

· 化学与分析 ·

新西兰牡荆苷等 4 种碳苷黄酮的 电喷雾质谱裂解规律研究

刘建群*, 舒积成, 张锐, 张维, 潘景行

(江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

[摘要] **目的:** 利用电喷雾质谱技术对新西兰牡荆苷、木犀草素-6-C-葡萄糖-8-C-木糖苷、槲皮素-6-C-葡萄糖苷和二氢槲皮素-6-C-葡萄糖苷 4 种碳苷黄酮的质谱裂解规律进行研究。**方法:** 用电喷雾多级质谱(ESI-MSⁿ) 对该类化合物进行研究, 并分别在正离子和负离子扫描模式下对其主要特征碎片离子进行解析。**结果:** 负离子扫描模式下, 主要发生糖环裂解, 六碳糖碳苷主要产生脱去 m/z 120, 90 的碎片峰, 五碳糖碳苷主要产生脱去 m/z 90, 60 的碎片峰, 双糖碳苷主要产生连续脱去 m/z 120, 90, 60 的碎片峰; 正离子扫描模式下, 主要发生糖羟基连续脱水, 六碳糖碳苷产生脱去 m/z 120 的碎片峰, 五碳糖碳苷产生脱去 m/z 60 的碎片峰。碳苷黄酮的负离子扫描模式比正离子扫描模式的质谱特征更明显。**结论:** 分析了这 4 种碳苷黄酮的电喷雾多级质谱裂解规律, 探讨了碳苷黄酮, 特别是双糖碳苷黄酮质谱裂解规律, 为碳苷黄酮的快速鉴别提供了参考。

[关键词] 新西兰牡荆苷; 木犀草素-6-C-葡萄糖-8-C-木糖苷; 槲皮素-6-C-葡萄糖苷; 二氢槲皮素-6-C-葡萄糖苷; 电喷雾质谱; 碳苷黄酮

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0072-05

[doi] 10.11653/syfy2013080072

Study on the Four Flavone-C-glycosides by Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry

LIU Jian-qun*, SHU Ji-cheng, ZHANG Rui, ZHANG Wei, PAN Jing-hang

(Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the four flavone-C-glycosides which were vicenin-2, luteolin-6-C-glucopyranosyl-8-C-xylopyranoside, quercetin-6-C-glucopyranoside and dihydroquercetin-6-C-glucopyranoside by electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MSⁿ). **Method:** The samples were analyzed by ESI-MSⁿ under positive and negative ion models. **Result:** Under negative ion model, flavone-C-glycosides which had pentose substituent take place sugar bond cleavage and generate fragment ions (m/z 90 and 60), these which had hexose substituent generate fragment ions (m/z 120 and 90) and these which had two sugar substituents successively generate fragment ions (m/z 120, 90 and 60). Under positive ion model, flavone-C-glycosides take place dehydration, and these flavones which had pentose substituent take place sugar bond cleavage and generate fragment ions (m/z 60), these which had hexose substituent generate fragment ions (m/z 120). **Conclusion:** The ESI-MSⁿ methods for the identification of flavone-C-glycosides, especially which had two sugar substituents, were established.

[Key words] vicenin-2; Luteolin-6-C-glucopyranosyl-8-C-xylopyranoside; quercetin-6-C-glucopyranoside; dihydroquercetin-6-C-glucopyranoside; ESI-MSⁿ; flavone-C-glycoside

[收稿日期] 20120413(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30960495)

[通讯作者] * 刘建群, 教授, 博士, 从事中药活性成分及质量评价研究, Tel: 0791-87118657, E-mail: liu5308@sina.com

黄酮类化合物是广泛存在于药用植物中的一类次生代谢产物,具有较低的毒性和广谱的药理活性,如抗氧化、抗肿瘤、保肝和治疗心血管疾病等作用,临床应用广泛。新西兰牡荆苷^[1-2]、木犀草素-6-*C*-葡萄糖-8-*C*-木糖苷^[3]、槲皮素-6-*C*-葡萄糖苷和二氢槲皮素-6-*C*-葡萄糖苷^[4-6]是存在于海金沙草、金钱草、苔草、凤尾草、扁担杆等植物中的碳苷黄酮类化合物,是这些药用植物的活性成分之一。新西兰牡荆苷具有抗菌、抗炎和细胞毒等药理活性^[7-9]。电喷雾电离质谱是一种软电离质谱,容易获得化合物分子离子峰,结合离子阱技术可获得化合物的多级质谱裂解信息,从而推断化合物结构。本实验首次利用电喷雾质谱技术对新西兰牡荆苷、木犀草素-6-*C*-葡萄糖-8-*C*-木糖苷、槲皮素-6-*C*-葡萄糖苷和二氢槲皮素-6-*C*-葡萄糖苷这4种碳苷黄酮进行质谱分析,总结质谱裂解规律,为碳苷黄酮,特别是双糖碳苷黄酮质谱法快速鉴定提供参考。

1 材料

1.1 仪器与装置 Agilent 1100 LC-MSD-Trap 型液质联用仪,高压二元梯度泵,二极管阵列检测器,自动进样器,柱温箱,ChemStations 化学工作站等。

1.2 试剂 新西兰牡荆苷、木犀草素-6-*C*-葡萄糖-8-*C*-木糖苷、槲皮素-6-*C*-葡萄糖苷和二氢槲皮素-6-*C*-葡萄糖苷均自制^[4](从凤尾草和扁担杆植物中分离,结构经 NMR 等波谱技术确定,HPLC 归一法纯度 $\geq 99\%$),甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);水为双蒸水并经 0.45 μm 滤膜滤过。

2 方法

2.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm),流动相水-甲醇(40:60),体积流量 1 mL \cdot min⁻¹。

2.2 质谱条件 ESI 离子源,离子源温度 325 $^{\circ}\text{C}$,毛细管电压 3.5 kV,雾化压力 280 kPa,干燥氮气流速 9 L \cdot min⁻¹,质谱扫描范围 m/z 50~800,正、负离子检出模式。

2.3 负离子扫描模式 4 个碳苷黄酮准分子离子峰为 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ 。双糖碳苷—新西兰牡荆苷双糖环裂解产生脱去 90 ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$),120 ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4$),以及连续脱去(90,120)和(120,120)质量单位的特征碎片峰;双糖环裂解连续脱去(120,120)质量单位后继续丢失 2CO 碎片产生 m/z 297 碎片离子。双糖碳苷—木犀草素-6-*C*-葡萄糖-8-*C*-木糖苷双糖环裂解产生脱去 60 ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$),90 ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$),120 ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4$),以及连续脱去(120,90)和(120,60)质量单位的特

征碎片峰;双糖环裂解连续脱去(120,90)质量单位后继续丢失 CH_2CO 碎片产生 m/z 327 碎片离子。60 ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$)质量单位碎片由五碳糖环的 O-C₁ 键和 C₃-C₄ 键断裂形成,90 ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$)质量单位碎片由五碳糖环的 O-C₁ 键和 C₂-C₃ 键断裂形成或者由六碳糖环的 O-C₁ 键和 C₃-C₄ 键断裂形成,120 ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4$)质量单位碎片由六碳糖环的 O-C₁ 键和 C₂-C₃ 键断裂形成。新西兰牡荆苷的可能裂解途径见图 1,木犀草素-6-*C*-葡萄糖-8-*C*-木糖苷的可能裂解途径见图 2。双糖碳苷质谱裂解的共同特征是连续发生双糖环裂解,含有 2 个六碳糖的碳苷产生连续脱去(90,120)或(120,120)质量单位的特征碎片峰,含有五碳糖和六碳糖各 1 个的碳苷产生连续脱去(120,90)和(120,60)质量单位的特征碎片峰。

六碳单糖碳苷—槲皮素-6-*C*-葡萄糖苷糖环裂解产生脱去 90 和 120 质量单位的特征碎片峰,脱水碎片峰;糖环裂解脱去 120 质量单位后继续丢失 CO 碎片产生 m/z 315 碎片离子。六碳单糖碳苷—二氢槲皮素-6-*C*-葡萄糖苷同样糖环裂解产生脱去 90 和 120 质量单位的特征碎片峰,脱水碎片峰。90 质量单位碎片由六碳糖环的 O-C₁ 键和 C₃-C₄ 键断裂形成,120 质量单位碎片由六碳糖环的 O-C₁ 键和 C₂-C₃ 键断裂形成。槲皮素-6-*C*-葡萄糖苷的可能裂解途径见图 3,二氢槲皮素-6-*C*-葡萄糖苷的可能裂解途径见图 4。六碳单糖碳苷质谱裂解的共同特征是发生糖环裂解,产生脱去 90 和 120 质量单位的特征碎片峰。

2.4 正离子扫描模式 新西兰牡荆苷准分子离子峰 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ m/z 595,产生连续脱水峰 m/z 595-577-559-541, m/z 529-511, m/z 499-481,推测为糖羟基脱水形成。 m/z 595 离子产生脱去 120 质量单位的特征碎片峰 m/z 475,推测为准分子离子峰 m/z 595 发生六碳糖环的 O-C₁ 键和 C₂-C₃ 键断裂形成。碎片峰 m/z 457 为 m/z 475 脱水形成。产生碎片峰 m/z 379,推测为准分子离子峰 m/z 595 脱去糖上 3H₂O 得碎片峰 m/z 541,然后苷元 C 环发生 RDA 反应断裂 O-C_{8a} 键和 C₄-C_{4a} 键形成。

木犀草素-6-*C*-葡萄糖-8-*C*-木糖苷准分子离子峰 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ m/z 581,产生连续脱水峰 m/z 581-563-545-527, m/z 515-497,推测为糖羟基脱水形成。 m/z 563 离子产生脱去 120 质量单位的特征碎片峰 m/z 443,推测为准分子离子峰 m/z 581 脱水后得碎片峰 m/z 563,然后六碳糖环的 O-C₁ 键和 C₂-C₃ 键断裂形成。碎片峰 m/z 425 为 m/z 443 脱水形成。

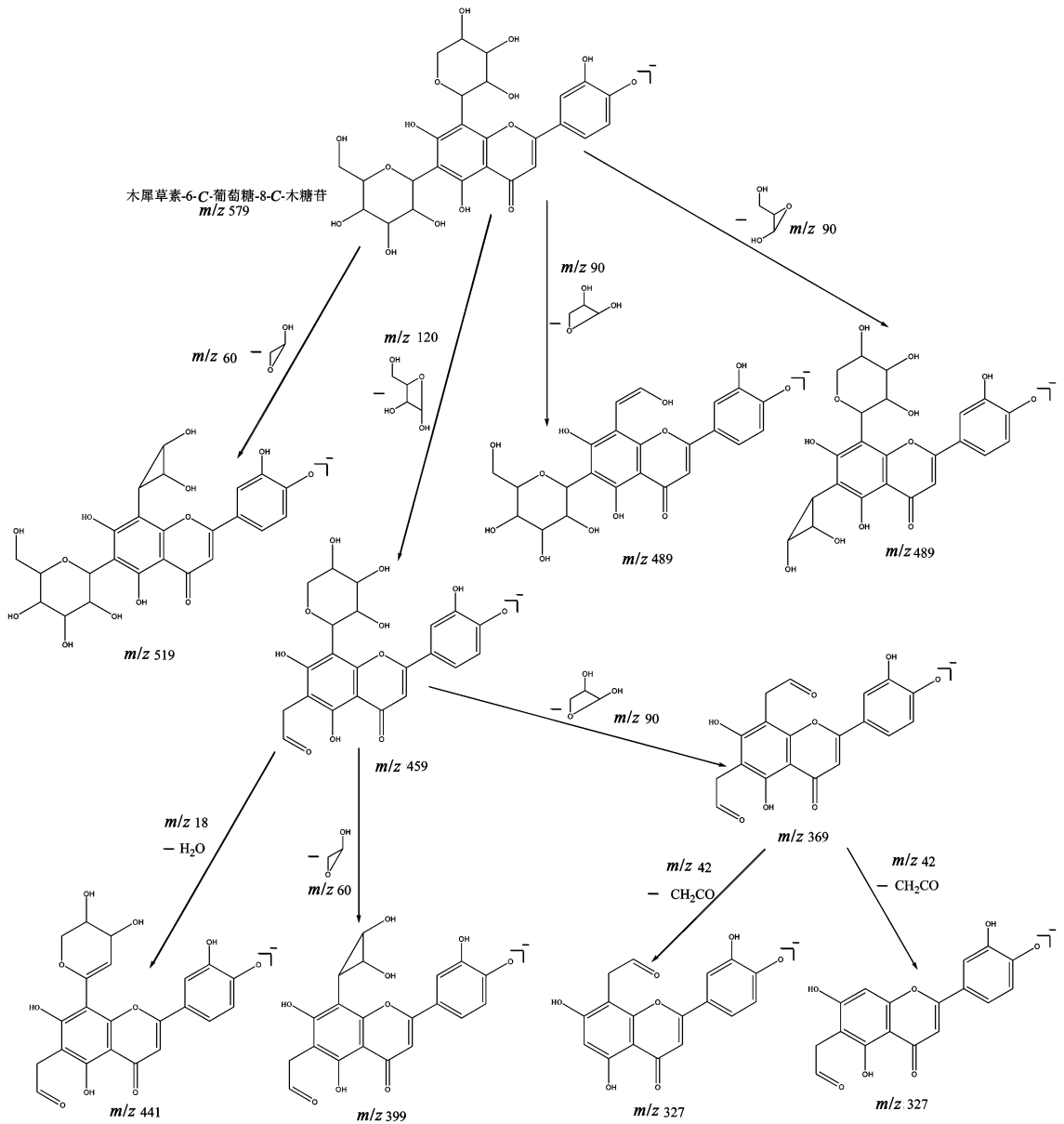


图 1 新西兰牡荆苷的可能裂解途径

碎片峰 m/z 395 推测为 m/z 425 脱 CH_2O 形成。 m/z 545 离子产生脱去 60 质量单位的特征碎片峰 m/z 485, 推测为准分子离子峰 m/z 581 脱去 $2H_2O$ 后得碎片峰 m/z 545, 然后五碳糖环的 $O-C_1$ 键和 C_3-C_4 键断裂形成。

槲皮素-6-C-葡萄糖苷未得到合适的正离子扫描模式质谱图。

二氢槲皮素-6-C-葡萄糖苷准分子离子峰 $[M + H]^+$ m/z 467, 产生连续脱水峰 m/z 467-449-431-413, m/z 401-383, 推测为苷元 3 位羟基和糖羟基脱水形成。 m/z 467 离子产生脱去 120 质量单位的特征碎片峰 m/z 347, 推测为准分子离子峰 m/z 467 发生六碳糖环的 $O-C_1$ 键和 C_2-C_3 键断裂形成。碎片

峰 m/z 329 为 m/z 347 脱水形成。

3 讨论

负离子扫描模式下, 碳苷黄酮主要发生糖环裂解, 而苷元不易裂解, 六碳糖碳苷糖环裂解产生脱去 90 和 120 质量单位的特征碎片峰, 五碳糖碳苷糖环裂解产生脱去 60 和 90 质量单位的特征碎片峰, 双糖碳苷质谱裂解的共同特征是连续发生双糖环裂解, 含有 2 个六碳糖的碳苷产生连续脱去 (90, 120) 或 (120, 120) 质量单位的特征碎片峰, 含有五碳糖和六碳糖各 1 个的碳苷产生连续脱去 (120, 90) 和 (120, 60) 质量单位的特征碎片峰。正离子扫描模式下, 碳苷黄酮主要发生糖羟基连续脱水, 六碳糖碳苷糖环裂解产生脱去 120 质量单位的特征碎片峰,

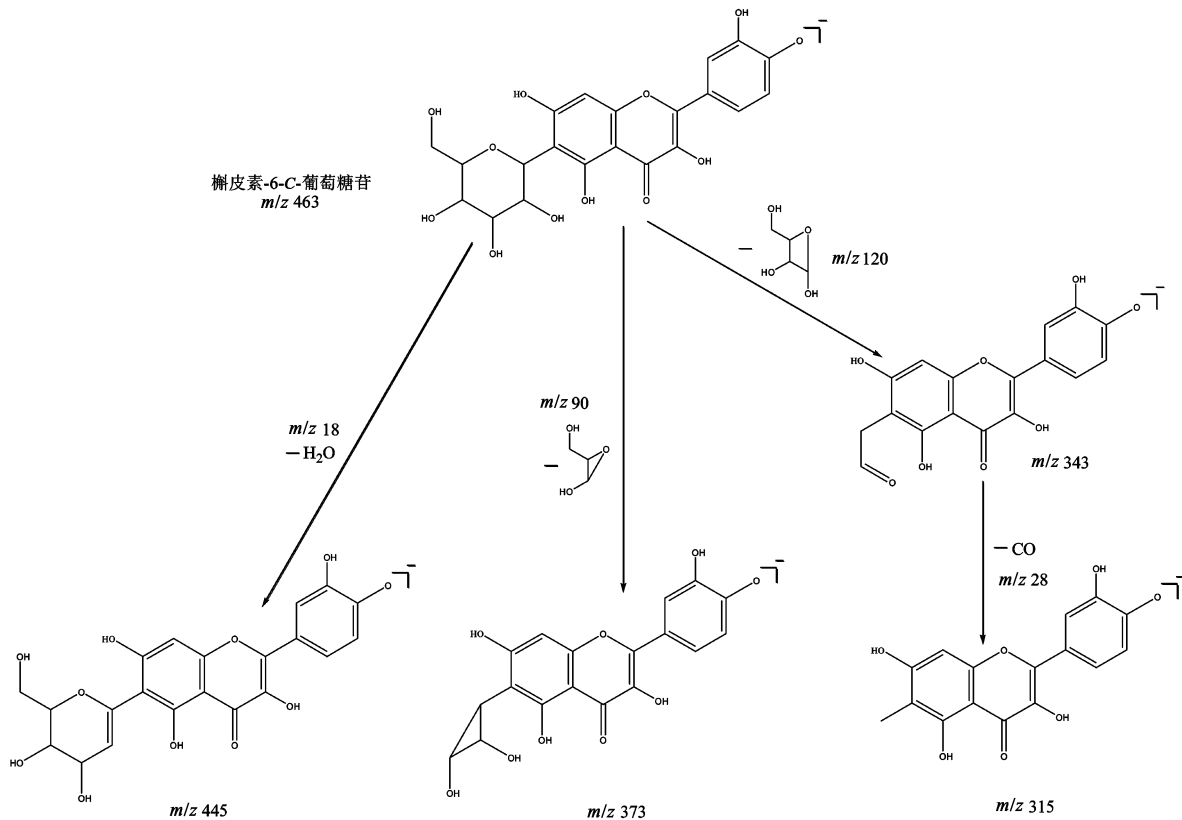


图2 木犀草素-6-C-葡萄糖-8-C-木糖苷的可能裂解途径

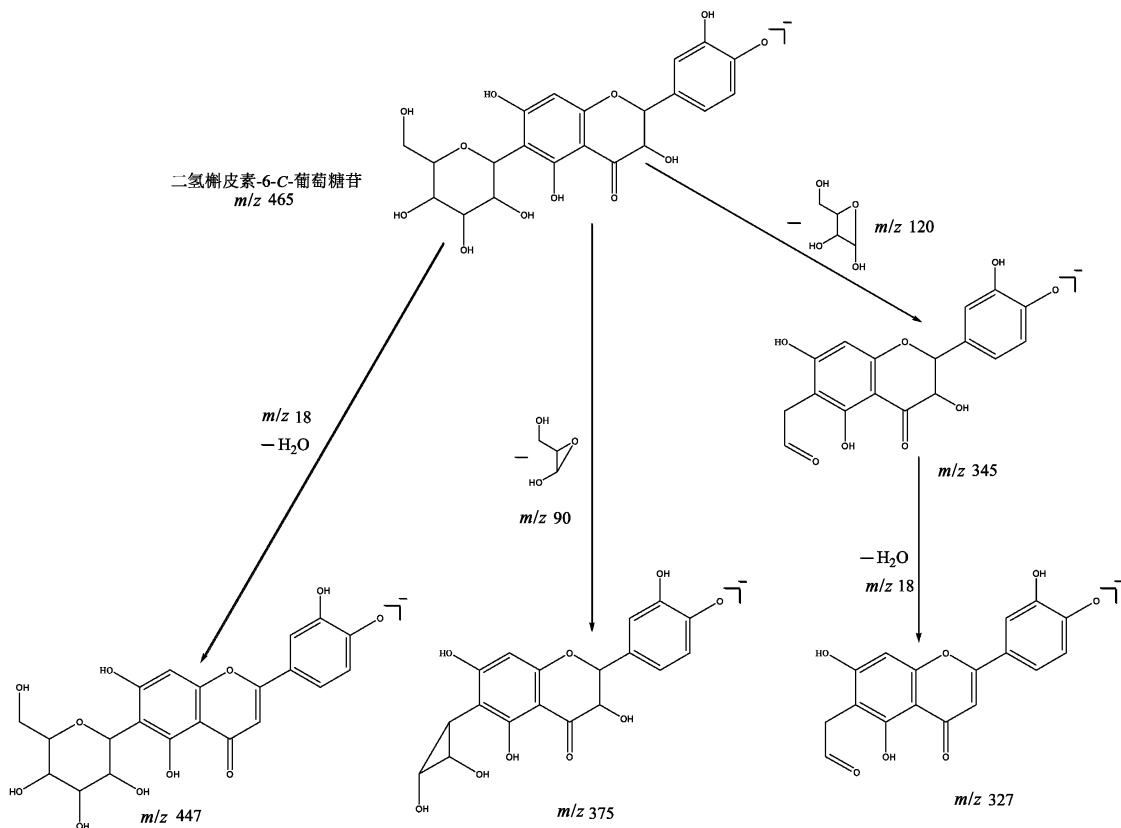


图3 槲皮素-6-C-葡萄糖苷的可能裂解途径

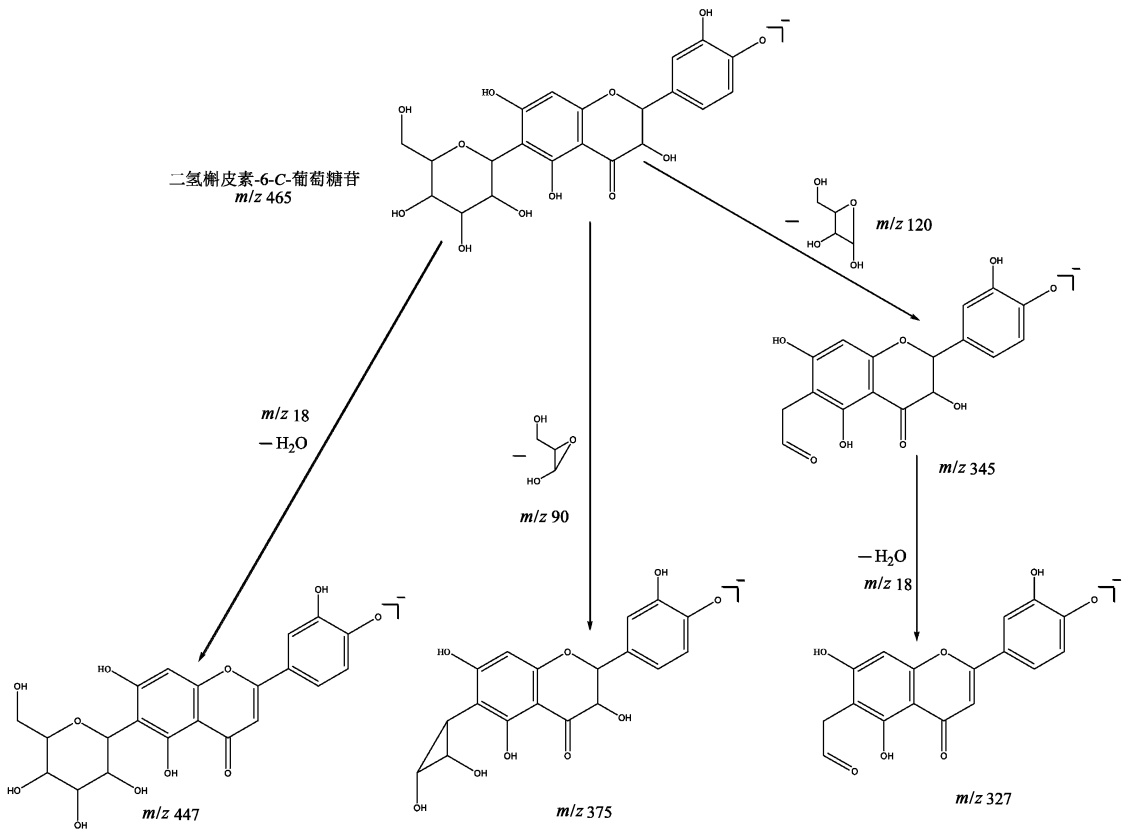


图 4 二氢槲皮素-6-C-葡萄糖苷的可能裂解途径

五碳糖碳苷糖环裂解产生脱去 60 质量单位的特征碎片峰。碳苷黄酮的负离子扫描模式比正离子扫描模式的质谱特征更明显。本研究初步探讨了碳苷黄酮,特别是双糖碳苷黄酮的 ESI-MS⁻ 裂解规律,为该类化合物的快速鉴别了提供参考。

[参考文献]

[1] 张雷红, 范春林, 叶文才, 等. 海金沙草黄酮及酚酸类化学成分的研究 [J]. 中药材, 2008, 31(2): 224.

[2] 杨念云, 段金殿, 李萍, 等. 金钱草中黄酮类化合物的分离与结构鉴定 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41(21): 1621.

[3] Antonio F, Brigida D, Severina P, et al. Potential allelopathic effects of stilbenoids and flavonoids from leaves of *Carex distachya* Desf [J]. Biochem Syst Ecol, 2008, 36(9): 691.

[4] 刘建群, 潘景行, 张锐, 等. 扁担杆的化学成分 II [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 87.

[5] Nianbifang, Sanggng Y, Tom J M. Flavonoids from *Ageratina Calophylla* [J]. Phytochemistry, 1986, 25, 2684.

[6] Mbafor J T, Fomum Z T. Isolation and characterization of taxifolin 6-C-glucoside from *Garcinia epunctata* [J]. J nat prod, 1989, 52(2): 417.

[7] El-Masry Sawsan, Hammada Hala M, Radwan Mohamed M. C-flavonoidal glycosides from *Erythrina caffra* flowers [J]. Nat Prod Sci, 2010, 16(4): 217.

[8] Shie Jiun-Jie, Chen Chih-An, Lin Chih-Chien. Regioselective synthesis of di-C-glycosyl-flavones possessing antiinflammation activities [J]. Org Biomol Chem, 2010, 8(19): 4451.

[9] Aboutabl E A, Hashem F A, Sleem A A. Flavonoids, anti-inflammatory activity and cytotoxicity of *Macfadyena unguiscati* [J]. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 2008, 5(1): 18.

[责任编辑 顾雪竹]