

参考文献:

- [1] 马绍宾,胡志浩.小檗科鬼臼亚科的地理分布与系统发育[J].云南植物研究,1997,19(1):48-56.
- [2] 陈毓亨.我国鬼臼类植物资源的研究[J].药学学报,1979,14(2):101-107.
- [3] 潘勤.鬼臼毒素类环木脂素的甲醚衍生物[J].国外医药·植物药分册,1996,11(2):73-74.
- [4] Bohlin Lars, Rosen Boerje. Podophyllo toxin derivatives Drug discovery and development [J]. Drug Discovery Today, 1996, 1(8): 343-351.
- [5] 王志光,尹述凡,马维勇,等.4-乙酰基-4'-脱氧-4'-去甲基鬼臼毒素衍生物的合成和抗肿瘤活性[J].药学学报,1993,28(6):422-427.
- [6] 许重远,贾江滨,陈振德.4'-去甲基鬼臼毒素衍生物 4-取代结构修饰研究进展[J].中草药,2000,31(5):389-392.
- [7] Gupta R S, Chenchaiah P C. Synthesis and biological activities of the C-4 esters of 4'-demethylpodophyllotoxin [J]. Anticancer Drug Design, 1987, 2(1): 13-23.
- [8] 马辰,罗淑荣.鬼臼类植物中木脂素化合物的研究进展[J].中草药,1992,23(5):271-275.
- [9] 杨新波.鬼臼毒素抗肿瘤作用研究进展[J].国外医药·植物药分册,1996,11(4):158-159.
- [10] 陈士云,侯嵩生.植物细胞培养生产抗癌药物研究进展[J].天然产物研究与开发,1993,5(1):61-65.
- [11] Ward R S. 鬼臼毒及其有关化合物的合成 [J]. 国外医药·植物药分册,1993,8(5):206-210.
- [12] Broomhead A J. 八角莲和两种山荷叶中抑制肿瘤的芳基萘满木脂素 [J]. 国外医药·植物药分册,1991,6(5):225.
- [13] Shang Mingying, Xu Guojun, Xu Loushan, et al. Quantitative analysis of the podophyllotoxin, 4'-demethyldeoxypodophyllotoxin and deoxypodophyllotoxin in fruit, root and rhizome of *Podophyllum* Plants, by HPLC [J]. J. China Pharm Univer, 1996, 27(4): 219-222.
- [14] 马绍宾,黄衡宇,张念玺.南方山荷叶中甸居群繁殖生物学研究[J].西北植物学报,2000,20(4):628-637.
- [15] 马绍宾.川八角莲繁殖生态学初步研究[J].植物生态学报,2000,24(6):748-753.
- [16] 李广民.介绍一种药用植物——桃儿七[J].植物学杂志,1975,2(2):28.
- [17] 马绍宾,徐正尧,胡志浩.桃儿七繁殖生物学研究[J].西北植物学报,1997,17(1):49-55.
- [18] Takemoto Masumi, Yamamoto Yuichi, Achiwa Kazuo, et al. The synthesis of podophyllotoxin derivatives etc. with plant cell cultures [J]. Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshishu, 1996, 38: 643-648.
- [19] 刘蕾,高增平,江佩芬.八角莲的组织培养品及野生品的化学成分对比研究[J].中国中药杂志,1997,22(10):593-594.
- [20] Strobel G, Stierle A, Stierle D, et al. *Taxomyces andreanae*, a proposed new taxon for a bulbiferous hyphomycete associated with pacific yew (*Taxus brevifolia*) [J]. Mycotaxon, 1993, 47: 71-80.
- [21] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and Taxane Production by *Taxomyces andreanae*, an Endophytic Fungus of pacific Yew [J]. Science, 1993, 260: 214-216.
- [22] Strobel G, Yang X S, Sears J, et al. Taxol from *Pestalotiopsis microspora*, an endophytic fungus of *Taxus wallachiana* [J]. Microbiology, 1996, 142: 435-440.
- [23] Li J Y, Strobel G, Sidhu R, et al. Endophytic taxol-producing fungi from bald cypress, *Taxodium distichum* [J]. M 1996, 142: 2223-2226.
- [24] 邱德有,黄美娟,方晓华,等.一种云南红豆杉内生真菌的分离[J].真菌学报,1994,13(4):314-316.
- [25] 王伟,贺雄雷,钟英长.南方红豆杉内生菌及紫杉烷类产物的初步鉴定[J].中山大学学报(自然科学版),1999,38(3):116-118.
- [26] 李海燕,王志军,张玲琪,等.一种桃儿七内生真菌的分离初报[J].云南大学学报(自然科学版),1999,21(3):243.
- [27] 张玲琪,郭波,邵华,等.长春花内生真菌的分离及其发酵产生药用成分的初步研究[J].中草药,2000,31(11):805-807.
- [28] 罗明典.微生物制药研究新进展[J].微生物学通报,1998,25(1):61-62.
- [29] 陈毓亨,程克棣.近年来国外紫杉醇资源研究进展[J].国外医学·药学分册,1994,21(1):36-39.

葡萄籽提取物的质量评价

邵云东,胡光祥,於洪建,方立军

(天津市尖峰天然产物研究开发公司,天津 300192)

摘要:概述了葡萄籽提取物常规品质的各项指标,着重阐述了国内外对葡萄籽提取物中各成分指标的概念及其相应的含量测定方法。

关键词:葡萄籽提取物;原花青素;低聚原花青素;质量评价;检测方法

中图分类号: R282.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)11-1044-03

Quality evaluation of grape seed extract

SHAO Yun-dong, HU Guang-xiang, YU Hong-jian, FANG Li-jun

(Tianjin JIAN FEN G Natural Product R & D CO., Ltd., Tianjin 300192, China)

Key words grape seed extract; proanthocyanidins; OPCs (oligomeric proanthocyanidins); quality evaluating; assaying method

收稿日期: 2001-06-04

作者简介: 邵云东,男,工程师。毕业于江西南昌大学。研究方向: 药用植物化学。毕业后一直从事植物黄酮及多酚的研究。

Tel (022)26723305 E-mail tjij@public.tjuc.cn

葡萄籽提取物是一多酚 (polyphenol)类黄酮,由单体 (儿茶素、表儿茶素等)、基于此单体的聚合物 (原花青素 proanthocyanidin)和其它酚类组成,而这一组成分中生物活性最强的部分是低聚 (二、三、四聚体),原花青素,即 OPCs (oligomeric proanthocyanidins),所以 OPCs在葡萄籽提取物中含量高低就成为产品质量的最关键指标。国际市场产品中成分比例最佳的 Gold OPCs,其成分组成比约为多酚:原花青素:OPCs:单体=1:0.82:0.81:0.18,很好的产品比例为0.98:0.70:0.66:0.28。现在国内生产厂家都说自己的产品原花青素含量 $\geq 95\%$,这是一个误区;就我公司技术中心对国内各生产厂家样品检测结果表明,国内最好的产品为0.98:0.84:0.46:0.12,而有厂家自称 OPCs $\geq 95\%$ 更是十分错误的概念。鉴于目前国内市场对葡萄籽提取物认

识的混乱,和各生产厂家产品质量千差万别,没有一个统一的标准,笔者多年来一直从事葡萄籽提取物的研究工作,现就对此对葡萄籽提取物质量评价方法做一综述。

1 常规品质评价

1.1 外观:葡萄籽提取物外观应为深玫瑰红至浅棕红色精制粉末,因为低聚原花青素是无色至浅棕色的,一般来说,颜色越浅,OPCs含量越高,反之,质量越差。

1.2 溶解性:低聚原花青素在水、甲醇、乙醇、异丙醇中是完全溶解的,所以高品质的葡萄籽提取物在以上溶剂的1%溶液中不溶物之和应该 $\leq 3\%$,这些不溶物都是人体不可利用的高聚物或杂质,含量越低越好。我公司技术中心对国内及部分国外葡萄籽提取物产品进行了溶解性的测定,优选出了一些质量比较好的产品,其1%溶液中的不溶物结果见表1。

表 1 1% 溶液中的不溶物含量 (%)

溶剂	国内厂家 1	国内厂家 2	国内厂家 3	尖峰多酚	尖峰原花青素	尖峰 OPC85	德国厂家	美国厂家	法国 OPC85
水	5.3	1.2	0.8	1.2	0.4	0	1.2	0.2	0
乙醇	2.1	5.5	1.2	2.1	0.5	0	2.0	0.3	0
甲醇	1.6	2.1	0.8	1.8	0.3	0	1.3	0	0
异丙醇	9.1	8.6	2.1	5.6	1.1	0.2	6.2	1.0	0

从表1中可见,国内厂家同一规格产品溶解性各有差异,主要问题为大多数醇溶性较差,少部分为水溶性差,在我公司检测过的有些标榜 OPC95的产品中有些醇不溶物竟达到12%。从表1可见国外产品溶解性要比国内产品好得多。

1.3 灰分、重金属、砷盐、铁盐:根据各国对食品及药品管理的有关法律条款,葡萄籽提取物作为一种保健食品原料出口,成品中各项指标质量分数控制如下:重金属 $\leq 10 \times 10^{-6}$,砷盐 $\leq 2 \times 10^{-6}$,铁盐 $\leq 10 \times 10^{-6}$ 。

1.4 农药残留:葡萄籽提取物成品中除了不能有国际上严禁使用的有机氯农药残留外,其它各类有机农残之和应 $\leq 100 \times 10^{-6}$ 。

2 质量指标的评价及测定方法

2.1 多酚含量的测定:葡萄籽提取物中多酚含量是衡量其品质的重要指标,高品质的葡萄籽提取物要求其多酚含量 $\geq 95\%$,这一指标的测定方法主要有3种:

2.1.1 对照品 UV法:用已知含量的葡萄籽提取物为对照品,进行紫外测定,这一方法简便易行,但由于葡萄籽提取物为一类物质,故此方法只能作为同一工艺生产的产品的含量测定,从而限制了其通用性。

2.1.2 香草醛法:利用香草醛 (vanillin)和多酚类物质的一对一的特异结合,以儿茶素为标准品,在500 nm处测定其吸光度,从而计算出其 TF (total flavonal)值,即总黄酮含量 (一个原花青素分子只含有一个 flavonal-3-ols基团,故而认为总黄酮含量即为总多酚含量),这一方法比较科学,但操作复杂,对实验条件要求严格。日本产商多用此方法。

2.1.3 UV经验值法:这一方法是欧美国家使用较早的方法,是经过长期实验得到的经验值法,操作简便,且不用对照品,根据特定浓度下的多酚溶液的浓度和吸光度的线性关系,通过一经验公式计算出含量,方法简便易行,且不用对照品,但缺点是线性范围有限,只适合 OPCs含量在40%~

50%之间的葡萄籽提取物。我们用这一方法对国内的一些产品进行检测发现,多酚含量能达到95%的一些产品,HPLC检测其OPCs含量只有18%~22%。

2.1.4 GAE法:GAE法为 Galic Acid Equivalence的简写,又称 Folin-Ciocalteu法,是目前通用的最新检测方法。此方法结果最为准确可靠,但遗憾的是不能确定产品的组分,一个高含量单体的产品或一个低含量单体但高含量OPCs的产品有可能产生相同的结果。

2.2 原花青素含量测定:原花青素含量是反映葡萄籽提取物质量的关键指标,主要有两个指标,分别为原花青素值和原花青素含量,测定方法如下:

2.2.1 UV法:此为测定原花青素含量的方法,以儿茶素为标准品参照方法。2.1.2测出葡萄籽提取物中单体的含量,将方法2.1.2的测量的多酚值减去单体的含量,即为原花青素含量。

2.2.2 Bates-smith assay:此为最早评价葡萄籽提取物中原花青素含量 (procyanidolic index)的方法,用已知阈值的原花青素在相同的反应条件下为对照,在500 nm处测定其吸光度,精确控制实验条件可以较为准确地测出葡萄籽提取物中原花青素的阈值,由于其对实验条件的苛刻性,实验的重复性太差,即使是同一个实验室对同一个产品进行测定也不能得到相同的结果。

2.2.3 波特法:由于 Bates-smith的低重复性,最终被波特法所取代,此方法为改良型的比色法,使用定性分析,测试出原花青素的大概量,但测不出是何种类的原花青素,波特值 (PVU)过高和过低都不好,过低则表示单体过多,原花青素含量低;过高可能是高聚物含量过高,低聚原花青素含量低。其值应该在300~450之间较为理想。

2.3 OPCs含量测定:利用反相 HPLC法准确地测出原花青素中单体和二、三、四聚体的含量,这一方法国外研究已较为成熟^[1],不过还需要一高品质的真正 OPCs85作为对照,

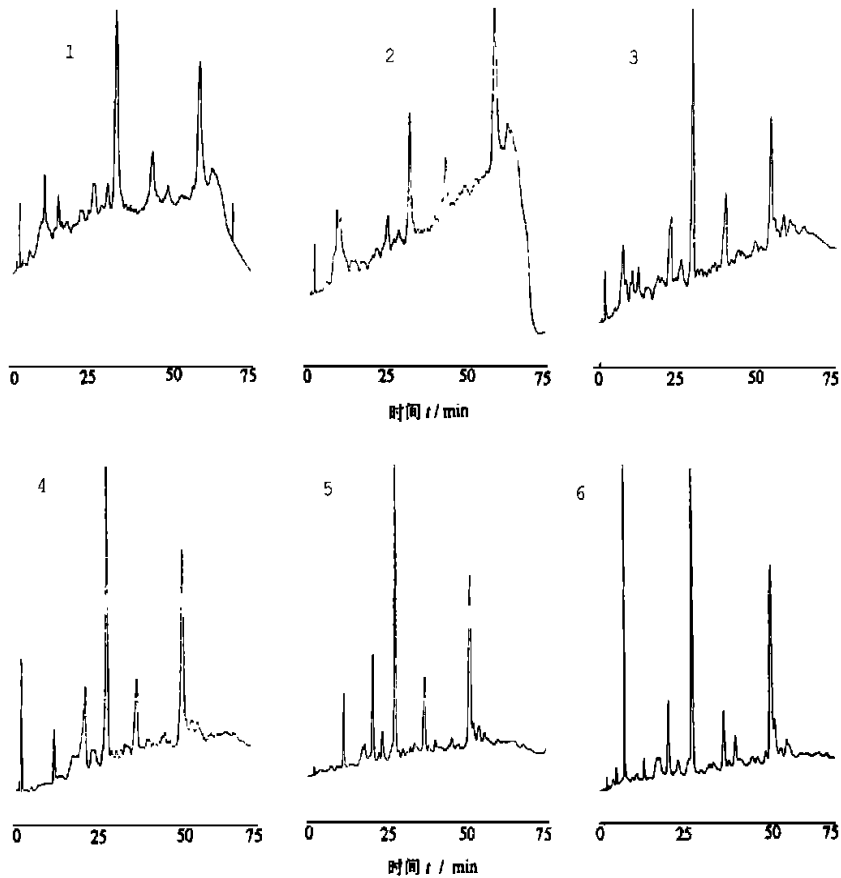
参照相关研究资料^[2-4],计算出有效峰面积,从而计算出该产品中 OPCs含量。这一方法不但解决了葡萄籽提取物中 OPCs含量的测定,而且利用其液相指纹图谱可以准确地鉴定出该产品是葡萄籽提取物的多酚或是其它多酚,如松树皮提取物、绿茶提取物等,解决了以上方法都不能解决的缺点。通过我公司技术中心对国内各厂家产品的检测,发现液相图谱各不相同(图 1)。

从图 1中可见国内厂家的葡萄籽提取物产品中的功效成分 OPCs的含量良莠不齐,但即便如此所有的生产厂家都说其产品含原花青素 $\geq 95\%$,更有甚者说其产品含 OPC $\geq 95\%$,鉴于国内市场上对该产品质量还没有一种有效的质量控制方法,故可以参考借鉴现在国外对葡萄籽提取物质量指标的控制方法,那就是:一个好的葡萄籽提取物产品,除了常规品质要达到相应的标准要求外,最重要的产品含量、组

成、标示成分的量化用如下方式控制: GAE法控制样品的总多酚含量, HPLC分析出产品的单体和 OPCs(低聚原花青素)含量,最后通过波特法分析产品的原花青素含量,从而能够准确量化地检测出一个葡萄籽提取物产品的内在质量。

参考文献:

[1] Tibor Fuleki, Jorge M, Ricardo da Silva. Catechin and pro-cyanidin composition of seeds from grape cultivars grown in ontario[J]. Agric. Food Chem, 1997, 45 1156-1160.
 [2] Revilla E, Bourzeix M, Alonso E. Analysis of catechin and proanthocyanidins in grape seed by Hplc with photodiode array detection [J]. Chromatographia, 1991, 31(9-10): 465-468.
 [3] Marie-Claude Dumon, Ph. D. Thesis, Recherches Analytiques Surles Pycnogenols [M]. Bordeaux: Universite de Bordeaux II, 1990.
 [4] Dumon(M. C.). -Recherches analytiques surles pycnogenols. These de Doctorat es-Sciences Pharmaceutiques [M]. Bordeaux: Universite de Bordeaux II. 1990.



1-3国内厂家 1-3; 4天津尖峰公司常规产品; 5天津尖峰公司 OPCs 85; 6国外厂家 OPCs 85

图 1 各厂家产品液相谱图比较

《中国药理学报》征订启事

《中国药理学报》ACTA PHARMACOLOGICA SINICA是中国药理学学会主办,中国科学院上海药物研究所承办,科学出版社出版的全英文(附中文摘要)学术性期刊。1980年创刊。本刊报道药理学及其邻近生活科学领域创新的研究成果,刊载原著论文和具有国际领先水平的、基于作者自己工作为主的综述,刊载国际学术会议的论文摘要和有关会议,对于基础性科研成果和临床应用的研究成果均予报道。是 SC I核心期刊并且进入 BA, CA, Current Contents, Excerpta Medica, Index Medicus, MEDLINE, Research Alert等十余种著名国际检索系统。2000年度美国《期刊引用报告》(JCR)报告《中国药理学报》影响因子为 0.485。本刊为铜版印刷, A4开本,月刊,每期 96页,每年 12期,国内外发行。国内定价 25.00元/本,全年 300元,国内邮发代号: 4-295,国内统一刊号: CN 31-1347/R,国际标准刊号: ISSN 0253-9756。国外订购请联系: China Journals Service, PO Box YR7, Leeds LS9 7U U, UK. Phone 44-113-249 7481. Fax+ 44-113-248 6983. E-mail subscriptions@maney.co.uk http://www.maney.co.uk 编辑部地址:上海市太原路 294号,上海 200031; 网址: /www.chinaphar.com 电话: 021-64742629, 021-64311833; 传真: 021-64742629 E-mail aps@mail.shenc.ac.cn