

用超临界 CO₂ 萃取技术提取青蒿素的研究

广西林业科学研究院林产化工研究所(南宁 530001) 何春茂* 梁忠云

摘要 用超临界 CO₂ 萃取技术对植物黄花蒿进行萃取研究,考察了萃取压力、温度及时间对青蒿素收率的影响。萃取产物经简单的分离后得到纯度≥95%青蒿素产品,经 TLC、IR、MS、¹HNMR 和 ¹³CNMR 分析确认。

关键词 超临界 CO₂ 萃取 青蒿素 黄花蒿

青蒿素(artemisinin, QHS)是我国科学工作者于 70 年代首次从黄花蒿 *Artemisia annua* L. 中分离出的^[1]具有抗疟、抗菌、解热、免疫等药理活性,对恶性疟、脑型疟及抗氯喹株疟的治疗具有高速、低毒、速效等特点,且其抗疟机制与氯喹、甲氟喹等不同^[2],目前尚未发现有抗药性,对解决疟原虫的抗药性非常有效。我国生产的青蒿素衍生物制剂蒿甲醚、蒿琥酯已在许多国家和地区投入临床使用^[3]。多年来,我国及世界上许多国家都在研究青蒿素的提取分离方法,先后开发出石油醚、酒精及混合溶剂等有机溶剂提取工艺,并投入工业化生产。但传统有机溶剂法提取青蒿素,需经过多次萃取浓缩,能耗高,周期长,成本高,部分溶剂挥发逃逸造成环境污染。而且有机溶剂对青蒿素的溶解选择性差,致使提取物杂质(蜡状物)含量高,青蒿素的精制、提纯步骤多且难度大,收率低;全合成方法和生物合成方法也未能实现工业化生产。

超临界流体萃取青蒿素,作为溶剂的 CO₂ 价格低,无毒、不燃,可以循环使用,生产不造成环境污染。CO₂ 萃取青蒿素工艺简单,周期短,操作温度接近常温,青蒿素几乎不发生热裂解等化学变化。通过改变 CO₂ 密度和操作参数(萃取压力、温度),可提高 CO₂ 对

青蒿素的溶解选择性,萃取物中杂质(蜡状物)含量低,青蒿素提纯精制简单,收率高,产品质量好,有很好的工业应用前景。

1 试验装置与操作

本试验采用瑞士 NOVA 公司生产的超临界流体萃取装置,萃取罐容积为 4 L。

试验所用的原料为黄花蒿全草,产于广西百色地区,含水率为 8%~12%(气干),青蒿素含量为 0.296%。CO₂ 为广西河池化学工业集团公司产品,纯度≥99.5%,含水率≤0.02%,无异味。

黄花蒿草经粉碎筛分后投进萃取罐,从钢瓶出来的 CO₂ 经过滤器过滤后由压缩机压缩至设定压力。温度由经过萃取罐夹套的循环水控制并稳定。当萃取罐达到所需压力、温度后,开始循环萃取并计算萃取时间。含有青蒿素的 CO₂ 降压后进入分离罐,青蒿素(及杂质)在分离罐分离析出,CO₂ 送入压缩机循环使用。萃取物进行简单的分离精制即得到青蒿素纯品。

2 萃取物处理与分析

2.1 萃取物处理:萃取物从分离罐取出,加数倍量的乙醇溶液在一定温度下溶解,并加粉状活性炭适量,脱色趁热过滤除去活性炭,用少量热乙醇溶液洗涤活性炭 3 次,洗涤液和过滤液合并,静置,青蒿素即结晶析出,过

* Address: He Chunmao, Research Institute of Chemical Processing and Utilization of Forest Products, Guangxi Academy of Forestry, Nanjing

何春茂 男,1963 年生,毕业于广西大学化工系,工学学士,现任广西林业科学研究院林产化工研究所所长,高级工程师。1992 年曾到英国 Heriot-Watt 大学化学系进修天然有机化合物合成与分析技术。多年来主要从事植物有效成分提取、分离及深加工研究,已获多项科技成果,发表学术论文数篇。

滤,结晶体用 50%乙醇溶液进行重结晶。重结晶体置恒温烘箱中在 60℃~70℃下烘干即得青蒿素纯品。

2.2 青蒿素分析

2.2.1 薄层层析(TLC):将产品与青蒿素标准品进行 TLC 分析比较,用碘紫外光显色或用过氧化物显色剂(硫氰酸铵 0.625 g,硫酸亚铁 0.875 g,溶解于 12 mL 蒸馏水中并滴加 0.1 mL 浓硫酸配制成溶液)^[4]喷洒显色,两者的 R_f 值一致。用 60%石油醚(40℃~60℃)和 40%乙醚混合液为展开剂时,R_f 值为 0.36。各样品 TLC 分析均显示单一圆点。

2.2.2 光谱分析:产品经 IR、NMR (¹H, ¹³C)、MS 分析确认青蒿素结构。

2.2.3 质量指标分析:产品质量指标:熔点为 152℃~154℃,旋光度 [α]_D²⁵ = +75.3°(c, 1.644, 氯仿),含量 99.42%。

3 结果与讨论

3.1 黄花蒿草粒度试验:试验表明,适宜的原料粒度能缩短萃取时间,有利于提高青蒿素收率。说明超临界 CO₂ 萃取青蒿素的传质过程是受植物细胞内扩散控制的。因此试验原料需预先破碎。本研究均采用粒度为 0.2~2 mm 的黄花蒿草碎料进行试验。

3.2 青蒿素收率与萃取时间关系:以相同的原料粒度(0.2~2 mm)在相同的萃取温度(333 K)、萃取压力(20 MPa)和 CO₂ 循环量(2.0~2.5 kg/h)下,进行萃取时间与青蒿素收率关系试验,试验结果如表 1 所示。试验结果表明,萃取开始时青蒿素收率随萃取时间的延长而增加,当萃取时间达 2 h,收率基本达到最大值,此时延长萃取时间收率增加甚微。因此后面的试验按萃取 2 h 进行。

3.3 青蒿素收率与萃取压力关系:以相同的原料粒度(0.2~2 mm)在相同的萃取条件下,进行三个萃取温度(308 K,318 K,333 K)的萃取压力与青蒿素收率关系试验,结果见表 2。从试验结果看出,在相同的萃取条件下,青蒿素收率随萃取压力的升高而增加。各试验温度在萃取压力达 20 MPa 时,青蒿素

收率基本达到最大值。

表 1 萃取时间与收率关系(20 MPa, 333 K, 2.0~2.5 kg/h)

萃取时间 (h)	投料量 (g)	青蒿素 (g)	得率 (%)	收率 (% ^①)
0.5	710	1.0934	0.154	52.0
1.0	605	1.3734	0.227	76.7
2.0	700	1.9740	0.282	95.3
3.0	610	1.7934	0.294	99.3
4.0 ^①	650	1.8395	0.283	95.6
^②	680	1.9380	0.285	96.3

注:①系统达到萃取条件后,浸泡 1 h,再循环萃取 3 h;

②系统达到萃取条件后,浸泡 4 h,再循环萃取 3 h;

③收率为得率与原料青蒿素含量的百分比。

3.4 青蒿素收率与萃取温度的关系:在相同的萃取条件下,在一定的温度内(308K~333K),青蒿素收率随温度升高而显著提高。如萃取压力为 20 MPa 时,青蒿素收率 308 K 时为 72.3%,318K 时为 85.5%,333K 时为 94.6%。升高萃取温度,有利于青蒿素的超临界 CO₂ 萃取。但温度上升,萃取物中杂质含量也随之升高,增加了青蒿素提纯精制的难度,同时温度过高,青蒿素还会发生热裂解等化学变化。因此,萃取温度不宜过高。当萃取温度为 333K 时,收率已达 94.6%,基本达到萃取要求。

表 2 萃取压力与收率关系(2 h, 2.0~2.5 kg/h)

温度 (K)	压力 (MPa)	投料量 (g)	青蒿素 (g)	得率 (%)	收率 (% ^①)
308	8.0	700	0.7140	0.102	34.5
308	10.0	700	1.1109	0.159	53.7
308	12.0	700	1.1009	0.157	53.0
308	14.0	650	1.2415	0.191	64.5
308	16.0	650	1.3170	0.203	68.4
308	20.0	675	1.4445	0.214	72.3
318	10.0	590	0.9499	0.161	54.4
318	12.0	605	1.2080	0.200	67.4
318	14.0	650	1.4238	0.219	74.0
318	16.0	600	1.5928	0.265	89.5
318	20.0	585	1.4801	0.253	85.5
333	10.0	710	1.3660	0.192	65.0
333	12.0	600	1.4151	0.236	79.7
333	14.0	575	1.4901	0.257	86.8
333	16.0	650	1.6912	0.260	87.9
333	20.0	590	1.6520	0.280	94.6
333	25.0	620	1.7617	0.284	95.9

注①收率为得率与原料青蒿素含量的百分比。

4 结论

4.1 用超临界 CO₂ 从黄花蒿草萃取青蒿素,其质量传递是受植物细胞的内部扩散控制的。因此,对黄花蒿草必须进行粉碎或预浸泡。

4.2 萃取操作条件对青蒿素收率有很大影响,在一定萃取温度下,提高萃取压力,收率提高。同样,在一定萃取压力下,提高萃取温度,青蒿素收率亦提高。即改变萃取压力、温度可以得到较高的收率,但有个极限值。本研究在最佳萃取工艺条件下,青蒿素收率大于

95%。

4.3 超临界 CO₂ 对青蒿素具有良好的溶解性,萃取周期短。通过改变超临界 CO₂ 萃取工艺条件,可提高青蒿素的溶解选择性,使提纯精制青蒿素简单、容易,青蒿素产品纯度高、质量好。

参考文献

- 1 青蒿素结构研究协作组. 科学通报,1977,22:142
- 2 王京燕. 中草药,1994,25(3):152
- 3 王存志,等. 中草药,1996,27(4):253

(1998-11-16 收稿)

Studies on Extraction of Artemisinin from Sweet Wormwood (*Artemisia annua*) by Supercritical Carbon Dioxide

He Chunmao and Liang Zhongyun (Research Institute of Chemical Processing and Utilization of Forest Products, Guangxi Academy of Forestry, Nanning 530001)

Abstract *Artemisia annua* L. was extracted with supercritical CO₂ at different pressure, temperature and contact time to optimize the yield of artemisinin (QHS), which may achieve a yield well over 95% based on the content of QHS in the raw material *A. annua* L.. The CO₂ extract can be simply purified with other separation method to obtain a final product with a purity over 99%. The authenticity of the product was verified by TLC, IR, MS, ¹HNMR and ¹³CNMR.

Key words supercritical CO₂ extraction *Artemisia annua* L. artemisinin

中药鹿茸性激素的含量测定

海军总医院药剂科(北京 100037) 凌云* 罗方成** 李秋侠 鲍燕燕 张永林

摘要 用放射免疫法测定了中药鹿茸雌二醇和睾酮的含量。结果显示澳鹿茸雌二醇含量(15.3 ± 1.82) ng/mL,梅花鹿茸的含量为(11.4 ± 1.26) ng/mL 与鹿角镑(1.96 ± 0.26) ng/mL 相比有极显著性差异($P < 0.01$),鹿茸伪品和鹿角胶的雌二醇含量与鹿角镑相比没有显著性差异($P > 0.05$),提示雌二醇是鹿茸治疗宫冷不孕的物质基础;测定鹿茸中雌二醇的含量可作为评价鹿茸品质的依据;鹿茸中睾酮的含量低,提示睾酮不是鹿茸壮阳的有效成分,进一步研究鹿茸中促雄激素样物质,必将为鹿茸的壮阳作用提供依据。

关键词 鹿茸 雌二醇 睾酮 放射免疫法测定

鹿茸是著名的壮阳药,为鹿科动物梅花鹿 *Cervus nippon* Temminck 或马鹿 *C. elaphus*

L. 雄鹿未骨化密生茸毛的幼骨。具壮肾阳、益精血、强筋骨和调冲任之功效,主治阳

* Address: Ling Yun, Department of Pharmacy, Navy general Hospital, Bdijin

** 海医校 98 届药学专业