

## 利用SFE和SFC提取和分离五味子提取物中的天然产物

Andrew J. Aubin和Jo-Ann M. Jablonski  
沃特世公司(美国马萨诸塞州米尔福德市)

### 应用优势

- Prep 100q SFC系统是一款高度可靠的质谱引导制备级超临界流体色谱仪器，适用于天然产物提取物中的化合物分离。

### 沃特世解决方案

Prep 100q SFC系统

SFE 500系统

ACQUITY UPC<sup>2</sup>®系统

ChromScope™软件

MassLynx®/FractionLynx™软件

Empower® 3软件

Viridis® BEH OBD™ Prep色谱柱

ACQUITY UPC<sup>2</sup> BEH色谱柱

ACQUITY® QDa®检测器

### 关键词

分离, 纯化, 制备型色谱, Prep 100q SFC, 五味子, 五味子素A, 天然产物, 提取物, SFE, UPC<sup>2</sup>

### 简介

五味子被广泛用作传统中药药材已有数百年之久的历史。五味子中含有多种有机化合物, 其中联苯[a,c]环辛二烯木脂素是许多研究人员都很感兴趣的化合物。在本研究中, 我们主要探讨了利用Prep 100q SFC系统从干五味子的超临界流体萃取(SFE)提取物中分离五味子素A(CAS 61281-38-7, 也称为五味子甲素, 见图1)的可行性。本文所介绍的原理、技术和工具适用于天然产物样品中任意化合物的分离。

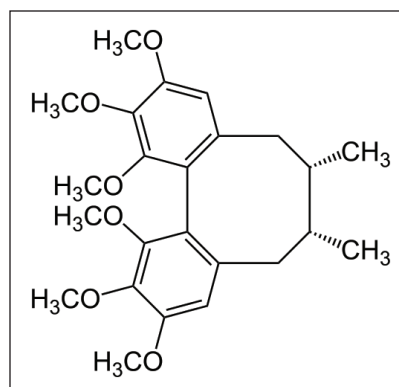


图1. 五味子素A的化学结构(式量416.5)。

## 实验

### 样品描述和提取

利用配备100 mL提取容器的SFE 500超临界流体萃取系统对50 g粗略剁碎的干燥五味子 (StarWest Botanicals, Sacramento, CA, USA) 进行60分钟的提取。采用动态提取方法, 总流速为50 g/min, 提取压力为200 bar, 并使用99%的CO<sub>2</sub>和1%的异丙醇做为提取溶剂。提取温度设置为40 °C。提取得到约30 mL的暗黄色溶液供后续的所有实验使用。在这类定性工作中, 使用SFE能够获得不含颗粒物的浓缩提取物, 无需再进行过滤、蒸发或者提取之后的其它制备步骤, 极大地提高了整体工作流程的速度。我们没有进行优化提取条件的实验, 因为已有研究表明, 温度或压力的变化对五味子的提取率影响很小<sup>1</sup>。同一作者还比较了使用SPE萃取法与使用传统溶剂萃取法(甲醇、氯仿/甲醇、己烷和石油醚)提取五味子的效果, 结果表明, 与SFE相比, 传统溶剂萃取法几乎没有优势。

### SFC条件

制备	
SFC系统:	配备ACQUITY QDa质谱检测器的 Prep 100q SFC系统
分析型SFC系统:	配备ACQUITY QDa质谱检测器的 ACQUITY UPC <sup>2</sup> 系统
分析柱:	ACQUITY UPC <sup>2</sup> BEH色谱柱, 130Å, 3.5 µm, 3 mm x 100 mm, <a href="#">部件号 186006640</a>
制备柱:	Viridis BEH OBD Prep色谱柱, 130Å, 5 µm, 19 mm x 150 mm, <a href="#">部件号 186005733</a>
流动相A:	CO <sub>2</sub>
流动相B:	乙腈/甲醇1:1
梯度:	流动相B在5 min内从1%增加到10%
柱温:	40 °C
进样体积:	分析型2 µL, 制备型120 µL
流速:	分析型2.5 mL/min, 制备型100 mL/min
ABPR:	分析型1600 psi (110 bar), 制备型1450 psi (100 bar)
检测条件:	UV 220 nm

### ACQUITY QDa检测器条件

扫描范围:	150–600 <i>m/z</i>
电离模式:	ESi+
数据类型:	质心
锥孔电压:	10 V
采样速率:	2 Hz
探头温度:	600 °C
ESI毛细管电压:	1.5 kV

### 数据管理

制备型SFC (Prep 100q SFC系统) — MassLynx/FractionLynx  
 分析型SFC (ACQUITY UPC<sup>2</sup> 系统) — Empower 3  
 SFE 500 — ChromScope v1.5

## 结果与讨论

尽管五味子木脂素有四十种以上<sup>2</sup>，但五味子素A是含量较为丰富的一种，而且由于具有抗病毒和抗炎作用<sup>3</sup>，它在药用提取物中的作用突出。我们使用ACQUITY UPC<sup>2</sup>系统对五味子的SFE粗提取物进行了分析型色谱分析(图2和3)，在约1.9 min处观察到了一个较大的峰。ACQUITY UPC<sup>2</sup> QDa数据确证了该峰的 $m/z$ 为417.3，与五味子素A(M+H)一致，而且是含量最高的化合物。仅使用简单的1-10%梯度，粗提取物中的五味子素A与相邻峰之间就实现了良好的分离。采用之前所述的技术<sup>4</sup>将分析型分离放大至Prep 100q SFC系统。

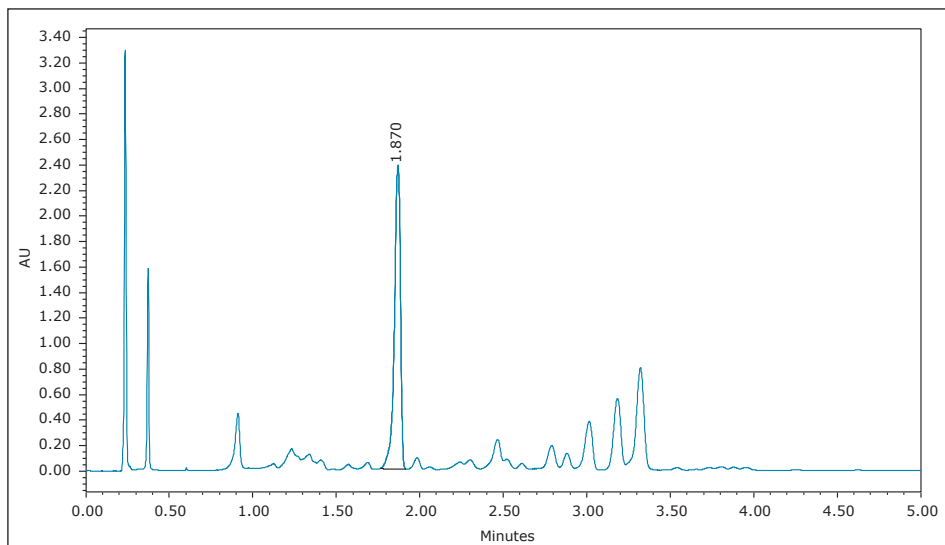


图2. 采用ACQUITY UPC<sup>2</sup>分离五味子的SFE提取物。流速2.5 mL/min，梯度为5 min内从1%增加到10%，1600 psi，40 °C，进样体积2  $\mu$ L，UV 220 nm。

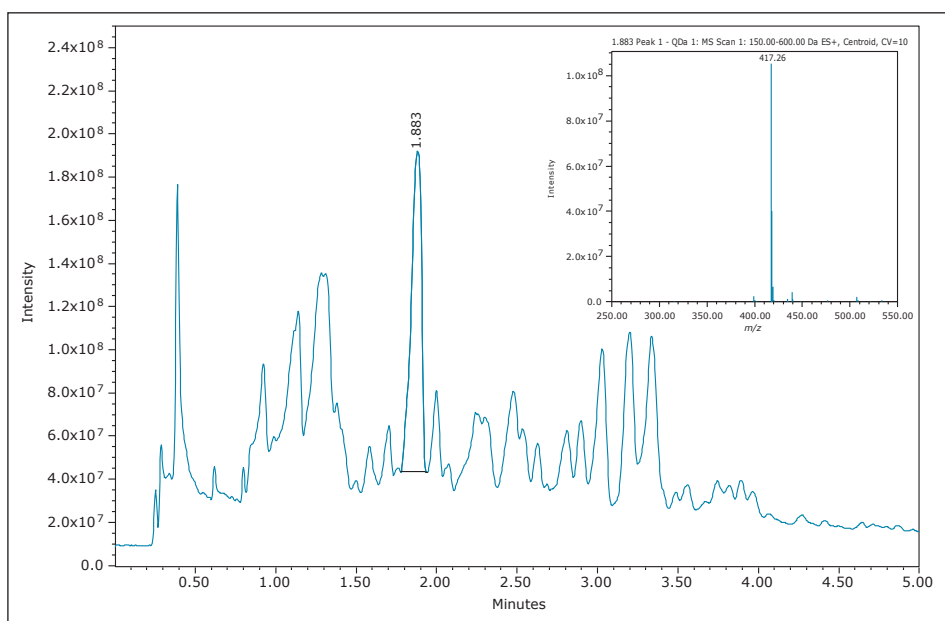


图3. 采用ACQUITY UPC<sup>2</sup>分离五味子的SFE提取物。流速2.5 mL/min，梯度为5 min内从1%增加到10%，1600 psi，40 °C，进样体积2  $\mu$ L，总离子流色谱图150–600  $m/z$ 。插图为1.9 min处色谱峰的质谱图。

我们通过质量触发(在本例中,  $m/z$  417, 图4)的制备型运行收集五味子素A。然后取出并浓缩收集到的馏分, 并采用之前所述的ACQUITY UPC<sup>2</sup>方法进行分析。使用SFC作为纯化工具时, 样品的干燥或浓缩比传统的HPLC方法更快, 因为收集物中仅含有机溶剂(残留的助溶剂和补偿溶剂, 通常是甲醇)。根据UV 220 nm的峰面积(图5)分析可知, 所收集馏分的纯度显著提高, 从粗提取物中的约29%提高到了92%以上。

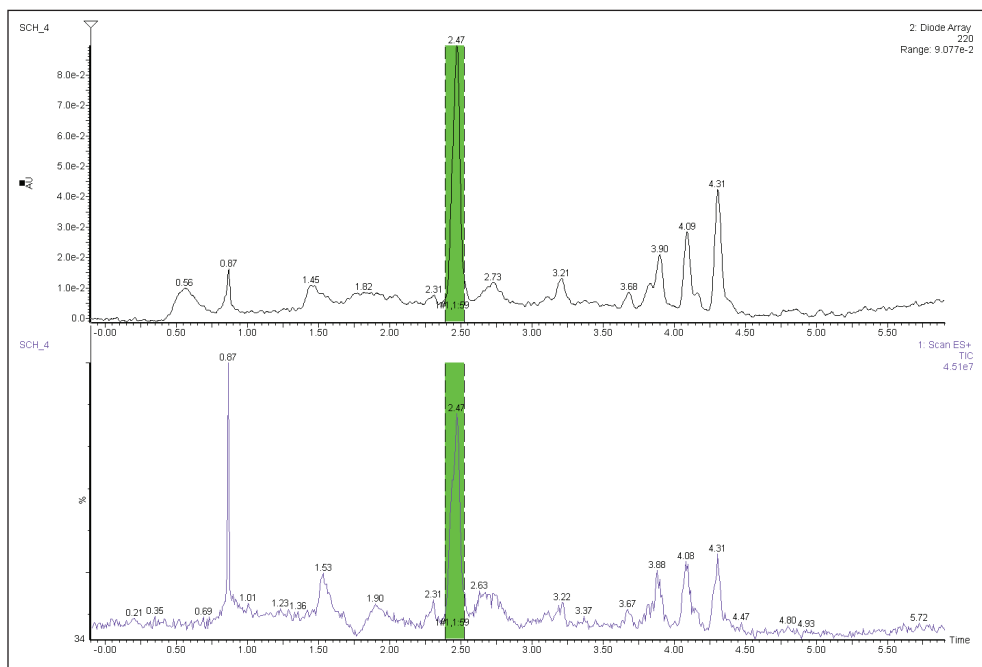


图4. 采用Prep 100q SFC系统分离五味子的SFE提取物。流速100 mL/min, 梯度为5 min内从1%增加到10%, 100 bar, 40 °C, 进样体积120  $\mu$ L; 上图 - PDA 220 nm, 下图 - ACQUITY QDa总离子流色谱图150-600  $m/z$ 。绿色条形区域表示执行收集的区域。

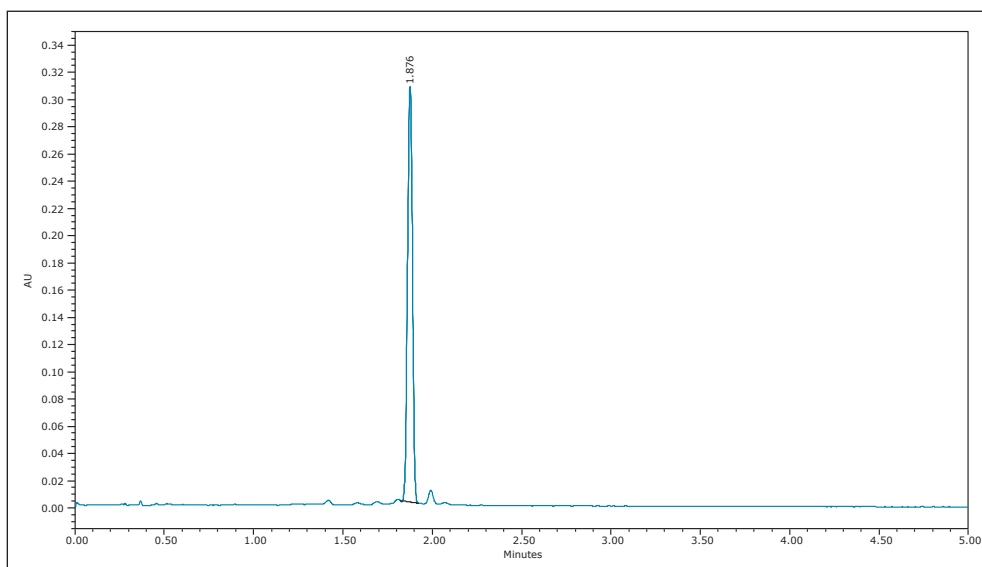


图5. 采用ACQUITY UPC<sup>2</sup>分离所收集的馏分。流速2.5 mL/min, 梯度为5 min内从1%增加到10%, 1600 Psi, 40 °C, 进样体积0.5  $\mu$ L, UV 220 nm。

## 结论

- 采用超临界流体萃取技术成功提取了五味子
- 采用ACQUITY UPC<sup>2</sup>分析了SFE提取物，并选择目标化合物(五味子素A)进行了纯化
- 采用Prep 100q SFC系统，通过质谱引导的收集方法实现了SFE提取物的纯化
- 采用ACQUITY UPC<sup>2</sup>分析纯化的馏分，结果表明馏分的纯度显著提高，从29%提高到了92%
- 成功验证了仅采用超临界流体技术的萃取、分析、纯化和二次分析工作流程的可行性

## 参考文献

1. Choi Y.H. et al. Optimum SFE Condition for Lignans of Schisandra chinensis Fruits. *Chromatographia* Vol. 48, No. 9/10, November 1998.
2. *American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium*, Schisandra Berry, Editor: Roy Upton, October 1999.
3. Zheng S. et al. A Concise Total Synthesis of Deoxyschizandrin and Exploration of Its Antiproliferative Effects and Those of Structurally Related Derivatives. *Chem. Eur. J.* 2012, 18, 3193–3198.
4. Hudalla C.J. et al. UPC<sup>2</sup> Strategy for Scaling SFC Methods: Applications for Preparative Chromatography. Waters Application Note, 2014, Part Number [720005064EN](#).



扫一扫，关注沃特世微信

# Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, The Science of What's Possible, ACQUITY, UPC<sup>2</sup>, Empower, Viridis, MassLynx和QDa是沃特世公司的注册商标。OBD, ChromScope和FractionLynx是沃特世公司的商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2015年 沃特世公司 印制于中国 2015年7月 720005448ZH AG-PDF

沃特斯中国有限公司  
沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010 - 5209 3866  
上海: 021 - 6156 2666  
广州: 020 - 2829 5999  
成都: 028 - 6765 3588  
香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676  
[www.waters.com](http://www.waters.com)