

荨麻中 3,4-二香草基四氢呋喃的提取及纯化

李静辉¹, 刘玲¹, 姚德坤^{1,2*}, 黄运生¹ (1. 大兴安岭科丽尔生物工程有限责任公司, 黑龙江大兴安岭 165012; 2. 大兴安岭林格贝寒带生物科技股份有限公司, 黑龙江大兴安岭 165012)

摘要 [目的]研究荨麻中 3,4-二香草基四氢呋喃的提取以及纯化,为进一步研究荨麻中 3,4-二香草基四氢呋喃的作用机制奠定基础。[方法]采用醇水溶液回流提取,研究大孔吸附树脂吸附和分离狭叶荨麻提取液中 3,4-二香草基四氢呋喃的方法和条件,并采用超滤膜纯化技术对其进行纯化。[结果]X-5 大孔吸附树脂对 3,4-二香草基四氢呋喃有较好的吸附能力;乙醇浓度为 60% 时解吸效果最好,解析液浓缩,超滤膜纯化重结晶后,荨麻中 3,4-二香草基四氢呋喃纯度可达 85.3%。[结论]采用 X-5 大孔吸附树脂以及超滤膜纯化技术可有效地提取荨麻中 3,4-二香草基四氢呋喃,为今后荨麻中有效成分的研究与开发应用提供理论依据。

关键词 荨麻; 3,4-二香草基四氢呋喃; 提取纯化; 大孔吸附树脂超滤膜偶联技术

中图分类号 S567.23*9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)16-103-03

Extraction and Purification of 3,4-Two Vanillyl Tetrahydrofuran in Nettle

ZHANG Hong¹, LIU Ling¹, YAO De-kun^{1,2*} et al (1. Greater Khingan Range Collier Biological Engineering Co. Ltd., Greater Khingan, Heilongjiang 165012; 2. Greater Khingan Range lingebei Psychrophile Polytron Technologies Inc., Greater Khingan, Heilongjiang 165012)

Abstract [Objective] The aim was to extract and purify 3,4-two vanillyl tetrahydrofuran in nettle, to lay a good basis for further research on the function mechanism. [Method] Using alcohol aqueous solution for reflux extraction, the method and conditions for adsorption and separation of 3,4-two vanillyl tetrahydrofuran in nettle with macroporous adsorption resin were studied, ultrafiltration membrane purification technology was adopted for purification. [Result] X-5 macroporous adsorption resin had better adsorption ability to 3,4-two vanillyl tetrahydrofuran; when ethanol concentration was 60%, the desorption effect was best, after the purification of the ultrafiltration membrane, purity of 3,4-two vanillyl tetrahydrofuran in nettle could up to 85.3%. [Conclusion] Using X-5 macroporous resin and ultrafiltration membrane purification technology can effectively extract 3,4-two vanillyl tetrahydrofuran in nettle, the study provides basis for research of 3,4-two vanillyl tetrahydrofuran in nettle.

Key words Nettle; 3,4-two vanillyl tetrahydrofuran; Extraction and purification; Macroporous adsorption resin ultrafiltration membrane coupling technique

荨麻又名咬人猫、蜚人草、无情草、蝎子草、防盗草、植物猫、咬人草等,为荨麻科荨麻属多年生草本植物,叶对生,雌雄同株或异株,其茎叶上的蜚毛有毒性(过敏反应),皮肤接触后立刻引起刺激性皮炎。荨麻可用于中药的制作^[1-2],主要作用部位为全草,荨麻中药具有小毒,其味苦、辛,性温。荨麻内服对风湿性关节炎、小儿惊风、小儿麻痹后遗症、大便不通、产后抽风、高血压、消化不良具有良好的效果^[3];荨麻类制剂还可外用治荨麻疹初起、蛇咬伤等。荨麻中含有多种有效成分,荨麻全草中富含多种维生素以及大量鞣质。此外,荨麻茎皮含有各种有机酸,如蚁酸、丁酸等。随着人们对荨麻中有效成分的不断深入了解,一种新的有效成分随之被发现,3,4-二香草基四氢呋喃是一种对人类健康有显著保健作用的天然活性物质,在国外用于精神科用药,已引起国际社会的普遍关注。

近年来研究发现,天然植物荨麻中含有大量的 3,4-二香草基四氢呋喃,由于其原料荨麻野生生长范围较广,从中提取 3,4-二香草基四氢呋喃取得了可喜进展。研究表明,超高压提取的分离效果明显优于常规提取方法,此外,对超高压提取出来的提取液采用大孔吸附树脂进行吸附分离,对分离得到的解析液采用超滤膜进一步纯化,使得荨麻中的各

种活性成分的提取分离效果得到进一步改善^[4-6]。旨在为适合工业化大批量生产,笔者采用大孔吸附树脂分离技术以及超滤膜纯化技术进行试验,使得荨麻中 3,4-二香草基四氢呋喃的有效含量和得率得到进一步改善,旨在为今后荨麻中有效成分的研究与开发应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料为狭叶荨麻全草,采摘于黑龙江省尚志市帽儿山。将狭叶荨麻全草洗净晾干,用中草药粉碎机将其粉碎至粉末状,过 80 目标准筛,备用。

1.2 仪器和试剂 AL204 电子天平(Mettler Toledo Group), DZF-6050 真空干燥箱(巩义市予华),LABOROTA 4000 旋转蒸发器(德国),循环水式多用真空泵、数字熔点仪、X-5 大孔吸附树脂(天津波鸿),AB-8 大孔吸附树脂(上海开平),D101 大孔吸附树脂(天津允开)。

1.3 方法

1.3.1 荨麻叶中 3,4-二香草基四氢呋喃的提取工艺流程。狭叶荨麻全草(烘干,粉碎)→回流提取(8~10 倍量提取溶剂,乙醇浓度 90%,回流 3 次,每次 2 h)→提取液浓缩至无醇→石油醚萃取→大孔吸附树脂吸附→超滤膜纯化→干燥得样品。

1.3.2 荨麻叶中 3,4-二香草基四氢呋喃吸附率计算。称取不同型号的 AB-8、D101、X-5 大孔树脂各 0.2 g,置于 50 mL 锥形瓶中,分别编号为 A、B、C,在 A、B、C 3 组中分别加入 10 mL 狭叶荨麻提取液,静置 12 h。对不同处理后的液体吸光度进行测定,分析不同大孔树脂对荨麻中有效成分的吸附

基金项目 国家林业局 948 项目(2013-4-21)。

作者简介 李静辉(1987-),男,黑龙江五常人,硕士,从事植物提取方面的研究。*通讯作者,从事植物提高方面的研究。

收稿日期 2016-04-11

情况。

$$\text{吸附率} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100\%$$

式中, A_0 为提取物溶液吸光度, A_1 为清液吸光度。

1.3.3 不同浓度乙醇对洗脱效果的影响。取已吸附荨麻提取液的不同型号大孔吸附树脂(AB-8 大孔吸附树脂、D101 孔吸附树脂、X-5 孔吸附树脂)各 0.2 g, 置于 50 mL 烧杯, 不同型号的大孔吸附树脂均取 5 份, 加入 10 mL 20%、40%、60%、80%、95% 乙醇水溶液中, 静置解吸 24 h, 计算不同浓度乙醇水溶液的解吸率。

$$\text{解吸率} = A_2 / (A_0 - A_1) \times 100\%$$

式中, A_0 为提取物溶液吸光度, A_1 为清液吸光度; A_2 为洗脱液吸光度。

1.3.4 不同型号大孔吸附树脂柱吸附情况比较。在装有处理过的不同型号大孔吸附树脂吸附柱中(AB-8 大孔吸附树脂、D101 孔吸附树脂、X-5 孔吸附树脂), 缓慢注入一定量的荨麻粗提取液, 流速为 2 BV/h 左右, 对不同阶段流出液进行收集。在不同阶段收集的流出液中加入碘化铊钾试剂时, 若溶液中无明显的橘红色沉淀生成时, 停止加样。用水冲洗吸附树脂柱至流出液无色, 后用 60% 的乙醇水溶液对吸附树脂柱进行解吸, 对同阶段流出的洗脱液加入指示试剂进行检视^[7], 若溶液中无明显的橘红色沉淀生成时, 停止解吸, 比较不同型号大孔吸附树脂的分离效果。

1.3.5 超滤膜主要技术指标考察。

1.3.5.1 压力对超滤效果的影响。对所提取的荨麻提取物 3,4-二香草基四氢呋喃粗品进行多次进料, 料液温度为 25 °C, 进液体积为 50 L。根据 3,4-二香草基四氢呋喃的分子量 344.40, 选择 10 kD 的超滤膜作为超滤载体; 选择膜面积 0.4 m² 作为固定值, 考察不同操作压力 0.2、0.4、0.6 MPa 对超滤膜通透量的影响。

1.3.5.2 不同型号超滤膜对超滤效果的影响。选取截留相对分子量为 2、5、6、10 kD 的超滤膜, 对所提取的荨麻提取物 3,4-二香草基四氢呋喃粗品进行多次进料, 在压力 0.2 MPa、膜面积 0.4 m²、料液温度 25 °C、进液体积 50 L 的条件下, 对荨麻提取物 3,4-二香草基四氢呋喃粗品进行超滤纯化。

2 结果与分析

2.1 提取液吸光度的确定 对荨麻的原始提取液进行紫外全波长扫描, 观察不同波长下的吸光度, 结果见图 1。由图 1 可知, 波长在 270 nm 左右处吸收峰最高, 通过参考相应文献[8], 了解此吸收波长为荨麻有效成分的特征吸收峰。因此, 可采用 UV 的方法对荨麻中的有效成分进行检测, 计算荨麻提取液中有效成分的含量。

2.2 不同型号大孔吸附树脂对 3,4-二香草基四氢呋喃的吸附效果 对经 AB-8、D101、X-5 3 种不同型号大孔吸附树脂吸附后的荨麻提取物溶液的吸光度、吸附率及吸附后溶液中加入指示剂的反应情况进行分析, 结果见表 1。由表 1 可知, AB-8、D101、X-5 3 种不同型号大孔吸附树脂对荨麻有效成分的吸附情况明显不同, 其中, X-5 大孔吸附树脂的

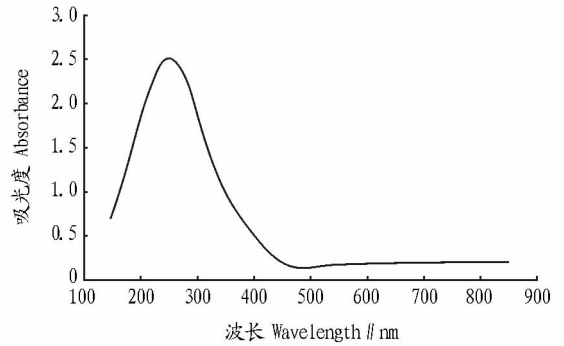


图 1 狭叶荨麻有效成分提取液紫外光谱图

Fig. 1 The liquid UV spectra of effective constituents of nettle 吸附效果最佳。

2.3 不同浓度乙醇对洗脱效果的影响 采用不同浓度的乙醇(20%、40%、60%、80%、95%)对吸附荨麻提取液的不同吸附树脂进行洗脱解吸, 静置解吸 24 h 后, 测定解吸液的吸光度。

表 1 不同大孔吸附树脂对狭叶荨麻中 3,4-二香草基四氢呋喃的吸附情况

Table 1 The adsorption of different types of macroporous adsorption resin of 3,4 - two vanillyl tetrahydrofuran in nettle

吸附树脂型号 Adsorption resin	吸附后吸光度 Absorbance after adsorption	吸附率 Adsorption rate // %	沉淀反应 Precipitation reaction
AB-8	3.616	60.23	无沉淀
D101	3.918	25.36	有明显的橘红色沉淀
X-5	4.521	73.75	无沉淀

由表 2 可知, 蒸馏水的解吸效果较差; D101 型树脂在各种乙醇浓度时洗脱效果均低于其他 2 种树脂, 而 AB-8、X-5 树脂解吸效果均优于 D101 型树脂, 但由于 X-5 大孔吸附树脂无论吸附率还是解吸效果均高于其他两者。对于不同型号的大孔吸附树脂, 60% 的乙醇水溶液的解吸效果均最佳。

表 2 不同浓度乙醇对大孔吸附树脂解析液吸光度的影响

Table 2 Effect of different concentration of ethanol on absorbance of analytical solution of macroporous adsorption resin

吸附树脂 Adsorption resin	乙醇浓度 Ethanol concentration // %					
	0	20	40	60	80	95
AB-8	4.121	4.259	4.381	4.389	4.368	4.373
D101	4.061	4.199	4.353	4.380	4.329	4.309
X-5	4.240	4.360	4.491	4.529	4.361	4.384

2.4 膜超滤过程中主要技术指标的确定

2.4.1 不同压力对超滤效果的影响。对所提取的荨麻提取物 3,4-二香草基四氢呋喃粗品进行多次进料, 料液温度为 25 °C, 进液体积为 50 L。根据 3,4-二香草基四氢呋喃的分子量 344.40, 选择 10 kD 分子量的超滤膜作为超滤载体, 选择膜面积不同 0.4 m² 作为固定值, 考察不同操作压力 0.2、0.4、0.6 MPa 对超滤膜通透量的影响。由表 3 可知, 膜操作压力为 0.2 MPa 时, 超滤膜通透性最佳, 且 3,4-二香草基四

氢呋喃的截留率较高(28.59%),说明膜的平均截留分子量较高,有效成分损失较少。

2.4.2 不同型号超滤膜对超滤效果的影响。选取截留相对分子量为 2、5、6、10 kD 的超滤膜,对所提取的苜蓿提取物 3,4-二香草基四氢呋喃粗品进行多次进料,在压力 0.2 MPa、膜面积 0.4 m²、料液温度 25 ℃、进液体积 50 L 的条件下,对苜蓿提取物 3,4-二香草基四氢呋喃粗品进行超滤纯化。由表 4 可知,6 kD 的超滤膜超滤效果较好,产品中 3,4-二香草基四氢呋喃的含量较高。

表 3 不同压力对超滤效果的影响

Table 3 Effects of different pressure on ultrafiltration effect

压力 Pressure MPa	平均膜通透量 Average membrane permeability // L/(m ² · s)	3,4-二香草基四氢呋喃截留率 3,4 - two vanillyl tetrahydrofuran retention rate // %
0.2	0.159	28.59
0.4	0.197	13.19
0.6	0.214	21.17

表 4 不同型号超滤膜对超滤效果的影响

Table 4 Effect of different types of ultrafiltration membrane on the ultrafiltration

截留相对分子 量 Interception relative molecular weight // kD	平均膜通透量 Average membrane permeability L/(m ² · s)	3,4-二香草基四氢呋喃含量 3,4 - two vanillyl tetrahydrofuran content // %
2	0.214	18.5
5	0.256	45.8
6	0.343	84.6
10	0.340	69.2

2.4.3 不同工艺对比。将大孔吸附树脂与超滤膜偶联技术工艺与传统工艺进行比较,结果表明,传统工艺方法能耗高,有效成分损失大;另外,传统工艺方法无法对 3,4-二香草基四氢呋喃进行选择性地分离提纯,产品保留率低,溶解性能差(表 5)。

3 结论

该研究中苜蓿全草经高压提取,X-5 大孔吸附树脂分

表 5 新工艺与传统工艺的对比

Table 5 Comparison of new technique and traditional technique

工艺 Technique	有效成分 保留率 Retention rate of effective components // %	产品灰 分含量 Ash content in products %	3,4-二香 草基四氢呋 喃含量 Content %	溶解性 Solubility
传统方法 Traditional method	53.45	1~2	45.1	浑浊悬浮物
新型工艺 New technology	96.02	<1	85.3	充分溶解

离,超滤膜纯化以及反复重结晶后,3,4-二香草基四氢呋喃的含量可达 85.3%。膜分离技术作为一种高新技术,具有较好的分离效果,在不同行业中均有所涉及,如制药、海水淡化、现代农业等。该研究首次采用大孔吸附树脂与超滤膜偶联技术相结合的纯化方法,对野生苜蓿中 3,4-二香草基四氢呋喃进行高效提取,3,4-二香草基四氢呋喃含量明显升高(≥85%),且产品的活性以及溶解性也得到不同程度的改善。与传统的提取分离工艺相比,膜分离技术工艺具有膜分离技术的功耗较小、产率较高、无污染等特点,非常适合产业化批量生产规模的应用。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 23 卷第二分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [2] 岳俊三. 我国苜蓿科的药用植物资源[J]. 中草药, 1987, 18(7): 29-32.
- [3] 李明生. 漫话福建苜蓿科药用植物[J]. 福建中医药, 1993, 24(3): 42-43.
- [4] 冀保全, 冯宝民, 史丽颖, 等. 苜蓿根中化学成分的研究[J]. 中国药理学杂志, 2009(18): 1372-1374.
- [5] 闫兴国, 冀保全, 周渊, 等. 三角叶苜蓿根的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(11): 880-882.
- [6] 王伟, 周渊, 唐玲, 等. 滇藏苜蓿根中化学成分分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(9): 711-713.
- [7] JIANG Y H. Study on optimization of technology for extracting alkaloid from lotus leaf[J]. J Zhejiang University (Agric. & Life Sci.), 2004, 30(5): 519-523.
- [8] 张海悦, 李茜. 大孔树脂吸附和分离狭叶苜蓿中有效成分的研究[J]. 中国酿造, 2012, 31(1): 84-87.

(上接第 72 页)

- [2] 杨宁. 发酵法生产 β-胡萝卜素的进展[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(3): 19-21.
- [3] 潘鹏, 杨斯, 蔡俊. 三孢布拉霉产 β-胡萝卜素发酵条件的研究[J]. 食品与发酵科技, 2010, 46(4): 36-40.
- [4] 张婷婷, 葛佳, 牛天贵, 等. 三孢布拉霉产 β-胡萝卜素发酵条件的研究[J]. 食品科技, 2009, 34(11): 2-7.
- [5] 余茜炜, 向梦雄, 左乐, 等. 三孢布拉氏霉中 β-胡萝卜素的提取研究[J]. 安徽农业科学, 2014(2): 587-588, 622.
- [6] 梁明. 天然 β-胡萝卜素提取工艺研究进展[J]. 安徽农业科学, 2014(20): 6771-6773, 6782.

- [7] 童海宝, 蔡杨, 马海森, 等. 发酵法生产天然 β-胡萝卜素[J]. 精细与专用化学品, 2002(2): 15-16.
- [8] 朱秀灵, 车振明, 徐伟, 等. β-胡萝卜素的生理功能及其提取技术的研究进展[J]. 广州食品工业科技, 2002, 20(2): 158-161.
- [9] 唐玲. 三孢布拉氏霉菌发酵 β-胡萝卜素的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2009.
- [10] 孙庆杰, 丁霄霖. 番茄红素稳定性的初步研究[J]. 食品与发酵工业, 1998, 24(2): 47-49.
- [11] 惠军, 韩彬, 单艳丽. 番茄红素提取工艺及其稳定性初步研究[J]. 新疆农业科学, 2004, 41(4): 204-207.