

加合钠离子的血管紧张素转换酶抑制剂类化合物的质谱分析

朱培曦¹, 徐慧², 王峰¹, 李会林¹ (1.浙江省食品药品检验所, 杭州 310004; 2.台州市海洋环境监测预报中心, 浙江 台州 318000)

摘要: 目的 建立在加合钠离子条件下血管紧张素转换酶抑制剂类化合物质谱鉴定和分析的新方法。方法 电喷雾离子阱质谱, 注射泵直接进样。结果 在加合钠离子的条件下, 都出现了特殊的重排离子, 通过对碎裂离子的分析, 总结了这类化合物在加合钠离子的条件下的质谱碎裂特征。结论 采用解析加合钠离子的准分子离子碎裂途径的方法, 有助于对这类化合物的结构推断。

关键词: 电喷雾; 离子阱质谱; 血管紧张素抑制剂; 裂解

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)10-0949-04

Analysis of Angiotensin-converting Enzyme Inhibitors by Mass Spectrometry

ZHU Peixi¹, XU Hui², WANG Feng¹, LI Huilin¹ (1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2.Taizhou Institute for Marine Environment Monitor Forecast, Taizhou 318000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the identification of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors. **METHODS** Electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS²) was employed and samples were introduced by a syringe pump. **RESULTS** Their fragmentation pathways were described and a unique rearrangement was observed for the eight compounds. **CONCLUSION** These characters can be used for future studies of ACE inhibitors.

KEY WORDS: electrospray ionization; ion trap mass spectrometry; angiotensin-converting enzyme inhibitors; dissociation

依那普利(enalapril), 喹那普利(quinapril), 雷米普利(ramipril)和培哌普利(perindopril)是血管紧张素转换酶抑制剂, 是一类通过竞争性地抑制血管紧张素转换酶而发挥作用的药物^[1-2]。它们在体内的代谢产物分别为依那普利拉(enalaprilat), 喹那普利拉(quinaprilat), 雷米普利拉(ramiprilat)和培哌普利拉(perindoprilat)^[3-6], 这8种化合物是典型的二肽化合物, 结构式见图1。

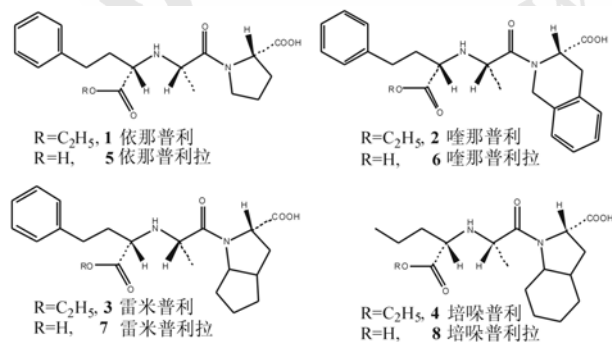


图1 8种血管紧张素转换酶抑制剂类化合物的化学结构

Fig 1 Structures of 8 ACE inhibitor compounds

目前, 对这8种化合物在加合质子的条件下的裂解行为已有报道^[7-8], 但尚未见加合钠离子条件下的裂解行为研究报道。加合钠离子的准分子

离子峰的产生可能是由于此类药物结构本身容易结合钠离子, 由于溶剂含有少量残留的钠离子, 或者在仪器的各个引入离子的部件上残留少量的钠离子, 就容易观察到加合钠的准分子离子。已有文献报道使用液质联用技术(LC-MS)对加合碱离子的准分子离子峰进行研究, 如果需要研究的加合碱金属离子的准分子离子响应信号不强, 也可以采用流动相添加少量碱金属离子的方式得到更强的响应信号, 极微量的非挥发性盐添加不会对质谱的使用寿命产生影响^[9-11]。由于金属离子与有机化合物的配位作用, 会改变产物离子的稳定性, 因而, 加合金属常常具有不同于加合质子的准分子离子的碎裂途径^[12]。本试验应用这个技术, 使用串联质谱, 对加合钠离子的8种血管紧张素转换酶抑制剂类化合物的碎裂机理进行了解析, 并对主要的碎片离子进行归属, 为以后进一步检测此类化合物的结构提供新的方法。

1 仪器、试剂与色谱条件

1.1 仪器与试剂

Bruker Esquire 3000^{plus} 质谱仪(德国 Bruker 公司, 电喷雾离子源, 离子阱质量分析器, Esquire 5.0

作者简介: 朱培曦, 男, 硕士, 药师

Tel: (0571)86459422

E-mail: zhpx110@126.com

软件系统); Hamilton 250 μL 注射器(美国 Hamilton 公司)。

8 种血管紧张素转换酶抑制剂类化合物原料药均购自杭州健园医药公司(马来酸依那普利, 批号: 20070613; 盐酸喹那普利, 批号: 20071109; 雷米普利, 批号: 20061227; 培哌普利叔丁胺盐, 批号: 20071108; 依那普利拉, 批号: 20070105; 喹那普利拉, 批号: 20070905; 雷米普利拉, 批号: 20071118; 培哌普利拉, 批号: 20070916); 甲醇为色谱纯(德国 Merck 公司)。水为高纯水, 由 Milli-Q 纯水净化装置(美国 Millipore 公司)制得。实验时取样品约 10 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇溶液适量, 振摇溶解, 再用 50% 甲醇溶液稀释至刻度, 即得待测溶液。

1.2 试验条件

电喷雾离子化, 正离子模式检测; 毛细管电压: 4.0 kV; 碰撞诱导能量: 0.45~0.50 V。毛细管温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 干燥气: 68.95 kPa; 雾化气: 5 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$; 碰撞气: 氦气; 进样方式: 注射泵直接进样, 流速: 3 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

2 方法与结果

采用电喷雾离子源软电离技术, 容易得到分子质量的信息, 但软电离技术所生成的准分子离子过剩的内能较少, 产生的碎片离子较少。如果通过一级全扫描质谱先获得准分子离子, 然后将其打碎, 就可以更好地获得相应的结构信息。

2.1 一级全扫描质谱分析

在正离子检测方式下对 8 种血管紧张素类药物进行质谱分析。在一级全扫描质谱分析中, 均检测到非常强的准分子离子 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 峰和 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 峰。

2.2 二级全扫描质谱分析

本试验对这 8 种化合物的准分子离子 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 进行了碰撞诱导解离分析。通过比较质谱碎裂信息, 发现尽管它们为二肽化合物, 且结构有差异, 然而碎裂方式都非常的接近, 且均与小肽的碎裂方式一致, 质谱图见图 2 和图 3。8 种化合物的准分子离子 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 产生的质谱碎片信息见表 1 和表 2。裂解途径以依那普利拉为例来阐明。

根据图 3A, 依那普利拉的准分子离子峰为 m/z 371, 对其进行碰撞诱导解离(CID)分析, 发现产生了 $[\text{b}_1+\text{OH}+\text{Na}]^{+}$ 的重排离子 m/z 274。在对类似化合物的报道中, 只有赖诺普利有类似的重排反应。孙翠荣等^[9]在对加合锂离子的赖诺普利的碎

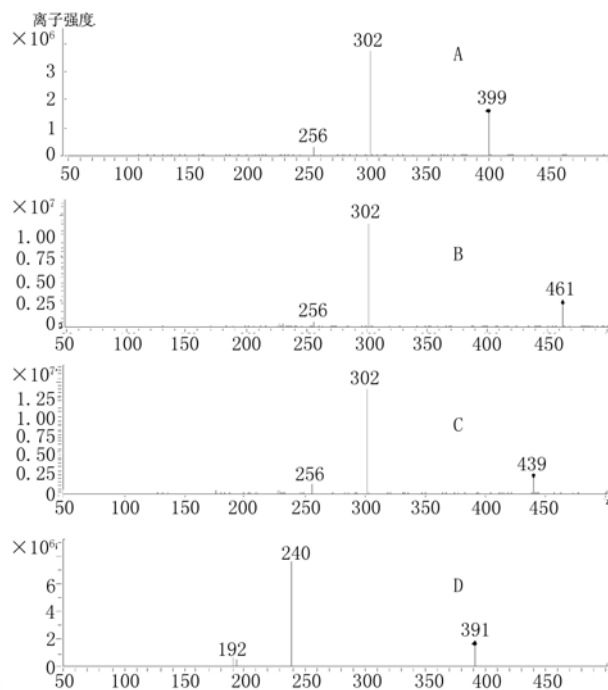


图 2 各化合物 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 离子的 ESI- MS^2 图谱
A-依那普利; B-喹那普利; C-雷米普利; D-培哌普利
Fig 2 ESI- MS^2 of $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ ions
A-enalapril; B-quinapril; C-ramipril; D-perindopril

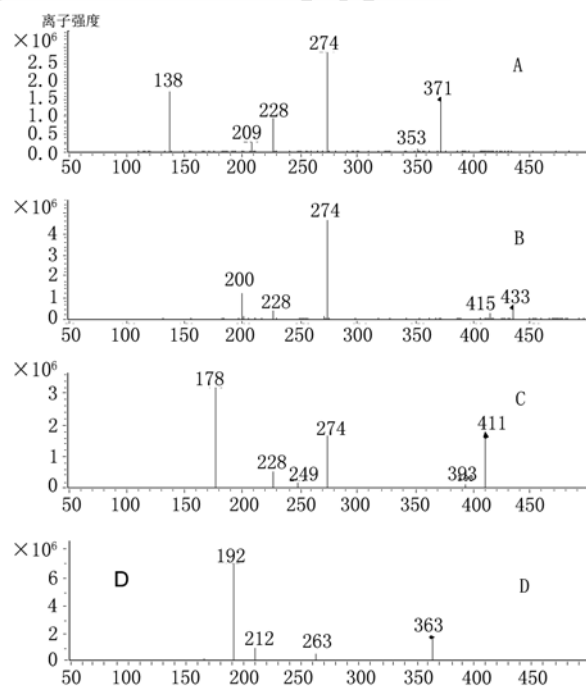


图 3 各化合物 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ 离子的 ESI- MS^2 图谱
A-依那普利拉; B-喹那普利拉; C-雷米普利拉; D-培哌普利拉
Fig 3 ESI- MS^2 of $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ ions
A-enalapril; B-quinapril; C-ramipril; D-perindopril

裂机理进行解析时, 他们提出了一个电荷远端碎裂(charge remote fragmentation, CRF)的机理: 首先赖诺普利自身形成了一个两性离子, 碱金属离子靠近赖氨酸的羰基, 接着通过五元环的过渡态, 丢失一分子二氢吡咯和一分子 CO, 产生重排离子。尽管依那普利拉没有类似赖诺普利的端基胺基团, 在加合钠离子的条件下, 由于钠离子的强吸电子作用, 使得碳上更趋向于电正性, 因此重排得以进行, 见图 4。

表 2 依那普利拉、喹那普利拉、雷米普利拉和培哌普利拉的 ESI-MS² 信息

Tab 2 ESI-MS² information of enalaprilat, quinaprilat, ramiprilat and perindoprilat

化合物	[M+Na] ⁺ (m/z, %相对丰度)	MS ² (m/z, %相对丰度)				
		[a ₁ -H+Na] ⁺ 离子	[b ₁ +OH+Na] ⁺ 离子	[y ₁ +H+Na] ⁺ 离子	[z ₁ +H+Na] ⁺ 离子	[M+Na-H ₂ O] ⁺ 离子
依那普利拉	371(51)	228(35)	274(100)	138(61)	209(10)	353(3)
喹那普利拉	433(8)	228(9)	274(100)	200(25)	—	415(6)
雷米普利拉	411(50)	228(17)	274(53)	178(100)	249(6)	393(3)
培哌普利拉	363(22)	—	212(15)	192(100)	263(6)	—

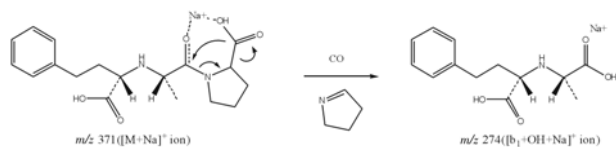


图 4 依那普利拉[b₁+OH+Na]⁺离子可能的形成途径

Fig 4 Proposed mechanism of [b₁+OH+Na]⁺ ion of enalaprilat in ESI-MS²

再依据 Roepstoff 等^[13-14]提出的命名法则对依那普利拉其他碎片离子进行解析。 m/z 228 为[a₁-H+Na]⁺离子, 由母离子脱去一分子脯氨酸和一分子羰基得到; m/z 138 为[y₁+H+Na]⁺离子, 由脯氨酸加合钠离子形成; m/z 209 为[z₁+H+Na]⁺离子, m/z 353 为[M+Na-H₂O]⁺离子, 见表 2。它们的裂解规律都与小肽一致, 可能的裂解途径见图 5。

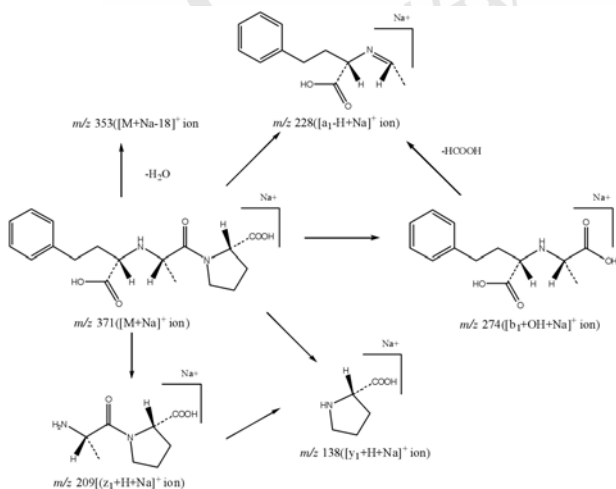


图 5 依那普利拉[M+Na]⁺可能的 ESI-MS² 碎裂途径

Fig 5 Proposed fragmentation of [M+Na]⁺ of enalaprilat in ESI-MS²

表 1 依那普利、喹那普利、雷米普利和培哌普利的 ESI-MS² 信息

Tab 1 ESI-MS² information of enalapril, quinapril, ramipril and perindopril

化合物	[M+Na] ⁺	MS ² (m/z, %相对丰度)		
		[a ₁ -H+Na] ⁺ 离子	[b ₁ +OH+Na] ⁺ 离子	[y ₁ +H+Na] ⁺ 离子
依那普利	399(41)	256(8)	302(100)	—
喹那普利	461(20)	256(4)	302(100)	—
雷米普利	439(14)	256(100)	302(9)	—
培哌普利	391(20)	194(5)	240(100)	192(8)

再对喹那普利拉、雷米普利拉和培哌普利拉的准分子离子[M+Na]⁺进行 CID 分析, 它们的碎裂方式均与依那普利拉一致。所不同的是, 喹那普利拉未检测到[z₁+H+Na]⁺离子, 培哌普利拉未检测到[a₁-H+Na]⁺离子和[M+Na-H₂O]⁺离子。

对依那普利、喹那普利、雷米普利和培哌普利的准分子离子[M+Na]⁺进行 CID 分析, 它们均产生了[a₁-H+Na]⁺离子和[y₁+H+Na]⁺离子, 只有培哌普利产生了[y₁+H+Na]⁺离子。

3 讨论

血管紧张素转换酶抑制剂类化合物的裂解行为基本与其他小肽类化合物的裂解行为一致。这 8 种化合物还发生了特殊的重排反应。这可能是因为, 碱金属离子靠近 C-端的羰基, 使得羰基碳更趋向于带正电荷, 接着通过五元环的过渡态, 丢失一分子二氢吡咯和 CO, 并产生了重排离子。采用解析加合钠离子的准分子离子碎裂途径的方法, 有助于对这类化合物的结构推断。

REFERENCES

- [1] MANNING J, VEHSKRI V M. Postnatal modulation of prenatally programmed hypertension by dietary Na and ACE inhibition [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2005, 288(1): 80-84.
- [2] ONDETTI M A, RUBIN B, CUSHMAN D W. Design of specific inhibitors of a new class of orally active antihypertensive agents [J]. Science, 1977(196): 441-444.
- [3] GU Q, CHEN X M, LIU D, et al. Simultaneous determination of enalapril and enalaprilat in human plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chin J Mass Spectrom Soc(质谱学报), 2003, 24(z1): 101-102.

- [4] DASANDI B, SHAH S. Determination of quinapril and quinaprilat in human plasma by ultraperformance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [J]. Biomed Chromatogr, 2009, 23(5): 492-498.
- [5] ZHENG G G, LI H L, SHEN T J Z, et al. Pharmacokinetics and relative bioavailability of domestic ramipril capsule in healthy volunteers [J]. Chin J Clin Pharmacol(中华临床药理学杂志), 2006, 22(4): 276-279.
- [6] DEVISSAGUET JP, AMMOURY N, DEVISSAGUET M, et al. Pharmacokinetics of perindopril and its metabolites in healthy volunteers [J]. Fund Clin Pharmacol, 1990, 4(2): 175-189.
- [7] FLORENCIO M H, FRENANDEZ M T, MIRA A, et al. Electrospray mass spectrometry of angiotensin-converting enzyme inhibitors [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 1998, 12(23): 1928-1932.
- [8] BURINSKY D J, SIDES S L. Mass spectral fragmentation reactions of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors [J]. J Am Soc Mass Spectrom, 2004, 15(9): 1300-1314.
- [9] SUN C R, ZHU P X, HU N, et al. Differentiation of lisinopril and its RSS diastereomer by liquid chromatography combined with collision-induced dissociation mass spectrometry [J]. J Mass Spectrom, 2010, 45(1): 89-96.
- [10] CAPPIELLO A, FAMIGLINI G, ROSSI L, et al. Use of nonvolatile buffers in liquid chromatography/mass spectrometry: advantages of capillary-scale particle beam interfacing [J]. Anal Chem, 1997, 69(24): 5136-5141.
- [11] KAISER P, AKERBOOM T, WOOD W G, et al. A new approach for the determination of immunosuppressive drugs using HPLC-MS/MS and Cs adducts [J/OL]. Ger Med Sci, 2006, 4: doc01 [2011.2.15]. <http://www.egms.de/de/gms/2006-4/000030.shtml>.
- [12] TSUNEMATSU H, IKEDA H, HANAZONO H, et al. Differentiation of a pair of diastereomeric tertiarybutoxy-carbonylprolylproline ethyl esters by collision-induced dissociation of sodium adduct ions in electrospray ionization mass spectrometry and evidence for chiral recognition by ab initio molecular orbital calculations [J]. J Mass Spectrom, 2003, 38(2): 188-195.
- [13] ROEPSTOFF P, FOHLMAN J. Letter to the editors [J]. J Biomed Mass Spectrom, 1984, 11(11): 601.
- [14] SRIKANTH R, REDDY P N, SRINIVAS R, et al. Mass spectral study of alkali-cationized Boc-carbo- β^3 -peptides by electrospray tandem mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2004, 18(24): 3041-3050.

收稿日期: 2010-11-12