

# 液相色谱-质谱联用方法在药用植物成分分析中的作用

项 贇, 李立军, 再帕尔·阿不力孜\*

(中国医学科学院·中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

关键词: 药用植物; 快速分析; LC-MS; MS/MS

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0513 - 4870(2002)05 - 0389 - 07

## 1 引言

近年来从天然产物中寻找可能发展为新药的先导化合物的研究又被重视, 由于用传统的分离方法从药用植物及海洋生物中分离纯化非常耗时, 因此对有生物活性的天然产物有效部位进行快速分析在药用植物研究中有重要意义。

大气压电离 (API) 的出现, 成功地解决了液相色谱和质谱联用的接口问题, 使液相色谱-质谱联用 (LC-MS) 逐渐发展成为成熟的技术。大气压电离包括大气压化学电离 (APCI) 和电喷雾电离 (ESI) 两种。APCI 主要应用于环境分析和医药研究领域, 在分析中、低极性的相对小分子化合物时, 使用 APCI 非常有效。ESI 则是一种很温和的离子化技术, 多用于极性、不挥发性、质量数较大、热不稳定的化合物, 尤其适用于生物分子聚合物的分析。常见的 LC-MS 联用接口还有热喷雾离子化接口、热束接口、粒子束接口等。

在大量生物样品的常规测试中, 为了避免其中含有的不挥发性物质, 如无机盐、蛋白质等对离子源的污染, 产生了 turboionspray, Z-spray 和正交气相辅助 ESI 等离子源, 这些离子源的共同特点是喷雾针与进样锥孔、环状电极不在一条轴线上, 而是成一定的角度, 有垂直式、转弯式、斜角式以及组合式。这些离子源的应用, 大大减少了离子源的污染<sup>[1]</sup>。早期的 ESI 接口最佳流速是  $5 \sim 10 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ , 现代气相辅助 ESI 接口最佳流速可提高到  $50 \sim 200 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 。为了提高最佳流速, 在 ESI 接口发展中的一个明显趋势是加热干燥气在离子源中的应用,

使用加热的氮气能大大加速液滴的蒸发。氮气流的方向在不同的离子源中不相同, 可以是顺流的或逆流的, 如在 Z-spray 接口中; 也可以如 turboionspray 接口一样, 与喷雾的方向垂直。

在样品量有限的情况下, 为了显著提高分析灵敏度, 一些低流速 ESI 源如  $\mu\text{spray}$ , Micro-ESI, termed Micro-ESI 和 nanospray 等<sup>[2]</sup> 也已经出现并使用, 这些离子源可产生流速低至几个  $\text{nL} \cdot \text{min}^{-1}$  到几  $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$  的喷雾, 可大大提高灵敏度。

药用植物提取物的 LC-MS 分析需解决的主要问题是提取物中存在的各种不同类型化合物的离子化问题。Wolfender 等<sup>[3]</sup> 分别对热喷雾接口 (TSP)、恒流快原子轰击接口 (CF-FAB) 和电喷雾接口 (ESI) 在植物提取物 LC-MS 分析中的应用进行研究。认为 LC-TSP/MS 适用于分子量为  $200 \sim 800 \text{ u}$  的中等极性的化合物, 如多酚类、萜类化合物; CF-FAB 及 ESI 接口更适合于分析分子量和极性较大的化合物。由于植物粗提物中通常含有不同类型的化合物, 应用不同类型的离子化方式对其进行分析, 以获得该提取物中组分的完整信息。

## 2 LC-MS 在药用植物成分定性分析中的应用

利用 LC-MS 分析混合样品, 和其他方法相比则高效快速, 灵敏度高, 只需对样品进行简单预处理或衍生化, 尤其适用于含量少、不易分离得到或在分离过程中易丢失的组分, 因此在药用植物研究中具有重要意义。

### 2.1 在已知化合物定性分析及结构鉴定中的应用

在样品量很少的情况下, 用 LC-MS 或者 LC-MS/MS 结合 LC-DAD (二极管阵列)-UV 技术, 通过对照组分和标准化化合物的保留时间、紫外吸收光谱以及质谱中的准分子离子峰  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$  和特征碎片峰等快速鉴定植物提取物中的已知成分。

He 等<sup>[4]</sup> 同时利用 LC-MS 和 LC-DAD-UV 成功地

收稿日期: 2001-05-29

作者简介: 项 贇 (1974-), 女, 博士研究生;

再帕尔·阿不力孜 (1961-), 男, 研究员。

\* 通讯作者 Tel: (010) 63165218, Fax: (010) 63017757,

E-mail: zeper@imm.ac.cn

对姜的辛辣成分进行了分析。首先对新鲜的姜提取物进行了 LC-UV 和 LC-ESIMS 谱的测定。LC-UV 谱中有 4 个峰的紫外吸收光谱均呈 gongerol 类化合物的特征吸收,其中峰 2 的 MS 谱给出了准分子离子峰  $[M+H]^+$  ( $m/z$  297),  $[M+Na]^+$  ( $m/z$  319) 以及聚合离子  $[2M+Na]^+$  ( $m/z$  615), 通过和标准化化合物的保留时间、紫外吸收光谱及质谱相对照,鉴定为 6-gingerdiol。用同样的方法,鉴定了 LC-UV 谱中其他结构类型的 10 个成分的结构。此外,他们还姜的含油树脂提取物进行了成分分析,根据紫外吸收光谱和质谱结果,成功地分析了其中 7 个成分的化合物结构,并分析推测了其他两个未知成分的化合物结构。

对于某些用 HPLC 方法不能得到良好分离的组分,可选用选择离子监测 (SIM) 进行分析。如 Chuang 等<sup>[5]</sup>利用 LC-UV-ESIMS 技术分析鉴定中药黄连粗提物中的异喹啉类生物碱时,由于在 LC-MS 的总离子流图谱上表小檗碱 ( $m/z$  336) 和药根碱 ( $m/z$  338) 的峰互相重叠,选用 SIM 的模式分别对总离子流中  $m/z$  336 和  $m/z$  338 的离子进行检测,可达到良好的分析效果。

LC-MS 和多种质谱分析手段相结合,能对植物提取物中的组分进行有效检测。如 Miletova 等<sup>[6]</sup>利用多种质谱技术对绿茶中的儿茶酸类化合物进行了定性分析。对于已分离得到的化合物,ESI-MS 和 FAB-MS 提供了化合物的分子量和结构信息,包括立体异构化合物的质谱差别。利用 LC-ESI/MS 技术对绿茶提取物直接进行分析,结合不同化合物的分子量和保留时间信息,可对所含的儿茶酸类进行有效鉴定。

对于在软电离条件下,只能检测到分子离子,不能得到碎片离子的植物成分,LC-MS 和 MS/MS 相结合可获得更多的结构信息。Ndjoko 等<sup>[7]</sup>利用 LC-TSPMS 并结合 LC-TSP-MS/MS 方法对大麻树脂提取物中的大麻酚类进行了定性分析。在 3 份不同的大麻树脂提取物样品中,共鉴定分析了  $\Delta^9$ -THC ( $m/z$  315) 等 11 个成分。Fuzzati 等<sup>[8]</sup>利用 LC-MS 直接分析了人参根提取物中含有的人参皂苷,共检测到 25 种人参皂苷,并分别检测其 MS/MS 谱,获得这些人参皂苷所连的糖基和苷元结构。Cui 等<sup>[9]</sup>则利用多级质谱测定了人参皂苷的糖链连接顺序,并结合 LC-MS/MS 作为补充手段以检测异构的皂苷结构。

Vogler 等<sup>[10]</sup>采用 LC-NMR 和 LC-MS 相结合的方法,对植物 *Vernonia fastigiata* 提取物中有抗菌作用

的组分倍半萜内酯类化合物进行了有效的分析。

2.2 在未知成分定性分析中的应用 LC-MS 法结合其他检测方法或利用某一类化合物特定的理化性质,可以对植物粗提物中某些未知成分进行直接分析,LC-DAD-UV 是对 LC-MS 的重要补充,能提供感兴趣的天然产物属于哪一类化合物等有用信息。近年来随着技术的发展,LC-NMR 也逐渐成为结构鉴定的一种有效方法。

我们运用“互补性”思路对经筛选有活性的天然产物提取物进行了成分分析<sup>[11-13]</sup>。首先,对由活性提取物中分离得到的数个某一类单体化合物进行了裂解规律探讨,研究并掌握了这一类化合物的裂解特征和结构上的细微差异带来的裂解行为的不同。在此基础上,将直接进样的 ESI-MS, FAB-MS 及其 MS/MS 与 LC-MS 及 LC-MS/MS 等多种质谱手段结合起来,考察相同提取部分中的微量成分,获得了大量有效的结构信息。对于新化合物或微量成分参照已掌握的同类已知结构的化合物的裂解规律对其结构进行了分析推测。充分发挥了不同质谱方法在成分分析中的作用。

治疗糖尿病的中药复方中,黄连是其中一味,经药效学研究证明,其总生物碱为有效部位,所含的多种生物碱中主要成分是小檗碱、棕榈碱、药根碱和黄连碱等。为了考察其中微量生物碱,运用上述质谱方法对由甲醇提取的总生物碱部分进行了分析研究。通过综合分析,发现了 5 个微量成分,并对它们的结构进行了分析推测。

萝摩科三酚丹是一种具有抗肿瘤活性的药用植物,其主要有效成分为菲吡啉里西丁类生物碱。首先采用 MS/MS 方法对分离得到的 3 种骨架 10 个菲吡啉里西丁类生物碱进行了详细的裂解规律探讨。在此基础上,用 MS/MS 及 LC-MS 技术对有效部位提取物进行了考察,分析检测到 11 个微量的菲吡啉里西丁类生物碱成分。通过参照单体化合物的质谱裂解规律,分析推测了一些微量成分的结构。该提取物中有些微量成分的最终结构尚待进一步确认。

龙胆科植物是一种新的抗抑郁药,其中所含有的吨酮有明显的抑制单胺氧化酶的活性,为了寻找新的吨酮类化合物,Wolfender 等<sup>[3]</sup>利用 LC-UV-DAD 和 LC-MS 技术对大量的龙胆科植物进行了化学筛选。由于吨酮类化合物有明显的紫外吸收特征,在 200 ~ 400 nm,有 4 个明显的吸收带,借助这一特征,可将吨酮类化合物与其他组分分开。龙胆科植物花锚的二氯甲醇提取物的 LC-UV 谱中有 19

个以上的峰有 吨酮的紫外吸收特征,这些 吨酮苷元和糖苷通过 SIM 技术来检测。如当检测单离子  $m/z$  363 时,有 3 个 吨酮类化合物同时具有  $m/z$  363 碎片离子,说明它们具有相同的 6 取代苷元。这 3 个化合物有相似的 UV 谱可证明它们是结构类似物,通过分析对照准分子离子和特征碎片离子,可知其中两个化合物为二糖苷,由于 *primeverosyl* 和 *gentiobiosyl* 是迄今为止在龙胆科植物中发现仅有的分子量与检测结果相符的二糖基,因此这两个化合物分别为 *primeverosyl* 及 *gentiobiosyl* 和苷元结合的化合物。这 3 个化合物的 UV 谱非常相似,但与任何已知化合物的 UV 谱都不完全一样,通过 LC-UV 和 LC-MS 检测到一类较为罕见的 吨酮化合物。采用相同的方法,也检测到了其他的苷元和相应的糖苷。在需要获得更多的结构信息时,通过使用柱后追加 UV 位移试剂,可得知  $-OH$  在多酚骨架上的取代位置。通过对分离得到的化合物的分析,确证 LC-UV 和 LC-MS 分析的结果。用上述方法共检测到 9 个新的 吨酮类天然产物。

Bringmann 等<sup>[14]</sup>采用 LC-NMR, LC-CD 和 LC-MS 等几种分析手段相结合的方法考察了热带葛藤类植物 *Habropetalum dawei* 提取物中所含有的成分,利用 LC-NMR 和 LC-MS 谱分析发现了两个新的天然产物 *isoquinoline phylline* 和 *naphthylisoquinoline alkoid 5'-O-methylidioncopeltine* 并鉴定了其结构,在此基础上利用 LC-CD 谱确定了其绝对构型。

Kusaka 等<sup>[15]</sup>用 LC-APCIMS 技术推测植物提取物中三酰基甘油的结构。天然三酰基甘油的摩尔吸收系数和胆甾醇的分子摩尔吸收系数比值由三酰基甘油中的双键数目决定。利用这一特点,结合分光光度法,对可溶性的植物油:紫苏子油、玉米油和橄榄油进行 LC-APCIMS 分析,推测了其中含有的三酰基甘油的可能结构。

### 3 LC-MS 在药用植物成分定量分析中的应用

利用 LC-MS 技术可以进行植物提取物中成分的定量分析,多级反应监测技术(MRM)是利用 LC-MS 进行定量分析最常用的技术,对于待测物,在一级质谱中,选定母离子,通过碰撞诱导裂解(CID)产生该化合物的某一特征子离子,这一特征子离子在二级质谱中得以检测,只有当一级质谱中选定的母离子在二级检测器上检测到了特征子离子时,才能检测到信号,故称为多级反应监测。它具有高灵敏度、高选择性、分析快速,适用于热不稳定化合物的分析等特点。

植物中所含有的茉莉酸(JA)、甲基茉莉酮酸酯(MJA)、水杨酸(SA)能对系统的防御反应起到调节作用,Sibylle 等<sup>[16]</sup>利用毛细管 LC-ESI-MS/MS 对植物提取物中所含有的 JA, MJA 和 SA 进行了定量分析。首先选择二氢化的 JA( $H_2$ -JA), 2-H 氘代的 MJA( $d_2$ -MJA) 和 4-H 氘代的 SA( $d_4$ -SA) 作为这 3 个化合物的内标化合物,然后寻找这 6 个化合物特征的母离子和子离子。在不同浓度(5 ng ~ 50 pg)的溶液中加入一定量的内标化合物,进行毛细管 LC-MS 测定,利用 MRM 技术检测特征的母离子和子离子,计算待测物和内标化合物的特征子离子峰面积,并得到“普通化合物/内标化合物子离子峰面积比-普通化合物/内标化合物浓度比”的标准曲线。在提取新鲜的杂交白杨叶的过程中加入已知量的内标化合物,利用标准曲线,分别测定了每克白杨叶中含 JA 2.6  $\mu$ g, MJA 1.3  $\mu$ g, SA 31.0  $\mu$ g。

Chauvaux 等<sup>[17]</sup>用 LC-ESI-MS/MS 对植物组织中微量成分氨基环丙烷羧酸(ACC)进行了定量分析。ACC 是个小分子化合物,分子量只有 101,由于在低质量端各种来源的噪音很强,用 LC-MS 直接分析较为困难,样品需先用异硫氰酸苯酯(PITC)衍生化,获得 ACC 的乙内酰硫脲苯化物 ACC-PTH。采用四氘代 ACC 作为内标化合物,利用 MRM 技术,可得到 ACC 对四氘代 ACC 在 50:1 ~ 1:50 的浓度比内有良好的线性关系。通过这种线性关系,很容易对被测样品中的 ACC 进行定量。根据上述工作,Chauvaux 等对植物烟草的根、茎、叶提取物中的 ACC 进行了定量分析。由于测定方法的高度特异性,测定内源性的氨基环丙烷羧酸不需提纯,尽管植物样品的成分非常复杂,色谱条件仍可优化至被分析成分与干扰成分很好地分离,并能在 12 min 内完成分析测试。

表 1 总结了近年来文献报道的主要研究实例。

### 4 小结

目前,植物化学主要研究内容之一是以生物活性作指导的提取分离,化学筛选以及对于有潜在活性的新型化合物进行有效检测分析是对生物活性筛选的重要补充。LC-MS 及 LC-MS/MS 是一种理想的快速分析手段,对混合物的分析有很高的灵敏度和选择性以及广泛的适用性,可大大缩短分析时间,减少原料的浪费,并可对感兴趣的化合物进行靶分析。通过分析对照已知化合物的色谱及质谱,或与 LC-DAD-UV 和 LC-NMR 等分析方法相结合,可对提取物中的已知、未知结构的成分进行定性分析;而利用

MRM 技术则可对植物中的某些成分进行定量分析。这一切使 LC-MS 在天然产物的研究中得以广泛的应用,为快速分析天然产物中的有效成分,加快寻找

先导化合物的分析途径提供了一个高效、切实可行的分析方法。

表 1 液相色谱-质谱联用技术分析药用植物成分的研究

分析内容	化合物类型	采用的离子源	分析方法
研究龙胆科植物花锚中 吨酮类化合物 <sup>[3]</sup>	多酚类	TSP	LC-MS, LC-DAD UV
快速鉴定分析姜的辛辣挥发油成分 <sup>[4]</sup>	Gongerol 类化合物	ESI	LC-MS, LC-UV
定性分析黄连提取物中的生物碱 <sup>[5]</sup>	异喹啉生物碱类	ESI	LC-UV-ES-MS
定性分析绿茶中的儿茶酸类成分 <sup>[6]</sup>	儿茶酸类	(-) ESI	LC-MS
定性定量检测大麻提取物中的大麻酚类 <sup>[7]</sup>	大麻酚类化合物	TSP	LC-MS, LC-MS/MS
定性分析人参根中人参皂苷 <sup>[8,9]</sup>	人参皂苷	(-) ESI	LC-MS, MS/MS
直接分析植物 <i>Vernonia fastigiata</i> 提取物中有抗菌作用的组分 <sup>[10]</sup>	倍半萜内酯类化合物		LC-MS, LC-NMR
定性分析黄连提取物中的生物碱 <sup>[12]</sup>	异喹啉生物碱类	(+) ESI	LC-MS, LC-MS/MS, HRMS
定性分析植物三酚丹提取物中菲吡啶里西丁类生物碱 <sup>[13]</sup>	菲吡啶里西丁类生物碱	(+) ESI	LC-MS, LC-MS/MS, HRMS
鉴定植物提取物中三酰基甘油的结构 <sup>[15]</sup>	三酰基甘油	APCI	LC-MS
定量测定植物提取物中的 JA, MJA 和 SA <sup>[16]</sup>	JA, MJA, SA	ESI	CLC-ES-MS/MS 结合 MRM 技术
定量分析烟草提取物中的氨基环丙烷羧酸 <sup>[17]</sup>	氨基环丙烷羧酸	ESI	LC-ES-MS/MS
定性分析红三叶草提取物中的类黄酮成分 <sup>[18]</sup>	黄酮类	ESI	LC-MS, LC-DAD UV
分析金丝桃提取物中的活性成分 <sup>[19]</sup>	萜双萜酮	(+) TSP, (-) ESI	LC-MS, LC-DAD UV
定性分析醉椒提取物中的已知成分 <sup>[20]</sup>	卡法内酯	ESI	LC-MS, LC-UV
植物醉椒提取物中的 6 种卡法内酯的定性分析 <sup>[21]</sup>	卡法内酯	APCI	LC-MS, LC-UV
通过和标准化合物的保留时间, UV-Vis 谱, MS 谱定性分析植物 <i>Phillyrea angustifolia</i> L. 叶提取物 <sup>[22]</sup>	黄酮及黄酮苷	(-) TSP	LC-DAD UV, LC-MS
定性分析异黄酮混合物 <sup>[23]</sup>	异黄酮类	(-) APCI	LC-CID-MS
定性分析植物提取物中的类胡萝卜素 <sup>[24]</sup>	胡萝卜素	(±) APCI	LC-APCI-MS, LC-DAD UV
定性检测金鸡纳嫩苗培养物中的吡啶生物碱 <sup>[25]</sup>	吡啶生物碱	TSP	LC-MS, LC-DAD UV
定性检测植物提取物中的生长激素 brassinosteroids 类化合物 <sup>[26]</sup>	Brassinosteroids	APCI	LC-MS
定性定量检测苏林南苦木提取物中的苦木素 <sup>[27]</sup>	苦木素	(+) TSP	LC-MS
定性分析栽培和野生芥末中的 glucosinolate 类化合物 <sup>[28]</sup>	Glucosinolate	ESI	LC-MS, LC-DAD UV
定性分析植物树脂酯半日花树叶中的类黄酮 <sup>[29]</sup>	类黄酮	PB	LC-MS
检测 <i>Cepis alpina</i> 和 <i>Vernonia galanensis</i> 中的三酰基甘油的种类 <sup>[30]</sup>	三酰基甘油	APCI	RP-LC-MS
定性分析植物柳叶菜的水/乙醇提取物中的已知和未知组分 <sup>[31]</sup>	鞣质类, 类黄酮	(-) ESI	LC-MS, 1D-NMR, 2D-NMR
定性分析欧洲桦中的水解鞣质 <sup>[32]</sup>	鞣质类	(-) ESI	LC-MS, LC-DAD UV
定性分析香豆素类化合物的混合物 <sup>[33]</sup>	香豆素类	(±) APCI, (±) ESI	LC-MS, MECC
测定植物贯叶金丝桃中的萜并二萜酮 <sup>[34]</sup>	萜并二萜酮类	(-) ESI	LC-MS, LC-MS/MS
定性分析植物假马齿苋提取物中的皂苷类 <sup>[35]</sup>	皂苷类	(+) APCI	LC-MS, LC-NMR
定量检测并比较人参和西洋参中的人参皂苷 <sup>[36]</sup>	皂苷类	(+) ESI	LC-MS, LC-MS/MS 结合 SRM 技术
检测油橄榄提取物中的酚类化合物 <sup>[37]</sup>	酚类	(-) ESI	LC-MS, MS, NMR
定性分析植物 <i>Bupleurum flavum</i> 地上部分提取物中的黄酮醇苷元 <sup>[38]</sup>	黄酮醇类	TSP	LC-DAD UV, LC-MS
分析植物 <i>Rhamnus prinoides</i> 提取物中的组分 <sup>[39]</sup>	Naphthalenic 类黄酮, 萜醌类	ESI	LC-MS
检测植物 <i>Psychotria species</i> 和 <i>Psychotria muscosa</i> 提取物中的生物碱 <sup>[40]</sup>	Pyrrrolidinoindoline 喹啉类生物碱	(+) ESI, TSP	LC-DAD MS/MS
检测并定量分析植物枸杞中的甜菜碱 <sup>[41]</sup>	三甲铵内酯类	(+) ESI	LC-MS
定性检测柑橘皮中的苷类化合物 <sup>[42]</sup>	柠檬苦素类似物糖苷	ESI	LC-MS, NMR
定性检测丁香罗勒中的微量黄酮类化合物 <sup>[43]</sup>	黄酮类化合物	(±) APCI	LC-DAD, LC-MS
定性分析遏蓝菜种子提取物中的成分 <sup>[44]</sup>	葡萄糖苷类	APCI	LC-MS
定量检测银杏叶提取物中银杏酚酸的含量 <sup>[45]</sup>	酚类化合物	(-) ESI	LC-MS 结合 SRM 技术
定性分析银杏叶及果实中银杏酚酸的结构 <sup>[46]</sup>	酚类化合物	(-) ESI	LC-MS

续表 1

分析内容	化合物类型	采用的离子源	分析方法
检测屈曲花等五种药用植物中的葫芦素类化合物 <sup>[47]</sup>	葫芦素类化合物	ESI, APCI	LC-MS
分析检测花菱草中的异喹啉生物碱 <sup>[48]</sup>	异喹啉生物碱	(+) ESI	离子对 LC-MS/MS, LC-DAD
定性分析植物榄仁中的鞣花单宁 <sup>[49]</sup>	鞣质类化合物	ESI	LC-UV-MS, MS/MS
定性分析报春属植物 <i>Primula veris</i> 中的甲基化黄酮类化合物 <sup>[50]</sup>	甲基化黄酮	ESI	LC-DAD, LC-MS, LC-MS/MS
分析绿茶多酚提取物中的微量成分及新的天然产物 <sup>[51]</sup>	儿茶素类化合物	ESI	LC-MS, MS/MS, HRMS
定性定量分析金丝桃提取物 <sup>[52]</sup>	萘双蒽酮、蒽醌类化合物	ESI	LC-DAD, LC-MS
分析植物 <i>Muclura pomifera</i> 根提取物中的异戊二烯化吨酮类和黄烷酮类化合物 <sup>[53]</sup>	多酚类化合物	(+) APCI	LC-MS 结合 NMR
检测内蒙黄芪和膜荚黄芪中的黄酮类化合物 <sup>[54]</sup>	黄酮类化合物	ESI	LC-MS

## REFERENCES:

- [1] Nissen WMA. State-of-the-art in liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 1999, **856**(1/2): 179 - 197.
- [2] Matthias W, Matthias M. Analytical properties of the nano-electrospray ion source [J]. *Anal Chem*, 1996, **68**(1): 1 - 8.
- [3] Wolfender JL, Rodriguez S, Hostettmann K. Liquid chromatography coupled to mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy for the screening of plant constituents [J]. *J Chromatogr A*, 1998, **794**(1/2): 299 - 316.
- [4] He XG, Bernart MW, Lian LZ, et al. High-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometric analysis of pungent constituents of ginger [J]. *J Chromatogr A*, 1998, **796**(2): 327 - 334.
- [5] Chuang WC, Young DS, Liu LK, et al. Liquid chromatographic-electrospray mass spectrometric analysis of *Coptidis Rhizoma* [J]. *J Chromatogr A*, 1996, **755**(1): 19 - 26.
- [6] Miletova P, Schram KH, Whitney JL, et al. Mass spectrometry of selected components of biological interest in green tea extracts [J]. *J Nat Prod*, 1998, **61**(4): 461 - 467.
- [7] Ndjoko K, Wolfender JL, Hostettmann K. Analysis of cannabinoids by liquid chromatography-thermospray mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chromatographia*, 1998, **47**(1/2): 72 - 76.
- [8] Fuzzati N, Gabetta B, Jayakar K, et al. Liquid chromatography-electrospray mass spectrometric identification of ginsenosides in *Panax ginseng* roots [J]. *J Chromatogr A*, 1999, **854**(1/2): 69 - 79.
- [9] Cui M, Song FR, Zhou Y, et al. Rapid identification of saponins in plant extracts by electrospray ionization multi-stage tandem mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2000, **14**(14): 1280 - 1286.
- [10] Vogler B, Kloiber I, Roas G, et al. Combination of LC-MS and LC-NMR as tool for the structure determination of natural products [J]. *J Nat Prod*, 1998, **61**(2): 175 - 178.
- [11] Abliz Z, Li LJ, Xiang Y, et al. Trace constituent analysis of active extraction of medicinal plants by mass spectrum techniques [A]. *Symposium of the 5th Meeting of the Chinese Doctor's Forum On New Medicine Abstract* [C]. 2000. 96 - 97.
- [12] Li LJ, Abliz Z, Xiang Y, et al. Study on alkaloid contained in *Rhizoma Coptis* by MS/MS and LC-MS/MS [J]. *J Chin Soc Mass Spectrom (质谱学报)*, 2000, **21**(3/4): 81 - 82.
- [13] Xiang Y, Abliz Z, Li LJ, et al. Study on active constituents of *Tylophora atrofoliculata* by LC-MS and MS/MS [J]. *J Chin Soc Mass Spectrom (质谱学报)*, 2000, **21**(3/4): 79 - 80.
- [14] Bringmann G, Messer K, Wohlfarth M, et al. HPLC-CD on-line coupling in combination with HPLC-NMR and HPLC-MS/MS for the determination of the full absolute stereostructure of new metabolites in plant extracts [J]. *Anal Chem*, 1999, **71**(14): 2678 - 2686.
- [15] Takashi K, Sachiko I, Masako S, et al. Composition analysis of normal plant triacylglycerols and hydroperoxidized *rac*-1-stearoyl-2-oleoyl-3-linoleoyl-sn-glycerols by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 1996, **730**(1/2): 1 - 7.
- [16] Sibylle MW, Lowell HE, Milton PG. Quantification of jasmonic acid, methyl jasmonate, and salicylic acid in plants by capillary liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Anal Biochem*, 1998, **257**(2): 186 - 194.
- [17] Chauvaux N, Van DW, Esmans EL, et al. Quantitative analysis of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 1997, **775**(1/2): 143 - 150.
- [18] He XG, Lin LZ, Lian LZ. Analysis of flavonoids from red clover by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 1996, **755**(1): 127 - 132.
- [19] Brolis M, Gabetta B, Fuzzati N, et al. Identification by high-performance liquid chromatography-diode array detector-mass spectrometry and quantification by high-performance liquid chromatography-UV absorbance detection of active con-

- stituents of *Hypericum perforatum* [ J ]. *J Chromatogr A*, 1998, **825**(1) :9 - 16 .
- [ 20 ] He XG, Lin LZ, Lian LZ. Electrospray high performance liquid chromatography-mass spectrometry in phytochemical analysis of Kava ( *Piper methysticum* ) extract [ J ]. *Planta Med*, 1997, **63**(1) :70 - 74 .
- [ 21 ] Shao Y, He K, Zheng BL, et al. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for quantitative analysis of the six major kavalactones in *Piper methysticum* [ J ]. *J Chromatogr A*, 1998, **825**(1) :1 - 8 .
- [ 22 ] Romani L, Baldi A, Mulinacci N, et al. Extraction and identification procedures of polyphenolic compounds and carbohydrates in phillyrea ( *Phillyrea angustifolia* L. ) leaves [ J ]. *Chromatographia*, 1996, **42**(9/10) :571 - 577 .
- [ 23 ] Aramendia MA, Garcia I, Lafont F, et al. Determination of isoflavones using high-performance liquid chromatography with atmosphere-pressure chemical ionization mass spectrometry [ J ]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 1995, **9**(6) :503 - 508 .
- [ 24 ] Richard BVB, Huang CR, Tan Y, et al. Liquid chromatography/mass spectrometry of carotenoids using atmospheric pressure chemical ionization [ J ]. *J Mass Spectrom*, 1996, **31**:975 - 981 .
- [ 25 ] Giroud C, Van der Leer T, Van der Heijden R, et al. Thermospray liquid chromatography/mass spectrometry analysis of the alkaloids from *Cinchona in vitro* cultures [ J ]. *Planta Med*, 1991, **57**(2) :142 - 148 .
- [ 26 ] Gamoh K, Abe HT, Schimada K, et al. Liquid chromatography/mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization of free brassinosteroids [ J ]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 1996, **10**(8) :903 - 906 .
- [ 27 ] Vitanyi G, Bihatsi KE, Lefler J, et al. Application of high performance liquid chromatography/mass spectrometry with ionization to the detection of quassinoids extracted from *Quassia amara* L [ J ]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 1997, **11**(6) :691 - 693 .
- [ 28 ] Erybko CL, Fukuda EK, Rosen RT. Identification of soyasaponins by liquid chromatography thermospray mass spectrometry [ J ]. *J Chromatogr A*, 1997, **777**(1) :233 - 238 .
- [ 29 ] Chaves N, Rios JJ, Gutierrez C, et al. Analysis of secreted flavonoids of *Cistus ladanifer* L. by high-performance liquid chromatography partial beam mass spectrometry [ J ]. *J Chromatogr A*, 1998, **799**(1/2) :111 - 115 .
- [ 30 ] Neff WE, Byrdwell WC. Triacylglycerol analysis by high performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [ J ]. *J Liquid Chromatogr*, 1995, **18**(20) :4165 - 4181 .
- [ 31 ] Nawwar MAM, Marzouk MS, Nigge W, et al. HPLC/ESI-MS screening for polyphenolic compounds of epilobium hirsutum—the structure of the unique ellagitannin epilobamide-A [ J ]. *J Mass Spectrom*, 1997, **32**(6) :645 - 654 .
- [ 32 ] Salminen JP, Ossipov V, Loponen J, et al. Characterisation of hydrolysable tannins from leaves of *Betula pubescens* by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [ J ]. *J Chromatogr A*, 1999, **864**(2) :283 - 291 .
- [ 33 ] Ganzer M, Sturm S, Stuppner H. HPLC-MS and MECC analysis of coumarins [ J ]. *Chromatographia*, 1997, **46**(3/4) :197 - 203 .
- [ 34 ] Piperopoulos G, Lotz R, Wixforth A, et al. Determination of naphthodianthrones in plant extracts from *Hypericum perforatum* L. by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry [ J ]. *J Chromatogr B*, 1997, **695**(2) :309 - 316 .
- [ 35 ] Renukappa T, Roos G, Klaiiber I, Vogler B, et al. Application of high-performance liquid chromatography coupled to nuclear magnetic resonance spectrometry, mass spectrometry and bioassay for the determination of active saponins from *Bacopa monniera* Wettst [ J ]. *J Chromatogr A*, 1999, **847**(1/2) :109 - 116 .
- [ 36 ] Wang X, Sakuma T, Asafur Adjaye E, et al. Determination of ginsenosides in plant extracts from *Panax ginseng* and *Panax quinquefolius* L. by LC/MS/MS [ J ]. *Anal Chem*, 1999, **71**(8) :1579 - 1584 .
- [ 37 ] Ryan D, Robards K, Prenzler P, et al. Liquid chromatography with electrospray ionisation mass spectrometric detection of phenolic compounds from *Olea europaea* [ J ]. *J Chromatogr A*, 1999, **855**(2) :529 - 537 .
- [ 38 ] Gevrenova R, Dimitrova B, Asenov IV. Flavonols from *Bupleurum flavum* forsk-family Apiaceae [ J ]. *Farmatsiya*, 1997, **44**(3/4) :9 - 14 .
- [ 39 ] Nindi MM, Kgarebe BV, Wolfender JL, et al. Electrospray liquid chromatography-mass spectrometry of the leaf extract of *Rhamnus prinoides* [ J ]. *Phytochem Anal*, 1999, **10**(2) :69 - 75 .
- [ 40 ] Verotta L, Peterlongo F, Elisabetsky E, et al. High-performance liquid chromatography-diode array detection-tandem mass spectrometry analysis of the alkaloid extracts of *Amazon psychotria* species [ J ]. *J Chromatogr A*, 1999, **841**(2) :165 - 176 .
- [ 41 ] Shin YG, Cho KH, Kim JM, et al. Determination of betaine in *Lycium chinensis* fruits by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [ J ]. *J Chromatogr A*, 1999, **857**(1/2) :331 - 335 .
- [ 42 ] Tian QG, Dai J, Ding XL. Screening for limonoid glucosides in *Citrus grandis* L. Osbeck by high performance liquid chromatography-electrospray ionization/mass spectrometry [ J ]. *Chin J Chromatogr ( 色谱 )*, 2000, **18**(4) :291 - 294 .
- [ 43 ] Grayer RJ, Kite GC, Abou-Zaid M, et al. The application of atmospheric pressure chemical ionization liquid chromatography-mass spectrometry in the chemotaxonomic study of flavonoids: characterization of flavonoids from *Cuminum gratissimum* var. *gratissimum* [ J ]. *Phytochem Anal*, 2000, **11**(4) :257 - 267 .
- [ 44 ] Tolra RP, Alonso R, Poschenrieder C, et al. Determination of glucosinolates in rapeseed and *Thlaspi caerulescens* plants by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical

- ionization mass spectrometry [ J ]. *J Chromatogr A*, 2000 , **889**(1/2) :75 - 81 .
- [ 45 ] Ndjoko K, Wolfender JL, Hostettmann K. Determination of trace amounts of ginkgolic acids in *Ginkgo biloba* L. leaf extracts and phytopharmaceuticals by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry [ J ]. *J Chromatogr B: Biomed Sci Appl*, 2000 , **744**(2) :249 - 255 .
- [ 46 ] He XG, Bernart MW, Nolan GS, *et al.* High-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry study of ginkgolic acid in the leaves and fruits of the ginkgo tree [ J ]. *J Chromatogr Sci*, 2000 , **38**(4) :169 - 173 .
- [ 47 ] Sturm S, Stuppner H. Analysis of cucurbitacins in medicinal plants by high-pressure liquid chromatography-mass spectrometry [ J ]. *Phytochem Anal*, 2000 , **11**(2) :121 - 127 .
- [ 48 ] Fabre N, Claparols C, Richelme S, *et al.* Direct characterization of isoquinoline alkaloids in a crude plant extract by ion-pair liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry: example of *Eschscholzia californica* [ J ]. *J Chromatogr A*, 2000 , **904**(1) :35 - 46 .
- [ 49 ] Silva O, Gomes ET, Wolfender JL, *et al.* Application of high performance liquid chromatography coupled with ultraviolet spectroscopy and electrospray mass spectrometry to the characterization of ellagitannins from *Terminalia macropera* roots [ J ]. *Pharm Res*, 2000 , **17**(11) :1396 - 1401 .
- [ 50 ] Huck CW, Huber CG, Ongania KH, *et al.* Isolation and characterization of methoxylated flavones in the flowers of *Primula vensis* by liquid chromatography and spectrometry [ J ]. *J Chromatogr A*, 2000 , **870**(1/2) :453 - 462 .
- [ 51 ] Miketova P, Schram KH, Whitney JL, *et al.* Tandem mass spectrometry studies of green tea catechins. Identification of three minor components in the polyphenolic extract of green tea [ J ]. *J Mass Spectrom*, 2000 , **35**(7) :860 - 869 .
- [ 52 ] Mauri P, Pietta P. High-performance liquid chromatography/electrospray mass spectrometry of *Hypericum perforatum* extracts [ J ]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2000 , **14**(2) :95 - 99 .
- [ 53 ] Da C, Cristina T, Dalluge JJ, *et al.* Characterization of prenylated xanthenes and flavanones by liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [ J ]. *J Mass Spectrom*, 2000 , **35**(4) :540 - 549 .
- [ 54 ] Lin LZ, He XG, Lindenmaier M, *et al.* Liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry study of the flavonoids of the roots of *Astragalus mongholicus* and *A. membranaceus* [ J ]. *J Chromatogr A*, 2000 , **876**(1/2) :87 - 95 .

## APPLICATION OF LC-MS IN THE ANALYSIS OF CONSTITUENTS OF CRUDE PLANT EXTRACTS

XIANG Yun, LI Li-jun, ABLIZ Zeper

(*Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union  
Medical College, Beijing 100050, China*)

**KEY WORDS:** medicinal plant; rapid analysis; LC-MS; MS/MS