

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的紫地榆化学成分分析

郝仲玟^{1,2}, 吴玲芳^{1,3,4}, 冯玉^{1,3,4}, 田伟^{1,3,4}, 牛丽颖^{1,3,4*}, 田宇柔^{1,3,4*} (1.河北中医药大学, 石家庄 050091; 2.河北中医药大学第一附属医院, 石家庄 050011; 3.中药材品质评价与标准化河北省工程研究中心, 石家庄 050091; 4.河北省中药配方颗粒技术创新中心, 石家庄 050091)

摘要: 目的 基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 分析鉴定紫地榆中的化学成分。方法 采用 ACQUITY UPLC-BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.1% 甲酸溶液为流动相, 进行梯度洗脱; 质谱条件: 采用 ESI 电喷雾离子源, 进行正、负离子全扫描。结果 通过对质谱数据分析并参考相关文献, 结合对照品比对结果, 共鉴定出 67 个化学成分, 包含鞣质类 21 个、有机酸类 20 个、黄酮及其苷类 15 个、萜类 11 个。结论 本研究建立的方法快速、准确, 可为紫地榆的质量控制及物质基础研究提供参考依据。

关键词: 紫地榆; 超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱; 化学成分

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2025)03-0368-09

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20231592

引用本文: 郝仲玟, 吴玲芳, 冯玉, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的紫地榆化学成分分析[J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(3): 368-376.

Analysis of Chemical Components in *Geranium Strictipes* Knuth Based on UPLC-Q-TOF-MS/MS

XI Zhongwen^{1,2}, WU Lingfang^{1,3,4}, FENG Yu^{1,3,4}, TIAN Wei^{1,3,4}, NIU Liying^{1,3,4*}, TIAN Yurou^{1,3,4*} (1.Hebei University of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China; 2.The First Affiliated Hospital of Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China; 3.Quality Evaluation & Standardization Hebei Province Engineering Research Center of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China; 4.Hebei Traditional Chinese Medicine Formula Granule Technology Innovation Center, Shijiazhuang 050091, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To identify the chemical constituents in *Geranium Strictipes* Knuth based on ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS). **METHODS** Using ACQUITY UPLC-BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) column, using acetonitrile-0.1% formic acid solution as mobile phase for gradient elution. Mass spectrometry conditions: using ESI electron Spray ion source for full scan of positive and negative ions. **RESULTS** By analyzing the mass spectrometry data and referring to relevant literature, combined with the comparison results of reference substances, a total of 67 chemical components were identified, including 21 tannins, 20 organic acids, 15 flavonoids and their glycosides, and 11 terpenes. **CONCLUSION** The rapid and accurate establishment of this study can provide a reference for the control research and material basis research of *Geranium Strictipes* Knuth.

KEYWORDS: *Geranium Strictipes* Knuth; UPLC-Q-TOF-MS/MS; chemical composition

紫地榆为牻牛儿苗科植物紫地榆 *Geranium strictipes* Knuth 的干燥根, 为云南省特有民族药, 在彝族中应用较为广泛, 始载于《滇南本草》, 现收载于《云南省药品标准》(2005 年版)。其味苦、酸、涩, 性微寒, 可凉血止血, 解毒敛疮, 常用于治疗各种出血、水火烫伤、痈肿疮毒等^[1]。现代研究发现紫地榆中含有鞣质、酚酸、黄酮、生物碱等类型成分^[2-3], 以鞣质类成分为主要成分类型, 黄酮等类型的具体成分目前尚不明确。紫地榆具有抗炎镇痛、止血、防龋、抗氧化等药理

作用^[4-7]。UPLC-Q-TOF-MS/MS 可利用少量样品进行有效分析, 选择性强, 灵敏度高, 分离性能好, 广泛应用于中药及其复方制剂的化学成分定性定量分析、中药材质量控制、中药药动学等研究^[8]。因此, 本研究拟采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 对紫地榆的化学成分进行快速分析, 以期为其质量评价及物质基础研究提供依据。

1 材料与试剂

ACQUITY H-Class 型超高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); Triple TOFTM 6600+型四极杆串

基金项目: 河北省重点研发计划项目 (23372502D); 河北省省属高校基本科研业务费 (TDZR2024004)

作者简介: 郝仲玟, 女, 硕士 E-mail: 17798001673@163.com *通信作者: 牛丽颖, 女, 硕士, 教授, 博导 E-mail: niuliyinggy@hebcm.edu.cn 田宇柔, 女, 硕士, 高级实验师 E-mail: tianyurou@hebcm.edu.cn

联飞行时间高分辨质谱仪(配有 ESI 离子源)、Analyst TF 1.8.1 数据采集软件、PeakView® 1.2 数据处理软件(美国 SCIEX 公司); BSA224S-CW 型万分之一、CPA225D 型十万分之一电子分析天平均购自赛多利斯科学仪器北京有限公司; KQ-250 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); YB-150 型多功能粉碎机(永康市速锋工贸有限公司); UPR-11-20L 型优普系列超纯水机(四川优普超纯科技有限公司)

对照品: 没食子酸(批号: 110831-201605; 纯度: 90.8%)、鞣花酸(批号: 111959-201903; 纯度: 88.8%)、异槲皮苷(批号: 111809-201804; 纯度: 97.2%)、金丝桃苷(批号: 111521-201809; 纯度: 94.9%)、齐墩果酸(批号: 110709-201607; 纯度: 91.7%)均购自中国食品药品检定研究院; 儿茶素(批号: PS020094; 纯度: 98.0%)、短叶苏木酚酸(批号: PS21054-10; 纯度: 98.0%)、没食子酸甲酯(批号: PS020153; 纯度: 98.0%)、山柰酚(批号: PS001201; 纯度: 98.0%)、老鹳草素(批号: PS010341; 纯度: 98.0%)、1, 2, 3, 4, 6-*O*-五没食子酰基葡萄糖(批号: PS020247; 纯度: 98.0%)均购自成都普思生物科技股份有限公司; 柯里拉京(中国药品生物制品检定所, 批号: 111623-200302; 纯度: 98.2%); 紫云英苷(成都曼斯特生物科技有限公司, 批号: MUST-18031820; 纯度: 98.81%)。

乙腈、甲醇(色谱纯, 德国 Merck); 甲酸(色谱纯, 美国 Dikma); 其他试剂均为分析纯, 实验用水为屈臣氏蒸馏水。

紫地榆药材(批号: 2009283)由神威药业有限公司提供, 经楚雄彝族自治州中医院余惠祥主任医师鉴定为牻牛儿苗科紫地榆 *Geranium strictipes* Knuth 的干燥根。

2 方法

2.1 色谱与质谱条件

色谱条件: ACQUITY UPLC-BEH C_{18} (2.1 mm×100 mm, 1.7 μ m) 色谱柱; 流动相为乙腈(A)-0.1% 甲酸溶液(B), 梯度洗脱(0~14 min, 5%→9%A; 14~20 min, 9%→10%A; 20~32 min, 10%→12%A; 32~35 min, 12%→17%A; 35~50 min, 17%A; 50~90 min, 17%→90%A; 90~95 min, 90%A); 柱温 30 $^{\circ}$ C; 流速 0.4 mL·min⁻¹; 进样体积 2 μ L。

质谱条件: ESI 电喷雾离子源, 正负离子全扫描模式, 扫描范围 m/z 100~2 000; 雾化气 55 psi; 加热气 55 psi, 接口持续加热, 全程通入氮气; 气帘气 35 psi; 温度 550 $^{\circ}$ C; 源喷射电压, 正离子模式 5 500 V, 负离子模式 -4 500 V; 去簇电压 80/-80 V; 碰撞能量 40/-40 eV、70/-70 eV; 碰撞能量扩展, 20 eV; 对>50 cps 的 10 个响应最强峰进行 MS2 采集, 开启动态背景扣除; 累积时间 200 ms; 每 2 个样品采取自动校准。

2.2 供试品溶液的制备

取紫地榆药材粉末(过 4 号筛)约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加入 70% 甲醇 25 mL, 称定重量, 超声处理(250 W, 40 kHz)30 min, 取出, 放冷, 再称定质量, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.3 混合对照品溶液的制备

分别取没食子酸、没食子酸甲酯、儿茶素、短叶苏木酚酸、柯里拉京、老鹳草素、鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、紫云英苷、山柰酚、 β -1, 2, 3, 4, 6-*O*-五没食子酰基葡萄糖、齐墩果酸对照品适量, 精密称定, 置于量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 即得各成分质量浓度均为 20 μ g·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.4 化学成分鉴定

通过检索 Chemspider(<http://www.chemspider.com/>)、ChemicalBook(<https://www.chemicalbook.com/ProductIndex.aspx>)、Pubmed(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、TCMP(<https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>)、ScienceDirect(<https://www.sciencedirect.com/>)数据库, 并结合文献中关于紫地榆及同科属植物的检索结果, 系列梳理紫地榆及同科属植物化学成分相关信息, 创建包含中英文名称、分子式、相对分子质量、二级质谱碎片等信息的紫地榆化学成分数据库, 导入到 PeakView® 1.2 软件中, 与采集结果进行比对, 并将供试品溶液质谱数据与对照品质谱数据进行保留时间、精确相对分子质量、二级质谱的比对确认。对于无对照品比对的化学成分, 设置筛选得到质量误差<5 ppm, 根据保留时间、精确质荷比、二级碎片等信息对化合物进行裂解规律推导及鉴定。对于响应较高但未知的准分子离子峰, 使用“Formula Finder”功能推测其可能的化学元素组成及分子式。

3 结果

3.1 紫地榆化学成分分析

按照“2.1”项下条件,将混合对照品、供试品溶液分别在正、负离子模式下进行 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析,得到混合对照品以及供试品总离子流图,见图 1。

3.2 紫地榆化学成分鉴定

按照“2.4”项下方法鉴定,最终共鉴定出 67 个化合物,包括鞣质类化合物 21 个,有机酸类化合物 20 个,黄酮类化合物 15 个,萜类化合物 11 个,结果见表 1^[9-27]。

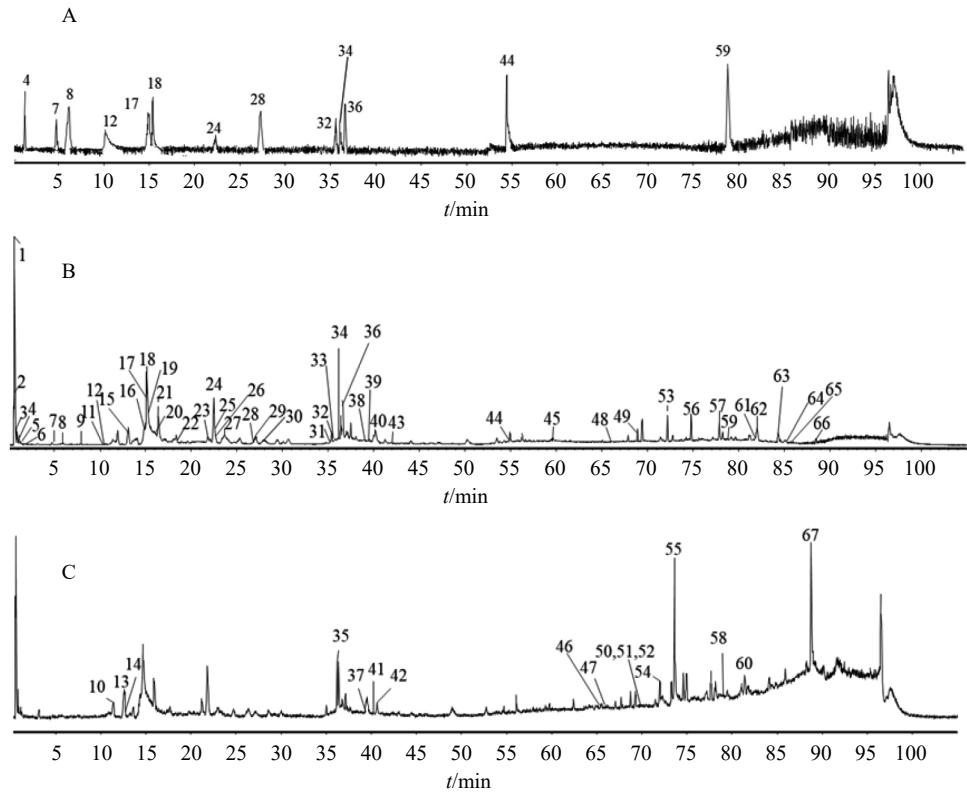


图 1 总离子流图
A-混合对照品; B-供试品负离子模式; C-供试品正离子模式; 4-没食子酸; 7-没食子酸甲酯; 8-儿茶素; 12-短叶苏木酚酸; 17-柯里拉京; 18-老鹳草素; 24-鞣花酸; 28-金丝桃苷; 32-异槲皮苷; 34-紫云英苷; 36-β-1, 2, 3, 4, 6-O-五没食子酰葡萄糖; 44-山柰酚; 59-齐墩果酸。

Fig. 1 Total ion current chromatograms
A-mixed reference substance; B-negative ion; C-positive ion. 4-gallic acid; 7-methyl gallate; 8-catechin; 12-brvriofolincboxylic acid; 17-coriagin; 18-eraniin; 24-ellagic acid; 28-hyperoside; 32-isoquercitrin; 34-astragalin; 36-1,2,3,4,6-pentakis-O-galloyl-beta-D-glucose; 44-kaempferol; 59-oleanolic acid.

表 1 紫地榆化学成分鉴定结果

Tab. 1 Identification of chemical constituents of *Geranium Strictipes* Knuth

峰号	t_R /min	离子模式	理论值	实测值	二级碎片离子	偏差/ $\times 10^{-6}$	分子式	鉴定结果	结构类型	参考文献
1	0.66	-	133.014 3	133.014 1	115.004 5	-0.8	$C_6H_6O_5$	苹果酸	有机酸	[11-12]
2	0.92	-	331.067 1	331.067 2	169.014 2、125.024 7、107.013 7	0.7	$C_{13}H_{16}O_{10}$	一没食子酰葡萄糖苷	鞣质	[9-11, 16]
3	0.96	-	117.019 3	117.019 1	100.923 5	-1.7	$C_4H_6O_4$	琥珀酸	有机酸	[11]
4*	1.13	-	169.014 3	169.014 7	125.025 0、107.015 9	2.8	$C_7H_6O_5$	没食子酸	有机酸	[9, 12]
5	1.78	-	325.056 5	325.055 8	169.015 0、153.021 1、125.023 3	-2.3	$C_{14}H_{14}O_9$	莽草酸-3-O-没食子酸酯	有机酸	[10-12]
6	2.15	-	153.019 3	153.019 4	109.028 9	0.3	$C_7H_6O_4$	原儿茶酸	有机酸	[12]
7*	4.76	-	183.029 9	183.030 1	168.006 5、124.016 3、106.005 2	0.9	$C_8H_8O_5$	没食子酸甲酯	有机酸	[12]
8*	5.95	-	289.071 8	289.072 0	271.059 2、245.082 2、227.072 84、203.070 9、179.034 2	0.9	$C_{15}H_{14}O_6$	儿茶素	黄酮	[10, 13-14, 20, 23]
9	7.91	-	483.078 0	483.076 6	331.067 0、313.056 7、169.013 4、151.003 1、125.024 4	-3.1	$C_{20}H_{20}O_{14}$	二没食子酰基葡萄糖苷	鞣质	[9-13, 16]

续表 1

峰号	t_R/min	离子模式	理论值	实测值	二级碎片离子	偏差/ $\times 10^{-6}$	分子式	鉴定结果	结构类型	参考文献
10	10.16	+	293.029 2	293.029 4	247.023 9、219.029 8、191.034 4、 173.020 6、163.038 3、135.044 2	0.8	$\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_8$	叶下珠素 E	鞣质	[27]
11	10.25	-	497.093 7	497.092 0	345.089 3、183.029 6、169.013 4、 125.024 4	-3.5	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{14}$	没食子甲酯-3- <i>O</i> - β - D-(6'- <i>O</i> -没食子酰 基)-吡喃葡萄糖苷	鞣质	[9]
12*	10.58	-	291.014 6	291.014 5	247.012 9、219.035 5、203.034 8、 175.041 0、157.031 8、147.044 2、 129.032 9	-0.6	$\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_8$	短叶苏木酚酸	有机酸	[11, 16]
13	12.60	+	139.039 0	139.038 9	111.044 0	-0.7	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$	原儿茶醛	有机酸	[11]
14	12.61	+	291.086 3	291.086 5	207.065 7、139.038 77	0.6	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	Gerfelin	有机酸	[16]
15	13.08	-	305.066 7	305.065 8	287.287 0、261.076 3、221.217 3、 219.059 0、203.023 6、159.265 8、 151.042 8、137.022 5、125.023 9	-2.7	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_7$	表没食子儿茶素	黄酮	[13, 23]
16	15.14	-	635.089 0	635.088 3	483.072 7、465.066 6、313.056 3、 295.043 7、169.013 4、125.024 0	-1.0	$\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_{18}$	三没食子酰基葡萄 糖苷	鞣质	[9-12, 16]
17*	15.15	-	633.073 3	633.072 8	481.059 7、463.052 0、300.999 9	-0.9	$\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_{18}$	柯里拉京	鞣质	[11, 13]
18*	15.16	-	951.075 1	951.073 9	933.064 3、915.055 0、631.058 6、 300.999 5	-0.6	$\text{C}_{41}\text{H}_{28}\text{O}_{27}$	老鹳草素	鞣质	[9-10, 13]
19	15.17	-	967.069 4	967.066 8	949.061 3、931.047 9	-2.7	$\text{C}_{41}\text{H}_{28}\text{O}_{28}$	脱氢老鹳草素	鞣质	[9-10]
20	16.08	-	651.084 0	651.081 1	633.075 1、483.075 4、465.064 2、 169.013 7	-4.2	$\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_{19}$	诃子宁	鞣质	[11]
21	16.10	-	649.075 5	649.066 3	631.061 9、605.076 6、331.065 4	-3.0	$\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_{19}$	芙芦草素	鞣质	[9]
22	22.07	-	969.085 1	969.084 0	925.092 8、300.997 6、273.000 5、 169.013 6	-1.1	$\text{C}_{41}\text{H}_{30}\text{O}_{28}$	石岩枫鞣酸 A	鞣质	[9]
23	22.07	-	969.085 1	969.084 0	951.078 5、925.092 8、907.036 1、 895.080 6、667.095 9、623.097 4、 300.997 6、273.000 5、247.023 7、 169.013 6	-1.1	$\text{C}_{41}\text{H}_{30}\text{O}_{28}$	Mallotin	鞣质	[11]
24*	22.40	-	300.998 9	300.999 1	283.996 1、257.008 1、229.013 9、 201.019 8	0.5	$\text{C}_{14}\text{H}_6\text{O}_8$	鞣花酸	有机酸	[9, 11, 13]
25	22.51	-	433.041 3	433.041 2	300.997 7、283.998 1	-0.1	$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_{12}$	鞣花酸-4- <i>O</i> -吡喃木 糖苷	鞣质	[9, 11, 13]
26	22.62	-	925.095 3	925.093 8	907.065 0、863.093 6、623.071 8 605.092 0、453.090 8、435.055 3、 169.014 4	-1.6	$\text{C}_{40}\text{H}_{30}\text{O}_{26}$	叶下珠素 C	鞣质	[27]
27	24.15	-	477.067 5	477.066 2	462.038 9、315.014 7、301.008 9	-2.7	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{13}$	Stachyanthuside A	鞣质	[9]
28*	26.73	-	463.088 2	463.086 6	301.032 7、178.997 2	-3.5	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	金丝桃苷	黄酮	[21-22]
29	26.74	-	463.088 2	463.086 6	301.032 7、273.041 0、255.025 0、 229.054 7 178.997 2、151.002 7	-3.5	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	Tricetin-7-glucoside	黄酮	[24]
30	27.07	-	787.100 0	787.099 4	635.090 3、617.079 4、483.081 8、 465.067 6、313.057 8、295.044 1、 169.013 8	-0.6	$\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{O}_{22}$	四没食子酰基葡萄 糖苷	鞣质	[8-13, 16]
31	35.36	-	937.095 3	937.094 2	767.080 1、597.054 3、465.065 8、 300.999 8、169.015 4	-1.2	$\text{C}_{41}\text{H}_{30}\text{O}_{26}$	石榴叶鞣质	鞣质	[9]
32*	35.57	-	463.088 2	463.086 6	301.032 7	-3.5	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	异槲皮苷	黄酮	[11, 18-19]
33	35.63	-	315.014 6	315.013 7	299.989 9	-2.9	$\text{C}_{15}\text{H}_8\text{O}_8$	3-甲氧基鞣花酸	有机酸	[9]
34*	36.16	-	447.093 3	447.091 5	285.040 2、284.033 8、255.031 5、 227.035 5、211.031 9、183.044 8、 151.003 5	-4.0	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	紫云英苷	黄酮	[18-19]
35	36.45	+	305.065 6	305.065 7	153.022 5、125.023 5	0.4	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_7$	花旗松素	黄酮	[20]
36*	36.59	-	939.110 9	939.109 7	787.100 0、635.084 2、617.076 5、 483.073 9、465.066 1、331.065 5、 169.013 4、125.024 7、	-1.2	$\text{C}_{41}\text{H}_{32}\text{O}_{26}$	β -1, 2, 3, 4, 6- <i>O</i> -五没 食子酰葡萄糖	鞣质	[9-13, 16]
37	38.92	+	923.114 9	923.116 7	771.147 0、305.027 7、261.043 3、	2.0	$\text{C}_{41}\text{H}_{30}\text{O}_{25}$	叶下珠素 U	鞣质	[27]
38	39.17	-	285.040 5	285.039 9	241.050 4、213.044 6	-2.1	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	山柰酚异构体	黄酮	[14, 15]

续表 1

峰号	t_R /min	离子模式	理论值	实测值	二级碎片离子	偏差/ $\times 10^{-6}$	分子式	鉴定结果	结构类型	参考文献
39	39.49	-	1 091.121 9	1 091.119 1	939.113 9, 787.102 5, 769.085 2, 617.084 3, 465.082 9, 169.021 6	-2.5	C ₄₈ H ₃₆ O ₃₀	Hexagalloyl glucose	鞣质	[9]
40	40.00	-	541.114 0	541.113 6	513.115 7, 469.133 1, 415.081 4, 311.058 1, 253.051 6, 239.034 5	-0.8	C ₃₀ H ₂₂ O ₁₀	3,2'-Epilaxinol	黄酮	[17]
41	40.26	+	587.103 2	587.103 1	417.071 2, 153.016 6, 127.035 5	-0.1	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₅	槲皮素-3- <i>O</i> - α -(2"-没食子酰基)-阿拉伯吡喃糖苷	黄酮	[10, 12, 15, 23]
42	40.64	+	507.113 3	507.113 5	345.058 6, 330.038 1, 315.006 0, 285.033 2	0.4	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	3,3',4-三甲基鞣花酸-4'- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	鞣质	[10-11]
43	42.52	-	615.099 2	615.097 2	463.076 8, 301.036 2, 169.012 9, 151.006 1	-3.2	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	2"- <i>O</i> -没食子酰基金丝桃苷	黄酮	[21]
44*	54.78	-	285.040 5	285.039 9	229.048 0, 185.056 9, 169.062 7, 150.984 9	-2.1	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	山柰酚	黄酮	[14, 16]
45	59.94	-	417.082 3	417.081 1	329.063 6, 209.049 4	-3.8	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	山柰酚-3- <i>O</i> - α -L-呋喃阿拉伯糖苷	黄酮	[11, 19]
46	66.03	+	577.134 1	577.134 4	533.124 1	0.6	C ₃₀ H ₂₄ O ₁₂	表-5,7,4'-三羟基黄烷-3-醇-(4 β →8, 2 β → <i>O</i> →7)-倍儿茶素	黄酮	[18]
47	66.19	+	219.174 3	219.174 6	203.142 7, 188.121 0, 173.145 5	1	C ₁₅ H ₂₂ O	(<i>E</i>)- <i>p</i> -Elemenone	倍半萜	[25]
48	66.22	-	593.130 1	593.129 0	549.102 6, 505.112 0, 209.045 8	-1.7	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	原花青素	黄酮	[10, 19]
49	68.89	-	687.411 4	687.411 3	627.401 4, 499.341 3, 300.995 9	0.0	C ₃₉ H ₆₀ O ₁₀	1- <i>O</i> -[(16 α)-16-Acetoxy-2,4-methylene-3,21-dioxolanost-8-en-21-yl]- β -D-glucopyranose	三萜	[11, 26]
50	70.03	+	219.174 3	219.174 2	203.146 7, 188.119 9	1.0	C ₁₅ H ₂₂ O	吉马酮	倍半萜	[25]
51	70.03	+	219.174 3	219.174 2	203.146 7, 188.119 9	1.0	C ₁₅ H ₂₂ O	Germazone	倍半萜	[25]
52	70.03	+	219.174 3	219.174 2	203.146 7, 188.119 9	1.0	C ₁₅ H ₂₂ O	Isogermaerone	倍半萜	[25]
53	71.77	-	587.395 3	587.395 0	455.302 4, 453.648 5, 437.363 1, 407.336 1, 391.331 7	-0.6	C ₃₅ H ₅₆ O ₇	齐墩果酸-3- <i>O</i> - β -D-吡喃木糖苷	三萜	[11, 26]
54	72.02	+	279.231 9	279.232 1	201.046 2, 149.023 8, 121.040 6, 115.055 3, 109.099 6	0.8	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	亚麻油酸	有机酸	[10]
55	73.61	-	279.159 1	279.159 5	149.020 8, 121.026 4	1.5	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	邻苯二甲酸二丁酯	有机酸	[10]
56	74.46	-	613.374 6	613.374 2	613.378 7	-0.7	C ₃₆ H ₅₄ O ₈	2,3,23-tri(acetyloxy)-(2 α , 3 β , 4 α)-urs-12-en-28-oic acid	三萜	[26]
57	77.55	-	629.405 9	629.405 4	629.406 0	-0.9	C ₃₇ H ₅₈ O ₈	Fomitoid F	三萜	[26]
58	78.60	+	223.205 6	223.205 0	207.027 6, 190.999 9	-3.1	C ₁₅ H ₂₆ O	橙花叔醇	倍半萜	[25]
59*	78.87	-	455.353 1	455.351 6	409.365 5, 407.336 1, 391.331 7	-3.1	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	齐墩果酸	三萜	[26]
60	81.41	+	313.273 7	313.274 3	257.253 5, 156.895 0	1.9	C ₁₉ H ₃₆ O ₃	11-(3-戊氧基-2-乙基)十一酸甲酯	有机酸	[20]
61	81.79	-	617.384 8	617.384 6	587.337 4, 543.347 7, 161.024 8, 133.029 8	-0.2	C ₃₉ H ₅₄ O ₆	3- <i>O</i> -咖啡酰基齐墩果酸	三萜	[26]
62	81.91	-	279.233 0	279.233 1	279.231 4	0.5	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	亚油酸	有机酸	[11]
63	84.34	-	255.233 0	255.233 2	255.231 6	0.9	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	棕榈酸	有机酸	[11]
64	84.85	-	283.263 2	283.263 1	283.450 5	-0.3	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	油酸	有机酸	[10]
64	85.06	-	281.248 6	281.248 5	281.250 4	-0.4	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	油酸	有机酸	[11]
65	85.78	-	269.248 6	269.247 43	269.248 2	-4.4	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	棕榈酸甲酯	有机酸	[25]
66	88.34	-	283.264 3	283.264 4	283.263 9	-0.5	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	棕榈酸乙酯	有机酸	[25]
67	88.75	+	391.284 3	391.284 9	167.033 9, 149.023 5, 121.028 4	1.5	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	邻苯二甲酸二辛酯	有机酸	[19]

注: *为经对照品指认。

Note: *was identified by reference.

3.2.1 鞣质类化合物分析 鞣质一般分为可水解鞣质、缩合鞣质及复合鞣质三大类^[9]。该类化合物在负离子模式下响应较好,主要以 $[M-H]^-$ 准分子离子峰形式存在,高能碰撞下易发生 H_2O 、 CO_2 、 CO 等中性分子丢失。紫地榆中鉴别出 2、9、11、16、17 等 20 个鞣质类成分。以 18 号峰为例,负离子模式下准分子离子峰为 m/z 951.075 1 $[M-H]^-$,分子式为 $C_{41}H_{28}O_{27}$ 。二级质谱中母离子连续丢失 H_2O ,产生 m/z 933.064 3 $[M-H-H_2O]^-$ 、 m/z 915.055 0 $[M-H-2H_2O]^-$ 碎片离子,另一裂解途径为丢失一分子脱氢六羟基联苯二甲酰基(DHHDP)得到碎片离子 m/z 631.058 6 $[M-H-DHHDP]^-$,又可丢失一分子六羟基联苯二甲酰基(HHDP),HHDP 碎片环化得到 m/z 300.999 5 碎片离子。结合质谱裂解规律、相关文献^[9-10, 13]及对照品比对结果,鉴定化合物 18 为老鹳草素,其二级质谱及裂解规律见图 2。

3.2.2 有机酸类化合物 紫地榆中含有多种有机酸类成分,包含 1、3、4、5、6、7 等 22 个成分峰,该类化合物在负离子模式下响应较好,经高能碰撞后易发生 CO_2 、 H_2O 、 $COOH$ 等中性丢失^[10]。以 4 号峰为例,负离子模式下准分子离子

峰为 m/z 169.014 9 $[M-H]^-$,分子式 $C_7H_6O_5$ 。二级质谱特征碎片离子可见 m/z 125.025 0 及 m/z 107.015 9 碎片离子,即准分子离子失去一分子 CO_2 、 H_2O ,结合质谱裂解规律、文献^[9]及对照品比对结果,鉴定其为没食子酸,其二级质谱及裂解途径见图 3。

3.2.3 黄酮类化合物 黄酮类化合物其苷元及其苷类化合物的主要裂解方式 RDA 裂解以及丢失芸香糖、葡萄糖、鼠李糖与 CO 、 CH_3 、 CH_3OH 、 OH 、 OCH_3 等母环上的功能基团^[12-13]。该类成分在负离子模式下响应较好,从紫地榆中鉴定出黄酮及其苷类包括 8、15、32、34 号峰等共 15 个成分峰。以 34 号峰为例,在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 447.101 4 $[M-H]^-$,分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$ 。准分子离子峰脱去一分子葡萄糖 $C_6H_{10}O_5$ 形成 m/z 285.040 2 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ 碎片离子,后续有 2 种可能的裂解方式,一是发生 RDA 裂解形成 m/z 151.003 5 $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_8H_6O_2]^-$ 碎片离子,二是连续失去 CO 、 O 形成 m/z 255.031 5 $[M-H-C_6H_{10}O_5-2H-CO]^-$ 、 m/z 227.035 5 $[M-H-C_6H_{10}O_5-2H-CO-CO]^-$ 、 m/z 211.031 9 $[M-H-C_6H_{10}O_5-2H-CO-CO-O]^-$ 、 m/z 183.044 8 $[M-H-C_6H_{10}O_5-2H-$

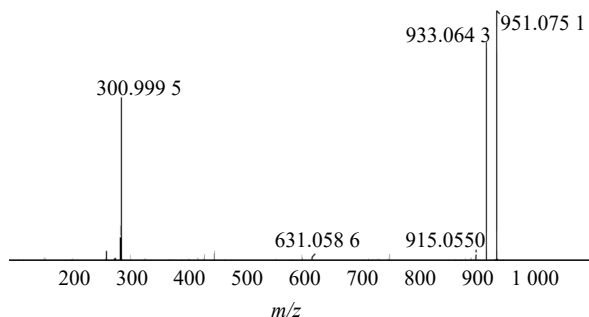


图 2 老鹳草素 (18 号化合物) 的二级质谱图及裂解途径

Fig. 2 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of eraniin(compound 18)

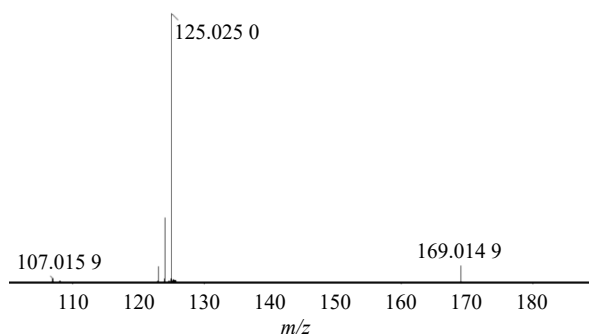


图 3 没食子酸 (化合物 4) 的二级质谱图及裂解途径

Fig. 3 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of gallic acid(compound 4)

CO-CO-O-CO]碎片离子, 结合文献 [18-19] 及对照品比对结果, 鉴定 34 号化合物为紫云英苷, 其二级质谱及裂解规律见图 4。

3.2.4 萜类化合物 在紫地榆中检测到 47、49、50、51、52 号峰等共 11 个成分峰, 包含倍半萜及三萜类成分。其中 58 号峰在正离子模式下准分子离子峰为 m/z 223.205 0 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{26}O$, 准分子离子峰丢失一分子 CH_3 得到 m/z 207.027 6 $[M+H-CH_3]^+$ 碎片离子, 之后又丢失一分子 OH 得到 190.999 9 $[M+H-CH_3-OH]^+$ 碎片离子, 结合文献 [24], 鉴定该化合物为倍半萜类成分橙花叔醇, 其二级质谱及裂解规律见图 5。

三萜类化合物多由数个异戊二烯结构单元相连而成, 结构中联合的多个六元环的骨架不易断键, 环上连接的羟基、羧基或糖基容易发生 α -裂解而丢失 [11]。59 号峰在负离子模式下准分子离子峰为 m/z 455.302 4 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$, 准分子离子峰丢失一分子 $HCOOH$ 得到 m/z 409.365 5 $[M-H-HCOOH]^-$ 碎片离子, 所得碎片不稳定脱去

2 个 H 后得到碎片离子 m/z 407.336 1 $[M-H-HCOOH-2H]^-$; 二为连续丢失一分子 $HCOOH$ 、 H_2O 得到碎片离子 m/z 391.331 7 $[M-H-HCOOH-H_2O]^-$, 结合文献 [11, 12, 26] 及对照品指认结果, 鉴定该化合物为三萜类成分齐墩果酸, 其二级质谱及裂解规律见图 6。

4 讨论

本实验通过采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对紫地榆中化学成分进行鉴别分析, 在研究化学成分质谱裂解规律过程中发现多数类型化合物均在负离子模式下得到良好的信号响应, 少部分成分在正离子模式下观察到较好的裂解行为, 故在建立成分鉴定表时将 2 种模式下鉴别结果进行整合, 展示不同类型成分的裂解行为。其中经指认的成分均在负离子模式下得到清晰、准确且响应较好的二级碎片, 因此, 选择在负离子模式下进行成分的指认。在碰撞能量的选择上, 由于紫地榆中存在部分相对分子质量较大或是具有特殊结构的成分, 在某一固定碰撞能量范围中无法观察

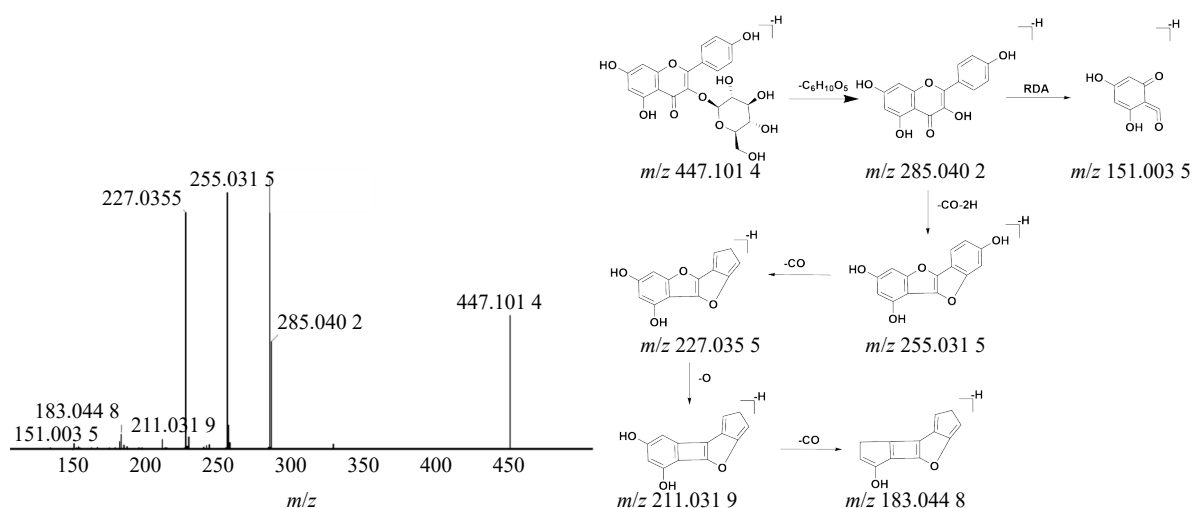


图 4 紫云英苷 (化合物 34) 的二级质谱图及裂解途径

Fig. 4 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of astragaline (compound 34)

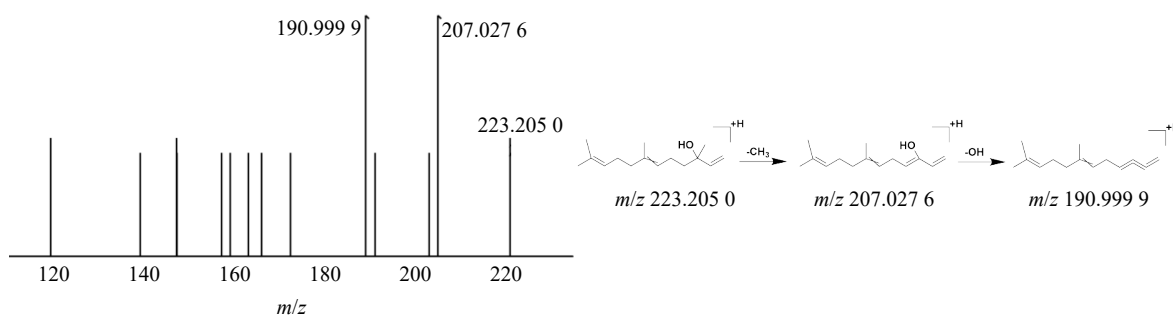


图 5 橙花叔醇 (化合物 58) 的二级质谱图及其裂解途径

Fig. 5 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of nerolidol (compound 58)

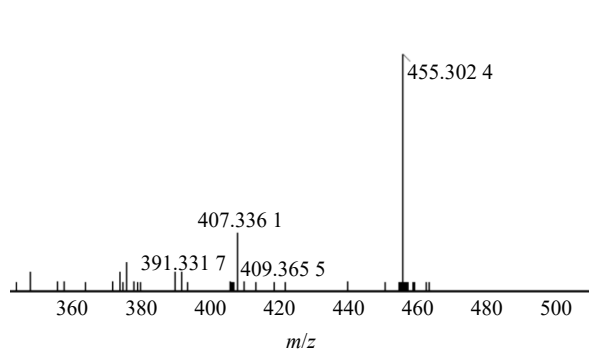
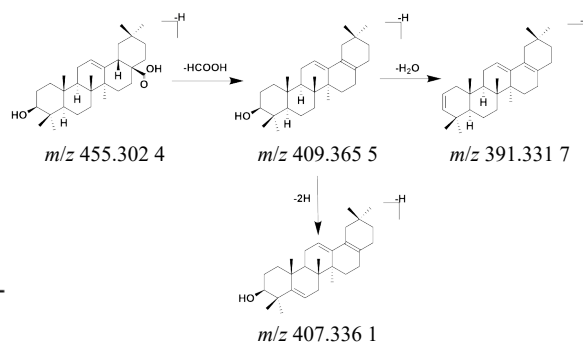


图6 齐墩果酸(化合物59)的二级质谱图及其裂解途径

Fig. 6 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of oleanolic acid (compound 59)



到其裂解行为,因此设置不同碰撞能量范围进行检测,发现大多数成分在 $(40\pm 20)\text{eV}$ 能量下均能得到良好的裂解信息,而相关萜类成分则在 $(70\pm 20)\text{eV}$ 能量范围内可得到详细的二级碎片离子信息,因此将碰撞能量范围设置在 $(40\pm 20)\text{eV}$ 、 $(70\pm 20)\text{eV}$ 进行数据采集。

本实验在紫地榆中鉴定出鞣质、有机酸、黄酮、萜类4类化学成分,共计67个化合物,并对其中13个化合物进行对照品指认确定,其余化合物通过二级碎片离子及参考文献进行推测分析。鉴别结果中包含多种鞣质、有机酸类成分,符合该种属化学成分组成特点;另补充了相关萜类成分,为首次在紫地榆中发现,以倍半萜及三萜为主;黄酮类成分多为黄酮醇类及黄酮氧苷类。本次鉴定结果在一定程度上对紫地榆的物质组成信息进行了补充,相关研究发现其中鞣质类成分及有机酸类可能为其抗氧化作用的主要药效成分,而鉴定的多种黄酮类、萜类等成分也在其他研究中证实具有抗炎、抗氧化药理活性,因此本研究对于以上4类成分的鉴别有助于相关药理作用方面的深入研究,可为后续的质量标志性成分的选择提供借鉴意义。

本实验所建立的方法灵敏、快速、准确,可有效鉴定紫地榆中化学成分,为紫地榆的质量控制与评价、药效物质基础研究提供了技术方法,为推动其进一步开发利用提供了参考。

REFERENCES

- [1] 云南省中药饮片标准 2005 年版[S]. 2005: 81, 197-198.
- [2] 罗廷顺, 石柱兰, 杨静, 等. 紫地榆多酚提取工艺优化及其体外抗氧化活性研究[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(12): 2853-2856.
- [3] LÜ X, LU J S, GENG S Q, et al. Correlation between anti-

inflammatory activity and HPLC spectrum of different polar parts of *Geranium strictipes*[J]. J Dali Univ(大理大学学报), 2020, 5(2): 31-37.

- [4] HU Z, LI C H, LI Y R, et al. Effects of *Geranium strictipes* on gastroparesis model in mice and gastric smooth muscle strips in rats[J]. J Dali Univ (大理大学学报), 2019, 4(4): 7-11.
- [5] LV X. Effect and mechanism of *Geranium strictipes* Knuth extract on rats with ulcerative colitis[D]. Dali: Dali University, 2020.
- [6] 封焯, 王金燕, 南彦东, 等. 紫地榆提取物的止血作用[J]. 中成药, 2017, 39(10): 2153-2155.
- [7] LI M Q. Preliminary study on bacteriostatic mechanism of four components in *Geranium strictipes* on three kinds of cariogenic bacterias[D]. Dali: Dali University, 2018
- [8] WANG D, YU J, ZHAN G, et al. Advances in application of liquid chromatography-mass spectrometry technology in study of traditional Chinese medicine[J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2022, 40(2): 68-71.
- [9] MA S Z, QIN H Y, LONG F, et al. Identification and fragmentation regularity of polyphenol compounds from *Galla Quercina* by UPLC-MS/MS[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2017, 48(22): 4632-4638.
- [10] WANG Q, LU Z W, LIU Y H, et al. Rapid analysis on phenolic compounds in *Rheum palmatum* based on UPLC-Q-TOF/MS^E combined with diagnostic ions filter[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2017, 42(10): 1922-1931.
- [11] SUN Y J, HUO Z P, WANG Y, et al. Analysis of chemical constituents in JieChangyan Qixiao granules based on UPLC-Q-TOF/MS^E[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2021, 27(9): 157-167.
- [12] FAN X Q, FU J, HU J H, et al. Rapid identification of chemical components in Liuwei Dihuang Gantang Tablets by UPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2021, 52(21): 6473-6484.
- [13] ZHANG Y L, YU G, HU D, et al. Discrimination of Xuanmugua and Ziqiumugua by UPLC-QTRAP-MS/MS coupled with chemometrics[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2023, 34(1): 96-102.
- [14] LI X, SHI H, DING J X, et al. Analysis of chemical constituents as flavonoids and coumarins in *Radix Ardisiae* from different sources[J]. China Pharm(中国药房), 2021, 32(4): 443-452.

- [15] ZHANG Z P, HUANG Y L, GUO Y, et al. Chemical constituents from the fruits of *Vitex trifolia* var. *simplicifolia* by UHPLC-Q-orbitrap HRMS[J]. J Chin Med Mater(中药材), 2021, 44(5): 1142-1148.
- [16] XU W T, HUO Z P, LEI L, et al. Chemical constituent cluster of decoction of Sanguisorbae Radix by HPLC-IT-TOF/MS[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2018, 49(6): 1277-1288.
- [17] WU X F, XIE B, HUANG X L, et al. Rapid analysis compositions of processed *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* swingle by UPLC-Q-TOF MS[J]. J Chin Mass Spectrom Soc(质谱学报), 2021, 42(3): 207-217.
- [18] ZHENG T Y, DAI X X, SU S L, et al. Analysis and evaluation of multiple types of chemical constituents in silkworm excrement from different habitats and at different various instars[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2019, 39(4): 624-637.
- [19] XIAO G L, JIANG J Y, LI S M, et al. Analysis of chemical constituents in microtis folium by UPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2021, 27(3): 138-148.
- [20] CAI X F, XU Y, LIU H P, et al. Chemical analysis of classical prescription Qianghuo Shengshi Standard Decoction by UHPLC-Q Exactive Orbitrap MS[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2022, 47(2): 343-357.
- [21] PAN H C, QIN W H, LI X M, et al. Analysis of chemical constituents in *Eupatorium lindleyanum* by UPLC-Q-TOF/MS[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51(12): 3147-3156.
- [22] 杜秋莹, 黄家宇, 王彬宇, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术快速鉴定双冬胶囊的化学成分[J]. 中药材, 2022, 45(1): 115-122.
- [23] LIU G Q, DONG J, WANG H, et al. Study on the fragmentation pathways of EGC/GC and EGCG/GCG using ESI-IT-TOF[J]. J Chin Mass Spectrom Soc(质谱学报), 2009, 30(5): 287-294.
- [24] WANG Y, GU Y T, DING Z H, et al. Identification and analysis of quercetin and its glycosides in *Rosa roxburghii* by ultra high performance liquid chromatography-tandem high resolution mass spectrometry[J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2020, 48(7): 955-961.
- [25] SHAO J, XIONG YX, XIE B, et al. Analysis of chemical components of Sarcandrae Herba based on UPLC-Q-TOF/MS[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2021, 41(6): 1054-1063.
- [26] QU Z Y, ZHENG P H, LI Y L, et al. Rapid identification of saponins in *Panax notoginseng* fruits by ultra high performance liquid chromatography-orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2022, 50(2): 225-259.
- [27] XIONG S T. Investigation on chemical constituents of *Phyllanthus urinaria* L. and preparation of ellagic acid[D]. Zhejiang: Zhejiang University of Technology, 2020.

收稿日期: 2023-06-09
(本文责编: 曹粤锋)