

人参皂苷成分的 MALDI-TOF 质谱分析

鲁 林, 宋凤瑞, 刘志强

(中国科学院长春应用化学研究所, 吉林 长春 130022)

Analysis of Ginsenoside by MALDI-TOF MS

LU Lin, SONG Feng-rui, LIU Zhi-qiang

(Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China)

Abstract: Ginsenoside constituents were analyzed rapidly and simply by MALDI-TOF MS. The traditional dried-droplet method was modified to obtain a more homogenous matrix crystal, in which the solvent was evaporated rapidly by heating the sample plate. We also added metal cations (Li^+ , Na^+ , K^+) in the matrix solution and compared the results with those obtained by ESI-MS.

Keyword: matrix assisted; mass spectrometry; ginsenoside

中图分类号: O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2007) 增刊-90-02

人参为五加科植物人参(*Panax ginseng* C. A. Mey)的干燥根, 是我国名贵常用的中药材, 具有滋补、强壮、抗疲劳等多方面的药理和生物活性^[1-2]。人参皂苷是人参中的主要活性成分, 具有广泛的实际应用价值, 人参皂苷的准确快速检测一直为人们所关注。目前, 研究人参皂苷主要是利用 HPLC-ESI-MS^[3-4]。

MALDI-TOF 为一种常用的软电离质谱仪器, 近年来广泛的用于生物大分子和高聚物的研究。此外, 利用 MALDI 研究小分子化合物也一直为广大学者所关注。有人曾利用 LDI 尝试检测过人参皂苷^[5], 而利用 MALDI 检测人参皂苷尚未见报道。实验拟通过改进传统的点样方法, 利用 MALDI-TOF 质谱快速简单地检测了人参皂苷成分。传统的干滴法得到的样品点非常不均匀, 很难找到好的样品点; 而传统的快速挥干方法中, 样品点扩散过大, 加入少量水可以控制样品点的扩散, 并同时让样品分布均匀, 易于快速检测样品。同时, 实验中往基质里引入 Li、Na、K 离子, 并用此种方法检测了红参中的皂苷成份, 且将实验结果与 ESI-MS 结果相比较。

1 试验部分

1.1 主要仪器与装置

Voyager-DE STR 型 MALDI-TOF 质谱仪: 美国 ABI 公司产品。

1.2 主要材料与试剂

DHB: sigma 公司产品; 人参皂苷 Rb1(MW=1 108), 人参皂苷 Rg1(MW=800), 人参皂苷 Re(MW=946): 购于中国药品生物制品检验所; LiCl、NaCl、KCl 均为分析纯; 水为 Milli-Q 纯化; 其他溶剂为分析纯。

1.3 试验条件

1.3.1 样品浓度 人参皂苷 Rb1 $27.4 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 人参皂苷 Rg1 $17.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 人参皂苷 Re $22.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$; 皂苷溶剂为甲醇(色谱纯) $24.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ LiCl, $19.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl, $14.84 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl,

60 g·L⁻¹ DHB; 配制方法有两种: 50%乙腈/0.01%TFA (体积比) 与 100%丙酮。

1.3.2 质谱条件 加速电压 20 000 V, 激光扫描次数 70, 质量扫描范围 m/z 500~1500, 扫描模式为反射模式。

1.3.3 试验方法 将基质样品等体积混合点样, 迅速用吹风机吹干溶剂, (对于纯丙酮配制的基质, 样品基质混合后加入 0.05%水) 质谱检测。

2 结果与讨论

通过这种点样方法得到图谱质量很好, 示于图 1。图中出现质谱峰分别为三种皂苷化合物的离子 Li、Na、K 的加合峰, 这种点样方法得到的基质结晶状态均匀, 可以快速检测到好的质谱信号。通过比较发现, 用纯丙酮配制的基质, 吹干后样品与基质的结晶更均匀、信号更好, 但由于加入了少量的水, 样品点仍聚集在靶面上很小的一点, 与普通点样得到的样品点大小一样, 不会像传统的快速挥干法那样, 由于溶剂快速挥发, 样品过分扩散造成样品浓度的减小、信号减弱。

往基质中加入金属离子可以很好的提高图谱质量, 但是如果加入的金属浓度过大则会显著影响基质结晶状况, 从而影响图谱质量。通过比较发现, 加入 Li⁺ 和 Na⁺ 可以显著提高图谱质量, K⁺ 不是很明显。但无论加入何种金属阳离子, 谱图的基峰始终为分子的加 Na 峰, 这与 ESI 得到的结果基本一致。

用这种点样方法检测了红参的乙醇提取液中混合皂苷成份, 所得到的主要皂苷成分和 ESI 检测结果一致^[3]。

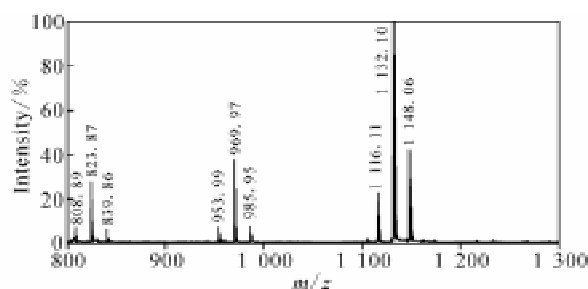


图 1 人参皂苷的 MALDI 谱图

Fig.1 MALDI Mass Spectrum of ginsenoside

3 结论

通过比较不同的点样方法, 确定加热加速基质溶剂挥发的方法, 可以使基质与样品的混合液形成较好的结晶, 有利于质谱检测; 并可以运用到红参提取液中皂苷的检测; 在基质中加入适量的金属阳离子可以提高皂苷的图谱质量。

参考文献:

- [1] 王本祥. 人参的研究进展[M]. 天津: 天津出版社, 1991.
- [2] 张均田, 刘云, 屈志炜, 等. 人参皂苷 Rb1 和 Rg1 对小鼠中枢神经递质受体和脑内蛋白质合成的影响[J]. 药理学学报, 1988, 23:12.
- [3] CUI M, SONG F R, LIU Z Q, et al. Metal ion adducts in the structural analysis of ginsenosides by electrospray ionization with multi-stage mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2001, 15(8): 586-595.
- [4] 郭继芬, 钟大放, 乔善义, 等. 液相色谱-电喷雾质谱联用技术分析人参皂苷[J]. 质谱学报, 2003,4(24): 477.
- [5] 周雨, 宋风瑞, 刘淑莹. 人参皂苷的基质辅助激光解吸质谱研究[J]. 化学学报, 1998,56: 298.