

基于 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术的参坤养血颗粒化学成分研究

闫旭, 张楠, 冀召帅, 艾超*

清华大学附属北京清华长庚医院, 清华大学临床医学院, 北京 102218

摘要: 目的 为系统研究参坤养血颗粒的化学成分, 采用超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱 (UPLC-Q-Orbitrap HRMS) 法建立一种快速、准确识别中药中复杂化学成分的定性分析方法。方法 通过 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 捕捉化合物的精准相对分子质量以及多级碎片离子信息, 同时将其与对照品的保留时间和质谱信息进行比对, 并结合相关参考文献或 Chemical Book 等数据库信息最终实现对未知化合物的快速、准确定性。结果 从参坤养血颗粒中共鉴定出 51 种化学成分, 主要包括有机酸类、黄酮类、醌类、苷类和其他类。结论 建立的方法可快速、准确、系统地识别参坤养血颗粒中多种化学成分, 并为其质量控制、药效物质基础研究及进一步的临床应用提供扎实的理论依据和科学的研究思路。

关键词: 参坤养血颗粒; UPLC-Q-Orbitrap HRMS; 有机酸类; 黄酮类; 醌类; 苷类

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)18-4231-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.18.006

Chemical constituents of Shenkun Yangxue Granules based on UPLC-Q-Orbitrap HRMS

YAN Xu, ZHANG Nan, JI Zhao-shuai, AI Chao

Department of Pharmacy, Beijing Tsinghua Changgung Hospital, School of Clinical Medicine, Tsinghua University, Beijing 102218, China

Abstract: Objective To study the chemical compositions of Shenkun Yangxue Granules. A novel ultra high performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Orbitrap HRMS) was established to rapidly and accurately recognize the complex chemical constituents of Chinese materia medica. **Methods** The information of accurate mass in Full-MS and multistage fragment ions was obtained by UPLC-Q-Orbitrap HRMS technology. Chemical constituents were identified by comparing their relative retention times and the mass data with those of reference substances, as well as consulting the reference literature or Chemical Book Network Database. **Results** Fifty-one compounds were finally identified from Shenkun Yangxue Granules, including the organic acids, flavones, quinones, glycosides, and others. **Conclusion** The method established in this study can identify various chemical constituents of Shenkun Yangxue Granules rapidly, accurately and systematically. What's more, our research will lay a sound theoretical foundation and scientific study idea for improving the quality control, bioactive components recognition and further clinical application of this herbal formulation.

Key words: Shenkun Yangxue Granules; UPLC-Q-Orbitrap HRMS; organic acids; flavones; quinones; glycosides

参坤养血颗粒是由中药黄芪、当归、丹参、党参、益母草、北败酱共 6 味中药材为原料经现代工艺提取、加工精制而成的中药复方制剂。该药具有益气养血、活血化瘀之功效, 临床上主要用于气虚血瘀所致的产后恶露不绝、小腹疼痛的治疗^[1-2]。参坤养血颗粒疗效确切, 临床应用广泛, 然而中药化学成分较为复杂, 药物中含有的有效活性成分群之间主要通过相互协同、互相配合的途径达到中药复

方“增效减毒”的显著疗效^[3]。因此, 全面识别中药中主要化学成分, 明确其药效物质对于保障该药质量安全性、促进临床合理用药以及新药开发研究具有至关重要的作用。查阅相关文献发现, 目前尚未有对参坤养血颗粒全面化学成分识别的研究报道, 因此, 亟需建立一种系统、准确的分析方法以对参坤养血颗粒中的化学成分进行快速识别和全面表征, 同时为该药更加安全、有效地临床应用提供

收稿日期: 2018-04-26

作者简介: 闫旭, 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为医院药学。Tel: 13811356244 E-mail: yxa00412@btch.edu.cn

*通信作者 艾超, 男, 硕士, 主管药师, 研究方向为医院药学。Tel: 13810190896 E-mail: aca00183@btch.edu.cn

一定的技术保障。

本实验以 UPLC[®] BEH C₁₈ 为分离柱,以乙腈-0.1%甲酸水为流动相对药物中的化学成分进行前期梯度洗脱,后通过 HESI 源进入 Q-Orbitrap HRMS 高分辨质谱,并采用正负离子同时监测、一级全扫描及自动触发二级质谱扫描的模式捕捉药物中复杂化学成分的精准分子量及碎片离子信息,同时与对照品的保留时间和质谱数据信息进行匹配,并结合相关参考文献以及 Chemical Book、Mass Bank 等数据库,对参坤养血颗粒中的主要化学成分进行准确鉴定。本实验方法在利用 Q-Orbitrap HRMS 高分辨率和高质量精度强大优势的同时,借助标准品和数据库对化合物的一级及二级质谱信息进行精准比对,在 12 min 内即可实现对参坤养血颗粒中主要化学成分进行全面准确的快速识别。该研究将为参坤养血颗粒的化学成分分析提供充分的科学依据,同时为其今后进一步的药效物质基础、质量控制及临床合理应用等研究奠定扎实的基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

UPLC-Q-Orbitrap 液质谱联用系统: Ultimate 3000 超高效液相色谱仪(美国 Dionex 公司), Q Exactive 型高分辨质谱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Waters ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); MDS-6G 型多通量微波消解/萃取系统(上海新仪微波化学科技有限公司); New Classic MS 型十万分之一分析天平(瑞士 Mettler Toledo 上海有限公司)。

1.2 试剂

对照品没食子酸(批号 MUST-15042910)、5-羟甲基糠醛(批号 MUST-16031202)、丹参素(批号 MUST-15082714)、原儿茶酸(批号 MUST-16032112)、原儿茶醛(批号 MUST-15091608)、氧化芍药苷(批号 MUST-16021505)、儿茶素(批号 MUST-16030812)、绿原酸(批号 MUST-16031610)、咖啡酸(批号 MUST-15090803)、金丝桃苷(批号 MUST-16032113)、芍药内酯苷(批号 MUST-16051601)、芦丁(批号 MUST-16031812)、阿魏酸(批号 MUST-16021902)、迷迭香酸(批号 MUST-15082904)、芍药苷(批号 MUST-15090711)、丹酚酸 A(批号 MUST-16012810)、丹酚酸 B(批号 MUST-15081916)、洋川芎内酯 I(批号 MUST-16053115)、木犀草素(批号 MUST-

16011015)、槲皮素(批号 MUST-16031804)、芹菜素(批号 MUST-16061301)、山柰酚(批号 MUST-16032801)、芒柄花黄素(批号 MUST-17031005)、Z-藜本内酯(批号 MUST-16060801)、丹参酮 I(批号 MUST-16030210)、隐丹参酮(批号 MUST-16022403)、丹参酮 II_A(批号 MUST-15092512)、阿魏酸乙酯(批号 MUST-15103105)均购于成都曼思特生物科技有限公司;对照品洋川芎内酯 A(批号 wkq-16050603)、大黄素(批号 wkq16071004)、二氢丹参酮 I(批号 wkq16072105)均购于四川维克奇生物科技有限公司,以上对照品经峰面积归一化质量分数均大于 99%;甲醇、乙腈、甲酸均为色谱纯(美国 Fisher 公司);水为超纯水(电导率为 0.1~0.055 μs/cm);其他试剂为分析纯,均购于天津科密欧化学试剂有限公司;参坤养血颗粒(批号 161003,西安仁仁药业有限公司)。

2 方法

2.1 色谱及质谱条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);以乙腈为流动相 A,0.1%甲酸水溶液为流动相 B,梯度洗脱:0~1.0 min,5% A;1.0~2.0 min,5%~35% A;2.0~6.0 min,35%~65% A;6.0~12.0 min,65%~85% A;12.0~15.0 min,85%~100% A;15.0~18.0 min,100% A;18.0~20.0 min,5% A;体积流量为 0.2 mL/min;进样量 5 μL;柱温 40 ℃。

2.1.2 质谱条件 UPLC-Q Exactive 液质联用仪:离子源采用 HESI 源(heated ESI),辅助气体积流量为 10 μL/min,辅助气温度为 300 ℃,离子传输管温度 320 ℃;正离子模式:鞘气体积流量 40 μL/min,喷雾电压 3.50 kV;负离子模式:鞘气体积流量 38 μL/min,喷雾电压 2.80 kV。扫描方式采用正、负离子 Full MS/dd-MS² 模式,其中包括 1 次一级全扫描(分辨率为 70 000 FWHM)和 1 次数据依赖的二级扫描(分辨率为 17 500 FWHM)2 个事件,质荷比窗口宽度设置为 2,碰撞能梯度为 20、40、60 eV,扫描范围 m/z 80~1 200。

2.2 供试品溶液和对照品溶液制备

取参坤养血颗粒约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入纯甲醇 50 mL,密塞后,称定质量,超声处理(功率 200 W,频率 50 kHz)30 min,摇匀,滤过,续滤液用纯甲醇稀释 10 倍,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过后即得供试品溶液。

取各对照品约 1.0 mg, 精密称定后, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加入纯甲醇, 并稀释至刻度, 摇匀, 使制备成 0.1 mg/mL 的单一对照品储备液; 分别精密量取上述单一对照品储备液适量, 混合后加入纯甲醇稀释, 最终制备成各对照品质量浓度均为 1 μ g/mL 的混合对照品溶液。

2.3 化合物结构分析

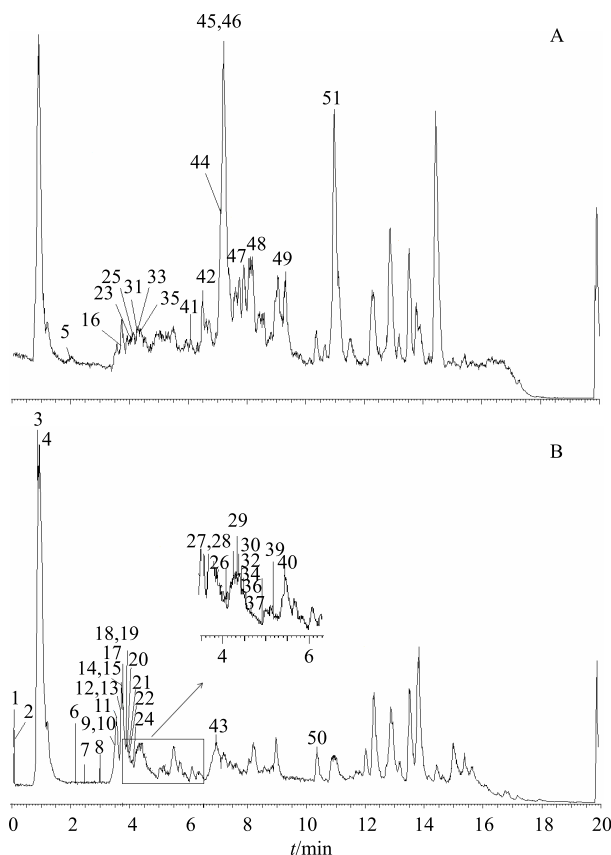
进样后, 根据高分辨质谱提供的准分子离子和加荷离子等信息推测并得到一级质谱的精确相对分子质量, 经 Xcalibur 2.0 软件拟合分子式, 并与数据库进行比对, 对各色谱峰进行初步推测, 再依据对照品或参考文献、Mass Bank、Chemical Book 等数据库提供的保留时间及高能碰撞下产生的碎片离子信息, 进一步推断化学成分结构。

3 结果

参坤养血颗粒样品及混合对照品在“2.1”项色谱及质谱条件下采集的 UPLC-Q-Orbitrap 总离子流图见图 1、2。根据“2.3”项的数据分析方法, 共得到 51 种成分, 其中经推测鉴定的有 20 种, 结果见表 1。

3.1 有机酸类

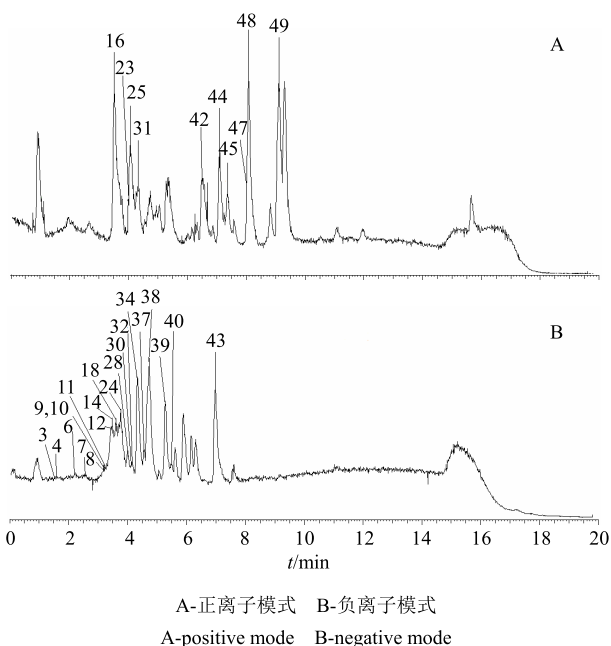
有机酸是一类广泛存在于自然界植物中具有酸性的有机化合物, 该类化合物在质谱条件下常以 $[M-H]^-$ 准分子离子峰的形式存在, 高能碰撞下多产生 $[M-H-H_2O]^-$ 或 $[M-H-CO_2]^-$ 的碎片离子; 当化合物中存在咖啡酸时易出现咖啡酰基的丢失, 或含丹参素时易出现丹参素的丢失。本实验从参坤养血颗粒中共鉴定出 17 种有机酸类化合物, 分别为没食子酸、丹参素、原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、香草酸、龙胆酸、紫草酸、阿魏酸、迷迭香酸、壬二酸、丹酚酸 H、丹酚酸 A、樟脑酸、丹酚酸 B、水杨酸、熊果酸, 多来源于丹参和北败酱等药材。以绿原酸为例, 该化合物在供试品中的保留时间为 3.50 min, 在混合对照品中的保留时间为 3.48 min, 一级质谱信息显示其在负离子模式下响应较正离子模式好, 并得到 m/z 353.08 的分子离子峰 $[M-H]^-$, 经 Xcalibur 软件拟合后推测其分子式为 $C_{16}H_{18}O_9$, 该化合物的二级离子碎片信息主要有 m/z 191.06、173.04、161.02, 分别对应 $[M-H-C_8H_6O_3]^-$ 、 $[M-H-C_8H_6O_3-H_2O]^-$ 和 $[M-H-C_7H_{12}O_6]^-$, 根据该化合物的精确相对分子质量、断裂方式, 并与对照品进行比对后, 参考相关文献报道^[20], 最终确定该化合物为绿原酸, 其质谱裂解途径见图 3。



A-正离子模式 B-负离子模式
A-positive mode B-negative mode

图 1 参坤养血颗粒总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of Shenkun Yangxue Granules



A-正离子模式 B-负离子模式
A-positive mode B-negative mode

图 2 混合对照品总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatogram of mixed standard references

表1 参坤养血颗粒化学成分鉴定

Table 1 Chemical compositions identified in Shenkun Yangxue Granules by UPLC-Q-Orbitrap HRMS

峰号	化合物	分子式	t/min	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	模式	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	归属
1	L-精氨酸 ^[4]	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	0.82	173.104 39	173.103 64	n	-4.385	156.077 13 [M-H-NH ₃] ⁻ , 131.081 68 [M-H-CH ₂ N ₂] ⁻	b, e
2	甘露醇 ^[5]	C ₆ H ₁₄ O ₆	0.83	181.071 76	181.070 91	n	-4.702	163.060 53 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 149.044 69 [M-H-H ₂ O-CH ₂] ⁻ , 131.033 91 [M-H-H ₂ O-CH ₂ -H ₂ O] ⁻ , 101.023 24 [M-H- H ₂ O-CH ₂ -H ₂ O-CH ₂ O] ⁻ , 71.012 58 [M-H-H ₂ O-CH ₂ - H ₂ O-CH ₂ O-CH ₂ O] ⁻	c, f
3	没食子酸*	C ₇ H ₆ O ₅	1.56	169.014 24	169.013 47	n	-4.595	125.023 42 [M-H-CO ₂] ⁻ , 97.028 37 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻ , 69.033 30 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻	f
4	5-羟甲基糠醛*	C ₆ H ₆ O ₃	1.59	125.024 41	125.023 38	n	-8.297	97.028 31 [M-H-CO] ⁻ , 81.033 16 [M-H-CO ₂] ⁻ , 69.033 22 [M-H-CO-CO] ⁻	b
5	苯丙氨酸 ^[4]	C ₉ H ₁₁ NO ₂	2.03	166.086 25	166.086 11	p	-0.874	149.060 04 [M+H-NH ₃] ⁺ , 131.049 33 [M+H-NH-H ₂ O] ⁺ , 120.081 01 [M+H-HCOOH] ⁺ , 103.054 62 [M+H- HCOOH-NH ₃] ⁺	b
6	丹参素*	C ₉ H ₁₀ O ₅	2.22	197.045 54	197.044 92	n	-3.180	179.034 33 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 151.039 17 [M-H-H ₂ O-CO] ⁻ , 135.044 20 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 123.044 11 [M-H-H ₂ O- CO ₂ -CO] ⁻	d
7	原儿茶酸*	C ₇ H ₆ O ₄	2.52	153.019 33	153.018 42	n	-5.960	109.028 37 [M-H-CO ₂] ⁻ , 91.017 72 [M-H-CO ₂] ⁻ , 81.033 32 [M-H-CO ₂] ⁻	d
8	原儿茶醛*	C ₇ H ₆ O ₃	3.42	137.024 41	137.023 53	n	-7.060	109.028 42 [M-H-CO] ⁻ , 93.033 36 [M-H-CO ₂] ⁻	d
9	氧化芍药苷*	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂	3.47	495.150 79	495.151 25	n	0.910	333.097 38 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁻ , 195.065 35 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ - C ₇ H ₆ O ₃] ⁻ , 137.023 53 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -Cl ₆ H ₁₂ O ₄] ⁻ , 93.033 37 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -C ₁₀ H ₁₂ O ₄ -CO ₂] ⁻	a
10	儿茶素*	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	3.47	289.071 76	289.071 75	n	-0.039	245.081 71 [M-H-CO ₂] ⁻ , 179.034 26 [M-H-C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 151.039 17 [M-H-C ₇ H ₆ O ₃] ⁻ , 137.023 57 [M-H-C ₈ H ₈ O ₃] ⁻ , 123.044 08 [M-H-C ₇ H ₆ O ₃ -CO] ⁻ , 109.028 34 [M-H- C ₉ H ₈ O ₄] ⁻	c
11	绿原酸*	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	3.48	353.087 80	353.087 59	n	-0.610	191.055 51 [M-H-C ₈ H ₆ O ₃] ⁻ , 173.044 82 [M-H-C ₈ H ₆ O ₃ - H ₂ O] ⁻ , 161.023 62 [M-H-C ₇ H ₁₂ O ₆] ⁻	d
12	咖啡酸*	C ₉ H ₈ O ₄	3.61	179.034 98	179.034 21	n	-4.312	135.044 22 [M-H-CO ₂] ⁻ , 107.049 08 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻	a, f
13	表儿茶素 ^[6]	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	3.61	289.071 76	289.071 69	n	-0.247	245.081 89 [M-H-CO ₂] ⁻ , 205.050 28 [M-H-C ₄ H ₄ O ₂] ⁻ , 179.034 45 [M-H-C ₆ H ₆ O ₂] ⁻	c
14	金丝桃苷*	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	3.69	463.088 19	463.088 56	n	-0.538	300.027 71 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁻ , 271.024 93 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ - CHO] ⁻ , 243.029 71 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₃ -CHO-CO] ⁻ , 151.002 78 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₃ -C ₈ H ₃ O ₃] ⁻ , 125.023 40 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₃ - C ₉ H ₃ O ₄] ⁻	e, f
15	芍药内酯苷*	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	3.70	481.170 43	481.169 43	p	-0.448	319.117 77 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁺ , 197.080 87 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₃ - C ₇ H ₆ O ₂] ⁺ , 151.075 38 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -C ₇ H ₆ O ₂ -CH ₂ O ₂] ⁺ , 133.064 91 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -C ₇ H ₆ O ₂ -CH ₂ O ₂ -H ₂ O] ⁺ , 105.033 81 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -C ₇ H ₆ O ₂ -CH ₂ O ₂ -H ₂ O-C ₂ H ₄] ⁺	a

续表 1

峰号	化合物	分子式	<i>t</i> /min	理论值 (<i>m/z</i>)	实测值 (<i>m/z</i>)	模式	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	归属
16	异槲皮苷 ^[7]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	3.71	463.088 19	463.089 42	n	0.585	301.035 31 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 151.003 16 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 125.023 40 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₄ O ₄] ⁻	a, e, f
17	木犀草素-7-O-芸香糖苷 ^[8]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	3.71	593.151 19	593.148 44	n	-4.642	285.040 47 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O] ⁻ , 151.002 82 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₈ H ₆ O ₂] ⁻ , 135.044 07 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₂ O ₄] ⁻ , 109.028 26 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₄ O ₄] ⁻	a, b, d
18	芦丁*	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	3.73	609.146 10	609.145 51	n	-0.981	300.027 74 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄] ⁻ , 271.024 87 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -CHO] ⁻ , 243.029 79 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -CHO-CO] ⁻ , 178.998 05 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₇ H ₂ O ₂] ⁻ , 151.002 82 [M-H-C ₆ H ₁₁ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₄ -C ₈ H ₃ O ₃] ⁻	a, f
19	香草酸 ^[9]	C ₈ H ₈ O ₄	3.73	167.034 98	167.034 04	n	-5.640	152.011 18 [M-H-CH ₃] ⁻ , 123.044 12 [M-H-CO ₂] ⁻ , 95.049 00 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻	b, c
20	龙胆酸 ^[10]	C ₇ H ₆ O ₄	3.74	153.019 33	153.018 36	n	-6.352	109.028 37 [M-H-CO ₂] ⁻	e
21	香草醛 ^[10]	C ₈ H ₈ O ₃	3.90	151.040 06	151.039 14	n	-0.640	136.015 69 [M-H-CH ₃] ⁻ , 123.044 02 [M-H-CO] ⁻ , 107.049 13 [M-H-CO ₂] ⁻	c, e
22	紫草酸 ^[11]	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₂	3.91	537.103 84	537.103 52	n	-0.613	493.114 93 [M-H-CO ₂] ⁻ , 339.051 06 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 295.061 34 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 185.023 82 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 135.044 20 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₄ O ₃] ⁻ , 109.028 40 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₁₁ H ₆ O ₃] ⁻	d
23	阿魏酸*	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	3.93	195.065 18	195.064 96	p	-1.155	177.054 70 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 145.028 52 [M+H-H ₂ O-CH ₃ OH] ⁺ , 117.033 78 [M+H-H ₂ O-CH ₃ OH-CO] ⁺ , 89.039 04 [M+H-H ₂ O-CH ₃ OH-CO-CO] ⁺	a, c, f
24	迷迭香酸*	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	4.01	359.077 24	359.077 24	n	-0.002	197.045 03 [M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 179.034 33 [M-H-C ₉ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻ , 161.023 67 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₃] ⁻ , 135.044 20 [M-H-C ₉ H ₆ O ₃ -H ₂ O-CO ₂] ⁻	d
25	芍药苷*	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	4.02	481.170 43	481.168 73	p	-3.550	319.117 00 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 197.080 89 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₆ O ₂] ⁺ , 179.070 33 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₆ O ₂ -H ₂ O] ⁺ , 151.075 49 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₆ O ₂ -H ₂ O-CO] ⁺ , 133.064 99 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₆ O ₂ -H ₂ O-CO-H ₂ O] ⁺ , 105.033 89 [M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₆ O ₂ -H ₂ O-CO-H ₂ O-C ₂ H ₄] ⁺	a
26	壬二酸 ^[12]	C ₉ H ₁₆ O ₄	4.09	187.097 58	187.096 88	n	-3.753	169.086 29 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 125.096 17 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 97.064 61 [M-H-H ₂ O-CO ₂ -C ₂ H ₄] ⁻	c
27	丹酚酸 H ^[11]	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₂	4.16	537.103 84	537.103 88	n	0.057	493.114 93 [M-H-CO ₂] ⁻ , 295.061 31 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 185.023 79 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 135.044 17 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₄ O ₃] ⁻ , 109.028 34 [M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₁₁ H ₆ O ₃] ⁻	d
28	丹酚酸 A*	C ₂₆ H ₂₂ O ₁₀	4.17	493.114 02	493.114 47	n	0.913	295.061 13 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 185.023 74 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 135.044 16 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₄ O ₃] ⁻ , 109.028 29 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₁₁ H ₆ O ₃] ⁻	d

续表 1

峰号	化合物	分子式	<i>t</i> /min	理论值 (<i>m/z</i>)	实测值 (<i>m/z</i>)	模式	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	归属
29	樟脑酸 ^[13]	C ₁₀ H ₁₆ O ₄	4.25	199.097 58	199.096 83	n	-3.778	155.106 92 [M-H-CO ₂] ⁻ , 137.096 13 [M-H-CO ₂ -H ₂ O] ⁻	c
30	丹酚酸 B [*]	C ₃₆ H ₃₀ O ₁₆	4.29	717.146 10	717.145 87	n	-0.332	519.093 57 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 339.050 96 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₈ O ₄] ⁻ , 321.040 53 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -CC ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 295.061 34 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₈ O ₄ -CO ₂] ⁻ , 185.023 80 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₈ O ₄ -CO ₂ -C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 109.028 31 [M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₈ O ₄ -CO ₂ -C ₁₁ H ₆ O ₃] ⁻	d
31	洋川芎内酯 I [*]	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	4.29	225.112 13	225.111 47	p	-2.956	207.101 55 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 189.091 35 [M+H-H ₂ O-H ₂ O] ⁺ , 161.096 27 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-CO] ⁺ , 143.085 42 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-CO-H ₂ O] ⁺	c
32	木犀草素 [*]	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	4.33	285.040 46	285.040 31	n	-0.531	151.002 84 [M-H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁻ , 133.028 59 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 107.012 77 [M-H-C ₉ H ₆ O ₄] ⁻	b, c, f
33	野黄芩素 ^[14]	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	4.35	287.055 01	287.054 32	p	-2.420	167.033 95 [M+H-C ₇ H ₄ O ₂] ⁺ , 153.018 34 [M+H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁺ , 107.049 56 [M+H-C ₈ H ₄ O ₃] ⁺	e
34	槲皮素 [*]	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	4.36	301.035 37	301.035 13	n	-0.817	178.997 89 [M-H-C ₇ H ₆ O ₂] ⁻ , 151.002 84 [M-H-C ₈ H ₆ O ₃] ⁻ , 121.028 40 [M-H-C ₈ H ₄ O ₃] ⁻ , 107.012 67 [M-H-C ₈ H ₆ O ₃ -CO ₂] ⁻	a, f
35	毛蕊异黄酮 ^[15]	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	4.39	285.075 75	285.074 95	p	-2.806	270.052 09 [M+H-CH ₃] ⁺ , 253.049 30 [M+H-CH ₃ OH] ⁺ , 225.054 49 [M+H-CH ₃ OH-CO] ⁺ , 137.023 32 [M+H-CH ₃ -C ₈ H ₅ O ₂] ⁺	a
36	水杨酸 ^[16]	C ₇ H ₆ O ₃	4.40	137.024 42	137.023 35	n	-7.790	93.033 36 [M-H-CO ₂] ⁻ , 65.038 46 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻	b
37	芹菜素 [*]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	4.68	269.045 54	269.045 44	n	-0.396	151.002 79 [M-H-C ₈ H ₆ O] ⁻ , 133.028 58 [M-H-C ₇ H ₄ O ₃] ⁻ , 117.033 48 [M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻	b, d, e, f
38	山奈酚 [*]	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	4.75	285.040 46	285.040 25	n	-0.741	178.998 12 [M-H-C ₇ H ₆ O] ⁻ , 151.002 79 [M-H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁻ , 109.028 37 [M-H-C ₉ H ₄ O ₄] ⁻ , 93.033 00 [M-H-C ₉ H ₄ O ₃] ⁻	a, f
39	芒柄花黄素 [*]	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	5.27	267.066 28	267.066 19	n	-0.345	252.042 63 [M-H-CH ₃] ⁻ , 223.039 70 [M-H-CH ₄ -CO] ⁻ , 195.044 65 [M-H-CH ₄ -CO-CO] ⁻ , 132.020 63 [M-H-CH ₄ -CO-C ₆ H ₅ O] ⁻ , 91.017 49 [M-H-CH ₄ -CO-C ₈ H ₄ O ₂] ⁻	a,
40	阿魏酸乙酯 [*]	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	5.49	221.081 93	221.081 24	n	1.830	206.057 92 [M-H-CH ₃] ⁻ , 177.091 60 [M-H-CO ₂] ⁻ , 149.096 33 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻ , 121.028 43 [M-H-CO ₂ -C ₄ H ₈] ⁻ , 93.033 07 [M-H-CO ₂ -C ₄ H ₈ -CO] ⁻	d
41	丹参酮 II _B ^[11]	C ₁₉ H ₁₈ O ₄	6.10	311.127 78	311.126 83	p	-3.071	293.117 13 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 283.132 69 [M+H-CO] ⁺ , 265.122 28 [M+H-CO-H ₂ O] ⁺ , 250.099 03 [M+H-CO-H ₂ O-CH ₃] ⁺ , 237.127 30 [M+H-CO-H ₂ O-CO] ⁺ , 225.091 09 [M+H-CO-H ₂ O-C ₃ H ₄] ⁺	d
42	洋川芎内酯 A [*]	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	6.49	193.122 30	193.121 93	p	-1.949	175.111 92 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 147.116 88 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 137.059 83 [M+H-C ₄ H ₈] ⁺ , 91.054 71 [M+H-H ₂ O-CO-C ₄ H ₈] ⁺	c
43	丁基苯酚 ^[17]	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	6.62	191.106 65	191.106 28	p	-1.969	173.096 22 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 145.101 32 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 135.044 24 [M+H-C ₄ H ₈] ⁺	c
44	大黄素 [*]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	6.97	269.045 54	269.045 23	n	-1.177	241.050 37 [M-H-CO] ⁻ , 225.055 33 [M-H-CO ₂] ⁻	b

续表 1

峰号	化合物	分子式	t/min	理论值 (<i>m/z</i>)	实测值 (<i>m/z</i>)	模式	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	归属
45	二氢丹参酮 I [*]	C ₁₈ H ₁₄ O ₃	7.09	279.101 57	279.100 71	p	-3.084	261.090 88 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 233.095 93 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 205.101 18 [M+H-H ₂ O-CO-CO] ⁺ , 190.077 74 [M+H-H ₂ O-CO-CO-CH ₃] ⁺	d
46	Z-蒿本内酯 [*]	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	7.22	191.106 64	191.106 09	p	-2.963	173.096 24 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 163.111 91 [M+H-CO] ⁺ , 155.085 49 [M+H-H ₂ O-H ₂ O] ⁺ , 145.101 33 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 117.070 21 [M+H-H ₂ O-CO-C ₂ H ₄] ⁺	c
47	丹参酮 I [*]	C ₁₈ H ₁₂ O ₃	8.05	277.085 92	277.085 33	p	-2.132	249.090 99 [M+H-CO] ⁺ , 234.067 75 [M+H-CH ₃] ⁺ , 221.096 16 [M+H-CO-CO] ⁺ , 193.101 30 [M+H-CO-CO-CO] ⁺ , 178.077 74 [M+H-CO-CO-CO-CH ₃] ⁺	d
48	隐丹参酮 [*]	C ₁₉ H ₂₀ O ₃	8.09	297.148 52	297.147 86	p	-2.225	279.138 18 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 268.108 95 [M+H-CHO] ⁺ , 251.143 01 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 223.147 87 [M+H-H ₂ O-CO-CO] ⁺ , 209.096 37 [M+H-H ₂ O-CO-C ₃ H ₆] ⁺	d
49	丹参酮 II _A [*]	C ₁₉ H ₁₈ O ₃	9.31	295.132 87	295.132 11	p	-2.578	277.122 34 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 249.127 27 [M+H-CO] ⁺ , 234.103 68 [M+H-CO-CH ₃] ⁺ , 221.132 29 [M+H-CO-CO] ⁺ , 206.108 83 [M+H-CO-CO-CH ₃] ⁺ , 191.085 89 [M+H-CO-CO-CH ₃ -CH ₃] ⁺	d
50	常春藤皂苷元 ^[18]	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	10.36	471.347 98	471.347 14	n	-1.789	453.338 26 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 427.358 80 [M-H-CO ₂] ⁻ , 407.332 37 [M-H-H ₂ O-HCOOH] ⁻ , 391.300 84 [M-H-H ₂ O-HCOOH-CH ₄] ⁻ , 377.285 00 [M-H-H ₂ O-HCOOH-CH ₄ -CH ₂] ⁻	f
51	熊果酸 ^[19]	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	11.07	457.367 62	457.366 03	p	-3.481	439.356 84 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 411.361 76 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 393.350 37 [M+H-H ₂ O-CO-H ₂ O] ⁺	f

*经对照品比对; a-黄芪; b-党参; c-当归; d-丹参; e-益母草; f-北败酱; n-负离子模式; p-正离子模式

*Identified with reference substance; a-*Scutellariae Radix*; b-*Codonopsis Radix*; c-*Angelicae Sinensis Radix*; d-*Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*; e-*Leonuri Herba*; f-*Patrinia scaniosaeifolia*; n-negative ion mode; p-positive ion mode

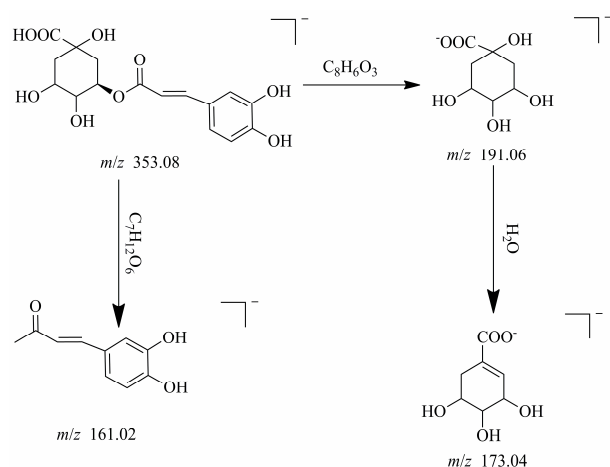


图 3 绿原酸的质谱裂解途径

Fig. 3 MS fragmentation pathways of chlorogenic acid

3.2 黄酮类

黄酮类化合物是存在于自然界中以 C6-C3-C6 为基本骨架且同时具有广泛生物活性和多种药理作用的一类天然次级代谢产物。黄酮类化合物在质谱条件下的断裂方式主要有 CO、CO₂、C₂H₂O、H₂O 等中性分子的丢失, ^{1,3}A⁺, ^{0,2}A⁺, ^{0,2}B⁺等 RDA 裂解以及羰基的断裂。本实验从参坤养血颗粒中共鉴定出 10 种黄酮类化合物, 分别为毛蕊异黄酮、金丝桃苷、异槲皮苷、芦丁、木犀草素、野黄芩素、槲皮素、芹菜素、山萘酚、芒柄花黄素。

以毛蕊异黄酮为例, 该化合物在供试品中的保留时间为 4.39 min, 一级质谱信息显示其在负离子模式下响应较正离子好, 并得到 m/z 285.08 的分子离子峰 [M-H]⁻, 经 Xcalibar 软件拟合后

推测其分子式为 $C_{16}H_{12}O_5$ ，该化合物的二级离子碎片信息主要有 m/z 270.05、253.05、225.05、137.02，分别对应 $[M+H-CH_3]^+$ 、 $[M+H-CH_3OH]^+$ 、 $[M+H-CH_3OH-CO]^+$ 和 $[M+H-$

$CH_3-C_8H_5O_2]^+$ 等碎片离子。根据该化合物的精确相对分子质量、断裂方式，并与文献报道^[15]进行比对后，最终确定该化合物为毛蕊异黄酮，其质谱裂解途径见图 4。

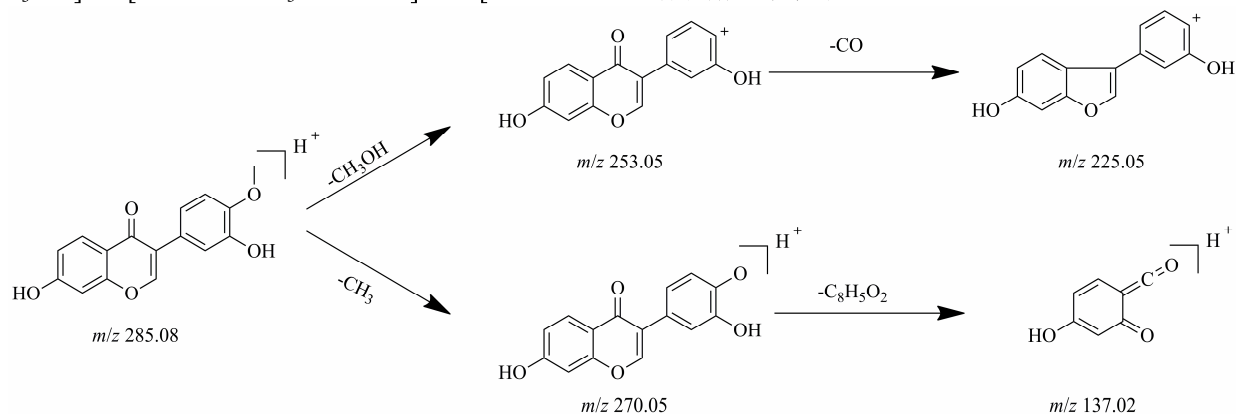


图 4 毛蕊异黄酮的质谱裂解途径

Fig. 4 MS fragmentation pathways of calycosin

3.3 醌类

醌类化合物是中药中一类具有醌式结构的化学成分，主要包括蒽醌、萘醌、菲醌和苯醌共 4 大类。该类化合物的共轭体系结构决定了其分子较为稳定，二级质谱碎片较少，查阅相关文献，可知蒽醌类化合物（芦荟大黄素除外）的特征裂解规律主要为逐级失去 CO 中性碎片，并伴随 CO_2 的中性丢失；萘醌类化合物在准分子离子阶段连续失去 H_2O 和 CO 是其典型的断裂方式；菲醌类主要通过丢失 CH_3 、 H_2O 及 CO 等中性小分子而发生裂解。本实验从参坤养血颗粒中共鉴定出 6 种醌类化合物，分别为二氢丹参酮 I、丹参酮 II_B、大黄素、丹参酮 I、隐丹参酮和丹参酮 II_A。

以二氢丹参酮 I 为例，该化合物在供试品中的保

留时间为 7.09 min，在混合对照品中的保留时间为 7.10 min，一级质谱信息显示其在正离子模式下响应较负离子好，并得到 m/z 279.10 的分子离子峰 $[M+H]^+$ ，经 Xcalibur 软件拟合后推测其分子式为 $C_{18}H_{14}O_3$ ，该化合物的二级离子碎片信息主要有 m/z 261.09、 m/z 233.10、 m/z 205.10 和 m/z 190.08，分别对应 $[M+H-H_2O]^+$ 、 $[M+H-H_2O-CO]^+$ 、 $[M+H-H_2O-CO-CO]^+$ 、 $[M+H-H_2O-CO-CO-CH_3]^+$ ，根据该化合物的精确相对分子质量、断裂方式，并与对照品进行比对后，参考相关文献报道^[21]，最终确定该化合物为二氢丹参酮 I，其质谱裂解途径见图 5。

3.4 苷类

本实验鉴定的苷类主要为单萜苷类化合物，包括氧化芍药苷、芍药内酯苷和芍药苷等，该类化合物在

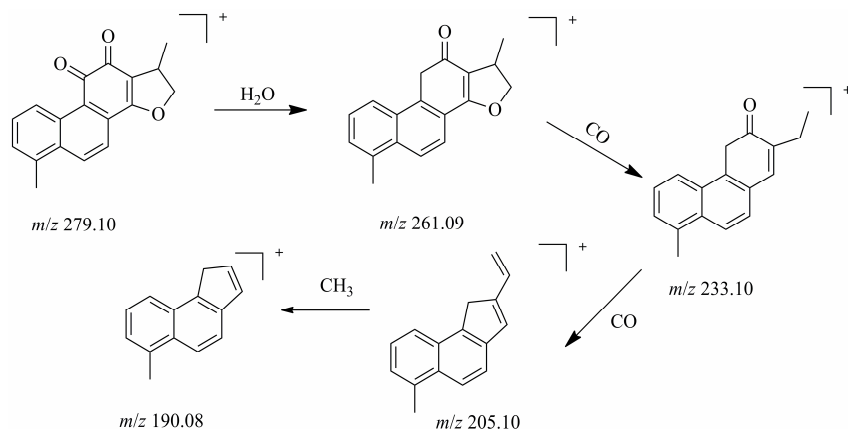


图 5 二氢丹参酮 I 的质谱裂解途径

Fig. 5 MS fragmentation pathways of dihydrotanshinone I

质谱条件下通常发生苷键断裂而形成苷元离子峰，同时发生酯键断裂丢失苯甲酰基而生成碎片离子。

以氧化芍药苷为例，该化合物在供试品中的保留时间为 3.47 min，在混合对照品中的保留时间为 3.44 min，一级质谱信息显示其在负离子模式下响应较正离子好，并得到 m/z 495.15 的分子离子峰 $[M-H]^-$ ，经 Xcalibar 软件拟合后推测其分子式为 $C_{23}H_{28}O_{12}$ ，该化合物的二级离子碎片信息主要有 m/z 333.10、 m/z 195.07、 m/z 137.02、 m/z 93.03 分别

对应 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ 、 $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_7H_6O_3]^-$ 、 $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_{10}H_{12}O_4]^-$ 、 $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_{10}H_{12}O_4-CO_2]^-$ ，根据该化合物的精确相对分子质量、断裂方式，并与对照品进行比对后，最终确定该化合物为氧化芍药苷，其质谱裂解途径见图 6。

3.5 其他类

此外，本实验还从参坤养血颗粒中鉴定出了原儿茶醛、儿茶素、香草素、丁基苯酐等其他类成分，

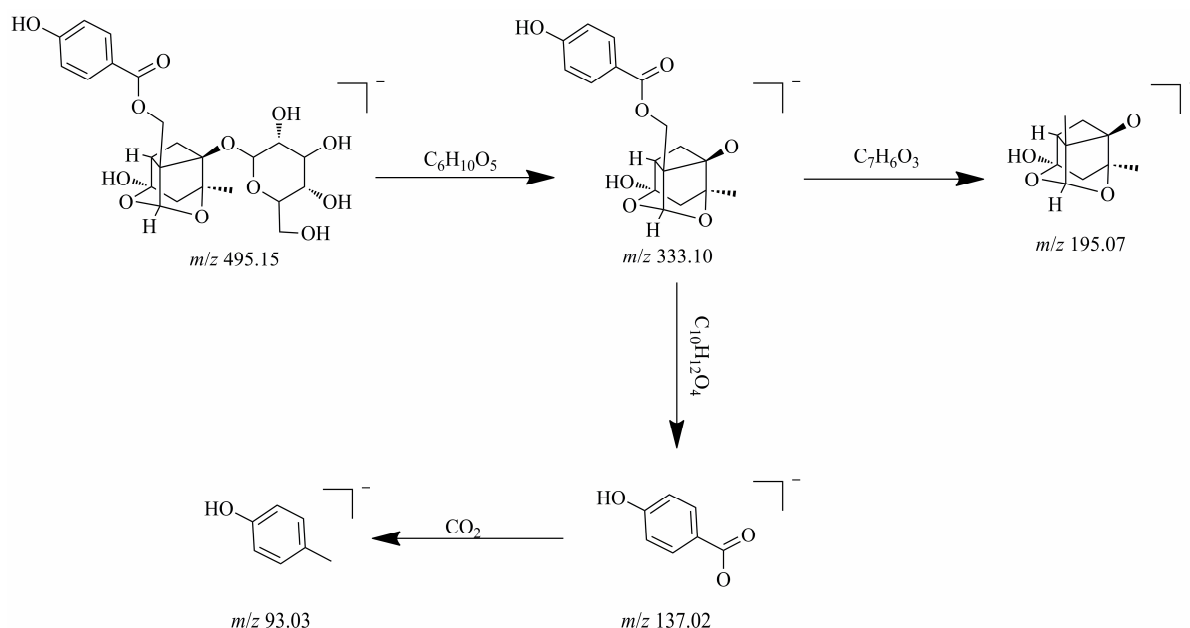


图 6 氧化芍药苷的质谱裂解途径

Fig. 6 MS fragmentation pathways of oxypaeoniflora

复方制剂中的各味药材具有涉及，因此，本实验对参坤养血颗粒的化学成分研究具有系统性和代表性，能够较为全面地反映该药的化学成分组成。

4 讨论

本实验重点考察了甲醇-水、甲醇-甲酸水、乙腈-水和乙腈-甲酸水作为流动相系统时，各色谱峰的分离效果。结果显示，当采用甲醇作为有机相时，色谱峰整体基线不平稳，峰形较差，分离度较低且拖尾严重；而当有机相使用乙腈时，各色谱峰分离度较高，基线波动较小，峰形较好；当在水相中加入 0.1% 的甲酸时，各目标待测物峰形更佳，质谱响应更好。因此，本实验最终选择乙腈-0.1% 甲酸水作为流动相进行梯度洗脱。

本研究采用的 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 同时具有高分辨率和高精度优势，其首先利

用四级杆对待测离子进行了预分离，然后通过灵敏度极高的 Orbitrap 检测器对待测离子的精确质量数进行检测，该仪器具有极高的分辨率（最高为 140 000 FWHM），使得离子的质量数检测结果高度精准，可精确至小数点后 5 位，因此，本实验经仪器分析和数据处理后，最终拟合得到的待测组分元素组成结果可靠，准确性较高，对于未知化合物的准确快速定性具有不可替代的作用。此外，本实验还可在一个种分析方法中同时实现快速正、负离子扫描切换，并且能够同时保持超高的质量精度，极大地提高了分析速度；Q-Orbitrap HRMS 还能显著消除基质的背景干扰，显著增强仪器的选择性，最终提高样品分析的准确性。

本实验从参坤养血颗粒中共鉴定出 51 种化学成分，包括 18 种有机酸类、10 种黄酮类、6 种醌类、

4种苷类和14种其他类,通过比对复方制剂中有关6味单药材的相关文献,发现其中来源于黄芪的有12种、来源于当归的有13种、来源于丹参的有17种、来源于党参的有9种、来源于益母草的有8种、来源于北败酱的有13种,且都是各中药材中的特征性成分。以上不同类别、不同来源的药物活性成分可通过协同或互补等作用,从而实现多成分、多通路、多靶点的治疗效果,最终使参坤养血颗粒发挥益气养血,活血化瘀的显著功效。

研究结果表明,本实验建立的基于UPLC-Q-Orbitrap HRMS的化学成分研究方法可系统、全面、准确快速地对参坤养血颗粒中的主要活性成分进行识别。本研究首次从整体层面上对参坤养血颗粒的有效成分化学谱进行深入探索,为明确其药效物质基础提供了一定的科学依据,并为该复方制剂化学成分及其作用机制的进一步研究奠定了扎实的前期基础。

参考文献

- [1] 王 俊,冷湘静,高锦飏. HPLC 同时测定参坤养血颗粒中的毛蕊异黄酮葡萄糖苷、黄芪甲苷、丹参素和党参炔苷 [J]. 中国药师, 2014, 17(7): 1138-1140.
- [2] 张俊玲,王彦强,刘海峰,等. HPLC 法测定参坤养血颗粒中原儿茶醛含量 [J]. 陕西中医学院学报, 2007, 30(1): 64-65.
- [3] 程京艳,张贵君. 中药化学成分研究的相关思路 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2010, 12(4): 511-514.
- [4] 张水寒,蔡 萍,陈 林,等. 高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱分析雪峰虫草化学成分 [J]. 中草药, 2015, 46(6): 817-821.
- [5] 秦伟瀚,刘 翔,阳 勇,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 法分析凉山虫草化学成分 [J]. 分析测试学报, 2017, 36(3): 312-318.
- [6] 刘国强,董 静,王 弘,等. 4 种儿茶素类化合物电喷雾质谱裂解规律的研究 [J]. 高等学校化学学报, 2009, 30(8): 1566-1570.
- [7] 邓云锋,钟询龙,张春梅. 墨旱莲化学成分的上 UPLC/Q-TOF-MS 分析 [J]. 广东药学院学报, 2015, 31(3): 332-337.
- [8] 陈向阳,张 乐,吴 莹,等. LCMS-IT-TOF 法快速分析薄荷黄酮部位的主要化学成分 [J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38(8): 546-550.
- [9] 蒋可志. 香草酸去氢阴离子丢失甲基自由基的碎裂研究 [A] // 中国化学会第十七届全国有机分析与生物分析学术研讨会论文集 [C]. 北京: 中国化学会, 2013.
- [10] 张协光,郑彦婕,曾泳艇,等. 超高效液相色谱-线性离子阱/静电场轨道阱高分辨质谱直接分析葡萄酒中 38 种多酚类化合物 [J]. 色谱, 2015, 33(6): 583-589.
- [11] 董 昕,徐 立,姜子洋. 丹参药材中水溶性及脂溶性成分的电喷雾离子阱质谱研究 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(14): 1048-1054.
- [12] 张 靖,徐筱杰,徐 文,等. HPLC-LTQ-Orbitrap-MSⁿ 快速鉴别党参药材中化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(9): 59-63.
- [13] The Human Metabolome Database. (±)-Camphoric acid [DB/OL]. 2012. http://www.hmdb.ca/spectra/ms_ms/94929. 2012/ 2018.
- [14] 徐雪林,赵 洁,易 红,等. 灯盏乙素乙酯原料药中主成分含量测定及其有关物质研究 [J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(18): 1581-1588.
- [15] 赵琴琴,张玉峰,范晓辉. 高效液相色谱多级质谱联用法同时鉴定苦参中的两大类活性成分 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 762-769.
- [16] MassBank of North America. Spectrum EQ369651 for salicylic acid [DB/OL]. 2015. <http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/EQ369651.2015/2018>.
- [17] 左爱华,王 莉,肖红斌. 洋川芎内酯 A 和洋川芎内酯 I 的降解产物研究 [J]. 中草药, 2012, 43(11): 2127-2131.
- [18] 杨林军,谢彦云,李志锋,等. UPLC/Q-TOF-MS/MS 分析中华常春藤中的化学成分 [J]. 中草药, 2016, 47(4): 566-572.
- [19] 霍金海,都晓伟,孙国东,等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 分析北青龙衣成分 [J]. 中草药, 2016, 47(19): 3379-3388.
- [20] 田晨煦,徐小平,廖丽云,等. 高效液相色谱-串联质谱法分离鉴定绿原酸及其相关杂质 [J]. 色谱, 2007, 25(4): 496-500.
- [21] 刘待劫,杨黄浩,黎先春,等. 高效液相色谱-电喷雾飞行时间质谱分析丹参中的丹参酮类化合物 [J]. 质谱学报, 2008, 29(5): 261-267.