

UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速鉴定补肺健脾方的化学成分

崔琳琳, 包永睿, 王帅, 李天娇, 孟宪生*

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁省组分中药工程技术研究中心,
辽宁省现代中药研究工程实验室, 辽宁大连 116600)

[摘要] 目的: 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对补肺健脾方中的化学成分进行检测和分析。方法: 采用 Agilent Poroshell SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 100 mm, 2.7 μm), 正、负离子模式下的流动相系统分别选择 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B) 梯度洗脱(0~10 min, 3% B; 10~100 min, 3%~50% B; 100~120 min, 50%~100% B) 和水(A)-乙腈(B) 梯度洗脱(0~5 min, 3% B; 5~60 min, 3%~100% B), 流速 0.6 mL·min⁻¹, 柱温 30 ℃。采用电喷雾离子源(ESI), 干燥气流速 13 L·min⁻¹, 干燥气温度 350 ℃, 毛细管电压 3.5 kV, 雾化器压力 310.28 kPa, 碎裂电压 125 V, 二级质谱碰撞电压 40 eV, 在正、负离子扫描采集数据, 采集范围均为 *m/z* 50~1 000, 通过 Agilent MassHunter Qualitative Analysis 数据分析定性软件进行色谱峰的提取和匹配。**结果:** 通过质谱信息并结合对照品、相关文献、数据库检索, 共鉴别出了 95 个化合物, 包括黄酮类 41 个, 生物碱类 23 个、木脂素类 12 个, 有机酸类 9 个和其他类化合物 10 个。**结论:** 补肺健脾方化学成分复杂, 不同成分裂解规律各异, 黄酮类化合物在裂解过程中容易发生脱糖基、脱水、环的逆狄尔斯-阿尔德反应(RDA)裂解, 以及 CO, CO₂, CHO 等一些中性分子丢失; 木脂素类成分苯环上常有羟基、羰基、甲氧基等取代基, 易得到丢失 H₂O 或 CO 的碎片离子; 有机酸类化合物的基本结构为酚羟基取代的芳香环、丙烯酸、脂肪酸, 该类化合物在负离子模式下易丢失 H₂O 和 COOH, 且易在羰基处断裂形成碎片离子。该方法快速、灵敏、准确, 可快速鉴别补肺健脾方的化学成分, 为阐释该复方的功效物质基础提供了依据。

[关键词] 补肺健脾方; 化学成分; 黄酮类; 生物碱类; 木脂素类; 有机酸类; 慢性阻塞性肺疾病

[中图分类号] R22; R914; R28; O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)09-0184-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200547

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191118.1754.009.html>

[网络出版时间] 2019-11-19 08:44

Identification of Chemical Constituents in Bufeijianpi Formula by UPLC-Q-TOF-MS/MS

CUI Lin-lin, BAO Yong-rui, WANG Shuai, LI Tian-jiao, MENG Xian-sheng*

(School of Pharmacy, Component Medicine Engineering Research Center of Liaoning Province, Liaoning Province Modern Chinese Medicine Research Engineering Laboratory, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To identify and analyze the chemical constituents in Bufeijianpi formula by UPLC-Q-TOF-MS/MS. **Method:** An Agilent Poroshell SB-C₁₈ column (4.6 mm × 100 mm, 2.7 μm) was used with a mobile phase system of 0.1% formic acid solution (A) -acetonitrile (B) for gradient elution (0-10 min, 3% B; 10-100 min, 3% -50% B; 100-120 min, 50% -100% B) under positive ion mode and water (A) -acetonitrile (B) for gradient elution (0-5 min, 3% B; 5-60 min, 3% -100% B) under negative ion mode, the flow rate was 0.6 mL·min⁻¹, and the column temperature was 30 ℃. Mass spectrometric data were obtained under electrospray ionization (ESI) in positive and negative ion modes, the collection range was *m/z* 50-1 000. Agilent MassHunter

[收稿日期] 20190830(011)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2018YFC1704805); 辽宁省中医药现代化研究创新团队项目(LT2017015)

[第一作者] 崔琳琳, 硕士, 从事药物分析研究, E-mail: linlin199412@163.com

[通信作者] * 孟宪生, 博士, 教授, 从事中药化学物质组学及作用机制整合研究, Tel: 0411-85890132, E-mail: mxsvvv@126.com

Qualitative Analysis software was used to extract and match chromatographic peaks. **Result:** Combined with reference, related literature and database analysis, 95 compounds were identified by mass spectrometry information, including 41 flavonoids, 23 alkaloids, 12 lignans, 9 organic acids, and 10 other compounds. **Conclusion:** The chemical composition of Bufeijianpi formula is complex, and the cracking rules of different components are different. Flavonoids are prone to deglycosylation, dehydration, Diels-Alder reaction (RDA) cleavage of the ring during lysis, and loss of some neutral molecules such as CO, CO₂, CHO. Lignans has a substituent such as a hydroxyl group, a carbonyl group or a methoxy group on the benzene ring, and it is easy to obtain a fragment ion which loses H₂O or CO. The basic structure of organic acids is a phenolic hydroxyl group-substituted aromatic ring, acrylic acid, fatty acid or the like, this kind of compound is easy to lose H₂O and COOH in negative ion mode, and it is easy to break at the carbonyl to form fragment ions. This established method is rapid, sensitive and accurate, which can quickly identify the chemical constituents in Bufeijianpi formula and provide evidences for clarifying efficacy material base of this formula.

[**Key words**] Bufeijianpi formula; chemical constituents; flavonoids; alkaloids; lignans; organic acids; chronic obstructive pulmonary disease

补肺健脾方是在传统中医药理论的指导下,由黄芪、党参、白术等 12 味中药材组成的中药复方制剂,是用于治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)的临床经验方,主要含有黄酮、生物碱、木脂素等化学成分,具有补肺健脾、培土生金、化痰止咳、降气平喘的功效^[1]。临床研究结果显示,补肺健脾方能够明显提高 COPD 患者的肺功能、运动能力和耐力^[2];动物实验也表明,该方可以增强大鼠膈肌张力及耐力,改善大鼠肺功能^[3]。

中药的药效作用是药物中所有活性化学成分群的综合体现,具有多成分、多靶点和整体调节的物质属性。复方中各味药材之间相互配伍,不同成分之间相互协同,从而发挥增效减毒的治疗作用^[4]。然而复方化学成分复杂多样,有效成分谱较为模糊,已成为制约中药现代化进程的重要因素^[5]。因此,明确复方化学成分,阐明药效物质对于复方更加安全、合理、科学地进行临床应用具有至关重要的作用。

补肺健脾方疗效确切,临床应用广泛,前期文献调研发现,目前尚无对其化学成分进行系统研究的相关报道。中药复方成分复杂,依靠传统的液相色谱及低分辨质谱已不能实现对药物中复杂成分进行准确性的目的,为了提高分析效率,达到更好的分析效果,更加全面地探究复方中的具体化学成分,本实验采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对补肺健脾方主要化学成分进行快速识别,以期为该复方的质量控制、药效物质基础研究及其复方制剂开发提供参考。

1 材料

1290 型超高效液相色谱仪和 6550 型精确质量

四级杆飞行时间液质联用系统(美国安捷伦公司), CP225D 型电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司)。补肺健脾方颗粒由河南中医药大学第一附属医院提供,批号 1905301;岩白菜素、柚皮苷、香蜂草苷、甜橙黄酮、橘红素、川陈皮素、异橙黄酮对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号分别为 wkq18051507, wkq16051305, wkq19010204, wkq19021405, wkq19022109, wkq19012502, wkq19010811,纯度均 ≥ 98.0%),橙皮苷、和厚朴酚、厚朴酚、伞形花内酯、木兰花碱、毛蕊花糖苷、枸橼苷、木犀草素、紫云英苷、橙皮素、亚油酸对照品(成都普菲德生物技术有限公司,批号依次为 18011801, 17070501, 17070412, 18020513, 17020802, 17051902, 150816, 17120702, 17052606, 150121, 17050205,纯度均 ≥ 98.0%),贝母素甲、贝母素乙、汉黄芩素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110750-200608, 751-8902, 110860-200608, 111920-201606, 纯度均 ≥ 98.0%),水为纯净水,乙腈、甲醇、甲酸为质谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 检测条件

2.1.1 正离子模式 Agilent Poroshell SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 100 mm, 2.7 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 10 min, 3% B; 10 ~ 100 min, 3% ~ 50% B; 100 ~ 120 min, 50% ~ 100% B),流速 0.6 mL · min⁻¹,柱温 30 °C,进样量 0.3 μL。电喷雾离子源(ESI),正离子模式检测,干燥气流速设定 13 L · min⁻¹,干燥气温度 350 °C,毛细管电压 3.5 kV,

雾化器压力 310.28 kPa, 碎裂电压 125 V, 二级质谱碰撞电压 40 eV, 采集范围 m/z 50 ~ 1 000。

2.1.2 负离子模式 流动相水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 5 min, 3% B; 5 ~ 60 min, 3% ~ 100% B), 进样量 1.0 μ L, 负离子模式检测, 其他条件同 2.1.1 项。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取各对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含岩白菜素 0.106 mg, 柚皮苷 0.121 mg, 香蜂草苷 0.153 mg, 甜橙黄酮 0.113 mg, 异橙黄酮 0.141 mg, 橙皮苷 1.081 mg, 橘红素 0.211 mg, 川陈皮素 0.279 mg, 和厚朴酚 0.114 mg, 厚朴酚 0.103 mg, 木兰花碱 0.116 mg, 毛蕊花糖苷 0.139 mg, 橙皮素 0.103 mg, 紫云英苷 0.132 mg, 伞形花内酯 0.118 mg, 木犀草素 0.135 mg, 亚油酸 0.096 mg, 贝母素甲 0.112 mg, 贝母素乙 0.132 mg, 汉黄芩素 0.109 mg, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 0.136 mg, 枸橼苷 0.096 mg 的混合对照品溶液, 置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱内备用。

2.3 供试品溶液的制备 精密称取补肺健脾方颗粒约 10.0 g, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声(功率 200 W, 频

率 40 kHz) 处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

3 结果

3.1 补肺健脾方中化学成分的鉴定 将补肺健脾方供试品溶液和混合对照品溶液按 2.1.1 和 2.1.2 项下检测条件进行 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析, 得正、负离子模式下的总离子流图, 见图 1。根据补肺健脾方中化学成分的保留时间(t_R)和质谱信息, 并结合对照品、相关文献、数据库和二级质谱碎片信息进行比对, 共鉴定和推测出了 95 个化学成分, 正离子模式下鉴定 58 个成分, 其中淫羊藿 11 个, 浙贝母 12 个, 厚朴 9 个, 黄芪 7 个, 陈皮 11 个, 紫菀 5 个, 党参 4 个, 地龙 2 个, 矮地茶 1 个, 见表 1^[4, 6-20]; 负离子模式下鉴定 43 个化学成分, 其中淫羊藿 15 个, 厚朴 10 个, 紫菀 6 个, 陈皮 7 个, 党参 4 个, 黄芪 4 个, 矮地茶 2 个, 地龙 1 个, 白术 1 个, 见表 2^[7, 9-11, 13-14, 16-17, 19, 21-31]。其中正、负离子 2 种检测模式下均指出化学成分有 6 个, 分别为岩白菜素、柚皮苷、芒柄花素、淫羊藿苷、宝藿苷 I 和 2"-鼠李糖基淫羊藿次苷 II。

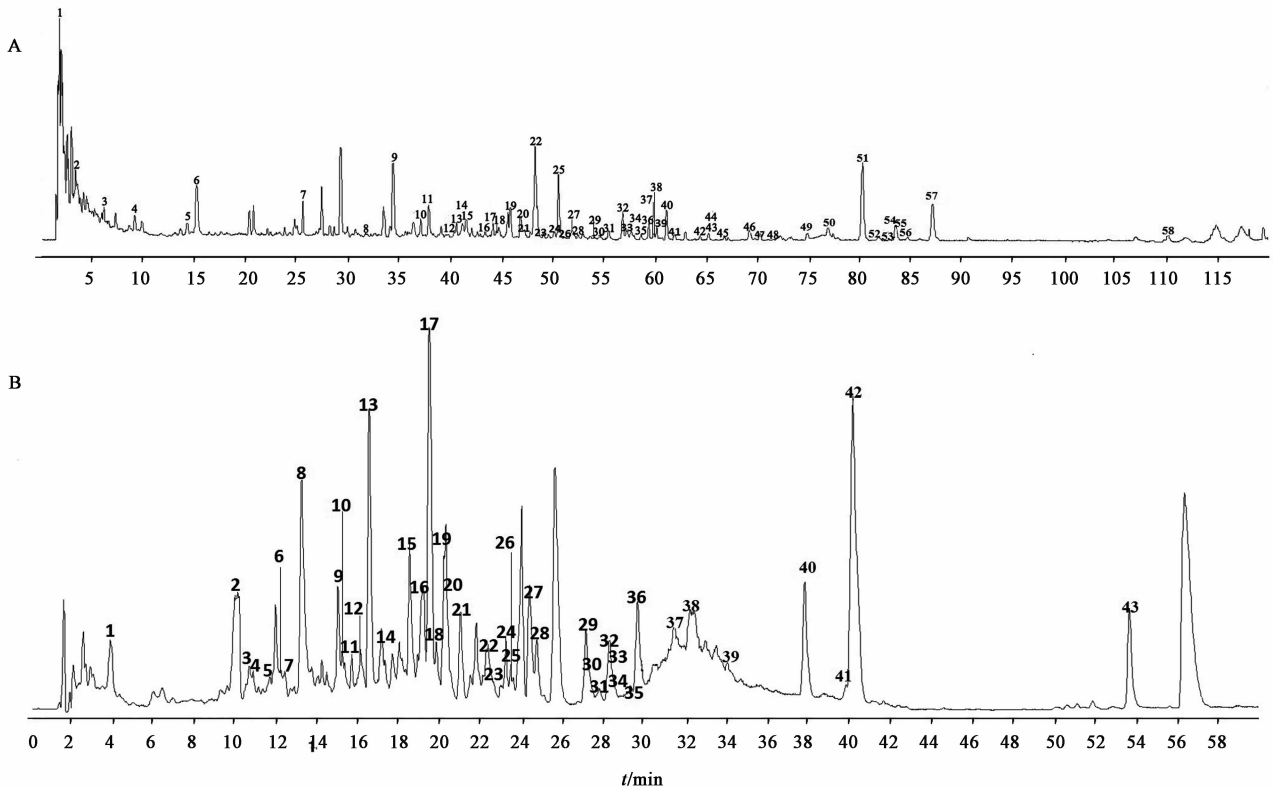


图 1 补肺健脾方正(A), 负(B)离子模式下的总离子流

Fig.1 Total ion chromatograms of Bufei Jianpi formula under positive(A) and negative(B) ion mode by UPLC-Q-TOF-MS/MS

表 1 正离子模式下补肺健脾方的化学成分分析

Table 1 Identification of compounds in Bufeijianpi formula under positive ion mode

峰号	t_R /min	分子式	m/z 实际值	δ /ppm	化合物	碎片离子 m/z	来源
1	1.76	$C_5H_{11}NO_2$	118.086 4	-0.84	甜菜碱 ^[4,6]	118.056 4	a/b
2	3.44	$C_5H_4N_4O$	137.045 9	-0.07	次黄嘌呤 ^[7]	137.045 9, 119.034 5, 110.035 3	c
3	5.98	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	268.102 7	0.48	腺苷 ^[4,8-9]	268.102 7, 136.061 8, 119.035 2	a/c/d
4	13.67	$C_{13}H_{19}NO_4$	254.139 9	-0.47	codonopsinol B ^[9]	254.139 9, 161.061 2	d
5	14.73	$C_6H_6O_3$	127.039 6	-0.47	pyrogallallic acid ^[10]	127.039 6, 81.520 7, 53.038 2	e
6	15.00	$C_{14}H_{22}NO_4$	268.153 7	0.45	codonopyrrolidium B ^[9]	268.153 7, 161.059 7, 88.076 2	d
7 ¹⁾	25.61	$C_{14}H_{16}O_9$	329.087 6	-0.27	岩白菜素 ^[11]	181.048 8, 151.038 3, 131.049 2	f
8	32.85	$C_9H_{11}NO_3$	182.080 3	0.49	酪氨酸 ^[9]	182.080 3	d
9 ¹⁾	34.28	$C_{20}H_{24}NO_4$	342.170 7	-0.06	木兰花碱 ^[12-14]	342.170 7, 297.113 0, 282.089 5, 265.087 0, 237.091 9	b/g
10	37.10	$C_{20}H_{23}NO_4$	342.170 7	-0.29	异紫堇定碱 ^[12]	342.170 7	b
11	37.80	$C_{19}H_{24}NO_3$	314.176 8	-0.38	厚朴碱 ^[12]	314.176 8, 269.117 7, 107.050 3	b
12	40.57	$C_{16}H_{12}O_5$	285.076 6	-0.32	5,7-dihydroxy-40-methoxy-isoflavone ^[13]	285.076 6, 179.060 5	a
13 ¹⁾	40.65	$C_{22}H_{22}O_{10}$	447.129 5	-0.20	毛蕊异黄酮葡萄糖苷 ^[14]	285.074 8, 270.051 4, 125.986 2	a
14	41.48	$C_{17}H_{17}NO_2$	268.134 9	-0.67	阿西米洛宾 ^[12]	268.134 9, 251.107 6	b
15	42.35	$C_{20}H_{18}O_6$	355.113 5	1.15	脱甲基脱水淫羊藿素 ^[11]	355.113 5	g
16	44.01	$C_{33}H_{55}NO_8$	594.397 8	0.37	浙贝宁苷或贝母甲素苷 ^[15]	594.397 8, 576.387 4	h
17	44.47	$C_{21}H_{25}NO_4$	356.186 7	-0.31	海罂粟碱 ^[12]	356.186 7	b
18	44.62	$C_{33}H_{53}NO_8$	592.383 3	0.19	浙贝酮葡萄糖苷 ^[15]	592.383 3, 574.372 8	h
19 ¹⁾	45.46	$C_{27}H_{32}O_{14}$	581.187 6	-0.19	柚皮苷 ^[16]	273.074 7, 195.028 5, 153.017 3	i
20	46.96	$C_{27}H_{41}NO_3$	428.314 6	0.30	贝母辛 ^[11]	428.314 6, 126.127 3, 114.091 6	h
21	47.82	$C_{25}H_{32}ClN_5O_6$	534.212 2	-0.15	astin D ^[10]	534.212 2, 106.065 1	e
22 ¹⁾	48.16	$C_{27}H_{45}NO_3$	432.347 8	-0.14	贝母素甲 ^[15]	432.345 9, 414.336 2, 256.205 5, 148.111 9	h
23	49.75	$C_{25}H_{33}N_5O_8$	532.238 5	0.32	紫菀五肽 A ^[10]	532.2385, 106.065 9	e
24	50.02	$C_{33}H_{55}NO_8$	594.398 7	0.22	浙贝宁苷或贝母甲素苷 ^[15]	594.398 7, 576.383 3	h
25 ¹⁾	50.50	$C_{27}H_{43}NO_3$	430.332 5	-0.21	贝母素乙 ^[15]	430.330 6, 412.320 6, 257.214 8, 175.147 7	h
26	50.56	$C_{27}H_{43}NO_3$	430.331 0	0.14	浙贝酮 ^[11]	430.331 0, 412.320 9	h
27	51.66	$C_{20}H_{19}NO_6$	370.129 4	-0.24	塔斯品碱 ^[12]	370.129 4	b
28	51.91	$C_{22}H_{22}O_9$	431.134 2	-0.12	芒柄花苷 ^[4]	269.081 9, 254.058 7, 213.091 7	a
29	52.94	$C_{17}H_9NO_3$	276.066 1	-0.22	鹅掌楸碱 ^[12]	276.066 1	b
30	52.99	$C_{25}H_{33}Cl_2N_5O_7$	586.181 4	0.27	astin A ^[10]	586.181 4, 106.065 3	e
31	55.41	$C_{25}H_{33}N_5O_7$	516.243 7	0.31	astin J ^[10]	338.174 1, 106.065 7	e
32	56.65	$C_{27}H_{45}NO_3$	432.346 6	0.14	浙贝宁或异贝母素甲或贝母定碱或异贝母定碱 ^[15]	432.346 6, 414.336 3	h
33	57.74	$C_{16}H_{12}O_5$	285.076 3	-0.36	毛蕊异黄酮 ^[11]	285.076 3	a
34 ¹⁾	57.92	$C_{28}H_{34}O_{14}$	595.203 0	-0.15	枸橼苷 ^[16]	287.091 0, 195.028 3, 153.018 4	i
35	58.57	$C_{39}H_{50}O_{20}$	839.299 0	-0.26	朝藿定 A ^[14]	531.186 7, 369.133 8	g
36	58.70	$C_{27}H_{45}NO_2$	416.352 7	-0.10	鄂贝啶碱 ^[11]	416.352 7	h
37	59.36	$C_{38}H_{48}O_{19}$	809.289 1	-0.35	朝藿定 B ^[14]	531.186 7, 369.134 3, 313.071 6	g

续表 1

峰号	t_R/min	分子式	m/z 实际值	δ/ppm	化合物	碎片离子 m/z	来源
38	59.82	$\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}_2$	414.337 7	-0.24	去氢鄂贝啶碱或浙贝丙素 ^[15]	414.337 7	h
39	60.16	$\text{C}_{39}\text{H}_{50}\text{O}_{19}$	823.304 6	-0.33	朝藿定 C ^[14]	531.187 4, 369.134 4, 313.071 5	g
40	60.97	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{15}$	677.246 5	-0.37	淫羊藿苷 ^[14]	369.134 1, 313.071 2, 129.055 0	g
41	61.87	$\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}_2$	414.336 3	0.10	去氢鄂贝啶碱或浙贝丙素 ^[15]	414.336 3, 396.327 1	h
42	64.42	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{18}$	725.226 5	0.30	natsudaoidain-3-O-(3-hydroxy-3-methyl-glutarate)-glucoside ^[16]	725.226 5, 419.134 8	i
43	65.25	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{15}$	677.245 1	-0.16	箭藿苷 A ^[17]	677.238 3, 369.134 2, 313.071 1	g
44	65.26	$\text{C}_{39}\text{H}_{48}\text{O}_{19}$	821.288 1	-0.22	脱水淫羊藿素-3-O-鼠李糖(1→2)-呋喃酸-7-O-葡萄糖 ^[14]	531.186 4, 369.133 5	g
45	66.68	$\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{NO}_2$	416.353 3	-0.48	puquiedine ^[15]	416.351 1, 398.336 6	h
46 ¹⁾	70.13	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$	373.127 2	0.27	甜橙黄酮 ^[16]	343.080 9, 315.085 4, 181.012 8, 153.018 1	i
47	70.91	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_8$	389.121 2	0.49	5-hydroxy-6, 7, 8, 3', 4'-pentamethoxy flavone ^[16]	389.121 2, 359.076 5	i
48	72.14	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$	269.081 0	-0.07	芒柄花素 ^[14]	269.081 0	a
49 ¹⁾	74.93	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$	373.127 8	0.11	异橙黄酮 ^[16]	343.080 3, 315.085 4, 153.018 0	i
50	76.90	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6$	343.118 7	-0.32	5,6,7,4'-tetramethoxyflavone ^[18]	313.071 4, 285.076 2, 153.019 1	i
51 ¹⁾	80.14	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_8$	403.138 8	-0.02	川陈皮素 ^[16]	358.067 2, 301.069 8, 221.023 7	i
52	80.66	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{14}$	661.247 1	0.30	2"-鼠李糖基淫羊藿次苷II ^[11]	369.132 2, 313.070 9	g
53	81.83	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6$	343.118 5	-0.26	tetramethyl-O-isoscutellarein ^[16]	343.118 5, 313.065 4	i
54	83.41	$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_9$	433.150 5	-0.28	3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮 ^[16]	433.150 5, 403.103 7	i
55	84.56	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$	369.134 0	-0.19	去水淫羊藿黄素 ^[19]	313.071 0, 243.065 1, 135.044 8	g
56	84.62	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{10}$	515.191 7	-0.10	宝藿苷I ^[14,19]	369.133 3, 313.071 4	g
57 ¹⁾	87.12	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$	373.129 1	-0.24	橘红素 ^[16]	343.080 9, 211.023 8, 183.028 6	i
58	110.19	$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_4$	301.142 4	0.33	厚朴木脂素 C ^[20]	301.142 4	b

注: 1) 与对照品比对后确认; a. 黄芪; b. 厚朴; c. 地龙; d. 党参; e. 紫菀; f. 矮地茶; g. 淫羊藿; h. 浙贝母; i. 陈皮; k. 白术(表 2 同)。

表 2 负离子模式下补肺健脾方的化学成分分析

Table 2 Identification of compounds in Bufeijianpi formula under negative ion mode

峰号	t_R/min	分子式	m/z 实际值	δ/ppm	名称	二级碎片 m/z	归属
1	3.91	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	169.014 5	-0.18	没食子酸 ^[21]	169.014 5, 124.827 5	f
2	10.14	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$	153.020 9	-1.05	原儿茶酸 ^[9]	153.020 9	d
3	10.74	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	353.087 5	0.08	隐绿原酸 ^[10,19]	353.091 5, 191.058 2, 173.047 2	e/g
4	11.63	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	353.089 6	-0.51	绿原酸 ^[19,29]	353.089 6, 191.055 3, 179.036 5	e/g/d/i
5	11.67	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	353.080 5	2.07	新绿原酸 ^[10,19]	353.080 5, 191.055 3	e/g
6	12.19	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_8$	337.094 4	-0.44	3-O-p-coumaroylquinic acid ^[17]	337.094 4, 191.056 4	g
7	12.48	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	179.035 7	-0.39	咖啡酸 ^[22]	179.036 0, 135.045 0	e
8 ¹⁾	13.29	$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_9$	327.075 1	-0.89	岩白菜素 ^[11]	327.075 1, 205.017 0, 192.008 6, 164.013 7	f
9	15.09	$\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{O}_{20}$	785.253 7	-0.34	木兰脂素苷 B ^[23]	623.219 3, 477.161 2, 161.024 5	b
10	15.23	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	163.041 2	-0.67	对羟基肉桂酸 ^[17]	163.041 3, 119.052 3	g
11	15.35	$\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{O}_{20}$	771.235 7	-0.05	alhagidin ^[24]	635.181 1, 609.202 6, 161.024 4	b

续表 2

峰号	t_R/min	分子式	m/z 实际值	δ/ppm	名称	二级碎片 m/z	归属
12	15.55	$C_{27}H_{30}O_{15}$	593.154 4	-0.54	维采宁-2 ^[16,25]	593.154 4, 473.112 2, 353.069 6, 193.052 8	i
13	16.60	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.201 6	-0.56	木兰脂素苷 A ^[23]	461.170 7, 315.112 1, 161.026 9, 135.047 3	b
14	18.30	$C_{29}H_{36}O_{16}$	639.194 8	-0.27	β -hydroxyacteoside ^[24]	477.160 1, 133.044 3	b
15 ¹⁾	18.44	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.202 3	-0.67	毛蕊花糖苷 ^[14]	623.200 4, 461.170 3, 315.111 7, 161.026 4	a
16 ¹⁾	18.95	$C_9H_6O_3$	161.026 3	-1.18	伞形花内酯 ^[22]	161.026 3, 133.030 4, 123.047 7, 105.037 2	e
17 ¹⁾	19.59	$C_{27}H_{32}O_{14}$	579.174 9	-0.52	柚皮苷 ^[16]	579.178 4, 295.063 5, 271.064 5, 151.005 9	i
18	19.78	$C_{32}H_{38}O_{16}$	677.209 3	-0.09	hexandraside E ^[26]	530.146 4, 369.100 3	g
19 ¹⁾	20.30	$C_{28}H_{34}O_{15}$	609.184 9	-0.39	橙皮苷 ^[16]	609.185 9, 447.095 0, 325.074 5, 301.075 1	i
20 ¹⁾	20.32	$C_{21}H_{20}O_{11}$	447.096 4	-0.69	紫云英苷 ^[16]	447.096 4, 300.030 6, 255.032 6, 151.005 6	i
21	21.09	$C_{32}H_{38}O_{15}$	661.214 6	-0.12	淫羊藿属苷 A ^[26]	514.147 6, 395.112 7, 353.103 3	g
22	22.23	$C_{18}H_{20}O_5$	315.124 5	-0.22	厚朴木脂体 B ^[24]	315.124 5, 267.101 3, 249.091 3	b
23	22.94	$C_{33}H_{40}O_{15}$	675.231 5	-0.31	淫羊藿苷 ^[27]	675.231 5, 409.128 4, 367.118 5	g
24	23.28	$C_{32}H_{38}O_{14}$	645.221 2	-0.36	箭藿苷 B ^[27]	366.113 2, 351.089 1, 323.095 8	g
25	23.44	$C_{33}H_{40}O_{14}$	659.237 0	-0.38	2''-鼠李糖基淫羊藿次苷 II ^[27]	659.237 0, 366.113 3, 323.093 2, 259.103 1	g
26 ¹⁾	23.52	$C_{28}H_{34}O_{14}$	593.184 4	0.54	香蜂草苷 ^[16]	327.089 1, 285.079 3, 241.087 8, 164.013 5	i
27 ¹⁾	24.28	$C_{16}H_{12}O_5$	283.063 3	-0.74	汉黄芩素 ^[13]	283.063 5, 239.037 0, 211.041 5, 135.010 0	a
28	25.34	$C_{26}H_{28}O_{11}$	515.155 8	0.02	淫羊藿苷 C ^[26]	515.153 6, 353.101 9, 325.106 3, 309.039 9, 219.065 4	g
29	27.00	$C_{18}H_{34}O_5$	329.234 7	-0.43	9, 12, 13-三羟基-10-十八碳烯酸 ^[28]	329.235 0, 229.147 3, 211.135 7, 171.104 2	d
30 ¹⁾	27.68	$C_{15}H_{10}O_6$	285.041 7	-0.42	木犀草素 ^[10]	285.042 8, 199.041 4, 175.041 8, 133.031 6	e
31 ¹⁾	27.74	$C_{16}H_{14}O_6$	301.073 7	-0.63	橙皮素 ^[16]	301.074 3, 285.041 9, 164.013 5, 136.018 5	i
32	28.17	$C_{15}H_{14}O_3$	241.088 6	-0.66	厚朴三酚 ^[24,30]	233.077 7, 196.054 6, 182.039 3, 157.067 8, 141.171 9	b
33	28.49	$C_{26}H_{28}O_{10}$	499.163 1	-0.42	宝藿苷 II ^[27]	352.096 7, 323.093 9, 309.042 1	g
34	28.63	$C_{26}H_{28}O_{10}$	499.163 1	-0.42	淫羊藿次苷 A ^[26]	499.165 1, 352.098 8	g
35	29.51	$C_{33}H_{40}O_{15}$	675.231 5	-0.31	宝藿苷 VII ^[27]	675.231 5, 367.121 8	g
36	29.63	$C_{16}H_{12}O_4$	267.068 3	-0.75	芒柄花素 ^[31]	223.042 5, 195.047 3	a
37	31.54	$C_{16}H_{14}O_3$	253.087 8	-0.32	厚朴醛 D ^[23]	235.076 3, 207.061 6	b
38	32.47	$C_{27}H_{30}O_{10}$	513.178 7	-0.41	宝藿苷 I ^[27]	366.113 5, 351.090 0, 323.095 5, 311.058 4	g
39	40.02	$C_{15}H_{20}O_3$	247.135 6	-0.65	白术内酯 III ^[9]	247.135 6	k/d
40 ¹⁾	40.16	$C_{18}H_{18}O_2$	265.125 3	-0.72	厚朴酚 ^[23]	265.125 3, 245.098 6, 223.078 0, 193.067 3	b
41	35.70	$C_{18}H_{18}O_3$	281.117 6	0.25	和厚朴新酚 ^[24]	281.117 6	b
42 ¹⁾	37.71	$C_{18}H_{18}O_2$	265.125 2	-0.79	和厚朴酚 ^[23]	265.125 2, 249.093 7, 223.078 0, 197.062 0	b
43 ¹⁾	53.48	$C_{18}H_{32}O_2$	279.234 7	-0.61	亚油酸 ^[11,7]	279.234 7, 141.925 9	a/c

3.2 化合物的裂解规律分析

3.2.1 黄酮类 该类化合物在补肺健脾方中数量较多,主要来自陈皮和淫羊藿。包括黄酮苷元和含糖基的黄酮苷,黄酮苷多见丢失糖基的苷元碎片离子以及环的断裂产生的碎片。该类化合物在 MS 裂解过程中容易发生脱糖基、脱水、环的逆狄

尔斯-阿尔德反应(RDA)裂解,以及 CO, CO₂, CHO 等一些中性分子丢失^[4]。以淫羊藿苷为例,准分子离子峰为 m/z 677.246 5 [M + H]⁺, 其产生的特征二级离子碎片有 m/z 369.134 1, 313.071 2, 129.055 0; 其中 m/z 369 为 [M + H - C₆H₁₂O₅ - C₆H₁₀O₄]⁺, m/z 313 为 [M + H - C₆H₁₂O₅ -

$C_6H_{10}O_4 - C_4H_8]^+$, 均为淫羊藿苷的特征碎片。结合数据库及文献[11]报道, 该碎片与淫羊藿苷的

理论裂解碎片相似度高, 推测该结构为淫羊藿苷, 其可能的裂解规律见图 2。

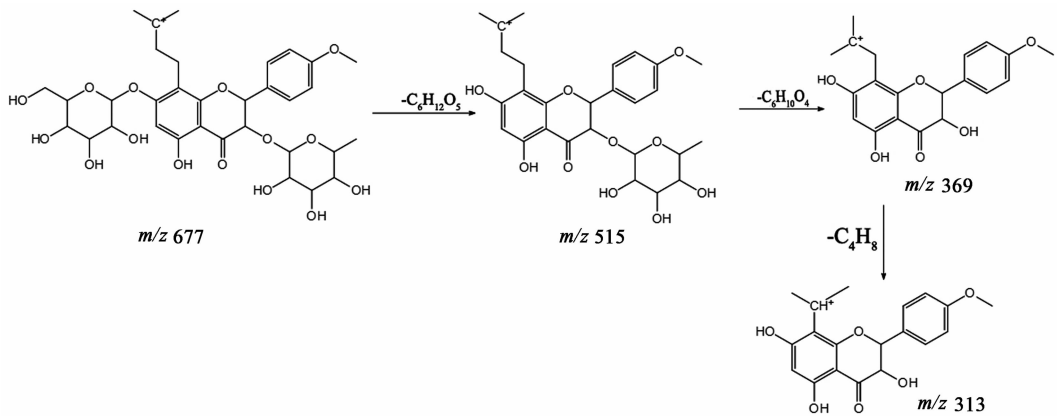


图 2 淫羊藿苷的质谱裂解途径

Fig. 2 MS fragmentation pathways of icariin

3.2.2 生物碱类 该类化合物主要来自厚朴、浙贝母。厚朴生物碱类化合物大多具有吡咯[1,2- α]氮杂环或吡啶[1,2- α]氮杂环的母核, 二级质谱中可见 $[M + H - 100]^+$ 峰, 由准分子离子脱去一个 α -甲基- γ -内酯环而来; 还可见 $[M + H - 74]^+$ 峰, 由准分子离子经氢原子转移引发四元环重排, 脱去 $CH_3CH = C(OH)_2$ 产生; 还可以看到脱甲基、脱水、脱 CO 等碎片离子峰^[7,13]。以木兰花碱为例, 准分子离子峰 m/z 342.1707 $[M + H]^+$, 二级质谱中含氮杂环开裂, 脱去两分子甲基和一氮原子形成 m/z 297.1130

$[M - C_2H_7N]^+$ 碎片, 进一步脱去一分子甲氧基或甲基形成 m/z 265.0870 $[M - C_2H_7N - CH_3O]^+$, m/z 282.0895 $[M - C_2H_7N - CH_3]^+$ 碎片, 最后脱去一分子 CO 形成 m/z 237.0919 $[M - C_2H_7N - CH_3O - CO]^+$ 碎片。结合数据库及文献[6]报道, 通过与对照品对比, 确定为木兰花碱, 其可能的裂解规律见图 3。浙贝母生物碱主要有贝母素甲、贝母素乙、贝母辛等。浙贝母生物碱在正离子模式下均有 $[M + H]^+$, 二级裂解通常脱水产生碎片^[11,15]。

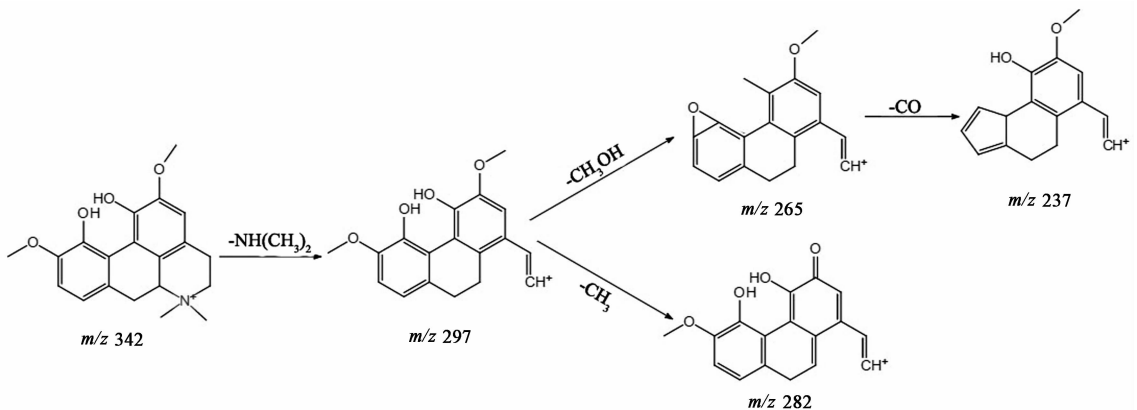


图 3 木兰花碱的质谱裂解途径

Fig. 3 MS fragmentation pathways of magnoflorine

以贝母素甲为例, 正离子模式下准分子离子峰 m/z 432.3459 $[M + H]^+$, 产生特征二级离子碎片 m/z 414.3362 $[M + H - H_2O]^+$, 结合数据库及文献[11]报道, 经对照品比对确认为贝母素甲, 其可能的裂解规律见图 4。

3.2.3 木脂素类 木脂素由两分子苯丙素衍生物聚合而成, 结构稳定, 在能量攻击下易丢失小分子, 如 CO, H_2O 等^[6]。以厚朴酚为例, 准分子离子峰 m/z 265.1252 $[M - H]^-$, 其产生的特征二级离子碎片有 m/z 249.0937, 223.0780, 197.0620; 其中

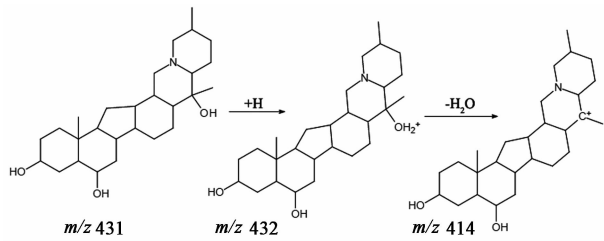


图 4 贝母素甲的质谱裂解途径

Fig. 4 MS fragmentation pathways of peimine

m/z 223.078 0 为 $[M - H - CH_2CH = CH_2]^-$ 的特征碎片, m/z 197.062 0 为 $[M - H - CH_2CH = CH_2 - CO]^-$ 碎片, 均为和厚朴酚的特征碎片, 结合数据库及文献[6]报道, 通过与对照品对比, 确定为和厚朴酚, 其可能的裂解规律见图 5。

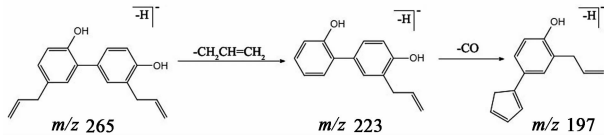


图 5 和厚朴酚的质谱裂解途径

Fig. 5 MS fragmentation pathways of honkiol

3.2.4 有机酸类 有机酸类化合物的基本结构为酚羟基取代的芳香环、丙烯酸、脂肪酸等。该类化合物在负离子模式下易丢失 H_2O 和 $COOH$, 且易在羰基处断裂形成碎片离子。以绿原酸为例, 准分子离子峰 m/z 353.089 6 $[M - H]^-$ 碎片, 二级裂解产生 m/z 191.055 3 $[M - H - C_5H_6O_3]^-$, m/z 179.036 5 $[M - H - C_7H_{10}O_5]^-$ 碎片, 结合数据库及文献[17]报道, 该碎片与绿原酸的理论裂解碎片相似度高, 推测该结构为绿原酸, 其可能的裂解规律见图 6。

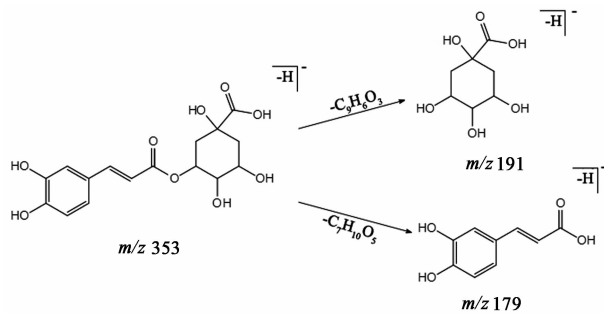


图 6 绿原酸的质谱裂解途径

Fig. 6 MS fragmentation pathways of chlorogenic acid

3.2.5 其他 补肺健脾方中还含有核苷类、氨基酸、萜类及肽类化合物, 地龙中大多为饱和与不饱和脂肪酸, 主要以脱羧裂解为特征。紫菀中主要为萜类、五肽及酚酸类。以腺苷为例, 在正离子模式下, 准分子离子峰为 m/z 268.102 7 $[M + H]^+$, 在二级

质谱中, $[M + H]^+$ 失去 1 分子呋喃核糖残基形成特征碎片 m/z 136.061 8 $[M + H - C_5H_8O_4]^+$, 根据质谱信息、数据库及文献[9]报道, 该碎片与腺苷的理论裂解碎片相似度高, 推测该化合物为腺苷, 其可能的裂解规律见图 7。

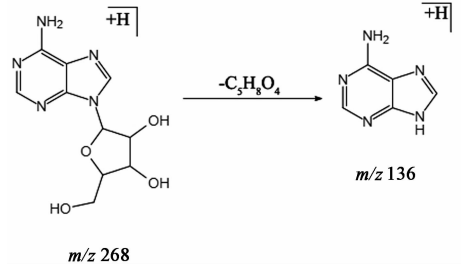


图 7 腺苷的质谱裂解途径

Fig. 7 MS fragmentation pathways of adenosine

4 讨论

本实验前期分别对提取溶剂(水, 50% 甲醇, 甲醇)和溶剂用量(1, 2.5, 5 倍)进行了考察, 以筛选最佳提取方法。结果表明采用 2.5 倍量甲醇提取时, 各分析物响应最好, 提取率最高, 提取效果最优。优化色谱条件时, 本研究重点比较了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1% 甲酸水和乙腈(含 0.1% 甲酸)-0.1% 甲酸水分别作为流动相时的色谱行为, 结果表明在正离子模式下, 乙腈-0.1% 甲酸水溶液的色谱分离效果明显; 在负离子模式下, 乙腈-水的色谱分离效果明显, 主要表现为色谱峰较多且分离度较好。优化质谱条件时, 在正、负离子模式下对各化合物的质谱响应进行了初步考察, 结果表明各成分在正、负离子模式下的响应强度具有明显的差异。因此, 本文按照各成分的理化性质并结合其在不同扫描模式下的质谱响应优劣, 最终选择了响应最佳时的离子模式作为检测条件, 使各待测物均具有较好的响应值和峰形, 并能够满足快速、准确的定性分析要求。

补肺健脾方由黄芪、厚朴、淫羊藿、党参、浙贝母、陈皮、紫菀、矮地茶、茯苓、白术、地龙、黄精 12 味中药组成。本文首次采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对该方化学成分进行了研究, 在正、负离子扫描模式下, 对补肺健脾方中的主要活性成分进行快速识别, 共鉴定和推测出 95 个化学成分, 其中黄酮类 41 个, 生物碱类 23 个, 木脂素类 12 个, 有机酸类 9 个和其他类化合物 10 个。其中正、负离子均检出的成分有 6 个, 包括岩白菜素、柚皮苷、芒柄花素、淫羊藿苷、宝藿苷 I 和 2''-鼠李糖基淫羊藿次苷 II, 均为黄酮类化合物。同时采用对照品对其中 22 个成分进行了比对, 文中并未发现新化合物, 后续还需进一步

完善。在以上成分中,黄酮类成分如橙皮苷、淫羊藿苷、岩白菜素等具有抗炎、抗肿瘤、抗心血管疾病等药理活性^[32],主要来自于陈皮、矮地茶、淫羊藿;生物碱类成分如贝母甲素、贝母乙素具有宣肺平喘、抗炎等生物活性,主要来自于浙贝母^[33];木脂素类成分如厚朴酚、和厚朴酚等具有抗肺损伤、抗炎、抗菌等生物活性,主要来自于厚朴^[34]。此外,其他类化合物如肽类成分主要来自于紫菀,饱和与不饱和脂肪酸类成分主要来自于地龙;黄精、茯苓主要含有多糖类成分^[35],多糖具有抗炎、抗肿瘤、免疫调节等药理作用^[36-37],由于检测条件的原因,在本研究中未对这些进行大量研究,后期实验将对其进行深入探索。本研究对补肺健脾方中化学成分进行了较为全面的分析,发现其所含有的主要成分与文献报道的 COPD 相关药理活性成分具有良好的一致性,以上不同成分、不同来源的活性成分可通过协同或互补等作用实现多成分、多靶点、多通路的治疗效果,最终使补肺健脾方发挥补肺健脾、培土生金、化痰止咳、降气平喘的功效。

本实验运用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术,根据精确相对分子质量、质谱碎片结构和保留时间等信息,结合对照品的裂解规律和参考相关文献,鉴定或推测了补肺健脾方中 95 个化合物,并对鉴定出的化合物进行了药材归属,此外,补肺健脾方中尚存在一些响应较好的色谱峰为未知成分,有待进一步的实验研究。本实验建立的方法简便、准确,可为补肺健脾方的药效物质基础研究提供实验依据。

[参考文献]

[1] 户元元,李亚,李素云,等. 补肺健脾方含药血清对香烟烟雾提取物诱导 L6 细胞中 ROS、MnSOD 和 CAT 表达的影响[J]. 中医杂志,2019,60(7):597-601.

[2] 李建生,李素云,余学庆. 慢性阻塞性肺疾病中医诊疗指南(2011 版)[J]. 中医杂志,2012,53(1):80-84.

[3] 李素云,李亚,李建生,等. 补肺健脾方对慢性阻塞性肺疾病大鼠膈神经放电和膈肌功能的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2012,32(6):812-816.

[4] 康建,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复方血栓通胶囊化学成分研究[J]. 药物分析杂志,2019,39(5):791-804.

[5] 刘俊,朱宝平,孙志,等. 基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱的妇可靖胶囊中 11 种成分定量研究[J]. 中草药,2018,49(2):353-359.

[6] 赵慧,严颖,邹立思,等. 基于 UFLC-Triple TOF-MS/

MS 技术分析厚朴化学成分[J]. 中国药学杂志,2017,52(20):1824-1831.

[7] 褚衍涛,魏文峰,霍金海,等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析芩百清肺浓缩丸中的化学成分[J]. 中成药,2016,38(6):1303-1310.

[8] 张玉,董文婷,霍金海,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的广地龙化学成分分析[J]. 中草药,2017,48(2):252-262.

[9] 安太勇,陈晓虎,张梅,等. UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用快速分析川党参的化学成分[J]. 中草药,2018,49(7):1533-1542.

[10] 陈奕君,吴浩,魏紫奕,等. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 的紫菀药材全成分解析[J]. 药学报,2019,54(9):1645-1654.

[11] 黄海英,康俊丽,余亚辉,等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap MS 法分析补肺益肾方的化学成分[J]. 分析测试学报,2019,38(1):1-13.

[12] 刘芳,李奇娟,刘巧,等. 基于 LC-TOF-MS 分析不同品种和产地厚朴中化学成分的轮廓差异[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(10):121-126.

[13] DU H W, ZHAO X L, ZHANG A H, et al. Rapid separation, identification and analysis of Astragalus membranaceus Fisch using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr Sci,2014,52(3):226-231.

[14] 张晓川,王玉,张依倩,等. 基于 UPLC-ESI-IT-TOF/MS 方法的芪苓温肾消囊方化学成分分析[J]. 中草药,2016,47(7):1094-1100.

[15] 张宁,高霞,周宇,等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速分析杏贝止咳颗粒化学成分[J]. 中国中药杂志,2018,43(22):4439-4449.

[16] 童超英,彭密军,施树云. 在线提取-高效液相色谱-二极杆阵列检测-四极杆飞行时间质谱法快速鉴定陈皮中黄酮类化合物[J]. 色谱,2018,36(3):278-284.

[17] 马文娟,姚广哲,贾琪,等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 法定性分析淫羊藿中的化学成分[J]. 中药材,2019(7):1554-1559.

[18] 张珂,许霞,李婷,等. 利用 UHPLC-IT-TOF-MS 分析陈皮的化学成分组[J]. 中国中药杂志,2019, doi: 10.19540/j.cnki.cjmm.20191106.201.

[19] 王媛,袁磊,李遇伯,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 的淫羊藿化学成分分析[J]. 中草药,2017,48(13):2625-2631.

[20] 顾宁宁,王玉龙,陈志明,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 与 HPLC 对厚朴进行成分分析及含量测定[J]. 现代中药研究与实践,2018,32(1):10-12.

[21] 简平,亓旗,周坤,等. 藏药诃子化学成分的高效液相色谱-质谱联用技术快速鉴定研究[J]. 世界科学技

- 术—中医药现代化,2018,20(9):1627-1637.
- [22] 万昶宸,刘艳艳,杨浩天,等. HPLC-MS/MS 法同时测定紫菀中 9 种化学成分[J]. 中草药,2016,47(14):2534-2539.
- [23] 赵慧,严颖,邹立思,等. 基于超高效液相色谱-三重四极杆飞行时间串联质谱技术分析厚朴花中化学成分[J]. 中华中医药杂志,2017,32(12):5621-5624.
- [24] 赵慧,严颖,邹立思,等. 基于 LC-MS/MS 和 GC-MS/MS 技术分析“川朴”与“温朴”的差异化学成分[J]. 天然产物研究与开发,2018,30(1):1-9.
- [25] 赖丽嫦,林裕英,陈丰连,等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 和 HPLC-DAD 的广金钱草主要活性成分分析[J]. 中草药,2016,47(20):3578-3585.
- [26] 甘井山,马艳,王宗艳,等. 淫羊藿中化学成分的 UPLC/Q-TOF-MS 分析[J]. 现代药物与临床,2014,29(4):349-352.
- [27] 于雪娥,秦建平,李家春,等. 基于 UPLC/Q-TOF-MS/MS 技术快速分析淫羊藿总黄酮胶囊中的化学成分[J]. 中国中药杂志,2016,41(24):4587-4597.
- [28] 张靖,徐筱杰,徐文,等. HPLC-LTQ-Orbitrap-MSⁿ 快速鉴别党参药材中化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(9):59-63.
- [29] 肖飞,彭红,许静,等. 达立通颗粒的 HPLC 指纹图谱研究及其 LC-MS 化学成分分析[J]. 中药材,2019,doi:10.13863/j.issn1001-4454.2019.04.026.
- [30] 韩亮,石忠峰,林华庆. UPLC/Q-TOF-MS/MS 法分析厚朴化学成分[J]. 中成药,2013,35(4):766-769.
- [31] 孙宁宁,张可佳,耿婉丽,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 的加参片提取物化学成分分析[J]. 中草药,2018,49(2):293-304.
- [32] 郭萌,张晴,闫丽萍,等. 黄酮类化合物为主要活性成分的单味药和复方中药及其药理作用[J]. 沈阳医学院学报,2018,20(6):558-561,564.
- [33] 游燕. 贝母类药材的分类及其功效、化学成分、药理作用之比较[J]. 江苏中医药,2010,42(2):57-58.
- [34] 盛永成,王晶,张世洋,等. 厚朴药理研究进展[J]. 成都中医药大学学报,2018,41(2):109-114.
- [35] 梁志培. 茯苓化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国城乡企业卫生,2018,33(8):51-53.
- [36] 张年,李兆星,李娟,等. 茯苓的化学成分与生物活性研究进展[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2019,21(2):220-233.
- [37] 李亚霖,周芳,曾婷,等. 药用黄精化学成分与活性研究进展[J]. 中医药导报,2019,25(5):86-89.

[责任编辑 刘德文]