

大黄酸 ESI - IT MS 质谱行为及 碎片离子的量子化学研究

崔培坤, 张乃峰, 王 蒙, 张舒婷, 任恒鑫, 孙长海, 方洪壮*

(佳木斯大学 药学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘 要: 采用电喷雾-离子阱质谱 (ESI-IT MS), 获取大黄酸分子的一级质谱和多级质谱碰撞诱导解离下的碎片离子, 以量子化学计算大黄酸分子及其主要碎片离子的质谱行为。通过对质谱离子几何参数、键断裂能、电荷变化、自旋密度以及前线分子轨道的分析, 可得到 m/z 282.8、256.9、238.9、210.8、192.8、182.8、166.8 离子的稳定构型以及质谱裂解途径, 从而较系统地解释了大黄酸分子在 ESI-IT MS 中的裂解行为。

关键词: 大黄酸; 电喷雾离子阱质谱; 量子化学

中图分类号: O657.63; TQ612.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2013)04-0432-05

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2013.04.007

Study on Mass Behavior and Fragment Ions of Rhein by ESI - IT MS and Quantum Chemistry

CUI Pei-shen, ZHANG Nai-feng, WANG Meng, ZHANG Shu-ting, REN Heng-xin,
SUN Chang-hai, FANG Hong-zhuang*

(Pharmaceutical College of Jiamusi University, Jiamusi 154007, China)

Abstract: The fragment ions of rhein in total ions mass chromatogram and collision inductive dissociation multi-level mass were studied by electrospray ionization ion trap mass spectrometry (ESI - IT MS). Quantum chemistry calculations were carried out to explore the mass behavior of rhein and the main fragment ions from the molecule. By analysing the characteristic of the fragment ions including geometry parameter, bond dissociation energy, changes of charge, spin density and frontier molecular orbital, the stable structures of the fragment ions with m/z 282.8, 256.9, 238.9, 210.8, 192.8, 182.8, 166.8, and fragmentation pathways could be obtained, the cracking behavior of rhein could be explained systematically by ESI - IT MS.

Key words: rhein; electrospray ionization ion trap mass spectrometry (ESI - IT MS); quantum chemistry

电喷雾离子阱质谱是近年来迅速发展并完善的一种软电离质谱, 其离子化条件温和、谱图简单, 特别适用于极性大、热不稳定的天然化学成分分析。电喷雾离子阱质谱具有高灵敏度、高特异性, 其一级质谱图主要产生准分子离子峰, 而多级质谱能够提供该化合物的结构信息^[1-6]。化合物质谱裂解过程大多数是单分子离子的分解反应, 可借助量子化学计算解析化合物分子及其碎片离子的结构以及研究和阐明化合物质谱中的裂解机理^[7]。大黄酸是从大黄、决明子、虎杖、芦荟、何首乌等中草药中提取分离出的蒽醌类成分之一 (图 1 为其分子结构), 这类物质具有泻下、抗菌、消炎、抗癌以及免疫调节等生理活性^[8-9]。目前, 关于蒽醌类化合物大黄酸的质谱分析的研究虽有很多, 但从分子水平上对大黄酸分子质谱特征的量子化学计算方面的研究尚未见报道。本文对电喷雾离子阱质谱下的大黄酸分子及其碎片离子进行了量子化学计算, 研究其质谱碎片结构特点、质谱中断裂位点及质谱裂解途径。实验结果为大黄酸构效关系及药物分子合成提供了理论依据, 并可为解释

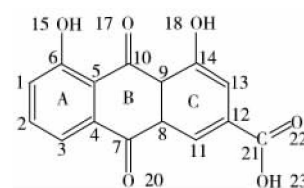


图 1 大黄酸的分子结构

Fig. 1 Molecular structure of rhein

收稿日期: 2012-12-17; 修回日期: 2013-01-20

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (D201226); 佳木斯大学研究生创新项目 (YJSCX2012-038JD)

* 通讯作者: 方洪壮, 教授, 研究方向: 中药分析与计算药物分析, Tel: 0454-8611265, E-mail: fhz-chjms@sohu.com

其它蒽醌类化合物电喷雾离子阱质谱裂解机理提供参考。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

大黄酸对照品(中国药品生物制品检定所), 甲醇(色谱纯, 天津市凯通化学试剂有限公司)。电喷雾质谱在 Agilent G6300 型质谱仪上操作完成, ESI 离子源, 采用流动注射泵进样流速 $5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, 毛细管温度 $325 \text{ }^\circ\text{C}$, 毛细管电压 13 V , 氮气为鞘气和辅助气, 鞘气流速 $10 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 辅助气流速 $0.15 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 氦气为碰撞气进行碰撞诱导解离分析, 扫描范围: m/z $100 \sim 400$, 负离子模式下进行多级离子全扫描。

1.2 理论模型与计算方法

采用手动提取离子方式, 依次改变质谱的源内碎裂电压($0.1 \sim 1.5 \text{ Amp}$), 对大黄酸分子的碰撞诱导解离串联质谱(Collision inductive dissociation mass spectrometry, CID MS)进行分析。量子化学计算均采用 Gaussian 98 程序完成^[10-11]。首先用半经验量子化学 AM1 方法计算获得准分子离子及产物离子的初始几何构型, 然后依据密度泛函理论, 在 B3LYP/6-31G(d) 水平, 对大黄酸的各级质谱产物离子进行几何结构优化及频率计算, 确定各产物离子的稳定结构, 用 ROB3LYP/6-31G(+)(2d, 2p) 方法, 计算形成各产物离子所需的能量, 确定大黄酸分子的活性断裂部位, 进而推导出大黄酸的质谱裂解途径。各产物离子的键断裂能(Bond dissociation energy, BDE)根据公式计算:

$$\text{BDE} = E(\text{A}) + E(\text{B}) - E(\text{AB}) \quad (1)$$

式中, $E(\text{AB})$ 为母离子的总能量(Total energy, TE), $E(\text{A})$ 为脱去取代基后产物离子的能量, $E(\text{B})$ 为取代基的能量^[12-15]。

2 结果与讨论

2.1 大黄酸质谱数据的初步分析

大黄酸的 CID MS 质谱实验结果如图 2 所示。根据丢失基团的质量数, 可以推断大黄酸在质谱碎裂过程中, 经历了脱氢、脱 CO_2 、缩环丢失中性 CO 分子等过程。

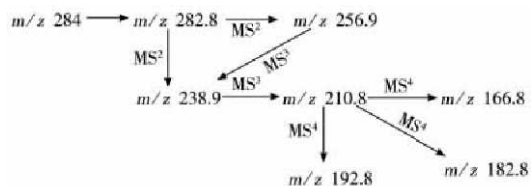


图 2 大黄酸的 CID MS 质谱实验结果

Fig. 2 CID MS mass spectral experiment result of rhein

2.2 大黄酸准分子离子的分析

2.2.1 能量分析

对大黄酸准分子离子可能的初始结构, 进行几何结构优化、频率计算及相应的能量计算, 确定了准分子离子的稳定结构。大黄酸准分子离子的初始构型可能为失去 15 位氢、18 位氢、23 位氢的 3 种体系。结果表明, 3 种体系的自旋污染 S^2 值(分别为 0.757 3、0.756 2、0.755 9)均能与理想特征值(0.750 0)较好的匹配, 优化后的最终结果均符合收敛标准(Maximum Force 0.000 450; RMS Force 0.000 300; Maximum Displacement 0.001 800; RMS Displacement 0.001 200), 频率计算均未发现虚频, 说明各体系的构型稳定。能量计算表明, 大黄酸分子失去 15 位氢($-1\ 027.219\ 1 \text{ a. u.}$)、18 位氢($-1\ 027.236\ 9 \text{ a. u.}$)的总能量均比 23 位($-1\ 030.822\ 7 \text{ a. u.}$)高, 23 位上失去氢形成准分子离子是热力学择优结果。

2.2.2 几何分析

图 3 为大黄酸准分子离子体系的初始立体构型, 对大黄酸准分子离子几何结构的优化及频率计算结果表明, 整个准分子离子体系 A、B、C 三环均为近平面结构, C 环所连羧基基团与三环平面成约 60° 夹角, 并呈自由伸展状态存在。

2.3 MS^2 解离过程的分析

以质荷比 282.8 为母离子进行手动二级离子扫描, 获取质谱图如图 4A 所示, 主要产生质荷比为

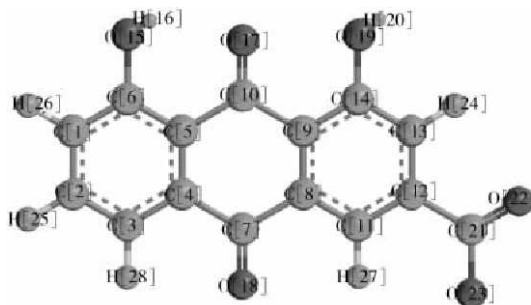


图 3 大黄酸准分子离子的初始结构图

Fig. 3 Initial structure of rhein molecular ion

256.9 和 238.9 的离子碎片, 且离子丰度前者明显高于后者, 可见质荷比 256.9 的离子碎片比 238.9 的离子碎片易产生, 同时两者质量数相差 28, 初步推断 238.9 的离子碎片是由 256.9 的离子碎片产生。以质荷比 256.9 为母离子进行三级离子扫描(见图 4B), 主要产生质荷比 238.9 的离子碎片, 与推断相吻合。

2.3.1 产物离子 238.9 的解析 结合大黄酸的准分子离子结构和 CID MS 质谱实验预测分析可知, 从准分子离子体系上失去一个质量数为 44 的基团, 显然为 CO_2 。几何参数分析表明, 大黄酸分子体系经脱氢反应后生成的准分子离子体系的 C_{12} — C_{21} 键长由原来的 0.170 25 nm 增长至 0.173 85 nm, 在整个体系中变化最大, 根据键长理论: 键越长, 越容易断裂, 所以本体系很可能失去 CO_2 , 形成后续碎片离子。

2.3.2 产物离子 256.9 的解析 与 m/z 238.9 同时出现的另一碎片离子为 256.9, 根据 CID MS 质谱实验预测分析, 本产物离子应从准分子离子上失去一个质量数约为 26 的基团, 但在本体系中不存在质量数为 26 的基团。在相同质谱条件下, 对 m/z 256.9 进行手动三级离子扫描, 发现所形成的碎片离子为 m/z 238.9(如图 4B), 与准分子离子直接脱去 CO_2 中性小分子所形成的产物离子完全相同, 此分析表明本体系应该是在准分子离子体系羧基上失去质量数为 28 的 CO 中性小分子, 但同时受离子阱内 H 自由基的影响, 其中一个氢自由基在脱去 CO 断裂位点处与其氧原子结合形成羟基, 另一个氢自由基与断裂位点其相邻的碳相结合, 从而形成 m/z 256.9 的产物离子。当进行 MS^3 扫描时, 所形成的羟基与其邻位上的氢发生脱水反应, 从而形成 m/z 238.9 的产物离子。

2.4 MS^3 中质荷比 210.8 碎片的分析

MS^3 质谱实验中有失去 CO 分子的现象发生, 由于酚羟基和羰基反应活性均很高, 在一定的碰撞电压下均可以反应脱去 CO , 其可能的理论计算模型体系有 4 种, 分别如图 5(A~D) 所示。

2.4.1 失去 CO 小分子的键断裂能分析 根据公式(1)计算相应碎片离子的键断裂能, 以分析 CO 解离后的稳定结构。各体系的能量数值列于表 1。体系 A、B、C、D 的键断裂能分别为 66.16、55.92、109.22、164.09 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。根据键能理论: 化学键键能越小, 越容易断裂。通过各体系相应键断裂能的比较, 确定体系 B 为最稳定的结构。体系 B 未解离时各原子在同一平面, 使得各基团均处于自由伸展的状态, 与此同时受空间因素的影响, 羟基 O_{15} 位上的氢原子与 O_{17} 距离很近易形成氢键, 受范德华力的影响双键 $\text{C}_{10}=\text{O}_{17}$ 的键长增长了 0.000 5 nm, C_5 — C_{10} 的键长由 0.146 8 nm 增长至 0.147 4 nm, 进一步说明 $\text{C}_{10}=\text{O}_{17}$ 为反应活性中心。

2.4.2 活性部位自旋密度及电荷变化的分析 由表 2 可知, 碎片离子从 m/z 282.8 至 m/z 238.9, 电荷变化最大的是 C_7 、 C_8 、 C_9 、 C_{10} 、 C_{13} 、 O_{18} 原子, 其中 C_{10} 的电荷变化最大, 由 -0.348 5 变为 0.421 2, 其周围原子的电荷变化也非常明显, 说明在反应过程中 C_{10} 很容易失去电子。同时, 与 C_{10} 相连的 O_{17} 在整个体系变化中, 电荷降低了 0.018 6, 也说明在反应过程中很容易吸收电子, 使得此基团活性变大, 从而可以证明 C_{10} 与 O_{17} 所构成的羰基是本次裂解的反应中心, 易以 CO 中性小分子的形式脱去。另外, 从碎片离子的自旋密度分布也可以看出, 碎片离子的自旋密度主要分布在 C_8 、 C_{10} 、 O_{17} 、 O_{20} 上, 其中 C_{10} 和 O_{17} 所占的比例较大, 进一步说明在此基团上发生了裂解。

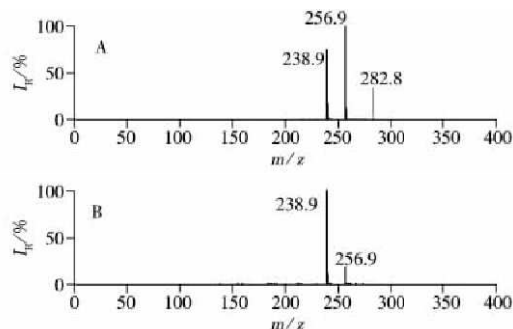


图 4 大黄酸的二级质谱图

Fig. 4 MS^2 spectra of rhein

A: MS^2 spectra of fragment ion 282.8;

B: MS^3 spectra of fragment ion 256.9

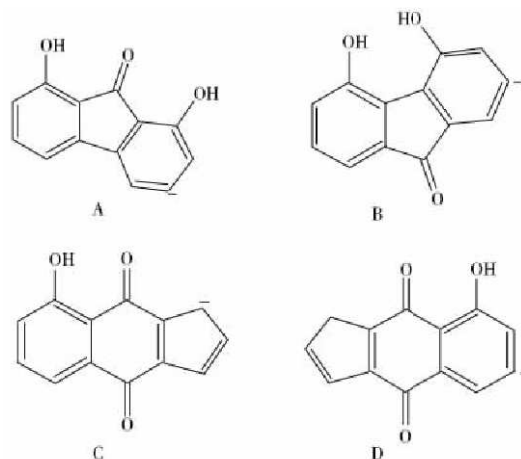


图 5 质荷比 210.8 的可能结构

Fig. 5 The impossible configuration of mass-to-charge 210.8

表1 失去 CO 后 A、B、C、D 四体系的键断裂能
Table 1 Bonding energies of losing CO fragments in systems A, B, C, D

System	$E(M-H-CO_2)$ (a. u.)	$E(M-H-CO_2-CO)$ (a. u.)	$E(CO)$ (a. u.)	BDE ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
A	-839.300 3	-725.950 2	-113.324 9	66.16
B	-839.300 3	-725.954 1	-113.324 9	55.92
C	-839.300 3	-725.933 8	-113.324 9	109.22
D	-839.300 3	-725.912 9	-113.324 9	164.09

表2 体系 238.9 的自旋密度以及从准分子离子 282.8 到产物离子 238.9 的电荷变化

Table 2 The natural spin densities of system 238.9 and the changes of charge from molecular ion 282.8 to fragment ion 238.9

Atomic number (原子序号)	Natural charge(电荷)		Natural spin density(自旋密度)	
	$[M-H]^-$	$[M-H-CO_2]^-$	Δ	$[M-H-CO_2]^-$
C ₁	0.303 7	0.182 3	-0.120 5	-0.001 015
C ₄	0.034 72	0.049 85	0.015 13	0.055 85
C ₅	-0.288 8	-0.223 5	0.065 3	0.063 58
C ₆	0.401 9	0.313 3	-0.088 6	0.001 180
C ₇	-0.462 3	-0.264 9	0.197 4	0.067 58
C ₈	-0.341 7	-0.214 0	0.127 7	0.104 6
C ₉	0.180 6	0.377 4	0.196 8	0.037 84
C ₁₀	-0.348 5	0.421 2	0.769 7	0.123 8
C ₁₃	-0.374 1	-0.172 1	0.202 0	0.050 59
C ₁₄	0.288 2	0.204 2	-0.084 0	-0.005 301
O ₁₇	-0.377 9	-0.396 5	-0.018 6	0.188 9
O ₂₀	-0.296 5	-0.312 0	-0.015 5	0.231 9
O ₁₅	-0.402 8	-0.408 0	-0.005 2	0.003 218
O ₁₈	-0.412 1	-0.296 8	0.115 3	0.001 292

2.4.3 前线分子轨道分析 图6为质荷比238.9体系的前线分子轨道分析图,原子C₁₀及与其相连的O₁₇原子均参与了各前线轨道的形成。由于前线分析轨道具有较高的反应活性,说明C₁₀及其所连的O原子(O₁₇)均是活性中心。结合质谱实验结果表明,C₁₀和O₁₇很可能在MS³中以CO中性小分子的形式脱去。

2.5 碎片离子丰度与能量的关系

以质荷比210.8为母离子,对不同电压下的结果进行分析。结果表明,当电压设置为0.3 Apm时,碎片离子166.8最先出现,但丰度很小,当增加电压至0.4 Apm,碎片离子182.8出现,在碎裂电压增至0.5 Apm时,碎片离子192.8的谱峰出现,继续增加碎裂电压至1.5 Apm,碎片离子192.8、182.8、166.8在质谱图中的丰度不断变大,并未发现其它碎片离子。由CID MS推测分析,192.8、182.8、166.8均是由碎片离子210.8直接断裂形成。根据不同的碎裂电压值下,上述3个碎片离子的出峰顺序不同,可以推断出3种碎片的裂解能大小顺序为166.8 < 182.8 < 192.8。图7为碎裂电压为1 Apm时所获取的质谱。上述3种碎片离子可能构型优化及能量计算表明,质荷比192.8的碎片离子是由210.8碎片离子18位羟基与邻位上的氢脱去H₂O分子形成的,碎片离子的键断裂能为358.91 kJ·mol⁻¹。182.8是由

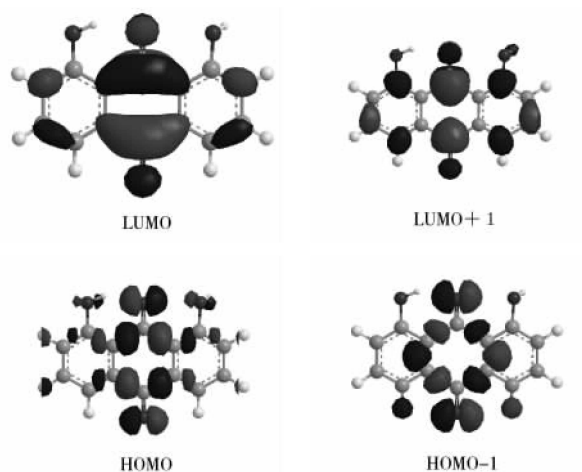


图6 体系238.9的前线分子轨道

Fig. 6 The frontier molecular orbitals of system 238.9

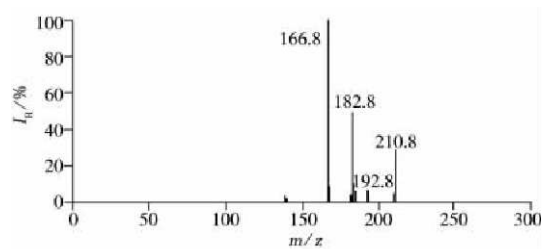


图7 碎片离子210.8的后续质谱图

Fig. 7 MS spectra of fragmentation ions of 210.8

210.8 碎片离子 14 位上发生了电荷迁移从而使 C—O 变成了 C=O, 其构型的变化使得 C_{14} 反应活性变得很大, 进而很容易脱去 CO 小分子, 碎片离子所需要的能量为 $192.45 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。碎片离子 166.8 是由 210.8 碎片离子 6 位上脱去 CO 和 14 位上脱去 O_{18} 所形成的, 所需能量为 $61.44 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。综上所述, 形成相应碎片离子所需要的键能 m/z $166.8 < 182.8 < 192.8$, 其离子碎片相对应的丰度 m/z $166.8 > 182.8 > 192.8$, 说明在质谱裂解过程, 对同一母离子产生的后续离子, 在其后续离子未发生其它反应的情况下, 所需能量越小, 其丰度越大。

3 结 论

本文运用量子化学方法解析大黄酸分子在离子阱电喷雾质谱中的裂解规律, 依据密度泛函理论, 采用 B3LYP/6-31G(d) 方法计算质谱碎片离子的几何参数、电荷变化、自旋密度、前线分子轨道以及 ROB3LYP/6-31G(+)(2d, 2p) 水平下键断裂能, 经综合分析, 获得大黄酸的主要碎片离子 282.8、256.9、238.9、210.8、192.8、182.8、166.8 的稳定结构以及裂解方式与 CID MS 所推断的裂解规律相吻合。这不仅成功地解释了大黄酸分子在 ESI-IT MS 中的裂解现象, 还将为进一步研究其它蒽醌类物质的质谱裂解途径提供理论依据。

参考文献:

- [1] Wang Y, Liu Z Q, Song F R, Xu Q X, Liu S Y. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.* (王勇, 刘志强, 宋凤瑞, 徐庆轩, 刘淑莹. 质谱学报), **2002**, 23(3): 160-163.
- [2] Yue H, Pi Z F, Zhao Y F, Song F R, Liu Z Q, Liu S Y. *Chin. J. Anal. Chem.* (越皓, 皮子凤, 赵宇峰, 宋凤瑞, 刘志强, 刘淑莹. 分析化学), **2007**, 35(7): 956-963.
- [3] Chen H X, Du P, Han F M. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.* (陈怀侠, 杜鹏, 韩凤梅. 质谱学报), **2007**, 28(1): 40-45.
- [4] Li Y H, Dai H X, Wang M M, Li X R, Wang L J, Xue M. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.* (李宇航, 戴海学, 汪明明, 李晓蓉, 王丽娟, 薛明. 质谱学报), **2009**, 30(6): 374-378.
- [5] Bao Y, Song F R, Liu Z Q, Liu S Y, Yin J. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.* (包懿, 宋凤瑞, 刘志强, 刘淑莹, 殷军. 质谱学报), **2009**, 30(1): 1-5.
- [6] Liao H, Shan X Q, Wang L, Wang B, Fu J S, Wang X L. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.* (廖辉, 单晓庆, 王林, 王博, 伏劲松, 王晓玲. 质谱学报), **2010**, 31(2): 103-107.
- [7] Chen L H, Hu D H, Wang D W, Yang S Y, Su Z M, Liu S Y. *Chem. J. Chin. Univ.* (陈兰慧, 胡冬华, 王道武, 杨双阳, 苏忠民, 刘淑莹. 高等学校化学学报), **2006**, 27(5): 905-908.
- [8] Gao X Y, Lu J Q. *Chin. J. Pharm. Anal.* (高晓燕, 卢建秋. 药物分析杂志), **2010**, 30(9): 1636-1641.
- [9] Dong J, Wang H, Wan L R, Chen S Z, Duan Y S. *Chin. J. Chromatogr.* (董静, 王弘, 万乐人, 陈世忠, 端裕树. 色谱), **2009**, 27(4): 425-430.
- [10] Liu T W, Han L P, Qu L B, Tang M S, Xiang B R. *Comput. Appl. Chem.* (刘天伟, 韩利平, 屈凌波, 唐明生, 相秉仁. 计算机与应用化学), **2005**, 22(12): 1123-1126.
- [11] Chen L H, Jin L J, Su Z M, Qiu Y Q, Wang Y, Liu S Y. *Chem. J. Chin. Univ.* (陈兰慧, 金莲姬, 苏忠民, 仇永清, 王勇, 刘淑莹. 高等学校化学学报), **2005**, 26(12): 2340-2344.
- [12] Luo X, Ouyang Y Z, Liang Y Z, Wang Q. *Chem. J. Chin. Univ.* (罗小, 欧阳永中, 梁逸曾, 王琴. 高等学校化学学报), **2010**, 31(8): 1522-1528.
- [13] Hong B, Qiu Y Q. *J. Mol. Sci.* (洪波, 仇永清. 分子科学学报), **2008**, 24(3): 216-219.
- [14] Liang Y, Yu S F, Chen W J, Cao W. *Chin. J. Appl. Chem.* (梁艳, 于世峰, 陈卫军, 曹炜. 应用化学), **2009**, 26(10): 1250-1252.
- [15] Riahi S, Eynollahi S, Ganjali M R. *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2009**, 4: 1128-1137.