

电喷雾电离质谱 在糖甙化合物中的应用

徐永珍* 马 骥 王文捷 吴厚铭

(中国原科学院上海有机化学研究所
生命有机化学国家重点实验室 上海 200032)

[摘要] 本文利用电喷雾电离质谱技术测定了十六个带有 1—5 个不同糖基的甙体皂苷和三萜皂甙化合物的分子量。根据这些化合物的糖基类型和碎片特点对该类化合物的结构提供了证据。同时对麦仙翁种子中的活性天然物之一——麦仙翁甙甲用 ESMS 证据证实了它的结构。

关键词: 糖甙化合物 电喷雾电离质谱 分子量测定

1 前言

在质谱学的研究中,寻找一种对于极性大,难挥发及热不稳定化合物的分子量测定以及灵敏度高,准确性好的电离技术一直是有机质谱学家们关注焦点之一。在过去的二十年中,人们先后建立了场致电离(FI),场解吸电离(FD),快原子轰击(FAB)等电离技术^[1],这些电离方法均在不同程度上解决了上述难题,特别在糖甙类化合物的结构测试中,快原子轰击电离方法发挥了重要作用,但快原子轰击电离方法在测试中样品用量多,基质干扰大,难于气化的天然糖甙类化合物很难得到一张稳定重复的质谱图。近年来电喷雾电离(ESI)^{[2][3]}作为一种新颖的电离技术不仅对大分子化合物分子量测定有了一个重大突破,而且它能以极高的灵敏度对极性大,难挥发易分解的糖甙类化合物也是一种十分好的电离方法。植物皂甙(又称配糖体)是一类分布十分广泛的二次代谢产物,特别在中草药的醇或水溶性提取物中是一类重要的生物活性天然产物。这类物质由于分子内有寡糖链存在,结构复杂,结构测定十分困难。电喷雾电离质谱不仅能测定这类物质的分子量,而且往往能提供糖基断裂的碎片信息。因此在天然糖甙化合物结构研究中发挥了越来越大的作用。

本文用电喷雾电离方法测定了十六个带有 1—5 个不同糖基的皂甙化合物的分子量,它们的结构已有光谱和化学方法确定。通过电喷雾电离质谱测定确定了该类化合物分子

1999-01-04 收

* 通讯联系人



量, 进一步证实该类化合物的结构是正确的, 并对该类化合物的 ESMS 谱图规律做了初步总结, 其中三萜皂甙十个化合物, 它们的结构见表 1, 甾体皂甙六个化合物, 它们的结构见表 2。同时对麦仙翁种子中的活性天然产物之一麦仙翁甙甲(Agrostenmoside A)的结构根据 $600\text{MHz}^1\text{H NMR}$ 等光谱及化学方法测试结果的互相补充, 对麦仙翁甙甲的结构进行认证。

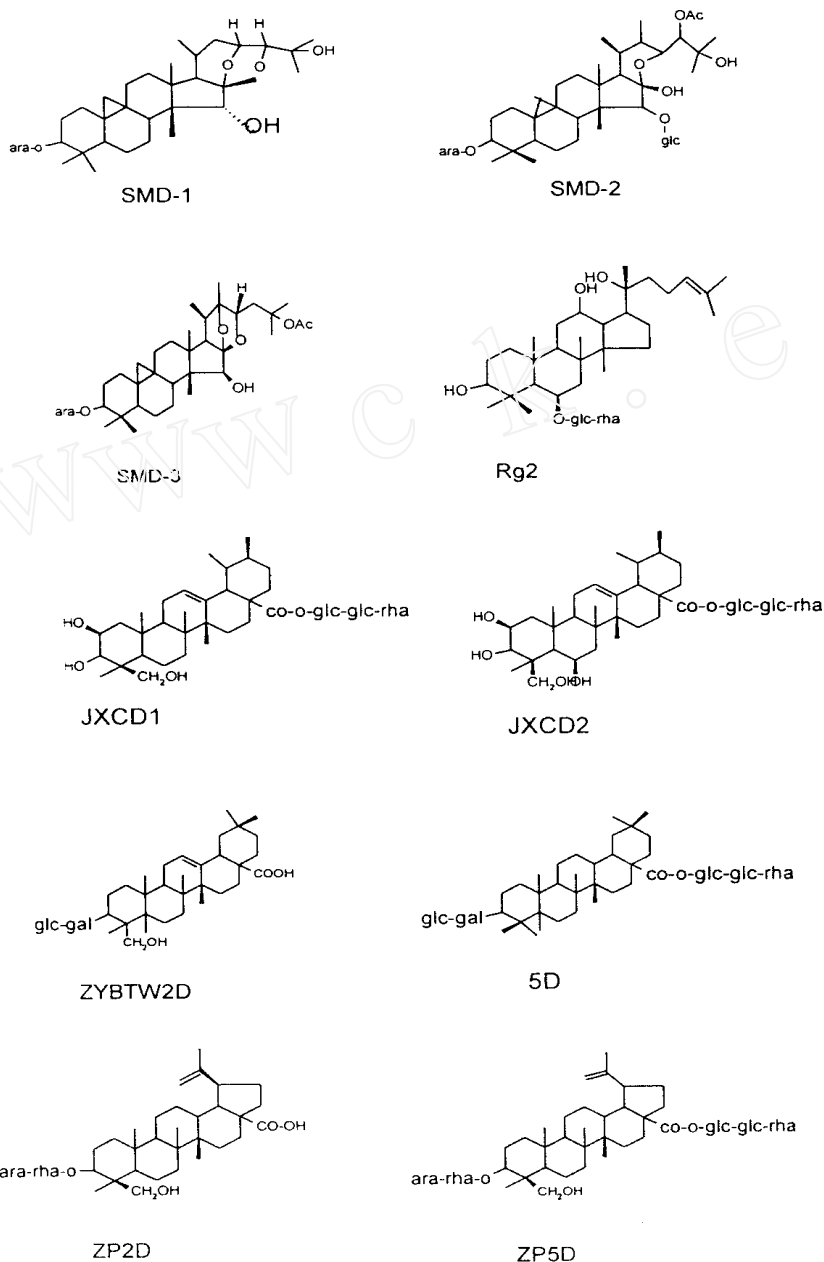


表 1 三萜皂甙化合物的结构

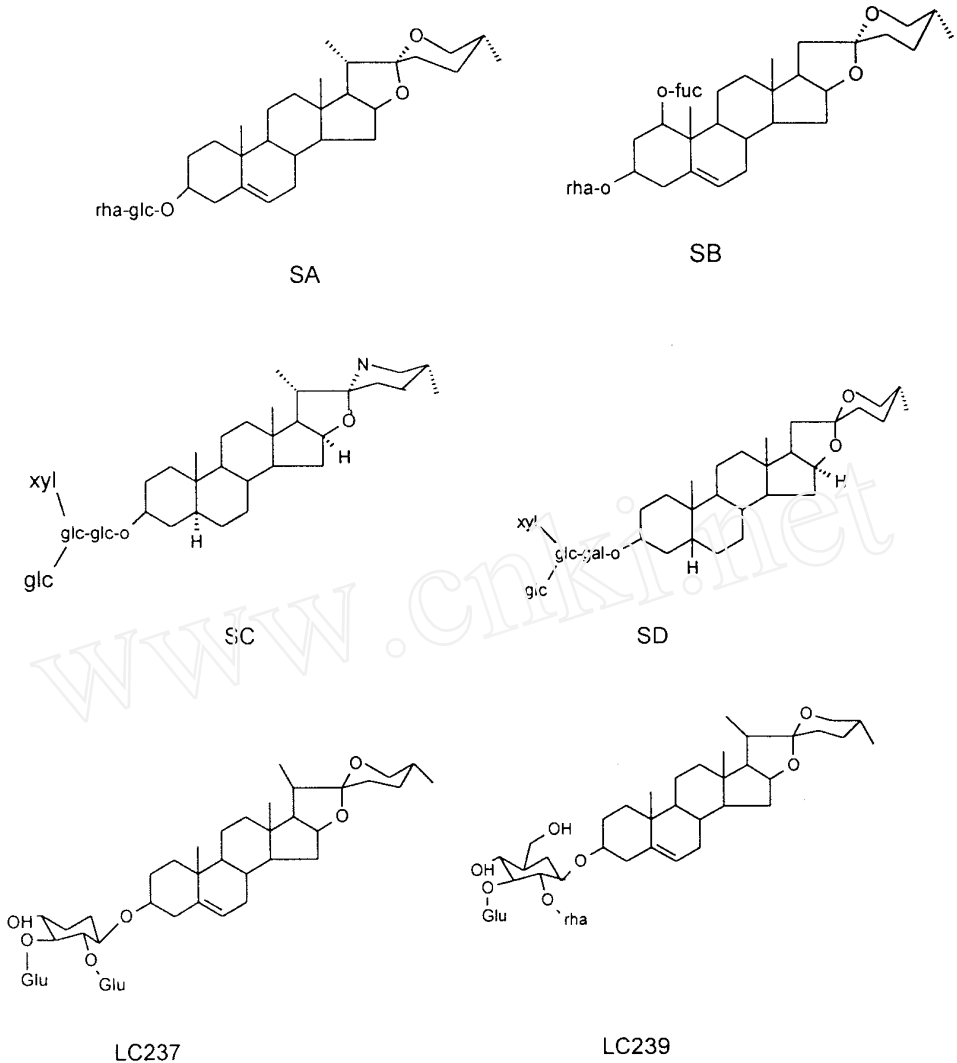


表2 甾体皂甙化合物结构

2 实验

2.1 仪器: 英国Micromass质谱公司Quattro 串联质谱仪

电喷雾电离源为美国analytic公司产品

数据系统为英国micromass公司Masslynx 操作系统

2.2 样品配制: 经HPLC纯化后的化合物加入超滤的光谱纯甲醇内含0.1%的醋酸经蠕动泵(HARVARDMODEL)直接向ESI电离源进样, 进样速度 $3\mu\text{l}/\text{min}$ 。

2.3 质量校正: 用CsI标样做静态、动态质量校正表, 误差不超过 $0.3\mu\text{amu}$ 。

3 结果和讨论

对于已知三萜皂甙的 ESI 测试结果见表 3。甾体皂甙的 ESI 测试结果见表 4。从表中所见无论是三萜皂甙还是甾体皂甙, 它们的 ESI 测试结果表明除含 N 的白英生物碱四糖

表 3 三萜皂甙化合物的 ESI-MS 数据

	SMD- 1	SMD- B	SMD- 3	JXCD- 1	JXCD- 2	ZYBTW	5D	ZP2D	ZP5D	Rg2
M ⁺	620	842	662	958	974	796	1267	750	1220	784
M + 1	621						1268 (0.05)	752		
M + Na	643 (Bp)	866 (Bp)	685 (Bp)	982 (Bp)	998 (Bp)	819 (Bp)	1290 (Bp)	774 (Bp)	1244 (Bp)	808 (Bp)
M + K	639 (0.18)	882 (0.18)	701 (0.13)	997 (0.18)	1015 (0.25)	836 (0.28)	1306 (0.18)	790 (0.25)	1260 (0.30)	823 (0.18)
M + Na + Na	666 (80%)	889 (0.20)	709 (0.15)	1005 (0.30)	1021 (0.23)	843 (0.20)	1312 (0.20)	797 (0.43)		830 (0.17)
2M + Na	1264 (0.80)	1709 (0.10)	1348 (0.18)	1940 (0.60)		1616 (0.10)		1525		1593
2M + K								1541 (0.40)		
1/2M + Na				502	510		657			
M - ara+ Na	511	734		836 - rha			1144 - rha+ Na	619 M - rha	1112 - ara+ Na	647 glc+ Na
M - OH							982 - rha- glc + Na		1099 - rha+ Na	
							819 - rha- glc - glc+ Na		966 - ara- rha+ Na	
							966 - glc- glc+ Na		- rha- glc- glc	
									642 - rha- glc - glc- ara	

表 4 甾体皂甙化合物 ESI-MS 数据

	SA	SB	SC	SD	LC237	LC239
M ⁺	722	722.9	1034	1034	900	884
M + 1	723 (0.10)	724 (0.23)	1035 (Bp)	1035 (0.08)	901 (0.05)	885 (0.12)
M + Na	745 (Bp)	746 (Bp)		1058 (Bp)	924 (Bp)	907
M + K	762 (0.2)	762 (0.2)		1074 0.25	946 (0.43)	924

$N + Na + Na$	769 (0.22)	768 (0.1)			956 (0.10)	931
$2M + 1$						
$2M + Na$	1469 (0.7)	1469 (0.10)			1825 (0.15)	
$2M + K$	1484 (0.12)	1485 (0.02)				
$1/2M + 1$						
$1/2M + Na$						
$1/2M + K$						
$M - xyl + Na$	M - glc - rha + Na 438	M + 1 - rha + 2 579	M - xyl + 1 903	M - xyl + Na 925	M - xyl + 1 903	
		M - rha 413	M - xyl - glc 741		M - glc - glc - glc + 1 415	M - rha - glc - glc 415
		M - rha + aco + Na 437	M - xyl - glc - glc 579		M - glc - glc - glc + Na 437	437
			M - xyl - glc - glc - glc 417			

其基峰为 $[M + 1]^+$, 其余的化合物均能得到特强的 $[M + Na]^+$ 分子离子, 同时还出一系列 $[M + K]^+$, $[M + 2Na]^+$ 的加成离子。当化合物分子量大于 1000 时, 则给出双电荷离子, 当化合物分子量小于 1000 时, 则 ESI 谱出现 $[2M + Na]^+$, $[2M + K]^+$ 的系列离子。从 ESI-MS 谱可看出该类化合物的质谱图非常简单, 归属容易, 能准确判断出化合物的分子量, 从表中可看出在相同测试条件下甾体皂甙类化合物能出现 $[M + 1]^+$ 准分子峰而三萜皂甙类化合物只出现 $[M + Na]^+$, $[M + K]^+$ 加成离子而不出现 $[M + 1]^+$ 的准分子离子。在测试未知样品时这一谱学特征可用来判断甙元类型。此外, 通过改变喷雾锥体电压还观察到化合物的脱糖特征断裂碎片离子, 例如白头翁五糖甙的 ESI-MS 显示以下特征离子:

$$m/z1099 = M - Rha + Na$$

$$m/z1112 = M - Ara + Na$$

$$m/z1966 = M - Ara - Rha + Na$$

$$m/z934 = M - Rha - Glc + Na$$

$$m/z773 = M - Rha - Glc - Glc + Na$$

$$m/z642 = M - Rha - Glc - Glc - Ara + Na$$

证实了正品白头翁五糖的分子量和所测质量是相符的, 糖基断裂的碎片质量也是相符的。

在十六个已知皂甙 ESI-MS 测试基础上, 我们对石竹科植物中的麦仙翁 (*Agrostemma githago*) 种子的 allelopathic 活性成分—麦仙翁甙甲 (*Agrostemmoside*) 以及它的全乙酰化物进行 ESI-MS 测定, 测定结果见图 1, 图中有二组特征离子它们分别为准分子离子

$m/z[1724]$, $m/z[1746]$ 以及双电荷离子 $m/z[874]$, 根据已知糖甙的测试规律, 麦仙翁甙甲应为三萜皂甙类化合物, 它出现了特征的 $[M + Na]^+$ 准分子峰 $m/z[1724]$ 以及 $[M + 2Na]^+$ $m/z[1746]$, 双电荷离子加 $Na[874]$, 这样化合物的分子量应为 $1700 amu$, 从分子量范围判断该化合物可能带有七—八个糖基组成, 根据 $600 MHz NMR$ 波谱分析, 该皂甙确实带有八个不同糖基, 结构与质谱数据一致。为了进一步证实麦仙翁甙甲的结构我们把化合物按常规酰化条件进行全乙酰化反应, 而后进行 $ESMS$ 测定。测试结果提示 $m/z[2462]$ 和 $m/z[2485]$ 它们和麦仙翁甙甲的全乙酰化产物的理论分子量正好少了 $60 amu$, 很明显少了一个乙酰基。该乙酰化产物经 NMR 等波谱分析发现甙元 3 位的糖链中的葡萄糖醛酸在乙酰化过程中 4—位发生了脱乙酰化反应, 其结构与质谱数据相符, 为了得到正常的麦仙翁甙甲的全乙酰化产物以确证其结构, 对麦仙翁甙甲进行更温和条件下的全乙酰化反应, 得到新的化合物进行 $ESMS$ 测定, 测定结果得到其准分子离子 $[M + Na]^+$ 2521 , $[M + 2Na]^+$ 2543 以及它的双电荷离子, 与麦仙翁甙甲 A 全乙酰化产物的理论分子量相符, 进一步证实了该化合物的结构。

以上测试结果进一步证实了用 $ESMS$ 方法对糖甙化合物的分子量测定是一种极佳手段, 谱图简单, 归属容易, 所得数据准确可靠, 对皂甙类未知化合物的结构判断可提供有力的证据。

参 考 文 献

- 1 李海泉, 翟建军, 赵凡智, 陈能焯等. 质谱学报, 1993, Vol 14, No. 1
- 2 C M Whitehouse, R N Dreger, M Yamashita, J B Fenn. Anal. Chem., 1985, 57, 675
- 3 J B Fenn, M Mann, C K Meng, S F Wong, C M Whitehouse. Science, 1989, 246, 64

The Application of ESI- MS on the Saponin Glycoside

Xu Yongzhen, Ma Ji, Wang Wenjie, Wu Houming

(State Key Laboratory of Bio- Organic and Natural Products
Chemistry, Shanghai Institute of Organic Chemistry, the Chinese Academy
of Sciences, Shanghai 200032, China)

Received 1999- 01- 04

Abstract

The application of ESI- MS on the glycosides was demonstrated using sixteen saponin compounds as examples, which contain one to five sugar residues and possess steroidal or triterpenoidal aglycon moiety. The features of the ESI- MS spectra of these compounds were discussed on the basis of aglycone type and fragmentation, which afforded additional evidence for the structure determination of these compounds. Furthermore, the structure of agrostemmoside A, an alleopathic component from the seeds of *agrostemma githago*, was confirmed by the ESI- MS data of the compound and its normal and anomalous peracetylation product.

Key Words: saponin glycoside, ESI- MS, determination of molecular weight