

液相色谱-质谱联用法快速筛选苔类粗提液中双联苜化合物

吕蓓蓓, 邢杰, 谢春锋, 曲建博, 娄红祥

(山东大学药学院, 山东 济南 250012)

Rapid Screening *bis*-bibenzyls in Bryophyte Crude Extracts Using Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

LÜ Bei-bei, XING Jie, XIE Chun-feng, QU Jian-bo, LOU Hong-xiang
(School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China)

Abstract: Liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-ESI/MS/MS) in negative ion mode was used for the screening of *bis*-bibenzyls in 2 bryophyte crude extracts (*Marchantia polymorpha* L. and *Asterella angusta*). To obtain the mass spectrometric characteristics of bisbibenzyls, 15 confirmed *bis*-bibenzyls compounds were investigated and the fragmentation patterns were proposed. Further characterization of each crude extract was performed using full scan and MS/MS production analysis. The confirmed or unconfirmed *bis*-bibenzyls were identified or proposed by comparison of the retention behavior, mass spectrometric and the UV spectroscopic data with confirmed *bis*-bibenzyls compounds. As a result, 5/18, 8/16 confirmed/unconfirmed *bis*-bibenzyls were determined in the two crude extracts respectively. The method is simple, reliable and sensitive, and it could be used for screening other *bis*-bibenzyls analogs.

Keywords: bryophytes; *bis*-bibenzyls; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; rapid screening

中图分类号: O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2007) 增刊-97-03

苔藓植物在分类学上介于藻类植物和维管束植物之间, 从形态学上可分为三类: 角苔纲 (Hornworts)、苔纲 (Liverworts) 和藓纲 (Mosses)^[1]。苔藓植物是活性天然产物的宝库, 含有萜烯类、苯酚类、联苜类、黄酮类等化合物, 其中联苜类化合物主要存在于苔类植物中, 如片叶苔属 (*Riccardia*)、地钱属 (*Marchantia*)、羽苔属 (*Plagiochila*) 等, 它们具有细胞毒活性、抗炎、抗微生物活性、5-脂氧酶、环加氧酶及 DNA 聚合酶 β 抑制作用等药理学活性^[2-3]。目前分离、合成联苜类化合物正为学者们所关注, 而传统的分离纯化方法寻找新的联苜化合物工作量大且效率较低。借助高效液相色谱的高分离能力和质谱的高灵敏度及高选择性, 根据同类化合物质谱行为具有一定规律性的特点, 可直接快速筛选苔类植物粗提液中的双联苜化合物, 为寻找新的先导化合物节省大量的时间和财力物力。

1 实验部分

本实验采用电喷雾三重四极杆质谱 (ESI-TQ-MS), 以负离子扫描方式对 15 种双联苜对照品进行了质谱研究, 通过比较质谱碎片信息对其质谱规律进行了解析, 并采用液相色谱-电喷雾串联质谱 (LC-ESI-MS/MS) 法分析地钱 (*Marchantia polymorpha* L.) 和花萼苔 (*Asterella angusta*) 两种苔类粗

作者简介: 吕蓓蓓, E-mail: lbb525866@163.com

通讯作者: 娄红祥, E-mail: louhongxiang@sdu.edu.cn

提液,快速筛选其中的双联苳类化合物。通过比较色谱和质谱行为特征并结合紫外吸收数据,分别检测出 5/18 种和 8/16 种已知/未知双联苳化合物。该法选择性强、灵敏度高,可快速筛选双联苳类化合物,并为筛选其他结构类似物提供参考。

1.1 材料与试剂

15 种双联苳对照品(示于图 1)由本实验室提供,并经过 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、2D-NMR 谱、红外及紫外光谱结构验证。地钱和花萼苔于 2004 年 7 月采自四川乐山,自然阴干,各取 1 g 研成粉末,置于 50 mL 乙醇中超声震荡 30 min 后加入 50 mL 双蒸水,再加入等体积乙醚,震荡摇匀。减压蒸馏得乙醚相馏分,并将其溶于 1 mL 乙腈中,用 0.23 μm 滤膜过滤待用。

1.2 实验条件

API4000 三重四极杆质谱(ESI 源)系统喷雾电压 -3.0 kV,负离子扫描模式,所有气体均为高纯氮气,碰撞气、帘气、气体 1 和气体 2 压力分别为 3、12、50 和 50 psi;碰撞电压 30 eV, Q1 扫描单位为 0.5, Q3 扫描单位为 0.7;数据分析采用 Analyst 1.3.1 软件(Applied Biosystems/MDS Sciex);液相系统流动相 A 为双蒸水(含 0.1%甲酸),B 为乙腈(含 0.1%甲酸),流速为 0.6 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,线性梯度洗脱条件为 40% B, 0~10 min; 40%~55% B, 10~30 min; 55%~90% B, 30~40 min; 90% B, 40~50 min。

2 结果和讨论

2.1 双联苳化合物 ESI-MS/MS 分析

本实验在负离子模式下选择 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 离子作子离子扫描,具有代表性的几种碎片离子(a~g)裂解行为列于图 2。a 和 b 碎片离子是分子离子失去 92 u 和 106 u 的中性碎片产生,其中碎片 a 是断裂醚键、C4-C7 或 C8'-C9' 键形成的,丢失的部分为 A 环或 D 环。而碎片 b 比碎片 a 多 14 u,说明是断裂 C7-C8、C7'-C8' 键形成的。因各化合物 B、C 环上取代基的数目、种类及 B、D 环的连接方式不同造成其丰度各有不同。

c(m/z 241 或 225)碎片离子与 d 碎片离子(m/z 227 或 m/z 211)是断裂 C7-C8、C7'-C8' 或 C7-C8、C7'-C8' 相邻的单键产生的,丢失的部分均为 AC 环或 BD 环。如化合物 M_A 丢失 BD 环后生成 m/z 241 的碎片离子,如果丢失 AC 环则生成 m/z 225 的碎片离子。由于单键断裂的位点不同,使 c 和 d 碎片相差 14 u,说明碎片 c 较碎片 d 多一个甲基。另外 B 或 C 环上羟基取代基的数目不同,会形成彼此间相差 16 u 的碎片离子,并可以此来判断 B 或 C 环上羟基取代基的数目。如果 B 或 C 环上只有一个羟基取代基则只生成 m/z 225 或 m/z 211 的碎片离子,例如化合物 M_C 、 M_Q 。

e 碎片离子(m/z 229 或 213)主要在 C7-C8、C7'-C8' 处断裂,是丢失 AC 环或 BD 环形成的。如在化合物 M_A 中 m/z 229 的碎片是丢失 BD 环形成的,而 m/z 213 的碎片为丢失 AC 环形成。但在化合物 M_H 中 m/z 229 的碎片为丢失 AC 环形成。各化合物 B、C 环上取代基的数目、种类及 B、D 环的连接方式不同,其丰度也各有不同。f(m/z 137, m/z 121, m/z 107)和 g(m/z 93)碎片离子主要是断裂醚键和 C7-C8、C7'-C8' 处的单环产物,并主要由 A 或 D 环生成。

2.2 两种苔类粗提液的 LC-ESI/MS/MS 分析

基于对地钱、花萼苔两种苔类粗提液负离子模式下的一级全扫描和母离子扫描研究,确定所监测的母离子分别为 m/z 423、437、439、453 和 469,以上均为 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 峰。通过上述试验,分别从地钱和花萼苔中检测到 5 种和 8 种已知双联苳化合物以及 18 种和 16 种未知化合物。图 2 列出了两种苔类粗提液中部分未知双联苳化合物可能的结构,其他未知双联苳化合物正在进一步确证中。

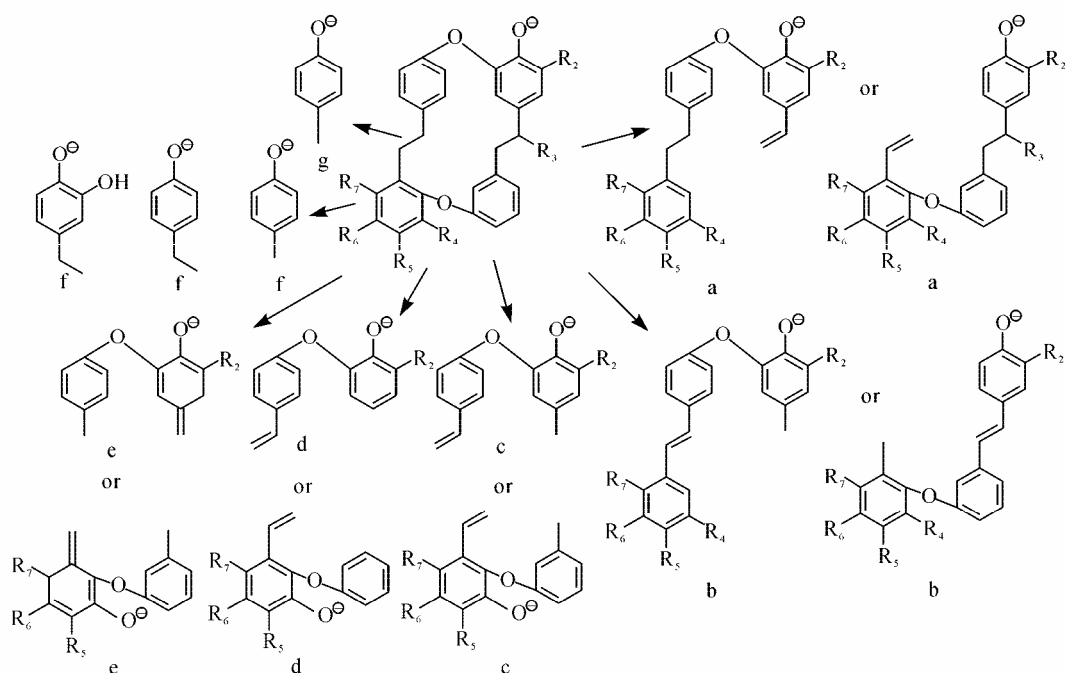


图1 15种双联苯对照品结构

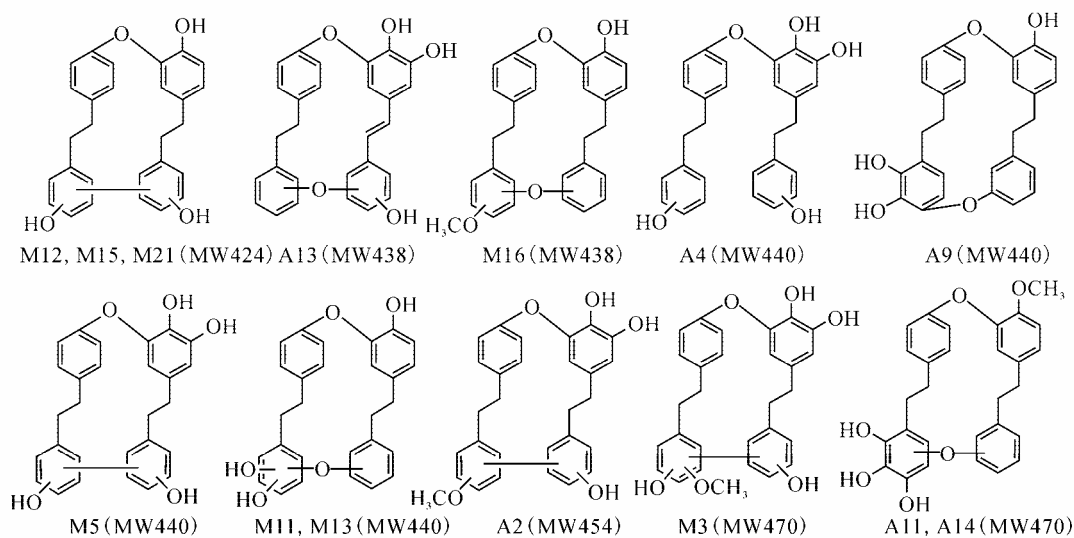


图2 两种苔类粗提液中部分未知双联苯化合物可能的结构

参考文献:

- [1] 王小宁, 娄红祥. 苔藓植物生物活性成分研究进展[J]. 中草药, 2005, 36(2):303-307.
- [2] ASAKAWA Y. Chemical constituents of the bryophytes. In: Herz W, Kirby WB, Moore RE, Steglich W, Tamm Ch. (Eds.), Progress in the Chemistry of Organic Natural products, Vol 65, Springer, Vienna, 1995, 1-618.
- [3] QU J B, XIE C F, GUO H F, et al. Antifungal dibenzofuran bis(bibenzyl)s from the liverwort *Asterella angusta*[J]. Phyto-chemistry, 2007,68: 1 767-1 774.
- [4] GUO H F, XING J, XIE C F, et al. Study of bis(bibenzyl)s in bryophytes using electron ionization time-of-flight and electrospray ionization triple-quadrupole mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2007, 21: 1 367-1 374.