

# 四味土木香散化学成分 HPLC-Q-Exactive-MS/MS 高分辨质谱快速分析鉴定

李晓娜<sup>1</sup>, 董馨<sup>1</sup>, 李娜<sup>1</sup>, 张男<sup>1</sup>, 毛佳宝<sup>2</sup>, 包保全<sup>1\*</sup>, 张屏<sup>1\*</sup>

(1. 内蒙古医科大学 药学院, 呼和浩特 010110;

2. 内蒙古医科大学 第一临床医学院, 呼和浩特 010110)

**[摘要]** **目的:** 运用高效液相色谱串联四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(HPLC-Q-Exactive-MS/MS),快速表征和识别四味土木香散中的成分。**方法:** 采用 Agilent ZORBAX SB-Aq 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相 5 mmol·L<sup>-1</sup> 乙酸铵 + 0.1% 甲酸水溶液-乙腈梯度洗脱。依据 ChemSpider 和 ChemicalBook 数据库检索及化学成分分离与结构鉴定等方法, 建立组方药材化学成分的分子式、相对分子质量、结构式以及二级质谱信息的本地数据库; 建立 HPLC-Q-Exactive-MS/MS 分析方法, 结合 Xcalibur 3.0 软件、对照品比对及裂解规律研究, 对四味土木香散中的化学成分进行快速的结构鉴定。**结果:** 利用 HPLC-Q-Exactive-MS/MS 技术从四味土木香散中共鉴定了 110 个成分, 包括来源于土木香的倍半萜内脂 3 个, 来源于苦参的生物碱 16 个及异戊二烯黄酮 38 个, 来源于悬钩子木的三萜皂苷 12 个、儿茶素类 1 个及黄酮苷类 4 个, 并总结了主要类型化合物的质谱裂解规律, 其中 31 个成分为首次报道质谱信息。**结论:** 该研究可系统、准确、快速鉴定四味土木香散中目标化合物及非目标化合物, 为该复方的体内分析以及药代动力学研究奠定基础。

**[关键词]** 四味土木香散; 高效液相色谱串联四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱; 化学成分; 结构鉴定; 倍半萜内脂; 生物碱; 异戊二烯黄酮

**[中图分类号]** R284.2; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)06-0121-11

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20200615

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191206.1715.013.html>

**[网络出版时间]** 2019-12-07 09:03

## Rapid Analysis and Identification of Chemical Constituents from Siwei Tumuxiang San by HPLC-Q-Exactive-MS/MS

LI Xiao-na<sup>1</sup>, DONG Xin<sup>1</sup>, LI Na<sup>1</sup>, ZHANG Nan<sup>1</sup>, MAO Jia-bao<sup>2</sup>, BAO Bao-quan<sup>1\*</sup>, ZHANG Ping<sup>1\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China;

2. School of Clinical Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

**[Abstract]** **Objective:** To rapidly characterize and identify the components of Siwei Tumuxiang San by using high performance liquid chromatography tandem quadrupole-electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry (HPLC-Q-Exactive-MS/MS). **Method:** Agilent ZORBAX SB-Aq column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was adopted and 5 mmol·L<sup>-1</sup> ammonium acetate + 0.1% formic acid aqueous solution-acetonitrile were used as mobile phase. According to the separation and structure identification results of chemical components based on the methods of ChemSpider and ChemicalBook database retrieval, a local database of molecular formula, molecular weight, structural formula and MS/MS spectrum information of chemical components in Siwei Tumuxiang

**[收稿日期]** 20191112(015)

**[基金项目]** 国家自然科学基金地区科学项目(81460651); 内蒙古自治区留学人员科技活动项目

**[第一作者]** 李晓娜, 在读硕士, 从事蒙药药效物质基础研究, E-mail: 634962761@qq.com

**[通信作者]** \* 张屏, 博士, 教授, 从事蒙医药质量研究, E-mail: pingzhang@vip.126.com;

\* 包保全, 博士, 教授, 从事蒙药药效物质基础及药理研究, Tel: 0471-6653168, E-mail: 2417776505@qq.com

San was established. An HPLC-Q-Exactive-MS/MS analysis method was established. The complex compounds of Siwei Tumuxiang San were identified rapidly by using Xcalibur 3.0 software, comparison of reference materials and studies on MS/MS fragment pathways. **Result:** A total of 110 compounds were identified from the Siwei Tumuxiang San by HPLC-Q-Exactive-MS/MS technology, including 3 sesquiterpene compounds from *Inulae Radix*, 16 alkaloid compounds and 38 isoprene flavonoid compounds from *Sophorae Radix flavescentis*, 12 triterpenoid saponin compounds, 1 catechin compounds and 4 flavonoid glycoside compounds from *Rubus sachalinensis*. The fragment pathways of the main types of compounds were summarized. Among them, mass spectrometry information of 31 compounds was reported for the first time. **Conclusion:** This study can be used to identify the target compounds and non-target compounds in Siwei Tumuxiang San systematically, accurately and quickly, which will lay a foundation for the *in vivo* analysis and pharmacokinetic study of the formulation.

[ **Key words** ] Siwei Tumuxiang San; HPLC-Q-Exactive-MS/MS; chemical composition; structure identification; sesquiterpene endolipid; alkaloid; isoprene flavone

蒙药四味土木香散又名查干汤,由土木香、苦参、悬钩子木及山柰 4 味药材的粗粉以 4:4:2:1 的比例混匀制成,具有清温解表之功效,用于瘟病初期、发热发冷、头痛咳嗽、咽喉肿痛、胸胁作痛等,是蒙医治疗瘟病热症的经典方和基础方<sup>[1-3]</sup>。其组方药材中化学成分主要包括倍半萜内脂类、生物碱类、黄酮类以及三萜皂苷类等<sup>[4-8]</sup>。从 2009 年起,本课题组开始对该方及其组方药材进行化学成分研究,运用各种色谱分离技术和核磁共振等光谱技术,从该方水煎剂中分离鉴定 16 个单体化合物<sup>[9-10]</sup>,从土木香乙酸乙酯层分离鉴定 19 个单体化合物<sup>[11]</sup>,从悬钩子木乙酸乙酯层分离鉴定 43 个单体化合物<sup>[12-14]</sup>。本研究在前期研究的基础上,采用新型、高效、高灵敏度、高分辨、快速及高通量的 HPLC-Q-Exactive-MS/MS 技术,对四味土木香散中的复杂化学成分进行快速在线分离与鉴定,从中共鉴定了 110 个化合物,31 个化合物为首次报道质谱信息,并总结了倍半萜内酯类、苦参生物碱类、异戊二烯黄酮类、黄酮苷类、儿茶素类以及三萜皂苷类化学成分的裂解规律。本研究为该方体内分析、药代动力学研究、配伍规律研究等奠定了基础。

## 1 材料

HPLC-Q-Exactive-MS/MS 型高效液相色谱-质谱联用系统,UltiMate 3000 型高效液相色谱系统(美国戴安公司);Q-Exactive-MS/MS 型高分辨质谱仪(美国赛默飞世尔科技公司);Agilent ZORBAX SB-Aq 色谱柱(4.6 mm × 150 mm,5 μm,美国安捷伦科技有限公司);KQ-400E 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司);AB135-S 型 1/10 万分析天平(瑞士 Metter Toledo 公司)。色谱纯乙腈(美国 Fisher 公司),色谱级乙酸铵(美国 Thermo 公司)。

土木香、苦参 2017 年购于济南人和中药饮片有限公司,山柰 2017 年购于河北省福君堂药业有限公司。上述饮片经检测,均符合 2015 年版《中国药典》标准。悬钩子木为蔷薇科悬钩子属植物库页悬钩子 *Rubus sachalinensis* 的干燥茎枝,2017 年 8 月采自内蒙古赤峰市赛罕乌拉自然保护区,经内蒙古医科大学药学院包保全教授进行原植物鉴定,模式标本存放于内蒙古医科大学药学院标本室。对照品土木香内酯,异土木香内酯,对甲氧基桂皮酸乙酯,山柰酚,槲皮素,咖啡酸,氧化苦参碱,氧化槐果碱,苦参碱,槐果碱,*N*-甲基金雀花碱,金雀花碱,黄腐醇,芒柄花黄素,高丽槐素,没食子酸(沈阳沈浦科技有限公司,批号分别为 LPT2014005, LPT2014011, LPT015, LP057-201406, LP087-201408, LPK021-201601, LPT2014013, 111652-200301, LP0350-20150301, A0081, P0794, LPT011, LP109-201308, LP029-201404, LP088-201402, LP035-201506, 纯度均 >98%)。

## 2 方法

**2.1 四味土木香散的制备** 按照 2015 年版《中国药典》四味土木香散组方与制法项,取土木香 200 g,苦参 200 g,悬钩子木(去粗皮、心)100 g,山柰 50 g,以上 4 味,粉碎成粗粉,过筛,混匀,即得。

**2.2 供试品的制备** 取 2.1 项下四味土木香散约 2 g,精密称定,精密加入 50% 甲醇水溶液 20 mL,超声(功率 400 W,频率 40 kHz)提取 2 h,在 4 000 r·min<sup>-1</sup> 条件下离心 15 min,0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.3 对照品溶液的制备** 取土木香内酯,异土木香内酯,对甲氧基桂皮酸乙酯,山柰酚,槲皮素,咖啡酸,苦参碱,氧化苦参碱,芒柄花黄素,*N*-甲基金雀

花碱,金雀花碱,氧化槐果碱,槐果碱,黄腐醇,高丽槐素,没食子酸对照品各约 1 mg,精密称定,置于 10 mL 量瓶中,色谱甲醇溶解,稀释至刻度,过 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,即得。

**2.4 分析条件** 色谱条件为 Agilent ZORBAX SB-Aq 色谱柱 (4.6 mm  $\times$  150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 流动相 5 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 乙酸铵 + 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 10 min, 3% ~ 10% B; 10 ~ 18 min, 10% ~ 20% B; 18 ~ 28 min, 20% ~ 25% B; 28 ~ 40 min, 25% ~ 50% B; 40 ~ 45 min, 50% ~ 60% B; 45 ~ 47 min, 60% ~ 70% B; 47 ~ 50 min, 70% ~ 100% B); 流速 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 柱温 25  $^{\circ}\text{C}$ , 进样量 10  $\mu\text{L}$ 。

质谱条件为电喷雾离子源 (ESI); 正离子检测模式, 辅助气体积流量 30 L  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 喷雾电压设定 3.50 kV, 离子传输管温度 300  $^{\circ}\text{C}$ , 辅助气温度 200  $^{\circ}\text{C}$ , 碰撞能量 (CE) 45 eV; 负离子检测模式, 辅助气体积流量 30 L  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 喷雾电压 2.80 kV, 离子传输管温度 400  $^{\circ}\text{C}$ , 辅助气温度 100  $^{\circ}\text{C}$ , 碰撞能量 (CE) 30 eV; 检测方式为 Full MS/dd-MS<sup>2</sup>, Full MS 分辨率 70 000, dd-MS<sup>2</sup> 分辨率 17 500, 扫描范围  $m/z$  110 ~ 1 000。

**2.5 数据库的建立与目标化合物鉴定** 利用 SciFinder, PubMed 和中国知网等, 检索各组方药材土木香、苦参、悬钩子木和山柰的化学成分研究文献 [15-25]; 结合文献报道和 ChemSpider 和 ChemicalBook 数据库信息, 汇总所含化学成分的结构鉴定信息, 包括分子式、相对分子质量、结构式和一级、多级质谱信息; 建立四味土木香散化学成分本地数据库, 共总结了 192 个化合物, 为化合物的质谱鉴定提供参考; 取 16 个对照品溶液进样分析, 用保留时间和质谱信息对四味土木香散中目标化合物进行准确鉴定; 运用实验室分离得到的单体化合物<sup>[9-14]</sup>进样分析, 用保留时间和质谱信息, 结合 Xcalibur 3.0 软件中拟合分子式的功能, 对目标化合物进行鉴定; 根据对照品和分离得到的单体化合物质谱信息以及文献报道, 总结不同类型化合物的质谱裂解规律; 对文献报道的其他目标化合物, 结合 Xcalibur 3.0 软件中拟合分子式的功能及裂解规律研究, 进行初步鉴定。

### 3 结果与分析

按 2.4 项下优化后的分析条件进样, 得到分离度较好的四味土木香散总离子流图, 见图 1。目标化合物根据精确相对分子质量和碎片离子、实验室提取分离得到的单体化合物的结构信息、文献报道

的质谱数据以及现有对照品进行结构鉴定, 共鉴定了 110 个化合物, 经对照品鉴定的化合物有 16 个, 经实验室提取分离得到单体化合物鉴定的有 7 个, 经文献报道和裂解规律推测鉴定的有 89 个, 其中 31 个化合物为首次报道质谱信息。鉴定结果见表 1, 2。

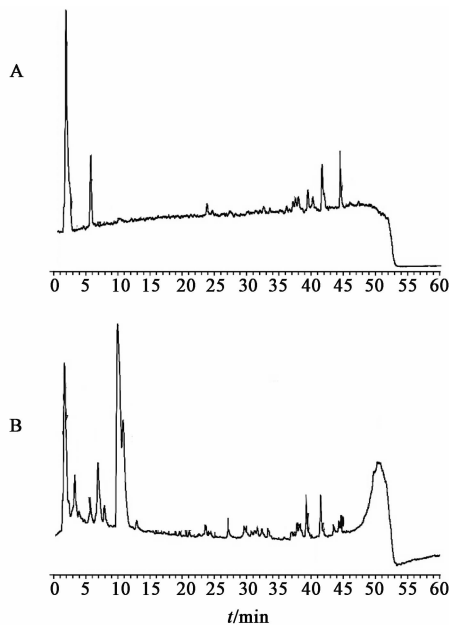


图 1 四味土木香散 HPLC-Q-Exactive-MS/MS 的正离子 (A) 和负离子 (B) 模式下总离子流

Fig.1 Positive (A) and negative (B) HPLC-Q-Exactive-MS/MS total ion chromatogram of Siwei Tumuxiang San

**3.1 倍半萜内酯类** 在本研究中, 倍半萜内酯类共鉴定出 3 个化合物, 分别为化合物 1, 2 和 4。据文献报道, 均来源于土木香。因该类化合物结构在负离子模式下响应值较低, 所以选择正离子模式。以化合物 1 异土木香内脂为例, 进行其质谱裂解规律推导。

化合物 1 分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>, 其保留时间为 44.38 min。在正离子模式下, 准分子离子峰 [M + H]<sup>+</sup> 为  $m/z$  233.153 8, 分子离子通过丢失一分子的 H<sub>2</sub>O 得到特征碎片离子  $m/z$  215.143 2 [M + H - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 接着再失去一分子 CO 产生  $m/z$  187.148 4 [M + H - H<sub>2</sub>O - CO]<sup>+</sup> 中强度碎片离子, 再失去一分子 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 得到  $m/z$  161.144 2 [M + H - H<sub>2</sub>O - CO - C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 碎片离子; 母离子失去两分子 H<sub>2</sub>O 产生  $m/z$  197.132 8 [M + H - 2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> 碎片离子, 再丢失一分子 C<sub>3</sub>H<sub>2</sub> 产生  $m/z$  159.116 9 [M + H - 2H<sub>2</sub>O - C<sub>3</sub>H<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 二级碎片, 再失去一分子 CH<sub>2</sub> 产生  $m/z$  145.104 5 [M + H - 2H<sub>2</sub>O - C<sub>3</sub>H<sub>2</sub> - CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 碎片离子; 此外母离子还丢失一分子 C<sub>3</sub>H<sub>6</sub> 产生  $m/z$  191.106 5 [M + H - C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>]<sup>+</sup> 碎片离子, 脱掉一分子

表 1 HPLC-Q-Exactive-MS/MS 高效液相色谱串联四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱对四味土木香散中化学成分的分析鉴定(正离子模式)  
Table 1 Identification and analysis on chemical constituents from Siwei Tumuxiang San by HPLC-Q-Exactive-MS/MS (positive ion mode)

化合物	$t_R$ /min	分子式	分子离子峰		$\delta$ /ppm	碎片离子	名称	来源
			理论值	实测值				
1	44.38	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	233.153 6	233.153 8	1.00	151.075 7, 187.148 4, 133.065 4, 173.081 1, 163.144 2, 163.075 4, 177.091 3, 215.143 2, 233.153 3, 191.106 5, 197.132 8, 159.116 9, 145.104 5, 137.060 0	异土木香内脂 <sup>[16]</sup>	土木香 <sup>1)</sup>
2	45.47	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	233.153 6	233.153 6	0.21	217.107 3, 173.081 4, 151.075 5, 187.148 4, 105.070 4, 155.070 4, 133.065 5, 177.091 2, 233.154 1	土木香内脂 <sup>[15-16]</sup>	土木香 <sup>1)</sup>
3	37.09	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	249.148 5	249.148 7	0.77	91.054 8, 135.044 4, 95.049 8, 125.060 0, 105.070 4	-	土木香
4	37.09	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	231.137 9	231.138 1	0.79	133.060 9, 95.086 1, 149.059 8, 161.059 9, 185.133 4, 203.143 7, 123.042 0, 119.085 9	白术内酯 I <sup>[16]</sup>	土木香
5	1.59	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	175.118 9	175.119 2	1.42	175.119 1, 116.070 9, 130.097 7, 158.092 5, 112.087 2, 140.082 0	精氨酸 <sup>[16]</sup>	土木香
6	1.80	C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> O <sub>15</sub>	543.134 4	543.133 1	-2.33	543.133 1, 381.079 8, 363.069 1	麻黄双酮 G <sup>[16]</sup>	土木香
7	2.60	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	166.086 2	166.086 5	1.49	120.081 2, 166.086 1, 131.049 4, 107.049 7, 149.059 4	西藏龙胆碱 <sup>[16]</sup>	土木香
8	10.12	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	265.191 0	265.191 3	1.10	148.112 29, 150.127 4, 122.096 85, 188.107 1, 247.180 0, 188.107 1, 96.081 49, 110.096 96, 162.091 0, 134.096 74, 160.112 43	氧化苦参碱 <sup>[17-19]</sup>	苦参 <sup>1)</sup>
9	10.85	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	263.175 4	263.175 7	1.20	136.112 3, 150.127 9, 245.165 1, 98.097 1, 122.096 8, 177.138 6, 203.118 1, 96.081 4, 148.112 3	氧化槐果碱 <sup>[17-19]</sup>	苦参 <sup>1)</sup>
10	3.30	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O	205.133 5	205.133 8	1.51	58.057 8, 146.060 4, 117.057 8, 104.050 0, 94.065 8, 80.050 3	N-甲基金雀花碱 <sup>[17]</sup>	苦参 <sup>1)</sup>
11	6.98	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O	249.196 1	249.196 4	1.33	148.112 2, 110.096 9, 150.127 9, 96.081 5, 249.196 9, 122.096 6, 134.096 5, 176.107 2, 162.127 9, 190.122 7	苦参碱 <sup>[17-19]</sup>	苦参 <sup>1)</sup>
12	7.80	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	261.159 7	261.160 1	1.54	150.127 9, 122.096 7, 94.065 7, 120.081 1, 148.112 0, 108.081 3, 98.096 8, 177.138 1, 160.095 9, 243.150 4	9 $\alpha$ -羟基槐胺碱 <sup>[17,19]</sup>	苦参
13	5.73	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O	245.164 8	245.165 2	1.62	169.088 7, 98.097 0, 122.060 3, 148.075 7, 186.091 6, 245.165 4	臭豆碱 <sup>[17,19]</sup>	苦参
14	5.85	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	281.185 9	281.186 2	1.10	150.127 9, 136.112 3, 221.128 8, 263.175 8, 148.112 1, 98.097 1, 193.133 8, 177.138 8, 164.107 3, 122.096 9	-	苦参
15	6.68	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	281.185 9	281.186 3	1.21	245.165 1, 112.076 1, 84.081 4, 98.060 6, 134.096 6, 148.112 1, 203.118 7, 221.128 4, 190.123 0, 166.123 3, 263.174 7	氧化槐醇 <sup>[17]</sup>	苦参
16	3.01	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	281.185 9	281.186 2	1.10	98.097 0, 84.081 4, 148.112 2, 124.112 3, 120.081 1, 110.097 0, 134.096 7	-	苦参
17	4.31	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	281.185 9	281.186 3	1.32	136.112 3, 98.097 1, 221.128 9, 245.165 0, 263.175 7, 150.127 9, 148.112 2, 122.096 8, 203.117 9, 174.092 0, 160.075 9	5 $\alpha$ , 9 $\alpha$ -二羟基苦参碱 <sup>[17]</sup>	苦参
18	5.44	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	281.185 9	281.186 3	1.43	136.112 3, 148.112 1, 221.128 6, 263.175 7, 150.127 9, 193.133 8, 98.097 0, 134.096 6, 108.081 4, 162.127 9, 177.138 2, 207.149 0	-	苦参
19	7.20	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	263.176 2	263.175 7	1.31	150.127 9, 122.096 8, 94.065 7, 134.096 7, 120.081 1, 108.081 4	12 $\alpha$ -羟基槐果碱 <sup>[17]</sup>	苦参 <sup>2)</sup>
20	12.90	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	263.176 2	263.175 8	1.78	245.165 1, 175.086 8, 190.123 2, 164.107 1, 203.118 2, 134.096 9, 217.133 6, 120.081 2, 98.097 0, 96.081 5	9 $\alpha$ -羟基槐果碱 <sup>[17-18]</sup>	苦参
21	17.17	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	263.176 2	263.175 8	1.66	175.123 2, 189.138 9, 245.165 4, 150.127 8, 148.112 5, 122.096 7, 263.175 7, 203.154 7, 217.134 3, 134.096 8	5 $\alpha$ -羟基槐果碱	苦参 <sup>2)</sup>

续表 1

化合物	$t_R$ /min	分子式	分子离子峰		$\delta$ /ppm	碎片离子	名称	来源
			理论值	实测值				
22	7.88	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O	247.180 4	247.180 8	1.32	96.081 4, 136.112 3, 108.081 3, 150.128 0, 122.096 8, 98.084 6, 179.154 4	异槐果碱 <sup>[17]</sup>	苦参
23	9.42	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O	247.180 4	247.180 8	1.38	98.097 0, 148.112 3, 136.112 4, 112.075 9, 84.081 4, 169.088 9	5,6-去氢羽扇豆碱	苦参 <sup>2)</sup>
24	42.00	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	207.101 5	207.101 8	1.51	161.059 8, 179.070 5, 207.101 5	对甲氧基桂皮酸乙酯	山柰 <sup>1)</sup>
25	45.61	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	205.195 0	205.195 4	1.96	121.101 5, 142.035 0, 165.051 1, 151.061 6, 109.101 4, 135.117 0, 189.983 2, 205.195 7	香附子烯	山柰 <sup>2)</sup>

注: <sup>1)</sup>通过对照品比对确认; <sup>2)</sup>首次在四味土木香散中报道质谱信息; 化合物 1, 2 为实验室提取分离(表 2 同)。

表 2 HPLC-Q-Exactive-MS/MS 高效液相色谱串联四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱对四味土木香散中化学成分的分析鉴定(负离子模式)  
Table 2 Identification and analysis on chemical constituents from Siwei Tumuxiang San by HPLC-Q-Exactive-MS/MS (negative ion mode)

化合物	$t_R$ /min	分子式	分子离子峰		$\delta$ /ppm	碎片离子	名称	来源
			理论值	实测值				
26	2.39	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	191.019 7	191.017 9	-3.42	111.007 0, 87.006 9, 191.018 4, 129.017 6, 173.007 2, 154.997 1, 101.022 6	elgonica-dimer A <sup>[16]</sup>	土木香
27	1.73	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	341.108 9	341.107 5	-0.86	89.022 6, 119.033 2, 179.054 5, 161.043 9, 341.107 4, 131.033 4	sucrose <sup>[16]</sup>	土木香
28	1.89	C <sub>24</sub> H <sub>42</sub> O <sub>21</sub>	665.214 8	665.212 8	-3.01	89.022 6, 179.054 6, 101.022 7, 113.022 6, 161.043 8, 323.097 4, 383.121 0, 485.149 0	stachyosetetrahydrate <sup>[16]</sup>	土木香
29	1.96	C <sub>30</sub> H <sub>52</sub> O <sub>26</sub>	827.267 4	827.265 1	-2.78	179.054 6, 89.022 6, 161.043 7, 323.096 9, 485.150 1, 341.107 7, 383.115 9	verbascose <sup>[16]</sup>	土木香
30	14.65	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	353.087 8	353.086 4	-0.89	191.054 7, 179.033 3, 161.022 6, 135.043 4	绿原酸 <sup>[16]</sup>	土木香
31	22.18	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	353.087 8	353.086 5	-0.54	179.033 4, 135.043 47, 101.059 0, 129.054 0, 191.054 5, 145.048 8	新绿原酸 <sup>[16]</sup>	土木香
32	19.84	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>9</sub>	429.213 0	429.211 2	-1.48	429.211 3, 185.028 9, 360.083 2, 411.200 8, 249.148 4	taraxacolid-glucapyranoside <sup>[16]</sup>	土木香
33	27.78	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>	279.123 7	279.122 5	-0.40	125.095 3, 235.097 7, 97.064 0, 279.124 0	artemisiten	土木香
34	39.91	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>	279.123 7	279.122 6	-0.29	279.122 7, 149.059 0, 193.049 3, 134.035 1, 261.112 0, 235.097 52, 121.027 2	artemisiten 立体异构体	土木香
35	39.30	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	353.1383	353.1379	-1.08	119.048 4, 233.080 4, 353.137 7, 189.090 4, 165.090 4, 218.056 9, 133.064 2, 295.059 3	异黄酮醇 <sup>[20]</sup>	苦参
36	23.66	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	267.066 2	267.065 0	-0.34	267.065 1, 252.041 6, 223.038 3	7-甲氧基-4'-羟基异黄酮	苦参 <sup>2)</sup>
37	31.27	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	267.066 2	267.065 1	-0.23	267.065 1, 252.041 5, 223.038 2, 151.002 6	芒柄花黄素立体异构体	苦参
38	24.50	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	267.066 2	267.065 0	-0.34	267.065 2, 252.041 6, 223.037 5	芒柄花黄素立体异构体	苦参
39	37.85	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	267.066 2	267.065 0	-0.57	267.065 0, 252.041 5, 223.038 8	芒柄花黄素 <sup>[19-20]</sup>	苦参 <sup>1)</sup>
40	33.41	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.061 1	283.059 9	-0.47	283.060 0, 255.064 7, 117.053 8, 211.075 3, 137.022 8, 145.027 6, 240.041 0, 227.069 4	高丽槐素 <sup>[19-20]</sup>	苦参 <sup>1)</sup>
41	18.81	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.061 1	283.060 0	-0.36	268.036 5, 283.060 2, 117.053 9, 185.041 6, 240.041 2, 145.048 5	毛蕊异黄酮立体异构体	苦参
42	19.63	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.061 1	283.060 0	-0.25	268.036 7, 283.060 1, 117.053 9, 185.041 6, 240.041 4, 211.040 0, 166.998 1	毛蕊异黄酮立体异构体	苦参
43	20.19	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.061 1	283.059 9	-0.69	268.036 7, 283.060 1, 117.053 9, 185.041 7, 240.041 5, 211.038 6	毛蕊异黄酮立体异构体	苦参

续表 2

化合物	$t_R$ /min	分子式	分子离子峰		$\delta$ /ppm	碎片离子	名称	来源
			理论值	实测值				
44	24.47	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.061 1	283.060 0	-0.38	268.036 6, 283.060 2, 117.053 9, 185.041 5, 240.040 9, 253.048 9, 211.039 1	毛蕊异黄酮 <sup>[19-20]</sup>	苦参
45	31.37	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.061 1	283.059 9	-0.57	268.036 6, 283.060 1, 117.053 8, 240.041 1, 211.039 6	毛蕊异黄酮立体异构体	苦参
46	32.42	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.061 1	283.060 0	-0.36	268.036 6, 283.060 1, 240.041 3, 224.046 3, 117.053 6	毛蕊异黄酮立体异构体	苦参
47	41.60	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.061 1	283.060 0	-0.36	283.060 2, 268.036 7, 117.053 9, 185.041 6, 239.033 6, 145.048 4, 211.039 6	毛蕊异黄酮立体异构体	苦参
48	23.64	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	561.161 3	561.159 1	-1.94	267.065 1, 252.041 5, 449.037 5, 383.126 7, 339.066 9	苦醇 O <sup>[19]</sup>	苦参
49	24.50	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	561.161 3	561.159 2	-1.83	267.065 3, 252.041 7, 543.281 6, 125.022 5	7-hydroxy-3''-methoxy-isoflavone-7-primeveroside <sup>[19]</sup>	苦参
50	41.49	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>6</sub>	437.196 9	437.195 1	-1.68	161.022 6, 275.164 2, 151.038 2, 301.143 0, 419.184 1, 191.070 2, 257.153 5, 327.159 0, 135.043 4, 109.028 1	苦参啶 <sup>[20-22]</sup>	苦参
51	47.11	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>6</sub>	437.196 9	437.194 7	-2.45	287.127 7, 437.195 1, 149.058 9, 313.143 3, 123.043 3, 243.137 7, 163.001 5, 201.127 2, 405.167 7, 325.068 9	异苦参啶 <sup>[20-22]</sup>	苦参
52	46.05	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	421.202 0	421.202 7	-1.21	149.058 9, 271.132 9, 289.075 5, 395.149 2, 421.199 7, 261.148 5, 227.142 5, 185.041 9, 379.192 3	8-lavandulyl kaempferol	苦参 <sup>2)</sup>
53	43.70	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	421.202 0	421.200 4	-1.21	119.048 4, 301.143 2, 421.200 6, 163.001 8, 233.153 2, 201.126 8, 257.153 5, 283.060 0, 319.154 6, 395.184 2	-	苦参
54	45.25	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	421.202 0	421.200 4	-1.28	275.164 2, 261.148 4, 151.038 3, 161.022 5, 233.153 0, 206.093 8, 287.127 8, 301.144 3, 421.199 4	苦醇 R/苦醇 U <sup>[20]</sup>	苦参
55	43.44	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> O <sub>8</sub>	455.207 5	455.205 8	-1.23	305.138 2, 455.205 8, 149.058 9, 331.153 9, 123.043 3, 261.148 2, 279.159 7, 237.148 3, 411.214 8	苦醇 G	苦参 <sup>2)</sup>
56	42.79	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub>	369.134 3	369.132 6	-1.56	219.064 7, 369.134 26, 149.059 0, 318.052 1, 245.080 7, 175.074 6, 134.035 7, 268.060 7, 354.110 8, 325.143 9	苦豆素 A <sup>[23]</sup>	苦参
57	37.00	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub>	369.134 3	369.132 6	-1.56	207.101 1, 161.022 6, 341.137 9, 247.059 9, 192.077 7, 135.043 4, 369.133 4, 283.058 9, 219.064 9	(2R,3R)-8 异戊烯基-7,4'-二羟基-5-甲氧基二氢黄酮醇 <sup>[23]</sup>	苦参
58	37.37	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub>	369.134 3	369.132 7	-1.31	207.101 1, 341.138 0, 247.059 5, 325.143 4, 369.133 4, 219.064 3, 161.022 6, 283.059 9	2'-羟基异黄酮醇 <sup>[23]</sup>	苦参
59	39.66	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>7</sub>	453.191 8	453.190 1	-1.31	177.017 7, 275.164 3, 149.022 6, 139.038 4, 121.027 7, 303.158 5, 191.069 9, 254.057 1, 377.172 9	苦醇 N <sup>[20]</sup>	苦参
60	43.58	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>	339.123 8	339.123 9	3.54	219.064 7, 339.122 3, 119.048 3, 175.074 3, 245.080 4, 151.074 7, 133.063 9, 191.070 1, 295.132 6, 321.111 6	去甲基黄酮醇 <sup>[20,22]</sup>	苦参
61	44.21	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>	339.123 8	339.122 2	-1.41	193.085 5, 124.014 8, 339.122 3, 149.095 2, 219.064 8, 279.102 4	苦醇 S <sup>[23]</sup>	苦参

续表 2

化合物	$t_R$ /min	分子式	分子离子峰		$\delta$ /ppm	碎片离子	名称	来源
			理论值	实测值				
62	44.37	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>	423.181 3	423.179 6	-1.39	261.148 4, 161.022 6, 137.022 6, 193.158 2, 287.127 3, 313.143 9, 219.136 8, 243.137 7, 405.168 4	降苦参酮 <sup>[20]</sup>	苦参
63	44.29	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>	451.212 6	451.210 7	-1.75	149.058 9, 301.143 2, 451.211 2, 261.148 1, 233.152 9, 313.069 5, 367.118 6, 419.183 5	2'-甲氧基苦参酮 <sup>[21]</sup>	苦参
64	41.81	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>7</sub>	439.176 2	439.174 5	-1.43	261.148 5, 161.022 6, 177.017 7, 275.164 0, 137.022 5, 217.049 0, 421.164 2, 353.173 3, 124.014 5	苦醇 L <sup>[19]</sup>	苦参
65	42.18	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>7</sub>	467.207 5	467.205 4	-2.04	261.148 5, 177.017 7, 161.022 6, 137.022 7, 275.164 3, 217.049 1, 149.022 5, 421.163 9, 377.172 3, 353.171 5	neokurarinol	苦参 <sup>2)</sup>
66	40.63	C <sub>25</sub> H <sub>30</sub> O <sub>7</sub>	441.191 8	441.190 2	-1.28	279.159 1, 161.022 6, 211.169 0, 305.138 8, 331.154 0, 237.146 9, 137.022 3, 441.187 8	降苦参醇	苦参
67	39.42	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>	355.118 7	355.117 2	-1.12	193.085 6, 161.022 6, 124.014 8, 219.064 7, 149.095 5, 337.106 8, 355.116 4	leachianone G <sup>[23]</sup>	苦参
68	40.23	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>	355.118 7	355.117 3	-0.86	193.085 6, 161.022 6, 135.043 5, 219.064 8, 124.014 8, 149.095 4, 109.027 7, 245.080 5, 337.107 0, 355.116 3	leachianone G 立体异构体	苦参
69	48.99	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>	451.212 6	451.213 0	3.39	149.059 8, 301.144 8, 451.215 9, 163.002 7, 217.050 2, 233.154 4, 313.072 0, 192.042 2, 257.154 6, 367.118 6, 134.036 1, 419.186 1, 393.097 6	5-甲基苦醇 C	苦参 <sup>2)</sup>
70	38.16	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	271.061 1	271.060 0	0.82	269.044 6, 271.059 8, 135.007 0, 153.017 5, 199.074 8, 243.064 6, 227.069 4, 184.051 2	(R)-naringenin/naringenin	苦参
71	33.08	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> O <sub>8</sub>	471.202 4	471.200 5	-1.73	161.022 6, 221.116 9, 309.169 4, 233.117 1, 291.160 0, 135.043 2, 335.148 5	苦醇 H/苦醇 K <sup>[20]</sup>	苦参
72	33.67	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> O <sub>8</sub>	471.202 4	471.200 5	-1.73	161.022 6, 309.169 5, 221.116 7, 291.159 5, 233.117 2, 151.038 3, 335.147 7, 213.037 3, 365.248 0	苦醇 H/苦醇 K <sup>[20]</sup>	苦参
73	35.02	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> O <sub>8</sub>	471.202 4	471.200 5	-2.37	177.017 7, 293.174 5, 149.022 5, 207.101 2, 161.022 7, 439.173 4, 235.133 0, 309.134 5	-	苦参
74	39.43	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> O <sub>8</sub>	471.202 4	471.200 5	-1.86	471.200 8, 321.133 1, 149.058 9, 309.168 6, 347.148 3, 123.043 4, 427.209 8	-	苦参
75	19.63	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	577.156 2	577.154 3	-1.53	283.060 2, 268.036 6, 375.060 7, 447.083 2, 515.064 2	3'-hydroxy kushenol O <sup>[22]</sup>	苦参
76	20.19	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	577.156 2	577.153 8	-1.59	283.060 2, 268.036 7, 375.062 5, 342.258 2, 417.150 2	3'-羟基-4'-甲氧基-异黄酮-7-O-β-D-芹糖-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷	苦参 <sup>2)</sup>
77	28.92	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	577.156 2	577.153 9	-2.06	283.060 0, 268.036 1, 375.061 4, 475.078 4	3'-甲氧基-4'-羟基-异黄酮-7-O-β-D-芹糖-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷	苦参 <sup>2)</sup>
78	29.91	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	577.156 2	577.154 0	-1.96	283.060 2, 375.061 0, 268.036 4	5-羟基-4'-甲氧基-异黄酮-7-O-β-D-芹糖-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖苷	苦参 <sup>2)</sup>
79	21.09	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	563.140 6	563.138 6	-1.53	269.044 6, 327.121 8, 255.064 4, 203.995 0	5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yl-2-O-[(2S, 3S, 4R)-3, 4-dihydroxy-4-(hydroxymethyl)tetrahydro-2-furanyl]-β-D-glucopyranoside	苦参 <sup>2)</sup>

续表 2

化合物	$t_R$ /min	分子式	分子离子峰		$\delta$ /ppm	碎片离子	名称	来源
			理论值	实测值				
80	21.75	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	563.140 6	563.138 6	-1.64	269.044 6, 255.064 8, 359.080 6	apiin	苦参 <sup>2)</sup>
81	42.58	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	487.342 8	487.341 0	-1.51	487.341 2, 469.332 0, 425.341 8, 185.041 7, 457.332 0, 443.349 4	蔷薇酸	悬钩子木 <sup>2)</sup>
82	45.41	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>5</sub>	485.327 2	485.325 2	-1.78	485.325 2, 467.314 2, 423.324 6, 393.324 6, 280.394 9	2 $\alpha$ ,19 $\alpha$ -二羟基-乌苏-2-酮-12-烯-28-酸	悬钩子木 <sup>2)</sup>
83	44.41	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	471.347 9	471.346 2	-1.09	471.306 5, 453.298 3, 409.306 8, 258.027 4	2 $\alpha$ ,19 $\alpha$ -二羟基-乌苏-12-烯-28-酸	悬钩子木 <sup>2)</sup>
84	5.43	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	169.014 2	169.012 6	-2.78	125.022 7, 169.012 7, 108.019 9, 82.064 3, 103.038 2	没食子酸 <sup>[24]</sup>	悬钩子木 <sup>1)</sup>
85	16.00	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	179.034 9	179.033 4	-2.70	135.043 4, 179.033 4, 121.048 5	咖啡酸 <sup>[25]</sup>	悬钩子木 <sup>1)</sup>
86	22.19	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	179.034 9	179.033 3	-3.04	135.043 4, 179.033 2, 101.022 6, 89.022 6, 121.027 3, 133.027 7	反式咖啡酸 <sup>[25]</sup>	悬钩子木
87	19.92	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	163.040 6	163.038 5	-2.81	119.048 4, 163.038 2, 147.043 5, 85.027 8, 73.027 7, 121.027 7, 93.032 7	对羟基肉桂酸 <sup>[26]</sup>	悬钩子木
88	5.60	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	165.055 7	165.054 1	-2.83	58.004 3, 165.054 0, 107.048 4, 119.048 5, 135.043 6, 93.032 7, 121.027 7, 123.043 3, 71.012 1	对甲氧基苯乙酸 <sup>[26]</sup>	悬钩子木
89	33.11	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	301.035 3	301.034 0	-0.74	151.001 8, 301.034 2, 178.997 1, 134.034 3, 264.023 8, 121.027 6, 117.053 9	槲皮素 <sup>[26]</sup>	悬钩子木 <sup>1)</sup>
90	39.09	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	301.035 3	301.033 9	-1.04	109.027 6, 301.035 3, 218.037 0, 163.001 6, 117.053 8, 143.050 3	morin	悬钩子木 <sup>2)</sup>
91	37.40	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	285.040 4	285.039 3	-0.20	285.039 3, 117.053 8, 135.007 0, 257.044 3, 153.017 5, 213.054 2	山柰酚 <sup>[26]</sup>	悬钩子木 <sup>1)</sup>
92	19.19	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	461.108 9	461.107 6	-0.37	253.049 2, 415.102 1, 301.071 2, 101.022 8, 263.128 6	槲皮素-3-O- $\alpha$ -L-葡萄糖	悬钩子木 <sup>1)</sup>
93	18.42	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	461.108 9	461.107 3	-1.10	299.055 3, 109.027 6, 284.031 8, 341.043 4, 141.127 1	-	悬钩子木
94	16.52	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	593.130 0	593.127 6	-1.40	125.022 6, 289.070 6, 407.075 4, 275.007 5, 161.022 7, 245.080 6, 205.048 9, 137.022 9, 109.027 7	顺式椴树苷	悬钩子木 <sup>2)</sup>
95	43.41	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	593.130 0	593.128 0	-1.54	121.027 6, 209.044 0, 165.017 6, 417.095 7, 313.070 9, 225.054 6, 357.061 1	椴树苷	悬钩子木 <sup>2)</sup>
96	31.26	C <sub>25</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	517.135 1	517.132 8	-2.40	267.064 9, 347.0652 8, 145.0494 2, 182.0412 0, 275.006 2, 219.016 1	-	悬钩子木
97	41.56	C <sub>25</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	517.135 1	517.136 9	5.51	161.022 7, 275.164 5, 301.144 2, 213.036 6, 145.049 3	-	悬钩子木
98	25.95	C <sub>30</sub> H <sub>36</sub> O <sub>11</sub>	571.218 4	571.215 5	-3.17	165.053 8, 345.132 8, 195.065 0, 493.182 5, 150.030 6, 257.086 7, 330.111 8, 375.061 1	-	悬钩子木
99	24.64	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	431.098 3	431.096 7	-1.24	431.096 6, 268.036 7, 257.087 3, 213.035 1, 151.002 0, 271.060 2	芹菜素-7-O-葡萄糖苷	悬钩子木 <sup>2)</sup>
100	16.14	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	609.146 1	609.144 3	1.64	269.044 4, 135.006 9, 375.058 5, 287.055 2, 109.027 6, 241.050 1, 475.112 0, 213.038 0	山柰酚 3-O- $\beta$ -D-槐糖苷	悬钩子木 <sup>2)</sup>
101	16.60	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	609.146 1	609.144 2	1.47	269.044 6, 135.007 0, 287.055 0, 153.017 5, 275.058 9, 241.047 9, 431.037 3, 475.112 5	山柰酚 3-龙胆双糖苷	悬钩子木 <sup>2)</sup>
102	17.07	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	609.146 1	609.144 2	1.47	269.044 4, 375.059 2, 135.007 0, 287.055 2, 347.063 2, 475.110 8, 153.017 3, 109.027 5	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4-oxo-4H-chromen-3-yl 4-O-(6-deoxy- $\beta$ -D-gulopyranosyl)- $\beta$ -D-galactopyranoside	悬钩子木 <sup>2)</sup>
103	21.07	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	609.146 1	609.144 3	1.64	269.044 5, 375.059 0, 475.111 1	luteolin-3',7-diglucoside	悬钩子木

续表 2

化合物	$t_R$ /min	分子式	分子离子峰		$\delta$ /ppm	碎片离子	名称	来源
			理论值	实测值				
104	21.74	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	609.146 1	609.144 2	1.47	269.044 6, 375.059 9, 475.110 3, 517.017 3	kaempferol-3,7-di-O-glucoside	悬钩子木 <sup>2)</sup>
105	37.16	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>6</sub>	503.337 8	503.335 9	-1.49	503.336 5, 485.324 9, 453.296 3, 407.294 4, 207.101 1	arjungenin	悬钩子木 <sup>2)</sup>
106	42.58	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>6</sub>	503.337 8	503.336 1	-1.18	503.337 9, 485.326 3, 421.310 0, 459.306 7	sericic acid	悬钩子木 <sup>2)</sup>
107	44.41	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	471.347 9	471.346 3	-1.09	409.306 8, 393.276 1, 379.295 4	坡曼酸	悬钩子木 <sup>2)</sup>
108	46.85	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	471.347 9	471.345 7	-2.38	471.346 0, 453.333 5	科罗素酸	悬钩子木 <sup>2)</sup>
109	39.83	C <sub>36</sub> H <sub>58</sub> O <sub>10</sub>	649.395 7	649.393 8	-2.93	503.335 3, 177.017 7, 145.048 2, 213.037 3	野蔷薇苷	悬钩子木 <sup>2)</sup>
110	16.89	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	289.071 7	289.070 6	-0.06	289.070 7, 245.080 7, 125.022 6, 109.027 7, 203.069 8, 179.033 5, 151.038 3, 137.022 7, 167.033 3, 221.080 6, 97.0278, 271.059 2	儿茶素 <sup>[14]</sup>	悬钩子木 <sup>1)</sup>

注:化合物 82,83,91,92,95,109 实验室提取分离。

CH<sub>2</sub> 产生  $m/z$  177.091 3 [M + H - C<sub>3</sub>H<sub>6</sub> - CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 的碎片离子,再丢失一分子 CH<sub>2</sub> 产生  $m/z$  163.144 2 [M + H - C<sub>3</sub>H<sub>6</sub> - CH<sub>2</sub> - CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>,再失去一分子 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 产生  $m/z$  137.060 0 [M + H - C<sub>3</sub>H<sub>6</sub> - CH<sub>2</sub> - CH<sub>2</sub> - C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 碎片。综上碎片信息以及裂解规律,再结合对照品的保留时间和二级碎片以及文献[15]报道的碎片信息,将化合物 1 鉴定为异土木香内脂。

**3.2 苦参碱类** 苦参碱类是苦参中特征化学成分,共鉴定出 16 个化合物,据文献记载,均来源于豆科植物苦参。苦参碱类为含氮杂环类化合物,在正离子模式下响应较好,所以采用正离子模式。以化合物 21 5 $\alpha$ -羟基槐果碱为例,进行其质谱裂解规律推导。

化合物 21 分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,保留时间为 17.17 min,在正离子模式下,通过软件精密计算,分子离子峰 [M + H]<sup>+</sup> 为  $m/z$  263.175 8。母离子脱掉一分子 H<sub>2</sub>O 产生  $m/z$  245.165 4 [M + H - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> 脱水峰,再失去一分子的 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O 产生  $m/z$  203.133 3 [M + H - H<sub>2</sub>O - C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> 碎片离子,再失去一分子 CH<sub>2</sub> 产生  $m/z$  189.138 9 [M + H - H<sub>2</sub>O - C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O - CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 中强峰,再丢失一分子 CH<sub>2</sub> 产生  $m/z$  175.123 2 [M + H - H<sub>2</sub>O - C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O - CH<sub>2</sub> - CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 中强峰  $m/z$  189.138 9 脱掉一分子 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>N 产生  $m/z$  150.127 9 [M + H - H<sub>2</sub>O - C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O - CH<sub>2</sub> - C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>N]<sup>+</sup> 母核碎片离子,接着丢失一分子 H<sub>2</sub> 产生  $m/z$  148.112 5 [M + H - H<sub>2</sub>O - C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O - CH<sub>2</sub> - C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>N - H<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 的碎片离子,也是苦参碱型生物碱的特征碎片。此外还产生且产生  $m/z$  122.096 7, 134.096 8 等碎片离子,综上一级质谱、二级碎片以及裂解规律信息,化合物 21 为 5 $\alpha$ -羟基槐果碱,该化合物为首

次报道质谱信息。

**3.3 异戊二烯黄酮类** 异戊二烯黄酮类共鉴定出 38 个,均来源于苦参,因其在负离子模式下响应值较好,所以选择负离子模式采集。以化合物 67 leachianone G 为例,进行该类化合物质谱裂解规律推导。

化合物 67 分子式为 C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>,保留时间为 39.42 min,在负离子模式下,分子离子峰 [M - H]<sup>-</sup> 为  $m/z$  355.117 2。母离子先失去一分子 H<sub>2</sub>O 产生  $m/z$  337.106 8 [M - H - H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup> 碎片离子;母离子丢失一分子 C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub> 产生  $m/z$  219.064 7 [M - H - C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>]<sup>-</sup> 碎片离子,再失去一分子 C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O 产生  $m/z$  161.022 6 [M - H - C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub> - C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O]<sup>-</sup> 中强峰;此外母离子还通过丢失一分子 C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> 产生  $m/z$  193.085 6 [M - H - C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>]<sup>-</sup> 基峰。综上化合物的裂解规律以及碎片信息,将化合物 67 初步鉴定为 leachianone G。

**3.4 儿茶素类** 儿茶素类化合物共鉴定出 1 个,来源于悬钩子木。其在负离子模式下不仅响应值高还干扰少,所以选择负离子模式。以化合物 110 儿茶素为例进行质谱裂解规律推导。

化合物 110 分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>,保留时间为 16.89 min,在负离子模式下,分子离子峰 [M - H]<sup>-</sup> 为  $m/z$  289.070 6。碎片离子  $m/z$  271.059 2 [M - H - H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup> 是由母离子丢失一分子 H<sub>2</sub>O 产生的;母离子再失去一分子 CO<sub>2</sub> 产生  $m/z$  245.080 7 [M - H - CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup> 碎片离子;母离子再失去一分子 C<sub>3</sub>O<sub>2</sub> 产生  $m/z$  221.080 6 [M - H - C<sub>3</sub>O<sub>2</sub>]<sup>-</sup> 碎片离子,再丢失一分子 H<sub>2</sub>O 产生  $m/z$  203.069 8 [M - H - C<sub>3</sub>O<sub>2</sub> - H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup> 碎片离子,再失去一分子

$C_4H_4$  产生  $m/z$  151.038 3  $[M - H - C_3O_2 - H_2O - C_4H_4]^-$  碎片离子,再失去一分子  $C_2H_2$  产生  $m/z$  125.022 6  $[M - H - C_3O_2 - H_2O - C_4H_4 - C_2H_2]^-$  碎片离子。综上碎片离子信息,化合物 **110** 初步鉴定为儿茶素。

**3.5 黄酮苷类** 黄酮苷类共鉴定出 4 个,均来源于悬钩子木。据文献报道,黄酮苷类在负离子模式下响应更高,所以在负离子模式下采集数据。以化合物 **95** 椴树苷为例,进行该类化合物的质谱裂解规律的推导。

化合物 **95** 分子式为  $C_{30}H_{26}O_{13}$ ,在负离子模式下,分子离子峰  $[M - H]^-$  为  $m/z$  593.128 0。母离子丢失一分子  $C_{12}H_{12}O_5$  产生  $m/z$  357.061 1  $[M - H - C_{12}H_{12}O_5]^-$  碎片离子,再失去一分子  $CO_2$  产生  $m/z$  313.070 9  $[M - H - C_{12}H_{12}O_5 - CO_2]^-$  碎片离子;母离子失去一分子  $C_{20}H_{16}O_8$  产生  $m/z$  209.044 0  $[M - H - C_{20}H_{16}O_8]^-$  中强峰,脱掉一分子  $CH_3OH$  产生  $m/z$  165.017 6  $[M - H - C_{20}H_{16}O_8 - CH_3OH]^-$  碎片离子,再失去一分子  $CO_2$  产生  $m/z$  121.027 6  $[M - H - C_{20}H_{16}O_8 - CH_3OH - CO_2]^-$  的基峰。综上信息,化合物 **95** 初步鉴定为椴树苷。

**3.6 三萜皂苷类** 来源于悬钩子木的三萜皂苷类,共鉴定了 12 个化合物。其在负离子模式下有更高的响应值,所以该类化合物采用负离子模式。以化合物 **81** 蔷薇酸为例,进行该类化合物质谱裂解规律的推导。

化合物 **81** 分子式为  $C_{30}H_{48}O_5$ ,保留时间为 42.58 min,在负离子模式下,通过 Xcalibur 3.0 软件计算,分子离子峰  $[M - H]^-$  为  $m/z$  487.341 0。母离子丢失一分子  $H_2O$  产生  $m/z$  469.332 0  $[M - H - H_2O]^-$  碎片离子,再丢失一分子  $CO_2$  产生  $m/z$  425.341 8  $[M - H - H_2O - CO_2]^-$  碎片离子;在化合物 **81** 脱水峰的基础上,再丢失一分子 C 产生  $m/z$  457.332 0  $[M - H - H_2O - C]^-$  碎片离子; $m/z$  443.349 4  $[M - H - CO_2]^-$  碎片离子是由母离子脱去一分子  $CO_2$  所产生。综上精确相对分子质量、一级质谱和二级碎片离子信息,化合物 **81** 鉴定为蔷薇酸。

#### 4 讨论

该研究分别考察了 100%、75%、50% 甲醇多种提取试剂,结果发现 50% 甲醇作溶剂时,峰容量更大,在质谱中检测到化合物的响应值更高;且比较了 30、60、120 min 不同超声提取时间,发现 120 min 时

的化合物种类最多,且峰面积最大。因此,本研究采用 50% 甲醇提取溶剂和 120 min 提取时间,极大程度上保证了多种化合物的分析及鉴别。四味土木香散中的化学成分多样且极性差异较大,如苦参生物碱类和倍半萜内酯类在正离子模式下容易质子化,响应值也更高,故采用正离子模式;而异戊二烯黄酮类、酚酸类以及三萜皂苷类在负离子模式下容易去质子化,且不稳定,故采用负离子模式。此外,还考察了流动相中缓冲盐乙酸铵的影响,结果显示,加入乙酸铵可使生物碱类化合物保留时间延长,并使分离度和峰形改善,该效应可能与乙酸铵和生物碱成盐有关;考察了不同浓度乙酸铵,发现  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的乙酸铵既可改善生物碱类化合物的分离度,又能保证质谱响应值。

HPLC-Q-Exactive-MS/MS 四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用技术,采用全扫描和正负离子切换模式进行分析测定,通过提取一级质谱的精确质量数进行定性鉴别,自动触发二级全扫描质谱进一步提高定性的准确性,并结合 Xcalibur 3.0 软件计算  $< 5 \text{ ppm}$  的精确相对分子质量及二级碎片离子对目标化合物进行结构鉴定,共鉴定了 110 个化合物,其中 31 个化合物为本研究首次报道质谱信息,为进一步研究四味土木香散的体内代谢及药效物质基础奠定坚实的基础。

#### [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,2015:647-648.
- [2] 苏和,布仁达来. 国家中药管理局民族医药文献整理丛书·蒙医文献学[M]. 呼和浩特:内蒙古人民出版社,2006:341-343.
- [3] 罗布桑. 蒙药学家罗布桑学术著作大成(1)蒙药研究新成果(蒙古文)[M]. 赤峰:内蒙古科技出版社,2011:150-159.
- [4] 白丽明,王剑,付美玲,等. 土木香化学成分研究[J]. 中草药,2018,49(11):2512-2518.
- [5] RHEE J K, BAEK B K, AHN B Z, et al. Structural Investigation on the effects of the herbs on *Clonorchis sinensis* in rabbits[J]. Am J Chin Med, 1985, 13(1-4): 119-125.
- [6] 许卉,杨小玲,刘生生,等. 土木香的倍半萜类化学成分研究[J]. 时珍国医国药,2007(11):2738-2740.
- [7] 张黄琴,朱振华,钱大玮,等. 山西产苦参花中生物碱类和黄酮类成分的分析与评价[J]. 中国中药杂志,2016,41(24):4621-4627.
- [8] 张翹,马悦,高慧敏,等. 苦参化学成分研究进展[J].

- 中国实验方剂学杂志,2014,20(4):205-214.
- [9] 阿丽莎. 蒙药四味土木香散的药效物质基础研究[D]. 通辽:内蒙古民族大学,2011.
- [10] 哈斯其木格. 土木香四味汤药效物质基础研究—化学成分研究[D]. 通辽:内蒙古民族大学,2012.
- [11] 毛婷. 蒙药土木香化学成分研究及其倍半萜内酯类 Q-Exactive/MS 分析鉴别[D]. 呼和浩特:内蒙古医科大学,2014.
- [12] 任珊珊,包保全,格根塔娜,等. 蒙药悬钩子木黄酮类成分及其生物活性研究[J]. 中药材,2016,39(9):2019-2023.
- [13] 任珊珊,张屏,格根塔娜,等. 蒙药悬钩子木三萜类成分及其生物活性研究[J]. 中药材,2017,40(2):354-358.
- [14] 格根塔娜. 蒙药材库页悬钩子木的活性成分研究—乙酸乙酯层和正丁醇层的活性成分研究[D]. 通辽:内蒙古民族大学,2012.
- [15] YAO D, LI Z, HUO C, et al. Identification of *in vitro* and *in vivo* metabolites of alantolactone by UPLC-TOF-MS/MS[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2016, 1033/1034:250-260.
- [16] GAO X, MA Y, WANG Z, et al. Identification of anti-inflammatory active ingredients from Tumuxiang by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight-MS<sup>E</sup>. [J]. Biomed Chromatogr, 2018, 32(5):e4179.
- [17] LIU G, DONG J, WANG H, et al. Characterization of alkaloids in *Sophora flavescens* Ait. by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. J Pharmaceut Biomed Anal, 2011, 54(5):1065-1072.
- [18] CHANG J, LANE M, YANG M, et al. A hexa-herbal TCM decoction used to treat skin inflammation: an LC-MS-based phytochemical analysis [J]. Planta Med, 2016, 82(11/12):1134-1141.
- [19] 赵琴琴,张玉峰,范晓辉,等. 高效液相色谱多级质谱联用法同时鉴定苦参中的两大类活性成分[J]. 中国中药杂志,2011,36(6):762-769.
- [20] ZHANG L, XU L, XIAO S S, et al. Characterization of flavonoids in the extract of *Sophora flavescens* Ait. by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector and electrospray ionization mass spectrometry [J]. J Pharmaceut Biomed Anal, 2007, 44(5):1019-1028.
- [21] ZHANG Y, ZHANG P, CHENG Y, et al. Structural characterization of isoprenylated flavonoids from Kushen by electrospray ionization multistage tandem mass spectrometry [J]. J Mass Spectrometry, 2008, 43(10):1421-1431.
- [22] WENG Z, ZENG F, ZHU Z, et al. Comparative analysis of sixteen flavonoids from different parts of, *Sophora flavescens*, Ait. by ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Pharmaceut Biomed Anal, 2018, 156:214-220.
- [23] 李晓娜,董馨,包保全,等. 基于 Q-Exactive 高分辨质谱的蒙中药材苦参化学成分快速分析鉴定[J]. 中药材,42(1):103-109.
- [24] 马尚智,秦惠玉,龙飞,等. 没食子多酚类化合物的鉴定及其在 UPLC-MS/MS 中的裂解规律研究[J]. 中草药,2017,48(22):4632-4638.
- [25] 孙国东,霍金海,程团,等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的胡桃楸叶化学成分分析[J]. 中药材,2017,40(5):1123-1129.

[责任编辑 顾雪竹]