

HPLC/LTQ-Orbitrap MSⁿ 结合 MDF 数据 挖掘技术快速鉴定藏白蒿绿原酸类似物

张加余¹, 蔡伟², 李云², 刘荣荣², 王子健¹,
刘颖¹, 卢建秋¹, 乔延江²

(1. 北京中医药大学科研实验中心, 北京 100029; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

摘要: 本研究采用 HPLC/LTQ-Orbitrap MSⁿ 方法获取藏白蒿提取物的全扫描质谱数据, 结合质量亏损过滤(MDF)数据挖掘技术, 确定藏白蒿中绿原酸类似物(CGAs)的 MDF 模板分子和过滤窗口, 以挖掘高分辨数据所蕴含的成分信息。结果表明: 根据 CGAs 质谱裂解规律及诊断离子, 从藏白蒿中鉴定出 20 个 CGAs。其中, 单酯类 CGAs 类似物 9 个, 包括 3-CQA、5-CQA、1-CQA 和 4-CQA, 1-*p*CoQA 和 5-*p*CoQA, 1-FQA、5-FQA 和 4-FQA; 双酯类 CGAs 类似物 11 个, 包括 1-CQA-glycoside 和 5-CQA-glycoside, 3,4-DiCQA、4,5-DiCQA 和 3,5-DiCQA, CFQA-1、CFQA-2、CFQA-3、CFQA-4、CFQA-5 和 CFQA-6。该方法可快速、灵敏地检测中药复杂体系中的 CGAs, 且可推广应用于中药化学成分类似物的快速鉴定。

关键词: 质量亏损过滤; 藏白蒿; 绿原酸类似物; 表征

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2015)04-0321-07

doi: 10.7538/zpxb.youxian.2015.0017

Rapid Characterization of Chlorogenic Acids Analogues in *Artemisia younghusbandii* Using HPLC/LTQ-Orbitrap MSⁿ Coupled with MDF Data Mining Technology

ZHANG Jia-yu¹, CAI Wei², LI Yun², LIU Rong-rong², WANG Zi-jian¹,
LIU Ying¹, LU Jian-qiu¹, QIAO Yan-jiang²

(1. Center of Scientific Experiment, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
2. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract: The method of HPLC/LTQ-Orbitrap MSⁿ was established to achieve the full-scan spectrum of *Artemisia younghusbandii* extract. Coupling with mass defect filtering (MDF) data mining technique, the template molecules and the filtering windows of chlorogenic acids analogues (CGAs) were determined, which contained rapidly mine the information. The result shows that twenty kinds of CGAs are identified from *Artemisia*

收稿日期: 2014-07-30; 修回日期: 2014-10-21

作者简介: 张加余(1981—), 男(汉族), 山东人, 助理研究员, 从事药物分析研究。E-mail: zhangjiayu0615@163.com

通信作者: 卢建秋(1963—), 男(汉族), 黑龙江人, 研究员, 从事药物分析。E-mail: lujq@vip.sina.com

乔延江(1947—), 男(汉族), 山东人, 教授, 从事中药化学研究。E-mail: yanjiangqiao@sina.com

网络出版时间: 2015-05-26; 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20150526.0856.001.html>

younghusbandii by analyzing the fragmentation pathways and diagnostic product ions of CGAs. Among them, nine kinds of components are monoester CGAs, such as 3-CQA, 5-CQA, 1-CQA, 4-CQA, 1-*p*CoQA, 5-*p*CoQA, 1-FQA, 5-FQA and 4-FQA; eleven kinds of components are diester CGAs, such as 1-CQA glycoside, 5-CQA glycoside, 3,4-DiCQA, 4,5-DiCQA, 3,5-DiCQA, CFQA-1, CFQA-2, CFQA-3, CFQA-4, CFQA-5 and CFQA-6. The method can be adopted to identify the CGAs contained in the complex system of traditional Chinese medicines (TCMs). Moreover, it can be further applied to identify the analogues of the chemical constituents from TCMs.

Key words: mass defect filtering; *Artemisia younghusbandii*; chlorogenic acids analogues; characterization

菊科蒿属植物,如青蒿、奇蒿(南刘寄奴)、茵陈蒿以及艾叶等均均为常用中药,并被中国药典所收载^[1]。该属植物含有绿原酸(CGAs)、黄酮、挥发油、萜类、香豆素等多种有效成分^[2],具有清热解毒、抗菌消炎、祛风除湿、通经活络、活血、止血等功效,其中,CGAs具有抗菌、消炎等诸多药理作用^[3-4]。藏白蒿(*Artemisia younghusbandii* J. R. Drumm. ex Pamp)是蒿属植物的一种,主要生长于西藏海拔 4 000 ~ 4 650 m 的地区,是我国的特有植物^[5-6],但其所含的 CGAs 成分尚未见报道。

LC/MS 技术结合了色谱的分离能力和质谱的高灵敏度、高专属性的检测能力,已成为中药化学成分结构鉴定的手段之一^[7-9]。其中,LTQ-Orbitrap MS 兼有高分辨率、高质量精度等诸多优点,可用于复杂物质体系中化学成分的快速分析。然而,由此产生的海量复杂的高分辨质谱数据,人工解析难度极大,制约了该技术的应用与推广,这使得高分辨质谱数据挖掘技术应运而生。例如,质量亏损过滤(MDF)技术以能够快速挖掘复杂生物基质中药物代谢产物信息而得到广泛关注和应用^[10]。它通过选定 MDF 模板分子和设定 MDF 过滤窗口,可以剔除大量无关化学成分的质谱信号,保留相关代谢物的数据集,从而达到净化谱图信息和筛选鉴定目标成分的目的。

中药材所蕴含的化学成分大多是经特定的生源途径合成的类似物,具备相似的母核骨架或者亚结构,这为 MDF 技术在中药化学成分筛选中的应用提供了前提。然而,由于中药物质体系的复杂性和特殊性,该技术在中药化学成分鉴定领域中的应用较为少见^[11-12]。本研究

以藏白蒿中的 CGAs 为研究对象,应用 HPLC/LTQ-Orbitrap MSⁿ 采集高分辨质谱数据,辅以 MDF 数据挖掘技术,并结合质谱裂解规律进行结构解析,以期对中药化学成分类似物的结构鉴定提供方法参考。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

Accela 600 pump 高效液相色谱-LTQ-Orbitrap XL 质谱联用仪;美国 Thermo Scientific 公司产品,配有电喷雾离子源(ESI)、在线脱气机、自动进样器、高压二元梯度泵和 Thermo Xcalibur 2.1、Metworks 2.0 数据处理系统;KQ-250DE 型数控超声波清洗器;昆山市超声仪器有限公司产品;R200D 型电子分析天平;德国 Sartorius 公司产品;0.22 μm 微孔滤膜;北京华志色谱科技有限公司产品。

1.2 主要材料与试剂

藏白蒿:采自西藏拉萨,经北京中医药大学中药现代研究中心李军副研究员鉴定为菊科蒿属植物藏白蒿 *Artemisia younghusbandii*;绿原酸标准品(3-CQA、4-CQA、5-CQA、3,4-DiCQA、3,5-DiCQA、4,5-DiCQA);成都普瑞法科技开发有限公司产品,经 HPLC 面积归一化法测定其纯度均大于 98%。

乙腈和甲醇(色谱纯);美国 Fisher 公司产品;甲酸(色谱纯);美国 Tedia 公司产品;分析用水为 Millipore 超纯水;其他试剂均为分析纯。

1.3 实验条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱:Agilent Zorbax SB C18 柱(250 mm \times 4.6 mm \times 5 μm);HPLC 流动相:A 为 0.1%(体积分数)甲酸水溶液,B 为乙

腈-甲醇溶液(3:1, V/V); 线性梯度洗脱程序: 0~5 min, 2%~8% B, 5~10 min, 8%~12% B, 10~25 min, 12%~15% B, 25~30 min, 15%~24% B, 30~47 min, 24%~24% B, 47~61 min, 24%~36% B, 61~75 min, 36%~100% B; 流速 1.0 mL/min; 柱温 25 °C; 进样量 10 μL。

1.3.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI)负离子检测, 全离子扫描模式, 质量扫描范围 m/z 100~800。流动相采用柱后分流法, 分流比为 4:1, 喷雾电压 3.0 kV, 毛细管温度 300 °C, 鞘气流速 27 L/h, 辅助气流速 180 L/h。分析时, 首先采用高分辨傅里叶(FT)全扫描采集一级质谱, 扫描分辨率为 60 000; 然后采用二维线性离子阱(LTQ)采集二级和三级质谱, 动态数据依赖扫描, 自动选取上一级最强离子峰进行碰撞诱导解离(CID)裂解, 碰撞能量为 30%。

1.4 溶液的配制

1.4.1 标准品溶液的配制 分别称取适量的上述 6 种标准品, 精密称定, 加入甲醇配制成 100 mg/L 对照品储备液, 于 4 °C 冰箱中储存。进样前, 精密吸取适量的上述储备液, 用甲醇定容至 5 mL, 即得标准品溶液。

1.4.2 样品溶液的配制 称取 1 g 藏白蒿干燥粉末(40 目), 置于 50 mL 锥形瓶中, 加 25 mL 50% 乙腈超声提取 30 min, 过滤; 取 5 mL 滤液, 加 0.4 mL 二氯甲烷后, 振摇, 静置分层; 取下层溶液过 0.22 μm 微孔滤膜, 精密吸取 10 μL 续滤液, 注入 HPLC/LTQ-Orbitrap MS 进行分析。

2 结果与讨论

2.1 HPLC/LTQ-Orbitrap MSⁿ 检测条件的优化

采用 0.1% 甲酸作为流动相改性剂, 可获得良好的 CGAs 色谱峰形和质谱信号响应值。同时, 对比了不同种类流动相(甲醇-0.1% 甲酸溶液、乙腈-0.1% 甲酸溶液和乙腈-甲醇-0.1% 甲酸溶液)对 CGAs 色谱分离效果的影响, 最终选择乙腈-甲醇(3:1, V/V)混合有机溶剂为有机相, 0.1% 甲酸水溶液为水相, 流速为 1.0 mL/min 进行色谱分离。

2.2 样品前处理

实验分别考察了提取溶剂、溶剂倍量和提取时间对 CGAs 提取率的影响, 最终确定以 25 mL 50% 乙腈超声提取 30 min 制备供试样品。

相变萃取(phase transformation extraction, PTE)具有萃取效率高、操作简便、无乳化以及富集目标成分等诸多优点^[12-14], 其操作流程为向乙腈-水均相溶液中加入适量诱导剂(如低极性有机溶剂或无机盐等)或降低温度, 可使均相溶液快速分层(上层是以乙腈为主的有机相, 下层是以水为主的水相)。本实验采用 0.4 mL 二氯甲烷作为 50% 乙腈溶液的萃取分层诱导剂, 达到了良好的分层效果。经初步检测, CGAs 在水相中得到了较好的富集, 而有机相则特异性地剔除了大量低极性成分, 避免了它们对 CGAs 质谱信号的掩蔽, 提高了检测灵敏度。PTE 处理后的水相和有机相的总离子流图示于图 1。

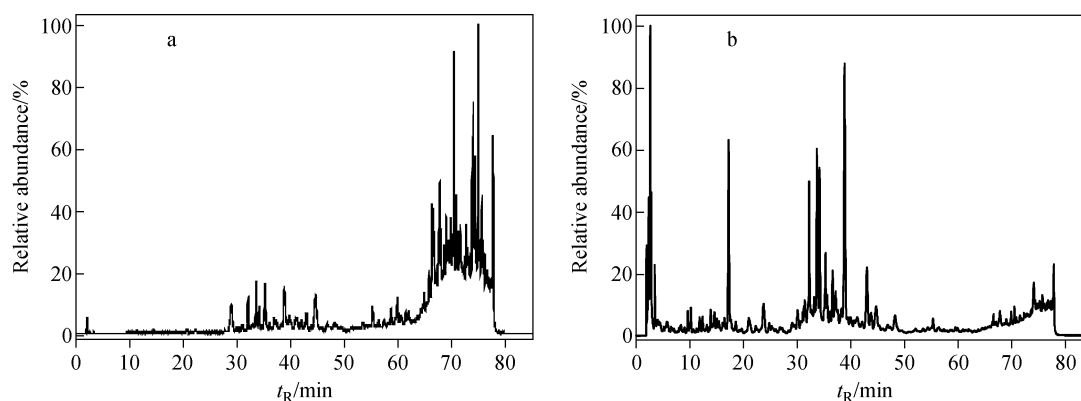


图 1 藏白蒿提取物相变萃取后, 有机相(a)和水相(b)的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of organic phase (a) and aqueous phase (b) for the extract of *Artemisia yungusbandii* with PTE

2.3 MDF 数据挖掘方法的建立与应用

依据 MDF 概念,由 CGAs 亚结构确定 MDF 模板分子。一般来说,CGAs 是指一个或多个咖啡酸、香豆酸、阿魏酸、芥子酸等肉桂酸与奎尼酸或其衍生物莽草酸、奎尼酸甲酯、奎尼酸丁酯等缩合而形成的特殊酯类。其中以单取代或双取代的酯类化合物最为常见,但两者的 MDF 过滤窗口(质量过滤窗口和质量亏损过滤窗口)差异较大。因此,本实验采用 MDF 分别对两类成分进行筛选。

通过分析常见的 CGAs 分子结构发现,阿魏酰、咖啡酰及芥子酰奎尼酸等均可视为香豆酰奎尼酸的羟基或甲氧基取代的产物。因此,对于单取代奎尼酸酯来说,可选择香豆酰奎尼酸作为 MDF 模板分子。在质量过滤窗口选择上,香豆酰作为取代基时,得到的化合物相对分子质量最低(314 u);芥子酰作为取代基时,得到的化合物相对分子质量最高(398 u)。由于本实验采用电喷雾负离子检测模式,因此设定单取代奎尼酸的 MDF 质量范围为 313~398 u。在质量过滤窗口选择上,鉴于香豆酰奎尼酸的质量亏损值最小(+55 mu),芥子酰奎尼酸的质量亏损值最大(+112.5 mu),设定质量亏损范围为 55~113 mu。采用上述 MDF 方法过滤后得到的总离子流图示于图 2。同样地,对于双取代奎尼酸酯来说,可选用双香豆酰奎尼酸作为 MDF 模板分子,MDF 质量过滤窗口为 435~604 u,质量亏损过滤窗口为 55~171 mu,过滤后的离子流图示于图 3。与过滤前的总离子流图相比,处理后的谱图更加纯净,

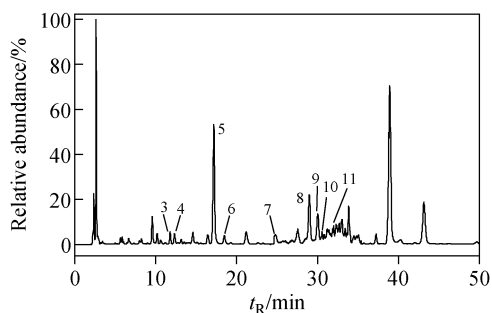


图 2 MDF 处理后的
奎尼酸单酯总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatogram
of quinic acid monoesters after MDF processing

目标成分得到了较大程度的暴露,为下一步的结构鉴定提供了便利。

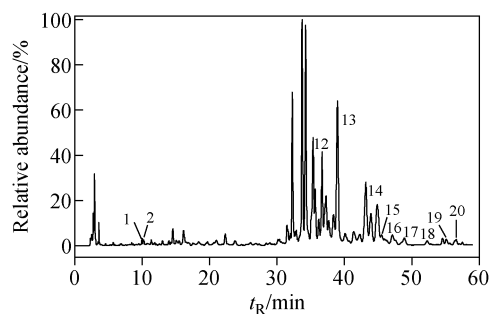


图 3 MDF 处理后的奎尼酸双酯总离子流图
Fig. 3 Total ion chromatogram
of quinic acid diesters after MDF processing

2.4 CGAs 类似物的快速结构鉴定

从 MDF 过滤后得到的总离子流图中进一步筛选 CGAs 类似物候选成分是下一步研究的主要目标。根据前述的 CGAs 定义和分子结构分析,设定高分辨质谱数据处理参数为:最大分子质量误差为 3×10^{-6} , H-C 比例小于 5,不饱和度(Ω)范围为 8~20,C、H、O 原子数目范围分别为 13~30、13~30、8~14。

中药化学成分多具有相似的母核骨架或亚结构,在质谱裂解过程中一般会发生类似的裂解反应,并产生一系列可以代表该类成分的诊断离子(diagnostic product ions, DPIs)^[15],可用于化学成分类似物的快速筛选和结构鉴定。例如,单咖啡酰奎尼酸(CQA)的诊断离子可归纳为 m/z 353、191、179、173 等。根据 MDF 处理结果以及诊断离子分析,从藏白蒿提取物中鉴定出 20 种 CGAs 类似物,各化学成分的保留时间、质荷比的理论值和高分辨质谱的实测值、误差以及多级质谱的碎裂信息等列于表 1。

2.4.1 单酯类 CGAs 类似物的结构鉴定 在电喷雾负离子检测模式下,化合物 3、4、5、6 均产生 m/z 353 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰,结合精确相对分子质量可推测它们的分子式为 $C_{16}H_{17}O_9$ (单咖啡酰奎尼酸,CQA)。通过对比分析多级质谱碎片离子种类和相对离子强度,可进一步确定咖啡酰基在奎尼酸母核上的酰化位置。化合物 3、4、5 的准分子离子峰在 ESI-MS² 中均中性丢失一分子咖啡酰(162 u)而产

表 1 藏白蒿中绿原酸类成分的 HPLC/LTQ-Orbitrap MS 鉴定结果

Table 1 Identification results of CGAs in *Artemisia youngghusbandii* by HPLC/LTQ-Orbitrap MS

峰号	保留时间	理论值 m/z	实测值 m/z	误差/ 10^{-6}	分子式	MS ²	MS ⁿ	成分鉴定
1	9.52	515.1395	515.1404	1.75	C ₂₂ H ₂₇ O ₁₄	353(100%), 191(25%)	—	1-CQA-glycoside
2	11.29	515.1395	515.1404	1.75	C ₂₂ H ₂₇ O ₁₄	353(100%), 191(25%)	—	5-CQA-glycoside
3	12.35	353.0867	353.0871	1.13	C ₁₆ H ₁₇ O ₉	191(100%), 179(5%)	—	1-CQA
4 [△]	13.55	353.0867	353.0874	1.98	C ₁₆ H ₁₇ O ₉	191(100%), 179(43%), 135(8%)	—	3-CQA
5 [△]	17.21	353.0867	353.0871	1.13	C ₁₆ H ₁₇ O ₉	191(100%), 179(5%)	—	5-CQA
6 [△]	18.52	353.0867	353.0873	1.70	C ₁₆ H ₁₇ O ₉	173(100%), 179(30%), 191(72%)	—	4-CQA
7	24.80	337.0918	337.0925	2.08	C ₁₆ H ₁₇ O ₈	191(100%), 163(14%), 173(5%)	—	1- <i>p</i> CoQA
8	29.01	367.1024	367.1030	1.63	C ₁₆ H ₁₉ O ₉	191(100%), 193(6%)	—	1-FQA
9	30.90	337.0918	337.0924	1.78	C ₁₆ H ₁₇ O ₈	191(100%), 163(5%)	—	5- <i>p</i> CoQA
10	31.02	367.1024	367.1030	1.63	C ₁₆ H ₁₉ O ₉	173(100%), 191(57%), 193(15%)	—	4-FQA
11	32.33	367.1024	367.1030	1.63	C ₁₆ H ₁₉ O ₉	191(100%), 179(98%), 135(38%)	—	5-FQA
12 [△]	37.27	515.1184	515.1196	2.33	C ₂₅ H ₂₅ O ₁₂	353*(100%)	173(100%), 179(67%), 191(36%)	3,4-DiCQA
13 [△]	38.95	515.1184	515.1193	1.75	C ₂₅ H ₂₅ O ₁₂	353*(100%), 434(17%)	191(100%), 179(43%), 173(10%)	3,5-DiCQA
14 [△]	43.14	515.1184	515.1194	1.94	C ₂₅ H ₂₅ O ₁₂	353*(100%), 434(44%)	173(100%), 179(54%), 191(19%)	4,5-DiCQA
15	45.73	529.1340	529.1348	1.51	C ₂₈ H ₂₅ O ₁₂	353*(100%), 367(62%), 337(28%)	191(100%), 179(52%), 173(42%)	CFQA-1
16	47.78	529.1340	529.1349	1.70	C ₂₈ H ₂₅ O ₁₂	367(100%), 353(5%)	—	CFQA-2
17	48.95	529.1340	529.1352	2.27	C ₂₈ H ₂₅ O ₁₂	367*(100%), 353(28%), 337(30%)	193(100%), 173(8%)	CFQA-3
18	52.20	529.1340	529.1350	1.89	C ₂₈ H ₂₅ O ₁₂	353(100%), 367(54%)	—	CFQA-4
19	55.25	529.1340	529.1351	2.08	C ₂₈ H ₂₅ O ₁₂	367(100%), 193(10%), 173(4%)	—	CFQA-5
20	56.31	529.1340	529.1348	1.52	C ₂₈ H ₂₅ O ₁₂	353(100%), 367(20%)	—	CFQA-6

注: * 为进行三级质谱分析的母离子; △表示经过标准品比对; —表示相关质谱图未获得; CQA 为咖啡酰奎尼酸; FQA 为阿魏酰奎尼酸; *p*CoQA 为肉桂酰奎尼酸; DiCQA 为双咖啡酰奎尼酸; CFQA 为咖啡酰阿魏酰奎尼酸

生 m/z 191 $[M-H-Caffeoyl]^-$ 的基峰离子, 可知咖啡酰取代基的位置分别为 1-、3-或 5-位。通过分析化合物 4 和 5 的其他碎片离子及与对照品比对, 可以将它们鉴定为 3-CQA 和 5-CQA。由于 1-取代的 CQA 也能产生 m/z 191 离子, 且 m/z 179 离子的相对丰度较低, 因此将化合物 3 鉴定为 1-CQA^[16]。化合物 6 的准分子离子峰 m/z 353 在 ESI-MS² 裂解过程中丢失一分子咖啡酰(162 u)产生 m/z 191 $[M-H-Caffeoyl]^-$ 离子, 接着又丢失一分子水(18 u)产生 m/z 173 $[M-H-Caffeoyl-H_2O]^-$ 的基峰离子, 由此推测其为 4-CQA, 通过与对照品比对, 发现二者得到的结果一致。

化合物 7 和 9 均产生 m/z 337 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰, 由精确相对分子质量推测两者的分子式为 $C_{16}H_{17}O_8$ (单肉桂酰奎尼酸, *p*-CoQA)。化合物 7 和 9 的 $[M-H]^-$ 离子在 ESI-MS² 裂解过程中均先丢失一分子肉桂酰(146 u)产生 m/z 191 $[M-H-p-Coumaroyl]^-$ 的基峰离子和 m/z 163 $[p-Coumaroyl-H]^-$ 离子, 由此推测两者的肉桂酰取代基位置为 1-或 5-位^[17], 同时根据保留时间, 推断其为 1-*p*CoQA 和 5-*p*CoQA。

化合物 8、10、11 均产生 m/z 367 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰, 由精确相对分子质量推测它们的分子式为 $C_{17}H_{19}O_9$ (单阿魏酰奎尼酸, FQA)。其中, 化合物 8 和 11 的准分子离子峰在 MS² 中均中性丢失一分子阿魏酰(176 u)产生 m/z 191 $[M-H-Feruloyl]^-$ 的基峰离子, 由此推测两者的阿魏酰取代基位置为 1-或 5-位, 同时结合色谱保留时间, 推断其为 1-FQA 和 5-FQA^[18]。化合物 10 的准分子离子峰在 ESI-MS² 中失去一分子阿魏酰(176 u)和一分子水(18 u)产生 m/z 173 $[M-H-Feruloyl-H_2O]^-$ 的基峰离子, 由此推测其分子结构中阿魏酰取代基的位置为 4-位, 推断其为 4-FQA。

2.4.2 双酯类 CGAs 类似物的结构鉴定 在电喷雾负离子检测模式下, 化合物 1、2、12、13、14 均产生 m/z 515 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰。其中, 根据化合物 1 和 2 的精确相对分子质量推测它们的分子式为 $C_{22}H_{27}O_{14}$ (单咖啡酰奎尼酸葡萄糖苷, CQA-glycoside)。化合物 1 和 2 的准分子离子峰在 MS² 中均产生 m/z 353 的准分子离

子峰和 m/z 191 的主要碎片离子, 因此推断它们为 1-CQA-glycoside 和 5-CQA-glycoside^[15]。根据化合物 12、13、14 的精确相对分子质量, 推测它们的分子式均为 $C_{25}H_{23}O_{12}$ (双咖啡酰奎尼酸, DiCQA)。化合物 12 和 14 的准分子离子 m/z 515 在 ESI-MS² 裂解过程中均先失去两分子咖啡酰基(2×162 u)以及一分子水(18 u)而产生 m/z 173 $[M-H-2Caffeoyl-H_2O]^-$ 的基峰离子, 由此推测其分子结构中咖啡酰基的取代位置之一为 4-位, 通过与对照品比对, 可以鉴定化合物 12 和 14 分别为 3,4-DiCQA 和 4,5-DiCQA。而化合物 13 的准分子离子峰则失去两分子咖啡酰基(2×162 u)产生 m/z 191 $[M-H-2Caffeoyl]^-$ 的基峰离子, 可推测咖啡酰基的取代位置之一为 5-位, 通过与对照品比对, 鉴定其为 3,5-DiCQA。

化合物 15、16、17、18、19、20 在 ESI-MS 图谱中均产生 m/z 529 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰, 由精确相对分子质量推测分子式为 $C_{26}H_{25}O_{12}$ 。在二级质谱裂解过程中, 它们的 m/z 529 准分子离子峰均产生 m/z 353 $[M-H-Feruloyl]^-$ 、 m/z 367 $[M-H-Caffeoyl]^-$ 和 m/z 191 $[M-H-2Caffeoyl]^-$ 等碎片离子峰, 可推测为咖啡酰阿魏酰奎尼酸(CFQA)^[19]。由于缺少必要的对照品和相关文献, 难以确定咖啡酰基和阿魏酰基在奎尼酸上的取代位置, 故将它们分别推断为 CFQA-1、CFQA-2、CFQA-3、CFQA-4、CFQA-5 和 CFQA-6。

3 结论

本实验采用相变萃取法较好地剔除了低极性成分, 且起到富集 CGAs 类似物的作用; 通过设定合适的模板分子和过滤窗, 应用 MDF 技术可以筛选和鉴定中药材所含的 CGAs 类似物。结果表明, 采用 HPLC/LTQ-Qorbitrap MSⁿ 结合 MDF 数据挖掘技术, 可以达到准确、快速鉴别中药化学成分类似物的目的。

参考文献:

- [1] 戴小军, 刘延庆, 梅全喜. 蒿属药用植物药理活性研究进展[J]. 中药材, 2005, 28(3): 243-247. DAI Xiaojun, LIU Yanqing, MEI Quanxi. Advances of medicinal plant *Artemisia* in pharmacological activity[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2005, 28(3): 243-247(in Chinese).

- [2] 张婉,唐丽,谢坤,等. 蒿属植物黄酮类化学成分及药理活性研究概况[J]. 中央民族大学学报:自然科学版,2009,18(1):73-77.
ZHANG Wan, TANG Li, XIE Kun, et al. The profile of flavonoid chemical constituents and pharmacological activity in Artemisia plant[J]. Journal of the Central University for Nationalities (Natural Sciences Edition), 2009, 18(1): 73-77 (in Chinese).
- [3] 吴卫华,康桢,欧阳冬生,等. 绿原酸的药理学研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2006,18(4):691-694.
WU Weihua, KANG Zhen, OUYANG Dongsheng, et al. The progress of chlorogenic acid in pharmacology[J]. Natural Product Research and Development, 2006, 18(4): 691-694(in Chinese).
- [4] 邓良,袁华,喻宗沅. 绿原酸的研究进展[J]. 化学与生物工程,2005,(7):4-6.
DENG Liang, YUAN Hua, YU Zongyuan. Research progress of chlorogenic acid[J]. Chemistry & Bioengineering, 2005, (7): 4-6(in Chinese).
- [5] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志(第76卷)[M]. 北京:科学出版社,1991:28.
- [6] 沈灵犀,扎西次仁,耿宇鹏,等. 西藏蒿属六种植物精油化学成分分析及抑菌效果[J]. 复旦学报:自然科学版,2010,49(1):73-80.
SHEN Lingxi, ZHAXI Ciren, GENG Yupeng, et al. Chemical composition analysis and antibacterial effects of six kinds of plant essential oils in Tibet Armisia[J]. Journal of Fudan University (Natural Science), 2010, 49(1): 73-80(in Chinese).
- [7] 张加余,屠鹏飞. 天然产物液相色谱-质谱数据库(LC-MS-DS)的建立与应用[J]. 药学学报,2012,47(9):187-192.
ZHANG Jiayu, TU Pengfei. The establishment and application of natural product liquid chromatography-mass spectrometry-database (LC-MS-DS)[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2012, 47(9): 187-192(in Chinese).
- [8] 张加余,姚志容,张凡,等. 枸骨叶中3类三萜皂苷类成分的ESI-MC裂解规律及其快速识别[J]. 药物分析杂志,2012,32(9):1578-1582.
ZHANG Jiayu, YAO Zhirong, ZHANG Fan, et al. ESI-MC fragmentation patterns and rapid identification three categories triterpenoid saponins in holly leaves[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2012, 32(9): 1578-1582(in Chinese).
- [9] 张加余,乔延江,高晓燕,等. 清火栀麦片中化学成分成分的SPE-HPLC-ESI-MSⁿ快速识别与鉴定[J]. 中国中药杂志,2013,38(2):186-192.
ZHANG Jiayu, QIAO Yanjiang, GAO Xiaoyan, et al. Rapid identification and characterization chemical composition in Qinghuozhimai Tablets using SPE-HPLC-ESI-MSⁿ[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2013, 38(2): 186-192 (in Chinese).
- [10] MA S, ZHU M. Recent advances in applications of liquid chromatography-tandem mass spectrometry to the analysis of reactive drug metabolites[J]. Chemo-Biological Interactions, 2009, 179(1): 25-37.
- [11] YAN G, SUN H, SUN W, et al. Rapid and global detection and characterization of aconitum alkaloids in Yin Chen Si Ni Tang, a traditional Chinese medical formula, by ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry and automated data analysis[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010, 53(3): 421-431.
- [12] GU Z M, WANG L Q, WU J. Mass defect filter-A new tool to expedite screening and de-replication of natural products and generate natural product profiles[J]. The Natural Products Journal, 2011, 1(2): 135-145.
- [13] ULLMANN A, LUDMER Z, SHINNAR R. Phase transition extraction using solvent mixtures with critical point of miscibility[J]. AIChE Journal, 1995, 41(3): 488-500.
- [14] CASTRO A J, STROZYK M, BART H J. Ionic modifiers in phase transition extraction[J]. Chemical Engineering & Technology, 2008, 31(2): 301-306.
- [15] ZHANG J Y, ZHANG Q, LI N, et al. Diagnostic fragment-ion-based and extension strategy coupled to DFIs intensity analysis for identification of chlorogenic acids isomers in Flos Lonicerae Japonicae by HPLC-ESI-MS[J]. Talanta, 2013, 104(30): 1-9.
- [16] LAMB J D, PETERSON R T. Coalescence extraction: A novel, rapid means of performing solvent extractions[J]. Separation Science and Technology, 1995, 30(17): 3237-3244.
- [17] PARVEEN I, THREADGILL M D, HAUCK B, et al. Isolation, identification and quantitation of hydroxycinnamic acid conjugates, potential platform chemicals, in the leaves and stems of Miscanthus giganteus using LC-ESI-MSⁿ [J]. Phytochemistry, 2011, 72(18): 2376-2384.
- [18] CLIFFORD M N, JOHNSTON K L, KNIGHT S, et al. Hierarchical scheme for LC-MSⁿ identification of chlorogenic acids[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(10): 2900-2911.
- [19] CLIFFORD M N, MARKS S, KNIGHT S, et al. Characterization by LC-MSⁿ of four new classes of *p*-coumaric acid-containing diacyl chlorogenic acids in green coffee beans[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(12): 4095-4101.