

大黄素纯化工艺的研究

杜永峰, 许丽梅, 姚秉华

(西安理工大学理学院应用化学系, 陕西西安 710054)

摘 要:以 30% 大黄素粗粉为原料, 经丙酮、95% 乙醇回流提取进行初步纯化, 乙酸乙酯溶解初步纯化产品, 再进行碱提酸沉, 得橙黄色沉淀。对丙酮提取过程中的提取温度、丙酮倍量、提取时间等三个因素进行了单因素实验, 通过正交实验确定了最佳工艺条件, 采用分光光度法测定精制大黄素含量, 达到 88.41%。结果表明, 该方法操作简单, 实用性强, 可避免氯仿、苯等试剂的使用, 减少对操作者健康的危害。

关键词:大黄素, 提取, 纯化

Study on the method of purification of emodin

DU Yong-feng, XU Li-mei, YAO Bing-hua

(Department of Applied Chemistry, School of Science, Xi'an University of Technology, Xi'an 710054, China)

Abstract: Using 30% emodin as raw material, acetone and 95% ethanol as the first and second circumfluence solvents, the purified product was obtained. Alkaline extraction and acid precipitation was finally used to purify emodin. During the acetone extracting process, three factors including extraction temperature, fold of acetone, and extraction time were studied by single factor analysis method. Then, through orthogonal experiment, the optimal process was obtained. The purified emodin was detected by improved spectrophotometry. The content was up to 88.41%. The method is convenient, practical, and avoids the harm result from chloroform or benzene to worker's health.

Key words: emodin; extraction; purification

中图分类号: TS201.2

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2008)03-0157-03

大黄味苦, 性寒, 具有泻热通肠、凉血解毒、逐瘀通经等功效, 是一种具有重要药理作用的天然药用植物。现代药理实验研究表明, 大黄所含的蒽醌类物质, 尤其是主要活性成分大黄素具有广泛的生理活性, 对心血管系统、中枢神经系统、血液循环系统等均有作用, 可用于抗炎、抑菌、保护肝肾、清除自由基、改善微循环等^[1]。为了提高大黄素纯度, 促进该药物的进一步利用, 本文建立了一种纯化大黄素的新方法, 其浓度达到 88.41%, 本法还避免了氯仿、苯等有毒试剂的使用以及树脂柱吸附法的繁冗操作。另外, 大黄素为游离蒽醌, 分子结构中的酚羟基增强了其酸性, 故选用碱提酸沉法对其进行进一步纯化。结果表明, 该工艺容易控制、产品含量高、稳定性好、适合于工业化生产。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大黄粗粉(纯度 30%)、大黄素标准品(纯度 98%) 购自陕西瑞康生物医药有限公司; 丙酮、乙醇、乙酸乙酯、碳酸钠、盐酸、氢氧化钠 均为分析

纯, 购自西安化学试剂厂; 实验用水 为去离子水。

UV-2102 型紫外可见分光光度计、2100 型可见分光光度计 上海仪器有限公司; 酸度计 上海精密科学仪器有限公司; AY120 型电子天平 日本岛津; 电热恒温水浴锅 天津市泰斯特仪器有限公司; RE-52AAA 旋转蒸发仪 上海嘉鹏科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺路线

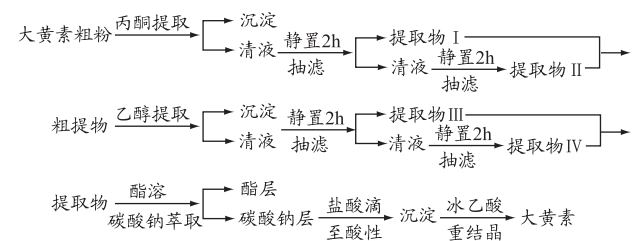


图 1 大黄素的提取纯化工艺

1.2.2 大黄素的提取与纯化 精密称取大黄粗粉 10g 于 500mL 圆底烧瓶中, 加 12 倍量丙酮, 60℃ 水浴中回流提取 60min, 趁热过滤, 滤液静置 2h, 抽滤, 得沉淀, 合并静置两次后的粗提物。将该粗提物置于 500mL 圆底烧瓶中, 加 14 倍量 95% 乙醇, 置 90℃ 水浴中回流提取 60min, 趁热过滤, 滤液静置 2h, 抽滤, 得沉淀, 合并静置两次后的提取物。

收稿日期: 2007-07-20

作者简介: 杜永峰(1970-), 男, 副教授, 研究方向: 天然产物的开发与利用。

用 40mL 乙酸乙酯溶解提取物,5% Na_2CO_3 溶液萃取数次,合并萃取液,加适量 10% HCl 至酸性,得橙黄色沉淀,冰醋酸重结晶,得纯化后的大黄素。

1.2.3 大黄素含量的测定 精密称取纯化后大黄素粉末 0.0515g,置于 100mL 容量瓶中,加乙醇定容,摇匀。移液管移取该溶液 1mL,加入 1mL 5mol/L NaOH 溶液,用去离子水稀释至 10mL,摇匀,放置 10min,以空白溶液为参比,在 530nm 处测定吸光度,进行含量计算。

2 结果与讨论

2.1 丙酮提取实验

2.1.1 提取温度的选择 称取干燥的 30% 大黄素粗粉 4 份,每份 10g,按料液比 1:14 加入丙酮,分别放入 50、60、70、80 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴锅中恒温回流提取 60min,在 530nm 处测定吸光度。合并提取液,浓缩,放置结晶,结果如表 1 所示。

表 1 提取温度对大黄素含量的影响

提取温度 ($^{\circ}\text{C}$)	吸光度	大黄素含量 (%)	大黄素收率 (%)
50	0.421	52.8	42.24
60	0.515	58.4	48.67
70	0.548	61.5	53.39
80	0.562	60.9	50.75

结果表明,大黄素提取率随温度的升高而增大,但温度继续升高时,提取率不再升高,而是呈下降趋势,这是由于丙酮的沸点在 56.2 $^{\circ}\text{C}$,温度超过提取剂沸点对于大黄素含量的增加无促进作用。

2.1.2 丙酮倍量的选择 称取干燥的 30% 大黄素粗粉 4 份,每份 10g,依照实验方法将丙酮用量分别定为 6、10、12、14 倍,在 530nm 处测定吸光度,合并提取液,浓缩,放置结晶,结果如表 2。

表 2 丙酮倍量对大黄素含量的影响

丙酮倍量	吸光度	大黄素含量 (%)	大黄素收率 (%)
6	0.415	52.3	43.58
10	0.486	54.8	45.67
12	0.516	57.4	45.92
14	0.524	58.2	46.56

2.1.3 提取时间的选择 称取干燥的 30% 大黄素粗粉 4 份,每份 10g,按料液比 1:14 加入丙酮,在 60 $^{\circ}\text{C}$ 分别恒温回流提取 30、60、90、120min,在 530nm 处测定吸光度。合并提取液,浓缩,放置结晶,结果如表 3 所示。实验表明,提取时间延长有助于提高大黄素的收率,但丙酮沸点较低,易于挥发,因此确定最佳提取时间为 60min。

表 3 提取时间对大黄素含量的影响

提取时间 (min)	吸光度	大黄素含量 (%)	大黄素收率 (%)
30	0.525	60.2	48.16
60	0.547	61.4	51.17
90	0.532	61.9	49.44
120	0.519	59.5	49.51

通过单因素实验,确定最佳提取条件为:提取温度 60~70 $^{\circ}\text{C}$,丙酮倍量 12~14 倍,提取时间 30~

60min。实验还考察了丙酮浓度和搅拌与否对大黄素收率的影响:无水丙酮有利于大黄素在溶剂中的溶解;搅拌加强了溶剂与物料的接触,在一定程度上能提高大黄素的收率。

2.1.4 正交实验 针对提取温度、提取时间、丙酮倍量三个因素,以大黄素的提取率与其含量的乘积为综合指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交表对这三个因素进行综合考察,因素水平见表 4,结果表略。

表 4 正交实验因素水平表

水平	因素		
	A 提取温度($^{\circ}\text{C}$)	B 提取时间(min)	C 丙酮倍量
1	60	45	10
2	70	60	12
3	80	75	14

结果表明,三因素对大黄素得率的影响主次顺序为 $C > B > A$,最优组合为 $A_1B_2C_2$,即提取温度 60 $^{\circ}\text{C}$,提取时间 60min,丙酮倍量 12 倍。该结果与单因素实验确定的最佳提取条件相一致,而且进一步对实验条件进行优化,有利于大黄素的纯化。

2.2 乙醇提取实验

实验中选择乙醇作为二次提取溶剂,考察了 40%、60%、80%、95% 等不同浓度的乙醇水溶液对大黄素提取效果的影响,实验发现,95% 乙醇对大黄素的提取效果最佳,从大黄素的收率和含量考虑,确定大黄素的二次提取溶剂选用 95% 乙醇,提取温度 90 $^{\circ}\text{C}$,提取时间为 60min,乙醇倍量为 14 倍。

2.3 重结晶溶剂的选择

实验中选用了五种溶剂作为大黄素的重结晶体系,并比较了各种溶剂对大黄素的精制效果。称取 0.5g 66.46% (HPLC 测得其含量) 大黄素 5 份,各加入适量溶剂,加热使其完全溶解,趁热过滤,将滤液放凉,或浓缩放置。待析出物质不再增加时,抽滤,将滤渣干燥称重。

表 5 不同溶剂对大黄素重结晶的结果

溶剂	大黄素的 含量(%)	大黄素质量 (g)	大黄素的 收率(%)
甲醇	80.62	0.284	68.90
80% 乙醇	81.53	0.262	64.28
无水乙醇	80.37	0.350	80.90
乙酸乙酯	83.02	0.296	73.95
冰乙酸	83.02	0.296	73.95
丙酮	78.29	0.214	50.42

结果表明,各种溶剂对大黄素均有一定的纯化作用,其中以乙醇和冰乙酸效果最好,重结晶对于高纯度大黄素的进一步纯化有一定的作用。从大黄素的收率和含量来看,将重结晶的溶剂确定为冰乙酸。

3 结论

传统的纯化大黄素工艺多用有机溶剂(氯仿、苯等)回流萃取,有机层浓缩后,再用不同强度的碱液按由弱到强的顺序进行梯度萃取,水层酸化后即沉淀出游离蒽醌。由于这些方法均是直接用苯、氯仿等溶剂与酸水回流萃取,需要消耗大量的有机溶剂,生产成本低,而且在操作过程中有大量苯或氯仿蒸汽挥发,严重危害操作者的身体健康,也污染了环

翻白草活性成分的萃取

张 俭,李胜华,胡 浩,刘立中,唐优良,伍贤进*
(怀化学院生物工程系,湖南怀化 418008)

摘 要:以翻白草全草为实验材料,用 70% 的乙醇为溶剂,采用超声波环流提取方法对翻白草进行粗提取,再用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇依次对提取液进行萃取,减压干燥得到提取产物。测定萃取产物黄酮的含量,结果显示,用乙酸乙酯萃取翻白草活性成分效果最好。

关键词:翻白草,黄酮,活性成分,萃取

Extraction of active substance of *Poterntilla*

ZHANG Jian, LI Sheng-hua, HU Hao, LIU Li-zhong, TANG You-liang, WU Xian-jin*

(Bioengineering Department of Huaihua University, Huaihua 418008, China)

Abstract: The ethanol (70%) was used to refine *Poterntilla* by super voice waving - circulation. The refined production was extracted with using petroleum ether, ethyl acetate and n-butyl alcohol, then gotten the production by torrefying. The experiment results showed that was best to refine the active substance of *Poterntilla* by examining the content of flavonoid in the extracted product.

Key words: *Poterntilla*; flavonoid; active substance; extraction

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2008)03-0159-02

翻白草 (*Poterntilla discolor* Bge) 为蔷薇科植物, 主要分布在北半球的温带和寒带, 少数几种分布在南半球。在中国有 88 种, 其中 24 种为中国特有, 主产于山东、辽宁、安徽、河北、河南、内蒙古、湖北、江苏、广西、福建等地^[1]。翻白草味苦性平, 应用历史悠久, 多种医药典籍中均有记载。由于翻白草的提取物具有特殊药理学活性, 人们对翻白草的化学成分开展了大量的研究, 其主要化学成分有: 萜类、甾体、黄酮类和多酚类等^[2~4]。翻白草的降血糖等活性多与黄酮类化合物有关^[5], 民间多用翻白草的水提液即水煎液治疗糖尿病, 国内外的大部分研究都是以水为溶剂, 对翻白草进行提取。本实验用 70% 乙醇对翻白草全草粉末进行超声波环流提取, 得到粗提液^[6], 以石油醚、乙酸乙酯、正丁醇三种不同有机溶

剂依次对翻白草粗提液进行萃取, 为翻白草药效实验提供材料和参考数据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

翻白草样品 2004 年 10 月采自湖南省溆浦县西南山坡地, 采集后移栽至怀化学院生物园种植, 2006 年 7 月取鲜样; 石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、乙醇均为国产分析纯。

TXNW-10B 超声波循环提取机 北京弘祥生物技术开发公司; RE-52AA 旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂; 微波真空干燥箱 贵州新奇微波工业有限责任公司; UV-752 紫外分光光度计 上海光谱仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 翻白草的粗提 称取翻白草全草适量, 50~60℃ 干燥 8h, 粉碎, 称取 300g 放入超声波环流提取机, 加入 3L 70% 的乙醇, 要确保超声波变幅杆末端潜入液面的深度大于 30mm。设置超声波功率、时间、工作间隙, 40℃ 超声波循环提取 40min, 工作频率 40kHz。

收稿日期: 2007-08-14 * 通讯联系人

作者简介: 张俭 (1967-), 男, 硕士, 副教授, 主要从事细胞生物学和药理学研究。

基金项目: 国家科技基础条件平台建设子项目 (2005DKA21006); 湖南省植物学重点建设学科资助项目。

境。改进后的工艺先用丙酮及乙醇分步纯化, 产品用乙酸乙酯溶解, 再进行碱提酸沉及重结晶, 建立了一条快速、简便、高效的纯化工艺路线。结果表明, 该工艺容易控制, 无毒副作用, 适合于工业化生产。

参考文献:

[1] 孙小梅, 马聪, 吴士筠, 等. 大黄素的分光光度测定及其应

用[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2001, 20(4): 13~16.

[2] 张新乐, 吴铁, 许碧莲, 等. 加碱提取何首乌中大黄素工艺的探讨[J]. 现代医药卫生, 2007, 23(7): 974~975.

[3] 王学军, 杨沛霖, 张伯崇. 大黄总游离蒽醌提取与纯化工的初步研究[J]. 中医儿科杂志, 2007, 3(1): 43~45.

[4] 杨成勇, 刘峰, 刘丽娜. 分光光度法测定决明子中大黄素的含量[J]. 山东医药工业, 2001, 20(6): 15~16.