

海南野扇花碱类化合物的 FAB 与 ESI-MS/MS 的比较

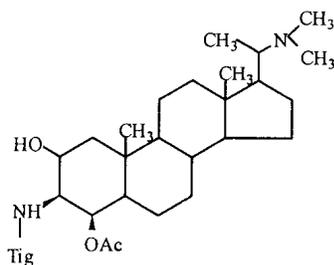
李立军 刘颖 邹忠梅 丛浦珠

(中国医学科学院 中国协和医科大学药物研究所 北京 100050)

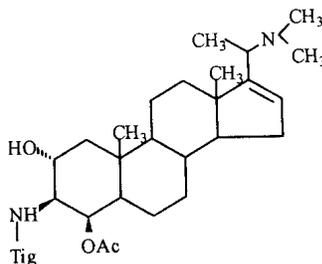
[摘要] 本文报告考察了 FAB 与 ESI 碰撞诱导解离(CI)对 MS/MS 裂解的影响。采用不同的实验能量和加速电压, 以及不同的反应气氙气、甲烷对海南野扇花碱类化合物的 $[M + H]^+$ 离子进行碰撞, 结果得到不同的 CI 谱。结论: CI 谱主要取决于碰撞能量, 但与母离子的初始内能和反应气体仍有关系。

关键词: MS/MS CI 碰撞能量 海南野扇花碱

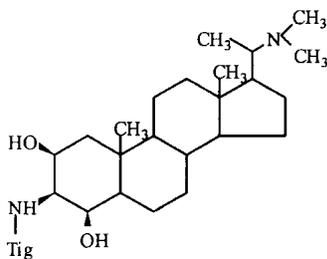
从海南野扇花 (*Sarcococca vagans*) 根中分离得到一系列新的甾体生物碱^[1], 选取其中的 5 种, 其结构式和分子量及命名如图- 1, 进行了快原子轰击(FAB)和电喷雾(ESI)-MS/MS 的比较研究。裂解方式的解释由高分辨质谱和碎片峰的 MS/MS 证实。



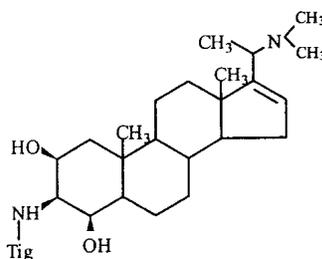
Sarcovagine B, mw 502



Sarcovagine B, mw 500



Sarcovagine A, mw 460



Sarcovagine A, mw 458

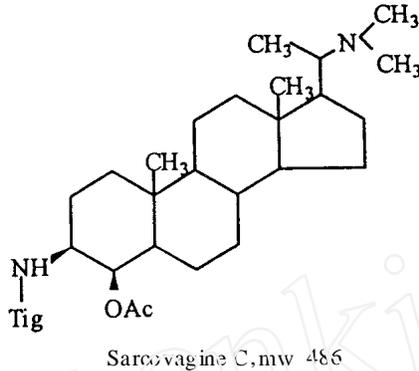


图1 海南野扇花碱类化合物的结构

1 实验部分

仪器: AutoSpec Ultima-Tof 磁场+ 飞行时间质谱仪。

FAB: 铯离子枪, 底物为甘油, 溶剂为甲醇, 加速电压为 8KV 和 4KV。

ESI 样品溶于 50% 的甲醇水溶液中, 浓度为 20ng/μl, 加入 0.1% 的甲酸或 1% 的乙酸, 用柱塞泵直接进样, 进样速度 10μl/min, 加速电压 4KV, 锥体电压 20V。

CD 碰撞气体采用氙气和甲烷, 实验能量(E_{lab}) 分别从 800eV 到 50eV。

高分辨 ESI, 分辨率 10000, 高分辨 FAB, 分辨率 7000。低分辨 ESI 及 FAB 分辨率均为 1000。

2 结果与讨论

对于串联质谱仪, 由第一级质谱产生的母离子通以反应气, 经第二级质谱得到 MS/MS 谱, 亦称 CD (collision induced dissociation) 碰撞诱导解离质谱。CD 碰撞能量, 通常指的是加在母离子上的中心能量 (centre of mass energy, E_{com} , 与碰撞所用的气体的分子量 (M_g)、所碰撞的母离子的分子量 (M_p) 及实验用的能量 (E_{lab}) 有关^[2]:

$$E_{com} = E_{lab} [M_g / (M_p + M_g)]$$

其中, E_{lab} 为 ESI 的加速电压与碰撞室的电压之差。不同能量碰撞得到的 CD 谱不同^[3]。

2.1 海南野扇花碱的 FAB-MS/MS 裂解方式 (以海南野扇花碱 B, (Sarcovagine B) 为例) 见图 2

2.2 母离子初始内能对裂解的影响

因海南野扇花碱的 CLEI 产生的 $[M + H]^+$ 离子非常弱, 所以只比较了 ESI 与 FAB 的 $[M + H]^+$ 离子的 CD-MS/MS 谱, ESI 是最软的电离方式, 产生的母离子初始内能比 FAB, CLEI 都低, ESI 与 FAB 产生的母离子初始内能, 相对于碰撞能量来说较小, 碰撞产生的子离子谱基本相同, 但仍可找出区别, 无论碰撞气体采用氙气还是甲烷, 也不论实验能量高低, 海南野扇花碱 B 与海南野扇花碱 A 的 FAB-CD 谱均比 ESI-CD 谱多了离子 m/z 425 及 443 (见图 3a, 3b), 海南野扇花碱 (Sarcovagine) 的 FAB-CD 谱只比相

应的海南野扇花碱的 FAB-CD 谱质量数少 2, 增加的离子类型相同, 海南野扇花碱 C 上无羟基, 所以仅增加了脱乙酸的离子 m/z 427 以及再脱去 $\text{CH}_2\text{CHCCH}_3\text{CO}$ 的离子 m/z 345, 这说明母离子初始内能高, 更容易裂解, 易失去中性小分子如乙酸和水; 母离子初始内能低, 则不易裂解, 其相对较少的裂解更依赖于外部的碰撞能量。一般认为母离子初始内能高, 碰撞产生的子离子丰度高, 既效率高, 而特征子离子应该相同, 即子离子数目应该相同, 而实际上高内能母离子可产生低内能母离子不具有的特征离子。因此说, 由不同初始内能的母离子产生的子离子谱不仅仅是量, 而有质的差别, 母离子初始内能对裂解造成的影响不能忽略。

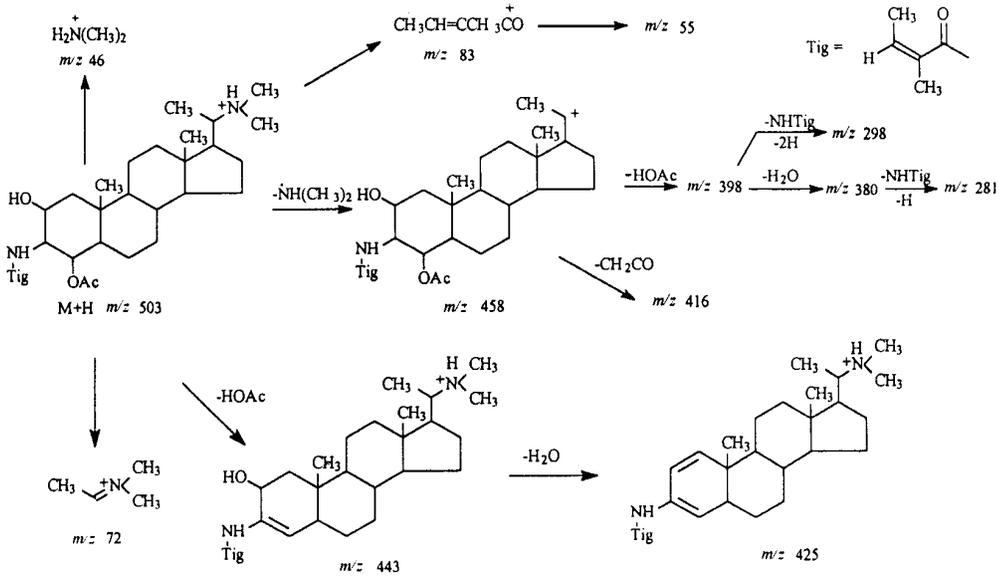


图 2 海南野扇花碱 B 的 FAB-MS/MS 裂解图

2.3 碰撞反应气种类对裂解的影响

根据上述公式, 碰撞反应气分子量越大, 碰撞能量越高, 碰撞能量高, 产生的碎片离子数目多, 但碎片离子绝对丰度不一定高。氙气重, 碰撞能量高, 但散射较多, 一般为单次碰撞, 因为磁式质谱碰撞室无电场, 不能使离子聚焦, 所以碰撞效率反而低, 灵敏度损失大。甲烷与氙气比较, 甲烷分子截面积大, 非刚性, 可多次碰撞, 效率高。采用氙气, 几种化合物的 CD 谱中均有失去甲基的离子, FAB 与 ESI 均如此, 海南野扇花碱 B 还出现离子 m/z 389, 由母离子 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 直接同时断裂 $\text{CH}_3\text{CHN}(\text{CH}_3)_2$ 和 CH_2CO 而来, 即使降低实验能量, 离子 m/z 389 仍很明显, 当采用甲烷碰撞气体时, 提高实验能量, 即使碰撞能量 E_{com} 与采用氙气相同, 均为 20.7eV, 离子 m/z 389 仍未出现。(见图 4a, 4b)

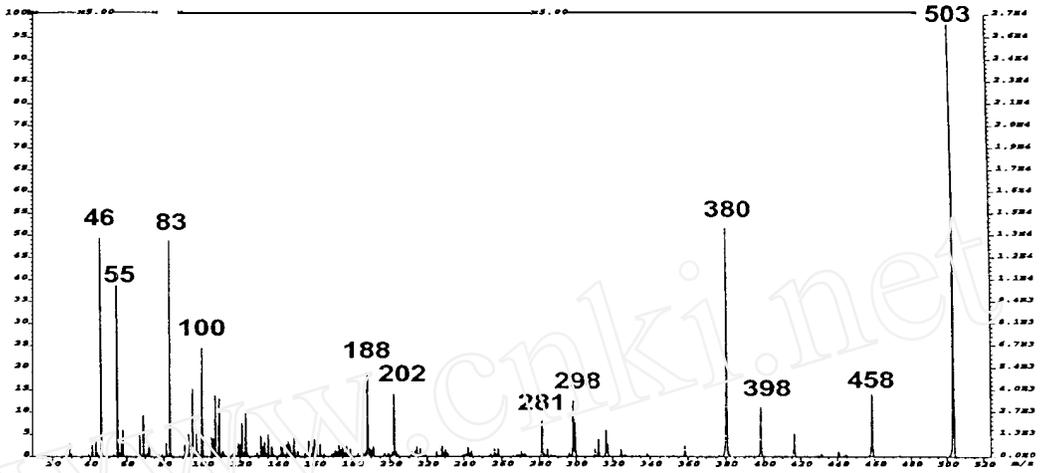


图 3a 海南野扇花碱B 的 ES-ICD, 甲烷碰撞, $E_{lab} = 100\text{eV}$

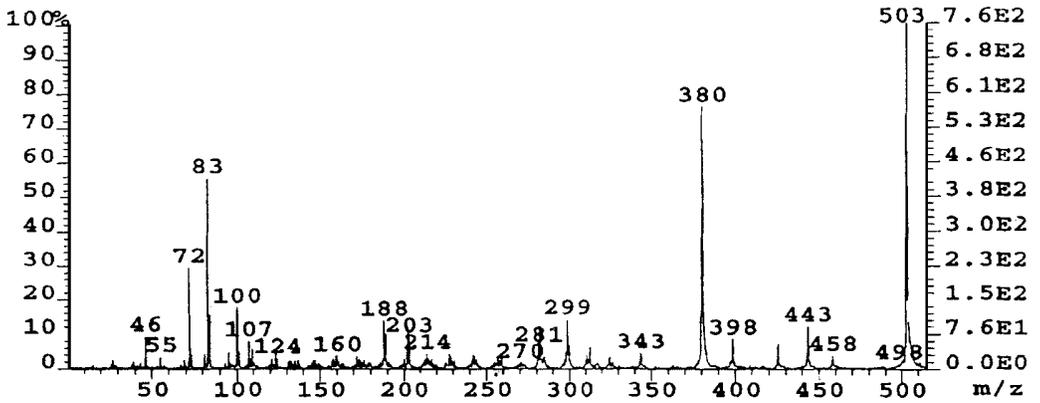


图 3b 海南野扇花碱B 的 FAB-CID, 甲烷碰撞, $E_{lab} = 100\text{eV}$, 加速电压 8KV

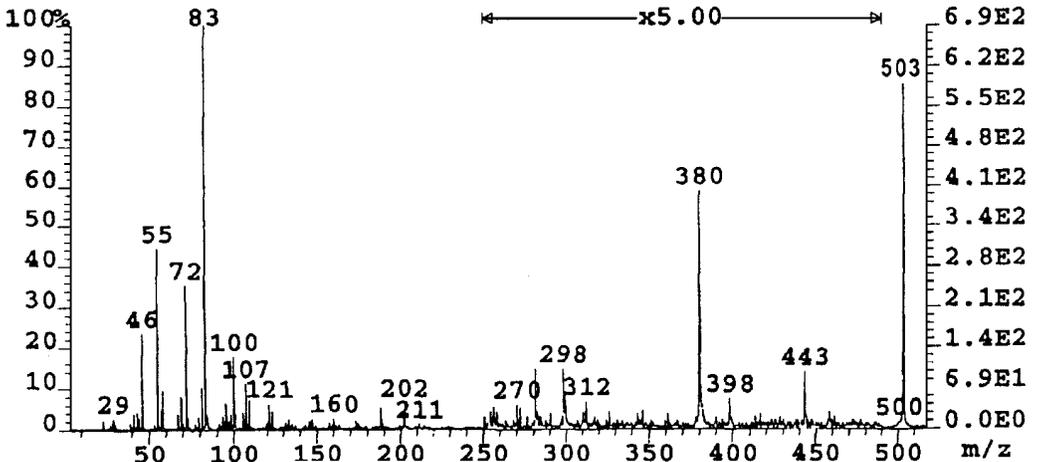


图 4a 海南野扇花碱B 的 FAB-CID, 甲烷碰撞, $E_{lab} = 670\text{eV}$, 加速电压 8KV

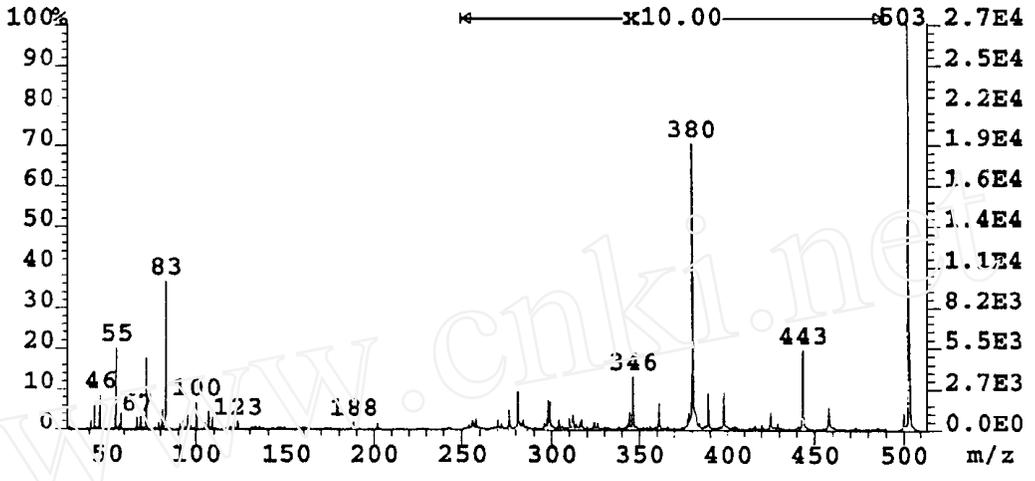


图 4b 海南野扇花碱B 的 FAB-CD, 氙气碰撞, $E_{lab} = 100\text{eV}$, 加速电压 4KV

2.4 碰撞反应气压力对碎片丰度影响

碰撞反应气压力只对碎片丰度和总离子流有影响, 而与特征离子是否产生无关, 即反应气压力与碰撞能量无关。压力若过低, 母离子不易被打碎, 子离子很少, 但即使增高压力到极限, 由于碰撞能量所决定的特征离子仍然不会出现, 过高则灵敏度损失太大, 总离子流很低, 高质量区几乎无峰。对于 AutoSpec Ultima-ToF, 碰撞室压力为 $1 - 4 \times 10^{-6} \text{ m bar}$ ($1 - 4 \times 10^{-4} \text{ Pa}$) 较合适。一张好的 CD 谱, 应既包含母离子而碎片峰又尽可能丰度高, 否则应调整碰撞室压力至合适。(见图- 5a, 5b, 5c, 加速电压均为 4KV)

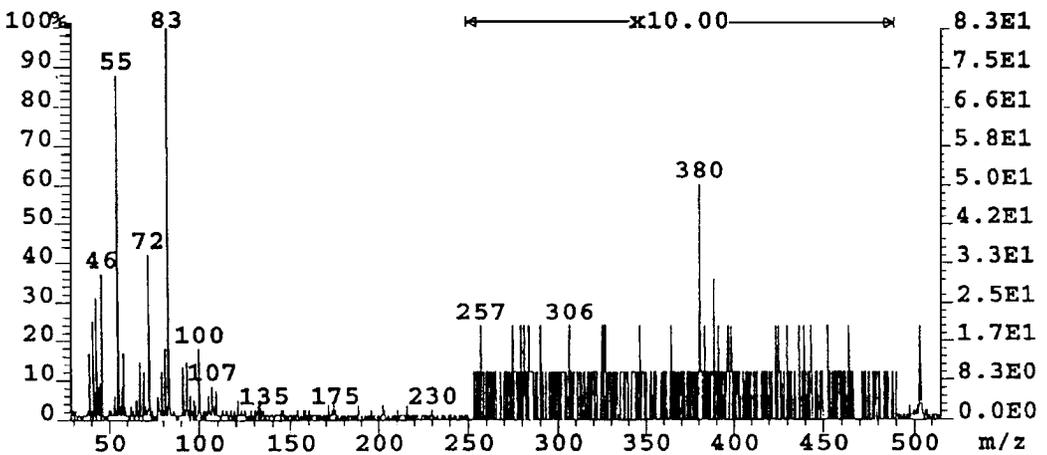


图 5a 海南野扇花碱B 的 FAB-CD 谱, 氙气碰撞, $3 \times 10^{-6} \text{ m bar}$, 压力较高, $E_{lab} = 400\text{eV}$

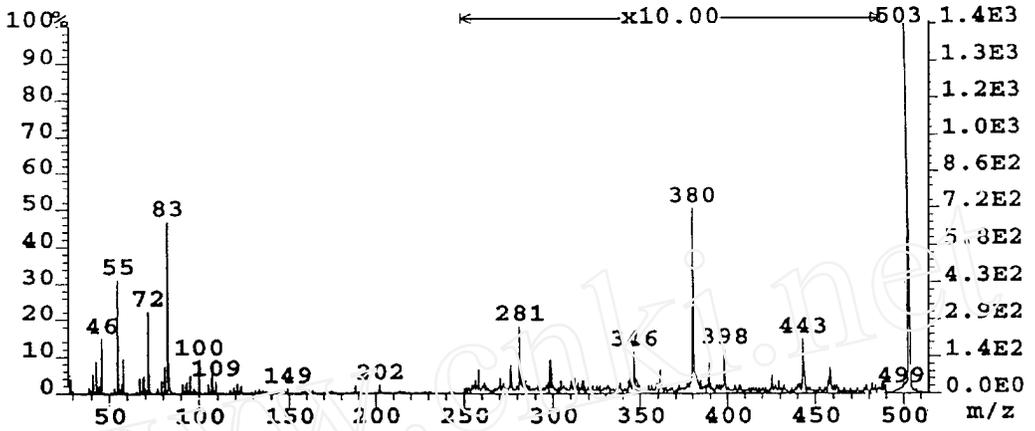


图 5b 海南野扇花碱 B 的 FAB-CD 谱, 氙气碰撞, 1.4×10^{-6} m bar, 压力适中, $E_{lab} = 400$ eV

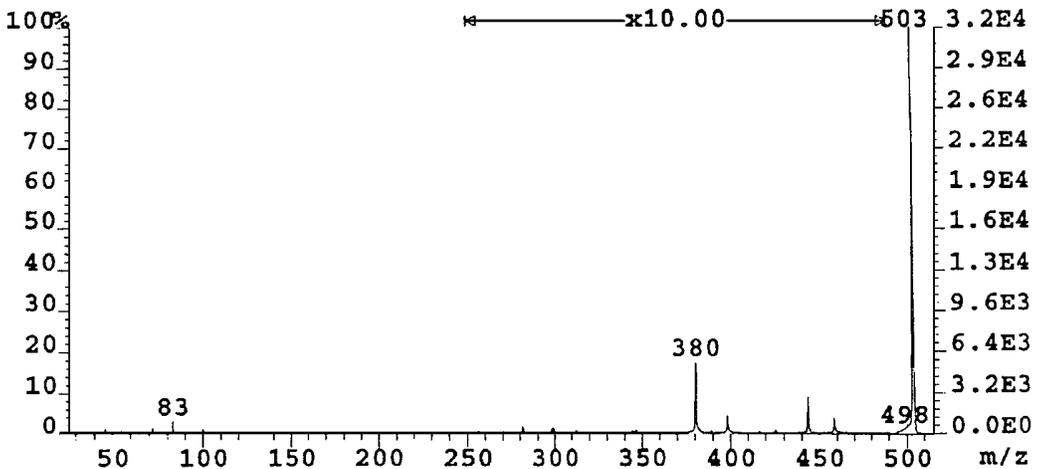


图 5c 海南野扇花碱 B 的 FAB-CD 谱, 氙气碰撞, 0.5×10^{-6} m bar, 压力较低, $E_{lab} = 400$ eV

2.5 碰撞反应气压力与实验能量的关系

实验能量低, 若要得到较好的 CD 谱, 需要增加碰撞反应气压力, 实验能量高时, 需适当降低碰撞反应气压力, 这是很好理解的。另外采用甲烷要比采用氙气需要压力高些。

2.6 实验能量与碰撞效率的关系

在一定能量范围内, 实验能量越低, 碰撞效率越高; 实验能量越高, 碰撞效率越低。特别是高质量区的离子丰度变化明显, 碰撞效率高, 母离子的丰度弱, 碎片离子丰度强。见图 3b $E_{com} = 3.1$ eV, 图 4a 及 4b $E_{com} = 20.7$ eV。

2.7 加速电压对 CD 谱的影响

加速电压 8KV 与 4KV 得到的 CD 谱没有区别, 只不过 8KV 时实验能量可以达到最大, 对于 AutoSpec Ultima-ToF, 8KV 时实验能量最高 800 eV, ESI 因加速电压所限, 实验能量最高 400 eV, 因为实验能量是相对值, 当实验能量相同, 除加速电压不同外其他条件也相同时, CD 谱相同。见图 3b 与图 6。

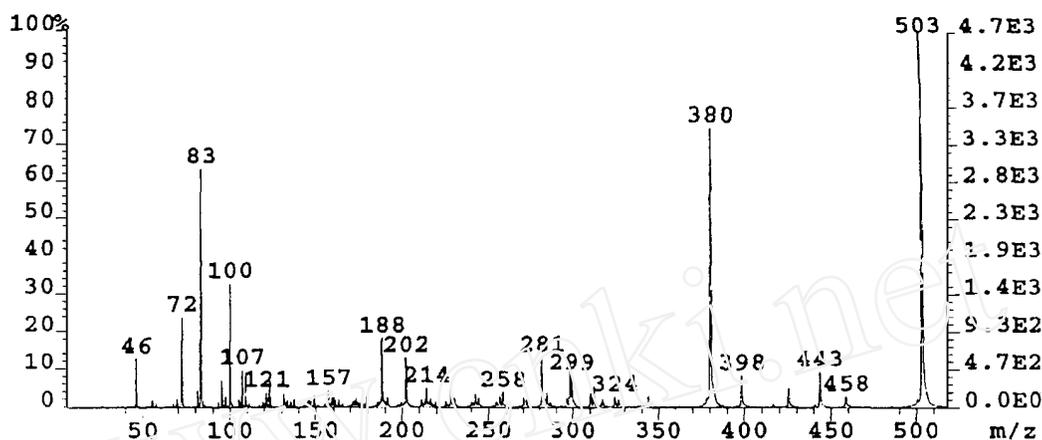


图 6 海南野扇花碱 B 的 FAB-CD 谱, 甲烷碰撞, $E_{\text{lab}}=100\text{eV}$, 加速电压 4KV

致谢 本文内容曾与再帕尔·阿不力孜教授讨论, 在此谨表衷心感谢。

参 考 文 献

- 1 庾石山等 海南野扇花中甾体生物碱的化学研究, 药学学报, 1997, (11), 852
- 2 Block E, Ahma S, Jain M K *et al* J Am Chem Soc, 1984, 104, 8295
- 3 Green M R and Bateman R H. Micromass Ltd Technical Note 105

Comparison Between FAB and ESI-CD MS/MS of Sarcovagine Compounds

Li Lijun, Liu Ying, Zou Zhongmei, Cong Puzhu

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and
Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Received 1999-09-15

Abstract

In this paper we studied the collision induced dissociation (CD) conditions, involving the MS/MS fragmentation effects by different ionization mode (FAB and ESI). The different CD spectra are obtained by using different laboratory frame colliding energies and accelerating voltages, and different reaction gases (Xe and CH₄) on the ions $[M + H]^+$ of sarcovagine compounds. The conclusion is: the CD spectra mainly depend on collision energy, whereas also associated with the initial energy of mother ion and reaction gas.

Key Words: MS/MS, CD, collision energy, sarcovagine