

安捷伦应用方案专刊

# 中药（天然药物）成分分离与质谱 鉴定解决方案，加速科研发展



中药（天然药物）是中华文明的杰出代表，具有其独特的理论基础和应用方式。现有研究表明，中药（天然药物）中的次生代谢产物是其药用功效的物质基础。但是由于这些活性物质结构类型繁杂多样，如何对其进行高效分析并鉴定其结构，进而建立科学合理的质量控制标准与药效评价标准，是确保中药安全有效应用所需要克服的难题之一。为协助研究人员探索复杂的中药（天然药物）活性成分体系，安捷伦创新团队基于液相色谱和液质联用平台，推出了多种解决方案。从液相色谱分离、未知物结构鉴定、产地溯源分析和中药代谢组学研究等方面，帮助研究者阐明中药（天然药物）的药理机制，为未来更广泛的实证医学与目标天然药物的发现提供科学依据。

液相色谱 (HPLC) 一直是中药（天然药物）活性物质分析的重要工具之一。由于样品组成极其复杂，HPLC 分析一直存在分离难度大、分析时间长等问题。过去 10 多年来，不断发展的超高效液相色谱 (UHPLC) 提高了对复杂样品的分离能力与速度。但是在使用单根色谱柱的条件下，分离效率仍然不够理想，Agilent InfinityLab 二维液相色谱系统 (2D-LC) 能在更短时间内提供优异的分离能力，为复杂的活性成分分析提供更有效的解决方案。同时在软件上进行简单设定后，即可在一维液相色谱系统与不同模式的二维液相色谱系统之间轻松切换。Agilent InfinityLab 二维液相色谱解决方案包括以下三种主要应用模式：

- 中心切割或多中心切割：提升对复杂指标活性成分的分离能力（见图 1）
- 高分辨二维色谱技术 (HiRes 2D-LC)：确保获得出色分离和准确定量（见图 2）
- 全二维液相色谱 (LC×LC)：为复杂的中药（天然药物）提供完整的化学成分轮廓分析结果（见图 3）

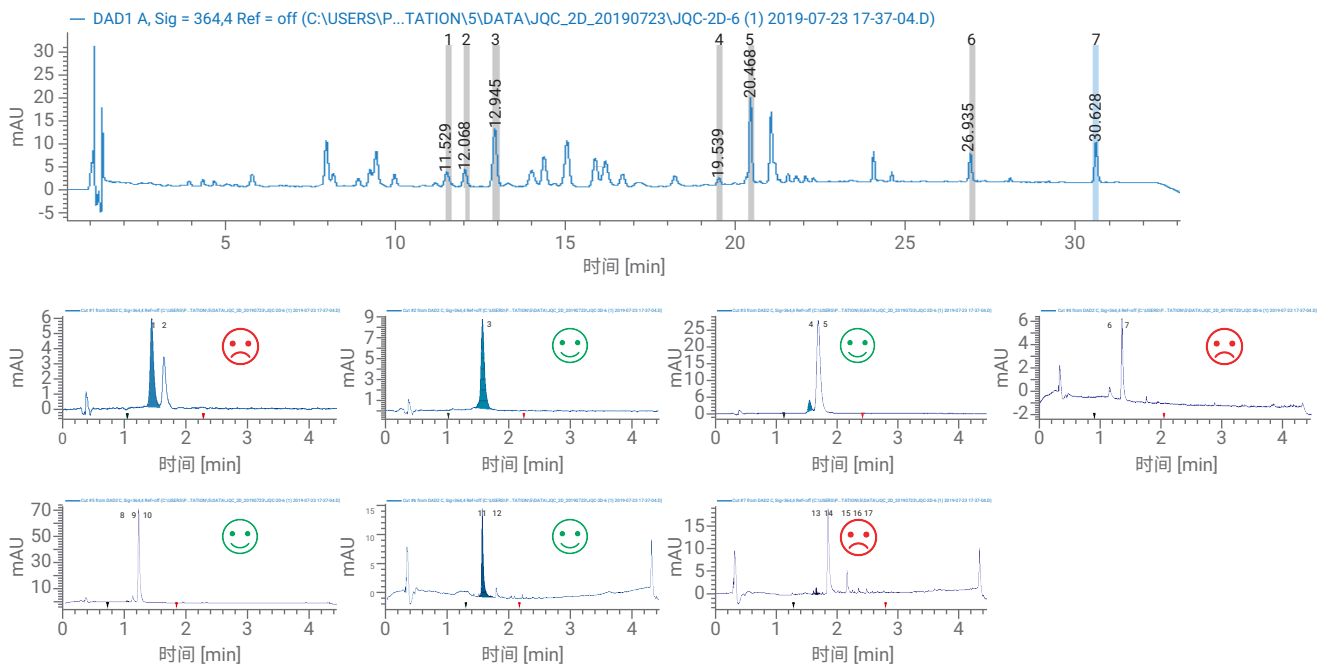


图 1. 利用多中心切割二维液相色谱技术对金钱草样品目标峰进行二次分离

多中心切割二维液相色谱技术对一维色谱图中 7 个目标峰进行精确切割，并在线同步完成二次分离，鉴别其中的共流出组分。结果其中有 3 个目标峰分离出更多共流出物（用红色图标标记）。此技术标记目标峰过程简便，自动排列分析顺序和梯度，可快速完成目标峰的切割再分析，让共流出物无处遁形。

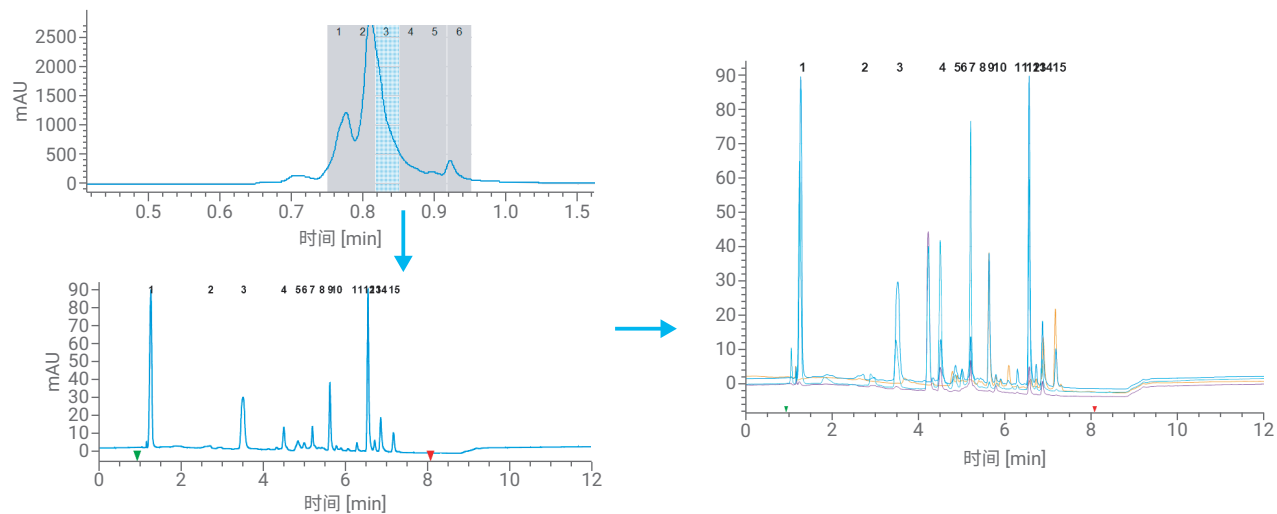


图 2. 利用高分辨采样二维液相色谱技术对薏白中的弱保留极性组分进行二维再分离 (RP-HILIC)

中药提取物中包含不同极性组分，强极性组分由于保留较弱，一直是分离的难点。通过对常规反相色谱弱保留的组分进行高分辨采样，将连续的 6 个片段在线传递至二维液相使用 HILIC 模式（适合于强极性组分分析）进行分离。由结果可见，一维色谱中无法分离的一群色谱峰，在二维色谱中轻松出现了十几个分离良好的色谱峰。

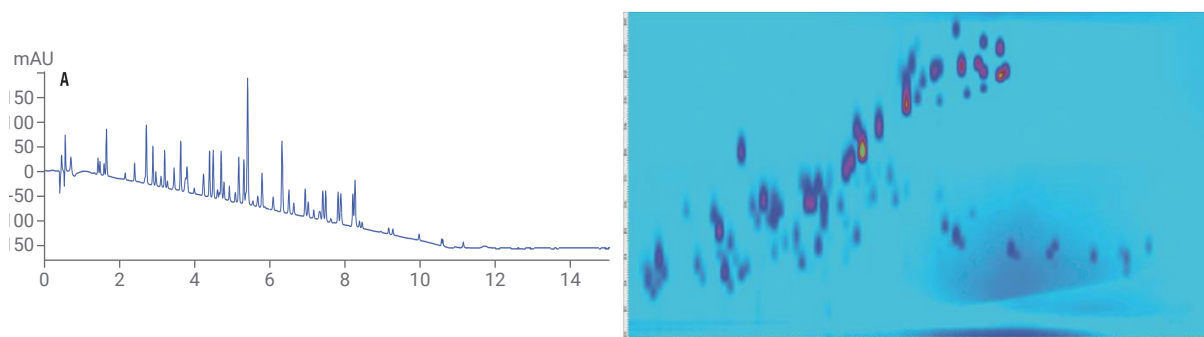


图 3. 利用全二维液相色谱技术 (LCxLC) 分离中药的复杂成分，并获得了化学成分轮廓信息

全二维液相色谱技术可以对复杂的一维色谱图叠加上二维分离结果，并通过响应值的不同，将平面数据三维化立体化，看到更多的组分信息。还可以增加质谱检测，进一步得到质量信息数据。通过轮廓信息的不同，提供另一种物质差异化视角。

此外，为鉴定中药中复杂的天然活性成分，安捷伦利用 6500 系列高分辨率 Q-ToF 质谱的高精度优势，建立了“标准天然药物高分辨质谱资料图谱库”，并结合安捷伦结构二级质谱解析软件 (Molecular Structure Correlator, MSC)，提供了完整的天然活性成分鉴定流程。该“标准天然药物高分辨质谱资料图谱库”收录了 1500 种天然药物的标准二级质谱图，涵盖《中国药典》(2020 版) 中收录的对照品，可提供如下信息 (见图 4)：

- 收录超过 1500 种天然活性成分，提供准确分子量信息 (见图 5)
- 收录超过 10000 张高分辨率、高精度 MS/MS 谱图，且所有谱图中的碎片离子均经过严格的验证流程校正 (见图 6)
- 收录各化合物的 CAS 号、Chemspider 号、化合物结构式、植物来源等信息
- 搜索结果可以显示化合物中文名称和英文名称

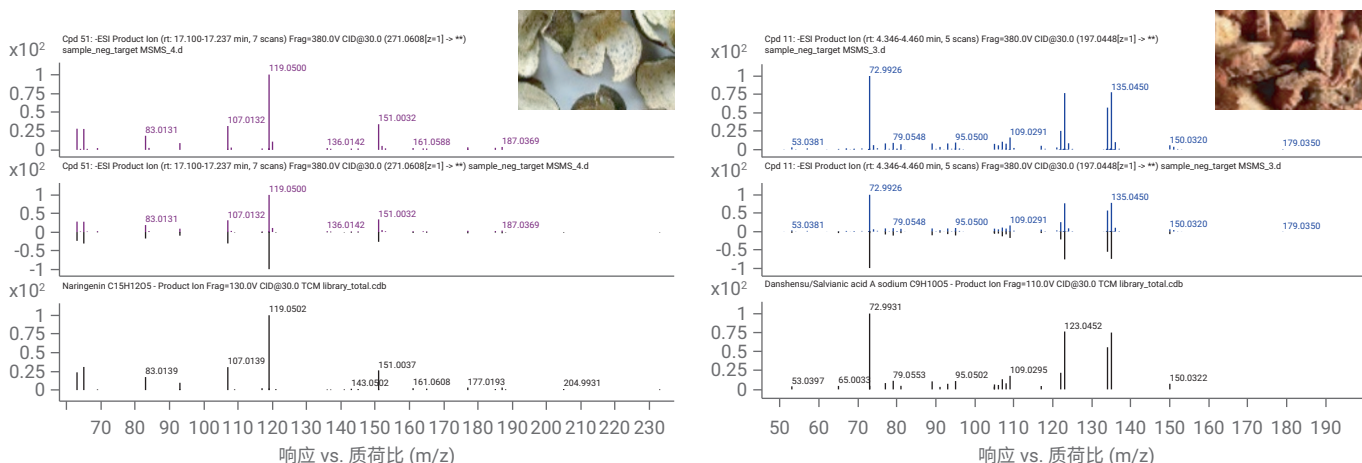


图 4. 利用安捷伦“标准天然药物高分辨质谱资料图谱库”进行二级图谱匹配所得到的柚皮素 (左) 和丹参素 (右) 分析结果



File Edit View PCDL Links Help  
Find Compounds

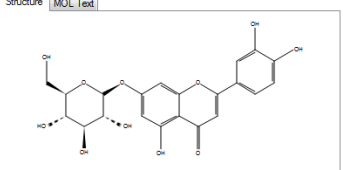
Single Search Batch Search Batch Summary Edit Compounds Spectral Search Browse Spectra Edit Spectra

Name: Luteolin-7-O-β-D-glucoside  
IUPAC: 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-4-oxo-4H-chromen-7-yl β-D-allopyranoside  
Mass: 448.10056 CAS: 5373-11-5  
RT: 12.3 ChemSpider: 9879756  
Formula: C21H20O11

Ion type:  Neutral  Anion  Cation

Edit actions: Add New Save As New Update Selected Delete Selected

Molecule: Structure MOL Text



Notes: Ajuga decumbens Thunb 白毛夏枯草  
Flavonoids  
木犀草苷

Print/Copy in Summary Format Single Search Results: 50 hits

Compound Name	Formula	Mass	Anion	Cation	RT (min)	CAS	ChemSpider	IUPAC Name	Spectra
Aesculetin	C9H6O4	178.02661	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	6.400	305-01-1	4444784	6,7-Dihydroxy-2H-chromen-2-one	4
Iaofrazidin	C11H10O5	222.05282	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10.100	486-21-5	4477107	7-Hydroxy-6,8-dimethoxy-2H-chromen-2-one	4
Indigotin	C16H10N2O2	262.07423	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	19.800	482-89-3	4477009	(2E)-2-(3-Oxo-1,3-dihydro-2H-indol-2-ylidene)-1,2-dihydro-3H-indole	4
Eriarin	C18H22O5	318.14672	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	19.000	95041-90-0	316689	2-Methoxy-5-[2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethyl]phenol	4
Aesculin	C15H16O9	340.07943	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.900	66773-17-4	4444785	7-Hydroxy-2-oxo-2H-chromen-6-yl β-D-glucopyranoside	4
Geniopicin	C16H20O9	356.11073	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	7.700	20831-76-9	80043	(6R,6S)-1-Oxo-5-vinyl-5,6-dihydro-1H,3H-pyrano[3,4-b]pyridin-2(1H)-one	4
Verticinone	C27H43NO3	429.32429	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10.000	18059-10-4	146697	(8S,5a)-3,20-Dihydroxycevan-6-one	4
Verticin	C27H45NO3	431.33994	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	11.900	23496-41-5	116523	(8S,5a,Ce)-3,6,20-triol	4
Luteolin-7-O-β-D-glucoside	C21H20O11	448.10056	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	12.300	5373-11-5	9879756	2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-4-oxo-4H-chromen-7-yl β-D-glucopyranoside	4

图 5. 安捷伦标准高分辨质谱资料图谱库软件 PCDL Manager，收录活性组分相关信息

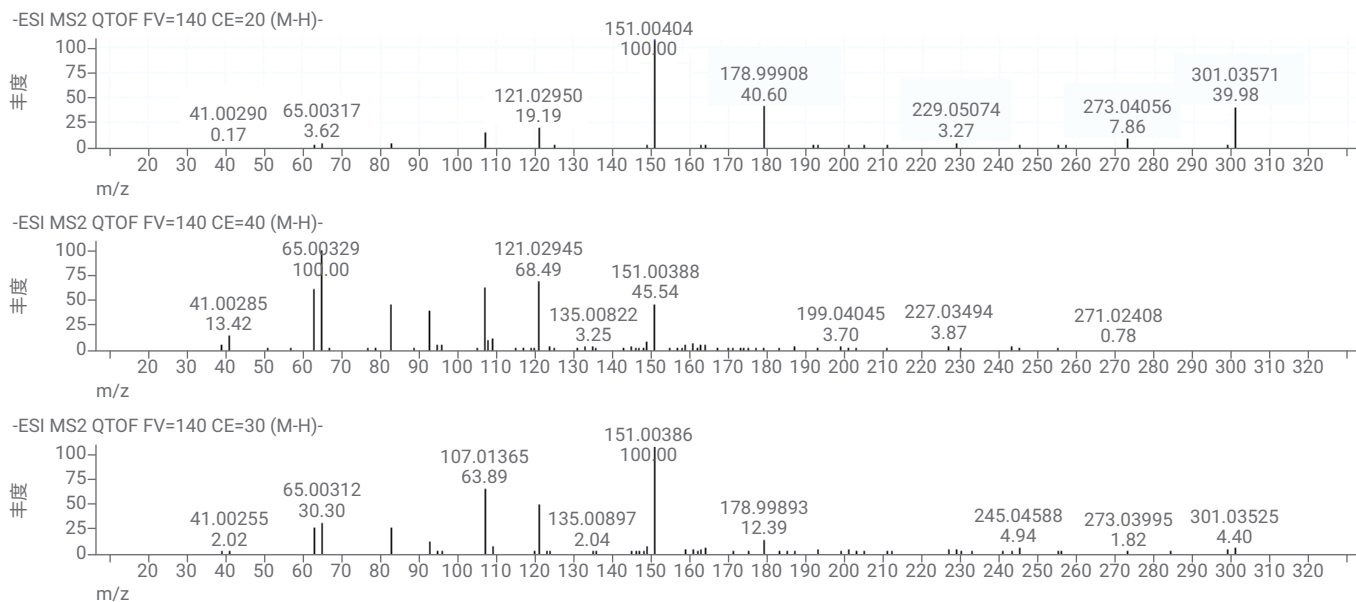
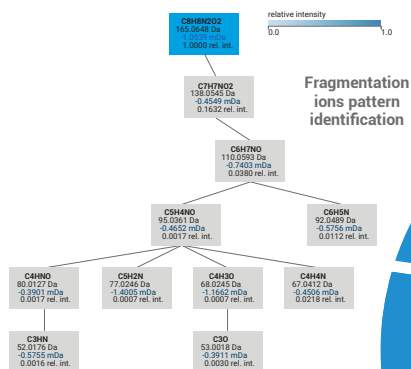


图 6. 安捷伦标准高分辨质谱资料图谱库软件 PCDL Manager，收录活性成分在不同碎裂能量下的二级质谱信息

在未知物的质谱解析中，也可与先进国际团队开发的 SIRIUS 或 GNPS 的云端数据库进行比对或进行分子结构关联分析 (Molecular Networking Analysis) (见图 7)。

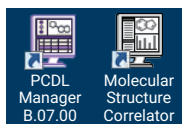
## SIRUS “机器学习算法” 对大量数据库匹配和结构碎片预测

支持多个公开数据库



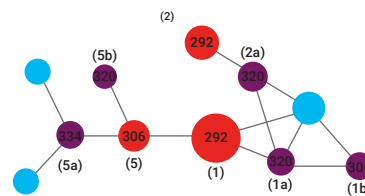
## 安捷伦 PCD/PCDL 与 结构解析软件 MSC

支持使用本地化 PCD/PCDL 数据  
图谱库加速数据处理，客户也可  
以使用 MSC 软件对化合物结构进  
行确证分析



## GNPS “机器学习算法” 进行结构关联性分析

智能化数据/图谱库比对



## MPP 差异和统计分析

强大的差异和统计分析软件 MPP，  
整合各种统计工具和定制化程序，  
支持复杂的统计学计算工作

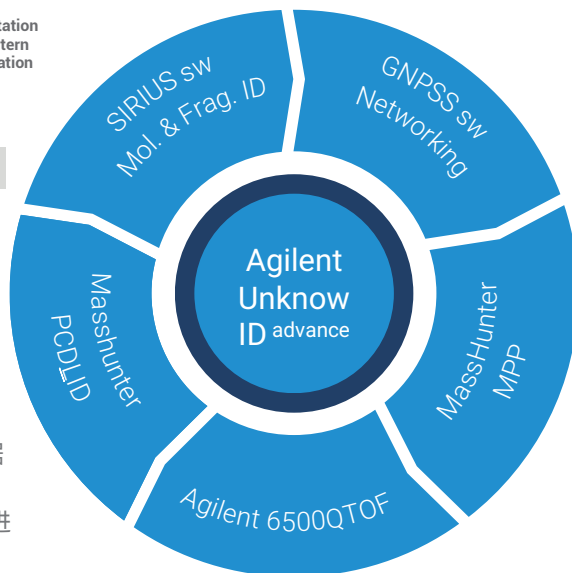
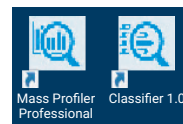


图 7. 安捷伦提供完整未知物鉴定解决方案 (Unknow ID advance Workflow)

近年来，多组学 (Multi-Omics) 研究手段被广泛应用于生物医学研究中。在对中药（天然药物）药用机理的深入研究中，也引入了多组学研究手段，其中代谢组学研究的应用尤为突出，其根本原因在于中药活性成分对基因、转录与蛋白质的调控最终会在代谢的表现型上出现细微变化。安捷伦从 2010 年开始开发代谢组学解决方案，至今已超过 10 年，发展并完善了从生物样品采集和前处理，到质谱分析技术与生物统计及代谢途径分析的有效且实用的完整研究流程（见图 8）。

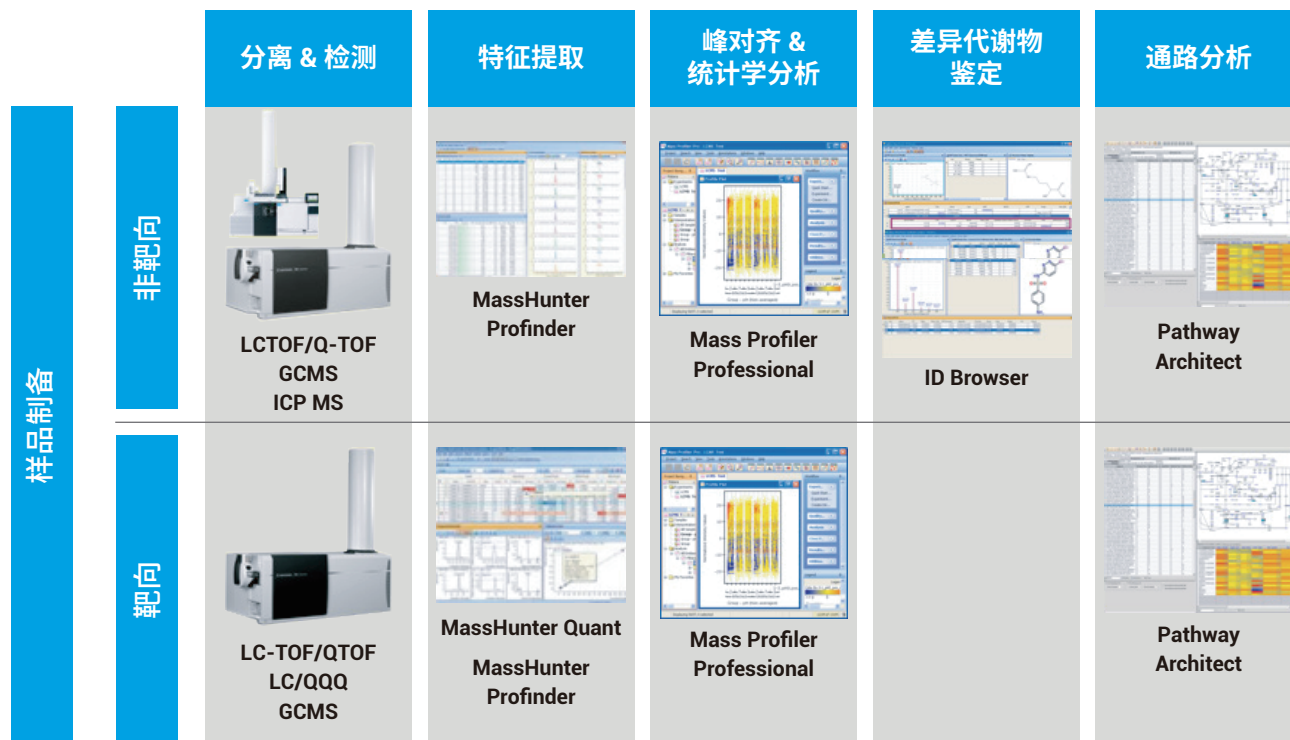


图 8. 安捷伦代谢组学全流程应用解决方案

由于代谢疾病的快速变化，单一靶标与单一药物的简单治疗方案已经无法满足多靶标复杂代谢疾病的治疗。因此，精准医疗中个体化治疗对现代生物医学研究提出了更高的要求。中药（天然药物）包含多活性成分，在多靶标复杂代谢疾病的治疗中累积了大量有价值的临床结果。基于这些数据，拓展的药物代谢组学 (Medomics) 和方证代谢组学 (Chinmedomics)，采用代谢组学研究手段，实现了临床药效、临床机理和药效组分确认三位一体的中药（天然药物）研究策略的实践应用（见图 9）。

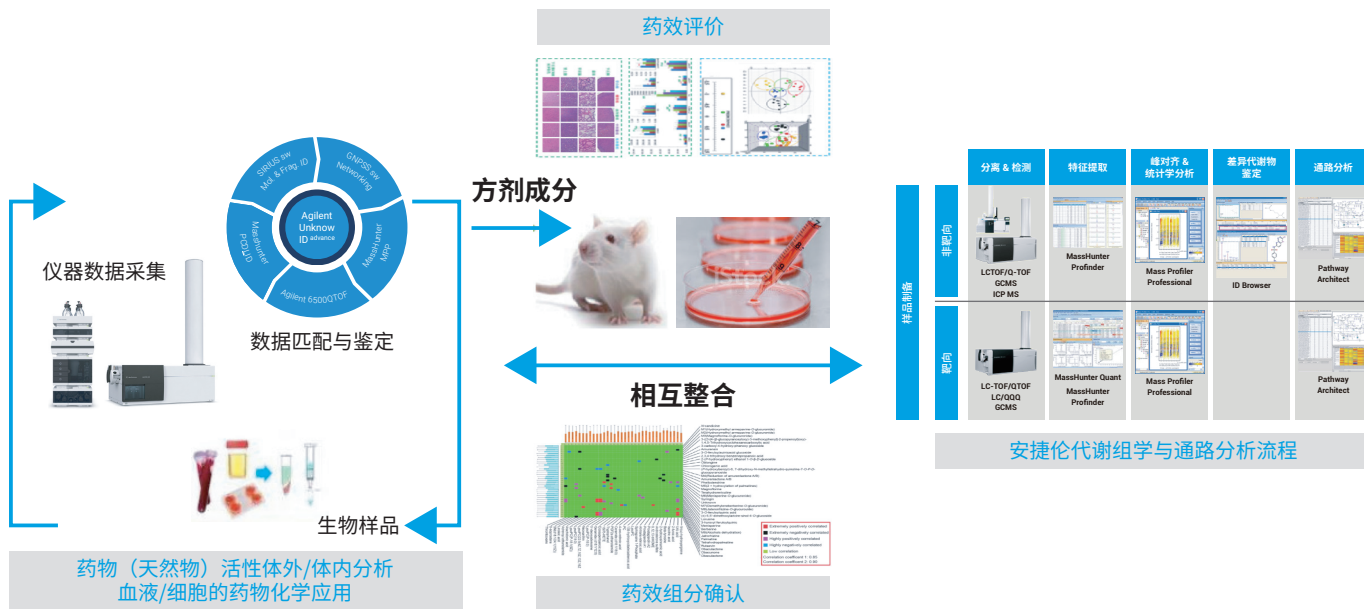


图 9. 临床药效、临床机转和活性成分三位一体的活性成分研究策略



## 参考文献

- 1 Mattias Pursch and Stephan Buckenmaier. Loop-Based Multiple Heart-Cutting Two-Dimensional Liquid Chromatography for Target Analysis in Complex Matrices. *Anal. Chem.*, 2015, 87 (10): 5310-5317
- 2 Yilan Ouyang, Yangyang Zeng, Yinxiu Rong, Yue Song, Lv Shi, Bo Chen, Xinlei Yang, Naiyu Xu, Robert J. Linhardt, and Zhenqing Zhang. Profiling Analysis of Low Molecular Weight Heparins by Multi Heart-Cutting Two Dimensional Chromatography with Quadruple Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Anal. Chem.*, 2015, 87(17), 8957-8963
- 3 Xue Qiao, Wei Song, Shuai Ji, Yan-jiao Li, Yuan Wang, Ru Li, Rong An, De-an Guo and Min Ye. Separation and detection of minor constituents in herbal medicines using a combination of heart-cutting and comprehensive two-dimensional liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1362, 157-167
- 4 Determination of Taxanes in *Taxus* sp. With the Agilent 1290 Infinity 2D-LC Solution (利用 Agilent 1290 Infinity 二维液相色谱解决方案测定红豆杉中的紫杉烷类化合物) . 安捷伦应用简报: 5991-3576EN
- 5 Comprehensive 2D-LC Analysis of Chinese Herbal Medicine (中草药的全二维液相色谱分析) . 安捷伦应用简报: 5991-5028EN
- 6 Xue Qiao, Wei Song, Xinog-hao Lin, Qi Wang, Tao Bo, De-an Guo, Junxiu Liu and Min Ye. Rapid chemical analysis of bear bile: 5 minute separation and quantitation of bile acid s using UHPLC-qTOF-MS. *Analytical Methods*, 2014, issue2, 596
- 7 Chun-fang Liu, Xue Qiao, Ke-di Liu, Wen-Juan Miao, Yan-jiao Li, Yang Liu, Yan-yan Jiang, Tao Bo, Ren-bing Shi, De-an Guo and Min Ye. In vivo metabolites and plasma exposure of TongMai Keli analyzed by UHPLC/DAD/qTOF-MS and LC/MS/MS. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013, 145, 509-516
- 8 Qian-Qian Chen, Feng-Xiang Wang, Yuan-Yuan Cai, Yan-Ke Zhang, Jing-Kai Fang, Lian-Wen Qi, Lei Zhang and Feng-Qing Huang. Untargeted metabolomics and lipidomics uncovering the cardioprotective effects of Huanglian Jiedu Decoction on pathological cardiac hypertrophy and remodeling. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 270, 113646
- 9 Gideon Adotey, Raphael N Aloga, Abraham Quarcoo, Mohammed Ahmed Gedel, Abraham K Anang and John C Holiday. Ultra Performance Liquid Chromatography-Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS)-based metabolomics analysis of mycelial biomass of three *Ganoderma* isolates from the Lower Volta River Basin of Ghana. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2021, 205, 114355
- 10 Zhe Wang, Fan Zhang, Wei Liu, Ning Sheng Hua Sun and Jinlan Zhang. Impaired tricarboxylic acid cycle flux and mitochondrial aerobic respiration during isoproterenol induced myocardial ischemia id rescued by bilobalide., *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2020, 6, 764-775

查找当地的安捷伦客户中心:

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价:

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)



微信搜一搜

安捷伦视界

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE.49442702

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更,恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2022  
2022年5月13日, 中国出版  
5994-4914ZHCN

