

文章编号:1001-6880(2015)Suppl-0100-04

叶黄素二丁二酸钠的合成及其理化性质分析

崔巍¹,李芬芳^{1*},谭志坚²¹中南大学化学化工学院,长沙410083;²中国农业科学院麻类研究所,长沙410205

摘要:叶黄素分子中含有多个共轭双键,导致其水溶性和稳定性较差,极大地限制了其生物利用度。实验采用三乙胺催化叶黄素和丁二酸酐合成叶黄素二丁二酸酯,并采用单因素法对反应条件进行优化。最佳反应条件为以三乙胺作催化剂,温度35℃,反应时间12 h,叶黄素与丁二酸酐摩尔比1:5。最后采用甲醇钠合成叶黄素二丁二酸钠(Lds),其在水中溶解度约为23.32 mg/mL,而叶黄素几乎不溶于水。同时考察了温度、光照等因素对其保存率的影响。实验结果表明叶黄素二丁二酸钠稳定性和抗氧化性均优于叶黄素,且在保存过程中应避免高温、光照、酸性条件及氧气的存在。

关键词:叶黄素;叶黄素酯;水溶性;稳定性;抗氧化性

中图分类号:O624.32

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.S.025

Synthesis of Lutein Disuccinate Sodium Salt and Analysis of Its Properties

CUI Wei¹, LI Fen-fang^{1*}, TAN Zhi-jian²¹School of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China;²Institute of Bast Fiber Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410205, China

Abstract: Lutein has many conjugated double bonds, which lead to poor aqueous solubility and stability and constrain its application in commercial and clinical fields heavily. Somewhat differently triethylamine was used as the catalyst to synthesis the lutein disuccinate by lutein and succinic anhydride and the effect of the temperature, reaction time and molar ratio on the yield was determined by the single factor experiment. The results indicated that the optimum condition as follow, reaction time was 12 h, temperature was 35℃, molar ratio (lutein:succinic anhydride) was 1:5. Finally, lutein disuccinate sodium salt (Lds) was synthesized by CH₃ONa. The aqueous solubility of Lds was 22.32 mg/ml, but lutein could be barely solved in water and its stability to light, heat and pH was tested. In addition, the hydroxyl free radical scavenging ability was also investigated. The results suggested that Lds had better stability and antioxidant activity than lutein. In order to better preserve Lds, heat, light, acid and air should be avoid.

Key words: lutein; lutein esters; water-solubility; stability; antioxidant activity

叶黄素(Lutein)又名“黄体素”,广泛存在于植物体中,其存在形式在不同的植物体中有所差别,如在金盏花和羽衣甘蓝等大部分果蔬及个别动物体内以游离形式存在;但在万寿菊和橘子等植物体中以脂肪酸酯类形式存在^[1]。叶黄素具有优良的抗氧化活性,在预防动脉硬化和老年黄斑变性(AMD)等疾病时效果显著^[2]。人体不能合成叶黄素,完全依赖食物摄取,早在1995年,美国FDA即已批准其作为食品补充剂用于食品、饮料行业。叶黄素是一种天然脂溶性类胡萝卜素,稳定性受外界因素影响较

大,如光照和高温等;因此其生物利用度较低。一直以来,提高叶黄素的稳定性和水溶性备受科研人士的关注。

值得注意的是,叶黄素酯进入人体之后可被相应酶水解并释放出游离态叶黄素^[3],从而被人体吸收,因此叶黄素酯可作为叶黄素的另一个引伸来源,提高叶黄素酯的水溶性成为新的研究方向。Geoff Nadolski^[4]等人合成了叶黄素二丁二酸钠,但未对其理化性质进行分析。本文改进Geoff Nadolski合成方法,采用单因素法对反应条件进行优化,并对叶黄素二丁二酸钠的理化性质及清除自由基能力进行了测试和分析。

1 材料与方法

收稿日期:2014-12-18 接受日期:2015-02-02

基金项目:国家自然科学基金(21406262)

*通讯作者 Tel:86-018932468981;E-mail:lfflqq@csu.edu.cn

1.1 试剂与仪器

叶黄素(安耐吉), 丁二酸酐(科龙化工), 三乙胺(国药集团), 甲醇钠(光复精细化工)等所需试剂均为分析纯($\geq 98\%$), 实验用水为二次去离子水; 旋转蒸发仪, 上海申胜生物技术有限公司; 真空干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; 紫外分光光度计, 上海棱光技术有限公司。

1.2 合成与表征

改进 Geoff Nadolski 合成方法, 用三乙胺作催化剂合成叶黄素二丁二酸酯, 计算产率并用红外表征, 见图 1。

由图 1 可知, 叶黄素 3371 cm^{-1} 处特有羟基峰消失, 在 1730 cm^{-1} 处出现强烈的羰基峰吸收, 说明叶黄素二丁二酸酯制备成功。

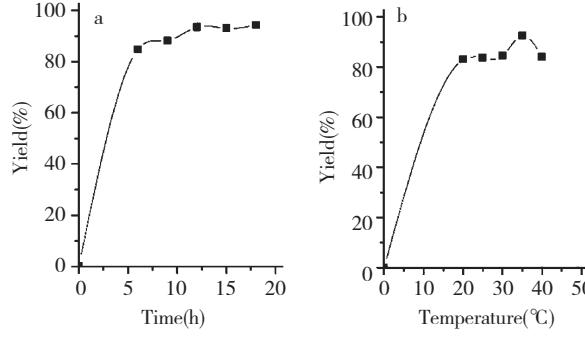


图 2 反应时间(a)、温度(b)和摩尔比(c)对产率的影响

Fig. 2 Effects of reaction time (a), temperature (b) and molar ratio (c) on yield

由图 2-a 可知, 产率随反应时间的延长而增加, 一段时间后产率趋于恒定。这可能是因为原料完全参加反应时以过渡态形式存在, 随着时间的增加, 产物量增多, 12 h 后转化完全。从时间和转化率方面考虑, 选择反应时间为 12 h。

由图 2-b 可知, 产率随温度升高先增大后减小, $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时达到最大值 90%。原因可能是, 温度升高为反应提供的动能变大, 反应易达到过渡态能垒值, 产率增大; 温度达到溶剂沸点后, 部分溶剂挥发导致分子间碰撞几率减小, 产率下降。从能量消耗和转化率方面考虑, 选择反应温度为 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

由图 2-c 可知, 随着叶黄素与丁二酸酐摩尔比增大, 产率先增大后减小, 1:5 时达到最大。这可能是由于当摩尔比较小时, 反应不完全, 产率较低; 而摩尔比过大时, 副反应发生的几率大大增加, 产率降低。因此, 选择摩尔比 1:5。

2.2 溶解度测定

实验采用动态平衡法测定溶解度。首先测定最

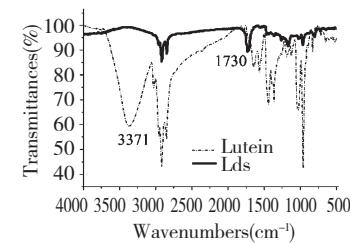


图 1 Lutein 和 Lds 红外表谱图

Fig. 1 IR spectrum of Lutein and Lds

2 结果与讨论

2.1 实验条件优化

为了得到最佳反应条件, 实验采用单因素实验法对反应条件进行优化, 结果见图 2。

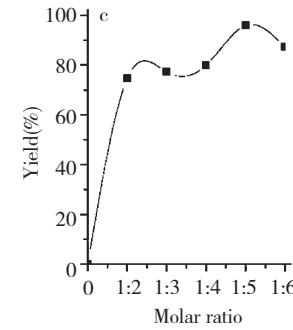


图 3 Lds 在不同溶剂中的最大吸收波长曲线

Fig. 3 Maximum absorption wavelength curve of Lds in different solvents

由图 3 可知, 叶黄素二丁二酸钠在不同溶剂中的最大吸收峰为 $446 \sim 447\text{ nm}$, 次峰为 472 nm 。这与叶黄素的吸收相近, 说明丁二酸酐上的羰基对产物的紫外吸收影响不大。

标准曲线线性拟合得到的回归方程相关系数的

平方均高于 0.997, 说明拟合度较高, 符合 Lambert-Beer 定律。计算得溶解度见表 1。

表 1 Lds 在五种溶剂中的溶解度

Table 1 The solubility of Lds in five solvents

溶剂 Solvent	H ₂ O	CH ₃ OH	CH ₃ CH ₂ OH	CH ₃ OH-H ₂ O	CH ₃ CH ₂ OH-H ₂ O
溶解度 S (mg/mL)	23.32	10.71	0.49	3.045	3.70

由表 1 数据可以看出, Lds 在水中溶解度最大, 乙醇中溶解度最小, 混合溶剂中溶解度相近。根据 Bente Jeanette Foss 等^[5]描述, Lds 在水溶液中以氢键超分子组装体形式存在, 并对有机溶剂非常敏感; 有机溶剂会破坏超分子使其转化为单体, 减小其溶解度。在混合溶剂中的溶解度相近, 可能是由于水

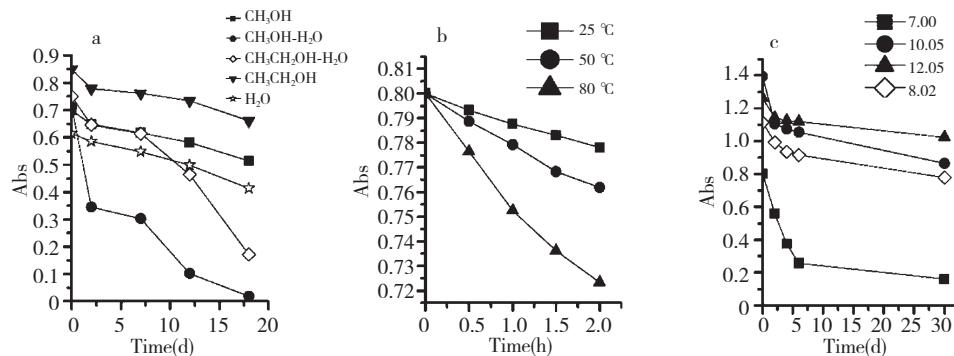


图 4 光照(a)、温度(b)和 pH(c)对 Lds 稳定性的影响

Fig. 4 The effect of light (a), heat (b) and pH (c) on the stability of Lds

2.3.1 光稳定性

图 4-a 数据表明光照对 Lds 稳定性有较大影响, 在混合溶剂中尤为明显。Lds 在不同溶液中保存 18 天后的保存率为乙醇 (77.76%) > 甲醇 (73.29%) > 水 (67.15%) > 乙醇水溶液 (22.81%) > 甲醇水溶液 (2.69%)。而有关研究表明叶黄素晶体溶液在光照 0.5 h 后的保存率只有 0.351%^[7]。因此 Lds 比叶黄素晶体稳定得多。根据叶黄素酯和叶黄素的光解动力学^[6]可知二者降解均为一级动力学, Lds 半衰期大于叶黄素, 即 Lds 对光更稳定, 印证了实验结果。

2.3.2 热稳定性

从图 4-b 可以看出, 随着时间的延长, Lds 发生降解; 温度升高, 降解速度加快。低于 50 °C 时, 降解率较小; 温度为 80 °C 时, 降解率迅速增加。与叶黄素晶体相比, 叶黄素二丁二酸酯热稳定性更好^[6], 因此在保存过程中要尽量避免 80 °C 以上的高温环境。

2.3.3 pH 稳定性

由于 Lds 在酸性溶液中沉淀, 因此只保留中性

的拉平效应增大了 Lds 在混合溶剂中的溶解度。

2.3 稳定性

实验分别从光照、温度、pH 三方面对叶黄素二丁二酸钠的稳定性进行测试; 并设置对照组, 最后计算保存率。结果见图 4。

pH ≥ 7 部分的数据。由图 4-c 可知, pH = 12.05 时保存率最高, 达到 81.13%; pH = 7.00 时保存率最低, 仅为 20.32%。因此 Lds 应在碱性条件下保存, 这与相关文献报道一致^[7]。

2.4 抗氧化能力

利用改进后的 Fenton 反应^[8]对叶黄素和叶黄素二丁二酸酯的清除 · OH 能力进行测定, 结果如图 5 所示。

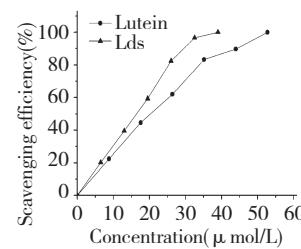


图 5 叶黄素和叶黄素二丁二酸酯清除 · OH 能力

Fig. 5 Hydroxyl free radical scavenging ability of lutein and Lds

由图 5 可知, 清除能力大小为叶黄素二丁二酸酯 > 叶黄素。根据文献^[9]描述, 叶黄素乙酰单酯、

双酯对·OH 均有一定的清除作用,但都弱于叶黄素;因此,叶黄素二丁二酸酯的清除能力最强。这可能是由叶黄素酯化后极性不同造成,极性越大,越容易失去活泼氢,从而清除自由基能力也越强。

3 结论

叶黄素二丁二酸钠(Lds)在水中溶解度约为23.32 mg/mL,对光、热较稳定,且在碱性条件下有利于保存。因此,在储存时应避免直接光照、高温、空气和酸性条件。叶黄素二丁二酸酯对羟基自由基具有较强的清除能力。以上结果都表明本文拓宽了叶黄素在食品和药品等方面的应用,并提供了理论基础。

参考文献

- Chen J(陈佳), Tao ZG(陶正国), Zhang GL(张桂林), et al. Technical parameters study on covering native lutein into zeaxanthin. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2012, 24:1109-1112.
- Sujak A, Gabrielska J, Grudzinski W, et al. Lutein and zeaxanthin as protectors of lipid membranes against oxidative damage: the structural aspects. *Arch Biochem Biophys*, 1999, 371:301-307.
- Norkus EP, Norkus KL, Dharmarajan TS, et al. Serum lutein response is greater from free lutein than from esterified lutein during 4 weeks of supplementation in healthy adults. *J Am Coll Nutr*, 2010, 29:575-585.
- Nadolski G, Cardounel AJ, Zweier JL, et al. The synthesis and aqueous superoxide anion scavenging of water-dispersible lutein esters. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16:775-781.
- Foss BJ, Sliwka HR, Partali V, et al. Hydrophilic carotenoids: surface properties and aqueous aggregation of a rigid, long-chain, highly unsaturated dianionic bolaamphiphile with a carotenoid spacer. *Chem Phys Lipids*, 2005, 135:157-167.
- Li DJ(李大婧), Liu ZL(刘志凌), Liu CQ(刘春泉). Study on degradation dynamics of lutein and lutein esters affected by light and heat. *Jiangsu J Agric Sci*(江苏农业学报), 2008, 24:97-98.
- Li DJ(李大婧), Fang CZ(方桂珍), Liu CQ(刘春泉), et al. Stability of lutein and its esters. *Chem Ind Forest Prod*(林产化学与工业), 2007, 27:112-116.
- Lv HH(吕欢欢), Wang XY(王小艳), Wang HL(王洪伦), et al. Analysis of rape bee pollen supercritical fluid extract using HPLC-FLD and its free radicals scavenging activity investigation. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2013, 25:1631-1637.
- Shen LY(申利英). Preparation of high purified lutein and synthesis of its derivatives. Lanzhou: Lanzhou University of Technology(兰州理工大学), PhD, 2009.
- Kong XF(孔祥峰), Hu YL(胡元亮), Yang LS(杨龙圣), et al. Isolation and identification of pathogenic bacteria from endometritis in dairy cows and bacteriostasis of Chinese herbal medicine. *Anim Husb Vet Med*(畜牧与兽医), 2005, 37(9):15-18.
- Wu X(吴信), Kong XF(孔祥峰), Li TJ(李铁军), et al. Research progress of the replacement of antibiotics. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2006, 18:S131-136.
- Hu YL(胡元亮). Traditional Chinese Veterinary Science(中兽医学). Beijing: China Agriculture Press, 2006. 23-29.
- Zhang X(张霞), Sun BZ(孙宝忠), Ha SLG(哈斯格根), et al. Study on extraction of gallnut antibacterial substances and their antibacterial effects. *Sci Tech Food Ind*(食品工业科技), 2010, 31:290-294.
- Li XP(李秀萍), Li CY(李春远), Qu GR(渠桂荣), et al. Research of *Galla chinensis*. *Acta Chin Med Pharm*(中医药学报), 2002, 30(3):72-74.
- Zhang HY(张海燕). Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Forsythia suspensa*. *Chin Med Mat*(中药材), 2000, 23:657-661.
- Xiao HM(肖会敏), He Y(何悦), Wang SW(王四旺), et al. Bacteriostasis in vitro of volatile oil of *Forsythia suspensa*. *Inner Mongolia J Tradit Chin Med*(内蒙古中医药), 2011, 15:99-100.
- Zhang XZ(张显忠), Guo AJ(郭爱军), Wang DC(王德才), et al. Study on antibacterial activity and method for extracting the effective components of Chinese herbal medicine such as clove. *J Taishan Med Univ*(泰山医学院学报), 2008, 10:760-763.
- Wu R(吴蕊), Xu LF(许礼发). The research advances of the inhibitory effect of traditional Chinese medicine on *Escherichia coli* in vitro. *J Med Pest Contr*(医学动物防制), 2008, 5:352-355.
- Duncan SH, Leitch ECM, Stanley KN, et al. Effects of esculin and esculetin on the survival of *Escherichia coli* O157 in human faecal slurries, continuous-flow simulations of the rumen and colon and in calves. *Brit J Nutr*, 2004, 91:749-755.
- Xu Y(徐艳), Cao SQ(曹松屹), Qu GT(曲格霆). In vitro antibacterial action of rhubarb. *Chin J Inf Tradit Chin Med*(中国中医药信息杂志), 2007, 2:43-44.