

金银花中绿原酸提取方法的研究进展

李杰, 王学廷, 吴银萍, 王利辉 (河南科技大学医学院, 河南洛阳 471003)

摘要 金银花为忍冬属植物忍冬干燥花蕾, 包含挥发油、黄酮类、绿原酸等多种有效成分, 其中绿原酸具有抗菌消炎、降血脂、升高白细胞等作用, 目前常以绿原酸的含量评价金银花的质量。该文综述了金银花中绿原酸的提取方法, 为今后深入的研究提供参考。

关键词 金银花(FLOS LONICERAE JAPONICAE); 绿原酸; 提取方法

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)16-04969-02

Research Progress on the Extraction Method of Chlorogenic Acid in *Lonicera japonica*

LI Jie et al (Medical College, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003)

Abstract *Lonicera japonica* is a kind of dry flower of *Lonicera*. There are many nutrients in it, such as essential oil, flavonoids and chlorogenic acid. The chlorogenic acid has the function of diminish inflammation, lower blood lipid, hoist leucocyte and so on, content of which is the key factor for evaluating the quality of *Flos Lonicerae* in present. In this paper, the extraction method of chlorogenic acid from *Flos Lonicerae* was reviewed, providing a reference for the thorough research in the future.

Key words FLOS LONICERAE JAPONICAE; Chlorogenic acid; Extraction method

金银花(FLOS LONICERAE JAPONICAE)为忍冬属植物忍冬(*Lonicera japonica* Thunb.)的干燥花蕾。全世界忍冬属约有200种,我国有98种,其中可供药用的品种47种^[1-2]。金银花中含多种有效成分,如挥发油^[3-4]、黄酮类^[5-6]及绿原酸类^[7-8]、三萜类^[9-10]和微量元素^[11]等。近年来化学和药理研究证实,绿原酸是金银花中药理活性最强的成分之一,是金银花的主要特征成分和药用成分,通常以绿原酸的含量高低来评价金银花质量的好坏^[12-13]。

绿原酸是一种多酚类化合物,化学式为:C₁₆H₁₈O₉。绿原酸对消化系统、血液系统和生殖系统具有较强的药理活性,具有广泛的抗菌消炎、降血脂和升高白细胞等作用^[14]。笔者就金银花中绿原酸的提取方法来进行总结,以期今后的深入研究提供参考。

1 水提法

水提法是中药提取中常见的提取方法。以水为提取剂,通过浸渍、煎煮、回流等方式提取中药中的活性成分。王盈峰等^[15]采用了水浸渍的方法提取金银花中的绿原酸,当料液比为1:40(g/ml),温度为80℃,时间为15min时,绿原酸的提取率最高为4.09%。

李荣^[16]以总浸膏率和绿原酸含量为指标,采用水煎煮工艺提取绿原酸,认为金银花粉末过50目筛,料液比为1:30(g/ml),煎煮3次,每次30min时,提取效果最佳,金银花总浸膏得率为60.7%,绿原酸的含量为6.78%。程明川^[17]认为水煎煮法可以最大限度的保留金银花药材中的化学成分,有利于建立金银花药材的HPLC特征图谱。杨蓓蓓^[18]采用水冷浸、超声法和水回流法提取金银花中的绿原酸,结果表明水回流法要优于水冷浸和超声法。采用水提法提取绿原酸,成本低,操作简单,但提取物中蛋白质、多糖、鞣质等杂质比较多,提取液易发霉,并且过滤、浓缩、纯化等后续工作较困难^[19]。

2 乙醇回流法

乙醇回流法是提取金银花中绿原酸常用的方法。刘祥兰^[20]通过改变乙醇的浓度、回流时间以及料液比,发现乙醇浓度为75%,回流提取0.5h,料液比为1:10(g/ml)的情况下,提取绿原酸的效果最好,其中乙醇浓度是影响提取效果的主要因素,其次是回流时间,乙醇量影响最小。景晓明^[21]、聂凌鸿^[22]试验结果与文献^[20]基本吻合,回流时间略有差异。林丹^[23]对比了水提法、水提醇沉法、醇提法和酶解法4种方法提取金银花中的绿原酸的收率,认为50%的醇提法绿原酸收率最高,可达15.28%。

绿原酸是由咖啡酸和奎尼酸形成的缩酚酸,在中性条件下容易水解,造成绿原酸损失。因此,阎巧娟等^[24]研究了乙醇溶液酸碱度对绿原酸提取率的影响,在酸性条件下有利于绿原酸的提取,碱性条件下绿原酸的得率和质量分数都随着pH值的增大而降低,在pH值约为4时,绿原酸的纯度和得率最高,分别达到45.20%和36.59%。何德贵^[25]、高春荣^[26]、梁玉敏^[27]、范远景^[28]的研究结果也表明乙醇溶液的pH值约为4时,回流提取的绿原酸收率最高。与水提法相比,乙醇回流法提取时要耗用大量乙醇,加大生产成本,但是提取物中水溶性的杂质少,且提取液不易发霉变质,后处理比较方便。

3 超声波提取法

超声波提取技术,是近年来新兴的一种中药活性成分提取方法。超声波提取主要利用超声波在溶剂和提取样之间产生了声波的空化作用,导致溶液内形成气泡,气泡不断增大,造成压缩爆破,致使固体样品被分散,增大提取样品与萃取溶剂间的接触面积,提高了目标提取物从固相转移进入液相的传质速率。

府旗中^[29]将超声波法与传统的水提法和乙醇回流法进行了对比,认为超声波法的绿原酸提取率要高于水提法和乙醇回流法,60%的乙醇,用超声波加载提取30min的提取效果最佳,绿原酸的提取率可达4.18%。周军^[30]、曹渊^[31]的试验也证实了超声波法要优于水提法和乙醇回流法这一结论。此外,周

作者简介 李杰(1982-),男,河北石家庄人,实验师,硕士,从事天然产物中活性组分的提取、分离和检测的研究。

收稿日期 2014-05-06

军^[30]考虑了乙醇溶液酸碱度对提取率的影响,发现乙醇溶液 pH 值为 4 时,绿原酸的提取率最高为 9.41%。曹渊^[31]进一步考虑了预浸时间的影响,结果表明金银花预先浸泡 12 h 后,超声提取的效果会更好。袁飞^[32]对溶剂类型、预处理、提取时间和物料比进行了研究,认为溶剂类型是影响超声提取的主要因素。采用微波预处理金银花,一方面可以提高绿原酸的提取率,另一方面可以缩短超声提取的时间。最终确定了超声提取的最佳工艺,即 60% 乙醇为溶剂,微波处理 1 min,物料比 1:30,提取时间 45 min。樊铭聪^[33]研究了超声处理温度对绿原酸提取率的影响,随着超声温度的升高绿原酸的提取率先增加后减小,温度为 60 ℃ 时绿原酸的提取率最高。此外,还有许多研究学者^[34-37]以甲醇溶液为提取剂来超声提取金银花中的绿原酸,也取得了良好的结果。

4 微波提取法

微波法具有操作简单、提取时间短、安全可靠、无污染、节能环保等优点,而受到了广大科技工作者的青睐。

郭振库^[38]认为乙醇浓度为 35%,料液比为 1:30(g/ml),压力为 0.1 MPa,加热时间为 1 min,70% 微波功率(最大功率 850 W)时,绿原酸的提取率最高,为 5.89%;并与超声波提取法进行了对比,认为微波法的绿原酸提取率和重复性均高于超声波法。张霞^[39]采用响应曲面法优选出了微波辅助提取的最佳工艺:浓度 43% 的甲醇溶液为提取剂,料液比为 1:40(g/ml),微波功率 400 W 下提取 8 min,绿原酸的提取率可以达到 7.62%。舒孝顺^[40]把微波功率、料液比、提取次数、提取时间和溶剂的提取剂的酸碱度作为影响因素,来进行正交试验,发现在料液比为 1:12(g/ml),pH 为 3 的水溶液中进行微波提取 2 次,每次 5 min,绿原酸的提取率可以达到 4.54%,其中影响绿原酸的主要因素为微波功率,然后依次是提取次数、溶剂酸碱度和提取时间。

韦藤幼^[41]采用微波预处理法提取金银花中的绿原酸,即将样品用乙醇溶液湿润,然后微波预处理破坏细胞组织,再水提。结果表明金银花经过微波预处理后,绿原酸的提取率比传统醇提法提高了 1%。何培^[42]运用正交试验对微波预处理法进行了优化,发现在微波预处理过程中,乙醇用量对绿原酸的提取影响最大,其次是乙醇浓度,最后是微波预处理时间。给出了绿原酸提取的最佳条件:4 倍量浓度 80% 的乙醇,微波预处理 60 s,15 倍量的蒸馏水,水提温度为 70 ℃,水提时间为 50 min。

5 酶解提取法

酶的作用具有高度专一性、极强的催化活性和反应条件温和等特点。植物的细胞壁主要是由大分子的纤维素构成,酶制剂可以降解植物细胞壁中的纤维素,使其成为水溶性糖类物质,细胞壁的破坏有利于细胞内的成分溶出,同时也有利于提取溶剂进入。刘佳佳^[43]用纤维素酶和果胶酶处理金银花样品。经过纤维酶处理后,提取物收率和绿原酸收率均有提高,绿原酸收率可以达到 8.15%,比单独乙醇回流法的收率提高了 1.68%,但是果胶酶的加入对金银花提取物收率有影响,对绿原酸的收率影响不大。

杨荣^[44]以酶用量、酶解时间、酶解时溶液的酸碱度及酶解温度为因素,进行正交试验。发现对绿原酸提取率的影响程度依次为:酶解时间、酶用量、酶解温度、酶解时溶液的酸碱度,认为酶解水提的最佳工艺为酶用量 0.5%,酶解时 pH 值 6.0,酶解时间 1.5 h,酶解温度 40 ℃,水提温度为 70 ℃,水提 2 次,1 次 1 h。

6 其他提取方法

冯文宇^[45]采用石硫醇法、异戊醇法和改良的醋酸乙酯法提取金银花中的绿原酸,改良的醋酸乙酯法优于其他 2 种方法,该法可节约大量的乙醇原料,降低运行成本,认为实际生产应以改良的乙酸乙酯法为先。王秀玲^[46]采用索氏提取法提取金银花中绿原酸,结果表明,乙醇浓度为 70%,pH 值为 4,虹吸次数为 5 时,绿原酸的提取率最高。乙醇的浓度是影响绿原酸提取率的主要因素,pH 值次之,虹吸次数影响最小。

7 小结与展望

金银花在中国作为药物使用已有很长的历史了,目前作为经济植物在我国广大地区都有大规模的人工种植。从金银花中提取的绿原酸除了可以应用在医药工业外,还广泛的应用在食品、保健和日用化工等领域。虽然我国有着丰富的富含绿原酸的植物资源如金银花,但对绿原酸的提取、纯化和开发利用技术等方面的研究仍远落后发达国家,因此研究金银花中绿原酸的提取分离工艺具有十分广阔的应用前景和巨大的社会、经济效益,同时对我国植物资源开发利用也具有重大的现实意义。

参考文献

- [1] 石钺,石任兵,陆蕴如. 我国药用金银花资源、化学成分及药理研究进展[J]. 中国药学杂志,1999,34(11):724-727.
- [2] 王燕,王智民,林丽美,等. 金银花及其同属植物化学成分研究进展[J]. 中国中药杂志,2008,33(8):968-972.
- [3] 杜洪飞,张毅,翁代群,等. 新鲜金银花挥发油不同提取方法的 GC-MS 研究[J]. 重庆中草药研究,2009(2):13-17.
- [4] 马勤川,贾凯,卢杰,等. 亚临界 R134a 萃取金银花挥发油[J]. 食品工业科技,2012,33(13):197-200.
- [5] 高玉敏,王名洲,王建平,等. 金银花化学成分的研究[J]. 中草药,1995,26(11):568-569,615,617.
- [6] 王林青,崔保安,张红英. 金银花、山银花黄酮类提取物体外抗伪狂犬病毒作用研究[J]. 中国畜牧兽医,2011,38(3):183-187.
- [7] 高锦明,张鞅灵,张康健,等. 绿原酸分布、提取与生物活性研究综述[J]. 西北林学院学报,1999,14(2):73-82.
- [8] 屈景午,莫运春,刘梦琴,等. 金银花中绿原酸一步提取法及绿原酸抗菌活性[J]. 化学世界,2005(3):167-169.
- [9] CHEN M, LUO S Q, LI H T. Chemical constituents of *Lonicera macrathoides* Part 1[J]. Chin Chem Lett, 1990, 1(3):219-221.
- [10] 娄红祥,郎伟君,吕木坚. 金银花中水溶性化合物的分离与结构确定[J]. 中草药,1996,27(4):195-199.
- [11] 吕琳琳,罗巍巍,张咏梅. ICP-AES 法测定金银花、金莲花中多种微量元素[J]. 安徽农业科学,2008,36(27):11796-11797.
- [12] 马烽,朱亚玲,陈明辉,等. 金银花中绿原酸提取工艺研究进展[J]. 食品研究与开发,2010,31(7):164-166.
- [13] 黄雄,李萍,张重义,等. HPLC 同时分析金银花中绿原酸和黄酮类成分的方法建立及其应用[J]. 中国药学杂志,2005,40(10):780-782.
- [14] 吴卫华,康庚,欧阳冬生,等. 绿原酸的药理学研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2006,18(4):691-694.
- [15] 王盈峰,王登良. 金银花中主要内含物最佳浸提条件研究[J]. 安徽农业科学,2007,35(25):7761-7762.
- [16] 李荣,胡成穆,钟明媚,等. 正交设计研究金银花绿原酸煎提工艺[J]. 安徽中医学院学报,2006,25(1):39-40.

旌德县境内野生金荞麦资源进行一次全面的普查,利用其红色名录类型和相关评估手段对物种受威胁情况进行评估,制定合理可行的长远保护计划,为合理的保护和利用野生植物资源提供指导依据。同时,还应建立有效的野生金荞麦资源保护管理制度。

3.2.3 制定切实可行的保护和利用方案。建立野生金荞麦资源保护信息系统,建立相关的技术档案,内容包括保护级别、濒危程度、濒危机制、数量、分布地点、生境特点、种群数量、群落动态变化等。同时加大对保护野生金荞麦资源保护的宣传教育力度。

加强原生境就地保护,这是最有效的保护方式。根据金荞麦种群数量多少建立一定区域的原生境保护地是加强全县范围内的植物资源保护。建立重点保护野生金荞麦培育基地,设立省级自然保护区并开展保护野生金荞麦的繁育工作。

鉴于野生金荞麦资源的濒危状况,建议采取迁地保护的办法进行人工栽培繁育,扩大种群数量,进行物种复壮和回归。建立野生金荞麦的种质资源库、种质资源园圃进行保存。

3.2.4 积极开展野生金荞麦资源的育种及保健品开发的研究。为避免野生金荞麦的盲目采集、生态环境的破坏及引种栽培困难、品种退化等原因造成的植物资源日益枯竭,利用植物细胞全能性开展金荞麦的组织培养,利用基因工程技术培育高药用活性成份的转基因金荞麦新品种。通过在旌德县域内扶持建立规模化野生金荞麦资源开发利用企业,对野

生金荞麦的育种、保护及利用方面形成一整套可持续发展的模式,包括开发金荞麦保健品、金荞麦食品、金荞麦饮料、金荞麦化妆品等。

参考文献

- [1] 夏明忠,王安虎.野生金荞麦资源研究[M].北京:中国农业出版社,2008:288-295.
- [2] 刘圣,田莉,陈礼明.金荞麦研究进展[J].基层中药杂志,1998,12(3):46.
- [3] 吴惠群,李光德.金荞麦生态环境研究[J].云南师范大学学报,1994,14(4):102.
- [4] 科技部21世纪议程管理中心.中药材规范化种植(养殖)技术指南[M].北京:中国农业出版社,2006.
- [5] 刘光德,李名扬,祝钦龙.资源植物野生金荞麦的研究进展[J].农业资源与环境科学,2006,22(10):380-389.
- [6] 吴清,梁国鲁.金荞麦野生资源的开发与利用[J].中国野生植物资源,2001(2):27.
- [7] 刘铁城,刘惠卿.金荞麦的引种栽培与类型选择[J].中药材,1993,19(1):5-7.
- [8] 国家重点保护野生植物名录(第一批和第二批)[EB/OL].http://www.plant.csdb.cn/protectlist.
- [9] 吴振海,罗小华,陈西,等.陕西秦巴山区金荞麦资源调查[J].北方园艺,2010(14):192-194.
- [10] 李佩华.四川野生荞麦金荞麦、齿翅野荞的原生境调查及特征特性、肥料效应研究[D].雅安:四川农业大学,2011:90-91.
- [11] 旌德县自然资源(植物资源)[EB/OL].http://www.ahjd.gov.cn/Read News.asp?NewsID=1296.
- [12] 旌德县[EB/OL].http://baike.baidu.com/view/185603.htm.
- [13] 傅立国,陈潭清,郎楷永,等.中国高等植物(第十三卷)[M].青岛:青岛出版社,2002:18-133.
- [14] 陈心启,许介眉,梁松筠.中国植物志[M].北京:科学出版社,1980:118-157.
- [15] 国家林业局.中国重点保护野生植物资源调查[M].北京:中国林业出版社,2010:70-80.
- [16] 袁飞.正交实验优化金银花中绿原酸超声提取工艺[J].中国医药导刊,2012,14(5):913-914.
- [17] 程明川,杜迎翔,张朝波,等.金银花药材的HPLC特征图谱研究[J].药物分析杂志,2008,28(10):1675-1679.
- [18] 杨蓓蓓,刘超,王素娟,等.高效液相色谱法测定金银花药材中3种成分的含量[J].药物分析杂志,2006,26(2):168-171.
- [19] 陈钢,侯世祥,胡平,等.金银花提取物中绿原酸的稳定性研究[J].中国中药杂志,2003,28(3):223-225.
- [20] 刘祥兰,刘重芳,张英,等.金银花中绿原酸提取工艺的比较和优化研究[J].中成药,2000,22(6):402-404.
- [21] 景晓明,杨学军,赵莉,等.金银花中绿原酸的分离与测定方法[J].西南民族大学学报:自然科学版,2006,32(6):1181-1184.
- [22] 聂凌鸿,岳森.金银花中绿原酸提取工艺的优化[J].食品研究与开发,2008,29(1):51-55.
- [23] 林丹,赵国玲,刘佳佳.金银花不同提取方法的绿原酸比较研究[J].天然产物研究与开发,2003,15(2):124-125.
- [24] 阎巧娟,韩鲁佳,江正强.金银花中绿原酸提取纯化工艺研究[J].中国农业大学学报,2002,7(2):22-26.
- [25] 何德贵,周芳勇,李仕先,等.金银花不同提取工艺及优选条件探讨[J].中国实验方剂学杂志,2001,7(1):6-7.
- [26] 高春荣,胡锦荣,孙君社.金银花中绿原酸的提取工艺[J].中国农业大学学报,2003,8(4):5-8.
- [27] 梁玉敏,王进美,李怀斌.金银花中绿原酸提取工艺比较与优化探讨[J].辽宁中医杂志,2008,35(2):262-264.
- [28] 范远景,徐晓伟,余芳芳,等.分离纯化金银花绿原酸工艺研究[J].安徽农业科学,2010,38(24):13052-13053,13057.
- [29] 府旗中,王伯初,许祥武.应用超声波法提取金银花中绿原酸[J].重庆大学学报:自然科学版,2007,30(1):123-125.
- [30] 周军,黄琼,李志光,等.超声波提取金银花中的绿原酸[J].化学与生物工程,2008,25(1):31-33.
- [31] 曹渊,李创举,夏之宁,等.金银花中绿原酸的超声提取工艺优化[J].时珍国医国药,2008,19(12):2857-2858.
- [32] 樊铭聪,李文香.超声波辅助提取金银花中绿原酸的工艺优化[J].包装与食品机械,2013,31(6):14-19.
- [33] 钟方晓.高效液相及紫外分光光度法测定金银花中绿原酸和异绿原酸含量方法学比较[J].时珍国医国药,2005,16(3):212.
- [34] 张丹,李章方,姜焱.HPLC测定金银花、茵陈及其10种中成药中绿原酸的含量[J].药物分析杂志,1996,16(2):83-85.
- [35] 向增旭,高山林.HPLC指纹图谱在金银花药材真伪鉴别中的应用研究[J].中国中药杂志,2008,33(9):996-998.
- [36] 刘召勇,张文明,潘建超,等.对照提取物用于金银花药材的质量控制方法研究[J].中国中药杂志,2013,38(13):2147-2150.
- [37] 郭振库,金钦汉,范国强,等.微波帮助提取中药金银花中有效成分的研究[J].中国中药杂志,2002,27(3):189-192.
- [38] 张霞,崔海燕,贾晓艳,等.响应曲面法优选金银花中绿原酸微波辅助提取工艺[J].中国药房,2011,22(7):611-613.
- [39] 舒孝顺,卿婉华,许凯扬,等.微波法辅助提取红腺忍冬绿原酸[J].食品与发酵工业,2013,39(10):250-253.
- [40] 韦藤幼,赵群莉,阮莉姣,等.微波预处理法提取金银花中的绿原酸[J].中成药,2003,25(7):534-537.
- [41] 何培,丁慧娟,刘芷成,等.金银花中绿原酸的微波提取工艺研究[J].湖南人文科技学院学报,2013(4):97-101.
- [42] 刘佳佳,赵国玲,章晓晔,等.金银花绿原酸酶法提取新工艺研究[J].中成药,2002,24(6):416-418.
- [43] 杨荣,周晶,张庆伟,等.酶法辅助提取金银花中绿原酸的工艺研究[J].中成药,2009,31(7):1128-1130.
- [44] 冯文字,田吉.绿原酸提取纯化工艺对比实验研究[J].重庆中草药研究,1999,40(6):85-86.
- [45] 王秀玲,李敏.索氏提取法提取金银花中绿原酸工艺条件的研究[J].邢台学院学报,2012,27(4):180-181.

(上接第4970页)