

四氢呋喃-苯混合溶剂法分离纯化桦木醇



HAN S Y

韩世岩, 方桂珍*, 李珊珊, 马艳丽

(东北林业大学生物质材料科学与技术教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘 要: 本研究从白桦树皮中提取了桦木醇。采用混合溶剂法对提取的桦木醇进行了分离纯化, 运用紫外分光光度法 (UV) 对纯化效果进行了比较分析; 利用傅立叶红外光谱 (FT-IR) 对纯化样品进行了结构表征; 利用高效液相色谱 (HPLC) 对纯化样品进行了定量测定。结果表明: 从白桦树皮中提取桦木醇粗品的得率为 34.52%; 混合溶剂四氢呋喃-苯是纯化桦木醇的优良试剂, 其体积比为 1:2, 桦木醇与混合溶剂比为 1:30 (g:mL), 纯化桦木醇得率为 31.19%, 纯度为 94.53%。纯化后桦木醇的熔点为 248.9~251.3℃, 与文献值一致, FT-IR 谱图与标准品基本一致。与以往的分离纯化方法相比, 四氢呋喃-苯混合溶剂法是一种简便、高效的分离纯化桦木醇的方法。

关键词: 桦木醇; 提取; 纯化

中图分类号: TQ351.014; Q949.736.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2417(2005)S0-0129-04

SEPARATION AND PURIFICATION OF BETULIN BY TETRAHYDROFURAN-BENZENE EXTRACTION

HAN Shi-yan, FANG Gui-zhen, LI Shan-shan, MA Yan-li

(Key Laboratory of Bio-based Material Science and Technology, Ministry of Education,
Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: Betulin extracted from bark of birch (*Betula platyphylla* Suk.) was purified by several kinds of mix-solvents. Purification effects and structure of betulin were analyzed by UV and FT-IR spectra respectively. Quantitative analysis of betulin was performed by HPLC. Yield of crude betulin extracted from bark of birch was 34.52% by weight. The most excellent mix-solvent was tetrahydrofuran-benzene. At the ratio of tetrahydrofuran to benzene 1:2 by volume, and ratio of betulin to mix-solvent was 1:30 (g:mL), yield of purified betulin was 31.19%, with a purity of 94.53%. Melting point of purified betulin was 248.9-251.3℃ and IR analysis conformed to literatures of the standard betulin sample. Comparing with the methods applied in the past, tetrahydrofuran-benzene extraction is a simple and high efficient method to separate and purify betulin from birch bark.

Key words: betulin; extraction; purification.

桦木醇又名桦木脑、白桦酯醇, 存在于许多植物中, 尤其在白桦树皮中的含量较高。桦木醇属于羽扇豆烷型的五环三萜烯类化合物^[1], 是一种生物活性物质, 具有杀菌^[2]、抗病毒、防紫外线等作用。药理实验表明, 桦木醇无毒, 具有抗肿瘤、消炎、快速治愈伤口、抗过敏等功效, 在食品、医药、日用化工等领域有广泛的应用。

桦树皮为桦木科桦木属植物白桦 (*Betula platyphylla* Suk.) 的树皮, 白桦是东北和内蒙林区的主要树种之一。国内外已有对白桦树皮有效成分分析的报道^[3], 桦木醇含量在 10%~35% 之间。对于桦

收稿日期: 2005-06-20

基金项目: 黑龙江省重点资助项目 (GB05B601)

作者简介: 韩世岩 (1980-), 女, 内蒙古阿荣旗人, 硕士生, 研究方向为树木提取物及其衍生物制备

* 通讯作者: 方桂珍, 教授, 博士生导师, 主要从事木材化学和木材功能性改良方面的研究和教学工作; E-mail: fanggz@public.hr.hl.cn。

木醇的提取方法已有报道^[4-5],以往对于粗产物的纯化方法较繁琐,利用活性炭脱色,热溶解^[1],柱色谱或薄层色谱分离^[6-7]等方法,再进行重结晶,操作复杂、成本较高,既不经济又给溶剂回收造成负担。

本研究从白桦树皮中提取桦木醇,利用混合溶剂法对其进行分离纯化,对比了几种混合溶剂的纯化效果,利用紫外检测分析,优选出一种操作简单、效果好的提纯方法,最后利用 FT-IR、HPLC 对纯化后的产物进行了定性定量分析。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与药品

1.1.1 实验材料 白桦树皮,产自大兴安岭。

1.1.2 仪器 傅立叶变换红外光谱(FT-IR)仪 Magana-IR560E. S. P,美国尼高力公司;紫外-可见分光光度计(UV) TU-1800,北京普析通用仪器有限公司;高效液相色谱(HPLC)仪 Agilent 1100 型,分析仪器有限公司;显微熔点测定仪 X-6 型,北京泰克仪器有限公司。

1.1.3 试剂 桦木醇, Sigma 公司提供;四氢呋喃与乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

1.2 桦木醇的提取

称取一定量的白桦树皮粉末(40~60目)于索氏提取器中,加入乙醚,在一定温度下连续抽提6h,析出固体,回收部分溶剂后过滤,将滤饼真空干燥得粗制桦木醇。

1.3 粗桦木醇的纯化

采用混合溶剂的方法对粗桦木醇进行分离纯化,几种纯化方法均采用四氢呋喃为溶剂,分别加入苯、95%乙醇、丙酮和石油醚,析出晶体,抽滤、洗涤、干燥后得到精制桦木醇。

1.4 桦木醇的检测分析

桦木醇纯化效果分析:利用紫外光谱对各种纯化效果进行了对比分析,检测波长为190~400nm;桦木醇的结构分析:用FT-IR对纯化产品的化学结构进行了分析,KBr制样;桦木醇的含量测定:利用HPLC进行测定,参数:流动相为乙腈-甲酸铵水溶液,梯度洗脱,柱温30℃,流速1.0mL/min,进样量5μL,检测波长210nm,检测时间为30min。

2 结果与讨论

2.1 桦木醇的提取及纯化

2.1.1 桦木醇的提取 在一定温度下,以乙醚为溶剂,准确称取白桦树皮8g,于索氏抽提器中提取。得到粗桦木醇2.762g,产物为淡黄色的固体粉末,熔点215~229.5℃,与标准桦木醇的熔点^[8](251~252℃)相差较大,且熔程较长。粗桦木醇的得率为34.52%。

2.1.2 桦木醇的纯化 粗桦木醇先用四氢呋喃溶解,然后分别加入苯、95%乙醇、丙酮和石油醚。试样与四氢呋喃的用量比为1:10(g:mL),另一种试剂的用量为四氢呋喃体积的2倍。实验中,粗桦木醇与混合溶剂的比例即为1:30(g:mL)。对不同的混合溶剂纯化桦木醇效果进行了初步评价,分析结果见表1。

表1 各种试剂纯化效果初步分析

Table 1 Preliminary analysis of purification effects by different methods

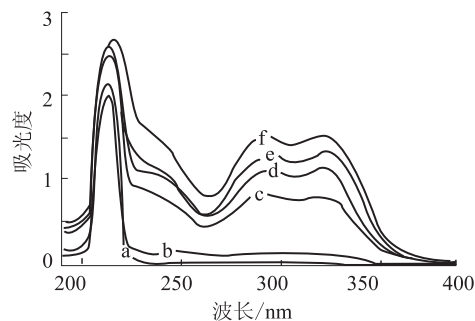
项目 items	颜色 colour	熔点/℃ melting point	得率/% yield	综合评价 general judgement
a 桦木醇标准品 standard sample	白色 white	251~252		
b 四氢呋喃-苯 tetrahydrofuran-benzene	白色 white	248.9~251.3	31.19	较好 preferable
c 四氢呋喃-95%乙醇 tetrahydrofuran-95% ethanol	微黄色 light yellow	217.0~234.2	29.22	较差 rather bad
d 四氢呋喃-丙酮 tetrahydrofuran-acetone	微黄色 light yellow	223.4~228.7	37.38	较差 rather bad
e 粗桦木醇 crude betulin	淡黄色 pale yellow	215~229.5		
f 四氢呋喃-石油醚 tetrahydrofuran-petroleum ether	淡黄色 pale yellow	215.9~221.4	34.29	很差 very bad

用四氢呋喃-石油醚、四氢呋喃-丙酮以及四氢呋喃-95%乙醇3种混合溶剂纯化后的产品无论在颜色、还是在熔点上都与标准品有较大差异,纯化效果不太理想;以四氢呋喃-苯为纯化试剂,得到的精制桦木醇为白色晶体,熔点与标准品相近且熔程较短,纯度有较大提高,纯化效果与之相比较为理想。

2.2 精制桦木醇的分析与检测

2.2.1 纯化效果 UV 分析 几种混合溶剂(a~f,同表1)对粗桦木醇纯化前后的 UV 光谱以及标准品的 UV 光谱见图1。桦木醇标准品(a)在210 nm处有强吸收,为桦木醇的C=C的特征吸收。从图1中可以看出,5种纯化后的样品在210 nm附近都有强的特征吸收,不同之处在于与标准品相比,除了210 nm附近的特征吸收外,在210~360 nm范围内都有不同程度的吸收。这些峰主要是由杂质产生的,因此它们在一定程度上反映了混合溶剂对粗桦木醇的纯化效果。从c、d、f3种溶剂的吸收曲线可以看出,它们在210~360 nm范围内有明显吸收,特别是在250~360 nm处有较强吸收,并且峰形和峰位与粗桦木醇(e)在此范围内的吸收相近。因此,这3种方法纯化桦木醇的效果不够理想,与前面分析一致。b溶剂在250~360 nm范围虽有吸收峰出现,但吸收很弱,其峰形与峰位基本与a溶剂一致。由此可见,对粗桦木醇纯化效果最为理想的混合溶剂为四氢呋喃-苯混合溶剂,经过进一步分析测定,可知纯化后桦木醇的纯度可以达到94.53%。

2.2.2 桦木醇的 FT-IR 分析 在4000~400 cm⁻¹范围内,分别对桦木醇标准品和四氢呋喃-苯纯化后的产物做了红外光谱分析。对比两条吸收曲线,二者在主要的峰形与峰位上能够基本吻合,某些峰的强度有所差异,可能是由二者的纯度不同引起的。3447.98 cm⁻¹处的吸收峰为桦木醇上的O—H伸缩振动吸收峰,1644.08 cm⁻¹处的吸收峰为桦木醇上的C=C伸缩振动吸收峰,1107.63 cm⁻¹处的吸收峰为桦木醇上仲醇的C—O伸缩振动吸收峰,1083.08与1034.71 cm⁻¹处的吸收峰为桦木醇上伯醇的C—O伸缩振动吸收峰,879.35 cm⁻¹处的吸收峰为桦木醇上的末端取代烯烃C—H变形振动吸收峰。



a~f 的标识同表 1

The symbols a-f are same as in Table 1.

图 1 桦木醇的 UV 光谱

Fig. 1 UV spectra of betulin

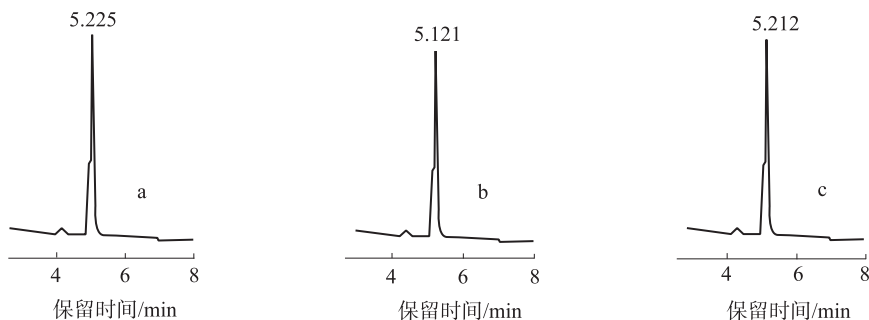


图 2 桦木醇标准品(a)、粗桦木醇(b)及纯化桦木醇(c)的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of standard betulin(a), crude betulin(b) and purified betulin(c)

2.2.3 桦木醇含量的 HPLC 分析 所用的检测器是紫外检测器,根据 UV 分析选定检测波长为210 nm。流动相为乙腈-甲酸铵水溶液,梯度洗脱。图2为桦木醇标准品、粗桦木醇及四氢呋喃-苯纯化后桦木醇的色谱图。三者保留时间基本一致,通过分析计算,粗桦木醇的纯度为84.93%,四氢呋喃-苯混合溶剂纯化后桦木醇的纯度为94.53%,桦木醇的纯度有较大提高,与上述分析结果一致。由此可见,四氢呋喃-苯是分离纯化粗桦木醇的优良试剂。

3 结论

3.1 从白桦树皮中提取了桦木醇,得率34.52%,粗制桦木醇为淡黄色固体粉末,熔点215~229.5℃,

纯度为 84.93 %。

3.2 利用 UV 光谱对比分析了几种混合溶剂对粗制桦木醇的纯化效果,结果表明:四氢呋喃-苯的纯化效果最佳,纯化后桦木醇的得率为 31.19 %,熔点为 248.9 ~ 251.3 °C,与文献值基本一致。

3.3 FT-IR 光谱分析显示,纯化后桦木醇的谱图与标准品谱图的特征峰峰位、峰形基本一致,由此,分析进一步确认了桦木醇的主要官能团结构。

3.4 通过 HPLC 定量测定了桦木醇的纯度,四氢呋喃-苯纯化后的桦木醇纯度(94.53 %)与粗制桦木醇相比有较大提高,说明了四氢呋喃-苯是纯化桦木醇的优良试剂,对其有较好的纯化效果。

参考文献:

- [1]安银岭.植物化学[M].哈尔滨:东北林业大学出版社,1996.
- [2]HESS S C, BRUM R L, HONDA N K, *et al.* Antibacterial activity and phytochemical analysis of *Vochysia divergens* (*Vochysiaceae*) [J]. *J Ethnopharmacol*, 1995, 47(2):97-100.
- [3]崔艳霞,郑志芳.白桦树皮化学组成的研究[J].东北林业大学学报,1994,22(4):53-59.
- [4]郝文辉,孙志忠,王洋,等.从桦树皮中提取桦木脑[J].黑龙江大学自然科学学报,1997,14(3):115-116.
- [5]ZHANG Y H, YU T, WANG Y. Extraction of betulin from bark of *Betula platyphylla* by supercritical carbon dioxide extraction [J]. *Journal of Forestry Research*, 2003, 14(3):202-204.
- [6]张立群,张淑芹,赵玉梅,等.桦树皮止咳成分的提取分离研究[J].中国林副特产,1997,40(1):10-11.
- [7]王建华,黄文哲,张增辉,等.桦树皮镇咳祛痰有效成分研究[J].中国药理学杂志,1994,29(5):268-270.
- [8]申洋文,王积涛.化合物词典[M].上海:上海辞书出版社,2002.

过刊邮购信息

《林产化学与工业》编辑部尚有创刊以来的部分过刊库存,见下表。所有价格均含邮费,其中1984年第4期,1987年第1期,1989年第4期,1992年第1期已售完。

年份	1982~1988	1989~1993	1994~1995	1996~2001	2002~2004
价格	10元/年	15元/年	20元/年	30元/年	40元/年

另有1994年特刊《松香·松节油再加工专辑》,10元/本;2004年增刊,主要为松香、松节油及其深加工研究论文,20元/本(均含邮费,本刊的老订户购增刊可以享受5折优惠)。

如有漏订或收藏不全需补购者可直接汇款至《林产化学与工业》编辑部,汇款人须在汇款单上写清详细地址,附言栏内注明所购年份、期号及数量。编辑部地址:210042 南京市锁金五村16号林化所内《林产化学与工业》编辑部,电话:(025)85482493。

《林产化工通讯》为满足读者补缺之需,特将《林产化工通讯》1982年以来库存期刊期号及邮购价格介绍如下,见下表。

年份	1988~1991	1992~1993	1994~2004
价格	10元/年	16元/年	33元/年

- 注:1)1988年第1期、1991年第1、2期、1994年第1、2、4期已售完,其他请以最近出版的期刊公布的为准;
2)表中价格已包括邮费。

凡需购买者可直接汇款至该刊编辑部,汇款人须在汇款单中写清详细地址,汇款单附言栏内注明所购期刊的年份、期号及数量。编辑部地址:210042 南京市锁金五村16号林化所内;电话:(025)85482492。