

液相層析質譜於天然物分析之應用

Applications of LC/MS in Natural Products Analysis

周繼祺、廖炳創、劉文琳、鍾婷婷、李茂榮

Chi-Chi Chou, Bing-Chung Liao, Wen-Lin Liu, Ting-Ting Jong, Maw-Rong Lee

液相層析質譜術於植物萃取液中天然物成分分析鑑定研究是一大挑戰。其為分析生物鹼與其他植物相關化合物之重要工具，本文針對液相層析質譜術於天然物與相關化合物方面檢測應用作一綜合介紹。

The study of natural products in plant extracts is an interesting challenge to liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS). It has been important in the analysis of alkaloids and other plant-related compounds. In this article, LC/MS applications in the fields of analysis of natural products and endogenous compounds are reviewed.

一、前言

所謂天然物 (natural product) 是指由生物體自行生產的成千上萬種產品之統稱。深受外在環境影響，同一種生物體所製造出來的產物未必相同，不同的季節、不同的地點都有可能使其成分產生差異，有時只是含量的改變，有時則是「有」與「無」的差別。一般有機化學家感興趣的天然物，是指分子量在一萬以下的有機分子化合物，而生物分子，如蛋白質、核酸等分子量大到數萬以上之聚合物，並不涵蓋在內。這些自生物體產生的有機分子，在生物體內有些具有功能性，有些則被早期的研究者認為無任何作用的「二次代謝物」⁽¹⁾。然而隨著時代的變遷，人們對化學物質的恐懼日增，天然物的研究漸受重視，越來越多的研究顯示，這些「二次代謝物」在生物體內是有其職責和功效的，有些

可以直接用來治療與追蹤人類的疾病，有些則可經過合成化學家的修改後，成為具功能性的良藥。因此近年來天然物化學家們積極地分離其中化學成分，並對其化學結構加以鑑定及探討這些成分的生理活性，以明瞭其存在的意義，已成為中西醫學一致關注的目標。

液相層析質譜術 (liquid chromatography/mass spectrometry, LC/MS) 是兼具分離與鑑定的一種連線分析技術，主要是分析熱不穩定、極性和不易揮發性的化合物，質譜儀的樣品消耗量少，且不需複雜的衍生化過程，是準確又快速的方法。利用所得質譜峰強度分布的質譜圖可以推斷待測物的斷裂機制，由此可鑑定分子結構、測定混合物的成分及研究離子和分子間的反應。能得到分析物分子量及特徵斷片的資訊，進而可對未知的有效成分作結構鑑定，及在人體內新陳代謝途徑與療效之藥物動力

學研究。另外，已知活性成分分析上，包括成分分離、測定藥材或對產品中的有效成分及不純物的含量檢測，達到品管控制的需求；於中草藥分析方面，主要對藥材中的主要活性成分進行分析，解開中藥複方療效之謎，並於科學中藥製程中有效移除有害成分，使中藥科學化進一步造福人類。因此液相層析質譜技術只要配合適當的前處理方法，便能成為天然物中尋找新藥的利器。

由於天然物的種類繁多，於本文中將就液相層析質譜術於近期熱門的幾類天然物方面之應用，如植物類的人蔘皂苷、馬兜鈴酸、銀杏、生物鹼，和動、植物雙性的蜂膠之分析應用作一簡單介紹。

二、人蔘皂苷分析

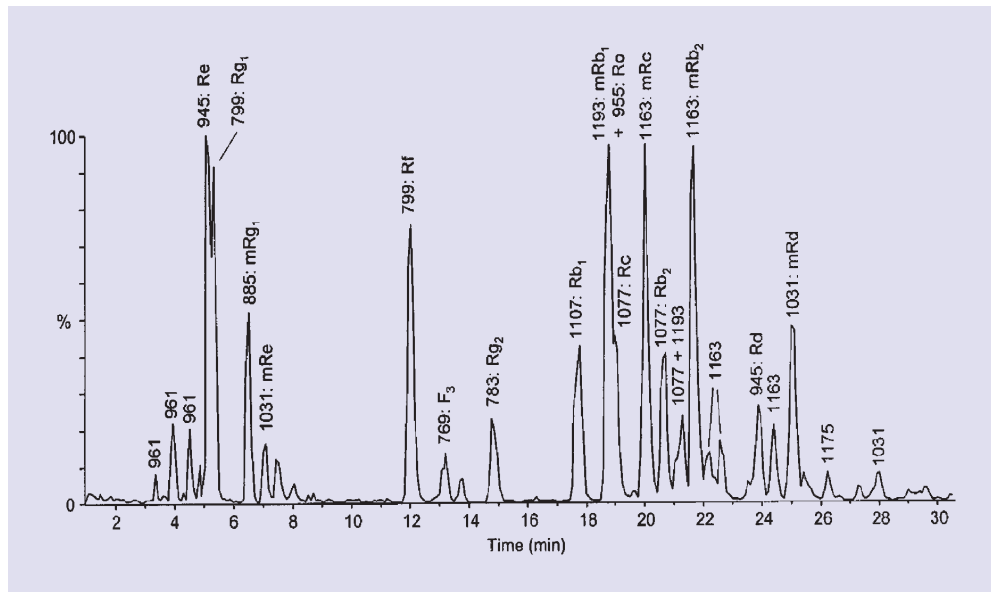
皂苷通常為天然植物中藥材之有效活性成分，結構為三萜類 (triterpenoids) 所形成的配糖體 (glycoside)，其特性為於水中形成膠體溶液，震盪後會產生泡沫，因此稱之為「皂」苷。許多的天然植物中藥材均含有此類化合物，例如甘草裡的甘草甜素 (glycyrrhizin)、大豆裡的大豆皂苷 (soya saponin)、柴胡裡的柴胡皂苷 (saiko saponin) 等多達數百種各式各樣的皂苷，而其中最廣為人知的就屬人蔘皂苷 (ginseng saponin)，如 ginsenoside Rb₁、Rb₂、Rc、Rd、Re、Rg、Rf 等。近來不少研究認為人蔘皂苷是抗癌的有效成分，但因人蔘品種眾多，依產地不同而區分為高麗蔘 (韓國蔘)、西洋蔘、亞洲蔘、和花旗蔘 (美國蔘) 等，其內皂苷成分自然有所差異，因此為了研究人蔘成分或鑑定其真偽，液相層析質譜儀 (LC/MS) 提供了一簡單、快速、高靈敏性的人蔘皂苷成分分析的利器。

1988 年 Hattori⁽²⁾ 以 LC/MS 快速原子撞擊介質負離子偵測模式，比對 LC 的滯留時間及其質譜峰，定性分析人蔘生藥的皂苷成分。1995 年 Park⁽³⁾ 利用熱灑法 (thermospray, TSP) LC/MS 的方式定性定量人蔘中的兩類皂苷 panaxadiol 和 panaxtriol type，比起傳統的 HPLC-UV 偵測方法的偵測極限 (limit of detection, LOD) 要好上十倍。同時 Breemen⁽⁴⁾ 則是用電灑法 (electrospray, ES) LC/MS 配備光學二極體陣列 (photodiode array) UV，利用正離子偵測

模式選擇 [M + 138]⁺ 及 UV 波長 202 nm 比較高麗蔘 (panax ginseng) 及美國蔘 (panax quinquefolius) 根部 80% 甲醇萃取液中皂苷成分之差異。1999 年 Wang⁽⁵⁾ 亦是分析高麗蔘及美國蔘的根部甲醇萃取液中皂苷成分之差異，利用 LC/MS/MS 選擇反應偵測 (SRM) 正離子偵測模式，以質子化分子 [M + H]⁺ 為母離子 (parent ion) 給予特定的碰撞能量所形成之子離子 (daughter ion) 來對 ginsenoside Rg₁、Rf、Re、Rb₁、Rc、Rb₂、Rd 加以定性及定量，同時也比較高麗蔘及美國蔘栽種地區的不同對皂苷成分造成之差異性。Li⁽⁶⁾ 利用 LC/MS/MS SRM 正離子偵測模式，對亞洲蔘及美國蔘 ginsenoside Rf、pseudoginsenoside F_{II} 定性及定量，其中亞洲蔘中 F_{II} 含量極少 (4.2 × 10⁻⁵ %, w/w) 而美國蔘中含量較多 (0.103 %, w/w)，因此可用以區分亞洲蔘及美國蔘。Kite⁽⁷⁾ 為了鑑別亞洲蔘、美國蔘、三七 (Sanchi ginseng)，除了選定一般 non-malonyl ginsenoside 外，再加入 malonyl 系列的 ginsenoside 如 mRb₁、mRb₂、mRc、mRd 分辨此三種人蔘，利用 ESI-LC/MS 負離子偵測模式，選擇 [M - H]⁻ 為離子峰，在 30 分鐘內可成功的分析出 Re、Rg₁、Rf、Rc、Rd、Rb₁、Rb₂、mRb₁、mRb₂、mRc、mRd (圖 1)，並利用 MS/MS，得到特殊的斷裂行為模式，可得知 malonyl ginsenoside 定性方面的資訊 (圖 2)，結果得知此三種人蔘皆含有相似的質譜峰分布，但是卻有可分辨彼此的層析圖譜。

近來經濟部投資數十億推動中草藥的產業升級，而植物性中草藥的成分十分複雜，可能多達十種至數十種成分，如此複雜基質中主要成分分析，在眾多分析儀器中，具備高靈敏度、高選擇性的液相層析質譜儀實為最佳利器。在上述人蔘皂苷方面的研究，從早期的 FAB-LC/MS 至現今的 ESI-LC/MS/MS 顯示，犧牲靈敏度提高選擇性的 LC/MS/MS 為現今研究趨勢，因為人蔘的成分是複雜且多變的，包括品種、地域、氣候、藥用部位、土壤的不同而有出入，尤其是像人蔘這類高經濟價值的中藥，目前大部分藥廠是以 HPLC-UV 方式對中藥材進行品管，相信在未來數年內會被高靈敏度、高選擇性的液相層析質譜儀所取代。

圖 1.
以 70% 甲醇萃取高麗人蔘之 LC/ESI-MS 負離子偵測模式 $[M - H]^-$ 之層析圖⁽⁷⁾。



三、馬兜鈴酸分析

馬兜鈴酸 (aristolochic acid) 是馬兜鈴科 (aristolochiaceae) 植物中普遍存在的成分之一，作為利尿劑、止痛劑、與治療炎症、風濕症等，此類植物在中醫藥處方中使用得相當多。馬兜鈴酸並非單一化合物，常見結構有兩種，分別為 aristolochic acid-I (AA-I) 和 aristolochic acid-II (AA-II)，其結構僅相差一組甲氧基 (-OCH₃)。馬兜鈴酸的化學結構中具有一個硝基 (-NO₂)，這在天然有機化合物中並不常見。1993 年間比利時的醫師指出，至少有一百多位患者服用含馬兜鈴酸的減肥中藥材後，需要接受血液透析或腎臟移植^(8,9)。英國⁽¹⁰⁾、法國⁽¹¹⁾、西班牙⁽¹²⁾ 和日本^(13,14) 也屢傳病例，由於馬兜鈴酸可能會導致腎功能衰竭，美國政府已勒令禁止含有該成分的中藥草進口。馬兜鈴酸對肝腎具有毒性，尤其是對腎臟，其會造成腎臟皮質表面的間質纖維化，而使腎小管萎縮失去功能，腎小動脈管壁也因纖維化而阻塞，造成腎臟因缺乏氧和養分而逐漸萎縮，最後腎絲球亦纖維化而失去濾過能力，引發腎衰竭。馬兜鈴酸不僅會對腎臟造成損害，本身還是一種致癌物質⁽¹⁴⁾，實有必要管制其使用量，將其含量控制在人體可代謝之安全濃度範圍內。

以液相層析質譜儀分析馬兜鈴酸所顯現的質譜特性以電灑法為界面時，以甲醇／水為動相，並以

醋酸為添加劑增加離子化效率，可得 $[M + Na]^+$ 、 $[M + H]^+$ 、 $[M + K]^+$ 、 $[M + H - CO_2]^+$ 、 $[M + H - H_2O]^+$ 和 $[2M + Na]^+$ 等質譜峰^(15,16)，大多以 $[M + 18]^+$ 為基峰 (base peak)， $[M + 18]^+$ 推測的來源有二，分別為 $[M + NH_4]^+$ ^(15,16) 和 $[M + H_2O]^+$ ⁽¹⁷⁾，而以大氣壓化學游離法 (APCI) 為介面時，AA-I 則出現以 $[M + H - H_2O]^+$ 為基峰⁽¹⁷⁾。

Kite⁽¹⁶⁾ 等人利用 LC-APCI-MS/MS 分析草藥中的 AA-I 和 AA-II，以 $[M + NH_4]^+$ 為母代離子進行 MS/MS 和 MS³ 分析，偵測極限在 mg/L 的範圍，效果並不佳。Fuh⁽¹⁵⁾ 等人以 LC-ES-ITMS 定量分析中藥材中的 AA-I 和 AA-II，以 $[M + NH_4]^+$ 為母代離子進行 MS/MS (圖 3)，以其子代離子 $[M + H - 44]^+$ 為定量離子進行偵測，對 AA-I 和 AA-II 的偵測極限分別為 12 ng/mL 和 15 ng/mL。Ioset 等人以 LC-APCI-MS 技術定性分析瑞士市售的 42 種減肥食品中是否含有馬兜鈴酸，測得其中 6 種商品內含有馬兜鈴酸。Jong⁽¹⁷⁾ 等人以 LC-APCI-MS/MS 技術分析中藥材細辛中的兩種馬兜鈴酸含量，所得 AA-I 和 AA-II 的偵測極限分別為 10 ng/mL 和 25 ng/mL，並用以分析三種市售細辛中藥材中馬兜鈴酸之含量，測得 AA-I 之含量為 148–60 ng/mL，而並未測得 AA-II，可知細辛中所含的馬兜鈴酸以 AA-I 形式為主。由於受到減肥藥事件的負面影響，中醫藥界被迫必須尋找馬兜鈴科的替代藥材，若在遍尋

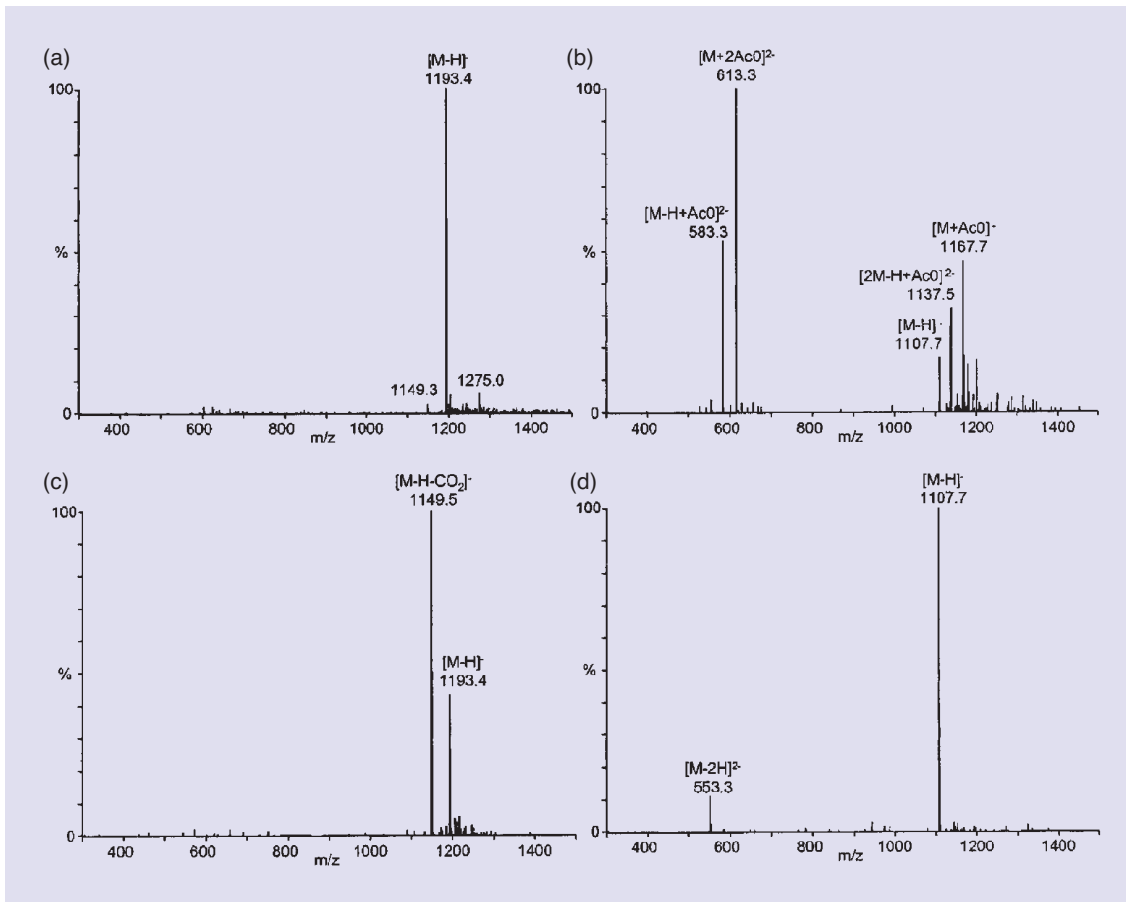


圖 2. (a) mRb_1 之 MS 圖譜，(b) Rb_1 之 MS 圖譜，(c) mRb_1 之 MS/MS 圖譜，(d) Rb_1 之 MS/MS 圖譜⁽⁷⁾。

不著的情況下，馬兜鈴酸的含量便成為用與不用的關鍵，因此發展精確的微量分析方法，監管其含量在安全濃度範圍以內，實為一重要工作。

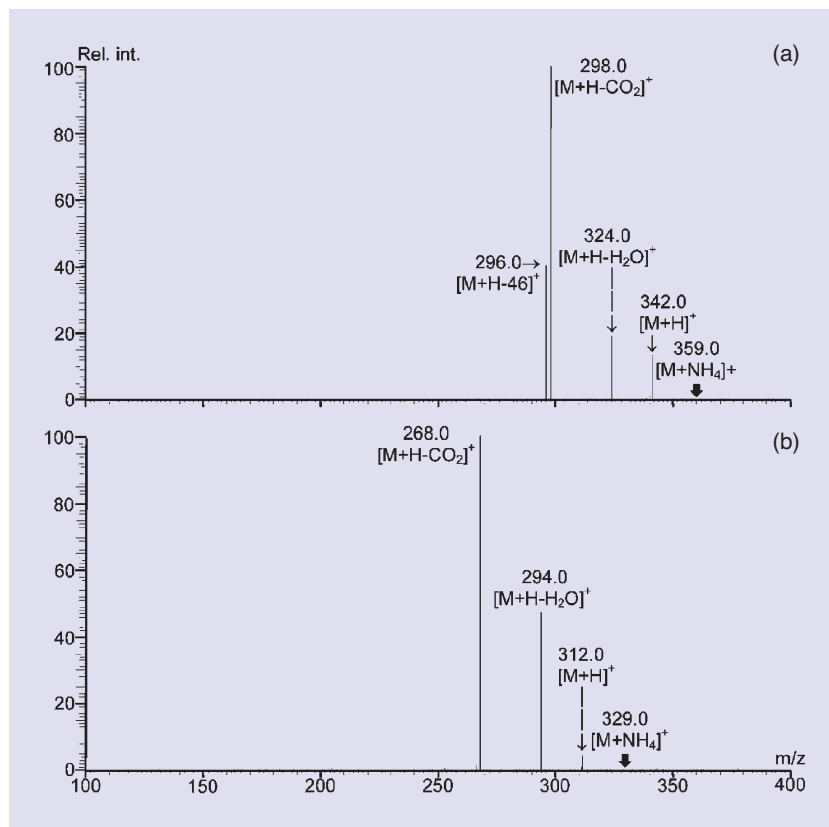
四、銀杏分析

銀杏 (*Ginkgo biloba* L.) 出現在地球的時期比恐龍還早，生存至今已有一億年之歷史，擁有強韌的生命力，因此有活化石⁽¹⁸⁾ 之稱，原本大約有十種，如今全世界剩下一種銀杏，一科一屬一種，沒有任何型態與其相近的品系。銀杏葉萃取物因含特殊生理活性物質，而具有抗癌、抗氧化、抗血栓、改善記憶力⁽¹⁹⁾、防止老年痴呆症、預防中風、治療心血管疾病和肝病、提升免疫力、減輕氣喘及過敏症狀，和修復腸胃道潰瘍等功效。已知的銀杏成分不下百種，大致可分成幾類：長鏈化合物、類黃酮素、生物鹼、二萜類、倍半萜類與 $C_6 - C_n$ 類， $n =$

13、15、17。其中主要具有生理活性的物質為銀杏內酯 (terpene lactones)，其具有苦味和昆蟲拒食活性，化學性質相當安定，為血小板活化因子 (RAF) 的強力拮抗劑⁽²⁰⁾，可抑制 RAF 之活性。然而銀杏果肉中含有少量銀杏酸 (ginkgolic acid)^(21,22)、ginkgol 和 bilobol 等具過敏性成分和屬神經性毒性的銀杏毒 (4'-O-methylpyridoxine, ginkgotoxin)^(23,24)，由於歐美地區銀杏製劑產品銷售量常佔中草藥補品用量之冠⁽²⁵⁾，因此銀杏成分的偵測分析在這幾年廣受重視。

銀杏成分分析大都於其抗氧化成分黃酮類之偵測，Pietta⁽²⁶⁾ 等人以 HPLC-ES/MS 方法定量分析老鼠口服銀杏葉製劑後，尿液與糞便中七種黃酮類的新陳代謝體。1999 年 Mauri⁽²⁷⁾ 初次將電灑質譜法應用於銀杏製劑和銀杏葉中，四種銀杏內酯和倍半萜類 bilobalide 化合物的分析，於正離子模式下偵測銀杏葉萃取物，除了可見銀杏內酯外，亦可得到黃酮類的質譜峰 (圖 4)。銀杏內酯在電灑質譜法中

圖 3. LC-ES-ITMS 以 $[M + NH_4]^+$ 為母代離子之 (a) AA-I 和 (b) AA-II MS/MS 圖譜 (母代離子分別為 m/z 359 和 329)⁽¹⁵⁾。



出現的質譜峰皆為 $[M + Na]^+$ 和 $[M + K]^+$ ，以 $[M - Na]^+$ 為定量離子進行選擇離子偵測模式 (SIM) 分析，對銀杏內酯的偵測極限可達 2 ng/mL，比 LC-ELSD、GC-FID 和 GC-MS⁽²⁸⁾ 等方法更加靈敏，而且不需經過衍生化和複雜的前處理程序，可實際應用於大量樣品的快速篩測。Mauri 將 APCI 質譜術應用於人體⁽²⁹⁾ 和動物體⁽³⁰⁾ 內的銀杏內酯和 bilobalide 的藥物動力學機制之探討。Ndjoko⁽³¹⁾ 等人應用液相層析質譜法，定量分析銀杏葉萃取液中的三種銀杏酸，並比較 TSP、APCI 和 ESI 三種不同離子化法的效果，在使用 TSP 和 APCI 時，在負離子模式無法得到分析物的質譜峰，而以 ESI 負離子模式偵測的靈敏度明顯較另兩者為佳，以 $[M + H]^-$ 為定量離子的全掃描模式分析，可得銀杏酸的偵測極限為 0.1 $\mu\text{g/g}$ 。

五、生物鹼分析

在早期的有機化學領域中，從自然界來源取得的鹼性胺 (basic amines) 化合物在溶液狀態中帶有

弱鹼性，通常被稱為植物鹼 (vegetable alkali)。而現今的相關文獻研究都改稱為生物鹼 (alkaloids)⁽³²⁾。生物鹼是存在於植物體中的有機含氮化合物，具有許多不同類型的結構，共同的特徵是通常至少含有一個氮原子取代一個碳原子，為一個甲基胺的有機化合物結構⁽³²⁾。其鹽基性也因分子結構與官能基的種類位置而有所不同。許多生物鹼都是從天然物中萃取出來，再進行各種有機反應以改變性質，製成各種不同藥效的藥物。就已發現的生物鹼而言，其在植物界的分布並不均勻。可能在同一棵植物中，較大量存於某部位，但存在部位和生合成的部位並不一定相同。例如香菸的菸鹼 (nicotine) 存在於葉，但是在根部生合成後才輸送至葉。另外，細胞液中的生物鹼常和有機酸形成鹽類，且有時是和特定的有機酸結合，例如鴉片中的 meconic acid 會與 morphine 同時存在⁽³³⁾。

在過去，生物鹼常用 HPLC-UV、HPLC-PDA 及 CE 等技術去偵測分析。然而在複雜基質中粗略萃取出的生物鹼，往往充滿了許多無標準品圖譜可以比對的未知物。而生物鹼種類複雜的特性，也增

加結構鑑定上的困難度。然而近年來，隨著液相層析質譜儀的普及，越來越多相關研究採用可以鑑定結構的 LC-MS，提供研究人員更完備的分析資訊。將以麻黃類與嗎啡類化合物，探討 LC-MS 在分析生物鹼化合物上的應用。

1. 麻黃類

麻黃 (*Ephedra*) 是裸子植物門麻黃科麻黃屬的植物。藥用麻黃主要有草麻黃、木賊麻黃和中麻黃等，是著名的養生藥材⁽³⁴⁾。隨著現代儀器設備的更新和藥物分析方法的進步，從麻黃中提煉出的麻黃鹼 (EP)、偽麻黃鹼 (PE)、甲基麻黃鹼 (ME)、甲基偽麻黃鹼 (MPE)、去甲基麻黃鹼 (NE) 和去甲基偽麻黃鹼 (NPE) 等開始應用於醫藥方面。作為傳統中藥材，麻黃草在平喘、發汗、利尿等方面的應用已經有 4000 多年歷史，而國外開發出的麻黃系列藥品約有 200 多種。據了解，含有麻黃的營養補充劑被許多美國人用來減肥，服用者多為 30 歲以下的年輕人。目前已有一萬多名消費者向有關部門投訴，出現心臟病發作、中風、癲癇發作等癥狀。麻黃類藥物可能影響大腦調節體溫的能力，引起血管收縮，使人體出汗的能力減弱，往往會導致脫水與腸胃不適，如腹瀉和嘔吐等。因此美國食品藥物管理局 (FDA) 委託國際官方分析化學家協會 (AOAC)

重新制定麻黃類食品補充劑的新分析方法和新定量標準。

AOAC 公布的方法⁽³⁵⁾ 即是用 LS-MS/MS 來偵測分析藥品中的麻黃類化合物的成分含量，分析的標準品包括 EP、PE、ME、MPE、NE、NPE、氫溴化麻黃鹼 (EP-d₅, 內標準品)。其中用於分離麻黃類化合物的 LC 管柱是用 YMC phenyl column，而非一般常使用的 C₁₈ 管柱，這是因為麻黃類的結構中都含有一個苯環結構，所以需要使用 phenyl column 進行分離，才能達到最好的分離效果。實驗結果顯示，在 0.5 g 的樣品中，偵測極限可以達到 0.5 μg/g。另外，在加拿大政府公布的國家檢驗標準方法⁽³⁶⁾ 中，使用的偵測器為 ESI-FAIMS-MS (high field asymmetric waveform ion mobility spectrometry-MS)，偵測極限為 0.1–0.3 ng/mL，線性範圍至少 2 個級數 (order) 以上，一次分析時間僅需要 2 分鐘。

2. 嗎啡類

嗎啡 (morphine) 在 17 世紀時，就已經被世人發現具有止痛的效果⁽³²⁾。從植物罌粟結的青苞⁽³⁷⁾ 中，劃破其表皮會流出白色的汁液，經過一連串的萃取純化後，即可得到止痛劑嗎啡。另外，可同時提煉出的化合物還有可待因 (codeine)，過去常用來

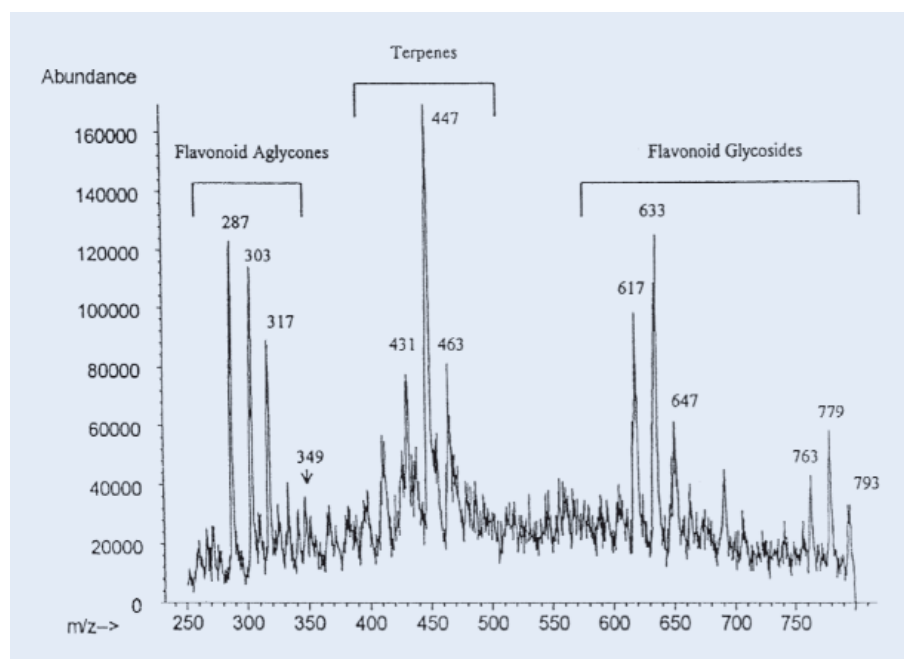


圖 4. 銀杏萃取物的典型正離子質譜圖⁽²⁷⁾。

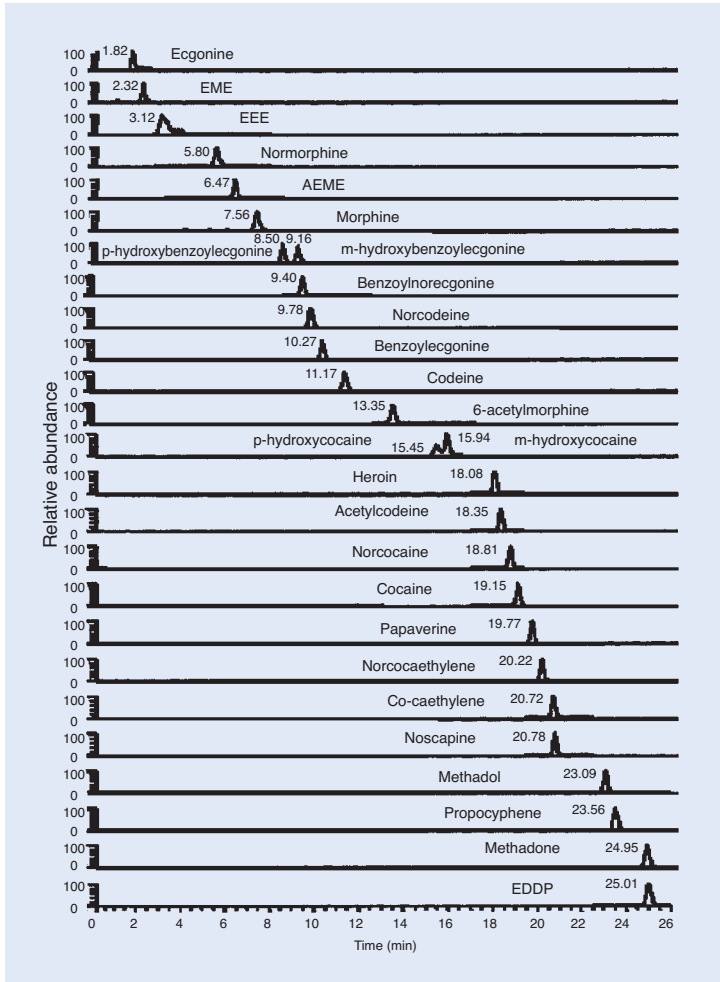


圖 5. 使用 LC-APCI-MS/MS 分析嗎啡等多種禁藥及其代謝物之 SRM 圖譜⁽⁴¹⁾。

加入至感冒藥劑中，用以舒緩症狀，但後來研究發現可待因具有成癮性，因此被禁止添加至感冒藥配方中。嗎啡在醫學上是當成止痛劑，然而卻被濫用成毒品，而其成癮性造成了許多社會問題，因此對於篩檢嗎啡類毒品的研究成為非常重要的課題，也因此其在相關的分析研究如刑事鑑定方面有著蓬勃的發展⁽³⁸⁾。Herbert 在 2000 年提出二次電灑法 (secondary electrospray ionization, SESI) 的游離方式^(39,40)，在 ESI 裝置與質譜儀之間加裝一個 ion mobility spectrometry 裝置，相較於一般的 ESI 介面這裝置提供低揮發性的分析物更好的離子化效率。Murphy 使用 LC-APCI-MS/MS 分析嗎啡等多種禁藥及其代謝物⁽⁴¹⁾ (圖 5)，此分析方法的偵測極限、

線性範圍、線性相關係數等數據皆顯示了 LC-APCI-MS/MS 是個穩定且靈敏的分析技術。Leenheer 在 2002 年提出了一種新的游離化方式—sonic spray ionization，用以定量偵測嗎啡等藥物，則是開啟了大氣壓環境下游離的另一個方式，此技術尚待更進一步的開發研究⁽⁴²⁾。

六、蜂膠分析

蜂膠 (propolis) 是在蜂巢外緣的一層臘狀護膜，是蜜蜂自尤加利樹、松樹、樺樹、柳樹、白楊樹等樹木的樹皮及樹芽採集的樹脂，與本身的唾液與蜂蠟混合而成的暗褐色膠狀物質，蜜蜂用它來封填蜂巢壁上的空隙，以防止雨水滲入與加強蜂巢強度，並確保蜂巢保持清潔無菌的狀態。由於近年來的研究報告顯示，蜂膠具有多種生理活性，如抗菌、抗微生物、抗氧化、消炎、促進傷口癒合、防癌、免疫调控等⁽⁴³⁾，目前已經逐漸受到了醫學界和養蜂界的廣泛重視和深入研究，在醫療衛生、食品工業和塗料工業等方面也都有廣泛的應用。由藥學的角度來看，蜂膠是一味動、植物雙性的中藥；從化學組成來看，蜂膠屬於複方，因此其功能和作用較多。蜂膠內可分辨的成分有幾百種以上，與蜜蜂所採集的植物種類有密切的關係，其組成大致為 50–55% 的樹脂、25–30% 的蜜蠟、15–25% 花粉，其餘 5–10% 則為類黃酮素 (黃酮、黃酮醇和黃烷酮)、芳香酸、有機酸、氨基酸、鐵、鋅、錳、植物性酸、維生素 A、B、C、E、H、P 等⁽⁴⁴⁾。其中與抗菌有關的成分有三類，分別為：(1) 類黃酮素：為蜂膠中最主要的有效成分，具有抗氧化、抗發炎、抗組織胺、淨化血液和強化細胞膜等功能，並且有促進膠原蛋白合成，幫助組織再生等作用，是一種效果最好的天然抗生素^(45,46,47)；(2) 雙萜類：為蜂膠中抑制及殺滅腫瘤細胞之重要成分；(3) 有機酸：如安息香酸、香豆素酸、單酚酸和咖啡酸等，均有抑制細菌和抵抗發炎的作用^(46,47)。以氣相層析串聯質譜技術分析蜂膠之組成^(48,49)，已經鑑定出一百多種化學成分，以液相層析質譜儀對蜂膠作分析的研究目前正在起步中，2000 年 Mauri⁽⁵⁰⁾ 以直接注入進樣 ESI-MS 負離子偵測模

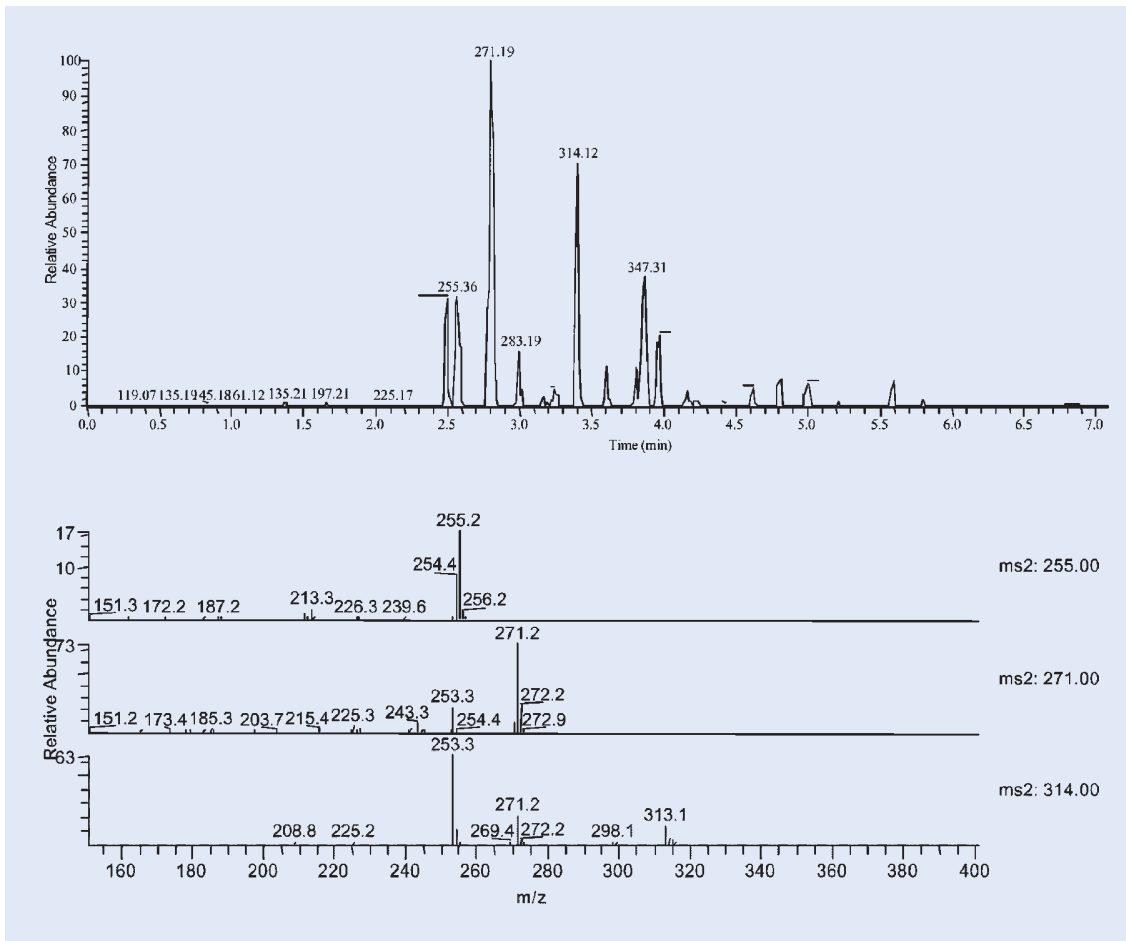


圖 6. 蜂膠內之三種類黃酮素 pinocembrin、pinobanksin 和 pinobanksin-acetate 之 MS/MS 圖譜 (母代離子分別為 m/z 255、271 和 314)⁽⁵¹⁾。

式，定性偵測蜂膠內之四種類黃酮素，2002 年 Pietta⁽⁵¹⁾ 以 HPLC-APCI-ITMS 負離子偵測模式，定性分析三種不同產地的蜂膠內之十二種類黃酮素，結果如表 1 所示，其以發展此法應用於蜂膠之品質管制，並以串聯質譜法 (MS/MS) 作進一步的分析，訂定其個別的特性斷裂途徑 (圖 6)，以利其定性分析方面的雙重確認，並可應用於蜂膠內其他未知物之結構鑑定。

七、結論

天然物是大自然所賦予的資源，若不能明瞭其存在的價值與功效，進而應用於增進人類的福祉，豈不辜負了大自然的一番美意。由於液相層析質譜

儀在天然物分析上具有極佳的質量準確度、選擇性與靈敏度，再加上分析快速等優點，其於天然物上的應用，包含藥材有效成分的定性與定量分析、中藥複方成分與療效之鑑別、科學中藥的開發、疾病檢測追蹤、臨床診斷等方面都有重要的貢獻，由於今日液相層析質譜技術已日趨成熟階段，儼然成為天然物研究領域不可或缺的一門技術。

參考文獻

1. K. B. G. Torssell, *Natural Product Chemistry—A Mechanistic and Biosynthetic Approach to Secondary Metabolism*, John Wiley & Sons, 150 (1983).
2. M. Hattori, Y. Kawata, N. Kakiuchi, K. Matsuura, and T. Tomimori, Namba, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **36**, 4467 (1988).

表 1.

以 HPLC-APCI-IT-MS
負離子偵測模式分析
三種不同產地的蜂膠
內之十二種類黃酮素
(51)。

[M - H]	Compounds	Propolis sample 1	Propolis sample 2	Propolis sample 3
247	Dihydroxyflavone	+	—	++
253	Chrysin	++	++	+
255	Pinocembrin	+	+	+
267	Tectochrysin	—	+	—
269	Galangin	++	+++	++
271	Pinobanksin + naringenin	+++	+++	+
283	Acacetin + kaempferol	+	++	++
285	Sakuranetin	—	+	+
303	Quercetin	—	—	—
313	Pinbanksin-acetate	+++	+++	+++

- M. Park, J. Park, G. Hwang, M. Lee, and I. Park, *Koryo Insam Hakhoechi*, **19**, 134 (1995).
- V. Breemen, B. Richard, C. Huang, Z. Lu, A. Rimando, H. Fong, and J. Fitzloff, *Analytical Chemistry*, **67**, 3985 (1995).
- X. Wang, T. Sakuma, E. Asafu-Adjaye, and G. Shiu, *Analytical Chemistry*, **71**, 1579 (1999).
- W. Li, C. Gu, H. Zhang, J. Fitzloff, and H. Fong, *Analytical Chemistry*, **72**, 5417 (2000).
- G. Kite, M. Howes, and C. Leon, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **17**, 238 (2003).
- J. L. Vanherweghem, M. Depierreux, C. Tielemans, D. Abramowicz, M. Dratwa, and C. Richard, *Lancet*, **341**, 387 (1993).
- C. ven Ypersele de Strihou and J. L. Vanherweghem, *Nephrol. Dial. Transplant.*, **10**, 157 (1995).
- G. M. Lord, R. Tagore, T. Cook, P. Gower, and C. D. Pusey, *Lancet*, **354**, 481 (1999).
- B. Stengel and E. Jones, *Nephrologie*, **19**, 15 (1998).
- J. P. Cosyns, M. Jadoul, J. P. Squifflet, J. F. De Plaen, D. Ferluga, and C. ven Ypersele de Strihou, *Kidney Int.*, **45**, 1680 (1994).
- A. Tanaka, R. Nishida, K. Sawai, T. Nagae, and S. Shinkai, *Jpn. J. Nephrol.*, **39**, 794 (1997).
- H. Hashimoto, M. Higuchi, B. Makono, I. Sakakibara, M. Kubo, and Y. Komatsu, *J. Ethnopharmacol.*, **64**, 185 (1999).
- S. A. Chan, M. J. Chen, T. Y. Liu, M. R. Fuh, J. F. Deng, M. L. Wu, and S. J. Hsieh, *Talanta*, **60**, 679 (2003).
- G. C. Kite, M. A. Yule, C. Leon, and M. S. J. Simmonds, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **16**, 585 (2002).
- T.-T. Jong, M.-R. Lee, S.-S. Hsiao, J.-L. Hsai, T.-S. Wu, and S. T. Chiang, *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, accepted (2003)
- L. G. Annelise, B. S. Françoise, and A. Robert, *J. of Chrom.*, **267**, 431 (1983).
- D. P. Vesselin, K. Rumen, and B. Stiljana, *Planta Med.*, **59**, 106 (1992).
- M. Joyerux, A. Lobstein, R. Anton, and F. Mortier, *Planata Med.*, **61**, 126 (1994).
- H. Jaggy and E. Koch, *Pharmazie*, **52**, 735 (1997).
- I. Kubo and H. Muroi, *J. Nat. Prod.*, **57** (1994).
- K. Wada, K. Sasaki, K. Miura, M. Yagi, Y. Kubota, T. Matsumoto, and M. Haga, *Biol. Pharm. Bull.*, **16**, 210 (1993).
- A. Ansgar, K. Matthias, F. Katrin, and L. Eckhard, *Planta Med.*, **62**, 548 (1996).
- Nature's Resources, from Information Resources Inc., Scanner Data, FDM (Food, Drug, Mass Market combined).
- P. G. Pietta, C. Gardana, P. L. Mauri, R. M. Facino, and M. Carini, *Journal of Chromatograph B*, **673**, 75 (1995).
- P. Mauri, B. Migliazza, and P. Pietta, *Journal of Mass Spectrometry*, **34**, 1361 (1999).
- F. Camponovo, J. F. Wolfender, and M. P. Maillard, *Phytochem. Anal.*, **6**, 141 (1995).
- P. Mauri, P. Simonetti, C. Gardana, M. Minoggio, and P. Pietta, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **15**, 929 (2001).
- P. Mauri, M. Minoggio, and P. Pietta, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **32**, 633 (2003).
- K. Ndjoko, J. L. Wolfender, K. Hostettmann, *Journal of Chromatograph B*, **57**, 249 (2000).
- John McMurry, *McMurry Organic Chemistry*, 4th ed, California: Brooks/Cole Publishing Company, 63 (1995).
- 林宗旦, 林美昭, 最新植物化學, 初版, 台中: 明哲, 669 (1983).
- 甘偉松, 藥用植物化學, 六版, 台中: 國立中國醫藥研究所, 153 (1981).
- D. Sullivan and J. Wehrmann, *John Schmitz, Journal of AOAC International*, **86**, 3,471 (2003)
- M. McCooney, L. Ding, and G. J. Gardner, *Anal.Chem*, **75**, 2538 (2003).
- 甘偉松, 藥用植物化學, 六版, 台中: 國立中國醫藥研究所, 285 (1981)
- T. A. Brettel., K. Inman, and N. Rudin, *Anal. Chem.* (review), **71** (12), 235 (1999).

39. C. Wu., W. F. Siems., and H. H. Hill Jr., *Anal.Chem.*, **72** (2), 396 (2000).
40. L. M. Matz and H. H. Hill. Jr., *Anal.Chem.*, **73** (8),1664 (2001).
41. R. Dams., C. M. Murphy, and R. E. Choo., *Anal. Chem.*, **75** (4), 798 (2003).
42. R. Dams., T. Benijts., W. Gunther., W. Lambert, and A. De Leenheer, *Anal. Chem.*, **74** (13), 3206 (2002).
43. E. Ghisalberti, *Bee World*, **60**, 59 (1979).
44. M. C. Marcucci, *Apidologie*, **26**, 83 (1995).
45. B. H. Havsteen, *Pharmacology & Therapeutics*, **96**, 67 (2002).
46. T. Namba, *Phytomedicine*, **3**, 203 (1996).
47. J. Metzner, H. Bekemeier, M. Paintz, and E. Schneidewind, *Pharmazie*, **23**, 97 (1979).
48. K. R. Markham, K. A. Mitchell, A. L. Wilkins, and J. A. Daldy, *Phytochemistry*, **42**, 205 (1996).
49. A. S. Pereira, M. Norsell, J. N. Cardoso, and F. R. Aquino, *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 5226 (2000).
50. P. Mauri and P. Pietta, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **23**, 61 (2000).
51. P. G. Pietta, C. Gardana, and A. M. Pietta, *Fitoterapia.*, **73**, S7 (2002).

-
- 周繼祺小姐、廖炳創先生和劉文琳先生為國立中興大學化學研究所博士班學生。
 - 鍾婷婷小姐為美國布朗大學有機天然物博士，現任國立中興大學化學研究所教授。
 - 李茂榮先生為美國佛羅里達大學分析化學碩士，現任國立中興大學化學研究所教授。
 - Chi-Chi Chou, Bing-Chung Liao and Wen-Lin Liu are Ph.D. students in the Department of Chemistry at National Chung Hsing University.
 - Ting-Ting Jong received her Ph.D. in organic nature chemistry from Brown University, USA. She is currently a professor in the Department of Chemistry at National Chung Hsing University.
 - Maw-Rong Lee received his M.S. in analytical chemistry from the University of Florida, USA. He is currently a professor in the Department of Chemistry at National Chung Hsing University.