

# 麻黄炮制条件的 ESI-MS 法优化

孟翔宇<sup>1,2</sup>, 宋凤瑞<sup>1</sup>, 刘志强<sup>1</sup>, 刘淑莹<sup>1</sup>

(1. 中国科学院长春应用化学研究所, 长春质谱中心, 吉林 长春 130022; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

## Optimized of the Ephedra Sinica Processing Condition by ESI-MS

MENG Xiang-yu<sup>1,2</sup>, SONG Feng-rui<sup>1</sup>, LIU Zhi-qiang<sup>1</sup>, LIU Shu-ying<sup>1</sup>

(1. Changchun Center of Mass Spectrometry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Abstract:** ESI-MS was used to optimize the Ephedra sinica refinement. The ratio of honey to drug is 20/100, and the ratio of water to honey is 1/2. The toast temperature is 80 °C, and the toast time is 2 h. The change of Ephedra sinica after processing was given.

**Key words:** Ephedra; concoction; electricspray ionization mass spectrum

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2008) 增刊-94-02

麻黄为重要传统中药之一, 始载于《神农本草经》, 列为中品<sup>[1]</sup>, 具有发汗解表、宣肺平喘、利水消肿作用, 用于风寒感冒、胸闷咳嗽、风水浮肿、支气管哮喘等。主要成分为麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱、甲基伪麻黄碱、去甲基麻黄碱、去甲基伪麻黄碱, 分子结构式示于图 1。在药典中麻黄收录有生麻黄和蜜炙麻黄, 在实际应用中多以蜜炙麻黄为主。有文献报道用分光光度法<sup>[2]</sup>、薄层色谱法<sup>[3]</sup>、气相色谱法<sup>[4]</sup>、高效液相色谱法等测定麻黄碱, 但还没有通过 ESI-MS 法定量麻黄中生物碱来优化麻黄炮制方法的报道。

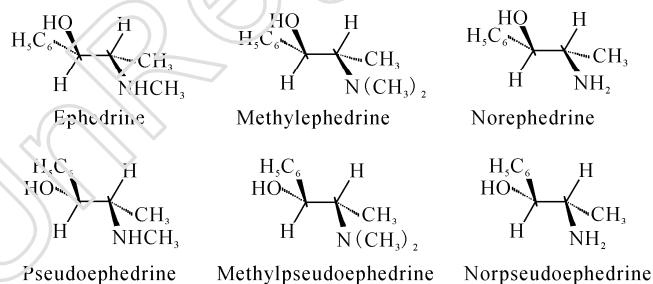


图 1 麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱、甲基伪麻黄碱、去甲基麻黄碱、去甲基伪麻黄碱的分子结构式

## 1 实验部分

### 1.1 仪器及试剂

Finnigan MAT LCQ 电喷雾质谱仪。蜂蜜为市售, 购回后炼制中蜜备用; 麻黄市售; 蜜炙麻黄为调整不同的蜜药比例、水蜜比例、烘烤温度、烘烤时间得到的样品; 甲醇色谱纯; 水为超纯水 (18.2 MΩ); 其他试剂均为分析纯。

### 1.2 实验方法

样品制备: 精密称取麻黄生品、炙品各约 0.01 g, 加 V (甲醇):V (水) = 50:50 的混合溶液, 超声提取 30 min, 离心, 取上清液, 滤过, 取 5 μL 滤液, 加 495 μL 甲醇, 稀释定容, 备用。

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 30772721, 30472134), 吉林省重点科技发展计划项目(批准号: 20060902)资助

作者简介: 孟翔宇 (1978~), 男, 博士研究生, 从事天然药物化学和有机质谱研究。E-mail: mslab11@ciac.jl.cn

通信作者: 宋凤瑞(1962~), 女(汉族), 吉林人, 教授, 从事中药质量标准及药物质谱研究。E-mail: songfr@ciac.jl.cn

质谱测定:所有实验均在 Finnigan MAT LCQ 电喷雾质谱仪上完成。质量扫描范围  $m/z$  50~2 000, 实验前经质量误差校订。样品经过流动注射泵进样, 流速  $5 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ , 所有实验均采集正离子谱。喷雾电压 5 kV, 加热毛细管温度  $200^\circ\text{C}$ , 壳气 ( $\text{N}_2$ ) 40 arb, 辅助气 ( $\text{N}_2$ ) 0 arb, 碰撞气为氦气。每一样品测定 3 次, 每次扫描 60 次, 取峰高均值除以对应样品质量, 去除质量影响。

## 2 结果与讨论

### 2.1 麻黄生品、炙品的电喷雾一级谱

离子  $m/z$  148 为麻黄碱和伪麻黄碱的分子离子失水峰  $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ ,  $m/z$  152 为去甲基麻黄碱和去甲基伪麻黄碱的分子离子峰  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $m/z$  166 为麻黄碱和伪麻黄碱的分子离子峰  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $m/z$  180 为甲基麻黄碱和甲基伪麻黄碱的分子离子峰  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。由图 2 可以观察到, 炮制前后没有新的物质产生, 但是  $m/z$  148 的相对峰高降低, 说明麻黄中各化合物含量发生变化, 去甲基麻黄碱(去甲基伪麻黄碱)的含量降低。为了考察各生物碱含量具体的变化情况, 对比了 9 种炮制品和生品的提取物正离子模式下一级谱。

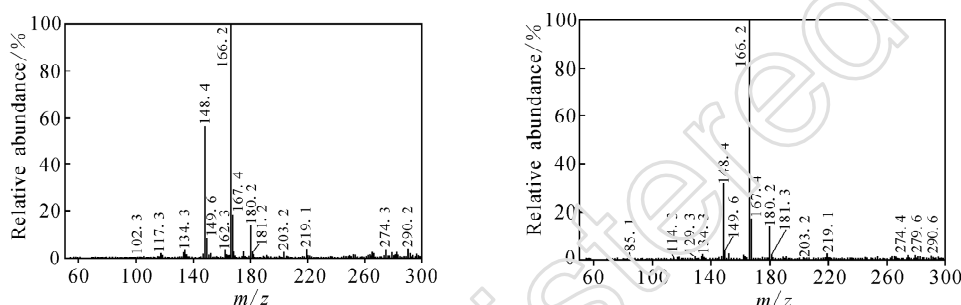


图 2 正离子模式下生麻黄(左)、蜜炙麻黄(右)提取物全谱

### 2.2 麻黄生品、炙品的生物碱含量变化

将 9 种麻黄炮制品和生品按照样品测定方法处理, 并在上述质谱条件下测定 3 次, 取平均值, 以生物碱峰高相对值为纵坐标作图, 示于图 3。横向对比各生物碱含量变化。

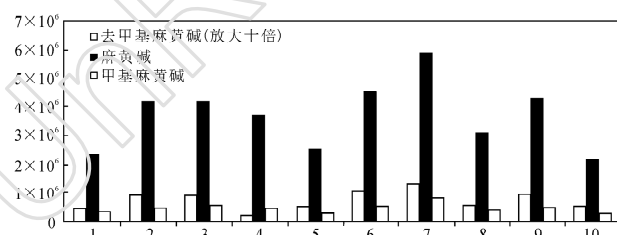


图 3 麻黄生品、炙品的生物碱含量变化

其中 1~9 对应样品 1~9 号, 10 为生麻黄。7 号的麻黄碱(伪麻黄碱)、甲基麻黄碱(甲基伪麻黄碱)和去甲基麻黄碱(去甲基伪麻黄碱)含量均最高, 总碱含量最高, 此炮制条件为最佳条件; 1 号的麻黄碱、伪麻黄碱含量最少; 5 号的甲基麻黄碱、甲基伪麻黄碱含量最少; 4 号的去甲麻黄碱、去甲伪麻黄碱最少。炮制条件为蜜药比例 20/100, 水蜜比例 1:2, 在  $80^\circ\text{C}$  时烘烤 2 h 的炮制条件, 麻黄碱含量最高。

## 3 结论

本工作通过定量考察麻黄生品和炮制品的 ESI-MS 正离子模式下一级谱的峰高, 优化了蜜炙麻黄的炮制条件, 对于麻黄炮制生产有一定指导意义。

(下转第 97 页)

## 2 结果与讨论

将蛋白质在 37 °C 条件下用胰蛋白酶进行酶解 (酶解缓冲液: 50 mmol·L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>, pH 7.8), 得到的混合肽段样品在正离子反射模式下进行 MALDI-MS 分析, 示于图 1。

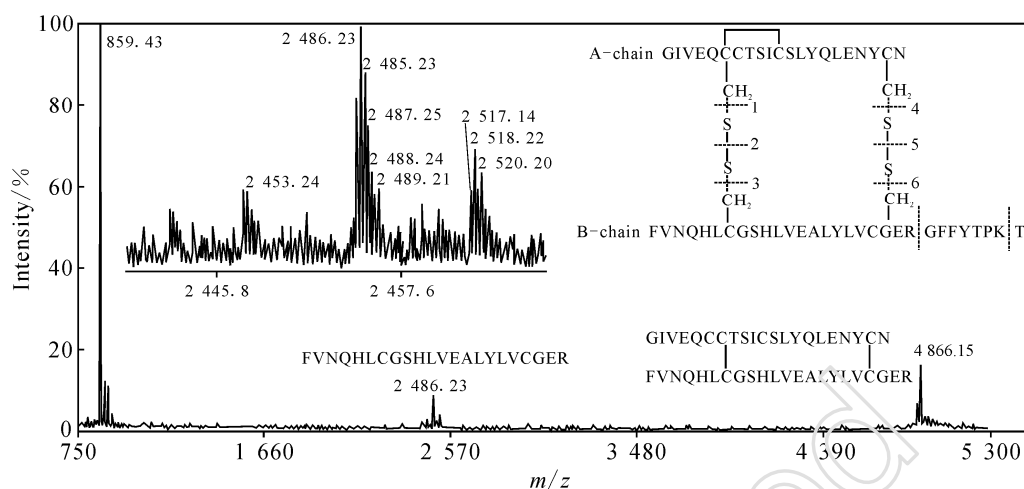


图 1 人胰岛素胰蛋白酶酶解肽段混合物的 MALDI-TOF 质谱图

Fig.1 MALDI-TOF mass spectrum generated from insulin tryptic digest

## 3 结论

本研究采用 MALDI-MS 技术分析一些酶解后生成的含二硫键肽段, 发现实际上 MALDI 电离并不是非常的软, 蛋白质/多肽在 MALDI 源中会在二硫键处断裂生成 prompt 离子, 这是除了反射式 MALDI-TOF 的 PSD 以外的另一种形式的碎裂离子。另外, 发现的相差 32 Da 的不同丰度的“triplet”离子是由于多肽在二硫键中—C—S—S—C—的不同位点处断裂且在 S—S 处优先断裂而产生的。这就要求在分析含二硫键肽的谱图时要特别小心以免做出错误的判断, 当然另一方面这也可以成为获得有关蛋白质/多肽二硫键信息的简便方法。与 MS/MS 中二硫键的选择性断裂类似, 这些都将有助于对蛋白质中二硫键的分析与鉴定。

### 参考文献:

- [1] FAGERQUIST C K. Rapid Commun. Mass Spectrom, 2004, 18: 685-700.
- [2] BYKOVA N V, IGAMBERDIEV A U, ENS W, et al. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 347: 301-309.
- [3] ZHOU J, ENSW, POPPE-SCHRIEMER N, et al. Int J Mass Spectrom Ion Processes, 1993, 126: 115-122.

\*\*\*\*\*

(上接第 95 页)

### 参考文献:

- [1] 崔树德. 中药大全[M]. 黑龙江: 黑龙江科学技术出版社, 1989: 148.
- [2] XIN X. Determination of ephedrine hydrochloride in Dibiye by UV spectrophotometer[J]. Chin Pharm Bull, 1987, 22(2): 74.
- [3] CHENG Y, FENG Q, WANG H R, et al. Determination of ephedrine alkaloid in Mahuang by thin layer spectroscopy[J]. Chin Tradit Pat Med, 1990, 12(6): 15.
- [4] YAMASAKI K, FUJITA K, SAKAMOTO M, et al. Separation and quantitative analysis of ephedrine alkaloids by gas-spectrography and its application to evaluation of some ephedraspecies collected around Himalaya[J]. Chem Pharm Bull, 1974, 22(12): 2 898.