

HPLC-PDA 测定紫锥菊商业提取物中有效成分的含量

毕小玲¹, 蔡妙颜¹, 王兆梅¹, 邓韵², 张干元²

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640) (2. 东莞劲芳生物医药孵化器有限公司, 广东 东莞 523808)

摘要: 目的: 研究紫锥菊商业提取物中有效成分菊苣酸的含量, 为紫锥菊提取物的进一步应用提供依据。方法: HPLC-PDA 法, C₁₈ 柱, 柱温 35℃。流动相为色谱纯乙腈和 0.1% 的磷酸溶液, 采用梯度洗脱, 流速 1.5 mL/min, 检测波长为 330 nm。结果: 各组分离较好, 菊苣酸在 0.456~2.28 μg 线性关系良好($r=0.9996$)。平均加样回收率为 98.18%, RSD 为 1.12%。结论: 该法定性定量准确、可靠、重现性好, 可以用于紫锥菊提取物中有效成分菊苣酸的质量评价。

关键词: 紫锥菊提取物; 菊苣酸; HPLC-PDA

中图分类号: R284.1; 文献标识码: B; 文章编号: 1673-9078(2007)11-0078-03

Determination of Active Component in Commercial Extracts of *Echinacea purpurea* by HPLC-PDA

BI Xiao-ling¹, CAI Miao-yan¹, WANG Zhao-mei¹, DENG Yun², ZHANG Gan-yuan²

(1. College of Light Industry and food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)
(2. Dongguan Ginfang Biomedical Incubator Co., Ltd, Dongguan, 523808, China)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of cichoric acid, an active component in commercial extracts of *Echinacea purpurea*, by HPLC-PDA. and provide reference for the further use of *Echinacea purpurea* extracts. **Method** The samples were analyzed by HPLC-PDA on a C₁₈ column with a PDA at 330 nm and the temperature at 35°C. The mobile phase was a mixture of acetonitrile and 0.1% phosphoric acid at a flow rate of 1.5 mL/min. **Results** The standard curve was linear in the cichoric acid concentration range of 0.456-2.28 μg ($r=0.9996$). The average recovery was 98.18% (RSD=1.12 %). **Conclusion** The method was rapid, sensitive and had good reproducibility, which could be used for quality assessment of cichoric acid in commercial extracts of *Echinacea purpurea*.

Key words: *Echinacea purpurea* extracts; cichoric acid; HPLC-PDA

紫锥菊是欧美最常用的草药, 为免疫调节剂, 能提高机体的抗菌和病毒感染作用, 为欧美等地畅销的保健药品。在我国, 紫锥菊的研究起步较晚, 市场上紫锥菊产品种类极少, 因此紫锥菊在我国保健品和药品市场有巨大的发展潜力。目前, 紫锥菊在我国许多地方已引种成功并形成一定规模, 其提取物市场发展尤其快, 本文对几家公司的紫锥菊提取物产品进行了有效成分的含量测定, 为紫锥菊提取物的进一步应用提供了一定依据。

1 仪器与试剂

戴安 P680 高效液相色谱仪、PDA 检测器、超声清洗器、菊苣酸对照品 (中国药品生物制品检定所,

收稿日期: 2007-07-24

作者简介: 毕小玲 (1982-), 女, 在读硕士; 研究方向: 天然糖质分离纯化新方法新技术

批号: 111452-200601)、色谱纯乙腈 (天津市科密欧化学试剂开发中心)、超纯水、分析纯磷酸、分析纯无水乙醇、紫锥菊提取物 (吉林宏久生物科技股份有限公司、湖南九汇现代中药有限公司、西安天一生物技术有限公司)。

2 溶液的制备

2.1 标准品储备液的制备

准确称取菊苣酸标准品 0.0038 g, 用 70% (v/v) 的乙醇溶液溶解并稀释至 25 mL, 得 0.152 mg/mL 标准品储备液备用。

2.2 标准品溶液的制备

准确量取 15 mL 菊苣酸储备液, 用 70% (v/v) 的乙醇溶液稀释至 25 mL, 得 0.0912 mg/mL 标准品溶液备用。

2.3 供试品溶液的制备^[1]

准确称取样品 0.125 g, 置于 100 mL 具塞三角瓶中, 加入 70%(v/v)的乙醇溶液 25 mL, 用瓶塞密封, 于 45 °C、100% 的功率下超声提取 40 min。过滤, 收集滤液并用 70%(v/v)的乙醇溶液定容至 25 mL, 即得。

3 方法与结果

3.1 色谱条件

色谱柱: 迪马 Ultimate XB-C18 柱(4.6×250 mm)。柱温: 35 °C。流动相^[2]: 乙腈和 0.1%磷酸溶液, 0~13 min, 乙腈由 10%~22%, 13~14 min, 乙腈由 22%~40%, 14~17.5 min, 乙腈保持在 40%, 17.5~18 min, 乙腈由 40%~10%, 18~30 min, 乙腈保持 10%平衡。流速 1.5 mL/min。检测波长: 330 nm。

3.2 系统适应性

取标准品溶液 5 μL 和供试品溶液 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 1。主峰的理论塔板数 n = 169374, 溶剂峰对主峰测定无干扰。

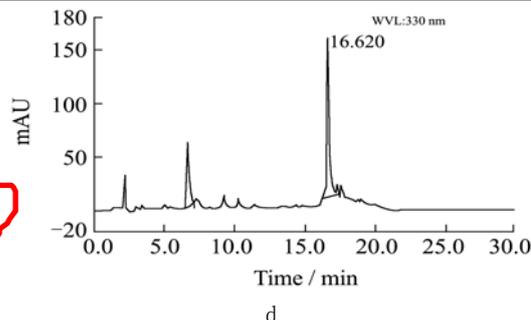
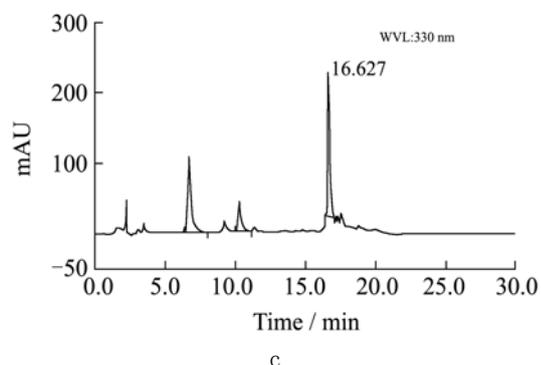
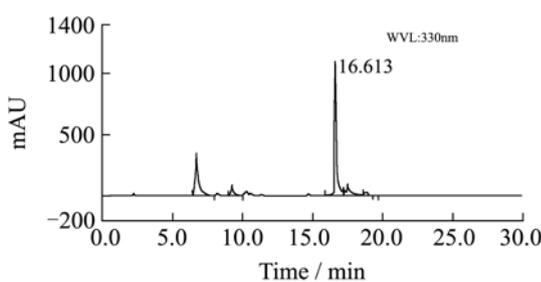
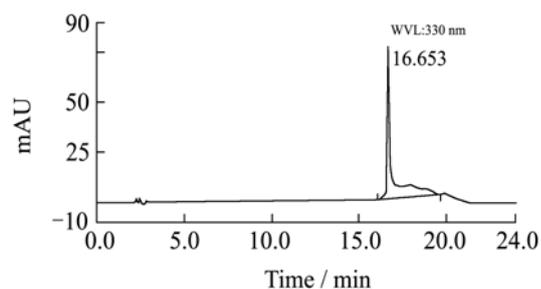


图 1 1-菊苣酸的系统适应性液相色谱图

a 菊苣酸标准品的液相色谱图; b 宏久紫锥菊提取物的液相色谱图; c 湖南九汇紫锥菊提取物的液相色谱图; d 西安天一紫锥菊提取物的液相色谱图

Fig.1 A Liquid chromatograph of experiment on system suitability of 1-Cichoric acid

Note: a: The liquid chromatogram of cichoric acid standard substance; b: The liquid chromatogram of *Echinacea purpurea* extracts from Hong-jiu; c: The liquid chromatogram of *Echinacea purpurea* extracts from Jiu-hui; d: The liquid chromatogram of *Echinacea purpurea* extracts from Tian-yi

3.3 线性与范围

取标准品溶液, 分别进样 5 μL、10 μL、15 μL、20 μL、25 μL 于液相色谱仪, 记录色谱图, 以峰面积 (Y) 为纵坐标, 菊苣酸质量 (X) 为横坐标进行回归处理, 得回归方程为 $Y=0.0238X+0.1027$, $r=0.9996$ 。结果表明菊苣酸在 0.456~2.28 μg 范围内峰面积线性关系良好。

3.4 精密度试验

取菊苣酸标准品溶液, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 计算 RSD 为 2.32%。

3.5 重现性试验

精密称取同一批紫锥菊提取物样品适量, 按供试品溶液制备方法制备 6 份, 依法测定。结果菊苣酸的平均含量为 8.71 mg/mL, RSD 为 2.98%。

3.6 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液, 分别在 0 h、1 h、2 h、4 h、8 h、14 h、24 h 进样测定菊苣酸的峰面积, 计算 RSD 为 4.93%。结果表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

3.7 加样回收率试验

精密称取已知菊苣酸含量 (8.83 mg/g) 的提取物约 0.06 g 共 9 份, 加菊苣酸标准品 1 mL、2 mL、3 mL, 制备供试品溶液, 依法测定, 计算, 得平均回收率为 98.18%, RSD 为 1.12% (n=9)。

(下转第93页)

- 纯化与结构确定[N].高等学校化学学报,1983,4(3):363-369
- [17] 韦巍,李雪华.多糖的研究进展.国外医学药学分册, 2005, 32(3):179-184
- [18] 张翼伸.多糖的结构测定.生物化学与生物物理进展. 1983 (5):18-23
- [19] 盛家荣,曾令辉,等.多糖的提取、分离及结构分析[N].广西师院学报(自然科学版),1999,16(4):49-54
- [20] 孔庆胜,蒋滢.南瓜多糖的提取纯化及分析[J].济宁医学院学报,1999,22(1):37-39
- [21] 张惟杰.糖复合物生化研究技术[M].上海:上海科学技术出版社,1999
- [22] Dubis M. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Anal Chem, 1956, 28: 350
- [23] Miskai H, et al. Carbohydr Res. 1981, 92: 115
- [24] 牛君仿,方正,等.灵芝有效化学成分研究进展[J].河北农业大学学报,2002,25(5):51-54
- [25] Alsop PM. J Chromatogr. 1982, 246: 27
- [26] 盖英萍,牟志美.桑叶多糖的提取与分析[J].蚕业科学,2005, 31(1):31-35
- [27] Varma R, Varma R S, Wardi A H. Separation of aldononitrile acetates of neutral sugars by gas-liquid chromatography and its application to polysaccharides[J]. J Chromatogr, 1973, 77: 222-227
- [28] Hakomori S. J. Biochem, 1964, 55: 205
- [29] Aspinnall G O, Ferrier R J. Chem Ind (London), 1957, 7: 1216
- [30] Marikawa H, Tanizawa K, Senda M. Agr Bio Chem, 1974, 38(2):343
- [31] Ukai S, Matsuura S, Hara C et al. Carbohydrate Research, 1982, 101-109
- [32] 欧阳臻,陈均,李永辉.桑叶多糖的分离纯化及组成研究[J].食品科学,2005,26:181-184
- [33] 王芳,励建荣.桑叶的化学成分、生理功能及应用研究进展[J].食品科学,2005,26:111-117
- [34] 陈福君,卢军,陈永煜.桑的药理研究(I)—桑中降血糖有效组分对糖尿病动物糖代谢的影响[N].沈阳药科大学学报,1996,13(1):24-27
- [35] 赵骏,高岚.桑叶多糖的降糖降脂作用[J].天津中医药, 2004, 6
- [36] 李宏,黄金山.桑叶对 α -葡萄糖苷酶活力影响及降糖机理研究[J].中国蚕业,2003,(2):11-20
- [37] Hikino H, Murakami M, Oshima Y, et al. Isolation an hypoglycemic activity of oryzarans A, B, Cand D: Glycan of Oryzasativaroots. Planta Med, 1986, 52: 490-492
- [38] 彭延古,葛金文.桑叶提取液对凝血机制的影响[J].湖南中医学院学报,2002,22(4):21-23
- [39] 包立军,张剑韵,黄龙全.桑叶中抗凝血活性成分的初步分离与纯化[J].蚕业科学,2006,32(3):418-421
- [40] 金丰秋.新型功能性饮品—桑茶[J].食品科学,2000,21(1):46

(上接第 79 页)

3.8 样品的测定

表 1 紫锥菊提取物中菊苣酸含量的测定结果 ($n=3$)

Tab.1 Cichoric acid levels in different *Echinacea purpurea* extracts ($n=3$)

厂商	菊苣酸含量/mg·g ⁻¹	RSD/%
宏久	38.92	0.19
九江	8.83	0.93
天一	7.90	1.52

精密称取各提取物各 0.125 g, 按供试品溶液制备方法制备, 测定, 每批样品测定 3 份, 按外标法计算菊苣酸含量, 测定结果见表 1。

4 结论

本研究采用 PDA 检测器, 可以对目标成分菊苣

酸进行全波长扫描, 准确得出其最大吸收波长, 并检测样品中菊苣酸峰的纯度, 快速准确性目标物。

本文对三家公司紫锥菊提取物的有效成分菊苣酸进行了研究, 以快速准确的方法对其进行定性定量分析, 为其在保健食品及医药行业的进一步应用提供可靠依据。

参考文献

- [1] 吴启林,袁其朋,陈养文.紫锥菊中菊苣酸提取纯化工艺研究[J].中草药,2004,35(9):995-997
- [2] Nigel B. Perry, Elaine J. Burgess, V. leAnne Glennie. Echinacea Standardization: Analytical Methods for Phenolic Compounds and Typical Levels in Medicinal Species[J]. J. Agric. Food Chem, 2001, 49:1702-1706