

气相色谱-飞行时间质谱法快速测定和鉴定芦根中阿魏酸的含量与结构

张国升¹, 李前荣^{2*}, 尹浩², 李立华¹

(1. 安徽中医学院 药学系, 安徽 合肥 230038; 2. 中国科学技术大学理化科学中心, 安徽 合肥 230026)

摘要:目的 对芦根中阿魏酸含量和结构进行快速测定和分析。方法 溶剂提取, 气相色谱-飞行时间质谱测定和分析其含量和结构。结果 阿魏酸在芦根提取物中的相对质量分数为5%。根据质谱提供的分子离子和8个特征碎片离子的精确质量和相应的元素组成, 提出了阿魏酸分子的裂解途径, 结合谱图检索, 从而确认该分子的结构。结论 气相色谱-飞行时间质谱法测定和鉴定芦根中阿魏酸含量和结构是一种快速、准确、灵敏、可靠的检测方法。

关键词: 芦根; 阿魏酸; 气相色谱-飞行时间质谱

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2005)03-0333-03

Rapid determination of ferulic acid and identification of its structure in rhizome of *Phragmites communis* by GC-TOFMS

ZHANG Guo-sheng¹, LI Qian-rong², YIN Hao², LI Li-hua¹

(1. Department of Pharmacy, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, China; 2. Center for Physicochemical Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

Abstract: Objective To make a rapid determination of ferulic acid and identification of its structure in rhizome of *Phragmites communis* (RPC). **Methods** The chemical constituents were extracted by solvent and the relative content and structure of ferulic acid in RPC were determined and identified using GC-TOFMS technique. **Results** By GC-TOFMS, the ferulic acid was successfully isolated from the extracts of RPC in a relative content of 5%. According to the exact masses and corresponding elemental compositions of molecular ion and eight characteristic ions, a possible fragmentation pathway of the ferulic acid molecule was proposed, by which the molecular structure was confirmed. **Conclusion** GC-TOFMS technique is a rapid, accurate, sensitive, and reliable method for determination of the relative content of ferulic acid in RPC and identification of its structure.

Key words: rhizome of *Phragmites communis* Trin. (RPC); ferulic acid; GC-TOFMS

芦根是禾本科植物芦苇 *Phragmites communis* Trin. 的根茎, 具有清热、消炎、利尿和调血脂等功效^[1~3], 主要用于发热、支气管炎、尿路感染、动脉粥样硬化等症。阿魏酸是芦根中的主要有效成分。目前, 有关阿魏酸抗细菌、抗真菌、抗肝毒、抗雌激素、抗肿瘤等活性以及抗氧化、清除自由基的研究十分活跃^[4]。卫生部公布的抗非典处方中也含有芦根。由于阿魏酸具有明确的消炎和抗血栓作用, 把该成分作为芦根的质量控制指标具有实际意义^[5]。本实验利用小型台式气相色谱-飞行时间质谱 (GC-TOFMS) 的高灵敏、中分辨, 能自动给出分子和碎片离子的元素组成以简化解谱过程等特点^[6], 对芦根中的阿魏酸进行了 GC-TOFMS 的快速测定和分

析, 取得了满意的结果, 并可为芦根质量标准的制定提供可行的依据。

1 实验部分

1.1 仪器和材料: 英国 Micromass 公司 GCT 型气相色谱-飞行时间质谱仪。NIST 图谱检索库 (13 万张标准质谱图)。色谱条件: 色谱柱: Agilent DB-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm); 载气: 高纯氮; 体积流量: 1.0 mL/min; 进样量: 2 μL; 分流比: 10:1; 气化温度: 280 °C; GC-MS 接口温度: 200 °C; GC 升温程序: 初始温度为 80 °C, 恒温 0.5 min, 以 8 °C/min 升至 220 °C, 再以 30 °C/min 升至 280 °C, 恒温 10 min。质谱条件: 电离方式: EI; 电子能量: 70 eV; 源温: 200 °C。分辨率: 8 000 FWHM。EI 收

收稿日期: 2004-06-20

作者简介: 张国升 (1946—), 男, 教授。Tel: (0551) 5169240

* 通讯作者 Tel: (0551) 3606442 E-mail: lqrs@ustc.edu.cn

集电流:100 μ A。用全氟三丁基胺作内标,在 m/z 218.985 6 处作单点锁定校正精确质量。芦根购于安徽中医学院中药房,经该院吴祖发教授鉴定。乙醇为化学纯,水为普通蒸馏水,甲醇为色谱纯。

1.2 芦根中阿魏酸的提取:取粉碎芦根 100 g,加 85%乙醇 300 mL 于 40 $^{\circ}$ C 温浸 3 h,再回流提取两次,每次 2 h(其中第二次仍加 85%乙醇 300 mL)。滤出提取液并浓缩至膏状。膏状物溶于热水,加乙醇至醇的体积分数为 85%,收集滤液,浓缩至合适体积,用 5% NaOH 调 pH 9~10,滤除不溶物,滤液酸化到 pH 2。冷却后过滤出沉淀物,干燥后得 2.3 g 棕色粉末。

1.3 提取物中阿魏酸的 GC-TOFMS 测定:准确称取提取物 10 mg 溶于 10 mL 甲醇中,取 2 μ L 对 GC-TOFMS 进样测定,总离子流色谱图(TIC)见图 1。将 TIC 图中保留时间为 17.27 min 的色谱峰经质谱扫描后得到阿魏酸的飞行时间质谱图,见图 2。

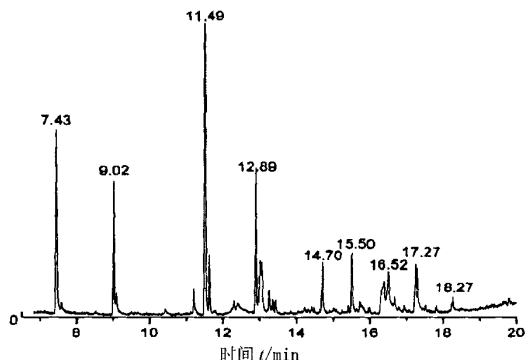


图 1 芦根提取物的 TIC 图

Fig. 1 TIC chromatogram of RPC extracts

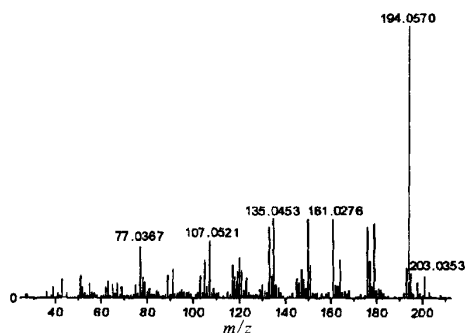


图 2 阿魏酸的飞行时间质谱图

Fig. 2 TOFMS chromatogram of ferulic acid

2 结果与讨论

从芦根提取物中检测到 22 个色谱峰,较为明显的峰只有 15 个。在本实验条件下,阿魏酸在 TIC 图中出现的保留时间为 17.27 min,在此之后,仅出现一个强度很小的色谱峰。图 1 中 TIC 的扫描时间为

20 min,实际扫描时间为 32.50 min,但未出现色谱峰。按峰面积归一化法计算出阿魏酸提取物中的相对质量分数为 5%。在阿魏酸质谱图的高质量区出现了精确质量为 194.057 0 的基峰,其对应的元素组成为 $C_{10}H_{10}O_4$,与理论值(194.057 9)的绝对误差仅为 -0.9 mDa,该元素组成与阿魏酸分子式恰好相同。谱图检索结果也给出了阿魏酸的分子结构式,匹配度为 822。进一步的证据可以从质谱碎片离子的裂解途径得到。阿魏酸中分辨质谱数据见表 1。可见精确质量的绝对误差除离子 b 外(3.7mDa)均在 ± 3 mDa 以内,由此得到的元素组成是可靠的^[7]。

表 1 阿魏酸的飞行时间质谱数据

Table 1 TOFMS data of ferulic acid

离子 代号	实测质量 /Da	理论质量 /Da	绝对误差 /mDa	相对丰度 ^a /%	元素组成	归属
M	194.057 0	194.057 9	-0.9	100(100)	$C_{10}H_{10}O_4$	M^{+}
a	179.036 1	179.034 4	1.7	27(19)	$C_9H_7O_4$	$M-CH_3$
b	161.027 6	161.023 9	3.7	29(11)	$C_9H_5O_3$	$a-H_2O$
c	133.031 2	133.029 0	2.2	26(13)	$C_8H_5O_2$	b-CO
d	105.037 0	105.034 0	3.0	14(5)	C_7H_5O	c-CO
e	77.036 7	77.039 1	-2.4	19(5)	C_6H_5	d-CO
f	51.024 1	51.023 5	0.6	8(2)	C_4H_3	e- C_2H_2
g	150.069 6	150.068 1	1.5	29(7)	$C_9H_{10}O_2$	$M-CO_2$
h	177.058 4	177.055 2	3.2	13(7)	$C_{10}H_9O_3$	$M-OH$

* 括号内数据对同一色谱峰中不同部位进行质谱扫描所得相对丰度

* Data in brackets: relative abundance from mass spectrometry scanning toward different regions of same chromatograph

阿魏酸的质谱裂解机理见图 3。可见在高质量区, m/z :194 的分子离子峰的相对丰度为 100%(基峰),这与阿魏酸分子结论所具有的共轭体系相吻合。在 70 eV 电离条件下,该母离子主要裂解成 8 个特征碎片离子,它们的相对丰度在 30% 以下(表 1)。具体裂解方式为:分子离子 M 先失去甲基自由基得阳离子 a(m/z :179, $C_9H_7O_4$),a 经质子转移失去水分子生成阳离子 b(m/z :161, $C_9H_5O_3$)。b 逐步脱去 3 分子的 CO 分别得到阳离子 c(m/z :133, $C_8H_5O_2$)、d(m/z :105, C_7H_5O)和 e(m/z :77, C_6H_5)。最后再失去中性分子 C_2H_2 生成丰度最小的环丁二烯阳离子 f(m/z :51, C_4H_3)。从分子离子 M 还可以失去 CO_2 和 OH 自由基分别得到阳离子自由基 g(m/z :150, $C_9H_{10}O_2$)和阳离子 h(m/z :177, $C_{10}H_9O_3$)。以上所有质谱离子均为共轭体系结构,因此它们都有明显的质谱峰存在,是鉴别阿魏酸分子结构的重要证据。

3 结论

根据气相色谱-飞行时间质谱的 TIC 测得芦根

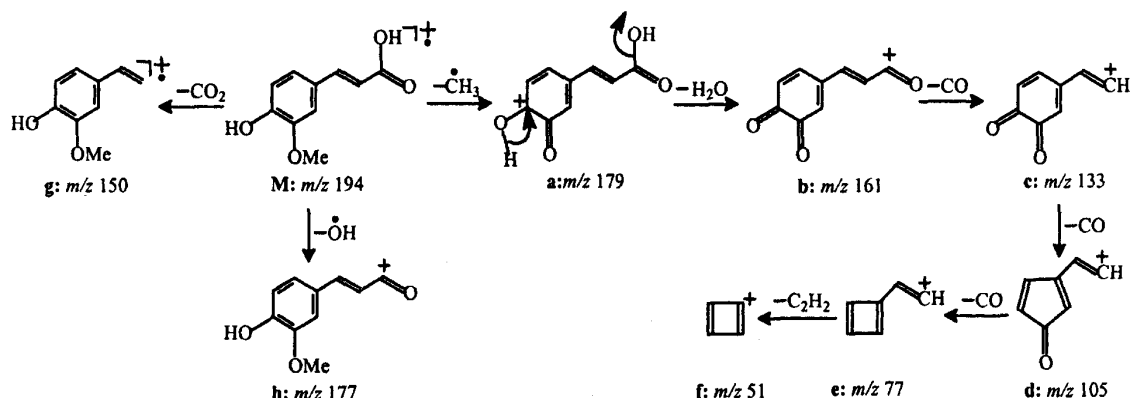


图3 阿魏酸的飞行时间质谱裂解途径

Fig. 3 TOFMS fragmentation pathway of ferulic acid

提取物中阿魏酸的相对质量分数为5%；利用飞行时间质谱所提供的具有精确质量的分子离子峰和8个特征碎片离子峰，参考谱图检索结果可以确认阿魏酸的分子结构。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [2] Zhang G S, Fan M Y, Peng D Y, *et al.* Protective effect of P-Poly on carbon tetrachloride induced liver damage in mice [J]. *Chin Pharm Bull* (中国药理学通报), 2002, 18(3): 354-355.
- [3] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Vol 2. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1998.
- [4] Liu L, Song T S, Li X J, *et al.* Analysis of ferulic acid in *Resina Ferulae* from Xinjiang by LC-MS [J]. *J Instrum Anal* (分析测试学报), 2002, 21(Suppl): 265-266.
- [5] Chen H P, Liu S X, Li G M. Determination of content of ferulic acid in Chinese *Angelica* and its processing products by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1988, 19(10): 15-16.
- [6] Watt A P, Pike A, Morrison D. Determination of the collisionally activated dissociation of a substituted indole by orthogonal acceleration quadrupole time-of flight mass spectrometry [J]. *Am Sci Mass Spect*, 2001, 12: 1145-1152.
- [7] Chen Y Z, Tu Y P. *Fundamentals and Applications of Organic Mass Spectrometry* (有机质谱原理及应用) [M]. Beijing: Science Press, 2001.

黄亮囊吾的苯并呋喃类化合物

李云森¹, 王峥涛¹, 张 勉¹, 檀爱民¹, 陈 麟²

(1. 中国药科大学 生药研究室, 江苏 南京 210038; 2. 上海沪云医药开发有限公司, 上海 201203)

摘要:目的 研究黄亮囊吾根和根茎的化学成分。方法 利用硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱分离等方法进行分离和纯化, 根据化合物的理化常数和波谱数据鉴定其结构。结果 从黄亮囊吾的根和根茎中分离到8个化合物, 分别鉴定为: 泽兰素(euparin, I)、6-甲氧基泽兰素(6-methoxy-euparin, II)、2-羟基-4, 5-二甲氧基苯甲醛(4, 5-dimethoxy-2-hydroxybenzaldehyde, III)、2-乙酰-5, 6-二甲氧基苯并呋喃(2-acetyl-5, 6-dimethoxybenzofuran, IV)、对羟基苯乙酮(4-hydroxyacetophenone, V)、2-isopropenyl-5, 6-dimethoxy-2, 3-hydrocumarin (VI)、8β-hydroxy-7(11)-eremophilen-12, 8α-olide (VII)、羽扇豆醇(lupeol, VIII)。结论 8个化合物均为首次从黄亮囊吾中分离得到。主要成分为苯并呋喃类化合物, 特别是化合物I和II是两个重要的成分, 具有杀虫和昆虫拒食活性, 这和黄亮囊吾民间用于驱虫有相关性。

关键词:黄亮囊吾; 苯并呋喃; 杀虫活性

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)03-0335-03