

葛根素的电喷雾电离裂解规律解析

李宇航, 戴海学, 李晓蓉, 王丽娟, 薛 明

(首都医科大学化学生物学与药学院药理学系, 北京 100069)

摘要:利用电喷雾电离技术对葛根素的结构和质谱裂解规律进行研究, 用 Mass frontier 3.0 软件辅助解析了主要特征碎片离子及其裂解途径。结果发现, 葛根素主要通过 D 环的糖苷碎裂而发生裂解, 出现碎片 m/z 399, 381, 363, 351, 335, 321。碎片 m/z 399 裂解成碎片 m/z 381, 碎片 m/z 381 又裂解成碎片 m/z 363 和 351 为 ESI-MS 裂解特征。

关键词:葛根素; 电喷雾电离质谱; 结构

中图分类号: O657.63; O622.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2007)04-224-05

Analysis Fragment Pathway of Puerarin by Electron Spray Ionization Mass Spectrometry

LI Yu-hang, DAI Hai-xue, LI Xiao-rong, WANG Li-juan, XUE Ming

(Department of Pharmacology, School of Chemical Biology and Pharmaceutical Science,
Capital University of Medicine Science, Beijing 100069, China)

Abstract: Structure and MS/MS fragment pathway of pueratin were elucidated with electron spray ionization mass spectrometry. The characteristic ions and fragment mechanism were explained by Mass Frontier 3.0. Pueratin mainly fragmented on the glycoside of D ring. The characteristic ions of pueratin were m/z 399, 381, 363, 351, 335, 321 and m/z 399 fragment to m/z 381, ion m/z 381 fragment to m/z 363 and m/z 351. The result provides important information for the drug metabolism and structural modification research of puerarin.

Key words: puerarin; electron spray ionization mass spectrometry (ESI-MS); structure

葛根素(Puerarin)是从豆科植物野葛(Pueraria labta Ohwi)的干燥葛根中提取所得, 化学名称为 4', 7-二羟基-8- β -D-葡萄糖基异黄酮。葛根具有去热解毒、扩张血管、抗癌等功效^[1]。基础和临床研究证明, 葛根素能降低血浆内皮素(ET)和血小板表面活性, 抑制血小板聚集和黏

附^[2]; 扩张外周血管, 改善微循环^[3]; 扩张冠状动脉, 增加冠脉血流量^[4]; 具有广泛的 β 受体阻断作用^[5]; 能抑制脑缺血后诱导的大量一氧化氮的合成, 抑制超氧阴离子自由基的作用, 从而具有脑保护作用^[6]; 具有对抗东莨菪碱所致学习记忆的获得性障碍及大鼠操作式条件反射的抑

收稿日期: 2007-01-26; 修回日期: 2007-05-21

基金项目: 国家自然科学基金(30472057), 北京市自然科学基金(7052007)暨北京市教委科技发展计划项目(KM200410025003)资助

作者简介: 李宇航(1961~), 男(汉族), 山东莱西人, 讲师, 主要从事药代动力学及神经药理学研究。E-mail: liyvhang@163.com

通讯作者: 薛 明(1962~), 男(汉族), 江苏南京人, 教授, 主要从事药物代谢与新药研究。E-mail: xuem@cpums.edu.cn

制^[7];可抑制骨吸收,增加骨密度^[8];可以保护糖尿病患者的肾小球结构和肾功能^[9];可以调节免疫力,抑制癌细胞^[10]。因此,葛根素是目前治疗心脑血管疾病的新药。目前对葛根素的研究多在药理活性与临床应用方面,但对葛根素的质谱解析和解析途径尚未见报道。为了探讨葛根素的结构及其裂解途径,本研究拟采取电喷雾电离质谱技术,并借助 Mass Frontier 质谱解析软件对葛根素进行质谱研究,完整地归属其主要特征碎片离子,分析讨论该化合物的结构和质谱裂解特征。

1 实验部分

1.1 仪器与装置

Finnigan DECA XP MAX 质谱仪:美国菲尼根公司产品,配置有 ESI 源,离子阱质量分离器,Tune Plus 工作软件,Mass Frontier 3.0 解析软件。

1.2 材料与试剂

葛根素:购自中国药品生物制品检定所;甲醇:色谱级,购自美国 Fisher 公司。葛根素化学结构示于图 1。

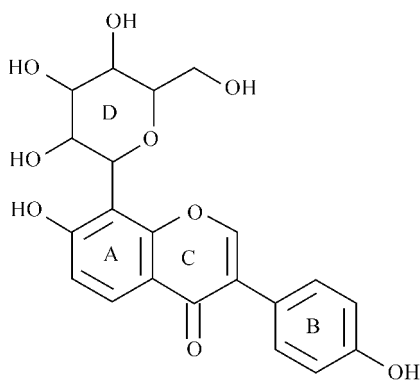


图 1 葛根素的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of puerarin

1.3 质谱条件

ESI 离子源;喷雾电压 5 kV;毛细管电压 5 V;离子传输管温度 350 °C;电子倍增管电压 800 V;鞘气(氦气)流速 68.9 kDa;流动注射泵进样流速 10 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$;MS/MS 二级质谱扫描,扫描范围 m/z 150~420,正离子扫描方式。

2 结果与讨论

图 2A 是葛根素在 28% 的能量下所形成的

碎片, m/z 417 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 是其准分子离子峰, m/z 399.01、381.04、363.06、351.08、321.22、297.21、267.19 和 255.14 是其裂解产生的碎片。为了探讨其裂解途径,对碎片 m/z 399、381、363 和 351 分别进行了 MS³ 轰击; m/z 399 在 25% 的能量轰击下产生碎片 m/z 381.01、363.10、351.03、321.13 和 279.08; m/z 381 在 28% 的能量轰击下产生碎片 m/z 362.99、350.95、335.00、306.96 和 267.09; m/z 363 在 28% 的能量轰击下产生碎片 m/z 355.04、294.77 和 279.10; m/z 351 在 28% 的能量轰击下产生碎片 m/z 307.33、267.07 和 255.13。由这些碎片可以看出,准分子离子 m/z 417 裂解成碎片 m/z 399;碎片 m/z 399 又可裂解成碎片 m/z 381;碎片 m/z 381 又裂解成碎片 m/z 363 和 m/z 351。对准分子离子 m/z 417 进行 MS⁴: 417→399→381, MS⁵: 417→399→381→363, MS⁵: 417→399→381→351 轰击扫描证明此推断的正确性。各碎片的 MSⁿ 质谱图示于图 2,葛根素裂解结构树示于图 3,葛根素裂解途径示于图 4。

由裂解途径可以看出,葛根素丢失一分子 H₂O 生成最主要的特征碎片 m/z 399,该碎片再丢失一分子 H₂O 生成碎片 m/z 381,碎片 m/z 297 由碎片 m/z 399 丢失 102 (C₄H₆O₃) 形成, m/z 297 又进一步丢失一分子 H₂O 裂解成碎片 m/z 279。碎片 m/z 381 分别丢失一分子 H₂O 和 CH₂O 碎裂成其两个主要碎片 m/z 363 和 m/z 351,另外一个碎片 m/z 321 由碎片 m/z 381 丢失 60 (C₂H₄O₂) 形成。碎片 m/z 363 丢失中性碎片 CO 裂解成碎片 m/z 335,碎片 m/z 363 又可丢失 68 (C₄H₄O) 形成碎片 m/z 295。碎片 m/z 351 裂解成 3 个碎片 m/z 307、267 和 255,分别是通过丢失—C₂H₄O、—C₄H₄O₂ 和整个 D 环(糖苷)形成的。该裂解途径与葛根素裂解结构树相一致,所有的碎片离子峰均得到了圆满的解释。葛根素主要是 D 环-糖苷发生裂解,这与异黄酮糖苷类结构特征相一致^[11-12],A、B 和 C 环之间形成很稳定的共轭,不易断裂。借助 Mass Frontier 所解析的裂解过程与 ESI-MS 谱图数据核对,结果完全吻合。葛根素的 ESI-MS 裂解特征是:出现碎片 m/z 399、381、363、351、335、321 以及碎片 m/z 399 裂解成碎片 m/z 381,碎片 m/z 381 又裂解成碎片 m/z 363 和 351。

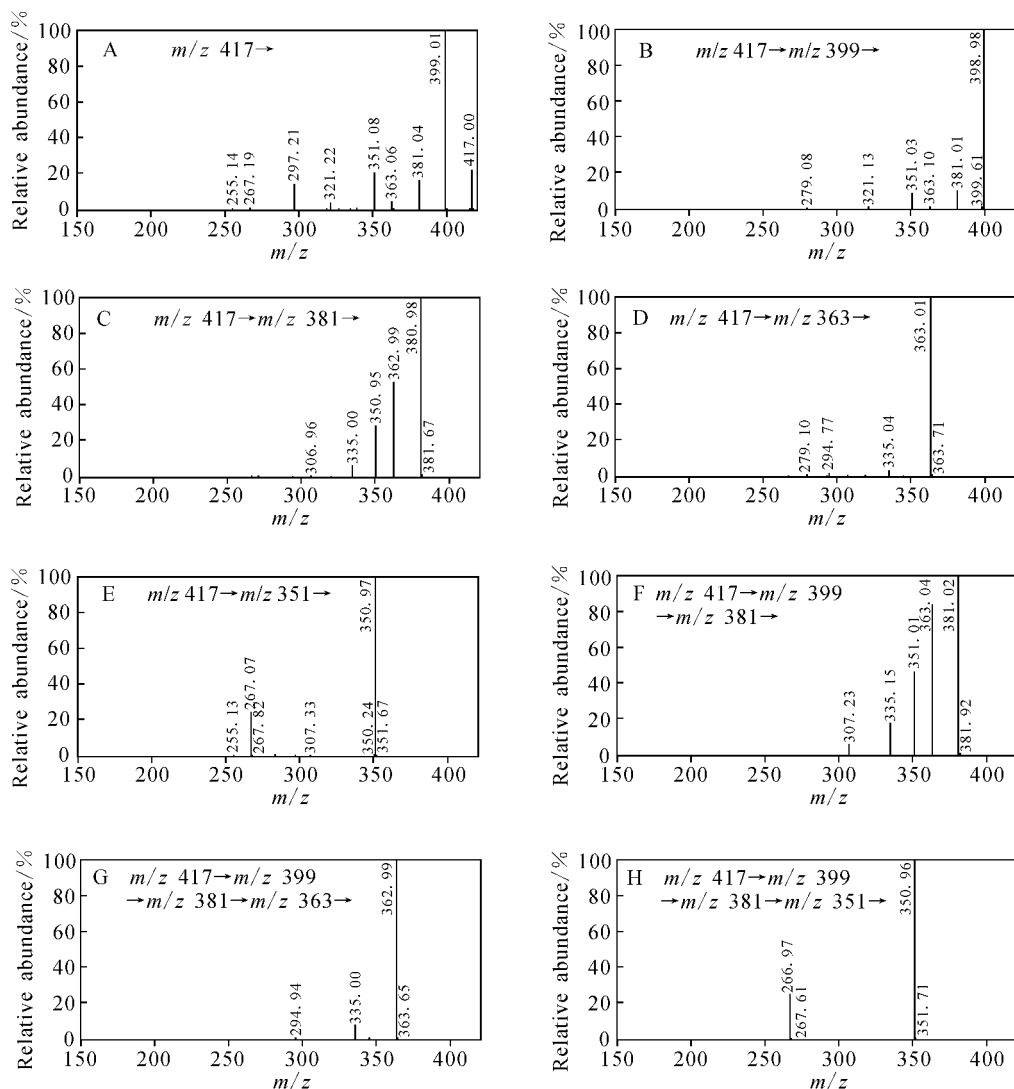


图 2 A— m/z 417 离子的 MS^2 质谱图; B— m/z 417 $\rightarrow m/z$ 399 离子的 MS^3 质谱图;

C— m/z 417 $\rightarrow m/z$ 381 离子的 MS^3 质谱图; D— m/z 417 $\rightarrow m/z$ 363 离子的 MS^3 质谱图;

E— m/z 417 $\rightarrow m/z$ 351 离子的 MS^3 质谱图; F— m/z 417 $\rightarrow m/z$ 399 $\rightarrow m/z$ 381 离子的 MS^4 质谱图;

G— m/z 417 $\rightarrow m/z$ 399 $\rightarrow m/z$ 381 $\rightarrow m/z$ 363 离子的 MS^5 质谱图;

H— m/z 417 $\rightarrow m/z$ 399 $\rightarrow m/z$ 381 $\rightarrow m/z$ 351 离子的 MS^5 质谱图

Fig. 2 A— MS^2 spectrum of $[M+H]^+$ m/z 417; B— MS^3 spectrum of m/z 417 $\rightarrow m/z$ 399;

C— MS^3 spectrum of m/z 417 $\rightarrow m/z$ 381; D— MS^3 spectrum of m/z 417 $\rightarrow m/z$ 363;

E— MS^3 spectrum of m/z 417 $\rightarrow m/z$ 351; F— MS^4 spectrum of m/z 417 $\rightarrow m/z$ 399 $\rightarrow m/z$ 381;

G— MS^5 spectrum of m/z 417 $\rightarrow m/z$ 399 $\rightarrow m/z$ 381 $\rightarrow m/z$ 363;

H— MS^5 spectrum of m/z 417 $\rightarrow m/z$ 399 $\rightarrow m/z$ 381 $\rightarrow m/z$ 351

3 结 论

通过使用电喷雾电离质谱技术对葛根素的结构和质谱裂解机制进行研究,并完整地分析了其主要的特征碎片离子和该化合物的裂解途径及相应的 ESI-MS 图谱特征。葛根素由于其结

构的特征,主要通过 D 环的碎裂而发生裂解,出现碎片 m/z 399、381、363、351、335、321 以及碎片 m/z 399 裂解成碎片 m/z 381,碎片 m/z 381 又裂解成碎片 m/z 363 和 351 为 ESI-MS 裂解特征。ESI 可以提供相对稳定的骨架离子碎片,为今后对葛根素的 LC-MS 定量研究提供依据。

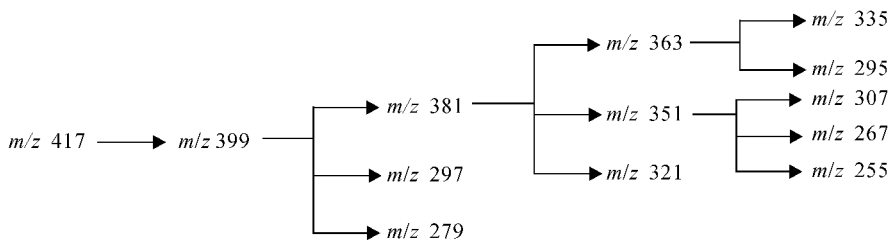


图 3 m/z 417 离子裂解结构树

Fig. 3 The fragment tree of m/z 417

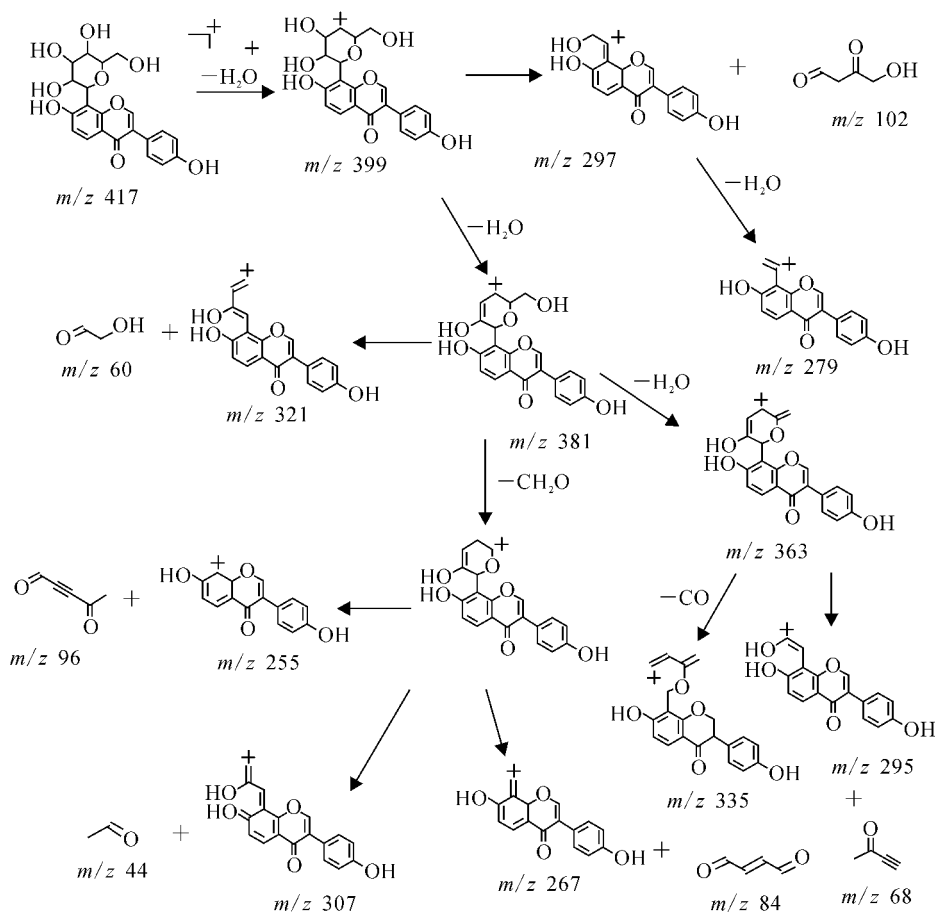


图 4 葛根素的裂解途径

Fig. 4 ESI-MS fragment mechanism of puerarin

对葛根素的结构以及裂解途径的解析为进一步研究葛根类化合物的代谢与结构修饰提供了参考依据。

参考文献:

[1] 孙文基, 绳金房. 天然活性成分简明手册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998, 472.

[2] 张爱萍, 曹伟建, 余世春, 等. 复方葛根注射液对

血液流变学及血小板聚集功能的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2004, 39(4): 273-275.

[3] 叶江枫, 杜志强, 赵中苏, 等. 葛根素对兔肺心病模型肺动脉高压的影响[J]. 中国中医药科技, 2001, 8(5): 312.

[4] 谢瑞芹, 都 军, 郝玉明, 等. 葛根素注射液对冠心病患者缺血再灌注心肌保护作用及机制[J]. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(12): 895-897.

- [5] 潘 燕,徐红岩,张岫美. 羟乙葛根素对 β 肾上腺素受体的阻断作用[J]. 中国生化药物杂志, 2006, 27(3): 145-147.
- [6] 金笑平,胡大平,陈赛贞,等. 葛根素对急性脑梗死血清一氧化氮、丙二醛、超氧化物歧化酶的作用研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8(5): 309-310.
- [7] 郭 丽. 葛根醇提取物及总黄酮对动物学习记忆功能的影响[J]. 中华药理与临床, 1990, 6(6): 18.
- [8] 李灵芝,刘启兵,姜孟臣,等. 葛根素对体外破骨细胞性骨吸收的影响[J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(20): 1 830-1 833.
- [9] 刘淑霞,陈志强,何 宁,等. 葛根素对糖尿病大鼠肾功能及肾组织 MMP-10 与 TIMP-1 表达的影响[J]. 中草药, 2004, 35(2): 170-174.
- [10] 杜德极,叶玉兰,冉长清,等. 葛根主要成分的体外癌细胞毒活性[J]. 癌症, 1997, 16(3): 165-167.
- [11] 肖军霞,张声华. 大豆皂苷的高效液相色谱-电喷雾串联质谱研究[J]. 中药材, 2006, 29(3): 229-232.
- [12] 肖军霞,彭光华,朱彩平,等. 高效液相色谱-电喷雾负离子串联质谱分析大豆皂苷[J]. 食品科学, 2005, 26(4): 218-221.

欢迎订阅 2008 年《药学报》

《药学报》(CN: 11-2163/R, ISSN: 0513-4870)是由中国药学会主办、中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所承办、国内外公开发行的药学综合性学术期刊。辟有栏目:述评和综述、研究论文、研究简报、学术动态。本刊自 1953 年创刊以来,一直报道药学领域原始性、创新性科研成果,旨在促进国内外学术交流。刊登论文内容包括药理学、合成药物化学、天然药物化学、药物分析学、药剂学、生药学等。

《药学报》为我国自然科学核心期刊,据中国科学引文数据库的统计数据,在中国科技核心期刊排行表中,《药学报》名列前茅,在药学类期刊中居首位;本刊已被世界主要检索系统收录,为我国药学界高水平的学术刊物,在国际上享有一定知名度。本刊 1999 年荣获首届“国家期刊奖”,2001 年入选中国期刊方阵“双高”(高知名度、高学术水平)期刊;2002 年被评为第二届“国家期刊奖百种重点科技期刊”,并荣获第三届“中国科技优秀期刊奖”二等奖;2002~2005 年连续 5 届荣获“百种中国杰出学术期刊”称号。

本刊为 112 页,月刊,大 16 开本。每期定价 15 元,全年定价 180 元。国内邮发代码:2-233,国外代码:M105。欢迎广大作者踊跃投稿,欢迎广大读者订阅。可采用的订阅方式如下:

• 通过当地邮局;

• 通过 E-mail (yxxb@imm. ac. cn)或从网上(www. yxxb. com. cn)下载订阅单,填好后寄至编辑部;

• 通过本刊编辑部,联系人:李淑芬、张晓晔

电话:86-10-63165208,传真:86-10-63026192

编辑部地址:北京市先农坛街 1 号《药学报》编辑部

邮编:100050