

黄芪不同提取工艺多糖含量的比较

中国中医研究院基础理论研究所(北京 100700) 李树珍* 赵红霞 白卫国

摘要 用水煮醇沉法和超滤法制备黄芪多糖粗提物,采用苯酚硫酸法测定多糖含量,并对多糖粗提物进行了定性鉴别。结果超滤法较水煮醇沉法含量高出20%左右。

关键词 黄芪 提取工艺 多糖

近年研究表明,黄芪多糖具有提高小鼠应激能力,增强免疫功能,双向调节血糖,保护心血管系统,加速遭受放射性损伤机体的修复等作用^[1,2]。

当前将黄芪多糖制成各种固体制剂如冲剂等,用水煮醇沉法制备,其口服剂量大,含量均较低。为此对黄芪不同提取工艺的多糖含量进行了比较,以便确定多糖含量高的提取工艺,为生产试制提供依据。

1 材料与仪器

药材来源:黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根。炮炙成饮片,产地山西辉源县。80%苯酚水溶液:苯酚(AR)加0.1%铝片(预先用稀酸处理)及0.05%碳酸氢钠,经蒸馏得新鲜苯酚,避光保存。取20g新鲜重蒸馏水,加入80g新鲜苯酚,混匀

721型分光光度计;HFVF中空纤维超滤器,中空纤维超滤膜(聚砜材料)分子量6000,截留率>95%(天津纺织工学院膜天膜技术开发部)。

2 方法与结果

2.1 样品的制备: a) 水煮醇沉法: 称取黄芪饮片150g,加水8、6倍量,分别煮沸1h、40 min分别过滤,合并2次滤液,浓缩至1:1(1g生药相当1ml),加3倍量95%乙醇沉淀,放置12h以上,离心,沉淀蒸干,称重,即1次醇沉后蒸干物。将蒸干物平均分成3份,分别按1:100, 1:50, 1:25比例(即1g蒸干物溶至100ml, 1g蒸干物溶至50ml, 1g蒸干物溶至25ml蒸馏水中)溶解,(以下简称1:100, 1:50, 1:25)放置后,离心,分别取上清液,再加入3倍量95%乙醇沉淀,冷藏后离心,沉淀物蒸干,分别称重,即2次醇沉后多糖粗提物。b) 超滤法: 称取黄芪饮片150g,加水倍量,煎煮时间同a)法,合并2次滤液,冷藏后,离心,取上清液用中空纤维超滤后,截留分子量6000以上的药液,浓缩至1:1(1g生药相当1ml)加3倍量95%乙醇沉淀,以下按a)项下蒸干物分成3份进行,即2次醇沉后多糖粗提物。结果见表1。

2.2 黄芪不同提取工艺多糖含量测定: 采用苯酚-硫酸法测定黄芪多糖含量。

2.2.1 回归方程的建立: 精密称定D(+)-葡萄糖(恒重)0.05g置100ml容量瓶中,加水使完全溶解,于490nm波长处比色,测定吸收度,经直线回归处理,做标准曲线。

回归方程: $A = 0.01361 + 0.0050C$, $r = 0.9976$ 。

2.2.2 样品含量测定: 精密称定上述不同提取工艺制备的2次醇沉多糖粗提物各0.1g,移至100ml容量瓶中,加水至刻度使溶解,摇匀。精密量取该溶液1.0、1.5ml,分别置50ml容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。再精密量取上述2种浓度溶液各2ml,用苯酚-硫酸法以蒸馏水为空白对照,于490nm波长处比色,测定吸收度,计算多糖含量。结果见表2。

*Address: Li Shuzhen, Institute of Basic Theory, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing

表1 不同提取工艺黄芪多糖粗提物得量、收得率比较

方法	批号	一次醇沉 蒸干物得量 (g)	二次醇沉多糖粗提物得量(g)		
			1:100	1:50	1:25
水煮醇沉法	940304	15.43	1.62	1.63	1.79
	940309	18.34	1.79	1.93	2.14
	950322	16.60	1.62	1.74	1.97
	均值	16.79	1.68	1.77	1.97
	收得率(%)	11.19	3.35	3.53	3.96
超滤法	940420	5.28	1.02	1.05	0.92
	940421	7.68	1.21	1.27	1.13
	940502	5.31	0.93	0.92	0.83
	均值	6.09	1.05	1.08	0.96
	收得率(%)	4.06	2.10	2.16	1.92

表2 黄芪不同提取工艺多糖含量比较

方法	批号	多糖粗提物含量(%)		
		1:100	1:50	1:25
水煮醇沉法	940304	57.07	50.38	47.36
	940307	54.75	53.41	45.19
	940322	56.22	57.71	48.82
	均值	56.01	53.38	47.12
	940420	67.41	72.50	70.59
超滤法	940421	72.46	78.09	72.49
	940505	75.70	80.66	67.98
	均值	71.86	77.08	70.35

$P < 0.01$ (两法比较)

2.3 黄芪多糖的纸层析鉴别

2.3.1 称取1:50比例的不同提取工艺制备的多糖粗提物各0.5g, 分别溶于25ml水中, 分别加入3mol/L硫酸溶液2ml, 置沸水浴中加热2h, 放冷, 加饱和氢氧化钡溶液, 调pH至中性, 过滤, 滤液蒸干, 加适量无水乙醇洗至醇液无色, 沉淀蒸干, 加水10ml溶解, 离心, 上清液浓缩至5ml, 为水解液。

2.3.2 另取上述相应样品各0.1g, 加2ml水溶解, 离心, 上清液备用, 为未水解液。

2.3.3 称取无水D(+)-葡萄糖, 无水L-阿拉伯糖, 无水鼠李糖标准品各0.02g, 溶于2ml水中, 作对照品。

将对照品葡萄糖液、阿拉伯糖液、鼠李糖液各1 μ l, 水解液、未水解液各2 μ l, 分别点于层析滤纸上, 以正丁醇-吡啶-水(6:4:3)混合液展开, 以邻苯二甲酸-苯胺的水饱和正丁醇液显色。结果见图。

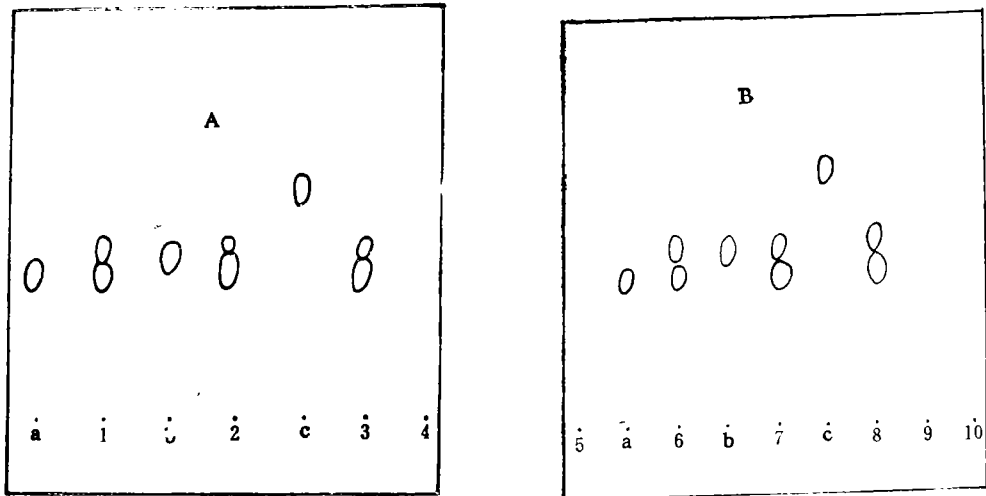


图 黄芪多糖纸层析

A-水煮醇沉法 B-超滤法 1-940318(1:1)1:50水解物 2-940307(1:1)1:50水解物 3-940304(1:1)1:50水解物 4-940318(1:1)1:50未水解物 5-940420(1:1)1:50未水解物 6-940410(1:1)1:50水解物 7-940421(1:1)1:50水解物 8-940505(1:1)1:50水解物 9-940421(1:1)1:50未水解物 10-940505(1:1)1:50未水解物
a-葡萄糖标准品 b-阿拉伯糖标准品 c-鼠李糖标准品

3 讨论

3.1 文献报道黄芪多糖分子量在1~5万左右^[3~5],因此在不同提取工艺中,用超滤法选择超滤膜分子量为6000,以便将多糖提取完全。

3.2 表1、2表明水煮醇沉法提取的黄芪多糖粗提物,3批含量均在50%左右,含量偏低,而得量较超滤法高,说明杂质多,作为口服给药,必须增加口服剂量才能达到有效剂量。而超滤法较水煮醇沉法提取的多糖粗提物,收得率低,而含量高,达70%左右;较水煮醇沉法增加了20%左右,可降低口服给药剂量。

3.3 文献报道^[1],黄芪中有几种多糖,结构分别为 $\alpha(1\rightarrow4)$ 葡聚糖为主链,每10个重复单元有一个6-O位分支的葡聚糖;另有 $\alpha(1\rightarrow4)(1\rightarrow6)$ 葡聚糖;由乙糖醛酸、葡萄糖、鼠李糖和阿拉伯糖组成的水溶性杂多糖和由葡萄糖、阿拉伯糖和鼠李糖组成水溶性杂多糖;及由葡萄糖和阿拉伯糖组成的多聚体。

本实验纸层析鉴别初步表明(见图),该黄芪多糖粗提物主要是由D(+)-葡萄糖和L-阿拉伯糖组成的多聚糖。

3.4 在不同提取工艺中,用一次醇沉蒸干物,再分别按1:100,1:50、1:25不同比例的蒸馏水溶解者再加乙醇沉淀,比较蒸干物溶解是否完全,多糖粗提物收得率、含量有否不同,结果,多糖含量超滤法中(1:100、1:50比例较1:25比例高,而1:50含量最高。可考滤制定工艺时,用1:50比例溶解蒸干物,再加乙醇沉淀时,可少加1/2量的乙醇。

1.5 在水煮醇沉工艺中,用水煮后,上清液浓缩成1:1、1:1.5(即浓缩1g生药相当1ml, 3g生药相当1.5ml)对多糖粗提物和含量进行对比实验,结果上述2种比例的浓缩液,醇沉后,其多糖粗提物收得率和含量没有明显差异。

参 考 文 献

- 1 廖一民.华西药杂志,1992,7(3):174
 - 2 吴寿金,等.中草药,1992,23(10):549
 - 3 顾学裘主编.抗衰老,抗癌中药的研究及展望.北京:中国医药科技出版社,1989,55
 - 4 柯铭清主编.中草药有效成分理化与药理特性(修正本).长沙:湖南科学技术出版社,1982,505
 - 5 方积年.化学学报,1988(46):1101
- (1994-10-10收稿)

安徽省高校科技函授部总部中医大专班招生

总部经省教委批准面向全国招生。开设12门高等中医院校函授课程,由专家教授根据高等教育中医自学考试全面辅导和教学。凡高中或初中以上均可报名。来函至236000安徽阜阳高函办《总部招办》,备有简章。

安徽省高校科技函授部中医大专班招生

经省教委批准继续面向全国招生,本着继承和发展祖国医学,培养具有专业技能的中医人材,选用12门全国统编中医函授教材,与当前全国高等教育自考相配合,聘有专家教授进行教学、全面辅导和答疑,愿本部能成为你医学道路上的良师益友。凡具中学程度者均可报名,免试入学,详情见简章。附邮5元至合肥市望江西路6-008信箱中函处,简章备索。 邮编230022 电话 0551-5569396