

CESI-MS技术对生脉注射液成分的分析

Analysis of components in Shengmai injection by CESI-MS

王文涛¹, 司丹丹¹, 陈泓序¹, 余河水²

Wentao Wang¹, Dandan Si¹, Hongxu Chen¹, Heshui Yu²

¹ CE & Biopharma, Sciex, China; ² 天津中医药大学药学院

¹ CE & Biopharma, Sciex, China ² Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, college of pharmacy

Abstract

CESI-MS combines the advantages of efficient separation of CE with the identification function of MS. The connecting between CE and MS offers ultra-low flow rate so that CESI-MS can maximize the ionization efficiency and reduces the ion inhibition effect, significantly improves the detection sensitivity. It is especially suitable for the analysis of polar components in traditional Chinese medicine and is a favorable supplement of LC-MS. In this paper, CESI-MS was used to analyze the components of Shengmai injection. 32 compounds, including amino acids, alkaloids, flavonoids and organic acids, could be detected under the positive ion mode. While, under the anion mode, 10 compounds can be detected, such as sugars, phenylpropanoids and organic acids.

Key Words: Shengmai Injection; CESI-MS; MasterView;

1 前言

中草药成分复杂，如何对其有效成分进行分析和质量控制一直是研究的难点。生脉注射液是在我国传统中医中“益气复脉”的著名古方“生脉散”的基础上用现代科学技术研制成功的中药制剂¹，主要成分为人参、麦冬、五味子（如图1）等，其有效成分具有多种药理作用。具有良好的扩张血管、保护心肌、增加冠状动脉血流量、调节血压、抗病毒等作用。因此，对于其中药成分的深度分析对于研究生脉注射液的临床应用非常重要。

CESI-MS技术将CE高效分离的特性与MS的鉴定功能相结合，采用超低流速的无鞘液技术将CE和MS相连接。CESI-MS技术最大化离子化效率，减少离子抑制效应，并显著提升检测灵敏度，特别适合中药中极性活性成分的分析，是LC-MS技术的有力补充。本文展示了CESI-MS技术对生脉注射液中成分的分析，在正离子模式下可以检测到32种化合物，主要包括氨基酸、生物碱、黄酮类、有机酸等；在负离子模式下可以检测到10种化合物，主要包括糖类、苯丙素类、有机酸类等。

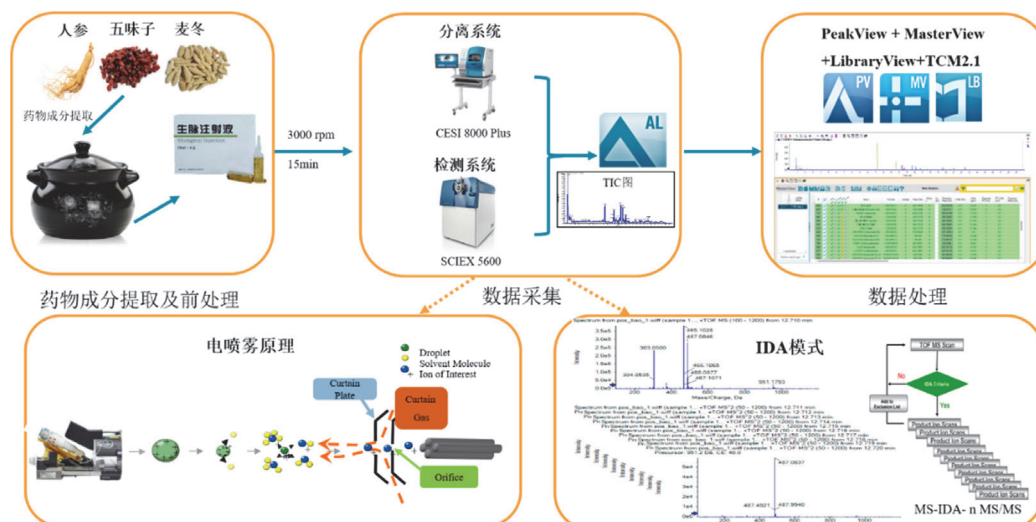


图1. CESI-MS技术对生脉注射液成分的分析流程。

2 实验材料

2.1 仪器与试剂

CESI 8000 plus (SCIEX), NanoSpray® III离子源 (SCIEX), TripleTOF® 5600 (SCIEX, 数据处理软件: PeakView、MasterView 和LibraryView), OptiMS熔融石英毛细管卡盒 (91 cm × 30 μm ID, SCIEX)。冰醋酸 (HAc, 质谱纯, Sigma-Aldrich); 二次去离子水 (Millipore); 甲醇 (MeOH, 质谱纯, Merck)。背景电解质 (BGE): 10% HAc (含30% MeOH)。导电液 (CL): 10% HAc。

2.2 样品及前处理

生脉注射液 (市售某品牌), 4 °C保存;

取1 mL生脉注射液样品, 3000 rpm 离心15 min, 取上清无需稀释直接进样;

3 CE和MS方法设置

3.1 CESI条件

CE 类型

CE 卡盒

毛细管预处理

毛细管温度

BGE

CL

样品温度

CESI 8000 Plus

OptiMS 熔融石英毛细管卡盒 (30 μm ID × 90 cm)

新毛细管的预冲洗: MeOH, 100 psi 5 min;
Water, 100 psi 5 min; 1 N NaOH, 100 psi 5 min;
0.1 N HCl, 100 psi 5 min; Water, 100 psi 5 min;
BGE, 100 psi 5 min。每针样品分析间的冲洗:
分离毛细管, BGE, 50 psi, 20 min; 导电液毛细管, CL, 50 psi, 0.5 min。

25

10% HAc (含30%MeOH)

10% HAc

10

分离条件

30 kV, 25 min

进样

电动进样: 16s, 10kV

3.2 MS条件

质谱型号

数据采集方法

扫描范围

极性

Gas 1

Gas 2

Curtain Gas

ISVF

毛细管温度

DP值

CE值

Triple TOF 5600+

信息依赖采集 (IDA) 每个循环选择12个最强的离子进行MS/MS

200~2000 m/z

正、负离子模式检测

0

0

5

+1650 V/-1650 V

50 °C

100

+40/-40

4 结果与分析

基于CE对极性化合物高效的分离能力, 本文使用了高灵敏度的CESI-MS技术, 对生脉注射液中成分进行了分析。采用SCIEX公司的MasterView软件进行数据处理和鉴定。首先, 利用SCIEX MS/MS高分辨质谱中药数据库对生脉注射液中的化合物进行鉴定。其次, 在MasterView中导入人参、麦冬、五味子中已知化合物列表进行峰的提取, 将结构与二级图谱匹配, 进行化合物结构鉴定, 用于中药数据库中不存在的化合物的鉴定。使用以上两种鉴定方法, 在正离子模式下鉴定出32种化合物, 主要包括氨基酸、生物碱、黄酮类、有机酸等; 在负离子模式下鉴定出10种个化合物, 主要包括糖类、苯丙素类、有机酸类等 (如表1), 部分化合物的提取离子流图如图2。所有化合物的质量误差均在5 ppm以下, 结果均经过数据库匹配和理论碎裂与实测MS/MS匹配进行鉴定, 鉴定结果准确可靠。

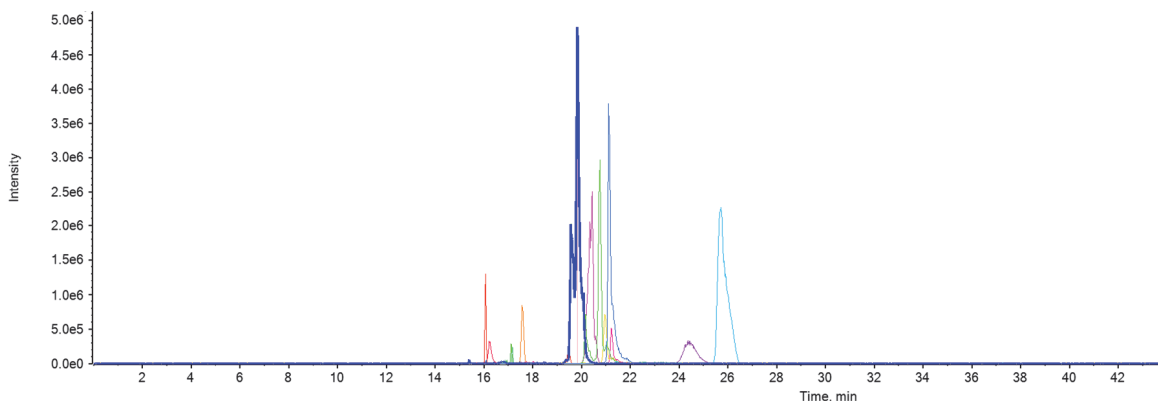


图2. 正离子模式下鉴定到的部分化合物的提取离子流图。

表1. 鉴定结果列表。

序号	化合物名称	分子式	理论质量	加和物	精确质量	CESI-MS分析			
						实际质量	质量偏差	强度	保留时间
1	D-苏氨酸	C ₄ H ₉ NO ₃	119.0582	+H	120.0655	120.0659	2.9	2967286	20.75
2	L-丝氨酸	C ₃ H ₇ NO ₃	105.0426	+H	106.0499	106.0504	5	2509169	20.4
3	L-天门冬氨酸	C ₄ H ₇ NO ₄	133.0375	+H	134.0448	134.0447	-0.5	338031	24.43
4	L-缬氨酸	C ₅ H ₁₁ NO ₂	117.079	+H	118.0863	118.0864	1.4	2315438	19.67
5	苯丙氨酸	C ₉ H ₁₁ NO ₂	165.079	+H	166.0863	166.0861	-0.7	3793320	21.13
6	谷氨酸	C ₅ H ₉ NO ₄	147.0532	+H	148.0604	148.0603	-0.7	537881	21.44
7	瓜氨酸	C ₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	175.0957	+H	176.103	176.1023	-3.9	516128	21.24
8	精氨酸	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	174.1117	+H	175.119	175.1189	-0.4	14394433	16.14
9	亮氨酸	C ₆ H ₁₃ NO ₂	131.0946	+H	132.1019	132.1022	2.2	4905702	19.84
10	异亮氨酸	C ₆ H ₁₃ NO ₂	131.0946	+H	132.1019	132.1022	2.2	4905702	19.84
11	组氨酸	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	155.0695	+H	156.0768	156.0761	-4.2	326311	16.24
12	琥珀酸甲酯	C ₅ H ₈ O ₄	132.0423	+H	133.0495	133.0497	1	25932	31.36
13	银杏内酯B	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₀	470.1424	+NH ₄	488.1768	488.1773	1.1	34418	18.35
14	银杏内酯C	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₁	440.1319	+NH ₄	458.1662	458.1674	2.6	33823	26.8
15	原儿茶醛	C ₇ H ₆ O ₃	138.0317	+H	139.039	139.0389	-0.4	18310	31.04
16	鸟苷	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅	283.0917	+H	284.099	284.0981	-2.8	2259405	25.72
17	胡薄荷酮	C ₁₀ H ₁₆ O	152.1201	+H	153.1274	153.1276	1	15969	15.04
18	左旋香芹酮	C ₁₀ H ₁₄ O	150.1045	+H	151.1117	151.1117	-0.5	11139	15.17
19	次黄嘌呤 6-	C ₅ H ₄ N ₄ O	136.0385	+H	137.0458	137.0457	-0.7	71331	26.07
20	腺嘌呤	C ₅ H ₅ N ₅	135.0545	+H	136.0618	136.0615	-1.9	1300370	16.07
21	5-羟甲基糠醛	C ₆ H ₆ O ₃	126.0317	+H	127.039	127.0389	-0.9	77693	29.13
22	樟脑	C ₁₀ H ₁₆ O	152.1201	+H	153.1274	153.1276	1	15969	15.04
23	秦皮苷	C ₁₆ H ₁₈ O ₁₀	370.09	+NH ₄	388.1244	388.1244	0.1	17777	8.29
24	胡芦巴碱	C ₇ H ₇ NO ₂	137.0477	+H	138.055	138.055	0.4	936929	21.43
25	水苏碱	C ₇ H ₁₃ NO ₂	143.0946	+H	144.1019	144.1016	-2.2	238306	17.17
26	烟酰胺	C ₆ H ₆ N ₂ O	122.048	+H	123.0553	123.0552	-0.4	842835	17.58
27	左旋肉碱	C ₇ H ₁₅ NO ₃	161.1052	+H	162.1125	162.1126	0.9	344644	16.95
28	D-氨基葡萄糖	C ₆ H ₁₃ NO ₅	179.0794	+H	180.0867	180.0865	-1	3381708	17.6
29	γ-氨基丁酸	C ₄ H ₉ NO ₂	103.0633	+H	104.0706	104.0711	4.7	2855767	15.51
30	六氢吡啶羧酸	C ₆ H ₁₁ NO ₂	129.079	+H	130.0863	130.0862	-0.6	742240	20.46
31	四氢嘧啶	C ₆ H ₁₀ N ₂ O ₂	142.0742	+H	143.0815	143.0813	-1.8	26463	19.09
32	烟酸	C ₆ H ₅ NO ₂	123.032	+H	124.0393	124.0394	1	117655	21.79
33	D-(-)-奎宁酸	C ₇ H ₁₂ O ₆	192.0634	-H	191.0561	191.0553	-4	35901	33.32
34	奎宁酸	C ₇ H ₁₂ O ₆	192.0634	-H	191.0561	191.0553	-4	35901	33.32
35	维生素C	C ₆ H ₈ O ₆	176.0321	-H	175.0248	175.0244	-2.6	3105	23.4
36	D-半乳糖	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.0634	-H	179.0561	179.0558	-1.5	29091	33.5
37	D-甘露糖	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.0634	-H	179.0561	179.0558	-1.5	29091	33.5
38	D-无水葡萄糖	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.0634	-H	179.0561	179.0558	-1.5	29091	33.5
39	L-苹果酸	C ₄ H ₆ O ₅	134.0215	-H	133.0143	133.0143	0.5	199301	32.74
40	莽草酸	C ₇ H ₁₀ O ₅	174.0528	-H	173.0456	173.0454	-1	11298	33.69
41	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	192.027	-H	191.0197	191.019	-3.6	210896	32.16
42	异柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	192.027	-H	191.0197	191.019	-3.6	210896	32.16

5 结论

本文建立了CESI-MS方法对生脉注射液中的成分进行分析。高灵敏的CESI-MS方法可以有效保证低含量化合物获得较佳的MS/MS质谱数据，结合MasterView和MS/MS中药数据库可对分析物进行准确的鉴定。方法兼具了CE对极性化合物分析效率高和CESI-MS的超高灵敏度优势，适合氨基酸、生物碱、有机酸、糖类等极性化合物的分析，为LC-MS方法提供了有力的补充。

参考文献

Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health, P R China. Part 1, Vol 15 (卫生部药品标准一部第十五册). 1998. 170.

For Research Use Only. Not for use in Diagnostic Procedures.

Trademarks and/or registered trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd., or their respective owners, in the United States and/or certain other countries.

RUO-MKT-02-10528-ZH-A

AB SCIEX™ is being used under license.

© 2019 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.



SCIEX中国公司

北京分公司
地址：北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808 1388
传真：010-5808 1390

上海公司及中国区应用支持中心
地址：上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419 7200
传真：021-2419 7333

广州分公司
地址：广州市天河区珠江江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510 0200
传真：020-3876 0835

全国免费垂询电话：800 820 3488, 400 821 3897 网址：www.sciex.com.cn 微博：@SCIEX