

利用Prep 150 LC系统分离紫锥菊提取物中的天然产物

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

应用优势

- Prep 150 LC系统 (一款高性价比、高度可靠的制备级色谱系统) 适用于天然产物提取物中的化合物分离。
- Prep 150 LC系统由ChromScope™软件控制, 是一款直观易用的软件, 让用户能够快速纯化化合物, 并缩短培训所需的时间。
- 凭借着简洁的设计与简单的软件控制, Prep 150 LC系统可帮助用户更高效地处理样品, 提高工作效率。

简介

紫锥菊 (又名紫松果菊) 属菊科草本开花植物, 是一种能够抵御干燥气候的多年生植物^{1,2}。紫锥菊花所含的其中一种主要化合物为菊苣酸, 它是苯丙素和咖啡酸的衍生物^{3,4}。最近一份有关菊苣酸的文献检索显示, 与此化合物相关的已发表研究文献中, 超过50%的内容都与其医疗用途相关, 包括上呼吸道感染与癌症的治疗, 以及提高对不同刺激物的免疫应答等等^{5,6,7}。包括地点、生长条件和样品处理在内的诸多因素, 都会影响到不同自然产物提取物中菊苣酸的含量。如要分离出足够量的目标化合物以便有效进行其他实验研究, 通常需要执行多次粗混合物进样。在本研究中, 我们将重点讨论能否将Prep 150 LC系统用作从紫锥菊提取物中分离菊苣酸的工具有。Prep 150 LC系统由ChromScope软件进行控制, 这是一款直观型软件, 可帮助用户快速实现化合物的分离。本文概述的原理同样也适用于带有紫外发色团的任意化合物的分离。

沃特世解决方案

[Prep 150 LC系统](#)

[ChromScope软件](#)

[Atlantis® T3 Prep OBD色谱柱](#)

[Atlantis T3分析柱](#)

关键词

分离, 纯化, 制备级色谱仪,
Prep 150 LC, 紫锥菊, 天然产物,
提取物, ChromScope, 菊苣酸

实验

液相色谱条件

制备级LC系统: 配有2545二元梯度模块的
Prep 150 LC系统,
Prep Inject手动进样器模块,
2489紫外可见光检测器和
沃特世(Waters®) 馏分收集器III

分析柱: Atlantis T3, 5 μ m, 4.6 x 50 mm
(部件号186003744)

制备柱: Atlantis T3 OBD Prep
5 μ m, 19 x 50 mm
(部件号186003696)

流动相A: 0.1%甲酸的水溶液
流动相B: 0.1%甲酸的乙腈溶液
梯度: 如图所示
柱温: 室温
样品温度: 室温
进样体积: 如图所示
流速: 如图所示

制备级系统的紫外条件

检测器: 2489紫外可见光
波长模式: 单一
波长: 330 nm
采样速率: 5 pt/s
过滤时间常数: 正常

数据管理

ChromScope软件

样品描述

将总计5.3 g的紫锥菊粉末有机根(StarWest Botanicals, Sacramento, CA 95838)分别加入两个50 mL的离心管内(各含2.66 g与2.64 g紫锥菊粉末), 使用20 mL 70:30的甲醇/水溶液震荡约3 h进行提取。然后对离心管执行离心操作, 取上清液, 使用多个13 mm GHP Acrodisk注射器过滤器进行过滤。浓缩蒸发去除提取物中的甲醇, 直至形成黄褐色胶状物。将此胶状物溶于14 mL 95:5的水/乙腈溶液中。

结果与讨论

虽然紫锥菊提取物中含有至少四种咖啡酸衍生物, 但菊苣酸仍是其中含量最高的一种化合物, 菊苣酸在草药产品中的效用主要源于其免疫增强功能⁸。在蒸干甲醇前, 紫锥菊粗提取物的分析色谱图表明菊苣酸是其中含量最高的化合物(图1A)。使用快速筛选梯度时, 粗提取物中的菊苣酸与相邻谱峰之间能够实现良好的分离。为进一步提高谱峰的分离度, 实验重点对梯度进行了研究⁹, 并在分析柱上进行了载样量研究。如图1B所示, 分析柱可接受的载样量为35 μ L的粗提取物进样体积。

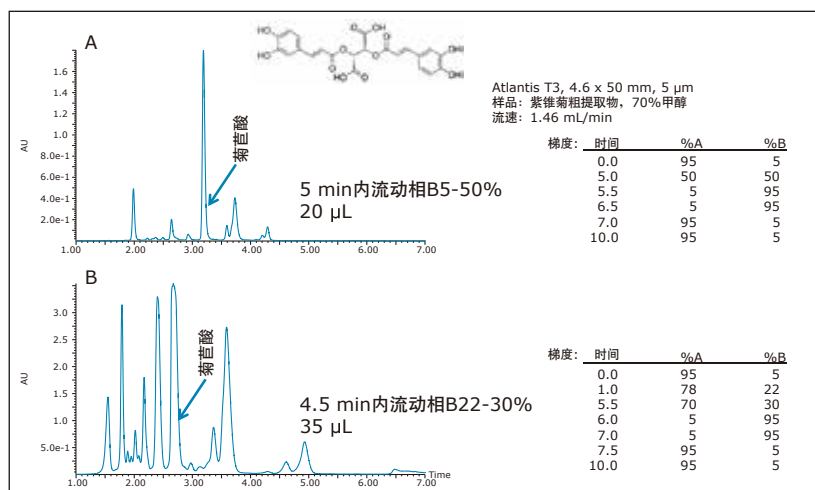


图1. A: 紫锥菊粗提取物中的菊苣酸。B: 4.6 50 mm色谱柱的梯度与载样量研究。

由于大体积的强溶剂进样会使制备级色谱图失真，因此需要利用旋转蒸发仪将粗提取物中的甲醇蒸干，使粗提取物成为胶状。将残余物溶于14 mL 95:5的水/乙腈溶液中。利用ChromScope软件中集成的Prep Calculator(制备计算器)工具，将流速与进样体积从分析柱几何放大至制备柱，所得制备级色谱图如图2所示。实验所用梯度方法将与色谱图一同显示，位于进样信息选项卡中。此外，用户还可以查看馏分收集信息，无需再搜索试管收集体积(图3)。

Prep 150 LC系统上的多次进样所得结果显示出非常出色的重现性，实验中对复溶紫锥菊提取物共进行了6次制备级进样。制备所得富集混合物的馏分分析显示：分离出的产品具有很高的纯度(图4)。

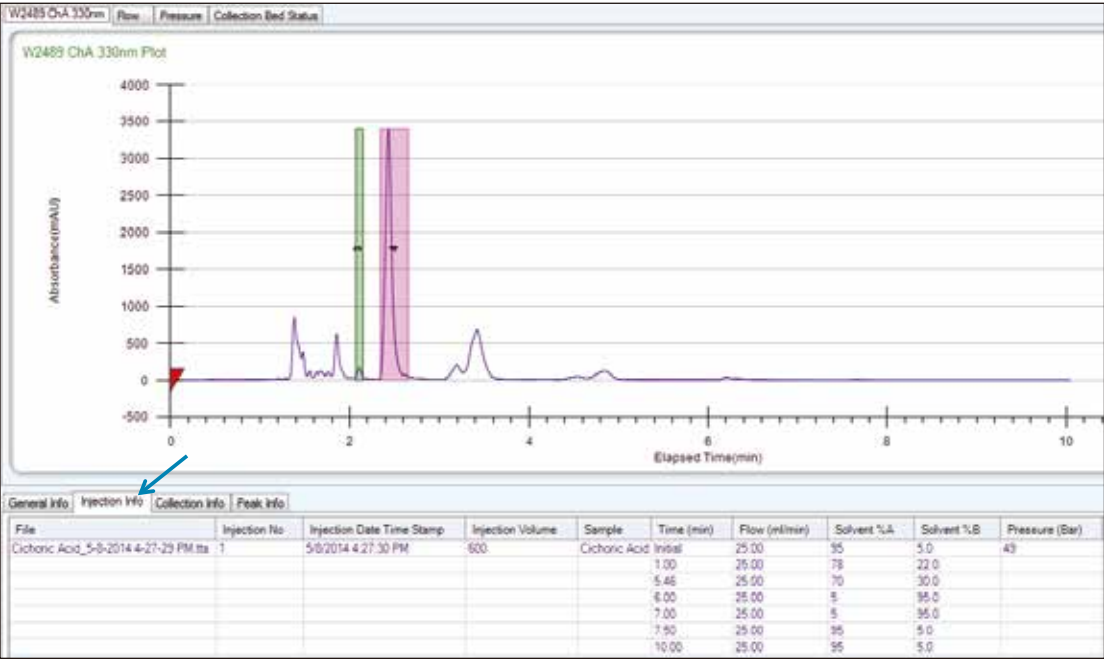


图2. 紫锥菊粗提取物中菊苣酸(4)以及一种微量杂质(3)(菊苣酸同分异构体)的制备级分离。

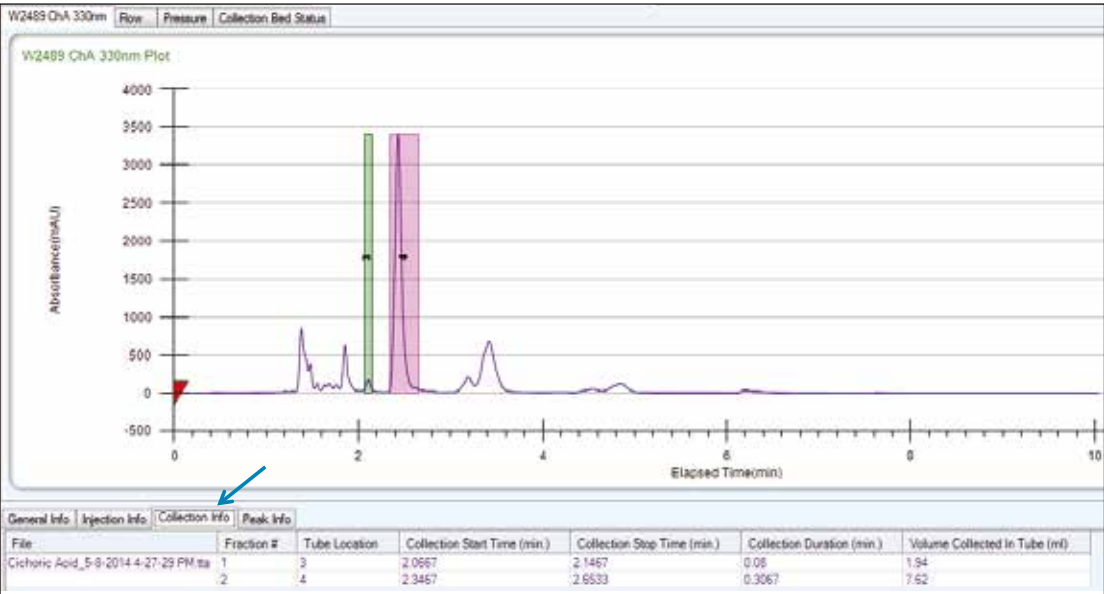


图3. 查看色谱图的同时可方便的查看馏分收集信息。

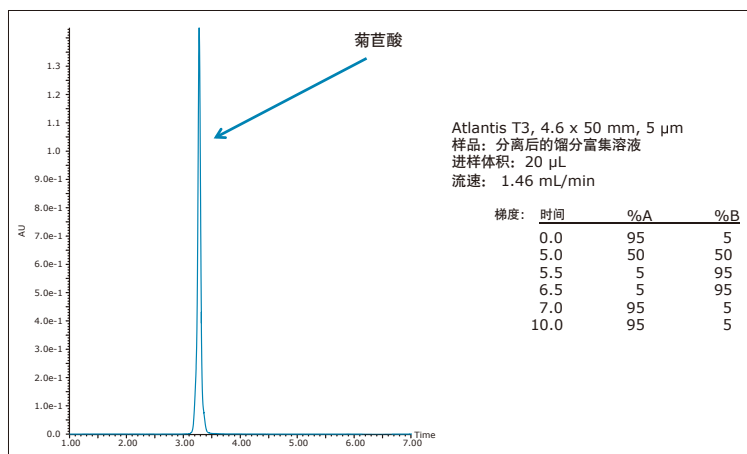


图4. 分离操作后馏分富集溶液的分析。

结论

- 实用可靠的Prep 150 LC系统是合成化学家们的理想选择, 他们更需要方便易用的纯化仪器来缩短样品循环时间。
- ChromScope是一款直观的Prep 150 LC系统控制软件, 便于用户学习与使用, 缩短了培训所需的时间投入。
- 集成的制备计算器工具无需手动计算制备级梯度, 简化了放大操作并节约了实验时间。
- 色谱中高度可视化、带颜色标记的馏分收集带让用户能够快速找到分离产物的位置, 减少了样品处理与后处理中出现的错误。
- Prep 150 LC系统使用户能够实现化合物的快速分离与纯化, 提高了工作效率。
- Prep 150 LC系统适用于从天然产物提取物中以及从含有紫外吸收化合物的任意样品混合物中分离化合物。

参考文献

1. Sunset Editors. *Sunset Western Garden Book*, 1995: 606–607.
2. *Flora of North America (FNA)*, Vol 21, p. 43, 64, 65, 88.
3. Hall III C, Schwarz J, Shi J, Mazza G, LeMaguer M, ed., *Functional Foods: Biochemical Processing Aspects 2*, CRC Press, p. 241, ISBN 1–56676–902–7, retrieved 2008–12–09.
4. Luo X, Chen B, Yao S, Zeng J. Simultaneous analysis of caffeic acid derivatives and alkamides in roots and extracts of *Echinacea purpurea* by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2003 (986) 73–81.
5. Lee J, Scagel C. Chichoric acid: Chemistry, Distribution, and Production. *Frontiers in Chemistry Review Article*. 2013 December; Volume 1, Article 40, 1. doi: 10.3389/fchem.2013.00040.
6. Tsai Y, Chiu C, Chen J, Chan K, Lin S. Cytotoxic effects of *Echinacea purpurea* flower extracts and cichoric acid on human colon cancer cells through induction of apoptosis. *Journal of Ethnopharmacology*. 2012 October 11; 143(3):914–919.
7. Sultan M, Butt M, Qayyum M, Suleria H. Immunity: Plants as effective mediators. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2014;54(10):1298–308. doi: 10.1080/10408398.2011.633249.
8. Luo X, Chen B, Yao S, Zeng J. Simultaneous analysis of caffeic acid derivatives and alkamides in roots and extracts of *Echinacea purpurea* by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2003 (986) 73–81.
9. Jablonski J, Wheat T, Diehl D. Developing Focused Gradients for Isolation and Purification. *Waters Application Note 720002955en*. 2009 September.

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, Atlantis和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。ChromScope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。

©2014年 沃特世公司 印制于中国
2014年7月 720005108ZH AG-PDF

沃特世中国有限公司
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: 028-6578 4990
香港: 852-2964 1800

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