

基于 Discovery Studio 软件解析五味子乙素的电喷雾 / 质谱裂解途径^{*}

□贺锐锐 (北京大学第一医院药理所 北京 100191)

谭 鹏 韩 静 林宏英 (北京中医药大学中药学院 北京 100029)

陈 鑫 (北京大学医学部 北京 100191)

刘永刚^{**} 张燕玲^{**} (北京中医药大学中药学院 北京 100029)

摘 要 :目的 :基于 Discovery Studio 软件研究五味子乙素的质谱裂解机制。方法 :在正离子模式 , 用线性离子阱质谱得到五味子乙素的质谱图。结果 :通过 Discovery Studio 解析五味子乙素多级质谱碎片 , 主要发生环的开裂 , H_2O , $-\text{CH}_3$ 和 $-\text{OCH}_3$ 等自由基丢失。结论 :本研究丰富五味子乙素的质谱裂解机制 , 为木脂素类成分的结构鉴定研究提供依据。

关键词 :五味子乙素 ESI-MS/MS 裂解途径

doi: 10.11842/wst.2013.03.031 中图分类号 :R284.1 文献标识码 :A

木脂素是一类由两分子苯丙素衍生物 (即 C6-C3 单体) 聚合而成的天然化合物 , 广泛分布在植物中的小分子次生代谢产物。在数百种植物的木质部、根、叶、花和果实中均发现有此类物质。木脂素具有雌激素活性 , 抗氧化和抗肿瘤活性^[1-3] , 但其质谱裂解规律方面报道较少。本文选择木脂素中五味子乙素为研究对象 , 其结构式见图 1。HPLC-ESI-MS 作为一种软电离方法 , 已成为研究物质结构与生物分子间弱相互作用的重要手段 , 并得到广泛的应用^[4-6] , 但采用 Discovery Studio 对五味子乙素质谱裂解途径的研究报道较少。本文采用电喷雾质谱

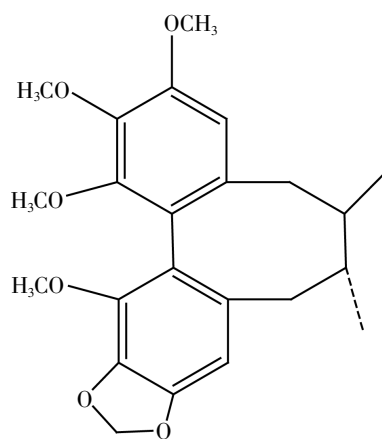


图 1 五味子乙素的结构式

收稿日期 : 2013-01-23

修回日期 : 2013-02-01

^{*} 国家自然科学基金委青年基金项目 (30901959) : 基于质谱裂解规律和量子化学预测乌头碱代谢规律研究 , 负责人 : 刘永刚。

^{**} 通讯作者 : 刘永刚 , 副教授 , 主要研究方向 : 中药物质基础 ; 张燕玲 , 副教授 , 主要研究方向 : 中药信息学。

仪,优化裂解参数,并对五味子乙素的裂解机制进行研究,对其碎片进行解析,总结其裂解规律,丰富五味子乙素的质谱数据,以期为本脂素类化合物的结构鉴定提供可靠的依据。

一、仪器与试剂

API QTRAP™ 5500 液相色谱质谱联用仪(美国 AppliedBioSystem 公司),包括:岛津 LC-20AC 超高速液相、三重四极杆串联型质谱、Analyst 1.5.0 数据处理系统,其中岛津 LC-20AC 超高速液相(日本 SHIMADZU 公司),配有 CBM-20A 系统控制器、CTO-20A 柱温箱、DGU-20A3 脱气机、LC-20AD 二元溶剂输送泵、SIL-20ACHT 自动进样器。五味子乙素由实验室自制(经 HPLC 分析,纯度>98%),甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司),水为双蒸水并经 0.45 μm 滤膜过滤。

二、方法与结果

1. HPLC 色谱条件

色谱柱 Zorbax Eclipse Plus C₁₈ 柱(4.6 mm × 50 mm, 3.5 μm, P/N 959943-902, SN usuxf 01542, 美国 Agilent 公司),保护预柱:AJ0-7596 C₁₈ 柱(4.0 mm×3.0 mm, 5 μm, 美国 Phenomenex);流动相:甲醇-0.1% 甲酸水溶液=80:20(v/v),流速:0.3 mL·min⁻¹;柱温:40℃;进样量:5 μL,色谱图见图 2。

2. 质谱条件

采用质谱直接进样的办法对五味子乙素的质谱条件进行优化处理。其质谱条件:离子源为 ESI 源,正离子方式检测,雾化温度:450℃,电离电压:5500 V。五味子乙素的二级质谱图见图 3。

3. 正离子下的五味子乙素裂解途径

五味子乙素在正离子模式下,准分子离子[M+H]⁺为 401.3,

选中母离子对其进行碰撞诱导解离(Collision Induced Dissociation, CID)分析,得到一系列碎片离子 386.1, 370.1, 300.0, 285.0 和 270.2。五味子乙素上有 4 个相同的-OCH₃ 取代基,通过 Discovery Studio 软件计算,结果 C14、C1、C2 和 C3 与其相连 O 的 Dreiding energy 的高低顺序为:C13-O26(44.14)>C6-O24(41.60)>C1-O22(26.71)>C2-O20(25.04),根据上述结果并结合其碎片离子,推测在正离子模式下,五味子乙素可能的裂解途径,见图 4。

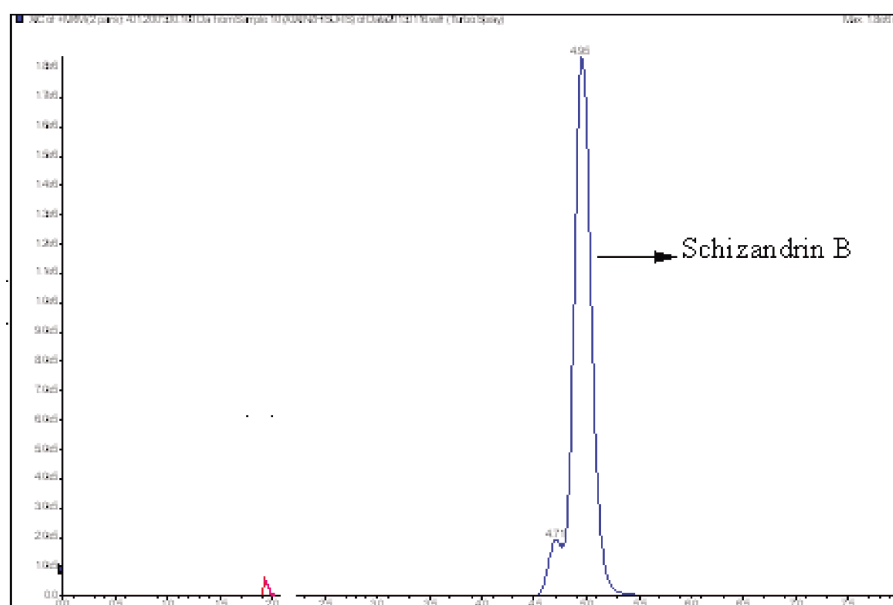


图 2 五味子乙素的 HPLC 图

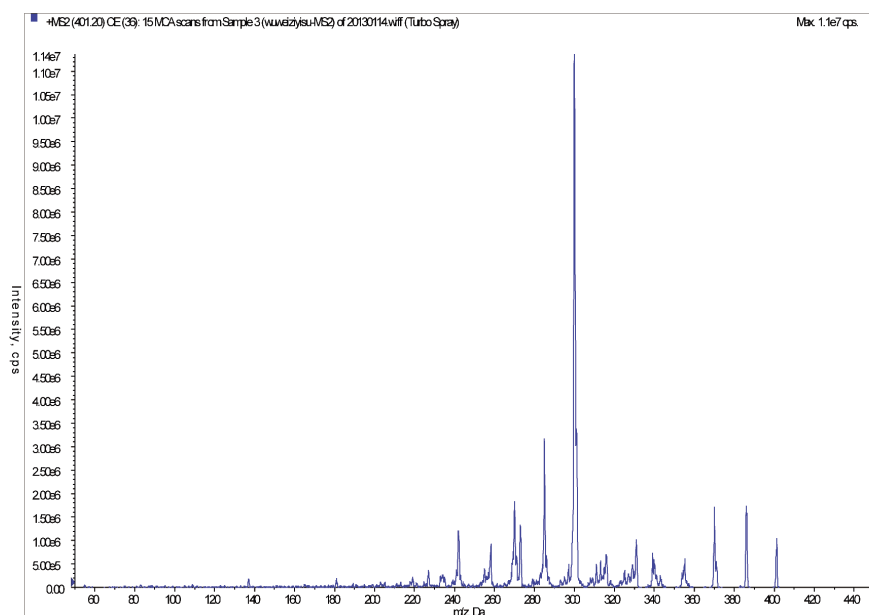


图 3 正离子模式下五味子乙素的二级质谱图

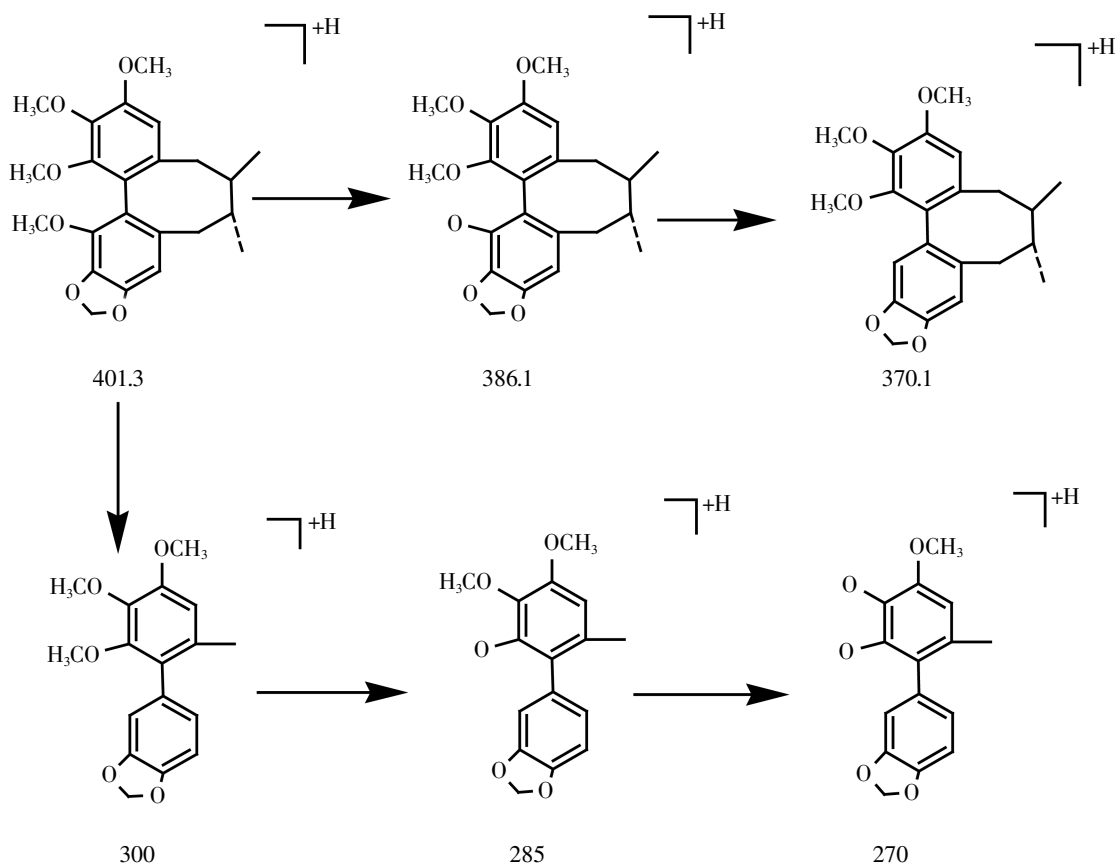


图4 五味子乙素的质谱裂解途径

三、讨论

五味子乙素属木脂素类化合物,但关于木脂素类的电喷雾离子源质谱裂解机制的报道较少,已有文献报道主要为电子轰击源(Electron ionization, EI)谱。在实验过程中发现,ESI-MS与EI-MS谱有较大的不同,因此,选用五味子乙素为代表,研究木脂素类的电喷雾质谱裂解机制具有较大的意义。实验发现木脂素类化合物的电喷雾-质谱裂解主要以开环和支链的丢失为主。

在解析化合物裂解途径的过程中,对于相同取代基的丢失,采用Discovery Studio软件计算键能键长的方法来推测化合物,取得较好的结果。但对于裂解途径的计算还需要更多的数据来核实验证,需在质谱裂解途径解析过程中加强研究。

参考文献

- 1 张国良,李娜,林黎琳,等.木脂素类化合物生物活性研究进展.中国中药杂志,2007,32(20):2089~2091.
- 2 李欣,袁建平,刘昕,等.木脂素—一类重要的天然植物雌激素.中国中药杂志,2006,31(20):2021~2024.
- 3 韩果萍,周华凤.木脂素类化合物的药理研究进展.陕西师范大学学报(自然科学版),2005,31(20):142~143.
- 4 从蒲珠,李笋玉.天然有机质谱学.北京:医学科技出版社,2001.
- 5 孙维星,刘志强,刘淑莹.电喷雾质谱在非共价生物—有机分子复合物研究中的应用.分析化学,1998,26(1):111~116.
- 6 Simmons D A, Konemrann L. Characterization of transient protein folding intermediates during myoglobin reconstitution by time-resolved electrospray mass spectrometry with on-line isotopic pulse labeling. Biochemistry, 2002, 41(6):1906~1914.
- 7 黄鑫,宋凤瑞,刘志强.五味子中木脂素类成分的高效液相色谱-电喷雾质谱研究.化学学报,2002,22(3):139~141.

ESI/MS Study on Fragmentation Pathways of Schisandrin B by the Discovery Studio

He Ruirui¹, Tan Peng², Han Jing², Lin Hongying², Chen Xin³, Liu Yonggang², Zhang Yanling²

- (1. Institute of Clinical Pharmacology, Peking University First Hospital, Beijing 100191, China;
2. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
3. Department of Pharmaceutical Analysis, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract: This study was aimed to find the fragmentation pathways of *Schisandrin B* using the Discovery Studio by electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MSⁿ). The first and multi-stage mass spectrum diagrams were obtained. The results showed that mass spectrometry fragments of *Schisandrin B* was analyzed under the positive mode, the cracking rings are mainly occurred, and free radicals such as H₂O, -CH₃ and -OCH₃ were lost. It was concluded that this study enriched the mass spectral decomposition, and provided basis for the study on chemical constituents of lignan compounds.

Keywords: *Schisandrin B*, ESI-MS/MS, fragmentation pathways

(责任编辑 叶丽萍 张志华, 责任译审 王 晶)