

# LCMS-Q-TOF 法鉴定石椒草配方颗粒成分

## LCMS-QTOF-069

**摘要:** 本文使用岛津超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间质谱联用仪对石椒草配方颗粒成分进行了高分辨质谱鉴定。利用 MSDIAL 软件、Labsolutions Insight Explore 软件和 Chemspider 数据库, 对正负两种离子模式下的色谱峰进行了分子式预测和结构式解析。结果显示样品中共鉴定出 22 种可能的化合物, 主要为香豆素类化合物, 此外还有少量黄酮类、脂肪酸等天然活性物质。

**关键词:** 四极杆飞行时间质谱 石椒草配方颗粒 鉴定

### 技术特点:

- ❖ 使用高分辨质谱对石椒草配方颗粒进行成分分析。
- ❖ 结合 MSDIAL 与 Insight Explore 软件对数据进行分析。

石椒草为芸香科植物石椒草属的一种多年生草本植物, 在我国主要分布于气候温和、湿润, 海拔 1000-2800 米的西南地区, 如云南东北部、四川西南部等, 在印度东北部和日本等地也有一定分布; 石椒草的干燥全草药用价值较大, 为民间常用植物药, 具有疏风解表、清热解毒、行气活血等功效, 可用于治疗支气管炎、肺炎、胃痛腹胀、泌尿系统感染等。此外, 石椒草在我国彝族传统医药中占有重要的地位。

中药配方颗粒以中药饮片为原料, 经现代工艺提取、浓缩、干燥、制粒而制成颗粒制剂, 可供中医临床调配使用。它保留了传统中医药辨证论治、复方配

伍、随证加减的优势和特色, 同时弥补了传统中药汤剂煎煮费时、储存携带不便等不足, 更能体现中药用药的现代化、规范化和标准化, 是对传统中药的重要创新。但配方颗粒的原料品种与真伪不易确定, 导致其质量难以把控, 确保其质量稳定、可靠成为亟待解决的问题。

本文以石椒草配方颗粒为例, 使用岛津超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间质谱联用仪, 结合相关软件和数据库, 对提取液中的成分进行了鉴定, 为广开药源, 改革剂型, 提高疗效提供必要的依据, 同时也为其质量标准的建立提供参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津 LCMS-9050 四极杆飞行时间质谱联用仪系统。具体配置为:

系统控制器 :	SCL-40	在线脱气机 :	DGU-405
输液泵 :	LC-40D X3	质谱仪 :	LCMS-9050
自动进样器 :	SIL-40C X3	柱温箱 :	CTO-40C
色谱工作站 :	LabSolutions Ver.5.118		
	LabSolutions Insight Explore Ver.4.0		

### 1.2 分析条件

#### 液相条件

- 色谱柱 : Poroshell 120 SB-C18 (250 mm×4.6 mm, 4 μm)
- 流动相 : A-0.1% 甲酸 - 水, B- 乙腈
- 流速 : 1 mL/min (柱后分流, 分流比 1: 1)
- 柱温 : 30°C
- 进样体积 : 5 μL
- 洗脱方式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 10%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.00	泵	B.Conc	10
30.00	泵	B.Conc	18.5
40.00	泵	B.Conc	21
45.00	泵	B.Conc	29
67.00	泵	B.Conc	36.5
72.00	泵	B.Conc	64
82.00	泵	B.Conc	75
92.00	泵	B.Conc	75
92.10	泵	B.Conc	10
100.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子源：ESI±	接口电压：4.5 kV/-3.5 kV
接口温度：300°C	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	碰撞气：氦气
干燥气流速：10.0 L/min	分析模式：MS & MS/MS (DDA)

1.3 样品前处理

精密称取样品 0.5 g，置于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 甲醇，超声提取 10 分钟，静置 5-10 min。取上清液，0.22 μm 滤膜过滤，上机待测。

■ 结果与讨论

2.1 石椒草配方颗粒提取液色谱图

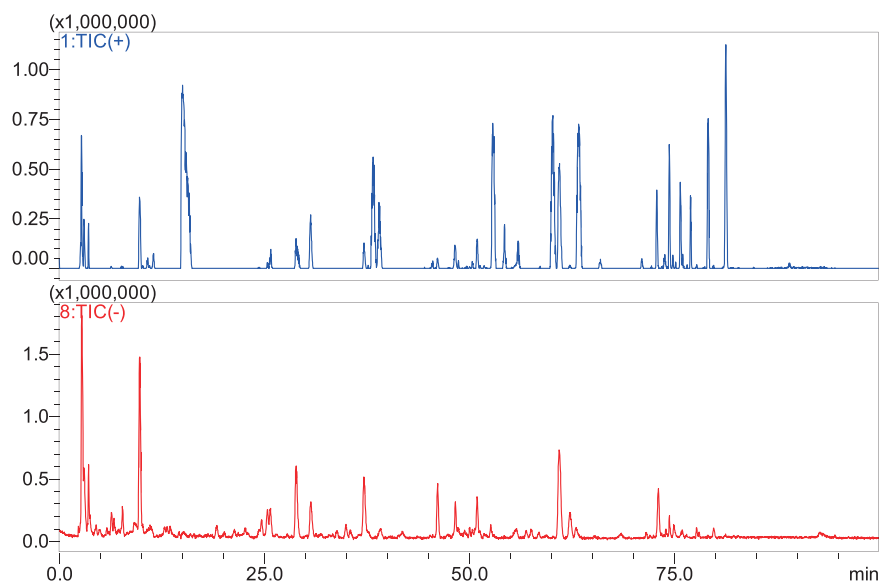


图 1 石椒草配方颗粒提取液 TIC 色谱图（上图为正模式，下图为负模式）

## 2.2 公共数据库初步筛查

使用 MSDIAL 软件，通过 MSMS-Public-Pos-VS15、MSMS-Pos-Vaniya-Fiehn\_Natural\_Products 数据库和 MSMS-Public-Neg-VS15、MSMS-Neg-Vaniya-Fiehn\_Natural\_Products 数据库分别对正模式数据和负模式数据进行初步筛查。根据二级质谱图匹配情况，对分析物进行初步筛选。以负模式，保留时间 37.16 min， $m/z$  623.1624 为例，图 2 为该化合物二级质谱图匹配情况。

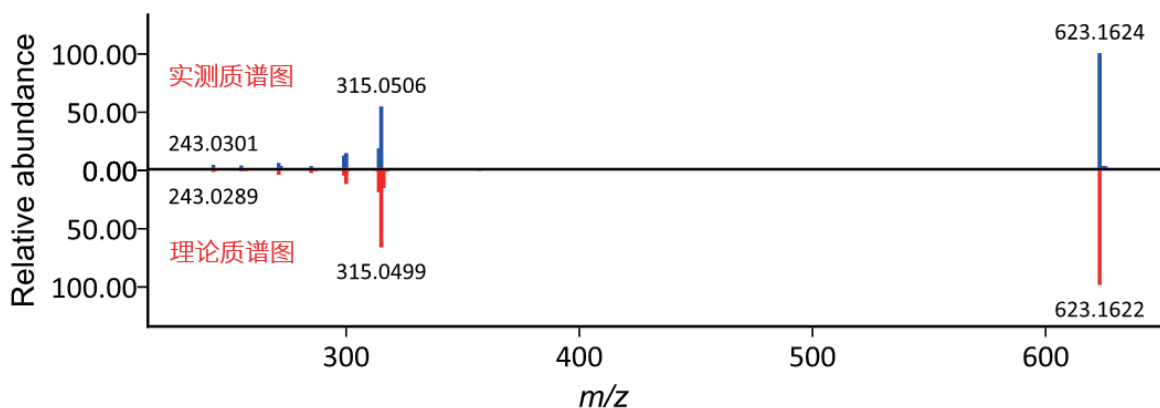


图 2 公共数据库 (MSMS-Public-Neg-VS15) 中  $m/z$  623.1624 二级质谱匹配图

## 2.3 一级质谱图推断分子式

经过公共数据库初步筛查，得到二级质谱匹配度较高的  $m/z$  信息，进一步使用 Insight Explore 软件，分别对正、负离子模式的  $MS^1$  图进行解析。以提取液负模式，保留时间 37.16 min 为例。通过对该未知峰提取及峰形比对，可知该处对应的化合物为  $m/z$  623.16246，图 3 为该保留时间下  $MS^1$  质谱图，图 4 为其提取离子流色谱图。

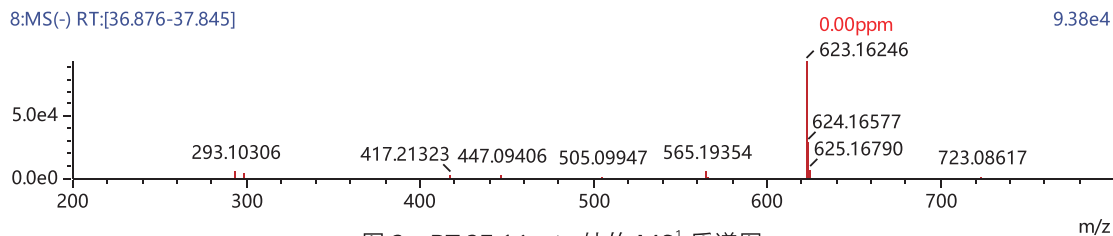


图 3 RT 37.16 min 处的  $MS^1$  质谱图

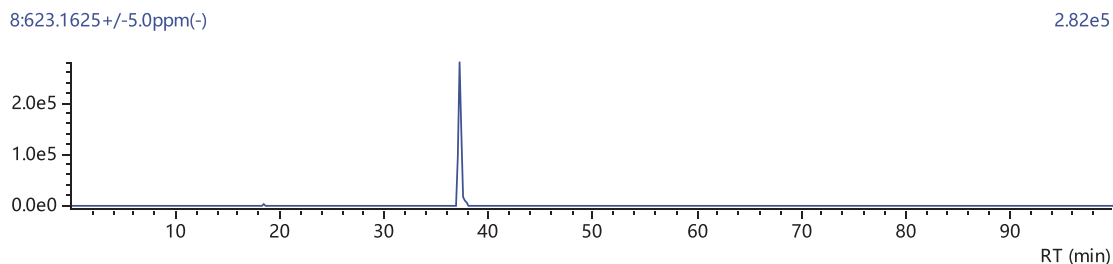


图 4  $m/z$  623.16246 提取离子流色谱图

基于准确分子量和同位素丰度比，利用 Labsolutions Insight Explore 件中的 Calculate Formula 功能预测其可能的分子式。预测结果显示  $m/z$  623.16246 的分子式为  $C_{28}H_{32}O_{16}$ ， $[M-H]^-$  质荷比同理论质荷比误差为 1.123 ppm，同位素分布匹配得分为 95.27，结果见图 5。

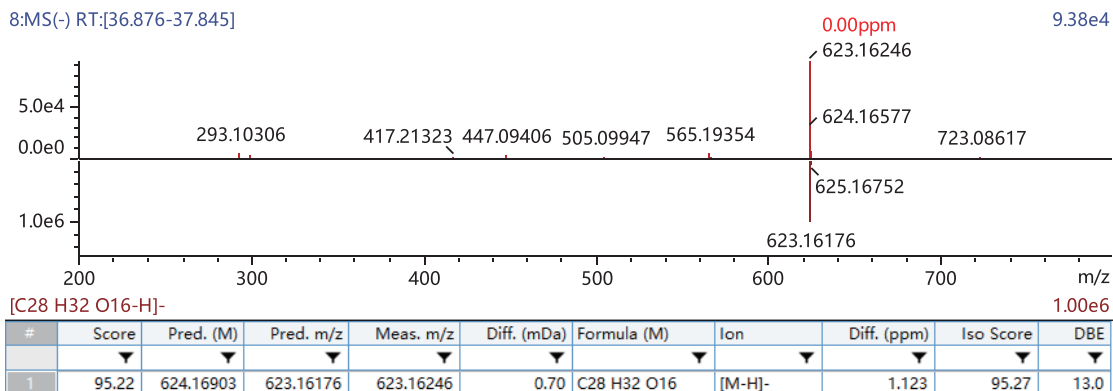


图5 m/z 623.16246 分子式预测结果

## 2.4 MS<sup>2</sup> 结构式及化合物推测

为确认该化合物的结构式和化合物名称，利用 Labsolutions Insight Explore 软件数据库检索和 Assign 功能进一步分析。首先，通过预测的分子式在线搜索 Chemspider 数据库，列出与分子式相符的化合物。然后，使用 Assign 功能，对 MS<sup>2</sup> 质谱图中碎片离子与可能的结构式进行自动匹配分析，为化合物的进一步确定提供依据。

C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub> 的预测结果见图 6，该化合物可能是 Narcisin（水仙苷），图片左侧显示该化合物的结构式，右侧显示其碎片解析结果。

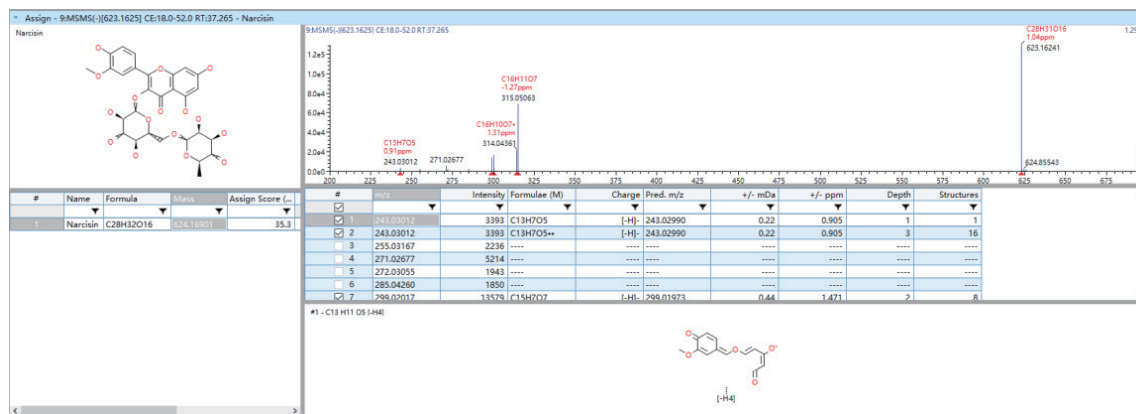


图6 C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub> 的预测结果

## 2.5 提取液成分鉴定结果

采用上述流程，在石椒草配方颗粒提取液中识别出 22 种可能的化合物，包括香豆素类、黄酮类、脂肪酸等天然活性物质。表 2 为鉴定结果列表。

表 2 石椒草配方颗粒提取液成分鉴定结果列表

No.	R.T.(min)	m/z	Type	Predicted Name	Predicted Formula	Predicted m/z	Diff. (ppm)
1	3.03	268.10396	[M+H] <sup>+</sup>	Adenosine/ 腺苷	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	268.10403	-0.26
2	19.24	357.11951	[M-H] <sup>-</sup>	Sweroside / 獐牙菜苷	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	357.11911	1.12
3	22.95	161.02439	[M-H] <sup>-</sup>	3 hydroxycoumarin/3-羟基香豆素	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	161.02442	-0.19
4	28.86	303.05026	[M+H] <sup>+</sup>	Quercetin/ 槲皮素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	303.04993	1.09

5	28.88	465.10333	[M+H] <sup>+</sup>	Hyperoside/ 金丝桃苷	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	465.10275	1.25
6	28.88	611.16180	[M+H] <sup>+</sup>	Rutin/ 芦丁	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	611.16066	1.87
7	34.96	505.09944	[M-H] <sup>-</sup>	6"-O-Acetylisouercitrin/ 6"-O-乙酰基异槲皮苷	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>13</sub>	505.09876	1.35
8	35.52	593.15194	[M-H] <sup>-</sup>	Nicotiflorin/ 山奈酚-3-O- 芸香糖苷	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	593.15119	1.26
9	37.17	623.16246	[M-H] <sup>-</sup>	Narcisin/ 水仙苷	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	623.16176	1.12
10	38.99	277.10724	[M+H] <sup>+</sup>	Dihydromethysticin/ 二氢 麻醉椒素	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>	276.09977	0.69
11	37.15	317.06594	[M+H] <sup>+</sup>	Isorhamnetin/ 异鼠李素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	317.06558	1.14
12	50.97	353.06622	[M+H] <sup>+</sup>	Dephoretin/ 西瑞香素	C <sub>19</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	353.06558	1.81
13	50.97	659.16118	[M+H] <sup>+</sup>	Rutaresin/ 繸状芸香甙酯	C <sub>31</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	659.16066	0.79
14	52.87	237.07609	[M+H] <sup>+</sup>	5,6,7-Trimethoxy-2H- chromen-2-one/5,6,7- 三甲氧基香豆素	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	237.07575	1.43
15	56.02	217.04953	[M+H] <sup>+</sup>	Bergapten/ 香柑内酯	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	217.04954	-0.05
16	60.20	207.06545	[M+H] <sup>+</sup>	Scoparone/ 滨蒿内酯	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	207.06519	1.26
17	62.32	329.23350	[M-H] <sup>-</sup>	9,10,13-Trihydroxy-11-oc- tadecenoic acid/9,10,13- 三羟基-11-十八碳烯酸	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	329.23335	0.46
18	63.37	247.06043	[M+H] <sup>+</sup>	Pimpinellin/ 茴芹内酯	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	247.06010	1.34
19	72.23	317.10214	[M+H] <sup>+</sup>	4',6-Dihydroxy-5,7-dime- thoxyflavone/ 4',6-二羟基-5,7-二甲氧 基黄酮	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	317.10196	0.57
20	72.90	259.09670	[M+H] <sup>+</sup>	Luvangetin/ 鲁望桔内酯	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	259.09649	0.81
21	74.42	229.08610	[M+H] <sup>+</sup>	trans-resveratrol/ 反式白藜芦醇	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	229.08592	0.79
22	79.15	255.10180	[M+H] <sup>+</sup>	3-(alpha,alpha dimethylal- lyl)psoralen/ 状芸香素	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	255.10157	0.90

## ■ 结论

本文使用岛津超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用仪对石椒草配方颗粒提取液成分进行了鉴定，利用公共数据库及岛津 Labsolutions Insight Explore 软件对相关成分进行分子式预测和结构式解析。结果显示在该样品提取液中共鉴定出 22 种可能的化合物，包括香豆素类、黄酮类、脂肪酸等天然活性物质，可为相关研究人员提供参考。

岛津应用云

