UPLC-Q-TOF-MS 法分析平卧菊三七抗补体活性及活性部位

刘 密， 欧阳 辉， 贾 佳， 黄文平， 郭 飒， 何明珍*， 冯育林， 杨世林
（江西中医药大学，创新药物与高效节能降耗制药设备国家重点实验室，江西 南昌 330006）

摘要：目的 运用 UPLC-Q-TOF-MS 技术分析平卧菊三七的抗补体活性及其活性部位。**方法** 采用经典的体外抗补体活性测定方法对平卧菊三七 70% 醇提物的乙酸乙酯萃取部位和水部位进行抗补体活性测定。平卧菊三七甲醇提取物的分析采用 Welch Ultimate UHPLC XB-C_{18} 色谱柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相乙腈-0.1% 甲酸水，梯度洗脱；体积流量 0.3 mL/min。质谱采用电喷雾（ESI）离子源，在负离子模式下采集数据。**结果** 平卧菊三七乙酸乙酯萃取部位具有较强的抗补体活性，其 CH_{50} 为（0.003 5±0.000 3）mg/mL。鉴定了 22 个化合物，其中包括有机酸类 10 个、黄酮类 7 个、其他类 5 个。**结论** 该方法简单，快速，可为进一步确定平卧菊三七抗补体活性的作用机制及作用靶点提供参考。

关键词： 平卧菊三七；抗补体活性；化学成分；UPLC-Q-TOF-MS
中图分类号： R284.1 **文献标志码：** A **文章编号：** 1001-1528(2019)11-2681-07
doi： 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.11.025

Analysis of anti-complement activity and active ingredients of *Gynura procumbens* by UPLC-Q-TOF-MS

LIU Mi， OUYANG Hui， JIA Jia， HUANG Wen-ping， GUO Sa， HE Ming-zhen*，
FENG Yu-lin， YANG Shi-lin
(*State Key Laboratory of Innovative Drug and Efficient Energy-Saving Pharmaceutical*, *Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine*, *Nanchang 330006*, *China*)

KEY WORDS： *Gynura procumbens*；anti-complement activity；chemical constituents；UPLC-Q-TOF-MS

补体系统是人体重要的免疫防御系统之一，参与机体的特异性和非特异性免疫机制，表现为抗微生物防御反应，免疫调节及介导免疫病理的损伤反应。在消灭外来微生物、维持机体的平衡等生理过程中起着重要的作用。研究表明补体的过度激活会引发免疫系统相关疾病，如系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、急性呼吸窘迫综合征等[1]。现有非天然产物类补体抑制剂面临副作用强、治疗费用高以及适应症选择难等问题限制了其临床使用[2]，急需寻找高效低毒的补体抑制剂。而天然药物中存在广泛的抗补体活性成分，且大多数活性成分可以被机体消化吸收，因此从天然产物中开发高效、低毒的补体抑制剂具有良好的前景。

平卧菊三七 *Gynura procumbens*（Lour.）Merr. 为菊科菊三七属多年生草本药食两用植物，分布于越南、泰国、印度尼西亚和非洲以及中国等地[3]。据《中国中草药汇编》下册记载，其具有通经活络、消炎止咳、散瘀消肿、活血生肌之功效。现代药理学研究表明平卧菊三七具有良好的止血、抗炎、降血糖、抗肿瘤、抗氧化等作用，主要用于跌打损伤、风湿关节痛和痛风[4-6]。平卧菊三七主要化学成分为酚酸类、黄酮类、萜类、生物碱、香豆素类等[7]。据报道黄酮类、酚酸类及香豆素类具有良好的抗补体活性[2,8]。至今，平卧菊三七抗补体药理活性尚未见报道。因此，本研究采用经典的体外抗补体活性测定方法对平卧菊三七抗补体活性

收稿日期： 2018-11-30
基金项目： 江西中医药大学重点学科课题（51513039）；江西省 5511 优势科技创新团队（20165BCB19009）
作者简介： 刘 密（1993—），女，硕士生，研究方向为中药活性成分。Tel：（0791）87119632，E-mail：2503538144@qq.com
*__通信作者：__ 何明珍（1977—），女（瑶族），博士，讲师，研究方向为中药活性成分。Tel：（0791）87119632，E-mail：hmz07@163.com

进行测定，同时采用 UPLC-Q-TOF-MS 法对其活性部位进行分析，以期为其抗补体活性作用机制及作用靶点提供基础。

1　仪器与材料

1.1　仪器　超高效液相色谱仪（日本岛津公司产品）；Triple-TOF 5600 高分辨质谱仪（配备 ESI 离子源及 Analyst 1.6 数据处理软件、PeakView1.2 数据处理软件，美国 AB Sciex 公司）；HC-3018R 型高速冷冻离心机（安徽中科中佳科学仪器有限公司）；SpectraMax® i3 型酶标仪（美国 Molecular devices 公司）；KQ-250DB 型数控超声波清洗器（巩义市予华仪器有限责任公司）。

1.2　试剂和材料　甲酸（色谱纯，上海阿拉丁生化科技股份有限公司）；甲醇、乙腈（色谱纯，美国 Fisher 公司）；超纯水（屈臣氏集团产品）；肝素钠和绵羊血（北京索莱宝科技有限公司）；溶血素（上海延慕有限公司）。

Hartley 豚鼠（SPF 级），雌性，体质量 200～250 g，购于北京维通利华实验动物技术有限公司，动物许可证号：SCK（京）2016-0011。

平卧菊三七于 2015 年 8 月采自江西省靖安县，由南昌市食品药品检验所吴蓓副主任药师鉴定为平卧菊三七 *Gynura procumbens*（Lour.）Merr 全草。

2　方法与结果

2.1　药材提取　称取平卧菊三七药材 450 g，用 8 倍量 70% 乙醇回流提取，提取 2 次，1.5 h/次，合并提取液。减压回收至无醇味，用适量水分散后，用乙酸乙酯萃取，萃取液减压浓缩，即得乙酸乙酯萃取部位。水溶液减压浓缩，即得平卧菊三七水提部位。

2.2　抗补体活性测定

2.2.1　溶液配制

2.2.1.1　巴比妥缓冲液　取巴比妥缓冲液（pH 7.4）和三蒸水 1∶3 混合，即得。

2.2.1.2　2% 羊红细胞　取绵羊血适量，加巴比妥缓冲液溶液洗涤后，于离心机中（3 000 r/min），5 min，重复洗涤 3 次。再取适量上述洗涤好的绵羊血于红细胞压积管中离心、压积，加适量巴比妥缓冲溶液配成 2% 羊红细胞溶液。

2.2.1.3　溶血素溶液　取溶血素适量，加入“2.2.1.1”项下巴比妥缓冲溶液，配制成 1∶3 000溶血素溶液。

2.2.1.4　供试品溶液　称取平卧菊三七乙酸乙酯萃取部位及水提部位各适量（约 2 mg），加入 30 μL DMSO 将上述样品溶解，再加入 770 μL 巴比妥缓冲溶液超声溶解后，继续加巴比妥缓冲溶液对倍稀释成 8 个浓度的供试品溶液，即 1∶2、1∶4、1∶8、1∶16、1∶32、1∶64、1∶128、1∶256。

2.2.2　补体制备及效价测定　取豚鼠腹腔主动脉血约 10 mL，4 ℃放置 1 h 凝固，于离心机中（3 000 r/min）5 min，取上清液于−70 ℃冷冻保存，备用。

补体经典溶血系统的建立[9]，取豚鼠血清 100 μL，加入巴比妥缓冲溶液配成 1∶2 的溶液，再对倍稀释成 1∶4、1∶8、1∶16、1∶32、1∶64、1∶128、1∶256 各浓度的溶液。取 100 μL 溶血素、100 μL 上述各浓度补体、100 μL 2% 羊红细胞溶液、300 μL 巴比妥缓冲溶液混匀，于 37 ℃的水浴中 30 min，置离心机中（3 000 r/min）5 min。分别在每管中吸取 200 μL 于 96 孔板中，405 nm 下测定吸光度。以 100 μL 2% 羊红细胞溶液加 500 μL三蒸水作为全溶血组，并将其吸光度作为全溶血标准，计算溶血率。选择达到相似高溶血率的最低补体浓度作为确保体系能正常溶血所需的临界补体浓度。最终得到最低补体浓度为 1∶64。溶血率抑制率% = 1 −（$A_{中药测定组} - A_{中药对照组}$）/$A_{补体组}$。

2.2.3　药物经典途径抗补体活性测定　参照文献方法[9-11]，取“2.2.2”项下补体，及各个浓度的供试品溶液、溶血素、2% 羊红细胞溶液按表 1 体积依次加入、混匀，37 ℃水浴中孵育 30 min，于离心机中（3 000 r/min）5 min，取上清液 200 μL 至 96 孔板中，用酶标仪于 405 nm 下测定吸光度。溶血实验中所加各成分的体积见表 1，溶血抑制率的测定结果见表 2～4。

表 1　溶血实验中所加各成分的体积（μL）

Tab. 1　Volume of various constituents for hemolysis assay on the classic pathway（μL）

组别	平卧菊三七测定组	平卧菊三七对照组	补体组	全溶血组
巴比妥缓冲液组	−	400	200	
三蒸水组	−	−	−	500
补体组	200	−	200	−
平卧菊三七组	200	200	−	−
溶血素组	100	−	100	−
2% 羊红细胞组	100	−	100	100

表 2　样品乙酸乙酯萃取部位溶血抑制率

Tab. 2　The hemolysis inhibition rate of ethyl acetate fraction of samples

组别	质量浓度/(mg·mL^{-1})							
	1∶2	1∶4	1∶8	1∶16	1∶32	1∶64	1∶128	1∶256
平卧菊三七测定组	0.230±0.020	0.177±0.003	0.154±005	0.147±0.015	0.225±0.012	0.535±0.11	0.659±0.032	0.830±0.045
平卧菊三七对照组	0.181±0.003	0.117±0.031	0.074±0.003	0.052±0.005	0.045±0.004	0.042±0.002	0.040±0.001	0.038±0.001
溶血抑制率/%	94.45	93.16	90.84	89.24	79.48	43.82	29.42	9.73

表 3　样品水部位溶血抑制率

Tab. 3　The hemolysis inhibition rate of aqueous fraction of samples

组别	质量浓度/(mg·mL^{-1})							
	1∶2	1∶4	1∶8	1∶16	1∶32	1∶64	1∶128	1∶256
平卧菊三七测定组	0.212±0.009	0.165±0.006	0.335±0.004	1.078±024	1.785±0.099	1.923±0.063	1.967±0.101	2.262±0.082
平卧菊三七对照组	0.193±0.006	0.119±0.010	0.079±0.004	0.059±0.005	0.049±0.006	0.045±0.003	0.047±0.008	0.043±0.006
溶血抑制率/%	98.76	97.02	83.54	34.34	−11.78	−20.97	−23.65	−42.88

表 4　肝素钠溶血抑制率

Tab. 4　The hemolysis inhibition rate of aqueous fraction of heparin sodium

组别	质量浓度/(mg·mL^{-1})							
	1∶2	1∶4	1∶8	1∶16	1∶32	1∶64	1∶128	1∶256
平卧菊三七测定组	0.101±0.005	0.074±0.005	0.074±0.007	0.392±0.008	0.225±0.011	0.961±0.031	1.778±0.023	1.993±0.127
平卧菊三七对照组	0.041±0.004	0.038±0.002	0.041±0.002	0.038±0.002	0.044±0.003	0.040±0.002	0.039±0.002	0.038±0.004
溶血抑制率/%	96.16	97.68	97.88	95.85	88.32	40.74	−12.00	−25.91

经 GraphPad Prism 5 软件分析，其阳性药肝素钠 CH_{50}为（0.025 8±0.002 1）mg/mL，平卧菊三七乙酸乙酯萃取部位 CH_{50}为（0.003 5±0.000 3）mg/mL，平卧菊三七水部位 CH_{50}为（0.118 2±0.010 0）mg/mL。其 lnc-溶血抑制率曲线见图 1。

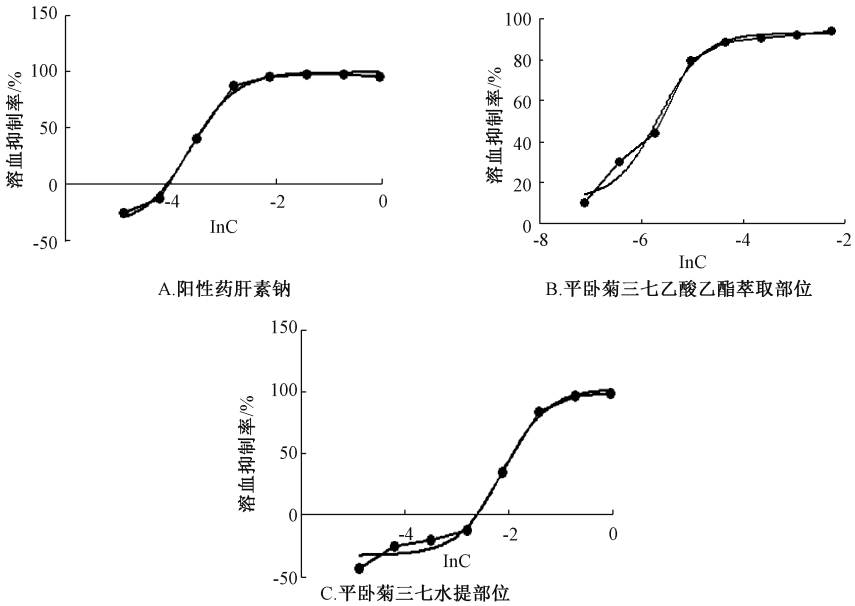

图 1　各样品 lnc-溶血抑制率曲线

Fig. 1　The curve lnc-hemolysis inhibition rate of various samples

结果表明，平卧菊三七乙酸乙酯萃取部位具有较强的抗补体活性，优于阳性药。因此采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术分析平卧菊三七乙酸乙酯萃取部位的活性成分。

2.3　活性部位 UPLC-Q-TOF-MS 分析

2.3.1　供试品溶液制备　取平卧菊三七乙酸乙酯萃取部位 10 mg，精密称定，置 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解，定容。于离心机中（14 000 r/min）

10 min，取上清液，即得。

2.3.2　色谱条件　Welch Ultimate UHPLC XB-C_{18} 色谱柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相乙腈（B）-0.1% 甲酸水（A），梯度洗脱（0～3 min，2%～10% B；3～12 min，10%～17.5% B；12～20 min，17.5%～18% B；20～27 min，18%～30% B；27～34 min，30%～60% B；34～39 min，60%～95% B；39～42 min，95% B；42～42.01 min，95%～2% B）；体积流量 0.3 mL/min；柱温 45 ℃；进样量 3 μL。

2.3.3　质谱条件　采用 ESI 离子源，在负离子模式下采集数据；喷雾电压-4 500 V，离子源温度（TEM）500 ℃；气帘气（CUR N_2）172.375 kPa，雾化气（GSI N_2）和辅助气（GS2 N_2）均为 344.75 kPa；质量扫描范围为 *m/z*：50～1 250；去簇电压-100 eV，碰撞电压-30 eV，碰撞电压差 10 eV；开启动态背景扣除。

2.3.4　数据处理　采用 AB Sciex 公司 Analyst 1.6 软件进行数据采集、运用 PeakView 软件进行数据处理分析。结合文献及通过 Chemspider、Scifinder 等数据库对平卧菊三七乙酸乙酯萃取部位进行分析，推测其主要成分，结果见图 5、表 5。

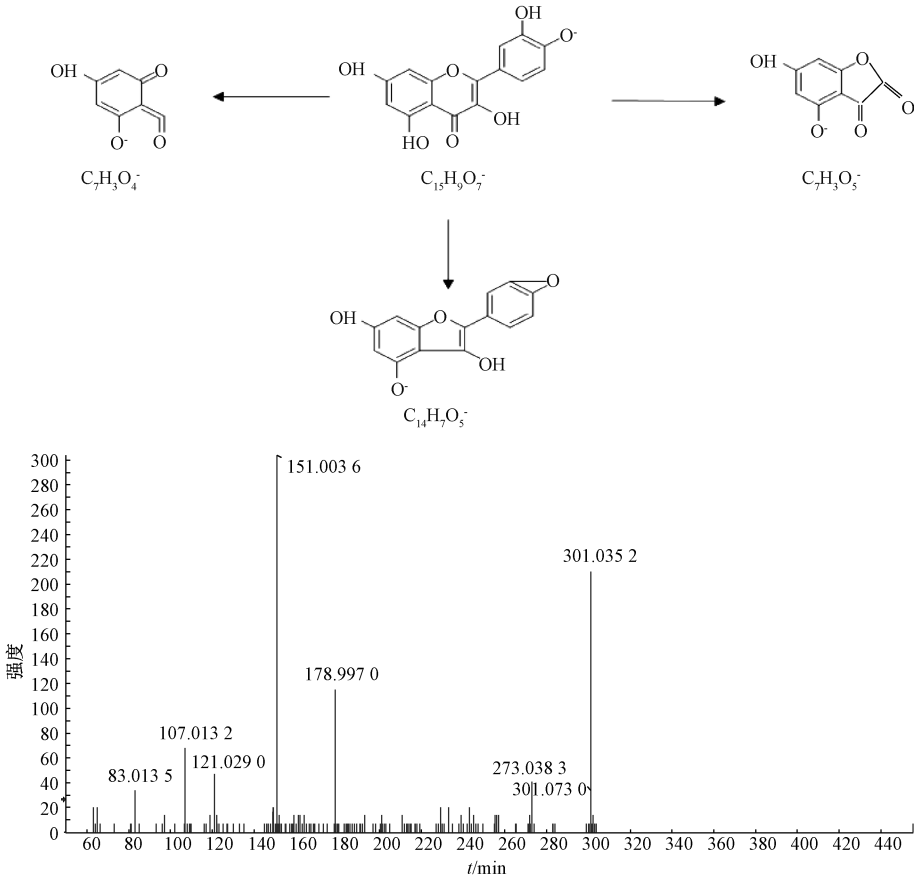

图 2　槲皮素裂解途径及二级质谱图

Fig. 2　The fragmentation pathway and the TOF-MS/MS spectra of quercetin

2.3.5　结构鉴定　槲皮素，分子式 $C_{15}H_{10}O_7$，负离子模式下，准分子离子峰[M-H]$^-$ *m/z* 301.035 2，误差为-2.2。在二级质谱中，存在一系列的二级碎片离子（273.033 2、178.997 0、151.003 1、149.025 3、107.015 5），其中碎片离子 *m/z* 273.041 0 比母离子少 28 Da，为槲皮素母核 C 环上失去 CO 的碎片；碎片离子 *m/z* 257.044 3 比母离子少 44 Da，为槲皮素母核 C 环上失去 CO 的碎片，碎片离子 *m/z* 151.003 6 和 *m/z* 149.025 3 为槲皮素 RDA 裂解生成的碎片；槲皮素烯醇式互变异构为酮式结构，失去 $C_7H_6O_2$ 生成碎片离子 *m/z* 178.998 0。其裂解途径图见图 2。

黄酮苷元类化合物在质谱裂解过程中，母核 C 环中易失去羰基 CO（28 Da）和 CO_2（44 Da）；存在邻位羟基易失去 H_2O（18 Da）；母核 C 环中易发生 RDA 裂解生成 *m/z* 151.003 0（A 环有 2 个酚羟基）。其裂解途径图见图 2。

4，5-二咖啡酰奎宁酸，分子式 $C_{25}H_{24}O_{12}$，负

表 5　乙酸乙酯部位 UPLC-Q-TOF-MS 分析

Tab. 5　UPLC-Q-TOF-MS analysis of ethyl fraction

峰号	分子式	原子质量理论值/Da	原子质量实测值/Da	碎片离子 (*m/z*)	误差	t_R/min	鉴定结果	参考文献
1	$C_7H_{12}O_6$	191.056 1	191.056 1	191.055 6,173.044 7,137.024 5,129.054 8,127.039 9	-0.1	1.21	奎宁酸	[12]
2	$C_7H_6O_4$	153.019 3	153.019 3	153.019 0,109.030 1,108.022 0,91.020 2	-0.3	4.59	原儿茶酸	[12]
3	$C_{14}H_{18}O_9$	329.087 8	329.086 2	167.035 5,152.011 1,123.044 6,108.022 3	-4.8	4.63	phaseoloidin	[13]
4	$C_{16}H_{18}O_9$	353.087 8	353.087 3	179.035 6,173.034 5,161.025 2,135.045 0,93.035 3,85.030 7	-1.3	5.36	4-咖啡酰奎宁酸	[12]
5	$C_7H_6O_3$	137.024 4	137.024 9	137.023 6,136.015 8,119.013 9,108.021 5,92.026 6,91.020 1,81.035 8	3.6	5.56	原儿茶醛	[14]
6	$C_{16}H_{18}O_9$	353.087 8	353.087 3	191.056 1,179.034 5,173.045 6,161.024 2,127.040 5	-1.4	6.87	3-咖啡酰奎宁酸	[12-15]
7	$C_9H_8O_4$	179.035 0	179.035 1	179.034 3,135.045 2,134.037 1,107.050 8,89.040 5	0.8	7.27	咖啡酸	[12]
8	$C_9H_8O_3$	163.040 1	163.040 4	163.035 4,119.050 1,117.033 3,93.034 8,91.055 4	1.8	9.71	对香豆酸	[14]
9	$C_{11}H_{12}O_5$	223.061 2	223.060 7	179.071 4,163.039 6,161.060 5,133.065 1,117.071 0,91.056 5,87.010 7	-2.2	11.56	芥子酸	[16]
10	$C_9H_7NO_2$	160.040 4	160.040 3	160.040 4,142.888 5,127.887 9,116.050 0,115.686 7	-0.9	11.91	3-吲哚甲酸	[10]
11	$C_{27}H_{30}O_{16}$	609.146 1	609.146 8	301.035 3,300.027 7,271.024 6,255.028 7,178.997 9,151.002 6	1.2	13.71	芦丁	[17]
12	$C_{21}H_{20}O_{12}$	463.088 2	463.088 2	463.089 8,301.035 7,300.022 7,271.024 9,255.029 5 244.039 5,227.035 3,151.002 3	0	14.14	金丝桃苷	[18]
13	$C_{27}H_{30}O_{15}$	593.151 2	593.151 2	285.039 6,284.032 0,255.029 2,227.033 7,151.004 1	1	15.14	山柰酚-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖基-7-*O*-α 吡喃鼠李糖苷	[18]
14	$C_9H_{16}O_4$	187.097 6	187.097 7	187.096 5,169.085 6,125.096 6,123.081 2,97.066 2,57.037 4	0.7	15.57	壬二酸	[19]
15	$C_{27}H_{30}O_{15}$	593.151 2	593.151 2	285.040 5,284.032 5,255.029 7,227.034 3,151.002 6	0.1	16.7	biorobin	[20]
16	$C_{25}H_{24}O_{12}$	515.119 5	515.119 7	353.087 5,335.075 9,191.055 7,179.034 7,135.045 0	0.4	16.84	4,5-二咖啡酰奎宁酸	[12,14-15]
17	$C_{16}H_{18}O_9$	353.087 8	353.087 3	353.089 1,191.055 8,179.034 6,173.045 4,135.045 0,93.036 2	-3.1	16.86	5-咖啡酰奎宁酸	[12,14-15]
18	$C_{21}H_{20}O_{11}$	447.093 3	447.093 7	285.040 4,284.032 5,255.032 5,227.034 4,183.043 3,151.002 9	0.8	17.34	山柰酚-3-*O*-葡萄糖苷	[18]
19	$C_{25}H_{24}O_{12}$	515.119 5	515.119 7	353.087 6,335.075 4,255.065 5,191.055 4,179.034 4,173.045 1 137.074 5,135.044 7	1	20.56	3,4-二咖啡酰奎宁酸	[12,14-15]
20	$C_{15}H_{10}O_7$	301.035 4	301.034 7	301.035 3,273.041 3,178.998 0,151.003 1,149.025 3,107.015 5	-2.2	25.84	槲皮素	[17]
21	$C_{26}H_{26}O_{12}$	529.135 2	529.134 8	367.102 2,335.078 4,193.049 1,191.054 7,173.044 0 149.058 4,134.003 7,113.023 1	-0.6	27.13	3-咖啡,4-,阿魏酰奎宁酸	[12,14-15]
22	$C_{15}H_{10}O_6$	285.040 5	285.040 5	285.039 0,229.049 3,255.029 3,227.034 2,151.003 1	-0.1	29.41	山柰酚	[17]

离子模式下，准分子离子峰[M-H]$^-$ *m/z* 515.119 5，误差为 0.4。在二级质谱中，存在一系列的二级碎片离子（353.087 5、335.075 9、191.055 7、179.034 7、135.045 0），其中碎片离子 *m/z* 353.087 5 为 4，5-二咖啡酰奎宁酸 5 位酯键断裂产生的，而 *m/z* 335.075 9 进一步脱水所得。同时检测到碎片离子 *m/z* 179.034 7 和 *m/z* 191.055 6 分别为咖啡酸和奎宁酸失去 1 个 H（1 Da）产生的；碎片离子 *m/z* 173.045 2 为 *m/z* 191.055 6 失去 H_2O（18 Da）产生的，*m/z* 135.045 2 为 *m/z* 179.034 2 失去 CO_2（44 Da）产生的。其裂解途径见图 3。

对香豆酸，分子式为 $C_9H_8O_3$，负离子模式下，准分子离子峰[M-H]$^-$ *m/z* 163.040 1，误差为 1.8。在二级质谱中，存在一系列的二级碎片离子（163.035 4、119.050 1、117.033 3、93.034 8、91.055 4），其中碎片离子 *m/z* 163.035 4 为 *m/z* 119.050 4 失去 CO_2（44 Da）产生的，碎片离子 *m/z* 93.035 0 为 *m/z* 119.050 4 失去碳碳三键产生的。其裂解途径见图 4。

3　讨论

本实验对平卧菊三七的提取方法，提取时间进行了考察，结果表明 70% 乙醇回流提取 2 次，1.5 h/次最优。同时对流动相、体积流量、柱温、洗脱梯度、进样量等进行了考察，最终确定检测条件为流动相乙腈-0.1% 甲酸水溶液，梯度洗脱；进样量 3 μL；体积流量 0.3 mL/min。另对质谱扫描模式考察发现，负离子模式下分离度较好，基线平稳，适合平卧菊三七化学成分的测定。

本实验首次对平卧菊三七的抗补体活性进行研究，结果显示平卧菊三七乙酸乙酯萃取部位的抗补体活性优于阳性药肝素钠。为了进一步探讨其药效物质基础，本实验采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术对其活性成分进行分析。经分析推测出 22 个化合物，主要为酚酸类、黄酮类及香豆素类。以期为确定平卧菊三七抗补体活性的作用机制及作用靶点奠定物质基础，为中药药效物质基础研究工作提供新思路。

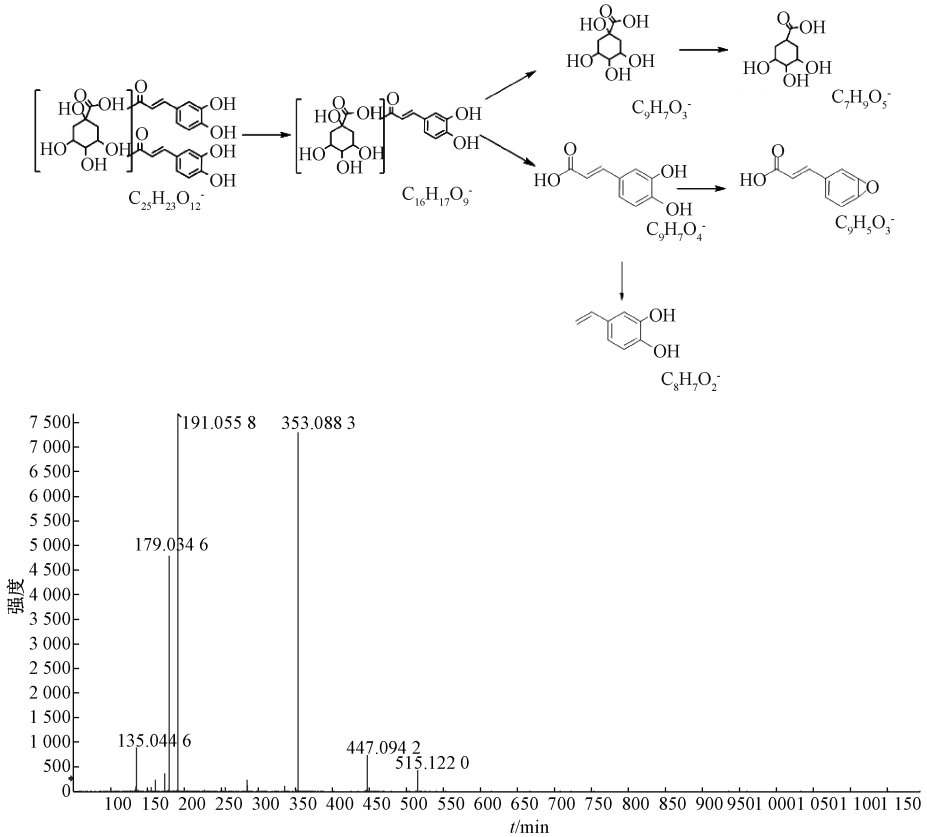

图 3　4，5-二咖啡酰奎宁酸裂解途径及二级质谱图

Fig. 3　The fragmentation pathway and the TOF-MS/MS spectra of quercetin isochlorogenic acid C

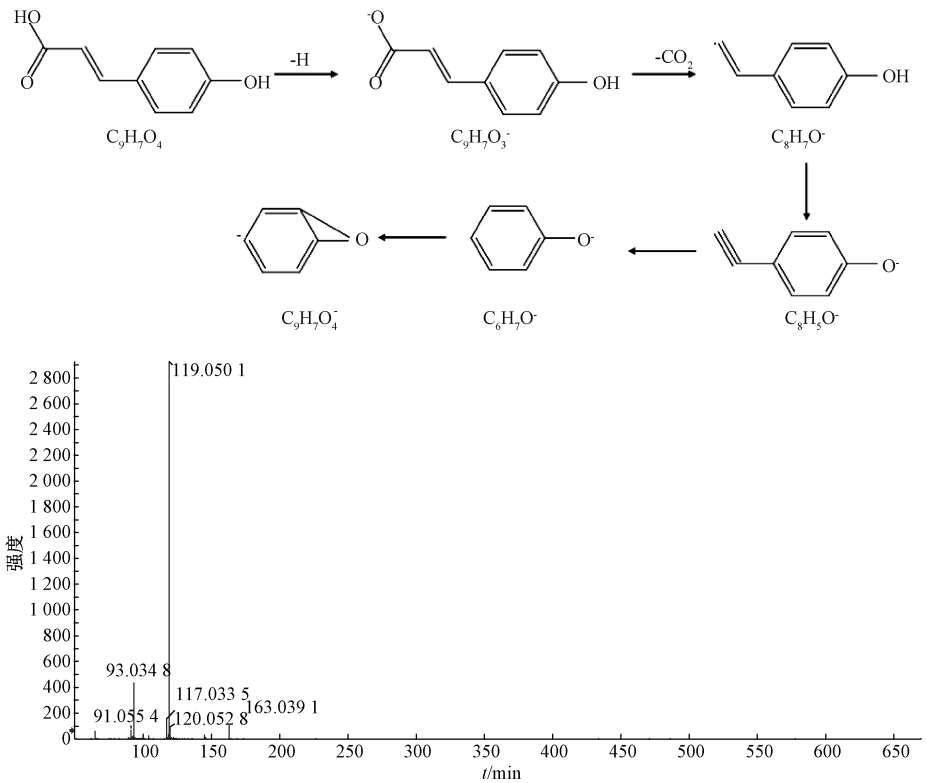

图 4　对香豆酸裂解途径及二级质谱图

Fig. 4　The fragmentation pathway and the TOF-MS/MS spectra of 4-hydroxycinnamic acid

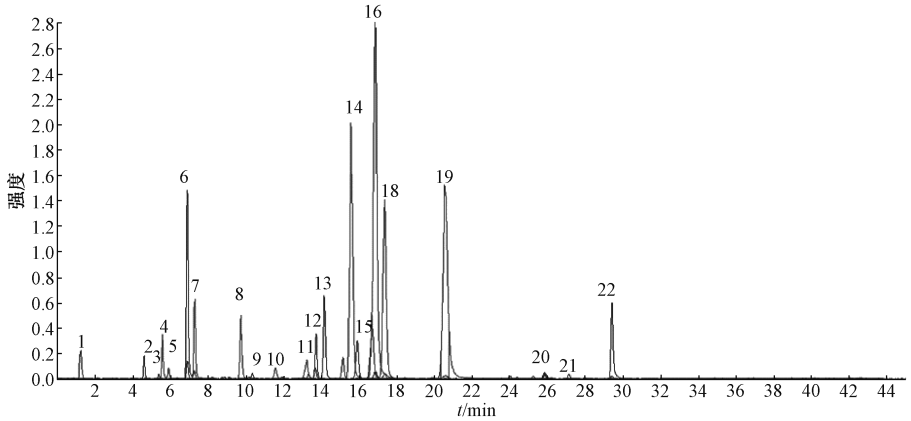

图 5　乙酸乙酯部位总离子流图

Fig. 5　The total ion chromatogram of ethyl acetate fraction

参考文献：

[1] Makrides S C. Therapeutic inhibition of the complement system [J]. *Pharmacol Rev*, 1998, 50(1): 59-87.

[2] 徐　晗, 章蕴毅, 张建文, 等. 天然产物中的抗补体活性成分[J]. 中国天然药物, 2007, 5(5): 322-332.

[3] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 2010.

[4] 陈　磊, 王津江, 宋洪涛, 等. 菊三七属植物化学成分和药理作用研究进展[J]. 中草药, 2009, 40(4): 666-668.

[5] 朱柏任, 濮社班, 徐德然, 等. 菊三七属植物化学成分及药理作用的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2012, 31(4): 1-4.

[6] Kim M J, Lee H J, Wiryowidagdo S, *et al*. Antihypertensive effects of *Gynura procumbens* extract in spontaneously hypertensive rats[J]. *J Med Food*, 2006, 9(4): 587-590.

[7] 朱玉婷. 平卧菊三七中绿原酸提取纯化及抗菌抗氧化性的研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2012.

[8] 倪付勇, 刘　露, 宋亚玲, 等. 金银花中抗补体活性酚酸类成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(2): 269-274.

[9] 高红伟. 三脉紫菀和人参抗补体活性成分研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2013.

[10] 沈路路, 卢　燕, 程志红, 等. 虎杖的抗补体活性蒽醌类成分及其作用靶点[J]. 中草药, 2013, 44(18): 2502-2507.

[11] 褚纯隽, 李显伦, 夏　龙, 等. 乌饭树叶的抗补体活性成分研究[J]. 中草药, 2014, 45(4): 458-465.

[12] Ouyang H, Li J M, Wu B, *et al*. A robust platform based on ultra-high performance liquid chromatography Quadrupole time of flight tandem mass spectrometry with a two-step data mining strategy in the investigation, classification, and identification of chlorogenic acids in *Ainsliaea fragrans Champ*. [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1502: 38-50.

[13] 罗年翠, 王　川, 钱大玮, 等. UPLC-MS-MS 同时测定比格犬血浆中阿魏酸、香草酸、芍药苷和芍药内酯苷的含量及其药动学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(14): 168-173.

[14] Clifford M N. Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism [J]. *J Sci Food Agric*, 2000, 80(7): 1033-1043.

[15] Lutsep H L, Clark W M. Current status of neuroprotective agents in the treatment of acute ischemic stroke[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2001, 1(1): 13-18.

[16] 于　建, 许　勇, 郑　荣, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定化妆品中 23 种邻苯二甲酸酯类化合物[J]. 日用化学工业, 2014, 44(9): 529-533.

[17] 李　伟, 冯育林, 黎田儿, 等. UPLC-Q-TOF/MS 技术结合诊断离子方法快速分析连钱草中黄酮类化合物[J]. 质谱学报, 2016, 37(6): 504-516.

[18] 李军茂, 何明珍, 欧阳　辉, 等. 超高效液相色谱与飞行时间质谱联用快速鉴别木芙蓉叶的化学成分[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(14): 1162-1168.

[19] Ahrendt A, Zuquette L V. Triggering factors of landslides in Campos do Jordão city, Brazil[J]. *B Eng Geol Environ*, 2003, 62(3): 231-244.

[20] Schober A, Zhang J, Subramaniam A, *et al*. Emulsification efficacy of quillaja, saponins at very low concentration: model development and role of alcohols [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2017, 159: 829-837.