

2.6 精密度试验: 取 0.2 mg/mL 的苦杏仁苷对照品溶液, 重复进样 5 次, 测定峰面积, 计算得其 RSD 为 0.85%。

2.7 稳定性试验: 取苦杏仁苷对照品溶液放置 3 d, 测定, 结果对苦杏仁苷含量无影响。

2.8 重现性试验: 对同一批样品分别称取 5 份, 按照供试品溶液制备方法操作, 测定, 计算得苦杏仁苷的平均含量为 138.1 mg/g, RSD 为 0.85%。

2.9 回收率试验: 精密移取蛤蚧定喘胶囊溶液 1.0, 1.0, 2.0, 3.0, 3.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 分别加入苦杏仁苷对照品溶液 0.5, 0.5, 1.0, 1.0, 2.0 mL, 按供试品溶液制备方法操作, 测定, 结果平均回收率为 101.5%, RSD 为 0.85% ( $n=5$ )。

2.10 样品中苦杏仁苷含量测定: 采用外标法。取蛤蚧定喘胶囊溶液 10  $\mu$ L 测定, 把峰面积值代入工作曲线方程, 求出苦杏仁苷浓度, 计算, 结果见表 1。

表 1 蛤蚧定喘胶囊中苦杏仁苷的含量测定结果 ( $n=5$ )

Table 1 Amygdalin in Gejie Dingchuan Capsule ( $n=5$ )

| 批号 | 苦杏仁苷/(mg · g <sup>-1</sup> ) | RSD/% |
|----|------------------------------|-------|
| 1  | 137.2                        | 0.88  |
| 2  | 141.3                        | 0.86  |
| 3  | 140.7                        | 0.91  |
| 4  | 130.5                        | 0.80  |
| 5  | 130.8                        | 0.77  |

### 3 讨论

糖类物质的分离大多采用氨基柱, 以乙腈-水作为流动相进行。但氨基柱使用寿命短, 加之乙腈价格较为昂贵, 很难应用于工业生产过程的例行检测。本实验在反相 C<sub>18</sub> 柱上以甲醇-水体系作为流动相对苦杏仁苷进行分析, 建立了蛤蚧定喘胶囊中苦杏仁苷的高效液相色谱分析法, 准确、简单、快速、灵敏度高, 分析成本低, 可以作为蛤蚧定喘胶囊中苦杏仁苷含量测定的方法。

#### References:

- [1] Zuo JM, Pan ZJ, Li M Z, *et al*. Study on pharmacodynamics and toxicology of Gejie Dingchuan Capsule [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(4): 343.
- [2] Chen D C. Determination of amygdalin by thin layer chromatography [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1981 (8): 13-15.
- [3] Yin ZH. Derivative spectrum distinguished *Semen Amniacae Amanrum* and walnut [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1993 (10): 23.
- [4] Dong L G. Determination of amygdalin by ultra-violet absorption spectrometry [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1983, 5 (4): 33-34.
- [5] Wang B Q. Determination of amygdalin by fluorescence quenching method [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1989, 20(4): 17-19.
- [6] Dong L G. Determination of amygdalin by gas chromatography [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1983, 5 (11): 27-28.
- [7] Fu ZM. Determination of micro cyanide in *Semen Amniacae* biscuits by headspace gas chromatography [J]. *Food Sci* (食品科学), 1994 (8): 72.

## 不同干燥条件对银杏叶中活性成分含量的影响

何 何照范, 张迪清\*

(贵州大学, 贵州 贵阳 550025)

银杏 *Ginkgo biloba* L. 属裸子植物, 是我国特有的古老树种之一。我国银杏叶产量约占世界总量的 70%。银杏黄酮、银杏萜内酯是银杏叶中主要活性成分。银杏黄酮具有相当强的抗氧化作用, 能清除生物体内过剩的自由基, 阻止体内脂质过氧化; 银杏萜内酯是一种血小板活化因子 (PAF) 拮抗剂, 对脑血栓、心肌梗死有很好的治疗作用。因此, 银杏叶被认为是治疗心脑血管疾病的首选天然药物<sup>[2]</sup>。

银杏酸是银杏叶主要有毒成分之一, 具有较强的不良作用, 它与致过敏、致突变有关。目前, 国际上对银杏提取物及其制剂中银杏酸含量有严格的要

求, 必须控制在 5 mg/kg 以下。白果酸是银杏酸的主要组份之一。因此, 通过对不同干燥方法的研究, 测定不同干燥条件下银杏叶中白果酯、银杏黄酮、萜内酯含量, 从中选择一个既能有效的降低银杏酸中白果酸含量, 减少其不良作用, 又能很好地保持银杏叶中黄酮、萜内酯药用成分的最佳干燥条件, 为获得高质量的银杏叶原料, 生产出高标准的银杏叶提取物、银杏制剂; 同时为我国银杏叶和银杏叶提取物的出口提供高质量产品有着重要意义。

### 1 材料与仪器

银杏经贵州大学园艺系史继孔教授鉴定, 产自

贵州大学农学院园艺系银杏叶基地 1999 年生 3 种不同种类鲜叶(9 月采)。槲皮素、银杏内酯 A, B, C (GA, GB, GC) 和白果内酯(BB) 对照品(含量 ≥ 98%) 由 Sigma 公司提供。白果酸对照品(含量 ≥ 95%) 由中国药科大学提供。

日本岛津 LC-3A 高效液相色谱仪, 日本岛津 SPD-1 紫外分光光度仪, 色谱数据处理仪(美国 HP-3390); 恒温水浴锅(日本岛津 HB-8)。

## 2 方法与结果

2.1 银杏叶前处理: 同一份鲜叶分为 5 份, 分别室内阴干; 阳光晒干; 80 °C 恒温烘干; 100 °C 杀青 30 min, 80 °C 恒温烘干; 置于密封袋中霉变(发霉部位占 60%), 再用 80 °C 恒温烘干。将上述处理过银杏叶粉碎后密封保存待用。

### 2.2 银杏黄酮的测定<sup>[1]</sup>

2.2.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil BDS C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流速: 1 mL/min; 检测器: 紫外检测仪; 波长: 360 nm; 灵敏度: 0.04 AUFS; 柱温: 50 °C; 进样体积: 20 μL; 流动相: 水-甲醇-磷酸(50:50:0.4)。

2.2.2 对照品溶液制备: 称取槲皮素对照品 20 mg 于 100 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解并至刻度, 即得。

2.2.3 供试品溶液制备: 准确称取银杏叶 20 mg, 放入密封管中, 加入 10 mL 水解液[甲醇-4 mol/L HCl(7:3)]后密封, 置于 78 °C 水浴锅水解 6 h。冷却后滤纸滤过。吸取滤液 1 mL 加流动相 9 mL, 摇匀即得。

### 2.3 银杏萜内酯的测定<sup>[1,3]</sup>

2.3.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil BDS C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流速: 0.5 mL/min; 检测器: 示差折光检测仪; 灵敏度: 0.02 AUFS; 柱温: 25 °C; 进样体积: 20 μL; 流动相: 水-甲醇-四氢呋喃(18:7:1)。

2.3.2 对照品溶液制备: 称取银杏萜内酯对照品 20 mg 于 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 即得。

2.3.3 供试品溶液制备: 准确称取银杏 20 mg, 放入密封管中, 再加入 2 mL 甲醇后密封, 置于 55 °C 水浴锅 5 h。冷却后加水 3 mL 摇匀, 过酸性氧化铝干柱脱色, 过柱液供 HPLC 分析。

### 2.4 银杏酸的测定<sup>[1]</sup>

2.4.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil BDS C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流速: 1 mL/min; 检测器: 紫外检测仪; 波长: 243 nm; 灵敏度: 0.04 AUFS; 柱温: 50 °C; 进样体积: 20 μL; 流动相: 水-甲醇-磷酸(12:88:0.4)。

2.4.2 对照品溶液制备: 称取白果酸对照品 20 mg 于 100 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解并稀释至刻度, 即得。

2.4.3 供试品溶液制备: 称取银杏 50 mg, 放入密封管中, 再加入 10 mL 甲醇后密封, 置于 55 °C 水浴锅 3 h。冷却后用滤纸滤过, 滤液供 HPLC 分析。

2.5 结果: 采用外标法, 对 5 种不同干燥条件处理的银杏叶平行取样 3 次分析, 测定银杏叶中银杏黄酮、银杏萜内酯(白果内酯, 银杏内酯 A, B, C 之和)、白果酸含量<sup>[1]</sup>, 结果见表 1。

表 1 数据表明: 不同干燥条件干燥的银杏叶中

表 1 不同干燥条件干燥的银杏叶中总黄酮、萜内酯、白果酸含量 (n=3)

Table 1 Content of flavonol aglycones, ginkgo terpenes, and ginkgolic acid in ginkgo leaves dried in different conditions (n=3)

| 干燥条件               | 1 号样 |       |         | 2 号样 |       |         | 3 号样 |       |         |
|--------------------|------|-------|---------|------|-------|---------|------|-------|---------|
|                    | 黄酮/% | 萜内酯/% | 白果酸/%   | 黄酮/% | 萜内酯/% | 白果酸/%   | 黄酮/% | 萜内酯/% | 白果酸/%   |
| 阴干                 | 1.62 | 0.57  | 0.169 5 | 1.04 | 0.68  | 0.197 2 | 1.15 | 0.65  | 0.224 9 |
| 晒干                 | 1.35 | 0.47  | 0.115 6 | 1.01 | 0.39  | 0.130 8 | 1.16 | 0.62  | 0.140 7 |
| 80 °C 烘干           | 1.01 | 0.41  | 0.151 3 | 0.96 | 0.24  | 0.209 9 | 0.88 | 0.60  | 0.241 9 |
| 100 °C 杀青 80 °C 烘干 | 1.00 | 0.38  | 0.159 7 | 0.89 | 0.19  | 0.208 2 | 0.82 | 0.57  | 0.239 8 |
| 生霉后 80 °C 烘干       | 0.07 | 0.17  | 0.044 0 | 0.05 | 0.19  | 0.002 7 | 0.09 | 0.28  | 0.031 0 |

银杏黄酮、萜内酯含量由高至低是: 阴干> 晒干> 80 °C 烘干> 100 °C 杀青 80 °C 烘干> 生霉后 80 °C 烘干。数据也表明银杏黄酮、萜内酯随温度升高而降低, 而霉变后的银杏叶中黄酮几乎被降解为零, 萜内酯比阴干含量下降了 50%~80%。阴干、80 °C 烘干和 100 °C 杀青 80 °C 烘干的银杏叶中白果酸含量基本相同; 而晒干条件下, 由于紫外线影响其含量比阴

干含量下降了 31.8%~33.7%; 生霉后 80 °C 烘干叶中银杏酸含量最小, 比阴干含量下降了 74.0%~86.4%。色谱图见图 1~3。

## 3 讨论

阴干、晒干对银杏叶中黄酮、萜内酯影响最小, 而生霉后叶中黄酮、萜内酯含量下降迅速, 含量几乎为零, 且晒干条件下, 由于紫外线影响银杏酸含量比

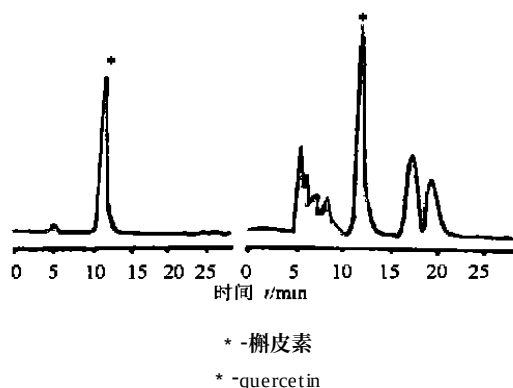


图1 槲皮素对照品(A)和阴干银杏叶供试品(B)的HPLC图谱

Fig 1 HPLC chromatograms of quercetin (A) and ginkgo leaves dried in shade (B)

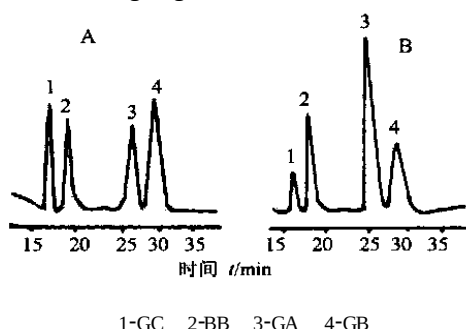


图2 银杏内酯混合对照品(A)和阴干银杏叶供试品(B)的HPLC图谱

Fig 2 HPLC chromatograms of ginkgolide mixed reference substances (A) and ginkgo leaves dried in shade (B)

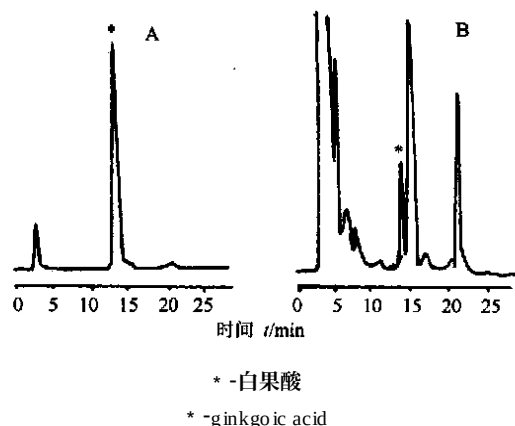


图3 白果酸对照品(A)和阴干银杏叶供试品(B)的HPLC图谱

Fig 3 HPLC chromatograms of ginkgoic acid (A) and ginkgo leaves dried in shade (B)

阴干含量下降74%~86%。而霉变后的叶子所有活性成分几乎全被降低为零。因此,综合来看,采用晒干既能有效的降低银杏酸含量,减少其毒副作用,又能很好地保持银杏叶中黄酮、萜内酯药用成分。因此,晒干是5种常用干燥条件中最佳干燥条件。

#### References

- [1] Zhang D Q, He Z F. *Research on the Chemical Ingredients in Leaves of Ginkgo biloba* (银杏叶资源化学研究) [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1999.
- [2] Li Z L. *Exploitation and Exertion of Ginkgo leaves* (银杏叶开发与利用) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1996.
- [3] Lobstein-Guth A, Brianconscheld F. Analysis of terpenes from *Ginkgo biloba* L. by high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr*, 1983, 267: 432-438.

## HPLC 法测定沙棘油软胶囊中 $\alpha$ -维生素 E 的含量

王兆华, 张大军, 赵玉兰, 徐国经\*

(吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

沙棘油软胶囊是由胡颓子科植物沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. 种子油经加工所制成的软胶囊制剂。具有消食化滞、和胃降逆、活血化痰等功能, 临床用于气滞血瘀、胃气上逆所致的脘腹痛、暖气返酸、胸闷、纳呆等症, 取得满意疗效。沙棘油具有较高的医药价值, 其中含有多生物活性物质, 如维生素 A、B、C、D、E、F、K,  $\gamma$  和  $\beta$ -胡萝卜素等, 还含有亚油酸、亚麻酸、脑磷脂、卵磷脂等成分。 $\alpha$ -维生素 E 是沙

棘油中主要有效成分, 其含量测定方法有薄层扫描法<sup>[1]</sup>、气相色谱法<sup>[2]</sup>和高效液相色谱法<sup>[3]</sup>。本实验采用 HPLC 法对沙棘油软胶囊中  $\alpha$ -维生素 E 进行了含量测定, 以控制该制剂的质量, 更有效地保证其临床疗效。

#### 1 仪器与试剂

日本岛津 LC-9AC 高效液相色谱仪, SPD-6AV 紫外检测器; ZFQ-85A 型旋转蒸发器,  $\alpha$ -维生

\* 收稿日期: 2003-04-15

作者简介: 王兆华(1964—), 女, 吉林省长春市人, 副研究员, 1986 年毕业于长春中医学院中药系, 同年分配到吉林省中医中药研究院中  
jfq@hotmail.com