

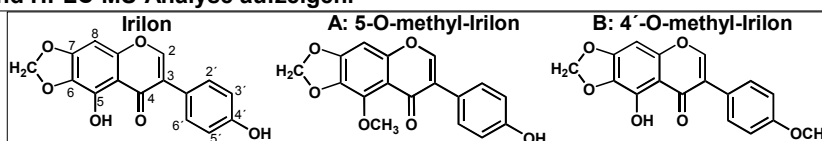
Strukturanalyse von Isoflavonderivaten mittels gekoppelter Massenspektrometrie

¹Maul, R., Hamburg, ²Schebb, N. H., Münster, ³Kulling, S.E., Potsdam

¹Universität Hamburg, Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie; ²Universität Münster, Institut für anorganische und analytische Chemie; ³Universität Potsdam, Lehrstuhl für Lebensmittelchemie

In Pflanzen der Gattungen *Iris* und *Trifolium* kommen unterschiedliche Isoflavone (IF) vor. Toxikologisch interessant erscheinen dabei vor allem IF mit einem Methylendioxy-Strukturelement. Beispiele sind Irilon (5,4'-Dihydroxy-6,7-methylendioxyisoflavin) und Derivate, deren Hydroxyfunktion in 5- oder 4'-Position methyliert vorliegt. Gerade über das Vorkommen dieser O-Methyl-derivate ist wenig bekannt, und in der Literatur finden sich teils widersprüchliche Angaben zur genauen Struktur.

Am Beispiel dieser Substanzen möchten wir Möglichkeiten zur einfachen Gewinnung von Strukturinformationen mittels gekoppelter GC-MS und HPLC-MS-Analyse aufzeigen.



GC-MS-Analyse

Eine geeignete Derivatisierungsmethode von IF zur GC-MS-Analyse ist die Trimethylsilylierung (TMS). In der massenspektrometrischen Analyse mittels Elektronenstoßionisation (70 eV) zeigen alle IF – wie auch alle anderen Flavonoide – die in 5-Position eine freie Hydroxygruppe tragen, intensive $[M-15]^+$ -Ionen. $[M]^+$ -Ionen des intakten Moleküls können hier, wie bei allen anderen betrachteten analogen IF nicht gefunden werden. Diese werden nur für Flavonoide gefunden, die in Position 5 nicht hydroxyliert sind.

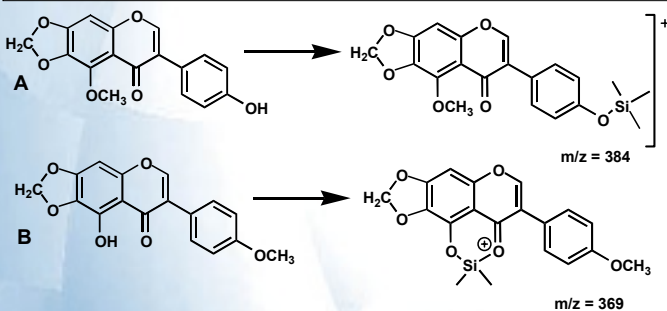


Abb. 1: GC-MS Molekülonen der methylierten Irilonderivate nach Silylierung.

Die Entstehung des $[M-15]^+$ Ions ist auf die Abspaltung eines CH_3 -Radikals aus dem TMS-Ether in Position 5 unter Bildung eines mesomeriestabilisierten cyclischen Siloxans zurückzuführen (Abb. 1). Diese Reaktion ist charakteristisch für aromatische TMS-Ether in β -Position zu Carbonylgruppen [1].

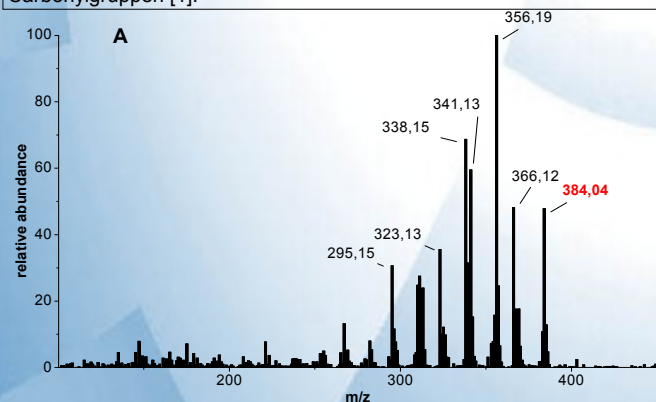


Abb. 2: GC-MS fullscan Spektrum des methylierten Irilonderivates A

Das GC-Massenspektrum zeigt das intakte Molekülion mit $m/z = 384$. Folglich ist anzunehmen, dass es sich hierbei um Verbindung A handelt.

HPLC-MS-Analyse

Bei der HPLC-ESI(+)-MS Analyse von IF, die Methoxygruppen besitzen, bilden sich zunächst durch Abspaltung eines Methylradikals wenig charakteristische Fragmente der Masse $[M+H-15]^+$. Weitergehende Strukturinformationen sind erst aus einem Tandem-Massenspektrum dieses Fragmentes zu erhalten. Dieses zerfällt in der zweiten Fragmentierung in einer für IF charakteristischen Retro-Diels-Alder (RDA)-Fragmentierung [2].

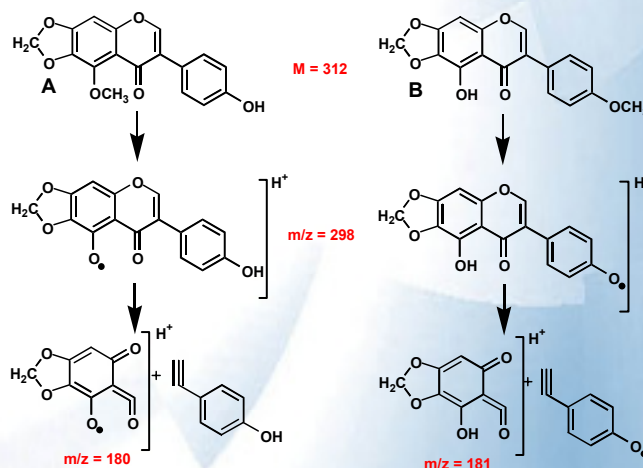


Abb. 3: Fragmentierungsreaktionen zweier Irilonderivate im HPLC-MS/MS

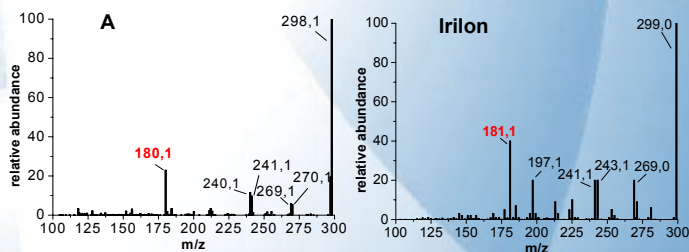


Abb. 4: HPLC-MS/MS Spektren von A) methyliertem Irilon und B) Irilon

Das HPLC-MS/MS Spektrum des unbekannten methylierten Irilonderivates zeigt das Fragment mit $m/z = 180$ (Abb. 4 A) während Irilon im Vergleichsexperiment das Fragment mit $m/z = 181$ aufweist. Es lässt sich entsprechend dem Fragmentierungsschema (Abb. 3) ableiten, dass bei der fraglichen Verbindung eine homolytische Abspaltung einer Methylgruppe im linken Molekülteil vorausgegangen ist.

Basierend auf gekoppelter Massenspektrometrie lassen sich sowohl mittels HPLC-MS sowie auch GC-MS Hinweise auf das Substitutionsmuster mit Hydroxy- und Methoxygruppen von Isoflavonen erhalten. Somit liefern diese Methoden bereits in Konzentrationsbereichen wichtige Strukturinformationen, die für andere Methoden wie z.B. NMR zu niedrig sind. Der kombinierte Einsatz von GC-MS und HPLC-MS lässt das richtige Ableiten von der Molekülstruktur mit hoher Wahrscheinlichkeit zu. Eine analoge Vorgehensweise ist auf eine Vielzahl von Naturstoffen mit analogen Strukturelementen anwendbar.