· 药剂与工艺 ·

紫锥菊及其复方制剂中菊苣酸的 HPLC测定

罗旭彪,陈 波,朱小兰,姚守拙*
(湖南师范大学化学研究所,湖南 长沙 410081)

摘 要: 目的 测定紫锥菊及其复方制剂中菊苣酸的含量。方法 采用 HPLC法,流动相为 400 mmol/L醋酸铵-甲醇(95∶5),流速为 1 mL/min,检测波长为 330 nm。结果 该法的平均回收率为 99.4%,*RSD*= 3.23% (*n*= 5)。结论 该方法可用于紫锥菊药材提取物及其制剂的质量控制。

关键词: 紫锥菊;菊苣酸;高效液相色谱
中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)10-0890-02

Determination of cichoric acid in *Enchinacea purpurea* and its preparation by HPLC

LUO Xu-biao, CHEN Bo, ZHU Xiao-lan, YAO Shou-zhuo
(Chemical Research Institute, Hunan Normal University, Changsha 410081, China)

Abstract **Object** To determine the amount of cichoric acid in *Enchinacea purpurea* and its preparation. **Methods** By the use of HPLC, mobile phase: 400 mmol/L ammonium acetate-methanol (95∶5), flow rate: 1 mL/min, detection wavelength: 330 nm. **Results** The mean recovery of cichoric acid was 99.4%, *RSD*= 3.23% (*n*= 5). **Conclusion** The method can be applied in the determination of cichoric acid in *E. purpurea* extract and its preparation with satisfactory results.

Key words *Enchinacea purpurea* L.; cichoric acid; HPLC

紫锥菊 *Enchinacea purpurea* L.为紫菀科的全草,连续数年入选美国最畅销植物药行列[1]。近几年我国已从北美和欧洲引进了该药材。菊苣酸是其主要的生理活性成分。紫锥菊及其复方制剂中菊苣酸分离、分析方法较少,常用梯度淋洗[2-4],但是在分析时,需要两种流动相系统,操作繁杂。本实验首次应用醋酸铵-甲醇流动相与 C_{18}反相柱,选择二极阵列管检测器,准确、快速地分析了复方制剂中菊苣酸的含量,结果满意。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂: Waters 2695分离单元, Waters 996二极管阵列 UV检测器。水为二次蒸馏水;紫锥菊提取物、菊苣酸复方制剂采自市场;菊苣酸对照品(自制)[5]。所用试剂均为分析纯。

1.2 样品处理: 取紫锥菊提取物 1 g,加 20 mL水,超声提取 20 min,离心,弃去残渣,上清液多次加入氯仿提取色素,弃去氯仿层,水相用甲酸调至 pH= 3,加入乙酸乙酯提取(3× 30 mL),蒸干乙酸乙酯,残渣用 50% 甲醇-水定容至 10 mL,样液离心后过 0.45 μm滤膜,即得。

1.3 色谱条件: 采用 Xterra™ C_{18}柱(5 μm, 150 mm× 3.9 mm),流动相: 400 mmol/L醋酸铵-甲醇(95∶5),流速: 1 mL/min,紫外检测波长: 330 nm。

2 方法与结果

2.1 检测波长的选择: 经 PAD紫外检测器扫描,菊苣酸的最大吸收波长为 330 nm,所以选择 330 nm作为菊苣酸的检测波长。

2.2 提取溶剂的选择: 考察了不同溶剂对紫锥菊提取物中菊苣酸的提取率,结果见表 1。可见水提取最完全,可能因为紫锥菊提取物中菊苣酸大部分以盐的形式存在,所以极性最强的水提取率最高。

表 1 提取溶剂的影响

提取溶剂	菊苣酸的提取率(%)
水	95
丙酮	0.4
丙酮-水(8∶2)	0.8
乙醇	0.2
乙醇-水(2∶8)	83.6
甲醇-水(8∶2)	2.1

2.3 流动相的选择

2.3.1 缓冲溶液的选择: 菊苣酸很容易拖尾,可能是结构中的羟基与固定相硅羟基作用而致,用磷酸、甲酸缓冲溶液作为流动相时,峰拖尾十分严重。本实

* 收稿日期: 2001-12-31
基金项目: 科技部国家"十五"攻关项目(201JZY2089);湖南省科技厅重点项目(01JZY1005)

验选用醋酸铵缓冲溶液作为流动相时,不但得到较对称的峰形,而且有效地降低了检测限。

2.3.2 流动相组成的选择:比较了流动相中不同浓度醋酸铵(10, 20, 30, 100, 200, 400 mmol/L)对菊苣酸保留特性的影响,结果表明随着醋酸铵浓度增加,出峰时间增长,当醋酸铵浓度为 400 mmol/L时可以得到菊苣酸最佳分离(图 1)。同时比较了不同甲醇比例(100∶0, 97∶3, 96∶4, 95∶5),随着甲醇含量减少,出峰时间缩短,没有甲醇时,20 min内不出峰,结果表明 400 mmol/L醋酸铵-甲醇(95∶5)是最佳的配比(表 2)。

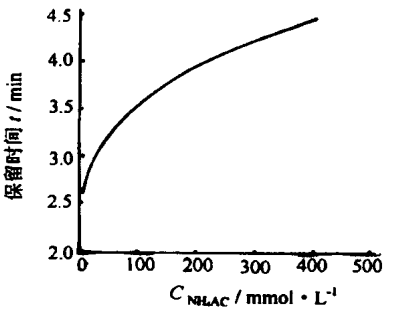

图 1 醋酸铵浓度对菊苣酸的保留时间的影响

表 2 流动相中甲醇的比例对菊苣酸保留时间的影响

400 mmol/L醋酸铵-甲醇	保留时间(min)
100∶0	> 20
97∶3	7.27
96∶4	5.61
95∶5	4.46

2.3.3 pH值的选择:考察了流动相 pH值与菊苣酸峰的不对称因子间的关系,结果见表 3。随着 pH值减少,菊苣酸的峰拖尾现象逐步严重,当 pH= 6时峰形最佳。

表 3 菊苣酸不对称因子与流动相 pH值的关系

pH值	3	4	5	6
不对称因子	> 1.5	> 1.5	1.32	1.10

2.4 标准曲线:精密称取菊苣酸对照品 10 mg,置 10 mL量瓶中,以甲醇-水(5∶5)溶解并稀释至刻度,摇匀。精密吸取对照溶液 1, 2, 3, 5, 7, 9 μL按上述色谱条件测定。以对照品质量 X(μg)为横坐标,峰面积 Y为纵坐标,得方程:Y= 32 106.16 X- 45.21, r= 0.999 1,线性范围:1~ 9 μg。在最佳色谱条件下,以基线噪音的 3倍所相当的物质的质量为最低检出限,计算出最小检出量为 200 ng。

2.5 精密度试验:对紫锥菊提取物样品的溶液进行测定,连续自动进样 5次,计算得峰面积 RSD= 0.87%,说明系统稳定性好。

2.6 重现性试验:对同一批号样品进行 5次平行试验,结果峰面积 RSD为 2.84%。

2.7 回收率试验:精密称取已知含量的紫锥菊提取物,加入一定量菊苣酸对照品,按样品的含量测定的方法进行测定,计算回收率,得平均回收率为 99.41% (n= 5), RSD= 3.23%。

2.8 样品的含量测定:样品溶液进样 1 μL,以峰面积计算菊苣酸的含量。结果见表 4。色谱图见图 2。

表 4 紫锥菊提取物及复方制剂中菊苣酸的含量 (n= 5)

样 品	菊苣酸的含量(%)	RSD(%)
紫锥菊提取物 1	6	1.25
2	4	1.38
3	7	2.01
紫锥菊复方制剂	1.5	1.78

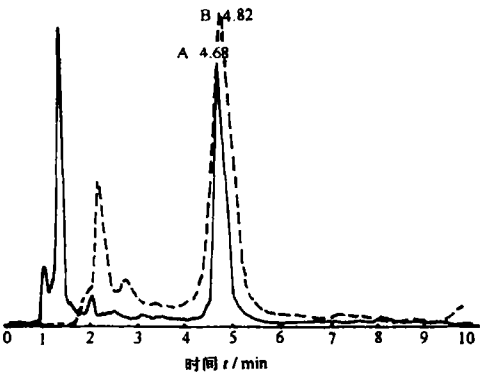

图 2 紫锥菊提取物 2(A)和菊苣酸复方制剂(B)的 HPLC图谱

3 讨论

3.1 与梯度方法的比较:按文献报道的梯度淋洗条件[2~4]分析菊苣酸提取物,结果峰出现拖尾。但当流动相中未加磷酸时,虽峰未出现拖尾,但检出的菊苣酸含量很小,大部分菊苣酸未能从柱上洗脱下来;而等度分析时,菊苣酸出峰时间快,不拖尾,与标准梯度淋洗比较峰面积差值小于 5%,两结果无明显差异。

3.2 本研究建立了等度高效液相色谱紫外检测的定量分析方法,方法快速、简便、准确,可用于菊苣酸复方、菊苣酸提取物的分析。

参考文献:

[1] 肖培根. 国际流行的免疫调节剂—— 紫锥菊及其制剂 [J]. 中草药, 1996, 27(1): 46-48.

[2] Nigel B P, Elaine J B, Vle A G. Echinacea standardization ananlytical methods for phenolic compounds and typical levels in medicinal species [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49: 1702-1706.

[3] Hyun-ock K, Tomothy D D, Christine H S, *et al*. Retenion of caffeic acid derivatives in dried *Echinacea purpurea* [J]. J Agric Food Chem, 2000, 48: 4182-4186.

[4] Chun H, David D K. Studies on the antioxidant activity of Echinacea root extract [J]. J Agric Food Chem, 2000, 48: 1466-1472.

[5] 陈 波,潘振球,范元成,等. 高效液相色谱法制备菊苣酸标准对照品的研究 [J]. 实用预防医学, 2001, 8(1): 15-17.