

# 无需母离子选择可获得二级质谱的 RRLC-MS/MS 方法研究

刘 影<sup>1</sup>, 贺玖明<sup>1</sup>, 陈艳华<sup>1</sup>, 张瑞萍<sup>1</sup>, 阿吉艾克拜尔·艾萨<sup>2</sup>,

再帕尔·阿不力孜<sup>1</sup>

(1. 中国医学科学院, 北京协和医学院药物研究所, 北京 100050; 2. 中国科学院新疆理化技术研究所, 新疆 乌鲁木齐 830011)

## A Novel RRLC-MS/MS Method to Generate MS/MS Spectra without the Parent Ions Selecting

LIU Ying<sup>1</sup>, HE Jiu-ming<sup>1</sup>, CHEN Yan-hua<sup>1</sup>, ZHANG Rui-ping<sup>1</sup>,  
HAJI AKBER Aisa<sup>2</sup>, ZEPER Abliz<sup>1</sup>

(1. *Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China*; 2. *Xinjiang Technological Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China*)

**Abstract:** A novel RRLC-MS/MS method to generate MS/MS spectra without the parent ions selecting was developed for the analysis of complex active extract form herbal medicine. This method could provide the molecular ion and fragment ion information simultaneously in a single analytical run, and it was carried out by low and high collision energy (CE) Enhanced MS scan (EMS) function of QTRAP™ LC-MS/MS instrument. The results show that this method is simple and rapid.

**Keyword:** rapid resolution liquid chromatography (RRLC); QTRAP mass spectrometer; enhanced MS scan

中图分类号: O657.63      文献标识码: A      文章编号: 1004-2997 (2007) 增刊-06-02

中草药粗提物成分复杂、含量差异大, 对其进行定性、定量分析具有较大难度。新型分离分析技术的发展为中草药粗提物的分析提供了新方法与新思路。高分离度快速液相色谱系统 (RRLC) 充分发挥小颗粒技术的性能优势, 明显改善液相色谱的分离度和灵敏度、缩短分离时间、节省溶剂<sup>[1]</sup>。RRLC技术与质谱联用时, 能改善及消除样品与杂质或者样品之间的离子化竞争及抑制、提高离子化效率, 从而改善质谱的检测灵敏度。QTRAP™型四极杆-线性离子阱串联质谱仪, 不仅具有传统四极杆的扫描功能, 其Q3的线性离子阱还具有特有的增强型扫描功能<sup>[2]</sup>。由于RRLC测得的色谱峰窄, 不适合在一个质谱分析周期内同时设计多个实验, 因此不利于更多质谱信息的获取, 并延长了分析时间。本研究将RRLC与QTRAP型MS/MS仪联用, 采用增强型质谱全扫描 (EMS) 功能, 通过设定高、低不同的碰撞能量值, 开展了草花植物活性提取物中相关成分的分析, 建立了无需选择母离子可获得二级质谱的RRLC-MS/MS新方法, 从而简便、快速地获得了相关成分的分子离子和碎片离子信息。

**作者简介:** 刘 影 (1977~), 女 (汉族), 黑龙江人, 博士研究生, 药物分析专业。E-mail: liuying.307@163.com

**通讯作者:** 再帕尔·阿不力孜 (1961~), 男 (维吾尔族), 新疆人, 研究员。E-mail: zeper@imm.ac.cn

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器

Agilent 1200 高分离度快速液相色谱系统 (RRLC): 美国安捷伦公司产品, 配有在线脱气机、高压二元泵、柱温箱及 DAD 检测器; QTRAP™ 型四极杆-线性离子阱串联质谱仪: 美国 ABI 公司产品, 配有电喷雾离子源 (ESI) 及 Analyst 1.4.2 数据处理系统。

### 1.2 主要材料与试剂

编号为 AB-8-2 的草花植物活性提取物由中国科学院新疆理化技术研究所阿吉艾克拜尔研究员提供。乙腈、甲酸: 色谱纯, 德国 Merck 公司产品; 水为纯净水。

### 1.3 测试条件

**1.3.1 色谱条件** 色谱柱为 Zorbax SB C<sub>18</sub> (50×4.6 mm, 1.8 μm), 柱温 25 °C; 流动相: A 0.1%甲酸水溶液; B 含 0.1%甲酸乙腈。梯度洗脱: B 的比例在 0~5.2 min 从 10%增至 20%, 5.2~8.5 min 达到 40%, 8.5~10.5 min 达到 70%, 10.5~11.5 min 恢复至 10%。流速: 1 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量 10 μL。

**1.3.2 质谱条件** 采用负离子检测的 EMS 扫描方式; ESI 离子源; 喷雾电压: -4.5 kV; DP 电压: -60 V; EP 电压: -9 V; 源温度: 350 °C; CE1 (EMS1): -5 V; CE2 (EMS2): -55 V。

## 2 结果与讨论

### 2.1 AB-8-2 的 RRLC 谱分析

本样品在使用原 Agilent 1100 型 HPLC 分析时, 所需时间为 40 min; 而本实验获得 RRLC 谱的分析时间为 14 min, 其分析时间明显缩短、分离度提高, 而且测得的色谱峰也明显增多, 因此有利于获得更丰富的成分信息。

### 2.2 AB-8-2 的 RRLC-MS/MS 谱分析

在一个质谱数据采集周期内设计两个 EMS 扫描, 分别设定二种高低碰撞能量值 (CE) 进行测定, 发现低 CE 值时主要获得分子离子峰, 高 CE 值可获得碎片离子峰, 其结果分别示于图 1 和图 2。

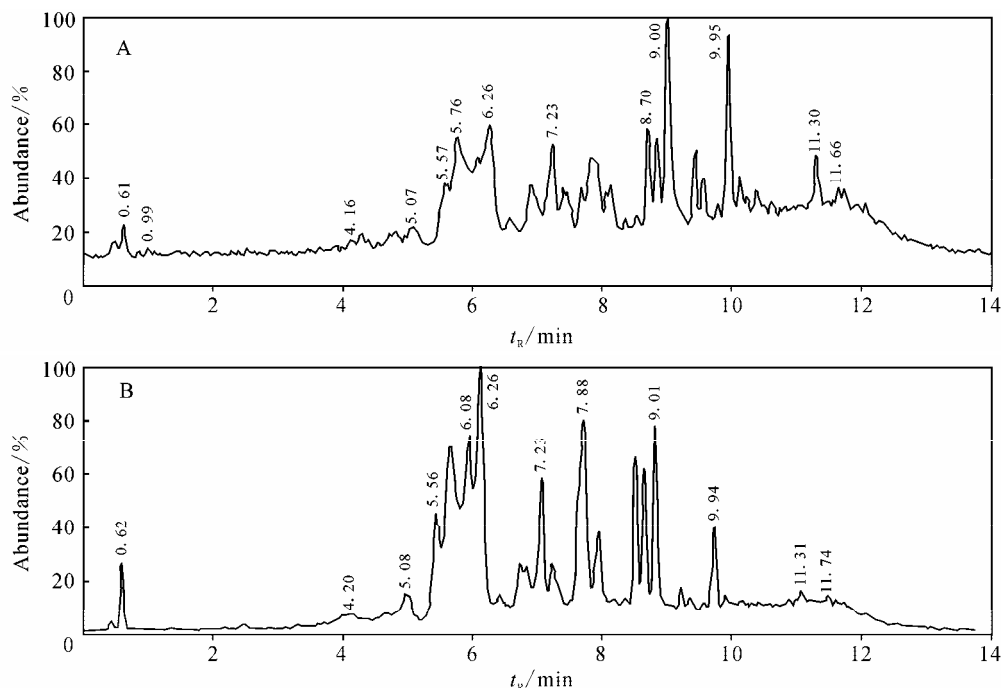


图1 AB-8-2的 RRLC-MS 总离子流色谱图 A: CE=-5 V; B: CE=-55 V

Fig.1 RRLC-MS TIC chromatogram of AB-8-2 A: CE=-5 V; B: CE=-55 V

(下转第 10 页)

## 参考文献：

- [1] HONDA F, LANCASTER G M, FUKUDA Y, et al. SIMS study of the mechanism of cluster formation during ion bombardment of alkali halides[J]. J Chem Phys, 1978, 69: 4 931.
- [2] HAO C, MARCH R E, CROLEY T R, et al. Electrospray ionization tandem mass spectrometric study of salt cluster ions. Part 1: Investigations of alkali metal chloride and sodium salt cluster ions[J]. J Mass Spectrom, 2001, 36: 79.
- [3] 石磊, 刘淑莹, 刘志强, 等. 新型簇合物离子  $K^+(KNO_3)_n$  和  $NO_3^-(KNO_3)_m$ [J]. 高等学校化学学报, 2001, 22: 916.

(上接第 7 页)

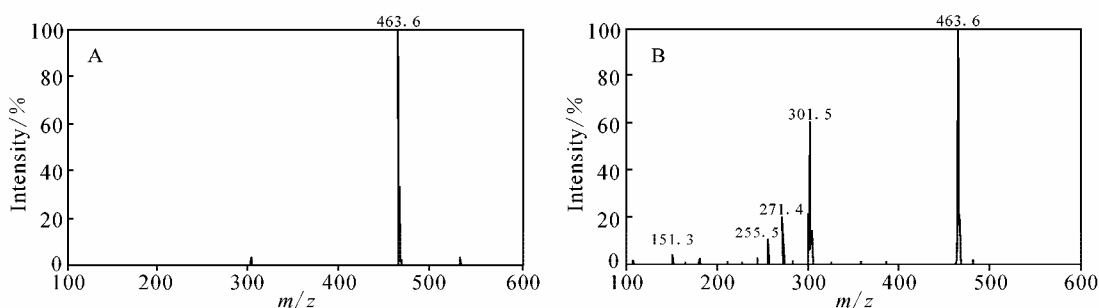


图 2 保留时间为 6.25 min 色谱峰的正离子检测模式 EMS 谱

A: CE = -5 V; B: CE = -55 V

Fig. 2 (—) EMS spectrum of compound at the retention time of 6.26 min

A: CE = -5 V; B: CE = -55 V

以保留时间为 6.26 min 的色谱峰为例, EMS1 的 CE 值为 -5V 时, 只获得  $[M-H]^-$  离子峰 ( $m/z$  463), 当在 EMS2 中 CE 值升为 -55V 时, 还观察到  $m/z$  301、271 和 255 等碎片离子, 这与常规的二级质谱非常相似。结果表明设定高低 CE 值的两种 EMS 扫描方式可以在一次进样分析中, 方便、快速地同时获得分子离子与碎片离子信息, 不需要再次进样来测定二级图谱, 不但节省了分析时间和样品, 也弥补了 RRLC 分离时色谱峰过窄, 不适合在一个质谱分析周期内同时设计多个实验的缺陷, 充分发挥了 RRLC 与 QTRAP 型 MS/MS 仪联用的优势。

## 参考文献：

- [1] TATSUNARI Y, RONALD E M. High-speed analyses using rapid resolution liquid chromatography on 1.8- $\mu$ m porous particles [J]. J Sep Sci, 2006, 29: 2 421-2 432.
- [2] JAMES W H. A new linear ion trap mass spectrometer [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2002, 16: 512-526.