

中药复方多糖提取工艺研究进展

陈慧娟¹,唐芳瑞²,陈燕²,舒青龙²,曾乐²

(1. 亳州市人民医院药学部,安徽 亳州 236800;2. 江西中医药大学,江西 南昌 330004)

摘要:中药复方多糖在治疗心血管系统、免疫系统、内分泌系统疾病及抗肿瘤等方面具有显著的药理活性,且多糖对机体组织细胞无毒副作用,使其在医药、食品、化妆品等领域有着广泛的应用前景。该文重点阐述了近年来中药复方多糖的提取工艺研究,同时对其研究现状进行了分析并对其研究前景进行了展望。

关键词:中药复方多糖;提取工艺;研究进展

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.02.002

Research progress on extraction process of polysaccharides from traditional Chinese medicine complex prescription

CHEN Huijuan¹,TANG Fangrui²,CHEN Yan²,SHU Qinglong²,ZENG Le²

(1. Department of Pharmacy, the People's Hospital of Bozhou, Bozhou, Anhui 236800, China;

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, Jiangxi 330004, China)

Abstract: Polysaccharides from traditional Chinese medicine complex prescription have significant pharmacological activities in the treatment of cardiovascular diseases, immune diseases, endocrine system diseases and cancers. Polysaccharide has no toxic and side effects on human tissue cells, which make it had been widely applied in medicine, food, cosmetics and other fields. This article mainly elaborated the extraction process of polysaccharides from traditional Chinese medicine complex prescription, analyzed the research status and pointed out the research prospect.

Keywords: polysaccharides from traditional Chinese medicine complex prescription; extraction process; research progress

中药复方是由两味或两味以上药物组成的方剂,有相对规定性的加工方法和使用方法,针对相对确定的病证而设、讲究七情和合及君臣佐使的方剂,是中医方剂的主体组成部分,体现了中医药理论的精华,是临床医用最主要的手段,也是中医药研究的重点方向^[1-2]。中药复方多糖是从中药复方中提取而得到的一种高分子碳水化合物总称,由糖苷键连接构成的超过10个单糖分子的大分子长链^[3]。多糖及其复合物在生物体中不仅是作为能量资源和构成材料,更重要的是它存在于一切细胞膜结构中,参与生命现象中细胞的各种活动。现代研究表明^[4-5],中药复方多糖具有广泛的生物活性,主要有调节免疫、抗肿瘤、抗病毒、抗氧化、抗辐射、抗疲劳、降血糖、抑菌等药理作用。中药复方成份复杂,杂质多、干扰大,使得多糖分离纯化比较困难,加之近年来中药复方多糖的药理活性研究越来越热,对样品制备、成分提取技术要求也越来越高,

本文对近年来中药复方多糖的提取工艺进行综述,以为中药复方多糖相关研究与应用提供参考。

1 多糖类化合物常用定量分析方法^[6-7]

多糖类化合物测定时常先将多糖还原为单糖或寡糖,常用的方法是用硫酸或盐酸酸化水解,主要的测定方法有以下几种,其中比色法操作简单,成本低,应用最广泛。

1.1 比色法 常用有硫酸-蒽酮、硫酸-苯酚法,其原理是根据多糖在硫酸的作用下水解成单糖,并脱水生成糖醛衍生物,再与苯酚或蒽酮缩合成有色化合物,在一定浓度范围内和适当波长下,糖浓度与吸收值呈线性关系,从而测定其含量。

1.2 滴定法 多糖通过加酸、加热水解成单糖或寡糖后,以次甲基兰做指示剂,用经过标定的碱性酒石酸铜滴定,根据样液消耗的体积计算其含量。此外,滴定法还有间接碘量滴定法、氧化还原滴定法。

1.3 色谱法 主要有高效液相色谱法(HPLC)和气相色谱法(GC),多糖水解后作为供试品,与对照品溶液注入高效液相仪或气相色谱仪,在相应检测器下测定峰面积,从而计算出多糖含量。

2 中药复方多糖的提取工艺

中药复方含有多种不同极性的化合物,提取时

基金项目:国家自然科学基金项目(81473455);江西中医药大学重点学科项目(2015jzdxk020)

通信作者:舒青龙,男,教授,硕士生导师,研究方向:环境微生物学,
E-mail:shuqinglong@126.com

常利用多糖类化合物与其他化合物的极性不同,选用不同的溶剂处理达到去除杂质的目的。多糖类化合物极性较大,可先用石油醚、高浓度乙醇等对复方进行脱脂,然后用水或稀醇提取糖类成分,再除去蛋白质等非糖杂质^[8]。目前报道的关于中药复方多糖的提取方法主要有以下几种。

2.1 水煎煮法 水煎煮法操作简单,设备条件要求低,是传统的中药提取方法。多糖因极性较大,易溶于水,常选用水煎煮法提取。蒋洁等^[9]通过正交实验考察煎煮时间、料液比、煎煮次数对桂圆益气补血汤(由龙眼肉、黄芪、当归、山药、甘草组成)煎煮工艺的影响,得最佳煎煮工艺条件为:加12倍量水煎煮3次,每次36 min,煎煮前浸泡30 min,浸膏得率39.3%,多糖得率6.80%。优选的煎煮工艺条件稳定,提出了可适用于桂圆益气补血汤工业生产的工艺依据。南帆等^[10]对黄芪桂枝五物汤(由黄芪、桂枝、芍药、生姜、大枣组成)多糖提取工艺进行研究,以提取温度、pH、料液比3个因素作为多糖提取的影响因素,通过正交实验得出结论:提取温度对黄芪桂枝五物汤总多糖的提取有显著影响,提取溶液pH值和料液比无显著影响,确定最佳提取工艺为:提取温度90℃,pH值为10的碳酸钠水溶液按1:10的料液比提取。Li等^[11]对半夏厚朴汤(由半夏、厚朴、茯苓、干姜、紫苏叶组成)中的多糖进行提取,先用石油醚回流脱脂,80%乙醇回流2次洗脱单糖和寡糖,90℃下水提2次,无水乙醇沉淀多糖,最后采用Sevage法除蛋白,半夏厚朴汤多糖得率6.25%,该提取方法对极性较小的脂类、单糖、寡糖及蛋白进行了有效去除,提高了多糖的提取率。

2.2 回流提取法 回流法是比较常用的提取方法,此方法简单易操作,可不断更新溶剂,浸提较完全,能提高有效成分的提取率^[12]。宋棋芬等^[13]采用回流提取法对复方桑黄颗粒(由桑叶、葛根、黄精、百合组成)中的总多糖进行提取,得最佳提取工艺为:料液比1:8,浸提温度90℃,浸提1.5 h,提取3次,总多糖提取率2.85%。该提取工艺稳定,方法简单,提取率较高。许义红等^[14]采用中心组合设计-响应面法对当归补血汤(由当归、黄芪组成)中的多糖进行回流提取,以多糖提取率为响应值,选取液固比、提取温度、提取时间为考察因素,得最佳提取工艺为:液固比13:1,93℃下提取2次,每次2.4 h,多糖平均得率为4.16%。另外,该研究还对同批次药材采用正交设计法进行提取工艺的优选,多糖得率3.92%,低于中心组合设计-响应面法优选的提取工艺。

潘琼等^[15]应用回流提取和超声提取对二精方中枸杞和黄精进行了合提和分提。结果:二精方回

流提取多糖含量45.4%;二精方超声提取多糖含量57.4%;枸杞回流黄精超声提取二精方多糖含量70.0%;枸杞超声黄精回流提取二精方多糖含量48.5%,最终确定二精方多糖最佳提取工艺为枸杞回流提取和黄精超声提取,合并提取多糖。该研究对二精方中多糖的提取方法进行了比较,并提出了两味药材采用不同的提取方法提取后再合并多糖,该方法虽提取多糖含量较高,但是中药复方的配伍不是各个组分简单的加和,各成分之间相互作用,相互协调,在提取的过程中各药材之间的相互作用也是影响药材功效的因素之一,不能仅以多糖含量作为提取工艺的考察指标,还需考虑中药复方的整体性及药效。

2.3 超声提取法 超声提取的原理主要包括机械作用、热学作用及空化作用,能够增加物质分子运动的频率和速度、溶剂的穿透力,从而加速目标成分进入溶剂。超声提取可极大地提高提取效率,节约溶剂,避免高温对提取成分的影响^[16]。

徐飞等^[17]采用超声法提取六味地黄丸(由熟地黄、山茱萸、牡丹皮、山药、茯苓、泽泻组成)总多糖,通过正交实验确定最佳提取工艺:10倍量初始温度60℃的60%乙醇对复方药材粗粉浸泡6 h后,超声提取2次,每次30 min,超声频率25 kHz,总多糖得率为17.19 mg·g⁻¹,并与传统回流提取法比较(回流提取法总多糖得率为8.53 mg·g⁻¹),效果明显优于回流提取法。张英等^[18]考察了复方十子代平方(由菟丝子、枸杞子、五味子、车前子、去覆盆子、莱菔子、苏子、去白芥子、茺蔚子、栀子、女贞子、决明子组成)超声提取工艺条件,确定最佳提取工艺条件为:温度70℃,超声提取60 min,超声功率40%,提取3次,料液比1:20,总多糖提取率11.44%。该研究者还对提取的复方多糖进行了分离纯化,去蛋白后多糖含量为43.93%,醇沉提高到52.97%,透析后达到63.19%,通过纯化总多糖的纯度逐步提高。周帅飞等^[19]采用超声辅助法提取四君子汤(由红参、白术、茯苓、炙甘草组成)多糖研究中,通过正交设计实验对提取温度、提取时间、提取次数3个因素进行考察,结果:影响多糖提取的主次因素为:提取次数>提取温度>提取时间,最佳提取工艺为80℃提取3次,30分钟/次,复方多糖的提取率可达17.1%。该研究还比较了Sevage法和Sevage-酶法纯化多糖的效果,并进行了单因素考察,得脱蛋白的最佳工艺条件为:胰蛋白酶添加量为1%,37℃水浴,酶解3 h,Sevage试剂处理3次,多糖脱蛋白处理后纯度达到80.00%,多糖的保留率为92.69%。

2.4 微波辅助提取法 微波提取法是利用微波的高频电磁波穿透提取介质,加速被提取成分向溶剂

的扩散速率,及缩短扩散时间,提高提取速率,该法具有操作简单、提取快速、提取率高的优点^[20]。李桂银等^[21]采用微波辐射萃取补阳还五汤(由黄芪、川芎、赤芍、桃仁、地龙、当归、红花组成)中多糖成分,采用单因素实验和正交实验法,探讨了不同微波辐射时间、微波功率及料液比等条件对多糖得率的影响。结果:微波辐射 20 min,微波功率 325 W,料液比为 1:7,补阳还五汤多糖得率为 7.75%;另外,直接加热萃取法在萃取时间 240 min,料液比 1:20 条件下,多糖得率仅为 5.56%,且提取时间是微波辅助提取法的 12 倍。微波辅助提取法显著缩短了提取时间,节省了溶剂,提高了多糖收率。

2.5 超微粉碎技术辅助提取法 超微粉碎技术是近年发展起来的一项应用现代物理或化学方法对材料进行微粉化的新技术,中药经超微粉碎后,粉末粒径小且分布均匀,球性度及均质度明显改善,松密度及比表面显著提高,而且细胞壁大部分被破坏,有效成分不需要通过细胞壁和细胞膜就能释放出来,从而提高了有效成分的溶出速度及溶出率^[22]。刘洪娜等^[23]采用超微粉碎技术把芪苓制剂(由黄芪、茯苓、金银花组成)加工成普通粉(60~100目)、超微粉(300目),以水提醇沉法提取总多糖,结果普通粉、超微粉样品中多糖提取率分别为 0.56%、4.5%,且多糖纯度分别为 44.71%、75.03%。结果表明超微粉碎技术能显著提高芪苓总多糖的溶出度。

3 结语

目前针对中药复方多糖药理活性研究较多,但因复方成分复杂,成分之间不易分离,纯化难度较大,复方多糖提取工艺的研究比较薄弱。目前报道的中药复方多糖提取方法多为水煎煮法、回流提取法及超声波辅助提取法,而对于一些新的提取技术,如在单味中药多糖提取中使用的酶法、超临界流体萃取技术、半仿生提取法、双水相萃取等,中药复方多糖提取工艺中未见有报道,复方多糖的提取也可以尝试采用新技术、新方法来提高多糖的提取率及纯度。另外,为了达到更好的提取效果,针对中药复方的复杂的成分,可采用不同提取方法协同应用,如超声-微波、超声-酶法、超声-微波-酶法、超声波/微波-临界流体等协同提取^[24-25],通过两种或多种提取方式的优势互补,弥补单个提取法的不足,最大限度的提高复方多糖的得率。相信随着中药复方多糖的提取处理、纯化工艺及新的提取技术研究的不断深入,复方多糖的提取工艺将不断得到优化,药材的利用率也将得到提高,进一步促进中药复方多糖的药理活性研究并将更多研究成果应用到临床中。

参考文献

- [1] 焦振廉. 试论中药复方的开发研究[J]. 中医文献杂志, 2004, 22(2):34.
- [2] 贾晓斌, 陈彦, 李霞, 等. 中药复方物质基础研究新思路和方法[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(5):420-425.
- [3] 林俊, 李萍, 陈靠山. 近 5 年多糖抗肿瘤活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(8):1116-1125.
- [4] 郭浩杰, 杨严格, 安乐, 等. 中药多糖的分子修饰及其药理活性研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(7):1074-1080.
- [5] 杨丹, 任谓明, 王艳红, 等. 复合多糖药理活性研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(3):94-97.
- [6] 徐晓飞, 陈健. 多糖含量测定的研究进展[J]. 食品科学, 2009, 30(21):443-448.
- [7] 李计萍. 中药新药研究中多糖含量测定方法探讨[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(17):3392-3394.
- [8] 王红英. 中药多糖研究进展[J]. 实用医技杂志, 2006, 13(6):1021-1022.
- [9] 蒋洁, 何舟, 黄燕军, 等. 多指标正交试验法优选桂圆益气补血汤煎煮工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(6):26-29.
- [10] 南帆, 谭稳博, 李泽民, 等. 探究黄芪桂枝五物汤中多糖的最佳提取工艺[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015(77):253-255.
- [11] YI LT, ZHANG L, DING AW, et al. Orthogonal array design for antidepressant compatibility of polysaccharides from Banxia-Houpu decoction, a traditional Chinese herb prescription in the mouse models of depression[J]. Arch Pharm Res, 2009, 32(10):1417-1423.
- [12] 贺敬霞, 田茜, 何晨, 等. 药材中活性成分绿原酸提取工艺研究进展[J]. 亚太传统医药, 2015, 11(19):45-47.
- [13] 宋棋芬, 徐茂义, 黄越燕. 复方桑黄颗粒中总多糖提取工艺研究[J]. 亚太传统医药, 2012, 8(9):41-43.
- [14] 许义红, 魏学军, 赵鸿宾, 等. 中心组合-响应面法优化当归补血汤中多糖的提取工艺[J]. 黔南民族医学学报, 2015, 28(3):168-171.
- [15] 潘琼, 徐力生, 吴承霖, 等. 二精方多糖提取工艺实验及含量测定[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(8):1856-1858.
- [16] 江尚飞, 潘伦, 杨宗发, 等. 中药有效成分常用提取新工艺研究进展[J]. 中国药业, 2014, 23(17):1-3.
- [17] 徐飞, 尹蓉莉, 钟铃, 等. 超声提取六味地黄丸复方的工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(8):1432-1434.
- [18] 张英, 赵宁, 李洋, 等. 中药复方十子代平方总多糖提取工艺的优化及分离纯化[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2015, 18(2):293-295.
- [19] 周帅飞, 刘玉红. 四君子汤复方多糖超声提取及脱蛋白工艺优化[J]. 山东中医杂志, 2015, 34(2):134-136.
- [20] 赵子龙, 薛培凤, 倪佩东, 等. 天然药物中总黄酮的提取工艺研究进展[J]. 内蒙古医学院学报, 2012, 34(6):512-516.
- [21] 李桂银, 李晓如, 丁萍. 补阳还五汤多糖的微波辅助提取研究[J]. 广东化工, 2007, 34(3):37-40.
- [22] 孙源源, 杜光. 超微粉碎技术在中药中的应用进展[J]. 医药导报, 2014, 33(1):69-71.
- [23] 刘洪娜, 李健, 陈灵, 等. 超微粉碎技术对芪苓制剂总多糖溶出的影响[J]. 中兽医学杂志, 2008(3):3-7.
- [24] 王忠雷, 杨丽燕, 曾祥伟, 等. 新技术在中药多糖提取工艺中的单独及协同应用[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2013, 15(6):1441-1446.
- [25] 赵超, 杨日福. 物理场强化植物多糖提取研究进展[J]. 现代化工, 2012, 32(9):31-35.

(收稿日期:2017-01-12, 修回日期:2017-01-24)