结合多点筛查质量亏损过滤和分子网络的泻白散成分表征

纪思齐[1], 王小明[2], 周严严[1], 许 悦[3], 马致洁[3], 代云桃[1*]

(1. 中国中医科学院, 中药研究所, 北京 100700; 2. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 3. 首都医科大学附属北京地坛医院药学部, 北京 100015)

摘要: 对经典名方化学成分进行快速和准确指认是经典名方现代化研究中的重要内容之一。联合多点筛查质量亏损过滤 (mass defect filtering, MDF) 和分子网络技术 (molecular network, MN), 建立快速鉴定经典名方泻白散质谱数据中化学成分的方法, 以实现泻白散成分的准确和全面鉴定。采用超高效液相色谱−四极杆−静电场轨道阱串联质谱法 (UHPLC-Q-Orbitrap-MS/MS) 在正负离子模式下对泻白散汤剂进行质谱数据采集。采用MDF方法, 通过设置多点筛查质量亏损过滤窗口以实现结构相似的化学成分的鉴定。采用MN方法, 通过MS/MS碎片模式的相似性创建GNPS分子网络, 运用Cytoscape3.6.1软件确定结构相似的分子簇, 通过探针分子达到同类成分的鉴定。通过上述方法, 结合保留时间、精确分子质量、二级质谱碎片特征, 基于数据库及相关文献信息, 在泻白散汤剂中鉴定出185个成分, 包括54个黄酮类成分、42个生物碱类成分、17个皂苷类成分、16个芪类成分、34个有机酸成分、15个苯丙素类成分和7个其他类成分, 其中46个成分为在泻白散复方及其药味中首次报道的成分。该研究实现了快速、准确、全面表征泻白散汤剂成分, 为泻白散复方制剂的药效物质基础和质量控制研究提供了化学成分基础, 也为中药复杂体系物化学成分的快速鉴定提供方法参考。

关键词: 泻白散; UHPLC-Q-Orbitrap-MS/MS; 质量亏损过滤; 分子网络; 化学成分

中图分类号: R917 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)04-1361-19

Comprehensive characterization of chemical components in Xie Bai San by integrating multi-point screening mass defect filtering and molecular networking

JI Si-qi[1], WANG Xiao-ming[2], ZHOU Yan-yan[1], XU Yue[3], MA Zhi-jie[3], DAI Yun-tao[1*]

(*1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 3. Department of Pharmacy, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China*)

Abstract: Rapid and accurate identification of chemical components in classical famous formulas is a crucial aspect of their modern research. This study aimed to establish a method for the rapid identification of chemical components in the mass spectrometry data of Xie Bai San by integrating multi-point mass defect filtering (MDF) and molecular networking (MN) techniques, to achieve accurate and comprehensive characterization of its constituents. The mass spectrometric data of Xie Bai San decoction was acquired using ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole-Orbitrap tandem mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap-MS/MS) in both positive and negative ion modes. The MDF method was employed, utilizing set multi-point mass defect filtering windows to identify structurally similar compounds. The MN approach was applied to create a

收稿日期: 2025-11-08; 修回日期: 2026-01-05.

基金项目: 国家重点研发计划 (2023YFC2308200); 中国中医科学院科技创新工程 (CI2023E001TS).

*通讯作者 E-mail: ytdai@icmm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-1318

GNPS molecular network based on the similarity of MS/MS fragmentation patterns, and Cytoscape 3.6.1 software was used to identify clusters of structurally similar molecules, enabling the identification of homologous components *via* probe molecules. Using the aforementioned methods, combined with retention time, accurate molecular mass, and secondary MS/MS fragmentation characteristics, and based on database and relevant literature information, a total of 185 compounds were identified in the Xie Bai San decoction. These included 54 flavonoids, 42 alkaloids, 17 saponins, 16 stilbenes, 34 organic acids, 15 phenylpropanoids, and 7 other types of compounds. Among these, 46 compounds were reported for the first time in the Xie Bai San formula or its constituent herbs. This study successfully achieved the rapid, accurate, and comprehensive characterization of the chemical components in Xie Bai San decoction. It provides a chemical component foundation for research on the pharmacodynamic material basis and quality control of Xie Bai San compound preparations, and also offers a methodological reference for the rapid identification of chemical components in complex traditional Chinese medicine systems.

Key words: Xie Bai San; UHPLC-Q-Orbitrap-MS/MS; mass defect filtering; molecular networking; chemical component

经典名方泻白散源自宋代医学家钱乙的《小儿药证直诀·卷下诸方》, 由炒桑白皮、焙地骨皮、炙甘草和粳米四味中药组成, 是治疗肺热喘咳的经典方剂[1]。该方以桑白皮为君药, 地骨皮为臣药, 甘草与粳米共为佐使, 具有治疗肺热咳喘的功效。临床广泛应用于肺系疾病, 如肺炎、哮喘、支气管扩张症[2]等疾病的治疗。泻白散化学成分复杂多样: 桑白皮主要含黄酮及芪类成分, 地骨皮以生物碱类成分为主, 甘草则富含黄酮与皂苷类成分[3]。目前, 该方的实验研究多集中于制备工艺[4]、药效评价和作用机制研究[5-7], 而其系统的物质基础的研究仍相对薄弱; 现有鉴定方法较为单一, 导致已鉴定的成分数量有限, 鉴定结果缺乏不同技术间的相互验证[3,5,8], 无法实现对复方化学成分的全面系统表征。因此, 亟需整合现代分析技术与多维度质谱数据处理策略, 以提升泻白散物质基础的解析精度与效率, 为后续揭示其药效机制及质量控制提供科学依据。

超高效液相色谱−四极杆−静电场轨道阱高分辨质谱法 (UHPLC-Q-Orbitrap-MS/MS) 凭借其高分辨率、高灵敏度和快速扫描的优势, 已广泛用于中药复方的化学成分表征[9,10]。然而, 中药化学成分复杂, 单次分析产生大量质谱数据, 传统解析方式耗时且易遗漏低丰度成分。质量亏损过滤 (mass defect filtering, MDF) 技术可根据母核结构相似性, 通过设定质量亏损范围选择性筛选同类成分, 显著提高相似结构类型成分的辨识效率[11-16], 达到一类成分同时被识别和辨认。分子网络分析 (molecular network, MN) 是一种通过质谱数据将结构相似的分子可视化为互连节点, 从而揭示化学成分间结构关系及代谢通路的分析方法。全球天然产物社会分子网络 (global natural products social molecular networking, GNPS) 平台通过构建质谱可视化分子网络, 支持大规模成分数据的比对与归类, 近年来已成为分析复杂体系化学成分质谱数据的重要工具[17-23]。GNPS 通过质谱碎片模式将不同的分子联系起来, 从而可视化复杂混合物中化学成分之间的关系, 从而提高了质谱鉴定的效率和准确性。分子网络技术已广泛应用于天然产物研究领域, 包括成分的鉴定、相似地方的追踪、新型未知成分的发现、目标样品活性成分的筛选与分离等方面发挥重要作用。本研究整合 UHPLC-Q-Orbitrap-MS/MS、MDF 与 GNPS 三种策略, 系统、高效地解析泻白散汤剂中的化学成分, 旨在为其药效物质基础的阐明及质量控制研究提供研究基础。

材料与方法

仪器 Thermo Scientific Orbitrap Exploris 120 高分辨液质联用仪 (美国 Thermo Fisher 公司); 涡旋混合器 Vortex-2 Genie (Scientific Industries); 超声波清洗器 WD-9415C (北京市六一仪器厂); 医用离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); ME204/02 型电子分析天平 (d = 0.000 1 g)、XSR105 /A 型精密天平 (d = 0.000 01 g), 梅特勒托利多科技 (中国) 有限公司; N-1100 旋转蒸发仪、OSB-2100 型油浴锅, 上海爱朗仪器有限公司。

材料与试剂 地骨皮 (批号: YL-216-2008-002, 产地为宁夏)、炒桑白皮 (批号: YL-124-2008-003, 产地为安徽亳州)、炒甘草 (批号: YL-051-2011-010, 产地为新疆) 由企业提供, 粳米购自中粮米业有限公司。药材基原经本课题组前期鉴定分别为茄科植物枸杞 *Lycium chinense* Mill. 的干燥根皮, 桑科植物桑 *Morus alba* L. 的

干燥根皮, 豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎和禾本科植物稻 *Oryza sativa* L. 的干燥成熟种子。焙地骨皮为实验室采用地骨皮饮片, 根据古代经典名方关键信息 (25 首方剂) 中泻白散关键信息, 参照地方标准《安徽省中药炮制规范》(2005 年版) 中的焙法进行炮制。色谱级乙腈、甲醇、甲酸购于美国 Fisher 公司, 水为娃哈哈纯净水。

泻白散汤剂的制备 遵循国家中医药管理局发布的《古代经典名方目录 (第一批) 》中泻白散的制备工艺“上锉散, 入粳米一撮, 水二小盏, 煎七分, 食前服”, 按照古代经典名方关键信息 (25 首方剂) 中泻白散的制备工艺“每次取 6.20 g, 加粳米 2 g, 以水 300 mL, 煎取 180 mL”, 经实验室优化工艺参数后确定了泻白散汤剂制备方法, 即首先将三味药材粉碎为粗颗粒, 取炒桑白皮 2.95 g、焙地骨皮 2.95 g、炒甘草 0.3 g 和粳米 2 g 放入煎药壶中, 加入 300 mL 水浸泡 30 min。以武火加热煮沸, 然后以文火保持微沸 30 min 至液体量约为 180 mL, 200 目涤纶趁热过滤, 滤液补足至 180 mL 即得。

供试品溶液的制备 取制备的汤剂, 于 80 ℃减压浓缩至 50 mL。取复方汤剂 50 μL, 加入 5 mL 80% 甲醇水溶液 (甲醇–水, 80∶20), 涡旋混合 5 min, 14 000 r·min^{-1} 离心 10 min, 取上清 0.8 mL 置于离心管中, 再次离心, 取上清置入进样瓶中, 待 UHPLC-MS/MS 分析。

液相色谱条件 Waters UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A) 和 0.1% 甲酸乙腈溶液 (B); 梯度洗脱 (0～10 min, 100%～70% B; 10～25 min, 70%～60% B; 25～30 min, 60%～50% B; 30～40 min, 50%～30% B; 40～45 min, 30%～0% B); 柱温 35 ℃; 流速 0.3 mL·min^{-1}; 进样量: 10 μL。

质谱条件 碰撞气体和鞘气/辅助气体分别为超高纯氮气和氮气发生器系统提供的氮气 (纯度 > 99.99%), 鞘气流速 40 arb, 辅助气流速 15 arb; 采用电喷雾离子 (ESI) 源分别在正负离子模式下进行扫描, 扫描模式为 Full MS/dd-MS2, 正、负离子模式电压分别为 3.2、3.0 kV, 质量扫描范围 *m/z* 100～1 500, 传输管温度 320 ℃, 加热器温度 350 ℃。

基于数据库鉴定方法的建立 数据库鉴定基于高分辨质谱数据与已知成分信息的匹配, 通过比对精确分子量及二级质谱碎片等信息, 实现化学成分的快速识别。依据现有文献报道的泻白散各药味的化学成分信息, 实验室建立了泻白散本地数据库。所建的数据库包含了 404 种泻白散各药味中可能的成分, 并收集了各成分名称、分子式、结构式、精确分子量等结构信息。采用 Xcalibur 4.2 软件分析质谱数据中化学成分的保留时间、一级质谱、二级质谱, 根据 ChemSpider、PubChem 等网络数据库以及实验室自建库, 运用 Compound Discoverer (CD) 3.2 软件进行处理, 建立工作流, 利用 mzCloud、mzVault 和 Mass List 数据库进行二级质谱匹配, 设置最大峰面积 ≥ 1×10^6、匹配分数 ≥ 70, 通过比对分子式、保留时间、质谱碎片信息以及裂解规律对化学成分进行结构鉴定。

多点筛查 MDF 过滤方法的建立 MDF 技术基于化学成分骨架相似时其质量亏损值分布相对集中的特性, 通过设定特定过滤窗口, 筛选具有相似结构类型的潜在成分, 能够高效识别泻白散中结构相关的成分类别, 如黄酮类、皂苷类。

首先使用开源软件 MZmine 4.5 对 UPLC-Q-Orbitrap-MS/MS 获得的 RAW 原始质谱数据进行预处理并提取特征峰信息。MZmine 是目前分析质谱数据使用最广泛的一种工具, 其运行相对稳定, 操作简单, 对计算机性能的要求相对较低, 可对质谱原始数据进行准确、高效地处理[24]。依次使用 MZmine 的质量检测、色谱图构建、局部最小特征解析、^{13}C 同位素过滤、峰对齐和特征离子过滤功能, 并导出为 CSV 文件, 导入至 Excel 中进行质量亏损过滤分析。

确定准确的过滤窗口是获得高质量母离子的关键步骤。为了全面表征泻白散汤剂中的成分, 对泻白散中的代表性成分黄酮类成分、皂苷类成分设置了过滤窗口。基于上述成分主要出现在负离子模式下, 查阅相关文献[25-29], 分别确定了两类成分负离子模式下的模板化合物。黄酮类成分的 MDF 过滤窗口由 5 个化合物 (A～E) 组成 (图 1A), A 点为泻白散中相对分子质量最小的黄酮类化合物 (*m/z* 255.066 2, $C_{15}H_{12}O_4$, 甘草素[30])、B 点为泻白散中质量亏损最小的化合物 (*m/z* 303.051 0, $C_{15}H_{12}O_7$, 二氢槲皮素[25])、C 点为泻白散中母核结构最大且质量亏损为正的化合物 (*m/z* 607.160 9, $C_{35}H_{28}O_{10}$, guangsangon G[31])、D 点为泻白散中相对分子质量最大且质量亏损最大的化合物 (*m/z* 839.307 3, $C_{50}H_{48}O_{12}$, kuwanon M[32])、E 点为泻白散中母核结构小且取代基质量亏损为正的化合物 (*m/z* 423.181 3, $C_{25}H_{28}O_6$, sanggenol Q[33]); 同理, 构建皂苷类化合物的 MDF 过滤窗口, 由 4 个模板化合物 (F～I) 组成 (图 1B), 分别为 $C_{30}H_{46}O_4$、$C_{42}H_{62}O_{17}$、$C_{48}H_{72}O_{22}$、$C_{42}H_{64}O_{15}$。由于皂苷类成分的取代情况更有规律, 结构共性更强, 本研究只选取了 4 个点足以构成一个高效的四边形过滤窗口。最终各形成两个应用于各类成分的过滤窗口。再将获得的化合物精确质荷比拆分, 在 Excel 中建立质量亏损分析模型: 以整数质量 (Da) 为横坐标, 十进制质量 (mDa) 为纵坐标构建二维散点图, 使用 GraphPad

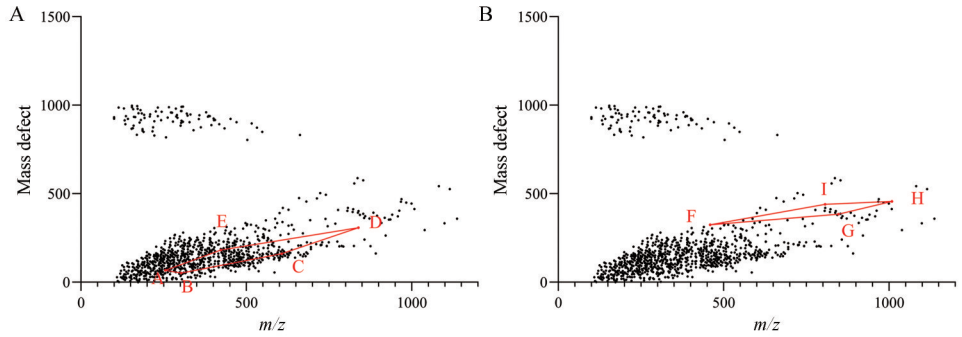


Figure 1 Two-dimensional scatter plot of high-resolution mass-to-charge ratio *versus* mass defect for flavonoid (A) and saponin (B) components in Xie Bai San decoction

Prism 8.0.2 进行可视化。设定线性方程定义 MDF 窗口边界 (图 1 中红色外框), 利用 IF 函数筛选位于窗口内的目标母离子。使用 Xcalibur 工作站的 mass range 功能提取目标离子[21], 验证其峰形完整性及保留时间准确性。再结合母离子预测对应的化学分子式, 并分析其二级质谱碎片信息, 结合不饱和度 (RDB)、诊断离子碎片、中性丢失等信息初步鉴定潜在的目标成分, 并筛除假阳性结果。

MN 分析方法建立 分子网络分析是一种通过质谱数据将结构相似的分子可视化为互连节点, 从而揭示成分间结构关系, 有效提高化学成分鉴定的效率和准确性。GNPS 是基于化学成分的 MS/MS 碎片模式相似性创建分子网络的公共平台, 通过计算每个成分二级碎片的相似性关系来创建一个可视化的网络图, 以反映质谱实验中捕获分子的聚类关系和多样性[34]。首先, 使用 MsConvert 软件将原始的 LC-MS/MS 数据转换为 mgf 格式, 并通过 WinSCP 软件上传至 GNPS 生成分子网络库 (https://gnps.ucsd.edu), 余弦分数阈值设置为 0.7, 最小匹配碎片离子为 6, topK 设置为 10, 母离子之间的最大质量偏差为 0.02 Da, 碎片离子的质量偏差为 0.5 Da, 其余为默认值。将后缀为 graphml 的结果导出后运用 Cytoscape 3.6.1 软件可视化分析结果。分子网络图中每一个节点表示一个成分, 点与节点之间的连线表示成分之间的相关性, 其中结构类似的成分分子会在一个分子网络中聚集成簇, 可直观显示泻白散汤剂中所有未知成分与标准成分之间的结构相似度。结合 *m/z* 和相对分子质量差异, 以及 GNPS 平台通过在线数据库匹配得到的成分以及已鉴定的明确成分作为探针, 利用其在网络中的位置, 筛选出与之结构相似的未知成分节点; 通过比对两者之间的质荷比差异、诊断离子碎片或中性丢失, 推断这些未知成分可能发生的结构修饰类型, 从而实现其他未知成分的推测。基于 GNPS 平台和 Cytoscape 软件, 按照上述的工作流程处理泻白散二级质谱数据, 获得泻白散汤剂中化学成分的分子网络, 可视化图见图 2。

结果

1 三种方法整合鉴定泻白散汤剂质谱数据

泻白散汤剂正负离子模式下的 UPLC-Q-Orbitrap-MS 基峰离子流图, 见图 3。基于网络数据库与自建数据库的检索与比对, 本研究从泻白散中初步鉴定出 12 个黄酮类成分、15 个生物碱类成分、4 个皂苷类成分、3 个芪类成分、34 个有机酸类成分及 12 个苯丙素类成分, 并通过对照品比对进一步确定了甘草酸、甘草次酸、甘草苷、芦糖苷草苷、桑皮苷 A、地骨皮乙素, 为后续其余成分的鉴定与验证提供了探针分子。

以负离子模式下采集的 MS^1 精确质荷比的整数部分作为横坐标, 十进制小数部分作为纵坐标作二维散点图, 共采集得到 1 492 个 *m/z* 信号, 黑色圆点表示, 见图 1。多边形内的一级质谱信号为对象, 调取二级质谱信号, 推断裂解规律, 通过与文献比对, 最终从黄酮类 MDF 过滤窗口中鉴定出 35 个成分, 其中 11 个成分为在泻白散及其药味中首次报道的成分; 从皂苷类 MDF 过滤窗口中鉴定出 11 个成分, 其中 8 个为在泻白散及其药味中首次报道的成分。

基于分子网络数据库, 划分出 6 类分子簇, 分别为桑白皮中黄酮类 (A) 和芪类 (B)、地骨皮亚精胺型酚酰胺类 (C) 和丁二胺型酚酰胺类 (D)、甘草中黄酮类 (E) 和甘草皂苷类 (F), 见图 2。分别以每个分子簇中的已知成分桑色素、桑皮苷 A、地骨皮甲素、咖啡酰丁二胺、甘草苷、甘草酸为探针分子, 通过分析每个分子簇中探针成分周围的节点, 并检索其二级碎片, 推测这些节点所代表的成分。最终从分子网络中共鉴定出 74 个成分, 31 个为在泻白散及其药味中首次报道的成分。

基于上述成分解析方法, 共从泻白散汤剂中鉴定

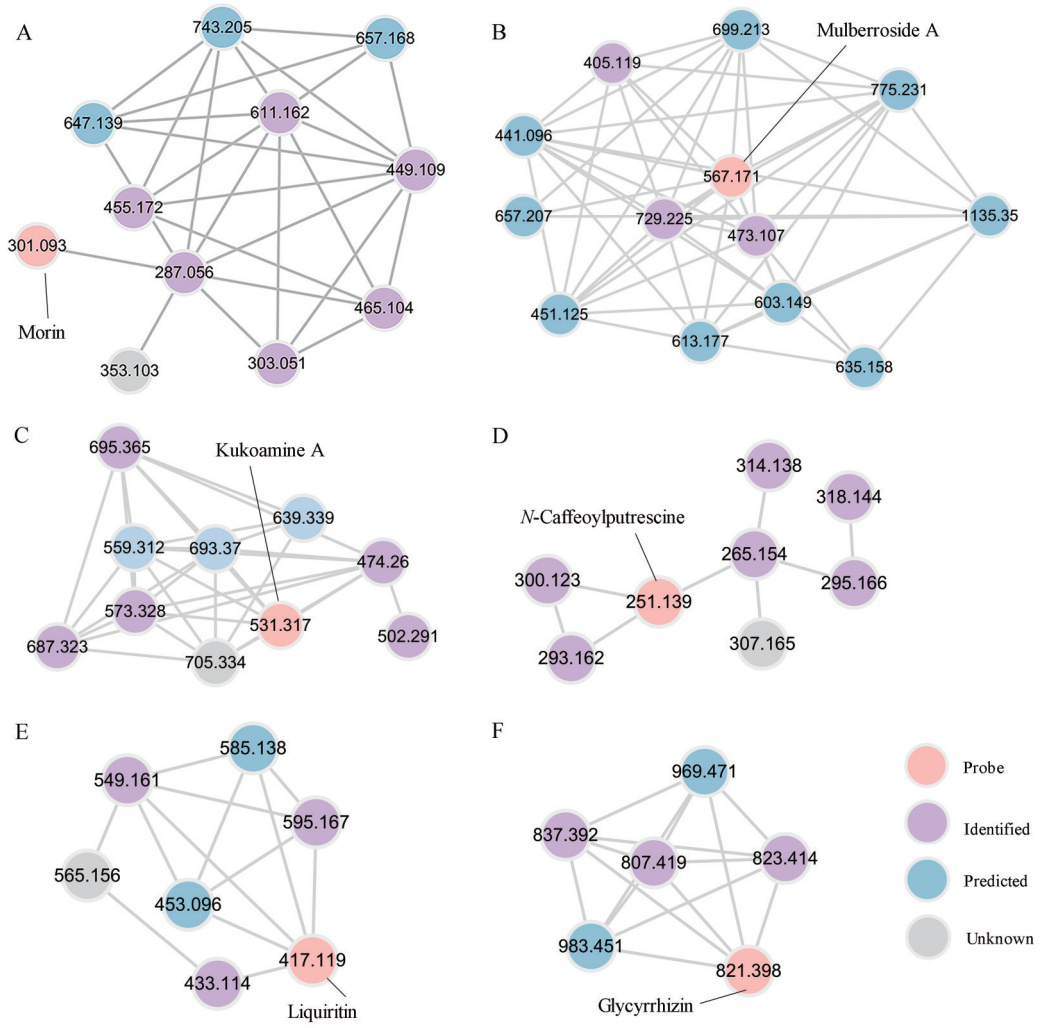


Figure 2 Molecular network analysis of Xie Bai San decoction. A: Flavonoids in mulberry root bark; B: Stilbenoids in mulberry root bark; C: Spermidine-type phenolamides in *Lycium* root bark; D: Putrescine-type phenolamides in *Lycium* root bark; E: Flavonoids in licorice; F: Saponins in licorice

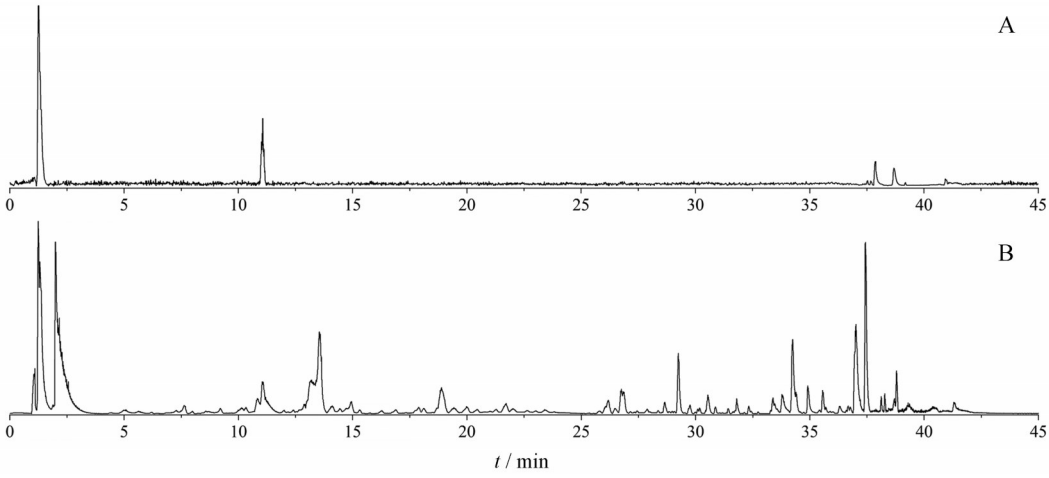


Figure 3 Base peak chromatograms of Xie Bai San in positive ion mode (A) and negative ion mode (B)

出185个成分, 包括54个黄酮类成分、42个生物碱类成分、17个皂苷类成分、16个芪类成分、34个有机酸成分、15个苯丙素类成分和7个其他类成分。成分鉴定结果和相关信息见表1。

Table 1 Identification of chemical components in Xie Bai San decoction. △Represents potential compounds not previously reported in Xie Bai San decoction; #Represents compounds newly identified through MDF; *Represents compounds newly identified through GNPS; S: Mulberry Root Bark; D: *Lycium* Root Bark; G: Licorice; a: Flavonoids, b: Alkaloids, c: Organic acids, d: Phenylpropanoids, e: Stilbenoids, f: Saponins, g: Others. MDF: Mass defect filtering; GNPS: Global natural products social molecular networking

No.	t_R/min	Identification	Formula	Ion mode	Observed (*m*/*z*)	Error (×10^{-6})	Fragment	Structure class	Origin
1	1.12	Histamine	$C_5H_9N_3$	$[M+H]^+$	112.087 3	3.09	95.060 8, 83.060 9, 68.049 2	g	D
2	1.12	1-Deoxynojirimycin	$C_6H_{13}NO_4$	$[M+H]^+$	164.091 8	0.46	146.081 0, 128.070 2, 68.049 1	b	S
3	1.15	Arginine	$C_6H_{14}N_4O_2$	$[M-H]^-$	173.104 4	−0.59	156.076 5, 131.081 1, 114.054 5	c	S/D/G
4	1.16	Valinol	$C_5H_{13}NO$	$[M+H]^+$	104.107 2	2.2	87.084 5, 71.029 9, 60.081 6	b	S/G
5△	1.24	Xylonic acid	$C_5H_{10}O_6$	$[M-H]^-$	165.039 1	−1.54	147.028 5, 129.017 9, 87.007 1, 75.007 0	c	S/D/G
6	1.26	Sugar acid	$C_6H_{10}O_8$	$[M-H]^-$	209.030 3	1.9	191.018 8, 133.012 8, 129.017 9, 85.027 8	c	S/D/G
7	1.27	Quinic acid	$C_7H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	191.056 1	0.92	173.044 3, 127.038 6, 111.007 2, 85.027 8	c	S/D
8	1.34	Betaine	$C_5H_{11}NO_2$	$[M+H]^+$	118.086 4	0.97	94.365 8, 72.081 5, 59.073 7, 58.065 8	b	S/D/G
9	1.86	Malic acid	$C_4H_6O_5$	$[M-H]^-$	133.013 1	−0.52	115.002 1, 89.022 8, 73.002 2	c	S/D/G
10*	1.98	Adenine	$C_5H_5N_5$	$[M+H]^+$	136.061 6	−1.61	119.035 3, 109.064 9, 100.274 0	g	S/D/G
11	1.99	Guanine	$C_5H_5N_5O$	$[M+H]^+$	152.056 5	−1.42	135.033 0, 134.033 3, 110.035 0	g	S/D/G
12	1.99	Malic acid isomer	$C_4H_6O_5$	$[M-H]^-$	133.012 6	−3.53	115.002 1, 89.022 8, 72.991 4	c	S/D/G
13△	1.99	Dehydroascorbic acid	$C_6H_6O_6$	$[M-H]^-$	173.009 2	−1.88	111.007 2, 85.028 7, 67.017 2	c	S/D/G
14△	2.01	2-Acetamidoacrylic acid	$C_5H_7NO_3$	$[M+H]^+$	130.049 5	2.45	112.087 1, 84.044 8, 70.065 7	c	S/D/G
15	2.02	Citric acid	$C_6H_8O_7$	$[M-H]^-$	191.018 9	1.21	173.088 1, 129.017 9, 111.007 2, 87.007 1	c	S/D/G
16	2.03	Stachydrine	$C_7H_{13}NO_2$	$[M+H]^+$	144.101 9	−0.38	126.091 4, 98.096 8, 84.061 2, 70.062 5	b	G
17	2.07	Uridine	$C_9H_{12}N_2O_6$	$[M-H]^-$	243.062 3	3.24	200.055 8, 152.034 0, 110.023 2, 82.028 3	g	S/D/G
18	2.17	Suberic acid	$C_8H_{14}O_4$	$[M-H]^-$	173.081 9	0.46	129.017 9, 111.007 2, 85.027 8, 72.991 5	c	S/D
19	2.17	*N*-Acetyl-*L*-glutamic acid	$C_7H_{11}NO_5$	$[M-H]^-$	188.056 4	1.36	170.044 8, 144.065 3, 128.033 9, 102.054 5	c	S/D
20	2.27	Adenosine	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	$[M+H]^+$	268.104 0	−1.46	206.107 8, 152.648 5, 136.061 7	g	S/D/G
21	2.41	*δ*-Ribosyl-1,4-lactone	$C_5H_8O_5$	$[M-H]^-$	147.028 6	−1.5	129.018 0, 102.947 2, 87.007 1, 59.012 2	c	S/D/G
22	2.49	4-Hydroxyphenethylamine	$C_8H_{11}NO$	$[M+H]^+$	138.091 3	−0.66	121.064 9, 111.007 9, 93.070 3	b	D
23	2.49	Isoleucine	$C_6H_{13}NO_2$	$[M+H]^+$	132.101 9	−0.04	113.963 8, 86.096 9, 69.070 5	c	D/G
24	2.55	Guanosine	$C_{10}H_{13}N_5O_5$	$[M-H]^-$	282.084 4	4.59	178.900 8, 152.040 8, 126.029 4	g	S/D/G
25	2.56	Trigonelline	$C_7H_7NO_2$	$[M+H]^+$	138.055 4	3.37	110.060 2, 94.056 3, 68.997 8	b	S/G
26	4.12	Cytisine	$C_{11}H_{14}N_2O$	$[M+H]^+$	191.117 8	−0.57	162.090 8, 122.060 0, 105.963 0	b	D
27	5.08	Protocatechuic acid 4-*O*-*β*-glucoside	$C_{13}H_{16}O_9$	$[M-H]^-$	315.072 5	4.79	152.010 1, 125.256 2, 109.027 9	c	S/D/G

Continued

No.	t_R/min	Identification	Formula	Ion mode	Observed (m/z)	Error ($\times10^{-6}$)	Fragment	Structure class	Origin
28[*]	6.15	Vanillic acid 4-*β*-*D*-glucoside	$C_{14}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	329.088 0	1.27	167.033 8, 152.010 3, 123.043 7	c	S/D/G
29	6.98	Catechol	$C_6H_6O_2$	$[M-H]^-$	109.028 0	−3.62	108.020 4, 79.029 0, 67.029 1	c	S/D/G
30	7.02	Protocatechuic acid	$C_7H_6O_4$	$[M-H]^-$	153.019 3	−1.08	135.044 1, 109.028 0, 91.017 3	c	S/D/G
31[△]	7.29	Daphneside	$C_{21}H_{26}O_{14}$	$[M-H]^-$	501.125 5	3.33	381.082 7, 219.029 3, 191.034 1	d	S/G
32[*]	7.64	Caffeoylputrescine	$C_{13}H_{18}N_2O_3$	$[M+H]^+$	251.139 0	−0.56	234.111 7, 163.038 6, 145.028 1, 89.107 7	b	D
33	7.95	Syringic acid glucoside	$C_{15}H_{20}O_{10}$	$[M-H]^-$	359.099 0	4.73	197.044 8, 182.022 1, 138.030 9	c	D
34[△*]	8.57	Mulberroside A+Glc	$C_{33}H_{44}O_{21}$	$[M-H]^-$	775.231 3	2.13	729.225 3, 567.172 0, 405.119 1, 243.009 0	e	S
35[*]	8.59	Oxyresveratrol-6-*O*-*D*-glucopyranosyl-*D*-glucopyranoside isomer	$C_{32}H_{42}O_{19}$	$[M-H]^-$	729.225 9	3.07	567.172 6, 405.112 5, 243.066 1, 225.055 2	e	S
36[*]	8.78	Neochlorogenic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	353.088 1	1.18	191.055 3, 179.034 0, 135.043 8	d	S
37	8.87	Indole-3-acrylic acid	$C_{11}H_9NO_2$	$[M+H]^+$	188.070 4	−1.3	170.059 7, 146.059 8, 118.065 2, 88.022 0	b	S/D/G
38	9.01	Tryptophan	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	$[M-H]^-$	203.082 6	2.15	186.055 2, 159.091 6, 116.049 1	c	D
39	9.4	8-Hydroxyquinoline	C_9H_7NO	$[M+H]^+$	146.059 9	−1.24	128.950 7, 118.065 3, 99.044 4	b	D/G
40	10.13	Salicylic acid	$C_7H_6O_3$	$[M-H]^-$	137.023 1	−1.9	119.012 6, 93.033 3, 65.038 0	c	S/D/G
41	10.54	2-Isopropylmalic acid	$C_7H_{12}O_5$	$[M-H]^-$	175.061 2	0.4	146.959 9, 115.038 6, 85.064 3	c	G
42[△*]	10.85	Unknown	$C_{32}H_{50}N_7O_{10}$	$[M+H]^+$	693.369 1	−0.16	657.343 4, 474.257 4, 293.185 8, 222.112 1	b	D
43[*]	11	Kukoamine A	$C_{28}H_{42}N_4O_6$	$[M+H]^+$	531.317 1	−0.45	293.185 6, 222.112 1, 165.054 5, 123.043 9	b	D
44	11.13	Phenyllactic acid	$C_9H_{10}O_3$	$[M-H]^-$	165.054 6	−0.43	121.064 5, 93.033 0, 59.012 2	d	S/D/G
45[*]	11.14	Kukoamine B	$C_{28}H_{42}N_4O_6$	$[M+H]^+$	531.317 3	−0.57	293.185 5, 222.122 0, 165.054 5, 123.043 9	b	D
46	11.2	6-Methylquinoline	$C_{10}H_9N$	$[M+H]^+$	144.080 6	−1.14	117.065 4, 98.331 1, 84.081 2	b	D
47	11.28	Esculin	$C_{15}H_{16}O_9$	$[M-H]^-$	339.071 8	2.22	249.040 5, 219.029 3, 191.034 2	d	S
48[*]	11.98	Caffeoylagmatine	$C_{14}H_{20}N_4O_3$	$[M+H]^+$	293.160 4	−0.45	276.134 7, 163.038 7, 131.092 5, 114.102 7	b	D
49[*]	12.62	Feruloylputrescine	$C_{14}H_{20}N_2O_3$	$[M+H]^+$	265.154 3	−0.34	177.054 4, 163.039 5, 145.028 3, 89.107 8	b	D
50	12.94	7-Hydroxycoumarin	$C_9H_6O_3$	$[M+H]^+$	163.038 7	−0.24	145.028 3, 135.044 1, 119.033 9, 104.049 4	d	S/G
51	12.98	Dihydrocaffeic acid	$C_9H_{10}O_4$	$[M-H]^-$	181.050 6	0.63	163.038 9, 137.059 4, 121.027 9, 109.028 0, 93.069 3	c	G
52[*]	13.15	N^1-Caffeoyl-N^{10}-dihydro caffeoylspermine	$C_{28}H_{40}N_4O_6$	$[M+H]^+$	529.301 9	−0.34	511.471 6, 367.271 4, 293.186 5, 220.096 5, 163.038 7	b	D
53[*]	13.21	Chlorogenic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	353.087 8	3.34	191.055 2, 179.034 0, 161.023 2	d	S
54[*]	13.31	N^1-Caffeoyl-N^{14}-dihydro caffeoylspermine	$C_{28}H_{40}N_4O_6$	$[M+H]^+$	529.301 9	−0.18	511.472 2, 458.227 0, 367.270 0, 293.184 7, 220.096 5, 163.038 7	b	D
55[△]	13.36	Sinapic acid glucuronide	$C_{17}H_{20}O_{11}$	$[M-H]^-$	399.093 0	2.16	221.702 8, 192.037 4	d	S/G

Continued

No.	t_R/min	Identification	Formula	Ion mode	Observed (*m*/*z*)	Error ($\times10^{-6}$)	Fragment	Structure class	Origin
56$^{\triangle*}$	13.45	Multiflorin A	$C_{29}H_{32}O_{16}$	$[M-H]^-$	635.156 6	−4.04	567.171 9, 405.120 3, 243.066 0, 225.056 1	a	S
57*	13.48	N^5-3-Acetyldihydrocaffeoyl-N^{10}-dihydrocaffeoylspermine	$C_{28}H_{40}N_4O_6$	$[M+H]^+$	529.301 9	−0.12	291.170 1, 220.096 7, 163.038 8, 147.069 4	b	D
58$^{\triangle*}$	13.55	Mulberroside A +2H_2O	$C_{26}H_{36}O_{16}$	$[M-H]^-$	603.146 4	1.23	567.172 3, 405.119 3, 243.066 1	e	S
59$^{\triangle*}$	13.57	Leiocarposide	$C_{27}H_{34}O_{16}$	$[M-H]^-$	613.176 7	0.39	567.172 2, 405.119 4, 243.066 1, 225.055 4	e	S
60*	13.61	Mulberroside A	$C_{26}H_{32}O_{14}$	$[M-H]^-$	567.172 4	2.69	405.119 3, 243.006 1, 225.055 3, 199.075 7	e	S
61*	13.63	Glucosyl-3-*O*-*β*-*D*-apiosyl-(1→6)-*O*-*β*-*D*-glucoside	$C_{31}H_{40}O_{18}$	$[M-H]^-$	699.216 1	3.1	537.159 9, 405.119 2, 243.066 1, 225.055 4	e	S
62$^{\triangle*}$	13.67	Mulberroside A dimer	$C_{52}H_{64}O_{28}$	$[M-H]^-$	1 135.343 7	−4.58	567.172 1, 405.119 1, 243.066 0, 225.055 1	e	S
63$^{\triangle*}$	14.1	*L*-Leucyl-*L*-tyrosine	$C_{15}H_{22}N_2O_4$	$[M+H]^+$	295.164 8	−0.4	207.065 0, 175.038 8, 147.039 9, 119.049 3	b	D
64$^{\triangle}$	14.29	Capsaicin	$C_{13}H_{27}N_8O_3$	$[M+H]^+$	344.228 3	1.11	327.200 9, 283.174 7, 177.112 0, 133.086 0, 89.068 2	b	D
65*	14.49	Cryptochlorogenic acid	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	353.087 9	3.34	191.055 3, 179.034 0, 161.023 4, 135.043 8	d	S
66	14.61	4-Hydroxybenzaldehyde	$C_7H_6O_2$	$[M-H]^-$	121.028 0	−3.11	108.020 1, 93.020 9, 69.985 5	g	S/G
67	14.71	N^1-Dihydrocaffeoyl-N^5 dihydroferuoylspermine	$C_{29}H_{44}N_4O_6$	$[M+H]^+$	545.330 0	−0.35	307.200 9, 293.185 2, 236.127 8, 222.112 2, 179.070 7, 137.059 7	b	D
68	14.79	Scopoletin	$C_{10}H_8O_4$	$[M+H]^+$	193.049 4	−0.75	178.027 5, 165.054 4, 149.059 3, 133.028 4, 127.298 6	d	D
69	14.95	*α*-Rhamnosyl-(1→6)-*O*-*β*-*D*-glucoside	$C_{21}H_{26}O_{13}$	$[M-H]^-$	485.130 1	1.31	363.248 8, 293.088 3, 191.034 2, 176.010 4	d	S
70*	15.02	Oxyresveratrol-6-*O*-*D*-glucopyranosyl-*D*-glucopyranoside	$C_{32}H_{42}O_{19}$	$[M-H]^-$	729.227 2	4.9	567.171 8, 243.066 1, 225.055 1	e	S
71$^{\triangle*}$	15.13	Hydroxyprolyl-tryptophan	$C_{16}H_{19}N_3O_4$	$[M+H]^+$	318.144 4	−1.42	207.065 1, 175.038 7, 147.043 4	b	D
72$^{\#}$	15.37	Quercetin-3-*O*-sophoroside	$C_{27}H_{30}O_{17}$	$[M-H]^-$	625.141 2	1.99	463.088 4, 299.020 1, 151.002 4, 125.002 9	a	S
73*	16.92	N^1,N^{10}-Bis(dihydrocaffeoyl) spermidine	$C_{25}H_{35}N_3O_6$	$[M+H]^+$	474.259 7	−0.16	293.185 9, 222.112 2, 165.054 5, 123.044 1	b	D
74$^{\#}$	17.67	Glucoliquiritin apioside	$C_{32}H_{40}O_{18}$	$[M-H]^-$	711.214 7	2.21	711.216 5, 549.160 5, 255.065 8, 153.018 5, 135.008 6, 119.048 7	a	G
75	17.8	3-*p*-Coumaroylquinic acid	$C_{16}H_{18}O_8$	$[M-H]^-$	337.092 4	1.74	191.055 2, 163.038 7, 119.048 8, 93.033 0	c	S
76$^{\triangle\#*}$	17.88	Hydroxysafflor yellow A	$C_{27}H_{32}O_{16}$	$[M-H]^-$	611.162 0	2.17	565.156 3, 403.103 4, 241.050 3, 197.060 2	a	S
77$^{\#*}$	17.93	Glabranin	$C_{20}H_{20}O_4$	$[M-H]^-$	323.125 4	−2.36	257.678 3, 203.081 4, 189.066 0, 175.086 9	a	G
78	18.46	Riboflavin	$C_{17}H_{20}N_4O_6$	$[M+H]^+$	377.145 1	−1.2	359.134 3, 243.087 4, 172.086 8	b	D
79	18.93	N^5-Dihydrocaffeoyl-N^{10} caffeoylspermidine	$C_{25}H_{33}N_3O_6$	$[M+H]^+$	472.243 8	−0.41	455.214 8, 310.212 0, 293.185 4, 236.127 6, 220.096 5, 163.038 7	b	D
80$^{\triangle*}$	19.02	Unknown	$C_{27}H_{40}N_7O_6$	$[M+H]^+$	559.311 5	0.42	321.179 8, 293.185 5, 222.122 0, 165.054 6, 123.044 2	b	D

Continued

No.	t_R/min	Identification	Formula	Ion mode	Observed (m/z)	Error ($\times10^{-6}$)	Fragment	Structure class	Origin
81	19.18	Magnoflorine	$C_{20}H_{23}NO_4$	$[M+H]^+$	342.168 8	−3.58	297.110 6, 265.084 5, 237.090 6, 183.521 0, 177.054 2, 115.076 2	b	D
82	19.34	Esculetin	$C_9H_6O_4$	$[M-H]^-$	177.018 2	−0.01	149.023 3, 133.028 1, 105.032 9, 89.038 1	d	S/G
83	19.83	Vicenin-2	$C_{27}H_{30}O_{15}$	$[M-H]^-$	593.151 1	1.73	473.104 7, 383.075 9, 353.066 7, 325.073 0, 297.076 6	a	G
84$^{\triangle*}$	19.93	Unknown	$C_{26}H_{18}O_7$	$[M-H]^-$	441.094 3	−5.78	405.119 3, 243.066 1, 225.056 2, 199.076 3, 175.074 9	e	S
85$^{\triangle*}$	19.97	Catechin-7-*O*-*β*-*D*-glucopyranoside	$C_{21}H_{24}O_{11}$	$[M-H]^-$	451.124 8	1.3	405.119 3, 243.066 1, 225.055 2, 199.075 8, 175.075 5, 157.064 7	e	S
86$^{\triangle*}$	19.98	6"-*O*-Acetylgenistin	$C_{23}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	473.106 1	−1.7	405.119 3, 243.066 2, 225.055 6, 175.075 3	e	S
87*	20.01	2,3,5,4′-Tetrahydroxy stilbene-2-*O*-*β*-*D*-glucoside isomer	$C_{20}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	405.119 1	2.79	243.066 1, 225.055 2, 199.075 7, 175.075 3, 157.064 5	e	S/G
88$^{\triangle*}$	20.22	Acremonidin D	$C_{33}H_{28}O_{14}$	$[M-H]^-$	647.139 4	−0.2	449.109 3, 287.057 6, 161.023 4, 125.023 0	a	S
89*	20.24	N^{l}-3-Acetyldihydrocaffeoyl-N^{10}-dihydrocaffeoyl spermine	$C_{30}H_{44}N_4O_7$	$[M+H]^+$	573.327 7	−1.01	475.269 6, 335.196 6, 293.184 1, 222.112 2, 208.681 9, 165.054 3	b	D
90$^{\triangle*}$	20.44	Unknown	$C_{28}H_{34}O_{18}$	$[M-H]^-$	657.167 8	1.65	611.162 0, 449.109 1, 287.056 2, 125.023 0	a	S
91	20.77	*N*-Acetyl-*L*-phenylalanine	$C_{11}H_{13}NO_3$	$[M-H]^-$	206.082 3	2.23	192.005 5, 164.070 5, 147.043 8, 118.991 6, 91.053 7	c	D
92$^{\triangle\#}$	21.05	Diosmetin-7-*O*-glucoside	$C_{22}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	461.329 1	0.92	415.161 4, 299.057 2, 191.055 3, 149.099 3, 131.033 7, 89.022 8	a	S
93$^{\triangle*}$	21.28	Unknown	$C_{28}H_{34}O_{18}$	$[M-H]^-$	657.168 2	2.11	611.162 8, 449.109 2, 287.056 2, 161.023 3, 125.023 1	a	S
94$^{\triangle\#*}$	21.45	Unknown	$C_{32}H_{40}O_{20}$	$[M-H]^-$	743.202 6	−0.38	700.649 8, 449.111 5, 405.341 5, 287.056 7, 161.023 2, 125.022 9	a	S
95$^{\triangle*}$	21.48	Plantagoside	$C_{21}H_{22}O_{12}$	$[M-H]^-$	465.103 7	0.92	303.105 8, 151.002 8, 125.023 0	a	S
96*	21.73	2,3,5,4′-Tetrahydroxy stilbene-2-*O*-*β*-*D*-glucoside	$C_{20}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	405.119 1	2.79	243.066 1, 225.055 2, 199.075 8, 175.075 4, 159.044 0	e	S/G
97$^{\triangle\#}$	21.94	Unknown	$C_{21}H_{29}O_{14}$	$[M-H]^-$	504.147 3	3.89	412.140 9, 301.831 4, 192.067 1, 165.054 8	a	S
98$^{\#}$	22.18	Daidzin	$C_{21}H_{20}O_9$	$[M+H]^+$	417.117 8	−0.5	255.064 8, 237.054 6, 199.074 3, 149.717 5	a	G
99$^{\triangle*}$	22.96	*N*-Acetyl-1-*O*-benzyl-*α*-muramyl-*α*-aminoisobutyryl-*D*-isoglutamine benzyl ester	$C_{34}H_{46}N_4O_{11}$	$[M+H]^+$	687.322 5	0.3	449.191 0, 293.185 9, 222.121 6, 165.054 1	b	D
100*	22.98	Hyperoside	$C_{21}H_{20}O_{12}$	$[M-H]^-$	463.088 5	3.08	301.033 5, 273.040 3, 255.030 0, 151.002 4, 125.002 9	a	S
101$^{\#}$	23.44	Schaftoside	$C_{26}H_{28}O_{14}$	$[M-H]^-$	563.140 8	2.38	473.106 1, 443.098 0, 383.077 7, 353.066 4, 325.071 8, 297.076 7	a	G

Continued

No.	t_R/min	Identification	Formula	Ion mode	Observed (m/z)	Error ($\times10^{-6}$)	Fragment	Structure class	Origin
102	23.5	Isoscopoletin	$C_{10}H_8O_4$	$[M+H]^+$	193.049 4	−0.15	178.025 0, 165.054 7, 149.056 9, 137.059 7, 133.024 8	d	D
103	24.21	Ferulic acid	$C_{10}H_{10}O_4$	$[M-H]^-$	193.050 0	2.51	178.026 1, 149.059 5, 134.036 0	c	S/D/G
104$^{\#}$	25.35	Tetrahydroxychalcone 4′-*O*-glucoside	$C_{21}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	433.113 6	−1	271.061 0, 151.003 6, 135.008 7, 119.050 2	a	G
105*	25.75	Isoliquiritin	$C_{21}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	417.118 5	−1.45	255.065 5, 148.016 4, 135.008 6, 119.050 1	a	G
106$^{\triangle\#*}$	25.85	Unknown	$C_{20}H_{22}O_{12}$	$[M-H]^-$	453.095 4	−7.35	417.119 3, 255.066 7, 153.018 1, 135.007 6, 119.048 6	a	G
107	26.08	Dihydro-*N*-caffeoyltyramine	$C_{17}H_{19}NO_4$	$[M+H]^+$	302.138 4	−0.29	165.054 3, 143.572 4, 138.091 3, 121.064 9	b	D
108*	26.17	Isoliquiritin apioside	$C_{26}H_{30}O_{13}$	$[M-H]^-$	549.160 3	−1.95	429.104 2, 297.077 5, 255.065 7, 135.008 5, 119.050 0	a	G
109$^{\triangle\#*}$	26.17	Eriocitrin isomer	$C_{27}H_{32}O_{15}$	$[M-H]^-$	595.167 2	1.49	255.066 1, 135.007 6, 119.049 0	a	S
110$^{\triangle*}$	26.2	Unknown	$C_{25}H_{30}O_{16}$	$[M-H]^-$	585.135 9	−6.16	429.102 8, 255.066 3, 135.007 5	a	G
111*	26.38	N^1,N^5-Bis(dihydroferuloyl) spermidine	$C_{27}H_{39}N_3O_6$	$[M+H]^+$	502.291 2	0.04	388.415 9, 250.142 4, 236.127 8, 179.070 5, 137.059 7	b	D
112$^{\#*}$	26.47	Liquiritin	$C_{21}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	417.119 3	3.28	255.066 2, 163.018 0, 148.015 0, 135.007 4, 119.048 7	a	G
113$^{\triangle\#}$	26.54	Tetrahydroxychalcone 4′-*O*-glucoside isomer	$C_{21}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	433.113 9	2.3	271.061 3, 151.002 4, 135.008 7, 119.050 3	a	S
114$^{\#*}$	26.68	Naringenin-7-*O*-glucoside	$C_{21}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	433.114 2	3.02	271.061 5, 151.002 4, 119.048 7	a	G
115*	26.74	N^1,N^5,N^{10}-tris(di hydrocaffeoyl) spermine	$C_{37}H_{50}N_4O_9$	$[M+H]^+$	695.363 3	−2.5	678.344 1, 457.234 3, 293.185 9, 222.112 3	b	D
116$^{\triangle*}$	26.75	Liquiritin apioside	$C_{26}H_{30}O_{13}$	$[M-H]^-$	549.161 3	2.02	417.119 3, 255.066 1, 153.018 0, 135.007 3, 119.048 6, 91.017 3	a	G
117$^{\triangle*}$	26.79	Unknown	$C_{25}H_{30}O_{16}$	$[M-H]^-$	585.138 9	−0.49	549.161 8, 429.102 8, 255.066 3, 153.017 7, 135.007 5	a	G
118$^{\#}$	27.19	Dihydromorin	$C_{15}H_{12}O_7$	$[M-H]^-$	303.052 2	7.66	275.056 3, 177.018 2, 125.023 0	a	S
119$^{\#*}$	27.76	Eriodictyol-7-*O*-glucoside	$C_{21}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	449.109 9	4.57	287.056 7, 269.136 8, 197.059 8, 125.022 9	a	S
120$^{\#}$	27.89	6″-*O*-Acetylliquiritin isomer	$C_{23}H_{24}O_{10}$	$[M-H]^-$	459.130 0	3.04	339.087 5, 255.044 6, 153.010 3	a	G
121$^{\triangle*}$	27.97	Unknown	$C_{34}H_{46}N_4O_8$	$[M+H]^+$	639.338 6	−0.35	621.330 1, 293.185 9, 222.112 2	b	D
122	28.79	Oxyresveratrol	$C_{14}H_{12}O_4$	$[M-H]^-$	243.066 1	3.76	225.055 1, 199.075 8, 175.075 3	e	S
123$^{\#}$	28.91	6″-*O*-Acetylliquiritin isomer	$C_{23}H_{24}O_{10}$	$[M-H]^-$	459.129 3	1.16	339.087 4, 263.056 7, 255.045 2, 153.010 0	a	G
124$^{\#}$	29.13	Naringenin chalcone	$C_{15}H_{12}O_5$	$[M-H]^-$	271.061 4	4.91	151.002 3, 140.975 4, 119.048 9	a	G
125	29.14	Mulberroside F	$C_{26}H_{30}O_{14}$	$[M-H]^-$	565.156 2	1.78	433.112 0, 335.243 8, 271.061 4, 227.071 2, 151.002 4, 119.048 7	e	S
126*	29.21	*trans*-*N*-Caffeoyltyramine	$C_{17}H_{17}NO_4$	$[M+H]^+$	300.122 8	−0.78	163.038 7, 121.064 9, 89.060 1	b	D

Continued

No.	t_R/min	Identification	Formula	Ion mode	Observed (m/z)	Error ($\times10^{-6}$)	Fragment	Structure class	Origin
127	29.23	Azelaic acid	$C_9H_{16}O_4$	$[M-H]^-$	187.096 5	−0.03	169.085 7, 143.106 5, 125.095 7	c	S/D/G
128$^{\triangle\#}$	29.25	Tetrahydroxychalcone 4′-*O*-glucoside isomer	$C_{21}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	433.113 1	0.41	271.061 4, 151.002 4, 135.008 7, 119.050 4	a	S
129*	29.77	Lyciumin A	$C_{42}H_{51}N_9O_{12}$	$[M+H]^+$	874.372 6	−0.5	856.363 7, 486.198 1, 468.187 6, 136.075 7	b	D
130$^{\#}$	29.78	Eriodictyol	$C_{15}H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	287.056 1	3.85	259.061 4, 243.067 2, 151.002 3, 125.022 9	a	S
131$^{\triangle}$	29.9	4-Oxododecanedioic acid	$C_{12}H_{20}O_5$	$[M-H]^-$	243.123 8	2.88	225.112 8, 207.102 2, 181.122 5, 146.959 9	c	S/D/G
132	30.04	7-*O*-*β*-*D*-Apiosyl-3-*O*-*p*-coumaroylkaempferol	$C_{27}H_{30}O_{13}$	$[M-H]^-$	561.161 6	2.41	309.076 8, 267.066 4, 252.042 8	d	G
133$^{\triangle*}$	30.17	Eriodictyol isomer	$C_{27}H_{32}O_{15}$	$[M-H]^-$	595.167 6	1.85	351.069 3, 255.066 2, 135.007 4, 119.048 8, 91.017 2	a	S
134$^{\triangle\#}$	30.47	Isoformononetin	$C_{16}H_{12}O_4$	$[M-H]^-$	269.080 4	−1.69	254.055 9, 237.054 2, 213.091 2, 119.041 4	a	S
135*	30.9	Neoisoliquiritin	$C_{21}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	417.111 9	−4.7	255.066 2, 153.019 1, 148.015 4, 135.007 1, 119.048 7	a	G
136$^{\#}$	30.92	Liquiritin B	$C_{35}H_{36}O_{15}$	$[M-H]^-$	695.198 8	2.51	531.152 5, 255.066 3, 119.048 8, 72.991 5	a	G
137	30.94	*N*-*p*-*trans*-Coumaroyltyramine	$C_{17}H_{17}NO_3$	$[M+H]^+$	284.128 1	0.07	239.149 7, 147.043 9, 121.064 8, 119.049 2	b	D
138$^{\#}$	31.08	Liquiritin A	$C_{36}H_{38}O_{16}$	$[M-H]^-$	725.210 0	3.24	531.152 7, 255.066 0, 193.049 5, 135.007 5	a	G
139$^{\#}$	31.25	Morin	$C_{15}H_{10}O_7$	$[M-H]^-$	301.035 6	4.42	273.042 0, 229.050 2, 151.002 4, 125.023 0	a	S
140*	31.34	Feruloyltyramine	$C_{18}H_{19}NO_4$	$[M+H]^+$	314.138 5	−0.52	292.079 3, 177.054 4, 145.028 3, 117.033 6	b	D
141$^{\triangle*}$	31.41	Baicalin	$C_{21}H_{18}O_{11}$	$[M-H]^-$	445.077 0	3.46	269.045 8, 235.303 8, 175.023 9, 113.022 9	a	S
142	31.43	Lyciumin B	$C_{44}H_{52}N_{10}O_{11}$	$[M+H]^+$	897.388 7	−0.34	689.307 3, 486.198 0, 468.187 5, 159.091 5	b	D
143*	31.62	*N*-Feruloyl-3-methoxy tyramine	$C_{19}H_{21}NO_5$	$[M+H]^+$	344.148 7	−1.74	177.054 4, 145.028 4, 117.033 6	b	D
144$^{\triangle\#}$	31.62	Licorice saponin J2 isomer	$C_{42}H_{64}O_{16}$	$[M-H]^-$	823.413 2	2.61	671.079 0, 351.057 4, 193.034 9, 113.002 9	f	G
145$^{\#}$	31.65	4′,7-Dihydroxyflavanone	$C_{15}H_{12}O_4$	$[M-H]^-$	255.062 5	−7.28	219.845 1, 153.018 1, 135.007 2, 119.004 2	a	G
146$^{\triangle\#}$	31.71	24-Hydroxy-licorice saponin A3	$C_{48}H_{72}O_{22}$	$[M-H]^-$	999.445 6	2.41	837.388 9, 377.540 1, 351.056 2, 193.034 4, 113.022 9	f	G
147$^{\#}$	31.8	Liquiritigenin	$C_{15}H_{12}O_4$	$[M-H]^-$	255.065 0	4.57	219.844 9, 153.018 1, 135.007 2, 119.004 8	a	G
148$^{\triangle*}$	31.85	Chrysin-7-*O*-*β*-*D*-glucuronide	$C_{21}H_{18}O_{10}$	$[M-H]^-$	429.082 1	4.5	253.050 6, 175.023 9, 113.022 9	a	S
149	31.86	Sebacic acid	$C_{10}H_{18}O_4$	$[M-H]^-$	201.113 2	1.76	183.101 7, 139.111 5, 111.080 1	c	S/D
150$^{\triangle*}$	31.91	Diosmetin-7-glucuronide	$C_{22}H_{20}O_{12}$	$[M-H]^-$	475.087 6	2.49	299.056 5, 284.032 9, 217.056 7, 113.022 6	a	S
151	31.99	7-Hydroxy-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-N^2,N^3-bis (4-hydroxyphenethyl)-6,8-dimethoxy-1,2-dihydronaphthalene-2,3-dicarboxamide	$C_{36}H_{36}N_2O_9$	$[M+H]^+$	641.245 3	−6.33	504.163 9, 476.167 8, 339.086 8	b	D
152	32.07	Lyciumin C	$C_{49}H_{57}N_9O_{12}$	$[M+H]^+$	964.419 9	−0.09	593.273 4, 576.246 5, 389.181 5, 257.128 1, 188.070 4	b	D

Continued

No.	t_R/min	Identification	Formula	Ion mode	Observed (m/z)	Error ($\times10^{-6}$)	Fragment	Structure class	Origin
153$^{\triangle*}$	32.1	3,7-Bis(2-hydroxyethyl) icaritin	$C_{25}H_{28}O_8$	$[M-H]^-$	455.170 9	0.83	371.217 2, 213.221 2, 153.349 6, 125.022 9	a	S
154$^{\triangle\#}$	32.4	22-Hydroxy-licorice saponin G2	$C_{42}H_{62}O_{18}$	$[M-H]^-$	853.387 2	2.3	351.056 6, 193.034 6, 175.024 5, 113.022 8	f	G
155*	32.53	Licorice saponin A3	$C_{48}H_{72}O_{21}$	$[M-H]^-$	983.450 5	2.3	821.398 5, 645.365 0, 469.335 2, 351.056 9, 193.034 5, 113.022 9	f	G
156$^{\triangle*}$	32.94	Rhaglycyrrhizin	$C_{48}H_{72}O_{20}$	$[M-H]^-$	969.461 1	−0.15	601.403 5, 351.056 9, 193.034 9, 113.022 9	f	G
157$^{\#*}$	33.25	Licorice saponin G2 isomer	$C_{42}H_{62}O_{17}$	$[M-H]^-$	837.391 8	1.74	485.330 3, 351.056 9, 235.046 4, 193.034 3, 113.022 9	f	G
158*	33.26	Glycyrrhetinic acid	$C_{30}H_{46}O_4$	$[M+H]^+$	471.346 4	−0.95	453.335 7, 317.210 8, 135.116 7	f	G
159	33.28	Glabrolide	$C_{30}H_{44}O_4$	$[M+H]^+$	469.330 6	−1.29	451.319 3, 405.315 1, 243.137 3, 175.147 9	d	G
160	33.39	(11*E*,15*Z*)-9,10,13-Trihydroxy-11,15-octadecadienoic acid	$C_{18}H_{32}O_5$	$[M-H]^-$	327.218 0	4.15	309.207 6, 211.133 3, 171.101 6, 85.027 9	c	S/D
161$^{\triangle\#}$	33.48	Licorice saponin J2 isomer	$C_{42}H_{64}O_{16}$	$[M-H]^-$	823.411 2	0.16	759.278 1, 351.056 9, 193.034 7, 113.022 9	f	G
162$^{\#*}$	33.68	Naringenin	$C_{15}H_{12}O_5$	$[M-H]^-$	271.061 5	5.02	225.222 1, 177.018 1, 151.00 24, 119.048 6	a	G
163$^{\triangle}$	33.77	Hedione	$C_{13}H_{22}O_3$	$[M-H]^-$	225.149 6	3.24	207.138 5, 181.159 0, 167.106 8, 125.095 7	c	S/D/G
164$^{\#*}$	34.25	Licorice saponin G2 isomer	$C_{42}H_{62}O_{17}$	$[M-H]^-$	837.392 5	1.09	351.057 1, 193.034 6, 175.024 1, 113.022 9	f	G
165$^{\#*}$	34.81	Licorice saponin G2 isomer	$C_{42}H_{62}O_{17}$	$[M-H]^-$	837.391 5	1.45	351.056 6, 193.034 3, 175.023 1, 113.022 9	f	G
166$^{\#*}$	34.9	Glycyrrhizic acid	$C_{42}H_{62}O_{16}$	$[M-H]^-$	821.397 6	2.71	645.365 8, 351.057 1, 193.034 6, 174.023 8, 113.022 9	f	G
167*	34.95	Oleaside E	$C_{42}H_{64}O_{17}$	$[M-H]^-$	839.409 2	3.2	351.057 3, 193.034 6, 175.024 0, 113.023 0	f	G
168$^{\#}$	35.12	Licorice saponin H2	$C_{42}H_{62}O_{16}$	$[M-H]^-$	821.397 5	2.52	351.057 1, 193.034 6, 175.023 7, 113.022 9	f	G
169$^{\#*}$	35.16	Isoliquiritigenin	$C_{15}H_{12}O_4$	$[M-H]^-$	255.065 0	3.56	219.845 2, 153.018 1, 135.007 4, 119.004 9, 91.017 3	a	G
170$^{\triangle\#}$	35.47	Licorice saponin B2 isomer	$C_{42}H_{64}O_{15}$	$[M-H]^-$	807.416 1	3.16	351.057 1, 193.034 4, 175.023 7, 113.022 9	f	G
171$^{\#*}$	35.48	Formononetin	$C_{16}H_{12}O_4$	$[M+H]^+$	269.080 3	−1.8	254.057 3, 237.054 7, 213.090 7, 154.026 0	a	G
172$^{\triangle\#}$	35.96	Licorice saponin K2	$C_{42}H_{62}O_{16}$	$[M-H]^-$	821.397 6	2.23	643.293 9, 351.057 1, 193.034 7, 175.023 9, 113.023 0	f	G
173$^{\triangle\#*}$	36.33	Kushenol L	$C_{25}H_{28}O_7$	$[M-H]^-$	439.177 1	1.93	151.005 2, 125.023 0, 92.089 7	a	S
174$^{\triangle\#}$	36.44	Kuwanon G	$C_{25}H_{26}O_7$	$[M-H]^-$	437.161 4	4.42	401.187 3, 174.185 5, 152.994 9, 125.022 9	a	S
175$^{\triangle\#}$	36.46	Licorice saponin C2	$C_{42}H_{62}O_{15}$	$[M-H]^-$	805.401 2	0.75	573.278 4, 351.057 1, 295.579 1, 193.034 7, 113.022 9	f	G
176$^{\triangle\#}$	36.6	Licorice saponin B2 isomer	$C_{42}H_{64}O_{15}$	$[M-H]^-$	807.415 9	−0.25	351.057 2, 193.034 0, 175.023 9, 113.023 1	f	G
177$^{\#*}$	36.86	Glycycoumarin	$C_{21}H_{20}O_6$	$[M-H]^-$	367.118 5	0.89	297.040 3, 139.038 8	a	G
178$^{\#}$	36.93	Ononin	$C_{22}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	429.113 0	−3.2	361.163 4, 293.176 5, 236.105 2, 221.154 1	a	G

Continued

No.	t_R/min	Identification	Formula	Ion mode	Observed (*m/z*)	Error ($\times10^{-6}$)	Fragment	Structure class	Origin
179	36.97	3,5-Di-*tert*-butylcatechol	$C_{14}H_{22}O_2$	$[M-H]^-$	221.154 7	2.28	205.071 6, 177.039 4, 135.969 8, 91.952 1	c	S/D/G
180	37.06	(±)9-HpODE	$C_{18}H_{32}O_4$	$[M-H]^-$	311.222 8	4	293.176 2, 267.196 8, 223.170 0, 99.007 2	c	S/D/G
181	37.85	Morusin P	$C_{19}H_{18}O_5$	$[M-H]^-$	325.104 3	−2.74	249.131 9, 235.248 0, 193.506 0	e	S
182$^{\triangle\#}$	38.25	Cyclomorusin	$C_{25}H_{24}O_6$	$[M+H]^+$	421.164 2	−0.67	365.101 7, 347.090 8, 311.054 7, 137.291 7	a	S
183	38.63	Glycycoumarin isomer	$C_{21}H_{20}O_6$	$[M-H]^-$	367.118 4	2.41	313.071 0, 263.538 2, 139.038 8, 111.810 5	d	G
184	39.15	Oleic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	$[M-H]^-$	281.248 6	4.74	192.471 9, 152.055 1, 134.683 8, 95.195 3	c	S/D/G
185	39.25	Stearic acid	$C_{18}H_{36}O_2$	$[M-H]^-$	283.264 3	4.85	167.095 3, 139.668 7, 66.418 6	c	S/D/G

2 代表成分解析

2.1 黄酮类成分 黄酮类成分主要来源于桑白皮和甘草, 本文通过对比自建数据库和查阅相关文献, 结合MDF过滤和分子网络簇分析, 从泻白散汤剂中鉴定出54个黄酮类成分。

以成分139和112为例对泻白散中黄酮类成分裂解途径进行阐述。成分139的准分子离子峰为*m/z* 301.035 6 $[M-H]^-$, 推测其分子式为$C_{15}H_{10}O_7$, 二级质谱主要发生逆狄尔斯−阿德尔 (RDA) 反应, 并产生一系列碎片离子*m/z* 151.002 4、125.023 0, 经文献[35]对照确认其为桑色素, 来源于桑白皮, 根据二级质谱信息推测其裂解途径 (图4A、B), 并根据该类成分的裂解规律总结该类成分的特征碎片作为诊断离子*m/z* 273 $[M-H-CO_2]^-$、151。成分112的准分子离子峰为*m/z* 417.119 4 $[M-H]^-$, 推测其分子式为$C_{21}H_{22}O_9$, 与成分139类似, 先丢失1分子Glc, 产生碎片离子*m/z* 255.066 3 [M-H-162]$^-$, 在此基础上发生RDA裂解, 产生一系列碎片离子*m/z* 163.018 0、148.015 0、135.007 4、119.048 7, 经文献[30]对照确认其为甘草苷, 来源于甘草, 根据二级质谱信息推测其裂解途径 (图4C、D), 并总结该类成分的诊断离子有*m/z* 135、119、91。

成分114的准分子离子峰*m/z* 433.114 2 $[M-H]^-$在黄酮MDF过滤窗口被筛出, 通过其碎片离子*m/z* 151、119确认其为黄酮类成分, 同时, 在分子网络簇 (图2E) 中与成分112连接, 提示其可能来源于甘草, 并推测其分子式为$C_{21}H_{22}O_{10}$。二级质谱图显示其碎片信息*m/z* 271.061 5 $[M-H-C_6H_{12}O_5]^-$, 即丢失1分子葡萄糖, 再发生RDA裂解, 产生碎片*m/z* 151.002 4、119.048 7, 经文献[36]对照确认其为柚皮素-7-*O*-葡萄糖苷, 来源于甘草, 该成分首次在泻白散复方中报道。

成分95在分子网络簇 (图2A) 中, 根据其碎片离子*m/z* 303、151、125推测其可能为黄酮类成分, 且和成分139在同一个分子簇中, 推测其来源于桑白皮。根据其准分子离子峰*m/z* 465.103 7 $[M-H]^-$, 推测其分子式为$C_{21}H_{22}O_{12}$, 丢失1分子葡萄糖产生二级质谱图碎片*m/z* 303.105 8 $[M-H-C_6H_{12}O_5]^-$, 再发生RDA裂解, 产生碎片*m/z* 151.002 8、125.023 0, 经文献[3, 37]对照初步鉴定其为车前子苷, 来源于桑白皮, 该成分首次在泻白散复方中报道。

成分93与已知来源于甘草的成分112聚集于同一簇 (图2E), 提示其可能共同具有黄酮类骨架, 特征碎片离子*m/z* 255、135进一步验证该推断; 成分94与已知来源于桑白皮的成分139聚集于同一簇 (图2A), 提示其可能共同具有黄酮类骨架, 特征碎片离子*m/z* 287、125进一步验证该推断。然而, 这两个成分在现有报告的质谱数据库中未获得匹配, 且在药材中首次报道, 其确切结构暂未能指认, 有待后续确认。

2.2 皂苷类成分解析 皂苷类成分在中草药中分布很广, 主要由皂苷元和糖基组合而成。泻白散汤剂中的皂苷类成分来源于甘草, 属于五环三萜类皂苷, 苷元为齐墩果烷型五环三萜。本文通过对比自建数据库和查阅相关文献[26,29,38], 结合MDF过滤和分子网络簇分析, 从泻白散汤剂中鉴定出17个皂苷类成分。通过分析皂苷类成分在质谱中的裂解行为发现, 皂苷类成分易先脱去葡萄糖醛酸基团 (GlcA)、葡萄糖基团 (Glc), 分别产生*m/z* 176、*m/z* 162的中性丢失碎片, 并产生*m/z* 351、193、113的诊断离子碎片。

以成分166为例对泻白散中皂苷类成分裂解途径进行阐述。成分166的准分子离子峰为*m/z* 821.397 6 $[M-H]^-$, 推测其分子式为$C_{42}H_{62}O_{16}$, 二级质谱图显示

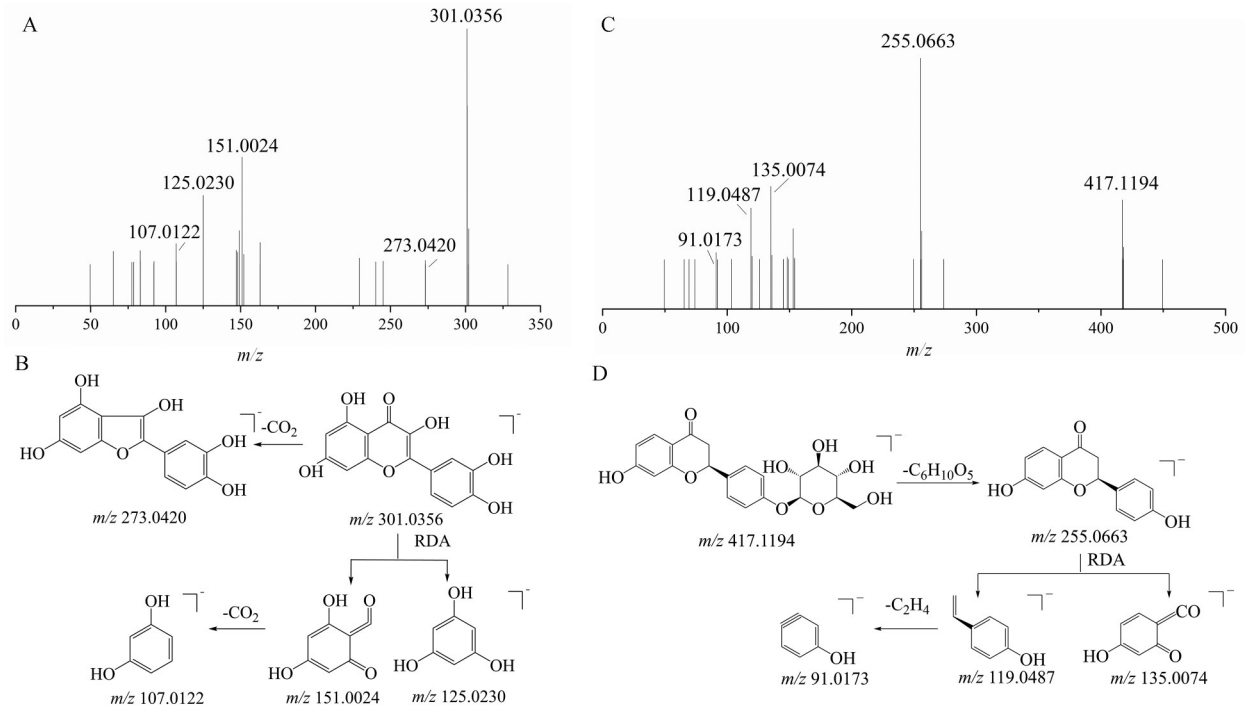


Figure 4 Secondary mass spectra (A, C) and proposed fragmentation pathway (B, D) of flavonoids morin and liquiritin in Xie Bai San decoction

其碎片离子 645.365 8 $[M-H-176]^-$为其失去 1 分子 GlcA 产生, 469.335 8 $[M-H-176-176]^-$为其失去 2 分子 GlcA 产生, 经文献[30]对照确认其为甘草酸, 根据二级质谱信息推测其裂解途径 (图 5), 并总结该类成分的诊断离子有 *m/z* 351、193、113。

成分 166 在分子网络簇 (图 2F) 中与附近准分子离子峰为 *m/z* 983.450 5$[M-H]^-$的成分 155 的二级质谱图有相同碎片离子 *m/z* 351.05, 且分子簇显示两者具有结构相似性, 提示其为齐墩果烷型五环三萜, 推测其分子式为 $C_{48}H_{72}O_{21}$, 从质谱中提取该成分的二级质谱信息, 可观察到一系列碎片离子信息 983.450 5 $[M-H]^-$、821.398 5 $[M-H-162]^-$、645.365 0 $[M-H-162-176]^-$、469.335 2 $[M-H-162-176-176]^-$, 中性丢失依次为 162、176、176, 提示其依次丢失 1 分子 Glc 和 2 分子 GlcA, 结合文献[37]数据, 推断其为甘草皂苷 A3。

同样, 该分子网络簇中找到准分子离子为 *m/z* 837.392 的成分 164, 同样有诊断离子碎片 *m/z* 351, 提示其为齐墩果烷型五环三萜, 且在皂苷类 MDF 过滤窗口中出现该准分子离子峰信息。根据其二级质谱信息, 观察到一系列碎片离子信息 837.392 $[M-H]^-$、661 $[M-H-176]^-$、485 $[M-H-176-176]^-$、467 $[M-H-176-176-18]^-$、449 $[M-H-176-176-18-18]^-$, 中性丢失依次为 176、176、16、18, 提示其依次丢失 2 分子 GlcA、2 分子 H_2O, 结合文献[37]数据, 推测其为甘草皂苷 G2。

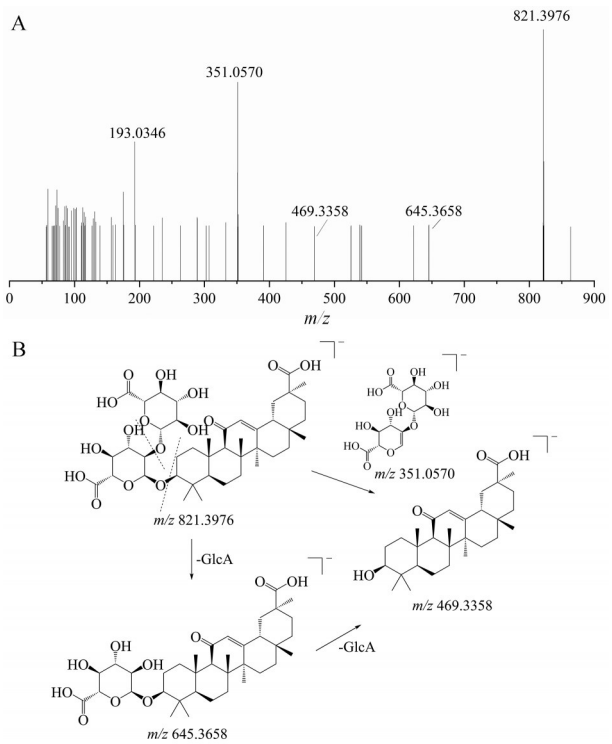


Figure 5 Secondary mass spectra (A) and proposed fragmentation pathway (B) of saponin glycyrrhizin in Xie Bai San decoctio

2.3 芪类成分解析 芪类成分具有二苯乙烯母核, 泻白散中的芪类成分来源于桑白皮。本文通过对比自建数据库和查阅相关文献, 结合分子网络簇分析, 从泻白

散汤剂中鉴定出16个皂苷类成分。

以成分60为例对泻白散中芪类成分分裂途径进行阐述。成分60的准分子离子峰为*m/z* 567.172 1 $[M-H]^-$, 推测其分子式为$C_{26}H_{32}O_{14}$, 二级质谱图观察到其一系列碎片离子405.119 2 $[M-H-162]^-$、243.066 0 $[M-H-162-162]^-$、225.055 2 $[M-H-162-162]^-$, 中性丢失依次为162、162、18, 提示其依次丢失2分子Glc和1分子H_2O。经文献[39]对照确认其为桑皮苷A, 并根据二级质谱信息推测其裂解途径 (图6), 并总结该类成分的诊断离子有*m/z* 243、225。

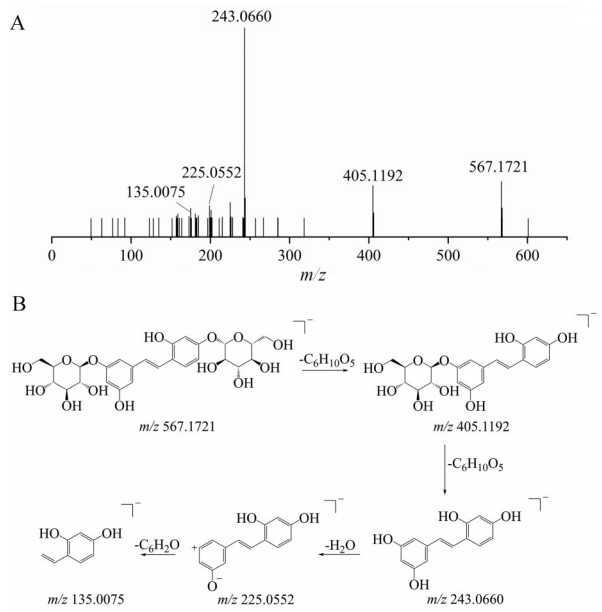


Figure 6 Secondary mass spectra (A) and proposed fragmentation pathway (B) of the stilbenoid mulberroside A in Xie Bai San decoction

成分60在分子网络簇 (图2B) 中与附近准分子离子峰为*m/z* 1 135.343 7的成分62的二级质谱图有相同碎片离子*m/z* 567、405、243, 且分子簇显示两者具有结构相似性, 提示其为芪类成分。根据其二级碎片信息, 其碎片离子与成分60基本相同, 由于未在文献和数据库中找到该成分, 初步鉴定其为桑皮苷A二聚体。

2.4 生物碱类成分解析 泻白散中的生物碱成分来源于地骨皮, 主要为酚酰胺类生物碱。本文通过对比自建数据库和查阅相关文献, 结合分子网络簇分析, 从泻白散汤剂中鉴定出42个生物碱类成分。

以成分43和成分32为例对泻白散中生物碱成分分裂途径进行阐述。成分43的准分子离子峰为*m/z* 531.317 1 $[M+H]^+$, 推测其分子式为$C_{28}H_{42}N_4O_6$, 在正离子模式下其二级质谱图观察到其一系列碎片离子367.269 7 $[M+H-C_9H_8O_3]^+$、293.185 5 $[M+H-C_9H_8O_3-C_3H_{10}N_2]^+$、222.112 0 $[M+H-C_9H_8O_3-C_3H_{10}N_2-C_4H_9N]^+$、165.054 4 $[M+H-C_{19}H_{34}N_4O_5]^+$。经文献[40]对照确认其为地骨皮甲素, 根据二级质谱信息推测其裂解途径 (图7A、B)。成分32的准分子离子峰为*m/z* 251.139 0 $[M+H]^+$, 推测其分子式为$C_{13}H_{18}N_2O_3$, 在正离子模式下其二级质谱图观察到其一系列碎片离子234.111 9 $[M+H-NH_3]^+$、192.101 0 $[M+H-NH_3-C_3H_6]^+$、89.107 7 $[M+H-C_9H_6O_3]^+$。经文献[41]对照确认其为咖啡酰丁二胺, 根据二级质谱信息推测其裂解途径 (图7C、D), 并总结该类成分的诊断离子有*m/z* 293、222。

成分45的准分子离子峰为*m/z* 531.317 3 $[M+H]^+$, 推测其分子式为$C_{28}H_{42}N_4O_6$, 其碎片离子*m/z* 293、222、165, 和成分43相似, 推断成分45和43互为同分异构

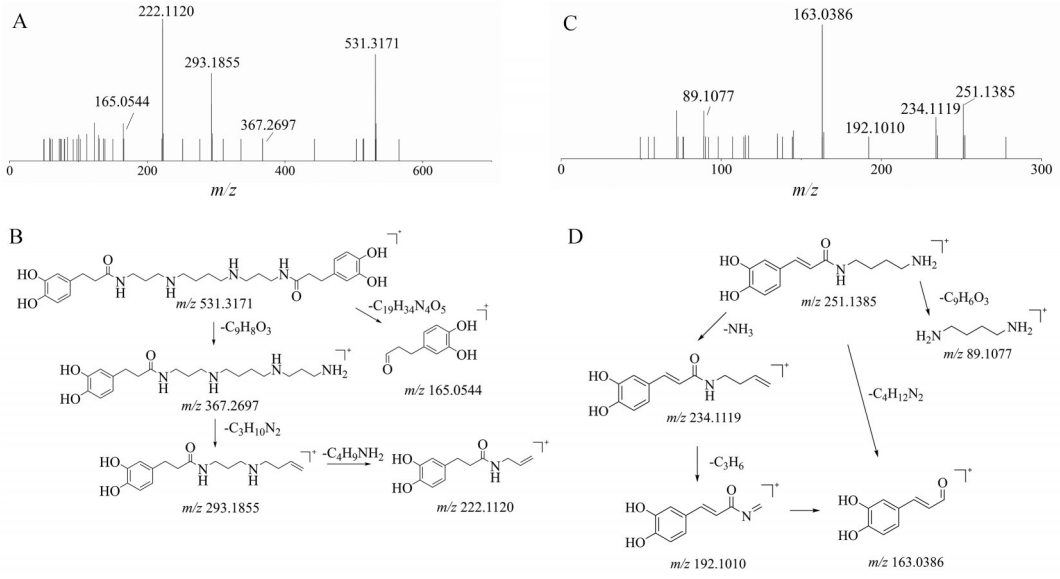


Figure 7 Secondary mass spectra (A, C) and proposed fragmentation pathway (B, D) of the alkaloid components kukoamine A and caffeoylputrescine, respectively, in Xie Bai San decoction

体。结合文献[41]以及保留时间, 推断成分45为地骨皮乙素。

成分43在分子网络簇 (图2C) 中与附近准分子离子峰为 *m*/*z* 474.259 7的成分73的二级质谱图有相同碎片离子 *m*/*z* 293、222, 且分子簇显示两者具有结构相似性, 提示其为酚酰胺类成分, 推测其分子式为 $C_{25}H_{35}N_3O_6$, 二级质谱图观察到其一系列碎片离子310.261 1 $[M+H-C_9H_{10}O_3]^+$、293.185 9 $[M+H-C_9H_{10}O_3-NH_3]^+$、222.112 2 $[M+H-C_9H_{10}O_3-NH_3-C_4H_9N]^+$。经文献[41]对照, 推断该成分为 N^1,N^{10}-双(二氢咖啡酰基)亚精胺。

讨论

泻白散作为一首治疗小儿肺热咳喘的经典名方, 受到了研究者及企业的广泛关注, 但是其药效物质基础尚未被完全阐明。目前, 已有研究对桑白皮、地骨皮及甘草单味药材的化学成分进行了初步表征, 主要成分为黄酮类、芪类、生物碱类和有机酸类。泻白散复方制剂的化学组成亦有文献报道。Zhang等[42]考察了引入甘草、粳米对泻白散物质基础的影响, 并通过比对文献数据以及CD软件中数据库共鉴定了158个成分, 其中黄酮类30个、生物碱类10个、皂苷类15个、有机酸类50个、其他类53个。Xu等[3]通过比对Pubchem、TCMSP、BioTree中药数据库以及文献报道成分首次报道了在泻白散中鉴定了162个成分, 其中黄酮类40个、生物碱类21个、皂苷类成分4个、芪类5个、有机酸类45个, 其他类47个, 但是缺失关键二级碎片信息。上述两个报道中的鉴定结果中1/3为中药中广泛存在的有机酸, 1/3为其他类成分, 而对泻白散中特征成分/关键活性成分鉴定数目少。Peng等[5]同样结合上述在线数据库鉴定了108个成分, 基于更多碎片信息其鉴定结果的准确性有所提升, 但鉴定成分的数量较少。上述研究结果, 由于鉴定方法单一, 鉴定结果缺乏不同方法之间的验证, 准确性不明; 鉴定结果中泻白散的关键活性成分鉴定较少且未有新成分的发现。

本研究联合运用多点筛查MDF技术和MN技术, 在Pubchem、Chemspider等权威数据库的基础上结合CD软件中的mzCloud和mzVault数据库, 依据已报道文献数据自建实验室成分数据库, 为复方成分质谱数据的全面解析提供了技术保证和全面的数据库。mzCloud和mzVault数据库包含了丰富且准确的二级碎片离子信息, 自建数据库收纳了文献报道的复方所有药味的化学成分的质谱信息, 扩大数据库的基础上也为该复方成分的鉴定提供了特征性数据库, 便于提高鉴定结果的数量和准确性。多点筛查MDF技术进一步构建了黄酮类、芪类两大类成分的质量亏损过滤窗口, 提高了复方中黄酮类和芪类特征成分的鉴定数量和准确性。MN分析技术在泻白散样品中识别出复方中主要成分群, 包括黄酮类、生物碱类、皂苷类、芪类四大类成分分子簇。上述三种方法鉴定的结果可以相互佐证, 不仅大大提高鉴定结果的准确性, 而且实现了对该复方化学成分的系统、快速与全面表征。

采用上述方法本研究共鉴定出185个化学成分, 包括黄酮类54个、生物碱类42个、皂苷类17个、芪类16个、有机酸34个、苯丙素类15个和其他类7个。其中, 139个成分通过数据库与文献比对确认, 46个成分为首次在泻白散复方中报道, 包括18个潜在新成分。在鉴定策略方面, 通过多点筛查MDF技术鉴定了50个成分, 通过MN分析技术鉴定了74个成分, 通过两种技术同时挖掘出14个成分。在化学成分类型方面, 大幅提升了对泻白散主要成分的鉴定数量, 如生物碱类和芪类等泻白散中活性成分的数量比已有文献[3,5]报道提升了一倍以上, 增加了苯丙素类成分的鉴定, 且多方法结合有效改善了鉴定结果的准确性。

泻白散具有止咳平喘、清泻肺热的功效, 其作用主要源于君药桑白皮、臣药地骨皮及佐使药甘草中所含的多种活性成分, 包括黄酮类、生物碱类、皂苷类以及芪类成分。其中, 黄酮类成分作为该方中最重要的活性大类之一, 主要源自甘草和桑白皮, 表现出显著的抗炎与抗氧化作用。例如, 桑白皮中的桑辛素能够通过调控NF-κB/TGF-β信号通路有效抑制炎症反应[43]; 而甘草所含的甘草苷则具有减轻细胞损伤[44]及缓解氧化应激的作用[45]。生物碱类成分主要来源于地骨皮, 其代表性成分地骨皮甲素显示出广泛的抗炎效果, 其作用机制与抑制NF-κB通路、减少促炎因子生成密切相关[46]。皂苷类成分则以甘草中的甘草酸为代表, 不仅展现出抗病毒活性, 尤其在冠状病毒感染治疗中备受关注[47], 还表现出一定的肝脏保护作用[48]。此外, 桑白皮所含芪类成分亦具有重要药理价值, 例如桑皮苷A可通过抑制氧化应激进而缓解气道炎症[49]。本研究基于质谱分析鉴定出的上述特征化学成分, 不仅与泻白散的传统功效高度契合, 也为深入揭示其药理作用机制提供了可靠的科学依据。

本研究首次将多点筛查MDF与GNPS分子网络联用, 实现了对泻白散中多类成分的系统挖掘与交叉验证, 尤其是对关键活性成分的鉴定, 提高了鉴定效率和鉴定结果的准确性。MDF可以对采集的高分辨质谱数据进行处理和识别, 从复杂背景中筛选结构类似物, 具备独特的技术优势。然而, 传统MDF方法仅以单一母体化学成分为模板, 质量亏损窗口设置宽泛, 易

导致筛选偏差及较多假阳性结果。本研究采用多点筛查质量亏损过滤策略, 选取多个代表性化学成分为模板, 分类进行筛选。该方法[3,5,8]无需依赖裂解规律总结即可识别多个衍生物, 显著去除假阳性信号, 提高筛选效率, 尤其适用于黄酮类成分的挖掘。并进一步引入MN分析技术, 该策略在处理复杂MS/MS数据方面具有明显优势, 可有效过滤冗余信息, 降低数据解析的盲目性, 并借助GNPS数据库实现已知成分的匹配与未知同类物的快速定位, 显著提升了质谱数据解析效率、结构鉴定准确性及新成分发现潜力。两种方法协同互补, 增强了潜在成分的挖掘广度与鉴定结果的可信度。尽管MDF和MN能高效处理质谱数据, 但其应用仍存在一定局限性。MDF窗口内难以完全避免假阳性, 需辅以人工甄别; 且该方法对于结构变异较大的类别 (如本研究中的酚酰胺类生物碱、苷类), 因质量亏损差异显著, 应用效果受限。MN技术对质谱数据的质量高度敏感, 需要低背景噪音、电离能量适中的质谱数据。

质谱分析中的化合物鉴定准确性是本研究关注的核心。本研究构建的全面鉴定流程阐明, 高分辨的原始数据是提升鉴定准确性的基石, 通过优化质谱采集参数并有效降低基质效应, 可为后续分析奠定可靠基础。构建的数据库要尽可能全面, 涵盖目前报道的所有可能成分。在数据解析阶段, 需综合运用多维数据分析策略, 从不同维度交叉验证, 方能确保鉴定结果的可信度。综上所述, 本研究对泻白散的化学成分进行了整体、全面的鉴定, 为后续的药效研究提供了坚实的实验数据基础。

作者贡献: 纪思齐负责完成实验、数据分析及文章撰写; 王小明、周严严负责文章校对; 代云桃、许悦、马致洁负责课题整体设计及文章修改。

利益冲突: 本文不存在任何利益冲突。

References

[1] Li YL, Jiang P, Sun ML, et al. Ancient and modern literature review of Xiebai San [J]. Acta Chin Med Pharmacol (中医药学报), 2019, 47: 17-22.

[2] Yang HY, Sun JH, Zhai ZX, et al. Research progress on the classic formula Xiebai San [J]. Chin J Clin Rational Drug Use (临床合理用药), 2025, 18: 177-181.

[3] Xu DC, Sui ZY, Yang Q, et al. Analysis of chemical constituents of Xiebai Powder by UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊), 2022, 40: 251-258+287.

[4] Zeng WL, Dai YT, Liu Y, et al. Discussion on the influence of japonica rice on the physicochemical properties of famous classical formulas compound preparation with Xiebai San for example [J]. J Li-shizhen Tradit Chin Med (时珍国医国药), 2024, 35: 2389-2394.

[5] Peng P, Li JX, Yang XY, et al. Analysis of blood-absorbed components and their metabolic differences of Xiebaisan in normal and chronic bronchitis mice based on UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae (中国实验方剂学杂志), 2026, 32: 219-227.

[6] Xiang ZD, Li Z, Zhang B, et al. Study on anti-pneumonia mechanism of Xie-Bai-San by network pharmacology and molecular docking technology [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med-World Sci Technol (世界科学技术–中医药现代化), 2021, 23: 1812-1820.

[7] Yang ZT, Xu DC, Liu J, et al. Protective effect of Xiebaisan on allergic asthma in rats based on non-targeted metabolomics and intestinal bacterial flora [J]. Acta Lab Anim Sci Sin (中国实验动物学报), 2024, 32: 177-189.

[8] Li BX, Li PY, Hao LX, et al. Identification and determination of the major constituents in Xie-Bai-San by ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. World J Tradit Chin Med, 2024, 10: 334-346.

[9] 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.

[10] Yang J, Guo W, Xu X, et al. Analysis of fatty acid in biological samples using liquid chromatography-quadrupole-orbitrap mass spectrometry under parallel reaction monitoring mode [J]. J Anal Test, 2024, 8: 210-217.

[11] Jiang Y, Gao W, Yang H, et al. High-resolution mass spectrometry-based mass defect filtering for characterization of traditional Chinese medicine: A review [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2022, 47: 4835-4845.

[12] Wang JY, Fan XH, Wei XX, et al. Analysis of differential compounds of *Poria cocos* medicinal materials by integrated qualitative strategy based on UPLC-Q-Orbitrap-MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae (中国实验方剂学杂志), 2025, 31: 148-156.

[13] Zhao YJ, Li J, Song QQ, et al. Rapid flavonoid-focused subchemome characterization of Draconis Sanguis using UPLC-Q-TOF-MS in combination with molecular weight imprinting and mass defect filtering [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2023, 48: 993-1004.

[14] Sun MJ, Wang HJ, Ding FJ, et al. Qualitative analysis of flavonoids in *Tetrastigma hemsleyanum* based on UPLC-quadrupole/exactive orbitrap mass spectrometry and mass defect filter method [J]. J Chin Mass Spectrom Soc (质谱学报), 2020, 41: 359-367.

[15] Fan W, Li Z, Liu L, et al. An integrated 3-M workflow for accelerated annotation of natural products: Flavonoids in *Daemonorops draco* as a case study [J]. Talanta, 2025, 282: 126921.

[16] Xu M, Yu L, Ren D, et al. Mass defect filtering combined with

molecular networking to profile flavonoids in citrus fruit based on liquid chromatography-high resolution mass spectrometry platform: *Citrus sinensis* (L.) Osbeck as a case study [J]. J Chromatogr A, 2022, 1685: 463640.

[17] Luo GY, Peng XS, Ouyang L, et al. Rapid analysis of alkaloids in the roots of *Tripterygium wilfordii* based on UPLC-Q-TOF-MS/MS coupled with molecular networking [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2025, 37: 1797-1809, 1821.

[18] Quan JY, Fan B, Liu A, et al. Rapid identification of components in Wuzhuyu Decoction using UHPLC Q-Exactive Orbitrap MS*n* and molecular network technology [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2023, 48: 71-81.

[19] Quan JY, Yang L, Deng XQ, et al. Rapid identification of components in Qingxin Jieyu Granules using UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS and molecular network technology [J]. China J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志), 2023, 38: 5709-5722.

[20] Sun JW, Li GT, Chen B, et al. Rapid identification of chemical constituents in *Camellia chekiangoleosa* flower and its anti-inflammatory activity evaluation using UPLC-Q-TOF-MS/MS and molecular network technologies [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2025, 56: 4187-4205.

[21] Lai CJ, Tan T, Zeng SL, et al. An integrated high resolution mass spectrometric data acquisition method for rapid screening of saponins in *Panax notoginseng* (Sanqi) [J]. J Pharm Biomed Anal, 2015, 109: 184-191.

[22] Xue X, Jin R, Jiao Q, et al. Differentiation of three *Asparagus* species by UHPLC-MS/MS based molecular networking identification and chemical profile analysis [J]. J Pharm Biomed Anal, 2022, 219: 114863.

[23] Xue X, Jiao Q, Jin R, et al. The combination of UHPLC-HRMS and molecular networking improving discovery efficiency of chemical components in Chinese classical formula [J]. Chin Med, 2021, 16: 50.

[24] Qin SR, Liu HC, Li DS, et al. Application of mass spectrometry molecular networking in the study of natural product structure [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2022, 34: 1978-1987.

[25] Zheng TB, Wan JQ, Yang CY, et al. Systematic analysis on chemical constituents of Mori Cortex, mulberry root bark and its phellem layer based on HPLC-ESI-MS [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2021, 46: 2237-2244.

[26] Ma HJ, Gao J, Zhang YL, et al. Study on identification of compounds and their fragmentation pathways in licorice by HPLC-MS*n* [J]. China J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志), 2018, 33: 1120-1123.

[27] Lu AQ, Chen MH, Gao J, et al. A tri-O-bridged diels-alder adduct from Cortex Mori Radicis [J]. Molecules, 2018, 23: 133.

[28] Jung JW, Ko WM, Park JH, et al. Isoprenylated flavonoids from the root bark of *Morus alba* and their hepatoprotective and neuroprotective activities [J]. Arch Pharmacal Res, 2015, 38: 2066-2075.

[29] Ji S, Wang Q, Qiao X, et al. New triterpene saponins from the roots of *Glycyrrhiza yunnanensis* and their rapid screening by LC/MS/MS [J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 90: 15-26.

[30] Qiao X, Song W, Ji S, et al. Separation and characterization of phenolic compounds and triterpenoid saponins in licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) using mobile phase-dependent reversed-phase×reversed-phase comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled with mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2015, 1402: 36-45.

[31] Dai SJ, Wu Y, Wang YH, et al. New Diels-Alder type adducts from *Morus macroura* and their anti-oxidant activities [J]. Chem Pharm Bull, 2004, 52: 1190-1193.

[32] Zhao Y, Kongstad KT, Jäger AK, et al. Quadruple high-resolution α-glucosidase/α-amylase/PTP1B/radical scavenging profiling combined with high-performance liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry-solid-phase extraction-nuclear magnetic resonance spectroscopy for identification of antidiabetic constituents in crude root bark of *Morus alba* L. [J]. J Chromatogr A, 2018, 1556: 55-63.

[33] Guo YQ, Tang GH, Lou LL, et al. Prenylated flavonoids as potent phosphodiesterase-4 inhibitors from *Morus alba*: Isolation, modification, and structure-activity relationship study [J]. Eur J Med Chem, 2018, 144: 758-766.

[34] Wang Y, Wang Y, Zhang Z, et al. Molecular networking: An efficient tool for discovering and identifying natural products [J]. J Pharm Biomed Anal, 2025, 259: 116741.

[35] Lee S, Kim HW, Lee SJ, et al. Comprehensive characterization of flavonoid derivatives in young leaves of core-collected soybean (*Glycine max* L.) cultivars based on high-resolution mass spectrometry [J]. Sci Rep, 2022, 12: 14678.

[36] Yin R, Yu XY, Wei SS, et al. Analysis of chemical components and components migrating to blood of Guizhi Gancao Decoction by UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS method [J]. Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊), 2025, 43: 198-207.

[37] Xiang C, Qiao X, Wang Q, et al. From single compounds to herbal extract: A strategy to systematically characterize the metabolites of licorice in rats [J]. Drug Metab Dispos, 2011, 39: 1597-1608.

[38] Shang Z, Liu C, Qiao X, et al. Chemical analysis of the Chinese herbal medicine licorice (Gan-Cao): An update review [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 299: 115686.

[39] Hirakura K, Fujimoto Y, Fukai T, et al. Two phenolic glycosides from the root bark of the cultivated mulberry tree (*Morus lhou*) [J]. J Nat Prod, 1986, 49: 218-224.

[40] Zhang JX, Guan SH, Feng RH, et al. Neolignanamides, lignanamides, and other phenolic compounds from the root bark of *Lycium chinense* [J]. J Nat Prod, 2013, 76: 51-58.

[41] Chen XH, Su L, Jiang LJ, et al. Identification of compounds in

Lycii Cortex by UPLC-LTQ-Orbitrap-MS [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2019, 44: 4486-4494.

[42] Zhang YL, Wang R, Liu YX, et al. Exploring scientific connotations of compatibility of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and Oryzae Sativae Semen in Xiebai San based on UPLC-Q-Exactive-MS/MS technology [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2025, 56: 7003-7018.

[43] Gu R, Huang Z, Liu H, et al. Moracin attenuates LPS-induced inflammation in nucleus pulposus cells *via* Nrf2/HO-1 and NF-*κ*B/TGF-*β* pathway [J]. Biosci Rep, 2019, 39: BSR20191673.

[44] Yang X, Dang X, Zhang X, et al. Liquiritin reduces lipopolysaccharide-aroused HaCaT cell inflammation damage *via* regulation of microRNA-31/MyD88 [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 101: 108283.

[45] Tang TJ, Wang X, Wang L, et al. Liquiritin inhibits H_2O_2-induced oxidative stress injury in H9c2 cells *via* the AMPK/SIRT1/NF-*κ*B signaling pathway [J]. J Food Biochem, 2022, 46: e14351.

[46] Zhang Y, Gao L, Cheng Z, et al. Kukoamine A prevents radiation-induced neuroinflammation and preserves hippocampal neurogenesis in rats by inhibiting activation of NF-*κ*B and AP-1 [J]. Neurotoxic Res, 2017, 31: 259-268.

[47] Bailly C, Vergoten G. Glycyrrhizin: An alternative drug for the treatment of COVID-19 infection and the associated respiratory syndrome? [J]. Pharmacol Ther, 2020, 214: 107618.

[48] Zhao FQ, Wang GF, Xu D, et al. Glycyrrhizin mediated liver-targeted alginate nanogels delivers quercetin to relieve acute liver failure [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 168: 93-104.

[49] Liou CJ, Wu SJ, Cheng SC, et al. Mulberroside A ameliorates murine allergic airway inflammation by suppressing Th2 response and oxidative stress [J]. Inflammopharmacology, 2025, 33: 5347-5364.