

## 杜仲叶绿原酸的提取、分离和鉴定

戚向阳 张声华

(华中农业大学食品科学系, 武汉 430070)

**The extraction, isolation and identification of chlorogenic acid from leaves of *Eucommia ulmoides* Oliv.** Qi Xiang-Yang, Zhang Sheng-Hua (Food Science Department of Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070), *J. Plant Resour. & Environ.* 1998, 7(1): 61~62

The isolation, purification and identification of chlorogenic acid (CA) from *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves were studied. The results showed: The extracts of *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves were isolated by column chromatography packed with 101 resin. The percentage of product was 3.99% and CA content was 24.33%. The product was purified by EtOAc and white needles were recrystallized from water. CA was identified by HPLC, IR and UV analysis.

**关键词** 杜仲叶; 绿原酸; 提取; 鉴定

**Key words** *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves; chlorogenic acid; extraction; identification

绿原酸(CA)是植物在有氧呼吸过程中形成的一种苯丙素类物质,具有利胆、抗菌、降压、增高白血球及兴奋中枢神经系统等多种药理作用<sup>[1]</sup>。绿原酸在植物界广泛存在,但含量较高的植物不多,近年的研究表明,杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)叶中绿原酸含量丰富<sup>[2]</sup>,但从杜仲叶中提取绿原酸的研究尚未见报道。我国杜仲的栽植十分广泛,每年可产叶300万吨左右,因此,从杜仲叶中提取绿原酸,有重要的理论和实际意义。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 杜仲叶采自湖北省郧西县;绿原酸从德国进口;树脂,101型,从上海试剂厂购入;甲醇,AR级,北京化工厂生产。

**1.2 仪器** Shimadzu(岛津)SCL-6A高效液相色谱仪;Shimadzu(岛津)UV-265FW紫外可见分光光度仪;HITACHI(日立)260-10型红外光谱仪;Qallenkamp熔点仪。

**1.3 方法** 取杜仲叶用6倍量的水于40℃温度下浸提4次,每次30min,过滤,合并滤液,经真空浓缩,101树脂分离,比较乙酸乙酯、正丁醇、异戊醇等萃取试剂和水层酸度以及乙酸乙酯不同萃取次数的萃取纯化效果。准确称取绿原酸10mg,用甲醇溶解并定容至100ml;准确称取经树脂分离后的样品25mg,用甲醇溶解并定容至25ml。以标准液和样品制备液进行HPLC分析。色谱条件,色谱柱:YWG-C<sub>18</sub> 4.6mm(I.D)×250mm, 10μm(中国科学院大连化学物理研究所);柱温:室温;流速:1.0ml/min;紫外检测器:0.04AUFS;检测波长:240nm;进样量:5μl。取适量经分离纯化所得的白色针状结晶溶解于水中,在200nm~500nm范围内进行紫外可见光谱扫描分析。样品经溴化钾压片后,进行红外光谱分析。

### 2 结果与讨论

**2.1 杜仲叶中绿原酸提取分离方法的选择** 杜仲叶水浸液中绿原酸的分离方法,目前常用的有萃取法<sup>[3]</sup>,

戚向阳:女,1968年10月生,讲师,主要从事天然产物的研究及开发。

收稿日期 1997-05-15

沉淀法<sup>[4]</sup>及聚酰胺柱层析法<sup>[5]</sup>等,但这些方法多存在成本高,操作繁琐,材料不易再生等缺陷。本试验先用101树脂对杜仲叶水浸提液进行分离,产品得率为3.99%,绿原酸的含量24.33%,因树脂可反复使用,生产成本较低。

**2.2 杜仲叶中绿原酸纯化方法、条件的选择** 乙酸乙酯、正丁醇和异戊醇3种溶剂萃取绿原酸的效果见表1。可以看出,乙酸乙酯萃取绿原酸的效果较佳,虽萃取物的产率较低,但绿原酸的含量较高;同时该溶剂的价格也比后二者便宜。不同酸度的萃取结果表明,pH值1,3,5萃取物得率分别为0.91%,0.91%和0.34%,绿原酸含量分别为66.21%、67.30%和30.53%。可见pH值为3时效果较好,pH值为5时萃取效果最差。当溶液pH值为3时,用乙酸乙酯萃取1~5次,绿原酸的总萃取率分别为41.40%,63.43%,70.83%,81.38%和92.99%,可见乙酸乙酯萃取5次,即可基本萃取完全。精制后所得白色针状结晶的熔点为206~207℃。

表1 不同溶剂对杜仲叶绿原酸萃取效果的比较  
Tab 1 The comparison of extraction of chlorogenic acid in *Eucommia ulmoides* leaves among different solvents

溶剂 Solvent	萃取物产率(%) Extract percentage	绿原酸含量(%) Content of CA
乙酸乙酯 EtOAc	0.91	67.30
正丁醇 BuOH	1.93	28.68
异戊醇 Isoamylol	1.23	47.50

**2.3 鉴定结果** HPLC分析结果见图1,可见该组分的保留时间同标准品绿原酸一致。紫外分析结果(UV) $\lambda_{\text{max}}^{\text{UV}}$ (nm) 322, 300, 235, 216;在300 nm处有特征肩峰,当溶液中加入NaOH后,322移至372,吸收峰红移了50 nm。溶液呈黄绿色,与文献<sup>[6]</sup>报道一致。红外分析结果(IR) $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3 300~3 500(宽,OH),2 500~3 000(宽,COOH),1 680(C=O),1 450~1 600(芳环),1 280(C-O),1 030~1 080(OH),905及820处为1,2,4-三取代芳香基-CH<sub>3</sub>。从而进一步证实了上述的分析结果。

综上所述,杜仲叶浸提液经101树脂分离,EtOAc纯化及精制,可得绿原酸纯品。该方法工艺操作简单,方便,成本低,无有害溶剂,生产安全性高,适合工业化生产。

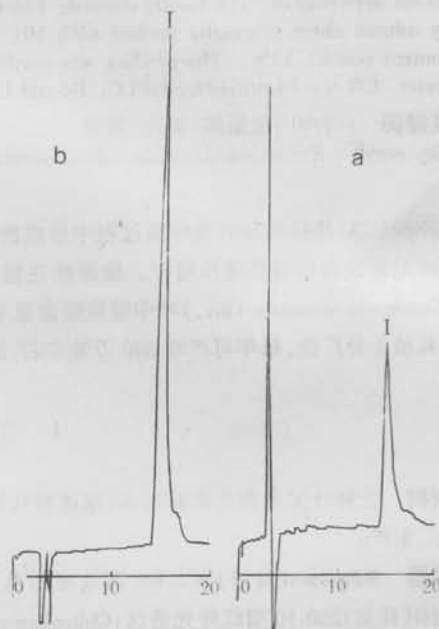


图1 绿原酸标准品和杜仲叶提取物 HPLC 分析图谱  
Fig 1 HPLC chromatogram of standard of chlorogenic acid (a) and sample of *Eucommia ulmoides* leaves (b)  
峰1: 绿原酸 peak 1: chlorogenic acid

### 参 考 文 献

- 1 王浴生主编. 中药药理与应用. 北京:人民卫生出版社,1983. 703~709.
- 2 张康健. 杜仲研究进展及存在问题. 西北林学院学报,1994,9(4):59~63.
- 3 Nishibe S, Kinoshita H, Takeda H *et al.* Phenolic compounds from stem bark of *Acanthopanax senticosus* and their pharmacological effect in chronic swimming stressed rats. *Chem Pharm Bull*, 1990, 38(6): 1763~1765.
- 4 林启寿编. 中草药成分化学. 北京:科学出版社,1997. 145~147.
- 5 沙世炎,徐礼荣,严敏如等编. 中草药有效成分分析法(上册). 北京:人民卫生出版社,1982. 156~157.
- 6 Harborne J B. *Phytochemical Methods*. New York: Chapman and Hall, 1984. 48~51.

(责任编辑:宗世贤)