

· 化学成分研究 ·

厚朴温中汤化学成分快速分析

胥爱丽, 肖观林, 毕晓黎, 江洁怡, 陈昭, 张靖年 [广东省中医药工程技术研究院 (广东省中医药研究开发重点实验室), 广东 广州 510095]

摘要: **目的** 建立厚朴温中汤中化学成分的快速鉴定分析方法。**方法** 采用超高效液相色谱-飞行时间串联质谱联用(UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术, Waters Cortecs UPLC T3 色谱柱(150 mm ×2.1 mm, 1.6 μm), 以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱; 流速: 0.2 mL·min⁻¹, 柱温: 40 ℃。采用电喷雾离子源(ESI), 在正负离子模式下采集数据, 通过分析各成分的精确质荷比和二级碎片离子信息, 并结合质谱数据库信息、对照品的保留时间和文献报道, 对其碎片离子的裂解规律进行匹配, 实现厚朴温中汤中主要化学成分的快速鉴定, 并明确成分的药材归属。**结果** 共鉴定出制剂中的 51 个化学成分, 其中黄酮类化合物 31 个, 生物碱类 5 个, 苯丙素类 4 个, 有机酸类 3 个, 三萜类、酚类、倍半萜内酯及柠檬苦素类各 2 个, 并将各化合物归属到了各中药中。**结论** 该方法快速、准确地鉴定了厚朴温中汤中的主要化学成分, 为制剂的质量控制及物质基础研究奠定了基础。

关键词: 厚朴温中汤; 超高效液相色谱-飞行时间串联质谱联用; 化学成分; 黄酮类化合物

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)02-0252-07

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.02.015

Rapid Identification of Chemical Components in *Houpo Wenzhong* Decoction

XU Aili, XIAO Guanlin, BI Xiaoli, JIANG Jieyi, CHEN Zhao, ZHANG Jingnian (Guangdong Province Engineering Technology Research Institute of Traditional Chinese Medicine/Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development in Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To establish a method for rapid separation and identification of chemical components in *Houpo Wenzhong* decoction. **Methods** An ultra performance liquid chromatography tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometric method (UPLC-Q-TOF-MS) was used. The analysis was performed on Waters Cortecs UPLC T3 (150 mm ×2.1 mm, 1.6 μm) with a mobile phase consisted of 0.1% formic acid and acetonitrile in a gradient mode. The flow rate was set at 0.2 mL·min⁻¹ and the column temperature was maintained at 40 ℃. ESI ion source was used to ensure the data collected in positive and negative ion mode. The chemical components of *Houpo Wenzhong* decoction were identified by comparing with the retention times and the mass data of the reference substances, and consulting literature reports and mass spectrometry database. **Results** Fifty-one compounds were identified by the time of flight mass spectrometry and literature data, including 31 flavonoids, 5 alkaloids, 4 phenylpropanoids, 3 organic acids, 2 triterpenoids, 2 phenols, 2 sesquiterpene lactones and 2 limonoids, respectively. All the compounds were assigned to various traditional Chinese medicines in the prescription. **Conclusion** The method was accurate, rapid and sensitive, it laid a foundation for in-depth studies of pharmacodynamic material basis and quality control research of *Houpo Wenzhong* decoction.

Keywords: *Houpo Wenzhong* decoction; UPLC-Q-TOF-MS; chemical components; flavonoids

收稿日期: 2020-07-22

作者简介: 胥爱丽, 女, 博士, 主任中药师, 研究方向: 中药质量评价。Email: xal555@163.com。

基金项目: 广东省科技计划项目(创新中药研发平台建设, 2017A070701017)。

厚朴温中汤源于金代李东垣的《内外伤辨惑论》，为经典名方，主治脾胃虚寒、心腹胀满以及秋冬客寒犯胃，时作疼痛。该方由厚朴、陈皮、草豆蔻、木香、干姜、茯苓、甘草、生姜等 8 味中药组成，具有温中理气、燥湿除满的功效。经典名方作为中药方剂的杰出代表，凝聚了传统中医药的核心内涵，体现了历代医家对疾病、组方配伍理论的基本认识。对经典名方进行深入的研究与开发，是挖掘传统中医药宝库的一把金钥匙。为支持经典名方的新药开发，国家中医药管理局与国家药品监督管理局共同制定了《古代经典名方目录(第一批)》，其中就有厚朴温中汤。因此，对厚朴温中汤进行研究开发具有重要的意义。而对方中的化学成分进行快速分析，明确其主要化学成分，选择其中的有效成分进行质量控制是保证临床用药安全、有效、稳定、可控，使其成功开发为中药新药的基础和前提条件。超高效液相色谱-飞行时间串联质谱联用(UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术是现代先进的分析手段，飞行时间质谱法具有高分辨、高灵敏度的特点，与高效、快速的 UPLC 联用，能够实现化学成分的快速分离和准确鉴定^[1-2]。本研究运用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术建立了厚朴温中汤化学成分的快速分析方法，以全面地了解制剂中的化学成分群，并对成分进行了药材归属。

1 仪器与试剂

ExionLC AC 液相色谱仪、X500R Q TOF 质谱仪(美国 Sciex 公司); Mettler TOLEDO 型电子分析天平(瑞士梅特勒公司); KQ-700DE 型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司); MilliPore Advantage A10 自动纯水机(美国默克密理博公司)。

对照品绿原酸(批号: 110753-201415)、厚朴酚(批号: 110730-201614)、和厚朴酚(批号: 110729-200412)、橙皮苷(批号: 110721-201115)、甘草苷(批号: 111610-201106)、木香烃内酯(批号: 111524-201208)、山姜素(批号: 761-9202)、去氢木香内酯(批号: 111525-201008)均购自中国食品药品检定研究院; 乔松素(批号: Q-060-160407)、芸香柚皮苷(批号: Y-071-180917)、芹糖异甘草苷(批号: Q-093-180324)、木兰花碱(批号: M-026-180524)购自成都瑞芬思生物科技有限公司。厚朴温中汤由广东省第二中医院制剂室提供，方中姜厚朴、陈皮、草豆蔻、木香、茯苓、干姜、炙甘草、生姜均经广东省中医药工程技术研究院刘法锦教授

鉴定。将处方七味药粉碎成最粗粉，置电砂锅中，加入处方量 32 倍水，武火煮沸，后以文火煎煮至约 16 倍量，煎液趁热滤过，取滤液，冷冻干燥，密封，即得厚朴温中汤冻干粉样品。乙腈、甲酸为色谱纯；甲醇为分析纯；水为超纯水。

2 方法

2.1 供试品溶液的制备 取厚朴温中汤冻干粉样品约 0.25 g，置 50 mL 的锥形瓶中，精密加入 50% 甲醇 25 mL，超声处理 30 min；放冷，摇匀，滤过，取续滤液，过 0.22 μm 微孔滤膜，即得。

2.2 对照品溶液的制备 分别取各对照品适量，精密称定，加甲醇溶解定容，制成每 1 mL 各含 10 μg 的混合对照品溶液。

2.3 色谱条件 色谱柱: Waters CORTECS UPLC T3 (150 mm $\times$ 2.1 mm, 1.6 μm)；流动相: 以乙腈为流动相 A，以 0.1% 甲酸水溶液为流动相 B 进行梯度洗脱(0~25 min, 10%~20% A；25~40 min, 20%~35% A；40~55 min, 35%~60% A；55~65 min, 60%~70% A；65~68 min, 70%~100% A)；流速: 0.2 mL $\cdot$ min⁻¹；柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$ ；进样体积: 1 μL 。

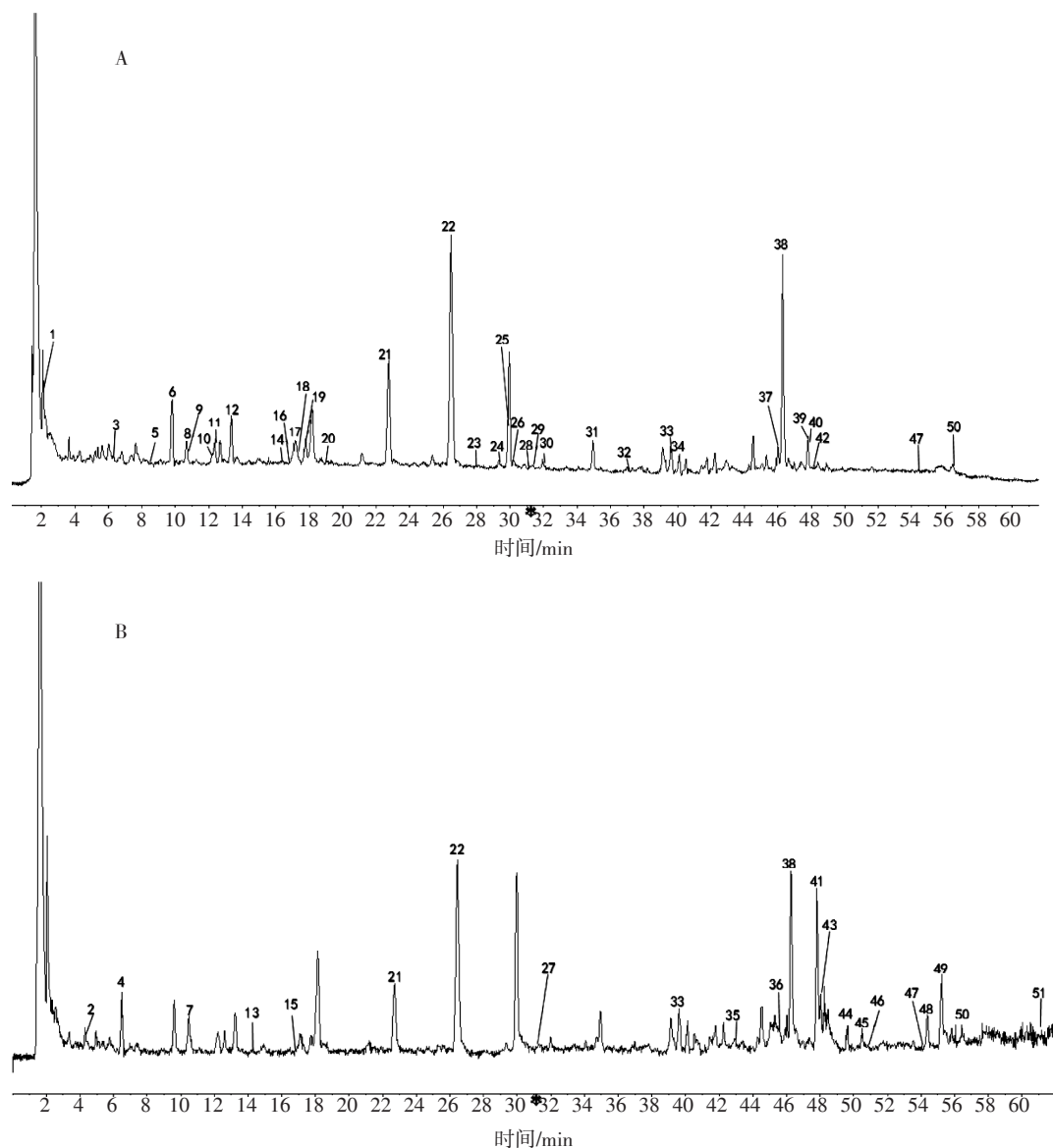
2.4 质谱条件 Sciex X500R Q TOF 质谱仪，正、负离子模式下分别扫描(ESI)，仪器参数: 扫描范围(m/z) 100~1 000，雾化气压为 379.2 kPa，辅助气压为 379.2 kPa，气帘气压为 241.3 kPa，雾化温度为 500 $^{\circ}\text{C}$ ；正离子模式: 毛细管电压 5 500 V，裂解电压 100 V，碰撞能量 35 V；负离子模式: 毛细管电压 4 500 V，裂解电压-80 V，碰撞能量 35 V。

3 结果与分析

3.1 鉴定结果 根据高分辨质谱数据分析化合物保留时间、准确相对分子质量、碎片离子信息，并与对照品和文献[3-14]对比，共鉴别出 51 个化学成分，包括 31 个黄酮类(化合物 5, 8~11, 13~14, 16~22, 24~26, 28~29, 31~36, 40, 42~46)、5 个生物碱类(化合物 2, 4, 7, 15, 27)、4 个苯丙素类(化合物 6, 12, 47, 50)、3 个有机酸类(化合物 1, 3, 23)、2 个三萜类(化合物 38, 41)、2 个酚类(化合物 39, 51)、2 个倍半萜内酯(化合物 48, 49)及 2 个柠檬苦素类(化合物 30, 37)，总离子流图见图 1，具体鉴定结果见表 1。

3.2 化合物的裂解规律分析

3.2.1 黄酮类 从厚朴温中汤中共鉴定出 31 个黄酮类化合物(化合物 5, 8~11, 13~14, 16~22, 24~2,



注: A. 正离子模式; B. 负离子模式

图1 厚朴温中汤的总离子流图

Figure 1 The total ions chromatograms of *Houpo Wenzhong* decoction

表1 厚朴温中汤中化学成分的上PLC-Q-TOF-MS/MS的分析结果

Table 1 The result of chemical components' identification in *Houpo Wenzhong* decoction by UPLC-Q-TOF-MS/MS

峰号	t_R/min	化合物	分子式	正离子模式(m/z)			负离子模式(m/z)			化合物归属
				分子量	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	分子量	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	
1	2.25	丁二酸	$C_4H_6O_4$	-	-	-	117.019 4	0.7	99.926 0, 73.029 5	木香
2	4.42	reticuline	$C_{19}H_{23}NO_4$	330.169 8	-0.6	285.112 0, 192.102 3	-	-	-	厚朴
3	6.12	绿原酸 ^a	$C_{16}H_{18}O_9$	-	-	-	353.087 5	-1	191.056 1	木香
4	6.50	厚朴碱	$C_{19}H_{23}NO_3$	314.174 3	-2.5	269.116 9, 107.048 8	-	-	-	厚朴
5	8.24	lucenin-2	$C_{27}H_{30}O_{16}$	-	-	-	609.145 7	-0.7	489.104 0, 369.061 4	陈皮
6	9.80	magnoloside B	$C_{38}H_{46}O_{20}$	-	-	-	785.249 6	-1.8	623.217 0, 477.160 5, 161.023 9	厚朴
7	10.45	木兰花碱 ^a	$C_{20}H_{23}NO_4$	342.169 7	-0.9	282.088 8, 265.085 9, 237.091 2	-	-	-	厚朴
8	10.67	alagadin	$C_{34}H_{44}O_{20}$	-	-	-	771.233 4	-2.5	609.202 7, 161.024 4	厚朴

(续表 1)

峰号	t_R/min	化合物	分子式	正离子模式(m/z)			负离子模式(m/z)			化合物归属
				分子量	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	分子量	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	
9	10.68	维采宁-2	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	—	—	—	593.150 2	-1.6	575.141 2, 503.119 7, 473.108 8	陈皮
10	12.21	stellarin-2	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	—	—	—	623.161 1	-1.1	413.087 0, 383.077 7, 312.063 5	陈皮
11	12.35	narirutin-4'-glucoside	$\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{O}_{19}$	—	—	—	741.223 2	-2.1	433.113 4, 271.060 9	陈皮
12	13.34	magnololide A	$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$	—	—	—	623.197 0	-1.8	461.165 0, 315.108 3, 161.023 6	厚朴
13	14.30	夏佛塔苷	$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$	565.155 6	0.8	427.101 7, 409.092 4	—	—	—	甘草
14	16.41	异甘草苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	—	—	—	417.118 8	-0.8	255.065 8, 135.008 6	甘草
15	16.77	阿西米洛宾	$\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_2$	268.133 2	0	251.107 5	—	—	—	厚朴
16	16.99	甘草素-4'-芹糖苷	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$	—	—	—	549.160 9	-0.9	417.118 2, 255.065 8, 135.009 0	甘草
17	17.18	甘草苷 ^a	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	—	—	—	417.118 4	-1.6	255.065 1, 135.008 3	甘草
18	17.35	eriocitrin/neoeriocitrin	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	—	—	—	595.166 2	-1.1	287.055 9	陈皮
19	17.79	甘草苷元-7-O-D-芹糖-4'-O-D-葡萄糖	$\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$	—	—	—	549.160 2	-2.2	417.119 6, 255.066 1	甘草
20	18.73	芦丁	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	—	—	—	609.145 6	-0.9	300.026 9	陈皮
21	22.71	芸香柚皮苷 ^a	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$	581.185 9	-0.9	273.075 0, 153.018 1	579.171 0	-1.6	271.059 4, 151.003 0	陈皮
22	26.46	橙皮苷 ^a	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$	611.196 6	-0.7	449.143 7, 345.097 3, 303.085 2	609.181 6	-1.4	301.069 9	陈皮
23	27.60	3,5-O-双咖啡酰基奎宁酸	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$	—	—	—	515.119 3	-0.3	353.087 8, 173.045 6	木香
24	29.32	Limocitrin-3-O-HMG- β -glucoside	$\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{O}_{17}$	—	—	—	651.154 7	-3.0	549.123 5, 507.113 1, 345.060 5	陈皮
25	29.82	芒柄花苷	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_9$	—	—	—	475.124 2	-0.9	267.066 0, 252.042 6	甘草
26	30.21	芹糖异甘草苷 ^a	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$	—	—	—	549.160 9	-0.9	417.119 2, 255.065 8	甘草
27	30.56	罗默碱	$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_2$	280.133 4	0.7	249.091 4, 219.080 9	—	—	—	厚朴
28	30.78	新甘草苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	—	—	—	417.118 7	-0.9	255.065 9, 135.008 5	甘草
29	31.33	甘草素	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$	—	—	—	255.066 1	-0.8	135.008 6	甘草
30	31.94	nomilin acid glucoside	$\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{O}_{16}$	—	—	—	711.285 6	-1.9	651.265 7, 607.275 1	陈皮
31	34.95	poncirin	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$	—	—	—	593.186 1	-2.5	285.075 2	陈皮
32	36.98	monohydroxy-pentamethoxyflavonol-3-O-HMG- β -glucoside	$\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{O}_{18}$	—	—	—	709.196 7	-2.6	607.166 0, 565.156 0, 403.102 9	陈皮
33	39.64	山姜素 ^a	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$	271.096 3	-0.6	167.033 3	269.081 4	-1.9	254.058 1, 165.019 2	草豆蔻
34	40.12	natsudaicin-3-O-HMG- β -glucoside	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{18}$	—	—	—	723.212 6	-2.2	417.117 8, 402.095 1, 359.077 0	陈皮
35	42.92	异甜橙黄酮	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$	373.128 3	0.3	343.081 5, 329.099 9, 315.086 9	—	—	—	陈皮
36	45.49	甜橙黄酮	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$	373.128 3	0.3	343.081 6, 329.102 6, 312.099 8	—	—	—	陈皮
37	46.03	柠檬苦素	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_8$	—	—	—	469.186 6	-0.4	381.210 3, 229.123 6	陈皮
38	46.28	甘草酸	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}$	823.411 5	0.5	647.378 6, 471.347 2	821.394 1	-2.9	351.055 4, 193.035 0	甘草
39	47.78	6-姜辣素	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_4$	—	—	—	293.176 0	0.5	99.081 7, 57.034 3	干姜、生姜
40	47.79	glycyrrhizin isomer	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}$	—	—	—	821.393 5	-3.7	351.056 1	甘草
41	47.82	甘草皂苷 H_2 或甘草皂苷 K_2	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}$	823.411 6	0.6	647.380 6, 471.348 9	—	—	—	甘草
42	47.90	乔松素 ^a	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4$	—	—	—	255.066 1	-0.8	213.055 5, 151.003 6	草豆蔻
43	48.04	川陈皮素	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_8$	403.138 6	-0.5	388.115 6, 373.091 2, 355.081 9	—	—	—	陈皮
44	49.63	3,5,6,7,8,3',4'-heptemethoxyflavone	$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_9$	433.149 0	-0.7	418.126 2, 403.101 9, 388.079 4	—	—	—	陈皮

(续表 1)

峰号	t_R/min	化合物	分子式	正离子模式(m/z)			负离子模式(m/z)			化合物归属
				分子量	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	分子量	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	
45	50.50	橘皮素	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$	373.127 9	-0.6	343.080 4, 211.023 8	-	-	-	陈皮
46	50.60	monohydroxy-pentamethoxyflavone	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	419.134 0	0.8	404.110 7, 389.086 9, 328.058 7	-	-	-	陈皮
47	54.01	和厚朴酚 ^a	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_2$	267.137 9	-0.4	226.098 7, 197.059 3	265.123 4	2.3	249.091 8, 224.084 3, 223.076 3, 197.060 6	厚朴
48	54.38	木香烃内酯 ^a	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_2$	233.153 4	-0.8	215.142 9, 187.148 0, 159.116 7, 145.101 0, 131.085 4	-	-	-	木香
49	55.22	去氢木香内酯 ^a	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_2$	231.137 8	-0.8	213.127 9, 185.132 3, 157.101 1, 143.085 5	-	-	-	木香
50	56.48	厚朴酚 ^a	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_2$	267.137 8	-0.6	239.106 6, 226.099 3, 197.060 0	265.122 5	2.2	247.112 6, 245.097 0, 224.085 9, 223.077 2	厚朴
51	60.96	桉木酮	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}$	263.143 3	1	105.069 9, 91.054 1	-	-	-	草豆蔻

注: a. 对照品比对鉴定

28~29, 31~36, 40, 42~46), 黄酮类化合物主要来自于陈皮和甘草。黄酮类化合物在植物体中大部分以游离形式或与糖结合成苷等形式存在, 经研究发现, 黄酮类化合物在质谱条件下, 断裂方式主要有 CO 、 CO_2 、 CHO 等一些中性分子丢失、逆狄尔斯-阿尔德(RDA)裂解及糖基断裂。以化合物 17、21 和 43 为例, 阐述黄酮类化合物的质谱行为。负离子模式下, 化合物 17 的准分子离子峰为 m/z 417.118 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 其二级碎片离子有 m/z 255.066 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}]^-$, m/z 135.008 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}]^-$ 碎片峰, 结合质谱裂解规律、比对文献[8], 推测其为甘草苷, 可能的裂解方式见图 2-A。正离子模式下, 化合物 21 的准分子离子峰为 m/z 581.185 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 其二级碎片离子有 m/z 419.134 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$, m/z 435.128 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{Rha}]^+$, m/z 401.124 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{H}_2\text{O}]^+$, m/z 273.075 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{Rha}-\text{Glc}]^+$ 碎片峰, 结合质谱裂解规律及元素分析结果, 确定分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$, 结合质谱裂解规律、与文献[4, 7]和对照品比对, 推测化合物 21 为芸香柚皮苷, 可能的裂解过程见图 2-B。化合物 43 的准分子离子峰为 m/z 403.138 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 其二级质谱主要的碎片离子为 m/z 388.115 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3]^+$ 、 m/z 373.091 2 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CH}_3]^+$ 、 m/z 355.081 8 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}]^+$, 结合质谱裂解规律、与文献[4]比对, 推测其为川陈皮素。

3.2.2 生物碱类 从厚朴温中汤中共鉴定出 5 个生物碱类(化合物 2, 4, 7, 15, 27), 生物碱类化合物主要来自于厚朴。厚朴生物碱大多具有吡咯[1,2- α]氮杂环或吡啶[1,2- α]氮杂环的母核, 二级质谱中可见

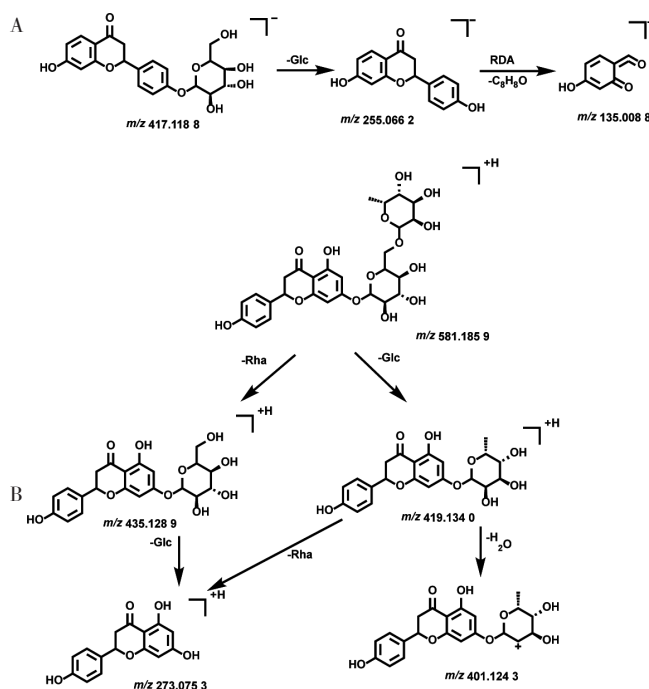


图 2 甘草苷(A)和芸香柚皮苷(B)的质谱裂解途径

Figure 2 Fragment pathways of liquiritin(A)and narirutin(B)

$[\text{M}+\text{H}-100]^+$ 峰、 $[\text{M}+\text{H}-74]^+$ 峰, 分别是由准分子离子脱去一个 α -甲基- γ -内酯环和由准分子离子经氢原子转移引发四元环重排, 脱去 $\text{CH}_3\text{CH}=\text{C}(\text{OH})_2$ 产生; 同样, 还可以看到脱甲基、脱水、脱 CO 等碎片离子峰。以木兰花碱为例, 阐述生物碱类化合物的质谱行为。正离子模式下, 化合物 7 的准分子离子峰为 m/z 342.169 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 其二级碎片离子表现为含氮杂环开裂, 脱去两分子甲基和一个氮原子形成 m/z 297.112 0 $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5\text{N}]^+$ 碎片, 进一步脱去一分子甲

氧基或甲基分别形成 m/z 265.085 9 $[M-C_2H_7N-CH_4O]^+$, m/z 282.088 8 $[M-C_2H_7N-CH_3]^+$ 碎片, 最后脱去一分子 CO 形成 m/z 237.091 2 $[M-C_2H_7N-CH_4O-$

CO] $^+$ 碎片峰。结合文献[3]报道、裂解情况, 并与对照品对比, 推测其为木兰花碱, 其可能的裂解规律见图 3。

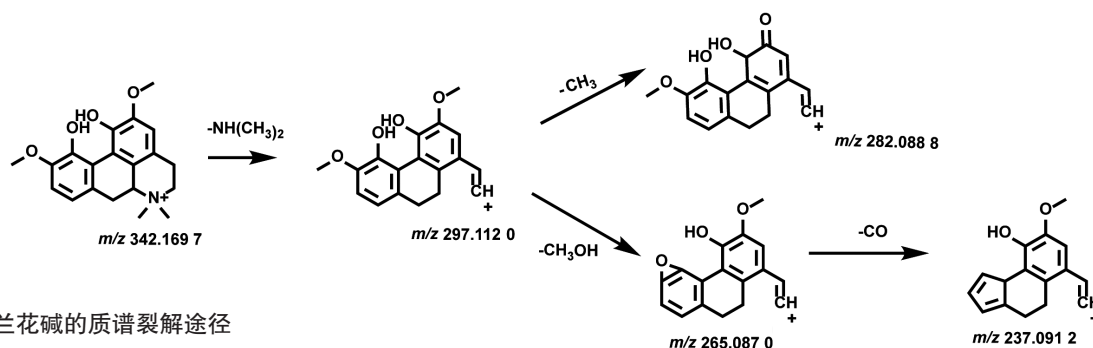


图 3 木兰花碱的质谱裂解途径

Figure 3 Fragmentation pathways of magnoflorine

3.2.3 苯丙素类 从厚朴温中汤中共鉴定出 4 个苯丙素类(化合物 6, 12, 47, 50), 苯丙素类化合物主要来自于厚朴。以 magnololide B 和厚朴酚为例, 阐述苯丙素类化合物的质谱行为。负离子模式下, 化合物 6 的准分子离子峰为 m/z 785.249 6 $[M-H]^-$, 其二级碎片表现为准分子离子丢失一分子咖啡酰基得到 m/z 623.217 0 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$, 之后再丢失一分子鼠李糖得到单糖苷碎片离子 m/z 477.160 5 $[M-H-$

$C_6H_6O_3-Rha]^-$ 和葡萄糖中性碎片离子 m/z 161.023 9, 结合文献[3]报道, 推测该化合物为 magnololide B。化合物 47 的准分子离子峰为 m/z 265.123 4 $[M-H]^-$, 其二级碎片离子有 m/z 223.076 3 $[M-H-C_3H_5]^-$, m/z 197.060 6 为 $[M-H-C_3H_5-CO]^-$ 碎片峰, 均为和厚朴酚的特征碎片, 结合裂解规律并与对照品对比, 确定为和厚朴酚, 其可能的裂解规律见图 4。

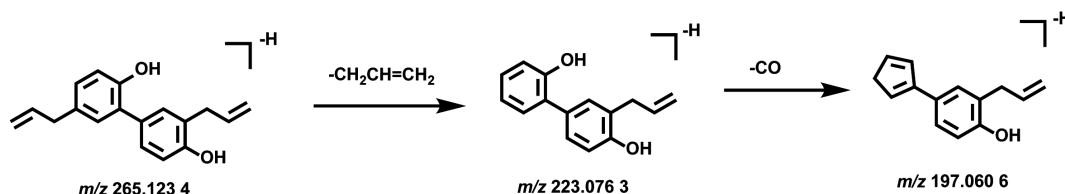


图 4 和厚朴酚的质谱裂解途径

Figure 4 Fragmentation pathways of honokiol

3.2.4 有机酸类 从厚朴温中汤中共鉴定出 3 个有机酸类(化合物 1, 3, 23)。有机酸类化合物主要以负离子 $[M-H]^-$ 的形式存在, 裂解方式主要是发生 CO_2 或 H_2O 分子的中性离子丢失。以绿原酸为例, 阐述有机酸化合物的质谱行为。负离子模式下, 化合物 3 的

准分子离子峰为 m/z 353.087 5 $[M-H]^-$ 碎片, 其二级碎片离子为 m/z 191.056 1 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$, m/z 179.035 5 $[M-H-C_7H_{10}O_5]^-$, m/z 135.045 0 $[M-H-C_9H_6O_3-H_2O]^-$ 碎片峰, 结合裂解规律并于对照品比对, 确定该结构为绿原酸, 其可能的裂解规律见图 5。

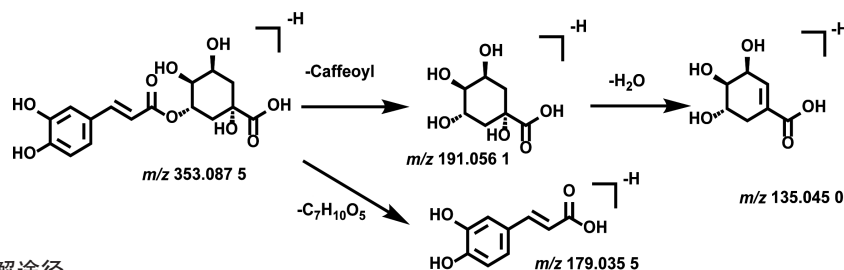


图 5 绿原酸的质谱裂解途径

Figure 5 Fragmentation pathways of chlorogenic acid

3.2.5 其他 厚朴温中汤中还含有 2 个三萜类成分(化合物 38, 41)、2 个酚类(化合物 39, 51)、2 个倍半萜内酯(化合物 48, 49)及 2 个柠檬苦素类(化合物 30, 37)化合物。以甘草酸为例阐述三萜类化合物可能的裂解规律。负离子模式下, 化合物 38 的准分子离子峰为 m/z 821.3941 $[M-H]^-$, 根据精确相对分子质量可确定其分子式为 $C_{42}H_{62}O_{16}$, 其二级碎片离子为 m/z 645.3649 $[M-H-GluA]^-$ 、 m/z 469.3320 $[M-H-2GluA]^-$ 及 2 分子葡萄糖醛酸的结构 m/z 351.0556。根据裂解情况, 并与对照品对比, 确定该化合物为甘草酸, 可能的裂解规律见图 6。

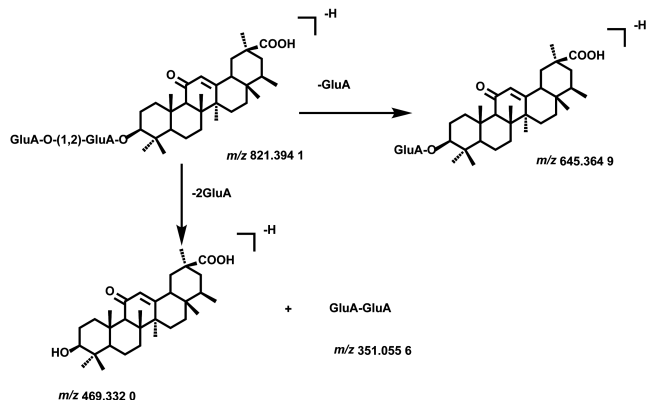


图 6 甘草酸的质谱裂解途径

Figure 6 Fragmentation pathways of glycyrrhizic acid

4 讨论

本研究利用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术建立了厚朴温中汤化学成分的快速分析鉴定方法, 分别在正、负离子模式下采集供试品溶液的总离子流图, 较全面地表征了其主要的化学成分, 共鉴定出了 51 个化合物, 其中主要为黄酮类化合物, 其余成分还有生物碱类、酚类、三萜类、苯丙素类、有机酸类、倍半萜内酯类及柠檬苦素类等化合物。对化学成分进行归属, 其中 10 个来源于厚朴、20 个来源于陈皮、12 个来源于甘草、3 个来源于草豆蔻、5 个来源于木香、1 个来源于生姜。从成分归属可知, 君药厚朴、陈皮中的成分贡献最多, 与处方的功能主治相符。方中茯苓主要含有三萜类成分, 极性较小,

水煎煮较难提取, 因此茯苓的成分在厚朴温中汤水煎液中未能体现。本研究所建立的分析检测方法快速、灵敏、准确、可靠, 为厚朴温中汤的质量控制奠定了基础, 也为经典名方的研究思路与方法提供了参考。

参考文献:

- [1] 孙瑜, 田树成. 川木香化学成分研究[J]. 河南中医, 2019, 39(12): 1923-1928.
- [2] 黎晓丽, 孙冬梅, 罗宇琴, 等. 基于主成分分析及聚类判别模式的木香UPLC指纹图谱研究[J]. 中草药, 2019, 50(20): 5040-5046.
- [3] 赵慧, 严颖, 邹立思, 等. 基于UFLC-Triple TOF-MS/MS技术分析厚朴化学成分[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(20): 1824-1831.
- [4] 张珂, 许霞, 李婷, 等. 利用UHPLC-IT-TOF-MS分析陈皮的化学成分[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(4): 899-909.
- [5] ZHENG Y, ZENG X, PENG W, et al. Characterisation and classification of Citri reticulatae pericarpium varieties based on UHPLC-Q-TOFMS/MS combined with multivariate statistical analyses [J]. Phytochem Anal, 2019, 30(3): 278.
- [6] 赵慧, 严颖, 邹立思, 等. 基于LC-MS/MS 和GC-MS/MS 技术分析“川朴”与“温朴”的差异化学成分[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(1): 1-9.
- [7] 潘玄玄, 宋粉云, 李华. 基于UPLC-Q-TOF/MS技术的沉香化气丸化学成分分析[J]. 中草药, 2018, 49(13): 2984-2992.
- [8] 赵艳敏, 刘素香, 张晨曦, 等. 基于HPLC-Q-TOF-MS技术的甘草化学成分分析[J]. 中草药, 2016, 47(12): 2061-2068.
- [9] 胡耿, 黄绮韵, 张甜, 等. 甘草黄酮类化学成分研究[J]. 中草药, 2019, 50(21): 5187-5192.
- [10] 谢鹏, 秦华珍, 谭喜梅, 等. 草豆蔻化学成分和药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(3): 60-63.
- [11] 刘劲峰, 冯中, 吴燕红. 复方草豆蔻合剂中山姜素与小豆蔻明的含量测定[J]. 今日药学, 2009, 19(4): 46-48.
- [12] 李敬芳. 陈皮中柠檬苦素的响应面提取及其抗炎作用研究[J]. 食品工业, 2015, 36(5): 163-165.
- [13] 张文焕, 刘平香, 邱静, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速同时测定生姜中10种营养成分[J]. 色谱, 2019, 37(10): 1105-1111.
- [14] 李元圆, 俞桂新, 杨莉, 等. 草豆蔻药材质量控制方法研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(16): 2091-2094.

(编辑: 梁进权)