

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 26%, 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。

萃取过程中从解析釜放出萃取液,当解析釜无液体放出后,停机,萃取时间约 2 h。从萃取釜中取出吊篮,吊篮中即为脱除酚酸后的成品。

2.2 分析方法:从成品中取 3 份样品,经分别处理后检测白果酸、黄酮、内酯含量^[4-6],检测条件如表 1。

表 1 EGB 主要成分检测条件

Table 1 Determination condition of main ingredient in EGB			
项 目	白果酸	黄酮	内酯
色谱柱	Hypersil BDX C ₁₈ (250 mm× 4.6 μ m)		
流速	1 mL/min		
流动相	甲醇-水(90∶10,含 2%磷酸)	甲醇-水(45∶55,含 4%磷酸)	甲醇-水(40∶60)
柱温	50℃	50℃	40℃
检测器	紫外检测器	紫外检测器	折光检测器
波长	311 nm	360 nm	

2.3 工艺条件的研究:由于我们的超临界设备为两级解析,萃取液可在解析釜内完全解析出来。所以我们选取萃取压力、萃取温度、CO₂流量为主要影响因素,按照表 2 进行正交实验,方差分析见表 3。

表 2 萃取条件正交试验表

Table 2 Orthogonal test of extraction condition						
试验号	A 萃取压力/MPa	B 萃取温度/℃	C CO ₂ 流量/(L·h ⁻¹)	得率/%	白果酸含量/%	
1	1(15)	1(40)	3(9)	97.1	56.1	
2	2(20)	1(40)	1(5)	97.0	10.5	
3	3(25)	1(40)	2(7)	95.9	6.2	
4	1(15)	2(60)	2(7)	96.3	7.8	
5	2(20)	2(60)	3(9)	96.8	0	
6	3(25)	2(60)	1(5)	96.2	0	
7	1(15)	3(80)	1(5)	95.1	0	
8	2(20)	3(80)	2(7)	94.2	0	
9	3(25)	3(80)	3(9)	93.5	0	
I	288.5	290	288.3	63.9	72.8	10.5
II	288	289.3	286.4	10.5	7.8	14
III	285.6	282.8	287.4	6.2	0	56.1
R	2.9	7.2	1.9	57.7	72.8	45.6

表 3 方差分析表

Table 3 Variance analysis					
	方差来源	平方和	自由度	均方	F
得率	A	1.6	2	0.8	8
	B	10.5	2	5.3	53
	C	0.6	2	0.3	3
	误差(D)	0.2	2	0.1	
白果酸含量	A	688.8	2	344.4	1.5
	B	1065.1	2	532.6	2.36
	C	429.4	2	214.7	0.95
	误差(D)	451.7	2	225.9	

$F_{0.05}(2,2)=19.0$ $F_{0.01}(2,2)=99.0$

从表 3 可知,以得率为考核指标则温度是主要影响因素,压力有一定的影响,流量的影响最小。如果以白果酸含量为考核指标,三个因素对于减少成

品中白果酸含量的影响都较小,并且其中 CO₂ 流量引起的变化接近于试验误差导致的结果变化。不过相对而言温度对结果还是有一些影响,这一点从试验结果中也能反映出来,如 40℃ 时 3 个水平的结果都含有白果酸,而 60℃ 的 2 个水平和 80℃ 的 3 个水平的结果都不含白果酸。由于理论上在其他条件不变的情况下,CO₂ 流量增大可缩短萃取时间。因此经过综合考虑,本着成品中白果酸含量最少,得率较高,减少萃取时间原则,得出优化条件为: A₂ B₃ C₃。

2.4 结果验证:100 g EGB 粉末按照优化条件试验,得 96.8 g 干燥成品,得率 96.8%。成品经检测,白果酸检不出(检测限为 9 ng),黄酮 2.7%,内酯 8%,试验结果比较理想。萃取前后的白果酸检测图见图 1。

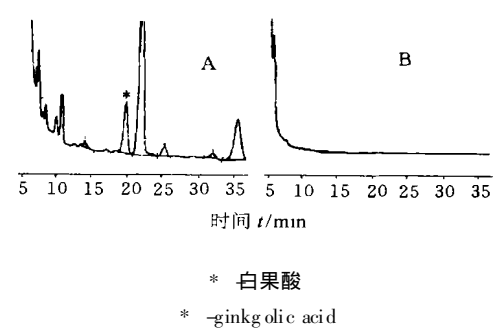


图 1 萃取前(A)和萃取后(B)的对比

Fig. 1 Comparison before (A) and after (B) extraction

由图 1 我们可以发现,白果酸以及白果酸结构类似物质(具体是什么物质,由于我们的实验条件所限难于判断)全被萃出。

3 讨论

3.1 银杏酚酸主要指白果酸(ginkgolic acid)、氢化白果酸(hydroginkgolic acid)、银杏酚(bilobol)、白果酚(gingkgol)等^[4],国际标准中是以白果酸含量为衡量标准,即达到 < 5 μg/g,所以本试验以白果酸作为银杏酚酸的目标检测物,即白果酸的含量表示银杏酚酸的含量。

3.2 银杏酚酸属于有机酸,不能用超临界 CO₂ 直接萃取出来,通过加入夹带剂(极性改良剂)改变 CO₂ 极性后,酚酸才可被萃出。同时要求这种夹带剂不能萃出 EGB 中的活性成分(银杏内酯和银杏黄酮)。因此,选择一种合适的夹带剂是整个萃取过程的关键之一。我们通过试验得出:选择混合溶剂 A 作为夹带剂可以符合以上要求。其用量为 EGB 质量混合溶剂 A 体积为 1∶6。

3.3 EGB 粉末在萃取温度 60℃,萃取压力 20 MPa,流量 9 L/h,解析压力 6 MPa,解析温度 50℃

的条件下,混合溶剂 A 作为夹带剂,经超临界 CO₂ 萃取后其有害成分——银杏酚酸可完全被脱除,而活性成分银杏黄酮、内酯却几乎没有损失。此工艺步骤少,易操作,生产周期短,成品可以用于生产药品和保健食品,有很大的市场前景。

References

[1] Lu D Q, Chen J. Pharmacological studies on ginkgolide [J]. *J Jiangsu Univ Sci Tech- Natural Sci* (江苏理工大学学报·自然科学版), 2001, 22(2): 5-9.
[2] Yang Y F, Wu G Y. Survey of pharmacological studies on *Ginkgo biloba* leaves (I) [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国

现代应用药学), 1995, 12(5): 12-15.
[3] Yang Y F, Wu G Y. Survey of pharmacological studies on *Ginkgo biloba* leaves (II) [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 1995, 12(6): 5-8.
[4] Zhang D Q, He Z F. *Chemical Studies on Resources of Ginkgo biloba Leaves* (银杏叶资源化学研究) [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1999.
[5] Yao W X, Yang C, Tian Y. Rapid determination of ginkgolides and bilobalide in leaves of *Ginkgo biloba* Lour and its extracts by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1999, 19(1): 38-41.
[6] Han J Y, Li H J, Zhu Q W. Progress in the research of ginkgolides from *Ginkgo biloba* [J]. *Prog Chem Ind Eng* (化工进展), 2000, (2): 23-25.

刺五加提取物中五加苷 B E含量的 RP-HPLC测定方法的改进

惠玉虎*

(西安天诚医药生物工程有限公司,陕西 西安 710075)

刺五加提取物是从五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms 的干燥根及根茎中提取的有效成分经喷雾干燥而得,其中主要含有各种苷类如五加苷 B、E(又分别称为丁香苷和紫丁香树脂苷)及多种木脂素类、异秦皮啶和黄酮类成分^[1]。关于五加苷 B 的测定已有文献报道^[2-3],笔者也曾采用 RP-HPLC法对五加苷 B、E 的含量进行了测定,但有些样品中五加苷 B 存在分离不完全的情况^[4]。为了准确地测定刺五加提取物中五加苷 B、E 的含量,我们对该方法进行了改进和研究,采用梯度方法对五加苷 B、E 的含量进行了测定。结果该方法准确、可靠可用于刺五加提取物的质量控制。

1 仪器与试剂

美国 Waters600 型高效液相色谱仪, Waters717型自动进样器, Waters486型紫外检测器,北京精瑞计算机技术公司色谱工作站 (GS2010 型), KQ-250型超声波清洗器。

五加苷 B、E对照品 (含量 99%)均由美国 Alpha 实验室提供,刺五加提取物为西安天诚医药生物工程有限公司生产。甲醇、乙腈为分析纯,水为二次重蒸馏水。

2 色谱条件

色谱柱: Zorbax SB-C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相: 乙腈-水;流速: 1.0 mL/min;检测波

长: 220 nm;灵敏度: 0.01 AUFS;柱温: 25℃。梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相的梯度洗脱

Table 1 Gradient elution of mobile phase		
时间	A相: 乙腈-水 (8: 92)	B相: 乙腈-水 (20: 80)
0	100%	0%
30	0%	100%

在上述色谱条件下,五加苷 B、E 与杂质完全分离,五加苷 B、E 保留时间分别约 11、25 min (图 1)。

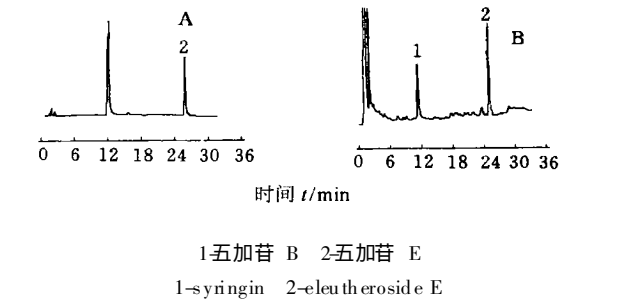


图 1 五加苷 B、E 对照品 (A) 和刺五加提取物 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 Chromatograms of syringin, eleutheroside E reference substance (A) and extraction (B)

3 方法及结果

3.1 对照品溶液的制备: 精密称取五加苷 B、E 对照品各约 1.50 mg, 于 25 mL 容量瓶中, 加 80% 甲醇溶解并定容至刻度, 即得对照品溶液。

3.2 供试样品溶液的制备: 精密称取刺五加提取物样品适量于 25 mL 容量瓶中, 加入 80% 甲醇约 20

* 收稿日期: 2002-07-02