

doi: 10.19969/j.fxcxb.22071601

高分辨质谱技术在中药分析中的研究进展

周 熙, 罗辉泰, 赖晓娜, 黄 芳, 吴惠勤*

(广东省科学院测试分析研究所(中国广州分析测试中心), 广东省化学测量与应急检测技术重点实验室,
广东省中药质量安全工程技术研究中心, 广东 广州 510070)

摘 要: 中药分析涉及中药物质基础研究、药物代谢、中药质量控制等多个领域, 是中药现代化研究的基础。随着现代化分析技术的发展, 中药分析研究取得了极大的进展。针对中药成分复杂、代谢过程多样、目标物浓度低等难点, 高分辨质谱技术凭借精确质量数、高分辨率及高灵敏度的优点在中药分析中具有显著优势。该文对高分辨质谱技术在中药分析中的应用进行了综述, 重点介绍了四极杆飞行时间质谱、静电场轨道阱质谱、傅里叶变换离子回旋共振质谱和离子淌度串联质谱等质谱技术的发展, 以及高分辨质谱在中药化学成分鉴定、中药化合物代谢研究、中药植物代谢组学研究以及中药有害化学成分检测中的研究进展。同时, 对高分辨质谱在中药分析中的应用进行了展望, 以期促进中药现代化发展。

关键词: 高分辨质谱; 中药; 物质基础; 代谢; 植物代谢组学; 有害化学成分

中图分类号: O657.63; R917 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2022)09-1410-09

Research Progress on Application of High-resolution Mass Spectrometry in Analysis of Traditional Chinese Medicines

ZHOU Xi, LUO Hui-tai, LAI Xiao-na, HUANG Fang, WU Hui-qin*

(Guangdong Provincial Engineering Research Center for Quality and Safety of Traditional Chinese Medicine,
Guangdong Provincial Key Laboratory of Chemical Measurement and Emergency Test Technology, Institute of
Analysis, Guangdong Academy of Sciences(China National Analytical Center), Guangzhou 510070, China)

Abstract: The analysis of traditional Chinese medicine (TCM) involves many fields such as material basis research, drug metabolism and quality control, which is the basis for the modernization of TCM. With the development of modern analytical technology, great progress has been made in the study of TCM. In view of the difficulties of complex components, diverse metabolic processes and low concentration of analytes, the advantages of high-resolution mass spectrometry technology such as accurate mass number, high resolution and high sensitivity have obvious predominance in TCM analysis. This review summarizes the progress on mass spectrometry, including quadrupole time of flight mass spectrometry, orbitrap mass spectrometry, Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry and ion mobility spectrometry, as well as the application of high resolution mass spectrometry in the analysis of TCM, including chemical components identification, compound metabolism, plant metabolomics of TCM and harmful chemical components analyzing. Meanwhile, the application prospect of high resolution mass spectrometry is also discussed. It is hopeful to promote the modernization of traditional Chinese medicine.

Key words: high resolution mass spectrometry; traditional Chinese medicine; material basis; metabolism; plant metabolomics; harmful chemical components

中药分析是中药药理药效研究的基础, 是中药质量控制的保障, 在支撑中药研发、质量控制、临床监测等过程中发挥着日益重要的作用。然而, 中药成分复杂, 所含化学成分众多, 且大多数成分未知。同时中药存在多成分、多靶点、多途径的作用机制^[1]。如何快速、高效地阐明中药药效物质基础及作用机制是中药研究的难题^[2]。中药材成分的复杂性及其动态变化性使得中药质量控制成为中药研究的难点。中药产地众多, 多种药材具有一药多源的现象, 且不同炮制方法的化学成分差异显著^[3]。如何通过中药整体化学成分的差异, 寻找控制中药质量的标志化学成分是中药质量研究的关键。

收稿日期: 2022-07-16; 修回日期: 2022-07-25

基金项目: 广州市科技计划项目(202102020530)

* 通讯作者: 吴惠勤, 硕士, 研究员, 研究方向: 中药物质基础研究与质量控制, E-mail: 13802959756@139.com

近年来,随着高分辨质谱技术的发展,其灵敏度与分辨率均得到极大的提升。如新型的静电场轨道阱(Orbitrap)质谱的分辨率可达 10^5 ,傅里叶变换离子回旋共振质谱(FT-ICR-MS)的分辨率可达 10^6 ,极大地提高了化合物的定性分析能力。在灵敏度方面,新型的四极杆-飞行时间质谱(Q-TOF MS)与Orbitrap能与三重四极杆质谱相匹配,使得利用高分辨质谱对痕量成分进行定量分析成为可能。同时,高分辨质谱具有全扫描、高通量、非靶向的分析特点,通过与液相色谱分离系统相结合,其在中药复杂体系分析领域的应用越来越广泛。本文从中药化学成分鉴定、中药代谢、中药植物代谢组学以及中药有害化学成分检测4个方面,对高分辨质谱技术在中药分析领域的应用进行了综述。

1 高分辨质谱技术的研究进展

目前,常见的高分辨质谱技术包括Q-TOF MS、静电场轨道阱质谱(Orbitrap-MS)、FT-ICR-MS等。其中,Q-TOF MS、Orbitrap-MS和FT-ICR-MS较多地应用于中药分析领域。同时,通过与离子淌度(IM)分离相结合,可显著提高中药化学成分分析的效率。

1.1 Q-TOF MS在中药分析中的应用

Q-TOF MS是一种最常见、普及最广的高分辨质谱,早在1955年就被商品化并广泛应用,尤其是基质辅助激光解吸离子化技术(MALDI)和电喷雾电离技术(ESI)的出现使得飞行时间质谱仪快速发展^[4]。Q-TOF MS通过离子在电场中的飞行时间差异对不同质荷比的离子进行分离检测。相对于其它高分辨质谱,Q-TOF MS的分辨率较低,目前大部分分辨率在 $1 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$,可满足中药小分子化合物的分析。Q-TOF MS是采集速率最快的质谱仪,可达每秒100张高分辨全扫描谱图。将Q-TOF MS与超高效液相色谱联用,并与四极杆质谱进行串联分析,能够获得低丰度化学成分的二级质谱图,适合于中药复杂体系成分分析。目前已用于甘草^[5]、刺梨^[6]、地黄^[7]、苍术^[8]、当归^[9]、沉香^[10]、桃仁^[11]、藿香^[12]、广佛手^[13]、火炭母^[14]等多种中药材以及四妙丸^[15]、桃红四物汤^[16]、酸枣仁颗粒^[17]等中药复方化学成分及其代谢产物分析。

然而Q-TOF MS不具备多级质谱功能,即使与四极杆质谱联用也只能提供二级质谱数据。因此,当需要多级质谱数据来推断或确证中药成分结构时,必须与其他串级质谱联用。同时,Q-TOF MS的飞行管真空腔体积较大,质量稳定性较差,多数仪器需要实时校正。

1.2 Orbitrap-MS在中药分析中的应用

Orbitrap-MS是一种新型的高分辨质谱,在2005年首次以商品化形式出现^[18]。相对于Q-TOF MS,其具有更高的灵敏度与分辨率。同时,由于其真空腔体积较小,能够获得相较于其它高分辨质谱更高的质量稳定性。随着技术的发展,新一代Orbitrap Exploris在分辨率、灵敏度以及稳定性方面得到了极大的提升,超高的分辨率(4.8×10^5 , m/z 200)加速了其在蛋白、代谢物、RNA等领域的应用进展。同时,由于具有较高的灵敏度与稳定性,Orbitrap-MS在中药分析的应用越来越多,包括化学成分分析^[19-22]、农药残留^[23]、真菌毒素^[24]以及非法添加^[25]的高通量筛查等多个领域。

但是,Orbitrap-MS采集速率较Q-TOF MS低,且其分辨率与扫描速率相互影响,在高的扫描速率下,分辨率显著下降。在传统的数据依赖性扫描模式(DDA)下难以获得中药中低丰度化学成分的二级谱图。

1.3 FT-ICR-MS在中药分析中的应用

FT-ICR-MS技术是集超高分辨率、超高质量精度和高灵敏度等优势于一体的质谱分析技术,是理论上能够达到最高分辨率的高分辨质谱($> 2 \times 10^6$)。自1974年Comisarow和Marshall发明第一台FT-ICR-MS仪器以来^[26],已广泛应用于蛋白质组学、生物医药、石油组学、环境科学等众多领域^[27-29]。近年来,其在中药化学成分定性方面的研究也逐渐被报道。Zhang等^[30]利用UPLC-FT-ICR-MS技术鉴定了茵陈五苓散中萜类、有机酸、黄酮、倍半萜、香豆素以及蒽醌类等共138个化学成分,为茵陈五苓散的药效物质基础以及质量标准研究提供了数据支持。同时,FT-ICR-MS具备的超高分辨率与灵敏度,使得其无需色谱分离即可实现中药复杂体系中大多数化合物的定性分析。Park等^[31]运用FT-ICR-MS对人参提取物中的天然化合物进行分析,确定了包括33个人参皂苷在内的123种人参化合物的分子式。

FT-ICR-MS的超高分辨率和质量精度,能够给出化合物准确的元素组成,使其在定性分析中具有巨大的潜力和优势,是中药分析的强大工具。但是,高昂的价格以及仪器操作与数据处理的专业要求限制了FT-ICR-MS的推广应用。如何改进技术,降低成本以及提高其可操作性是FT-ICR-MS面临的重大挑战。

1.4 IM-MS

IM-MS是一种结合离子淌度分离与质谱分析的新型二维质谱,离子化后的气相离子在电场与缓冲气体的相互作用下实现分离。不同的离子形状、大小以及所带电荷导致其具有不同的迁移速率^[32]。与常规质谱相比,IM-MS提供了多一维度的分离,具有更高的分离性能与效率。尤其对于色谱不易分离的化合物(如同分异构体),具有极大的分离优势^[33]。通过与高分辨质谱结合,在中药物质基础研究方面有着显著的优势。Li等^[34]利用IM串联Q-TOF MS对黄连与延胡索中的化合物进行检测,通过分析碰撞截面(CCS)与 m/z 的相关关系,结合质量亏损过滤技术,分别从味连、云连、雅连及延胡索中鉴定出96、102、73和57种异喹啉生物碱。

IM-MS是一种新型的质谱分析技术,其特征参数CCS值是化合物离子的固有性质,在化合物定性方面具有显著优势。如朱正江课题组通过建立人体血清中化合物的CCS值数据库^[35],实现了人体血清代谢物的快速鉴定,开发了基于IM-MS的代谢组学分析方法。但中药化学成分的CCS数据库还处于空白,构建中药化学成分CCS数据库对于中药分析研究具有重要意义。

2 高分辨质谱在中药化学成分鉴定中的应用

中药体系复杂,化合物种类多,系统地鉴定中药化学成分是研究中药药效物质基础以及中药质量控制的关键。高分辨质谱可通过化合物的一级精确质量数、二级碎片、保留时间等数据信息,结合来自文献或标准品的数据以及化合物的生物来源等信息快速鉴定中药化学成分。然而,高分辨质谱数据通常包含海量复杂的信息,如何高效、快速地进行数据挖掘及处理是中药成分鉴定的难点。目前,多种新型数据采集及处理方式的开发极大地推动了中药物质基础的阐明。

2.1 基于特征碎片离子过滤技术

同类型中药化学成分往往具有1个或多个母核结构,其二级质谱具有某个或某几个特征的二级碎片。通过提取该特征二级碎片,结合化合物的质谱裂解规律,可实现该类化合物的快速识别。该方法是快速识别中药化学成分最常见的方法之一,极大提高了中药化学成分鉴定的效率^[36-39]。Qiao等^[36]通过黄酮的结构特征,利用UPLC-Orbitrap-MS/MS确定了黄酮碳苷、苯乙醇苷、黄酮苷元、黄酮氧苷、黄烷酮等不同类型黄酮类化合物的特征碎片,进而在黄芩提取物中鉴定了132个化合物,其中59个化合物为首次从黄芩中报道。

2.2 前体离子靶向定性分析

由于中药化学成分众多,基于数据依赖性的质谱扫描方式无法获得所有化合物的二级谱图。在中药化合物定性分析时常会忽略一些含量较低的化合物。同一类型中药化学成分具有一定的分子式特征,如元素组成特征、不饱和度特征、分子量范围等。通过高分辨质谱技术的分子式特征筛查,寻找潜在目标物前体离子,结合靶向二级质谱扫描可对化合物结构进行推测。同时,中药中众多次级代谢产物是初级代谢产物在体内生物酶的作用下经过一系列生物转化过程形成,如羟基化、甲基化、糖基化等。同一类型化合物可通过生源信息进行相互关联。根据化合物反应过程,可预测中药中某类型化合物可能产生的化合物结构。通过一级扫描的分子式筛查方法,确定潜在目标物前体离子,结合二级谱图与预测的化合物结构进行关联,得到化合物结构信息。Qing等^[40]利用该方法预测了1608个潜在异喹啉类生物碱的分子式,结合高分辨质谱一级扫描方法,确定了640个目标离子,利用二级谱图最终在博落回中鉴定了204个异喹啉生物碱。

2.3 质量亏损过滤技术

质量亏损(Mass defect)是化合物的精确质量数与其最接近整数质量的差值。根据结构类似化合物具有特定范围质量亏损的规律,可对高分辨质谱数据进行质量亏损过滤(Mass defect filtering, MDF),实现对中药同类型或结构相似化学成分的快速识别。该方法可有效提高特定结构类型中药化学成分的

鉴定效率。但常规的 MDF 仍有假阳性高、准确度差的缺点, 无法满足中药全成分及痕量成分的解析。经过多年发展, MDF 已发展出多重 MDF、线性梯度 MDF、逐级 MDF、多点筛查 MDF、珊状 MDF、离散 MDF、深度学习 MDF、Kendrick MDF 等多种过滤技术^[41]。如 Lai 等^[42]根据皂苷的数目与种类, 利用五点筛查法设置质量亏损限值, 精确筛选出潜在离子, 从三七提取物中鉴定了 234 种皂苷类化合物。目前基于高分辨质谱的 MDF 技术已实现了包括淫羊藿^[43]、伊贝母^[44]、远志^[45]、两面针^[46]等多种中药材化学成分定性分析。

2.4 分子网络技术

分子网络(Molecular networking, MN)是近年发展起来的天然产物可视化鉴定技术。利用计算机算法对高分辨质谱采集的二级质谱数据进行相似度计算, 按照相似度大小整合成一张可视化的网络图谱, 可快速识别同类型中药化学成分。建立 MN 主要包括: (1) 高分辨二级谱图的采集; (2) 利用 ProteoWizard 软件将质谱数据转化为 .mzXML 数据文件; (3) 将数据导入 GNPS 数据库中, 建立 MN, 结合 Cytoscape 软件使其可视化; (4) 结合 GNPS 数据库以及已知化合物信息, 鉴定化合物。进而根据可视化图谱的聚类结果以及未知物的二级质谱图分析已鉴定化合物相关类似物的化学结构^[47]。目前已用于微生物^[48]、真菌^[49]、植物^[50]等领域的研究。近年来, MN 分析方法在中药分析领域也逐渐有所报道^[51-52]。Wang 等^[53]采用 Orbitrap-MS 结合 MN 方法开展平消胶囊的化学成分和代谢物分析, 共鉴定出 89 个生物碱、类黄酮、有机酸和酚类化合物, 并在大鼠血液中确认了 15 种原型化合物及其相关代谢产物。

2.5 中药化合物高分辨质谱数据库的发展

目前, 多数的中药化学成分已通过传统的植物化学研究方法进行分离纯化, 结合波谱分析手段进行结构确认。但是, 研究成果多以论文形式发表, 不同课题组在进行相关药材质量标准、药理药效以及新药化合物筛选研究时均需重新分离纯化, 进行相关物质基础研究。大量的重复实验造成研究资源的浪费。而利用高分辨质谱技术可建立包含化合物名称、结构式、保留时间、一级二级高分辨质谱图等信息的数据库, 若采用 IM-MS 技术和二极管阵列检测技术, 还可以记录化合物的离子淌度与紫外光谱图等信息。通过对分离纯化得到的单体化合物进行分析, 将相关信息通过数据库的信息保存, 后人进行相关研究时仅可对样品进行色谱-高分辨质谱分析, 即可通过数据库检索或人工识别的方法对相关化合物进行鉴定, 极大地提高了中药物质基础研究的效率。多个研究机构 and 质谱仪器公司正进行相关研究, 如 Thermo 开发的 OTCML 数据库收录了近 1 200 余种中药化合物的质谱图, 是快速鉴定中药成分强有力的工具^[54]。但多数数据库中包含的化合物仅限于《中国药典》中规定的指标性成分, 化合物数量多在 1 000 多个范围内, 个别数据库超过 2 000 个。相对于中药所含化学成分, 已有数据库中的化合物仅占极少部分。大多数课题组自行分离纯化的单体化合物信息未添加进相关数据库中。如何整合资源, 建立开源、统一、完整的中药化合物高分辨质谱数据库是中药物质基础研究的重要方向。

3 高分辨质谱技术在中药代谢方面的应用

中药化学成分在体内的代谢产物鉴别是研究中药药效的重要环节, 不仅能够更加详细地阐明中药药效物质基础, 同时, 部分代谢产物相对于其原型成分具有更高的药理活性及成药性质, 可为药物开发提供更加明确的研发方向。然而, 中药成分复杂, 在体内代谢过程多样, 如何快速、准确鉴定中药代谢产物是中药研究的重要方向。高分辨质谱技术通过准确的前体离子及二级碎片信息, 可为代谢物的结构推断提供可靠信息。

3.1 基于代谢产物预测软件鉴定中药代谢产物

中药化学成分进入生物体后在生物酶的作用下发生 I 相及 II 相代谢, 代谢产物预测软件基于化合物在生物体内的转化规则预测结合中药体外成分及入血的中药原型成分, 生成其可能的分子式, 构建代谢产物前体离子列表, 结合靶向的二级质谱数据, 推测代谢产物信息。Wu 等^[55]基于 UHPLC-Q-TOF MS 方法对芪精升白颗粒的体外化学成分和体内代谢物进行了研究。通过自建体外化合物数据库, 结合体外样品和血清样品分析结果, 完成体外成分和入血原型成分的鉴别。利用 Metabolynx 代谢物预测功能, 确定可能的代谢产物离子, 通过与血清样品的匹配, 结合中性丢失诊断离子策略, 共鉴别出

18 个代谢产物。

3.2 化学模式识别方法在中药代谢产物分析中的应用

化学模式识别方法主要有无监督的主成分分析(PCA)、有监督的偏最小二乘判别分析(PLS-DA)和正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)。其中,PCA 能够反映组间离散程度,而 PLS-DA 在加入分组信息后,可减少或消除组内差异,强化组间差异^[56]。利用 OPLS-DA 方法能够有效筛选组间差异成分,以 S-Plots 图中的变量投影重要性指标(VIP)作为衡量差异成分的标准(一般为 $VIP > 1$),再筛选对照组样本中没有,而实验组中含量较高的离子即为潜在的中药入血原型及其代谢产物。结合中性丢失、特征碎片与质量亏损过滤等数据处理方法,可快速、准确地鉴定中药代谢产物。

由于中药成分及其代谢产物的复杂性,多种方式结合的代谢产物鉴定策略可极大地提高鉴定效率及准确率^[57]。Mi 等^[58]基于 UPLC-Q-TOF MS 技术结合代谢产物预测软件及化学模式识别方法,并利用中性丢失及特征离子扫描的策略,在服用中药复方丹梔片的大鼠血浆和脑脊液中共鉴定了 119 个代谢产物。

4 高分辨质谱技术在中药植物代谢组学中的研究

植物代谢组学是一种能够整体、全面地分析植物代谢产物的技术,结合化学计量学方法可筛选潜在的差异代谢物,广泛应用于中药产地鉴别、中药基源鉴定以及中药炮制工艺研究中的质量标志物研究^[59]。

4.1 高分辨质谱技术在中药产地鉴别中的应用

中药质量受其生长环境影响较大,不同产地中药材的药效具有明显差异。道地药材是指经过中医临床长期应用优选出来的,在特定地域通过特定生产过程所产的药材。道地药材较其他地区所产的同种药材品质佳、疗效好。通过植物代谢组学的方法可以筛选道地药材与其他产地药材的差异性成分,为道地药材的鉴别及其质量控制提供数据支持^[60-61]。Cao 等^[62]利用 UPLC-Q-Orbitrap-MS 结合植物代谢组学方法对来自四川省、湖北省和重庆市 85 份黄连(*Coptidis Rhizoma*)样品进行分析,结合 OPLS-DA 方法实现了不同产地样品的完全分离,共鉴定出不同产地黄连中 11 个质量标志物。盲测实验结果显示鉴别模型的准确率为 100%,可用于黄连产地的快速鉴定。

4.2 高分辨质谱技术在中药基源鉴定中的应用

中药材种类繁多,多种药材存在一药多源的现象。2015 版中国药典中共收载 522 种中药材,其中 131 种为多基源药材^[63]。中药基源的鉴定是中药标准化和中药药理药效研究的前提。不同基源中药材的化学成分可能具有较大差异,利用植物代谢组学方法对不同基源中药材进行分析,可筛选潜在的质量标志物^[64-65]。Liu 等^[66]利用基于 LC-Q-TOF MS 的代谢组学和化学计量学相结合的方法,对 73 批共 8 种贝母进行分析,包括太白贝母(*Fritilaria taipaiensis*)、瓦布贝母(*Fritilaria unibracteata* var. *wabuensis*)、梭砂贝母(*Fritilaria delavayi*)、暗紫贝母(*Fritilaria unibracteata*)、甘肃贝母(*Fritilaria przewalskii*)、川贝母(*Fritilaria. cirrhosa*)、平贝母(*Fritilaria ussuriensis*)和浙贝母(*Fritilaria thunbergii*)、鉴定出 21 个特异性标志化合物。该方法不仅能对贝母品种进行精准鉴别,且可对 16 种含有贝母的中成药产品进行原料药品种鉴别。

4.3 高分辨质谱技术在中药炮制中的应用

中药炮制是根据中医药理论结合中药特征,对中药进行加工处理的方法,是中医药学的特色。药物经炮制后,其本身的化学成分发生变化,进而影响药性及药效。近年来,多个学者利用现代分析方法对中药炮制前后化学成分的变化规律进行了研究,为中药炮制的理论基础提供了科学依据。其中,利用高分辨质谱技术结合植物代谢组学的研究方法取得了极大的进展^[67-68]。利用 UPLC-Q-TOF MS 对五味子炮制前后的化学成分分析发现,40 种化学成分呈现显著差异。其中,五味子素 D、五味子甲素、五味子乙素和 5-羟甲基糠醛是五味子炮制前后最具特征的质量标志物^[69]。文旺等^[70]利用 UPLC-Q-TOF MS 对甘草片、清炒甘草与蜜炙甘草的化学成分进行分析,识别出甘草苷与甘草酸的衍生物共 10 个质量差异标志物,为甘草炮制品的质量控制与药效研究提供了数据支撑。

植物代谢组学是通过整体代谢产物研究中药质量的重要工具,可为中药质量评价、药效物质基础、

中药生产工艺等提供科学的数据支撑。但是,目前的高分辨质谱不能对所有中药成分进行检测,可能忽略某些重要的质量标志物。中药成分复杂,大多数中药成分未知。利用模式识别方法鉴定的中药化学成分无法识别,因此需要建立更加全面的质谱数据库进行化合物鉴定。

5 高分辨质谱在中药有害成分检测中的应用

中药有害成分的控制是高质量中药生产的保证。目前,中药有害成分如农残、真菌毒素以及非法添加等的标准检测方法主要采用三重四极杆质谱。但是,随着高分辨质谱技术的不断发展和完善,高分辨质谱在复杂基质的有害成分检测中发挥着越来越重要的作用^[71-73]。与三重四极杆质谱方法相比,高分辨质谱具有如下突出优势:(1)由于较高的分辨率和质量精度,可将质量数非常接近的基质干扰物和目标分析物区分开,以实现较高的选择性,减少假阳性;(2)通过全扫描模式获取的精确质量数,可实现非靶向的高通量定性筛查和定量分析;(3)通过与高分辨数据库匹配的方式进行农药多残留的定性筛查,降低了对农药对照品的依赖,且能够实现数据的回溯分析。

5.1 高分辨质谱技术在中药农药残留检测中的应用

由于农药的大量使用,农产品中农药残留严重威胁着人体健康。中药中农药残留控制是中药质量保障的重要内容。《中国药典》2020版明确规定了中药中33种农药残留的限量控制。因此,开展准确、高通量的中药农残检测方法对于中药质量控制具有重要意义。然而,现有中药农药残留的检测主要采用液相色谱-三重四极杆质谱联用仪(LC-QQQ-MS)。高分辨质谱测定中药农药残留的报道较少,其在食品中农药残留的检测应用较广。谢昊臻等^[74]利用Orbitrap-MS对人参等药食同源农产品中10种农药残留进行检测,结果表明6种药食同源农产品中多菌灵和克百威均有不同程度的残留。Gómez-Ramos等^[23]利用Orbitrap-MS分析了茶叶中139种农药残留,通过与LC-QQQ-MS比较,证明了Orbitrap-MS在排除假阳性结果上的优越性,也证明了高分辨质谱在中药农药残留检测中的可行性。

5.2 高分辨质谱技术在中药真菌毒素检测中的应用

真菌毒素是真菌产生的一类具有生物体内蓄积效应的有害次生代谢物,具有致畸、致癌、致突变、肝肾毒性、免疫毒性和神经毒性等危害,其广泛存在于中药材中。真菌毒素对中药材及其产品的质量和安全性产生影响,严重威胁消费者的身体健康和生命安全。目前,高分辨质谱主要应用于食品中真菌毒素的检测,在中药真菌毒素的检测还鲜有报道。高分辨质谱对真菌毒素的定量主要通过一级质谱进行定量分析,易受同分异构体化合物的干扰。Jia等^[24]利用Orbitrap-MS对茶叶中真菌毒素进行检测,通过对数据依赖型采集(DDA)、目标选择离子扫描(Target-SIM)、总离子二级碎片采集(All-ion MS/MS)、多路传输-数据非依赖型采集(muxDIA)4种数据采集方法进行对比,发现传统的DDA与Target-SIM两种模式下无法利用二级碎片进行定量分析。在All-ion MS/MS模式下,二级碎片离子无法实现分子离子峰的一一对应,数据基质干扰较大,假阳性风险较大。而通过muxDIA采集方法,对一级质谱进行特定 m/z 片段扫描,既可实现二级质谱定量,又能减少样品基质对目标物检测的干扰。该方法为中药中真菌毒素的检测提供了方向。

5.3 高分辨质谱技术在中药非法添加检测中的应用

中药非法添加西药是中药安全风险的重要来源。由于添加化合物类型较多,且新添加化合物的种类变化较快,传统的三重四极杆质谱靶向筛查已不能满足检测需求。利用高分辨质谱的非靶向筛查能力可实现不依赖对照品的情况下对非法添加化合物进行定性筛查及定量分析。Guo等^[75]利用HPLC-Q-Orbitrap HRMS技术对膳食补充剂及中药中的50种抗高血压成分进行了靶向与非靶向筛查分析,在65个样品中有9个样品筛查出5种非法添加西药成分。何嘉雯等^[76]利用超高效液相色谱-静电场轨道阱质谱建立了包括解热镇痛、抗菌、激素和抗组胺药物等共167种化合物的高分辨质谱数据库,并成功用于中药凉茶中非法添加化合物的定性定量分析,在245批样品中检出12个阳性样品。

高效液相色谱-高分辨质谱技术大大推动了中药有害化学成分的检测效率与数据结果的准确性。但是目前的化合物筛查主要基于高分辨质谱数据库,未知有害化学成分的检测方法仍不成熟。扩大有害化学成分数据库,建立新的未知物筛查及确定方法是该领域研究的重点。

6 总结与展望

目前,高分辨质谱技术广泛应用于中药物质基础研究、中药代谢、中药质量控制等多个领域,已成为中药分析的最重要方法之一。高分辨质谱的全扫描分析策略与中药多成分、多靶点以及整体作用机制研究相匹配。特征碎片离子、分子网络、质量亏损过滤、离子淌度等新技术与新方法的出现极大提高了中药化学成分及其代谢物的定性分析效率,为中药药效物质基础的阐明做出了重要贡献。而代谢组学结合模式识别方法为中药质量标志物的发现提供了强大的技术支持。随着高分辨质谱技术灵敏度的提高,结合其非靶向的分析能力,在中药有害化学成分的筛查方面也具有显著优势。

但是中药成分复杂,目前的定性方法和手段尚不能达到中药有效成分的完全解析,低含量成分以及同分异构体的定性分析仍是中药质谱分析的难点。同时,高分辨质谱数据量大,人工分析效率低下,自动化、智能化的分析软件是高分辨质谱的发展方向。数据库是中药高分辨质谱分析的强有力工具,但目前的数据库建设仍处于起步阶段,完整、统一、开源的高分辨质谱数据库是中药分析亟待解决的关键之一。

参考文献:

- [1] Tu P F, Shi S P, Jiang Y. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(屠鹏飞,史社坡,姜勇. 中草药), **2012**, 43(2): 209–215.
- [2] Wu Y H, Li M, Liu H, Wang Y. *Sci. Sin.: Vitae*(武雨含,李敏,刘豪,王毅. 中国科学: 生命科学), **2022**, 52(6): 943–956.
- [3] Meng X C, Li X Y, Yao J, Kong L, Guan Y. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(孟祥才,李晓颖,姚杰,孔玲,关瑜. 中草药), **2022**, 53(5): 1587–1594.
- [4] Hou K Y, Dong C, Wang J D, Li H Y. *Prog. Chem.*(侯可勇,董璨,王俊德,李海洋. 化学进展), **2007**, Z(1): 385–392.
- [5] Jiang Z Z, Wang Y F, Zhu Y, Zhang L, Chai X, Jiang M M, Shan L H. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2015**, 115: 130–137.
- [6] Li J H, Yang T G, Zhang N, Sun Y J, Qu Y X, Cao Y J, Lin H Y, Tao O. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.*(李剑豪,杨天歌,张娜,孙玉杰,曲玉霞,曹一佳,林宏英,陶欧. 质谱学报), **2020**, 41(1): 76–86.
- [7] Zhang P Y, Jiang Z Z, Wang Y F, Yang L, Yang F, Yu H J. *Chin. Tradit. Pat. Med.*(张坡泳,江振作,王跃飞,杨龙,杨帆,于卉娟. 中成药), **2016**, 38(5): 1104–1108.
- [8] Zhou J, Tang W W, Chen J. *Pharm. Clin. Res.*(周洁,汤维维,陈君. 药学与临床研究), **2020**, 28(5): 321–328.
- [9] Wang L, Huang S, Chen B, Zang X Y, Su D, Liang J, Xu F, Liu G, Shang M Y, Cai S Q. *Planta Med.*, **2016**, 82(4): 362–370.
- [10] Wu H Q, Huang F, Huang X L, Luo H T, Xie S T, Zhou X. *J. Instrum. Anal.*(吴惠勤,黄芳,黄晓兰,罗辉泰,谢淑桐,周熙. 分析测试学报), **2020**, 39(1): 89–98.
- [11] Zhou X, Xie B, Huang X L, Luo H T, Huang F, Xie M T, Wu H Q. *J. Instrum. Anal.*(周熙,谢斌,黄晓兰,罗辉泰,黄芳,谢梦婷,吴惠勤. 分析测试学报), **2021**, 40(6): 940–946.
- [12] Xie B, Wu X F, Luo H T, Huang X L, Huang F, Zhang Q Y, Zhou X, Wu H Q. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2022**, 209: 114526.
- [13] Wu X F, Xie B, Huang X L, Wu H Q, Huo Y P, Zhou X. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.*(吴学峰,谢斌,黄晓兰,吴惠勤,霍延平,周熙. 质谱学报), **2021**, 42(3): 207–217.
- [14] Zheng H C, Lu Y, Chen D F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2018**, 28(9): 1495–1500.
- [15] Lu J J, Hu X W, Li P, Chen J. *Chin. J. Nat. Med.*, **2017**, 15(7): 550–560.
- [16] Duan X C, Pan L Y, Peng D Y, Bao Q Y, Xiao L, Zhou A, Wu H, Peng C, Chen W D. *J. Sep. Sci.*, **2020**, 43(22): 1–17.
- [17] Du Y Y, He B S, Li Q, He J, Wang D, Bi K. *J. Sep. Sci.*, **2017**, 40(14): 2914–2924.
- [18] Hu Q Z, Noll R J, Li H Y, Makarov A, Hardman M, Graham C R. *J. Mass Spectrom.*, **2005**, 40(4): 430–443.
- [19] Zhou K, Jian P, Liang W Y, Liang L J, Ye T, Chang Z H, Zhang Q N, Zhang L Z. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.*(周坤,简平,梁文仪,梁林金,叶婷,常子豪,张秋楠,张兰珍. 质谱学报), **2020**, 41(3): 254–267.
- [20] Wang Y Q, Mei X D, Li J, Song S, Ma T, Lin F, Zhang J Y. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.*(王喻淇,梅晓丹,李洁,宋帅,马涛,林峰,张加余. 质谱学报), **2019**, 40(1): 50–59.
- [21] Fu S, Cheng R R, Deng Z X, Liu T G. *J. Pharm. Anal.*, **2021**, 11(6): 709–716.
- [22] Xu L L, Shang Z P, Bo T, Sun L, Guo Q L. *J. Chromatogr. A*, **2019**, 1606: 46038.

- [23] Gómez – Ramos M M, Rajski Ł, Heinzen H, Fernández – Alba A R. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2015**, 407(21): 6317 – 6326.
- [24] Jia W, Shi L, Zhang F, Fan C, James C, Chu X G. *Food Chem.*, **2018**, 278: 67 – 76.
- [25] Guo C C, Gong L P, Wang W J, Leng J W, Zhou L M, Xing S, Zhao Y X, Xian R Q, Zhang X J, Shi F. *Int. J. Mass Spectrom.*, **2020**, C(447): 116250.
- [26] Melvin B, Comisarow M B, Marshall A G. *J. Mass Spectrom.*, **1996**, 31(6): 586 – 587.
- [27] Li E T, Shi Q, Ma C, Lei H Y, Wu J X, Dilidaer R Z, Gao X W, Wang M. *Pet. Geol. Exp.* (李二庭, 史权, 马聪, 雷海艳, 吴建勋, 迪丽达尔·肉孜, 高秀伟, 王明. 石油实验地质), **2022**, 44(3): 515 – 521.
- [28] Chen C, Luo H T, Zhang Q Y, Yang Y Y, Xiang Z M, Liu S Q. *J. Instrum. Anal.* (陈超, 罗辉泰, 张秋炎, 杨运云, 向章敏, 刘舒芹. 分析测试学报), **2020**, 39(9): 1126 – 1130.
- [29] Huang F, Deng X, Luo H T, Lin X S, Zhu Z X, Ma Y F, Huang X L, Wu H Q. *J. Instrum. Anal.* (黄芳, 邓欣, 罗辉泰, 林晓珊, 朱志鑫, 马叶芬, 黄晓兰, 吴惠勤. 分析测试学报), **2019**, 38(5): 569 – 573.
- [30] Zhang Y M, Zhao M, Liu T T, Zhu W J, Zhao C J, Wang M. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2021**, 198: 114022.
- [31] Park K H, Kim M S, Baek S J, Bae I H, Seo S W, Kim J, Shin Y K, Lee Y M, Kim H S. *Plant Methods*, **2013**, 9(1): 15.
- [32] Zhai R R, Gao W, Li M N, Yang H. *Chin. J. Chromatogr.* (翟容容, 高雯, 李梦宁, 杨华. 色谱), **2022**.
- [33] Colson E, Decroo C, Cooper – Shepherd D, Caulier G, Henoumont C, Laurent S, De Winter J, Flammang P, Palmer M, Claereboudt J, Gerbaux P. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2019**, 30(11): 2228 – 2237.
- [34] Li M N, Shen B Q, Lu X, Gao W, Wen S S, Zhang X, Yang H, Li P. *J. Chromatogr. A*, **2021**, 1657: 462572.
- [35] Zhou Z W, Luo M D, Chen X, Yin Y D, Xiong X, Wang R H, Zhu Z J. *Nat. Commun.*, **2020**, 11(1): 4334.
- [36] Qiao X, Li R, Song W, Miao W J, Liu J, Chen H B, Guo D A, Ye M. *J. Chromatogr. A*, **2016**, 1441: 83 – 95.
- [37] Guo Q Q, Bi Q R, Wang Z, Tan N H. *China J. Chin. Mater. Med.* (郭茜茜, 毕启瑞, 汪哲, 谭宁华. 中国中药杂志), **2018**, 43(19): 3887 – 3892.
- [38] Qi L W, Wang H Y, Zhang H, Wang C Z, Li P, Yuan C S. *J. Chromatogr. A*, **2012**, 1230: 93 – 99.
- [39] Jia W, Shi L, Zhang F, Fan C, James C, Chu X G. *J. Chromatogr. A*, **2019**, 1608: 460408.
- [40] Qing Z X, Yan F Q, Huang P, Zeng J G. *Phytochemistry*, **2021**, 185: 112696.
- [41] Jiang Y, Gao W, Yang H, Li P. *China J. Chin. Mater. Med.* (姜悦, 高雯, 杨华, 李萍. 中国中药杂志), **2022**.
- [42] Lai C J S, Tan T, Zeng S L, Qi L W, Liu X G, Dong X, Li P, Liu E H. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2015**, 109: 184 – 191.
- [43] Xu X, Li T, Zhang K, Cao Y, Liu L, Zhang S L, Tu P F, Song Y L, Zhao Y F, Li J. *Molecules*, **2021**, 26(6): 1520.
- [44] An Y L, Wei W L, Li H J, Li Z W, Yao C L, Qu H, Yao S, Huang Y, Zhang J Q, Bi Q R, Li J Y, Guo D A. *J. Chromatogr. A*, **2021**, 1643: 462029.
- [45] Li T, Zhou Z Z, Zhang K, Ma W, Chen W, Tu P F, Li J, Song Q Q, Song Y L. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2021**, 204: 114281.
- [46] Rao S W, Duan Y Y, Pang H Q, Xu S H, Hu S Q, Cheng K G, Liang D, Shi W. *Front. Pharmacol.*, **2022**, 13: 794277.
- [47] Nothias L F, Petra S D, Schmid R, et al. *Nat. Methods*, **2020**, 17(9): 905 – 908.
- [48] Covington B C, McLean J A, Bachmann B O. *Nat. Prod. Rep.*, **2017**, 34(1): 6 – 24.
- [49] Yao L, Zhu L P, Xu X Y, Tan L L, Sadilek M, Fan H, Hu B, Shen X T, Yang J, Qiao B, Yang S. *Sci. Rep.*, **2016**, 6(1): 33237.
- [50] Sedio B E. *New Phytol.*, **2017**, 214(3): 952 – 958.
- [51] Li Z H, Shi Y Q, Zhang X H, Xu J, Wang H B, Zhang L, Wang Y. *Front. Pharmacol.*, **2020**, 11: 287.
- [52] Caesar L K, Kellogg J J, Kvalheim O M, Cech R A, Cech N B. *Planta Med.*, **2018**, 84(9/10): 721 – 728.
- [53] Wang D, Fu Z F, Xing Y C, Tan Y, Han L F, Yu H Y, Wang T. *Biomed. Chromatogr.*, **2020**, 34(9): e4882.
- [54] Sun Y, Feng F, Huang T H, Zhang X F, Cao J L, Zhang F. *Nat. Prod. Res. Dev.* (孙燕, 冯峰, 黄特辉, 张旭帆, 曹俊岭, 张峰. 天然产物研究与开发), **2019**, 31(7): 1192 – 1202.
- [55] Wu R, Lin S, Wang J X, Tian S S, Ke X S, Qu Y, Tian X H, Qi X P, Ye J, Zhang W D. *J. Sep. Sci.*, **2018**, 41(9): 1960 – 1972.
- [56] Yan G L, Han Y, Wang X J. *China J. Chin. Mater. Med.* (闫广利, 韩莹, 王喜军. 中国中药杂志), **2012**, 37(12): 1765 – 1770.
- [57] Ouyang H, Li J M, Wu B, Zhang X Y, Li Y, Yang S L, He M Z, Feng Y L. *J. Chromatogr. A*, **2017**, 1502: 38 – 50.

- [58] Mi N, Cheng T F, Li H L, Yang P M, Mu X M, Wang X Y, Zu X P, Qi X P, Guo X, Ye J, Zhang W D. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2018**, 164: 70–85.
- [59] Guo F D, Wang X J, Hou L, Zhao S Z, Li G H, Xia H. *Shandong Agric. Sci.* (郭凤丹, 王兴军, 侯蕾, 赵术珍, 厉广辉, 夏晗. 山东农业科学), **2017**, 49(12): 154–162.
- [60] Ma X D, Fan Y X, Jin C C, Wang F, Xin G Z, Li P, Li H J. *J. Chromatogr. A*, **2016**, 1450: 53–63.
- [61] Enos M, Raphael N A, Wang S L, Loveth O L, Yin X J, Qi L W. *Food Chem.*, **2018**, 240: 239–244.
- [62] Cao S R, Du H, Tang B B, Xi C X, Chen Z Q. *Microchem. J.*, **2021**, 160: 105685.
- [63] Chinese Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press(国家药典委员会. 中国药典. 北京: 中国医药科技出版社), **2015**.
- [64] Tao H X, Xiong W, Zhao G D, Peng Y, Zhong Z F, Xu L, Duan R, Karl W K T, Yu H, Wang Y T. *Food Chem. Toxicol.*, **2018**, 119: 400–406.
- [65] Li C R, Hou X H, Xu Y Y, Gao W, Li P, Yang H. *J. Chromatogr. A*, **2022**, C(1612): 460628.
- [66] Liu F J, Jiang Y, Li P, Liu Y D, Yao Z P, Xin G Z, Li H J. *J. Chromatogr. A*, **2020**, C(1612): 460630.
- [67] Xu F, Kong M, Xu J D, Xu J, Jiang Y, Li S L. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2020**, 191: 113581.
- [68] Zhang Q X. *Study on the Difference of Pharmacological Action and the Effect of Fall Dryness of Fingered Citron before and after Steamed*. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine(张秋霞. 广佛手蒸制前后药性作用变化及减燥作用差异化研究. 广州: 广州中医药大学), **2019**.
- [69] Su L L, Ding X Y, Cheng X, Li P, Huang Z Y, Mao C Q, Lu T L, Hao M. *J. Herb. Med.*, **2020**, 19: 100311.
- [70] Wen W, Li L, Li D K, Zhang L, Zhou D Z, Yang Y W, Yang J H, Yu B Y, Ju A C. *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Formulae*(文旺, 李莉, 李德坤, 张磊, 周大铮, 杨悦武, 杨建会, 余伯阳, 鞠爱春. 中国实验方剂学杂志), **2020**, 26(17): 104–110.
- [71] Luo H T, Huang X L, Wu H Q, Zhang Q Y, Zhu Z X, Huang F, Lin X S. *Chin. J. Anal. Chem.* (罗辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 张秋炎, 朱志鑫, 黄芳, 林晓珊. 分析化学), **2017**, 45(9): 1381–1388.
- [72] Yuan G W, Mo Z M, Zhou S Y, Dai X D, Ye J, Wu Y, Wu X S, Hu R, Wang H B. *J. Chin. Cereals Oils Assoc.* (袁光蔚, 莫紫梅, 周嵩煜, 戴向东, 叶金, 吴宇, 伍先绍, 胡蓉, 王海波. 中国粮油学报), **2022**, 37(5): 157–165.
- [73] Wang Y, Zhang X C, Hua H B, Li Y S, Huang B J, Li Y. *Mod. Food Sci. Technol.* (王勇, 张宪臣, 华洪波, 李云松, 黄碧嘉, 李勇. 现代食品科技), **2022**, 38(1): 371–389, 335.
- [74] Xie H Z, Hu T T, Wang J H, Fu Y, Chen G Y, Li A J, Rong H, Zhang X, Zhang Z. *Chem. Reag.* (谢昊臻, 胡婷婷, 王佳慧, 付瑶, 陈光宇, 李爱军, 荣会, 张勋, 张哲. 化学试剂), **2022**, 44(2): 266–272.
- [75] Guo C C, Niu C, Zhou L M, Wang W X, Nie Y J, Liu Q, Zhang L, Chen Z, Wang W J, Xu Y W. *J. Sep. Sci.*, **2020**, 43(13): 2529.
- [76] He J W, Wen J X, Liu Y X, Hu J Z, Cao Y J, Lai Y H. *Chin. J. Chromatogr.* (何嘉雯, 温嘉欣, 刘亚雄, 胡佳哲, 曹雅静, 赖宇红. 色谱), **2022**, 40(3): 253–265.

(责任编辑: 丁 岩)