

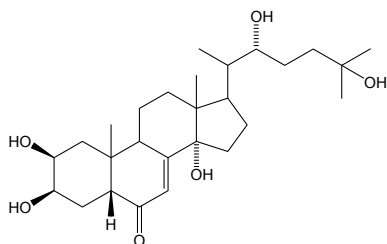
巴西人参 (*Pfaffia glomerata*) “珉菲亚” 提取物中 β -蜕皮激素的HPTLC含量测定



位于巴黎Anet地区的BioEurope研究中心: Agnès Gaspar, Sophie Leclerc和Véronique Maignier (从左至右)

成立于1985年的BioEurope (和法国Solabia公司于1992年合并) 致力于化妆品、药品和医疗诊断领域中间体的生产和销售, 是欧洲领先的抗生素发酵用蛋白胨提供者。基于在酶催化合成工艺方面的经验, BioEurope也开发出多种用于化妆品工业的天然植物提取物。

BioEurope在2003年起开始使用HPTLC技术, 目前执行着超过15个的经验证的定量方法, 譬如可提取物中可可碱和咖啡因, 积雪草 (*Centella asiatica*) 提取物中的积雪草酸和羟基积雪草酸以及胡桃叶提取物中的金丝桃苷等。HPTLC技术在优化提取工艺和对植物原料或提取物以指标性活性成分进行定量鉴别方面也非常有帮助。



β -蜕皮激素化学结构

简介

巴西人参 (*Pfaffia glomerata*) 所具有的营养和防病的功效类似传统的人参 (*Panax ginseng*)。但巴西人参其实和人参有很大不同, 前者生长于巴西热带雨林中潮湿山地的背阴南坡。其来源于苋科牛膝属植物珉菲亚的硕大的块状根, 并通过冷轧法获取植物的汁液。巴西人参的功效来自其所含有的下列成分:

- 抗氧化剂, 如硒和多元酚
- 皂苷 (巴西人参皂苷以及非三萜皂苷)
- 氨基酸: 精氨酸、赖氨酸、组氨酸和甘氨酸等
- 甾醇: 如 β -蜕皮激素^[1]等

β -蜕皮激素是一种荷尔蒙激素, 存在于具有蜕皮现象的昆虫和鱼, 以及某些植物种类中。它所展示出的与表皮细胞新陈代谢有关的生物活性^[2]使其受到了化妆品行业的关注。本文报道对巴西人参根冷轧法的获得的提取物进行 HPTLC含量测定的方法^[3]。

供试品的制备

取样品1 g, 加甲醇10 mL, 超声5 min混匀。

标准品的制备

取 β -蜕皮激素对照品溶甲醇中, 制成0.04 mg/mL的溶液。

薄层板

HPTLC 硅胶60 F254 预制高效薄层色谱板 (Merck), 20 x 10 cm。

点样

采用CAMAG ATS4仪器进行条带状点样, 16个轨道, 条带宽6 mm, 轨道间距11.3 mm。原点距底边8 mm, 距两侧15 mm。点样体积样品3-5 μ L, 对照品1到5 μ L (0.04至0.2 μ g/条带)。

色谱条件

采用20 x 10 cm双槽展开缸进行，展开剂为氯仿-甲醇-水（7：5：2）分层后的下层溶液。层析缸首先饱和15 min，展开距离自底边起5 cm。展开后的薄层板用TLC加热器于80 °C干燥5 min。

显色

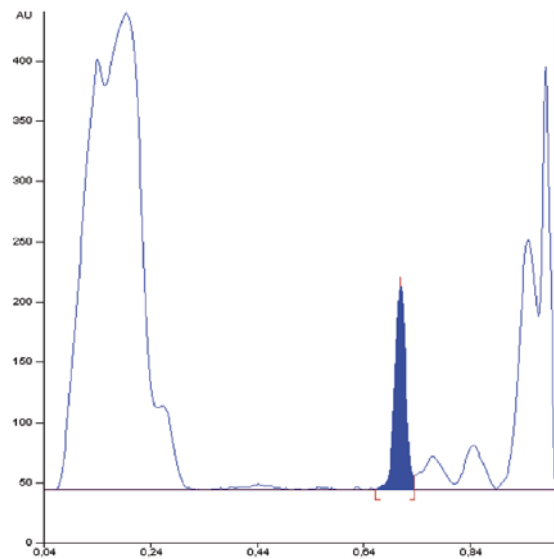
采用 CAMAG 浸渍设备进行，将展开后的薄层板在茴香醛试剂（0.5 mL 茴香醛加入由 85 mL 甲醇、10mL 冰醋酸和 5 mL 浓硫酸组成的溶液中）中浸渍 1s。再将薄层板在 CAMAG 薄层板加热器上于120°C 加热 20 min。

光密度扫描

采用CAMAG TLC Scanner 3软件进行光密度扫描，波长432 nm，计算采用基于峰面积的多元回归曲线。

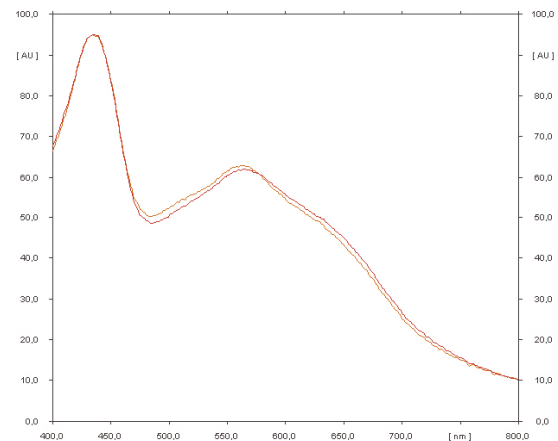
结果和讨论

该方法对待测活性成分 β -蜕皮激素有较好的选择性，可避免提取物基质的干扰。一个表性样品光密度扫描图显示 β -蜕皮激素对于样品中的其他成分有着较好的分离度。与正交的正向HPTLC方法相比，之前采用的HPLC方法受到基质的很大影响，许多干扰成分的色谱峰分布在整个色谱图中，而不是集中在色谱图的起始位置。



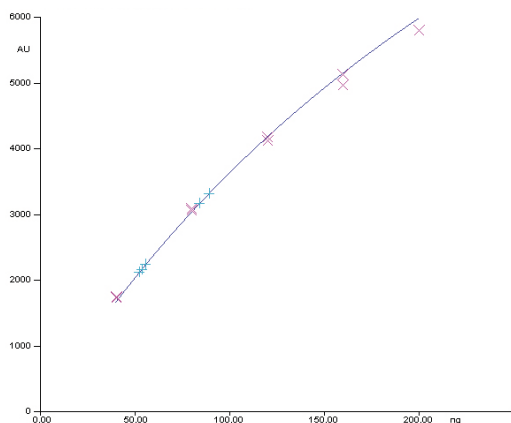
一个巴西人参提取物样品中 β -蜕皮激素(Rf 0.71)与样品基质成分的分

光密度扫描的优化波长确定是通过薄层板斑点原位UV/可见光谱测定的。 β -蜕皮激素的鉴别通过样品中与对照品光谱比较得到验证。



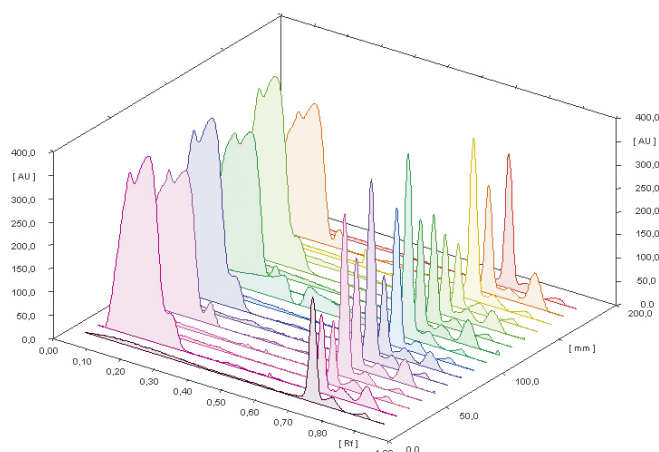
样品中的 β -蜕皮激素和对照品的光谱比较

β -蜕皮激素在0.04 到0.2 μg /条带的浓度范围内呈线性关系(sdv 1.6 %)。所测样品中 β -蜕皮激素的含量为0.4-0.6 g/kg。



β -蜕皮激素回归曲线 (对照品: x 和样品: +)

通过多个轨道的在相同色谱条件下的平行色谱分析,可使得冷轧巴西人参提取物干膏样品中的活性成分 β -蜕皮激素得到快速的测定。



相同色谱条件下16个轨道的平行色谱对 β -蜕皮激素快速测定

进一步资料可联系作者获取:

* Mrs Sophie Leclere, Bioeurope, Route de Oullins,
F-28260 ANET, France, sophie.leclere@solabia.fr

- [1] Shiobara Y. et al. Phytochemistry 32 (1993) 1527
- [2] Detmart M. et al. Eur. J. Dermatol. 4 (1994) 558
- [3] Wagner, H., Bladt, S.: Plant Drug Analysis, Springer, Heidelberg, 1996