

# UFLC-LCMS-IT-TOF对射干提取液的检测

## LCMS-IT-TOF-019

**摘要：**本文使用UFLC快速液相缩短分析时间，使用LCMS-IT-TOF离子阱飞行时间串联质谱对射干提取液进行全面的定性分析，通过精确分子量信息鉴定出了9种主要组分，通过多级碎片对它们进行了结构确认，并分析了各组分可能的裂解途径。

**关键词：**LCMS-IT-TOF 射干提取液

射干(图1)为鸢尾科植物射干的干燥根茎，味苦、辛，性寒，有毒，归肺、肝、脾经。具有清热解毒、清肺祛痰、散血消肿的功效，主要用于治疗热毒所致痰火郁结、咽喉肿痛、痰咳气喘等症，是中药治疗喉痹咽痛的主要用药。

异黄酮类化合物是射干主要的有效成分。通过高效液相色谱法对射干中的一种或多种异黄酮进行分析，可以确定其中的主要成分，但此法必须在有标准对照品的情况下，才能通过保留时间来进行组分的定性，据此所建立的射干质量控制方法只针对鸢尾苷等少数异黄酮，不够全面。



图1 野生射干

LCMS-IT-TOF具有离子阱和飞行时间质谱的双重优点，可以得到多级的高质量数准确性和高分辨率的信息，MS或MS<sup>n</sup>可以提供大量关于化合物的结构信息及其准确的质量数，诸如分子量、分子式、碎片离子等，通过对这些信息的综合分析，可以推断该化合物的裂解方式，进而推断其可能的化学结构，从而全面分析组分中的化学组成。

本文采用快速液相缩短分析时间，使用LCMS-IT-TOF对射干提取液进行定性分析，鉴定出其中9种主要成分。该法快速、灵敏度高、专属性强，为全面控制射干药材的质量提供了依据。

## 实验部分

### 1.1 仪器设备

Shimadzu LCMS-IT-TOF系统，包括LC-20AD×2(输液泵)，SIL-20AC(自动进样器)，CTO-20AC(柱温箱)，SPD-M20A(二极管阵列检测器)，CBM-20A(控制器)，DGU-20A3(在线脱气机)，LCMS-IT-TOF(电喷雾电离-离子阱-飞行时间串联质谱仪)

### 1.2 试剂与样品

试剂：乙腈，HPLC级；纯水，Milli-Q超纯水仪制备得到；甲酸，LCMS级；所有试剂和样品需用0.45 μm以下滤膜过滤。

样品：射干药材的70%乙醇提取物

### 1.3 试验条件

#### 1.3.1 色谱条件

色谱柱: Shim-pack XR-ODS, 75×2.0 mm,  
2.2 μm

流速: 0.2 mL/min

进样量: 1 μL

流动相: A – 水(0.5%甲酸); B – 乙腈

柱温: 40°C

检测波长: 200-400 nm

梯度洗脱程序: 见下表

#### 1.3.2 质谱条件

离子化模式: ESI源

分析模式: 正、负离子模式

雾化气流速: 1.50 L/min

CDL温度: 200°C

加热模块温度: 200°C

检测器电压: 1.70 kV

碰撞能量: 20%-50%

采集范围: m/z 100-700

母离子选择方式: 自动模式

自动调谐优化质谱条件, 外标法校正质量数

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Action	Value
0.00	Pumps	B.Conc	15
2.00	Pumps	B.Conc	25
4.00	Pumps	B.Conc	30
6.00	Pumps	B.Conc	35
8.00	Pumps	B.Conc	45
10.00	Pumps	B.Conc	80
17.00	Pumps	B.Conc	80
17.01	Pumps	B.Conc	15
25.00	Controller	Stop	

## 结果与讨论

### 2.1 色谱分析结果

射干成分复杂, 不易分离, 常规分析一般需要60分钟的分, 为了提高效率, 本次试验使用岛津的快速液相UFLC-XR作为分离工具, 将分离时间缩短为25分钟。

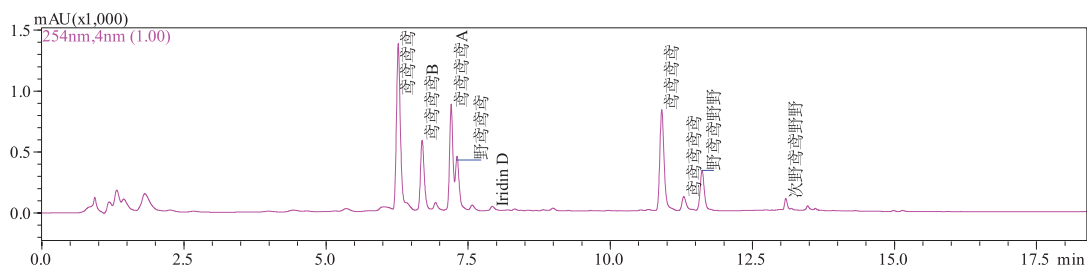


图 2 射干乙醇提取液 254 nm 下的色谱图

在该洗脱条件下, 用254 nm进行检测, 共检测出9种主成分, 各组分离良好。

### 2.2 质谱分析结果

根据文献中已知射干的可能成分的分析确认, 确定出其中9种有效成分, 这9种有效成分的质量色谱图、分子结构见图3图4, 主要情况见表2:

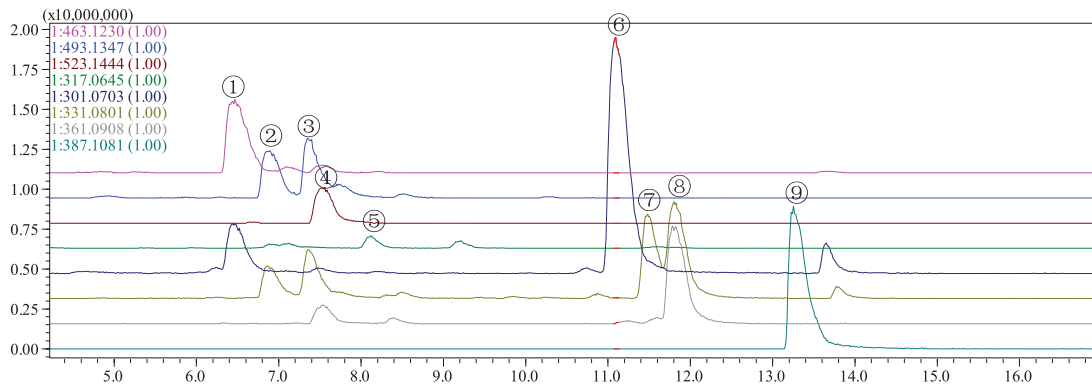


图3 射干质量色谱图

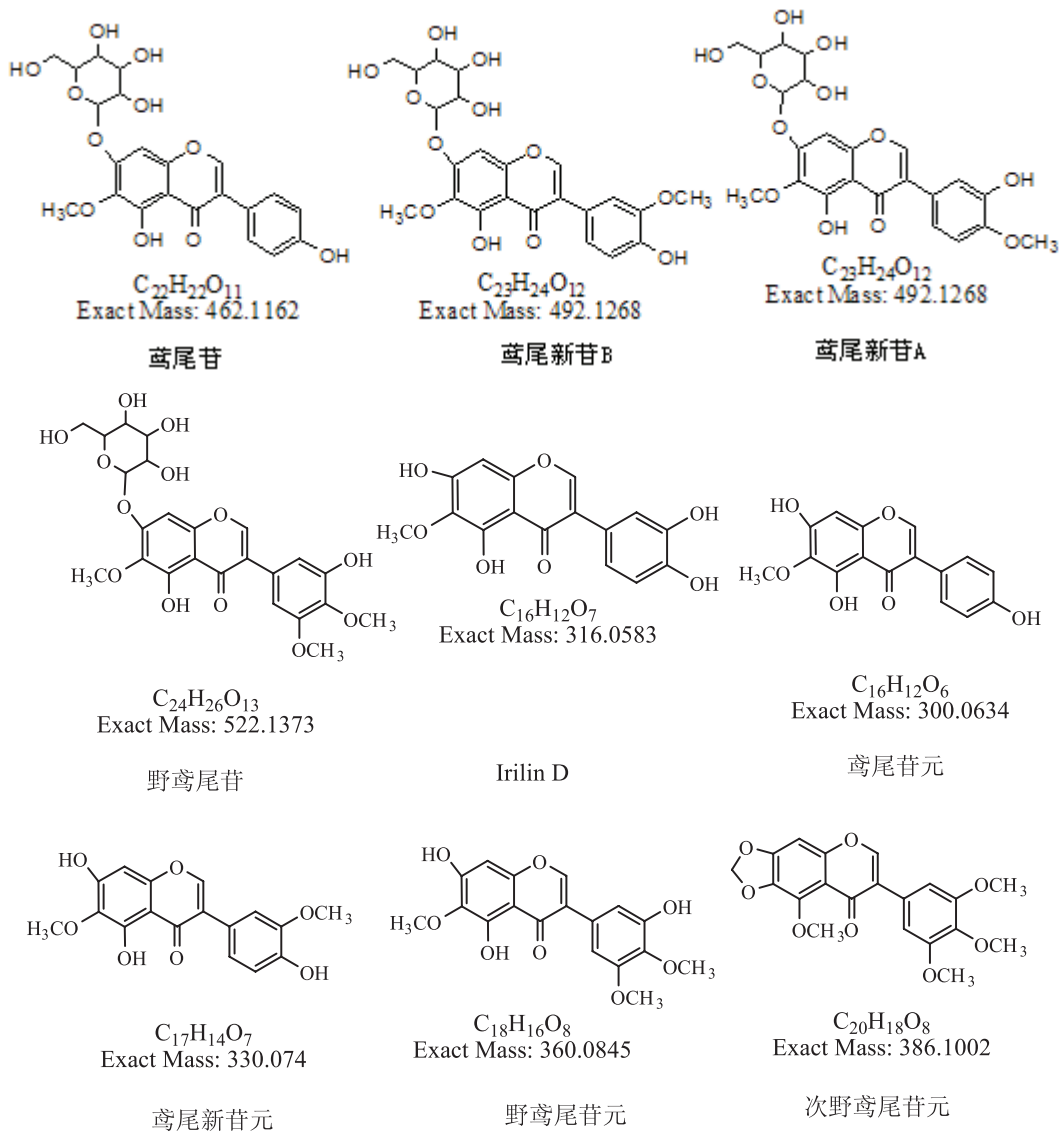


图4 9组分分子结构图

表 2 检测到的 9 种化合物离子列表

ID	组分名称	英文名称	分子式	保留时间(min)	实测 m/z	误差值(ppm)	多级碎片
					理论 m/z		
1	鸢尾苷	Tectorigenin	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	6.47	463.1230	-1.09	MS <sup>2</sup> : 301.0698
					463.1235		MS <sup>3</sup> : 286.0458 MS <sup>4</sup> : 285.0384
2	鸢尾新苷 B	Iristectorin B	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	6.89	493.1347	1.22	MS <sup>2</sup> : 331.0804
					493.1341		MS <sup>3</sup> : 316.0561 MS <sup>4</sup> : 301.0335
3	鸢尾新苷 A	Iristectorin A	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	6.89	493.1342	0.1	MS <sup>2</sup> : 331.0804
					493.1341		MS <sup>3</sup> : 316.0561 MS <sup>4</sup> : 301.0335
4*	野鸢尾苷	Iridin	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	7.37	523.1444	0.38	MS <sup>2</sup> : 361.0902
					523.1451		MS <sup>3</sup> : 346.0647 MS <sup>4</sup> : 331.0424
5	Irilin D	Irilin D	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	8.12	317.0645	-3.47	MS <sup>2</sup> : 302.0397
					317.0656		MS <sup>3</sup> : 301.0342
6	鸢尾苷元	Tectorigenin	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	11.09	301.0703	-1.53	MS <sup>2</sup> : 286.0476
					301.0707		MS <sup>3</sup> : 211.0387 MS <sup>4</sup> : 155.0490
7	鸢尾新苷元	IristectorigeninB	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	11.48	331.0801	-2.32	MS <sup>2</sup> : 316.0594
					331.0812		MS <sup>3</sup> : 301.0329 MS <sup>4</sup> : 273.0379
8	野鸢尾苷元	Irigenin	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	11.80	361.0908	-2.77	MS <sup>2</sup> : 346.0665
					361.0918		MS <sup>3</sup> : 331.0421 MS <sup>4</sup> : 303.0471
9	次野鸢尾苷元	Irisflorentin	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	13.25	387.1081	1.91	MS <sup>2</sup> : 357.0598
					387.1074		MS <sup>3</sup> : 329.0629 MS <sup>4</sup> : 314.0426

异黄酮类化合物在植物体中一部分与糖结合成苷类，另一部分以游离形式的苷元存在。苷类物质易失去一分子葡萄糖162Da生成苷元离子，1、2、3、4号组分反映出相应的裂解规律，由此可以判断它们为苷类物质。苷元的裂解以脱去-CH<sub>3</sub>为主体，同时伴有脱-CO反应。以鸢尾苷为例，典型的苷类裂解途径如图5，以鸢尾新苷元、野鸢尾新苷元为例，典型的苷类裂解途径如图6。

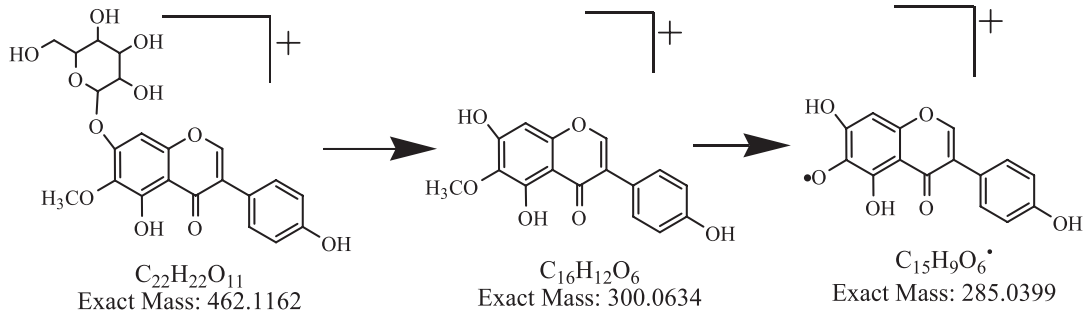


图5 鸢尾苷裂解途径

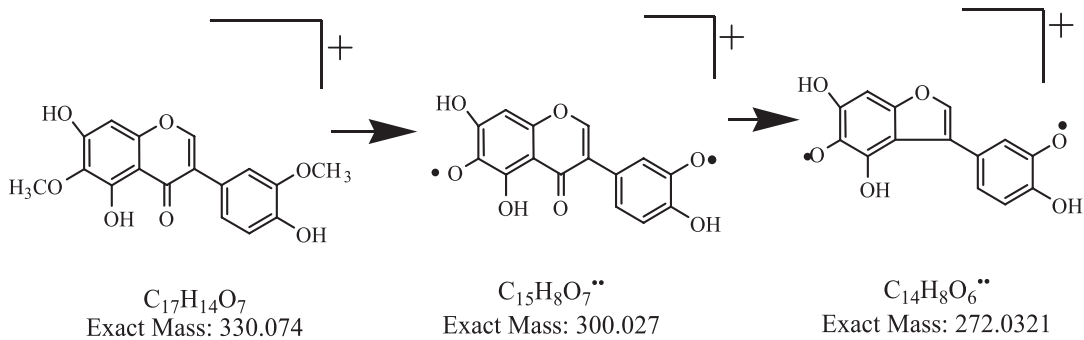


图6 鸢尾新苷元裂解途径

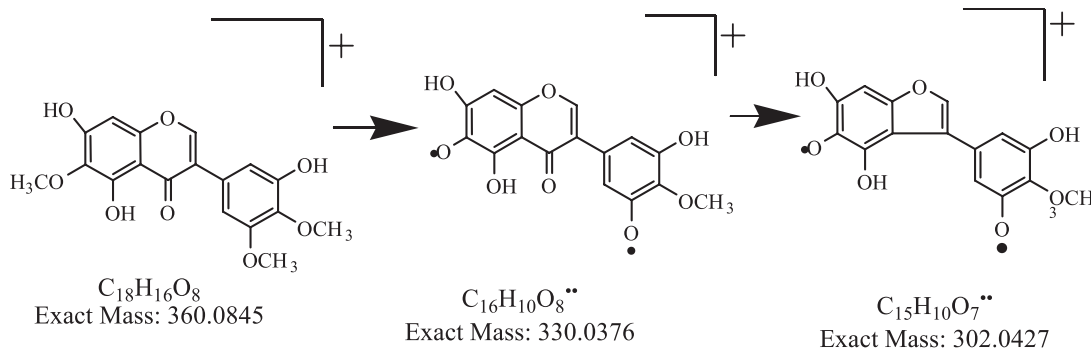


图7 野鸢尾新苷元裂解途径

## 结论

使用LCMS-IT-TOF系统对射干乙醇提取物进行了定性分析，在复杂基底中检测到异黄酮类9种化合物，分子式预测结果的误差均小于4 ppm，多达四级的碎片提供了可靠的结构信息，使各组分的预测结果和碎片信息与标准品和文献相吻合，从而提高了定性的准确性。此次试验证明，LCMS-IT-TOF是对射干这类复杂化合物的全面定性的强有力的工具。