

## 黄芪皂甙的提取分离方法

阎巧娟

(中国农业大学农业工程研究院)

韩鲁佳

(中国农业大学东校区科研处)

江正强

(中国农业大学食品学院)

刘向阳

(中国农业大学农业工程研究院)

**摘要** 对黄芪皂甙的几种提取分离方法:水提法、醇提法、萃取法精制、树脂吸附法精制和超临界 CO<sub>2</sub> 法进行了试验研究。结果表明,醇提法优于水提法,树脂吸附法明显优于正丁醇萃取法,用超临界 CO<sub>2</sub> 法提取时以甲醇和体积分数为 95% 的乙醇作为夹带剂提取效果较好。

**关键词** 黄芪皂甙; 提取方法; 超临界 CO<sub>2</sub> 法

**分类号** S 816.7; R 284.2

## Study on the Methods of Extracting and Isolating Astragaloside

Yan Qiaojuan

(Agricultural Engineering Institute, CAU)

Han Lujia

(Research and Development Office, East Part, CAU)

Jiang Zhengqiang

(College of Food Science and Engineering, CAU)

Liu Xiangyang

(Agricultural Engineering Institute, CAU)

**Abstract** Various methods of extracting and isolating astragaloside like water-extracting, ethanol-extracting, extraction refine, resin absorbing have been carried out. As a result, ethanol-extracting is better than water-extracting, resin absorbing method is better than extraction refine by n-butyl alcohol, and when the supercritical-CO<sub>2</sub> method were used, methanol and 95% ethanol as entrainment agent can get a better result.

**Key words** astragaloside; extracting method; supercritical-CO<sub>2</sub> method

黄芪(Radix Astragali)是多年生草本豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的干燥根。黄芪中含多糖、皂甙、黄酮、氨基酸等多种有效成分,黄芪甲甙(Astragaloside IV)是药用黄芪中的主要有效成分之一。药理试验证明黄芪甲甙不但具有消炎、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<sup>[1]</sup>。

黄芪中皂甙含量较低(以黄芪甲甙计质量分数为 0.04%~ 0.30%左右),其皂甙元属羊毛脂烷型四环三萜,提取分离比较困难。黄芪皂甙类化合物的分离多先以醇类溶剂(如乙醇或甲醇等)提取,然后以正丁醇萃取,如果要分离皂甙单体,可将萃取物进行硅胶柱层析。目前,黄芪皂甙的提取多采用水提法,即水提液静沉之后取上清液的方法,但得到的皂甙含量比较低。笔

收稿日期: 2000-05-17

国家“九五”重点攻关专题

阎巧娟,北京清华东路 17 号 中国农业大学(东校区)191 信箱, 100083

者对用水提法、醇提法、萃取法精制、树脂吸附法精制和超临界 CO<sub>2</sub> 法提取黄芪皂甙进行了试验研究<sup>[2]</sup>, 并对比分析几种提取方法的优缺点。

## 1 试验材料及装置

材料: 黄芪, 购自北京市海淀区医药经营公司, 经鉴定为蒙古黄芪。

仪器: TU 1800SPC 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; 98-1B 型电子控温电热套, 天津市泰斯特仪器有限公司; DZKW-D 型水浴锅, 河北黄骅市航天仪器厂; AB 204-B 型电子分析天平, 瑞士梅特勒公司; 金叶牌微量进液器, 上海联胜实验仪器厂; 101A-2 型电热恒温干燥箱, 上海实验仪器总厂; 砂芯层析柱(Φ40 mm × 800 mm); 超临界 CO<sub>2</sub> 提取装置, 中科院生态环境研究中心。

试剂: 黄芪甲甙标准品, 购自中国药品生物制品检定所; 体积分数为 95% 的乙醇、无水乙醇、正丁醇、甲醇、正己烷、香草醛、硫酸均为 AR 级; AB-8 树脂, 南开大学化工厂生产。

## 2 试验方法

### 2.1 水提法<sup>[3]</sup>

取黄芪粗粉 80 g, 用水提法进行 2 次提取。第 1 次加水量为黄芪的 10 倍, 提取 2 h; 第 2 次加水量 8 倍, 提取 1.5 h。合并提取液浓缩至质量比为 1:1, 加乙醇调节至醇体积分数(α乙醇)分别为 95%、80% 和 70% 时进行醇沉, 静置 12 h。将上清液减压, 回收乙醇至无醇味, 将浓缩物在 60℃ 的恒温干燥箱中干燥得黄芪皂甙粗品。

### 2.2 醇提法

各取黄芪粗粉 80 g, 分别用 α乙醇) 为 95%、80% 和 70% 的乙醇进行 2 次提取。第 1 次加水量为黄芪的 10 倍, 提取 2 h; 第 2 次加水量 8 倍, 提取 1.5 h。合并提取液减压回收乙醇至无醇味, 将浓缩物在 60℃ 下干燥得黄芪皂甙粗品。

### 2.3 萃取法<sup>[4]</sup>

各取黄芪粗粉 80 g, 分别用 α乙醇) 为 95%、80% 和 70% 的乙醇进行 2 次提取。第 1 次加水量为黄芪的 10 倍, 提取 2 h; 第 2 次加水量 8 倍, 提取 1.5 h。合并提取液减压回收乙醇至无醇味, 将浓缩物加蒸馏水溶解, 过滤, 然后以正丁醇萃取, 减压回收正丁醇, 浓缩物在 60℃ 下干燥得黄芪皂甙粗品。

### 2.4 树脂吸附法

各取黄芪粗粉 80 g, 分别用 α乙醇) 为 95%、80% 和 70% 的乙醇进行 2 次提取。第 1 次加水量为黄芪的 10 倍, 提取 2 h; 第 2 次加水量 8 倍, 提取 1.5 h。合并提取液减压回收乙醇至无醇味, 将浓缩物加蒸馏水溶解, 过滤, 将滤液通过树脂柱(柱长 44 cm), 用 2 倍量的蒸馏水洗脱树脂柱, 收集流出液和水洗液; 再用 2 倍量的乙醇(α乙醇) 为 80%) 洗脱皂甙类成分, 收集洗脱液, 减压回收乙醇, 浓缩物在 60℃ 下干燥得黄芪皂甙粗品。

### 2.5 超临界 CO<sub>2</sub> 法<sup>[5]</sup>

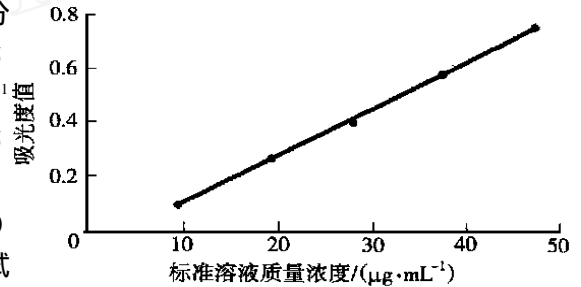
每次取黄芪粗粉 400 g, 分别用 α乙醇) 为 95% 和 70% 的乙醇及甲醇、正丁醇和正己烷作为夹带剂, 夹带剂的添加量为原料的 30% (体积比), 静态提取 30 min, 萃取罐压力 26~28 MPa, 温度 48~50℃; 动态提取 2.5 h, 分离罐 1 压力 26~28 MPa, 温度 48~50℃, 分离罐 2

压力 6~8 MPa, 温度 48~50 ℃, CO<sub>2</sub> 流量 5~10 L·min<sup>-1</sup>。将提取物减压浓缩, 回收夹带剂, 浓缩物在 60 ℃ 下干燥得黄芪皂甙粗品。

### 3 黄芪皂甙的分析方法<sup>[6,7]</sup>

#### 3.1 标准曲线的制备

测定黄芪皂甙以黄芪甲甙为标准品。制备标准曲线时, 精密称取干燥至恒重的黄芪甲甙标准品 5.10 mg, 置于干燥的 10 mL 容量瓶中, 用无水乙醇溶解并稀释至刻度。精密吸取 0.15, 0.30, 0.45, 0.60 和 0.75 mL 标准品溶液, 分别注入具塞试管中, 各加入无水乙醇至 0.75 mL, 再分别加入质量浓度为 8 g·(100 mL)<sup>-1</sup> 的香草醛试剂 0.75 mL, 置于冰浴中加入 7.5 mL 体积分数为 72% 的硫酸摇匀, 放入 62 ℃ 恒温水浴中保温 20 min, 取出冷却摇匀, 在 30 min 内, 于波长 544 nm 处测定吸光度, 随行试剂空白, 测定 3 次。所绘的标准曲线见图 1。



$$y = 0.0172x - 0.0688 \quad R^2 = 0.9977$$

图1 黄芪甲甙标准曲线

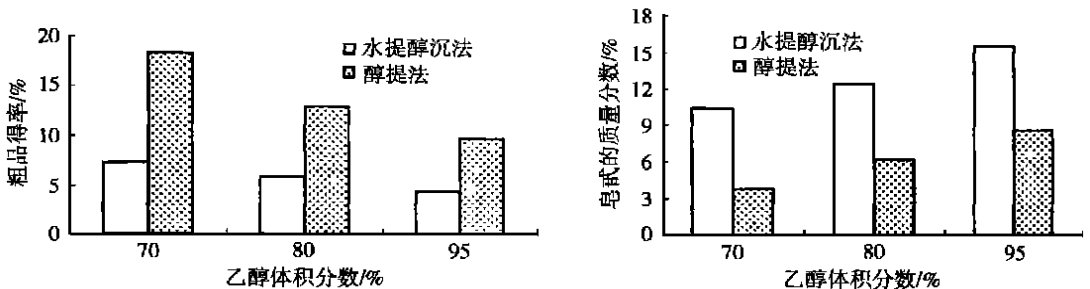
#### 3.2 黄芪皂甙的测定

精密称取所得黄芪皂甙粗品, 用无水乙醇定容于 25 mL 的容量瓶中。取滤液作为样品液, 精密吸取 0.5 mL 样品溶液, 加 0.5 mL 的香草醛试剂(质量浓度为 8 g·(100 mL)<sup>-1</sup>), 置于冰浴中缓缓加入 5 mL 体积分数为 72% 的硫酸, 摇匀, 放入 62 ℃ 水浴中, 保温 20 min, 取出置于室温水浴中冷却, 摇匀, 于波长 544 nm 处测定吸光度, 对照标准曲线, 得出样品中黄芪皂甙的含量。

## 4 结果与分析

#### 4.1 水提法与醇提法对黄芪皂甙提取效果的影响

对用水提法和醇提法得到的黄芪皂甙粗品进行得率和含量测定, 结果见图 2。



(a) 对得率的影响

(b) 对质量分数的影响

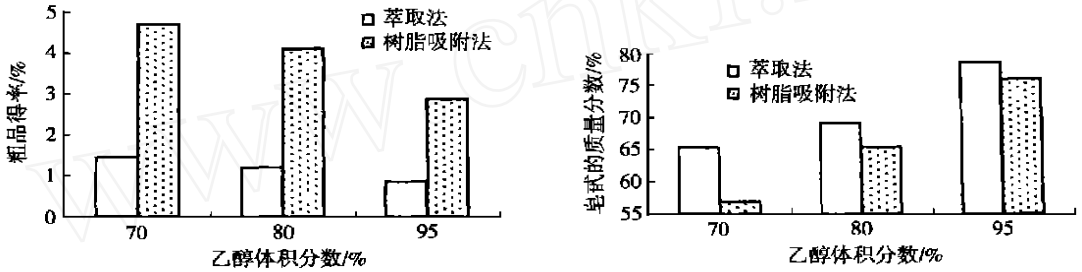
图2 水提法和醇提法对黄芪皂甙提取效果的影响

由图 2 可见, 虽然醇提法所得皂甙含量稍低于水提法, 但粗品得率要高出很多, 总体考虑, 醇提法优于水提法。醇提过程中乙醇与物料充分接触, 故提取物得率高, 但皂甙含量相应降低; 水提法中, 靠醇沉后取上清液, 即醇再从水提液中提出皂甙, 接触不充分。由图 2 还可看出, 在

水提法中随着用于醇沉的醇体积分数的降低,粗品得率提高,但皂甙含量降低也很多;醇提法中随着醇体积分数的降低,得率和含量遵循相似的规律,这是由于醇体积分数的降低会带入较多的水溶性物质而造成的。

#### 4.2 正丁醇萃取法与树脂吸附法对黄芪皂甙提取效果的影响

对用正丁醇萃取法和树脂吸附法得到的黄芪皂甙粗品进行得率和含量测定,结果见图3。



(a) 对得率的影响

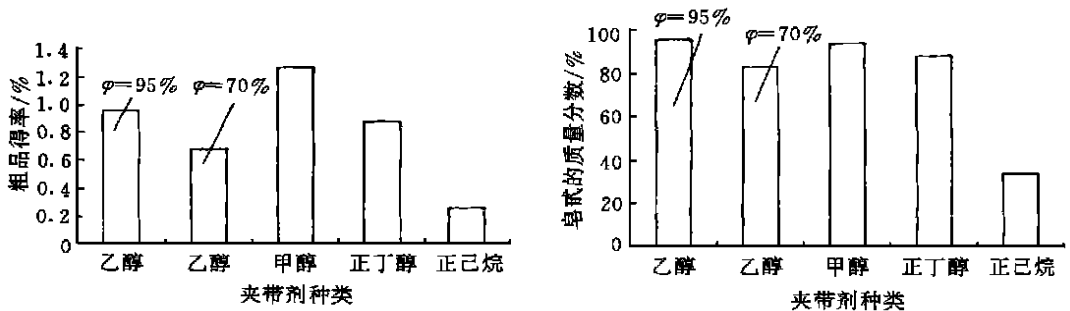
(b) 对质量分数的影响

图3 正丁醇萃取法与树脂吸附法对黄芪皂甙提取效果的影响

从图3可以看出,树脂吸附法明显优于萃取法。根据相似相溶原理,正丁醇能从水溶液中萃取出皂甙,但从分离效果来看,水层仍有皂甙,且正丁醇沸点高,回收时耗能多;而树脂法效果好且树脂可以再生,故树脂吸附法优于萃取法。另外,在用树脂吸附法和萃取法分离皂甙时,粗品得率都随醇的体积分数的降低而升高,皂甙含量随之降低,这是由于体积分数小的醇溶液提取时可带出大量的水溶性物质而造成的。

#### 4.3 超临界CO<sub>2</sub>法中不同夹带剂对黄芪皂甙提取效果的影响

超临界CO<sub>2</sub>法具有很多优点,尤其适合提取极性较强的物质。黄芪皂甙极性较弱,主要靠夹带剂带出。如图4所示,以甲醇和 $\alpha$ -乙醇为95%的乙醇作为夹带剂效果较好,得率和含量都较高; $\alpha$ -乙醇为95%的乙醇作为夹带剂时,粗品得率为0.96%,皂甙质量分数为96.32%;甲醇作为夹带剂时,得率为1.27%,质量分数为94.15%。



(a) 对得率的影响

(b) 对质量分数的影响

图4 不同夹带剂对黄芪皂甙提取效果的影响

## 5 结论

1) 醇提法所得皂甙含量虽然稍低于水提法,但粗品得率要高出很多,总体考虑,醇提法优

于水提法。在水提法中随着用于醇沉的醇的体积分数的降低,粗品得率提高,但皂甙含量降低也很多;醇提法中随着醇体积分数的降低,得率和含量遵循相似的规律。

2) 树脂吸附法明显优于正丁醇萃取法。在用树脂吸附法和萃取法分离皂甙时,粗品得率随醇的体积分数的降低而增高,含量则随之降低。

3) 超临界CO<sub>2</sub>提取黄芪皂甙时,以甲醇和α(乙醇)为95%的乙醇作为夹带剂效果较好,得率和含量都较高。

### 参 考 文 献

- 1 潘 飞,冯镗秀,张 颖 黄芪研究的概况 国外医药·植物药分册,1995,10(3):110~115
- 2 田 晶,卢明春,苏志国,等 AB-8 树脂法提取大豆皂甙的研究 食品与发酵工业,2000,16(1):16~19
- 3 张 峻 正交试验法优选黄芪水提工艺的实验研究 基层中药杂志,1999,13(3):13~15
- 4 李 洲,廖史书,雷 文 制药工业中溶剂萃取技术的机制和应用发展方向 中国医药工业杂志,1996,27(2):89~93
- 5 刘 芸,唐玉海 超临界流体技术在医药工业中的应用 西北药学杂志,1999,14(2):82~83
- 6 杜 薇 黄芪中黄芪甲甙的提取及含量测定 时珍国药研究,1996,7(4):217~218
- 7 王宝琴,苏 健,鲁 静 黄芪甲甙的检测在中药质控中的应用 中国中药杂志,1996,21(3):161~164