

电喷雾质谱应用技术

B. N. 帕拉马尼克 (Birendra N. Pramanik)

[美] A. K. 甘古利

(A. K. Ganguly)

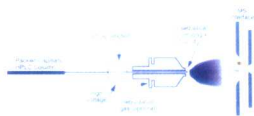
主编

M. L. 格罗斯

(Michael L. Gross)

蒋宏键 [美] 俞克佳 译

PRACTICAL SPECTROSCOPY SERIES VOLUME 32



**Applied Electrospray
Mass Spectrometry**

Chemical Industry Press

edited by
Birendra N. Pramanik
A. K. Ganguly
Michael L. Gross



化学工业出版社
化学与应用化学出版中心

电喷雾质谱应用技术

[美]B. N. 帕拉马尼克 A. K. 甘古利 M. L. 格罗斯 主编

蒋宏键 [美] 俞克佳 译



化学工业出版社

化学与应用化学出版中心

· 北 京 ·

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

电喷雾质谱应用技术/[美]帕拉马尼克 (Pramanik, B. N.), [美]甘古利 (Ganguly, A. K.), [美]格罗斯 (Gross, M. L.) 主编; 蒋宏键, [美]俞克佳译. —北京: 化学工业出版社, 2005. 5

书名原文: Applied Electrospray Mass Spectrometry

ISBN 7-5025-6869-7

I. 电… II. ①帕…②甘…③格…④蒋…⑤俞… III. 质谱法-分析 (化学) IV. 0657.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 027675 号

Applied Electrospray Mass Spectrometry/by Birendra N. Pramanik, A. K. Ganguly, Michael L. Gross

ISBN 0-8247-0618-8

Copyright©2002 by Marcel Dekker, Inc. All rights reserved.

Authorized translation from the English language edition published by Dekker, part of Taylor & Francis Group LLC.

本书中文简体字版由 Marcel Dekker, Inc. 授权化学工业出版社独家出版发行。

未经许可, 不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2005-1609

电喷雾质谱应用技术

[美] B. N. 帕拉马尼克 A. K. 甘古利 M. L. 格罗斯 主编

蒋宏键 [美] 俞克佳 译

责任编辑: 丁尚林

文字编辑: 刘志茹

责任校对: 陶燕华

封面设计: 潘峰

*

化学工业出版社 出版发行

化学与应用化学出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

http://www.cip.com.cn

*

新华书店北京发行所经销

北京市昌平振南印刷厂印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 850mm×1168mm 1/32 印张 13 1/4 字数 365 千字

2005 年 6 月第 1 版 2005 年 6 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6869-7/O · 112

定 价: 30.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

中文版序言

此书的英文原文主编作者是 Michael L. Gross (Washington University, St. Louis, MO), A. K. Ganguly (Stevens Institute of Technology, Hoboken, NJ) 和 Birendra N. Pramanik (Schering-Plough Research Institute, Kenilworth, NJ)。

随着液相色谱和质谱技术完美的结合, 一个新的专业名词 LCIMS 业已广为人们所接受。伴随着电喷雾技术快速发展的影响, 该技术的应用领域不断渗透到社会的各个方面, 并且发展十分迅速, 但是有关这方面的任何文本的综合性专业书籍依然是凤毛麟角。近几年来, 已有少数出版社出版了相关方面的书籍, 但是由 Michael L. Gross 和 Birendra N. Pramanik 等主编的本书代表目前液相色谱-质谱联用应用技术的最高水平。通过我的两个同事的努力, 作为科技参考文献里程碑式的中文版也就和大家见面了, 它将与英文版文献一样成为当今从事相关行业科学家手中最新的参考文献。



Michael P. Balogh

首席科学家

沃特斯公司 LC/MS 技术发展部

教授, 访问学者

罗杰·威廉姆斯大学

布里斯托尔, 罗德岛州

译者的话

当我们拿到此书时，不禁为此书丰富的内容所吸引！这是由当今从事 LC/MS 相关应用研究领域的杰出科学家们撰写的、代表着当今液相色谱-质谱在各个不同方面的最新发展的科学专著。书中内容翔实，技术层次高。由于参与此书编写的作者均是来自相关研究机构和业内的著名人士，他们在各项技术不断发展过程中发挥着重要的作用。我们翻译和出版此书的目的是为了让大家更好地了解电喷雾质谱应用和实践的最新技术，书中着重讨论电喷雾质谱分析小分子化合物（药物开发、药代动力学、组合化学、天然产物等）和生物大分子（多肽、蛋白质）化学等领域的各种新的实用技术，可供对此技术感兴趣的相关领域科学家参考。

目前，广大从事 LC/MS 领域的科学家和科研工作者普遍感到缺少相关应用技术的文献资料，此书的翻译出版，希望能够提供一种工具，更多地方便于大家。

由于书中所涉及的技术层次非常新，应用领域又非常广，这对翻译工作带来了很大的挑战，书中一定会存在许多不妥之处，衷心希望得到各位专家、老师和同行读者的指正。

在此书得以顺利出版之时，非常感谢本书中文版顾问王光辉教授和 Michael P. Balogh 教授的大力支持，也十分感谢康致泉教授、Brian Smith 先生和孙跃权先生的热心帮助。

蒋宏健 [美] 俞克佳

2005 年 3 月

前 言

在过去的 10 年间,电喷雾质谱 (ESI-MS) 已发展成为一种通用的质谱技术,它所涵盖的分析应用领域极其广泛,甚至可以分析不挥发和热不稳定等化合物,分子质量范围从 300~1000u 的小分子化合物一直到分子质量超过 150000u 的生物大分子。电喷雾电离现象的实验先驱 J. Zeleny (1917 年) 及后继者 Malcolm Dole (20 世纪 60 年代后期) 先后完成了一系列重要实验,确定了大分子转化成可供质谱分析的气态离子的实验参数。1984 年,John Fenn 及其在美国的合作者 M. Yamashita,还有 M. L. Aleksandrov 及其在前苏联的合作者,首次各自独立地宣布了 ESI 与四极杆质谱、磁质谱成功结合的报告。由于 ESI 的实验条件相对简单且在大气压环境下工作,非常适合与高效液相色谱 (HPLC) 联用实现样品自动分析,能够分析复杂基质下的混合样品,从而为需要液相分离样品的质谱科学家提供了满意的接口。ESI-MS 从一开始就成为了药学和生物医学研究领域重要的标志性工具,广泛地使用在组合化合物库的高通量筛选、杂质分析、药代动力学研究和代谢产物的确认,以及蛋白质结构特征的表达等各方面应用领域。

参与此书编写的作者均是来自相关研究机构和业内的人士,他们在此项技术不断发展过程中发挥着领导作用。我们编辑此书的目的是为大家呈献出电喷雾质谱应用、实践的最新技术,同时也为此技术感兴趣的其他领域科学家服务。此书的主题将着重讨论电喷雾质谱分析药物、多肽、蛋白质化学等领域的各种实用技术。

本书以电喷雾技术历史的回顾作为开端,介绍了 ESI-MS 的理论部分和仪器部分 (第一章),随后讲述纳升喷雾 (NanoSpray) 技术的发展及其对大分子化合物的分析及应用 (第二章)。接下来

的各章分别介绍电喷雾质谱对小分子化合物的分析及应用（第三章～第五章），肽及蛋白质等生物大分子分析及应用（第六章～第八章），非共价复合物分析及应用（第九章），还特别专门讨论了蛋白的折叠/伸展（第十章）以及临床/生物医学的分析及应用（第十一章）。有些重要的章节，比如复杂天然产物的结构阐述（第三章）、组合化学中组合化合物库的分析（第四章）以及 ESI-MS 的药代动力学和药代产物研究（第五章）等章节对制药行业的科学家尤为重要，因此也花费大量篇幅详细介绍。第六章～第八章展示了电喷雾质谱在表述肽、蛋白结构特征方面起到的重要作用，特别介绍了在快速发展的蛋白质组研究领域和在高通量处理和确定基因表达的蛋白质（第八章）的应用。蛋白质的动态结构研究，比如蛋白质内部非共价反应机理以及折叠/伸展等，则在第九、十章中进一步介绍。最后。第十一章介绍微量流速的 ESI-MS 在临床、生物学中的应用。

我们非常感谢对此书的出版做出巨大贡献的所有作者们。我们也非常感谢 Schering-Plough 研究中心、华盛顿大学、国家卫生研究中心的大力支持，还特别感谢帮助和出版此书的 Marcel Dekker 有限公司的编辑们。

Birendra N. Pramanik

A. K. Ganguly

Michael L. Gross

参编人员名单

- Gordon A. Anderson** Pacific Northwest National Laboratory,
Richland, Washington
- Per E. Andréén** Uppsala University, Uppsala, Sweden
- Ute Bahr** J. W. -Goethe University of Frankfurt, Frankfurt,
Germany
- Richard M. Caprioli** Department of Biochemistry, Vanderbilt
University, Nashville, Tennessee
- Guodong Chen** Schering-Plough Research Institute, Kenilworth,
New Jersey
- Robert B. Cody** JEOL USA, Inc., Peabody, Massachusetts
- Mark J. Cole** Pfizer Inc., Groton, Connecticut
- Thomas P. Conrads** National Cancer Institute, Frederick, Mary-
land
- Tom R. Covey** MDS Sciex, Concord, Ontario, Canada
- Hassan G. Fouda** Pfizer Inc., Groton, Connecticut
- A. K. Ganguly** Department of Chemistry, Stevens Institute of
Technology, Hoboken, New Jersey
- Michael L. Gross** Department of Chemistry, Washington Uni-
versity, St. Louis, Missouri
- John S. Janiszewski** Pfizer Inc., Groton, Connecticut
- Michael Karas** J. W. -Goethe University of Frankfurt, Frank-
furt, Germany
- Greg W. Kilby** Pfizer Global Research and Development, Ann
Arbor, Michigan

- Mike S. Lee** Milestone Development Services, Newtown, Pennsylvania
- Mary S. Lipton** Pacific Northwest National Laboratory, Richland, Washington
- Joseph A. Loo** Pfizer Global Research and Development, Ann Arbor, Michigan
- Christophe D. Masselon** Pacific Northwest National Laboratory, Richland, Washington
- Devanand Pinto** National Research Council of Canada, Institute of Marine Biosciences, Halifax, Nova Scotia, Canada
- Birendra N. Pramanik** Schering-Plough Research Institute, Kenilworth, New Jersey
- Petia A. Shipkova** Schering-Plough Research Institute, Kenilworth, New Jersey
- Richard D. Smith** Pacific Northwest National Laboratory, Richland, Washington
- Ljiljana Paša Tolić** Pacific Northwest National Laboratory, Richland, Washington
- Anthony Tsarbopoulos** Bioanalytical Department, GAIA Research Center, The Goulandris Natural History Museum, Kifissia, Greece
- Timothy D. Veenstra** National Cancer Institute, Frederick, Maryland
- Yinsheng Wang** Department of Chemistry, Washington University, St. Louis, Missouri

内 容 提 要

本书是第一本全面介绍电喷雾质谱技术的专著，也是第一次全面涉及当今世界上电喷雾技术的热点应用领域。为了让读者更好地了解电喷雾质谱应用和实践的最新技术，本书着重讨论电喷雾质谱分析小分子化合物（药物开发、药代动力学、组合化学、天然产物等）和生物大分子（多肽、蛋白质）化学等领域的各种新的实用技术。

本书是由当今从事 LC/MS 相关应用研究领域的杰出科学家们撰写的，代表着当今液相色谱-质谱在各个不同方面的最新发展的科学专著。内容翔实，技术层次高，具有极高的使用价值。

本书可供从事药物开发、药代动力学、组合化学、天然产物等和生物大分子（多肽、蛋白质）化学等相关领域以及质谱相关技术的研究人员、有机化合物结构鉴定科研人员和相关专业的高等院校师生学习参考。

目 录

第一章 电喷雾质谱历史、理论和仪器原理	1
第一节 简介：喷雾技术革命	1
一、ESI 出现之前的质谱技术	1
二、电喷雾电离技术的发展	4
第二节 操作原理	11
一、ESI/APCI 离子源的组成	11
二、电喷雾电离：“去除溶剂，而非解吸附过程”	12
三、电喷雾的过程：“纯”ESI 条件下电喷雾电离针 上发生的事件	13
四、在小液滴干燥过程中发生的事件	16
五、真空接口	19
六、各种各样的辅助技术	20
七、溶剂和缓冲液	26
八、ESI-MS 中观察到的各种离子	29
九、非共价复合物	30
十、从 ESI 质谱图看质谱离子与液相离子的关系	32
十一、与大气压化学电离的比较	33
第三节 质量分析器	35
一、连续检测离子的质谱仪	35
二、脉冲式质谱仪	38
三、复合式串联质谱	47
第四节 质谱的其他参数	48
一、质量校正	48
二、分辨率	51

三、质量准确度	52
第五节 ESI-MS 的数据处理	52
一、联立方程求算法	52
二、分辨同位素峰	53
三、数据转换(去卷积拆分)方法	55
第六节 结论	60
参考文献	60
附录 几种常用 ESI 校正校样的质荷比	91
第二章 纳升喷雾电离的发展: LC/MS 及 CE/MS 应用	100
第一节 简介	100
第二节 纳升流量的电极	103
一、流量与电喷雾针的构造	103
二、纳升流量样品导入系统的一些实例	110
第三节 纳升流量液相色谱-质谱联用	122
一、分析液相色谱色谱柱的小型化	123
二、色谱柱和纳升电极的整体式装置	124
三、多路 NanoLC 系统实例	125
四、今后的方向	130
第四节 结论	132
参考文献	134
第三章 电喷雾电离质谱定性分析药物及天然产物	142
第一节 导言	142
第二节 小分子化合物的结构特征	144
一、分子量的确定	144
二、多电荷电离	146
三、盐	148
四、液相色谱-质谱联用	149
五、化学衍生和大气压化学电离源	154
六、串联质谱	155
第三节 抗生素及天然产物的结构解析	157

一、抗生素.....	157
二、利用 $[M+H]^+$ 和 $[M+Na]^+$ 离子解析结构	162
三、相似化合物的质谱图.....	167
四、负离子.....	169
五、准确质量测定.....	171
第四节 结论.....	178
参考文献.....	178
第四章 电喷雾质谱在组合化学中的应用	182
第一节 引言.....	182
第二节 化合物的鉴定.....	184
第三节 纯化过程.....	186
第四节 质量控制.....	189
第五节 筛选.....	191
一、生物亲和性筛选.....	191
二、用 QTOF 质谱的准确质量测定	194
三、FT-ICR 质谱的准确质量测定	196
第六节 分析前景.....	198
第七节 结论.....	200
参考文献.....	200
第五章 电喷雾质谱在现代药物代谢和药物动力学中的应用	206
第一节 引言.....	206
第二节 药物代谢及药物动力学中的质谱平台.....	207
一、四极杆质谱仪器的作用.....	207
二、四极杆离子阱质谱仪的作用.....	208
三、飞行时间质谱的作用.....	210
四、四极杆/TOF 复合型仪器的作用	213
第三节 电喷雾质谱应用的发展.....	213
一、定量分析.....	213
二、确定药物的生物转化.....	215

第四节 电喷雾质谱在新药开发研究中的应用.....	218
一、新药开发研究中的定量分析.....	219
二、新药开发中的生物转化.....	220
第五节 自动化高通量分析.....	224
一、样品制备.....	225
二、选择 MS 条件.....	226
三、样品分析.....	226
四、数据处理与校阅.....	231
五、尝试平行定量.....	233
参考文献.....	236
第六章 电喷雾质谱分析多肽与蛋白质方法学	
研究及其应用	244
第一节 导言.....	244
第二节 电喷雾质谱分析完整的蛋白质：方法学研究.....	246
一、蛋白质混合物的电喷雾质谱.....	247
二、样品污染.....	247
第三节 电喷雾质谱的应用.....	250
一、蛋白质组学.....	250
二、二硫键的确定.....	251
三、非共价键结合的蛋白质复合物.....	253
第四节 分离和序列测定.....	256
一、毛细管 LC-MS	256
二、毛细管 LC-MS 在蛋白质组学上的应用	258
三、多肽的毛细管电泳质谱.....	259
第五节 高质量多肽和蛋白质的串联质谱分析.....	266
第六节 结论.....	270
参考文献.....	271
第七章 电喷雾质谱分析糖蛋白的结构	275
第一节 简介.....	275
第二节 确定糖蛋白的分子量.....	276

一、分子量和多元性.....	276
二、纳升电喷雾和正交加速 TOF 质谱	280
第三节 糖蛋白指纹分析.....	285
一、多糖的类型.....	285
二、蛋白序列指纹分析和糖基化位点的确认.....	286
三、确定连接位点的非均一性.....	292
第四节 未来的发展方向.....	294
参考文献.....	295
第八章 先进的质谱方法快速研究和定量分析蛋白质组	299
第一节 简介.....	299
第二节 蛋白质组的目前测定方法.....	301
第三节 使用质谱确定蛋白质.....	303
第四节 利用 FTICR 质谱的特性测定蛋白质组	304
第五节 完整蛋白质的蛋白质组分析方法.....	307
一、毛细管等电聚焦法分离蛋白质.....	308
二、CIEF 与 FTICR 质谱联用	309
三、自动处理数据和结果显示.....	310
第六节 FTICR 方法确定完整的蛋白质	313
一、依据分子量确定完整的蛋白质.....	313
二、依据 MS/MS 数据确认完整的蛋白质.....	314
三、依据同位素标记确认完整的蛋白质.....	317
第七节 测定全体蛋白质的蛋白质组分析方法.....	319
一、准确质量标签用于蛋白质的确认.....	319
二、提供准确质量标签确定翻译后修饰.....	323
三、同位素编码亲和标签的准确质量标签.....	325
第八节 根据实验产生的准确质量标签.....	327
一、通过 MS/MS 来确认 AMT	327
二、多元 MS/MS 方法.....	328
第九节 高通量测定蛋白质的相对强度.....	331
一、稳定同位素的代谢标记.....	332

二、后提取的稳定同位素标记法.....	341
第十节 将来的方向.....	344
参考文献.....	345
第九章 非共价复合物的电喷雾电离质谱分析	352
第一节 简介.....	352
第二节 蛋白-配体相互作用	354
一、pH 值的影响	355
二、溶剂的影响.....	358
三、ESI 锥孔电压的影响	359
第三节 药物-蛋白质-配体复合物	360
一、 <i>ras</i> -GDP-配体	360
二、确定键合的位置.....	362
第四节 蛋白-金属络合物	364
一、钙调节蛋白/Ca	364
二、HCV/Zn	366
第五节 蛋白-蛋白结合	367
一、亮氨酸拉链肽.....	367
二、 γ -IFN	367
三、大蛋白复合物.....	369
第六节 蛋白-核酸相互作用	372
第七节 药物-核酸复合物	373
一、与 HIV-RNA 键合的抗生素	373
二、药物-DNA 的相互作用	374
第八节 结论.....	375
参考文献.....	375
第十章 氢交换法和电喷雾质谱研究蛋白质的 结构及动态构象	379
第一节 简介.....	379
第二节 实验方法和实验设计.....	380
一、蛋白质的氢交换背景.....	380

二、MS 测量 H/D 交换的实验方法	382
三、质谱分析蛋白质的片段	383
四、确定氘代的速率常数	384
第三节 应用	386
一、蛋白-配体和蛋白-金属离子相互作用	386
二、蛋白质的折叠及动态构象	389
三、筛选可用作重组药物的蛋白质	394
四、从组合化合物库中筛选蛋白质	394
五、单个酰胺分析方案	395
第四节 结论和展望	397
参考文献	398
第十一章 利用微升电喷雾分析微量透析	
得到的神经肽及药物	401
第一节 简介	401
第二节 仪器	403
一、毛细管喷雾针头	403
二、获得高灵敏度的测定方法	404
三、样品的在线预纯化	405
四、使用微升 ESI 和串联质谱分析体内微量渗析物	407
第三节 测量在细胞外释放的内源性神经降压素	407
第四节 神经降压素代谢物的研究	411
第五节 药物的微升电喷雾和体内微量渗析	415
第六节 结论	417
参考文献	417