交试验设计优化当归补血丸中阿魏酸和藁本内酯的提取工艺[J].国际中医中药杂志,2016,38(1):63-66.
- [7] 魏瑜,赵珍,张传标,等.黄芪多糖对系统性红斑狼疮小鼠免疫调节的影响[J].安徽医药,2021,25(5):863-867.
- [8] 伍爽,李微,黎达,等.黄芪皂苷II对哮喘幼年大鼠IL-21/STAT3通路及气道炎症反应的影响[J].中国比较医学杂志,2021,31(12):53-59.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:315.
- [10] 郭立忠.中药黄芪化学成分与药理活性研究分析[J].中国卫生标准管理,2015,6(31):119-121.
- [11] 宫文霞,周玉枝,李肖,等.当归抗抑郁化学成分及药理作用研究进展[J].中草药,2016,47(21):3905-3911.
- [12] 向璐,张巧艳,赵琦明,等.黄芪-当归化学成分、药理作用及临床应用的研究进展[J].中草药,2022,53(7):2196-2213.
- [13] JIN M L, ZHAO K, HUANG Q S, et al. Isolation, structure and bioactivities of the polysaccharides from *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels: a review[J]. Carbohydr Polym, 2012,89(3):713-722.
- [14] 金阳,葛金环,刘思琦,等.当归多糖的化学结构、药理作用及构效关系研究进展[J].中医药信息,2022,39(2):69-77.

(收稿日期:2022-01-16 修回日期:2022-04-05)

(编辑:林 静)