

Strukturanalyse von Isoflavonderivaten mittels gekoppelter Massenspektrometrie

Maul, R., Hamburg/D, Schebb, N. H., Münster/D, Kulling, S.E., Potsdam/D

Prof. Dr. Sabine E. Kulling, Universität Potsdam, Lehrstuhl für Lebensmittelchemie

In Pflanzen der Gattungen *Iris* und *Trifolium* kommen unterschiedlichste Isoflavone (IF) vor. Toxikologisch interessant erscheinen dabei vor allem IF mit einem Methylendioxy-Strukturelement. Beispiele sind Irilon (5,4'-Dihydroxy-6,7-methoxyisoflavon) und Derivate, deren Hydroxyfunktion in 5- oder 4'-Position methyliert vorliegt. Hinsichtlich des Vorkommens und der genauen Struktur dieser Verbindungen gibt es in der Literatur widersprüchliche Angaben. Am Beispiel dieser Substanzen möchten wir Möglichkeiten zur einfachen Gewinnung von Strukturinformationen mittels gekoppelter Massenspektrometrie aufzeigen.

Eine geeignete Derivatisierungsmethode von IF zur GC-MS-Analyse ist die Trimethylsilylierung (TMS). Dabei 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.

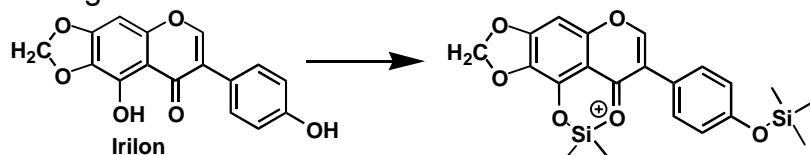


Abb.1: Silylierung von Irilon unter Bildung eines stabilisierten Sechsrings

Die Entstehung des $[M-15]^+$ Fragments 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]. Im Falle des betrachteten Irilonderivates aus *Iris germanica* mit unbekannter Position der Methylierung erhielten wir Spektren die das intakte Molekölion der Masse mit $m/z=384$ als Hauption aufwiesen. Dies ist ein klarer Hinweis auf eine Methylierung des Irilons in 5-Position, da dann keine Silylierung an dieser Stelle stattfinden kann.

Bei HPLC-ESI(+)-MS Analyse von IF, die Methoxygruppen besitzen, bilden sich zunächst durch Abspaltung eines Methylradikals wenig charakteristische Fragmente der Masse $[M+H-15]$. Relevante Strukturinformationen sind erst aus einem Tandem-Massenspektrum dieses Fragmentes zu gewinnen. Dieses zerfällt in der zweiten Fragmentierung in einer für IF charakteristischen Retro-Diels-Alder (RDA)-Fragmentierung [2]. LC-MS/MS Untersuchungen des Tochterions mit $m/z=298$ zeigten eindeutig Fragmente der Masse $m/z=180$, so dass die vorangegangene Methylabspaltung im A-Ring stattgefunden haben muss (Abb.2).

Beide auf der Massenspektrometrie basierenden Methoden ergeben damit starke Hinweise auf dasselbe Ausgangsmolekül. Eine analoge Vorgehensweise ist auf eine Vielzahl an Naturstoffen mit analogen Strukturelementen anwendbar.

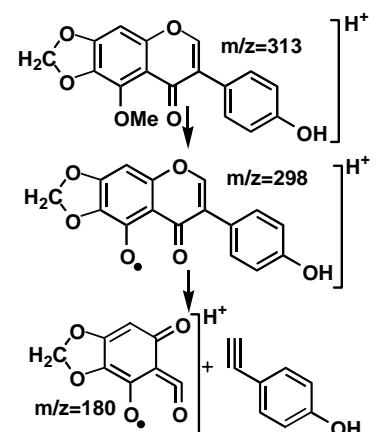


Abb.2: LC-MS/MS Analyse von IF: RDA-Fragmentierung

[1] Smith, Djerassi Org. Mass Spec. 1971, 5(5), 505-23; [2] Kulling et al. J. Agric. Food Chem. 2000, 48, 4963-4972