

黄连总碱的 MS/MS 及 LC-MS/MS 研究

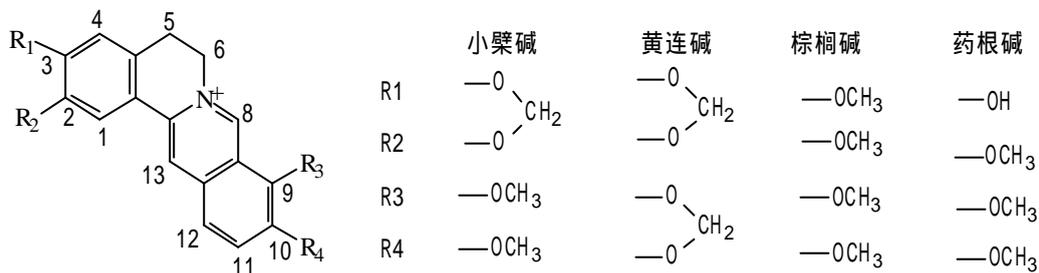
李立军 再帕尔·阿不力孜 项贇 王爱国 冯孝章

(中国医学科学院 中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

治疗糖尿病的中药复方中, 黄连是其中一味, 经药效学研究证明, 其总生物碱为有效部位, 所含的多种生物碱中主要成分是小檗碱、棕榈碱、药根碱和黄连碱等。为了分析鉴定黄连总碱中微量生物碱, 运用 ESI-MS/MS, FAB-MS/MS 以及 LC-MS/MS 等各种质谱方法对由甲醇提取的总碱部分进行了分析研究。

1 黄连总碱中主要成分的 MS/MS 研究

首先, 运用 AutoSpec Ultima-Tof 串联质谱仪, 分别对四个已知黄连生物碱: 小檗碱 (M.W.=336)、棕榈碱 (M.W.=352)、药根碱 (M.W.=338) 和黄连碱 (M.W.=320) 以 CH_4 为碰撞气体进行了 ESI-MS/MS, FAB-MS/MS 的 CID 谱测定, 同时通过高分辨质谱对有关特征碎片离子的元素组成加以确认。四个已知黄连生物碱的结构如下:



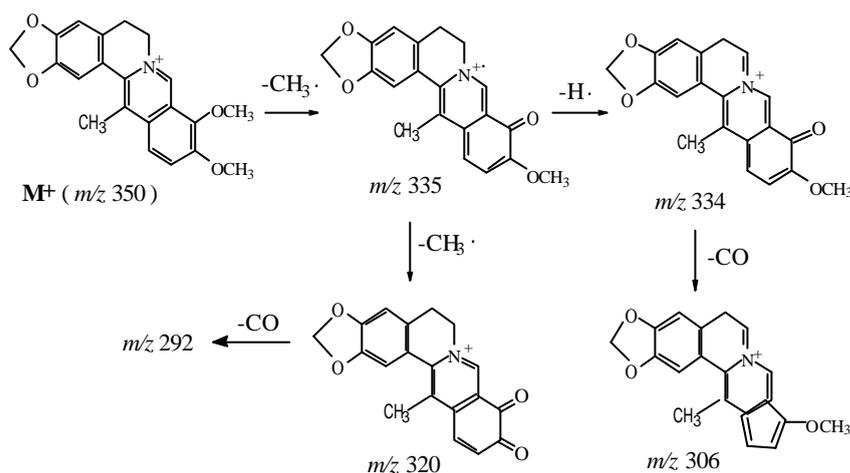
上述化合物中除黄连碱外, 均为 C-9、C-10 位甲氧基取代, 它们均可丢失 C-9 位甲基, 得到 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ 离子, 再脱去与 N 相连的 H 得到 $[\text{M}-\text{CH}_4]^+$ 离子, 而 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ 离子继续失去相邻的另一个甲基, 得到 $[\text{M}-2\text{CH}_3]^+$ 离子。其中棕榈碱的 $[\text{M}-2\text{CH}_3]^+$ 离子继续丢失 CH_4 、 CO 以及 CH_2O , 分别产生 $[\text{M}-2\text{CH}_3-\text{CH}_4]^+$ 、 $[\text{M}-2\text{CH}_3-\text{CO}]^+$ 和 $[\text{M}-2\text{CH}_3-\text{CH}_2\text{O}]^+$ 等离子。另外, $[\text{M}-\text{CH}_4]^+$ 离子继续脱去 C-9 位 CO 得到 $[\text{M}-\text{CH}_4-\text{CO}]^+$ 离子, 再失去 CH_2O 得到 $[\text{M}-\text{CH}_4-\text{CO}-\text{CH}_2\text{O}]^+$ 离子。小檗碱因 C-2、C-3 位无甲氧基, 故不产生 $[\text{M}-2\text{CH}_3-\text{CH}_4]^+$ 和 $[\text{M}-2\text{CH}_3-\text{CH}_2\text{O}]^+$ 离子。药根碱 C-3 位是羟基, $[\text{M}-2\text{CH}_3-\text{CH}_2\text{O}]^+$ 离子比较弱。黄连碱没有甲氧基, 其主要发生丢失 CO 和 CH_2O 的裂解反应。

2 黄连总碱中微量成分的 MS/MS 及 LC-MS/MS 研究

首先, 进行了黄连总碱的 ESI-MS 谱测定, 控制锥体电压为 20V, 得到各组分的分子离子和少部分比较弱的碎片离子。通过高分辨质谱确定各组分离子的元素组成。对

各组分的分子离子分别测定了 MS/MS 谱。另外, 利用 LC-MS 得到各组分的总离子流色谱图, 结合直接进样 ESI-MS 给出的分子量信息, 并通过质量色谱图检测可能的分子离子。为了确认各组分的分子量及其结构, 采用 LC-MS/MS 方法对有关组分进行了 CID 谱研究, 提高了分析的选择性和准确性。由于黄连总碱中的小檗碱的比例较大, 影响其他成分的分析, 故将大部分小檗碱通过柱层析分离出去, 得到微量组分。

通过综合分析上述结果, 分别得到其分子量为 350, 366, 368, 380, 384 的几个微量成分, 参照四个已知黄连生物碱的裂解规律, 并结合这些微量成分的 MS/MS 谱, 推测出几个未知物的初步结构。其中分子量 350 的生物碱, 定名为未知物。由于出现明显的 $[M-CH_3-H]^+$ 离子, 则不应该是棕榈碱在 C-5、C-6 位变成双键的化合物, 而与第三个甲氧基裂解有关的 $[M-2CH_3-CH_4]^+$ m/z 304 和 $[M-2CH_3-CH_2O]^+$ m/z 290 等离子均很弱, 另外参考甲基黄连碱的甲基是取代在 C-13 位, 且 C-13 位基本上不发生失去甲基的特征裂解, 因此推测其甲基也可能取代在 C-13 位置。该化合物结构及其主要裂解方式如下图所示。上述微量成分的最终结构还有待于进一步确认。



Study on Alkaloid Contained in Rhizoma Coptidis by MS/MS and LC-MS/MS

Li Lijun, Zeper Abliz, Xiang Yun, Wang Aiguo, Feng Xiaozhang

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences

and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)