

莫那可林 J 的电喷雾质谱裂解规律研究($MS^1 \sim MS^6$)

黄珺珺, 黄碧云, 季 红, 袁 牧

(广州医学院药物研究中心, 广东 广州 510182)

摘要:采用电喷雾离子阱质谱技术,在正离子检测模式下对化合物莫那可林 J 的质谱裂解规律($MS^1 \sim MS^6$)进行研究。试验发现:该化合物由于其结构的特征,主要通过失去 H_2O 、 CH_3COOH 或多烯烃离子 C_nH_{2n} ($n=1 \sim 5$) 形成各碎片峰;其中通过氢迁移和逆 DA 反应使 B、C 环裂解形成众多小分子碎片(相对分子质量小于 200),体现了烯烃和环烯烃的质谱裂解特征。这些规律为莫那可林 J 及其他他汀类化合物的构效关系研究提供了参考数据。

关键词:莫那可林 J;洛伐他汀;电喷雾离子阱质谱;裂解机理

中图分类号:O 657.63 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-2997(2009)03-0154-06

Mass Spectrum Characterization of Monacolin J(MS^1 - MS^6)

HUANG Jun-jun, HUANG Bi-yun, JI Hong, YUAN Mu

(Pharmaceutical Center, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510182, China)

Abstract: The sextuple mass spectrum (MS^1 - MS^6) of Monacolin J was studied in positive mode by electrospray ionization trap mass spectrometry. It can be inferred that most fragments are formed by loss of H_2O , CH_3COOH or polyene hydrocarbon ions C_nH_{2n} ($n=1-5$). Some of smaller fragments (molecular weight < 200) are obtained by hydrogen-immigration and Retro Diels-Alder reaction, which present the mass spectrum split characterization of alkenes and cycloolefin. These mass spectrum rules can provide reference date for the structure-function relationship study of Monacolin J and other statins.

Key words: Monacolin J; Lovastatin; electrospray ionization trap mass spectrometry; fragmentation mechanism

20 世纪 80 年代,日本学者远藤章(Akira Endo)等^[1-4]从红曲霉中分离得到化合物莫那可林 J 与莫那可林 K、L、M、X,它们具有相同的基本骨架,这些莫那可林类物质对胆固醇合成途径中的限速酶——HMG-CoA 还原酶,具有高效、

特异的抑制性,能有效减少机体内的胆固醇。莫那可林 J 为(4R, 6R)-四氢-6-(2-((1S,3R,7S, 8S,8aR)-1,2,3,7,8,8a-六氢-1-羟基-3,7-二甲基萘-8-基)乙基)-4-羟基吡喃-2-酮,其结构示于图 1,目前主要用于辛伐他汀等的合成研究。莫

收稿日期:2009-01-15;修回日期:2009-03-27

基金项目:广东省科技计划项目(批准号:2006B35501003)和广州市科技计划项目(批准号:2006Z2-E4011)资助

作者简介:黄珺珺(1985~),女(汉族),江苏人,硕士研究生,从事手性药物合成研究。E-mail:angil1985@yahoo.cn

通信作者:袁 牧(1954~),男(汉族),江苏人,教授,从事手性药物合成研究。E-mail:mryuanmu@gzhmc.edu.cn

那可林 J 可通过洛伐他汀的脱脂化得到^[5-8],也可通过洛伐他汀的酶水解法得到^[8-11],莫那可林 J 再经过一系列的硅烷化、酰化、去甲硅化等方法得到辛伐他汀^[5],或者通过酰基转移酶(LovD)催化莫那可林 J 生物合成辛伐他汀^[12-13],这样可以大幅度提高其收率。莫那可林 J 作为中间体,是化学合成和生物合成辛伐他汀的关键前体。

国外报道过洛伐他汀的电喷雾串联质谱研究^[14],但关于莫那可林 J 的质谱研究国内外均未见报道。本工作自制合成了莫那可林 J,并在电喷雾离子阱质谱技术下,研究其可能的裂解规律。

1 试验部分

1.1 仪器

Agilent 6330 型离子阱质谱仪;美国 Agi-

lent 公司产品。

1.2 材料与试剂

洛伐他汀原料药(含量 $\geq 98\%$): Sigma-Aldrich 公司产品;叔丁醇钾(分析纯): Alfa Aesar 公司产品;四氢呋喃产品:分析纯;甲醇(色谱纯):德国 Merck 公司产品。

参照文献^[5]合成莫那可林 J,合成路线示于图 1,产物经核磁鉴定,纯度为 99%。移取适量莫那可林 J,用 500 μL 甲醇溶解,浓度为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,所得样品溶液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后进样分析。

1.3 试验条件

ESI 电喷雾离子源,正离子模式检测,喷射电压 3.5 kV,毛细管温度 350 $^{\circ}\text{C}$,毛细管输出电压 115 V,雾化气压力(N_2)241.3 kPa,干燥气(N_2)流速 9 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,检测方式为 Manual MS,质量扫描范围 m/z 50~400。

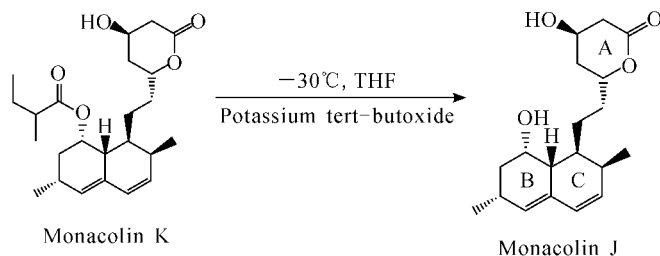


图 1 莫那可林 J 的结构及合成路线

Fig. 1 The structure and the synthesis path of Monacolin J

2 结果与讨论

莫那可林 J 的理论相对分子质量是 320.2,各碎片的 $MS^1 \sim MS^6$ 质谱图示于图 2。从图 2a 中可以观测到其质子加合物 $[M+H]^+$ m/z 321,同时还观测到阳离子加合物 $[M+Na]^+$ m/z 343 和 $[M+K]^+$ m/z 359。使用质谱分析时,这些信息可以帮助确定相对分子质量。图 3 显示了莫那可林 J 的主要碎片数据,分析此图,可以清楚的看出其主要的 3 个裂解方式:失去分子质量为 18 u 的 H_2O ,失去分子质量为 60 u 的碎片分子,失去分子质量呈 14 u 规律递增的碎片分子,即 28、42、56、70、84 u。

莫那可林 J 的结构中含有 2 个羟基和 1 个六元内酯环,所以失去 H_2O 是其最主要的裂解途径。准分子离子峰 $[M+H]^+$ m/z 321 可能是由内酯环上的氧原子加氢得到^[14],也可能是由

内酯环外的羰基氧原子上加氢离子形成锌正离子得到,其可能的裂解方式示于图 4。 m/z 321 经多次失水裂解获得碎片峰 m/z 303、285、267,并且形成的各碎片峰都是基峰。推测失水的方式主要有 3 种:第 1 种可能是 A 环的 $\beta\text{-OH}$ 和 $\gamma\text{-H}$ 缩合失去水分子形成双键^[14];第 2 种可能是 B 环的羟基和邻位的氢缩合失水缩合形成双键^[14];第 3 种可能是锌正离子与邻位的 H 缩合失去一分子水。

在 $+MS^3$ 和 $+MS^4$ 质谱行为中, m/z 303 失去 60 u 得到 m/z 243, m/z 285 也失去 60 u 得到 m/z 225。结合化合物的结构式,推测分子质量为 60 u 的结构可能为 CH_3COOH 或 H_2O 和 CH_2CO 。如图 4, m/z 303 可能脱去 1 个 CH_3COOH 分子或者分别失去 H_2O 和 $\text{CH}_2=\text{C}=\text{O}$,形成结构为 D 的离子峰 m/z 243,结构 D

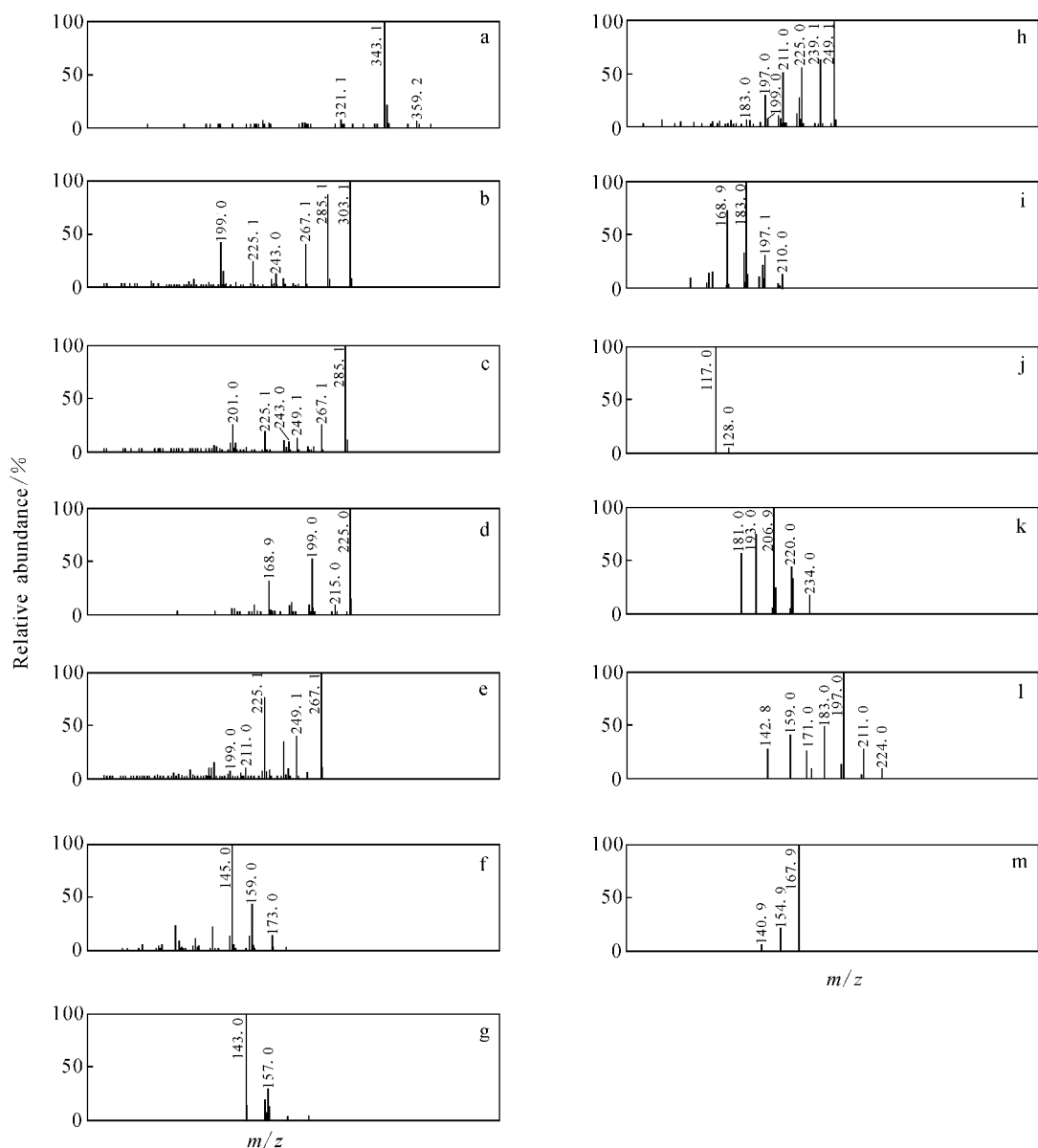


图 2 莫那可林 J 各碎片的 $MS^1 \sim MS^6$ 质谱图

Fig. 2 The mass spectrum of Monacolin J ($MS^1 \sim MS^6$)

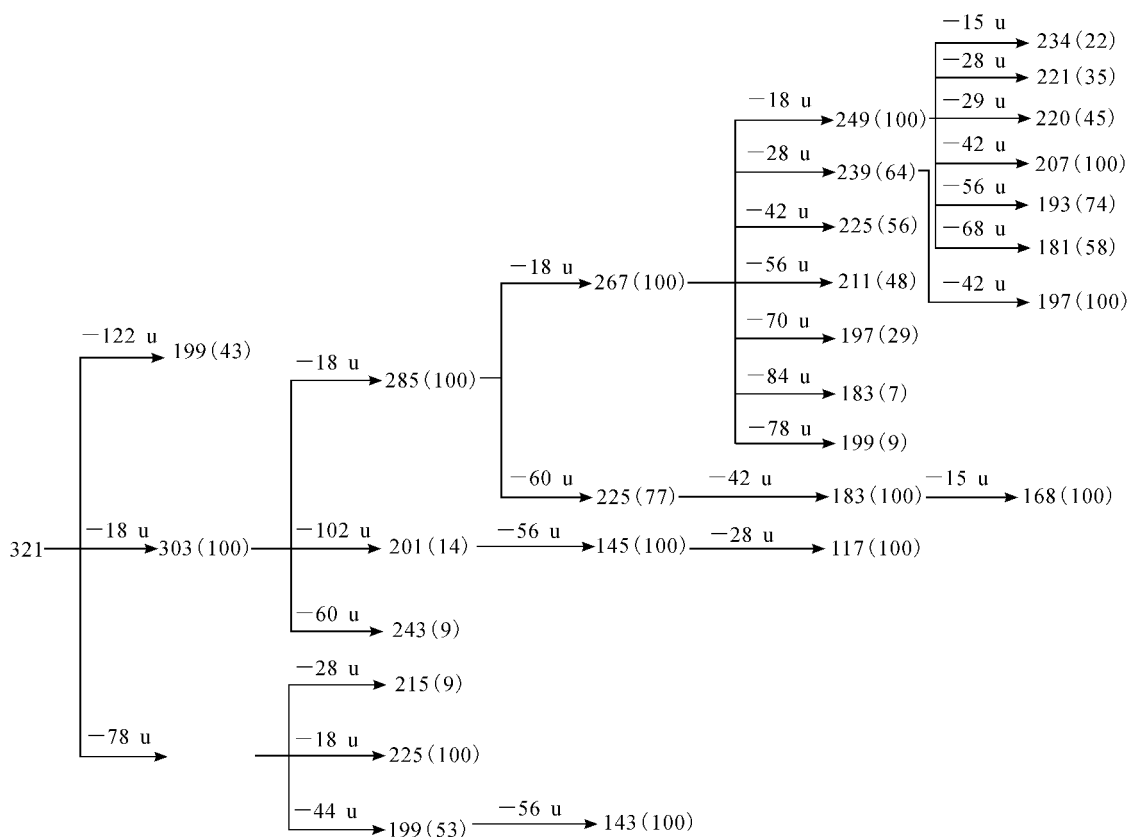
注: a. 莫那可林 J 的 + MS^1 质谱图; b. m/z 321 离子的 + MS^2 质谱图; c~d. m/z 303, m/z 243 离子的 + MS^3 质谱图; e~g. m/z 285, m/z 201, m/z 199 离子的 + MS^4 质谱图; h~j. m/z 267, m/z 225, m/z 145 离子的 + MS^5 质谱图; k~m. m/z 249, m/z 239, m/z 183 离子的 + MS^6 质谱图

可以通过烯醇互变转换成结构 E。对 m/z 243 进行 + MS^3 轰击, 构型 D 易失水形成 m/z 225, 构型 E 易失去 CO 分子 (28 u) 裂解成 m/z 215。

莫那可林 J 的第 3 个可能裂解途径是失去分子质量呈 14 u 规律递增的多烯烃离子, 其中也伴随着失去炔烃和炔烯烃的过程, 体现了烯烃的质谱裂解特征。对碎片峰 m/z 267 进行 + MS^5 质谱分析 (图 2h), 得到丰强逐渐减弱的碎片峰 m/z 249、239、225、211、197、183。 m/z

267 失去 H_2O 使 A 环结构断裂形成最强峰 m/z 249; 失去 CO 中性分子形成碎片 m/z 239; 分别失去 CO 分子和 C_nH_{2n} ($n=1 \sim 4$) 离子形成 m/z 225、211、197、183。另外, m/z 267 还产生较弱的离子峰 m/z 199, 其可能的结构式示于图 5。

碎片离子 m/z 249 的结构含有烯烃, 烯烃的质谱由于双键的位置在碎裂过程中发生迁移, 质谱图变得比较复杂。对 m/z 249 进行 + MS^6 质谱分析 (图 3), 主要产生 6 种特征碎片: m/z 249

图 3 莫那可林 J 的主要质谱数据($MS^1 \sim MS^6$)Fig. 3 Major product ions of Monacolin J (MS^1 - MS^6)

发生 σ 断裂失去 CH_3 形成 m/z 234;发生丙烯断裂形成基峰 m/z 207;分别失去乙烯离子(28 u)、丁烯离子(56 u)、戊炔烃离子(68 u)得到 m/z 221、193 和 m/z 181; m/z 249 还形成碎片 m/z 220,示于图 6,这可能是由于烯丙键裂解,失去偶电子离子碎片 C_2H_5 ,故形成了带有稳定共振结构的烯丙基正离子的碎片 m/z 220,也是烯烃的质谱裂解特征之一。同样, m/z 239 的 $+MS^6$ 质谱分析也体现了烯烃的裂解特征:优先开裂丙烯离子形成基峰 m/z 197;分别失去乙烯离子、丁烯离子、戊炔烃离子、4-炔-2-己烯离子 C_6H_8 (80 u)裂解成 m/z 211、183、171、159;另外, m/z 239 通过双键的电荷转移形成 1 个饱和六元环,再开裂失去庚双烯离子 C_7H_{12} 裂解成稳定的共轭结构 m/z 143(图 6)。

$+MS^5$ 轰击碎片离子 m/z 225,发现其与 m/z 249、239 的裂解过程类似。如图 7 所示, m/z 225 脱去丙烯离子形成基峰 m/z 183; m/z 225 经多次氢迁移形成具有环己烯结构的构型 F,再进行 RDA 反应(Retro Diels-Alder reac-

tion)脱去 1 个丁烯离子裂解成 m/z 169,体现了环烯烃高度特征的碎裂过程;同时也产生较弱峰 m/z 197(失去乙烯)、210(失去甲基)。进一步对最高峰 m/z 183 进行 $+MS^6$ 质谱分析,发现其优先失去 CH_3 产生碎片 m/z 168,其次还通过 RDA 反应分别失去乙烯和丙烯离子,产生 m/z 155、141,可能的裂解机理示于图 7。

碎片离子 m/z 201 与 m/z 199 的结构只相差 2 个 H。从图 2b、2d、2c 中看到, m/z 199 在 $+MS^2$ (m/z 321)和 $+MS^3$ (m/z 321 $\rightarrow m/z$ 243)质谱行为中就已经表现为丰度较强的离子峰,而 m/z 201 在 $+MS^3$ (m/z 321 $\rightarrow m/z$ 303)质谱行为中丰度较强。由图 5 所示,离子 m/z 301 通过断裂 A 环失去得到碎片 m/z 201, m/z 201 失去 1 个甲基环丙烷分子得到 m/z 145, m/z 145 失去 1 个烯烃离子得到稳定的具有共轭结构的碎片离子 m/z 117。Wang^[14]等报道用三重四极杆质谱检测 m/z 267 不能裂解得到 m/z 199,但是本试验通过电喷雾离子阱质谱仪得到了不一样的结果。如图 2h 中, $+MS^5$ 轰击 m/z 267 发现

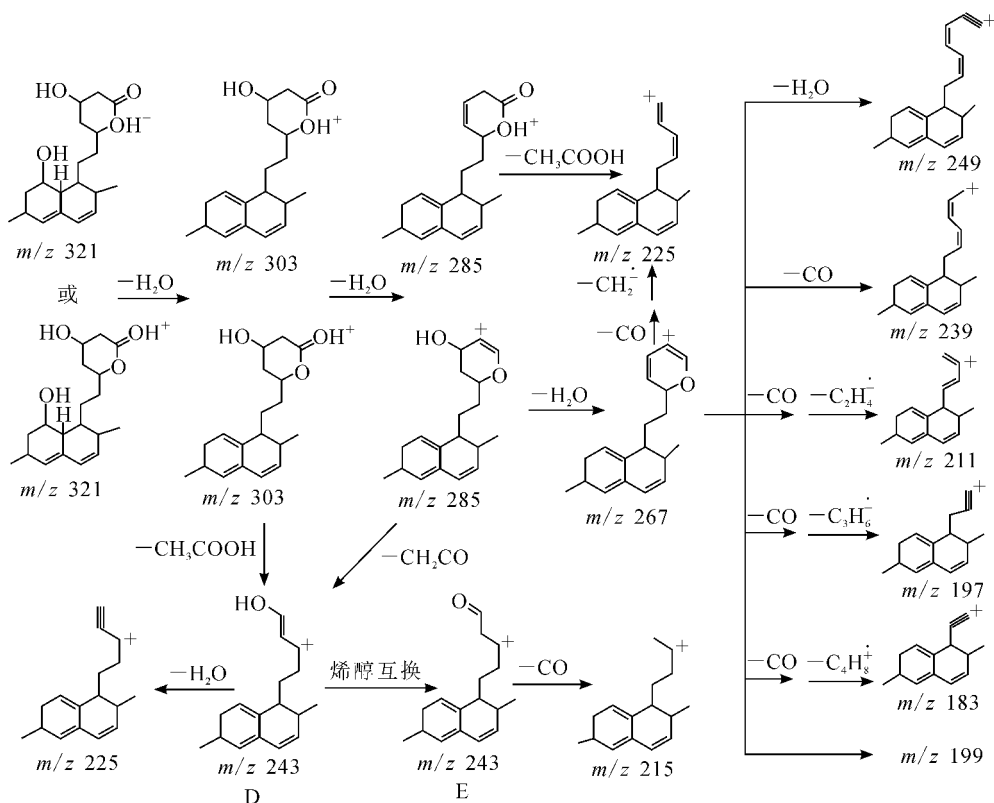
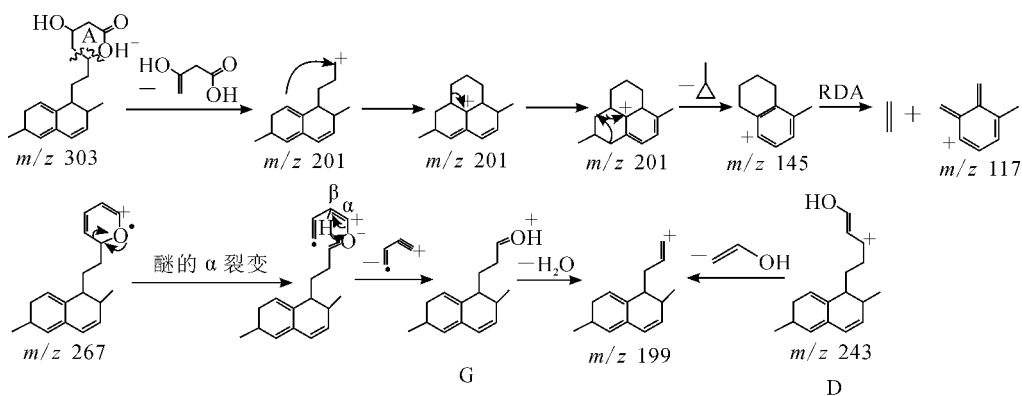


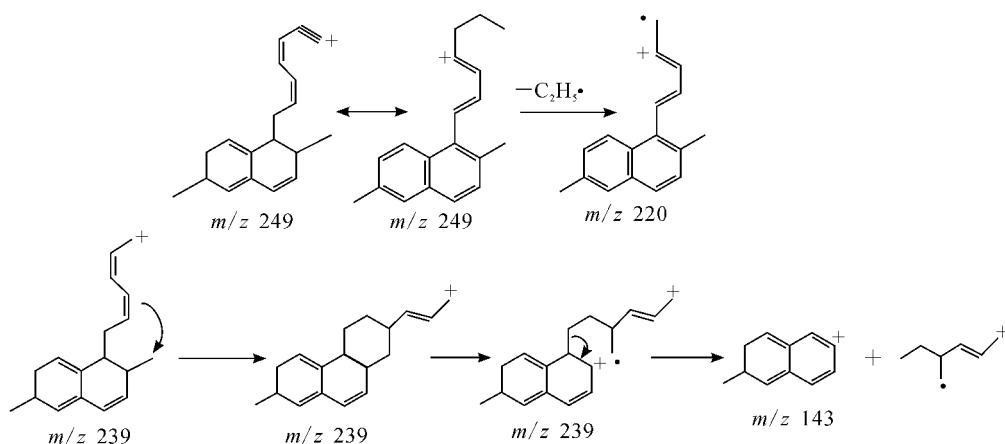
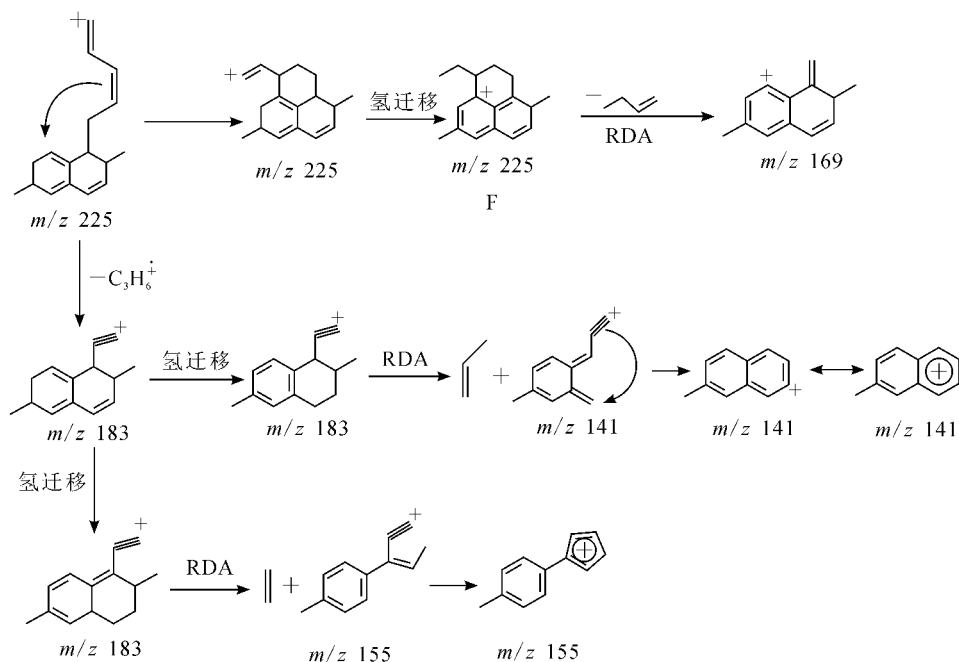
图 4 莫那可林 J 的 3 种可能裂解方式

Fig. 4 Three proposed fragmentation paths of Monacolin J

图 5 m/z 201、 m/z 199 的可能结构式Fig. 5 Proposed structures for m/z 201 and m/z 199

可以裂解得到相对峰度为 9% 的离子峰 m/z 199, 原因可能是离子阱灵敏度高, 较四极质量分析器高达 10~1 000 倍, 故能产生更丰富的碎片信息^[15]。如图 5 中, m/z 267 首先引发自由基反应, 导致 α 位碎裂形成氧鎓离子结构, 氧鎓离子继续 α -裂解失去 C_4H_2 得到结构 G, 进一步失水得到 m/z 199, m/z 243 失去侧链 $CH_2=CHOH$

也得到 m/z 199, m/z 199 进而裂解产生碎片 m/z 143^[14] 和 m/z 157^[14]。由以上的碎片离子 m/z 169、155、141、117 等的形成过程可以发现: 多次氢迁移与 RDA 反应是莫那可林 J 的一些较小碎片离子峰 (相对分子质量小于 200) 的主要形成方式。

图 6 m/z 220 与 m/z 143 离子的可能结构式Fig. 6 Proposed structures for m/z 220 and m/z 143图 7 m/z 225 与 m/z 183 离子的可能裂解机理Fig. 7 Proposed fragmentation mechanism for the m/z 225 and m/z 183

3 结 论

综上所述,本试验自制合成了他汀类化合物莫那可林 J,并使用 ESI-Ion Trap-MS 技术对其进行了多级电喷雾离子阱质谱研究,获得了 6 级质谱数据,并进行图谱分析,得到了一些鉴定该化合物的特征碎片,包括 $[M + H - H_2O]^+$ 、 $[M + H - CH_3COOH]^+$ 、 $[M + H - H_2O - CH_2CO]^+$ 、 $[M + H - CO - C_3H_6]^+$ 等,并对其断裂机理做出初步解释,为研究他汀类化合物的质谱裂解规律提供了参考依据。

参考文献:

- [1] ENDO A. Monacolin K, a new hypo cholesterolemic agent produced by a monascus species[J]. The Journal of Antibiotics, 1979, 32(8): 852-854.
- [2] ENDO A, HASUMI K, NEGISHI S. Monacolins J and L, new inhibitors of cholesterol biosynthesis produced by Monascus Ruber[J]. The Journal of Antibiotics, 1985, 38(3): 420-422.

(下转第 165 页)

参考文献:

[1] 徐辉碧. 硒的化学、生物化学及其在生命科学中的应用[M]. 湖北:华中理工大学出版社,1994.

[2] 刘建福,张瑾洁,张永康. 微量元素硒与人体健康关系的研究进展[J]. 吉首大学学报:自然科学版, 1997,18 (3): 72-79.

[3] HE M, JIANG S S, JIANG S, et al. Measurement of the half-life of ⁷⁹Se with PX-AMS[J]. Nucl Instru and Meth B, 2002, 194(4): 393-398.

[4] WANG W, LI C L, HE M, et al. Measurements of ⁷⁹Se with AMS based on extracting molecular negative ions [J]. Chin Phys C, 2008, 32: 205-209.

[5] MURAMATSU Y, PARR R M. Survey of currently available reference materials for use in connection with determination of trace elements in biological and ewironmental materials[M]. IAEA/RL/128, International Atomic Energy Agency, 1985.

[6] KOBAYASHI Y, OGRA Y, SUZUKI K T. Speciation and metabolism of selenium injected with ⁸²Se-enriched selenite and selenate in rats[J]. J Chromatogr B, 2001,760(1): 73-81.

[7] SUZUKI K T, SOMEKAWA L, KURASAKI K, et al. Simultaneous tracing of ⁷⁶Se-selenite and ⁷⁷Se-selenomethionine by absolute labeling and speciation[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2006, 217(1): 43-50.

[8] SUZUKI K T, CHIAKI D, SUZUKI N. Metabolism of ⁷⁶Se-methylselenocysteine compared with that of ⁷⁷Se-selenomethionine and ⁸²Se-selenite[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2006, 217 (2): 185-195.

[9] SUZUKI K T, YUKI O , SUZUKI N. Availability and metabolism of ⁷⁷Se-methy lseleninic acid compared simultaneously with those of three related selenocompounds[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2006, 217(1): 51-62.

=====

(上接第 159 页)

[3] ENDO A, KOMAGATA D, SHIMADA H. Monacolin M, a new inhibitor of cholesterol biosynthesis[J]. The Journal of Antibiotics, 1986, 39 (12): 1 670-1 673.

[4] ENDO A, HASUMI K. Dihydromonacolin L and monacolin X, new metabolites those inhibit cholesterol biosynthesis[J]. The Journal of Antibiotics, 1985,38(3):321-327.

[5] 朱宝雷,任立华. 辛伐他汀的合成[J]. 齐鲁药事, 2006,25(7):422-423.

[6] 朱占元,吴庭照,牟 玲. 辛伐他汀的合成[J]. 浙江化工,2002,33(1):49-50.

[7] 陈宇瑛. 辛伐他汀的研究[J]. 精细与专用化学品, 2003,10:16-18.

[8] CHEN L C,LAI Y K. Production by Clonostachys compactiuscula of a lovastatin esterase that converts lovastatin to monacolin J[J]. Enzyme and Microbial Technology,2006,39(5):1 051-1 059.

[9] SCHIMMEL T G, BORNEMAN W S, CONDER M J. Purification and characterization of a lovastatin esterase from Clonostachys compactiuscula [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997,63(4):1 307-1 311.

[10] KOMAGATA D, YAMASHITA H, ENDO A. Microbial conversion of compactin (ML-236B) to ML-236A[J]. The Journal of Antibiotics,1986, 39:1 574-1 577.

[11] KOMAGATA D, SHIMADA H, MURAKAWA S,et al. Biosynthesis of monacolins: conversion of monacolin L to monacolin J by a monooxygenase of Monascus ruber [J]. The Journal of Antibiotics,1989,42(3):407-412.

[12] 杨仲毅,甘春晖. 辛伐他汀的生物合成 [J]. 生物工程学报,2008,24(3):349-354.

[13] XIE X K,TANG Y. Efficient synthesis of simvastatin by use of whole-cell biocatalysis[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73 (7): 2 054-2 060.

[14] WANG H,WU Y H,ZHAO Z X. Fragmentation study of simvastatin and lovastatin using electrospray ionization tandem mass[J]. Journal of Mass Spectrometry,2001,36:58-70.

[15] 姚新生. 有机化合物波谱解析[M]. 北京:中国医药科技出版社,2004:190-199.