

甘草酸钾盐和甘草酸钠盐的电喷雾离子阱质谱研究

王素娟¹, 高洁¹, 林鹏程², 李帅¹, 石建功^{1,*}

(1. 中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050;

2. 青海民族学院化学系, 青海 西宁 810007)

摘要: 用 (+) 电喷雾离子阱质谱对三元有机弱酸甘草酸的钾盐和钠盐进行了研究。结果显示, 甘草酸的一级、二级和三级钾盐或钠盐均可产生很强的质子化分子离子峰, 在甘草酸各级钾盐和钠盐的质子化分子离子的二级质谱中, 可产生丢失一个葡萄糖醛酸单元的子离子, 同时出现双葡萄糖醛酸单元加合相应金属离子的子离子, 并且以上子离子均包含与母离子相同数目的相应金属离子。因此, (+) ESI 离子阱质谱是区别甘草酸各级钾盐和钠盐的一种有效手段。另外, 在甘草酸二钾和甘草酸二钠的 (+) ESI MS 一级质谱中, 可清楚地观察到一级盐和三级盐的质子化离子, 表明甘草酸二盐在水溶液中存在分子间的离子交换。

关键词: 甘草酸钾盐; 甘草酸钠盐; 电喷雾质谱; 离子阱

中图分类号: O 657. 63; O 627. 11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2005)02-86-04

Studies on Fragmentation of Potassium Glycyrrhizates and Sodium Glycyrrhizates by Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry

WANG Su-juan¹, GAO Jie¹, LIN Peng-cheng², LI Shuai¹, SHI Jian-gong^{1,*}

(1. Institute of Materia Medica, Peking Union Medical University,
Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China;

2. Department of Chemistry, Qinghai Nationalities Institutes, Xining 810007, China)

Abstract: The fragmentation of potassium and sodium glycyrrhizates was studied by electrospray ion trap mass spectrometry (ESI-ITMS). The results indicated that all of the mono-, di- and tri- potassium or sodium glycyrrhizates gave abundant quasimolecular ion $[M + H]^+$ in their (+)-ESI-ITMS spectra. The daughter ions of losing one glucuronate moiety from the quasimolecular ion and the daughter ion of diglucuronate moiety were exhibited in their ESI MS² spectra. All above daughter ions in the MS² spectra contained the same number of corresponding metal ions with the parent ion. Therefore, the ESI-ion trap mass spectrometry is a useful technique to distinguish mono-, di- and tri- potassium or sodium glycyrrhizates. In addition, quasimolecular ions of mono- and tri- potassium or sodium glycyrrhizates were displayed in the ESI MS spectra of dipotassium or disodium glycyrrhizate. This indicated the intermolecular exchange of the metal ions in water solutions of the glycyrrhizate disalts.

Key words: potassium glycyrrhizate; sodium glycyrrhizate; electrospray mass spectrometry; ion trap

收稿日期: 2004-10-18; 修回日期: 2005-01-06

作者简介: 王素娟(1975~), 女(汉族), 助理研究员, 从事天然药物化学的成分分离、鉴定等研究。E-mail: sujuanwang@imm.ac.cn

* 通信作者: 石建功(1964~), 男(汉族), 研究员, 博导, 从事天然药物化学的成分分离、鉴定等研究。E-mail: shijg@imm.ac.cn

甘草酸是甘草属植物中最重要的特征有效成分^[1], 具有抗炎、抗病毒和保肝解毒及增强免疫功能等作用。由于甘草酸有糖皮质激素样药理作用而无严重不良反应, 临床被广泛用于治疗各种急慢性肝炎、支气管炎和艾滋病, 还具有抗癌防癌、诱生干扰素及调节细胞免疫等功能^[2]。甘草酸为三元有机弱酸, 为增加其水溶性, 常以各种盐的形态^[3], 如铵盐、钠盐和钾盐等, 制成注射剂、胶囊剂及霜剂等供临床应用。在其它方面, 甘草酸盐常作为食品中的甜味剂和化妆品中的胶凝剂^[4]。由于甘草酸常以各种盐的形式应用于医药食品等行业, 为了确定甘草酸盐中所含金属离子的种类和数量, 常规的方法是采用原子吸收法, 但在样品纯度有限的情况下, 难以得到正确的结果。另外, 如果采用高效液相色谱(HPLC)的方法, 由于常用色谱条件为酸性, 在色谱系统中甘草酸盐均被转化为游离甘草酸^[5], 因此也无法进行色谱鉴别。在电喷雾电离质谱((+)ESI-MS)中, 各种甘草酸的碱金属盐(如钾盐和钠盐)可产生各自的准分子离子, 从而可以排除所含杂质的影响, 准确快速地鉴别甘草酸盐中的所含盐的种类和数目。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 1100 series HPLC-M SD SL 液相色谱-离子阱质谱联用仪: 美国安捷伦(Agilent)公司产品, 配有 ESI 离子源。甘草酸单钾、甘草酸二钾、甘草酸三钾、甘草酸单钠、甘草酸二钠、甘

草酸三钠: 均由甘肃金汉伯生物制品有限公司提供, HPLC 检测含量均 > 75%。

1.2 实验条件

质量扫描范围 m/z 100~1 000; 喷雾气(N_2)压力 200 kPa, 干燥气(N_2)流速 8 L/min; 端板电压-500 V, 毛细管高压 3 000 V。智能参数设置(SPS): 目标质量 m/z 800; 化合物稳定性 100%; 离子阱深 100%; 离子总数控制(ICC) 30 000; 碎裂电压 1.0 kV。蠕动输液泵流速 500 μ L/h。样品用纯净水溶解配制成约 0.2 g/L 的溶液待测。

2 结果与讨论

2.1 甘草酸单钾盐和甘草酸单钠盐的(+)ESI-MS 研究

甘草酸单钾盐和甘草酸单钠盐的(+)ESI-MS 一级图谱数据列于表 1。甘草酸单钠盐和单钾盐均可给出准分子离子峰 $[M + H]^+$ (单钾盐 m/z 861、单钠盐 m/z 845); 尽管也可观察到相应的二级盐的准分子离子峰 m/z 899(钾)或 m/z 867(钠), 但是相对强度较弱。在甘草酸单钾盐和单钠盐准分子离子的二级谱图中, 均能出现丢失一个和两个葡萄糖醛酸中性碎片的子离子峰 m/z 685 和 m/z 509(钾), 或 m/z 669 和 m/z 493(钠); 同时, 能够观察到双葡萄糖醛酸中性碎片加合一个相应金属离子的子离子(单钾盐 m/z 391、单钠盐 m/z 375)。由此可见, 在甘草酸单钾盐和单钠盐的二级质谱中出现的子离子均包含一个相应的金属离子。其裂解途径示于图 1。

表 1 甘草酸钾盐和甘草酸钠盐的(+)ESIMS 一级、二级数据

Table 1 (+)ESIMS and ESIMS² spectra data of salt glycyrrhizate of potassium and sodium

Glycyrrhizate	(+)ESIMS	(+)ESIMS ²
Monopotassium glycyrrhizate	* 861[M + H] ⁺ , 899[M + K] ⁺	685, 509, 391
Monosodium glycyrrhizate	* 845[M + H] ⁺ , 867[M + Na] ⁺	669, 493, 375
Dipotassium glycyrrhizate	861[M - K + 2H] ⁺ , * 899[M + H] ⁺ , 937[M + K] ⁺	881, 723, 429
Disodium glycyrrhizate	845[M - Na + 2H] ⁺ , * 867[M + H] ⁺ , 889[M + Na] ⁺	849, 691, 397
Tripotassium glycyrrhizate	* 937[M + H] ⁺ , 975[M + K] ⁺	919, 875, 761, 723, 467
Trisodium glycyrrhizate	* 889[M + H] ⁺ , 911[M + Na] ⁺	871, 827, 689, 713, 515, 419

注: * —二级质谱的母离子。

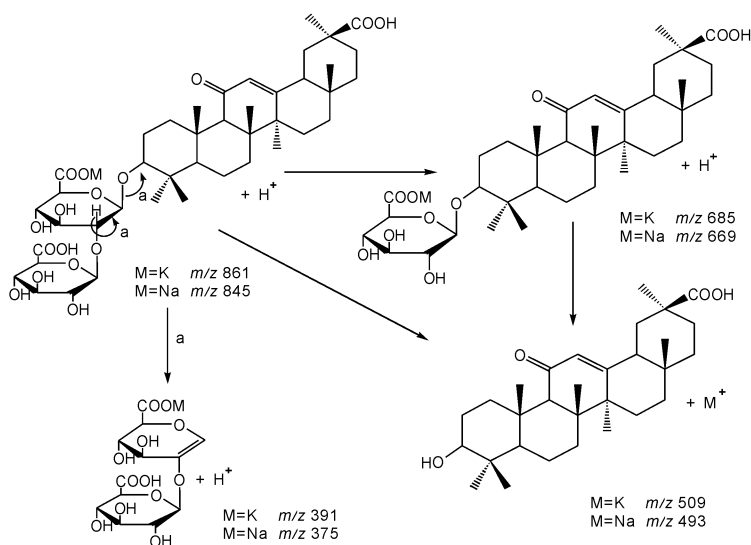


图 1 甘草酸单钾盐(M = K)和甘草酸单钠盐(M = Na)的(+)-ESI-MS的质谱裂解途径

Fig 1 (+)-ESI-MS fragmentation pathway of monopotassium glycyrrhizate (M = K) and monosodium glycyrrhizate (M = Na)

2.2 甘草酸二钾盐和甘草酸二钠盐的(+)-ESI-MS研究

甘草酸二钾盐和二钠盐在(+)-ESI-MS中均能给出准分子离子峰 $[M + H]^+$ (二钾盐 m/z 899、二钠盐 m/z 867),同时还给出相应的单盐和三盐的质子化离子峰。在甘草酸二钾盐的(+)-ESI-MS中,三钾盐的质子化离子丰度最强,二钾盐和单钾盐的丰度较弱;而在甘草酸二钠盐的(+)-ESI-MS中,单钠盐的质子化离子丰

度最强,二钠盐和三钠盐的丰度较弱。在甘草酸二钾盐和二钠盐质子化离子的二级质谱中,均出现明显的脱水子离子 m/z 881(钾)或 m/z 849(钠)、丢失一个葡萄糖醛酸单元的子离子 m/z 723(钾)或 m/z 691(钠),及双葡萄糖醛酸单元加合两个相应金属离子的子离子(甘草酸二钾 m/z 429、甘草酸二钠 m/z 397)。由此可见,在甘草酸二盐准分子离子的二级质谱中产生的以上主要子离子均含有两个金属离子。

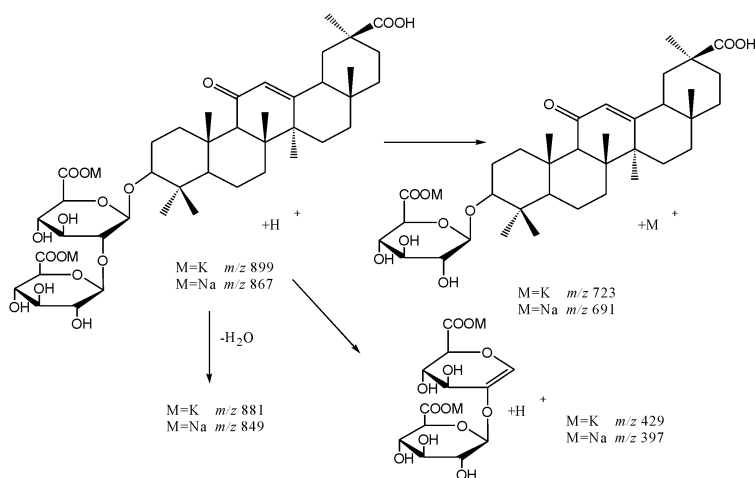


图 2 甘草酸二钾盐(M = K)和甘草酸二钠盐(M = Na)的(+)-ESI-MS的质谱裂解途径

Fig 2 (+)-ESI-MS fragmentation pathway of dipotassium glycyrrhizate (M = K) and disodium glycyrrhizate (M = Na)

2.3 甘草酸三钾盐和甘草酸三钠盐的 (+)ESI-MS 研究

甘草酸三钾和甘草酸三钠的一级质谱比较相似, 均产生较强的质子化分子离子峰 $[M + H]^+$, 分别为 m/z 937(钾)和 m/z 899(钠), 同时产生与相应金属离子的加合离子 m/z 975(钾)或 m/z 911(钠), 其强度与准分子离子峰的强度相当。在其准分子离子的二级质谱中均出现脱水的离子 m/z 919(钾)或 m/z 871(钠)、脱水和

CO_2 的离子 m/z 875(钾)或 m/z 827(钠), 脱一个葡萄糖醛酸的离子 m/z 761(钾)或 m/z 713(钠), 及双葡萄糖醛酸单元加合三个相应金属离子的离子 m/z 467(钾)或 m/z 419(钠)。可见所有子离子中均含有 3 个相应的金属离子。

如图 3 所示, 在甘草酸三钾盐和三钠盐的二级质谱中, 除了上述相同裂解方式产生的离子外, 尚有不同裂解方式产生的离子。

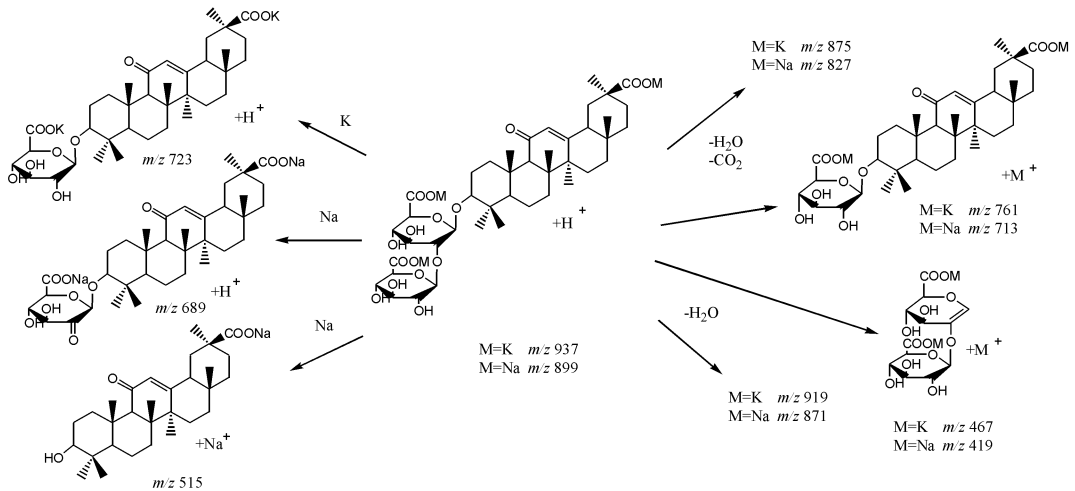


图 3 甘草酸三钾盐(M = K)和甘草酸三钠盐(M = Na)的(+)-ESIMS 的质谱裂解途径

Fig. 3 (+)-ESIMS fragmentation pathway of tripotassium glycyrrhizate (M = K) and trisodium glycyrrhizate (M = Na)

3 结论

为了确定甘草酸盐中所含金属离子的组成, 发现在样品纯度有限的情况下, 原子吸收法无法确定样品中所含金属离子的数目, 而 (+)ESI-MS 中, 可有效地排除杂质干扰, 确定所含金属离子的组成。

通过对甘草酸各级钾盐和钠盐的 ESIMS 研究, 发现在 (+)ESI-MS 中, 均可产生很强的加氢准分子离子峰; 在它们的加氢准分子离子的二级质谱中, 均可产生丢失一个葡萄糖醛酸单元的子离子, 同时给出双葡萄糖醛酸单元加合相应金属离子的子离子, 以上子离子均包含与母离子相同数目的相应金属离子。在甘草酸二钾和甘草酸二钠的 (+)ESI-MS 一级质谱中, 可观察到很强的单盐和三盐的加氢离子, 反映出在水溶液中甘草酸二盐存在明显的分子间离子交换, 产生甘草酸单盐和甘草酸三盐, 而甘草酸单盐分子之间

和甘草酸三盐之间的离子交换不明显。该过程可用式(1)表示, 其中 G 代表甘草酸根离子, M 代表金属离子。



参考文献:

- [1] 王立, 李家恒 中国甘草属植物研究进展[J] 草业科学, 1999, 16(4): 28~ 31.
- [2] 史桂兰, 胡志浩 甘草酸药理作用及临床应用研究进展[J] 天津药学, 2001, 12(1): 10~ 12
- [3] 聂云玉 甘草酸盐制备方法的研究[J] 基层中药杂志, 1995, 9(4): 33~ 34
- [4] 罗晨曲, 李仙娟, 蒋明冬 甘草甜素提取工艺的改进[J] 湖南中医学院学报, 2000, 20(3): 27~ 28
- [5] 曹爱兰, 常思明, 张建民, 等 甘草中甘草酸的含量考察[J] 西北药学杂志, 1998, 13(6): 280~ 281.