



银杏根皮中萜内酯提取工艺研究

何珺*, 杨硕, 杨佳年, 卿晓红

(贵州省生化工程中心, 贵州 贵阳 550025)

[摘要] 目的:探索出以乙醇-水为浸提溶剂的银杏根皮中萜内酯的提取工艺,确定最佳提取参数。方法:通过对银杏根皮提取参数中浸提温度、浸提时间、料液比、浸提醇浓度、浸提酸度进行单因素梯度试验,采用 HPLC 法检测含量,确定银杏根皮中萜内酯浸提最佳参数。结果:银杏根皮中萜内酯最佳浸提条件:浸提时间 2 h;料液比 1:15;浸提温度 50 ℃;浸提液 pH 3;30%乙醇。结论:以乙醇-水为溶剂从银杏根皮中提取萜内酯的方法具可行性和生产应用价值。

[关键词] 银杏根皮;萜内酯;提取

银杏萜内酯主要包括银杏内酯 A, B, C 和白果内酯。银杏内酯 B 是一种很有应用前景的特异性血小板激活因子(PAF)受体拮抗剂,其专一性高,而银杏内酯 A 也是一种重要的昆虫拒食素,白果内酯对老年痴呆症和神经系统疾病具有一定疗效^[1-2]。目前,银杏萜内酯对心脑血管及外周血管疾病的疗效已使它成为药品及保健食品的原料。但目前银杏萜内酯化合物的主要工业生产来源为银杏叶,而对银杏根皮的研究报道相对较少。

本实验以银杏根皮为原料,用乙醇-水溶液提取,采用单因素法研究不同条件对银杏根皮中内酯浸提效果的影响,寻求最佳浸提工艺。对废弃的银杏根皮进行利用,提高了银杏资源利用指数。

1 材料

高效液相色谱仪(Agilent 1100 型),示差检测器;恒温水浴锅(HB-8);电子分析天平(上海奥豪斯公司, DV215CD);粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司, FW80);

白果内酯(Sigma 公司,批号 82H0212,纯度 95%)、银杏内酯 A, B, C 对照品(中国药品生物制品检定所,纯度分别为 90%, 95%, 97%,批号分别为 25H0165, 110863-200305, 110864-200304);银杏根皮(购自江苏徐州市邳州县);

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性

Hypersil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相甲醇-水-四氢呋喃(7:17:3);流速 0.5 mL · min⁻¹;进样体积 10 μL;柱温 35 ℃;示差检测器。

2.2 对照品及供试品溶液的制备

供试液:银杏根皮置于 70 ℃烘箱烘 12 h,冷却后粉碎成粉末,置于密封袋保存备用。精确称取 1 g 银杏根皮粉末于 10 mL 密封管中,加入 6 mL 甲醇,在 55 ℃水浴密封浸提 2 h,取出冷却后加水 4 mL,摇匀后过装有 1.5 g 酸性氧化铝干柱,流出液过微滤后置于密封管待上机。

对照液:精确称取标样银杏内酯 C(GC)、银杏内酯 A(GA)、白果内酯(BB)和银杏内酯 B(GB)4 mg 于试管中,加甲醇超声溶解并定容,制备成 0.4 g · L⁻¹对照品贮备液,待用。

2.3 线性关系考察

分别吸取对照品贮备液并稀释为 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 g · L⁻¹,按上述色谱条件测定。以对照品浓度为纵坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,得 4 种成分的回归方程、相关系数及线性范围,4 种内酯在 0.05 ~ 0.4 mg · L⁻¹时关系特性良好。见表 1。

表 1 4 种银杏萜内酯线性方程和相关系数

化合物	回归方程	r
白果内酯	$Y = -0.00366 + 0.00988X$	0.99986
银杏内酯 A	$Y = -0.00479 + 0.01394X$	0.99989
银杏内酯 B	$Y = -0.00599 + 0.01711X$	0.99990
银杏内酯 C	$Y = -0.00527 + 0.00948X$	0.99978

[稿件编号] 20100105005

[基金项目] 贵州省科技厅 2001 年省基金项目(20013096);贵州省科技厅 2008 年省重大专项项目(20086020)

[通信作者] *何珺,副教授,主要从事天然产物活性成分分离提取研究, Tel:13007862424, E-mail:hejun1016@163.com



2.4 精密度考察

精密吸取混合对照品溶液,按上述色谱条件重复进样 6 次,每次 10 μL ,记录 4 种银杏内酯的峰面积,计算白果内酯、银杏内酯 A, B, C 的 RSD 分别为 2.1%, 1.2%, 1.4%, 1.5%。

2.5 重复性试验

从同一批银杏根皮中平行取样 5 份,按供试液方法制备,每个供试品溶液测定 3 次,取平均值。结果表明白果内酯、银杏内酯 A, B, C 的 RSD 分别为 1.2%, 0.45%, 0.68%, 0.52%。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液,分别于 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48 h 上机测定,每个供试品溶液测定 3 次,取平均值计算含量,白果内酯、银杏内酯 A, B, C 的 RSD 分别为 1.40%, 0.81%, 0.99%, 0.97%, 结果表明样品溶液在 48 h 内稳定。

2.7 加样回收试验

精密称取 5 份已知含量的同一批银杏根皮粉末,分别加入白果内酯、银杏内酯 A, B, C 适量,按供试液方法制备,每个供试品溶液测定 3 次,取平均值,计算对照品的平均加样回收率,结果表明白果内酯、银杏内酯 A, B, C 添加回收率为 95.30%, 99.72%, 98.56%, 97.63%, 白果内酯、银杏内酯 A, B, C 的 RSD 分别为 1.1%, 0.86%, 0.96%, 0.92%。

2.8 从银杏根皮中提取内酯的条件选择

2.8.1 浸提醇浓度选择

称取 1.0 g 上述备用银杏根皮粉末 5 份于密封管,分别加入 10 mL (料液比 1:10) 10%, 30%, 50%, 70%, 90% 的乙醇水溶液,置于 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 2 h,浸提液过装有 1.5 g 酸性氧化铝干柱,流出液过微滤后测定,取平均值并计算浸提量,结果见图 1。

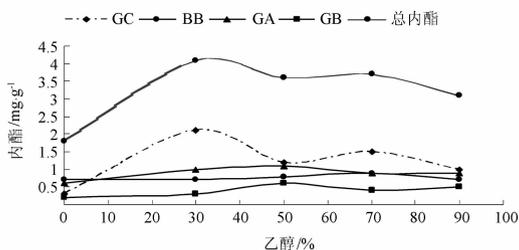


图 1 乙醇浓度对内酯含量的影响 ($n=3$)

从图 1 可知,乙醇-水溶液浸提效果明显好于水,在 30% 以下时醇浓度对浸提率的影响呈线性上

升,30% 醇提时提取最好,但当浸提溶剂醇浓度大于 30% 后内酯浸提减小,可能是因为温度高产生的影响。综合成本和提取率考虑,确定最佳浸提醇浓度为 30%。

2.8.2 浸提温度选择

分别平行 3 次精密称取上述备用银杏根皮粉末 0.5 g 4 份于密封管中,用 5 mL (料液比为 1:10) 30% 乙醇水溶液,分别于 50, 60, 70, 80 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴中浸提 2 h 后取出,浸提液过装有 0.7 g 酸性氧化铝干柱,流出液过微滤上机,取平均值并计算浸提量。结果见图 2。

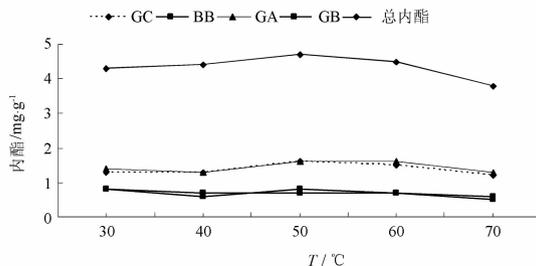


图 2 浸提温度对内酯含量的影响 ($n=3$)

从图 2 可以看出,在 50 $^{\circ}\text{C}$ 前内酯含量随温度升高而升高,而后随温度的升高,总内酯含量有所降低。综合考虑各方面因素,最佳浸提温度为 50 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.8.3 浸提时间选择

分别精密称取 0.5 g 上述备用银杏根皮粉末 4 份于密封管中,用 5 mL (料液比为 1:10) 的 50% 乙醇水溶液,于 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中浸提 1, 2, 3, 4 h。浸提液过装有 0.7 g 酸性氧化铝干柱,流出液过微滤上机测定,计算浸提量。结果见图 3。

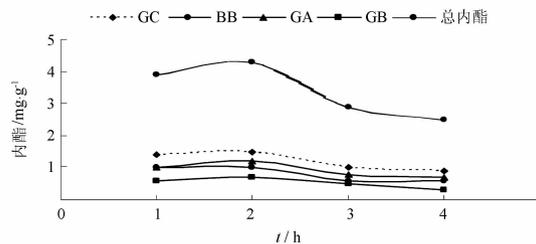


图 3 浸提时间对内酯含量的影响 ($n=3$)

从图 3 可知,浸提时间为 2 h 时总内酯含量最高,随后随着时间延长,含量降低。可能是加热时间太长引起内酯结构的破坏,因此,确定最佳浸提时间为 2 h。

2.8.4 料液比选择

分别精密称取 0.5 g 上述备用银杏根皮粉末 5 份于密封管中,分别用 5,

7.5, 10, 12.5, 15 mL(料液比分别为 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30) 50% 的乙醇水溶液, 于 50 °C 下水浴加热 2 h 后取出, 浸提液过装有 0.7 g 酸性氧化铝干柱, 流出液过微滤上机测定, 并计算浸提量。结果见图 4。

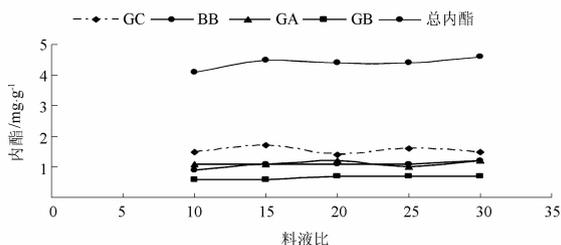


图 4 料液比对内酯含量的影响 ($n=3$)

从图 4 可知, 银杏根皮中的内酯提取量在初始时随料液比升高而升高, 1:15 时达到最大。随后料液比增大对总内酯浸提影响不大。综合考虑成本, 后续浓缩操作等, 确定最佳料液比为 1:15。

2.8.5 浸提液酸度选择 分别精密称取 0.5 g 上述备用银杏根皮粉末 5 份于密封管中, 用 7.5 mL (料液比为 1:15) pH 依次为 3, 5, 7, 9, 11 的 50% 乙醇水溶液, 于 50 °C 水浴加热 2 h 后取出, 浸提液过装有 0.7 g 酸性氧化铝干柱, 流出液过微滤上机测定, 并计算浸提量。结果见图 5。

从图 5 可知, 银杏根皮内酯浸提量在 pH 5 时最高。酸度对内酯浸提率影响显著, pH 达到 5 以后急速下降, 到 pH 9 时含量已经很低, pH 11 时未检测出。主要是银杏内酯在碱中酯环开环, 其中白果

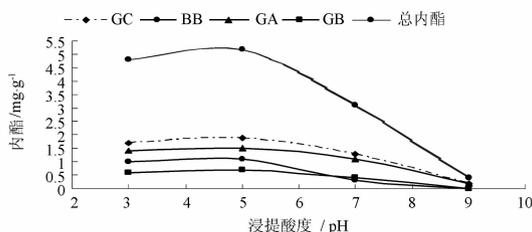


图 5 提取液 pH 对内酯含量的影响 ($n=3$)

内酯最为敏感, 所以在碱性环境中总内酯量急剧降低。因此, 确定最佳浸提 pH 5。

3 讨论

本实验通过单因素梯度试验研究, 采用密封浸提方式提取银杏根皮中银杏内酯, 主要对浸提时间, 浸提温度, 料液比, 浸提酸度几种浸提参数进行研究, 结果表明, 影响银杏根皮中内酯提取最佳浸提条件为浸提溶剂为 30% 乙醇, 浸提温度 50 °C, 料液比 1:15, 浸提时间为 2 h, 浸提 pH 5。

实验结果对采用乙醇-水为溶剂提取银杏根皮中的银杏内酯提供浸提成为可能, 同时对很多药厂生产中内酯的损失提供参考, 同时为对废弃银杏根皮资源的综合利用提供依据。

[参考文献]

- [1] 李兆龙. 银杏开发与利用[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996:170.
- [2] 张迪清, 何照范. 银杏叶资源化学研究[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999:5.
- [3] T A Van beek, H A Cheeren, T R Antio. Determination of ginkgolide and bilobalide and bilobalide in *Ginkgo biloba* leaves and phytopharmaceutids[J]. J Chromatography, 1991, 543:375.

Extraction of ginkgolides from *Ginkgo biloba*

HE Jun*, YANG Shuo, YANG Jianian, QING Xiaohong

(Guizhou Province Biochemistry Engineering Center, Guiyang 550025, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the technology for extraction of ginkgolides from *Ginkgo Biloba* with alcohol-water. **Method:** The parameters such as alcohol concentration, pH of extracting solution, ratio of dosage liquor, temperature and time, the extraction of ginkgolides from *G. biloba* was investigated, and its parameters were optimized. **Result:** The optimized parameters were alcohol concentration 30%, extracting temperature 50 °C, extracting time 2 h, pH 5 solid-liquid ratio 1:15. **Conclusion:** This method has the merits of low cost and simple operation.

[Key words] *Ginkgo biloba*; ginkgolides; extraction