

芍药苷的电喷雾串联质谱研究

董红娟^{1,2}, 刘志强¹, 宋凤瑞¹, 于 湛¹, 李惠琳¹, 刘淑莹¹

(1. 中国科学院长春应用化学研究所, 长春质谱中心, 长春 130022;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要 采用电喷雾串联质谱(ESI-MSⁿ)技术, 结合 H/D 交换方法, 在正、负离子检测模式下对白芍药材中主要成分芍药苷的质谱裂解规律进行了系统研究. 实验结果表明, 该化合物在正、负离子模式下均得到较好的质谱信息, 且在正离子模式下, 电喷雾质谱分析的灵敏度更高. 同时获得了其质谱裂解规律, 为白芍中其它化合物的分析鉴定提供了有效的质谱方法.

关键词 芍药苷; 电喷雾串联质谱(ESI-MSⁿ); H/D 交换; 裂解机理

中图分类号 O657 **文献标识码** A **文章编号** 0251-0790(2006)11-2066-04

白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia Lactiflora* Pall. 的去外皮干燥根, 主要产自浙江、四川等省, 具有抗炎、抗病毒、解痉挛、镇痛及护肝等多种药理活性^[1], 白芍中的单萜苷类化合物具有平肝止痛、养血调经作用, 对四肢挛痛、血虚萎黄、月经不调、自汗和盗汗等^[2]的治疗具有明确的药理功效. 芍药苷是白芍中的主要活性成分, 属于单萜苷类, 其药理活性研究已有大量报道^[3], 因此, 建立一种简便、快速的芍药苷结构鉴定的新方法, 对芍药苷的药理活性研究有着重要的意义. 近年来, 随着质谱技术在中药中的广泛应用, 分析并鉴定中药复杂体系中的化学成分更加简便、快速. 有关中药中的生物碱^[4~6]和黄酮苷类^[7,8]化学成分的电喷雾质谱研究已有大量报道. 利用色谱及核磁共振等手段分离鉴定单萜苷类的化合物已有报道^[9~11], 但有关白芍中芍药苷的电喷雾质谱碎裂机理的研究尚未见文献报道. 本文采用 H/D 交换的方法, 利用电喷雾软电离方式的多级质谱技术, 阐明了芍药苷的质谱碎裂机理.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

所有质谱数据均在 Finnigan LCQTM 离子阱质谱仪上完成. 采用电喷雾离子源, 样品溶液流速为 5 $\mu\text{L}/\text{min}$; ESI 条件: 喷雾电压为 4.8 kV; 加热毛细管温度 180 $^{\circ}\text{C}$; 扫描范围 m/z 50 ~ 1 000; 壳气为 N_2 气. 碰撞能量: 30%.

芍药苷标准品(中国药品生物制品检定所), 甲醇(色谱纯), 氘代甲醇(分析纯, 纯度 99%).

1.2 实验过程

将芍药苷用适量甲醇溶解并充分振荡, 取 1 μL 用甲醇稀释 20 倍后进行质谱分析; 再将芍药苷用适量氘代甲醇溶解, 振荡, 超声 30 min, 取 1 μL 以氘代甲醇稀释 20 倍后进行质谱分析.

2 结果与讨论

2.1 正离子检测模式下的 ESI-MS/MS 研究

将甲醇所溶解的样品进行电喷雾正离子质谱分析, 得到如 Scheme 1(A) 所示的数据, m/z 503 是

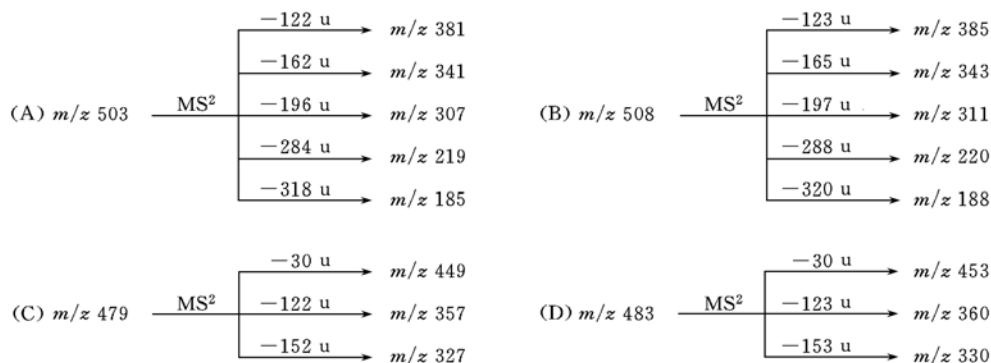
收稿日期: 2005-12-05.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 20273067, 20173057)和中国科学院知识创新工程重要方向项目(批准号: KGCX2-SW-213-06)资助.

联系人简介: 刘志强(1962 年出生), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事天然药物化学和有机质谱学研究.

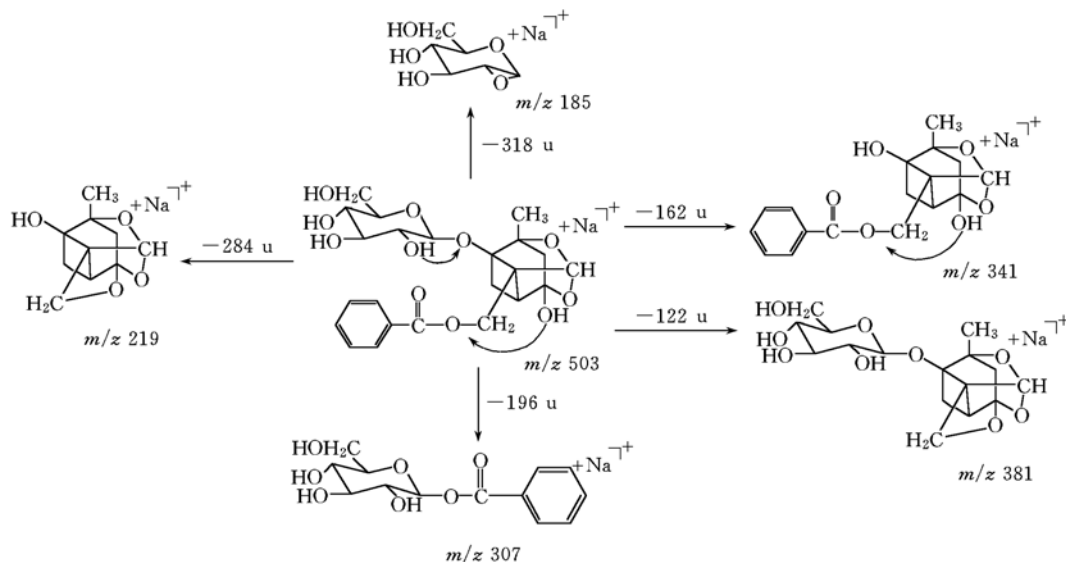
E-mail: liuzq@ciac.jl.cn

芍药苷的 $[M + Na]^+$ 分子离子峰. 在 30% 的能量碰撞下, m/z 503 离子失去一分子苯甲酸(122 u), 生成 m/z 381 离子; 失去一分子葡萄糖(162 u)生成 m/z 341 离子; 失去母核离子(196 u)生成 m/z 307 离子; 失去一分子苯甲酸和葡萄糖基(284 u)生成 m/z 219 离子; m/z 185 离子为葡萄糖分子的 $[M + Na]^+$ 加合离子峰.



Scheme 1 ESI-MS/MS data of paeoniflorin in the positive and negative ion mode

根据芍药苷断裂的以上质谱数据给出了芍药苷 $[M + Na]^+$ 离子可能的碎裂机理如 Scheme 2 所示.



Scheme 2 Proposed fragmentation pathways of $[M + Na]^+$ of paeoniflorin

将氘代甲醇所溶解的样品进行电喷雾正离子质谱分析, 得到 Scheme 1 (B) 所示的质谱数据. 在 30% 的碰撞能量下, m/z 508 离子失去 123 u, 生成 m/z 385 离子; 失去 165 u 生成 m/z 343 离子; 失去 197 u 生成 m/z 311 离子; 失去 288 u 生成 m/z 220 离子; 失去 320 u 生成 m/z 188 离子. m/z 508 比 m/z 503 多 5 u, 推测 m/z 508 离子是芍药苷氘代交换后形成的 $[M + Na]^+$ 加合离子, 芍药苷的葡萄糖基上有 4 个羟基, 在母核上有 1 个羟基, 加起来共有 5 个活泼氢, 因此, 可推断芍药苷上的活泼氢全部被氘取代, 即 m/z 508 离子为 $[M(D_5) + Na]^+$ 离子.

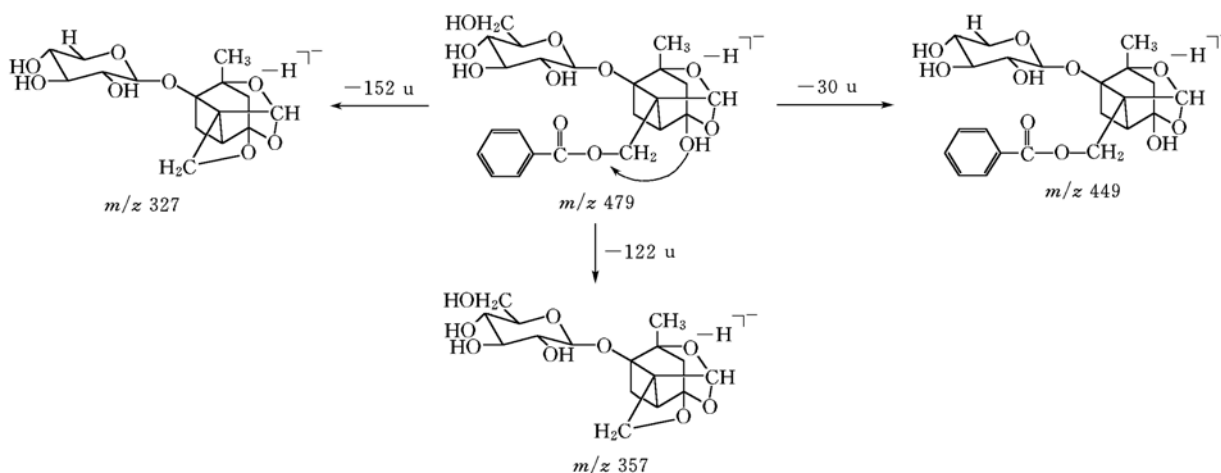
当 $[M + Na]^+$ 离子(m/z 503)发生碎裂时, 葡萄糖基上的 H 发生转移, 失去葡萄糖残基(162 u)生成 m/z 341 离子; 而失去一分子的苯甲酸(122 u), 则生成 m/z 381 离子. 氘代交换后, 葡萄糖基的 4 个活泼氢被氘代, 如果转移葡萄糖基 C-2 位羟基上的 D, 则失去葡萄糖残基(165 u)后, 生成 m/z 343 离子; 而在失去苯甲酸分子时, 如果母核上 C-4 位羟基上的 D 发生转移时, 则可生成的离子正好与 m/z 385 相符; 如果葡萄糖残基(165 u)和苯甲酸分子(123 u)同时失去, 则生成的离子为 m/z 220.

氘代后母核部分的质量数变为 197 u, 与失去母核后生成的 m/z 311 离子为互补离子, 此结论同样得到了高分辨数据的支持, m/z 311 离子的元素组成为 $C_{13}H_{12}O_7D_4Na$, 偏差为 δ 1.28. m/z 188 则是氘代的葡萄糖残基与钠的加合离子 $[M(D_3) + Na]^+$. 氘代后芍药苷准分子离子断裂的质谱数据证明了

Scheme 1 (A) 中芍药苷 $[M + Na]^+$ 离子的碎裂方式的正确性.

2.2 负离子模式下的 ESI-MS/MS 研究

将甲醇溶解的样品进行负离子检测模式的电喷雾质谱分析, 得到 Scheme 1 (C) 所示的质谱数据. 在 MS 谱中, 芍药苷以 $[M - H]^-$ 离子 (m/z 479) 的形式存在. 在 20% 的能量碰撞下, m/z 449 离子是由 m/z 479 丢失一分子甲醛分子产生的, m/z 357 是丢失一个苯甲酸分子产生的, m/z 327 离子则是丢失一个苯甲酸分子和一个甲醛分子产生的^[12]. 根据 m/z 479 离子的质谱断裂情况, 提出了 $[M - H]^-$ 离子的可能碎裂机理如 Scheme 3.



Scheme 3 Proposed fragmentation pathways of $[M - H]^-$ of paeoniflorin

根据上述讨论, 氘代交换后, 芍药苷应该形成 m/z 483 $[M - D]^-$ 离子, 在一定的能量碰撞下, 得到 Scheme 1 (D) 所示的质谱数据. m/z 453 离子是由 m/z 483 离子丢失葡萄糖基中 6-位碳上的一个甲醛分子 (30 u) 生成的, m/z 360 离子是由 m/z 483 离子通过母核上的 D 转移后丢失了一分子苯甲酸分子生成的; 而 m/z 330 离子则是由 m/z 483 离子丢失了一个氘代交换后的苯甲酸分子和一个甲醛分子产生的.

3 结 论

芍药苷在正离子模式下没有生成 $[M + H]^+$ 离子, 而检测到了 $[M + Na]^+$ 离子. 在正、负离子模式下芍药苷均失去一分子苯甲酸; 但在正离子模式下, 芍药苷失去了葡萄糖残基, 而在负离子模式下葡萄糖残基不易失去, 只是失去了葡萄糖基六位碳上的一个甲醛分子. 根据芍药苷在电喷雾质谱中正、负离子模式下的电离特点, 对比研究该化合物的碎裂规律, 可以揭示该化合物的电喷雾质谱碎裂规律和建立快速、准确结构鉴定的质谱学方法.

参 考 文 献

- [1] ZHANG Xiao-Yan (张晓燕), WANG Jin-Hui (王金辉), LI Xian (李 铤). Journal of Shenyang Pharmaceutical University (沈阳药科大学学报) [J], 2001, **18**(1): 30—32
- [2] ZOU Zhong-Mei (邹钟梅), XU Li-Zhen (徐丽珍), YANG Shi-Lin (杨世林). Acta Pharmaceutica Sinica (药理学学报) [J], 2003, **38**(1): 46—49
- [3] Hyun O. Y., Woo K. K., Jae Y. K. *et al.*. Fitoterapia [J], 2004, **75**: 45—49
- [4] XU Qing-Xuan (许庆轩), WANG Yong (王 勇), LIU Zhi-Qiang (刘志强) *et al.*. Chem. J. Chinese Universities (高等学校化学学报) [J], 2005, **26**(4): 638—641
- [5] Wu Wei, Song Feng-rui, Yan Cun-yu *et al.*. J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis [J], 2005, **37**: 437—446
- [6] Wang Dao-wu, Liu Zhi-qiang, Guo Ming-quan *et al.*. J. Mass Spectrometry [J], 2004, **39**(11): 1356—1365
- [7] DOU Jian-Peng (窦建鹏), LIU Zhi-Qiang (刘志强), LIU Shu-Ying (刘淑莹). Chem. J. Chinese Universities (高等学校化学学报) [J], 2004, **25**(5): 837—840
- [8] Wu Wei, Yan Cun-yu, Li Li *et al.*. J. Chromatography A [J], 2004, **1047**(2): 213—220

- [9] WU Shao-hua, LUO Xiao-dang, MA Yun-bao *et al.*. Chinese Chemical Letters[J], 2002, **13**(5): 430—431
- [10] Ivanka N. K., Mario F. S., Daniela I. T.. Phytochemistry[J], 1998, **47**(7): 1303—1307
- [11] ZHANG Xiao-Yan(张晓燕), WANG Jin-Hui(王金辉), LI Xian(李 铎). Journal of Shenyang Pharmaceutical University(沈阳药科大学报)[J], 2001, **18**(1): 27—29
- [12] LI Xiu-Ling(李秀玲), XIAO Hong-Bin(肖红斌), HU Jie-Han(胡皆汉) *et al.*. Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学)[J], 2003, **31**(3): 329—331

Studies on Paeoniflorin by Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry

DONG Hong-Juan^{1,2}, LIU Zhi-Qiang^{1*}, SONG Feng-Rui¹, YU Zhan¹, LI Hui-Lin¹, LIU Shu-Ying¹

(1. Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences,
Changchun Center of Mass Spectrometry, Changchun 130022, China;

2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Paeoniflorin was studied by using Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (ESI-MSⁿ) both in positive and negative modes. Through the experimental method of hydrogen and deuterium exchange, the collision-induced dissociation fragmentation pathways were described and it proved that the precursor ion of paeoniflorin was clines to loss one molecule benzoic acid in both positive and negative MS² spectra, furthermore, the loss of glucose residue was observed in positive ion mode, while, only one formaldehyde molecule loss from C-6 of glucose was observed in negative ion mode. The established method could be used for the sensitive and rapid identification of monoterpene glycoside in *Paeonia albiflora*.

Keywords Paeoniflorin; Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (ESI-MSⁿ); H/D exchange; Fragmentation mechanism (Ed.: A, G)

CEM 公司微波化学合成及生命科学学术交流会

美国 CEM 公司将于 2006 年 12 月 3 日—8 日先后在北京、上海和广州举办关于微波应用于化学合成及生命科学领域的最新进展的专题学术交流会。

美国 CEM 公司是全球最大的微波化学仪器生产商, 一直被称为微波技术的领导者。CEM 公司长期致力于微波化学合成与生命科学仪器的研发和技术创新, 曾先后有 3 项此类仪器获得 R&D100 大奖。目前 CEM 在微波化学合成和生命科学领域又有全新突破, 为了加强与国内科研人员的技术交流, 特举办此次全球同步的学术交流会。

主讲人: Michael J. Collins, 微波化学专家, CEM 公司总裁。

欢迎有兴趣的专家、学者和专业人员向我公司报名, 报名方式:

请填写下面的《报名回执表》传真至: 010-64205632 或发电子邮件至: sales@analyx.com.cn

我们将在收到您的报名表后尽快给您寄出正式邀请函。如需了解更详细的信息, 也可来电 010-64278205 咨询。联系人: 方吉海、邬文珍。

微波化学合成及生命科学学术交流会报名回执表(人数: 人)

姓 名		单位名称	
地 址		邮 编	
电 话		传 真	
E-mail		研究方向	