

· 制剂与质量 ·

超临界状态下压力对穿心莲内酯萃取结晶的影响¹张文成¹, 潘 见¹, 陈克勋², 谢慧明^{1*}

(1. 合肥工业大学 农产品生物化工教育部重点实验室, 安徽 合肥 230069;

2. 中国科学技术大学化学与材料学院, 安徽 合肥 230026)

摘 要: 目的 利用超临界 CO₂ 萃取结晶技术纯化穿心莲内酯。方法 采用系统观察法考察了超临界 CO₂ 萃取结晶分离对穿心莲内酯晶体形态、纯度、结晶量的影响, 并采用扫描电镜、HPLC 法分析结果。结果 穿心莲内酯晶体形态随压力的升高而变细、变短; 随着压力的升高, 晶体纯度提高, 结晶量增加。结论 超临界 CO₂ 能萃取并同步高效结晶分离穿心莲内酯, 为开发高质量中药活性成分提供一条捷径。

关键词: 穿心莲内酯; 超临界 CO₂ 流体萃取; 结晶

中图分类号: R 286. 2; R 286. 02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)03-0262-03

Effect of pressure in supercritical state on extraction and crystallization of andrographolide

ZHANG Wen-cheng¹, PAN Jian¹, CHEN Ke-xun², XIE Hui-ming¹

(1. Key Laboratory of Bioprocess of State Education Ministry, Hefei University of Technology, Hefei 230069, China;

2. School of Chemistry and Material, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

Abstract: **Object** To separate and purify andrographolide by supercritical CO₂ extraction and crystallization. **Methods** The method of systematic observation was used to investigate the crystal appearance, purity and mass of andrographolide by supercritical CO₂ extraction and crystallization, analyzing by scanning electron microscope (SEM) and HPLC. **Results** The higher the pressure, the smaller and shorter the crystal shape, and the purer the purity, the more the mass of andrographolide. **Conclusion** This technique is a innovation of traditional supercritical fluid extraction (SCFE) technique, which realizes highly effectual separation of andrographolide by supercritical CO₂ extraction and synchronous crystallization, develops a new technology to separate andrographolide and other active ingredients from Chinese traditional herbs.

Key words: andrographolide; supercritical CO₂ fluid extraction; crystallization

穿心莲为爵科植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees 的干燥地上部分。穿心莲主要活性部位为二萜内酯和黄酮类化合物, 具有诱导细胞分化^[1], 保肝降酶^[2]及提高胆汁分泌量, 并改变其物理特性等药理作用^[3]。穿心莲内酯类化合物临床上用于治疗急性胃肠炎、扁桃体炎、肝炎和抗癌等。为提高穿心莲内酯分离效率和产品纯度, 笔者采用超临界流体萃取结晶技术对穿心莲内酯进行高效分离纯化^[4]。本文报道超临界 CO₂ 萃取结晶压力变化对穿心莲内酯晶体形态、纯度及结晶量的影响, 同时考察了萃取结晶温度对纯度的影响。

1 材料和仪器

穿心莲浸膏(穿心莲内酯含量为 30%)和穿心莲内酯原料(穿心莲内酯含量为 98%)由合肥拓峰

生物工程有限责任公司提供; 穿心莲内酯对照品购于中国药品生物制品检定所; CO₂ 食品级。

32 MPa 1.6 L 超临界 CO₂ 萃取-结晶装置: 萃取结晶釜 1.6 L (高径比为 10:1); Waters HPLC 系统: 515 型输液泵, 2487 紫外双光束检测器; Hitachi X-650 扫描电子显微镜(日本日立)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件^[5]: 色谱柱: Waters Symmetryshield C₁₈ (150 mm × 3.9 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (65:35); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 205 nm。

2.2 标准曲线的制备: 精密称取穿心莲内酯对照品 1.82 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并加至刻度, 摇匀, 得对照品贮备液。吸取该溶液 1.0 mL, 转移至 5 mL 量瓶中, 定容至刻度, 摇匀。依次进样 2,

* 收稿日期: 2003-05-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(29976008)

作者简介: 张文成(1973—), 男, 山东烟台人, 博士生, 主要进行天然药物有效成分超临界流体分离纯化新技术研究。

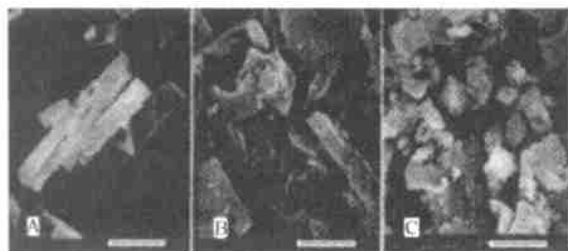
Tel: (0551) 2900134 Fax: (0551) 2900814 E-mail: zwc263@263.net

6, 10, 14, 18 μL 。以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标进行线性回归。穿心莲内酯在 0.12~1.30 μg 与峰面积线性关系良好, 回归方程为: $Y = 3470 + 674X$, $r = 0.9990$ 。

2.3 浸膏供试品溶液的制备: 穿心莲浸膏用乙醇加热溶解, 滤过, 得滤液, 测定得穿心莲内酯含量为 45 mg/mL 。

2.4 结晶供试品溶液的制备: 精密称取结晶产物 2.00 mg , 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并加至刻度, 摇匀, 即得。

2.5 压力对晶体形态的改变: 取穿心莲内酯置萃取釜中结晶器上, 经超临界 CO_2 萃取一段时间后, 结晶板上出现穿心莲内酯晶体薄层。晶体的扫描电镜见图 1。由图 1 可见, 经过超临界 CO_2 萃取结晶后的穿心莲内酯晶体的形态随压力的升高, 长方体晶体变细、变短。



A-9 MPa B-15 MPa C-21 MPa

图 1 不同压力下穿心莲内酯超临界 CO_2 萃取结晶的颗粒扫描电镜图 (Bar= 15 μm)

Fig 1 SEM micrographs of andrographolide crystals obtained by supercritical CO_2 extraction in different pressure (Bar= 15 μm)

2.6 压力对穿心莲内酯的影响

2.6.1 压力对穿心莲内酯含量的影响: 控制萃取-结晶釜温度在 50 $^{\circ}\text{C}$, 萃取时间为 90 min , 流量为 20 L/min , 压力分别选择 8, 12, 18, 22 MPa 。将结晶器自底从顶部平均分为 3 段, 在中段取样。实验原料采用穿心莲浸膏, 压力-穿心莲内酯含量变化曲线见图 2。

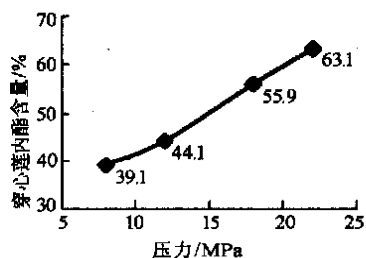


图 2 压力对穿心莲内酯含量的影响

Fig 2 Effect of pressure on andrographolide

2.6.2 压力对穿心莲内酯结晶量的影响: 萃取-结晶釜温度仍控制在 50 $^{\circ}\text{C}$, 萃取时间为 90 min , 流量为 20 L/min , 压力分别选择为 8, 12, 15, 18, 22 MPa , 仍在结晶器中段取样, 实验原料采用穿心莲内酯原料, 压力-穿心莲内酯质量分数 (质量分数=局部结晶量/总结晶量) 变化曲线见图 3。

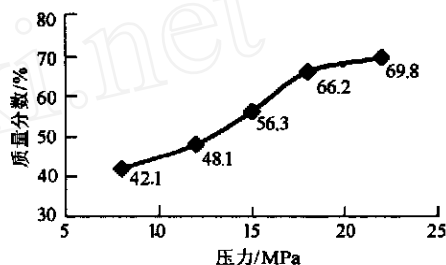


图 3 压力对穿心莲内酯结晶量的影响

Fig 3 Effect of pressure on crystal mass of andrographolide

2.7 温度对穿心莲内酯含量的影响: 实验原料采用穿心莲浸膏。控制萃取-结晶釜压力在 18 MPa , 萃取时间为 90 min , 流量为 20 L/min , 温度分别选择为 40 $^{\circ}\text{C}$, 45 $^{\circ}\text{C}$, 50 $^{\circ}\text{C}$, 55 $^{\circ}\text{C}$, 60 $^{\circ}\text{C}$ 。将结晶器自底从顶部平均分为 3 段, 在中段取样。温度-穿心莲内酯含量变化曲线见图 4。可见在其他工艺参数不变的情况下, 穿心莲内酯含量与温度基本也呈正相关, 但影响程度较小, 曲线变化平缓。

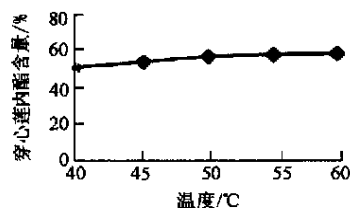


图 4 温度对穿心莲内酯含量的影响

Fig 4 Effect of temperature on andrographolide

3 讨论

穿心莲内酯为二萜类化合物, 相对黄酮类、生物碱类物质极性偏低, 适于超临界 CO_2 技术萃取; 而通过乙醇改良, 调和 CO_2 极性, 更有利于提高超临界 CO_2 萃取极性较高、相对分子质量较大的天然活性物质。

在超临界状态下, 萃取相平衡受外场作用, 如结晶器干扰、表面吸附力、重力、分子间作用力等, 结晶与溶解形成竞争, 出现了穿心莲内酯同步萃取结晶; 且压力越高, 超临界 CO_2 溶解度越大, 单位时间成核数目越多^[6,7], 则晶体越短小。

萃取压力越高, 穿心莲内酯在超临界 CO_2 中的

溶解度越大,克服其他作用力的负面影响越强,可促进穿心莲内酯晶体向结晶器上端生长。

因天然药物中活性成分部分为结晶性组份,在采用超临界技术开发该产品时,因萃取分离伴随结晶的现象,造成管道堵塞,此为超临界流体萃取技术发展的很大障碍。本实验所用的同步萃取结晶技术改良了传统超临界流体萃取分离工艺。

References

- [1] Matsuda T, Kuroyanagi M, Della G, *et al*. Cell differentiation-inducing diterpene from *Andrographis paniculata* Nees [J]. *Chem Pharm Bull*, 1994, 42(6): 1216-1225.
- [2] Kapil A, Koul IB, Banerjee S K, *et al*. Antihepatotoxic effects of major diterpenoid constituents of *Andrographis paniculata* [J]. *Biochem Pharmacol*, 1993, 46(1): 182-185.
- [3] Tripathi G S, Tripathi Y B. Choleric action of andrographolide obtained from *Andrographis paniculata* Nees [J]. *Phytother Res*, 1991, 5(4): 176-184.
- [4] Pan J, Zhu J Z. Separation method for material composition by supercritical fluid crystallization [P]. CN: 1220906A, 1999-06-30.
- [5] Hu X Q, Pan J, Zhang W C, *et al*. The determination of lactone concentration of andrographide by RP-HPLC method [J]. *J Hefei Univ of Tech-Nat Sci* (合肥工业大学学报·自然科学版), 2001, 24(6): 1083-1086.
- [6] Helfgen B, Türk M, Schaber K. Theoretical and experimental investigations of the micronization of organic solids by rapid expansion of supercritical solutions [J]. *Powder Technol*, 2000, 110: 22-28.
- [7] Kröber H, Teipel U. Material processing with supercritical antisolvent precipitation: process parameters and morphology of tartaric acid [J]. *J Supercrit Fluid*, 2002, 22: 229-235.
- [8] Türk M. Formation of small organic particles by RESS: experimental and theoretical investigations [J]. *J Supercrit Fluid*, 1999, 15: 79-89.

短程蒸馏提纯胡麻籽油中 α -亚麻酸的工艺研究

许松林, 郑

(天津大学 精馏技术国家工程研究中心, 天津 300072)

摘要:目的 研究短程蒸馏技术提纯胡麻籽油中 α -亚麻酸的工艺条件。方法 利用短程蒸馏装置的特点探讨蒸馏温度、压力、进料速率、预热温度、刮膜器转速等操作参数对 α -亚麻酸纯度的影响。结果 确定了刮膜式短程蒸馏技术提纯 α -亚麻酸的最佳条件: 蒸馏温度 $90^{\circ}\text{C}\sim 120^{\circ}\text{C}$, 压力 0.3 Pa , 进料温度 60°C , 进料速率 $90\sim 110\text{ mL/h}$, 刮膜转子速率 150 r/min 。结论 应用短程蒸馏技术提纯 α -亚麻酸, 操作简便, 效率高, 容易实现产业化。

关键词: 胡麻籽油; 短程蒸馏; α -亚麻酸

中图分类号: R 284.2

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)03-0264-03

Technology of refining α -linolenic acid in Semen Sesam i oil by short path distillation

XU Song-lin, ZHENG Tao

(National Engineering Research Center for Distillation Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: **Object** To study the technological conditions of refining α -linolenic acid by short-path distillation (SPD). **Methods** According to the characteristic of SPD, the effect of the operating parameters, such as the distillation temperature, the system pressure, the feeding rate, and the agitating speed, were studied on the purity of α -linolenic acid. **Results** The appropriate process conditions for the purification of α -linolenic acid by SPD are: distillation temperature $90^{\circ}\text{C}\sim 120^{\circ}\text{C}$, pressure 0.3 Pa , feeding temperature 60°C , feeding rate $90\sim 100\text{ mL/h}$, and rotating speed 150 r/min . **Conclusion** Refining α -linolenic acid by SPD is a simple and convenient method. It is easy to achieve industrialization.

Key words: Semen Sesam i oil; short path distillation (SPD); α -linolenic acid

短程蒸馏(short-path distillation, SPD)又称分子蒸馏(molecular distillation),是一种在高真空条件下进行特殊蒸馏技术。短程蒸馏技术解决了大量

常规蒸馏技术所不能解决的问题。广泛应用于分离低挥发度、高相对分子质量、高沸点、高黏度、热敏性和具有生物活性的物料^[1,2]。在传统中草药的分离提

* 收稿日期: 2003-06-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20176037); 天津市科技发展计划资助项目(0131086114)

作者简介: 许松林(1966—),男,安徽人,天津大学制药工程专业副研究员,博士,主要从事中药生产新技术开发和高等制药分离工程教学工作。