

保留率低、热原、鞣质等杂质去除不彻底、长期保存时易产生絮状物问题,影响产品的质量和临床用药安全。在传统工艺中采用活性炭吸附虽然可去除内毒素、色素、蛋白质等杂质,然后会导致生物碱的大量损失。随着活性炭量增加,生物碱损失就越多,当加入量为 0.5% 时,原阿片碱损失接近 50%。

膜分离技术是以浓度差和压力差为驱动力的操作单元,当采用相同质量浓度的药液和操作参数时,分离效果完全取决于膜组件的性能。正交试验结果表明,要通过所考察 3 个膜设备操作参数的改变来提高原阿片碱膜透过率和干膏中原阿片碱的质量分数两个指标并不能取得很理想的效果,但对膜通量的影响却极为显著。因此,为了提高工作效率,根据膜组件的性能和药液的特性,应尽量选择较高的压力、体积流量及温度。原阿片碱膜透过率较低主要与膜设备导管与膜组件中滞留的浓缩液体积较大有关,不过这可以通过增加初始药液的体积和浓缩液较少时加入注射用水冲洗的方法解决。与膜分离前的药液相比,膜透过液干膏中原阿片碱质量分数增加。表明通过膜分离步骤药液得到了纯化,而且也大大高于传统工艺产品,外观、药效都有很大的改善。需要特别指出的是,采用 $6 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^4$ 截留相对分子质量的超滤膜分离不仅可以除去鞣质等大分子杂质,而且可以很好地清除热原,大大提高了产品的依从性和安全性。TLC 实验结果显示,膜分离工艺与传统工艺药液的斑点颜色及位置相同,HPLC 图谱的特征峰位置也基本一致,表明含有的

成分基本相似。

References:

- [1] Chen R, Yang S H, Tang X L. Advances in the studies on *Corydalis decumbentis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (2): 948-949.
- [2] Sheng R, Gu Z L, Jiang H, et al. Effects of *Rhizoma Corydalis Decumbentis* on ability and brain acetylcholinesterase learning and memory activity in mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34 (6): 543-545.
- [3] Deng X P, Gu Z L, Xie M L. Effects of total alkaloids from *Rhizoma Corydalis Decumbentis* on scopolamine and D-galactose-induced learning and memory impairment in rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34 (4): 350-352.
- [4] Wang Z Z, Peng G P. Study on extraction of contents in *Rhizoma Corydalis Decumbentis* by CO₂ SFE technology [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27 (8): 585-586.
- [5] Liu H Q, Qu L B, Jia J F. Study on ultrafiltration membrane technology for preparing Shengmai Oral Liquid [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27 (4): 209-211.
- [6] Luo F L, Liang G M, Liu Z Y, et al. Exploration of application of large pore size ultrafiltration membrane in Chinese medicine production [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23 (8): 556-559.
- [7] Li S Z, Wu L L, Chen W. New process and its equipment for production of TCM oral liquid [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (12): 120-122.
- [8] Li S L, Ou X C, Du Q Y. The comparison of several pre-treatment methods in ultrafiltrating traditional Chinese herbs [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2002, 13 (2): 76-78.
- [9] Zhu C Q, Fan Q K, Xiong S Q, et al. Determination of the content of protopine in *Rhizoma Corydalis Decumbentis* Injection by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36 (5): 699-700.
- [10] Gao J, Wang T Y. Effect of total alkaloids from *Rhizoma Corydalis Decumbentis* on platelet aggregation function [J]. *Suzhou Univ J: Med Sci* (苏州大学学报:医学版), 2004, 24 (2): 137-140.

大孔吸附树脂纯化黄芪总皂苷的研究

石忠峰¹, 陈蔚文^{1,3*}, 李卫民¹, 高 英²

(1. 广州中医药大学脾胃研究所 消化室, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学新药开发研究中心, 广东 广州 510405; 3. 上海中医药大学 上海市高校中医内科学 E-研究院, 上海 201203)

摘要:目的 研究黄芪总皂苷的大孔吸附树脂分离纯化工艺,为黄芪总皂苷的工业化生产提供参考。方法 采用 AB-8 大孔吸附树脂对黄芪总皂苷进行吸附纯化,以黄芪总皂苷的收率、质量分数为考察指标综合评价。结果 60% 乙醇提取树脂吸附后用不同体积分数乙醇洗脱,黄芪总皂苷主要集中在 40%~80% 乙醇部位。树脂对黄芪总皂苷的动态吸附率为 10.78 mg/mL 树脂;不同浓度 NaOH 溶液对杂质的洗脱效果不同,以 0.1% NaOH 溶液洗脱效果较好。结论 黄芪提取物上 AB-8 树脂柱,以水和 0.1% NaOH 洗脱后以 80% 乙醇洗脱黄芪总皂苷部位可使黄芪总皂苷的收率和质量分数达到较满意效果。

收稿日期:2004-11-25

基金项目:广东省教育厅资助课题(B01039);上海市教委 E-研究院建设计划项目资助(E03008)

作者简介:石忠峰(1975—),男,在读博士生,中西医结合临床专业,研究方向为调理脾胃中药新药开发研究。

Tel: (020) 33611027 E-mail: shizhongfeng@hotmail.com

* 通讯作者 陈蔚文

关键词:黄芪;黄芪总皂苷;树脂吸附

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)09-1322-04

Purification on total astragalosides by macroporous adsorptive resin

SHI Zhong-feng¹, CHEN Wei-wen¹, LI Wei-min¹, GAO Ying²

(1. Digesting Department, Institute of Spleen and Stomach, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 2. New Drug Development Center, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 3. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Traditional Chinese Medicine Internal Medicine E-Academy of Shanghai Higher Education College, Shanghai 201203, China)

Abstract: Objective Study on purification of total astragalosides by macroporous adsorptive resin to provide evidence for their industrialized production. **Methods** Total astragalosides were purified by AB-8 macroporous adsorptive resin and evaluated by yield and purity. **Results** Total astragalosides were mainly in 40%—80% ethanol parts eluted by different concentration ethanol. The resin dynamic adsorption rate was 10.78 mg/mL; different concentration NaOH solution had different effect to elute impurities and 0.1% NaOH had better effect. **Conclusion** The total astragalosides are adsorbed by AB-8 resin column, eluted with water, 0.1% NaOH, then 20% ethanol in order, at last both the total astragalosides yield and purity have desirable higher level in 80% ethanol elution.

Key words: *Radix Astragali*; total astragalosides; resin adsorption

黄芪是多年生草本豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根。黄芪中含多糖、皂苷、黄酮等,其中包括黄芪甲苷在内的黄芪总皂苷是黄芪中的主要有效部位。黄芪总皂苷不但具有消炎、降血压、抗心肌缺氧、中枢镇痛、镇静的作用,而且具有影响血清和肝脏蛋白质的合成、影响血浆 cAMP 和再生肝 DNA 的合成,以及促进 NK(自然杀伤细胞)细胞活性和抗肝损伤等作用^[1]。目前,黄芪总皂苷的提取分离方法有水提法、醇提法、萃取法精制、树脂吸附法精制和超临界 CO₂ 法等,其中树脂吸附精制法具有操作简便,无污染,成本较低等优点,因此本实验对用醇提加树脂吸附法提取分离黄芪总皂苷的工艺进行了考察。

1 材料与装置

黄芪购自广州中医药大学大药房有限公司,经广州中医药大学药植鉴定教研室李薇教授鉴定为蒙古黄芪。

紫外可见光分光光度计(Thermo Electron Corporation);电子控温电热套;D型水浴锅(河北黄骅市航天仪器厂);AB204—B型电子分析天平(瑞士梅特勒公司);DHF—6050型电热恒温真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

AB-8树脂(药用级),南开大学化工厂生产;蒸馏水,实验室自制;黄芪甲苷对照品,购自中国药品生物制品检定所,批号:781-200410;乙醇、香草醛、

高氯酸、冰醋酸均为AR级。

2 方法及结果分析

2.1 黄芪总皂苷的测定^[2]:精密称取干燥至恒重的黄芪甲苷对照品 2.5 mg,置于 10 mL 量瓶中,用无水乙醇溶解并稀释至刻度。精密吸取 0、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mL 黄芪甲苷对照品溶液,分别注入具塞试管中,水浴蒸干,各加入 5% 香草醛溶液 0.2 mL 和高氯酸 0.8 mL,65 ℃ 水浴中加热 15 min 后取出,冷却至室温,各加冰醋酸至 5 mL,30 min 内以 0 mL 黄芪甲苷对照品溶液作为空白对照,在 560 nm 处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,质量浓度为横坐标绘制标准曲线,得线性回归方程 $Y = 0.0296X - 0.0212$, $R^2 = 0.9992$,表明黄芪甲苷在 10~35 μg/mL 与吸光度线性关系良好。

2.2 样品溶液的制备:称取黄芪提取物(自制,含黄芪总皂苷 52.14%)置烧杯中,加适量蒸馏水,充分搅拌,超声处理 10 min,使其充分溶解,滤过,即得。

2.3 不同吸附树脂对黄芪总皂苷的静态吸附量试验^[3]:精密称取已处理好的干树脂约 1 g,置 100 mL 烧杯中,加样品溶液 20 mL,每隔 5 min 振摇 10 s,持续 2 h,然后静置 24 h,使其达到饱和吸附,吸取上层液测定黄芪总皂苷的质量浓度。按下式计算树脂饱和吸附量:饱和吸附量 = [(初始质量浓度 - 吸附后质量浓度) × 吸附液体积] / 树脂质量,结果见表 1。

2.4 不同树脂对黄芪总皂苷静态吸附-洗脱性能试验:将已处理好的干树脂 1 g,经静态饱和吸附总皂苷后滤出,吸干表面水分,精密加入 80% 乙醇 20

mL,每隔 5 min 振摇 10 s,持续 2 h,测定洗脱液的质量浓度,计算洗脱率:洗脱率=(洗脱液质量浓度×洗脱液体积)/饱和吸附量×100%,结果见表 2。

表 1 3 种树脂静态饱和吸附量测定结果 (n=3)

Table 1 Result of static saturation adsorption by three kinds of resins (n=3)

树脂种类	样品液质量浓度 / (mg · mL ⁻¹)	吸附后质量浓度 / (mg · mL ⁻¹)	饱和吸附量 / (mg · g ⁻¹)
D-101	6.18	4.25	38.6
D-201	6.18	4.01	43.4
AB-8	6.18	3.88	46

表 2 3 种树脂静态洗脱测定结果 (n=3)

Table 2 Result of static saturation elution by three kinds of resins (n=3)

树脂种类	洗脱量 / (mg · g ⁻¹)	洗脱率 / %
D-101	29.18	75.6
D-201	28.95	66.7
AB-8	43.33	94.2

结果说明除 D-101 对黄芪总皂苷的静态吸附量较小外,另外两种树脂的吸附量均在 40 mg/g 以上,能用于黄芪总皂苷的吸附分离工艺。在静态洗脱中,AB-8 型树脂吸附的黄芪总皂苷较易洗脱,D-201 型树脂的洗脱率相对较低,AB-8 型树脂表现出最佳的综合性能。因而,选用 AB-8 型树脂分离纯化黄芪总皂苷。

2.5 AB-8 树脂对黄芪总皂苷的动态吸附性能的测定^[4]:将黄芪总皂苷质量浓度为 0.841 mg/mL 的样品溶液分别缓慢加入装有 AB-8 树脂柱(20 cm×1.2 cm)中,控制体积流量为 1.2 mL/min,每 10 mL 收集 1 个流份,将每次所收集流份过相同的大孔树脂柱,先以 40 mL 蒸馏水洗脱,继以 40 mL 95%乙醇洗脱黄芪总皂苷部位,测定乙醇洗脱部位中黄芪总皂苷,绘制黄芪总皂苷在 AB-8 树脂柱上的动态吸附曲线,确定 AB-8 树脂对黄芪总皂苷的动态吸附性能,结果见图 1。

可见,从第 10 流份开始,黄芪总皂苷出现较大量泄漏;随着流份数的增加,黄芪总皂苷质量浓度也不断上升,增至第 30 流份以后,曲线趋于平缓,即此时 AB-8 树脂对黄芪总皂苷的动态吸附趋于饱和,吸附量可达 240.3 mg。动态吸附率为 10.78 mg/mL 树脂。因此考虑实际生产工艺中上样量不超过黄芪生药 0.44 g/mL 树脂,以免造成黄芪总皂苷的大量泄漏,损失得率。

2.6 不同体积分数乙醇及用量对黄芪总皂苷洗脱性能的考察^[5]:黄芪提取物水溶液 500 mL (50 g 生药)上 AB-8 树脂柱后分别以蒸馏水及 20%、40%、

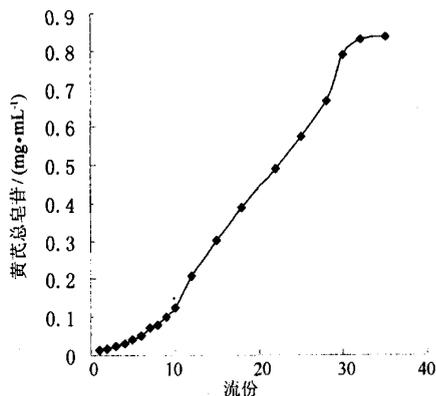


图 1 AB-8 树脂对黄芪总皂苷的动态吸附曲线
Fig. 1 Dynamic adsorption curve of AB-8 resin to total astragalosides

60%、80%、95%乙醇各 100 mL 洗脱,25 mL 收集 1 个流份,分别测定各洗脱液流份中黄芪总皂苷的质量浓度,绘制洗脱曲线,见图 2。

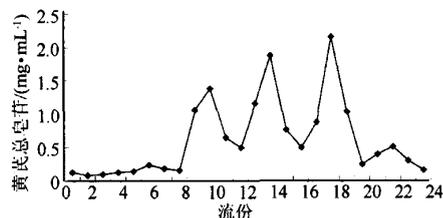


图 2 不同体积分数乙醇及用量对黄芪总皂苷洗脱性能的影响

Fig. 2 Eluting efficiency of different concentration and volume of ethanol to total astragalosides

可以看出,蒸馏水和 20%洗脱液中黄芪总皂苷很少,而主要集中在 40%乙醇到 80%乙醇洗脱部分,95%乙醇洗脱部位中黄芪总皂苷也很少。因此考虑洗脱工艺为上样后先以蒸馏水和 20%乙醇洗脱杂质后,继以 80%乙醇洗脱黄芪总皂苷部位,用量各为 4 倍量树脂柱体积。

2.7 验证性试验:根据以上研究及分析,确定黄芪总皂苷分离工艺为黄芪提取物加 10 倍量蒸馏水溶解,滤过,弃去沉淀,上清液过 AB-8 树脂柱(55 cm×4 cm),分别各以 4 倍量蒸馏水、20%乙醇、80%乙醇洗脱,收集富含黄芪总皂苷的 80%乙醇洗脱部位,减压回收乙醇,浓缩物在 60 °C 真空干燥。各取 50 g 黄芪粗粉,根据以上工艺条件进行验证性试验,并跟踪检测黄芪总皂苷收率和质量分数,结果见表 3。

根据以上结果可以看出,经过该工艺处理后的黄芪总皂苷质量浓度仍然不是很高,达不到有效部位的要求,因此在该工艺基础上仍需要继续精制处理。继续增加乙醇体积分数虽然可以达到精制目的,

但黄芪总皂苷损失亦相应增大,故考虑其他方法。由于树脂所吸附的杂质主要为黄酮类等酸性有色物质,而黄芪总皂苷为中性,所以考虑以稀碱溶液洗脱杂质,对黄芪总皂苷影响较小。因此分别取 50 g 黄芪粗粉,在以上工艺基础上,水洗后以不同浓度的氢氧化钠溶液进行洗脱,结果见图 3。

表 3 工艺条件验证结果

Table 3 Verification result of technological condition

上样量(生药)/g	收率/%	质量分数/%
50	1.213	45.7
50	1.198	44.9
50	1.276	44.6

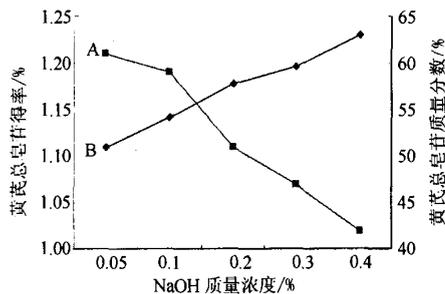


图 3 不同质量浓度的氢氧化钠溶液对黄芪总皂苷收率(A)和质量分数(B)的影响

Fig. 3 Influence of NaOH solution at different concentration on yield (A) and purity coefficient (B) of astragaloside

可以看出,随着 NaOH 溶液质量浓度的升高,所得黄芪总皂苷的收率逐渐下降,而质量分数却逐渐升高,综合考虑以 0.1% NaOH 溶液较为合适,既可以保证黄芪总皂苷的质量分数在 50% 以上,又不至于使黄芪总皂苷损失过多。

3 讨论

AB-8 树脂是一种球形弱极性聚合物吸附剂,该树脂对皂苷类成分有特殊的选择性,适合从水溶液中提取皂苷类成分和某些有机物质。吸附树脂粒可通过再生反复使用。本实验对用不同柱长的 AB-8

树脂柱,以及不同体积分数的乙醇洗脱和提取时对黄芪总皂苷得率和质量分数的影响等进行了研究,证实醇提后经过 AB-8 树脂的精制处理,可以使黄芪总皂苷的得率和质量分数均达到较高水平。

由于黄芪醇提取物中含有较多黄酮类物质,而 AB-8 树脂对黄酮类成分也有一定吸附能力,因此在精制过程中需要先用稀醇洗脱极性较大的黄酮类杂质。一般而言,酸性化合物在碱性溶液中易被解吸附,碱性化合物在酸性溶液中易被解吸附。黄芪总皂苷为中性化合物,而植物提取物中的色素成分多为酸性化合物。因此,本研究采用稀碱溶液对大孔树脂进行洗脱,可最大限度的将色素杂质洗脱,而黄芪总皂苷受影响较小,提高了产品的纯度。

综合以上研究结果,黄芪总皂苷的最终精制工艺为黄芪提取物加 10 倍量蒸馏水溶解,滤过,弃去沉淀,上清液过 AB-8 树脂柱,分别以蒸馏水、0.1% NaOH 溶液、20% 乙醇、80% 乙醇洗脱,收集富含黄芪总皂苷的 80% 乙醇洗脱部位,回收乙醇,浓缩物 60 °C 真空干燥得黄芪总皂苷提取物。

References:

- [1] Pan F, Feng L X, Zhang Y. Overview of *Astragalus mongholicus* study [J]. *World Phytomed* (国外医药:植物药分册), 1995, 10(3): 110-115.
- [2] Sun H, Liu Y B, Wang X J, et al. Assaying of total flavonoids and total saponins in overwintering deadwood of *Astragalus mongholicus* [J]. *Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 1996 (6): 36.
- [3] Xiang D X, Li H D, Zhu Y C, et al. Studies on separation and purification of total flavones from *Radix Puerariae* by macroporous adsorbents [J]. *Chin Pharm J* (中国药学报), 2003, 38 (1): 35-37.
- [4] Lin Q F, Wang L Y, Li Y L, et al. Study on the isolation ability of AB-8 macroporous adsorption resin for total flavonoids of *Trollius chinensis* Bunge [J]. *Jinan Univ: Nat Sci* (暨南大学学报:自然科学版), 2003, 24 (1): 55.
- [5] Cai Q, Liu T, Fu Y Q, et al. Research on the enrichment of secoiridoid glycoside in *Radix Gentiana* with macroporous resin [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2003, 25 (4): 271.

三相流化床蒸发浓缩更年期安提取物的研究

刘明言¹, 聂万达², 凌宁生²

(1. 天津大学化工学院, 天津, 300072; 2. 天津中新药业集团股份有限公司, 天津 300122)

摘要:目的 使用三相流化床蒸发浓缩中试装置用于更年期安提取物的浓缩,探索最佳浓缩工艺。方法 以浓缩器

收稿日期:2004-11-15

基金项目:天津市中药现代化专项基金资助(0131086112)

作者简介:刘明言(1966—),男,河南禹州人,博士,教授,研究方向为多相流及传热工程、多相反应器工程和中药现代化工程。

E-mail: myliu@tju.edu.cn