

山莨菪碱衍生物的电喷雾离子阱质谱研究

王利敏^{1,2}, 程森祥², 渠桂荣¹, 常俊标^{2,*}

(1. 河南师范大学化学系, 河南 新乡 420005; 2. 河南省分析测试中心, 河南 郑州 450002)

摘要:山莨菪碱类化合物具有 M 胆碱受体抑制剂的作用, 有潜在的药物治疗价值。合成了新的山莨菪碱衍生物, 采取电喷雾-离子阱质谱的正、负离子模式对 3 种苄基修饰的山莨菪碱季铵盐进行了质谱分析。实验表明, 负离子模式下, 山莨菪碱季铵正离子与两个氯离子结合形成 $[M + 35]^-$ 准分子离子峰, 并在二级质谱中生成失去一氯甲烷或苄基氯的离子。正离子模式下的一级质谱中, 3 种衍生物均产生山莨菪碱季铵基正离子峰 $[M - 35]^+$; 二级质谱中, 连接苄基的 C-N 键与 HO-C、H-C 或 RCOO-C 键协同断裂, 产生托品骨架离子。本研究进一步分析了 N-苄基山莨菪碱季铵盐的结构特征, 揭示了该类季铵盐的质谱裂解特征。

关键词:电喷雾质谱; 离子阱; 山莨菪碱衍生物; 季铵盐

中图分类号: O657.63; TQ460.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2005)03-145-04

Analysis of Anisodamine Derivatives by Electrospray Ionization-Ion Trap Mass Spectrometry

WANG Li-min^{1,2}, CHEN G Sen-xiang², QU Gui-rong¹, CHANG Jun-biao^{2,*}

(1. Department of chemistry, Henan Normal University, Xinxiang 450002, China;

2. Analyzing and Testing Center of Henan Province, Zhengzhou 450002, China)

Abstract : Anisodamine shows activity as cholinceptor blocking agent. Some new anisodamine derivatives were synthesized. To confirm the structures of those derivatives, their mass spectrometries were studied through electrospray ionization-ion trap mass spectrometer. The results indicated that anisodamine derivatives modified by benzyl, the quaternary ammonium chloride, could form a molecular-related ion $[M + 35]^-$ and producted ions through elimination of methyl chloride or benzyl chloride in spectra of negative ion mode. In positive ion mode, ESI-MS spectra of three compounds all gave molecular-related ions $[M - 35]^+$. Their MS^{2-4} spectra gave the characteristic product ions which were also formed by the cleavage of C-N bond accompanied with breaking of HO-C, H-C or RCOO-C bonds of the quaternary ammonium cation of compound a-c.

Key words : electrospray ionization-mass spectrometry; ion trap; anisodamine derivatives; quaternary ammonium

收稿日期: 2004-11-23; 修回日期: 2005-04-14

基金项目: 河南省自然科学基金资助项目 (No. 0408660002)

作者简介: 王利敏 (1977~), 女 (汉族), 河南荥阳人, 硕士研究生, 从事药物化学研究。

*通讯作者: 常俊标 (1964~), 男 (汉族), 河南滑县人, 博导, 研究员, 从事药物化学研究。Email: chsxchem@hotmail.com

山莨菪碱为我国所特有的抗胆碱药物,具有广泛的临床用途^[1~3]。用于治疗急性感染性疾病所至的中毒性休克,使死亡率显著降低。山莨菪碱还能提高细胞免疫,治疗再生障碍性贫血,肿瘤治疗过程中升高白细胞、抗肿瘤细胞转移及危重 SARS 治疗^[4]等。但是,由于组织选择性差,山莨菪碱能引起中枢副作用,阻碍学习和记忆。山莨菪碱的季胺盐衍生物因极性增加,不易透过血脑屏障,中枢副作用减少。本研究合成了 3 个山莨菪碱季胺盐衍生物,正在进行生物活性的评价研究。电喷雾质谱以其特有的方式将化合物进行离子化^[5~8],非常适合于极性大、难挥发样品的分析。在经氢核磁共振(¹H NMR)确定结构的基础上,采取电喷雾-离子阱质谱(ESI-MSⁿ)对山莨菪碱季胺盐衍生物进行了结构分析,并对其质谱特征进行了讨论。

1 实验部分

1.1 实验仪器

LC/MSD Trap SL 电喷雾-离子阱质谱仪:美国安捷伦(Agilent)公司产品,配有电喷雾离子化源(ESI),直接进样泵;分别利用正、负离子检测模式进行检测。

1.2 ESI-MSⁿ 分析条件

喷针压力 6.89×10^4 Pa;干燥氮气流速 4 L/min;干燥气温度 325 °C,毛细管电压 3 500 V;注射泵直接进样,进样速度 5 μ L/min,样品由纯水溶解进样;手动多级。

1.3 化合物 a~c 的合成

取山莨菪碱 0.5 g (1.64 mmol),加无水乙醇 10 mL 及 4-氟苄基氯 0.3 g (2.07 mmol),搅拌下加热回流 6 h,真空蒸出溶剂,加饱和 Na₂CO₃ 水溶液 30 mL,用 CH₂Cl₂ 洗涤(20 mL $\times$ 3),水相用盐酸将 pH 调至中性,真空蒸干,剩余物用甲醇 50 mL 提取,过滤蒸干后得 N-(4-氟-苄基)-山莨菪碱氯化物盐(化合物 b)。化合物 a、c 采取同法合成。化合物 a~c 的结构示于图 1。

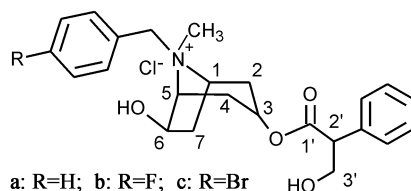


图 1 化合物 a~c 的结构式

Fig. 1 structure of compound a~c

2 结果与讨论

2.1 负离子模式下的质谱行为分析

表 1 山莨菪碱衍生物的分子质量

Table 1 Molecular masses of anisodamine derivatives

Compound	Molecular formula	<i>m</i> / <i>u</i>	<i>m</i> (Positive ion) / <i>u</i>
a	C ₂₄ H ₃₁ NO ₄ ⁺ Cl ⁻	431	396
b	C ₂₄ H ₃₀ FNO ₄ ⁺ Cl ⁻	449	414
c	C ₂₄ H ₃₀ BrNO ₄ ⁺ Cl ⁻	509	474

采用负离子模式的 ESI-MSⁿ 方法,对所合成的取代苄基哌嗪修饰山莨菪碱衍生物进行质谱分析。化合物 a、b、c 表现出相同的质谱特征,其中化合物 b 的准分子离子峰为加氯离子的 *m/z* 484 [M + 35]⁻ 峰,并伴有相应的同位素峰 A + 2 (*m/z* 486)、A + 4 (*m/z* 488),三者的比例为 100 : 62.6 : 11.5,说明分子离子中含有 2 个氯元素。相应的二级质谱中产生 *m/z* 434 (100)、340 (14) 两个离子(见表 2 及图 2),其中 *m/z* 434 [M + Cl⁻ - CH₃Cl]⁻ 为脱去甲基及氯离子所产生, *m/z* 340 [M + Cl⁻ - FC₆H₄CH₂Cl]⁻ 为脱去 4-氟苄基正离子与氯离子所产生。化合物 a、c 及 b 具有相似的负离子质谱特征:中性季胺盐另加一个氯离子形成准分子负离子 [M + 35]⁻,并在二级质谱中脱去甲基与氯离子产生离子 [M + Cl⁻ - CH₃Cl]⁻,同样也可产生 *m/z* 340 离子。在裂解过程中,甲基正离子与氯负离子可能会形成中性分子 CH₃Cl。另外,这两种特征离子的相对丰度表明,季胺离子的 CH₃Cl 更易丢失。

表 2 负离子及正离子检测模式下山莨菪碱衍生物的 ESI-MSⁿ 谱结果

Table 2 ESI-MSⁿ of anisodamine derivatives in negative and positive mode

化合物 Compound	负离子模式 Negative mode		正离子模式 Positive mode		
	MS (<i>m/z</i>)	MS ²	MS(<i>m/z</i>)	MS ²	MS ^{3~4}
	[<i>M</i> + 35 ⁻]	(<i>m/z</i>)	[<i>M</i> - 35] ⁺	(<i>m/z</i>)	(<i>m/z</i>)
a	466	416(100), 340(17.5)	396	366(3.7), 304(31.7), 288(12.3), 304(46.1), 230(46.1), 156(17.9), 140(100), 122(30.1)	304 → 156 → 138 (→ 120), 98; 288 → 258, 140; 230 → 91; 140 → 122, 82
b	484	434(100), 340(14.0)	414	384(2.9), 304(27.3), 288(5.0), 248(28.7), 204(2.2), 156(9.7), 140(100), 122(20.5)	304 → 156 → 138 (→ 120), 98; 288 → 258, 140; 248 → 109; 140 → 122, 82
c	544	494(100), 340(14.3)	474	444(3.6), 308(44.8), 304(59.1), 288(5.3), 169(100), 156(30.7), 140(84.4)	304 → 156 → 138 (→ 120), 98; 288 → 258, 140; 308 → 169; 140 → 122, 82

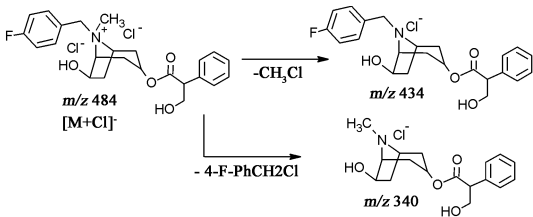


图 2 负离子模式下化合物 a 的质谱裂解方式

Fig. 2 Fragments of compound a in negative mode

2.2 正离子模式下的质谱行为分析

正离子模式检测中,化合物 a~c 也具有相同的质谱特征,如表 2 及图 3 所示。化合物 a 产生失去氯离子的季胺离子 [*M* - 35]⁺ (*m/z* 396),在二级质谱中产生的子离子为 *m/z* 366、304、288、230、193、156、140、122 等,裂解方式示于图 4。母离子 *m/z* 396 经途径 A 产生离子 *m/z* 230 (- 166 u),化合物 b、c 相应的二级离子峰分别为 *m/z* 248 (- 166 u)、*m/z* 308 (- 166 u);子离子 *m/z* 366 (- 30 u) 为经 B 途径、母离子的 2' 位羟甲基脱去中性分子 CH₂O 所产生,*m/z* 366 的生成表明化合物 a 的 3 位为未取代的自由羟基,化合物 b、c 相应的二级离子分别为 *m/z* 384 (- 30 u) 和 *m/z* 444 (- 30 u)。

化合物 a 中的母离子 *m/z* 396 经途径 C 协同脱去苄基与 6-位羟基,生成离子 *m/z* 288 (- 108 u),化合物 b、c 分别脱去 4-氟苄基、4-溴苄基,并协同脱去羟基,在二级质谱中产生相同的子离子 *m/z* 288。离子 *m/z* 288 经羟基氢转移、脱去 2-苯基丙酸内酯,生成离子 *m/z* 140 (- 148

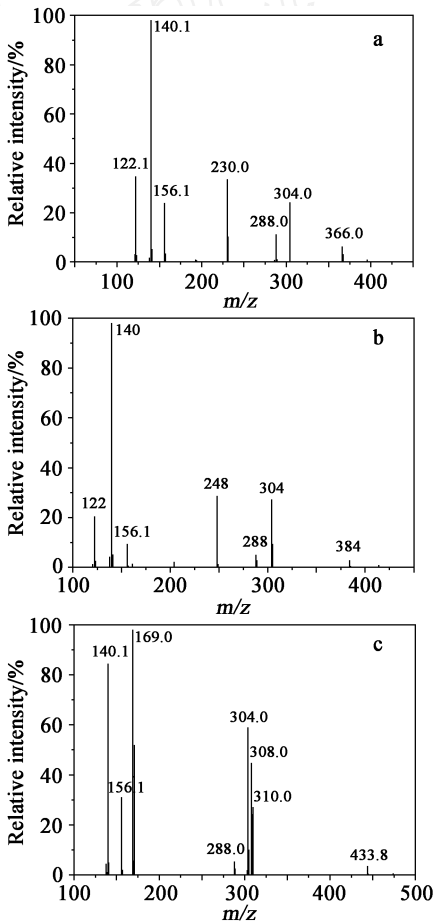


图 3 正离子检测模式下化合物 a~c 的二级质谱

Fig. 3 MS² spectra of compound a-c in positive mode

u),或 3-羟基进一步脱甲醛裂解为离子 *m/z* 258 (- 30 u)。

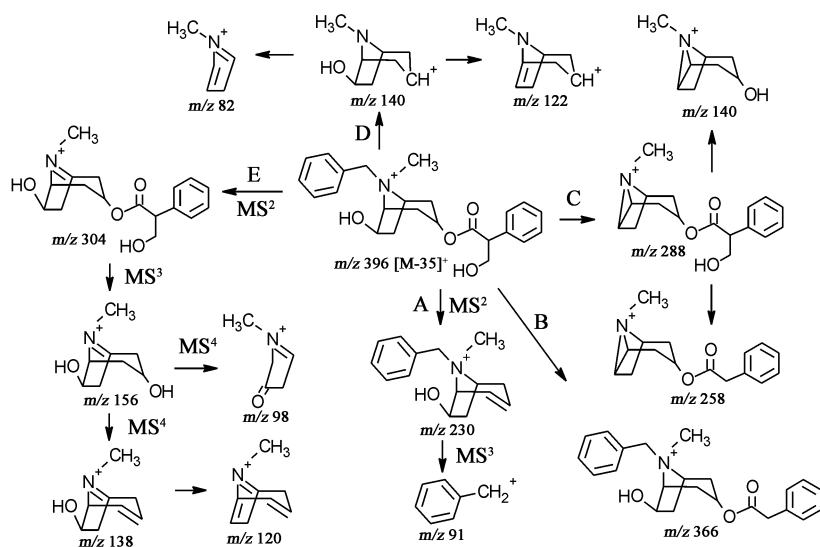


图 4 正离子模式下化合物 a 的质谱裂解方式

Fig. 4 Fragments of compound a in positive mode

由途径 D, 母离子 m/z 396 的苄基与 2-苯基-羟基丙酰丢失产生基峰离子 m/z 140 (-256 u), 进一步脱水得离子 m/z 122; 离子 m/z 140 还可以经重排裂解为离子 m/z 82 (-58 u)。

由母离子 m/z 396 经 E 途径脱去甲苯产生离子 m/z 304 (-92 u), 进一步脱去 2-苯基丙酰基生成离子 m/z 156 (-148 u), 离子 m/z 156 的托品骨架裂解脱去丙酮产生离子 m/z 98 (-58 u), 或者脱水生成离子 m/z 138, 并进一步脱水产生 m/z 120, 离子 m/z 138 还可能裂解为 m/z 96。

化合物 a~c 的母离子经途径 C、D、E 产生相同的裂解离子。所不同的是, 化合物 b 在 2 级质谱中产生的子离子 m/z 204, 可以归属为母离子 m/z 384 的托品环骨架 1-7 位、5-6 位裂解及酰氧基部位丢失的结果。

2.3 小结

综上所述, 氯化山莨菪碱季铵盐的电喷雾-离子阱质谱的主要特征为: 在负离子模式下, 氯化山莨菪碱季铵盐与另外一个氯离子加合形成准分子负离子 $[M+35]^-$, 并在二级质谱中分别裂解出中性分子一氯甲烷或苄基氯, 产生子离子 $[M+35-CH_3Cl]^-$ 及 $[M+35-PhCH_2Cl]^-$ 。正离子模式下, 莨菪碱季铵基正离子经多种途径裂解; 其中, 子离子 $[M-35-30]^+$ 的产生表明母离子结构中羟甲基的存在。上述结果确证了 N-苄基山莨菪碱季铵盐的结构, 初步揭示了该

类季铵盐的质谱裂解规律。

参考文献:

- [1] 郑桂生, 陈翠先. 山莨菪碱治婴幼儿肺炎并呼吸衰竭疗效分析[J]. 临床医药杂志, 2003, 16(4): 38~39.
- [2] 夏强, 张建国, 陈静. 山莨菪碱的拓展应用[J]. 中国临床医药研究杂志, 2003, 39: 9295.
- [3] 高莹, 程静, 董传海. 山莨菪碱的临床新用途[J]. 临床医药实践杂志, 2003, 12(4): 297.
- [4] 杨国栋. 山莨菪碱改善和治疗 SARS 伴低氧血症[J]. 中国危重病急救医学, 2003, 15(8): 450~452.
- [5] Dulcks T and Juraschek R. Electrospray as an Ionization Method for Mass Spectrometry[J]. J Aerosol Sci, 1999, 30(7): 927~943.
- [6] Stewart I. Electrospray Mass Spectrometry: a Tool for Elemental Speciation [J]. Spectroscopy Acta Part B, 1999, 54: 1649~1695.
- [7] Bruins AP. ESI Source Design and Dynamic Range Considerations, in: R. B. Cole (Ed.), Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation, and Applications, Wiley, New York, 1997, 107~136.
- [8] Blades AT, Ikonomou MG, Kebarle P. Mechanism of Electrospray Mass Spectrometry. Electrospray as an Electrolysis Cell[J]. Anal Chem, 1991, 63: 2109~2114.