

# 调控微波等离子体能量进行药片活性分子结构的质谱分析

王新晨, 杨美玲, 张小平

(东华理工大学江西省质谱科学与仪器重点实验室, 南昌 330013)

**摘要** 采用微波等离子体质谱(MPT-MS)技术,对替硝唑和马来酸氯苯那敏药片进行快速质谱分析.通过调控等离子体能量,在一级谱图中可得到目标物的准分子离子及丰富的碎片离子,这些碎片离子与其对应串联质谱数据基本一致,甚至更加丰富;结合标准品比对分析,最终确定这些碎片离子来自目标物而非基质.因此,MPT兼具硬电离和软电离性质,采用MPT-MS技术从一级质谱图中获得的数据可对药片中活性分子的结构进行鉴定.该方法具有快速、准确及环保等特点,在发展MPT与简单的质量分析器联用,实现质谱仪的小型化等方面有广阔的应用前景.

**关键词** 微波等离子体炬;质谱;微波功率;药片

**中图分类号** O657.6      **文献标志码** A

药品是指用于预防、治疗、诊断人的疾病,有目的地调节人的生理机能并规定有适应症或者功能主治、用法和用量的物质,被广泛应用于医疗、农业及食品加工等领域<sup>[1]</sup>.药片中除含有药物的活性成分外,还含有淀粉、蔗糖、硬脂酸镁和羟丙纤维素等大量辅料.药用辅料可充当药物的载体,为药物的安全性、有效性和稳定性提供保障.然而,药用辅料构成的复杂基质给药片中活性成分的快速检出和鉴定带来了不便.药品的传统检测方法包括紫外-可见分光光度法(UV-Vis)<sup>[2]</sup>、红外光谱法(IR)<sup>[3]</sup>、气相色谱法(GC)<sup>[4]</sup>和高效液相色谱法(HPLC)<sup>[5]</sup>等,这些检测方法通常需要复杂的样品前处理过程,如萃取、分离和浓缩等,导致检测周期较长,不利于高通量和快速的分析筛选.因此,发展一种快速、直接且无需样品前处理的方法对药片中活性成分的快速检出和鉴定显得尤为重要.

质谱技术是众多现代分析测试技术中具有特异性好、灵敏度高及响应速度快等特点的普适性方法,因具备可通过二级或多级质谱进行结构鉴定等优势而在药物的分析检测中得到广泛应用.近年来,无需复杂前处理、在样品原始环境下实现直接离子化的质谱技术已成为质谱学领域的研究前沿.以电喷雾解吸电离(DESI)<sup>[6]</sup>、低温等离子体(LTP)探针<sup>[7]</sup>、实时在线分析(DART)<sup>[8]</sup>、表面解吸常压化学电离(DAPCI)<sup>[9]</sup>和电喷雾萃取电离(EESI)<sup>[10]</sup>等为代表的大气压离子化方法的发展为固体样品的直接质谱分析提供了可能.尤其是在药片活性成分分析中表现尤为明显<sup>[11,12]</sup>,例如,采用大气压激光解吸附离子化(APLDI)技术对多种不同功效的已知药片进行快速质谱分析,获取的信息与其中药效成分的结构一致<sup>[13]</sup>;采用微波等离子体(MPT)常压解吸电离源对药剂进行解吸电离,实现了对片状、膏状类药剂中单一或多种主要成分的快速定性分析<sup>[14-16]</sup>.

本文采用微波等离子体质谱(MPT-MS)技术,对市售替硝唑和马来酸氯苯那敏等药片中的活性成分进行直接分析,在一级谱图中除了产生目标物的准分子离子峰外还形成了丰富的碎片离子.通过调控微波能量,可观测到目标物准分子离子与碎片离子丰度的变化趋势.对准分子离子进行多级质谱分析,发现其产生的碎片离子与MPT-MS一级质谱的离子一致,并与标准品以及文献进行了对照.结果

收稿日期: 2016-09-29. 网络出版日期: 2017-03-16.

基金项目: 国家重大科学仪器设备开发专项(批准号: 2011YQ14015008)、长江学者和创新团队发展计划(批准号: IRT13054)和江西省质谱科学与仪器重点实验室开放基金(批准号: JXMS201609)资助.

联系人简介: 张小平,女,讲师,主要从事有机质谱分析研究. E-mail: zhangxpsunshine@163.com

表明, MPT 兼具有软电离(获得准分子离子)和硬电离(获得目标物的碎片离子)的性质. 因此, 通过一级质谱可实现药片中活性成分的快速结构分析, 有利于质谱仪小型化的发展.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

MPT 炬管(材料为铜, 具有外管、中管和内管三管同轴的结构)和微波等离子体炬离子源(长春吉大·小天鹅仪器有限公司); LTQ-XL 型线性离子阱质谱仪, 配有 Xcalibur 数据处理系统(美国 Finnigan 公司); Ar 气(纯度>99.999%, 江西国腾气体有限公司); 替硝唑片(山西同达药业有限公司)和马来酸氯苯那敏片(河南九势制药股份有限公司)购于当地药店.

### 1.2 实验过程

MPT-MS 的装置结构如图 1 所示. 等离子体的工作气和载气均为氩气, 分别由中管和内管引入. 在炬管顶端的中管和内管之间形成等离子体. 载气流速为 1000 mL/min, 工作气流速为 400 mL/min, 调节 MPT 炬管与质谱仪离子传输管的水平夹角约为 30°, 并使等离子体尖端与质谱口的水平距离约为 1 cm, 样品承载平台与质谱口的垂直距离约为 1 cm. 利用 MPT 的高温热效应解吸并电离药片表面及内部活性成分, 进入质谱检测. 单个样品分析时间为 10 s.

线性离子阱质谱(LTQ-MS)采用正离子检测模式, 质谱扫描范围  $m/z$  50~500, 反射功率 0~1  $\mu$ A, 透镜电压 30 V, 毛细管温度 150 °C, 毛细管电压 12 V. 在进行串联质谱分析时, 母离子的隔离窗口宽度设定为 1.0 Da, 碰撞时间为 30 ms, 碰撞能量为 15%~25%, 其它参数由 LTQ-Tune 软件系统自动优化.

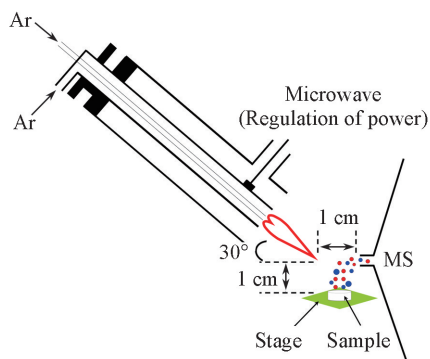


Fig.1 Schematic of the MPT-MS setup

## 2 结果与讨论

### 2.1 替硝唑片的 MPT-MS 分析

在 MPT-MS 中, 调控微波等离子体能量, 对替硝唑片进行直接质谱分析. 如图 2(A)所示, 当微波

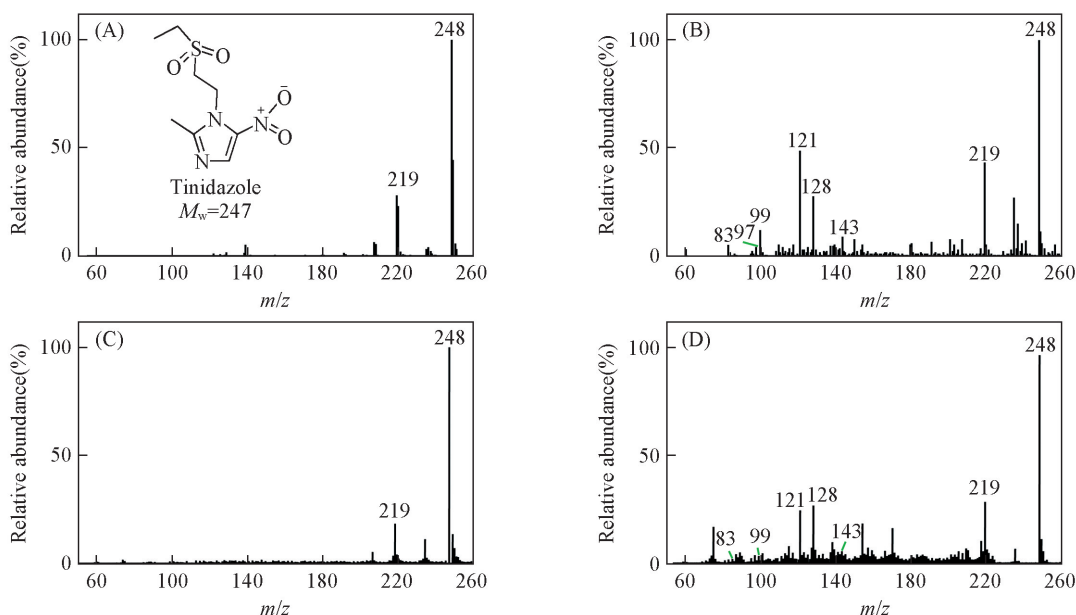


Fig.2 Full-scan mass spectra obtained by MPT-MS for tinidazole tablet(A, B) and tinidazole standard(C, D) at microwave powers of 30 W(A, C) and 130 W(B, D)

功率为 30 W 时, 在一级谱图中主要观测到替硝唑的准分子离子峰  $m/z$  248 和离子峰  $m/z$  219. 在光照条件下, 甲硝唑易发生光解离<sup>[17,18]</sup>, 结构中的 NO 被 H 替换而得到光解离产物. 替硝唑与甲硝唑同属硝基咪唑类抗菌药, 具有相似的母体结构(2-甲基-5-硝基咪唑环), 因此, 可推测图 2(A) 中的离子  $m/z$  219 为替硝唑的光解离产物.

当调控微波功率为 130 W 时, 除形成准分子离子峰  $m/z$  248 和离子峰  $m/z$  219 外, 在一级谱图中还可观测到丰度较高的离子峰  $m/z$  143, 128, 121, 99 和 97 等[图 2(B)]. 为确定高功率模式下观察到的离子来源于  $m/z$  248, 对替硝唑母离子  $m/z$  248 进行了多级质谱分析[图 3(A)]. 对比 MPT-MS 谱图[图 2(B)]和串联质谱数据[图 3(A)和表 1]可知, 图 2(B)中的离子峰  $m/z$  128 和 121 为质子化替硝唑的碎片离子峰<sup>[19]</sup>, 形成的裂解途径如图 4 所示. 质子化替硝唑  $m/z$  248 经途径-1 首先发生 I 断裂形成离子中性复合物 1 ( $m/z$  248)<sup>[20]</sup>, 再分别发生直接分离和质子迁移得到产物离子  $m/z$  121 和 128. 互补碎片离子的产生通常涉及到离子中性复合物的形成<sup>[21]</sup>. 而图 2(B)中的离子  $m/z$  143, 99 和 97 可能是光解离产物  $m/z$  219 的碎片离子, 形成的裂解途径如图 4 所示. 质子化替硝唑  $m/z$  248 经途径-2 在 MPT 作用下形成光解离产物  $m/z$  219, 可能继续发生光解离形成碎片离子  $m/z$  143, 经 I 断裂形成离子中性复合物 2 ( $m/z$  143), 再分别发生直接分离和质子迁移得到产物离子  $m/z$  97 和 99, 这些碎裂过程与文献[17,18]报道基本一致.

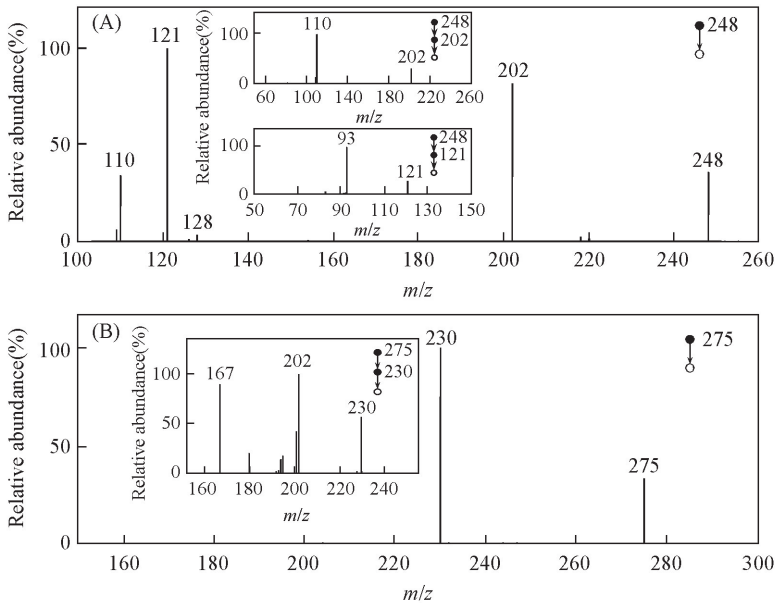


Fig.3 MS<sup>2</sup> spectrum of tinidazole at  $m/z$  248(A) and MS<sup>2</sup> spectrum of chlorpheniramine at  $m/z$  275(B)

Insets of (A) are the MS<sup>3</sup> spectra of  $m/z$  248→ $m/z$  202 and  $m/z$  248→ $m/z$  121; inset of (B) is the MS<sup>3</sup> spectrum of  $m/z$  275→230.

Table 1 Fragment ions of tinidazole and chlorpheniramine obtained by tandem MS

Tablet	Molecular weight	[M+H] <sup>+</sup> , $m/z$	MS <sup>2</sup> , $m/z$	MS <sup>3</sup> , $m/z$
Tinidazole	247	248 <sup>a</sup>	202 <sup>b</sup> , 110 128, 121 <sup>b</sup>	110 93
Chlorpheniramine	274	275 <sup>a</sup>	230 <sup>b</sup>	202, 167

a. Precursor ion of MS<sup>2</sup>; b. precursor ion of MS<sup>3</sup>.

为了确定这些离子并非来源于药片中的基质辅料, 同样对替硝唑标准品进行了 MPT-MS 分析, 如图 2(C)和(D)所示. 通过对比可发现, 在相同的微波能量条件下, 替硝唑标准品的谱图 and 对应药片的谱图基本一致, 表明高能模式下观察到的离子来源于替硝唑药片, 而非基质辅料, 即基质效应并不明显. 以上实验结果表明, 在 MPT-MS 一级质谱中, 通过调控等离子体能量, 可加快替硝唑药片的解吸, 产生丰富的碎片离子. 这些碎片离子与多级质谱形成的碎片离子一致, 甚至更加丰富, 例如还形成了光解离特征离子  $m/z$  219 等, 这为替硝唑药片的定性分析提供了大量的结构信息. 因此, 采用 MPT-MS

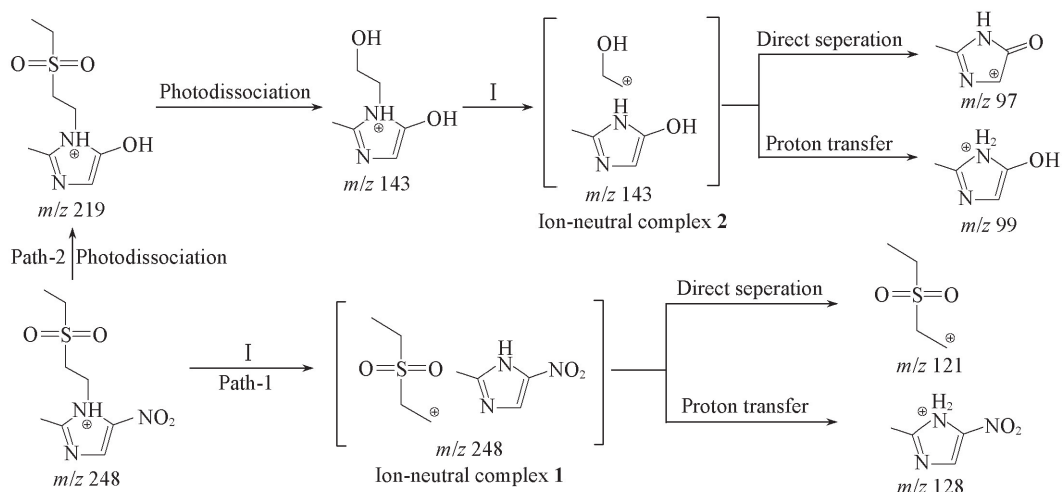


Fig.4 Proposed fragment pathways of  $[M+H]^+$  at  $m/z$  248 for tinidazole

方法可实现药片中活性分子的直接、快速结构鉴定分析.

## 2.2 马来酸氯苯那敏片的 MPT-MS 分析

为了验证该方法的适用性, 对不同种类的药片马来酸氯苯那敏进行了分析, 结果示于图 5(A). 调节微波功率为 30 W, 在一级质谱图中可观测到氯苯那敏的准分子离子峰  $m/z$  275(脱掉马来酸)和相对强度较低的离子峰  $m/z$  259, 246, 230 和 218 等. 因氯苯那敏分子中含有 1 个 Cl, 所以其含氯同位素离子  $m/z$  277 非常明显, 且丰度比例符合 3:1, 与氯同位素丰度的理论比值一致. 当微波功率升高至 110 W 时, 可观测到氯苯那敏的准分子离子峰  $m/z$  275 和相对强度明显升高的离子峰  $m/z$  259, 246, 230, 218 和 202 等[图 5(B)]. 同样, 对马来酸氯苯那敏标准品也进行 MPT-MS 分析[图 5(C)和(D)], 形成的离子与马来酸氯苯那敏药片基本一致.

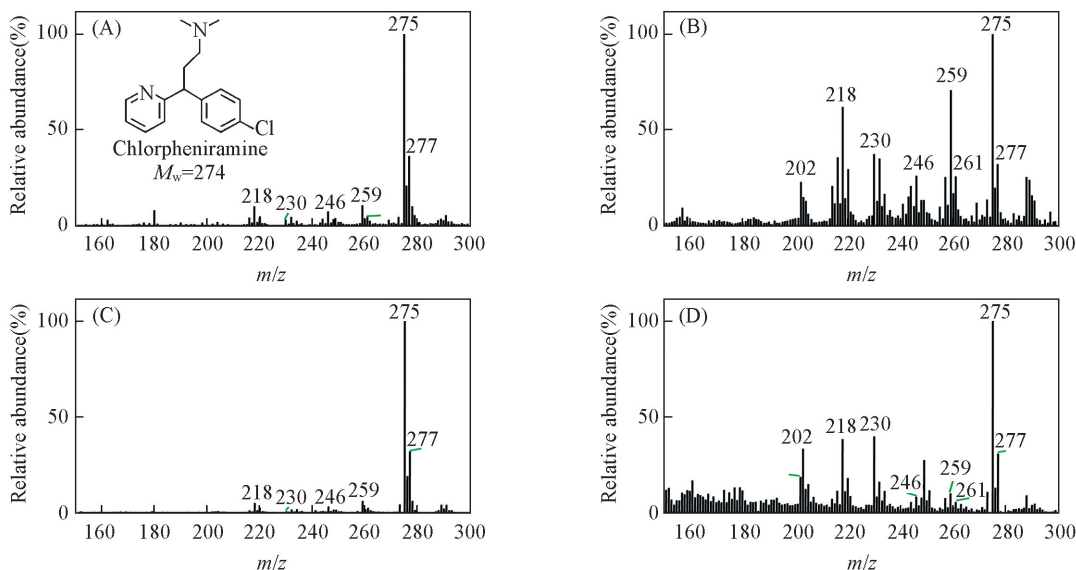


Fig.5 Full-scan mass spectra obtained by MPT-MS for chlorpheniramine tablet(A, B) and chlorpheniramine standard(C, D) at microwave powers of 30 W(A, C) and 110 W(B, D)

与串联质谱数据(图 3 和表 1)比较可知, 图 5(B)中的离子峰  $m/z$  230 和 202 为氯苯那敏的碎片离子. 根据碎片离子信息, 推断氯苯那敏可能的裂解途径如图 6 所示. 碎片离子  $m/z$  230 为质子化氯苯那敏  $m/z$  275 丢失  $NH(CH_3)_2$  基团后环化而形成, 离子  $m/z$  230 可继续丢失  $CH_2=CH_2$  中性分子形成离子  $m/z$  202<sup>[22]</sup>. 此外, 离子  $m/z$  259 和 218 可能是由于母离子在 MPT 作用下分别丢失  $CH_4$  和 1-甲基氮杂环丙烷( $C_3H_7N$ )而形成<sup>[23]</sup>. 因此, 通过调控 MPT 的能量, 在一级质谱图中即可获取氯苯那敏丰富的



碎片离子. 由此可知, 将 MPT 与简单的质量分析器联用即可实现药片分子的快速、准确结构鉴定分析.

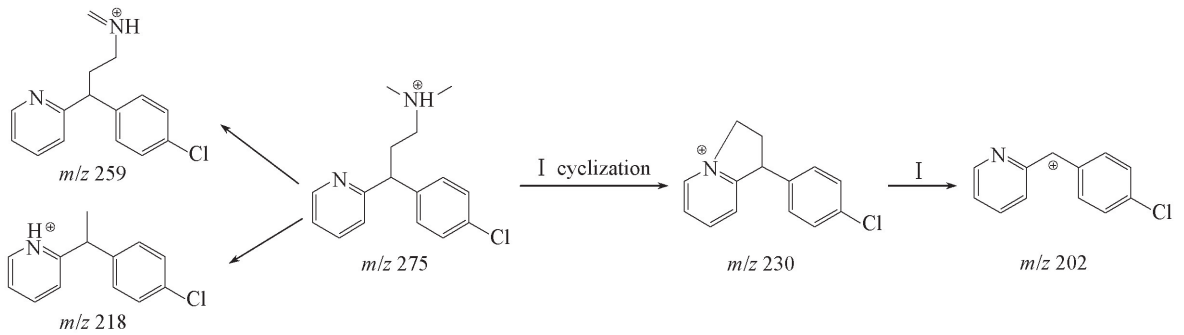


Fig.6 Proposed fragmentation mechanism pathways of  $[M+H]^+$  at  $m/z$  275 for chlorpheniramine

### 2.3 微波功率对离子丰度的影响

为了更直观地体现微波等离子体能量与离子丰度的关系, 探究了不同微波功率对替硝唑片和马来酸氯苯那敏片热解吸形成离子丰度的影响. 二者的准分子离子及碎片离子强度随功率变化情况如图 7 所示, 在低微波功率 ( $\leq 40$  W) 时, 主要观测到目标物的准分子离子; 当升高微波功率 ( $\geq 50$  W) 时, 可观测到目标物丰富的碎片离子信息. 由变化趋势可知, 目标物准分子离子与碎片离子强度变化经历了 2 个阶段: (1) 随着功率的升高, MPT 对药片的热解吸效果逐渐增强, 目标物准分子离子与碎片离子强度逐渐升高; (2) 目标物准分子离子与碎片离子强度逐渐降低, 这是因为随着功率的升高, 药片从等离子体中持续获得较高能量, 目标物分子在离子化的同时发生裂解, 导致离子强度逐渐降低. 因此, 通过调控微波等离子体的能量可影响药片活性成分的解吸效果.

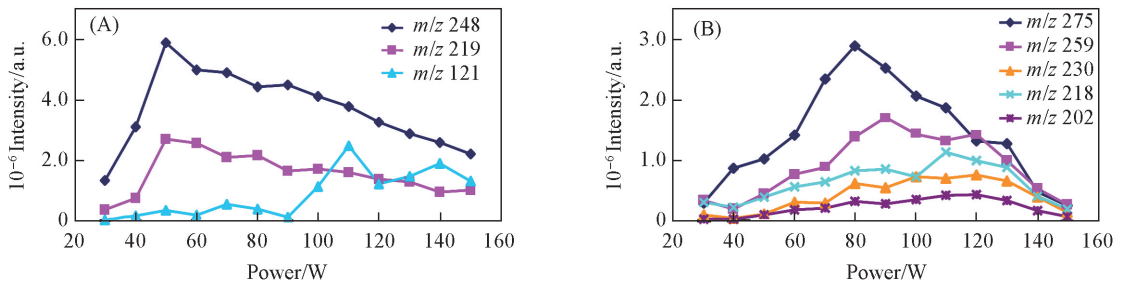


Fig.7 Effects of microwave power on the intensities of ions from active ingredients in tablets by MPT-MS

(A) Tinidazole; (B) chlorpheniramine.

综上所述, 本文以微波等离子体质谱技术 (MPT-MS) 为手段, 在无需样品前处理的条件下实现了替硝唑和马来酸氯苯那敏药片中活性成分结构的快速鉴定分析. 通过调控微波等离子体的能量, 在一级质谱图中可获得目标物除准分子离子以外丰富的碎片离子. 这些离子与对应串联质谱分析产生的碎片离子基本一致, 甚至更加丰富, 说明 MPT 兼具有软电离和硬电离的性质. 鉴于此, 可采用 MPT-MS 技术尝试建立药片活性成分快速筛查的标准数据库, 在一定程度上不仅可加快分析速度, 还有望发展 MPT 与简单的质量分析器联用, 实现质谱仪的小型化.

### 参 考 文 献

- [1] Escher B. I., Baumgartner R., Koller M., Treyer K., Lienert J., Mcardell C. S., *Water Res.*, **2011**, 45(1), 75—92
- [2] Elliott S. P., Hale K. A., *J. Anal. Toxicol.*, **1998**, 22(4), 279—289
- [3] Rebiere H., Ghyselinck C., Lempereur L., Brenier C., *Drug Test. Anal.*, **2016**, 8(3/4), 370—377
- [4] Qiu Y. Q., Lu X., Xu G. W., *Chin. J. Pharm. Anal.*, **2008**, 28(3), 498—505 (邱涯琼, 路鑫, 许国旺. 药物分析杂志, **2008**, 28(3), 498—505)
- [5] Liang Q., Yao X., Jia Z., Zhe W., Wang C., Hu T., Wu C. S., Zhang J. L., *J. Chromatogr. A*, **2015**, 1400, 65—73
- [6] Han J., Yang S. P., Zhang X., Zhang L. L., Chen H. W., Li J. Q., *Rock and Mineral Analysis*, **2009**, 28(6), 507—513 (韩京, 杨水平, 张燮, 张丽丽, 陈焕文, 李建强. 岩矿测试, **2009**, 28(6), 507—513)
- [7] Harper J. D., Charipar N. A., Mulligan C. C., Zhang X., Cooks R. G., Ouyang Z., *Anal. Chem.*, **2008**, 80(23), 9097—9104

- [ 8 ] Gross J. H., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2013**, 406(1), 63—80
- [ 9 ] Chen H. W., Zheng J., Zhang X., Luo M. B., Wang Z. C., Qiao X. L., *J. Mass Spectrom.*, **2007**, 42(8), 1045—1056
- [ 10 ] Pan S. S., Tian Y., Li M., Zhao J. Y., Zhu L. L., Zhang W., Gu H. W., Wang H. D., Shi J. B., Fang X., Li P. H., Chen H. W., *Sci. Rep.*, **2015**, (5), 8725
- [ 11 ] Zhang T. Q., Jin W., Zhou J. G., Zhang Y., Zhu Z. Q., Zhou W., Jin Q. H., *Chem. J. Chinese Universities*, **2012**, 33(9), 1938—1944 (张体强, 金伟, 周建光, 张莹, 朱志强, 周炜, 金钦汉. 高等学校化学学报, **2012**, 33(9), 1938—1944)
- [ 12 ] He J. M., Luo Z. G., Li N., Zhang R. P., He J. J., Zeper A., *Chinese J. Anal. Chem.*, **2011**, 39(11), 1743—1747(贺玖明, 罗志刚, 李秭, 张瑞萍, 何菁菁, 再帕尔·阿不力孜. 分析化学, **2011**, 39(11), 1743—1747)
- [ 13 ] Ren X. X., Liu J., Zhang C. S., Luo H., *Chinese J. Anal. Chem.*, **2013**, 41(3), 366—370(任昕昕, 刘佳, 张成森, 罗海. 分析化学, **2013**, 41(3), 366—370)
- [ 14 ] Zhang T. Q., Zhou W., Jin W., Zhou J. G., Handberg E., Zhu Z. Q., Chen H. W., Jin Q. H., *J. Mass Spectrom.*, **2013**, 48(6), 669—676
- [ 15 ] Jin Q. H., Wang F. D., Hieftje G. M., *Chem. J. Chinese Universities*, **1990**, 11(12), 1353—1356(金钦汉, 王芬蒂, G. M. Hieftje. 高等学校化学学报, **1990**, 11(12), 1353—1356)
- [ 16 ] Zhang T. Q., *Development of Microwave Plasma Atmospheric Pressure Desorption/Ionization Source for Mass Spectrometry*, Zhejiang University, Hangzhou, **2012**(张体强. 质谱法用微波等离子体常压解吸电离源的研制, 杭州: 浙江大学, **2012**)
- [ 17 ] Tong L., Perez S., Goncalves C., Alpendurada F., Wang Y., Barcelo D., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2011**, 399(1), 421—428
- [ 18 ] Busker R. W., Henegouwen G. M. J., *Photochem. Photobi.*, **2008**, 45(3), 331—335
- [ 19 ] He J. J., *Research of Impurity Analyses of Nitroimidazoles*, Zhejiang University of Technology, Hangzhou, **2013**(何佳佳. 硝基咪唑类药物杂质研究, 杭州: 浙江工业大学, **2013**)
- [ 20 ] Li F., Zhang X., Zhang H., Jiang K., *J. Mass Spectrom.*, **2013**, 48(4), 423—429
- [ 21 ] Zhang X. P., Jiang K. Z., Zou J. F., Li Z. G., Lee M., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2016**, 30(S1), 20—23
- [ 22 ] Lu L., Gong X., Tan L., *Chin. J. Chromatogr.*, **2015**, 33(3), 256—266(芦丽, 宫旭, 谭力. 色谱, **2015**, 33(3), 256—266)
- [ 23 ] Mormann M., Kuck D., *Int. J. Mass Spectrom.*, **2002**, 219(3), 497—514

## Rapid Qualitative Analysis of Active Molecules in Tablets Using Microwave Plasma Torch Mass Spectrometry by the Regulation of Power<sup>†</sup>

WANG Xinchun, YANG Meiling, ZHANG Xiaoping\*  
(Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation,  
East China University of Technology, Nanchang 330013, China)

**Abstract** A microwave plasma torch mass spectrometry (MPT-MS) method was applied for the qualitative analysis of active ingredients in tinidazole and chlorpheniramine tablets. By changing the microwave power, both the parent ion and abundant fragment ions of the target were obtained in the full-scan mass spectra. These fragment ions were in accordance with the fragments from tandem mass spectrometry experiments, and even more abundant. Therefore, MPT source, with both hard ionization and soft ionization properties, could be used for the fast qualitative analysis of active ingredients in tablets, because it can obtain both parent and fragment ions in the full-scan mass spectrometry experiments. This rapid, accuracy, and no pollution MPT-MS method is useful for developing MPT coupled to a simple mass analyzer and realizing the miniaturization of mass spectrometer.

**Keywords** Microwave plasma torch; Mass spectrometry; Microwave power; Tablet

(Ed.: N, K)

<sup>†</sup> Supported by the National Key Scientific Instrument and Equipment Development Projects of China (No.2011YQ14015008), the Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University, China (No.IRT13054) and the Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation Open Fund, China (No.JXMS201609).