

莽草酸的质谱学研究

Study on the Mass Spectra of Shikimic Acid

刘布鸣, 林 霄

LIU Bu-ming, LIN Xiao

(广西中医药研究所, 广西南宁 530022)

(Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要:利用电子轰击质谱(EIMS)、电喷雾质谱(ESIMS)和多级质谱(MS/MS)研究莽草酸质谱学。探讨该化合物的质谱特征离子与裂解途径, 提供莽草酸的质谱学基础。

关键词:莽草酸 质谱 特征离子 裂解途径

中图分类号: O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2006)S0-0469-02

Abstract: The mass spectra of shikimic acid was studied in this paper. The characteristic ions and fragmentation patterns of shikimic acid were discussed by EIMS, ESIMS and MS/MS. This paper summarizes the basic of mass spectroscopy of shikimic acid.

Key words: shikimic acid, mass spectra, characteristic ion, fragmentation pattern

莽草酸是从木兰科植物八角 (*Illicium verum* Hook. f.) 的干燥成熟果实中提取、分离而得, 具有抗炎、镇痛和抗血栓形成作用^[1,2]。罗氏公司将莽草酸作为生产抗禽流感药物“达菲”的基础原料, 还可作为合成抗癌药物的中间体。莽草酸化学名为 3,4,5-三羟基-1-环己烯-1-羧酸, 分子式为 $C_7H_{10}O_5$, 分子量 174.15, 化学结构见图 1。目前未见有对莽草酸的质谱做系统的研究报道, 我们利用电子轰击质谱(EIMS)、电喷雾质谱(ESIMS)和多级质谱(MS/MS), 对莽草酸质谱进行了研究, 以揭示该化合物的质谱裂解途径与特征离子, 提供系统的化合物分子的质谱学结构信息和基础化学数据。

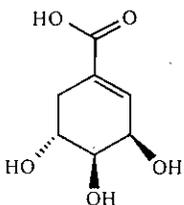


图 1 莽草酸化学结构式

1 实验部分

1.1 实验样品

莽草酸, 纯度 > 99% (HPLC), 由广西邦尔植物

制品有限责任公司提供。

1.2 仪器

美国安捷伦 GC6890/MS5973 色谱/质谱仪; 美国 FINNIGAN LCQ DECA 液-质串联质谱仪。

1.3 实验条件

GC-MS: 电离方式 EI 源, 电离能量 70eV。

LC-MS: ESI 源, 负离子模式。

2 结果与分析

2.1 电子轰击质谱

在 EIMS 谱图中(图 2), 分子离子 m/z 174 丰度很弱, 几乎观察不到, 分子离子失去一个羟基 ($M^+ - OH$) 得碎片离子 m/z 157, 失去一分子水 ($M^+ - H_2O$) 得碎片离子 m/z 156, 失去两分子水 ($M^+ - 2 \times H_2O$) 得碎片离子 m/z 138, 其它碎片离子有 m/z 129, 114, 111, 110, 97(100), 65, 60 等, 其中包含了莽草酸分子进行 RDA 裂解产生的偶数离子 m/z 114 和 60, RDA 裂解碎片 m/z 114 的二次裂解产生基峰 m/z 97(100), 主要的特征离子和裂解途径见图 3 和图 4。

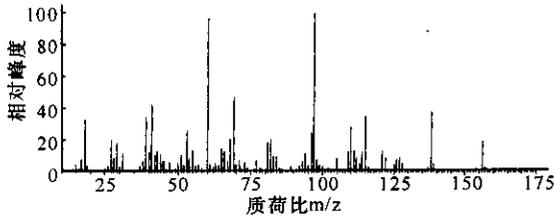


图 2 EIMS 质谱图

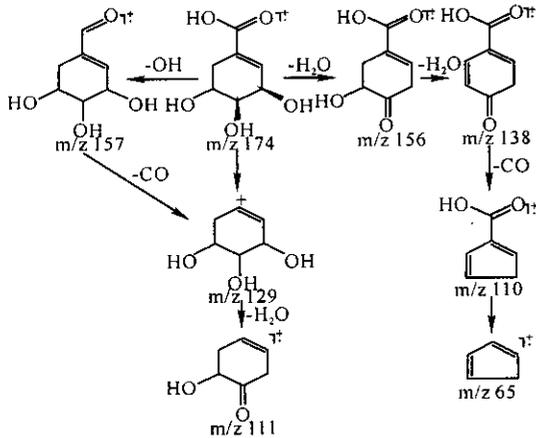


图 3 EIMS 的主要特征离子和裂解途径

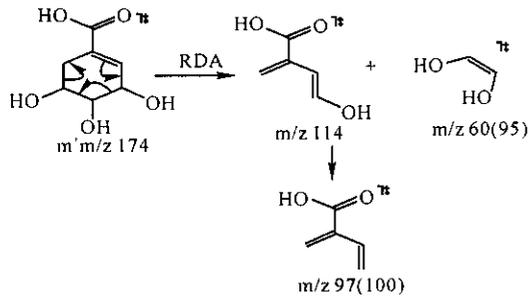


图 4 EIMS 的 RDA 裂解特征离子

2.2 电喷雾质谱和多级质谱

采用全扫描质谱,负离子模式检测获得准分子离子峰 m/z 173 $[M-H]^-$,使其一级质谱的强度最大,MS 见图 5。再用离子阱质谱对准分子离子峰及其碎片离子进行多级质谱(MS_n)检测,获得相应的离子质谱信息。检测准分子离子峰 m/z 173 $[M-H]^-$,子离子有: m/z 155 $[M-H_2O-H]^-$ 、137 $[M_2 \times H_2O-H]^-$ 、128 $[M-COOH-H]^-$ 、111、93、83,推断相对分子质量为 174,见图 6。选择 m/z 155 为母离子进行多级质谱的检测,其二级质谱碎片离子为: m/z 137、111、93、83,见图 7。ESIMS 裂解途径见图 8。

3 结论

利用 EIMS 和 ESIMS 研究莽草酸,其 EI MS 分子离子峰较弱,难观察到分子离子,ESIMS 可获得明显的准分子离子峰,EIMS 虽然大多数时候不

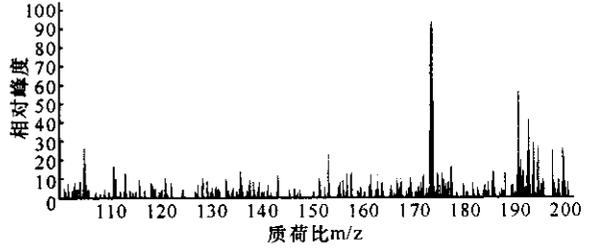


图 5 ESIMS 质谱图

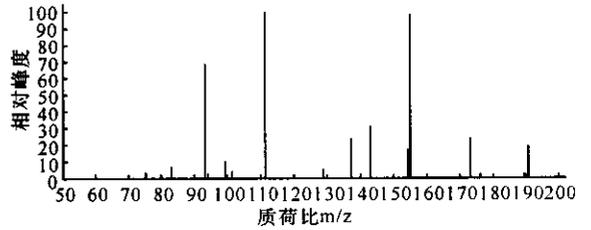


图 6 m/z 173 的 ESIMS 二级质谱图

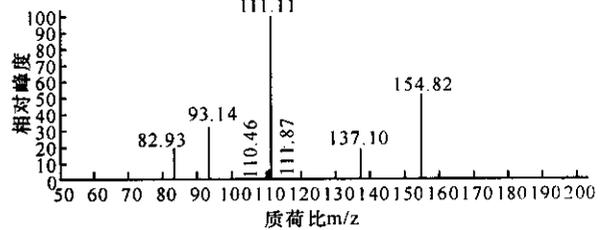


图 7 m/z 155 的 ESIMS 二级质谱图

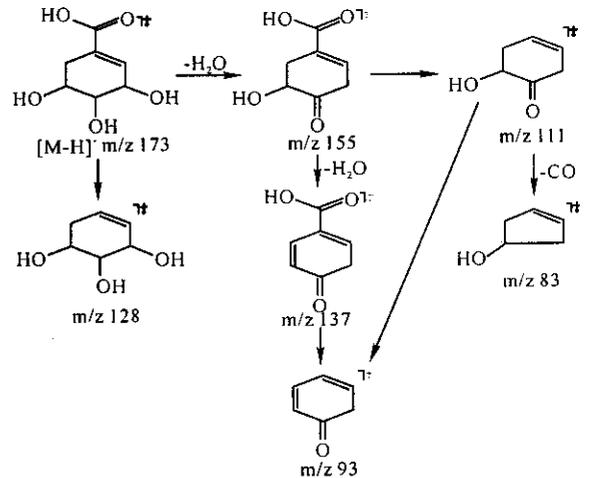


图 8 ESIMS 主要特征离子和裂解途径

能得到很强的分子离子信号,却有明显的特征碎片离子信号,EIMS 和 ESIMS 有一定的相同和差别,相互补充对莽草酸化合物的结构推导有着重要的意义。多级质谱(MS_n)选择性强,碎片离子质谱重现性好,可给出丰富的化合物分子结构信息,在化合物的结构推测中有很重要的作用。结合不同的质谱信息从而可以对化合物进行更深入的结构分析。

致谢:

广西分析测试研究中心代测质谱,谨此致谢!

(下转第 474 页)

2.2.8 精密度试验

取同一对照品溶液和同一供试品溶液,按色谱条件,连续测定 6 次,记录芍药苷峰面积的结果显示,对照品溶液中芍药苷的平均峰面积为 447006, RSD 为 1.80%,供试品溶液中芍药苷的平均峰面积为 300374, RSD 为 1.62%。本法的精密度较好。

2.2.9 稳定性考察

取同一供试品溶液,每隔一定时间测定 1 次,共测定 6 次的结果是,芍药苷峰面积的平均值为 295502, RSD 为 0.98% ($n=6$)。供试品在 10h 内测定稳定。

2.2.10 重现性试验

取同一批样品,按含量测定项下方法平行测定 6 份,结果芍药苷含量平均值为每片 0.1608mg, RSD 为 1.54% ($n=6$)。本法的重现性较好。

2.2.11 加样回收率测定

取已知含量的供试品,除去糖衣,研细,取约 0.8g,精密称定,精密加入芍药苷对照品溶液 104.0 μ g/ml(精密称取芍药苷对照品 10.4mg,置于 100ml 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得)3.5ml,置于 50ml 容量瓶中,加稀乙醇适量,超声处理 60min,放冷,加稀乙醇至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,取续滤液,测定,计算回收率。结果平均回收率为 98.73%, RSD 为 1.93% ($n=6$)。

2.2.12 样品测定

分别取不同批号的样品 20 片,按 2.2.4 项下操作制备,作为供试品溶液。分别精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 10 μ l,注入液相色谱仪测定。共测定了 3 批样品中芍药苷的含量,结果见表 1。

表 1 样品中芍药苷含量测定结果

样品批号	含量(毫克/片)			相对平均偏差(%)
	1	2	平均值	
20050112	0.1630	0.1614	0.1622	0.49
20050115	0.1417	0.1399	0.1408	0.64
20050118	0.1567	0.1591	0.1579	0.76

(上接第 470 页)

参考文献:

[1] 方玉珍,宋杰云,岑燕飞,等.毒八角酸的镇痛作用研究[J].贵阳中医学院学报,1989(1):59.

3 讨论

在试验过程中,我们参考文献[2,3],曾采用了多种流动相系统,如乙腈-磷酸溶液、乙腈-水、乙腈-醋酸溶液等,分离效果均不理想,后来改用乙腈-0.05mol/L 磷酸二氢钾溶液(15:85)作流动相,分离效果最佳。

在本实验中,我们曾采用 HPLC 法对方中野菊花所含绿原酸、蒙花苷进行了摸索实验,结果样品中有检出,但因本品处方中共有十味药材,含有的杂质较多,绿原酸、蒙花苷的特征峰与其相邻杂质峰分离度均不理想,故不能作为控制质量指标。

在含量测定中,供试品溶液制备曾分别采用甲醇溶液或 50% 甲醇溶液超声处理 30min、60min、90min 的方法对供试品中的芍药苷进行提取。结果,用稀乙醇超声提取 60min 的方法可将芍药苷提取完全,效果较好,可以作为供试品的提取方法。

本实验采用薄层色谱法对防芷鼻炎片中所有药味进行薄层色谱鉴别研究,建立的野菊花、防风、胆南星和蒺藜薄层色谱鉴别方法,分离效果满意,重现性好,专属性强,阴性无干扰;采用高效液相色谱法测定了防芷鼻炎片中白芍的芍药苷含量,方法快速准确、方便可行,为防芷鼻炎片的质量控制提供了良好的方法。

参考文献:

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂:第五册[S].1991:65.
[2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典 2005 年版一部[M].北京:化学工业出版社,2005.
[3] 曹志胜,宿洁.高效液相色谱法测定防芷鼻炎片中芍药苷含量[J].中国药业,2006,15(11):34-35.

[2] 马怡,孙建宁,徐秋萍,等.莽草酸对血小板聚集和凝血的拟制作用[J].药学学报,2000,35(1):1.

[3] 丛浦珠,李笋玉.天然有机质谱学[M].北京:中国医药科技出版社,2003.