

使用 LCMS-QTOF 定性分析中药中的化学成分

LCMS-QTOF-101

摘要： 本文利用岛津超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间串联质谱仪，建立了一种对中药中化学成分定性分析的方法。以 8 种中药材中的化学成分定性分析为例，详细阐述了筛查定性中药成分的几种数据处理方式：一是利用已有的高分辨数据库对数据进行批量自动筛查，二是利用开源数据库对数据进行批量的快速筛查；三是利用 MS¹ 筛查列表，整理出所有需要关注的化合物信息，利用 Assign 功能进行判断；最后，整理数据，合并结果，给出定性结果。并利用该方式，完成 8 种中药材主要成分的解析，展示了当归筛查出 30 种成分。

关键词： 四极杆飞行时间串联质谱仪 中药 化学成分

技术特点：

❖ 利用二级谱库、开源谱库、一级筛查等方式，展示对中药材复杂成分的定性分析流程。

复杂的化学组成给中药的现代研究带来了巨大的挑战。中药化学成分分析的传统方法是：使用各种溶剂对中药中理化性质不同的各类化学成分提取、分离、纯化后得到单体化合物，通过核磁共振波谱氢谱与碳谱解析化合物的精确结构。该方法准确性高，但需要耗费大量的药材原料与试剂、漫长的分离纯化过程与复杂繁琐的鉴定过程。近年来，超高效液相色谱 - 高分辨质谱联用技术具有高分离度、高灵敏度、高分辨率等特点，可以获得化合物保留时间、精确质量信息二级碎片等信息，且可检测到痕量化合物，

广泛应用于中药化学成分研究。然而由于单个中药提取物样本的 LC-MS/MS 分析往往能采集到多达上千个二级质谱图，由于对照品匮乏以及缺少全面的、免费的质谱数据库，数据分析工作仍然很艰难。因此，开发有效的质谱数据分析方法策略对中药化学成分表征尤其重要。

本文使用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间串联质谱仪，建立了一种对中药中化学成分定性分析的方法。详述了对数据解析的流程，并且使用该方式对 8 种中药数据进行了分析。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，具体配置为：

输液泵：	LC-20ADXR×2	系统控制器：	CBM-20A
自动进样器：	SIL-30AC	飞行时间质谱仪：	LCMS-9030
柱温箱：	CTO-20AC		
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.118; LabSolutions Insight Ver. 4.0SP2		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：	ACQUITY HSS T3 (150 mm×2.1 mm., 1.9 μm)		
流动相：	A 相 - 2 mM 乙酸铵 (0.1% 甲酸)；B 相 - 乙腈		
流速：	0.3 mL/min		
进样体积：	2 μL	柱温：	40°C
洗脱方式：	梯度洗脱，B 相初始浓度为 2%，洗脱程序见表 1。		



2.2 利用开源数据库确认

将 DDA 数据导入 MS-DIAL 软件，并导入开源的数据库，使用软件进行峰提取及开源数据库的匹配，得到可能的化合物信息；将得到的化合物信息导入 Insight Explore 软件，结合 Assign 进行归属确认，流程如下所示：



2.3 利用 MS¹ 筛查列表确认

检索样品相关化学成分信息，建立 MS¹ 筛查列表；将 DDA 数据导入 Insight Explore 软件，利用 Analyse 进行峰提取，导入 MS¹ 筛查列表，将匹配到的化合物导入化合物列表；利用 Assign 进行二级碎片归属确认，流程如下所示：



2.3.1 Assign 归属辅助定性分析

如图 1 所示，将淫羊藿次苷 F2 对应母离子 m/z 401.1456 得到的 MS^2 质谱图导入 Assign 模块，将淫羊藿次苷 F2 的结构式导入软件，进行二级碎片的解析。通过 MS^2 质谱图窗口可以发现， m/z 401.1456 得到的主要几个 m/z 与淫羊藿次苷 F2 的理论碎片匹配良好，二级碎片的匹配均小于 5 ppm，可以认为该 m/z 对应的化合物很可能是淫羊藿次苷 F2。

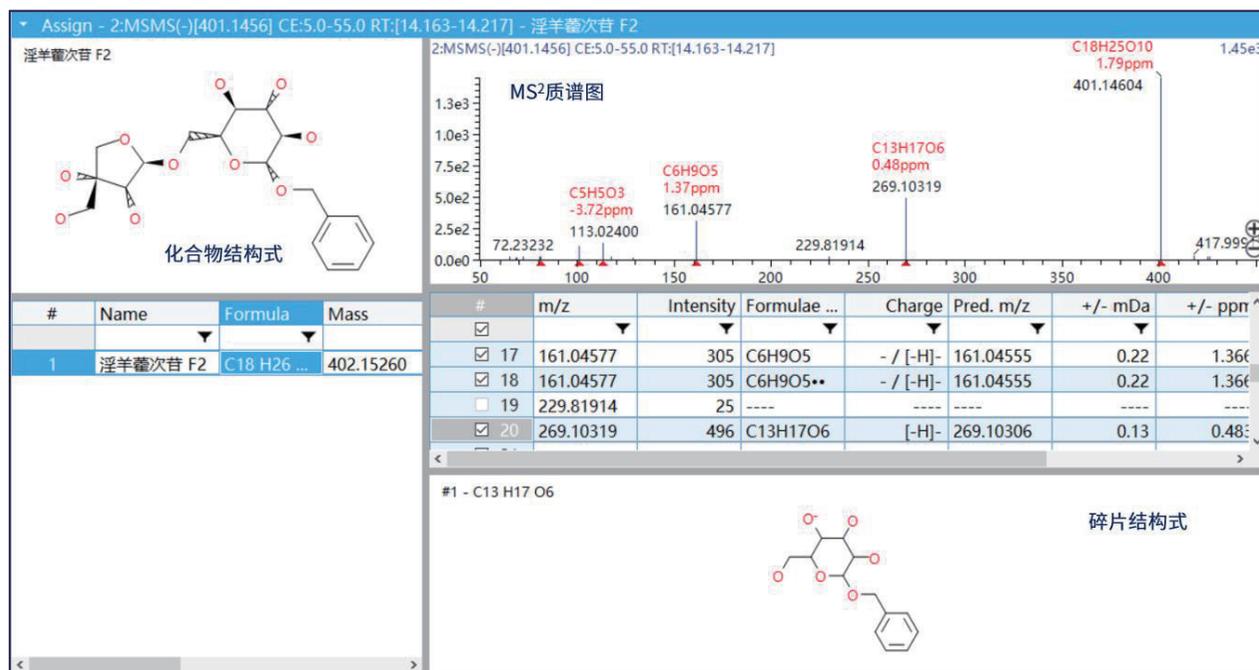
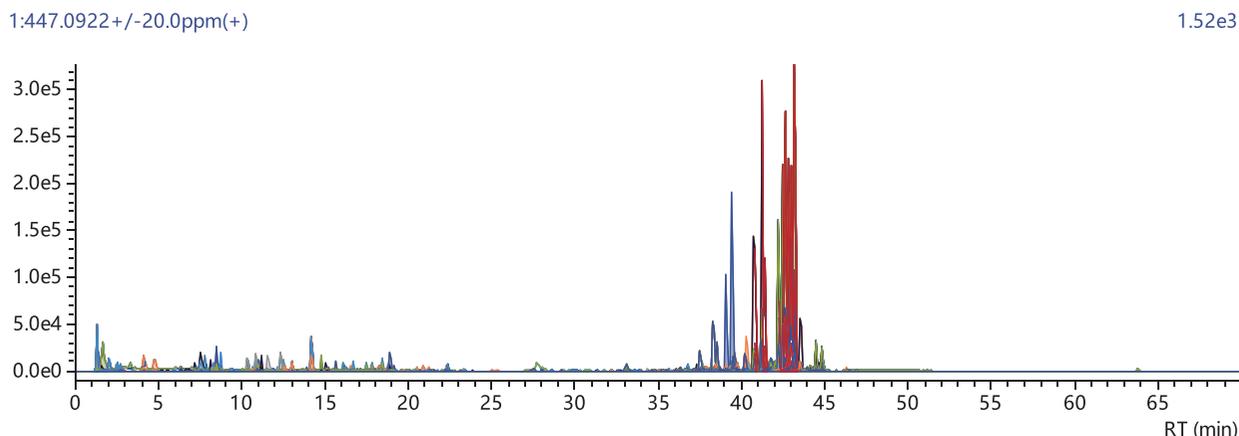


图 1 利用 Assign 归属判断淫羊藿次苷 F2 是否存在

2.4 删除重复结果，得到最终结果

将上述每个流程得到的化合物信息进行汇总，将重复筛查得到的化合物删除，得到最终结果。如下图所示，为当归样品所有得到的化学成分的提取离子流图：



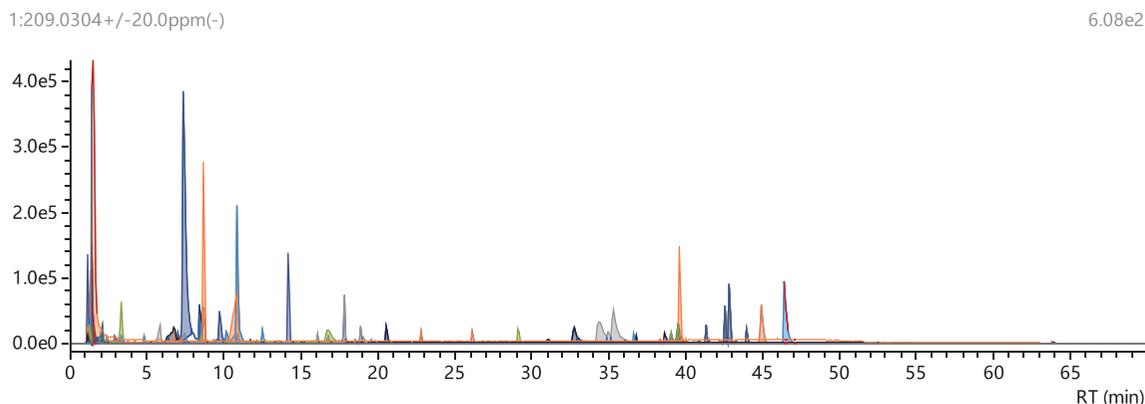


图 2 当归化学成分提取离子流图（上：正模式；下：负模式）

表 2 当归中分析出的部分化合物信息

NO.	RT (min)	Precursor m/z	Adduct	Formula	名称
1	19.99	579.1749	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	柚皮苷 / 芸香柚皮苷
2	21.25	609.1850	[M-H] ⁻	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	橙皮苷
3	1.45	341.1098	[M-H] ⁻	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	海藻糖
4	18.27	609.1474	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Quercetin-3-O-rutinoside/ 芦丁
5	14.91	593.1523	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	维采宁 -2/ 牡荆素 -4''-O- 葡萄糖苷
6	39.42	520.3427	[M+H] ⁺	C ₂₆ H ₅₀ NO ₇ P	LPC 18:2
7	15.93	433.1151	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	柚皮素 -7-O- 葡萄糖苷
8	18.13	595.1679	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	新北美圣草苷
9	13.82	425.1674	[M+HCOO] ⁻	C ₁₆ H ₂₈ O ₁₀	Pentose-Hexose + C ₅ H ₉
10	14.52	385.1147	[M-H] ⁻	C ₁₇ H ₂₂ O ₁₀	1-O-b-D-glucopyranosyl sinapate
11	25.36	593.1887	[M-H] ⁻	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	Poncirin
12	1.34	290.0888	[M-H] ⁻	C ₁₁ H ₁₇ NO ₈	N-Fructosyl pyroglutamate
13	42.47	419.1641	[M+Na] ⁺	C ₂₀ H ₂₈ O ₈	14,15 β-Dihydroxyklaineaneone
14	19.99	625.1786	[M+FA-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	Isonaringin
15	42.78	419.1642	[M+Na] ⁺	C ₂₀ H ₂₈ O ₈	14,15 β-Dihydroxyklaineaneone
16	43.00	419.1642	[M+Na] ⁺	C ₂₀ H ₂₈ O ₈	14,15 β-Dihydroxyklaineaneone
17	15.62	623.1630	[M-H] ⁻	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	3''-O-L-Rhamnopyranosylastragalol
18	39.06	520.3424	[M+H] ⁺	C ₂₆ H ₅₀ NO ₇ P	LPC 18:2
19	20.89	433.1148	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	柚皮素 -7-O- 葡萄糖苷
20	20.30	623.1627	[M-H] ⁻	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	水仙苷
21	13.36	425.1673	[M+HCOO] ⁻	C ₁₆ H ₂₈ O ₁₀	Pentose-Hexose + C ₅ H ₉
22	1.21	191.0564	[M-H] ⁻	C ₇ H ₁₂ O ₆	奎尼酸
23	1.57	179.0564	[M-H] ⁻	C ₆ H ₁₂ O ₆	甘露糖
24	6.30	385.1358	[M+HCOO] ⁻	C ₁₃ H ₂₄ O ₁₀	Disaccharides ((2Methyl-Hex)-Pen)

25	43.13	419.1641	[M+Na] ⁺	C ₂₀ H ₂₈ O ₈	14,15beta-Dihydroxyklaineanone
26	1.60	365.1071	[M+Na] ⁺	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	Sucrose/Melibiose
27	16.02	623.1629	[M-H] ⁻	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	3''-O-L-Rhamnopyranosylastragalin
28	3.13	191.0200	[M-H] ⁻	C ₆ H ₈ O ₇	Citric acid
29	39.48	564.3316	[M+HCOO] ⁻	C ₂₆ H ₅₀ NO ₇ P	LPC 18:2
30	33.68	469.1878	[M-H] ⁻	C ₂₆ H ₃₀ O ₈	柠檬苦素

2.5 多种中药定性分析结果

利用上述定性分析方法，分别对丹参、仓术、白芍、赤芍等 8 种中药进行了分析，部分中药定性分析出的化学成分提取粒子流如下图所示：

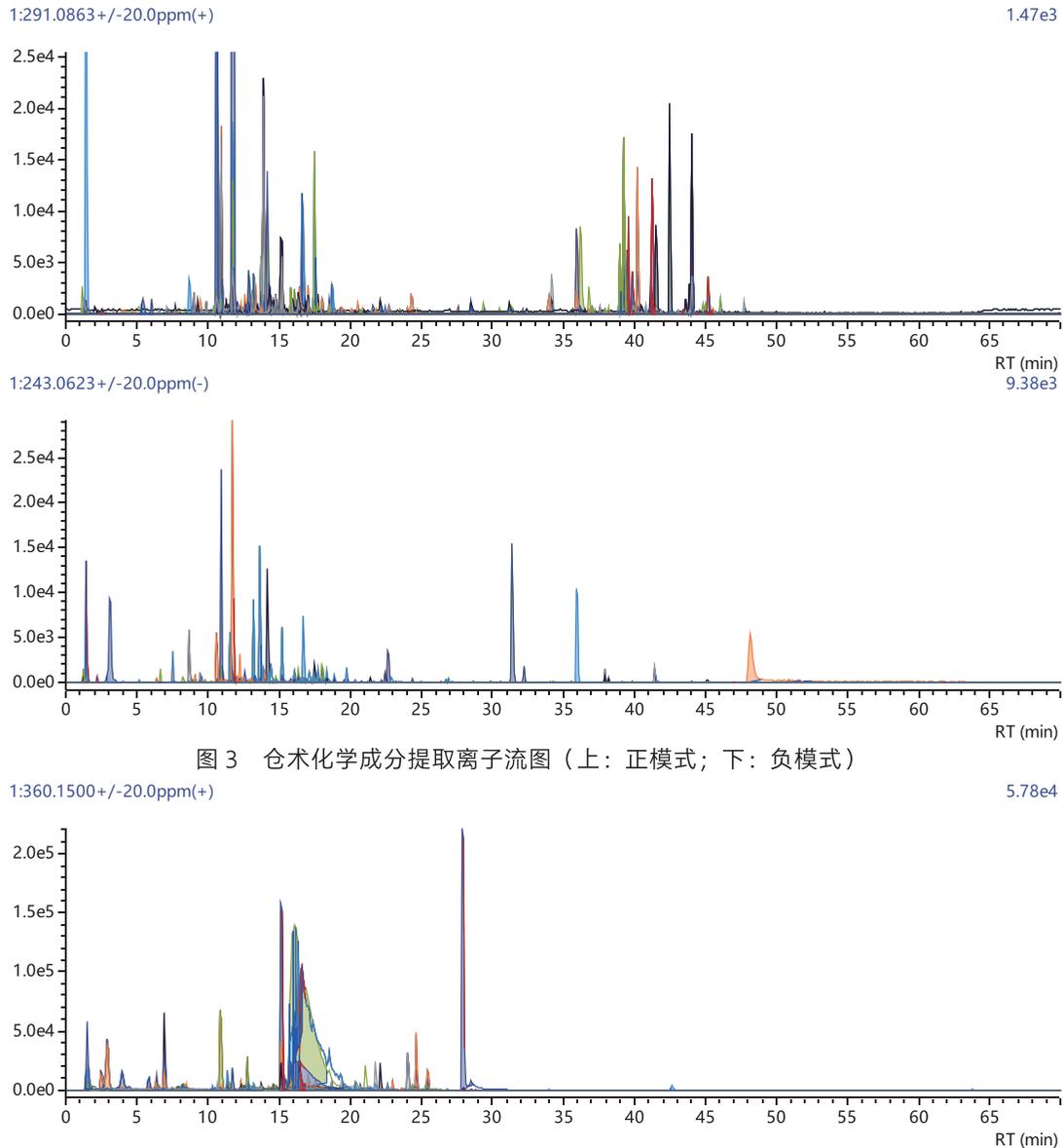


图3 仓术化学成分提取离子流图（上：正模式；下：负模式）

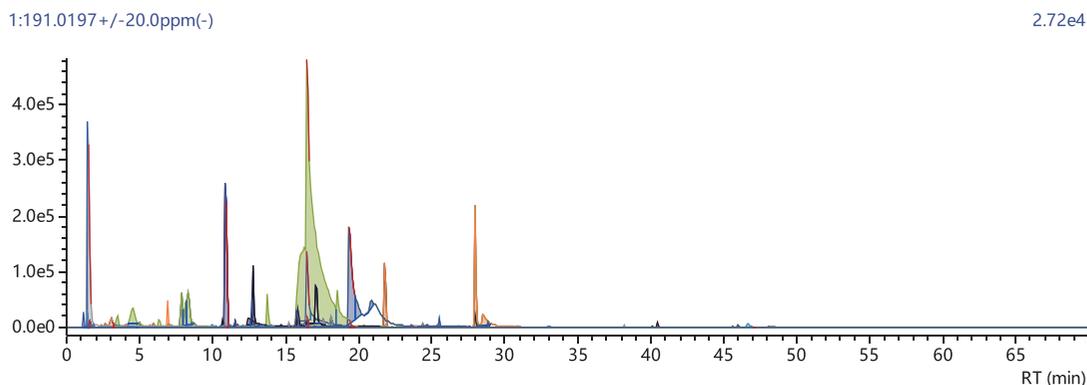


图4 白芍化学成分提取离子流图（上：正模式；下：负模式）

■ 结论

本文利用岛津超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱仪，建立了一种对中药中化学成分定性分析的方法。对8种中药中的化学成分采用3种筛查定性分析方法，并且详细阐述了数据处理过程，完成8种中药材数据的解析，给出当归定性出30种化学成分。多种定性方式结合有利于复杂样品中化学成分的解析。

岛津应用云

