

液相基体辅助激光解吸/电离 质谱法测定紫杉烷类化合物^{*}

黎军 邵伟艳 邓慧敏 赖志辉 赵善楷^{**}

(中山大学测试中心 广州 510275)

[摘要] 本文以邻-硝基苯辛醚(NPOE)为液相基体, 纤维纸为基底, 用基体辅助激光解吸/电离飞行时间质谱法(MALDI-TOF-MS)测定紫杉烷类化合物, 研究其激光裂解规律。

关键词: 基体辅助激光解吸电离质谱法 邻-硝基苯辛醚 紫杉烷 裂解

紫杉烷类化合物是目前具有很好疗效的抗癌药物, 已引起人们的普遍重视。对有关这类化合物的抗肿瘤机理, 对不同生物体的作用, 衍生物的制备, 结构改造及全合成等方面人们进行了广泛的研究。对于紫杉烷类化合物的定性分析, 有快原子轰击质谱法(FAB)和基体辅助激光解吸/电离质谱法(MALDI-MS)等。FAB 法对化合物纯度要求高, 且分子离子峰丰度小, 不易判断; 而 MALDI-MS 法能对粗产品及混合物进行分析。Mary E. Cimon 和 Gary R. Kinsel 用对-硝基苯胺为固相基体对紫杉烷类化合物进行了分析^[1], 用液相基体对紫杉烷类化合物分析至今未见报导。

1 实验方法

1.1 仪器及试剂

紫外仪为岛津 UV240; 质谱仪为自行研制的激光微探针飞行时间质谱仪^[2], 激光波长为 355nm, 采用线性检测方式, 加速电压为 ± 9 kV。邻-硝基苯辛醚为 Aldrich 公司产品, 其余试剂为国产 AR 级。

1.2 紫杉烷来源及试样制备

紫杉烷类化合物提取: 将干燥的云南产红豆杉树皮, 在室温下用甲醇浸取, 浸取液浓缩成悬浊液, 用石油醚萃取以除去树脂类化合物, 然后再用二氯甲烷萃取, 萃取液蒸干后得到固体粗提物。粗提物用适量的二氯甲烷溶解, 以硅胶 H 拌样, 硅胶 H 装柱, 进行快速减压柱层析, 以石油醚和乙酸乙酯混合液进行梯度洗脱, 使用薄层色谱法(TLC)跟踪, 采用 I_2 蒸汽及紫外灯(254nm)显色。所得各馏分用乙酸乙酯和石油醚或二氯甲烷和甲醇混合液重结晶, 得到各个紫杉烷类化合物。本实验测定的四个紫杉烷类化合物结构经核磁

1998-08-09 收

^{*} 国家自然科学基金资助项目(29170244)

^{**} 通讯联系人

共振、质谱、红外光谱、紫外光谱和元素分析等证明如图 1 所示。

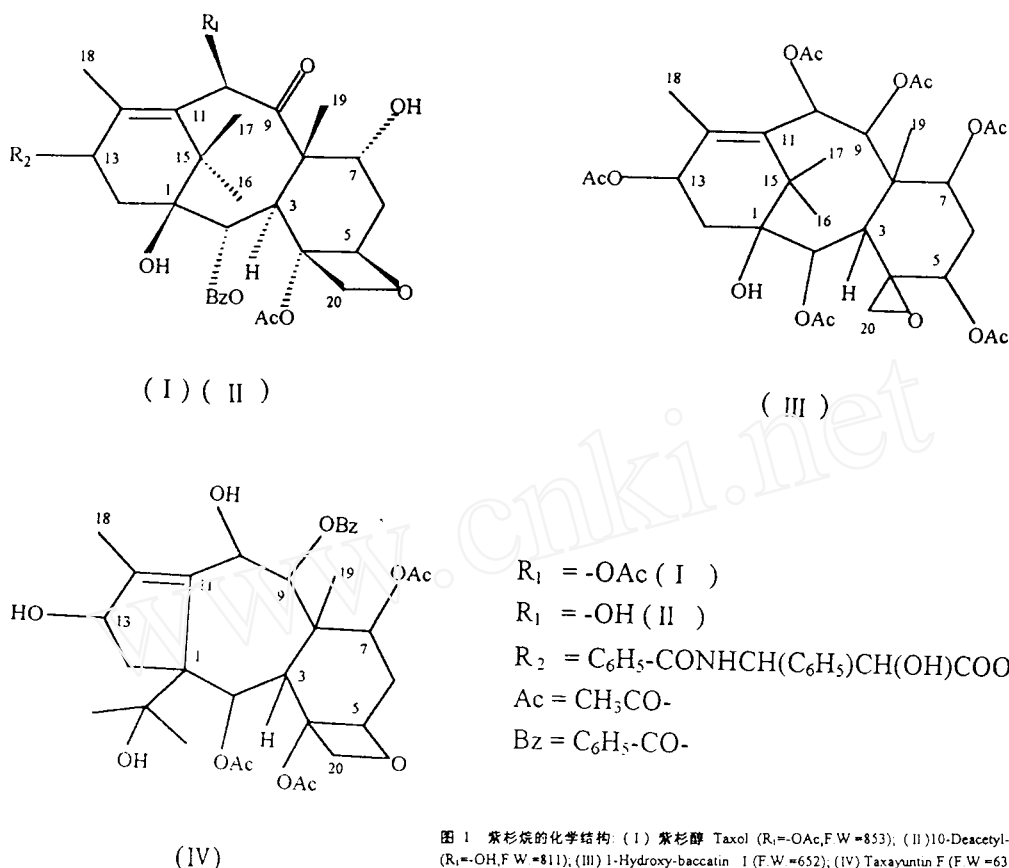


图 1 紫杉烷的化学结构: (I) 紫杉醇 Taxol ($R_1 = -OAc$, F.W. = 853); (II) 10-Deacetyl-taxol ($R_1 = -OH$, F.W. = 811); (III) 1-Hydroxy-baccatin I (F.W. = 652); (IV) Taxayuntin F (F.W. = 630)

试样制备:把紫杉烷类化合物 I、II、III、IV 配成 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 甲醇溶液, II 另配一个 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 甲醇溶液,以纤维纸为基底,取试样 $5 \mu\text{L}$,基体液 $5 \mu\text{L}$ 混合均匀,再取混合液 $5 \mu\text{L}$,滴到纤维纸上,纤维纸通过双面胶贴到样品台上,然后进行质谱测定。

2 结果与讨论

2.1 基体邻-硝基苯辛醚的紫外吸收特性及基底的选择

邻-硝基苯辛醚在室温下是无色油状液体,沸点 $197-198^\circ\text{C}/11\text{mmHg}$,分子量 251.33。本实验以甲醇为参比液,测定邻-硝基苯辛醚(NPOE) $8.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 甲醇溶液的紫外吸收特性,发现 NPOE 有三个紫外吸收峰: $\lambda_{\text{max}} = 215 \text{ nm}$ ($\epsilon = 34,000$)、 258 nm ($\epsilon = 10,000$) 和 324 nm ($\epsilon = 7,800$)。实验所使用激光波长为 355 nm ,于此波长处 NPOE 的 $\epsilon = 4600$ 。可见, NPOE 在 355 nm 处仍有较强的紫外吸收,满足作为基体的必要条件。

由于表面张力的缘故,基体邻-硝基苯辛醚在银片等金属表面凝成细珠,故不能用银片等金属做基底;硝化纤维膜能溶解于甲醇,也不能用作基底。本实验选用纤维纸做基底,效果很好。Shankai Zhao 等曾报导了纤维纸作基底的优点^[3]。

2.2 基体浓度的选择

以紫杉醇(Taxol, F.W. = 831)的 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 甲醇溶液为试样,试验不同浓度

的基体邻-硝基苯辛醚甲醇溶液的质谱行为,发现当邻-硝基苯辛醚的浓度为 0.1mol/L 时,紫杉醇分子离子易出峰。故以下实验选用的基体邻-硝基苯辛醚甲醇溶液浓度都为 0.1mol/L 。

2.3 紫杉烷类化合物的直接测定

图2和图3分别为化合物Ⅰ(Taxol, F.W. = 853)和化合物Ⅱ(10-Deacetyl-taxol, F.W. = 811)的激光质谱图。

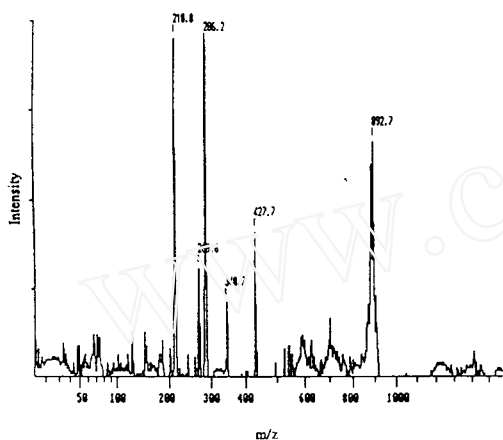


图2 紫杉醇 Taxol (F.W.=853)的激光质谱图 ($1.0 \times 10^{-3}\text{mol/L}$)

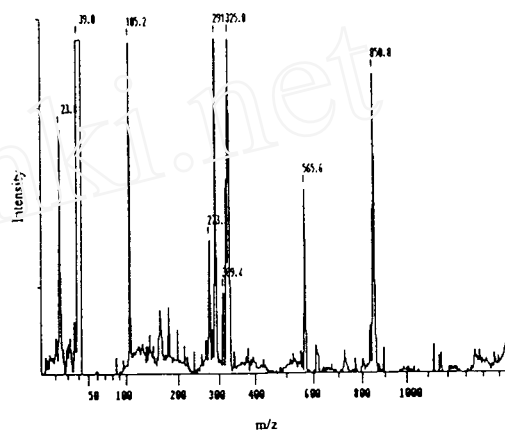


图3 10-deacetyl-taxol (F.W.=811)的激光质谱图 ($1.0 \times 10^{-2}\text{mol/L}$)

化合物Ⅱ在浓度 $1.0 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 时,其分子的 $[M+Na]^+$ 和 $[M+K]^+$ 加成离子峰很弱。若把此化合物的浓度增大10倍即 $1.0 \times 10^{-2}\text{mol/L}$ 时,其 $[M+Na]^+$ 和 $[M+K]^+$ 的加成离子峰迅速增强。比较化合物Ⅰ和Ⅱ的质谱行为,化合物Ⅱ要求较高的测定浓度,这可能是化合物Ⅰ和Ⅱ的10位取代基不同所致,前者为 $-OAc$,而后者为 $-OH$,不同取代基对二者极性和紫外吸收都有不同影响,从而影响其质谱行为。在相似的实验条件下,以对-硝基苯胺为固相基体测定化合物Ⅱ,我们也发现类似的结果。

图4和图5分别为化合物Ⅲ(1-Hydroxy-baccatin I, F.W. = 652)和Ⅳ(Taxayuntin F, F.W. = 630)的激光质谱图。

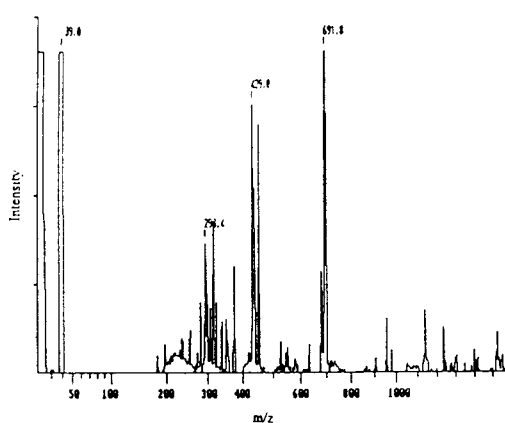


图 4 1-Hydroxy-baccatin I (F.W.=652) 的激光质谱图 (1.0×10^{-3} mol/L)

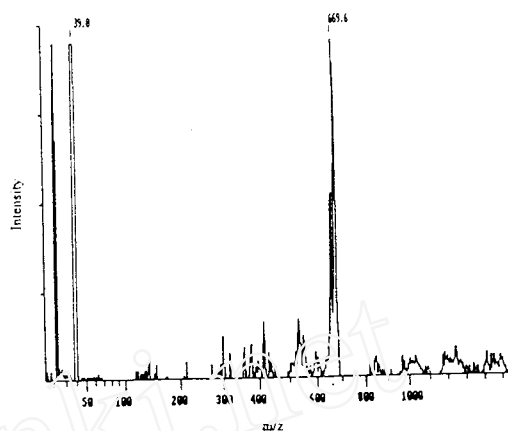


图 5 Taxayuntin F (F.W.=630) 的激光质谱图 (1.0×10^{-3} mol/L)

综合以上的紫杉烷类化合物的激光质谱行为,其结果如表 1 所示。

表 1 以 NPOE 为液相基体 MALDI-MS 法测定紫杉烷类化合物结果比较

Analyte	m/z	Assignment
I $C_{47}H_{51}NO_{14}$	892	$[M+K]^+$
Taxol	876	$[M+Na]^+$
(F.W. = 853)	427	$[M-R_2-BzH-2H_2O]^+$
	341	$[M-R_2-BzH-AcOH-AcH-H_2O]^+$
	286	$[R_2+2H]^+$
	268	$[R_2-O]^+$
	210	$[R_2-O-CO-HCOH]^+$
II $C_{45}H_{49}NO_{13}$	850	$[M+K]^+$
Deacetyl-taxol	834	$[M+Na]^+$

(F. W. = 811)	565	$[M+K-R_2]^+$
	325	$[M-R_2-BzH-AcOH-2H_2O]^+$
	309	$[M-R_2-BzOH-AcOH-2H_2O]^+$
	291	$[M-R_2-BzOH-AcOH-3H_2O]^+$
	273	$[M-R_2-BzOH-AcOH-4H_2O]^+$
	105	$[Bz]^+$
III $C_{32}H_{44}O_{14}$	691	$[M+K]^+$
1-Hydroxy-baccatin I	675	$[M+Na]^+$
(F. W. = 652)	429	$[M+H-3AcOH-AcH]^+$
	293	$[M+H-6AcOH]^+$
IV $C_{33}H_{42}O_{12}$	669	$[M+K]^+$
Taxayuntin F	653	$[M+Na]^+$
(F. W. = 630)		

从表 1 发现,紫杉烷类化合物的激光质谱与一般 MALDI 法所产生谱图以 $[M+H]^+$ 为主不同,出现较强 $[M+Na]^+$ 和 $[M+K]^+$ 加成离子峰,这与多糖的激光质谱性质相似^[4];羟基($-OH$)、乙酰氧基($-OAc$)、乙酰基($-Ac$)、苯酰氧基($-OBz$)和苯酰基($-Bz$)易于丢失;环状结构不易破裂。使用此液相基体,基体分子离子峰和碎片离子峰少,而应用固相基体对-硝基苯胺, $[M+H]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 和 $[M+K]^+$ 离子峰较弱,并且可观察到大量的基体分子离子峰及其碎片离子峰^[1]。

参 考 文 献

- 1 Mary E Gimon, Gary R Kinsel, Ricky D Edmondson, David H Russell. Journal of Natural Products, 1994, 57: 1404~1410
- 2 赵善楷, 钟峰, 查庆民, 陈东. 分析化学, 1994, 22: 1079~1082
- 3 Shankai Zhao, Kasi V Somayajula, Andrew G Sharkey and David M Hercules. Fresenius J Anal Chem, 1990, 338: 588~592
- 4 K Olaf Bornse, Martin D Mohr, H Michael Widmer. Rapid commun mass spectrom, 1995, 9: 1031~1034

The Measurement of Taxanes by the Method of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Using Liquid Matrix

Li Jun, Shao Weiyan, Deng Huimin, Lai Zhihui, Zhao Shankai *
(Instrumental Analysis & Research Center, Zhongshan University,
Guangzhou 510275, China)

Received 1998-08-09

Abstract

By using MALDI—MS with 2—Nitrophenyl octyl ether (NPOE) as liquid matrix and fibrous paper as substrate, four taxane compounds were measured. The fragmentation of their MALDI mass spectra was discussed.

Key Words: MALDI—MS, 2—nitrophenyl octyl ether, taxane, fragmentation

* To whom the respondent should be addressed.