

基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱技术的黄芪注射液中化学成分分析

于泓 胡青 孙健 冯睿 张甦 张静娴 毛秀红 季申

(上海市食品药品检验所,上海,201203)

摘要 目的:基于超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱(Ultra-performance Liquid Chromatography Quadrupole Time-of-flight Mass Spectrometry, UPLC/Q-TOF-MS)对黄芪注射液物质基础进行了全面的研究,建立及黄芪注射液中有成分的快速准确的分析方法。方法:采用 Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(3 mm × 100 mm, 1.8 μm),以含 0.1% 甲酸水溶液-乙腈为流动相,梯度洗脱,流速 0.4 mL/min;电喷雾源(ESI),Q-TOF-MS 作检测器,正、负离子模式检测;甲醇稀释样品;与对照品保留时间、母离子及碎片离子精确分子量,比准确定性。结果:共鉴定黄芪注射液中的 46 个化合物,包括氨基酸,黄酮,皂苷,核苷和烟酸等。结论:建立了黄芪注射液中的复杂化学成分的快速检测和评价方法,为的质量控制及工艺改进提供参考。

关键词 黄芪注射液;黄芪;化学成分;Q-TOF-MS;皂苷;黄酮;氨基酸;核苷

Comprehensive Screening of Multi-components in Huangqi Injection by Ultra-performance Liquid Chromatography Coupled with Quadrupole-time-of-flight Mass Spectrometry

Yu Hong, Hu Qing, Sun Jian, Feng Rui, Zhang Su, Zhang Jingxian, Mao Xiuhong, Ji Shen

(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

Abstract Objective: To study comprehensive screening multi-components in Radix Astragali and Huangqi injection, based on high-resolution quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. **Methods:** The analysis was performed by Agilent Eclipse Plus C₁₈ column (3 mm × 100 mm, 1.8 μm) with the mixture of 0.1% formic acid aqueous solution-acetonitrile as mobile phase by gradient elution, and the flow rate was 0.4 mL/min. Q-TOF-MS equipped with ESI ion source was performed in both positive and negative ionization. Samples were diluted with methanol. Qualitative analyze was based on retention time, the accurate mass of the precursor ion and product ions. **Results:** A total of 46 components including amino acids, flavonoids, saponins, nucleosides and nicotinic acid were successfully identified or tentatively characterized. **Conclusion:** This study is expected to provide an effective pattern for systematic characterization of the complex Huangqi injection systems, and establish a reliable strategy for its quality evaluation, also offers a reference for quality control as well as technological improvement.

Key Words Huangqi injection; Radix Astragali; Components; Quadrupole-time-of-flight mass spectrometry; Saponins; Flavonoids; Amino acids; Nucleosides

中图分类号:R284.1 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.04.005

黄芪注射液是我国较早开发的中药注射液品种之一,是豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪干燥根的水提灭菌溶液,具有广泛的药理作用。皂苷类、黄酮类、氨基酸类成分为其功效的主要物质基础^[1]。具有益气养元,扶正祛邪,养心通脉,健脾利湿的功效。广泛应用于心气虚损,血脉瘀阻之病毒性心肌炎^[2],心脑血管疾病^[3,4]及肾脏疾病^[5]等。急性毒性试验、长期毒性试验^[6]以及临床研究均表明:黄芪注射液效果确切,不良反应较少^[7],是具有研究和开发价值的中药注射剂品种^[8]。为了提高黄芪注射液的质量,降低不良反应发生概率,亟待对其化学成分进行深入研究。

成分的复杂和缺乏对照品,是中药及天然产物分析的共同难题。液相色谱串联高分辨率质谱(UPLC/Q-TOF-MS),且具有较高的选择性和灵敏度,近年来也常被用于中药和天然药物的成分分析^[9-12]。可实现非目标的成分分析模式^[13-14],利于未知化合物的发现和鉴定。

本研究采用超高效液相串联四级杆飞行时间质谱,根据精确分子量和碎片离子信息,并结合相关文献数据^[15],鉴定了 46 种化合物,其中 24 种已通过对照品确证。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1290 Infinity 高效液相色谱仪,

基金项目:上海市科学技术委员会基金项目(18DZ2292200,12DZ1970402)

作者简介:于泓(1987.09—),女,硕士,主管药师,研究方向:药物分析,E-mail:yuhong-918@163.com

通信作者:季申(1963.08—),女,主任药师,研究方向:中药质量控制和安全性检测技术研究,E-mail:jishen2013@163.com

Agilent 6550 Q-TOF 质谱仪(美国 Agilent 公司), Sartorius MSU225P-1CE-DU 分析天平(德国 Sartorius 公司), 超声仪(上海科导超声仪器有限公司)。甲醇、盐酸和乙酸乙酯为分析纯试剂(上海凌峰化学试剂有限公司); 质谱用水和乙腈为 LC-MS 级试剂(德国 Merck 公司); 甲酸为色谱纯试剂(德国 Merck 公司); 质谱所用参比液, 调谐液均为美国 Agilent 公司提供。

1.2 试剂 标准对照品: 苏氨酸(Threonine, A2), 谷氨酸(Glutamic acid, A3), 脯氨酸(Proline, A4), 缬氨酸(Valine, A5), L-异亮氨酸(L-isoleucine, A6), 酪氨酸(Tyrosine, A7), L-亮氨酸(L-Leucine, A8), 苯丙氨酸(Phenylalanine, A8), 胸腺嘧啶脱氧核苷(Thymidine, A9), 色氨酸(Tryptophan, A10), 烟酸(Nicotinic acid, O1), 尿苷(Uridine, O₂), 腺苷(Adenosine, O3), 毛蕊异黄酮-7-葡萄糖苷(Calycosin-7-glucoside, F4), 染料木苷(Genistin, F6), 芒柄花苷(Ononin, F9), 毛蕊异黄酮(Calycosin, F12), 芒柄花素(Formononetin, F14), 黄芪甲苷(Astragaloside IV, S6) 均购于中国药品生物制品检定所。Methylchitosin 3-O-glucoside(F10), 黄芪皂苷 I(Astragaloside I, S14), 黄芪皂苷 II(astragaloside II, S8), 环黄芪醇(Cycloastragenol, S17) 和黄芪皂苷 III(astragaloside III, S7) 购于上海同田生化技术有限公司。

黄芪注射液分别由 6 家生产厂家提供。1 mL 注射剂分别相当于 2 g 黄芪。其中样品 A1 和 A2 工艺中使用增溶剂; 样品 B1, B2, B3 和 B4 不添加任何增溶剂。

1.3 分析样品 黄芪注射液样品以甲醇稀释 10 倍和 100 倍(v/v)。在 14 000 r/min 离心 10 min 后将上清液转移到自动进样器小瓶中进行分析。标准储备溶液以甲醇制备, -4 °C 储存。

1.4 UPLC 条件 Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(3 mm × 100 mm, 1.8 μm); 柱温: 30 °C; 进样体积: 2 μL; 流动相: A 为 0.1% 甲酸-水溶液, B 为 0.1% 甲酸-乙腈溶液; 梯度洗脱程序: 0 ~ 2 min: 3% B; 3 ~ 17 min: 3% ~ 70% B; 18 ~ 22 min: 95% B; 23 ~ 25 min: 3% B。流速: 0.4 mL/min。

1.5 Q-TOF-MS 条件 质谱条件: 采集模式: 正模式; 扫描范围: m/z 70 ~ 1 300。离子源参数: 雾化气(N₂): 35 psi; 干燥气(N₂): 流速 15 L/min, 温度 200 °C; 鞘气(N₂): 流速 12 L/min, 温度 350 °C; 毛细管电压 3.5 kV; 碎裂电压 250 V; CID 电压: 5 ~ 40 eV; 参比离子: 正模式: m/z 121 和 922; 负模式: m/z 112 和 1 033。碰撞诱导解离(CID), 能量从 6 ~

70 eV, 每个化合物单独优化。

1.6 数据分析 通过文献检索, 建立包含可能存在的近 200 个蒙古黄芪和膜荚黄芪药材中所含成分的初级谱库^[15-17], 数据库通过 MassHunter PCDL Manager 软件建立, 包含化合物名称, 精确分子量, 分子式, 分子结构。采集的数据文件通过 Agilent's MassHunter Qualitative 软件与谱库进行匹配分析。

通过精确分子量匹配(<1 ppm), 根据其可能的化学结构将化合物分类。通过碰撞诱导解离(CID)得到二级谱信息, 尽可能减少对化合物的误判。对于对照品可能获得的化合物, 通过与标准品保留时间, 二级谱匹配等信息进一步确定。对于难以获得标准品的化合物通过二级光谱与文献报道的离子碎片等进行比对。

2 结果与讨论

2.1 UPLC/Q-TOF-MS 的共有化合物的分析结果 分别在正负 2 种模式下采集, 黄芪注射液中共鉴定出 46 个共有化合物(图 2)。根据化学结构将 46 种组分分为 4 组: 氨基酸(A), 黄酮类(F), 皂苷(S) 和其他(O)。表 2 为 46 化合物的主要碎片谱峰归属。

2.2 主要黄酮化合物的鉴定 17 种黄酮类化合物分属于 4 种黄酮结构类型: 黄酮, 异黄酮, 异黄烷以及紫檀烷类。二级谱质谱图中, 可见丢失 CH₃, CO(C-4), CHO(C-OH) 和脱 H₂O(3-OH, 5-OH 或 m-OH, o-OH) 的碎片离子。通过黄酮类 C 环的逆 Diels-Alder(RDA) 裂解, 得到关于 A 环和 B 环中取代基的数量和类型的信息。

图 1a 和图 1d 显示了峰 F14 的一系列碎片离子(m/z 269.0808)解析机理如图所示。黄酮苷类结构较为脆弱, 容易在低碰撞电压下裂解甚至在 ESI 离子源内碎裂, 因此会同时产生苷和苷元的“[M + H]⁺”。因此可将黄酮苷元及糖苷进行分类分析, 例如: 图 1 中 F9 和 F14 的结构解析过程。F9(m/z 431.1327) 保留时间 9.8 min。在低碰撞电压(<10 eV)下质谱相对简单, 仅含有一个子离子, m/z 为 269.0801, 与峰值 F14 相同(图 1b)。当碰撞电压增加到 60V 时, F9 的二级质谱显示与 F14 非常相似, 说明 F9 可能在结构上与 F14 相似。F9 比 F14 分子量多 162 Da, 推导 F9 可能是芒柄花苷(Ononin), 并用对照品进一步确认了保留时间和质谱数据。使用上述方法又继续鉴定了另外 3 对类黄酮及其糖苷(F4 和 F12, F5 和 F13, F10 和 F15)。F1 和 F2 具有相似的二级质谱图, 且 F1 比 F2 分子量多 162 Da(C₆H₁₀O₆)。推测具相同苷元的不同异黄酮糖苷。

表 1 黄芪注射液成分分析结果 (mass error < 1 ppm)

编号	色谱峰 标识	保留 时间	分子式	母离子 (m/z) ^a		鉴定化合物名称	样品归属					
1	A1 *	1.07	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	133.060 8	[M + H] ⁺	Asparagine	A1	A2	B1	B2	B3	B4
2	A2 *	1.07	C ₄ H ₉ NO ₃	120.065 5	[M + H] ⁺	Threonine	A1	A2	B1	B2	B3	B4
3	A3 *	1.11	C ₅ H ₉ NO ₄	148.060 4	[M + H] ⁺	Glutamic acid	A1	A2	B1		B3	B4
4	A4 *	1.17	C ₅ H ₉ NO ₂	116.070 6	[M + H] ⁺	Proline	A1	A2	B1	B2	B3	B4
5	A5 *	1.20	C ₅ H ₁₁ NO ₂	118.086 3	[M + H] ⁺	Valine	A1	A2	B1		B3	B4
6	O1 *	1.64	C ₆ H ₅ NO ₂	124.039 3	[M + H] ⁺	Nicotinic acid	A1	A2	B1	B2	B3	B4
7	O2 *	2.18	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	245.076 8	[M + H] ⁺	Uridine	A1	A2	B1			B4
8	A6 *	2.20	C ₆ H ₁₃ NO ₂	132.101 9	[M + H] ⁺	L-Isoleucine	A1	A2	B1	B2	B3	B4
9	A7 *	2.27	C ₉ H ₁₁ NO ₃	182.081 2	[M + H] ⁺	Tyrosine	A1	A2	B1	B2	B3	B4
10	A8 *	2.49	C ₆ H ₁₃ NO ₂	132.101 9	[M + H] ⁺	L-Leucine	A1	A2	B1	B2	B3	B4
11	O3 *	2.64	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	268.104 0	[M + H] ⁺	Adenosine	A1	A2	B1	B2	B3	B4
12	A9 *	4.44	C ₉ H ₁₁ NO ₂	166.086 3	[M + H] ⁺	Phenylalanine	A1	A2	B1	B2	B3	B4
13	O4	4.67	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₅	243.097 5	[M + H] ⁺	unkown	A1	A2	B1	B2	B3	B4
14	A10 *	5.82	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	205.097 2	[M + H] ⁺	Tryptophan	A1	A2	B1	B2	B3	B4
15	F1	5.91	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	625.176 3	[M + H] ⁺	Complanatuside	A1	A2	B1	B2	B3	B4
16	F2	7.43	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	463.123 5	[M + H] ⁺	Rhamnocitin-3-O-glucoside	A1	A2	B1	B2	B3	B4
17	F3	7.79	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	447.128 6	[M + H] ⁺	3'-hydroxy-5'-methoxyisoflavone-7-O-glucoside	A1	A2	B1	B2	B3	B4
18	F4 *	8.10	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	447.128 6	[M + H] ⁺	Calycosin-7-O-glucoside	A1	A2	B1	B2	B3	B4
19	F5	8.26	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₁	477.139 1	[M + H] ⁺	Odoratin-7-O-glucoside	A1	A2	B1	B2	B3	B4
20	F6 *	8.59	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	433.112 9	[M + H] ⁺	Genistin	A1			B2	B3	B4
21	F7	8.65	C ₂₉ H ₃₈ O ₁₅	627.228 3	[M + H] ⁺	Isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole	A1	A2	B1	B2	B3	B4
22	F8	9.11	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	463.123 5	[M + H] ⁺	Pratensein-7-O-glucoside	A1	A2		B2	B3	B4
23	F9 *	9.80	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	431.133 7	[M + H] ⁺	Ononin	A1	A2	B1	B2	B3	B4
24	F10 *	10.30	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₀	463.159 9	[M + H] ⁺	Methylnisissolin-3-O-glucoside	A1	A2	B1	B2	B3	B4
25	F11	10.48	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₀	465.175 5	[M + H] ⁺	Astraisoflavanin	A1	A2	B1	B2	B3	B4
26	S1	10.69	C ₄₇ H ₇₈ O ₁₉	947.521 0	[M + H] ⁺	Astragaloside V, VI or VII	A1	A2	B1	B2	B3	B4
27	F12 *	10.92	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285.075 7	[M + H] ⁺	Calycosin	A1	A2	B1	B2	B3	B4
28	S2	11.05	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₄	787.483 8	[M + H] ⁺	Astramembranoside B	A1	A2	B1	B2	B3	B4
29	F13	11.10	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	315.086 3	[M + H] ⁺	Kumatakenin	A1	A2		B2	B3	B4
30	S3	11.20	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	785.468 2	[M + H] ⁺	Isoastragaloside IV	A1	A2	B1	B2	B3	B4
31	S4	11.35	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₅	815.478 7	[M + H] ⁺	Astramembranoside A	A1	A2	B1	B2	B3	B4
32	S5	11.57	C ₄₇ H ₇₈ O ₁₉	947.521 0	[M + H] ⁺	Astragaloside V, VI or VII	A1	A2	B1	B2	B3	B4
33	S6 *	12.08	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	785.468 2	[M + H] ⁺	Astragaloside IV	A1	A2	B1	B2	B3	B4
34	S7 *	12.24	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	785.468 2	[M + H] ⁺	Astragaloside III	A1	A2	B1	B2	B3	B4
35	S8 *	12.90	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₅	827.478 7	[M + H] ⁺	Astragaloside II	A1	A2	B1		B3	B4
36	S9	13.05	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	943.526 1	[M + H] ⁺	Soyasaponin I	A1	A2	B1	B2	B3	B4
37	S10	13.20	C ₃₆ H ₆₀ O ₁₀	653.424 8	[M + H] ⁺	Brachyoside B	A1	A2	B1	B2	B3	B4
38	F14 *	13.40	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	269.080 8	[M + H] ⁺	Formononetin	A1	A2	B1	B2	B3	B4
39	S11	13.26	C ₃₅ H ₅₈ O ₉	623.415 4	[M + H] ⁺	Astramembrannin II	A1	A2		B2	B3	B4
40	S12	13.50	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₅	827.478 7	[M + H] ⁺	Isoastragaloside II	A1	A2	B1		B3	B4
41	F15	13.63	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	301.107 1	[M + H] ⁺	Methylnisissolin	A1	A2	B1	B2	B3	B4
42	S13	13.80	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₅	827.478 7	[M + H] ⁺	Isoastragaloside II	A1	A2	B1		B3	B4
43	S14 *	14.60	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆	869.489 3	[M + H] ⁺	Astragaloside I	A1	A2			B3	B4
44	S15	15.10	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆	891.471 3	[M + H] ⁺	Isoastragaloside I	A1	A2			B3	B4
45	S16	15.80	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆	869.489 3	[M + H] ⁺	Isoastragaloside I	A1	A2			B3	B4
46	S17 *	15.80	C ₃₀ H ₅₀ O ₅	513.355 0	[M + Na] ⁺	Cycloastragenol	A1	A2	B1	B2	B3	B4

注: *:已与标准品保留时间,二级碎片等信息确认;a:理论值 m/z;b:实测值 m/z

在研究中发现,黄酮类有几组同分异构体,如 F2 和 F8(C₂₂H₂₂O₁₁, m/z 463.123 5)。在数据库中,得到 3 个候选化合物:红车轴草素 7-O-葡萄糖苷 (pratensein 7-O-glucoside), 鼠李糖苷 3-O-葡萄糖苷 (rhamnocitin 3-O-glucoside) 和 山柰素 3-O-葡萄糖苷

(kaempferide 3-O-glucoside)。[M + H]⁻ 离子的二级质谱显示它们都具有分子量 301.070 6(C₁₆H₁₃O₆) 的苷元碎片离子。峰 F8 在 RDA 机理中断裂的 m/z 153 和 134 碎片表明它在 A 环和 B 环中皆含有 2 个羟基官能团,所以红车轴草素 7-O-葡萄糖苷是唯一的

表 2 黄芪注射液中各成分主要碎片离子及谱峰归属

色谱峰 标识	保留 时间	分子式	母离子 (m/z) ^a	碰撞电压 (eV)	子离子 (m/z) ^b	子离子分子式	质量偏移 (ppm)	碎片裂解
A1 *	1. 07	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	133. 060 8	6	116. 034 2	C ₄ H ₆ NO ₃ ⁺	0. 2	[M + H-NH ₃] ⁺
					87. 055 0	C ₃ H ₇ N ₂ O ⁺	3. 3	[M-COOH] ⁺
A2 *	1. 07	C ₄ H ₉ NO ₃	120. 065 5	6	74. 059 5	C ₃ H ₈ NO ⁺	7. 3	[M-COOH] ⁺
A3 *	1. 11	C ₅ H ₉ NO ₄	148. 060 4	6	130. 050 1	C ₅ H ₈ NO ₃ ⁺	1. 8	[M + H-NH ₃] ⁺
					102. 055 0	C ₄ H ₈ NO ₂ ⁺	0. 4	[M-COOH] ⁺
					84. 044 2	C ₄ H ₆ NO ⁺	2. 3	[M-COOH-H ₂ O] ⁺
A4 *	1. 17	C ₅ H ₉ NO ₂	116. 070 6	6	70. 065 1	C ₄ H ₈ N ⁺	0. 4	[M-COOH] ⁺
A5 *	1. 20	C ₅ H ₁₁ NO ₂	118. 086 3	6	72. 080 8	C ₄ H ₁₀ N ⁺	0. 3	[M-COOH] ⁺
O1 *	1. 64	C ₆ H ₅ NO ₂	124. 039 3	25	80. 049 3	C ₅ H ₆ ⁺	2. 2	[M + H-CO ₂] ⁺
					78. 033 5	C ₅ H ₄ N ⁺	4. 2	[M-COOH] ⁺
O2 *	2. 18	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	245. 076 8	15	113. 034 3	C ₄ H ₅ N ₂ O ₂ ⁺	2. 3	[M + H-rib] ⁺
A6 *	2. 20	C ₆ H ₁₃ NO ₂	132. 101 9	6	86. 096 3	C ₅ H ₁₃ N ⁺	1. 5	[M-COOH] ⁺
A7 *	2. 27	C ₉ H ₁₁ NO ₃	182. 081 2	8	165. 054 5	C ₉ H ₉ O ₃ ⁺	0. 7	[M + H-NH ₃] ⁺
					136. 075 5	C ₈ H ₁₀ NO ⁺	1. 4	[M-COOH] ⁺
A8 *	2. 49	C ₆ H ₁₃ NO ₂	132. 101 9	6	86. 096 3	C ₅ H ₁₂ N ⁺	1. 5	[M-COOH] ⁺
O3 *	2. 64	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	268. 104 0	10	136. 061 5	C ₅ H ₆ N ₅ ⁺	2. 0	[M + H-rib] ⁺
A9 *	4. 44	C ₉ H ₁₁ NO ₂	166. 086 3	8	120. 080 7	C ₈ H ₁₀ N ⁺	0. 6	[M-COOH] ⁺
					103. 054 0	C ₈ H ₇ ⁺	2. 2	[M-COOH-NH ₃] ⁺
O4	4. 67	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₅	243. 097 5	10	225. 087 1	C ₁₀ H ₁₃ N ₂ O ₄ ⁺	0. 1	
					164. 070 6	C ₉ H ₁₀ NO ₂ ⁺	0. 0	
					124. 039 4	C ₆ H ₆ NO ₂ ⁺	0. 8	
					108. 044 5	C ₆ H ₆ NO ⁺	1. 0	
A10 *	5. 82	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	205. 097 2	9	188. 070 6	C ₁₁ H ₁₀ NO ₂ ⁺	0. 0	[M + H-NH ₃] ⁺
F1	5. 91	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	625. 176 3	60	301. 070 1	C ₁₆ H ₁₃ O ₆ ⁺	1. 9	[M + H-2glc] ⁺
					269. 044 2	C ₁₅ H ₉ O ₅ ⁺	0. 9	[M + H-glc-CH ₃ -H ₂ O] ⁺
					241. 049 2	C ₁₄ H ₉ O ₄ ⁺	1. 4	[M + H-glc-CH ₃ -H ₂ O-CO] ⁺
					137. 023 2	C ₇ H ₅ O ₃ ⁺	0. 9	
F2	7. 43	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	463. 123 5	35	301. 070 4	C ₁₆ H ₁₃ O ₆ ⁺	0. 9	[M + H-glc] ⁺
					269. 044 2	C ₁₅ H ₉ O ₅ ⁺	0. 9	[M + H-glc-CH ₃ -H ₂ O] ⁺
					241. 049 2	C ₁₄ H ₉ OO ₄ ⁺	1. 4	[M + H-glc-CH ₃ -H ₂ O-CO] ⁺
					137. 023 0	C ₇ H ₅ O ₃ ⁺	2. 3	
F3	7. 79	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	447. 128 6	45	285. 075 0	C ₁₆ H ₁₃ O ₅ ⁺	2. 6	[M + H-glc] ⁺
					270. 051 9	C ₁₅ H ₁₀ O ₅ ⁺	1. 4	[M + H-glc-CH ₃] ⁺
					253. 049 3	C ₁₅ H ₉ O ₄ ⁺	0. 9	[M-glc-CH ₄ O] ⁺
					137. 022 7	C ₇ H ₅ O ₃ ⁺	4. 5	A-ring
F4 *	8. 10	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	447. 128 6	45	285. 074 8	C ₁₆ H ₁₃ O ₅ ⁺	3. 3	[M + H-glc] ⁺
					270. 051 5	C ₁₅ H ₁₀ O ₅ ⁺	2. 9	[M + H-glc-CH ₃] ⁺
					253. 048 6	C ₁₅ H ₉ O ₄ ⁺	3. 7	[M + H-glc-CH ₄ O] ⁺
					213. 054 0	C ₁₃ H ₉ O ₃ ⁺	3. 1	[M + H-glc-CH ₃ -CO-CHO] ⁺
					137. 022 8	C ₇ H ₅ O ₃ ⁺	3. 8	A-ring
F5	8. 26	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₁	477. 139 1	35	315. 086 5	C ₁₇ H ₁₅ O ₆ ⁺	0. 6	[M + H-glc] ⁺
					300. 062 4	C ₁₆ H ₁₂ O ₆ ⁺	1. 5	[M + H-glc-CH ₃] ⁺
					167. 033 3	C ₈ H ₇ O ₄ ⁺	3. 5	A-ring
F6 *	8. 59	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	433. 112 9	45	271. 059 9	C ₁₅ H ₁₁ O ₅ ⁺	0. 7	[M + H-glc] ⁺
					243. 064 6	C ₁₄ H ₁₁ O ₄ ⁺	2. 4	[M + H-glc-CO] ⁺
F7	8. 65	C ₂₉ H ₃₈ O ₁₅	644. 254 8	30	465. 174 2	C ₂₃ H ₂₉ O ₁₀ ⁺	2. 85	[M + H-glc] ⁺
					303. 122 2	C ₁₇ H ₁₉ O ₅ ⁺	1. 7	[M + H-2glc] ⁺
					167. 069 9	C ₉ H ₁₁ O ₃ ⁺	2. 2	B-ring
					123. 043 8	C ₇ H ₇ O ₂ ⁺	2. 1	A-ring
F8	9. 11	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	463. 123 5	45	671. 219 3	[M + COOH] ⁻	25	
					463. 159 2	C ₂₃ H ₂₇ O ₁₀ ⁻	1. 5	[M-H-glc] ⁻
					301. 106 3	C ₁₇ H ₁₇ O ₅ ⁻	2. 5	[M-H-2glc] ⁻
					301. 070 2	C ₁₆ H ₁₃ O ₆ ⁺	1. 5	[M + H-glc] ⁺
					286. 046 5	C ₁₅ H ₁₀ O ₆ ⁺	2. 4	[M + H-glc-CH ₃] ⁺

续表 2 黄芪注射液中各成分主要碎片离子及谱峰归属

色峰保 标 留	时	分	母离子(m/z) ^a	碰撞电压 (eV)	子离子 (m/z) ^b	子离子 分子式	质量偏移 (ppm)	碎片裂解	
F9 [*]	9. 80	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	431. 133 7	60	[M + H] ⁺	269. 043 6	C ₁₅ H ₉ O ₅ ⁺	3. 2	[M + H-glc-CH ₃ -H ₂ O] ⁺
						153. 017 6	C ₇ H ₅ O ₄ ⁺	4. 2	B-ring
						134. 036 1	C ₈ H ₆ O ₂ ⁺	1. 0	A-ring
						269. 080 1	C ₁₆ H ₁₃ O ₄ ⁺	2. 7	[M + H-glc] ⁺
						254. 055 6	C ₁₅ H ₁₀ O ₄ ⁺	3. 0	[M + H-glc-CH ₃] ⁺
						226. 061 6	C ₁₅ H ₁₀ O ₅ ⁺	3. 7	[M + H-glc-CH ₃ -CO] ⁺
						213. 090 0	C ₁₃ H ₉ O ₃ ⁺	4. 7	[M + H-glc-COCH ₃ -CHO] ⁺
						137. 022 7	C ₇ H ₅ O ₃ ⁺	4. 9	A-ring
F10	10. 30	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₀	463. 159 9	15	[M + H] ⁺	118. 040 7	C ₈ H ₆ O ⁺	5. 2	B-ring
						301. 107 8	C ₁₇ H ₁₇ O ₅ ⁺	2. 5	[M + H-glc] ⁺
						167. 069 9	C ₉ H ₁₁ O ₃ ⁺	1. 0	
F11	10. 48	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₀	465. 175 5	6	[M + H] ⁺	303. 120 3	C ₁₇ H ₁₉ O ₅ ⁺	7. 9	[M + H-glc] ⁺
						167. 069 7	C ₉ H ₁₁ O ₃ ⁺	3. 4	B-ring
						123. 043 6	C ₇ H ₇ O ₂ ⁺	3. 7	A-ring
S1	10. 69	C ₄₇ H ₇₈ O ₁₉	947. 521 0	20	[M + H] ⁺	AS			
		C ₄₇ H ₇₈ O ₁₉	945. 506 5	60	[M-H] ⁻	783. 452 9	C ₄₁ H ₆₇ O ₁₄ ⁻	0. 5	[M-glc-OH] ⁻
F12 [*]	10. 92	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285. 075 7	30	[M + H] ⁺	489. 359 3	C ₃₀ H ₄₉ O ₅ ⁻	3. 8	[Astragenol-H] ⁻
						270. 051 4	C ₁₅ H ₁₀ O ₅ ⁺	3. 2	[M + H-CH ₃] ⁺
						253. 048 7	C ₁₅ H ₉ O ₄ ⁺	3. 3	[M + H-CH ₄ O] ⁺
						225. 054 0	C ₁₄ H ₉ O ₃ ⁺	2. 8	[M + H-CH ₃ -CO-H ₂ O] ⁺
						213. 054 1	C ₁₃ H ₉ O ₃ ⁺	2. 4	[M + H-CH ₃ -CO-CHO] ⁺
						137. 022 7	C ₇ H ₅ O ₃ ⁺	4. 5	A-ring
S2	11. 05	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₄	787. 483 8	10	[M + H] ⁺	AS			
			831. 474 8	40	[M + COOH] ⁻	785. 468 0	C ₄₁ H ₆₉ O ₁₄ ⁻	0. 2	[M-H] ⁻
						623. 416 5	C ₃₅ H ₅₉ O ₉ ⁻	1. 8	[M-H-glc] ⁻
F13	11. 10	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	315. 086 3	40	[M + H] ⁺	491. 374 0	C ₃₀ H ₅₁ O ₅ ⁻	1. 8	[M-H-glc-xyl] ⁻
						300. 061 7	C ₁₆ H ₁₂ O ₆ ⁺	3. 8	[M + H-CH ₃] ⁺
						243. 064 9	C ₁₄ H ₁₁ O ₄ ⁺	1. 2	[M + H-CH ₄ O-CO] ⁺
						167. 033 7	C ₈ H ₇ O ₄ ⁺	1. 1	A-ring
S3	11. 20	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	785. 468 2	25	[M + H] ⁺	AS			
			829. 459 1	40	[M + COOH] ⁻	783. 452 8	C ₄₁ H ₆₇ O ₁₄ ⁻	0. 3	[M-H] ⁻
						621. 398 2	C ₃₅ H ₅₇ O ₉ ⁻	2. 4	[M-H-glc] ⁺
S4	11. 35	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₅	815. 478 7	20	[M + H] ⁺	489. 359 2	C ₃₀ H ₄₉ O ₅ ⁻	3. 6	[Astragenol-H] ⁻
			859. 468 6	50	[M + COOH] ⁻	813. 463 3	C ₄₂ H ₆₉ O ₁₅ ⁻	0. 3	[M-H] ⁻
						615. 409 1	C ₃₃ H ₅₉ O ₁₀ ⁻	1. 9	
S5	11. 57	C ₄₇ H ₇₈ O ₁₉	947. 521 0	20	[M + H] ⁺	489. 353 2	C ₃₀ H ₄₉ O ₅ ⁻	8. 7	[Astragenol-H] ⁻
			991. 510 8	60	[M + COOH] ⁻	AS			
						945. 504 5	C ₄₇ H ₇₇ O ₁₉ ⁻	0. 9	[M-H] ⁻
						783. 453 7	C ₄₁ H ₆₇ O ₁₄ ⁻	1. 5	[M-H-glc] ⁺
						651. 409 2	C ₃₆ H ₅₉ O ₁₀ ⁻	0. 6	[M-H-2glc] ⁺
S6 [*]	12. 08	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	785. 468 2	10	[M + H] ⁺	489. 359 3	C ₃₀ H ₄₉ O ₅ ⁻	3. 8	[Astragenol-H] ⁻
			829. 459 1	45	[M + COOH] ⁻	AS			
						783. 451 7	C ₄₁ H ₆₇ O ₁₄ ⁻	2. 5	[M-H] ⁻
						651. 409 9	C ₃₆ H ₅₉ O ₁₀ ⁻	0. 3	[M-H-xyl] ⁻
S7 [*]	12. 24	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	785. 468 2	10	[M + H] ⁺	489. 357 7	C ₃₀ H ₄₉ O ₅ ⁻	1. 7	[Astragenol-H] ⁻
			829. 459 1	40	[M + COOH] ⁻	AS			
						783. 452 8	C ₄₁ H ₆₇ O ₁₄ ⁻	1. 1	[M-H] ⁻
						621. 399 6	C ₃₅ H ₅₇ O ₉ ⁻	0. 2	[M-H-glc] ⁺
S8 [*]	12. 90	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₅	827. 478 7	10	[M + H] ⁺	489. 357 6	C ₃₀ H ₄₉ O ₅ ⁻	1. 9	[Astragenol-H] ⁻
			871. 468 6	40	[M + COOH] ⁻	AS			
						825. 468 0	C ₄₃ H ₆₉ O ₁₅ ⁻	0. 4	[M-H] ⁻
						765. 444 6	C ₄₁ H ₆₅ O ₁₃ ⁻	1. 0	[M-H-COOCH ₃] ⁻
						489. 357 8	C ₃₀ H ₄₉ O ₅ ⁻	0. 7	[Astragenol-H] ⁻

续表2 黄芪注射液中各成分主要碎片离子及谱峰归属

色谱峰标识	保留时间	分子式	母离子(m/z) ^a	碰撞电压(eV)	子离子(m/z) ^b	子离子分子式	质量偏移(ppm)	碎片裂解	
S9	13.05	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	941.510 4	70	795.451 8	C ₄₂ H ₆₇ O ₁₄ ⁻	0.9	[M-H-rha] ⁻	
					615.386 7	C ₃₆ H ₅₅ O ₈ ⁻	5.8	[M-H-rha-gal-H ₂ O] ⁻	
					457.368 1	C ₃₀ H ₄₉ O ₃ ⁻	1.1	[Aglycone-H] ⁻	
S10	13.20	C ₃₆ H ₆₀ O ₁₀	653.424 8	38	AS				
			697.416 9		[M + COOH] ⁻	651.410 4	C ₃₆ H ₈ O ₁₁ ⁻	0.2	[M-H] ⁻
						489.356 5	C ₃₀ H ₄₉ O ₅ ⁻	1.3	[Astragenol-H] ⁻
F14 [*]	13.40	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	269.080 8	38	253.048 7	C ₁₅ H ₉ O ₄ ⁺	3.3	[M + H-CH ₃ -H] ⁺	
					237.054 1	C ₁₅ H ₉ O ₃ ⁺	2.2	[M + H-CH ₄ O] ⁺	
					226.061 4	C ₁₄ H ₁₀ O ₃ ⁺	4.6	[M + H-CH ₃ -CO] ⁺	
					225.054 0	C ₁₄ H ₉ O ₃ ⁺	2.7	[M + H-CH ₃ -CHO] ⁺	
					197.059 3	C ₁₃ H ₉ O ₂ ⁺	2.1	[M + H-CH ₃ -CO-CHO] ⁺	
					137.022 8	C ₇ H ₅ O ⁺	3.8	A-ring	
					118.040 8	C ₈ H ₆ O ⁺	4.4	B-ring	
S11	13.26	C ₃₅ H ₅₈ O ₉	623.415 4	8	AS				
S12	13.50	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₅	827.478 7	10	AS				
			871.469 7	[M + COOH] ⁻	40	825.462 6	C ₄₃ H ₆₉ O ₁₅ ⁻	0.6	[M-H] ⁻
F15	13.63	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	301.107 1	15	765.441 3	C ₄₁ H ₆₅ O ₁₃ ⁻	0.9	[M-H-COCH ₃] ⁻	
					167.069 7	C ₉ H ₁₁ O ₃ ⁺	3.4		
S13	13.80	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₅	827.478 7	10	AS				
			871.469 7	40	825.462 8	C ₄₃ H ₆₉ O ₁₅ ⁻	0.4	[M-H] ⁻	
					765.441 5	C ₄₁ H ₆₅ O ₁₃ ⁻	0.6	[M-H-COCH ₃] ⁻	
S14 [*]	14.60	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆			489.357 2	C ₃₀ H ₄₉ O ₅ ⁻	0.5	[Astragenol-H] ⁻	
		869.489 3	10	AS					
				867.476 4	C ₄₅ H ₇₁ O ₁₆ ⁻	0.9	[M-H] ⁻		
				825.461 2	C ₄₃ H ₆₉ O ₁₅ ⁻	2.3	[M-COCH ₃] ⁻		
				807.456 8	C ₄₃ H ₆₇ O ₁₄ ⁻	5.3	[M-COCH ₃ -H ₂ O] ⁻		
S15	15.10	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆			765.439 0	C ₄₁ H ₆₅ O ₁₃ ⁻	3.9	[M-H-COCH ₃ -glc] ⁻	
		891.471 3	40	AS					
				867.473 5	C ₄₅ H ₇₁ O ₁₆ ⁻	0.2	[M-H] ⁻		
				825.464 3	C ₄₃ H ₆₉ O ₁₅ ⁻	1.5	[M-COCH ₃] ⁻		
				807.450 0	C ₄₃ H ₆₇ O ₁₄ ⁻	3.1	[M-COCH ₃ -H ₂ O] ⁻		
S16	15.80	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆			765.442 6	C ₄₁ H ₆₅ O ₁₃ ⁻	0.8	[M-H-COCH ₃ -glc] ⁻	
		869.489 3	40	AS					
				867.471 8	C ₄₅ H ₇₁ O ₁₆ ⁻	2.2	[M-H] ⁻		
				825.466 4	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₅ ⁻	4.0	[M-COCH ₃] ⁻		
				807.454 7	C ₄₃ H ₆₇ O ₁₄ ⁻	2.7	[M-COCH ₃ -H ₂ O] ⁻		
S17	15.80	C ₃₀ H ₅₀ O ₅	513.355 0	-	765.446 0	C ₄₁ H ₆₅ O ₁₃ ⁻	5.3	[M-H-COCH ₃ -glc] ⁻	

注:AS:该化合物在一级或低能量的二级谱图中有显著的3-4组碎片离子信号;并包含特征离子:437.341 4,143.106 7,125.0966(<5 ppm)。*:已与对照品保留时间,二级谱信息等确认;a:理论值 m/z;b:实测值 m/z

参考文献[18],F2可鉴定为鼠李糖苷3-O-葡萄糖苷。F3和F4具有非常相似的结构,将保留时间与对照品进行比较,确认F4为毛蕊异黄酮-7-O-葡萄糖苷(calycosin-7-O-glucoside),而F3可能为3'-hydroxy-5'-methoxyisoflavone-7-O-glucoside。

2.3 主要皂苷类化合物的鉴定 黄芪中大部分皂苷类成分均属于C-17位带有一个呋喃环的环阿屯烷型四环三萜皂苷。通常情况下,环阿屯烷类皂苷在0.1%甲酸-乙腈系统中,正模式下具有显著的[M+Na]⁺和较低丰度的[M+H]⁺;或者负模式下

显著的[M+COOH]⁻。另外,皂苷类结构在ESI+模式下特征显著,由于其母离子在离子源内容易碎裂,即使在较为温和的条件下,质谱图上也会表现为一簇一簇的碎片离子^[15]。而此类皂苷类结构的质谱行为恰好可以作为一个快速识别及判断环阿屯型皂苷类结构存在的方法。本研究中,皂苷类结构出峰时间在11分钟以后,其结构分析采用正负2种模式下分别采集质谱信息相结合分析。

以黄芪甲苷IV(S4,Astragaloside IV)为代表的皂苷类成分,质谱中碎裂特征明显。图2所示正模

式的质谱图上出现规律的成簇的复杂离子信号,低碰撞能量的二级谱与之几乎相同。A 组中为母离子及其一系列脱水离子信号;B 组中为母离子脱去 C-6 葡萄糖或者 C-3 木糖,以及其一系列的脱水离子信号;C 和 D 组几乎可以在所有以环黄芪醇 m/z 437.3414 ($C_{30}H_{45}O_2$) 为苷元的黄芪皂苷中观察到的一组信号,其中 C 组包含苷元离子碎片以及其一系列脱水离子的信号;D 组主要为 2 个环黄芪醇骨架的特征离子碎片 m/z 143.1067 ($C_8H_{15}O_2$) 和 125.0966 ($C_8H_{13}O$),是 C-17 和 C-20 之间断裂产生的呋喃环的离子碎片。另外,采集负模式下的 $[M + COOH]^-$ 离子的二级谱,可以获得苷元离子碎片 489.3577 ($C_{30}H_{50}O_5$),以及脱木糖的 $[M-H-xyl]^-$ 离子碎片 m/z 651.4123 ($C_{36}H_{59}O_{10}$)。一般皂苷 C-3 位的苷键较 C-6 位容易断裂^[19]。从而可以区别与黄芪甲苷为同分异构体的黄芪皂苷 III(S7)。

同类型皂苷分析发现,环阿屯型皂苷的质谱行为具有极强的规律性,具有相同苷元骨架,且裂解途径相同。通过正负模式下综合分析,可以基本确认

环阿屯型皂苷存在。正模式下,即可通过其离子源内裂解产生的成簇存在的碎片离子;以及通过提取特征碎片离子 m/z 437.3414,143.1067 和 125.0966 快速的定位以及辨认环阿屯型皂苷。如图 3 所示,通过提取特征离子 437.3414 可以定位大部分环阿屯型皂苷。而负模式下采集的二级谱信息,可以提供皂苷上糖连接位置以及类型的信息。通过上述方法综合分析,本研究在黄芪注射液中中共分析得到 16 个环阿屯型皂苷和一个齐墩果烷型皂苷,其中 5 个化合物与标准品确证。

此外,我们还观察到实验中异构体的相互转化(S6 和 S7;S8,S12 和 S13;S14,S15 和 S16)。在室温下储存数小时后,对照品溶液中发生异构化现象(图 4):S7 部分转化为 S6;S8 转换为 S12,S13;并且 S14 转换为 S15,S16。异构体通常在黄芪注射液中共存,其不稳定性可能是由糖苷键或乙酰基的异构化或分子构型的变化引起的。并且实验中发现甲醇溶液提取黄芪皂苷可以抑制异构现象的发生,而水溶液提取黄芪皂苷时会促进异构现象发生。

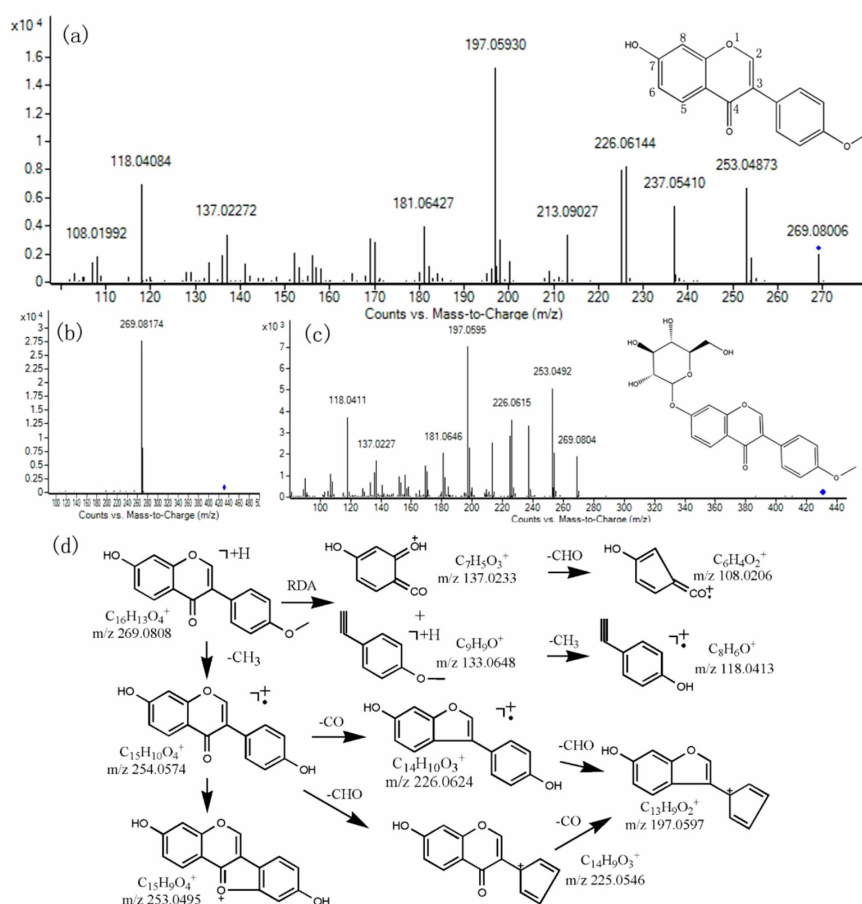


图 1 芒柄花素(F14)以及芒柄花苷(F9)的 UPLC/Q-TOF-MS 解析过程

注:(a). ESI+ 芒柄花素二级谱(CID 38eV);(b). ESI- 低碰撞能量的芒柄花苷二级谱(CID 10eV);(c). ESI- 低碰撞能量的芒柄花苷二级谱(CID 60eV);(d). 芒柄花素质谱裂解过程推测 ESI+

和腺苷(O3)。均与标准品比对,确证。另外,O4($C_{10}H_{14}N_2O_5$)在黄芪相关文献中并未发现相关信息,其分子式与胸苷一致,但碎片离子与胸苷标准品不一致。

3 结论

本研究中采用 UPLC/Q-TOF/MS 法,研究建立了黄芪注射液快速准确成分分析方法。在研究方法条件下,在 6 个厂家注射液中共分析得到 46 个共有化合物,其中 24 个已通过标准品验证。研究中还归纳了不同类型化合物质谱裂解规律,为同类型化合物成分分析提供参考。

基于成分分析结果,发现 6 厂家黄芪注射液产品质量非常大。除黄芪药材质量的影响因素外,各厂家生产工艺不同,应该是注射液产品质量影响的主要因素。因此,统一黄芪注射液生产工艺是非常必要的。另外添加增溶剂,可以极大的改善黄芪甲苷等皂苷类成分的含量,但注射液中使用吐温 80 等增溶剂存在一定风险^[20]。另外在研究中发现,部分环阿屯烷型皂苷在水溶液中的异构现象;对黄芪注射液工艺改进具指导意义。

参考文献

- [1] 赵凤杰. 黄芪的药效成份及药理作用研究[J]. 中国保健营养, 2017, 27(25): 22.
- [2] 马军, 曾东汉, 樊光辉. 黄芪注射液治疗病毒性心肌炎随机对照试验的系统评价[J]. 世界中西医结合杂志, 2018, 13(12): 1653-1657.
- [3] 徐银祯, 李兰芳, 党万军. 黄芪注射液对老年高血压患者血管功能及左心室重塑的影响[J]. 内科, 2018, 13(6): 843-846.
- [4] Fu J, Wang Z, Huang L, et al. Review of the botanical characteristics, phytochemistry, and pharmacology of *Astragalus membranaceus* (Huangqi) [J]. *Phytotherapy Research* Ptr, 2015, 28(9): 1275-1283.
- [5] 吕冬宁. 黄芪注射液治疗肾脏疾病的应用概况[J]. 广西中医药大学学报, 2018, 21(2): 95-98.
- [6] 韩蓉, 朱路佳, 潘建新, 等. 黄芪注射液的急性毒性和长期毒性试验[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(4): 50-53.
- [7] 曹玉梅, 曹秀娟, 黄瑞华, 等. 黄芪注射液联合阿托伐他汀治疗早

- 期糖尿病肾病的临床效果[J]. 中国医药, 2016, 11(4): 543-546.
- [8] 陈仲曦. 浅析黄芪注射液的药理作用及临床应用效果[J]. 当代医药论丛, 2016, 14(15): 101-102.
- [9] 张伽妹, 郭晓宇, 全庆华, 等. 基于 LTQ-Orbitrap 高分辨质谱技术的柘木化学成分分析[J]. 质谱学报, 2018, 39(5): 599-606.
- [10] 孙志, 周霖, 李卓伦, 等. 基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱技术的脑心通胶囊化学成分研究[J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(19): 1687-1695.
- [11] Li Z, Guo X, Cao Z, et al. New MS network analysis pattern for the rapid identification of constituents from traditional Chinese medicine prescription Lishukang capsules in vitro and in vivo based on UHPLC/Q-TOF-MS[J]. *Talanta*, 2018, 189(1): 606-621.
- [12] Wang J, Jiang W, Liu Z, et al. Analysis and identification of chemical constituents of fenugreek by UPLC-IT-MS, n, and UPLC-Q-TOF-MS[J]. *Chemical Research in Chinese Universities*, 2017, 33(5): 721-730.
- [13] Feng F, Li W, Sun Y, Zhang F. Non-targeted screening and determination of steviol glycosides in Chinese liquor and beverages by ultra high performance liquid chromatography-quadrupole/Orbitrap mass spectrometry[J]. *Se Pu*, 2019, 37(1): 82-92.
- [14] 胡紫艳, 田稷馨, 李小丽. LC-MS 联用技术在中药非目标化学成分分析中的研究进展[J]. 中草药, 2011, 42(1): 180-184.
- [15] Jing L, Zhong-Zhen Z, Hu-Biao C. Review of *Astragali Radix* [J]. *Chinese Herbal Medicines*, 2011, 3(2): 90-105.
- [16] 张纲, 胡雪娇, 姜国志, 等. 液质联用分析黄芪注射液中的有机小分子化学成分[J]. 中国现代中药, 2016, 18(4): 410-414.
- [17] Xing X, Sun Z, Yang M, et al. Quantitative Evaluation of Twelve Major Components of Sulfur-Fumigated *Astragali Radix* with Different Durations by UPLC-MS[J]. *Molecules*. 2018 Oct 11; 23(10): pii: E2609.
- [18] C. Chu, H. X. Cai, M. T. Ren, E. H. Liu, B. Li, L. W. Qi, P. Li, Characterization of novel astragaloside malonates from *Radix Astragali* by HPLC with ESI quadrupole TOF MS, *J. Sep. Sci.* (2010) 570-581.
- [19] Xie G, Plumb R, Su M, et al. Ultra-performance LC/TOF MS analysis of medicinal Panax herbs for metabolomic research [J]. *J Sep Sci*. 2008, 31(6-7): 1015-1026.
- [20] 包敏, 陈阳桔. 探索鱼腥草注射液中的过敏原成分及其致敏机理[J]. 中国卫生标准管理, 2017, 8(12): 126-127.

(2019-03-10 收稿 责任编辑: 徐颖)