

利用化合物的特征碎片定性分析其衍生物或类似物

LCMS-QTOF-125

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 LCMS-9050，建立了一种利用化合物的特征碎片对其衍生物或类似物进行定性分析的方法。首先详细阐述了如何利用 MS2 特征碎片对双酚沙丁类化合物进行定性分析的流程，并利用该方式对某样品中的西地那非及其类似物进行了解析，并展示了分析结果。该方法可应用于公安、食检等领域中，违禁成分及其衍生物的快速定性。

关键词： LCMS-QTOF 特征碎片 类似物 衍生物

技术特点：

- ❖ 利用母核结构的特征碎片离子，建立筛查相同母核结构物质的分析流程；
- ❖ 该方法可应用于公安、食检等领域中，未知非法添加物质的快速筛查定性。

在复杂化合物的定性分析中，尤其当面对未知衍生物或结构类似物时，传统基于完整分子结构的鉴定方法往往面临挑战。这些化合物可能因细微的官能团修饰、同分异构或复杂的代谢转化，而难以通过常规质谱或光谱手段直接、快速识别。在此背景下，特征碎片分析策略展现出其独特价值。

该策略的核心在于，化合物在质谱裂解过程中会产生与其核心骨架或关键官能团密切相关的特征离子碎片。这些碎片如同分子的“化学指纹”，具有较高的结构专属性。即使母体化合物经过生化或结构修饰生成新的类似物，其核心结构单元在裂解过程中仍

可能产生相同或高度相似的特征碎片离子。因此，通过系统研究并建立目标化合物及其同系物的质谱裂解规律，锁定这些稳定的、具有诊断意义的特征碎片，即可构建一种高效的筛查与推定分析方法。

本文的目的是探索并验证利用特征碎片离子，对目标化合物的衍生物及结构类似物进行快速定性识别的策略。通过对比分析已知化合物的裂解路径，确定关键特征碎片，并将其应用于复杂基质中未知类似物的结构推定，有望为法医毒物分析、代谢物鉴定、食品污染物筛查及药物杂质研究等领域，提供一种灵敏、高效且可靠的辅助定性分析手段。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-9050 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-40D XS×2	系 统 控 制 器：	SCL-40
自 动 进 样 器：	SIL-40C XS	飞 行 时 间 质 谱 仪：	LCMS-9050
柱 温 箱：	CTO-40C		
色 谱 工 作 站：	LabSolutions Ver. 5.128;		
	LabSolutions Insight Ver. 4.0SP2;		
	LabSolutions Insight Explore Ver. 1.1;		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18 (150 mm x 2.1 mm I.D., 3 μm
岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30008-07)

流 动 相 : A 相 -0.1% 甲酸水溶液; B 相 - 乙腈

流 速 : 0.4 mL/min

进 样 体 积 : 5 μL 柱 温 : 40°C

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 15%, 洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	泵	B.Conc	15
12.00	泵	B.Conc	98
17.00	泵	B.Conc	98
17.50	泵	B.Conc	15
20.00	控制器	stop	

质谱条件

离 子 源 : ESI(+)

加热模块温度 : 400°C

雾化气流速 : 3.0 L/min

D L 温 度 : 250°C

加热气流速 : 10.0 L/min

接 口 温 度 : 300°C

干燥气流速 : 10.0 L/min

扫 描 模 式 : 事件 1: MS Scan(m/z 300 -800)

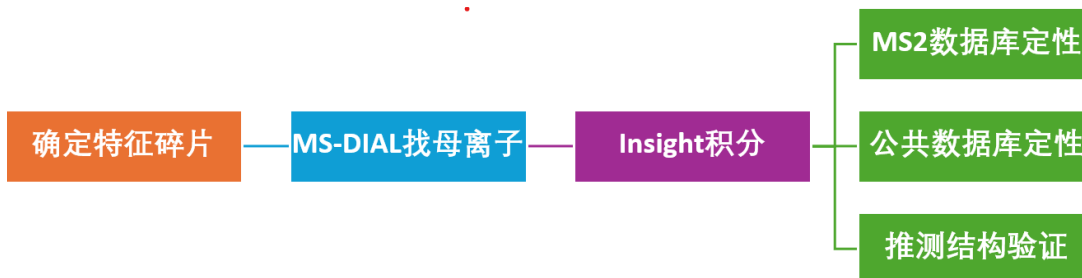
: 事件 2 ~ 6: DDA MS/MS (m/z 100-800)

1.3 样品制备

准确称取 1 g 待测试样 (精确至 0.001 g) 置于 50 mL 具塞离心管中, 加入 40 mL 甲醇, 超声提取 15 min, 冷却至室温, 于 4000 r/min 离心 5 min, 上清液全部转移至 50 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 混匀。取适量上清液过微孔滤膜过滤, 待用。

■ 结果与讨论

对于某一类化合物的定性分析常常需要先收集这类化合物的相关信息, 然后采用对目标物的母离子进行提取的方式进行分析。这种数据处理方式检出率的高低往往取决于收集信息的完善程度。采用本文中使用的数据分析方式, 可以大大的减少分析的工作量, 并且提高未知物的检出率。该种分析方式的具体流程如下所示。



以确证某样品中是否存在双酚沙丁及其衍生物或类似物为例说明上述的具体分析流程。

2.1 确定特征碎片

以下将根据市场监管总局发布的《食品中 15 种酚汀（酚丁）、酚酞及其酯类衍生物或类似物的执法检验方法》（以下简称“方法”）为例，来阐述该方案的具体实施流程。《方法》所述，如发现某化合物不是标准中规定的 15 种化合物，但部分碎片离子与下表中所列特征碎片离子一致，应考虑可能为酚丁、酚酞新型酯类衍生物或类似物，建议进一步结构鉴定。

结构母核	特征碎片离子
酚酞	225.0546, 197.0597
酚丁	224.0706, 196.0757
卤代酚丁	氟代: 242.0612, 214.0663 氯代: 258.0316, 230.0373, 并符合 Cl 同位素分布 溴代: 301.9811, 273.9862, 并符合 Br 同位素分布 碘代: 349.9672, 321.9723
双酚沙丁	240.0655, 212.0706

其中双酚沙丁的裂解规律如图 1 所示，双酚沙丁的衍生物或类似物应均具有图中的两个特征碎片，故可根据这两个特征碎片筛查出属于该类别的化合物。

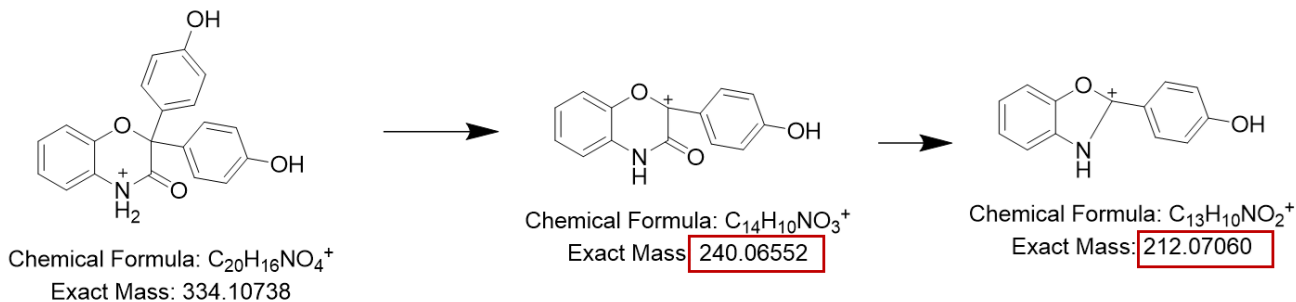


图 1 双酚沙丁可能的裂解规律

2.2 MS-DIAL 找特征碎片母离子

将 DDA 数据导入 MS-DIAL 软件进行峰提取，使用“MS/MS fragment searcher”模块对具有双酚沙丁相同特征碎片的母离子进行筛选并将母离子信息导出。

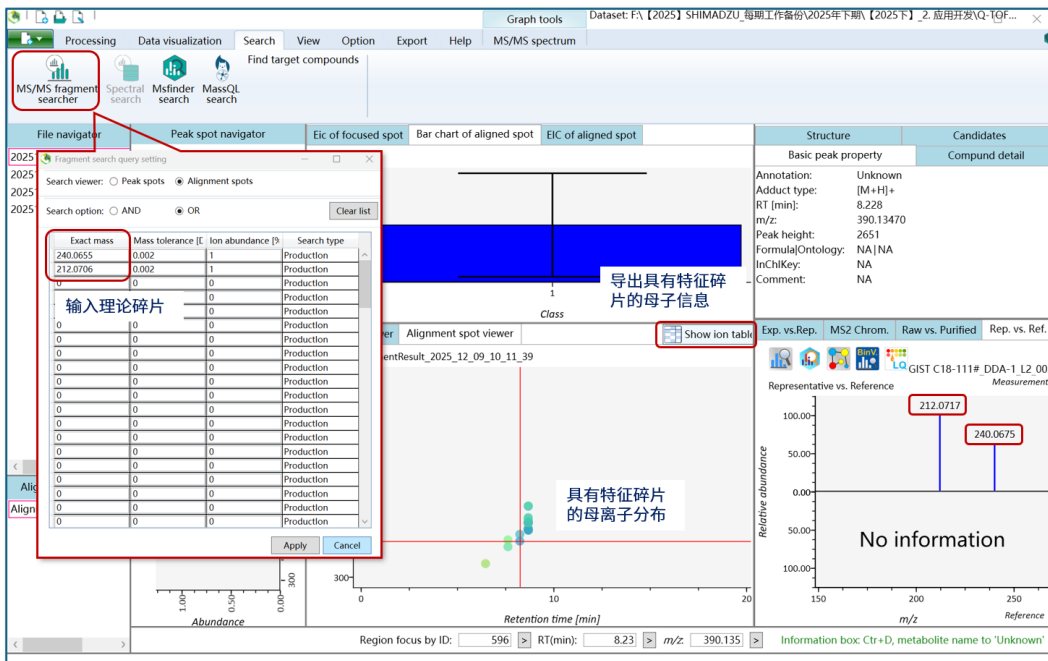


图 2 利用 MS-DIAL 对与目标物有相同特征碎片的母离子进行筛选

2.3 Insight 积分

将导出的母离子信息（保留时间及 m/z）导入 Insight Explore 软件进行积分。

#	化合物名称	库化合物名称	保留时间	保留时间(实际)	m/z	实际m/z	质量误差 (ppm)	质量误差 (mDa)	分子式	面积	高度
1	化合物1		6.455	6.457	334.1076	334.10771	0.329	0.11		278399	60760
2	化合物2		7.616	7.620	393.1449	393.14513	0.585	0.23		91612	21181
3	化合物3		7.617	7.619	376.1180	376.11863	1.675	0.63		53732	12379
4	化合物4		8.228	8.229	390.1347	390.13455	-0.384	-0.15		9183	2554
5	化合物5		8.233	8.232	407.1603	407.15998	-0.786	-0.32		17087	4471
6	化合物6		8.663	8.631	421.2535	----	无法计算	无法计算		464	250
7	化合物7		8.663	8.678	435.7170	435.71452	-5.692	-2.48		3480	1499
8	化合物8		8.663	8.634	435.8176	----	无法计算	无法计算		283	191
9	化合物9		8.663	8.667	447.1544	447.15588	3.310	1.48		18954	3708
10	化合物10		8.665	8.680	436.5998	----	无法计算	无法计算		7959	3195
11	化合物11		8.668	8.664	477.1649	477.16790	6.287	ND		10343	2778
12	化合物12		8.668	8.678	419.5361	419.53835	5.363	2.25		30858	8464
13	化合物13		8.668	8.661	419.7806	419.78098	0.905	0.38		16427	6142
14	化合物14		8.670	8.668	435.1562	435.15613	-0.161	-0.07		3219543	673713
15	化合物15		8.670	8.664	436.3803	436.37600	-9.854	ND		29025	8114
16	化合物16		8.670	8.660	449.1724	449.17194	-1.024	-0.46		81930	11792
17	化合物17		8.672	8.676	418.7478	418.74909	3.081	1.29		3927	1229
18	化合物18		8.672	8.658	419.3187	419.32126	6.105	ND		23950	6526
19	化合物19		8.672	8.667	478.1623	478.16294	1.338	0.64		52735	10823
20	化合物20		8.673	8.659	435.7825	----	无法计算	无法计算		5654	1944
21	化合物21		8.675	8.678	436.8490	436.84886	-0.320	-0.14		9816	3814
22	化合物22		8.675	8.655	417.1186	417.12069	5.011	2.09		9179	1858

图 3 Insight Explore 软件积分结果

2.4 定性分析

对 2.3 中积分后的结果进行定性分析，可根据具体情况选择某一种或多种方法结合的方式对需要分析的 m/z 进行分析，以下分别对三种常用的定性方法进行举例说明。

2.4.1 MS² 数据库定性（定性方法 1）

以对 RT 6.457 min、 m/z 334.10770 的定性流程为例说明。

将母离子信息导入 Insight Explore 软件积分，利用“组成预测”模块对母离子对应的分子式进行判断。如图 4 所示，结合 MS¹ 质谱图中 m/z 356.08954 可知，RT 6.457 min、 m/z 334.10770 应该为该化合物的 $[M+H]^+$ 峰，故该化合物对应的分子式应该为 $C_{20}H_{15}NO_4$ 。

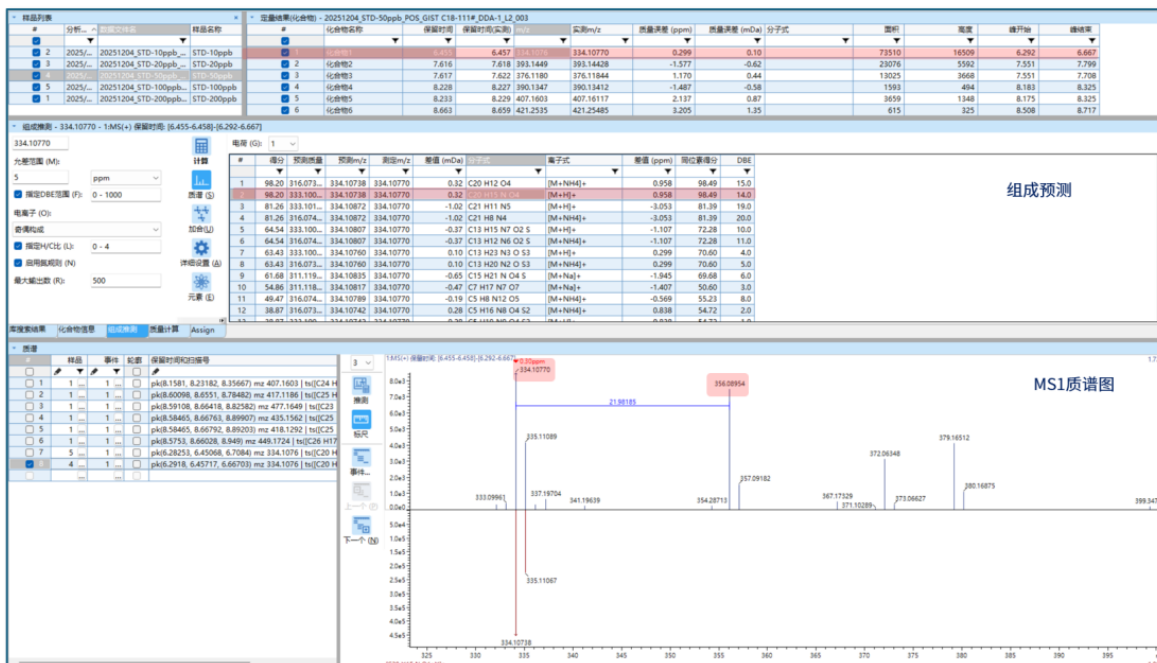


图 4 使用 Insight Explore 软件对筛选所得母离子进行“组成预测”

加载 MS² 数据库，对该化合物进行库搜索，如下图所示，数据库中双酚沙丁匹配度最高，且双酚沙丁的分子式为 $C_{20}H_{15}NO_4$ ，与通过 MS¹ 推测得到的分子式一致，故可推测 RT 6.457 min、 m/z 334.10770 对应的化合物应该为双酚沙丁类似物。

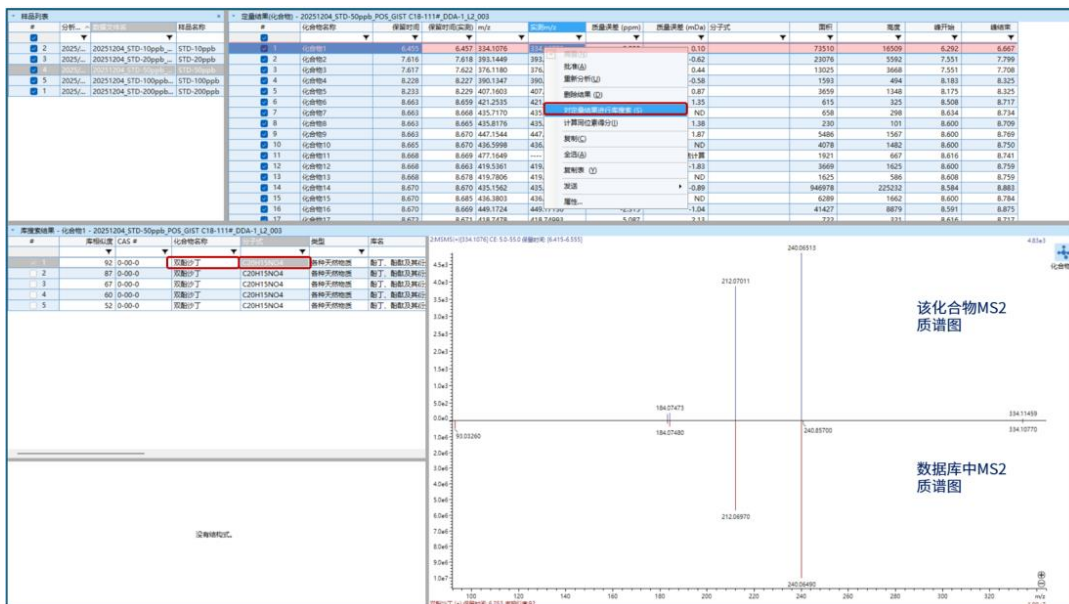


图5 Insight Explore 软件“库搜索”截图

2.4.2 公共数据库定性 (定性方法 2)

以对 RT 8.670 min、m/z 435.15531 的定性流程为例说明。

利用“组成预测”模块对母离子对应的分子式进行判断。如下图所示，m/z 435.15531 应该为该化合物的 $[M+NH_4]^+$ 峰，故该化合物对应的分子式应该为 $C_{24}H_{19}NO_6$ 。

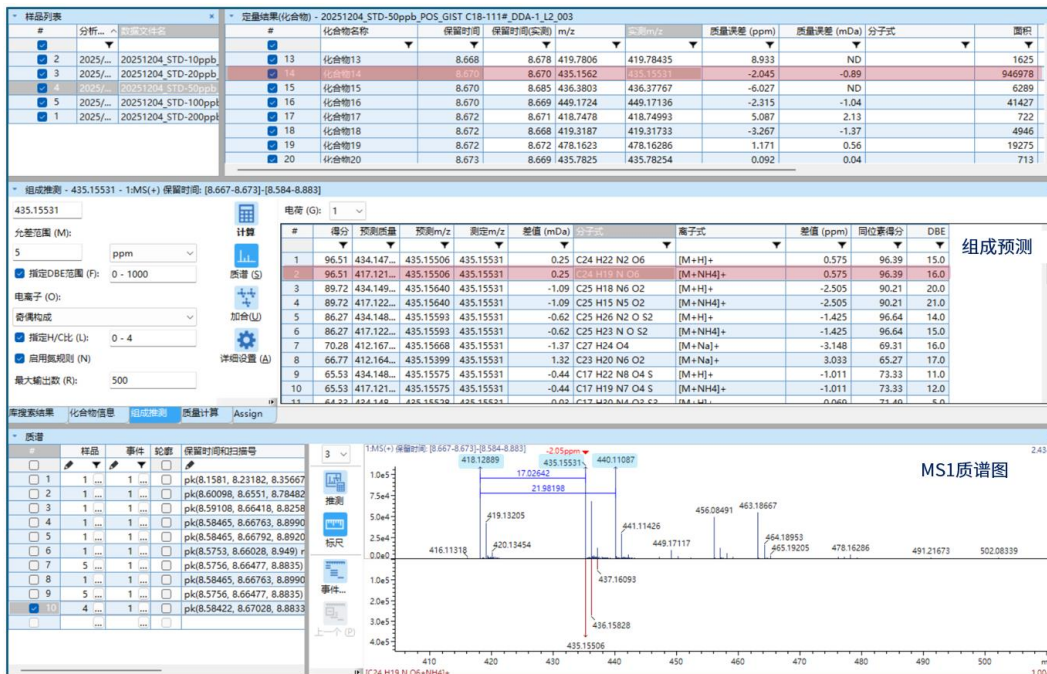


图6 Insight Explore 软件“组成预测”截图

将以 m/z 435.15531 为母离子得到的 MS² 质谱图发送到“Assign”窗口执行在线搜索，如下图所示，化合物双酚沙丁醋酸酯的理论碎片与实际的 MS² 质谱图匹配良好，RT 8.670 min、m/z 435.15531 对应的化合物很可能是双酚沙丁醋酸酯。

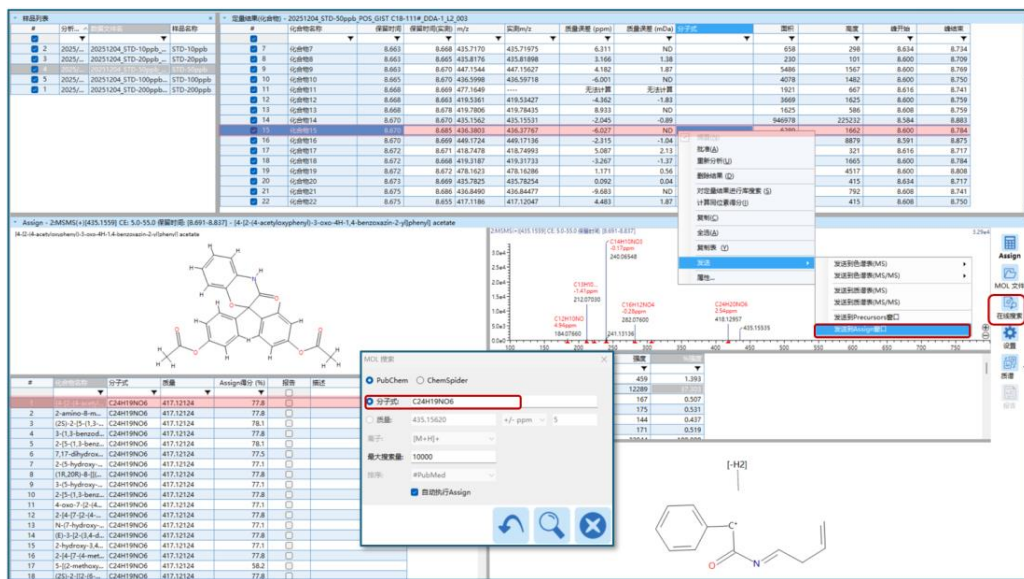


图 7 Insight Explore 软件“Assign”模块截图

2.4.3 推测结构验证（定性方法 3）

以对 RT 7.618 min、m/z 393.14428 的定性流程为例说明。

利用“组成预测”模块对母离子对应的分子式进行判断。如下图所示，m/z 393.14428 应该为该化合物的 [M+NH₄]⁺ 峰，故该化合物对应的分子式应该为 C₂₂H₁₇NO₅。

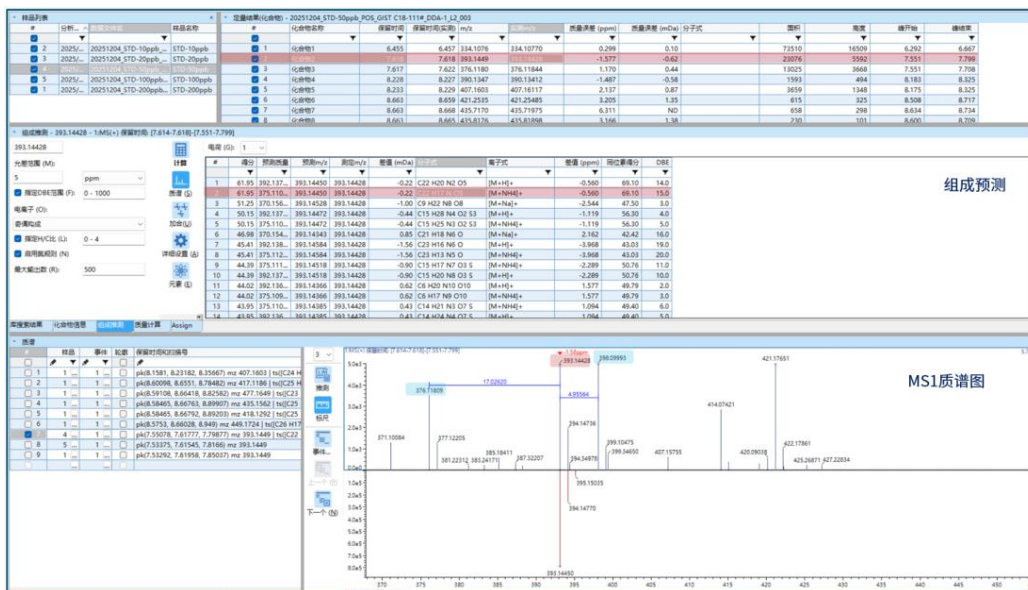


图 8 Insight Explore 软件“组成预测”截图

如图 9 所示，对双酚沙丁醋酸酯和双酚沙丁的裂解规律进行研究发现， m/z 282.07608（理论值）为图中红框内特征结构；对图 10 中以 RT 7.618 min、 m/z 393.14428 为母离子的 MS^2 质谱图进行分析：其中 m/z 282.07487 应为图 9 中红框内结构，同时该质量数与 m/z 376.11475 ($[M+H]^+$) 相差 C_6H_6O ，与双酚沙丁的裂解相同，故推测该化合物的结构应该为图 10 所示。

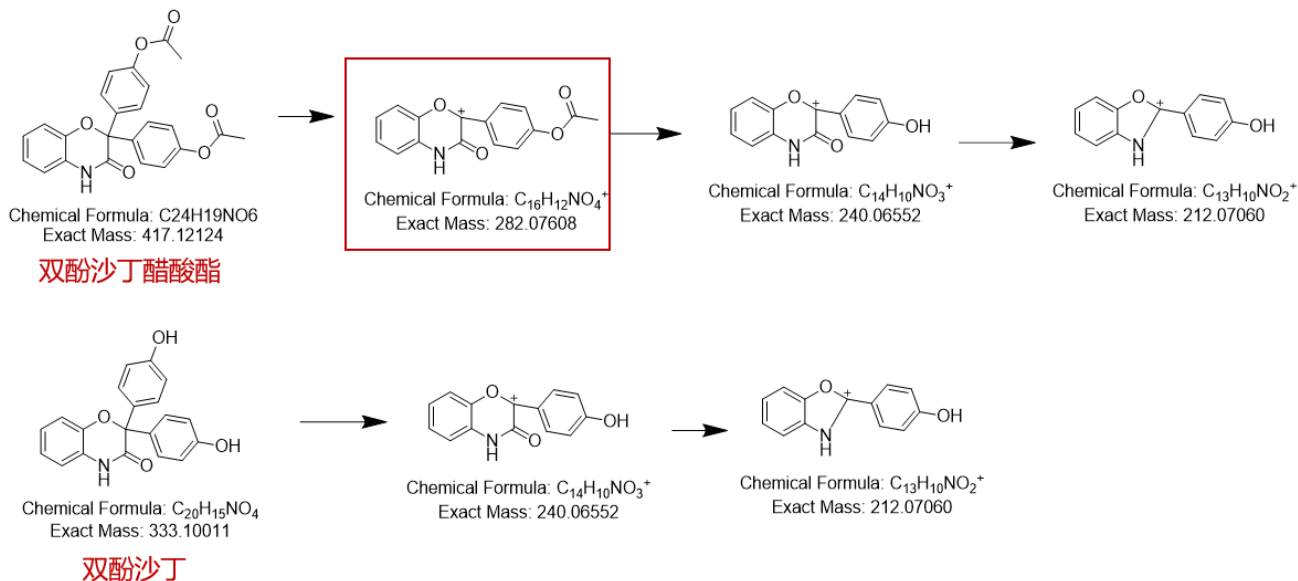


图 9 双酚沙丁醋酸酯和双酚沙丁裂解规律

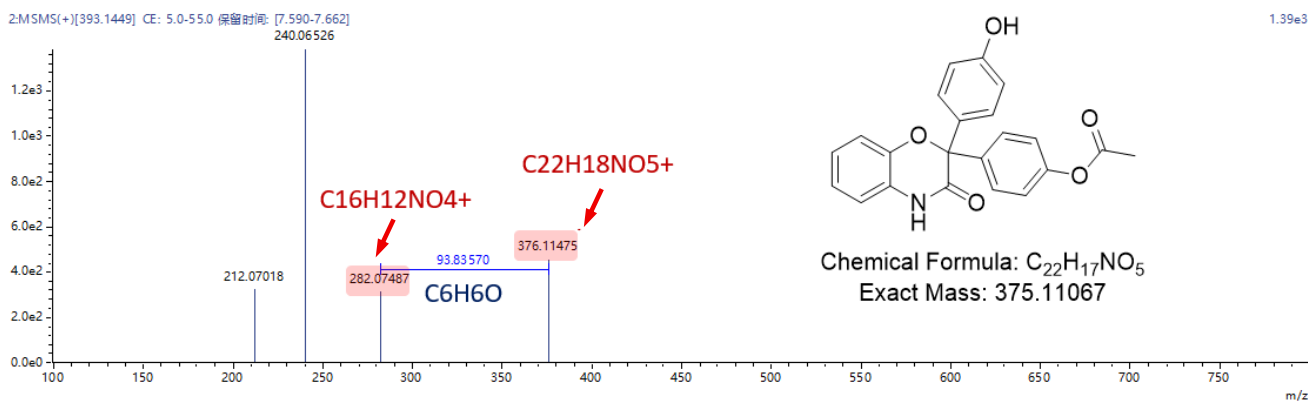


图 10 m/z 393.14428 为母离子的 MS^2 质谱图以及推测的结构

将 MS^2 质谱图发送到“Assign 窗口”，导入上述结构式，进行二级碎片的比对，如下图所示该的理论碎片与实际的 MS^2 质谱图匹配良好。故推测该化合物的结构应该为图 10 所示，且怀疑是双酚沙丁醋酸酯水解产生，可能的裂解规律如图 11 所示。

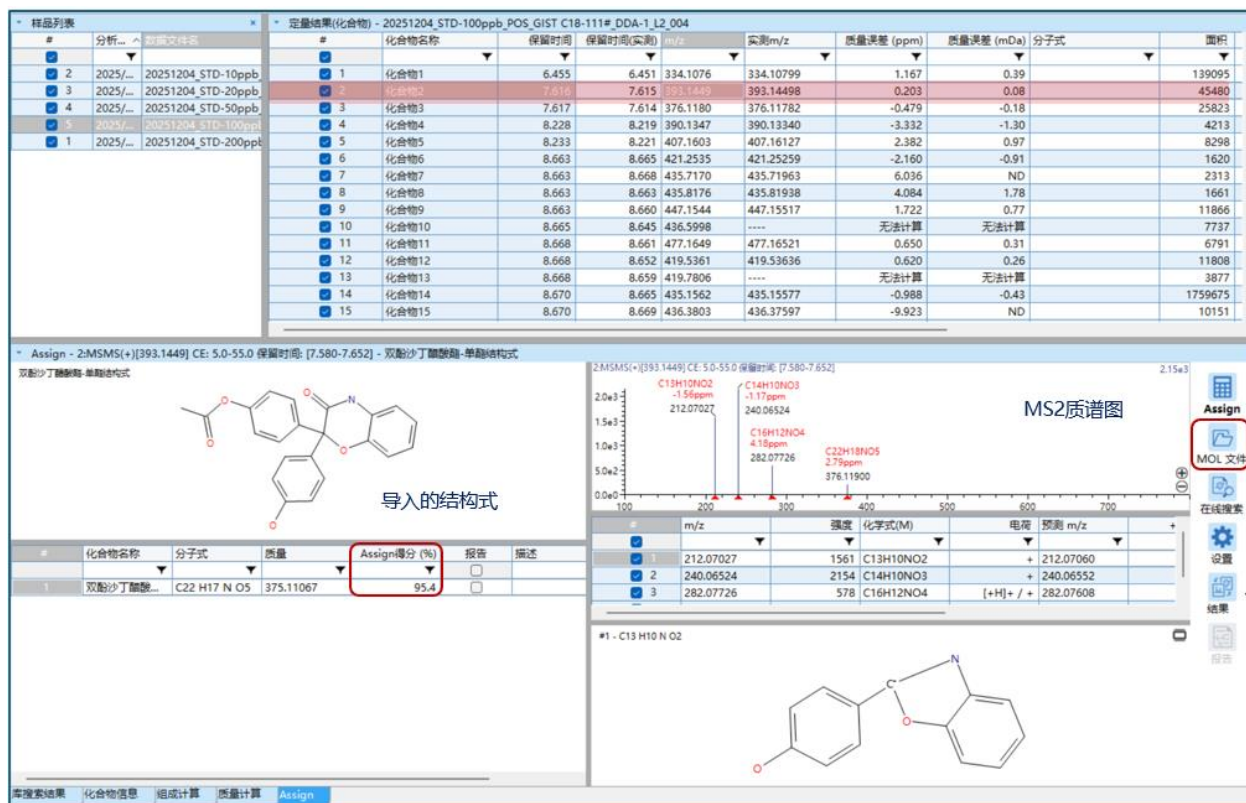


图 11 Insight Explore 软件“Assign”模块截图

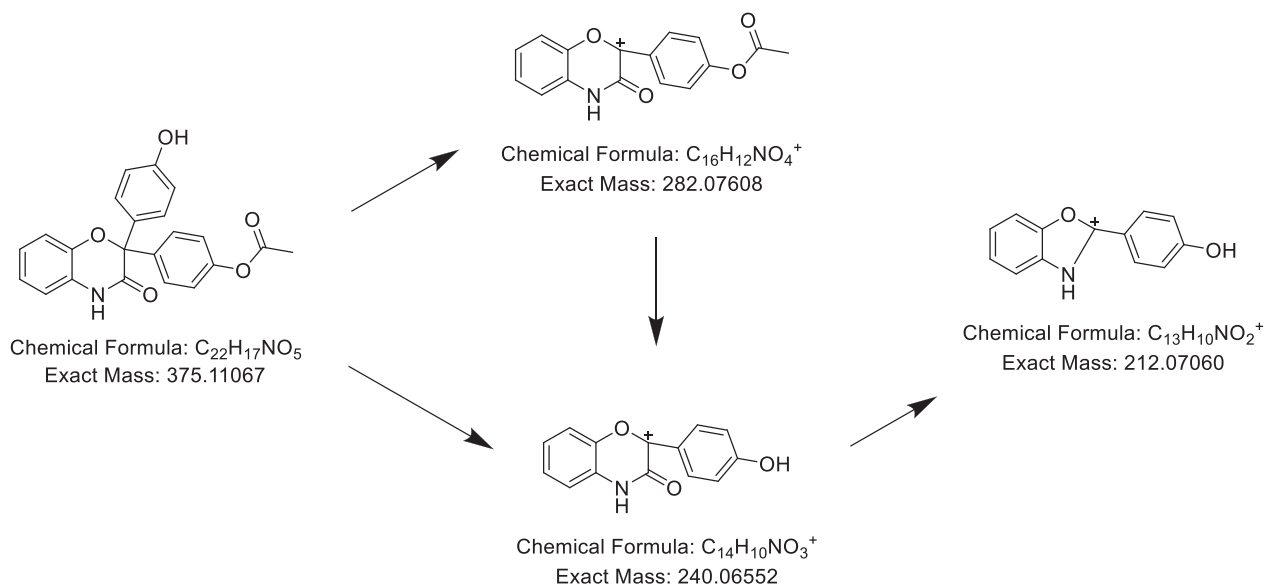


图 12 该化合物可能的碎裂规律

2.5 方法验证

利用上述分析流程对某样品中的西地那非及其衍生物或类似物进行解析。

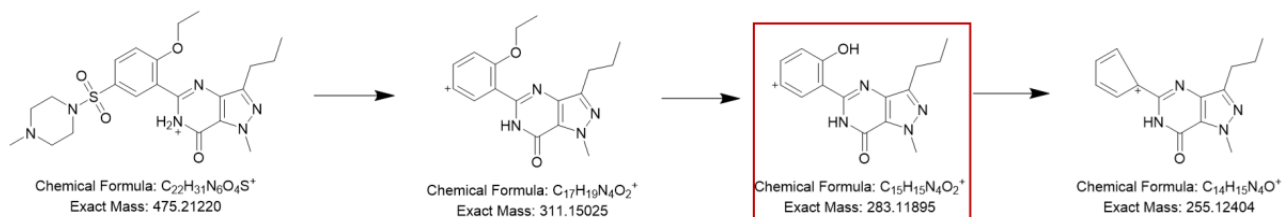


图 13 西地那非可能的裂解规律

在对西地那非的裂解规律进行研究发现，图 13 红框中的碎片结构为西地那非及其衍生物或类似物的特征碎片，故利用 MSDIAL 对符合该特征碎片的母离子进行提取，并将所有符合的母离子信息导出。

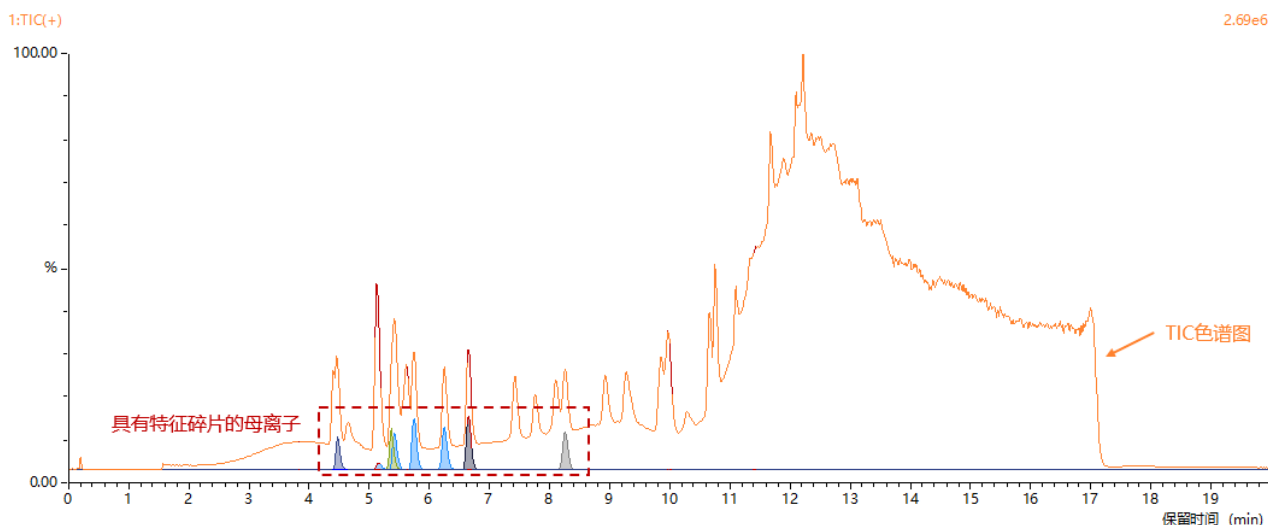
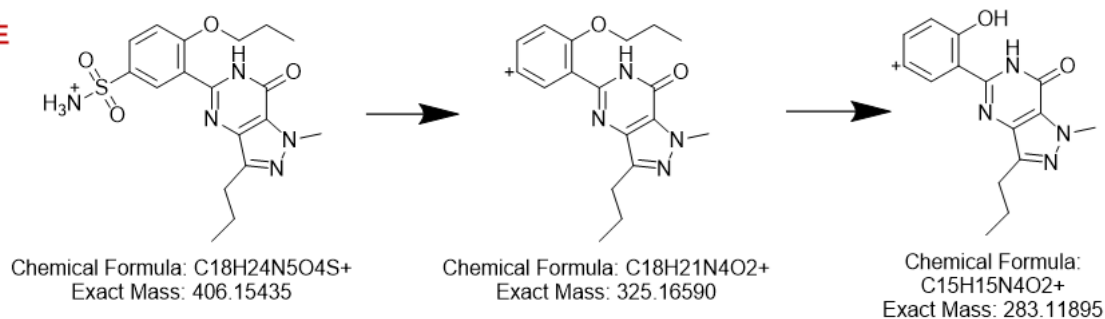


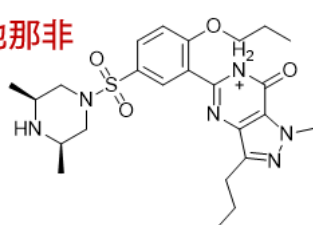
图 14 具有特征碎片的母离子的色谱图

选择合适的定性方法对所有符合的母离子进行解析，最终定性分析得到的西地那非及其衍生物或类似物的信息如表 2 所示，每个化合物的可能碎裂规律如图 15 所示。

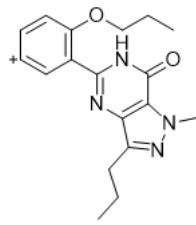
氨基西地那非



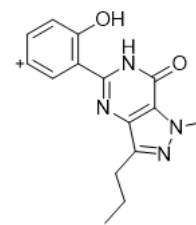
丙氧苯基艾地那非



Chemical Formula: $C_{24}H_{35}N_6O_4S^+$
Exact Mass: 503.24350

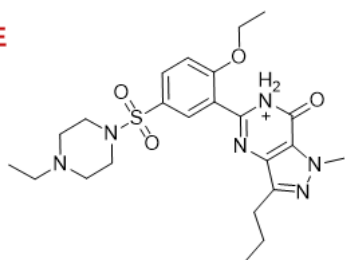


Chemical Formula: $C_{18}H_{21}N_4O_2^+$
Exact Mass: 325.16590

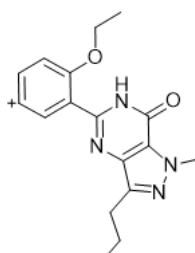


Chemical Formula: $C_{15}H_{15}N_4O_2^+$
Exact Mass: 283.11895

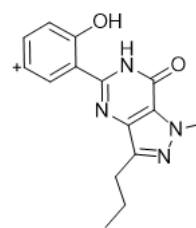
豪莫西地那非



Chemical Formula: $C_{23}H_{33}N_6O_4S^+$
Exact Mass: 489.22785

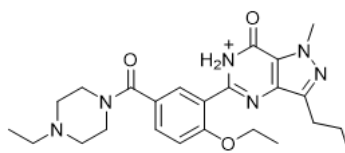


Chemical Formula: $C_{17}H_{19}N_4O_2^+$
Exact Mass: 311.15025

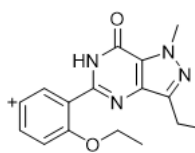


Chemical Formula: $C_{15}H_{15}N_4O_2^+$
Exact Mass: 283.11895

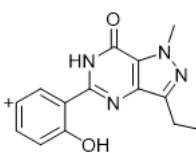
卡巴地那非



Chemical Formula: $C_{24}H_{33}N_6O_3^+$
Exact Mass: 453.26087



Chemical Formula: $C_{17}H_{19}N_4O_2^+$
Exact Mass: 311.15025



Chemical Formula: $C_{15}H_{15}N_4O_2^+$
Exact Mass: 283.11895

图 15 定性得到的化合物的可能裂解规律

表 2 定性得到的化合物详细信息

序号	R.T.(min)	实测 m/z	可能的化合物名称	分子式	理论 m/z	质量误差 (ppm)
1	4.464	453.26087	卡巴地那非	$C_{24}H_{32}N_6O_3$	453.2609	0.00
2	5.36	475.21245	西地那非	$C_{22}H_{30}N_6O_4S$	475.2122	0.53
3	5.412	489.22796	豪莫西地那非	$C_{23}H_{32}N_6O_4S$	489.2279	0.23
4	6.646	503.24348	丙氧苯基艾地那非	$C_{24}H_{34}N_6O_4S$	503.2435	-0.04
5	8.256	406.15474	氨基西地那非	$C_{18}H_{23}N_5O_4S$	406.1544	0.96

■ 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，建立了一种利用化合物的特征碎片对其衍生物或类似物进行定性分析的方法。以双酚沙丁及其衍生物或类似物为例详细阐述了利用 MS^2 特征碎片进行定性分析的流程，分别展示了数据库搜索，在线数据库搜索以及结构式匹配的定性方式，并利用该方式对某样品中的西地那非及其衍生物或类似物进行了解析。经过验证能够通过该方式实现对某类具有共同特征 MS^2 碎片的化合物的快速筛查及定性分析。

岛津应用云

