

## 通关藤中甾体化合物的电喷雾质谱裂解规律研究

廖 辉,单晓庆,王 林,王 博,伏劲松,王晓玲

(西南民族大学少数民族药物研究所,四川 成都 610041)

**摘要:**利用电喷雾串联质谱(ESI-MS<sup>n</sup>)研究从云南产通关藤(*Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn)中分离纯化得到的 19 种甾体化合物的裂解规律,分析了它们从分子离子出发的多级质谱的裂解碎片,主要报道了 tenacigenoside B, tenacigenoside G, tenacigenoside H 在 ESI 正离子模式下  $[M+Na]^+$  的裂解途径和碎片离子峰,结合其他 16 种化合物的裂解实验,说明这些甾体化合物主要丢失 C—11 和 C—12 位上的取代基,其次是糖苷上糖顺序断裂。这有助于依据此类化合物结构特点和裂解规律来推断其结构,为此类化合物的快速鉴定提供依据。

**关键词:**通关藤;甾体化合物;裂解电喷雾串联质谱(ESI-MS<sup>n</sup>)

**中图分类号:**O 657. 63 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-2997(2010)02-0103-07

### Fragmentation Pathways of Steroids from the Stems of *Marsdenia tenacissima* by ESI-MS/MS

LIAO Hui, SHAN Xiao-qing, WANG Lin, WANG Bo, FU Jin-song, WANG Xiao-ling  
(Ethnic Pharmaceutical Institute, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** Total of 19 steroids fragmentation pathways were investigated by electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS<sup>n</sup>). Those steroids were isolated from the stems of *Marsdenia tenacissima*, which collected from Yun Nan province. And the fragmentation pathways of tenacigenoside G, tenacigenoside B, tenacigenoside H were summarized detailly in positive mode  $[M+Na]^+$ . Combining with the experiment of other 16 compounds, the data reveals the first loss position is C—11 and C—12, then glycosides of C—3 lose orderly. This helps deduce the structures of those compounds according their structural characteristics and loss fragmentations. It also provides the basis for rapid identification of such compounds.

**Key words:** *Marsdenia tenacissima*; steroids; electrospray ionization tandem mass spectrometry(ESI-MS<sup>n</sup>)

通关藤(*Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn.) 系萝藦科(Asclepiadaceae) 牛奶菜属(*Marsdenia* R. Br.) 植物,又名通光藤、通光散、乌骨藤等<sup>[1]</sup>,主产于云南,始载于《滇南本草》,兰茂谓:“奶浆藤又名通光藤,茎心有白奶浆

流出,味苦、涩,性寒。主治通乳、利尿、清火”。药用藤、叶,全年可采,以条粗、味苦回甜者为佳。现代药理研究表明,通关藤除了具有平喘、免疫调节、戒毒等作用,还具有良好的抗癌活性。临床上应用的消癌平片和消癌平注射液均为通关

藤水提取物制成的抗癌制剂<sup>[1]</sup>。化学成分研究表明,该植物主要含有抗癌活性的 C<sub>21</sub> 甾萜醇及其苷类<sup>[2-16]</sup>。陈娟娟等<sup>[17]</sup>对该植物中部分 C<sub>21</sub> 甾萜化合物的质谱分析进行了研究。电喷雾质谱提供一种相对简单的方式,使非挥发性溶液相的离子转入到气相而被检测出。本研究采用多级串联质谱(ESI-MS/MS)对该植物中 19 种 C<sub>21</sub> 甾萜化合物进行分析,其特征的裂解途径为此类化合物的快速鉴定提供依据。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与装置

LCQ Advantage 质谱仪;美国 Finnigan 公司产品,配有电喷雾电离源(ESI),注射泵自动进样,EDWARDS E2M30 泵,LCQ Xcarlibur 2.0 软件处理系统;TGL-16 台式高速离心机;湖南星科科学仪器有限公司产品;Millipak 纯水过滤器:0.22 μm,美国 Millipore 公司产品;AL104 电子天平;最大称量 110 g,实际分度值 0.000 1 g,瑞士 Meeler toledo 公司产品。

### 1.2 材料与试剂

通关藤购于云南,经成都生物所赵佐成研究员鉴定为萝藦科牛奶菜属植物通关藤(*Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn.)。将通关藤茎用水提取,乙酸乙酯萃取,萃取物分离纯化得到通关藤苷(Tenacigenoside B、C、D、E、G、H、I、J),Marsdenoside (D、H),Tenacissoside (A、B、C、G),通关藤苷元(Tenacigenin B、11α-O-tigloyl-12β-O-acetyltenacigenin B、11α, 12β-Di-O-tigloyl-tenacigenin B、11α-O-2-methylbutyryl-12β-O-acetyltenacigenin B),3-O-6-deoxy-3-O-methyl-β-D-allopyranosyl-(1→4)-β-D-oleandropyranosyltenacigenin C。甲醇:分析纯,购于成都方舟试剂公司;实验用水为超纯水。

### 1.3 实验条件

电喷雾(ESI)离子源;正离子模式扫描;质量扫描范围  $m/z$  50~2 000;喷雾电压 5.0 kV;离子源温度 200 ℃;毛细管电压 10 V;鞘气(N<sub>2</sub>):21 个单位;溶剂为过滤后的甲醇(分析纯);样品浓度 0.5 mL·mol<sup>-1</sup>。

### 1.4 样品制备

云南产通关藤茎的水提取物,用乙酸乙酯和正丁醇相萃取,正、反相硅胶柱层析方法分离提纯,经理化常数测定,结合 MS、IR、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR、2D-NMR、HMBC 以及 NOESY 等现代波谱学技术,鉴定出 19 种 C<sub>21</sub> 甾萜化合物,样品溶液浓度配制为 0.5 g·L<sup>-1</sup>。

## 2 结果与讨论

19 种化合物的结构示于表 1 和图 1。

表 1 19 种化合物的结构  
Table 1 Structures of 19 compounds

| 化合物 | 名称                                                                                | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup> | R <sup>3</sup> |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| 1   | Tenacigenoside J                                                                  | Pac            |                |                |
| 2   | Tenacigenoside I                                                                  | S <sup>3</sup> |                |                |
| 3   | 3-O-6-Deoxy-3-O-methyl-β-D-allopyranosyl-(1→4)-β-D-oleandropyranosyltenacigenin C | Pac            | H              | H              |
| 4   | Tenacigenoside C                                                                  | Pac            | Tig            | H              |
| 5   | Tenacigenoside D                                                                  | Pac            | MBu            | H              |
| 6   | Tenacigenin B                                                                     | H              | H              | H              |
| 7   | 11α-O-Tigloyl-12β-O-acetyltenacigenin B                                           | H              | Tig            | Ac             |
| 8   | 11α-O-2-Methylbutyryl-12β-O-acetyltenacigenin B                                   | H              | MBu            | Ac             |
| 9   | 11α, 12β-di-O-Tigloyltenacigenin B                                                | H              | Tig            | Tig            |
| 10  | Tenacigenoside B                                                                  | S <sup>1</sup> | MBu            | Ac             |
| 11  | Marsdenoside D                                                                    | Pac            | H              | MBu            |
| 12  | Tenacissoside G                                                                   | Pac            | Tig            | Ac             |
| 13  | Tenacissoside A                                                                   | Neo            | Tig            | Ac             |
| 14  | Marsdenoside H                                                                    | Neo            | MBu            | Ac             |
| 15  | Tenacissoside C                                                                   | Neo            | Tig            | Bz             |
| 16  | Tenacigenoside G                                                                  | S <sup>3</sup> | Tig            | Ac             |
| 17  | Tenacigenoside H                                                                  | S <sup>3</sup> | MBu            | Ac             |
| 18  | Tenacissoside B                                                                   | Neo            | Tig            | Tig            |
| 19  | Tenacigenoside E                                                                  | S <sup>3</sup> | Tig            | Tig            |

Tenacigenoside G 的相对分子质量为 1 116,一级质谱全扫描离子[M+Na]<sup>+</sup>  $m/z$  1 139。它的二级质谱特征丢失产生离子[M+Na-60] ( $m/z$  1 079),对应的是 12 位上基团 CH<sub>3</sub>COO—(60 u)的丢失,另外产生碎片离子  $m/z$  1 039 和  $m/z$  979。 $m/z$  979 是前体离子  $m/z$  1 079 的主要碎片离子(丢失 100 u),相应于 11 位上的 Tig(CH<sub>3</sub>CH=CCH<sub>2</sub>CO—)丢失。来自于前体离子  $m/z$  979 的碎片离子  $m/z$  817 是糖链上末端的葡萄糖(Glc)断裂所致,接着失去第 2 个葡萄糖(Glc)产生碎片  $m/z$  655。Tenacigenoside G 的一级质谱和多级质谱数据示于图 2。

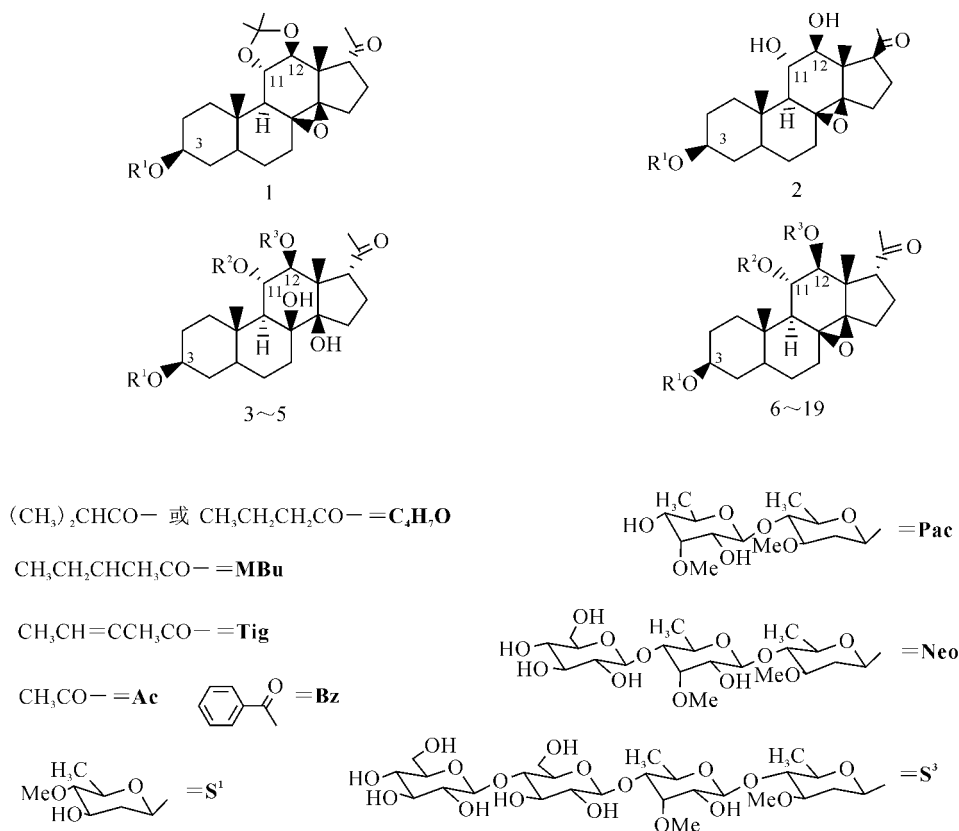


图 1 19 种化合物的结构图

Fig. 1 Structures of 19 compounds

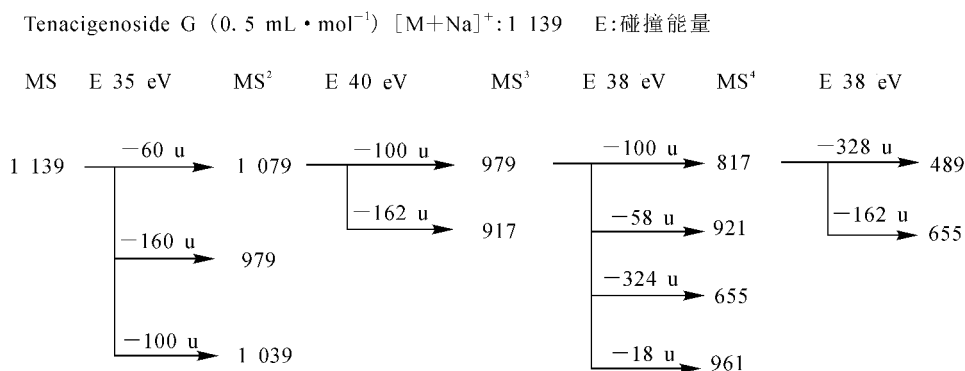


图 2 Tenacigenoside G 的多级质谱数据

Fig. 2 MS and  $\text{MS}^n$  spectra data of Tenacigenoside G

对 Tenacigenoside B 做一级和多级质谱, 它的相对分子质量为 634, 分子离子峰  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   $m/z$  657。二级质谱也具有特征丢失  $[\text{M}+\text{Na}-60]^+$ , 即 12 位上基团  $\text{CH}_3\text{COO}-$  丢失产生碎片峰  $m/z$  597。碎片离子  $m/z$  495 是前体离子  $m/z$  597 丢失 11 位上的 MBu ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHCH}_3\text{CO}-$ ) 基团。碎片离子  $m/z$  555 是分子离子  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   $m/z$  657 在二级质谱中丢失 11 位上

的 MBu ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHCH}_3\text{CO}-$ ) 基团所得, 裂解数据示于图 3。

对化合物 Tenacigenoside H、Tenacigenoside D 做了同样的实验研究, 结果发现 Tenacigenoside H 的裂解与前 2 个化合物有同样的裂解规律: 12 位上基团  $\text{CH}_3\text{COO}-$  丢失, 然后是 11 位 MBu 基团和糖链的裂解。裂解途径示于图 4, 多级裂解图谱示于图 5。

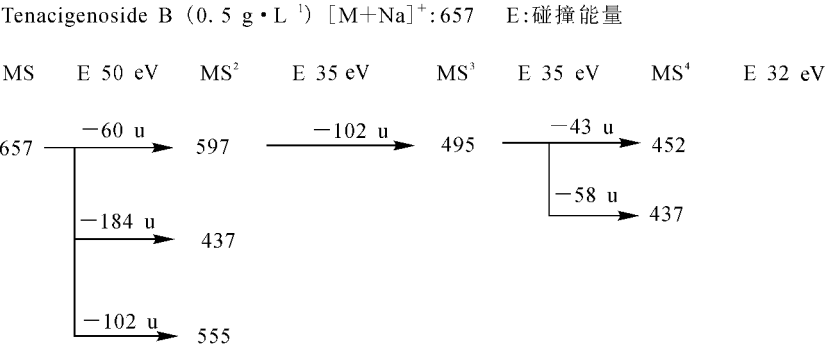


图 3 Tenacigenoside B 的多级质谱数据  
Fig. 3 MS and MS<sup>n</sup> spectra data of Tenacigenoside B

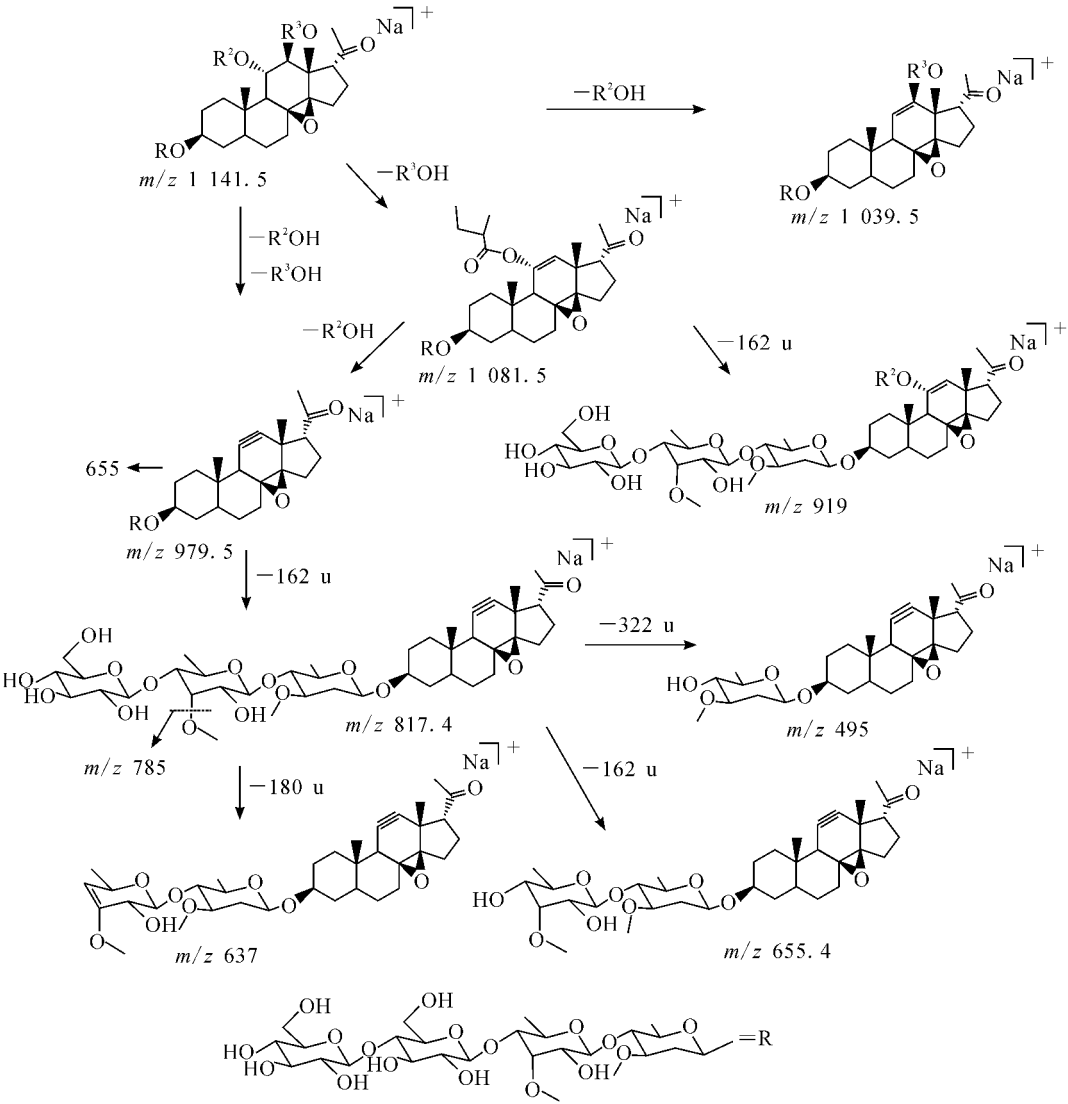
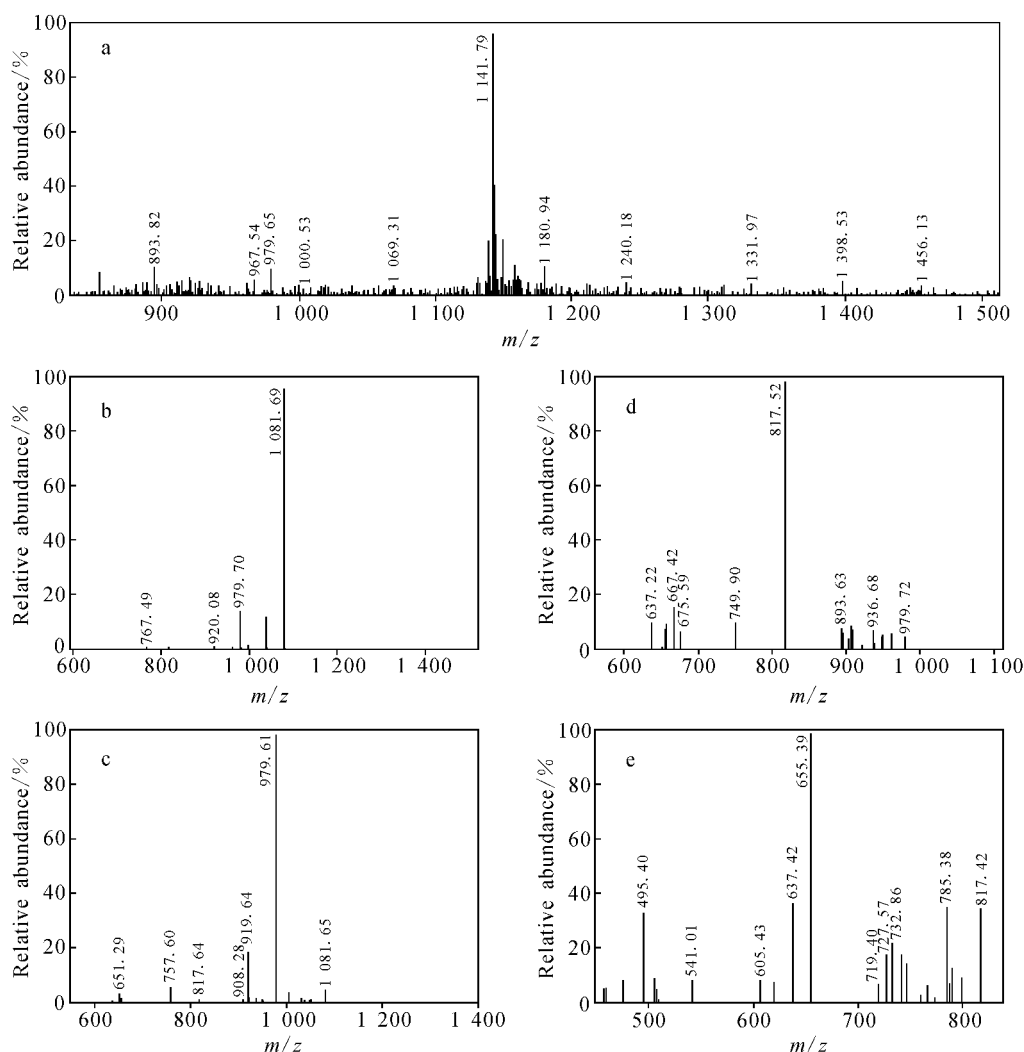


图 4 Tenacigenoside H 的主要裂解模式  
Fig. 4 Main fragmentation pathway of Tenacigenoside H



注: a. 一级质谱图; b. 二级质谱图; c. 三级质谱图; d. 四级质谱图; e. 五级质谱图

图 5 Tenacigenoside H 的多级质谱图

Fig. 5 MS and MS<sup>n</sup> spectra of Tenacigenoside H

Tenacigenoside D 的二级质谱特征丢失发生在 11 位,产生  $[M+Na-102]^+$  (丢失 102 u)  $m/z$  691,对应 MBu(CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CHCH<sub>3</sub>CO—)基团丢失, $m/z$  531 是前体离子  $m/z$  691 在 12 位的丢失, $m/z$  387 对应的是前体离子  $m/z$  691 丢失糖后的苷元。

Tenacigenoside C、Tenacigenoside E、Tenacigenoside I、Tenacigenoside J、Marsdenoside D、Marsdenoside H、Tenacissoside A、Tenacissoside B、Tenacissoside C、Tenacissoside G、Tenacigenin B、11 $\alpha$ -O-tigloyl-12 $\beta$ -O-acetyltenacigenin B、11 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Di-O-tigloyl-tenacigenin B、11 $\alpha$ -O-2-methylbutyryl-12 $\beta$ -O-acetyltenacigenin B、3-O-6-deoxy-3-O-methyl- $\beta$ -D-allopyranosyl-(1

→4)- $\beta$ -D-oleandropyranosyltenacigenin C 的裂解途径与 Tenacigenoside H 相似,19 种化合物特征裂解列于表 2。

### 3 结 论

在上述 19 种孕甾醇类化合物中,苷类化合物的多级质谱裂解主要发生在甾体母核的 11 和 12 位,随后是 3 位糖基取代基的常规顺序裂解。而化合物 3-O-6-deoxy-3-O-methyl- $\beta$ -D-allopyranosyl-(1→4)- $\beta$ -D-oleandropyranosyltenacigenin C 的 11 和 12 位为羟基取代,裂解首先发生在 3 位取代基上。因此可以通过失去碎片的先后和大小等质谱信息来快速鉴定此类化合物的特征结构。

表 2 19 种化合物的特征裂解

Table 2 MS<sup>2</sup> spectra data of the compounds

| 苷元 | 样品名称                                                                              | 相对分子质量 | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup> | R <sup>3</sup> | 特征丢失质量/u | 特征(MS <sup>2</sup> )丢失位置 |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------|--------|----------------|----------------|----------------|----------|--------------------------|
| 1  | Tenacigenoside J                                                                  | 708    |                |                |                | 74       | 11,12                    |
| 2  | Tenacigenoside I                                                                  | 992    | S <sup>3</sup> |                |                | 162      | 末端 Glc                   |
| 3  | 3-O-6-Deoxy-3-O-methyl-β-D-allopyranosyl-(1→4)-β-D-oleandropyranosyltenacigenin C | 686    | Pac            | H              | H              | 74       |                          |
| 4  | Tenacigenoside C                                                                  | 768    |                | Tig            |                | 100      | 11                       |
| 5  | Tenacigenoside D                                                                  | 770    |                | MBu            |                | 102      | 11                       |
| 6  | Tenacigenin B                                                                     | 364    |                | H              |                | 18       | 11                       |
| 7  | 11α-O-Tigloyl-12β-O-acetyltenacigenin B                                           | 488    |                | Tig            | Ac             | 60,100   | 12,11                    |
| 8  | 11α-O-2-Methylbutyryl-12β-O-acetyltenacigenin B                                   | 490    |                |                | Ac             | 60,102   | 12                       |
| 9  | 11α,12β-di-O-Tigloyltenacigenin B                                                 | 528    |                | Tig            | Tig            | 100      | 11 或 12                  |
| 10 | Tenacigenoside B                                                                  | 634    |                | MBu            | Ac             | 60,100   | 12                       |
| 11 | Marsdenoside D                                                                    | 752    |                | H              | MBu            | 102      | 12                       |
| 12 | Tenacissoside G                                                                   | 792    |                | Tig            | Ac             | 60,100   | 12                       |
| 13 | Tenacissoside A                                                                   | 954    |                | Tig            | Ac             | 60,100   | 12                       |
| 14 | Marsdenoside H                                                                    | 956    |                | MBu            | Ac             | 102,60   | 11,12                    |
| 15 | Tenacissoside C                                                                   | 1 016  |                | Tig            | Bz             | 100,122  | 12                       |
| 16 | Tenacigenoside G                                                                  | 1 116  |                | Tig            | Ac             | 60,100   | 12                       |
| 17 | Tenacigenoside H                                                                  | 1 118  |                | MBu            | Ac             | 60       | 12                       |
| 18 | Tenacissoside B                                                                   | 994    |                | Tig            | Tig            | 100      | 11 或 12                  |
| 19 | Tenacigenoside E                                                                  | 1 156  |                | Tig            | Tig            | 100      | 11 或 12                  |

参考文献:

[1] 云南省卫生局. 云南省药品标准[S]. 昆明: 云南大学出版社, 1996: 400.

[2] AENKATA R E, NAGESWARA R E, SANTHARAM S S. Studies on *Marsdenia tenacissima* (White Nisoth)[J]. Indian J Pharm, 1976, 38: 54-56.

[3] SINGHAL S, MITTAL M, KHARE M P, et al. Chemical constituents of *Marsdenia tenacissima*: structure of a new genin drevogenin-Q[J]. Indian J Chem, 1980: 178-182.

[4] SHINGHAL S, KHARE M P, KHARE A. Cis-sogenin, a pregnane genin from *Marsdenia tenacissima* [J]. Phytochemistry, 1980, 19: 2 427-2 430.

[5] 罗思齐, 徐光漪, 易大年, 等. 通光藤中一个新 C<sub>21</sub> 甾体化合物的化学结构测定[J], 化学学报, 1982, 40(4): 321-324.

[6] 杨仁洲, 杨崇仁, 周 俊. 通光藤甾元甲、乙和丙的结构[J]. 云南植物研究, 1981, 3(3): 271-278.

[7] LUO S Q, LIN L Z, GEOFFREY A C, et al. Polyoxypregnanes from *Marsdenia tenacissima*[J]. Phytochemistry, 1993, 34(6): 1 040-1 051.

[8] QIU S X, LUO S Q, LIN L Z, et al. Further polyoxypregnanes from *Marsdenia tenacissima*[J]. Phytochemistry, 1995, 41(5): 1 385-1 388.

[9] 蒋 毅, 罗思齐. 通光藤中新 C<sub>21</sub>-甾体甙的化学结构研究[J]. 上海医药工业杂志, 1996, 27(9): 391-395.

[10] 陈纪军, 张壮鑫, 周 俊. 通光藤甾 F, G, H 和 I 的结构[J]. 云南植物研究, 1999, 21: 369-377.

[11] 刑旺兴, 陈 斌, 宓鹤鸣, 等. 通光藤中两个新 C<sub>21</sub> 甾体苷类成分[J]. 药学学报, 2004, 39(4): 272-275.

[12] DENG J, LIAO Z X, CHEN D F. Marsdenosides A-H, polyoxypregnane glycosides from *Marsdenia tenacissima* [J]. Phytochemistry, 2005, 66: 1 040-1 051.

[13] DENG J, LIAO Z X, CHEN D F. Three New Polyoxypregnane glycosides from *Marsdenia tenacissima*[J]. Helvetica Chimica Acta, 2005, 88: 2 675-2 682.

[14] WANG S, LAI Y H, TIAN B, et al. Two new C<sub>21</sub> steroidal glycosides from *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn[J]. Chem Pharm Bull, 2006, 54(5): 696-698.

[15] LI Q F, WANG X L, YU K B, et al. 11α,12β-Acetonyltenacissoside F acetonesolvate: a new polyoxypregnane glycoside from the stems of *Marsdenia tenacissima*[J]. Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online, 2006, 62(11): O5 255-O5 256.

[16] LI Q F, WANG X L, DING L S, et al. Polyoxypregnanes from the stems of *Marsdenia tenacissima*[J]. Chinese Chemical Letters, 2007, 18: 831-834.

[17] CHEN J J, LI X Y, SUN C R, et al. Identification of polyoxypregnane glycosides from the

stems of *Marsdenia tenacissima* by high-performance liquid chromatography/tandem mass pec-

trometry[J]. *Talanta*, 2008, 77: 152-159.

## 2010 年全国质谱大会暨第三届世界华人质谱研讨会 第一轮通知

“2010 年全国质谱大会暨第三届世界华人质谱研讨会”将于 2010 年 7 月 30 日—8 月 1 日在吉林省长春市召开,会期 3 天。本届大会的主题是:前沿质谱新方法、新技术及其应用的最新进展。大会将邀请美国、加拿大、欧洲、新加坡、中国大陆、香港、台湾、澳门的知名华人质谱学家,做高水平的学术报告,并组织多领域的质谱同行进行学术讨论,分组专题报告,交流近年来质谱及其相关领域的最新研究成果及应用经验;此外,国际主要质谱公司还将介绍最新技术及其应用进展。本次会议的主要目的为促进和加强国际、国内及海外华人质谱工作者的学术交流与合作机会,提供了解质谱前沿技术和最新进展的平台,为我国质谱学科的发展起到积极的促进作用。

### 一、征文内容

无机质谱学,有机质谱学,同位素质谱学,生物医学质谱学,质谱仪器制造和教育领域前沿质谱新方法、新技术及其应用的最新进展。

### 二、论文摘要要求及格式

1)凡未在刊物上公开发表或未在学术会议上宣读过的、与上述议题相关的研究成果均可投稿,并注明“2010 年全国质谱大会暨第三届世界华人质谱研讨会”会议论文,内容要求控制在 A4 纸 2 页以内,会议论文将刊登于《质谱学报》增刊,每页需交版面费 150 元/页,会议论文请直接寄至会议学术组。并请注明作者姓名、单位、电话、通信地址和电子信箱以便及时联系。

2)会议论文摘要详细内容应包括:中英文题目、作者姓名、单位、所在城市和邮政编码;英文摘要(内容要求 4~5 个整句)、英文关键词(3~5 个);正文部分应包括实验目的,方法,结论;主要参考文献。

3)第一作者及通信作者简历需以如下格式注于第一页页脚:作者简介,姓名(出生年月),性别(民族),籍贯,职称或学位,从事专业或研究方向;并提供联系电话、E-mail 地址等。获得基金资助的论文,注明基金项目名称,并在括号内注明其项目编号。

### 三、报名时间及注意事项

欲参加本届会议者,请于 2010 年 05 月 31 日前通过传真或 E-mail 等形式,将回执寄至会议会务组,以便会务组联系和安排食宿等事宜。

### 四、会议费

2010 年 7 月 5 日前注册:900 元/人(凭学生证减半);2010 年 7 月 5 日后注册:1 000 元/人(凭学生证减半)。会议邀请报告人免收会议注册费。

### 五、付款方式

汇款银行:中国建设银行长春南湖支行;银行账号:4367420942421174388;帐户名称:皮子凤;请参会代表于 2010 年 7 月 5 日前将汇款寄至上述账号,并将汇款凭证(附上姓名)通过 E-mail 或传真至会务组。汇款请注明“2010 年全国质谱大会会议费”字样。

### 六、学术组联系方式

通信地址:北京 275 信箱 65 分箱《质谱学报》编辑部;邮编:102413;联系人:沈莹;电话:010-69357734;电子邮箱:jcmss401@163.com。

### 七、会务组联系方式

通信地址:吉林省长春市人民大街 5625 号,中国科学院长春应用化学研究所;邮编:130022;联系人:皮子凤;电话:0431-85262079;传真:0431-85262886;电子邮箱:2010msc@ciac.jl.cn。

更多信息请浏览:大会网站 <http://2010msc.ciac.jl.cn/>;

质谱学会网站 <http://www.cmss.org.cn/>。