

从毛泡桐叶中提取、分离熊果酸的新工艺研究

韩晶¹, 孙来九²

(1. 西北大学 化学工程学院; 2. 西北大学 应用化学研究所, 陕西 西安 710069)

摘要:以天然产物毛泡桐叶为原料,采用正交试验法筛选出其有效成分熊果酸的最佳提取及精制工艺条件为:提取次数2次,每次1h;温度85℃;乙醇浓度90%~95%;石油醚3次除杂,每次18~24h,加入量为沉淀的15~20倍;乙醇反复溶解浓缩2~3次,用量宜为沉淀量的3倍左右;精制3~4次。所得熊果酸晶体用红外、紫外、质谱进行了表征,HPLC测定熊果酸含量为96.9%。

关键词:熊果酸;毛泡桐叶;提取

中图分类号:R284.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-274 X (2003)03-0304-03

泡桐为玄参科泡桐属植物泡桐(*Paulownia fortunei* (Seem.) Hemsl)或毛泡桐(*P. tomentosa* (Thunb.) Steud)。泡桐原产我国,很早就已人工栽种,陕西省泡桐资源非常丰富,除各地零散分布外,还有人工泡桐林,集中于关中平原和渭北高原,垂直分布于秦岭巴山1000~1400m左右^[1]。泡桐一身都是宝,根据民间经验将泡桐叶、花、果、枝等试用于临床,均有一定的药理作用。

泡桐的化学成分早在1931年就有研究报告,目前,已知泡桐叶中的成分有桃叶珊瑚甙、泡桐甙、毛蕊花甙、异毛蕊花甙^[2]、熊果酸、乙酰熊果酸 α 、 β ^[3]等。其中,熊果酸为泡桐叶的有效成分之一,有明显安定和降温作用,体外对培养的肝细胞有明显的抑制作用,熊果酸在体外能快速杀死培养细胞,使培养淋巴细胞几乎完全失去淋转,白细胞介素-2生成,LAK细胞产生能力,但腹腔注射熊果酸小鼠的上述3种指标均明显提高^[4]。近年报道,它还有提高机体免疫、抗菌、降酶、抗癌等作用。据中国医学科学院肿瘤医院实验证明:熊果酸能明显抑制HL-60细胞增殖,可诱导其凋亡;体内实验表明,熊果酸能明显增强机体免疫功能,说明其抗肿瘤作用广泛,极有可能成为低毒、有效的新型抗癌药^[5]。

本文采用正交试验法对毛泡桐叶中熊果酸的提取、分离进行了研究,得到了切实可行的工艺条件,为综合利用泡桐这种天然资源作了有益的探索研究。

1 实验部分

1.1 原料

泡桐叶于2001年11月采自西北大学植物研究所内,经陕西三江生物工程公司总工程师陈冲鉴定为毛泡桐叶。本试验采用紫花毛泡桐叶和白花毛泡桐叶的混合叶。

1.2 仪器及设备

2X-1型旋片式真空泵(南京真空泵厂);939薄层自动制板器(重庆南岸贝尔德仪器技术厂);R-201旋转蒸发器(上海申科机械研究所);XT-4型显微熔点测定仪(四川大学科学仪器厂);FT-IR89007红外光谱分析仪(日本岛津);TU-1901双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

乙醇(95%),乙醇(工业级);石油醚(60~90℃)符合GB/T15891-1995;氢氧化钠(分析纯)符合GB209-94;薄层层析硅胶、柱层析硅胶(青岛海洋化工厂);玻璃板(规格5cm×20cm);加工层析柱;熊果酸标准品(中国药品生物制品检定所)。

1.3 工艺流程

干燥后的毛泡桐叶经粉碎后过40目(0.425mm)筛,乙醇浸泡24h后提取2次,合并提取液,回收溶剂得浸膏,加石油醚除杂3次,活性炭脱色,反复精制即得熊果酸粗品。上硅胶柱,甲醇:水

收稿日期:2001-11-05

作者简介:韩晶(1975-),女,陕西西乡人,西北大学硕士生,西安理工大学博士生,从事天然产物及材料化学研究。

(8:1)梯度洗脱,减压回收溶剂,无水乙醇重结晶得白色熊果酸针状晶体。其工艺流程见图 1。

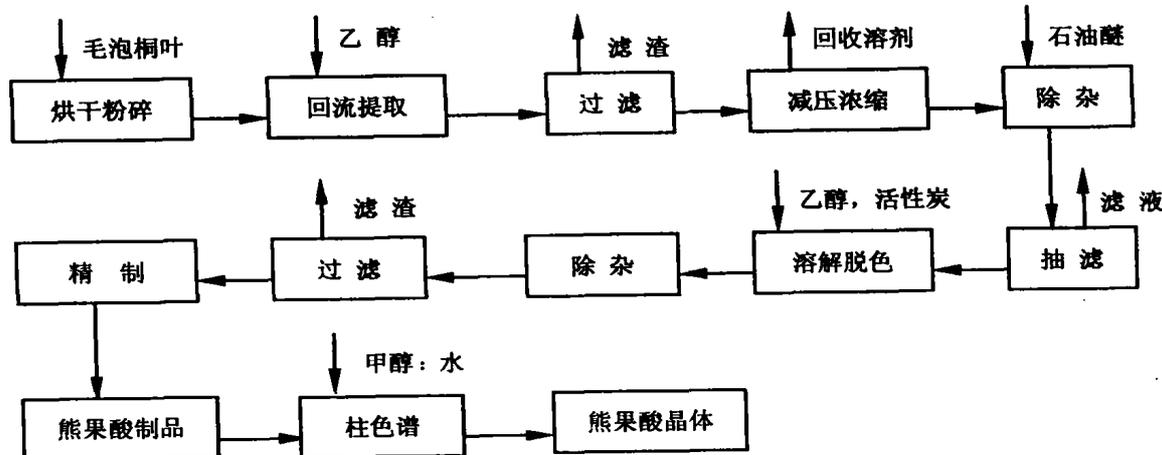


图 1 熊果酸提取工艺流程

Fig. 1 Flow diagram of extracting ursolic acid

2 结果与讨论

2.1 乙醇浓度、提取时间、提取温度的影响

采用三因素三水平正交试验,浸泡 24 h 后,提取次数 2 次,每次 1 h,乙醇浓度 90%~95%,水浴温度 85℃为提取最佳工艺条件。

实验数据表明,随着提取温度的升高,浸膏中熊果酸含量逐渐提高,85℃为提取最佳温度。随着提取时间的逐渐增加,浸膏中熊果酸含量逐渐增加,对熊果酸的提取率也相应提高,适宜的工艺条件为提取 2 次,每次 1 h。

2.2 石油醚除杂次数、加入倍量的影响

加入石油醚的目的,是除去能溶于石油醚的杂质。实验数据表明,除杂时间越长,次数越多,效果越好。但是,时间过长、石油醚量过多也会产生有效成分溶解、操作时间冗长、成本增加等问题。适宜的工艺条件为,3 次除杂,每次 18~24 h,石油醚加入量为沉淀的 15~20 倍。

2.3 乙醇溶解次数、用量的影响

乙醇溶解可达到进一步除杂的目的,溶解的次数对除杂的效果影响较大。实验表明,反复溶解浓缩 2~3 次除杂效果较好,乙醇用量宜为沉淀量的 3 倍左右。

2.4 精制次数的影响

精制时成盐,脱色,酸化后过滤,浓缩析晶。实验表明,每精制一次,熊果酸产品白度进一步提高,纯度也相应提高,一般精制 3~4 次产品外观、纯度即可达到要求。

2.5 洗脱液的确定

通过对溶剂、流动相、固定相、装柱方式、加样方式、洗脱方式的探讨,得到不同规格柱色谱分离泡桐叶中熊果酸的较佳工艺条件。即:小柱采用无水乙醇溶样,环己烷:氯仿:乙酸乙酯:甲醇(10:5:3:1)为洗脱剂,干柱层析可达到较好的分离效果;大柱采用甲醇:水(8:1)溶样,湿法装柱,甲醇:水(8:1)梯度洗脱可达到很好的分离效果。

2.6 产品分析

所得熊果酸产品经硅胶柱层析后用无水乙醇重结晶,所得白色针状晶体经中国医学科学院药物研究所高效液相色谱(HPLC)分析,熊果酸含量为 96.9%,测定熔点(m. p.)为 281~282℃,温度计未校正。

据红外(IR)分析,3 430 cm^{-1} (—OH), 1 693 cm^{-1} (—COOH)与熊果酸标准品图谱一致,指纹区及薄层色谱 R_f 值均与熊果酸标准品一致。

据紫外(UV)分析,最大吸收波长为 208.5 nm,与标准品最大吸收波长一致。

据质谱(MS)分析, m/z (%)为 456(M^+), 438($M^+ - H_2O$), 410($M^+ - CO - H_2O$), 248($M^+ - C_{14}H_{24}O$), 203($M^+ - C_{14}H_{24}O - COOH$), 133($M^+ - C_{14}H_{24}O - COOH - C_5H_{10}$),与文献数据一致。

3 结 论

通过以毛泡桐叶为原料提取、分离熊果酸新工艺的研究,筛选得到其最佳提取及精制工艺为:浸泡 24 h 后,提取 2 次,每次 1 h,乙醇浓度 90%~95%,

水浴温度 85℃;石油醚 3 次除杂,每次 18~24 h,加入量为沉淀的 15~20 倍;乙醇反复溶解浓缩 2~3 次,用量宜为沉淀量的 3 倍左右;精制 3~4 次。

研究中还发现:毛泡桐叶中不仅熊果酸含量较高,且其同分异构体齐墩果酸含量极低(未检出);采用本工艺提取率高,所得熊果酸含量大于 96%,为熊果酸的研制开辟了新的原料路线。该工艺具有工艺流程简单、操作稳定、无污染、环境友好、易于实现工业化等特点,具有很好的推广应用前景。

参考文献:

- [1] 雷明德. 陕西植被[M]. 北京:科学出版社,1999. 342.
[2] SCHILLING G, HUEGEL M, MAYER W. Verbasco-

side and isoverbasoside from *Paulownia tomentosa* Steud[J]. CA, 1983, 98(11~12): 86 273z.

- [3] YOSHIHISA T, SADA O K, KOTARO T. Constituents of leaves of *Paulownia tomentosa* and *Rhododendron Kaempferi*[J]. CA, 1963, 59(5~6): 5 234a
[4] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册[Z]. 北京:人民卫生出版社, 1986. 185; 954; 1 013; 1 101.
[5] 黄 镜, 孙 燕, 陆士新, 等. 芦笋有效成分熊果酸诱导 HL-60 细胞凋亡的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1999, (5): 201-203.
[6] 陈 冲, 孙来九. 植物化工工艺学[M]. 西安:西北大学出版社, 1996. 196-203.

(编辑 张银玲)

A study on the new extraction process of ursolic acid from the *P. tomentosa* (Thunb.) Steud leaves

HAN Jing¹, SUN Lai-jiu²

(1. Department of Chemical Engineering, Northwest University; 2. Research Institute of Applied Chemistry, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract: The optimal process of extracting the effective component ursolic acid from *P. tomentosa* (Thunb.) Steud leaves is selected by using orthogonal test; the extraction is conducted twice, 1 hour each time; the temperature is 85℃; the ethanol density is 90%~95%; the crude residue was suspended in 15~20 times PE (Bp 60~90℃) for 3~4 times (18~24 hours for each time), and then purified by 3 times EtOH for 2~3 times. The colorless ursolic acid needles was identified by organic spectral analysis such as IR, UV and MS. The content of ursolic acid is 96.9% by HPLC.

Key words: *P. tomentosa* (Thunb.) Steud leaves; ursolic acid; extraction

· 学术动态 ·

大功率全固体绿色激光器样机研制开发通过鉴定

2003年4月2日,我校光子研究所白晋涛教授主持的大功率全固体绿色激光器样机研制开发成果鉴定会顺利举行。

鉴定会由陕西省科技厅组织并主持,以中国科学院西安光学精密机械研究所研究员和我校双聘教授侯洵院士等7位专家组成的鉴定委员会,认真听取了课题组的工作报告、技术报告、检验报告、查新报告,现场考察了大功率全固体绿色激光器样机工作状态,审查了相关的技术文件。课题组研制人员对专家组的质询和提问作了详尽的解释和答复。

最后,专家组一致认为该技术进一步提高了激光器的稳定性,为样机尽快实现产业化、填补国内该类大功率激光器产品的空白打下了坚实的基础。该激光系统居国内领先水平,具有广阔的应用前景。

(陈理娟)