

# 串联质谱技术在中药化学成分分析中的应用研究进展

魏文峰, 王昶, 张树明, 王伟明\*  
(黑龙江省中医研究院, 哈尔滨 150036)

**[摘要]** 分析了串联质谱在生物碱类、黄酮类、甾体及三萜类、香豆素和木脂素类、酚酸类等中药单味药化学成分中的应用及在无机物、小分子有机化合物(如挥发油、生物碱、黄酮、皂苷等)及生物大分子(如肽、蛋白、糖肽、多糖等)三大类中药复方化学成分分析中的应用。结果显示利用串联质谱方法考察特征裂解反应,及其在结构差异上反映程度,可以发现一些独特的或新颖的裂解方式,从而了解和掌握同类化合物的特征裂解和结构上细微差别带来的质谱行为差异,并成功地用于分子鉴别。串联质谱已经发展成为中药各类成分分析的一种重要手段,其所提供的大量结构信息不仅对中药中成分的分析鉴定提供了依据,也为串联质谱对中药化学成分的体内成分分析奠定了基础,对中药物质基础和作用机制的研究发挥着越来越重要的作用。

**[关键词]** 串联质谱; 药物化学; 成分分析

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0351-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013140351

## Research Progress of Tandem Mass Spectrometry and its Application in Chemical Components Analysis of Traditional Chinese Medicines

WEI Wen-feng, WANG Chang, ZHANG Shu-ming, WANG Wei-ming\*  
(Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Huerbin 150036, China)

**[Abstract]** This article reviews the application of tandem mass spectrometry reported in recent years in the chemical components analysis of traditional Chinese medicines (TCMs). To analysis the application of tandem mass spectrometry in the chemical composition of alkaloids, flavonoids, steroids and triterpenoids, coumarin and lignans, phenolic acids and other single and prescription of TCMs. Result displays tandem mass spectrometry has developed into an important means for *in vivo* and *in vitro* of TCMs analysis due to its ability of powerful structure, that play an increasingly important role for material basis and mechanism of action of TCMs.

**[Key words]** tandem mass spectrometry; pharmaceutical chemistry; component analysis

中药化学成分分析是中药药效物质阐明及质量控制的关键问题之一,但由于中药化学成分的复杂性,中药成分分析一直存在着分离难度大、分析时间长等问题<sup>[1]</sup>。为此,针对这些问题发展起来的快速、高效分析技术已成为不可或缺的手段。

自 1983 年 McLafferty 等<sup>[2]</sup>开发串联质谱技术

(MS-MS)以来,经过短短 10 多年的发展,串联质谱已成为一种成熟的技术,在许多领域特别是在中药学领域发挥了巨大作用<sup>[3]</sup>。从近几年的文献报道的情况来看,LC-MS 及 LC-MS-MS 技术逐渐成为分析研究中药化学成分分析的主要手段,并发挥着重要作用。在中药单味药及复方化学成分分析中,掌握一系列同类化合物的裂解规律成为了研究该类植物中成分结构的基础<sup>[4]</sup>。MS-MS 技术对了解和掌握复杂天然产物的结构特征,以及研究和开发新药及其疗效的深入研究,起着举足轻重作用。本文根据近年来所报道的串联质谱技术在中药化学成分分析中的应用进行整理。

### 1 串联质谱在中药单味药化学成分中的应用

串联质谱在中药的研究中涉及了多种化学成分

**[收稿日期]** 20121010(004)

**[基金项目]** 国家重大新药创制项目(2010ZX09101-104)

**[第一作者]** 魏文峰, 实习研究员, 硕士, 从事中药化学研究, E-mail: wenfeng0831@163.com

**[通讯作者]** \* 王伟明, 研究员, 博士, 硕士生导师, 从事中药基础研究及新药研发, E-mail: wangwm021@163.com,

和不同结构类型的成分:生物碱类、黄酮类、甾体和三萜类、香豆素和木脂素以及酚酸类等。通过对已知成分进行系统的质谱分析方法研究,根据不同类型中药化学成分的结构特点,合理选用电离方式,并对正、负离子检测模式的离子化效果以及离子化部位进行探讨,尽可能的采用多种不同的电离方式获得更多的结构信息。在此基础上利用 MS-MS 方法考察特征裂解反应,及其在结构差异上的反映程度,在该过程中可以发现一些独特的或者新颖的裂解方式,从而可以了解和掌握同类化合物的特征裂解和结构上细微差别带来的质谱行为差异,并成功地用于分子鉴别。这样既可以建立这类化学成分的质谱鉴定方法,从而为分析和分离打下了基础。

**1.1 在生物碱类成分中的应用** Chen 等<sup>[5]</sup>利用 UPLC-ESI-MS-MS 技术,MRM 扫描模式对不同产地黄连中 8 种主要生物碱类成分进行分析,建立色谱-质谱指纹图谱为黄连建立快速、有效地质量评价方法。Han 等<sup>[6]</sup>采用 HPLC-DAD-ESI-MS-MS 方法分析苍耳果实化学剖面中 7 种奎宁生物碱,结果表明该方法成功的建立了 12 个指标的指纹图谱及在 30 个样品中同时测定 7 种奎宁酸,并利用串联质谱将苍耳子中化学成分进行分类。Yue 等<sup>[7]</sup>通过 HPLC-ESI-MS<sup>n</sup> 和 FTIC-ESI-MS 相结合的技术对中药乌头中乌头类生物碱成分进行了研究,在对裂解规律系统总结的基础上,通过对照品比对及文献查找对 111 种化学成分进行了鉴定和推测,发现了 51 种新的生物碱结构,并对 12 种尚未在乌头中发现的微量成分进行了报道。Chen 等<sup>[8]</sup>运用 LC-ESI-MS<sup>3</sup> 联用技术监测了附子煎煮过程中各成分动态变化,发现乌头碱和中乌头碱由于结构特点发生了分解,而次乌头碱没有变化。李启艳等<sup>[9]</sup>采用电喷雾质谱方法(ESI-MS<sup>n</sup>)法进行了分析附子中生物碱的种类和含量在炮制前后变化,通过添加结构相似的内标化合物,对附子及其炮制品的生物碱类成分进行比较,找出其变化规律,揭示不同炮制方法对附子减毒作用的机制。毒性中药附子不仅炮制可减毒,药物的配伍也可使毒性减小,朱日然等<sup>[10]</sup>采用电喷雾串联质谱分析了附子与半夏不同炮制品配伍后生物碱在种类和含量方面的变化,阐明了附子与半夏配伍应用过程中中药成分的变化规律,为临床安全、有效的使用附子和半夏提供了理论依据。

**1.2 在黄酮类成分中的应用** 徐英等<sup>[11]</sup>采用电喷雾-离子阱-飞行时间串联质谱在负离子模式下分析了 4 个黄酮苷元和 6 个异黄酮苷元的质谱数据,并总结了两类化合物 C 环上的裂解规律,为快速鉴定

黄酮化合物和异黄酮化合物结构奠定了基础。李丽等<sup>[12]</sup>利用电喷雾多级串联质谱技术研究了车前草药材中的一种黄酮化合物,根据其在负离子条件下表现出的特征质谱行为,提出了该化合物可能的电喷雾质谱碎裂规律。郭继芬等<sup>[13]</sup>利用 HPLC-MS-MS 技术对黄芪中的总黄酮提取物进行鉴别,鉴定了提取物中的 4 种黄酮类成分,并推断了 3 种未知黄酮类成分的结构。池玉梅等<sup>[14]</sup>以中药材黄蜀葵花为分析对象,采用 HPLC-ESI/Q-TOF 串联质谱,识别中药中黄酮醇类化合物。通过解析紫外光谱和二级质谱,识别了 17 个黄酮醇糖苷和 2 个黄酮醇苷元,用对照品对照及分析酸水解液的方法进行了验证,并探讨了黄酮醇类化合物的电喷雾/串联质谱(ESI-MS-MS)的裂解方式,扩展中药质量控制多指标化的范畴。

**1.3 在甾体及三萜类成分中的应用** 廖辉等<sup>[15]</sup>利用电喷雾串联质谱(ESI-MS<sup>n</sup>)研究从云南产通关藤中分离纯化得到的 19 种甾体化合物的裂解规律,依据此类化合物结构特点和裂解规律来推断其结构,为此类化合物的快速鉴定提供依据。李丽等<sup>[16]</sup>通过电喷雾质谱的联用技术和质谱的源 CID 技术分离并检测了人参粗提取物中 7 种皂苷类化合物,在对它们的裂解规律进行了细致总结的基础上区分了几种主要的同分异构体,其中 4 个是新化合物。Sun 等<sup>[17]</sup>采用 LC-ESI-MS<sup>n</sup> 对 9 种不同的铁线莲属植物粗提取物进行分析,利用多级质谱技术对其中的三萜皂苷类成分的裂解途径糖链的连接部位进行分析,对其中 8 种成分的结构进行了确认,并对 2 种化合物的结构进行了推导。Zheng 等<sup>[18]</sup>采用 LC-ESI-MS<sup>n</sup> 对中药白薇中的 C21 甾体皂苷类成分进行分析,鉴定了其中 9 种皂苷类成分,并对这类皂苷的裂解规律进行了总结,找到了鉴定它们的特征离子,为该类成分的快速鉴定提供了质谱方法。Ye M 等<sup>[19]</sup>建立的蟾酥药材 HPLC-DAD-APCI-MS-MS 定性定量分析方法,分别对 17 个蟾毒内酯类化合物进行多极质谱(MS<sup>n</sup>,  $n = 2 \sim 4$ )裂解方式研究,根据化学结构和裂解规律将蟾毒内酯类化合物分为 5 类,分析其主要裂解规律,该方法可以快速、灵敏地分析蟾毒内酯类成分,还能够对蟾酥药材及相关制剂进行有效的质量控制。

**1.4 在香豆素和木脂素类成分中的应用** Kang 等<sup>[20]</sup>利用 HPLC-MS 对防风根中的香豆素类成分进行分析,对其中 4 类共 32 个香豆素类成分进行了归属,其中 7 个化学成分首次在防风中发现,8 个化学成分为新化合物,并对其中各类香豆素成分的裂解

途径进行了细致的总结。黄鑫等<sup>[21]</sup>采用液相色谱-电喷雾质谱联用(HPLC-ESI-MS<sup>n</sup>)技术,对北五味子与南五味子中木脂素类成分进行了系统研究获得了相应化合物的保留时间、紫外光谱和分子量等信息,利用电喷雾多级串联质谱技术(ESI-MS<sup>n</sup>),获得了相应化合物的结构信息;建立了简便、快速的北五味子与南五味子药材分析鉴定的新方法。刘国强等<sup>[22]</sup>利用电喷雾离子阱飞行时间质谱对4组呋喃香豆素同分异构体进行鉴别,此方法能很好的区分呋喃香豆素同分异构体。

**1.5 在酚酸类成分中的应用** Yang等<sup>[23]</sup>采用LC-ESI-MS<sup>n</sup>技术在负离子模式下分析小茴香中的化学成分,鉴定了42个酚类化合物,其中27个为首次从小茴香中发现。Zhu等<sup>[24]</sup>采用HPLC-DAD, PLC-ESI-TOF-MS, HPLC-ESI-MS<sup>n</sup>等多种技术对丹参中的酚类成分进行分析,探讨这些化学成分的裂解途径,并对其中所含的同分异构体进行了有效的区分,建立了可以在30 min内对丹参中40个成分进行鉴定的分析方法。

## 2 在中药复方化学成分分析中的应用

中药复方<sup>[25]</sup>是一个复杂体系,起疗效作用的物质是广义的化学成分,包括无机物、小分子有机化合物(如挥发油、生物碱、黄酮、皂苷等)及生物大分子(如肽、蛋白、糖肽、多糖等)三大类<sup>[26]</sup>。随着科学技术的发展,尤其是现代色谱技术,色谱质谱联用技术以及串联质谱技术的发展,为中药复方的复杂成分的确定奠定了雄厚的技术基础<sup>[27]</sup>。

秦昆明等<sup>[28]</sup>建立了百合知母汤的高效液相色谱-电喷雾质谱(HPLC-ESI-MS)分析方法,对百合知母汤及其组方药味中的主要成分进行了鉴定。根据正离子模式和负离子模式下的分子离子峰获得化合物相对分子量信息,通过与文献数据或部分对照品对照,确定化合物的可能结构。曹阳等<sup>[29]</sup>采用HPLC-TOF-MS和HPLC-IT-MS的多维液质联用系统筛查和鉴定了六神丸中来源于蟾酥、麝香和牛黄3味药材的25种化合物。Zheng等<sup>[30]</sup>对温脾汤中酚类、生物碱类、三萜皂苷类、黄酮苷类成分进行了快速分析,通过TOF-MS光谱和MS-MS碎片离子信息与对照品或与文献数据对比确定了59种成分的化学结构。C M Lai等<sup>[31]</sup>使用HPLC-ESI-MS-MS鉴别了血塞通注射剂中的27种皂苷类成分,并对9种成分进行了含量测定。章弘扬等<sup>[32]</sup>结合飞行时间质谱和离子阱质谱,利用前者质谱精准质量数测定和后者多级碎片分析的特点,进行中药中小分子化合物的定性定量研究。他们以中药复方清开灵注射

液为研究对象,鉴定了全方中来源于不同药材的33种主要化合物,并对各成分的药材归属及复方质量控制进行了研究,为从该中药中筛选有效的黄酮类结构打下基础。

## 3 讨论

近年来串联质谱已经发展成为中药各类成分分析的一种重要手段,其所提供的大量结构信息不仅对中药中成分的分析鉴定提供了依据,也为串联质谱对中药化学成分的体内成分分析奠定了基础,对中药物质基础和作用机制的研究发挥着越来越重要的作用。随着中药产业的不断发展和科学技术的进步,人们对分析分离技术提出了更高的要求。未来的串联质谱会朝着更快、更灵敏、更准确的方向发展,在中药复杂成分分析方面的应用也会越来越广阔。如何根据中药自身特点,运用现代研究理念和技术手段,揭示中药的化学物质基础,使之能够更安全有效的为人类健康服务,是当今药物分析学和中药化学研究人员的历史使命。

## [参考文献]

- [1] 刘颖,周建良,李萍. 快速高效液相色谱分离技术在中药分析中的应用[J]. 色谱,2009,27(5):682.
- [2] McLafferty F W. Tandem mass spectrometry[M]. New York:Wiley-Interscience,1983.
- [3] 许玲玲,安睿,王新宏. 液质联用技术在中药分析中的应用[J]. 中成药,2006,28(2):239.
- [4] 尹显贵. 液相色谱-质谱-串联质谱联用技术及其在药物分析中的应用[J]. 天津药学,2005,17(3):51.
- [5] Chen Junhui, Wang Fengmei, Liu Jie, et al. Analysis of alkaloids in *Coptis chinensis* Franch by accelerated solvent extraction combined with ultra performance liquid chromatographic analysis with photodiode array and tandem mass spectrometry detections. [J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 613(2):184.
- [6] Han Ting, Zhang Qiao-Yan, Zhang Hong, et al. Authentication and quantitative analysis on the chemical profile of Xanthium fruit (Cang-Er-Zi) by high-performance liquid chromatography-diode-array detection tandem mass spectrometry method [J]. Analytica Chimica Acta,2009,614(2):272.
- [7] Yue H, Pi Z, Song F, et al. Studies on the aconitine-type alkaloids in the roots of *Aconitum carmichaeli* Debx by HPLC/ESI-MS/MS<sup>n</sup> [J]. Talanta, 2009, 77(5):1800.
- [8] Chen Junhui, Lee Cheng Yu, Liaua Bing Chung, et al. Determination of aconitine-type alkaloids as markers in fuzi (*Aconitum carmichaeli*) by LC/(+) ESI/MS<sup>3</sup>

- [J]. *J Pharma Biomed Anal*, 2008, 48 (4): 1105.
- [9] 李启艳, 朱日然, 张学顺, 等. 附子及其炮制品中生物碱类成分的 ESI-MSn 研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(17): 90.
- [10] 朱日然, 李启艳, 张学顺, 等. 附子与半夏不同炮制品种配伍应用的 ESI-MSn 研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(18): 62.
- [11] 徐英, 董静, 王弘, 等. 电喷雾-离子阱-飞行时间质谱联用研究黄酮和异黄酮苷元 C 环上的裂解规律[J]. *高等学校化学学报*, 2009, 30(1): 46.
- [12] 李丽, 王晶, 刘春明. 车前草中一种黄酮化合物的电喷雾多级串联质谱研究[J]. *长春师范学院学报: 自然科学版*, 2009, 28(4): 51.
- [13] 郭继芬, 陈四平, 乔善义. 黄岑总黄酮提取物的 HPLC-MS/MS 分析[J]. *药物分析杂志*, 2005, 25(3): 267.
- [14] 池玉梅, 朱华云, 居羚, 等. 高效液相-四极杆飞行时间串联质谱分析黄蜀葵花中黄酮醇类化合物[J]. *分析化学*, 2009, 37(2): 227.
- [15] 廖辉, 单晓庆, 王林, 等. 通关藤中甾体化合物的电喷雾质谱裂解规律研究[J]. *质谱学报*, 2010, 31(2): 103.
- [16] 李丽, 刘志强, 刘春明, 等. 车前草中苯乙醇苷化合物的电喷雾串联多级质谱研究[J]. *高等学校化学学报*, 2006, 27(8): 1430.
- [17] Feng Sun, He Qing, Peiying Shi, et al. Characterization and identification of triterpenoid saponins in crude extracts from *Clematis* by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization with multi-stage tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21: 3743.
- [18] Zheng Zhaoguang, Zheng Weidong, Kong Lingyi, et al. Rapid identification of C21 steroidal saponins in *Cynanehum versicolor* Bunge by electrospray ionization multi-stage tandem mass spectrometry and liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21: 279.
- [19] Ye M, Guo D. Analysis of bufadienolides in the Chinese drug ChanSu by High-Performance Liquid Chromatography/Diode array detection/atmospheric pressure chemical Ionization-tandem mass spectrometry rapid commun[J]. *Mass Spectrom*, 2005, 19: 1881.
- [20] Jie Kang, Jiang-Hao Sun, Lei Zhou. et al. Characterization of compounds from the root of *Saposhnikovia divaricata* by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22: 1899.
- [21] 黄鑫, 宋凤瑞, 刘志强, 等. 五味子中木脂素类成分的高效液相色谱-电喷雾质谱研究[J]. *化学学报*, 2008, 66(9): 1059.
- [22] 刘国强, 董静, 王弘, 等. 电喷雾离子阱飞行时间质谱对呋喃香豆素同分异构体的鉴别[C]. *广州: 中国药理学杂志 岛津杯第九届全国药物分析*, 2009: 133.
- [23] Yang Min, Liu Aihua, Guan Shuhong, et al. Characterization of tanshinones from the root of *Salvia miltiorrhiza* by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20(13): 1266.
- [24] Zhu Z, Zhang H, Zhao L, et al. Rapid separation and identification of phenolic and diterpenoid constituents from *Radix Salvia Miltiorrhizae* by high-performance liquid chromatography diode-array detection electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry and electrospray ionization quadrupole ion trap mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21(12): 1855.
- [25] 王喜军. 基于药物代谢组学的中药及方剂中组分间协同增效作用[J]. *中国天然药物*, 2009, 7(2): 90.
- [26] 彭苗苗, 方芸. 中药复方药效物质基础研究进展[J]. *中国药房*, 2010, 21(7): 659.
- [27] 梁鑫淼, 肖红斌, 卢佩章. 色谱联用技术在中药复方研究中的应用[J]. *世界科学技术——中药现代化*, 2000, 2(4): 18.
- [28] 秦昆明, 方前波, 蔡皓, 等. 百合知母汤及其组方药味的高效液相色谱-电喷雾质谱研究[J]. *分析化学*, 2009, 37(12): 1759.
- [29] 曹阳, 梁琼麟, 章弘扬, 等. 中药复方六神丸中多类成分的多维液质系统筛查和鉴定[J]. *分析化学*, 2008, 36(1): 39.
- [30] Zheng Xintian, Shi Peiying, Cheng Yiyu, et al. Rapid analysis of a Chinese herbal prescription by liquid chromatography-time-of-flight tandem mass spectrometry. [J]. *J Chrom A*, 2008, 12(6): 140.
- [31] Lai C M, Li S P, Yu H, et al. A rapid HPLC-ESI-MS/MS for qualitative and quantitative analysis of saponins in 'XUESETONG' injection. [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 40: 669.
- [32] Zhang H Y, Hu P, Luo G A. Screening and identification of multi-component in Qingkailing injection using combination of liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry and liquid chromatography/ion trap mass spectrometry[J]. *Anal Chim Acta*, 2006, 577: 190.

[责任编辑 邹晓翠]