

五味子超临界 CO₂ 提取物的气相色谱-质谱分析

向智敏¹, 李会林¹, 张 骊²

(1. 浙江省药品检验所, 浙江 杭州 310004; 2. 杭州商学院食品系, 浙江 杭州 310035)

摘要 将五味子样品于 25 MPa, 45 °C 下用超临界 CO₂ 提取 2 h, 提取物经气相色谱-质谱分析, 共测得 16 个成分, 经与对照品、NIST 谱库对照和结构解析, 鉴定出其中的 7 种木脂素成分, 占色谱峰总面积的 80.5%, 其中五味子甲素 9.39%、五味子乙素 30.58%、五味子醇甲 16.00%、五味子丙素 5.95% 和五味子醇乙 15.17%。

关键词 气相色谱-质谱; 超临界 CO₂ 提取; 木脂素; 五味子; 中药

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-871X(2003)06-0568-04

Study on Supercritical Carbon Dioxide Extract from *Schisandra chinensis* by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

XIANG Zhimin¹, LI Huilin¹, ZHANG Li²

(1. Zhejiang Provincial Institute for Drug Control, Hangzhou 310004, China;

2. Department of Food Science, Hangzhou Institute of Commerce, Hangzhou 310035, China)

Abstract: A portion of 2.2 kg of powdered *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. was extracted by supercritical CO₂ under 25 MPa and 45 °C for 2 h, and 0.319 kg of the extract was obtained. The extract was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. Experiments were performed on an Agilent 6890N Gas Chromatograph with an Agilent 5973N Mass Selective Detector. GC separation was carried out on an HP-5MS quartz capillary column (25 m × 0.22 mm i.d. × 0.25 μm) at an initial temperature of 150 °C, hold for 5 min, then program at 4 °C/min until 250 °C, hold for 10 min. The split ratio was 50:1. The injector temperature was 280 °C and the injection volume was 1 μL. Mass spectra were collected in the scan range of m/z 30–550. All measurements were performed with EI source, electron energy was 70 eV and electron multiplier voltage was 1.2 kV. Solvent delay of 3 min was introduced to the separation. In the extract 16 components were separated, among which 7 kinds of lignans were identified. The main lignans in the extract were deoxyschizandrin (9.39%), schizandrin B (30.58%), schizandrin (16.00%), schizandrin C (5.95%), schizandrol B (15.17%).

Key words: gas chromatography-mass spectrometry; supercritical CO₂ extraction; lignans; *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.; Chinese traditional medicine

五味子为木兰科植物北五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的果实, 含五味子甲素、五味子乙素、五味子醇、五味子酯等多种木脂素成分。五味子及其制剂中的有效成分木脂素主要采用薄层色谱(TLC)鉴定^[1,2]或用高效液相色谱(HPLC)定量分析^[3-5]。由于其对照品不易得到, 因此通常只对五味子甲素、五味子乙素等少数几种木脂素进行测定。超临界 CO₂ 提取技术具有操作温度低、有效成分不易被分解破坏、提取收率高、无溶剂残留等优点, 在我国现代中药研究中已有许多应用。小型超临界 CO₂ 设备已被用于实验室提取五味子的研究^[3,4]。在制药工业中为了深入进行药物的开发研

究及生产工艺试验, 需采用较大的设备, 所以我们用 5 L 的超临界 CO₂ 提取设备对五味子进行提取试验。由于在五味子提取物中的木脂素成分较多、标准对照品缺乏以及 TLC 和 HPLC 的分离度较低, 我们采用分离度较高的毛细管气相色谱-质谱法(GC/MS)对提取物中的木脂素成分进行分析测定。

1 实验部分

1.1 超临界提取

5L-SFE 超临界提取设备, 广州市轻工研究所产品。五味子原料由本地药材市场购得。

提取实验 用植物粉碎机粉碎五味子, 取 2.2

kg 粉末装入超临界提取罐中,在 25 MPa、45 °C 的条件下,用超临界 CO₂ 提取 2 h,得提取物 0.319 kg。

1.2 气相色谱-质谱分析

1.2.1 仪器和试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪/Agilent 5973N 质量选择器(美国 Agilent 公司)。乙醇,分析纯;五味子甲素对照品(中国药品生物制品检定所)。

1.2.2 样品溶液配制

称取五味子超临界提取物约 10 mg,加 10 mL 乙醇,超声波振荡 30 min 后过滤,滤液供气相色谱-质谱分析。

1.2.3 分析条件

气相色谱:色谱柱为 HP-5 MS 石英毛细管柱(25 m × 0.22 mm i.d. × 0.25 μm),初始温度 150 °C,恒温 5 min,以 4 °C/min 升温至 250 °C,恒温 10 min。氦气流速 50 mL/min,分流比 50:1。进样口温度 280 °C。进样体积 1 μL。

质谱:电喷雾离子(EI)源,电子能量 70 eV,扫描范围 m/z 30~550,倍增管电压 1.2 kV。溶剂延迟 3 min。

2 结果与讨论

由五味子超临界提取物的总离子流图(图 1)可看到,在进样 5 min 后出峰若干个,经与对照品、NIST 谱库对照和结构解析,确定了其中的 7 种化合物(图 1 中峰 1~7 分别对应五味子甲素、五味子乙素、五味子醇甲、五味子丙素、五味子醇乙、五味子脂乙、五味子脂丙),占总峰面积的 80.5%(见表 1)。

表 1 五味子超临界 CO₂ 提取物的 GC/MS 鉴定结果

Table 1 Compounds identified in supercritical CO₂ extract from *Schisandra chinensis* by GC/MS

Peak No. in Fig. 1	t_R /min	Compound	Formula	M_r	Area/%	NIST match
1	16.698	deoxyschizandrin	C ₂₄ H ₃₂ O ₆	416	9.39	-
2	18.637	schizandrin B	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	400	30.58	-
3	20.178	schizandrin	C ₂₄ H ₃₂ O ₇	432	16.00	-
4	20.736	schizandrin C	C ₂₂ H ₂₄ O ₆	384	5.95	-
5	22.407	schizandrol B	C ₂₃ H ₂₈ O ₇	416	15.17	-
6	30.328	schisantherin B	C ₂₈ H ₃₄ O ₉	514	2.75	93
7	31.668	schisantherin C	C ₂₈ H ₃₄ O ₉	514	0.68	91

从 7 种化合物的质谱图(见图 2)中可看出,它们可明显分为 3 类:即峰 1,2,4;峰 3,5;峰 6,7。峰 1 的保留时间和质谱图与五味子甲素对照品相符,所以确定其为五味子甲素(结构式见图 3-1)。峰 1,2,4 的质谱图非常相似,均有 $[M-15]^+$ 的碎片峰,应为 $[M-CH_3]^+$ 的信号。峰 1,2,4 的分子离子峰的 m/z 分别为 416,400,384。已知峰 1 为五味子甲素,根据这 3 个化合物分子离子峰得到的相对分

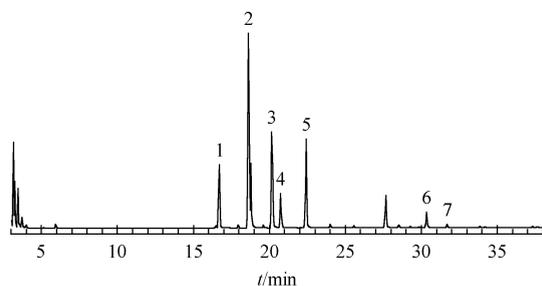


图 1 五味子超临界 CO₂ 提取物的 GC/MS 总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of supercritical CO₂ extract from *Schisandra chinensis*

For the peak identification, see Table 1.

子质量及质谱图的相似性,判断峰 2 和峰 4 分别为五味子乙素(结构式见图 3-2)和五味子丙素(结构式见图 3-4)。峰 1 和峰 2 有 m/z 370,330,299,235 的碎片信号,而峰 4 没有,这是因为五味子甲素和乙素可分解得到图 3 中的 8($m/z=370$),9($m/z=330$),10($m/z=299$)和 11($m/z=235$)等碎片离子,而五味子丙素缺乏相应的结构部分,因此不产生这些碎片。另外在峰 2 和峰 4 中有 $m/z=165$ 的碎片峰,可能为图 3 中的碎片 12($m/z=165$)。这些都与上述结构分析一致。

峰 3 的分子离子峰的 m/z 为 432,并有 $[M-18]^+$ 的峰,应含有易失去的 OH 基;质谱图中有 m/z 389,361,358,331,330,315,180 等信号,推测应为图 3 中的 13($m/z=389$),14($m/z=361$),15($m/z=358$),16($m/z=331$),17($m/z=330$),18($m/z=315$),19($m/z=180$)等离子碎片。这些信息与五味子醇甲(结构式见图 3-3)相符,因此峰 3 应为五味子醇甲。峰 5 的质谱图与峰 3 很相似,表明二者为同类化合物。峰 5 的分子离子峰的 m/z 为 416,有一个 $[M-18]^+$ 峰,所以也含有易失去的 OH 基。此化合物的 $[M]^+$ 、 $[M-18]^+$ 以及一些主要碎片的 m/z 都比五味子醇甲的相应碎片峰小 16。除 $[M]^+$ 和 $[M-18]^+$ 以外被确定的一些主要离子碎片为:图 3 中的 20($m/z=373$),21($m/z=358$),22($m/z=342$),23($m/z=330$),24($m/z=314$),25($m/z=299$)等碎片。因此峰 5 应为五味子醇乙(结构式见图 3-5)。

峰 6 和峰 7 的质谱图几乎一样(见图 2),分子离子峰的 m/z 均为 514,其中 $m/z=83$ 和 55 的碎片离子与五味子脂乙(结构式见图 3-6)和五味子脂丙(结构式见图 3-7)的脂支链符合,即存在图 3 中的 26,27($m/z=83$)和 28,29($m/z=55$)离子碎片。其他离子碎片判断为图 3 中的 30($m/z=414$),31($m/z=343$),32($m/z=316$),33($m/z=300$),34($m/z=301$),35($m/z=285$),36($m/z=165$),37

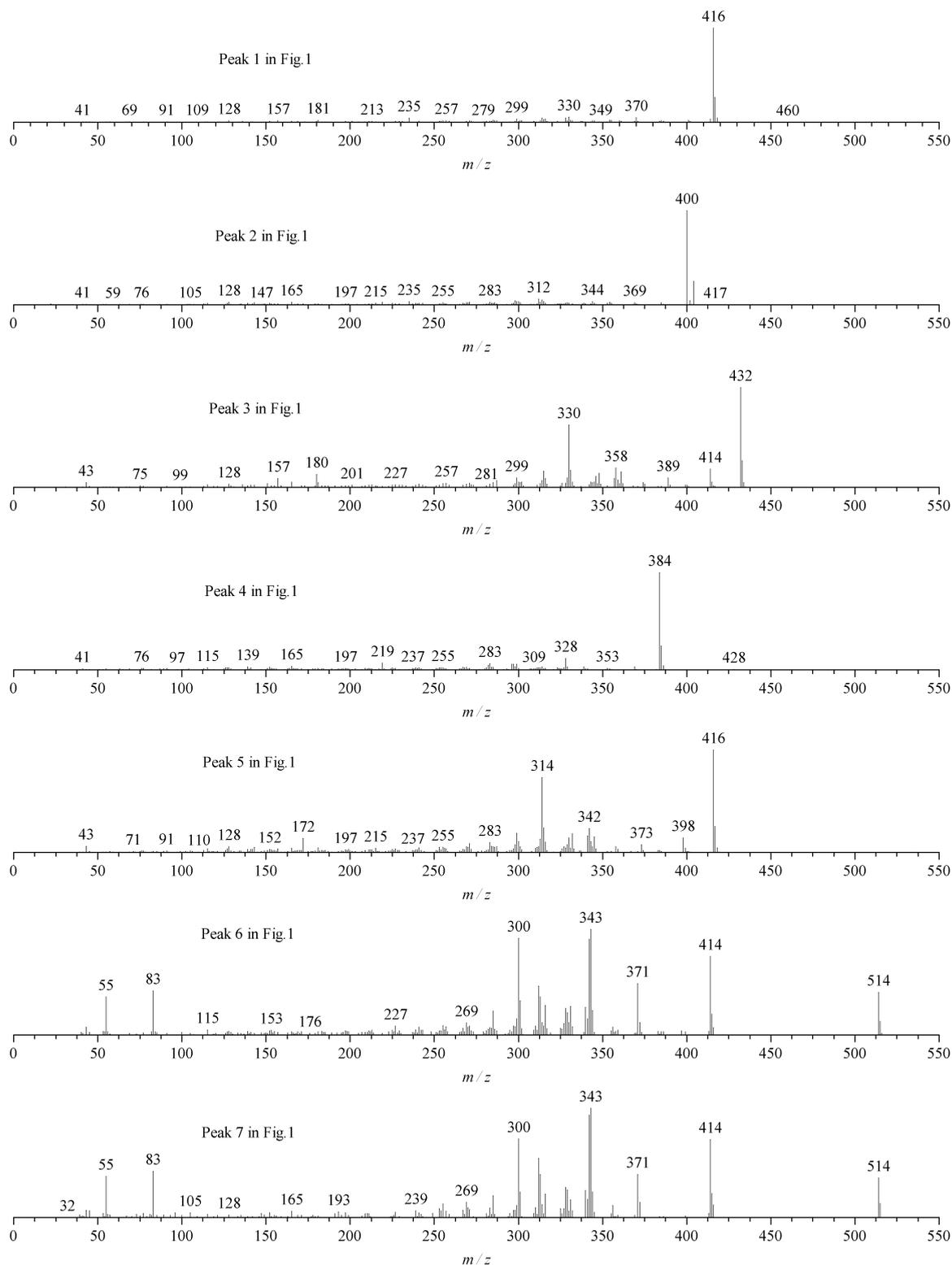


图 2 五味子超临界 CO₂ 提取物中化合物的质谱图

Fig. 2 Mass spectra of the compounds (see Table 1) identified in supercritical CO₂ extract from *Schisandra chinensis*

($m/z = 199$) 38($m/z = 115$)碎片。因此确定峰 6 和峰 7 分别为五味子脂乙和五味子脂丙。

以总离子流色谱图的峰面积计,五味子超临界提取物中含五味子乙素 30.58%、五味子醇甲 16.00%、五味子醇乙 15.17%、五味子甲素 9.39% 和五味子丙素 5.95%。当用超临界 CO₂ 进行提取

时,若加入乙醇作为夹带剂,则提取物中五味子醇甲的含量会明显下降,这可能是因为五味子醇甲对热较不稳定,在加热去除乙醇时部分被破坏了。因此可把活性成分五味子醇甲作为质量检测指标,以便改进工艺,确保五味子及其制剂的有效成分在生产中不被破坏而提高产品质量。

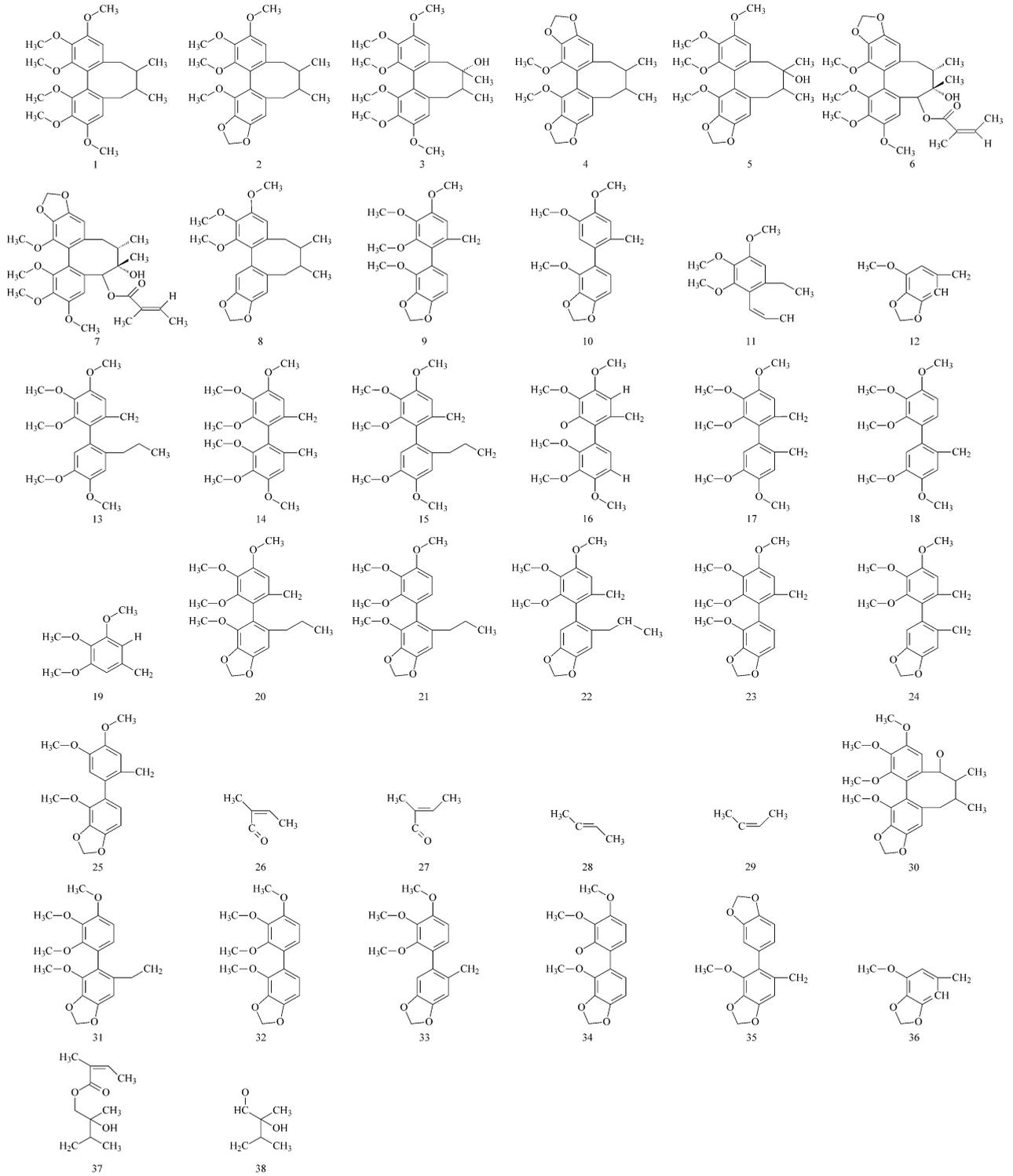


图 3 五味子超临界 CO₂ 提取物中木脂素及有关碎片的结构

Fig. 3 Structures of the lignans (see Table 1) in the supercritical CO₂ extract from *Schisandra chinensis* and the related fragments

参考文献:

[1] Lü Guoqi, Teng Kemei, Fan Yanjun. Jilin Chinese Traditional Medicine, 1995, 5: 41
吕国旗, 腾克梅, 范艳君. 吉林中医药, 1995, 5: 41

[2] Zhao Heng, Xu Jingren, Liu Ruiling. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 1995, 15(1): 33
赵恒, 徐景仁, 刘瑞玲. 药物分析杂志, 1995, 15(1): 33

[3] Yang Subei. China Journal of Chinese Materia Medica, 2001, 26

(11): 755
杨苏蓓. 中国中药杂志, 2001, 26(11): 755

[4] Liu Ben, Dean J R. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2000, 31(3): 101
刘本, Dean J R. 中国医药工业杂志, 2000, 31(3): 101

[5] Mo Zhijiang, Chen Ying, Mo Keyuan. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2001, 18(5): 355
莫志江, 陈英, 莫可元. 中国现代应用药学杂志, 2001, 18(5): 355