

## 3-氨基苯甲酸乙酯的电喷雾正离子质谱裂解规律

李晋成, 刘欢, 张静, 吴立冬, 许玉燕, 马兵, 宋恽\*

(中国水产科学研究院, 质量与标准研究中心, 北京 100141)

**摘要:** **目的** 采用电喷雾电离串联质谱(ESI-MS/MS), 对3-氨基苯甲酸乙酯在正离子模式下的裂解途径进行分析研究。**方法** 通过ESI电离产生准分子离子 $[M+H]^+$ , 并对 $[M+H]^+$ 进行碰撞诱导解离(CID)获得3-氨基苯甲酸乙酯的二级质谱图。**结果** 在CID模式下, 3-氨基苯甲酸乙酯主要产生 $m/z$  138、 $m/z$  94和 $m/z$  77三个碎片离子。通过解析3-氨基苯甲酸乙酯二级质谱图得到其裂解途径信息: 3-氨基苯甲酸乙酯首先断裂苯环C1位支链上的乙氧基丢失一个乙烯生成特征碎片离子 $m/z$  138, 然后断裂苯环C1位支链上酯基丢失一个 $CO_2$ 生成特征碎片离子 $m/z$  94, 继续断裂C3位上C-N键丢失一个 $NH_3$ 并生成特征碎片离子 $m/z$  77。**结论** 本研究所提出的3-氨基苯甲酸乙酯的电喷雾质谱裂解规律, 为其在水产品体内代谢物质的鉴别提供参考依据。

**关键词:** 3-氨基苯甲酸乙酯; 电喷雾电离; 裂解规律

### The cleavage pathways of 3-aminobenzoic acid ethyl ester by positive electrospray ionization mass spectrometry

LI Jin-Cheng, LIU Huan, ZHANG Jing, WU Li-Dong, XV Yu-Yan, MA Bing, SONG Yi\*

(Quality and Standard Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141, China)

**ABSTRACT: Objective** To study the cleavage pathways of 3-aminobenzoic acid ethyl ester by electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS/MS) in the positive mode. **Methods** The quasi-molecular ion  $[M+H]^+$  of 3-aminobenzoic acid ethyl ester was obtained by ESI, and the  $MS^2$  spectrum of quasi-molecular ion  $[M+H]^+$  ion were obtained from collision-induced dissociation (CID). **Results** There were three main fragment ions of quasi-molecular ion  $[M+H]^+$  with CID that were  $m/z$  138,  $m/z$  94,  $m/z$  77. The cleavage pathways information of  $[M+H]^+$  ion were obtained by analyzing the  $MS^2$  spectrum of  $[M+H]^+$  ion. It was found that quasi-molecular ion  $[M+H]^+$  mainly fractured through ethoxyl group at the C1 of benzene ring, and lost  $CH_2=CH_2$  with generated fragment ion  $m/z$  138. A part of fragment ion  $m/z$  138 continuously lost  $CO_2$  at the C1 of benzene ring with generated fragment ion  $m/z$  94. Then a part of fragment ion  $m/z$  94 lost  $NH_3$  at the C3 of benzene ring with generated characteristic fragment ion  $m/z$  77. **Conclusion** These cleavage rules presented here can provide a technical support for metabolites' identification of 3-aminobenzoic acid ethyl ester in aquatic products.

**KEY WORDS:** 3-aminobenzoic acid ethyl ester; electrospray ionization; cleavage pathways

基金项目: 中国水产科学研究院院部中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2013C005)

**Fund:** Supported by the Special Scientific Research Funds for Central Non-profit Institutes, Chinese Academy of Fishery Sciences (2013C005)

通讯作者: 宋恽, 研究员, 主要研究方向为食品安全研究。E-mail: songyi@gmail.com

\***Corresponding author:** SONG Yi, Researcher, Quality and Standard Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141, China. E-mail: songyi@gmail.com

## 1 引言

3-氨基苯甲酸乙酯的分子量为 165.079(其结构式见图 1), 其甲基磺酸盐俗称 MS-222, 别名鱼安定, 是一种常用的渔用麻醉剂。近年来, 关于 MS-222 对水产品的麻醉效果, 国内外研究学者进行了大量的研究。相关研究表明, MS-222 是一种安全、高效的渔用麻醉剂, 并且已经广泛用于水产品的运输、手术等领域<sup>[1-3]</sup>。目前, 在美国和加拿大, MS-222 是水产品领域唯一合法使用的麻醉剂<sup>[4]</sup>。

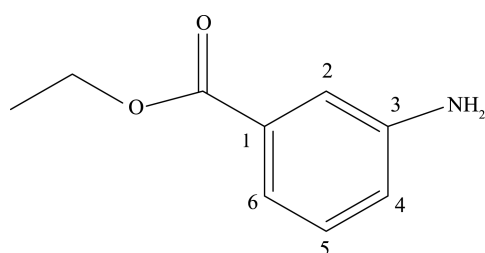


图 1 3-氨基苯甲酸乙酯的结构式

Fig. 1 Structure of 3-aminobenzoic acid ethyl ester

然而, 目前仍没有 MS-222 在水产品体内代谢转化过程中降解产物的研究报道。电喷雾电离(ESI)是一种软电离技术, 具有快速得到化合物的分子量信息的优点, 并且可以通过串联质谱得到其二级质谱图<sup>[5-9]</sup>。通过解析化合物的二级质谱图可以为化合物降解产物的分析提供理论依据<sup>[10-13]</sup>。

本研究拟采用电喷雾电离串联质谱(ESI-MS/MS)研究 3-氨基苯甲酸乙酯电喷雾电离的质谱裂解规律, 目的是希望能够为 3-氨基苯甲酸乙酯在水产品内代谢转化过程研究提供理论依据。

## 2 材料与方法

### 2.1 主要仪器

TSQ 系列三重四极杆液质联用仪, 配有电喷雾离子源(ESI)及 Xcalibur 数据处理系统(美国 Thermo 公司)。

### 2.2 样品及试剂

甲醇(色谱纯, 购自 merck 公司); 3-氨基苯甲酸乙酯甲基磺酸盐(TCI 公司), 溶解在甲醇中。

### 2.3 质谱条件

电喷雾离子源, 采用正离子扫描模式; 电喷雾

电压: 3100 V; 鞘气压力: 15 bar; 辅气压力: 5 bar; 毛细管温度: 270 °C; 雾化温度: 300 °C; 流动注射泵进样, 流速 50  $\mu\text{L}/\text{min}$ ; 碰撞气为氦气。

### 2.4 样品制备及处理

取 3-氨基苯甲酸乙酯的甲醇溶液(1 ppm), 经流动注射泵进入 ESI 离子源。在正离子模式下得到  $[\text{M}+\text{H}]^+$  准分子离子峰, 选择合适的碰撞能对其进行  $\text{MS}^2$  碎片离子的分析。

## 3 结果与讨论

### 3.1 一级质谱分析

3-氨基苯甲酸乙酯属于中等极性化合物, 易溶于水, 易溶于甲醇、乙醇等有机溶剂。由于 3-氨基苯甲酸乙酯分子中含一个氨基, 在 ESI 电离的离子化方式下容易得到一个质子, 形成  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 故采用正离子模式进行检测。实验结果表明以甲醇为溶剂, 采用蠕动泵注射进样的方式, 3-氨基苯甲酸乙酯在电喷雾质谱中以  $[\text{M}+\text{H}]^+$  准分子离子形式存在。3-氨基苯甲酸乙酯的一级质谱图如图 2 所示。  $m/z$  166 峰为  $[\text{M}+\text{H}]^+$  的准分子离子峰。

### 3.2 二级质谱分析

为了研究分子结构与裂解途径之间的关系, 对 3-氨基苯甲酸乙酯的  $[\text{M}+\text{H}]^+$  准分子离子峰进行碰撞诱导解离(CID)分析。实验结果表明,  $m/z$  为 166 的  $[\text{M}+\text{H}]^+$  准分子离子在 CID 条件下会发生碎裂, 产生一系列碎片离子, 得到 MS-222 的二级质谱图。不同碰撞能量(15、20 和 26 eV)下产生的二级质谱图详见图 3。

3-氨基苯甲酸乙酯的  $[\text{M}+\text{H}]^+$  准分子离子在 15 eV 的氦气的碰撞下, 主要产生三个碎片离子:  $m/z$  138(相对丰度 100%)、 $m/z$  94(相对丰度 10%)和  $m/z$  77(相对丰度 3%)。随着碰撞能量的增加  $[\text{M}+\text{H}]^+$  准分子离子的丰度在不断减少, 碎片离子  $m/z$  94 和  $m/z$  77 的丰度在不断增加。当碰撞能量为 26 eV 时,  $[\text{M}+\text{H}]^+$  准分子离子的丰度趋于零。对 3-氨基苯甲酸乙酯的二级质谱中主要碎片峰  $m/z$  138(相对丰度 100%)进行质谱解析, 其可能的生成途径是  $[\text{M}+\text{H}]^+$  准分子离子 C1 上的乙氧基断裂丢失乙烯所致。可能是由于 C1 位所连的杂原子的电子可以与苯环形成共轭, 使其电子云发生偏移, 致使  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$  键易于断裂造成的。

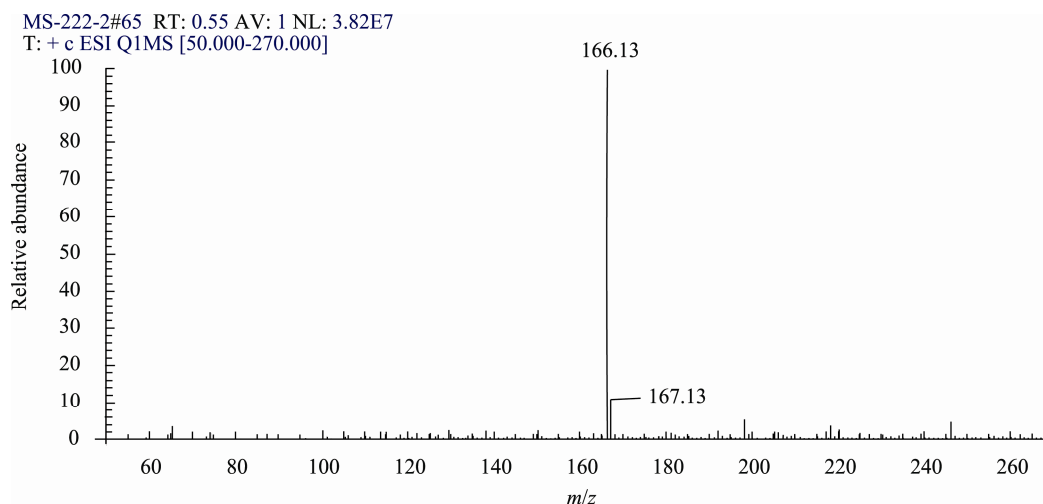


图 2 3-氨基苯甲酸乙酯的电喷雾正离子模式下质谱图

Fig. 2 ESI-MS spectra of 3-aminobenzoic acid ethyl ester in positive mode

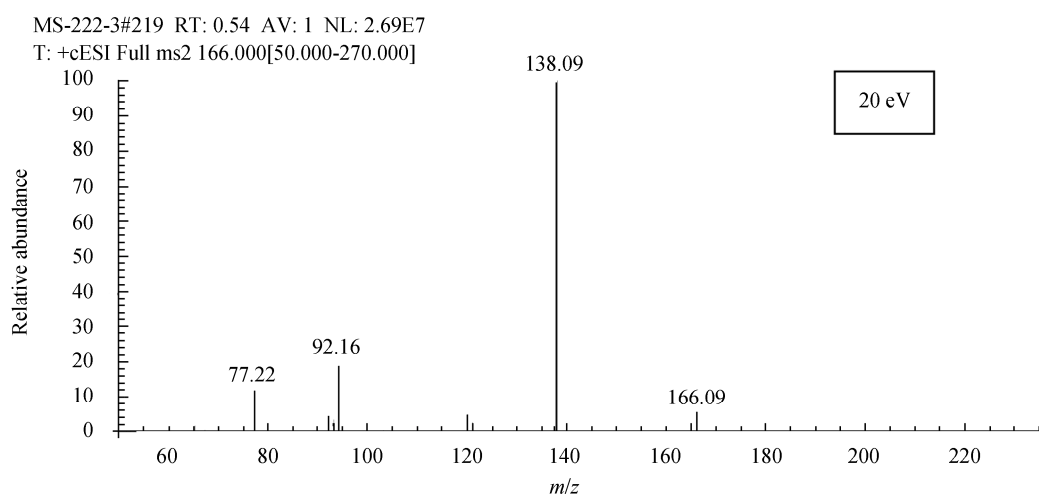
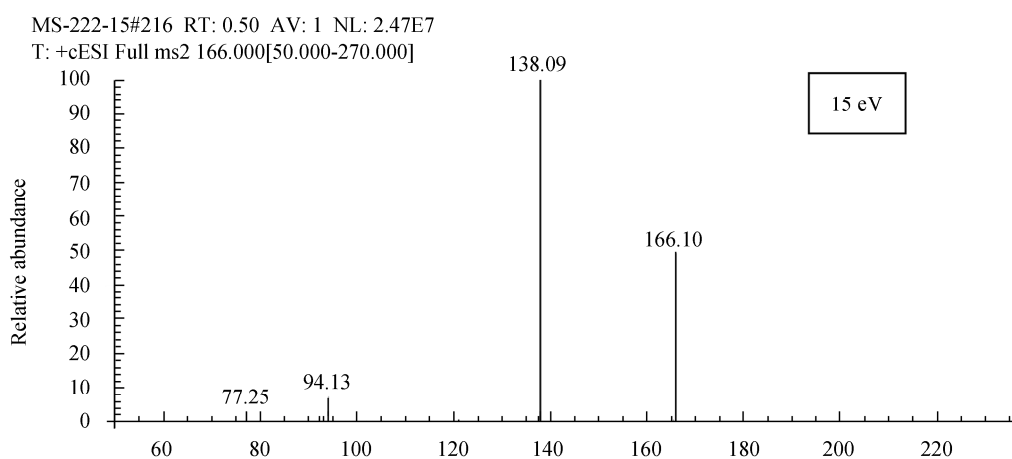
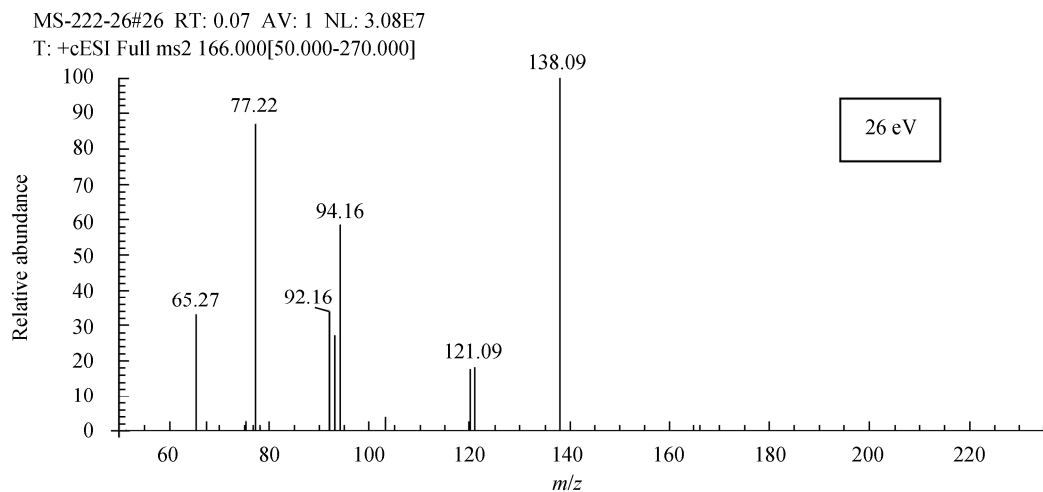
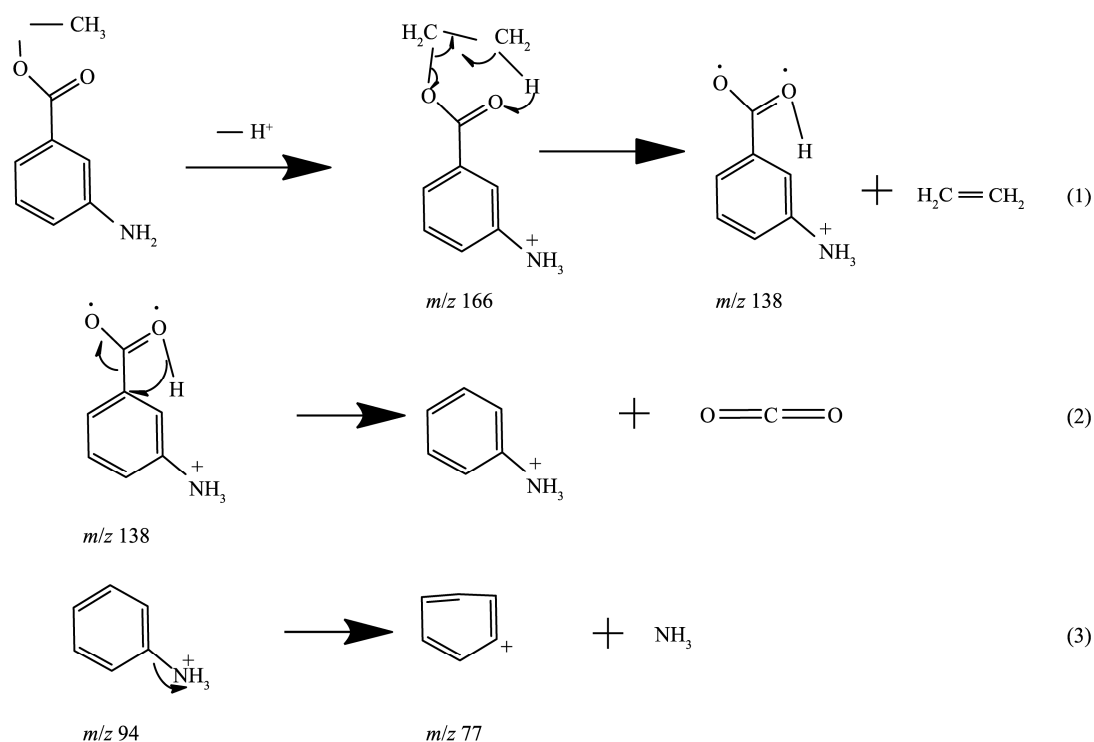


图 3 不同碰撞能量下 3-氨基苯甲酸乙酯的二级质谱图

Fig. 3 ESI-MS/MS of 3-aminobenzoic acid ethyl ester at different collision energy



续图 3

图 4 3-氨基苯甲酸乙酯 $[M+H]^+$ 的质谱碎裂途径Fig. 4 Cleavage pathways of 3-aminobenzoic acid ethyl ester  $[M+H]^+$ 

部分 $[M+H]^+$ 准分子离子 C1 位上乙氧基丢失乙基后, 在氦气的继续碰撞下将丢失 C1 上的酯基, 得到  $m/z$  为 94 的碎片离子峰, 该碎片离子在氦气的碰撞下可继续失去 C3 位上的氨基得到  $m/z$  为 77 的碎片离子峰。基于以上分析, 我们对 3-氨基苯甲酸乙酯的可能的质谱碎裂途径进行了推测, 详见图 4。

## 4 结论

本文对 3-氨基苯甲酸乙酯进行了 ESI-MS/MS 分析研究, 分析了主要的特征碎片离子、主要的碎裂途径, 并在此基础上探讨了 3-氨基苯甲酸乙酯的电喷雾电离裂解规律。为进一步研究 3-氨基苯甲酸乙酯

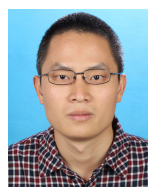
在鱼体内的代谢规律提供了参考依据。

## 参考文献

- [1] King W, Hooper B, Hillsgrove S, *et al.* The use of clove oil, metomidate, tricaine methanesulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.) [J]. *Aquac Res*, 2005, 36(14): 1442–1449
- [2] Weber RA, Peleteiro JB, García Martín LO, *et al.* The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) [J]. *Aquacult*, 2009, 288(1-2): 147–150
- [3] Topic PN, Strunjak-Perovic I, Coz-Rakovac R, *et al.* Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia [J]. *J Appl Ichthyol*, 2012, 28, 553–564
- [4] 李晋成, 刘欢, 吴立冬, 等. 动物体内麻醉剂残留检测技术研究进展[J]. *食品科学*, 2014, 35(5): 251–256.  
Li JC, Liu H, Wu LD, *et al.* Progress in detection of anesthetic residues in food-producing animals [J]. *Food Sci*, 2014, 35(5): 251–256.
- [5] 李晋成, 刘欢, 马兵, 吴立冬, 等. 丁香酚的电喷雾负离子质谱裂解规律研究 [J]. *中国渔业质量与标准*, 2013, 3(4): 11–14.  
Li JC, Liu H, Ma B, *et al.* Cleavage pathways of eugenol by negative electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Chin Fish Qual Standard*, 2013, 3(4): 11–14.
- [6] 黄璐璐, 黄碧云, 季红, 等. 莫那可林 J 的电喷雾质谱裂解规律研究( $MS^1 \sim MS^6$ ) [J]. *质谱学报*, 2009, 30(3): 154–159.  
Huang JJ, Huang BY, Ji H, *et al.* Mass spectrum characterization of monacolin J( $MS^1 \sim MS^6$ ) [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc*, 2009, 30(3): 154–159.
- [7] 霍佳丽, 王建华, 吴志军. 舒它西林的电喷雾—四极杆—飞行时间串联质谱裂解规律研究[J]. *质谱学报*, 2012, 33(3): 154–160.  
Huo JL, Wang JH, Wu ZJ. Study on the cleavage rule of sultamicillin by electrospray ionization-quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc*, 2012, 33(3): 154–160.
- [8] 于林芳, 徐杰, 陈士国, 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, 3(2): 77–81.  
Yu LF, Xu J, Chen SG, *et al.* Study on the fragmentation pathways of triterpene glycosides from *apostichopus japonicus* selenka by negative electrospray ionization mass spectrometry [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc*, 2011, 3(2): 77–81.
- [9] Fu L, Chen T, Xue G, *et al.* Selective cleavage enhanced by acetylating the side chain of lysine [J]. *J Mass Spectrom*, 2013, 48(1): 128–134.
- [10] Juan P, Lily Z, Weihai F, *et al.* Selective cleavage of protonated penetratin and its substitutes under low-energy collision-induced dissociation condition [J]. *J Mass Spectrom*, 2010, 45(6): 627–634.
- [11] Yassin AJ, Beatriz HC, Victor MI. Hydrogen rearrangement and ring cleavage reactions study of progesterone by triple quadrupole mass spectrometry and density functional theory [J]. *J Mass Spectrom*, 2011, 46(7): 625–634.
- [12] Jennifer SC, Michael LE, Jeffrey NA. Structural characterization of intact proteins is enhanced by prevalent fragmentation pathways rarely observed for peptides [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2010, 21(6): 949–959.
- [13] Daniel FC, Eden PG, Melinda LT, *et al.* Collision induced dissociation products of disulfide-bonded peptides: ions result from the cleavage of more than one bond [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2011, 22(3): 492–498.

(责任编辑: 杨翠娜)

## 作者简介



李晋成, 助理研究员, 主要研究方向为水产品中药物及其他有害物质残留检测技术开发。

E-mail: lijc@cafs.ac.cn



宋 悒, 研究员, 主要研究方向为水产品质量安全研究。

E-mail: songyi@cafs.ac.cn