

## UPLC-CAD 柱后补偿结合内参法测定三七中的总皂苷

陈翠花<sup>1</sup>, 朱珂璇<sup>1</sup>, 欧阳柳凤<sup>1</sup>, 赵玉男<sup>1\*</sup>, 郭盛<sup>2</sup>

(1. 南京中医药大学基础医学院, 江苏 南京 210046; 2. 南京中医药大学江苏省方剂协同创新重点实验室, 江苏 南京 210046)

**摘要:** **目的** 通过超高效液相色谱-电喷雾检测器 (UPLC-CAD) 柱后补偿结合内参法同时测定三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 中总皂苷的含有量。**方法** 三七 70% 乙醇提取物的分析采用 Acclaim™ RSLC 120 C<sub>18</sub> 色谱柱 (150 mm × 2.1 mm, 2.2 μm); 流动相为 0.2% 甲酸-乙腈, 梯度洗脱; 柱温 30 ℃; 体积流量 0.4 mL/min。内参物为人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>、Rd, LC-MS 法鉴定各皂苷结构。**结果** 4 个内参物在各自范围内均呈良好的线性关系 ( $r \geq 0.9995$ ), 平均回收率 94.88% ~ 106.32%, RSD 2.16% ~ 4.74%。LC-MS 色谱图中有 20 个峰, 鉴定出 10 个人参皂苷、2 个三七皂苷和绞股蓝皂苷 XVII。总皂苷平均含有量 454.9 μg/mL, 在 0.496 mg/mL 供试品溶液中的平均相对含有量 91.72%。**结论** 该方法无需校正因子就能分析三七中的总皂苷, 可为该植物的质量控制提供参考。

**关键词:** 三七; 总皂苷; UPLC-CAD 柱后补偿; 内参法; LC-MS

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)09-1978-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.09.022

## Determination of total saponins in *Panax notoginseng* by UPLC-CAD with post-column compensation combined with internal reference method

CHEN Cui-hua<sup>1</sup>, ZHU Ke-xuan<sup>1</sup>, OUYANG Liu-feng<sup>1</sup>, ZHAO Yu-nan<sup>1\*</sup>, GUO Sheng<sup>2</sup>

(1. Basic Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 2. Jiangsu Provincial Key Laboratory for High Technology Research of TCM Formulae, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To determine the content of total saponins in *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen by ultra performance liquid chromatography-charged aerosol detection (UPLC-CAD) with post-column compensation combined with internal reference method. **METHODS** The analysis of *P. notoginseng* 70% ethanol extract was performed on Acclaim™ RSLC 120 C<sub>18</sub> column (150 mm × 2.1 mm, 2.2 μm), mobile phase was 0.2% formic acid-acetonitrile in a gradient elution manner, column temperature was maintained at 30 ℃, and flow rate was 0.4 mL/min. The internal reference substances were ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> and Rd. LC-MS was applied to identifying the structures of various saponins. **RESULTS** Four internal reference substances showed good linear relationships within their own ranges ( $r \geq 0.9995$ ), whose average recoveries were 94.88% - 106.32% with the RSDs of 2.16% - 4.74%. There were twenty peaks in the LC-MS chromatogram, ten ginsenosides, two notoginsenosides and gypenoside XVII were identified. The average content of total saponins was 454.9 μg/mL, whose average relative content in 0.496 mg/mL sample solution was 91.72%. **CONCLUSION** This method can analyze the total saponins in *P. notoginseng* without correction factor, which provides a reference for the quality control of this plant.

**KEY WORDS:** *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; total saponins; UPLC-CAD with post-column com-

收稿日期: 2016-03-19

基金项目: 南京中医药大学基础医学院青年科技创新基金资助 (14JCQN03); 国家自然科学基金资助 (81303246); 江苏省高校“青蓝工程”教师培养计划资助 (2012)

作者简介: 陈翠花 (1987—), 女, 硕士, 实验师, 从事中药分离分析工作。Tel: 13584093601, E-mail: cuihuachen2013@163.com

\* 通信作者: 赵玉男 (1978—), 男, 博士, 副教授, 从事中西医结合临床基础及中药复杂成分分析。Tel: 15951969335, E-mail: zhaoyunan-js@163.com

pensation; internal reference method; LC-MS

三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 可促进血液循环、化瘀、诱导凝血、消肿止痛<sup>[1-2]</sup>，而其粗提物可干扰细胞周期和诱导细胞凋亡，具有抗癌、保肝、保护心脑血管作用<sup>[3]</sup>。三七总皂苷是三七的主要有效成分，已分离鉴定出50多种皂苷，其中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>、Rd、三七皂苷 R1 等是重要化合物<sup>[4]</sup>，目前对该成分的分析方法有薄层色谱法、高效液相色谱法（二极管阵列检测器、蒸发光散射检测器）、脉冲安培检测、气相色谱法和荧光法<sup>[5-6]</sup>等，但存在末端吸收、基线漂移、检测成本高、重复性差等问题<sup>[7-8]</sup>。

本实验通过超高效液相色谱-电喷雾检测器（UPLC-CAD）柱后补偿法检测三七总皂苷含量，其中CAD与分析物粒子所带电荷（即样品中待测物的含量）成正比，具有准确性高、持续性好的特点，与具体化合物无关，并可“看见”无生色团的物质。在等度洗脱下，其对结构相似物产生一致信号；在梯度洗脱下，随着流动相中有机溶剂比例增加，其对相同质量物质的响应有所不同，故需进行柱后补偿<sup>[9-11]</sup>。另外，在三七色谱图中，人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 峰面积大，含量高；Rb<sub>1</sub>、Rd 峰面积约是 Rg<sub>1</sub> 一半，含量中等；Re 峰面积小，含量低，而且种4种对照品均常见易得，故选择四者作为内参物，可提高准确性，扩大线性曲线的考察范围，并为三七药材及其相关制剂的质量控制提供参考。

### 1 仪器与试剂

三七采自云南文山（批号030102），经南京中医药大学基础医学院赵玉男副教授鉴定为正品。甲醇和乙腈为色谱纯（美国Tedia公司）；甲酸为分析纯（上海凌峰化工试剂有限公司）。D201 阴离子交换树脂、D113 阳离子交换树脂、D101 大孔吸附树脂（邢台民生树脂有限公司）；超纯水（通过Millipore Milli Q-Plus 系统自制）。人参皂苷 Rg<sub>1</sub>（批号110703-201128）、Re（批号110754-201324）、Rb<sub>1</sub>（批号110704-201223）、Rd（批号111818-201302）对照品购自中国食品药品检定研究院。Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 系统，配置3000RS 泵、3000RS 自动进样器、3000RS 柱温箱、Corona Ultra RS CAD 检测器（美国Thermo Scientific 公司）；Agilent 1290/6460 液相色谱质谱联用系统（美国安捷伦公司）。

### 2 方法与结果

2.1 UPLC-CAD 条件 CAD 雾化器温度 25 °C；气压 241.3 kPa；Acclaim™ RSLC 120 C<sub>18</sub> 色谱柱（150 mm × 2.1 mm，2.2 μm）；流动相 0.2% 甲酸（A）-乙腈（B），柱1 梯度洗脱（0 ~ 25 min，18% B；25 ~ 30 min，18% ~ 23% B；30 ~ 65 min，23% ~ 38% B；65 ~ 75 min，38% ~ 58% B；75 ~ 83 min，58% ~ 78% B；83 ~ 90 min，78% B）；柱温 30 °C；体积流量 0.4 mL/min。实验采用梯度补偿装置，即在分析柱后附加另一流路的反梯度程序，使得进入 CAD 流动相组分比例保持恒定，从而对相同质量的结构类似物产生一致的响应信号。柱2 反向梯度洗脱（0 ~ 25 min，82% B；25 ~ 30 min，82% ~ 77% B；30 ~ 65 min，77% ~ 62% B；65 ~ 75 min，62% ~ 42% B；75 ~ 83 min，42% ~ 22% B；83 ~ 90 min，22% B）。图1显示，UPLC 双三元系统为两根规格一致的色谱柱分别与两个泵相连，流动相经三通阀混合后流经检测器，流动相 50% 乙腈，这可消除梯度所致流动相中有机物浓度的影响，为柱后补偿法分析提供前提<sup>[12]</sup>。

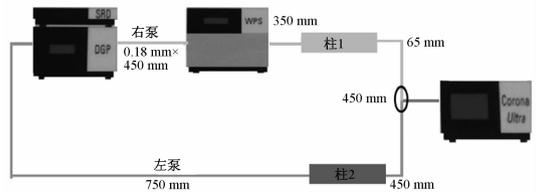


图1 UPLC 双三元系统

Fig. 1 UPLC double three-membered system

2.2 LC-MS 条件 分离条件与“2.1”项下柱1 相同；N<sub>2</sub> 为干燥气；检测波长 203 nm；ESI 电离源，负离子模式；气体温度 300 °C，体积流量 5 L/min；雾化器压力 310.3 kPa；鞘气温度 250 °C，体积流量 11 L/min；毛细管电压 3 500 V，m/z 100 ~ 1 800。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取对照品人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 24.22 mg、Re 28.16mg、Rb<sub>1</sub> 11.41 mg、Rd 16.37 mg，置于 10 mL 量瓶中，甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，配制含人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 0.242 2 mg/mL、Re 0.028 16 mg/mL、Rb<sub>1</sub> 0.114 1 mg/mL、Rd 0.163 7 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备 三七总皂苷的制备参照

《中国药典》2010版<sup>[1]</sup>和文献[9],取同一批三七饮片200g,粉碎成粗粉,70%乙醇提取,过滤后以50 mL/h体积流量泵入D101树脂填充的柱子中,10倍柱体积超纯水冲洗,60%乙醇洗脱皂苷,洗脱液进入D201阴离子交换树脂和D113阳离子交换树脂串联的体系,10倍柱体积80%乙醇洗脱,洗脱液于真空下干燥,即得高纯度的三七总皂苷

(4.6g,类白色无定形粉末,味苦、微甘)。取49.6mg,置于10mL量瓶中,甲醇稀释10倍,配制成0.496mg/mL三七总皂苷溶液,0.22μm微孔滤膜过滤后进样。

2.5 线性关系考察 取人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>、Rd对照品适量,进样分析,重复3次,结果见表1,表明各成分在各自范围内线性关系良好。

表1 4种成分的线性关系 (n=3)

Tab. 1 Linear relationships of four constituents (n=3)

成分	方程	r	线性范围/(mg·mL <sup>-1</sup> )	检测限/ng	定量限/ng
人参皂苷 Rg <sub>1</sub>	Y=3.902 9X-0.008 8	0.999 9	0.060 6~1.937	2.15	7.18
人参皂苷 Re	Y=3.998 X-0.004 6	0.999 9	0.007~0.225	2.25	7.51
人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	Y=3.908 X-0.013 7	0.999 8	0.035 8~1.128	1.75	5.85
人参皂苷 Rd	Y=3.910 7X-0.012 8	0.999 5	0.040 9~1.309	1.92	6.42

注:检测限S/N为3,定量限S/N为10

2.6 精密度试验 取人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>、Rd对照品适量,按“2.3”项下方法配制低、中、高质量浓度的对照品溶液(含人参皂苷Rg<sub>1</sub>0.060 55、0.242 2、1.937 6 mg/mL; Re 0.028 16、0.070 4、0.225 3 mg/mL; Rb<sub>1</sub> 0.141 1、1.128 8、10.035 28 mg/mL; Rd 0.040 93、0.163 7、1.309 6 mg/mL),在上述色谱条件下测定,测得4种成分的日内精密度和日间精密度RSD分别为1.09%~3.73%和1.24%~3.77%,表明仪器精密度良好。

项下方法平行制备6份供试品溶液,精密吸取2μL,在上述色谱条件下测定,测得记录人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>、Rd峰面积RSD分别为1.22%、1.26%、1.35%、1.21%,表明该方法重复性良好。

2.8 内参法与标准曲线法比较 由表2可知,两种方法所得结果的RSD均小于5%,表明以人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>或Rd为内参物时,均可用一测多评法来检测其他皂苷。

2.7 重复性试验 取同一批三七饮片,按“2.4”

表2 内参法与标准曲线法比较 (n=3)

Tab. 2 Comparison of internal reference and standard curve methods (n=3)

内参物	对照品溶液中含有量/(μg·mL <sup>-1</sup> )				供试品溶液中含有量/(μg·mL <sup>-1</sup> )(相对含有量/%)			
	人参皂苷 Rg <sub>1</sub>	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	人参皂苷 Rd	人参皂苷 Rg <sub>1</sub>	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	人参皂苷 Rd
人参皂苷 Rg <sub>1</sub>	201.2 <sup>a</sup>	20.6	78.21	114.2	132.57 <sup>a</sup> (26.73 <sup>a</sup> )	14.68 (2.96)	49.26 (9.93)	74.5 (15.02)
人参皂苷 Re	209.1	21.4 <sup>a</sup>	81.27	118.7	137.54 (27.73)	15.23 <sup>a</sup> (3.07 <sup>a</sup> )	51.11 (10.30)	77.3 (15.58)
人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	211.5	21.65	82.2 <sup>a</sup>	120.1	135.54 (27.33)	15.01 (3.03)	51.88 <sup>a</sup> (10.46 <sup>a</sup> )	76.14 (15.35)
人参皂苷 Rd	207.8	21.29	80.85	118.1 <sup>a</sup>	136.84 (27.59)	15.16 (3.06)	50.85 (10.25)	76.38 <sup>a</sup> (15.40 <sup>a</sup> )
RSD/%	2.13	2.12	2.12	2.14	1.62	1.63	2.17	1.53

注:a由标准曲线法测定

2.9 加样回收率试验 选择极性和含有量介于其他3种皂苷之间的人参皂苷Rb<sub>1</sub>作为测定回收率的内参物,将人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rd对照品溶液加入供试品溶液(0.496 mg/mL)中,配制成低、中、高质量浓度(各对照品含有量分别相当于供试品溶液中皂苷的1/3、1、3倍)的溶液,测定回收率,结果见表3。

三七皂苷可分为20(S)-原人参二醇型和20(S)-原人参三醇型,前者在C-3和/或C-20位置处有糖基;后者在C-3有羟基,而且在C-6和/或C-20具有糖基<sup>[12]</sup>。皂苷的具体结构见图2,相对分子质量均不小于620,a、b、c3种结构类型的皂苷均为母核相同的三萜类化合物,仅在C-3、C-6、C-20位置处不同。如在C-20处,a结构类型(包括R1、Rg<sub>1</sub>、Re、R2、Rh<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>、F1、Rd、

2.10 提取物中皂苷的鉴定 三七中的人参皂苷和

Gypenoside XVII、Rg<sub>3</sub>、F2) 连接甲基和糖基 (或羟基), 而 b 结构 (包括 Rk3、Rk1) 和 c 结构 (包括 Rh4、Rg5) 含有甲基和双键, 而且双键位置不同。

表3 加样回收率试验结果 (n=3)

Tab. 3 Results of recovery tests (n=3)

成分	原有量 <sup>a</sup> /	加入量/	测得量 <sup>b</sup> /	平均回收	RSD/
	ng	ng	ng	率/%	%
人参皂苷 Rg <sub>1</sub>	133.65	43.06	174.82	98.75	4.31
	133.65	129.17	259.57	94.88	2.54
	133.65	387.52	530.04	106.32	4.74
人参皂苷 Re	15.57	4.92	20.44	97.34	2.34
	15.57	15.02	30.08	99.78	4.03
	15.57	45.06	60.70	95.25	4.37
人参皂苷 Rd	77.0	25.47	102.54	101.30	2.16
	77.0	76.40	151.49	96.53	3.41
	77.0	229.20	312.49	106.09	3.11

注: a 由标准曲线法测定, b 以人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 为内参物测定



图2 皂苷化学结构

Fig. 2 Chemical structures of saponins

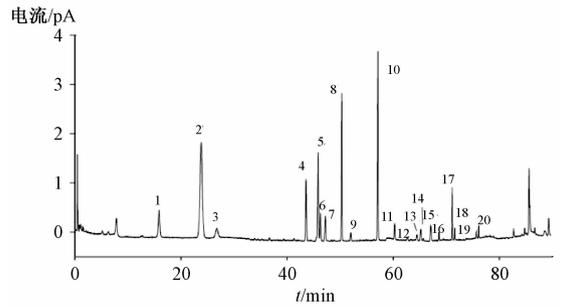
表4 皂苷的化学结构及鉴定

Tab. 4 Chemical structures and identification of saponins

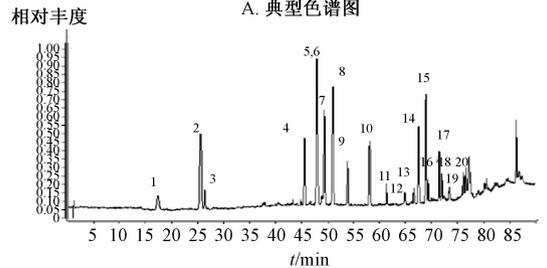
峰号	t <sub>R</sub> /min	成分	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	相对分子质量	[M + Cl] <sup>-</sup> m/z	[M + COOH] <sup>-</sup> m/z	参考文献
1	15.78	NG-R1 <sup>a</sup>	-OH	-OGlc <sup>2-1</sup> Xyl	-OGlc	932	967.5	977.6	[1, 8, 13]
2	23.80	G-Rg <sub>1</sub> <sup>a</sup>	-OH	-OGlc	-OGlc	800	835.4	845.4	[9, 14-15]
3	26.65	G-Re <sup>a</sup>	-OH	-OGlc <sup>2-1</sup> Rha	-OGlc	946	981.5	991.6	[9, 14-15]
4	43.60	NG-R2 <sup>a</sup>	-OH	-OGlc <sup>2-1</sup> Rha	-OH	770	805.4	815.4	[16-17]
5~6	45.88, 46.45	G-Rh <sub>1</sub> <sup>a</sup>	-OH	-O-Glc	-OH	638	673.3	683.4	[9, 14-15]
7	47.22	G-Rg <sub>2</sub> <sup>a</sup>	-OH	-OGlc <sup>2-1</sup> Rha	-OH	784	819.4	829.4	[9, 14-15]
8	50.25	G-Rb <sub>1</sub> <sup>a</sup>	-OGlc <sup>2-1</sup> Rha	-H	-OGlc <sup>6-1</sup> Glc	1 108	1 143.6	1 153.6	[9, 14-15]
9	51.97	G-F1 <sup>a</sup>	-OH	-OH	-OGlc	638	673.3	683.4	[9, 14-15]
10	57.12	G-Rd <sup>a</sup>	-OGlc <sup>2-1</sup> Glc	-H	-OGlc	946	981.5	991.5	[9, 14-15]
11	60.35	绞股蓝皂苷 XVII <sup>a</sup>	-OGlc	-H	-OGlc <sup>6-1</sup> Glc	946	981.5	991.5	[17-18]
12~13	62.84, 64.36	未知	-	-	-	752	787.3	797.4	-
14~15	65.31, 67.21	G-Rk3 <sup>b</sup> / G-Rh4 <sup>c</sup>	-OH -OH	-OGlc -OGlc	- -	620	655.3	665.3	[14]
16~18	68.55, 71.22, 71.60	G-Rg <sub>3</sub> <sup>a</sup> / G-F2 <sup>a</sup>	-OGlc <sup>2-1</sup> Glc - OH	-OH -OGlc	-OH -OGlc	784	819.4	829.4	[19]
19~20	75.61, 76.17	G-Rk1 <sup>b</sup> / G-Rg5 <sup>c</sup>	-OGlc <sup>2-1</sup> Glc - OH -OGlc <sup>2-1</sup> Glc	-H -H	- -	766	801.4	811.4	[20-21]

注: a、b、c 为图2 中化合物结构类型。G 为人参皂苷, NG 为三七皂苷, Glc 为 β-D-葡萄糖, Rha 为 α-L-吡喃鼠李糖基, Xyl 为 β-D-吡喃木糖基

三七总皂苷 LC-MS 色谱图见图3, 各皂苷在 C-3、C-6、C-20 位置处取代基的具体结构见表4。其中, 峰12 和峰13 均出现 m/z 787.3 的 [M + Cl]<sup>-</sup> 和 797.4 的 [M + COOH]<sup>-</sup>, 即相对分子质量约为 752, 但未在文献中查找到相应皂苷, 有待作进一步研究。



A. 典型色谱图



B. 总离子流图

图3 LC-MS 色谱图

Fig. 3 LC-MS chromatograms

2.11 内参法测定含有量 由图3可知,除峰12和13外,其他各色谱峰所对应的各皂苷含有量及其总和均可以人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>或Rd为内参物测出,测定结果见表5,可知总皂苷在

0.496 mg/mL 供试品溶液中的相对含有量分别为89.60%、92.96%、91.92%、92.39%,平均91.72%,RSD1.61%。

表5 含有量测定结果 (n=3)

Tab.5 Results of content determination (n=3)

内参物	皂苷/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )																				总量
	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7	峰8	峰9	峰10	峰11	峰14	峰15	峰16	峰17	峰18	峰19	峰20			
人参皂苷 Rg <sub>1</sub>	23.68	132.57 <sup>a</sup>	14.68	27.92	36.34	24.23	10.03	49.26	3.94	74.50	7.74	7.67	8.51	2.78	11.71	2.78	3.02	3.06	444.4		
人参皂苷 Re	24.56	137.54	15.23 <sup>a</sup>	28.97	37.70	25.14	10.41	51.11	4.08	77.30	8.03	7.96	8.83	2.88	12.15	2.88	3.14	3.17	461.1		
人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	24.21	135.54	15.01	28.57	37.15	24.77	10.26	51.88 <sup>a</sup>	4.02	76.14	7.92	7.85	8.70	2.84	11.97	2.85	3.09	3.13	455.9		
人参皂苷 Rd	24.44	136.84	15.16	28.82	37.51	25.01	10.36	50.85	4.06	76.38 <sup>a</sup>	7.99	7.92	8.79	2.87	12.09	2.87	3.12	3.16	458.2		
平均值	24.22	135.62	15.02	28.57	37.18	24.78	10.27	50.77	4.03	76.08	7.92	7.85	8.71	2.84	11.98	2.85	3.09	3.13	454.9		

注: a 由标准曲线法测定

### 3 讨论和结论

由于中药成分的化学结构大多没有生色团,故紫外检测器在应用上存在灵敏度低的问题。本实验引入一个质量型的、通用的、不依赖于化学结构的电喷雾检测器,其基于检测雾化气溶胶分子的数量而产生信号(如CAD、ELSD),流动相组分变化对待测物质的响应有着重大影响<sup>[13]</sup>。研究发现,流动相中有机溶剂的比例增加时,结构类似的10种人参皂苷对照品含有量RSD在补偿前是30%,而补偿后为5%<sup>[9]</sup>,故加装梯度补偿装置,在分析柱(右泵)后附加另一流路(左泵)的反梯度程序,使得进入CAD流动相组分的比例保持恒定,从而对相同质量的结构类似物产生一致的响应信号。

人参皂苷是中性化合物,几乎不带电荷,其中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>和Re较难分离。本实验考察了不同流动相(甲醇-水、乙腈-水,甲醇-0.2%甲酸溶液)和色谱柱(100 mm×3 mm,2.2  $\mu\text{m}$ ; 150 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),但分离效果均不理想。最终,采用0.2%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)流动相和Acclaim<sup>TM</sup> RSLC 120 C<sub>18</sub>色谱柱(150 mm×2.1 mm, 2.2  $\mu\text{m}$ )进行梯度洗脱,实现了人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re及其他弱极性化合物的分离。

三七皂苷 R1为人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>、Rd的结构类似物,峰位置容易辨识,极性接近人参皂苷 Rg<sub>1</sub>,而且含有量介于四者之间<sup>[1,13-14,19]</sup>,故可选择这4种人参皂苷中的一种或几种作为内参物,采用UPLC柱后补偿法来分析检测三七皂苷 R1等含有量中等、结构类似、极性相近的皂苷,内参法、标准曲线法、回收率试验结果也均验证了其可靠性。同时,通过常用、价格低廉的三重四级杆质

谱来鉴别皂苷,可降低成本,有利于常规实验室的相关分析。

本实验基于UPLC-CAD梯度补偿结合内参法检测三七提取物中总皂苷的含有量,表明这种不需响应因子的方法可用于定量分析,也能检测对照品缺少或稀有的中药有效成分。而且,该方法节约试剂,操作简单,对中药成分结构相似物的分析有着一定参考价值。

### 参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 11.

[2] 夏泉, 李绍平, 黄赵刚, 等. 三七总皂苷注射液 HPLC 指纹图谱的比较分析[J]. 中成药, 2004, 26(5): 345-348

[3] 徐鹏, 冯素香, 赵迪, 等. HPLC-ELSD法测定血塞通注射液中三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>、Rd[J]. 中成药, 2013, 35(3): 521-524.

[4] Chung V Q, Tattersall M, Cheung H T. Interactions of a herbal combination that inhibits growth of prostate cancer cells[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2004, 53(5): 384-390.

[5] Li Y F, Wang Y, Qu H B, et al. Simultaneous determination of seven bioactive compounds in Chinese medicine "Qi-Shen-Yi-Qi" dropping pill by LC-UV and LC-ELSD[J]. *Chromatographia*, 2008, 67(3): 293-297.

[6] Kwon H J, Jeong J S, Lee Y M, et al. A reversed-phase high-performance liquid chromatography method with pulsed amperometric detection for the determination of glycosides[J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1185(2): 251-257.

[7] Ji Q C, Harkey M R, Henderson G L, et al. Quantitative determination of ginsenosides by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Phytochem Anal*, 2001, 12(5): 320-326.

[8] Wu H C, Liu H M, Bai J, et al. Simultaneous determination of notoginsenoside R1, ginsenoside Rg<sub>1</sub>, ginsenoside Re and 20

- (S) protopanaxatriol in beagle dog plasma by ultra high performance liquid mass spectrometry after oral administration of a *Panax notoginseng* saponin preparation [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2015, 974: 42-47.
- [ 9 ] Ouyang L F, Wang Z L, Dai J G, *et al.* Determination of total ginsenosides in ginseng extracts using charged aerosol detection with post-column compensation of the gradient[J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(11): 857-868.
- [10] Vehovec T, Obreza A. Review of operating principle and applications of the charged aerosol detector[J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(10): 1549-1556.
- [11] Górecki T, Lynen F, Szucs R, *et al.* Universal response in liquid chromatography using charged aerosol detection [J]. *Anal Chem*, 2006, 78(9): 3186-3192.
- [12] Moreau R A. The analysis of lipids *via* HPLC with a charged aerosol detector[J]. *Lipids*, 2006, 41(7): 727-734.
- [13] Wan J B, Lai C M, Li S P, *et al.* Simultaneous determination of nine saponins from *Panax notoginseng* using HPLC and pressurized liquid extraction[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 41(1): 274 -279.
- [14] Bai C C, Han S Y, Chai X Y, *et al.* Sensitive determination of saponins in Radix et Rhizoma *Notoginseng* by charged aerosol detector coupled with HPLC [J]. *J Liq Chromatogr Related Technol*, 2008, 32(2): 242-260.
- [15] Dan M, Xie G X, Gao X F, *et al.* A rapid ultra-performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometric method for the analysis of saponins in the adventitious roots of *Panax notoginseng* [J]. *Phytochem Anal*, 2009, 20(1): 68-76.
- [16] Liu J H, Wang X, Cat S Q, *et al.* Analysis of the constituents in the Chinese drug notoginseng by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2004, 13(4): 225-237.
- [17] Liu P, Yu H S, Zhang L J, *et al.* A rapid method for chemical fingerprint analysis of *Panax notoginseng* powders by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Chin J Nat Med*, 2015, 13(6): 471-480.
- [18] Mao Q, Yang J, Cui X M, *et al.* Target separation of a new anti-tumor saponin and metabolic profiling of leaves of *Panax notoginseng* by liquid chromatography with eletrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 59: 67-77.
- [19] Toh D F, New L S, Koh H L, *et al.* Ultra-high performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry (UHPLC/TOFMS) for time-dependent profiling of raw and steamed *Panax notoginseng* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 52(1): 43-50.
- [20] Li S L, Lai S F, Song J Z, *et al.* Decocting-induced chemical transformations and global quality of Du-Shen-Tang, the decoction of ginseng evaluated by UPLC-Q-TOF-MS/MS based chemical profiling approach [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(4): 946-957.
- [21] Zhang H, Cheng Y. Solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray mass spectrometric analysis of saponins in a Chinese patent medicine of formulated *Salvia miltiorrhizae* and *Panax notoginseng* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 40(2): 429-432.