

蜂胶化学成分的 LC-IT-TOF-MS 鉴别

姚静¹, 孙建国², 吴亮², 汪豪^{1*}, 王广基², 叶文才³¹中国药科大学天然药物化学教研室, 南京 210009; ²中国药科大学药物科学研究院, 南京 210009;³暨南大学药学院中药及天然药物研究所, 广州 510632)

摘要 建立液相色谱串联离子阱飞行时间质谱法(LC-IT-TOF-MS)鉴定中国蜂胶的化学成分。采用 Shim-pack VP-ODS 色谱柱(2.0 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.2% 甲酸水溶液, 梯度洗脱, 流速 0.3 mL/min, 采用 ESI-IT-TOF 检测, 负离子模式扫描。根据色谱峰精确相对分子质量、碎片离子信息、及液相色谱保留时间比较鉴别化合物。采用 LC-IT-TOF-MS 法鉴定了中国蜂胶(山东泰安)中 31 个成分, 包括 25 个黄酮类化合物和 6 个酚酸类化合物。结果表明, 采用 LC-IT-TOF-MS 方法可以快速、准确地对蜂胶中各成分进行有效的定性分析。

关键词 蜂胶; LC-IT-TOF-MS; 定性分析**中图分类号** R917 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2017)02-0178-06

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20170208

引用本文 姚静, 孙建国, 吴亮, 等. 蜂胶化学成分的 LC-IT-TOF-MS 鉴别[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(2): 178-183.

Cite this article as: YAO Jing, SUN Jianguo, WU Liang, et al. Identification of major constituents from propolis by LC-IT-TOF-MS[J]. J China Pharm Univ, 2017, 48(2): 178-183.

Identification of major constituents from propolis by LC-IT-TOF-MS

YAO Jing¹, SUN Jianguo², WU Liang², WANG Hao^{1*}, WANG Guangji², YE Wencai³

¹Department of Natural Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; ²Drug Research Institute, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; ³Institute of Traditional Chinese Medicine & Natural Products, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China

Abstract A qualitative analytical method of liquid chromatography coupled with ion trap time-of-flight mass spectrometry (LC-IT-TOF/MS) was developed for identification of major constituents in propolis from China (Shandong). The LC-IT-TOF-MS was performed on a Shim-pack VP-ODS column (2.0 mm × 150 mm, 5 μm) with the mobile phase consisting of acetonitrile and water containing 0.2% formic acid in gradient mode, and the flow rate was set at 0.3 mL/min. Negative ion mode was used for IT-TOF-MS. According to the accurate molecular weight, MS fragment pathway, comparison with the retention time of reference compounds, total 31 compounds, including twenty-five phenolic acids and six flavonoids were identified. The LC-IT-TOF-MS qualitative analysis method can be used for analyzing major components of propolis quickly and accurately.

Key words propolis; LC-IT-TOF-MS; qualitative analysis

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81573309)

蜂胶(propolis)是蜜蜂从植物幼芽与树干裂缝处采集的树胶与其上颚腺分泌物(如β-糖苷酶)和蜂蜡等混合加工而成的一种具有芳香气味的胶状固体物。蜂胶含有不同种类的化学成分,包括酚酸

及其酯类、黄酮类、萜烯类、类固醇及氨基酸等^[1-2]。蜂胶具有多种生物学活性,如抗氧化、抗炎、抑菌、免疫调节、护肝、调节血脂血糖等,现已广泛应用于食品药品保健品及化妆品等行业,是近十

多年来蜂产品乃至天然产物研究开发的热点^[3]。

IT-TOF-MSⁿ将离子阱的多级碎裂功能与飞行时间质谱高分辨率、精确相对分子质量测定的优势相结合,能极大地提高质谱的灵敏度和分辨率^[4-6],液相色谱-离子阱飞行时间质谱(LC-IT-TOF-MS)能有效地对天然产物混合成分进行分析^[7]。

本研究采用LC-IT-TOF-MS法鉴定了中国蜂胶(山东泰安)中31个成分,包括25个黄酮类化合物和6个酚酸类化合物,可为进一步研究蜂胶活性成分和生物学功能提供依据,为我国蜂胶及蜂胶产品更好地开发利用提供一定借鉴意义。

1 材料

1.1 试剂

乙腈、甲醇(色谱纯,美国默克公司);甲酸(色

谱纯),水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为市售分析纯。蜂胶:蜂胶原胶采自山东省泰安市。化学对照品短叶枳素(Pinocembrin), Quercetin, Caffeic acid phenylethyl ester (CAPE), Chrysin, *p*-Coumaric 为本实验室从蜂胶中分离得到,经UV、IR、NMR、MS等波谱技术对其进行结构鉴定,纯度经HPLC检测,面积归一化法均大于95%,结构式见图1。

1.2 仪器

LC液相色谱仪(LC-20AD二元泵, SIL-20AC自动进样器, CTO-20AC柱温箱, SPD-M20A型检测器,日本岛津公司); Shimadzu IT-TOF质谱仪, Version3.6工作站定量分析软件, Formula Predictor 1.2相对分子质量计算软件, AUV120D型电子天平(0.01 mg,日本岛津公司); KQ-5200B型医用数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

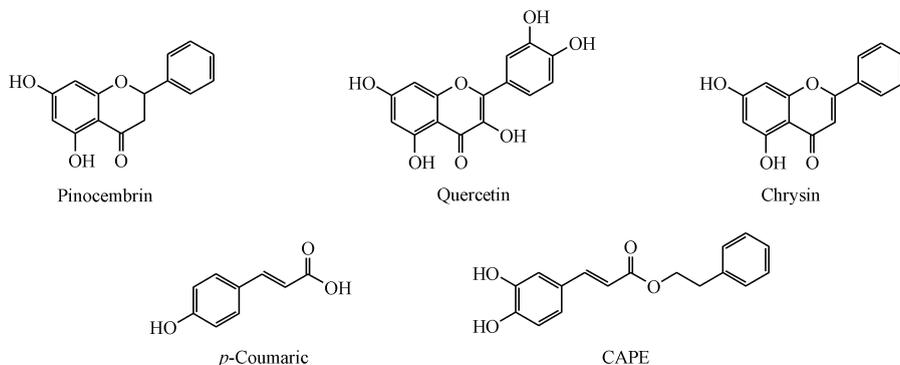


Figure 1 Chemical structures of reference compounds

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 对照品溶液的制备 分别取各对照品适量,精密称定,用甲醇溶解,制成一定浓度的混合标准溶液。

2.1.2 样品溶液的制备 取中国蜂胶(山东)约50 mg,加80%甲醇50 mL,超声提取60 min,滤过,取适量滤液加甲醇稀释后,过0.45 μm滤膜,作为样品溶液。

2.2 HPLC条件

色谱柱: Shim-pack VP-ODS(150 mm × 2.0 mm, 5 μm)。流动相 A: 0.2% 甲酸溶液, 流动相 B: 乙腈, 梯度洗脱: 0 min, B: 15%; 5 min, B: 30%; 35 min, B: 45%; 45 min, B: 65%; 55 min, B: 80%; 60 min, B: 95%; 65 min, B: 95%。柱温: 30 °C; 流速: 0.3

mL/min; 进样量: 10 μL。

2.3 MS条件

离子源为ESI,负离子模式,氮气为雾化气,质谱检测范围: MS: m/z 100 ~ 1 000; MS²: m/z 100 ~ 800, MS³: m/z 50 ~ 500, IT真空 1.6×10^{-2} Pa, TOF真空 1.3×10^{-4} Pa, 仪器温度 40 °C; 雾化气 N₂ 流速 1.5 L/min, 干燥气压力 121 kPa, CDL 和加热块温度 200 °C。

3 结果

通过“2.2”项下色谱条件对蜂胶样品溶液进行IT-TOF-MS分析,负离子模式下总离子流图见图2,有标准品的化合物通过与标准品的色谱保留时间以及质谱裂解碎片进行确认;没有标准品的未知成分,根据色谱保留时间、质谱裂解碎片并结合文献进行确认,共鉴定了31个化合物,详细信息见表1。

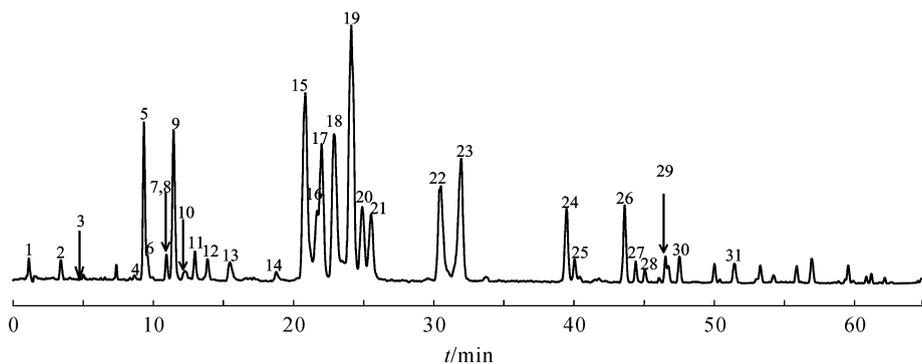


Figure 2 Negative total ion chromatogram of propolis from China (Shandong)

Table 1 Identification of chemical constituents in propolis from China (Shandong)

Peak	t_R /min	Compound	Molecular formula	$[M - H]^-$ (m/z)	Calculated (m/z)	Error	Product ion
1	1.07	Caffeic acid 4- <i>O</i> -glucoside ^{b,c}	$C_{15}H_{18}O_9$	341.104 9	341.103 1	5.28	341, 179
2	3.40	Caffeic acid ^{b,c}	$C_9H_8O_4$	179.034 2	179.035 0	-4.47	179, 135
3	4.78	<i>p</i> -Coumaric ^{a,b}	$C_9H_8O_3$	163.040 2	163.040 1	0.61	119
4	8.70	Quercetin ^{a,b}	$C_{15}H_{10}O_7$	301.029 8	301.029 5	1.00	179, 151
5	9.33	Pinobanksin-5-methyl ether ^{b,c}	$C_{16}H_{13}O_5$	285.0717	285.071 0	2.46	267, 253
6	9.59	Quercetin-3-methyl ether ^{b,c}	$C_{16}H_{12}O_7$	315.046 3	315.045 2	3.49	300, 271, 255
7	10.81	Chrysin-5-methyl-ether ^{b,c}	$C_{16}H_{12}O_4$	267.062 8	267.063 3	-1.87	252, 224
8	10.94	Apigenin ^{b,c}	$C_{15}H_{10}O_5$	269.047 2	269.045 5	6.32	149
9	11.44	Pinobanksin ^{b,c}	$C_{15}H_{12}O_5$	271.057 1	271.055 3	6.64	253, 225
10	12.34	Isorhamnetin ^{b,c}	$C_{16}H_{12}O_7$	315.044 7	315.045 2	-1.59	300
11	12.96	Luteolin-methyl-ether ^{b,c}	$C_{16}H_{12}O_6$	299.050 7	299.050 2	1.67	284, 255
12	13.85	Quercetin-dimethyl-ether ^{b,c}	$C_{17}H_{14}O_7$	329.060 6	329.060 8	-0.61	314, 299, 285, 271
13	15.43	Galangin-5-methyl-ether ^{b,c}	$C_{16}H_{12}O_5$	283.056 7	283.055 3	4.95	268, 239
14	18.76	Quercetin-dimethyl-ether ^{b,c}	$C_{17}H_{14}O_7$	329.061 2	329.060 8	1.22	314, 299, 271
15	20.97	Chrysin ^{a,b}	$C_{15}H_{10}O_4$	253.047 6	253.047 7	-0.40	209, 143
16	21.61	Caffeic acid benzyl ester ^{a,b}	$C_{16}H_{14}O_4$	269.075 9	269.077 2	-4.83	178, 134
17	21.90	Pinocembrin ^{a,b}	$C_{15}H_{12}O_4$	255.061 4	255.061 6	-0.78	213, 151
18	23.09	Galangin ^{b,c}	$C_{15}H_{10}O_5$	269.040 7	269.039 7	3.72	227
19	24.10	Pinobanksin-3- <i>O</i> -acetate ^{b,c}	$C_{17}H_{14}O_6$	313.065 6	313.065 9	-0.96	271, 253, 209
20	24.85	Caffeic acid phenylethyl ester (CAPE) ^{a,b}	$C_{17}H_{16}O_4$	283.093 0	283.092 9	0.35	179, 135
21	25.30	Methoxy-chrysin ^{b,c}	$C_{16}H_{12}O_5$	283.057 0	283.055 3	6.01	269, 239
22	30.16	Caffeic acid cinnamyl ester ^{b,c}	$C_{18}H_{16}O_4$	295.093 1	295.092 9	0.68	178, 134
23	31.72	Pinobanksin-3- <i>O</i> -propionate ^{b,c}	$C_{18}H_{16}O_6$	327.082 9	327.081 5	4.28	253, 209, 181, 165, 143
24	39.33	Pinobanksin-3- <i>O</i> -butyrate ^{b,c}	$C_{19}H_{18}O_6$	341.096 5	341.097 2	-2.05	253, 209, 181, 165, 143
25	40.37	Pinobanksin-3- <i>O</i> -pentanoate ^{b,c}	$C_{20}H_{18}O_6$	353.097 0	353.097 2	-0.57	271, 253
26	43.59	Pinobanksin-3- <i>O</i> -pentanoate or 2-methylbutyrate ^{b,c}	$C_{20}H_{20}O_6$	355.112 4	355.112 8	-1.13	253, 209
27	44.34	Pinobanksin-3- <i>O</i> -hexanoate ^{b,c}	$C_{21}H_{20}O_6$	367.110 8	367.112 8	-5.45	271, 253
28	45.00	Pinobanksin-3- <i>O</i> -phenylpropionate ^{b,c}	$C_{24}H_{20}O_6$	403.112 3	403.112 8	-1.24	253
29	46.40	Pinobanksin-3- <i>O</i> -hexanoate ^{b,c}	$C_{21}H_{22}O_6$	369.127 1	369.128 5	-3.79	253
30	47.46	Pinobanksin-3- <i>O</i> -phenylpentanoate ^b	$C_{26}H_{22}O_6$	429.140 9	429.139 8	2.50	271, 253
31	51.59	Pinobanksin-3- <i>O</i> -octanoate ^b	$C_{23}H_{26}O_6$	397.163 2	397.165 7	-6.29	253

^aConfirmed with standard; ^bConfirmed with MSⁿ fragmentation; ^cConfirmed with references

3.1 黄酮类

峰 9 在 ESI⁻ 模式下得到 m/z 271 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 253 $[M - H - H_2O]^-$, m/z 225 $[M - H - H_2O - CO]^-$ 结合精确相对分子质量

及与文献[8]对比, 鉴定其为 Pinobanksin。峰 5 在 ESI⁻ 模式下得到 m/z 285 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 253 $[M - CH_3 - H_2O]^-$, 结合精确相对分子质量及与文献[8]对比, 鉴定其为 Pinobanksin-5-

methyl ether。峰19在ESI⁻模式下得到 m/z 313 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 253 $[M - C_2H_3O - H_2O]^-$, m/z 209 $[M - C_2H_3O - H_2O - CO_2]^-$, 结合精确相对分子质量及与文献[8]对比, 鉴定其为 Pinobanksin-3-*O*-acetate。峰23在ESI⁻模式下得到 m/z 327 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 253 $[M - C_3H_5O - H_2O]^-$, 三级质谱得到 m/z 209 $[M - C_3H_5O - H_2O - CO_2]^-$, m/z 181 $[M - C_3H_5O - H_2O - CO_2 - CO]^-$, m/z 165 $[M - C_3H_5O - H_2O - 2CO_2]^-$, m/z 143 $[M - C_3H_5O - H_2O - C_3O_2 - C_2H_2O]^-$, 结合精确相对分子质量及与文献[8]对比, 鉴定其为 Pinobanksin-3-*O*-propionate。其一级、二级及三级质谱图见图3。峰24在ESI⁻模式下得到 m/z 341 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 253 $[M - C_4H_7O - H_2O]^-$, 三级质谱得到 m/z 209 $[M - C_4H_7O - H_2O - CO_2]^-$, m/z 181 $[M - C_4H_7O - H_2O - CO_2 - CO]^-$, m/z 165 $[M - C_4H_7O - H_2O - 2CO_2]^-$, m/z 143 $[M - C_4H_7O - H_2O - C_3O_2 - C_2H_2O]^-$, 结合精确相对分子质量及与文献[8]对比, 鉴定其为 Pino-

banksin-3-*O*-butyrate。其一级、二级及三级质谱图见图3。峰25, 27在ESI⁻模式下分别得到 m/z 353 $[M - H]^-$, m/z 367 $[M - H]^-$, 其二级质谱都有 m/z 271 $[M - C_5H_7O/C_6H_9O]^-$, m/z 253 $[M - C_5H_7O/C_6H_9O - H_2O]^-$, 结合精确相对分子质量及与文献[8]对比, 鉴定其分别为 Pinobanksin-3-*O*-pentenoate, Pinobanksin-3-*O*-hexenoate。峰26, 28, 29在ESI⁻模式下分别得到 m/z 355 $[M - H]^-$, m/z 403 $[M - H]^-$, m/z 369 $[M - H]^-$, 其二级质谱都有 m/z 253 $[M - C_5H_9O/C_9H_9O/C_6H_{11}O - H_2O]^-$, 结合精确相对分子质量及与文献[9]对比, 鉴定其分别为 Pinobanksin-3-*O*-pentanoate 或 2-methylbutyrate, Pinobanksin-3-*O*-phenylpropionate, Pinobanksin-3-*O*-hexanoate。峰30, 31在ESI⁻模式下分别得到 m/z 429 $[M - H]^-$, m/z 397 $[M - H]^-$, 其二级质谱都有 m/z 253 $[M - C_{11}H_{11}O/C_8H_{15}O - H_2O]^-$, 结合精确相对分子质量, 鉴定其分别为 Pinobanksin-3-*O*-phenylpentenoate, Pinobanksin-3-*O*-octanoate。

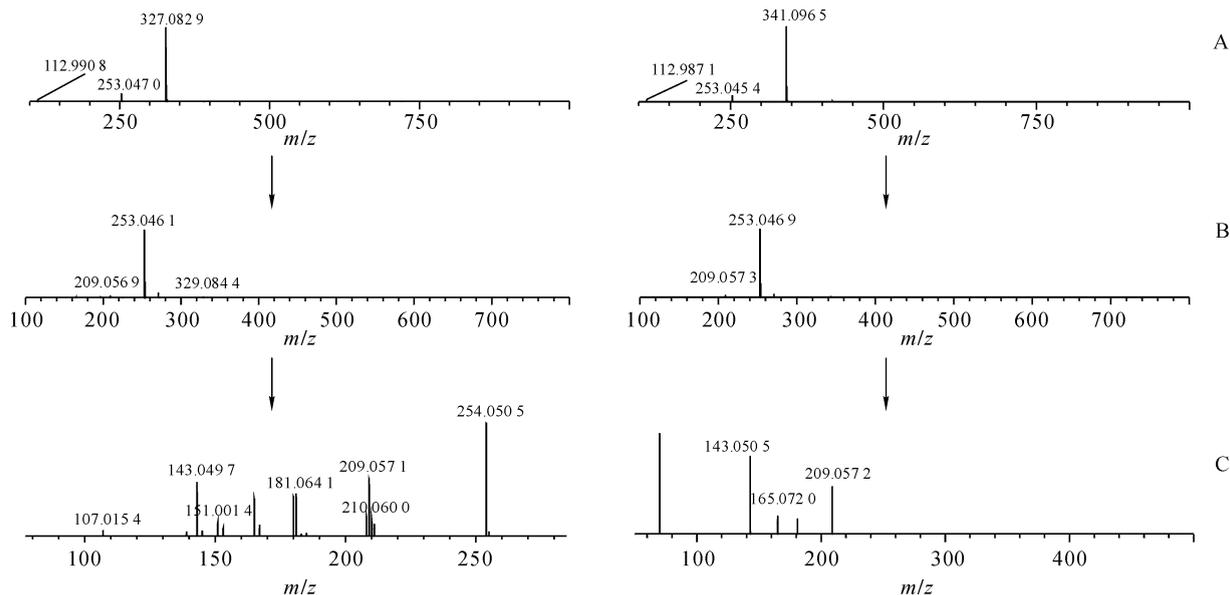


Figure 3 Negative ion MS (A) and MS² (B), MS³ (C) spectra of compound 23, 24

通过总结可发现,短叶松素(Pinobanksin)及其酯类都会产生 m/z 253 的碎片离子峰,是因为其是二氢黄酮醇类化合物,C环上C3位连有-OH,脱水产生^[1]。本文以 Pinobanksin-3-*O*-propionate 为例,对该类型化合物可能发生的裂解途径进行归纳总结^[10-11],结果如图4。

峰17在ESI⁻模式下得到 m/z 255 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 213 $[M - H - C_2H_2O]^-$, 碎片峰 m/z 151 为A环RDA裂解所得碎片离子。通过其精确相对分子质量及与对照品的保留时间进行对比,鉴定其为 Pinocembrin,其一级及二级质谱图见图5。峰15在ESI⁻模式下得到 m/z 253 $[M - H]^-$,

其二级质谱得到 m/z 209 $[M - H - CO_2]^-$, m/z 143 $[M - H - C_3O_2 - C_2H_2O]^-$, 通过其精确相对分子质量及与对照品的保留时间进行对比, 鉴定其为 Chrysin。峰 21 在 ESI^- 模式下得到 m/z 283 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 269 $[M - CH_3]^-$, m/z 239 $[M - H - CO_2]^-$, 通过其精确相对分子质量及与文献对比, 鉴定其为 Methoxy-chrysin。峰 7 在 ESI^- 模式下得到 m/z 267 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 252 $[M - H - CH_3]^-$, m/z 224 $[M - H - CH_3 - CO]^-$, 通过其精确相对分子质量及与文献 [8] 对比, 鉴定其为 Chrysin-5-methyl-ether。峰 11 在 ESI^- 模式下得到 m/z 299 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 284 $[M - H - CH_3]^-$, m/z 255 $[M - H - CO_2]^-$, 通过其精确相对分子质量及与文献 [8] 对比, 鉴定其为 Luteolin-methyl-ether。峰 4 在 ESI^- 模式下得到 m/z 301 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 179 $[M - H - C_7H_7O_2]^-$, m/z 151 $[M - H - C_7H_7O_2 - CO]^-$, 通过其精确相对分子质量及标准品对比, 鉴定其为 Quer-

cetin。峰 6 在 ESI^- 模式下得到 m/z 315 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 300 $[M - H - CH_3]^-$, m/z 271 $[M - H - CO_2]^-$, 通过其精确相对分子质量及与文献 [8] 对比, 鉴定其为 Quercetin-3-methyl ether。峰 10 在 ESI^- 模式下得到 m/z 315 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 300 $[M - H - CH_3]^-$, 151 $[M - H - C_8H_9O_2 - CO]$ 通过其精确相对分子质量及与文献 [8] 对比, 鉴定其为 Isorhamnetin。峰 12, 14 在 ESI^- 模式下得到 m/z 329 $[M - H]^-$, 二级质谱都有 m/z 314 $[M - CH_3]^-$, m/z 299 $[M - 2CH_3]^-$, 通过其精确相对分子质量及与文献 [8] 对比, 鉴定其为 Quercetin-dimethyl-ether。峰 13 在 ESI^- 模式下得到 m/z 283 $[M - H]^-$, 其二级质谱得到 m/z 268 $[M - CH_3]^-$, 239 $[M - H - CO_2]^-$ 通过其精确相对分子质量及与文献 [8] 对比, 鉴定其为 Galangin-5-methyl-ether。碎片离子 m/z 151 来源于 A 环的 RDA (RetroDiels-Alder) 反应。

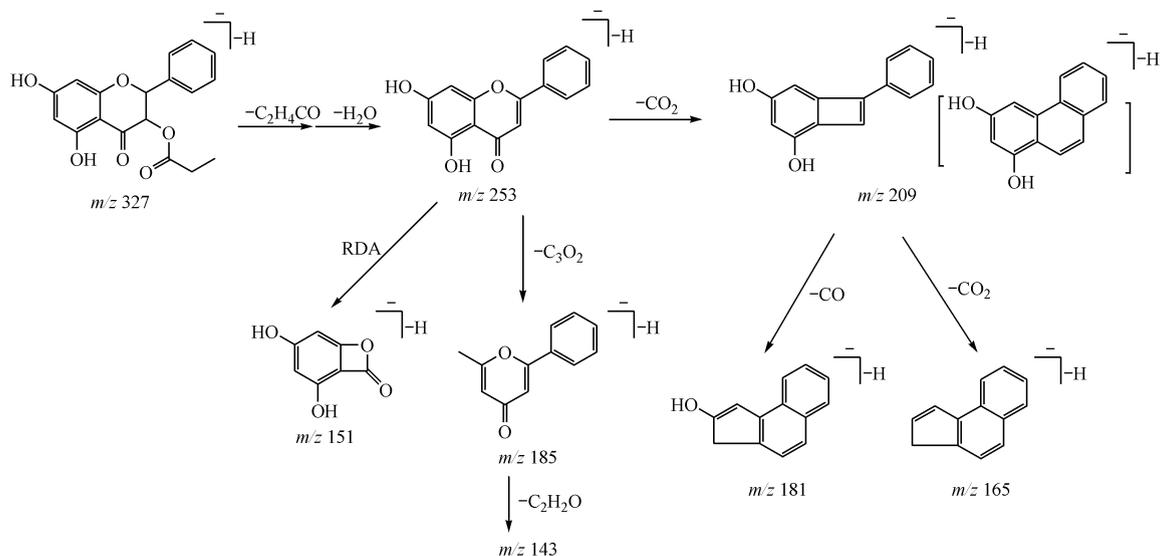


Figure 4 Fragmentation pathway of Pinobanksin-3-O-propionate (compound 23)

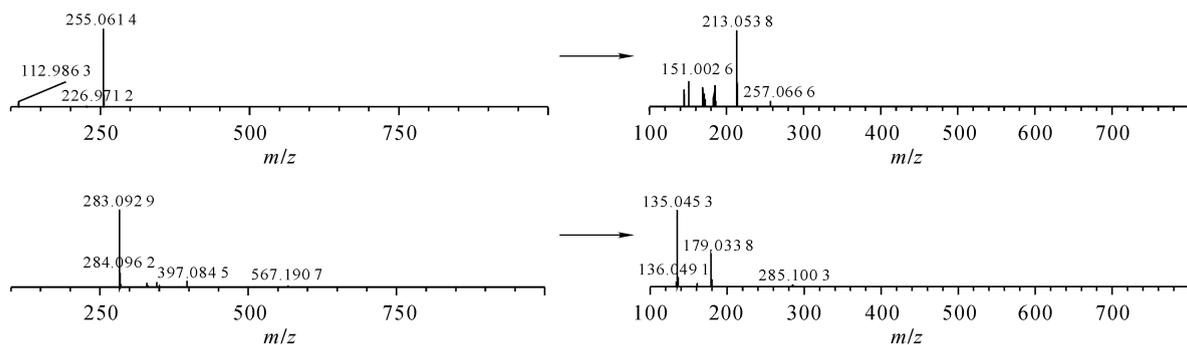


Figure 5 Negative ion MS and MS^2 spectra of compound 17,20

3.2 酚酸类

峰2在ESI⁻模式下得到 m/z 179 [M - H]⁻, 其二级质谱得到 m/z 135 [M - H - CO₂]⁻, 结合精确相对分子质量及与文献[8]对比, 鉴定其为 Caffeic acid。峰3在ESI⁻模式下得到 m/z 163 [M - H]⁻, 其二级质谱得到 m/z 119 [M - H - CO₂]⁻, 结合精确相对分子质量及与标准品对比, 鉴定其为 *p*-Coumaric。峰1在ESI⁻模式下得到 m/z 341 [M - H]⁻, 其二级质谱得到 m/z 179 [M - H - C₆H₁₀O₅]⁻, 结合精确相对分子质量及与文献[12]对比, 鉴定其为 Caffeic acid 4-*O*-glucoside。峰16在ESI⁻模式下得到 m/z 269 [M - H]⁻, 其二级质谱得到 m/z 178 [M - H - C₇H₇]⁻, 134 [M - H - C₇H₇ - CO₂]⁻, 结合精确相对分子质量及与文献[8]对比, 鉴定其为 Caffeic acid benzyl ester。峰20在ESI⁻模式下得到 m/z 283 [M - H]⁻, 其二级质谱得到 m/z 179 [M - C₈H₉]⁻, 135 [M - C₈H₉ - CO₂]⁻ 结合精确相对分子质量及与标准品对比, 鉴定其为 Caffeic acid phenylethyl ester (CAPE)。其一级及二级质谱图见图5。峰22在ESI⁻模式下得到 m/z 295 [M - H]⁻, 其二级质谱得到 m/z 178 [M - H - C₉H₉]⁻, 134 [M - H - C₉H₉ - CO₂]⁻, 结合精确相对分子质量及与文献[8]对比, 鉴定其为 Caffeic acid cinnamyl ester。

通过总结上述化合物碎片离子峰信息可发现, 肉桂酸及羟基肉桂酸, 易脱去 COOH 产生 [M - H - CO₂]⁻; 肉桂酸酯类酯键断裂产生 [M - H - R]⁻ 碎片, 前体离子进一步丢失 CO₂ 产生 [M - H - R - CO₂]⁻ 碎片。

4 讨论

本实验用 LC-IT-TOF-MS 法对中国蜂胶(山东)中主要成分进行分析, 流动相和水相分别尝试了水和甲酸溶液, 结果发现在水相中加入甲酸可有效改善色谱峰拖尾现象。质谱检测分别采用正负离子两种扫描模式进行扫描, 结果发现负离子模式下质谱响应更好, 故选择负离子模式进行解析。将离子阱与飞行时间质谱(IT-TOF-MS)结合使用, 通过多级碎裂, 能提供大量的碎片离子, 并提供精确相对分子质量的测定^[13]。本研究共鉴定了31个成分, 包括25个黄酮类化合物和6个酚酸类化合物。结果表明, LC-IT-TOF-MS 方法可以快速、准确

地对混合物中各成分进行定性分析, 可为进一步研究蜂胶活性成分和生物学功能提供依据, 为我国蜂胶及蜂胶产品更好地开发利用提供一定借鉴意义。

参考文献

- [1] Gardana C, Scaglianti M, Pietta P, et al. Analysis of the polyphenolic fraction of propolis from different sources by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, **45**(3): 390 - 399.
- [2] Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins [J]. *Food Chem*, 2004, **84**(3): 329 - 339.
- [3] Wang K, Zhang CP, Hu F. Research status of propolis in 2014 [J]. *J Bee* (蜜蜂杂志), 2015, **35**(3): 1 - 6.
- [4] Zhang YZ, Xu F, Zhang JY, et al. Investigations of the fragmentation behavior of 11 isoflavones with ESI-IT-TOF-MSⁿ [J]. *J China Pharm Sci* (中国药科学), 2014, **23**(9): 631 - 641.
- [5] Liang Y, Hao HP, et al. Qualitative and quantitative determination of complicated herbal components by liquid chromatography hybrid ion trap time-of-flight mass spectrometry and a relative exposure approach to herbal pharmacokinetics independent of standards [J]. *J Chromatogr A*, 2010, **1217**(30): 4971 - 4979.
- [6] Zheng CN, Hao HP, Wang X, et al. Diagnostic fragment-ion-based extension strategy for rapid screening and identification of serial components of homologous families contained in traditional Chinese medicine prescription using high-resolution LC-ESI-IT-TOF/MS: *Shengmai* injections as an example [J]. *J Mass Spectrom*, 2009, **44**(2): 230 - 244.
- [7] Geng CA, Chen XL, Zhou NJ, et al. LC-MS Guided isolation of (±)-Swe-riledugenin A, a pair of enantiomeric lactones, from *Swertia leduicii* [J]. *Org Lett*, 2014, **16**(26): 370 - 373.
- [8] Pellati F, Orlandini G, Pinetti D, et al. HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS/MS methods for metabolite profiling of propolis extracts [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, **55**(5): 934 - 948.
- [9] Falcão SI, Vale N, Gomes P, et al. Phenolic profiling of Portuguese propolis by LC-MS spectrometry: uncommon propolis rich in flavonoid glycosides [J]. *Phytochem Anal*, 2013, **24**(4): 309 - 318.
- [10] Ding JH, Wang XX, Zhang H, et al. Extrative electrospray ionization tandem mass spectrometry of apigenin [J]. *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 2011, **32**(8): 1714 - 1719.
- [11] Liu RX, Ye M, Guo HZ, et al. Liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry for the characterization of twenty-three flavonoids in the extract of *Dalbergia odorifera* [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2005, **19**(11): 1557 - 1565.
- [12] Righi AA, Negri G, Salatino A. Comparative chemistry of propolis from eight Brazilian Localities [J]. *Evid Based Complement Altern Med*, 2013, **2013**(878): 267878.
- [13] Wang YX, Hao HP, Wang GJ. Application of Q-TOF and IT-TOF mass spectrometry technology in identifying the natural products and their biological metabolites [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2009, **7**(5): 394 - 400.