

· 天然药物进展 ·

月见草油中富集 γ -亚麻酸的尿素包合研究解放军第208医院 张恒弼 陈阜新* 朱永宏⁰ 肖秋生 杜宁

月见草 (*Denothera Biennis L.*) 为柳叶菜科多年生草本植物⁽¹⁾, 在我国长白山区有广泛的资源。1949年Riley发现月见草油中含有丰富的 γ -亚麻酸⁽²⁾。 γ -亚麻酸作为二高 γ -亚麻酸的原料经生化酶反应变成PGE₁⁽³⁾。少量的 γ -亚麻酸即产生显著的抗血栓, 抗炎及抗癌等生理活性。

月见草油中主要含有棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、 γ -亚麻酸等成分⁽⁴⁾。其中 γ -亚麻酸的含量一般不超过10%, 且油中所含的硬脂酸、棕榈酸等饱和成分能加强凝血酶的活性, 降低疗效, 并对心血管系统有不良影响。为了提高疗效、减少不良反应, 迫切需要除去月见草油中的硬脂酸、棕榈酸等成分, 以增高有效成分 γ -亚麻酸的相对含量。我们采用尿素包合法对月见草油进行了三次包合, 结果其中的硬脂酸和棕榈酸被全部除去, γ -亚麻酸的相对含量可提高到86.2%, γ -亚麻酸得率达57.3%。

一、实验材料

(一) 仪器

SP3700型气相色谱仪, DB-I型氢火焰检测器 (北京分析仪器厂)

(二) 试剂与试剂

1. 月见草油 (白求恩医科大学药厂提供) 经测定碘化值: 103.7, 皂化值: 207.3, 酸价: 2.90, 过氧化值: 8.96。月见草油成分如表1。

2. 尿素 (分析纯)

3. 无水甲醇 (分析纯)

4. 0.5mol/L KOH甲醇液: 将KOH

溶在无水甲醇中制得。

表1 月见草油成分

| 编号 | 脂肪酸 | 保留时间(分) | 相对含量 |
|----|---------------|---------|-------|
| 1 | 棕榈酸 | 10.83 | 4.7% |
| 2 | 油酸 | 13.89 | 8.3% |
| 3 | 亚油酸 | 14.29 | 77.3% |
| 4 | γ -亚麻酸 | 14.44 | 7.3% |

注: 本批油中硬脂酸含量极少, 故未出峰 (归一法计算含量)。

5. 0.5N甲醇钠溶液: 将金属钠溶在无水甲醇中制得。

二、实验方法

1. 皂化 取月见草油20g, 加0.5mol/L KOH甲醇液60ml, 在60℃水浴中皂化至油滴消失, 放冷。用盐酸调至pH 3。再用石油醚分次提取。回收石油醚, 得游离脂肪酸。

2. 尿素包合 往上述游离脂肪酸中, 按脂肪酸: 无水甲醇为1:10的比例 (体积) 加入无水甲醇, 再按14% (W/V) 的比例加入尿素。70℃水浴回流至尿素完全溶解, 停止加热, 在水浴中自然冷却至30℃, 保温3小时。取出, 置4℃左右冰箱中过夜。

自冰箱中取出后过滤, 用少许无水甲醇洗三次, 抽干。滤渣称重。取少量滤液作含量测定, 其余的滤液量出体积, 添加X克尿素继续进行第二次、第三次包合。添加的尿素量X可按下式划算:

$$X = 0.14V - (B \div \frac{2}{3}A)$$

$$= 0.14V + \frac{2}{3}A = B$$

式中X为需要添加尿素的量(克); V为滤去结晶尿素包合物后滤液与洗液合并的总体积(毫升); A为结晶尿素包合物即滤渣的重量(克); B为溶液中原有的尿素重量(克); 包合物中尿素的含量按2/3计算〔5〕〔6〕。

3. 含量测定(甲酯化法)⁽⁷⁾ 取1ml滤液置水浴蒸去甲醇。加2ml水和2ml乙醚, 分出有机层, 蒸去乙醚。取所得脂肪酸100mg加1.5ml苯、1.5ml甲醇钠和2.0ml无水甲醇, 80℃水浴回流20—30分钟, 冷却至室温。加3ml水和3ml乙醚, 混合均匀, 分出有机层, 用3ml水洗二次, 加入无水硫酸钠干燥, 供气相层析用。

气相色谱测定条件:

DB—I型毛细管柱: N₂: 120ml/min, TC: 200—260℃, TD: 230℃, TInj: 250℃, 进样: 0.4μl。

三、结 果

尿素包合的结果可见图1及表2。

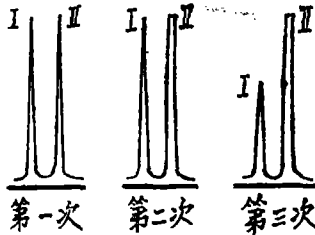


图1 尿素包合后气相色谱图
I、亚油酸 II、r-亚麻酸

表2 尿素包合前后月见草油中r-亚麻酸的含量

| 包合次数 | 包合前 | 包 合 后 | | |
|---------------|-----|-------|------|------|
| | | 第一次 | 第二次 | 第三次 |
| r-亚麻酸的相对含量(%) | 7.3 | 47.7 | 63.1 | 86.2 |

三次包合后得混合脂肪酸0.95克, γ-亚麻酸得率为:

$$\frac{86.2\% \times 0.95}{7.3\% \times 20} \times 100\% = 57.3\%$$

四、讨 论

1. 尿素有一种特殊性能, 能和一些6碳以上的直链化合物形成复合物。这种靠范德华力结合的化合物中尿素形成了一种六角形笼状晶格, 中间有一柱状管道, 只有符合一定立体形态的化合物才能进入管道, 能与脲形成分子复合物的化合物被关闭在脲的晶格中; 当这种晶格遭受破坏时, 被关闭的化合物就自行逸出。不同化合物、同分异构体及几何异构体有不同的结合率。对于月见草油中的成分饱和脂肪酸比不饱和脂肪酸结合率高。不饱和度低者比高者结合率高, 反式比顺式结合率高。因此几种成分的包合顺序为(按从高到低排列): 硬脂酸、棕榈酸、油酸、亚油酸, γ-亚麻酸。⁽⁸⁾ 所以包合后γ-亚麻酸含量高达83.8%, 而硬脂酸, 棕榈酸等成分则在图谱中消失了。

2. 据文献报道⁽⁸⁻¹¹⁾, 月见草油中γ-亚麻酸提取方法有冷冻法、减压蒸馏法、柱层分离法、化学法、树脂法等。相比较而言, 尿素包合法对仪器设备要求低, 包合率高, 操作简单、方便。我们研究进行的这种尿素包合法工艺有较大的经济价值。

参 考 文 献

- 〔1〕 吉林省中医药研究所: 长白山植物志, 第一版, 吉林人民出版社, 1980: 772
- 〔2〕 J. P. Riley; J Chem Soc, 1949: 2728
- 〔3〕 付方浩等: 白求恩医科大学学报, 1987: 13 (1): 1
- 〔4〕 高雅琴等: 中草药, 1982, 13 (9): 1
- 〔5〕 朱廷儒等: 药学学报, 1965, 12 (11): 710
- 〔6〕 A. STROCCHI et al; Chemistry and Physics of Lipids 1975, 15: 87
- 〔7〕 R. Daniel et al; Handbook of Analytical Derivatization, 164
- 〔8〕 法国专利: 1603383; 1971
- 〔9〕 J. B. Brown et al; J Amer Chem soc, 1937, 59: 8
- 〔10〕 肖蔚等: 中草药, 1986, 17 (9): 16
- 〔11〕 H. Schlenk et al; J Amer Chem Soc, 1950, 72: 5001