

UPLC-Q-TOF-MS法鉴定消肿止痛液有效部位的化学成分^Δ

王银洁^{1,2*}, 刘本臣¹, 刘军¹, 莫家欣², 胡安琪², 刘嘉琪², 冯倩仪², 官凯敏¹(1.银川市中医医院制剂中心, 银川 750001; 2.广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)23-3232-08
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.23.12

摘要 目的:分析消肿止痛液有效部位的化学成分,为阐明其药效物质基础及其二次开发为软膏制剂提供依据。方法:采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱联用(UPLC-Q-TOF-MS)法对消肿止痛液有效部位(经D101大孔树脂分离得到的40%乙醇洗脱部位)进行成分分析。色谱条件为采用Hypersil GOLD aQ C₁₈色谱柱,以0.1%甲酸乙腈(A)-0.1%甲酸水(B)为流动相进行梯度洗脱,流速0.4 mL/min,进样量4 μL,柱温30 ℃;质谱条件为采用电喷雾离子源(ESI)在正/负离子扫描模式(ESI⁺/ESI⁻)下进行检测,扫描范围100~2 000 Da,碰撞能量45/-45 eV,扩展碰撞器能量10/15 eV。获得图谱后收集化合物的精确分子量、保留时间和多级碎片离子信息,通过与对照品质谱信息及参考文献比对进行化学成分鉴定。结果:共鉴定出48个化合物,在ESI⁺、ESI⁻检测模式下分别鉴定出9、39个。其中,酚酸类成分10个、苯丙素类成分8个、蒽醌类成分9个、黄酮类成分3个、生物碱类成分7个、鞣质类成分5个、其他类成分6个。结论:UPLC-Q-TOF-MS法可快速、高效、准确地鉴定消肿止痛液有效部位的化学成分,该部位的主要化学成分为酚酸类、苯丙素类、蒽醌类、生物碱类和鞣质类。

关键词 消肿止痛液;有效部位;超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱联用法;化学成分;鉴定

Identification of Chemical Components in Active Fraction of Xiaozhong Zhitong Lotion by UPLC-Q-TOF-MS

WANG Yinjie^{1, 2}, LIU Benchen¹, LIU Jun¹, MO Jiabin², HU Anqi², LIU Jiaqi², FENG Qianyi², GONG Kaimin¹
(1.Preparation Center, Yinchuan Hospital of TCM, Yinchuan 750001, China; 2.School of TCM, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To analyze chemical components in active fraction of Xiaozhong zhitong lotion, to clarify the material basis of its efficacy, and to provide reference for the second development of ointment preparation. METHODS: UPLC-Q-TOF-MS was adopted to analyze the chemical components of active fraction (40% ethanol elution site separated by D101 macroporous resin) of Xiaozhong zhitong lotion. The determination was performed on Hypersil GOLD aQ C₁₈ column with mobile phase consisted of 0.1% formic acid acetonitrile (A)-0.1% formic acid water (B) (gradient elution) at the flow rate of 0.4 mL/min. The sample size was 4 μL, and the column temperature was 30 ℃. The condition of mass spectrometry was ESI detection in positive and negative scanning ion mode (ESI⁺/ESI⁻). The scanning range was 100-2 000 Da. The collision energy was 45/-45 eV, and the energy of the extended collider was 10/15 eV. The accurate molecular weight, retention time and multi-stage fragment ion information of the compounds were collected after obtaining the chromatogram, and the chemical components were identified by comparing with the mass spectrum information of reference materials and references. RESULTS: A total of 48 compounds were identified, and 9 and 39 compounds were identified under ESI⁺/ESI⁻ ion mode, mainly including 10 phenolic acids, 8 phenylpropanoids, 9 anthraquinones, 3 flavones, 7 alkaloids, 5 tannins and 6 other categories. CONCLUSIONS: UPLC-Q-TOF-MS method is rapid, efficient and accurate for identify chemical components from active fraction of Xiaozhong zhitong lotion. Main chemical components of the active fraction are phenolic acids, phenylpropanoids, anthraquinones, alkaloids and tannins.

KEYWORDS Xiaozhong zhitong lotion; Active fraction; UPLC-Q-TOF-MS; Chemical components; Identification

消肿止痛液是银川市中医医院(后文简称“我院”)的院内制剂(批准文号:宁药制字Z20140005),主要由大黄、黄柏、地榆、五倍子等八味中药组成,用于各种原因所致痔疮初期及外痔、混合痔、肛裂术后的消肿、止痛等,其治疗肛肠疾病术后疼痛、水肿的临床总有效率达93.33%^[1]。本课题组前期通过动物实验筛选得到了该

制剂具有消肿、促溃疡面愈合、镇痛的有效部位(经D101大孔树脂分离得到的40%乙醇洗脱部位)^[2],本研究拟采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱联用(UPLC-Q-TOF-MS)法对消肿止痛液有效部位的化学成分进行鉴定,以揭示该制剂的药效物质基础,为该制剂二次开发为软膏制剂提供依据,同时也为中药新药开发奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

Triple-TOF™ 5600 质谱仪(美国 AB Sciex 公司);

Δ 基金项目:宁夏回族自治区重点研发计划项目(No. 2016KJHM112);宁夏青年科技人才托举工程项目

* 主管中药师,博士研究生。研究方向:中药药效物质基础及中药制剂技术。电话:0951-5058083。E-mail:wyjie41@163.com

LC-30AD 超高压液相色谱仪(日本岛津公司);XA105 电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

消肿止痛液有效部位提取物(由我院制剂室自制,批号:20171025,纯度:每1 g 提取物相当于14.78 g 生药);没食子酸对照品(批号:110831-201605,纯度:≥98%)、小檗碱对照品(批号:110713-201212,纯度:≥98%)、大黄酸对照品(批号:110886-201612,纯度:≥98%)、大黄素对照品(批号:110756-201512,纯度:≥98%)均购于中国食品药品检定研究院;阿魏酸对照品(批号:wkq17112004,纯度:≥98%)、芦丁对照品(批号:wkq19010203,纯度:≥98%)均购于四川省维克奇生物科技有限公司;乙腈(德国默克公司,色谱纯);甲酸(美国 Fisher 公司,色谱纯);水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱与 MS 条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Hypersil GOLD aQ C₁₈(100 mm×2.1 mm,1.9 μm);流动相:0.1%甲酸乙腈(A)-0.1%甲酸水(B),梯度洗脱(1~2 min,95%B;2~4 min,90%→85%B;4~6 min,85%→80%B;6~8 min,80%→75%B;8~15 min,75%→65%B;15~20 min,65%→55%B;20~22 min,55%→5%B;22~23 min,5%→0%B;23~24 min,0%→95%B;24~25 min,95%B),流速:0.4 mL/min;柱温:30 ℃;进样量:4 μL。

2.1.2 MS 条件 采用电喷雾离子源(ESI),在信息关联(IDA)模式下进行正/负离子(ESI⁺/ESI⁻)扫描;离子喷雾电压为5 500/-4 500 V,去簇电压为100/-100 V;去溶剂温度为500 ℃;雾化气为氮气,雾化气压、辅助加热气压和帘气气压分别为55、55和35 psi;扫描范围为100~2 000 Da;碰撞能量为45/-45 eV;扩展碰撞器能量为10/15 eV。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备 精密称取消肿止痛液有效部位干粉样品0.023 1 g,置于50 mL 量瓶中,以50%甲醇超声(频率:40 kHz,功率:500 W)提取10 min,摇匀,滤过,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取盐酸小檗碱、没食子酸、大黄素、大黄酸、阿魏酸、芦丁对照品适量,分别置于不同10 mL 量瓶中,加入甲醇溶解,制备为单一对照品贮备液;分别精密量取上述贮备液适量,将其混合后加甲醇稀释,制备成混合对照品溶液(含盐酸小檗碱8.56 μg/mL、没食子酸4.16 μg/mL、大黄素5.62 μg/mL、大黄酸4.26 μg/mL、阿魏酸3.23 μg/mL、芦丁3.45 μg/mL)。

2.3 消肿止痛液有效部位化学成分的分析

首先查阅文献资料^[3-29]及相关数据库(PubMed、Mass Bank、Chemical Book),建立组方中各味药所含的化学成分库信息,信息内容包括中文名、英文名、分子

式、准确分子质量、结构式和药材来源。再按“2.1”项下色谱和MS 条件进样,将化学成分信息库导入PeakView 2.0 软件(AB Sciex)进行目标化合物峰查找,通过精准质量数(mass error<5 ppm)对结果进行过滤,获得匹配化合物后,解析其二级裂解碎片离子信息,进一步准确识别化学成分。结果,从该有效部位中共鉴定出了48 个化学成分。在ESI⁻模式下响应较好,共鉴定出了39 个化学成分;在ESI⁺模式下鉴定出了9 个化学成分。消肿止痛液有效部位总离子流图见图1,化学成分鉴定结果见表1。

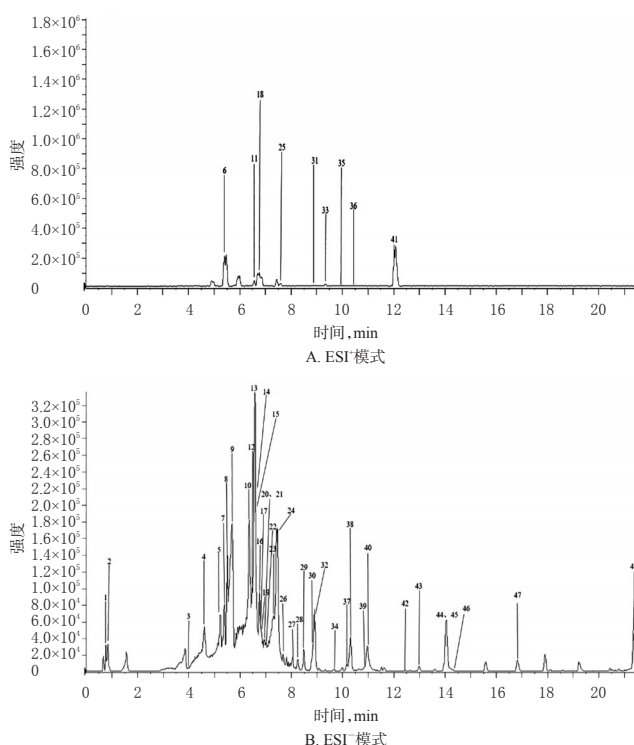


图1 消肿止痛液有效部位总离子流图

Fig 1 TIC of active fraction of Xiaozhong zhitong lotion

2.4 化合物的裂解特征分析

2.4.1 酚酸类 酚酸类化合物是指同一苯环上有若干个酚性羟基的一类化合物。本研究从消肿止痛液有效部位中共鉴定出了10 个酚酸类化合物,分别是没食子酸、没食子酸乙酯、对香豆酸、没食子酸儿茶素、儿茶素没食子酸酯、3,3'-O-二甲基鞣花酸-硫酸酯、3,3'4'-O-三甲基鞣花酸-4-O-硫酸酯、对羟基苯甲酸、3,4'-O-二甲基鞣花酸和3,3'4'-O-三甲基鞣花酸。此类化合物在MS 扫描过程中多以[M-H]⁻的准分子离子峰形式存在,高能碰撞下易产生[M-H-H₂O]⁻或[M-H-CO₂]⁻中性丢失的碎片离子。现以峰2 和峰40 为例进行裂解规律分析。

峰2 的保留时间为0.84 min,ESI⁻模式下的准分子离子峰为m/z 169.018 8[M-H]⁻,二级碎片信息主要有m/z 125.024 8[M-H-CO₂]⁻、m/z 107.014 7[M-H-CO₂-H₂O]⁻,为脱去中性分子二氧化碳与相继脱去一分子水的碎片

表1 消肿止痛液有效部位化学成分鉴定表

Tab 1 Identification of chemical components in active fraction of Xiaozhong zhitong lotion

编号	名称	分子式	相对分子质量	离子模式	保留时间, min	实测相对分子质量	理论相对分子质量	误差, ppm	碎片离子, m/z
1 ^[a]	2,3-O-二没食子酰葡萄糖苷	C ₂₄ H ₃₀ O ₁₄	484.085 3	[M-H] ⁻	0.84	483.078 39	483.078 03	0.76	331.067 5[M-H-C ₆ H ₆ O ₄] ⁻ , 313.056 1[M-H-C ₆ H ₆ O ₄ -H ₂ O] ⁻ , 169.013 9[M-H-C ₆ H ₆ O ₄ -H ₂ O-C ₁₀ H ₁₆ O] ⁻
2 ^[a]	没食子酸 [*]	C ₇ H ₆ O ₅	170.021 5	[M-H] ⁻	0.84	169.014 82	169.014 25	3.37	125.024 8[M-H-CO ₂] ⁻ , 107.014 7[M-H-CO ₂ -H ₂ O] ⁻
3 ^[a]	新绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.095 1	[M-H] ⁻	4.07	353.087 73	353.087 81	-0.21	353.087 7[M-H] ⁻ , 191.056 3[M-C ₆ H ₆ O ₄] ⁻
4 ^[a]	葡萄糖基丁香酸	C ₁₈ H ₂₀ O ₁₀	360.105 6	[M-H] ⁻	4.84	359.098 32	359.098 40	-0.15	197.044 4[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 182.021 2[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -CH ₃] ⁻ , 166.998 7[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -CH ₂ O] ⁻
5 ^[a]	三没食子酸酰基葡萄糖苷或异构体	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₈	636.096 3	[M-H] ⁻	5.32	635.089 31	635.088 99	0.51	483.079 8[M-H-C ₆ H ₆ O ₄] ⁻ , 465.069 1[M-H-C ₆ H ₆ O ₄ -H ₂ O] ⁻ , 313.057 1[M-H-C ₆ H ₆ O ₄ -H ₂ O] ⁻
6 ^[a]	四氢药根碱	C ₈ H ₁₂ NO ₄	341.162 7	[M+H] ⁺	5.44	342.169 96	342.169 90	0.06	325.012 0[M+H-CH ₃] ⁺ , 310.024 3[M+H-2CH ₃] ⁺
7 ^[a]	阿魏酰奎尼酸	C ₁₈ H ₂₀ O ₉	368.110 7	[M-H] ⁻	5.50	367.103 24	367.103 46	-0.58	191.055 8[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 173.044 8[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 134.037 7[M-H-CH ₂ -C ₆ H ₆ O ₃] ⁻
8 ^[a]	没食子酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₅	198.052 8	[M-H] ⁻	5.66	197.045 71	197.045 55	0.81	169.013 8[M-H-C ₆ H ₆] ⁻ , 140.011 2[M-H-C ₆ H ₆] ⁻ , 124.017 0[M-H-C ₆ H ₆ O ₂] ⁻
9 ^[a]	对香豆酸	C ₉ H ₈ O ₃	164.047 3	[M-H] ⁻	5.91	163.040 16	163.040 07	0.56	119.050 5[M-H-COO] ⁻
10 ^[a]	阿魏酸 [*]	C ₁₆ H ₁₈ O ₄	194.057 9	[M-H] ⁻	6.49	193.050 48	193.050 63	-0.79	178.024 8[M-H-CH ₃] ⁻ , 134.035 8[M-H-CH ₂ -COO] ⁻
11 ^[a]	芦荟大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.052 8	[M+H] ⁺	6.54	271.06023	271.060 10	0.46	241.050 7[M-H-CO] ⁻ , 210.032 2[M-H-3H-2CO] ⁻ , 197.061 5[M-H-2CO-O] ⁻
12 ^[a]	大黄素-1-O-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.105 6	[M-H] ⁻	6.56	431.098 55	431.098 37	0.42	269.044 2[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 240.041 7[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -H-CO] ⁻
13 ^[a]	2,3,4,6-O-四没食子酰基-β-D-葡萄糖苷	C ₃₁ H ₃₀ O ₂₂	788.107 2	[M-H] ⁻	6.57	787.100 98	787.099 95	1.31	617.080 6[M-H-Gal-H ₂ O] ⁻ , 465.067 7[M-H-2Gal-H ₂ O] ⁻ , 313.056 1[M-H-3Gal-H ₂ O] ⁻
14 ^[a]	绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.095 1	[M-H] ⁻	6.61	353.087 73	353.087 81	-0.21	353.047 9[M-H] ⁻ , 191.025 5[M-C ₆ H ₆ O ₄] ⁻
15 ^[a]	异莲花掌苷	C ₂₄ H ₃₀ O ₁₁	478.147 5	[M-H] ⁻	6.67	477.139 89	477.140 24	-0.71	313.056 0[M-H-C ₆ H ₆ O ₄ -H ₂ O] ⁻ , 169.013 7[M-H-C ₆ H ₆ O ₄ -H ₂ O-C ₆ H ₆ O ₄] ⁻
16 ^[a]	芦丁 [*]	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.153 4	[M-H] ⁻	6.72	609.146 57	609.146 11	0.75	301.033 1[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -O ₂ -C ₆ H ₆ O ₄] ⁻ , 178.997 7[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -O ₂ -C ₆ H ₆ O ₄ -O ₂ -C ₆ H ₆ O ₄] ⁻ , 151.003 1[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -O ₂ -C ₆ H ₆ O ₄] ⁻
17 ^[a]	大黄酸-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	446.084 9	[M-H] ⁻	6.81	445.077 09	445.077 63	-1.21	283.024 7[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 239.034 9[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -COO] ⁻
18 ^[a]	莲心季铵碱	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	313.167 8	[M+H] ⁺	6.83	314.175 34	314.175 07	0.86	256.049 7[M+H-C ₆ H ₆ N] ⁺ , 107.050 7[M+H-C ₆ H ₆ N] ⁺
19 ^[a]	金丝桃苷	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₂	464.095 5	[M-H] ⁻	6.93	463.088 18	463.088 20	-0.03	300.027 1[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 271.024 5[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -CO-H] ⁻ , 243.030 6[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -CO-H-CO] ⁻
20 ^[a]	儿茶素没食子酸酯	C ₂₄ H ₁₈ O ₁₀	442.090 0	[M-H] ⁻	6.93	441.082 41	441.082 72	-0.71	289.070 9[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 245.0818[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -COO] ⁻
21 ^[a]	益母草碱	C ₁₈ H ₂₁ N ₃ O ₃	311.148 1	[M-H] ⁻	6.94	310.140 66	310.140 84	-0.60	280.093 8[M-H-2CH ₃] ⁻ , 181.016 1[M-H-C ₆ H ₆ N ₃ O] ⁻
22 ^[a]	莲花掌苷	C ₂₄ H ₃₀ O ₁₁	478.147 5	[M-H] ⁻	6.99	477.139 89	477.140 24	-0.71	313.056 0[M-H-C ₆ H ₆ O ₄ -H ₂ O] ⁻ , 169.013 7[M-H-C ₆ H ₆ O ₄ -H ₂ O-C ₆ H ₆ O ₄] ⁻ , 125.024 8[M-H-C ₆ H ₆ O ₄ -H ₂ O-C ₆ H ₆ O ₄ -CO] ⁻
23 ^[a]	芦荟苷	C ₁₁ H ₁₂ O ₉	418.126 4	[M-H] ⁻	7.29	417.119 20	417.119 06	0.23	255.065 3[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 227.071 6[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -CO] ⁻ , 213.055 4[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -C ₂ H ₂ O] ⁻
24 ^[a]	1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖	C ₄₁ H ₄₂ O ₂₆	940.118 2	[M-H] ⁻	7.44	939.112 61	939.110 91	1.82	787.106 9[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 769.094 8[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻ , 617.082 6[M-H-2C ₆ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻ , 447.059 3[M-H-3C ₆ H ₆ O ₃ -2H ₂ O] ⁻
25 ^[a]	四氢帕马丁	C ₈ H ₁₂ NO ₄	355.178 4	[M+H] ⁺	7.58	356.185 74	356.185 64	0.29	313.142 3[M+H-CO-CH ₃] ⁺ , 191.084 7[M+H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁺ , 164.068 2[M+H-C ₆ H ₆ NO ₂] ⁺
26 ^[a]	白藜芦醇-4'-O-β-D-(6'-O-没食子酰)葡萄糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₂	542.142 4	[M-H] ⁻	7.58	541.135 12	541.135 15	-0.06	313.055 7[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻ , 227.070 4[M-H-Gal-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 169.013 6[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -H ₂ O-C ₆ H ₆ O ₄] ⁻ , 125.024 8[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -CO] ⁻
27 ^[a]	2,3,4,6-O-四没食子酰基-β-D-甲基吡喃葡萄糖苷	C ₃₃ H ₃₀ O ₂₂	802.122 9	[M-H] ⁻	8.09	801.117 07	801.115 59	1.83	649.106 9[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 497.095 6[M-H-2C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 479.082 0[M-H-2C ₆ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻
28 ^[a]	3,5-二咖啡酰奎宁酸I	C ₂₄ H ₂₀ O ₁₂	516.126 8	[M-H] ⁻	8.26	515.119 68	515.119 50	0.35	353.087 5[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 191.056 1[M-H-2C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 173.045 4[M-H-2C ₆ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻
29 ^[a]	没食子儿茶素	C ₁₈ H ₁₄ O ₇	306.074 0	[M-H] ⁻	8.60	305.066 96	305.066 68	0.91	261.076 6[M-H-CO] ⁻ , 232.032 6[M-H-CO ₂ -C ₆ H ₆] ⁻ , 215.034 2[M-H-CO ₂ -C ₂ H ₂ -H ₂ O] ⁻
30 ^[a]	3,3'-O-二甲基鞣花酸-硫酸酯	C ₁₆ H ₁₀ O ₁₁ S	409.994 4	[M-H] ⁻	8.79	408.987 12	408.987 10	0.03	329.031 2[M-H-SO ₃] ⁻ , 314.007 2[M-H-SO ₃ -CH ₃] ⁻ , 285.003 7[M-H-SO ₃ -CO] ⁻
31 ^[a]	花椒毒素	C ₁₂ H ₈ O ₄	216.042 3	[M+H] ⁺	8.95	217.049 37	217.049 54	-0.78	189.054 8[M+H-CO] ⁺ , 161.058 6[M+H-2CO] ⁺ , 133.051 3[M+H-3CO] ⁺
32 ^[a]	九里香酮	C ₁₅ H ₁₄ O ₄	258.089 2	[M-H] ⁻	8.97	257.082 41	257.081 93	1.84	189.054 4[M-H-C ₆ H ₆ O] ⁻ , 188.048 9[M-H-C ₆ H ₆ O] ⁻ , 166.866 1[M-H-C ₆ H ₆ O] ⁻
33 ^[a]	益母草碱衍生物	C ₁₈ H ₂₁ N ₃ O ₃	325.163 8	[M+H] ⁺	9.34	326.171 26	326.171 05	0.65	195.065 6[M-2H-C ₆ H ₆ N] ⁺ , 152.047 4[M-2H-C ₆ H ₆ N-COOH] ⁺
34 ^[a]	3,3',4'-O-三甲基鞣花酸-4-O-硫酸酯	C ₁₇ H ₁₂ O ₁₁ S	424.010 0	[M-H] ⁻	9.55	423.002 35	423.002 76	-0.96	343.044 5[M-HO ₃ S] ⁻ , 328.021 3[M-HO ₃ S-CH ₃] ⁻ , 312.998 4[M-HO ₃ S-2CH ₃] ⁻ , 297.974 8[M-HO ₃ S-3CH ₃] ⁻
35 ^[a]	药根碱	C ₈ H ₁₂ NO ₄	338.1392	[M+H] ⁺	9.98	339.145 14	339.146 51	-4.04	323.113 7[M-CH ₃] ⁺ , 294.107 3[M-CH ₂ -H-CO] ⁺
36 ^[a]	对羟基苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₃	138.031 7	[M+H] ⁺	10.25	139.038 83	139.038 97	-1.01	121.028 6[M+H-H ₂ O] ⁺
37 ^[a]	对羧基苯甲酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₃	166.063 0	[M-H] ⁻	10.31	165.055 94	165.055 72	1.33	137.025 0[M-H-CO] ⁻ , 136.016 3[M-H-C ₆ H ₆] ⁻ , 108.022 1[M-H-2CO] ⁻
38 ^[a]	决明子-8-O-β-吡喃葡萄糖苷	C ₂₈ H ₃₀ O ₉	408.142 0	[M-H] ⁻	10.43	407.134 38	407.134 76	-0.91	245.081 2[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 230.057 3[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -CH ₃] ⁻ , 215.035 3[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -2CH ₃] ⁻
39 ^[a]	大黄酚-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	C ₂₃ H ₂₀ O ₉	416.110 7	[M-H] ⁻	10.88	415.103 51	415.103 46	0.13	253.050 1[M-H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁻ , 225.055 1[M-H-C ₆ H ₆ O ₃ -CO] ⁻

注：“*”代表与对照品比对鉴定

Note: “*” indicates identified by comparison with the reference

续表 1

Continued tab 1

编号	名称	分子式	相对分子质量	离子模式	保留时间, min	实测相对分子质量	理论相对分子质量	误差, ppm	碎片离子, m/z
40 ^[25]	3,4'- <i>O</i> -二甲基鞣花酸	C ₁₆ H ₁₀ O ₈	330.037 6	[M-H] ⁻	10.97	329.030 34	329.030 29	0.16	298.983 3[M-H-2CH ₃] ⁻ , 285.003 1[M-H-CO ₂] ⁻ , 270.987 6[M-H-CO ₂ -CH ₂] ⁻ , 242.992 6[M-H-CO ₂ -CH ₂ -CO] ⁻
41 ^[9,22]	小檗碱 [*]	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	336.123 6	[M-H] ⁺	12.07	337.129 22	337.130 86	-4.87	321.092 3[M+H-CH ₃ -H] ⁺ , 293.097 5[M+H-CH ₂ -H-CO] ⁺ , 279.081 9[M+H-2CH ₃ -CO] ⁺
42 ^[9]	芦荟大黄素-8- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -乙酰)-葡萄糖苷	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₁	474.116 2	[M-H] ⁻	12.44	473.108 81	473.108 94	-0.27	311.055 6[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃] ⁻ , 283.024 0[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -CO] ⁻ , 239.034 2[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₃ -CO-CO] ⁻
43 ^[2]	山萘酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.047 7	[M-H] ⁻	13.03	285.040 74	285.040 46	0.98	268.036 8[M-H-HO] ⁻ , 257.044 4[M-H-CO] ⁻
44 ^[1]	三棱酸	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	330.240 6	[M-H] ⁻	13.99	329.233 63	329.233 35	0.85	314.004 6[M-H-CH ₃] ⁻ , 311.998 2[M-H-OH] ⁻ , 298.982 3[M-H-2CH ₃] ⁻ , 270.987 6[M-H-2CH ₃ -CO] ⁻
45 ^[10,23]	大黄酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254.057 9	[M-H] ⁻	14.02	253.050 49	253.050 63	-0.58	225.055 4[M-H-CO] ⁻ , 210.031 8[M-H-CO-CH ₃] ⁻
46 ^[1]	3,3',4'- <i>O</i> -三甲基鞣花酸	C ₁₇ H ₁₂ O ₈	344.053 2	[M-H] ⁻	14.04	343.046 26	343.045 94	0.92	328.023 8[M-H-CH ₃] ⁻ , 312.999 5[M-H-2CH ₃] ⁻ , 297.975 6[M-H-3CH ₃] ⁻
47 ^[9,24]	大黄酸 [*]	C ₁₅ H ₈ O ₆	284.032 1	[M-H] ⁻	16.83	283.025 03	283.024 81	0.79	239.034 9[M-H-CO ₂] ⁻ , 211.039 8[M-H-CO ₂ -CO] ⁻ , 183.044 8[M-H-CO ₂ -2CO] ⁻
48 ^[9,24]	大黄素 [*]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.052 8	[M-H] ⁻	21.34	269.045 80	269.045 55	0.96	241.049 1[M-H-CO] ⁻ , 225.053 9[M-H-CO ₂] ⁻ , 210.031 4[M-H-CO ₂ -CH ₃] ⁻ , 182.036 7[M-H-CO ₂ -CH ₂ -CO] ⁻

注：“*”代表与对照品比对鉴定

Note: “*” indicates identified by comparison with the reference

离子。可知该化合物的分子式为 C₇H₆O₅, 其相对分子质量为 170.021 5; 该峰相对分子质量的理论值为 169.014 25, 实测值为 169.014 82, 误差为 3.37 ppm。参考文献[3-4], 并与没食子酸对照品二级碎片离子信息进行比对, 可判断该化合物为没食子酸。没食子酸的裂解途径见图 2, 峰 2 和没食子酸对照品的 MS/MS 图见图 3。

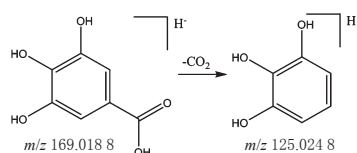


图 2 没食子酸的裂解途径

Fig 2 MS fragmentation pathway of gallic acid

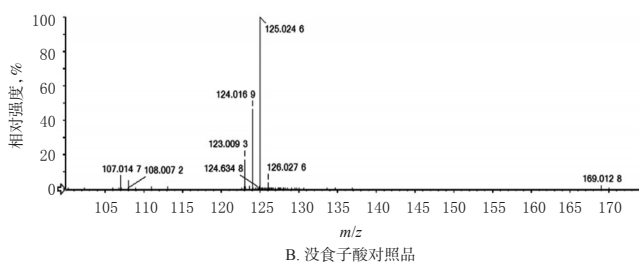
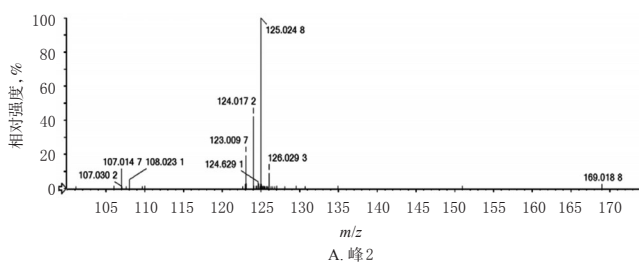


图 3 峰 2 和没食子酸对照品的 MS/MS 图

Fig 3 MS/MS spectrums of peak 2 and gallic acid reference

峰 40 的保留时间为 10.97 min, ESI⁻ 模式下的准分

子离子峰为 m/z 329.030 4[M-H]⁻, 脱去一分子二氧化碳形成 m/z 285.003 1[M-H-CO₂]⁻, 相继脱去一分子亚甲基形成 m/z 270.987 6[M-H-CO₂-CH₂]⁻, 再脱去一分子羰基形成 m/z 242.992 6[M-H-CO₂-CH₂-CO]⁻; 另一裂解途径为准分子离子峰脱去两分子甲基得到特征离子 m/z 298.983 3[M-H-2CH₃]⁻。该化合物的分子式为 C₁₆H₁₀O₈, 其相对分子质量为 330.037 6, 该峰相对分子质量的理论值为 329.030 29, 实测值 329.030 34, 误差为 0.16 ppm。参考文献[3, 25], 可判断该化合物为 3,4'-*O*-二甲基鞣花酸。3,4'-*O*-二甲基鞣花酸的 MS 裂解途径见图 4, 峰 40 的 MS/MS 图见图 5。

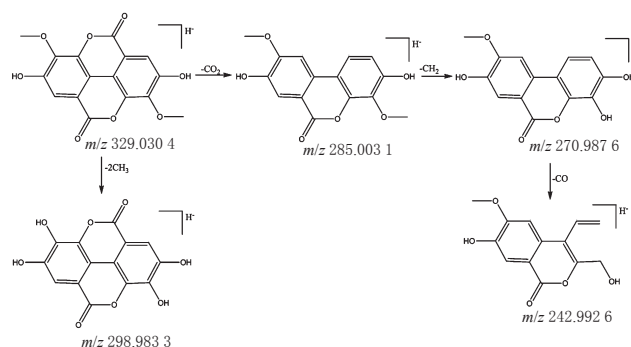


图 4 3,4'-*O*-二甲基鞣花酸的 MS 裂解途径

Fig 4 MS fragmentation pathway of 3,4'-*O*-methylgallate

2.4.2 苯丙素类 苯丙素类化合物是指基本母核具有一个或几个 C₆-C₃ 单元的天然有机化合物类群, 狭义而言, 苯丙素类化合物是指简单苯丙素类、香豆素类、木质素类化合物。本研究从消肿止痛有效部位中共鉴定出了 8 个苯丙素类化合物, 分别是新绿原酸、葡萄糖基丁香酸、阿魏酰奎宁酸、绿原酸、阿魏酸、3,5'-二咖啡酰奎宁酸、花椒毒素和九里香酮, 其中新绿原酸和绿原酸为同

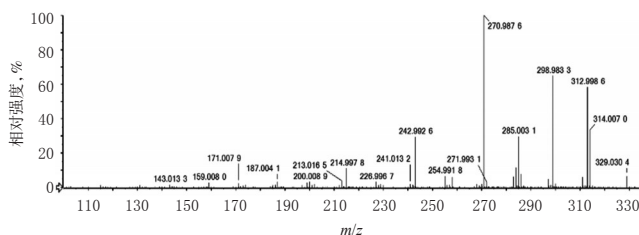


图5 峰40的MS/MS图

Fig 5 MS/MS spectrum of peak 40

分异构体(通过 Chem Draw14.0 软件计算化合物的脂水分配系数,根据不同脂水分配系数保留时间不同指认同分异构体,其与参考文献中两个化合物保留时间前后顺序一致^[6])。由于该类化合物一般具有多个和芳环连接的氧原子、羟基、甲氧基,故其质谱经常出现一系列连续失去羰基、羟基、水、甲基或甲氧基的碎片离子峰,现以峰10为例进行裂解规律分析。

峰10的保留时间为6.49 min,ESI⁺模式下准分子离子峰为 m/z 193.048 8[M-H]⁻,脱去一分子甲基形成 m/z 178.024 8[M-H-CH₃]⁻,相继脱去一分子二氧化碳形成 m/z 134.035 8[M-H-CH₃-CO₂]⁻。该化合物的分子式为 C₁₀H₁₀O₄,其相对分子质量为 194.05 79;该峰相对分子质量的实测值为 193.050 48,相对分子质量的理论值为 193.050 63,误差为 -0.79 ppm。参考文献[8,28],并与阿魏酸对照品二级碎片离子信息进行比较,可判断该化合物为阿魏酸。阿魏酸的MS裂解途径见图6,峰10和阿魏酸对照品的MS/MS图见图7。

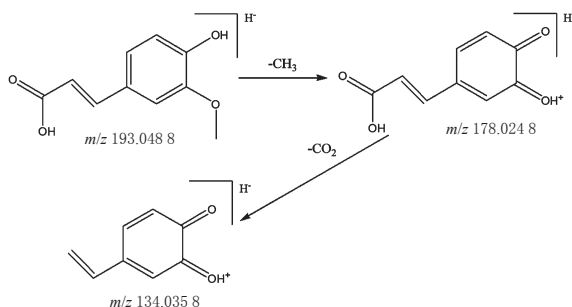
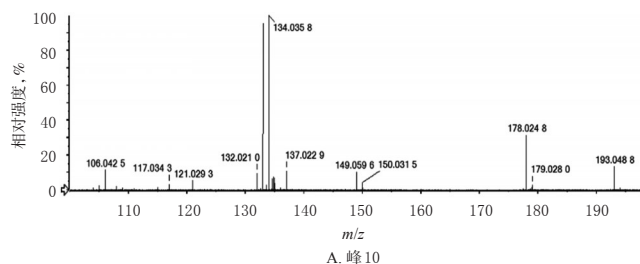


图6 阿魏酸的MS裂解途径

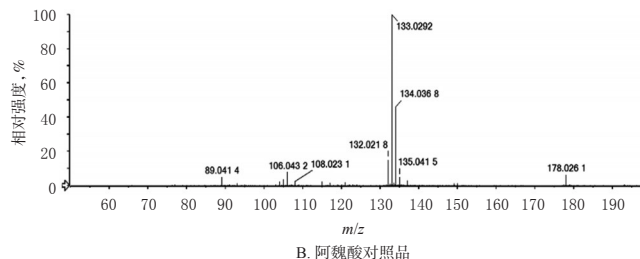
Fig 6 MS fragmentation pathway of ferulic acid

2.4.3 蒽醌类 蒽醌类化合物是指具有醌式结构的化学成分,天然蒽醌以9,10-蒽醌最为常见,整个分子形成共轭体系,C9、C10又处于最高氧化水平,比较稳定。在本研究中共从消肿止痛液有效部位鉴定出了9个蒽醌类化合物,分别是芦荟大黄素、大黄素-1-O-糖苷、大黄酸-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、大黄酚、大黄酸、大黄素、大黄酚-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、芦荟苷、芦荟大黄素-8-O-(6'-O-乙酰)-糖苷。蒽醌母核上常有羟基、羟甲基、甲基、甲氧基和羧酸取代,游离蒽醌的MS裂解依次脱去两分子羰基。现以峰47和峰48为例进行裂解规律分析。

峰47的保留时间为16.83 min,ESI⁻模式下的准分



A. 峰10



B. 阿魏酸对照品

图7 峰10和阿魏酸对照品的MS/MS图

Fig 7 MS/MS spectrum of peak 10 and ferulic acid reference

子离子峰为 m/z 283.025 5[M-H]⁻,其脱去一分子二氧化碳形成 m/z 239.034 9[M-H-CO₂]⁻,再连续2次脱去一分子羰基分别形成 m/z 211.039 8[M-H-CO₂-CO]⁻、 m/z 183.044 8[M-H-CO₂-2CO]⁻。该化合物的分子式为 C₁₅H₈O₆,其相对分子质量为 284.032 1;该峰相对分子质量的理论值为 283.024 81,实测值为 283.025 03,误差为 0.78 ppm。参考文献[9,24],并与大黄酸对照品二级碎片离子信息进行比较,可判断该化合物为大黄酸。大黄酸的MS裂解途径见图8,峰47和大黄酸对照品的MS/MS图见图9。

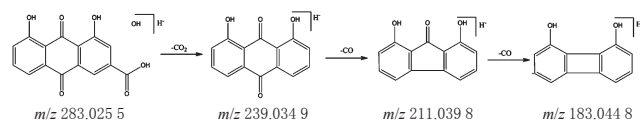
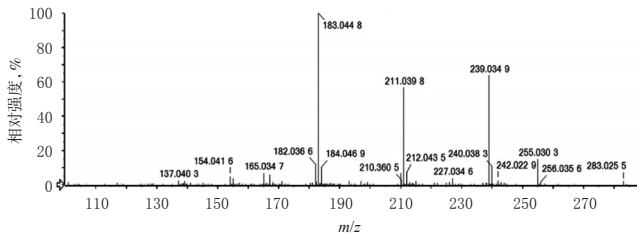


图8 大黄酸的MS裂解途径

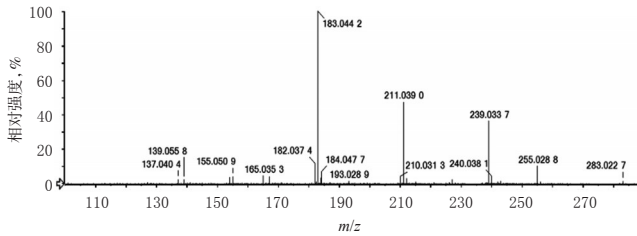
Fig 8 MS fragmentation pathway of rhein

峰48的保留时间为21.34 min,ESI⁻模式下的准分子离子峰为 m/z 269.043 6[M-H]⁻,脱去一分子羰基得到特征离子 m/z 241.049 1[M-H-CO]⁻;二级碎片信息主要有准分子离子峰脱去一分子二氧化碳形成 m/z 225.053 9[M-H-CO₂]⁻,相继脱去一分子甲基形成 m/z 210.031 4[M-H-CO₂-CH₃]⁻,再脱去一分子羰基形成 m/z 182.036 7[M-H-CO₂-CH₃-CO]⁻。该化合物的分子式为 C₁₅H₁₀O₅,其相对分子质量为 270.052 8;该峰相对分子质量的理论值为 269.045 55,实测值为 269.045 80,误差为 0.96 ppm。参考文献[7,22],并与大黄素对照品二级碎片离子信息进行比较,可判断该化合物为大黄素。大黄素的MS裂解途径见图10,峰48和大黄素对照品的MS/MS图见图11。

2.4.4 黄酮类 黄酮类化合物是指基本母核为2-苯基色原酮的一类化合物。本研究从消肿止痛液有效部位



A. 峰47



B. 大黄酸对照品

图9 峰47和大黄酸对照品的MS/MS图

Fig 9 MS/MS spectrum of peak 47 and rhein reference

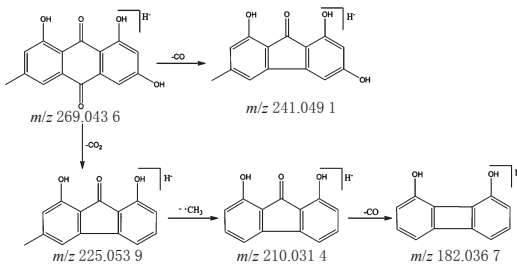
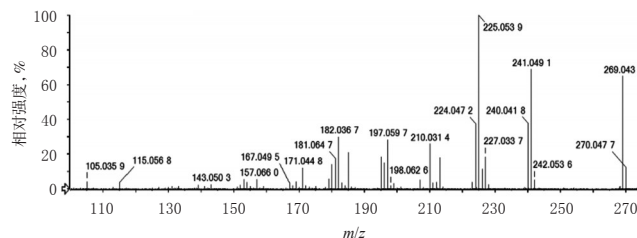
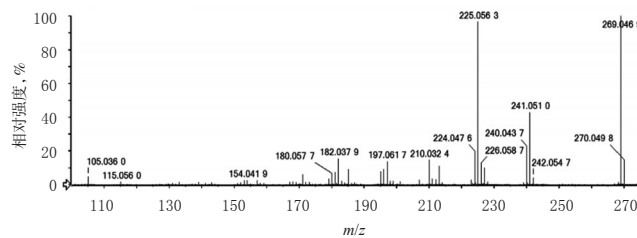


图10 大黄素的MS裂解途径

Fig 10 MS fragmentation pathway of emodin



A. 峰48



B. 大黄素对照品

图11 峰48和大黄素对照品的MS/MS图

Fig 11 MS/MS spectrum of peak 48 and emodin reference

中共鉴定出了3个黄酮类化合物,分别是山萘酚、芦丁、金丝桃苷。黄酮类质谱特征性强,除分子离子峰外,会失去甲基、羰基等碎片离子峰,现以峰16为例进行裂解规律分析。

峰16的保留时间为6.72 min,ESI⁻模式下的准分子离子峰为 m/z 609.144 7[M-H]⁻,其脱去一分子芸香糖形成黄酮类特征基本母核离子碎片 m/z 301.033 1[M-H-C₁₂H₂₀O₉-C₆H₁₀O₄]⁻,以及其他二级碎片离子 m/z 178.997 7[M-H-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₀O₄-C₇H₆O₂]⁻、 m/z 151.003 1[M-H-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₀O₄-C₈H₆O₃]⁻。该化合物的分子式为C₂₇H₃₀O₁₆,相对分子质量为610.153 4;该峰相对分子质量的理论值为609.146 57,实测值为609.146 11,误差为0.75 ppm。参考文献[12,29],并与芦丁对照品二级碎片离子信息进行比较,可判断该化合物为芦丁。芦丁的MS裂解途径见图12,峰16和芦丁对照品的MS/MS图见图13。

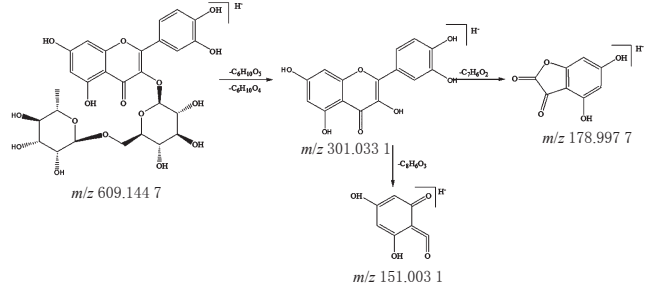
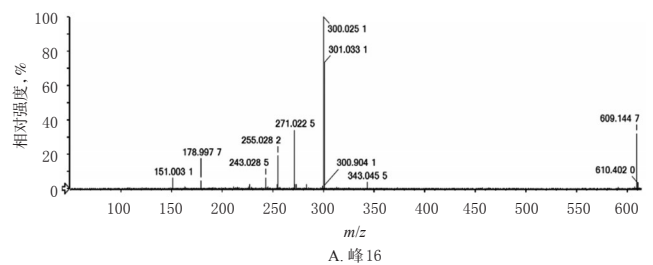
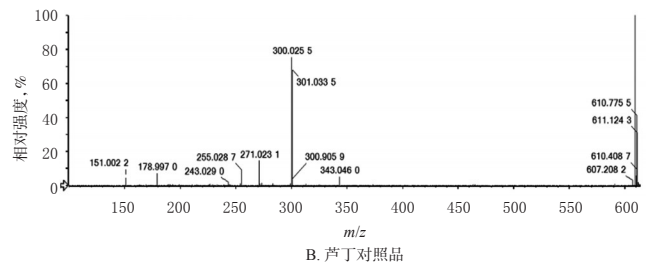


图12 芦丁的MS裂解途径

Fig 12 MS fragmentation pathway of rutin



A. 峰16



B. 芦丁对照品

图13 峰16和芦丁对照品的MS/MS图

Fig 13 MS/MS spectrum of peak 16 and rutin reference

2.4.5 生物碱类 生物碱是一类含氮有机化合物,多具有较强的生理活性。本研究共鉴定出了7个生物碱类化合物,分别是四氢药根碱、莲心季铵碱、益母草碱、四氢帕马丁、益母草碱衍生物、药根碱、小檗碱。生物碱主要为芳香体系组成,环系多、分子结构紧密,裂解困难,一般看不到由骨架裂解产生的特征离子,裂解主要发生在取代基或侧链上,现以峰41为例进行裂解规律分析。

峰41的保留时间为12.07 min,ESI⁺模式下的准分子离子峰为 m/z 337.124 0[M+H]⁺,其脱去一分子甲基形成

m/z 321.092 3 $[M+H-CH_3-H]^+$, 相继脱去一分子羰基形成 m/z 293.097 5 $[M+H-CH_3-H-CO]^+$; 另一裂解途径为准分子离子峰 m/z 337.124 0 $[M+H]^+$ 脱去两分子甲基和一分子羰基形成 m/z 279.081 9 $[M+H-2CH_3-CO]^+$ 。该化合物的分子式为 $C_{20}H_{18}NO_4$, 相对分子质量为 336.123 6, 该峰相对分子质量的理论值为 337.130 86, 实测值为 337.129 22, 误差为 -4.87 ppm。参考文献[4-5], 并与小檗碱对照品碎片离子进行对比, 可判断该化合物为小檗碱。小檗碱的 MS 裂解途径见图 14, 峰 41 和小檗碱对照品的 MS/MS 图见图 15。

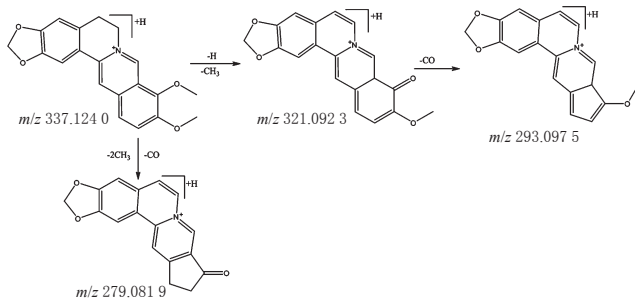


图 14 小檗碱的 MS 裂解途径

Fig 14 MS fragmentation pathway of berberine

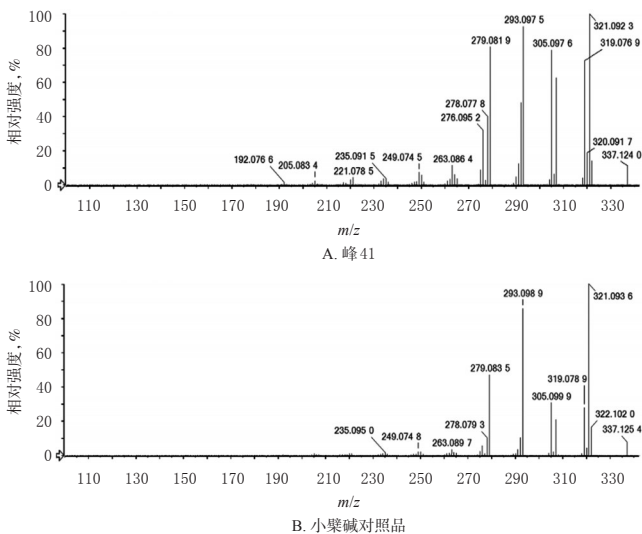


图 15 峰 41 和小檗碱对照品的 MS/MS 图

Fig 15 MS/MS spectrum of peak 41 and berberine reference

2.4.6 鞣质 鞣质是由没食子酸(或其聚合物)的葡萄糖(及其他多元醇)酯、黄烷醇及其衍生物的聚合物以及两者混合共同组成的植物多元酚, 分为水解鞣质、缩合鞣质和复合鞣质。可水解鞣质的裂解特点为连续丢失 m/z 为 152 的基团(没食子酰基)^[30], m/z 为 169 和 125 的是没食子酸的裂解碎片离子。根据这些裂解特点结合文献[8], 本研究共鉴定出了 2, 3-*O*-二没食子酰葡萄糖苷、三没食子酰葡萄糖苷或异构体、2, 3, 4, 6-*O*-四没食子酰基- β -*D*-葡萄糖苷、1, 2, 3, 4, 6-五没食子酰葡萄糖、2, 3, 4, 6-*O*-四没食子酰基- β -*D*-甲基吡喃葡萄糖苷 5 个鞣

质类化合物。

2.4.7 其他类 此外, 本研究还从消肿止痛液有效部位中鉴定出了 2 个苯丁酮类化合物(莲花掌苷、异莲花掌苷)和白藜芦醇-4'-*O*- β -*D*-(6''-*O*-没食子酰)葡萄糖苷、对羰基苯甲酸乙酯、三棱酸以及决明子-8-*O*- β -吡喃葡萄糖苷。

3 讨论

中药复方的有效成分是复杂的多成分组合, 即多种成分共同发挥作用。本研究在前期药效学研究的基础上, 对筛选得到的有效部位采用 UPLC-Q-TOF-MS 法进行了全面分析。该法具有良好的分离能力且灵敏度和准确性高, 目前已广泛应用于中药或复杂未知物的鉴定及定量分析。

本研究在选择色谱柱时, 考察了 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μ m) 和 Hypersil GOLD aQ C_{18} 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.9 μ m) 的分离效果。结果, 若以 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 为色谱柱, 在流速为 0.4 mL/min 时, 柱压较高; 而以 Hypersil GOLD aQ C_{18} 为色谱柱时柱压较低且分离度较好。故最终选择 Hypersil GOLD aQ C_{18} 色谱柱进行分析。在优化色谱条件时, 比较了流动相乙腈-水和 0.1% 甲酸乙腈-0.1% 甲酸水, 结果采用 0.1% 甲酸乙腈-0.1% 甲酸水作为流动相时响应值和峰形均较好。

本研究选用 ESI⁺、ESI⁻ 两种模式对样品进行分析, 结果样品在 ESI⁺ 模式下 MS 响应较好。通过目标筛选, 参考特征裂解途径以及相关文献, 共鉴定出了 48 个化合物, 其相对分子质量理论值与实测值的误差均小于 5 ppm。其中, 酚酸类成分 10 个、苯丙素类成分 8 个、蒽醌类成分 9 个、黄酮类成分 3 个、生物碱类成分 7 个、鞣质成分 5 个, 其他类成分 6 个。以上鉴定到的化学成分具有多方面药理活性。如酚酸类化学成分具有抗氧化、抗菌、消炎等活性^[31]; 苯丙素类成分花椒毒素、九里香酮具有抗血小板聚集活性作用^[32]; 小檗碱具有利尿和抗菌作用^[33]; 蒽醌类成分大黄酸是大黄中的主要成分之一, 具有抗炎、抗肿瘤、抗糖尿病肾病、抗病毒、抑菌等活性^[34]; 大黄素具有抗炎、抗菌、抗肿瘤等作用^[35]; 黄酮类成分具有抗心肌缺血、促进心肌收缩力、兴奋子宫、抗氧化及抑菌等作用^[36]。鞣质成分主要来自地榆和大黄, 地榆鞣质具有止血、抑菌、抗炎等作用, 其止血成分主要为鞣花鞣质^[37], 而大黄鞣质具有凉血止血功效^[38]。以上不同种类、不同来源的活性成分, 通过协同或互补的作用发挥消肿、止痛、抗溃疡愈合的功效, 起到多通路、多靶点治疗作用。

综上, 本研究基于 UPLC-Q-TOF-MS 法对消肿止痛液有效部位中的化学成分进行了快速、准确识别, 明确了消肿止痛液消肿、止痛、抗溃疡愈合的药效成分, 为促进医院制剂消肿止痛软膏的二次开发以及为中药新药

的研发奠定了基础。

参考文献

- [1] 余军,范嫻嫻.消肿止痛液治疗肛肠疾病术后疼痛水肿60例疗效观察[J].河北中医,2012,34(10):1474-1475.
- [2] 王银洁,刘本臣,刘军,等.消肿止痛液消肿、促溃疡面愈合、镇痛的有效部位筛选[J].中国药房,2019,30(13):1080-1086.
- [3] 许维桐,霍志鹏,雷磊,等. HPLC-IT-TOF/MS分析地榆水煎液的化学成分群[J].中草药,2018,49(6):1277-1288.
- [4] 杨贤英,李金花,段宝忠,等.五倍子抑制流感病毒神经氨酸酶活性及活性部位的UPLC-Q-TOF-MS分析[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(16):68-72.
- [5] 李媛.黄柏、黄连体内外成分对比研究[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2013.
- [6] 王宇卿,耿榕徽,张须学.采用UPLC-Q-TOF-MS/MS技术分析宛艾化学成分[J].中国医院药学杂志,2018,38(5):500-505.
- [7] LI YB, ZHANG TJ, ZHANG XL, et al. Chemical fingerprint analysis of *Phellodendri Amurensis* Cortex by ultra performance LC/Q-TOF-MS methods combined with chemometrics[J]. *J Sep Sci*, 2010, 33(21):3347-3353.
- [8] 王晴,卢志威,刘月红,等. UPLC-Q-TOF/MS^E结合诊断离子过滤方法快速分析大黄中酚类成分[J].中国中药杂志,2017,42(10):1922-1931.
- [9] 刘梦娇,王云,李玲云,等.三黄片化学成分的UPLC-Q-TOF-MS/MS快速鉴定分析[J].中国中药杂志,2017,42(9):1685-1692.
- [10] 崔培坤.大黄蒽醌ESI-ITMSⁿ质谱行为的量子化学辅助研究[D].佳木斯:佳木斯大学,2013.
- [11] 高亮亮.唐古特大黄、药用大黄和掌叶大黄的化学成分和生物活性研究[D].北京:北京协和医学院,2012.
- [12] 庞汉青.基于药对作用的新生化颗粒配伍效应与物质基础研究[D].南京:南京中医药大学,2017.
- [13] WANG GY, XU LW, SHI YP. Rapid analysis of multiple components in Radix Et Rhizoma Rhei using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Acta Chromatogr*, 2011, 23(4):653-672.
- [14] 林敏婷,张超,唐思丽,等. LC/MS/MS鉴定莲子心生物碱在Caco-2细胞中的代谢产物[J].中药材,2015,38(12):2531-2534.
- [15] 刘冰松,陈应林. LC-MS/MS法测定复方益母草膏中有效成分的含量[J].沈阳药科大学学报,2016,33(4):303-306.
- [16] 来进君.唐古特大黄蒽醌提取工艺、水提部位化学成分分离及抑菌活性的研究[D].西宁:青海师范大学,2017.
- [17] 王冬梅,林森森,郑司浩,等.五倍子抑制表皮生长因子受体活性及活性部位的UPLC/Q-TOF-MS分析[J].中草药,2013,44(18):2515-2519.
- [18] 王旭光,杨洪军,王松松,等.基于LTQ-Orbitrap的白芷中5种呋喃香豆素类化合物的质谱裂解规律研究[J].中国中药杂志,2015,40(7):1334-1341.
- [19] 何成军.附子化学成分研究及益母草注射液化学成分研究[D].成都:成都中医药大学,2014.
- [20] 熊亮,彭成.基于中药质量标志物(Q-Marker)的基本条件研究益母草和赶黄草的Q-Marker[J].中草药,2016,47(13):2212-2220.
- [21] 邱昆成.药对知母-黄柏的降糖作用及基于液质联用技术的化学物质研究[D].广州:广州中医药大学,2016.
- [22] 陈瑶.关黄柏药材化学特性与环境因子的相关性研究[D].北京:北京协和医学院,2017.
- [23] 张青青,辛欣,杨尚仁,等.复方槲黄提取物化学成分的快速定性分析[J].沈阳药科大学学报,2017,34(5):389-395.
- [24] 马冰.赤芍、大黄和黄柏中化学成分提取分离及结构鉴定研究[D].长春:长春师范大学,2014.
- [25] 郭群,袁桥玉.高效液相色谱-电喷雾质谱联用分析喜树果鞣花酸类成分[J].林业科技,2012,37(1):21-23.
- [26] 任晓蕾,霍金海,孙国东,等.UPLC-Q-TOF-MS法分析防风中香豆素类化学成分[J].中国药房,2019,30(3):349-354.
- [27] 元超,王鸿发,胡璇,等.UPLC-Q-TOF-MS^E技术快速定性艾纳香抗菌有效部位的化学成分[J].天然产物研究与开发,2018,30(11):1904-1912.
- [28] 秦伟瀚,冉继春,叶良红,等. UPLC-Q/TOF法同时定性定量分析滇芹药材中主要化学成分[J].中草药,2018,49(15):3576-3582.
- [29] 伍明江,吴晓磊,张德芹,等. UPLC-Q-TOF/MS鉴定芦丁在大鼠体内的代谢产物[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(17):91-97.
- [30] 马尚智,秦惠玉,龙飞,等.没食子多酚类化合物的鉴定及其在UPLC-MS/MS中的裂解规律研究[J].中草药,2017,48(22):4632-4638.
- [31] 林鹏飞,贾小舟,祁燕,等.酚酸类化合物研究进展[J].广东化工,2017,44(1):50-52.
- [32] 杨槐,周勤梅,彭成,等.益母草香豆素类化学成分与抗血小板聚集活性[J].中国中药杂志,2014,39(22):4356-4359.
- [33] 李先宽,冯杉,郑艳超,等.黄柏与关黄柏的化学成分及生物活性研究进展[J].药物评价研究,2019,42(5):1033-1037.
- [34] 陈秋荷,皮荣标,陈景考.大黄酸及其衍生物:合成与药理作用研究进展[J].药学研究,2016,35(3):161-167.
- [35] 陈艳琰,唐于平,陈嘉倩,等.大黄资源化学研究进展与利用策略[J].中草药,2018,49(21):5170-5178.
- [36] 李聘,陆治名,张百霞.益母草中黄酮类成分的研究进展[J].医学研究与教育,2017,34(4):63-68.
- [37] 陈鹏,周本宏.地榆鞣质的化学成分及生物活性研究进展[J].中国药师,2018,21(7):1253-1258.
- [38] 王亦君,冯舒涵,程锦堂,等.大黄蒽醌类化学成分和药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(13):227-234.

(收稿日期:2019-08-12 修回日期:2019-09-26)

(编辑:林静)