

槲皮素的电喷雾离子阱质谱分析

李宇航, 戴海学, 汪明明, 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:应用电喷雾离子阱正负离子扫描技术对槲皮素的结构和质谱裂解规律进行比较研究, 并采用 Mass Frontier 3.0 软件辅助解析正离子扫描条件下槲皮素的主要特征碎片离子及其裂解规律。槲皮素正离子扫描的 ESI-MS 裂解特征是出现碎片 m/z 287、285、275、267、257 及 229, 碎片 m/z 285 和 275 可继续裂解成碎片 m/z 257、229。碎片 m/z 283、273、257、245 和 229 的形成及碎片 m/z 283、273 裂解成碎片 m/z 255 是槲皮素负离子扫描的 ESI-MS 裂解特征。槲皮素的正负离子扫描质谱裂解规律基本相似, 但负离子提供的碎片信息较少。本研究为进一步探求该化合物的体内代谢转化, 结构优化和修饰提供了有价值的依据。

关键词:槲皮素; 电喷雾电离质谱 (ESI-MS); 结构分析

中图分类号: O 657.63; O 622.5; R 969 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2009)06-0374-05

Elucidation of Quercetin by Electron Spray Ionization Mass Spectrometry

LI Yu-hang, DAI Hai-xue, WANG Ming-ming,

LI Xiao-rong, WANG Li-juan, XUE Ming

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

Abstract: Positive and negative electron spray ionization mass spectrometry (ESI-MS) was used to analyse the chemical structure and MS/MS fragmentation pathway of quercetin. The positive ESI-MS characteristic ions and fragmentation mechanism of quercetin were elucidated and explained by the program of Mass Frontier 3.0. Fragment ions m/z 287, 285, 275, 267, 257 and 229 are existed at the positive ion mode, and the fragment m/z 285 and 275 are further fragmented to form m/z 257 and 229. These ions are the fragmentation characteristics of quercetin in the positive ESI-MS. Fragment ions m/z 283, 273, 257, 245, 229 are the fragmentation characteristics in negative ESI-MS, and the fragment m/z 255 is formed by m/z 283 or m/z 273. The fragmentation pathway in positive and negative ESI-MS is similar, but the negative ESI-MS mode provides less fragment ions. These results provide the very important information for the drug metabolic research and the structural modification of quercetin.

Key words: quercetin; electron spray ionization mass spectrometry (ESI-MS); structural elucidation

收稿日期: 2009-07-17; 修回日期: 2009-10-12

基金项目: 国家自然科学基金 (30472057), 北京市自然科学基金 (7052007) 暨北京市属高等学校人才强教计划资助项目 (PHR2001007111)

作者简介: 李宇航 (1961~), 男 (汉族), 山东莱西人, 讲师, 从事神经药理学研究。E-mail: liyvhang@163.com

通信作者: 薛明 (1962~), 男 (汉族), 江苏南京人, 教授, 从事药物代谢与新药研究。E-mail: xuem@ccmu.edu.cn

槲皮素(querctetin, 3, 3', 4', 5, 7-五羟基黄酮)及其衍生物是植物界分布最广的黄酮类化合物之一,其广泛存在于植物的花、叶、果实中,也是人类饮食中摄入的主要生物类黄酮。由于其具有明显的抗氧化^[1]、抗炎^[2]、降血压^[3]、抗血小板聚集^[4]、抗癌变^[5]、抗衰老^[6]、抗突变^[7]和抗动脉粥样硬化以及心脑血管保护^[8]等药理活性,近年来受到国内外医药工作者的广泛关注。临床主要用于治疗慢性支气管炎^[9],对冠心病及高血压患者也有明显的辅助治疗作用。由于槲皮素的水溶性较低,故导入亲水性基团以增加其溶解性,便于吸收,从而增强其药理作用。目前,已有一些有关槲皮素药物代谢动力学的研究报道^[10-11],但对槲皮素及其衍生物的质谱尤其是采用电喷雾离子阱质谱解析其裂解途径尚未见报道。为了探讨槲皮素的结构及其裂解途径,本工作采用电喷雾离子阱质谱技术,借助 Mass Frontier 3.0 质谱解析软件对槲皮素进行质谱研究,并归属其主要特征碎片离子,分析讨论该化合物的结构及其质谱特征,为进一步研究槲皮素及其衍生物的药物代谢与结构修饰提供了信息。

1 材料与方法

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

槲皮素:购自中国药品生物制品检定所。甲醇(色谱级):美国 Fisher 公司产品。槲皮素的化学结构式示于图 1。

1.3 质谱条件

正离子扫描方式: ESI 源鞘气为氮气(6.90×10^4 Pa),喷雾电压 5.6 kV,毛细管电压 17 V,扫描范围 m/z 150~305。

负离子扫描方式: ESI 源鞘气为氮气(1.38×10^5 Pa),喷雾电压 4.0 kV,毛细管电压 -28 V,扫描范围 m/z 180~305。

离子传输管温度 350 °C,电子倍增管电压 800 V,流动注射泵进样流速 $10 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

2 结果与讨论

正离子条件下槲皮素的 ESI-MS² 质谱图示于图 2a。在电喷雾二级正离子质谱图中,槲皮素出现准分子离子峰 $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 303.05,正

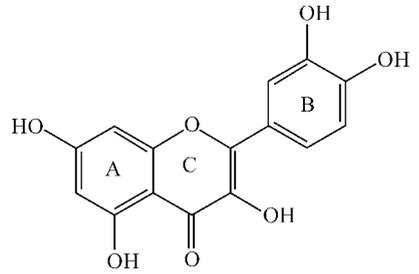


图 1 槲皮素的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of quercetin

是槲皮素(相对分子质量 302.24)在正离子扫描条件下质子化。 m/z 303 在 40% 能量轰击下产生系列碎片 m/z 287.20, 285.07, 275.02, 273.93, 257.04, 246.98, 229.85, 229.09, 219.02, 201.20, 166.00 和 165.00。为了探讨槲皮素的电喷雾质谱碎裂规律,对准分子离子进行多级串联质谱研究。首先选择 m/z 285 离子,该离子在 40% 能量轰击下产生碎片 m/z 267.35, 257.01, 229.12 和 213.22,示于图 2b。其次选择碎片 m/z 275,在 38% 能量轰击下,该碎片又裂解成碎片 m/z 257.49, 267.35, 257.01, 246.92, 229.07 和 213.22,示于图 2c。碎片 m/z 257 在 40% 能量下又可碎裂成碎片 m/z 229 和 201。碎片 m/z 247 在 38% 的能量下可碎裂成 m/z 229 及 219。碎片 m/z 285 和 275 产生的碎片大部分相吻合,说明槲皮素裂解成这两个碎片的机制虽然不同,但两个碎片在进一步的裂解过程中又殊途同归。槲皮素的裂解结构树示于图 3。

负离子条件下槲皮素的 ESI-MS² 质谱图示于图 4。在电喷雾二级正离子质谱图中,槲皮素出现准分子离子峰 $[\text{M}-\text{H}]^-$ m/z 301.2,正是槲皮素在负离子扫描条件下负离子化。 m/z 301 在 40% 能量轰击下产生系列碎片 m/z 283, 274, 273, 257, 245, 239 和 229 等。碎片 m/z 283 在 35% 的能量下只产生碎片 m/z 255。碎片 m/z 273 在 35% 能量下产生碎片 m/z 255, 245, 231, 229, 205 和 201。由此可知,碎片 m/z 255 可由碎片 m/z 283 和 273 产生。因此,在负离子条件下,槲皮素的裂解特征与正离子条件下并无太大差异。槲皮素的裂解途径示于图 5。

由于在负离子条件下提供的碎片信息较少,因此选择正离子条件下 ESI-MS 裂解规律对其裂解途径进行解释。槲皮素裂解主要有两种途径,一种是槲皮素丢失 C 环羰基形成碎片 m/z

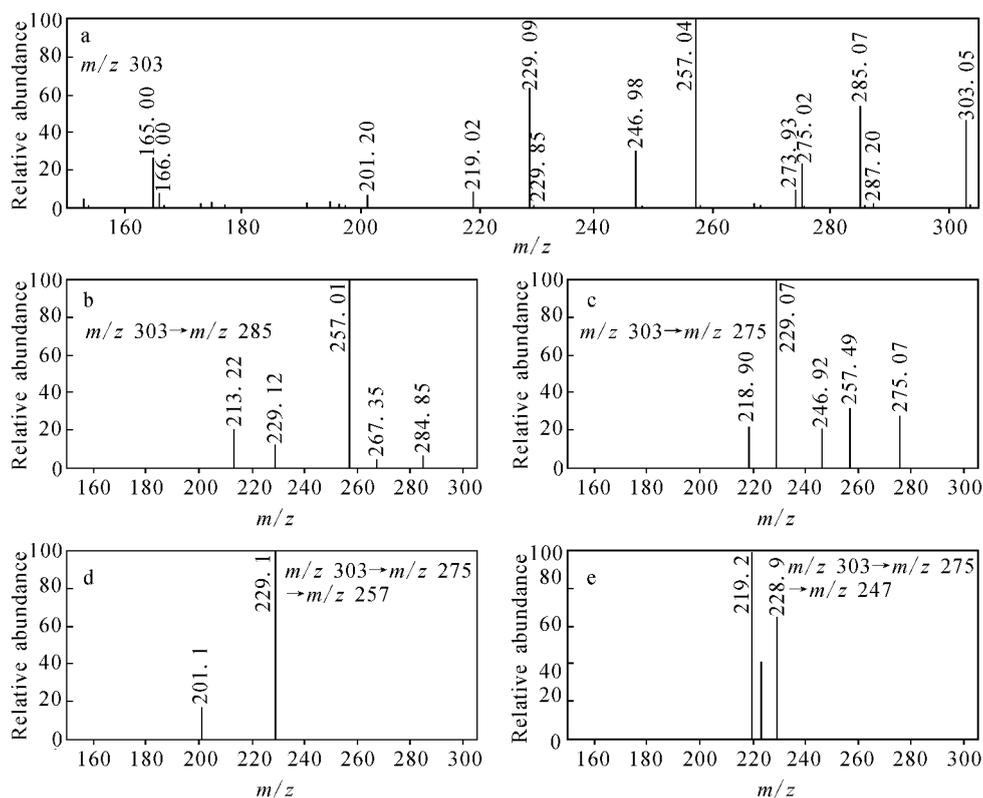


图 2 a. m/z 303 正离子的二级质谱图; b. m/z 303 \rightarrow m/z 285 离子的三级质谱图;
c. m/z 303 \rightarrow m/z 275 离子的三级质谱图; d. m/z 303 \rightarrow m/z 275 \rightarrow m/z 257 离子的四级质谱图;
e. m/z 303 \rightarrow m/z 275 \rightarrow m/z 247 离子的四级质谱图

Fig. 2 a. MS^2 spectrum of $[M+H]^+$ ion (m/z 303); b. MS^3 spectrum of m/z 303 \rightarrow m/z 285;
c. MS^3 spectrum of m/z 303 \rightarrow m/z 275; d. MS^4 spectrum of m/z 303 \rightarrow m/z 275 \rightarrow m/z 257;
e. MS^4 spectrum of m/z 303 \rightarrow m/z 275 \rightarrow m/z 247

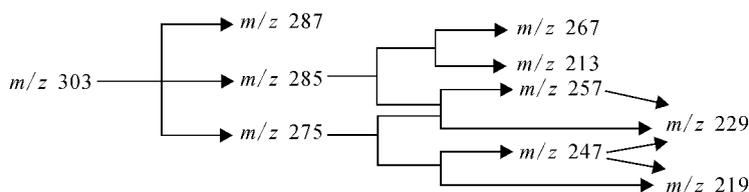


图 3 m/z 303 ESI-MS 裂解碎片结构树

Fig. 3 The ESI-MS fragments tree of m/z 303

275, 该碎片经过重排并丢失 CO 形成碎片 m/z 247; m/z 275 又可丢失一分子 H_2O 形成碎片 m/z 257; 碎片 m/z 257 经过重排并丢失 CO 形成碎片 m/z 229, 此碎片又可由碎片 m/z 247 丢失一分子 H_2O 获得; 碎片 m/z 213 由碎片 m/z 229 丢失 O 形成; 碎片 m/z 247 重排后丢失 B 环 CO 形成碎片 m/z 219, 此碎片继续丢失一分子 H_2O 形成碎片 m/z 201; 而碎片 m/z 165 是由碎片 m/z 275 断开 B 环与 C 环之间的单键形成。另一种是槲皮素丢失 A 环一分子 H_2O 形成碎片 m/z 285, 此碎片继续丢失一分子 H_2O 形成

碎片 m/z 267; 碎片 m/z 285 从 C 环丢失 1 个 CO 形成碎片 m/z 257; 碎片 m/z 257 形成碎片 m/z 229 和 213 的机制与第一种途径类似。从裂解途径可知, 槲皮素主要通过丢失中性碎片 CO 和 H_2O 而发生裂解。此裂解途径与槲皮素裂解碎片结构树大部分一致。

经过解析, 槲皮素在正离子扫描下的 ESI-MS 谱图中所出现的主要碎片离子峰都与其结构式中的主要骨架断相吻合, 所有重要的碎片都得到了满意的解释, 清楚地阐明了槲皮素的电喷雾电离质谱裂解途径。

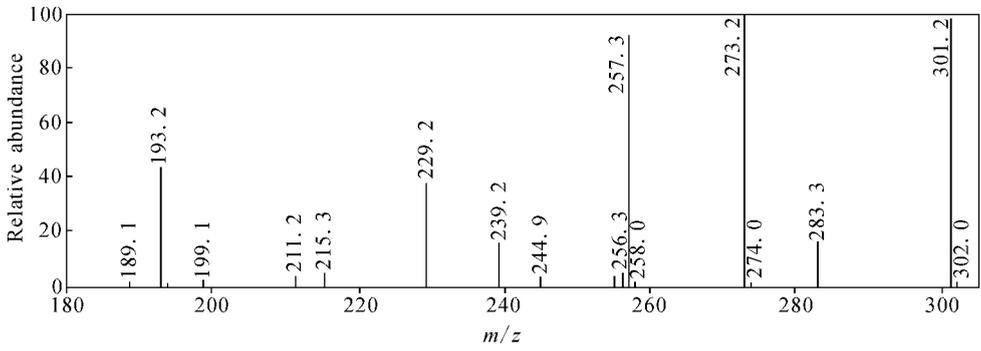


图 4 m/z 301 负离子的二级质谱图

Fig. 4 MS² spectrum of $[M-H]^-$ ion (m/z 301)

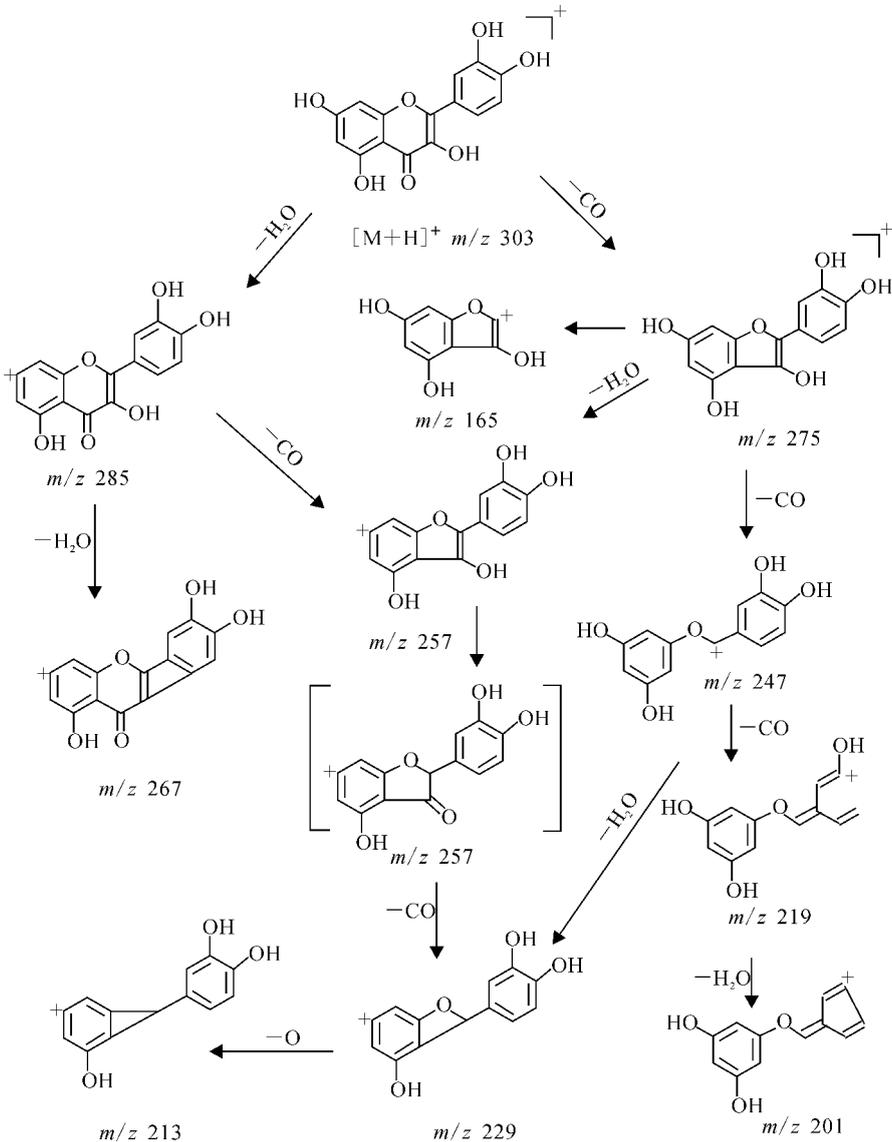


图 5 槲皮素的裂解途径

Fig. 5 Fragmentation pathways of quercetin

3 结 论

采用电喷雾离子阱质谱技术并分别用正、负离子扫描模式研究了槲皮素的结构及其裂解规律,完整地归属了在正离子条件下槲皮素的主要特征碎片离子和该化合物的裂解途径及其相应的 ESI-MS 特征。ESI 作为一种软电离方式,以多级 MS 分析槲皮素的正负离子扫描质谱裂解规律,其基本裂解途径相似,但负离子提供的碎片信息较少。本研究为槲皮素及其衍生物的结构修饰与代谢反应的研究提供了极有价值的信息。

参考文献:

- [1] 张 军,滑 艳,王玉平,等.洋芹素、槲皮素和槲皮万寿菊素衍生物体外抗氧化作用研究[J]. 中药药理与临床, 2003, 19(4):12-13.
- [2] 宋传旺,刘佳佳,段承刚,等.槲皮素对 LPS 延迟中性粒细胞自发性凋亡效应的抑制作用[J]. 中国免疫学杂志, 2005, 21(1):13-16.
- [3] 王昌明,张珍祥.槲皮素对肺动脉平滑肌细胞增殖及大鼠低氧性肺动脉高压的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 1999, 21(2): 103-105.
- [4] 梁中琴,朱 益,顾振纶,等.槲皮素抑制血小板-

内皮细胞粘附及粘附分子表达[J]. 药学学报, 2003, 38(8):574-577.

- [5] RODGERS E H. The effect of the flavonoids quercetin, myricetin and epicatechin on the growth and enzyme activities of MCF 7 human breast cancer cells[J]. Chem Biol Interact, 1998, 116 (3): 213-228.
- [6] 程 超,陆 军,郑元林,等.槲皮素对衰老小鼠学习记忆行为的影响[J]. 中国老年学杂志, 2004, 24(11):1 057-1 059.
- [7] 苑辉卿,杨玲玲,姜安丽,等.槲皮素对前列腺癌细胞增殖及转录因子 Sp1 功能的抑制作用[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2005, 21(5): 673-678.
- [8] 李云峰,郭长江.类黄酮物质抗动脉粥样硬化作用研究进展[J]. 疾病控制杂志, 2003, 7(3): 239-242.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:化学工业出版社, 2000:296-297.
- [10] 裴利宽,郭宝林.黄酮类化合物吸收和代谢研究进展[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(8):568-573.
- [11] 李云峰,郭长江.槲皮素代谢的研究进展[J]. 生理科学进展, 2002, 33(1):53-55.

=====
(上接第 368 页)

参考文献:

- [1] 陆昌伟,奚同庚.热分析质谱法[M]. 上海:上海科学技术文献出版社, 2002.
- [2] 李 震,刘泽常,赵 莹,等.煤与混合废塑料共热解固体产物中氯的赋存形态及在燃烧时的释放特性[J]. 燃料化学学报, 2006, 34(6): 660-664.
- [3] 张敏华,李春华,姜浩锡.热重质谱法研究聚苯乙烯热降解机理[J]. 化工进展, 2008, 27(4): 609-612.
- [4] 林 鹏,罗永浩,虞亚辉,等.生物质燃烧的气体产物及动力学分析[J]. 可再生能源, 2008, 26(1): 35-39.
- [5] 董林茂,李晓东,杨荣杰. HNIW 的热重-质谱

(TG-MS) 研究[J]. 含能材料, 2007, 15(6): 660-663.

- [6] DAVIS D L, NIELSEN M T. 烟草—生产、化学和技术[M]. 北京:化学工业出版社, 2003.
- [7] 左 健. 卷烟纸用填料和添加剂的研究[J]. 西南造纸, 2002, 31(1): 4-10.
- [8] HATAKEYAMA T, QUINN F X. Thermal analysis fundamentals and applications to polymer science[M]. 2nd ed. Chichester: John Wiley & Sons, 1999.
- [9] 孟令芝,龚淑玲,何永炳.有机波谱分析[M]. 武昌:武汉大学出版社, 2003.