

技术进展

基于杜仲的全生物炼制研究进展

卢定强^{1,2}, 赵辉¹, 王俊¹, 蒋奔¹, 王加力¹, 凌岫泉¹, 刘骥¹

(1. 南京工业大学药学院, 江苏南京 210009; 2. 江苏省药物研究所, 江苏南京 210009)

摘要:介绍了杜仲资源的有效成分及其生物炼制的现状, 重点从多级多组分分离技术和生物定向转化技术在杜仲全生物炼制的应用进行归纳和分析, 并对杜仲全生物炼制的发展趋势进行了展望。

关键词:生物炼制; 杜仲; 研究进展

中图分类号: S215

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2009)03-0012-06

Development of Eucommia-based biorefinement

LU Ding-qiang^{1,2}, ZHAO Hui¹, WANG Jun¹, JIANG Ben¹, WANG Jia-li¹, LING Xiu-quan¹, LIU Ji¹

(1. College of School Pharmacy, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China;

2. Jiangsu Provincial Institute of Materia Medica, Nanjing 210009, China)

Abstract: Recent researches on the effective components in Eucommia and their biorefinement process are reviewed, and some key technologies related to multistage fractionation and directional biotransformation in Eucommia-based biorefinement are concluded especially. And the future tasks are suggested and the prospects of complete biorefinement of Eucommia are proposed.

Key words: biorefinement; Eucommia; research progress

生物炼制是以可再生的生物质资源为原料, 通过物理、化学及生物学等多种加工转化途径获得平台化合物并进一步加工成各种化工产品的过程, 被认为是能够实现传统石油化工产品的原料替代和加工路线替代的有效手段。近年来绿色生物炼制技术^[1]以绿色植物作为一个自然的化工厂, 通过现代生物技术以及多级多组分分离技术的联用, 可以用来同时制造多种高附加值生物基产品^[2], 正受到世界各国广泛关注。绿色植物杜仲 (*Eucommia ulmoides*. Oliv.) 为我国特有的单科目、单属科、单种属植物, 主要分布于我国秦岭以南山地, 历来以药用为主, 其所含杜仲胶还是重要的轻工业材料。有关杜仲化学成分的研究起步较早, 其深加工及其开发利用已有大量文献报道^[3-6]。笔者基于杜仲全生物炼制的角度出发, 对高附加值生物炼制产品及其相关生物炼制关键技术杜仲生物加工过程中的应用情况进行了概述, 并结合笔者相关的最新研究成果对全生物炼制杜仲资源提出新的思路和设想。

1 杜仲全生物炼制的高附加值产品

1.1 苯丙素类

苯丙素类 (Phenyl propanoids) 是形成木脂素的前

体, 在杜仲中广泛存在。目前对杜仲中苯丙素类的报道主要集中在绿原酸和香草酸等活性成分的研究上。在杜仲中含量较高的苯丙素为绿原酸, 落叶中其含量可达 5%, 且叶片中的绿原酸含量是杜仲皮的 3~6 倍。绿原酸具有抗菌、抗病毒、抗氧化、清除自由基、免疫调节、抗肿瘤、降血脂等作用, 尤其近年来发现绿原酸类物质及其衍生物有良好抗癌、抗艾滋病的作用, 可作为先导设计开发抗癌、抗艾滋病药物。此外, Deyama 等^[7]从杜仲皮中获得的熊果酸衍生物也具有免疫抑制活性。

1.2 环烯醚萜类

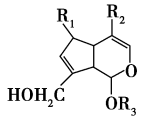
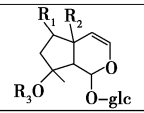
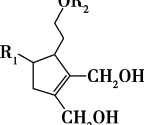
环烯醚萜 (Iridoids) 是植物中的臭蚁二醛转变而来的单萜类化合物, 目前已从杜仲中分离并鉴定的环烯醚萜类化合物有京尼平苷、京尼平苷酸、桃叶珊瑚苷、杜仲醇等 15 种^[8-9], 如表 1 所示。杜仲中的京尼平苷酸具有预防性功能低下、增强记忆功能、抗癌、降压、抗氧化、泻下及促进胆汁分泌等多种药理活性; 京尼平苷有显著的泻下作用和利胆作用; 桃叶珊瑚苷有明显的保肝活性、较强的抗菌和利尿作用^[9]。

收稿日期: 2008-12-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20876076)

作者简介: 卢定强 (1968-), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事生物化工研究, 通讯联系人, 025-83285202, ludingqiang@njut.edu.cn。

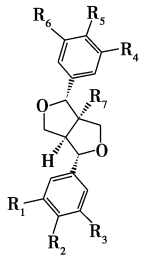
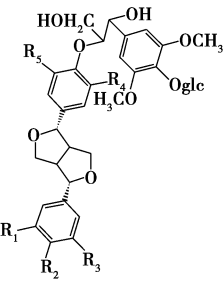
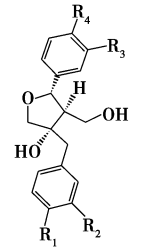
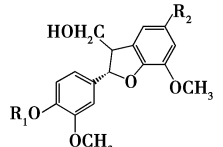
表1 杜仲中的环烯醚萜类化合物

母核结构	基团	化合物名称
	$R_1 = H, R_2 = COOCH_3, R_3 = glc$	京尼平苷
	$R_1 = H, R_2 = COOH, R_3 = glc$	京尼平苷酸
	$R_1 = R_3 = H, R_2 = COOCH_3$	京尼平
	$R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = glc$	桃叶珊瑚苷
	$R_1 = -O-\alpha-D-glc, R_2 = R_3 = H$	杜仲苷
	$R_1 = OH, R_2 = R_3 = H$	筋骨草苷
	$R_1 = R_2 = OH, R_3 = Ac$	哈帕昔乙酸酯
	$R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = H$	雷朴妥苷
	$R_1 = OH, R_2 = H$	杜仲醇
	$R_1 = OH, R_2 = glc$	杜仲醇苷
	$R_1 = H, R_2 = H$	脱氧杜仲醇

1.3 木脂素类

木脂素(Lignans)是植物体中由双分子苯丙素聚合而成的化合物,迄今从杜仲中共分离并鉴定出20多种木脂素及其苷类^[8,10-14],如表2所示。Deyama等^[12]研究了杜仲中的各种木脂素对cAMP磷酸二酯酶的抑制作用,结果表明松脂素二糖苷、1-羟基松脂素二糖苷、中脂素二糖苷和丁香脂素二糖苷均显示出很强的抑制活性,其中木脂素二糖苷的抑制活性最强。Oshima等^[15]对杜仲木脂素的抗补体性进行了研究,丁香脂素糖苷等的活性均较强。张丽萍等^[16]从杜仲叶中提取的松酯醇二葡萄糖苷具有明显的降压作用。

表2 杜仲中的木脂素类化合物

母核结构	基团	化合物名称
	$R_1 = R_3 = R_6 = OCH_3, R_2 = R_5 = O-glc, R_4 = R_7 = H$	中脂素二糖苷
	$R_1 = R_6 = OCH_3, R_2 = R_5 = O-glc, R_3 = R_4 = R_7 = H$	松脂素二糖苷
	$R_1 = R_3 = R_4 = R_6 = OCH_3, R_2 = R_5 = O-glc, R_7 = H$	丁香脂素二糖苷
	$R_1 = R_6 = OCH_3, R_2 = R_5 = O-glc, R_3 = R_4 = R_7 = H$	松脂素单糖苷
	$R_3 = R_4 = OCH_3, R_2 = R_5 = O-glc, R_1 = R_6 = H, R_7 = OH$	1-羟基松脂素二糖苷
	$R_3 = R_4 = R_6 = OCH_3, R_2 = OH, R_5 = O-glc, R_1 = R_7 = H$	杜仲素 A
	$R_1 = R_3 = R_4 = R_6 = OCH_3, R_2 = OH, R_5 = O-glc, R_7 = H$	丁香素单糖苷
	$R_3 = R_4 = OCH_3, R_2 = O-glc, R_5 = R_7 = OH, R_1 = R_6 = H$	1-羟基松脂素-4''糖苷
	$R_3 = R_4 = OCH_3, R_5 = O-glc, R_2 = R_7 = OH, R_1 = R_6 = H$	1-羟基松脂素-4'糖苷
	$R_3 = R_4 = OCH_3, R_2 = R_5 = OH, R_1 = R_6 = R_7 = H(1''与6之间以\beta键相连)$	表松脂素
	$R_3 = R_4 = OCH_3, R_2 = R_5 = OH, R_1 = R_6 = R_7 = H$	松脂素
	$R_3 = R_4 = R_6 = OCH_3, R_2 = R_5 = OH, R_1 = R_7 = H$	中脂素
	$R_1 = R_3 = R_4 = R_6 = OCH_3, R_2 = R_5 = OH, R_7 = H$	丁香素
	$R_3 = R_4 = OCH_3, R_2 = R_5 = R_7 = OH, R_1 = R_6 = H$	1-羟基松脂素
		$R_3 = R_4 = OCH_3, R_2 = R_5 = R_7 = OH, R_1 = R_6 = H$
$R_1 = R_3 = R_4 = R_5 = OCH_3, R_2 = R_7 = OH$		丁香丙三醇- β -丁香脂素醚二糖苷
	$R_2 = R_3 = OCH_3, R_1 = R_4 = O-glc$	橄榄素二糖苷
	$R_2 = R_3 = OCH_3, R_1 = R_4 = OH$	橄榄素
	$R_2 = R_3 = OCH_3, R_1 = O-glc, R_4 = OH$	橄榄素 4''-糖苷
	$R_2 = R_3 = OCH_3, R_1 = OH, R_4 = O-glc$	橄榄素 4'-糖苷
	$R_1 = glc, R_2 = CH=CH-CH_2-O-glc$	脱氢二松柏醇二糖苷
	$R_1 = H, R_2 = CH(OH)CH(OH)CH_2OH(erythro)$	赤式二羟基脱氧二松柏醇
	$R_1 = H, R_2 = CH(OH)CH(OH)CH_2OH(threo)$	苏式二羟基脱氧二松柏醇
	$R_1 = H, R_2 = CH_2-CH_2-CH_2OH$	二氢脱氢二松柏醇

1.4 杜仲胶

杜仲胶是一种天然高分子,国际上习称古塔胶(Gutta-Percha)或巴拉塔胶(Balata),杜仲胶与天然橡胶的化学组成完全相同,但两者的性质却迥然不同,天然橡胶是优良的弹性塑料,杜仲胶则是硬质塑料,这一差别导致它们经历了十分不同的发展道路,前者凭借天赋的优异弹性,在轮胎工业中充当着极其重要的角色,而杜仲胶一直作为塑料代用品,如海底电缆、高尔夫球等。严瑞芳等^[17]研究的“反氏-聚异戊二烯硫化橡胶制法”取得成功,大大拓宽了杜仲胶的功能和应用领域,使得其独有的“橡(胶)-塑(料)二重性”,一度成为研究的热点。

2 基于杜仲有效成分的生物炼制关键技术

2.1 苯丙素类

绿原酸作为杜仲叶中含量最高且具有良好生物活性的苯丙素类化合物被广泛研究,其提取分离方法也日益完善。刘军海等^[18]考察了杜仲叶中绿原酸的提取工艺,结果表明 60% 的乙醇按料液比 1:10 在 80℃ 下提取 2 h 为最佳工艺。李剑敏等^[19]采用微波强化提取杜仲中绿原酸,结果表明采用微波破壁可以明显地提高杜仲叶绿原酸的提取率,微波破壁与传统的水回流法、醇回流法相比,具有成本低、产物收率高及可显著降低提取液中杂质含量等优点。李辉等^[20]在超声条件下分别采用水、甲醇、乙醇、乙酸乙酯、丙酮等不同极性的溶剂提取杜仲叶中绿原酸,结果表明用甲醇提取时,绿原酸提取率最高,超声助提杜仲叶中绿原酸的最佳溶剂条件是 pH 4.5 的 70% 的甲醇水溶液。

相比于微波辅助以及超声辅助提取技术,酶法提取也在杜仲绿原酸提取中有良好的应用。陈晓娟等^[21]研究了酶法提取杜仲叶中黄酮和绿原酸的工艺条件,结果表明果胶酶绿原酸得率可达 1.29%。宋宏新等^[22]采用纤维素酶法提取杜仲叶中的绿原酸,最佳提取工艺下提取率最高可达到 51.84 mg/g,且提取时间大大缩短。

杜仲中绿原酸的分离技术报道多为大孔吸附树脂法,钱骅等^[23]对常见的 17 种大孔树脂对绿原酸的吸附率、吸附速度和解吸率进行了全面的比较,在所实验的对象中 NKA-9 为分离杜仲绿原酸的最适宜树脂。李进飞等^[24]对 NKA-9 树脂对绿原酸吸附分离性能进行了研究,得到的粗产品纯度为 25.12%,收率为 78.5%。NKA-9 型大孔吸附树脂为极性吸附树脂,具有良好的孔隙率和比表面积,易

于吸附杜仲水提取液中绿原酸,且解析过程简单易行。

除此以外,超滤膜分离技术具有操作简单、节能、无污染、可在常温下连续操作等优点,广泛用于化工、食品、生物、制药等领域,特别适用于热敏性物质和生物活性物质的医药领域。杜仲提取液中往往含有多糖、鞣质等大量大分子物质,利用超滤膜可以选择性除去其中的大分子杂质,保留小分子的有效成分。杨祖金等^[25]研究了超滤膜技术应用于杜仲叶绿原酸的分离纯化方法,膜截留相对分子质量 2×10^5 ,在超滤温度 40℃、超滤压力 0.36 MPa、超滤时间 20 min、加水量 24 L 时,所得绿原酸转移率为 99.38%。

2.2 环烯醚萜类

京尼平苷酸和桃叶珊瑚苷是研究最为广泛的 2 个杜仲环烯醚萜类化合物,其提取分离手段与杜仲中绿原酸的提取分离方法有些相似。彭密军等^[26]采用正交实验优化了提取杜仲中京尼平苷酸的工艺,结果表明 80% 的乙醇、温度为 50℃、时间 1 h、提取 1 次、料液比为 1:12 是提取京尼平苷酸的最佳工艺条件。张永康等^[27]进行了超临界 CO₂ 萃取杜仲果实中桃叶珊瑚苷工艺研究,桃叶珊瑚苷得率为 1.921%。

大孔吸附树脂也在杜仲环烯醚萜类化合物的分离中广泛应用,曹慧等^[28-29]比较了 NKA-9、D311、S-8、HPD600、NKA-2、A 型、D140 和聚酰胺等 8 种树脂对杜仲中降血压活性成分京尼平甙的吸附及脱附性能,从中筛选出吸附率及脱附率均较高的 A 型树脂进行实验,并确定了最佳工艺条件。而彭密军等^[30]比较了 AB-8、NKA-9、NKA-II、D-140、D-101、HPD-600、S-8 及聚酰胺 8 种吸附树脂对杜仲中的活性成分京尼平甙和松脂醇二葡萄糖甙的吸附及脱附性能,实验表明同时分离纯化松脂醇二葡萄糖甙和京尼平甙的最佳树脂为 S-8。大孔吸附树脂因其吸附容量大,选择性好,易于解吸附,机械强度高,再生处理简单,吸附速度快,操作简单,得率恒定,产品质量稳定等特点被广泛应用于绿色植物天然有效成分的分离纯化中,其可连续分离多种有效成分是绿色生物炼制过程中多级多组分分离的有效手段。

2.3 木脂素类

杜仲中的木脂素成分尤其是松脂醇二葡萄糖苷具有很高的生物活性,其提取分离技术也有较大的发展。陈晓青等^[31]对杜仲中松脂醇二葡萄糖苷的提取条件进行了优化,其提取率可达 90% 以上。

Deyama 等^[12]采用溶剂提取与活性炭吸附的方法制备获得松脂醇二葡萄糖苷,但该方法溶剂消耗过大且获得的松脂醇二葡萄糖苷纯度不高。在此基础上,彭密军等^[32]筛选了效果较好的树脂对杜仲降压活性成分松脂醇二葡萄糖苷进行有效富集,使用 S-8 型大孔吸附树脂可将松脂醇二葡萄糖苷的含量由原材料中的 0.085% 富集提高到 38.500%。戚向阳等^[33]利用树脂吸附与凝胶色谱柱层析相结合的方法,探讨了杜仲中松脂醇二葡萄糖苷和丁香脂醇二葡萄糖苷的分离纯化,该方法可以获得色谱纯级的松脂醇二葡萄糖苷和丁香脂醇二葡萄糖苷。

除了通过分离技术获得杜仲木脂素类化合物以外,生物技术的应用也开始崭露头角。王维等^[34]利用杜仲内生菌茎点霉(*Phoma* sp.)菌株 SP-16F 生产松脂醇二葡萄糖苷,并对培养条件进行了优化,相比于传统的从杜仲皮或杜仲叶中提取分离松脂醇二葡萄糖苷更具有可持续发展性,最佳条件下的松脂醇二葡萄糖苷产量可达 30 mg/L。

2.4 杜仲胶

杜仲胶的提取方法大多采用化学法或酶法破碎细胞壁后利用石油醚等非极性溶剂将杜仲胶浸出,后经多次醇沉法或者冷冻干燥法对杜仲胶进行回收。马柏林等^[35]比较了发酵法、碱浸法和溶剂法提取杜仲胶的优缺点,结果表明碱浸法可有效地提取杜仲中的杜仲胶,且简单易得。严瑞芳等^[36]经发酵、蒸煮获得粗胶后采用丙酮净化的方法获得理想的杜仲胶。杨振堂等^[37]发明了一种诱导杜仲愈伤组织并提取杜仲胶的方法,该方法是将杜仲幼苗的叶片和茎段接种于添加了 2,4-D 和 60-BA 的固体 MS 或 B₅ 培养基上,培养得到愈伤组织,烘干的愈伤组织粉末在苯或三氯甲烷中浸提 24~48 h,再用甲醇沉淀出杜仲胶。该方法提供了一种通过杜仲细胞离体培养工程获得杜仲有效成分途径,降低了植物资源的浪费和破坏。

3 基于杜仲全生物炼制的研究框架及系统雏形

3.1 多级多组分分离

以多级多组分分离为代表的高效生物分离技术在杜仲的生物炼制过程中已有初步报道,但所涉及的有效成分种类单一,附加值较低,资源浪费严重,且分离过程多为独立单元操作,无法实现连续高效化,已经成熟的生物炼制技术并未在其中得到充分体现。刘六军等^[38]根据杜仲有效成分理化性质的

差异,采用逆流浸提罐组液固浸提原理,变温、变溶剂和浓度、变时间等的分段处理技术,实现了包括绿原酸、松脂醇二葡萄糖苷和杜仲胶在内的 11 种有效成分的分离制备。但在该多级多组分分离过程中需大量的柱层析过程,使得生产所需时间延长,增加了生产成本。

笔者所在课题组长期致力于天然产物分离纯化和定向生物转化方向的研究^[39-43],其中以绿原酸为主的单咖啡酰奎尼酸的高效分离和定向改造已获国家自然科学基金资助。该课题组^[41]采用常用的络合萃取法从杜仲叶片提取液中获得绿原酸,利用络合剂与绿原酸高选择性特异结合,快速地将绿原酸转移到有机相中,并经反萃取实现萃取分离过程,较之柱层析等方法,络合萃取制备绿原酸更加高效简便,选择性更强,且络合剂可回收反复利用,大大地降低了对环境的污染破坏。该课题组正尝试采用络合萃取法多级分离杜仲中其他有效成分,结合模拟移动床色谱分离杜仲中的绿原酸、京尼平苷酸及松脂醇二葡萄糖苷,并将对反应分离耦合进行较为深入的研究。

3.2 生物催化与生物转化

近年来基因组学、蛋白质组学等生物技术的发展大大推动了生物催化与生物转化的基础研究和应用研究。采用生物催化与生物转化技术生产以获得具有更高生物活性的生物基天然产物,或采用现代生物工程技术重构杜仲中内生菌的代谢途径,抑制代谢支路,增强主代谢的代谢流量,以发酵生产超量获得有效成分将逐步在绿色生物炼制技术中兴起。

单就绿原酸的定向生物转化方面的研究就有很多报道,其中对具有抗 HIV 病毒活性的咖啡酸苯乙酯的研究较多。Kishimoto 等^[44]利用绿原酸水解酶对绿原酸进行转酯化定向生物合成咖啡酸苯乙酯,并研究其催化动力学。Widjaja 等^[45]利用酶 Novozym 435 对咖啡酸与苯乙醇进行生物合成获得咖啡酸苯乙酯,且酶 Novozym 435 在反应进行 3 批后仍具有 90% 的催化活性,但转化率不足 90%。

笔者所在课题组在对绿原酸进行高效分离的基础上,对绿原酸转酯化生物合成咖啡酸苯乙酯以及对咖啡酸进行生物合成咖啡酸苯乙酯方面进行了一系列工作,并已筛选获得催化合成选择性高的酯酶^[42],其催化活性以及产率要远远高于普通商品化酯酶,目前正在对该酶的催化机理以及生物反应动力学机制做更深入的研究。

3.3 杜仲全生物炼制系统雏形

在已有研究基础上,对基于杜仲的全生物炼制系统进行了设计和归纳(如图 1 所示),将杜仲的叶片、种子或茎皮经预处理后,通过络合萃取或模拟移动床色谱等多级多组分分离技术和定向生物催化转化技术的联用,可将杜仲资源高效合理地转化为具有高生物活性的生物基天然产物、生物基能源和生物基化工品。

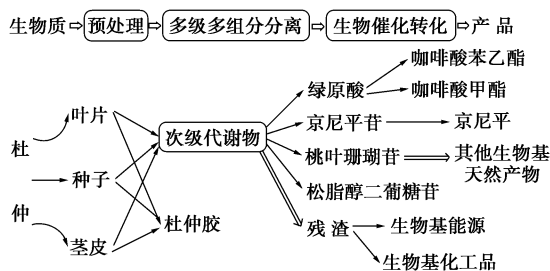


图 1 基于杜仲的全生物炼制系统设计图

4 展望

随着当今社会对绿色植物资源高效利用 and 环境保护要求的进一步提高,绿色生物炼制技术已经从最早的青饲料的贮藏、叶蛋白的提取、叶绿素的生产等传统技术发展为利用现代化工技术以及现代生物技术为基础的多学科综合技术,以实现绿色植物多产品高经济附加值的最终目标。全谷物炼制技术等通过生物炼制技术,以绿色植物为原料获得生物基大宗化学品、生物基能源、生物基精细化工品以及生物基天然产物将进入高速发展阶段。为了更好地实现杜仲这类我国特有的绿色植物资源的高利用率,可从以下三方面进行研究和探索。

4.1 增加定向生物催化和生物转化技术应用

以杜仲次级代谢物或者有效成分为底物,采用生物催化与生物转化技术生产以获得具有更高生物活性的生物基天然产物,或采用现代生物工程技术重构杜仲中内生菌的代谢途径,抑制代谢支路,增强主代谢的代谢流量,以发酵生产超量获得杜仲的有效成分。这种将绿色生物质的初级炼制与发酵过程结合生产生物基天然产物是极为合理可行的,且经炼制后的富含纤维素或木质素等不具有生物活性的残渣在二次炼制后仍可获得具有高附加值的产品,进而实现了杜仲以及其他绿色植物资源的高原子利用率。

4.2 加强生物分离技术以及反应分离耦合

现今更多现代化工领域成熟的以及新兴的分离

技术正在杜仲有效成分的多级多组分分离中进行尝试,如超临界萃取技术、高速逆流色谱技术以及模拟移动床色谱技术正逐步进入杜仲有效成分分离的研究范畴。并且随着现代过程工程原理和手段在生物催化和生物转化领域的渗透,生物反应分离耦合技术也开始在该领域内逐步兴起,这也为绿色植物资源的全生物炼制提供了更加宽广的集成化发展道路。

4.3 提高全生物炼制技术的理论指导

第三代生物炼制技术已经登上舞台,生物炼制技术已经不再仅局限于生物基大宗化学品和生物基能源的研究与开发中,而是更多、更深入地应用于更具有经济价值的生物基精细化工品乃至生物基天然产物的研发与生产中。根据处理操作的经济性能、可用的过程技术以及产物的市场状况合理地设计杜仲的全生物炼制过程,开发具有高生物活性等功能的产品成为以后杜仲资源可持续开发的主要任务,同时迫切需要进一步增强生物炼制过程及产品设计相关理论技术指导,为更好地实现杜仲资源的全生物炼制、获得更完善的生物基经济奠定基础。

参考文献

- [1] Kromus S, Wachter B, Koschuh W, et al. The green biorefinery Austria: Development of an integrated system for green biomass utilization[J]. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly, 2004, 18(1): 7-12.
- [2] Carlsson R. Handbook of Plant and Crop Physiology[M]. New York: Marcel Dekker Inc, 1994: 941-963.
- [3] 刘宁, 粟克喜, 刘春山. 杜仲国内外研究进展[J]. 西南国防医药, 2002(5): 449-451.
- [4] 孙燕荣, 董俊兴, 吴曙光. 杜仲化学成分研究[J]. 中药材, 2004(5): 341-343.
- [5] 汤诗杰, 李和平, 贺善安. 杜仲研究的现状与展望[J]. 林业科技开发, 2007(2): 8-12.
- [6] Kamm B, Kamm M. Biorefineries: Multi product processes[J]. White Biotechnology, 2007, 105: 175-204.
- [7] Deyama T, Ikawa T, Kitagawa S, et al. The constituents of *Eucommia ulmoides* Oliv: V. Isolation of dihydroxydehydroconiferyl alcohol isomers and phenolic compounds[J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35(5): 1785-1789.
- [8] Deyama T, Ikawa T, Kitagawa S, et al. The constituents of *Eucommia ulmoides* Oliv: IV. Isolation of a new sesquignan glycoside and iridoids[J]. Chem Pharm Bull, 1986, 34(12): 4933-4938.
- [9] Takamura C, Hirata T, Ueda T, et al. Iridoids from the green leaves of *Eucommia ulmoides*[J]. J Nat Prod, 2007, 70(8): 1312-1316.
- [10] Takamura C, Hirata T, Yamaguchi Y, et al. Studies on the chemical constituents of green leaves of *Eucommia ulmoides* Oliv[J]. J Nat Med, 2007, 61(2): 220-221.

- [11] Luo X, Ma M, Chen B, *et al.* Analysis of Nine bioactive compounds in *Eucommia ulmoides* Oliv and their preparation by HPLC-photodiode array detection and mass spectrometry[J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2004, 27(1): 63 - 81.
- [12] Deyama T. The constituents of *Eucommia ulmoides* Oliv: I. Isolation of (+)-medioresinol di-*O*-beta-*D*-glucopyranoside[J]. *Chem Pharm Bull*, 1983, 31(9): 2993 - 2997.
- [13] Deyama T, Ikawa T, Nishibe S. The constituents of *Eucommia ulmoides* Oliv: II. Isolation and structures of three new lignan glycosides[J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(9): 3651 - 3657.
- [14] Deyama T, Ikawa T, Kitagawa S, *et al.* The constituents of *Eucommia ulmoides* Oliv: III. Isolation and structure of a new lignan glycoside[J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34(2): 523 - 527.
- [15] Oshima Y, Takata S, Hikino H, *et al.* Anticomplementary activity of the constituents of *Eucommia ulmoides* bark[J]. *J Ethnopharmacol*, 1988, 23(2/3): 159 - 164.
- [16] 张丽萍, 许国, 赵红杰, 等. 杜仲叶降压成分鉴别及其含量分析[J]. *山地农业生物学报*, 2000, 19(3): 191 - 193.
- [17] 李良萍, 李翔, 薛兆弘, 等. 天然橡胶/杜仲胶共混硫化胶性能研究[J]. *特种橡胶制品*, 2001, 22(3): 1 - 3.
- [18] 刘军海, 任惠兰, 裴爱泳. 杜仲叶中绿原酸的提取研究[J]. *时珍国医国药*, 2008(5): 1184 - 1186.
- [19] 李剑敏, 卫兵兵, 陈志红. 微波强化提取杜仲叶中绿原酸的工艺研究[J]. *应用化工*, 2006(4): 243 - 245.
- [20] 李辉, 李亚男, 龙凌亮, 等. 超声助提杜仲叶中绿原酸的溶剂效应[J]. *吉首大学学报: 自然科学版*, 2006(4): 90 - 92.
- [21] 陈晓娟, 周春山. 酶法及半仿生法提取杜仲叶中绿原酸和黄酮[J]. *精细化工*, 2006(3): 257 - 260.
- [22] 宋宏新, 戴瑜. 酶法提取杜仲叶中绿原酸工艺研究[J]. *西北植物学报*, 2006(11): 2383 - 2387.
- [23] 钱骅, 赵伯涛, 张卫明. 杜仲叶绿原酸的提取分离[J]. *中国野生植物资源*, 2001(4): 15 - 16.
- [24] 李进飞, 黄可龙, 李春华. NKA-9型树脂对绿原酸吸附分离性能的研究[J]. *华西药学杂志*, 2004, 19(1): 1 - 4.
- [25] 杨祖金, 江燕斌, 葛发欢, 等. 超滤膜技术分离杜仲叶绿原酸的研究[J]. *中药材*, 2008(4): 585 - 588.
- [26] 彭密军, 周春山, 雷启福, 等. 杜仲中京尼平苷酸的提取工艺研究及应用[J]. *中国中药杂志*, 2004(3): 229 - 231, 277.
- [27] 张永康, 胡江宇, 李辉, 等. 超临界二氧化碳萃取杜仲果实中桃叶珊瑚苷工艺研究[J]. *林产化学与工业*, 2006(4): 113 - 117.
- [28] 曹慧, 陈晓青, 肖建波. 大孔吸附树脂分离纯化杜仲中京尼平武酸[J]. *精细化工*, 2005(11): 838 - 841.
- [29] 曹慧, 陈晓青, 肖建波. A型吸附树脂分离纯化杜仲中京尼平武酸[J]. *离子交换与吸附*, 2005(5): 415 - 423.
- [30] 彭密军, 钟世安, 周春山, 等. 大孔吸附树脂分离纯化杜仲中活性成分[J]. *离子交换与吸附*, 2004(1): 13 - 22.
- [31] 陈晓青, 李宇萍, 彭密军, 等. 杜仲中松脂醇二葡萄糖甙的提纯[J]. *中南工业大学学报: 自然科学版*, 2003(3): 262 - 265.
- [32] 彭密军, 周春山, 董朝清, 等. 树脂吸附法分离纯化杜仲松脂醇二葡萄糖苷[J]. *中国生化药物杂志*, 2004(3): 147 - 150.
- [33] 戚向阳, 陈维军, 张声华. 杜仲中双环氧木脂素二糖苷分离纯化技术的研究[J]. *林产化学与工业*, 2005(4): 47 - 50.
- [34] 王维, 师俊玲, 杨保伟. 茎点菌属产松脂醇二葡萄糖苷的培养条件优化[J]. *农业工程学报*, 2008(6): 287 - 290.
- [35] 马柏林, 王蓝, 张康健, 等. 杜仲胶实验室提取方法的研究[J]. *西北林学院学报*, 1994, 9(4): 67 - 69.
- [36] 中国科学院化学研究所. 杜仲胶综合提取方法: 中国, 1054985A [P]. 1991 - 10 - 02.
- [37] 杨振堂. 诱导杜仲愈伤组织并从中提取杜仲胶的方法: 中国, 1252215 [P]. 2000 - 05 - 10.
- [38] 刘六军, 单超, 陈素文, 等. 杜仲全叶深度综合利用技术路线研究[J]. *北京林业大学学报*, 2005, 27(5): 115 - 117.
- [39] 南京工业大学. 一种连续逆流萃取纯化甘草酸生物转化溶液中甘草次苷的方法: 中国, 200810022180.8 [P]. 2008 - 12 - 10.
- [40] 南京工业大学. 一种吸附分离高纯度绿原酸的新方法: 中国, 200810124130.0 [P]. 2008 - 12 - 03.
- [41] 南京工业大学. 一种络合萃取提纯绿原酸的方法: 中国, 200810156046.7 [P]. 2009 - 02 - 18.
- [42] 南京工业大学. 一株高产绿原酸水解酶的黑曲霉菌株及其应用: 中国, 200810156047.1 [P]. 2008 - 09 - 21.
- [43] Wang J, Lu D Q, Qiao H Q, *et al.* HPLC-PAD-ESI/MS/MS: Tool for investigation of kinetics of enzymatic hydrolysis of mono-caffeoylquinic acids from tobacco waste[J]. *J Biotechnol*. 2008, 136(Suppl 1): 369 - 369.
- [44] Kishimoto N, Kakino Y, Iwai K, *et al.* Chlorogenate hydrolase-catalyzed synthesis of hydroxycinnamic acid ester derivatives by transesterification, substitution of bromine, and condensation reactions[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2005, 68(2): 198 - 202.
- [45] Widjaja A, Yeh T H, Ju Y H. Enzymatic synthesis of caffeic acid phenethyl ester[J]. *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers*, 2008, 39(5): 413 - 418. ■

您想了解粉体加工技术及相关行业信息吗?

请浏览 中国粉体工业信息网 www.chinapowder.cn

粉碎 分级 纳米颗粒制备 混合 分散 改性 造粒 干燥 烧结 散料输送 储存 粉体检测 粉尘爆炸控制等

010 - 62772725 62772135 (Fax)

清华大学材料系逸夫技术科学楼 2713 室