

# 杜仲降血压成分提取方法的研究进展

袁云香

(渭南师范学院 化学与生命科学学院, 陕西 渭南 714000)

**摘 要:**杜仲具有降血压作用,现对其降血压成分及黄酮和绿原酸的提取、分离工艺进行概述,以期今后杜仲降血压成分的提取研究提供理论依据。

**关键词:**杜仲;降血压;黄酮类;绿原酸;提取

**中图分类号:**S 567 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)24-0236-03

## 1 杜仲的研究概况

杜仲是我国特有的经济树种,作为药材在我国已有二千多年的历史,具有补中益精气,强筋骨、安胎、久服轻身耐老之功效,主要用于治疗肾虚腰痛,筋骨无力,妊娠漏血,高血压等症。近代医学研究发现<sup>[1]</sup>,杜仲除传统的医疗功效外,还具有双向调节血压、降低人体胆固醇含量,预防心脑血管硬化的作用。近年来国内外医药专家对杜仲成分进行了细致的分析研究,从杜仲叶和杜仲皮中分离出木脂素类化合物 27 种,还有人体必需氨基酸以及微量元素。其多种成分能平衡人体血压、改善睡眠、养颜降脂、利尿清热、抗菌消炎<sup>[2]</sup>。

## 2 杜仲的降血压作用

临床实践证明,杜仲是高质高效的天然降压药物,并具有降低人体胆固醇、调节血脂、预防心脑血管硬化、保护心脑血管等器官的作用。日本及美国学者把杜仲作为一种具有双向调节血压、促进人体新陈代谢、预防骨质疏松的作用的保健食品<sup>[3]</sup>。而 Deyalna T 等<sup>[4]</sup>研究发现京尼平酸苷在降压方面的作用比松脂醇二糖苷更强。我国学者研究发现杜仲的皮、叶中含有 4 类降压成分,其提取方法的研究报道较多,如离心分离法、溶剂法、碱液浸洗法及综合提取法等,各种方法提取的制剂均有一定的降压作用,但炮制品的松脂醇二葡萄糖苷的含量比生品的明显升高<sup>[5]</sup>。秦振栋等<sup>[6]</sup>认为杜仲对心血管系统的药效主要是直接作用于血管平滑肌,使外周血管扩张从而达到降低血压的目的。张瑛朝等<sup>[7]</sup>采用自身对照和组间对照法研究复方杜仲叶合剂对降低人体血压作用,结果表明,复方杜仲叶合剂对有明显的降低血压的作用,在临床使用过程中未发现不良反应及过敏现象。

## 3 杜仲中与降压作用有关的成分

杜仲中已知的降压成分有 4 类,分别为木脂素类、苯丙素类、环烯醚萜类和黄酮类。其中,木脂素类化合物是杜仲化学成分中研究的较多较完善的一类化合物。吴卫华等<sup>[8]</sup>研究发现木脂素具有良好的降压作用,是杜仲的主要降压部位。木脂素排除了杜仲中的部分非降压成份,能较好的代表杜仲的整体效应,其物质基础明确,降压作用确切,具有良好的开发前景。杜仲环烯醚萜类化合物也有较多报导,目前已明确的有 15 种,其中 2 种成分被证明具有降压活性。杜仲中黄酮类的含量相对较少,目前分离出的化合物有 5 种。苯丙素类是木脂素类的前体,在结构上与木脂素类相近。

## 4 杜仲降血压成分的提取

### 4.1 黄酮类化合物的提取及分离

黄酮类化合物含量的高低是判断杜仲生药及其产品质量的重要指标。已分离的黄酮类化合物有:山奈酚、槲皮素、紫云英苷、陆地锦干苷和金丝桃苷等。

**4.1.1 黄酮类物质的溶剂提取法** 在黄酮类物质的溶剂提取法中,甲醇和乙醇是最常用的黄酮类化合物提取溶剂。赵文红等<sup>[9]</sup>试验验证了乙醇在提取时间与温度上的差异,发现在 80℃ 条件下杜仲叶总黄酮的提取总得率为 3.08%。叶文峰等<sup>[10]</sup>以料液比 1:10、用 70% 乙醇在 80℃ 条件下总黄酮的平均得率为 1.976%。董娟娥等<sup>[11]</sup>以乙醇为溶剂,研究了提取桃叶珊瑚甙、黄酮类化合物 2 种主要活性物质的最佳提取条件,在 80℃ 条件下,乙醇混合溶剂以 60% 为宜,每次提取时间为 30 min,可使二者的含量达到最高的综合水平。

**4.1.2 超声提取法提取杜仲叶中黄酮类成分** 与常规浸泡法相比,超声提取法具有提取时间明显缩短,且提取率高,溶剂用量少,操作简单等优点。郭孝武等<sup>[12]</sup>研究了超声提取法提取杜仲叶黄酮类物质的最佳工艺条件,发现溶剂体积比和液料比分别为 40% 和 1:60 的乙醇浸泡 24 h,超声提取时间为 45 min,总黄酮类物质的得率达 25.43%。董娟娥等<sup>[13]</sup>对杜仲叶中活性成分进行了超声波提取的工艺研究,发现提取适宜

作者简介:袁云香(1980-),女,硕士,讲师,研究方向为植物分子遗传学。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31000410);陕西省教育厅科学研究计划资助项目(09JK434)。

收稿日期:2011-09-11

的浸泡时间为 60~90 min,在提取 40 min,超声波频率 40 kHz 的条件下提取效果好。此法具有操作简便、省时、无须加热、提取效率高等优点,是一种较好的提取方法。贾征等<sup>[14]</sup>研究了杜仲叶黄酮的超声技术提取法并研究了体外抗氧化性,发现提取液乙醇以 40% 为宜,杜仲叶与其比例为 1:60,浸泡 2.5 h 后,以 59 kHz 的超声频率,每次超声 1 h,重复处理 2 次,此法黄酮提取率达 17.14%,黄酮含量达 41.83%。同时发现,杜仲叶黄酮具有较好的抗氧化作用,是一种天然有效的抗氧化剂。

4.1.3 杜仲总黄酮超临界流体提取法 超临界萃取法可破碎植物细胞壁,尽可能使溶剂与植物中的有效成分充分接触,具有提取效率高、操作简单、无溶剂残留且提取物易分离、提取物纯度高等优点。李秋红等<sup>[15]</sup>研究了 4 种因素对萃取物中的总黄酮含量的影响,采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术萃取杜仲叶总黄酮,发现 4 个因素中对提取率影响最大的为温度,其次为时间和压力,最小为夹带剂用量。在适宜温度为 45℃、时间 2.5 h、30 MPa 压力、3.5 mL/g 的夹带剂用量时黄酮提取率达 73.26%,纯度达 19.82%。付桂明等<sup>[16]</sup>采用正交设计,对超临界 CO<sub>2</sub> 流体提取杜仲叶总黄酮的工艺进行了研究,确定了较佳提取水平。发现夹带剂用量为最大影响因素,其次是温度和压力,最小影响因素为时间。确定最佳提取条件是 4.5 mL/g 夹带剂用量在提取压力为 28 MPa 条件下,提取 2.5 h、温度 35℃ 时效果较佳。

4.1.4 大孔树脂分离杜仲总黄酮 刘志祥<sup>[17]</sup>研究大孔树脂在纯化杜仲总黄酮中的应用时发现,D-100 型树脂纯化杜仲黄酮的最佳条件为上样液浓度 0.4 mg/mL,吸附速率 2 mL/min,5 倍柱体积的 70% 乙醇进行解吸,洗脱速率 1.0 mL/min。在此工艺条件下分离纯化杜仲总黄酮,黄酮纯度达到 33.9%。付桂明等<sup>[18]</sup>应用大孔吸附树脂对杜仲叶超临界法提取液中的黄酮类物质进行富集和纯化,得到树脂富集杜仲叶黄酮的最优工艺条件为:上样液黄酮质量浓度 193.92 mg/mL、pH 2、吸附流速 2.6 mL/min、洗脱流速 1.6 mL/min、解吸剂 80%、乙醇用量 30 mL。所得洗脱液中黄酮质量分数从纯化前的 10.2% 可增加到纯化后的 42.6% 以上。董娟娥等<sup>[19]</sup>研究了几种不同型号的大孔树脂吸附和分离杜仲总苷的工艺,发现一次性分离杜仲总苷和杜仲黄酮的适宜的大孔树脂为 XDA-1 和 X-5。2 种树脂的分离效果分别为:XDA-1 杜仲总黄酮粗品得率为 4.76%,含量为 15.82%;X-5 杜仲总黄酮粗品得率为 5.11%,含量为 16.15%。

#### 4.2 绿原酸的提取及分离

绿原酸具有抗菌、降压及兴中枢神经系统等多种药理作用,杜仲叶中的绿原酸含量极为丰富。国内外对绿原酸的提取分离进行了大量的研究,如采用甲醇、乙醇及正丁醇等为溶剂来提取杜仲叶中的绿原酸,或采用大孔吸附树脂提取纯化法、水提、絮凝脱色、树脂

吸附、重结晶工艺等提取制备较高纯度与收率的绿原酸等等。

4.2.1 绿原酸的水提法 戚向阳等<sup>[20]</sup>采用水提法提取杜仲叶片中的绿原酸,在低温提取杜仲叶中绿原酸,结果显示:对杜仲叶水浸提液进行分离,可获得绿原酸纯品,其产品得率为 3.99%,绿原酸的含量 24.33%,且树脂可反复使用,可以大大降低生产成本。此方法操作简单、无有害溶剂、生产较安全,是适合工业化生产绿原酸的较好方法。刘宗林等<sup>[21]</sup>采取动态平衡理论来改变浸提条件,选择水作为溶剂,pH 为 8.5、叶与水的比例为 1:10,微波炉煮沸 1 h,浸提 2 次,提取率达 95%。绿原酸提取率明显受到温度的影响,升高温度有利于绿原酸的浸出。但绿原酸为热敏性物质,温度过高,会造成绿原酸的分解,并引起溶剂挥发损失。故不宜采取高温提取绿原酸。水提工艺简单,成本低,投资少。但由于绿原酸为极性有机酸,不太稳定,在提取过程中,可能通过水解和相继分子内酯基迁移而发生异构。因而用水作溶剂提取时,使绿原酸含量降低,得率下降。

4.2.2 绿原酸的有机溶剂提取法 该法的原理是利用绿原酸易溶于甲醇、乙醇等有机溶剂的特性,来提取绿原酸的一种方法。高锦明等<sup>[22]</sup>研究不同混合剂提取及不同处理方法对杜仲叶中绿原酸等生物活性成分的影响,发现提取的绿原酸得率高达 3.69%,纯度为 58.7%。兰小艳等<sup>[23]</sup>采用乙醇为溶剂提取绿原酸,得出提取杜仲叶绿原酸的最佳工艺条件:浸提温度为 60℃,乙醇浓度为 60%,时间为 2.5 h,物料比 1:12。在最佳条件下提取率为 2.434%。有机溶剂提取法具有生产成本低、产品得率及纯度高、易于分离纯化,操作简单,适合工业化生产。

4.2.3 酶法提取绿原酸 酶法是利用酶处理杜仲叶,再利用醇来提取绿原酸的一种方法。戴瑜等<sup>[24]</sup>通过试验得出,半纤维素酶解提取杜仲叶中绿原酸的最佳工艺参数为:加入 996 U/g 半纤维素酶 0.45%,提取 pH 为 4.0,温度为 40℃,得率最高可达 38.01 mg/g。陈晓娟等<sup>[25]</sup>在酶法及半仿生法提取杜仲叶中绿原酸和黄酮的研究中发现果胶酶提取的工艺条件为:以磷酸氢二钠-柠檬酸的缓冲溶液作为提取液,m(杜仲叶):m(提取液)为 1:15,果胶酶酶解温度为 60℃;提取液 pH 为 3.6;酶解 2 h 后,升温至 80℃,每次 1 h,在此条件下,绿原酸的得率达 1.29%。宋宏新等<sup>[26]</sup>提取杜仲叶中绿原酸时也采用纤维素酶法,发现在 pH 为 4.5、温度为 40℃ 时,加入 550 U/g 纤维素酶 0.50% 提取绿原酸效果最好。

4.2.4 绿原酸的大孔树脂分离法 熊伟等<sup>[27]</sup>通过静、动态吸附和洗脱试验,筛选出 306 型大孔树脂为绿原酸的吸附树脂;当上柱溶液 pH 控制在 2~3,吸附流速为 4 mL/min,吸附完毕后用 60% 的乙醇洗脱,洗脱率在 90% 以上;洗脱液经浓缩干燥后得绿原酸粗品,纯度达 40% 以上。卢琪等<sup>[28]</sup>采用壳聚糖、活性炭澄清绿

原酸的粗提液,对杜仲绿原酸进行静态吸附解吸试验比较。发现 NKA-2 型大孔树脂对绿原酸有较好的选择性,其吸附率和解吸率分别为 99.67% 和 62.8%。盐酸调整洗脱液的 pH 为 3,洗脱液的体积分数为 30% 时,洗脱效果最好。澄清后的绿原酸粗提液经乙酸乙酯萃取除去黄酮,再用 NKA-2 型树脂进行梯度洗脱,可得到纯度为 76.3% 的绿原酸。

## 5 总结

用有机溶剂提取黄酮总黄酮得率达 3.08%;超声提取法提取杜仲叶中黄酮类成分提取率达 17.14%,提取物得率达 41%,黄酮含量为 41.83%;超临界 CO<sub>2</sub> 流体提取杜仲叶总黄酮的最佳提取工艺条件为:夹带剂用量 4.5 mL/g,提取压力 28 MPa,提取时间 2.5 h,提取温度 35℃;大孔吸附树脂法最佳吸附洗脱工艺为:上样液黄酮质量浓度 193.92 mg/mL、pH 2、吸附流速 2.6 mL/min、洗脱流速 1.6 mL/min、解吸剂 80% 乙醇用量 30 mL,纯度可达 42.6% 以上。

水提法提取杜仲叶片中的绿原酸,提取率达到 3.0%~4.2%,纯度达到 10.0%~23.73%;有机溶剂提取法中提取杜仲叶绿原酸得率达 3.69%,纯度达 58.7%;半纤维素酶解提取杜仲叶中绿原酸得率最高可达 38.01 mg/g;绿原酸的大孔树脂分离法表明,NKA-2 型大孔树脂对绿原酸有较好的选择性,其吸附率和解吸率分别为 99.67% 和 62.8%。盐酸调整洗脱液的 pH 为 3,洗脱液的体积分数为 30% 时,洗脱效果最好。

## 参考文献

- [1] 王亚琴,张康健.杜仲次生代谢物的研究进展[J].中草药,2004,35(7):836-837.
- [2] 杜香莉,郭军战.我国杜仲有效成分及加工利用的研究与发展[J].西南林学院学报,2002,20(3):180-185.
- [3] Charles JSih, Madison, Wis. Glycosides of 2,6-bis(hydroxy-Phenyl)-3,7-dioxabicyclo(3,3,0)octane[J]. United States Patenti, 1978, 4(3):1-14.
- [4] Deyama T, Nishibe S, Nakazawa Y. Constituents and pharmacological effects of *Eucommia* and *Siberian ginseng* [J]. *Acta Pharmacol*, 2001, 22(12):1057-107.
- [5] 曾祥林.杜仲不同炮制方法的初探[J].中成药,1989,11(4):17.
- [6] 管淑玉,苏薇薇.杜仲化学成分与药理研究进展[J].中药材,2003,

26(2):124-129.

- [7] 张瑛朝,张延敏,郭代立,等.复方杜仲叶合剂对人体降压作用的实验研究[J].中成药,2001,23(6):418-421.
- [8] 吴卫华.杜仲抗高血压有效部位的制备及降压效应研究[D].中南大学临床药理研究所,2007.
- [9] 赵文红,范青生,马永花,等.杜仲叶中总黄酮的醇提工艺[J].南昌大学学报(理科版),2007,31(1):69-72.
- [10] 叶文峰,陈新,刘秀娟,等.杜仲叶中黄酮类化合物的提取工艺[J].江西师范大学学报(自然科学版),2001,25(1):67-71.
- [11] 董娟娥,马柏林,全小林,等.提高杜仲叶中主要活性物质提取率的研究[J].西北林学院学报,2002,17(1):64-67.
- [12] 郭孝武.超声提取杜仲叶中黄酮类物质工艺研究[J].陕西师范大学学报(自然科学版),2005,33(4):59-61.
- [13] 董娟娥,马柏林,刘丽,等.超声波提取杜仲叶中有效成分工艺研究[J].西北林学院学报,2003,18(3):66-68.
- [14] 贾征,黄文,薛安.杜仲叶黄酮的超声提取及其抗氧化性研究[J].安徽农业科学,2003,36(4):1286-1288.
- [15] 李秋红,罗莉萍,叶文峰.超临界 CO<sub>2</sub> 萃取杜仲叶总黄酮的研究[J].食品科学,2006,27(12):553-555.
- [16] 付桂明,万茵,张硕,等.杜仲叶总黄酮超临界流体提取工艺优化及其成分的液质联用分析[J].食品科学,2007,28(12):128-131.
- [17] 刘志祥.大孔树脂在纯化杜仲总黄酮中的应用[J].湖北农业科学,2009,48(6):1468-1470.
- [18] 付桂明,罗阳帆,张娅楠,等.大孔吸附树脂对杜仲叶黄酮的富集纯化[J].工艺技术食品科学,2010,31(14):67-70.
- [19] 董娟娥,梁宗锁,张康健,等.大孔吸附树脂一次性分离杜仲叶中杜仲总苷和杜仲黄酮的研究[J].农业工程学报,2006,22(7):154-158.
- [20] 戚向阳,张声华,陆彩玲,等.杜仲叶中绿原酸的提取分离研究[J].中草药,1998,29(11):741-742.
- [21] 刘宗林,回九珍,彭义交.杜仲叶有效成分的提取[J].食品科学,2003,24(8):62-63.
- [22] 高锦明,刘丽,张毅灵.杜仲叶生物活性成分的提纯研究[J].西北林学院学报,1998,13(1):83-86.
- [23] 兰小艳,黄敏,张学俊,等.杜仲叶中绿原酸醇提法的工艺研究[J].中国农学通报,2009,25(18):84-88.
- [24] 戴瑜,李姣娟,周尽花,等.半纤维素酶法提取杜仲叶绿原酸[J].技术开发,2009,23(3):96-99.
- [25] 陈晓娟,周春山.酶法及半仿生法提取杜仲叶中绿原酸和黄酮[J].精细化工,2006,23(3):257-260.
- [26] 宋宏新,戴瑜.酶法提取杜仲叶中绿原酸工艺研究[J].西北植物学报,2006,26(11):2383-2387.
- [27] 熊伟,胡居吾,李雄辉,等.大孔树脂分离纯化杜仲叶中绿原酸的研究[J].江西科学,2010,28(2):178-181.
- [28] 卢琪,段家彩,高丽,等.杜仲绿原酸的分离纯化及结构鉴定[J].食品科学,2010,31(14):275-279.

# Research Progress of Extraction Method of *Eucommia ulmoides* Antihypertensive Composition

YUAN Yun-xiang

(College of Chemistry and Life Science, Weinan Teachers University, Weinan, Shaanxi 714000)

**Abstract:** This article set out to summary the research on the development of research on the antihypertensive effect of *Eucommia ulmoides*, and on the composition of lower blood pressure and the extraction, separation technology of the flavonoids and chlorogenic, aimed to make it helpful to the further research on the antihypertensive effect of *Eucommia ulmoides*.

**Key words:** *Eucommia ulmoides*; lower blood pressure; flavonoids; chlorogenic acid; extraction