

全合成左旋土的宁六种关键中间体的电喷雾离子阱质谱研究

许佑君, 邢 杰, 钟大放*

(沈阳药科大学药物代谢与药物动力学实验室, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:采用电喷雾离子阱质谱法(ESI-MS)对不对称全合成左旋土的宁的六种中间体进行了深入探讨, 获得了它们的结构碎片信息, 通过比较它们的异同对其质谱裂解途径进行解析。结果表明:以正离子检测方式下可以得到较强的准分子离子 $[M+H]^+$ 峰, 并检测到各自少量的加合离子。它们的 $(+)$ ESI- MS^n ($n=1\sim3$)质谱主要产生氧醚键 C-O 和硫醚键 S-C 断裂的碎片。这些特征为全合成土的宁的关键中间体及其结构类似物的结构推断提供了有力的证据, 有助于提高合成工作效率。

关键词:质谱学; 左旋土的宁研究; 电喷雾离子阱质谱; 关键中间体; 裂解途径

中图分类号: O657.63; TQ460.72; TQ464.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2004)01-12-05

Study on the Electrospray Ionization Ion Trap Mass Spectra of Six Key Intermediates Related to the Total Synthesis of (–)-Strychnine

XU You-jun, XING Jie, ZHONG Da-fang

(Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics,
Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: To investigate the mass spectrometric characteristics of six key intermediates related to the total synthesis of (–)-strychnine, their mass spectra were obtained using electrospray ionization ion trap mass spectrometer (ESI-MS) in a multi-stage MS full scan mode performed on a Finnigan LCQ. The mass spectra were interpreted mainly by comparing the fragments of six compounds, and their fragmentation patterns were proposed. The results indicated the strong pseudomolecular ions were obtained in the positive mode and a small number of adduct ions were found. The positive ion proposed full scan ESI- MS^n ($n=1\sim3$) of each compound gave characteristic fragment ions formed through cleavage of the C-O bond and S-C bond in their structures. These characteristics can be applied further to the structure elucidation of the key intermediates and the analogues related to the total synthesis.

Key words: mass spectrometry; study on (–)-strychnine; electrospray ionization ion trap mass spectrometry (ESI-MS); key intermediates; fragmentation pattern

收稿日期: 2003-06-26; 修回日期: 2003-10-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39930180)

作者简介: 许佑君 (1965~), 男 (汉族), 安徽六安市人, 博士, 药理学专业

* 通讯作者: 钟大放, 教授, 博士生导师, E-mail: zhongdf@china.com

土的宁 (Strychnine), 又名番木鳖碱, 为 Strychnos 类最具代表性的生物碱, 是中枢抑制性递质甘氨酸的拮抗剂, 具有很强的生理活性^[1]。土的宁的分子结构比较复杂, 24 个原子构成了 7 个骈环和 6 个手性中心, 其中 5 个手性中心同处于一个环己基环上。由于其独特的结构, 较强的药理活性和毒性, 有机化学家们一直对土的宁有着浓厚的兴趣^[2,3]。近期本实验室以环己烯酮为起始原料, 利用不对称 Michael 反应, 实现了左旋土的宁的不对称全合成^[4,5]。该过程中涉及到六种中间体 (Intermediates related to strychnine, IS), 均为首次合成。本工作拟分析和讨论它们的质谱裂解机制, 并对其断裂产生的碎片进行较为详细的解析, 其结果将有助于阐明全合成左旋土的宁过程中其他中间体及其类似物的结构, 并有助于提高合成工作效率。

1 实验部分

1.1 主要仪器

LCQ 液相色谱-质谱联用仪: 美国 Finnigan 公司产品, 包括电喷雾离子化源 (ESI) 以及 LCQ

1.0 数据处理系统, 并配有直接进样用注射泵和 250 μL 进样器, 具有“软电离”和多级离子阱质谱功能; 斯洛伐克 Highchem 公司 Mass Frontier 1.0 质谱解析软件。

1.2 主要药品与试剂

全合成左旋土的宁的六种关键中间体: 东京大学大学院药理学系研究科柴崎正胜教授实验室合成, 结构示于图 1, 已通过红外 (IR)、紫外 (UV)、核磁共振 (NMR) 和质谱 (MS) 确证, 中间体的分子式和分子量列于表 1; 甲醇: 色谱纯; 水: 二次重蒸水。实验时取样品适量, 用甲醇-水 ($V(\text{甲醇}):V(\text{水})=50:50$) 配制成浓度约为 10 $\mu\text{mol/L}$ 的待测溶液。

1.3 ESI-MSⁿ 分析条件

正离子检测: 离子源喷射电压 4.50 kV; 毛细管温度 180 $^{\circ}\text{C}$; 毛细管电压 6.25 V; 鞘气 (N_2) 流速 0.75 L/min; 辅助气 (N_2) 流速 0.15 L/min; 碰撞气: 氦气; 检测方式: LC/MSⁿ ($n=1\sim3$) 全扫描质谱; 注射泵直接进样; 溶液流速 10 $\mu\text{L/min}$ 。

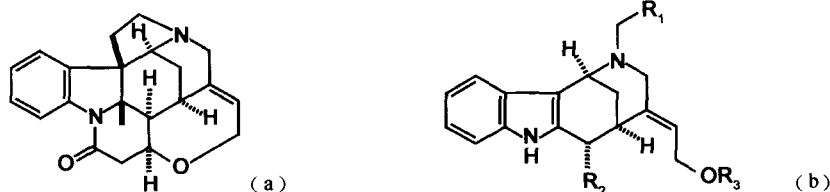


图 1 左旋土的宁及其全合成中间体的结构

Fig. 1 Geometric structures of strychnine and its synthetic intermediates

a—左旋土的宁((—)-Strychnine); b—全合成中间体(Key intermediates)

表 1 全合成土的宁的 6 种关键中间体的分子式和分子量

Table 1 Molecular masses of the six key intermediates related to total synthesis of strychnine

化合物 Compounds	结构式 Constitution			分子式 Formula	分子量 Mr/Da
	R ₁	R ₂	R ₃		
IS-1	—CH(SPh) ₂	—CH ₂ OSEM	—PMB	C ₄₅ H ₅₄ N ₂ O ₄ S ₂ Si	778
IS-2	—CH(SC ₂ H ₅) ₂	—CH ₂ OSEM	—PMB	C ₃₇ H ₅₄ N ₂ O ₄ S ₂ Si	682
IS-3	—CH ₂ OH	—CH ₂ OSEM	—PMB	C ₃₃ H ₄₆ N ₂ O ₅ Si	578
IS-4	—CH(SC ₂ H ₅) ₂	—CH ₂ OMEM	—PMB	C ₃₅ H ₄₈ N ₂ O ₅ S ₂	640
IS-5	—CH ₂ OH	—CH ₂ OMEM	—PMB	C ₃₁ H ₄₀ N ₂ O ₆	536
IS-6	—CH(OCH ₃) ₂	—H	—PMB	C ₂₉ H ₄₆ N ₂ O ₃ Si	498

注 (Note): —PMB: CH₂Ph (*p*-OH₃); —MEM: —CH₂OCH₂CH₂OCH₃; —SEM: —CH₂OCH₂CH₂Si(CH₃)₃; —TIPS: —Si(*i*-C₃H₇)₃

2 结果与讨论

2.1 质谱行为分析

采用电喷雾离子化方式对六种土的宁的合成中间体进行质谱分析。结果表明,正离子检测方式下可以得到较强的准分子离子 $[M+H]^+$ 峰。除此之外,还检测到它们各自的少量加合离子 $[M+Na]^+$ (丰度约 5%),示于图 2(以 IS-1 为例)。加合离子的产生与样品处理过程中从玻璃器皿和提取溶剂中引入金属离子有关,据文献报道^[6],加合离子往往会引起峰形变宽以及灵敏度降低;加合离子产生的子离子也较少;当加合离子较多时,可以加入 0.1%醋酸铵以抑制加合离

子。本实验中,这种加合离子的丰度相对较弱,但在确证化合物的分子量方面却是一个有用的信号离子。

采用电喷雾离子阱技术对化合物进行多级质谱分析,可以获得结构方面的许多信息。结合文献^[7]方法,本实验对六种中间体分别进行了 ESI-MSⁿ($n=1\sim3$)质谱分析,通过比较它们的结构以及子离子的异同,获得质谱裂解规律。以 IS-1 为例,典型的质谱图示于图 2 中;六种化合物产生的多级质谱数据列于表 2;以 IS-1 为例,图 3 和 4 给出了质谱裂解推测结果。

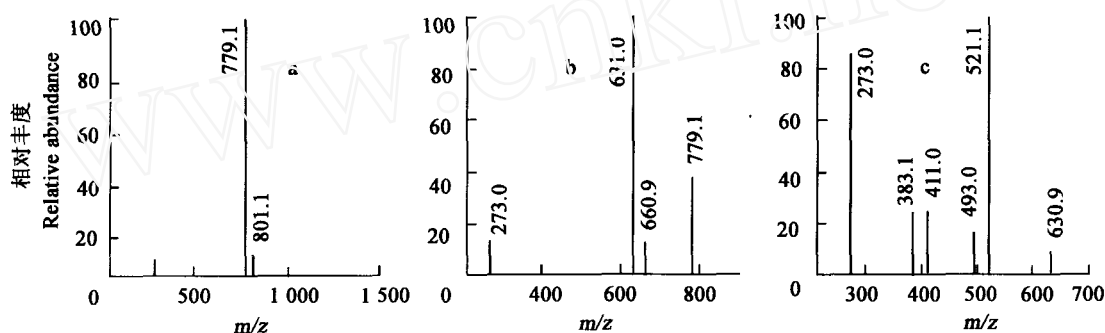


图 2 IS-1 的 ESI-MSⁿ($n=1\sim3$)

Fig. 2 ESI-MSⁿ spectra of IS-1 ($n=1\sim3$)

表 2 全合成左旋土的宁的六种关键中间体的 ESI-MSⁿ($n=1\sim3$)信息

Table 2 ESI-MSⁿ($n=1\sim3$) data of the six intermediates related to the total synthesis of strychnine

化合物 Compound	分子量 Mr/Da	MS	MS ²	MS ³ (基峰)
		$[M+H]^+$ (m/z)	(m/z , % relative abundance)	MS ³ of the base peak
IS-1	778	779	669 (8), 661 (14), 641 (3), 631 (100), 383 (4), 273 (11),	521 (100), 493 (17), 411 (25), 383 (25), 273 (88)
IS-2	682	683	621 (12), 565 (12), 545 (3), 535 (100), 335 (7), 273 (12)	473 (95), 411 (15), 397 (60), 335 (60), 273 (100)
IS-3	578	579	561 (20), 461 (17), 441 (66), 431 (100), 293 (14)	413 (100), 293 (60)
IS-4	640	641	579 (13), 565 (5), 535 (100), 503 (7), 335 (11), 273 (12)	473 (95), 411 (12), 397 (62), 335 (65), 273 (100)
IS-5	536	537	519 (8), 461 (10), 431 (100), 399 (75), 293 (13)	413 (100), 293 (62)
IS-6	498	499	467 (84), 435 (3), 325 (92), 293 (100), 261 (37)	261 (100)

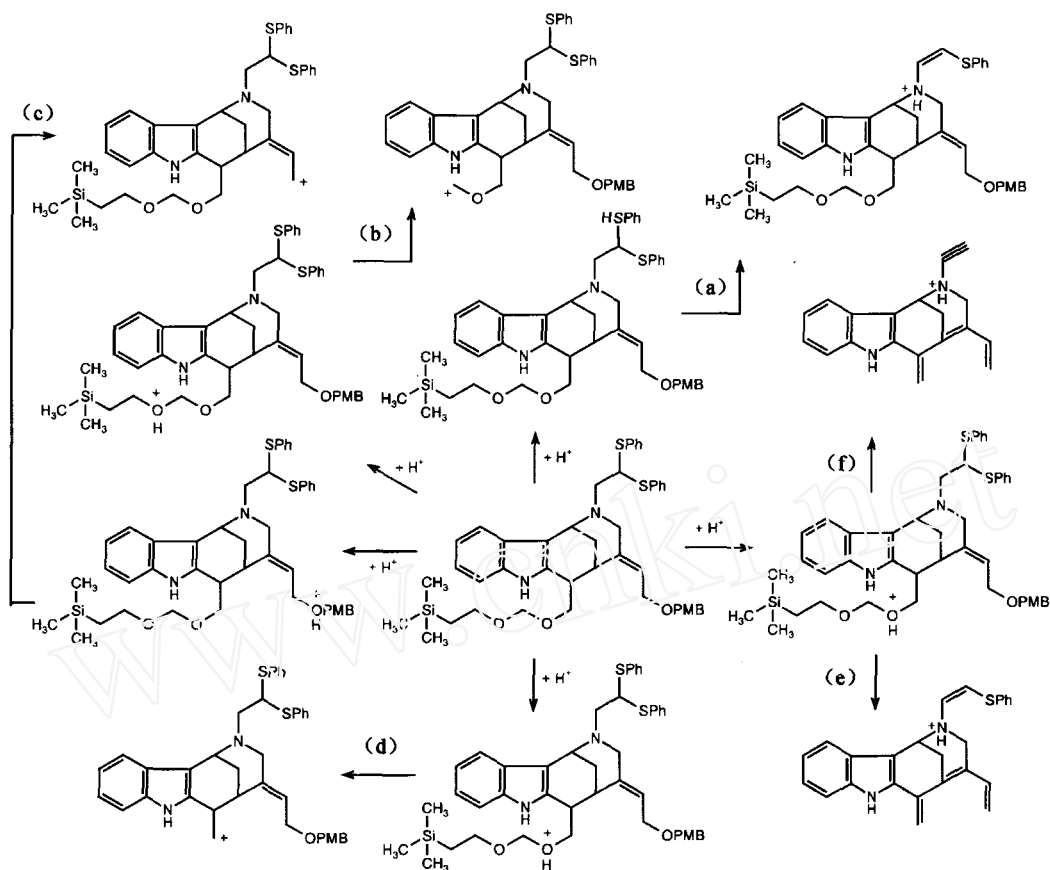
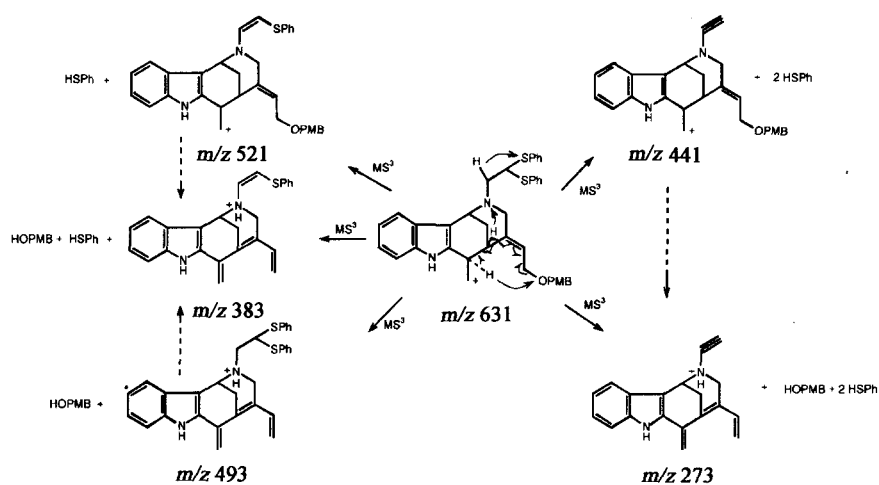


图 3 子离子 a~f 的形成机制

Fig. 3 Proposed mechanism of the generation of fragment ion a~f

图 4 子离子 d(IS-1)的 MS³ 行为解析Fig. 4 Proposed fragmentation patterns for explaining the MS³ spectrum of fragment ion d(IS-1)

实验结果表明,在二级全扫描质谱图中,IS-1 (M_r 778 Da) 主要产生 6 个子离子,质荷比分别为 m/z 669 (−110 u, a), m/z 661 (−118 u, b), m/z 641 (−138 u, c), m/z 631 (−148 u, d), m/z

383 (−396 u, e) 和 m/z 273 (−506 u, f); IS-2 (M_r 682 Da) 产生的二级子离子质荷比分别为 m/z 621 (−62 u, a'), m/z 565 (−118 u, b'), m/z 545 (−138 u, c'), m/z 535 (−148 u, d'), m/z

335($-348\text{ u}, \text{e}'$)和 m/z 273($-410\text{ u}, \text{f}'$)。由于 IS-1 和 IS-2 在结构中的区别仅在于 R_1 硫醚侧链不同,离子 a 与 a' 的质量数相差 48 u,说明离子 a 结构中还保留着它们结构中不同的部分,即硫醚侧链。又因离子 a 质量数的差值与它们的分子量差值(96 u)不同,说明离子 a 结构中也脱去部分不同的基团,根据所脱去基团的质量数,推测脱去的是一个硫醚侧链。IS-3($\text{Mr } 578\text{ Da}$)与上述两种化合物的差别均在于 R_1 取代基不同,其二级质谱可产生 m/z 561(-18 u)的碎片离子,即脱去一水分子,验证了以上推测正确。图 3 给出了其裂解机制推测结果。IS-1 和 IS-2 的二级碎片离子 b 与 b', c 与 c' 以及 d 与 d' 质量数的差值和它们分子量的差值相同,说明这些离子的形成均由于脱去了它们结构中相同的部分。离子 e 与 e' 的差值为 48 u,与离子 a 的推测过程相同,其形成是因为结构中脱去一个硫醚侧链和部分结构中相同的部分,根据失去的质量数,结合质谱解析软件推测,失去的相同部分应为 R_3 醚键。离子 f 与 f' 的质量数相同,与离子 e 相比,质量数相差 62 u,由上述推测可知,很可能是离子 e 继续脱去另一个硫醚侧链产生。

IS-4($\text{Mr } 640\text{ Da}$)与 IS-2 结构中只有 R_2 醚键取代基不同,对其进行二级质谱分析,共产生 6 个主要的子离子: m/z 579(-62 u), m/z 565(-76 u), m/z 535(-106 u), m/z 503(-138 u), m/z 335 和 m/z 273。 m/z 579 的形成是由于脱去 62 u,与 a' 相同,判断为脱去一个硫醚侧链。IS-4 和 IS-2 相比,其二级质谱共产生了四个完全相同的子离子: m/z 565, m/z 535, m/z 335 和 m/z 273,说明这些离子的形成伴随着它们结构中不同基团的失去,即 R_2 醚键断裂。根据所失去基团的质量数推测, m/z 565 是由于失去部分 R_2 醚键侧链产生; m/z 535 是由于完全失去 R_2 醚键侧链产生; m/z 335 和 m/z 273 的产生也验证了离子 e 和 f 产生机制正确,其中离子 e 和 f 的产生涉及到 RDA 反应和一系列双键的形成,具体裂解机制,示于图 4。为了获得这类化合物详细的碎片离子信息和特征断裂规律,对所有化合物二级质谱中丰度最强的离子 d(R_2 醚键断裂,以 IS-1 为例)进行了三级质谱分析,产生 m/z 521(-110 u), m/z 493(-138 u), m/z 411($-$

220 u), m/z 383 和 m/z 273 的子离子。根据它们所失去的质量数,判断分别为 R_2 醚键断裂后继续失去一个硫醚侧链, R_3 醚键,两个硫醚侧链,失去一个硫醚侧链加 R_3 醚键和失去两个硫醚侧链加 R_3 醚键。以上四个化合物的质谱断裂规律说明,此类化合物结构中有三处易断裂的键:硫醚键、 R_2 醚键和 R_3 醚键。

为了进一步验证此裂解机制,依据以上的质谱断裂规律,对土的宁另三种中间体 IS 5~7 的多级质谱碎片离子进行了归属。IS-5($\text{Mr } 536\text{ Da}$)与 IS-4 结构中只 R_1 取代基不同,二级质谱产生 5 个主要的子离子: m/z 519($-\text{H}_2\text{O}$), m/z 461(-76 u), m/z 431(-106 u), m/z 399(-138 u)和 m/z 293(-244 u)。对照 IS-4 的子离子可以得出,76、106、138 和 244 u 分别为失去部分 R_2 醚键,完全失去 R_2 醚键, R_3 醚键失去和完全失去 R_2 加 R_3 醚键的质量数。IS-6($\text{Mr } 498\text{ Da}$)的二级质谱产生 m/z 467($-\text{CH}_3\text{OH}$), m/z 435($-2\times\text{CH}_3\text{OH}$), m/z 325(-174 u , R_3 醚键失去), m/z 293($-\text{CH}_3\text{OH}(\text{R}_3\text{ 醚键})$)和 m/z 261($-2\times\text{CH}_3\text{OH}(\text{R}_3\text{ 醚键})$)。其中 IS-6 失去 R_3 醚键的子离子证明了关于失去 R_3 醚键的推测是正确的。

2.2 质谱行为特征

通过比较全合成左旋土的宁六种关键中间体的各级子离子的关系,发现在正离子检测方式下,它们的质谱断裂方式存在共性,即 MS^2 质谱产生氧醚键 C-O 和硫醚键 S-C 断裂的碎片,裂解机制同属于以电荷为中心的裂解(异裂)。这些结果显示了全合成土的宁的关键中间体的质谱断裂特征,从而有助于这类化合物及其类似物结构的阐明,提示结构中含有脂肪链氧醚键或硫醚键的化合物在电喷雾质谱裂解过程中易发生醚键断裂。

参考文献:

- [1] 杨藻宸. 药理学和药物治疗学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 650~651.
- [2] Beifuss U. New Total Synthesis of Strychnine [M]. Angew Chem(Int Ed). 1994, 33: 1 144.
- [3] Bonjoch J, Sole D. Synthesis of Strychnine[J]. Chem Rev, 2000. 3 455.

(下转第 23 页)

3 结 论

(1) FCC 汽油组成复杂,单一分析技术独立完成汽油中组分结构确定比较困难,需要多种技术联用进行定性。

(2) 用聚甲基硅氧烷毛细管色谱柱,实现调和 FCC 汽油中各组分的基本分离,在此基础上用多种技术完成组分的定性分析,采用校正面积归一法完成定量分析,相对标准偏差(s_r)小于 3.3%。

参考文献:

- [1] 王晓霞. 国外 FCC 反应油气与催化剂分离技术的进步[J]. 石油与天然气化工, 1997, 26(3): 182.
- [2] 张广林, 曹汉昌. 催化裂化技术的新发展[J]. 1996, 15(1): 1.
- [3] Suatoni JC. Determination of Normal Alpha-olefins by Hydrobromination [J]. Anal Chem, 1963, 35: 2196.
- [4] Marc A Poirier, Albert E George. Selective Separation and Identification of Olefins in Petroleum and Synthetic Fuel Naphtha [J]. Fuel, 1982, 61(2): 102.
- [5] Ury GB. Automated Gas Chromatographic Analysis of Gasoline for Hydrocarbon Tapes [J]. Anal Chem, 1981, 53: 481.
- [6] Sojak L, Kraus G, Ostrovsky I, et al. High-resolution Gas Chromatography With Liquid Crystal Glass Capillaries [J]. J Chromatogr, 1986, 356: 105.
- [7] 程桂珍. 气相色谱法研究催化裂化汽油与辛烷值的关系[J]. 石油炼制, 1990, (7): 49.
- [8] Koichi Shiomi, Masao Shimono, Hiromi Arimoto, et al. High Resolution Capillary Gas Chromatographic Hydrocarbon-type Analysis of Naphtha and Gasoline [J]. J High Resolut Chromatogr, 1991, 14(11): 729.
- [9] Frysinger, Glenn S, Gaines, et al. Determination of Oxygenates in Gasoline by GC Times [J]. J High Resolut Chromatogr, 2000, 23(3): 197.
- [10] Ramnäs O, Östermark U, Petersson G. Characterization of Sixty Alkenes in a Cat-cracked Gasoline Naphtha by Gas Chromatography [J]. Chromatography, 1994, 39(3/4): 222.
- [11] Ghasvini Von M, Hany R, Jackie HW, et al. Determination of Conjugated Diolefins in Gasolines by HPLC [J]. Erdöl, Erdgas, Kohle (German), 1996, 112(5): 210.
- [12] 李添魁. 红外光谱法测定汽油中的 MTBE 含量 [J]. 石油化工, 1995, 24(3): 198.
- [13] Iob Asfaha, Ali Mohammed A, Tawabini Basam S, et al. Hydrocarbon Group (PONA) Analysis of Reformate by FT-IR Spectroscopy [J]. Fuel, 1996, 75(9): 1060.
- [14] Sarpal AS, Kapur GS, Mukherjee S, et al. PONA Analysis of Cracked Gasoline by ^1H NMR Spectroscopy (Part I) [J]. Fuel, 2001, 80(4): 521.
- [15] PONA Analyzer HP5880A, Hewlett-Packard, April, 1985.

=====

(上接第 16 页)

- [4] Xu YJ, Otori K, Ohshima T, et al. A Practical Large-scale Synthesis of Enantiomerically Pure 3-[bis(methoxycarbonyl)methyl]cyclohexanone via Catalytic Asymmetric Michael Reaction [J]. Tetrahedron, 2002, 58: 2585~2588.
- [5] Ohshima T, Xu YJ, Takita R, et al. Enantioselective Total Synthesis of (—)-Strychnine Using the Catalytic Asymmetric Michael Reaction and Tandem Cyclization [J]. J Am Chem Soc, 2002, 124: 14546~14547.
- [6] Cuycens F, Rozenberg R, Hoffmann ED, et al. Structure Characterization of Flavonoid O-Diglycosides by Positive and Negative Nano-electrospray Ionization Ion Trap Mass Spectrometry [J]. J Mass Spectrom, 2001, 36: 1203~1210.
- [7] Zhong DF, Xing J, Zhang SQ, et al. Study of the Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry of Sildenafil Derivatives [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2002, 16: 1836~1843.