

基于 UHPLC-Q-TOF-MS 的通络明目胶囊化学成分轮廓分析

热则耶·艾力, 陶楚君, 刘旂哲, 仇 峰*

首都医科大学中医药学院, 北京 100069

摘要: **目的** 采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱 (UHPLC-Q-TOF-MS) 定性分析通络明目胶囊 (Tongluo Mingmu Capsule, TLMMC) 的化学成分谱。**方法** 固定相为 Acquity Uplc HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, 流动相 B 为 0.1% 甲酸乙腈溶液, 梯度洗脱, 体积流量 0.30 mL/min, 进样量 5 μL。整合中药系统药理学数据库 (traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSP)、中药综合数据库 (traditional Chinese medicine integrated database, TCMID)、ChemSpider (<http://www.ChemSpider.com/>)、Chemical Book (<http://www.chemicalbook.com/>) 和相关文献, 建立了 TLMMC 的内部数据库。根据已有对照品的相对分子质量与质谱碎片离子信息, 结合上述内部数据库对成分进行定性鉴别。**结果** 从 TLMMC 中共定性鉴别了 82 种化学成分, 采用已有对照品的保留时间、精确相对分子质量及碎片离子的对比, 确定了其中 42 种成分; 通过精确相对分子质量及碎片离子的比对推测了另外 40 种成分的可能存在。82 种化学成分包括 36 种黄酮、11 种三萜皂苷、11 种单萜、8 种蒽醌以及 16 种其他化合物; 其中 13 种化学成分来自黄芪、13 种化学成分来自银杏叶、8 种化学成分来自赤芍、8 种化学成分来自墨旱莲、6 种化学成分来自地黄、6 种化学成分来自粉葛、5 种化学成分来自决明子、5 种化学成分来自大黄、5 种化学成分来自三七、5 种化学成分来自蒲黄、4 种化学成分来自女贞子、4 种化学成分来自地龙。**结论** 建立的 UHPLC-Q-TOF-MS 法可快速、全面地分析 TLMMC 的化学轮廓; 采用该方法共鉴定了 82 种成分, 涵盖制剂中的全部 12 味中药。本结果较为系统地阐明了 TLMMC 的药效物质基础, 为其起效机制的解析和临床合理应用奠定基础。

关键词: 通络明目胶囊; UHPLC-Q-TOF-MS; 化学成分谱; 定性鉴别; 药效物质基础

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)17-6108-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.17.003

Component profiling analysis of Tongluo Mingmu Capsule based on UHPLC-Q-TOF-MS

AILI Rezeye, TAO Chujun, LIU Yizhe, QIU Feng

School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Abstract: Objective A ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-Q-TOF-MS) was developed to analyze the chemical compositions of Tongluo Mingmu Capsule (TLMMC). **Methods** Gradient elution was performed using an Acquity Uplc HSS T3 column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) with the mobile phase A of 0.1% formic acid in water and the mobile phase B of 0.1% formic acid in acetonitrile. The flow rate and the injection volume were set to be 0.30 mL/min and 5 μL, respectively. Through the integration of ChemSpider (<http://www.ChemSpider.com/>), traditional Chinese medicine comprehensive database (TCMID), traditional Chinese medicine systems pharmacology database (TCMSP), Chemical Book (<http://www.chemicalbook.com/>) and relevant literatures created an internal database for TLMMC. Those chemical components were identified using the internal database previously indicated, mass spectrometry fragment ion information and the relative molecular weight of the reference material. To identify the components the internal database described above, mass spectrometry fragment ion information, and the relative molecular weight of the reference material were used. **Results** A total of 82 chemical components were qualitatively identified from TLMMC, in which 42 components were determined by comparing the retention time, precise molecular

收稿日期: 2025-04-28

基金项目: 国家中药炮制技术传承基地建设项目 (国中医药科技中药便函 [2022] 59 号)

作者简介: 热则耶·艾力, 硕士研究生, 研究方向为中药质量分析研究。E-mail: raziya07@163.com

*通信作者: 仇 峰, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制机制、质量分析和药代动力学研究。E-mail: qiufeng@ccmu.edu.cn

weight and fragment ions of existing reference standards. Other 40 components were predicted according to comparison of the exact molecular weight and fragment ions. The 82 components include 36 flavonoids, eleven triterpenoids, eleven monoterpenoids, eight anthraquinones, and 16 other components. Among them 13 chemical components were from Huangqi (*Astragalus Radix*), 13 chemical components were from Yinxingye (*Ginkgo Folium*), eight chemical components were from Chishao (*Paeoniae Radix Rubra*), eight chemical components were from Mohanlian (*Ecliptae Herba*), six chemical components were from Dihuang (*Rehmanniae Radix*), six chemical components were from Fenge (*Puerariae Thomsosonii Radix*), five chemical components were from Dahuang (*Rhei Radix et Rhizoma*), five chemical components were from Sanqi (*Notoginseng Radix et Rhizoma*), five chemical components were from Puhuang (*Typhae Pollen*), five chemical components were from Juemingzi (*Cassiae Semen*), four chemical components were from Nüzhenzi (*Ligustri Lucidi Fructus*) and other four chemical components were from *Pheretima* (Dilong). **Conclusion** The present UHPLC-Q-TOF-MS method can quickly and comprehensively analyze the chemical profiles of TLMMC, systematically elucidate its pharmacological substance basis and provide a solid theoretical foundation for the elucidation of its mechanism of action and clinical application.

Key words: Tongluo Mingmu Capsule; UHPLC-Q-TOF-MS; chemical components; qualitative identification; pharmacological substance basis

通络明目胶囊 (Tongluo Mingmu Capsule, TLMMC) 是 2023 年 10 月获批上市的 1.1 类中药创新药, 具有化瘀通络、益气养阴、止血明目的功效, 用于 2 型糖尿病引起的中度非增殖性糖尿病视网膜病变血瘀络阻、气阴两虚证所致的眼底点片状出血、目睛干涩、面色晦暗、倦怠乏力, 舌质淡, 或舌暗红少津, 或有瘀斑瘀点, 脉细, 或脉细数, 或脉涩。已有临床数据表明, TLMMC 可显著降低糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 患者血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、生长因子受体-1 (Fms-like tyrosine kinase, Flt-1) 和生长因子受体-2 (Fms-like tyrosine kinase 2, Flk-2) 等 mRNA 及蛋白的表达, 干预 VEGF-VEGFR 信号转导通路^[1-4], 有效延缓 DR 的进程, 具有不可替代的临床优势。

TLMMC 由赤芍、黄芪、女贞子、墨旱莲、地黄、粉葛、银杏叶、蒲黄、大黄、决明子、三七、地龙 12 味中药制成^[5-6], 其化学成分多样, 物质基础复杂, 目前尚未见有 TLMMC 物质基础研究的相关报道。物质基础研究是中药复方现代化和科学化的关键环节, 能够为药效机制解析、质量控制优化及制剂稳定性提升提供重要依据。为了确保 TLMMC 在临床上安全、有效的应用, 有必要基于高灵敏度和高分辨率的分析方法明确其化学成分轮廓。因此, 本研究拟采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry, UHPLC-Q-TOF-MS) 联用技术对 TLMMC 进行定性分析, 预期阐明 TLMMC 的物质基础, 为其临床合理应用

奠定基础。

1 材料

1.1 仪器与设备

美国沃特世公司 Waters Acquity UPLC 系统和 Q-TOF SYNAPT G2 质谱仪 (Waters 公司, 美国), IKA Vortex2 型涡旋振荡器 [艾卡 (广州) 仪器设备有限公司], KQ-500E 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), DV215CD 型电子天平、CP224C 型电子天平 [奥豪斯仪器 (上海) 有限公司], Sigma 3k-15 型低温台式离心机 (北京五洲东方科技发展有限公司), SECURA3102-1CN 电子天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]。

1.2 对照品与试剂

黄芪甲苷 (批号 PS012327, 成都普思生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (批号 PS000687, 成都普思生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、毛蕊异黄酮 (批号 PS010251, 成都普思生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、芒柄花素 (批号 PS000674, 成都普思生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、芒柄花苷 (批号 PS000671, 成都普思生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、芍药苷 (批号 110736-201438, 中国食品药品检定研究院, 质量分数 $\geq 96.40\%$)、芍药内酯苷 (批号 PS011455, 成都普思生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 95.00\%$)、苯甲酰芍药苷 (批号 PS13011802, 成都普思生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 99.81\%$)、儿茶素 (批号 PS012798, 成都普思生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、儿茶素 (批号 PS012798, 成都普思生物科技有限公司, 质

量分数 $\geq 98.00\%$)、没食子酸(批号 PS000688, 成都普思生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、特女贞苷(批号 A04HB190321, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、红景天苷(批号 J25HB186356, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、女贞苷(批号 P26D9F78576, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、熊果酸(批号 AF21020553, 成都埃法生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、梓醇(批号 AF20070652, 成都埃法生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、地黄苷 D(批号 AF20120402, 成都埃法生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、蟛蜞菊内酯(批号 Z28D11S135868, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、旱莲苷 A(批号 A25HB192084, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、葛根素(批号 JOT-10054, 成都普菲德生物技术有限公司, 质量分数 $\geq 98.61\%$)、大豆苷(批号 111738-20160, 中国食品药品检定研究院, 质量分数 $\geq 93.30\%$)、大豆苷元(批号 111502-200402, 中国食品药品检定研究院, 质量分数 $\geq 99.90\%$)、异鼠李素-3-O-新橙皮苷(批号 55033-90-4, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、香蒲新苷(批号 104472-68-6, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、槲皮素(批号 PS010462, 成都普思生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、银杏内酯 A(批号 D04D11G133061, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、银杏内酯 B(批号 D24J11G119518, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、银杏内酯 C(批号 A05GB157055, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、白果内酯(批号 J19HB179213, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、山柰酚(批号 JOT-10060, 成都普菲德生物技术有限公司, 质量分数 $\geq 99.10\%$)、异鼠李素(批号 J30GB154008, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、芦丁(批号 PS020288, 成都普思生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、木犀草素(批号 PU0033-0025MG, 成都普思生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、大黄素(批号 A26IB224130, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、大黄酸(批号 A26IB224130, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、大黄素甲醚(批号 M08IB214534, 上海源叶生物科技有限

公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、芦荟大黄素(批号 A17GB145379, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、大黄酚(批号 JOT-10022, 成都普菲德生物技术有限公司, 质量分数 $\geq 99.12\%$)、橙黄决明素(批号 JOT-11440, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.69\%$)、阿魏酸(批号 G13S11L124423, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、人参皂苷 Rg₁(批号 J08IB205578, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、人参皂苷 Rb₁(批号 J191B217937, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)、三七皂苷 R₁(批号 A21IB213074, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98.00\%$)。质谱纯甲醇(MEOH)购于 Fisher 公司, 批号 178335; 质谱纯乙腈(ACN)购于 Fisher 公司, 批号 172473; 二甲基亚砜(DMSO)购于 Amresco 公司, 批号 2543C551; 甲酸(HCOOH)购于国药集团化学试剂北京有限公司; 水为纯净水, 购于杭州娃哈哈有限公司。

1.3 药物制剂

TLMMC 由石家庄以岭药业股份有限公司提供, 批号 A2210003, 规格每粒装 0.4 g (相当于饮片 2.21 g)。

2 方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 分别取 42 种化合物对照品适量, 精密称定, 以适量 DMSO 溶解, 配制质量浓度为 1.00 mg/mL 的单独对照品储备液。分别精密吸取 42 种化合物的单独对照品储备液适量, 置于同一量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 配制各化合物质量浓度均为 20 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.1.2 样品溶液的制备 取 TLMMC 内容物适量, 精密称定, 加 50% 甲醇溶解, 超声处理 (功率 400 W、频率 40 kHz、室温 25 $^{\circ}\text{C}$) 30 min, 补加 50% 甲醇定容, 配制以胶囊内容物计 1 mg/mL 的供试品溶液, 以 UHPLC-Q-TOF-MS 分析。

2.2 TLMMC 相关成分数据库的建立

为了确保鉴定谱峰的可靠性, 本研究通过整合中药系统药理学数据库 (traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSP)、中药综合数据库 (traditional Chinese medicine integrated database, TCMID)、ChemSpider (<http://www.ChemSpider.com/>)、Chemical Book (<http://www.chemicalbook.com/>) 和相关文献, 建立

了 TLMMC 的内部数据库,并详细记录化合物名称、分子式、相对分子质量、结构式和来源等信息。

2.3 UHPLC-Q-TOF-MS 分析

2.3.1 液相色谱条件 色谱柱为 Acquity Uplc HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)。流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液,流动相 B 为 0.1%甲酸乙腈溶液,体积流量 0.30 mL/min。洗脱梯度见表 1。进样量 5 μL,每个样品的运行时间为 80 min。

表 1 流动相洗脱梯度

Table 1 UHPLC mobile phase elution gradient

t/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	98.0	2.0
1.00	98.0	2.0
3.00	93.0	7.0
10.00	88.0	12.0
40.00	55.0	45.0
50.00	45.0	55.0
67.00	18.0	82.0
70.00	12.0	88.0
75.00	2.0	98.0
76.00	0.0	100.0
78.00	0.0	100.0
78.10	98.0	2.0
80.00	98.0	2.0

2.3.2 质谱条件 采用 ESI 电离源。正、负离子模式检测: m/z 范围为 50~1 200,毛细管电压为 2.0 kV,锥孔电压为 40 kV,离子源温度为 100 °C,脱溶剂温度为 450 °C,脱溶剂气体体积流量为 800 L/h,锥孔气流量 50 L/h。正离子模式质量校正质核比 m/z 为 556.277 1;负离子模式质量校正质核比 m/z 为 554.261 5。

2.4 化学成分分析

基于前期建立的 TLMMC 的内部数据库展开自动筛选,查找与确定的分子式匹配的化合物作为潜在的候选化合物。手动创建匹配分数高于 85.00 的化合物列表,包括准确的前体离子质量和保留时间信息。评分值由软件计算,不仅考虑精确的质量数,还考虑同位素分布:评分值越高,元素组成越可靠。根据该列表,进行了目标 MS/MS 检测。候选化合物通过其保留时间、误差在 8×10^{-6} 以内的准确质量和合理的裂解路径进行鉴定,并通过可用标准进行确认。

2.5 数据处理与分析

使用 Masslynx 软件对样品中所有鉴定的化合

物的质谱峰数据进行提取并分析。

3 结果

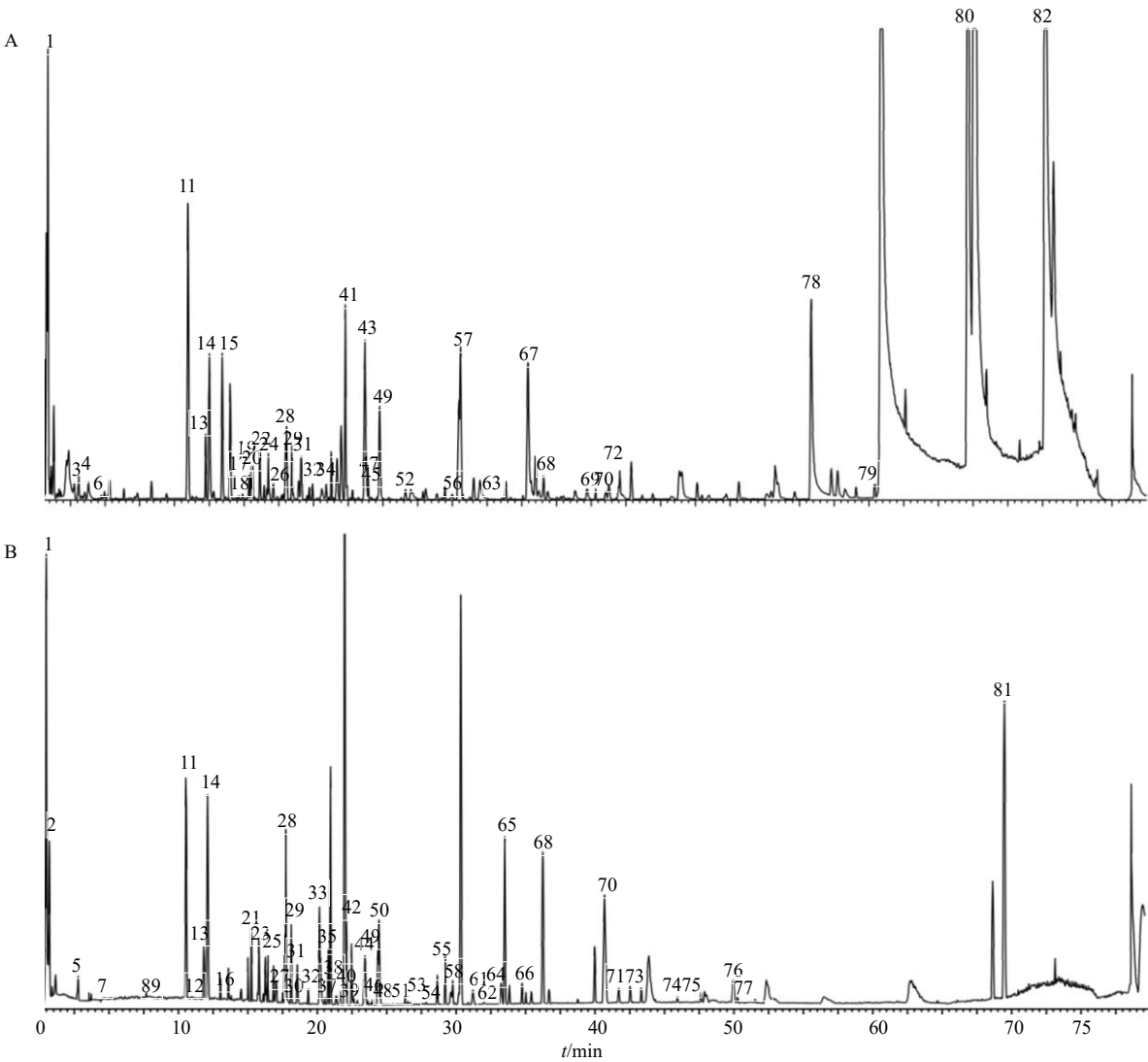
3.1 TLMMC 主要成分的鉴定

采用 UHPLC-Q-TOF-MS 分析 TLMMC 供试品溶液,获得的提取色谱图参见图 1。本研究在 TLMMC 中共定性鉴别了 82 种化学成分,采用已有对照品的保留时间、精确相对分子质量及碎片离子的对比,确定了其中 42 种成分;通过精确相对分子质量及碎片离子的比对推测了另外 40 种可能的成分。这些化学成分分布于制备 TLMMC 所用的 12 种药味里^[7-28],成分鉴别及归属结果参见表 2。

3.1.1 黄酮类 黄酮类化合物是 TLMMC 中主要的 1 类活性成分。根据化合物的基本骨架和取代基团,本研究共鉴定了 36 种黄酮类成分,包括芒柄花素、芒柄花苷、毛蕊异黄酮和儿茶素等,主要来自黄芪和银杏叶 2 味药。它们在正、负离子模式下均具有良好响应,其分子离子峰多以 $[M+H]^+$ 和 $[M-H]^-$ 的形式存在。黄酮类化合物在 MS² 谱图中多存在 CO、H₂O、CO₂ 和 CH₃ 的裂解,且大部分黄酮类化合物质谱图可见以 C 环裂解为特征的 RDA 断裂^[29]。通过与对照品保留时间和精确相对分子质量的比对,确定化合物 46 为木犀草素,其分子离子峰为 m/z 285.0 $[M-H]^-$, MS² 谱图可见中性丢失 1 分子 H₂O 的碎片离子峰 m/z 268.1;同时存在明显的 RDA 断裂,形成 m/z 151.0 的碎片离子;继续中性丢失 1 分子 H₂O 形成碎片离子 m/z 133.0,其二级质谱图及裂解示意图见图 2-A;化合物 25 的分子离子峰为 m/z 447.1 $[M-H]^-$,比化合物 46 (木犀草素)多 162.1,其碎片离子 m/z 285.1、 m/z 268.1、 m/z 151.1、 m/z 133.1 均与木犀草素类似,推测该化合物为木犀草苷,其二级质谱图及裂解示意图见图 2-B。

化合物 19 在正离子模式下检测到 m/z 447.1 的分子离子峰,丢失 1 分子葡萄糖生成 m/z 285.1 的碎片离子,再进一步丢失 1 分子 CO 生成 m/z 257.1,而 m/z 149.0 及 m/z 137.0 是其黄酮母核 C 环发生 RDA 断裂形成的特征离子。通过与对照品保留时间与相对分子质量的比对,确定该成分为毛蕊异黄酮葡萄糖苷,其二级质谱图及裂解示意图见图 3-A;化合物 43 比毛蕊异黄酮葡萄糖苷少 1 分子 Glc,且其二级质谱图 (图 3-B) 表现出与毛蕊异黄酮葡萄糖苷相似的裂解规律,对比对照品保留时间确定该成分为毛蕊异黄酮。

3.1.2 三萜皂苷类 本研究从 TLMMC 中共鉴定了



A-正离子模式下 TLMMC 的提取色谱图；B-负离子模式下 TLMMC 的提取色谱图。

A-extraction chromatogram of TLMMC in positive ion mode; B-extraction chromatogram of TLMMC in negative ion mode.

图 1 采用 UHPLC-Q-TOF-MS 法定性分析 TLMMC 中所含化学成分的提取色谱图

Fig. 1 Extraction chromatograms of chemical components in TLMMC qualitatively analyzed by UHPLC-Q-TOF-MS

表 2 TLMMC 化学成分的鉴定和归属

Table 2 Identification and attribution of chemical components in TLMMC

峰号	<i>t_R</i> /min	化合物名称	分子式	加合离子	实测值 (<i>m/z</i>)	理论值 (<i>m/z</i>)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	分类	归属	文献
1*	0.87	栀子苷	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	387.126 3	387.129 1	-7.23	341.107 5, 199.057 3	单萜	赤芍	21
2#	2.29	梓醇	C ₁₅ H ₂₂ O ₁₀	[M+HCOO] ⁻	407.118 5	407.119 0	-1.23	199.068 8	单萜	地黄	11
3*	2.77	腺苷	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	[M+H] ⁺	268.103 1	268.104 6	-5.59	161.057 6, 136.059 7, 119.033 1	核苷	地龙	9
4*	3.11	[2,2,4-trimethyl-(3-pentanyl)-oxy]-4-oxo-2-butenolate	C ₁₆ H ₂₁ O ₈	[M+H] ⁺	342.133 7	342.131 5	6.43	225.951 5, 147.062 0	黄酮	蒲黄	10
5#	3.19	没食子酸	C ₇ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	169.014 1	169.013 7	2.37	125.023 7	多酚	赤芍	21
6#	3.99	地黄苷 D	C ₂₇ H ₄₂ O ₂₀	[M+Na] ⁺	709.216 1	709.216 7	-0.84	134.112 0, 505.202 2, 179.084 0, 323.119 1	单萜	地黄	11

表 2 (续)

峰号	t _R /min	化合物 名称	分子式	加合离子	实测值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	分类	归属	文献
7*	4.84	原儿茶酸	C ₇ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	153.018 2	153.018 8	-3.92	109.037 2	多酚	决明子	11
8*	8.09	氧化芍药苷	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂	[M-H] ⁻	495.153 1	495.150 3	3.42	495.148 7, 449.188 9, 479.015 5	单萜	赤芍	16
9#	8.13	儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	289.073 3	289.071 2	7.26	289.069 3, 245.080 2, 203.033 3, 151.036 8, 137.021 9, 109.027 9	黄酮	赤芍	7
10*	9.42	苯丙氨酸	C ₉ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	166.087 1	166.086 8	1.81	120.087 8, 103.055 6, 91.059 7, 77.679 6	氨基酸	地龙	9
11#	10.95	葛根素	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	415.104 6	415.102 9	4.09	295.076 8, 267.080 9, 253.063 8	黄酮	粉葛	13
12#	11.28	芍药内酯苷	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	[M+HCOO] ⁻	525.162 7	525.160 8	3.62	479.159 0, 525.162 7, 327.101 1	单萜	赤芍	19
13*	12.22	葛根素芹菜糖苷	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	[M+HCOO] ⁻	547.148 9	547.145 2	5.53	324.932 1, 307.082 1, 295.076 8, 277.066 8, 267.080 9, 253.070 8	黄酮	粉葛	13
14#	12.50	芍药苷	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	[M+HCOO] ⁻	525.162 7	525.160 8	3.62	479.159 0, 525.162 7, 327.101 1, 121.036 4	单萜	赤芍	19
15#	13.43	大豆苷	C ₉ H ₁₃ NO	[M+H] ⁺	417.119 6	417.118 6	2.39	134.112 0, 255.065 4, 227.074 8, 199.075 2, 137.023 7	黄酮	粉葛	13
16*	14.19	松果菊苷	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	[M-H] ⁻	785.251 7	785.250 4	1.65	623.216 1, 161.862 0	苯丙素	地黄	12
17#	14.38	阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	193.050 5	193.050 1	2.07	178.035 6, 134.040 8	苯丙素	银杏叶	26
18*	14.46	染料木苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.095 8	433.097 8	-4.62	271.062 9, 253.082 6, 235.170 0	黄酮	粉葛	13
19#	15.52	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	[M+H] ⁺	447.129 8	447.129 1	1.57	285.072 8, 257.077 0, 149.027 0, 137.023 7	黄酮	黄芪	19
20#	15.62	香蒲新苷	C ₃₄ H ₄₂ O ₂₀	[M+H] ⁺	771.239 3	771.234 8	5.83	771.233 7, 625.176 1, 479.117 8	黄酮	蒲黄	10
21#	15.75	银杏内酯 C	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₁	[M-H] ⁻	439.127 0	439.124 0	6.83	383.156 2, 365.143 7, 321.155 0, 303.140 0, 277.161 3, 259.152 5, 241.911 5	萜类内酯	银杏叶	15
22*	16.13	槲皮素 3-O-洋槐糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[M+H] ⁺	611.164 1	611.161 2	4.75	465.099 5, 303.058 8, 153.018 9, 151.043 1	黄酮	黄芪	16
23#	16.16	芦丁	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[M-H] ⁻	609.148 4	609.145 6	4.60	301.019 2, 271.043 2, 243.913 1, 149.920 0	黄酮	银杏叶	18
24#	16.75	异鼠李素-3-O-新橙皮苷	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	[M+H] ⁺	625.174 1	625.176 9	-4.48	317.067 1, 287.057 8	黄酮	蒲黄	10
25*	16.81	木樨草苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	447.089 8	447.092 7	-6.49	285.056 1, 268.123 7, 151.087 3, 131.145 8	黄酮	墨旱莲	22
26*	17.53	pratensein 7-O-glucoside	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	[M+H] ⁺	463.126 7	463.124 0	5.83	301.069 3, 286.046 4	黄酮	黄芪	16
27*	17.99	异绿原酸 B	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	515.120 8	515.119 0	3.49	353.108 1, 191.064 6, 179.045 3, 173.058 4	黄酮	墨旱莲	22
28#	18.10	特女贞苷	C ₃₁ H ₄₂ O ₁₇	[M-H] ⁻	685.236 3	685.234 4	2.77	721.212 0, 299.120 0, 453.141 4, 523.182 5, 421.154 1, 281.102 2, 223.060 0	单萜	女贞子	23
29*	18.47	异毛蕊花糖苷	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	623.200 7	623.197 6	4.97	461.173 3, 161.018 4	苯丙素	地黄	11

表 2 (续)

峰号	t _R /min	化合物 名称	分子式	加合离子	实测值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	分类	归属	文献
30 [*]	18.50	异绿原酸 C	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	515.120 8	515.119 0	3.49	353.108 1, 191.064 6, 179.045 3, 173.058 4	黄酮	墨旱莲	22
31 [#]	18.97	红景天苷	C ₁₄ H ₂₀ O ₇	[M-H] ⁻	299.112 4	299.113 1	-2.34	281.113 8, 237.105 1, 209.051 9, 137.025 9	单萜	女贞子	24
32 [*]	19.78	异绿原酸 A	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	515.120 8	515.119 0	3.49	353.108 1, 191.064 6, 179.045 3, 173.058 4	黄酮	墨旱莲	22
33 [*]	20.59	红车轴草素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	461.107 6	461.108 4	-1.73	285.056 1, 214.890 0, 225.939 8	黄酮	墨旱莲	22
34 [#]	20.92	芒柄花苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	[M+H] ⁺	431.133 0	431.134 2	-2.78	269.083 1, 241.083 6, 239.061 5, 211.075 0, 137.018 6, 133.062 4	黄酮	黄芪	19
35 [*]	21.19	槲皮素-3-O-(2 ^G -α-L-鼠李糖基)-芸香糖苷	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	[M-H] ⁻	755.200 5	755.203 5	-3.97	195.919 7, 243.913 1, 271.042 3	黄酮	蒲黄	10
36 [#]	21.35	三七皂苷 R ₁	C ₄₇ H ₈₀ O ₁₈	[M+HCOO] ⁻	977.530 5	977.532 1	-1.64	931.527 2, 799.477 9, 637.413 1, 475.380 0	三萜皂苷	三七	28
37 [#]	21.75	银杏内酯 A	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	[M+HCOO] ⁻	453.141 4	453.139 7	3.75	407.142 0, 351.165 4, 333.156 6, 319.170 6, 307.173 9, 289.156 0, 273.168 9, 245.130 0	萜类内酯	银杏叶	15
38 [#]	21.77	银杏内酯 B	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	423.128 6	423.129 1	-1.18	367.158 1, 349.154 6, 305.156 1, 287.154 5, 261.160 4, 141.027 7, 125.028 7, 113.027 7; 97.009 2	萜类内酯	银杏叶	15
39 [#]	22.02	大黄酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	253.050 0	253.050 1	-0.39	225.067 3	蒽醌	大黄	26
40 [#]	22.05	大豆苷元	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	253.050 0	253.050 1	-0.39	225.054 2	黄酮	粉葛	13
41 [#]	22.38	人参皂苷 Rg ₁	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	[M+HCOO] ⁻	845.486 6	845.489 9	-3.90	799.490 2, 637.435 2, 475.380 0	三萜皂苷	三七	28
42 [*]	22.50	人参皂苷 Re	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	[M+HCOO] ⁻	991.551 8	991.547 8	4.03	945.551 6, 799.490 2, 637.435 2, 475.380 0	三萜皂苷	三七	28
43 [#]	23.71	毛蕊异黄酮	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	285.072 8	285.076 3	2.46	267.067 8, 257.077 0, 253.047 8, 239.068 3, 225.053 5	黄酮	黄芪	19
44 [#]	23.75	大黄酸	C ₁₅ H ₈ O ₆	[M-H] ⁻	283.024 3	283.024 3	0.00	239.052 9, 211.052 4	蒽醌	大黄	26
45 [#]	23.77	槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M+H] ⁺	303.049 3	303.050 5	-3.96	259.090 6, 257.049 0, 229.052 3, 153.023 1	黄酮	银杏叶	14
46 [#]	23.84	木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	285.041 4	285.039 9	5.26	151.013 1, 133.041 3	黄酮	银杏叶	14
47 [#]	23.86	山柰酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M+H] ⁺	287.054 3	287.055 6	-4.52	259.090 6, 241.058 3, 165.076 0	黄酮	银杏叶	14
48 [*]	24.21	益母草苷	C ₁₅ H ₂₄ O ₉	[M-H] ⁻	347.133 3	347.134 2	-2.59	347.127 1, 211.960 9, 167.015 2, 143.874 3, 122.903 4, 1116.934 0, 113.571 7	单萜	地黄	12
49 [*]	24.77	3-羟基葛根素	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.099 8	431.097 8	4.64	340.991 8, 311.036 8, 283.083 1, 269.062 0, 161.417 7, 145.940 8, 121.012 4, 104.939 4, 93.019 8	黄酮	粉葛	13

表 2 (续)

峰号	t _R /min	化合物名称	分子式	加合离子	实测值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	分类	归属	文献
50 [#]	24.85	蟛蜞菊内酯	C ₁₆ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	313.035 3	313.034 8	1.59	298.033 1, 186.038 6	苯丙素	墨旱莲	22
51 [*]	25.79	决明素	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	[M-H] ⁻	343.084 1	343.081 8	6.70	313.058 4, 285.056 1, 270.066 1, 242.033 8, 214.896 4	蒽醌	决明子	11
52 [*]	26.33	柚皮素	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	273.077 8	273.076 3	5.49	253.096 4, 151.117 7, 119.085 5	黄酮	蒲黄	10
53 [#]	26.72	苯甲酰芍药苷	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₂	[M+HCOO] ⁻	583.179 6	583.181 6	3.43	629.190 7, 535.159 9, 431.136 0, 165.056 4, 121.031 6	单萜	赤芍	21
54 [#]	28.38	异鼠李素	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	[M-H] ⁻	315.052 3	315.050 5	5.71	301.049 5, 300.042 3, 272.051 0, 283.039 0, 151.018 6	黄酮	银杏叶	14
55 [*]	29.61	早莲苷 IV	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₄	[M+HCOO] ⁻	841.465 1	841.458 6	7.72	633.438 2, 795.505 9, 679.451 3	三萜皂苷	墨旱莲	22
56 [*]	30.16	千层纸素 A	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	285.074 6	285.076 3	-5.96	285.074 8	黄酮	黄芪	19
57 [*]	30.58	刺芒柄花素	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	[M+H] ⁺	269.081 4	269.083 1	-6.32	253.054 8, 237.054 6, 225.053 5, 197.060 4, 169.064 8, 152.058 2, 118.073 1	黄酮	黄芪	19
58 [#]	30.58	熊果酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	[M-H] ⁻	455.349 8	455.352 5	-5.92	329.253 4	三萜皂苷	女贞子	25
59 [#]	30.60	芒柄花素	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	[M-H] ⁻	267.080 9	267.065 7	2.62	237.098 4, 209.058 2	黄酮	黄芪	19
60 [#]	30.73	人参皂苷 Rb ₁	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	[M+HCOO] ⁻	1 153.606 9	1 153.600 6	5.46	1 107.592 8, 945.538 1, 783.502 3, 621.435 4, 459.383 4	三萜皂苷	三七	28
61 [#]	31.60	橙黄决明素	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	[M-H] ⁻	329.064 2	329.066 1	-5.77	314.064 0, 299.036 8, 285.056 1, 271.043 2	蒽醌	决明子	11
62 [#]	31.71	芦荟大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.047 1	269.045 0	7.80	240.060 3, 225.067 3, 197.819 6	蒽醌	大黄	26
63 [#]	32.62	黄芪甲苷	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	[M+Na] ⁺	808.454 4	808.458 5	-5.07	623.352 8, 491.309 1, 473.355 4, 455.353 9, 437.336 1, 419.333 3	三萜皂苷	黄芪	19
64 [#]	33.64	大黄素甲醚	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	283.061 0	283.060 6	1.41	239.046 2	蒽醌	大黄	27
65 [*]	33.90	人参皂苷 Rd	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	[M+HCOO] ⁻	991.551 8	991.547 8	4.03	945.551 8, 783.502 3, 621.446 4, 459.392 7	三萜皂苷	三七	28
66 [*]	34.56	地奥司明	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	607.166 3	607.166 3	1.48	443.099 5, 299.014 2, 284.024 6	黄酮	赤芍	21
67 [*]	35.48	黄决明素	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	[M+H] ⁺	359.111 3	359.113 1	-5.01	344.091 5, 329.062 0	蒽醌	决明子	11
68 [#]	36.64	早莲苷 A	C ₃₆ H ₅₈ O ₉	[M-H] ⁻	633.405 2	633.400 3	7.73	587.427 9, 243.913 1, 197.819 6	三萜皂苷	墨旱莲	22
69 [*]	40.31	黄芪皂苷 I	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆	[M+Na] ⁺	892.477 9	892.479 6	-1.90	851.481 1, 707.438 7, 671.421 1, 653.402 5, 217.071 6, 157.044 7	三萜皂苷	黄芪	19
70 [#]	41.09	大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.047 1	269.045 0	7.80	241.063 0, 225.067 3, 197.819 6	蒽醌	大黄	26
71 [*]	42.11	银杏双黄酮	C ₃₂ H ₂₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	565.114 8	565.113 5	2.30	533.120 6, 489.038 8	黄酮	银杏叶	17
72 [*]	42.23	黄芪皂苷 II	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₅	[M+Na] ⁺	850.462 5	850.469 1	-7.76	809.455 3, 791.456 9, 647.389 9, 629.408 0, 175.154 9, 157.102 1	三萜皂苷	黄芪	19
73 [*]	42.93	异银杏双黄酮	C ₃₂ H ₂₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	565.114 8	565.113 5	2.30	533.120 6, 489.280 3	黄酮	银杏叶	17

表 2 (续)

峰号	t _R /min	化合物名称	分子式	加合离子	实测值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 (×10 ⁻⁶)	碎片离子	分类	归属	文献
74 [*]	46.33	决明子苷 C	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	[M-H] ⁻	595.162 8	595.166 3	-5.88	256.211 4, 271.028 8	苯丙素	决明子	11
75 [#]	46.83	女贞苷	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₈	[M-H] ⁻	723.219 0	723.213 6	7.46	677.414 7, 269.054 8	黄酮	女贞子	25
76 [*]	50.42	绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.085 1	353.087 3	-6.23	191.052 8	苯丙素	黄芪	16
77 [*]	50.65	金松双黄酮	C ₃₃ H ₂₄ O ₁₀	[M-H] ⁻	579.125 5	579.129 1	-6.21	547.140 0	黄酮	银杏叶	17
78 [#]	55.84	白果内酯	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	[M+H] ⁺	327.109 3	327.108 0	3.97	241.991 5, 195.919 7, 163.120 4, 149.920 0, 103.926 1	萜类内酯	银杏叶	15
79 [*]	60.43	亮酰胺苯丙氨酸	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O ₃	[M+H] ⁺	279.171 2	279.170 9	1.07	201.164 8, 149.027 0, 103.957 0, 120.035 2	氨基酸	地龙	9
80 [*]	67.12	鸟苷	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅	[M+H] ⁺	284.100 8	284.099 5	4.57	152.063 5, 135.119 5, 110.010 5	核苷	地龙	9
81 [*]	69.88	地黄苦苷	C ₁₆ H ₂₆ O ₈	[M-H] ⁻	345.157 5	345.154 9	7.53	183.018 3, 179.022 0, 165.005 9	单萜	地黄	11
82 [*]	72.68	异微凸剑叶莎醇	C ₁₇ H ₁₈ O ₅	[M+H] ⁺	303.125 2	303.123 2	6.60	270.084 4, 256.077 3, 229.043 2, 121.032 4	黄酮	黄芪	20

[#]表示与对照品比对确定的化合物；*表示使用 Masslynx 软件分析质谱峰数据推测的化合物。

[#]represents the components determined by comparison with the reference substances; *represents the components inferred from mass spectrometry peak data analyzed using Masslynx software.

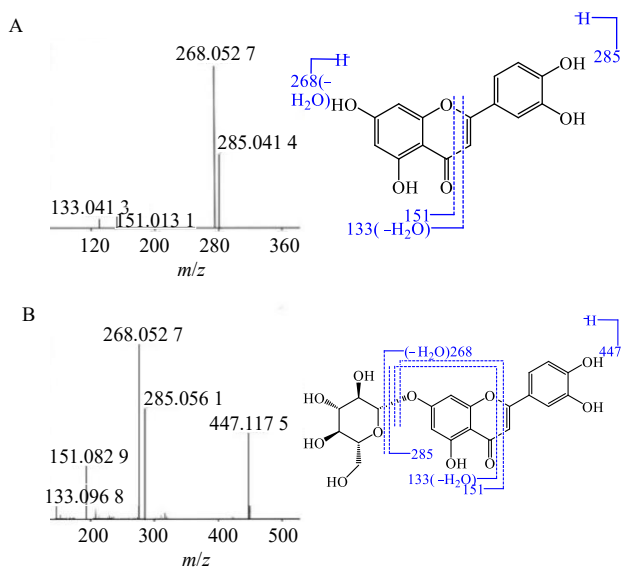


图 2 木犀草素 (A) 和木犀草苷 (B) 的二级质谱图及其裂解规律

Fig. 2 Secondary mass spectra and fragmentation patterns of luteolin (A) and luteolin-7-O-glucoside (B)

11 种三萜皂苷类成分，主要是来自黄芪与三七 2 味药中的四环三萜类成分，如黄芪甲苷、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 I 和三七皂苷 R₁ 等。它们多以 [M+H]⁺、[M-H]⁻ 或 [M+Na]⁺ 的准分子离子峰形式存在。以人参皂苷 R_{g1} 为例，其二级质谱图中可见氧苷键的连续断裂，出现 m/z 637.5 和 m/z 475.4 的碎片离子，推测为连续丢失 2 分子葡萄糖苷酸后形成的碎片离

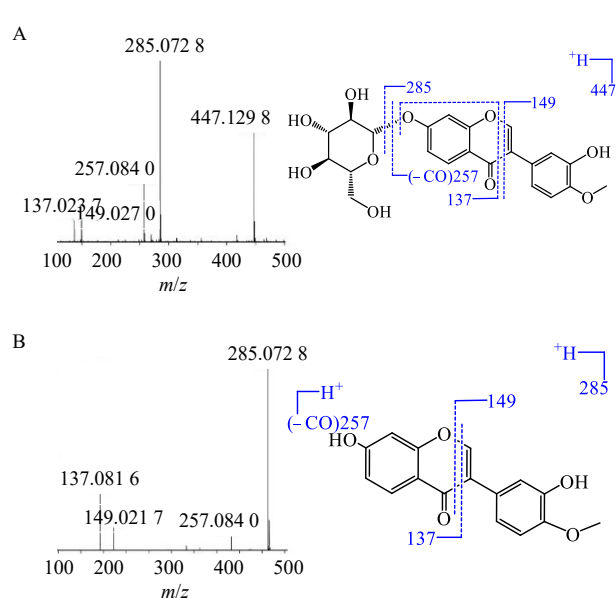


图 3 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (A) 和毛蕊异黄酮 (B) 的二级质谱图及其裂解规律

Fig. 3 Secondary mass spectra and fragmentation patterns of calycosin-7-O-glucoside (A) and calycosin (B)

子，二级质谱图及裂解示意图见图 4-A；化合物 63 在正离子模式下其分子离子峰为 m/z 807.5 [M+Na]⁺，母离子丢失葡萄糖形成 m/z 623.4，进一步丢失木糖生成 m/z 491.3，经过与黄芪甲苷对照品比较，其色谱保留行为和质谱裂解方式基本一致，故鉴定该化合物为黄芪甲苷，二级质谱图及裂解

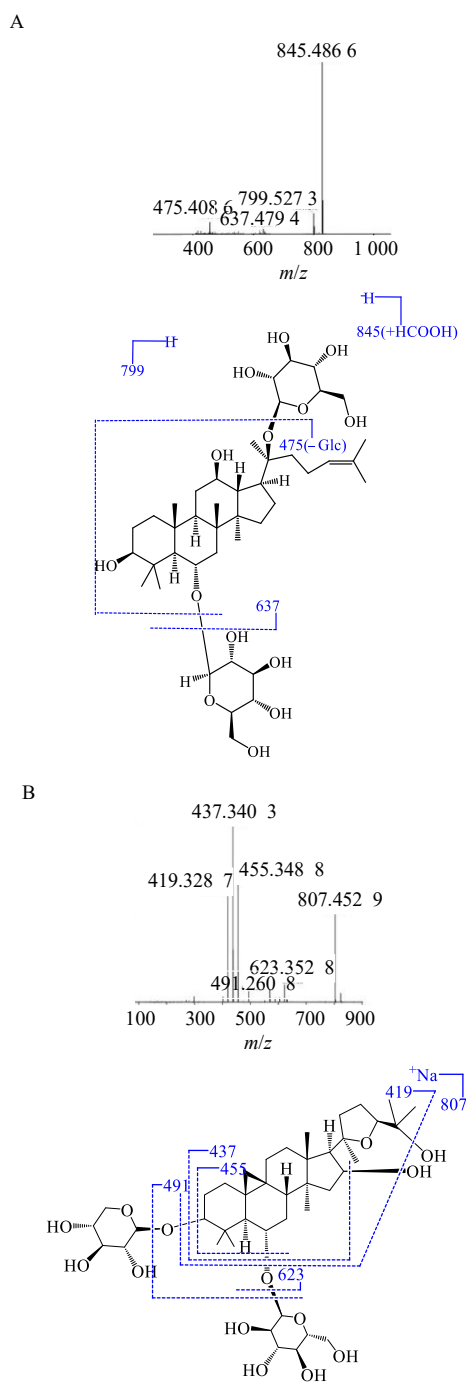


图 4 人参皂苷 Rg₁ (A) 和黄芪甲苷 (B) 的二级质谱图及其裂解规律

Fig. 4 Secondary mass spectra and fragmentation patterns of ginsenoside Rg₁ (A) and astragaloside IV (B)

图见图 4-B。

3.1.3 单萜类 本研究从 TLMCC 中共鉴定出 11 种单萜类成分，主要来自白芍、它们多属于蒎烷型单萜，包括芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷和氧化芍药苷等成分，在负离子模式下响应良好，以

$[M-H]^-$ 、 $[M-H+HCOOH]^-$ 的准分子离子峰形式存在，这类化合物在质谱裂解过程中常伴随着分子重排裂解，尤以麦氏重排多见，质谱图中常见苯甲酸的丢失^[30]。以芍药苷为例，在 MS² 谱图中，芍药苷以 $[M-H+HCOOH]^-$ (m/z 525.2) 离子的形式存在，丢失 1 个苯甲酸分子和 1 个甲醛分子产生碎片离子 m/z 327.1， m/z 121.0 的碎片推测为苯甲酸，其 MS² 及推测的裂解规律及二级质谱图见图 5-A。化合物 12 与芍药苷相对分子质量相同，应为芍药苷的同分异构体。采用 Masslynx 推测其分子式为

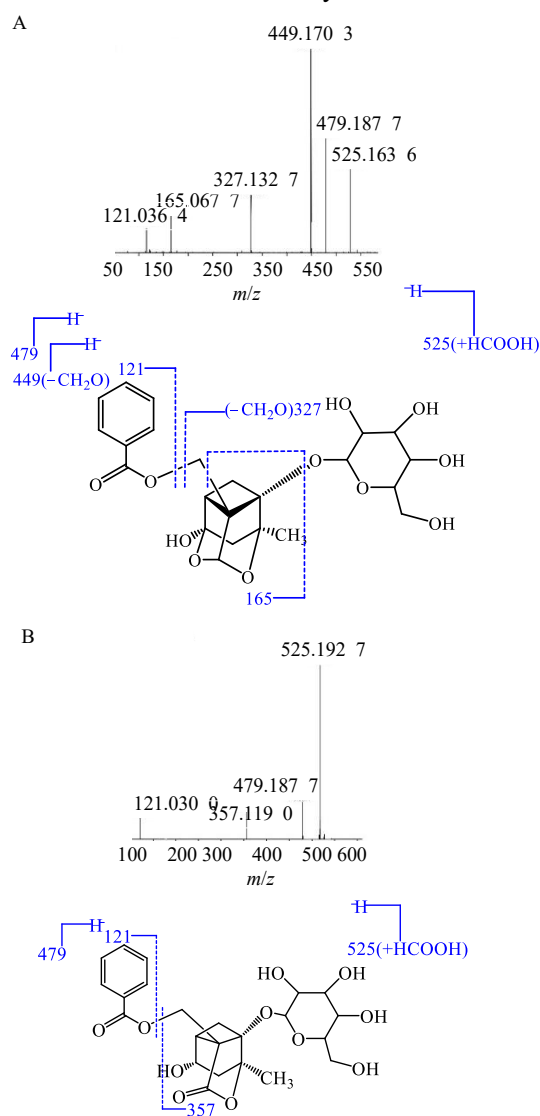


图 5 芍药苷 (A) 和芍药内酯苷 (B) 的二级质谱图及其裂解规律

Fig. 5 Secondary mass spectra and fragmentation patterns of paeoniflorin (A) and albiflorin (B)

C₂₃H₂₈O₁₁，但在二级质谱图（图 5-B）中未观察到离子峰 m/z 449.2，其余裂解规律与芍药苷相似，推

测该成分为芍药内酯苷，通过与其对照品保留时间的比对，最终鉴定为芍药内酯苷。

3.1.4 蒽醌类 本研究共鉴定出 8 种蒽醌类成分，主要来自大黄，包括大黄酸、大黄素、芦荟大黄素、大黄素甲醚和大黄酚等成分，在负离子模式下响应良好，以 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰形式存在，这类化合物在质谱裂解过程中连续失去 CO。以大黄素为例，在 MS^2 谱图中，大黄素以 $[M-H]^-$ (m/z 269.0) 离子的形式存在，连续丢失 3 分子 CO 分别生成 m/z 241.1, m/z 225.9 及 m/z 197.8 的碎片离子峰，其 MS^2 及推测的裂解规律及二级质谱图见图 6-A。化合物 44 在负离子模式下检测到 m/z 283.0 的分子离子峰，依次丢失 COOH 和 CO 分子产生碎片离子 m/z 239.0 和 m/z 211.1，通过与对照品保留时间与相对分子质量的比对，确定该成分为大黄酸，其二级质谱图及裂解示意图见图 6-B。

3.2 TLMMC 主要成分的种类分布

本研究共定性鉴别了 TLMMC 中的 82 种成分，其中 42 种成分已经与已有对照品对比确定；另外 40 种成分通过精确相对分子质量及碎片离子的比对予以推测。定性鉴别的这 82 种化合物包括 36 种黄酮、11 种三萜皂苷、11 种单萜、8 种蒽醌以及 16 种其他化合物（图 7-A）；其中 13 种化学成分来自黄芪，13 种化合物来自银杏叶，8 种化学成分来自

赤芍，8 种化学成分来自墨旱莲，6 种化学成分来自地黄，6 种化学成分来自粉葛，5 种化学成分来自决明子，5 种化学成分来自大黄，5 种化学成分来自三七，5 种化学成分来自蒲黄，4 种化学成分来自女贞子，4 种化学成分来自地龙（图 7-B）。

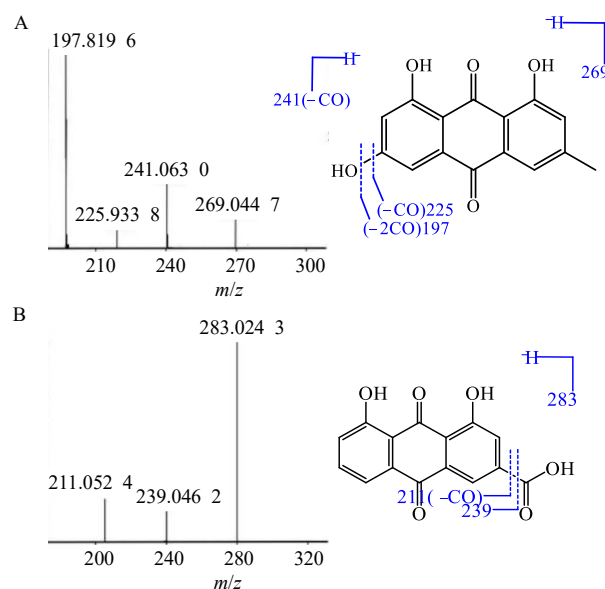


图 6 大黄素 (A) 和大黄酸 (B) 的二级质谱图及其碎裂规律
Fig. 6 Secondary mass spectra and fragmentation patterns of emodin (A) and rhein (B)

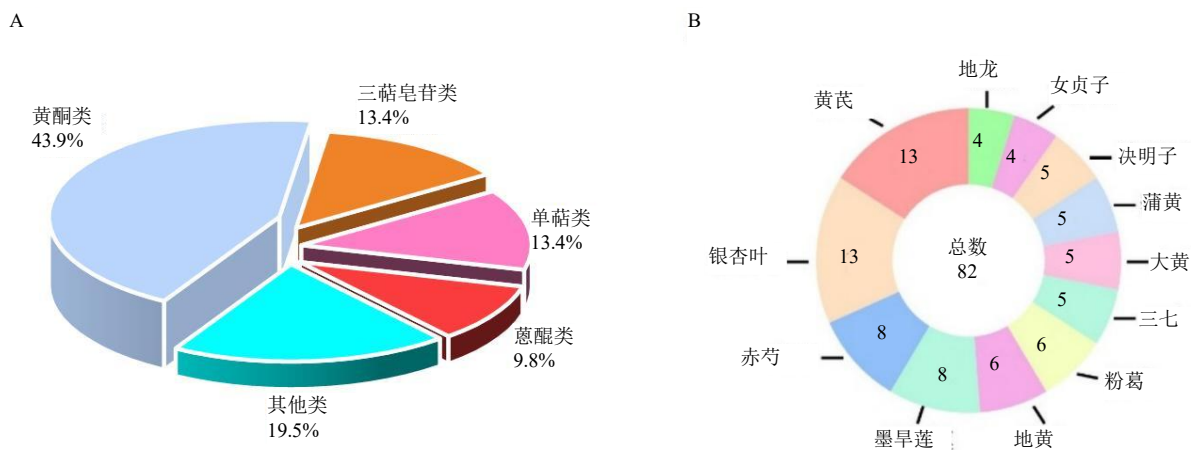


图 7 鉴定 TLMMC 中 82 种化学成分的种类分布 (A) 及归属 (B)

Fig. 7 Type distribution (A) and attribution (B) of 82 chemical components identified in TLMMC

4 讨论

TLMMC 作为中药复方，化学成分复杂多样，分离困难，且其中含有木犀草素和山柰酚、芍药苷和芍药内酯苷、大黄素和芦荟大黄素等多对同分异构体，大大增加了分离的难度。

本研究首先考察了 50% 甲醇、100% 甲醇和 50% 乙醇作为溶剂提取 TLMMC 成分，发现加入 50% 甲醇超声提取 30 min 时，TLMMC 成分溶出度最高。此外，对检测方法的体积流量分别采用 0.20、0.30、0.40 mL/min 进行了尝试，结果发现体积流量为 0.20

mL/min 时, 导致色谱柱分离度较差, 峰型多为不对称的宽峰, 不利于成分的鉴定; 而 0.40 mL/min 的流速过高, 导致色谱柱压力的升高以及色谱峰的大量堆积; 体积流量为 0.30 mL/min 时, 峰型良好, 色谱峰分离度良好, 因此最终选择 0.30 mL/min 的体积流量。

流动相组成同样是影响方法灵敏度与准确性的主要因素, 本研究尝试了甲醇-水、乙腈-水和乙腈-0.1%甲酸水 3 种流动相, 研究发现对于复杂的中药复方, 乙腈的洗脱能力由于甲醇, 而甲酸的加入一定程度上提高基线分辨率的同时优化了峰型。

柱温对色谱柱的影响较大, 柱温过低会导致分离时间的加长, 而柱温过高导致热不稳定成分的分解的同时对色谱柱也有一定的损害, 因此柱温的选择也至关重要。本研究尝试了 20、35、45 °C 的柱温, 发现在 35 °C 时方法适应性最好。

最终, 本研究根据 TLMMC 中的成分种类及其极性大小对流动相梯度和色谱分离时长进行了尝试, 时长在 60 min 时, 色谱峰大量堆积, 分离度较差。因此, 将方法的时长调整至 80 min, 色谱峰分离度较好, 且峰形良好, 确定为最终优化后的方法。

本研究从 TLMMC 中共定性鉴别了 82 种化学成分, 并归属了这些成分可能的来源药味。但某些成分可能同时存在于多个药味中, 如木犀草素存在于银杏叶和墨旱莲中, 芦丁可能同时来源于银杏叶和女贞子, 大黄酚可能来源于黄和决明子。本研究依据《中国药典》和文献报道的含量测定结果, 归属了鉴别化学成分的主要的来源药味。

本研究首次通过 UHPLC-Q-TOF-MS 分析技术快速、全面地分析 TLMMC 的化学轮廓, 对其主要活性成分进行了深入解析, 建立了适用于该复方特征性成分的鉴定体系, 为其起效机制的阐明和临床应用提供理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王素贞. 芪黄明目胶囊干预早期糖尿病大鼠视网膜病变的作用及机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2021.
- [2] 任君霞, 王永争, 刘晓飞, 等. 通络明目胶囊治疗糖尿病视网膜病变血瘀络阻、气阴两虚证随机、双盲、多中心 III 期临床试验 [A] // 第二十一届中国国际络病学大会论文集 [C]. 上海: 中华中医药学会, 2025.
- [3] 孙榕, 回世洋. 芪黄明目胶囊对早期糖尿病视网膜病

变患者视觉诱发电位 P100 的影响及其临床意义 [J]. 世界中医药, 2015, 10(11): 1704-1707.

- [4] 韩凤芹. 芪黄明目胶囊治疗非增殖期糖尿病视网膜病变临床疗效观察 [J]. 中国实用医药, 2012, 7(7): 178-179.
- [5] 吴烈, 晏飞, 苏航, 等. 芪黄明目胶囊治疗非增殖期糖尿病视网膜病变的临床研究 [J]. 中国中医眼科杂志, 2009, 19(2): 74-78.
- [6] 李文俊. 芪黄明目胶囊治疗非增殖期糖尿病视网膜病变 38 例 [J]. 湖南中医杂志, 2015, 31(3): 72.
- [7] Ye M, Yang W Z, Liu K D, et al. Characterization of flavonoids in *Millettia nitida* var. *hirsutissima* by HPLC/DAD/ESI-MSⁿ [J]. *J Pharm Anal*, 2012, 2(1): 35-42.
- [8] 董红娟, 刘志强, 宋凤瑞, 等. 芍药苷的电喷雾串联质谱研究 [J]. 高等学校化学学报, 2006, 27(11): 2066-2069.
- [9] 张玉, 董文婷, 霍金海, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的广地龙化学成分分析 [J]. 中草药, 2017, 48(2): 252-262.
- [10] 朱高峰, 陈瑞, 张倚鸣, 等. UPLC-Q-TOF-MS~E 技术结合 UNIFI 数据库快速定性分析蒲黄化学成分[J]. 广州化工, 2021, 49(11): 79-84.
- [11] 刘灿黄, 章泽恒, 汪辉, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 法定性分析丹膝颗粒的化学成分 [J]. 药品评价, 2022, 19(4): 201-209.
- [12] 赵婷秀, 曹迪, 茆文莉, 等. HPLC-QTOF-MS 分析六味地黄丸不同部位的化学成分 [J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(4): 489-496.
- [13] 吴东, 邱晓雨, 黄文平, 等. 基于 UHPLC-QTOF-MS/MS 辨识比较葛不同部位的化学成分[J]. 江西中医药, 2023, 54(6): 67-73.
- [14] Zhou S Q, Liu J, Tan L H, et al. Changes in metabolites in raw and wine processed *Corni Fructus* combination metabolomics with network analysis focusing on potential hypoglycemic effects [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1173747.
- [15] 张聪, 刘建勋, 孙明谦, 等. 3 种银杏内酯成分的质谱裂解途径研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(20): 4093-4096.
- [16] Liu E H, Qi L W, Peng Y B, et al. Rapid separation and identification of 54 major constituents in Buyang Huanwu decoction by ultra-fast HPLC system coupled with DAD-TOF/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2009, 23(8): 828-842.
- [17] Li H Y, Guo L, Ding X Y, et al. Molecular networking, network pharmacology, and molecular docking approaches employed to investigate the changes in ephedrae herba before and after honey-processing [J]. *Molecules*, 2022, 27(13): 4057.

- [18] 张松保, 孔令婕, 谷巍, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的蒲公英化学成分分析及其抗癌机制的网络药理学研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(2): 305-314.
- [19] 许如玲, 范君婷, 董惠敏, 等. 经典名方黄芪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.
- [20] 信悦, 白晶. 复方黄芪生脉饮化学成分的 UPLC-Q-TOF/MS 分析 [J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2021, 37(1): 21-25.
- [21] Jiang H J, Li J, Wang L, *et al.* Total glucosides of paeony: A review of its phytochemistry, role in autoimmune diseases, and mechanisms of action [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 258: 112913.
- [22] 邓云锋, 钟询龙, 张春梅. 墨旱莲化学成分的 UPLC/Q-TOF-MS 分析 [A] // 2016 年广东省药师周大会论文集 [C]. 广州: 广东省药学会, 2015: 16.
- [23] 蒋叶娟, 姚卫峰, 张丽, 等. 女贞子化学成分的 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 分析 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(15): 2304-2308.
- [24] 梁玉婷, 王静宇, 苏薇薇, 等. 基于 UPLC-Triple TOF-MS/MS 的壮药战骨化学成分分析 [J]. 中南药学, 2018, 16(10): 1369-1373.
- [25] Liu H, Xu C, Wang W, *et al.* Development and validation of an LC-ESI-MS/MS method for simultaneous determination of ligustroflavone and rhoifolin in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study [J]. *J Chromatogr Sci*, 2017, 55(3): 267-274.
- [26] Bai S S, Luo D W, Zhong G Y, *et al.* Exploration of plant metabolomics variation and absorption characteristics of water-extracted *Rheum tanguticum* and ethanol-extracted *Rheum tanguticum* by UHPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. *Phytochem Anal*, 2024, 35(2): 288-307.
- [27] 康朝霞, 孙娥, 郭舒臣, 等. 基于 UPLC-Q/TOF-MS 研究掌叶大黄酒蒸前后的化学成分变化 [J]. 中草药, 2024, 55(15): 5033-5049.
- [28] 曲正义, 郑培和, 李亚丽, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法对三七果中皂苷类成分的快速鉴定 [J]. 分析化学, 2022, 50(2): 225-259.
- [29] 陈兰慧, 金莲姬, 苏忠民, 等. 乌头碱类生物碱电喷雾串联质谱行为及碎片离子稳定性的量子化学计算 [J]. 高等学校化学学报, 2005, 26(12): 2340-2344.
- [30] 王毓杰, 曾陈娟, 姚喆, 等. 铁棒锤及其炮制品中二萜生物碱化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 347-351.

[责任编辑 王文倩]