

利用高速逆流色谱和电喷雾质谱研究西洋参中皂苷

王晶¹, 刘春明¹, 刘志强², 白鹤龙¹

(1. 长春师范学院, 吉林 长春 130032; 2. 中国科学院长春应用化学研究所, 吉林 长春 130022)

Study on Ginsenosides in *Panax quinquefolium* L. by HSCCC and ESI-MS

WANG Jing¹, LIU Chun-ming¹, LIU Zhi-qiang², BAI He-long¹

(1. Changchun normal university, Changchun 130032, China;

2. Changchun Institute of Applied Chemistry, Changchun 130022, China)

Abstract: High-speed counter-current chromatography(HSCCC) and electrospray ionisation mass spectrometry (ESI-MS) were developed for the analysis the ginsenosides in plant, which were extracted from the root of *Panax quinquefolium* L.. ESI-MS experiment was carried out to aid the identification of three ginsenosides obtained in HSCCC by comparing the molecular weights and fragment ions of the molecular ion with that of the standard. It is a simple and quick analysis technology.

Key words: HSCCC; ESI-MS; ginsenosides; *Panax quinquefolium* L.

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2009) 增刊-0079-02

中药西洋参 (*Panax quinquefolium* L.) 五加科人参属植物西洋参的根, 具有中枢神经系统、心血管系统、肝损伤保护、抗癌、免疫、抗衰老等功效^[1], 其主要活性物质为人参皂苷类化合物。目前人参皂苷单体主要从植物中进行提取, 高纯度的单体人参皂苷比较昂贵, 因此, 快速、大量、低成本的从人参属植物中提取人参皂苷类化合物是重要的发展方向, 对于人参药物的开发具有重要意义^[2]。HSCCC技术在中药研究中的应用越来越广泛, 而质谱技术也是一种日趋成熟的检测手段。通过逆流色谱作为提取纯化手段, 并采用串联质谱技术分析西洋参中皂苷成分, 得出纯度较高的人参皂苷单体, 可为从事西洋参和药物质谱方面的工作者提供研究天然药物的条件。

1 试验部分

1.1 主要仪器与试剂

CPC240 高速逆流色谱: 日本 EverSeiko 公司产品; Alltech 2000ES 蒸发光检测器: 美国 Alltech 公司产品; Finigan LCQTM 电喷雾质谱仪: 美国 Thermo-Finnigan 公司产品; SanoriusBS110S 分析天平: 北京赛多利斯有限公司产品。正丁醇、乙酸乙酯、乙醇 (分析纯): 北京化工厂产品; 西洋参: 购自同仁堂药店。

1.2 样品处理方法

称取60 g西洋参粉末, 用600 mL, 80%乙醇在室温下浸泡, 超声提取1 h, 重复此过程提取6次。将80%乙醇提取液过滤, 合并滤液。减压回收乙醇溶液, 旋转蒸发至干 (<50 °C), 用200 mL蒸馏水溶解。水液部分用正己烷脱脂3次, 每次200 mL, 弃去正己烷溶液, 水液部分再用等体积的水饱

作者简介: 王晶 (1984~), 女 (满族), 吉林长春人, 硕士研究生, 从事天然药物化学研究。E-mail: zixi21@163.com

通信作者: 刘春明 (1964~), 女 (汉族), 吉林通化人, 教授, 博士, 从事天然药物化学研究。E-mail: chunmingliu2000@yahoo.com.cn

和正丁醇反复萃取,直至正丁醇层颜色变浅,合并正丁醇层,减压回收至干($<50\text{ }^{\circ}\text{C}$),用蒸馏水溶解后,冷冻干燥,得3.396 g正丁醇提取物,储存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,待用。

1.3 高速逆流色谱和电喷雾质谱条件

1.3.1 HSCCC 条件 溶剂系统为 V (正丁醇): V (乙酸乙酯): V (水) = 1:1:2, 上相作固定相,下相作流动相,流动相洗脱流速 $1.5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 柱体积 80 mL ; 转速 $1\ 300\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量约 30 mg , 用各 1 mL 上下相溶解后进样; ELSD 条件: 漂移管温度 $118\text{ }^{\circ}\text{C}$, 载气流速 $3.0\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

1.3.2 质谱条件 喷雾电压 4.5 kV ; 金属毛细管温度 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$; 鞘气为 N_2 , 压力为 $6.8\times 10^2\text{ kV}$; 辅助气体为 He , 压力为 $1.0\times 10^2\text{ kPa}$; 分析条件采用负离子模式; 扫描范围为 $m/z\ 200\sim 1\ 500$ 。

2 结果与讨论

2.1 西洋参的 HSCCC 分离

按上述条件,西洋参中的皂苷类化合物得到良好的分离,逆流色谱图示于图 1。

2.2 西洋参中皂苷的分析

电喷雾质谱在负离子模式下,皂苷化合物以 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、 $[\text{2M}-\text{H}]^-$ 准分子离子形式存在,通过一级谱的质荷比并结合串联质谱的裂解碎片数据对化学成分进行归属,峰 3 主要是 $m/z\ 945$, 串联质谱的裂解碎片包括 $m/z\ 799$ 、 783 、 765 、 637 、 475 , 将其表现形式进行归属,示于图 2。 $m/z\ 799$ 、 783 分别为裂解掉一分子鼠李糖和一分子葡萄糖的产物; $m/z\ 637$ 为裂解掉 6 位上双糖基; $m/z\ 765$ 为裂解掉 20 位葡萄糖,并裂解掉一分子水的产物; $m/z\ 475$ 为裂解掉全部糖基后的人参三醇型皂苷元,与对照品进行对比并结合文献^[3]证明峰 3 为人参皂苷 Re。同法得出峰 1 为人参皂苷 Rc, 峰 2 为人参皂苷 Rb₁。

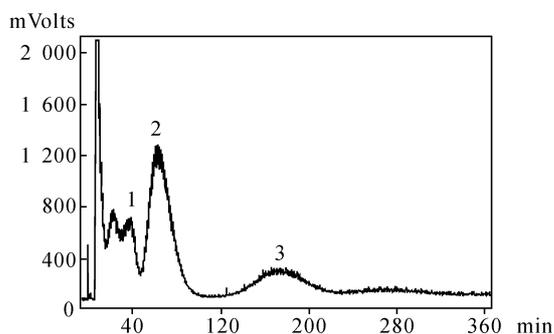


图 1 西洋参高速逆流色谱图
Fig.1 HSCCC chromatography of *Panax quinquefolium*

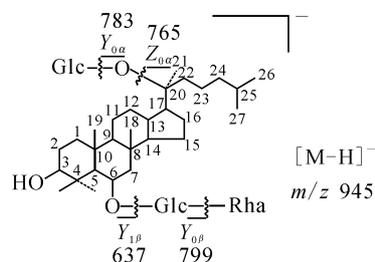


图 2 人参皂苷 Re 质谱裂解途径
Fig.2 Proposed fragmentation pathway for the deprotonated molecular ion $[\text{M}-\text{H}]^-$ of ginsenoside Re

3 结论

利用电喷雾质谱技术对高速逆流色谱所分离的 3 种主要西洋参中皂苷类化合物进行了研究,通过质谱中准分子离子峰并结合裂解的碎片数据对其成分进行归属,该方法对于快速、简捷分析化合物起到重要的作用。

参考文献:

- [1] 王 蕾, 王英平, 许世泉, 等. 西洋参化学成分及药理活性研究进展[J]. 特产研究, 2007, 3: 73-77.
- [2] ZHANG S Q, CHEN R Z, WU H, et al. Ginsenoside extraction from *Panax quinquefolium* L.(American ginseng) root by using ultrahigh pressure[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006, 41(1): 57-63.
- [3] CUI M, SONG F R, 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 Communications in Mass Spectrometry, 2000, 14(14): 1 280-1 286.