

- 后 GC-MS 指纹图谱对比研究[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(11): 1995-2000.
- [6] 甘彦雄, 赵思蕾, 罗妮妮, 等. 蓬莪术醋制前后“行气破血”功效变化对比研究[J]. 现代中药研究与实践, 2015, 29(2): 29-32.
- [7] 甘彦雄, 郑勇凤, 汪 蕾, 等. 基于 ICP-MS 分析蓬莪术醋制前后煎液及沉淀物重金属转移率变化[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(1): 65-69.
- [8] 甘彦雄, 罗妮妮, 蒋燕萍, 等. 基于 GC-MS 同时测定蓬莪术及其醋制品挥发油中 β -榄香烯、莪术醇、吉马酮、新莪术二酮的含量[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(7): 1311-1315.
- [9] Nuriza Rahmadini, 甘彦雄, 郑勇凤, 等. 基于 GC-MS 对比分析印尼姜黄、姜黄、蓬莪术挥发油中的化学成分[J]. 中药与临床, 2016, 7(2): 20-22.
- [10] Li R, Wang Q, Fan J R, et al. Metabolites identification of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin in rats after oral administration of nanoparticle formulations by liquid chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *World J Tradit Chin Med*, 2016, 2(4): 29-37.
- [11] 汪 蕾, Nuriza Rahmadini, 高天慧, 等. 印尼姜黄对刀豆球蛋白 A 所致小鼠肝损伤的保护作用及其影响 TGF- β_1 /Smad 通路的机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 127-133.
- [12] Gan Y X, Zheng S C, Zhao J Q, et al. Protein network module-based identification of key pharmacological pathways of *Curcuma phaeocaulis* Val. acting on hepatitis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 221: 10-19.
- [13] 狄建彬, 顾振纶, 赵笑东, 等. 姜黄素的抗氧化和抗炎作用研究进展[J]. 中草药, 2010, 41(5): 附 18-附 21.
- [14] 廖 婉, 傅超美, 傅 舒, 等. 醋莪术饮片及其炮制方法: 中国, CN103463567A [P]. 2013-12-25.
- [15] 罗妮妮, 程 玲, 傅超美, 等. 正交试验结合人工神经网络模型优化蓬莪术炮制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(24): 10-13.
- [16] 谢 辉, 陆免林, 毛春芹. 正交法优化莪术中姜黄素提取工艺研究[J]. 中成药, 2004, 26(7): 593-595.
- [17] 许政旭, 罗 俊, 潘年松, 等. 黔产莪术中挥发油和姜黄素最佳提取工艺研究[J]. 中医研究, 2015, 28(7): 55-58.
- [18] 张东方, 沙 明, 杨松松, 等. 人工神经网络在中药领域中的应用现状及前景[J]. 中草药, 2003, 34(1): 89-91.
- [19] 聂英军, 傅超美, 李 莹, 等. 人工神经网络法优化醋莪术挥发油的提取与包合工艺[J]. 华西药学杂志, 2014, 29(3): 248-250.
- [20] 张 超, 韩 丽, 杨秀梅, 等. BP 神经网络结合正交试验优化苦参方中荆芥挥发油的提取工艺[J]. 中成药, 2015, 37(1): 70-74.

黄芪配方颗粒提取过程中 3 种指标成分的传质规律

莫平莉^{1,2}, 王洛临^{2*}, 卢 泳^{1,2}, 陈雪婷², 冯健英², 徐文杰², 李智勇²

(1. 广州中医药大学第五临床医学院, 广东 广州 510095; 2. 广东省中医药工程技术研究院/广东省中医药研究开发重点实验室, 广东 广州 510095)

摘要: 目的 研究黄芪配方颗粒提取过程中黄芪甲苷、毛蕊异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖苷、黄芪多糖的传质规律。方法 电导率测定法表征 3 种指标成分的提取规律及终点, 考察电导率与其含有量之间的关系。结果 黄芪提取液电导率与黄芪甲苷、毛蕊异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖苷、黄芪多糖含有量的相关性较好 (r 分别为 0.991 9、0.985 4、0.986 8)。结论 电导率测定法可及时、快速、直观地反馈黄芪提取液中指标成分含有量, 易于实现黄芪配方颗粒中该类成分提取过程中的快速分析及终点指示, 并为研究其传质规律奠定基础。

关键词: 黄芪配方颗粒; 黄芪甲苷; 毛蕊异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖苷; 黄芪多糖; 传质规律; 电导率测定法

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)05-0979-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.05.004

Mass transfer rules of three index components in Huangqi Formula Granules during the extraction

收稿日期: 2018-09-05

基金项目: 广东省科技计划项目 (2015B070701010, 2017A070701017); 佛山市科技创新专项资金 (2013GQ100032)

作者简介: 莫平莉 (1992—), 女, 硕士生, 从事中药新药研发。Tel: (020) 83501292, E-mail: M_Pingli@163.com

* 通信作者: 王洛临 (1958—), 男, 主任中药师, 硕士生导师, 从事中药新药研发。Tel: (020) 83501292, E-mail: luolin_w@

163.com

MO Ping-li^{1,2}, WANG Luo-lin^{2*}, LU Yong^{1,2}, CHEN Xue-ting², FENG Jian-ying², XU Wen-Jie², LI Zhi-yong²

(1. The Fifth Clinical Medicine College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China; 2. Guangdong Provincial Engineering and Technology Research Institute for Chinese Medicine/Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development in Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China)

KEY WORDS: Huangqi Formula Granules; astragaloside A; calycosin-7-*O*- β -*D*-glucoside; *Astragali Radix* polysaccharides; mass transfer rules; conductivity measurement method

黄芪配方颗粒的提取采用2次煎煮方法,目前相关工艺的制定是通过间断取样及HPLC法、紫外-可见分光光度法等来反映提取液中指标成分含有量,并优化提取方案^[1-3],但这些方法会使提取信号滞后,导致无法及时调整提取方案,并且存在样品处理复杂、步骤多、耗时长、对仪器设备要求高等缺点^[4,5]。因此,需寻找1种精准简便的方法来对黄芪配方颗粒的提取过程进行实时监测,以便及时优化提取方案,确定提取终点。

本实验利用黄芪提取液显示电信号的表征,通过关联其电导率与指标成分(黄芪甲苷、黄芪多糖、毛蕊异黄酮-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷)含有量之间的关系,对提取过程进行实时监测,为研究该制剂提取过程中的传质规律奠定基础。

1 材料

1.1 仪器 e2695型HPLC色谱仪,配置2424型ELS检测器、2998型PDA检测器(美国Waters公司);DDS-307A型电导率仪(上海精密科学仪器有限公司);LXJ-II B型离心机(上海安亭科学仪器厂);JJ500型电子天平(常熟市双杰测试仪器厂);TLE204型分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);HH系列数显恒温水浴锅(金坛市科析仪器有限公司)。

1.2 试剂 黄芪甲苷(CAS号84687-43-4,含有量>98%)对照品购自成都瑞芬思生物科技有限公司;毛蕊异黄酮-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(批号11920-201203,含有量97.3%)、*D*-无水葡萄糖(批号110833-201506,含有量99.9%)对照品购自中国食品药品检定研究院。黄芪(批号160301)购自广州市金芝中药饮片公司,经广东省中医药工程技术研究院王洛临主任中药师鉴定为正品,符合2015年版《中国药典》一部相关项下规定。D-101型大孔吸附树脂购自天津浩聚树脂科技有限公司。乙腈为色谱纯;甲醇、苯酚等均为分析纯;水为屈臣氏蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 黄芪甲苷含有量测定

2.1.1 色谱条件^[6-7] AichromBond-SB色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μ m);流动相乙腈-水(32:68);增益150;漂移管温度85 $^{\circ}$ C;气体压力25 psi (1 psi=6.895 kPa);喷雾器温度36 $^{\circ}$ C;体积流量1 mL/min;柱温30 $^{\circ}$ C。色谱图见图1。

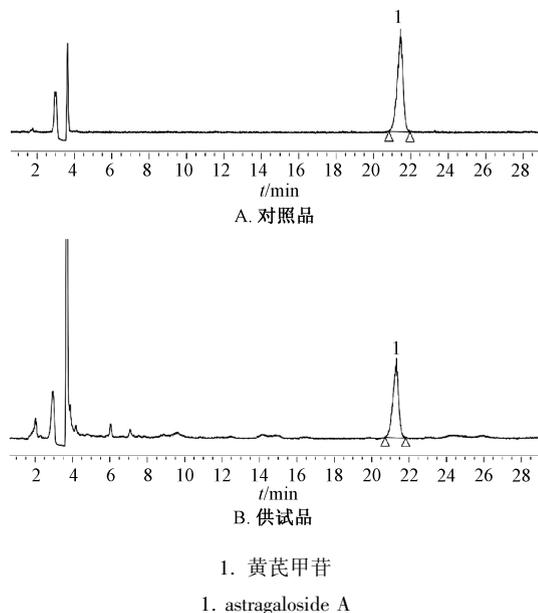


图1 黄芪甲苷HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of astragaloside A

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成0.5596 mg/mL溶液,即得。

2.1.3 供试品溶液制备 精密吸取不同时间点提取液各15 mL,按照2015年版《中国药典》^[8-9]方法制备,即得。

2.1.4 线性关系考察 精密量取“2.1.2”项下对照品溶液0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,甲醇定容至1 mL,摇匀,在“2.1.1”项色谱条件下进样10 μ L测定。以黄芪甲苷进样量对数值为横坐标(*X*),峰面积对数值为纵坐标(*Y*)进行回归,得方程为 $Y=1.6573X-0.1979$ ($r=0.9995$),在559.58~5595.8 ng范围内呈良好的线性关系。

2.2 毛蕊异黄酮-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷含有量测定

2.2.1 色谱条件 SunFire[®] C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μ m); 流动相乙腈-0.2% 甲酸 (18 : 82); 检测波长 260 nm; 体积流量 1 mL/min; 柱温 25 $^{\circ}$ C。色谱图见图 2。

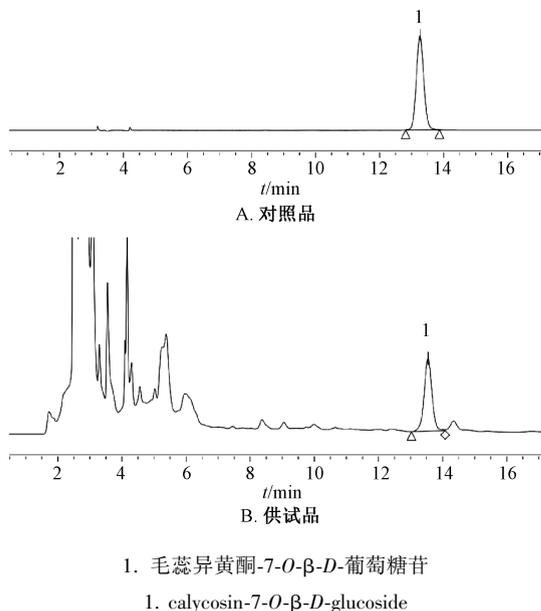


图 2 毛蕊异黄酮-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of calycosin-7-*O*- β -*D*-glucoside

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取毛蕊异黄酮-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷对照品适量, 加甲醇制成 0.110 9 mg/mL 溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液制备 量取不同时间点提取液各 1 mL, 过滤, 即得。

2.2.4 线性关系考察 精密量取“2.2.2”项下对照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL, 甲醇定容至 1 mL, 摇匀, 在“2.2.1”项色谱条件下进样 4 μ L 测定。以毛蕊异黄酮-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷进样量为横坐标 (*X*), 峰面积为纵坐标 (*Y*) 进行回归, 得方程为 $Y = 7\ 270X - 2\ 310$ ($r = 0.999\ 9$), 在 44.36~443.6 ng 范围内呈良好的线性关系。

2.3 黄芪多糖含有量测定

2.3.1 对照品溶液制备 精密称取 *D*-无水葡萄糖对照品适量, 加水制成 96 ng/mL 溶液, 即得。

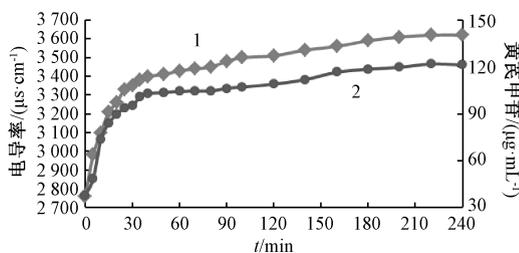
2.3.2 供试品溶液制备 精密量取不同时间点提取液适量, 置于 200 mL 量瓶中, 加水定容, 摇匀, 即得。

2.3.3 最大吸收波长确定 精密量取对照品、供试品溶液各 1 mL, 置于 10 mL 具塞试管中, 苯酚-硫酸法^[10-11]显色后在 200~700 nm 波长处检测。结果, 2 种溶液在 486 nm 波长处均有最大吸收, 故选择其作为检测波长。

2.3.4 线性关系考察 精密量取对照品溶液 0.2、0.4、0.5、0.6、0.8、0.9 mL, 置于具塞试管中, 加水至 1.0 mL, 按“2.3.3”项下方法处理, 以相应溶剂为空白, 于 486 nm 波长处测定吸光度。以对照品溶液质量浓度为横坐标 (*X*), 吸光度为纵坐标 (*A*) 进行回归, 得方程为 $A = 0.064\ 7X + 0.034\ 5$ ($r = 0.999\ 5$), 在 2.7~12.3 ng/mL 范围内呈良好的线性关系。

2.4 药材提取和指标测定 称取药材 200 g, 加入一定体积水加热回流提取 4 h, 按预先设定的时间点取样, 静置至常温后 3 000 r/min 离心 15 min 去除杂质, 25 $^{\circ}$ C 恒温下测定提取液电导率, HPLC-DAD 法测定黄芪甲苷含有量, HPLC-PAD 法测定毛蕊异黄酮-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷含有量, 紫外-可见分光光度法测定黄芪多糖含有量。

2.5 黄芪指标成分提取规律及终点表征 采用电导率测定法, 按“2.4”项下结果绘制电导率-时间、指标成分含有量-时间曲线, 结果见图 3~5。由图可知, 随着提取时间增加, 电导率、指标成分含有量变化具有相同规律, 均先快速增长, 再趋于平稳, 最后达到恒定, 即在提取过程中的前 40 min 快速增长, 40~200 min 内缓慢增长, 趋于平稳, 200 min 后达到平稳状态, 即在 200 min 时提取液中电导率与指标成分含有量均无明显变化, 表明黄芪指标成分提取过程达到终点。

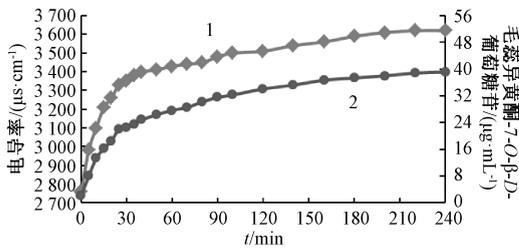


1. 电导率-时间曲线 2. 黄芪甲苷含有量-时间曲线
1. conductivity-time curve 2. astragaloside A content-time curve

图 3 电导率、黄芪甲苷含有量随提取时间的变化

Fig. 3 Variations of conductivity and astragaloside A content with extraction time

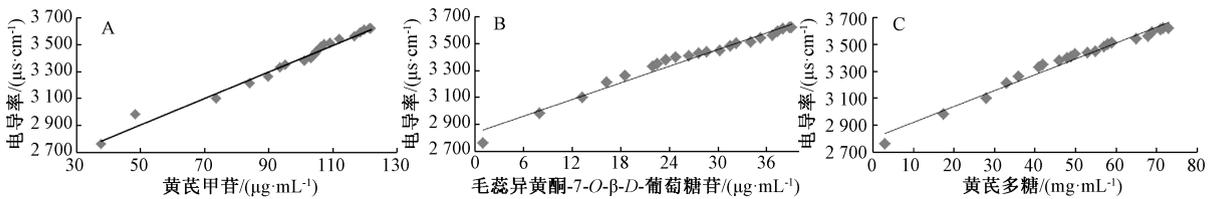
2.6 电导率与黄芪指标成分含有量之间的定量关系 基于“2.5”项下结果, 绘制以指标成分含有量为横坐标, 提取液电导率为纵坐标的关系曲线 (图 6), 并对其线性相关考察, 发现电导率与黄芪甲苷、毛蕊异黄酮-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、黄芪多糖含有量关系曲线的相关系数 (*r*) 分别为 0.991 9、0.985 4、0.986 8, 均呈现出良好的相关性。



1. 电导率-时间曲线 2. 毛蕊异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷含有量-时间曲线
1. conductivity-time curve 2. calycosin-7-O-β-D-glucoside content-time curve

图4 电导率、毛蕊异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷含有量随提取时间的变化

Fig. 4 Variations of conductivity and calycosin-7-O-β-D-glucoside content with extraction time



1. 电导率-时间曲线 2. 黄芪多糖含有量-时间曲线
1. conductivity-time curve 2. Astragali Radix polysaccharides content-time curve

图5 电导率、黄芪多糖含有量随提取时间的变化
Fig. 5 Variations of conductivity and Astragali Radix polysaccharides content with extraction time

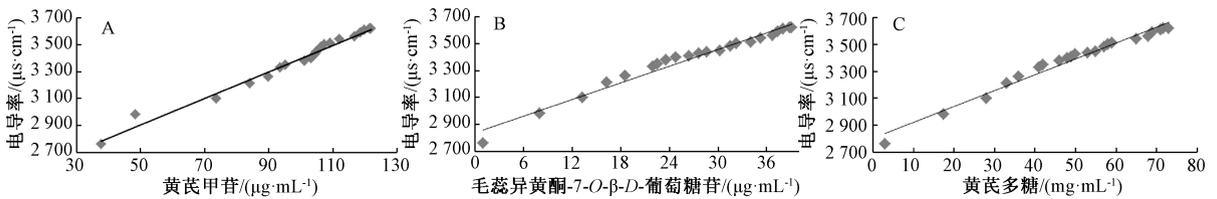


图6 电导率与黄芪甲苷 (A)、毛蕊异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷 (B)、黄芪多糖 (C) 含有量之间的关系

Fig. 6 Relationships between conductivity and contents of astragaloside A (A), calycosin-7-O-β-D-glucoside (B) and Astragali Radix polysaccharides (C)

3 讨论

纯水中本无电导率，而在提取过程中黄芪细胞中含有的皂苷、黄酮、多糖、无机盐类等成分可透过细胞壁和细胞间质向水中扩散，并以盐的形式存在，使得水显示电信号^[12]。本实验发现，随着提取时间增加，提取液中电导率与黄芪指标成分（黄芪甲苷、毛蕊异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷、黄芪多糖）含有量的变化趋势均是先快速增长后趋于平稳，线性关系良好，故电导率测定法可及时快速、准确直观地反馈上述成分提取过程和终点，解决了常规 HPLC 法、紫外-可见分光光度法等存在的样品处理方法复杂、步骤繁多、耗时长、反馈信号延后等问题。

另外，通过关联黄芪提取液中电导率与指标成分含有量之间的关系，发现在提取过程中可采用电导率测定法反馈后者变化规律，并及时指示提取终点，而且该方法同样适用于苦参、红花、侧柏叶、栀子、全蝎、土鳖虫类等药材指标成分的提取^[12-15]，可为中药提取过程控制提供更多选择。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 302-303.
[2] 王华付. 黄芪中黄芪多糖含量的测定[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(34): 10948, 11021.
[3] 汪杰. 黄芪配方颗粒提取与纯化工艺研究[D]. 广州:

广州中医药大学, 2009.

[4] 周滢, 周萍. 正交试验法优化蜜黄芪配方颗粒提取工艺及定性鉴别研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(10): 2405-2407.
[5] 刘晓庆, 李军, 薛恒跃, 等. 不同来源、不同等级黄芪饮片片毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量分析[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(5): 874-880.
[6] 严治学, 何永志, 王颖. 黄芪 HPLC-ELSD 指纹图谱的建立及分析[J]. 天津中医药大学学报, 2017, 36(2): 142-145.
[7] 孟楣, 魏良兵, 王芳, 等. UPLC-ELSD 法测定芪白平肺胶囊中黄芪甲苷[J]. 中成药, 2013, 35(12): 2634-2637.
[8] 许京, 叶迎, 王瑞海, 等. 甘肃一年生、二年生红芪和黄芪 HPLC-ELSD 指纹图谱比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(6): 71-76.
[9] 叶迎, 包强, 王瑞海, 等. 甘肃红芪中黄芪甲苷存在的判定以及一年生、二年生红芪、黄芪皂苷和总黄酮含量对比[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(14): 69-75.
[10] 赵强强, 韩丽, 潘媛, 等. 黄芪中黄芪多糖含量的测定[J]. 中国现代中药, 2011, 13(7): 29-30, 37.
[11] 张艳贺, 张雷鸣, 刘秀波, 等. 不同产地黄芪中黄芪多糖的含量测定[J]. 中医药信息, 2013, 30(5): 69-71.
[12] 薛伟明, 张效林, 刘袖洞, 等. 电导率测定法在植物有效成分提取过程中的应用研究[J]. 现代化工, 1998(8): 21-24.
[13] 孙冬梅, 陈卉, 王洛临, 等. 电导率测定法在中药有效成分提取过程中的应用研究[J]. 中成药, 2015, 37(12): 2686-2690.
[14] 张鹏, 高峻峰, 孟硕, 等. 电导率法在线监测栀子提取物大孔树脂柱分离工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 27-28.
[15] 严赞开. 电导法测定橙皮甙[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(9): 2575, 2577.