

用热蒸馏水溶解,乙酸乙酯多次萃取,回收乙酸乙酯,残留物甲醇溶解定容;② 甲醇超声提取;③ 甲醇回流提取 经实验发现,方法① 不仅过程繁琐费时,且目标成分咖啡酸提取不完全,所测 1998年西蒙I号叶中咖啡酸的含量仅为 0.001 8%;方法② 所得提取液中,所测 1997年西蒙I号叶中咖啡酸的含量仅为 0.007 4%,明显低;方法③ 操作简便,咖啡酸的提取较完全

References

- [1] You Y, Zhang H J. Studies on embryogenesis and regeneration of sweet potato (Simon I) in tissue culture [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(1): 56-59.
- [2] Tan G S, Xu P S, Dai Z Y, et al. Studies on the chemical compounds of *Ipomoea batatas* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1995, 4(7): 44.
- [3] Qian K N, Xu P S, Liang X M. First step research on the

- pharmacological function of leaf of Simon I [S]. *Pharmacol Clin Mater Med* (中药药理与临床), 1990, 6(1): 2-5.
- [4] Li S R, Tang G C, Qi Z H, et al. Observation of Simon I treatment effectiveness on 50 cases with thrombocytopenia [J]. *J Clin Hematol* (临床血液杂志), 1992, 5(1): 8-10.
 - [5] Feng X C, Yan Y P. Observation of preparation of sweet batatas (Simon I) treatment effectiveness on 32 cases of allergic purpura of child [J]. *J Xuzhou Med Coll* (徐州医学院学报), 1999, 19(1): 80-81.
 - [6] Xu J H, Wu G T, Ye Q L, et al. Studies on the anti-tumor action of the petiole and leaves of Simon I. [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1998, 14(6): 32-34
 - [7] Information Center of Chinese Herbal Medicine, State Pharmaceutical Administration of China. *Handbook of Active Components in Plant Medicine* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.
 - [8] Zhang L K, Chen X W, Zou A Q. Determination of ferulic acid and tetramethylpyrazine in compound Chinese medical prescription by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(4): 213.

薄层扫描法测定木瓜中齐墩果酸的含量

都述虎,饶金华,耿武松*

(安徽省医学科学研究所,安徽 合肥 230061)

摘要:目的 建立木瓜中齐墩果酸的含量测定方法。方法 采用双波长薄层扫描法,以氯仿-甲醇(40:1)为展开剂,10%硫酸乙醇液为显色剂,测定波长为 $\lambda_s=640\text{ nm}$, $\lambda_R=535\text{ nm}$ 。结果 木瓜中其他成分对齐墩果酸的测定无干扰,线性范围为2.272~11.360 μg ,平均回收率为98.29%,RSD为2.07%。结论 该方法操作简便、准确,可用于木瓜的质量监控。

关键词:木瓜;齐墩果酸;薄层扫描法

中图分类号:R286.02;R286.02 文献标识码:B 文章编号:0253-2670(2003)01-0035-03

Determination of oleanolic acid in *Fructus Chaenomeles* by TLCS

DU Shu-hu, RAO Jin-hua, GENG Wu-song

(Anhui Institute of Medical Sciences, Hefei 230061, China)

Key words *Fructus Chaenomeles*; oleanolic acid; TLCS

木瓜为蔷薇科植物皱皮木瓜 *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai的干燥近成熟果实。我国大部分地区均有栽培,其中产于安徽宣州的称宣木瓜,品质较好,为道地中药材,在古代以充上贡之品。木瓜主要化学成分为有机酸(齐墩果酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、反丁烯二酸、乙酰熊果酸、3-O-乙酰坡模醇酸、桦木酸等)、氨基酸、10-廿九烷醇、 β -甾醇、维生素C、皂苷、黄酮类、鞣质等,另外种子含氢氰酸^[1-3]。其中,齐墩果酸有消炎抑菌、降转氨

酶作用。对四氯化碳引起的大鼠急性肝损伤有明显的保护作用,还有促进肝细胞再生、防止肝硬化、强心、利尿、升白、降血脂、降血糖、增强有机体免疫功能、抑制变态反应等作用^[4]。且在药材中主要以单体形式存在。目前木瓜中齐墩果酸的含量测定多采用比色法^[5]。本实验采用薄层扫描法测定了不同产地的木瓜中齐墩果酸的含量,为控制该药质量提供可行依据。

1 仪器与试剂

* 收稿日期: 2002-02-25

基金项目:安徽省“十五”重大科技专项资助课题(Z064004);安徽省优秀青年科技基金(皖科基[2001]02-23)

作者简介:都述虎(1962-),男,副研究员,博士生,1987年毕业于安徽中医学院药学专业,1998年获中国药科大学药物分析专业硕士学位,2001年至今攻读中国药科大学药物分析专业博士学位,现在安徽省医学科学研究所药物化学研究室工作,从事天然药物中有效成分的提取分离和检测工作,发表论文20余篇。Tel (0551)2828461 E-mail shuhudu@yahoo.com.cn

CS-930型薄层扫描仪(日本岛津),定量毛细管(美国 Drummond),百万分之一电子天平(美国 PE 公司 AD-2型),HSG薄层板(山东烟台化工所试验厂)。齐墩果酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号:0709-9803,供含量测定用);木瓜药材购自安徽宣州、四川胜定、湖北长阳和安徽亳州中药材市场,经安徽中医学院金传山副教授鉴定分别为宣木瓜(皱皮木瓜)*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai 川木瓜(毛叶木瓜)*C. cathayensis* (Hemsl.) Schneid. 资丘木瓜(毛叶木瓜)*C. lagenaria* (Loisel.) Koidz. 所用试剂均为分析纯

2 方法与结果

2.1 药材的水分测定:取供试品 2~5 g,平铺于干燥至恒重的扁形称瓶中,厚度不超过 10 mm,精密称定,打开瓶盖在 100℃~105℃干燥 5 h,将瓶盖盖好,移置干燥器中,冷却 30 min,精密称定质量,再在上述温度干燥 1 h,冷却,称定质量,至连续两次结果的差异不超过 5 mg 为止。根据减失的质量,计算供试品中含水分的百分数,结果见表 1

表 1 木瓜药材的水分测定

Table 1 Determination of moisture in *Fructus Chaenomelis*

| 品 种 | 含水量 % |
|--------|-------|
| 宣木瓜 | 12.65 |
| 川木瓜 | 11.56 |
| 资丘木瓜 | 12.07 |
| 木瓜(统货) | 10.42 |

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件:薄层板:高效硅胶 G薄层板,使用前于 105℃活化 30 min;展开剂:氯仿-甲醇(40:1),上行展开 10 cm;显色剂:10%硫酸乙醇溶液。浸入,立即取出,在 105℃加热至斑点清晰,显相同的暗褐色,取出在薄层板上覆盖同样大小的玻璃板,周围用胶布固定。

2.2.2 对照品溶液的制备:取齐墩果酸对照品,加无水乙醇制成每毫升含 2.0 mg 齐墩果酸的溶液,作为对照品溶液

2.2.3 供试品溶液的制备:取本品粉末约 1.0 g,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加无水乙醇 20 mL,超声 30 min,放冷,添加少量无水乙醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

2.2.4 扫描条件: $\lambda_R = 640 \text{ nm}$, $\lambda_S = 535 \text{ nm}$, $S_X = 3$;狭缝:1.2 mm × 1.2 mm,反射法线性扫描,光源 W 灯。

2.2.5 标准曲线的制备:分别吸取对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5 μL 点样,以上述条件扫描测定。经过计算

机程序处理得回归方程 $Y = 11519.70X + 7591.21$ (Y : 峰面积积分值, X : 齐墩果酸质量数), $r = 0.9977$,表明齐墩果酸的量在 2.272~11.360 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.2.6 稳定性试验:取供试品溶液 3 μL ,点于薄层板上,展开,晾干,每隔 30 min 测定一次,其面积积分值的 $RSD = 2.26\%$ ($n = 5$),结果表明斑点在所测时间 2 h 内基本稳定。

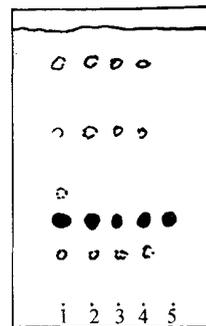
2.2.7 精密度试验:同板精密度试验:精密吸取对照品液 3 μL ,在同一薄层板上点 5 个相同量的点,依法测定各斑点峰面积,其面积积分值 $RSD = 1.19\%$ ($n = 5$)。

异板精密度试验:精密吸取供试品液 3 μL ,分别点于 5 块不同薄层板上,依法测定含量,其含量的 $RSD = 2.08\%$ ($n = 5$)。

2.2.8 重现性试验:取木瓜粉末样品 5 份,依 2.2.10 项下方法提取、点样、展开、扫描测定,计算含量,其含量的 $RSD = 1.29\%$ ($n = 5$)。

2.2.9 加样回收率试验:采用加样回收法,取木瓜粉末样品 5 份,每份约 0.5 g,精密称定,分别精密加入齐墩果酸对照品,适量 2.2.10 项下方法提取、测定,计算回收率,结果平均回收率为 98.29%, $RSD = 2.07\%$ ($n = 5$)。

2.2.10 样品测定:取不同产地的木瓜粉末各 2 份,按 2.2.3 项下方法制备供试品液,精密吸取供试品溶液 3 μL ,齐墩果酸对照品溶液 1, 3 μL ,分别交叉点于同一硅胶 G 薄层板上,展开,晾干,显色,薄层色谱见图 1 扫描,测定积分值,外标法计算含量,结果见表 2



1-宣木瓜 2-川木瓜 3-资丘木瓜
4-木瓜(统货) 5-齐墩果酸对照品

1-*Chaenomeles speciosa* 2-*C. cathayensis* 3-*C. lagenaria*
4-*Fructus Chaenomelis* 5-oleanolic acid

图 1 TLC 图谱

Fig. 1 Chromatogram of TLC

3 讨论

3.1 不同产地的木瓜中齐墩果酸的含量差别很大,其中以宣木瓜中齐墩果酸含量最高;另外,同一产地

表 2 不同产地木瓜中齐墩果酸的含量测定

Table 2 Determination of oleanolic acid in *Fructus Chaenomeles* from different habitats

| 品种 | 齐墩果酸含量 % | | |
|---------|----------|----------|----------|
| | 未过筛粗粉 | 粗粉 (24目) | 细粉 (65目) |
| 宣木瓜 | 0.92 | 1.95 | 2.37 |
| 川木瓜 | 1.72 | 2.01 | 2.11 |
| 资丘木瓜 | 0.46 | 0.46 | 0.56 |
| 木瓜 (统货) | 1.35 | 1.96 | 2.30 |

不同粒度木瓜中,齐墩果酸的含量有很大的差异,因此测定时,必须注明药材来源,并将药材粉碎成细粉,以保证制剂成品的质量。

3.2 显色时为了减少喷雾影响,采用将展开晾干后的层析板浸入 10% 硫酸乙醇液中,立即取出,于 105℃ 烘至斑点显色清晰,则显色剂对色谱的影响较少。同时注意掌握烘烤时间,过长或过短对结果均有一定的影响

3.3 对含齐墩果酸成分的药材进行含量测定的文献报道较多,但对木瓜采用薄层色谱扫描法进行齐墩果酸的含量测定尚未见报道。本法简便、快速、分离度和重现性较好,可为药典建立药材原料的质量标准提供依据

References

[1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publisher, 1986.
 [2] Wang S M, He Z F, Yu J P. Analysis of nutritional components of *C. sinensis* [J]. *Acta Nutr Sin* (营养学报), 2000, 22 (2): 190-192
 [3] Guo X M, Zhang L, Quan S C. Isolation and identification of triterpenoids in *Chaenomeles speciosa* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1998, 23(9): 546-547.
 [4] Tang C H, Xiang Z B, Shi Y S. *et al.* Studies on the extract processing of oleanolic acid in *Chaenomeles sinensis* [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2000, 21(4): 10-12.
 [5] Xiang Z B, Tang C H, Chen G, *et al.* Studies on colorimetric determination of oleanolic acid in *Chaenomeles sinensis* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2001, 13(4): 23-26.

超临界 CO₂ 脱除银杏叶提取物中酚酸的研究

侯峰, 华文俊, 姚煜东*

(美晨集团股份有限公司, 广东 广州 510075)

银杏叶提取物 (EGB) 主要含黄酮、内酯两大活性部位。自 20 世纪 70 年代以来, 国内外学者对 EGB 的药理作用进行了大量研究。据报道 EGB 可扩张冠脉血管, 增加脑血流量, 拮抗 PAF, 治疗血管老化, 脑血管供血不足所致的多种疾病^[1-3]。银杏酚酸是 EGB 中的有害成分, 可能引起过敏、突变等中毒现象。在国际通过的 EGB 质量指标中, 要求酚酸含量小于 5 μg/g^[4]。目前, 在国内市场上出售的 EGB 粉末中一般酚酸含量都在 300~1500 μg/g。因此要达到要求, 就需要用有机溶剂萃取的方法去除酚酸, 但是这种方法存在步骤多, 工艺复杂, 生产周期长等缺点。

超临界 CO₂ 萃取技术是一种新型分离技术, 具有高效、无毒、萃取率高、选择性好等优点, 在国家中药现代化的产业开发中, 此项技术得到越来越多厂家的重视。经我们实验研究发现利用超临界 CO₂ 萃取技术可以有效脱除 EGB 中的银杏酚酸, 并且银杏

黄酮、内酯两大活性部位几乎没有损失。

1 材料和仪器

EGB 江苏产 EGB 粉末, 其中含黄酮 2%, 内酯 8%, 酚酸含量 1100 μg/g

SFE 设备为本单位自行研制并制造的 1 L 超临界设备。Varian 高效液相色谱仪。

槲皮素对照品, 银杏内酯 A (GA)、银杏内酯 B (GB)、银杏内酯 C (GC) 和白果内酯 (BB) 的对照品为中国药品生物制品检定所出品; 白果酸对照品含量大于 90%, 贵州大学出品; 溶剂均为分析纯

2 方法和结果

2.1 实验方法: 取 100 g EGB 粉末, 倒入 1 L 萃取釜的吊篮中。然后打开萃取釜进气阀门, 给萃取釜加入 CO₂, 开始萃取, 萃取釜压力设定为 20 MPa, 萃取温度 60℃, 流量 9 L/h, 解析压力 6 MPa, 解析温度 50℃ (两级解析釜设置的条件一样)。当压力达到 20 MPa 后, 启动夹带剂泵, 打入 600 mL 混合溶剂 A

* 收稿日期: 2002-04-27

作者简介: 侯峰 (1976-), 男, 湖北安陆人, 工程师, 1998年毕业于西北大学生物化工专业, 现从事新药的开发工作。