



# 牡荆苷和异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的电喷雾飞行时间质谱研究

李坤平<sup>1</sup>, 高崇凯<sup>\*</sup>, 李卫民<sup>2</sup>

(1. 广东药学院, 广东 广州 510006

2. 广州中医药大学, 广东 广州 510006)

**[摘要]** 目的: 研究牡荆苷和异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的电喷雾质谱裂解规律。方法: 利用超高效液相色谱串联电喷雾四极杆飞行时间质谱 (UPLC-ESI-Q-TOF/MS/MS), 结合源内碰撞诱导解离技术进行分析。结果: ESI-MS 谱给出的主要是  $m/z$  431.0958 和  $m/z$  623.1566 的  $[M-H]^-$  基峰。牡荆苷的 CID-MS/MS 显示了 5 个主要的特征碎片离子, 其中 3 个对应于葡萄糖基的环破裂  $m/z$  353, 341 和 311; 另外 2 个分别为黄酮苄基离子  $m/z$  283, 苷元离子  $m/z$  269。此外, 还有 2 个低丰度的特征离子, 即 RDA 裂解产生的  $m/z$  161 和  $m/z$  117。异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的 CID-MS/MS 显示了有 6 个主要特征碎片离子, 分别对应于鼠李糖基的中性丢失  $m/z$  477 和芸香糖基的环破裂  $m/z$  387, 357 和 311, 以及异鼠李素苷元离子  $m/z$  315。此外, 还有 B 环产生的  $m/z$  300 和  $m/z$  271 和 C 环产生的  $m/z$  243 以及 RDA 裂解产生的  $m/z$  151 和  $m/z$  125。结论: 上述质谱裂解规律可作为牡荆苷和异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的鉴定依据。

**[关键词]** 电喷雾飞行时间质谱; 牡荆苷; 异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷; 源内诱导解离; 裂解途径

随着现代分析技术的飞速发展, LC-MS 在中草药研究中的应用日渐广泛, 尤其是通过“软电离”技术得到化合物的“分子离子”, 在获得其精确分子质量的基础上结合源内诱导解离进行二级质谱分析的液相色谱串联飞行时间质谱技术 (LC-ESI/APC-FTOF-MS/MS) 得到了众多研究者的广泛关注。作为一类重要的天然产物, 黄酮类化合物的液相色谱串联电喷雾质谱研究方兴未艾, Fabre N 等<sup>[1]</sup>, March R E 等<sup>[2-3]</sup> 和 Es-Safi N E 等<sup>[4]</sup> 均进行了报道。本实验采用 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 对布渣叶黄酮中的 2 个主要化合物牡荆苷和异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷<sup>[5]</sup> 的质谱裂解规律进行了研究, 以期对布渣叶黄酮的制剂分析及其药物代谢研究提供参考。

## 1 材料

**1.1 仪器与试剂** Acquity UPLC 超高压液相色谱,

二元梯度输液泵和自动进样器 (Waters 公司); Q-ToF micro 飞行时间质谱; 电喷雾离子源 (ESI) 及 Masslynx 4.1 数据处理系统 (Waters 公司)。

牡荆苷购自中国药品生物制品检定所 (批号 111687-200501); 异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷为自制, R, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, MS 确证其结构, HPLC 分析纯度大于 98%。甲醇为色谱纯 (Merck 公司)。

**1.2 色谱条件** Acquity UPLC™ BEH C<sub>18</sub> (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 流动相为甲醇 (A)-水 (含 0.1% 甲酸, B), 流速为 0.2 mL·min<sup>-1</sup>, 依下列程序梯度洗脱: 0~7.6 min 85%~60% (B); 7.6~10 min 60%~60% (B); 10~12 min 60%~30% (B); 12~15 min 30%~20% (B); 自动进样, 进样量 1 μL。

**1.3 质谱条件** 电喷雾离子源 (ESI), 毛细管电压为 3.1 kV, 锥孔电压为 15 V, 锥孔气流量 25 L·h<sup>-1</sup>; 离子源温度为 100 °C, 离子能 1.0 eV, 诱导解离能 15~40 eV; 脱溶剂气流量 50 L·h<sup>-1</sup>, 脱溶剂气温度为 300 °C, 碰撞气 Ar, 负离子模式检测; 扫描范围  $m/z$  50~1000。

## 2 结果与讨论

**2.1 牡荆苷和异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷碎片离子的命名规则** 黄酮苷元 C 环的两个 C-C 键的断

[稿件编号] 20100428006

[基金项目] 广东高校优秀青年创新人才培养计划项目 (LYM10092); 广东省中医药局建设中医药强省科研课题 (2010418)

[通信作者] \* 高崇凯, 教授, 主要从事药物制剂研究, Tel (020) 39352117, E-mail godck@tm.cn

[作者简介] 李坤平, 主要从事中药制药工程研究, Tel (020) 39352118, E-mail lkphina@hotmail.com

裂后产生的碎片离子反应了其 A 和 B 环取代基的数量和形式, 是其苷元结构信息的主要信息。参考文献 [2-4] 采用的黄酮苷元及其糖苷的命名规则, 牡荆苷和异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的裂解后的特征碎片离子标记如图 1 所示。其中, 对黄酮苷元,  $^{ij}A$

和  $^{ij}B$  分别表示该黄酮苷元的碎片包含 A 和 B 环, 上标  $i$  和  $j$  显示了 C 环上键的断裂位置; 对黄酮苷,  $^{kl}X_j$ ,  $Y_j$  表示该碎片依然包括了黄酮苷元,  $j$  表示第  $j$  个糖基上键的断裂 (从黄酮苷元数起),  $k$  和  $l$  显示糖基环断裂的位置。

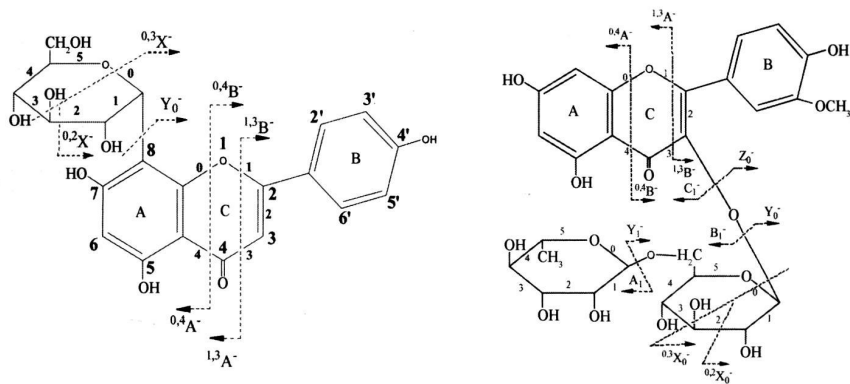


图 1 牡荆苷和异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷碎片离子命名规则

2.2 ESI/MS 分析 利用飞行时间质谱的高分辨率本领, 在获得化合物的精确分子质量后结合计算机软件给出其可能的分子式, 是近来化学成分结构鉴定中的常规手段。图 2 为牡荆苷和异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的一级质谱图, 从中可以看出, 其 ESI/MS 一级质谱给出的分别是  $m/z$  431.095 8 和  $m/z$  623.156 6 的  $[M-H]^-$  (基

峰), 综合精确分子质量、双键等价值 (DBE) 和同位素匹配 (iFIT) 等因素, 利用 MassLynx 4.1 软件处理, 计算机给出图 2A 最可能的分子式是  $C_{21}H_{19}O_{10}$ , 其理论分子质量为 431.097 8, 与实测值相差 2.0 mDa 误差为 4.6 图 2B 最可能的是  $C_{28}H_{31}O_{16}$ ; 其理论分子质量为 623.161 2, 与实测值相差 4.6 mDa 误差为 7.4。

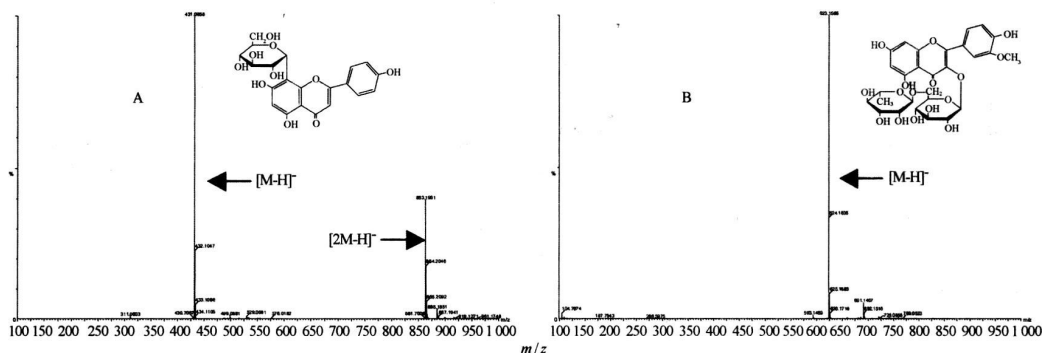


图 2 牡荆苷和异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的 ESI/MS 图

2.3 CID/MS/MS 分析 采用 CID 低能碰撞解离技术, 调节其电压, 能得到不同的 MS/MS 数据, 由此可提供更加丰富的结构信息。图 3 从上至下依次为解离能为 15 20 25 30 eV 时牡荆苷的 CID-MS/MS 谱

图, 图 4 为负离子模式下的 CID-MS/MS 图 4 从上至下解离能为依次为 25 30 35 40 eV 时异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的 CID-MS/MS 谱图。图 5 6 根据 CID-MS/MS 结果, 结合碎片离子的精确分子质量

和化合物质谱裂解规律. 给出的牡荆苷和异鼠李素 - 3-O-β-D-芸香糖苷的 ESIMS/MS 裂解途径.

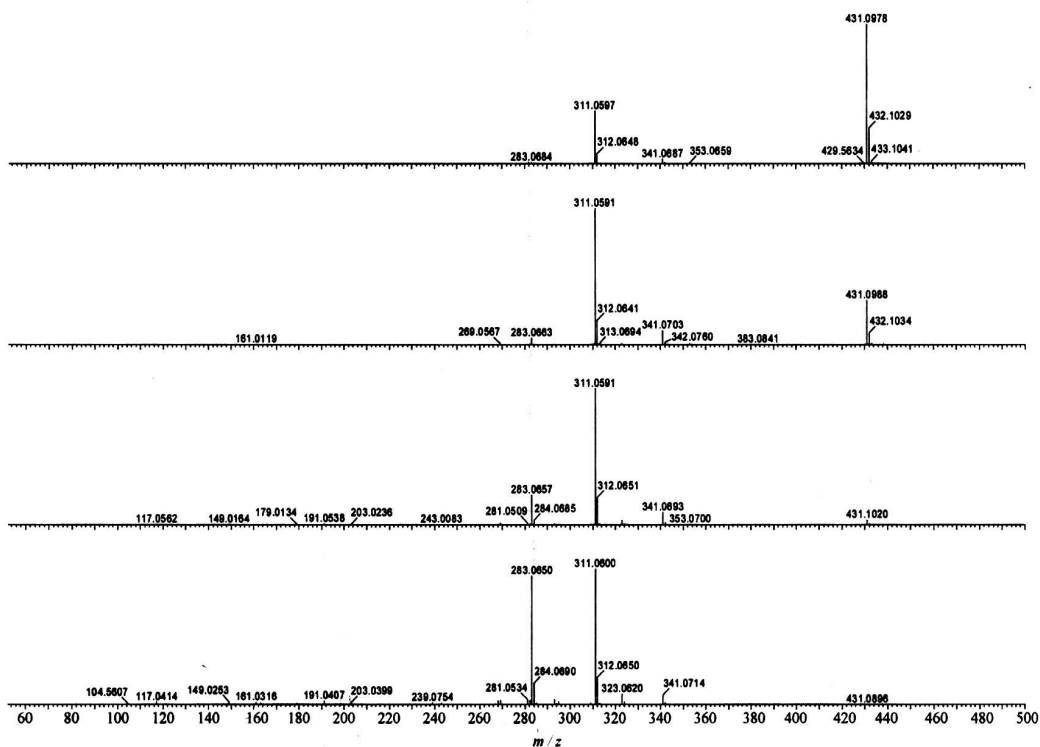


图 3 牡荆苷负离子 ( $m/z$  431) CID-MS/MS 图

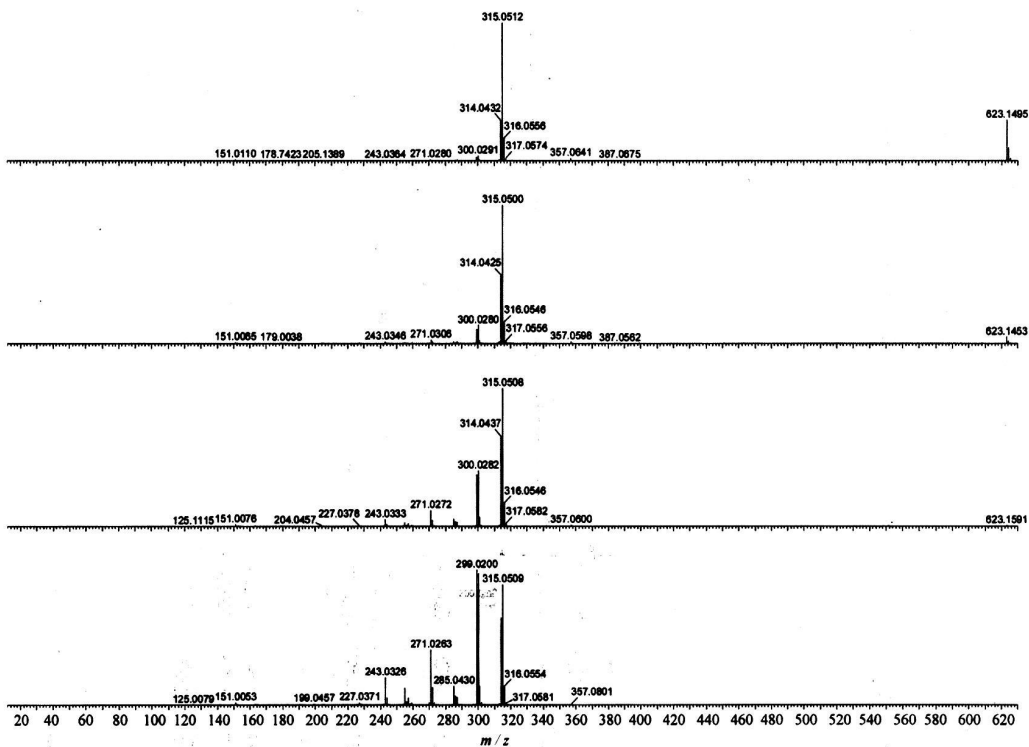


图 4 异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷负离子 ( $m/z$  623) 的 CID-MS/MS 图

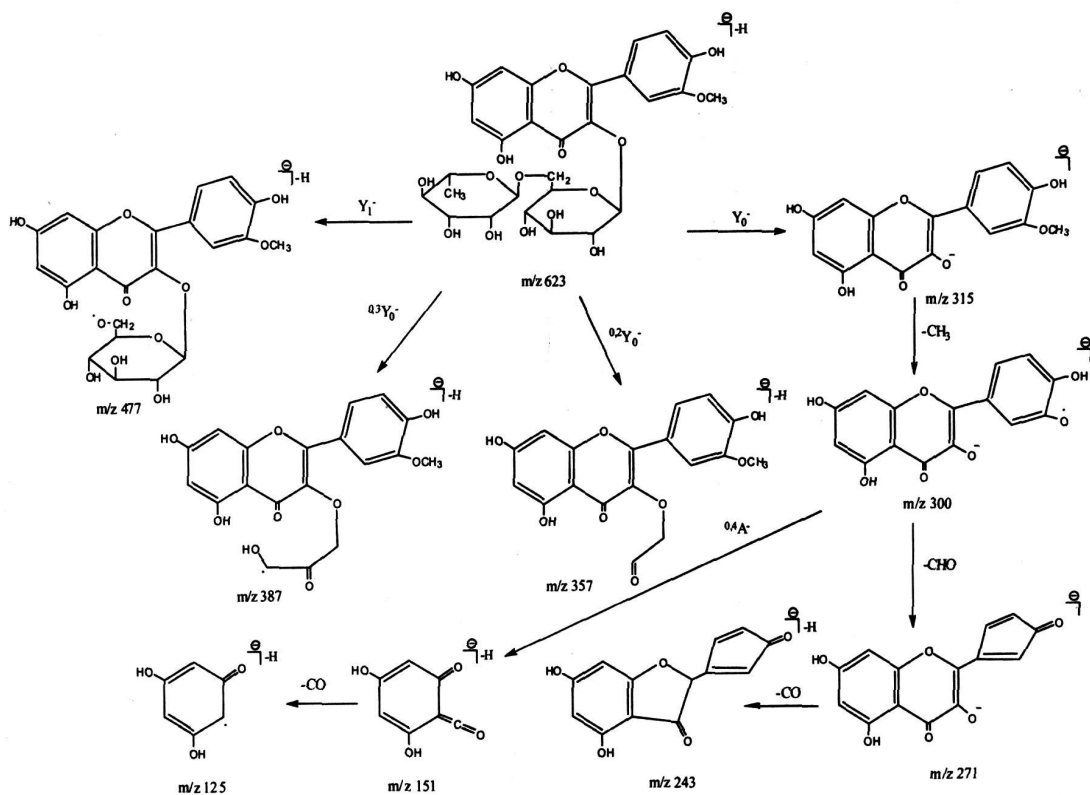


图 5 异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷负离子 ( $m/z$  623) 裂解途径

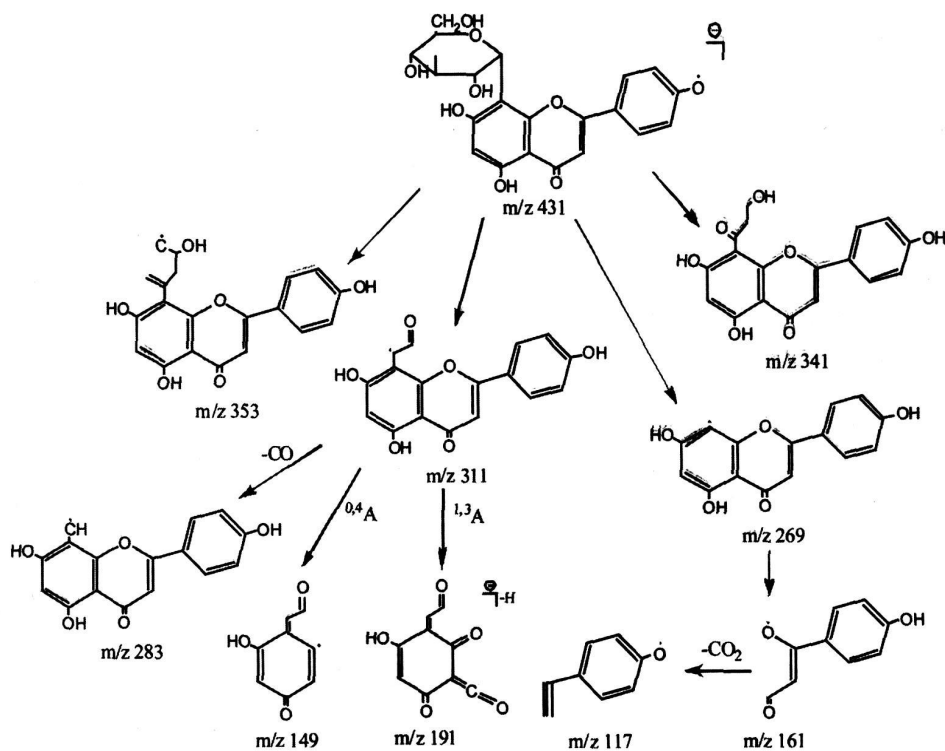


图 6 牡荆苷负离子 ( $m/z$  431) 裂解途径



### 3 结论

从图 3~6 可知,在负离子检查模式下,牡荆苷和异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的 ESHMS 显示  $[M-H]^-$  (基峰)分子离子峰,通过其精确分子质量、同位素匹配分析和双键等价分析,能够准确的给出分子式。其 CID-MSMS 裂解有 3 种主要方式:取代糖基的环破裂,苷键裂解形成苷元, RDA 裂解。

牡荆苷有 5 个主要碎片离子可以作为鉴定的特征离子,其中 3 个对应于葡萄糖基的环破裂  $m/z$  353, 341, 311; 另外 2 个分别为黄酮苷基离子  $m/z$  283 苷元离子  $m/z$  269。此外,还有 2 个丰度较小的特征离子,即 RDA 裂解产生的低丰度离子  $m/z$  161, 117, 可以作为鉴定牡荆苷的佐证离子峰。

异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷有 6 个主要碎片离子可以作为鉴定的特征离子,分别对应于鼠李糖基的丢失  $m/z$  477, 和芸香糖基的环破裂:  $m/z$  387,  $m/z$  35 和  $m/z$  311, 以及异鼠李素苷元离子  $m/z$  315。此外,还有  $m/z$  300 和 271 和 C 环裂解产生的

$m/z$  243 以及 RDA 裂解产生的  $m/z$  151 和  $m/z$  125。 [参考文献]

- [1] Fabre N, Rustan I, Hoffmann E, et al. Determination of flavone flavonol and flavanone aglycones by negative ion liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry [J]. J Am Soc Mass Spectrom, 2001, 12 (6): 707.
- [2] March R E, Lewis E G, Staley C J et al. A comparison of flavonoid glycosides by electrospray tandem mass spectrometry [J]. Int J Mass Spectrom, 2006, 248(1/2): 61.
- [3] March R E, Miao X S, Metcalfe C D, et al. A fragmentation study of an isoflavone glycoside, genistein-7-O-glucoside using electrospray quadrupole time-of-flight mass spectrometry at high mass resolution [J]. Int J Mass Spectrom, 2004, 232(2): 171.
- [4] Es-Safi N E, Kerhoas L, Eriholm J et al. Application of ESHMS CID-MS and tandem MSMS to the fragmentation study of eriodictyol-7-O-glucosyl-(1→2)-glucoside and luteolin-7-O-glucosyl-(1→2)-glucoside [J]. Int J Mass Spectrom, 2005, 247(1/3): 93.
- [5] 李坤平, 潘天玲, 高崇凯. Determination of vitexin and isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside in *Microros paniculata* L. by HPLC [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(9): 1746.

## Study on fragmentation of vitexin and isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside using electrospray quadrupole time of flight mass spectrometry

LI Kunping<sup>1</sup>, GAO Chongkai<sup>\*</sup>, LI Weiming<sup>2</sup>

(1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 China;  
2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the fragmentation pathway of vitexin and isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside with CID-TOF-MS. **Method** Equipped with an LC-MS was carried out using an ultraperformance liquid chromatography electrospray ionization quadrupole collision-induced dissociation-TOF-MS. **Result** ESHMS spectrum showed  $[M-H]^-$  base peak of  $m/z$  431.0958 and  $m/z$  623.1566. The CID-MS of vitexin showed five basic fragment ions, three of which corresponded to the glucosyl ring fracture  $m/z$  353, 341 and 311; other two were benzyl ion  $m/z$  283, aglycone ion  $m/z$  269. In addition, two low abundance ions, namely  $m/z$  161 and  $m/z$  117, generated by RDA cracking ions, were also characteristic ions. The CID-MS of isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside showed six main characteristic fragment ions corresponding to the loss of rhamnosyl  $m/z$  477 and the glycosyl ring fracture  $m/z$  387, 357 and 311, and aglycone ion  $m/z$  315. In addition, B ring generated  $m/z$  300 and  $m/z$  271 and C ring generated  $m/z$  243 and the RDA cleavage generated  $m/z$  151 and  $m/z$  125. **Conclusion** Those fragment ions can be used to quickly identify vitexin and isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside.

**[Key words]** ES/TOF-MS/MS, vitexin, isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside, fragmentation pathway

doi 10.4268/cjmm.20110220

[责任编辑 王亚君]