

3.2 辣味成分的含量与干姜、姜皮、炮姜的
药效: 中医认为, 干姜味辛性温, 姜皮味辛性
凉, 这可能与干姜中辣味物质含量高, 姜皮中
辣味物质含量低有关。

参考文献

- 1 黄雪松. 生姜抗氧化成分研究(1)——提取、分离、鉴定
与应用(博士学位论文). 武汉: 华中农业大学食科系,
1998
- 2 黄启荣, 国外医学-中医中药分册, 1989, 11(6): 32
- 3 李玉平译, 国外医学-中医中药分册, 1986, 8(1): 24

- 4 池田正书, 等. 国外医学-中医中药分册, 1983, 总 107
- 5 朱守川, 等. 国外医学-中医中药分册, 1987, 9(3): 32
- 6 原次健. 日本公开特许公报, 昭 60-178818, 1985
- 7 无锡轻工学院等编. 食品分析. 北京: 轻工业出版社,
1983: 81
- 8 Chen Chu-chin, *et al.* J Agric Food Chem. 1986, (34):
477
- 9 Baranowski JD. J of Chromatogr. 1985, (319): 471
- 10 张维勤. 山东农业科学, 1991, (6): 11
- 11 黄雪松, 等. 中国调味品, 1996, (8): 31

(1998-09-21 收稿)

Determination of the Pungent Principles in Ginger Powder, Ginger Skin and Baked Ginger

Huang Xuesong, Wang Jianhua and Zhang Xiaofan (Department of Food Science and Technology, Shan-
dong Agricultural University, Taian 271018)

Abstract The pungent principles in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) was measured by HPLC. The
contents of gingerol in ginger powder, ginger skin and baked ginger were 1.022, 0.28 and 0.25 g/100 g, re-
spectively. The contents of gingerone were 0.90, 0.18 and 4.8 g/kg, respectively. Baked ginger contained
0.49 g/kg shogaol, but there were only traces of shogaol in ginger skin and powder.

Key words pungent principles ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) ginger skin baked ginger
shogaol gingerol gingerone

HPLC 测定银杏愈伤组织内酯 A 的研究[△]

浙江大学西溪校区生命科学学院(杭州 310012) 陈云龙* 徐程 徐礼根 杨志坚

摘 要 建立了一种可用于银杏离体细胞培养物中内酯 A 含量分析的 RP-HPLC 方法。样品经低
浓度甲醇提取后, 用中性或酸性氧化铝固相萃取柱纯化, 用示差检测器检测, 银杏内酯 A 的最低检
测限为 0.012 μg , 方法回收率为 $(96.0 \pm 2)\%$, RSD 为 3.1%。

关键词 银杏 愈伤组织 银杏内酯 A HPLC

银杏内酯(包括内酯 A、B、C)作为一类
特异有效的小血小板活化因子(platelet-acti-
vating factor)受体拮抗剂, 近年来受到了世界
各国药学工作者的广泛关注。由于这类化
合物分子立体结构复杂, 人工合成的技术难
度大, 目前仍以银杏叶作为提取银杏内酯化
合物的主要来源^[1]。关于银杏离体培养产生

内酯化合物的研究, 尽管做了大量工作, 但由
于分析测试技术上的限制, 银杏细胞培养中
内酯含量分析尚有一定困难^[2~4]。笔者通过
采用细直径 HPLC 快速分析柱, 检测到了愈
伤组织培养物中银杏内酯 A 化合物。

1 仪器和材料

高效液相色谱仪: 日本岛津, 包括 LC-

* Address: Chen Yunlong, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou

陈云龙 男, 31 岁, 研究生毕业, 获硕士学位, 讲师。主要从事天然产物化学方面的应用基础研究, 是“银杏叶提取物新
生产工艺研究”成果的主要完成人之一, 已发表研究论文 10 多篇, 现主持省自然科学基金项目 1 项, 主持或参加省教委项目
2 项。

[△] 浙江省自然科学基金资助项目(297066)

6A 型输液泵, RID-6A 型示差检测器, SCL-6A 型系统控制器, 以及 C-R3A 型数据处理机。

银杏幼叶: 1998 年 4 月中旬采自浙江大学西溪校区, 银杏种实(大佛手)购自浙江富阳。

银杏内酯 A、B 对照品由日本梅田诚一教授提供; 中性氧化铝、聚酰胺为柱层析用; C_{18} 固相萃取柱, 大连依利特科学仪器有限公司出产。甲醇为色谱纯, 其它试剂均为分析纯级。

2 色谱条件

色谱柱: Hypersil ODS₂ 3μ 2.0 mm (id) $\times$ 100 mm; 流动相: 甲醇-水 (33 : 67); 柱温: 30℃; 流速: 0.2 mL/min; 示差检测器: 1.0×10^{-6} RIU。

3 愈伤组织诱导培养

银杏幼叶、种胚愈伤组织按文献^[3]方法进行诱导, MS 固体培养基中含 1.0 mg/L NAA、0.1 mg/L KT、30 g/L 蔗糖, 调 pH 至 6.0, 培养温度 (25±1)℃, 每 3 周继代一次, 继代两代后, 将愈伤组织取出, 冷冻干燥后供样品制备用。

4 样品提取制备

参照姚渭溪等人方法^[5]并作改进。称取 1.0 g 干愈伤组织, 置于 50 mL 圆底烧瓶中, 加 10% 甲醇溶液 10 mL 和少量沸石, 回流提取 3 次, 每次 60 min, 趁热用布氏漏斗抽滤, 合并滤液, 用旋转蒸发器浓缩至干, 残渣溶于 5 mL 甲醇中, 将溶液加入装有 5 g 中性氧化铝的小层析柱上(预先用甲醇装柱并冲洗), 用甲醇洗脱, 收集洗脱液 25 mL, 浓缩并用 N_2 吹干后, 再用 0.2~0.5 mL 甲醇溶液溶解, 密封后置于 50℃ 水浴中恒温 60 min, 取出, 供 HPLC 分析用。

5 方法回收率试验和工作曲线制作

称取 1 g 干愈伤组织, 加入 30 μ g 银杏内酯 A 和 20 μ g 银杏内酯 B 标样, 按上述样品提取纯化过程制备分析样品, 重复 3 次, 计算各自方法回收率。

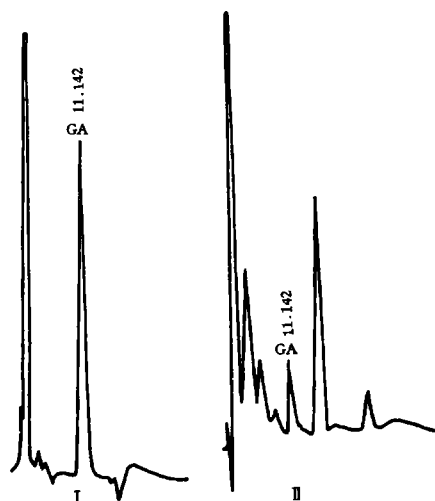
将银杏内酯 A 标准样品, 稀释配制成 0.024、0.036、0.048、0.060、0.070 μ g/ μ L 系列浓度, 进样 10 μ L, 以最小二乘法作线性回归处理, 得回归方程 $Y(\text{峰高}) = 20.9122 + 3298.66C(\mu\text{g}), r = 0.9934$ 。

6 结果与讨论

6.1 由于银杏内酯化合物是不挥发性的, 在未衍生化前无法进行 GC 分析, 同时它们在 219 nm 处的微弱紫外吸收系数, 易受其它杂质干扰, 故也难以用特异性的灵敏的 HPLC-UV 方法检测^[1], 对于目前银杏内酯浓度仅为 μ g 范围的离体愈伤组织、细胞悬浮培养物来说, 受方法最低检测量等灵敏度因素限制, 尚无法用常规的 HPLC-RI 分析方法来监控银杏内酯的生物合成。

6.2 本试验通过采用直径为 2.0 mm 的快速 RP-HPLC 分析柱, 可节约大量流动相(流速为 0.2 mL/min), 分析时间不到常规柱的二分之一, 银杏内酯 A 的最低检出限为 0.012 μ g, 从而使 HPLC-RI 方法分析检测离体愈伤组织、悬浮细胞培养物中的银杏内酯含量成为可能。

6.3 银杏内酯分析难度大, 除了缺乏特异灵敏的检测器外, 一个重要原因是样品纯化处理复杂^[6,7]。



I-银杏内酯 A II-幼叶愈伤组织

图 1 样品的 HPLC 谱

有文献报道,使用硅胶柱来提纯样品的方 法^[4],从理论上讲氧化铝对酚性杂质的去除效果要好于硅胶,但在 pH>7.5 的碱性条件下,银杏萜内酯化合物易发生开环反应^[8],故必须选用中性或酸性氧化铝作固相提取柱。本试验在干愈伤组织中加入约 50~70 nmol 内酯标准品,采取以上方法提取纯化,进行方法回收率试验,结果银杏内酯 A、B 回收率分别为 (96.0±2)%,(93.1±3%),RSD 为 3.1%,3.8%。表明该提取纯化方法是准确可行的。

6.4 按以上分析条件,经继代两代的银杏幼叶、种胚愈伤组织的高效液相色谱图上仍能看到明显的银杏内酯 A 峰,见图 1,说明叶和种胚愈伤组织都能生物合成银杏内酯 A 化合物,其在叶愈伤组织中的含量要高于胚性愈伤组织,分别为 48 和 12 μg/g,见表 1。至

于银杏内酯 B,本试验未能检测到,尚有待进一步深入研究。

表 1 不同样品中银杏内酯的含量

内酯种类	A(mg/g)	B(mg/g)
银杏幼叶	0.54	0.63
银杏种实	—	—
幼叶愈伤	0.048	—
种胚愈伤	0.012	—

参 考 文 献

1 Van Beek T A, *et al.* J Chromatogr, 1991,543:37
2 Nakanishi K, *et al.* J Am Chem Soc,1971,93:3546
3 Carrier D J, *et al.* Plant Cell Rep,1990,8:635
4 Nathalie Chauret. J Chromatogr, 1991,588:281
5 Yao Weixi, *et al.* Proceedings of '97 International Seminar on Ginkgo. Beijing,1997:182
6 Hoon Huh, *et al.* Planta Med,1993,59:232
7 Mee Hee Jeon, *et al.* Plant Cell Rep,1995,14:501
8 林启寿编著. 中草药成分化学. 北京:科学出版社, 1977:244

(1998-11-16 收稿)

Detection of Ginkgolide A in Ginkgo (*Ginkgo biloba*) Callus Culture by HPLC

Chen Yunlong, Xu Cheng, Xu Ligen, *et al.* (College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310012)

Abstract An analytical method was developed to confirm the production of ginkgolide A by *Ginkgo biloba* L. callus cultured *in vitro*. Biomass samples were selectively extracted with 10% methanol and the resulting extract was purified on aluminium oxide solid-phase extraction column. After concentration, the ginkgolide A was determined by HPLC on a C₁₈ column with refractive index detection. The recovery of the method was (96.0±2)%. The detection limit was around 0.012 μg, which was low enough for the determination of ginkgolides produced by *Ginkgo biloba* L. callus cultured *in vitro*.

Key words *Ginkgo biloba* L. callus ginkgolide A

《中草药》杂志 1999 年增刊征订启事

1999 年是《中草药》杂志创刊 30 周年,为了总结历史,规划未来,中草药信息中心站和《中草药》杂志编辑部于 1999 年 5 月底在湖南省张家界市召开“庆祝《中草药》杂志创刊 30 周年暨第二届中药新药研究与开发信息交流会”,为了配合会议的召开,经国家科技部国科发财字[1999]010 号文批准,我们编辑出版了《中草药》杂志 1999 年第 30 卷增刊。本增刊共收载论文 160 篇,特邀中国工程院院士、国家药品监督管理局药品审评中心及国内十多位知名专家和中青年学科带头人就中药新药研究的热点问题撰写综述文章(文题见《中草药》杂志 1999 年第 4 期内 2 页)。另外,还有反映国内近年来中药植化、药理、分析、制剂、药材、临床等方面的新理论,新方法和新成就的科研论文和综述文章 140 余篇。

增刊为 16 开本,224 页(约 45 万字),天津市报刊增刊特准许印证(99)第 045 号,定价 65 元,另加包装费、邮费 5 元。凡订阅者请向我部索取订单,300193 天津市鞍山西道 308 号《中草药》杂志编辑部。