

# UPLC/Q-TOF MS 对三七中皂苷类成分的快速化学表征

王 邱<sup>1</sup>, 冯毅凡<sup>1</sup>, 芮 雯<sup>1</sup>, 钟艳梅<sup>1</sup>, 郭 姣<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>广东药学院中心实验室; <sup>2</sup>国家中医药管理局高脂血症调肝降脂重点实验室  
国家中医药管理局脂代谢“三级”实验室 广东省代谢性疾病中医药防治重点实验室, 广州 510006

**摘要:** 本文主要运用超高效液相串联四级杆飞行时间质谱联用技术(UPLC/Q-TOF MS)对三七中皂苷类成分进行快速分离和鉴定。以超高效液相为分离手段, 飞行时间质谱仪为鉴定方法, 水饱和和正丁醇为提取溶剂, 以 0.05% 甲酸水(A)-0.05% 甲酸乙腈(B)为流动相进行梯度洗脱, 采用 ESI 负离子模式进行数据采集。根据实验结果, 并结合相关参考文献, 二级质谱裂解数据以及元素组成, 分离、鉴定出 17 种皂苷类成分, 并发现三七中含有姜糖酯 B 成分。实验结果表明经过超高效液相的分离, 以及 Q-TOF MS 的二级负离子信息的鉴定, 为分析三七中皂苷类成分提供了一种快速、简便、可靠的方法。

**关键词:** 三七; 皂苷; UPLC/Q-TOF MS

中图分类号: R917

文献标识码: A

## Rapid Analysis of Saponins in *Panaxnotoginseng* by UPLC/Q-TOF MS

WANG Qiu<sup>1</sup>, FENG Yi-fan<sup>1</sup>, RUI Wen<sup>1</sup>, ZHONG Yan-mei<sup>1</sup>, GUO Jiao<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Central Laboratory, Guangdong Pharmaceutical University; <sup>2</sup>Key Unit of  
Modulating Liver to Treat Hyperlipemia SATCM, Level 3 Laboratory of Lipid Metabolism SATCM, Guangdong  
TCM Key Laboratory for Metabolic Diseases, Guangdong 510006, China

**Abstract:** In this study, ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC/Q-TOF MS) technique was used to rapidly separate and identify saponin components in *Panaxnotoginseng*. Water saturated n-butyl alcohol was used as extraction solvent. Chromatographic separation was carried out on a BEH C<sub>18</sub> column with gradient elution of 0.05% formic acid in water (A) and 0.05% formic acid in acetonitrile (B). The Q-TOF MS analysis was applied in ESI negative mode. According to the experimental result, 17 saponins were separated and tentatively identified by UPLC/Q-TOF MS based on reference literatures, MS/MS fragment ions information and elemental composition in Masslynx 4.1. Among these 17 compounds, including 8 ginsenosides and 9 notoginsenosides, ginglycolipid B was detected in *P. notoginseng*. The developed UPLC-Q-TOF MS method was simple, rapid and reliable for the identification of saponin component in *P. notoginseng*.

**Key words:** *Panaxnotoginseng*; saponins; UPLC/Q-TOF MS

三七又名田七, 来源于五加科植物三七 *Panax-notoginseng* (Burk) F. H. Chen 的干燥根。味甘, 微苦, 性温, 具有止血、散血、定痛的功效。在中国其作为补药和止血剂已有 400 余年的历史, 广泛应用于心血管和脑血管疾病的治疗。皂苷类成分是三七中的主要活性物质, 具有活血祛瘀、通脉活络, 抑制血小板聚集和增加脑血流量的作用, 可用于脑血管后遗症, 视网膜中央静脉阻塞, 眼前房出血等<sup>[1]</sup>。

到目前为止, 很多分析手段应用于三七中皂苷类成分的定性和定量分析, 包括 HPLC-UV、HPLC-ELSD、HPLC-ESI-MS、LC-MS/MS-SPE<sup>[2]</sup>, 但是这些分析方法需要复杂的衍生过程及较长的分析时间, 或者只能分离和鉴别出较少的皂苷类化学成分, 不能满足高通量、高灵敏度以及快速分析的要求。UPLC-Q-TOF MS(MS/MS)作为较新的分离分析技术, 其运用低于 2 μm 粒径的小颗粒填料, 具有高分离度、高速度、高灵敏度等特点, 在提高重现性、色谱峰分辨率、灵敏度的同时缩短分离时间。同时, 以三重四级杆飞行时间质谱仪为检测器, 能够提供较低能量碰撞诱导解离(CID)以及分析物的精确分子

收稿日期: 2013-04-12 接受日期: 2013-10-18

基金项目: 广东省教育部产学研结合项目(2009B090300349、2011B049000379); 广东省自然科学基金团队项目(103510220100000)

\* 通讯作者 E-mail: guojiao@zucm.edu.cn

量。基于这些优势, UPLC-Q-TOF MS (MS/MS) 能够对中药三七中的皂苷类成分进行快速、准确的定性分析, 为中药材三七的真伪鉴别、质量评价以及药代动力学研究提供非常有价值的参考作用。

在本文中, 水饱和正丁醇为提取溶剂, 有文献报道<sup>[3]</sup>以水饱和正丁醇为提取溶剂能够更有效的提取三七总皂苷, 杂质含量较少, 且操作步骤更简便。除此之外, 超高效液相色谱仪 (UPLC) 作为三七中皂苷的分离手段, 利用三重四级杆飞行时间质谱仪 (Q-TOF MS) 鉴定三七中各种皂苷成分, 两者的联用对于三七中主要活性成分的分析具有重要的意义。

## 1 仪器和试剂

超高效液相串联四级杆飞行时间质谱联用仪 (美国 Waters 公司), Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 柱 (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm), 超高压液相色谱泵、自动进样器、在线脱气装置、柱温箱, 采用电喷雾负离子模式, 数据采集采用 Masslynx 4.1 软件; 超声波清洗器 (上海之信仪器有限公司)

色谱纯乙腈 (美国 TEDIA 公司)、色谱纯甲酸 (美国 DMA 公司)、人参皂苷 Re、Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub> 标准品 (中国药品生物样品检定所)、屈臣氏超纯水、分析纯正丁醇 (天津市进丰化工有限公司)、亮氨酸-脑啡肽 (美国 Sigma 公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 供试品溶液制备方法

以水饱和正丁醇为提取液, 超声提取。精密称取在 60 °C 减压干燥至恒重的三七粉末 0.6 g, 加入 10 倍量水饱和正丁醇后, 50 °C 下超声 40 min 后过滤, 此过程重复一次, 合并提取液至 25 mL 容量瓶中, 加水饱和正丁醇稀释至刻度。

### 2.2 对照品溶液制备方法

取人参皂苷 Re、Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub> 标准品适量, 制成浓度分别为 0.422、0.13、0.664 mg/mL 的混合标准品溶液。

### 2.3 色谱条件

色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 柱 (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm, Waters 公司); 柱温: 40 °C; 流动相为 0.05% 甲酸水 (A)-0.05% 甲酸乙腈 (B); 梯度洗脱程序为: 0 ~ 10.2 min, 95% ~ 64% A; 10.2 ~ 20.2 min, 64% ~ 29% A; 进样量 2 μL, 流速为 0.3 mL/min。

### 2.4 质谱条件

质谱分析由 Q-TOF MS (MS/MS) 完成, 电喷雾离子源 (ESI), 在负离子模式下采集数据, 具体参数设置如下: 毛细管电压 (Capillary Voltage): 3000V; 锥孔电压 (Sample Cone): 30V; 离子源温度 (Source Temp) 和脱溶剂温度 (Desolvation Temp) 分别为: 120 °C 和 350 °C; 雾化气 (N<sub>2</sub>) 和脱溶剂气 (N<sub>2</sub>) 流速分别为: 50 L/h 和 500 L/h。质谱数据采集范围为 300 ~ 1400 amu, 采集时间为 0 ~ 20.2 min, 扫描时间为 1.0 s。以 Lock Mass 确保质荷比的准确性和重现性, 亮氨酸-脑啡肽负离子模式下 [M-H]<sup>-</sup> 为 554.2615。

## 3 结果与讨论

### 3.1 实验条件的优化

本实验选取超声提取法, 有文献报道<sup>[4]</sup>采用超声提取的方法, 可加速药物有效成分进入溶剂, 从而提高提取率, 缩短提取时间, 并且避免高温对提取成分的影响, 直接以水饱和正丁醇提取又能起到简化的步骤, 取代传统方法以乙醇提取, 乙醚萃取之后再用水饱和正丁醇萃取等繁琐步骤, 经过对提取溶剂 (甲醇和水饱和正丁醇)、超声时间 (40 和 50 min)、超声次数 (1 次和 2 次) 进行正交实验考察, 以总离子流图中峰面积的大小为标准, 最后优化出实验条件为: 水饱和正丁醇为提取溶剂, 超声时间为 40 min (一次超声 40 min 和 50 min 区别不大), 超声次数两次。

为了获得更好的分离效果, 对液相条件进行了优化, 考察了亲水柱 (HILIC) 和 C<sub>18</sub> 柱的分离效果、流动相中甲酸的浓度对色谱峰的影响 (0.05%、1.0%、2.0%)、流速大小 (0.1、0.2、0.3 mL/min) 对峰型的影响。图 1 (A) 为三七提取液 C<sub>18</sub> 柱负离子模式的色谱图, 可看出三七中化学成分能被很好地分离, 并比较了 C<sub>18</sub> 柱和 HILIC (亲水柱) 对三七中皂苷类成分的分离情况, 结果表明 HILIC 柱并不能对三七的化学成分进行很好的分离。流动相中甲酸的浓度对色谱峰的影响很小, 所以选择甲酸浓度为 0.05%, 当流动相流速为 0.1 和 0.2 mL/min 时, 峰型宽而钝, 当流速提高到 0.3 mL/min 时, 峰型较之前高而锐, 所以流速选定为 0.3 mL/min。

同时对比了三七中皂苷类成分在正离子模式和负离子模式下的采集信号的差异, 结果表明负离子模式下总离子流图中信息多于正离子模式, 所以采用负离子模式采集信号。为了获得更好的鉴定结果, 考察了毛细管电压 (Capillary Voltage) (3000 V、

3200 V、3500 V)、离子源温度(Source Temp)(115、120、125 ℃)、脱溶剂温度(Desolvation Temp)(300、350、400 ℃)对离子化效果的影响,峰面积大小作为优化的标准。正交试验结果表明毛细管电压、离子

源温度、脱溶剂温度对于离子化效果的影响均较小,最后优化出的质谱条件如下:毛细管电压(Capillary):3000 V;离子源温度(Source Temp):120 ℃;脱溶剂温度(Desolvation Temp):350 ℃。

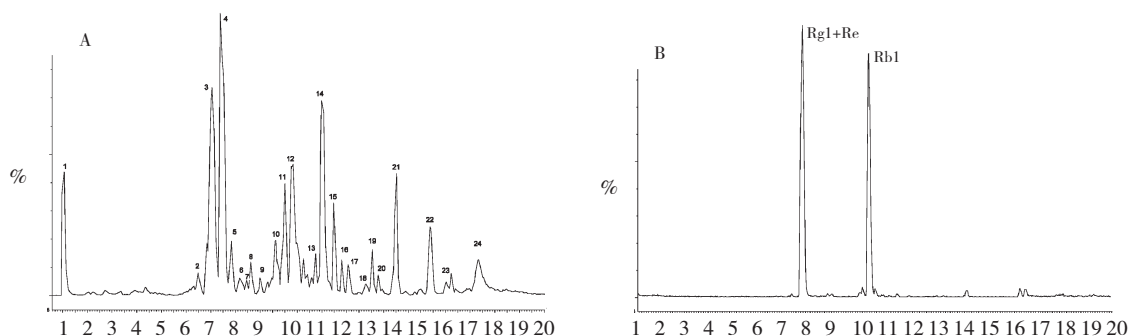


图1 三七提取液(A)与人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 混合标准品溶液(B)的总离子流图(C<sub>18</sub>柱,ESI模式)

Fig. 1 Total ion chromatograms of *P. notoginseng* sample extract (A) and mixed standard solution of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> (B) using C<sub>18</sub> column in ESI mode

### 3.2 三七中皂苷类成分的鉴定

通过运用 UPLC/Q-TOF MS,三七中皂苷类成分得到了较好的分离和鉴定,每个峰对应的化学成分的准确分子量和元素组成显示于表 1,其测定分子量和理论分子量的偏差均小于 5 ppm,表中列出的离子信息为相应峰中的分子离子的信息,即 [M-

H]<sup>-</sup>,仅 7 号峰为 [M + HCOO]<sup>-</sup>,因为 7 号峰对应物质的含量较少,对应质谱图中在一级质谱图中找不到其分子离子峰,仅加和离子峰信号稍强。在一级质谱图中,皂苷类成分均含有 [M-1]<sup>-</sup>和 [M + 45]<sup>-</sup>,分别为分子离子和甲酸根加和离子,因为流动相中加入了一定量甲酸,加和离子为甲酸根离子。

表 1 三七皂苷类提取物各色谱峰对应的化合物准确分子量和元素组成

Table 1 Accurate molecular weight and elemental composition of chemical components detected in *P. notoginseng*

峰号 No.	保留时间 <i>t<sub>R</sub></i>	测定值 Measured mass ( <i>m/z</i> )	理论值 Calc. mass ( <i>m/z</i> )	偏差 Error (ppm)	元素组成 Formula
1	0.36	341.1077	341.1084	2.1	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>
2	5.99	961.5377	961.5372	0.5	C <sub>48</sub> H <sub>81</sub> O <sub>19</sub>
3	6.55	931.5269	931.5266	0.3	C <sub>47</sub> H <sub>79</sub> O <sub>18</sub>
4	6.88	799.4835	799.4844	1.1	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>14</sub>
5	7.34	885.4862	885.4848	1.6	C <sub>45</sub> H <sub>73</sub> O <sub>17</sub>
6	7.66	885.4865	885.4848	1.9	C <sub>45</sub> H <sub>73</sub> O <sub>17</sub>
7	7.96	815.4799	815.4793	0.7	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>15</sub>
8	8.12	769.4757	769.4738	2.5	C <sub>41</sub> H <sub>69</sub> O <sub>13</sub>
9	8.48	961.5378	961.5372	0.6	C <sub>48</sub> H <sub>81</sub> O <sub>19</sub>
10	9.14	1239.6362	1239.6374	1.0	C <sub>59</sub> H <sub>99</sub> O <sub>27</sub>
11	9.5	769.4750	769.4738	1.6	C <sub>41</sub> H <sub>69</sub> O <sub>13</sub>
12	9.83	1107.5945	1107.5951	0.5	C <sub>54</sub> H <sub>91</sub> O <sub>23</sub>
13	10.75	637.4297	637.4316	3.0	C <sub>36</sub> H <sub>61</sub> O <sub>9</sub>
14	10.98	945.5415	945.5423	2.5	C <sub>48</sub> H <sub>81</sub> O <sub>18</sub>
15	11.47	945.5415	945.5423	2.5	C <sub>48</sub> H <sub>81</sub> O <sub>18</sub>
16	11.8	723.4306	723.4320	1.9	C <sub>39</sub> H <sub>63</sub> O <sub>12</sub>

17	12.06	915.5313	915.5317	0.4	C <sub>47</sub> H <sub>79</sub> O <sub>17</sub>
18	12.79	751.4631	751.4633	0.3	C <sub>41</sub> H <sub>67</sub> O <sub>12</sub>
19	13.05	783.4875	783.4895	2.6	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>13</sub>
20	13.28	665.4263	665.4265	0.3	C <sub>37</sub> H <sub>61</sub> O <sub>10</sub>
21	14.03	783.4911	783.4895	2.0	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>13</sub>
22	15.38	595.2894	595.2907	2.2	C <sub>34</sub> H <sub>43</sub> O <sub>9</sub>
23	16.04	677.3759	677.3748	1.6	C <sub>33</sub> H <sub>57</sub> O <sub>14</sub>
24	17.35	433.2357	433.2379	5.1	C <sub>28</sub> H <sub>33</sub> O <sub>4</sub>

再由负离子模式的二级质谱碎片信息,并结合文献,对 UPLC 分离出的 24 个峰进行更加仔细的分

析和鉴定,推断其可能的结构式和分子式,分析结果见表 2 和表 3。

表 2 三七皂苷类成分的负离子二级质谱信息

Table 2 MS/MSfragments of saponins in *P. notoginseng*

峰号 No.	保留时间 t <sub>R</sub>	负离子二级信息(偏差) MS/MS(Error, ppm)	分子量 MW(Da)	分子式 Formula	化合物 Compound
1	0.36	341.1077[GlcGlc-H] <sup>-</sup> (2.1) 1007.5469[M + HCOO] <sup>-</sup> (4.2) 961.5377[M-H] <sup>-</sup> (0.5)	342	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	蔗糖
2	5.99	799.4864[M-H-Glc] <sup>-</sup> (2.5) 637.4312[M-H-Gleglc] <sup>-</sup> (0.6) 475.3783[M-H-Gleglc-Glc] <sup>-</sup> (0.8) 977.5356[M + HCOO] <sup>-</sup> (3.6) 931.5269[M-H] <sup>-</sup> (0.3)	962	C <sub>48</sub> H <sub>82</sub> O <sub>19</sub>	三七皂苷 R3/20-氧代-人参皂苷 Rf
3	6.55	799.4794[M-H-Xyl] <sup>-</sup> (6.3) 637.4348[M-H-Glexyl] <sup>-</sup> (5) 475.3780[M-H-Glexyl-Glc] <sup>-</sup> (1.5) 845.4902[M + HCOO] <sup>-</sup> (0.4)	932	C <sub>47</sub> H <sub>80</sub> O <sub>18</sub>	三七皂苷 R1
4	6.88	799.4835[M-H] <sup>-</sup> (1.1) 637.4280[M-H-Glc] <sup>-</sup> (5.6) 475.3787[M-H-Gleglc] <sup>-</sup> (0) 885.4862[M-H] <sup>-</sup> (1.6)	800	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>	人参皂苷 Rg <sub>1</sub>
5	7.34	841.4951[M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> (0.2) 637.4308[M-H-Glcmalonyl] <sup>-</sup> (1.3) 475.3769[M-H-Glcmalonyl-Glc] <sup>-</sup> (3.8) 885.4865[M-H] <sup>-</sup> (1.9)	886	C <sub>45</sub> H <sub>74</sub> O <sub>17</sub>	丙二酰基人参皂苷 Rg <sub>1</sub>
6	7.66	841.4961[M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> (1.4) 637.4328[M-H-Glcmalonyl] <sup>-</sup> (1.9) 475.3799[M-H-Glcmalonyl-Glc] <sup>-</sup> (2.5) 815.4799[M + HCOO] <sup>-</sup> (0.7)	886	C <sub>45</sub> H <sub>74</sub> O <sub>17</sub>	丙二酰基人参皂苷 Rg <sub>1</sub>
7	7.96	637.4329[M-H-Xyl] <sup>-</sup> (2) 475.3762[M-H-Xyl-Glc] <sup>-</sup> (5.3)	770	C <sub>41</sub> H <sub>70</sub> O <sub>13</sub>	三七皂苷 R2
8	8.12	815.4794[M + HCOO] <sup>-</sup> (0.1) 769.4757[M-H] <sup>-</sup> (2.5) 637.4302[M-H-Xyl] <sup>-</sup> (2.2) 475.3766[M-H-Xyl-Glc] <sup>-</sup> (4.4)	770	C <sub>41</sub> H <sub>70</sub> O <sub>13</sub>	三七皂苷 R2
9	8.48	1007.545[M + HCOO] <sup>-</sup> (2.0) 961.5378[M-H] <sup>-</sup> (0.6) 637.4293[M-H-Gleglc] <sup>-</sup> (3.6) 475.3777[M-H-Gleglc-Glc] <sup>-</sup> (0.1)	962	C <sub>48</sub> H <sub>82</sub> O <sub>19</sub>	三七皂苷 R3/20-氧代-人参皂苷 Rf

10	9.14	1285.6432 [M + HCOO] <sup>-</sup> (0.2)	1240	C <sub>59</sub> H <sub>100</sub> O <sub>27</sub>	三七皂苷 R4
		1239.636 [M-H] <sup>-</sup> (1.0)			
		1107.601 [M-H-Xyl] <sup>-</sup> (4.9)			
		1077.587 [M-H-Glc] <sup>-</sup> (2.4)			
		945.5419 [M-H-Xylglc] <sup>-</sup> (0.4)			
11	9.5	783.4896 [M-H-Xylglc-Glc] <sup>-</sup> (0.1)	770	C <sub>41</sub> H <sub>70</sub> O <sub>13</sub>	三七皂苷 R2/人参皂苷 F3
		815.4797 [M + HCOO] <sup>-</sup> (0.5)			
		475.3784 [M-H-Xyl-Glc] <sup>-</sup> (0.6)			
12	9.83	1107.5945 [M-H] <sup>-</sup> (0.5)	1108	C <sub>54</sub> H <sub>92</sub> O <sub>23</sub>	人参皂苷 Rb <sub>1</sub>
		945.5459 [M-H-Glc] <sup>-</sup> (3.8)			
		783.4908 [M-H-Glcglc] <sup>-</sup> (1.7)			
		621.4364 [M-H-Glcglc-Glc] <sup>-</sup> (1.7)			
13	10.75	683.4382 [M + HCOO] <sup>-</sup> (1.8)	638	C <sub>36</sub> H <sub>62</sub> O <sub>9</sub>	三七皂苷 Rh <sub>1</sub>
		637.4297 [M-H] <sup>-</sup> (3.0)			
14	10.98	991.5468 [M + HCOO] <sup>-</sup> (1.0)	946	C <sub>48</sub> H <sub>82</sub> O <sub>18</sub>	人参皂苷 Rd
		945.5415 [M-H] <sup>-</sup> (0.8)			
		783.4930 [M-H-Glc] <sup>-</sup> (4.5)			
		621.4347 [M-H-Glcglc] <sup>-</sup> (3.1)			
15	11.47	991.5519 [M + HCOO] <sup>-</sup> (4.1)	946	C <sub>48</sub> H <sub>82</sub> O <sub>18</sub>	三七皂苷 K
		945.5415 [M-H] <sup>-</sup> (2.5)			
		621.4373 [M-H-Glcglc] <sup>-</sup> (1.1)			
16	11.8	769.4396 [M + HCOO] <sup>-</sup> (2.9)	680	C <sub>39</sub> H <sub>64</sub> O <sub>12</sub>	β-D-吡喃葡萄糖苷
		723.4306 [M-H] <sup>-</sup> (1.9)			
		679.443 [M-H-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> (1.3)			
		475.3787 [M-H-2CO <sub>2</sub> -Glc] <sup>-</sup> (1.3)			
17	12.06	961.5410 [M + HCOO] <sup>-</sup> (4)	916	C <sub>47</sub> H <sub>80</sub> O <sub>17</sub>	三七皂苷 Fd
		915.5313 [M-H] <sup>-</sup> (0.4)			
		783.4906 [M-H-Xyl] <sup>-</sup> (1.4)			
		621.4367 [M-H-Xylglc] <sup>-</sup> (0.2)			
18	12.79	797.4664 [M + HCOO] <sup>-</sup> (2.9)	752	C <sub>41</sub> H <sub>68</sub> O <sub>12</sub>	三七皂苷 t5
		751.4631 [M-H] <sup>-</sup> (0.3)			
19	13.05	829.4960 [M + HCOO] <sup>-</sup> (1.3)	784	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub>	20(R)-人参皂苷 Rg <sub>2</sub>
		783.4875 [M-H] <sup>-</sup> (2.6)			
		621.4380 [M-H-Glc] <sup>-</sup> (2.3)			
20	13.28	665.4263 [M + HCOO] <sup>-</sup> (0.3)	620	C <sub>36</sub> H <sub>60</sub> O <sub>8</sub>	人参皂苷 Rh <sub>4</sub>
		619.4233 [M-H] <sup>-</sup> (3.7)			
21	14.03	829.4978 [M + HCOO] <sup>-</sup> (3.5)	784	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub>	20(S)-人参皂苷 Rg <sub>2</sub>
		783.4911 [M-H] <sup>-</sup> (2)			
		459.3855 [M-H-Glcglc] <sup>-</sup> (3.7)			

表 3 非皂苷类成分的质谱信息

Table 3 MS/MSfragments of non-saponin components in *P. notoginseng*

峰号 No.	保留时间 t <sub>R</sub>	负离子二级信息(偏差) MS/MS (Error, ppm)	分子量 MW (Da)	分子式 Formula	化合物 Compound
22	15.38	595.2894 [M-H] <sup>-</sup> (2.2)	596	C <sub>34</sub> H <sub>44</sub> O <sub>9</sub>	未知
23	16.04	723.3792 [M + HCOO] <sup>-</sup> (1.5) 677.3759 [M-H] <sup>-</sup> (1.6)	678	C <sub>33</sub> H <sub>58</sub> O <sub>14</sub>	姜糖酯 B
24	17.35	433.2357 [M-H] <sup>-</sup> (5.1)	434	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	未知

对于每个峰对应的分子离子峰的准确分子量,通过计算得到其可能的分子式,再以分子式为条件查询 SciFinderWeb 化学文摘数据库,得到可能的化学结构式以及对应的化合物。

保留时间 6.88 的 4 号峰,根据其一级质谱信息可知  $m/z$  845 和  $m/z$  799 分别为  $[M + HCOO]^-$  和  $[M - H]^-$ ,由元素组成可得分子式为  $C_{42}H_{72}O_{14}$ ,从二级质谱碎片信息可知  $m/z$  637 和  $m/z$  475 是从分子离子上分别失去一个和两个葡萄糖基;图 1(B)中,人参皂苷  $Rg_1$  和 Re 标准品也是在此保留时间同时被洗脱下来,单从色谱图中是不能区分两者的,但是在对应的质谱图中, $m/z$  799 和 845 为人参皂苷  $Rg_1$  的分子离子峰和甲酸根加和离子峰; $m/z$  945 和 991 为人参皂苷 Re 的分子离子峰和甲酸根加和离子峰,如图 2 所示,因此鉴别 4 号峰对应的化合物为人参皂苷  $Rg_1$ <sup>[5]</sup>。

5 号和 6 号峰对应的化合物互为同分异构体, $m/z$  885 为准分子离子峰, $m/z$  841 为分子离子失去一个  $CO_2$  中性离子,此为丙二酰基皂苷的裂解特

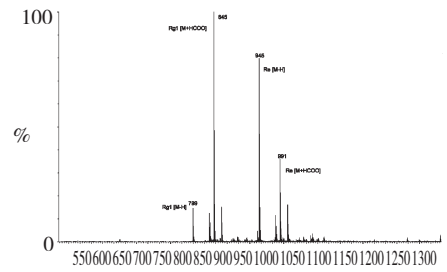


图 2 人参皂苷  $Rg_1$ 、Re 标准品 ESI-模式下质谱图

Fig. 2 Mass spectrum of ginsenosides  $Rg_1$  and Re under ESI<sup>-</sup> mode

点,鉴别为丙二酰基人参皂苷  $Rg_1$ <sup>[6]</sup>。

10 号峰的一级质谱信息中, $m/z$  1285 和  $m/z$  1239 分别为  $[M + HCOO]^-$  和  $[M - H]^-$ ,在二级质谱信息中, $m/z$  1107 为分子离子失去一个木糖基,而  $m/z$  1077 则是从分子离子另一侧失去一个葡萄糖基, $m/z$  945 和  $m/z$  783 分别为从 1107 的基础上再失去一个和两个葡萄糖基,其碎片裂解途径见图 3,经查数据库,此化合物为三七皂苷 R4。

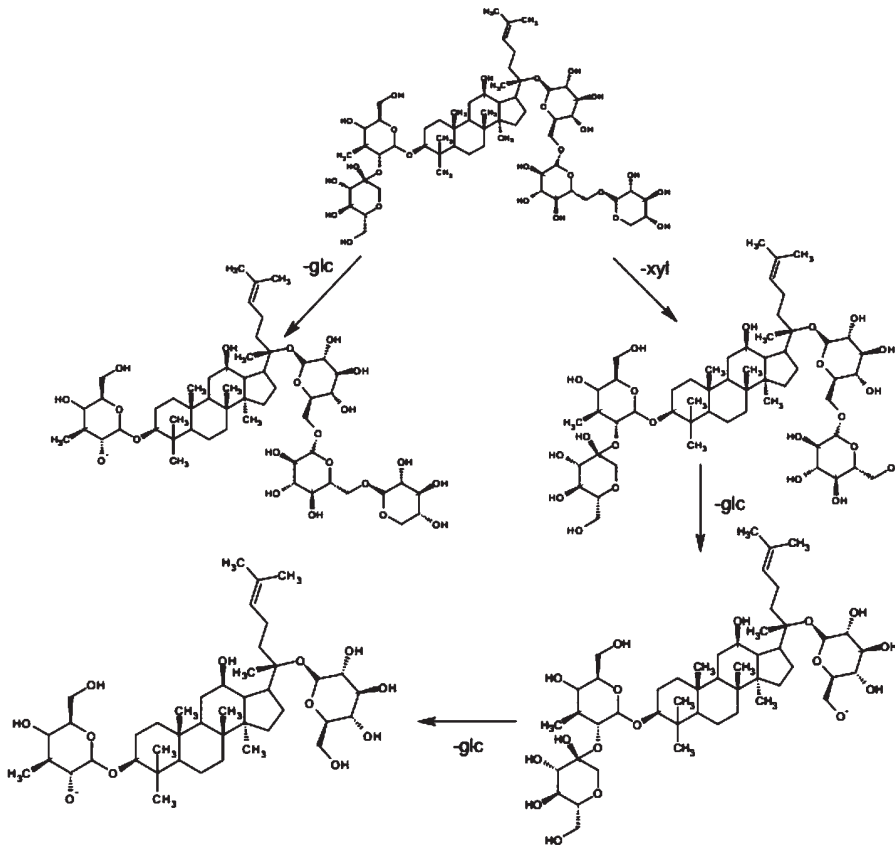


图 3 三七皂苷 R4 的负离子质谱裂解途径

Fig. 3 Fragmentation pathway of notoginsenoside R4 under ESI<sup>-</sup> mode

经对比 12 号峰与图 1(B) 中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 标准品的保留时间以及质谱信息的一致性,可判断 12 号峰为人参皂苷 Rb<sub>1</sub>。

经分析 14 号和 15 号峰均为 C<sub>48</sub>H<sub>82</sub>O<sub>18</sub>,可根据文献报道出峰顺序的先后可判断 14 号峰为人参皂苷 Rd,15 号峰为三七皂苷 K<sup>[7]</sup>。同样的方法可鉴别出 19 号峰为 20(R)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>;21 号峰为 20(S)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>,两者互为同分异构体<sup>[7]</sup>。

三七中皂苷类成分的保留时间具有差异,皂苷元的结构影响着其洗脱的顺序,原人参三醇型皂苷比原人参二醇型被先洗脱下来,两者结构示意图见图 4,例如 3 号峰三七皂苷 R1 属于原人参三醇型,则 21 号峰 20(S)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub> 属于原人参二醇型,所以三七皂苷 R1 的保留时间短于人参皂苷 Rg<sub>3</sub>。

三七中也含有非皂苷类成分,23 号峰初步鉴别为姜糖酯 B,有文献报道中药材人参中含有姜糖酯 B<sup>[8]</sup>,但未见报道三七中含有姜糖酯 B,有待进一步研究。

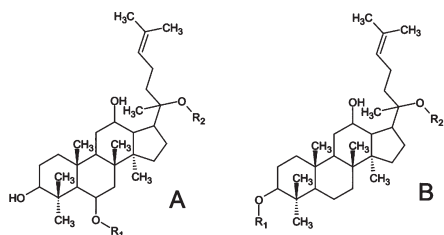


图 4 原人参三醇型(A)和原人参二醇型(B)皂苷化学结构

Fig. 4 Chemical structures of Protopanaxatriol(A) and Protopanaxadiol (B) saponins

图注	R1	R2	
A	-Glc	-Glc-Glc	三七皂苷 R3
	-Glc-Glc	-Glc	20-氧代-人参皂苷 Rf
	-Glc-Xyl	-Glc	三七皂苷 R1
	-Glc	-Glc	人参皂苷 Rg <sub>1</sub>
	丙二酰基-Glc	-Glc	丙二酰基人参皂苷 Rg <sub>1</sub>
	-Glc-Xyl	H	三七皂苷 R2
	-Xyl-Glc	H	人参皂苷 F3
B	-Glc-Glc	-Xyl-Glc-Glc	三七皂苷 R4
	-Glc-Glc	-Glc-Glc	人参皂苷 Rb <sub>1</sub>
	-Glc-Glc	-Glc	人参皂苷 Rd
	-Glc-Glc	-Glc	三七皂苷 K
	-Glc	-Glc-Glc	三七皂苷 Fd

## 4 结论

本次实验通过运用 Waters UPLC/Q-TOF MS 分离和鉴定出 8 种三七皂苷分别为:三七皂苷 R1、R2、R3、R4、Rh<sub>1</sub>、K、Fd、t5;9 种人参皂苷,分别为:20-氧代-人参皂苷 Rf、人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、F3、Rb<sub>1</sub>、Rd、Rh<sub>4</sub>、丙二酰基人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、20(R)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>、20(S)-人参皂苷 Rg<sub>2</sub>,为三七中具有生物活性的皂苷类成分的鉴定提供了一种快速、简便、可靠的手段,能够为三七药材在真伪鉴别、质量评价、药代动力学等方面的研究提供方法基础。

## 参考文献

- Dong TX, Cui XM, Song ZH, *et al.* Chemical assessment of roots of *Panaxnotoginseng* China: Regional and seasonal variations in its active constituents. *J Agric Food Chem*, 2003, 51:4617-4623.
- Chen W, Dang YJ, Zhu CY. Simultaneous determination of three major bioactive saponins of *Panaxnotoginseng* using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and a pharmacokinetic study. *Chin Med*, 2010, 5:12.
- Sun BS, Xu MY, Li Z, *et al.* UPLC-Q-TOF-MS/MS analysis for steaming times-dependent profiling of steamed *Panaxnotoginseng* and its ginsenoside transformations induced by repetitious steaming. *J Ginseng Res*, 2012, 36:277-290.
- Qing F(秦枫), Liu J(刘靖), Chen YY(陈玉勇), *et al.* The methods to investigate the content of saponins in *Panaxnotoginseng* and to research the ultrasonic extraction technology. *J Anhui Agric Sci*(安徽农业科学), 2008, 36:3062-3063.
- Dan M, Xie GX, Gao XF, *et al.* A rapid ultra-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometric method for the analysis of saponins in the adventitious roots of *Panaxnotoginseng*. *Phytochem Anal*, 2009, 20:68-76.
- Sloley BD, Lin YC, Ridgway D, *et al.* A method for the analysis of ginsenosides, malonylginsenosides, and hydrolyzed ginsenosides using high-performance liquid chromatography with ultraviolet and positive mode electrospray ionization mass spectrometric detection. *J AOAC Int*, 2006, 89:16-21.
- Mao Q, Yang J, Cui XM, *et al.* Target separation of a new anti-tumor saponin and metabolic profiling of leaves of *Panaxnotoginseng* by liquid chromatography with electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 59:67-77.
- Zhang HJ, lu ZZ, Tan GT, *et al.* Polyacetyleneginsenoside-Ro, a novel triterpenesaponin from *Panax ginseng*. *Tetrahedron Lett*, 2002, 43:973-977.