

杜仲全叶深度综合利用技术路线研究

刘六军 单超 陈素文 黎昌琼
(北京林业大学材料科学与技术学院) (成都第七人民医院)

摘要:杜仲叶含有多种类型的化合物,其性质差异很大(从极性到非极性);同一类型化合物中异构体多,其差异性又很小,难以分离.其中一些化合物热敏感性强,又极易氧化、异构、分解.该文依据各化合物的理化性质及差异,采用逆流浸提罐组液固浸提原理,变温、变溶剂和浓度、变时间等的分段处理技术,同步分离制取有效组分11种,即 β -胡萝卜素、叶绿素铜钠、松脂醇二葡萄糖甙、绿原酸、桃叶珊瑚甙、二氢黄酮、查耳酮、黄酮醇、酸多糖、 β -谷甾醇、杜仲胶等.除杜仲胶外,其余均为药用活性成分.全叶总抽出物得率为25%~27.5%,有效活性成分得率为11.19%~13.56%.

关键词:综合利用,药理活性,绿原酸,环烯醚甙,木脂素,黄酮,杜仲胶

中图分类号:TS653 文献标识码:A 文章编号:1000-1522(2005)05-0115-03

LIU Liu-jun¹; SHAN Chao¹; CHEN Su-wen¹; LI Chang-qiong². Technological route of comprehensive utilization of leaves of *Eucommia ulmoides*. *Journal of Beijing Forestry University*(2005)27(5):115-117[Ch, 8 ref.]

1 College of Materials Science and Technology, Beijing Forestry University, 100083, P. R. China;

2 Chengdu Seventh People's Hospital, 610000, P. R. China.

The leaf of *Eucommia ulmoides* contains varieties of compounds whose properties are quite different, ranging from polarity to non-polarity. With kinds of isomers which are slightly different in nature, the same type of compounds are difficult to separate. Some compounds are strongly sensitive to heat or easy to oxidize, isomerize and decompose. On the basis of physicochemical properties and differences, countercurrent leaching is adopted and parameters such as temperature, solvent and its concentration, time, etc. are changed according to the demand. The total recovery ratio is 25%-27.5% and 11 compounds are isolated, they are β -carotene, sodium copper chlorophyllin, pinoresinol diglucoside, chlorogenic acid, aucubin, dihydroflavonoids, chalcone, flavonol, acid polysaccharides, β -Sitosterol and gutta percha. The yield of drug active compounds is 11.19%-13.56%.

Key words comprehensive utilization, pharmacological activity, chlorogenic acid, iridoid glycoside, lignanoids, flavone, gutta percha

杜仲(*Eucommia ulmoides* Olive)是中国传统的特有经济树种,也是名贵的中药材.近十年来,国内对杜仲叶活性组分的利用极为活跃.有文献报导,调节血压物质在提取物中含量顺序为:水溶性>醇溶性>醚溶性^[1];但据多方药理报道,松脂醇二葡萄糖甙是杜仲双向调节血压的主要有效组分^[2],属于脂溶性物质,因此水溶性提取物中必然有其他调节血压的物质存在.目前杜仲叶的利用,多为水溶性物质制成杜仲茶、杜仲饮料等产品,其原料利用率低,各组分的特效活性未能充分发挥其作用.因此全面系统

的提取、分离杜仲叶的有效活性成分,从而更有效、合理地利用资源,是当前研究的重点.本文研究宗旨在于:选用多条技术路线和不同的技术措施,探索同步单离各有效组分,最大程度地提高原料的综合利用率和利用水平.其关键在于必须根据物料性质,切合实际的提出合理的综合利用路线和技术措施.

1 理论依据

杀青后的杜仲叶以变温、变溶、逆流罐组式浸提原理与方法获取浸提液,初步探查确定杜仲叶浸提

收稿日期:2004-09-27

<http://journal.bjfu.edu.cn>

第一作者:刘六军,博士.主要研究方向:林产化工.电话:010-62338152 Email:lux@bjfu.edu.cn 地址:100083 北京林业大学材料科学与技术学院.

责任作者:陈素文,教授.主要研究方向:林产化工.电话:010-62338152 地址:同上.

液的基本组分为多类化合物组成的混合物,包含酯溶性、醇溶性和水溶性的多种物质,其分子量、分子结构类型相差很大。各类化合物之间,既有相关性,又有独立性;同一类物质又包含差异性很小的各种化合物。多数化合物属热敏性强,极易氧化、分解、异构的物质。它们的含量又和立地条件、采集后原料的处理、原料保存方法、保存时间等有关。杜仲全叶活性组分主要包括如下物质:

1) 极性强的水溶性物质,少量鞣质和低分子酚羧酸类,部分黄酮醇、单糖、低聚糖、多糖、绿原酸、环烯醚甙类等。环烯醚甙属单萜类物质,尚包含 10 多种化合物^[2]。其中桃叶珊瑚甙极易因热和酶的作用而分解,甙元呈黑色。研究中发现其甙类具有随水蒸气蒸发的性质,因此浸提温度不宜超过 60℃,否则难以得到产品。绿原酸属多元酚羧酸类物质,易氧化、分解,水溶性强,热敏性强,常伴随植物鞣质、低分子有机酸、酚类物质而生,含量在 1% 以下^[3]。糖类也是一类水溶性极强的物质。其中多糖为非还原性糖,易溶于水,不溶于高浓度的醇,含量在

5.4%~7.5%^[4]。这类物质,可高温处理,但受热时间越短,对其破坏性越小。如采用碱性提取、酸性析出的方法,需注意酸或碱都能使提取液中其他物质遭到破坏。

2) 中极性物质,主要包括两大类化合物。一是黄酮类物质,杜仲中约有 8 种^[5,6]。这类化合物属天然多酚化合物,大多有颜色,能与三氯化铁起颜色反应,故有人误认为杜仲叶含大量鞣质。另一类为木脂素,它们是双向调节血压的重要成分^[7,8]。笔者提取此类物质时,首先在低温、高浓度溶剂下排除叶绿素和极性较强的物质,然后再用中温浸提。这样既避免了多次重结晶,又保证了其他热敏性较强的物质不被破坏。

3) 酯溶性物质,如叶绿素、杜仲胶、甾体化合物等。

2 技术路线

2.1 提取、分离技术路线

杜仲全叶综合利用提取、分离技术路线如图 1 所示。

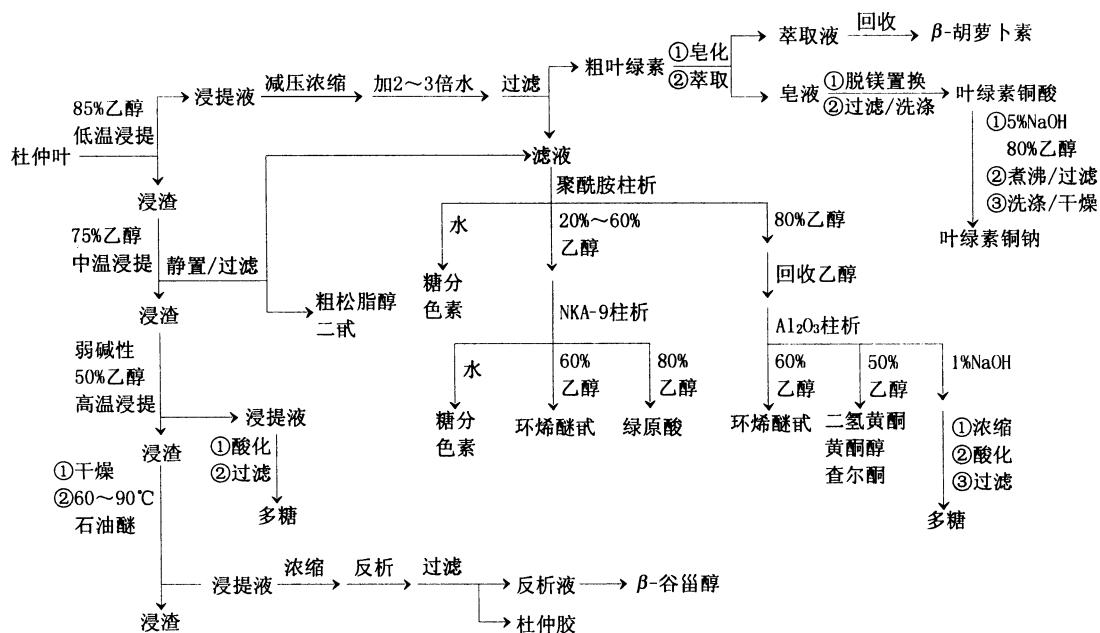


图 1 杜仲叶提取、分离路线示意图

FIGURE 1 Means of extraction and separation of compounds in leaves of *Eucommia ulmoides*

注: 图中所示各单离物均为粗品。

2.2 工艺过程及技术条件

原料气干,粉碎,80%以上乙醇进行低温、逆流、浸提罐组方式浸提(4~8 h 转液),收集多次浸提液,回收溶剂得浓缩液,加入 2 倍于浓缩液的水,捏溶,过滤除去粗叶绿素,得滤液;滤渣用 70%乙醇中温浸提 4 h 后转液,趁热出液,浸提液放置过夜,过滤获沉淀(粗松脂醇二葡萄糖甙),此部分滤液浓缩后与低温浓缩液合并处理(也可单独处理)。浸提后的

叶渣用 40%~50%弱碱性乙醇高温浸提(6 h 转液),酸化后获酸性多糖为主的浓缩液;浸渣气干后再用 60~90℃石油醚在 80~90℃浸提(3 h 转液),收集多次浸提液,回收石油醚后将浓缩液倒入一倍体积的反析液中,收集白色沉淀(杜仲胶),滤液经重结晶得 β-谷甾醇。

将低、中温浓缩液合并,依次经石油醚→苯→氯仿→乙酸乙酯→正丁醇萃取,所得的各溶剂,经少量

蒸馏水洗涤,干燥,回收各溶剂,获得松脂醇二葡萄糖甙元、绿原酸、黄酮类等粗产品再分离纯化;水层进入三氧化二铝柱分离出单糖、环烯醚、黄酮、多糖等。

也可分别将低温、高温浓缩液直接进入聚酰胺柱,用水洗脱获糖分,用20%~60%乙醇洗脱获桃叶珊瑚甙、绿原酸、部分黄酮,用80%乙醇洗脱获总黄酮,用1%NaOH洗脱,酸化获酸性多糖。上述低浓度乙醇洗脱液,回收乙醇后所得的粗产品,可用NKA⁻⁹柱层析纯化,用乙酸乙酯-氯仿混合液重结晶后得绿原酸,用甲醇重结晶得桃叶珊瑚甙;黄酮类物质可进入中性三氧化二铝柱析纯化,依次以60%、50%乙醇洗脱得环烯醚甙、二氢黄酮、查耳酮;用1%氢氧化钠洗脱,酸化得多糖。

低温浸提获得的粗叶绿素,经乙醇重结晶后充分洗涤,用12%氢氧化钠在60℃皂化4~8 h,过滤除去蛋白质等不溶物,皂化液用石油醚萃取4~5次,回收石油醚得β-胡萝卜素;下层叶绿素皂化液用盐酸调为弱酸性脱镁(60℃ 4~8 h)后,在pH 2~3加入硫酸铜置换,得叶绿素酮酸,然后在5%氢氧化钠和高浓度的乙醇溶液中生成盐,得叶绿素铜钠。

3 结果与讨论

1)提取分离技术路线,可有多条,关键在于如何在更有利于保证产品质量的基础上,提高产品得率,降低能耗和成本。本技术路线区别于其他路线的地方是:在各物质性能不被破坏的前提下,采用变温、变溶、变时分段提取技术,确保传质的顺利进行,且耗能低,原料提取率高,产品质量好。为排除叶绿素在整个提取和分离中的干扰,首先利用叶绿素在高浓度乙醇中的溶解性能,最早排除并分离加以综合利用,获得β-胡萝卜素0.5%~0.75%,叶绿素酮钠3.5%~4.1%。本路线其余产品为松脂醇二葡萄糖甙0.28%~0.35%,绿原酸0.5%~0.9%,桃叶珊瑚甙0.11%~0.19%,二氢黄酮1.1%~1.3%,查耳酮1%~1.8%,黄酮醇0.5%~0.87%,酸多糖2.5%~2.8%,杜仲胶1.8%~2%,β-谷甾醇0.2%~0.5%。总活性物得率为11.19%~13.56%。在提取完各物质后,废渣组成为:灰分19.1%,纤维素20%,半纤维素25.6%,木素35.3%。

2)黄酮类化合物,因在酸中不溶的特点,可采用碱性提取法,但黄酮分子结构中央三碳链的氧化、成环或开环与酸碱性关系大,影响黄酮类型和质量,故采用聚酰胺柱层析最好,但耗水量大。

3)分离、纯化各物质时,也可采用溶剂萃取法,即用浓缩液按石油醚-甲苯-氯仿-乙酸乙酯-正丁醇顺次萃取,用少量水反洗各部分萃取液,干燥,

回收溶剂后即得各类物质。与柱层析相比,溶剂耗量大,回收耗能高,产品纯度高。因此以柱层析为主,辅以溶剂分离效果最佳。

4)杜仲叶必须杀青(95℃),但保存时间不得超过半年,否则绿原酸、桃叶珊瑚甙等成分易分解、氧化,导致浸提液变黑,产生干扰难以进行分离,各物质含量也降低。

5)杜仲叶堆积密度小,不适合采用新型浸提设备,且难以运输保存,故粗产品生产规模不宜过大,而应相对集中进行产品的分离、纯化。

参 考 文 献

- [1] 李家实.杜仲皮与叶成分初步研究[J].中药通报,1986,11(8):41~42.
- LI J S. Preliminary investigation on barks and leaves of *Eucommia ulmoides* [J]. *Bulletin of Chinese Traditional Medicine*, 1986, 11(8): 41~42.
- [2] 殷友维.杜仲化学成分研究进展[J].中草药,1989,20(4):42~44.
- ZANG Y W. Recent advances in study of components of *Eucommia ulmoides* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 1989, 20(4): 42~44.
- [3] 钱骅,赵伯涛,张卫明.杜仲绿原酸的提取分离[J].中国野生植物资源,2001,20(4):15~16.
- QIAN H, ZHAO B T, ZHANG W M. Separation extraction of chlorogenic acid from *Eucommia ulmoides* [J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2001, 20(4): 15~16.
- [4] 赵晓明,张鞍灵,张檀,等.杜仲叶多糖研究[J].西北林学院学报,1999,14(4):73~75.
- ZHAO X M, ZHANG A L, ZHANG T, et al. A study on the polysaccharides of *Eucommia ulmoides* leaves [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 1999, 14(4): 73~75.
- [5] 马柏林,董娟娥,刘丽,等.杜仲素与总黄酮连续提取分离研究[J].西北林学院学报,2002,17(1):70~73.
- MA B L, DONG J E, LIU L, et al. A study on the extraction and separation of eucommia and flavonoids from *Eucommia ulmoides* [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2002, 17(1): 70~73.
- [6] 杜香莉,郭军战,王立宏,等.我国杜仲叶有效成分及加工利用的研究与发展方向[J].西南林学院学报,2000,20(3):180~184.
- DU X L, GUO J Z, WANG L H. Studies and developments of the effective components and the process and utilization for *Eucommia ulmoides* in China [J]. *Journal of Southwest Forestry College*, 2000, 20(3): 180~184.
- [7] 尉芹,马希汉,张康健.杜仲化学成分研究[J].西北林学院学报,1995,10(4):88~93.
- WEI Q, MA X H, ZHANG K J. Advances in the research of the constituents of *Eucommia ulmoides* [J]. *Journal of Northwest Forestry College*, 1995, 10(4): 88~93.
- [8] 陈晓青,李宇萍,彭密军,等.杜仲中松脂醇二葡萄糖甙的提纯[J].中南工业大学学报,2003,34(3):262~265.
- CHEN X Q, LI Y P, PENG M J, et al. The extraction and purification of pinosinol diglucoside in *Eucommia ulmoides* Oliver [J]. *J Cent South Univ Technol*, 2003, 34(3): 262~265.