

双环醇、联苯双酯、五味子丙素的UHPLC-ESI-Q-TOF-MS分析及其应用^Δ

段华健^{1,2*}, 武正华², 余史丹³, 汪硕闻², 陈明², 范国荣^{1,2#} (1. 上海交通大学药学院, 上海 201100; 2. 上海交通大学附属第一人民医院临床药学科, 上海 200080; 3. 中国人民解放军联勤保障部队第906医院药剂科, 浙江宁波 315040)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)14-1692-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.14.05

摘要 目的: 分析双环醇、联苯双酯和五味子丙素的质谱裂解规律, 鉴定双环醇原料药中的杂质。方法: 采用超高效液相色谱-电喷雾-四极杆-飞行时间质谱法, 以电喷雾电离源为离子源, 在正离子模式下, 利用飞行时间质谱对双环醇、联苯双酯和五味子丙素的准分子离子及其特征碎片离子信息进行分析, 根据碎片质量变化推测可能的裂解途径, 分析总结其质谱裂解规律; 双环醇原料药样品首先通过液相色谱分离, 寻找其中的杂质峰, 然后利用质谱对杂质峰进行分析, 结合裂解规律辅助鉴定杂质的结构。结果: 3种化合物在正离子模式下均产生[M+H]⁺的准分子离子, 经碰撞诱导解离后发生C—O键、C—C键的简单断裂以及氧环的开环断裂, 并伴随以CH₂O为主, CO₂、CO、CHO为辅的中性碎片丢失, 解离均集中在中高质量区。3种化合物只有支链结构和/或氧环结构发生C—C、C—O键的简单断裂, 而联苯母核结构未曾改变。其中, 双环醇由于含有苄位羟基结构, 故在酸性流动相条件下, 会以[M+H—H₂O]⁺的形式稳定存在; 五味子丙素因其含有八元环结构, 故碰撞电压下率先出现开环, 继而再出现中性碎片丢失。双环醇原料药中杂质的二级质谱与联苯双酯的二级碎片表现出的质谱裂解行为基本一致。结论: 本研究归纳了3种五味子衍生物的质谱裂解规律。双环醇原料药中出现的杂质可能为联苯双酯。

关键词 双环醇; 联苯双酯; 五味子丙素; 超高效液相色谱-电喷雾-四极杆-飞行时间质谱; 质谱裂解规律; 杂质鉴定

UHPLC-ESI-Q-TOF-MS Analysis of Bicyclol, Bifendate and Schisandrin C and Application

DUAN Huajian^{1,2}, WU Zhenghua², YU Shidan³, WANG Shuowen², CHEN Ming², FAN Guorong^{1,2} (1. School of Pharmacy, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201100, China; 2. Dept. of Clinical Pharmacy, the First Affiliated People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China; 3. Dept. of Pharmacy, No. 906 Hospital of the Joint Logistics Support Force of PLA, Zhejiang Ningbo 315040, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To analyze the mass spectrometry fragmentation regularity of bicyclol, bifendate and schisandrin C, and to identify the impurities of bicyclol raw material. METHODS: UHPLC-ESI-Q-TOF-MS method was adopted. Using electrospray ionization source, in positive ion mode, the excimer ion and characteristic fragments of bicyclol, bifendate and schisandrin C were analyzed by means of TOF-MS. According to the mass change of fragments, the possible fragmentation pathways were speculated, and the fragmentation regularity were analyzed and summarized. Bicyclol raw material sample was first separated by liquid chromatography to find the impurity peaks in it, and then the impurity peaks were analyzed by mass spectrometer; the impurity identification was conducted by combining with the fragmentation regularity. RESULTS: The 3 compounds all produced [M+H]⁺ excimer ion in the positive ion mode. After collision-induced dissociation, the C-O bond, the simple rupture of the C-C bond and the ring-opening cleavage of the oxygen ring occurred; with the loss of neutral fragments, mainly CH₂O, supplemented by CO₂, CO and CHO, the dissociation was concentrated in the middle and high quality regions. C-C and C-O bonds of 3 compounds were simply broken only in the branched chain structure and/or oxygen ring structure, but the structure of the biphenyl parent nucleus remained unchanged. Among them, the bicyclol contained a benzyl alcohol structure, so under acidic mobile phase conditions, it would exist stably in the form of [M+H—H₂O]⁺. Because schisandrin C contained 8-membered ring structure, ring opening first occurred under collision voltage, and then neutral fragment loss occurred. The secondary mass spectra of impurity in bicyclol raw material were consistent with the mass spectra fragmentation of secondary fragments of bifendate.

^Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81973289); 上海市科学技术委员会科研计划项目(课题)(No.18401931900); 上海市临床重点专科项目(No.shslczdk01903)

* 硕士研究生。研究方向: 临床药理学。电话: 021-63240090。E-mail: duanhujian1996@126.com

通信作者: 主任药师, 博士生导师, 博士。研究方向: 临床药理学和临床药动学。E-mail: guorfan@163.com

CONCLUSIONS: The study summarized mass spectrometry fragmentation regularity of 3 schisandrin derivatives. The impurity in bicyclol raw material may be bifendate.

KEYWORDS Bicyclol; Bifendate; Schisandrin C; UHPLC-ESI-Q-TOF-MS; Mass spectrum fragmentation regularity; Impurity identification

五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 或华中五味子 *S. sphenanthera* Rehd. et Wils. 的干燥成熟果实。因其辛、甘、苦、涩、咸共生五味, 故被称为五味子^[1]。五味子的果实、种子含丰富的木脂素类化合物, 如五味子醇, 五味子甲素、乙素、丙素以及五味子酚等^[2]。经研究发现, 所有活性成分中五味子丙素(结构式见图 1A) 的保肝作用最强, 但含量较低^[3]。为此, 研究者合成了五味子丙素及其衍生物, 经筛选后, 得到了易于合成且能够大规模生产的联苯双酯(结构式见图 1B), 该衍生物可显著下调乙肝患者的转氨酶水平, 但具有停药反跳现象^[4]。随后, 经过结构优化, 研究者合成了新的衍生物双环醇(结构式见图 1C), 该衍生物在延续联苯双酯保肝作用的同时, 其停药反跳现象的发生率远低于联苯双酯, 故在临床上得到了广泛应用^[5-6]。

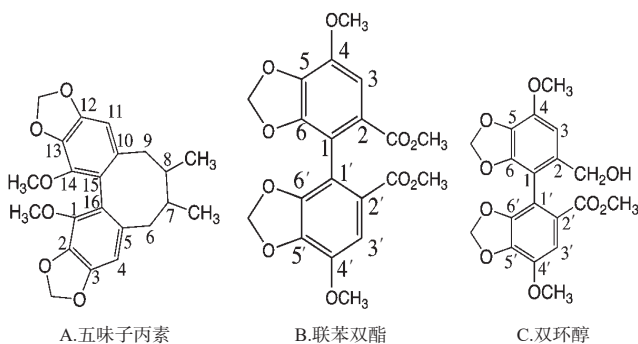


图 1 五味子丙素、联苯双酯、双环醇的结构式

Fig 1 Molecular structure of schisandrin C, bifendate and bicyclol

鉴于双环醇具有良好的保肝降酶作用, 并且临床上应用广泛, 因此研究其有关物质具有重要意义。双环醇有关物质的深入研究需通过高分辨质谱分析提供基础信息支撑。电喷雾-四极杆-飞行时间质谱(ESI-Q-TOF-MS)作为高分辨质谱, 是通过软电离技术, 在测定化合物精确分子量的同时, 提供准确且丰富的碎片信息, 尤其适用于未知化合物的结构鉴定^[7]。该技术现已被广泛应用于中药、化学药和生物大分子等研究领域^[8-10]。关于五味子类衍生物的结构鉴定, 目前有贺锐等^[11]采用 Discovery Studio 软件探究了五味子乙素质谱裂解途径, 靳茂礼等^[12]对五味子酯甲的代谢产物进行了鉴定, 但现有研究并不全面。基于此, 本研究采用超高效液相色谱(UHPLC)-ESI-Q-TOF-MS 法, 在正离子模式(ESI⁺)下, 经碰撞诱导解离(CID)获取碎片的二级质谱信息, 并以此初步推测五味子丙素、联苯双酯、双环醇的裂解途径, 从而总结得到这 3 种化合物的裂解规律, 再根据此初步鉴定双环醇杂质的结构, 旨在为双环醇质量控制提供参考, 也为其他五味子衍生物的结构分析奠定理论基础。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究主要仪器包括 Agilent 1290 型 UHPLC 仪(配有 G7120A 型二元泵及内置脱气机、G7159B 型自动进样器、G7116B 型柱温箱、Mass Hunter 10.0 在线分析软件)和 G6545 型 Q-TOF 型质谱仪(美国 Agilent 公司)、CPA-225D 型电子天平(德国 Satorius 公司)、Centrifuge 5804R 型冷冻高速离心机(德国 Eppendorf 公司)、SK5200H 型超声仪(上海科导超声仪器有限公司)、Research UV 型超纯水机(上海和泰仪器有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

双环醇原料药(批号 170657, 纯度 98.0%)购自北京协和药厂; 联苯双酯对照品(批号 100192-201504, 纯度 98.0%)购自中国食品药品检定研究院; 五味子丙素对照品(批号 MB6954, 纯度 98.0%)购自大连美仑生物技术有限公司; 甲醇和乙腈均购自德国 Merck 公司, 均为色谱纯; 甲酸和乙酸铵均购自上海安谱实验科技有限公司, 均为分析纯; 其余试剂均为分析纯或实验室常用规格, 水为自制超纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

精密称定双环醇原料药、联苯双酯对照品、五味子丙素对照品各 10 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解并定容, 超声(功率 200 W, 频率 53 kHz, 下同)10 min 使完全溶解, 得上述成分质量浓度均为 1 mg/mL 的贮备液, 于 4 °C 下储存。取上述贮备液适量, 用 80% 甲醇梯度稀释制成质量浓度为 1 μg/mL 的标准溶液, 临用现配。取上述 3 种样品的标准溶液各 100 μL, 置于同一 EP 管中, 超声 5 min 使充分混匀, 得到质量浓度均为 0.33 mg/mL 的混合标准溶液, 备用。

2.2 UHPLC 条件

以 Dikma Diamonds C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱; 以 2 mmol/L 乙酸铵-0.1% 甲酸溶液为流动相 A、乙腈为流动相 B 进行梯度洗脱(0~1 min, 40% B→70% B; 1~4 min, 70% B; 4~4.5 min, 70% B→95% B; 4.5~8 min, 95% B); 流速为 1 mL/min; 柱温为 25 °C; 检测波长为 276 nm; 进样量为 15 μL; 分流比为 3:7。

2.3 质谱条件

离子源为 ESI, 扫描模式为 ESI⁺; 鞘气温度为 350 °C, 流速为 11 L/min; 雾化温度为 320 °C, 雾化气电压为 35 psi; 干燥气流速为 8 L/min; 锥孔电压为 65 V; 毛细管电压为 175 V; 碰撞电压为 10~30 V; 扫描范围为 *m/z* 100~1 700。

2.4 色谱和质谱分析

吸取混合标准溶液 100 μL , 按照“2.2”“2.3”项下条件进样, 先经 UHPLC 分离后再进入质谱分析。首先, 由一级质谱提取离子流 (EIC) 图得到每个化合物的保留时间 (RT) 和准分子离子的精确 m/z 值; 然后以准分子离子的 m/z 值作为靶 m/z 值, 以 RT 前后 0.5 min 作为扫描时间范围, 并在适宜碰撞电压下进行 Target MS/MS 扫描。经 CID 得到化合物的二级碎片, 记录特征碎片离子信息, 并根据碎片离子 m/z 值的变化情况, 推测其可能的结构。

2.5 杂质鉴定

吸取双环醇标准溶液 100 μL , 按照“2.2”“2.3”项下条件进样分析, 并以 80% 甲醇作为空白对照。首先经 UHPLC 的紫外 (UV) 检测, 寻找除双环醇色谱峰以外的其他特征色谱峰, 然后在一级质谱图中查找该色谱峰对应化合物的 RT 和 m/z 值。二级碎片采集操作同“2.4”项, 根据得到的碎片信息结合质谱裂解规律进行杂质的初步鉴定。

2.6 软件辅助分析

采用 Mass Hunter Qualitative Analysis 10.0 软件对所有化合物的质谱数据进行采集和定性分析。首先, 采用软件中的“generate formula”功能, 通过限制 C、H、O 以及不饱和键的数量来确定特征峰对应化合物的分子式; 然后, 使用 Molecular Structure Correclator 8.1 软件, 根据二级碎片离子信息并结合原型药的分子结构, 对碎片离子的结构进行推测, 以辅助裂解过程的推断 (上述软件均来自于美国 Agilent 公司)。

3 结果与分析

3.1 3种化合物的色谱和质谱信息

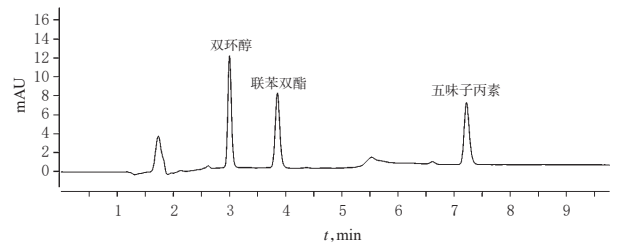
色谱结果显示, 双环醇、联苯双酯和五味子丙素的 RT 依次约为 3.0、3.9、7.2 min, 详见图 2。

质谱结果显示, 随着碰撞电压的增加, 双环醇、联苯双酯和五味子丙素二级碎片数量也随之增加。在动态变化过程中, 通过断裂时的电压推断支链结构的稳定性, 对于分析支链断裂顺序具有重要的指导意义。分析二级质谱信息, 以质量偏差 (ppm) 小于 2×10^{-6} 、碎片响应值大于 1×10^3 为标准, 归纳双环醇、联苯双酯和五味子丙素的主要特征碎片离子信息, 详见表 1~表 3。

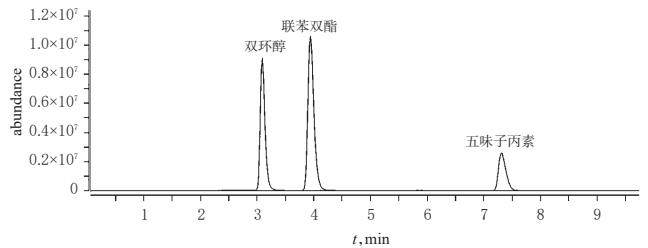
3.2 双环醇的质谱裂解途径

双环醇在 ESI^+ 下产生质子化离子 m/z 391.034 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 为其准分子离子峰。该成分 C2 位含苯位羟基, 会脱去 1 分子 H_2O 产生 m/z 373.091 9 的碎片离子, 得到其二级质谱拟合图见图 3。

双环醇的碎裂反应主要由 CID 引发^[13], 由图 3 可知,



A. UHPLC-UV 图



B. UHPLC-ESI-Q-TOF-MS 图 (EIC 图)

图 2 双环醇、联苯双酯、五味子丙素的 UHPLC-UV 和 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS 图

Fig 2 UHPLC-UV and UHPLC-ESI-Q-TOF-MS spectra of bicyclol, bifendate and schisandrin C

表 1 双环醇的主要特征碎片离子信息

Tab 1 Main characteristic fragment ion information of bicyclol

代谢物	主要特征碎片离子	分子式	m/z	ppm, $\times 10^{-6}$
A0	$[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_8$	373.091 9	-0.18
A1	$[\text{A}0-\text{CH}_2\text{O}]^+$	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_7$	343.081 1	-0.74
A2	$[\text{A}1-\text{CHO}]^+$	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_6$	314.078 4	-0.16
A3	$[\text{A}1-\text{CO}]^+$	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_5$	299.091 4	-0.14
A4	$[\text{A}2-\text{CH}_2\text{O}]^+$	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_5$	284.067 4	-1.89
A5	$[\text{A}3-\text{CO}]^+$	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	271.096 1	-1.22
A6	$[\text{A}3-\text{CH}_2\text{O}]^+$	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$	269.080 6	-0.22
A7	$[\text{A}5-\text{CH}_2\text{O}]^+$ 或 $[\text{A}6-\text{CO}]^+$	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_3$	241.049 1	-1.60
A8	$[\text{A}7-\text{CO}]^+$	$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_2$	213.090 9	-0.29

表 2 联苯双酯的主要特征碎片离子信息

Tab 2 Main characteristic fragment ion information of bifendate

代谢物	主要特征碎片离子	分子式	m/z	ppm, $\times 10^{-6}$
B0	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_{10}$	419.239 9	0
B1	$[\text{B}0-\text{CH}_2\text{O}]^+$	$\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_9$	387.070 6	-0.41
B2	$[\text{B}1-\text{CH}_2\text{O}]^+$	$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_8$	357.060 2	-0.88
B3	$[\text{B}1-\text{CO}]^+$	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_7$	343.081 3	0.13
B4	$[\text{B}2-\text{CHO}]^+$	$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_7$	328.057 8	0.25
B5	$[\text{B}3-\text{CH}_2\text{O}]^+$	$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_6$	313.034 3	0.09
B6	$[\text{B}5-\text{CO}]^+$	$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_5$	285.075 7	-0.25

表 3 五味子丙素的主要特征碎片离子信息

Tab 3 Main characteristic fragment ion information of schisandrin C

代谢物	主要特征碎片离子	分子式	m/z	ppm, $\times 10^{-6}$
C0	$[\text{M}+\text{H}]^+$	$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_6$	385.164 6	0.85
C1	$[\text{C}0-\text{CH}_2\text{O}]^+$	$\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_5$	355.153 7	-1.49
C2	$[\text{C}0-\text{C}_3\text{H}_{10}]^+$	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_6$	315.089 3	-1.09
C3	$[\text{C}2-\text{CH}_2\text{O}]^+$	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_5$	285.075 5	0.91
C4	$[\text{C}3-\text{CO}]^+$	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_4$	257.051 8	0.71
C5	$[\text{C}4-\text{CH}_2\text{O}]^+$	$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_3$	227.069 8	-0.63

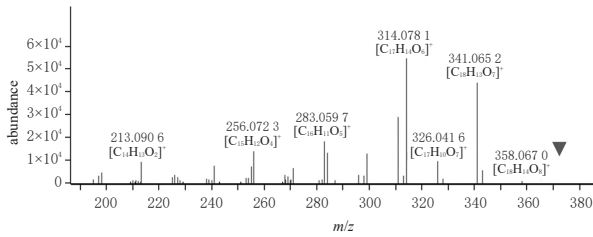


图3 双环醇的二级质谱拟合图

Fig 3 MS/MS fitting spectrum of bicyclol

裂解行为主要集中在中高质量区,在脱水得到的 m/z 373.091 9 的母离子基础上,首先 C2' 位酯键断裂丢失 1 分子 CH_2O , 得到 m/z 343.081 1 的碎片离子。该碎片可继续于 C2'、C4' 位发生简单断裂丢失 1 分子 CHO 和 1 分子 CH_2O , 得到 m/z 314.078 4、284.067 4 的碎片离子;也可于 C5、C6 位发生两个 C—O 键断裂,氧环开环后失去 1 分子 CO_2 , 得到 m/z 299.091 4 的碎片离子。该碎片有两种裂解方式,一种先开环后支链发生简单断裂,于 C5、C6 位开环断裂失去 1 分子 CO , 得到 m/z 271.096 1 的碎片离子,继而于 C4'、C2' 位发生两次简单断裂,先后得到 m/z 241.049 1 和 m/z 213.090 9 的碎片离子;另一种为 C4' 支链结构先发生简单断裂得到 m/z 269.080 6 的碎片离子,然后氧环开裂,最终也得到 m/z 213.090 9 的碎片离子。推测双环醇可能的裂解途径如图 4 所示。

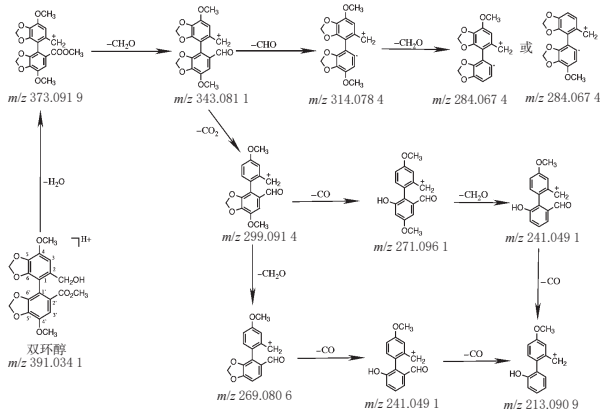


图4 双环醇的质谱裂解途径

Fig 4 Mass spectrum fragmentation pathway of bicyclol

3.3 联苯双酯的质谱裂解途径

联苯双酯在 ESI^+ 下产生质子化离子 m/z 419.239 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 为其准分子离子峰,又经 CID,得到其二级质谱拟合图见图 5。

在 ESI^+ 下,联苯双酯得准分子离子峰 $[\text{M}+\text{H}]^+$,经 CID 共产生 6 个特征碎片,其裂解方式与双环醇相似,但过程更为简单。由图 5 可知,裂解行为主要集中在中高质量区,首先 C2' 位酯键断丢失 1 分子 CH_2O , 得到 m/z 387.070 6 的碎片。该碎片有两种裂解方式,一种于 C2、

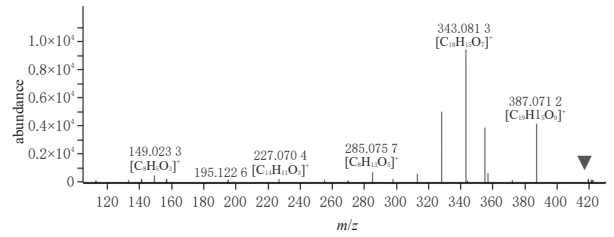


图5 联苯双酯的二级质谱拟合图

Fig 5 MS/MS fitting spectrum of bifendate

C4、C4' 位发生连续 C—O 键的简单断裂,相继丢失 1 分子 CH_2O 和 1 分子 CHO , 得到 m/z 357.060 2 和 328.057 8 的碎片离子;另一种是位于 C5、C6 位的氧环先开裂,丢失 1 分子 CO_2 , 得到 m/z 343.081 3 的碎片,随后 C2、C4、C4' 位发生简单断裂,形成 m/z 313.034 3、285.075 7 的碎片离子。推测联苯双酯可能的裂解途径如图 6 所示。

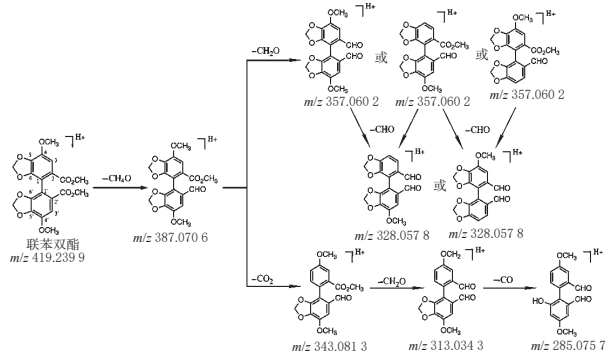


图6 联苯双酯的质谱裂解途径

Fig 6 Mass spectrum fragmentation pathway of bifendate

3.4 五味子丙素的质谱裂解途径

五味子丙素在 ESI^+ 下产生质子化离子 m/z 385.164 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 为其准分子离子峰,又经 CID,得到其二级质谱拟合图见图 7。

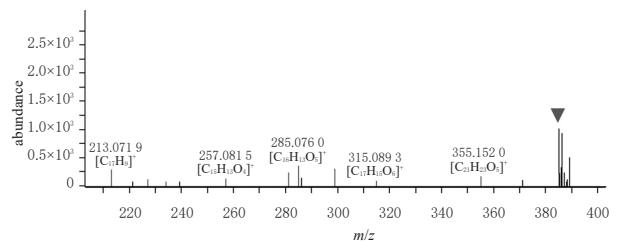


图7 五味子丙素的二级质谱拟合图

Fig 7 MS/MS fitting spectrum of schisandrins C

由图 5 可知,五味子丙素经 CID 产生 5 个主要碎片离子峰。裂解过程与前人研究得到五味子乙素裂解的碎片情况基本相似^[11],亦与上述双环醇、联苯双酯的裂解行为类似。特殊之处在于五味子丙素含八元环结构,会发生 2 个 C—C 键的均裂脱,失去 1 分子 C_5H_{10} 使体系趋于稳定,得到 m/z 315.089 3 的碎片离子。从分子式水

平分析,上述碎片离子的O原子数与母离子相同,而另一 m/z 355.153 7 的碎片离子的O原子数较母离子减少1,故通过O原子的变化情况可以推断出前一碎片离子由母离子直接得到。推测五味子丙素可能的裂解途径如图8所示。

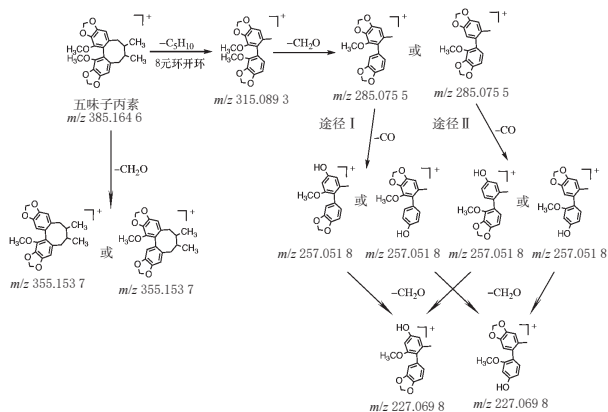


图8 五味子丙素的质谱裂解途径

Fig 8 Mass spectrum fragmentation pathway of schisandrin C

3.5 杂质的鉴定结果

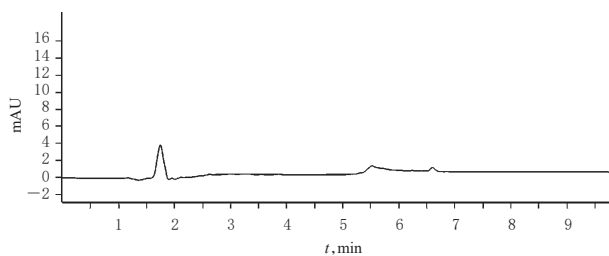
在对双环醇原料药进行色谱和质谱分析时,检测到1个杂质(图9),RT为3.846 min,该保留时间与联苯双酯的保留时间基本一致,为确定杂质成分,采用ESI-Q-TOF-MS做进一步的检测。

该杂质在ESI⁺下也产生 m/z 419.240 5[M+H]⁺ 的准分子离子峰,经CID得到的二级质谱检测结果显示,该杂质共产生6个主要特征碎片离子,且碎裂集中在高质量区,拟合图见图10。其中,该杂质产生 m/z 387.071 1、357.060 5的碎片离子,与准分子离子差30和60,即连续丢失1分子或2分子CH₂O,说明杂质中含有多个—OCH₃结构;除此之外,还有 m/z 343.081 2、328.057 8、313.064 3、285.075 7的特征碎片离子,推测为上述2个碎片离子丢失CO₂、CH₂O、CHO、CO丢失所致。对比主要特征碎片,结合质量数推测中性碎片丢失情况,该杂质的二级质谱与联苯双酯的二级质谱碎片表现出的裂解行为完全一致。查阅相关文献证实,双环醇的合成工艺中采用联苯双酯作为起始原料^[14-15],因此极有可能在生产过程中引入联苯双酯,故可判断双环醇中出现的杂质可能为联苯双酯。

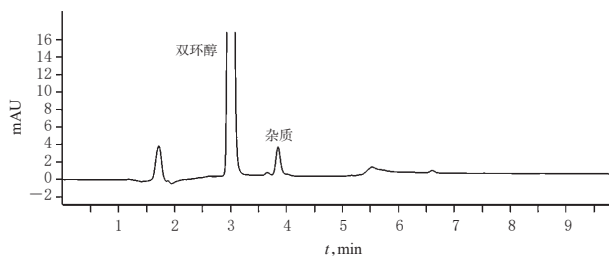
4 讨论

本实验前期分别在ESI⁺、负离子模式(ESI⁻)下,利用高分辨质谱探究了双环醇、联苯双酯、五味子丙素等3种化合物的质谱特征,并比较了其在不同碰撞电压(10、20、30、40 V)下的碎片丢失情况。结果显示,ESI⁻下的分子离子峰响应较ESI⁺低2个数量级,且离子丰度较低,

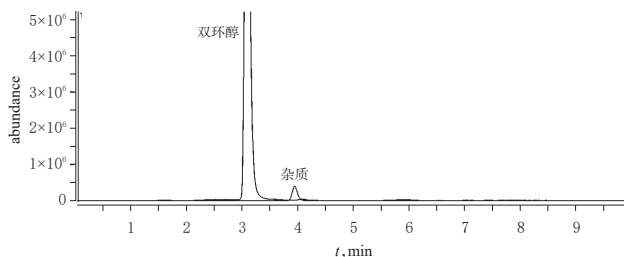
故选用ESI⁺进行分析。由于40 V电压强度过高,在该条件下化合物被打碎且无特征碎片离子形成,因此选择在10~30 V的碰撞电压下采集二级碎片信息。



A.空白溶液的UHPLC-UV图



B.双环醇样品的UHPLC-UV图



C.双环醇样品的UHPLC-ESI-Q-TOF-MS图(EIC图)

图9 双环醇的UHPLC-UV和UHPLC-ESI-Q-TOF-MS图

Fig 9 UHPLC-UV and UHPLC-ESI-Q-TOF-MS spectra of bicyclol

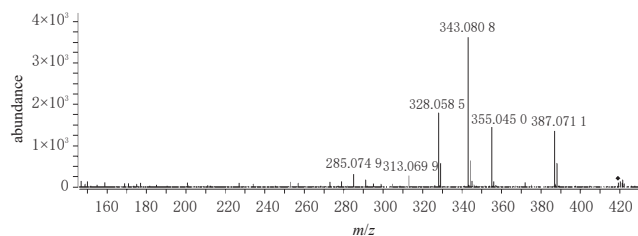


图10 双环醇杂质的二级质谱拟合图

Fig 10 MS/MS fitting spectrum of impurity in bicyclol

双环醇、联苯双酯、五味子丙素等3种化合物来源于中药五味子,具有相似的联苯结构,经CID可产生丰富的碎片信息,可初步鉴定其裂解途径,并为其他五味子衍生物的结构鉴定提供参考。3种化合物裂解过程有相同点和不同处,可相互补充。在ESI⁺模式下,3种化合物均产生了[M+H]⁺的准分子离子,其中双环醇因含有苄位羟基,容易脱水,故其准分子离子以[M+H-H₂O]⁺的形式稳定存在。3种化合物的解离均集中在中高质量区。C2'位酯基易发生C—O键的均裂,由于化合物结构中含

有多个—OCH₃支链,因此会发生C—O键的简单断裂,从而导致多分子CH₂O的丢失,基于化合物结构的特征性微小差异,裂解过程中还伴随CO₂、CO、CHO等中性碎片的丢失。3种化合物中双键结构的β位均不含H,因此无法发生麦氏重排等复杂断裂。此外,联苯结构中两个苯环以单键直接相连的形式,会形成一个巨大的共轭体系,有利于降低分子势能而维持其稳定性^[16]。因此在裂解过程中,3种化合物只有支链结构和/或氧环结构发生C—C、C—O键的简单断裂,而联苯母核结构均未改变。上述规律在3种化合物的质谱裂解过程中均存在,具有共性,即可归纳为3种五味子衍生物的质谱裂解规律。

对于双环醇原料药UHPLC-UV图谱中发现的杂质,通过色谱实现分离,再通过高分辨质谱对其二级碎片信息进行采集,经过对碎片的分析,发现其中性分子的丢失情况和质谱裂解行为与联苯双酯基本一致,符合上述工作中总结出的质谱裂解规律,得到的规律可以作为该种化合物杂质鉴定的辅助依据。

本实验采用UHPLC-ESI-Q-TOF-MS法,通过对双环醇、联苯双酯和五味子丙素等3种五味子衍生物的质谱裂解途径进行研究,总结其质谱裂解规律,并将其用于辅助鉴定双环醇杂质的结构,这不仅对五味子衍生物有关物质的快速鉴定具有重要意义,也为后续药物代谢产物的分析鉴定提供了重要的理论支持。

参考文献

[1] 郭冷秋,张鹏,黄莉莉,等.五味子药理作用研究进展[J]. 中医药学报,2006,34(4):51-53.

[2] 余凌虹,刘耕陶.五味子联苯环烯类木脂素成分的结构与药理活性关系和药物创新[J].化学进展,2009,29(1):66-76.

[3] CHEN N, KO M. Schisandrin B-induced glutathione antioxidant response and cardioprotection are mediated by reactive oxidant species production in rat hearts[J]. Biol Pharm Bull,2010,33(5):825-829.

[4] CHEN H Y, HSIEH M T, WU C R, et al. Schisandrin protects primary cultures of rat cortical cells from glutamate-induced excitotoxicity[J]. J Pharmacol Sci, 2008, 107 (1):21-31.

[5] HAN Y, SHI J P, MA A L, et al. Randomized, vitamin E-controlled trial of bicyclol plus metformin in non-alcoholic fatty liver disease patients with impaired fasting glucose[J]. Clin Drug Investig, 2014, 34(1): 1-7.

[6] 李燕.双环醇片的药理研究和临床应用[J].传染病信息, 2002, 15(2):60-61.

[7] 彭耀文,申兰慧,王丽,等.液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用技术在药物分析中的应用[J].中南药学,2015,9(13):962-965.

[8] GU X, CHEN Y, LOU Y J, et al. Separation and characterization of forced degradation products in homoharringtonine injection by UHPLC-Q-TOF-MS[J]. J Pharm Biomed Anal, 2019, 176:112801.

[9] 崔园园,周永峰,马艳芹,等.基于UPLC-Q-TOF-MS法分析生、炙甘草中化学成分的差异性[J].中国药房,2020,31(9):1049-1053.

[10] CHEN K Y, LIU X G, WU X H, et al. The degradation dynamics and rapid detection of thiacloprid and its degradation products in water and soil by UHPLC-QTOF-MS[J]. Chemosphere, 2021, 263:127960.

[11] 贺锐锐,谭鹏,韩静,等.基于Discovery Studio软件解析五味子乙素的电喷雾/质谱裂解途径[J].世界科学技术(中医药现代化),2013,15(3):527-530.

[12] 靳茂礼,李淳瑞,王玉峰,等.五味子酯甲在大鼠体内代谢产物的鉴定[J].中国现代应用药学,2015,32(6):695-700.

[13] 尤珠双.氮杂环类化合物在电喷雾质谱中的裂解机理研究[D].杭州:浙江大学,2012.

[14] 张纯贞,胡伟,李燕.光活双环醇及其制备方法和其药物组合物的与用途,中国:CN02156723.9[P]. 2004-06-23.

[15] 洪果.抗肝炎药双环醇的合成新工艺研究[D].杭州:浙江工业大学,2015.

[16] 李艳梅.有机化学[M].北京:科学出版社,2015:77-79.

(收稿日期:2021-04-18 修回日期:2021-06-09)

(编辑:邹丽娟)