

## 液相色谱-离子阱质谱联用法建立留坝西洋参药材特征图谱研究

郑晓晖, 赵新锋, 胡震, 祝忠民, 赵欣\*

(西安交通大学理学院, 陕西 西安 710061)

**摘要:** 目的 建立留坝西洋参药材皂苷成分的特征图谱。方法 通过固相萃取小柱预处理样品, 电喷雾质谱正离子模式全扫描法检测。结果 从西洋参药材总提物的正离子全扫描总离子流图中选择了 3 个具有代表性的强峰, 建立了西洋参药材皂苷成分的特征对应图谱。结论 该方法有较好的重现性, 能准确分析、鉴别西洋参药材。

**关键词:** 电喷雾离子阱质谱; 特征图谱; 特征对应图谱; 拟人参皂苷 F<sub>11</sub>

中图分类号: R282.710.3 文献标识码: 文章编号: 0253-2670(2005)01-0104-03

Characteristic spectrum analysis of *Panax quinquefolium* from Liuba by HPLC-ESI-MS

ZHEN G Xiao-hui, ZHAO Xin-feng, HU Zhen, ZHU Zhong-min, ZHAO Xin

(School of Science, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

**Abstract: Objective** To establish characteristic spectrum of ginsenosides in *Panax quinquefolium*

from Liuba. **Methods** Using C<sub>18</sub> solid phase-extraction cartridges, main ginsenosides from 40% ethanol extracts of *P. quinquefolium* were purified. Then the samples were analyzed by HPLC-EMS. **Results** From the total ion spectrum of *P. quinquefolium*, 3 stronger peaks were selected. Based on them, characteristic corresponding spectrum of ginsenosides in *P. quinquefolium* from Liuba was established.

**Conclusion** This method has reliable reproducibility and precision. Its simple pretreatment, easily operation, and rapidly analytic procedure show that this method is suitable for identifying *P. quinquefolium*.

**Key words:** electrospray-mass spectrometry (EMI); characteristic spectrum; characteristic corresponding spectrum; 24(R)-pseudo-ginenoside F<sub>11</sub>

西洋参为五加科植物西洋参的根。原产北美, 我国亦有栽培。其主要活性成分为人参皂苷, 根据母体结构可分为 20(S) 原人参二醇型(A 型)、20(S) 原人参三醇型(B 型)、齐墩果烷型(oleanane)(C 型)、奥克梯隆型(ocitillol)。具有镇静、镇痛作用, 对生命中枢有中度的兴奋作用和抑制肿瘤等药理活性。皂苷是一类极性较大、结构复杂的化合物, 有些仅在低波长有紫外吸收, 有些甚至无紫外吸收, 加之其测定经常受到药材中糖类成分的干扰, 因而分析难度大。曾有文献报道用 HPLC 测定西洋参中的人参皂苷, TLC<sup>[1]</sup>、LC-ELSD<sup>[2,3]</sup> 测定西洋参中无紫外吸收的拟人参皂苷 F<sub>11</sub>(p-F<sub>11</sub>)。本实验通过 C<sub>18</sub> 固相萃取柱对提取液进行了预处理, 排除了多糖的干扰, 然后以电喷雾离子阱质谱作为检测手段, 对该西洋参中的皂苷成分进行了分析, 建立了留坝西洋参中皂苷成分的特征对应图谱, 以期为西洋参的真伪鉴别和质

量控制打下基础。

**1 仪器与材料:** 液相色谱-质谱联用仪: Agilent 1100 系列液相色谱系统, 电喷雾离子源, 离子阱质量分析检测系统; Alltech 固相萃取仪, Agilent C<sub>18</sub> 固相萃取小柱; 基因公司 Maxima 超纯水机。

拟人参皂苷 p-F<sub>11</sub> 对照品(中国药品生物制品检定所, 批号为 841-9903), 西洋参药材(陕西省留坝县, 其他产地为市售), 甲醇(Fisher 公司 HPLC-Grade), 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件:** 色谱柱: Zorbax SB-C<sub>18</sub> (150 mm × 2.1 mm, 5 μm); 体积流量: 0.3 mL/min; 进样体积: 10 μL; 流动相: 5.0 mmol/L 甲醇胺(A), 甲醇(B); 梯度: 50% B 保持 15.0 min, 在 45 min 内至 100% B; 质谱条件: 电离源模式: 电喷雾电离源; 干燥气: 7 L/min; 雾化气压力: 241.3 kPa; 干燥气温度: 325 °C。

\* 收稿日期: 2004-04-24

基金项目: 陕西省科委项目“陕西省中药材规范化种植基地县”(2002-264)

作者简介: 郑晓晖(1968—), 男, 陕西西安市人, 理学学士, 教授, 中草药现代化研究与工程中心主任, 主要从事烟草化学及药物分析研究, 近年发表学术论文 40 余篇, 获 2004 年度国家烟草专卖局技术成果三等奖 1 项, 发明专利 2 项。

Tel/Fax: (029) 82655135 E-mail: zhengxh@xjtu.edu.cn

2.2 样品制备: 取干燥的西洋参药材适量, 粉碎, 精密称取 5.0 g, 加 40% 乙醇 50 mL, 超声处理 30 min, 抽滤, 重复 3 次, 合并抽滤液, 减压浓缩至 10 mL, 取 1.0 mL 上固相萃取小柱, 先用 0.5 mL 水洗脱, 弃去水洗脱液, 再用 10 mL 60% 甲醇洗脱, 待用。

2.3 精密度试验: 按 2.2 项下的样品处理方法制备样品, 连续进样 5 次, 每次 10.0  $\mu$ L, 在拟定实验条件下测定离子强度, 计算 3 强峰 RSD 分别为 1.26%、1.34%、0.96%。

2.4 稳定性试验: 按 2.2 项下的样品处理方法制备样品, 每 2 h 进样 1 次, 每次 10.0  $\mu$ L, 在拟定实验条件下测定离子强度, 计算 3 强峰 RSD 分别为 1.96%、2.34%、1.63%, 样品在 48 h 内稳定性良好。

2.5 重现性试验: 按 2.2 项下的样品处理方法平行处理 5 份样品, 分别进样, 每份每次 10  $\mu$ L, 在拟定实验条件下测定离子强度, 分别计算 3 强峰 RSD 分别为 2.12%、2.35%、1.84%。

2.6 回收率试验: 经图谱解析及 p-F<sub>11</sub> 对照品验证知<sup>[4,5]</sup>: 峰 2 为拟人参皂苷 p-F<sub>11</sub>, 故以此为指标测定加样回收率。精密称取西洋参药材 2.5 g, 加入 0.72 mg/mL 的 p-F<sub>11</sub> 对照品溶液 500  $\mu$ L, 按照 2.2 项下的样品制备方法制备样品, 在拟定实验条件下, 连续进样 3 次, 测定离子强度, 计算得平均回收率为 98.9% (n=6)。

2.7 西洋参药材特征图谱的建立: 西洋参药材 ESI-MS 图谱特征峰, 西洋参样品的正离子总离子流图(图 1)中高于最高丰度峰强 10% 的有 m/z 为 969.2、823.2、1131.4 的 3 个强色谱峰, 经过进一步的 MS-MS 分析, 发现其子离子峰均是母离子失去糖基的碎片峰, 初步推断为皂苷成分, 将此 3 个峰定为西洋参药材 ESI-MS 图谱的特征峰。此外曾在相同的实验条件下分析了流动相空白样, 将所得到的空白样质谱图与药材质谱图对照, 证实所选 3 强峰所对应的物质均来自实验用药材。据此, 笔者将所得到的总离子流图定义为留坝西洋参药材的 HPLC-ESI-MS 特征图谱。

实验共考察了同一部位, 相同生长年限和采收季节的留坝西洋参药材 10 批, 测定了 3 强峰的离子强度和三者比值, 结果表明 10 批样品间无明显性差异(表 1)。

2.8 西洋参药材皂苷成分 ESI-MS 特征对应图的建立: 根据西洋参药材总提取物的 SPE-ESI-MS 的正离子全扫描质谱图, 分别计算各特征峰的平均离

子强度的平均值(5 份平行样), 以此为纵坐标, 以特征峰所对应的物质的质荷比为横坐标作棒状图, 绘制西洋参药材皂苷成分的 ESI-MS 特征对应图, 结果见图 2。

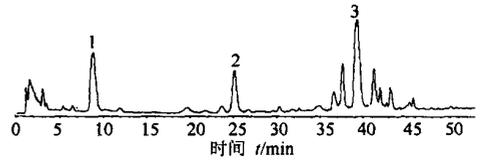


图 1 留坝西洋参药材特征图谱

Fig. 1 Characteristic spectrum of Liuba *P. quinquefolium*

表 1 10 批药材 3 强峰离子强度测定结果  
Table 1 Ionic strength results of three stronger peaks from ten batches of samples

批号	离子强度			比值	RSD/%		
	峰 1	峰 2	峰 3		峰 1	峰 2	峰 3
1	76 888 656 41	870 960 88 533 088	1	0.54	1.15		
2	75 698 644 40	571 329 86 135 640	1	0.54	1.14		
3	77 896 591 42	671 923 87 443 235	1	0.55	1.12		
4	74 325 642 39	514 867 83 972 641	1	0.53	1.13		
5	75 869 518 40	975 241 84 357 624	1	0.54	1.11	1.60	2.86 2.29
6	76 214 861 41	623 730 87 995 318	1	0.55	1.15		
7	75 643 784 40	226 349 85 839 571	1	0.53	1.13		
8	77 138 525 42	886 285 88 957 234	1	0.56	1.15		
9	75 982 549 41	025 183 85 136 972	1	0.54	1.12		
10	78 556 423 43	015 839 89 613 726	1	0.55	1.14		

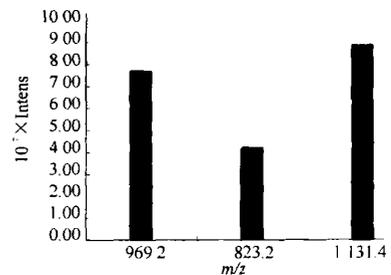


图 2 留坝西洋参皂苷成分的电喷雾-质谱特征对应图  
Fig. 2 ESI-MS characteristic spectrum of ginsenoside in Liuba *P. quinquefolium*

### 3 讨论

3.1 电喷雾-离子阱质谱法能对药材总提取物中各特征峰所对应的物质的化学成分进行快速鉴定, 进行多级质谱分析, 可从 IR、TIC 和 EIC 3 方面进行定性, 不仅可以获得化合物的一级结构信息(相对分子质量信息), 还可利用多级质谱技术, 获得各一级结构的多级碎片信息, 从而可得出一级碎片较为准确的结构, 并且液相色谱不能分开的物质, 在质谱中还可根据 m/z 的不同, 进行进一步的分离, 并且可同时获得多个组份的上述信息, 故该方法比一般药品

应用单一组份作为质量控制指标的方法更科学、更准确。

3.2 由图 2 知留坝西洋参提取液中 3 个特征强峰的比值为 1 0.54 1.13, 实验中还考察了吉林靖宇、北京怀柔、美国和加拿大西洋参, 发现 3 个特征强峰的比值分别为 1 2.35 1.54、1 0.79 0.51、1 1.10 1.08、1 1.27 1.62, 且总离子流图中不具备峰 3 位附近的组峰。实验共考察了 7 月份采集的 4 年生留坝西洋参主根 10 批, 批间 3 强峰 RSD 在 1.60% ~ 2.86% 内。可见, 所建立的留坝西洋参药材的特征对应图, 能反映该药材的主根部位特征, 可用于该部位留坝西洋参药材的真伪鉴别。不同部位、不同采收季节该西洋参药材化学物质及其相关特征性的研究正在进行中, 结果将另文报道。

致谢: Agilent 科技有限公司 Donation 计划提

供所用仪器设备。

References:

[1] Meng X Y, Li X G, Yu Y. Chemical constituents of flower buds of *Panax quinquefolium* L. cultivated in China [J]. *J Jilin Univ Agric* (吉林农业大学学报), 2000, 22(3): 1-8.

[2] Tang J, Lu J. Application of HPLC/EI-MS on quantitative determination of pseudoginsenoside F<sub>11</sub> in root of *Panax quinquefolium* L. [J]. *J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1999, 19(4): 241-243.

[3] Li W K, Fitzloff F. HPLC with evaporative light scattering detection as a tool to distinguish Asian ginseng (*Panax ginseng*) and north American ginseng (*Panax quinquefolium*) [J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2002, 25(1): 17-27.

[4] Zhou Y, Mo W J, Liu S Y. Application of ESI-MS/MS for the rapid determination of ginsenosidic mixture [J]. *Chem Bull* (化学通报), 1998 (2): 27-40.

[5] Richard B. van Breemen et al. Determination of ginsenosidic mixture by HPLC-ESI/MS [J]. *Spec Wild Econ Anim Plant Res* (特产研究), 1997 (4): 48-52.

## 东北红豆杉枝叶 HPLC 指纹图谱研究

杜智敏<sup>1</sup>, 陈瑞玲<sup>1</sup>, 杨宝峰<sup>2\*</sup>

(1. 哈尔滨医科大学附属二院临床药物研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086;  
2. 哈尔滨医科大学 药理学教研室, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: 目的 研究东北红豆杉枝叶中 HPLC 指纹图谱, 以便完整地反映东北红豆杉枝叶内在化学信息, 全面评价东北红豆杉内在质量。方法 采用高效液相色谱法分析东北红豆杉枝叶乙醇提取物。结果 建立了东北红豆杉指纹图谱, 对 10 批不同采收时间的东北红豆杉枝叶进行了指纹图谱分析, 得出主要共有峰相对保留时间, 相对峰面积作为东北红豆杉枝叶指纹谱相关技术参数。结论 东北红豆杉枝叶指纹图谱可用于评价其药材质量。

关键词: 东北红豆杉; HPLC 指纹图谱; HPLC

中图分类号: R 282.710.3

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)01-0106-03

### Analysis of *Taxus cuspidata* twigs and leaves by HPLC-FPS

DU Zhi-min<sup>1</sup>, CHEN Rui-ling<sup>1</sup>, YANG Bao-feng<sup>2</sup>

(1. Institute of Clinical Pharmacology and Pharmacy, The Second Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China; 2. Department of Pharmacology, Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

**Abstract: Objective** To study the HPLC fingerprints (HPLC-FPS) *Taxus cuspidata* twigs and leaves (TCTL) for reflecting the internal chemical information and evaluating its internal quality of TCTL. **Methods** HPLC was used to analyze the alcohol extracts of TCTL. **Results** The fingerprint of TCTL was established. HPLC-FPS of ten batches of *T. cuspidata* samples collected at different time were analysed and established. The correlation technical parameters of *T. cuspidata* were obtained, i. e. the main common peak with relative retention time and relative peak area. **Conclusion** The fingerprint can be used to evaluate the quality of TCTL.

**Key words:** *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.; HPLC-FPS; HPLC

紫杉醇作为疗效确切的抗肿瘤药物, 美国 FDA

已于 1992 年正式批准上市。但紫杉醇在树木中含量

\* 收稿日期: 2004-03-16

作者简介: 杜智敏(1956—), 女, 主任药师, 博士研究生导师, 从事新药开发和人体生物利用度与药理学研究。

\* 通讯作者 Tel: (0451) 86605353