·综 述·

# LC-MS 联用技术在中药非目标化学成分分析中的研究进展

胡紫艳[1, 2]，田稷馨[2]，李小丽[3]
1. 江苏省药物研究所，江苏 南京 210009
2. 中国药科大学 分析测试中心，江苏 南京 210009
3. 沧州大化集团公司，河北 沧州 061000

**摘 要**：中药防病治病的物质基础是其所含有效成分，且大部分成分结构未知。以中药所含化学成分全面分析为目的，建立并发展多组分物质分析的概念，由此提出了适于中药中目标及非目标化学成分的分析方法。以中药非目标化合物分析为背景，以 LC-MS 技术手段为依托，从仪器技术和方法设计两方面阐述当前的非目标化合物研究情况，着重探讨了该领域不同试验方法设计的特色与局限性。

**关键词**：中药；非目标化学成分；液相色谱-质谱法；结构鉴定；超高效液相色谱
**中图分类号**：R284.1 **文献标志码**：A **文章编号**：0253 - 2670(2011)01 - 0180 - 05

# Advances in studies on liquid chromatography-tandem mass spectrometry to analysis of non-target compounds in Chinese materia medica

HU Zi-yan[1, 2], TIAN Ji-xin[2], LI Xiao-li[3]
1. Jiangsu Provincial Institute of Materia Medica, Nanjing 210009, China
2. Center for Instrumental Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China
3. Cangzhou Dahua Corporation, Cangzhou 061000, China

**Key words:** Chinese materia medica (CMM ); non-target compounds; LC-MS; structure identification; UHPLC

中药是中国传统医学防治疾病的主要工具，随着人类文明程度的提高，中草药作为天然药物由此受到越来越多的青睐和重视，据 WHO 估算，全球有 65%～80%的医疗体系以中草药为主要治疗手段。

中药防病治病的物质基础是其中所含的有效成分。一种中药往往含有结构、性质不尽相同的多种成分，且大部分成分结构未知，国外将这类未知成分定义为“non-target compounds”，本文暂且称其为非目标化合物。以中药所含化学成分全面分析为目的，建立并发展多组分物质分析的概念，由此提出了适于中药中靶标及非目标化学成分的分析方法。

近年来，国内外报道中药化学成分多组分同时鉴定的文献逐年增多，然而，研究范围大多限于提取物中的靶标化合物。为了阐明中药的药效物质基础，了解可能的潜在作用靶点，更好地理解其多组分多靶点的科学内涵，同时提高中药应用的安全、有效及合理性，制定规范的质控标准，提取物中非目标化合物的鉴定就显得尤为重要。

中药非目标化合物的分析面临很多难点：一方面，其结构非常复杂，相对分子质量范围广（从小分子到生物大分子）、极性差异大（从水溶性到脂溶性）、种类多（如皂苷类、黄酮类等）、结构相似（同系物或同分异构体）、量差异大（从常量到痕量）；另一方面，非目标物质的分析中无相应的标准品，无法进行比对研究。近 10 年来，分析技术的进步为中药复杂成分的鉴定提供了可能，特别是液相色谱-质谱（LC-MS）联用技术在多组分分离分析中有独特的优势。本文以中药非目标化合物分析为背景，以 LC-MS 技术手段为依托，将从仪器技术和方法设计两方面阐述当前的非目标化合物研究状况。

## 1 LC-MS 技术

### 1.1 LC

LC 是复杂的中药多组分分析的主要方法，超

收稿日期：2010-08-12
作者简介：胡紫艳，女，硕士，研究方向为药物分析，现就职于江苏省药物研究所。

高效液相色谱（UHPLC）技术应用 1.7 μm 粒径的填料，在更大程度上改善物质间的分离选择性，从而提高方法灵敏度，缩短了分析时间，其最低检出限较 HPLC 降低 1～210 倍[1]，更有利于微量及痕量物质（＜100 μg/g）的分离分析[2]；同时改善了非目标化合物峰与干扰物质的分离，有利于质谱的检测。质谱噪音降低，离子辨认度与归属性增强，并且最大可能地减小了软电离技术中共流出物的离子抑制和增强效应，从各个层次上使质谱图得以优化。

**1.2 大气压离子化（API）软电离技术**

相对分子质量的确定是非目标化合物质谱结构解析的重要信息。软电离技术产生较少的碎片离子而展现较多的准分子离子$[M+H]^+$与$[M-H]^-$；也可出现其他分子加合峰（如$[M+NH_4]^+$、$[M+Na]^+$、$[M+Cl]^-$等），可共同确定非目标化合物的相对分子质量。无论在正离子检测模式下，还是在负离子检测模式下，非质子加合峰的出现很大程度上有赖于流动相添加剂[3]。因此，根据非目标成分的种类，选取合适的流动相添加剂（如 $NH_4AC$、HCOOH 等）可以增强非质子加合峰，为相对分子质量的确证提供有力的佐证。对中草药非目标化合物的研究具有重要作用。

不同的 API 技术具有不同的底物极性和相对分子质量应用范围，适用于不同性质非目标成分的分析。大部分非目标化合物在中药提取物中的浓度较低，有时分离度较低，此时，API 的共流出物离子抑制和增强效应就必须加以考虑。一般认为，大气压化学电离源（APCI）的离子抑制现象较电喷雾（ESI）轻[4]。综上所述，对于同一样品，除运用正负两种离子检测模式外，可同时运用 ESI 和 APCI 两种不同电离源进行对比分析，提供的信息往往具有互补性。涉及到相关标准品族的对比分析及实验方法验证时，应分别考察单标准品进样和混合标准品进样两项响应指标，用以评价离子抑制效应。

**1.3 真空接口中的碰撞诱导裂解（源内裂解技术）**

在中药非目标化学成分的鉴定研究中，除了相对分子质量信息外，碎片离子信息也至关重要。通过对不同条件下化合物裂解途径的逐级对比，确定裂解的先后顺序与子母离子关系，对非目标化合物的结构进行推断。一种好的分析方法，可以在保证灵敏度的同时，获得充足的碎片信息，用以研究化合物的质谱行为。单级质量分析器常采用源内碰撞诱导裂解（CID）以获得碎片离子，所得到的碎片离子依赖于接口电压大小。不同的中药化学成分最适接口电压不同，不同电压下产生的碎裂途径也不同。在运用 HPLC-ESI/TOF MS 对金银花进行多组分分析时[5]，发现 6 个非目标化学成分，对其进行 300 V 下的源内碰撞诱导裂解，依据其产生的特征碎片离子，与已有标准品的特征碎片离子（诊断离子）进行对比，结合 TOF 提供的分子式与其在反相色谱条件下的洗脱顺序，最终确证了这 6 种成分的结构。Qi 等[6]在研究当归补血汤时，采用高（400 V）、中（300 V）、低（120 V）3 种不同接口电压，对照片品进行裂解途径分析；然后在相同条件下分析其质谱行为，在非目标化合物中寻找与对照品相似的特征裂解，进行结构推断。

**2 LC-MS 技术在非目标成分鉴定中的应用及方法设计**

**2.1 LC-MS 技术在非目标成分鉴定中的应用**

多种类型的质量分析器与液相色谱仪联用后可用于中药非目标化学成分的分析，目前普遍采用三重四级杆质量分析器（TQ）[7]、离子阱质量分析器（IT）[8]、飞行时间质量分析器（TOF）[9]以及它们的联用技术[10-12]。TQ 在前体离子的选择和分离方面具有优势。此外，TQ 提供的多种扫描模式有助于系列非目标化合物的分类鉴定。在常规应用中，TQ 虽然只可进行二级产物离子扫描，但对于浓度和离子丰度相对较大的非目标化合物，联合应用内源 CID 技术时，可检测至 $MS^3$。IT 可进行 $MS^n$ 分析，通过碎片离子和碎裂途径分析，推断非目标化合物结构。

TOF 在中药非目标化合物鉴定中的应用受到广泛关注，具有非常高的分辨率（FWHM 5 000～10 000），因此较 TQ、IT 等质量分析器有更强大的离子辨析能力，有利于中草药提取物等多组分的分析。另外，TOF 可提供精确的相对分子质量（$<5\times10^{-6}$），可预测母离子和子离子的化学式。与 TQ 或 IT 提供的名义质量相比，精确的质量数有助于化合物分子式的筛选。当与 Q、TQ 或 IT 串联使用时，除上述优点外，可进行 MS/MS 和 $MS^n$ 分析。在实际应用中，LC-MS 可得到大量的数据信息。因此，选择合理的数据处理方法以简化有效信息的提取过程十分重要。

**2.2 LC-MS 联用技术的应用方法设计**

**2.2.1** 基于 LC-（Q/IT）TOF 技术的方法设计 LC-QTOF 和 LC- IT-TOF 应用于中药非目标化学成分的研究已见报道。这两种技术通过 MS/MS 或 $MS^n$ 途

径选定前体离子，监测特定裂解反应。与源内 CID 不同之处在于，前者可通过前体离子的选择改善监测灵敏度，明确母离子和子离子的对应关系，提供逐级裂解分析，使反应监测更具针对性。IT-$MS^n$ 与 TOF 的串联使用，结合了 IT 的结构解析功能和 TOF 的准确质量测定功能，非常适于非目标化学成分的鉴定。相比之下，QTOF 提供逐级裂解信息的能力较弱。为了使 QTOF 达到 $MS^3$ 水平，Zhou 等[13]采用源内 CID 技术与 QTOF 相结合的方式，鉴定了版纳藤黄 *Garcinia xipshuanbannaensis* Y. H. Li 粗提物中的 15 种聚异戊烯酮类成分，其中 3 种为非目标化学成分。通过调整接口电压，在真空接口中实现碰撞诱导裂解，以 Q1 选择待检测的子离子，Q2 进行二次碎裂，产生的 3 级子离子以 QTOF 测定准确的相对分子质量。为了兼顾不同结构的多组分化合物，获取最多的结构信息，对透镜电压、接口电压、锥孔气大小、氮气流量、碰撞能量、碰撞室入口电压等质谱参数进行优化，其中接口电压为主要影响因素；将测得的各物质 LC-MS/MS 与 LC-MS/MS/MS 质谱图进行横、纵向对比，发现非目标化合物与相关标准品的 MS/MS/MS 图谱，具有相似的逆狄尔斯-阿德尔（RDA）重排裂解反应，符合酮基本骨架的特征裂解，说明非目标化合物与相应标准品具有相同母核结构；同时 MS/MS 图谱观察到异戊二烯取代基的丢失，但具体取代位点需借助其他分析方法确定。此种方法有一定的局限性，源内裂解技术对前体离子的裂解并不完全，物质损失较大，限用于大丰度的碎片离子；反之，则会由于监测灵敏度的限制不能得到有效检测。

LC-（Q/IT）-TOF 在非目标化合物解析中可分为两类。第 1 类：可能的化合物类型、背景信息等未知；第 2 类：有部分支持信息（如样品来源、处理方式、所在植物的主成分化学结构等）。后者主要应用于与已知代表化合物具有相同母核骨架的微量、痕量、超痕量化合物的结构确证；以对照品对离子化方式、特征裂解途径和色谱保留行为进行初步研究，作为对比信息，简化非目标化合物的鉴定过程。在第二类非目标化学成分的结构解析中，Zhang 等[14]对延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的镇痛有效成分生物碱类化合物进行了研究，应用 UHPLC-Q-TOF 技术系统鉴定其中的叔胺类和季胺类生物碱，首先以二者的基本骨架为基础，根据不同位点的可能取代情况建立筛查表（screening table），共列出可能结构 160 种，计算每种结构的名义质量，得到 40 种相对分子质量，用 3 种已知对照品确定质谱参数及特征裂解途径，在此基础上进行样品测定；质谱扫描前联合应用 DAD 技术对叔胺和季胺初步分类。延胡索提取物中分离出 16 种待测成分，通过 TOF 提供的精确相对分子质量列出候选化学式，根据质谱全扫描获得的名义质量在筛查表中找到可能的化学结构，两者信息整合，确定最终的候选结构。如有两种或以上的可能结构，结合 MS/MS 碎片信息确证。以此设计方法，试验确定了 8 种待测物的结构，其中 2 种为首次发现。对于第 2 类非目标化合物的分析可采取如下步骤：首先，确定待测非目标化合物的准分子离子峰；其次，根据 TOF 提供的精确相对分子质量预测化学式，并设计有效的方法缩小候选结构范围；再对具有相同母核结构的标准品与样品进行 MS/MS 和 MS/MS/MS 碎片信息的对比分析，寻找特征裂解途径并进行推断结构。

对于第 1 类非目标化合物结构解析，在大量信息缺损且无相关对照品的情况下，难以按照上述过程进行结构确证。此时，可利用 TOF 提供的精确相对分子质量预测出可能的化学式，在数据库中搜索。文献报道，以 LC-IT-$MS^n$ 和 LC-TOF-MS 技术为基础，提出了“4 步法”，成功地用于第 1 类非目标化合物的结构鉴定研究[15-16]。“四步法”根据分析物的质谱裂解行为及其产生的碎片离子，对数据库中相匹配的候选结构进行排查，最终确定非目标化合物的相关结构。理论上，“四步法”可用于任何非目标化合物的研究，但中药非目标成分复杂多样，仅一个特定化学式所匹配的数据库候选结构可能就有上百个，需要进行大量的质谱裂解行为研究。

为了优化实验设计，有效地减少在数据库排查中所产生的候选结构，Hao 等[17]在“四步法”的基础上，提出了“网络中心家族”的概念。研究认为，同一植物提取物中的众多成分可划分成不同的家族，同一家族的化合物具有相似的骨架结构，会产生共有的碎片离子。以脉络宁注射液的成分为研究对象，运用 LC-IT-TOF 技术，成功鉴定了脉络宁注射液中的 87 种非目标化合物。注射液经处理后，将不同有效部位提取物进行 LC/MS-IT-TOF 质谱数据采集，选取总离子流图中高于 $1\times10^5$（峰强度小于该值碎片离子不易检测）的峰为研究对象，根据选定峰所提供的全部母离子及子离子的精确质量用配套软件预测化学式；经 $MS^n$ 分析，将具有共有碎片

（误差允许度 $5\times10^{-3}$）的化合物归为一个家族，出现在 2 个以上家族中的化学成分成为联系各个家族系统的“桥联化合物”，如此构成了网络家族体系。在此体系中，包含化合物最多的家族成为“网络中心家族”。数据库匹配候选结构检索完成后，以网络中心家族中候选结构最少的化合物为起点，经细节比对，较易确定其最终结构，因此可进一步确定该家族的共有碎片离子，辅助完成整个家族及其他家族的结构鉴定。

与此同时，为了解决中药非目标成分结构鉴定产生的大量质谱数据所带来的庞大信息处理问题，Zheng 等[18]提出了另一种有效方法，即基于诊断离子的扩展结构分析法（DFIBES）用于第 2 类非目标化合物的结构鉴定。DFIBES 同样建立在“化合物家族”的理念上，与“网络中心家族法”的区别在于，前者首先应用 15 种对照品获取每个家族的质谱特征碎片，确定为家族诊断离子（DFI），以此将生脉注射液提取物中复杂的峰快速分类；运用“结构扩展法”对 $MS^n$ 产生的系列碎片离子进行分析，通过诊断离子与其前体离子及其他碎片离子之间的质量差异比较，确定丢失单元，获取细节结构信息。实验最终快速检测并鉴定了 50 余种生脉注射液相关化学成分。研究证明 DFIBES 法可大大简化结构鉴定过程，适于复杂基质中的多组分研究。但对于浓度过低的非目标成分，不足以产生一定监测强度的诊断离子，其应用受到限制。

在发展方向上，中药第一类非目标化合物可借鉴植物代谢组学（plant metabolomics）的研究方法，两者都具有待分析物未知，通过对大量色谱-质谱数据处理，确定化学结构的特点。De Vos 等[19]采用 LC-QTOF-MS 技术，对植物组织水醇提液进行非目标化学成分分析；Hanhineva 等[20]基于同样的技术方法，但采用不同的数据处理模式，对植物花朵不同部位的非目标代谢物进行研究，确定化学结构种类。

**2.2.2** 基于 LC-MS/MS 技术的方法设计　常规的 LC-MS/MS 技术应用于中药非目标化学成分的鉴定工作在早期研究中较为多见[21]，采用对照品对比，利用提取离子流技术（EIC）并结合质谱裂解规律可初步推测某些非目标化合物的结构。LC-MS/MS 提供 3 种扫描模式，即产物离子扫描（product ion scan）、前体离子扫描（precursor ion scan）和中性丢失扫描（neutral loss scan），其中中性丢失扫描可用于苷类非目标化学成分的快速鉴定。Qu 等[22]运用能级梯度中性丢失扫描（EGNLS）的方法成功鉴定了两种药用植物粗提物中的糖苷类化合物，并证明这种方法设计适于复杂样品的快速分析，灵敏度高，准确性好，与恒定能量的中性丢失扫描相比，不易丢失待检测组分，且通过测定最佳碰撞能量可提供部分结构信息。另一项有关中性丢失扫描的研究[23]提供了一种新的思路。其研究证明，糖基化部分的断裂位点与所在化合物的糖苷键类型、糖基化位点及苷元类型相关。不同情况下产生的中性丢失不同，产生特定中性丢失所需的碰撞能量不同，相同中性丢失的碎片离子在不同苷类中的强度比不同，且均具有特定规律。基于“家族”概念，这些指标可以作为划分化合物家族的可靠依据，用于非目标化合物的快速分类鉴定。

**2.2.3** 基于 LC-DAD-MS 技术的方法设计　以中药的全面分析为目的，常采用多类型的检测器联用技术，以期提供更加完整的组分鉴定。在该领域，DAD-MS 联用技术发展较为成熟。本实验室曾采用该方法对大黄炮制品体外物质基础进行了研究。首先建立大黄化学成分数据库，完成目标成分分类；选取各类代表性目标化合物，LC-DAD-MS 分析获得紫外吸收特征及质谱裂解规律，建立诊断信息数据库；在对大黄炮制品非目标化合物分析时，对比 LC-DAD 和 LC-MS 分析数据，以 LC-DAD 确定化合物类型，进一步根据 LC-MS 结果推断结构。

Li 等[24]采用 HPLC-PAD-APCI/MS 技术，5 种对照品作对比，结合文献报道，完成了独一味 *Lamiophlomis rotate*（Benth.）Kudo 中 4 种新环烯醚萜苷的鉴定。Qi 等[6]对当归补血汤主成分研究，同样证明紫外光谱与质谱技术的联用有助于完成中药非目标化合物的鉴定。

## 3　结语

中药提取物中含有多种成分，杂质干扰严重，因此所建立的非目标化学成分的鉴定方法必须适合以上分析要求。目前发展起来的各种基于 LC-MS 联用技术的非目标化合物分析方法设计，虽然有各自的适用局限性，但已证明可有效应用于某些复杂的中草药多组分提取物的鉴定。从非目标化合物的研究发展趋势来看，将逐渐向降低对照品依赖性，简化质谱及数据库信息提取过程的方向发展。随着仪器分析技术和计算机技术的发展及中药化学成分研究的不断深入，非目标化合物的研究将会得到快速发展。

参考文献

[1] Zhou J L, Qi L W, Li P. Herbal medicine analysis by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(44): 1-13.

[2] 杨义芳. 超高效/高分离度快速/超快速液相色谱在中药及其制剂研究中的应用 [J]. 中草药, 2008, 39(8): 1259-1263.

[3] Holčapek M, Jirásko R, Lísa M. Basic rules for the interpretation of atmospheric pressure ionization mass spectra of small molecules [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(25): 3908-3921.

[4] Van Eeckhaut A, Lanckmans K, Sarre S, *et al*. Validation of bioanalytical LC-MS/MS assays: Evaluation of matrix effects [J]. *J Chromatogr B*, 2009, 877(23): 2198-2207.

[5] Ren M T, Chen J, Song Y, *et al*. Identification and quantification of 32 bioactive compounds in *Lonicera* species by high performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 48: 1351-1360.

[6] Qi L W, Wen X D, Cao J, *et al*. Rapid and sensitive screening and characterization of phenolic acids, phthalides, saponins and isoflavonoids in Danggui Buxue Tang by rapid resolution liquid chromatography/ diode-array detection coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22: 2493-2509.

[7] Lin Y N, Zhu D N, Qi J, *et al*. Characterization of homo-isoflavonoids in different cultivation regions of *Ophiopogon japonicus* and related antioxidant activity [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 52: 757-762.

[8] Ding S, Dudley E, Plummer S, *et al*. Fingerprint profile of *Ginkgo biloba* nutritional supplements by LC/ESI-MS/ MS [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69: 1555-1564.

[9] Ye M, Liu S H, Jiang Z L, *et al*. Liquid chromatography/ mass spectrometry analysis of PHY906, a Chinese medicine formulation for cancer therapy [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21(22): 3593-3607.

[10] Soler C. Comparison of liquid chromatography using triple quadrupole and quadrupole ion trap mass analyzers to determine pesticide residues in oranges [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1067(1-2): 115-125.

[11] Ibanez M. Use of quadrupole time of flight mass spectro-metry in environmental analysis: Elucidation of transfor-mation products of triazine herbicides in water after UV exposure [J]. *Anal Chem*, 2004, 76(5): 1328-1335.

[12] 董　静, 王　弘, 万乐人, 等. 高效液相色谱/电喷雾-离子阱-飞行时间质谱分析鉴定中药虎杖中的主要化学成分 [J]. 色谱, 2009, 27(4): 425-430.

[13] Zhou Y, Han Q B, Song J Z, *et al*. Characterization of polyprenylated xanthones in Garcinia xipshuanbannaensis using liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1206: 131-139.

[14] Zhang J, Jin Y, Dong J, *et al*. Systematic screening and characterization of tertiary and quaternary alkaloids from *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2009, 78: 513-522.

[15] Thurman E M, Ferrer I, Zweigenbaum J A, *et al*. Discovering metabolites of post-harvest fungicides in citrus with liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry and ion trap tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1082: 71-80.

[16] Thurman E M, Ferrer I, Fernάndez-Alba A R. Matching unknown empirical formulas to chemical structure using LC/MS TOF accurate mass and database searching: example of unknown pesticides on tomato skins [J]. *J Chromatogr A* , 2005, 1067: 127-134.

[17] Hao H P, Cui N, Wang G J , *et al*. Global detection and identification of nontarget components from herbal preparations by liquid chromatography hybrid ion trap time-of-flight mass spectrometry and a strategy [J]. *Anal Chem*, 2008, 80: 8187-8194.

[18] Zheng C N, Hao H P, Wang X, *et al*. Diagnostic fragment-ion-based extension strategy for rapid screening and identification of serial components of homologous families contained in traditional Chinese medicine prescription using high-resolution LC-ESIIT-TOF/MS: Shengmai injection as an example [J]. *J Mass Spectrom*, 2009, 44: 230-244.

[19] De Vos R C, Moco S, Lommen A, *et al*. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry [J]. *Nat Protocols*, 2007, 2(4): 778-791.

[20] Hanhineva K, Rogachev I, Kokko H, *et al*. Non-targeted analysis of spatial metabolite composition in strawberry (*Fragaria ananassa*) flowers [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69: 2463-2481.

[21] 许风国, 刘　颖, 宋　瑞, 等. LC-MS/MS 法研究大承气汤与其君药大黄物质基础间的相关性 [J]. 中国药科大学学报, 2008, 39(2): 136-141.

[22] Qu J, Liang Q, Luo G, *et al*. Screening and identification of glycosides in biological samples using energy-gradient neutral loss scan and liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2004, 76: 2239.

[23] Kazuno S, Yanagida M, Shindo N, *et al*. Mass spectro-metric identification and quantification of glycosyl flavonoids, including dihydrochalcones with neutral loss scan mode [J]. *Anal Biochem*, 2005, 347: 182-192.

[24] Li M X, Zhang R X, Li C X, *et al*. Development of a validated HPLC-PAD-APCI/MS method for the identifi-cation and determination of iridoid glycosides in *Lamiophlomis rotate* [J]. *Anal Methods*, 2010, 2: 714-721.