



续断的色谱指纹及 LC-ESI-MS 分析

韦英杰¹, 贾晓斌^{1*}, 樊宏伟², 彭蕴茹¹, 詹雯¹

- (1. 江苏省中医药研究院 中药新型给药系统重点实验室, 国家中医药管理局中药口服释药系统重点研究室, 江苏 南京 210028;
2. 南京医科大学 附属南京第一医院 临床药理实验室, 江苏 南京 210006)

【摘要】 目的:建立中药续断高效液相指纹图谱, 分析色谱峰的化合物类型和质谱特征, 提高续断的质量控制水平。**方法:**采用高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD), Zorbax Extend C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 乙腈-0.1% 磷酸水梯度洗脱, 以川续断皂苷 VI 为参照物, 建立续断色谱指纹。通过二极管阵列检测分析色谱指纹峰的化合物类型, 采用液相色谱与电喷雾质谱联用技术首次分析了续断化学成分的质谱特征。**结果:**确定 24 批续断药材的 17 个共有峰, 该指纹图谱具有良好的精密度、稳定性和重复性, 成功用于 24 批续断药材的质量评价。二极管阵列检测区分了续断皂苷和非皂苷类化合物的指纹峰, 液相色谱与质谱联用技术鉴定了 30 多个化合物的相对分子质量, 通过与对照品或文献对照对其中 10 个特征成分进行了推测、确认。**结论:**采用高效液相色谱与质谱联用技术对续断指纹图谱中的特征峰进行结构确认, 结束了续断色谱指纹盲分析的现状, 可使其色谱指纹图谱的特征性更强, 能更有效、全面的控制续断药材质量。

【关键词】 续断; 指纹图谱; 高效液相色谱; 电喷雾质谱

续断为川续断科植物川续断 *Dipsacus asper* Wall. ex Henry 的干燥根, 具有补肝肾, 强筋骨, 续折伤, 止崩漏之功效^[1]。续断主要含有三萜皂苷类、生物碱类等成分^[2-3], 但不同产地续断皂苷类和生物碱类成分含量差异均较大, 关于续断药材的质量控制研究多为川续断皂苷 VI、续断总皂苷或总生物碱的含量测定, 手段方法也较为传统, 实验结果存在片面性^[4-6]。故建立续断药材的有效质量控制方法更具意义。

近年来色谱指纹图谱技术正日益成为中药质量控制的有效手段^[7-9], 目前关于续断色谱指纹研究亦有报道^[10-12], 但存在化学特征信息量少或分析时间过长的不足, 而且除了川续断皂苷 VI 可用对照品确认外, 其他大量色谱峰成分的鉴定尚属空白, 现有研究尚未能全面、有效表征续断化学成分的特征, 难以有效控制续断质量。本研究采用高效液相色谱法检测续断化学成分建立续断色谱指纹图谱, 结合二极

管阵列检测分析色谱指纹峰的化合物类型, 进一步通过高效液相色谱-电喷雾质谱联用技术首次分析了续断化学成分的质谱特征, 通过与对照品或文献对照对续断化学成分进行鉴定。本研究有效弥补了现有续断质量控制的不足, 为续断药材的深入质量控制奠定坚实基础。

1 材料

Agilent 1100 型系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), 包括 G1311A 四元梯度泵、G1313A 自动进样器、G1316A 柱温箱、G1315B DAD 检测器; Chemstation 6.01 色谱工作站(美国 Agilent 公司)。Waters Alliance 2695-ZQ 2000 液相色谱-质谱联用仪(美国 Waters 公司), 包括双高压泵, 自动进样器, 柱温箱, 电喷雾离子化接口, 2695 型液相色谱仪, Masslynx 4.0 色谱工作站。METTLER TOLEDO AB135-S 分析天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司)。

续断药材购自吉林市、锦州市以及南京市多个药店, 贵州、云南、湖北省药材公司, 黑龙江省三棵树、安徽亳州药材市场, 共 24 批, 产地包括四川、湖北、云南、贵州、山西等地。川续断皂苷 VI 对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 111685-200401), 川续断皂苷 V, 3-O-α-L-吡喃阿拉伯糖-常春藤皂苷

【稿件编号】 20100723009

【基金项目】 国家自然科学基金项目(30973978)

【通信作者】 * 贾晓斌, 研究员, Tel: (025) 85608672, E-mail: jxiaobin2005@hotmail.com

【作者简介】 韦英杰, 博士, 副研究员, Tel: (025) 85637809, E-mail: wyj970@163.com

元为作者从续断中分离、纯化得到,光谱数据与文献报导一致^[13,15],纯度经HPLC-ELSD检测大于98%。乙腈、磷酸、甲酸为色谱纯(德国Merck公司),水为乐百氏纯净水,甲醇为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Zorbax Extend-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm, Agilent) 和 C₁₈ 预柱(4.6 mm × 12.5 mm, 5 μm); 柱温 25 °C; 流动相 A 为 0.1% 磷酸水(与质谱联用时改为 0.1% 甲酸水), B 为乙腈, A + B 为 100%, 采用梯度洗脱 0 ~ 20 min, 8% ~ 16% B; 20 ~ 30 min, 16% ~ 19% B; 30 ~ 40 min, 19% ~ 29% B; 40 ~ 45 min, 29% B; 45 ~ 50 min, 29% ~ 48% B; 50 ~ 60 min, 48% B; 60 ~ 70 min, 48% ~ 85% B; 70 ~ 75 min, 85% ~ 100% B; 75 ~ 80 min, 100% B。流速 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长 205 nm; 记录时间 80 min; 进样量 10 μL, 结果见图 1。

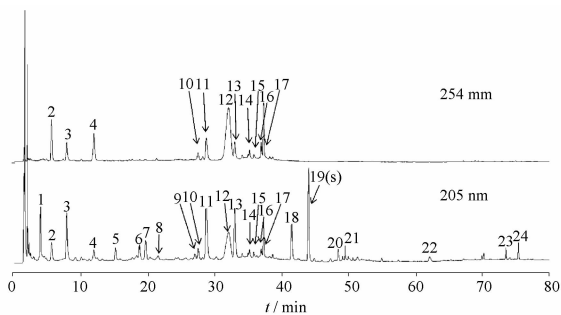


图1 续断的HPLC指纹图谱

2.2 质谱条件

毛细管电压 2.50 kV, 锥孔电压 35 V, 干燥气流速 320 L · h⁻¹, 离子源温度 120 °C, 辅助气温度 310 °C; 离子检测方式: 全扫描检测(SCAN), 离子极性: 正离子(positive) 和负离子(negative), 离子化方式: 气动辅助电喷雾离子化(ESI), 扫描范围 m/z 100 ~ 1 800。

2.3 供试品的制备方法

取续断药材粉碎, 称取细粉 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 25 mL, 密塞, 称重, 超声处理 30 min, 放冷, 再称重, 用 70% 甲醇补足失重, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 得供试品溶液。

2.4 参照物的配制方法

精密称取川续断皂苷 VI 对照品适量, 用 70% 甲醇溶解, 制成 0.91 g · L⁻¹ 的溶液。

2.5 HPLC 色谱指纹方法学考察

根据 24 批续断供试品的检测结果, 确定 17 个共有指纹峰(2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 13, 17, 18, 19(s), 20, 21, 22, 23, 24, 峰面积之和占 > 90%), 以第 19(s) 号峰(与川续断皂苷 VI 具有相同的色谱保留时间)为参照峰。

取编号续断(编号 14. HB) 供试品溶液进行方法学考查, 结果符合指纹图谱要求。精密度试验结果: 17 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD 分别为 0.77% ~ 0.86% 和 1.28% ~ 4.61% ($n = 6$); 24 h 稳定性试验结果: 17 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD 分别为 0.033% ~ 0.31% 和 1.1% ~ 4.9% ($n = 7$); 重复性试验结果: 17 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD 分别为 0.001% ~ 0.25% 和 0.15% ~ 4.1% ($n = 5$)。

2.6 指纹图谱分析

2.6.1 共有峰分析 对 5 个产地 24 个批次续断药材在完全相同的样品制备和色谱条件进行色谱指纹分析。以 17 个共有指纹峰[2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 13, 17, 18, 19(s), 20, 21, 22, 23, 24]的相对保留时间的平均值, 作为标准指纹图谱的相对保留时间, 以平均值的 ± 10% 作为相对保留时间允许变动范围, 17 个共峰的相对保留时间的 RSD 为 0.28% ~ 0.78%, 平均值为 0.38%, 都小于 3.0%, 完全符合国家颁布的《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求》的有关要求。由上述 17 个色谱峰组成的谱图可以作为续断药材的色谱指纹图谱。

2.6.2 续断的质量评估 从指纹图谱分析可见, 19(s) 号峰川续断皂苷 VI 的峰面积较大, 与文献报道一致, 是续断主要成分之一, 且现行版《中国药典》规定以川续断皂苷 VI 为指标进行续断的定量控制。故实验中以川续断皂苷 VI 作为参照峰, 将续断(编号 14. HB) 供试品的指纹谱中 19(s) 号峰的峰面积规定为 1, 其他各共有峰的峰面积分别与参照峰峰面积相比, 计算各样品指纹图谱中共有峰的相对峰面积。以 17 个共有指纹峰[2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 13, 17, 18, 19(s), 20, 21, 22, 23, 24]的相对峰面积的平均值, 作为标准指纹图谱的相对峰面积, 将 24 个样品指纹图谱分别与标准指纹图谱进行相关分析, 计算相关系数(r), 并按相关系数由低到高排序。此外, 按现行版药典测定各样品的 19(s) 峰川续断皂苷 VI 含量, 见表 1。



表1 不同续断药材指纹图谱的相对峰面积及相关系数

样品	2	3	4	5	6	7	11	12	13	17	18	19(s)	20	21	22	23	24	r	19(s)/%
15. SC	0.14	0.15	0.35	0.01	0.10	0.10	0.25	0.13	0.15	0.04	0.18	0.02	0.08	0.04	0.13	0.06	0.07	0.05	0.1
13. YN	0.21	0.46	0.38	0.04	0.08	0.09	0.64	0.29	0.38	0.09	0.55	0.01	0.11	0.02	0.14	0.04	0.05	0.22	0.0
17. SX	0.13	0.32	0.33	0.04	0.16	0.18	0.21	0.36	0.37	0.09	0.16	0.01	0.04	0.02	0.13	0.09	0.07	0.24	0.0
6. HB	0.26	0.59	0.48	0.17	0.12	0.13	0.48	0.94	1.12	0.22	0.57	0.13	0.02	0.02	0.13	0.05	0.05	0.41	0.5
18. GZ	0.21	0.31	0.33	0.13	0.07	0.10	0.33	0.78	0.30	0.20	0.21	0.32	0.02	0.01	0.14	0.09	0.11	0.71	1.3
4. GZ	0.18	0.13	0.21	0.08	0.08	0.10	0.12	0.32	0.06	0.26	0.20	0.41	0.02	0.02	0.14	0.20	0.22	0.72	1.7
16. GZ	0.15	0.15	0.30	0.13	0.08	0.10	0.23	0.43	0.20	0.16	0.17	0.27	0.02	0.01	0.14	0.07	0.10	0.76	1.1
5. SC	0.12	0.15	0.20	0.18	0.20	0.21	0.32	1.08	0.37	0.22	0.23	0.59	0.03	0.02	0.15	0.10	0.11	0.80	2.4
14. HB	0.26	0.64	0.17	0.18	0.21	0.29	0.93	1.15	0.82	0.38	0.50	1.00	0.13	0.11	0.08	0.07	0.10	0.82	4.1
7. SC	0.06	0.06	0.12	0.14	0.13	0.17	0.11	0.79	0.14	0.13	0.15	0.56	0.04	0.04	0.16	0.09	0.09	0.82	2.3
11. SC	0.10	0.08	0.16	0.02	0.06	0.07	0.12	0.17	0.07	0.02	0.11	1.09	0.06	0.04	0.14	0.03	0.03	0.85	4.4
19. SC	0.18	0.18	0.34	0.04	0.12	0.14	0.26	0.29	0.14	0.04	0.26	2.00	0.13	0.08	0.13	0.08	0.06	0.85	8.1
10. SC	0.16	0.24	0.26	0.06	0.13	0.14	0.33	0.25	0.20	0.04	0.21	1.91	0.09	0.05	0.16	0.06	0.08	0.86	7.7
23. SC	0.06	0.04	0.12	0.03	0.14	0.19	0.13	0.34	0.09	0.09	0.35	1.38	0.07	0.06	0.13	0.14	0.15	0.86	5.6
20. SC	0.08	0.09	0.19	0.17	0.11	0.17	0.14	0.63	0.12	0.13	0.18	0.58	0.06	0.05	0.13	0.14	0.18	0.88	2.4
22. SC	0.08	0.19	0.32	0.04	0.13	0.17	0.19	0.24	0.22	0.07	0.18	1.33	0.04	0.02	0.13	0.13	0.08	0.88	5.4
8. SC	0.11	0.08	0.16	0.16	0.19	0.24	0.14	0.89	0.12	0.14	0.23	0.94	0.05	0.05	0.16	0.13	0.14	0.90	3.8
9. HB	0.20	0.59	0.28	0.15	0.26	0.27	0.80	1.32	0.58	0.33	0.49	1.09	0.16	0.14	0.33	0.09	0.15	0.90	4.4
21. SC	0.14	0.34	0.30	0.06	0.28	0.34	0.38	0.35	0.39	0.14	0.35	1.22	0.09	0.05	0.14	0.08	0.10	0.92	4.9
12. SC	0.31	0.77	0.44	0.10	0.13	0.15	1.16	0.97	0.70	0.16	0.77	1.79	0.14	0.03	0.11	0.05	0.05	0.93	7.3
3. SC	0.11	0.09	0.12	0.08	0.20	0.22	0.23	0.66	0.15	0.20	0.24	1.28	0.08	0.03	0.14	0.13	0.12	0.94	5.2
24. SC	0.10	0.13	0.19	0.04	0.11	0.13	0.10	0.38	0.19	0.10	0.23	0.78	0.04	0.03	0.12	0.16	0.09	0.95	3.2
1. SC	0.15	0.11	0.16	0.08	0.16	0.22	0.32	0.75	0.27	0.23	0.33	1.67	0.09	0.05	0.15	0.13	0.12	0.95	6.8
2. SC	0.06	0.06	0.12	0.07	0.17	0.26	0.29	0.77	0.25	0.05	0.25	1.09	0.04	0.02	0.13	0.09	0.09	0.96	4.4
平均值	0.15	0.25	0.25	0.09	0.14	0.17	0.34	0.59	0.31	0.15	0.30	0.90	0.07	0.04	0.14	0.10	0.10	0.76	3.6

注:SC. 四川;HB. 湖北;YN. 云南;GZ. 贵州;SX. 山西。

由表1可见,24个市售续断样品中以四川产地为主,共16个,约占67%,其他产地样品有湖北、贵州各3批,云南、山西各1批。其中云南、山西、湖北、四川各1批次相关系数小于0.41,相关性不好,川续断皂苷VI含量小于0.5%,可认为质量差;贵州3个样本相关系数在0.7~0.8,有一定相关性,川续断皂苷VI含量在1.0%~2.0%,质量略好,但还是不符合药典标准;其他15个四川、2个湖北样本的相关系数在0.8以上,平均值分别为:0.89,0.86,相关性好,川续断皂苷VI含量均大于2.0%,符合药典标准,可认为质量较好。此外,不同产地续断的参照峰19(s)川续断皂苷VI含量与相关系数有一定相关性($r=0.72$),但川续断皂苷VI的含量波动较大,与色谱指纹相结合才能更好体现续断的综合质量。

2.7 续断色谱峰的DAD检测及LC-MS分析

单一波长检测液相色谱指纹虽然较全面体现了中药的多成分组成,但其处于一种“盲分析”状态,

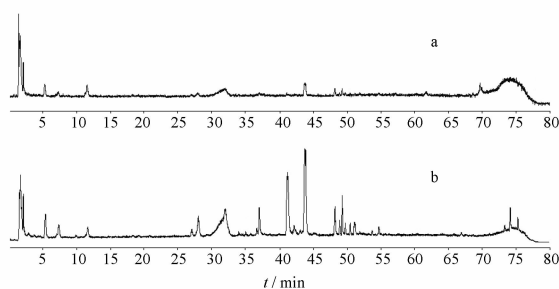
二极管阵列检测(DAD)可从色谱峰的不同紫外吸收特征推测化合物的大致类型,而且LC-MS技术可实现对色谱峰的灵敏、快速指认^[15],这样指纹图谱才能真正全面地反映中药的化学组成,并突出其主要鉴别特征,从而更有效地用于中药质量控制。

2.7.1 续断色谱峰的DAD分析 一般来说,皂苷类化合物无紫外吸收,只能在低波长处检测(如203~220 nm),而在高波长处(如254 nm)检测到的成分紫外吸收强,通常不是皂苷类化合物。通过二极管阵列检测(DAD),在205 nm处检测到续断24个主要成分峰中有11个成分(色谱峰2,3,4,10,11,12,13,14,15,16,17)在205 nm和254 nm处均有色谱峰,推测为非皂苷类成分,见表2,而在205 nm处有吸收而在254 nm处无吸收的成分可能为皂苷类成分,如13个色谱峰1,5,6,7,8,9,18,19,20,21,22,23和24。

2.7.2 续断色谱峰的LC-MS分析 采用高效液相

色谱与电喷雾质谱联用技术(HPLC-ESI-MS)对续断色谱指纹峰进行指认,通过负离子模式[(-)ESI-MS]和正离子模式[(+)ESI-MS]分别进行分析,见图2,检测到续断液相色谱峰在不同模式下的分子离子峰 $[M - H]^-$, $[M + HCOO]^-$, $[M + H]^+$ 和 $[M + Na]^+$,可见续断成分在负离子模式下信号灵敏,在正离子模式下信号较弱。由准分子离子峰确定可能分子量,通过与文献[13-17]报道的成分或部分对照品对照,推测出色谱峰的可能组成,确定了续断中30多个化合物相对分子质量(XD1-XD33),其中24个主要液相色谱峰中19个峰的化合物相对分子质量得到确定(除色谱峰1,8,22,23,24外)。通过与对照品对照确定3个化合物:化合物XD24(色谱峰19(s))为川续断皂苷VI(3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖常春藤皂苷元-28-O- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 6)- β -D-吡喃葡萄糖酯苷);XD28为川续断皂苷V(3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖齐墩果酸-28-O- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 6)- β -D-吡喃葡萄糖酯苷);XD32为3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖-常春藤皂苷元。通过与文献对照推测了7个化合物:化合物XD21(色谱峰18)为川续断皂苷X(3-O- $[\beta$ -D-吡喃木糖(1 \rightarrow 4)]- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 4)) $[\alpha$ -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 3)- α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖-常春藤皂苷元-28-O- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 6)- β -D-吡喃葡萄糖酯苷);化合物XD22为川续断皂苷VIII

(3-O- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 3)- α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖常春藤皂苷元-28-O- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 6)- β -D-吡喃葡萄糖酯苷);化合物XD23为川续断皂苷VIII(3-O- α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 3)- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 3)- α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖常春藤皂苷元-28-O- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 6)- β -D-吡喃葡萄糖酯苷);化合物XD25~XD27为川续断皂苷IV(3-O-(4-O-乙酰基)- α -L-吡喃阿拉伯糖常春藤皂苷元-28-O- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 6)- β -D-吡喃葡萄糖酯苷及其同份异构体);化合物XD30为川续断皂苷IX(3-O- $[\beta$ -D-吡喃木糖(1 \rightarrow 4)]- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 4)) $[\alpha$ -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖(1 \rightarrow 3)- α -L-吡喃鼠李糖(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖-常春藤皂苷元)。



a. 正离子模式; b. 负离子模式。

图2 续断在正离子和负离子模式的总离子流图

表2 续断的 HPLC-ESI-MS 数据及成分鉴定

No.	t_R /min	负离子模式		正离子模式		相对 分子质量	化合物推测
		$[M - H]^-$	$[M + HCOO]^-$	$[M + H]^+$	$[M + Na]^+$		
XD1	5.30	375.10			399.27	376.1	非皂苷类
XD2	7.31	353.06				377.62	非皂苷类
XD3	11.59		403.15	359.29		381.26	非皂苷类
XD4	14.65	551.80				575.42	
XD5	18.29	359.14				383.24	
XD6		535.46				559.46	
XD7	19.10	534.85				559.31	
XD8		565.47				589.17	
XD9	20.76	733.56				757.25	
XD10	27.03	747.76	793.02			771.38	
XD11		515.17				539.33	
XD12	27.97	515.17				539.25	非皂苷类
XD13	29.36	515.32				539.33	非皂苷类
XD14		745.10				769.25	非皂苷类



续表2

No.	t_R /min	负离子模式		正离子模式		相对 分子质量	化合物推测
		$[M - H]^-$	$[M + HCOO]^-$	$[M + H]^+$	$[M + Na]^+$		
XD15	31.80	745.41	791.27		769.33	746.4	非皂苷类
XD16	31.93	745.25			769.48	746.3	非皂苷类
XD17	34.00	931.33		933.15		932.3	非皂苷类
XD20	36.97	1473.02			1 497.12	1474.0	非皂苷类
XD18	35.00		493.13		471.70	448.1	非皂苷类
XD19	36.73	1472.34			1 496.36	1 473.3	非皂苷类
XD21 ²⁾	41.18	1 675.40	1 721.98		1 700.25	1 676.4	川续断皂苷X
XD22 ²⁾	42.20	1 235.42		1 237.54		1 236.4	川续断皂苷VII
XD23 ²⁾		1 380.85			1 404.80	1 381.9	川续断皂苷VIII
XD24 ¹⁾	43.71	927.54	973.38		951.45	928.4	川续断皂苷VI
XD25 ²⁾	48.22		1 015.50		993.41	970.5	川续断皂苷IV异构体
XD26 ²⁾	48.95		1 015.65		993.64	970.7	川续断皂苷IV异构体
XD27 ²⁾	49.29		1 015.27		993.34	970.3	川续断皂苷IV异构体
XD28 ¹⁾	49.76	911.29	957.36		935.34	912.4	川续断皂苷V
XD29	50.49	1 057.15		1 035.45	1 012.2		
XD30 ²⁾	51.09	1 351.28			1 375.77	1 352.3	川续断皂苷IX
XD31	51.225		1 057.08		1 035.15	1012.1	
XD32 ¹⁾	54.707	603.53	649.41		627.61	604.5	3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖-常春藤皂苷元

注: ¹⁾与标准品对照; ²⁾与文献数据对照。

3 讨论

通过对色谱条件的优选,实现了在 80 min 内有效分离续断复杂成分峰,较文献[11]缩短了 40 min,有效提高了分析效率,同时大大降低了分析成本。本文建立的续断药材高效液相色谱指纹图谱,检测到 24 个主要成分峰,确定 17 个共有峰,并评价 24 批续断药材质量;结合二极管阵列检测,确定 11 个色谱峰成分为非续断皂苷类成分,13 个色谱峰成分为续断皂苷类成分;进一步结合液相色谱/电喷雾质谱技术,确定了续断中 30 多个化合物相对分子质量,通过与对照品或文献对照对 10 个成分进行了结构确认,从而结束了续断色谱指纹的盲分析现状。结果表明,续断色谱指纹图谱与单一指标成分川续断皂苷 VI 结合能更好的体现续断综合质量,二极管阵列检测、高效液相色谱与质谱联用技术对续断色谱指纹成分进行特征分析及指认,能较全面的反应其化学组成,使其色谱指纹图谱的特征性更强,是一种合理、科学的续断药材质量评价方法。

【参考文献】

[1] 中国药典. 一部[S] 2010: 309.
[2] 吴春蕾,张志锋,刘圆. 川续断科植物的研究进展[J]. 成都

医学院学报,2009,4(1):66.

[3] 钟美英,申玉华. 川续断的研究现状[J]. 中医药导报,2008,14(6):137.
[4] 杨中林,何执静. 不同产地续断木通皂甙 D 含量比较[J]. 中药材,2000,23(2):68.
[5] 韦英杰,彭英,陈宁,等. 续断皂苷活性成分的综合评价研究[J]. 辽宁中医杂志,2009,36(5):800.
[6] 卫莹芳,刘永,王化东,等. 全国不同产地续断中总生物碱的含量测定[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2009,11(4):559.
[7] 周建良,齐炼文,李萍. 色谱指纹图谱在中药质量控制中的应用[J]. 色谱,2008,26(2):153.
[8] 汤宏敏,罗永明,鄢燕,等. 一种基于 DAD 二极管阵列检测器技术的中药指纹图谱方法[J]. 高等学校化学学报,2009,30(2):279.
[9] 叶敏,果德安. 关于中药质量控制与体内代谢研究的思考[J]. 化学进展,2009,21(1):100.
[10] 胥秀英,郑一敏,傅善权,等. 道地药材川续断指纹图谱模糊模式识别研究[J]. 中国药业,2008,17(5):8.
[11] 刘凤乐,杨中林,刘云飞,等. 续断药材的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中医学报,2009,37(5):6.
[12] 曹越,彭维,苏薇薇,等. 续断药材指纹图谱的研究[J]. 中药新药与临床药理,2010,21(1):50.
[13] 张永文,薛智. 川续断中化学成分研究[J]. 药学学报,1991,26(9):676.



- [14] 杨尚军,吴知行,周胜辉,等. 川续断中三萜皂苷的研究 II [J]. 中国药科大学学报,1993,24(5):276.
- [15] 张永文,薛智. 川续断中的新三萜皂苷[J]. 药学学报,1991,26(12):911.
- [16] 张永文,薛智. 川续断中皂苷IX和X的结构研究[J]. 药学学报,1992,27(12):912.
- [17] 张永文,薛智. 川续断中皂苷XI和XII的结构研究[J]. 药学学报,1993,28(5):358.

Chromatographic fingerprint of *Dipsacus asper* and analysis by HPLC-MS

WEI Yingjie¹, JIA Xiaobin^{1*}, FAN Hongwei², PENG Yunru¹, ZHAN Wen¹

(1. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Materia Medica, Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China;

2. Lab of Clinical Pharmacology, Affiliated Nanjing First Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China)

[Abstract] A high performance liquid chromatography (HPLC) method was developed for fingerprint of *Dipsacus asper*. Analysis were carried out on a Zorbax C-18 column by gradient elution using 0.1% phosphoric acid and acetonitrile as the mobile phases. The column was maintained at 25 °C, the flow rate was 1 mL · min⁻¹, and the detection wavelength was set at 205 nm. Asperosaponin VI was selected as reference compound, Seventeen common peaks were selected, and the fingerprint with good precision, stability and repeatability was successfully used to evaluate quality of 24 batches of crude extracts of *D. asper*. Chemical characteristics of *D. asper* was analyzed by DAD detection and HPLC-MS techniques with an ESI source. The quasi-molecular ions of compounds in both negative and positive modes were observed for molecule mass information of 33 compounds, and the potential structures of 10 characteristic components were identified by study on the mass spectra of compounds and comparing with reference data and some of standards. The results indicate the HPLC fingerprint of *D. asper* will show more characters through identification of component structures using an HPLC-ESI-MS method, and will control the quality of *D. asper* more effectively and reasonable.

[Key words] *Dipsacus asper*; fingerprint; high performance liquid chromatography; electrospray mass spectrometry

doi:10.4268/cjcm20110218

[责任编辑 王亚君]