

- [12] 何海, 赵沙沙, 张小荣, 等. 不同配伍比例牛蒡子-甘草药对中 12 个活性成分溶出量及抗炎作用的差异性研究[J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(8): 1040-1046.
- [13] 汪昂. 医方集解[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2009: 235.
- [14] 王怀隐. 太平圣惠方[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1958: 526.
- [15] 王昆阳, 聂安政. 中药川楝子药理毒理探讨与合理用药思考[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(3): 54-58.
- [16] 周浓, 杨勤, 杨敏, 等. HPLC 法同时测定川楝子中芦丁、异槲皮苷和槲皮素的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(2): 225-229.
- [17] 王叶情, 王宇红, 邹蔓姝, 等. 槲皮素及其糖苷衍生物抗抑郁作用及其机制的研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(5): 1548-1557.
- [18] 陈彬, 翁金月, 金利思, 等. 3 种炮制方法对川楝子中 6 种成分变化的影响考察[J]. 中国药师, 2020, 23(10): 2061-2064.
- [19] 李红伟, 徐若颖, 宋梦娇, 等. 5 种炮制方法对小茴香中油类成分组成和相对含量的影响[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(11): 46-54.
- [20] 石雪萍, 余芳. RP-HPLC 测定小茴香中槲皮素和山奈酚含量[J]. 中国调味品, 2015, 40(5): 93-96.
- [21] Beck C, Grimaldo M, Braun M K, *et al.* Temperature and salt controlled tuning of protein clusters[J]. *Soft Matter*, 2021, 17(37): 8506-8516.

## 液质联用技术鉴定至宝三鞭丸化学成分

高文雅<sup>1</sup>, 赵海誉<sup>1</sup>, 高双荣<sup>1</sup>, 赵小亮<sup>2</sup>, 焦玥<sup>2</sup>, 刘洋<sup>2</sup>, 王志国<sup>2</sup>, 高畅<sup>1</sup>,  
李涛<sup>1,2\*</sup>, 杜茂波<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700)

**摘要:** **目的** 建立 HPLC-LTQ-Orbitrap MS 和 HPLC-QQQ MS/MS 法分析至宝三鞭丸化学成分。**方法** 采用分段供试品制备的前处理方式、高分辨质谱数据依赖的采集模式、HPLC-MS/MS 靶向成分采集等综合研究策略鉴定成分。分析采用 Waters BEH HSS T3 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相 0.1% 甲酸水-乙腈, 梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 ℃; 电喷雾离子源 (ESI); 正负离子扫描。**结果** 共鉴定出 82 个化合物, 包括有机酸类 18 个、黄酮类 17 个、萜类及皂苷类 11 个、色原酮类 8 个、苯乙醇苷类 4 个、生物碱类 3 个、香豆素类 3 个、木脂素类 2 个、蒽醌类 2 个, 其中 30 个通过与对照品保留时间及碎片离子信息比对而确认。**结论** 本研究初步鉴定了至宝三鞭丸化学成分, 为该制剂质量控制、作用机制研究提供了有力的支撑。

**关键词:** 至宝三鞭丸; 化学成分; HPLC-LTQ-Orbitrap MS; HPLC-QQQ MS

**中图分类号:** R284.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2024)01-0161-09

**doi:**10.3969/j.issn.1001-1528.2024.01.028

## Identification of chemical constituents from Zhibao Sanbian Pills based on LC-MS technology

GAO Wen-ya<sup>1</sup>, ZHAO Hai-yu<sup>1</sup>, GAO Shuang-rong<sup>1</sup>, ZHAO Xiao-liang<sup>2</sup>, JIAO Yue<sup>2</sup>, LIU Yang<sup>2</sup>,  
WANG Zhi-guo<sup>2</sup>, GAO Chang<sup>1</sup>, LI Tao<sup>1,2\*</sup>, DU Mao-bo<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**收稿日期:** 2023-03-22

**基金项目:** 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项项目 (ZZ2019008, ZZ13-YQ-052); 中国中医科学院创新工程项目 (CI2021A04313, CI2021B015)

**作者简介:** 高文雅 (1996—), 女, 博士生, 从事中药活性物质基础、生物学表征研究。E-mail: gaowenya0215@163.com

**\*通信作者:** 李涛 (1987—), 男, 硕士, 副研究员, 从事中药药效物质基础、药动力学、代谢流研究。E-mail: hndxlitao@163.com

杜茂波 (1985—), 男, 博士, 副研究员, 从事中药制剂、外用新剂型研究。E-mail: mbdu@icmm.ac.cn

**KEY WORDS:** Zhibao Sanbian Pills; chemical constituents; HPLC-LTQ-Orbitrap MS; HPLC-QQQ MS

至宝三鞭丸由海狗鞭、狗鞭、鹿鞭、人参、鹿茸、海马、蛤蚧、肉苁蓉等四十多味名贵中药材组成,收载于《中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂》,具有补血生精、健脑补肾等功效。临床研究表明,它具有延缓衰老<sup>[1]</sup>、抗疲劳<sup>[2]</sup>的作用,对脑功能衰退<sup>[3]</sup>、性功能低下<sup>[4]</sup>、不孕不育<sup>[5]</sup>有治疗效果,但其物质基础研究薄弱。

中药丸剂大多以饮片细粉形式直接入药,一般配伍药味多、辅料用量大,化学组成结构类型多、含量差异大。液质联用技术具有强大的分离能力和结构鉴定的优势<sup>[6]</sup>,通过对已知同类化合物的质谱裂解规律进行总结,可对未知化合物的结构进行合理推测。HPLC-LTQ-Orbitrap MS 可快速得到多级质谱碎片信息,提高中药复杂体系中化学成分的快速鉴定与分析能力<sup>[7]</sup>。三重四极杆质谱中多反应监测(MRM)模式的特异性和灵敏性使中药微量成分的定性、定量分析成为可能,可弥补高分辨质谱的不足。

本研究基于 HPLC-LTQ-Orbitrap MS、HPLC-QQQ MS/MS 技术对至宝三鞭丸主要成分进行定性分析,明确该制剂化学组成,以期为其后续质量控制、药效机制研究提供有力支撑。

## 1 材料

1.1 仪器 Dionex Ultimate 3000 超高效液相色谱-质谱系统,配置自动进样器、柱温箱、在线真空脱气机、四元泵、LTQ-Orbitrap 质谱检测器(线性离子阱串联静电场轨道阱傅里叶变换高分辨质谱仪)、Xcalibur 3.0 工作站、Networks 1.3、Mass Frontier 7.0 数据分析软件(美国 Thermo Fisher 公司)。高效液相色谱-质谱系统(美国 AB Sciex 公司),配置 ExionLC-20AC 高效液相色谱仪、IonDrive™ Turbo V 离子源、Sciex 6500+三重四极杆检测器、Analyst 1.7 数据采集系统、MultiQuant 3.0.3 数据处理系统。SCIENTZ-18N 型冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司);KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂与药物 至宝三鞭丸(批号 210403)由烟台中亚医药保健酒有限公司提供。毛蕊异黄酮对照品(批号 SH18030505)购自北京赛百草科技有限公司;莫诺苷(批号 PRF21053101)、马钱苷(批号 PRF20051842)、23-乙酰泽泻醇 B(批号 PRF21040201)对照品均购自成都普瑞法科技开发

有限公司;阿魏酸(批号 PS012244)、远志卅酮Ⅲ(批号 PS010505)、鞣花酸(批号 PS020571)、β-蜕皮甾酮(批号 PS000094)、山柰酚-3-O-芸香糖苷(批号 PS011341)、人参皂苷 Re(批号 PS011717)、人参皂苷 Rb1(批号 PS011946)、人参皂苷 Rg1(批号 PS010153)、丹皮酚(批号 PS000281)、淫羊藿苷(批号 PS011515)、甘松新酮(批号 PS010660)、细叶远志皂苷(批号 PS000954)、23-乙酰泽泻醇 C(批号 PS012675)对照品均购自成都普思生物科技股份有限公司;松脂醇二葡萄糖苷(批号 MUST-21032510)、松果菊苷(批号 MUST-21042513)、芍药苷(批号 MUST-21051210)、甘草苷(批号 MUST-21052114)、毛蕊花糖苷(批号 MUST-20092315)、3,6'-二芥子酰基蔗糖(批号 MUST-20062304)、甘草酸(批号 MUST-20122305)、大黄素(批号 MUST-20092210)、大黄素甲醚(批号 MUST-20072304)、毛蕊异黄酮苷(批号 MUST-21030920)、小檗碱(批号 MUST-20073011)、蛇床子素(批号 MUST-21041602)、黄芪甲苷(批号 MUST-21031508)对照品均购自成都曼思特生物科技有限公司。BOND ELUTE C<sub>18</sub>、Bond Elut C<sub>18</sub> SPE 色谱柱均购自美国安捷伦公司;甲酸、甲醇、乙腈均为色谱纯,购自赛默飞世尔生物化学制品(北京)有限公司;其余溶剂均为分析纯;水为超纯水。

## 2 方法

### 2.1 HPLC-LTQ-Orbitrap MS/MS 分析条件

2.1.1 色谱 Waters BEH HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm);流动相 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~10 min, 2%~23% B; 10~12 min, 23%~30% B; 12~30 min, 30%~95% B; 30.0~30.01 min, 95%~2% B; 30.01~35.0 min, 2% B);体积流量 0.3 mL/min;柱温 30℃;进样量 2 μL。

2.1.2 质谱 电喷雾离子源(ESI);正负离子扫描;碰撞气超高纯氦气(He);雾化气高纯氮气(N<sub>2</sub>)。正离子模式下的参数条件为毛细管温度 350℃,鞘气(N<sub>2</sub>)体积流量 60 arb,辅助气(N<sub>2</sub>)体积流量 10 arb;负离子模式下的参数条件为毛细管温度 350℃,鞘气(N<sub>2</sub>)体积流量 35 arb,辅助气(N<sub>2</sub>)体积流量 10 arb。一级质谱进行全扫描(分辨率 30 000, *m/z* 50~1 500),采用

数据依赖性扫描获得二级、三级质谱数据, 动态离子排除模式获得更多化合物信息 (优化的参数条件为重复时间 30 s; 排除列表大小 50; 排除持续时间 180 s)。

## 2.2 HPLC-QQQ MS/MS 分析条件

2.2.1 色谱 Waters BEH HSS T3 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm); 流动相 0.1% 甲酸水 (A) - 甲醇 (B), 梯度洗脱 (0~9.0 min, 20%~95% B; 9.0~12.0 min, 95% B; 12.0~12.01 min, 95%~20% B; 12.01~15.0 min, 20% B); 体积流量 0.2 mL/min; 柱温 35 °C; 进样量 2 μL。

2.2.2 质谱 电喷雾离子源 (ESI); MRM 模式; 正负离子扫描; 气帘气 (N<sub>2</sub>) 40 psi (1 psi=6.895 kPa); 碰撞气 (N<sub>2</sub>) 9 psi; 喷雾电压 5 500 V (+)、4 000 V (-); 雾化温度 550 °C; 雾化气、辅助气 (N<sub>2</sub>) 55 psi; 驻留时间 20 ms。

2.3 常规供试品溶液制备 取剪碎后的至宝三鞭丸约 1.0 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 5 mL 75% 甲醇, 振摇至全部溶散, 室温超声提取 30 min, 放凉, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 即得。

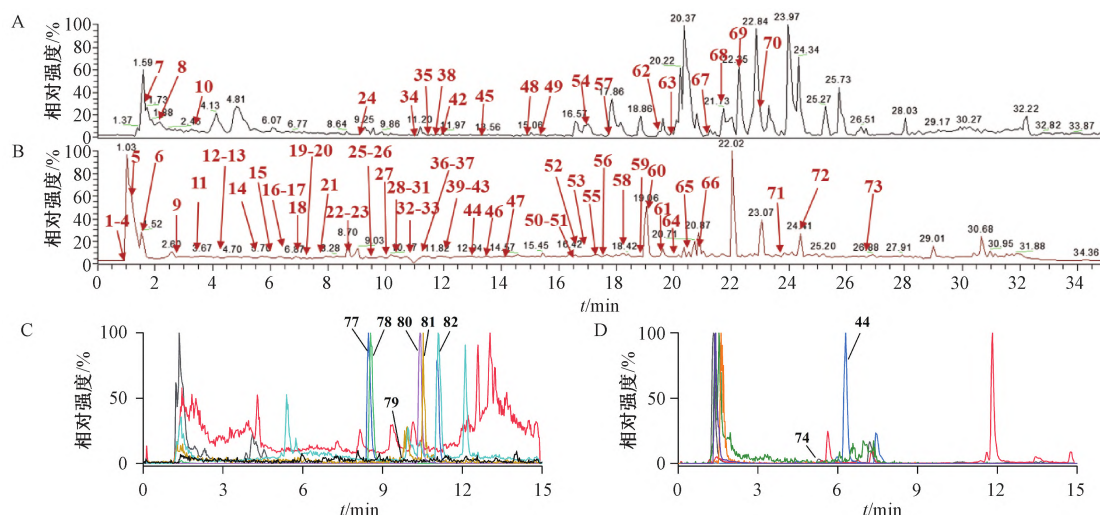
2.4 分段供试品溶液的制备 取剪碎后的至宝三鞭丸约 5.0 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 20 mL 纯水, 振摇至全部溶散, 室温超声提取 30 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液。Bond Elut C<sub>18</sub> SPE 色谱柱经甲醇活化和纯水平衡后

加入上清液, 依次用水、30% 甲醇、70% 甲醇、甲醇进行洗脱, 收集各部分洗脱液, 减压干燥, 1 mL 相应洗脱液复溶, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 即得。

## 3 结果

鉴定策略为①采用常规方法制备供试品溶液, 进行高分辨质谱数据依赖性采集, 鉴定离子碎片信息丰富的化学成分; ②采用极性分段方法制备供试品溶液, 进行高分辨质谱数据依赖性采集, 鉴定离子碎片信息中等的化学成分; ③进行 HPLC-QQQ-MS/MS 靶向成分采集, 可鉴定离子碎片信息较少的化学成分。首先利用①②获得供试品色谱峰的精确相对分子质量, 分析可能的元素组成, 再利用其二级质谱碎片信息与文献比对鉴定未知的化学成分, 并进一步用对照品确认, 最后利用自建的离子对库与③获得供试品的离子对信息进行比对, 筛选未知的化学成分。

从至宝三鞭丸中鉴定得到 82 个化合物, 包括 18 个有机酸类、17 个黄酮类、11 个萜类及皂苷类、8 个色原酮类、4 个苯乙醇苷类、3 个生物碱类、3 个香豆素类、2 个木脂素类、2 个蒽醌类, 见图 1、表 1~2。其中, 72 个化合物通过高分辨质谱数据依赖性采集方法鉴定 (占比 88%), 22 个通过采集靶向离子对的方式筛选, 30 个通过与对照品进行比对而确认。



注: A~B 分别为正负离子模式下 HPLC-LTQ-Orbitrap-MS 基峰色谱图, C~D 分别为正负离子模式下 HPLC-QQQ-MS 提取离子流图。

图 1 至宝三鞭丸色谱图

Fig. 1 Chromatograms of Zhibao Sanban Pills

3.1 有机酸类 一级质谱中可见化合物 9 ( $t_R = 2.6$  min) 的准分子离子峰  $m/z$  169.013 6

( $C_7H_5O_5$ ,  $[M-H]^-$ , 误差 2.84)。在二级质谱中可明显看到丢失  $CO_2$  的基峰信号  $m/z$  125.025 3

表 1 HPLC-LTQ-Orbitrap MS/MS 所得至宝三鞭丸中化合物  
Tab. 1 Compounds from Zhiabo Sanbian Pills by HPLC-LTQ-Orbitrap MS/MS

编号	名称	电离模式	保留时间/ min	分子式	实测值 <i>m/z</i>	理论值 <i>m/z</i>	误差 ( $\times 10^{-6}$ )	主要离子碎片 <i>m/z</i>	鉴定策略	类型
1	肌醇	ESI <sup>-</sup>	1.00	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	179.055 8	179.055 0	4.39	161.045 9, 143.035 2	①②	醇类
2	葡萄糖酸	ESI <sup>-</sup>	1.03	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	195.050 7	195.049 9	3.90	177.041 4, 159.030 7, 141.020 1, 129.020 4	①②	有机酸类
3	奎尼酸	ESI <sup>-</sup>	1.09	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	191.055 8	191.055 0	4.11	173.046 4, 127.040 8, 109.030 2, 93.035 1, 85.030 1	①②	有机酸类
4	蔗糖	ESI <sup>-</sup>	1.16	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	341.107 9	341.107 8	0.21	179.057 3, 281.088 9, 161.046 5	①②	糖类
5	柠檬酸	ESI <sup>-</sup>	1.52	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	191.019 3	191.018 6	3.46	173.010 0, 154.999 4, 129.020 1, 111.009 7	①②	有机酸类
6	苹果酸	ESI <sup>-</sup>	1.60	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	133.013 7	133.013 1	3.91	115.004 6, 71.014 3	①②	有机酸类
7	缬氨酸	ESI <sup>+</sup>	1.64	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	118.085 5	118.086 3	-6.48	72.080 4, 55.053 9	①②	氨基酸类
8	葡萄糖胺	ESI <sup>+</sup>	1.75	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>5</sub>	180.085 5	180.086 7	-4.44	162.076 0, 144.065 4	①②	糖类
9	没食子酸	ESI <sup>-</sup>	2.60	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	169.013 6	169.013 1	2.84	125.025 3	①②	有机酸类
10	腺苷	ESI <sup>+</sup>	3.41	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	268.102 8	268.104 0	-4.66	136.061 7	①②	生物碱类
11	去乙酰基车 叶草苷酸	ESI <sup>-</sup>	3.58	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	389.106 5	389.107 8	-3.41	227.056 3, 183.066 9, 165.055 6, 139.040 5	①②	有机酸类
12	原儿茶酸	ESI <sup>-</sup>	4.40	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	153.018 9	153.018 2	4.61	125.025 1, 109.030 3	①②	有机酸类
13	京尼平苷酸	ESI <sup>-</sup>	4.50	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	373.111 9	373.112 9	-2.88	355.103 4, 329.124 5, 211.061 8, 193.050 8, 167.071 9, 149.061 3, 123.045 6	①②	环烯醚萜类
14	表马钱子苷酸	ESI <sup>-</sup>	5.54	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	375.127 7	375.128 6	-2.44	213.077 5, 169.087 6, 151.077 1, 119.035 3	①②	环烯醚萜类
15	对羟基苯甲酸	ESI <sup>-</sup>	5.99	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	137.023 9	137.023 3	3.94	93.035 0	①②	有机酸类
16	莫诺苷 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	6.38	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>11</sub>	405.137 4	405.139 1	-4.24	—	①②	环烯醚萜类
17	新绿原酸	ESI <sup>-</sup>	6.47	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	353.086 1	353.086 7	-1.75	191.057 3, 179.035 9, 173.046 3, 135.045 9	①②	有机酸类
18	隐绿原酸	ESI <sup>-</sup>	6.98	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	353.085 5	353.086 7	-3.56	191.057 2, 179.036 2, 173.046 9, 155.035 9, 135.045 9	①②	有机酸类
19	咖啡酸	ESI <sup>-</sup>	7.25	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	179.034 4	179.033 9	3.10	135.045 8, 107.050 8	①②	有机酸类
20	香草酸	ESI <sup>-</sup>	7.25	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	167.034 3	167.033 9	2.30	152.011 5, 123.045 4, 108.021 8	①②	有机酸类
21	对香豆酰基 奎宁酸	ESI <sup>-</sup>	7.80	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	337.090 9	337.091 8	-2.71	191.056 5, 173.045 9, 163.040 5, 155.035 3, 119.050 5	①②	有机酸类
22	松果菊苷 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	8.84	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>20</sub>	785.246 2	785.249 9	-4.74	—	①②	苯乙醇苷类
23	芍药苷 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	8.96	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	525.157 8	525.160 3	-4.74	479.157 6, 449.147 9, 327.110 7, 165.056 7	①②	单萜类
24	木兰花碱	ESI <sup>+</sup>	9.25	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	342.168 2	342.170 0	-5.36	297.112 3, 265.086 1, 237.091 1	①②	木脂素类
25	远志口山酮Ⅲ <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	9.49	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>15</sub>	567.131 5	567.134 4	-5.25	—	①②③	黄酮类
26	阿魏酸 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	9.62	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	193.049 6	193.049 5	0.13	—	①②	有机酸类
27	牡荆素	ESI <sup>-</sup>	9.98	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	431.095 9	431.097 3	-3.14	413.087 8, 341.067 5, 311.056 5	①②	黄酮类
28	芦糖甘草苷	ESI <sup>-</sup>	10.17	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	549.158 4	549.160 3	-3.42	417.118 8, 297.077 5, 255.067 6, 135.009 6, 119.051 1	①②	黄酮类
29	鞣花酸 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	10.26	C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub>	300.999 0	300.997 9	3.74	283.997 0, 257.010 2, 245.009 9, 229.015 0, 185.025 2	①②	多酚二内酯类
30	金丝桃苷	ESI <sup>-</sup>	10.36	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	463.086 2	463.087 1	-1.86	301.035 8	①②	黄酮类
31	二苯乙烯苷	ESI <sup>-</sup>	10.36	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	405.117 3	405.118 0	-1.87	243.066 7	①②	二苯乙烯苷类
32	毛蕊花糖苷 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	10.76	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	623.194 0	623.197 1	-4.94	487.146 4, 477.140 7, 461.167 9, 443.157 3, 315.109 6, 297.098 7, 251.056 7, 179.035 7	①②③	苯乙醇苷类
33	毛蕊花糖苷异构体	ESI <sup>-</sup>	10.86	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	623.194 0	623.197 1	-4.94	487.146 4, 477.140 7, 461.167 9, 443.157 3, 315.109 6, 297.098 7, 251.056 7, 179.035 7	①②	苯乙醇苷类
34	毛蕊异黄酮苷 <sup>#</sup>	ESI <sup>+</sup>	10.96	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	447.125 8	447.128 6	-6.23	285.075 8	①②③	黄酮类
35	沉香四醇	ESI <sup>+</sup>	11.16	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	319.116 2	319.117 6	-4.59	301.107 0, 283.096 4, 255.101 3, 227.098 1	①②	酚类



续表 1

编号	名称	电离 模式	保留时间/ min	分子式	实测值 $m/z$	理论值 $m/z$	误差 ( $\times 10^{-6}$ )	主要离子碎片 $m/z$	鉴定策略	类型
36	异毛蕊花糖苷	ESI <sup>-</sup>	11.32	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	623.194 2	623.197 1	-4.55	—	①②	苯乙醇苷类
37	木犀草苷	ESI <sup>-</sup>	11.40	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	447.090 7	447.092 2	-3.26	<b>285.040 7</b>	①②	黄酮类
38	$\beta$ -蜕皮甾酮 <sup>#</sup>	ESI <sup>+</sup>	11.52	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O <sub>7</sub>	481.313 0	481.316 0	-6.28	—	①②③	甾体皂苷类
39	3,6'-二芥子酰基蔗糖 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	11.70	C <sub>34</sub> H <sub>42</sub> O <sub>19</sub>	753.222 1	753.223 7	-2.05	—	①②	糖类
40	水杨酸	ESI <sup>-</sup>	11.82	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	137.023 9	137.023 3	4.23	<b>93.035 0</b>	①②	有机酸类
41	山茱萸新苷	ESI <sup>-</sup>	11.93	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	541.153 7	541.155 2	-2.76	379.104 7, 347.077 9, 277.072 8, 195.066 8, <b>169.015 0</b>	①②	双环烯醚萜苷类
42	aquilarone B	ESI <sup>+</sup>	11.96	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	319.115 9	319.117 6	-5.44	<b>301.106 8</b> , 283.096 3, 255.101 4	①②	色原酮类
43	壬二酸	ESI <sup>-</sup>	12.08	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	187.097 1	187.096 5	3.50	169.087 6, 143.108 4, <b>125.098 1</b>	①②	有机酸类
44	甘草苷 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	13.13	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	417.116 8	417.118 0	-2.85	<b>255.066 9</b> , 153.020 0, 135.009 1, 119.050 8, 91.019 4	①②	黄酮类
45	白术内酯Ⅲ	ESI <sup>+</sup>	13.39	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	249.147 3	249.148 5	-4.82	<b>231.138 0</b> , 213.127 5, 189.127 3, 163.075 4, 119.085 5, 105.069 8	①②	内酯类
46	甘草苷异构体	ESI <sup>-</sup>	13.42	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	417.116 6	417.118 0	-3.28	<b>255.068 1</b> , 153.020 0, 135.009 7, 119.050 8, 91.019 4	①②	黄酮类
47	毛蕊异黄酮 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	14.14	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.059 6	283.060 1	-1.77	<b>268.039 3</b> , 240.043 9, 224.048 7, 211.040 9, 195.045 9, 184.053 7, 148.017 3, 120.022 3	①②	黄酮类
48	小檗碱 <sup>#</sup>	ESI <sup>+</sup>	15.08	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>4</sub>	336.121 1	336.123 0	-5.79	—	①②③	生物碱类
49	淫羊藿苷 <sup>#</sup>	ESI <sup>+</sup>	15.58	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> O <sub>15</sub>	677.239 8	677.244 0	-6.18	—	①②③	黄酮类
50	细叶远志皂苷 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	16.32	C <sub>36</sub> H <sub>56</sub> O <sub>12</sub>	679.367 3	679.368 8	-2.29	—	①②③	三萜皂苷类
51	9,10,13-三羟基-11-十八碳烯酸或其同分异构体	ESI <sup>-</sup>	16.42	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	329.232 4	329.232 3	0.33	311.224 7, 293.213 9, <b>229.146 2</b> , 211.135 6, 201.114 3, 171.104 2	①②	有机酸类
52	甘草素	ESI <sup>-</sup>	16.59	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	255.065 4	255.065 2	0.72	<b>135.009 2</b> , 119.050 6, 91.019 2	①②	黄酮类
53	刺芒柄花素	ESI <sup>-</sup>	16.90	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	267.064 8	267.065 2	-1.48	<b>252.044 4</b> , 223.041 1, 208.053 9, 195.046 0, 135.009 5, 132.022 4	①②③	黄酮类
54	qinanone G	ESI <sup>+</sup>	17.12	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>	327.121 2	327.122 7	-4.53	<b>221.080 9</b> , 205.049 6, 107.049 0	①②	色原酮类
55	甘草酸 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	17.19	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub>	821.299 1	821.395 4	-2.90	—	①②	三萜类
56	甘草宁 C	ESI <sup>-</sup>	17.35	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>	337.106 1	337.107 1	-2.70	<b>282.054 3</b> , 253.050 9, 267.030 1, 238.063 9, 209.061 2	①②	酚类
57	丹皮酚 <sup>#</sup>	ESI <sup>+</sup>	17.90	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	167.069 6	167.070 3	-4.31	<b>149.059 6</b> , 125.059 6, 111.091 5	①②③	黄酮类
58	7-hydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-chromen-4-one or isomer	ESI <sup>-</sup>	18.17	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	267.064 8	267.065 2	-1.48	<b>252.044 4</b>	①②	色原酮类
59	淫羊藿次苷 II	ESI <sup>-</sup>	18.79	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>10</sub>	513.174 4	513.175 5	-2.23	<b>366.112 1</b> , 351.089 4, 323.093 8	①②	黄酮类
60	甘草香豆素	ESI <sup>-</sup>	19.23	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>	367.116 7	367.117 6	-2.49	352.096 6, <b>309.041 3</b> , 281.046 9, 265.051 5	①②	香豆素类
61	diepoxylinoleic acid	ESI <sup>-</sup>	19.51	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	311.221 2	311.221 7	-1.59	293.214 0, 275.203 1, <b>223.171 9</b>	①②	有机酸类
62	7-hydroxy-2-(2-phenylethyl) chromone	ESI <sup>+</sup>	19.70	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	267.100 3	267.101 6	-4.83	<b>176.046 6</b> , 137.023 2	①②	色原酮类
63	6,7-dimethoxy-2-(2-phenylethyl) chromone	ESI <sup>+</sup>	20.02	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	311.127 0	311.127 8	-2.59	<b>220.073 4</b> , 205.049 8, 177.054 9	①②	色原酮类
64	甘草查尔酮 A	ESI <sup>-</sup>	20.20	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	337.142 7	337.143 4	-2.09	322.121 4, 309.113 5, <b>305.119 5</b> , 268.075 0, 243.103 7, 229.087 5, 217.123 9, 120.022 1	①②	黄酮类
65	甘草酚	ESI <sup>-</sup>	20.49	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	365.101 1	365.102 0	-2.45	—	①②	香豆素类
66	大黄素 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	20.87	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	269.044 5	269.044 4	0.15	241.051 6, <b>225.057 0</b> , 197.061 6	①②③	蒽醌类
67	6-methoxy-2-[2-(4'-methoxyphenyl) ethyl] chromone	ESI <sup>+</sup>	21.47	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	311.126 3	311.127 8	-4.65	<b>190.062 6</b> , 121.064 9	①②	色原酮类
68	2-(2-phenylethyl) chromone	ESI <sup>+</sup>	21.82	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	251.105 3	251.106 7	-5.40	173.059 5, 160.051 7, 121.028 2, <b>91.054 0</b>	①②	色原酮类
69	6-methoxy-2-(2-phenylethyl) chromone	ESI <sup>+</sup>	21.93	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	281.115 6	281.117 2	-5.66	<b>190.062 3</b> , 151.038 8	①②	色原酮类

续表 1

编号	名称	电离模式	保留时间/min	分子式	实测值 <i>m/z</i>	理论值 <i>m/z</i>	误差 ( $\times 10^{-6}$ )	主要离子碎片 <i>m/z</i>	鉴定策略	类型
70	蛇床子素 <sup>#</sup>	ESI <sup>+</sup>	22.85	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	245.116 1	245.117 2	-4.61	189.054 6, 161.059 6, 131.049 1	①②③	香豆素类
71	异黄酮 A	ESI <sup>-</sup>	23.81	C <sub>25</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>	421.163 0	421.164 6	-3.67	366.112 2, 352.096 9, 323.056 8, 309.041 2, 297.041 2	①②	黄酮类
72	大黄素甲醚 <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	24.33	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.059 4	283.060 1	-2.61	—	①②③	萘醌类
73	23-乙酰泽泻醇 B <sup>#</sup>	ESI <sup>-</sup>	26.60	C <sub>32</sub> H <sub>50</sub> O <sub>5</sub>	513.356 3	513.357 5	-2.32	—	①②③	三萜类

注: #为经对照品比对的化合物, MS/MS 加粗峰表示基峰。①采用常规方法制备供试品溶液, 进行高分辨质谱数据依赖性采集; ②采用极性分段方法制备供试品溶液, 进行高分辨质谱数据依赖性采集; ③进行 HPLC-QQQ-MS/MS 靶向成分采集。

表 2 HPLC-QQQ MS/MS 法所得至宝三鞭丸中化合物

Tab. 2 Compounds from Zhiabo Sanbian Pills by HPLC-QQQ MS/MS

编号	名称	电离模式	保留时间/min	分子式	离子对 <i>m/z</i>	CE 电压/eV	鉴定策略	类型
74	松脂醇二葡萄糖苷 <sup>**</sup>	ESI <sup>-</sup>	5.37	C <sub>32</sub> H <sub>42</sub> O <sub>16</sub>	681.5/519.4, 705.2/705.2	-20, -5	③	木脂素类
75	马钱苷 <sup>**</sup>	ESI <sup>-</sup>	5.66	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>10</sub>	389.3/227.3, 413.2/413.2	-15, -7	③	环烯醚萜类
76	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷 <sup>**</sup>	ESI <sup>+</sup>	7.32	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	595.2/287.2, 617.2/617.2	30, 8	③	黄酮类
77	人参皂苷 Re <sup>**</sup>	ESI <sup>+</sup>	8.53	C <sub>48</sub> H <sub>82</sub> O <sub>18</sub>	969.7/789.6	61	③	三萜皂苷类
78	人参皂苷 Rg1 <sup>**</sup>	ESI <sup>+</sup>	8.61	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>	823.2/643.3, 801.5/423.1	56, 22	③	三萜皂苷类
79	甘松新酮 <sup>**</sup>	ESI <sup>+</sup>	9.69	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	251.3/135.1, 251.3/177.3	15, 13	③	倍半萜类
80	人参皂苷 Rb1 <sup>**</sup>	ESI <sup>+</sup>	10.45	C <sub>54</sub> H <sub>92</sub> O <sub>23</sub>	131.7/789.3, 131.7/365.1	75, 75	③	三萜皂苷类
81	23-乙酰泽泻醇 C <sup>**</sup>	ESI <sup>+</sup>	10.6	C <sub>32</sub> H <sub>48</sub> O <sub>6</sub>	529.4/451.4, 529.4/469.4	32, 23	③	三萜类
82	黄芪甲苷 <sup>**</sup>	ESI <sup>+</sup>	11.18	C <sub>41</sub> H <sub>68</sub> O <sub>14</sub>	807.3/807.3, 785.5/143.1	6, 22	③	三萜皂苷类

注: \*为靶向离子对采集鉴定的化学成分, #为经过对照品比对确认的化学成分。①采用常规方法制备供试品溶液, 进行高分辨质谱数据依赖性采集; ②采用极性分段方法制备供试品溶液, 进行高分辨质谱数据依赖性采集; ③进行 HPLC-QQQ-MS/MS 靶向成分采集。

(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>)。化合物 **20** ( $t_R = 7.25$  min) 的一级质谱中可见准分子离子峰  $m/z$  167.034 3 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>O<sub>4</sub>, [M-H]<sup>-</sup>, 误差 2.30)。在二级质谱中的基峰离子  $m/z$  152.011 5 (C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>) 是丢失一分子 CH<sub>3</sub> (15 Da) 而来, 并可见丢失 CO<sub>2</sub> (44 Da) 的碎片离子  $m/z$  123.045 4 (C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>),  $m/z$  152 丢失 CO<sub>2</sub> (44 Da) 生成碎片离子  $m/z$  108.021 8 (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>), 推测化合物 **20** 含有一分子甲氧基、一分子羧基。根据分子式和不饱和度以及文献报道, 推测化合物 **9**、**20** 分别为 3, 4, 5-三羟基苯甲酸 (没食子酸)、3-甲氧基-4-羟基苯甲酸 (香草酸)。

化合物 **19** 在一级质谱中的准分子离子峰  $m/z$  179.034 4 (C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>O<sub>4</sub>, [M-H]<sup>-</sup>, 误差 3.10), 二级质谱中出现失去一分子 CO<sub>2</sub> 生成的  $m/z$  135.045 8 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>) 基峰离子, 并可见  $m/z$  135 失去一分子 CO 生成的碎片离子  $m/z$  107.050 8 (C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O)。根据文献 [8-9] 报道, 推测化合物 **19** 为 3, 4-二羟基肉桂酸 (咖啡酸)。

化合物 **21** ( $t_R = 7.8$  min) 在一级质谱中的准分子离子峰  $m/z$  337.090 9 (C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>, [M-H]<sup>-</sup>, 误差 -2.71)。在二级质谱中  $m/z$  191.056 5, 173.045 9, 155.035 3 的碎片离子与奎宁酸片段碎片离子一致, 同时可见碎片离子  $m/z$  163.040 5, 119.050 5, 该部分与咖啡酸基团相差一个氧, 推测为对香豆酰奎宁酸 (pCoQA) 片段。根据文献

[8-9] 报道, 推断化合物 **21** 为对香豆酰基奎宁酸。

化合物 **17** ( $t_R = 6.47$  min) 在一级质谱中的准分子离子峰  $m/z$  353.086 1 (C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>O<sub>9</sub>, [M-H]<sup>-</sup>, 误差 -1.75)。在二级质谱中可明显看到基峰信号  $m/z$  191.057 3 (C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O<sub>6</sub>), 这是丢失咖啡酰基团后的奎宁酸基团, 进一步失去 H<sub>2</sub>O, 生成脱水奎宁酸基团碎片离子  $m/z$  173.046 3 (C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>O<sub>5</sub>)。二级质谱中同时可见质量数为  $m/z$  179.035 9 (C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>O<sub>4</sub>) 的咖啡酸基团,  $m/z$  179 失去一分子 CO<sub>2</sub> 生成  $m/z$  135.045 9 (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>) 的脱羧基咖啡酸基团碎片离子。化合物 **18** 的准分子离子和碎片离子与化合物 **17** 一致, 根据文献 [10-11] 报道, 推测化合物 **17**~**18** 分别为新绿原酸、隐绿原酸。

3.2 香豆素类 化合物 **60** ( $t_R = 19.23$  min) 在一级质谱中的准分子离子峰  $m/z$  367.116 7 (C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>O<sub>6</sub>, [M-H]<sup>-</sup>, 误差 -2.49)。二级质谱中可见碎片离子  $m/z$  352.096 6 (C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>), 与 [M-H]<sup>-</sup> 对比发现是由于甲氧基断裂失去一分子 CH<sub>3</sub> 生成, 碎片离子  $m/z$  309.041 3 (C<sub>17</sub>H<sub>9</sub>O<sub>6</sub>) 的丰度最高, 是同时失去 CH<sub>3</sub> 和 C<sub>3</sub>H<sub>7</sub> 而来, 其中 C<sub>3</sub>H<sub>7</sub> 来自异戊烯基链。三级质谱中可见中性小分子碎片 (CO、CO<sub>2</sub>) 的丢失, 由  $m/z$  309 生成的碎片离子  $m/z$  281.046 9 (C<sub>16</sub>H<sub>9</sub>O<sub>5</sub>)、 $m/z$  265.051 5 (C<sub>16</sub>H<sub>9</sub>O<sub>4</sub>) 分别是丢失一分子 CO、CO<sub>2</sub>。根据文献 [12] 报道, 推测化合物 **60** 为甘草香豆素。

3.3 环烯醚萜类 化合物 **13** ( $t_R=4.5$  min) 在一级质谱中的准分子离子峰  $m/z$  373.111 9 ( $C_{16}H_{21}O_{10}$ ,  $[M-H]^-$ , 误差-2.88), 二级质谱中可检测到糖苷键断裂失去一分子葡萄糖 ( $C_6H_{10}O_5$ , 162 Da) 生成的离子  $m/z$  211.061 8 ( $C_{10}H_{11}O_5$ ), 碎片离子  $m/z$  355.103 4 ( $C_{16}H_{19}O_9$ )、 $m/z$  329.124 5 ( $C_{15}H_{21}O_8$ ) 是  $[M-H]^-$  中性丢失  $H_2O$  (18 Da)、 $CO_2$  (44 Da) 而生成的, 还可检测到碎片离子  $m/z$  193.050 8 ( $C_{10}H_9O_4$ ), 167.071 9 ( $C_9H_{11}O_3$ ), 149.061 3 ( $C_9H_9O_2$ ), 分别是  $m/z$  211 失去  $H_2O$ 、 $CO_2$ 、 $H_2O$ 、 $CO_2$  得到。失去葡萄糖基的  $m/z$  211 离子发生半缩醛结构异构化, 导致二氢吡喃环开裂, 形成含有 2 个醛基结构的异构体,  $C_5-C_4$  键断裂失去  $C_3H_4O_3$  (88 Da) 产生丰度很高的离子  $m/z$  123.045 6 ( $C_7H_7O_2$ )。根据文献 [13] 报道, 推测化合物 **13** 为京尼平苷酸。

3.4 苯乙醇苷类 化合物 **32**、**36** 分别在保留时间 10.76、11.32 min 处出现准分子离子峰  $m/z$

623.194 0 ( $C_{29}H_{35}O_{15}$ ,  $[M-H]^-$ , 误差-4.94)、 $m/z$  623.194 2 ( $C_{29}H_{35}O_{15}$ ,  $[M-H]^-$ , 误差-4.55)。化合物 **32** 二级质谱 (图 2) 中出现丰度最高的碎片离子  $m/z$  461.167 9 ( $C_{20}H_{29}O_{12}$ ) 是由酯键断裂失去一分子咖啡酰基 ( $C_9H_6O_3$ , 162 Da) 生成, 同时可见糖苷键断裂失去一分子鼠李糖 ( $C_6H_{10}O_4$ , 146 Da) 产生的碎片离子  $m/z$  477.140 7 ( $C_{23}H_{25}O_{11}$ ), 失去一分子 3, 4 二羟基苯乙基 ( $C_8H_8O_2$ , 136 Da) 而生成的碎片离子  $m/z$  487.146 4 ( $C_{21}H_{27}O_{13}$ ), 以及糖苷键断裂后的咖啡酰氧基部分的碎片离子  $m/z$  179.035 7 ( $C_9H_7O_4$ )。  $m/z$  461 失去一分子  $H_2O$  (18 Da) 生成碎片离子  $m/z$  443.157 3 ( $C_{20}H_{27}O_{11}$ ), 再失去一分子鼠李糖生成碎片离子  $m/z$  315.109 6 ( $C_{14}H_{19}O_8$ ), 最后失去一分子  $H_2O$  生成碎片离子  $m/z$  297.098 7 ( $C_{14}H_{17}O_7$ )。根据文献 [14] 报道, 推测化合物 **32**、**36** 为毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷。

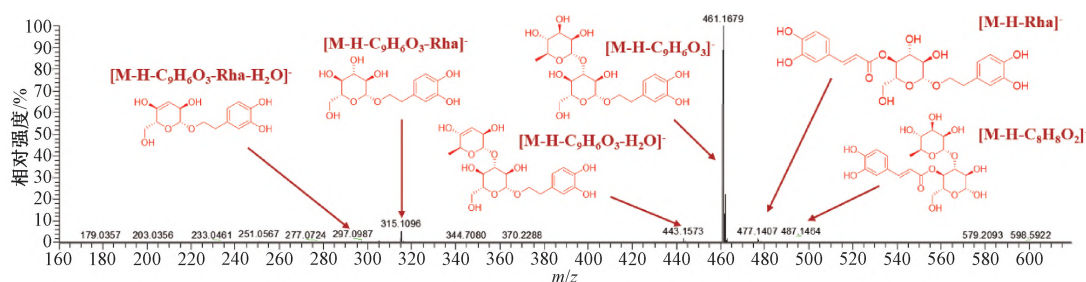


图 2 化合物 **32** 在负离子模式下的  $MS^2$  质谱图

Fig. 2  $MS^2$  mass spectrogram of compound **32** in negative ion mode

3.5 黄酮类 化合物 **27** ( $t_R=9.98$  min) 一级质谱中的准分子离子峰  $m/z$  431.095 9 ( $C_{21}H_{19}O_{10}$ ,  $[M-H]^-$ , 误差-3.14), 二级质谱中可见  $m/z$  341.067 5 ( $C_{18}H_{13}O_7$ ,  $[M-H-C_3H_6O_3]^-$ ),  $m/z$  311.056 5 ( $C_{17}H_{11}O_{16}$ ,  $[M-H-C_4H_8O_4]^-$ ) 的碎片离子, 符合黄酮六碳糖苷糖基部分 C-3 位开裂丢失  $C_3H_6O_3$  (90 Da)、六碳糖 C-2 位开裂丢失  $C_4H_8O_4$  (120 Da) 特征碎片峰的规则, 推测其分子结构中连有 1 个六碳糖。根据文献 [15] 报道, 推测化合物 **27** 为牡荆素。

化合物 **47** 经对照品指认确定为毛蕊异黄酮, 正负离子模式下响应均很高。在负离子模式下保留时间为 14.14 min 的一级质谱中准分子离子峰  $m/z$  283.059 6 ( $C_{16}H_{11}O_5$ ,  $[M-H]^-$ , 误差-1.77), 二级质谱中出现由于甲氧键断裂丢失一分子  $CH_3$  (15 Da) 产生的二级碎片离子  $m/z$  268.039 3

( $C_{15}H_8O_5$ ), 三级质谱中出现由碎片离子  $m/z$  268 失去一分子  $CO$  而生成的基峰离子  $m/z$  240.043 9 ( $C_{14}H_8O_4$ ), 同时可见碎片离子  $m/z$  224.048 7 ( $C_{14}H_8O_3$ ), 211.040 9 ( $C_{13}H_7O_3$ ), 195.045 9 ( $C_{13}H_7O_2$ ), 184.053 7 ( $C_{12}H_8O_2$ ), 均是由分子量为  $m/z$  268 的离子失去  $CO$ 、 $CO_2$  中性小分子而生成。C 环发生 0/3 裂解, $^{0,3}A^-$  部分生成碎片离子  $m/z$  120.022 3 ( $C_7H_4O_2$ ),  $^{0,3}B^-$  部分生成碎片离子  $m/z$  148.017 3 ( $C_8H_4O_3$ )。根据文献 [16] 报道, 推测化合物 **47** 为毛蕊异黄酮。

化合物 **44** ( $t_R=13.13$  min) 一级质谱中的准分子离子峰  $m/z$  417.116 8 ( $C_{21}H_{21}O_9$ ,  $[M-H]^-$ , 误差-2.85)。糖苷键断裂失去葡萄糖基生成苷元  $m/z$  255.066 9 ( $C_{15}H_{11}O_4$ )。苷元 C 环发生逆狄尔斯-阿尔德 (RDA) 裂解后产生的碎片离子与甘草素碎片离子  $m/z$  153.020 0,  $m/z$  135.009 1,  $m/z$



119.050 8,  $m/z$  91.019 4 一致。根据文献 [17] 报道, 推测化合物 **44** 为甘草苷。

化合物 **52** ( $t_R = 16.59$  min) 一级质谱中出现分子量为  $m/z$  255.065 4 ( $C_{15}H_{11}O_4$ ,  $[M-H]^-$ , 误差 0.72) 的准分子离子峰, 二级质谱中出现由 RDA 裂解 $^{1,3}A^-$  部分生成的碎片离子  $m/z$  135.009 2 ( $C_7H_3O_3$ ), 同时可见 $^{1,3}B^-$  部分生成的碎片离子  $m/z$  119.050 6 ( $C_8H_7O$ )。碎片离子  $m/z$  135 失去一分子  $CO_2$ , 生成离子  $m/z$  91.019 2 ( $C_6H_3O$ )。根据文献 [17] 报道, 推测化合物 **52** 为甘草素。

3.6 萜醌类 化合物 **66** ( $t_R = 20.87$  min) 一级质谱中的准分子离子峰  $m/z$  269.044 5 ( $C_{15}H_9O_3$ ,  $[M-H]^-$ , 误差 0.15), 二级质谱中出现由于丢失一分子  $CO_2$  (44 Da) 产生的二级碎片离子  $m/z$  225.057 0 ( $C_{14}H_9O_3$ ), 同时可见由  $[M-H]^-$  失去

一分子  $CO$  而生成的碎片离子  $m/z$  241.051 6 ( $C_{14}H_9O_4$ ), 以及  $m/z$  225.057 0 失去一分子  $CO$  而生成的碎片离子  $m/z$  197.061 6 ( $C_{13}H_9O_2$ )。查阅相关文献及与对照品比对, 确定化合物 **66** 为大黄素。

3.7 内酯类 化合物 **45** ( $t_R = 13.39$  min) 一级质谱中的准分子离子峰  $m/z$  249.147 3 ( $C_{15}H_{21}O_3$ ,  $[M+H]^+$ , 误差 -4.82), 二级质谱 (图 3) 中可见由于丢失一分子  $H_2O$  (18 Da) 分子量为  $m/z$  231.138 0 ( $C_{15}H_{19}O_2$ ) 的基峰离子,  $m/z$  231.138 0 失去一分子  $H_2O$  生成碎片离子  $m/z$  213.127 5 ( $C_{15}H_{17}O$ ),  $[M+H]^+$  失去  $C_2H_4O_2$  生成碎片离子  $m/z$  189.127 3 ( $C_{13}H_{17}O$ )。根据文献 [18] 报道, 推测化合物 **45** 为白术内酯 III。

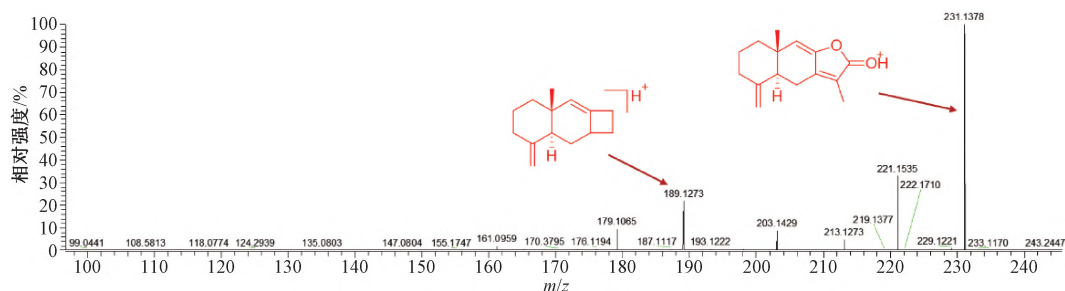


图 3 化合物 **45** 在正离子模式下的  $MS^2$  质谱图

Fig. 3  $MS^2$  mass spectrogram of compound **45** in positive ion mode

#### 4 讨论与结论

针对至宝三鞭丸化学组成复杂而微量的特点, 本研究建立了一种综合的化学成分鉴定策略, 包含不同极性分段供试品制备技术、高分辨质谱数据依赖性采集、靶向成分采集等, 可分别鉴定在质谱中离子碎片信息较少、信息中等及信息丰富等不同的化学成分。目前, 靶向采集的筛选策略已用于高通量、高灵敏性的代谢性小分子的组学研究中<sup>[19]</sup>, 利用三重四极杆质谱灵敏度高的优势, 可对复方中低丰度的化合物进行鉴定。结果, 共鉴定出黄酮类、萜类及皂苷类、有机酸类、色原酮类、苯乙醇苷类、酚类、香豆素类、生物碱类、萜醌类、木脂素类、内酯类等十余种结构类型的 82 个化合物, 覆盖了至宝三鞭丸中大多数药味的化学成分。

课题组前期已综合利用 HPLC 指纹图谱、HPLC-MS/MS 等对 16 批至宝三鞭丸进行分析, 建立了同时测定 34 种成分含量的方法, 评价一致性及中药制剂-血浆-脑组织-脑脊液的转移分析, 结合本研究的定性结果可进一步筛选其“制剂质量标

志物”<sup>[20-21]</sup>, 这是针对大复方中药丸剂筛选剂质量控制指标的一种尝试。

综上所述, 本实验为至宝三鞭丸“制剂质量标志物”<sup>[22-24]</sup> 筛选提供了初步数据, 为进一步开展该制剂全面质量控制、药效机制研究提供了有力支撑, 同时为其他中药丸剂物质基础研究提供了参考。

#### 参考文献:

- [1] 危北海. 至宝三鞭丸的临床应用及药理作用[J]. 山东中医杂志, 1987, 6(3): 31-33.
- [2] 王 龙. 至宝三鞭丸的抗疲劳、抗衰老及性激素样作用[J]. 中成药研究, 1985, 8(5): 28.
- [3] 乔学壮, 刘竹丽, 陈克忠, 等. 至宝三鞭丸治疗神经衰弱 150 例临床观察与疗效分析[J]. 中成药, 1994, 17(3): 26-27.
- [4] 包国荣, 杨荣辰, 刘剑昌, 等. 至宝三鞭丸治疗勃起功能障碍的疗效观察[J]. 中国医疗前沿, 2007, 2(23): 70-71.
- [5] 郭溢源, 周惠耕. 至宝三鞭丸对不育男性睾酮、黄体生成素、卵泡刺激素水平的影响[J]. 中国临床康复, 2004, 8



- (32): 7196.
- [ 6 ] 王 莹, 杜 静. 液质联用技术在中药复方研究中的应用 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2015, 25(8): 799-800.
- [ 7 ] Zhao W J, Shang Z P, Li Q Q, *et al.* Rapid screening and identification of daidzein metabolites in rats based on UHPLC-LTQ-Orbitrap mass spectrometry coupled with data-mining technologies[J]. *Molecules*, 2018, 23(1): 151.
- [ 8 ] Parveen I, Threadgill M D, Hauck B, *et al.* Isolation, identification and quantitation of hydroxycinnamic acid conjugates, potential platform chemicals, in the leaves and stems of *Miscanthus × giganteus* using LC-ESI-MS<sup>n</sup> [ J ]. *Phytochemistry*, 2011, 72(18): 2376-2384.
- [ 9 ] 李 云. 基于 LC-HR-MS<sup>n</sup> 的小儿清解颗粒成分分析与体内代谢研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [ 10 ] Fang N B, Yu S G, Prior R L. LC/MS/MS characterization of phenolic constituents in dried plums[J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(12): 3579-3585.
- [ 11 ] Clifford M N, Wu W G, Kirkpatrick J, *et al.* Profiling the chlorogenic acids and other caffeic acid derivatives of herbal chrysanthemum by LC-MS<sup>n</sup> [ J ]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(3): 929-936.
- [ 12 ] Qiao X, Liu C F, Ji S, *et al.* Simultaneous determination of five minor coumarins and flavonoids in *Glycyrrhiza uralensis* by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Planta Med*, 2014, 80(2-3): 237-242.
- [ 13 ] Li C M, Zhang X L, Xue X Y, *et al.* Structural characterization of iridoid glucosides by ultra-performance liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22(12): 1941-1954.
- [ 14 ] Su D, Li W, Xu Q M, *et al.* New metabolites of acteoside identified by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight MS<sup>E</sup> in rat plasma, urine, and feces [J]. *Fitoterapia*, 2016, 112: 45-55.
- [ 15 ] 高文雅. 经典名方清心莲子饮物质基础及其干预糖尿病肾病模型疗效评价研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2021.
- [ 16 ] Luo L, Gao W, Zhang Y, *et al.* Integrated phytochemical analysis based on uplc-ms and network pharmacology approaches to explore the quality control markers for the quality assessment of *Trifolium pratense* L[J]. *Molecules*, 2020, 25(17): 3787.
- [ 17 ] Gao W Y, Si N, Li M L, *et al.* The integrated study on the chemical profiling and *in vivo* course to explore the bioactive constituents and potential targets of Chinese classical formula Qingxin Lianzi Yin Decoction by UHPLC-MS and network pharmacology approaches [ J ]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 272: 113917.
- [ 18 ] 孟永海, 马智超, 张振朋, 等. 基于 UPLC/Q-TOF-MS 分析白术炮制前后差异性成分[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(4): 145-153.
- [ 19 ] Wei R, Li G D, Seymour A B. High-throughput and multiplexed LC/MS/MS method for targeted metabolomics [J]. *Anal Chem*, 2010, 82(13): 5527-5533.
- [ 20 ] 王官连, 张咏梅, 高文雅, 等. 基于高效液相色谱指纹图谱和化学模式识别的至宝三鞭丸质量一致性评价[J]. 中南海药, 2022, 20(10): 2403-2408.
- [ 21 ] 李 涛, 赵小亮, 高文雅, 等. 至宝三鞭丸的定量“制剂质量标志物”研究 [J]. 药科学报, 2023, 58(7): 1770-1779.
- [ 22 ] 李 涛, 赵小亮, 沈 硕, 等. 黄连汤的定量“制剂质量标志物”研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(11): 2728-2736.
- [ 23 ] 杜茂波, 李 涛, 沈 硕, 等. 黄连汤的定性“制剂质量标志物”筛选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(4): 101-109.
- [ 24 ] 冉庆森, 穆 婧, 李 涛, 等. 黄连汤的抗炎活性“制剂质量标志物”研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(11): 2947-2954.