

UPLC-ESI-MS-MS 分析生晒参和紫红参中皂苷类成分

邱楠楠, 刘金平, 苏航, 董刚, 刘海燕, 李平亚*
(吉林大学再生医学科学研究所, 长春 130021)

[摘要] 目的: 采用 UPLC-ESI-MS-MS 方法比较生晒参和紫红参中人参皂苷类成分的种类及含量, 阐明紫红参特异成分。方法: Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 流动相 A (0.1% 甲酸)-B (乙腈) 梯度洗脱, 柱温 30 °C; 质谱条件: 电喷雾离子化源 (ESI), 负离子检测模式。结果: 与生晒参相比, 紫红参中人参皂苷的种类和数量发生了改变, 检测出含量较高的人参皂苷为 20(S)-人参皂苷 R_{g3}、20(R)-人参皂苷 R_{g3}、20(R)-人参皂苷 Rh₁、20(R)-人参皂苷 R_{g2}、Rk₁、R_{g5}、Rd、Ro、姜状三七苷 R₁ 等。结论: 人参加工成紫红参后皂苷类成分发生较大的变化, 产生了大量稀有皂苷, 人参加工可能产生紫红参的特异成分。

[关键词] 生晒参; 紫红参; 人参皂苷; 超高液相色谱-电喷雾-串联四级杆质谱联用仪
[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0091-03
[doi] 10.11653/syfy2013130091

Analysis on Ginsenosides of Dry Radix Ginseng and Purplish Red Ginseng with UPLC-MS-MS

QIU Nan-nan, LIU Jin-ping, SU Hang, DONG Gang, LIU Hai-yan, LI Ping-ya*
(Institute of Frontier Medical Science of Jilin University, Changchun 130021, China)

[Abstract] **Objective:** To clarify special constituents of purplish red ginseng, the kinds and content of ginsenosides in dry radix ginseng and purplish red ginseng were determined by UPLC-ESI-MS-MS method in this paper. **Method:** Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) column was used with mobile phase consisted of 0.1% methanoic acid - acetonitrile (gradient elution). The column temperature was set at 30 °C. MS conditions: ESI, the negative electrospray ionization mode. **Result:** Compared with the dry radix ginseng, the kinds and content of ginsenosides in purplish red ginseng had changed, the content of 20 (S) -ginsenoside R_{g3}, 20 (R) -ginsenoside R_{g3}, 20 (R) -ginsenoside Rh₁, 20 (R) -ginsenoside R_{g2}, Rk₁, R_{g5}, Rd, Ro and zingibroside R₁ increased in purplish red ginseng. **Conclusion:** Great changes of saponins have been obviously found in processing ginseng to purplish red ginseng. Special constituents of purplish red ginseng could be produced in ginseng processing.

[Key words] dry Radix Ginseng; purplish red ginseng; ginsenoside; UPLC-ESI-MS/MS

人参为五加科人参属多年生宿根草本植物, 主

要分布在中国的东北、韩国和日本。人参性温、味甘, 具有大补元气、强心固脱、安神生津等功效, 被誉为“百草之王”, 其作为名贵的中药材在我国已有两千多年的应用历史。现代临床医学和药理学研究表明, 人参具有提高机体免疫力^[1]、抗疲劳^[2-3]、抗肿瘤^[4]、抗氧化^[5]、抗糖尿病^[6]、抗炎^[7]以及抗抑郁^[8]等多种活性。人参皂苷是人参的主要活性成分之一。

生晒参是将人参经洗净, 自然阴干、晒干或烘

[收稿日期] 20120927(012)
[基金项目] 吉林省科技厅重大项目(20096039)
[第一作者] 邱楠楠, 博士研究生, 从事生物化学与分子生物学研究, Tel: 13943007632, E-mail: qiunn10@mails.jlu.edu.cn
[通讯作者] * 李平亚, 教授, 从事天然药物化学成分及其生物活性的研究, Tel: 0431-85619803, E-mail: lipy@jlu.edu.cn

干而制成的人参商品。紫红参是红参经过工业发酵而得到的一种人参深加工产品。在对人参炮制加工的过程中,皂苷类成分会发生酯键和糖苷键的降解^[9-10],从而导致大量稀有皂苷的产生。本实验采用 UPLC-ESI-MS-MS 方法对生晒参和紫红参的皂苷类成分进行了比较,对加工过程中紫红参中皂苷类成分的变化途径进行了研究。

1 材料

Waters ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪系统,包括二元超高压泵系统、样品管理系统、Masslynx 4.1 色谱工作站;Waters Xevo TQ-S 串联四级杆质谱仪(美国 Waters 公司),RE-52 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),FA1104N 型电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司),RCT-3200 型超纯水仪(长春博莱帕特科技发展有限公司),离心机(上海安亭科学仪器厂)。

乙腈、甲酸(色谱纯,德国 Fisher 公司),水为超纯水,其他的试剂均为分析纯,生晒参(批号 110713,吉林省皇封参集团股份有限公司),紫红参(批号 110820,吉林省皇封参集团股份有限公司)。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备 取生晒参和紫红参粉末(过四号筛)各约 0.5 g,精密称定,精密加入甲醇 25 mL,超声处理(功率 100 W,频率 40 kHz)45 min,放冷,用甲醇补足缺失的质量,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.2 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) 色谱柱,柱温 30 °C,样品管理器温度 15 °C,流速 0.3 mL·min⁻¹,进样量 4 μL,流动相 A (0.1% 甲酸)-B (乙腈),梯度洗脱,洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

t/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	95	5
9	75	25
18	65	35
24	55	45
29	45	55
33	35	65
35	30	70
37	30	70

2.3 质谱条件 电喷雾离子化源(ESI),负离子检测模式。扫描范围 *m/z* 100 ~ 1 500。毛细管电压 3.0 kV,锥孔电压 40 V,源温度 150 °C,脱溶剂气温

度,400 °C,锥孔气流量,150 L·h⁻¹,脱溶剂气流量 800 L·h⁻¹,氩气流量 0.15 mL·min⁻¹。

2.4 生晒参和紫红参总离子流色谱及其主要信号的 UPLC-ESI-MS-MS 质谱归属和相对含量 生晒参和紫红参样品 UPLC-ESI-MS-MS 总离子流色谱图分别见图 1。

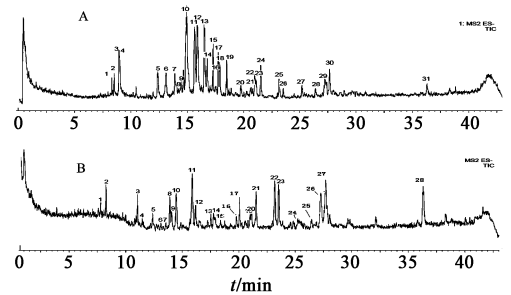


图 1 生晒参(A)紫红参(B)UPLC-ESI-MS-MS 总离子流色谱

生晒参和紫红参中主要信号的 UPLC-ESI-MS-MS 质谱归属及相对含量结果分别见表 2~4。

表 2 生晒参和紫红参中共有皂苷类成分的 UPLC-ESI-MS-MS 数据及归属

No.	<i>t_R</i> /min	化合物	M	含量/%	
				生晒参	紫红参
1	12.37	人参皂苷 Rf	800.7	0.233	0.084
2	13.11	三七皂苷 R ₂	770.7	0.269	0.019
3	13.89	20(S)-人参皂苷 Rh ₁	638.7	0.055	0.085
4	14.04	20(S)-人参皂苷 Rg ₂	784.7	0.005	0.016
5	14.42	20(R)-人参皂苷 Rh ₁	638.7	0.043	0.246
6	15.90	人参皂苷 Ro	956.7	0.281	0.375
7	17.51	姜状三七苷 R ₁	794.7	0.017	0.166
8	17.76	人参皂苷 Rd	946.7	0.070	0.156
9	20.97	未知	666.7	0.059	0.036
10	21.12	人参皂苷 Rg ₆ /F ₄	766.7	0.086	0.093
11	21.53	未知	666.7	0.214	0.214
12	23.15	20(S)-人参皂苷 Rg ₃	784.7	0.194	0.306
13	23.51	20(R)-人参皂苷 Rg ₃	784.7	0.053	0.215
14	25.25	未知	596.7	0.064	0.063
15	26.42	未知	572.7	0.082	0.056
16	27.28	人参皂苷 Rk ₁	766.7	0.195	0.286
17	27.70	人参皂苷 Rg ₅	766.7	0.178	0.336
18	36.30	未知	28.7	0.059	0.216

2.5 生晒参和紫红参中人参皂苷类成分分析 生晒参中检测出含量较高的人参皂苷有 Rf, Ro, Re, Rb₁, Rc, Rb₂, Rk₁, Rg₅, 20(S)-人参皂苷 Rg₃, 三七皂苷 R₁, R₂, 乙酰化人参皂苷 Rb₁, 乙酰化人参皂苷 Rc 等。此外还检测出含量较少的三七皂苷 R₃、人参皂苷 Rg₁、20(S)-人参皂苷 Rh₁、20(R)-人参皂苷 Rh₁、姜状三七苷 R₁、Rb₃、20(S)-人参皂苷 Rg₂, Rd, 20(R)-人参皂苷 Rg₃、稀有人参皂苷 Rg₆/F₄、乙酰化人参皂苷 Rb₂、乙酰化人参皂苷 Re、乙酰化人参皂

表3 生晒参中其他已知皂苷类成分的UPLC-ESI-MS-MS数据及归属

No.	t_R /min	化合物	M	含量/%
1	8.30	三七皂苷 R_3	962.7	0.022
2	8.51	三七皂苷 R_1	932.7	0.105
3	8.92	人参皂苷 R_{g_1}	800.7	0.001
4	8.98	人参皂苷 Re	946.7	0.506
5	14.86	人参皂苷 R_{b_1}	1 108.7	0.942
6	15.65	人参皂苷 Re	800.7	0.312
7	16.50	人参皂苷 R_{b_2}	1 078.7	0.371
8	16.76	人参皂苷 R_{b_3}	1 078.7	0.086
9	17.28	乙酰化人参皂苷 R_{b_1}	1 150.7	0.231
10	17.88	乙酰化人参皂苷 R_{b_2}	1 120.7	0.015
11	18.48	乙酰化人参皂苷 Re	1 120.7	0.136
12	19.71	乙酰化人参皂苷 Re	988.7	0.093
13	20.63	乙酰化人参皂苷 Rd	988.7	0.019

表4 紫红参中其他特异成分的UPLC-ESI-MS-MS数据及归属

No.	t_R /min	化合物	M	含量/%
1	7.80	人参皂苷 C	656.7	0.071
2	8.25	未知	656.7	0.170
3	11.04	未知	638.7	0.113
4	11.46	未知	638.7	0.145
5	13.55	达玛-3 β -6 α -12 β ,20,25-五醇	494.7	0.028
7	16.17	未知	802.7	0.097
9	18.37	未知	800.7	0.031
19	19.78	西洋参皂苷 F_1	782.7	0.046
11	20.05	20(R)-人参皂苷 R_{g_2}	784.7	0.116
12	21.50	未知	666.7	0.214

苷 Rd 以及其他未知的化合物。

与生晒参不同,紫红参中检测出含量较高的人参皂苷为 20(S)-人参皂苷 R_{g_3} 、20(R)-人参皂苷 R_{g_3} 、20(R)-人参皂苷 R_{h_1} 、20(R)-人参皂苷 R_{g_2} 、 R_{k_1} 、 R_{g_5} 、Rd,Ro,姜状三七苷 R_1 等稀有皂苷;含量较低的人参皂苷为三七皂苷 R_2 、人参皂苷 Rf,20(S)-人参皂苷 R_{h_1} 、人参皂苷 R_{g_6}/F_4 、20(S)-人参皂苷 R_{g_2} 、人参皂苷 C、达玛-3 β -6 α -12 β ,20,25-五醇、西洋参皂苷 F_1 等;而人参皂苷 R_{g_1} 、Re, R_{b_1} 、 R_{b_2} 、 R_{b_3} 、Rc,三七皂苷 R_1 、 R_3 以及各乙酰化人参皂苷未被检测出来。

3 讨论

在紫红参中,未检测出二醇型人参皂苷 Re, R_{b_1} 、 R_{b_2} 和 R_{b_3} 等成分,原因是因为其 20 位糖链被水解,20 位末端糖链水解产生人参皂苷 Rd,完全水解产生了含量较高的次级皂苷 20(S)-人参皂苷 R_{g_3} 和 20(R)-人参皂苷 R_{g_3} 一对差向异构体以及人参皂苷 R_{k_1} 和 R_{g_5} 。与生晒参比较,20(R)-人参皂苷 R_{g_3} 含量明显增多,可认为是加工过程中发生构型

转化产生的紫红参特异性成分。对于三醇型人参皂苷 Re、三七皂苷 R_1 、 R_3 未被检出的原因是其糖链发生了降解,其降解产物 R_{g_2} 、 R_{h_1} 、Rf、三七皂苷 R_2 可检出。对于齐墩果酸型皂苷 Ro 的降解产物为姜状三七苷 R_1 ,所以在紫红参中姜状三七苷 R_1 含量有所增加。人参皂苷 Ro 的含量有所增加,可能是紫红参加工过程的特有成分,有待于进一步研究。

根据以上结果可知在紫红参的加工过程中,会发生美拉德反应及降解反应等,人参皂苷的种类和数量发生了改变,产生了 20(S)-人参皂苷 R_{g_3} 、20(R)-人参皂苷 R_{g_3} 、20(R)-人参皂苷 R_{h_1} 、20(R)-人参皂苷 R_{g_2} 、 R_{k_1} 、 R_{g_5} 、Rd,Ro,姜状三七苷 R_1 等含量较高的特异性成分。

[参考文献]

- [1] 王振华,赵卫平,刘篙,等.人参皂苷 R_{h_2} 对小鼠 X 射线辐射损伤的防护作用[J].中华放射医学与防护杂志,2010,30(2):143.
- [2] 李平靖,张婷,王晓莹,等.伪人参皂苷 GQ 对力竭小鼠抗疲劳作用研究[J].中国实验诊断学,2009,13(7):869.
- [3] 高伟博,米钧,秦秋杰,等.人参及其炮制品抗疲劳作用[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(19):210.
- [4] 苏涛,孙宏晨,马旭东,等.人参皂苷 R_{g_3} 抑制腺样癌细胞 SACC-83 增殖作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(23):195.
- [5] 宋志斌,朱成琳,师方圆,等.人参单体皂苷 Re 体外抗氧化能力及其对血清剥夺神经细胞作用的研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(7):225.
- [6] ZHANG Zhi-guo, LI Xiao-ying, LV Wen-shan, et al. Ginsenoside Re reduces insulin resistance through inhibition of c-JunNH₂-terminal kinase and nuclear factor- κ B[J]. Mol Endocrinol, 2008,22(1):186.
- [7] 赵保胜,桂海水,徐瞰海,等.人参单体皂苷 R_{g_1} 抗炎作用实验研究[J].人参研究,2010(4):2.
- [8] 惠永正,杨子荣,杨志奇,等.20(S)-原人参二醇在制备抗抑郁药物中的应用.中国:CN1895256A[P].2007-01-17.
- [9] 李向高,富力,鲁歧,等.红参炮制加工中的皂苷水解反应及其产物的研究[J].吉林农业大学学报,2000,22(2):1.
- [10] 李向高,林炫宣.在红参加工中皂苷的脱羧降解反应及其产物的研究[J].药学实践杂志,2000,18(5):355.

[责任编辑 顾雪竹]