

杜仲叶中氯原酸的提取分离研究

华中农业大学食品科技系(武汉 430070) 戚向阳* 张声华 陆彩玲 李洁

摘要 研究了杜仲叶中氯原酸的提取分离条件。结果表明:以水为溶剂,将杜仲叶粉末于 40 ℃ 下以 1:6 的料液比浸提 4 次,每次 30 min,氯原酸的浸出率为 $(94.11 \pm 0.53)\%$ ($n=3$)。水提液经浓缩及分离纯化得氯原酸提取物,得率为 $(4.11 \pm 0.11)\%$ ($n=3$),纯度为 $(23.73 \pm 0.55)\%$ 。

关键词 杜仲叶 提取 分离 氯原酸

杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 传统以皮入药,近来研究证实杜仲皮与叶的化学成分基本一致,具有同等功效,可以以叶代皮,尤其是杜仲叶中氯原酸的含量远远高于杜仲皮,可达 5% 左右^[1,2]。

国内外对氯原酸的提取、分离进行了广泛研究,多采用甲醇、乙醇及酸性正丁醇等有机溶剂提取;利用柱层析法;纸层析法、HPLC 制备法及沉淀萃取法进行分离纯化^[3-10]。这些方法都存在一定不足,成本高,工序复杂,柱填料不易再生等,且多以咖啡豆及金银花为原料。而从杜仲叶中提取分离氯原酸的方法还未见有关文献报道。因此,我们研究了杜仲叶氯原酸的提取分离条件,为杜仲叶的开发利用提供依据。

1 材料、仪器及主要试剂

杜仲叶:由湖北省郧西县提供;日本岛津 SCL-6A 高效液相色谱仪;氯原酸:德国进口。

2 实验方法

2.1 杜仲叶中氯原酸的提取与分离:取一定量杜仲叶粉末,加适量溶剂浸提数次,过滤,合并滤液,经真空浓缩及柱层析分离,得棕黄色粉末状杜仲叶氯原酸提取物。

2.2 氯原酸含量的测定

2.2.1 浸提样品的处理:称取一定量杜仲叶粉末,用溶剂浸提数次,过滤,合并滤液并减压浓缩,再用甲醇溶解,定容至一定体积。

2.2.2 色谱条件:色谱柱:YWG-C₁₈ 4.6 mm I.D×250 mm,10 μm(中科院大连化学物理研究所);流动相:甲醇-水-冰乙酸(19:81:1.5);流速:1.0 mL/min;紫外检测器:0.04 AUFS;检测波长:240 nm。

根据标样的保留时间进行定性,按峰面积计算组分的相对含量。

3 结果与讨论

3.1 杜仲叶中氯原酸的提取工艺

3.1.1 浸提溶剂的选择:在其它条件一致的情况下,研究不同溶剂对氯原酸浸出量的影响。发现,随着乙醇浓度的增加,氯原酸的浸出量下降。低浓度及高浓度甲醇溶液均不利于氯原酸的浸提,以 60% 的甲醇最佳。而水的提取效果最好,这是由于绿原酸具有羧基及多羟基结构,水溶性较好,且以水作溶剂浸提,脂溶性成分溶出少,成本低,安全无毒。

3.1.2 浸提条件的选择:温度:由实验可知,浸提温度为 40 ℃ 时,对氯原酸的提取效果最好。随着温度的升高,由于氯原酸的邻苯二酚结构不稳定,高温加热易氧化分解,浸提液中氯原酸的含量反而下降。

浸提次数:用水浸提杜仲叶粉末 4 次后,氯原酸的溶出量无明显增加。

料液比:氯原酸的浸提效果随溶剂用量的增加而增强。当液料比大于 6 时,氯原酸的浸出量增加不明显。

浸提时间:当浸提时间为 50 min 时,氯

* Address: Qi Xiangyang, Department of Food Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan

戚向阳 博士学位,主要从事天然产物化学与保健功能的研究,主要参与了农业部八·五重点课题《茶儿茶素等有效成分分离、应用及新型茶加工技术》、省科技攻关项目《杜仲有效成分研究及杜仲粉产品开发》、市科委项目《姜黄综合利用生产技术研究》及省自然科学基金课题等多项研究,其中一项获农业部科技进步二等奖,一项通过省科委鉴定,已在核心期刊上发表多篇系列文章。

原酸的溶出量最高,若再延长浸提时间,浸提液中氯原酸的含量下降。

在以上单因子试验的基础上,对水溶液浸提的4个参数:浸提温度、浸提时间、浸提次数及料液比进行 $L_{16}(4^5)$ 正交试验,结果可知:浸提时间对氯原酸提取效果的影响达到极显著水平,浸提时间的延长不利于氯原酸的提取。浸提温度及浸提次数的影响也达到显著水平,随着浸提次数的增加,氯原酸的溶出量增多。高温加热不利于绿原酸的浸提,以 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 最佳。料液比各水平差异不大,对提取没有显著性影响。根据试验结果,可知最佳浸提条件为:用6倍于杜仲叶量的水,在 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度下浸提4次,每次30 min。按上述条件重复3次试验,杜仲叶氯原酸的平均浸出率为 $(94.11\pm 0.53)\%$ 。

3.2 杜仲叶氯原酸提取物的分离:杜仲叶浸提液中除含氯原酸外,还含有大量的蛋白质、鞣质、多糖等多种杂质,需对其精制以获得高含量的氯原酸提取物。本试验根据氯原酸的结构特点及与杂质在极性上的差异,采用吸附树脂对样品进行分离纯化。选用X型树脂对浸提液进行纯化。由于氯原酸具有邻苯二酚及羧基结构,常以盐的形式存在于植物体中,不易被吸附树脂吸附,且氯原酸的稳定性及存在状态同溶液的pH值有关。为此,研究了pH值对树脂吸附氯原酸效果的影响。结果表明,树脂对氯原酸的吸附效果随pH值的增大而降低,pH 1时树脂吸附率为97.8%,而pH 6时吸附率为0。

根据以上结果,将杜仲叶水浸提液浓缩后加酸酸化,用X-型吸附树脂吸附,依次用

水及不同浓度的乙醇溶液进行洗脱,收集各部分洗脱液。由HPLC分析结果可知,氯原酸存在于10%乙醇洗脱液中。

按上述分离纯化的条件平行做3次,杜仲叶氯原酸提取物的平均得率及纯度分别为 $(4.11\pm 0.11)\%$, $(23.73\pm 0.55)\%$ 。

4 结论

杜仲叶中氯原酸的最佳提取条件为:用6倍于杜仲叶重量的水于 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度下浸提4次,每次30 min,其平均浸出率为 $(94.11\pm 0.53)\%$ 。由于氯原酸的邻苯二酚结构不稳定,易氧化分解,高温及长时间加热不利于氯原酸的提取。

杜仲叶水浸提液采用pH=1的酸性吸附,水及不同浓度的乙醇溶液进行洗脱,收集含氯原酸的洗脱液,减压浓缩并冷冻干燥,得棕黄色粉末状杜仲叶氯原酸提取物,其得率及纯度分别为 $(4.11\pm 0.11)\%$ ($n=3$), $(23.73\pm 0.55)\%$ ($n=3$)。

参考文献

- 1 张康健,等.西北林学院学报,1996;11(2):42
- 2 肖宗厚主编.中药化学.上海:上海科学出版社,1987:396
- 3 阎东海.中国中药杂志,1994;19(9):545
- 4 李定,等.中药通报,1985;10(5):223
- 5 高文岚.沈阳药学院学报,1989;76(2):99
- 6 Hernandez, T. *et al.* J Agric Food Chem, 1991;39(6):1120
- 7 Sodini, G. *et al.* J Agric Food Chem, 1977;25(4):82
- 8 Winter, M. J Chromatogr, 1984;315:243
- 9 Lyon, G D. Potato Res, 1984;27(3):291
- 10 林启寿编.中草药成分化学(第一版).北京:科学出版社,1977:145

(1997-09-18 收稿)

中国科学技术发展基金会药学发展基金委员会

药学发展基金设立地奥药学科科技奖

一九九八年六月二十三日,药学发展基金委员会在北京人民大会堂举行了由地奥制药公司捐赠人民币100万元的仪式,政协副主席卢嘉锡院士、国家药品监督管理局郑筱萸局长、总后卫生部李超林副部长、中国科协常委、中国科学技术发展基金会高潮理事长等领导参加捐赠仪式并讲话。马剑文主任委员代表药学发展基金委员会接受捐赠。(奖励办法略)欢迎推荐候选人,推荐函寄:北京丰台西路17号中国科学技术发展基金会药学发展基金委员会吕国持、刘方。邮编:100071 电话:010-63845419,63841201