

· 药剂与炮制 ·

# HPLC-Q-TOF-MS 鉴定注射用益气复脉冻干粉中皂苷类成分

刘红宇<sup>1</sup>, 徐玉琴<sup>1</sup>, 欧阳婷<sup>1</sup>, 刘文龙<sup>2\*</sup>, 张雅铭<sup>3</sup>, 肖小河<sup>3</sup>

(1. 湖南中医药大学第一附属医院, 长沙 410007; 2. 湖南中医药大学药学院, 长沙 410208;  
3. 中国人民解放军第302医院全军中医药研究所, 北京 100039)

**[摘要]** 目的:采用高效液相色谱-电喷雾质谱联用技术(HPLC-Q-TOF-MS)鉴定注射用益气复脉冻干粉中皂苷类成分,为后续该制剂皂苷类成分的定量研究及其药效物质基础研究提供参考。方法:分析人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>, R<sub>e</sub>, R<sub>b<sub>1</sub></sub>的质谱裂解规律,结合 HPLC-Q-TOF-MS 鉴定注射用益气复脉冻干粉中皂苷类成分。结果:人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>, R<sub>e</sub>, R<sub>b<sub>1</sub></sub>的质谱裂解主要有2条途径,分别为①依次丢失所有的配糖基直到形成稳定的去质子化母核;②配糖基的碎裂形成特征性碎片离子。在此质谱裂解规律的基础上,鉴定了注射用益气复脉冻干粉中21个皂苷类化合物,除了人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>, R<sub>b<sub>1</sub></sub>, R<sub>e</sub>, R<sub>c</sub>, R<sub>d</sub>, R<sub>f</sub>, R<sub>g<sub>3</sub></sub>及三七皂苷 R<sub>1</sub>外,其他13个皂苷类化合物首次在益气复脉冻干粉中报道,同时通过文献对比初步鉴定了五味子甲素。结论:利用 HPLC-Q-TOF-MS 鉴定了益气复脉冻干粉中大部分含量较高的皂苷类成分,为后续该制剂的深入研究奠定了物质基础。

**[关键词]** 注射用益气复脉冻干粉; 质谱; 人参皂苷; 麦冬皂苷; 高效液相色谱-电喷雾质谱联用技术; 五味子甲素  
**[中图分类号]** R22; R289; R283.6; R945; R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)05-0007-06  
**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2018050007  
**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180105.1538.001.html>  
**[网络出版时间]** 2018-1-9 10:23

## Identification of Saponins in Yiqi Fumai Freeze-dried Powder for Injection by HPLC-Q-TOF-MS

LIU Hong-yu<sup>1</sup>, XU Yu-qin<sup>1</sup>, OUYANG Ting<sup>1</sup>, LIU Wen-long<sup>2\*</sup>,  
ZHANG Ya-ming<sup>3</sup>, XIAO Xiao-he<sup>3</sup>

(1. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China;  
2. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;  
3. China Military Institute of Chinese Medicine, 302 Military Hospital of China, Beijing 100039, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze the saponins in Yiqi Fumai freeze-dried powder for injection by HPLC-Q-TOF-MS, and provide reference for quantitative study of saponins in the preparation and its pharmacodynamical material basis. **Method:** The fragmentation patterns of ginsenoside R<sub>g<sub>1</sub></sub>, R<sub>e</sub> and R<sub>b<sub>1</sub></sub> were analyzed in detail, and the saponins in Yiqi Fumai freeze-dried powder for injection were identified by HPLC-Q-TOF-MS. **Result:** There were two main pathways for mass spectrometric cleavage of ginsenoside R<sub>g<sub>1</sub></sub>, R<sub>e</sub> and R<sub>b<sub>1</sub></sub>: ① loss of all aglycones until forming a stable deprotonated parent nucleus, ② aglycones fragmentation and the formation of characteristic fragment ions. On the basis of the fragmentation law of mass spectrometry, 21 saponins in Yiqi Fumai freeze-dried powder for injection were identified, in addition to ginsenoside R<sub>g<sub>1</sub></sub>, R<sub>b<sub>1</sub></sub>, R<sub>e</sub>, R<sub>c</sub>, R<sub>d</sub>, R<sub>f</sub>, R<sub>g<sub>3</sub></sub> and

**[收稿日期]** 20170904(005)

**[基金项目]** 湖南省自然科学基金项目(2016JJ2097);国家自然科学基金项目(81270055);2017年湖南省重点中医专科建设项目(湘中医药函[2017]11号)

**[第一作者]** 刘红宇,博士,副主任药师,从事中药质量标准化研究, Tel:0731-89669326, E-mail:lhy9544@163.com

**[通信作者]** \*刘文龙,博士,副教授,从事中药质量控制研究, E-mail:465957643@qq.com

notoginsenoside R<sub>1</sub>, the other 13 saponins were first reported in this preparation. At the same time, deoxyschizandrin was initially identified by literature comparison. **Conclusion:** Most of the saponins with high content in Yiqi Fumai freeze-dried powder for injection are identified by HPLC-Q-TOF-MS, which can provide material foundation for further investigation of this preparation.

[ **Key words** ] Yiqi Fumai freeze-dried powder for injection; mass spectrometry; ginsenosides; ophiopogonin; HPLC-Q-TOF-MS; deoxyschizandrin

注射用益气复脉冻干粉源于中医益气养阴的复方生脉散<sup>[1]</sup>,其组方药材为红参、麦冬和五味子,是采用先进的中药材提取技术,从这 3 味药材中提取多种活性成分制成的现代中药复方冻干粉剂。注射用益气复脉冻干粉已于 2007 年被国家食品药品监督管理总局批准上市<sup>[2]</sup>,具有益气复脉、养阴生津之功效,临床上主要用于治疗冠心病心绞痛以及冠心病所致的心力衰竭<sup>[3-5]</sup>。

研究报道注射用益气复脉冻干粉主要有效成分为皂苷类化合物,其含有的皂苷类成分有人参皂苷 Rb<sub>1</sub>, Re, Rg<sub>1</sub>, Rc, Rd, Rf, Rg<sub>3</sub>, F<sub>2</sub> 和三七皂苷 R<sub>1</sub>,但目前关于其皂苷类化合物的定性分析尚未见报道<sup>[6-7]</sup>。在前期研究基础上,为深入了解益气复脉冻干粉的皂苷类化学成分,并为后续研究益气复脉冻干粉的其他成分奠定基础,本实验对二醇型及三醇型人参皂苷类成分的质谱裂解规律进行了探讨,结合 HPLC-Q-TOF-MS 技术鉴定了注射用益气复脉冻干粉中皂苷类化合物,同时为该制剂皂苷类成分的定量研究及其药效物质基础研究提供参考。

## 1 材料

1290 型高效液相色谱仪-6530 型电喷雾四级杆飞行时间质谱仪(HPLC-Q-TOF-MS,美国 Agilent 公司),Milli-Q Advantage A10 型超纯水系统(美国密理博公司),ML204/02 型精密电子天平[梅特勒-托利多(上海)仪器有限公司]。人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 和人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品(中国食品药品检定研究院,批号均为 110703-200322,纯度均 > 98%),人参皂苷 Re 对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-11041201,纯度 > 98%),注射用益气复脉冻干粉(天津天士力之骄药业有限公司,批号 20161106),乙腈、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 采用 Unitary C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 150 mm, 2.8 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 2 min, 5% ~ 20% B; 2 ~ 30 min, 20% ~ 50% B; 30 ~ 35 min, 50% ~ 70% B),柱温

30 °C,检测波长选择 208 nm 和 230 nm,流速设定 0.3 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL。

**2.2 质谱条件** 电喷雾(ESI)离子源,采用负离子检测模式,干燥气温度 350 °C,干燥气流速 7 L·min<sup>-1</sup>,雾化气压力 0.21 MPa,鞘气温度 350 °C,鞘气流速 12 L·min<sup>-1</sup>,毛细管电压 4 kV,碎裂电压 150 V,锥孔电压 100 V,扫描范围 *m/z* 100 ~ 1 700; 二级裂解电压 10 ~ 60 eV。

### 2.3 溶液的制备与测定

**2.3.1 对照品溶液** 取适量人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 对照品,精密称定,分别加甲醇溶解,制成质量浓度分别为 6.53, 6.05, 6.39 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,备用。

**2.3.2 供试品溶液** 取注射用益气复脉冻干粉 1.3 g (约 2 瓶量),精密称定,加甲醇 5 mL 使溶解,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

**2.3.3 样品测定** 取供试品溶液适量,按 2.1 和 2.2 项下方法测定,得注射用益气复脉冻干粉的总离子流图,见图 1。

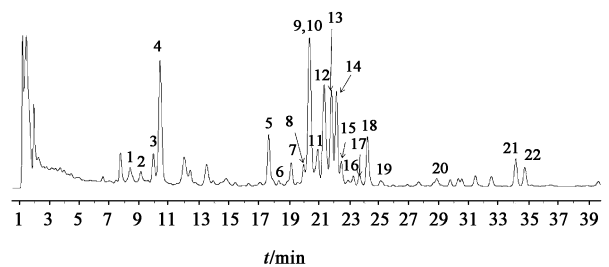


图 1 注射用益气复脉冻干粉的总离子流  
Fig. 1 Total ion chromatogram of Yiqi Fumai freeze-dried powder for injection

**2.4 对照品质谱裂解规律** 人参二醇型皂苷(人参皂苷 Rb<sub>1</sub>)及人参三醇型皂苷(人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re)的质谱裂解主要有 2 条途径,第 1 条途径就是丢失所有的配糖基,从而形成 *m/z* 459.38 (二醇型)及 *m/z* 475.38 (三醇型)的母核离子。以人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 为例,其二级质谱图见图 2(A),碎片离子 *m/z* 945.542 4 [M - H - Glc]<sup>-</sup>, 783.495 5 [M - H - 2Glc]<sup>-</sup>, 621.437 1 [M - H - 3Glc]<sup>-</sup> 是去质子化的

人参皂苷  $Rb_1$  分别丢失 1, 2, 3 个分子葡萄糖基而形成的。母核离子  $m/z$  459.387 4  $[M - H - 4Glc]^-$  则是去质子化的人参皂苷  $Rb_1$  丢失所有的葡萄糖配基而形成<sup>[8-10]</sup>。第 2 条途径就是配糖基碎裂形成的特征性碎片离子。以人参皂苷  $Rb_1$  为例, 其配糖基的二级质谱图见图 2 (B), 碎片离子  $m/z$  323.102 2  $[2Glc - H - 2H_2O]^-$ , 305.092 6  $[2Glc - H - 3H_2O]^-$ , 263.073 5  $[2Glc - H - 3H_2O - C_2H_4O]^-$ , 245.064 3  $[2Glc - H - 4H_2O - C_2H_4O]^-$ , 221.066 6  $[2Glc - H - 4H_2O - 2C_2H_4O]^-$  是由双葡萄糖基碎裂产生, 如果未知成分的二级质谱存在上述碎片离子

子则说明此化合物的结构式中含有双葡萄糖基。特征性碎片离子  $m/z$  179.054 8  $[Glc - H]^-$ , 161.047 5  $[Glc - H - H_2O]^-$ , 149.045 4  $[Glc - H - CH_2O]^-$ , 143.033 6  $[Glc - H - 2H_2O]^-$ , 131.033 8  $[Glc - H - H_2O - CH_2O]^-$ , 119.034 8  $[Glc - H - H_2O - C_2H_4O]^-$ , 113.024 9  $[Glc - H - 2H_2O - CH_2O]^-$ , 101.024 6  $[Glc - H - 2H_2O - C_2H_4O]^-$  是由单葡萄糖基碎裂所产生, 如果未知化合物的二级质谱中仅出现上述碎片离子则说明此化合物的结构式中只含有单葡萄糖基而不含双葡萄糖基<sup>[11-12]</sup>。

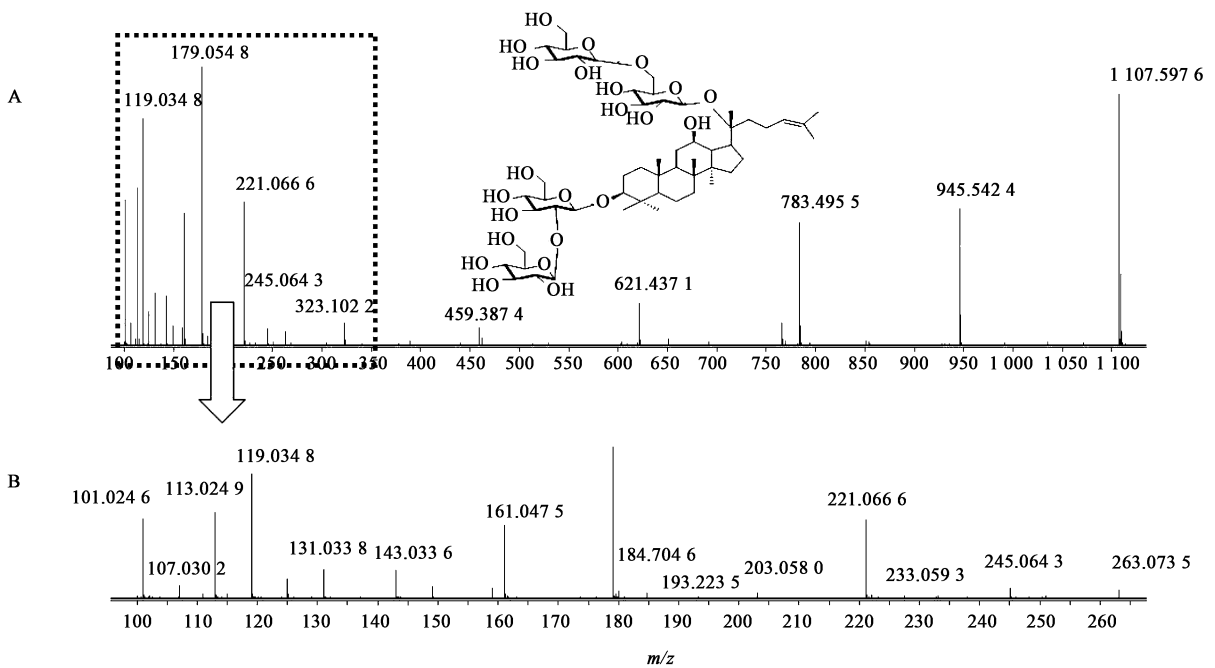


图 2 人参皂苷  $Rb_1$  二级质谱及质谱裂解方式 (A), 配糖基的二级质谱及相应的质谱裂解模式 (B)

Fig. 2 MS/MS and proposal fragmentation pathways of ginsenoside  $Rb_1$  (A), MS/MS and corresponding mass spectrometric fragmentation model of relative aglycone (B)

## 2.5 皂苷类成分的鉴定

### 2.5.1 人参二醇型皂苷

通过上述的质谱裂解规律可知, 人参二醇型皂苷会失去所有的配糖基从而形成稳定的去质子化的母核  $m/z$  459.38。化合物 6, 8, 9, 13 ~ 15, 18, 21 ~ 22 共 9 个化合物失去所有的配糖基后出现  $m/z$  459.38 的碎片离子, 说明这 9 个化合物均为人参二醇型皂苷。确定了化合物的骨架, 接下来就要确定化合物含有什么类型的糖基以及每种糖基的个数。以化合物 22 为例来说明, 其  $m/z$  829.492 8  $[M + HCOO]^-$  ( $\delta$  - 2.0 ppm), 则能推算出化合物 22 的分子式为  $C_{42}H_{72}O_{13}$ 。从化合物 22 的二级质谱可知, 其连续丢失 2 个分子葡萄糖配

基形成去质子化的母核  $m/z$  459.383 7, 说明该化合物的结构式中含有 2 个葡萄糖基。而碎片离子  $m/z$  323.102 2, 221.063 8, 179.053 1, 161.045 7, 143.031 5, 119.030 9, 113.024 7, 101.025 3 的出现则说明化合物 22 的结构式含有相连的双葡萄糖基而非 2 个彼此分开的葡萄糖基<sup>[11-12]</sup>。结合文献报道<sup>[15]</sup>, 化合物 22 被鉴定为人参皂苷  $Rg_3$  或其异构体。以相同的解析方法推测, 化合物 6, 8, 9, 13 ~ 15, 18, 21 分别被鉴定为人参皂苷  $Ra_3$  (异构体), 人参皂苷  $Ra_1$  (异构体), 人参皂苷  $Rb_1$ , 人参皂苷  $Rc$  (异构体), 人参皂苷  $Rb_2$  (异构体), 人参皂苷  $Rb_3$  (异构体), 人参皂苷  $Rd$  (异构体) 及异人参皂苷  $Rg_3$  (异构体), 见表 1。

表 1 注射用益气复脉冻干粉的皂苷类成分分析

Table 1 Analysis of saponins in Yiqi Fumai freeze-dried powder for injection

峰号	$t_R$ /min	MS <sup>1</sup> ( $\delta$ /ppm)	分子式	MS <sup>2</sup>	鉴定	参考文献
1	8.40	961.537 0 [M-H] <sup>-</sup> (-0.2)	C <sub>48</sub> H <sub>82</sub> O <sub>19</sub>	799.481 5 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 637.432 6 [M-H-2Glc] <sup>-</sup> , 475.381 0 [M-H-3Glc] <sup>-</sup> , 221.063 8, 161.042 5, 119.035 3, 113.026 3, 101.023 8	20-葡萄糖基- 人参皂苷 Rf (异构体)	[13-14]
2	9.08	931.527 4 [M-H] <sup>-</sup> (0.7)	C <sub>47</sub> H <sub>80</sub> O <sub>18</sub>	799.482 0 [M-H-Ara] <sup>-</sup> , 637.435 5 [M-H-Ara-Glc] <sup>-</sup> , 475.385 5 [M-H-Ara-2Glc] <sup>-</sup> , 293.087 6, 149.091 4, 131.025 5, 113.025 5, 101.024 6	三七皂苷 R <sub>1</sub> (异构体)	[15]
3 <sup>1)</sup>	9.94	845.489 0 [M+HCOO] <sup>-</sup> (-1.6)	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>	799.484 0 [M-H] <sup>-</sup> , 637.432 9 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 475.385 9 [M-H-2Glc] <sup>-</sup> , 179.055 8, 161.044 9, 143.034 9, 119.034 6, 113.023 4, 101.024 0	人参皂 苷 R <sub>g1</sub>	[16]
4 <sup>1)</sup>	10.40	945.542 9 [M-H] <sup>-</sup> (0.6)	C <sub>48</sub> H <sub>82</sub> O <sub>18</sub>	799.487 3 [M-H-Rha] <sup>-</sup> , 637.431 4 [M-H-Rha-Glc] <sup>-</sup> , 475.379 5 [M-H-Rha-2Glc] <sup>-</sup> , 179.055 1, 161.044 3, 143.036 6, 113.024 7, 101.024 7	人参皂苷 Re	[17]
5	17.59	799.484 7 [M-H] <sup>-</sup> (0.3)	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>	637.436 1 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 475.383 9 [M-H-2Glc] <sup>-</sup> , 221.063 2, 161.045 2, 149.041 0, 143.034 6, 119.035 0, 113.022 7, 101.023 0	人参皂苷 Rf (异构体)	[18]
6	18.29	1 239.639 7 [M-H] <sup>-</sup> (1.8)	C <sub>59</sub> H <sub>100</sub> O <sub>27</sub>	1 107.596 1 [M-H-Ara] <sup>-</sup> , 945.542 2 [M-H-Ara-Glc] <sup>-</sup> , 783.496 5 [M-H-Ara-2Glc] <sup>-</sup> , 621.633 7 [M-H-Ara-3Glc] <sup>-</sup> , 459.380 9 [M-H-Ara-4Glc] <sup>-</sup> , 232.100 4, 149.042 2, 101.025 4	人参皂苷 Ra <sub>3</sub> (异构体)	[15]
7	19.14	769.476 9 [M-H] <sup>-</sup> (4.0)	C <sub>41</sub> H <sub>70</sub> O <sub>13</sub>	637.431 9 [M-H-Ara] <sup>-</sup> , 475.381 7 [M-H-Ara-Glc] <sup>-</sup> , 161.043 3, 143.039 2, 131.030 6, 113.025 0, 101.024 2	人参皂苷 F <sub>3</sub> (异构体)	[14]
8	19.97	1 209.621 8 [M-H] <sup>-</sup> (-4.1)	C <sub>58</sub> H <sub>98</sub> O <sub>26</sub>	1 107.592 3 [M-H-Ara] <sup>-</sup> , 945.542 6 [M-H-2Ara] <sup>-</sup> , 945.542 6 [M-H-2Ara] <sup>-</sup> , 783.499 7 [M-H-2Ara-Glc] <sup>-</sup> , 621.437 2 [M-H-2Ara-2Glc] <sup>-</sup> , 459.387 2 [M-H-2Ara-3Glc] <sup>-</sup> , 323.096 2, 131.033 4	人参皂苷 Ra <sub>1</sub> (异构体)	[14]
9 <sup>1)</sup>	20.37	1 107.596 6 [M-H] <sup>-</sup> (1.3)	C <sub>54</sub> H <sub>92</sub> O <sub>23</sub>	945.548 3 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 783.497 3 [M-H-2Glc] <sup>-</sup> , 621.437 8 [M-H-3Glc] <sup>-</sup> , 459.379 3 [M-H-4Glc] <sup>-</sup> , 323.097 0, 221.065 1, 179.053 9, 101.023 7	人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	[13,17]
10	20.41	829.495 5 [M+HCOO] <sup>-</sup> (0.7)	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub>	783.488 1 [M-H] <sup>-</sup> , 637.430 3 [M-H-Rha] <sup>-</sup> , 475.384 3 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 161.040 0, 145.045 4, 113.024 0, 101.024 8	人参皂苷 Rg <sub>2</sub> (异构体)	[15]
11	20.88	683.438 1 [M+HCOO] <sup>-</sup> (0.7)	C <sub>36</sub> H <sub>62</sub> O <sub>9</sub>	637.435 1 [M-H] <sup>-</sup> , 475.383 5 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 161.043 9, 113.019 8, 101.022 4	人参皂苷 Rh <sub>1</sub> (异构体)	[13]
12	21.35	829.497 2 [M+HCOO] <sup>-</sup> (2.0)	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub>	783.486 1 [M-H] <sup>-</sup> , 637.439 3 [M-H-Rha] <sup>-</sup> , 475.382 0 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 161.045 5, 119.032 3, 113.022 4, 101.023 0	异人参皂苷 Rg <sub>2</sub> (异构体)	[15]
13	21.87	1 077.582 0 [M-H] <sup>-</sup> (-2.4)	C <sub>53</sub> H <sub>90</sub> O <sub>22</sub>	945.538 9 [M-H-Ara] <sup>-</sup> , 783.496 1 [M-H-Ara-Glc] <sup>-</sup> , 621.431 2 [M-H-Ara-2Glc] <sup>-</sup> , 459.387 2 [M-H-Ara-3Glc] <sup>-</sup> , 221.061 1, 179.051 4, 161.043 6, 131.032 9, 113.024 2, 101.023 9	人参皂苷 Rc (异构体)	[3-4]
14	22.22	1 077.581 5 [M-H] <sup>-</sup> (-2.8)	C <sub>53</sub> H <sub>90</sub> O <sub>22</sub>	945.545 3 [M-H-Ara] <sup>-</sup> , 783.492 0 [M-H-Ara-Glc] <sup>-</sup> , 621.439 4 [M-H-Ara-2Glc] <sup>-</sup> , 459.387 6 [M-H-Ara-3Glc] <sup>-</sup> , 179.054 4, 161.043 7, 149.044 7, 131.034 0, 113.022 7, 101.022 8	人参皂苷 Rb <sub>2</sub> (异构体)	[15-16]
15	22.52	1 077.586 7 [M-H] <sup>-</sup> (1.9)	C <sub>53</sub> H <sub>90</sub> O <sub>22</sub>	945.544 2 [M-H-Ara] <sup>-</sup> , 783.496 7 [M-H-Ara-Glc] <sup>-</sup> , 621.431 0 [M-H-Ara-2Glc] <sup>-</sup> , 459.385 4 [M-H-Ara-3Glc] <sup>-</sup> , 221.067 8, 161.042 5, 149.042 9, 131.033 2, 113.022 9, 101.022 4	人参皂苷 Rb <sub>3</sub> (异构体)	[15-16]

续表 1

峰号	$t_R$ /min	$MS^1$ ( $\delta$ /ppm)	分子式	$MS^2$	鉴定	参考文献
16	22.974	885.462 7 [M-H] <sup>-</sup> (4.2)	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>18</sub>	753.418 9 [M-H-Ara] <sup>-</sup> , 591.366 1 [M-H-Ara-Glc] <sup>-</sup> , 455.310 5 [M-H-Ara-Glc-Rha] <sup>-</sup> , 205.066 9, 145.049 4, 125.015 6, 101.020 5	麦冬皂苷 C (异构体)	[19]
17	23.741	753.410 7 [M-H] <sup>-</sup> (2.7)	C <sub>39</sub> H <sub>62</sub> O <sub>14</sub>	607.352 8 [M-H-Rha] <sup>-</sup> , 445.300 1 [M-H-Rha-Glc] <sup>-</sup> , 205.068 7, 163.062 4, 119.033 6, 101.022 6	麦冬皂苷 Ra (异构体)	[19]
18	24.25	945.543 7 [M-H] <sup>-</sup> (1.4)	C <sub>48</sub> H <sub>82</sub> O <sub>18</sub>	783.489 8 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 621.433 8 [M-H-2Glc] <sup>-</sup> , 459.383 1 [M-H-3Glc] <sup>-</sup> , 221.068 8, 179.055 5, 161.042 1, 143.031 9, 119.033 8, 113.024 0, 101.023 2	人参皂苷 Rd (异构体)	[20]
19	25.19	721.416 2 [M-H] <sup>-</sup> (0.4)	C <sub>39</sub> H <sub>62</sub> O <sub>12</sub>	575.357 0 [M-H-Rha] <sup>-</sup> , 429.299 0 [M-H-2Rha] <sup>-</sup> , 205.063 4, 119.032 7, 101.021 6	麦冬皂苷 B (异构体)	[19]
20	28.89	415.213 0 [M-H] <sup>-</sup> (2.1)	C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>	400.187 6, 384.187 7, 358.188 5, 353.159 8	五味子甲素 (异构体)	[21]
21	34.16	783.482 4 [M-H] <sup>-</sup> (9.0)	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub>	621.432 2 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 459.384 7 [M-H-2Glc] <sup>-</sup> , 161.045 7, 143.039 6, 119.039 5, 113.021 3, 101.022 3	异人参皂苷 Rg <sub>3</sub> (异构体)	[15]
22	34.78	829.492 8 [M+HCOO] <sup>-</sup> (-2.0)	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub>	783.487 2 [M-H] <sup>-</sup> , 621.435 2 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 459.383 7 [M-H-2Glc] <sup>-</sup> , 323.102 2, 221.063 8, 179.053 1, 161.045 7, 143.031 5, 119.030 9, 113.024 7, 101.025 3	人参皂苷 Rg <sub>3</sub> (异构体)	[15]

注: <sup>1)</sup>表示此化合物已经通过对照品比对(保留时间、精确相对分子质量及二级质谱)确认。Glc. 葡萄糖; Rha. 鼠李糖; Ara. 阿拉伯糖。

**2.5.2 人参三醇型皂苷** 化合物 **1~5, 7** 以及 **10~12** 共 9 个化合物失去所有的配糖基后出现  $m/z$  475.38 的碎片离子, 说明这 9 个化合物均为人参三醇型皂苷。确定了化合物的骨架, 接下来就要确定化合物含有什么类型的糖基以及每种糖基的个数。以化合物 **3** 为例来说明, 化合物 **3** 的  $m/z$  845.489 0 [M+HCOO]<sup>-</sup> ( $\delta$  -1.6 ppm), 则能计算出化合物 **3** 的分子式为 C<sub>42</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub>。从化合物 **3** 的二级质谱可知, 其连续丢失 2 个分子葡萄糖配基形成去质子化的母核  $m/z$  475.385 9, 则说明化合物 **3** 的结构式中含有 2 个葡萄糖基。而在配糖基碎片离子区域仅出现  $m/z$  179.055 8, 161.044 9, 143.034 9, 119.034 6, 113.023 4, 101.024 0 的特征性碎片离子, 说明化合物 **3** 的结构式含有 2 个彼此分开的葡萄糖基而非相连的双葡萄糖基<sup>[11-12]</sup>。结合文献报道<sup>[16]</sup>, 化合物 **3** 被鉴定为人参皂苷 Rg<sub>1</sub>。最后通过与参皂苷 Rg<sub>1</sub> 对照品进行比对, 最终确认化合物 **3** 为人参皂苷 Rg<sub>1</sub>。以相同的解析方法鉴定了化合物 **1~5, 7** 及 **10~12**, 见表 1。

**2.5.3 麦冬皂苷以及其他成分的分析** 在注射用益气复脉冻干粉中, 红参为君药, 因此其皂苷类成分为主要的活性成分, 而麦冬和五味子中的成分相对质量分数较少。由于缺少麦冬及五味子中主要成分的对照品, 因而未对其质谱裂解规律进行研究, 只通

过文献比对来初步确定这 2 味药材中的化学成分。在注射用益气复脉冻干粉中的总离子流中, 化合物 **17** 的二级质谱中, 其首先丢失 1 个分子鼠李糖基, 再丢失 1 个分子葡萄糖基, 从而形成  $m/z$  445.300 1 的碎片离子, 而在  $m/z$  250 以下形成的高丰度碎片离子主要来源于其结构中鼠李糖及葡萄糖的碎裂。最后通过文献比对, 初步确定其为麦冬皂苷 Ra (异构体)。利用相同的方法分析化合物 **16** 与 **19**, 结果初步鉴定二者分别为麦冬皂苷 C (异构体) 与麦冬皂苷 B (异构体), 上述 3 个麦冬皂苷类化合物均首次在注射用益气复脉冻干粉中被报道。对于五味子药材中的主要活性成分, 只检查到了五味子甲素的精确相对分子质量, 通过文献对比化合物 **20** 的二级质谱, 初步确定其为五味子甲素 (异构体)。

### 3 讨论

在分析质谱裂解规律的基础上, 本文利用 HPLC-Q-TOF-MS 对注射用益气复脉冻干粉中的 21 个含量较高的皂苷类化合物进行鉴定, 其中 13 个皂苷类成分为首次在该制剂中报道。此外, 本文提出了三萜皂苷类的质谱裂解规律, 特别是对于单糖以及二糖的鉴定进行了详细而深入的研究, 为其质谱鉴定奠定了基础。但是本文所使用的皂苷类成分对照品数量有限, 除 3 个皂苷类成分之外, 其他皂苷类成分只是初步鉴定, 还需要通过相应对照品来进一步确证。

注射用益气复脉冻干粉的组方药材中红参为君药,其主要成分为皂苷类;麦冬为臣药,其中亦含有皂苷类成分,但其皂苷类成分在益气复脉冻干粉成品中含量较低;五味子为佐药,其成分有木脂素、三萜类、黄酮类、挥发油、多糖类、有机酸等,尚未见皂苷类成分的报道。该制剂化学成分复杂,药效物质基础不明确,容易引起诸多不良反应,多数对其药物不良反应的研究仅停留在注射剂整体水平,并没有对临床药物的药效物质基础和不良反应的具体成分进行研究。在本研究中,注射用益气复脉冻干粉中的大部分含量较高的皂苷类化合物已经被初步鉴定,这为注射用益气复脉冻干粉中的药效物质基础及引起不良反应的具体成分研究提供了依据,也有利于阐明该制剂的作用机制及作用靶点。在本研究中,主要对其君药红参中的大部分皂苷类成分进行了较深入研究,而对麦冬及五味子中化学成分的研究将在后续实验中展开。

[参考文献]

[1] 冷方南. 中国基本中成药. 大内科系统用药[M]. 北京:人民卫生出版社,1988:95.

[2] 马宁,侯雅竹,王贤良,等. 注射用益气复脉(冻干)不良反应文献研究与分析[J]. 中国新药杂志,2015,24(10):1197-1200.

[3] 孙静,王凤,刘影哲,等. 注射用益气复脉(冻干)治疗冠心病心绞痛136例[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2011,9(9):1034-1035.

[4] 遇永琴. 注射用益气复脉(冻干)粉针合冻干丹参粉针治疗慢性心力衰竭气阴两虚、心血瘀阻型疗效观察[J]. 北京中医药,2015,34(3):236-237.

[5] 张崇荣,牛昱光,李欣,等. 注射用益气复脉治疗气阴两虚型冠心病心绞痛的临床疗效观察[J]. 中国医药指南,2016,14(8):211-212.

[6] 逢小倩,叶正良,李德坤,等. 注射用益气复脉(冻干)碱醇洗脱部分甲酯化方法的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(22):96-99.

[7] 韩晓萍,李德坤,周大铮,等. 近红外光谱法测定注射用益气复脉(冻干)中的10种人参皂苷[J]. 中国中药杂志,2011,36(12):1603-1605.

[8] WANG H P, ZHANG Y B, YANG X W, et al. Rapid characterization of ginsenosides in the roots and rhizomes of *Panax ginseng* by UPLC-DAD-QTOF-MS/MS and simultaneous determination of 19 ginsenosides by HPLC-ESI-MS[J]. J Ginseng Res,2016,40(4):382-394.

[9] WU W, LU Z Y, TENG Y R, et al. Structural characterization of ginsenosides from flower buds of *Panax ginseng* by RRLC-Q-TOF MS[J]. J Chromatogr

Sci,2016,54(2):136-143.

[10] YANG H, Lee D Y, KANG K B, et al. Identification of ginsenoside markers from dry purified extract of *Panax ginseng* by a dereplication approach and UPLC-QTOF/MS analysis [J]. J Pharm Biomed Anal, 2015, 109: 91-104.

[11] QING Z X, ZHAO H, TANG Q, et al. Systematic identification of flavonols, flavonol glycosides, triterpene and siraic acid glycosides from *Siraitia grosvenorii* using high-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry combined with a screening strategy [J]. J Pharm Biomed Anal, 2017,138:240-248.

[12] ZHOU G S, WANG M Y, LI Y, et al. Comprehensive analysis of 61 characteristic constituents from *Siraitia fructus* using ultrahigh-pressure liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal,2016,125:1-14.

[13] 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.

[14] 周思思,马增春,梁乾德,等. 基于UPLC-TOF-MS分析人参麦冬配伍后皂苷类成分的变化[J]. 质谱学报,2013,34(2):88-95.

[15] 刘燕,聂黎行,陈方军,等. 高分离度快速液相色谱-离子阱质谱分析人参注射液化学成分[J]. 药物分析杂志,2011,31(9):1672-1677.

[16] CHAN T W, But P P, CHENG S W, et al. Differentiation and authentication of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolius*, and ginseng products by using HPLC/MS [J]. Anal Chem,2000,72(6):1281-1287.

[17] MA X Q, LIANG X M, XU Q, et al. Identification of ginsenosides in roots of *Panax ginseng* by HPLC-APCI/MS [J]. Phytochem Anal,2005,16(3):181-187.

[18] 马小琼,肖红斌,梁鑫淼,等. 源内裂解液相色谱-质谱鉴别人参皂苷 Rf 和拟人参皂苷 F<sub>11</sub> [J]. 分析化学,2006,34(9):1273-1277.

[19] 吴茵. 基于液质联用技术的麦冬化学成分分析与药代动力学研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2015.

[20] 李丽,刘春明,吴巍,等. 高效液相色谱-电喷雾质谱联用法测定人参和西洋参的皂苷类成分[J]. 分析化学,2005,33(8):1087-1090.

[21] 李伟,刘亚丽,宋永贵,等. UPLC-Q-TOF-MSE 结合 OPLS-DA 模式快速鉴定南、北五味子化学成分与识别差异标志物[J]. 中草药,2015,46(15):2212-2218.

[责任编辑 刘德文]