

中药大黄中羟基蒽醌类成分的分离

邹华彬 吴波 杜爱琴 王少坤 樊剑程

(山东大学化学与化工学院,济南 250100)

摘要 依据正交试验设计方法,研究了用乙醇和乙醚等溶剂分离中药大黄中羟基蒽醌类成分(蒽醌及游离羟基蒽醌类成分)及游离羟基蒽醌类成分的最佳分离条件。试验表明,乙醇的用量及回流次数对提取产率有很大影响,而回流时间的影响相对较小。100 g 大黄干粉的最佳分离条件是:用 90 mL 95% 乙醇浸润,再用 150~175 mL 乙醇回流,回流 3 次,每次 30~40 min,即可较充分地将羟基蒽醌类成分总量的 84% 及游离羟基蒽醌类成分总量的 82% 提取出来。

关键词 中药大黄 蒽醌 游离羟基蒽醌 分离

中药化学成分通常利用溶剂法进行分离^[1~5]。用任何一种溶剂分离中药化学成分,所得到的提取液或提取物,仍然包含多种理化性质较类似的化合物,尚需进一步分离、精制,最后才能得到单一成分。在分离、精制过程中,要消耗大量的有机溶剂及化学试剂,降低价格昂贵的有机溶剂及化学试剂的消耗,并达到较高的制备产率,具有重要的经济意义。

大黄是一种重要的中草药。其中的游离羟基蒽醌类成分大黄酸有致泻作用,而大黄素、大黄酚及大黄素甲醚是降血脂的有效成分。因此,研究大黄中游离羟基蒽醌类成分的最佳分离条件,具有很高的应用价值。以往的有关文献^[1~5]并没有详细报道最佳的分离条件。笔者采用正交试验设计方法^[6],研究了溶剂法及梯度 pH 萃取法分离的最佳条件。

1 实验部分

1.1 药品与试剂

大黄:(1)粉状:粒度小于 0.17 mm 的占 47.7% (质量分数),粒度为 0.17~1 mm 的占 52.3% (质量分数);(2)片状:0.5 cm×0.5 cm,厚度 1~2 mm。均产于四川;

展开剂:石油醚(沸程 60~90℃)与乙酸乙酯按 7:3 混合;

95% 乙醇、乙醚、异戊醇、氯仿、石油醚及乙酸乙酯:均为分析纯,江苏南京中山集团公司化工厂;

实验用水为去离子水。

1.2 薄层硅胶板的制备

配制 0.5% 羟甲基纤维素钠水溶液,静置 1 周,取上层清液与 GF₂₅₄ 硅胶粉,按 2.5:1(质量比)配制调浆,铺板(15 cm×4.8 cm),铺好后放置 2 天,使其干透,于 110℃ 下活化 1 h,放入干燥器中,备用。

1.3 实验步骤

1.3.1 乙醇提取

称取 100 g 大黄粉,先加入 90 mL 95% 乙醇,使大黄粉浸润,再加入 150~175 mL 95% 乙醇,在圆底烧瓶中加热回流,趁热抽滤(在该过程中,一定要避免极细小大黄颗粒进入滤液),合并滤液,将滤液移入圆底烧瓶中,蒸馏浓缩,浓缩液移入培养皿中,于红外干燥箱中(90±2)℃ 缓慢蒸发,干燥至恒重,得羟基蒽醌类成分样品。

1.3.2 乙醚萃取

将乙醇提取中所得样品用少量水浸泡,放入搅拌机中,加入 150 mL 水,搅拌,将提取物粉碎成粒度极细小的糊状物,用 400 mL 乙醚,分别按 150、100、100 和 50 mL 分 4 次萃取,合并乙醚层,抽滤,将滤液移入圆底烧瓶中,蒸馏浓缩,浓缩液移入培养皿中,于红外干燥箱中(90±2)℃ 缓慢蒸发,干燥至恒重,得游离羟基蒽醌类成分样品。

1.3.3 梯度 pH 萃取法分离游离羟基蒽醌类成分

大黄酸的分离 称取 2.00 g 乙醚萃取中所得样品,溶于 200 mL 乙醚中,用 400 mL 5% NaHCO₃ 溶液,分别按 150、100、100 和 50 mL 分 4 次萃取,过滤,除去滤渣,合并水层,用 HCl 酸化至 pH=1,出现絮状土黄色沉淀,抽滤,得大黄酸。乙醚层留用。

大黄素的分离 将大黄酸分离中的乙醚层用 400 mL 5% Na₂CO₃ 溶液,分别按 150、100、100 和 50 mL 分 4 次萃取,过滤,除去滤渣,合并水层,用 HCl 酸化至 pH=1~2,出现黄褐色絮状沉淀,抽滤,得大黄素。乙醚层留用。

芦荟大黄素与大黄酚、大黄素甲醚的分离 将

大黄素分离中的乙醚层用 400 mL 5% NaOH 溶液, 分别按 150、100、100 和 50 mL 分 4 次萃取, 过滤, 除去滤渣, 合并水层, 用 HCl 酸化至 pH = 2, 出现黄色沉淀, 抽滤, 得黄色粉末, 用热异戊醇将其溶解, 过滤。将滤液浓缩蒸干, 得棕黑色粉末, 加 CHCl₃, 加热, 将其溶解, 溶液静置 2 天, 其中出现橙色析出物, 过滤, 用乙酸乙酯重结晶, 得芦荟大黄素。用红外灯加热, 使滤液中的 CHCl₃ 挥发掉, 得大黄酚与大黄素甲醚的混合物, 用乙酸乙酯重结晶, 分别得大黄酚和大黄素甲醚结晶。测其熔点, 皆与文献[1]吻合。

2 结果与讨论

2.1 试验结果

利用 L₉(3⁴) 正交试验表设计试验, 设计了三因素三水平 9 个试验(试验号 1# ~ 9#), 考察乙醇用量、回流时间及回流次数三种因素对提取产率的影响, 试验条件及结果见表 1。

表 1 三种因素对提取产率的影响

试验号	因素			羟基蒽酯类成分产率/%	游离羟基蒽醌类成分产率/%
	乙醇用量/mL	回流时间/min	回流次数		
1#	100	40	1	9.39	1.03
2#	100	80	2	13.61	1.51
3#	100	120	3	16.01	1.78
4#	150	40	2	15.58	1.76
5#	150	80	3	18.65	2.05
6#	150	120	1	12.33	1.43
7#	200	40	3	19.40	2.17
8#	200	80	1	15.07	1.78
9#	200	120	2	17.33	1.98
10#	150	30	3	16.90	1.89
11#	175	30	3	17.64	1.94
12#	150	40	3	17.51	1.94
13#	175	40	3	18.59	2.06
10 - 2#	175	30	3	12.83	1.14
11 - 2#	200	30	3	12.98	1.16
12 - 2#	175	40	3	13.59	1.22
13 - 2#	200	40	3	13.81	1.18

2.2 乙醇用量的影响

试验结果表明, 乙醇的用量越大, 提取产率越高, 但乙醇用量为 150 ~ 200 mL 时, 提取产率的斜率低于 100 ~ 150 mL 时的斜率, 说明随着乙醇用量的增大, 提取产率的增加速度减慢。

2.3 回流时间的影响

试验结果表明, 回流时间为 80 min 时, 提取产率最高, 大于或小于 80 min 时, 提取产率下降, 但时间的变化对提取产率的影响很小, 故可适当缩短乙醇的回流时间。

2.4 回流次数的影响

试验结果表明, 回流次数越多, 提取产率越高。进行极限提取试验, 将回流次数由 3 次增至 5 次, 试验结果表明, 提取产率提高不大。故综合考虑提取产率、实验时间及有机溶剂的消耗, 本实验选择回流次数为 3 次。

2.5 最佳分离条件

确定回流次数为 3 次后, 针对乙醇用量及回流时间设计了 2 因素 2 水平 4 个试验(试验号 10# ~ 13#), 试验结果见表 1。结果表明, 由大黄中提取蒽醌及游离羟基蒽醌类成分的最佳分离条件是: 乙醇用量 150 ~ 175 mL, 回流时间 30 ~ 40 min。

2.6 提取液的浓缩方式

使用减压蒸馏、干燥浓缩乙醇提取液时, 出现黑渣, 这可能是乙醇提取液中蒽醌类成分被碳化所致。所以, 将乙醇提取液浓缩至少量时, 移入培养皿中, 于红外干燥箱中(90 ± 2)℃ 缓慢蒸发, 干燥至恒重。乙醚萃取游离羟基蒽醌类成分时, 也采用同样的浓缩方式。

2.7 梯度 pH 萃取法分离游离羟基蒽醌类成分

称取 2.00 g 游离羟基蒽醌类成分样品, 溶于 200 mL 乙醚中, 分别用 5% NaHCO₃、5% Na₂CO₃ 和 5% NaOH 溶液萃取时, 两相间有少量深色不溶物。若不分离处理, 得到的各游离成分酸化时, 溶液中均出现极少量黑渣漂浮, 这可能为干燥恒重时生成的二蒽醌类化合物, 其在乙醚和水中的溶解度都很低, 故存在于两相之间。所以, 用 200 mL 乙醚溶解后, 应将其滤掉, 使酸化后无黑渣。乙醚层中萃取出的游离组分的水溶液酸化时, 生成的沉淀颗粒小, 悬浮于溶液中, 可静置 1 天, 使其分层, 再进行处理。用 5% NaOH 溶液萃取后的乙醚层呈深红色, 将此溶液蒸发, 最后得少量深红色油状物, 未进一步分析。

2.8 大黄形态对分离提取产率的影响

根据粉状大黄的最佳分离条件, 对片状大黄的分离条件进行了平行试验(试验号 10 - 2# ~ 13 - 2#, 对应于试验号 10# ~ 13#), 试验结果见表 1。试验结果表明, 在相同或相近的分离条件下, 片状大黄的提取产率远低于粉状大黄的提取产率。说明片状大黄的提取难度较大, 大黄的形态对大黄的提取产率有很大影响。

2.9 各组分的检测

采用梯度 pH 萃取法分离各游离组分时, 用硅胶板检测其分离提取是否完全。将游离羟基蒽醌类

成分样品溶于乙醚中,配制成溶液,取该溶液点样,作为参照标准,以石油醚(沸程60~90℃)与乙酸乙酯(7:3)为展开剂,放置15 min,展开后,在可见光下,可以看到4个斑点,比移值 R_f 最大的黄色斑点为大黄酚与大黄素甲醚的混合物^[1],在此条件下,二者分不开。其余3个斑点,按照 R_f 值由大到小的顺序,依次为大黄素(橙色斑点)、芦荟大黄素(黄色斑点)和大黄酸(黄色斑点)。其中,大黄素斑点与芦荟大黄素斑点相距很近,大黄酸斑点距点样处很近。

对游离羟基蒽醌类成分样品的乙醚溶液进行萃取时,经150 mL 5% NaHCO₃溶液第1次萃取后,点样检测,大黄酸斑点淡了很多;再用100 mL 5% NaHCO₃溶液第2次萃取后,点样检测,斑点很淡;再用100 mL 5% NaHCO₃溶液第3次萃取后,点样检测,只有对着光线才勉强看到斑点;第4次用50 mL 5% NaHCO₃溶液萃取后,斑点消失。5% Na₂CO₃及5% NaOH溶液萃取时的检测同5%

NaHCO₃溶液。从而确定5% NaHCO₃、5% Na₂CO₃和5% NaOH溶液萃取时的总用量均为400 mL,分别按150、100、100及50 mL分4次萃取。

4 结论

通过以上试验,确定了用乙醇和乙醚等有机溶剂分离中药大黄中羟基蒽醌类及游离羟基蒽醌类成分的最佳分离条件,有机溶剂用量少,实验时间较短,提取产率较高。

参 考 文 献

- 肖崇厚. 中药化学. 上海:上海科学技术出版社, 1999. 205
- 中国科学院上海药物研究所. 中草药有效成分提取与分离. 第2版. 上海:上海科学技术出版社, 1983. 332
- 杨云, 等. 中药化学成分提取分离手册. 北京: 中国中医药出版社, 1998. 18
- 林启寿. 中草药成分化学. 北京:科学出版社, 1977. 219
- 孙文基, 等. 天然药物成分提取分离与制备. 北京: 中国医药科技出版社, 1994. 311
- 栾军. 试验设计的技术与方法. 上海:上海交通大学出版社, 1987. 203

SEPARATION OF THE EFFECTIVE COMPONENTS FROM RHEUM

Zou Huabin, Wu Bo, Du Aiqin, Wang Shaokun, Fan Jiancheng

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Jinan 250100)

ABSTRACT The optimum conditions for separating the effective components about anthraquinones and free hydroxyanthraquinones such as emodin, chrysophanol, rhein, physcion and aloë-emodin from rheum were studied by using the orthogonal design method. The experiments showed that the volume of ethanol and the times of the regurgitation had a significant effect on the extracting rate, but the effect of time of the regurgitation is relative minor. The optimum conditions are that the volume of ethanol is 150~175 mL per 100g dried powder of rheum, the times of the regurgitation is three and the time for regurgitating is 30~40 min per time for the well-pre-treated powder of rheum with 90 mL ethanol.

KEYWORDS rheum, anthraquinone, free hydroxyanthraquinone, separation

2001年全国物理化学计量技术委员会年会 会议纪要

2001年10月9日~12日,2001年全国物理化学计量技术委员会年会在苏州召开。来自北京、上海、河北、江苏、山东、黑龙江及深圳等省、市的计量研究和检测部门的委员及专家参加了年会。

会议审定通过了《液相色谱仪检定规程(修订)》的报审稿,对在研项目:《木材含水量测定仪检定规程》、《电解质分析仪检定规程》、《尿液分析仪检定规程》和《分光光度计检定规程(合并、修订)》等进行了中期检查,并布置了委员会下一阶段的工作。

2002年本委员会的工作重点仍以组织合并、修订现有的物理化学类计量检定规程为主,适当考虑目前急需的、且方法较为成熟的生化领域计量检定规程。另外,将进一步加强委员会与各省、市的联系和交流,增补委员。希望有志参

加国家物理化学专业范围内的计量技术法规制定、修订及有关贯彻实施技术组织工作的同仁与我们联系。

委员会名称:全国物理化学计量技术委员会

秘书处地点:国家标准物质研究中心

联系地址:北京北三环东路18号 邮编:100013

联系人:倪晓丽 联系电话:010-64222124

E-mail:wsnxl@sohu.com (倪晓丽)

近一半重点城镇饮用水源不合格

我国城市污水再生利用项目已经启动,一些城市或区域正全面规划污水资源化工程。到2005年,我国城市污水处理率将达到45%。

2000年,我国城市污水排放量已达332亿m³,其中绝大部分污水未经有效处理而排入江、河、湖、海。全国90%以上的城市水域受到不同程度的污染,近50%重点城镇的集中饮用水源不符合取水标准。
(志)