

筋骨止痛凝胶化学成分分析

吕凯红^{1, 2, 3}, 胡玉梅^{2, 3}, 钱梦雨^{2, 3}, 李璐^{2, 3}, 刘文君^{2, 3}, 曹亮^{2, 3}, 李吉峰⁴,
王振中^{2, 3}, 章晨峰^{2, 3}, 肖伟^{2, 3*}

(1. 中国药科大学, 江苏 南京 211198; 2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001; 3. 中药制药过程控制与智能制造全国重点实验室, 江苏 连云港 222001; 4. 江苏康缘阳光药业有限公司, 江苏 南京 210046)

摘要: **目的** 对筋骨止痛凝胶的非挥发性化学成分进行快速检识。**方法** 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析, Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相乙腈-0.1% 甲酸, 梯度洗脱; 体积流量 0.35 mL/min; 进样量 2 μL; 柱温 35 ℃; 电喷雾离子源; 正、负离子全扫描。根据精确质荷比、二级质谱裂解规律结合相关对照品、文献, 对化合物进行鉴定和归属。**结果** 共鉴定出 100 种成分, 包括含氮类、皂苷类、苯酐类、黄酮类、香豆素类等, 其中 28 种成分经对照品确认。**结论** 该方法可快速鉴定筋骨止痛凝胶中的非挥发性成分, 为其药效物质基础和质量控制的深入研究提供了一定的参考。

关键词: 筋骨止痛凝胶; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 化学成分谱; 非挥发性成分

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)03-1025-10

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.03.050

筋骨止痛凝胶全方由醋延胡索、川芎、威灵仙、伸筋草、东北透骨草、路路通、海桐皮、防风、花椒、牛膝、薄荷脑、冰片共 12 味药材组成, 具有活血理气、祛风除湿、通络止痛的功效, 临床上用于改善膝关节炎、肾虚、筋脉淤滞等症状。由于该方所含药材众多、成分复杂, 其药效物质基础、作用机制尚不明确。目前化学成分研究方面, 秦建平等^[1]建立了高效液相色谱-质谱指纹图谱, 指认了 12 个共有峰; 王伟等^[2]利用 HPLC 测定了指标成分延胡索乙素和原阿片碱的含量; 刘莉莉等^[3]利用 GC 测定了挥发性成分冰片和薄荷脑的含量, 但缺乏对复方非挥发性成分的全面分析。本研究采用超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱联用 (UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS) 技术对筋骨止痛凝胶非挥发性成分进行快速分离和鉴定, 并对其药材来源进行归属, 以期全面建立筋骨止痛凝胶化学成分谱, 为明确药效物质、阐明作用机制、提升质量控制水平提供依据。

1 材料

Agilent 1290 infinity 超高效液相色谱, 联用 Agilent 6538 Q-TOF 质谱仪, 配置电喷雾离子源 (ESI)、Agilent MassHunter Qualitative Analysis B. 07.00 软件 (美国 Agilent 公司); MIKRO 200 高速离心机 (德国 Andreas Hettich 公司); Pacific T II 7 超纯水仪 (美国赛默飞公司); KQ-

500DE 数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); Mettler AL204 电子分析天平 [梅特勒-托利多 (上海) 有限公司]。

欧当归内酯 A (批号 111826-201806)、盐酸巴马汀 (批号 110732-201913)、苦参碱 (批号 110805-202010)、芦丁 (批号 100080-202012)、路路通酸 (批号 111735-201903)、延胡索乙素 (批号 110726-202020)、升麻素苷 (批号 111522-201913)、金丝桃苷 (批号 111521-201507)、绿原酸 (批号 110753-201817)、咖啡酸 (批号 110885-201703)、补骨脂素 (批号 110739-201918)、原阿片碱 (批号 110853-201805)、盐酸黄连碱 (批号 112026-201802)、盐酸川芎嗪 (批号 110817-201608)、蛇床子素 (批号 110822-202111)、黄芩素 (批号 111595-201808)、盐酸小檗碱 (批号 110713-202015)、阿魏酸松柏酯 (批号 CHB201106)、β-蜕皮甾酮 (批号 111638-201706) 对照品均购自中国食品药品研究院; 洋川芎内酯 H (批号 B21462)、羟基-α-山椒素 (批号 B26430)、羟基-β-山椒素 (批号 B26431)、紫花前胡素 (批号 B50638)、四氢小檗碱 (批号 B21206)、洋川芎内酯 I (批号 B21463) 对照品均购自上海源叶生物科技有限公司; 丁烯基苯酐 (批号 CHB201122)、正丁基苯酐 (批号 CHB201116) 对照品购自成都克洛玛生物科技有限公司; 海罂粟碱 (批号 475-81-0)、

收稿日期: 2023-01-10

基金项目: 连云港市“521”工程人才项目 (LYG06521202102)

作者简介: 吕凯红 (1997—), 女, 硕士, 从事药物质量控制与过程分析研究。Tel: 15352325321, E-mail: lvkaihong2020@126.com

* 通信作者: 肖伟 (1959—), 男, 研究员, 博士生导师, 中国工程院院士, 从事中药新药及其开发研究。Tel: (0518) 81152367, E-mail: kanionlunwen@163.com

东莨菪内酯(批号 92-61-5)对照品购自上海诗丹德标准技术有限公司;去氢延胡索甲素(批号 21081004)、延胡索甲素(批号 21092302)对照品购自成都格利普生物科技有限公司;脱氢海罂粟碱(批号 CFN90406)对照品购自武汉 Chem Face 公司;*E*-藁本内酯(批号 20191229)对照品购自南京森贝伽生物科技有限公司。筋骨止痛凝胶(批号 210101,江苏康缘阳光药业有限公司);处方药材购自主产区或道地产区,经江苏康缘药业股份有限公司王振中研究员鉴定,醋延胡索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang. 的干燥块茎;川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎;花椒为芸香科植物花椒 *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. 的干燥成熟果皮;防风为伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. 的干燥根;牛膝为苋科植物牛膝 *Achyranthes bidentata* Bl. 的干燥根;威灵仙为毛茛科植物威灵仙 *Clematis chinensis* Osbeck. 的干燥根和根茎;路路通为金缕梅科植物枫香树 *Liquidambar formosana* Hance. 的干燥成熟果序;伸筋草为石松科植物石松 *Lycopodium japonicum* Thunb. 的干燥全草;东北透骨草为豆科野豌豆属植物山野豌豆 *Vicia cracca* L. 的干燥地上全草;海桐皮为豆科乔木刺桐 *Erythrina variegata* L. var. *orientalis* (L.) Merr 的树皮。乙腈、甲酸均为色谱纯;其余试剂均为分析纯;水为超纯水。

2 方法

2.1 分析条件

2.1.1 色谱 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm);流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸(B),梯度洗脱(0~8 min, 3%~15% A; 8~20 min, 15% A, 20~30 min, 15%~30% A; 30~38 min, 30%~45% A; 38~45 min, 45%~60% A; 45~48 min, 60%~95% A; 48~50 min, 95%~3% A);体积流量 0.35 mL/min;柱温 35 ℃;进样量 2 μL。

2.1.2 质谱 一级全扫描:电喷雾离子源(ESI);正、负离子模式;裂解电压 135 V;锥孔电压 65 V;干燥气氮气,温度 350 ℃,体积流量 8 L/min;雾化气氮气,压力 40 psi(1 psi = 6.895 kPa)。二级扫描:质量扫描范围 m/z 50~1 500;碰撞气氮气,碰撞能量 15 eV。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液制备 取对照品适量,精密称定,加甲醇溶解,使各成分质量浓度为 20 μg/mL, 14 000 r/min 离心 10 min,取上清液,即得。

2.2.2 供试品溶液制备 称取筋骨止痛凝胶约 1 g,置于 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 20 mL,超声处理 30 min,放冷至室温, 14 000 r/min 离心 10 min,取上清液,即得。

2.2.3 单味饮片溶液制备

2.2.3.1 花椒、川芎和防风单味饮片溶液制备 按照筋骨止痛凝胶生产工艺,分别取饮片 20 g,加入 10 倍量水回流

提取 2 次,每次 1 h,滤过,合并滤液,减压浓缩,干燥,得干膏。取适量干膏,按“2.2.1”项下方法配制成 20 mg/mL 的单味饮片溶液。

2.2.3.2 醋延胡索、伸筋草、东北透骨草、路路通、海桐皮、牛膝和威灵仙单味饮片溶液制备 按照筋骨止痛凝胶生产工艺,分别取饮片 20 g,加入 10 倍量 70% 乙醇提取 2 次,每次 1 h,过滤,合并滤液,减压浓缩至小体积,干燥,得干膏。取适量干膏,按“2.2.1”项下方法配制成 20 mg/mL 的单味饮片溶液。

3 结果

3.1 化学成分数据库的建立 查阅中英文相关文献,建立延胡索、川芎、威灵仙、伸筋草、东北透骨草、路路通、海桐皮、防风、花椒、牛膝 10 味药材化合物数据库,包括化合物名称、结构、分子式、精确相对分子质量、特征碎片离子、所属化学类型等信息。

3.2 化合物鉴定 利用 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 技术,将供试品和对照品溶液在“2.1”项条件下进样测定,得到正、负离子的总离子流图(TIC),见图 1。正、负离子模式下一级质谱检测得到的精确相对分子质量,利用 Agilent MassHunter Qualitative Analysis B. 07.00 软件生成的化合物分子式,选择误差在 10 ppm 以内的分子式与建立的数据库进行匹配,推测出可能的化合物,进一步结合 Auto MS/MS 模式获得的相应化合物碎片离子信息与对照品和相关文献的比对进行化合物的鉴定。本研究共鉴定 100 个化合物,其中 28 个化合物经对照品比对确认,其中化合物 2、4~8、10、14~22、28~29、32、38、41、44~48、50~51、53~54、56~58、60、63、75~76、78、91、95 均是含氮化合物;3、42~43、77、79、80~81、83~85、97~100 均是苯酚类化合物;23~24、26~27、30~31、33、35、39~40、49、52、55、59、61~62 均是黄酮类化合物;64 和 66 是香豆素类化合物;65、67~74、82、86~90 是三萜皂苷类化合物;1、9、11~13、25、34、36~37、92~94、96 是其他类化合物,结果见表 1。

3.3 筋骨止痛凝胶中化合物成分的质谱裂解规律解析

3.3.1 含氮类化合物 筋骨止痛凝胶中的含氮类化合物有生物碱类和酰胺类,生物碱类主要来源于醋延胡索、伸筋草。延胡索药材的生物碱成分大致可以分为 4 个类型^[30],结构见图 2。具体的二级裂解途径为四氢原小檗碱型生物碱(I),A 和 D 环的取代基最常见的是羟基、甲氧基和亚甲二氧基,此结构的 C 环易发生逆狄尔斯-阿尔得(RDA)反应,常见的特征碎片离子是 m/z 165.09, 192.10, 177.08, 化合物 32、45~46、50 均为 I 类生物碱,以延胡索乙素(45)为例,在正离子模式下,化合物 45 在一级质谱中的准分子离子峰是 m/z 356.18 $[M+H]^+$,在二级质谱中, $[M+H]^+$ 经过 RDA 反应产生特征碎片离子 m/z 165.09 和 m/z 192.10,分别进一步丢失甲基,产生碎片离子 m/z 150.17,可能的裂解途径见图 3;原小檗碱型生物碱(II),不会发生 RDA 反应,8 位的 H 易丢失,丢失

表 1 筋骨止痛凝胶中的化合物的 UPLC-ESI-Q-TOF MS/MS 鉴定

编号	t_R/min	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	误差($\times 10^{-6}$)	分子式	名称	主要离子碎片 m/z	归属
1	4.161	355.102 6	353.090 1	6.30	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	neochlorogenic acid ^[4]	ESI ⁻ :191.056 3, 179.035 2, 161.022 9, 135.045 5	川芎/花椒/东北透骨草
2	4.299	292.190 8	—	0.54	$\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_3$	pallinine A ^[5]	ESI ⁺ :274.180 2, 261.154 2, 216.122 0, 163.038 4	伸筋草
3	4.478	205.096 9	203.082 6	1.13	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	l-tryptophan ^[6-7]	ESI ⁺ :170.057 7, 159.090 8, 146.059 9	川芎
4	4.58	280.191 6	—	2.60	$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_3$	8β-hydroxylicodoline ^[5]	ESI ⁺ :262.179 9, 244.168 3, 201.115 3	伸筋草
5	4.615	280.190 5	—	1.59	$\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_3$	miyoshianine A ^[5]	ESI ⁺ :262.179 9, 151.076 7	伸筋草
6	4.827	264.196 9	—	8.15	$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_2$	lycodoline ^[5]	ESI ⁺ :246.185 2	伸筋草
7	5.179	262.180 3	—	0.56	$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_2$	lycopoclavamine A ^[5]	ESI ⁺ :244.169 8, 217.093 5, 205.140 8, 199.098 3	伸筋草
8	5.355	260.164 0	—	0.39	$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_2$	hupenzine E ^[5]	ESI ⁺ :244.168 3, 242.154 9, 232.144 6	伸筋草
9*	5.746	355.102 6	353.090 0	6.16	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	chlorogenic acid ^[4]	ESI ⁻ :191.056 0, 179.033 7	川芎/花椒/东北透骨草
10	5.813	261.198 5	—	7.73	$\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$	<i>n</i> -demethyl-a-obscurine ^[5]	ESI ⁺ :245.172 9	伸筋草
11	5.884	193.085 6	191.056 0	0.27	$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6$	quinic acid ^[8]	ESI ⁻ :189.133 2, 182.103 3, 178.476 7, 173.043 8	花椒
12*	5.902	181.048 7	179.035 0	0.09	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	caffeic acid ^[9]	ESI ⁻ :152.010 0, 148.721 7, 140.1735, 138.474 8, 135.044 7	威灵仙
13*	6.309	355.103 8	353.090 1	6.44	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	cryptochlorogenic acid ^[4]	ESI ⁻ :293.607 3, 216.064 5, 191.056 1, 179.034 4, 173.045 8	川芎/花椒/东北透骨草
14	6.552	278.175 7	—	2.13	$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_3$	pallinine B ^[5]	ESI ⁺ :260.164 4, 242.156 5, 217.154 7, 147.043 9	伸筋草
15	6.622	278.175 2	—	0.69	$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_3$	8β-hydroxylicoposerramine K ^[5]	ESI ⁺ :260.164 4, 251.142 2, 173.132 6, 147.045 8	伸筋草
16	6.65	300.158 9	—	1.13	$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_3$	<i>n</i> -methycoldclaumine ^[10]	ESI ⁺ :269.114 8, 268.133 3, 259.142 3, 253.111 5	醋延胡索
17	6.693	275.212 0	—	0.29	$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}$	α-obscurine ^[5]	ESI ⁺ :258.149 1, 244.133 2, 197.137 8, 170.043 2, 163.095 4	伸筋草
18	6.975	278.174 7	—	1.06	$\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{NO}_2$	(15 <i>R</i>)-14,15-dihydroepiloboscurinol ^[5]	ESI ⁺ :247.188 0, 260.201 0, 242.118 1, 192.104 3, 147.042 0	伸筋草
19	7.013	300.160 0	—	1.95	$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_3$	(+)-erythravine/erysovine/erysodine ^[11]	ESI ⁺ :268.132 8, 253.106 4, 219.079 6, 191.084 8, 186.092 3	海桐皮
20	7.460	332.185 0	—	-2.20	$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NO}_4$	epierythraidine ^[11]	ESI ⁺ :300.158 5, 282.147 9, 265.104 9, 261.122 6, 257.111 4	海桐皮
21	7.918	342.171 5	—	3.88	$\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_4^+$	magnoflorine ^[1]	ESI ⁺ :297.110 1, 282.087 6, 265.085 5, 237.090 1	醋延胡索
22	8.632	298.143 9	—	0.81	$\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_3$	erythraline ^[11]	ESI ⁺ :280.134 4, 266.113 5, 249.114 6	海桐皮
23*	9.073	611.163 1	609.199 3	2.88	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	rutin	ESI ⁺ :465.104 4, 449.110 5, 301.034 3	东北透骨草
24*	9.101	469.170 2	—	0.37	$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	<i>p</i> -m- <i>O</i> -glucosylcimifugin ^[12]	ESI ⁺ :307.117 0, 289.105 7	防风
25*	9.687	195.065 2	193.050 8	0.73	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	ferulic acid ^[13]	ESI ⁻ :177.054 2, 149.059 8, 145.028 3, 135.043 0	川芎
26	9.988	741.225 1	739.212 6	1.78	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{19}$	robinin	ESI ⁻ :595.167 1, 449.107 5, 287.054 8	东北透骨草
27	10.692	771.235 2	769.223 1	1.13	$\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{O}_{20}$	typhaneoside	ESI ⁻ :710.275 0, 659.936 9, 645.875 6, 317.066 0	东北透骨草
28	11.026	344.188 2	—	6.65	$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_4$	erythristemine ^[11]	ESI ⁺ :312.160 2, 280.133 9, 263.105 7, 249.114 4	海桐皮
29	11.122	296.184 7	—	-2.86	$\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_4$	4α,8β,12β-trihydroxylcopodine ^[5]	ESI ⁺ :278.173 6, 260.160 3, 220.133 8, 189.089 9, 149.058 9	伸筋草
30	11.448	465.102 2	463.092 4	9.89	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	isoquercitroside	ESI ⁻ :301.036 1, 271.027 0, 255.026 4, 178.998 8	东北透骨草
31*	11.448	465.103 6	463.092 4	9.89	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	hyperoside	ESI ⁻ :300.015 9, 313.084 1, 271.024 1, 151.000 0	东北透骨草
32	11.579	342.170 8	—	2.13	$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_4$	tetrahydrocolumbamine ^[14]	ESI ⁺ :327.146 9, 178.086 1, 151.074 6	醋延胡索

续表 1

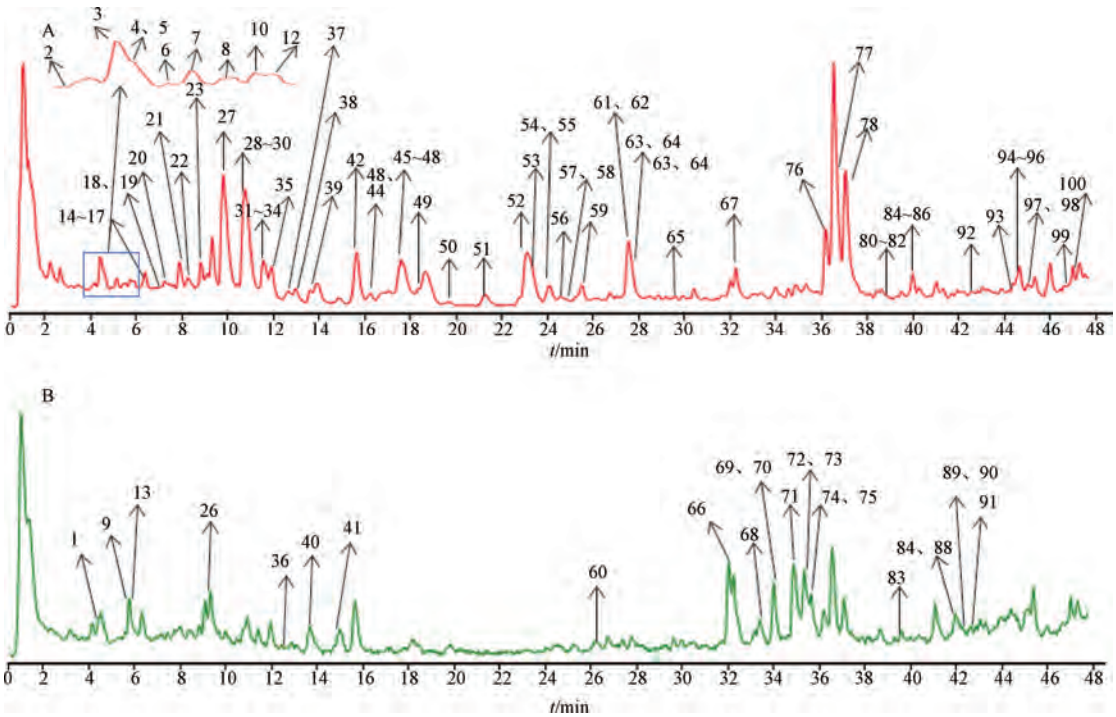
1028

编号	t_R/min	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	误差($\times 10^{-6}$)	分子式	名称	主要离子碎片 m/z	归属
33	11.671	307.121 2	—	9.37	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_6$	cimifugin ^{〔12〕}	ESI ⁺ : 289, 106 8, 259, 061 9, 235, 060 5	防风
34*	11.94	481.317 4	—	3.95	$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_7$	β -ecdysterone ^{〔15〕}	ESI ⁺ : 463, 306 0, 445, 294 5, 427, 284 9, 409, 274 2	牛膝
35	12.469	579.172 4	577.159 2	2.39	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	kaempferitin	ESI ⁻ : 431, 090 2, 285, 042 9, 129, 725 6	东北透骨草
36	12.891	481.316 3	—	0.53	$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_7$	25 <i>R</i> -inokosterone ^{〔15〕}	ESI ⁺ : 463, 305 8, 445, 294 3, 427, 284 7, 409, 274 9, 383, 154 0	牛膝
37	13.806	481.316 3	—	0.53	$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_7$	25 <i>S</i> -inokosterone ^{〔15〕}	ESI ⁺ : 463, 305 8, 445, 294 3, 427, 283 1, 409, 275 6, 391, 261 8	牛膝
38	13.903	354.135 0	—	3.29	$\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_5$	protopine ^{〔16〕}	ESI ⁺ : 336, 123 5, 305, 080 1, 275, 068 7, 206, 080 8, 189, 077 7, 165, 055 7, 149, 059 8	醋延胡索
39	13.947	435.093 2	433.080 8	7.00	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$	quercetin-3- <i>arab</i> inoside ^{〔8〕}	ESI ⁻ : 343, 045 5, 301, 035 9	花椒
40	14.898	449.107 6	447.097 5	9.12	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	quercetin	ESI ⁻ : 430, 091 3, 401, 153 1, 326, 224 4, 300, 029 1, 283, 026 6	花椒
41*	15.91	354.133 1	—	1.26	$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_4$	dehydroglucaine ^{〔14〕}	ESI ⁺ : 312, 159 7, 323, 091 9, 280, 134 2, 249, 114 5, 151, 075 2	醋延胡索
42*	16.203	225.112 0	—	0.72	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_4$	senkynolide I ^{〔17〕}	ESI ⁺ : 207, 101 3, 189, 090 1, 165, 054 1, 143, 084 7, 119, 085 7	川芎
43*	16.227	225.111 3	—	-4.21	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_4$	senkynolide H ^{〔17〕}	ESI ⁺ : 207, 101 3, 189, 090 3, 165, 090 6, 151, 041 9, 123, 044 7	川芎
44	17.424	324.123 7	—	1.90	$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_4$	tetrahydrocoptisine ^{〔14〕}	ESI ⁺ : 294, 124 9, 176, 070 3, 149, 059 5	醋延胡索
45*	17.565	356.187 6	—	4.37	$\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_4$	tetrahydropalmatine ^{〔14〕}	ESI ⁺ : 192, 101 4, 177, 080 0, 165, 090 4, 150, 070 0	醋延胡索
46	17.600	356.187 5	—	4.20	$\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_4$	corybulbine ^{〔18〕}	ESI ⁺ : 341, 161 7, 192, 101 7, 165, 090 5	醋延胡索
47	17.706	338.138 8	—	0.40	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{NO}_4^+$	columbamine ^{〔19〕}	ESI ⁺ : 323, 114 8, 308, 126 9, 294, 113 7, 278, 079 7, 262, 087 6	醋延胡索
48*	18.621	356.187 4	—	3.88	$\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_4$	glucaine ^{〔14〕}	ESI ⁺ : 325, 143 9, 310, 111 9, 294, 125 0, 279, 100 5, 251, 106 7, 192, 100 9	醋延胡索
49	19.678	479.117 8	477.106 3	-0.76	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	isorhamnetin-3- <i>glucoside</i>	ESI ⁻ : 284, 026 7	花椒
50*	21.262	340.155 1	—	3.39	$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_4$	tetrahydroberberine ^{〔14〕}	ESI ⁺ : 308, 105 7, 293, 113 1, 176, 070 4, 149, 059 2	醋延胡索
51*	23.199	370.204 9	—	7.49	$\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_4$	corydalline ^{〔14〕}	ESI ⁺ : 192, 101 6, 165, 090 5	醋延胡索
52	23.982	509.130 0	507.117 1	5.20	$\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{O}_{13}$	syringetin-3- <i>o-glucoside</i>	ESI ⁻ : 345, 063 9, 330, 040 3, 315, 013 0	花椒
53*	24.114	352.155 0	—	1.54	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{NO}_4^+$	palmatine ^{〔19〕}	ESI ⁺ : 337, 130 8, 336, 122 8	醋延胡索
54	24.114	334.107 4	—	0.40	$\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{NO}_4$	dihydrosanguinarine ^{〔20〕}	ESI ⁺ : 332, 660 6, 306, 111 1, 291, 092 6	醋延胡索
55	24.699	291.122 7	—	0.25	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_5$	5- <i>O</i> -methylvisaminol ^{〔21〕}	ESI ⁺ : 273, 112 0, 263, 076 7, 243, 066 0, 219, 065 3	防风
56	25.241	336.123 1	—	0.18	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_4^+$	epiberberine ^{〔19〕}	ESI ⁺ : 321, 099 0, 306, 075 9, 293, 100 5, 264, 103 3	醋延胡索
57*	25.241	336.123 1	—	0.18	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_4^+$	berberine ^{〔19〕}	ESI ⁺ : 321, 098 8	醋延胡索
58*	25.522	352.155 1	—	1.87	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{NO}_4^+$	dehydrocorybulbine ^{〔14〕}	ESI ⁺ : 337, 130 3, 336, 122 8, 322, 106 1, 308, 126 3	醋延胡索
59	26.376	303.050 0	301.036 6	3.44	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	quercetin ^{〔8〕}	ESI ⁻ : 273, 038 6, 235, 786 5, 221, 211 7, 193, 090 1	花椒
60	27.424	366.172 0	—	4.63	$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{NO}_4^+$	quercetin ^{〔8〕}	ESI ⁺ : 351, 148 1, 350, 1397, 336, 123 1, 322, 143 4	醋延胡索
61	27.797	439.162 0	437.147 3	4.28	$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	3- <i>o-glucosyl</i> hamaudol ^{〔12〕}	ESI ⁺ : 277, 107 1, 259, 095 3, 205, 050 8	防风
62	27.797	277.107 1	—	0.08	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_5$	hamaudol ^{〔12〕}	ESI ⁺ : 259, 097 7, 248, 323 0	防风
63	29.501	308.221 8	—	0.69	$\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_3$	α -loline ^{〔5〕}	ESI ⁺ : 290, 210 2, 278, 114 5, 266, 048 5, 252, 110 6, 248, 200 7, 230, 237 1	伸筋草
64	30.593	217.049 4	—	-3.94	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{O}_4$	xanthotoxin ^{〔12〕}	ESI ⁺ : 202, 026 6, 174, 029 2, 146, 035 3	威灵仙
65	32.401	—	1497.708 9	—	$\text{C}_{70}\text{H}_{114}\text{O}_{34}$	clenaticinensinoid C ^{〔9〕}	ESI ⁻ : 1027, 546 1, 865, 512 4, 733, 467 5	防风
66*	32.529	193.121 7	—	13.21	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$	scopoletin ^{〔12〕}	ESI ⁺ : 178, 025 1, 137, 0610, 122, 96 0	威灵仙
67	33.457	—	1335.650 1	—	$\text{C}_{64}\text{H}_{104}\text{O}_{29}$	huzhangoside B ^{〔9〕}	ESI ⁻ : 865, 496 6	威灵仙

续表 1

编号	t_R/min	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	误差($\times 10^{-6}$)	分子式	名称	主要离子碎片 m/z	归属
68	34.056	—	1189.598 4	—	$\text{C}_{38}\text{H}_{44}\text{O}_{25}$	pen-rha-pen-ole-gl-c-glc ^[9]	—	威灵仙
69	34.127	—	955.491 5	0.74	$\text{C}_{48}\text{H}_{76}\text{O}_{19}$	ginsenoside Ro ^[15]	ESI^- : 793.440 4, 731.435 3, 631.388 7	牛膝
70	34.62	—	925.481 1	1.33	$\text{C}_{47}\text{H}_{74}\text{O}_{18}$	chikusetsusaponin IV ^[15]	ESI^- : 793.433 9, 631.395 1, 569.385 8	牛膝
71	35.181	—	793.440 7	2.91	$\text{C}_{42}\text{H}_{66}\text{O}_{14}$	chikusetsusaponin Iva ^[15]	ESI^- : 631.382 9, 569.385 9	牛膝
72	35.253	—	955.457 9	3.67	$\text{C}_{47}\text{H}_{72}\text{O}_{20}$	achyranthoside C ^[15]	ESI^- : 835.452 6, 793.439 4, 569.389 8	牛膝
73	35.535	—	925.445 6	1.00	$\text{C}_{46}\text{H}_{70}\text{O}_{19}$	achyranthoside E ^[15]	ESI^- : 763.374 1, 569.394 4	牛膝
74	35.711	—	953.439 5	0.79	$\text{C}_{47}\text{H}_{70}\text{O}_{20}$	achyranthoside B or bidentatoside ^[15]	ESI^- : 793.439 9, 631.379 9	牛膝
75*	36.126	264.198 2	—	7.25	$\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_2$	hydroxy- ϵ -sanshool ^[22]	ESI^+ : 246.185 0, 147.116 8, 133.101 4, 119.085 1, 107.085 6, 89.507 0	花椒
76*	36.408	264.198 1	—	7.32	$\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_2$	hydroxy- α -sanshool ^[22]	ESI^+ : 246.185 3, 175.111 3, 147.116 2, 133.101 4, 107.085 6, 89.507 0	花椒
77*	36.649	193.122 1	—	1.07	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_2$	senkyunolide A ^[6]	ESI^+ : 175.111 3, 147.116 3, 137.059 3	川芎
78*	36.936	264.197 0	—	4.13	$\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_2$	hydroxy- β -sanshool ^[22]	ESI^+ : 246.185 3, 175.111 6, 147.116 7, 107.085 7, 89.506 9	花椒
79	38.843	191.106 7	—	0.20	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_2$	Z-ligustilide ^[23]	ESI^+ : 173.096 2, 162.982 8, 145.101 3, 121.065 5, 105.067 9, 91.054 5	川芎
80	39.090	195.137 6	—	1.67	$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_2$	neocnidilide ^[24]	ESI^+ : 177.126 8, 149.133 2, 136.049 4, 107.083 9, 93.071 1	川芎
81	39.125	195.1377	—	-1.30	$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_2$	cnidilide ^[25]	ESI^+ : 177.126 7, 163.950 4, 149.132 3, 135.042 4, 121.098 8, 111.0432	川芎
82	39.690	—	793.441 2	3.97	$\text{C}_{42}\text{H}_{66}\text{O}_{14}$	zingibroside RI ^[15]	ESI^- : 749.444 6, 739.384 8, 731.779 8, 631.383 5, 614.377 7	牛膝
83*	39.991	189.091 1	—	0.99	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_2$	n-butylidenephthalide ^[6]	ESI^+ : 171.081 7, 161.082 4, 153.070 1	川芎
84*	40.052	189.090 4	—	-3.10	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_2$	butylphthalide ^[6]	ESI^+ : 171.079 2, 153.068 2	川芎
85*	40.076	191.107 7	—	4.59	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_2$	E-ligustilide ^[7]	ESI^+ : 173.096 0, 163.111 2, 145.100 6, 117.070 0, 105.070 4	川芎
86	41.803	—	791.390 6	5.85	$\text{C}_{41}\text{H}_{60}\text{O}_{15}$	achyranthoside IV ^[15]	ESI^- : 631.386 8, 613.373 2, 455.353 2	牛膝
87	41.943	—	793.404 1	2.98	$\text{C}_{41}\text{H}_{62}\text{O}_{15}$	28-deglucosyl-achyranthoside C ^[15]	ESI^- : 631.384 9, 455.349 4	牛膝
88	42.190	—	631.388 7	3.62	$\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_9$	28-deglucosylchikusetsusa-ponin IV ^[15]	ESI^- : 455.356 7, 175.020 3, 113.024 8	牛膝
89	42.225	—	631.389 0	5.74	$\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_9$	28-deglucosylchikusetsusa-ponin Iva ^[15]	ESI^- : 455.353 8, 441.372 3, 339.123 6, 290.211 6	牛膝
90	42.542	—	763.393 7	3.16	$\text{C}_{40}\text{H}_{60}\text{O}_{14}$	28-deglucosyl-achyranthoside E ^[15]	ESI^- : 747.054 0, 678.964 2, 631.391 1, 455.354 3	牛膝
91	42.570	248.201 6	—	2.52	$\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}$	α -sanshool ^[26]	ESI^+ : 175.111 5, 147.116 5, 107.087 2, 91.054 4	花椒
92	44.370	473.361 8	471.352 0	2.09	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$	(2 α ,3 β ,9 ξ)-2,3-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid	ESI^- : 455.352 0, 407.329 0	路路通
93	44.406	455.353 9	—	3.56	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_3$	(3 β ,5 ξ)-3-hydroxyoleana-9(11),12-dien-30-oic acid	ESI^+ : 437.340 8, 409.347 3, 391.335 3, 189.163 3, 177.164 3	路路通
94*	44.406	455.353 9	—	3.56	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_3$	betulonicacid ^[27]	ESI^+ : 437.342 4	路路通
95	44.535	350.137 9	—	1.85	$\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NO}_4$	dihydrocheleerythrine ^[28]	ESI^+ : 334.107 3, 320.124 3	醋延胡索
96	45.144	325.143 5	—	0.29	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_4$	lcoagrochalcone A ^[11]	ESI^+ : 293.106 5, 269.079 7, 165.018 8	海桐皮
97	45.287	383.221 3	—	0.72	$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_4$	Z, Z'-3, 3', 8, 8'-diligustilide	ESI^+ : 405.204 8, 191.106 1, 175.109 8, 163.110 3	川芎
98	46.449	383.222 1	—	1.03	$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_4$	senkyunolide P	ESI^+ : 405.201 6, 191.105 8	川芎
99	47.070	381.206 2	—	1.86	$\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_4$	riligustilide ^[29]	ESI^+ : 191.106 0, 363.195 7, 335.200 6	川芎
100*	47.135	381.205 8	—	0.26	$\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_4$	levistolide A ^[29]	ESI^+ : 191.105 9, 363.196 3, 335.200 7	川芎

注: * 经对照品验证的化合物。



注：A 为正离子模式，B 为负离子模式。
图 1 筋骨止痛凝胶供试品 TIC 图

CH₄ 形成共轭体系，常见的特征碎片离子包括 m/z 322.09, 323.11, 324.12, 336.12, 化合物 47、51、53、56~58、60 均为Ⅱ类生物碱；原阿片碱型生物碱（Ⅲ），会发生 RDA 反应，但是 RDA 反应的碎片离子的质荷比加和不等准分子离子峰的质荷比，一般相差一分子 H₂O，其典型碎片离子是 m/z 206.08，化合物 38 为Ⅲ类生物碱；阿朴啡型生物

碱（Ⅳ），一般会产生相较于准分子离子峰 31.04 Da 的碎片离子， m/z 31.04 (NH₂CH₃) 是很典型的辨识阿朴啡型生物碱的标志。4 个类型的结构见图 2。经与对照品比对，化合物 38、41、45、48、50~51、53、57~58 分别确认为原阿片碱、脱氢海罂粟碱、延胡索乙素、海罂粟碱、四氢小檗碱、紫堇碱、巴马汀、小檗碱、去氢紫堇碱。

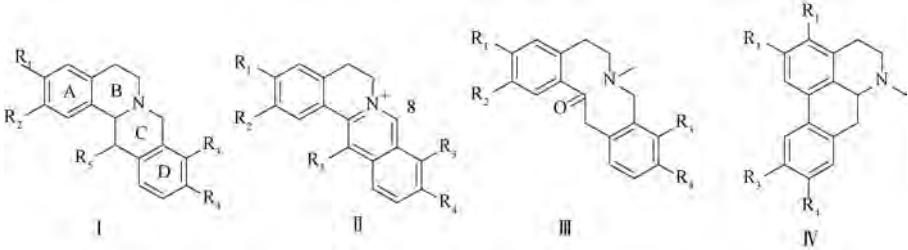


图 2 4 种类型的延胡索生物碱

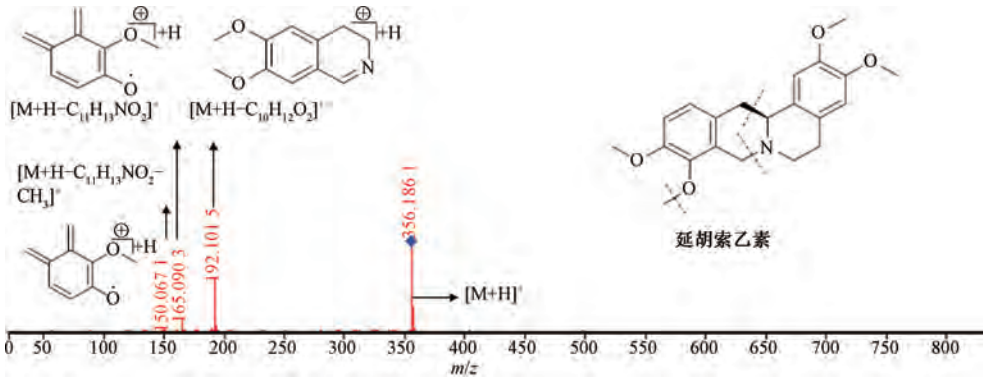


图 3 延胡索乙素的二级质谱和及可能的裂解途径

伸筋草中生物碱依据文献可大致分为 2 种类型，含有 1 个 N 原子的生物碱和含有 2 个 N 原子的生物碱，在筋骨止痛凝胶中检测到的化合物 **2**、**5~8**、**14**、**64** 均为含有 1 个 N 原子的生物碱；化合物 **10**、**17~18** 是含有 2 个 N 原子的生物碱，该类生物碱最常见的质谱裂解过程为与 N 原子相连

的甲基的裂解。以化合物 **10** 为例，在正离子模式下，在一级质谱中的准分子离子峰是 m/z 261.19 $[M+H]^+$ ，在二级质谱中， $[M+H]^+$ 丢失 NH_3 后形成特征碎片 m/z 244.16 $[M+H-NH_3]^+$ ，经对照品比对，确认为 *N*-去甲基- α -玉柏碱 (*N*-demethy- α -obscurine)，可能的裂解途径见图 4。

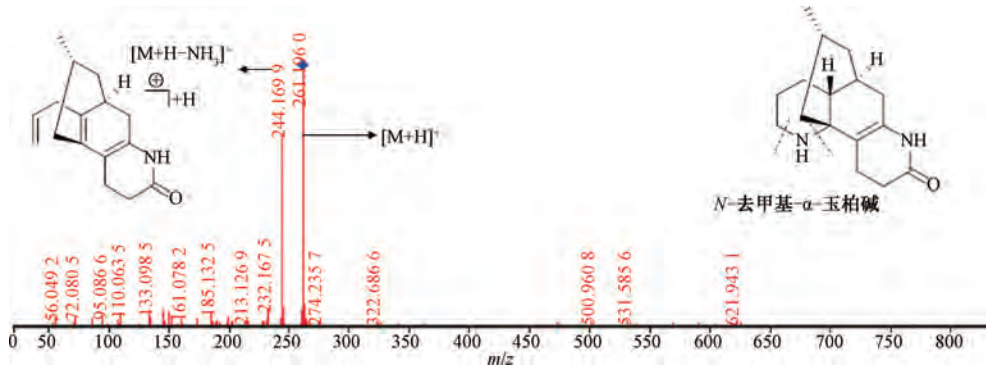


图 4 *N*-去甲基- α -玉柏碱的二级质谱及可能的裂解途径

酰胺类化合物主要来源于花椒药材，在正离子模式下，化合物 **75~76**、**78** 的酰氨基常裂解产生由于酰胺键断开而产生丢失氨基部分的 m/z 175.11 碎片离子。以化合物 **78** 为例，其在一级质谱中的准分子离子峰是 m/z 264.19 $[M+H]^+$ ，在二级质谱中， $[M+H]^+$ 丢失氨基部分而形成特征碎片 m/z 175.11 $[M+H-C_4H_{10}NO]^+$ ，失去一分子 CO 碎片离子

产生 m/z 147.11 $[M+H-C_4H_{10}NO-CO]^+$ ，继续丢失碎片 C_3H_4 产生 m/z 107.08 $[M+H-C_4H_{10}NO-CO-C_3H_4]^+$ 。化合物 **78** 经与对照品比对，确认为羟基- β -山椒素，其可能的裂解途径见图 5。化合物 **75~76** 经对照品比对，分别确认为羟基- ε -山椒素和羟基- α -山椒素。化合物 **91** 依据碎片离子信息与文献比对，鉴定为 α -山椒素^[27]。

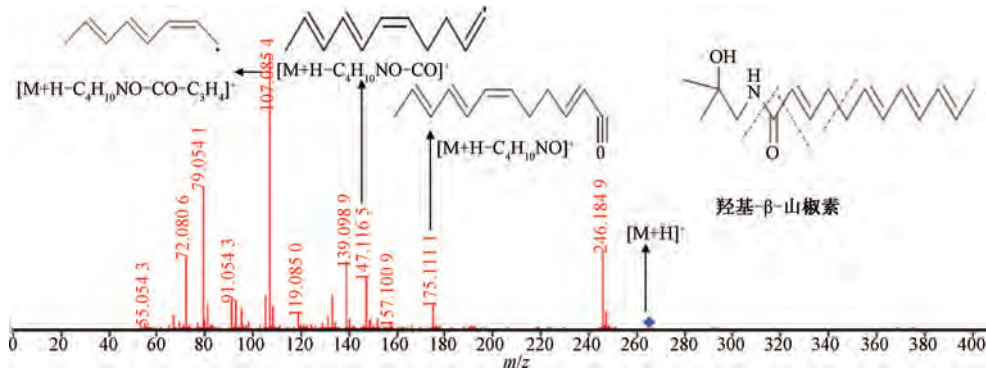


图 5 羟基- β -山椒素的二级质谱及可能的裂解途径

3.3.2 苯酞类化合物 苯酞类化合物来源于川芎，苯酞类化合物裂解时最常见特征为内酯环开裂，含有不饱和侧链的化合物一般会丢失 C_2H_5 和 CO 中性分子，化合物 **42~43**、**77**、**79**、**83** 属于此类苯酞；含有饱和侧链的化合物一般会丢失 C_4H_9 和 CO 中性分子，侧链还常见丢失 H_2O 分子，化合物 **3**、**80~81** 属于此类苯酞。化合物 **42** 和 **43** 是同分异构体，经对照品比对，分别为洋川芎内酯 I 和洋川芎内酯 H。化合物 **83~84** 的出峰位置很接近，经对照品比对，分别确认为丁烯基苯酞和正丁基苯酞。

以化合物 **85** 为例，在正离子模式下，一级质谱中准分子离子峰为 m/z 191.10 $[M+H]^+$ ，在二级质谱中，内酯环开裂失去一分子 H_2O ，产生碎片离子 m/z 173.09 $[M+H-H_2O]^+$ ，失去一分子 CO 碎片离子产生 m/z 145.10 $[M+H-H_2O-CO]^+$ ，继续丢失 C_2H_4 碎片离子 m/z 117.06 $[M+H-$

$H_2O-CO-C_2H_4]^+$ ，也会重排之后丢失 C_2H_4 而产生碎片离子 m/z 163.11 $[M+H-C_2H_4]^+$ ，化合物 **85** 与对照品 *E*-藁本内酯裂解途径一致，故确定为 *E*-藁本内酯，其可能的裂解途径见图 6。

3.3.3 香豆素类化合物 香豆素类化合物主要来源于防风 and 花椒，其裂解时一般会丢失 CO 和 CO_2 碎片离子，这是因为此途径有形成更稳定的共轭结构的趋势。化合物 **64** 为呋喃香豆素类，化合物 **66** 为简单香豆素类，两者均会丢失 CO 碎片离子。在正离子模式下，化合物 **64** 在一级质谱中的准分子离子峰是 m/z 217.04 $[M+H]^+$ ，在二级质谱中， $[M+H]^+$ 丢失一分子 CH_3 形成特征碎片离子 m/z 202.02 $[M+H-CH_3]^+$ ，丢失一分子 CO 形成特征碎片离子 m/z 174.02 $[M+H-CH_3-CO]^+$ ，继续丢失两分子 CO 形成特征碎片 m/z 146.03 $[M+H-CH_3-2CO]^+$ ，故确认为花椒毒素，其可能的

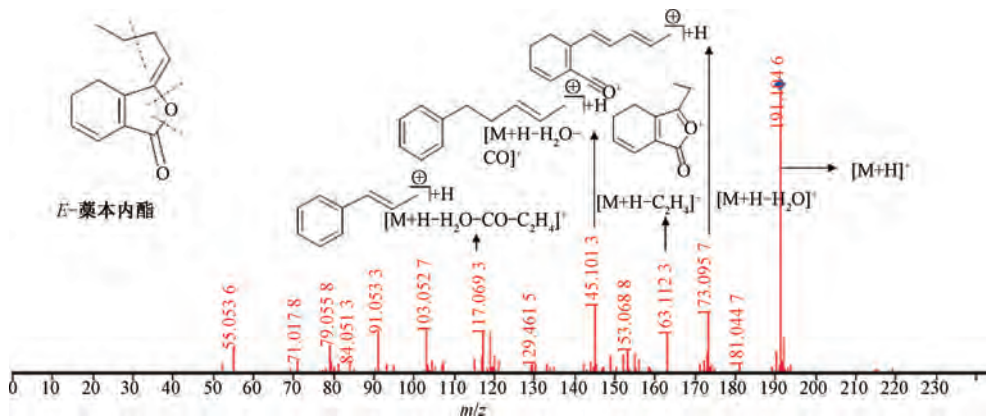


图 6 *E*-藁本内酯的二级质谱及可能的裂解途径

裂解途径见图 7；化合物 **66** 在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 193.12 $[M+H]^+$ ，二级碎片离子 m/z 178.02 $[M+H-CH_3]^+$ 、137.06 $[M+H-2CO]^+$ 和 m/z 122.96 $[M+H-2CO-CH_3]^+$ ，因此推断为东莨菪素。

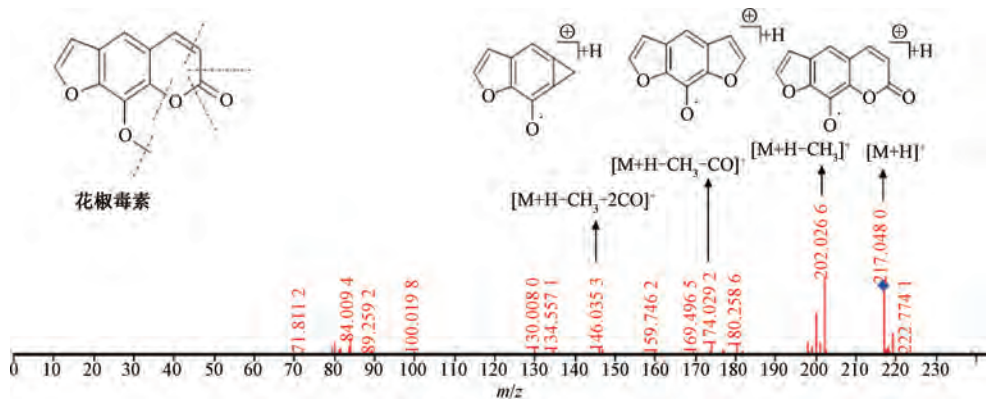


图 7 花椒毒素的二级质谱及可能的裂解途径

3.3.4 黄酮类化合物 黄酮类化合物主要来源于防风、花椒和东北透骨草。黄酮类化合物以 2-苯基色圆酮为母核，其二级质谱常发生糖苷键断裂，形成苷元离子。黄酮及其苷类化合物 C 环易发生 RDA 裂解反应，以及不饱和 C 环丢失一分子 CO 成五元环，一些苷元会脱 H₂O、CH₃ 以及 C₄H₄O₂ 碎片。以金丝桃苷 (**31**) 为例，在负离子模式下，峰 **31** 在一级质谱中的准分子离子峰是 m/z 463.09 $[M-H]^-$ ，在二级质谱中， $[M-H]^-$ 丢失葡萄糖基，产生了特征碎片 m/z 300.02 $[M-H-Glc]^-$ ，继续丢失一分子 CO 形成特征碎片 m/z 271.02 $[M-H-Glc-CO]^-$ ； $[M-H]^-$ 也可能经过 RDA 反应产生特征碎片 m/z 151.00 和 m/z 313.08，化合物 **31** 与对照品金丝桃苷的裂解途径一致，因此将峰 **31** 确认为金丝桃苷，其可能的裂解过程见图 8。化合物 **23**、**24**、**31** 经与对照品和文献 [13, 29-30] 比对，分别确认为芦丁、升麻素苷、金丝桃苷。

3.3.5 三萜皂苷类化合物 三萜皂苷类化合物主要来源于牛膝和威灵仙，三萜皂苷类化合物一般是皂苷的糖苷键发生断裂。皂苷所连糖基有葡萄糖、阿拉伯糖、木糖等，依据丢失的质荷比可以判断糖基的类型。牛膝皂苷和威灵仙皂苷的苷元均为齐墩果酸母核。以 chikusetsusaponin IV (**70**) 为例，化合物 **70** 在一级质谱中的准分子离子峰 m/z

925.48 $[M-H]^-$ ，在二级质谱中，先丢失 1 分子阿拉伯糖基产生碎片离子 m/z 793.43 $[M-H-Ara]^-$ ，丢失葡萄糖基产生碎片离子 m/z 631.39 $[M-H-Ara-Glu]^-$ ，推断化合物 **70** 是 chikusetsusaponin IV^[16]，其可能的裂解途径见图 9。根据以上裂解规律，峰 **65**、**67~69**、**71~74**、**82**、**86~90**，分别确认为 clematichinenoside C、huzhangoside B、pen-rha-pen-ole-glc-glc、ginsenoside Ro、chikusetsusaponin IV a、achyranthoside C、achyranthoside E、achyranthoside B or bidentatoside I、zingibroside R1、achyranthoside IV、28-deglucosyl-achyrantho-side C、28-deglucosylchikusetsusa-ponin IV、28-deglucosylchikusetsusa-ponin IV a、28-deglucosyl-achyrantho-side E。

4 讨论

为获得较好的分离，本实验前期考察了流动相，包括 0.8% 甲酸（含有 0.1% 甲酸铵）-乙腈、0.1% 甲酸-甲醇、0.1% 三乙胺-乙腈、0.1% 甲酸-乙腈等，采用不同梯度进行洗脱，最终确定 0.1% 甲酸-乙腈梯度洗脱条件下各成分分离度良好，出峰数目较多。

本实验通过保留时间、准分子离子峰、二级碎片离子信息对各个色谱峰进行了归属，共鉴别 100 个化合物，28 个化合物经对照品比对得到确认，并推测了含氮类、苯酚

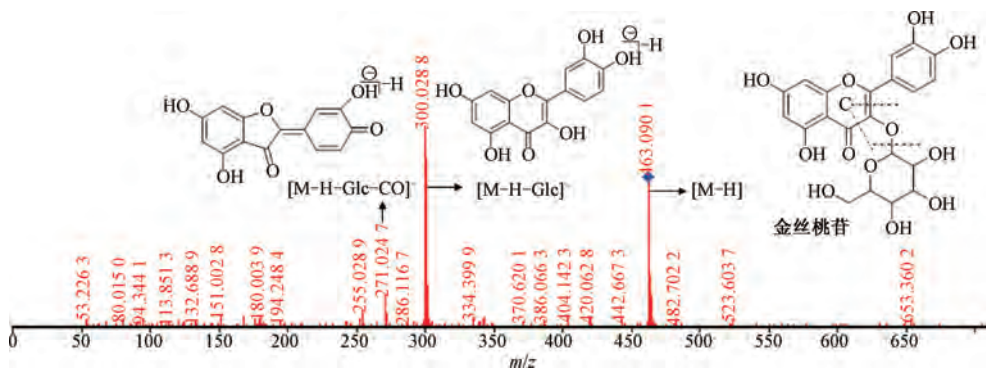


图 8 金丝桃苷的二级质谱及可能的裂解途径

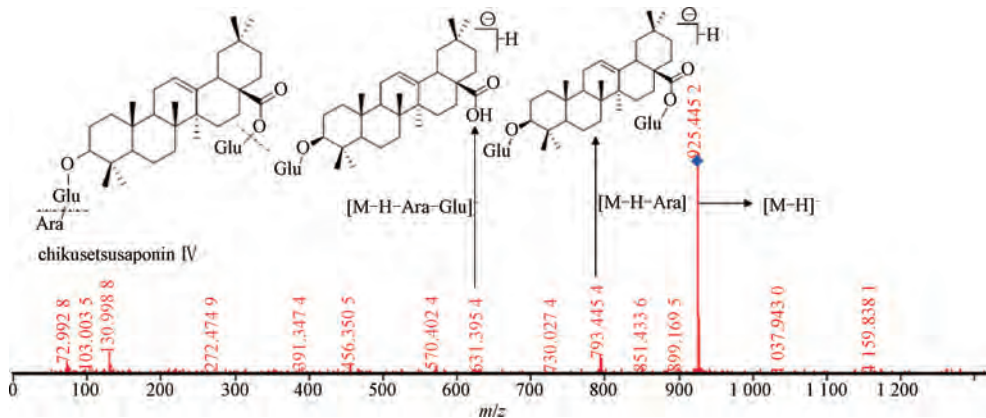


图 9 chikusetsusaponin IV 的二级质谱及可能的裂解途径

类、香豆素类、黄酮类和三萜皂苷类化合物的质谱裂解规律，化合物主要来源于延胡索、川芎、威灵仙，东北透骨草、路路通、海桐皮、防风、花椒，未鉴定出薄荷脑和来源于冰片的化合物，因为薄荷脑和冰片中的化合物为挥发性成分，后期需进一步采用 GC-MS 对挥发性成分进行鉴别，完善了筋骨止痛凝胶的物质基础信息。

本研究结果表明筋骨止痛凝胶主要化学成分为生物碱类、苯酞类、黄酮类和三萜皂苷类，主要来自于延胡索、川芎、海桐皮、花椒等，明确了这些药味在方中的贡献，为后续质量标准提升和阐明药效物质基础提供了参考。

参考文献：

[1] 秦建平, 吴建雄, 郎悦, 等. 痛宁凝胶的 HPLC-MS 指纹图谱研究[J]. 现代药物与临床, 2016, 31(4): 427-430.

[2] 王伟, 尚强, 杨璐, 等. HPLC 同时测定痛宁凝胶中延胡索乙素和原阿片碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 93-95.

[3] 刘莉莉, 秦建平, 杨素德, 等. GC 法测定痛宁凝胶中冰片和薄荷脑的含量[J]. 中国药科大学学报, 2014, 45(1): 76-78.

[4] Li W, Tang Y P, Qian Y F, et al. Comparative analysis of main aromatic acids and phthalides in *Angelicae Sinensis Radix*, *Chuanxiong Rhizoma*, and Fo-Shou-San by a validated UHPLC-TQ-MS/MS[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 99: 45-50.

[5] 蔡卓亚, 周自桂, 李萍, 等. 伸筋草化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(2): 297-304.

[6] Wang X X, Yao Y X, An C, et al. Simultaneous determination of 20 bioactive components in *Chuanxiong Rhizoma* from different production origins in Sichuan province by ultra-high-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry combined with multivariate statistical analysis[J]. *Electrophoresis*, 2020, 41(18-19): 1606-1636.

[7] 韩炜. 川芎的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国现代中药, 2017, 19(9): 1341-1349.

[8] Yang L C, Li R, Tan J, et al. Polyphenolics composition of the leaves of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. grown in Hebei, China, and their radical scavenging activities[J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(8): 1772-1778.

[9] 孙凤. 铁线莲属植物的化学成分研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.

[10] Lin Z, Yang R, Guan Z, et al. Ultra-performance LC separation and quadrupole time-of-flight MS identification of major alkaloids in *Plumula Nelumbinis*[J]. *Phytochem Anal*, 2014, 25(6): 485-494.

[11] 赵浩恩. 两种刺桐属植物的生物碱成分研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2018.

[12] Fuchino H, Murase S, Hishida A, et al. Simultaneous UHPLC/MS quantitative analysis and comparison of *Saposhnikovia radix* constituents in cultivated, wild and commercial products[J].

J Nat Med, 2021, 75(3): 499-519.

[13] 廖宇娇, 敖明月, 李 星, 等. 不同炮制方法对川芎中化学成分的影响研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(2): 374-379.

[14] 冯自立, 赵正栋, 刘建欣, 等. 延胡索化学成分及药理活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(11): 2000-2008.

[15] Zhao B T, Jeong S Y, Moon D C, *et al.* High performance liquid chromatography used for quality control of *Achyranthis Radix*[J]. *Arch Pharm Res*, 35(8): 1449-1455.

[16] Wang X Y, Ding X, Yuan Y F, *et al.* Comprehensive two-dimensional APTES-decorated MCF7-cell membrane chromatographic system for characterizing potential anti-breast-cancer components from Yuanhu-Baizhi herbal medicine pair [J]. *J Food Drug Anal*, 2018, 26(2): 823-833.

[17] 张晓娟, 张燕丽, 左冬冬. 川芎的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2020, 37(6): 128-133.

[18] 韩彦琪. 基于 HPLC-QTOF/MS 及 G 蛋白偶联受体分析的延胡索物质基础及作用机制研究[J]. 药学报, 2016, 51(8): 1302-1308.

[19] Du W J, Jin L S, Li L P, *et al.* Development and validation of a HPLC-ESI-MS/MS method for simultaneous quantification of fourteen alkaloids in mouse plasma after oral administration of the extract of *Corydalis yanhusuo* Tuber; Application to pharmacokinetic study[J]. *Molecules*, 2018, 23(4): 714.

[20] 唐艳丽, 杨爱梅, 张樱山, 等. 灰绿黄堇生物碱化学成分的研究 (I) [J]. 中国中药杂志, 2005(3): 36-38.

[21] 蒋 勇, 钟淑欣, 何升华, 等. 基于网络药理学探究防风中生物活性成分及对类风湿关节炎的作用机制[J]. 中草药, 2023, 54(17): 5601-5618.

[22] 敖厚豫. 基于麻味成分的顶坛花椒 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国调味品, 2020, 45(5): 19-26; 32.

[23] 杨 艳. 川芎、当归、藁本挥发油成分的一测多评及特征图谱研究[D]. 泸州: 泸州医学院, 2015.

[24] Zschocke S, Klaiber I, Bauer R, *et al.* HPLC-coupled spectroscopic techniques (UV, MS, NMR) for the structure elucidation of phthalides in *Ligusticum chuanxiong* [J]. *Molecular Diversity*, 2005, 9: 33-39.

[25] Liu X, Li X, Ji S, *et al.* Screening of bioactive ingredients in *Ligusticum Chuanxiong* Hort for protection against myocardial ischemia[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40(3-4): 770-780.

[26] Bhatt V, Sharma S, Kumar N, *et al.* Simultaneous quantification and identification of flavonoids, lignans, coumarin and amides in leaves of *Zanthoxylum armatum* using UPLC-DAD-ESI-QTOF-MS/MS[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 132: 46-55.

[27] 李 春, 孙玉茹, 孙有富, 等. 中药路路通化学成分的研究 [J]. 药学报, 2002(4): 263-266.

[28] 邱博琳, 王玲燕, 夏桂阳, 等. 二氢白屈菜红碱在不同溶剂的结构转化研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(16): 3315-3321.

[29] Xiong Y, Cao X Y, Liu B Y, *et al.* Exploring the mechanism of Buxue Yimu Pill on hemorrhagic anemia through molecular docking, network pharmacology and experimental validation[J]. *Chin J Nat Med*, 2021, 19: 900-911.

[30] 孙明谦. 中药复杂成分样品的电喷雾质谱分析方法研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2009.