

水飞蓟宾的负离子电喷雾离子阱质谱研究

韩建平¹, 李 伟^{1,2}, 张 超¹, 王宏志¹, 高 钧¹, 刘昌孝^{2,3}

(1. 天津天士力集团有限公司, 天津 300402; 2. 天津大学化工学院, 天津 300072;

3. 天津药物研究院, 天津药代动力学与药效动力学省部共建国家重点实验室, 天津 300193)

摘要: 采用电喷雾离子阱(ESI-MS)质谱技术对水飞蓟宾的结构和裂解途径进行研究。采用 ESI-MS 获得了 m/z 481 $[M-H]^-$, 采用 ESI-MS² 获得了 m/z 453、 m/z 301 等碎片离子。发现 ESI-MS² 质谱生成 A 环和 B 环 C—O—C 键断裂的碎片, 并对 m/z 453、 m/z 301 特征碎片离子进行 ESI-MS³ 质谱研究, 归属了其主要的特征碎片离子, 分析和讨论了该化合物的结构和质谱特征。

关键词: 水飞蓟宾; 电喷雾离子阱质谱; 裂解途径

中图分类号: O 657. 63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2009)01-06-06

Study on Silybin in Negative Mode by Ion Trap Mass Spectrometry

HAN Jian-ping¹, LI Wei^{1,2}, ZHANG Chao¹,
WANG Hong-zhi¹, GAO Jun¹, LIU Chang-xiao^{2,3}

(1. *Tasly R&D Institute, Tianjin Tasly Group Co. Ltd., Tianjin 300402, China;*

2. *School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China;*

3. *Tianjin State Key Laboratory of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics,*

Tianjin institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

Abstract: The structure and fragmentation pathway of silybin were elucidated by electron spray ionization mass spectrometry (ESI-MS). Quasi-molecular ion peak m/z 481 $[M-H]^-$ was detected by ESI-MS, and the ions of m/z 453 and m/z 301 were detected by ESI-MS². The fragment routes of characteristic were discussed on the basis of ESI mass spectra. The full scan MS² spectra of silybin gave characteristic fragment ions formed through cleavage of the C—O—C bond at A-ring and B-ring. The full scan MS³ spectra of fragment m/z 453, m/z 301 was obtained by ion trap mass spectrometry. The characteristic fragmentation was used to prove the structure of m/z 453, m/z 301.

Key words: silybin; electron spray ionization-ion trap mass spectrometry; fragmentation pathway

水飞蓟素为菊科植物水飞蓟 (*Silybum marianum* L. Gaertn) 果实中提取分离而得到的活性成分, 主要包括水飞蓟宾 (silybin)、异水飞

蓟宾 (isosilybin)、水飞蓟宁 (silydianin) 和水飞蓟亭 (silycrisin) 等化学成分。水飞蓟宾是一种黄酮化合物, 它能消除体内活性氧、对抗脂质过

氧化、维持细胞膜流动性,对肝细胞膜具有保护作用,并能促进肝细胞的修复和再生,对抗肝纤维化,是各种病毒性肝炎、肝纤维化、酒精性肝损害以及其他中毒代谢性肝损害的有效治疗药物^[1-3]。目前,已有一些水飞蓟宾的药代动力学研究报道^[4-6],但对水飞蓟宾负离子模式下的质谱解析和裂解途径^[8-10]尚未见报道。为了探讨水飞蓟宾的结构及其裂解途径,采用电喷雾电离质谱(ESI-MS)技术对水飞蓟宾进行质谱研究,并归属其主要特征碎片离子,分析和讨论该化合物的结构和质谱特征,为进一步研究黄酮类化合物的体内代谢过程与结构修饰提供实验依据。

1 实验部分

1.1 药品与试剂

水飞蓟宾对照品(批号 0856-9902):中国药品生物制品检定所提供,其化学结构式示于图 1;甲醇为色谱纯;水由 Milli-Q 水纯化系统制备。取适量样品,用甲醇配制成浓度为 0.2 g · L⁻¹ 的待测溶液。

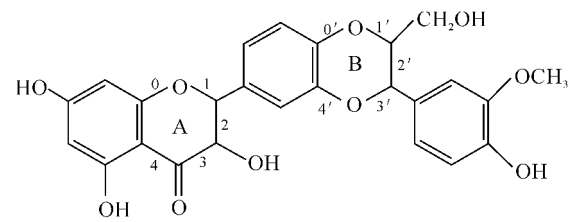


图 1 水飞蓟宾的结构

Fig. 1 Chemical structure of silybin

1.2 仪器与 ESI-MSⁿ 分析条件

液相色谱-质谱联用仪:美国 Agilent 公司产品,包括电喷雾离子化源(ESI)、LC/MS trap software 4.2 工作站、DataAnalysis version 2.2 数据处理系统,并配有直接进样用注射泵和 250 μL 进样器,具有软电离和多级离子阱质谱功能。

负离子检测,毛细管电压 5 000 V,雾化器压力 10 Pa,干燥器温度 325 ℃,干燥器流速 5 L · min⁻¹,碰撞气为氦气,检测方式为 LC/MSⁿ ($n = 1 \sim 4$) 全扫描质谱,质量扫描范围 m/z 100~500,注射泵直接进样,溶液流速 400 μL · h⁻¹。

2 结果与讨论

2.1 水飞蓟宾的 ESI-MS、ESI-MS² 质谱特征

水飞蓟宾的 ESI-MS 质谱图示于图 2。从图中可以明显地看出,水飞蓟宾在负离子检测方式下易失去 1 个 H⁻,形成准分子离子 m/z 481 [M-H]⁻,而且丰度较大,在检测中没有发现它的聚合体离子。这表明水飞蓟宾准分子离子在负离子模式下,ESI-MS 离子稳定性较大。

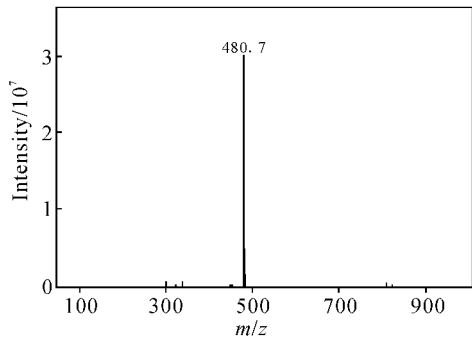


图 2 水飞蓟宾的 ESI-MS 质谱图

Fig. 2 ESI-MS spectra of silybin

进一步对准分子离子 m/z 481 [M-H]⁻ 做二级扫描,出现 m/z 463、453、301、355、283、257、125、151、179,结果示于图 3。

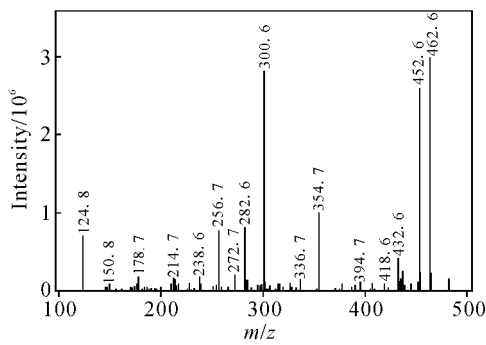


图 3 水飞蓟宾的 ESI-MS² 质谱图

Fig. 3 ESI-MS² spectrum for m/z 481 of silybin

水飞蓟宾的裂解途径示于图 4,图 5。

准分子离子 m/z 481 [M-H]⁻ 在离子阱内以 He 作为碰撞气进行碰撞诱导解离,主要发生以下 2 种裂解途径:

(1)准分子离子 [M-H]⁻ 在 A 环(图 1)上失去一分子 H₂O 或 CO 后,分别产生碎片离子 m/z 463 和 m/z 453; [M-H]⁻ 在 A 环 1,4 号键断裂,生成碎片离子 m/z 125 和 m/z 355。

(2) 准分子离子 $[M-H]^-$ 在 B 环(图 1)上发生 RDA 反应断裂, 生成碎片离子 m/z 179, m/z 301。

2.2 水飞蓟宾的 ESI-MS³ 质谱特征

在多级质谱分析中, 对子离子谱影响最大的是碎裂振幅。如果碎裂振幅太高, 母离子完全碎裂; 如果碎裂振幅太低, 母离子没有碎裂或子离子碎片过少, 不便对化合物进行结构鉴定。对选定的母离子 m/z 301、453 逐渐加大碎裂振幅, 比较不同碎裂振幅的多级质谱图, 选择最佳的多级

质谱分析条件, 得到包含母离子在内的结构信息, 示于图 6、图 7。

从图 6、图 7 可以看出, m/z 301 在 He 的碰撞下, 产生了两个系列的碎片离子。一个系列是母离子失去一分子 H_2O 后, 形成 m/z 283; 另一个系列是母离子失去一分子 CO 后, 形成 m/z 273, 接着发生 A 环上的断裂反应, 生成 m/z 257、215 和 229, 或者失去一分子 H_2O 形成 m/z 255。

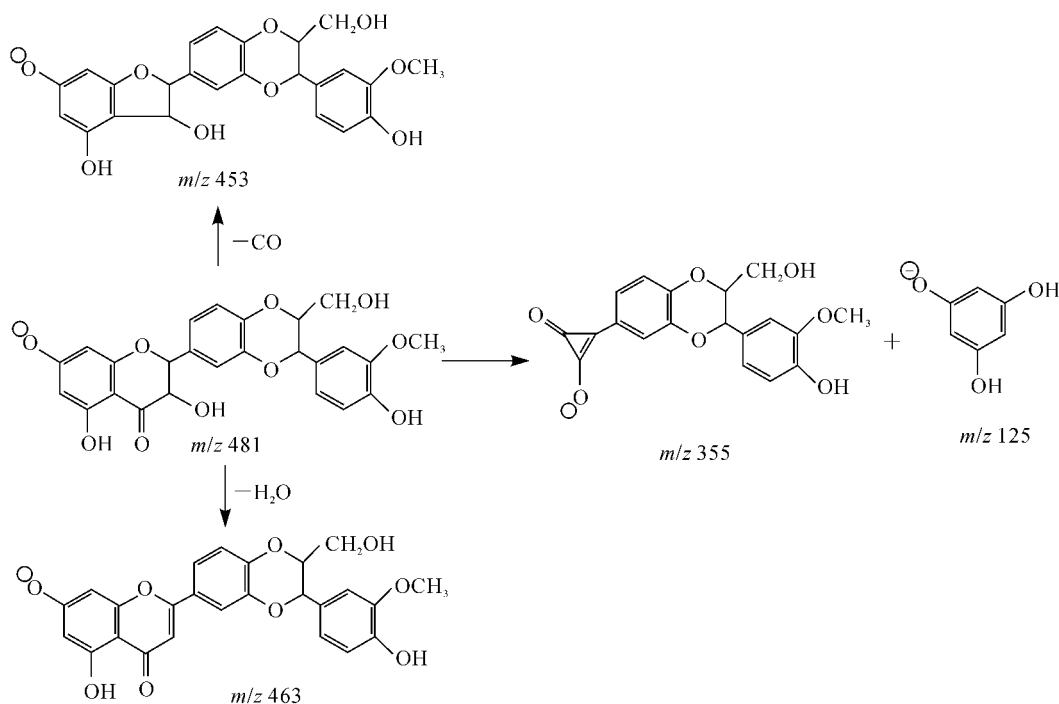


图 4 水飞蓟宾的裂解途径 I

Fig. 4 Fragment pathway I of silybin

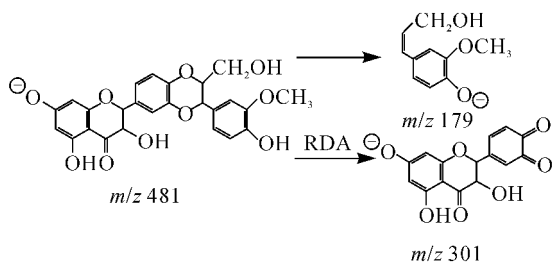


图 5 水飞蓟宾的裂解途径 II

Fig. 5 Fragment pathway II of silybin

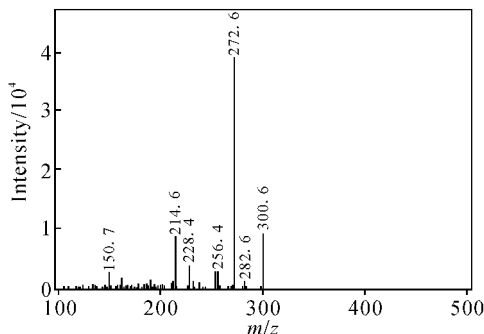


图 6 m/z 301 的 ESI-MS³ 质谱图

Fig. 6 ESI-MS³ spectrum for m/z 301

水飞蓟宾的裂解途径示于图 8,图 9。

从图 8、图 9 可以看出, m/z 453 在 He 的碰撞下,产生了两个系列的碎片离子。一个系列是母离子失去一分子 CH_2O 后,形成 m/z 423;另一个系列是母离子失去一分子 H_2O 后,形成 m/z 435。

3 结 论

依照 ESI- MS^n 提供的数据,根据水飞蓟宾的结构特征,讨论了在离子阱中主要特征碎片离子可能的裂解途径,并利用离子阱质谱的多级质谱技术确认了准分子离子 m/z 481 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 的结构和生成过程,示于图 10。

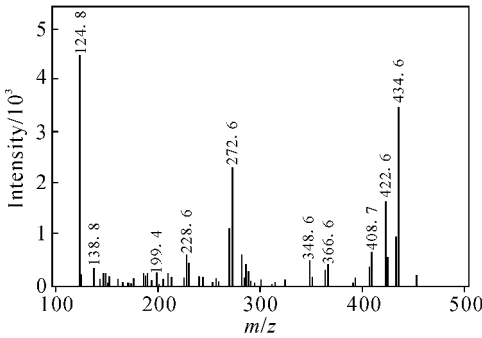


图 7 m/z 453 的 ESI- MS^3 质谱图
Fig. 7 ESI- MS^3 spectrum for m/z 453

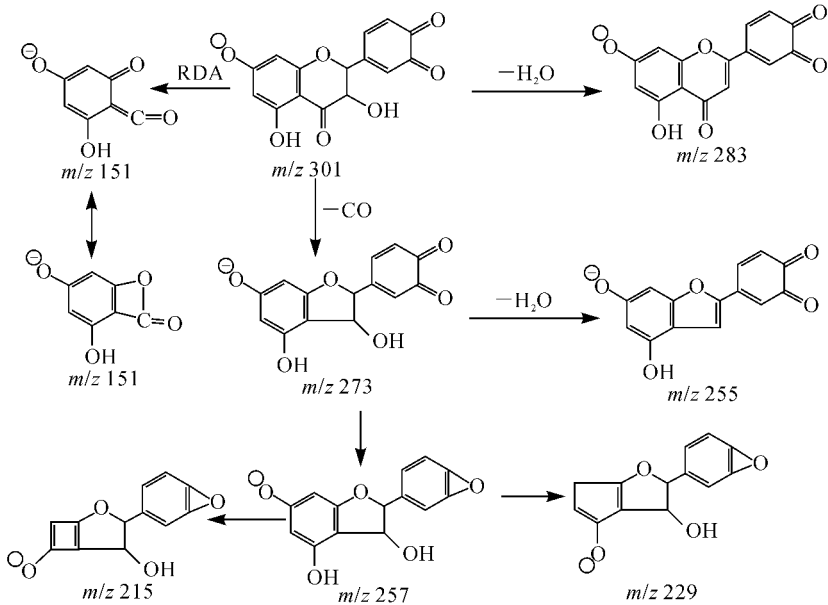


图 8 水飞蓟宾的裂解途径Ⅲ
Fig. 8 Fragment pathway Ⅲ of silybin

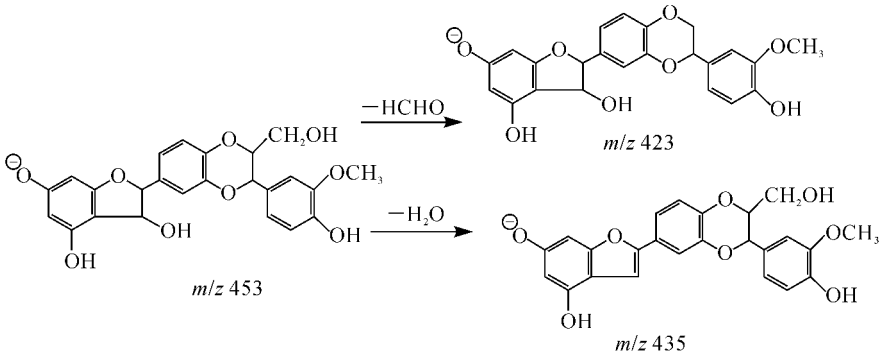


图 9 水飞蓟宾的裂解途径Ⅳ
Fig. 9 Fragment pathway Ⅳ of silybin

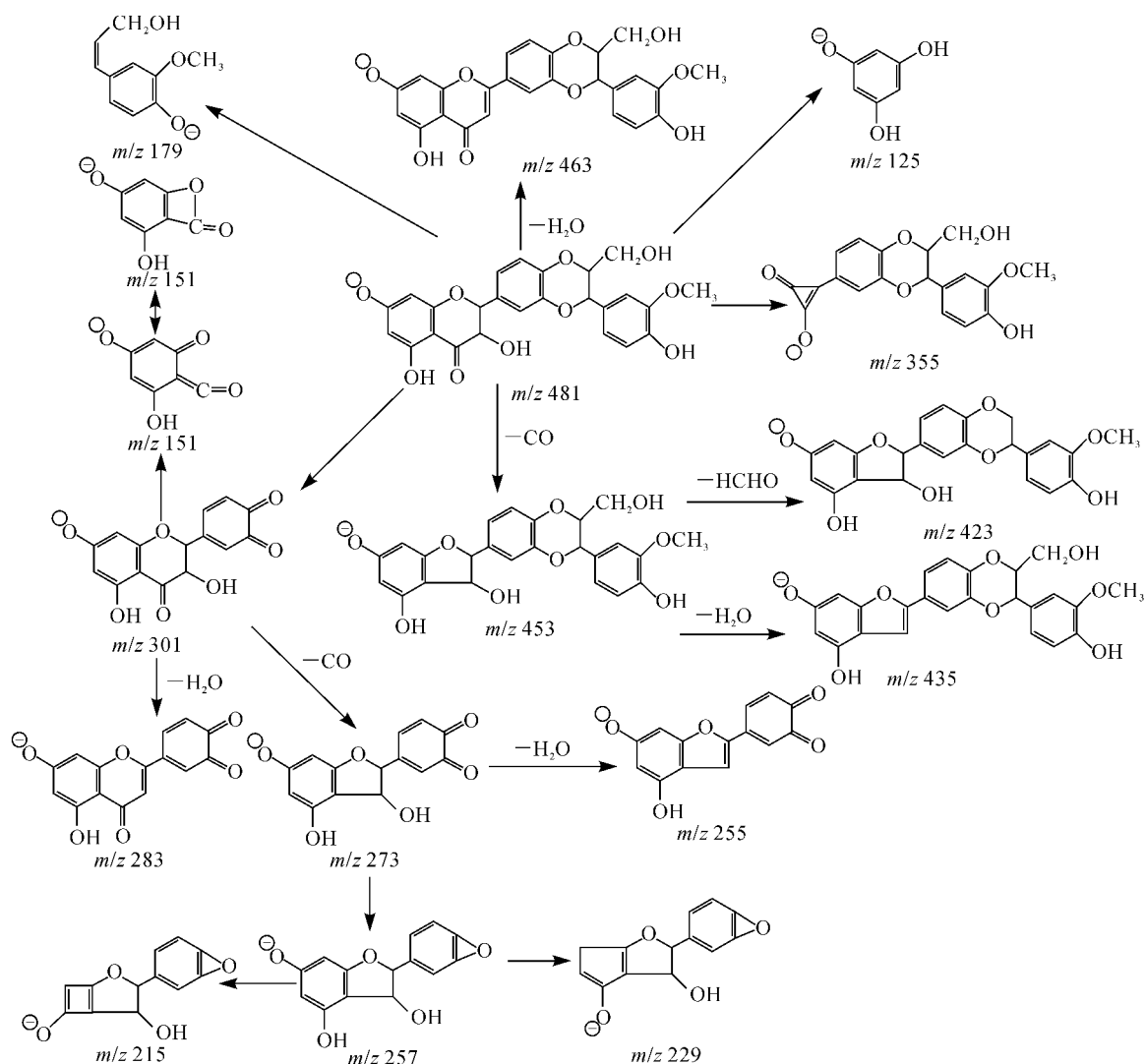


图 10 水飞蓟宾的裂解途径

Fig. 10 Fragment pathway of silybin

参考文献:

- [1] LI W, HAN J P, LI Z W, et al. Preparative chromatographic purification of diastereomers of silybin and their quantification in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B, 2008, 862: 51-57.
- [2] 李 伟,高 钧,丁 宁,等. 水飞蓟宾-卵磷脂复合物对水飞蓟素胶囊的相对生物利用度研究[J]. 中国新药杂志, 2006, 15(10): 817-820.
- [3] 李荣萍,任成山,赵晓宴,等. 水飞蓟宾对急性肝损伤中肝细胞凋亡的影响及其机制[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2006, 13(4): 202-205.
- [4] 陈 玫,刘史佳,张 军,等. 水飞蓟宾片在犬体内的药动学研究[J]. 江苏药学与临床研究, 2005, 13(6): 1-3.
- [5] 赵 暖,栾立标. 水飞蓟宾-磷脂复合物的药代动力学和药效学研究进展[J]. 药学进展, 2006, 30(7): 295-299.
- [6] 徐希明,朱 源,李 强,等. 水飞蓟宾纳米胶束的制备及其鼠体内药物动力学研究[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(24): 1 874-1 876.
- [7] GUNARATNA C, ZHANG T Y. Application of liquid chromatography-electrospray ionization-ion trap mass spectrometry to investigate the metabolism of silybinin in human liver microsomes [J]. Journal of Chromatography B, 2003, 794: 303-310.
- [8] KEKI S, TOTH K, ZSUGA M, et al. (+)-Silybin, a pharmacologically active constituent of Silybum marianum: fragmentation studies by atmos-

- pheric pressure chemical ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. Rapid communications in Mass Spectrometry, 2007, 21: 2 255-2 262.
- [9] WU W, YAN C, LI L, et al. Studies on the flavones using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1 047: 213-220.
- [10] KANG J G, HICK L A, PRICE W E. A fragmentation study of isoflavones in negative electrospray ionization by MSⁿ ion trap mass spectrometry and triple quadrupole mass spectrometry[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2007, 21: 857-868.

中国化学会关于召开“第十届全国分析化学年会
暨第十届原子光谱学术会议”的征文通知
(第一轮)

中国化学会决定于 2009 年 10 月中旬在风景秀丽的历史文化名城——扬州召开“第十届全国分析化学年会暨第十届原子光谱学术会议”，并委托扬州大学负责筹办。会议将就我国自上届学术会议以来分析化学学科的新成就、新进展及我国分析化学学科的发展进行学术交流和研讨，会议将组织分析化学前沿的专题报告、分组报告和讨论，并邀请部分国外学者和海外华裔学者与会。热忱欢迎大家踊跃投稿和参加会议。现将有关事项通知如下：

一、征文内容

(1)原子光谱分析法；(2)分子光谱分析法；(3)色谱法与分离科学；(4)电分析化学法；(5)波谱法(包括顺磁、核磁共振)；(6)质谱分析；(7)过程分析；(8)联用方法与自动化分析；(9)痕量分析；(10)形态、表面及结构分析；(11)生物分析化学；(12)临床与药物分析；(13)环境分析化学；(14)食品分析；(15)芯片分析；(16)纳米分析化学；(17)分析仪器及装置；(18)质量控制；(19)化学与生物信息学；(20)有关分析化学的其他研究。凡已在刊物上发表或在全国会议上报告过的论文不在应征之列。

二、征文要求

应征论文须用 Word 软件编辑，包括题目、作者、单位、必要的图表、结果和讨论、主要参考文献(2~5 篇)，用 A4 纸打印，版心尺寸为 15 cm×24 cm，标题用小三号黑体，正文用小四号宋体，全文(包括图表)约为 1 000~1 500 字，请勿超过两页。文末须附英文题目、作者姓名和单位。截稿日期：2009 年 8 月 30 日。

三、收稿地址

稿件请用挂号信邮寄至江苏省扬州大学瘦西湖校区化学化工学院，朱霞石、徐琴同志收(邮编 225002)，并在信封上注明“会议征文”和通讯联系人详细地址、邮编及 E-mail 地址。也可以附件直接发至：fenxi@yzu.edu.cn 电子信箱。有关稿件的处理意见、会议具体日期、地点及注册费用等项事宜请见第二轮通知。筹备组联系电话：0514-87972034, 13196492806(朱霞石)。

会议网站：<http://ac.yzu.edu.cn>。

本会欢迎国内外分析仪器公司、厂商到会介绍和展出产品，有关具体事宜请与筹备组联系。

会议筹备组联系人：王赅胤 0514-82158781，传真：0514-87975244。

第十届全国分析化学年会筹备组
扬州大学化学化工学院、扬州大学分析测试中心代章