

计算含量,结果见表 1

表 1 通脉颗粒中阿魏酸含量测定 (n= 3)

Table 1 Ferulic acid in Tongmai Granula (n= 3)

批 号	阿魏酸含量 / (mg· g ⁻¹)	RSD %
20001110	0. 068	1. 04
20001211	0. 072	1. 94
20001213	0. 072	1. 12

3 讨论

3. 1 阿魏酸是当归中有效成分之一,具有明显扩张冠脉血管,增加冠脉流量,改善心肌缺血作用。它是弱有机酸,根据文献我们采用流动相溶解^[1],使阿魏酸稳定性增加,提高了分析结果的准确性

3. 2 本品在进行波长选择时,取阿魏酸对照品适量,用流动相溶解后做紫外扫描,测得最大吸收波长为 313 nm,与文献报道相同^[2],所以检测波长定为 313 nm

3. 3 阿魏酸含量测定所用流动相文献报道主要有甲醇-水 磷酸系统和甲醇-水 冰乙酸系统,经比较以甲醇-水 冰乙酸系统为佳,将甲醇与不同浓度冰乙

酸溶液以不同比例混合作为流动相进行洗脱,最终确定为甲醇-0. 8% 冰乙酸溶液 (30∶ 70)作为流动相,样品中阿魏酸峰可获得良好的分离效果,理论塔板数以阿魏酸峰计算约为 4 000,在上述条件下,阿魏酸与杂质峰分离度符合要求。

3. 4 分别用甲醇、50% 甲醇、醋酸乙酯、甲酸、甲醇-甲酸、甲醇-冰乙酸等作溶媒对样品进行提取方法的摸索。经测定,以甲醇-冰乙酸 (19∶ 1)作为提取溶剂超声处理样品为佳。通过对超声时间和提取溶媒量的考察,发现用 50 mL甲醇-冰乙酸 (19∶ 1)提取 30 min已将样品中阿魏酸提取完全。

References

[1] Jia X B, Shi Y F, Huang Y P, *et al.* Improvement on determination method of ferulic acid in *Radix Angelicae Sinensis* and *Rhizoma Chuanxiong* by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1998, 20(6): 37-38.
[2] Wang B Q. *Study in the Quality Standard and Standard Substance of Chinese Patent Medicine* (中成药质量标准与标准物质研究) [M]. Beijing: China Medicinal Science and Technology Publishing House, 1994.

大孔吸附树脂提取纯化银杏酚酸的研究

倪学文,吴谋成*

(华中农业大学 食品科技系,湖北 武汉 430070)

银杏酚酸 (ginkgolic acids)存在于银杏外种皮、果肉和叶中,属漆树酸类化合物,具有抗肿瘤、抗炎、抗过敏、抑菌、防治病虫害和日化用品添加剂等功效^[1,2]。从 20世纪 60年代就已经有银杏酚酸的分离提取方法的报道。Gellerman^[3]利用氯仿和甲醇浸提,用硅胶柱层析分离银杏酚酸;Itokawa^[4]将银杏外种皮用甲醇浸提,再经硅胶柱和 ODS柱得 3种酸性成分;Irie^[5]使用正己烷浸提银杏叶,然后经硅胶柱和 Sephadex LH-20分离,用高效液相制备柱制备银杏酚酸。这些方法普遍存在所需溶剂、设备昂贵,方法烦琐的缺点,且无法对银杏酚酸进行大规模的分离,在实际生产中难以得到应用。

本实验以银杏外种皮为原料,比较几种吸附树脂对银杏酚酸的吸附性能,挑选出了适宜的吸附剂,为吸附树脂法分离纯化银杏酚酸奠定一定的基础。

1 材料和仪器

银杏外种皮: 采自湖北安陆,经清洗去杂和粉碎干燥;大孔吸附树脂: 南开大学化工厂;其他试剂均为分析纯,双蒸水。银杏酚酸对照品由本实验室制备,经归一化法测定,含量大于 98%。

岛津 LC-6A 高效液相色谱仪,配有 SPD-6AV 紫外可见检测器,CTO-6A 柱温箱;电子恒温水浴锅;真空旋转蒸发器;Alpha-5 真空冷冻干燥器。

2 实验方法

2. 1 银杏酚酸粗提液的制备: 称取银杏外种皮,以 80% 工业乙醇为浸提溶剂,采用 1∶ 7 的料液比,60℃下回流提取 3 次,每次 4 h,经抽滤,真空浓缩后得到银杏酚酸粗提液即吸附原液。

2. 2 银杏酚酸测定方法: 采用高效液相色谱检测。色谱条件: 色谱柱: SupelcosilTM LC-18 (15 cm× 4. 6 mm, 5 μm); 流动相: 90% 甲醇,乙酸调 pH 值为 3. 15; 紫外检测波长: 310 nm; 流速: 0. 7 mL/min; 灵

* 收稿日期: 2002-06-14
作者简介: 倪学文 (1977-),女,湖北天门人,在读博士研究生,研究方向为天然产物化学。
Tel (027) 87283263 E-mail nxw-t@ 163.com

敏度: 0.04 AUFS;柱温: 30℃。

2.3 树脂预处理: 树脂先用 2 mol/L NaOH 浸泡 5 h,用蒸馏水洗至中性;再用 3 mol/L HCl 浸泡 8 h,用蒸馏水洗至中性;最后用乙醇浸泡 24 h,充分溶胀,用乙醇洗至流出液加适量水无白色浑浊现象,再用蒸馏水反复清洗至无醇气味,用蒸馏水浸泡待用。

2.4 树脂的筛选: 实验选用 4 种吸附树脂 (NAK-9, ADS-17, D3520, D4020)测定静态吸附容量以筛选树脂。静态吸附容量的测定: 准确称取经预处理的湿树脂 1.5 g,置于 100 mL 具塞磨口烧瓶中,加入一定量的吸附原液,盖紧瓶塞,在室温下振荡 36 h 充分吸附后,过滤,对滤液进行 HPLC 测定,与原液的测定结果比较,按下式计算吸附容量:

吸附量 =
$$\frac{\text{原液浓度} - \text{吸附液浓度} \times \text{溶液体积}}{\text{干树脂质量}}$$

2.5 计算不同吸附流速下的泄漏率: 将预处理好的湿树脂 D4020 装柱,取吸附原液上柱吸附,控制一定流速,收集流出液,测其银杏酚酸含量,计算泄漏率,分别取流速为 1, 2, 3, 4 mL/min 作比较。

泄漏率 =
$$\frac{\text{流出液浓度} \times \text{流出液体积}}{\text{原液浓度} \times \text{原液体积}} \times 100\%$$

2.6 测定不同浓度洗脱剂的洗脱流出液的银杏酚酸含量: 取适量树脂 D4020 装柱,加入吸附原液进行吸附,待吸附完全后,用一定浓度的乙醇洗脱剂将银杏酚酸类化合物洗脱下来,洗脱速度控制为 1.5 mL/min,收集与 1% 三氯化铁溶液反应呈阳性的洗脱液 (紫外扫描监控),洗脱液经浓缩干燥后用 HPLC 检测银杏酚酸含量,对不同浓度乙醇洗脱剂的洗脱效果进行比较。

3 结果

3.1 树脂的筛选: 4 种树脂 (ADS-17, NAK-9, D4020, D3520)进行静态吸附实验测定其吸附容量,结果见表 1。

表 1 不同树脂对银杏酚酸的吸附量

Table 1 Adsorption of different resins on ginkgolic acids	
型 号	吸附容量 / (mg · g ⁻¹)
ADS-17	108.65
NAK-9	115.86
D4020	180.42
D3520	167.31

由表 1 可见,树脂 D4020, D3520 的吸附量明显高于 ADS-17 和 NAK-9。银杏酚酸是极性弱的化合物,在非极性树脂 D4020 和 D3520 上能较好地被吸附,而在中等极性树脂 ADS-17 和极性树脂 NAK-9 上吸附率低,因此,选择 D4020 树脂进行后面的实验研究。

3.2 吸附流速对吸附效果的影响: 吸附流速主要是影响溶质向树脂表面扩散,从而决定了吸附效果,如果流速太快,溶质分子来不及扩散到树脂的内表面,就会发生漏过,造成样品的流失。分别取吸附流速为 1, 2, 3, 4 mL/min 作比较,结果见表 2。

表 2 不同吸附流速的比较
Table 2 Comparison of current velocity on adsorption

流速 / (mL · min ⁻¹)	泄漏率 / %
1	16.15
2	17.87
3	23.92
4	33.54

从表 2 可看出,随着吸附流速的加快银杏酚酸类化合物的泄漏越来越严重,但流速过慢会延长生产周期,提高成本,流速为 1, 2 mL/min 时泄漏率差异不是很大,综合考虑,选择吸附流速为 2 mL/min。

3.3 乙醇浓度对树脂洗脱性能的影响: 分别研究了 70%, 80%, 90% 乙醇对银杏酚酸的洗脱效果,结果见表 3。

表 3 洗脱剂浓度对银杏酚酸含量的影响
Table 3 Effect of eluent concentration on ginkgolic acids

乙醇浓度	产物中银杏酚酸含量 / %	得率 / %
70%	35.17	1.02
80%	47.87	2.75
90%	54.32	3.21

90% 乙醇洗脱效果最好,洗脱峰较集中,基本上可将银杏酚酸类化合物完全解吸下来,产物纯度和得率也较高。

3.4 原液重复过柱对树脂吸附率的影响: 为了让提取液中的银杏酚酸尽可能地利用而不致于损失,研究了提取液重复过柱的吸附变化情况,结果见表 4。

表 4 原液重复过柱对树脂吸附率的影响
Table 4 Effect of solution repeat adsorption on resin adsorption ratio

过柱次数	银杏酚酸吸附率 / %
1	74.85
2	87.74
3	88.96

从表 4 可知,第 2 次过柱后吸附率提高了 12.89%,第 3 次过柱比第 2 次提高了 1.22%。从提高生产效率考虑,流出液重复过柱一次即可。

4 讨论

大孔吸附树脂具有吸附容量大,选择性好,易解吸,易再生,成本低,效率高等优点,国内外研究者已广泛将其用于生物碱、皂苷、黄酮、多糖等的提取,取得了显著的效果^[6]。本实验研究了利用大孔吸附树

脂分离银杏酚酸的方法,采用吸附树脂精制银杏酚酸,工艺较简单,成本低,产率高,不存在重金属、有机溶剂毒性残留的问题。通过对大孔吸附树脂吸附银杏酚酸性能的筛选,确定出性能较佳的 D4020树脂。得到最优的吸附-解吸实验条件为: D4020树脂上柱,吸附流速为 2 mL/min,原液过柱吸附两次,用 90%乙醇洗脱,所得产物的银杏酚酸含量和得率都较高。

References

[1] Ni X W, Wu M C. The extraction and application of ginkgolic acids from *Ginkgo biloba* [J]. *J Hubei Coll Tradit Chin Med*

(湖北中医学院学报), 2001 (4): 22-24.
[2] Lu J, Xu Q, Zong Z M, *et al.* Progress in studies on alkylphenolic acids in *Ginkgo biloba* preparation [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(1): 85-87.
[3] Gellerman J L. Methods for isolation and determination of anacardic acids [J]. *Anal Chem*, 1968, 40(4): 739-743.
[4] Itokawa H, To tsuka N, Nakahare *et al.* K. Antitumor principles from *Ginkgo biloba* L. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35 (7): 3016-3020.
[5] Irie J. Glycerol-3-phosphate dehydrogenase inhibitors, anacardic acids, from *Ginkgo biloba* [J]. *Biotech Biochem*, 1996, 60(2): 240-243.
[6] Shi Z Q, Shi R F, Fan Y G, *et al.* Application of polymer adsorbent in extraction of medical herbs [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(7): 660-662.

健脑灵口服液提取工艺研究

尹一子¹,李子健^{1*},高越¹,刘宁^{2*}

(1. 吉林大学第一医院 药剂科,吉林 长春 130021; 2. 吉林大学生命科学技术研究所,吉林 长春 130023)

健脑灵口服液主要由淫羊藿、益智、甘草等中药组成,具有补肾扶阳、益精生髓、健脑益智,主要用于记忆减退、智力障碍、老年性痴呆。实验发现本方提取工艺对疗效影响显著,本处方中大多数有效成分为水溶性成分,故工艺上采用水煎煮法,采用正交设计试验,以淫羊藿中有效成分淫羊藿苷含量为考核指标,对水煎煮法提取工艺进行了优选。同时,对益智中挥发油的提取及乙醇沉淀的浓度进行了考察。

1 仪器、试剂与药品

岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪(日本); CLASS-LC10 色谱工作站,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。淫羊藿苷对照品购自中国药品生物制品检定所。淫羊藿 *Epimedium koreanum* Nakai,甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 药材购于吉林省药材公司。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取时间的确定: 本处方中益智含有大量挥发性成分,采取水蒸气蒸馏法提取挥发油,蒸馏时间对收油率影响很大,故考察蒸馏时间。

取益智 500 g,加 3.5 倍量水,浸泡 1~2 h,充分浸透后开始蒸馏,并在规定时间内量取。结果见表 1。

由表 1 可见,5 h 内大部分挥发油被提取出来,

为节约能源,降低成本,将提取挥发油时间定为 5 h。

表 1 益智中挥发油提取时间与收油率关系 (n= 3)

Table 1 Relationship between oil yield and extraction duration of volatile oil in <i>Fructus Alpiniae Oxyphyllae</i> (n= 3)	
提取时间 /h	收油量 /mL
1	0.91
2	2.89
3	4.10
4	4.93
5	5.06
6	5.18

2.2 水煎煮条件的优化

2.2.1 正交试验设计: 本处方中淫羊藿、甘草、益智等主药均含有大量水溶性成分,故工艺上采用了水煎煮法,加水量、煎煮时间、煎煮次数是影响煎煮效果的主要因素,因此采用这 3 个因素为考察对象,以淫羊藿中有效成分淫羊藿苷含量为考核指标,进行正交试验优化(表 2)。

2.2.2 色谱条件^[1]: 色谱柱: Shim-pack CLC-ODS (150 mm× 6.0 mm);流动相: 甲醇-水 (64: 46);柱温: 30℃;流速: 1 mL/min;检测波长: 270 nm;理论板数按淫羊藿苷峰计算应不低于 4 000。

2.2.3 标准曲线的绘制: 精密吸取淫羊藿苷对照品

* 收稿日期: 2002-11-08
作者简介: 尹一子 (1962-),女(朝鲜族),吉林延吉人,副主任医师,理学硕士,1984年毕业于沈阳药科大学药学院,2000年吉林大学生命科学学院研究生毕业,1991年赴日本北理大学研修,现为中华医院管理学会药事管理专业委员会委员,吉林省药学会理事,主要从事新药研制与开发及药代动力学研究。Tel (0431) 5612573
* 通讯作者