

## · 中(蒙)医药论坛 ·

## 蒙药方剂朱日亨滴丸化学成分鉴定及归属研究

刘志民<sup>1</sup>, 杨宏<sup>2</sup>, 董馨<sup>3</sup>, 布仁<sup>3</sup>, 薛培凤<sup>3</sup>, 王跃武<sup>3</sup>, 祖文<sup>4</sup>, 于娟<sup>3</sup>, 那生桑<sup>5</sup>, 陆景坤<sup>1\*</sup>

(1. 内蒙古医科大学基础医学院, 内蒙古 呼和浩特 010059; 2. 包头中药有限责任公司, 内蒙古 包头 014042; 3. 内蒙古医科大学药学院, 内蒙古 呼和浩特 010059; 4. 内蒙古医科大学图书馆, 内蒙古 呼和浩特 010059; 5. 内蒙古医科大学民族医药创新中心, 内蒙古 呼和浩特 010059)

**【摘要】**目的 采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)对朱日亨滴丸及其中间体中的化学成分进行快速鉴定和归属。方法 选用ACE EXCEL3 C18-PFP 色谱柱(3  $\mu\text{m}$ , 100 mm  $\times$  3 mm), 流动相为含0.2%甲酸的甲醇(A)-0.2%甲酸水溶液(B), 梯度洗脱, 流速0.3 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 柱温35  $^{\circ}\text{C}$ 。正、负离子模式采集数据, 质谱扫描范围为100~1000 m/z。通过文献检索、中药材网站收集朱日亨滴丸原药材中的化学成分, 自建化学成分数据库。根据精确相对分子质量、二级质谱裂解碎片、对照品及文献比对, 对朱日亨滴丸的化学成分进行鉴定。结果 共识别和鉴定了朱日亨滴丸中130个成分。结论 建立的HPLC Q-Exactive MS/MS方法快速、准确, 其适用于朱日亨滴丸定性鉴别, 为该药的质量体系建立和药效物质发现奠定了基础。

**【关键词】**朱日亨滴丸; HPLC-Q-Exactive-MS/MS; 木脂素; 苯丙素; 成分归属

中图分类号: R375

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2022)02-0127-06

心血管疾病是蒙医、蒙药的优势病种, 朱日亨滴丸源于蒙医国医大师苏荣扎布教授治疗冠心病、心绞痛的临床验方, 是由广枣、肉豆蔻、阿魏、红花、栀子、牛黄、沉香、草果、冰片组成, 分别经醇提和CO<sub>2</sub>超临界萃取制备而成的大滴丸制剂。方中广枣性味甘、酸而平, 效重、腻, 主镇“赫依”, 为君药; 肉豆蔻性味辛而温, 主镇司命“赫依”, 为臣药; 沉香性凉, 抑“赫依”, 治心热; 辅以止痛、清血热的栀子等药材, 具有清心热、化瘀血、补心的功效, 主治心热、心赫依、心刺痛、心慌气短。

朱日亨滴丸的提取工艺、工艺药效筛选、滴丸成型、包衣工艺和主要药效学研究已在前期研究中完成<sup>[1,2]</sup>, 已获批准工艺和处方发明专利(证书号: 2499372)。本研究利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)检测系统对其化学成份进行分析和归属, 为其质量控制、药效物质基础研究及临床应用提供参考文献依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

HPLC Q-Exactive MS/MS (美国, ThermoFisher-Scientific公司), TB-214 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司), 超声波清洗机(宁波新芝生物科技有限公司), 离心浓缩装置(冷阱 UT200 及离心浓缩 CVE-3110 组合, 东京理化 EYELA)。

### 1.2 试剂与原料

羟基红花黄色素 A、去氢二异丁香酚、阿魏酸、栀子苷、山柰酚、去氧胆酸、胆酸、没食子酸、槲皮素、芦丁、绿原酸、牛磺酸、柠檬醛、肉豆蔻醚、柠檬酸、沉香四醇、伞形花内酯、甲基丁香酚、丁香酚对照品均购自中国食品药品检定研究院, 儿茶素购自乐美天医药德斯特生物公司, 榄香素购自北京英莱克发展有限公司, 肉豆蔻木酚素购自北京北方伟业计量技术研究院。甲醇、乙腈、甲酸为质谱纯(fisher chemical), 其他试剂均为分析纯。

收稿日期: 2022-02-05; 修回日期: 2022-03-25

基金项目: 国家自然科学基金(81960757); 内蒙古科技成果转化项目(2019CG042); 内蒙古自然科学基金(2019MS08119)

第一作者: 刘志民(1993-), 男, 2019级在读硕士研究生。E-mail: 962353326@qq.com

\*通信作者: 陆景坤, 女, 硕士, 研究员。研究方向: 药理学。E-mail: 360569392@qq.com

朱日亨滴丸样本(20201112)由内蒙古医科大学蒙药创新研究中心研制。方中所含9味药材购自内蒙古北域药业有限责任公司,阿魏购自亳州抱朴药业有限公司。药材经鉴定均符合2020版《中华人民共和国药典》(一部)相关规定。

## 2 方法

### 2.1 朱日亨滴丸化学成分数据库的建立

以中国知网、Pubmed、公共数据库TCMID (<http://bidd.group/TCMID/>)、TCM@TAIWAN台湾中医药资料库(TCM Database@Taiwan)为主要检索数据库,收集朱日亨滴丸9味药材的化学成分,采用Chemdraw14.0绘出化学结构(mol格式)及Smiles号。将化合物导入软件CD 3.0(Thermo),建立朱日亨滴丸化学数据库。

### 2.2 HPLC Q-Exactive MS/MS定性分析朱日亨滴丸的成分

**2.2.1 样品溶液的制备** 取朱日亨滴丸(未加基质)1.1450 g于15 mL离心管中,按每克加入10 mL甲醇,涡旋、超声30 min(频率为40 KHz),离心10 min(4 °C, 12000 r·min<sup>-1</sup>),37 °C减压干燥,100 μL甲醇复溶。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取各对照品5.000 mg,甲醇定容至5 mL,配成1 mg·mL<sup>-1</sup>标准品母液。按需配成含“1.2”项中含有的各对照品混合溶液。

#### 2.2.3 色谱质谱条件

① 色谱条件 色谱柱:ACE Excel 3 C18-PFP(100 mm × 3 mm);流动相:有机相(A)为含0.2%甲酸的甲醇,水相(B)为含0.2%甲酸的超纯水,梯度洗脱程序为:0.0~0.8 min,2%~5%(A);0.8~1.7 min,5%~10%(A);1.7~2.5 min,10%~18%(A);2.5~3.3 min,18%~23%(A);3.3~4.2 min,23%~28%(A);4.2~5.8 min,28%~33%(A);5.8~9.2 min,33%~43%(A);9.2~11.2 min,43%~46%(A);11.2~14.3 min,46%~60%(A);14.3~16 min,60%~65%(A);16~17.7 min,65%~68%(A);17.7~19.2 min,68%~75%(A);19.2~20 min,

75%~80%(A);20~20.8 min,80%~2%(A);20.8~24 min,2%(A)。流速为0.3 mL·min<sup>-1</sup>;4 °C自动进样;柱温35 °C。

② 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI),MS dd-ms2扫描模式,正、负离子模式下获取质谱信息。负离子条件如下:①鞘气流速(Sheath gas flow rate):35 L/min;②辅助气流速(Aux gas flow rate):10 L·min<sup>-1</sup>;③喷雾电压(Spray voltage):2.8 kV;④毛细管离子传输管温度(Capillary temperature):350 °C;⑤S-lens电压(S-lens RF level):50 kV;⑥加热温度(Aux gas heater temperature):150 °C,质谱扫描范围为m/z 100~1000。正离子条件的喷雾电压(Spray voltage)为3.5 kV,其余条件同负离子模式。

**2.2.4 HPLC Q-Exactive MS/MS定性分析“2.2.3”条件下对“2.2.1”的各样本分析**,结果导入到CD 3.0软件,选择软件内置Workflow在“Search Mass Lists”中选择“2.1”朱日亨滴丸成分库,分析Mass Lists、mzCloud结果(mzCloud Best Sim. Match > 85),Xcalibur提取MS2数据用于成分的鉴别、确证及裂解规律分析。

## 3 结果

### 3.1 朱日亨滴丸成分鉴定及归属

**3.1.1 HPLC-Q-Exactive-MS/MS成分鉴定** 采用HPLC-Q-Exactive-MS/MS方法分析各供试品溶液,正、负离子模式下朱日亨滴丸各组样本UPLC-ESI-MS/MS总离子流图(见图1),CD3.0软件“Detect Compounds”和“Search Mass Lists”模式提取朱日亨滴丸各样本中成分的有效特征峰,以Area >105,精确分子量差异<10 ppm为限确定候选化合物,通过MS<sup>2</sup>碎片离子、结合文献及Massbank数据库,与“2.1”中自建数据库中化合物中精确分子量/分子式一致的成分,共有130个,包括18个苯丙素、24个木脂素、26个黄酮、10个香豆素、13个环烯醚萜、15个有机酸、14个酚酸、8个单萜、2个其他,其中34个主要化合物见表1。其中22个化合物与对照品比对确认。

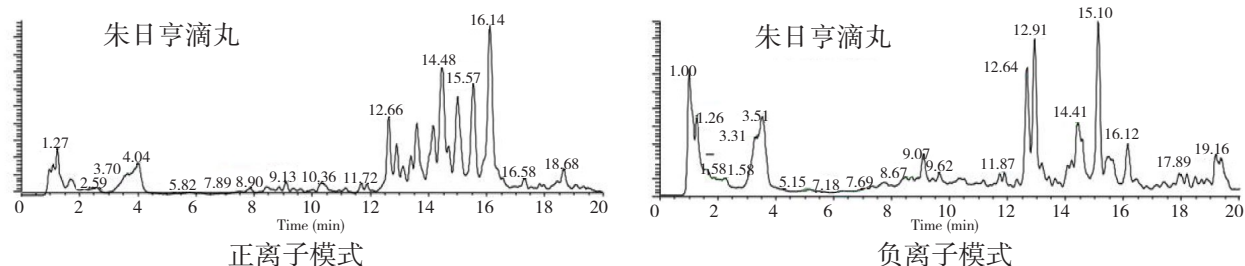


图1 朱日亨滴丸HPLC-Q-Exactive-MS/MS总离子流图

表1 朱日亨滴丸中化学成分的鉴定

序号	保留时间 (min)	分子式	理论值 [M+H] <sup>+</sup> / [M+H] <sup>+</sup>	实测值 [M+H] <sup>+</sup> / [M+H] <sup>+</sup>	误差	MS <sup>2+</sup>	MS <sup>2-</sup>	推测化合物	分类	来源
1 <sup>#</sup>	15.18	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	327.1578	327.1227	-3.80	329.10126, 203.10625, 188.08295, 171.08009,		去氢二异丁香酚	A	Rdk
2	13.61	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>	373.1646	373.1635	-2.91	193.08556, 165.09062, 133.06464, 105.06993		myrifralignan A	A	Rdk
3	14.67	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub>	359.1853	359.1854	0.17	165.09059, 195.10118, 137.05945, 105.06996		nectandrin A	A	Rdk
4 <sup>#</sup>	12.39	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	329.1755	329.1747	2.44	329.17276, 311.11917, 211.11122, 163.07487,		肉豆蔻木酚素	A	Rdk
5	19.99	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	327.1602	327.1608	4.33	203.10605, 171.08006, 151.07491, 137.05946		machilin A	A	Rdk
6	12.84	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	345.1688	345.206	3.88	327.1568, 221.11658, 165.09071, 137.05957		Meso-monomethyldihydroguaiaretic acid	A	Rdk
7 <sup>#</sup>	7.12	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	195.0652	195.0654	0.88	95.08720, 177.05931, 98.06033		阿魏酸	B	Aw/Hh
8 <sup>#</sup>	13.12	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	209.1172	209.1166	-2.92	209.11611, 194.09341, 181.08559, 178.09888,		榄香素	B	Cg/Rdk
9 <sup>#</sup>	2.29	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	355.1024	355.1019	5.58	163.03865, 193.04950, 247.02296, 100.11252		绿原酸	B	Hh/Zz
10 <sup>#</sup>	12.00	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	165.091	165.0907	-0.37	133.06471, 105.07003, 150.06708, 165.09067		丁香酚	B	Rdk
11 <sup>#</sup>	13.22	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	179.1067	179.1063	-0.37	179.10629, 164.08276, 151.07492, 119.04911		甲基丁香酚	B	Rdk
12	8.68	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	163.0754	163.0749	-2.86	163.07489, 135.08028, 103.05441, 131.04907		黄樟素	B	Rdk/Hh
13 <sup>#</sup>	7.08	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	319.1176	319.1174	-0.25	274.10687, 246.11195, 206.08069, 174.05466		沉香四醇	B	Tx
14 <sup>#</sup>	10.57	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	193.0859	193.0856	-1.56	193.08562, 165.09062, 133.06473, 105.07004		肉豆蔻醚	B	Hh/Rdk
15	10.09	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	329.0303	329.0308	4.76		298.98373, 329.03088, 314.00739	3,3'-二氧甲基鞣花酸	C	Gz
16 <sup>#</sup>	13.56	C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> O <sub>8</sub>	300.9990	300.9994	4.97		300.99939, 283.99438, 257.01001, 229.01434	鞣花酸	C	Gz
17	7.98	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>	491.0831	491.0826	2.02		491.08301, 328.02283, 312.99960	3,8-二-O-甲基鞣花酸2-O-葡萄糖苷	C	Gz
18 <sup>#</sup>	1.09	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	169.0142	169.0133	1.34		169.01334, 167.01872, 127.03889, 125.02327	没食子酸	C	Zz/Gz
19 <sup>#</sup>	1.32	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	191.0197	191.0192	2.73		191.01921, 129.01817, 111.00759, 87.00744	柠檬酸	D	Gz
20 <sup>#</sup>	12.68	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>5</sub>	487.2803	407.2029	4.05		123.04398, 152.99501, 171.00534, 361.27527	胆酸	D	Nh
21 <sup>#</sup>	14.43	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	391.2854	391.2833	-2.44		391.28333, 365.30573, 345.27795, 209.58820	去氧胆酸	D	Nh
22	1.12	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	202.0510	202.0510	1.04		199.80467, 164.83517, 156.99835, 129.00327	奎宁酸	D	Zz
23 <sup>#</sup>	1.14	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub> S	124.0074	124.0065	2.92		106.97963, 95.01254, 79.95613, 61.98686	牛磺酸	M	Nh
24	2.21	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	551.1971	551.1963	-1.37	209.08040, 177.05440, 149.05945, 85.02883		京尼平龙胆二糖苷	E	Zz
25	3.33	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	227.0914	227.0910	-1.66	149.05936, 121.06475, 177.05434, 191.06981		京尼平	E	Zz

表1 续表

序号	保留时间 (min)	分子式	理论值 [M+H] <sup>+</sup> / [M+H] <sup>-</sup>	实测值 [M+H] <sup>+</sup> / [M+H] <sup>-</sup>	误差	MS <sup>2+</sup>	MS <sup>2-</sup>	推测化合物	分类	来源
26 <sup>#</sup>	3.38	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	389.1442	389.1434	-2.04	209.08022, 177.05434, 149.05936, 121.06475		栀子苷	E	Zz
27 <sup>#</sup>	7.62	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	609.1461	609.1466	1.32		178.99802, 300.02780, 284.03287, 521.13068	芦丁	F	Gz/ Hh
28	3.81	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	611.1618	611.1627	1.93		475.26917, 407.28137 112.98466	羟基红花 黄色素 A	F	Hh
29 <sup>#</sup>	10.14	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	302.0241	302.0394	-4.05		151.00272, 178.33713, 300.99905, 121.02840	槲皮素	F	Hh/ gz/zz
30 <sup>#</sup>	12.21	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>	373.1657	373.1663	4.54		373.16626, 313.14502, 191.10736, 111.00783	肉豆蔻木 酚素	F	Rdk
31 <sup>#</sup>	11.01	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	285.0405	285.0407	4.83		285.04074, 267.53690, 193.01384, 158.02652	山柰酚	F	Zz
32 <sup>#</sup>	6.07	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	161.0244	161.0235	1.11		161.02231, 133.02855, 117.03332	伞形花内酯	G	Aw
33 <sup>#</sup>	12.77	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	147.0652	147.066	5.40	137.05965, 69.03407, 95.08583, 110.09646		龙脑	H	Bp
34	13.77	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	193.0343	193.0345	0.22	157.01274, 146.08076, 139.00227, 129.01811		柠檬醛	H	Cg

注:A=木脂素,B=苯丙素,C=酚酸,D=有机酸,E=环烯醚萜,F=黄酮,G=香豆素,H=单萜,M=其他,Gz=广枣,Rdk=肉豆蔻, Aw=阿魏,Hh=红花,Zz=栀子,Nh=牛黄,Cx=沉香,Cg=草果,Bp=冰片。上角标“#”=和标准品进行了比对。

**3.1.2 木脂素类成分** 木脂素类成分在正离子模式下响应强,二级碎片离子多以呋喃环上的醚氧键为中心发生断裂<sup>[9]</sup>。滴丸中共鉴别出该类成分 24 个(见图 2),22 个来源于肉豆蔻,肉豆蔻中木脂素类型主要包括四氢呋喃类、苯骈呋喃类、8-O-4'型新木脂素类、2,3-二苄基丁烷类等。以苯骈呋喃类去氢二异丁香酚(1)、四氢呋喃类木脂素 nectandrin A (3)、2,3-二苄基丁烷类 Meso-monomethyldihydroguaiaretic acid(6)、8-O-4'型新木脂素类 myrifralignan A(2)的 MS<sup>2</sup>为例来归纳此类成分的裂解途径。

苯骈呋喃类木脂素在 MS<sup>2</sup>中分子离子峰[M+H]<sup>+</sup>丰度低,主要有两种断裂方式,均发生在呋喃环上,第一种是苯骈呋喃环与苯环之间的断裂,第二种是呋喃环上醚氧键断裂,脱去一分子 H<sub>2</sub>O 形成的苯丙烯基正离子,或形成苄基正离子。以去氢二异丁香酚(C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>, 1)为例:在二级质谱中,产生碎片 [M+H-C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>(m/z 203.10625)、[M+H-C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>(m/z 188.08295)、[M+H-C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>(m/z 171.08009);第二种裂解形式下可见苄基碎片离子 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>(m/z 137.05959),经与标准品比对,确定该化合物为去氢二异丁香酚。

四氢呋喃类木脂素的碎片主要来源于四氢呋喃环裂解,以 nectandrin A(C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>, 3)为例:[M+H]<sup>+</sup>(Rt 14.70 min, m/z 359.18536),MS<sup>2</sup>碎片为四氢呋喃

环裂解(见图 2),推测该化合物为 nectandrin A(3)。

8-O-4'型新木脂素类在 MS<sup>2</sup>中分子离子峰[M+H]<sup>+</sup>基本不出现,多数有较小的 [M+H-OH]<sup>+</sup>,脱羟基后发生 8 位醚氧键断裂,产生系列碎片离子。myrifralignan A(C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>O<sub>7</sub>, 2)按此规律裂解, [M+H]<sup>+</sup>(Rt 13.55 min, m/z 372.15664),MS<sup>2</sup>碎片见图 3。2,3-二苄基丁烷类在 MS<sup>2</sup>中主要发生苄基裂解,产生有两个取代基的苄基离子(见图 2)。按此方式裂解的还有肉豆蔻木酚素(4),machilin A(5)。

**3.1.3 苯丙素类成分** 苯丙素类化合物多在正离子模式下响应强,共鉴别出苯丙素类化合物 19 个,主要来源于栀子、红花和肉豆蔻。肉豆蔻中的苯丙素成分丁香酚(C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>, 10)和甲基丁香酚(C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>, 11)与参考文献和对照品比对确定,MS<sup>2</sup>碎片见图 2。

**3.1.4 萜类成分** 环烯醚萜成分共 13 个,均来源于栀子。环烯醚萜类化合物在本实验中正离子模式下响应强,负离子模式响应弱,裂解方式主要涉及糖苷键断裂,脱水,脱羰基,去甲基以及开环裂解。与文献报导一致<sup>[4]</sup>。正离子模式下,栀子苷(C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>, 26)和文献<sup>[9]</sup>及标准品进行了比对。其京尼平(25)和京尼平龙胆二糖苷(24)的 MS<sup>2</sup>碎片见图 2。单萜类化合物共鉴别出 8 个。冰片中主要成分龙脑(C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O, 33)准分子离子峰是脱羟基峰[M-OH]<sup>+</sup>(Rt 12.80 min, m/z 137.05965)。

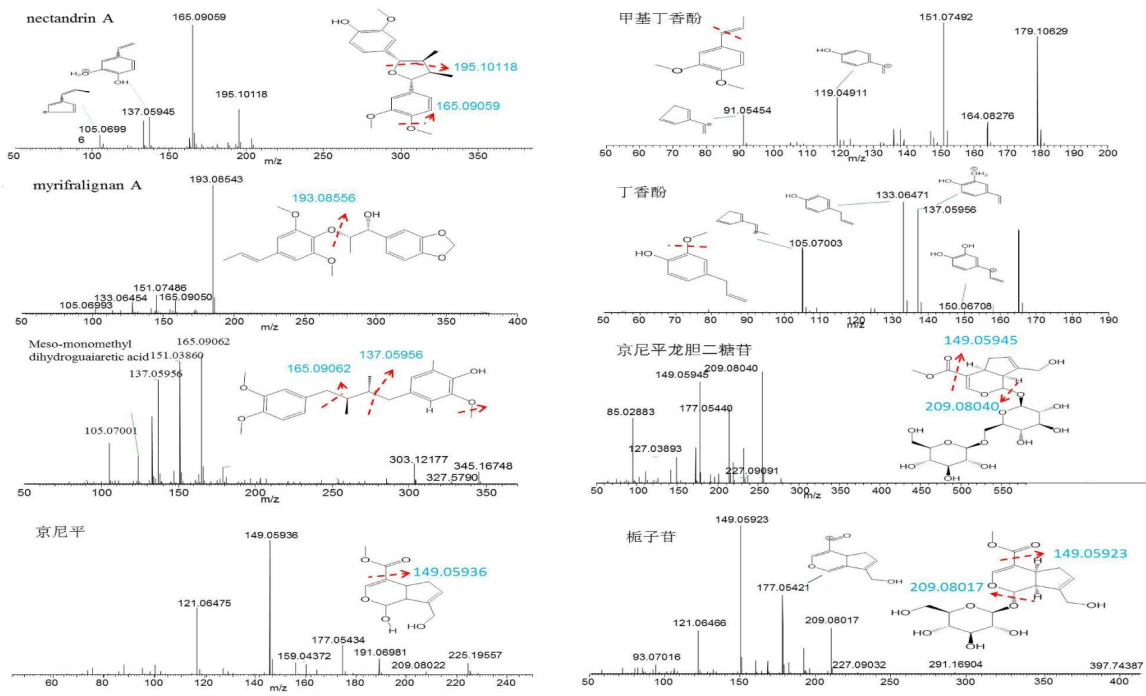


图2 木脂素类、苯丙素类、环烯醚萜类代表性成分正离子模式MS<sup>2+</sup>及裂解图

3.1.5 有机酸类和酚酸类成分 有机酸类化合物共鉴别出了15个,主要来源于广枣和红花。有机酸类扫描时负离子响应很强,二级碎片多发生脱羧<sup>[6]</sup>。广枣中含量最高的有机酸柠檬酸(19),在负离子模式下,[M-H]<sup>-</sup>(Rt 1.29 min, m/z 191.01921),经与文献<sup>[7]</sup>及标准品比对确定(见图3)。

酚酸类成分共鉴别出13个,主要来源于广枣和

栀子。以鞣花酸为母核的系列衍生物是君药广枣的特征成分,[M-H]<sup>-</sup>(Rt 7.53min, m/z 300.99939),与对照品比对确定为鞣花酸(16),3,3'-二甲氧基鞣花酸(15)和3,8-Di-O-methylelagic acid 2-O-glucoside(17)脱糖、脱甲基后有与鞣花酸类似的碎片,与文献<sup>[8]</sup>一致(见图3)。

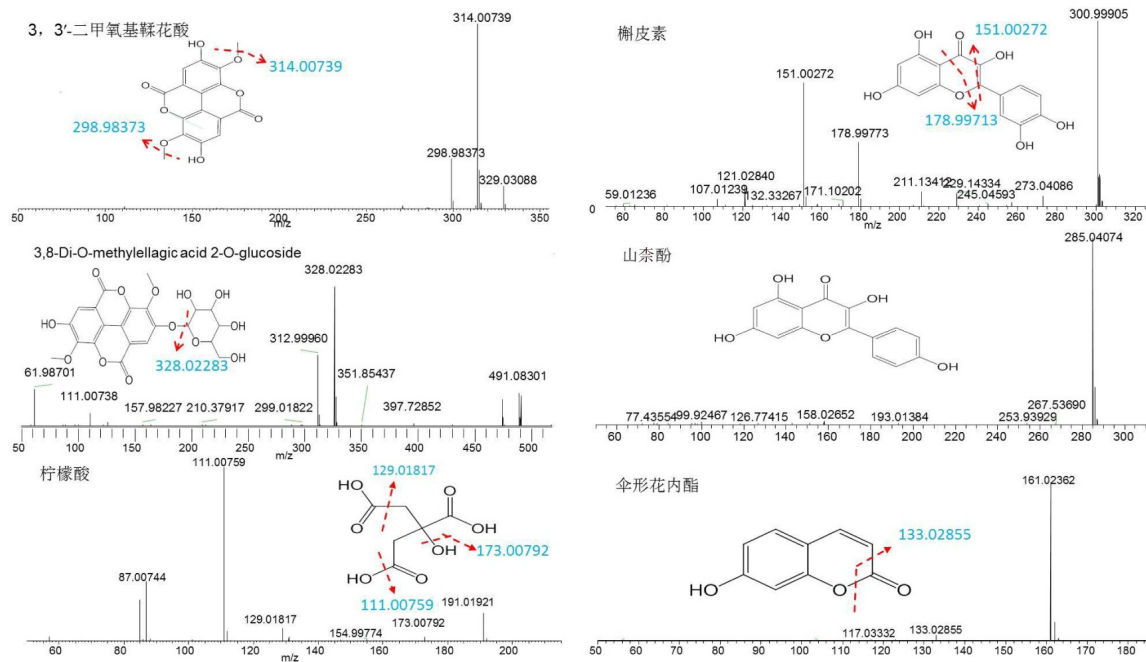


图3 有机酸、酚酸、黄酮、香豆素类代表成分负离子模式MS<sup>2-</sup>及裂解图

**3.1.6 黄酮类和香豆素类成分** 黄酮类化合物共鉴定出26个,主要来源于红花、广枣和栀子。黄酮类化合物在负离子模式下响应强,二级碎片离子此类化合物多发生脱糖断裂得到苷元离子,苷元C环易发生RDA裂解,以广枣中槲皮素(29)为例<sup>[9]</sup>, [M-H]<sup>-</sup> (Rt 16.38)(见图3),与标准品及文献一致<sup>[10]</sup>。

香豆素类化合物鉴别出了10个,主要来源于阿魏。以伞形花内酯(32)为例, [M-H]<sup>-</sup>准确相对分子质量 m/z 161.02231,经与文献<sup>[11]</sup>及标准品比对后确定该化合物为伞形花内酯(见图3)。

### 3.2 整体化学模式归属

本研究对朱日亨滴丸进行了UPLC-ESI-MS/MS分析,根据朱日亨滴丸的总离子流图可知各类化合物Rt依次为有机酸<萜类<黄酮类<香豆素类<苯丙素类<木脂素类。其中,负离子模式下有机酸类、酚酸、黄酮、香豆素类化合物响应更强,有机酸类丰度最高;正离子模式下木脂素、苯丙素类、萜类响应更强,木脂素和苯丙素类丰度明显高于其他大类成分。通过对滴丸中化合物归属后发现,有机酸类成分主要来源于君药广枣;黄酮类化合物主要贡献药材为广枣和红花<sup>[12]</sup>。鉴别出较多的化合物类型是木脂素类和苯丙素类成分,贡献这两类化合物的主要药材为臣药肉豆蔻;香豆素类化合物主要来源于阿魏<sup>[13]</sup>;环烯醚萜类化合物主要贡献药材为栀子;单萜类化合物主要来源于朱日亨滴丸中含有挥发油成分的药材冰片和草果<sup>[14]</sup>;胆酸类主要来源于牛黄<sup>[15]</sup>。

## 4 讨论

朱日亨滴丸是由9味药材组成的复方制剂,成分复杂。本研究采用HPLC-ESI-MS/MS技术从朱日亨滴丸中推断鉴定出130个成分,基本可囊括组方中各药材的主要成分。君药广枣和臣药肉豆蔻入药比例大,其大类成分在朱日亨滴丸中得到了很好的体现,本研究重点关注了朱日亨滴丸中的特征成分,并选取了有代表性的成分为例,说明各大类成分在UPLC-MS中的二级碎片裂解规律。尤其是滴丸中来源于肉豆蔻的木脂素成分,以往文献都用GC-MS进行检测,LC-MS少见报道。本研究重点针对朱日亨滴丸中含量丰富的木脂素亚类:四氢呋喃类、苯骈呋喃类、8-O-4'型新木脂素类、2,3二萜

基丁烷类,对其LC-MS的裂解途径分别进行了解析。

但是本研究存在一定局限,肉豆蔻、草果、沉香、阿魏多含有挥发性成分,HPLC-ESI-MS/MS技术只能针对制剂中非挥发性成分进行分析,后续实验拟开展气相色谱-质谱联用技术分析朱日亨滴丸中的挥发性成分,并对含量高成分、药效成分进行定量分析,为后续该制剂质量体系的建立奠定基础。

### 参考文献

- [1]王跃武,陆景坤,金军,等.蒙药朱日很滴丸提取工艺的正交实验优选[J].时珍国医国药,2018,29(3):584-586
- [2]王跃武,郭俊英,陆景坤,等.蒙药朱日很滴丸的制备工艺研究[J].西北药学杂志,2018,33(4):517-520
- [3]蔡沁玥.竹叶花椒果皮木脂素分离、鉴定、苦度分析及其体外抗氧化活性研究[D].成都:四川农业大学,2019
- [4]李存满,骆亚薇,田宝勇.环烯醚萜类化合物的质谱裂解规律研究进展[J].河北师范大学学报(自然科学版),2015,39(6):522-526
- [5]张青青,辛欣,杨尚仁,等.复方梔黄提取物化学成分的快速定性分析[J].沈阳药科大学,2012,22(4):12-15
- [6]王小萍,徐冠玲,折改梅,等.“菝葜-三棱”药对及其单味药水煎液的酚类和有机酸类化学成分分析[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(23):171-179
- [7]王思威,刘艳萍,王潇楠,等.基于高效液相色谱-三重四极杆串联质谱技术测定鲜荔枝果肉中10种有机酸含量[J].农药学报,2019,21(3):359-365
- [8]郭群,袁桥玉.高效液相色谱-电喷雾质谱联用分析喜树果鞣花酸类成分[J].林业科技,2012,37(1):21-23
- [9]李洁,丁文欢,樊珍珍,等.高效液相色谱联用质谱法对睡莲花中4种成分的鉴定和含量测定[J].中南药学,2021,19(10):2139-2143
- [10]秦伟瀚,阳勇,刘翔,等.基于高分辨质谱法的淫羊藿特征药效黄酮质谱裂解规律及新化合物鉴定研究[J].天然产物研究与开发,2021,33(9):1478-1490
- [11]王维皓,严平贞,杨滨,等.羌活中香豆素类化合物UPLC-Q-TOF质谱裂解规律研究[J].中国中药杂志,2021,46(5):1179-1190
- [12]冯丹萍,段宝忠,夏从龙,等.红花化学成分的研究[J].中成药,2021,43(8):2253-2255
- [13]王路,孙睿,史渊源,等.阿魏化学成分、药理作用及毒理研究进展[J].世界中医药,2020,15(24):3887-3894
- [14]高璐瑶,唐志凌,李远颂,等.草果挥发油的化学成分及抑菌机理研究进展[J].保鲜与加工,2021,21(9):111-115
- [15]柳温曦,程显隆,郭晓晗,等.牛黄及代用品化学成分、质量控制方法的研究进展[J].中国药学杂志,2019,54(8):597-602