

UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 鉴定丹灯通脑软胶囊中多种化学成分

孙志, 赵灵灵, 左莉华, 康建, 郭三星, 张素枝, 周霖, 吕鹏, 张晓坚^{*}(郑州大学第一附属医院, 郑州 450000)

摘要: 目的 应用超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS)对丹灯通脑胶囊中的化学成分进行快速分析鉴别。方法 采用 ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm), 乙腈-0.1%甲酸水为流动相进行梯度洗脱, 分离各个化学成分, 质谱采用全扫描模式, 正负离子同时扫描检测色谱流出物。根据质谱提供的化合物精准分子量、多级碎片离子信息, 结合相关参考文献和数据库信息, 同时与对照品的相对保留时间和质谱数据进行比对, 定性鉴定化合物。结果 共鉴定出 59 种化学成分, 主要包括黄酮类、醌类、有机酸类等化学成分, 并对其药材来源进行了归属。结论 利用 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 建立的鉴别方法, 能够准确、系统、快速地鉴定丹灯通脑胶囊中的多种化学成分, 为研究丹灯通脑胶囊药效物质基础及其质量标准提供依据和参考。

关键词: 丹灯通脑软胶囊; 超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱; 化学成分分析

中图分类号: R284.1; R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2019)02-0191-09

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.02.013

引用本文: 孙志, 赵灵灵, 左莉华, 等. UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 鉴定丹灯通脑软胶囊中多种化学成分[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(2): 191-199.

Identification of Various Chemical Constituents in Dandeng Tongnao Capsule by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS

SUN Zhi, ZHAO Lingling, ZUO Lihua, KANG Jian, GUO Sanxing, ZHANG Suzhi, ZHOU Lin, LYU Peng, ZHANG Xiaojian^{*}(The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To identify the chemical constituents in Dandeng Tongnao capsule by ultra high performance liquid chromatography-Q exactive hybrid quadrupole-orbitrap high-resolution accurate mass spectrometry(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS). **METHODS** The ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ chromatographic column(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm) was used for UPLC, and the acetonitrile-0.1% formic acid water was used as mobile phase to separate various chemical constituents by gradient elution separation. Chromatographic effluent was detected by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS full scan in positive and negative ion mode. According to precise molecular weight of compounds and multistage fragment ion information detected by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS, reference and database information, it could be analyzed accurate characterization of the compound compared with relative retention time and mass spectrometry data of control sample. **RESULTS** Fifty-nine chemical constituents which mainly including flavonoids, quinones, and organic acids were identified and classified. **CONCLUSION** A variety of chemical constituents can be accurately identified by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. The results can be consulted by the further study of the pharmacodynamic basis and quality standard of Dandeng Tongnao capsule.

KEYWORDS: Dandeng Tongnao capsule; UHPLC-Q-Orbitrap HRMS; chemical constituents analysis

丹灯通脑软胶囊是由丹参、灯盏细辛、川芎、粉葛 4 味药材提取加工而制成的中药复方制剂, 具有活血化瘀、祛风通络的功效。临床上该药主要用于脑血管供血不足、糖尿病足、心绞痛、冠状动脉粥样硬化等病症的治疗, 且疗效显著^[1], 现收载于《国家中成药标准汇编》^[2]。

目前对丹灯通脑软胶囊的研究多侧重于含量测定和临床疗效观察^[3], 但这些研究都仅局限于该药中的几种成分。然而该制剂成分复杂, 少量化学成分难以全面准确地反映整体化学组成, 也难以对其质量进行全面控制。且中药复方制剂一般

通过多靶点调节机体生理, 现有文献报道^[4]的化学成分组成不足以支持对该中药复方制剂的作用特点和作用机制进行全面系统的研究。因此, 亟需一种能够对该中药制剂化学组分进行快速、全面、准确分析的方法。

本课题组前期基于 UHPLC-MS/MS 对丹灯通脑软胶囊的 9 种成分进行了定量分析和质量控制研究^[5]。近年来质谱技术发展迅速, 其技术特点为高特异性、高灵敏度、高准确度等。质谱技术是分析成分复杂的中药复方制剂的强有力检测分析手段。与其他种类质谱相比, UHPLC-Q-Orbitrap

作者简介: 孙志, 男, 博士, 主管药师 Tel: (0371)66862570
Tel: (0371)66862570 E-mail: zhangxiaojian_yxb@163.com

E-mail: sunzhi2013@163.com

^{*}通信作者: 张晓坚, 男, 主任药师

HRMS 具备高分辨率、高通量的特点,可以快速分析复杂化合物体系。本研究采用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 对丹灯通脑软胶囊的化学成分进行较为全面的鉴别分析。根据轨道离子阱分析器内检测的裂解谱图得到待测化合物精准分子量、多级碎片离子信息,结合相关参考文献和数据库信息,同时将待测化合物与对照品的相对保留时间和质谱数据进行比对,从而综合快速地鉴别待测化合物。本研究鉴别出多种黄酮类、有机酸类及其他种类化合物,为今后丹灯通脑软胶囊的药效研究和质量控制提供快速、准确的分析方法和科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 液相色谱-质谱联用系统: Ultimate 3000 超高效液相色谱仪(美国 Dionex 公司); Q-Exactive 型高分辨质谱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); MDS-6G 多通道密闭微波化学站(上海新仪微波化学科技有限公司); AL104 型万分之一分析天平[瑞士 Mettler Toledo(上海)有限公司]。

1.2 试剂

丹灯通脑软胶囊(云南施普瑞有限公司,批号: 01514061,规格:每粒 0.55 g)。

对照品:丹参酮 I(批号: MUST-16030210)、丹参酮 IIA(批号: MUST-15092512)、芹菜素(批号: MUST-16061301)、隐丹参酮(批号: MUST-16022403)、阿魏酸(批号: MUST-15091605)、丹参素(批号: MUST-15082714)、丹酚酸 B(批号: MUST-15081916)、甜菜碱(批号: MUST-17032105)、绿原酸(批号: MUST-16031610)、迷迭香酸(批号: MUST-15082904)、葛根素(批号: wkq16080605)、二氢丹参酮 I(批号: MUST-17032705)、大豆苷(批号: wkq16042704)、咖啡酸(批号: MUST-15090803)、原儿茶醛(批号: MUST-15091608)、丹酚酸 A(批号: MUST-16012810)、木犀草苷(批号: MUST-16012405)、槲皮素(批号: MUST-16031804)、芒柄花黄素(批号: MUST-17031005)、阿魏酸乙酯(批号: MUST-15103105)、洋川芎内酯 A(批号: wkq16050603)、Z 蒿本内酯(批号: MUST-16060801)均购于成都曼思特生物科技有限公司,各对照品纯度均>98%;大黄酚(批号: wkq16052603,纯度

≥98%)购于四川维克奇生物科技有限公司;甲醇、乙腈、甲酸均为色谱纯(美国 Fisher 公司);超纯水。

2 方法

2.1 供试品溶液和对照品溶液制备

取本品 3 粒,去除胶囊壳后,取内容物约 1.0 g,精密称定,置烧杯中,加入纯甲醇 50 mL,微波萃取(功率 600 W)17 min,摇匀,0.22 μm 微孔滤膜滤过,得到供试品溶液。

取各对照品 1.0 mg,精密称定后,分别置于 10 mL 量瓶中,加入纯甲醇,定容,得到 0.1 mg·mL⁻¹的单一对照品储备液;分别精密量取上述单一对照品储备液 1 mL,置于 100 mL 量瓶中,加入纯甲醇稀释至刻度,摇匀,制备成各对照品质量浓度均为 1 μg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

2.2 色谱及质谱条件

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm)。以乙腈为流动相 A,以 0.1%甲酸水溶液为流动相 B,梯度洗脱,洗脱程序如下: 0~2.0 min, 5%A; 2.0~6.0 min, 5%→35%A; 6.0~8.0 min, 35%→50%A; 8.0~13.0 min, 50%→70%A; 13.0~15.0 min, 70%→85%A; 15.0~20.0 min, 100%A; 流速为 0.2 mL·min⁻¹; 进样量为 5 μL; 柱温为 40 ℃。

2.2.2 质谱条件 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 液质联用仪: 离子源采用 HESI 源(heated ESI),辅助气体流量为 10 arb,辅助气温度为 300 ℃,离子传输管温度为 320 ℃; 正离子模式: 鞘气体积流量 40 arb,喷雾电压 3.50 kV; 负离子模式: 鞘气体积流量 38 arb,喷雾电压 2.80 kV。扫描方式采用正、负离子 Full MS/dd-MS² 模式,其中包括 1 次一级全扫描(分辨率为 7 0000 FWHM)和 1 次数据依赖的二级扫描(分辨率为 17 500 FWHM)2 个事件,质荷比窗口宽度设置为 2,碰撞能梯度为 20, 30, 40 eV,扫描范围 *m/z* 80~1 200。

2.3 化学结构分析

按“2.2”项下条件进样后,根据质谱提供的准分子离子和加合离子等信息推测并得到一级质谱的精确相对分子质量,经 Xcalibur 2.0 软件拟合分子式,并与数据库进行比对,对色谱峰进行初步推测,再依据对照品或参考文献、Mass Bank 数据库提供的保留时间及高能碰撞下产生的碎片离子信息,进一步推断待测化学成分。

3 结果

丹灯通脑软胶囊在“2.2”项下色谱及质谱条件下采集的总离子流图,见图1,混合对照品总离子流

图见图2。根据“2.3”项下数据分析方法,共鉴定出59种化学成分,其中经对照品比对鉴定得到23种,结果见表1。

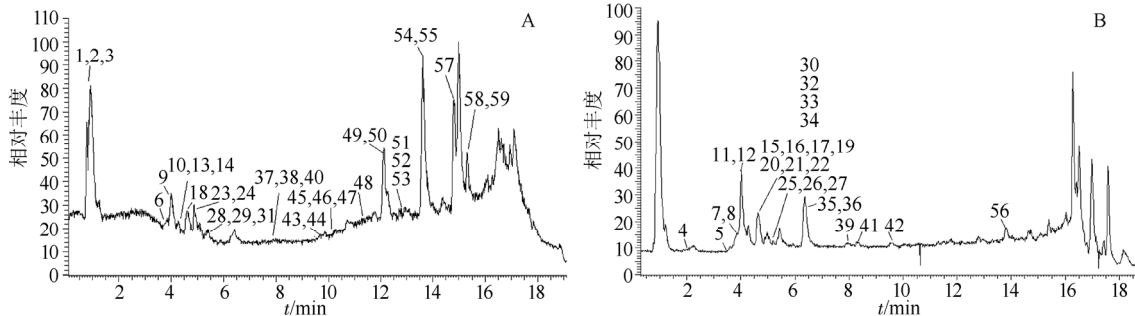


图1 丹灯通脑软胶囊总离子流图

A-正离子模式; B-负离子模式。

Fig. 1 The total ion chromatograms of Dandeng Tongnao capsule

A-positive ion mode; B-negative ion mode.

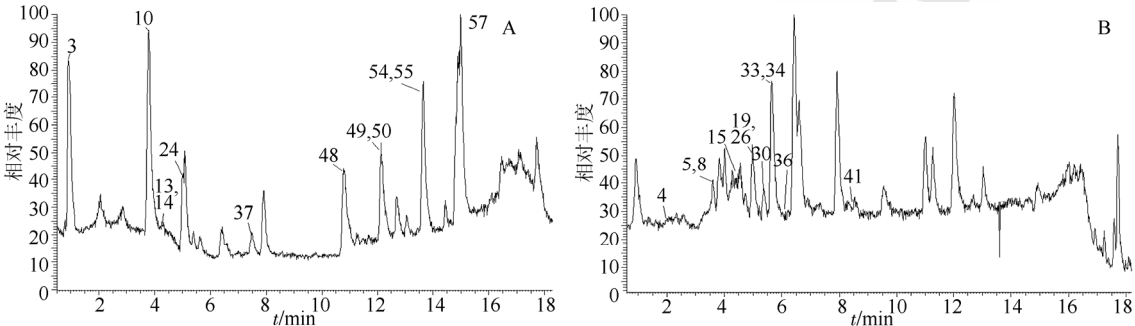


图2 混合对照品总离子流图

A-正离子模式; B-负离子模式。

Fig. 2 The total ion chromatograms of mixed standard substance

A-positive ion mode; B-negative ion mode.

表1 丹灯通脑软胶囊化学成分鉴定表

Tab. 1 The chemical constituents identification table of Dandeng Tongnao capsule

序号	化合物	分子式	t/min	m/z 理论值	m/z 实测值	误差	模式	碎片离子 m/z	药材
1	3'-羟基葛根素 ^[6]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	0.92	433.112 92	433.112 52	-0.931	正	415.10[M+H-H ₂ O] ⁺ , 397.09[M+H-2H ₂ O] ⁺ 271.06[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 161.02[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₆ O ₂] ⁺	d
2	脯氨酸 ^[7]	C ₅ H ₉ NO ₂	0.94	116.070 60	116.070 74	1.162	正	98.06[M+H-H ₂ O] ⁺ , 88.07[M+H-CO] ⁺ , 70.06[M+H-CH ₂ O ₂] ⁺	a
3	甜菜碱 ^R	C ₅ H ₁₁ NO ₂	0.95	118.086 25	118.086 36	0.888	正	72.08[M+H-CH ₂ O ₂] ⁺ , 58.07[M+H-CH ₂ O ₂ -CH ₂] ⁺	a
4	丹参素 ^R	C ₉ H ₁₀ O ₅	2.24	197.045 54	197.044 94	-3.891	负	179.03[M-H-H ₂ O] ⁻ , 135.04[M-H-CO ₂] ⁻ , 123.04[M-H-CO-CO] ⁻ , 109.03[M-H-CO-CO-CH ₂] ⁻	a
5	原儿茶醛 ^R	C ₇ H ₆ O ₃	3.58	137.024 41	137.023 15	-9.906	负	119.01[M-H-H ₂ O] ⁻ , 108.02[M-H-CHO] ⁻ , 93.03[M-H-CO ₂] ⁻	a
6	染料木苷 ^[8]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	3.77	433.112 92	433.112 43	-1.139	正	415.10[M+H-H ₂ O] ⁺ , 313.07[M+H-C ₄ H ₈ O ₄] ⁺ , 283.06[M+H-C ₄ H ₈ O ₄ -CH ₂ O] ⁺ , 255.07[M+H-C ₄ H ₈ O ₄ -CH ₂ O-CO] ⁺ , 271.06[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 163.03[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₄ O ₂] ⁺	d
7	1-咖啡酰奎宁酸/5-咖啡酰奎宁酸 ^[9]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	3.79	353.087 80	353.087 68	-0.355	负	191.05[M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 173.04[M-H-C ₉ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻ , 161.02[M-H-C ₇ H ₁₂ O ₆] ⁻	b
8	绿原酸 ^R	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	3.86	353.087 80	353.087 62	-0.525	负	191.05[M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 179.03[M-H-C ₇ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 161.02[M-H-C ₇ H ₁₀ O ₅ -H ₂ O] ⁻ , 135.04[M-H-C ₇ H ₁₀ O ₅ -CO ₂] ⁻	c
9	葛根素木糖苷 ^[10]	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	4.01	549.160 26	549.159 48	-1.434	正	417.11[M+H-C ₅ H ₈ O ₄] ⁺ , 399.10[M+H-C ₅ H ₈ O ₄ -H ₂ O] ⁺ , 297.07[M+H-C ₅ H ₈ O ₄ -C ₄ H ₈ O ₄] ⁺ , 267.06[M+H-C ₅ H ₈ O ₄ -C ₅ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 239.07[M+H-C ₅ H ₈ O ₄ -C ₅ H ₁₀ O ₅ -CO] ⁺	d

续表 1

序号	化合物	分子式	t/min	m/z 理论值	m/z 实测值	误差	模式	碎片离子 m/z	药材
10	葛根素 ^R	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	4.05	417.118 00	417.117 43	-0.579	正	399.10[M+H-H ₂ O] ⁺ , 381.09[M+H-2H ₂ O] ⁺ , 297.07[M+H-C ₄ H ₈ O ₄] ⁺ , 267.07[M+H-C ₃ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 239.07[M+H-C ₃ H ₁₀ O ₅ -CO] ⁺	d
11	3'-甲氧基葛根素 ^[11]	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	4.10	445.114 02	445.113 62	-0.899	负	325.07[M-H-C ₄ H ₈ O ₄] ⁻ , 310.04[M-H-C ₄ H ₈ O ₄ -CH ₃] ⁻ , 297.07[M-H-C ₄ H ₈ O ₄ -CO] ⁻ , 282.05[M-H-C ₆ H ₁₁ O ₅] ⁻	d
12	香草酸 ^[12]	C ₈ H ₈ O ₄	4.22	167.034 98	167.033 84	-6.837	负	123.04[M-H-CO ₂] ⁻ , 95.04[M-H-CO ₂ -CO] ⁻	c
13	大豆苷 ^R	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	4.26	417.118 00	417.117 46	-1.315	正	399.10[M+H-H ₂ O] ⁺ , 297.07[M+H-C ₄ H ₈ O ₄] ⁺ , 255.06[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 137.02[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₈ H ₆ O] ⁺ , 119.05[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₄ O ₃] ⁺	d
14	大黄酮 ^R	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	4.28	255.065 18	255.064 45	-2.883	正	227.07[M+H-CO] ⁺ , 199.07[M+H-CO-CO] ⁺ , 181.06[M+H-CO-CO-H ₂ O] ⁺ , 171.08[M+H-CO-CO-CO] ⁺ , 153.07[M+H-CO-CO-H ₂ O-CO] ⁺	c
15	木犀草苷 ^R	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	4.55	447.093 28	447.093 05	-0.525	负	285.04[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 256.03[M-H-C ₃ H ₁₀ O ₅ -CHO] ⁻	b
16	紫草酸 ^[13]	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₂	4.65	537.103 84	537.103 58	-0.501	负	493.11[M-H-CO ₂] ⁻ , 313.07[M-H-CO ₂ -C ₉ H ₈ O ₄] ⁻ , 295.06[M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 185.02[M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 109.03[M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₁₁ H ₆ O ₃] ⁻	a
17	灯盏乙素 ^[14]	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	4.66	461.072 54	461.072 45	-0.215	负	285.04[M-H-C ₆ H ₈ O ₆] ⁻ , 267.02[M-H-C ₆ H ₈ O ₆ -H ₂ O] ⁻ , 241.04[M-H-CO ₂] ⁻ , 239.03[M-H-C ₆ H ₈ O ₆ -H ₂ O-CO] ⁻ , 117.03[M-H-C ₆ H ₈ O ₆ -C ₇ H ₄ O ₅] ⁻	b
18	芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷 ^[15]	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	4.67	433.112 92	433.112 12	-1.855	正	271.05[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 243.06[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CO] ⁺ , 153.02[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₈ H ₆ O] ⁺ , 119.05[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₇ H ₄ O ₄] ⁺	b
19	阿魏酸 ^R	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	4.70	193.050 63	193.049 76	-4.517	负	178.02[M-H-CH ₃] ⁻ , 149.05[M-H-CO ₂] ⁻ , 134.03[M-H-CH ₃ -CO ₂] ⁻	b
20	异阿魏酸 ^[16]	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	4.67	193.050 63	193.049 70	-4.828	负	178.02[M-H-CH ₃] ⁻ , 149.05[M-H-CO ₂] ⁻ , 134.03[M-H-CH ₃ -CO ₂] ⁻	c
21	1,5-二咖啡酰奎宁酸 ^[17]	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	4.74	515.119 49	515.119 02	-0.930	负	353.09[M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 191.09[M-H-C ₉ H ₆ O ₃ -C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 173.04[M-H-C ₉ H ₆ O ₃ -C ₉ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻	b
22	丹酚酸 D ^[18]	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	4.78	417.082 71	417.082 55	-0.407	负	373.09[M-H-CO ₂] ⁻ , 197.04[M-H-CO ₂ -C ₁₀ H ₈ O ₃] ⁻ , 175.03[M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 147.04[M-H-CO ₂ -C ₉ H ₁₀ O ₅ -CO] ⁻	c
23	黄芩苷 ^[19]	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	4.88	447.092 18	447.091 31	-1.963	正	271.06[M+H-C ₆ H ₈ O ₆] ⁺ , 243.06[M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -CO] ⁺ , 225.05[M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -CO-H ₂ O] ⁺ , 153.01[M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -C ₈ H ₆ O] ⁺ , 119.05[M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -C ₇ H ₄ O ₄] ⁺	a
24	咖啡酸 ^R	C ₉ H ₈ O ₄	4.97	181.049 53	181.049 35	-1.023	正	163.03[M+H-H ₂ O] ⁺ , 145.03[M+H-H ₂ O-H ₂ O] ⁺ , 135.04[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 117.03[M+H-H ₂ O-H ₂ O-CO] ⁺ , 89.04[M+H-H ₂ O-H ₂ O-CO-CO] ⁺	a
25	灯盏乙素甲酯 ^[20]	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	4.99	475.088 19	475.087 68	-1.093	负	299.05[M-H-C ₆ H ₈ O ₆] ⁻ , 284.03[M-H-C ₇ H ₁₁ O ₆] ⁻ , 256.03[M-H-C ₇ H ₁₁ O ₆ -CO] ⁻ , 175.02[M-H-C ₁₆ H ₁₂ O ₆] ⁻ , 151.00[M-H-C ₇ H ₁₁ O ₆ -C ₈ H ₅ O ₂] ⁻ , 135.04[M-H-C ₇ H ₁₁ O ₆ -C ₇ H ₃ O ₄] ⁻	b
26	迷迭香酸 ^R	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	4.99	359.077 24	359.077 09	-0.420	负	197.04[M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 179.03[M-H-C ₉ H ₆ O ₃ -H ₂ O] ⁻ , 161.02[M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻	a,b
27	野黄芩素 ^[21]	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	5.19	285.040 46	285.040 28	-0.636	负	267.02[M-H-H ₂ O] ⁻ , 241.04[M-H-CO ₂] ⁻ , 239.03[M-H-H ₂ O-CO] ⁻ , 167.01[M-H-C ₈ H ₆ O] ⁻ , 117.03[M-H-C ₇ H ₆ O ₅] ⁻	a
28	芒柄花苷 ^[22]	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	5.29	431.133 65	431.132 87	-1.829	正	269.08[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁺ , 254.05[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₃] ⁺ , 237.05[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₃ OH] ⁺ , 137.02[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₈ O] ⁺ , 118.04[M+H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -CH ₃ -C ₇ H ₄ O ₃] ⁺	d
29	洋川芎内酯 F ^[23]	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	5.38	207.101 57	207.101 21	-1.742	正	189.09[M+H-H ₂ O] ⁺ , 171.08[M+H-2H ₂ O] ⁺ , 161.09[M+H-H ₂ O-CO] ⁺	d
30	丹酚酸 A ^R	C ₂₆ H ₂₂ O ₁₀	5.39	493.114 02	493.113 77	-0.507	负	295.06[M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 197.04[M-H-C ₁₇ H ₁₂ O ₅] ⁻ , 185.02[M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 109.03[M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₁₁ H ₆ O ₃] ⁻	c
31	大豆苷元 ^[24]	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	5.40	255.065 18	255.064 54	-2.530	正	227.07[M+H-CO] ⁺ , 137.02[M+H-C ₈ H ₆ O] ⁺ , 119.05[M+H-C ₇ H ₄ O ₃] ⁺	a
32	3'-甲氧基大豆苷元 ^[25]	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	5.60	283.061 19	283.060 97	-0.801	负	268.03[M-H-CH ₃] ⁻ , 239.03[M-H-CH ₃ -CHO] ⁻ , 211.03[M-H-CH ₃ -CHO-CO] ⁻ , 148.02[M-H-CH ₃ -C ₇ H ₄ O ₂] ⁻ , 135.01[M-H-CH ₃ -C ₈ H ₅ O ₂] ⁻ , 119.01[M-H-CH ₃ -C ₈ H ₅ O ₃] ⁻ , 91.02[M-H-CH ₃ -C ₈ H ₅ O ₃ -CO] ⁻	d
33	槲皮素 ^R	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	5.67	301.035 37	301.035 19	-0.617	负	179.00[M-H-C ₇ H ₆ O ₂] ⁻ , 151.00[M-H-C ₇ H ₆ O ₂ -CO] ⁻ , 121.03[M-H-C ₈ H ₄ O ₅] ⁻ , 107.01[M-H-C ₈ H ₄ O ₅ -CH ₂] ⁻	d

续表 1

序号	化合物	分子式	t/min	m/z 理论值	m/z 实测值	误差	模式	碎片离子 m/z	药材
34	丹酚酸 B ^R	C ₃₆ H ₃₀ O ₁₆	5.71	717.146 10	717.145 45	-0.917	负	519.09[M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 321.04[M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 295.06[M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₈ O ₄ -CO ₂] ⁻ , 185.02[M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₈ O ₄ -CO ₂ -C ₆ H ₆ O ₂] ⁻ , 109.03[M-H-C ₉ H ₁₀ O ₅ -C ₉ H ₈ O ₄ -CO ₂ -C ₁₁ H ₆ O ₃] ⁻	a
35	对甲氧基肉桂酸 ^[26]	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	6.16	177.055 71	177.054 63	-6.142	负	162.03[M-H-CH ₃] ⁻ , 145.03[M-H-CH ₃ OH] ⁻ , 133.02[M-H-CH ₃ -CHO] ⁻ , 117.03[M-H-CH ₃ -COOH] ⁻	a
36	芹菜素 ^R	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	6.42	269.045 20	269.045 53	-1.400	负	225.06[M-H-CO ₂] ⁻ , 151.00[M-H-C ₈ H ₆ O] ⁻ , 117.03[M-H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁻ , 107.01[M-H-C ₈ H ₆ O-CO ₂] ⁻	b
37	芒柄黄花素 ^R	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	7.90	269.080 83	269.080 35	-1.804	正	254.05[M+H-CH ₃] ⁺ , 237.05[M+H-CH ₃ OH] ⁺ , 137.02[M+H-C ₉ H ₈ O] ⁺ , 118.04[M+H-CH ₃ -C ₇ H ₄ O ₃] ⁺	b,d
38	亚丁基苯酚 ^[27]	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	8.01	189.091 00	189.090 74	-2.280	正	171.08[M+H-H ₂ O] ⁺ , 161.09[M+H-CO] ⁺ , 147.04[M+H-C ₃ H ₆] ⁺ , 133.02[M+H-C ₄ H ₈] ⁺	c
39	1-苯基-1-戊酮 ^[28]	C ₁₁ H ₁₄ O	8.04	161.097 18	161.096 01	-7.315	负	119.04[M-H-C ₃ H ₆] ⁻ , 83.05[M-H-C ₆ H ₆] ⁻	c
40	洋川芎内酯 K ^[29]	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	8.12	209.117 22	209.116 93	-1.391	正	191.10[M+H-H ₂ O] ⁺ , 173.09[M+H-2H ₂ O] ⁺ , 135.04[M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈] ⁺ , 107.05[M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈ -CO] ⁺ , 91.05[M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈ -CO ₂] ⁺	c
41	阿魏酸乙酯 ^R	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	8.30	221.081 93	221.081 25	-3.086	负	177.09[M-H-CO ₂] ⁻ , 149.09[M-H-CO ₂ -CO] ⁻	c
42	洋川芎内酯 B ^[30]	C ₁₂ H ₁₂ O ₃	9.51	203.071 36	203.070 59	-3.829	负	173.02[M-H-C ₂ H ₆] ⁻ , 160.02[M-H-C ₃ H ₇] ⁻ , 145.02[M-H-C ₂ H ₆ -CO] ⁻ , 132.02[M-H-C ₃ H ₇ -CO] ⁻	c
43	去甲丹参酮 ^[31]	C ₁₇ H ₁₂ O ₄	9.79	281.080 83	281.080 14	-0.695	正	253.08[M+H-CO] ⁺ , 235.07[M+H-CO-H ₂ O] ⁺ , 207.08[M+H-2CO] ⁺ , 179.08[M+H-3CO] ⁺	a
44	羟基丹参酮 IIA ^[32]	C ₁₉ H ₁₈ O ₄	9.74	311.127 78	311.127 20	-1.882	正	293.11[M+H-H ₂ O] ⁺ , 283.13[M+H-CO] ⁺ , 265.12[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 250.10[M+H-H ₂ O-CO-CH ₃] ⁺ , 235.08[M+H-H ₂ O-CO-CH ₃ -CH ₃] ⁺ , 207.08[M+H-H ₂ O-CO-CH ₃ -CH ₃ -CO] ⁺	a
45	丹参酮 II B ^[33]	C ₁₉ H ₁₈ O ₄	10.25	311.127 78	311.127 14	-2.075	正	293.11[M+H-H ₂ O] ⁺ , 283.13[M+H-CO] ⁺ , 275.10[M+H-2H ₂ O] ⁺ , 265.12[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 251.11[M+H-CO-CH ₃ OH] ⁺	a
46	异丹参酮 II B ^[34]	C ₁₉ H ₁₈ O ₄	10.27	311.127 78	311.127 08	-2.268	正	293.11[M+H-H ₂ O] ⁺ , 283.13[M+H-CO] ⁺ , 275.10[M+H-2H ₂ O] ⁺ , 265.12[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 251.11[M+H-CO-CH ₃ OH] ⁺	a
47	丹参酮 ^[35]	C ₁₉ H ₁₈ O ₄	10.27	309.113 23	311.127 14	-2.075	正	293.12[M+H-H ₂ O] ⁺ , 275.11[M+H-H ₂ O-H ₂ O] ⁺ , 265.12[M+H-CO-H ₂ O] ⁺ , 251.11[M+H-CO-H ₂ O-CH ₃] ⁺ , 235.11[M+H-CO-H ₂ O-CH ₂ -CH ₄] ⁺	a
48	洋川芎内酯 A ^R	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	10.74	193.122 30	193.122 06	-1.275	正	175.11[M+H-H ₂ O] ⁺ , 147.11[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 137.06[M+H-C ₄ H ₈] ⁺ , 119.09[M+H-H ₂ O-CO-C ₂ H ₄] ⁺ , 105.07[M+H-H ₂ O-CO-C ₃ H ₆] ⁺	c
49	二氢丹参酮 I ^R	C ₁₈ H ₁₄ O ₃	12.11	279.101 57	279.101 07	-1.795	正	261.09[M+H-H ₂ O] ⁺ , 233.09[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 205.10[M+H-H ₂ O-CO-CO] ⁺ , 190.08[M+H-H ₂ O-CO-CO-CH ₃] ⁺	a
50	Z-蒿本内酯 ^R	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	12.16	191.106 65	191.106 34	-1.655	正	173.09[M+H-H ₂ O] ⁺ , 163.11[M+H-CO] ⁺ , 145.10[M+H-H ₂ O-CO] ⁺	a
51	紫丹参酮 ^[36]	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	12.54	273.184 90	273.184 36	-1.643	正	255.17[M+H-H ₂ O] ⁺ , 243.17[M+H-CH ₂ O] ⁺ , 199.11[M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈] ⁺ , 171.08[M+H-H ₂ O-C ₄ H ₈ -C ₂ H ₄] ⁺	b
52	丹参酸甲酯 ^[37]	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	12.76	339.122 70	339.122 10	-1.770	正	311.13[M+H-CO] ⁺ , 293.11[M+H-CO-H ₂ O] ⁺ , 279.10[M+H-CH ₃ OOCH] ⁺ , 261.09[M+H-CH ₃ OOCH-H ₂ O] ⁺ , 233.09[M+H-CH ₃ OOCH-H ₂ O-CO] ⁺	a
53	丹参酮 V ^[38]	C ₁₉ H ₂₂ O ₄	12.81	315.159 08	315.158 39	-2.207	正	297.14[M+H-H ₂ O] ⁺ , 279.14[M+H-H ₂ O-H ₂ O] ⁺ , 254.09[M+H-H ₂ O-C ₃ H ₇] ⁺ , 251.14[M+H-H ₂ O-H ₂ O-CO] ⁺	a
54	丹参酮 I ^R	C ₁₈ H ₁₂ O ₃	13.61	277.085 92	277.085 36	-2.204	正	262.06[M+H-CH ₃] ⁺ , 249.09[M+H-CO] ⁺ , 234.06[M+H-CO-CH ₃] ⁺ , 221.09[M+H-CO-CO] ⁺ , 193.10[M+H-CO-CO-CO] ⁺ , 178.08[M+H-CO-CO-CO-CH ₃] ⁺	a
55	隐丹参酮 ^R	C ₁₉ H ₂₀ O ₃	13.65	297.148 52	297.147 92	-2.203	正	279.142[M+H-H ₂ O] ⁺ , 251.14[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 221.09[M+H-H ₂ O-CO-2CH ₃] ⁺ , 193.10[M+H-H ₂ O-CO-2CH ₃ -CO] ⁺	a
56	柳杉酚 ^[39]	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	13.79	301.216 20	301.215 52	-2.280	正	271.16[M+H-C ₂ H ₆] ⁺ , 256.14[M+H-C ₂ H ₆ -CH ₃] ⁺ , 241.12[M+H-C ₂ H ₆ -C ₂ H ₆] ⁺ , 213.12[M+H-C ₂ H ₆ -C ₂ H ₆ -CO] ⁺	a
57	丹参酮 IIA ^R	C ₁₉ H ₁₈ O ₃	14.99	295.132 87	295.132 32	-1.867	正	277.12[M+H-H ₂ O] ⁺ , 249.12[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 234.10[M+H-H ₂ O-CO-CH ₃] ⁺ , 206.10[M+H-H ₂ O-CO-CH ₃ -CO] ⁺	a
58	新隐丹参酮 II ^[40]	C ₁₉ H ₂₂ O ₃	15.24	299.164 17	299.163 64	-1.755	正	281.15[M+H-H ₂ O] ⁺ , 253.13[M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 183.08[M+H-H ₂ O-CO-C ₃ H ₁₀] ⁺	a
59	丹参新酮 ^[41]	C ₁₉ H ₂₂ O ₂	15.32	283.169 25	283.168 82	-1.541	正	268.14[M+H-CH ₃] ⁺ , 265.15[M+H-H ₂ O] ⁺ , 254.13[M+H-C ₃ H ₇] ⁺ , 240.11[M+H-C ₃ H ₇ -CH ₂] ⁺ , 223.11[M+H-C ₃ H ₇ -CH ₂ -OH] ⁺ , 195.12[M+H-C ₃ H ₇ -CH ₂ -OH-CO] ⁺	a

注: R-对照品; a-丹参; b-灯盏细辛; c-川芎; d-粉葛。

Note: R-reference substance; a-Salvia miltiorrhiza Bge; b-Erigeron breviscapus; c-Ligusticum chuanxiong Hort; d-Pueraria thomsonit Benth.

3.1 黄酮类

黄酮类化合物广泛存在于自然界, 在植物体内主要以与糖结合成苷的形式存在, 根据苷键不同有黄酮氧苷、黄酮碳苷和黄酮碳氧苷等。黄酮类化合物在质谱条件下经能量碰撞会失去 H_2O 、 CO_2 、 CO 等一系列中性小分子^[41]。黄酮类化合物最主要裂解方式是 C 环的 RDA 裂解, 从而产生 A、B 碎片离子。本品鉴别的黄酮类化合物主要有 3'-羟基葛根素、染料木苷、葛根素木糖苷、葛根素、3'-甲氧基葛根素、大豆苷、木犀草苷、灯盏乙素、芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖苷、黄芩苷、野黄芩素、3'-甲氧基大豆苷元、槲皮素、芹菜素、芒柄黄花素。

以大豆苷为例, 在正离子模式下一级质谱提供的准分子离子峰为 m/z 417.11 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 经 Xcalibar 2.0 软件拟合分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_9$, 供试品中该成分的保留时间为 4.26 min, 混合对照品中其保留时间为 4.26 min, 推断为大豆苷或葛根素, 二级质谱碎片离子主要有 m/z 399.10, 297.07, 255.06, 137.02, 119.05 分别与 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 、 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4]^+$ 、 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$ 、 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_8\text{H}_6\text{O}]^+$ 和 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_3]^+$ 对应, 大豆苷的糖苷键断裂易裂出现特征离子碎片是 m/z 255.06^[42], m/z 137.02 离子碎片是 C 环裂解产生, 其裂解途径符合黄酮类裂解规律, 最后再经对照品比对鉴定为大

豆苷, 大豆苷的二级质谱及裂解途径分别见图 3~4。

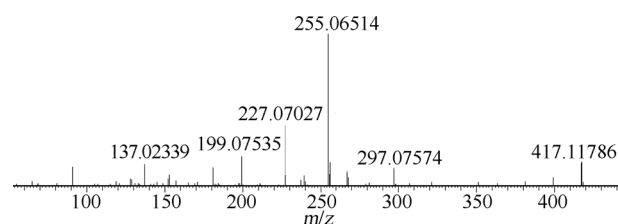


图 3 大豆苷的二级质谱图

Fig. 3 MS/MS spectrum for daidzin

3.2 醌类

醌类化合物是一类含有 2 个双键的六碳原子环状二酮结构的芳香族有机化合物, 可分为蒽醌、萘醌、菲醌、苯醌, 在自然界中, 蒽醌类成分及其衍生物分布较广、生物活性较强, 在中药中发挥的作用也尤为重要。在质谱条件下经能量碰撞诱导解离, 丢失 CO 是其主要裂解方式, 若含有取代基羟基、甲氧基、羧基、甲基等, 出现丢失 CH_3 、 CO_2 等碎片离子^[43]。本品鉴定的醌类有大黄酚、羟基丹参酮 II A、丹参酮 II B、异丹参酮 II B、丹参醛、丹参酮 V、丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II A、新隐丹参酮 II、丹参新酮。

以隐丹参酮为例, 该化合物在正离子模式下响应较好, 一级质谱提供的准分子离子峰为 m/z 297.14 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 经 Xcalibar 2.0 软件拟合分子式

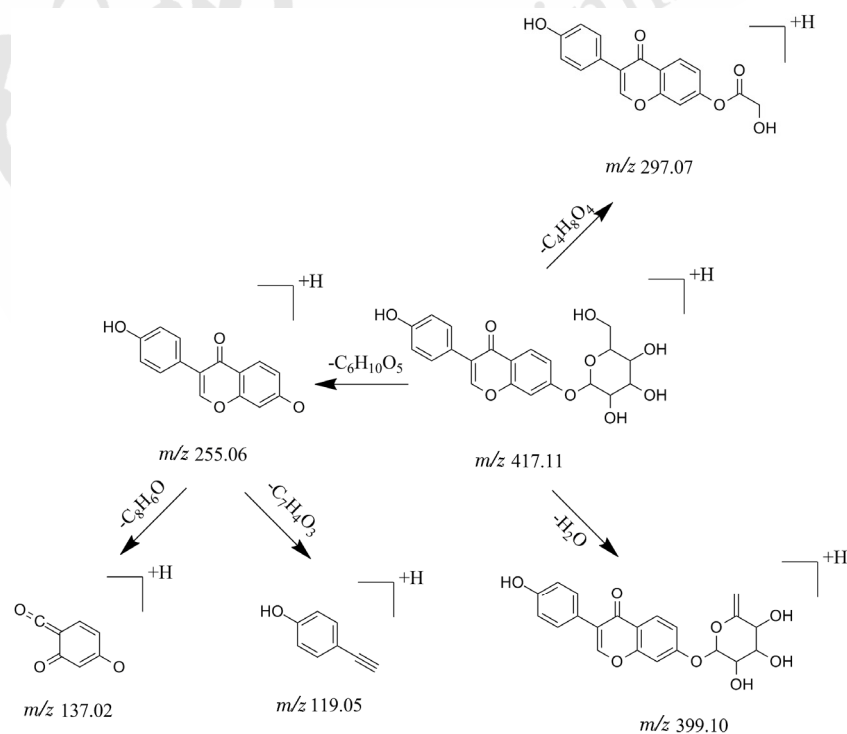


图 4 大豆苷的质谱裂解途径

Fig. 4 The MS fragmentation pathways of daidzin

$C_{19}H_{21}O_3$, 供试品中该成分的保留时间为 13.63 min, 混合对照品中其保留时间为 13.65 min, 二级质谱碎片离子有 m/z 279.13, 251.14, 221.09, 193.10 与 $[M+H-H_2O]^+$ 、 $[M+H-H_2O-CO]^+$ 、 $[M+H-H_2O-CO-2CH_3]^+$ 和 $[M+H-H_2O-CO-2CH_3-CO]^+$ 相对应, 结合对照品保留时间及二级质谱碎片确定为隐丹参酮, 其二级质谱及裂解途径分别见图 5~6。

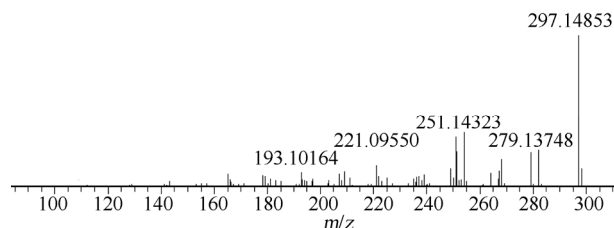


图 5 隐丹参酮的二级质谱图

Fig. 5 MS/MS spectrum for cryptotanshinone

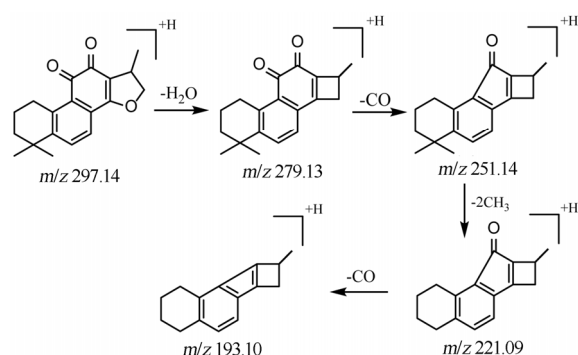


图 6 隐丹参酮的质谱裂解途径

Fig. 6 The MS fragmentation pathways of cryptotanshinone

3.3 有机酸类

有机酸是中草药中最常见的羧酸, 按烃基结构的不同主要分为脂肪有机酸和芳香有机酸, 本品鉴定的有机酸类化合物大多在负离子模式下相应较好, 在质谱条件下经能量碰撞诱导下会失去 H_2O 、 CO_2 、 $COOH$ 等碎片离子, 若化合物含有奎宁酸或咖啡酸结构时, 易产生奎宁酸或咖啡酸碎片离子^[44]。本品鉴定的有丹参素、1-咖啡酰奎宁酸/5-咖啡酰奎宁酸、绿原酸、香草酸、紫草酸、阿魏酸、异阿魏酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、丹酚酸 D、咖啡酸、迷迭香酸、丹酚酸 A、丹酚酸 B。

以绿原酸为例, 在负离子模式下一级质谱提供的准分子离子峰为 m/z 353.08 $[M-H]^-$, 经 Xcalibur 2.0 软件拟合分子式 $C_{16}H_{17}O_9$, 供试品中该成分的保留时间为 3.86 min, 混合对照品中其保留时间为 3.84 min, 二级质谱碎片离子有 m/z 191.05, 179.03, 161.02, 135.04, 与 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$ 、 $[M-H-C_7H_{10}O_5]^-$ 、 $[M-H-C_7H_{10}O_5-H_2O]^-$ 、 $[M-H-C_7H_{10}O_5-CO_2]^-$ 相对应,

结合对照品保留时间及二级质谱碎片离子确定为绿原酸, 其二级质谱及裂解途径分别见图 7~8。

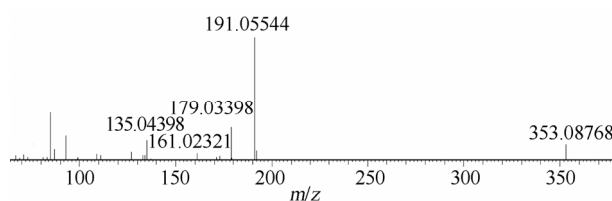


图 7 绿原酸的二级质谱图

Fig. 7 MS/MS spectrum for chlorogenic acid

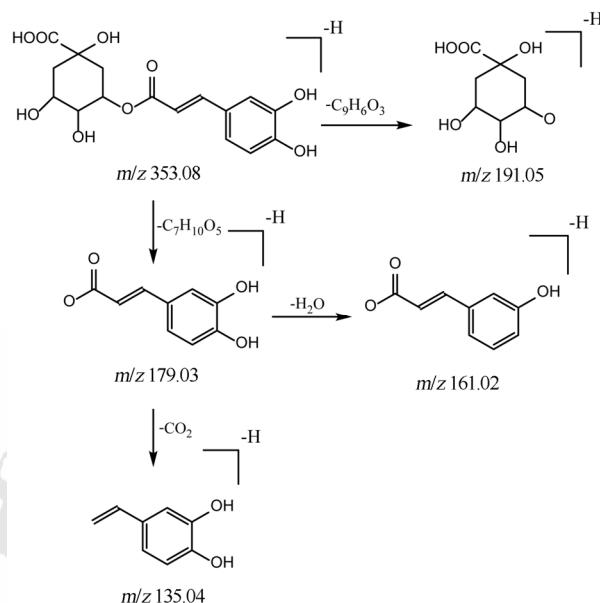


图 8 绿原酸的质谱裂解途径

Fig. 8 The MS fragmentation pathways of chlorogenic acid

3.4 苯酚类

苯酚类又系内酯类化合物, 是大多数中药中主要的有效成分, 并具有广泛的生物活性, 其结构简单, 经质谱在正离子模式下高能碰撞诱导解离易丢失 H_2O 、 CO 、 C_2H_4 、 C_3H_6 ^[45]等碎片离子, 本实验鉴定的苯酚类成分主要来自药材川芎, 包括洋川芎内酯、洋川芎内酯 K、洋川芎内酯 B、洋川芎内酯 A、Z-蒿本内酯。

以洋川芎内酯 A 为例, 在正离子模式下一级质谱提供的准分子离子峰为 m/z 193.12 $[M+H]^+$, 经 Xcalibur 2.0 软件拟合分子式 $C_{12}H_{17}O_2$, 供试品中该成分的保留时间为 10.74 min, 混合对照品中其保留时间为 10.75 min, 二级质谱碎片离子主要有 m/z 175.11, 147.11, 137.05, 119.08, 105.07, 与 $[M+H-H_2O]^+$ 、 $[M+H-H_2O-CO]^+$ 、 $[M+H-C_4H_8]^+$ 、 $[M+H-H_2O-CO-C_2H_4]^+$ 和 $[M+H-H_2O-CO-C_3H_6]^+$ 相对应, 结合对照品保留时间及二级质谱碎片确定

为洋川芎内酯 A，其二级质谱及裂解途径分别见图 9~10。

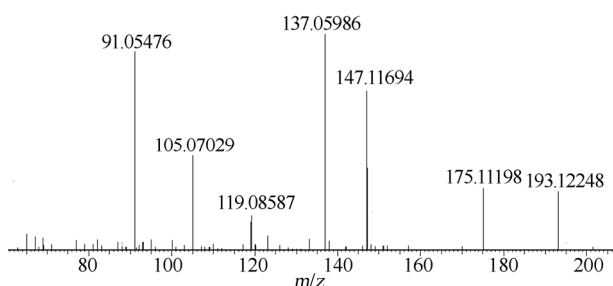


图 9 洋川芎内酯 A 的二级质谱图

Fig. 9 MS/MS spectrum for 3-N-butyl-4,5-dihydrophthalide

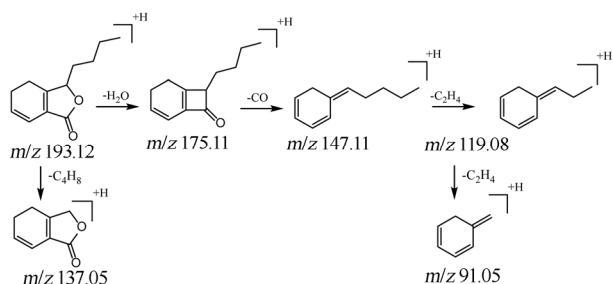


图 10 洋川芎内酯 A 的质谱裂解途径

Fig. 10 The MS fragmentation pathways of 3-N-butyl-4,5-dihydrophthalide

4 讨论

4.1 提取方法和提取溶剂的优化

本研究的预实验着重考察了超声波法和微波法 2 种提取方法，按照色谱条件对提取的供试品溶液进样后，所得的峰形有明显差异，较超声波萃取法，采用微波法萃取的时间较短、提取效率较高、提取所得到的峰形较好。为保证实验结果在最优的条件下进行，因此本研究选择微波萃取。本研究预实验还比较了乙醇和甲醇 2 种溶剂的微波萃取方法，乙醇和甲醇作为常用的提取溶剂，两者的提取效率几乎不分上下，但本研究结果表明，用甲醇作为溶剂提取样品使微波穿透能力更强，得到的化学成分种类较多，峰形响应更佳，故本实验采用甲醇作为提取溶剂。

4.2 色谱及色谱条件的选择

结合样品中所含化学成分极性大小不同，本研究选择 ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ 型色谱柱 (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm) 色谱柱，能够提供较强的保留极性化合物的能力和较宽的 pH 范围，使样品中所含的复杂有效化学成分分离，有效分离色谱峰。本研究还进行了耐用性试验，分别对柱温(30，

35，40 ℃)、流速(0.2，0.4，0.6 mL·min⁻¹)及流动相比比例进行了考察，为使样品中复杂活性成分获得高效分离，最终选取柱温 40 ℃、流速 0.2 mL·min⁻¹ 及一定的流动相比比例作为本研究的色谱条件。

本研究采用 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 对丹灯通脑胶囊所含化学成分进行分析，共鉴定出 59 种化学成分，主要包括黄酮类 15 种，醌类 11 种，有机酸类 13 种，苯酞类 5 种，其他类 15 种。丹参作为丹灯通脑胶囊复方配伍中的君药，在本实验中所鉴别的化学成分种类较多，主要为醌类，具有清心安神、活血化瘀的作用；灯盏细辛中主要为黄酮类、有机酸类，具活血止痛，祛风通络的作用；川芎中主要为内酯类，具有行气活血的作用；葛根中主要为黄酮类，具有活血化瘀、痛痹散结的作用。中药的疗效是其复杂体系中多种化学成分协同作用的结果，以上鉴别的各个化学成分之间相互协作，并在药物中发挥显著的疗效。

本实验用 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术结合色谱的高效分离能力和质谱的高选择、高分辨率能力快速、系统地对丹灯通脑胶囊中的化学成分进行定性分析，较全面地阐明其组成、探究其药效物质基础，为研究丹灯通脑胶囊药效物质基础、质控标准提供一种快速准确的方法。

REFERENCES

- [1] 冯佳丽. “丹灯通脑软胶囊”的临床应用[J]. 中国实用医学, 2014, 33(2): 177.
- [2] 国家食品药品监督管理局. 国家中成药标准汇编: 经络肢体、脑系分册[S]. 2002: 254-257.
- [3] 李菲, 郑国成, 屈云萍, 等. 丹灯通脑胶囊剂的临床应用概况[J]. 中国民族民间医药, 2016, 25(13): 35-37, 41.
- [4] QIU Y. Determination of puerarin and ferulic Acid in Dandengtongnao soft capsules by RP-HPLC [J]. Anhui Med Pharm J(安徽医药), 2013, 17(2): 212-213.
- [5] SUN Z, JIANG X F, HU Y R, et al. Quantitative research on multiple active components in Dandeng Tongnao Soft Capsules by UPLC-MS/MS-pattern recognition [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2017, 48(6): 1126-1132.
- [6] WANG P Y, WU C S, WU S, et al. Separation and characterization of 4 related impurities in puerarin bulk drug by HPLC-UV-FTICRMS/MSn [J]. J Chin Mass Spectr Soc(质谱学报), 2010, 31(3): 143-151.
- [7] ZHANG Y, DONG W T, HUO J H, et al. Analysis on chemical constituents of *Pheretima aspergillum* by UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 2017, 48(2): 252-262.
- [8] PubChem. Genistin [DB/OL]. 2005-06-24. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281377>.
- [9] PubChem. Caffeoylquinic acid [DB/OL]. 2004-09-16. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281377>.

- //pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13991590.
- [10] ZHOU A, SUN X J, WU H, et al. Rapid identified C-glycosides and their isomer O-glycosides in Radix Puerariae Thomsonii using high performance liquid chromatography-photo diode array-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2012, 40(4): 612-616.
 - [11] SUN D M, DONG Y J, XU A L, et al. Rapid analysis on flavonoids in Gegen Zhiju Soft Capsule by UPLC/Q-TOF-MS [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 201, 46(7): 970-976.
 - [12] MoNA. Vanillic acid [DB/OL]. 2013-09-04. <http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/MetaboBASE0126>.
 - [13] PubChem. Lithospermic Acid [DB/OL]. 2006-04-28. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6441498>.
 - [14] PubChem. Scutellarin [DB/OL]. 2005-08-09. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/185617#section=Top>.
 - [15] MoNA. Apigenin-7-O-glucoside [DB/OL]. 2010-06-22. <http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/PR020031>.
 - [16] MoNA. 4-Hydroxy-3-methoxycinnamic acid [DB/OL]. 2004-09-16. <http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/PT200110>.
 - [17] PubChem. Cynarine [DB/OL]. 2005-06-24. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281769#section=Top>.
 - [18] PubChem. Salvianolic Acid D [DB/OL]. 2014-07-12. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/75412558#section=Top>.
 - [19] MoNA. baicalin [DB/OL]. 2004-09-16. http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/MX_C3_21_p04_F02_iTree_POS_16.
 - [20] PubChem. Scutellarinmethylester [DB/OL]. 2007-02-09. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/14162695#section=Top>.
 - [21] PubChem. Scutellarein [DB/OL]. 2005-06-24. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281697#section=Top>.
 - [22] PubChem. Ononin [DB/OL]. 2004-09-16. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/442813#section=Computed-Properties>.
 - [23] PubChem. Senkyunolide F [DB/OL]. 2006-10-26. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11241196#section=Top>.
 - [24] MoNA. Daidzein [DB/OL]. 2004-09-16. <http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/UF423901>.
 - [25] PubChem. 3'-Methoxydaidzein [DB/OL]. 2005-08-09. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5319422#section=Top>.
 - [26] MoNA. 4-Methoxycinnamic acid [DB/OL]. 2005-03-26. <http://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/PR040234>.
 - [27] PubChem. 3-Butylidenephthalide [DB/OL]. 2005-03-27. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5352899#section=Names-and-Identifiers>.
 - [28] PubChem. Butyl Phenyl Ketone [DB/OL]. 2005-03-26. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/66093#section=Top>.
 - [29] PubChem. Senkyunolide K [DB/OL]. 2005-01-18. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5321252#section=Top>.
 - [30] PubChem. 7-Hydroxy-3-butylidenephthalide [DB/OL]. 2005-06-24. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281559#section=Top>.
 - [31] PubChem. Nortanshinone [DB/OL]. 2006-10-25. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10062187#section=Top>.
 - [32] PubChem. Hydroxytanshinone [DB/OL]. 2006-01-18. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5318349#section=Top>.
 - [33] PubChem. Tanshinone IIB [DB/OL]. 2006-10-25. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9926694#section=Top>.
 - [34] PubChem. Isotanshinone IIB [DB/OL]. 2005-08-09. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/184102#section=Top>.
 - [35] PubChem. Tanshinoldehyde [DB/OL]. 2005-08-08. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/124268>.
 - [36] PubChem. Przewalskin [DB/OL]. 2007-02-09. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/14139389#section=Top>.
 - [37] PubChem. Methuyl Tanshinonate [DB/OL]. 2005-03-27. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/624381#section=Top>.
 - [38] PubChem. Tanshinone V [DB/OL]. 2005-08-09. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/184103#section=Top>.
 - [39] PubChem. Sugirol [DB/OL]. 2005-08-08. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/94162#section=Top>.
 - [40] PubChem. Deoxyneocryptotanshinone [DB/OL]. 2007-02-12. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/15690458#section=Top>.
 - [41] PubChem. Miltirone [DB/OL]. 2005-03-26. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/160142#section=Top>.
 - [42] 张玉峰. 基于液质联用技术的中药化学成分鉴定方法学研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
 - [43] ZHOU Y G, WU S, MAO F, et al. Analysis on flavonoid constituents of Pueraria lobata by UHPLC-Q-TOFMS [J]. J Pharm Pract(药学实践杂志), 2013, 31(2): 116-119.
 - [44] WU J, YU Y N, ZHANG X Y, et al. Study on the stability and antioxidant activity of 3,5-O-dicaffeoylquinic acid [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2017, 34(10): 1397-1400.
 - [45] YANG F, XIAO Y S, ZHANG F F, et al. High performance liquid chromatography-mass spectrometry analysis of Radix Angelica Sciensis [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2006, 41(11): 1078-1083.

收稿日期: 2018-03-15

(本文责编: 曹粤锋)