

## 采用 UHPLC-Q Exactive 轨道阱高分辨质谱快速识别 脑震宁颗粒的化学成分

于舒婷<sup>1,3</sup>, 刘海霞<sup>2</sup>, 李 昆<sup>2</sup>, 秦正国<sup>2</sup>, 秦雪梅<sup>1</sup>, 朱 平<sup>2\*</sup>, 李震宇<sup>1\*</sup>

(1. 山西大学中医药现代研究中心, 山西 太原 030006; 2. 山西振东安特生物制药有限公司, 山西 晋中 030600;  
3. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006)

**摘要:** 脑震宁颗粒是由 11 味中药组成的复方制剂, 临床主要用于治疗脑震荡、脑外伤综合征等。针对其复杂的物质组成, 本研究采用 UHPLC-Q Exactive 轨道阱高分辨质谱建立了脑震宁颗粒化学成分的快速识别方法, 通过分析色谱保留行为、精确分子质量、裂解碎片信息, 结合文献及对对照品数据对照, 并借助 Compound Discover 2.0 自动指认, 共鉴定出脑震宁颗粒中 161 个化合物, 并对这些成分的来源进行了归属。所鉴定的成分包括环烯醚萜苷类 9 个、丁基苯酞类 8 个、黄酮及黄酮苷类 26 个、酚酸类 8 个、单萜苷类 8 个、生物碱类 9 个, 以及有机酸、氨基酸、糖类等中药材共性成分。本研究首次对脑震宁颗粒的化学组成进行了全面表征, 所构建的脑震宁化学成分物质组为其进一步的质量控制和药效物质基础研究奠定了基础。

**关键词:** 脑震宁颗粒; 化学成分; UHPLC-Q Exactive 轨道阱高分辨质谱

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 04-0609-12

## Identification of chemical constituents in Naozhenning granule by UHPLC coupled with hybrid quadrupole-orbitrap MS

YU Shu-ting<sup>1,3</sup>, LIU Hai-xia<sup>2</sup>, LI Kun<sup>2</sup>, QIN Zheng-guo<sup>2</sup>, QIN Xue-mei<sup>1</sup>, ZHU Ping<sup>2\*</sup>, LI Zhen-yu<sup>1\*</sup>

(1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine of Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

2. Shanxi Zhendong Ante Biological Pharmaceutical Co., Ltd., Jinzhong 030600, China;

3. College of Chemistry and Chemical Engineering of Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

**Abstract:** Naozhenning granule, which is composed of 11 herbal drugs, is mainly used in the treatment of concussion, cerebral post-traumatic syndrome. As the chemical composition of Naozhenning was complex, the ultrahigh performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry was applied to identify the chemical constituents rapidly in the Naozhenning granule. By analyzing the retention behaviors, accurate molecular weight, the fragmentation pathway, and comparison with the MS data from the standards and references, as well as the automatic identification by the Compound Discover 2.0, a total of 161 compounds were identified or tentatively deduced, and the sources of constituents were also confirmed. The compounds identified in Naozhenning granule included 9 iridoids, 8 butylphthalides, 26 flavonoids and flavonoid glycosides, 8 phenolic acids, 8 monoterpene glycosides and 9 alkaloids, as well as the common compounds in the herbal drugs, such as organic acids, amino acids, and sugars. The chemical composition of Naozhenning

收稿日期: 2017-11-30; 修回日期: 2018-01-10.

基金项目: 山西省中药现代化振东专项基金: 基于功能主治的脑震宁工艺优化和标准提升 (2106ZD0404); 山西省重点研发计划: 山西名优中成药  
脑震宁颗粒大品种二次开发 (201603D3113003).

\*通讯作者 Tel / Fax 86-354-2467991, 86-351-7018379, E-mail: zp8236@sohu.com; lizhenyu@sxu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-1190

was studied for the first time, which provides a scientific basis for the quality control and document of effective materials of Naozhenning granule.

**Key words:** Naozhenning granule; chemical constituent; UHPLC-Q Exactive quadrupole-orbitrap MS

脑震宁颗粒是由当归、地黄、牡丹皮、川芎、地龙、丹参、茯苓、陈皮、炒酸枣仁、竹茹和柏子仁共 11 味中药经科学提取加工制成的一种中药复方制剂。临床常用于治疗颅脑损伤后遗症、血管神经性头痛<sup>[1]</sup>, 具有凉血活血、化瘀通络、补血安神、宁心定智、除烦止呕之功效<sup>[2]</sup>, 是一种改善中轻型颅脑外伤症状, 促进功能恢复, 纠正植物神经功能紊乱的有效药物<sup>[1]</sup>。目前关于脑震宁颗粒的研究多是药理药效<sup>[3]</sup>以及基于阿魏酸<sup>[4]</sup>、橙皮苷<sup>[4,5]</sup>、丹酚酸 B<sup>[5]</sup>等指标成分的含量测定。由于脑震宁颗粒组方中含有 11 味中药材, 导致其化学成分非常复杂。然而其化学成分和物质基础研究目前未见报道, 明确其化学成分对于进一步阐明脑震宁颗粒药效物质基础以及作用机制是非常必要的。

液质联用技术具有高分离能力、高灵敏度和专属性强的特点, 在天然产物的定性鉴别中发挥着重要的作用。UHPLC-Q Exactive 轨道高分辨质谱将四级杆母离子选择性与高分辨率和准确质量数 (HRAM) Orbitrap 检测相结合, 具有高灵敏度, 在一次扫描中同时检测痕量级和高丰度化合物, 可用于中药复杂体系的快速分析和成分识别, 如金钗石斛<sup>[6]</sup>、酸枣仁<sup>[7]</sup>、酸枣叶<sup>[8]</sup>、中华苦苣菜与苣荬菜<sup>[9]</sup>、黄芪建中汤<sup>[10]</sup>等。本研究拟采用 UHPLC-Q Exactive 轨道高分辨质谱对脑震宁颗粒的化学成分进行分析鉴定, 得到所含成分的准分子离子峰及蕴含丰富结构信息的碎片离子峰, 从而对其结构进行准确、快速的鉴定, 为脑震宁颗粒质量控制和药效物质基础研究奠定依据。

## 材料与方法

**仪器与试剂** Thermo fisher U3000 超高效液相色谱仪, 配置在线脱气机、四元梯度泵、柱温箱、自动进样器 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司), Thermo Scientific™ Q Exactive™ 组合型四极杆 Orbitrap 质谱仪; 十万分之一天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); 数据分析采用 Xcalibur 3.2 软件, Compound Discover 2.0 软件。超纯水由 Milli-Q Integral Water Purification System (美国 Millipore 公司) 制备, 甲酸、乙腈为色谱纯 (美国 Thermo 公司), 甲醇 (分析纯) 购于天津

市大茂化学试剂厂。

**对照品与药材** 对照品斯皮诺素 (批号: 131217, 质量分数≥98%)、酸枣仁皂苷 A (批号: A0274, 质量分数≥98%)、酸枣仁皂苷 B (批号: A0275, 质量分数≥98%)、梓醇 (批号: 0808-9803, 质量分数≥98%)、柚皮苷 (批号: 110722-200309, 质量分数≥98%)、丹皮酚 (批号: 110708-200506, 质量分数≥98%)、芍药苷 (批号: 110736-201640, 质量分数≥98%) 购自中国食品药品检定研究院; 当药黄素 (批号: 140516, 质量分数≥98%) 购自四川省维克奇生物科技有限公司; 咖啡酸 (批号: YJ-141119, 质量分数≥98%)、绿原酸 (批号: YJ-141004, 质量分数≥98%)、新绿原酸 (批号: YJ-140925, 质量分数≥98%)、隐绿原酸 (批号: YJ-141020, 质量分数≥98%)、橙皮苷 (批号: YJ-141108, 质量分数≥98%) 购自江苏永健医药有限公司; 没食子酸 (批号: 20130729, 质量分数≥98%) 购自上海源叶生物科技有限公司; 亚正丁基苯酞内酯, (E)+(Z) (批号: 10153545, 质量分数≥95%), 购自阿法埃莎 (中国) 化学有限公司。脑震宁颗粒 (批号: 20151202, 20160501, 20160609) 以及当归、地黄、牡丹皮、川芎、地龙、丹参、茯苓、陈皮、炒酸枣仁、竹茹和柏子仁药材由山西振东安特生物制药有限公司提供, 药材均经山西大学秦雪梅教授鉴定, 当归为伞形科植物当归 [*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels] 的干燥根, 地黄为玄参科植物地黄 [*Rehmannia glutinosa* Libosch.] 干燥块根, 牡丹皮为毛茛科植物牡丹 [*Paeonia suffruticosa* Andr.] 的干燥根皮, 川芎为伞形科植物川芎 [*Ligusticum chuanxiong* Hort.] 的干燥根茎, 地龙为钜蚓科环节毛参环毛蚓 [*Pheretima aspergillum* (E. Perrier)] 的干燥虫体, 丹参为唇形科植物丹参 [*Salvia miltiorrhiza* Bge.] 的干燥根及根茎, 茯苓为多孔菌科真菌茯苓 [*Poria cocos* (Schw.) Wolf] 的干燥菌核, 陈皮为芸香科柑橘属植物橘 [*Citrus reticulata* Blanco] 及其栽培变种的干燥成熟果皮, 酸枣仁为鼠李科植物酸枣 [*Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H.F.Chou] 的干燥成熟种子, 竹茹为禾本科植物淡竹 [*Phyllostachys nigra* (Lodd.) Munro var. *henonis* (Mitf.) Stapf ex Rendle] 的茎秆的干燥中间层, 柏子仁为柏科植物侧柏 [*Platycladus orientalis* (L.) Franco] 的干

燥成熟种仁。

**供试品溶液的制备** 取三批脑震宁颗粒混匀, 称取 1 g, 研细, 置于具塞锥形瓶中, 加入 50 mL 50% 甲醇溶液, 超声提取 30 min, 放至室温, 用定性滤纸过滤, 取上清液经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 置 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱备用。

**单味药材样品溶液的制备** 分别称取各单味药当归、地黄、牡丹皮、川芎、地龙、丹参、茯苓、陈皮、炒酸枣仁、竹茹和柏子仁各 10 g, 分别加水 100 mL 煎煮 1.5 h, 滤过, 浓缩后分别置于 50 mL 锥形瓶, 加 50% 甲醇溶液 50 mL, 超声提取 30 min, 用定性滤纸过滤, 取上清液经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 置 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱备用。

**对照品溶液的配制** 分别取各对照品适量, 精密称定, 用甲醇制备斯皮诺素 ( $1.220 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、酸枣仁皂苷 A ( $1.240 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、酸枣仁皂苷 B ( $1.260 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、当药黄素 ( $1.130 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、梓醇 ( $1.230 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、柚皮苷 ( $1.250 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、丹皮酚 ( $1.240 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、橙皮苷 ( $1.210 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、绿原酸 ( $1.350 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、新绿原酸 ( $1.510 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、隐绿原酸 ( $1.420 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、阿魏酸 ( $1.020 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、没食子酸 ( $1.550 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、咖啡酸 ( $1.270 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、芍药苷 ( $1.250 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )、亚正丁基苯酞内酯 ( $1.550 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 对照品储备液, 各取 200  $\mu\text{L}$  到 5 mL 量瓶, 用 50% 甲醇溶液定容, 制备成混合对照品溶液。

**超高效液相色谱条件** 色谱柱为 Waters Acquity UPLC BEH  $\text{C}_{18}$  液相色谱柱 (2.1 mm  $\times$  100 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ), 流动相为 A: 0.1% 甲酸水溶液; B: 乙腈。梯度洗脱, 0~15 min, 5%~20% B; 15~20 min, 20%~35% B; 20~30 min, 35%~55% B。检测波长为 290 nm, 柱温为 45  $^{\circ}\text{C}$ , 流速为 0.2  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 进样量为 1  $\mu\text{L}$ 。

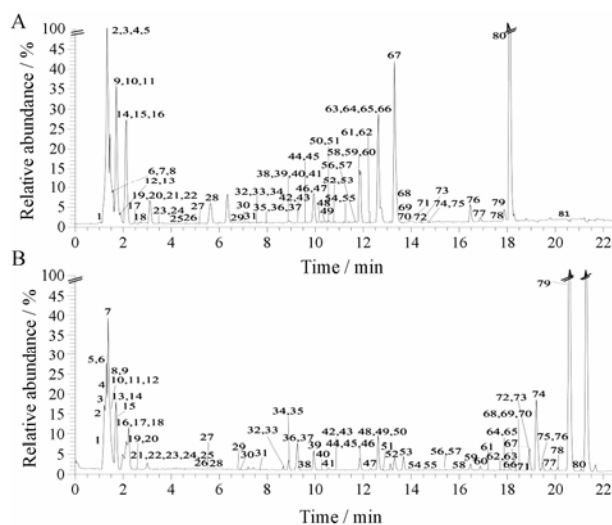
**质谱条件** Full MS/DD MS<sup>2</sup> (TOPN); 离子源: 电喷雾离子源 (HESI); 扫描方式: 正负离子同时扫描; 毛细管温度: 320  $^{\circ}\text{C}$ ; 鞘气体积流量为 35 psi (1 psi  $\approx$  6.9 kPa), 辅助气体积流量为 10 psi; 喷雾电压: 正离子模式为 3.5 kV, 负离子模式为 2.5 kV, 透镜电压 55 kPa; 探头加温器温度: 300  $^{\circ}\text{C}$ ; 最大喷雾电流: 100 V; NEC: 10, 30, 50; 质量扫描范围均为  $m/z$  100~1500, 质量分辨率 70000。

**数据处理分析** 将采集到的原始质谱数据运用 Xcalibur 3.2 数据软件进行峰提取、峰匹配分析处理。将采集到的原始质谱数据导入 Compound Discover 2.0 软件, 与数据库进行计算匹配, 导出样品名称、保留时间、分子式、质荷比、以及对应的离子强度组成的

数据集, 主要参数设置如下: 保留时间范围 0~25 min; 质荷比范围为 100~1500 Da; 偏差为 5 ppm; 信噪比为 3; 保留时间漂移值为 0.1 min。

## 结果

采用 UHPLC-Q Exactive 轨道阱高分辨质谱对脑震宁颗粒进行分析, 同时获得正负离子模式下多级质谱数据, 然后运用 Xcalibur 3.2 数据软件进行分析处理。正、负总离子流分别如图 1 所示。



**Figure 1** Total ion chromatogram (TIC) of Naozhenning granule in negative mode (A), TIC of Naozhenning granule in positive mode (B). The peak numbers in A and B were in accordance with table 1 and 2, respectively

## 1 基于质谱裂解途径的定性鉴别

**1.1 环烯醚萜苷类** 脑震宁颗粒中的环烯醚萜苷类化合物来源于地黄, 其中梓醇是代表性成分。在负离子模式下化合物 **11** 得到准分子离子峰  $m/z$  361.112 9  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 然后失去一分子葡萄糖 (Glu) 得到  $m/z$  199.060 5  $[\text{M}-\text{H}-\text{Glu}]^-$ , 进一步失去一分子  $-\text{CH}_2\text{O}$  得到  $m/z$  169.050 0  $[\text{M}-\text{H}-\text{Glu}-\text{CH}_2\text{O}]^-$ ; 此外, 准分子离子峰还可失去一分子  $-\text{CH}_2\text{O}$  得到  $m/z$  331.066 9  $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}]^-$ 。进一步通过与梓醇对照品的质谱行为进行比对后确定化合物 **11** 为梓醇。

负离子模式下化合物 **18** 的准分子离子峰  $m/z$  345.118 0  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 一方面失去一分子 Glu 得到  $m/z$  183.066 1  $[\text{M}-\text{H}-\text{Glu}]^-$ , 随后再失去一分子  $\text{H}_2\text{O}$  得到  $m/z$  165.055 2  $[\text{M}-\text{H}-\text{Glu}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 。另一方面准分子离子峰失去一分子  $\text{H}_2\text{O}$  得到  $m/z$  327.128 0  $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$ , 再失去一分子  $\text{H}_2\text{O}$  得到  $m/z$  309.108 9  $[\text{M}-\text{H}-2\text{H}_2\text{O}]^-$ , 与文献中桃叶珊瑚苷的质谱碎片一致<sup>[11]</sup>。脑震宁颗粒

中鉴定的环烯醚萜苷类化合物还包括地黄苷 A<sup>[11]</sup>、地黄苷 D<sup>[11]</sup>、单蜜力特苷<sup>[11]</sup>、京尼平苷<sup>[11]</sup>，该类成分均为负离子模式下鉴定。环烯醚萜苷类化合物裂解途径有一定的共性规律，大多会失去 H<sub>2</sub>O、-CH<sub>2</sub>O 等中性碎片，或是失去糖得到苷元后再失去 H<sub>2</sub>O、-CH<sub>2</sub>O 等。

**1.2 丁基苯酞类** 当归和川芎均含有丁基苯酞类化合物。在正离子模式下，化合物 **58**、**65** 具有相同的准分子离子峰  $m/z$  189.091 1 [M+H]<sup>+</sup>，保留时间分别为 16.26 和 17.98 min。在正离子二级质谱图中，化合物 **58** 准分子离子峰失去一分子 H<sub>2</sub>O 得到  $m/z$  171.080 4 [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>，再失去一分子 H<sub>2</sub>O，得到  $m/z$  153.069 5 [M+H-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>，准分子离子峰还可同时失去 H<sub>2</sub>O 和 CO 得到  $m/z$  143.085 6 [M+H-H<sub>2</sub>O-CO]<sup>+</sup>，另外还观察到  $m/z$  105.033 8 [M+H-C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O]<sup>+</sup> 的碎片峰；化合物 **65** 产生的碎片离子包括  $m/z$  153.069 9 [M+H-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、 $m/z$  143.085 6 [M+H-H<sub>2</sub>O-CO]<sup>+</sup>、 $m/z$  105.033 8 [M+H-C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O]<sup>+</sup>。通过和对照品的保留时间和质谱碎片相比对，结合文献<sup>[12, 13]</sup>报道确认化合物 **58**、**65** 分别为 *E*-丁烯基苯酞和 *Z*-丁烯基苯酞。

在正离子模式下，化合物 **66** 的保留时间为 18.12 min，准分子离子峰为  $m/z$  191.106 8 [M+H]<sup>+</sup>，在二级质谱中失去一分子 H<sub>2</sub>O 得到  $m/z$  173.096 1 [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>，失去一分子 CO 得到  $m/z$  163.111 5 [M+H-CO]<sup>+</sup>；化合物 **78** 的保留时间为 20.25 min，准分子离子峰为  $m/z$  191.106 7 [M+H]<sup>+</sup>，在二级质谱中失去一分子 H<sub>2</sub>O 得到  $m/z$  173.096 1 [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>，失去一分子 CO 得到  $m/z$  163.111 7 [M+H-CO]<sup>+</sup>；结合文献<sup>[12, 13]</sup>报道，推测保留时间较小的化合物 **66** 为 *E*-蒿本内酯，化合物 **78** 为 *Z*-蒿本内酯。此外，脑震宁颗粒中鉴定的丁基苯酞类化合物还包括 senkyunolide HI<sup>[12, 13]</sup>、butylphthalide<sup>[12, 13]</sup>、senkyunolide A<sup>[12, 13]</sup>，该类成分均为正离子模式下鉴定。丁基苯酞类化合物在正离子模式下一般会失去一分子 CO 形成四元环，进一步电子转移再失去一分子 H<sub>2</sub>O；或内酯环电子转移失去一分子 H<sub>2</sub>O，进一步电子转移再失去一分子 H<sub>2</sub>O。

**1.3 黄酮氧苷类** 在正离子模式下，化合物 **44** 的准分子离子峰为  $m/z$  581.186 8 [M+H]<sup>+</sup>，并通过  $m/z$  603.168 6 [M+Na]<sup>+</sup> 进一步确认其为准分子离子峰。在二级质谱中，准分子离子峰失去鼠李糖 (rhamnose, Rha) 得到  $m/z$  435.128 1 [M+H-Rha]<sup>+</sup>，进一步失去一分子 Glu 则得到二氢黄酮苷元，其  $m/z$  273.075 6 [M+H-Rha-Glu]<sup>+</sup>。该苷元可发生裂解得到  $m/z$  147.044 1，并进一步失去 CO 得到  $m/z$  119.049 3。在正离子模式下化合物 **48** 产生  $m/z$  611.197 7 [M+H]<sup>+</sup> 的准分子离

子峰和  $m/z$  633.179 6 [M+Na]<sup>+</sup>，准分子离子峰失去 3 分子 H<sub>2</sub>O 产生  $m/z$  557.158 6，同时裂解产生  $m/z$  465.139 1 [M+H-Rha]<sup>+</sup>，进一步失去一分子 Glu 得到  $m/z$  303.086 3 [M+H-Rha-Glu]<sup>+</sup>，柚皮苷和橙皮苷的质谱行为均与对照品一致。

在正离子模式下，化合物 **56** 的准分子离子峰为  $m/z$  595.202 1 [M+H]<sup>+</sup>，并找到  $m/z$  617.183 8 [M+Na]<sup>+</sup>，准分子离子峰失去 Rha 得到  $m/z$  449.144 2 [M+H-Rha]<sup>+</sup>，进一步失去 O 得到  $m/z$  433.148 9 [M+H-Rha-O]<sup>+</sup>，继续失去 H<sub>2</sub>O 得到  $m/z$  415.138 1 [M+H-Rha-O-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、 $m/z$  397.128 3 [M+H-Rha-O-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>；准分子离子峰失去一分子 Rha、一分子 Glu 得到  $m/z$  287.091 2 [M+H-Rha-Glu]<sup>+</sup>，与文献<sup>[14]</sup>报道的枸橼苷质谱裂解碎片一致。脑震宁中鉴定的黄酮氧苷类化合物还包括陈皮中的芸香柚皮苷<sup>[14]</sup>，炒酸枣仁中的当药黄素<sup>[15]</sup>。该类成分均为正离子模式下鉴定，质谱碎片主要是氧苷键断裂和脱水产生。

**1.4 黄酮碳苷类** 酸枣仁中含有斯皮诺素等黄酮碳苷类化合物。在负离子模式下化合物 **52** 产生  $m/z$  607.166 8 [M-H]<sup>-</sup> 准分子离子峰，失去一分子 Glu 得到  $m/z$  445.114 6 [M-H-Glu]<sup>-</sup>，继续失去一分子 H<sub>2</sub>O 得到  $m/z$  427.103 2 [M-H-Glu-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>，失去 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> 则产生  $m/z$  325.071 8 [M-H-Glu-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>]<sup>-</sup>。其质谱行为与斯皮诺素对照品一致。

在负离子模式下化合物 **41** 产生  $m/z$  593.151 2 [M-H]<sup>-</sup> 的准分子离子峰，失去一分子 H<sub>2</sub>O 得到  $m/z$  445.114 6 [M-H-H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>，失去 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> 产生  $m/z$  473.108 8 [M-H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>]<sup>-</sup>，失去两个 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> 产生  $m/z$  353.066 6 [M-H-2C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>]<sup>-</sup>，再失去一分子 CO 得到  $m/z$  325.071 3 [M-H-2C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>-CO]<sup>-</sup>，与黄酮碳苷的裂解途径相一致，参考文献<sup>[16]</sup>报道的裂解规律，可以推测化合物 **41** 为 vicenin II。在负离子模式下该类化合物的碳苷键难以断裂，首先出现丢失 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> 的碎片。

**1.5 单萜苷类** 牡丹皮中含有以芍药苷为代表的单萜苷类化合物。在负离子模式下化合物 **47** 产生准分子离子峰  $m/z$  479.155 6 [M-H]<sup>-</sup>、 $m/z$  525.161 1 [M+HCOO]<sup>-</sup>。准分子离子峰失去 CH<sub>2</sub>O 得到  $m/z$  449.145 4 [M-H-CH<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>，酯键断裂再脱水得到  $m/z$  327.108 9 [M-H-CH<sub>2</sub>O-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>]<sup>-</sup>，进一步脱去 C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub> 得到  $m/z$  165.054 9 [M-H-CH<sub>2</sub>O-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>]<sup>-</sup>。通过和对照品质谱数据比较，可以确定化合物 **47** 为芍药苷。

在负离子模式下化合物 **31** 产生准分子离子峰  $m/z$  495.150 6 [M-H]<sup>-</sup>，准分子离子峰失去 CH<sub>2</sub>O 得到  $m/z$  465.150 6 [M-H-CH<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>，苯甲酰酯键断裂同

时脱掉 1 分子  $\text{H}_2\text{O}$  得到  $m/z$  327.107 0 [ $\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ ] $^-$ , 最后再脱去  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$  得到  $m/z$  165.055 0 [ $\text{M}-\text{H}-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ ] $^-$ , 另外还有酯键断裂产生的  $m/z$  137.023 6。通过与文献报道的裂解碎片<sup>[17]</sup>比较推测化合物 **31** 为氧化芍药苷 (图 2)。通过分析该类化合物的质谱裂解规律, 从脑震宁中鉴定的该类成分还包括没食子酰芍药苷<sup>[17]</sup>、没食子酰芍药氧化苷<sup>[17]</sup>、苯甲酰芍药苷<sup>[17]</sup>、苯甲酰氧化芍药苷<sup>[17]</sup>、牡丹皮苷 C<sup>[17]</sup>, 该类成分均为负离子模式下鉴定。单萜苷类化合物在负离子模式下裂解途径相近, 通常是丢失  $-\text{CH}_2\text{O}$  后酯键或糖苷键断裂, 最后都会得到  $m/z$  165 的碎片峰。

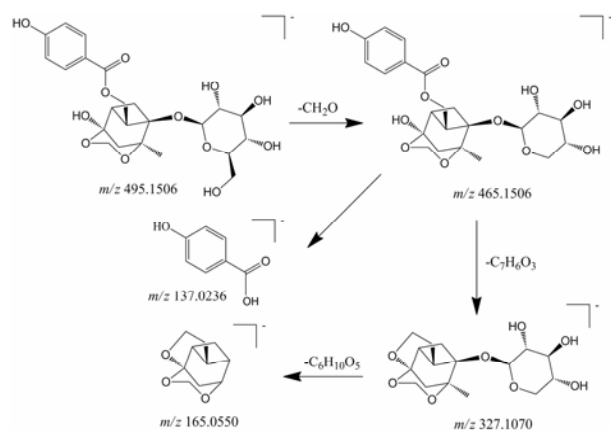


Figure 2 Fragmentation process of oxypaeoniflorin

**1.6 咖啡酰基奎尼酸类** 新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸互为同分异构体, 其分子式均为  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$ 。在负离子模式下均产生准分子离子峰  $m/z$  353.087 7 [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ , 保留时间分别为 4.41、7.05、7.52 min (化合物 **25**、**30**、**32**)。进一步分析二级质谱数据, 化合物 **25** 酯键断裂, 准分子离子峰失去  $\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_3$ , 得到  $m/z$  191.055 6 [ $\text{M}-\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_3$ ] $^-$ , 进一步失去一分子  $\text{H}_2\text{O}$ , 得到  $m/z$  173.045 0 [ $\text{M}-\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_3-\text{H}_2\text{O}$ ] $^-$ , 另外还有脱掉奎尼酸产生的  $m/z$  179.034 3 [ $\text{M}-\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_5$ ] $^-$  碎片峰, 而化合物 **30**、**32** 也产生相同的碎片峰, 与对照品和文献<sup>[18, 19]</sup>中报道的碎片峰相一致。通过与对照品保留时间对照, 可以确定化合物 **25**、**30**、**32** 分别为新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸。

**1.7 丹酚酸类** 丹酚酸类化合物是丹参的特征成分。在负离子模式下化合物 **68** 得到准分子离子峰  $m/z$  717.146 3 [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ , 分子离子峰进行电子转移, 失去  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$  得到  $m/z$  519.092 8 [ $\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$ ] $^-$ , 然后进一步裂解得到  $m/z$  339.050 5 [ $\text{M}-\text{H}-\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_9$ ] $^-$ 、 $m/z$  321.040 0 [ $\text{M}-\text{H}-\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ ] $^-$ 、 $m/z$  295.060 5 [ $\text{M}-\text{H}-$

$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$ ] $^-$ , 与文献<sup>[20]</sup>报道质谱碎片裂解途径相一致, 所以推测化合物 **68** 为丹酚酸 B (图 3)。

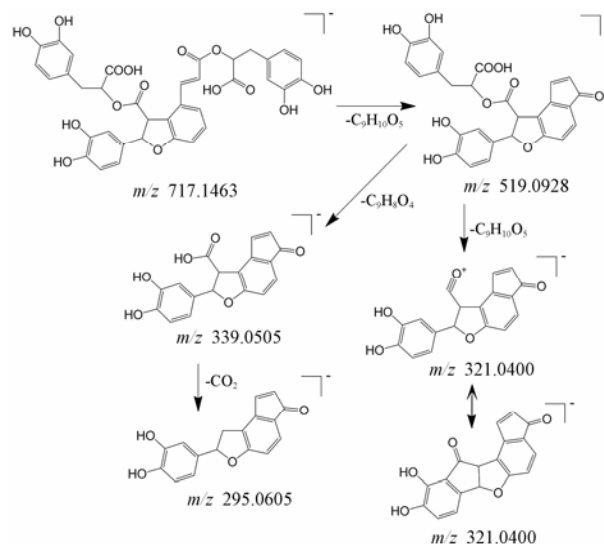


Figure 3 Fragmentation process of salvianolic acid B

在负离子模式下化合物 **65** 下产生  $m/z$  493.113 9 [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$  准分子离子峰, 可进一步裂解得到  $m/z$  313.071 5 [ $\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$ ] $^-$ , 或酯键断裂失去  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$  得到  $m/z$  295.061 1 [ $\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$ ] $^-$ , 然后再失去一分子  $\text{H}_2\text{O}$  得到  $m/z$  277.050 4 [ $\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}$ ] $^-$ , 参考文献<sup>[21]</sup>报道的裂解特征推测化合物 **65** 为丹酚酸 A。通过分析该类化合物的共性裂解特征, 从脑震宁颗粒中鉴定的丹酚酸类化合物还包括丹酚酸 C<sup>[21]</sup>、丹酚酸 D<sup>[21]</sup>、丹酚酸 E<sup>[21]</sup>、丹酚酸 F<sup>[21]</sup>、丹酚酸 H/I<sup>[21]</sup>, 该类成分均为负离子模式下鉴定。

**1.8 生物碱类** 在正离子模式下, 化合物 **32** 产生  $m/z$  286.143 6 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$  准分子离子峰, 二级质谱中产生碎片  $m/z$  269.117 0 [ $\text{M}+\text{H}-\text{NH}_3$ ] $^+$ 、 $m/z$  254.096 1 [ $\text{M}+\text{H}-\text{NH}_3-\text{CH}_3$ ] $^+$ 、 $m/z$  237.090 8 [ $\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3\text{O}-\text{H}_2\text{O}$ ] $^+$ , 参照文献报道的质谱碎片推测其为乌药碱<sup>[15]</sup>。化合物 **37** 在正离子模式下产生  $m/z$  342.170 1 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$  准分子离子峰, 二级质谱产生  $m/z$  311.127 0 [ $\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3\text{O}$ ] $^+$  和  $311.127 0$  [ $\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_6\text{N}$ ] $^+$ , 推测其为木兰花碱<sup>[19]</sup>。脑震宁中鉴定的生物碱类化合物还包括酸李碱<sup>[15]</sup>、*N*-glc-indoleacetic acid<sup>[15]</sup>、juzirine<sup>[15]</sup>、lotusine<sup>[15]</sup>, 这些成分均来源于酸枣仁, 且均在正离子模式下鉴定。

**1.9 其他类化合物** 通过与对照品比对保留时间和精确分子量还鉴定了酸枣仁皂苷 A、B, 由于酸枣仁皂苷类成分分子量大, 难以电离, 仅提取到酸枣仁皂苷 A、B 的准分子离子峰, 未检测到其碎片峰及其同类成分。

此外,脑震宁中还含有氨基酸、小分子有机酸等化合物,这些化合物的鉴定主要通过裂解碎片分析并结合文献对照完成。在负离子模式下化合物 **50** 产生准分子离子峰  $m/z$  193.050 1  $[M-H]^-$ ,裂解失去  $CH_3$  得到  $m/z$  178.026 5  $[M-H-CH_3]^-$ ,或失去一分子  $CO_2$  得到  $m/z$  149.060 0  $[M-H-CO_2]^-$ ,与对照品质谱行为相一致。脑震宁中鉴定的小分子有机酸类化合物还包括柠檬酸<sup>[11]</sup>、琥珀酸<sup>[22]</sup>、没食子酸<sup>[17]</sup>、香草酸<sup>[18]</sup>、原儿茶酸<sup>[21]</sup>、对香豆酸<sup>[18, 23]</sup>、对羟基苯乙酸<sup>[23]</sup>、原儿茶酸<sup>[21]</sup>和咖啡酸<sup>[21]</sup>,这些成分均在负离子模式下鉴定。

在正离子模式下,化合物 **13** 产生准分子离子峰  $m/z$  182.081 2  $[M+H]^+$ ,二级质谱中产生碎片  $m/z$  165.054 6  $[M+H-NH_3]^+$ 、 $m/z$  136.061 8  $[M-COOH]^+$ 、 $m/z$  119.049 3  $[M+H-NH_3-COOH]^+$ 和  $m/z$  107.049 7  $[M+H-NH_3-COOH-NH]^+$ ,通过参照文献报道的质谱碎片推测其为酪氨酸<sup>[22]</sup>。脑震宁中鉴定的氨基酸类化合物还包括亮氨酸<sup>[22]</sup>、苯丙氨酸<sup>[22]</sup>、色氨酸<sup>[22]</sup>、赖氨酸<sup>[22]</sup>、精氨酸<sup>[22]</sup>和谷氨酸<sup>[22]</sup>,均在正离子模式下鉴定。

## 2 Compound Discover 2.0 指认

将样品和空白溶剂的谱图导入 Compound Discover 2.0 中,设置预测化合物的分子组成为 C、H、O、N,并将化合物碎片匹配值设置在 50% 以上,通过 CD 数据库进行自动结构指认,鉴定出 93 个可能的结构,手动去除非天然产物、未提取到准分子离子

峰的化合物、匹配度低于 70% 且未在二级质谱图中找到碎片的化合物后,共指认 53 个化合物,其中包括上述手动鉴定的化合物 12 个,新鉴定化合物 41 个,主要包括隐丹参酮、柠檬苦素、neodiosmin、prunin 等次级代谢物,以及葡萄糖醛酸、甘露糖、棉子糖等初级代谢物。

## 3 药材中特征化合物的鉴定

通过 TCMSP 数据库 (<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>) 进一步查询单味药材中含有的特征成分,并从中筛选出上述裂解规律分析和 CD 自动鉴定过程中均未得到鉴定的成分,分别列出分子式,在 Xcalibur 3.2 软件中提取这些化合物可能产生的准分子离子峰,共有 14 个成分检测到准分子离子峰,但无二级碎片或仅有少量裂解途径未知的碎片,包括水苏糖、二氢梓醇、槲皮素等。

综上,采用上述指认策略从脑震宁颗粒中共指认出 161 个化合物,其中负离子模式下鉴定成分 81 个(表 1<sup>[7, 11, 12, 15-19, 21-25]</sup>),正离子模式下鉴定成分 80 个(表 2<sup>[12-15, 17, 19, 22, 26]</sup>)。按照结构鉴定的可靠性,将定性分析结果由高到低分为 4 个不同层次。a 为与对照品比对鉴定,包括 16 个化合物;b 为分析精确分子质量、裂解碎片结合文献数据对照鉴定,包括 106 个化合物;c 为 Compound Discover 2.0 自动鉴定,包括 54 个化合物,见表 3;d 为仅检测到准分子离子峰的药材特征性成分,包括 14 个化合物。

**Table 1** Chemical constituents identified in Naozhenning granule by UHPLC-MS in negative mode. D: Rehmanniae Radix; G: Radix Angelicae Sinensis; C: *Citrus reticulata*; S: Radix Salviae Miltiorrhizae; L: *Pheretimaaspergillum*; M: Cortex Moutan; Z: Ziziphi Spinosae Semen; X: Chuanxiong Rhizoma; R: Bamboo bark; B: Seed of oriental arborvitae; F: *Poriacocos*. a: Identified by comparing with the standards; b: Identified by comparing with the MS data from reference; c: Identified by Compound Discover 2.0; d: Identified by pseudo molecular ion peaks. HA: *p*-Hydroxyphenyllactic acid; DHA: *DL*-4-Hydroxyphenyllactic acid; HOG: Hesperetin-7-*O*-glucoside; CMGC: Cortex Moutan glycosides C; RI: Rehmannioside/Iso-rehmannioside; BOHD: 4-*H*-1-Benzopyran-4-one, 5-hydroxy-2-(3-hydroxy-4,5-dimethoxyphenyl)-7,8-dimethoxy; ATPLI: Cyclo (*L*-alanyl-*L*-threonylglycyl-*L*-threonyl-*L*-phenylalanyl-*L*-leucyl-*L*-isoleucyl); GSPLLPT: Cyclo (glycyl-*L*-seryl-prolyl-*L*-leucyl-*L*-leucyl-*L*-prolyl-*L*-tyrosyl)

No.	$t_R$ /min	Identification	Molecular formula	$[M-H]^-$ / $[M+HCOO]^-$	Error /ppm	Fragmentaion	Source
1 <sup>b</sup>	1.19	Rehmannioside D <sup>[11]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>42</sub> O <sub>10</sub>	685.218 2/-	-0.6	667.215 9, 523.161 2, 179.055 4, 361.110 4	D
2 <sup>c</sup>	1.23	<i>D</i> -Glucosamine	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>5</sub>	178.071 4/-	2.8	160.060 7, 142.050 1, 124.039 5	G, M, Z, C, X
3 <sup>d</sup>	1.26	Stachyose	C <sub>24</sub> H <sub>42</sub> O <sub>21</sub>	665.214 1/-	0.9	545.175 5, 503.159 2, 485.149 7	D
4 <sup>c</sup>	1.27	<i>D</i> -Raffinose	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	503.161 5/-	1.8	485.162 6, 443.140 3, 383.119 4, 341.108 5, 323.098 6	D, S
5 <sup>c</sup>	1.29	<i>D</i> -(+)-Mannose	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	179.055 5/-	2.8	161.044 8, 131.033 8, 113.023 7, 89.023 4	All
6 <sup>c</sup>	1.32	Gluconic acid	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	195.050 5/-	3.0	177.039 7, 159.029 2, 141.018 5, 129.018 5	D, S, Z, M, G, X
7 <sup>c</sup>	1.34	<i>D</i> -(-)-Quinic acid	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	191.055 5/-	2.6	173.044 8, 155.034 1, 147.029 3, 137.023 4	G, S, X, M, C
8 <sup>d</sup>	1.35	Sucrose	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	341.108 6/-	2.3	179.055 5, 161.044 9, 143.034 1, 89.023 4	All
9 <sup>c</sup>	1.69	2-Furoic acid	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	111.007 8/-	1.8	83.012 9, 67.017 9	All
10 <sup>b,c</sup>	1.71	Citric acid <sup>[11]</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	191.019 1/-	-0.5	173.008 4, 129.018 4, 111.007 8, 147.029 0	All
11 <sup>a,b</sup>	1.78	Catalpol <sup>[11]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	361.113 9/-	2.8	199.060 5, 169.050 0, 331.066 9	D
12 <sup>b,c</sup>	1.86	Succinic acid <sup>[22]</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	117.018 4/-	1.7	99.007 8, 73.028 5, 55.017 9	All

							Continued
No.	$t_R$ /min	Identification	Molecular formula	$[M-H]^-$ / $[M+HCOO]^-$	Error /ppm	Fragmentaion	Source
13 <sup>b</sup>	1.89	Galloyl-glucose <sup>[17]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>10</sub>	331.066 7/-	2.1	271.045 8, 211.024 3, 191.019 1, 169.013 5	M
14 <sup>b</sup>	2.03	Rehmannioside A <sup>[11]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	523.166 7/-	1.9	505.167 3, 361.131 3, 323.096 8, 199.060 8	D
15 <sup>a,b,c</sup>	2.14	Gallic acid <sup>[17]</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	169.013 5/-	2.4	125.023 6, 97.028 4	Z, M
16 <sup>b</sup>	2.25	Danmelittoside <sup>[11]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	361.114 0/-	3.0	199.060 8, 179.055 6, 161.044 9	D
17 <sup>b</sup>	2.44	Peony glucoside B <sup>[17]</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>14</sub>	463.109 1/-	1.9	463.109 1, 403.088 0, 373.077 7, 343.066 9, 301.056 4	M
18 <sup>b</sup>	2.88	Aucubin <sup>[11]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	345.118 7/-	2.0	327.128 0, 309.108 9, 183.066 1, 165.055 2	D
19 <sup>b</sup>	3.06	Vanillic acid <sup>[18]</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	167.034 2/-	1.8	152.010 8, 137.023 0, 139.039 3, 123.044 3	X, Z, S, G, B
20 <sup>b</sup>	3.06	Pseudolaroside B <sup>[15]</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	329.087 6/-	2.7	167.034 2, 152.010 7	Z, B, R
21 <sup>b</sup>	3.10	Tanshinol <sup>[21]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> O <sub>5</sub>	197.045 0/-	3.0	179.034 4, 151.039 4, 135.044 3, 123.044 2	S
22 <sup>b</sup>	3.13	HA <sup>[23]</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	151.039 3/-	2.0	133.028 5, 123.044 3, 107.049 3, 93.033 7	R, S, X, G, B
23 <sup>d</sup>	3.43	Dihydrocatalpol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	363.128 8/-	0.8		D
24 <sup>b</sup>	3.51	Protocatechuic acid <sup>[21]</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	153.018 6/-	2.6	141.911 7, 109.028 6, 123.901 0, 110.031 9	S, X, G, C, F, B, R, L
25 <sup>a,b</sup>	4.41	Neochlorogenic acid <sup>[24]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	353.087 7/-	2.8	353.087 6, 191.055 6, 179.034 3, 173.045 0	Z, X, G
26 <sup>c</sup>	4.99	DHA	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	181.050 0/-	2.8	163.039 3, 135.044 3	S, Z
27 <sup>d</sup>	5.22	Leonuride	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	347.134 7/-	3.2		D
28 <sup>b</sup>	5.62	Protocatechuic aldehyde <sup>[21]</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	137.023 6/-	2.2	119.013 0, 109.028 5, 108.020 6	All
29 <sup>b</sup>	6.79	Geniposide <sup>[11]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	387.129 5/-	2.3	225.076 0	D, R
30 <sup>a,b</sup>	7.05	Chlorogenic acid <sup>[18,24]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	353.087 7/-	2.8	353.087 6, 191.055 7, 179.034 0, 173.045 4	X, Z, G, C
31 <sup>b</sup>	7.20	Oxypaeoniflorin <sup>[17]</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>12</sub>	495.150 6/-	1.8	465.141 1, 333.098 0, 165.055 0, 137.023 6	M
32 <sup>a,b</sup>	7.52	Cryptochlorogenic acid <sup>[24]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	353.087 7/-	2.8	353.087 4, 191.055 6, 179.034 3, 173.044 8	X, G
33 <sup>a,b,c</sup>	7.52	Caffeic acid <sup>[21]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	179.034 3/-	2.2	143.864 7, 135.044 3, 104.927 0, 89.023 4	S, D, C, Z, R
34 <sup>c</sup>	7.55	Isophthalic acid	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	165.018 6/-	2.4	121.028 6	G, Z, X, C
35 <sup>b,c</sup>	7.82	Benzoic acid <sup>[18]</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	121.028 6/-	1.6	93.033 7, 77.038 5	Z, M, C, F, B, Z, L
36 <sup>d</sup>	7.87	Ajugoside	C <sub>17</sub> H <sub>25</sub> O <sub>10</sub>	389.144 8/-	1.5		D
37 <sup>c</sup>	7.97	6-Methoxysalicylic acid	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	167.034 3/-	2.4	123.044 3, 121.028 9	G, X, C
38 <sup>c</sup>	8.80	2-Hydroxycaproic acid	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	131.070 5/-	1.5	85.064 8	X, G
39 <sup>b</sup>	8.85	Paeonolide <sup>[17]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>12</sub>	-/505.159 9	1.4	459.150 8, 293.087 8, 165.055 0	M
40 <sup>c</sup>	8.88	Apocynin	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	165.054 4/-	-1.2		M
41 <sup>b</sup>	8.89	Vicenin II <sup>[16]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	593.151 2/-	1.8	503.120 0, 473.108 8, 413.087 1, 383.077 1, 353.066 6	S
42 <sup>b</sup>	9.26	Paeonolide <sup>[17]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>12</sub>	-/505.154 4	-1.6	459.150 9, 293.088 0, 165.055 0, 233.066 1	M
43 <sup>b</sup>	9.36	Galloyl-oxypaeoniflorin <sup>[17]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	647.161 9/-	1.8	509.128 8, 399.093 1, 313.056 7, 271.045 2, 211.024 3	M
44 <sup>b</sup>	9.44	<i>p</i> -Coumaric acid <sup>[18, 23]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	163.039 3/-	1.8	162.838 4, 159.859 2, 145.861 5, 123.945 5, 119.049 3	R, Z, S, G, C, R, L
45 <sup>d</sup>	9.50	Purpureaside C	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>20</sub>	785.250 4/-	0.6		D
46 <sup>b</sup>	9.81	Salvianolic acid F <sup>[21]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	313.071 9/-	4.1	269.081 7, 159.044 4	S
47 <sup>a,b</sup>	9.95	Paeoniflorin <sup>[17]</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>11</sub>	-/525.161 1	1.5	525.161 2, 479.155 6, 449.154 5, 327.108 9, 165.054 9	M
48 <sup>c</sup>	10.21	3-Phenyllactic acid	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	165.055 0/-	2.4	147.044 4, 127.869 9, 119.049 3, 101.038 8	Z, D, M, X, C
49 <sup>d</sup>	10.42	Jionoside A	C <sub>36</sub> H <sub>48</sub> O <sub>20</sub>	799.266 2/-	0.8		D
50 <sup>a,b,c</sup>	10.54	Ferulic acid <sup>[12, 24]</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	193.050 1/-	3.1	193.050 1, 178.026 5, 149.060 0, 134.036 5	G, X, S, G, C
51 <sup>b</sup>	10.65	Isoferulic acid <sup>[12]</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	193.050 3/-	4.1	178.026 5, 149.060 1, 134.036 5	G, X, S, G, C
52 <sup>a,b</sup>	10.72	Spinosin <sup>[19]</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	607.166 8/-	1.8	607.167 0, 487.126 2, 445.114 6, 427.103 2, 325.071 8	Z
53 <sup>b</sup>	10.84	Suffruticoside B/D <sup>[17]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	611.161 9/-	2.1	445.098 5, 343.067 7, 169.013 6	M
54 <sup>b</sup>	11.35	Acteoside <sup>[11]</sup>	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	623.198 0/-	1.6	461.166 5, 161.023 7	D
55 <sup>b</sup>	11.36	Galloyl-paeoniflorin <sup>[17]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	631.166 9/-	1.9	509.131 3, 479.119 4, 399.092 4, 313.056 5, 169.013 6	M
56 <sup>b</sup>	11.65	Salvianolic acid H/I <sup>[21]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	537.101 2/-	-2.8	339.050 9, 295.061 1	S
57 <sup>d</sup>	11.68	Jionoside B	C <sub>37</sub> H <sub>50</sub> O <sub>20</sub>	813.282 5/-	1.7		D
58 <sup>b</sup>	11.72	Rehmaionoside A/B <sup>[11]</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>8</sub>	389.218 2/-	3.1	435.223 44	D
59 <sup>b</sup>	11.75	Salvianolic acid D <sup>[21]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	417.082 7/-	2.6	417.082 8, 197.045 1, 175.039 4, 157.028 7	S
60 <sup>b</sup>	11.90	Isoacteoside <sup>[11]</sup>	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	623.197 5/-	0.8	461.166 8, 161.023 7	D
61 <sup>c</sup>	12.35	Salicylic acid	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	137.023 6/-	2.2	109.028 4, 93.033 6	G, D, M, X, C

							Continued
No.	$t_R$ /min	Identification	Molecular formula	$[M-H]^-$ / $[M+HCOO]^-$	Error /ppm	Fragmentaion	Source
62 <sup>b</sup>	12.45	Rehmannia bitter glycosides <sup>[11]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub>	345.155 7/-	3.8	183.102 0, 179.055 5, 165.091 4	D
63 <sup>b</sup>	12.60	Rosmarinic acid <sup>[21]</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	359.077 0/-	2.5	359.077 5, 197.045 0, 179.034 4, 161.023 7, 133.028 7	S
64 <sup>c</sup>	12.71	Azelaic acid	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	187.097 0/-	2.7	169.086 3, 125.096 3	All
65 <sup>b</sup>	12.71	Salvianolic acid A <sup>[21]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	493.113 9/-	2.0	493.114 0, 313.071 5, 295.061 1, 185.023 9	S
66 <sup>b</sup>	12.74	Lithospermic acid <sup>[21]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	$[M+M-H]^-$ : 1 075.216 9	2.8	537.103 6, 340.898 9, 295.060 6	S
67 <sup>b</sup>	13.15	HOG <sup>[17]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	463.124 6/-	2.4	301.071 6, 271.064 5, 229.024 9	C
68 <sup>b,c</sup>	13.30	Salvianolic acid B <sup>[21]</sup>	C <sub>36</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	717.146 3/-	1.8	519.092 8, 339.050 5, 321.040 0, 295.060 5, 279.029 6	S
69 <sup>b</sup>	13.55	BOHD <sup>[25]</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	373.092 4/-	1.6	345.098 5, 358.069 5, 343.082 4, 313.072 8	C
70 <sup>b</sup>	13.78	CMGC <sup>[17]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>32</sub> O <sub>13</sub>	599.176 9/-	1.7	551.152 2, 477.139 7, 447.129 9, 431.135 5, 281.066 7	M
71 <sup>b</sup>	13.92	Salvianolic acid E/ Isosalvianolic acid B <sup>[21]</sup>	C <sub>36</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	717.146 1/-	1.5	717.145 8, 519.093 3, 339.050 9, 321.040 5, 295.061 2, 279.029 8	S
72 <sup>b</sup>	14.15	Salvianolic acid C <sup>[21]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	491.098 4/-	2.2	311.056 1, 293.045 7, 265.050 6	S
73 <sup>b</sup>	14.45	Benzoyloxypaeoniflorin <sup>[17]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>32</sub> O <sub>13</sub>	599.176 9/-	1.7	569.164 7, 477.138 5, 137.023 6, 121.028 6, 165.055 0	M
74 <sup>c</sup>	14.83	3- <i>tert</i> -Butyladipic acid	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	201.112 8/-	3.5	183.102 1, 157.122 6, 139.112 1	All
75 <sup>b</sup>	14.89	RI <sup>[11]</sup>	C <sub>31</sub> H <sub>40</sub> O <sub>15</sub>	651.229 6/-	2.0	475.183 9, 193.050 3, 175.039 4	D
76 <sup>b</sup>	16.35	GSPLLPT <sup>[25]</sup>	C <sub>36</sub> H <sub>53</sub> N <sub>7</sub> O <sub>9</sub>	726.382 9/-	1.1	726.383 8, 696.372 0, 697.378 7, 590.330 5	C
77 <sup>b</sup>	16.50	Benzoyl paeoniflorin <sup>[17]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>32</sub> O <sub>12</sub>	-/629.188 0	2.4	583.182 3, 553.171 5, 431.135 3, 165.055 1	M
78 <sup>b</sup>	17.78	ATTPLI <sup>[25]</sup>	C <sub>34</sub> H <sub>53</sub> N <sub>7</sub> O <sub>9</sub>	702.383 0/-	1.3	702.381 3, 658.356 0, 615.333 9, 614.330 6	C
79 <sup>a,b</sup>	17.85	Jujuboside A <sup>[7]</sup>	C <sub>58</sub> H <sub>94</sub> O <sub>26</sub>	-/1 251.601 1	0.6		Z
80 <sup>a,b</sup>	18.36	Jujuboside B <sup>[7]</sup>	C <sub>52</sub> H <sub>84</sub> O <sub>21</sub>	-/1 089.547 5	-0.1		Z
81 <sup>c</sup>	20.48	$\alpha$ -Estradiol	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	271.170 2/-	3.7		S

**Table 2** Chemical constituents identified in Naozhenning granule by UHPLC-MS in positive mode. a: Identified by comparing with the standards; b: Identified by comparing with the MS data from reference; c: Identified by Compound Discover 2.0; d: Identified by pseudo molecular ion peaks. DF: *N*-(2,4-Dimethylphenyl) formamide; ANDA: 9-Amino-1,3,9-nonanedicarboxylic acid; GHIA: 3 *S*-*glc*-3-hydroxy-indoleacetic acid; AEOA: (*S*)-2-[(benzyloxy)carbonyl]amino-5-ethoxy-5-oxopentanoic acid; GHIA: 3 *R*-*N*-*glc*-3-hydroxy-indoleacetic acid; ODDA: 9-Oxo-10(*E*),12(*E*)-octadecadienoic acid

No.	$t_R$ /min	Identification	Molecular formula	$[M+H]^+$ / $[M+Na]^+$	Error /ppm	Fragmentaion	Source
1 <sup>b</sup>	1.21	Lysine <sup>[22]</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	147.112 9/-	0.7	130.086 5	All
2 <sup>b</sup>	1.24	Arginine <sup>[22]</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	175.119 0/-	0.6	116.070 8	All
3 <sup>c</sup>	1.26	Choline	C <sub>5</sub> H <sub>13</sub> NO	104.107 3/-	2.9	87.044 4, 69.034 0	All
4 <sup>c</sup>	1.32	Proline	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	116.070 8/-	1.7	98.984 4, 70.065 7	All
5 <sup>b</sup>	1.34	Glutamate <sup>[22]</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	148.060 4/-	0	135.050 0	All
6 <sup>c</sup>	1.34	<i>DL</i> -Stachydrine	C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	144.101 9/-	0	102.150 0, 84.081 2	All
7 <sup>c</sup>	1.42	DF	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO	150.091 4/-	0.6	135.067 9, 132.080 8, 117.057 8	G, S, D, X, C
8 <sup>c</sup>	1.67	Phenylephrine	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	168.102 0/-	1.2	150.091 5	
9 <sup>c</sup>	1.68	<i>L</i> -Pyroglutamic acid	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	130.050 1/-	2.3	102.055 3, 84.044 9	All
10 <sup>b</sup>	1.70	Adenosine <sup>[22]</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	268.104 0/-	0	136.061 8, 119.035 6	All
11 <sup>b</sup>	1.70	Hypoxanthine <sup>[22]</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O	137.045 9/-	0.7	119.035 7, 110.035 1	L, S, X, R
12 <sup>c</sup>	1.71	<i>L</i> -Tyrosine	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	182.081 3/-	0.5	165.054 6, 147.044 0, 136.075 7	All
13 <sup>b</sup>	1.74	Tyrosine <sup>[22]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	182.081 2/-	0	165.054 6, 136.075 7, 119.049 3, 107.049 7, 95.049 6	All
14 <sup>b</sup>	1.77	Guanine <sup>[22]</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> O	152.056 8/-	0.6	135.030 2, 110.035 3, 55.029 9	All
15 <sup>b</sup>	1.91	Glutaryl carnitine <sup>[22]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>6</sub>	276.144 0/-	-0.7	258.133 5, 230.138 6, 212.127 9, 170.117 8, 144.101 9	All
16 <sup>b</sup>	2.05	ANDA <sup>[22]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>6</sub>	276.143 9/-	-1.0	258.133 5, 230.138 6, 212.128 2, 170.117 3, 161.068 3	All
17 <sup>b,c</sup>	2.13	<i>L</i> -Norleucine <sup>[22]</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	132.101 9/-	0	86.096 9, 69.070 4	All
18 <sup>c</sup>	2.10	Pyrogallol	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	127.039 1/-	0.8	109.028 6	All
19 <sup>b</sup>	2.83	GHIA <sup>[15]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>9</sub>	370.113 8/-	1.4	352.100 6, 308.113 1, 290.101 8, 272.114 3, 232.071 6	Z
20 <sup>b,c</sup>	2.94	<i>L</i> -Phenylalanine <sup>[22]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	166.086 2/-	-1.2	149.059 5, 120.081 0, 103.054 5, 91.054 4, 77.039 2	All

							Continued
No.	$t_R$ / min	Identification	Molecular formula	$[M+H]^+$ / $[M+Na]^+$	Error /ppm	Fragmentaion	Source
21 <sup>c</sup>	3.01	5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	127.039 1/-	0.8	109.028 7, 99.044 3	All
22 <sup>b</sup>	3.02	Fructose phenylalanine <sup>[22]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>7</sub>	328.138 9/-	-0.6	310.128 3, 292.117 6, 282.134 2, 264.122 7, 178.086 1	L, S, D, M, X, C, R
23 <sup>b</sup>	3.02	AEOA <sup>[22]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>6</sub>	310.127 7/-	-2.6	292.117 7, 264.122 9, 178.086 1, 166.086 2	L, S, D, X, G
24 <sup>c</sup>	3.05	Isovanillic acid	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	169.049 5/-	0		X, Z, S, G, B
25 <sup>b</sup>	3.08	GHIA <sup>[15]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>9</sub>	370.113 0/-	-0.8	352.100 7, 308.112 9, 290.100 2, 272.112 6, 208.060 5	Z
26 <sup>b,c</sup>	5.39	L-Tryptophan <sup>[22]</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	205.097 5/-	2.0	188.070 6, 159.091 7, 132.080 7, 130.065 1, 118.065 3	L, Z, S, M, X, G, C
27 <sup>c</sup>	5.62	2,5-Dihydroxybenzaldehyde	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	139.039 1/-	0.7	121.028 6, 111.044 3, 102.948 4	All
28 <sup>b</sup>	5.85	N-Glc-indoleaceticacid <sup>[15]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>8</sub>	354.118 3/-	0	188.070 6, 174.054 9, 146.060 2, 128.049 6	Z
29 <sup>b</sup>	6.75	6-Glc-coclaurine <sup>[15]</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>8</sub>	448.196 3/-	-0.7	286.143 7, 269.117 0, 237.090 8, 219.081 4, 209.095 9	Z
30 <sup>b</sup>	6.81	N-Glc-indoleaceticacid <sup>[15]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>8</sub>	354.118 3/-	0	188.070 6, 146.060 1, 128.049 7	Z
31 <sup>c</sup>	7.72	6-Methylquinoline	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> N	144.080 9/-	0.7	128.950 9, 126.955 2	Z
32 <sup>b</sup>	8.64	Coclaurine <sup>[15]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>	286.143 6/-	-0.7	269.117 0, 254.094 1, 237.090 8, 219.080 6, 209.096 1	Z
33 <sup>c</sup>	8.67	Morphine	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>	286.143 6/-	-0.7	269.117 0, 254.094 1, 237.090 8, 209.096 1	Z
34 <sup>b</sup>	8.86	Juzirine <sup>[15]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	282.112 5/-	0	238.038 7, 188.070 8	Z
35 <sup>b</sup>	8.90	Meloside A <sup>[15]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	595.165 3/-	-0.7	379.080 8, 367.084 0, 337.070 6, 313.071 5, 283.061 0	Z
36 <sup>b</sup>	9.20	Zizyphusine <sup>[15]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	[M] <sup>+</sup> : 342.169 9	-0.3	297.112 0, 282.088 6, 265.085 8, 237.090 9, 222.067 4	Z, B
37 <sup>b</sup>	9.27	Magnoflorine <sup>[19]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	342.170 1/-	0.3	342.169 9, 311.127 0, 299.127 7, 297.112 0, 282.088 6	Z, B
38 <sup>c</sup>	9.56	Naringenin	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	273.075 7/-	0	171.028 7, 153.018 3, 147.044 1, 119.049 3	C
39 <sup>b</sup>	10.11	Lotusine <sup>[15]</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	[M] <sup>+</sup> : 314.175 0	-0.3	237.091 6, 209.096 3, 165.069 9, 137.059 8, 107.049 5	Z
40 <sup>b</sup>	10.44	Camelliaside B <sup>[15]</sup>	C <sub>32</sub> H <sub>38</sub> O <sub>19</sub>	727.208 3/-	0.4	595.163 0, 449.114 4, 287.054 7	Z
41 <sup>d</sup>	10.59	Quercetin	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	303.049 9/-	0		M
42 <sup>c</sup>	10.69	Neodiosmin	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	609.180 8/-	0.8	591.166 0, 447.128 3, 327.086 1, 285.075 3	Z
43 <sup>b</sup>	10.81	Senkyunolide H/I <sup>[12, 13]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	225.111 8/-	-1.3	207.101 8, 189.091 2, 164.042 3, 161.096 1	G, X
44 <sup>a,b,c</sup>	11.85	Naringin <sup>[14]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	581.186 8/ 603.168 4	0.7/ 0.3	435.128 1, 401.123 0, 383.111 7, 273.075 6	C
45 <sup>c</sup>	11.85	Prunin	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	435.128 5/-	0	399.107 1, 273.075 7, 147.044 1, 119.019 2	C
46 <sup>d</sup>	11.95	Periolyrine	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	265.097 3/-	0.7		X
47 <sup>d</sup>	12.32	Senkyunolide-N	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	227.127 7/-	0		X
48 <sup>a,b,c</sup>	12.62	Hesperidin <sup>[14]</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	611.197 7/ 633.179 6	1.1/ 1.1	557.158 6, 465.139 1, 449.144 4, 303.086 3, 177.054 6, 151.075 1	C
49 <sup>c</sup>	12.62	Hesperetin	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	303.086 3/-	0	177.054 6, 153.018 2	C
50 <sup>c</sup>	12.65	Obacuoic acid	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> O <sub>8</sub>	473.217 3/-	0.6	455.205 1, 427.211 5, 413.194 5, 395.183 9	C
51 <sup>a,b</sup>	12.69	Swertisin <sup>[15]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	447.130 8/-	4.9	411.107 0, 327.085 9, 297.075 7	Z
52 <sup>c</sup>	13.31	1,4-Dimethoxyanthraquinone	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	269.080 7/-	-0.4		S
53 <sup>b</sup>	13.68	Senkyunolide H/I <sup>[12, 13]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	225.112 0/-	-0.4	207.101 7, 164.042 3, 161.096 1, 179.106 2	G, X
54 <sup>b</sup>	13.94	Mucronine J <sup>[15]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>40</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	485.311 7/-	-1.0	221.080 6, 207.065 4, 114.124 9	Z
55 <sup>d</sup>	14.82	6'-p-coumaroylspinosin	C <sub>38</sub> H <sub>40</sub> O <sub>17</sub>	769.230 8/-	-3.9		Z
56 <sup>b</sup>	15.12	Poncirin <sup>[14]</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>14</sub>	595.202 1/ 617.183 8	0	433.148 9, 415.138 1, 397.128 3, 353.100 9	C
57 <sup>c</sup>	15.13	Sakuranetin	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	287.091 1/-	-1.0	171.028 6, 161.059 6, 153.018 1	C
58 <sup>a,b</sup>	16.26	E-Butylidenephthalide <sup>[12, 13]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	189.091 1/-	0.5	189.091 0, 171.080 4, 143.085 6, 105.033 8, 153.069 5	X, G
59 <sup>b</sup>	16.58	Narirutin <sup>[13]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	581.186 5/ 603.168 4	0	419.133 5, 404.110 1, 389.086 5, 371.076 2	C
60 <sup>d</sup>	16.92	Sanjoinine A	C <sub>31</sub> H <sub>42</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	535.327 8/-	0		Z
61 <sup>b</sup>	17.21	Paeonol <sup>[17]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	167.030 3/-	0	167.030 3, 149.059 8	M, X, S, G
62 <sup>b</sup>	17.72	Sinensetin/Isosinensetin <sup>[14]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	373.128 2/-	0	373.128 0, 358.104 0, 343.081 2, 328.058 8, 313.069 9	C
63 <sup>d</sup>	17.76	Jioglutin A	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> ClO <sub>5</sub>	251.068 1/-	0		D
64 <sup>c</sup>	17.87	ODDA	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	295.226 5/-	-0.7	277.216 1, 259.204 9	All

							Continued
No.	$t_R$ / min	Identification	Molecular formula	$[M+H]^+$ / $[M+Na]^+$	Error /ppm	Fragmentaion	Source
65 <sup>a,b</sup>	17.98	Z-Butylideneephthalide <sup>[12,13]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	189.091 1/-	0.5	189.090 9, 153.069 9, 143.085 6, 105.033 8	X, G
66 <sup>b</sup>	18.12	E-Ligustilide <sup>[12,13]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	191.106 8/-	0.5	191.106 3, 173.096 1, 163.111 5	X, G
67 <sup>b</sup>	18.24	Butylphthalide <sup>[12]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	191.106 3/-	-2.1	173.096 1, 145.101 1, 117.069 7	X, G
68 <sup>b</sup>	18.34	Sinensetin/Isosinensetin <sup>[14]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	373.128 3/-	0.3	358.103 7, 343.081 0, 328.056 8, 313.070 4, 315.085 9	C
69 <sup>b</sup>	18.39	5,6,7,4'- Tetramethoxyflavone <sup>[14]</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	343.117 6/-	0	328.094 1, 313.070 6, 285.075 6, 153.043 6, 181.012 9	C
70 <sup>c</sup>	18.42	Limonin	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>8</sub>	471.201 4/-	0.2	471.201 3, 453.190 2, 425.196 0, 367.191 9	C
71 <sup>b</sup>	18.74	3,5,6,7,3',4'- Hexamethoxyflavone <sup>[14]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	403.138 7/ 425.120 5	0/ -0.5	388.112 9, 373.091 7, 358.068 1, 343.043 2, 327.085 8, 165.055 0	C
72 <sup>b,c</sup>	18.93	Nobiletin <sup>[14]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	403.139 0/ 425.120 8	0.7/ -0.2	403.138 7, 388.115 1, 373.091 8, 358.068 3, 343.044 7, 327.086 4, 165.054 7, 345.097 0	C
73 <sup>b</sup>	18.97	5,6,7,4'- Tetramethoxybaicalein <sup>[14]</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	343.117 6/-	0	328.093 8, 313.070 4, 285.075 9, 282.088 4, 327.085 8	C
74 <sup>d</sup>	19.11	Sanjoinine B	C <sub>30</sub> H <sub>40</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	521.312 0/-	-0.4		Z
75 <sup>b</sup>	19.47	Senkyunolide A <sup>[12,13]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	193.122 5/-	1.0	175.111 7, 147.116 9, 137.059 8, 119.085 7	G, X
76 <sup>b,c</sup>	19.47	Tangeritin	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	373.128 4/-	0.5	358.104 3, 343.081 1, 328.057 9, 313.071 4, 315.085 1, 299.055 1, 271.060 2, 211.023 4	C
77 <sup>b</sup>	19.96	Linolenic acid <sup>[22,26]</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	279.231 6/-	-0.7	149.023 3, 137.132 4, 135.116 4, 123.116 9, 121.028 5	L, Z
78 <sup>b</sup>	20.25	Z-Ligustilide <sup>[12,13]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	191.106 7/-	0	191.106 6, 173.096 1, 163.111 7	X, G
79 <sup>c</sup>	20.58	1-Tetradecylamine	C <sub>14</sub> H <sub>31</sub> N	214.252 9/-	0	195.535 0, 171.091 8, 149.940 3	B
80 <sup>c</sup>	21.08	Cryptotanshinone	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	297.148 7/-	0.7	297.148 5, 279.137 9, 264.112 7, 251.142 9	S

**Table 3** The mz Cloud best matches of chemical constituents identified by Compound Discover 2.0

Negative mode				Positive mode					
No.	Best match/%	No.	Best match/%	No.	Best match/%	No.	Best match/%	No.	Best match/%
2	94.5	4	73.9	3	90.5	4	90.0	6	99.0
5	65.8	6	89.8	7	65.8	8	88.9	9	86.8
7	90.9	9	86.0	12	84.1	17	75.7	18	78.4
10	79.8	12	72.9	20	88.4	21	85.2	24	83.8
15	84.9	26	63.2	26	71.2	27	88.9	31	74.1
33	83.6	34	59.7	33	62.7	38	94.6	42	51.6
35	82.1	37	85.0	44	79.2	45	82.4	48	89.2
38	67.4	40	71.8	49	94.8	50	65.9	52	70.6
48	84.7	50	79.0	57	62.2	65	81.2	70	83.7
61	65.4	64	88.3	72	89.9	76	89.4	79	82.2
68	79.9	74	79.7	80	91.2				
81	84.7								

#### 4 脑震宁颗粒主要色谱峰归属

通过比较脑震宁颗粒与单味药总离子流图保留时间初步判断峰来源, 然后通过保留时间下的质谱图比对进一步确定峰的归属。脑震宁中鉴定的 161 个成分中, 有 42 个来源于地黄, 54 个来源于当归, 58 个来源于川芎, 62 个来源于陈皮, 50 个来源于丹参, 49 个来源于牡丹皮, 64 个来源于酸枣仁, 36 个来源于竹茹, 37 个来源于柏子仁, 32 个来源于地龙, 28 个来源于茯苓。上述鉴定和归属的化合物中包括部分共有成分, 如氨基酸类, 糖类, 以及柠檬酸、琥珀酸、原儿茶酸、阿魏酸、咖啡酸、对香豆酸等小分子有机酸类, 在多种药材中均有发现。

#### 讨论

通过分析裂解碎片信息、结合文献及对照品 MS 数据对照, 并借助 Compound Discover 2.0 自动指认, 共鉴定出脑震宁颗粒中 161 个化合物, 包括环烯醚萜苷类、丁基苯酞类、黄酮苷类、酚酸类、单萜苷类等, 所构建的脑震宁化学成分物质组为其质量控制和药效物质基础研究奠定了基础。

柏子仁主要成分是脂肪油<sup>[26]</sup>, 茯苓主要成分是三萜类化合物<sup>[27]</sup>, 竹茹的主要化学成分是木脂素类<sup>[28]</sup>和三萜类<sup>[29]</sup>, 这些极性较低的化学成分在本研究中检出较少, 原因可能在于脑震宁颗粒的生产工艺中这些药材均为水煎煮提取。脑震宁颗粒化学成

分复杂, 对于在液质联用中难以电离或存在离子抑制的成分, 还需要进一步采用核磁共振等非选择性技术进行分析。此外, 脑震宁颗粒生产过程中包括当归、牡丹皮、陈皮、川芎的挥发油成分提取, 因此该中成药还含有丰富的挥发性成分, 下一步还将采用气质联用对其挥发性成分进行系统分析。

## References

- [1] Xiao S, Wu FP, Zheng WM, et al. Analysis of 98 cases of craniocerebral trauma treated by Naozhenning granule [J]. J Mod Med Health (现代医药卫生), 2005, 21: 1711.
- [2] Shi DF, Zhang C. 66 Cases of headache after brain trauma-treated by Naozhenning granule [J]. Hebei J Tradit Chin Med (河北中医), 2006, 28: 358.
- [3] Zhang MS, Sun DC, Gao SJ, et al. Experimental study on the pharmacodynamics of the Naozhenning granule [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 1997, 19: 33–34.
- [4] Li J, Li XY. Determination of ferulic acid and hesperidin in Naozhenning granule by HPLC [J]. Pharm J Chin People's Lib Army (解放军药学报), 2009, 25: 264–265.
- [5] Li XY, Hao SJ, Wang XD, et al. Determination of salvianolic acid B and hesperidin in the Naozhenning granule by high performance liquid chromatography [J]. China J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2010, 30: 1508–1510.
- [6] He YQ, Lu YL, Li LS, et al. Analysis of alkaloids from dendrobiumnobile stem by UPLC-ESI-orbitrap-MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2017, 23: 30–35.
- [7] Yan Y, Li Q, Qin XM, et al. Investigation of the potentially effective components of Semen Ziziphi Spinosae based on “*in vitro* to *in vivo*” translation approach [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2017, 52: 283–290.
- [8] Yan Y, Du CH, Qin XM, et al. Integrated strategy of UHPLC-Q exactive orbitrap-HRMS and HPLC-CL to study with constituents in Ziziphi Spinosae Folium [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47: 3109–3114.
- [9] Liu HX. Comparative Study on Major Chemical Constituents and Anti-inflammatory and Hepatoprotective Activities of *Ixeris chinensis* (Thunb.) Nakai and *Sonchus brachyotus* DC (中华苦苣菜与苣荬菜主要化学成分及保肝抗炎药理作用的比较研究) [D]. Taiyuan: Shanxi University of Chinese Medicine, 2016.
- [10] Hu YH, Qin XM, Liu YT, et al. Rapid identification of chemical constituents in Huangqi Jianzhong Tangby UHPLC coupled with hybrid quadrupole-orbitrap MS [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2017, 52: 964–970.
- [11] Zhang BY, Jiang ZZ, Wang YF, et al. Analysis of chemical constituents in fresh dried and prepared Rehmanniae Radix by UPLC/ESI-Q-TOF MS [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2016, 38: 1104–1108.
- [12] Qian YY, Wang YL, Sa RN, et al. Metabolic fingerprinting of *Angelica sinensis* during growth using UPLC-TOF MS and chemometrics data analysis [J]. Chem Cent J, 2013, 7: 42.
- [13] Zuo AH, Cheng MC, Wang L, et al. Analysis of constituents absorbed into the brain in chuanxiong by UPLC-Q-TOF MS [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2012, 37: 3647–3650.
- [14] Zhang L, Zhou J, Zhu W, et al. Comparative study on chemical constituents in Pericarpium Citri Reticulatae, citrus peels and fermented Citrus peels by HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> and GC-MS [J]. Food Ferment Ind (食品与发酵工业), 2013, 39: 192–199.
- [15] Zhang FX, Li M, Qiao LR, et al. Rapid characterization of Ziziphi Spinosae Semen by UPLC/Qt of MS with novel informatics platform and its application in evaluation of two seeds from *Ziziphus* species [J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 122: 59–80.
- [16] Wang WJ, Luo JG, Kong LY. Analysis of the chemical constituents in Ziziphi Spinosae Semen by HPLC-ESI-MS<sup>n</sup> [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2009, 34: 2769–2773.
- [17] Hu YF, Pei YM, Wu H, et al. Difference analysis of chemical compositions in Moutan Cortex from different origins by UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47: 2984–2991.
- [18] Su SL, Cui WX, Zhou W, et al. Chemical fingerprinting and quantitative constituent analysis of Siwu decoction categorized formulae by UPLC-QTOF/MS/MS and HPLC-DAD [J]. Chin Med, 2013, 8: 5.
- [19] Zhu YX, Chen LL, Gong JR, et al. Analysis of the chemical constituents in Suanzaoren Tang by LC-Q-TOF-MS and LC-IT-MS [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2014, 39: 457–465.
- [20] Wang H, Wang Q. ESI-MS<sup>n</sup> performance and LC-MS<sup>n</sup> fingerprint of salvianolic acid constituents from Radix et Salviae Miltiorrhizae [J]. Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊), 2007, 25: 1387–1389.
- [21] Qi XX, Dong Y, Shan CX, et al. Analysis of the main components in herbal pair: Astragali Radix and Salviae Miltiorrhizae by UPLC-Q-TOF/MS [J]. J Univ Tradit Chin Med (南京中医药大学学报), 2017, 33: 93–96.
- [22] Zhang Y, Dong WT, Huo JH, et al. Analysis on chemical constituents of *Pheretima aspergillum* by UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2017, 48: 252–262.

- [23] Li R. Studies on the Quality Standard of Huang Qi Extract and the Chemical Constituents of CiZhuRu (中药黄芪提取物质量标准及慈竹茹的化学成分研究) [D]. Chengdu: Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, 2015.
- [24] Xu WYJ, Lian HY, Liang QD, et al. Chemical comparison between decoctions of Angelicae Sinensis Radix and chuanxiong Rhizoma by UPLC-QTOF-MS [J]. Pharm J Chin People's Lib Army (解放军药学报), 2015, 31: 4–9.
- [25] Ma L, Huang XF, Ou YH, et al. Identification of chemical composition in Pericarpium Citri Reticulatae by UHPLC/Q-TOF-MS/MS [J]. Asia-Pac Tradit Chin Med (亚太传统医药), 2015, 11: 33–37.
- [26] Sun LJ. Research on the chemical constituents of cypress kernels [J]. J Hebei Norm Univ (河北师范大学学报), 2001, 25: 217–218.
- [27] Kang A, Guo JR, Xie T, et al. Analysis of the triterpenes in *Poria cocos* by UPLC-LTQ-Orbitrap [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med (南京中医药大学学报), 2014, 30: 561–565.
- [28] Zhu M, Xiong L, Wang YN, et al. Analysis of the lignans in *Sinocalamus affinis* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2012, 37: 1968–1972.
- [29] Yao XB. Study on Triterpenoids from Bamboo Bark (竹茹中三萜类化合物的研究) [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2004.

---

### 《药学学报》再次入选全国“百强科技期刊”

2018年3月2日,国家新闻出版广电总局公布了第三届全国“百强报刊”名单,其中“百强报纸”100种、“百强社科期刊”100种、“百强科技期刊”100种。《药学学报》入选“百强科技期刊”。

全国“百强报刊”是国家新闻出版广电总局自2013年启动的全国优秀报刊官方权威评选活动,其目的在于“建立完善报刊评价体系和引导激励机制,重点培育和推出一批具有较强舆论引导能力、传播能力和市场竞争力的优秀品牌报刊,促进报刊业繁荣发展”。《药学学报》继首届“百强报刊”入选“百强科技期刊”后,本届再次入选“百强科技期刊”。

本刊编辑部