HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 法鉴定森登-4 味涂剂中化学成分

李胜男[1]，李君[2]，解红娟[1]，郑存志[3]，刘智轩[3]，梁鱼[3]，周枫叶[4]，周秀芳[4*]

1. 内蒙古医科大学附属医院 内分泌科，内蒙古 呼和浩特　010110
2. 内蒙古医科大学 药学院，内蒙古 呼和浩特　010110
3. 内蒙古医科大学 基础医学院，内蒙古 呼和浩特　010110
4. 内蒙古医科大学附属医院 药学部，内蒙古 呼和浩特　010110

摘　要：目的　采用高效液相色谱－四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱（HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS）法鉴定森登-4 味涂剂中化学成分。**方法**　色谱条件：Shim-pack GIST-HP C_{18} 色谱柱（150 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈－0.1%甲酸水溶液，梯度洗脱，体积流量 0.35 mL/min，柱温为 40 ℃，进样量为 5 μL。质谱条件：检测方式 Full MS/dd-MS^2，扫描范围 *m*/*z* 110～1 200。电喷雾离子源（ESI），正、负离子模式扫描，喷雾电压 4.20 kV（+）、3.80 kV（−），碰撞能量（CE）30 eV。通过全方化学成分信息库，结合多级质谱碎片信息、对照品保留时间，鉴定森登-4 味涂剂中化学成分。**结果**　在森登-4 味涂剂中共鉴定出 60 个成分，包括 16 个黄酮类成分、13 个有机酸类成分、11 个环烯醚萜类成分、10 个鞣质类成分、4 个氨基酸类成分、4 个脂肪酸类成分、2 个三萜类成分，并考察了山栀苷、槲皮素、阿魏酸、克里拉京、齐墩果酸、脯氨酸、亚油酸的 MS^2 图和可能的裂解途径。**结论**　对森登-4 味涂剂中化学成分进行了快速、准确的鉴定，为其质量标准建立、药效物质挖掘和作用机制研究提供了实验基础。

关键词：森登-4 味涂剂；高效液相色谱－四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱；山栀苷；槲皮素；阿魏酸；克里拉京

中图分类号：R286.02　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1674 - 5515(2023)04 - 0811 - 09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.04.009

Identification of chemical components in Sendeng-4 Pigmentum by HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS

LI Sheng-nan[1], LI Jun[2], XIE Hong-juan[1], ZHENG Cun-zhi[3], LIU Zhi-xuan[3], LIANG Yu[3], ZHOU Feng-ye[4], ZHOU Xiu-fang[4]

1. Department of Endocrinology, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China
2. College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China
3. College of Basic Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China
4. Department of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China

Abstract: Objective　To identify the chemical components in Sendeng-4 Pigmentum by HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS. **Methods** Chromatographic conditions: Shim-pack GIST-HP C_{18} column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) was employed with the mobile phase of acetonitrile - 0.1% formic acid solution for gradient elution. The flow rate was 0.35 mL/min, the column temperature was set at 40 ℃, and the volume of sample injection was 5 μL. Mass spectrometry conditions: Detection method: Full MS/dd MS^2, scanning range *m*/*z* 110 — 1 200. Electrospray ionization (ESI) was applied for scanning positive and negative ion mode scanning with spray voltage 4.20 kV (+) and 3.80 kV (−), and collision energy was 30 eV. Comprehensive chemical composition information database, combined with multi-level mass spectrometry fragment information and reference substance retention time were used to identify the chemical components in Sendeng-4 Pigmentum. **Results**　A total of 60 components were identified in Sendeng-4 Pigmentum, including 16 flavonoids, 13 organic acids, 11 iridoids, 10 tannins, 4 amino acids, 4 fatty acids, and 2 triterpenes. MS^2 and possible fragmentation

收稿日期：2022-11-15

基金项目：内蒙古自治区自然科学基金资助项目（2022LHQN08001）；内蒙古医科大学联合项目（YKD2022LH031）；内蒙古医科大学实验室开放基金项目（2022ZN15，2022ZN16）；内蒙古医科大学大学生创新创业训练计划项目（202210132052）

作者简介：李胜男（1984—），女，主管护师，本科，研究方向为糖尿病皮肤溃疡临床治疗。E-mail: hhlsn2008@163.com

***通信作者：**周秀芳（1965—），女，主任药师，从事中蒙药新剂型开发研究。E-mail: 119351860@qq.com

pathway of shanzhiside, quercetin, ferulic acid, corilagin, oleanolic acid, proline, and linoleic acid were investigated. **Conclusion** Chemical components in Sendeng-4 Pigmentum were quickly and accurately identified, providing an experimental basis for the establishment of its quality standards, the exploration of pharmacological substances, and its mechanism of action.

Key words: Sendeng-4 Pigmentum; HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS; shanzhiside; quercetin; ferulic acid; corilagin

森登-4味涂剂由蒙药经典复方森登-4味汤演变而来，由文冠木、川楝子、栀子、诃子 4 味药材组成，收载于《中华人民共和国卫生部药品标准：蒙药分册》[1]，用于类风湿性关节炎的治疗。随着对该方剂研究的不断深入，有学者研究发现，其作用于皮肤具有消炎抗菌、收敛舒敏、润肤止痒作用[2]。本研究前期证实，森登-4 味涂剂在链脲佐菌素诱导的高血糖溃疡模型中能够显著提高溃疡创面愈合率，并能促进创面血管、胶原蛋白的生成。虽然其疗效得到了一定的确证，然而，目前针对森登-4 味的研究主要集中于质量标准建立、药效学评价以及作用机制研究[3-5]。传统复方制剂药效的发挥具有多成分、多靶点、整体性的作用特点，因此阐明其药效物质基础，明确其化学物质组成是重要前提。高效液相色谱－四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱（HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS）技术具有高分辨、高灵敏的定性能力和强大的结构表征能力，广泛应用于复方制剂中化学成分筛查和定性分析[6]。因此，在系统文献研究和数据库建立的基础上，本研究依靠 HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术，根据色谱峰保留时间、多级质谱碎片等信息对森登-4 味涂剂中化学成分进行快速在线分离和鉴定，同时采用 Xcalibur 3.0 软件对部分化学成分的裂解规律进行解析，以期为今后森登-4 味制剂的质量标准建立、作用机制探究提供参考。

1 仪器与材料

HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 高效液相色谱－质谱联用系统：Ultimate 3000 型色谱仪、Q Exactive 型高分辨质谱仪（赛默飞世尔科技中国有限公司）；AP135W 型十万分之一电子天平（日本岛津公司）；KH-500DV 型数控超声波清洗器（昆山禾创超声有限公司）；R100-PRO 型旋转蒸发仪（大龙兴创实验仪器股份公司）。

川楝素（批号 111824-201804，质量分数≥96.9%）、没食子酸（批号 110831-201605，质量分数≥98.8%）、栀子苷（批号 110749-201718，质量分数≥97.6%）、山柰酚（批号 110861-202013，质量分数≥98.0%）、鞣花酸（批号 111959-201903，质量分数≥88.8）、槲皮素（批号 100081-201810，质量分数≥99.1%）、阿魏酸（批号 110773-201914，质量分数≥99.0%）、芦丁（批号 21020402，质量分数≥98.0%）对照品均购自中国食品药品检定研究院；杨梅素（批号 DSTDY010301，质量分数≥98.0%）、表儿茶素（批号 DSTDB003501，质量分数≥98.0%）、二氢杨梅素（批号 DSTDE001201，质量分数≥98.0%）、儿茶素（批号 DSTDE000101，质量分数≥98.0%）、柯里拉京（批号 DST190113-012，质量分数≥98.2%）、木犀草素（DSTDM003201，质量分数≥98.0%）、齐墩果酸（批号 DSTDQ005101，质量分数≥98.0%）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，水为屈臣氏蒸馏水。

森登-4 味涂剂为课题组自制，按森登-4 味处方比例称取各药材合计约 90.00 g，置于圆底烧瓶中，按 8 倍量比例加入 60%乙醇溶液 720 mL，于电热套加热提取 1.0 h，提取 2 次，合并 2 次滤液，置于旋转蒸发仪回收溶剂，取浓缩液加灭菌水、冰片、酒精适量，即得。

2 方法与结果

2.1 色谱-质谱条件

色谱条件：Shim-pack GIST-HP C_{18} 色谱柱（150 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈（A）－0.1%甲酸水溶液（B），梯度洗脱（0～5 min，5% A；5～13 min，5%→25% A；13～18 min，25%→60% A；18～24 min，60%→75% A；24～35 min，75%～95% A；35～40 min，95% A），体积流量 0.35 mL/min，柱温为 40 ℃，进样量为 5 μL。

质谱条件：检测方式 Full MS/dd-MS^2，Full MS 分辨率 70 000，dd-MS^2 分辨率 17 500，扫描范围 *m*/*z* 110～1 200。电喷雾离子源（ESI），正、负离子模式扫描，喷雾电压 4.20 kV（+）、3.80 kV（−），离子传输管温度 300 ℃（+）、400 ℃（−），辅助气温度 200 ℃（+）、100 ℃（−）；辅助气体积流量 30 L/min，碰撞能量（CE）30 eV。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备 取森登-4 味涂剂 2.0 mL 于 10 mL 量瓶中，加甲醇适量，超声 10 min，冷却至室温，加甲醇至刻度，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，

即得。

2.2.2　对照品溶液的制备　精密称取柯里拉京、杨梅素、儿茶素、阿魏酸、表儿茶素、川楝素、栀子苷、齐墩果酸、鞣花酸、山柰酚、芦丁、没食子酸、槲皮素、二氢杨梅素、木犀草素对照品适量，分别置于 10 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，得上述 15 种成分的单一对照品贮备液，质量浓度分别为 191.00、243.00、304.00、227.00、315.00、246.00、218.00、245.00、236.00、201.00、263.00、237.00、255.00、228.00、292.00 μg/mL，分别精密移取上述各单一对照品贮备液 100 μL，分别置于 10 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，配制上述 15 种成分质量浓度分别为 1.91、2.43、3.04、2.27、3.15、2.46、2.18、2.45、2.36、2.01、2.63、2.37、2.55、2.28、2.92 μg/mL 的单一对照品稀释溶液，于 4 ℃保存，备用。

2.3　成分鉴定

对森登-4 味涂剂供试品溶液进行 HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 检测分析，获得森登-4 味涂剂供试品溶液在正、负离子模式下的总离子流图，利用中国知网、万方、PubMed、中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP）检索森登-4 味涂剂组方中文冠木、川楝子、栀子、诃子各单味药所含成分名称、分子式、多级质谱碎片等信息，将检索所得信息进行整理、汇总，建立森登-4 味涂剂全方化学成分信息库，采用 Xcalibur 3.0 软件进行数据处理，以实际测得相对分子质量与理论相对分子质量偏差小于 10×10^{-6} 为原则拟合分子式，同时结合多级质谱碎片信息、对照品保留时间，鉴别出森登-4 味涂剂中化学成分，结果在森登-4 味涂剂中共鉴定出 60 个成分，包括 16 个黄酮类成分、13 个有机酸类成分、11 个环烯醚萜类成分、10 个鞣质类成分、4 个氨基酸类成分、4 个脂肪酸类成分、2 个三萜类成分，其中有 15 个成分通过与对照品比较得到进一步的确证，结果见表 1，总离子流图见图 1。

表 1　森登-4 味涂剂中化学成分的 HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 鉴定

Table 1　Identification of chemical compositions in Sengdeng-4 Pigmentum by HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS

序号	名称	*t*/min	分子式	离子模式	分子离子峰		误差	碎片	类型
					理论值	实测值			
1	精氨酸[7-8]	1.37	$C_6H_{14}N_4O_2$	$[M-H]^-$	173.103 30	173.103 56	1.489	173.103 56, 131.081 50	氨基酸
2	黏酸[7]	1.41	$C_6H_{10}O_8$	$[M-H]^-$	209.029 19	209.029 19	2.901	209.029 80	有机酸
3	奎宁酸[9-10]	1.51	$C_7H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	191.055 01	191.055 47	2.384	191.055 47, 173.044 54, 147.028 78, 127.038 80	有机酸
4	脯氨酸[9-10]	1.57	$C_5H_9NO_2$	$[M+H]^+$	116.070 60	116.070 58	−0.216	116.070 58, 98.097 11, 70.065 65	氨基酸
5	天冬氨酸[7]	1.59	$C_4H_7NO_4$	$[M-H]^-$	132.029 13	132.029 08	−0.410	132.029 08, 73.942 51	氨基酸
6	莽草酸[7]	1.62	$C_7H_{10}O_5$	$[M-H]^-$	173.044 44	173.044 56	0.636	173.044 56, 93.033 27, 155.033 98, 137.023 28, 111.007 53	有机酸
7	柠檬酸[7]	1.69	$C_6H_8O_7$	$[M-H]^-$	191.018 62	191.019 13	2.632	191.019 13, 111.007 55, 173.008 24, 147.029 37	有机酸
8	缬氨酸[8]	1.71	$C_5H_{11}NO_2$	$[M+H]^+$	118.086 25	118.086 19	−0.522	118.086 19, 72.081 41	氨基酸
9	苹果酸[7]	1.73	$C_4H_6O_5$	$[M-H]^-$	133.01314	133.013 09	−0.449	133.013 09, 115.002 43	有机酸
10	诃子次酸[7,11]	2.06	$C_{14}H_{12}O_{11}$	$[M-H]^-$	355.029 58	355.029 36	−0.641	355.029 36, 337.020 63, 293.030 82, 275.021 58, 249.040 44, 205.050 17, 193.013 61, 311.040 77	鞣质
11	琥珀酸[12]	2.72	$C_4H_6O_4$	$[M-H]^-$	117.018 23	117.018 10	−1.155	117.01810	有机酸
12	没食子酰葡萄糖[7, 11]	2.95	$C_{13}H_{16}O_{10}$	$[M-H]^-$	331.065 97	331.067 50	4.612	331.067 50, 169.013 32, 125.023 41	鞣质

续表 1

序号	名称	*t*/min	分子式	离子模式	分子离子峰		误差	碎片	类型
					理论值	实测值			
13	没食子酸*[7]	3.36	$C_7H_6O_5$	$[M-H]^-$	169.013 14	169.013 31	0.948	169.013 31, 125.023 25	有机酸
14	诃子素[7,11]	3.87	$C_{13}H_{12}O_9$	$[M-H]^-$	311.039 75	311.041 41	5.310	311.041 41, 267.051 33	鞣质
15	山栀苷[10,13-15]	5.37	$C_{16}H_{24}O_{11}$	$[M-H]^-$	391.123 48	391.125 18	4.326	391.125 18, 229.071 56, 211.060 76, 185.081 24, 167.070 63, 149.05968	环烯醚萜
16	香草酸[12]	5.57	$C_8H_8O_4$	$[M-H]^-$	167.033 88	167.034 01	0.747	167.034 01, 123.043 97	有机酸
17	去乙酰车叶草苷酸甲酯[10,13-15]	5.59	$C_{17}H_{24}O_{11}$	$[M+COOH]^-$	449.128 96	449.128 63	−0.337	449.128 63	环烯醚萜
18	原儿茶酸[16]	7.07	$C_7H_6O_4$	$[M-H]^-$	153.018 23	153.018 30	−0.230	153.018 30, 109.028 28	有机酸
19	没食子酸丙酯[7]	8.38	$C_{10}H_{12}O_5$	$[M-H]^-$	211.060 09	211.060 73	2.985	211.060 73, 169.121 70	鞣质
20	羟异栀子苷[10,13-15]	8.72	$C_{17}H_{24}O_{11}$	$[M-H]^-$	403.123 48	403.123 02	−1.161	403.123 02, 241.071 79, 193.050 02, 127.038 93, 101.023 19	环烯醚萜
21	京尼平苷酸[9, 13-15]	9.52	$C_{16}H_{22}O_{10}$	$[M+H]^+$	373.112 92	373.115 20	6.102	373.115 20, 211.060 79, 167.034 06	环烯醚萜
22	去乙酰车叶草苷酸[10,13-15]	9.57	$C_{16}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	389.107 83	389.109 28	1.442	389.109 28	环烯醚萜
23	对羟基苯甲酸[17]	9.67	$C_7H_6O_3$	$[M-H]^-$	137.023 32	137.023 28	−0.296	137.023 28	有机酸
24	表没食子儿茶素[7]	9.92	$C_{15}H_{14}O_7$	$[M-H]^-$	305.065 57	305.066 89	4.297	305.066 89, 125.023 27	鞣质
25	鸡屎藤次苷甲酯[10, 13-15]	10.22	$C_{17}H_{24}O_{11}$	$[M-H]^-$	403.123 48	403.120 82	−2.668	403.120 82, 241.119 08, 179.070 47	环烯醚萜
26	儿茶素*[7]	10.46	$C_{15}H_{14}O_6$	$[M-H]^-$	289.070 66	289.072 24	5.450	289.072 24, 245.081 88, 205. 050 00, 179.028 22	黄酮
27	没食子酸甲酯[7]	10.53	$C_8H_8O_5$	$[M-H]^-$	183.028 79	183.029 21	2.241	183.029 21, 168.005 51, 124.015 33, 111.007 40	鞣质
28	绿原酸[9-10]	10.66	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	353.086 70	353.089 17	4.394	191.055 40, 179.034 12, 173.044 65, 135.04410	有机酸
29	柯里拉京*[7,9]	10.74	$C_{27}H_{22}O_{18}$	$[M-H]^-$	633.072 24	633.074 16	3.222	633.074 16, 463.052 67, 300.999 30, 169.013 28	鞣质
30	隐绿原酸[9-10]	10.78	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	353.086 70	353.088 26	2.281	353.088 26, 191.055 42, 179.034 15, 173.044 66	有机酸
31	京尼平-1-β-*D*-龙胆双糖苷[10,13-15]	11.33	$C_{23}H_{34}O_{15}$	$[M-H]^-$	549.181 39	549.183 47	3.775	549.183 47, 225.077 62, 207.067 08	环烯醚萜
32	表儿茶素*[7]	11.40	$C_{15}H_{14}O_6$	$[M-H]^-$	289.070 66	289.072 02	4.689	289.072 02, 109.028 24, 245.081 77	黄酮

续表 1

序号	名称	*t*/min	分子式	离子模式	分子离子峰		误差	碎片	类型
					理论值	实测值			
33	栀子苷*[10,13-15]	11.43	$C_{17}H_{24}O_{10}$	[M＋COOH]$^-$	433.134 05	433.132 05	−4.623	433.132 05, 225.076 52, 207.065 95, 123.043 95, 101.023 18	环烯醚萜
34	槲皮素-3-*O*-葡糖苷酸[18]	11.45	$C_{21}H_{18}O_{13}$	[M－H]$^-$	477.066 36	477.066 01	−0.748	477.066 01, 300.999 18, 169.013 26, 151.002 53	黄酮
35	阿魏酸*[8, 19]	11.47	$C_{10}H_{10}O_4$	[M－H]$^-$	193.049 53	193.049 87	0.335	193.049 87, 178.026 49, 149.059 63, 134.036 45	有机酸
36	二氢杨梅素*[20-21]	11.52	$C_{15}H_{12}O_8$	[M－H]$^-$	319.044 84	319.046 14	4.063	319.046 14, 273.004 39	黄酮
37	1,3,6-三-*O*-没食子酰葡萄糖[7]	11.65	$C_{27}H_{24}O_{18}$	[M－H]$^-$	635.087 89	635.089 97	3.275	635.089 97, 169.013 31	鞣质
38	1,2,3,6 四没食子酰葡萄糖[7]	12.40	$C_{34}H_{28}O_{22}$	[M－H]$^-$	787.098 84	787.103 09	5.389	787.103 09, 635.089 48, 617.078 86, 295.045 96, 169.013 15	鞣质
39	芦丁*[11,20]	12.73	$C_{27}H_{30}O_{16}$	[M－H]$^-$	609.14501	609.14679	2.405	609.146 79, 301.034 64, 300.027 65, 271.023 77, 151.002 67	黄酮
40	鞣花酸*[20]	12.92	$C_{14}H_6O_8$	[M－H]$^-$	300.997 89	300.999 21	4.374	300.999 21	黄酮
41	诃黎勒酸[7]	13.27	$C_{41}H_{30}O_{27}$	[M－H]$^-$	953.089 07	953.082 53	4.256	953.082 53, 300.998 69, 275.019 50, 247.024 11, 203.034 88	鞣质
42	金丝桃苷[13]	13.30	$C_{21}H_{20}O_{12}$	[M－H]$^-$	463.087 10	463.087 80	1.506	463.087 80, 301.034 82, 300.027 83, 169.013 35	黄酮
43	木犀草苷[22]	13.91	$C_{21}H_{20}O_{11}$	[M－H]$^-$	447.092 18	447.093 87	3.763	447.093 87, 285.039 61, 151.002 72	黄酮
44	花旗松素[22]	14.48	$C_{15}H_{12}O_7$	[M－H]$^-$	303.049 92	303.051 24	4.326	303.051 24, 285.040 92, 151.002 66	黄酮
45	西红花苷 I[10,13-15]	14.73	$C_{38}H_{54}O_{19}$	[M＋Na]$^+$	837.315 15	837.311 58	2.625	837.311 58, 675.260 99	环烯醚萜
46	杨梅素*[20-21]	14.81	$C_{15}H_{10}O_8$	[M－H]$^-$	317.029 19	317.030 52	4.184	317.030 52, 178.997 82	黄酮
47	芹菜素[20]	15.78	$C_{15}H_{10}O_5$	[M－H]$^-$	269.044 44	269.045 81	5.055	269.045 81	黄酮
48	山柰酚*[20]	16.48	$C_{15}H_{10}O_6$	[M＋H]$^+$	287.055 01	287.054 41	−2.106	287.054 41	黄酮
49	槲皮素*[20, 23]	16.55	$C_{15}H_{10}O_7$	[M－H]$^-$	301.034 27	301.035 16	4.322	301.035 16, 273.040 95, 178.997 74, 151.002 59	黄酮
50	柚皮素[20]	17.72	$C_{15}H_{12}O_5$	[M－H]$^-$	271.060 09	271.061 46	5.018	271.061 46,151.002 61, 119.048 98	黄酮
51	木犀草素*[20]	18.06	$C_{15}H_{10}O_6$	[M－H]$^-$	285.039 36	285.040 77	1.406	285.040 77, 151.002 72	黄酮
52	川楝素*[17,12]	19.30	$C_{30}H_{38}O_{11}$	[M＋Na]$^+$	597.230 63	597.230 22	−0.692	597.230 22	三萜
53	栀子花酸 B[10, 13-15]	22.14	$C_{30}H_{46}O_5$	[M－H]$^-$	485.326 15	485.327 51	2.800	485.327 51	环烯醚萜

续表 1

序号	名称	*t*/min	分子式	离子模式	分子离子峰 理论值	分子离子峰 实测值	误差	碎片	类型
54	芝麻素[9]	22.26	$C_{20}H_{18}O_6$	$[M-H]^-$	353.101 96	353.103 49	4.320	353.103 49	黄酮
55	α-亚麻酸[9]	30.31	$C_{18}H_{30}O_2$	$[M-H]^-$	277.216 20	277.217 41	1.203	277.217 41, 259.206 63	脂肪酸
56	齐墩果酸*[9,19]	30.57	$C_{30}H_{48}O_3$	$[M-H]^-$	455.351 97	455.353 49	3.334	455.353 49, 437.204 90, 391.217 10	三萜
57	亚油酸[7, 9]	31.66	$C_{18}H_{32}O_2$	$[M-H]^-$	279.231 85	279.233 15	4.632	279.233 15, 261.222 66	脂肪酸
58	棕榈酸[7, 9]	32.91	$C_{16}H_{32}O_2$	$[M-H]^-$	255.231 85	255.233 11	4.910	255.233 11	脂肪酸
59	栀子花乙酸[10, 13-15]	33.15	$C_{30}H_{46}O_5$	$[M+H]^+$	487.341 80	487.340 58	−1.221	487.340 58, 469.003 31, 451.319 98	环烯醚萜
60	油酸[7,9]	34.30	$C_{18}H_{34}O_2$	$[M-H]^-$	281.247 50	281.248 93	5.060	281.248 93, 265.075 53	脂肪酸

*-与对照品比对

*-confirmation versus standard substance

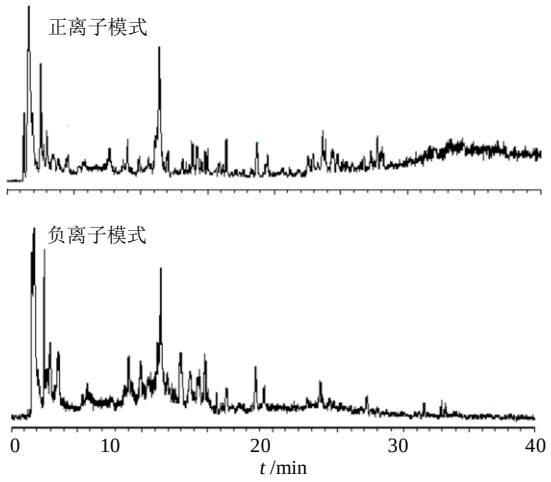

图 1 正、负离子模式下森登-4 味涂剂 HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 的总离子流图

Fig. 1 Positive and negative HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS total ion chromatogram of Sengdeng-4 Pigmentum

2.4 环烯醚萜类成分

在森登-4 味涂剂中共 11 个环烯醚萜类化合物被鉴定，此类化合物鉴定过程以山栀苷（15 号化合物）为例进行说明：15 号化合物在负离子模式下可见$[M-H]^-$ *m/z* 391.125 18 准分子离子峰，Xcalibur 软件拟合其分子式为 $C_{16}H_{24}O_{11}$，主要二级质谱碎片离子峰为 *m/z* 229.071 56、211.060 76、185.081 24、167.070 63、149.059 68，即由准分子离子峰失去 1 个分子葡萄糖残基（Glu）产生 *m/z* 229.071 56 $[M-H-Glu]^-$碎片，进一步连续失去 CO_2 和 H_2O，可产生 *m/z* 185.081 24 $[M-H-Glu-CO_2]^-$、211.060 76 $[M-H-Glu-H_2O]^-$、167.070 43 $[M-H-Glu-CO_2-H_2O]^-$、149.059 68 $[M-H-Glu-CO_2-2H_2O]^-$主要碎片离子，结合化合物裂解规律、碎片信息[10, 13-15]，确认 15 号化合物为山栀苷，化合物 15 的二级质谱图和可能的裂解途径见图 2。

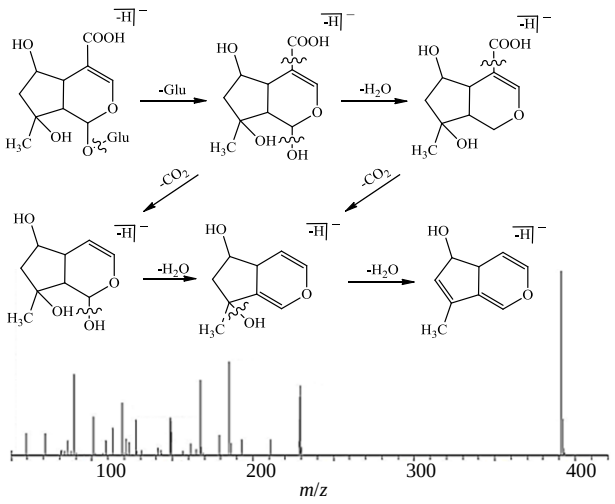

图 2 山栀苷可能的裂解途径和 MS^2

Fig. 2 Possible fragmentation pathway and MS^2 of shanzhiside

2.5 黄酮类成分

在森登-4 味涂剂中 16 个黄酮类成分被鉴定，此类化合物裂解过程以槲皮素（49 号化合物）为例进行说明：49 号化合物在负离子模式下可见$[M-H]^-$ *m/z* 301.035 16 准分子离子峰，Xcalibur 软件拟合其分子式为 $C_{15}H_{10}O_7$，主要二级质谱碎片离子峰为 *m/z* 273.040 95、178.997 74、151.002 59，即准分子离子峰丢失 1 个分子 CO 后产生 *m/z* 273.040 95 $[M-H-CO]^-$，或发生逆狄尔斯-阿德尔反应（RDA）脱去 1 分子 $C_7H_6O_2$ 后产生 *m/z* 178.997 74 $[M-H-CO-C7H6O2]^-$，进一步丢失 1 分子 CO 产生 *m/z* 151.002 59 $[M-H-2CO-C_7H_6O_2]^-$碎片离子峰，结合化合物裂解规律、碎片离子峰信息[20, 23]和与对照品比对，确认 49 号化合物为槲皮素。其 MS^2 图和可能的裂解途径见图 3。

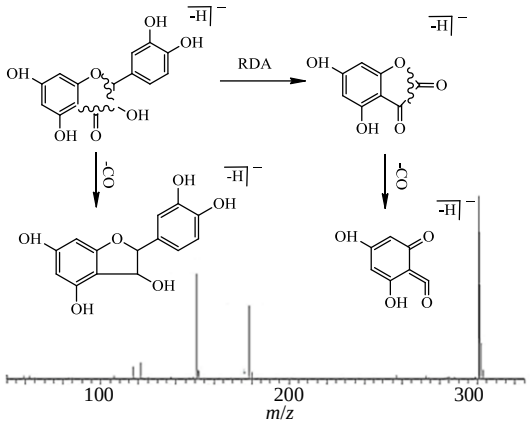

图 3　槲皮素可能的裂解途径和 MS²

Fig. 3　Possible fragmentation pathway and MS² of quercetin

2.6　有机酸类成分

在森登-4 味涂剂中 13 个有机酸类成分被鉴定，此类化合物的裂解过程以阿魏酸（35 号化合物）为例进行说明：35 号化合物负离子模式下可见[M－H]⁻ *m/z* 193.049 87 准分子离子峰，Xcalibur 软件拟合其分子式为 $C_{10}H_{10}O_4$，主要二级质谱碎片离子峰为 *m/z* 178.026 49、149.059 63、134.036 25，即准分子离子峰失去 1 个分子甲基后产生 *m/z* 178.026 49 [M－H－CH_3]⁻，继续丢失 1 分子 CO_2 产生 *m/z* 134.036 25[M－H－CH_3－CO_2]⁻碎片离子峰，或准分子离子峰先丢失 1 分子 CO_2 产生 *m/z* 149.059 63 [M－H－CO_2]⁻碎片离子峰，随后丢失 1 分子甲基后产生 *m/z* 134.036 45[M－H－CO_2－CH_3]⁻，结合化合物裂解规律、碎片离子峰信息[8, 19]和与对照品比对，确认 35 号化合物为阿魏酸，其 MS² 图、可能的裂解途径见图 4。

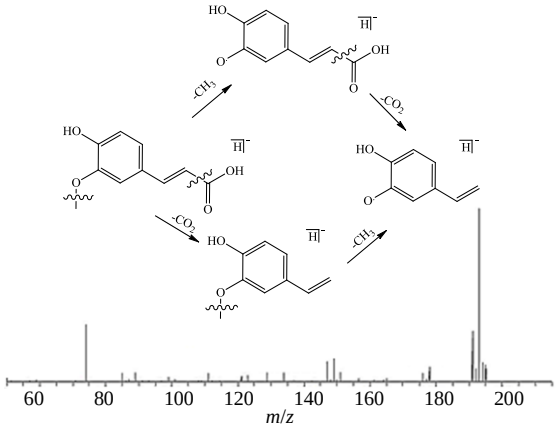

图 4　阿魏酸可能的裂解途径和 MS²

Fig. 4　Possible fragmentation pathway and MS² of ferulic acid

2.7　鞣质类成分

在森登-4 味涂剂中 10 个鞣质类化合物被鉴定，此类化合物裂解过程以克里拉京（29 号化合物）为例进行说明：29 号化合物负离子模式下可见[M－H]⁻ *m/z* 633.074 16 准分子离子峰，Xcalibur 软件拟合分子式为 $C_{27}H_{22}O_{18}$，主要二级质谱碎片离子峰为 *m/z* 463.052 67、300.999 30、169.013 28，即准分子离子峰丢失 1 分子没食子酰基产生 *m/z* 463.052 67 [M－H－galloyl]，同时伴随产生 *m/z* 169.013 28 碎片离子峰，进一步丢失 1 分子葡萄糖残基产生 *m/z* 300.999 30 [M－H－galloyl－Glu]碎片离子峰，结合化合物裂解规律、碎片离子峰信息[7, 9]和与对照品比对，确认 29 号化合物为克里拉京，其 MS² 图和可能的裂解途径见图 5。

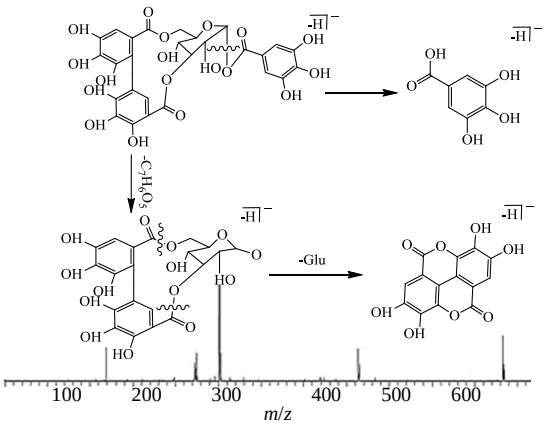

图 5　柯里拉京可能的裂解途径和 MS²

Fig. 5　Possible fragmentation pathway and MS² of corilagin

2.8　三萜类成分

在森登-4 味涂剂中 2 个三萜类化合物被鉴定，此类化合物裂解过程以齐墩果酸（56 号化合物）为例进行说明：56 号化合物负离子模式下可见[M－H]⁻ *m/z* 455.353 49 准分子离子峰，Xcalibur 软件拟合其分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$，主要二级质谱碎片离子峰可见 *m/z* 437.204 90、391.217 10 碎片离子峰，即准分子离子峰丢失 1 个分子 H_2O 产生 *m/z* 437.204 90 [M－H－H_2O]⁻，进一步丢失 1 分子甲酸产生 *m/z* 391.217 10 [M－H－H_2O－HCOOH]⁻，结合化合物裂解规律、碎片离子峰信息[9, 19]和与对照品比对，确认 56 号化合物为齐墩果酸，其 MS² 图和可能的裂解途径见图 6。

2.9　氨基酸和脂肪酸类成分

在森登-4 味涂剂中 4 个氨基酸类和 4 个脂肪酸类化合物被鉴定，氨基酸类化合物的裂解过程以脯

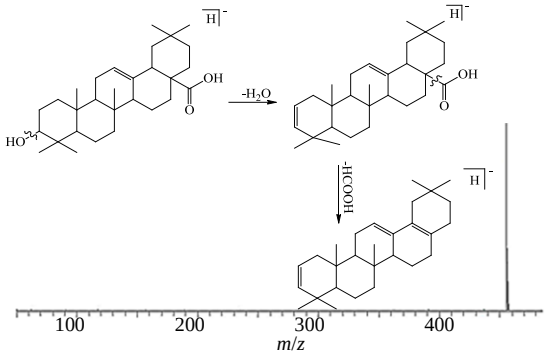

图 6 齐墩果酸可能的裂解途径和 MS^2

Fig. 6 Possible fragmentation pathway and MS^2 of oleanolic acid

氨酸（4 号化合物）为例进行说明：4 号化合物在正离子模式下可见$[M+H]^-$ *m/z* 116.070 58 准分子离子峰，Xcalibur 软件拟合其分子式为 $C_5H_9NO_2$，主要二级质谱碎片为 *m/z* 98.097 11、70.065 65，即准分子离子峰失去 1 分子 H_2O 产生 *m/z* 98.097 11 $[M+H-H_2O]^-$，进一步丢失 1 分子 CO 产生 *m/z* 70.065 65 $[M+H-H_2O-CO]^-$，结合化合物裂解规律、碎片离子峰信息[9-10]，确认 4 号化合物为脯氨酸，其 MS^2 图和可能的裂解途径见图 7。脂肪酸类化合物的裂解过程以亚油酸（57 号化合物）为例进行说明：57 号化合物在负离子模式下可见$[M-H]^-$ *m/z* 279.233 15 准分子离子峰，Xcalibur 软件拟合其分子式为 $C_{18}H_{32}O_2$，主要二级质谱碎片为 *m/z* 261.222 66，即准分子离子峰失去 1 分子 H_2O 产生 *m/z* 261.222 66$[M-H-H_2O]^-$碎片离子峰，结合化合物裂解规律、碎片离子峰信息[7, 9]，确认 57 号化合物为亚油酸，其 MS^2 图和可能的裂解途径见图 8。

3 讨论

课题组前期对乙腈－水、乙腈－0.1%甲酸水溶液、甲醇－0.1%甲酸水溶液、0.1%甲酸乙腈溶液－0.1%甲酸水溶液不同流动相体系进行了考察，根据

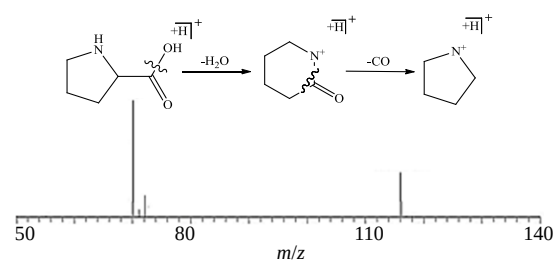

图 7 脯氨酸可能的裂解途径和 MS^2

Fig. 7 Possible fragmentation pathway and MS^2 of proline

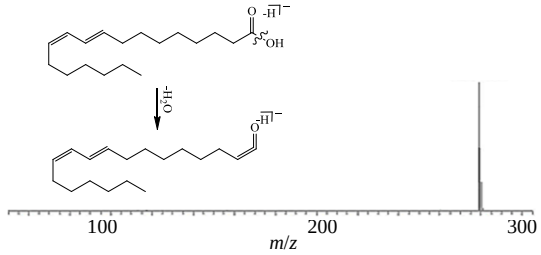

图 8 亚油酸可能的裂解途径和 MS^2

Fig. 8 Possible fragmentation pathway and MS^2 of linoleic acid

不同流动相条件所得总离子流图中各成分的响应值和分离效果，最终确定以乙腈－0.1%甲酸水溶液作为流动相进行梯度洗脱。

考虑到复方制剂中化学成分复杂，且响应模式不同，因此，本研究采用了正、负离子全扫描模式对森登-4 味涂剂进行定性分析，结合 Xcalibur 软件分子式拟合、谱库检索和质谱识别的分析流程，在森登-4 味涂剂中共鉴别出 60 个化合物，主要包括环烯醚萜类、黄酮类、鞣质类、有机酸及氨基酸类等成分。

本研究依靠 HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 高效的分离能力和质谱强大的结构辨识能力对森登-4 味涂剂中化学成分进行了快速、准确的鉴定，较系统、全面地阐明了该制剂的化学组成，为其质量标准建立、药效物质挖掘和作用机制研究提供了实验基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准：蒙药分册 [M]. 呼和浩特：内蒙古科学技术出版社, 1998: 185.

[2] 乌日娜, 段妍, 都日娜, 等. 森登-4 纳米乳治疗面部化妆品皮炎临床疗效观察 [J]. 内蒙古医学杂志, 2019, 51(11): 1295- 1298.

[3] 苏日塔拉图, 于佳琦, 王曦烨, 等. HPLC-DAD 法同时测定蒙药森登-4 汤散中 7 种抗风湿活性成分的含量 [J]. 中国药房, 2019, 30(2): 221-225.

[4] 曲宏, 武瑜, 张国建, 等. 应用 $^{99}Tc^m$-3PRGD$_2$ 显像验证蒙药森登-4 汤抗类风湿关节炎血管形成机制及观察疗效 [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2022, 42(5): 289-293.

[5] 金刚, 赵巴根那, 包海金, 等. 森登-4 汤对修复膝关节骨性关节炎家兔的软骨胶原纤维结构平衡的作用机制研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(18): 2880-2882.

[6] 曾彬, 刘红梅, 刘晓梅, 等. UPLC-Q-Exactive Orbitrap

MS 技术在中药分析中的应用 [J]. 中药材, 2020, 43(9): 2312-2318.

[7] 黄浩洲, 仇敏, 唐进法, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS^E 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.

[8] 李郭帅, 马阳, 耿婷, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析复方南星止痛膏化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(2): 298-307.

[9] 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^E 分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(9): 157-167.

[10] 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.

[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] 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.

[13] Chen L, Li M, Yang Z, et al. *Gardenia jasminoides* Ellis: Ethnopharmacology, phytochemistry,and pharmacological and industrial applications of an important traditional Chinese medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 257: 112829.

[14] 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.

[15] 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.

[16] 廖翠平, 赵鹿, 肖娟兰, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术分析蒙药黄芦木中的化学成分 [J]. 中药材, 2020, 43(10): 2459-2464.

[17] 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.

[18] 王方方, 康莹, 张权, 等. 北京妙峰山玫瑰花渣中黄酮类成分的 UPLC/Q-TOF-MS 分析 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(11): 1550-1554.

[19] 陈方超, 高守红, 王志鹏, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 技术鉴定藤梨根的化学成分 [J]. 中国药房, 2020, 31(14): 1725-1731.

[20] Pfundstein B, Desouky S K E, Hull W E, *et al*. Polyphenolic compounds in the fruits of Egyptian medicinal plants (*Terminalia bellerica*, *Terminalia chebula* and *Terminalia horrida*): Characterization, quantitation and determination of antioxidant capacities [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(10): 1132-1148.

[21] 杨倩, 王晓琴, 丁艳霞. 文冠木化学成分的研究 [J]. 中成药, 2020, 42(8): 2062-2066.

[22] 严雅慧, 吴涛, 陈菊, 等. 乃孜来颗粒中化学成分的 UHPLC-Q-Orbitrap-MS 分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(21): 156-166.

[23] 第五文博, 谈娜娜, 王晓玲, 等. 元宝枫叶中的黄酮类成分分析与电喷雾质谱裂解规律研究 [J]. 宝鸡文理学院学报: 自然科学版, 2020, 40(3): 25-33.

[责任编辑　解学星]