

高分辨快原子轰击质谱分析核苷类似物

桑志红 蔡耘 王杰 钱小红 杨松成
(国家生物医学分析中心 北京 100850)
刘仲杰 闵吉梅 张礼和

(北京医科大学天然药物及仿生药物国家重点实验室 100083)

【摘要】本文应用高分辨快原子轰击质谱(HRFAB-MS)分析了 6 个含有二个糖的核苷类似物,测定了它们分子离子和特征离子的精确分子量,并确定了其分子式。

关键词: 高分辨快原子轰击质谱 核苷类似物

1 前言

随着生命科学的蓬勃发展,不断发现或合成出了一些具有生物活性的小分子,它们大部分是极性很强、不易挥发的化合物如肽、寡糖、寡核苷酸等,由于提取或合成出的这类样品的量很少,因此发展灵敏、准确的鉴定方法就显得十分重要^[1]。

通常测定一个化合物的元素组成时应用元素分析方法,但是元素分析法要求的样品量大,不能用来测定此类化合物,而现代质谱技术利用高分辨质谱可以得到待测物的精确质量,从而得到它的元素组成及确定的分子式。传统的电子轰击(EI)电离方式仅适合于极性小、沸点低和热稳定性好的化合物,因而在生物小分子的分析中受到很大限制。快原子轰击质谱(FAB-MS)是一种软电离技术,用 HRFAB-MS 可以测定质谱中离子的精确质量,得到化合物准分子离子和主要碎片离子的元素组成,分子式。它适合分析此类生物小分子^[2]。

核苷作为药物早已引起人们的广泛兴趣,很多核苷及核苷类似物具有抗肿瘤或抗病毒活性^[3,4]许多天然在抗生素的结构组成为一核苷与寡糖相连^[5],本文应用 HRFAB-MS,测定了一类新的含有二糖结构的核苷类似物,得到了精确的分子量信息,确定了它们的分子式及主要特征离子,为今后分析此类化合物提供了一种有效的分析方法。

2 实验部分

2.1 样品来源: 六种核苷类似物是由天然药物及仿生药物国家重点实验室合成。

2.2 仪器及测定方法

2.2.1 仪器 Micromass 公司 Zapspec 高分辨磁质谱仪, 铯离子源, 电压扫描方式, 分辨率

5000, 扫描速度 3s/dec, 样品用氯仿溶解, 基质为甘油。

2.2.2 六种核苷类似物的精确质量及组成测定

用聚乙烯醇 400 对仪器的质量进行校正, 并用它作为内标进行精确分子量测定。六种核苷类似物的质量扫描范围见表 1。

表 1 六种核苷类似物的准分子离子质量扫描范围

样品名	GA -A	GA -I	GA -U
	GL -A	GL -I	GL -U
扫描范围 (Da)	480-580	480-580	430-530

2.2.3 主要碎片特征离子的精确质量及组成测定

用聚乙烯醇 200 对仪器的质量进行校正, 并用它作为内标进行精确分子量测定。六种核苷类似物的碎片离子(结构见图 1)质量扫描范围见表 2。

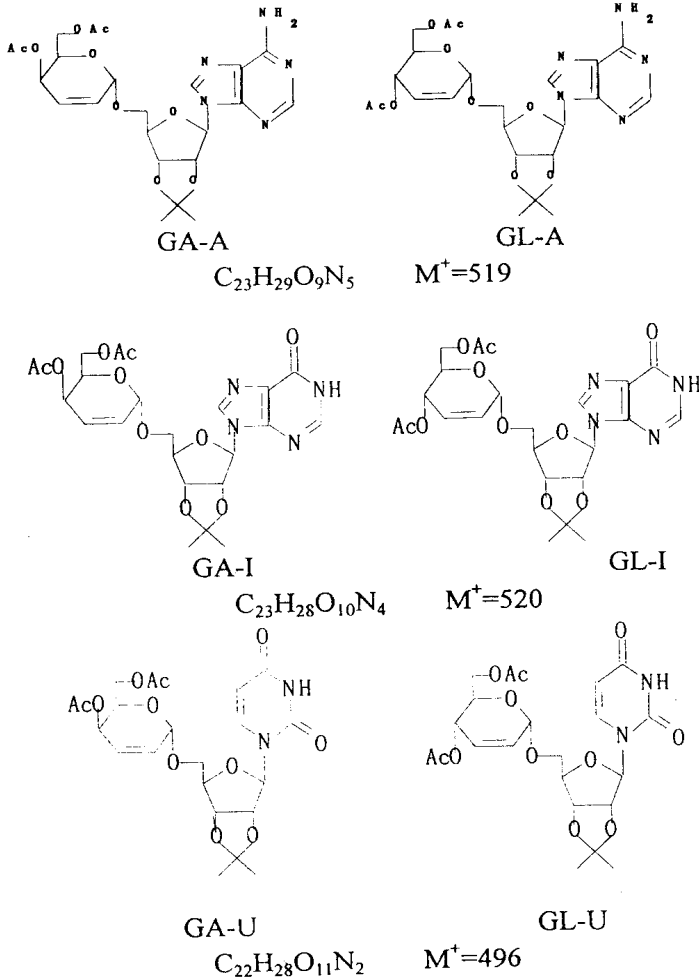


图 1 六种核苷类似物的结构式

表 2 六种核苷类似物的碎片离子质量扫描范围

样品名		GA -A	GA -I	GA -U
		GL -A	GL -I	GL -U
扫描范围 (Da)	碎片 A	160-260	160-260	160-260
	碎片 B 1-B 3	250-350	250-350	200-300

3 结果与讨论

六种核苷类似物的结构式如图 1 所示, 其为一类热不稳定性化合物, 在 EI 谱图中无法得到分子离子峰, 为了精确测定其分子量并确证其分子式, 我们采用 FAB 法得到其分子离子加氢峰, 并用 HRFAB 法测得其准确的质量数及组成。

HRFAB 可采用的扫描方式有磁场扫描 (Magnet Scan) 及电压扫描 (Voltage Scan) 笔式。磁场扫描的优点是可进行全谱扫描, 但测量误差较大, 而电压扫描不能进行全谱测定, 质量扫描范围小于 200 Da, 但其质量测量精度比磁场扫描方式高, 因此我们选用电压扫描方式。同时我们还采用了峰匹配法, 每次只测定一个离子以提高精度。

实验中, 我们选用 PEG400 标准品作内标, PEGs 在甘油中主要出现 $[PEG_s + H]^+$ 系列离子, 离子与离子之间相差一个乙烯醇单体 (44 Da), 因此我们选择包含要检测的 $[M + H]^+$ 及两个内标峰在内的 100 个质量数范围作为扫描范围 (表 1), 以此提高其准确度。用甘油做基质, 选择分辨率 5000 时进行测定, 计算其分子式的理论值并与测量值比较, 测量值的误差均小于 0.3 mDa (表 3)。

表 3 六种核苷类似物的准分子离子的 HRFAB-MS 的分析结果

样品名	$[M + H]^+$ 组成	理论计算值	测量值	误差 (mDa)
GA -A	$C_{23}H_{30}N_4O_9$	520.2044	520.2041	0.3
GL -A	$C_{23}H_{30}N_4O_9$	520.2044	520.2045	0.1
GA -I	$C_{23}H_{29}N_4O_{10}$	521.1884	521.1881	0.3
GA -I	$C_{23}H_{29}N_4O_{10}$	521.1884	521.1886	0.2
GA -U	$C_{22}H_{29}N_4O_{11}$	497.1772	497.1772	0.0
GL -U	$C_{22}H_{29}N_4O_{11}$	497.1772	497.1772	0.0

这 6 个核苷类似物的 FAB 质谱图中, 除含高丰度的准分子离子 $[M + H]^+$ 外, 还含一些特征的碎片离子。我们选取它们其中的二个特征离子, 用 PES200 作内标, 扫描 100 个质量数进行精确质量测定, 其结果见表 4。表 4 结果表明, 这六个核苷类似物的主要裂解途径见图 2。

表4 六种核苷类似物的碎片离子的HRFAB-MS的测定结果

碎片离子	测量值	理论计算值	误差(mDa)	组成	
GA-A	A	213.0781	213.0763	1.8	C ₁₀ H ₁₃ O ₅
	B1	290.1261	290.1253	0.8	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₃
GL-A	A	213.07774	213.0763	1.1	C ₁₀ H ₁₃ O ₅
	B1	290.1259	290.1253	0.6	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₃
GA-I	A	213.0764	213.0763	0.1	C ₁₀ H ₁₃ O ₅
	B2	291.1098	291.1093	0.5	C ₁₃ H ₁₅ N ₂ O ₄
GL-I	A	213.0759	213.0763	0.4	C ₁₀ H ₁₃ O ₅
	B2	291.1095	291.1093	0.2	C ₁₃ H ₁₅ N ₂ O ₄
GA-U	A	213.0763	213.0763	0.0	C ₁₀ H ₁₃ O ₅
	B5	267.0990	267.0981	0.9	C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₅
GL-U	A	213.0767	213.0763	0.4	C ₁₀ H ₁₃ O ₅
	B3	267.0998	267.0981	1.8	C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₅

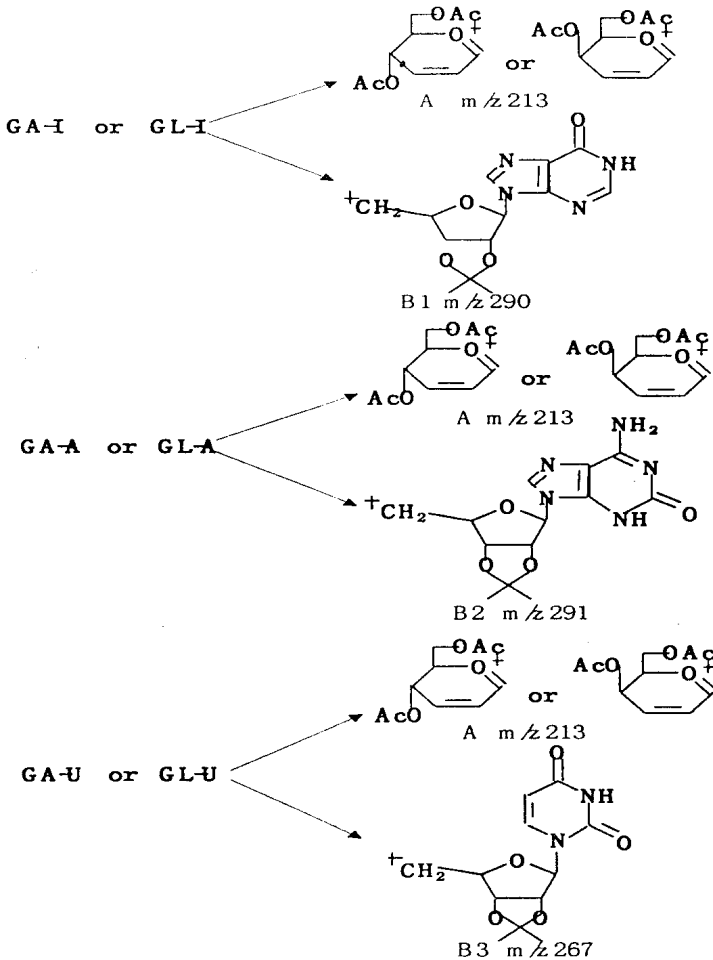


图2 六种核苷类似物的主要裂解途径

以上实验结果表明,HRFAB-MS 法作为测定核苷类似物精确分子量及确证分子式的方法,灵敏度高,准确度高,可以代替元素分析法确定化合物的元素组成,给热不稳定性化合物的分子式确定提供了一个可靠的方法,并为此类化合物提供了一种辅助的结构分析方法。

参 考 文 献

- 1 邱丰和 质谱学报, 1997, 18(3): 63-80
- 2 Grafe U, Schlegel R, Ritzau M. J Natural Products, 1995, 48(2): 119-125
- 3 G C D iana, D pevear et al Am Rep Med Chem, 1987, 24, 129
- 4 H J Schaeffer, L Beauchamp *et al* Nature 1978, 272, 583
- 5 M Takahashi, T Kagasaki *et al* J Antibiot 1993, 46(11), 1643

Analysis of Nucleoside Analogs by High Resolution Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry

Sang Zhihong, Cai Yun, Wang Jie, Qian Xiaohong, Yang Songcheng
(National Center of Biomedical Analysis, Beijing 100850, China)

Liu Zhongjie, Min Jim ei, Zhang L ihe
(National Research Laboratory of Natural and Biometric Drugs,
Beijing Medical University, Beijing 100083, China)

Received 1999-12-07

Abstract

Six nucleoside analogs (nucleoside with two sugars) were determined by HRFAB-MS. Molecular formulas of molecular ion and characteristic ions were confirmed. Experimental results indicate that this method is a simple, effective and sensitive way to analyze them ally labile biological small molecules.

Key Words: HRFAB-MS, nucleoside analogs