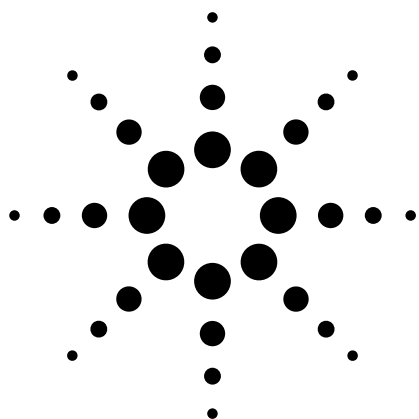




液相 / 离子阱质谱联用仪用于 人参皂甙的结构解析

液相 / 离子阱质谱
应用简报 5968-8869CHCN

前言

人参，一种传统的中药，它包含有十几种具有生物活性的皂角苷类化合物，即被称为人参皂甙。这类化合物被认为在防止和治疗许多疾病中起了重要的作用，如动脉粥样硬化，关节炎，哮喘，糖尿病，脑卒中，多种硬化和内毒素肝损伤等¹⁻³。人参皂甙是一类发展很快的草药和维生物产品。由于它们具有治疗作用，因此对人健康有其药理作用。约有150,00000人对草药与药之间的作用可能产生反效果⁴，因此分离及鉴定这些化合物越来越来引起人们的兴趣。

人参皂甙在结构上，被称为糖甙，是由甙元，主要是三萜类或类固醇类，以及共价键结合的一个或多个糖组成。因为大多数的人参皂甙含有多个不同位置的寡糖，因此结构解析就非常复杂。串联质谱已被用于人参萃取物中的人参皂甙的结构分析⁵。然而，在串联四极杆质谱上得到的质谱 / 质谱太复杂，因此很难解析。这是因为在第一级得到的子离子会进一步同背景气碰撞，产生进一步的断裂，最终无法与第一级得到的子离子图区分开。

在离子阱质谱中N级质谱(MS^n)可以进行多个离子分离选择和解离，这样就可以保证了每一级的子离子质谱图都只

与其母离子有关。这种步进式的解离具有很多优点，可以推断什么母离子产生那样的子离子。

本文叙述了用N级质谱(MS^n)进行人参萃取物中的人参皂甙的结构分析。

实验条件

所有的实验都是在1100 液相 / 离子阱质谱(LC / MSD Trap)上进行的，其中液相包括二元泵，自动进样器，柱温箱和真空在线脱气机。离子阱质谱采用的是正离子模式的电喷雾电离源(ESI)。

试剂纯的化学药品和液相色谱级的溶剂，用于标样和流动相。

结果与讨论

图1a-c是利用直接进样方式，人参皂甙的全扫描，质谱 / 质谱及三级质谱图。Rb1的质谱图如图1a所示，主峰是其准分子离子峰， $[M+Na]^+$ ， m/z 1131.7，几乎没有碎片离子，质谱条件是电喷雾电离源，干燥气温度为350℃。但是以前的大气压离子源要得到这样的谱图，需要常温稳度。



Agilent Technologies

Innovating the HP Way

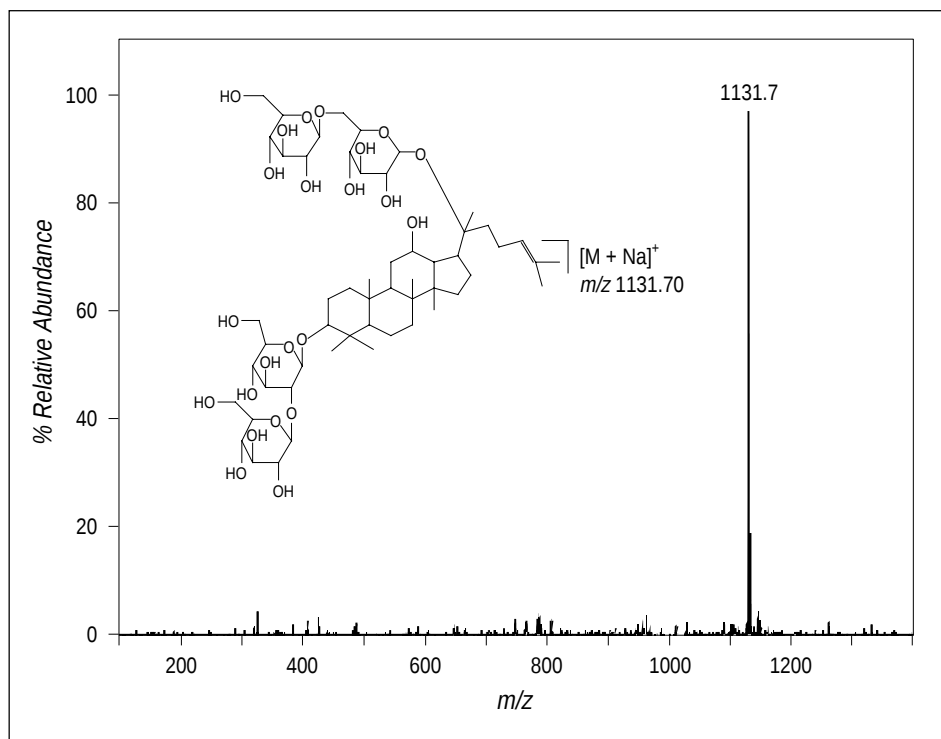


图1. 人参皂甙 Rb1 标准品的全扫描质谱图

图1b是加钠离子的Rb1的准分子离子的二级质谱图, m/z 789.6是一个糖苷键断裂产生的子离子。对于Rb1, 有两个同分异构体的寡糖链, 任意位置的断裂都会产生 m/z 789.6的碎片离子。图1c所示为选择 m/z 789.6, 然后再作质谱/质谱分析, 产生两个子离子:(1)一个是减去—Glc2—Glc糖链, m/z 365.1的碎片离子;(2)一个是减去脱氧己糖的子离子, m/z 626.5。在离子阱中的步进式碰撞解离过程, 可以得到更加清晰的结构信息。但是, 在这种情况下, 无法得到分子中起始的糖苷键断裂位置。

作为参照品, 根据人参皂甙 Rb1 特征碎片谱图的解析结果, 利用液相/离子阱质谱对人参皂甙同类物进行了分

析。例如如图2所示, 为美国洋参的LC/MS³的总离子流图, 以及每一个色谱峰的分子离子峰的萃取离子图。图3a和3b是含有两个不同糖链的人参皂甙Rb2的子离子谱图。选择准分子离子 m/z 1101.6进行解离分析, 产生 m/z 789.7的子离子(丢失 —Glc6—Ara, 二糖), 将Rb1与Rb2的子离子谱图进行比较, 结果与图1的人参皂甙Rb1的裂解机理相符合。而且 m/z 789.7是所有被分析人参皂甙的主要碎片离子, 这可以为Rb1与Rb2的裂解模式提供了亚结构模板。

选择子离子为 m/z 789.7母离子, 进行MS/MS分析, 既MS³谱图, 如图3b所示。

分析方法

直接进样方式

流速: 5 μ L/min

质谱条件

电离源模式:	电喷雾电离源
干燥气:	6 L/min
雾化气压力:	10 psi
干燥气温度:	300°C
锥型体1:	25 V
毛细管出口补偿:	50 V
平均(average):	5
ICC:	on
最大积聚时间:	200 ms
目标(target):	40000
离子化模式:	正离子化

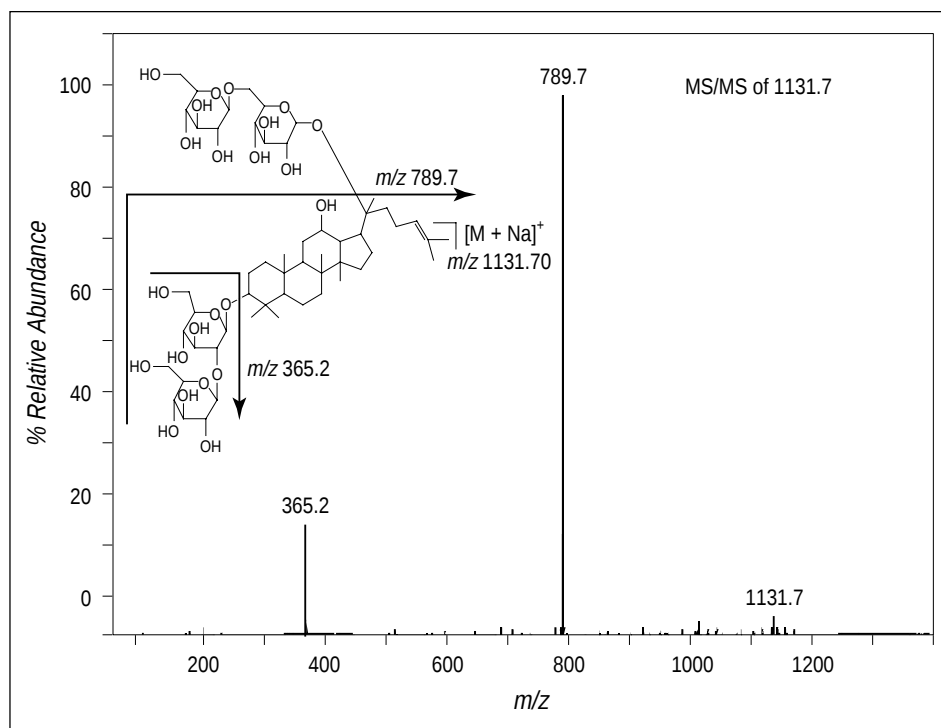


图 1b. 人参皂甙 Rb1 标准品的准分子离子, m/z 1131.7 $[M+Na]^+$ 的质谱 / 质谱图

分析方法

直接进样方式

流速: 5 $\mu\text{L}/\text{min}$

质谱条件

电离源模式:	电喷雾电离源
干燥气:	6 L/min
雾化气压力:	10 psi
干燥气温度:	300°C
锥型体 1:	25 V
毛细管出口补偿:	50 V
平均(average):	5
ICC:	on
最大积聚时间:	200 ms
目标(target):	40000
离子化模式:	正离子化

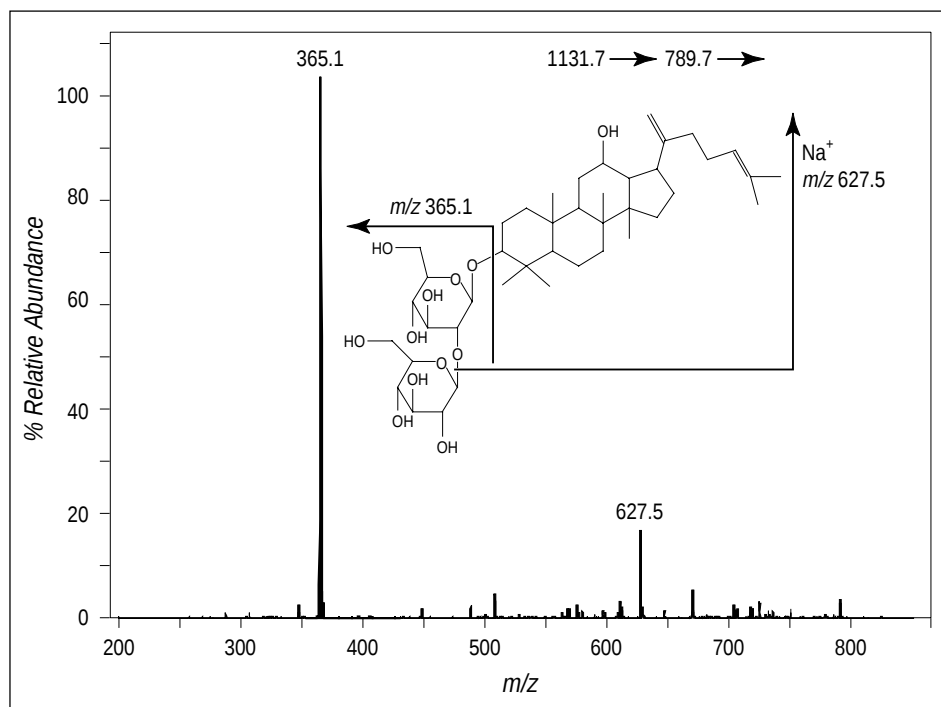


图 1c. 人参皂甙 Rb1 标准品的准分子离子, m/z 1131.7 $[M+Na]^+$ 的三级质谱图(MS3)

分析方法

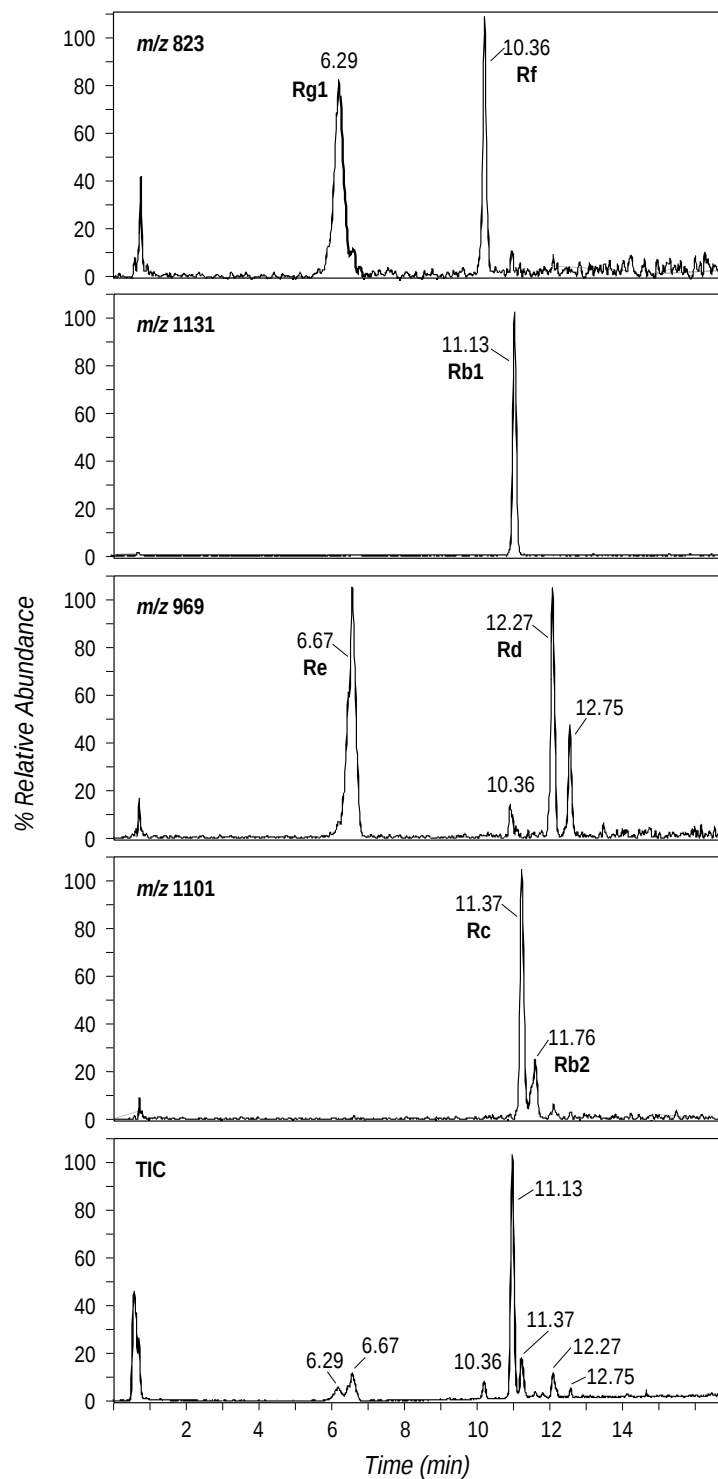
直接进样方式

流速: 5 $\mu\text{L}/\text{min}$

质谱条件

电离源模式:	电喷雾电离源
干燥气:	6 L/min
雾化气压力:	10 psi
干燥气温度:	300°C
锥型体 1:	25 V
毛细管出口补偿:	50 V
平均(average):	5
ICC:	on
最大积聚时间:	200 ms
目标(target):	40000
离子化模式:	正离子化

图 2. 人参萃取物的液相/多极质谱的总离子流图和分子离子峰的萃取离子流图



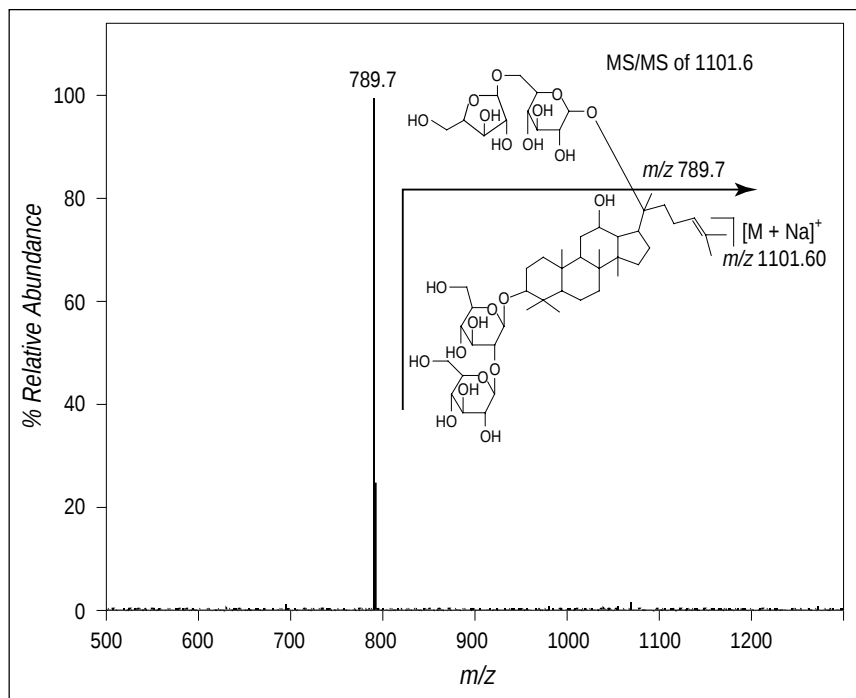


图 3a. 人参皂甙 Rb2 标准品的准分子离子, m/z 1101.6 $[M+Na]^+$ 的液相 / 多级质谱图

分析方法

液相 / 质谱 / 质谱

色谱柱: Zorbax® SB-C18, 50 x 2 mm, 3.5 μ m (p/n 863954-302)
 流速: 0.3 ml/min
 进样体积: 10 μ l
 流动相: A = 0.01% 醋酸溶液
 B = 乙腈
 梯度: 梯度 20 % B 1 分钟, 在 1 分钟内至 90 % B, 在 11 分钟内至 90 % B

质谱条件

电离源模式: 电喷雾电离源
 干燥气: 7 L/min
 雾化气压力: 30 psig
 干燥气温度: 300°C
 锥型体 1: 25 V
 毛细管出口补偿: 50 V
 平均(average): 5 V
 ICC: on
 最大积聚时间: 200 ms
 目标(target): 40000
 离子化模式: 正离子化

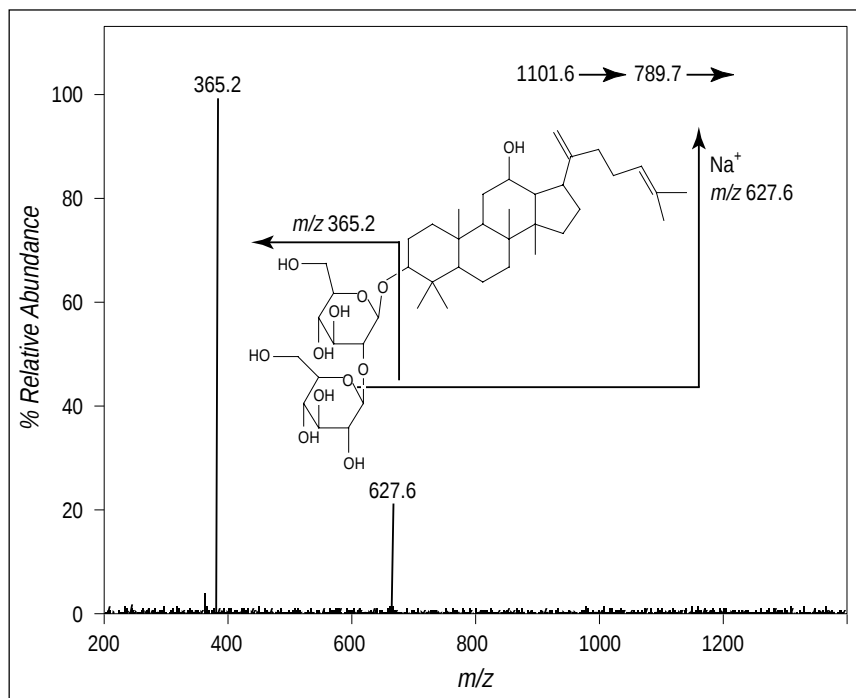


图 3b. 人参皂甙标准品的子离子, m/z 789.7 的液相 / 多级质谱图

分析方法

液相 / 质谱 / 质谱

色谱柱: Zorbax® SB-C18, 50 x 2 mm, 3.5 μ m (p/n 863954-302)
 流速: 0.3 ml/min
 进样体积: 10 μ l
 流动相: A = 0.01% 醋酸溶液
 B = 乙腈
 梯度: 梯度 20 % B 1 分钟, 在 1 分钟内至 90 % B, 在 11 分钟内至 90 % B

质谱条件

电离源模式: 电喷雾电离源
 干燥气: 7 L/min
 雾化气压力: 30 psi
 干燥气温度: 300°C
 锥型体 1: 25 V
 毛细管出口补偿: 50 V
 平均(average): 5 V
 ICC: on
 最大积聚时间: 200 ms
 目标(target): 40000
 离子化模式: 正离子化

结论

安捷伦1100 LC/MSD Trap离子阱质谱的多极质谱功能(MSn)可以选择任一个母离子进行解离分析,产生特征碎片离子。因此是一种极强的化合物结构解息工具。电喷雾电离是一种电离技术,它主要产生准分子离子峰,而无碎片离子。离子阱的质谱/质谱功能只产生只来自母离子的特征碎片峰,不会发生像在碰撞池(CID cell)内的子离子的再裂解的反应。而多极质谱功能(MSn)更可以进行步进式解离分析,得到更多的结构信息。

参考文献

1. Kim Y. C., Kim S. R., Markelonis G. J., Oh T. H., *J. Neurosci. Res.* **53**, 1998, 426–32.
2. Kim H. S., Hong Y. T., Jang C. G., *J. Pharm. Pharmacol.* **50**, 1998, 555–60.
3. Yokozawa T.; Liu Z. W.; Dong E., *Nephron.* **78**, 1998, 201–6.
4. Smolinske S. C., *J. Am. Med. Womens Assoc.* **54**, 1999, 191–2.
5. Wang X., Sakuma, T., Asafu-Adjaye, E., Shiu, G.K., *Anal. Chem.* **71**, 1999, 1579–84.

作者

Linda L. Lopez is an applications chemist at Agilent Technologies in Palo Alto, CA.

www.agilent.com/chem

安捷伦科技公司对本材料可能存在的错误或装置、性能及材料使用有关内容而带来的意外伤害和问题不负任何责任。

本资料中的信息,如有改变,恕不另行通知。

安捷伦科技公司版权所有©, 2001

2001年11月28日中国印刷

出版号: 5968-8869CHCN



Agilent Technologies

Innovating the HP Way