

苯环壬酯及其代谢物的电子轰击和电喷雾电离质谱分析

徐艳霞¹, 寇于营¹, 薛明^{1,*}, 阮金秀², 张振清², 刘克良²

(1. 首都医科大学化学生物学与药学院药理学系, 北京 100069;

2. 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要:采用电子轰击质谱(EI-MS)、电喷雾电离质谱(ESI-MS)两种技术分别对苯环壬酯结构和裂解途径进行了研究。采用 ESI-MS 获得 m/z 358[M+H]⁺、156、342 等质谱峰,并对大鼠尿中的代谢产物结构进行了确证;采用 EI-MS 获得 m/z 357[M]⁺、138、175、154、215 等质谱峰,并解释了其中的主要特征碎片离子。

关键词:苯环壬酯;电子轰击质谱;电喷雾电离质谱;代谢产物

中图分类号:O657.63; O622.5; R969 文献标识码:A 文章编号:1004-2997(2006)01-22-04

Analysis of Phencynonate by Electron Ionization Mass Spectrometry and Electron Spray Ionization Mass Spectrometry

XU Yan-xia¹, KOU Yu-ying¹, XUE Ming^{1,*}, RUAN Jin-xiu², ZHANG Zhen-qing², LIU Ke-liang²

(1. Department of Pharmacology, School of Chemical Biology and Pharmaceutical Sciences, Capital University of Medicine Science, Beijing 100069, China;

2. Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology, Beijing 100850, China)

Abstract: Electron ionization mass spectrometry (EI-MS) and electron spray ionization mass spectrometry (ESI-MS) were used for the elucidations of the structure and fragmentation pathway of phencynonate (PC). The quasi-molecular ion peak m/z 358[M+H]⁺, and m/z 156, 342 were detected by ESI-MS, the metabolite of PC in rat urine were also detected and the fragmentation pathway of PC was described; m/z 357[M]⁺ and m/z 138, 175, 154, 215 were detected by EI-MS. Further more, the fragmentation pathway of PC was also explained. The results provided a valuable information for the investigation and development of drugs similar to PC.

Key words: phencynonate; electron ionization mass spectrometry; electron spray ionization mass spectrometry; metabolite

苯环壬酯(phencynonate, PC)是由军事医学科学院毒物药物研究所研制的 I 类中枢抗胆

碱新药,商品名飞赛乐片,化学名称为苯基环戊基羟基乙酸-N-甲基-3-氮杂双环[3,3,1]壬-9 α

收稿日期:2005-04-04;修回日期:2005-07-27

基金项目:国家自然科学基金重大项目(编号:203900508)

作者简介:徐艳霞(1977~),女(汉族),山东德州人,讲师,主要从事质谱在药物代谢应用研究, E-mail:ldw86@sohu.com

* 通讯作者:薛明(1962~),男(汉族),江苏南京人,博士,研究员,主要从事药物代谢研究, E-mail:xuemd@cpums.edu.cn

酯酸盐, 分子式为 $C_{22}H_{31}NO_3$, 相对分子质量 (M_r) 为 357。经多年临床应用证明 PC 具有明确的预防和治疗晕动病和美尼尔氏综合症的作用^[1-3], 进一步的药理实验和部分临床报告显示该药有较好的治疗帕金森氏综合症和抗癫痫作用。为了探讨 PC 在动物体内的代谢转化, 本文采用电子轰击质谱 (EI-MS)、电喷雾电离质谱 (ESI-MS) 两种手段对 PC 及在大鼠尿中的 PC 代谢产物进行了质谱研究。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

Finnigan DECA XP MAX 质谱仪: 美国菲尼根公司产品, 配有 ESI 源, 离子阱质量分析器, Tune Plus 工作软件, Mass Frontier 质谱解析软件。岛津 QP5000 质谱仪, GC-17A 气相色谱仪。

1.2 主要材料与试剂

PC 由军事医学科学院毒物药物研究所合成, 纯度 $>99\%$, 其化学结构式示于图 1。

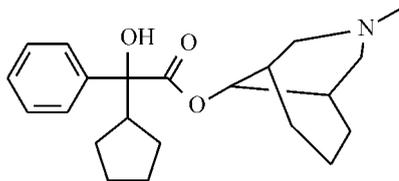


图 1 PC 的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of PC

动物: Wistar 大鼠, 二级, 体重 (220 ± 20) g, 由首都医科大学动物部提供, 动物合格证号 SCXK 11-00-0012。

1.3 实验条件

1.3.1 色谱条件 HP-5 毛细管柱 $30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$, (J&W scientific cat NO. 122. 1032); 载气为氦气, 流速为 1 mL/min ; 升温程序: 初温 $60\text{ }^\circ\text{C}$ (保持 1 min), $25\text{ }^\circ\text{C/min}$ 升温到 $250\text{ }^\circ\text{C}$, 保持 15 min 。

1.3.2 质谱条件 ESI 源鞘气: N_2 (35 psi); 喷雾电压 5 kV ; 毛细管电压 18 V ; 离子传输管温度 $320\text{ }^\circ\text{C}$; 电子倍增管电压 680 V 。流动注射泵进样速度 $8\text{ }\mu\text{L/min}$ 。MS/MS 二级质谱扫描: 扫描范围 m/z $100 \sim 500$, 正离子扫描方式。EI 源样进口温度 $250\text{ }^\circ\text{C}$; 加速电压 70 V ; 扫描速度 3 scan/s ; 质量扫描范围 m/z $35 \sim 500$ 。

2 结果与讨论

2.1 盐酸 PC 的 ESI-MS 谱

在 ESI-MS 谱中, 出现了 m/z $358 [M+H]^+$ 、 156 、 342 。PC 的 ESI-MS 质谱图及裂解途径见图 2。

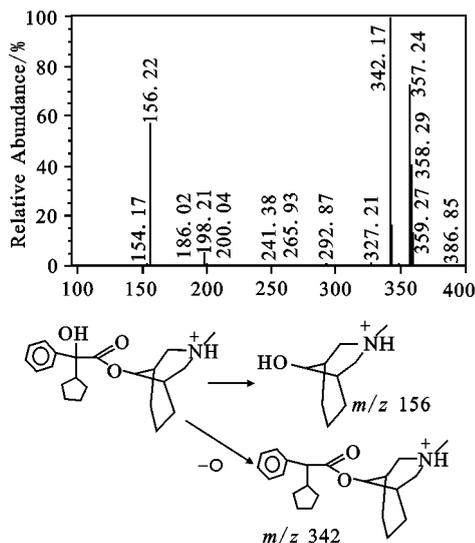


图 2 PC 的 ESI-MS 质谱图及裂解途径

Fig. 2 ESI-MS spectrum and fragmentation pathways of PC

PC 的相对分子质量为 357, 其 $[M+1]$ 峰为 358.2, 与理论值相符合。整个分子失去羟基有碎片峰 m/z $342 [M-16]^+$, 与前人用量子化学手段研究与 PC 同系列的化合物戊基噻醚结构所得的结论相互印证, 即醇羟基在空间的优势构象位置并不确定, 由于三个大取代基团旋转势垒较高使其能够以相对稳定的优势构象存在^[4]。断裂苯基环戊基羟基乙酸与 *N*-甲基-3-氮杂双环[3, 3, 1]壬-9 α 中间的酯氧键有碎片峰 m/z $156 [M-202]^+$ 。ESI-MS 谱中的重要峰均与盐酸 PC 的结构相吻合。

2.2 盐酸 PC 的 EI-MS 谱

PC 的 EI-MS 谱中出现了分子离子峰 m/z $357 [M]^+$, 与 PC 的分子式 $C_{22}H_{31}NO_3$ 相符合。EI-MS 谱中, 出现了丢失 OH (m/z 17) 而生成的离子 m/z 340, 表明分子中可能有羟基存在; 苯基环戊基羟基乙酸与 *N*-甲基-3-氮杂双环[3, 3, 1]壬-9 α 中间的酯键有碎片峰 m/z $138 [M-219]$, 断裂苯基环戊基羟基乙酸与 *N*-甲基-3-氮杂双环[3, 3, 1]壬-9 α 中间的羰基碳氧单键有碎片峰 m/z $154 [M-203]$ 出现, 有碎片离子 m/z 91、107 出现, 表明分子结构中有苯氧基存在。

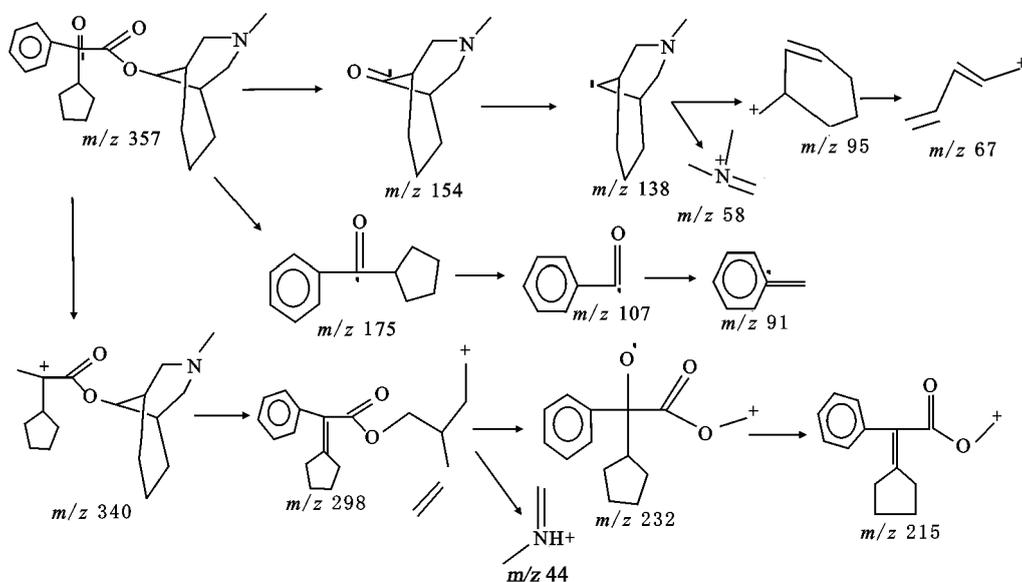
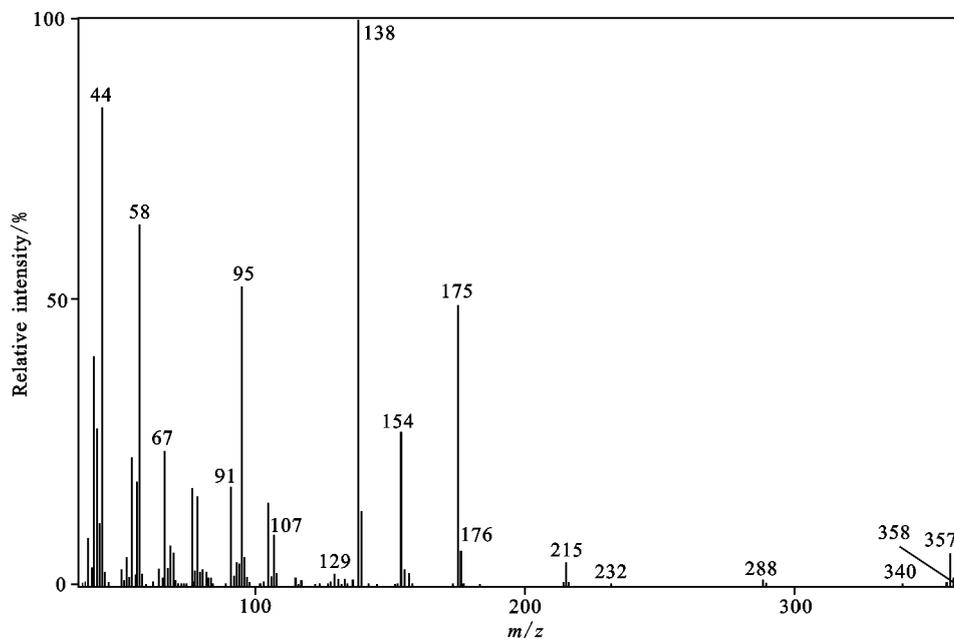


图 3 PC 的 EI-MS 质谱图及裂解途径

Fig. 3 EI-MS spectrum and fragmentation pathways of PC

将分子裂解过程与 EI-MS 图谱数据核对,结果比较吻合。PC 的 EI-MS 质谱图和裂解途径见图 3。

经过解析,PC 的 EI-MS 质谱和 ESI-MS 质谱中的主要碎片离子峰都与其结构式中主要骨架片段符合,所有的重要碎片峰均得到了满意的解释。通过实验分析和对 PC 的 EI-MS、ESI-MS 图谱特征探讨,为今后对其进行结构修饰以及用 LC/MS 联用技术对其体内过程进行研究提供了一定的理论和实验依据^[5],对同类结构化合物的质谱解析可以提供一定的参考。

2.3 PC 代谢产物的 ESI 图谱

给大鼠肌注 0.25 mg 盐酸 PC,并收集其 0~24 h 的尿液。部分尿液进行浓缩后,用甲醇溶解,用 ESI 源直接进样寻找其代谢产物,得到其羟化 m/z 374[M+17]和双羟化 m/z 390[M+34]两个可能的代谢产物,进行 MS/MS 二级质谱扫描得到与原形 PC 相吻合的失去羟基的碎片峰 m/z 342[M-16]⁺,断裂苯基环戊基羧基乙酸与 N-甲基-3-氮杂双环[3,3,1]壬-9 α 中间的酯键中与羰基相连的单氧键碎片峰 m/z 156[M-202]⁺。其他相关的碎片系列质谱图

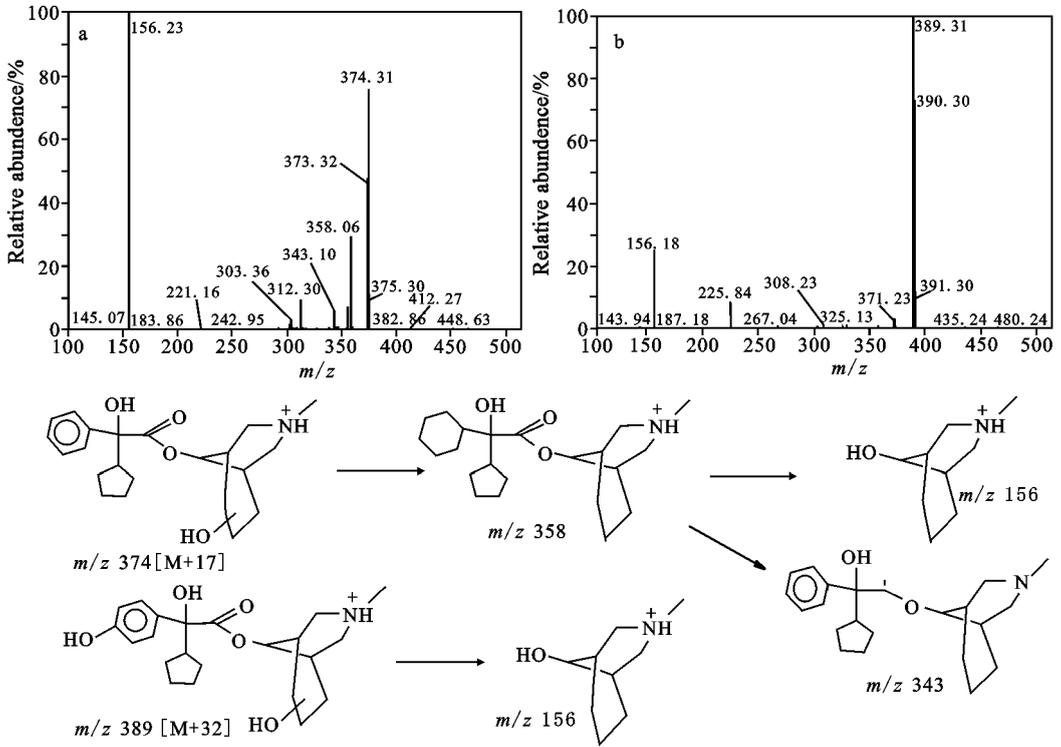


图 4 大鼠尿中 PC 代谢产物的 ESI-MS 质谱图

(a) m/z 374 [M+17] MS/MS 系列离子; (b) m/z 390 [M+34] MS/MS 系列碎片离子;

Fig. 4 ESI-MS spectrum and fragmentation pathways of metabolite of PC in rat urine

(a) MS/MS for m/z 374 [M+17]; (b) MS/MS for m/z 390 [M+34]

及裂解途径见图 4。

3 结 论

采用 EI-MS、ESI-MS 两种质谱技术对 PC 的结构和裂解途径进行研究,并完整地归属了其中的主要特征碎片离子,分析和讨论了该化合物的结构及其相应的 EI-MS、ESI-MS 图谱特征。EI 电离方式可以得到比较完整的化合物的结构信息,为我们进行结构确认提供了依据,ESI 作为一种“软”电离方式,特别是离子阱质谱^[6-7],可以进行多级 MS 操作,为寻找代谢物提供了方便,这两种技术共同使用相得益彰,为今后对其进行结构修饰以及用液相色谱-质谱联用技术对其体内过程进行研究提供一定的理论和实验依据。

致谢:军事医学科学院刘河博士为我们的工作提供了标准样品,对此表示真诚的谢意。

参考文献:

- [1] 戴建国,刘传绩,于立身,等. 盐酸苯环壬酯抗运动病效应的观察[J]. 中华航空航天医学杂志,1997,8(1):10-14.
- [2] 刘 锋,胡绪英,李前远. 人血中盐酸苯环壬酯的 GC-MS/SIM 定量测定[J]. 药学学报,1994,29(10):778-784.
- [3] 王维贤,高立军. 高效液相色谱法测定盐酸苯环壬酯片的含量[J]. 药物分析杂志,1999,19(5):311-313.
- [4] 李 松,焦克芳. 抗胆碱药物 8018 四个光学异构体的结构与理化性质研究[J]. 中国科学(B 辑),1994,24(12):1 248-1 251.
- [5] 谢剑炜,杨造萍,阮金秀. 手性药物对映体的环糊精手性流动相、手性固定相 HPLC 法拆分[J]. 药学学报,1998,33(2):143-147.
- [6] 许佑君,刑 杰,钟大放. 全合成左旋士的宁六种关键中间体的电喷雾离子阱质谱研究[J]. 质谱学报,2004,25(1):12-16.
- [7] 薛 明,阮金秀,袁淑兰,等. LC-MS/MS 及离子簇技术分析鉴定盐酸戊乙奎醚在大鼠体内代谢产物[J]. 药学学报,2002,37(10):802-806.