

# 色谱联用技术在中药研究领域的应用

张晶晶<sup>1</sup> 艾力<sup>2</sup> 敖梅英<sup>1</sup>

(1 江西中医学院 南昌 330025; 2 江西中医学院 2005 级研究生 南昌 330004)

关键词: 色谱联用; 中药; 应用; 综述

中图分类号: R 285.5

文献标识码: A

文献编号: 1671-4040(2007)05-0089-02

液质联用 (LC/MS) 是指液相色谱与质谱串联的技术。HPLC 是目前分离复杂体系最为有效的分析工具, 由于其仪器自动化、普及化程度愈来愈高, 已成为中药分析最常用的仪器之一。但目前中药分析中运用的 HPLC 仪器绝大多数与 UV 或 DAD 检测器相联接, 对于单个色谱峰仅提供保留时间及紫外图谱等信号, 而对未知成分所能提供的结构信息相当有限。MS 是一种高灵敏度的检测器, 且不同化合物的特征性强, 可用于部分解析未知化合物的结构。中草药是一个非常复杂的化学体系, 其中含有大量的次生代谢产物, 其结构复杂, 性质相似, 有的化合物还不稳定。LC/MS 将 HPLC 的高分离效能与 MS 的强大结构测定功能组合起来, 为中药化学成分的快速分析提供了一个重要的新技术<sup>[1]</sup>, 本文就其在中药研究领域的应用作一简要综述。

## 1 在中药鉴定学方面的应用

要实现中药现代化, 首先必须解决中药的质量标准问题。而要使中药质量全面达标, 还得建立合乎现代科学要求的中药指纹图谱。中药指纹图谱的制订, 对保障最终产品的质量稳定起着重要作用。唐洪梅等<sup>[2]</sup>采用 GC-MS 法对石菖蒲与水菖蒲的指纹图谱进行分析, 结果表明, 二者的挥发油含量不尽相同, 从而证明其混淆使用缺乏科学依据。薛健等<sup>[3]</sup>采用 GC-MS 法对道地与非道地当归药材的挥发气味组分进行比较, 结果表明, 二者虽气味组分相同, 但相对含量却不同, 且有许多不同成分。采用 GC-MS 法研究不同产地的莪术、野菊花, 也可发现各自的挥发油成分存在较大区别, 由此说明中医用药强调道地性有其理论依据。倪士峰等<sup>[4]</sup>对不同季节山地的六月雪的挥发油成分进行比较研究, 发现不同季节采集的六月雪中药材, 其挥发性物质含量和成分有一定差异, 故应将采集季节作为质控点。

由于中药复方制剂成分复杂, 现行的各种单一测定法提供的信息量少, 无法建立较完善的指纹图谱, 因此有人提出建立多维指纹谱, 其既能较系统、完整地解决中药复方制剂质量控制难题, 又可解决中药研究中缺乏标准品的难题。在国外, 多维指纹谱在植物药鉴别中早已被广泛采用。He<sup>[5]</sup>总结了近年来人们对 30 余种植物药中苯醌类、皂苷类、生物碱类及其它类成分的定性分析研究, 其中采用了 LC-MS 法等多种先进的联用检测法。目前, 随着国外先进分析测试设备的引进, 色谱联用技术在我国也有了较快发展。有学者<sup>[6,7]</sup>在研究桂枝汤指纹图谱时, 采用 HPLC/MS 等法对其中具有双向调节作用的 A 部分、5 种单味药 A 部分及各单味药按收率和组方用量配比制得的 A 部分进行指纹图谱测定, 并将其阐述为多维全息化学特征谱, 对桂枝汤 A 部分产生双向调节作用的物质基础作了初步讨论, 说明多维化学特征谱提供的大量信息可较好地反映复方及单味药物信息, 所显示的各项参数

如能配合一定指标的成分信息, 将成为复方质量控制的有效指标, 并可在一定程度上作为药效特征的有力佐证。

## 2 在中药化学研究中的应用

中药的药效物质基础是其化学成分, 阐明其有效成分也是实现中药现代化的关键。中药成分复杂, 各组分之间结构往往非常相似, 因此难以进行分离、分析。色谱联用技术集成了色谱分离和光谱结构鉴定之优点, 即可先采用色谱将其中的有效成分进行分离, 再用质谱或核磁分别鉴定其结构。色谱联用技术在中药化学研究方面已显示出极大优势, 是目前引人注目的一种新型分析手段。王莹等<sup>[8]</sup>采用 GC-MS 法对 9 种不同产地肉豆蔻的挥发油成分进行分析, 结果从中分别检出 95~118 种化合物, 鉴定了 79 种化合物的结构, 许多成分是首次从肉豆蔻中鉴定出的, 其中约 38 种为 9 种商品生药所共有, 从而为肉豆蔻挥发油质量管理化学成分指纹图谱的制订提供了科学依据。GC-MS 法仅适用于挥发性成分的分析鉴定, 如挥发油、脂肪酸等, 而 LC-MS 法对非挥发性成分分析有较大优势, 有关其在药用植物成分分析中的作用已有报道<sup>[9]</sup>。有学者采用 HPLC-NMR-MS 法获得了混合物海星 (*Asterias ruben*) 的氢谱, 并利用 HPLC 法分离该样品, 再对其进行了如 <sup>1</sup>H、<sup>13</sup>C、TOCSY、NOESY、HMQC、HM-BC 的系列 NMR 试验, 从而确定了 4 种新化合物的结构。中药复方提取物是成分复杂的混合物, 传统的分离、分析法不仅费时、分离效率低, 而且仅将中药的复方整体割裂为数个含量较高的有效成分, 忽略了其准确含量比例及含量少的组分, 色谱联用技术对中药复方复杂混合物的研究提供了强有力的手段, 完成了以往所不能解决的问题。魏刚等<sup>[10]</sup>用 GC-MS 法对加味苍耳子散、清上祛痛胶囊、肠炎灵片、健中疡愈片等复方制剂的挥发油成分进行分析, 结果表明单味药挥发油的特征或主要成分基本能从复方挥发油中检出, 而在部分成品中仅能检出脂肪酸类挥发性成分, 说明 GC-MS 法可广泛应用于中药复方制剂挥发油的工艺研究与质量控制中。

## 3 在体内定量分析及药动学方面的应用

GC-MS 法以其高分辨率、高灵敏度而被应用于体内痕量药物和代谢物的测定, 近年来, 该法越来越多地被投入到中药血药浓度检测和药动学研究。唐刚华等<sup>[11]</sup>采用 GC-MS 法测定川芎嗪的血药浓度, 结果线性范围为 2~60ng/mL, 回收率达 82%, 日内、日间精密密度均小于 9.0%, 说明该法可为川芎嗪临床药动学研究提供准确、可靠的含量分析手段。生物样品中药物浓度的 LC-MS 分析, 通常采用三重四极杆串联质谱的选择反应监测 (SRM) 方式, 即在第一级质谱选定准分子离子, 第二级质谱选定某一碎片离子, 两级质谱分析使最终结果的化学噪音降低, 得到极高的分析选择性。Beike 等<sup>[12]</sup>用 LC-MS 法定量测定了人血、胃内容物和组织中的紫杉碱

(Taxine B)和异紫杉碱(Iso-taxine B)。吴民淑<sup>[13]</sup>等建立了用于测定盐酸关附甲素血药浓度的 LC-MS 法,并探讨了关附甲素在犬体内的药动学。顾泳川<sup>[14]</sup>采用 HPLC-MS 法对大鼠尿中黄芪甲苷的含量进行测定,检测了大鼠静脉滴注黄芪甲苷后的尿药浓度,并计算出了药动学参数。

#### 4 在中药代谢化学方面的应用

多年来,由于分析技术和测试手段的限制,要确定代谢物结构必须首先分离并得到制备量的代谢物单体,再用光谱技术进行鉴定;又因中药复方成分及其代谢变化的复杂性,人们对中药复方的代谢研究一直难以深入。随着现代色谱联用技术的发展,将其强大的分离能力和光谱技术提供的丰富结构信息结合起来,使得体内多种微量代谢物的分离、鉴定成为一个连续过程,尤其是 HPLC-MS 的样品前处理简单,一般不要求水解或衍生化处理,可直接用于药物及其 I、II 相等极性较大代谢物的同时分离、鉴定。研究时,通常在 HPLC 与 MS 之间插入二极管阵列检测器 (DAD) 形成 HPLC/DAD-MS,这样 HPLC 色谱图中各峰先由 DAD 采集紫外光谱图,检测代谢物及其纯度,再由 MS 采集质谱图,即色谱图中各峰经过 DAD 及 MS 的双重鉴别,提高了代谢物峰辨识的准确性,尤其是 LC-MS<sup>n</sup> 技术特异性强、灵敏度高,运用该技术不仅可避免复杂繁琐的分离、纯化代谢物的工作,而且可分离鉴定难以辨识的体内痕量代谢物。姚庆强等<sup>[15]</sup>。对大鼠肝微粒体中 (+), (-) 黄皮酰胺及其代谢物进行 HPLC-ESI-MS 分析,根据 MS 的碎片信息检测主要的代谢物,对代谢物结构碎片进行分析,确定其结构,除检测出主要已知代谢物外,还检测出一种新的代谢物,通过质谱碎片分析推断其结构为 3- 去氢黄皮酰胺。孙莹等<sup>[16]</sup>利用液相色谱-电喷雾离子阱质谱法分离鉴定乌头碱的 4 种代谢物,推测分别为 16-O- 去甲基乌头碱、乌头次碱、16-O- 去甲基乌头次碱、乌头原碱。Bajad 等<sup>[17]</sup>采用 LC/NMR/ESI-MS 法在大鼠尿中鉴定出胡椒碱一种新代谢物 5- (3,4-methylene-dioxyphenyl) - 2E, 4E - pentadienoic acid-N- (3-ylpropyl - onic acid) - amidel。

#### 5 问题与展望

虽然 LC/MS 技术在中药研究中具有可观的应用潜力,但其普遍性远不及 HPLC 或 GC/MS。除因仪器普及程度较低以外,最主要的原因是图谱解析困难,研究人员往往不能充分利用实验提供的信息解决具体研究中的问题。迄今为止,各类天然产物的 EI-MS 裂解规律虽然已有了大量的积累,但 LC/MS 一般采用软电离技术,常用的接口是电喷雾 (ESI)、大气压化学源 (APCI) 等电离源。化合物在这些离子源里发生离子化及裂解的方式与 EI-MS 有着明显的差异。因



(上接第 82 页)输液顺序;相互反应的药物在使用中应间隔,或用生理盐水冲管,我院这方面的工作还有所欠缺。由于许多中药注射剂均非单一成分,成分复杂,对配伍后药理、药效、毒理方面的变化研究尚少。因此,建议分别使用较为合理,以保证临床用药安全性与有效性,也便于药效评价。

中药注射剂虽已在临床治疗上得到普遍使用和广泛认

此,LC/MS 技术在中药研究中的广泛应用,应以阐明各种中药成分的质谱裂解规律为基础。

色谱联用技术对混合物的分析具有较高的灵敏度和选择性及广泛的适用性,可对提取物中的已知、未知结构的成分及其代谢物进行定性分析,而质谱联用可进行中药成分及其生物样品的定量分析,使其在中药研究中得以广泛应用,为加快寻找先导化合物提供了一种高效、切实可行的分析方法。我们相信,随着色谱联用设备的普及,必将在中药研究领域得以广泛应用,从而加快我国中药现代化的研究进程。

#### 参考文献

- [1]Cai Z, Lee FSC, Wang XR, et al. A capsule review of recent studies on the application of mass spectrometry in the analysis of Chinese medicinal herbs[J]. Mass Spectrom, 2002, 37: 1013-1024
- [2]He XG. On-line identification of phytochemical constituents in botanical extracts by combined high-performance liquid chromatographic diode array detection-mass spectrometric techniques [J]. Chromatogr, 2000, 880: 203-232
- [3]唐洪梅. 石菖蒲与水菖蒲挥发油的指纹图谱分析[J]. 中医药研究, 2002, 18(3): 43
- [4]薛健,徐燕,张秀,等. 道地与非道地当归药材气味成分比较研究[J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(2): 117
- [5]倪士峰,傅承新,吴平等. 不同季节山地六月雪挥发油成分比较研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(1): 54
- [6]戴德舜,曹进,王义明. 桂枝汤 A 部分指纹图谱的确定及比较(一) [J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(2): 1
- [7]曹进,戴德舜,王义明. 桂枝汤 A 部分指纹图谱的确定及比较(二) [J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(3): 1
- [8]王莹,杨秀伟,陶海燕,等. 商品肉豆蔻挥发油成分的 GC-MS 分析 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(4): 339
- [9]项贇,李立军,再帕尔·阿不力孜. 液相色谱-质谱联用方法在药用植物成分分析中的作用[J]. 药学报, 2002, 37(5): 389
- [10]魏刚,曾经考. GC-MS 在中药复方制剂挥发油研究中的应用分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2000, 11(5): 295
- [11]唐刚华,姜国辉,王世真,等. 气相色谱-质谱法测定川芎嗪血药浓度 [J]. 药物分析杂志, 2000, 20(3): 43
- [12] Beike J, Karger B, Meiners T, et al. LC-MS determination of taxus alkaloids in biological specimens [J]. Int J Legal Med, 2003, 117: 335
- [13]吴民淑,王广基,蔡晓辉,等. 液相色谱-质谱联用法测定犬血浆中盐酸关附甲素的血药浓度及其药代动力学 [J]. 药学报, 2002, 37(7): 551
- [14]顾泳川,王广基. HPLC-MS 法测定大鼠尿中黄芪甲苷的含量及其尿药动力学研究 [J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(3): 222
- [15]姚庆强,王琰,杨树民,等. 大鼠肝微粒体温孵体系 (+), (-) 黄皮酰胺及其代谢产物的 LC-MS 分析 [J]. 药物分析杂志, 2000, 20(1): 3
- [16]孙莹,张宏桂,史向国,等. 兔体内乌头碱代谢产物研究 [J]. 药学报, 2002, 37(10): 781
- [17]Bajad S, Coumar M, Khajuria R, et al. Characterization of a new rat urinary metabolite of piperine by LC/NMR/MS studies [J]. Eur J Pharm Scie, 2003, 19(5): 413

(收稿日期: 2007-01-15)

可,但是近年来发展缓慢,而且多用于清热解毒及心脑血管疾病,因此,应广泛采用新技术,切实提高中药注射剂的疗效及降低不良反应。

#### 参考文献

- [1]全香花,王辉明,孙向红,等. 2002 年~2004 年我院中药注射剂的应用状况及趋势分析 [J]. 中国药房, 2006, 17(3): 197

(收稿日期: 2007-01-26)