

29b), 4.60(1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-29a), 3.18(1H, dd,  $J = 4.88$  Hz, H-3 $\alpha$ ), 2.99(1H, ddd,  $J = 4.39$ , 4.37, 4.40 Hz, H-19), 1.69(3H, s, H-30), 0.97(3H, s, H-27), 0.96(3H, s, H-26), 0.93(3H, s, H-23), 0.82(3H, s, H-25), 0.75(3H, s, H-24);  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 14.5(C-27), 15.2(C-24), 15.7(C-25), 15.9(C-26), 18.1(C-6), 19.1(C-30), 20.7(C-11), 25.4(C-12), 26.9(C-2), 27.7(C-23), 29.5(C-21), 30.5(C-15), 32.1(C-16), 34.2(C-7), 37.0(C-10), 38.2(C-1), 38.6(C-4), 40.5(C-8), 42.3(C-14), 46.9(C-18), 49.1(C-19), 50.4(C-9), 55.3(C-5), 56.1(C-17), 78.7(C-3), 109.93(C-29), 150.6(C-20), 178.9(C-28)。其中 38.6(C-13), 37.0(C-22) 被掩盖在相对应的峰中, 表现为相对应的峰强增加, 其核磁共振氢谱、碳谱数据与文献基本一致<sup>[3]</sup>。故化合物 I 鉴定为 betulinic acid(桦木酸)。

2.4 毛状根化学成分与原植物薄层层析对照: 将决明毛状根及原植物的根、茎、叶、种子分别依次用石油醚、氯仿、乙醇回流或温浸(50 °C)3 次, 浸出液分别浓缩。取化合物 I 纯品, 毛状根石油醚、氯仿提取物, 根、茎、叶、种子的氯仿提取物, 用氯仿溶解样品, 应用薄层层析方法进行化学成分对照分析, 展开剂为氯仿-丙酮(32:1), 显色剂为 5% 浓硫酸-乙醇溶液。

结果表明, 化合物 I 在毛状根的氯仿提取部位, 作为主要成分存在, 而在毛状根的石油醚提取部位及原植物根、茎、叶、种子的氯仿提取物中仅微量存在或不存在。

### 3 小结与讨论

3.1 本实验所得纯品化合物 I 经结构鉴定, 确定为 betulinic acid(桦木酸), 但在决明毛状根及决明原植物中分离得到尚属首次。

3.2 通过本实验的毛状根培养系统可以大幅度提高桦木酸的含量或诱导其代谢产生原植物中不存在的桦木酸, 但此定量数据还有待于在进一步的定量分析实验中阐明。近年来, 有文献报道桦木酸有抗 HIV 病毒<sup>[4]</sup>、抗黑色素瘤<sup>[5]</sup>及较强的抗癌活性<sup>[6]</sup>。

3.3 在实验室摇瓶积累的基础之上, 将培养条件作适当的改变以实现培养罐放大培养, 实现药用活性成分的工业化生产, 这才是我们的目标所在。总之, 用此毛状根培养技术生产药用活性成分将是一个很有前景的领域。

致谢: 波谱数据均由本院仪器中心测定

参考文献:

- [1] Shiao T L, Doran P M. Root hairiness: effect on fluid flow and oxygen transfer in hairy root cultures [J]. Biotechnol. 2000, 83(3): 199-210.
- [2] Sansberro P, Rey H, Bernardis A, *et al.* Plant regeneration of *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae) by in vitro culture of nodal segments [J]. Biocell, 2000, 24(1): 53-63.
- [3] Bringmann G, Saeb W, Assi L A, *et al.* Betulinic acid: isolation from *Triphyophyllum peltatum* and *Ancistrocladus heyneanus*, antimalarial activity, and crystal structure of the benzyl ester [J]. Planta Med, 1997, 63(3): 255-257.
- [4] Kashiwada Y, Hashimoto F, Cosentino L M, *et al.* Betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives as potent anti-HIV agents [J]. J Med Chem, 1996, 39(5): 1016-1017.
- [5] Pisha E, Chai H, Lee I S, *et al.* Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis [J]. Nat Med, 1995, 1(10): 1046-1051.
- [6] Costantini P, Jacotot E, Decaudin D, *et al.* Mitochondrion as a novel target of anticancer chemotherapy [J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(13): 1042-1053.

## 超临界流体 $\text{CO}_2$ 萃取酸枣仁脂肪油化学成分的研究

陈振德, 许重远, 谢立<sup>\*</sup>

(第一军医大学南方医院药学部, 广东 广州 510515)

中图分类号: R 284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)11-0976-02

中药酸枣仁为鼠李科植物酸枣 *Zizyphus jujuba* Mill. var. *spinosa* Hu ex H. F. Chou 的干燥成

熟果仁, 具有补肝、宁心、敛汗、生津的功能, 多用于虚烦不眠, 惊悸多梦, 津伤口渴等症。酸枣仁主要含

<sup>\*</sup> 收稿日期: 2000-12-10

作者简介: 陈振德(1964-), 男, 福建南安籍, 副主任药师, 副教授, 博士, 硕士生导师。长期从事天然药物研究与开发, 承担国家自然科学基金及国家新药基金项目各 1 项, 省部级基金项目多项, 获得国家发明专利 1 项和军队科技进步二等奖 1 项, 发表学术论文 30 余篇。

有酸枣仁皂苷类、三萜类、脂肪油、蛋白质、甾醇类、磷脂类等化合物。现代药理研究表明:酸枣仁具有镇静催眠、镇痛、抗惊厥、降血脂、抗血小板聚集、增强免疫功能、降压、抗缺氧、抗心肌缺血、抗心率失常、抗衰老、抗辐射等作用<sup>[1]</sup>。其中酸枣仁油可明显降低鹌鹑总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)和甘油三酯(TG)水平,升高HDL/LDL比值,切片检查发现明显减少心瓣膜和心内膜疏松增厚,减轻肝脂肪变性,并能明显抑制二磷酸腺苷诱导的大鼠血小板聚集反应以及对艾氏腹水瘤小鼠有明显抗肿瘤作用<sup>[2]</sup>。为了更好地开发利用酸枣仁油脂资源,我们首次应用超临界流体萃取技术提取酸枣仁脂肪油并用GC-MS联用技术对其脂肪酸组成进行了测定。

1 材料与方法

1.1 材料:酸枣仁购于广东省药材公司,经鉴定为鼠李科植物酸枣 *Zizyphus jujuba* Mill. var. *spinosa* Hu ex H. F. Chou 的干燥成熟果仁。

1.2 方法

1.2.1 仪器与条件:采用江苏南通华安公司生产的HA-9508型萃取装置,CO<sub>2</sub>气体为广州气体厂产品。经对萃取压力、温度和时间三因素三水平正交试验,获得最佳萃取条件:压力为30 MPa,温度为45℃,时间1 h。美国HP6890-5973GC-MSD型气相色谱-质谱-计算机联用仪。EI离子源,离子能量:70 eV,离子源温度:230℃,连接线温度:230℃,进样方式:GC,扫描方式:Scan,真空度:0.1×133.3 μPa,色谱柱:FFAD 25 m×0.2 mm,进样量:1.0 μL,柱温:120℃~240℃,10℃/min,载气:He,进样口温度:250℃,柱前压:50 kPa,电子倍增器高压:1 700 V,质量扫描:30~400 amu。

1.2.2 SFE提取与GC-MS分析:取100 g酸枣仁干燥粗粉投入萃取釜,按最佳萃取条件萃取,得脂肪油,再进行GC-MS分析,重复两次。质谱图经计算机检索,并核对标准图谱,最后用面积归一化法测出各成分的相对含量。

2 结果

每样品处理两份,每份测定两次,在上述条件下脂肪酸组成及相对含量见表1。

表1 超临界流体CO<sub>2</sub>萃取酸枣仁脂肪油含量及其脂肪酸组成 (%)

| 峰号          | 脂肪酸名称 | 相对含量  |
|-------------|-------|-------|
| 1           | 月桂酸   | 0.03  |
| 2           | 豆蔻酸   | 0.09  |
| 3           | 十五碳酸  | 0.04  |
| 4           | 十六烯酸  | 0.04  |
| 5           | 棕榈酸   | 6.52  |
| 6           | 亚油酸   | 37.14 |
| 7           | 油酸    | 38.73 |
| 8           | 硬脂酸   | 3.61  |
| 9           | 花生烯酸  | 5.18  |
| 10          | 花生酸   | 1.27  |
| 11          | 二十二碳酸 | 1.49  |
| 12          | 木焦油酸  | 0.47  |
| 不饱和脂肪酸/总脂肪酸 |       | 85.67 |

3 讨论

3.1 采用SFE技术提取酸枣仁脂肪油,其出油率比文献报道的约高32%<sup>[4]</sup>,文献<sup>[5]</sup>报道酸枣仁脂肪油中含有8种脂肪酸,我们共分离鉴定出12种脂肪酸。可见,应用SFE技术提取酸枣仁脂肪油与传统的有机溶剂提取法相比较,能提高收率,缩短提取时间,更能真实地反映药材中的化学组分,确是提取研究中药化学成分的有效方法,具有传统方法难以达到的效果。

3.2 应用SFE技术提取脂肪油以及酸枣仁含油率及不饱和脂肪酸含量较高的分析结果,为酸枣仁的进一步综合开发利用展现了良好前景。

参考文献:

[1] 梅全喜,毕焕新.现代中药药理手册[M].北京:中国中医药出版社,1998.  
[2] 吴树勋,李兰芳,郎杏彩,等.酸枣仁油及酸枣浸膏降血脂和抗血小板聚集作用的实验研究[J].中国中药杂志,1991,16(7):435.  
[3] 王清莲,袁秉祥,黄建华,等.酸枣仁油对艾氏腹水癌小鼠生存期和体重的影响[J].西安医科大学学报,1995,16(3):295.  
[4] 洪庚辛,曹斌.酸枣仁研究进展[J].中药通报,1987,12(8):51-52.  
[5] 丘明明,黎有新.酸枣仁研究近况[J].中医药研究,1995,4:60-62.

《中国新药杂志》2002 年征订启事

《中国新药杂志》由国家药品监督管理局主管,中国药学会、中国医药集团总公司、中国医药科技出版社共同主办。是一份专门报道新药科研、生产、技术成果,临床应用及评价、新药质量、市场和管理方面内容,集学术、科研和信息交流服务为一体,具有很强的专业性、实用性和新颖性的权威性科技期刊。本刊为月刊,每期定价10元(含邮费),本刊邮发代号:82-488,国外代号M 4240。网址: <http://www.cjnd.com.cn>, E-mail: [cn dy@public.fhnet.cn.net](mailto:cn dy@public.fhnet.cn.net)。编辑部地址:北京崇文区永外三元西巷甲12号,邮编:100077,电话:(010)87274021,(010)67254449 转 2630、2633、2638。