

(三) 黄酮类化合物O-糖苷中糖的连接位置

1. 糖的苷化位移及端基碳的信号

- 酚性苷中，糖上端基碳的苷化位移约为+4.0~+6.0。
- 黄酮苷类化合物当苷化位置在苷元的7或2'、3'、4'时，糖的C-1信号将位于约 δ 100.0~102.5范围内。
- 5-O-葡萄糖苷及7-O-鼠李糖苷相应的C-1信号分别出现 δ 104.3及99.0处。

- 黄酮类双糖苷或低聚糖苷的 ^{13}C -NMR中，糖的端基碳信号出现在 $\delta 98.0\sim 109.0$ 区域内，常与C-6，C-8，C-3及C-10混在一起而不易区别。可采用HMQC (^1H -detected heteronuclear multiple-quantum coherence)等二维核磁共振技术鉴别。

2. 苷元的苷化位移

- 苷元苷化后与糖直接相连碳原子向高场位移，其邻位及对位碳原子则向低场位移，且对位碳原子的位移幅度大而且恒定。
- C-5-OH糖苷化后，除上述苷化位移效应外，还因C5-OH与C4=O的氢键缔合受到破坏，故对C环碳原子也将发生巨大的影响。C2，C-4信号明显地向高场位移，而C-3信号则移向低场。

(四) 双糖苷及低聚糖苷中分子内苷键及糖的联接顺序

(1) 当糖上的羟基被苷化时将使该-OH所在碳原子产生一个相当大的向低场位移。

- 例如在黄酮类化合物芦丁[苷元-O- β -D-glucosyl-(6 \rightarrow 1)- α -L-rhamnoside)中，葡萄糖的C6信号将向低场位移5.8，但C-5则向高场位移约1.4。

(2) 黄酮类双糖苷及低聚糖苷中糖的联结顺序常采用HMBC(^1H -detected heteronuclear multiple-bond-coherence)二维核磁共振技术进行确定。

五、质谱在黄酮类结构测定中的应用

- 多数黄酮类化合物苷元在电子轰击质谱(EI-MS)中因分子离子峰较强，往往成为基峰，故一般无须作成衍生物即可进行测定。

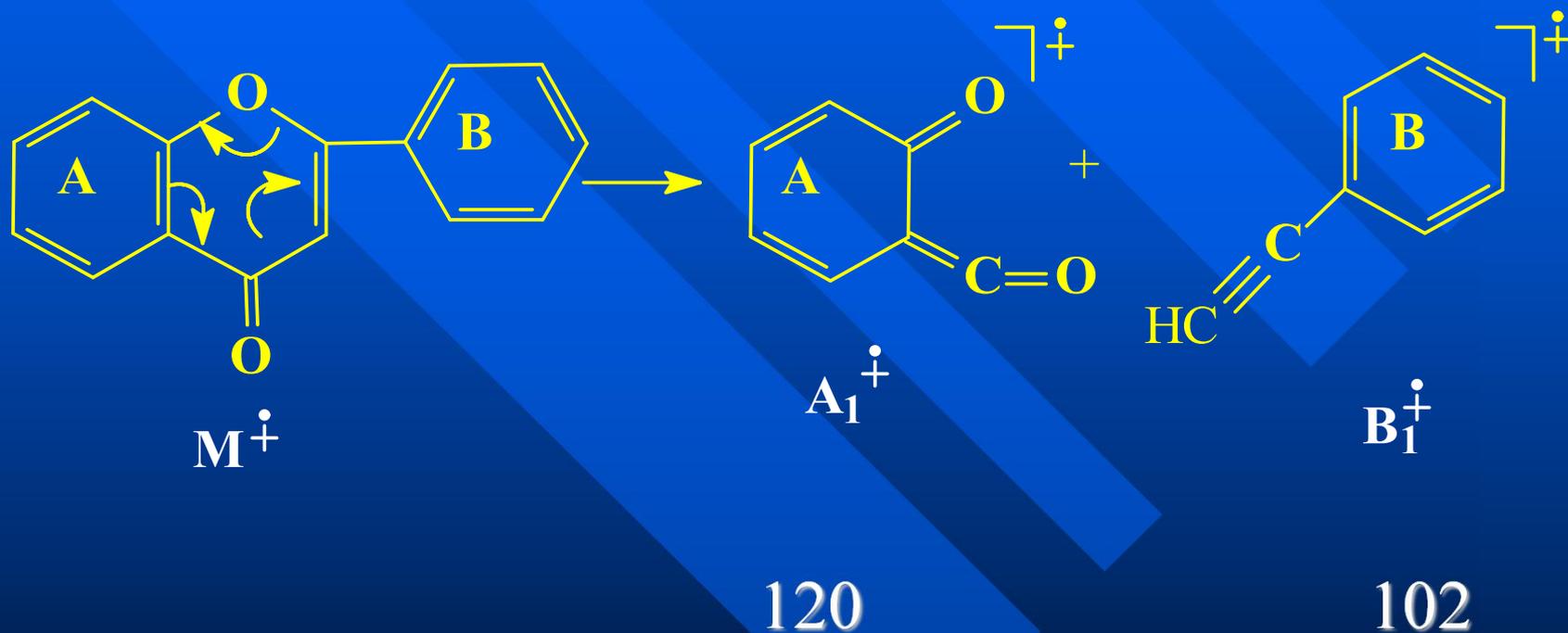
- 但是当测定极性强、难气化以及对热不稳定的黄酮苷类化合物时，则采用FD-MS和FAB-MS、ESI-MS等软电离质谱技术获得强的分子离子峰 $[M]^+$ 及具有偶数电子的准分子离子峰(quasi-molecular ion peak) $[M+H]^+$ 。

(一) 黄酮类化合物苷元的电子轰击质谱 (EI-MS)

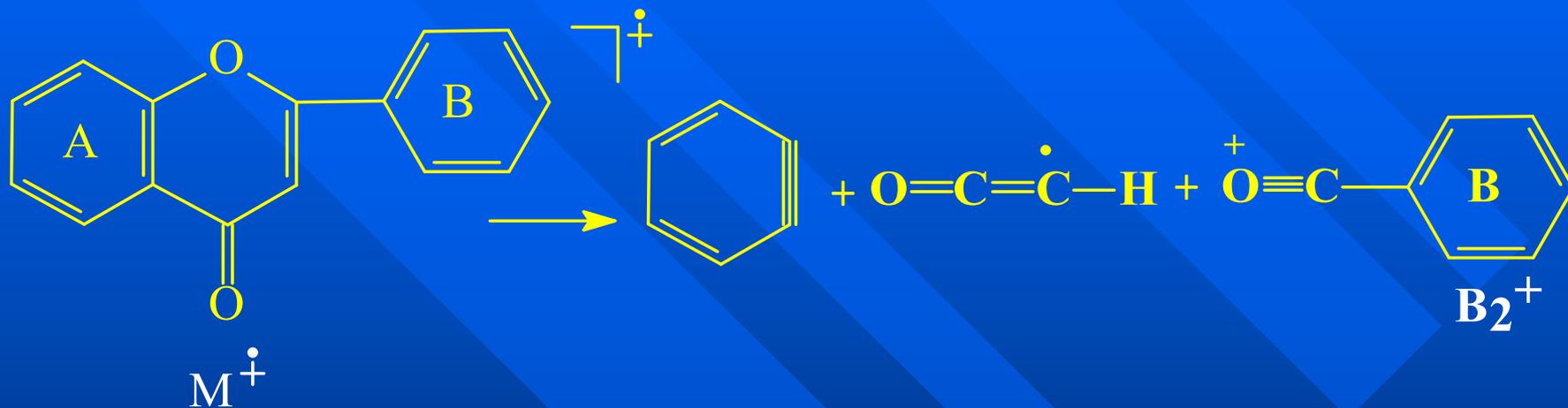
- 黄酮类化合物苷元的EI-MS中，除分子离子峰 $[M]^+$ 外，也常常生成 $[M-1]^+$ 即(M-H)基峰。如为甲基化衍生物，则可以得到 $[M-15]^+$ 即(M-CH₃)离子。

黄酮类化合物主要有下列两种基本裂解途径：

途径-I (RDA裂解)：

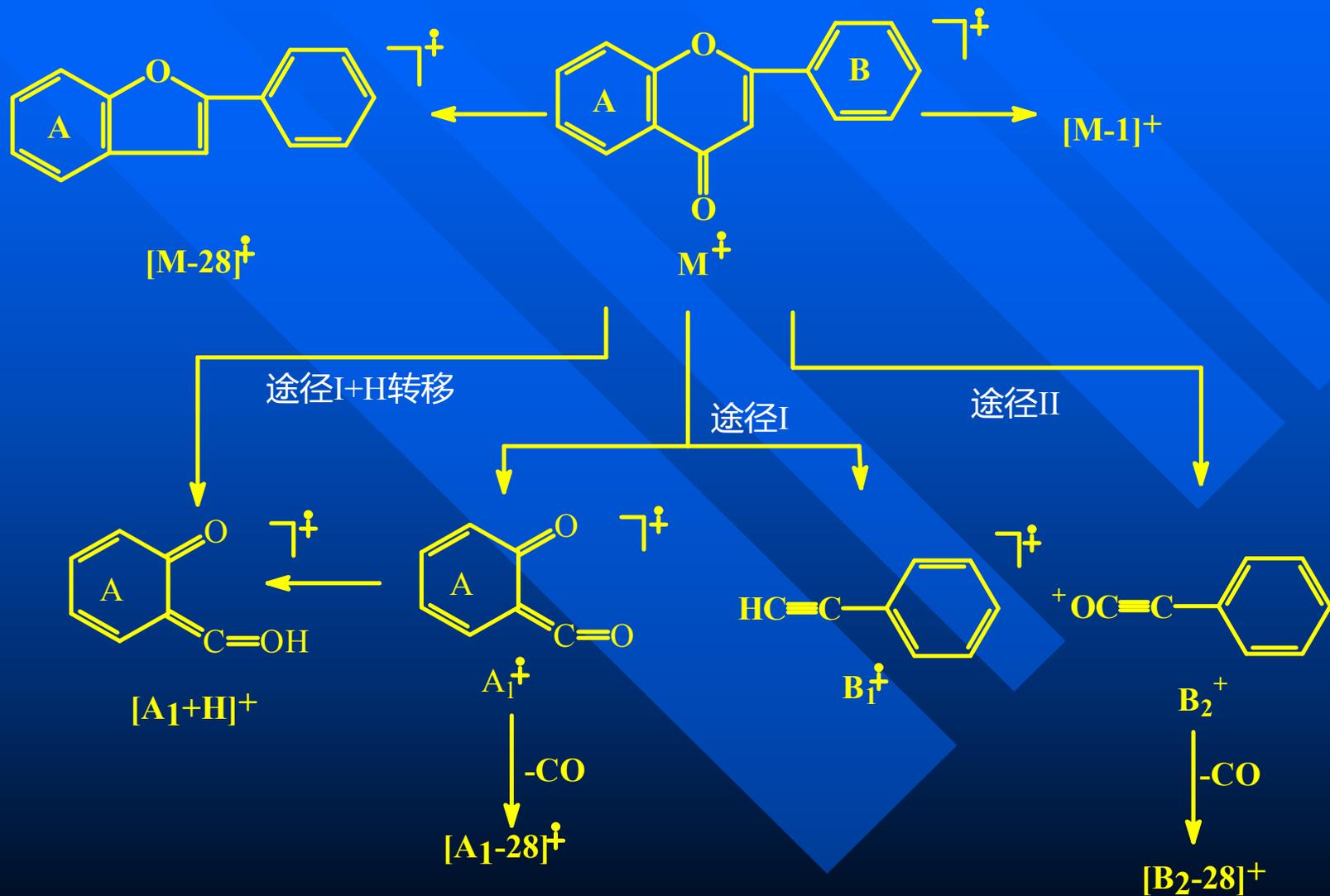


途径-II



此外，还有分子离子 M^+ 生成 $[M-1]^+$ ， $(M-H)$ 及 $[M-28]^+$ 。 $(M-CO)$ ；由A1生成 $[A1-28]^+$ ， $(A1-CO)$ 及B2生成 $[B2-28]^+$ ， $(B2-CO)$ 等碎片离子。

1. 黄酮类裂解基本规律：



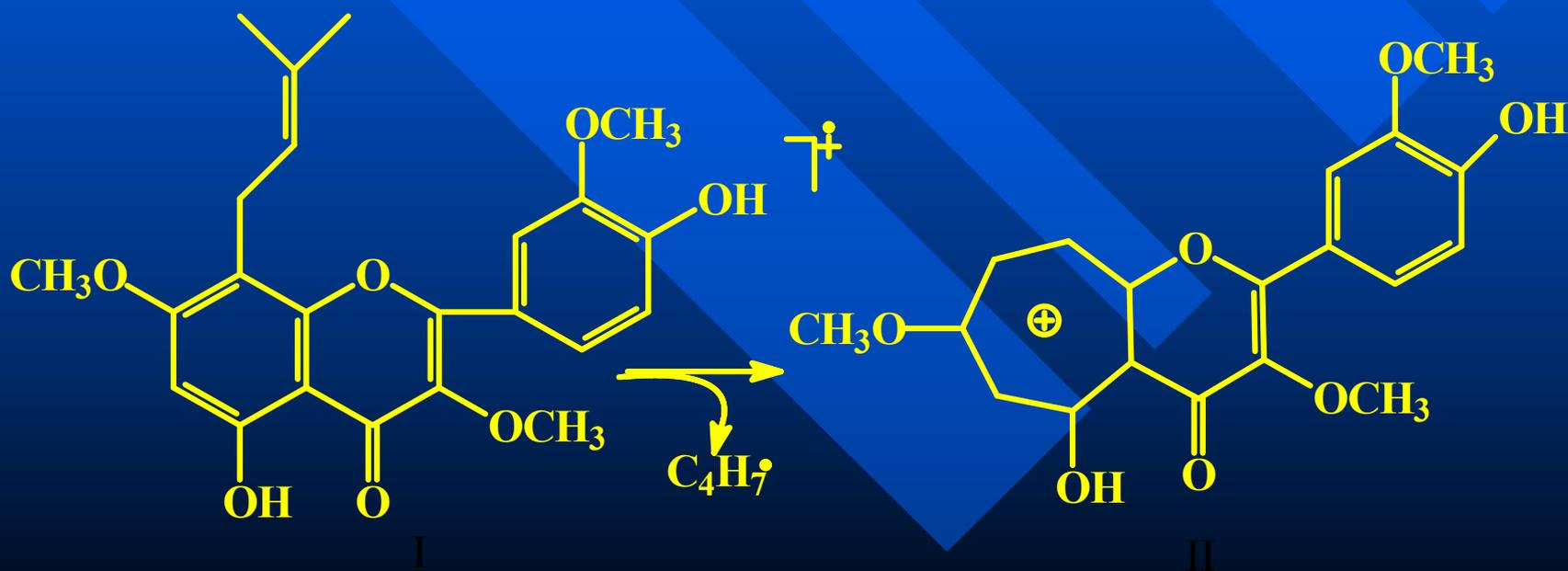
一些黄酮类化合物的质谱数据

化合物	A1+.	B1+.
黄酮	120	102
5, 7-二氢黄酮	152	102
5, 7, 4'-三羟基黄酮（芹菜素）	152	118
5, 7-二羟基, 4'-甲氧基黄酮 （刺槐素）	152	132

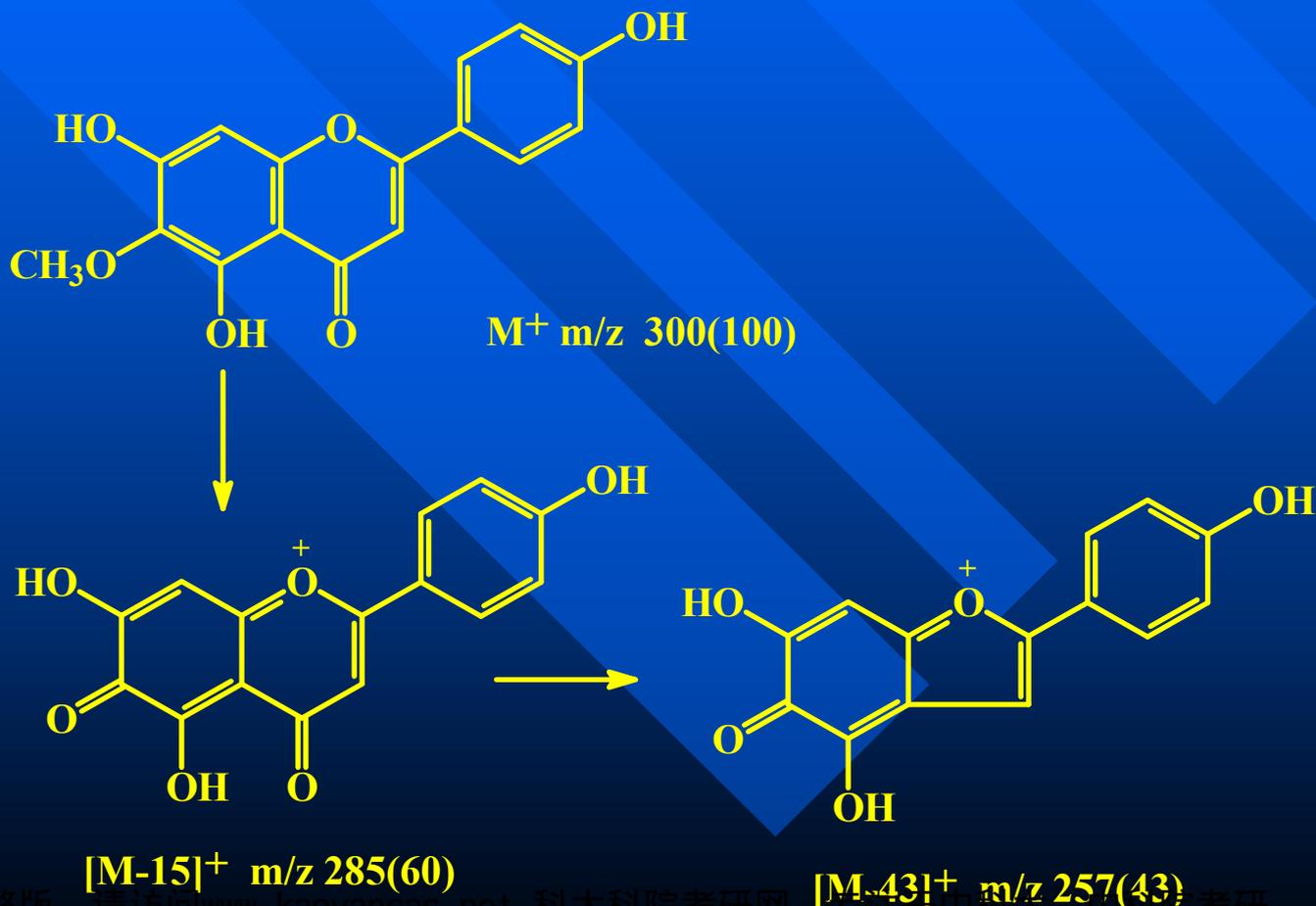
A-环的取代图式可通过测定A1+的 m/z 的值进行确定。同样，根据B-环碎片离子的 m/z 值，也可精确测定B环的取代情况。

黄酮在有四个以上氧取代基时，常常给出中等强度的A1及B1碎片，它具有重要的鉴定意义；但是黄酮醇则不然，当氧取代超过四个以上时，只能产生微弱的A1⁺及B1⁺碎片离子。

- 在3, 6及8-位含有C-异戊烯基的黄酮类，除一般黄酮裂解途径外，还产生一些新的碎片离子。如：化合物(I)中A环上的 γ, γ -二甲烯丙基在裂解过程中脱去 $C_4H_7\cdot$ 碎片，并重排成稳定的卓瓮离子(II)。

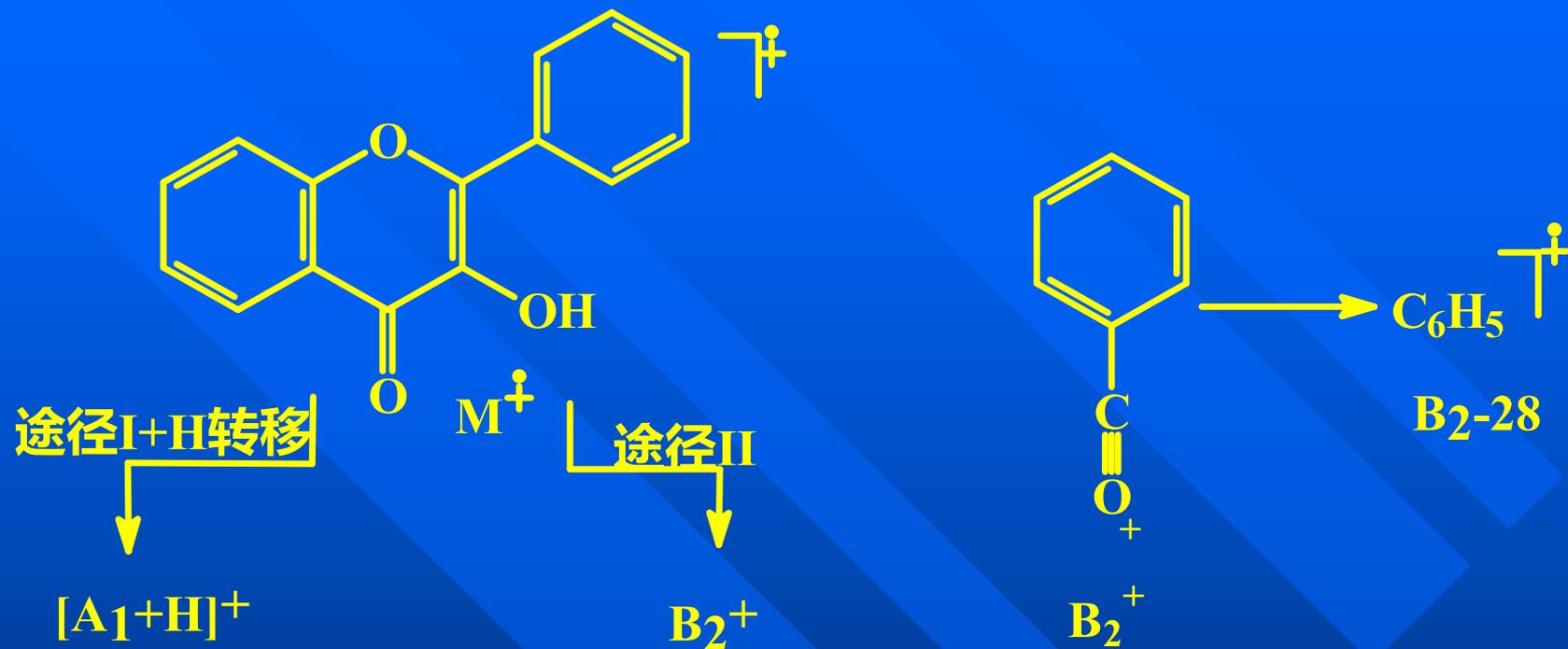


在6-及8-位含有甲氧基的黄酮可失去 $\text{CH}_3\cdot$ ，得到 $[\text{M}-15]^+$ 强峰(常为基峰)，随后又失去 CO ，生成 $[\text{M}-43]^+$ 离子：



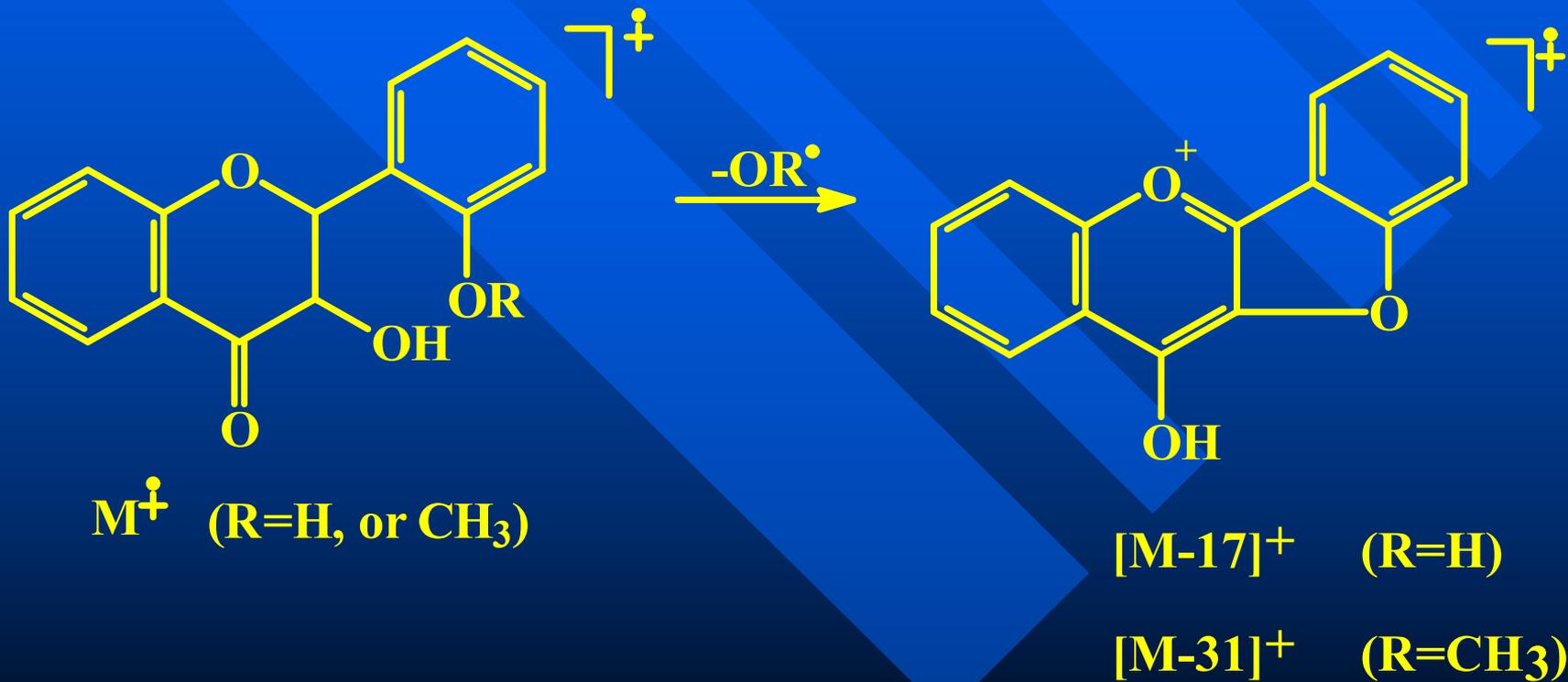
2. 黄酮醇类质谱

- 多数黄酮醇苷元，分子离子峰是基峰，在裂解时主要按途径-II进行，得到 B_2^+ 离子，继续失去CO形成的 $[B_2-28]^+$ 离子。与途径II相比，途径I通常不太主要。其中， $[A+H]^+$ 是来自A-环的主要离子，其上转移的H来自3-OR基团。



■ 在黄酮醇全甲基化衍生物的质谱图上， B_2^+ 离子应当出现在 m/z 105(B环无羟基取代)，或135(-OCH₃，示B环有一个羟基)，或165(有两个-OCH₃，示B环有两个羟基)或195(有三个-OCH₃，示B环有三个羟基)等处，其中最强的峰即为 B_2^+ 离子。

- 具有2'-OH或2'-OCH₃的黄酮醇类在裂解时 有个重要特点，即可以通过失去OH·或 OCH₃·，形成一个新的稳定的五元杂环。



(二)黄酮苷类化合物的FD-MS

- 黄酮苷类化合物在EI-MS上既不显示分子离子峰，也不显示糖基的碎片，故不宜用 EI-MS测定。

而FD-MS谱可给出强烈的 M^+ 及 $[M+H]^+$ 。还给出葡萄糖基的某些碎片，为化合物的结构鉴定提供了重要的信息。

- 在FD-MS中，因为 $(M+23\text{Na})$ 离子的强度随着溶剂极性 及 发射丝电流强度的改变而变化，可用以帮助区别分子离子峰 $(M)^+$ 及 伪分子离子峰 $[M+1]^+$ 。

小结：

第一节 概述包括（黄酮类化合物的结构分类、生物活性） 掌握黄酮类化合物的的定义、基本结构、分类和代表化合物。

第二节 理化性质和显色反应

- 掌握黄酮类化合物的颜色、旋光性、溶解度的特性及与结构之间的关系，掌握黄酮类化合物的酸碱性，酸性强弱与结构之间的关系及在提取分离中的应用，掌握显色反应与结构之间的关系及应用。

第三节 提取分离

- 掌握黄酮类化合物的一般提取方法、PH梯度分离法与结构之间的关系，掌握黄酮类化合物聚酰胺柱层析法、硅胶柱层析法和凝胶过滤法的原理以及它们与结构之间的关系

第四节 结构鉴定

- 掌握黄酮、黄酮醇、二氢黄酮、二氢黄酮醇、异黄酮、查耳酮和橙酮的母核紫外光谱特征，掌握加入各种诊断试剂的黄酮类化合物的解析规律、熟悉黄酮类化合物检识的色谱方法。掌握黄酮类化合物氢谱、碳谱的基本特征及其在结构鉴定中的应用，熟悉黄酮类化合物质谱的基本特点。