

淫羊藿甙及其与金属离子配合物的电喷雾多级串联质谱研究

刘春明, 刘志强, 许庆轩, 王道武, 刘淑莹*

(中国科学院长春应用化学研究所, 吉林 长春 130022)

摘要: 利用电喷雾多级串联质谱(ES/MSⁿ)研究了淫羊藿甙及其与金属离子形成的配合物, 获得淫羊藿甙的质谱碎裂规律; 并对淫羊藿甙与铝离子、铁离子形成的配合物结构进行了初步确定。结果表明: 淫羊藿甙与铝离子、铁离子可形成比较稳定的 2 : 1 的配合物。

关键词: 质谱学; 淫羊藿甙研究; 电喷雾多级串联质谱(ES/MSⁿ); 金属离子配合物

中图分类号: O 657. 63; R 282. 6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2003)04-482-04

淫羊藿甙(Icariin)是来源于小檗科淫羊藿属(Epimedium)的主要有效成分, 其化学结构属黄酮类化合物, 淫羊藿甙有免疫激活作用, 能促进抗体生成, 对心脑血管系统及性功能具有广泛的药理功效^[1~3]。同时黄酮类化合物均具有 2-苯基色原酮的基本结构, 有较高的超离域度, 完整的大 π 共轭体系, 强配位氧离子与合适的空间构型, 可与金属离子形成稳定的配合物。既增加疗效, 又能解决其在体内吸收、代谢等方面存在的问题, 甚至可以产生新的药理作用^[4], 如黄芩甙与镉、铜等金属离子形成的配合物就产生了新的药理作用^[5]。淫羊藿甙具有 4-羰基、5-羟基, 能与金属螯合形成稳定的五元环或六元环, 关于淫羊藿甙与金属离子形成配合物方面的研究未见报道, 而电喷雾质谱(ES/MS)又是表征这类金属黄酮络合物的强有力工具^[6]。本工作拟利用电喷雾多级串联质谱(ES/MSⁿ)技术对淫羊藿甙及其与金属离子的配合物进行研究, 解析其在电喷雾条件下的碎片信息与裂解规律, 从质谱角度阐明其结构组成。

1 实验部分

1.1 主要仪器

LCQ 质谱仪: 美国 Finnigan MAT 公司产

品, 采用 Finnigan 的电喷雾离子源; 样品溶液流速 3 $\mu\text{L}/\text{min}$; ESI 条件: 喷雾电压 4.5 kV; 加热毛细管温度 200 $^{\circ}\text{C}$; 鞘气为 N_2 。

1.2 主要试剂

淫羊藿甙标准品: 中国药品生物制品检验所产品; $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 、 FeCl_3 和甲醇: 均为分析纯; 水为一次蒸馏水。

1.3 配合物样品的制备

淫羊藿甙标准品、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 和 FeCl_3 均用甲醇配成 10 mmol/L 的溶液, 取等体积上述溶液置于试管中充分震荡 10 min 后待测。

2 结果和讨论

2.1 淫羊藿甙的电喷雾质谱研究

图 1 为淫羊藿甙的全扫描质谱图, 结构图示于图 2。从图中可见, 质荷比 m/z 677, 699 分别为 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 、 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 峰, 质荷比 m/z 1353, 1375 分别为 $[2\text{M} + \text{H}]^+$ 、 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$ 峰。对 m/z 677 进行多级串联质谱研究, 示于图 3~6。在二级谱中 m/z 677 离子主要失去一个质量数为 146 Da 的中性分子生成 m/z 531 离子; 在三级谱中 m/z 531 离子主要失去一个质量数为 162 Da 的中性分子生成 m/z 369 离子; 在四级谱中 m/z 369 离子主要失去一个质量数为 56 Da 的

收稿日期: 2003-01-08; 修回日期: 2003-05-18

作者简介: 刘春明(1964~), 女(汉族), 教授, 博士后, 主要从事中药化学、药物质谱、环境分析方面研究

E-mail: mslab@ns.ciac.jl.cn

* 通讯作者: 刘淑莹, 教授, 博导, 电话: 0431-8904401, E-mail: mslab@ns.ciac.jl.cn

碎片生成 m/z 313 离子, m/z 313 离子五级串联质谱产生的碎片比较多, 主要生成 m/z 为 243、271、298 等一些离子。

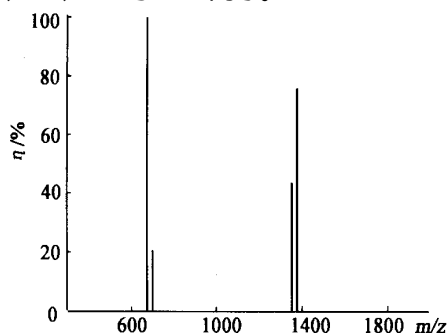


图 1 淫羊藿甙的全扫描质谱图

Fig 1 Full scan ESI mass spectrum of icaritin

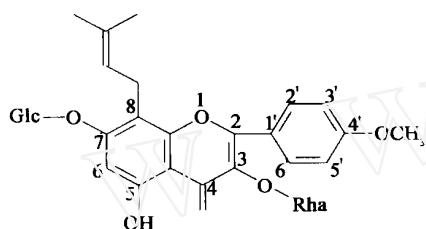


图 2 淫羊藿甙的结构图

Fig 2 Geometric structure of icaritin

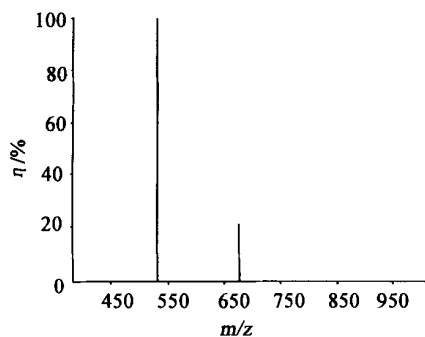


图 3 淫羊藿甙的 MS^2 图

Fig 3 ESI MS^2 mass spectrum of the ion at m/z 677

2.2 淫羊藿甙与金属离子配合物的电喷雾质谱研究

由于黄酮类化合物与 $Al(III)$ 络合能降低饮食中 Al 的过载, 治愈由 Al 引起的一些疾病; 而铁是人体内必需的微量元素, 是与中医“肾”关系密切的微量元素之一, 所以淫羊藿甙与 $Fe(III)$ 络合有助于铁的吸收, 治愈由缺铁引起的一些疾病。因此我们对淫羊藿甙与 $Al(III)$ 、 $Fe(III)$ 离子

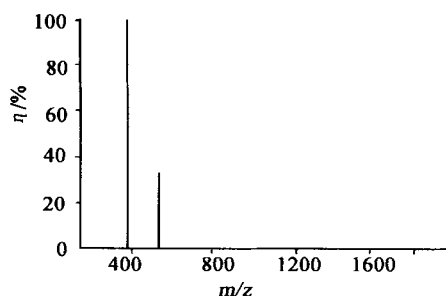


图 4 淫羊藿甙的 MS^3 图

Fig 4 MS^3 mass spectrum of $[icaritin + H]^+$ ion from MS^2 at m/z 531

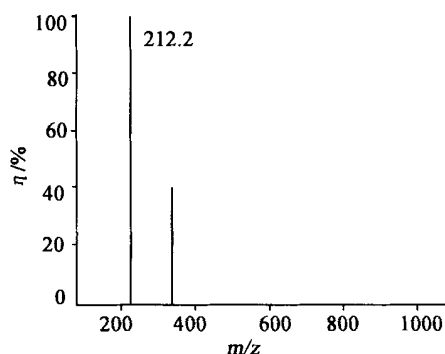


图 5 淫羊藿甙的 MS^4 图

Fig 5 MS^4 mass spectrum of $[icaritin + H]^+$ ion from MS^3 at ion m/z 369

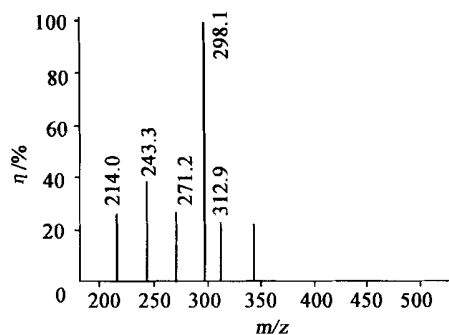


图 6 淫羊藿甙的 MS^5 图

Fig 6 MS^5 mass spectrum of $[icaritin + H]^+$ ion from MS^4 at m/z 310

形成的配合物进行电喷雾质谱研究。在电喷雾离子阱质谱条件下, 淫羊藿甙与 $Al(III)$ 、 $Fe(III)$ 离子形成的配合物的全扫描质谱图示于图 7、图 8。图 7 中只观察到一个明显的峰 m/z 1377, 图 8 中只观察到一个明显的峰 m/z 1406, 可能分别为淫羊藿甙与 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 形成的配合物。为此, 通过多级串联质谱功能对其结构及组成进行

进一步的研究。

对化合物(m/z 1 377)进行了多级串联质谱分析研究, 示于图 9~ 12。在 $M S^2$ 中母离子 m/z 1 377 首先失去鼠李糖中性碎片(146 Da), 得到 m/z 1 231 离子; 在 $M S^3$ 中 m/z 1 231 进一步裂解又失去 1 个鼠李糖中性碎片(146 Da), 得到 m/z 1 085 离子; 在 $M S^4$ 和 $M S^5$ 谱中, 又分别失

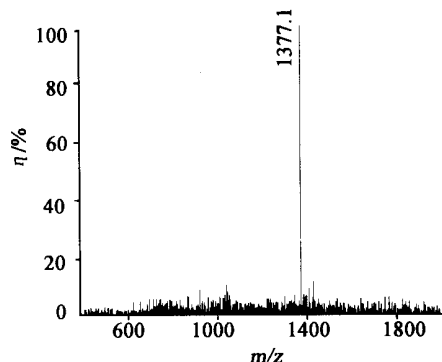


图 7 淫羊藿甙与 $Al(III)$ 离子形成的配合物的全扫描质谱图

Fig 7 ESI-MS mass spectrum of icaritin- Al^{3+} complex

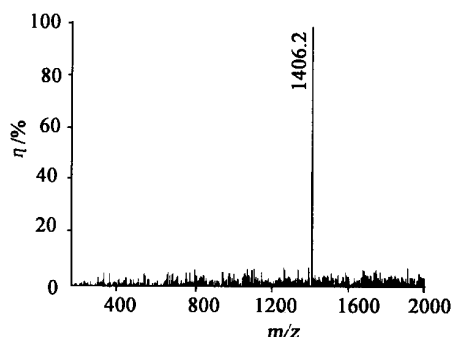


图 8 淫羊藿甙与 $Fe(III)$ 离子形成的配合物的全扫描质谱图

Fig 8 ESI-MS mass spectrum of icaritin- Fe^{3+} complex

去 1 个葡萄糖中性碎片(162 Da), 得到 m/z 923 离子与 m/z 761 离子; 可以推断此化合物为淫羊藿甙与 Al^{3+} 形成的 2 : 1 配合物, 其结构示于图 13。对化合物(m/z 1 406) 也进行了多级串联质谱研究(质谱图略), 结果与 m/z 1 377 的完全相似, 说明此化合物是淫羊藿甙与 Fe^{3+} 形成的 2 : 1 配合物, 其结构图略。

对淫羊藿甙与二价金属离子铜、铁、锌、锰形成配合物的情况也进行了电喷雾质谱研究, 发现淫羊藿甙与二价金属离子不形成配合物。

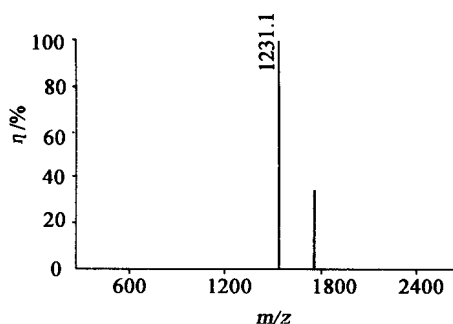


图 9 淫羊藿甙与 $Al(III)$ 离子形成的配合物的 $M S^2$ 质谱

Fig 9 ESI-MS mass spectrum of icaritin- Al^{3+} complex at m/z 1 377

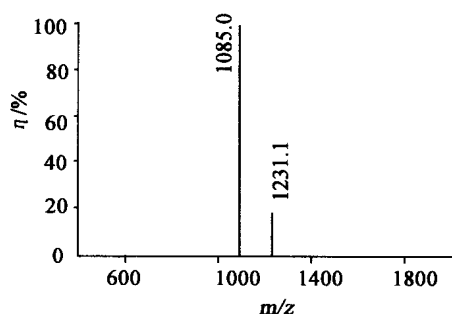


图 10 淫羊藿甙与 $Al(III)$ 离子形成的配合物的 $M S^3$ 质谱图

Fig 10 $M S^3$ mass spectrum of icaritin- Al^{3+} complex from $M S^2$ at m/z 1 231

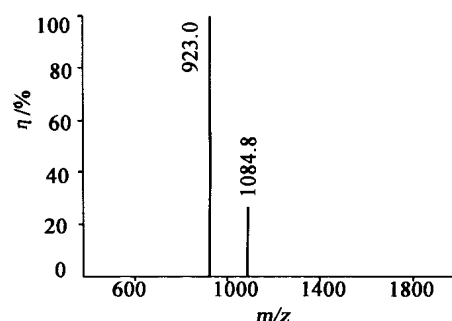


图 11 淫羊藿甙与 $Al(III)$ 离子形成的配合物的 $M S^4$ 质谱图

Fig 11 $M S^4$ mass spectrum of icaritin- Al^{3+} complex from $M S^3$ of 1 231(D) at m/z 1 085

3 结 论

在电喷雾质谱条件下, 淫羊藿甙在多级串联中不但失去中性分子也失去一些小分子; 而淫羊

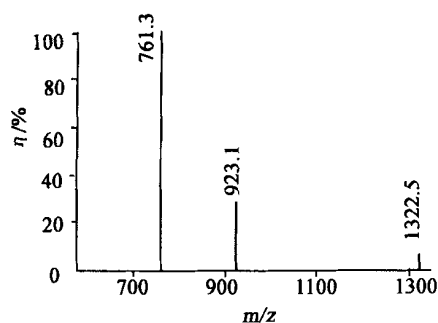


图 12 淫羊藿甙与 Al(III) 离子形成的配合物的 MS^5 质谱图

Fig 12 MS^5 mass spectrum of icariin- Al^{3+} complex from MS^4 of 1 377(D) at m/z 923

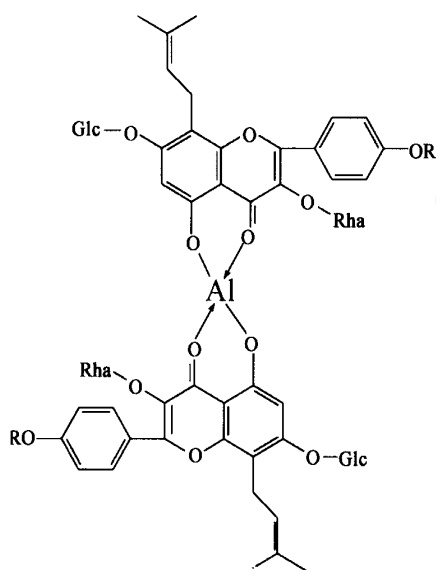


图 13 淫羊藿甙与 Al^{3+} 形成的配合物

Fig 13 Proposed structure of icariin- Al^{3+} complex

藿甙与 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 形成的配合物主要失去中性分子, 并且淫羊藿甙与 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 不形成 1:1 的配合物, 只形成 2:1 配合物。这与槲皮素、芦丁等黄酮类化合物与 Al^{3+} 的络合不同^[7]。

参考文献

- [1] 李书桐, 李铁军, 郑钦岳, 等. 淫羊藿甙对小鼠体外脾脏细胞增殖及产生集落刺激因子样活性的影响[J]. 第二军医大学学报, 1995, 16(4): 340
- [2] 赵勇, 崔正言, 张玲, 等. 淫羊藿甙协同诱导 L-2, 3, 6 作用的研究[J]. 中国免疫学杂志, 1996, 12(1): 43
- [3] 刘崇铭, 于庆海, 张利民. 淫羊藿甙对心脏的影响[J]. 中草药, 1982, 13(9): 31
- [4] 吴巧凤, 黄绳武. 微量元素与中药有效成分的配合物研究进展[J]. 广东微量元素科学, 1996, 3(10), 1~4
- [5] 房喻, 胡道道, 李晓军, 等. 黄芩甙及其铜、锌配合物对超氧自由基的消除作用[J]. 生物化学杂志, 1991, 7(6): 756~754
- [6] Haiteng D, Gray J, Van B. Electrospray Mass Spectrometry and UV/Visible Spectrometry Studies of Aluminum (III)-flavonoid Complexes[J]. J Mass Spectrom, 1998, 33, 1080~1087.
- [7] 陈貌连, 宋凤瑞, 刘志强, 等. 槲皮素、芦丁的某些金属配合物的电喷雾质谱研究[J]. 分析测试学报, 2001, 20(增刊): 101.

Study on Icarin and Icarin-Metal Ion Complex by Electrospray Tandem Mass Spectrometry

L I U Chun-ming, L I U Zhi-qiang, XU Qing-xuan, WANG Dao-wu, L I U Shu-ying
(Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Science, Changchun 130022, China)

Abstract Icarin and the complex of icariin-metal ion were investigated by electrospray tandem mass spectrometry (ES/MSⁿ). The fragmentation mechanisms of icariin and the possible structure of icariin-iron (or aluminum) were proposed. The results showed that icariin and iron (or aluminum) form predominantly a 2:1 complex.

Key words mass spectrometry; study on Icarin; electrospray tandem mass spectrometry (ES/MSⁿ); metal ion complex