

文章编号: 1674-7054(2015)03-0325-04

真空浓缩法与旋转蒸发法提取青蒿素的比较

张瑜文¹, 谢学立², 黄绵佳¹, 李佳潼¹, 吴岚芳¹

(1 海南大学 园艺园林学院 海南 海口 570228; 2 海南医学院 海南省药物安全性评价研究中心 海南 海口 571101)

摘要: 为了建立一种高效、简便的青蒿素提取方法, 采用旋转蒸发和真空浓缩方法提取青蒿素, 并用紫外分光光度法在 292 nm 处进行检测。结果表明, 使用旋转蒸发法提取青蒿素的平均加样回收率为 92.18%, *RSD* 为 0.91%, 真空浓缩法的为 92.90% *RSD* 为 0.77%。旋转蒸发和真空浓缩方法在精密度考察中 *RSD* 分别为 1.11% 和 1.61%, 在其稳定性考察中 *RSD* 分别为 1.53% 和 1.70%, 在重复性考察中 *RSD* 分别为 0.76% 和 1.03%。真空浓缩法简便、快速、可行, 适用于多样品同时提取检测的要求。

关键词: 紫外分光光度法; 黄花蒿; 青蒿素

中图分类号: R 284.2

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.2015.03.018

黄花蒿 *Artemisia annua* L. 系 1 年生草本植物, 艾属、菊科, 是我国传统中医用药^[1], 其药用成分为青蒿素。青蒿素是世界卫生组织推荐的抑制恶性疟原虫疟疾的药物^[2], 还能预防癌症^[3] 和抑制多种寄生虫等^[4]。青蒿素的提取方法有很多, 最常见的提取溶剂如甲醇、正己烷、乙醇或石油醚, 较复杂的提取技术, 如超临界流体萃取、加压溶剂萃取和微波萃取等^[5]。青蒿素遇稀氢氧化钠结构会发生转化, 产物在 292 nm 处有一强吸收峰, 紫外分光光度法即是利用青蒿素这一性质而建立的定量分析方法^[6]。传统提取青蒿素的方法复杂, 无法多样品同时提取检测。笔者利用紫外分光光度计的检测结果, 将简化后的真空浓缩法与旋转蒸发法提取青蒿素进行对比, 旨在寻找更简便、快速的青蒿素提取方法。

1 材料与方法

1.1 试剂 乙醇、氢氧化钠均为分析醇; 青蒿素标准品(北京索莱宝科技有限公司)。

1.2 仪器 U-2900 紫外分光光度计(上海日立仪器有限公司)、AL104 万分之一天平(上海梅特勒仪器有限公司)、KQ-250DB 超声仪(昆山市超声波仪器有限公司)、RE52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)、90-3 型定时恒温双向磁力搅拌器(上海亚荣生化仪器厂)、JH-ZLS-3 真空离心浓缩仪(上海佳航仪器有限公司)。

1.3 植物材料 选取生长一致的黄花蒿, 分别在晴天的第 1 天 8:00、14:00、20:00, 第 2 天 8:00、2:00, 采摘成熟叶片, 每时间点采样 10 株, 混合留样。

1.4 对照样品溶液的制备 精确称取 5 mg 的青蒿素标准品, 置于 50 mL 容量瓶中, 加入 100% 乙醇至刻度, 从中分别吸取 0.2、4、6、8、10 mL 于 50 mL 容量瓶中, 再加入 100% 乙醇至 10 mL, 用 0.2% NaOH 溶液补加至刻度, 于 50 ℃ 水浴中反应 30 min, 流水冷却至室温。

1.5 供试样品溶液的准备

1.5.1 旋转蒸发法 将新鲜黄花蒿用液氮研碎, 放置烘箱 50 ℃ 烘干, 过 40 目后, 精密称取 0.5 g 的黄花蒿粉末, 置于 100 mL 三角瓶中, 加入 50 mL 的 100% 乙醇, 用超声波进行预处理(超声时间 20 min, 超声强

收稿日期: 2015-02-10

基金项目: 海南省自然科学基金(20153149); 海南省产学研一体化专项(CXY20130029); 海南大学中西部计划学科建设项目(ZXBJH-XK008)

作者简介: 张瑜文(1989-), 女, 海南大学 2012 级园艺园林学院硕士研究生, E-mail: 262750508@qq.com

通信作者: 吴岚芳(1969-), 女, 副教授, 研究方向: 植物生理与分子生物学, E-mail: okwlf@163.com

度 120 w) , 温度 50 ℃ , 搅拌速度 120 r · min⁻¹ , 放入恒温磁力搅拌器中 , 用加热搅拌法进行提取 , 2 h 后将所得的青蒿提取液过滤并使用 50 ℃ 旋转蒸发仪减压蒸干 , 残渣用 100% 乙醇溶解置 10 mL 的容量瓶中 , 并用 100% 乙醇定容。

1.5.2 真空浓缩法 将新鲜黄花蒿用液氮研碎 , 放置烘箱 50 ℃ 烘干 , 过 40 目后 , 取 0.5 g , 置于 10 mL 离心管中 , 加入 6 mL 的 100% 乙醇 , 充分振荡 30 s , 置于摇床上摇晃 2 h , 取上清液至 10 mL 离心管中。将其放置于真空离心浓缩仪至乙醇挥发完全 , 用 100% 乙醇溶解后转移至 10 mL 的容量瓶中 , 并用 100% 乙醇定容至 10 mL。

1.6 空白液的制备 精密吸取乙醇 10 mL 置 50 mL 的容量瓶中 , 用 0.2% 的 NaOH 溶液补充至刻度。

1.7 供试样品溶液的测定 精密吸取 2.5 mL 样液置 50 mL 容量瓶中 , 加入 100% 乙醇至 10 mL , 用 0.2% NaOH 溶液补充至刻度 , 于 50 ℃ 水浴中反应 30 min , 流水冷却至室温。

2 结果与分析

2.1 扫描条件与系统适应性实验

2.1.1 测定波长的选择 精密吸取对照样品溶液在 200 ~ 400 nm 范围内进行光谱扫描 , 发现在 292 nm 处出现最大吸收峰值 , 与文献 [6] 报道一致 , 故确定其检测波长为 292 nm。

2.1.2 线性关系考察 精密吸取对照样品溶液用紫外分光光度计在 292 nm 处测定其吸光度 , 平行实验 7 次。以吸光度 A 为纵坐标 , 青蒿素浓度 C 为横坐标 , 绘制青蒿素的标准曲线 , 得到其线性回归方程为 $y = 0.7783x - 0.0043$, 相关系数为 0.9998 , 结果表明: 青蒿素在 0.004 ~ 0.02 g · L⁻¹ 范围内与吸光度呈良好的线性关系。

2.1.3 精密度考察 精密称取第 1 天上午 8:00 的青蒿叶片 2 份 , 分别按 1.5.1 和 1.5.2 条件制备好供试品溶液 , 用紫外分光光度计在 292 nm 处连续检测其吸光值 7 次 , 测得旋转蒸发法吸收度为 0.331 , RSD 为 1.11% ; 真空浓缩法吸收度为 0.432 , RSD 为 1.61% 。结果说明这 2 种提取方法精密度良好。

2.1.4 稳定性试验 精密称取第 1 天上午 8:00 的青蒿叶片 2 份 , 分别按 1.5.1 和 1.5.2 条件制备好的供试品溶液 , 间隔 1 h 测定 1 次 , 观察其稳定性。结果表明这两种方法制备的供试品溶液在 10 h 内结果稳定 , 使用旋转蒸发法和真空浓缩法提取青蒿素平均吸光值和 RSD 分别为 0.335 , 1.53% ($n = 10$) 和 0.431 , 1.70% ($n = 10$) 。

2.1.5 重复性试验 精密称取第 1 天上午 8:00 的青蒿叶片 10 份 , 每 5 份 1 组 , 分别按 1.5.1 和 1.5.2 方法制备 , 用紫外分光光度计在 292 nm 处检测其吸光值 , 使用旋转蒸发法和真空浓缩法测得青蒿素平均质量分数分别为 0.207% (RSD 0.76%) 和 0.271% (RSD 1.03%) , 结果表明 2 种方法的重复性好。

2.1.6 加样回收率试验 精密称取第 1 天上午 8 点的青蒿叶片 12 份 , 每 6 份 1 组 , 分别加入青蒿素对照品 , 按 1.5.1 和 1.5.2 方法制备 , 用紫外分光光度计在 292 nm 处检测其吸光值 , 结果见表 1 2。

表 1 旋转蒸发法加样回收率

Tab. 1 Average recovery rate of artemisinin from leaf samples by using the rotary evaporation method

取样量/g Sample amount	已知量/mg Known amount	加入量/mg Added amount	实测量/mg Found amount	回收率/% Recovery	平均回收率/% Mean recovery	RSD/%
0.512 3	1.060 5	5.612 3	6.186 3	92.71	92.18	0.91
0.517 8	1.071 8		6.238 9	93.34		
0.536 9	1.111 3	10.912 4	10.971 6	91.25		
0.556 6	1.152 2		11.457 1	92.14		
0.533 2	1.103 7	15.335 6	15.199 8	92.46		
0.522 4	1.081 4		14.973 9	91.21		

表 2 真空浓缩法加样回收率

Tab. 2 Average recovery rate of artemisinin from leaf samples by using the vacuum concentration method

取样量/g Sample amount	已知量/mg Known amount	加入量/mg Added amount	实测量/mg Found amount	回收率/% Recovery	平均回收率/% Mean recovery	RSD/%
0.517 5	1.402 4	5.345 6	6.538 2	92.33	92.90	0.77
0.536 9	1.454 9		6.953 2	92.38		
0.524 6	1.421 6	10.256 3	11.565 4	93.05		
0.513 3	1.391 0		12.156 3	94.24		
0.565 3	1.531 9	15.638 5	16.658 9	92.89		
0.572 1	1.550 3		16.622 3	92.54		

2.1.7 定量测定 精密称取第 1 天 8:00 ,14:00 ,20:00 ,第 2 天 2:00 ,8:00 共 5 个点的青蒿叶片各 10 份 , 分别按 1.5.1 和 1.5.2 方法制备 ,用紫外分光光度计在 292 nm 处检测其吸光值 结果见表 3。

表 3 5 个时间点叶片定量测定结果

Tab. 3 Leaf quantitative analysis results at five different time points

样品 Leaf sample	旋转蒸发法 Rotary evaporation method		真空浓缩法 Vacuum concentration method	
	青蒿素含量/% Artemisinin content	RSD/%	青蒿素含量/% Artemisinin content	RSD/%
1	0.21	1.23	0.26	1.62
2	0.34	1.34	0.40	1.79
3	0.33	1.54	0.39	2.04
4	0.18	1.39	0.24	2.41
5	0.18	1.46	0.24	1.63

3 讨 论

旋转蒸发法提取青蒿素时 ,使用超声波预处理 ,对提取瓶放置位置和提取瓶玻璃厚薄要求较高^[7] ,比真空浓缩法复杂 ,且旋转蒸发法利用旋转蒸发器 1 次只能蒸干 1 个样品。朱卫平^[8]认为 ,旋转蒸发法提取步骤复杂 ,适于检测样品数少且量大的试验;而真空浓缩法利用真空浓缩仪蒸干 ,1 次可同时蒸干多个样品 ,效率明显更高 ,利于多个样品的检测。

旋转蒸发法和真空浓缩法提取青蒿素在精密度考察中的 RSD 分别为 1.11% ,1.61% ,在稳定性考察中 ,分别为 1.53% 和 1.70% ,在重复性考察中 ,分别为 0.76% 和 1.03% ,在加样回收率考察中分别为 0.91% 和 0.77% ,两两均没有显著差异。在定量测定实验结果中 2 种方法的 RSD 均在合适范围内。在加样回收率实验中 ,旋转蒸发法的平均回收率为 92.18% ,优化后的方法为 92.90% ,两者差异不显著。但是真空浓缩法的实测量和已知量都比旋转蒸发法的高 ,原因可能是真空浓缩法提取的青蒿素还含有少量的其它物质 ,其本底值要高一些 ,但因为两种方法的回收率基本相同 ,故不影响研究。

真空浓缩法较旋转蒸发法具有操作简便 ,并能同时进行多个样品的检测 ,因此 ,真空浓缩法提取青蒿素是可行的。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 137 – 138.
- [2] 谢德玉, 叶和春, 李国凤. 青蒿素的研究进展—生物技术的应用前景 [J]. 植物学通报, 1995, 12(4): 28 – 30.
- [3] EFFERTH T, DUNSTAN H, SAUERBREY A, et al. The antimalarial artesunate is also active against cancer [J]. Int J On-

- col 2001 ,18: 767 – 773.
- [4] ALLEN P C , LYDON J , DANFORTH H D. Effects of components of *Artemisia annua* on coccidia infections in chickens [J]. Poultry Science ,1997 ,76: 1156 – 1163.
- [5] HONG Cheng , LIU Qiwan , LI Yanhong et al. The rapid determination of artemisinin by postcolumn derivatives high performance liquid chromatography using Matrix solid phase dispersion method [J]. Journal Of Chromatographic Science ,2008 ,46 (2) : 122 – 126.
- [6] 陈迪钊 ,郑雪花 ,张智慧 等. 黄花蒿中青蒿素含量的紫外分光光度法测定 [J]. 光谱实验室 2010 27(4) : 451 – 454.
- [7] 李红兵 ,孙立华 ,孙国才. 超声波提取法在中国药典中的应用探讨 [J]. 中国药品标准 2001 2(4) : 18 – 20.
- [8] 朱卫平. 野生黄花蒿的引种驯化和高青蒿素含量栽培品种选育目标性状的研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学 2003.

Comparison of Vacuum Concentration and Rotary Evaporation Methods in Artemisinin Extraction

ZHANG Yuwen¹ , XIE Xueli² , HUANG Mianjia¹ , LI Jiatong¹ , WU Lanfang¹

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture , Hainan University , Haikou 570228;

2. Hainan Research Center for Drug Safety Evaluation , Hainan Medical University , Haikou 571199 , China)

Abstract: Artemisinin was extracted from mature leaves of *Artemisia annua* L. by using a rotary evaporation method or a vacuum concentration method to establish an effective , simple method for artemisinin extraction. The absorbance of artemisinin was determined at the wavelength of 292 nm by using ultraviolet spectrophotometer. The rotary evaporation method extracted artemisinin at an average recovery rate of 92.18% with the RSD being 0.91% , and the vacuum concentration method extracted artemisinin at an average recovery rate of 92.90% with the RSD being 0.77% . These two methods had respective RSDs of 1.11% and 1.61% in the precision test , 1.53% and 1.70% in a stability test , and 0.76% and 1.03% in the repeatability test. It is concluded that the vacuum concentration method was simpler and more rapid and feasible than the rotary evaporation method for extraction of artemisinin from the leaves of *A. annua* L.

Key words: UV spectrophotometry; *Artemisia annua* L; artemisinin