

基于HPLC-Q-TOF-MS/MS技术咳喘宁颗粒化学成分分析及多指标定量测定

刘茜^{1,3}, 付娟^{2,3}, 胡军华^{2,3}, 王振中^{1,2,3*}

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

3. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 采用高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱技术(HPLC-Q-TOF-MS/MS)对咳喘宁颗粒化学成分进行分析,并建立HPLC多成分含量测定方法。方法 采用HPLC-Q-TOF-MS/MS技术,色谱柱Agilent ZORBAX C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温35℃,体积流量1.0 mL·min⁻¹,进样量10 μL,流动相A: 0.1%甲酸,流动相B: 乙腈,梯度洗脱;电喷雾离子源(ESI),正、负离子模式扫描,结合对照品和文献数据鉴定咳喘宁颗粒中的化学成分,并建立HPLC法同时测定新绿原酸、绿原酸、3, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、异绿原酸B、4, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、柚皮苷的含量。色谱条件:以十八烷基硅键合硅胶为填充剂(Waters AtlantisTM T3 色谱柱, 250 mm×4.6 mm, 5 μm),以甲醇-0.1%甲酸为流动相,梯度洗脱: 0~20 min, 3%~15% 甲醇; 20~25 min, 15%~18% 甲醇; 25~26 min, 18%~23% 甲醇; 26~45 min, 23% 甲醇; 45~46 min, 23%~38% 甲醇; 46~60 min, 38% 甲醇; 60~61 min, 38%~42% 甲醇; 61~70 min, 42% 甲醇; 70~80 min, 42%~90% 甲醇; 体积流量1.0 mL·min⁻¹,柱温30℃;进样量10 μL,检测波长324、283 nm。结果 共鉴定咳喘宁颗粒中86个化合物,20个来自生麻黄、15个来自白屈菜、30个来自金银花、22个来自枇杷叶、12个来自金沸草、14个来自化橘红,其中有26个化合物经与对照品比对确认,选择新绿原酸、绿原酸、3, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、异绿原酸B、4, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸和柚皮苷作为含量测定的质控指标,6种成分在各自质量浓度范围内线性关系良好($r \geq 0.9999$),精密度、稳定性及重复性良好,加样回收率为99.48%~103.39%,RSD为1.29%~1.98%。对3批咳喘宁颗粒进行多成分含量测定,方法可行。结论 在质谱成分解析的基础上,建立咳喘宁颗粒6种化学成分的含量测定方法,为咳喘宁颗粒的药效物质基础和质量标准研究提供参考。

关键词: 咳喘宁颗粒; HPLC-Q-TOF-MS/MS; 质量控制; 新绿原酸; 绿原酸; 3, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸; 异绿原酸B; 4, 5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸; 柚皮苷

中图分类号: R284.1, R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)05-1012-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.05.010

Chemical composition analysis and multi-index content determination of Kechuaning Granules based on HPLC-Q-TOF-MS/MS technology

LIU Xi^{1,3}, FU Juan^{2,3}, HU Junhua^{2,3}, WANG Zhenzhong^{1,2,3}

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

3. State Key Laboratory of New-Tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective High performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (HPLC-Q-TOF-MS/MS) was used to analyze the chemical constituents of Ke Chuanning Granules, and a HPLC method for the determination of multi-components was established. **Methods** Using HPLC-Q-TOF-MS/MS technology, the chromatographic column was Agilent ZORBAX C₁₈(150 mm × 4.6 mm, 5 μm), the column temperature was 35 °C, the volume flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the injection volume was 10 μL, the mobile phase A was 0.1% formic acid, and the mobile phase B was acetonitrile, and gradient elution was performed. The chemical constituents in Kechuaning Granules were identified by electrospray ionization source (ESI), positive and negative ion mode scanning, and the contents of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, 3,5-*O*- dicaffeoyl quinic acid, isochlorogenic

收稿日期: 2023-02-26

基金项目: 2021年国家中医药管理局岐黄学者项目

第一作者: 刘茜(1998—),女,硕士研究生,研究方向为中药制药技术与产品开发。E-mail: 1743627691@qq.com

*通信作者: 王振中(1968—),男,博士,高级工程师,主要从事中药新剂型研发。E-mail: wzzhz-nj@163.com

acid B, 4, 5-*O*-dicafeoyl quinic acid and naringin were determined simultaneously by HPLC. Chromatographic conditions: Octadecylsilane bonded silica gel as filler (Waters Atlantis™ T3 column, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm), methanol-0.1% formic acid as mobile phase, gradient elution: 0—20 min, 3%—15% methanol; 20—25 min, 15%—18% methanol; 25—26 min, 18%—23% methanol; 26—45 min, 23% methanol; 45—46 min, 23%—38% methanol; 46—60 min, 38% methanol; 60—61 min, 38%—42% methanol; 61—70 min, 42% methanol; 70—80 min, 42%—90% methanol. The volume flow rate is 1.0 mL·min⁻¹, and the column temperature is 30 °C; The sample volume is 10 μL, and the detection wavelength is 324 and 283 nm. **Results** A total of 86 compounds in Kechuanning Granules were identified, including 20 compounds from *Ephedrae Herba*, 15 compounds from *Chelidonii Herba*, 30 compounds from *Lonicerae Japonicae Flos*, 22 compounds from *Eriobotryae Folium*, 12 compounds from *Inulae Herba*, and 14 compounds from *Citri Grandis Exocarpium*. Among 26 compounds, neochlorogenic acid, chlorogenic acid, 3, 5-*O*-dicafeoyl quinic acid, isochlorogenic acid B, 4, 5-*O*-dicafeoyl quinic acid and naringin were selected as quality control indicators for content determination after comparison with reference substances. The linear relationship of the six main components was good ($r \geq 0.9999$) within the respective concentration ranges, and the precision, stability and repeatability were good. The recovery after sample addition was 99.48%—103.39%, and RSD was 1.29%—1.98%. It is feasible to determine the multi-component content of three batches of Kechuanning Granules. **Conclusion** Based on the analysis of mass spectrometry components, a method for the determination of six chemical components in Kechuanning Granules was established, which provided reference for the study of pharmacodynamic substance basis and quality standard of Kechuanning Granules.

Key words: Kechuanning Granules; HPLC-Q-TOF-MS/MS; quality control; neochlorogenic acid; chlorogenic acid; 3, 5-*O*-dicafeoyl quinic acid; 4, 5-*O*-dicafeoyl quinic acid; isochlorogenic acid C; naringin

咳喘宁颗粒是临床经验方,由麻黄、金银花、金沸草、白屈菜、枇杷叶、化橘红组成,具有退热、消痰、平喘、止咳之功,用于病毒或细菌引起的上呼吸道感染、急性支气管炎等痰热蕴肺证,症见发热、咳嗽、黄痰、气喘或喘憋等。方中麻黄和白屈菜主要成分为生物碱类成分,也是主要的有效化学成分;金银花中主要化学成分为黄酮类、有机酸类、萜类化合物,绿原酸类化合物是金银花的主要有效成分^[1];金沸草主要活性成分为倍半萜内酯,此外还有黄酮、甾醇、皂苷等多种化合物^[2];枇杷叶是清肺止咳常用的中药,主要含有一些萜类物质、挥发油类、黄酮类、有机酸类等化合物^[3];化橘红中主要的有效物质为黄酮类成分,主要为柚皮苷,少量的野漆树苷、新橙皮苷、枳椇苷等^[4]。复方药味所含的化学成分复杂,对制剂的化学成分进行整体分析可为后续筛选质量控制指标奠定基础。

本研究采用高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱(HPLC-Q-TOF-MS/MS)技术对咳喘宁颗粒的化学成分进行分析,结合对照品与文献报道鉴定咳喘宁颗粒中的化学成分,并建立HPLC多成分含量测定方法,为后续的物质基础和质量标准研究提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1290 超高效液相色谱仪、Agilent 6538 Q-TOF 质谱仪,美国安捷伦公司;Waters e2695 高效液相色谱仪,美国沃特世公司;Mettler Toledo XP6

型电子分析天平(百万分之一)、Mettler Toledo AL204 电子分析天平(十万分之一),瑞士梅特勒公司;KQ-500 DB 型超声波清洗器,昆山超声仪器有限公司;Milli-Q Academic 纯水仪,美国密理博公司。

1.2 药品与试剂

咳喘宁颗粒(每袋 10 g,批号:220501、220502、220503,江苏康缘药业股份有限公司);对照品:金丝桃苷(质量分数:94.9%,批号:111521-201809)、绿原酸(质量分数:96.3%,批号:110753-202119)、东莨菪内酯(质量分数:99.7%,批号:110768-202105)、柚皮苷(质量分数:93.5%,批号:110722-202116)、水杨酸甲酯(质量分数:100.0%,批号:110707-201815)、槲皮素(质量分数:99.8%,批号:100081-201610)、柠檬酸(质量分数:97.0%,批号:111679-201602)、苦杏仁苷(质量分数:93.1%,批号:110820-202109)、白屈菜红碱(质量分数:80.5%,批号:111718-201402)、莫诺苷(质量分数:98.4%,批号:111998-202205)、苍术素(质量分数:99.5%,批号:111924-201806)、原阿片碱(质量分数:99.7%,批号:110853-201404)、马钱苷酸(质量分数:97.5%,批号:111865-202005)、芦丁(质量分数:92.6%,批号:100080-201409)、丁香酚(质量分数:100.0%,批号:725-200209)、异绿原酸A(质量分数:94.3%,批号:111782-201807)、异绿原酸C(质量分数:95.1%,批号:111894-202103)、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸(质量分数:94.3%,批号:111698-201904)、4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸(质量分数:95.1%,批号:111857-201804)均购自中国食品药

品检定研究院;咖啡酸甲酯(质量分数:98.0%,批号:ST21830120)、野漆树苷(质量分数:98.0%,批号:ST04210120)、新绿原酸(HPLC测定用,质量分数:98.0%,批号:ST06230120)均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司;白屈菜碱(质量分数:98.0%,批号:140328)购自四川省维克奇生物科技有限公司;奎宁酸(质量分数:96.0%,批号:MKCC1116)购自美国默克公司;四氢黄连碱(质量分数:98.0%,批号:S-113-140630)购自成都瑞芬思生物科技有限公司;棕榈酸乙酯(质量分数:98.0%,批号:50703)购自Dr Ehrenstorfer GmbH公司;异绿原酸B(质量分数:98.27%,批号:MUST-22010705)购自成都曼斯特生物科技有限公司;新绿原酸(质量分数:98.0%,批号:BCBL3529V)购自成都普菲德生物技术有限公司;隐绿原酸(质量分数:98.0%,批号:15121701)购自Sigma公司。乙腈为质谱级;甲醇、甲酸为色谱级;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 咳喘宁颗粒化学成分分析

2.1.1 色谱条件 色谱柱 Agilent ZORBAX C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温 35 °C,体积流量 1.0 mL·min⁻¹,进样量 10 μL,流动相 A:0.1% 甲酸,流动相 B:乙腈,梯度洗脱程序:0~15 min, 95%~89%A; 15~55 min, 89%~77%A; 55~65 min, 77%~10%A。

2.1.2 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI),正、负离子模式,毛细管电压 3 500 V,质量扫描范围 m/z 100~3 000;干燥气温度 350 °C;干燥气体积流量 10 L·min⁻¹;雾化气压力 344.75 kPa(50 psi);裂解电压 135 V;锥孔电压 65 V;碰撞能量根据不同化合物的需要选取 10~40 eV。

2.1.3 供试品溶液的制备 取咳喘宁颗粒样品,研细,取约 1 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 mL,超声处理 30 min,12 000 r·min⁻¹离心 5 min,过 0.22 μm 滤膜即得。

2.1.4 对照品溶液的制备 取奎宁酸、柠檬酸、丁香酚、苦杏仁苷、东莨菪内酯、金丝桃苷、槲皮素、芦丁、野漆树苷、四氢黄连碱、白屈菜碱、咖啡酸甲酯、苍术素、原阿片碱、棕榈酸乙酯、水杨酸甲酯、马钱苷酸对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇制成每毫升各含 20~100 μg 的混合对照品溶液 1;取绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、柚皮苷、白屈菜红碱、莫诺苷对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇制成每毫升各含 20~100 μg 的

混合对照品溶液 2。

2.1.5 化学成分分析 以中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)数据库为基础结合文献查询,收集咳喘宁颗粒中各药味的化学成分信息,建立药材化学成分数据库。通过一级质谱图分析,利用 Musshunter 色谱工作站,选择误差在 5×10^{-6} 以内的分子式进行数据库自动匹配,快速指认可能的化合物;选择目标化合物进行二级质谱扫描,得到化合物的碎片离子信息,结合对照品裂解规律以及文献资料对目标化合物进行鉴定和分析,确定咳喘宁颗粒化学成分。

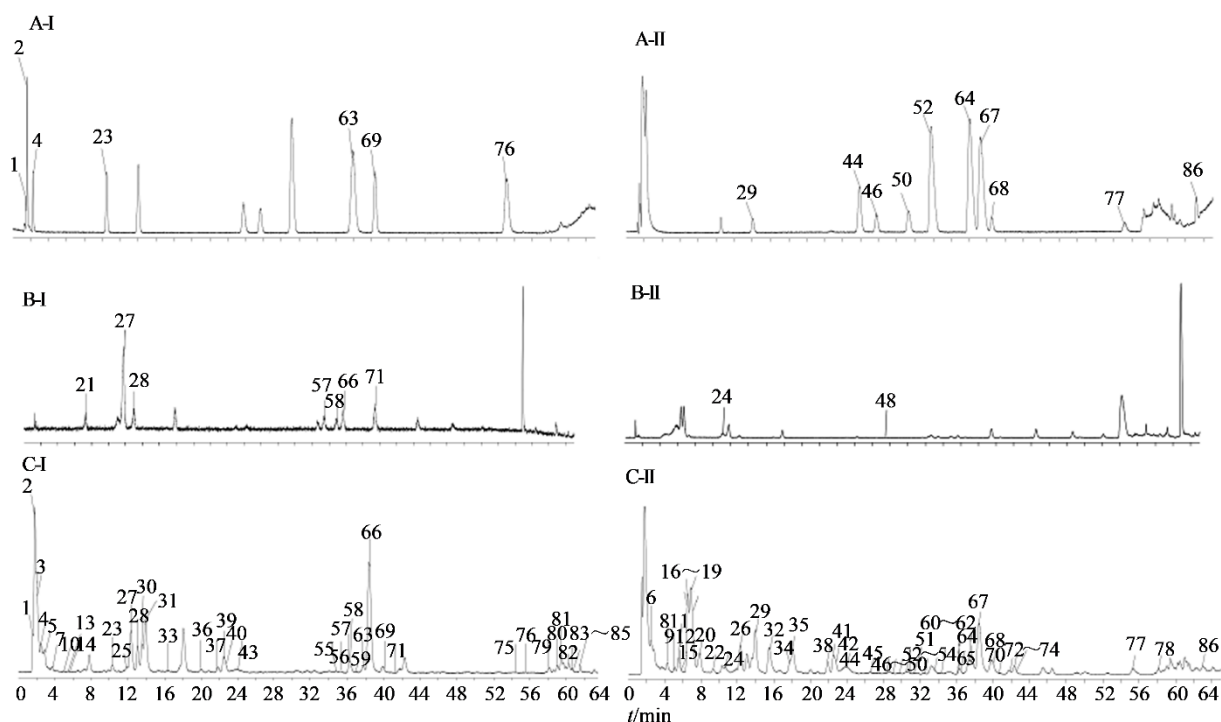
按照“2.1.1”和“2.1.2”项下的检测条件进行定性分析,总离子流图见图 1,分析总离子流图一级、二级的质谱信息,结合相关文献和数据库从咳喘宁颗粒中共鉴定出化合物 86 个,20 个来自生麻黄、15 个来自白屈菜、30 个来自金银花、22 个来自枇杷叶、12 个来自金沸草、14 个来自化橘红,其中有 26 个化合物经与对照品比对,结果见表 1。

2.2 咳喘宁颗粒多成分定量测定

2.2.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(Waters Atlantis™ T3 色谱柱,250 mm×4.6 mm, 5 μm),以甲醇-0.1% 甲酸为流动相,梯度洗脱:0~20 min, 3%~15% 甲醇;20~25 min, 15%~18% 甲醇;25~26 min, 18%~23% 甲醇;26~45 min, 23% 甲醇;45~46 min, 23%~38% 甲醇;46~60 min, 38% 甲醇;60~61 min, 38%~42% 甲醇;61~70 min, 42% 甲醇;70~80 min, 42%~90% 甲醇;体积流量 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 °C;进样量 10 μL,检测波长 324、283 nm。色谱图见图 2。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取新绿原酸、绿原酸、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、异绿原酸 B、4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、柚皮苷对照品适量,加 50% 甲醇溶解并定容至刻度,制得含新绿原酸 455 μg·mL⁻¹、绿原酸 805 μg·mL⁻¹、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸 251 μg·mL⁻¹、异绿原酸 B 243 μg·mL⁻¹、4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸 263 μg·mL⁻¹、柚皮苷 1 438 μg·mL⁻¹ 的混合对照品储备液。

2.2.3 供试品及阴性样品溶液的制备 取咳喘宁颗粒样品约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理(40 kHz、500 W)30 min,放冷,再称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,12 000 r·min⁻¹离心



A-混合对照品1;B-混合对照品2;C-咳喘宁颗粒样品;I-负离子模式;II-正离子模式

A-mixed reference substance 1; B-mixed reference substance 2; C-Kechuanling Granule sample; I-negative ion mode; II-positive ion mode

图1 咳喘宁颗粒样品及混合对照品的总离子流图

Fig. 1 TIC of Kechuanling Granules sample and mixed reference substance

表1 咳喘宁颗粒化学成分的HPLC-Q-TOF-MS/MS鉴定

Table 1 Identification of chemical components in Kechuanling Granules by HPLC-Q-TOF-MS/MS

编号	t_R/min	分子式	化合物	母离子测定值 m/z	理论值	误差/ ($\times 10^{-6}$)	二级碎片	归属
1	1.595	$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6$	奎宁酸 [*]	191.055 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$	191.056 1	-1.84	191.053 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$	C
2	1.689	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$	水杨酸甲酯 [*]	197.044 8 $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	197.045 5	-4.30	151.062 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$	D
3	1.736	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$	L-苹果酸 ^[5]	133.014 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$	133.014 2	0.09	115.041 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$	B、D
4	2.238	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	柠檬酸 [*]	191.019 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$	191.019 7	-2.86	191.055 0 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、173.043 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 、147.043 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$	B、D
5	2.736	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$	丁二酸 ^[6]	117.019 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$	117.019 3	0.84	117.019 2 $[\text{M}-\text{H}]^-$	B、C
6	3.075	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$	肉桂酸 ^[7]	166.086 0 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$	166.086 3	-1.48	149.057 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、131.046 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$	A
7	3.540	$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4$	戊二酸	131.035 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$	131.035 0	2.97	113.359 1 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$	B
8	4.088	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	断氧化马钱苷酸 ^[8]	391.122 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、 413.105 3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$	391.123 5、 413.105 4	-0.16、 -0.24	229.029 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$ 、 185.040 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}-\text{CO}_2]^+$	C
9	4.747	$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}$	去甲麻黄碱 ^[9]	152.106 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$	152.107 0	-4.26	134.095 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 、 117.067 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{NH}_3]^+$	A
10	5.003	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$	原儿茶酸 ^[10]	153.019 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$	153.019 3	2.98	153.020 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、109.029 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$	A、C、 E、F
11	5.134	$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}$	去甲伪麻黄碱 ^[9]	152.106 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$	152.107 0	-4.26	134.095 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 、 117.069 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{NH}_3]^+$	A
12	5.465	C_9H_8	苯并环丙烯	134.096 1 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$	134.096 4	-4.12	117.067 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$	D
13	5.497	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$	苯甲酸 ^[11]	167.034 9 $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	167.035 0	1.46	123.048 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、106.039 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$	A、F

续表1

编号	t_R/min	分子式	化合物	母离子测定值 m/z	理论值	误差/ ($\times 10^{-6}$)	二级碎片	归属
14	5.523	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$	香草酸 ^[11]	167.034 9[M-H] ⁻	167.035 0	0.93	167.049 4[M-H] ⁻ 、149.035 3 [M-H-H ₂ O] ⁻ 、123.048 7[M- H-CO ₂] ⁻	A、E
15	5.785	$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}$	<i>N</i> -甲基苄胺	122.095 8[M+H] ⁺	122.096 4	-4.77	122.095 8[M+H] ⁺	A
16	6.398	$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}$	麻黄碱 ^[9]	166.122 1[M+H] ⁺	166.122 6	-3.23	148.112 1[M+H-H ₂ O] ⁺ 、 133.088 5[M+H-H ₂ O-CH ₃] ⁺ 、 117.069 8[M+H-H ₂ O-CH ₃ - NH ₂] ⁺	A
17	6.489	$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}$	盐酸麻黄碱 ^[12]	166.122 1[M+H] ⁺	166.122 6	-3.23	148.112 0[M+H-H ₂ O] ⁺ 、 117.069 4[M+H-H ₂ O-CH ₃ - NH ₂] ⁺	A
18	6.867	$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}$	<i>D</i> -伪麻黄碱 ^[9]	166.122 1[M+H] ⁺	166.122 6	-3.23	148.112 0[M+H-H ₂ O] ⁺ 、 132.078 6[M-H ₂ O-CH ₃] ⁺ 、 117.069 4[M+H-H ₂ O-CH ₃ - NH ₂] ⁺	A
19	7.064	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}$	茴香烯	166.122 1[M+NH ₄] ⁺	166.122 6	-3.26	148.112 0[M+H] ⁺ 、133.088 5 [M+H-CH ₃] ⁺	F
20	7.875	$\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{NO}$	甲基麻黄碱 ^[13]	180.137 5[M+H] ⁺	180.138 3	-4.35	180.134 9[M+H] ⁺ 、163.130 3 [M+H-OH] ⁺ 、162.125 3[M+ H-H ₂ O] ⁺	A
21	7.990	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	新绿原酸*	353.086 4[M-H] ⁻	353.087 8	-2.71	191.056 0[M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ 、 179.034 8[M-H-C ₈ H ₁₃ O ₄] ⁻ 、 173.044 4[M-H-C ₉ H ₆ O ₃ - H ₂ O] ⁻ 、161.025 4[M-H- C ₈ H ₁₃ O ₄ -H ₂ O] ⁻ 、155.032 8[M- H-C ₉ H ₆ O ₃ -2H ₂ O] ⁻ 、135.0445 [M-H-C ₈ H ₁₃ O ₄ -CO ₂] ⁻ 、 127.041 2[M-H-C ₉ H ₆ O ₃ - H ₂ O-HCOOH] ⁻	C
22	9.138	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_5$	水合橙皮内酯 ^[14]	296.148 9[M+NH ₄] ⁺	296.149 2	-1.36	261.129 9[M+H-H ₂ O] ⁺	F
23	10.472	$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	马钱苷酸*	375.128 0[M-H] ⁻	375.129 7	-4.37	169.090 0[M-H-Glc-CO ₂] ⁻ 、 107.062 8[M-H-Glc-2CO ₂ - H ₂ O] ⁻	C
24	10.923	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$	莫诺苷*	429.136 4[M+Na] ⁺	429.136 7	0.61	429.211 7[M+Na] ⁺	C
25	12.090	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$	对羟基苯乙 酸 ^[15]	151.039 3[M-H] ⁻	151.040 1	-4.61	151.039 8[M-H] ⁻ 、108.0218 [M-H-H ₂ O] ⁻	E
26	12.690	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_3$	肉豆蔻醚 ^[6]	193.085 6[M+H] ⁺	193.085 9	-0.95	193.085 6[M+H] ⁺	D
27	12.833	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	绿原酸*	353.086 3[M-H] ⁻	353.087 8	-4.19	191.054 7[M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ 、 173.044 4[M-H-C ₉ H ₆ O ₃ - H ₂ O] ⁻ 、161.022 2[M-H- C ₈ H ₁₃ O ₄ -H ₂ O] ⁻ 、155.052 6[M- H-C ₉ H ₆ O ₃ -2H ₂ O] ⁻ 、135.042 4 [M-H-C ₈ H ₁₃ O ₄ -CO ₂] ⁻ 、 127.038 3[M-H-C ₉ H ₆ O ₃ - H ₂ O-HCOOH] ⁻	A、 C、 D、E

续表1

编号	t_R/min	分子式	化合物	母离子测定值 m/z	理论值	误差/ ($\times 10^{-6}$)	二级碎片	归属
28	13.547	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	隐绿原酸*	353.086 4[M-H] ⁻	353.087 8	-4.20	191.055 5[M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ 、 179.036 0[M-H-C ₈ H ₁₃ O ₄] ⁻ 、 173.044 7[M-H-C ₉ H ₆ O ₃ - H ₂ O] ⁻ 、161.023 8[M-H- C ₈ H ₁₃ O ₄ -H ₂ O] ⁻ 、155.037 4[M- H-C ₉ H ₆ O ₃ -2H ₂ O] ⁻ 、135.044 1 [M-H-C ₈ H ₁₃ O ₄ -CO ₂] ⁻ 、 127.039 7[M-H-C ₉ H ₆ O ₃ - H ₂ O-HCOOH] ⁻	C
29	14.067	$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_1$	苦杏仁苷*	480.146 1[M+Na] ⁺	480.147 6	-4.58	480.143 5[M+Na] ⁺ 、201.049 5 [M+H-3H ₂ O-C ₁₀ H ₂₀ O ₄] ⁺	D
30	14.136	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	咖啡酸	179.034 4[M-H] ⁻	179.035 0	-2.70	135.034 7[M-H-CO ₂] ⁻ 、 107.050 1[M-H-CO ₂ -C ₂ H ₄] ⁻	C、E
31	14.157	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$	对甲氧基苯甲 醛	135.044 7[M-H] ⁻	135.045 2	-0.58	107.052 1[M-H-CO] ⁻	D
32	15.896	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}$	苯甲醛 ^[11]	107.048 9[M+H] ⁺	107.049 1	-2.78	107.065 4[M+H] ⁺	C、D
33	16.758	$\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{NO}_3$	木兰箭毒碱 ^[16]	393.093 9[M+Br] ⁻	393.094 5	-2.95	269.159 2[M-NH(CH ₃) ₂] ⁺	B
34	17.833	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_9$	獐牙菜苷 ^[17]	359.133 3[M+H] ⁺ 、 381.115 9[M+Na] ⁺ 、 397.089 6[M+K] ⁺	359.133 7、 381.115 6、 397.089 5	-1.19、 0.79、 0.25	381.117 3[M+Na] ⁺	C
35	18.169	$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_4$	异紫堇定碱 ^[18]	342.169 7[M+H] ⁺ 、 364.151 2[M+Na] ⁺	342.170 0、 364.151 9	-1.02、 -1.92	310.107 3[M+H-CH ₃ OH] ⁺	B
36	20.744	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}$	2,3-二氢苯并 呋喃	119.049 7[M-H] ⁻ 、 165.055 2[M+ HCOO] ⁻	119.050 2、 165.055 7	-2.18、 -3.03	119.064 2[M-H] ⁻	D
37	22.107	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	断马钱子苷	423.104 6[M+Cl] ⁻ 、 433.133 4[M+ HCOO] ⁻	423.106 3、 433.135 1	-4.50、 -3.92	228.901 9[M-H-Glc] ⁻	C
38	22.147	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	断马钱子苷半 缩醛内酯 ^[19]	389.143 2[M+H] ⁺ 、 411.124 9[M+Na] ⁺	389.144 2、 411.126 2	-2.32、 -3.16	179.033 2[M+H-Glc-CH ₂ O] ⁺	C
39	22.879	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	牡荆素 ^[20]	431.098 5[M-H] ⁻	431.098 4	0.51	268.797 8[M-H-Glc] ⁻	A
40	22.985	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	山柰酚-7- <i>O</i> -鼠 李糖苷	431.098 5[M-H] ⁻	431.098 4	0.51	431.248 4[M-H] ⁻	A
41	23.015	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	对羟基肉桂酸	165.054 0[M+H] ⁺	165.054 6	-3.14	165.054 0[M+H] ⁺ 、148.127 9 [M+H-H ₂ O] ⁺	E
42	23.545	$\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_4$	金黄紫堇碱	328.153 3[M+H] ⁺	328.154 3	-3.52	328.141 7[M+H] ⁺	B
43	23.809	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$	断氧化马钱 苷 ^[8]	403.123 0[M-H] ⁻	403.124 6	-4.23	371.093 8[M-H-CH ₃ OH] ⁻ 、 165.053 5[M-H-Glc-CO ₂ - CH ₃ OH] ⁻	C
44	24.209	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$	东莨菪内酯*	193.048 8[M+H] ⁺	193.049 5	-3.86	122.056 2[M+H-CH ₃ -CO ₂] ⁺ 、 105.067 7[M+H-CH ₄ O-2CO] ⁺	E
45	26.679	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	异槲皮素	465.101 8[M+H] ⁺ 、 487.084 1[M+Na] ⁺	465.102 8、 487.084 7	-1.37、 -1.23	303.046 8[M+H-Glc] ⁺	D、E

续表1

编号	t_R/min	分子式	化合物	母离子测定值 m/z	理论值	误差/ ($\times 10^{-6}$)	二级碎片	归属
46	28.201	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	金丝桃苷*	465.101 8[M+H] ⁺ 、 487.084 1[M+Na] ⁺	465.102 8、 487.084 7	-1.37、 -1.23	303.849 4[M+H-Glc] ⁺ 、 286.860 2[M+H-Glc-OH] ⁺	C、D
47	29.092	$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3$	黑麦草内酯 ^[21]	197.116 7[M+H] ⁺ 、 219.098 8[M+Na] ⁺	197.117 2、 219.099 2	-1.80、 1.83	179.105 5[M+H-H ₂ O] ⁺	B
48	29.901	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{NO}_4$	白屈菜红碱*	371.111 8[M+Na] ⁺	371.112 8	-3.11	290.855 0[M+H-2CH ₃ -CO] ⁺	B
49	30.018	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	牡荆素-2- <i>O</i> -鼠 李糖苷	579.171 9[M+H] ⁺ 、 601.153 1[M+Na] ⁺	579.170 8、 601.152 8	1.14、 0.50	579.062 6[M+H] ⁺	A
50	31.226	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	芦丁*	611.163 1[M+H] ⁺ 、 633.142 2[M+Na] ⁺	611.160 7、 633.142 6	3.93、 -0.63	611.351 7[M+H] ⁺	C、D
51	31.865	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$	圣草酚 ^[22]	289.069 2[M+H] ⁺	289.070 7	-4.97	289.069 2[M+H] ⁺	C
52	33.935	$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}$	苍术素*	205.062 5[M+Na] ⁺	205.062 4	0.02	205.062 5[M+Na] ⁺ 、165.066 6 [M+H-H ₂ O] ⁺	C
53	34.054	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	山柰酚-7- <i>O</i> -新 橙皮糖苷	595.164 4[M+H] ⁺ 、 617.146 1[M+Na] ⁺	595.165 7、 617.147 7	-2.46、 -2.59	595.206 3[M+H] ⁺ 、287.052 2 [M+H-C ₁₂ H ₂₀ O ₉] ⁺	D
54	34.857	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	忍冬苦苷 ^[19]	595.164 4[M+H] ⁺ 、 617.146 1[M+Na] ⁺	595.165 7、 617.147 7	-2.46、 -2.59	447.145 5[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁺	C
55	35.758	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	阿魏酸 ^[12]	193.050 1[M-H] ⁻	193.050 6	-1.33	149.934 3[M-H-CO ₂] ⁻ 、 134.233 1[M-H-CO ₂ -CH ₃] ⁻	A、 D、E
56	35.890	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	异阿魏酸 ^[23]	193.050 1[M-H] ⁻	193.050 6	-1.33	134.233 1[M-H-CO ₂ -CH ₃] ⁻	A
57	37.187	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$	异绿原酸B*	515.117 2[M-H] ⁻	515.119 5	-4.68	353.085 9[M-H-C ₁₁ H ₁₀ O ₄] ⁻ 、 335.075 2[M-H-C ₁₁ H ₁₀ O ₄ - H ₂ O] ⁻ 、191.055 4[M-H- C ₁₁ H ₁₀ O ₄ -C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ 、179.036 3 [M-H-C ₁₁ H ₁₀ O ₄ -C ₈ H ₁₃ O ₄] ⁻ 、 173.045 3[M-H-C ₁₁ H ₁₀ O ₄ - C ₉ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻ 、161.024 9[M- H-C ₁₁ H ₁₀ O ₄ -C ₈ H ₁₃ O ₄ -H ₂ O] ⁻ 、 135.043 9[M-H-C ₁₁ H ₁₀ O ₄ - C ₈ H ₁₃ O ₄ -CO ₂] ⁻	C
58	37.537	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$	异绿原酸A*	515.117 2[M-H] ⁻	515.119 5	-4.68	179.036 0[M-H-C ₁₁ H ₁₀ O ₄ - C ₈ H ₁₃ O ₄] ⁻	C、E
59	37.694	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	邻苯二甲酸二 甲酯	193.050 1[M-H] ⁻	193.050 6	-1.33	193.050 1[M-H] ⁻	D
60	37.706	$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_5$	隐品碱 ^[24]	370.164 7[M+H] ⁺	370.164 9	-0.52	370.159 8[M+H] ⁺ 、290.099 4 [M+H-H ₂ O-CH ₃ -H-CO- 2H] ⁺	B
61	37.746	$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_5$	高白屈菜碱 ^[16]	370.164 7[M+H] ⁺	370.164 9	-0.52	370.159 8[M+H] ⁺ 、352.151 8 [M+H-H ₂ O] ⁺ 、305.876 0[M- H-CH ₃] ⁺ 、290.099 4[M+H- H ₂ O-CH ₃ -H-CO-2H] ⁺	B
62	37.762	$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_5$	A-别隐品碱 ^[16]	370.164 7[M+H] ⁺	370.164 9	-0.52	370.159 8[M+H] ⁺ 、352.151 8 [M+H-H ₂ O] ⁺	B
63	37.959	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	咖啡酸甲酯*	193.050 1[M-H] ⁻	193.050 6	-1.33	193.050 1[M-H] ⁻	C
64	38.065	$\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_5$	白屈菜碱*	354.132 9[M+H] ⁺	354.133 6	-1.95	354.113 1[M+H] ⁺ 、336.125 6 [M+H-H ₂ O] ⁺	B

续表1

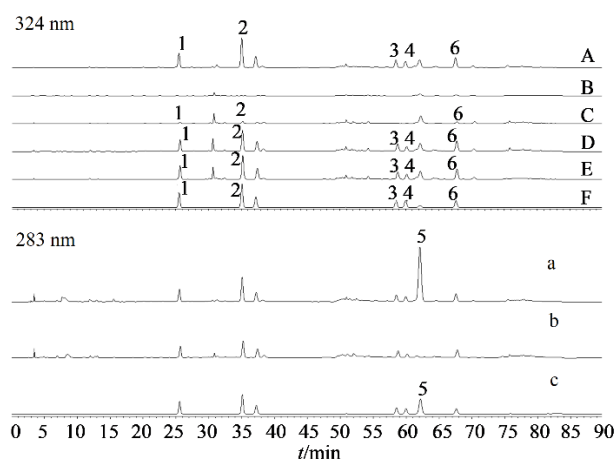
编号	t_R/min	分子式	化合物	母离子测定值 m/z	理论值	误差/ ($\times 10^{-6}$)	二级碎片	归属
65	38.549	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	柚(昔)配基-7- O-葡萄糖苷 ^[14]	435.128 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$	435.128 6	-0.93	435.192 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、273.082 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$	F
66	39.106	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$	柚皮苷*	579.170 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、 615.146 5 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$	579.171 9、 615.148 6	-2.82、 -3.41	579.169 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、459.115 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4]^-$ 、271.061 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_9]^-$ 、151.002 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}]^-$	F
67	39.746	$\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_5$	原阿片碱*	354.132 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$	354.133 6	-4.24	354.132 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、206.895 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2]^+$ 、165.923 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{NC}_{11}\text{H}_{13}\text{O}_2]^+$	B
68	40.261	$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_4$	四氢黄连碱*	324.122 4 $[\text{M}+\text{H}]^+$	324.123 0	-1.75	324.134 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、176.088 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2]^+$ 、149.113 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_2]^+$	B
69	41.168	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	野漆树苷*	577.153 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$	577.156 3	0.57	269.042 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-$ $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$	C、F
70	41.562	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_8$	川陈皮素 ^[25]	403.137 4 $[\text{M}+\text{H}]^+$	403.138 7	-3.45	135.044 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2-$ $\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4]^+$	F
71	41.879	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$	异绿原酸C*	515.117 2 $[\text{M}-\text{H}]^-$	515.119 5	-4.49	353.081 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$ 、 191.057 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4-$ $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3]^-$ 、179.033 8 $[\text{M}-\text{H}-$ $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_4]^-$ 、173.042 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3-$ $\text{H}_2\text{O}]^-$	C
72	41.906	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	异鼠李素-3-O- 葡萄糖苷 ^[10]	479.119 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、 501.099 3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$	479.118 4、 501.100 3	1.79、 -2.00	479.140 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、317.061 6 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glc}]^+$ 、165.049 1 $[\text{M}+$ $\text{H}-\text{Glc}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4]^+$	D
73	43.326	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_4$	橙皮内酯 ^[14]	261.113 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$	261.112 1	4.95	261.127 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、189.051 3 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}]^+$ 、159.045 0 $[\text{M}+$ $\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}-\text{CH}_2\text{O}]^+$ 、131.049 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}-\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	F
74	44.463	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_4$	异橙皮内酯 ^[14]	261.113 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$	261.112 1	-0.18	261.127 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、159.045 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}-\text{CH}_2\text{O}]^+$ 、 131.049 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}-$ $\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}]^+$	F
75	54.785	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	草质素	301.034 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$	301.035 4	-4.52	301.034 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$	A
76	55.576	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	槲皮素*	301.034 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$	301.035 4	-4.52	301.034 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$	C、 D、E
77	55.725	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$	丁香酚*	182.116 8 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$	182.117 6	-4.20	183.145 4 $[\text{M}+\text{H}+\text{NH}_4]^+$ 、182.079 8 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 、	C、 D、F
78	57.972	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	柚皮素 ^[14]	273.075 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$	273.075 7	-1.58	273.179 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、153.031 2 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}]^+$ 、147.044 8 $[\text{M}+$ $\text{H}-\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_5]^+$	F
79	58.006	$\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_2$	肉豆蔻酸	341.194 9 $[\text{M}+\text{CF}_3$ $\text{COO}]^-$	341.194 5	1.88	227.715 6 $[\text{M}-\text{H}]^-$	F
80	58.732	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	芹菜素 ^[8]	269.044 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$	269.045 5	-3.27	117.036 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4]^-$	A、 C、F

续表1

编号	t_R/min	分子式	化合物	母离子测定值 m/z	理论值	误差/ ($\times 10^{-6}$)	二级碎片	归属
81	59.074	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	高良姜素	269.044 7[M-H] ⁻	269.045 5	-3.27	269.044 3[M-H] ⁻	D
82	60.006	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	金圣草(黄) 素 ^[8]	299.054 9[M-H] ⁻	299.056 1	-4.08	299.043 7[M-H] ⁻ 、284.047 1 [M-H-CH ₃] ⁺	C
83	60.040	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	香叶木素 ^[26]	299.054 9[M-H] ⁻	299.056 1	-4.08	299.043 7[M-H] ⁻ 、284.030 2 [M-H-CH ₃] ⁺	A
84	60.274	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$	异鼠李素 ^[27]	315.049 6[M-H] ⁻	315.051 0	-4.58	315.043 2[M-H] ⁻ 、300.026 7 [M-H-CH ₃] ⁻ 、151.006 4[M-H- C ₉ H ₈ O ₃] ⁻ 、	D
85	61.344	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$	6-甲氧基木犀 草素	315.049 6[M-H] ⁻	315.051 0	-4.58	300.026 7[M-H-CH ₃] ⁻	E
86	63.055	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	棕榈酸乙酯*	283.093 7[M-H] ⁻	302.305 4	-3.54	283.093 7[M-H] ⁻	C、D

*与对照品比对确认的成分:A-生麻黄;B-白屈菜;C-金银花;D-枇杷叶;E-金沸草;F-化橘红

*-compared with the reference substance; A-Ephedrae Herba; B-Chelidonii Herba; C-Lonicerae Japonicae Flos; D-Eriobotryae Folium; E-Inulae Herba; F-Citri Grandis Exocarpium



A-样品;B-缺金银花、枇杷叶和金沸草阴性样品;C-缺金银花阴性样品;D-缺枇杷叶阴性样品;E-缺金沸草阴性样品;F-混合对照品;a-样品;b-缺化橘红阴性样品;c-混合对照品;1-新绿原酸;2-绿原酸;3-异绿原酸B;4-3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸;5-柚皮苷;6-4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸

A-sample; B-negative sample without *Lonicerae Japonicae Flos*, *Eriobotryae Folium* and *Inulae Herba*; C-negative sample without *Lonicerae Japonicae Flos*; D-negative sample without *Eriobotryae Folium*; E-negative sample without *Inulae Herba*; F-mixed references; a-sample; b-negative sample without *Citri Grandis Exocarpium*; c-mixed references; 1-neochlorogenic acid; 2-chlorogenic acid; 3-iso-chlorogenic acid B; 4-3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid; 5-naringin; 6-4,5-*O*-dicaffeoylquinic acid

图2 混合对照品、阴性样品及样品溶液的HPLC图

Fig. 2 HPLC of mixed references, negative sample and sample solution

5 min,取上清液,即得供试品溶液。各阴性样品溶液制备方法同供试品制备方法。

2.2.4 线性范围考察 精密量取“2.2.2”项下混合对照品储备液适量,50%甲醇逐级稀释成不同质量浓

度的对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析。以待测成分的质量浓度为横坐标(X)、峰面积值为纵坐标(Y)绘制标准曲线。结果,6个待测成分在检测质量浓度范围内线性关系良好, r 均大于0.999 9。新绿原酸: $Y=29\,783.58 X+18\,953.27$, $r=1.000\,0$,线性范围 $7.1\sim 455.0\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;绿原酸: $Y=30\,048.78 X+37\,262.83$, $r=1.000\,0$,线性范围 $12.6\sim 805.1\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸: $Y=39\,027.67 X-12\,452.44$, $r=1.000\,0$,线性范围 $3.9\sim 251.7\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;异绿原酸B: $Y=34\,849.91 X+7\,319.54$, $r=1.000\,0$,线性范围 $3.8\sim 243.6\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸: $Y=36\,535.73 X-27\,633.81$, $r=1.000\,0$,线性范围 $4.1\sim 263.4\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;柚皮苷 $Y=17\,410.65 X-3\,342.68$, $r=1.000\,0$,线性范围 $45.0\sim 1439.0\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.2.5 精密度考察 精密吸取“2.2.4”项下高、中、低不同质量浓度混合对照品溶液,连续测定6次,记录各待测成分的峰面积,计算RSD,结果待测成分峰面积RSD均不超过1%,结果表明仪器精密度良好,符合试验要求。

2.2.6 重复性考察 按“2.2.3”项下方法平行制备6份供试品溶液并进样测定,计算各成分的含量及其RSD,结果新绿原酸、绿原酸、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、异绿原酸B、4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、柚皮苷的质量分数的RSD分别为1.91%、1.70%、1.94%、1.98%、1.99%、1.58%,表明方法重复性良好。

2.2.7 稳定性考察 取“2.2.3”项制备的供试品溶液,分别于0、4.5、7、14、19、24、29 h进样分析,不同

时间点各待测成分新绿原酸、绿原酸、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、异绿原酸B、4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、柚皮苷峰面积的RSD分别为1.17%、0.29%、0.38%、0.67%、0.62%、0.24%，说明供试品溶液中各成分在29 h内稳定性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称定样品约0.5 g，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，平行操作9份，精密加入适量混合对照品，对照品的加入量分别为样品中各成分含量的50%、100%、150%；计算各待测成分加样回收率及其RSD。结果新绿原酸、绿原

酸、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、异绿原酸B、4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、柚皮苷的加样回收率分别为103.39%、101.08%、103.22%、100.96%、102.64%、99.48%，RSD分别为1.70%、1.29%、1.79%、1.87%、1.52%、1.98%，表明该方法测定6种待测成分的准确性较好。

2.2.9 6种成分测定结果 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，按照“2.2.1”项色谱条件对3批咳喘宁颗粒(220501、220502、220503)样品进行6种成分的含量测定，结果见表2。

表2 3批咳喘宁颗粒6种成分含量测定结果

Table 2 Results of determination of six kinds of components from three batches of Kechuanning Granule

批号	新绿原酸/ (mg·g ⁻¹)	绿原酸/ (mg·g ⁻¹)	3,5- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁酸/ (mg·g ⁻¹)	异绿原酸B/ (mg·g ⁻¹)	4,5- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁酸/ (mg·g ⁻¹)	柚皮苷/ (mg·g ⁻¹)
220501	2.59	5.94	1.06	1.29	1.78	18.36
220502	2.62	5.97	1.07	1.30	1.80	18.26
220503	2.51	6.20	1.03	1.33	1.93	18.35

3 讨论

3.1 定量指标成分的选择

结合色谱条件及化学成分解析结果，综合考虑选取金银花、枇杷叶、金沸草共同含有的绿原酸类化合物，化橘红中含有的柚皮苷作为定量测定的指标。马双成等^[28]检测了13种咖啡酰基奎宁酸类化合物抗呼吸道感染的作用，涉及的病毒有呼吸道合胞病毒、副流感3型病毒及流感A型病毒，结果证明咖啡酰基奎宁酸类化合物具有抗呼吸道感染的作用；此外绿原酸、异绿原酸A、异绿原酸C、1,3-*O*-咖啡酰基奎宁酸对革兰阴性菌、革兰阳性菌、霉菌、酵母菌等也具有较强的抑制作用，绿原酸类化合物也有多种抗炎机制^[29-30]；董晶等^[31]实验表明柚皮苷可以促进豚鼠气管平滑肌细胞增殖，为化橘红化痰作用活性成分之一，上述成分在治疗上呼吸道感染、止咳化痰方面具有药理活性。本实验采用HPLC-Q-TOF-MS/MS技术对咳喘宁颗粒中的化学成分进行了快速分析，对质谱峰进行了归属，并通过一级质谱获得的准分子离子峰推测鉴定出了84个咳喘宁颗粒中可能含有的化合物。其中26个化合物经由对照品指认，其余成分通过二级质谱提供的碎片离子结合相关文献推测指认，对咳喘宁颗粒化学成分进行了系统解析，结合咳喘宁颗粒的提取工艺及药理作用，筛选出新绿原酸、绿原酸、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、异绿原酸B、4,5-*O*-二咖啡酰基

奎宁酸、柚皮苷6个成分，建立含量测定方法，为咳喘宁颗粒后续的入血实验研究和质量标准的建立提供了参考。

3.2 含量测定条件的考察

利用紫外检测器对对照品及样品溶液进行210~400 nm的全波长扫描，结合6种成分的吸收波长曲线，最终选定测定波长为324 nm和283 nm；比较了提取方式、提取溶剂类型、提取时间和提取溶剂体积的提取效果，结果表明50%甲醇50 mL超声30 min的提取效果最佳；根据不同的色谱条件的洗脱效果，选择甲醇-0.1%甲酸梯度洗脱，最终建立含量测定方法。处方中生物碱类成分也为咳喘宁颗粒的药效物质，但因为理化性质等原因，此色谱条件不适用，故后续再建立其他的检测条件。本研究初步建立了咳喘宁颗粒的化学成分谱及多成分含量测定方法，同时测定新绿原酸、绿原酸、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、异绿原酸B、4,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸、柚皮苷的含量，方法学结果良好，且方法稳定可行，为咳喘宁颗粒的质量标准建立提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张靖宜, 徐寒冰, 孙铭君. 金银花研究进展 [J]. 山东畜牧兽医, 2020, 41(10): 64-66.
- Zhang J Y, Xu H B, Sun M. *Flos Lonicerae's research*

- progress [J]. Shandong J Animal Sci Vet Med, 2020, 41 (10): 64-66.
- [2] 龚海群. 中药金沸草和益母草化学成分的研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2011.
Gong H Q. Studies on chemical constituents of Chinese herbs, herba *Senecionis japonici* and herba *leonuri* [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2011.
- [3] 李佳美, 徐伟, 张雪, 等. 基于HPLC-MS/MS对枇杷叶水提组分分析及萜类物质的结构鉴定 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(1): 295-303
Li J M, Xu W, Zhang X, et al. HPLC-MS/MS analysis of water-extracted components of loquat leaves and structural identification of terpenoids [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(1): 295-303.
- [4] 张刊, 张双双, 张百霞. 化橘红黄酮类化学成分研究进展 [J]. 医学研究与教育, 2017, 34(5): 60-65.
Zhang K, Zhang S S, Zhang B X. Research progress of flavonoids chemical composition in Citri Grandis Exocarpium [J]. Med Res Educ, 2017, 34(5): 60-65.
- [5] 靳庆霞. 浅析山楂的化学成分及药理作用 [J]. 内蒙古中医药, 2014, 33(36): 62.
Jin Q X. Analysis on chemical constituents and pharmacological effects of hawthorn [J]. Nei Mongol J Tradit Chin Med, 2014, 33(36): 62.
- [6] 董世奇, 赵鹿, 张东旭, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的扎冲十三味丸化学成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(6): 1546-1557.
Dong S Q, Zhao L, Zhang D X, et al. Identification of chemical constituents in Zhachong Shisanwei Pills by UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47(6): 1546-1557.
- [7] 杨慧敏, 杨彪, 胡玉梅, 等. 基于UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS技术的桂枝茯苓胶囊化学成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(4): 861-877.
Yang H M, Yang B, Hu Y M, et al. Identification of chemical constituents in Guizhi Fuling Capsules by UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(4): 861-877.
- [8] 龚兴成, 刘文静, 曹丽波, 等. DI-MS/MSALL法快速定性分析金银花的化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46 (9): 2220-2228.
Gong X C, Liu W J, Cao L B, et al. Rapid chemome profiling of chemical components of *Lonicerae Japonicae Flos* using DI-MS/MSALL [J]. China J Chin Mater Med, 2021, 46(9): 2220-2228.
- [9] 张宁, 高霞, 周宇, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS快速分析杏贝止咳颗粒化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43 (22): 4439-4449.
Zhang N, Gao X, Zhou Y, et al. Rapid identification of chemical components in Xingbei Zhike Keli by UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. China J Chin Mater Med, 2018, 43(22): 4439-4449.
- [10] 许如玲, 范君婷, 董惠敏, 等. 经典名方黄芩桂枝五物汤标准煎液化学成分的UPLC-Q-TOF-MS分析 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(23): 5614-5630.
Xu R L, Fan J T, Dong H M, et al. UPLC-Q-TOF-MS analysis on chemical constituents of classical prescription Huangqi Guizhi Wuwu Tang standard decoction [J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(23): 5614-5630.
- [11] 韩迪, 王姗姗, 唐嵩媛, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS技术的黄芩桂枝五物汤基准样品化学成分分析及表征 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(9): 141-149.
Han D, Wang S S, Tang S Y, et al. Chemical composition analysis and characterization of reference sample of Huangqi Guizhi Wuwu Tang based on UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2022, 28(9): 141-149.
- [12] 王芝燕, 刘辉, 李均艳, 等. UPLC/MS/MS法同时测定哮喘合剂中8种代表性成分 [J]. 医药导报, 2022, 41(8) 1193-1198
Wang Z Y, Liu H, Li J Y, et al. Simultaneous quantification analysis of 8 representative components in kechuan mistura by UPLC/MS/MS [J]. Her Med, 2022, 41(8): 1193-1198.
- [13] 陈闪闪, 杨欣怡, 戴国梁, 等. 高效液相-四级杆-飞行时间质谱法定性与定量分析麻黄附子细辛汤成分 [J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(6): 601-606.
Chen S S, Yang X Y, Dai G L, et al. Qualitative and quantitative analysis of constituents in Mahuang Fuzi Xixin Decoction by HPLC-VWD-Q-TOF-MS [J]. Chin J Hosp Pharm, 2022, 42(6): 601-606.
- [14] 刘群娣, 谢春燕, 闫李丽, 等. 化橘红化学成分的HPLC-DAD-MS/MS分析 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2011, 13(5): 864-867.
Liu Q D, Xie C Y, Yan L L, et al. High performance liquid chromatography-DAD-mass spectrometry analysis of citri grandis exocarpium [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2011, 13(5): 864-867.
- [15] 周明月, 霍金海, 孙国东, 等. 采用UPLC-Q-TOF-MS技术鉴定连翘中45种化学成分 [J]. 中国药房, 2019, 30 (22): 3067-3073.
Zhou M Y, Huo J H, Sun G D, et al. Identification of 45 kinds of chemical components of *Forsythia suspensa* by UPLC-Q-TOF-MS [J]. China Pharm, 2019, 30(22): 3067-3073.
- [16] 杨鹏, 卿志星, 左姿, 等. HPLC-Q-TOF/MS鉴定白屈菜中异喹啉类生物碱 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(2): 174-182.
Yang P, Qing Z X, Zuo Z, et al. Identification of isoquinoline alkaloids in *Chelidonium majus* by HPLC-Q-TOF/MS [J]. Mod Chin Med, 2017, 19(2): 174-182.
- [17] 李泽运, 冯甜甜, 兰月娇, 等. 基于超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱和网络药理学技术分析银花感冒颗粒化学成分及其治疗作用的分子机制 [J]. 中国医药, 2020, 15(7): 1116-1120.
Li Z Y, Feng T T, Lan Y J, et al. Observation of chemical

- constituents and molecular mechanism of Yinhuanganmao Granules based on ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry and network pharmacology [J]. China Med, 2020, 15(7): 1116-1120.
- [18] 刘杨, 杨玉佩, 沈冰冰. HPLC-Q-TOF-MS/MS法分析防己茯苓汤的化学成分[J]. 中南药学, 2021, 19(8): 1563-1569.
- Liu Y, Yang Y P, Shen B B. Chemical constituents of Fangji Fuling Decoction by HPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. Central South Pharm, 2021, 19(8): 1563-1569.
- [19] 何厚洪, 姚建标, 畅文琦, 等. 基于HPLC-LTQ-Orbitrap MS/MS技术的复方鱼腥草合剂化学物质基础表征研究[J]. 亚太传统医药, 2020, 16(8): 37-44.
- He H H, Yao J B, Chang W Q, et al. Analysis of chemical material basis of compound Yuxingcao mixture based on HPLC-LTQ-orbitrap MS/MS technology [J]. Asia Pac Tradit Med, 2020, 16(8): 37-44.
- [20] 徐东川, 隋在云, 杨青, 等. 泻白散化学成分的UPLC-Q-TOF-MS/MS分析[J]. 中华中医药学刊. (2022-03-08) [2023-04-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20220304.1555.042.html>.
- Xu D C, Sui Z Y, Yang Q, et al. Analysis of chemical constituents of Xiebai powder by UPLC-Q-TOF-MS/MS [J/OL]. Chin Arch Tradit Chin Med. (2022-03-08) [2023-04-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20220304.1555.042.html>.
- [21] 吴美琪, 刘建庭, 许浚, 等. 基于UPLC-Q/TOF-MS的小儿消积止咳口服液化学物质组快速辨识研究[J]. 中草药, 2021, 52(23): 7117-7127.
- Wu M Q, Liu J T, Xu J, et al. Rapid identification of chemical material basis of Xiao'er Xiaoji Zhike Oral Liquid based on UPLC-Q/TOF-MS [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(23): 7117-7127.
- [22] 龙丽, 冯海兴, 王灿茂, 等. UFLC-Q-TOF-MS/MS结合指纹图谱定性评价菝葜(金刚藤)药材质量的研究[J]. 中医药信息, 2021, 38(2): 16-23.
- Long L, Feng H X, Wang C M, et al. Qualitative evaluation of *Smilax China* L. by UFLC-Q-TOF-MS/MS combined with fingerprint [J]. Inf Tradit Chin Med, 2021, 38(2): 16-23.
- [23] 胡静. 基于UPLC-Q-TOF-MS结合诊断离子与分子网络策略解析当归补血汤的化学成分[D]. 太原: 山西大学, 2021.
- Hu J. Analysis of chemical constituents of Danggui Buxue Decoction based on UPLC-Q-TOF-MS combined with diagnostic ion and molecular network strategy [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2021.
- [24] 赵田园, 王委, 戚华文, 等. 基于HPLC-Q-TOF/MS的白屈菜生物碱化学组成快速辨识研究[J]. 药学学报, 2020, 55(6): 1273-1281.
- Zhao T Y, Wang W, Qi H W, et al. Rapid identification of the alkaloids of *Chelidonium majus* L. by HPLC-Q-TOF/MS [J]. Acta Pharm Sin, 2020, 55(6): 1273-1281.
- [25] 彭苏芹, 严志宏, 向汝群, 等. 痛泻要方水煎液化学成分的UPLC-LTQ-Orbitrap-MS分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(10): 183-191.
- Peng S Q, Yan Z H, Xiang R Q, et al. Chemical constituent analysis of Tongxie Yaofang Decoction by UPLC-LTQ-Orbitrap-MS [J]. Chin J Exper Tradit Med Form, 2023, 29(10): 183-191.
- [26] 石典花, 戴衍朋, 王丽凤, 等. 基于UHPLC-QTOF-MS/MS辨识的侧柏叶炒炭前后化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(8): 107-116.
- Shi D H, Dai Y P, Wang L F, et al. Chemical composition analysis of platycladi cacumen before and after being carbonized based on identification by UHPLC-QTOF-MS/MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2021, 27(8): 107-116.
- [27] 杨丽, 袁丰瑞, 曹岚, 等. 基于UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS技术快速鉴定柴石退热颗粒的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(17): 152-159.
- Yang L, Yuan F R, Cao L, et al. Identification of chemical constituents in Chaishi Tuire Granules by UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2021, 27(17): 152-159.
- [28] 马双成, 毕培曦, 黄荣春, 等. 金银花药材中抗呼吸道感染咖啡酰奎宁酸类成分的定量研究[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(7): 751-755.
- Ma S C, Bi P X, Huang R C, et al. Determination of the antiviral caffeoyl quinic acids isolated from *Lonicera japonica* thunb [J]. Chin J Pharm Anal, 2005, 25(7): 751-755.
- [29] 熊乐文, 金莹, 王彦予, 等. 金银花酚酸类化学成分、药理活性及体内代谢研究进展[J]. 中成药, 2022, 44(3): 864-871.
- Xiong L W, Jin Y, Wang Y Y, et al. Research progress on chemical constituents, pharmacological activities and metabolism of phenolic acids in *Lonicera japonica* Thunb [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(3): 864-871.
- [30] 马涵玉, 钱琪, 牛丽颖. 基于文献计量学的金银花研究现状与热点分析[J]. 药物评价研究, 2022, 45(7): 1426-1434.
- Ma H Y, Qian Q, Niu L Y. Current status and hotspot of *Lonicera Japonica Flos* research based on bibliometrics [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(7): 1426-1434.
- [31] 董晶, 肖移生, 陈海芳, 等. 化橘红中主要活性成分对豚鼠气管平滑肌细胞增殖的影响[J]. 井冈山大学学报: 自然科学版, 2015, 36(1): 88-90, 106.
- Dong J, Xiao Y S, Chen H F, et al. Effects of the main active components in exocarpium on the proliferation of tracheal smooth muscle cells in Guinea pig [J]. J Jinggangshan Univ Nat Sci Ed, 2015, 36(1): 88-90, 106.

[责任编辑 刘东博]