

· 工艺与制剂 ·

## 闪式与回流提取黄芪皂苷工艺比较

赵强强<sup>1</sup>, 韩丽<sup>1\*</sup>, 熊永爱<sup>1</sup>, 王淼<sup>1</sup>, 谢兴亮<sup>2</sup>, 杨明<sup>1, 3?</sup>

(1. 成都中医药大学中药材标准化教育部重点实验室, 成都 611137; 2. 成都医学院, 成都 610083; 3. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 考察闪式与回流提取对黄芪皂苷提取工艺的影响。方法: 以黄芪甲苷提取率和出膏率作为考察指标, 采用 HPLC-ELSD 法作为测定方法, 以 Welc C18 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 为色谱柱, 乙腈: 水 (40:60) 为流动相, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 漂移管温度 80 ℃, 气流量 50 psi, 考察闪式与回流提取对黄芪皂苷提取工艺的影响。结果: 闪式提取所得黄芪甲苷含量高于回流提取。结论: 闪式提取黄芪皂苷不仅提取率高, 而且耗时短, 节省能源, 可望广泛地应用在制药工业上。

[关键词] 闪式提取; 黄芪; 黄芪甲苷; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0001-03

## Comparison of Smashing and Reflux Extraction Process for Astragaloside

ZHAO Qiang-qiang<sup>1</sup>, HAN Li<sup>1?</sup>, XIONG Yong-ai<sup>1</sup>, WANG Miao<sup>1</sup>, XIE Xing-liang<sup>2</sup>, YANG Ming<sup>1, 3?</sup>

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education Key Laboratory of Standardization of Chinese herbal medicines, Chengdu 611137, China; 2. Chengdu Medical College, Chengdu 610083, China; 3. Key Lab for Modern Preparation of Traditional Chinese Medical, Ministry of Education of China; Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**[Abstract] Objective:** To study smashing and reflux extraction of astragaloside. **Method:** The extraction process was investigated by smashing and reflux extraction with the extraction of astragaloside and the rate of extracts as criteria. The measurement conditions were used as follows: Welc C18 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used with acetonitrile: water (40:60) as mobile phase; the flow rate was 1 mL·min<sup>-1</sup>; the temperature of drift tube was set at 80 ℃; gas flow was 50 psi. **Result:** The content of astragaloside of smashing extraction were higher than reflux extraction. **Conclusion:** Smashing extraction method for astragaloside can save time, working and energy, and it is hoped to be widely used in the pharmaceutical industry.

**[Key words]** smashing extraction; Radix Astragali; astragaloside; extraction process

黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜

荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根。黄芪味甘性温, 归肺、脾经。具有补气固表、利尿托毒、排脓、敛疮生肌等功效<sup>[1]</sup>。

黄芪含皂苷、黄酮、多糖及氨基酸等多种化学成分, 黄芪皂苷为黄芪的主要活性成分, 并以黄芪甲苷为主。黄芪甲苷具有降压、增强免疫力、抗病毒、抗癌及抗衰老等作用<sup>[2]</sup>。由于黄芪甲苷是目前黄芪药材以及制剂质量控制的指标性成分<sup>[3]</sup>。因此本试验以黄芪甲苷提取率为质量控制指标之一, 比较闪式与回流提取对黄芪皂苷提取工艺的影响。其中闪式

[收稿日期] 20100602(007)

[基金项目] 国家科技重大新药创制专项(2009ZX09103-307)

[第一作者] 赵强强, 硕士在读, 研究方向: 中药新剂型、新制剂, Tel: 13541076039, E-mail: zhaoqiangdengni@126.com

[通讯作者] \* 韩丽, 副教授, 博士, 从事中药新剂型研究; \* 杨明, 教授, 博士, 从事中药新制剂新技术研究, Tel: 028-61800127, E-mail: yangming16@126.com

提取法是指将生物组织加入提取溶剂进行高速组织匀浆,以提取组织中有效成分。该方法可大大缩减提取时间,提高提取效率,简化操作步骤。应用该方法对氨基酸、蛋白质和萜类等物质的提取已有研究报道,但将此方法应用到黄芪皂苷类提取的研究尚未见文献报道。

### 1 材料

美国 DIONEX 公司自动进样高效液相色谱仪;蒸发光散射检测器(ELSD100)(美国 Softa 公司生产),空气压缩机(天津市琛航科技仪器有限公司);N2000 色谱工作站;StartorinousBP211D 电子天平;SZ-93 自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂);闪式提取器 JHBE-50S(河南金鼎科技发展有限公司)。

黄芪甲苷对照品(批号 110781-200613,供含量测定用,中国药品生物制品检定所提供)。试剂:乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯。水为重蒸水。黄芪,购自四川利民中药有限公司,经成都中医药大学药学院中药鉴定教研室裴瑾副教授鉴定,为膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根。

### 2 方法与结果

#### 2.1 黄芪甲苷的含量测定

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱:Welc C18(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈-水(40:60);流速 1 mL·min<sup>-1</sup>;柱温 30 °C;蒸发光散射检测器条件漂

移管温度为 80 °C,载气(空气)流量为 50 psi。理论塔板数以黄芪甲苷峰计算应不低于 4 000。

**2.1.2 线性关系考察** 精密称取黄芪甲苷对照品 5.31 mg,加甲醇定容至 10 mL 量瓶中,摇匀即得对照品溶液。取对照品溶液,分别进样 6, 8, 10, 12, 16, 20 μL,以进样量的对数为横坐标、峰面积的对数为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程为  $Y = 1.5335 X + 5.2449$ ,  $r = 0.9996$ ,黄芪甲苷在 3.19 ~ 10.62 μg 呈良好线性。

**2.1.3 精密度试验** 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液 10 μL,连续进样 6 次,记录黄芪甲苷峰面积,结果 RSD 为 1.40%。

**2.1.4 稳定性试验** 将同一份供试品溶液于室温下放置,分别于第 0, 2, 4, 6, 8 h 各进样 10 μL,按色谱条件检测,记录黄芪甲苷峰面积值,其 RSD 为 1.81%,表明供试品溶液在室温下放置 8 h 内稳定。

**2.1.5 重复性试验** 取同一样品溶液 5 份,按供试品溶液制备方法制备,按照上述色谱条件分别进行测定,记录黄芪甲苷峰面积值, RSD 为 1.98%。

**2.1.6 加样回收率试验** 取已知含量的样品溶液(0.1133 g·L<sup>-1</sup>) 6 份,分别精密加入 1.03 g·L<sup>-1</sup> 的黄芪甲苷对照品溶液 1.3 mL,按上述供试品溶液制备方法制备,按照上述色谱条件分别进行测定,计算平均回收率为 101.62%, RSD 为 1.88%。结果见表 1。

表 1 黄芪甲苷加样回收率试验测定结果

No.	取样量 / mL	样品中含量 / mg	加入量 / mg	测得量 / mg	回收率 / %	平均值 / %	RSD / %
1				2.6753	98.26		
2				2.7435	103.35		
3	12	1.3596	1.339	2.7432	103.33	101.62	1.88
4				2.7343	102.67		
5				2.7292	102.28		
6				2.6968	99.86		

**2.1.7 出膏率测定** 分别取回流提取和闪式提取液各 50 mL 置干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸发至浸膏状,105 °C 常压干燥至恒重,称量,即得。

**2.1.8 样品测定** 分别取适量提取液水浴挥干,残渣加 10 mL 水溶解,用水饱和的正丁醇萃取 4 次,每次 40 mL,合并正丁醇萃取液,用氨试液萃取 2 次,每次 40 mL,弃去,正丁醇液蒸干,残渣用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶内,加甲醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液 10, 20 μL,供

试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,测定,以外标两点法对数方程计算,即得。对照品溶液与供试品溶液色谱图见图 1~3。

#### 2.2 提取方法考察

**2.2.1 回流提取方法考察** 称取黄芪饮片约 25 g,精密称定,加 10 倍量 60% 乙醇,加热回流提取 3 次,每次 1 h,合并提取液,300 目滤布过滤。

**2.2.2 闪式提取方法考察** 称取黄芪饮片约 25 g,精密称定,加 10 倍量 60% 乙醇闪式提取 3 次,每次

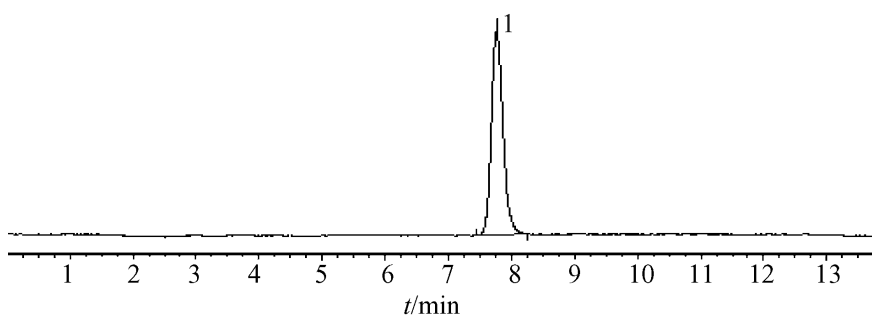


图 1 黄芪甲苷对照品 HPLC

1. 黄芪甲苷(图 2, 3 同)

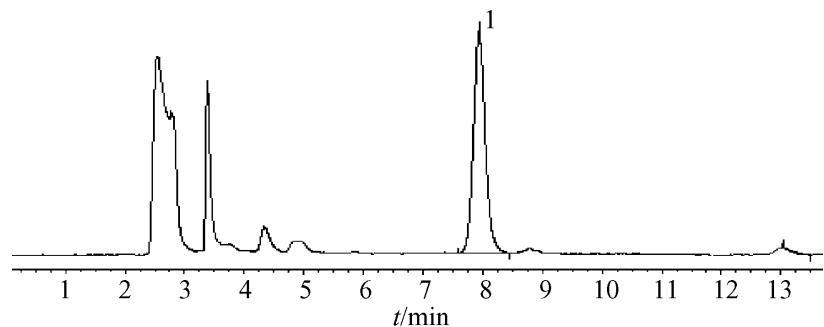


图 2 回流提取供试品 HPLC

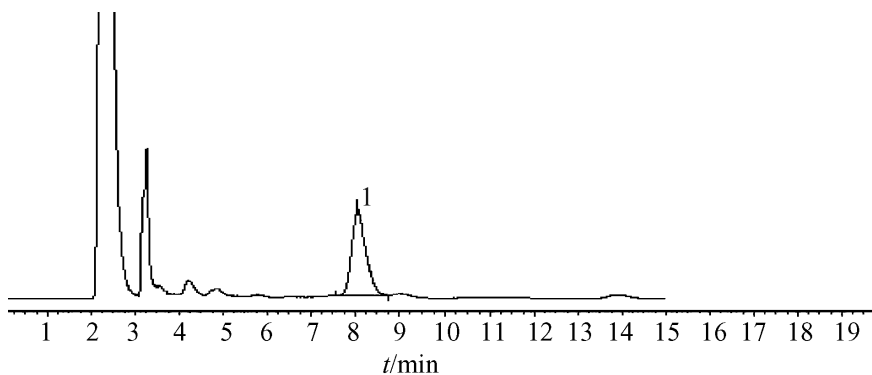


图 3 闪式提取供试品 HPLC

1 min。合并提取液, 抽滤。

**2.2.3 提取方法比较** 分别取以上 2 种提取液适量, 并按 2.1.7 项下操作, 测定黄芪甲苷峰面积, 利用外标两点法求出黄芪甲苷含量, 结果见表 2。

表 2 闪式提取与回流提取结果比较 (n=3) %

提取方法	黄芪甲苷提取率	出膏率
闪式提取	90.1	35.4
回流提取	83.2	34.7

试验结果表明, 闪式提取和回流提取工艺的出膏率相近, 从黄芪甲苷提取率来看, 闪式提取法要比回流提取法高。同时也可以看出, 闪式提取具有省时、节能、提取率高等优点。因此, 闪式提取法可认

为是从黄芪中提取皂苷的一种更快速、更高效、更安全、更节能的新方法。

### 3 讨论

本研究首次把闪式提取应用于黄芪皂苷的提取工艺中。研究发现, 闪式提取是一种有效的提取黄芪皂苷的新方法。闪式提取器是根据组织破碎原理科学设计而成的一种新型提取器, 对含不同类型化学成分的中草药进行了研究, 取得了较好的效果。其原理可总结为四点: 快速破碎、剧烈搅拌、超速动态分子渗透作用、强力振动作用。闪式提取方法的省时、应用范围广、高效节能、操作简单、利于环保等优点将在中药和天然产物的提取工艺中越来越受到人们的关注<sup>[4]</sup>。

在黄芪甲苷含量测定供试品溶液制备中, 本试验曾考察过大孔吸附树脂与否, 结果发现不过大孔吸附树脂, 也可以有很好的分离, 因此为了减少样品的前处理所带来的误差, 提高分析的精确度, 本试验在供试品溶液制备中选择不经过大孔吸附树脂。

本试验所用黄芪药材按照 2005 年版《中国药典》测定黄芪甲苷质量分数为  $1.01 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。药典中采用的索氏提取与回流提取一样, 提取时间长, 操作繁琐, 从而突显闪式提取的优势。并且在提取成分基本一致的前提下, 闪式提取法所得提取液颜色要明显浅于其他 2 种方法。

### [参考文献]

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005: 212.
- [2] 吴发宝, 陈希元. 黄芪药理作用研究综述[J]. 中药材, 2004, 27(3): 232.
- [3] 夏广萍, 刘鹏, 韩英梅. 不同处理方法和不同产地黄芪药材中黄芪甲苷的含量测定[J]. 中药材, 2008, 31(3): 386.
- [4] 刘延泽. 植物组织破碎提取法及闪式提取器的创制与实践[J]. 中国天然药物, 2007, 5(6): 401.

[责任编辑 仝燕]