

呋喃香豆素类化合物电喷雾质谱裂解途径

孙明谦¹, 卢建秋², 张宏桂^{1*}

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102 2 北京中医药大学, 北京 100029)

摘要 目的: 对呋喃香豆素类化合物(补骨脂素、异补骨脂素、欧前胡素、异欧前胡素、珊瑚菜素)在电喷雾质谱下的裂解途径进行探讨。方法: 用液相色谱-电喷雾串联质谱(LC-ESI/MS), 对该类化合物进行系统研究, 正离子模式下进行检测, 毛细管电压为 3.5 kV。液相色谱条件: 色谱柱为 Agilent XDB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为水-甲醇(35:65), 流速 0.6 mL·min⁻¹。结果: 在正离子模式下, 呋喃香豆素类化合物较容易连续失去羰基, 也能够失去二氧化碳分子, 呈现出一定的裂解规律。结论: 本文为呋喃香豆素类化合物的快速检测提供一种有效的质谱方法。

关键词: 呋喃香豆素; 高效液相色谱-电喷雾串联质谱; 裂解途径

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)01-0082-04

Fragmentation pathways of the furocoumarins in electrospray ionization mass spectrometry

SUN Ming-qian¹, LU Jian-qiu², ZHANG Hong-gui^{1*}

(1. School of Chinese Materia Medica of Beijing University of Chinese Traditional Medicine, Beijing 100102, China

2. Beijing University of Chinese Traditional Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective To study the collision-induced dissociation fragmentation pathways of the furocoumarins (psoralen, isopsoralen, imperatorin, isoperatorin, phellipterin) in electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS). **Methods** The samples of furocoumarins were analyzed by LC-ESI/MS in positive ion mode and the capillary voltage was 3.5 kV. An Agilent XDB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was adopted. The mobile phase was a mixture of water-methanol (35:65) at a flow rate of 0.6 mL·min⁻¹. **Results** The furocoumarins were inclined to lose CO continually, furthermore, the loss of CO₂ could be also observed. Fragmentation pathways of furocoumarins in ESI as a positive ion mode were summarized. **Conclusion** The established method by LC-ESI/MS can be adopted for sensitive and rapid identification of furocoumarins.

Key words furocoumarins; LC-ESI/MS; fragmentation pathway

天然香豆素类化合物可分为呋喃香豆素和吡喃香豆素两大类, 呋喃香豆素类化合物具有广泛生物活性, 对肿瘤、细胞增生、真菌、细菌、病毒等都具有一定的抑制作用^[1,2], 在光敏医学、光敏农药及分子生物学等领域也具有广泛用途^[3]。因此, 建立一种简便、快速的该类化合物结构鉴定的方法, 对其药理活性和其他作用的研究有重要意义。HPLC与MS联用技术结合了HPLC分离和MS定性的优势^[4], MS不但可以提供相对分子质量的信息还可以提供化合物的碎裂信息, 可为化学成分的归类和结构鉴定提供依据, 从而简化了化学成分的鉴定过程。本文通过高效液相色谱-电喷雾串联质谱(LC-ESI/

MS)技术对呋喃香豆素类化合物(补骨脂素、异补骨脂素、欧前胡素、异欧前胡素、珊瑚菜素)在软电离下呈现的裂解规律的总结, 提出了该类化合物在ESI/MS下的快速鉴定方法。

1 仪器与试剂

Agilent 1100系列液-质联用仪: Agilent LC/MSD Trap XCT Plus型质谱仪、高压二元梯度泵、二极管阵列检测器、自动进样器、柱温箱、ChemStations化学工作站等。所用对照品补骨脂素、异补骨脂素、欧前胡素、异欧前胡素、珊瑚菜素购于中国药品生物制品检定所, 乙腈(色谱纯, 美国Fisher公司), 水为双蒸水并经0.45 μm滤膜过滤。

* 通讯作者 Tel: (010) 84738642 E-mail: bzy714@163.com

2 实验方法

2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent XDB - C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为水 - 甲醇 (35: 65), 流速为 0.6 mL · min⁻¹。

2.2 质谱条件 ESI离子源, 离子源温度 350 °C, 毛细管电压 3.5 kV, 正离子检出模式, 雾化压力 275.8 kPa 干燥氮气流速 10 L · min⁻¹, 扫描范围: *m/z* 100~ 1000

2.3 样品处理 精密称取补骨脂素、异补骨脂素、欧前胡素、异欧前胡素、珊瑚菜素各 1 mg 分别置于 25 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 以 0.45 μm 滤膜过滤后, 各取 5 μL 分别注入 LC-MS 联机仪进行质谱分析。

3 结果与分析

通过对质谱检测结果分析, 对上述几个化合物的裂解途径进行了如下推导:

3.1 补骨脂素和异补骨脂素的裂解途径推导

补骨脂素和异补骨脂素为 5 位或 8 位都无取代基的呋喃香豆素类化合物, 在 ESI 正离子下均可形成质子化准分子离子 *m/z* 187 [M + H]⁺, 由于其内酯结构, 可失去中性 CO₂ 分子, 形成碎片离子 *m/z* 143 同时失去羰基和 CO₂ 分子形成碎片离子 *m/z* 115; 或者连续丢失羰基分别形成碎片离子 *m/z* 159, *m/z* 131^[5]。裂解途径见图 1- A, B, 相应质谱见图 2- A, B。

3.2 欧前胡素与异欧前胡素的裂解途径推导

欧前胡素和异欧前胡素为 5 位或 8 位单取代的呋喃香豆素类化合物 (取代位置与氧相连)。在 ESI 正离子模式下均可形成质子化准分子离子 *m/z* 271 [M + H]⁺, 其先失去侧链形成碎片离子 *m/z* 203 继续失去 CO₂ 分子, 形成碎片离子 *m/z* 159 同时丢失羰基和 CO₂ 后形成碎片离子 *m/z* 131; 或者 *m/z* 203 离子连续丢失 3 个羰基分别形成碎片离子 *m/z* 175, *m/z* 147, *m/z* 119^[6]。裂解途径见图 3- A, B 相应质谱见图 4- A, B。

3.3 珊瑚菜素的裂解途径推导 珊瑚菜素为 5 位和 8 位同时与氧原子相连的呋喃香豆素类化合物, 在 ESI 正离子模式下可形成质子化准分子离子 *m/z* 301 [M + H]⁺ 离子。异戊烯醚侧链断裂形成碎片离子 *m/z* 233 此碎片离子的碎裂途径较多, 可失去甲基形成碎片离子 *m/z* 218 失去羰基形成碎片离子 *m/z* 205 同时失去甲基和羰基则形成碎片离子 *m/z* 190 甲氧基的碎裂可以失去甲醛或者其受 1 位上活泼质子的作用而丢失 CH₃OH 分子, 分别形成碎

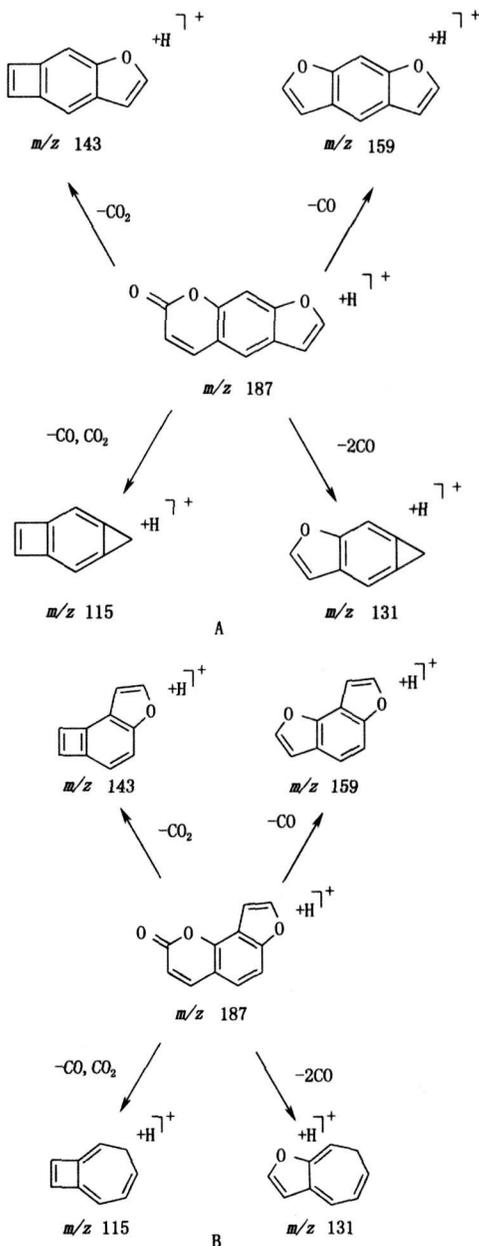


图 1 正离子模式下的补骨脂素(A)及异补骨脂素(B)裂解途径
Fig 1 Proposed fragmentation pathways of psoralen(A) and isopsoralen(B)

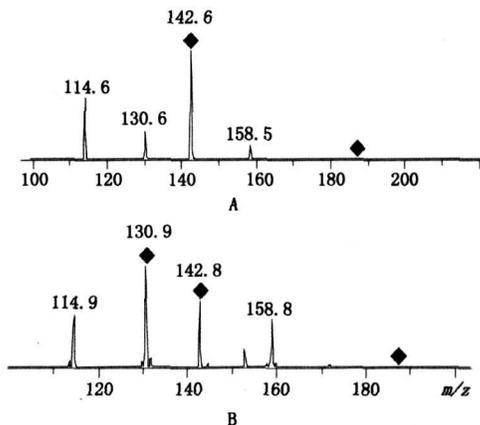


图 2 补骨脂素(A)及异补骨脂素(B)质谱图
Fig 2 Positive ESI/MS of psoralen(A) and isopsoralen(B)

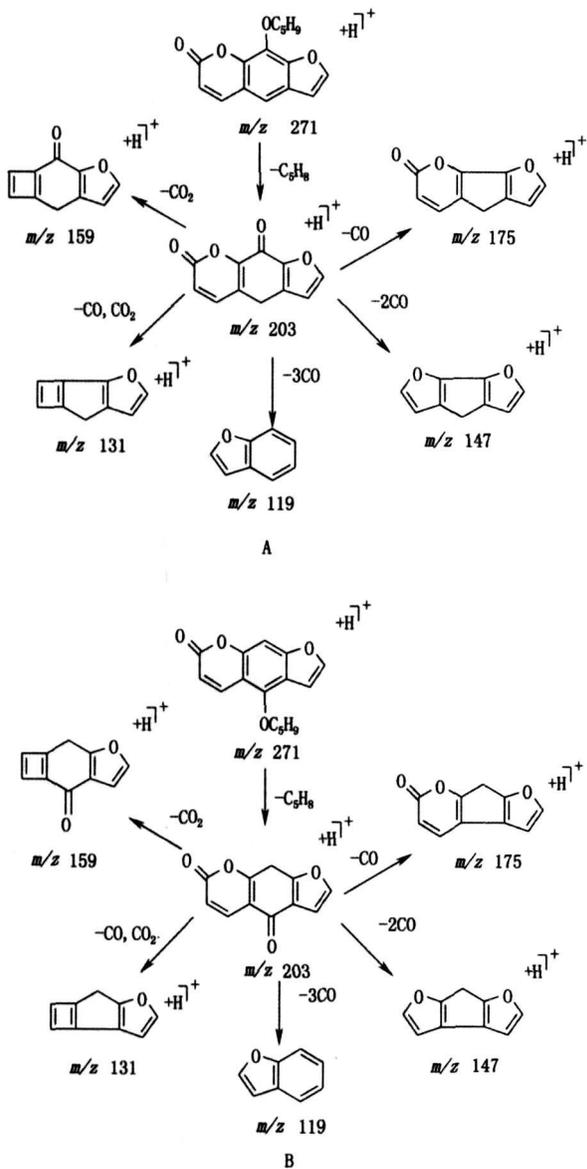


图3 正离子模式下欧前胡素(A)及异欧前胡素(B)的可能裂解途径
Fig 3 Proposed fragmentation pathways of psoralen(A) and isopsoralen(B)

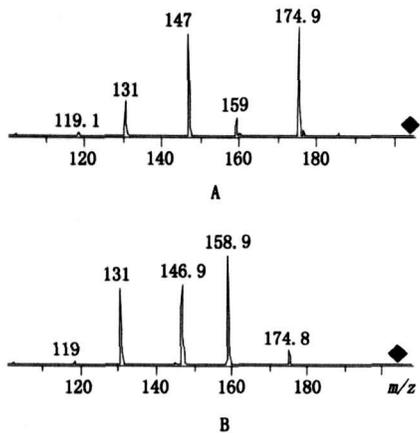


图4 欧前胡素(A)及异欧前胡素(B)质谱图
Fig 4 Positive ESL/MS of imperatorin(A) and isomerperatorin(B)

片离子 m/z 203和 201。同时失去甲醛和羰基形成碎片离子 m/z 175。连续失去 2个羰基形成碎片离子 m/z 177。裂解途径如图 5 相应质谱见图 6-A、B。

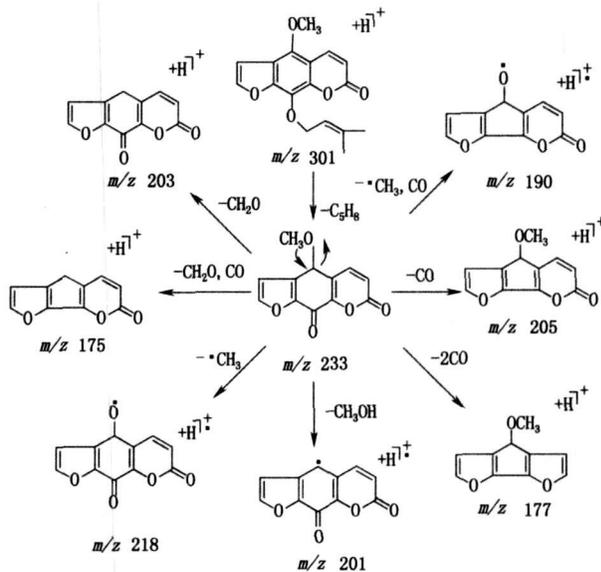


图5 正离子模式下珊瑚菜素的可能裂解途径
Fig 5 Proposed fragmentation pathways of phellopterin

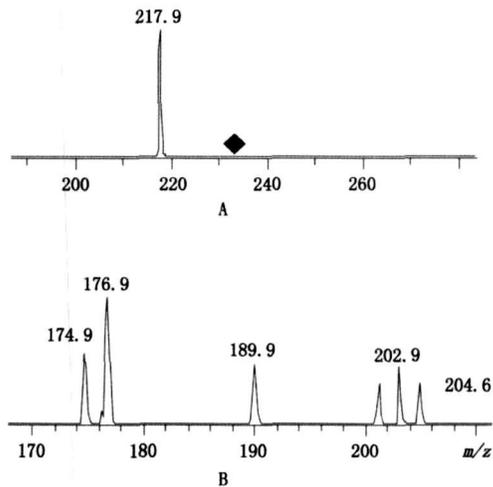


图6 珊瑚菜素(A)及其主要碎片离子(B)质谱图
Fig 6 Positive ESL/MS of phellopterin(A) and its main product ion(B)

4 讨论

4.1 由于呋喃香豆素类化合物的特点, 比较容易连续失去质量为 28的羰基, 内酯结构使其较容易失去质量为 44的 CO_2 分子。这些都可以作为判断这类化合物的一种方法。

4.2 呋喃香豆素类化合物主要有 3种碎裂形式失去羰基, 由环上的羰基(5及 8位羰基)碎裂, 酯键上的羰基碎裂和呋喃环上的碳氧碎裂。对其失去的先后顺序进行了如下推测: 酯键上的羰基失去后形成

的结构仍是杂环结构, 不如 5 及 8 位的羰基断裂后形成的结构稳定。因此, 5 及 8 位羰基最容易失去, 酯键上的羰基次之, 而呋喃环的碎裂要同时失去环上的碳、氧原子, 碎裂程度相对较高, 因此, 最难失去羰基。

4.3 在珊瑚菜素的侧链裂解中, 甲氧基的碎裂是失去甲基 (m/z 233 \rightarrow 218), 碎片离子也带有自由基, 而率先碎裂的异戊烯醚侧链则失去的是中性分子 (m/z 301 \rightarrow 233), 碎片离子未带自由基, 可见软电离质谱失去的大分子碎片应以中性丢失为主, 当失去的碎裂结构过小而较难形成中性分子时, 则会丢失带有自由基的碎片离子。同时甲氧基对碎片离子 m/z 233 的碎裂途径产生了较大影响, 不仅会丢失甲基, 也引发了一些其他的裂解途径, 使得珊瑚菜素与补骨脂素、异补骨脂素、欧前胡素、异欧前胡素的裂解途径差别较大。

4.4 实验中选择了蠕动泵进样和 HPLC 进样 2 种方式进行考察, 实验结果二者区别不大, 成分分析一般都是通过 HPLC 进样达到分离和鉴定的目的, 为更好地接近应用条件, 本文也选择这种进样方式。

参考文献

- Schuster N, Christiansen C, Jakupovic J *et al*. An unusual [2+2] cycloadduct of terpenoid coumarin from *Ethulia venonioides* *Phytochemistry*, 1993, 34: 172
- Pathak MA, Fitzpatrick T. The evolution of phototherapy with psoralens and UVA (PUVA) 2000 BC to 1992 AD. *Br J Photochem Photobiol* 1992; 14: 3
- Qin Zhaq Xi, Cantang Effects of huperzine A on acetylcholinesterase isoforms in vitro: comparison with tacrine, donepezil, rivastigmine and physostigmine. *Eur J Pharmacol*, 2002, 455: 101
- JIN Yu(金郁), ZHANG Fei-fang(章飞芳), XIAO Yuan-sheng(肖远盛). The characterization of standard multi-components Chinese medicine by high performance liquid chromatography/mass spectrometry (HPLC/MS) [中药标准组分的高效液相色谱/质谱联用 (HPLC/MS) 表征]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med* (世界科学技术-中医药现代化), 2006, 8(3): 99
- CONG Pu-zhu(丛蒲珠), LI Sun-yu(李笋玉). *Natural and Organic Mass Spectroscopy* (天然有机质谱学). Beijing (北京): China Medic-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House (中国医药科技出版社), 2001: 700
- ES-SafiNE, Kerhoas L, Ducrot PH. Fragmentation study of iridoil glucosides through positive and negative electrospray ionization collision-induced dissociation and tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21(7): 1165

(本文于 2008 年 4 月 17 日收到)