

LC-TOFMS 测定环糊精衍生物 SGMD

黄保, 朱辉

(广州禾信仪器股份有限公司, 广东 广州 510530)

摘要: 通过液相进样, 同时利用紫外可见光检测器和飞行时间质谱进行检测, 观察紫外可见光检测出来样品的纯度, 同时通过质谱确认其他杂峰的质量数。

关键词: 环糊精;衍生物 SGMD

环糊精 (Cyclodextrin, 简称 CD) 是直链淀粉在由芽孢杆菌产生的环糊精葡萄糖基转移酶作用下生成的一系列环状低聚糖的总称, 通常含有 6~12 个 D-吡喃葡萄糖单元。其中研究得较多并且具有重要实际意义的是含有 6、7、8 个葡萄糖单元的分子, 分别称为 α -、 β -和 γ -环糊精。根据 X-线晶体衍射、红外光谱和核磁共振波谱分析的结果, 确定构成环糊精分子的每个 D(+)- 吡喃葡萄糖都是椅式构象。各葡萄糖单元均以 1,4-糖苷键结合成环。由于连接葡萄糖单元的糖苷键不能自由旋转, 环糊精不是圆筒状分子而是略呈锥形的圆环。

1 实验条件

1.1 试验设备

伍丰S-HPLC; 禾信API-TOF-05-L;

安捷伦ADC采集卡 (U5309A);

前置放大器: ORTEC;

手动进样阀: Rheodyne; 7725i;

雾化气气压: 0.4Mpa; 辅助气气压: 0.1Mpa; ESI-;

辅助气和质谱口温度分别: 400°C和250°C;

1.2 样品

标品: SGMD (环糊精衍生物)

2 实验方法

通过液相色谱进样, 观察SGMD-I-000501203在紫外可见光和TOF上的检测情况;

通过液相色谱进样, 观察SGMD-I-170112-2在紫外可见光和TOF上的检测情况;

通过液相色谱进样, 观察SGMD-I-00722607在紫外可见光和TOF上的检测情况;

通过液相色谱进样, 观察SGMD-A-TM-00722606在紫外可见光和TOF上的检测情况;

通过液相色谱进样，观察SGMD-A-TM-00722604在紫外可见光和TOF上的检测情况；

通过液相色谱进样，观察SGMD-A-TM-00722605在紫外可见光和TOF上的检测情况；

3 实验记录及数据分析

SGMD-I-000501203的检测情况

3.1 测试条件

浓度：50000mg/L；进样量：20ul；流速：0.5mL/min（柱后加分流器）；流动相：A-甲醇，
B-水；波长：200nm；色谱柱：安捷伦，SB-C18（250mm*4.6mm，5um）；流动相梯度：

时间 (min)	A%	B%
0	50	50
25	90	10
50	90	10

3.2 紫外检测图谱

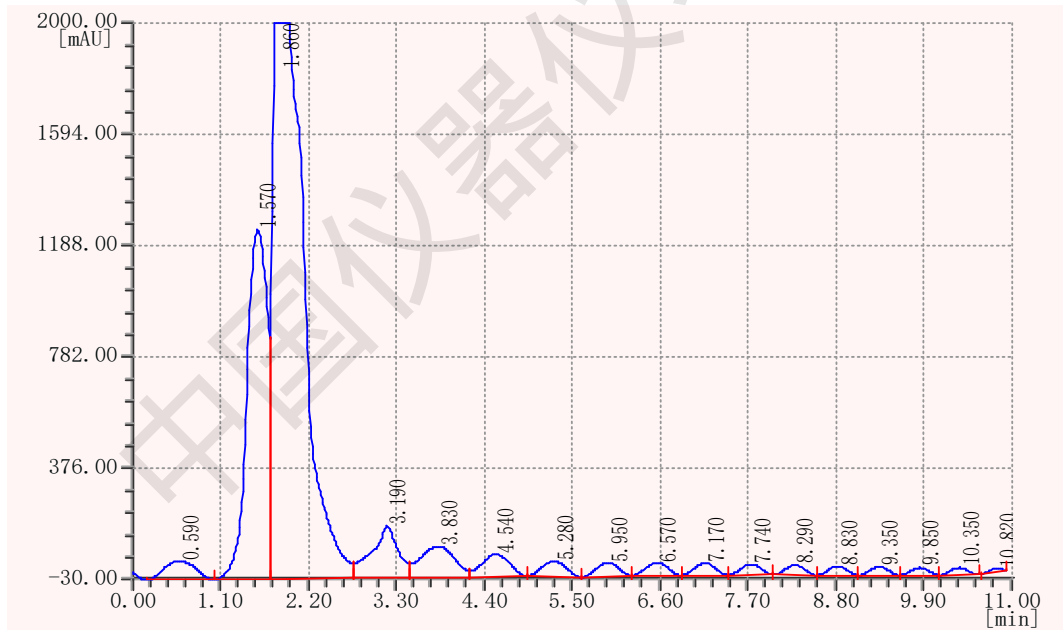


图 1 SGMD-I-000501203 在紫外可见光上的色谱图

3.3 质谱信息

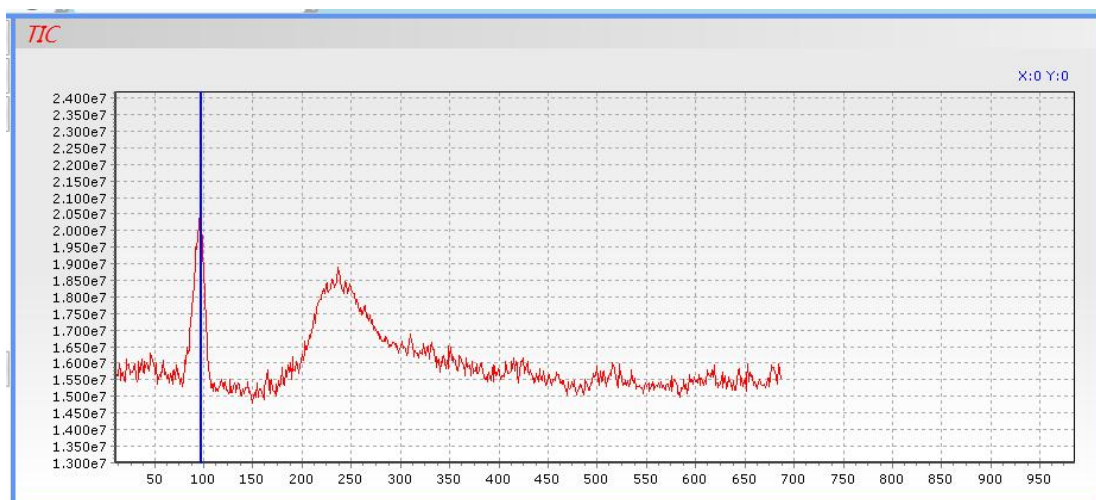


图2 SGMD-I-000501203 在 TOF 上的 TIC 图

表1 紫外可见光上特征峰对应的质谱图

色谱保留时间 (min)	质谱图时间 (s)	强度	m/z	带电荷数	结构推断及定论
0.59min	97	7.3e4	248.99	1	样品溶剂峰
		8.7e4	316.97	1	
1.84min	231	5.0e4	384.97	1	主成分峰[M-2H] ²⁻
		8.8e4	999.23	2	
		6000	1999.45	2	

SGMD-I-00722607测试情况

1) 测试条件

浓度: 50mg/mL; 进样量: 2ul; 流速: 0.27mL/min; 流动相: A-乙腈, B-0.1%甲酸水;
 波长: 200nm; 柱温: 常温; 色谱柱: Aqua@C18, 150mm*2mm, 3um; 流动相梯度:

时间 (min)	A%	B%
0	10	90
10	19	81
15	20	80
45	23	77
60	40	60
80	10	90
100	10	90

2) 紫外检测图谱

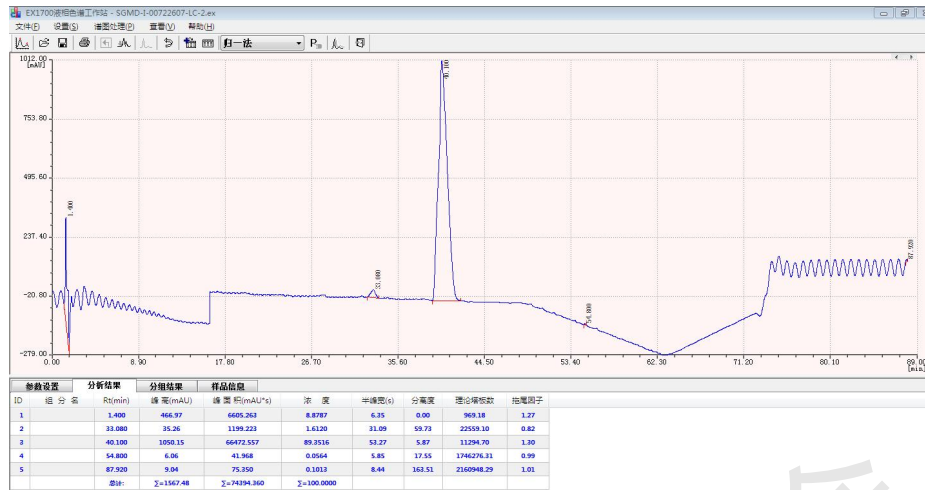


图 3 SGMD-I-00722607 在紫外可见光的色谱图

3) 质谱信息

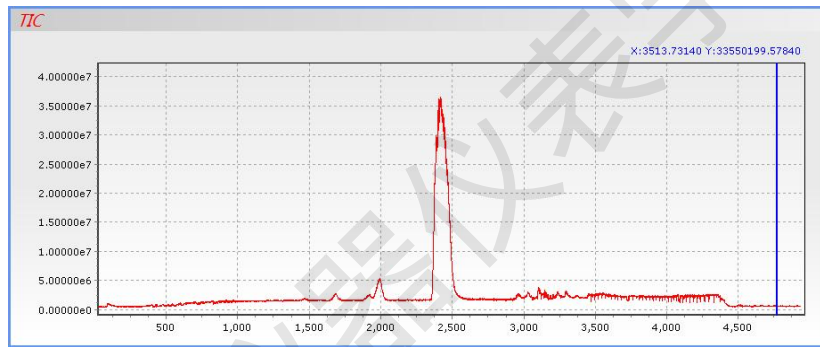


图 4 SGMD-I-00722607 在 TOF 上的 TIC 图

表 2 SGMD-I-00722607 在 TOF 上的数据分析

色谱保留 时间 (min)	质谱图 时间 (s)	强度	m/z	带电荷数	结构推断及定论
27.67	1681	4500	1007.06	2	主成分单氧化杂质
31.68	1922	5500	1007.05	2	主成分单氧化杂质
32.88	1993	6.00e4	1911.17	1	次要活性成分，七取代物
			955.07	2	
40.10	2429	1.00e6	1999.13	1	主成分峰
			999.06	2	
48.92	2964	4000	1284.69	3	未知杂质
49.72	3031	1.10e4	1015.05	2	主成分双氧化杂质

51.33	3105	1.30e4	963.06	2	七取代物增加一个[CH ₂]
51.73	3139	3400	1007.08	2	主成分单氧化杂质 一取代物
53.33	3240	3400	1337.04	3	C ₅₁ H ₈₃ NaO ₄₁ S[M-NaCO ₂ -2H] ³⁻ ，或类似物 一取代物
54.54	3298	5000	2006.06 1337.04、	2 3	C ₅₁ H ₈₃ NaO ₄₁ S[M-NaCO ₂ -2H] ³⁻ ，或类似物的同分异构体
55.74	3369	6000	1055.09	2	8支链，5个钠盐，3个羧酸

SGMD-I-170112-2测试情况

1) 测试条件

浓度：20mg/mL；进样量：5ul；流速：0.27mL/min；流动相：A-乙腈，B-0.1%甲酸水；
波长：200nm；柱温：常温；色谱柱：Aqua@C18，150mm*2mm，3um；流动相梯度：

时间 (min)	A%	B%
0	10	90
10	19	81
15	20	80
45	23	77
60	40	60
80	10	90
100	10	90

2) 紫外检测图谱

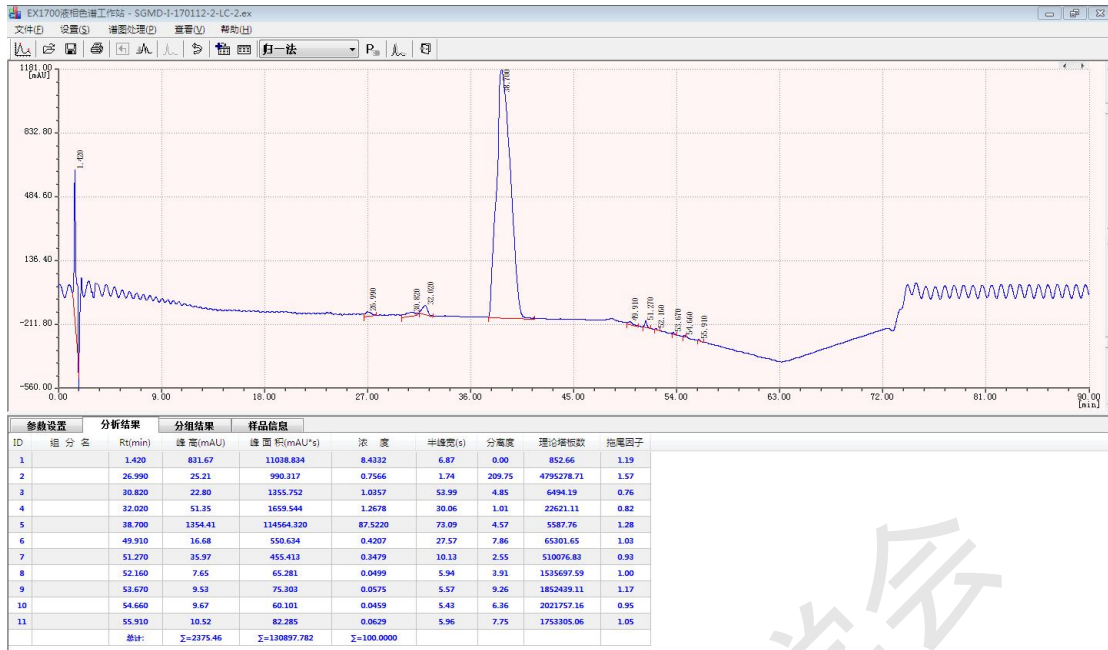


图5 SGMD-I-170112-2 在紫外可见光的色谱图

3) 质谱信息

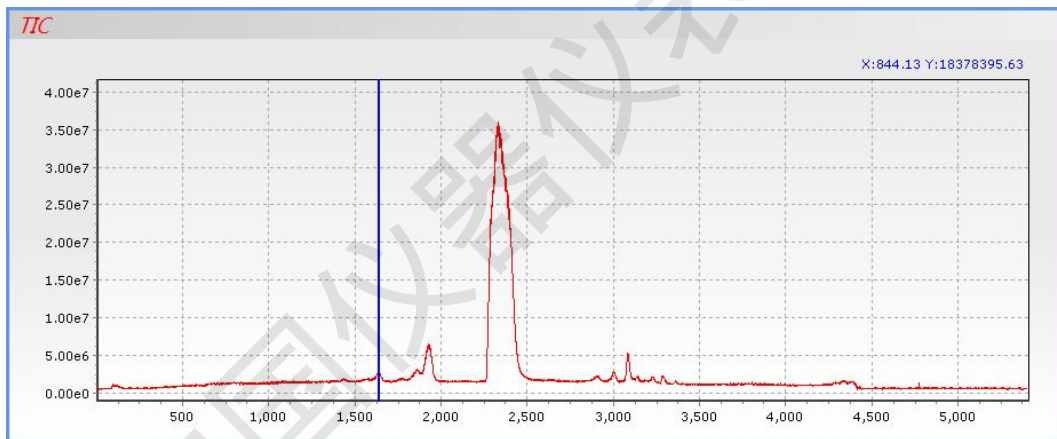


图6 SGMD-I-170112-2 在 TOF 上的 TIC 图

表3 SGMD-I-170112-2 在 TOF 上的数据分析

色谱保留时间(min)	质谱图时间(s)	强度	m/z	带电荷数	结构推断及定论
27.09	1639	8000	1007.11	2	主成分单氧化杂质
30.96	1857	7000	1007.11	2	主成分单氧化杂质同分异构体
32.12	1927	1.1e4	1911.29	1	次要活性成分，七取代物
		1.0e5	955.13	2	C ₆₉ H ₁₀₈ O ₄₇ S ₇

38.70	2330	2.7e5	1999.29	1	主成分峰
		1.1e6	999.12	2	
47.99	2910	1350	1927.63	2	次要活性成分单氧化杂质，七 取代物 C ₆₉ H ₁₀₈ O ₄₈ S ₇ 【2M-2H】 ²⁻ ; 【2M-3H】 ³⁻
		3500	1284.44	3	
49.92	3007	1.1e4	1015.61	2	主成分双氧化杂质
51.08	3085	2700	1927.22	1	次要活性成分单氧化杂质，七 取代物 C ₆₉ H ₁₀₈ O ₄₈ S ₇
		6.00e4	963.12	2	
52.25	3140	3000	1307.78	3	未知杂质 一取代物
53.41	3227	1400	2006.65	2	C ₅₁ H ₈₃ NaO ₄₁ S[M-NaCO ₂ -2H] ³⁻ ，或类似物 一取代物
		4000	1337.45	3	
54.57	3288	1300	2006.15	2	C ₅₁ H ₈₃ NaO ₄₁ S[M-NaCO ₂ -2H] ³⁻ ，或类似物
		4800	1337.12	3	
55.73	3360	4500	1056.14	2	8支链，5个钠盐，3个羧酸

SGMD-A-TM-00722606测试情况

1) 测试条件

浓度：20mg/mL；进样量：5ul；流速：0.27mL/min；流动相：A-乙腈，B-0.1%甲酸水；
波长：200nm；柱温：常温；色谱柱：Aqua@C18，150mm*2mm，3um；流动相梯度：

时间 (min)	A%	B%
0	10	90
10	19	81
15	20	80
45	23	77
60	40	60
80	10	90
100	10	90

2) 紫外检测图谱

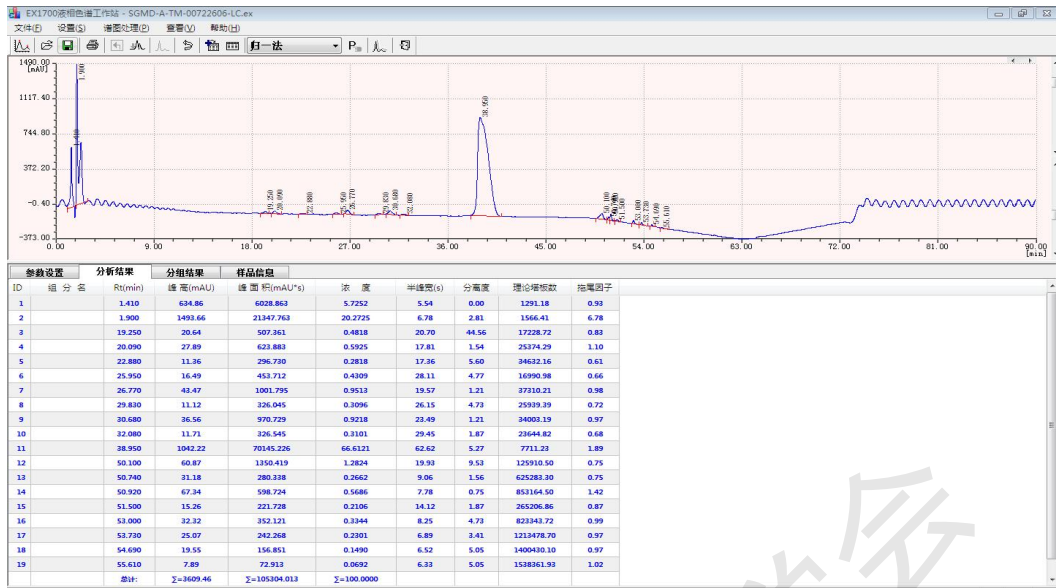


图 6 SGMD-A-TM-00722606 在紫外可见光的色谱图

3) 质谱信息

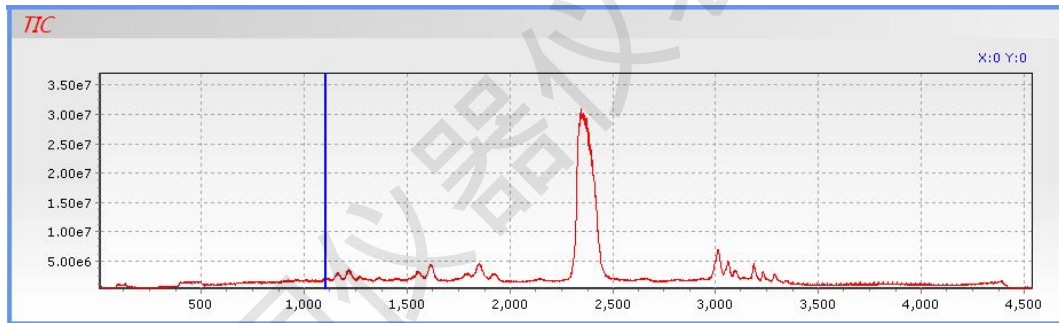


图 7 SGMD-A-TM-00722606 在 TOF 上的 TIC 图

表 4 SGMD-A-TM-00722606 在 TOF 上的数据分析

色谱保留时 间 (min)	质谱图时 间 (s)	强度	m/z	带电荷数	结构推断及定论
18.22	1108	3200	967.11	2	[主成分 M-3Na+H] ²⁻
19.20	1167	6700	967.11	2	[主成分 M-3Na+H] ²⁻ 同分异构 体
20.03	1217	9400	967.12	2	[主成分 M-3Na+H] ²⁻ 同分异构 体
20.95	1272	5200	959.11	2	未知成分

24.05	1458	2500	987.13	2	α -环糊精[2M-2H] ²⁻ 硫化杂质
25.63	1553	7000	971.14	2	α -环糊精[2M-2H] ²⁻
		8900	1007.15	2	主成分单氧化杂质带 2 电荷
		1.5e4	971.14	2	α -环糊精[2M-2H] ²⁻
26.75	1620	1.9 e4	1007.14	2	主成分单氧化杂质带 2 电荷
		2200	2015.26	1	主成分单氧化杂质带 1 电荷
		1.5e4	971.14	2	α -环糊精[2M-2H] ²⁻
30.52	1846	1.7e4	1007.15	2	主成分单氧化杂质带 2 电荷
		2000	2015.25	1	主成分单氧化杂质带 1 电荷
31.82	1924	1.4e4	955.15	2	[主成分 M-NaCO ₂ -Na+2H] ²⁻
		8e5	999.14	2	
38.95	2352				主成分峰
		2.6e5	1999.29	1	
49.92	3010	8.6e4	1015.14	2	
		5000	2031.24	1	双氧化杂质
50.78	3062	1.4e4	1295.46	2	γ -环糊精[2M-2H] ²⁻
		8300	1943.19	2	12 个葡萄糖单元 (C ₆ H ₁₀ O ₅)
					组成的环糊精[2M-2H] ²⁻
51.48	3104	8100	970.14	2	α -环糊精[2M-2H] ²⁻
52.92	3190	2.5e4	926.13	2	
		2000	1853.22	1	C ₆₃ H ₉₅ Na ₅ O ₄₅ S ₅ 单氧化杂质峰
53.67	3235	3900	993.12	2	
		3250	1314.13	3	α -环糊精[2M-4H+2Na] ²⁻
		1800	1972.20	2	
54.57	3289				一取代物
		5700	1336.80	3	
		2700	2005.20	2	C ₅₁ H ₈₃ NaO ₄₁ S[M-NaCO ₂ -2H] ³⁻ , 或类似物

SGMD-A-TM-00722604测试情况

1) 测试条件

浓度: 20mg/mL; 进样量: 2ul; 流速: 0.27mL/min; 流动相: A-乙腈, B-0.1%甲酸水;

波长：200nm；柱温：常温；色谱柱：Aqua@C18，150mm*2mm，3um；流动相梯度：

时间 (min)	A%	B%
0	10	90
10	19	81
15	20	80
45	23	77
60	40	60
80	10	90
100	10	90

2) 紫外检测图谱

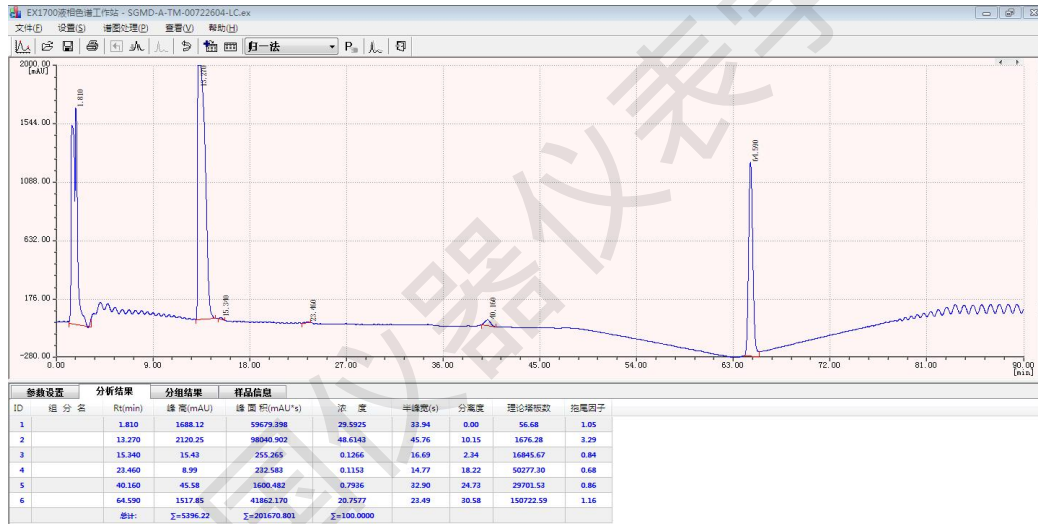


图8 SGMD-A-TM-00722604 在紫外可见光的色谱图

3) 质谱信息

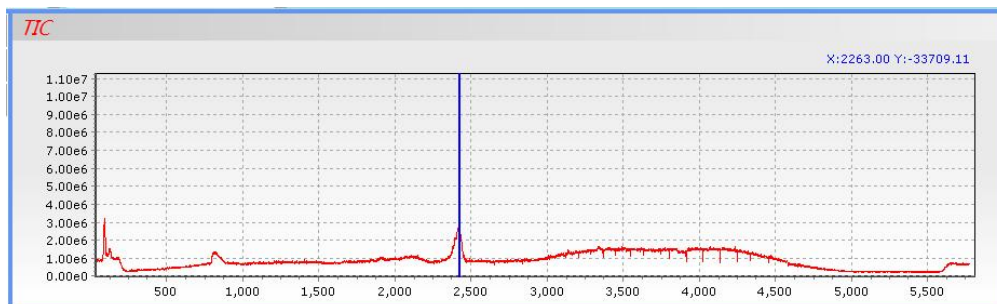


图9 SGMD-A-TM-00722604 在TOF上的TIC图

表 5 SGMD- A-TM-00722604 在 TOF 上的数据分析

色谱保留时间 (min)	质谱图时 间 (s)	强度	m/z	带电荷数	结构推断及定论
13.3	816	5800	152.98	1	信息不全, 无法推断
		4500	276.95	1	
40.2	2426	2.8e4	999.08	2	主成分峰
			1999.14	1	

SGMD-A-TM-00722605测试情况

1) 测试条件

浓度: 20mg/mL; 进样量: 2ul; 流速: 0.27mL/min; 流动相: A-乙腈, B-0.1%甲酸水;
 波长: 200nm; 柱温: 常温; 色谱柱: Aqua@C18, 150mm*2mm, 3um; 流动相梯度:

时间 (min)	A%	B%
0	10	90
10	19	81
15	20	80
45	23	77
60	40	60
80	10	90
100	10	90

2) 紫外检测图谱

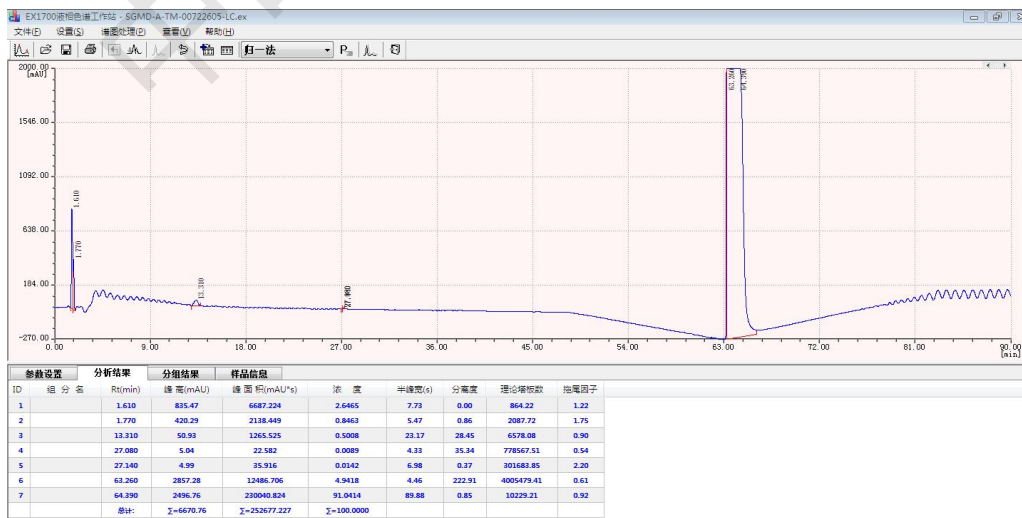


图 10 SGMD-A-TM-00722605 在紫外可见光的色谱图

3) 质谱信息

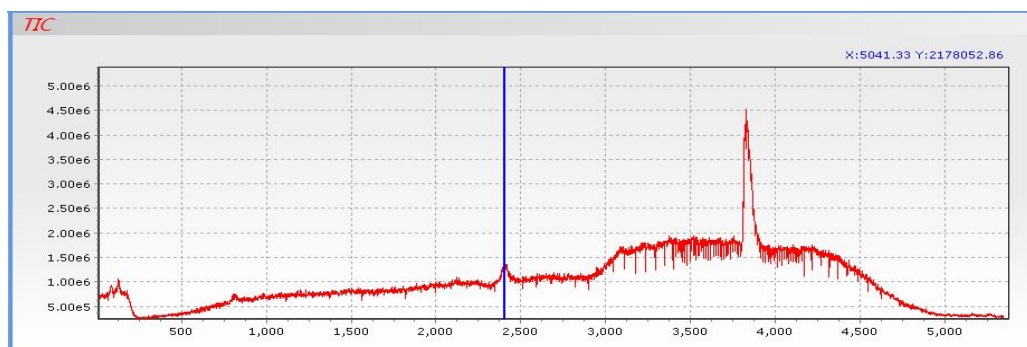


图 11 SGMD-A-TM-00722605 在 TOF 上的 TIC 图

表 6 SGMD-A-TM-00722605 在 TOF 上的数据分析

色谱保留时间 (min)	质谱图时间 (s)	强度	m/z	带电荷数	结构推断及定论
40.1	2406	3200	999.13	2	主成分峰
64	3840	4.3e4	406.94	1	主成分环状结构断开成链状物
			999.63	2	

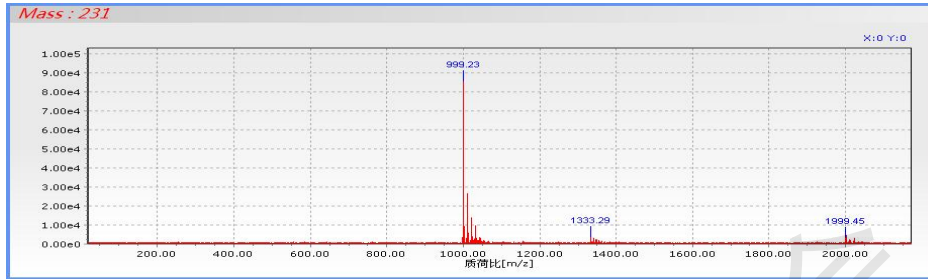
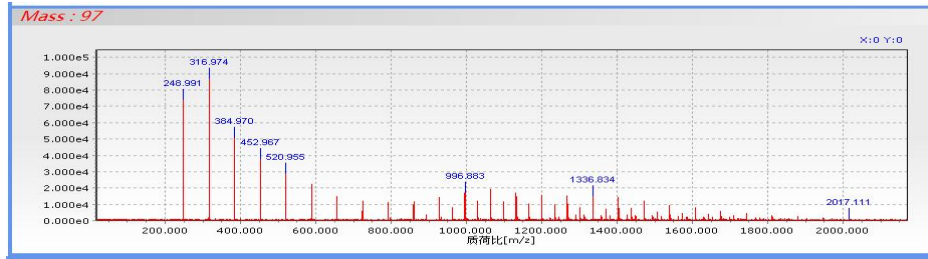
4 结论

SGMD-I-000501203因测试条件与下面其他样品不同,主成分峰m/z1999出来的保留时间与其他样品也不同。

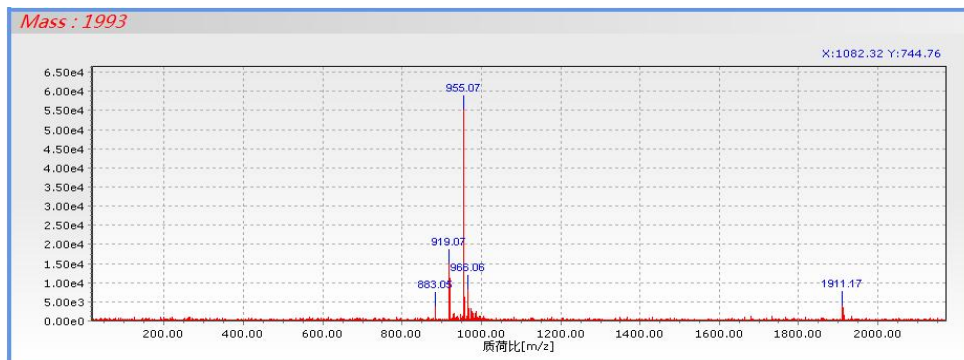
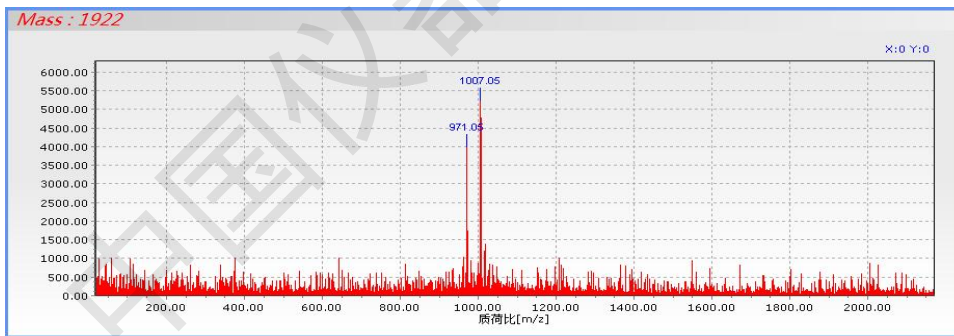
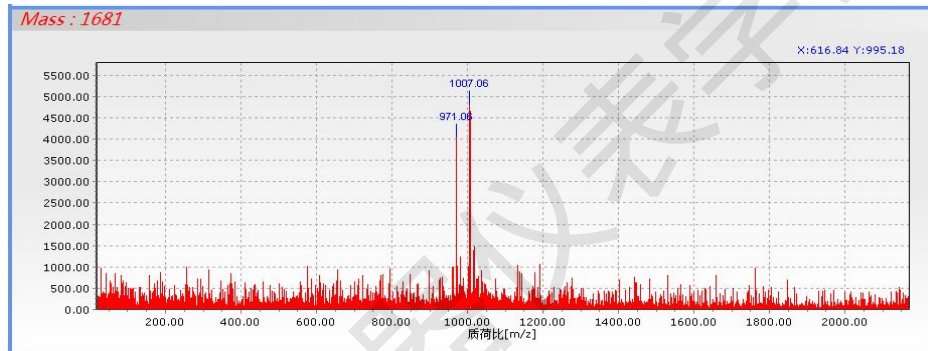
SGMD-I-00722607、SGMD-I-170112-2、SGMD-A-TM-00722606、SGMD-A-TM-00722604、SGMD-A-TM-00722605在测试条件总体一致的情况下,主成分峰m/z1999或999在紫外可见光下出峰时间在~39min,在TOF上出峰时间在~2400s;因样品浓度和进样量不同,主成分峰的峰面积也有较大差异;同条件下,主成分峰在TOF上灵敏度优于紫外可见光检测器;因各样品前处理方法不同,环糊精衍生化出来的其他非成分峰也不同,见质谱信息中结构推断及定论,另外杂质峰也不一样。

5 附录

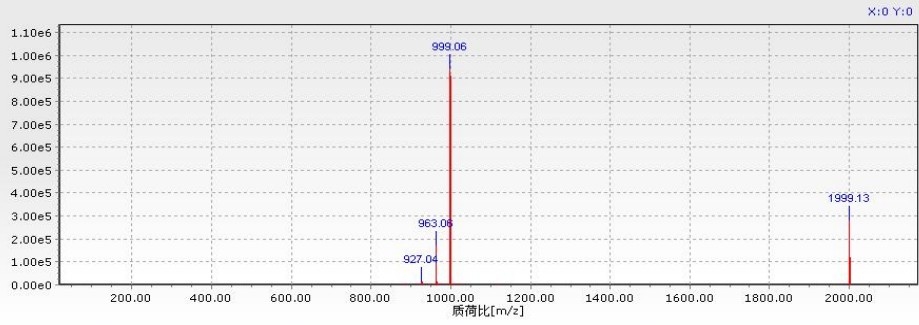
1) SGMD-I-000501203的质谱峰



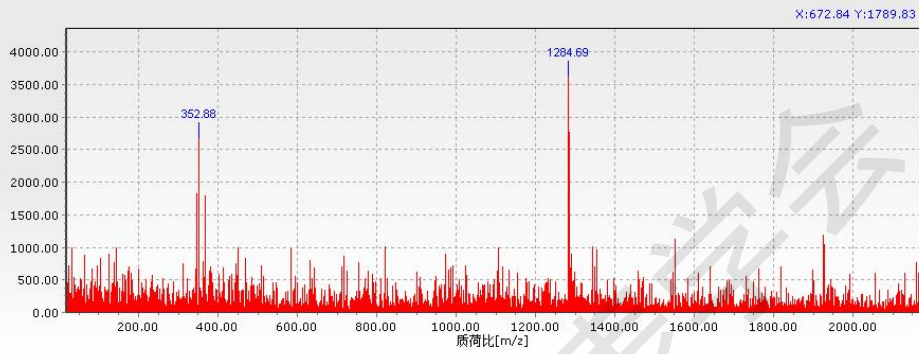
2) SGMD-I-00722607的质谱图



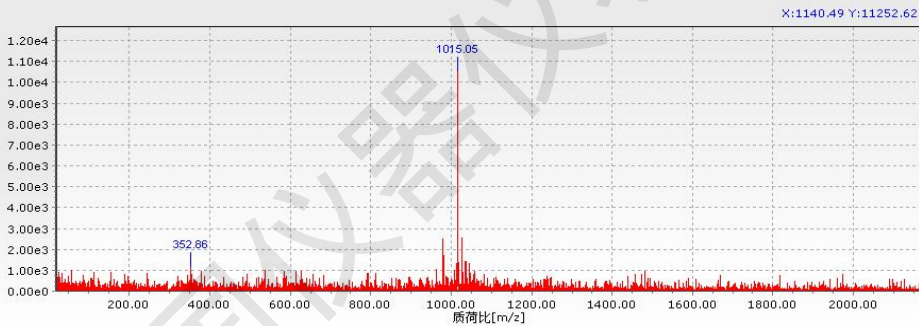
Mass : 2429



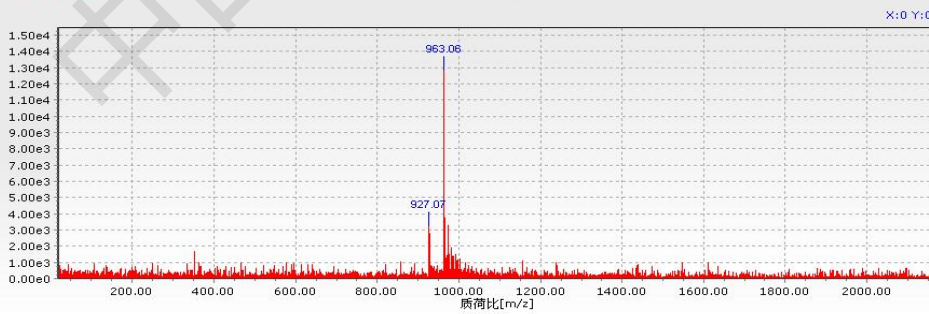
Mass : 2964

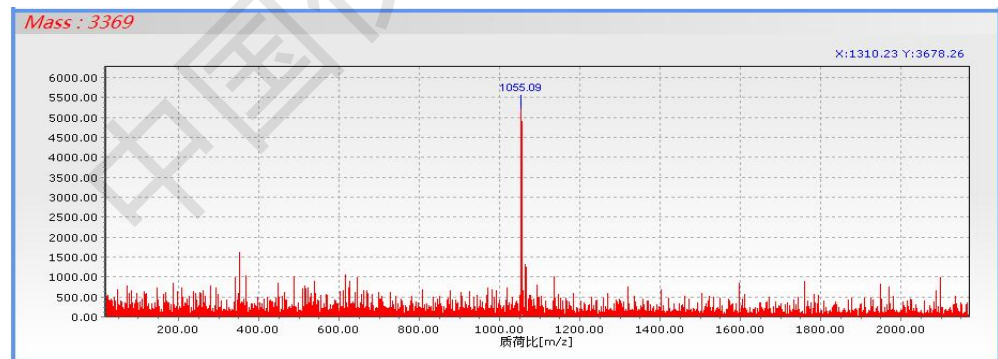
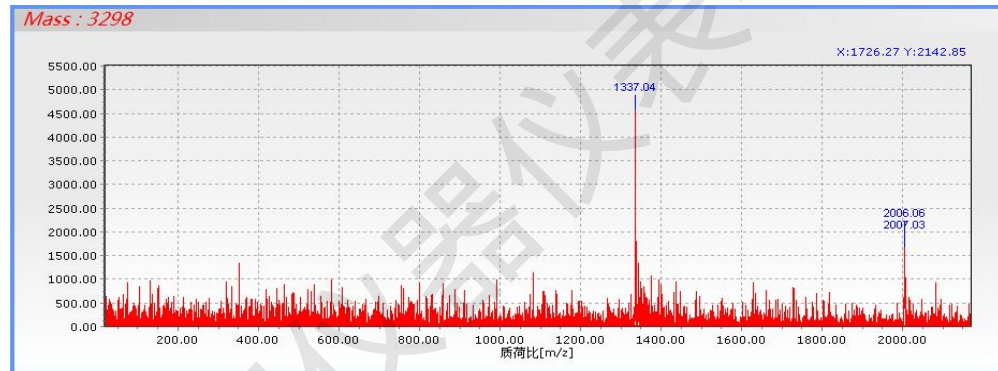
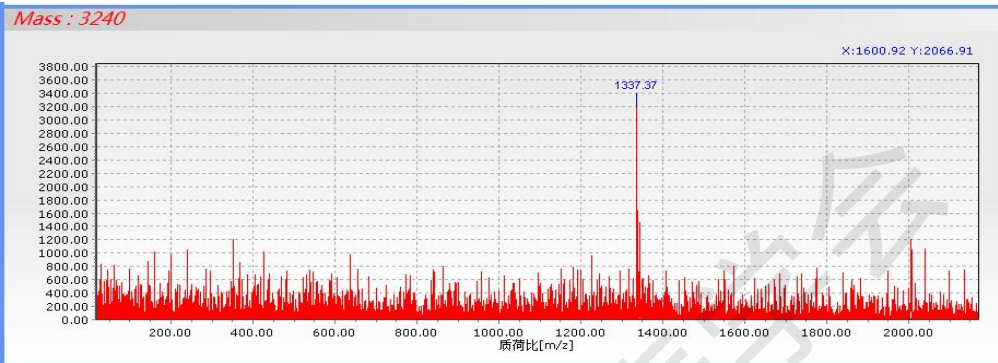
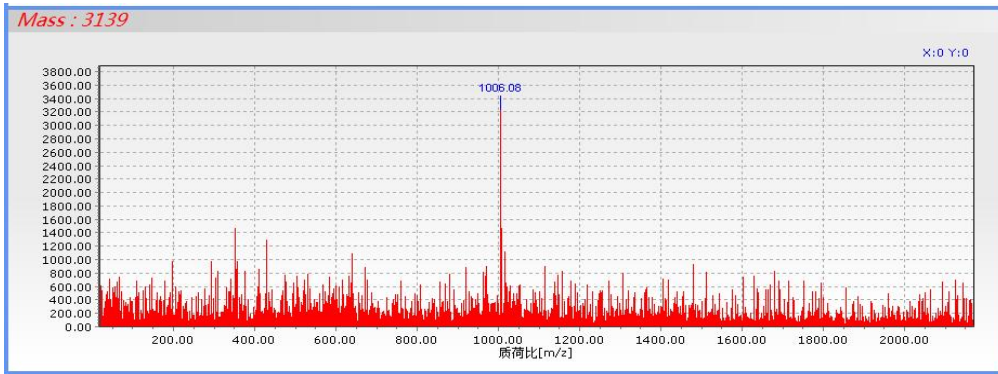


Mass : 3031



Mass : 3105

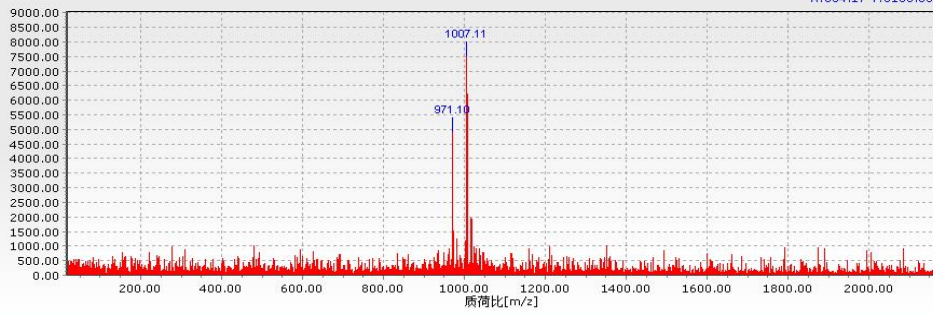




3) SGMD-I-170112-2的质谱图

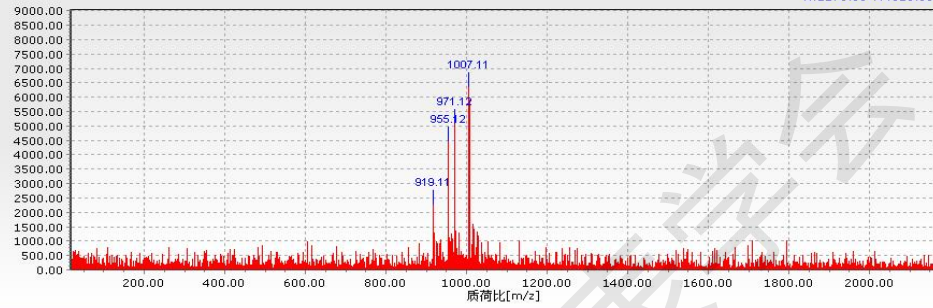
Mass : 1639

X:654.17 Y:8166.03



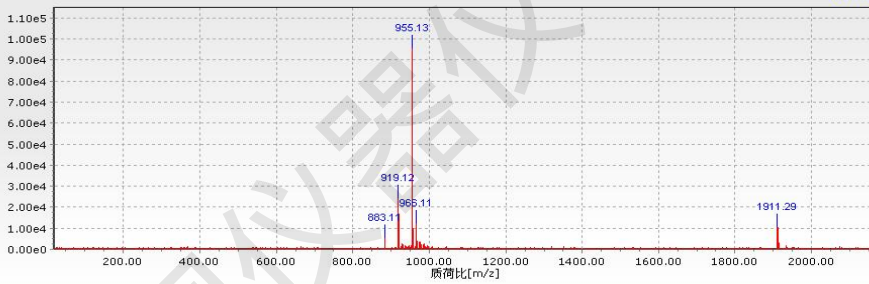
Mass : 1857

X:1176.88 Y:4825.38



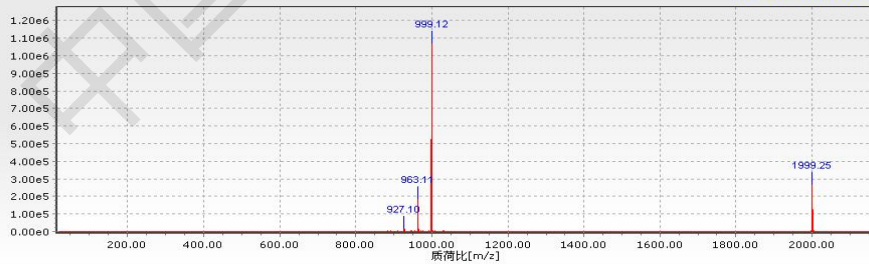
Mass : 1927

X:0 Y:0



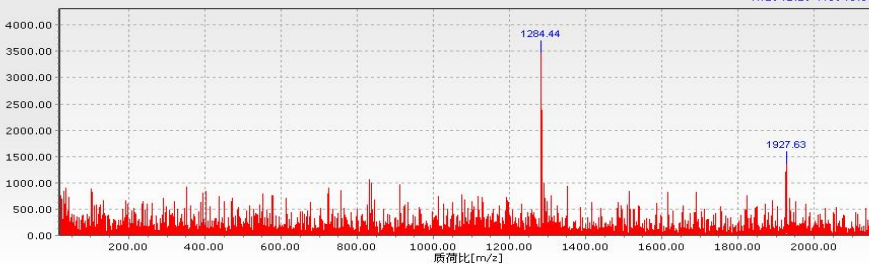
Mass : 2330

X:1899.31 Y:322092.71



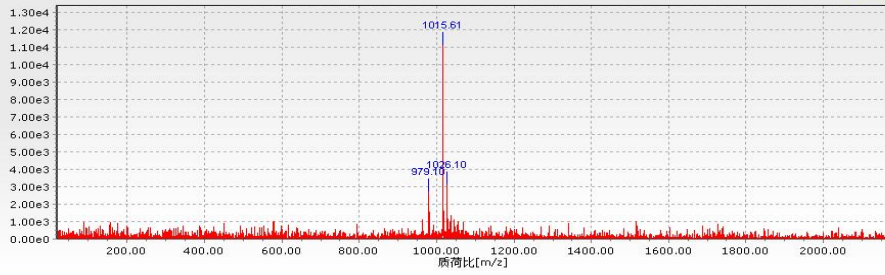
Mass : 2910

X:1942.29 Y:3940.05



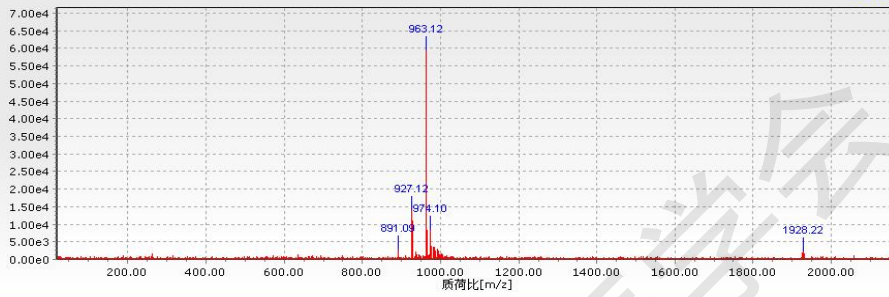
Mass : 3007

X:0 Y:0



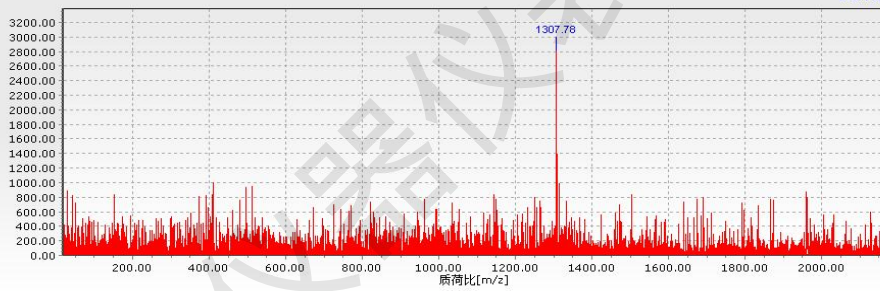
Mass : 3085

X:0 Y:0



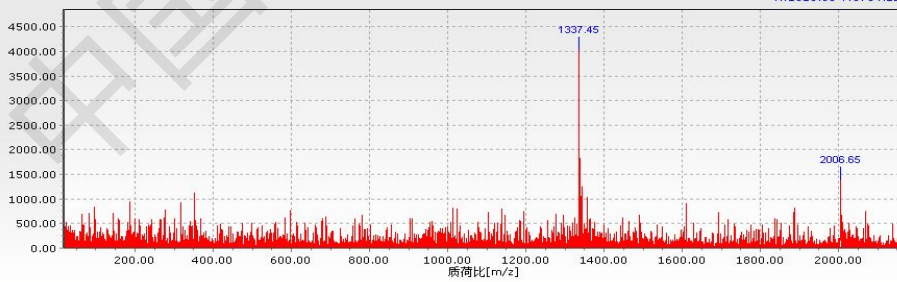
Mass : 3140

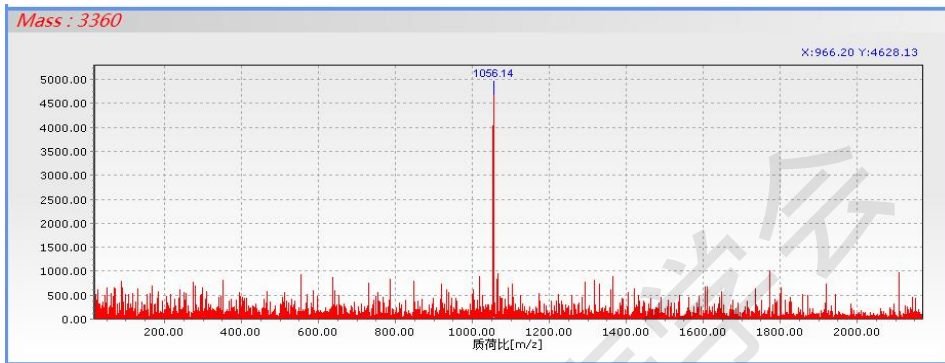
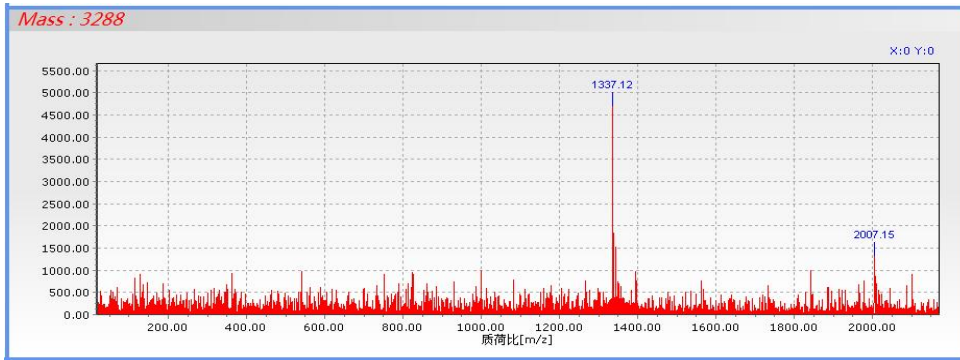
X:0 Y:0



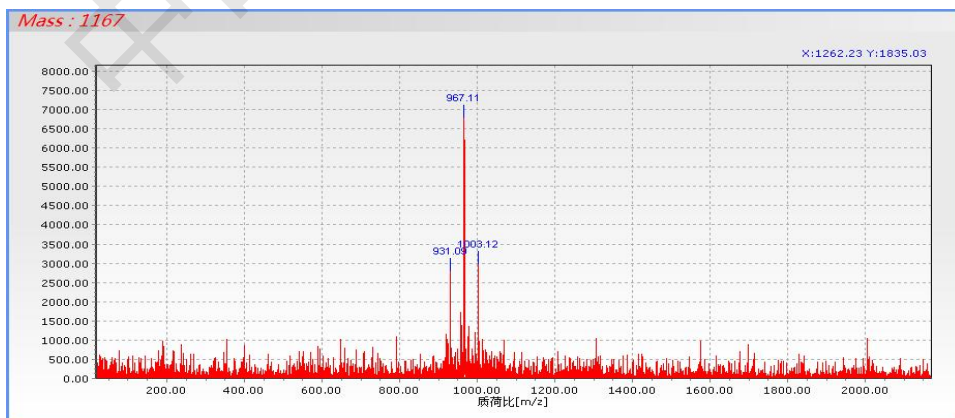
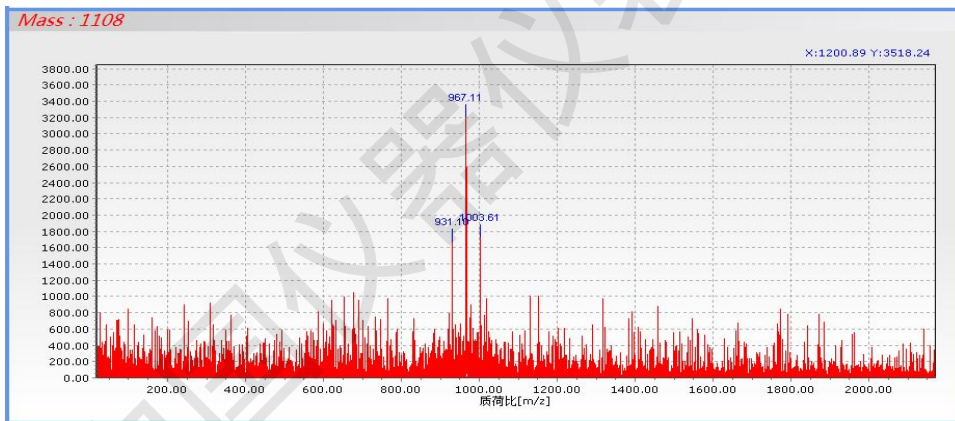
Mass : 3227

X:1315.56 Y:3764.12



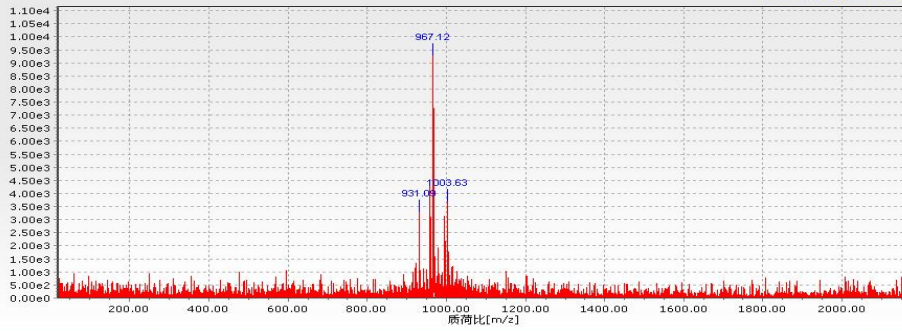


4) SGMD-A-TM-00722606的质谱图



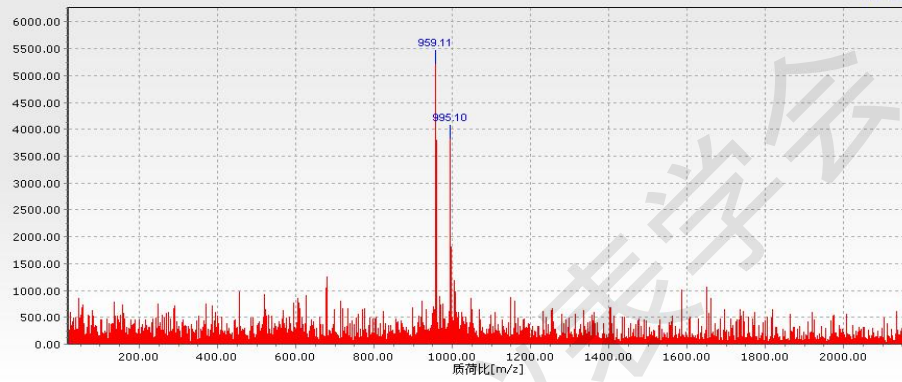
Mass : 1217

X:1092.90 Y:10851.15



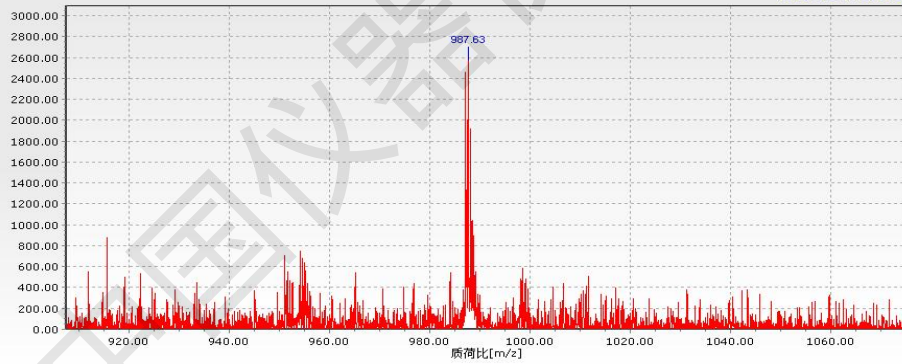
Mass : 1272

X:0 Y:0



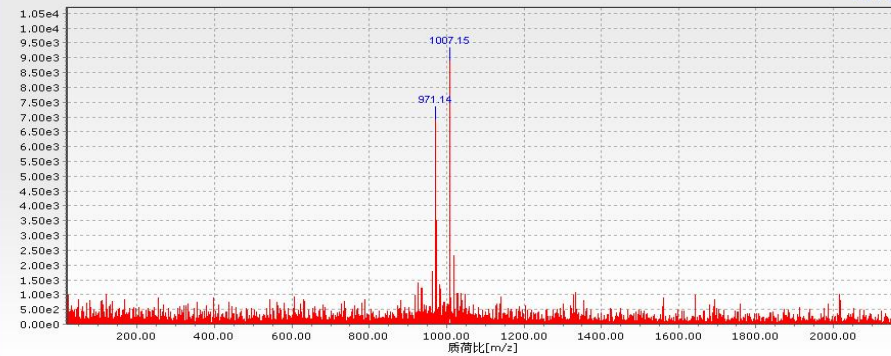
Mass : 1458

X:1002.26 Y:3069.05

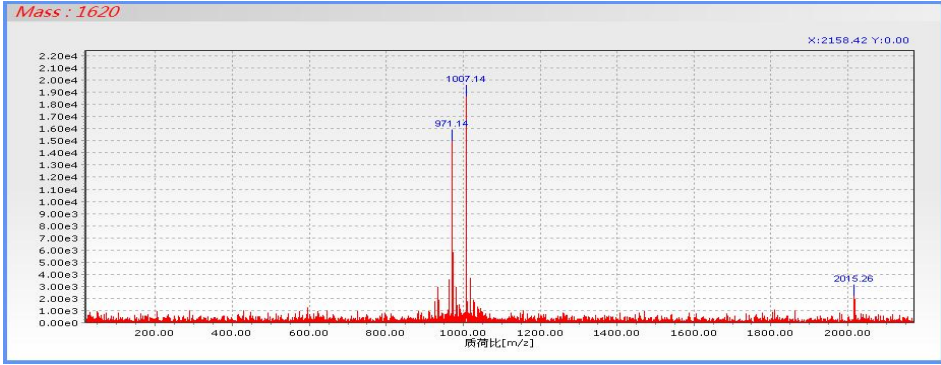


Mass : 1553

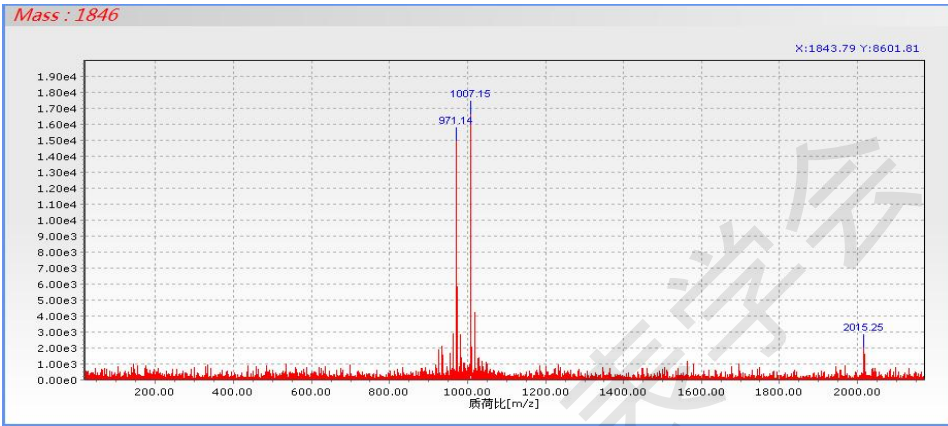
X:0 Y:0



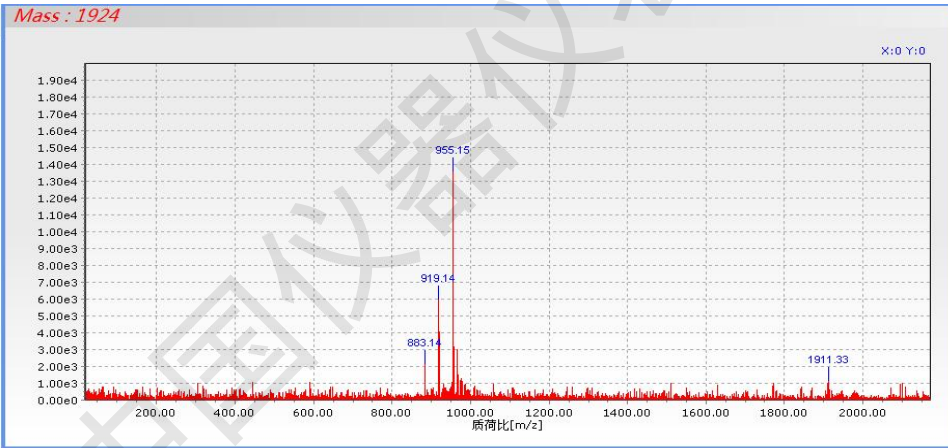
Mass : 1620



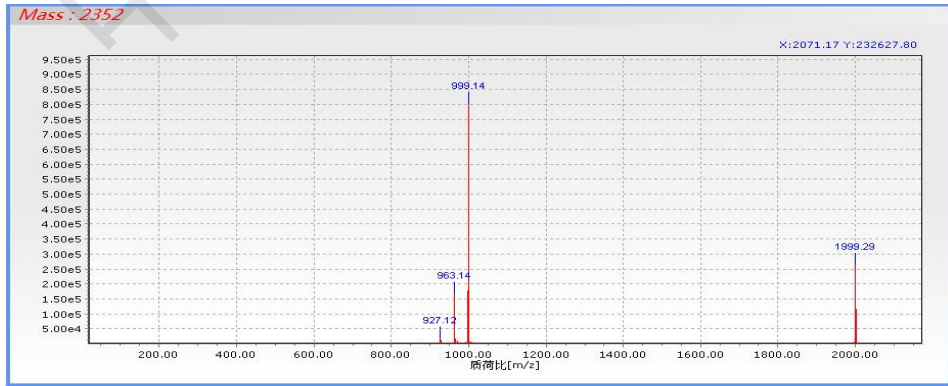
Mass : 1846

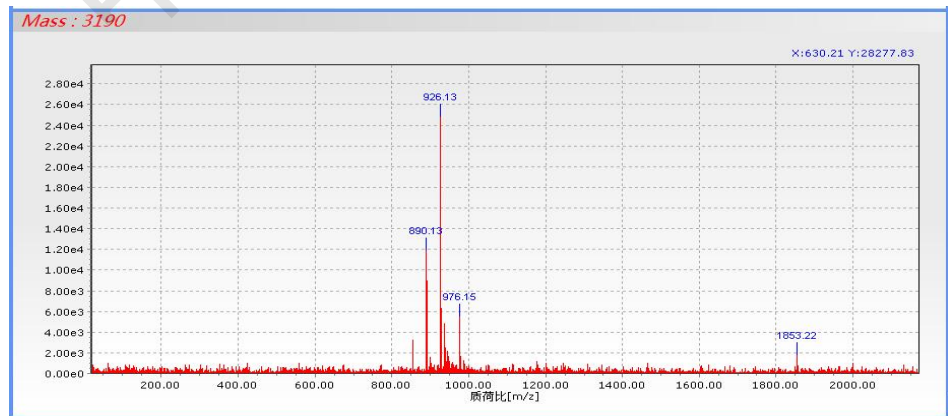
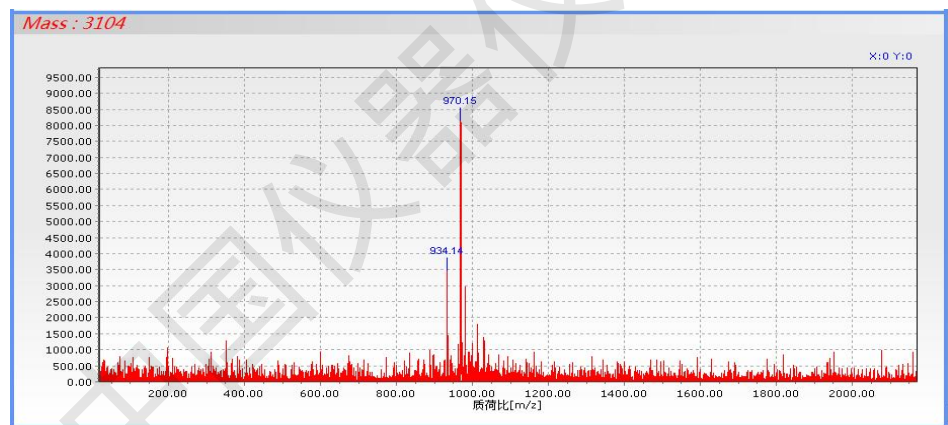
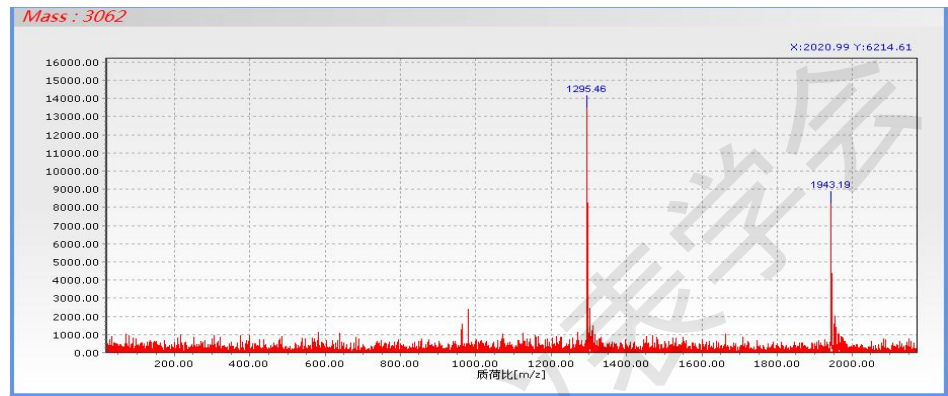
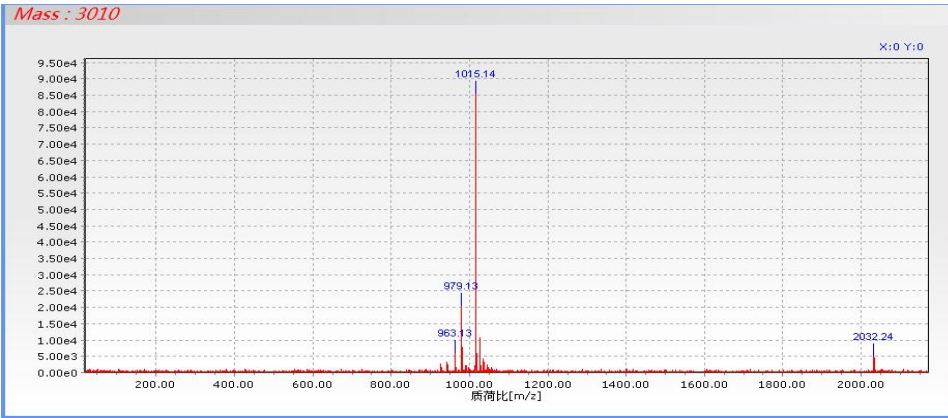


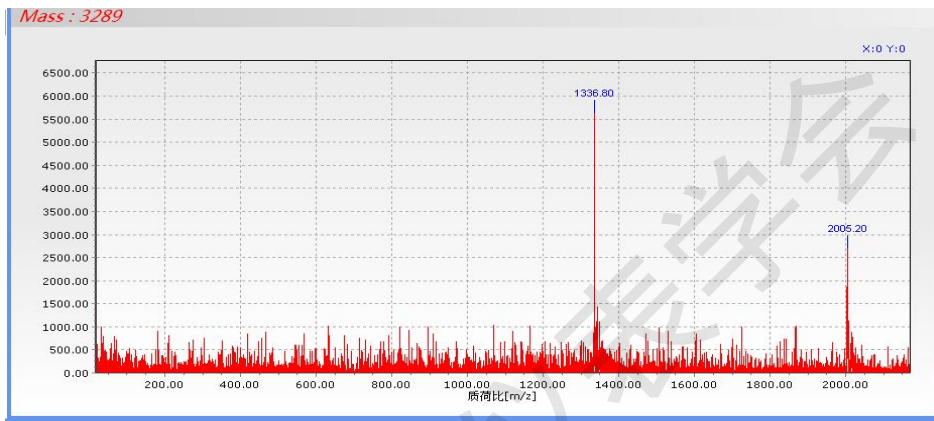
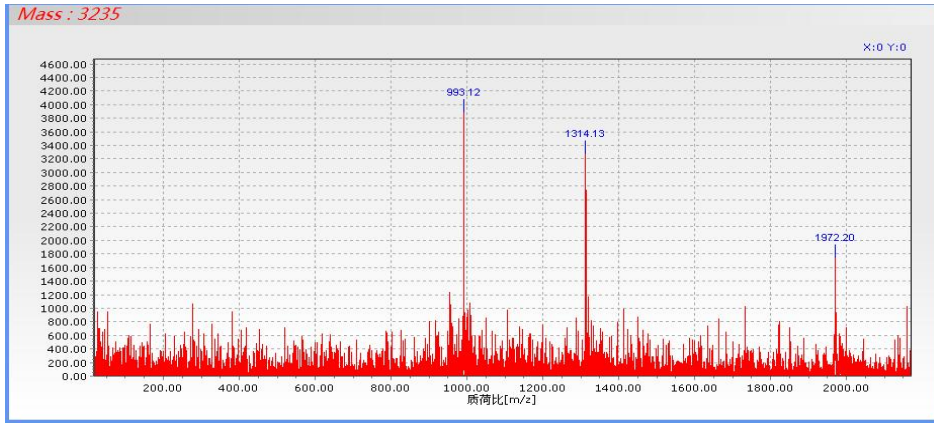
Mass : 1924



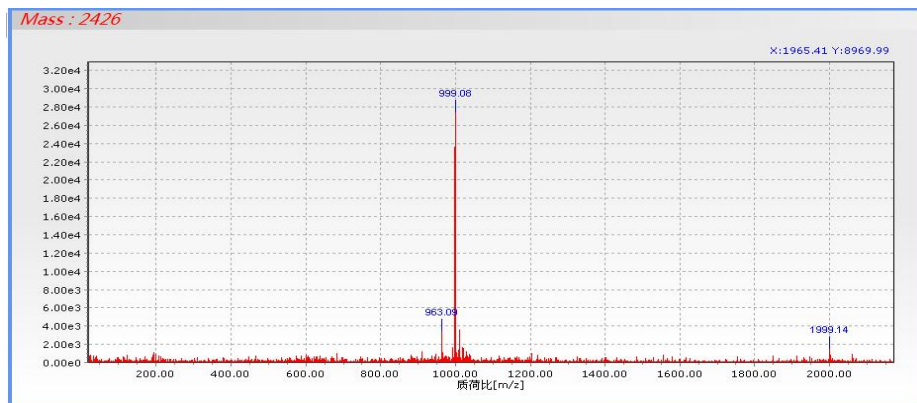
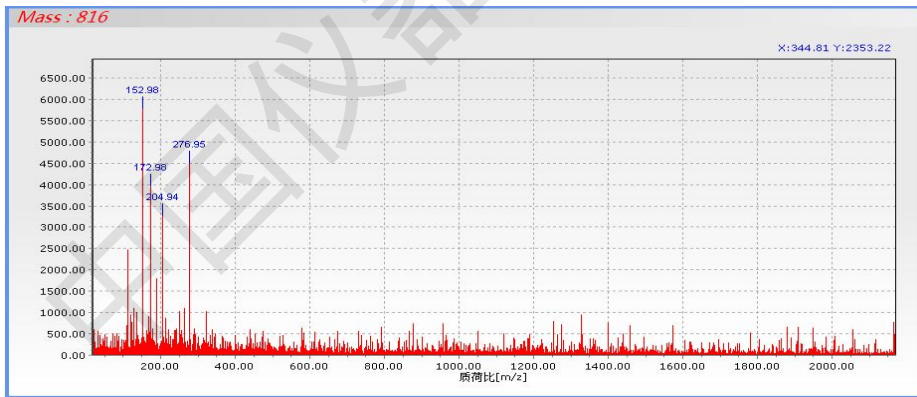
Mass : 2352







5) SGMD-A-TM-00722604的质谱图



6) SGMD-A-TM-00722605的质谱图

