

· 中药工业 ·

清炒法对木瓜中齐墩果酸和熊果酸的含量影响[△]

辛义周, 聂金娥, 马传江*

(山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250011)

[摘要] 目的: 考察清炒法对木瓜中齐墩果酸、熊果酸含量的影响。方法: 采用高效液相色谱法测定炒制后木瓜中两者的含量变化。结果: 齐墩果酸在 15.184 ~ 167.024 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、熊果酸在 40.0 ~ 440.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度线性关系良好。 r 分别为 0.999 9 和 0.999 8。齐墩果酸和熊果酸的平均加样回收率分别为 100.20% (RSD = 2.48%)、101.66% (RSD = 1.49%)。结论: 清炒法能提高木瓜中齐墩果酸和熊果酸的含量, 使用中应控制木瓜的质量。

[关键词] 清炒法; 木瓜; 齐墩果酸; 熊果酸

Determination of Oleanolic Acid and Ursolic Acid in Fructus Chaenomelis and Its Processing Products

XIN Yi-zhou, NIE Jin-e, MA Chuan-jiang*

[Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ji'nan 250011, China]

[Abstract] **Objective:** To study the content of oleanolic acid and ursolic acid in Fructus Chaenomelis and its processing products. **Methods:** HPLC was used to determine the contents of oleanolic acid and ursolic acid. **Results:** The calibration curves were linear in the range of 15.184-167.024 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ for oleanolic acid ($r=0.9999$) and 40.0-440.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ for ursolic acid ($r=0.9998$). The average recovery of oleanolic acid and ursolic acid were 100.20% (RSD = 2.48%) and 101.66% (RSD = 1.49%). **Conclusion:** The processed Fructus Chaenomelis can be improved the content of the active ingredients.

[Keywords] Processing products; Fructus Chaenomelis; oleanolic acid; ursolic acid

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20170629005

木瓜作为一种名贵的药食两用药材,在我国研究及应用历史悠久,有“百益瓜果”之称,具有舒筋活络、和胃化湿^[1]等功能。木瓜主产于四川、安徽、湖北、浙江等地,主要活性成分有三萜、有机酸、糖类、黄酮、挥发油等,而三萜类中的齐墩果酸和熊果酸是抗炎、护肝、祛风湿的主要药效成分^[2]。

2015年版《中华人民共和国药典》规定,木瓜的加工方法为新鲜木瓜置沸水中烫至外皮灰白色,对半纵剖,晒干。有文献记载^[3],木瓜经清炒后齐墩果酸和熊果酸的含量呈明显上升趋势,但未见有文献报道清炒法对多产地多批次木瓜中两者的含量比较研究,因此,本文采用 HPLC 法,对清炒后不同批次的木瓜中齐墩果酸、熊果酸进行定量分析,为木瓜的质量控制提供参考。

1 实验材料

1.1 仪器

高效液相色谱仪(Agilent 1206); LC-600B型超声清洗仪(山东济宁鲁超超声设备有限公司); CP225D分析天平(奥豪斯国际贸易有限公司); XMTD-4000恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器厂)。

1.2 试药

齐墩果酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110709-200304,纯度为94.9%);熊果酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110742-201421,纯度为99.3%);甲醇、冰醋酸、乙腈、磷酸(国药集团化学试剂上海有限公司,色谱纯);

[△] [基金项目] 全国中药特色技术传承人才项目(2014)

* [通信作者] 马传江,副主任药师,研究方向:中药质量控制研究; E-mail: mcj77777@163.com

娃哈哈纯净水。

不同产地的木瓜经山东中医药大学周凤琴教授鉴定,均为蔷薇科植物贴梗海棠 *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai 的干燥近成熟果实。

1.3 样品的前处理

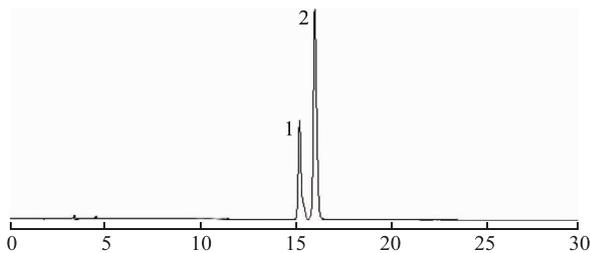
生木瓜:取新鲜的木瓜,置沸水中烫至外皮呈灰白色,对半纵剖,晒干。粉碎,过60目筛,密封于自封袋中,备用。

木瓜炒制品:取生木瓜于炒锅中,文火加热,不断搅拌使之受热均匀,炒至表面微黄。迅速取出后烘干至恒重,粉碎,过60目筛,装于密封袋内,备用。

2 方法与结果

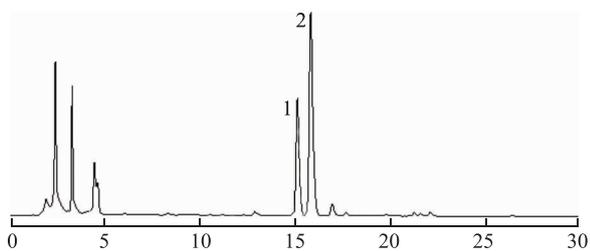
2.1 色谱条件

色谱柱: ODS C_{18} 色谱柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.6% 磷酸 (90:10); 检测波长: 210 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 流速: 0.8 mL \cdot min $^{-1}$; 进样量: 10 μ L。齐墩果酸、熊果酸的分离度大于1.5。



注: 1. 熊果酸; 2. 齐墩果酸。

图1 齐墩果酸和熊果酸对照品 HPLC 图



注: 1. 熊果酸; 2. 齐墩果酸。

图2 木瓜 HPLC 图

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 对照品储备液的制备: 分别精密称取齐墩果酸对照品 1.6 mg 及熊果酸对照品 4.0 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度,

摇匀, 即得。齐墩果酸和熊果酸的质量浓度分别为 151.84、400 μ g \cdot mL $^{-1}$ 。

对照品溶液的制备: 精密量取对照品储备液 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。齐墩果酸、熊果酸的质量浓度分别为 30.368、80 μ g \cdot mL $^{-1}$ 。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取木瓜样品约 1.0 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定重量, 置超声清洗仪中超声处理 (功率: 250 W, 频率: 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定重量, 以甲醇补足失重, 摇匀, 取续滤液, 即得。

2.3 标准曲线的制备

精密吸取混合对照品溶液 (齐墩果酸和熊果酸的质量浓度分别为 151.84、400 μ g \cdot mL $^{-1}$) 1、3、5、7、9、11 μ L, 依次注入自动进样器的高效液相色谱仪, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 以对照品进样量 (μ g) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制曲线方程, 结果见表 1。

表1 齐墩果酸、熊果酸的回归方程和线性范围

对照品	回归方程	线性范围/ μ g	r
齐墩果酸	$Y = 714.6 X + 1.899$	0.151 84 ~ 1.670 24	0.999 9
熊果酸	$Y = 479.42 X + 8.442 5$	0.400 0 ~ 4.400 0	0.999 8

2.4 精密度试验

精密吸取混合对照品溶液 (齐墩果酸、熊果酸的质量浓度分别为 30.368、80 μ g \cdot mL $^{-1}$) 10 μ L, 按 2.1 项下的色谱条件测定齐墩果酸、熊果酸的峰面积, 连续进样 6 次, 结果齐墩果酸、熊果酸的峰面积 RSD 分别为 0.69% ($n = 6$)、0.99% ($n = 6$), 表明本仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

取同一产地 (山东 1) 木瓜适量, 研细, 精密称取木瓜粉末 (过 40 目筛) 约 1.0 g, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 室温下分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样, 结果齐墩果酸、熊果酸峰面积 RSD 分别为 1.70%、0.69%。表明供试品在 24 h 内稳定。

2.6 重复性试验

取同一产地 (山东 1) 木瓜样品适量, 研细, 称取木瓜粉末 (过 40 目筛) 6 份, 每份约 1.0 g, 精密

称定,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,依法测定,结果齐墩果酸、熊果酸的平均质量分数分别为1.32、4.43 mg·g⁻¹,RSD分别为1.77%、0.74%,表明本法重复性良好。

2.7 回收率试验

取同一产地(山东1)木瓜适量,研细,精密称取已知含量的木瓜粉末(过40目筛)约0.5g(齐墩果酸和熊果酸的质量分数分别为1.32、4.43 mg·g⁻¹),精密加入齐墩果酸和熊果酸10 mL(齐墩果酸和熊果酸对照品的质量浓度分别为66.43、208 μg·mL⁻¹),按2.2.2项下方法制成供试品溶液,每次进样10 μL,按2.1项下色谱条件测定齐墩果酸和熊果酸峰面积,计算回收率和RSD,结果见表2~3,表明本方法具有较好的准确性。

表2 齐墩果酸回收率试验结果(n=6)

样品号	样品量/ g	加入量/ mg	测定量/ mg	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.500 2	0.664 3	1.329 6	100.75	100.20	2.48
2	0.492 2	0.664 3	1.334 2	103.04		
3	0.493 4	0.664 3	1.319 6	100.60		
4	0.496 6	0.664 3	1.302 3	97.37		
5	0.501 6	0.664 3	1.307 0	97.07		
6	0.501 2	0.664 3	1.341 5	102.35		

表3 熊果酸回收率试验结果(n=6)

样品号	样品量/ g	加入量/ mg	测定量/ mg	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.500 2	2.08	4.333	101.80		
2	0.492 2	2.08	4.318	102.76		
3	0.493 4	2.08	4.333	103.25		
4	0.496 6	2.08	4.333	102.56	101.66	1.49
5	0.501 6	2.08	4.302	100.01		
6	0.501 2	2.08	4.292	99.60		

2.8 样品含量测定

取不同产地的木瓜样品,按2.2.2项下制成供试品溶液,分别进样10 μL,按2.1项下进行测定,每个样品测定3次,取其平均值,计算齐墩果酸和熊果酸的含量(均按干燥品计算),结果见表4。

表4 不同产地木瓜生品及清炒品中齐墩果酸、熊果酸的含量

产地	mg·g ⁻¹					
	木瓜			炒木瓜		
	齐墩果酸	熊果酸	合计	齐墩果酸	熊果酸	合计
安徽宣城1	4.085	2.742	6.827	5.747	2.877	8.624
安徽宣城2	4.158	2.636	6.794	5.800	2.954	8.754
湖北资丘1	4.135	2.287	6.422	5.576	2.522	8.098
湖北资丘2	4.130	2.139	6.269	5.970	2.325	8.295
浙江淳安1	4.012	2.159	6.171	5.838	2.628	8.466
浙江淳安2	4.414	2.040	6.454	6.105	2.370	8.475
四川1	1.545	4.297	5.842	1.925	4.387	6.312
四川2	1.580	4.133	5.713	1.96	4.484	6.444
山东1	1.313	4.412	5.725	1.470	4.820	6.290
山东2	1.350	4.362	5.712	1.870	4.620	6.490
广西1	1.136	3.886	5.022	0.985	3.877	4.862
广西2	1.211	3.904	5.115	1.111	3.828	4.939
福建1	2.760	2.255	5.015	2.861	2.618	5.479
福建2	2.811	2.261	5.072	2.843	2.565	5.408
云南1	1.612	3.496	5.108	1.730	3.672	5.402
云南2	1.605	3.451	5.056	1.645	3.734	5.379

3 讨论

实验对甲醇、乙醇、50%甲醇、50%乙醇不同溶剂提取进行了比较,结果表明,甲醇为溶剂所得色谱峰分离度好,各峰峰面积积分值较大,说明以甲醇为提取溶剂提取较完全,所以确定甲醇为提取溶剂^[4,6];对常温超声法、加热回流法及索氏提取法进行了比较,结果表明,常温下超声提取较加热回流、索氏提取各峰面积增加,所以选用超声提取法提取;对超声时间进行了比较,分别超声20、30、40 min,结果表明,随提取时间的延长,30 min和40 min色谱图基本一致,而与20 min色谱图相比,熊果酸峰面积积分值有较大增加。因此,确定提取时间为30 min。

本实验对流动相进行了考察,以甲醇-0.6%磷酸、甲醇-1%冰醋酸及乙腈-0.6%磷酸3种流动相系统做比较。结果发现,前两种流动相系统两峰达不到基线分离,而乙腈-0.6%磷酸系统的分离效果佳,基线较为平稳,所以选择乙腈-0.6%磷酸为流动相系统。齐墩果酸、熊果酸属于同分异构体,结构相

似,采用高效液相色谱分离时,往往会出现两种物质的保留时间太接近,分离度达不到要求。本实验考察了1、0.9、0.8 mL·min⁻¹流速对色谱峰保留时间的影响,结果0.8 mL·min⁻¹的流速保留时间适中,齐墩果酸、熊果酸分离度大于1.5,因此选择0.8 mL·min⁻¹的流速^[7-8]。

不同产地的木瓜中齐墩果酸、熊果酸含量存在差异,其中以安徽宣城所产的木瓜二者含量最高,广西、福建、云南所产较低,分析可能与药材的产地、采收时间、储藏条件等因素有关。木瓜清炒后齐墩果酸和熊果酸的含量总体呈上升趋势,其中以浙江淳安增长比例最大,云南木瓜增长比例最小,推测为木瓜中部分齐墩果酸和熊果酸的苷经炮制后转化为苷元所致^[9]。因此木瓜药材使用过程中应严格控制其炮制方法,在炮制过程中如何控制条件避免成分损失需要进一步的研究和探索。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药出版社,2015.
- [2] 曾小威,李世刚,喻玲玲,等. 木瓜中单体化合物及其药理作用的研究进展[J]. 中国药房,2016,27(1):101-104.
- [3] 王光宁,崔升森,梁炳健. 炮制方法对木瓜中齐墩果酸和熊果酸含量的影响[J]. 齐鲁药事,2012,31(12):695-697.
- [4] 陈建真,敖志辉,陈建明. 不同产地和品种木瓜及其酒制品中齐墩果酸和熊果酸的含量测定研究[J]. 中华中医药学刊,2011,29(10):2194-2196.
- [5] 王光宁,杨银凤,陈秋兰. 木瓜不同炮制品中水溶性有机酸的含量比较[J]. 中国现代药物应用,2012,6(22):5-6.
- [6] 张玲,谢晓梅,彭华胜,等. 不同产地木瓜药材中齐墩果酸和熊果酸的比较研究[J]. 中药材,2009,32(5):673-676.
- [7] 刘世尧,白志川,李加纳. 皱皮木瓜与光皮木瓜品质多性状指标综合评价[J]. 中国中药杂志,2012,37(7):901-906.
- [8] 刘晓棠,张卫明,姜洪芳,等. 不同种类木瓜样品的总有机酸含量测定[J]. 食品研究与开发,2010,31(1):100-102.
- [9] 肖薇,黄健,陈志峰,等. 不同炮制方法对女贞子化学成分的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2015,22(7):82-85.

(收稿日期 2017-06-29)

更正

本刊2018年第20卷第1期发表了李耿、程煜华、郭宇博等的《中药大品种科技竞争力报告(2017版)》一文,由于作者疏忽,现更正如下:第9页2.1.2项下第2行“548”更正为“552”;第10页表4中第3行第3列“太极集团重庆涪陵制药厂”更正为“太极集团重庆涪陵制药厂有限公司”,第10行第2、3、4列“参松养心胶囊 石家庄以岭药业有限公司 50.391”更正为“莲花清瘟胶囊 石家庄以岭药业股份有限公司 46.710”,第11行第3列“河南宛西制药股份有限公司”更正为“仲景宛西制药股份有限公司”。特此更正。