

基于 UHPLC-Q-Orbitrap/MS 鉴定 当归四逆颗粒化学成分

郭倩池, 王康宇, 张龄月, 郭云龙, 贡济宇, 高文义

(长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117)

摘要: 本研究运用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱(UHPLC-Q-Orbitrap/MS)技术快速鉴定当归四逆颗粒的化学成分。采用 SUPELCO C18 色谱柱(100 mm×4.6 mm×2.7 μm), 以 0.1%甲酸水溶液-乙腈为流动相进行梯度洗脱, 正、负离子模式下采集数据。根据精确质荷比和二级质谱碎片离子信息, 结合相关文献快速鉴定当归四逆颗粒的成分, 并对化合物的药味来源进行归属。结果表明, 在正、负离子模式下, 分别从当归四逆颗粒鉴定出 34、38 种化合物, 其中包括 20 种黄酮类、15 种有机酸类、11 种皂苷类、9 种萜类、5 种苯酚类、1 种苯丙素类、1 种醛类、1 种核苷类、1 种木脂素类及 8 种其他类化合物。本研究可为阐释当归四逆颗粒的药效物质基础提供依据。

关键词: 经典名方; 当归四逆颗粒; 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱(UHPLC-Q-Orbitrap/MS); 化学成分; 裂解规律

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2024)03-0432-15

doi: 10.7538/zpxb.2023.0114

Identification of Chemical Components of Danggui Sini Granules by UHPLC-Q-Orbitrap/MS

GUO Qian-chi, WANG Kang-yu, ZHANG Ling-yue, GUO Yun-long, GONG Ji-yu, GAO Wen-yi

(College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

Abstract: Due to the complexity and diversity of the chemical composition of traditional Chinese medicines (TCMs), the identification of components of TCMs can effectively guarantee the quality of TCMs and be of great significance for the development and utilization of TCMs. In this study, the ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-electrostatic field Orbitrap mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap/MS) was used to comprehensively analyze the chemical composition of Danggui Sini Granules. The UHPLC separation was performed on a SUPELCO C18 column (100 mm×4.6 mm×2.7 μm), and the column temperature was 30 °C, the injection volume was 5 μL. The mobile phase was consisted of 0.1% formic acid aqueous solution (A) and acetonitrile (B) with the flow rate of 0.5 mL/min. MS data was collected under positive and negative ion modes. A self-constructed database of organic acids, flavonoids, phthalides, triterpenoids, saponins and other compounds was established by searching online databases. Rapid identification of the constituents of

Danggui Sini Granules based on precise m/z and secondary fragment ion information in combination with literature data was achieved, and the herbal sources of the compounds were attributed. Seventy-two compounds are identified from Danggui Sini Granules, including 20 flavonoids, 15 organic acids, 11 saponins, 9 terpenoids, 5 phthalides, 1 phenylpropanoid, 1 aldehyde, 1 nucleoside, 1 lignan and 8 other compounds. Among them, the organic acids and phthalides are mainly from *Angelicae Sinensis Radix*, the flavonoids are mainly from *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, the saponins are mainly from *Akebiae Caulis*, the terpenoids are mainly from *Paeoniae Radix Rubra*, the nucleosides are mainly from *Jujubae Fructus*, and other compounds are mainly from *Asari Radix et Rhizoma* and *Cinnamomi Cortex*. The results showed that the chemical composition of this compound preparation is rich and structurally diverse, which not only provides data support for comprehensive understanding of its chemical composition, but also a preliminary research basis for clarifying the material basis of its pharmacological action. However, there are still some unknown species whose specific structures have not been clarified. The structural identification and differentiation of these compounds are somewhat limited in the absence of sufficient controls, and can be followed up with deeper separation and identification by techniques such as nuclear magnetic resonance mass spectrometry (NMR-MS).

Key words: classic prescription; Danggui Sini Granules; ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-electrostatic field Orbitrap mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap/MS); chemical constituents; fragmentation pattern

当归四逆汤出自张仲景的《伤寒论》,“手足厥寒,脉细欲绝者,当归四逆汤主之”^[1],由当归、桂枝、芍药、细辛、通草、大枣及甘草组方,为治疗血虚寒厥的经典方,收录于《古代经典名方目录(第一批)》。当归四逆汤临床上应用于血栓性疾病、风湿性关节炎等病症的治疗^[2-3],疗效显著。现代药理学研究表明^[4],当归四逆汤具有抗炎、镇痛、抗凝血等药理作用。在动物实验中,当归四逆汤可显著降低小鼠凝血功能中的凝血时间、血浆复钙时间等指标,但其发挥药效的物质基础仍不明确^[5]。

中药的药效是多成分共同作用的结果,对中药进行全面的成分分析是中药质量控制的必然趋势^[6]。原方多以传统汤剂形式服用,存在煎煮繁琐、携带不便等缺点;颗粒剂服用更简单、便捷。现有报道多集中于当归四逆汤颗粒剂的工艺及质量标准研究,并未对其化学成分进行全面分析鉴定^[7-8]。

本实验拟采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱(UHPLC-Q-Orbitrap/MS)技术,结合精确分子质量与质谱二级碎片离子信息、保留时间、数据库、文献报道,鉴定当归四逆颗粒化学成分及其质谱裂解规律,以期探究该制剂的药效物质基础及作用机制奠定基础。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

Vanquish UHPLC超高效液相色谱仪、UHPLC-Q-Orbitrap/MS高分辨质谱仪:美国Thermo公司产品;AB135-S十万分之一电子天平、AL-204万分之一电子天平:瑞士梅特勒-托利多公司产品;KQ-500E数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司产品;KES-W22CS208H电陶炉:深圳市康佳智能电器科技有限公司产品;JY-30M鼓风干燥箱:上海亚荣生化仪器厂产品;TGL16E台式高速冷冻离心机:长沙英泰仪器有限公司产品。

1.2 主要材料与试剂

当归(批号:甘肃岷县20181103)、赤芍(批号:内蒙赤峰191002)、肉桂(批号:广东肇庆GDZ20190901)、细辛(批号:吉林通化JLT20190805)、木通(批号:陕西汉中17099203)、大枣(批号:河北安国HBA20191202)、甘草(批号:甘肃陇西17111411):由神威药业集团有限公司提供;糊精(食品级):禾兴生物科技有限公司产品;当归四逆颗粒(批号:20210506、20210512、20210516):由长春中医药大学生产;甲醇、乙腈、甲酸:均为色谱纯,美国Fisher公司产品;实验用水:超纯水。

1.3 实验条件

1.3.1 当归四逆颗粒的制备 按处方比例称取9g

当归、9 g 赤芍、9 g 肉桂、9 g 细辛、6 g 木通、6 g 炒甘草、25 g 大枣,加 10 倍量水,煎煮 3 次,每次 60 min,合并滤液浓缩,置于 60 ℃ 烘箱中干燥。取浸膏粉末,按 1:2.5 加入糊精均匀混合,喷洒适量的 80%乙醇,制软材、制颗粒、干燥、整粒,即得当归四逆颗粒^[9]。按上述工艺制备 3 批样品。

1.3.2 供试品溶液的制备 取当归四逆颗粒,研细,过 5 号筛后,精密称取 10 g,置于具塞锥形瓶中,加 20 mL 80%甲醇,称定质量,超声 20 min (500 W, 40 kHz),放冷,称定质量,加 80%甲醇补足损失的质量,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得供试品溶液。

1.3.3 化学成分库的建立 通过 CNKI、PubMed、Web of Science 和 ChemSpider 等数据库检索当归四逆颗粒中 7 味药材所含的化学成分,参考文献^[10-38]报道建库,包括化合物的名称、分子式、精确分子质量、结构式等。

1.3.4 色谱条件 SUPELCO C18 色谱柱(100 mm×4.6 mm×2.7 μm);流动相: A 为 0.1%甲酸水溶液, B 为乙腈;梯度洗脱程序: 0~5 min(5%~20%B), 5~15 min(20%~40%B), 15~25 min(40%~95%B), 25~27 min(95%~5%B), 27~35 min(5%B);流速 0.5 mL/min;柱温 30 ℃;进样量 5 μL。

1.3.5 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),正、负离子模式检测;鞘气流速 40 mL/min,辅助气流速 1 mL/min,吹扫气流速 1 mL/min;透镜电压水平(S-Lens RF)为 55%;毛细管电压 4.0 kV,毛细管温度 350 ℃;质量扫描范围 m/z 150~2 000,分辨率 70 000,使用 Full-MS/ddMS² 模式获得串联质谱数据。

2 结果与讨论

2.1 检测结果

本研究利用 UHPLC-Q-Orbitrap/MS 定性分析当归四逆颗粒的化学成分,共鉴定出 72 种化合物,并对化合物的药材来源进行归属。在正、负离子模式下,分别鉴定出 34、38 种化合物,其中包括 20 种黄酮类、15 种有机酸类、11 种皂苷类、9 种萜类、5 种苯酐类、1 种苯丙素类、1 种醛类、1 种核苷类、1 种木脂素类及 8 种其他类化合物。UHPLC-Q-Orbitrap/MS 总离子流图示于图 1,鉴定结果列于表 1。

2.1.1 黄酮类化合物 当归四逆颗粒中黄酮类

成分主要来源于甘草和细辛。黄酮类化合物广泛存在于自然界,属于植物次生代谢产物,基本母核是 2-苯基色原酮,即具有 C6-C3-C6 结构的一类化合物的总称。本研究鉴定出甘草苷、甘草素、异柚葡萄糖等 17 种黄酮类化合物。

以化合物 33 为例,保留时间为 8.89 min,在正离子模式下,其准分子离子峰为 m/z 257.079 7 $[M+H]^+$,根据准分子离子峰的精确质量数,推断其分子式为 $C_{15}H_{12}O_4$ 。在二级质谱图中,可见碎片离子 m/z 239.071 0,可能为 B 环丢失 1 分子 H_2O 生成,继续丢失 1 分子羰基生成 m/z 211.076 4,再进一步丢失 B 环得到 m/z 147.044 3,该碎片离子经过重排 A 环失去 CO 变为五元环,得到 m/z 119.049 5。另一方面,碎片离子 m/z 239.071 0 也可进一步发生逆狄尔斯-阿德尔(RAD)反应得到 m/z 137.023 7,这与文献^[17]报道一致。基于此,推断化合物 33 为甘草素,来源于甘草。在正离子模式下,甘草素的质谱图和可能的裂解途径示于图 2。

以化合物 32 为例,正离子模式下,其准分子离子峰为 m/z 419.131 7 $[M+H]^+$,推断该化合物的分子式为 $C_{21}H_{22}O_9$,二级质谱图中出现 m/z 257.081 4,推测是由分子离子丢失 1 分子糖基得到。其余部分的裂解规律与甘草苷一致,结合相关文献^[31]报道,确定该化合物为甘草苷,可能的裂解途径示于图 3。

2.1.2 苯酐类化合物 当归四逆颗粒中苯酐类成分主要来源于当归。苯酐类化合物是伞形科植物的特征性成分,以苯并五元内酯环为母核结构衍生而成的一类酯类化合物,大致分为简单苯酐类、二聚苯酐类。苯酐类化合物在质谱裂解中易丢失 H_2O 、CO 等中性碎片,也易失去侧链上的烯烃结构^[39]。本研究鉴定出丁烯基苯酐、Z-藁本内酯等 5 种苯酐类化合物。

以化合物 42 为例,保留时间为 12.55 min,在正离子模式下,其准分子离子峰为 m/z 191.105 4 $[M+H]^+$,根据精确质量数,推断该化合物的分子式为 $C_{12}H_{14}O_2$ 。二级质谱图中可见碎片离子 m/z 173.096 2,可能为该化合物失去 1 分子 H_2O 生成,继续丢失 1 分子 CO 生成碎片离子 m/z 145.101 6。与文献^[33]比对,推断该化合物为 Z-藁本内酯,来源于当归。在正离子模式下,Z-藁本内酯的质谱图和可能的裂解途径示于图 4。

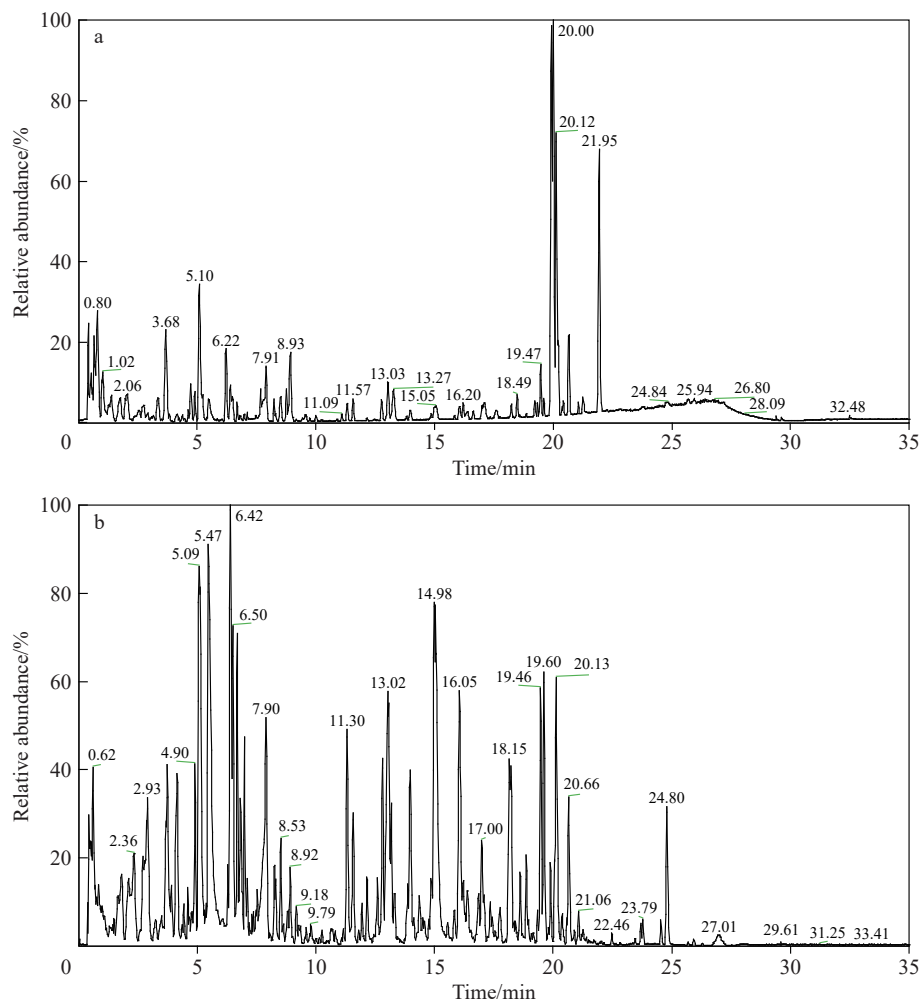


图 1 正(a)、负(b)离子模式下,当归四逆颗粒(20210506)的总离子流图
Fig. 1 Total ion chromatograms of Danggui Sini Granules (20210506)
under positive (a) and negative (b) ion modes

表 1 当归四逆颗粒中化学成分鉴定
Table 1 Identification of chemical constituents in Danggui Sini granules

序号 No.	保留 时间 t_R /min	化合物 Compound	分子离子 Molecular ion	实测值 Measured value (m/z)	碎片离子 Fragment ion (m/z)	误差 Error/ $\times 10^{-6}$	分子式 Molecular formula	类型 Classification	归属 Ascription
1	0.64	腺苷 ^[10]	$[M+H]^+$	268.1040	136.0622, 119.0354	-2.24	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	核苷类	DZ
2	0.68	咖啡酸 ^[10]	$[M-H]^-$	179.0338	135.0336, 110.0138	-4.47	$C_9H_8O_4$	有机酸类	DZ
3	0.75	没食子酸 ^[11]	$[M-H]^-$	169.0125	125.0243	-3.55	$C_7H_6O_5$	有机酸类	CS
4	0.77	精氨酸 ^[10]	$[M+H]^+$	175.1179	158.0926, 116.0711	-6.28	$C_6H_{14}N_4O_2$	有机酸类	DZ
5	0.83	牡丹酮-1- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷 或异构体 ^[11]	$[M+HCOO]^-$	405.1392	359.1343, 197.0811, 179.0565	-1.97	$C_{16}H_{24}O_9$	萜类	CS
6	1.52	原儿茶酸 ^[11]	$[M-H]^-$	153.0177	109.0261, 107.1303	-3.27	$C_7H_6O_4$	有机酸类	CS
7	2.12	3-氨基-2-萘甲酸 ^[12]	$[M+H]^+$	188.0696	170.0606, 144.0813, 142.0651	-5.32	$C_{11}H_9NO_2$	其他类	GC

续表

序号 No.	保留 时间 t_R/min	化合物 Compound	分子离子 Molecular ion	实测值 Measured value (m/z)	碎片离子 Fragment ion (m/z)	误差 Error/ $\times 10^{-6}$	分子式 Molecular formula	类型 Classification	归属 Ascription
8	2.42	绿原酸 ^[13]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	355.1003	163.0393, 117.0343	-1.97	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	有机酸类	XX
9	3.15	牡丹酮-1- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷 或异构体 ^[11]	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	405.1392	359.1348, 179.0553, 197.0812	-3.21	$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_9$	萜类	CS
10	4.43	樱桃苷 ^[14]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	435.1262	153.0184, 119.0498	-5.52	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	黄酮类	XX
11	5.19	异麦芽糖芍药苷 异构体 ^[15]	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	687.2114	121.0284, 445.1135, 121.0284	-4.07	$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_{16}$	萜类	CS
12	5.72	氧化芍药苷异构体 ^[16]	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	541.1536	195.0654, 165.0549, 137.0234, 121.0284	-4.99	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$	萜类	CS
13	5.86	异夏佛塔苷 ^[17]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	563.1388	563.1393, 413.0887, 381.1919, 269.0827	-3.25	$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$	黄酮类	GC
14	5.87	葡萄糖甘草苷 ^[17]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	711.2120	711.2120, 255.0665	-3.08	$\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{O}_{18}$	黄酮类	GC
15	5.92	阿魏酸 ^[18]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	195.0646	177.0550, 149.0602	-3.59	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	有机酸类	DG
16	5.98	卡枯醇 ^[19]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	193.0496	183.1887, 123.3591	0.52	$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_4$	其他类	XX
17	6.27	Catechin-7- <i>O</i> -gallate ^[20]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	441.0792	289.0717, 271.0616, 227.0718, 119.0491	-6.35	$\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$	其他类	CS
18	6.79	芍药苷 ^[21]	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	525.1597	449.1459, 327.1088, 165.0549, 121.0284	-3.43	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	萜类	CS
19	6.93	环五亮氨酸 ^[22]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	566.4246	209.1659, 114.0919, 96.0814	-4.94	$\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_5$	有机酸类	DG
20	7.04	2-Methoxycinnamaldehyde ^[23]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	163.0758	135.0441, 145.0651	2.45	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_2$	醛类	RG
21	7.17	五没食子酰 葡萄糖 ^[11]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	939.1088	787.0952, 769.0882, 631.1659, 169.0137	-1.81	$\text{C}_{41}\text{H}_{32}\text{O}_{26}$	有机酸类	CS
22	7.36	木通苯乙醇苷-B ^[24]	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	477.1389	221.0411, 161.0235	-0.42	$\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$	苯丙素类	MT
23	7.41	左旋千金藤碱 ^[25]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	328.1526	207.1014, 83.0612	-0.61	$\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_4$	其他类	DZ
24	7.46	芍药内酯苷 ^[26]	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	525.1597	479.1558, 449.1446, 121.0284	-2.09	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	萜类	CS
25	7.47	异柚葡萄糖苷 ^[17]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	433.1129	433.1141, 271.0617	-2.58	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	黄酮类	GC
26	7.58	山柰酚-3-7-二- <i>O</i> - β -D-葡萄 糖苷 ^[27]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	609.1441	447.1017, 325.1077, 121.0284	-1.97	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	黄酮类	CS
27	7.64	环六亮氨酸 ^[22]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	679.5078	679.5127, 566.4323, 435.3335, 322.2499, 209.1653, 114.0919	-6.62	$\text{C}_{36}\text{H}_{66}\text{N}_6\text{O}_6$	有机酸类	DG

续表

序号 No.	保留 时间 t_R /min	化合物 Compound	分子离子 Molecular ion	实测值 Measured value (m/z)	碎片离子 Fragment ion (m/z)	误差 Error/ $\times 10^{-6}$	分子式 Molecular formula	类型 Classification	归属 Ascription
28	7.90	牡丹皮苷 ^[22]	[M+HCOO] ⁻	525.1597	479.1546, 327.1082, 121.0284	-3.24	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	萜类	CS
29	8.49	异甘草苷 ^[28]	[M+H] ⁺	419.1317	257.0813, 211.0756, 239.0707, 137.0237, 119.0498	-5.72	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	黄酮类	GC
30	8.62	3',6'-二-O-没食子酰 芍药苷 ^[29]	[M-H] ⁻	783.1750	631.1662, 313.0580, 255.0663	-4.85	C ₃₇ H ₃₆ O ₁₉	萜类	CS
31	8.63	芹糖异甘草苷 ^[30]	[M+H] ⁺	551.1732	447.6061, 257.0814, 147.0443	-4.89	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	黄酮类	GC
32	8.79	甘草苷 ^[31]	[M+H] ⁺	419.1317	257.0814, 239.0703, 211.0759, 147.0444, 137.0237, 119.0499	-3.89	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	黄酮类	GC
33	8.89	甘草素 ^[30]	[M+H] ⁺	257.0797	239.0710, 211.0764, 147.0443, 137.0237, 119.0495	-4.27	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	黄酮类	GC
34	9.03	23-Hydroxy-3 β - [(<i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl- (1 $\rightarrow$ 2)- α -L- arabinopyranosyl)oxy]olean- 12-en-28-oic acid <i>O</i> - α -L- rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl ester ^[24]	[M+HCOO] ⁻	1265.6119	1219.6133, 749.4470, 603.3861, 469.1566	-3.24	C ₅₉ H ₉₆ O ₂₆	皂苷类	MT
35	9.53	6,7-二羟基-4-甲氧基 异黄酮 ^[17]	[M+H] ⁺	285.0739	234.7146, 253.0502, 225.0553	-7.17	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	黄酮类	GC
36	10.21	丁烯基苯酚 ^[32]	[M+H] ⁺	189.0899	171.0806, 143.0860, 115.0548	-5.82	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	苯酚类	DG
37	10.8	柚皮素 ^[30]	[M+H] ⁺	273.0747	255.0652, 153.0186, 147.0441, 119.0498	-4.02	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	黄酮类	GC、XX
38	10.81	Yunganosi de K2 6 ^[28]	[M-H] ⁻	837.3967	351.0572, 193.0350	2.84	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₇	皂苷类	GC
39	10.84	刺甘草查尔酮 ^[30]	[M+H] ⁺	271.0949	253.0503, 243.0654, 137.0233, 119.0497	-5.90	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	黄酮类	GC
40	11.03	鼠李柠檬素 ^[17]	[M-H] ⁻	299.0554	299.0564, 284.0324, 255.0665	-2.37	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	黄酮类	GC
41	11.79	23-Hydroxy-3 β -[(<i>O</i> - α -L- arabinopyranosyl) oxy]olean-12-en-28-oic acid <i>O</i> - α -L-rhamnopyranosyl- (1 $\rightarrow$ 4)- <i>O</i> - β -D- glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D- glucopyranosyl ester ^[24]	[M+HCOO] ⁻	1119.5544	1073.5500, 603.3889, 469.1579	-3.30	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₂	皂苷类	MT

续表

序号 No.	保留 时间 t_R/min	化合物 Compound	分子离子 Molecular ion	实测值 Measured value (m/z)	碎片离子 Fragment ion (m/z)	误差 Error/ $\times 10^{-6}$	分子式 Molecular formula	类型 Classification	归属 Ascription
42	12.55	Z-薹本内酯 ^[33]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	191.1054	173.0962, 135.0446, 145.1016, 91.0549, 79.0549	-4.19	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_2$	苯酞类	DG
43	12.7	异甘草素 ^[18]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	257.0797	239.0715, 211.0761, 147.044 4, 137.0237, 119.0495	-4.43	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$	黄酮类	GC
44	12.97	芒柄花素 ^[34]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	267.0658	252.0411, 223.0424	8.61	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$	黄酮类	DG
45	13.17	Formononetin ^[35]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	269.0790	254.0574, 237.0549	-4.09	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$	黄酮类	DG
46	13.49	$3\beta-[(O-\beta-D\text{-Glucopyranosyl-}(1\rightarrow3)-O-\alpha-L\text{-rhamnopyranosyl-}(1\rightarrow2))-\alpha-L\text{-arabinopyranosyl}]\text{oxy}]$ -23-hydroxyolean-12-en-28-oic acid $O-\alpha-L\text{-rhamnopyranosyl-}(1\rightarrow4)-O-\beta-D\text{-glucopyranosyl-}(1\rightarrow6)-\beta-D\text{-glucopyranosyl ester}$ ^[24]	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	1381.6536	1335.6578, 865.4957, 469.1562	-7.09	$\text{C}_{65}\text{H}_{106}\text{O}_{31}$	皂苷类	MT
47	13.71	$3\beta-[(O-\alpha-L\text{-Rhamnopyranosyl-}(1\rightarrow2)-\alpha-L\text{-arabinopyranosyl}]\text{oxy}]$ olean-12-en-28-oic acid $O-\alpha-L\text{-rhamnopyranosyl-}(1\rightarrow4)-O-\beta-D\text{-glucopyranosyl-}(1\rightarrow6)-\beta-D\text{-glucopyranosyl ester}$ ^[24]	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	1249.5796	1203.6107, 469.1559	0.48	$\text{C}_{61}\text{H}_{88}\text{O}_{24}$	皂苷类	MT
48	14.34	$3\beta-[\alpha-L\text{-Arabinopyranosyl}]\text{oxy}]$ olean-12-en-28-oic acid $O-\alpha-L\text{-rhamnopyranosyl-}(1\rightarrow4)-O-\beta-D\text{-glucopyranosyl-}(1\rightarrow6)-\beta-D\text{-glucopyranosyl ester}$ ^[24]	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	1103.5603	587.3945, 469.1562	-2.63	$\text{C}_{53}\text{H}_{86}\text{O}_{21}$	皂苷类	MT
49	14.77	甘草皂苷 ^[36]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	839.4009	469.3321, 451.3226, 217.1582	-6.07	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{17}$	皂苷类	GC
50	15.29	Atractylenolide II ^[35]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	233.1521	175.0757	-9.86	$\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_2$	其他类	DG
51	15.57	(Z)-5,8,11-Trihydroxyoctadec-9-enoic acid ^[35]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	329.2327	293.2138, 211.1342, 171.1032	-6.68	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_5$	有机酸类	DG
52	15.92	Dibutyl phthalate ^[35]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	279.1575	233.1541, 205.1583, 191.1070, 149.0237	-5.01	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$	其他类	DG
53	16.61	甘草次酸-3-芹糖葡萄糖醛酸苷 ^[17]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	777.4017	777.4017, 627.3419	-6.40	$\text{C}_{41}\text{H}_{62}\text{O}_{14}$	皂苷类	GC
54	16.68	乌拉尔甘草皂苷C ^[30]	$[\text{M}-\text{H}]^-$	823.4091	777.4052, 351.0559, 287.2229	-3.76	$\text{C}_{42}\text{H}_{64}\text{O}_{16}$	皂苷类	GC
55	17.14	甘草香豆素 ^[30]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	369.1314	369.1324, 313.0699, 285.0767, 270.0526	-5.15	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$	黄酮类	GC
56	17.59	Unknown ^[35]	$[\text{M}+\text{H}]^+$	415.2089	207.1025, 191.1081, 123.0448	-4.09	$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6$	苯酞类	DG

续表

序号 No.	保留 时间 t_R /min	化合物 Compound	分子离子 Molecular ion	实测值 Measured value (m/z)	碎片离子 Fragment ion (m/z)	误差 Error/ $\times 10^{-6}$	分子式 Molecular formula	类型 Classification	归属 Ascription
57	17.98	(10 <i>E</i> ,15 <i>E</i>)-9,12,13-Trihydroxyoctadeca-10,15-dienoic acid ^[35]	[M-H] ⁻	327.2169	229.1432, 211.1341	0	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	有机酸类	DG
58	17.98	malyngic acid ^[37]	[M-H] ⁻	327.2169	309.1123, 211.1341, 171.1015	-2.44	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	有机酸类	CS
59	18.29	甘草利酮 ^[30]	[M+H] ⁺	383.1464	327.0870, 312.0621, 299.0925, 283.0612, 137.0237	-6.52	C ₂₂ H ₂₂ O ₆	黄酮类	GC
60	18.49	9,10-Dihydroxy-12 <i>Z</i> -octadecenoic acid ^[35]	[M-H] ⁻	313.2379	201.1126, 171.1021	-5.42	C ₁₈ H ₃₄ O ₄	有机酸类	DG
61	18.51	Tetradecyldiethanolamine ^[35]	[M+H] ⁺	302.3034	284.2950	-9.26	C ₁₈ H ₃₉ NO ₂	其他类	DG
62	18.59	甘草黄酮C ^[17]	[M+H] ⁺	339.1204	337.1214, 283.0611	-6.78	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	黄酮类	GC
63	18.7	甘草酚 ^[17]	[M+H] ⁺	367.1151	311.0628, 281.0425, 253.0544	-6.86	C ₂₁ H ₁₈ O ₆	黄酮类	GC
64	18.9	甘草皂苷C2 ^[17]	[M-H] ⁻	805.3980	351.0524	-4.47	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₅	皂苷类	GC
65	18.90	3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -Glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)- α - <i>L</i> -rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- α - <i>L</i> -arabinopyranosyl oleanolic acid ^[24]	[M-H] ⁻	895.4653	895.4648, 666.3622	-4.24	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₆	皂苷类	MT
66	19.25	细辛脂素 ^[38]	[M+NH ₄] ⁺	372.1424	173.0601, 161.0598, 135.0446	-3.76	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	木脂素类	XX
67	19.54	Unknown ^[35]	[M+H] ⁺	399.2144	307.1698, 191.1070, 173.0961, 135.0445	-2.25	C ₂₄ H ₃₀ O ₅	苯酚类	DG
68	20.52	Canrenone ^[34]	[M-H] ⁻	339.1989	183.0116, 116.9274	4.71	C ₂₂ H ₂₈ O ₃	萜类	DG
69	22.04	Tokinolide B or isomer ^[34]	[M+H] ⁺	381.2039	191.1066, 173.0953, 163.1114, 155.0864, 145.1015, 119.0861, 117.0689	-7.34	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	苯酚类	DG
70	22.52	13-Hydroxy-9,11-octadecadienoic acid ^[35]	[M-H] ⁻	295.2270	277.2174, 195.1381, 91.0024	-6.10	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	有机酸类	DG
71	24.75	亚油酸 ^[35]	[M-H] ⁻	279.2320	279.2333, 261.2236	-8.23	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	有机酸类	DG、DZ
72	25.85	硬脂酰胺 ^[35]	[M+H] ⁺	284.2935	114.0921, 102.0924	-7.03	C ₁₈ H ₃₇ NO	其他类	DG

注: DG表示当归; CS表示赤芍; MT表示木通; XX表示细辛; RG表示肉桂; GC表示甘草; DZ表示大枣

以化合物 36 为例, 保留时间为 10.21 min, 在正离子模式下, 其准分子离子峰为 m/z 189.089 9 [M+H]⁺, 根据准分子离子峰的精确质量数, 推断该化合物分子式为 C₁₂H₁₂O₂, 其裂解过程与 *Z*-藁本内酯相似, 主要产生 m/z 143.086 7、115.053 9 碎片离子。结合文献^[32]报道, 推断其为丁烯基苯酐。在正离子模式下, 丁烯基苯酐可能的裂解途

径示于图 5。

2.1.3 有机酸类化合物 当归四逆颗粒中有机酸类成分主要来源于当归、赤芍及大枣, 是广泛存在于自然界中的酸性有机物, 具有抗贫血、增强免疫功能、调节血压、降血脂等作用。本研究鉴定出阿魏酸、精氨酸、亚油酸等 15 种有机酸类化合物。

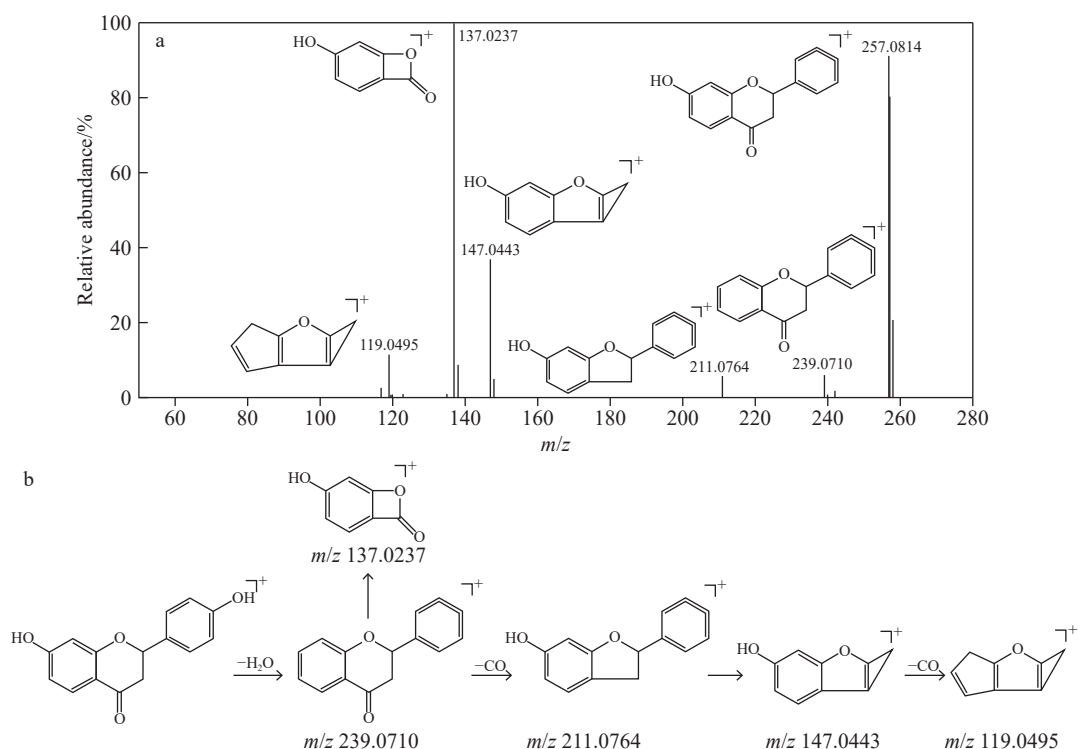


图2 正离子模式下,甘草素的质谱图(a)和可能的裂解途径(b)

Fig. 2 Mass spectrum (a) and possible fragmentation pathways (b) of liquiritigenin under positive ion mode

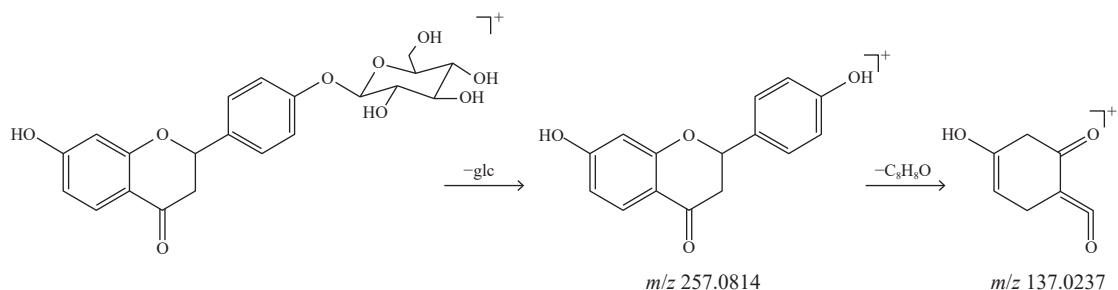


图3 甘草苷可能的裂解途径

Fig. 3 Possible fragmentation pathways of liquiritin

以化合物 15 为例,保留时间为 5.92 min,在正离子模式下,其准分子离子峰为 m/z 195.064 6 $[M+H]^+$,根据精确质量数,推断该化合物的分子式为 $C_{10}H_{10}O_4$ 。在二级质谱图中出现 m/z 177.054 4、149.060 2 碎片离子,分别为先后丢失 1 分子 H_2O 及 1 分子 $HCOOH$ 得到。通过与文献^[18]比对,推断该化合物为阿魏酸,其质谱图和可能的裂解途径示于图 6。

2.1.4 萜类化合物 当归四逆颗粒中萜类化合物主要来源于赤芍,是由甲戊二羟酸衍生,且分子骨架以异戊二烯单元 $(C_5H_8)_n$ 为基本结构单元的化合物及其衍生物。本研究共鉴定出芍药

苷、芍药内酯苷、牡丹皮苷 I 等 7 种萜类化合物,均在负离子模式下响应较好,准分子离子多以 $[M+HCOO]^-$ 为主。

以化合物 18 为例,保留时间为 6.79 min,在负离子模式下,其准分子离子峰为 m/z 525.159 7 $[M+HCOO]^-$,经文献^[11]比对,初步判断其为芍药苷或芍药内酯苷,分子式为 $C_{23}H_{28}O_{11}$ 。在二级质谱图中,出现 m/z 449.145 9、327.108 8 碎片离子,分别为先后丢失 1 分子 CH_2O 及 1 分子苯甲酸得到, m/z 121.028 4 是苯甲酰取代基离子峰。通过与文献^[11]比对,推断该化合物为芍药苷,其质谱图和可能的裂解途径示于图 7。

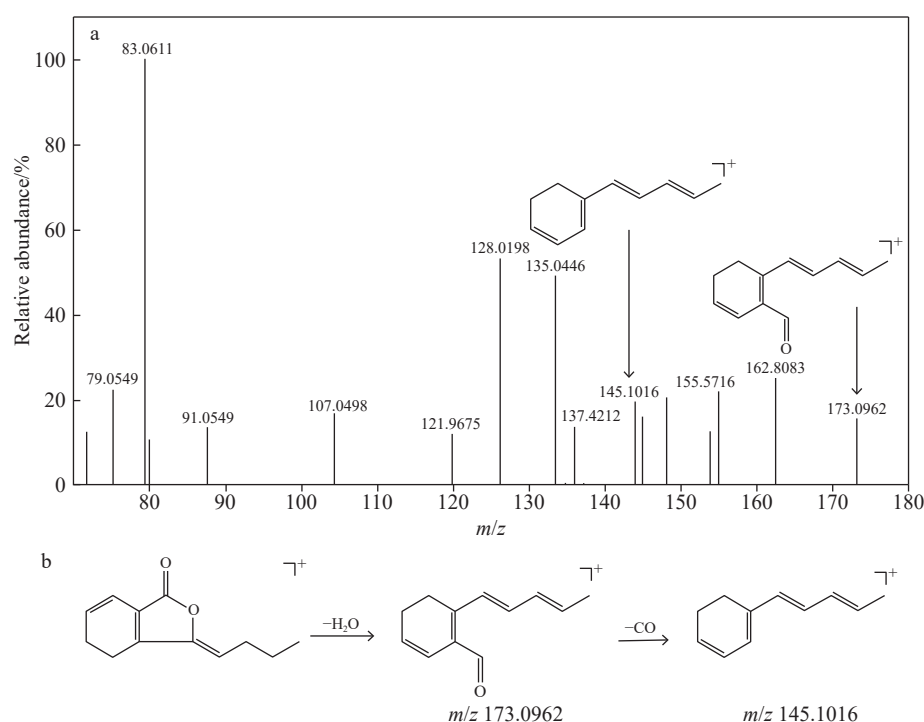
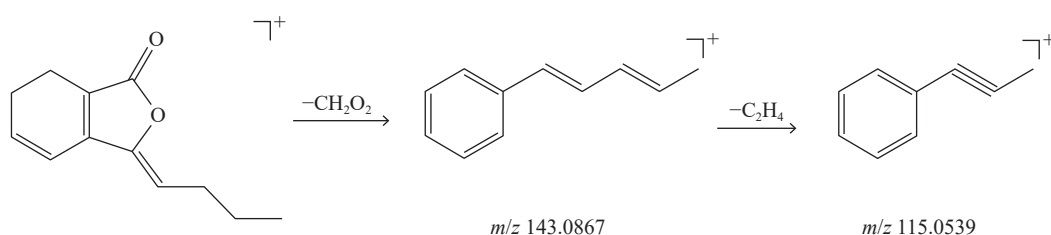
图4 正离子模式下, *Z*-藁本内酯的质谱图(a)和可能的裂解途径(b)Fig. 4 Mass spectrum (a) and possible fragmentation pathways (b) of *Z*-ligustilide under positive ion mode

图5 丁烯基苯酞可能的裂解途径

Fig. 5 Possible fragmentation pathways of butylidene phthalide

以化合物 24 为例, 保留时间为 7.46 min, 在负离子模式下, 其准分子离子峰为 m/z 525.159 7 $[M+HCOO]^-$, 裂解方式与芍药苷相似。在二级质谱图中, 可见 m/z 449.144 6、121.028 4 碎片离子。通过与文献^[26]比对, 推断该化合物为芍药内酯苷。

2.1.5 皂苷类化合物 当归四逆颗粒中皂苷类化合物主要来源于木通及甘草, 是苷元为三萜或螺旋甾烷类化合物的一类糖苷, 主要分布于陆地高等植物中, 具有抗炎、杀菌、抗氧化等药理作用。本研究共鉴定出甘草皂苷、23-hydroxy-3 β -[(*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-arabinopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid *O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl ester 等 11 种皂苷类化合物。

以化合物 34 为例, 保留时间为 9.03 min, 在负离子模式下, 其准分子离子峰为 m/z 1 265.611 9 $[M+HCOO]^-$, 根据精确质量数, 推断其分子式为 $C_{59}H_{96}O_{26}$ 。在二级质谱图中, 出现 m/z 1 219.613 3、749.447 0、603.386 1、469.156 6 碎片离子, 其中 m/z 469.156 6 碎片离子表明该化合物的侧链存在“Rha $\rightarrow$ 4Glc $\rightarrow$ 6Glc”组合。经文献^[24]比对, 推断该化合物为 23-hydroxy-3 β -[(*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-arabinopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid *O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranosyl ester。

以化合物 51 为例, 保留时间为 14.77 min, 在正离子模式下, 其准分子离子峰为 m/z 839.400 9 $[M+H]^+$, 根据精确质量数, 推断其分子式为 $C_{42}H_{62}O_{17}$ 。

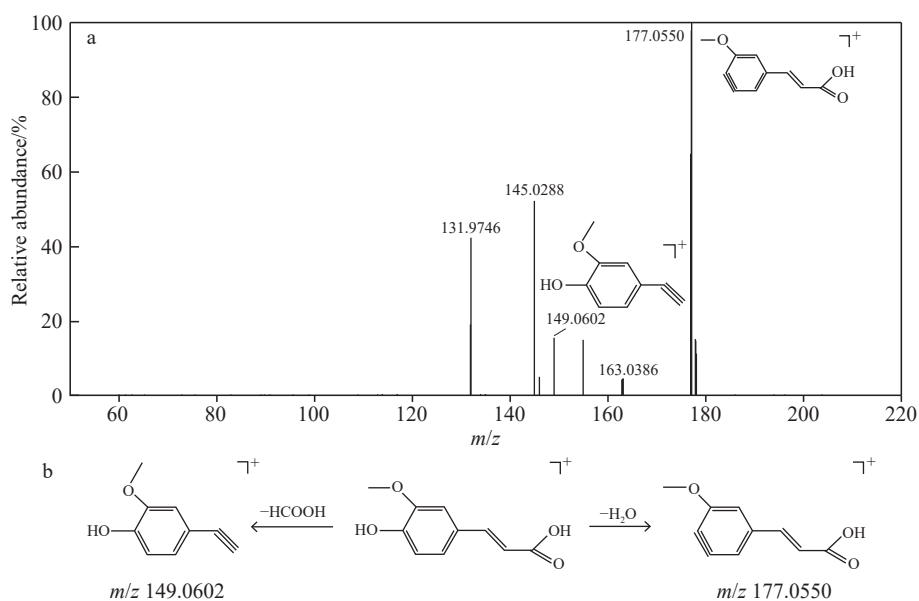


图6 正离子模式下,阿魏酸的质谱图(a)和可能的裂解途径(b)

Fig. 6 Mass spectrum (a) and possible fragmentation pathways (b) of ferulic acid under positive ion mode

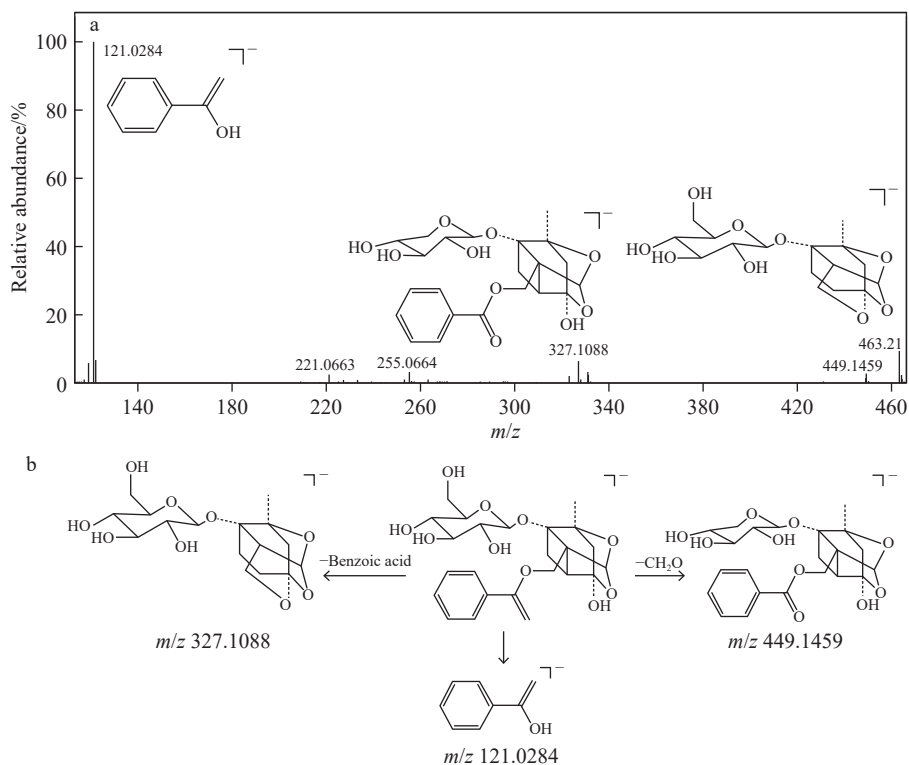


图7 负离子模式下,芍药苷的质谱图(a)和可能的裂解途径(b)

Fig. 7 Mass spectrum (a) and possible fragmentation pathways (b) of paeoniflorin under negative ion mode

在二级质谱图中,出现 m/z 469.332 1、451.322 6 碎片离子,为脱去 2 分子糖醛酸后,继续失去 1 分子 H_2O 得到。经文献^[36]比对,推断该化合物为甘草皂苷。

3 讨论

本研究利用 UHPLC-Q-Orbitrap/MS 技术,建立了快速、全面分析当归四逆颗粒化学成分的方法,共鉴定出 72 种化合物,包括 20 种黄酮类、

15种有机酸类、11种皂苷类、9种萜类、5种苯酞类、1种苯丙素类、1种醛类、1种核苷类、1种木脂素类及8种其他类化合物。通过对所有化学成分进行来源归属,其主要来源于当归、赤芍、木通及甘草。

现代药理学研究表明^[40-41],有机酸类及苯酞类化合物是当归中的主要化学成分,具有广泛的生物活性。其中,有机酸类化合物以阿魏酸最具代表性,有抗氧化、抗血栓、降血脂、镇痛抗炎等作用;苯酞类化合物以简单苯酞类化合物 Z-藁本内酯最具代表性,具有抗肿瘤、改善心血管系统、镇痛解痉等药理作用;萜类化合物以芍药苷最具代表性,为赤芍中的主要有效成分,通过降低心肌耗氧量、冠脉阻力,改善心肌耗氧量和调节心肌功能^[42];赤芍中的没食子酸、没食子酸丙酯、柚皮素还具有抗肿瘤、抗氧化、降血脂的作用^[43]。木通含有丰富的皂苷类成分,以三萜皂苷为主,具有抗肿瘤活性^[44]。甘草中含有丰富的黄酮类成分,主要包括甘草苷、异甘草苷、甘草素、甘草利酮等,具有抗氧化、抗炎、抑菌、抗肿瘤、免疫调节、抗辐射等多种药理活性^[45]。本研究为阐明当归四逆颗粒的药效物质基础提供了数据支持。

然而,在对照品不足的情况下,无法明确一些未知物的具体结构,后续可通过核磁共振-质谱等技术进行进一步的分离与鉴定。

参考文献:

- [1] 冯群,姚景春,范玉兰,程国良,李欣,关永霞,张贵民. 基于“五原则”的开心散质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J]. 中草药, 2022, 53(11): 3 550-3 556.
FENG Qun, YAO Jingchun, FAN Yulan, CHENG Guoliang, LI Xin, GUAN Yongxia, ZHANG Guimin. Predictive analysis on quality markers (Q-Marker) of Kaixin Powder based on “five principles” [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(11): 3 550-3 556(in Chinese).
- [2] 张发艳. 当归四逆汤治疗心血管疾病作用机制及应用进展[J]. 天津中医药, 2018, 35(6): 477-480.
ZHANG Fayan. Mechanism and application advance of Danggui Sini Decoction in the treatment of cardiovascular diseases[J]. Tianjin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2018, 35(6): 477-480(in Chinese).
- [3] 袁琪旻. 当归四逆汤治疗阴寒凝滞型冠心病不稳定性心绞痛的临床研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2020.
- [4] 王霞,任俊玲,孙玉然,王喜军. 当归四逆汤药理作用与临床应用研究进展[J]. 中国药业, 2022, 31(13): 123-127.
WANG Xia, REN Junling, SUN Yuran, WANG Xijun. Research progress of pharmacological effects and clinical application of Danggui Sini Decoction[J]. China Pharmaceuticals, 2022, 31(13): 123-127(in Chinese).
- [5] 黄芳,黄罗生,成俊,蒲军,朱倩,窦昌贵. 当归四逆汤活血化瘀作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5(5): 31-33.
HUANG Fang, HUANG Luosheng, CHENG Jun, PU Jun, ZHU Qian, DOU Changgui. Experimental study on the effect of Danggui Sini Decoction on promoting blood circulation and removing blood stasis[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 1999, 5(5): 31-33(in Chinese).
- [6] 刘荣霞,果德安,叶敏,王巧,张金兰. 液质联用技术(LC/MS)在中药现代研究中的应用[J]. 世界科学技术, 2005, 7(5): 33-40, 84.
LIU Rongxia, GUO Dean, YE Min, WANG Qiao, ZHANG Jinlan. Application of combined technique of LC/MS to modern research of traditional Chinese medicine[J]. Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology, 2005, 7(5): 33-40, 84(in Chinese).
- [7] 罗倩,任一杰,张启立,樊秦,彭雪晶,张喜民,赵磊. 当归四逆汤颗粒质量标准的研究[J]. 中成药, 2017, 39(10): 2 196-2 199.
LUO Qian, REN Yijie, ZHANG Qili, FAN Qin, PENG Xuejing, ZHANG Ximin, ZHAO Lei. Study on the quality standard of Danggui Sini Tang Granules[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2017, 39(10): 2 196-2 199(in Chinese).
- [8] 黄罗生,郭健新,张峻颖. 当归四逆颗粒剂提取工艺的研究[J]. 中成药, 2004, 26(7): 587-589.
HUANG Luosheng, GUO Jianxin, ZHANG Junying. Study on extraction technology of Danggui Sini Granules[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2004, 26(7): 587-589(in Chinese).
- [9] 王康宇,何文媛,葛威,李妍,张桐,高文义. 当归四逆汤物质基准的HPLC指纹图谱分析[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(7): 4 102-4 108.
WANG Kangyu, HE Wenyuan, GE Wei, LI Yan, ZHANG Tong, GAO Wenyi. HPLC fingerprint analysis of the substance benchmarks of Danggui Sini Decoction[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2022, 37(7): 4 102-4 108(in Chinese).

- [10] 许如玲, 范君婷, 董惠敏, 陈晓青, 徐金娣, 霍介格, 鞠建明. 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): 5 614-5 630.
- XU Ruling, FAN Juntong, DONG Huimin, CHEN Xiaoqing, XU Jindi, HUO Jiege, JU Jianming. UPLC-Q-TOF-MS analysis on chemical constituents of classical prescription Huangqi Guizhi Wuwu Tang standard decoction[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(23): 5 614-5 630(in Chinese).
- [11] 刘杰, 陈琳, 范彩荣, 李煌, 黄鸣清, 向青, 许文, 徐伟, 褚克丹, 林羽. 基于 HPLC-DAD-Q-TOF-MS/MS 的白芍和赤芍主要成分定性定量研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(9): 1 762-1 770.
- LIU Jie, CHEN Lin, FAN Cairong, LI Huang, HUANG Mingqing, XIANG Qing, XU Wen, XU Wei, CHU Kedan, LIN Yu. Qualitative and quantitative analysis of major constituents of *Paeoniae Radix Alba* and *Paeoniae Radix Rubra* by HPLC-DAD-Q-TOF-MS/MS[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(9): 1 762-1 770(in Chinese).
- [12] 何天雨, 王璐, 李林, 苏联麟, 谢辉, 赵晓莉, 毛靖, 郭勇, 侯金才, 毛春芹, 陆兔林, 梅茜. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的经典名方竹茹汤化学成分鉴定及网络药理学研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(19): 5 235-5 245.
- HE Tianyu, WANG Lu, LI Lin, SU Lianlin, XIE Hui, ZHAO Xiaoli, MAO Jing, GUO Yong, HOU Jincai, MAO Chunqin, LU Tulin, MEI Xi. Identification of chemical components based on UPLC-Q-TOF-MS/MS and network pharmacology of Zhuru Decoction[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2022, 47(19): 5 235-5 245(in Chinese).
- [13] 侯佳, 邹欢, 李勇军, 巩仔鹏, 王爱民. 超高效液相色谱-三重四级杆质谱同时测定灯盏细辛中 10 种指标成分的含量[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(9): 1 397-1 401, 1 371.
- HOU Jia, ZOU Huan, LI Yongjun, GONG Zipeng, WANG Aimin. Simultaneous determination of ten index compounds in *Erigeron breviscapus* using UPLC-MRM-MS[J]. Natural Product Research and Development, 2016, 28(9): 1 397-1 401, 1 371(in Chinese).
- [14] 吕帅, 吴迪, 吴兆华, 高慧媛, 孙博航, 吴立军. 辽细辛地下部分的化学成分 (II)[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(9): 707-710.
- LYU Shuai, WU Di, WU Zhaohua, GAO Huiyuan, SUN Bohang, WU Lijun. Isolation and identification of chemical constituents from roots of *Asarum heterotropides* Fr Schmidt. var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag. (II)[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2010, 27(9): 707-710(in Chinese).
- [15] SHI Y H, ZHU S, GE Y W, TOUME K, WANG Z, BATKHUU J, KOMATSU K. Characterization and quantification of monoterpenoids in different types of peony root and the related *Paeonia* species by liquid chromatography coupled with ion trap and time-of-flight mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 129: 581-592.
- [16] 谭淑瑜, 肖雪, 朴胜华, 李莎莎. 白芍水溶性成分快速鉴定研究[J]. 中药材, 2017, 40(1): 94-100.
- TAN Shuyu, XIAO Xue, PIAO Shenghua, LI Shasha. Analysis and identification of water-soluble components of *paeonia lactiflora*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2017, 40(1): 94-100(in Chinese).
- [17] 王小双. 橘皮竹茹汤成分分析及质量标准研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江省中医药科学院, 2021.
- [18] 陈方超, 高守红, 王志鹏, 杨宏, 顺庆生, 宋新华, 徐一新. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 技术鉴定藤梨根的化学成分[J]. 中国药房, 2020, 31(14): 1 725-1 731.
- CHEN Fangchao, GAO Shouhong, WANG Zhipeng, YANG Hong, SHUN Qingsheng, SONG Xinhua, XU Yixin. Identification of chemical components in *actinidia chinensis* root by UHPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. China Pharmacy, 2020, 31(14): 1 725-1 731(in Chinese).
- [19] 周严严, 高文雅, 顾欣如, 陈周全, 赵海誉, 边宝林, 杨立新, 司南, 王宏洁, 谈英. 基于 UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS 技术的清肺排毒汤化学成分鉴定及归属研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(13): 3 035-3 044.
- ZHOU Yanyan, GAO Wenya, GU Xinru, CHEN Zhouquan, ZHAO Haiyu, BIAN Baolin, YANG Lixin, SI Nan, WANG Hongjie, TAN Ying. Identification and attribution of chemical constituents of Qingfei Paidu Decoction based on UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS technology[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(13): 3 035-3 044(in Chinese).
- [20] FABRE N, RUSTAN I, de HOFFMANN E, QUETIN-LECLERCQ J. Determination of flavone, flavonol, and flavanone aglycones by negative ion liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry[J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2001, 12(6): 707-715.
- [21] 何潇, 伍慧敏, 熊乐乐, 金红利, 刘艳芳, 沈爱金, 梁鑫淼. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的赤芍单萜类成分研究[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(4): 1 005-1 013.
- HE Xiao, WU Huimin, XIONG Lele, JIN Hongli, LIU Yanfang, SHEN Aijin, LIANG Xinmiao. Monoter-

- penoids from *Paeoniae Radix Rubra* based on UPLC-Q-TOF-MS[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2023, 48(4): 1 005-1 013(in Chinese).
- [22] 牛研, 王书芳. LC-Q-TOF-MS 和 LC-IT-MSⁿ 分析当归芍药散中化学成分[J]. *中草药*, 2014, 45(8): 1 056-1 062.
- NIU Yan, WANG Shufang. Analysis on chemical constituents in Danggui-Shaoyao-San by LC-Q-TOF-MS and LC-IT-MSⁿ[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2014, 45(8): 1 056-1 062(in Chinese).
- [23] CHEN P Y, YU J W, LU F L, LIN M C, CHENG H F. Differentiating parts of *Cinnamomum cassia* using LC-qTOF-MS in conjunction with principal component analysis[J]. *Biomedical Chromatography*, 2016, 30(9): 1 449-1 457.
- [24] LING Y, ZHANG Y, ZHOU Y, JIANG D, XU L, LIAO L. Rapid detection and characterization of the major chemical constituents in *Akebia quinata* by high performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization and quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Analytical Methods*, 2016, 8(12): 2 634-2 644.
- [25] 赵洁, 王欢欢, 欧阳意, 赖华清, 郭非非, 唐力英, 吴宏伟, 杨洪军. 基于网络药理学及质谱技术的葶苈大枣泻肺汤抗心力衰竭的有效成分发现及作用机制分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(8): 151-160.
- ZHAO Jie, WANG Huanhuan, OUYANG Yi, LAI Huaqing, GUO Feifei, TANG Liying, WU Hongwei, YANG Hongjun. Explore effective constituents and mechanism of Tingli Dazao Xiefeitang in treatment of heart failure based on Network pharmacology and mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2021, 27(8): 151-160(in Chinese).
- [26] 母会丹, 朱靖博, 丁燕, 寇自农, 王振中, 萧伟. 白芍化学成分的 UPLC/Q-TOF-MS 分析[J]. *分析试验室*, 2013, 32(7): 113-117.
- MU Huidan, ZHU Jingbo, DING Yan, KOU Zinong, WANG Zhenzhong, XIAO Wei. Analysis on chemical constituents of *Paeonia lactiflora* Pall. by UPLC/Q-TOF-MS[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2013, 32(7): 113-117(in Chinese).
- [27] 金重先, 于佳禾, 刘金凤, 魏梅, 陈向东, 石晋丽, 王春国. 基于 UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术的赤芍化学成分分析及其抗银屑病活性研究[J]. *中南药学*, 2023, 21(4): 894-902.
- JIN Zhongxian, YU Jiahe, LIU Jinfeng, WEI Mei, CHEN Xiangdong, SHI Jinli, WANG Chunguo. Chemical constituents of *Paeoniae Radix Rubra* and their anti-psoriasis activity based on UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS[J]. *Central South Pharmacy*, 2023, 21(4): 894-902(in Chinese).
- [28] 陈佩东, 周习, 丁安伟. 炙甘草水煎液的 HPLC-MS 分析[J]. *中成药*, 2014, 36(10): 2 115-2 120.
- CHEN Peidong, ZHOU Xi, DING Anwei. Constituents in aqueous extract of honey fried licorice by HPLC-MS[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2014, 36(10): 2 115-2 120(in Chinese).
- [29] 周海玲, 许舜军, 周若龙, 马麟, 詹晶晶, 杨柳. 白芍、赤芍化学成分的高效液相色谱-飞行时间串联质谱分析[J]. *中药材*, 2018, 41(7): 1 637-1 640.
- ZHOU Hailing, XU Shunjun, ZHOU Ruolong, MA Lin, ZHAN Jingjing, YANG Liu. Analysis of chemical constituents of radix paeoniae alba and radix paeoniae rubra by HPLC-TOF-MS[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2018, 41(7): 1 637-1 640(in Chinese).
- [30] 袁梦, 孙国东, 刘华石, 霍金海, 王伟明. UPLC-Q-TOF-MS 法分析大青龙汤化学成分[J]. *现代中药研究与实践*, 2022, 36(1): 37-44.
- YUAN Meng, SUN Guodong, LIU Huashi, HUO Jinhai, WANG Weiming. Analysis of the chemical constituents of Daqinglong Decoction by UPLC-Q-TOF-MS[J]. *Research and Practice on Chinese Medicines*, 2022, 36(1): 37-44(in Chinese).
- [31] LI Y J, CHEN J, LI Y, LI Q, ZHENG Y F, FU Y, LI P. Screening and characterization of natural antioxidants in four *Glycyrrhiza* species by liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1 218(45): 8 181-8 191.
- [32] SHAW L H, CHEN W M, TSAI T H. Identification of multiple ingredients for a traditional Chinese medicine preparation (bu-Yang-Huan-wu-Tang) by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry[J]. *Molecules*, 2013, 18(9): 11 281-11 298.
- [33] 雷冬梅, 姚长良, 陈雪冰, 张建青, 李佳媛, 果德安. 基于 RP-Q-TOF-MS 和 HILIC-Q-TOF-MS 的经典名方当归补血汤成分分析[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(8): 2 109-2 120.
- LEI Dongmei, YAO Changliang, CHEN Xuebing, ZHANG Jianqing, LI Jiayuan, GUO Dean. Analysis of chemical constituents in classical prescription Danggui Buxue Decoction based on RP-Q-TOF-MS and HILIC-Q-TOF-MS[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2022, 47(8): 2 109-2 120(in Chinese).
- [34] 范晶. 质量-药效-代谢关联模式下当归补血汤的药效

- 物质基础研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2021.
- [35] 胡静. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 结合诊断离子与分子网络策略解析当归补血汤的化学成分[D]. 太原: 山西大学, 2021.
- [36] 赵艳敏, 刘素香, 张晨曦, 刘岱琳, 张铁军. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术的甘草化学成分分析[J]. 中草药, 2016, 47(12): 2 061-2 068.
ZHAO Yanmin, LIU Suxiang, ZHANG Chenxi, LIU Dailin, ZHANG Tiejun. Analysis on chemical constituents from Glycyrrhizae Radix et Rhizoma by HPLC-Q-TOF-MS[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(12): 2 061-2 068(in Chinese).
- [37] HE J, DONG Y, LIU X, WAN Y, GU T, ZHOU X, LIU M. Comparison of chemical compositions, antioxidant, and anti-photoaging activities of paeonia suffruticosa flowers at different flowering stages[J]. *Antioxidants*, 2019, 8(9): 345.
- [38] 陈闪闪, 杨欣怡, 戴国梁, 王一清, 曹阳, 李斐然, 刘美琛, 居文政. 高效液相-四级杆-飞行时间质谱法定性与定量分析麻黄附子细辛汤成分[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(6): 601-606.
CHEN Shanshan, YANG Xinyi, DAI Guoliang, WANG Yiqing, CAO Yang, LI Feiran, LIU Meichen, JU Wenzheng. Qualitative and quantitative analysis of constituents in Mahuang Fuzi Xixin Decoction by HPLC-VWD-Q-TOF-MS[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2022, 42(6): 601-606(in Chinese).
- [39] TAO S, LI H, LIU J. Metabolic profiling of ligustilide and identification of the metabolite in rat and human hepatocytes by liquid chromatography combined with high-resolution mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 2020, 43(24): 4 405-4 413.
- [40] 李伟霞, 泥文娟, 王晓艳, 刘现磊, 李琨, 张书琦, 陈小菲, 唐进法. 当归化学成分、药理作用及其质量标志物(Q-marker)的预测分析[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(6): 40-47, 274.
LI Weixia, NI Wenjuan, WANG Xiaoyan, LIU Xianlei, LI Kun, ZHANG Shuqi, CHEN Xiaofei, TANG Jinfa. Chemical components and pharmacological action for Danggui (radix angelicae sinensis) and predictive analysis on its quality markers[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2022, 40(6): 40-47, 274(in Chinese).
- [41] 张来宾, 吕洁丽, 陈红丽, 段金殿, 刘军伟. 当归中苯酞类成分及其药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(2): 167-176.
ZHANG Laibin, LV Jieli, CHEN Hongli, DUAN Jinao, LIU Junwei. Research progress of structures and pharmacological activities of phthalides from *Angelica sinensis*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2016, 41(2): 167-176(in Chinese).
- [42] 刘玉娥, 冯巧巧, 张岫美, 朱洁, 杨达, 周亚伟. 芍药苷对正常麻醉开胸犬血流动力学及心肌耗氧量的影响[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(9): 1 390-1 394.
LIU Yu'e, FENG Qiaoqiao, ZHANG Xiumei, ZHU Jie, YANG Da, ZHOU Yawei. Effects of paeoniflorin on hemodynamics and myocardial oxygen consumption in anesthetic dogs[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2007, 27(9): 1 390-1 394(in Chinese).
- [43] 张海生. 基于多层次相互作用网络的赤芍抗肿瘤、抗氧化及降血脂协同作用药效成分的筛选[D]. 镇江: 江苏大学, 2019.
- [44] XU Q L, WANG J, DONG L M, ZHANG Q, LUO B, JIA Y X, WANG H F, TAN J W. Two new pentacyclic triterpene saponins from the leaves of akebia trifoliata[J]. *Molecules*, 2016, 21(7): 962.
- [45] 王世苗, 张晓妍, 李紫薇. 甘草黄酮提取分离及药理活性研究进展[J]. 伊犁师范大学学报(自然科学版), 2021, 15(4): 35-42.
WANG Shimiao, ZHANG Xiaoyan, LI Ziwei. Research progress on extraction, separation and pharmacological activity of flavonoids from glycyrrhiza[J]. Journal of Yili Normal University (Natural Science Edition), 2021, 15(4): 35-42(in Chinese).

(收稿日期: 2023-10-08; 修回日期: 2023-12-15)