

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00755

· 论 著 ·

创新药物川阿格雷及其拼合分子阿魏酸和川芎嗪的质谱裂解规律

吴吉洋¹, 高方圆¹, 叶晓岚^{1,2}, 刘桦¹, 范国荣^{1*}, 何广卫^{3*}

1. 第二军医大学药学院药物分析学教研室, 上海市药物(中药)代谢产物研究重点实验室, 上海 200433

2. 广东药学院药物分析学教研室, 广州 510000

3. 合肥医工医药有限公司, 合肥 230088

[摘要] **目的** 探讨创新药物川阿格雷及其拼合分子阿魏酸和川芎嗪的质谱裂解规律。**方法** 在负离子检测模式下, 分别对川阿格雷、阿魏酸和川芎嗪进行电喷雾质谱分析, 并用 Mass Frontier 6.0 软件辅助解析了其中的主要特征碎片离子以及可能的裂解途径; 比较了川阿格雷、阿魏酸和川芎嗪的电喷雾电离质谱裂解规律, 并对其裂解规律进行系统研究。**结果** 从川阿格雷获得 m/z 312、283、268、193、178、149、134 等特征质谱峰, 从阿魏酸获得 m/z 178、149、134 等特征质谱峰, 从川芎嗪获得准分子离子峰 m/z 135。**结论** 川阿格雷主要通过丢失 $-CH_3$ 、 $-COOH$ 和四甲基吡嗪环而发生裂解; 阿魏酸主要通过丢失 $-CH_3$ 和 $-COOH$ 而发生裂解; 川芎嗪不发生裂解。

[关键词] 川阿格雷; 阿魏酸; 川芎嗪; 质谱分析法; 裂解

[中图分类号] R 917.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)07-0755-04

Chuan'agelei and its flatten structure ferulic acid and ligustrazine: mass fragmentation pathway

WU Ji-yang¹, GAO Fang-yuan¹, YE Xiao-lan^{1,2}, LIU Hua¹, FAN Guo-rong^{1*}, HE Guang-wei^{3*}

1. Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai Key Laboratory for Pharmaceutical(Chinese Materia Medica) Metabolite Research, Shanghai 200433, China

2. Department of Pharmaceutical Analysis, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510000, Guangdong, China

3. Hefei Medical Engineering Pharmaceutical Co. Ltd., Hefei 230088, Anhui, China

[Abstract] **Objective** To investigate the fragmentation pathways of *Chuan'agelei* (a new drug) and its flatten structure ferulic acid and ligustrazine. **Methods** *Chuan'agelei*, ferulic acid and ligustrazine were subjected to analysis by ESI-MSⁿ in negative mode. Their fragmentation pathways were explained using the Mass Frontier 6.0 software. We also compared the fragmentation mechanisms of *Chuan'agelei*, ferulic acid and ligustrazine, and the fragmentation pathways were analyzed systematically. **Results** Ion peaks m/z 312 $[M-H]^-$, 283, 268, 193, 178, 149 and 134 were observed for *Chuan'agelei*; m/z 178 $[M-H]^-$, 149 and 134 for ferulic acid; and m/z 135 $[M-H]^-$ for ligustrazine. **Conclusion** *Chuan'agelei* is cracked mainly by losing $-CH_3$, $-COOH$ and tetramethyl pyrazine. Ferulic acid is cracked mainly by losing $-CH_3$ and $-COOH$, while ligustrazine can not be cracked.

[Key words] *Chuan'agelei*; ferulic acid; ligustrazine; mass spectrometry; fragmentation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(7): 755-758]

创新药物川阿格雷是基于传统中药机制, 运用生物电子等排和药物拼合原理合成的新一代血小板凝集抑制剂, 适用于预防和治疗因血小板高聚集态引起的心、脑及其他动脉的循环障碍疾病^[1-5]。川阿格雷是由川芎嗪和阿魏酸经脱水、缩合而制得^[2], 其化学结构式见图 1。

电喷雾质谱技术是目前应用最广泛的“软电离”

质谱技术, 具有灵敏度高、专属性强、操作简便等优点。电喷雾的离子化方式比较温和, 绝大多数情况下可得到分子离子峰^[6]。质谱法具有分析速度快、灵敏度高、专属性强且谱图解析相对简单的优点, 在药物主要成分分析中, 质谱法可以提供大量的结构信息, 是推测相对分子质量、分子式、裂解规律及阐明结构的重要手段^[7-9]。目前, 已有一些对川芎中内

[收稿日期] 2012-04-11 **[接受日期]** 2012-05-15

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技专项(2009ZX09103-123, 2012ZX09102101-005). Supported by Major Science and Technology Project of “Significant New Drug” of China (2009ZX09103-123, 2012ZX09102101-005).

[作者简介] 吴吉洋, 硕士生. E-mail: luckyable@126.com

* 通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-81871260, E-mail: guorfan@yahoo.com.cn; Tel: 0551-5319311, E-mail: hegw@mail.hf.ah.cn

酯类化合物进行质谱研究的报道^[10],但对川阿格雷及其拼合分子阿魏酸和川芎嗪的质谱解析和裂解规律,国内外尚未见报道。

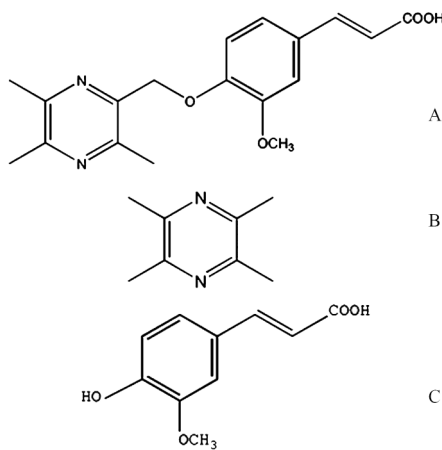


图 1 川阿格雷及其拼合分子阿魏酸和川芎嗪的化学结构式

Fig 1 Chemical structure of Chuan'agelei and its flatten structure ferulic acid and ligustrazine

A: Chuan'agelei; B: Ligustrazine; C: Ferulic acid

本文通过电喷雾电离质谱(ESI-MSⁿ)和 Mass Frontier 6.0 软件对川阿格雷及其拼合分子阿魏酸和川芎嗪的裂解规律进行研究,分析讨论各自的主要特征碎片离子、质谱特征与结构信息,为进一步研究其生物转化过程与结构修饰提供重要信息。

1 材料和方法

1.1 仪器 美国 Thermo Fisher 公司 LCQ Fleet 离子阱质谱仪,包括 ESI 离子源、离子阱质量分析器、Xcalibur™ 2.0.7 SP1 数据处理软件等。梅特勒-托利多 XS205DU 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。S0200-230V-EU 涡旋混合器(美国 Labnet 公司)。

1.2 试剂与试药 川阿格雷(批号:20081103-2-1,含量 98.9%,由合肥医工医药有限公司提供);阿魏酸(批号:0733-9910,含量 99.9%,由中国药品生物制品检定所提供);川芎嗪(批号:200305,含量 99.9%,由中国药品生物制品检定所提供);色谱纯甲醇(美国 Prompter 公司)。

1.3 样品溶液的配制 精密称取川阿格雷原料药约 10 mg,置于 10 ml 棕色量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,得标准贮备液。精密量取适量,用甲醇逐级稀释至 1.0 μg/ml 的川阿格雷样品溶液待用。同法配制 1.0 μg/ml 的阿魏酸和川芎嗪样品溶液。

1.4 质谱条件 离子源喷射电压:4.0 kV;透镜电压:-64.45 kV;毛细管电压:-3.00 kV;毛细管温度:320℃;鞘气流速:35.0 psi (1 psi=6 894.8 Pa);辅助气流速:2.4 ml/min。

1.5 ESI-MSⁿ 分析 取上述 1.0 μg/ml 的川阿格雷、阿魏酸和川芎嗪溶液,分别直接进样导入 ESI 离子源,先用一级全扫描质谱方式获得待测物的准分子离子峰,然后选择准分子离子峰或碎片离子峰进行 ESI-MSⁿ 分析,获得相应的多级质谱图。

2 结果

2.1 川阿格雷的 ESI-MSⁿ 分析结果 首先采用正离子模式对川阿格雷进行 ESI-MSⁿ 分析,响应非常小,故采用负离子模式。图 2 是川阿格雷的 ESI-MSⁿ 图谱。由图 2A 可见川阿格雷准分子离子峰 m/z 327[M-H]⁻。由图 2B 可见 m/z 327[M-H]⁻ 及其裂解碎片 m/z 312、283、268、250、193、185 碎片峰。图 2C 是对 m/z 193 进一步作三级质谱扫描,结果出现 m/z 178、149、134 碎片峰。川阿格雷的裂解途径见图 3。

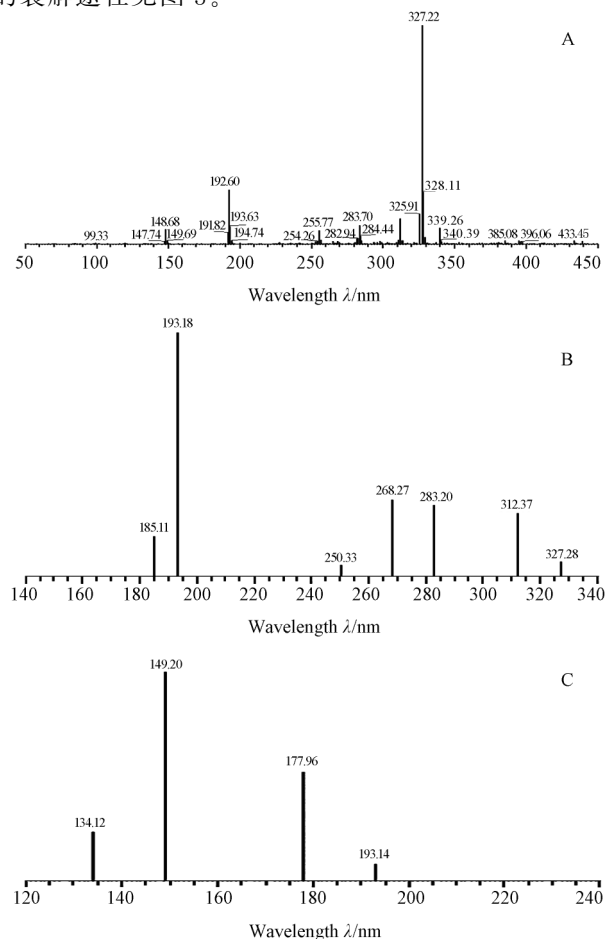


图 2 川阿格雷的 ESI-MSⁿ 质谱图

Fig 2 Mass spectrum of Chuan'agelei

A: MS¹; B: MS²; C: MS³

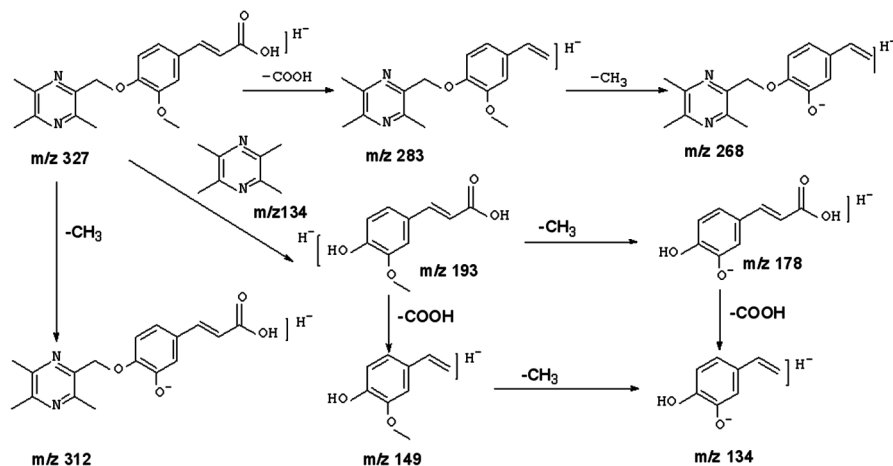


图 3 川阿格雷的质谱裂解途径

Fig 3 Fragmentation pathway of Chuan'agelei

通过图 3 的裂解途径可知, 川阿格雷丢失 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{COOH}$ 分别形成碎片离子 m/z 312、283。碎片 m/z 268 可由碎片 m/z 283 丢失 $-\text{CH}_3$ 形成, 也可由碎片 m/z 312 丢失 $-\text{COOH}$ 形成。母离子丢失四甲基吡嗪环形成碎片离子 m/z 193。碎片 m/z 193 丢失一个 $-\text{CH}_3$ 可裂解成碎片 m/z 178, 丢失一个 $-\text{COOH}$ 可裂解成碎片 m/z 149。碎片 m/z 134 可由碎片 m/z 178 丢失 $-\text{COOH}$ 形成, 也可由碎片 m/z 149 丢失 $-\text{CH}_3$ 形成。ESI-MS³ 扫描证实了碎片 m/z 178、149、134 是由碎片 m/z 193 裂解生成。

由 ESI-MSⁿ 质谱图及其裂解途径可以推断, 川

阿格雷的 ESI-MSⁿ 裂解特征是出现碎片 m/z 312、283、268、193 以及碎片 m/z 193 裂解成碎片 m/z 178、149、134。川阿格雷主要通过丢失 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{COOH}$ 、四甲基吡嗪环而发生裂解。

2.2 阿魏酸的 ESI-MSⁿ 的分析结果 首先采用正离子模式对阿魏酸进行 ESI-MSⁿ 分析, 响应非常小, 故采用负离子模式。图 4 是阿魏酸的 ESI-MSⁿ 图谱。由图 4A 可见阿魏酸准分子离子峰 m/z 193 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。由图 4B 可见 m/z 193 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 及其裂解碎片 m/z 178、149、134、120 碎片峰。阿魏酸的裂解途径见图 5。

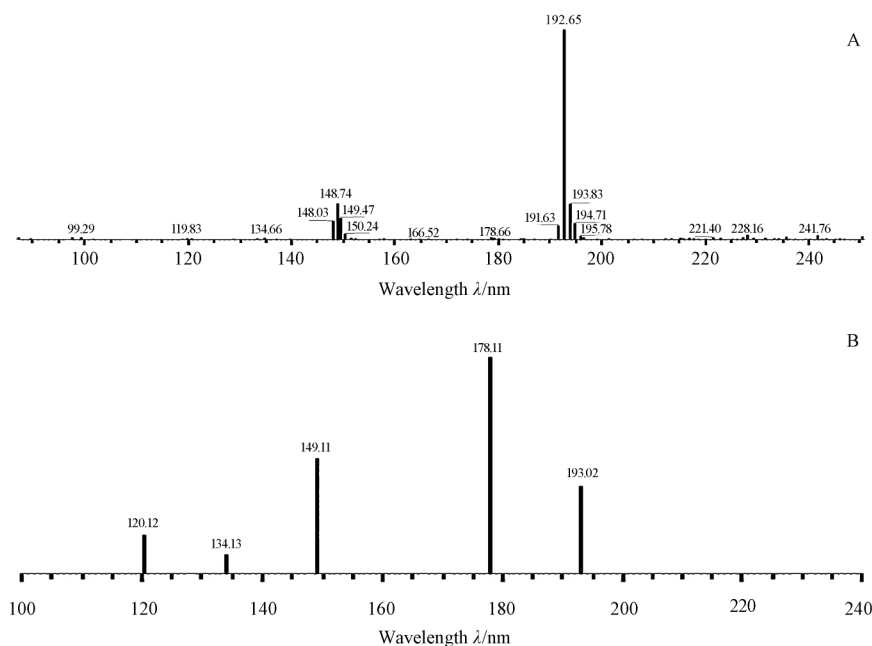
图 4 阿魏酸的 ESI-MSⁿ 质谱图

Fig 4 Mass spectrum of ferulic acid

A: MS¹; B: MS²

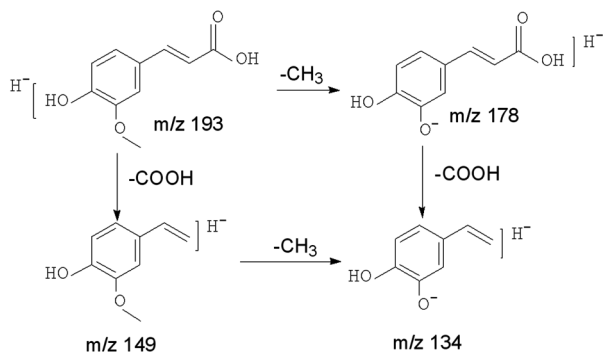


图 5 阿魏酸的质谱裂解规律

Fig 5 Fragmentation pathway of ferulic acid

通过图 5 的裂解途径可知,阿魏酸丢失-CH₃、-COOH 分别形成碎片离子 m/z 178、149。碎片 m/z 134 可由碎片 m/z 149 丢失-CH₃形成,也可由碎片 m/z 178 丢失-COOH 形成。

由 ESI-MSⁿ 质谱图及其裂解途径可以推断,阿魏酸的 ESI-MSⁿ 裂解特征是出现碎片 m/z 178、149、134。阿魏酸主要通过丢失-CH₃、-COOH 而发生裂解。

2.3 川芎嗪的 ESI-MSⁿ 的分析结果 图 6 为川芎嗪准分子离子峰 m/z 135[M-H]⁻。川芎嗪结构稳定,没有产生碎片离子。

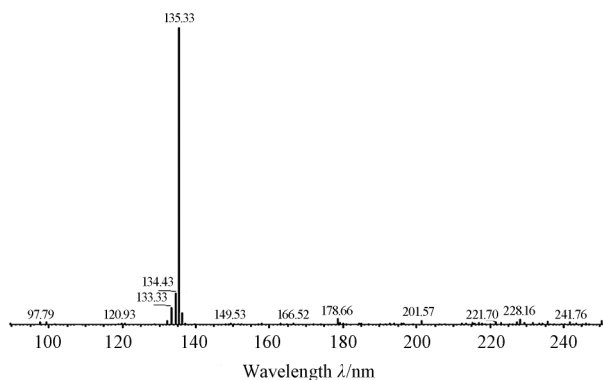


图 6 川芎嗪的 ESI-MS 质谱图

Fig 6 Mass spectrum of ligustrazine

3 讨论

本文通过电喷雾离子阱质谱对川阿格雷及其拼合分子阿魏酸和川芎嗪进行研究,探讨其裂解方式,归纳如下:川阿格雷主要脱去甲基、羧基和四甲基吡嗪环,阿魏酸主要脱去甲基和羧基,产生一系列碎片离子;而川芎嗪由于结构稳定,不发生裂解,故只能获得准分子离子峰。

由川阿格雷 ESI-MSⁿ 质谱图可知,在一级裂解过程中可脱去甲基、羧基和四甲基吡嗪环,且脱去四甲基吡嗪环后 m/z 193 的丰度最大,可推断脱去四甲基吡嗪环比较容易。之后 4-O 就裸露出来,在一级和二级裂解过程中均有 3-O 的甲基脱去,之后 3-O 也裸露出来,可与体内的酸性物质结合,形成代谢产物。同理,阿魏酸裂解时脱去 3-O 的甲基,裸露出来的 3-O 也可与体内酸性物质结合,形成酸性代谢产物。这些还需要进行体内代谢分析来进一步验证。

川阿格雷、阿魏酸和川芎嗪的质谱研究以及对裂解途径的解析为进一步研究川阿格雷的生物转化过程与结构修饰提供了重要信息。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 窦颖辉,王 丽,何广卫,吴 强,范国荣,杭太俊. 反相高效液相色谱法测定(E)-3-(4-((3,5,6-三甲基吡嗪-2-基)甲氧基)-3-甲氧基苯基)丙烯酸在大鼠血浆中的浓度[J]. 药学实践杂志, 2012,30:42-44.
- [2] 李家明,何广卫. 川芎嗪芳酰胺类衍生物、制备方法和药物组合物与应用:中国,CN200710163477. 1[P]. 2008-03-19.
- [3] 李家明,赵永海,马逢时,汪志勇,何 勇,张德帅,等. 川芎嗪芳酰胺衍生物的合成及抗血小板聚集活性[J]. 有机化学,2008,28: 1578-1583.
- [4] 盛日正,李家明,张飞龙,钟国琛. 新型川芎嗪阿魏酸衍生物的合成及其抗血小板聚集活性[J]. 合成化学,2011,19:157-161.
- [5] 李家明,赵永海,钟国琛,龙子江,周 鹏,袁 明. 阿魏酸衍生物的合成及抗血小板聚集活性[J]. 药学学报,2011,46:305-310.
- [6] 戴海学,李晓蓉,李宇航,刘 蕴,薛 明. 丹参酮 II A 和丹参酮 I 的电子轰击与电喷雾电离质谱分析[J]. 分析试验室,2008, 27:24-29.
- [7] 刘国强,董 静,王 弘,万乐人,端裕树,陈世忠. EGC/GC 和 EGCG/GCG 的 ESI-IT-TOF 质谱裂解规律研究[J]. 质谱学报, 2009,30:287-294.
- [8] 于林芳,徐 杰,陈士国,薛 勇,王静凤,李兆杰,等. 仿刺参皂苷类化合物的电喷雾负离子质谱裂解规律研究[J]. 质谱学报, 2011,32:77-81.
- [9] Gattuso G, Barreca D, Gargiulli C, Leuzzi U, Caristi C. Flavonoid composition of citrus juices[J]. Molecules, 2007, 12: 1641-1673.
- [10] 曾 志,谢润乾,张 涛,谭丽贤,庾秀英. 川芎中内酯类化合物的质谱学规律[J]. 质谱学报,2011,32:293-300.

[本文编辑] 尹 茶