

## 基于UHPLC-LTQ-orbitrap-MS方法分析藏药洪连(短管兔耳草)中黄酮与苯乙醇苷类成分

耿 昭<sup>1,3</sup>, 高必兴<sup>1,2</sup>, 钟 恋<sup>1,2</sup>, 齐景梁<sup>2</sup>, 苟 琰<sup>1\*</sup>, 蒋运斌<sup>4\*</sup>, 杨 蕾<sup>1</sup>,  
袁 军<sup>1</sup>, 郭 力<sup>2</sup>, 王一涛<sup>3</sup>

(1. 四川省药品检验研究院/国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室, 四川 成都 611731; 2. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137; 3. 澳门大学中华医药研究院中药质量研究国家重点实验室, 澳门 999078; 4. 西南大学药学院·中医药学院, 重庆 400715)

**摘要:** 采用超高效液相色谱-串联线性离子阱-轨道阱组合高分辨质谱(UHPLC-LTQ-orbitrap-MS)技术对藏药洪连(中国药典收载基原短管兔耳草)中黄酮类和苯乙醇苷类成分进行定性分析。采用与动态排除相结合的数据依赖性扫描,在电喷雾离子源正、负离子模式下分别分析黄酮类和苯乙醇苷类成分的精确分子量、碎片离子及保留时间等信息,并结合相关文献系统全面地鉴别藏药洪连中这两类成分。最终共鉴定了167个化合物,其中黄酮类成分84个,苯乙醇苷类成分83个,极大地丰富了洪连及兔耳草属植物中黄酮和苯乙醇苷类成分的数量和种类,特别是首次从兔耳草属植物中发现了黄酮化合物宝藜苷I、脱氧己糖与葡萄糖醛酸组合的二糖氧苷黄酮4个、碳苷黄酮9个、四糖苯乙醇苷15个以及 $\beta$ 位有取代基的苯乙醇苷5个,为阐明洪连物质基础并整体提升其质量控制水平以及进一步规范相关基原品种的临床应用提供数据基础和科学依据。

**关键词:** 洪连; UHPLC-LTQ-orbitrap-MS; 黄酮; 苯乙醇苷; 兔耳草属

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)09-2821-18

## Analysis of flavonoids and phenylethanoid glycosides in the Tibetan herb *Lagotis breviflora* Maxim based on UHPLC-LTQ-orbitrap-MS

GENG Zhao<sup>1,3</sup>, GAO Bi-xing<sup>1,2</sup>, ZHONG Lian<sup>1,2</sup>, QI Jing-liang<sup>2</sup>, GOU Yan<sup>1\*</sup>, JIANG Yun-bin<sup>4\*</sup>,  
YANG Lei<sup>1</sup>, YUAN Jun<sup>1</sup>, GUO Li<sup>2</sup>, WANG Yi-tao<sup>3</sup>

(1. NMPA Key Laboratory for Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine (Traditional Chinese Patent Medicine), Sichuan Institute for Drug Control (Sichuan Testing Center of Medical Devices), Chengdu 611731, China; 2. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 3. State Key Laboratory of Quality Research in Chinese Medicine, Institute of Chinese Medical Sciences, University of Macau, Macau 999078, China; 4. College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**Abstract:** Ultra high performance liquid chromatography tandem linear ion trap orbitrap mass spectrometry (UHPLC-LTQ-orbitrap-MS) was applied to analyze and identify flavonoids and phenylethanoid glycosides in the Tibetan herb *Lagotis breviflora* Maxim. A method of data-dependent scan coupling with dynamic exclusion was developed for analyzing flavonoids and phenylethanoid glycosides under positive and negative ion mode of electro-

收稿日期: 2022-04-27; 修回日期: 2022-06-22.

基金项目: 国家药品监督管理局注册司专项“特色民族药材检验方法研究”三期; 四川省药品监督管理局科研计划项目; 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2020jcyj-msxmX0146).

\*通讯作者 Tel: 86-28-87877195, E-mail: gouyan0101@hotmail.com;

Tel: 13368082556, E-mail: yunbinjiang@swu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0504

spray ionization (ESI). The compounds of *Lagotis breviflora* Maxim. were systematically identified through exact molecular mass, fragmentation patterns, retention time and reported references. A total of 167 compounds were detected, of which 84 were flavonoids and 83 were phenylethanoid glycosides, which greatly enriched the number and types of flavonoids and phenylethanoid glycosides in *Lagotis* genus medicinal plants. Baohuoside I, 4 disaccharide *O*-glycoside flavonoids (composed of deoxyhexose and glucuronic acid), 9 *C*-glycoside flavonoids, 15 tetrasaccharide phenylethanoid glycosides and 5 phenylethanoid glycosides with substituents on the  $\beta$ -position of the phenylethyl group were identified in *Lagotis* genus medicinal plants for the first time. This study provides scientific support for elucidating the material basis and improving the quality control of *Lagotis breviflora* Maxim.

**Key words:** *Lagotis breviflora* Maxim.; UHPLC-LTQ-orbitrap-MS; flavonoid; phenylethanoid glycoside; *Lagotis* genus

洪连为玄参科植物短管兔耳草 *Lagotis breviflora* Maxim., 又称兔耳草, 主要分布于甘肃、青海、四川及西藏等地, 为常用藏药, 在《月王药诊》《四部医典》《晶珠本草》等藏医古籍中均有记载<sup>[1-4]</sup>, 目前收载于《中国药典》2020年版一部, 具有清热、解毒、利湿、平肝、行血、调经等功效<sup>[5]</sup>。洪连全草入药, 味苦性凉, 藏医主要用于治疗全身发热、肾炎、肺病、高血压、动脉粥样硬化、月经不调、综合性毒物中毒等疾病<sup>[4,6]</sup>, 具有较高的药用价值, 近年来越来越受到关注, 具有良好的开发与应用前景。

阐明物质基础的是现代中药研发的基础, 是临床合理用药的依据, 目前对洪连化学成分的研究还处于起步阶段, 从其中分离鉴定的化学成分主要为黄酮、苯乙醇苷、环烯醚萜、有机酸等<sup>[6,7]</sup>。并且兔耳草属植物基原复杂, 我国即有17种之多<sup>[7]</sup>, 本课题组前期研究也发现<sup>[8,9]</sup>, 目前市售及临床使用的洪连为兔耳草属多种植物, 不同基原兔耳草的功效主治和用法用量也存在一定差异, 因此有必要对洪连及其同属植物的药效物质基础进行系统深入的研究。

液质联用技术以其快速分离、高分辨率、高灵敏度的特点已逐步取代传统中药化学提取分离纯化的研究方法, 在中药化学成分研究中的应用日益广泛, 成为分离鉴定化合物最为有效的手段之一<sup>[10-12]</sup>。本研究以藏药洪连药典收载基原短管兔耳草为研究对象, 应用超高效液相色谱-串联线性离子阱-轨道阱组合高分辨质谱 (UHPLC-LTQ-orbitrap-MS) 技术, 对其甲醇提取物中的黄酮类和苯乙醇苷类成分, 根据一级质谱、二级质谱数据及参考文献信息等进行研究, 为进一步阐明洪连物质基础并提高其质量控制水平提供借鉴和参考。

## 材料与amp;方法

**仪器** LTQ Orbitrap XL 线性离子阱-轨道阱组合高分辨质谱 (美国 Thermo Fisher 公司), 配有 Dionex UltiMate 3000 超高效液相色谱仪、电喷雾离子源 (ESI)

及 Xcalibur 2.1 数据处理系统; BP211D 十万分之一电子天平 (德国 Sartorius 公司); 超声波清洗器 (美国 Branson 公司); Milli-Q 纯水系统 (美国 Millipore 公司)。

**药材与试剂** 实验用洪连采于青海, 经西北高原植物所卢学峰研究员及四川省药品检验研究院黎跃成主任中药师鉴定为玄参科植物短管兔耳草 *Lagotis breviflora* Maxim. 的干燥全草。

对照品: 毛蕊异黄酮 (批号 MUST-19120901, 99.84%)、木犀草素 (批号 MUST-19102418, 98.92%)、紫云英苷 (批号 MUST-19070311, 98.62%)、金丝桃苷 (批号 MUST-19061210, 98.49%)、异槲皮苷 (批号 MUST-19051005, 99.74%)、地奥司明 (批号 MUST-19060801, 98.17%)、异类叶升麻苷 (批号 MUST-19103104, 99.16%) 购自成都曼斯特生物科技有限公司。芹菜素 (批号 111901-202004, 99.4%)、木犀草苷 (批号 111720-201810, 93.5%)、芦丁 (批号 100080-201811, 92.4%)、野黄芩苷 (批号 110842-202010, 91.5%)、宝藿苷 I (批号 111852-201603, 99.9%)、异荭草苷 (批号 111974-201401, 94.0%)、大车前苷 (批号 111914-201604, 90.2%)、毛蕊花糖苷 (批号 111530-201914, 95.2%)、松果菊苷 (批号 111670-201907, 91.8%)、山柰酚 (批号 110861-202013, 93.2%)、汉黄芩素 (批号 111514-201706)、异鼠李素 (批号 110860-202012, 99.1%)、黄芩苷 (批号 110715-202122, 94.2%)、槐角苷 (批号 111695-201703, 99.6%)、牡荆苷 (批号 111687-202105, 99.1%)、染料木苷 (批号 111709-201702, 99.9%)、荭草苷 (批号 111777-202003, 98.0%) 购自中国食品药品检定研究院。高车前素 (批号 PS2161-0010, 98.0%)、鞭打绣球苷 B (批号 PS1881-0010, 98.0%) 购自成都普思生物科技股份有限公司。色谱级甲醇、乙腈、甲酸、甲酸铵 (德国 Merck 公司), 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

**色谱条件** 色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm  $\times$  2.1 mm, 1.8  $\mu$ m); 柱温 40  $^{\circ}$ C; 进样量 1  $\mu$ L; 流速 0.3 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>; 流动相为乙腈 (含 0.1%

甲酸(A)-0.1%甲酸水溶液(B), 梯度洗脱: 0~3 min, 0%~14% A; 3~16 min, 14%~24% A; 16~20 min, 24%~40% A; 20~23 min, 40%~60% A; 23~26 min, 60%~90% A; 26~31 min, 90%~95% A。

**质谱条件** 采用ESI源, 正、负离子模式分别扫描; 鞘气流速: 60 arb; 辅助气流速: 20 arb; 喷雾电压: 4.5 kV (+)/4.0 kV (-); 吹扫气流速: 0 arb; 毛细管温度: 380 °C; 毛细管电压: 35 V/-35 V; 管透镜电压: 100 V/-100 V。扫描模式为一级质谱采用FTMS模式进行全扫描, 分辨率为30 000, 扫描范围  $m/z$  100~1 500; 二级质谱采用与动态排除相结合的数据依赖性扫描, 动态排除功能设置参数: 重复次数2, 重复时间6 s, 排除列表范围500, 排除时间6 s。碰撞诱导解离设定归一化碰撞能量为35.0%。

**对照品溶液的制备** 取各对照品适量, 精密称定, 分别加甲醇溶解并定容至10 mL, 制成单一对照品储备液, 于4 °C冰箱中避光保存, 备用。临用前取各对照品储备液适量并混合, 用甲醇稀释至各对照品浓度约为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

**供试品溶液的制备** 称取洪连粉末(过三号筛)约1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇20 mL, 称定质量, 超声处理(功率230 W, 频率35 kHz) 30 min, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**数据处理** 为了便于对洪连中黄酮及苯乙醇苷类成分进行系统性的分析, 本研究首先对已有对照品进行质谱分析, 总结出其色谱保留行为、裂解规律以及特征碎片离子等。再通过PubChem、SciFinder、Chemspider及CNKI等数据库和相关文献的检索对有关兔耳草属的黄酮及苯乙醇苷类成分信息进行收集汇总, 包括名称、分子式、结构式等。然后, 采用Xcalibur分析软件对一级质谱提供的精确准分子离子进行分析, 计算未知化合物的元素组成和可能的分子式, 再选择目标化合物的二级质谱碎片离子信息, 与对照品、数据库及文献报道提供的保留时间、裂解规律等信息进行比对, 进一步确认化学成分及结构, 并分析推导化合物的质谱裂解规律。

## 结果

取洪连供试品溶液及混合对照品溶液适量, 按上述色谱条件和质谱条件分别进样分析, 得正、负离子模式下的总离子流图(total ion chromatograms, TIC), 见图1。对洪连中黄酮类和苯乙醇苷类成分色谱峰进行提取和匹配, 结果共鉴定了167个化合物, 其中黄酮类成分84个, 苯乙醇苷类成分83个。

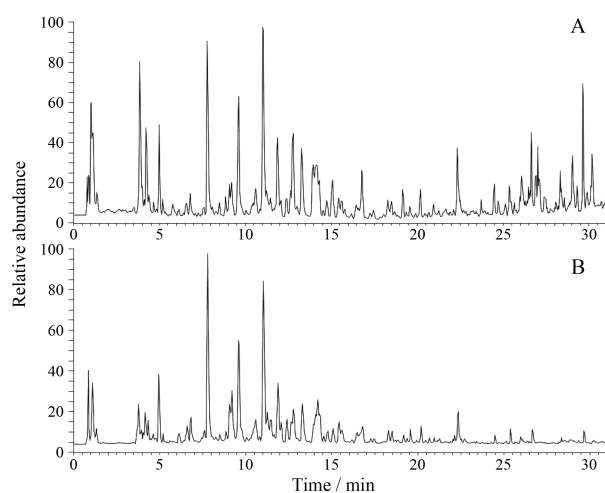


Figure 1 Total ion chromatograms of *Lagotis brevituba* sample. A: Positive ion mode; B: Negative ion mode

## 1 黄酮类成分鉴定

黄酮类成分在植物中大部分以游离或与糖结合成氧苷类或碳苷形式存在, 且一般链接1或2个糖基。氧苷类黄酮的糖苷常通过C-O键以苷元C-3或C-7的羟基作为糖基化位点, 而碳苷类黄酮的糖苷通常通过C-C键直接连接到苷元的C-6和C-8位置。在本研究中, 除了采用毛蕊异黄酮等13个黄酮类对照品进行分析和确认, 还同时使用了山柰酚、汉黄芩素、异鼠李素、黄芩苷、槐角苷、牡荆苷、染木料苷、苈草苷等黄酮类对照品, 虽然由于保留时间不匹配而被排除, 但是其在本研究所用液质联用上表现的裂解规律, 对于定性确认仍有一定参考意义。最终通过对照品裂解规律的研究, 结合兔耳草属已分离出化合物及相关质谱文献报道, 鉴定了84个黄酮类成分, 具体信息见表1<sup>[4,6,13-22]</sup>, 其中以黄酮苷类为主。

目前对黄酮类成分进行分析时采用正离子或负离子模式采集数据均有报道, 本研究分别采集了正离子及负离子模式, 发现某些黄酮类成分在负离子模式下裂解规律更具有特征性, 而某些黄酮类则在正离子模式情况下响应更好, 两种模式下裂解的碎片离子信息可以为结构鉴定提供更多依据并相互佐证。首先采用文献<sup>[23]</sup>中提取关键离子的方式, 确定可能的黄酮类成分, 其中的游离黄酮基本均由现成对照品确认其保留时间及一级质谱和二级质谱。而由于氧苷的结构特性, 发现本研究洪连中检出的氧苷黄酮与游离黄酮苷元在ESI源质谱上相同的碰撞能量下, 不论正离子或负离子模式, 氧苷黄酮中的基峰基本均为典型的脱掉整个糖基后的苷元碎片, 即明显的丢失146、162、176及190 Da的碎片离子, 对应的糖为脱氧己糖如鼠李糖( $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4$ )、己糖( $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ )如葡萄糖和半乳糖、葡萄糖

**Table 1** Identification analysis of flavonoids compounds in *Lagotis breviflora* Maxim. by UHPLC-LTQ-orbitrap-MS. \*Compounds identified by comparison with reference standards. gluA: Glucuronic acid; glc: Glucose; hex: Hexose; rha: Rhamnose

No.	$t_R$ /min	Formula	MS (+)	Error ( $10^{-6}$ ) (+)	MS/MS (+)	MS (-)	Error ( $10^{-6}$ ) (-)	MS/MS (-)	Identification
1	5.52	C <sub>27</sub> H <sub>28</sub> O <sub>18</sub>	641.132 63	3.45	479, 303	639.118 96	2.07	463, 301	Pentahydroxyflavone <i>O</i> -hex- <i>O</i> -gluA
2	5.58	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	433.111 39	3.55	415, 397, 379, 367, 337, 313, 283	431.098 02	0.81	–	Trihydroxy flavone <i>C</i> -glc <sup>[21,22]</sup>
3	5.95	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	611.158 26	3.94	593, 575, 565, 557, 545, 539, 527, 515, 497, 491, 473, 449, 355, 267, 221	609.144 47	2.69	591, 519, 489, 429, 399, 369	Luteolin-6,8-di- <i>C</i> -glc <sup>[21,22]</sup>
4	5.95	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	595.163 51	3.76	577, 559, 541, 529, 523, 511, 499, 475, 457, 445, 415, 379, 337, 313	593.150 51	1.15	503, 473, 353, 311	Apigenin-6,8-di- <i>C</i> -hex <sup>[21,22]</sup>
5	6.48	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	417.116 82	2.86	399, 381, 363, 351, 321, 297	415.102 78	1.62	295	Dihydroxy flavone <i>C</i> -glc <sup>[21,22]</sup>
6	6.71	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	595.163 51	3.76	577, 559, 541, 529, 523, 511, 499, 475, 457, 439, 421, 409, 379, 355	593.150 57	1.05	575, 503, 473, 383, 353	Apigenin-6,8-di- <i>C</i> -hex <sup>[21,22]</sup>
7	6.87	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	447.126 83	3.91	429, 411, 393, 381, 351, 327	445.115 02	-2.24	–	Dihydroxy methoxyflavone <i>C</i> -glc <sup>[21,22]</sup>
8	7.15	C <sub>27</sub> H <sub>28</sub> O <sub>18</sub>	641.133 24	2.50	479, 303	639.119 38	1.42	–	Pentahydroxyflavone <i>O</i> -hex- <i>O</i> -gluA
9	7.40	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	611.158 45	3.62	449, 431, 395, 383, 355, 329, 287, 267, 221	609.145 02	1.78	–	Tetrahydroxyflavone <i>O</i> -dihex
10	7.56	C <sub>27</sub> H <sub>26</sub> O <sub>18</sub>	639.116 76	3.81	463, 445, 287	637.104 06	0.91	475, 351, 285	Luteolin-7- <i>O</i> -digluA <sup>[4]</sup>
11	7.68	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	611.158 57	3.43	593, 491, 449, 431, 413, 383, 355, 329, 287, 267, 221	609.146 73	-1.02	489, 429, 357, 327	Kaempferol-6,8-di- <i>C</i> -glc <sup>[21,22]</sup>
12	7.90	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	611.158 45	3.62	593, 565, 465, 449, 355, 303, 267, 221	609.144 96	1.88	463, 447, 301	Pentahydroxyflavone <i>O</i> -rha- <i>O</i> -hex
13	8.05	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	449.106 08	3.92	431, 413, 395, 383, 353, 329, 299	447.092 99	0.66	429, 411, 357, 327, 297	Isoorientin*
14	8.30	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>13</sub>	479.080 26	3.68	303	477.067 20	0.55	397, 373, 343, 301	Pentahydroxy flavone <i>O</i> -gluA
15	8.46	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	465.101 10	3.56	303	463.087 52	1.46	301	Pentahydroxyflavone <i>O</i> -hex
16	9.05	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	611.158 69	3.23	449, 355, 287	609.144 71	2.29	477, 447, 285	Tetrahydroxyflavone <i>O</i> -dihex
17	9.13	C <sub>27</sub> H <sub>26</sub> O <sub>17</sub>	623.122 31	3.16	463, 447, 271	621.109 31	0.66	445, 351	Apigenin-7- <i>O</i> -digluA
18	9.59	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>16</sub>	641.205 26	3.67	623, 605, 487, 479, 461, 443, 325, 317	639.191 10	3.06	477, 315	Tetrahydroxymethoxyflavone <i>O</i> -dihex
19	9.70	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	595.163 76	3.34	449, 287	593.149 54	2.78	–	Luteolin- <i>O</i> -rutinoside or isomer <sup>[4]</sup>
20	9.78	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	611.158 81	3.03	465, 449, 371, 335, 303, 267	609.145 08	1.69	343, 301, 300, 271, 255, 179	Rutin*
21	9.86	C <sub>28</sub> H <sub>28</sub> O <sub>18</sub>	653.132 57	3.48	477, 459, 441, 397, 367, 343, 313, 301, 286, 258, 229	651.119 75	0.89	571, 457, 395, 371, 351, 299	Diosmetin-7- <i>O</i> -digluA or isomer <sup>[4]</sup>
22	9.98	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	433.111 39	3.55	415, 397, 379, 367, 337, 313, 283	431.098 02	0.81	413, 341, 311	Trihydroxy flavone <i>C</i> -glc <sup>[21,22]</sup>
23	10.02	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	465.101 32	3.09	303	463.087 68	1.12	301, 300	Hyperoside*
24	10.25	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>13</sub>	479.080 75	2.65	461, 443, 325, 303	477.067 05	0.87	301	Pentahydroxyflavone <i>O</i> -gluA
25	10.38	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	465.100 98	3.82	303	463.087 59	1.31	301, 300	Isoquercitrin*
26	10.42	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	449.106 20	3.66	287	447.092 62	1.48	327, 285, 284	Kaempferol-3- <i>O</i> -galactoside <sup>[20]</sup>
27	10.42	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	463.085 27	3.97	287	461.071 90	1.41	285, 175	Scutellarin*
28	10.42	C <sub>28</sub> H <sub>28</sub> O <sub>18</sub>	653.132 45	3.67	477, 459, 397, 367, 343, 313, 301, 286, 258, 229	651.119 38	1.39	571, 457, 395, 371, 351, 341, 323, 299, 289	Diosmetin-7- <i>O</i> -digluA or isomer <sup>[4]</sup>

Continued

No.	$t_R$ /min	Formula	MS (+)	Error (10 <sup>6</sup> )(+)	MS/MS (+)	MS (-)	Error (10 <sup>6</sup> )(-)	MS/MS (-)	Identification
29	10.54	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	625.174 26	3.29	479, 317, 302	623.162 29	-0.85	477, 315	Tetrahydroxymethoxyflavone <i>O</i> -rha- <i>O</i> -hex
30	10.57	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	463.085 17	4.18	287	461.071 59	2.08	381, 357, 327, 285	Luteolin- <i>O</i> -gluA <sup>[4]</sup>
31	10.58	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>13</sub>	479.081 09	1.95	461, 435, 317, 303, 285, 275, 259	-	-	-	Pentahydroxyflavone <i>O</i> -gluA
32	10.61	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	449.106 45	3.10	287	447.092 62	1.48	327, 285	Luteolin-7- <i>O</i> -glc*
33	10.73	C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>17</sub>	639.153 63	3.05	463, 301, 286, 258	637.140 75	0.43	619, 605, 447, 337, 299, 284, 256	Trihydroxymethoxyflavone <i>O</i> - gluA- <i>O</i> -hex
34	10.92	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	595.163 70	3.44	449, 287, 271	593.149 74	2.45	447, 285, 269	Luteolin- <i>O</i> -rutinoside or isomer <sup>[4]</sup>
35	11.13	C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>17</sub>	639.153 87	2.67	477, 459, 323, 301, 286, 258	637.139 47	2.43	-	Trihydroxymethoxyflavone <i>O</i> - hex- <i>O</i> -gluA
36	11.15	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	625.175 90	0.66	479, 317, 302	623.164 98	-5.16	-	Tetrahydroxymethoxyflavone <i>O</i> -rha- <i>O</i> -hex
37	11.21	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>	493.095 92	3.55	317	491.082 34	1.57	357, 315	Tetrahydroxymethoxyflavone <i>O</i> -gluA
38	11.32	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	479.116 73	3.50	461, 317	477.103 49	0.75	462, 315, 314, 300, 299	Tetrahydroxymethoxyflavone 3- <i>O</i> -hex
39	11.44	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	625.174 26	3.29	479, 317, 302	623.161 13	1.01	477, 315	Tetrahydroxymethoxyflavone <i>O</i> -rha- <i>O</i> -hex
40	11.62	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>	493.095 89	3.61	475, 317	491.082 64	0.96	357, 315	Tetrahydroxymethoxyflavone <i>O</i> -gluA
41	11.68	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	479.116 67	3.62	461, 317	477.103 49	0.75	462, 315, 300	Tetrahydroxymethoxyflavone <i>O</i> -hex
42	11.68	C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>17</sub>	639.153 50	3.25	621, 477, 459, 301, 286, 258	637.140 26	1.20	-	Trihydroxymethoxyflavone <i>O</i> - hex- <i>O</i> -gluA
43	11.83	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>	493.095 83	3.73	475, 317	491.082 18	1.90	-	Tetrahydroxymethoxyflavone <i>O</i> -gluA
44	11.84	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	479.116 82	3.31	461, 317	477.104 25	-0.84	-	Tetrahydroxymethoxyflavone <i>O</i> -hex
45	12.54	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	449.106 17	3.72	431, 287	447.092 90	0.86	327, 285, 284, 255	Astragaline*
46	12.70	C <sub>27</sub> H <sub>28</sub> O <sub>15</sub>	593.147 77	3.93	447, 271	591.136 11	-0.96	-	Trihydroxyflavone <i>O</i> -rha- <i>O</i> - gluA
47	13.03	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	449.106 81	2.29	287	447.092 32	2.15	285	Luteolin-4'- <i>O</i> -hex
48	13.15	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	433.111 79	3.69	271	431.097 53	1.94	269	Apigenin-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glc <sup>[6]</sup>
49	13.23	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	579.169 07	3.05	433, 271	577.155 76	0.90	269	Trihydroxyflavone <i>O</i> -rha- <i>O</i> - hex
50	13.26	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	447.090 60	3.54	271	445.077 00	1.42	269, 175	Apigenin-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -gluA <sup>[13]</sup>
51	13.49	C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	623.158 81	2.98	447, 301, 286, 258	621.145 39	1.15	321, 299, 284, 256	Trihydroxymethoxyflavone <i>O</i> - rha- <i>O</i> -gluA
52	13.73	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	609.179 32	3.41	463, 301, 286, 258	607.165 77	1.77	461, 443, 299, 285	Diosimin*
53	14.00	C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	623.158 26	3.86	447, 301, 286, 258	621.145 20	1.46	477, 321, 299, 284	Trihydroxymethoxyflavone <i>O</i> - rha- <i>O</i> -gluA
54	14.07	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	463.121 28	4.78	301	461.108 49	0.96	446, 313, 299, 284	Diosmetin-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glc or chrysoeriol-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glc or isomer <sup>[6,16]</sup>
55	14.14	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	477.100 95	3.79	301, 286	475.087 62	1.22	371, 341, 299, 284, 175	5,7,4'-Dihydroxy-3'-methoxy flavone-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -galacturonide or isomer <sup>[13]</sup>
56	14.14	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	609.179 44	3.22	463, 301, 286, 258	607.166 02	1.35	-	Trihydroxymethoxyflavone <i>O</i> - rha- <i>O</i> -hex
57	14.32	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>13</sub>	507.111 33	3.93	489, 331	505.098 39	0.74	-	Trihydroxydimethoxyflavone <i>O</i> -gluA
58	14.59	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	609.179 20	3.61	463, 301, 286, 258	607.166 75	0.15	-	Trihydroxymethoxyflavone <i>O</i> - rha- <i>O</i> -hex
59	14.63	C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> O <sub>14</sub>	585.122 01	3.20	567, 411, 345, 303, 283	583.108 34	1.69	463, 301	6''- <i>O</i> -(4-Hydroxybenzoyl) hyperoside <sup>[13]</sup>

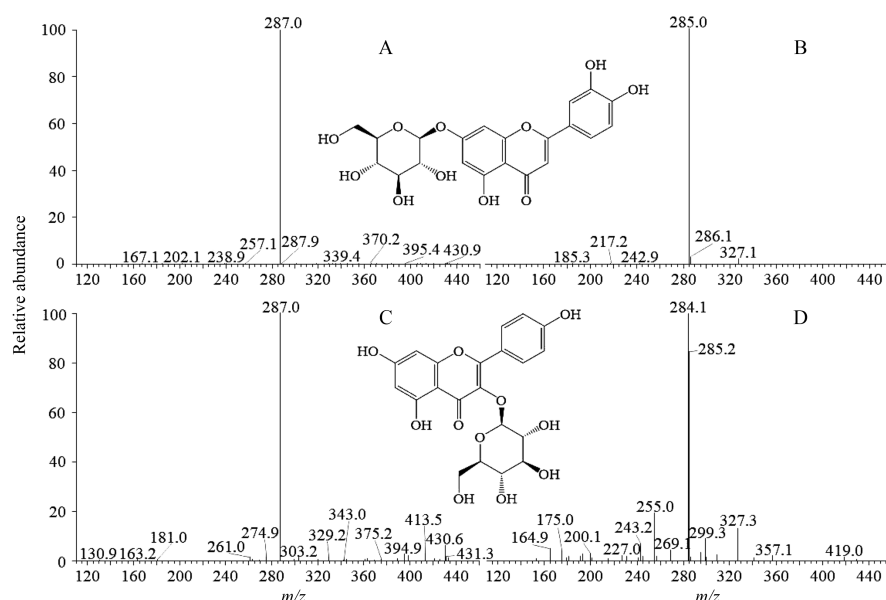
Continued

No.	$t_R$ /min	Formula	MS (+)	Error (10 <sup>-6</sup> )(+)	MS/MS (+)	MS (-)	Error (10 <sup>-6</sup> )(-)	MS/MS (-)	Identification
60	14.68	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	463.121 66	3.96	301, 287	461.108 76	0.38	-	Diosmetin-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-glc or chrysoeriol-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-glc or isomer <sup>[6,16]</sup>
61	14.71	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	477.100 74	4.23	301, 286	475.087 68	1.09	371, 341, 299, 284, 175	5,7,4'-Dihydroxy-3'-methoxy flavone-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-galacturonide or isomer <sup>[13]</sup>
62	15.07	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	493.132 51	3.13	331	491.120 00	-1.02	-	Tricin-7- <i>O</i> -glc <sup>[18,19]</sup>
63	15.18	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>13</sub>	507.111 48	3.63	331	505.097 66	2.18	329	Trihydroxydimethoxyflavone <i>O</i> -gluA
64	15.30	C <sub>28</sub> H <sub>28</sub> O <sub>17</sub>	637.138 00	3.03	619, 461, 443, 327, 285, 242	635.124 02	2.13	351	Acacetin-digluA <sup>[17]</sup>
65	15.74	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>13</sub>	507.111 39	3.81	489, 331, 316	505.098 02	1.47	401, 371, 329, 175	Trihydroxydimethoxyflavone <i>O</i> -gluA
66	16.19	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	477.100 83	4.04	301, 287	475.087 95	0.52	299, 285	Luteolin-7- <i>O</i> -gluA-6"-methyl ester <sup>[13]</sup>
67	17.87	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	477.100 80	4.10	301	475.087 74	0.97	-	5,7,4'-Dihydroxy-3'-methoxy flavone-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-galacturonide or isomer <sup>[13]</sup>
68	17.87	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	463.121 73	3.80	301, 287	461.109 47	-1.16	-	Diosmetin-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-glc or chrysoeriol-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-glc or isomer <sup>[6,16]</sup>
69	18.63	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	491.116 46	3.96	315	489.103 18	1.37	313, 175	Dihydroxydimethoxyflavanone <i>O</i> -gluA
70	18.87	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	287.054 14	3.06	269, 259, 245, 241, 153	285.040 13	1.16	285, 243, 241, 217, 199, 175	Luteolin*
71	18.95	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	285.073 91	6.48	270, 253, 229, 225, 181, 137	283.059 72	5.2	268	Calycosin*
72	19.19	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	461.106 32	3.30	443, 271	459.093 72	-0.95	283, 269, 268	Trihydroxyflavone 3- <i>O</i> -gluA methyl ester
73	19.35	C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	607.163 82	3.18	461, 285	605.150 63	0.93	321, 283, 268	Dihydroxymethoxyflavone <i>O</i> -rha- <i>O</i> -gluA
74	19.59	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	593.184 63	3.13	575, 447, 285	591.169 68	3.80	445, 283, 268	Dihydroxymethoxyflavone <i>O</i> -hex- <i>O</i> -rha
75	19.71	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	491.116 12	4.66	315, 301	489.103 52	0.67	-	Diosmetin-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-gluA methyl ester or isomer <sup>[13]</sup>
76	19.82	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	595.142 27	3.95	329, 309, 287	593.129 15	1.54	327, 285	Tiliroside <sup>[17]</sup>
77	19.90	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	491.116 58	3.72	315, 301	489.106 69	-5.80	-	Diosmetin-7- <i>O</i> - $\beta$ -D-gluA methyl ester or isomer <sup>[13]</sup>
78	20.14	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	461.106 23	3.49	285	459.092 86	0.92	283, 175	Wogonoside <sup>[17]</sup>
79	20.29	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	491.116 39	4.11	315	489.103 15	1.43	-	Dihydroxydimethoxyflavanone <i>O</i> -gluA
80	20.33	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	331.080 99	0.72	316, 299, 271, 169, 123	-	-	-	Tricin or 5,7,4'-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone <sup>[15,18]</sup>
81	21.03	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	271.059 57	1.96	271, 253, 243, 229, 225, 203, 163, 153, 145	269.045 23	1.17	269, 225, 201, 149	Apigenin*
82	21.51	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	301.069 95	2.38	286	299.055 79	1.07	284	Hispidulin*
83	24.02	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	285.075 65	0.35	285, 270, 257, 225, 211, 153	-	-	-	Apigenin-7-methyl ether <sup>[14]</sup>
84	24.21	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>10</sub>	515.189 21	3.82	497, 479, 369, 313	513.176 39	0.45	367, 366, 351, 323	Baohuoside I*

醛酸 (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) 及葡萄糖醛酸甲酯 (C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>) 等。

由于糖取代位置的差异,产生的二级碎片离子会有一定的差异。特别是在负离子模式下,当糖在 C-3 位取代时会与其他位置产生较为明显差别,以木犀草苷和紫云英苷为例(图2),两者互为同分异构体,区别

在于两者糖取代分别位于 C-3 和 C-7 位,在正离子模式下二级质谱中的碎片离子基本一致;在负离子模式下,紫云英苷的二级质谱中的碎片离子  $m/z$  285 明显小于  $m/z$  284,苷元碎片离子  $m/z$  285 先失去 2 个 H 又失去一分子 CO 后再生成  $m/z$  255,而木犀草苷的二级质谱中



**Figure 2** MS/MS spectrum of luteolin-7-*O*-glc and astragaline. A: Luteolin-7-*O*-glc in positive ion mode; B: Luteolin-7-*O*-glc in negative ion mode; C: Astragaline in positive ion mode; D: Astragaline in negative ion mode

的碎片离子中基本仅可见  $m/z$  285, 一般认为  $m/z$  284 和  $m/z$  285 是由脱去葡萄糖基的裂解方式差异造成的, 分别为均裂和异裂方式形成<sup>[24]</sup>。这一特征碎片离子可以作为判断是否为C-3取代的依据, 如化合物 23、25、26、38、45 和 72 等, 其他情况下各取代位置则不易判断。

就洪连中的氧苷黄酮来讲, 本研究发现的相关二糖苷 29 个, 此前仅有少数文献<sup>[4,17,25]</sup>报道了 10 个, 而无论是一糖苷或二糖苷, 己糖和葡萄糖醛酸都是其中最常见糖种类, 含有葡萄糖醛酸甲酯的化合物仅有 4 个, 即化合物 66、72、75 和 77, 且保留时间均较晚。含有脱氧己糖的情况通常存在于二糖苷中, 仅有宝藜苷 I (化合物 84) 是例外, 而该成分是首次从兔耳草属植物中发现。脱氧己糖通常需要己糖和葡萄糖醛酸组合搭配, 其与葡萄糖醛酸组合的二糖苷黄酮 (化合物 46、51、53 和 73), 为首次从兔耳草属植物中发现。己糖和葡萄糖醛酸可以各自组合搭配, 值得注意的是, 葡萄糖醛酸由于含有  $-\text{COOH}$ , 在负离子模式下响应较好, 在一糖苷二级质谱中经常出现  $[\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{H}]^-$   $m/z$  175 的碎片离子, 而当两个葡萄糖醛酸相连时其二级质谱中则会出现  $[\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_{12}-\text{H}]^-$   $m/z$  351 的碎片离子, 且常为基峰, 可以作为该类型的特征碎片离子, 如化合物 10、17、21、28 和 64。

本研究中发现的碳苷黄酮为兔耳草属植物中首次报道, 即化合物 2~7、11、13 和 22 共 9 个。其主要裂解规律与氧苷黄酮有显著差异, 主要为糖环内部的裂解, 以化合物 6 为例, 在正离子模式下, 准分子离子  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  595.163 51, 得到分子式为  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$ , 二级质谱

中出现碎片离子  $[\text{M}+\text{H}-18]^+$   $m/z$  577、 $[\text{M}+\text{H}-36]^+$   $m/z$  559、 $[\text{M}+\text{H}-54]^+$   $m/z$  541、 $[\text{M}+\text{H}-72]^+$   $m/z$  523 等, 推测有准分子离子连续丢失  $\text{H}_2\text{O}$  (18) 产生。 $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  595 离子产生脱去 120 Da ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4$ ) 的碎片离子  $m/z$  475, 推测为  $m/z$  595 发生己糖六元环的 O-C1 键和 C2-C3 键开环断裂形成, 碎片离子  $m/z$  457 由  $m/z$  475 脱水产生。碎片离子  $m/z$  379, 推测为准分子离子  $m/z$  595 脱去糖上  $3\text{H}_2\text{O}$  产生的碎片离子  $m/z$  541 又经昔元 C 环发生逆狄尔斯-阿德尔反应 (RDA) 方式裂解反应断裂 O-C<sub>8a</sub> 键和 C<sub>4</sub>-C<sub>4a</sub> 键形成。在负离子模式下, 准分子离子  $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$  593.150 57, 与正离子模式得到分子式相互验证, 双糖环裂解产生脱去 90 Da ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ )、120 Da ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4$ ), 以及连续脱去 90 和 120 Da 的碎片离子。由此可确认该化合物为二糖碳苷黄酮类, 经与参考文献<sup>[21,22]</sup> 比对, 推断其为 apigenin-6,8-di-C-hexoside, 其正、负离子模式二级质谱及裂解途径见图 3 和图 4。

## 2 苯乙醇苷类成分鉴定

苯乙醇苷是一类含有 C6-C3 芳香核片段的天然糖苷类化合物, 通常以  $\beta$ -葡萄糖为母核, 与  $\alpha$ -羟基苯乙基苷化或同时再与苯丙烯酸酯化, 广泛存在于药用植物中, 由于大部分化合物糖上都连有咖啡酰基或阿魏酰基, 所以又被称为苯丙素苷化合物。这类化合物的结构具有以下共同特征: 作为昔元的取代苯乙基连在核心  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖的 1-位, 取代苯丙烯酸基通常是反式结构, 连接于核心葡萄糖的 2,4,6-位, 而糖核的 2,3,4,6-位还常连接葡萄糖、半乳糖、木糖、呋喃阿拉伯糖、呋喃芹菜糖和鼠李糖等单糖或二糖, 由糖核上连接

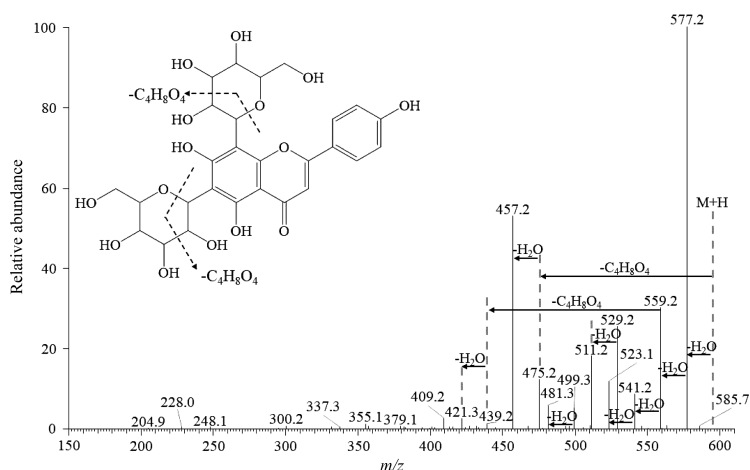


Figure 3 MS/MS spectrum and fragmentation pathway of apigenin-6,8-di-C-hexoside in positive ion modes

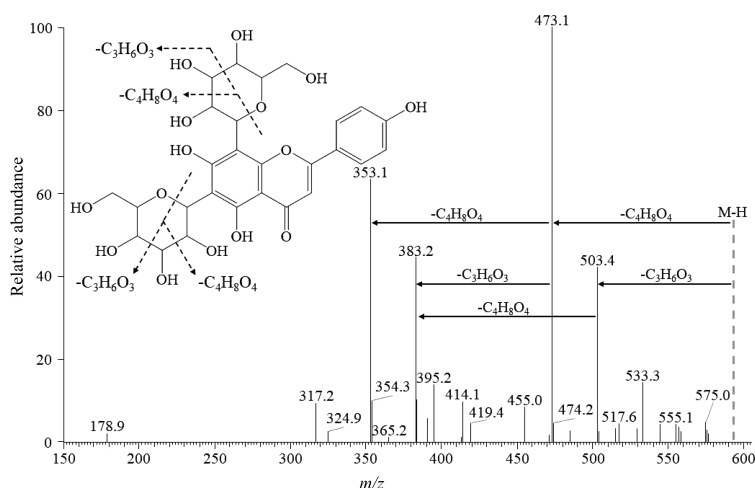


Figure 4 MS/MS spectrum and fragmentation pathway of apigenin-6,8-di-C-hexoside in negative ion modes

的糖种类、位置和支链顺序的差异, 以及苯丙烯酰基和苯乙基上取代基团的差异, 造成了苯乙醇苷化合物结构的多样性。

本研究同样通过正离子及负离子模式的数据信息对苯乙醇苷类成分进行结构鉴定, 最终通过对照品裂解规律的研究, 结合兔耳草属已分离出成分及相关质谱文献报道, 鉴定了 83 个苯乙醇苷类成分, 具体信息

见表 2<sup>[13,14,16,26-31]</sup>。根据以往文献<sup>[26,30]</sup>报道, 苯乙醇苷类主要分为两类, 主要区别为苯乙醇基 β 位有无取代基, 当苯乙醇基 β 位上有取代基时裂解规律会有一定差异, 本研究发现洪连中的苯乙醇苷类绝大多数是苯乙醇基 β 位上无取代的。由于质谱的局限性, 糖苷键、乙酰基的准确位置及糖、双键的构型暂时难以确定, 但基本可以确定苯乙醇苷的基团类型和结构。

Table 2 Identification analysis of phenylethanoid glycosides compounds in *Lagotis breviflora* Maxim. by UHPLC-LTQ-orbitrap-MS. glp: Glucopyranoside; pen: Pentose; caff: Caffeoyl; feru: Feruloyl; coum: Coumaroyl

No.	$t_R$ /min	Formula	MS (+)	Error ( $10^{-6}$ ) (+)	Other adduct ion (+)	MS/MS (+)	MS (-)	Error ( $10^{-6}$ ) (-)	MS/MS (-)	Other adduct ion (-)	Identification
1	5.68	C <sub>41</sub> H <sub>56</sub> O <sub>25</sub>	966.344 36	0.56	971.298 89 (+Na)	-	947.302 86	0.98	785, 623	983.277 89 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-rha, caff
2	6.03	C <sub>40</sub> H <sub>54</sub> O <sub>25</sub>	952.326 97	2.43	935.301 45 (+H), 957.282 23 (+Na)	773, 611, 479, 457, 325, 295	933.287 05	1.17	801, 771, 753, 639, 609, 591, 477, 459, 447	969.263 85 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-pen, caff

Continued

No.	$t_R$ /min	Formula	MS (+)	Error ( $10^{-6}$ ) (+)	Other adduct ion (+)	MS/MS (+)	MS (-)	Error ( $10^{-6}$ ) (-)	MS/MS (-)	Other adduct ion (-)	Identification
3	6.11	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>21</sub>	820.284 73	2.81	825.239 87 (+Na)	785, 623, 587, 477, 459, 325	801.244 75	1.41	783, 691, 639, 621, 529	837.221 37 (+Cl)	Suspensaside-O-hex <sup>[26,30]</sup>
4	6.11	C <sub>41</sub> H <sub>56</sub> O <sub>25</sub>	966.342 96	2.04	971.298 40 (+Na)	-	947.302 37	1.50	785, 767, 639, 623, 605, 461	-	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-rha, caff
5	6.36	C <sub>41</sub> H <sub>56</sub> O <sub>25</sub>	966.344 06	0.88	-	-	947.303 10	0.73	785, 623	-	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-rha, caff
6	6.36	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	374.143 59	2.72	-	339, 195, 177	355.103 06	1.11	193	-	Glucose ester of (E)- ferulic acid <sup>[16]</sup>
7	6.52	C <sub>41</sub> H <sub>56</sub> O <sub>25</sub>	966.343 75	1.21	971.298 40 (+Na)	787, 625, 479, 325	947.303 16	0.67	785, 767, 639, 623, 605, 461	-	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-rha, caff
8	6.55	C <sub>41</sub> H <sub>56</sub> O <sub>26</sub>	982.338 13	1.74	987.293 27 (+Na)	803, 649, 641, 487, 479, 325	963.298 10	0.63	801, 783, 639, 621, 477, 459	999.274 35 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-hex, caff
9	6.75	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>21</sub>	820.285 46	1.90	803.258 24 (+H), 825.240 42 (+Na)	803, 641, 487, 479, 461, 443, 325, 317, 307, 263	801.243 77	2.63	783, 639, 621, 485, 477, 459, 305	837.220 28 (+Cl)	Maxoside or Lagotiside C or isomer <sup>[26,27]</sup>
10	6.75	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>17</sub>	674.227 11	2.99	679.182 62 (+Na)	639, 621, 487, 477, 459, 325	655.186 71	1.93	637, 545, 503, 493, 475, 383, 323, 251	691.163 27 (+Cl)	$\beta$ -Hydroxyl- plantamajoside or isomer <sup>[26,30]</sup>
11	6.83	C <sub>40</sub> H <sub>54</sub> O <sub>24</sub>	936.332 34	2.17	941.287 48 (+Na)	757, 625, 611, 603, 479, 471, 457, 325	917.291 69	1.67	785, 771, 755, 737, 623, 609, 477, 461	953.267 82 (+Cl), 963.297 06 (+COOH)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-rha- O-pen, caff
12	6.87	C <sub>41</sub> H <sub>56</sub> O <sub>25</sub>	966.343 14	1.85	971.298 03 (+Na)	787, 625, 471, 325	947.302 92	0.92	785, 771, 623, 605, 461	983.278 32 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-rha, caff
13	6.91	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>17</sub>	674.227 05	3.09	679.182 31 (+Na)	639, 621, 487, 477, 459, 325	655.187 19	1.19	637, 545, 503, 493, 475, 383, 323, 251	691.163 64 (+Cl)	$\beta$ -Hydroxyl- plantamajoside or isomer <sup>[26,30]</sup>
14	7.11	C <sub>41</sub> H <sub>56</sub> O <sub>25</sub>	966.343 14	1.85	971.298 71 (+Na)	787, 625, 493, 471, 339	947.302 86	0.98	815, 785, 771, 753, 639, 621	983.276 31 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-pen, feru
15	7.32	C <sub>41</sub> H <sub>56</sub> O <sub>25</sub>	966.344 42	0.50	971.298 89 (+Na)	-	947.302 61	1.25	785, 771, 753, 623, 605, 461	-	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-rha, caff
16	7.36	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>16</sub>	658.231 87	3.58	641.205 44 (+H), 663.187 38 (+Na)	641, 479, 461, 325	639.192 02	3.58	477, 459, 315	675.169 25 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl O-hex, caff (isomer of Plantamajoside)
17	7.40	C <sub>42</sub> H <sub>56</sub> O <sub>26</sub>	994.337 34	2.53	999.292 91 (+Na)	815, 661, 529, 457, 367, 325	975.297 97	0.75	933, 843, 813, 795, 771, 753, 681, 639, 621, 609	1 011.274 17(+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-pen-acetyl, caff

Continued

No.	$t_R$ /min	Formula	MS (+)	Error (10 <sup>-6</sup> ) (+)	Other adduct ion (+)	MS/MS (+)	MS (-)	Error (10 <sup>-6</sup> ) (-)	MS/MS (-)	Other adduct ion (-)	Identification
18	7.60	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>16</sub>	658.231 81	3.67	663.187 07 (+Na)	641, 623, 477, 471, 325	639.192 44	0.97	621, 529, 487, 477, 469, 459, 441, 179	675.166 20 (+Cl)	Suspensaside <sup>[26,30]</sup>
19	7.76	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>20</sub>	804.289 98	2.66	787.263 79 (+H), 809.245 36 (+Na)	641, 633, 625, 607, 487, 479, 471, 461, 443, 435, 417, 325, 309	785.248 96	2.55	767, 639, 623, 605, 477, 461, 443, 315	821.225 10 (+Cl)	Echinacoside*
20	7.90	C <sub>42</sub> H <sub>58</sub> O <sub>26</sub>	996.353 27	2.24	1 001.307 62 (+Na)	663, 493, 339	977.312 93	1.46	815, 801, 783, 653, 639, 621	1 013.290 71 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-hex, feru
21	7.90	C <sub>43</sub> H <sub>58</sub> O <sub>27</sub>	1 024.347 90	2.46	1 029.303 47 - (+Na)	-	1 005.307 62	1.64	843, 801, 783, 681, 639, 585	1 041.284 91 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-hex-acetyl, caff
22	8.21	C <sub>37</sub> H <sub>48</sub> O <sub>22</sub>	862.295 53	2.39	867.250 79 (+Na)	691, 683, 529, 511, 479, 367, 325	843.255 31	1.35	801, 681, 639, 621, 519, 477, 459	879.231 51 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl O-hex-O-hex- acetyl, caff
23	8.21	C <sub>31</sub> H <sub>38</sub> O <sub>18</sub>	716.237 49	3.08	721.192 87 (+Na)	681, 529, 477, 459, 367, 325	697.197 81	1.04	679, 655, 637, 587, 535, 517, 475, 457	733.176 09 (+Cl)	$\beta$ -Hydroxyl-acetyl- plantamajoside or isomer <sup>[26,30]</sup>
24	8.46	C <sub>31</sub> H <sub>38</sub> O <sub>18</sub>	716.237 79	2.65	721.192 87 (+Na)	681, 529, 477, 367, 325	697.197 57	1.39	679, 655, 637, 587, 535, 517, 475	733.174 50 (+Cl)	$\beta$ -Hydroxyl-acetyl- plantamajoside or isomer <sup>[26,30]</sup>
25	8.57	C <sub>34</sub> H <sub>44</sub> O <sub>20</sub>	790.274 72	2.20	795.230 16 (+Na)	479, 461, 457, 325, 295, 277	771.234 50	1.06	639, 609, 591, 477, 447, 315	807.209 66 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl O-hex-O-pen, caff
26	8.66	C <sub>40</sub> H <sub>54</sub> O <sub>24</sub>	936.332 21	2.31	941.287 23 (+Na)	-	917.291 69	1.67	755, 623, 593, 461	953.266 97 (+Cl), 963.295 10 (+COOH)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-rha- O-pen, caff
27	9.05	C <sub>34</sub> H <sub>44</sub> O <sub>20</sub>	790.274 48	2.51	773.247 99 (+H), 795.229 68 (+Na)	611, 593, 487, 479, 457, 325, 307, 295, 277	771.233 95	1.77	639, 609, 591, 477, 447, 429, 323, 315, 297, 275	807.209 90 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl O-hex-O-pen, caff
28	9.17	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>21</sub>	820.285 22	2.20	803.258 85 (+H), 825.240 23 (+Na)	803, 649, 641, 487, 479, 461, 443, 325, 317, 307	801.243 47	3.01	639, 621, 477, 459, 323, 315, 297, 263	837.219 79 (+Cl)	Maxoside or lagotiside C or isomer <sup>[26,27]</sup>
29	9.28	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>20</sub>	804.290 10	2.50	809.246 09 (+Na)	787, 641, 633, 625, 487, 479, 471, 435, 325, 309	785.250 73	0.30	639, 623, 605, 477, 461, 315	821.227 23 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl O-rha-O-hex, caff (isomer of echinacoside)
30	9.41	C <sub>41</sub> H <sub>56</sub> O <sub>25</sub>	966.343 20	1.79	971.298 58 (+Na)	-	947.302 86	0.98	801, 785, 767, 639, 623, 605, 461	983.278 81 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl O-hex-O-hex- O-rha, caff
31	9.49	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>20</sub>	804.290 34	2.20	787.262 70 (+H), 809.245 73 (+Na)	787, 625, 607, 571, 479, 471, 461, 435, 417, 325, 317, 309, 291, 273	785.250 55	0.53	639, 623, 605, 477, 461	821.226 87 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl O-rha-O-hex, caff (isomer of echinacoside)

Continued

No.	$t_R$ /min	Formula	MS (+)	Error (10 <sup>-6</sup> ) (+)	Other adduct ion (+)	MS/MS (+)	MS (-)	Error (10 <sup>-6</sup> ) (-)	MS/MS (-)	Other adduct ion (-)	Identification
32	9.53	C <sub>36</sub> H <sub>48</sub> O <sub>20</sub>	818.305 42	2.87	801.279 05 (+H), 823.260 74 (+Na)	801, 647, 639, 493, 485, 475, 339	799.264 53	2.61	637, 623, 605, 477, 461, 315, 305	835.241 03 (+Cl)	Jionoside A1 or isomer <sup>[26]</sup>
33	9.59	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>16</sub>	658.232 42	2.72	641.205 26 (+H), 663.187 68 (+Na)	641, 487, 479, 461, 443, 325, 317, 307	639.191 10	3.06	477, 459, 315, 297, 179	675.167 72 (+Cl)	Plantamajoside*
34	9.74	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>20</sub>	804.289 79	2.90	787.261 41 (+H), 809.245 12 (+Na)	787, 633, 625, 487, 479, 471, 461, 453, 435, 325, 309	785.250 00	1.23	639, 623, 605, 477, 461, 443, 307	821.226 07 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl <i>O</i> -rha- <i>O</i> -hex, caff (isomer of echinacoside)
35	9.98	C <sub>34</sub> H <sub>44</sub> O <sub>19</sub>	774.279 24	2.99	779.234 56 (+Na)	757, 625, 479, 471, 325	755.239 87	0.70	609, 593, 575, 461, 447, 443	791.216 37 (+Cl), 801.245 42 (+COOH)	Ehrensoside or isomer <sup>[31]</sup>
36	10.22	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>16</sub>	672.247 44	3.62	655.220 95 (+H), 677.202 58 (+Na)	655, 471, 325	653.209 35	-0.98	635, 621, 543, 487, 459	689.186 65 (+Cl), 699.214 72 (+COOH)	Suspensaside methyl ether <sup>[26,30]</sup>
37	10.34	C <sub>23</sub> H <sub>26</sub> O <sub>11</sub> (+Na)	501.134 92(+ Na)	3.63	496.179 60	347, 321	477.139 77	0.97	315, 301, 297, 179, 161	-	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxypheny) ethyl, caff
38	10.46	C <sub>34</sub> H <sub>44</sub> O <sub>19</sub>	774.279 60	2.52	779.234 99 (+Na)	757, 625, 479, 471, 457, 325	755.239 56	1.11	623, 609, 593, 575, 461, 447, 443, 315	791.216 13 (+Cl)	Ehrensoside or isomer <sup>[31]</sup>
39	10.81	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>20</sub>	804.290 22	2.35	809.245 30 (+Na)	625, 479, 471, 325, 317	785.250 67	0.38	623, 477, 461	821.227 11 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl <i>O</i> -rha- <i>O</i> -hex, caff (isomer of echinacoside)
40	10.81	C <sub>37</sub> H <sub>50</sub> O <sub>21</sub>	848.316 83	1.75	853.271 97 (+Na)	507, 339	829.277 16	0.03	667, 653, 635, 491, 473	865.252 01 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (hydroxymethoxyph enyl) ethyl <i>O</i> -hex- <i>O</i> - hex, feru
41	11.00	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	642.237 49	2.81	625.210 88 (+H), 647.192 75 (+Na)	625, 607, 589, 571, 479, 471, 435, 325, 309, 301	623.196 47	2.68	477, 461, 443, 323, 315, 297, 251, 179	659.173 03 (+Cl)	Verbascoside/ Acteoside*
42	11.00	C <sub>29</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	640.221 92	2.69	623.190 61 (+H)	623, 605, 587, 477, 459, 325, 281, 263	621.181 40	1.76	487, 469, 459, 179	-	Suspensaside A <sup>[26,30]</sup>
43	11.17	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>21</sub>	820.285 28	2.12	803.256 29 (+H), 825.240 78 (+Na)	649, 479, 325,	801.244 51	1.71	639, 621, 477, 459, 323, 315	837.220 95 (+Cl)	Maxoside or lagotiside C or isomer <sup>[26,27]</sup>
44	11.25	C <sub>37</sub> H <sub>48</sub> O <sub>22</sub>	862.296 33	1.44	845.269 17 (+H), 867.251 46 (+Na)	691, 683, 529, 511, 479, 367, 325	843.254 76	2.00	801, 783, 681, 639, 621, 519, 477, 459	879.230 71 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl <i>O</i> -hex- <i>O</i> -hex- acetyl, caff
45	11.40	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>16</sub>	658.232 06	3.28	641.205 44 (+H), 663.187 13 (+Na)	641, 487, 479, 461, 443, 325, 307	639.192 32	1.15	477, 459, 323, 315, 305, 297, 251, 179	675.168 95 (+Cl)	Plantainoside D <sup>[27]</sup>

Continued

No.	$t_R$ /min	Formula	MS (+)	Error (10 <sup>-6</sup> ) (+)	Other adduct ion (+)	MS/MS (+)	MS (-)	Error (10 <sup>-6</sup> ) (-)	MS/MS (-)	Other adduct ion (-)	Identification
46	11.44	C <sub>36</sub> H <sub>46</sub> O <sub>21</sub>	832.285 16	2.24	837.240 36 (+Na)	683, 661, 529, 499, 479, 457, 367, 325, 295	813.244 87	1.24	771, 753, 681, 651, 633, 609, 591, 519, 477, 447	849.221 19 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl <i>O</i> -hex- <i>O</i> -pen- acetyl, caff
47	11.52	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	642.237 55	2.72	625.174 68 (+H), 647.192 81 (+Na)	625, 479, 471, 463, 325, 309	623.197 20	1.51	477, 461, 315	-	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl <i>O</i> -rha, caff (isomer of isoacteoside)
48	11.64	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>20</sub>	804.290 04	2.58	787.263 43 (+H), 809.245 48 (+Na)	625, 501, 493, 471, 339, 309, 291	785.250 37	0.76	653, 623, 609, 591, 491, 477, 459, 447, 315, 297	821.226 75 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl <i>O</i> -pen- <i>O</i> -hex, feru
49	11.80	C <sub>36</sub> H <sub>48</sub> O <sub>21</sub>	834.300 84	2.20	839.255 86 (+Na)	655, 501, 493, 339	815.260 80	0.90	653, 639, 621, 491, 477, 473, 459	851.237 49 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl <i>O</i> -hex- <i>O</i> -hex, feru
50	11.86	C <sub>31</sub> H <sub>38</sub> O <sub>17</sub>	700.242 31	3.10	683.215 76 (+H), 705.197 81 (+Na)	683, 665, 647, 529, 511, 479, 367, 325, 307	681.201 90	2.53	639, 621, 519, 477, 459, 315	717.172 36 (+Cl)	Hemiphroside B*
51	11.86	C <sub>33</sub> H <sub>42</sub> O <sub>17</sub>	728.273 38	3.72	733.216 13 (+Na)	529, 367, 325, 307	-	-	-	-	$\beta$ -D-Glp, (dimethoxyphenyl) ethyl <i>O</i> -hex-acetyl, caff
52	12.02	C <sub>36</sub> H <sub>48</sub> O <sub>20</sub>	818.305 91	2.26	801.279 85 (+H), 823.261 17 (+Na)	655, 647, 639, 501, 493, 485, 339, 283	799.265 50	1.40	781, 653, 637, 623, 605, 491, 477, 461	835.241 88 (+Cl)	Jionoside A 1 or isomer <sup>[26]</sup>
53	12.06	C <sub>34</sub> H <sub>44</sub> O <sub>20</sub>	790.274 72	2.20	773.247 92 (+H), 795.229 86 (+Na)	611, 479, 457, 325, 295	771.234 38	1.21	735, 639, 609, 591, 477, 447, 429, 323, 315, 251	807.210 75 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl <i>O</i> -hex- <i>O</i> -pen, caff
54	12.10	C <sub>31</sub> H <sub>38</sub> O <sub>17</sub>	700.242 80	2.82	683.215 39 (+H), 705.198 12 (+Na)	683, 529, 479, 367, 325	681.202 94	1.00	639, 621, 519, 477, 459	-	2'- <i>O</i> -Acetyl- plantamajoside <sup>[27]</sup>
55	12.34	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>16</sub>	672.247 86	2.98	655.221 19 (+H), 677.203 06 (+Na)	655, 501, 493, 339	653.207 76	1.45	491, 477, 459, 315, 297	689.184 27 (+Cl), 699.213 20 (+COOH)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl <i>O</i> -hex, feru
56	12.38	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	642.237 49	2.81	625.210 82 (+H), 647.192 75 (+Na)	625, 607, 479, 471, 461, 435, 325, 309	623.197 33	1.30	477, 461, 443, 323, 315, 297, 251, 179	659.174 01 (+Cl)	Isoacteoside*
57	12.42	C <sub>31</sub> H <sub>38</sub> O <sub>17</sub>	700.242 37	3.45	705.197 75 (+Na)	521, 367, 325	681.202 76	1.27	639, 519, 477, 459	-	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl <i>O</i> -hex-acetyl, caff (isomer of hemiphroside B)
58	12.62	C <sub>37</sub> H <sub>50</sub> O <sub>20</sub>	832.321 41	2.41	815.294 25 (+H), 837.276 55 (+Na)	653, 507, 485, 339, 323, 305	813.281 56	0.87	667, 651, 637, 619, 491, 475, 473, 457, 427, 329, 287	849.257 75 (+Cl)	Cistanoside B or glucopyranosyl (1- 6) martynoside or isomer <sup>[26,29]</sup>

Continued

No.	$t_R$ /min	Formula	MS (+)	Error ( $10^{-6}$ ) (+)	Other adduct ion (+)	MS/MS (+)	MS (-)	Error ( $10^{-6}$ ) (-)	MS/MS (-)	Other adduct ion (-)	Identification
59	12.80	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	642.237 24	3.21	625.210 14 (+H), 647.192 44 (+Na)	625, 607, 589, 571, 553, 479, 471, 461, 453, 443, 435, 417, 325, 317, 309, 301, 291, 273, 255	623.197 27	1.40	477, 461, 443, 315, 297, 179	659.171 20 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl O-rha, caff (isomer of verbascoside)
60	12.87	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>16</sub>	672.247 62	3.36	655.220 76 (+H), 677.203 00 (+Na)	655, 501, 493, 339	653.208 07	0.98	491, 477, 459	689.185 06 (+Cl), 699.213 01 (+COOH)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl O-hex, feru
61	13.15	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>14</sub>	626.242 55	2.93	631.198 12 (+Na)	463, 325	607.202 33	1.48	461, 445	643.178 77 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (hydroxyphenyl) ethyl O-rha, caff
62	13.30	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>16</sub>	672.247 80	3.07	677.203 06 (+Na)	493, 475, 457, 325	653.207 52	1.82	491, 477, 315	689.184 20 (+Cl), 699.216 43 (+COOH)	$\beta$ -D-Glp, (hydroxymethoxyph enyl) ethyl O-hex, caff
63	13.34	C <sub>37</sub> H <sub>50</sub> O <sub>20</sub>	832.321 41	2.41	837.276 86 (+Na)	653, 339, 323	813.281 13	1.40	651, 637, 619, 491, 475	849.256 90 (+Cl)	Cistanoside B or isomer <sup>[26]</sup>
64	13.37	C <sub>31</sub> H <sub>38</sub> O <sub>17</sub>	700.243 10	2.38	705.198 43 (+Na)	665, 529, 511, 479, 461, 367, 349, 325	681.202 70	1.35	639, 621, 519, 477, 459	-	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl O-hex-acetyl, caff (isomer of hemiphroside B)
65	13.41	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>14</sub>	626.241 88	4.03	609.214 78 (+H), 631.197 27 (+Na)	609, 463, 455, 309	607.202 76	0.77	461, 443, 315	643.179 32 (+Cl)	Lipidoside A or isomer <sup>[26]</sup>
66	13.89	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>18</sub>	772.300 29	2.59	777.255 62 (+Na)	755, 593, 471, 447, 325, 309	753.260 25	1.18	591	789.237 85 (+Cl)	Kankanoside I <sup>[28]</sup>
67	14.17	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>15</sub>	656.252 93	3.08	639.226 38 (+H), 661.208 37 (+Na)	639, 493, 485, 339, 323, 277	637.212 59	1.89	491, 475, 461, 443, 315, 305, 297, 193	673.189 21 (+Cl), 683.217 90 (+COOH)	Leucosceptoside A <sup>[26]</sup>
68	14.56	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>14</sub>	626.241 94	3.93	631.197 75 (+Na)	609, 591, 463, 455, 437, 309, 293, 275	607.202 64	0.97	461, 443, 315	643.178 22 (+Cl)	Lipidoside A or isomer <sup>[26]</sup>
69	15.07	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>15</sub>	656.253 36	2.41	639.226 68 (+H), 661.208 62 (+Na)	639, 493, 471, 325	637.212 52	2.00	475, 329	673.188 48 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (hydroxymethoxyph enyl) ethyl O-rha, caff
70	15.10	C <sub>36</sub> H <sub>48</sub> O <sub>20</sub>	818.306 40	1.65	801.281 19 (+H), 823.261 47 (+Na)	639, 507, 471, 339, 309	799.265 81	1.01	667, 637, 623, 605, 491, 473, 461	835.241 94 (+Cl), 845.271 24 (+COOH)	$\beta$ -D-Glp, (hydroxymethoxyph enyl) ethyl O-hex-O- pen, feru
71	15.39	C <sub>37</sub> H <sub>50</sub> O <sub>20</sub>	832.321 90	1.80	815.295 10 (+H), 837.277 22 (+Na)	815, 785, 669, 653, 647, 507, 501, 485, 339	813.281 43	1.03	667, 651, 637, 619, 491, 475, 473, 457, 329, 305	849.257 63 (+Cl)	Cistanoside B or isomer <sup>[26]</sup>
72	15.43	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> O <sub>18</sub>	742.253 30	2.75	747.208 74 (+Na)	725, 707, 571, 503, 367, 247	723.213 62	0.78	681, 663, 639, 621, 561, 519, 501, 477, 459	759.191 89 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl O-hex-acetyl- acetyl, caff

Continued

No.	$t_R$ /min	Formula	MS (+)	Error (10 <sup>-6</sup> ) (+)	Other adduct ion (+)	MS/MS (+)	MS (-)	Error (10 <sup>-6</sup> ) (-)	MS/MS (-)	Other adduct ion (-)	Identification
73	15.47	C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>15</sub>	656.252 99	2.99	661.208 68 (+Na)	639, 621, 493, 485, 475, 467, 457, 449, 431, 339, 323, 305	637.213 50	0.46	491, 475, 461	673.189 88 (+Cl), 683.219 60 (+COOH)	Leucosceptoside A <sup>[26]</sup>
74	15.54	C <sub>37</sub> H <sub>50</sub> O <sub>21</sub>	848.316 96	1.59	853.272 16 (+Na)	669, 507, 339	829.276 49	0.83	667, 653, 635, 505, 491, 473, 425, 329, 311, 265	865.252 75 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (hydroxymethoxyph enyl) ethyl <i>O</i> -hex- <i>O</i> - hex, feru
75	15.90	C <sub>37</sub> H <sub>50</sub> O <sub>20</sub>	832.321 53	2.26	-	653, 339, 323	813.281 37	1.10	667, 651, 637, 619, 491, 475, 473, 457, 305	849.258 06 (+Cl)	Cistanoside B or isomer <sup>[26]</sup>
76	15.99	C <sub>32</sub> H <sub>40</sub> O <sub>17</sub>	714.258 73	2.36	719.213 87 (+Na)	697, 529, 367, 325	695.218 44	1.20	653, 635, 519, 501, 491	731.195 56 (+Cl)	$\beta$ -D-Glp, (hydroxymethoxyph enyl) ethyl <i>O</i> -hex- acetyl, caff
77	16.36	C <sub>31</sub> H <sub>38</sub> O <sub>17</sub>	700.242 61	3.10	683.216 13 (+H), 705.197 88 (+Na)	683, 529, 367, 325	681.202 70	1.35	639, 621, 519, 477, 459	-	$\beta$ -D-Glp, (dihydroxyphenyl) ethyl <i>O</i> -hex-acetyl, caff (isomer of hemiphroside B)
78	16.44	C <sub>31</sub> H <sub>40</sub> O <sub>16</sub>	686.263 24	3.32	669.235 90 (+H), 691.218 57 (+Na)	507, 501, 471, 339, 277	667.223 82	0.81	505, 491, 473, 329, 311, 193	703.200 32 (+Cl), 713.229 19 (+COOH)	$\beta$ -D-Glp, (hydroxymethoxyph enyl) ethyl <i>O</i> -hex, feru
79	17.03	C <sub>36</sub> H <sub>48</sub> O <sub>19</sub>	802.310 73	2.65	785.285 40 (+H), 807.266 36 (+Na)	339	783.270 51	1.52	651, 637, 607, 589, 475, 461, 457, 443	819.247 86 (+Cl), 829.276 25 (+COOH)	Lagotoside <sup>[29]</sup>
80	17.29	C <sub>39</sub> H <sub>52</sub> O <sub>21</sub>	874.332 34	1.86	879.287 54 (+Na)	839, 671, 527, 339	855.291 56	1.49	813, 795, 709, 679, 667, 651, 637, 619, 601, 491	891.267 21 (+Cl)	Uranoside A or isomer <sup>[26]</sup>
81	17.45	C <sub>39</sub> H <sub>52</sub> O <sub>21</sub>	874.331 85	2.43	879.287 17 (+Na)	839, 671, 339	855.291 44	1.63	813, 795, 693, 679, 667, 651, 637, 619, 601, 491, 475, 473	891.267 76 (+Cl)	Uranoside A or isomer <sup>[26]</sup>
82	18.47	C <sub>31</sub> H <sub>40</sub> O <sub>15</sub>	670.268 74	2.77	653.242 19 (+H), 675.224 00 (+Na)	653, 507, 485, 339, 323	651.228 70	1.14	505, 487, 475, 457, 329, 289, 265, 193	687.205 32 (+Cl), 697.234 01 (+COOH)	Martynoside or cistanoside D or isomer <sup>[13,14]</sup>
83	19.16	C <sub>33</sub> H <sub>42</sub> O <sub>17</sub>	728.273 62	3.39	733.229 06 (+Na)	543, 381, 339	709.234 25	0.95	667, 649, 533	-	$\beta$ -D-Glp, (hydroxymethoxyph enyl) ethyl <i>O</i> -hex- acetyl, feru

在负离子模式下,  $\beta$ 位上无取代的苯乙醇苷的准分子离子基本均为  $[M-H]^-$ , 同时通常伴随着响应明显更低的  $[M+Cl]^-$ , 化合物整体响应较高时  $[M+COOH]^-$  也经常能检出。二级质谱的裂解规律非常相似, 多表现为连续的中性丢失 18 Da ( $H_2O$ ) 的碎片离子; 苯丙素部分的基团也极易丢失, 对应 176 Da 的阿魏酰基 ( $C_{10}H_8O_3$ )、162 Da 的咖啡酰基 (caff,  $C_9H_6O_3$ ) 和 146 Da 的香豆酰基 ( $C_9H_6O_2$ ) 等; 糖基部分丢失掉 132、146 和

162 Da 的中性碎片离子, 对应的糖为戊糖 ( $C_5H_8O_4$ ) 如阿拉伯糖、芹菜糖和木糖等、脱氧己糖如鼠李糖 ( $C_6H_{10}O_4$ ) 和己糖如葡萄糖 ( $C_6H_{10}O_5$ ) 等; 另外如有乙酰基 ( $C_2H_2O$ , 42 Da) 也极易丢失。

以松果菊苷、大车前苷和鞭打绣球苷 B 为例, 松果菊苷的准分子离子  $[M-H]^-$   $m/z$  785.248 96, 得到分子式为  $C_{35}H_{46}O_{20}$ , 二级质谱中主要碎片离子为  $[M-H-H_2O]^-$   $m/z$  767、 $[M-H-rha]^-$   $m/z$  639、 $[M-H-caff]^-$   $m/z$

623、 $[M-H-\text{caff}-\text{H}_2\text{O}]^-$   $m/z$  605、 $[M-H-\text{caff}-\text{rha}]^-$   $m/z$  477、 $[M-H-\text{caff}-\text{glc}]^-$   $m/z$  461、 $[M-H-\text{caff}-\text{glc}-\text{H}_2\text{O}]^-$   $m/z$  443、 $[M-H-\text{caff}-\text{glc}-\text{rha}]^-$   $m/z$  315, 见图5。

类似地, 大车前苷的准分子离子  $[M-H]^-$   $m/z$  639.191 10, 得到分子式为  $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{16}$ , 二级质谱中主要碎片离子为  $[M-H-\text{caff}]^-$   $m/z$  477、 $[M-H-\text{caff}-\text{H}_2\text{O}]^-$   $m/z$  459、 $[M-H-\text{caff}-\text{glc}]^-$   $m/z$  315、 $[M-H-\text{caff}-\text{glc}-\text{H}_2\text{O}]^-$   $m/z$  297、 $[\text{caff}]^-$   $m/z$  179。

鞭打绣球苷B的准分子离子  $[M-H]^-$   $m/z$  681.201 90, 与大车前苷的主要差异为多了一个乙酰基, 因此二级质谱中产生的主要碎片离子为  $[M-H-\text{acetyl}]^-$   $m/z$  639、 $[M-H-\text{acetyl}-\text{H}_2\text{O}]^-$   $m/z$  621、 $[M-H-\text{caff}]^-$   $m/z$  519、 $[M-H-\text{acetyl}-\text{caff}]^-$   $m/z$  477、 $[M-H-\text{acetyl}-\text{caff}-\text{H}_2\text{O}]^-$   $m/z$  459、 $[M-H-\text{acetyl}-\text{caff}-\text{glc}]^-$   $m/z$  315 等的差异也体现在乙酰基的丢失上。通过对上述对照品的解析发现,  $[M-H-\text{caff}]^-$  多为负离子模式下的基峰, 由此推断, 当取代基由咖啡酰基变换为阿魏酰基或香豆酰基时, 相应的丢失 176 或 146 Da 后的碎片离子也应为其基峰, 可以作为苯乙醇苷类成分在负离子模式下重要的特征碎片离子, 如化合物 14、20、32、48、49、和 78~83 中, 即为阿魏酰基取代, 而香豆酰基取代相对其他两种取代方式在洪连中也属少见, 仅有 2 个为化合物 65 和 68, 而本研究中所检出的 83 个苯乙醇苷类成分中, 含有咖啡酰基取代的近 48 个, 占半数以上。另外还有不同糖基的取代, 如化合物 2、11、14、17、25~27、35、38、46、48、53、70 和 79 等中, 存在阿拉伯糖、芹菜糖和木糖取代。

在正离子模式下, 本研究中苯乙醇苷类化合物的准分子离子多为  $[M+\text{NH}_4]^+$ , 同时可以见到明显的  $[M+\text{Na}]^+$ , 而  $[M+\text{H}]^+$  一般响应较低, 需将图谱放大数倍才可看到, 且经常无法获取其二级质谱。正离子与负离子

模式的情况相似的是, 苯乙醇苷在脱去  $\text{NH}_4^+$  后的二级碎片离子裂解规律表现仍然为连续的中性丢失 18 Da ( $\text{H}_2\text{O}$ ) 的碎片离子, 糖基部分丢失掉 132 ( $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_4$ )、146 ( $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4$ ) 和 162 ( $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ ) Da 的中性碎片离子等, 但与负离子模式相比最重要的差异为不会轻易丢失咖啡酰基、阿魏酰基或香豆酰基取代部分, 而产生丢失苯乙醇基 (phenyl ethanol, phe) 取代部分的碎片离子, 这一部分的碎片离子丢失通常也可以反映其苯环上取代基的变化: 在大多数情况下其苯环上通常为 2 个 -OH 取代, 对应丢失 154 Da ( $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_3$ ) 的碎片离子, 如松果菊苷、大车前苷和鞭打绣球苷 B 等; 有一小部分化合物的苯乙醇基苯环上为 1 个 -OH 和 1 个 -OCH<sub>3</sub> 取代, 对应丢失 168 Da ( $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_3$ ) 的碎片离子, 如化合物 40、62、63、69~71、74~76、78~83 等; 还有少见的个别情况为苯乙醇基苯环上无取代基 (化合物 83) 或只有 1 个 -OH (化合物 79) 或 2 个 -OCH<sub>3</sub> (化合物 51), 对应丢失的碎片离子分别为 122 ( $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}$ )、138 ( $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$ ) 和 182 ( $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_3$ ) Da。

同样以松果菊苷、大车前苷和鞭打绣球苷 B 为例, 松果菊苷的准分子离子  $[M+\text{NH}_4]^+$   $m/z$  804.289 98, 得到分子式与负离子模式一致, 二级质谱中主要碎片离子为  $[M+\text{H}-\text{Rha}]^+$   $m/z$  641、 $[M+\text{H}-\text{Phe}]^+$   $m/z$  633、 $[M+\text{H}-\text{glc}]^+$   $m/z$  625、 $[M+\text{H}-\text{glc}-\text{H}_2\text{O}]^+$   $m/z$  607、 $[M+\text{H}-\text{phe}-\text{rha}]^+$   $m/z$  487、 $[M+\text{H}-\text{glc}-\text{rha}]^+$   $m/z$  479、 $[M+\text{H}-\text{phe}-\text{glc}]^+$   $m/z$  471、 $[M+\text{H}-\text{phe}-\text{glc}-\text{rha}]^+$   $m/z$  325, 见图6。

类似地, 大车前苷的准分子离子  $[M+\text{NH}_4]^+$   $m/z$  658.232 42, 得到分子式与负离子模式一致, 二级质谱中主要碎片离子为  $[M+\text{H}-\text{phe}]^+$   $m/z$  487、 $[M+\text{H}-\text{glc}]^+$   $m/z$  479、 $[M+\text{H}-\text{glc}-\text{H}_2\text{O}]^+$   $m/z$  461、 $[M+\text{H}-\text{glc}-2\text{H}_2\text{O}]^+$   $m/z$  443 和  $[M+\text{H}-\text{phe}-\text{glc}]^+$   $m/z$  325。

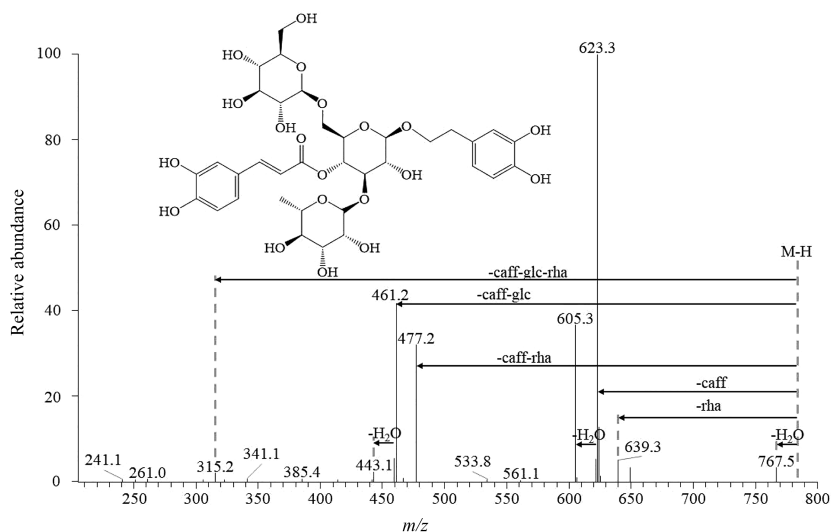


Figure 5 MS/MS spectrum and fragmentation pathway of echinacoside in negative ion modes

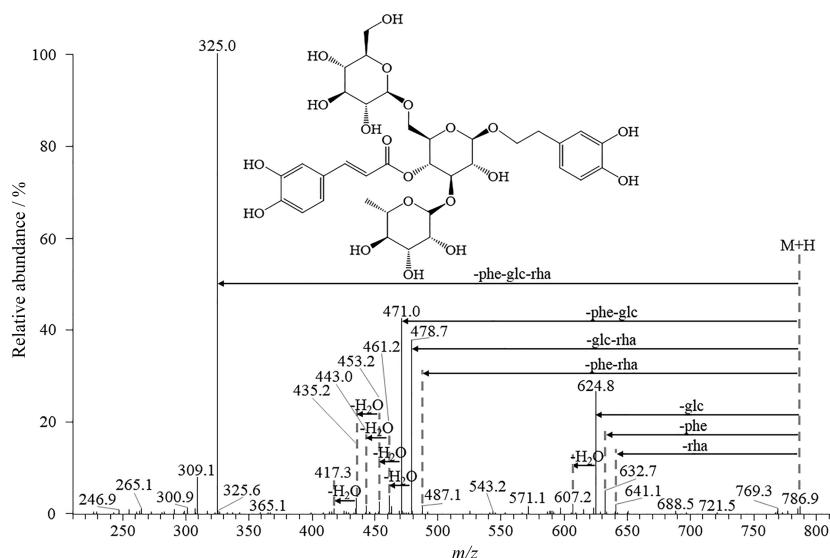


Figure 6 MS/MS spectrum and fragmentation pathway of echinacoside in positive ion modes

鞭打绣球苷 B 的准分子离子  $[M+NH_4]^+$  给出  $m/z$  700.242 31, 得到分子式与负离子模式一致, 与大车前苷的差异同样体现在乙酰基的丢失上, 二级质谱中主要碎片离子为  $[M+H-H_2O]^+$   $m/z$  665、 $[M+H-2H_2O]^+$   $m/z$  647、 $[M+H-phe]^+$   $m/z$  529、 $[M+H-phe-H_2O]^+$   $m/z$  511、 $[M+H-glc-acetyl]^+$   $m/z$  479、 $[M+H-phe-glc]^+$   $m/z$  367、 $[M+H-phe-glc-acetyl]^+$   $m/z$  325、 $[M+H-phe-glc-acetyl-H_2O]^+$   $m/z$  307。较为特别的是, 在鞭打绣球苷 B 结构中, 乙酰基本身连接在支链葡萄糖而非核心  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖上, 但在正离子模式下有时会出现乙酰基并未随支链葡萄糖一起丢失的碎片离子, 即碎片离子 367, 有可能是该类化合物在裂解过程中发生了重排。

在正离子模式下的碎片离子  $m/z$  325、339 和 309 的存在可以分别佐证结构中存在咖啡酰基、阿魏酰基和香豆酰基, 且常为基峰, 对于碎片离子  $m/z$  367 和 381 则分别为咖啡酰基取代和阿魏酰基取代时化合物结构中存在乙酰基的碎片离子, 同时也可以作为苯乙醇苷中存在乙酰基的特征碎片。

根据前述裂解规律, 本研究首次在兔耳草属中发现四糖苯乙醇苷, 即化合物 1、2、4、5、7、8、11、12、14、15、17、20、21、28 和 30 共 15 个, 目前已有报道的四糖苯乙醇苷仅有十余个<sup>[32,33]</sup>, 因此这些四糖苯乙醇苷为新化合物的可能性极大。

对于另一类苯乙醇基  $\beta$  位有取代基的苯乙醇苷化合物, 经与参考文献<sup>[26,30]</sup> 比对, 本研究在洪连中共检出 8 个, 其取代基大多为  $-OH$ , 如化合物 3、10、13、18、23、24 和 42 等, 仅有化合物 36 为  $-OCH_3$  取代, 其中化合物 3、10、13、23 和 24 为首次在兔耳草属中发现。在负离子模式下, 其基峰大多为丢失  $\beta$  位的  $-OH$  或  $-OCH_3$  后的

碎片离子, 同时会产生丢失苯乙醇基部分的碎片, 对应丢失的碎片质量数为 134 ( $C_8H_6O_2$ ) 和 152 ( $C_8H_8O_3$ ) Da, 这是与  $\beta$  位无取代基类苯乙醇苷化合物的主要差异; 同样地, 也会产生丢失咖啡酰基和  $H_2O$  后的碎片离子。而在正离子模式下, 与  $\beta$  位无取代基类苯乙醇苷化合物裂解规律类似, 首先准分子离子仍为  $[M+NH_4]^+$ , 脱去  $NH_4^+$  后的丢失  $H_2O$ 、糖基部分和苯乙醇基取代部分的碎片离子, 也会产生特征碎片离子 325 等。

## 讨论

我国是世界上民族医药文化及相关药用资源最为丰富的国家, 藏医药即是民族医药中最重要的代表之一, 具有独特完整的医药理论体系, 在藏区的医疗体系中发挥着重要且不可替代的作用, 发展藏药的科技和产业对于藏区的社会、经济、文化和生态的全面发展具有重要意义。然而, 由于藏药的地理环境及市场流通的特殊性, 不同藏区使用的药材品种和基源常具有地域性和局限性的特点, 容易造成“一药多名”“一药多物”“地方习用品或代用品多”等情况, 加之相关资源学、药理学、化学等基础研究相对滞后, 严重影响了藏药的合理开发和现代化发展。因此, 对藏药进行深入系统的研究是非常有必要的。

本课题组以藏药洪连为例, 前期深入青海、四川、西藏藏区医院进行走访考察, 调查洪连在藏医中的实际使用情况, 又以实地调研和走访调查相结合的方法, 确定其药用资源分布情况, 并收集到多批次且有代表性的样品。由于发现目前市售及临床使用的洪连为兔耳草属的多种植物, 不同基原植物的化学成分或多或少会存在一定差异, 因此首先选择了药典收载基原品

种, 采用UHPLC-LTQ-orbitrap-MS技术, 以正、负离子模式分别采集分析相互验证补充的方式, 针对其中黄酮和苯乙醇苷类成分进行了鉴定分析, 为确定兔耳草属不同植物的药效物质及作用机制研究提供数据基础。目前兔耳草属植物中已有报道的黄酮类成分30余个, 苯乙醇苷类成分20余个, 本研究极大地丰富了洪连及兔耳草属植物中黄酮和苯乙醇苷类成分的数量和种类, 特别是首次从兔耳草属植物中发现碳苷黄酮和四糖苯乙醇苷等新类型的化合物, 为进一步整体提升藏药洪连的质量控制水平和规范相关基原品种的临床应用提供科学依据。另外, 针对洪连中其他重要的化学成分如环烯醚萜类等, 本课题组同步开展了相关研究, 具体情况将另文报道。

**作者贡献:** 耿昭、高必兴、钟恋、齐景梁进行了本文方法建立、数据处理、文章撰写及对返修意见进行修改等; 苟琰、蒋运斌、杨蕾对实验思路、方法建立、数据处理及文章修改进行专业的指导; 袁军、郭力、王一涛主要进行本文的选题与设计、实验思路、方法建立的指导及文章修改。

**利益冲突:** 所有作者均声明不存在利益冲突。

## References

- [1] He F, Gao BX, Zhao CY, et al. Study on the pharmacognosy of Tibetan medicine Lagotidis Herba [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2020, 43: 824-830.
- [2] CaiRang NJ, RenZeng DJ. Studying composition rules of Tibetan medicinal formulas used to treat heat illnesses of liver in Four Tantra (rGyud bZhi) based on data mining [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学), 2015, 21: 216-219.
- [3] DiMaEr·DanZeng PC. Jingzhu Medica (晶珠本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2012: 146.
- [4] Xie J, Zhang L, Zeng JX, et al. Fast identification of constituents of *Lagotis breviflora* by using UPLC-Q-TOF-MS/MS method [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2017, 42: 2123-2130.
- [5] Chinese Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 2020 Ed. Vol 1. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 287.
- [6] Chi F, Deng J, Wang YH. Chemical constituents from *Lagotis breviflora* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2010, 35: 869-871.
- [7] Zhu JX, Zhang HY, Zhong GY, et al. Research advances in chemical constituents and pharmacology of Tibetan herb Lagotis [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学), 2017, 23: 214-222.
- [8] Gao BX, Gou Y, Qi JL, et al. Comparison of HPLC fingerprints of *Lagotis integra* and *Lagotis breviflora* between different origins [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2020, 51: 4019-4024.
- [9] He F, Qi JL, Li Q, et al. Differential study on different origin of *Lagotis Herba* and their medicinal parts on the basis of iridoid glycosides [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol (中药新药与临床药理), 2021, 32: 1019-1023.
- [10] Wang D, Yu J, Zhan G, et al. Advances in application of liquid chromatography-mass spectrometry technology in study of traditional Chinese medicine [J]. Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊), 2022, 40: 68-71.
- [11] Lou GG, Xia J, Yang J, et al. Differences in the chemical composition of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo and *Dendrobium crepidatum* Lindl based on UPLC-Q-TOF-MS/MS and metabolomics [J]. Acta Pharm Sin (药理学报), 2021, 56: 3331-3344.
- [12] Wang L, Sun E, Hou J, et al. The processing mechanism of epimedium fried with suet oil to warm kidney and enhance yang based on UPLC-Q-TOF-MS metabolomics [J]. Acta Pharm Sin (药理学报), 2021, 56: 2849-2857.
- [13] Yuan X, Wen HX, Zhao JQ, et al. Phytochemical and chemotaxonomic study on *Lagotis breviflora* (Scrophulariaceae) [J]. Biochem Syst Ecol, 2016, 66: 8-11.
- [14] Yang J, Wu HY, Li QH, et al. Study on chemical constituents of *Lagotis yunnanensis* [J]. Adv Mater Res (Durten-Zurich, Switz), 2012, 554-556: 1845-1848.
- [15] Yang XD, Li ZY, Mei SX, et al. Two new phenylpropanoid esters of rhamnose from *Lagotis yunnanensis* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2003, 5: 223-226.
- [16] Yuan X, Wen H, Cui Y, et al. Phenolics from *Lagotis breviflora* Maxim [J]. Nat Prod Res, 2017, 31: 362-366.
- [17] Xie J, Zhang CH, Zeng JX, et al. Research on XOD captured components in *Lagotis breviflora* based on UPLC-Q-TOF-MS and molecular docking technology [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2018, 43: 3595-3603.
- [18] Yang XD, Zhao JF, Guo J, et al. Flavonoids in *Lagotis yunnanensis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2004, 35: 257-259.
- [19] Zhu JX, Shi YF, Cheng HY, et al. Chemical constituents from *Lagotis brachystachya* [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2019, 42: 552-555.
- [20] Ayouaz S, Oliveira-Alves SC, Serra AT, et al. LC-DAD-ESI-MS/MS analysis and cytotoxic and antiproliferative effects of chlorogenic acid derivative rich extract from *Nerium oleander* L. pink flowers [J]. Food Funct, 2021, 12: 3624-3634.
- [21] Vukics V, Ringer T, Kery A, et al. Analysis of heartsease (*Viola tricolor* L.) flavonoid glycosides by micro-liquid chromatography coupled to multistage mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2008, 1206: 11-20.
- [22] Liu X, Fan X, Wang X, et al. Structural characterization and screening of chemical markers of flavonoids in *Lysimachiae Herba* and *Desmodii Styracifolii Herba* by ultra high-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry based metabolomics approach [J]. J Pharm Biomed Anal, 2019, 171: 52-64.
- [23] Qiao X, Li R, Song W, et al. A targeted strategy to analyze untar-

- geted mass spectral data: rapid chemical profiling of *Scutellaria baicalensis* using ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole orbitrap mass spectrometry and key ion filtering [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1441: 83-95.
- [24] Li W, Feng YL, Li TE, et al. Rapid analysis on flavonoids in *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr by UPLC-Q-TOF/MS couple with diagnostic ions [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc (质谱学报)*, 2016, 37: 504-516.
- [25] Zhang D, Tan LH, Yao L, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidative activity against radiation-induced damage and the systematic chemical components of different extracts of *Lagotis breviflora* Maxim [J]. *J Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 9726431.
- [26] Li C, Liu Y, Abdulla R, et al. Determination of phenylethanoid glycosides in *Lagotis breviflora* Maxim. by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Anal Lett*, 2014, 47: 1862-1873.
- [27] Zhu JX, Shi YF, Wang HL, et al. Two new phenylpropanoid glycosides from *Lagotis brachystachya* Maxim and their xanthine oxidase inhibitions [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35: 2131-2136.
- [28] Zhang J, Li C, Che Y, et al. LTQ-orbitrap-based strategy for traditional Chinese medicine targeted class discovery, identification and herbomics research: a case study on phenylethanoid glycosides in three different species of *Herba Cistanches* [J]. *RSC Adv*, 2015, 5: 80816-80828.
- [29] Xiang Y, Jing Z, Haixia W, et al. Antiproliferative activity of phenylpropanoids isolated from *Lagotis breviflora* Maxim [J]. *Phytother Res*, 2017, 31: 1509-1520.
- [30] Guo H, Liu AH, Ye M, et al. Characterization of phenolic compounds in the fruits of *Forsythia suspensa* by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21: 715-729.
- [31] Liu N, Zhang N, Xia S, et al. Study on the chemical constituents of *Lagotis alutacea* [J]. *J Yunnan Natl Univ Nat Sci Ed (云南大学学报·自然科学版)*, 2015, 37: 272-278.
- [32] Wu L, Georgiev MI, Cao H, et al. Therapeutic potential of phenylethanoid glycosides: a systematic review [J]. *Med Res Rev*, 2020, 40: 2605-2649.
- [33] Tian XY, Li MX, Lin T, et al. A review on the structure and pharmacological activity of phenylethanoid glycosides [J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 209: 112563.