

糖苷混合物 FAB 质谱分析技术的研究

赵凡智 翟建军 陈能煜 李海泉 陈耀祖

(兰州大学分析测试中心, 兰州, 730000)

我们曾阐明了糖苷单一化合物分子量的简明、快速确定方法, 根据糖苷化合物中引入碱金属离子的 FAB 正离子质谱图中, 仅出现样品分子和碱金属离子的加合离子峰而难于找到碎片的加合离子峰, 现在我们在糖苷混合物中, 同时引入两种碱金属离子 Na^+ 和 Li^+ (两元素原子量之差为 16), 由此得到的糖苷混合物的 FAB 正离子谱中, 就出现两个一组的多组强峰, 且每组的两峰之质量差为 16, 每组中低质量峰为 $[\text{M} + \text{Li}]^+$ 峰, 高质量峰为 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 峰, 根据两峰已标出的质量数便可轻易地定出各成分的分子量来。谱图中出现的强峰组数就是糖苷混合物的成分数。

关键词: 快原子轰击, 糖苷混合物, 加合离子。

糖苷是一类具有显著生理活性的化合物, 往往是中草药的有效成分。如人参、天麻等。所以糖苷的研究日益受到人们的重视。糖苷是水溶性、热不稳定难挥发的高极性化合物, 对于它的分子结构的分析不如生物碱、黄酮等, 兴起较迟。糖苷主要由苷元和糖基结合而成。经典的研究方法是用水解法经分离纯化得到苷元。再借波谱法和化学法加以鉴定, 糖基部分则经逐步水解, 分离出各个糖成分, 再经色谱法进行鉴定。这种方法既费时又费工, 并且需要样品量大, 它分离纯化难, 分析鉴定同样难, 这也就是糖苷研究进展极为缓慢的原因。

目前混合物的分析普遍采用的方法是通过色谱联用技术, 解决了易汽化小分子量的有机混合物的分析。但对于高极性大分子量热不稳定的混合物它是无能为力的。近年来又用了液相色谱和质谱的联用技术。然而这种技术目前还远不如气相色谱和质谱联用技术那样完善^[1], 它没有气相色谱和质谱联用技术所具备的标准谱图, 同时由于电离剂(醋酸铵等)的作用, 液相色谱和质谱联用技术产生的各成分的质谱图相当复杂, 因而要定出各成分的分子量来, 特别是未知成分的分子量难度甚大, 这种技术操作复杂, 图谱解析工作量大。

在对糖苷的一系列研究中^[2~6], 为解决上述存在的问题, 对于糖苷混合物, 我们采用了在糖苷混合物中同时加入适量的 NaCl 和 LiCl 水溶液以引入碱金属离子 Na^+ 和 Li^+ , 采用常规的 FAB 直接进样法, 作出的 FAB 正离子谱, 很容易定出糖苷混合物各成分的分子量来。此种技术一次进样可定出糖苷混合物 2~9 个成分的分子量来, 同时所需样品仅为数微克, 所化时间短。

实 验

仪器 实验在英国 VG 公司生产 ZAB-HS 质谱仪上进行。仪器分辨调至 1500, 质量扫描范围为 40~1400 amu, 扫描时间为 8s/每 10 倍程。快原子枪工作条件为 8kV; 1mA, 氩气为靶气。数据处理系统为 VG-11/250。

样品 样品分别为以下 1~7 化合物. 三个已知样品的混合样为 3.

偏诺皂苷元-*O*[γ -*L*-鼠李吡喃糖基(1 \rightarrow 2)] β -*D*-葡萄糖吡喃糖苷($M_r=738$)(1);

Cynatratoside-B(4)($M_r=778$)(2);

$M_n=870$, 偏诺皂苷元-3-*O*- α -*L*-阿拉伯糖-(1 \rightarrow 4)-[α -*L*-鼠李糖(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-葡萄糖(3a);

$M_n=900$, 偏诺皂苷元-3-*O*- β -*L*-葡萄糖-(1 \rightarrow 4)-[α -*L*-鼠李糖(1 \rightarrow 3)]- β -*D*-葡萄糖(3b);

$M_n=1030$, 偏诺皂苷元-3-*O*- β -*L*-鼠李糖-(1 \rightarrow 4)-[α -*L*-鼠李糖(1 \rightarrow 4)- α -*L*-鼠李糖]- β -*D*-葡萄糖(3c);

PB-C, 秦岭羽叶三七叶中提取(糖苷混合物)(4);

PB-A, 秦岭羽叶三七叶中提取(糖苷混合物)(5);

MIX, 秦岭珠子参叶中提取(糖苷混合物)(6);

H-E, 云南金银花中提取(糖苷混合物)(7).

实验条件 硫代甘油作为底物, 1 号样品加入适量的 NaCl 水溶液并混入到 FAB 靶上的底物之中, 作出其 FAB 正离子谱.

2~7 样品都同时加入适量 NaCl 和 LiCl 水溶液并混入到 FAB 靶上的底物之中, 分别作出各个化合物的 FAB 正离子谱.

结果和讨论

目前在质谱解析中, EI 谱中即使没出现分子离子峰, 而只是些碎片峰, 也可通过查标准谱图的方法定出分子量来, 而 FAB 谱由于至今还没有标准谱图, 因而对于仅有碎片峰 of FAB 谱, 就无法定出分子量来. 加之 FAB 谱比较复杂, 给分子量的确定带来了不少困难.

近年来, 人们大都采用样品中加入 NaCl 水溶液的方法, 以便在得到的 FAB 正离子谱中出现强的加合离子 $[M+Na]^+$ 峰. 但这样做又出现了一些另外的问题, 在谱图的准分子区, 往往出现 $[M+H]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 、 $[M+2Na]^+$ 、 $[M+K]^+$ 等峰, 这给分子量的确定也带来了不少问题. 特别是样品纯度不够的情况下, 就更为困难. 在对这类样品的谱图的研究中我们发现, 谱图中仅出现样品分子的加合离子峰, 而没有碎片的加合离子峰. 由样品 1 得到的谱图就可看出这一规律.

因样品 1 的分子量为 738, 故从图 1 可推知 $761=M+Na$, $739=M+1$, $721=(M+1)-$

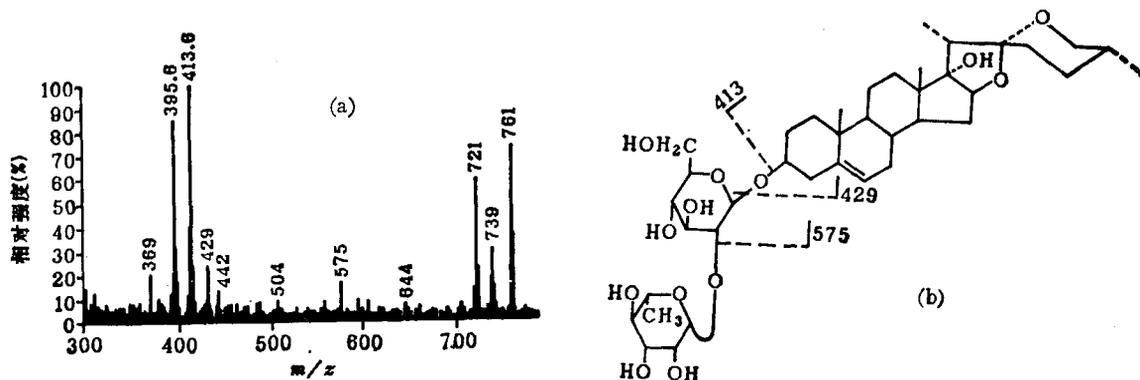


图 1 (a) 样品 1 加 NaCl 水溶液的 FAB 正离子谱 (b) 样品 1 结构图

$H_2O = 739 - 18$, $575 = (M + H) - (rha + H) = 739 - (163 + H)$, $429 = 575 - (glc - H_2O - O)$, $413 = 429 - O$, 这一结果清楚地说明了上述结论. 由此得到的 FAB 正离子谱虽不能很好地解决分子量准确测定的问题, 但它所显示的上述规律给我们准确测定糖苷分子量提供了理论依据. 应用这一规律, 在糖苷化合物中同时加入 NaCl 和 LiCl 水溶液以形成 $[M + Na]^+$ 和 $[M + Li]^+$ 两种加合离子, 因此由上得到的 FAB 正离子谱中就仅有这两种加合离子 $[M + Li]^+$ 和 $[M + Na]^+$ 的一对强峰, 二峰质量之差应为 16, 根据谱中标出二峰各自的质量数, 很容易地便可确定该样品的分子量^[7]. 图 2 就是样品 2 同时加入 NaCl 和 LiCl 水溶液而得到的谱图, 从图上可看到质量数分别为 785 和 801 的两个强峰, 这两个峰的质量差为 16, 因而可判定 m/z 785 为 $[M + Li]^+$ 峰, m/z 801 为 $[M + Na]^+$ 峰, 由此, 便可得出此化合物的分子量为 778.

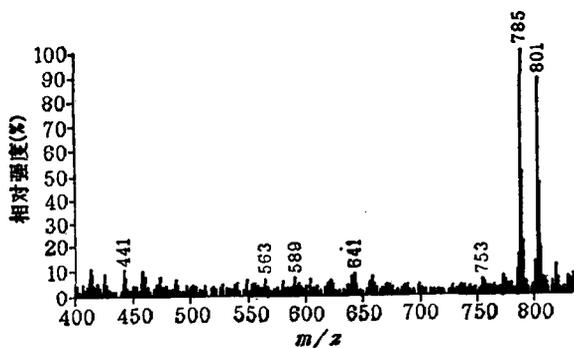


图 2 样品 2 加 NaCl 和 LiCl 水溶液的 FAB 正离子谱

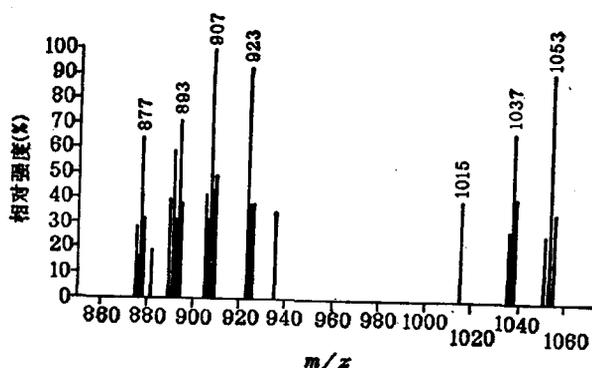


图 3 样品 3 加 NaCl 和 LiCl 水溶液的 FAB 正离子谱

这一方法同样适用于糖苷混合物各成分分子量的测定. 这是因为, 根据上述规律, 一个成分的糖苷, 在同时引入 Na^+ 和 Li^+ 两种离子而得到的谱图中, 加合离子峰仅有 $[M + Na]^+$ 和 $[M + Li]^+$ 两个强峰, 且此两峰质量差为 16, 那么, 据此 N 个成分的糖苷混合物在同时引入 Na^+ 和 Li^+ 两种离子而得到的谱图中, 由于一种成分产生一组两个质量相差 16 的准分子强峰, 那么 N 个成分就应出现 N 组这样的峰. 根据 16 之差值及谱图中各组强峰所标出之质量数, 便可立刻算出各成分的分子量.

用三个已知样品的混合物同时引入 Na^+ 和 Li^+ 所得的图 3 有力地证明了上述判定糖苷混合物各成分分子量方法的正确性.

从图 4 可以看出质量数相差 16 的强峰有两组. 第一组的两个强峰所标出的质量数分别为 m/z 777 和 793, 另一组两峰所标出的质量数分别为 m/z 885 和 901. 根据上述规律可判定, m/z 777 和 885 为 Li^+ 的加合离子, m/z 793 和 901 为 Na^+ 的加合离子, 从而判定该样品是两成分的糖苷混合物, 其分子量分别为 $777 - 7 = 770$ (或 $793 - 23 = 770$) 及 $885 - 7 = 878$ (或 $901 - 23 = 878$).

从图 5 样品 5 的谱图可以看出, 图中质量数相差 16 的强峰有 4 组 (每组两峰), 因而可判定样品 5 为 4 个成分的糖苷混合物, 而各成分的分子量分别为 $285 - 7 = 278$, $573 - 7 = 566$, $645 - 7 = 638$ 及 $753 - 7 = 746$.

图 6 中质量数相差 16 的为 5 组峰, 因而可定出样品 6 为 5 种成分的糖苷混合物, 各自的分子量分别为 616, 784, 816, 892, 962.

根据图 7 可看出图中质量相差 16 的为 9 组, 因而可判定样品 7 为 9 种成分的糖苷混合

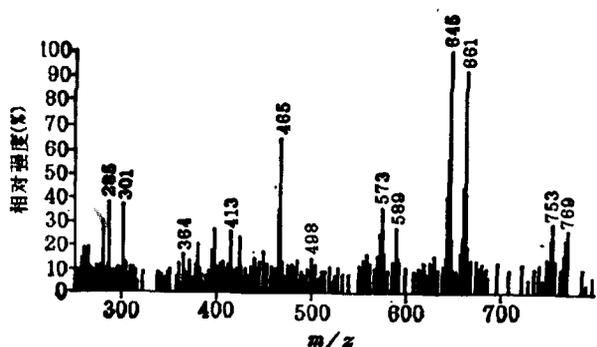


图4 样品4加NaCl和LiCl水溶液的FAB正离子谱

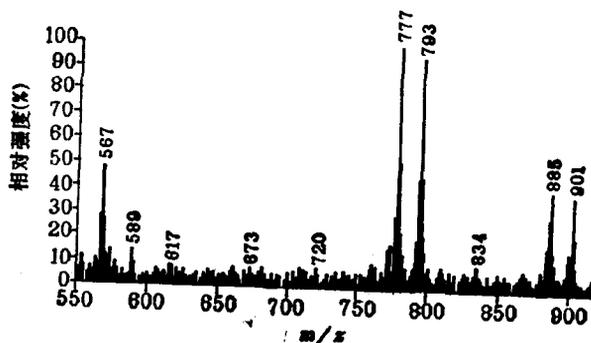


图5 样品5加NaCl和LiCl水溶液的FAB正离子谱

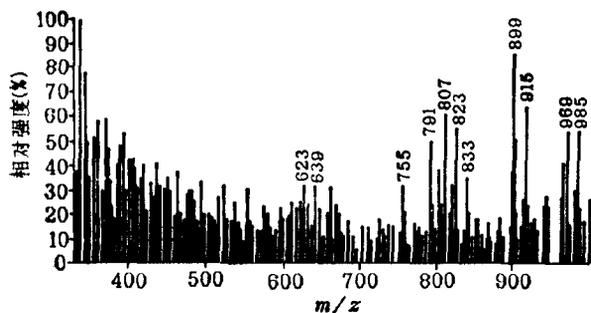


图6 样品6加NaCl和LiCl水溶液的FAB正离子谱

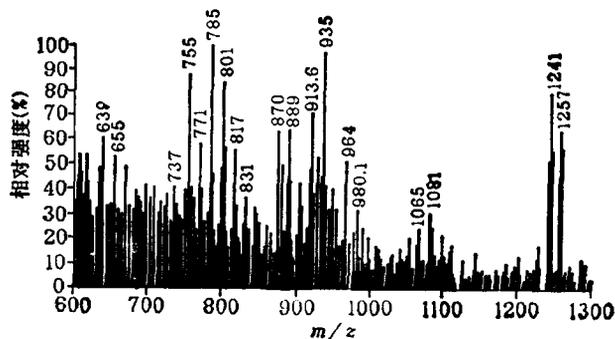


图7 样品7加NaCl和LiCl水溶液的FAB正离子谱

物,各成分的分子量分别为:632, 748, 778, 794, 866, 912, 957, 1058, 1234。归纳上述情况,列表如下:

4~7 混合样品各成分分子量一览表

混合样品	各级分的分子量
4 秦岭羽叶三七叶中提取	770, 878
5 秦岭羽叶三七叶中提取	278, 566, 638, 746
6 秦岭珠子参叶中提取	616, 784, 816, 892, 962
7 云南金银花中提取	632, 748, 778, 794, 866, 912, 957, 1058, 1234

如在同时引入 Na^+ 和 Li^+ 的糖苷混合物的FAB正离子谱中发现一组三个峰,且这三个峰依次的质量差为16,这种现象通常是该混合物中存在两成分分子量相差16而产生的,如要进一步证实,可改变引入混合样品的碱金属离子种类,例如可改为同时引入 Li^+ 和 K^+ 离子的方法,这样两个成分就会各自产生两个一组的强峰,且每组两峰质量之差应为32(Li和K原子量之差为32)。

由于苷类化合物分离提取比较困难,得到具有足够纯度的样品有一定困难,这样的样品,实际上也就是苷的混合物,利用此技术便可测出各成分的分子量及成分数量,并根据各成分准分子峰的丰度大小大致确定出主要成分及次要成分,对进一步纯化样品具有一定的指导意义,

并可排除杂质对 IR 和 NMR 谱造成的干扰,从而可大大缩短这类纯度不够样品的结构解析周期。

对提供样品的西安植物园和中国科学院昆明植物研究所致以谢意。

参 考 文 献

- [1] 汪崇慧,质谱学报,1990,11,(1),38.
- [2] 陈耀祖,陈能煜,李海泉,赵凡智,陈 宁,化学学报,1986,44,1020.
- [3] 陈能煜,陈 宁,李 宏,陈耀祖,赵凡智,陈昌祥,杨崇仁,化学学报,1987,45,682.
- [4] 陈耀祖,陈能煜,李海泉,赵凡智,陈 宁,高等学校化学学报,1986,7,883.
- [5] Chen Yao-Zu, Chen Neng-Yu, Li Hai-Quan, Zhao Fang-Zhi, Chen Ning, *Biomed & Environ. Mass Spectrom.*, 1987, 14, 9.
- [6] 陈能煜,李海泉,赵凡智,陈 宁,陈耀祖,质谱学报,1986,7(3),5.
- [7] 赵凡智,李海泉,翟建军,陈能煜,陈耀祖,化学学报,1991,49,1488.

The Study of Alkali Metal Adduct Ions Technique of Mixture of Glycosides in Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry

Zhao, Fan-Zhi* Zhai, Jian-Jun Chen, Neng-Yu Li, Hai-Qun Chen, Yao-Zu
(Analytical and Research Center, Lanzhou University, Lan Zhou, 730000)

Abstract

We explained a simple method of determining the molecular weight of a pure glycoside. The method was based on the law that when glycosides were mixed with alkali metal ions, only the adduct ions of molecule with alkali metal ions appeared in the high mass region of their Fast Atom Bombardment mass spectra. In the same way, when a mixture of glycosides was mixed with an appropriate amount of Na^+ and Li^+ , pairs of strong peaks appeared in the FAB mass spectra. These adduct ions were easily recognized due to the fact that they were very strong and their mass difference was unive (16 u). From these adducts ions, the molecular weight of each glycoside in the mixture may be determined. This technique has not been reported previously.