

# 青蒿药用成分提取分离技术现状

中国科学院化工冶金研究所  
生化工程国家重点实验室 (北京 100080) 赵兵\* 王玉春 欧阳藩

**摘要** 综述了目前有关青蒿主要化学成分及性质,对国内外青蒿药用成分提取分离技术进行了总结,指出了存在的主要问题及今后的研究前景。

**关键词** 青蒿 药用成分 提取 分离

青蒿 *Artemisia annua* L. 中含有多种药用成分,它们具有抗菌、抗寄生虫、解热以及促进免疫等作用,且毒性极低,无副作用。我国学者于 70 年代初期首次从中分离出的青蒿素 (artemisinin) 被 WHO 称为“世界上目前唯一有效的疟疾治疗药物”。世界上对青蒿素及其衍生物的研究热潮正在兴起,某些研究结果已显示出它们对艾滋病等有疗效<sup>[1,2]</sup>。

青蒿为一年生草本植物,在我国分布很广,但青蒿素含量一般较低(0.1%~0.6%),野生或人工栽培的青蒿一般在盛叶期和花蕾期青蒿素含量最高<sup>[3,4]</sup>。应用基因工程、细胞工程等手段提高青蒿素含量、采用生物反应器技术大规模组织培养生产青蒿素成为世界上研究的热点。中科院化冶所,中科院植物所等单位承担的国家“九·五”攻关项目“大规模植物细胞培养生产青蒿素”,利用发根农杆菌诱导出青蒿素含量较高的青蒿发根,并进一步提高青蒿素含量,同时研究了适用于青蒿发根及芽培养的新型生物反应器及控制技术,为大规模生产青蒿素打下了基础<sup>[5~8]</sup>。

目前青蒿药用成分分离提取虽然已有几种方法,但大规模提取中仍然采用传统的有机溶剂提取等方法。随着生物技术的应用发展以及青蒿素等衍生物的不断开发,相关的分离提取技术将会对青蒿资源的有效利用、生物培养等有积极促进作用。

## 1 主要药用成分及性质

青蒿中的药用成分可分为挥发性和非挥发性两部分。挥发性成分主要为挥发油,包括蒿酮、异蒿酮、桉油精、左旋樟脑、丁香烯、蒎烯、龙脑、石竹烯氧化物、倍半萜醇等成分。其中樟脑、龙脑、丁香烯、蒿酮、异蒿酮等一般含量较高<sup>[9~12]</sup>。挥发油具有解热镇痛、抗菌消炎、止咳平喘等功效。非挥发性成分主要有青蒿素、青蒿甲素、乙素、丙素及青蒿酸、香豆素、黄酮、豆甾醇等。其中青蒿素、青蒿甲素、乙素、丙素均为倍半萜内酯,它们的生源关系均属于 amorphane 型,其特征是 A、B 环顺联,异丙基与桥头氢呈反式关系。在青蒿素及青蒿丙素中,A 环碳架均被一个氧原子打断,在青蒿甲素中有两个甲基均已失去,异丙基氧化程度最高<sup>[11,13,14]</sup>。

## 2 提取方法

2.1 水蒸气蒸馏:主要用于青蒿挥发油。厦门产青蒿经水蒸气蒸馏,脱水得淡黄色油状液,产率 0.2%~0.5%,经气相色谱测定含有 16 种成分,主要为左旋樟脑(24%)、异蒿酮(16.7%)、 $\beta$ -丁香烯(12.7%)等<sup>[12]</sup>。另有报道,出油率为 0.2%~0.25%,除含上述成分外,还有  $\alpha$ -蒎烯、月桂烯、柠檬烯等 20 余种成分<sup>[9]</sup>。将四川产青蒿切碎、经水蒸气蒸馏得绿黄色油状物,产率 0.29%,含 26 种元素,主要成分为樟脑(23.25%)、龙脑(21.30%)等<sup>[12]</sup>。提取荷兰产青蒿挥发油主要成分为蒿酮(63.9%)、蒿醇(7.5%)、 $\alpha$ -愈创烯(4.7%)

\* Address: Zhao Bing, Institute of Chemical Metallurgy, Chinese Academy of Sciences, Beijing

赵兵 男,副研究员,负责和参加完成了多项中科院重大项目,并已取得专利 4 项、中科院院级鉴定成果 2 项。目前正在进行国家“九·五”攻关项目“植物细胞大规模培养生产青蒿素研究”,主要从事新型生物反应器及青蒿中药用成分提取研究。

等<sup>[15,16]</sup>。

2.2 有机溶剂浸提法:是目前广泛使用的提取方法。有机溶剂主要有醇类(甲醇、乙醇等)、醚类(乙醚、石油醚等)、烷类(正己烷、环己烷、二氯甲烷、氯仿等)。

以北京市售的青蒿叶末为原料,加乙醇浸泡,浓缩后用2% NaOH除去酸性部分,立即用水洗至中性,脱水浓缩至膏状,加聚酰胺粉用47%乙醇浸泡,浸取液浓缩后用乙醚提取<sup>[11]</sup>。Pamiego等<sup>[17]</sup>将新鲜的组织培养产物破碎后,用甲苯提取,过滤后减压浓缩物用甲醇溶解,再用0.2% NaOH在50℃溶解30 min,接着用醋酸中和。Vonwiller等<sup>[18]</sup>用干燥的青蒿茎及叶为原料,在室温下用甲醇提取,机械搅拌24 h后过滤,滤液减压蒸馏,用乙醇提取2次,加碳酸钠溶液提取,用浓盐酸调至pH=1,在室温下再用乙醚提取3次,提取物用无水硫酸钠脱水,减压蒸发至干。浓缩物用含苯磺酸的甲醇液溶解,搅拌反应3 d。实验中发现青蒿中含有的脂肪酸室温下在有酸催化剂存在时易被甲醇酯化,而其中的青蒿酸却保持不变。上述方法不仅可以单独提取青蒿酸,而且可以同时提取青蒿素。用沸乙醇提取青蒿素及青蒿酸,蒸发除去乙醇后,浓缩物用溶剂洗涤,去除其中的非极性物质,但在提取洗涤过程中青蒿酸损失近半,同时亦给青蒿酸的进一步纯化造成困难<sup>[19,20]</sup>。

Klayman等<sup>[21,22]</sup>用乙醚、石油醚等提取得到含青蒿素等多种成分的粗品。Brown<sup>[23]</sup>将组织培养产物在液氮下破碎,然后在索氏提取装置中用乙醚提取,减压蒸发除去溶剂。Klayman等<sup>[22]</sup>将从中国引种在美国生长的青蒿破碎后,以低沸点溶剂提取,如二氯甲烷、氯仿、乙醚、丙酮、石油醚(30℃~60℃)等,结果表明石油醚效果最好。干青蒿用沸腾的石油醚提取48 h,减压蒸发得到的黑色糖浆状物,再用氯仿溶解,并同时加入乙腈去除其中的蜡状物,过滤,减压蒸发得到膏状青蒿素粗品。

Singh等<sup>[24]</sup>进行了半工业规模分离提取

试验。以50 kg欧洲产青蒿叶末为原料,用正己烷为溶剂在室温下提取,减压浓缩,用硅胶柱层析进一步分离纯化。Elsohly等<sup>[25,26]</sup>进行了大规模提取青蒿素研究。以干青蒿叶末为原料,正己烷为溶剂,置索氏提取器中提取48 h,蒸发脱除有机溶剂后的浓缩物在正己烷-乙腈体系中提取3次,用NaCl将乙腈提取物中的水脱除,减压蒸发去乙腈得到黄色浓缩物用于进一步分离精制各种成分。试验共处理400 kg青蒿叶末,得到青蒿素485 g,产率0.12%;青蒿酸2.12 kg,产率0.53%;青蒿素B 170 g,产率0.04%。

2.3 超临界流体提取:葛发欢等<sup>[27,28]</sup>对黄花蒿化学成分进行研究,表明青蒿素的超临界CO<sub>2</sub>萃取提取率较传统工业生产中的溶剂法(汽油及稀乙醇)提高11%~59%,较传统汽油法提高2倍以上,提取时间大大缩短,成本降低,控制不同温度、压力、时间,还可得到十八醇等成分。

### 3 分离及精制

青蒿素粗品一般采用重结晶、柱层析等方法加以分离<sup>[29]</sup>。将乙醚提取粗品用硅胶柱层析分离,采用石油醚-乙酸乙酯为洗脱剂,分别得到了青蒿甲素、乙素。酸性粗品中还得到了黄酮甲、香豆素、及黄酮乙。青蒿汽油提取后的残渣,加乙醚提取,提取液用硅胶柱层析得到了青蒿丙素。水蒸气蒸馏得到的挥发油通过减压分馏(18 mm)、硅胶柱层析,分别得到了左旋樟脑、异蒿酮、β-丁香烯、苈烯、β-蒎烯<sup>[11]</sup>。用稀乙醇提取、氯仿处理得到了淡黄色针状莨菪亭结晶。又从氯仿液中得到了香豆素无色结晶、3,5-二羟基-6,7,3,4-四甲氧基黄酮结晶、万寿菊甲醚柱状结晶。氢氧化钠液提取后的中性部分经氧化铝及硅胶柱层析,再经薄层法制备得到5-羟基-3,6,7,3,4-五甲基黄酮结晶<sup>[9]</sup>。将含青蒿素及青蒿酸的粗品中的脂肪酸转化为非极性脂,然后用乙醚提取,碳酸钠溶液提取,得到的粗青蒿酸通过短闪烁硅胶柱(short flash silica column)去除有色极性物质,再用乙腈-乙醚结晶得到

青蒿酸纯品。这种方法大大地提高了青蒿酸的回收率。第一次碱、醚提取后残液用柱层析、重结晶得到了青蒿素纯品<sup>[18]</sup>。用硅胶柱层析、重结晶得青蒿酸无色结晶、青蒿素 B、青蒿素,再用结晶、重结晶方法得到了青蒿素纯品<sup>[25]</sup>。

#### 4 结语

目前青蒿药用成分提取收率低是造成资源浪费的重要原因。大规模生产中,挥发油主要采用水蒸气蒸馏提取,减压蒸馏分离;非挥发性成分主要采用有机溶剂提取、柱层析及重结晶分离。尽管进行了一些其它提取分离方法研究,如超临界萃取,但由于投资大、难于工业放大、成本高等问题未能用于大规模生产。

青蒿药用成分多为胞内产物,提取时有效成分从胞内释放,扩散进入提取介质的快慢是影响回收率和操作成本的主要因素。如果在提取时采用超声波破碎、强化传质等方法<sup>[30]</sup>,同时采用生化反应工程原理提高传质性能,仍有可能在改进现有设备及工艺的基础上大大提高回收率以及经济效益。

由于青蒿组织培养技术的迅速发展,研究从各种细胞,组织培养产物中直接提取分离青蒿素等药用成分亦有重要意义。

#### 参考文献

- 1 谢德玉,等. 植物学报,1995;12(4):28
- 2 王存志,等. 中草药,1996;27(4):253
- 3 李典鹏,等. 广西植物,1995;15(3):254

- 4 钟凤林,等. 中国中药杂志,1997;22(7):405
- 5 Liu C, et al. Biotechnol Letters, 1997; 19(9):927
- 6 Liu C, et al. Proceedings of the Fourth Asia-Pacific Biochemical Engineering Conference, Bieijing, 1997; 115
- 7 蔡国琴,等. 生物工程学报,1995;11(4):315
- 8 秦明波,等. 植物学报,1994;36(增刊):165
- 9 刘鸿鸣,等. 药学学报,1981;16(1):65
- 10 钟裕容,等. 中药通报,1983;8(6):31
- 11 屠呦呦,等. 药学学报,1981;16(5):366
- 12 彭洪,等. 中药材,1996;19(9):458
- 13 冯文字,等. 中草药,1990;21(8):38
- 14 谢德玉,等. 中草药,1995;12(4):28
- 15 Woerenbay H J, et al. Flavour Fragrance J, 1993;8(3):131
- 16 Charls D J, et al. J Essential Oil Res, 1991;(3):33
- 17 Paniego N B, et al. J Enzyme Microbial Technol, 1996;18:526
- 18 Vonwiller S C, et al. Planta Med, 1993;59:563
- 19 Roth R J, et al. Chemical Education, 1989;66:349
- 20 Rorh R J, et al. Planta Med 1987;53:501
- 21 Klayman D J. Science, 1985;228:1049
- 22 Klayman D J. et al. J Nat Prod, 1984;47(4):715
- 23 Brown G D, et al. J Nat Prod, 1994;57(7):975
- 24 Singh A, et al. Planta Med, 1988;54:474
- 25 Elsohly H N, et al. J Nat Prod, 1990, 53(6):1560
- 26 Elsohly H N. et al. Pharmaceutical Res, 1987, (4): 258
- 27 葛发欢,等. 中药材,1994;17(8):31
- 28 葛发欢,等. 中药材,1995;18(6):31
- 29 安银岭主编. 植物化学. 哈尔滨:东北林业大学出版社,1996:3391
- 30 郭孝武. 中草药,1993;24(10):548

(1998-06-10 收稿)

### 欢迎订阅 1999 年天津市一级期刊 《开卷有益——求医问药》杂志

△本刊宣传医药知识、指导合理用药; △实用性强,内容丰富,信息量大,雅俗共赏; △本刊聘请专家答疑,是您的家庭医生; △介绍古方、验方,推荐新药,是医务人员的用药参谋。

主要栏目:医生论坛、临床随笔、名方讲评、专家答疑、怡寿园、女性天地、优生优育、夫妻之间、男科医话、古方今用、杏林新方、老药新彩、用药之道、性病防治、健与美、医海拾贝、吃的学问、验方集腋、医药博览、病友园地、咨询窗等。

本刊为月刊,每月 10 日出版。每册定价 3.50 元。邮发代号 6-68,欢迎向当地邮局订阅。

编辑出版:《开卷有益——求医问药》编辑部

地址:天津市(和)新华南路庆云里 21 号 邮政编码:300050 电话:(022)23397064